



# هشتمین کنفرانس ملی فیزیولوژی گیاهی ایران

8<sup>th</sup> Iranian Conference of Plant Physiology

۱۰ و ۱۱ بهمن ۱۴۰۲

(حضور و مجازی)

## موضوعهای همایش:

- فیزیولوژی گیاهی و فیزیولوژی گیاهان زراعی/باغی
- فیزیولوژی تغذیه گیاهی و رابطه آب خاک و گیاه
- فیزیولوژی بذر و فیزیولوژی پس از برداشت
- بیوتکنولوژی و بیوشیمی گیاهی
- گیاه و تنشهای محیطی

## موضوعهای ویژه:

- گیاهان مقاوم به خشکی و خشک منظر سازی فضای شهری
- آللوپاتی و فیزیولوژی گونه های گیاهی مهاجم
- فیزیولوژی همزیستی گیاه و میکروارگانیسم
- فیزیولوژی گیاهی و علوم کاربردی
- کاربرد GIS و RS در فیزیولوژی گیاهی
- گیاه پلایی

شروع ثبت نام و ارسال مقالات:

اول خرداد ماه ۱۴۰۲

آخرین مهلت دریافت مقالات:

۳۰ آذر ماه ۱۴۰۲

اعلام نتایج داوران مقالات:

۱۰ دی ماه ۱۴۰۲

کرمان - انتهای بزرگراه هفت باغ علوی -

دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته



<http://congress.kgut.ac.ir/plantphys>

[plantphys2023@kgut.ac.ir](mailto:plantphys2023@kgut.ac.ir)

03431623319-03431623119





# هشتمین کنفرانس ملی فیزیولوژی گیاهی ایران

کتابچه مقالات

هشتمین کنفرانس ملی فیزیولوژی گیاهی

8<sup>th</sup> Iranian Conference of Plant Physiology

دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته

(حضوری و مجازی)



کد اختصاصی:

۰۲۲۳۰-۲۱۰۷۵

جهت استعلام لطفاً کلیک نمایید

10 و 11 بهمن 1402



<http://congress.kgut.ac.ir/plantphys>

[plantphys2023@kgut.ac.ir](mailto:plantphys2023@kgut.ac.ir)

03431623319-03431623119

کرمان- انتهای بزرگراه هفت باغ علوی-

دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته



به نام خداوند بخشنده و مهربان

## هشتمین کنفرانس ملی فیزیولوژی گیاهی

### برگزار کنندگان



### حامیان همایش



## محورهای همایش

فیزیولوژی گیاهی و فیزیولوژی گیاهان زراعی / باغی

فیزیولوژی تغذیه گیاهی و رابطه آب خاک و گیاه

فیزیولوژی بذر و فیزیولوژی پس از برداشت

بیوتکنولوژی و بیوشیمی گیاهی

گیاه و تنشهای محیطی

## محورهای ویژه

گیاهان مقاوم به خشکی و خشک منظرسازی فضای شهری

آللوپاتی و فیزیولوژی گونه‌های گیاهی مهاجم

فیزیولوژی همزیستی گیاه و میکروارگانسیم

فیزیولوژی گیاهی و علوم کاربردی

کاربرد GIS و RS در فیزیولوژی گیاهی

گیاه پالایی

رئیس کنفرانس: دکتر هادی بیت الهی

دبیر علمی: دکتر حکیمه علومی

دبیر اجرایی: دکتر آمنه میان آبادی

اعضای کمیته علمی:

دکتر مریم شهبازی، دانشیار زیست شناسی گیاهی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان  
دکتر حکیمه علومی، دانشیار فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته  
دکتر حسین مظفری، استادیار فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته  
دکتر خسرو منوچهری کلانتری، استاد بخش زیست شناسی، دانشگاه شهید باهنر کرمان  
دکتر محمدجواد آروین، استاد علوم باغبانی، دانشگاه شهید باهنر کرمان  
دکتر فرخنده رضائزاد، استاد بخش زیست شناسی، دانشگاه شهید باهنر کرمان  
دکتر فائزه قناتی، استاد فیزیولوژی گیاهی دانشگاه تربیت مدرس تهران  
دکتر پرویز احسان زاده، دانشیار زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه صنعتی اصفهان  
دکتر علی اکبر احسانپور، استاد فیزیولوژی گیاهی دانشگاه اصفهان  
دکتر منصور شریعتی، استاد فیزیولوژی گیاهی دانشگاه اصفهان  
دکتر افشین توکلی، دانشیار زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه زنجان  
دکتر منصور افشارمحمدیان، دانشیار فیزیولوژی گیاهی دانشگاه گیلان  
دکتر محسن شریفی، دانشیار فیزیولوژی گیاهی دانشگاه تربیت مدرس تهران  
دکتر مهناز اقدسی، دانشیار فیزیولوژی گیاهی دانشگاه گلستان  
دکتر سمر خیامیم، بانک ژن ملی ایران، موسسه تحقیقات و اصلاح بذر و نهال  
دکتر لیلا شبانی، دانشیار فیزیولوژی گیاهی دانشگاه شهر کرد  
دکتر نادر چاپارزاده، استاد فیزیولوژی گیاهی دانشگاه شهید مدنی آذربایجان  
دکتر لیلا زرنندی، استادیار فیزیولوژی گیاهی دانشگاه شهید مدنی آذربایجان  
دکتر مرتضی یوسف زادی، استاد بخش زیست شناسی، دانشگاه قم  
دکتر حسن سالاری، استادیار دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته  
دکتر فاطمه نصیبی، دانشیار بخش زیست شناسی، دانشگاه شهید باهنر کرمان  
دکتر بتول کرامت، دانشیار بخش زیست شناسی، دانشگاه شهید باهنر کرمان  
دکتر فرزین ناصری، استادیار دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته  
دکتر وحید نیکنام، استاد فیزیولوژی گیاهی دانشگاه تهران

دکتر رویا رضوی زاده، دانشیار فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه پیام نور اصفهان  
دکتر پرژک ذوفن، عضو هیات علمی فیزیولوژی گیاهی دانشگاه شهید چمران اهواز  
دکتر علی اکبر قطبی راوندی، استادیار فیزیولوژی گیاهی دانشگاه شهید بهشتی  
دکتر حمیدرضا صادقی پور، دانشیار فیزیولوژی گیاهی دانشگاه گلستان  
دکتر عذرا صبورا، دانشیار فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه الزهرا  
دکتر پریسا کوباز، استادیار فیزیولوژی گیاهی پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی  
دکتر زهراسادات شبر، دانشیار ژنتیک مولکولی پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی  
دکتر بابک ناخدا، دانشیار ژنتیک مولکولی پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی  
دکتر میترا رحمتی، استادیار علوم باغبانی، موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال  
دکتر امین باقی زاده، دانشیار دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته  
دکتر محمود ملکی، استادیار دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته  
دکتر مسعود احمدی افزادی، استادیار دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته  
دکتر مجتبی مرتضوی، دانشیار دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته  
دکتر مظفر منصوری، دانشیار دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته  
دکتر مهدی رحیمی، دانشیار دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته  
دکتر مریم راشکی، استادیار دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته

#### کمیته اجرایی:

مژده اسماعیل بیگی  
اعظم حسینی  
امین عطارزاده  
لیلا ملک پورزاده  
مهدی رنجبر  
مهنوش علیزاده  
مریم عمرانی  
عباس تقی زاده  
ابوذر غفاری مقدم  
حسین کاکویی نژاد  
میثم طالبی زاده سردری

## فهرست مطالب:

25	دیباچه
26	سخن دبیر علمی
27	مقالات
27	سخنرانی و پوستر
28	تأثیر برخی ویژگی های ریخت شناسی و تشریحی برگ بر تبادلات گازی گیاهان، منصور افشارمحمدیان
37	بازتعریف امنیت آب شهری؛ بایدها و نبایدها، حجت میان آبادی، سیده زهرا قریشی
38	بهبهینه سازی کشت بافت و انتقال ژن تولید کننده رنگ آبی به لیلیوم، پریسا کوباز، ملیحه فلاح پور، علیرضا قنبری، اسماعیل چمنی و پژمان آزادی
43	بررسی پتانسیل سنجش از دور در پایش تنش های گیاه، مهدیه حسینجانی زاده
50	تأثیر پارامترهای روزنه ای و تنظیم اسمزی در مقاومت به خشکی برخی هیبریدهای کلونی پسته، مژده اسکو، محمودرضا روزبان، سعادت ساریخانی، محمد مهدی عرب و کورش وحدتی
56	بررسی مکانیسم مولکولی تحمل به سرما در نخود زراعی با استفاده از مطالعه مقایسه ای کل ترانسکریپتوم، علیرضا اکبری، نازنین امیربختیار، معصومه پوراسماعیل، احمد اسماعیلی، مهدی زهراوی، علی بیگدلی، زهرا سادات شبر
62	رویدادهای متابولیکی و مولکولی درگیر در کاهش زندهمانی و رویش دانه های گردو، حمیدرضا صادقی پور، سیده فاطمه فلاح، ماکسیم دانچنکو، پیتربارات، گیزا بودسو، فرشید قادری فر و مسعود گلعلی پور
68	نقش ممانعت کننده های اتیلن در کشت بافت گیاهی، علی اکبر احسانپور، سمیه زارعی و مظفر باقر زاده
74	کاربردهای فناوری پلاسما ی سرد در کشاورزی، فاطمه نصیبی و هادی نوری
81	اهمیت استفاده از گیاهان سازگار و بومی در منظر سازی کم نیاز به آب در فضاهای سبز شهری (نمونه موردی: بلوار جنوبی ورودی دانشگاه صنعتی اصفهان)، نعمت اله اعتمادی، مانده ایزدی، بهرام عراقی
87	کاهش اثرات زوال بذر گندم با استفاده از پیش تیمار هیومیک اسید، امیر رئیسوندی، محمود غلامی، حمیدرضا عیسوند
93	اثر تنش شوری، ترهالوز و قارچ <i>Serendipita indica</i> بر جوانه زنی گوجه فرنگی، زهراموحدی، رحیمه ترک دهنو، مهدی قبولی



- تأثیر اسید آسکوربیک و اسید هیومیک بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه نعنای فلفلی تحت شرایط تنش خشکی، زهراموحدی، سیما  
 قیاسی، مجید رستمی ..... 99
- ارزیابی اثر سدیم نیتروپروساید بر جوانه زنی بذر بامیه تحت تنش مس، سرور عارفی، جلیل خارا..... 105
- بررسی اثرات تنش خشکی و سطوح مختلف ژئولیت بر برخی صفات زراعی و بیوشیمیایی ارقام کنجد، مهناز نارویی، علیرضا سیروس  
 مهر، مهدی دهمرده، اسماعیل سید آبادی..... 111
- بررسی اثر تنظیم کننده های رشد و اسیدهای هیومیک و سیلیکون بر برخی ویژگی های فیزیولوژیکی و عملکرد دانه گلرنگ در شرایط  
 آبیاری شور، ایوب امیری، علیرضا سیروس مهر، احمد قنبری، محمدرضا اصغری پور، اسماعیل سید آبادی..... 118
- اثر سطوح کمپوست، محلول پاشی آهن و روی بر عملکرد و برخی ویژگی های کاملینا، عبدالعلی میرفتح الهی، علیرضا سیروس مهر، عیسی  
 خمیری، احمدقنبری، مریم اله دو..... 125
- بررسی کاربرد هیومیک اسید، آمینو اسید و کود زیستی بر خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه دارویی زنجبیل (*Zingiber  
 officinale*)، فاطمه آزادی، عزیزاله خیری، محسن ثانی خانی..... 131
- ارزیابی لاین های امیدبخش کلزا در شرایط تنش های محیطی آخر فصل منطقه سیستان با استفاده از روش های تجزیه چندمتغیره ، بهنام  
 بخشی، حسن امیری اوغان و محمد کشت گر خواجه داد..... 137
- انتخاب لاین های امیدبخش زودرس و پرمحصول کلزا با استفاده از شاخص انتخاب ژنوتیپ ایده آل (SIIG) و تجزیه به عامل ها، بهنام  
 بخشی، حسن امیری اوغان و محمد کشت گر خواجه داد..... 143
- بررسی تأثیر تعدیل تنش خشکی بر رنگیزه های فتوسنتزی گیاه آجوگا (*Ajuga reptans L.*) با استفاده از قارچ مایکوریزا، زهرا قربانی،  
 وحید قناد قرصی، محمود شور، زهرا کریمیان..... 149
- اثر مایه زنی با جدایه های تریکودرما بر شاخص های مورفولوژیکی شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra L.*) در شرایط کم آبی، زینب  
 فضلی، زهره طغرانگار، الهه وطن خواه، امانی فر ستاره، رقیه همتی..... 154
- ارزیابی اثر عصاره گیاه کاکوتی کوهی بر فعالیت و بیان پراکسیداز نو ترکیب لپیدیوم در ابا (LDP)، علی ریاحی مدوار، محدثه سپاهی  
 باغان، مجید حلیمی خلیل آباد، مجتبی مرتضوی، محبت نداف، فهیمه بهرام نژاد..... 159
- ارزیابی محتوی فنل کل اکوتایپ های بومی کاسنی، نرجس قلی پور، علیرضا رضانی، اسماعیل خسروی، ناصر صفایی، سید صفاعلی فاطمی،  
 فروغ سنجریان..... 165
- اثر ملاتونین پرایمینگ بر رنگیزه های فتوسنتزی و سرعت فتوسنتز کینوا در شرایط تنش آبی، سید عبدالرضا کاظمینی، مریم صمدی.. 169



- تأثیر برخی تیمارهای شکست خواب بر جوانه زنی بذر گیاه دارویی قاصدک (*Taraxacum officinale. L*). زهرناظم بکائی، خدیجه کیارستمی، منیر حسین زاده نمین..... 173
- بررسی سنجش ترکیبات فنل و فلاونوئیدی در تیمارهای هورمونی 2,4-D و BAP از ریزنمونه های مختلف گیاه *Dracocephalum moldavica. L* زهرناظم بکائی، خدیجه کیارستمی، منیر حسین زاده نمین..... 180
- تأثیر تیمار اسیدازالیک بر حفظ کیفیت پس از برداشت میوه زالزالک (*Crataegus monogyna*)، ولی ربیعی، علی سلیمانی، ساناز مولائی، سید رئوف حسینی..... 187
- اثرات کاربرد برگی سالیسیلیک اسید بر فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه گندم و تریتیکاله در شرایط تنش شوری، محمد حسین آذرگون، وحید براتی، احسان بیژن زاده، حمیدرضا بوستانی..... 193
- اثر تنش کم آبی و محلول پاشی متانول بر کلروفیل گندم دوروم، احمد درگاهی، احمد کوچک زاده، سید عطاله سیادت، محمد رضا مرادی تلاوت..... 198
- اثر کم آبی آخر فصل و محلول پاشی متانول بر برخی شاخص های فیزیولوژیک گندم دوروم، احمد کوچک زاده، سید عطاله سیادت، محمد رضا مرادی تلاوت، احمد درگاهی..... 204
- تأثیر تنش خشکی و کاربرد قارچ میکوریزا بر برخی صفات فیزیولوژیک اکوتیپ های آویشن شیرازی، اشرف آقاباباپور دهکردی، سعیدالله هوشمند، شهرام محمدی، رودابه راوش..... 209
- ساخت سامانه اوراکسپرسور DREB1A تحت کنترل پروموتور RD29A، رئوف مازندرانی، محمد باقر باقریهنجار، مهناز اقدسی... 215
- ارزیابی رشد و پاسخ آنتی اکسیدانی گیاه تاج خروس وحشی (*Amaranthus retroflexus L.*) به فناترن و پیرن از گروه ترکیبات آروماتیک چند حلقه ای، زهرا احمدزاده هوج، سید یحیی صالحی لیسار، سریه تاریقلیزاده..... 222
- مقایسه ترکیبات فنلی در اندام های مختلف گیاهان سیر جمع آوری شده از استان های مختلف ایران، ساناز علی آبادی، محسن شریفی..... 227
- بررسی برخی خصوصیات مرتبط با رشد و تکثیر و ترکیبات اصلی دارویی زعفران زراعی در سنین مختلف رشد در زنجان، کیوان آقائی، محسن فتحی، علی عمارلو..... 232
- تأثیر کودهای زیستی و آلی بر برخی ویژگی های گیاه سیب زمینی تحت تنش خشکی، مرضیه حسینی، محمودرضا تدین، مجید اولیاء... 238
- تعیین برخی ترکیبات غذا- دارویی در جلبک قهوه ای سارگاسوم بوویانوم سواحل بوشهر، مریم اکبری، رویا رضوی زاده و غلامحسین محبی..... 245



- اثر تنش شوری بر جوانه زنی و برخی شاخص‌های بذر گیاه *Humulus lupulus L.* مریم عبدالجلیل‌زاده، سید یحیی صالحی لیسار، حمیده بخشایشان اقدم..... 252
- ارزیابی پاسخ صفات فیزیولوژیک گلرنگ به تغذیه برگ‌گی روی و همزیستی میکوریزایی در شرایط تنش شوری، مزده بوستانیان، پرویز احسان زاده..... 257
- بررسی کاربرد کودهای زیستی بر روی رنگیزه فتوستزی و کاروتنوئیدی گیاه دارویی زنجبیل (*Zingiber officinale*)، فاطمه آزادی، عزیزاله خیری، محسن ثانی خانی..... 263
- ارزیابی فعالیت ضد میکروبی عصاره کاکوتی کوهی علیه باکتری *Escherichia coli T7 Shuffle* علی ریاحی مدوار، محدثه سپاهی باغان، مجید حلیمی خلیل آباد، مجتبی مرتضوی، محبت نداف، فهیمه بهرام نژاد..... 269
- اثر قارچ سرندپیستا ایندیکا بر میزان کلونیزه شدن ریشه و برخی شاخص‌های رشدی گیاه ریحان سبز، صالح شهابی‌وند، سیما پرآوند... 274
- مقایسه صفات مورفوفیزیولوژیکی ارقام پر محصول چغندر علوفه‌ای در شرایط شور در شرایط زارع، احمد قاسمی، مهدی صادقی شعاع، محمدرضا نارویی راد و غلامحسن رنجبر..... 280
- اثر تنظیم کننده‌های رشد گیاهی بر کالوس زایی و تولید ترکیبات فنیل پروپانوئیدی گیاه بادرشبو (*Dracocephalum moldavica L.*) در شرایط درون شیشه ای، آزاده غلامی، خدیجه کیارستمی، زهرا ناظم بکائی، مریم کمالی پور آزاد..... 285
- استفاده از باکتریها به‌عنوان کودزیستی و بررسی صفات رشد در سه گونه گندم، ذرت و کلزا، بنفشه حیدری کهلی، لیلا زرنندی میاندوآب، نادر چاپارزاده..... 290
- بررسی خصوصیات فیزیولوژیک و عملکرد ارقام گلرنگ در واکنش به تنش رطوبتی، پری حسنونند..... 296
- بررسی درون‌رایانه‌ای عوامل محیطی موثر در رونویسی ژن هیدروکسی متیل بوتانیل دی فسفات ردوکتاز *Dunaliella salina* پریسا ظرافت دوست، لیلا زرنندی میاندوآب، نادر چاپارزاده..... 302
- بررسی اثر جلبک *Sargassum ilicifolium* بر عملکرد گندم نان رقم چمران 2 در استان خوزستان، پگاه اسکندرپور خرمی، اعظم سلیمی، سید منصور سیدنژاد، عبدالعلی گیلانی..... 307
- اثر سدیم نیتروپروساید بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی گیاه بادرنجبویه (*Melissa officinalis L.*) تحت تنش خشکی، پیوند رحمانی زاده، مهدی منصوری، شهرام پورسیدی، سارا عابدینی..... 313
- اثر سدیم نیتروپروساید بر بیان ژن تیروزین آمینوترانسفراز در گیاه بادرنجبویه تحت تنش خشکی، پیوند رحمانی زاده، مهدی منصوری، شهرام پورسیدی..... 317



- الگوی بیان ژنهای **NRAMP** و **APX** و قابلیت گیاه‌پالایی گیاه **L.perenne** در خاک آلوده به کادمیوم، ثنا رزوقی بستک، حمیدرضا کاوسی، مهدی منصوری بابوتکی، مهدی سرچشمه‌پور..... 321
- اثر تنش آبی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان ژنوتیپ‌های سورگوم دانه‌ای، سید عبدالرضا کاظمینی، زهرا بهشت آئین، افشار استخر.. 329
- تأثیر محلول‌پاشی ملاتونین بر بهبود خصوصیات کمی میوه خرما رقم مرداسنگ، سکینه ملائی محمدآبادی، محبوبه محمدی، سمیه رستگار..... 333
- بررسی اثر محلول‌پاشی عصاره جلبک دریایی بر بهبود خصوصیات کمی میوه خرما رقم کلوته، سکینه ملائی محمدآبادی، محبوبه محمدی، سمیه رستگار..... 337
- مطالعه اثر مقادیر مختلف نیتروژن بر عملکرد و اجزاء عملکرد کلزا در ایران با استفاده از روش فراتحلیل، سمانه متقی، امید لطفی فر. 342
- بررسی اثر تنش شوری و خشکی بر جوانه‌زنی گل‌رنگ در مرحله جوانه‌زنی، سمانه متقی، امید لطفی فر..... 347
- تأثیر نانولوله‌های کربنی چند جداره و نانوذرات اکسید منیزیم و اکسید آهن بر متابولیت‌های ثانویه گیاه درمنه خزری (*Artemisia annua L.*)، عذرا صبور، سودابه نظریور..... 352
- تأثیر آسکوربیک اسید بر روی میزان متابولیت‌های ثانویه گیاه کینوا تحت تنش کمبود آب، سید فاطمه موسوی ساردو..... 358
- مقایسه کاربرد متفاوت ریبوفلاوین خارجی (محلول پاشی و هیدروپونیک) بر رشد و ترکیبات فنولیک کلزا، سیده زهرا سادات نیا، طاهره السادات آقاجانزاده..... 364
- تأثیر کاربرد خارجی تیامین بر رشد، رنگدانه‌ها و ترکیبات آنتی‌اکسیدانت کلزا تحت تنش مس، شقایق مرادی، طاهره السادات آقاجانزاده..... 368
- اثر تغذیه برگ‌ی منابع روی بر رشد گل‌آذین و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه دارویی بادرشبویه، صالح شهابی‌وند، احمد آقایی، شمسی اطهائی..... 372
- بررسی اثر تیمارهای مختلف شکستن خواب بذر بر ویژگی‌های جوانه‌زنی گیاه دارویی مینای پرکپه‌ای (*Tanacetum polycephalum*)، طهماسب آسمانه، عیسی پوربهشت زاده..... 377
- تغییرات درصد و ترکیبات اسانس بالنگوی شهری تحت تاثیر آرایش کاشت، ویدا فتاحی، علیرضا پیرزاد، سعیده رحیم‌زاده..... 381
- اثر اسید هیومیک بر شاخص سطح برگ و عملکرد در کشت مخلوط گندم و عدس در شرایط دیم، علی عبدالهی، جواد حمزه‌ئی، اکبر علی‌وردی..... 386

- تأثیر 24-اپی براسینولید و عصاره گل کلم بر صفات فیزیولوژیکی کینوا در سطوح شوری، روژین سهرابی، علیرضا پیرزاد، محسن نیازخانی، تورج میرمحمودی..... 393
- ارزیابی اثر سطوح تنش رطوبتی بر برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی سه رقم گلرنگ، غلامرضا زمانی، پری حسنونند، علی اکبر مقصودی مود..... 399
- ارزیابی شاخص‌های تحمل به تنش خشکی برای انتخاب ژنوتیپ‌های برتر در گیاه گوار (*Cyamopsis tetragonoloba L.*)، سید عبدالرضا کاظمینی، فاطمه السادات قابوس، حیدر مفتاحی‌زاده..... 404
- بررسی میزان مقاومت به خشکی در ده ژنوتیپ *Lolium prene* با و بدون قارچ اندوفایت، فاطمه رئیسی وانانی، لیلا شبانی، محمدرضا سبزیعلیان..... 408
- تجزیه و تحلیل ترنسکریپتوم گیاه خارمریم به منظور شناسایی ژن‌های دخیل در پاسخ به تنش خشکی، فهیمه سیستانی نژاد، مهدی منصور، حمیدرضا کاوسی، جعفر ذوالعلی..... 414
- تولید اسپیرولینای غنی شده با ریزمغذی کلسیم به عنوان مکمل غذایی فراسودمند، محبوبه قنبرزاده، فاطمه قلی‌زاده..... 418
- بررسی اثر محلول‌پاشی عصاره جلبک دریایی بر بهبود خصوصیات کمی میوه خرما رقم مضافتی، محبوبه محمدی، سکینه ملائی محمدآبادی، سمیه رستگار..... 423
- بررسی امکان انتقال ژن به واسطه نانوذرات سوپراپارامغناطیسی آهن سنتز شده به روش سبز با استفاده از عصاره آبی گیاه دارویی مرزه به باکتری *E.coli* محدثه عامری اختیارآبادی، شهرام پورسیدی، سارا عابدینی، آزاده لهراسبی نژاد، حکیمه منصوری..... 426
- تأثیر منابع مختلف زغال زیستی روی عملکرد و اجزا عملکرد ارزن (*Setaria italica*) در شرایط تنش آبی، محمد کشاورز، احسان بیژن‌زاده، فاطمه مرزبان..... 430
- مقایسه تغییرات محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی در دو گونه مریم گلی تحت تاثیر قارچ *Glomus mosseae*، مرضیه فتوت، فرزانه نجفی، رمضانعلی خاوری نژاد، داریوش طالعی، فرهاد رجالی..... 436
- تأثیر باکتری‌های سودوموناس پوتیدا و فلورسنس در سمیت کلرید مس در نعنای سنبله‌ای، مریم حق‌مدد میلانی، نسیم سفیدی، محمدکاظم بهرامی، حبیب فرهادی، غلامرضا گوهری..... 441
- تأثیر تنش شوری ( $K_2SO_4$  و  $KCl$ ) بر پارامترهای فیزیولوژیک گیاه کلزا در شرایط کشت مزرعه ای، معصومه سلیمانی ورکی، طاهره السادات آقاجانزاده..... 446

- بررسی اثر پرایمینگ با عصاره سیانوباکتری *Nostoc sp.* روی برخی پارامترهای رشد گیاهچه‌های ذرت، معصومه قنبری، احسان نظیفی، صدیقه کلیچ، سعید میرزانژاد..... 451
- اثر پرایمینگ بذر بر پارامترهای بیوشیمیایی گیاهچه‌های ذرت رقم هیبرید سینگل کراس ۷۰۴، معصومه قنبری، احسان نظیفی، صدیقه کلیچ، سعید میرزانژاد..... 456
- بررسی تاثیر سیلیس و نانو ذرات سیلیس بر رنگدانه های فتوسنتزی و جذب برخی عناصر در گیاهچه‌های گندم تحت تنش شوری، معصومه هاشم زاده، محمود ملکی، مهدی رحیمی..... 461
- بررسی تاثیر سیلیس و نانو ذرات سیلیس بر رشد گیاهچه‌های گندم تحت تنش شوری، معصومه هاشم زاده، محمود ملکی، مهدی رحیمی..... 466
- بررسی امکان انتقال ژن موقت به واسطه نانوحامل مبتنی بر نانو لوله‌های کربنی تک دیواره به سلول‌های برگ گیاه توتون (*Nicotiana tabacum*)، مهدیه اسدی کرم، شهرام پورسیدی، سارا عابدینی، جعفر ذوالعلی، نازی نادر نژاد..... 472
- واکنش ژنوتیپ های مختلف گلرنگ برای تحمل به شوری و خشکی، مینا امیری، محمد مهدی مجیدی، قدرت الله سعیدی..... 476
- بررسی اثر مقادیر مختلف روی و منگنز در محلول غذایی بر عملکرد و شاخص کلروفیل تربچه، میترا پاشایی، فرهاد بهتاش، حنیفه سید حاجی زاده..... 480
- بررسی انباشت نیکل و روی در گیاه مینای پرگپه‌ای (*Tanacetum polycephalum*)، احمد مهدی..... 486
- مقایسه ترکیبات زیست فعال در عصاره اتانولی گیاهان دارویی آویشن، زوفا، گلپر و اسطوخودوس، فاطمه شهدادی، اعظم سیدی... 491
- بررسی پروفایل اسید چرب و محتوای لیپید کل پسته تیمار شده با پلاسما سرد، مهدیه بختیاری رضانی، سارا هجری، فاطمه امانی هارونی..... 497
- بررسی تاثیر کلرید کادمیوم بر خصوصیات فیزیولوژیک و مورفولوژیک کالوس گلرنگ، شهاب ابوالقاسمی، حسن رهنما، فروغ سنجریان، حسن زینالی..... 501
- بررسی تاثیر کلرید کادمیوم بر جوانه‌زنی بذر و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گلرنگ، شهاب ابوالقاسمی، حسن رهنما، فروغ سنجریان، حسن زینالی..... 507
- تاثیر میکروپلاستیک پلی وینیل کلراید بر شاخص‌های جوانه زنی و مراحل اولیه رشد گیاه کوشیا (*Bassia scoparia*)، عاطفه میرزایی، علی سپهری..... 513

- 518 ..... بررسی واکنش ارقام گوجه فرنگی به تراکم های کشت مختلف در شهرستان دشتستان استان بوشهر، داود کیانی، مرضیه عیاباف.....
- ارزیابی اثر غلظت های مختلف بنزیدل آدنین بر ریزازدیادی گیاه ونوس حشره خوار (*Dionaea muscipula*)، منیژه اسلامی، مهناز کریمی، حسین مرادی..... 523
- تاثیر سن گیاه بر برخی ویژگی های رشدی و ترکیبات موثره گیاه دارویی آرتیشو (*Cynara scolymus L.*)، کیوان آقائی، سعید تقیلو، علی عمارلو..... 527
- 533 ..... بررسی اثر کود نیتروژن بر میزان کلروفیل و قندهای محلول در گیاه گوجه فرنگی، بهزاد امرایی.....
- تاثیر پرایمینگ سالیسیلیک اسید، سدیم نیتروپروساید و باکتری محرک رشد آزوسپیریلیوم بر روی برخی صفات مورفولوژیکی در نخود رقم نصرت، علی بنگاه..... 537
- تاثیر پرایمینگ سالیسیلیک اسید، سدیم نیتروپروساید و باکتری محرک رشد آزوسپیریلیوم بر محتوای کربوهیدرات و پروتئین محلول کل در نخود رقم نصرت، علی بنگاه..... 542
- تاثیر پرایمینگ سالیسیلیک اسید، سدیم نیتروپروساید و باکتری محرک رشد آزوسپیریلیوم بر محتوای کلروفیل I و II و کلروفیل کل نخود رقم نصرت، علی بنگاه..... 547
- تاثیر نانولوله های کربنی بر ویژگی های مورفولوژیک و محتوای قندهای محلول گیاه بامیه تحت تنش شوری، محمد رضا سرافراز اردکانی، سروش کارگر خرمی، رشید جامعی..... 554
- مقایسه زمان برداشت چهار رقم پسته زیر کاشت در شهرستان اردکان بر اساس شاخص های رنگ، محمد رضا سرافراز اردکانی، احمد شاکر اردکانی..... 559
- 564 ..... بررسی حساسیت لاین های جهش یافته آراییدوپسیس در نبود ژن آپارتیل پروتئاز در برابر باکتری سودوموناس سیرینگه، شقایق نظری کدخدائی، مسعود احمدی افزادی، سعید میرزایی، مریم عبدلی نسب.....
- 570 ..... مقایسه پتانسیل آللوپاتیک برخی از گیاهان دارویی خانواده نعناعیان، ساسان محسن زاده، مهناز برمشوری.....
- 575 ..... آب پلاسما و تأثیر آن در افزایش عمر انبارمانی میوه شلیل رقم شبرنگ، سمیه مقدسی، زهرا پاک کیش، فاطمه نصیبی، هادی نوری.....
- اثرات پوشش دهی بذر و محلول پاشی محرک های رشد بر عملکرد دانه و برخی صفات فیزیولوژیک بالنگو، امیرضا مریدی چشمه گچی، علی رسائی، عبدالوهاب عبدالهی..... 579



- 585 اثر پلی وینیل کلراید بر خصوصیات جوانه‌زنی و گیاهچه‌ای ارزن دم روباهی (*Setaria italica L.*) تحت تنش کادمیوم، سپیده نیکومرام، علی سپهری.....
- 590 اثر براسینواستروئید و مخمر بر پارامترهای رشد بامیه (*Abelmoschus esculentus L.*) در مزرعه، سید وحید سعیدی حسینی، سید محمدجواد آروین، فاطمه نژادعلیمرادی.....
- 594 اثر سالیسیلیک اسید بر جوانه‌زنی بذر و رشد نشاء گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum*)، حمیدرضا درفشی، سید محمدجواد آروین، فاطمه نژادعلیمرادی.....
- 598 واکنش رشد و نمو گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum L.*) به تیمارهای سالیسیلیک اسید در مزرعه، حمیدرضا درفشی، سید محمدجواد آروین، فاطمه نژادعلیمرادی.....
- 602 اثرات کود و زغال زیستی بر محتوای نسبی آب برگ تربیتکاله در شرایط تنش آبی آخر فصل، گلنوش ناصری مینابی، وحید براتی..
- 606 مطالعه بیوانفورماتیکی ژن *Catalase* در چند گیاه مختلف، لیلا آهنگر، مریم بهاری تهرانی.....
- 611 بررسی اثر دز کود پارس بر روی صفات رشد بر روی سه گونه گندم، ذرت و کلزا، لیلا زرنندی میاندوآب، نوید پورکار جدید، الهام بهادر.....
- 616 پاسخ های آنتی اکسیدانی و فیزیولوژی گندم ساختگی تحت تنش خشکی، نیلوفر مختاری، محمد مهدی مجیدی، آقافخر میرلوحی...  
مطالعه و مقایسه‌ی تریپنوتیدهای گیاه دارویی آویشن شیرازی *Thymus kotschyanus* و آویشن کوهی *Zataria multiflora* ، آذرخرده بین، فاطمه دانشمند، فاطمه برزگری فیروزآبادی.....
- 621 ستر سبز نانوذرات اکسید مس با استفاده از عصاره گیاهچه‌های زنیان رشدیافته در محیط کشت MS، مریم آخوندی، مریم دهجی‌پور حیدرآبادی، سیده هدی حکمت‌آرا، خلیل ملک‌زاده.....
- 625 مشخصات فیزیکی و شیمیایی روغن بذر گیاه شاخ بزی (*Proboscidea jussieu*)، سعید میرزایی، مطهره مهدوی تیکدری.....
- 629 اثرات تنش خشکی و قارچ میکوریز آربوسکولار بر برخی صفات مورفولوژیک گونه‌های آویشن (*Thymus spp.*)، فریبا آذربار بارده، سعداله هوشمند، محمد ربیعی ، رودابه راوش.....
- 634 اثر کاربرد گاما آمینوبوتریک اسید در پاسخ گیاه توت فرنگی به تنش گرمایی، الهه اکبری، مهدیه غلامی، بهرام بانی نسب.....
- 639 اثر کلرید کلسیم بر محتوای گاما آمینوبوتریک اسید و کاهش آسیب تنش دمایی در گیاه توت فرنگی، الهه اکبری، مهدیه غلامی، بهرام بانی نسب.....
- 644





- 648 ..... بررسی پروفایل اسید چرب میوه پسته تیمار شده با پلاسمای سرد هوا، مهدیه بختیاری رضانی، فاطمه امانی هارونی.....
- 652 ..... بررسی اثرات ملاتونین و نانوذرات اکسید روی بر متابولیسم اولیه گیاه شاهدانه، ذکویه پورشیحعلی، حکیمه علمی، امین باقی زاده.....
- تاثیر پرایمینگ قارچ‌های ارتقاءدهنده‌ی رشد گیاه شامل: *G. mosseae*, *G. intraradices*, *Glomus fasciculatum* به صورت منفرد و در ترکیب با عناصر ریزمغذی بر روی فلاونوئید و محتوای پروتئین و کربوهیدرات محلول کل در عدس رقم رباط، سعیده دهقانپور فراشاه.....
- 657 ..... نقش پیش‌تیمار برخی از قارچ‌های ارتقاءدهنده‌ی رشد گیاه به صورت منفرد و در ترکیب با عناصر ریزمغذی بر روی محتوای کلروفیل کل، آب نسبی و فنول در عدس رقم رباط، سعیده دهقانپور فراشاه.....
- 663 ..... بررسی برخی صفات مورفولوژیکی عدس رقم رباط در پیش‌تیمار منفرد و ترکیبی عناصر ریزمغذی با قارچ‌های بهبوددهنده‌ی رشد گیاهی، سهیلا پورمحمدی.....
- 669 ..... تاثیر نانو ذره منیزیم اکسید بر محتوای رنگیزه های فتوسنتزی و کربوهیدرات ها در کشت های درون شیشه زرین گیاه(Boiss) *(Dracocephalu kotschy)*، زهرا چکیده خون، عذرا صبورا، مریم کمالی پور آزاد، زهرا جهان بخشی.....
- 674 ..... مطالعه و مقایسه ترکیبات ترپنوئیدی گیاه دارویی مریم گلی شکننده *Salvia macilenta* رویش یافته در شرایط اقلیمی متفاوت استان کرمان، نرگس خواجوی نژاد، فاطمه دانشمند، امیرعباس مینایی فر.....
- 680 ..... مدلسازی فرآیند خشک‌شدن هویج با استفاده از مایکروویو، سینا آقائی، لیلیا زرنندی میان‌دوآب، نادر چاپارزاده.....
- 684 ..... بررسی پاسخ‌های رشدی و فیزیولوژیکی 5 رقم انگور به تنش خشکی، شیوا خیاطی، ناصر عباسپور، فاطمه نژاد حبیب وش.....
- 690 ..... بررسی تاثیر باکتری محرک رشد گیاه *Bacillus halotolerans* بر روی خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه ذرت تحت تنش خشکی، نعمت صمیمی، اصغر مصلح آزانی، حسن اعتصامی، مریم السادات میرباقری فیروزآباد، محسن صادقیان.....
- 703 ..... بهبود صفات فتوسنتزی و عملکرد ریشه چغندر قند از طریق هیدروپرایمینگ بذر و محلول پاشی اسید هیومیک در شرایط تاخیر کاشت، علی سرخوش، محمد علی ابوطالبیان، حامد منصوریان.....
- 710 ..... بررسی برخی ترکیبات بیوشیمیایی گیاه همیشه بهار در خاک شور، مهدی عمادی، وحیدرضا صفاری، علی‌اکبر مقصودی مود.....
- 716 ..... برهمکنش اسید سالیسیلیک و تیامین بر ویژگی‌های فتوسنتزی گیاه همیشه بهار، مهدی عمادی، وحیدرضا صفاری، علی‌اکبر مقصودی مود.....
- 720 .....

- 724 ..... بررسی تیمار آب پلاسما روی پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء میوه نارنگی طی انبارمانی، ابراهیمی مهدیه، پاک کیش زهرا، نوری هادی، نصیبی فاطمه
- 730 ..... تاثیر فلزات سنگین کادمیوم، کروم و مس بر جوانه زنی بذر و رشد گیاهچه آویشن، منصوره تشکری زاده
- 734 ..... تاثیر زمان محلول پاشی با پوترسین در بهبود کیفیت میوه پسته رقم احمد آقایی، نجمه سالاری هنزا، زهرا پاک کیش
- 738 ..... تاثیر دو گونه قارچ میکوریزی بر تعدیل تنش اکسیداتیو القا شده با آرسنیک در گیاه گلرنگ، حسن سالاری، ریحانه عمواقایی، حسین مظفری
- 742 ..... اثر هم افزایی تلقیح میکوریزی و ورمی کمپوست بر عملکرد گل و دانه و محتوای روغن و کارتامیدین گیاه گلرنگ *Carthamus tinctorius* تحت تنش آرسنیک، حسن سالاری، ریحانه عمواقایی، حسین مظفری
- 746 ..... اثر کود و تلقیح بذر با باکتری *Pantoea agglomerans* بر شاخص های رویشی و عملکرد کاهو (*Lactuca sativa*)، لیلا جعفری، فرزین عبدالهی، سعید آشوری
- 751 ..... بررسی اثر الیستورکتیزان بر بهبود شاخص های بیوشیمیایی سوئیس چارد (*Beta vulgaris L. sub sp. vulgaris*) در شرایط کم آبیاری، فاطمه خوارزمی، فرزین عبدالهی، لیلا جعفری
- 756 ..... بررسی اثر گرد و خاک بر صفات فیزیولوژیک در چند ژنوتیپ گندم (*Triticum spp.*)، صبا عمید
- 762 ..... نقش آرژنین روی برخی ویژگی های کیفی میوه پسته (*Pistacia vera L.*) رقم احمد آقایی، امین کردی، زهرا پاک کیش، فاطمه نصیبی، اسماعیل دره زرشکی
- 766 ..... تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی برگ طی مرحله سازگاری به سرما در دو گونه انگور، روح الله کریمی، راحله ناصرپور
- 771 ..... بررسی دینامیک نیتروژن و پتاسیم برگ در مرحله سازگاری به سرما و ارتباط آن با تغییرات پلی آمین ها، قندهای محلول و اسید ابسیزیک دو گونه انگور، روح الله کریمی، راحله ناصرپور
- 776 ..... پرولین و تأثیر آن در بهبود برخی ویژگی های پسته رقم احمد آقایی، مریم محمدی جرجافی، و زهرا پاک کیش
- 780 ..... بررسی اثرات غلظت، نوع هورمون و قطر قلمه بر ریشه زایی و تکثیر قلمه های چوب سخت درختچه توری (*Lagerstroemia indica*)، ابوالفضل قدرتی بقمچ، سید حسین نعمتی، علی تهرانی
- 786 ..... بررسی برخی از پاسخ های رشدی و هورمون های محرک رشد در سرشاخه های گال دار دو گونه از درختان بید آلوده به عامل گال زای *Candidatus Phytoplasma trifolii*، بهروز صالحی اسکندری، شهلا کاظمی رهنانی

- 792 پاسخ مولفه‌های جوانه‌زنی کلزا (*Brassica napus L.*) به تنش آلومینیوم، بهروز صالحی اسکندری، هاجر قربان نژاد نی‌ریزی.....
- 797 تأثیر غلظت‌های مختلف سالیسیلیک اسید بر محتوی ترکیبات اسانسی گیاه نعناع فلفلی، اکرم شنوایی زارع، علی گنجعلی، داود درق‌دمی
- 802 واکنش‌های فیزیولوژیک نخود علوفه‌ای به سطوح تنش خشکی و کاربرد توام کیتوزان و هیومیک اسید، الهام بحرآبادی، یحیی امام... 802
- بررسی تاثیر کاربرد ملاتونین و آب فعال شده با پلاسما بر پاسخ‌های آنتی اکسیدان نهال پسته تحت تنش سرما، مهلا باغبانی، حکیمه  
 810 علمی، حسین مظفری، فاطمه نصیبی.....
- تاثیر اسید جبرلیک و گرمادهی مرطوب بر شکست خواب بذر پیچک ایرانی، *Convolvulus persicus L.*، راضیه بهادر نژاد و لاشدی،  
 815 صدیقه کلیچ، ناصر جعفری.....
- اثرات متقابل نانوذره دی اکسید تیتانیوم و طیف نور بر برخی متابولیت های ثانویه زنیان، مهدیه بهارمقدم، بتول کرامت، نازی نادر نژاد، حسین  
 820 مظفری، شهرام پورسیدی.....
- افزایش تولید ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی تحت تاثیر سالیسیلیک اسید در کشت سلولی گیاه بابا آدم (*Arctium lappa L.*)، مرضیه تقی  
 825 زاده، خدیجه کیارستمی، منا صراحی نویر.....
- Dracocephalum polycheatum** اثر متیل جاسمونات بر محتوای ترکیبات فنلی و فعالیت آنزیم‌های PAL و TAL در کشت سلولی  
 831 **Bornm.**، زینب خسروی خوزانی، مرضیه تقی زاده.....
- تاثیر نانوذرات سلنیوم بر میزان ترکیبات فنلی در گیاه دارویی بابا آدم (*Arctium lappa L.*)، مرضیه تقی زاده، خدیجه کیارستمی، منا  
 837 صراحی نویر.....
- اثرات غلظت های مختلف عصاره گیاه *Ecballium elaterium* بر پارامترهای رشدی و بیوشیمیایی گیاهچه‌های گندم، پریسا رسول  
 842 پور جمالیان، شیوا سیفی، لیلا زرنندی میاندوآب، نادر چاپارزاده.....
- بررسی سازگاری ارقام گردوی (*Juglans regia L.*) منطقه بافت استان کرمان، جواد فرخی تولیر..... 846
- تولید برگ تازه روییده در نهال‌های پسته رقم بادامی تلقیح شده توسط قارچ‌های میکوریزا و تریکودرما تحت تنش زیستی تغذیه پسپل  
 852 معمولی پسته، راضیه طاهری، آزاده حبیبی، سید مظفر منصوری، محمدرضا لشکری، امیرحسین محمدی.....
- تأثیر رژیم‌های مختلف آبیاری بر تجمع ماده خشک و روند پرشدن دانه سه رقم لوبیا چیتی، حسین خوشوقتی..... 856
- اثر تنش شوری بر عناصر ریزمغذی در آرد گندم، فاطمه رجبی خرزوقتی، محمد مهدی مجیدی، احمد ارزانی، مهران شیروانی، علی ربانی  
 862 خوراسگانی.....

- ارزیابی برخی صفات کیفیتی آرد گندم در شرایط تنش شوری، فاطمه رجبی خرزوقی، محمد مهدی مجیدی، احمد ارزانی، علی ربانی خوراسگانی..... 867
- بررسی تاثیر سطوح مختلف تنش اسمزی بر ترکیبات فنولی در کشت سلولی گیاه کتان سفید، زهرا رحیم پور کلخوران، محسن شریفی..... 871
- مطالعه ارتباط تبادلات گازی و محتوی نسبی آب برگ در دو رقم گندم در شرایط تنش خشکی، افشین توکلی زانیانی، مریم شوکتی مقرب..... 876
- کاربرد نانوذرات دی اکسید تیتانیوم در بهبود جذب عناصر گیاهچه های بادرنجبویه تحت تنش خشکی این ویترو، رویا رضوی زاده، فاطمه ادب آوازه..... 881
- بررسی تاثیر سلنیوم بر برخی خصوصیات مورفوفیزیولوژیک و محتوای یونی گونه بیابانی جفنه (*Salsola arbuscula* Pall.) تحت تنش عنصر سرب، مهدی رضانی، اصغر مصلح آرانی، حمید سودایی زاده، مهدی خیاط..... 885
- بررسی توان گیاه پالایی جفنه (*Salsola arbuscula* Pall.) در خاکهای آلوده به سرب با تلقیح باکتری محرک رشد (*Bacillus cereus*)، مهدی رضانی، اصغر مصلح آرانی، حمید سودایی زاده، مهدی خیاط..... 892
- بررسی نوع خاکورزی و استفاده از کود آلی و زیستی در زراعت گیاه مادری بر جوانه زنی بذر ماش تحت تنش شوری، رویا رضائی نژاد، حمیدرضا عیسوند، محمود غلامی، داریوش گودرزی..... 899
- بررسی اثر نوع حلال بر محتوای فنل کل و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره گیاه دارویی افسنتین (*Artemisia absinthinum*) با سنجش آزمایشگاهی و روش HPLC، الهه زمانی، کاظم کمالی علی آباد، سیدمهدی کلانتر، حمید سودایی زاده، بی بی فاطمه حقیرالسادات، اسرا کاپان اوغلو..... 907
- اثر منابع مختلف روی در محلول غذایی بر برخی ویژگی های رشدی و بیوشیمیایی میکروگرین شاهی، زهرا میچقانی، پرژک ذوفن، مختار حیدری..... 912
- بررسی پاسخ های کوتاه مدت فیزیولوژی و بیوشیمیایی گیاه جو تحت تاثیر تنش مس، سارا سادات عباسی راد، علی اکبر قطبی راوندی..... 918
- بررسی اثر غلظت های مختلف هورمون جیبرلین در گندم تحت تنش غرقابی، زهرا سراجی، احمد عبدالزاده، حمیدرضا صادقی پور، محمد باقر باقریه نجار، سراله گالشی..... 923

- الفاء تحمل به سرما در نهالهای لیمو مکزیکن لایم با محلول‌پاشی ملاتونین ، سمیه رستگار، علیرضا صنیع خاتم، حامد حسن زاده خانکهدانی..... 934
- ارزیابی تنوع صفات مورفولوژیکی و درصد اسانس گیاه دارویی پونه در مناطق مختلف استان کرمان، سهیلا افکار، بتول مهدوی..... 940
- کاربرد GIS و RS در علوم گیاهی و کشاورزی دقیق، رضا حسن زاده، محدثه حسینی نیا..... 945
- پاسخ های فیزیولوژیک سه گونه بلوط در اثر آلودگی با گال حاصل از زنبور *Aphelonyx persica* علی کثیری بهنمیری، فائزه فتاتی، محبوبه جلالی، مجید توکلی..... 951
- تاثیر کود آلی بر برخی ویژگی های فیزیولوژیک نعنای فلفلی، مرضیه صالحی، علی اکبر کریمیان، حمید سودایی زاده..... 967
- تأثیر عصاره جلبک دریایی *Sargassum boveanum* بر روی رشد رویشی ذرت در شرایط تنش کم آبی، فرناز علاسوندیاری، بتول مهدوی، اصغر رحیمی..... 972
- بررسی اثر نیتریک اکسید بر رشد، محتوای پروتئین و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی کشت سلولی گیاه بابونه آلمانی (*Matricaria chamomilla*)، فاطمه علوی، وحید نیکنام، حلیمه حسن پور..... 976
- اثر سلنات سدیم بر جوانه زنی بذر و رشد گیاهک گلرنگ (*Carthamus tinctorius L.*) تحت تنش شوری، فاطمه فتحیان، فرزانه نجفی، زهره شیرخانی..... 981
- بررسی فنوتیپی ارقام سیب در مقاومت به بیماری شانکر اروپایی، مرجان قاسم خانی..... 987
- بررسی قابلیت جذب سرب توسط گیاه نوک لک لکی *Erodium cicutarium* کبری مهدویان..... 991
- تاثیر اسید سیتریک در تعدیل اثرات تنش کروم بر روی پارامترهای رشد و رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاه لوبیا، کبری مهدویان..... 995
- نقش نیتریک اکساید در اثر نانوذرات دی‌اکسید سیلیکون بر تحریک جوانه‌زنی دانه کینوا تحت تنش سرب، عبدالعظیم کریمی برام، ریحانه عموآقایی، علی محمد احدی..... 1000
- اثر تاریخ کاشت و کاربرد سولفات روی بر بیوماس و خصوصیات مورفوفیزیولوژیک گوار در منطقه رومشگان، امید امرایی، محمدرضا مرادی تلاوت، سیدعطاءالله سیادت، علی مشتقی، بهروز میردریکوند..... 1006
- واکنش ویژگی های حیات سلول های برگ نیشکر به تیمار آبیاری و اسیدآسکوربیک در شرایط تنش سرما، فیصل حمید، محمدرضا مرادی تلاوت، علی مشتقی عزیز کرملاجعب، علی حمدی شنگری..... 1011

- اثر مدیریت نیتروژن و فسفر بر رشد و کارایی جذب و مصرف نیتروژن گیاه گوار، محمدرضا مرادی تلاوت، آیدین خدایی جوقان، حسین منجری..... 1016
- تأثیر کودهای بیولوژیکی و آلی بر خصوصیات جوانه زنی بذر لوبیا قرمز رقم گلی در شرایط تنش خشکی، مرضیه حسنی، محمودرضا تدین، مجید علیا..... 1021
- ارزیابی تأثیر متقابل اندازه و نوع نانوذرات اکسید آهن و اکسید روی بر تغییر پارامترهای فیزیولوژیک و آنتی اکسیدانی در گیاه گوجه فرنگی تحت تنش شوری، حسین مظفری، معصومه حجایی، حکیمه علومی، حسن سالاری..... 1028
- بررسی ترکیبات فیتوشیمیایی اسانس گیاه سنبل بیابانی (*Phlomis molucelloides*) جمع‌آوری شده از دره همار نهاوند، مهتاب صالحی..... 1034
- بررسی ترکیبات فیتوشیمیایی اسانس گیاه مریم‌گلی پرساقه (*Salvia multicaulis Vahl.*) جمع‌آوری شده از دره همار نهاوند، مهتاب صالحی..... 1038
- تأثیر سیلیکون بر میزان منگنز گیاه کتان روغنی (*Linum usitatissimum L.*) تحت تنش منگنز، احمد مهتدی، اسکندر محمدی دوست..... 1042
- تأثیر محلول پاشی برگ‌ی تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه متیل جاسمونات و سالیسیلیک‌اسید بر فرآیندهای مورفوفیزیولوژیک گیاهچه ذرت در شرایط تنش آبی، فاطمه نصر، یحیی امام..... 1047
- بررسی همپوشانی مسیرهای پاسخ به تنش‌های زیستی و شوری در گیاه جو، فاطمه الزهرا نیشابوری، سید محمد فرح آبادی، علی اکبر قطبی راوندی، مسعود توحیدفر..... 1055
- تأثیر خراش دهی و نترات پتاسیم بر شکست خواب بذر پیچک ایرانی، *Convolvulus persicus L.* صبا یساقی، صدیقه کلیچ... 1093
- بررسی اثر فلز سنگین کروم و اثر تعدیل‌کنندگی نانوذرات سیلیکون در مرحله جوانه‌زنی *Allium cepa*، فائزه یعقوبی کهنه‌ده، زهره شیرخانی..... 1060
- بررسی تأثیر همزمان تنش کم‌آبایی و افزایش دی‌اکسیدکربن بر صفات فیزیولوژیکی گیاه کاملینا (*Camelina sativa (L.) Crantz.*)، محسن زارعی، اصغر مصلح آرانی، حمیدرضا عظیم‌زاده، حسن اعتصامی، مریم السادات میرباقری فیروزآباد..... 1072
- بررسی تأثیر همزمان تنش کم‌آبایی و افزایش دی‌اکسیدکربن بر صفات مورفولوژیکی گیاه کاملینا (*Camelina sativa (L.) Crantz.*)، محسن زارعی، اصغر مصلح آرانی، حمیدرضا عظیم‌زاده، حسن اعتصامی، مریم السادات میرباقری فیروزآباد..... 1080

- بررسی تاثیر عوامل اقلیمی بر عملکرد و اجزا عملکرد گیاه دارویی چای ترش (*Hibiscus sabdariffa* L.) محسن مهنریا، یوسف فیلی زاده، امیرمحمد ناجی ..... 1086
- بررسی تاثیر عوامل اقلیمی و اسیدیته خاک بر خصوصیات فیزیولوژیکی - بیوشیمیایی گیاه دارویی چای ترش (*Hibiscus sabdariffa* L.) محسن مهنریا، یوسف فیلی زاده، امیرمحمد ناجی ..... 1090
- بررسی تاثیر باکتری محرک رشد گیاه *Bacillus halotolerans* بر روی خصوصیات رویشی گیاه ذرت تحت تنش خشکی، نعمت صمیمی، اصغر مصلح آرانی، حسن اعتصامی، مریم السادات میرباقری فیروزآباد، محسن صادقیان ..... 1094
- تاثیر کود شیمیایی اوره و محلول پاشی عصاره جلبک دریایی بر محتوای رنگیزه های فتوسنتزی و کربوهیدرات های محلول در گیاه یونجه، آزاده نیرومند، سیدمنصور سیدنژاد، عبدالعلی گیلانی، مهدی رضوانی مهر، گلپهار کریمی ..... 1101
- اثر کیتوزان برخی شاخه های بیوشیمیایی گیاه به لیمو (*Aloysia citrodora*) تحت تنش سرب، مهشید رحیمی، زهرا رضایتمند، کهن شاهانی پور ..... 1111
- تأثیر محلول پاشی برگی اسید آمینه پلورامین بر بهبود رشد و عملکرد گیاه دارویی سیر ، الهه شوهانی، سعید حضرتی، فرهاد حبیبزاده ..... 1118
- تغییرات برخی خصوصیات میوه خرما مضافتی تحت تاثیر محلول پاشی ملاتونین ، سمیه رستگارمحبوبه محمدی، سکینه ملایی محمد آبادی ..... 1123
- بررسی اثر فرسودگی بذر ( پیری تسریع شده ) بر شاخص های جوانه زنی و رشد گیاهچه گندم، کامیار کاظمی، بختیار الله گانی، حمد اله اسکندری ..... 1127
- بررسی بهبود بخشی تحمل سرما در گیاه پسته با استفاده از هورمون متیل جاسمونات ، سید جلال پورباقری، محمد زینلی پور ..... 1131
- تنوع مرفوفیزیولوژیک در جمعیت های ۳F حاصل از تلاقی گلرنگ های داخلی و خارجی در رژیم های مختلف آبیاری، مهسا حسینی فرد، محمد مهدی مجیدی، قدرت الله سعیدی، مجید محمدی ..... 1137
- بررسی راندمان مصرف آب در ارقام نیشکر خوزستان با استفاده از تکنیک ایزوتوپی کرین، حدیث پوررضایی، مجید مهدیه ..... 1142
- بررسی جوانه زنی در زرین گیاه (*Dracocephalum Kotschyi* L.) تحت تاثیر تنظیم کننده های رشد اکسین و سیتوکینین در شرایط کشت درون شیشه ای، مهسا مسلم زاده، بهمن حسینی، سیامک فلاحی قراگوز، بهرخ دایی حسنی ..... 1149
- بررسی تیمار نانو مواد نقره بر روی برخی صفات رشدی و صفات فیزیولوژیکی گیاه دارویی نعناع (*Mentha spicata*.l)، بهرخ دایی حسنی، لیلا خلیل بیگلر، سیامک فلاحی قراگوز، مهسا مسلم زاده ..... 1160



بیانیه هشتمین کنفرانس فیزیولوژی گیاهی ایران ..... 1173



## دیباچه

انجمن فیزیولوژی گیاهی ایران مفتخر است که در آستانه شانزدهمین سال تاسیس خود، هشتمین کنفرانس فیزیولوژی گیاهی ایران را در تاریخ 10 و 11 بهمن ماه 1402 با شعار فیزیولوژی گیاهی و زندگی سبز در دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته کرمان برگزار نماید. این انجمن علمی با هدف توسعه و ارتقاء علم فیزیولوژی گیاهی، برقراری ارتباط موثر و استوار با متخصصین این رشته و سایر رشته‌های مرتبط و استفاده بهینه از ظرفیت‌های علمی-پژوهشی کشور به همت جمعی از متخصصین، پژوهشگران و استادان در سال 1387 تاسیس و مشغول به فعالیت شد. شایان ذکر است که این انجمن تاکنون نشست‌های تخصصی، کارگاه‌های آموزشی و همایش‌های متعدد از جمله هفت کنفرانس ملی فیزیولوژی گیاهی برگزار نموده و در کنفرانس‌های ملی و بین‌المللی بسیاری در زمینه زیست‌شناسی گیاهان دارویی، آنتی‌اکسیدان‌های گیاهی، تغذیه گیاهی، کشاورزی در مناطق خشک و علوم و تکنولوژی بذر در کشور مشارکت نموده است.

هشتمین کنفرانس ملی فیزیولوژی گیاهی ایران در شرایطی برگزار می‌شود که در سال‌های اخیر دامنه تاثیر این بخش از علوم در بر بقای زیست کره افزایش یافته و انسان به مدد پژوهش‌ها و یافته‌های این علم سعی در غلبه بیشتر بر تنش‌های محیطی، تامین غذای بشر، تولید داروهای گیاهی، حفظ سلامت محیط زیست انسان و منابع آب و خاک بر روی کره زمین داشته است. پیوند زیست‌شناسی و خصوصاً فیزیولوژی گیاهی با علوم دیگر، در دنیای امروز که انفجار اطلاعات و تولید ابرداره‌ها یکی از ویژگی‌های برجسته آن است، ارتباطات علمی و تبادل تجربیات و اهداف آینده جامعه علمی را بیش از پیش مهم و موثر ساخته است. لذا این کنفرانس با همت انجمن فیزیولوژی گیاهی ایران و دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته کرمان در محورهای اصلی فیزیولوژی گیاهان زراعی و باغی، تغذیه گیاهی و رابطه آب، خاک و گیاه، فیزیولوژی بذر و فیزیولوژی پس از برداشت، بیوتکنولوژی و بیوشیمی گیاهی، گیاه و تنش‌های محیطی و نیز محورهای ویژه گیاهان متحمل به خشکی و خشک‌منظرسازی، آلوپاتی و فیزیولوژی گونه‌های گیاهی مهاجم، فیزیولوژی همزیستی گیاه و میکروارگانیسم، گیاه‌پالایی و فیزیولوژی گیاهی و کاربرد تکنولوژی برگزار می‌شود.

امید است که هشتمین کنفرانس ملی فیزیولوژی گیاهی ایران بتواند گامی موثر و مفید در راستای به اشتراک گذاشتن یافته‌های نوین حاصل از پژوهش‌های اصیل این حوزه مهم از علم زیست‌شناسی گیاهی با جامعه علمی برداشته و بستری برای همگرایی علمی و تبادل افکار و اندیشه‌های محققین کشور فراهم نماید.

زحمات بی‌دریغ تمامی همراهان گرامی و حامیان پشتیبان در برپایی این کنفرانس شایسته تقدیر بسیار بوده و از پیشگاه خداوند متعال برای همگان بهروزی و توفیق روزافزون درخواست می‌نمایم.

مریم شهبازی

رئیس هیات مدیره انجمن فیزیولوژی گیاهی ایران

## بسمه تعالی

سخن دبیر علمی

با سلام و احترام

فیزیولوژی گیاهی یکی از شاخه های مهم علوم گیاهی است که به بررسی عملکرد و ساز و کارهای زیستی گیاهان می پردازد. این گرایش دارای کاربردهای گسترده ای در زمینه های زراعت، باغبانی، حفاظت از محیط زیست، گیاهان دارویی و سایر صنایع مرتبط با گیاهان است. در هشتمین دوره کنفرانس ملی فیزیولوژی گیاهی که با همکاری دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته و انجمن فیزیولوژی گیاهی ایران در روزهای دهم و یازدهم بهمن ماه 1402 بصورت حضوری و مجازی برگزار شد، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته افتخار داشت که میزبان پژوهشگران، اساتید و دانشجویان و ارائه پژوهش های جدید و نوآورانه آنها در زمینه فیزیولوژی گیاهان باشد.

این همایش در دو بخش اصلی ارائه مقالات و برگزاری نشست برگزار شد:

در بخش ارائه مقالات، تعداد 185 مقاله پوستری و 16 مقاله سخنرانی از تعداد 232 مقاله دریافتی به صورت حضوری-آنلاین در سه پنل مجزا در سالن همایش های دانشگاه ارائه شد.

در بخش نشست ها، که شامل دو نشست تخصصی با عناوین "فیزیولوژی گیاهی، پتانسیل ها و چالش های آموزشی و پژوهشی" و "توسعه پایدار فضای سبز شهری در اقلیم خشک" است، صاحب نظران به ارائه سخنرانی و سپس بحث و تبادل نظر پرداختند. نشست توسعه پایدار فضای سبز شهری در اقلیم خشک بنا به درخواست و همکاری شهرداری کرمان با هدف شناسایی و معرفی گیاهان مناسب اقلیم کرمان برای مخاطبان و تصمیم گیرندگان این حوزه برگزار شد.

بدینوسیله ضمن قدردانی از هیات مدیره انجمن فیزیولوژی گیاهی ایران، هیات رئیسه دانشگاه و دبیر اجرایی و اعضا کمیته اجرایی، از واحدهای مختلف دانشگاه از جمله واحدهای ریاست، پژوهشی، فرهنگی و دانشجویی، مالی و اداری، فناوری اطلاعات، تدارکات، روابط عمومی، دبیرخانه، خدمات و سلف سرویس، انتظامات و نگهداری، نقلیه، و تمامی کسانی که در برگزاری این همایش به ما یاری رساندند، و نیز حامیان ارزشمند همایش نهایت قدردانی را دارد.

با آرزوی تندرستی

حکیمه علوم، دبیر علمی همایش

بهمن ماه 1402



# هشتمین کنگراس ملی فیزیولوژی گیاهی ایران

## مقالات

(سخنرانی‌ها و پوسترها)

8<sup>th</sup> Iranian Conference of Plant Physiology

۱۰ و ۱۱ بهمن ۱۴۰۲

(حضور و مجازی)

مسئولیت محتوای علمی و نگارشی مقالات بعهدہ نویسنده (گان) است.



<http://congress.kgut.ac.ir/plantphys>

[plantphys2023@kgut.ac.ir](mailto:plantphys2023@kgut.ac.ir)

03431623319-03431623119

کرمان - انتهای بزرگراه هفت باغ علوی -

دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته



## تأثیر برخی ویژگی های ریخت شناسی و تشریحی برگ بر تبادلات گازی گیاهان

منصور افشارمحمدیان

دانشیار، دکترای اکوفیزیولوژی گیاهی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

\*نویسنده مسئول: [afshar@guilan.ac.ir](mailto:afshar@guilan.ac.ir)

### چکیده

برگ های گیاهان تنوع قابل توجهی از نظر ریخت شناسی و تشریحی نشان می دهند. بسیاری از این تغییرات می تواند سازگاری هایی باشد که فعالیت فیزیولوژیکی گیاهان را بهینه می کنند و کمک می کنند تا گیاهان در زیستگاه های مختلف زنده بمانند. این مطالعه با هدف بررسی عملکرد برخی از تغییرات برگ، از جمله موم برگ، پلاگ ها و کریپت های روزنه ای (غارها) انجام شد. بررسی ها روی گیاه *Leucadendron lanigerum* نشان داد که میزان پوشش مومی و شکل آنها با سن برگ ها و فصل متفاوت است. پوشش مومی به طور معنی داری، از دست دادن آب کوتیکول را کاهش داد، اما تأثیری بر میزان بازتاب نور نداشت. میزان فتوسنتز و تعرق در برگ هایی که موم از آنها حذف شده بود، به صورت معنی داری افزایش یافت. این افزایش به احتمال زیاد به دلیل افزایش هدایت روزنه ای برگ ها پس از حذف موم از سطح کوتیکول برگ بود. تأثیر پلاگ های روزنه ای بر تبادلات گازی برگ های گیاه *Agathis robusta* نشان داد که برگ های دارای پلاگ مومی به طور معنی داری میزان تعرق، هدایت روزنه ای و میزان فتوسنتز پایین تری داشتند، اما دمای برگ، بالاتر از برگ های بدون پلاگ بود. در برگ های آلوده به قارچ، پلاگ های مومی مانع نفوذ هیف های قارچی به داخل روزنه ها شدند. هیف ها یا از طریق روزنه هایی که فاقد پلاگ های مومی بودند یا مستقیماً از طریق کوتیکول وارد بافت برگ شدند. بنابراین پلاگ های روزنه ای مانع مهمی برای نفوذ قارچ از طریق روزنه هستند. در نهایت، بررسی تأثیر غارهای روزنه ای بر هدررفت آب در گونه های مختلف *Banksia* نشان داد که برخلاف غالب فرضیات موجود، کریپت های روزنه ای نقش معنی داری در کاهش خروج آب از برگ ندارند.

کلمات کلیدی: کریپت روزنه ای، پلاگ روزنه ای، موم، تبادلات گازی

### مقدمه

تنوع در شاخص های مورفولوژیکی برگ ممکن است به عنوان سازگاری برای گیاهانی که در رویشگاه های مختلف زندگی می کنند، عمل کند (Jordan and Kruger 1992; Waldhoff 2003). گیاهان برای زنده ماندن در شرایط خشکسالی باید محتوای آب خود را بالای آستانه معینی حفظ کنند تا فعالیت فیزیولوژیکی آنها بتواند ادامه یابد. صفاتی که ممکن است این امر را تسهیل کند، عبارتند از: سطح برگ کوچک، فضاهای کوچک هوای بین سلولی، کوتیکول ضخیم و لایه مومی روی برگ، کرک های فراوان، چگالی روزنه کم، روزنه های پنهان (Carpenter 1994; Hill 1998b) و رگبرگ های کمتر (Groom et al., 1994). البته برخی از این ویژگی ها، به عنوان مثال، برگ های کوچک و کوتیکول ضخیم می تواند به عوامل دیگری مثل کمبود فسفر مرتبط باشد (Hill 1998a).

به طور کلی، تبخیر کوتیکولی 5 تا 10 درصد از کل تعرق برگ را بسته به میزان اختلاف فشار بخار آب داخل برگ نسبت به هوای بیرون (VPD) تشکیل می دهد (Kerstiens 1997). بنابراین، ممکن است به یک مکان قابل توجه از دست دادن آب تبدیل شود و ویژگی مهمی باشد که بر توانایی گیاهان برای زنده ماندن از کمبود شدید آب تأثیر می گذارد. (Hauke and Schreiber 1998) با این حال، ویژگی هایی مانند کوتیکول ضخیم، لایه مومی شکل و کرک های متعدد در محیط های مرطوب نیز رخ می دهد (Neinhuis and Barthlott 1997). بنابراین، در مورد اینکه آیا چنین ویژگی های به اصطلاح زومورفیک واقعاً به عنوان سازگاری برای کاهش اتلاف آب تکامل یافته است یا خیر، اختلاف نظرهایی وجود دارد.

اگرچه روزه های کاملاً باز تنها تا 5٪ از سطح برگ را اشغال می کنند، بیش از 95٪ از آب از دست رفته توسط گیاهان و تقریباً تمام CO<sub>2</sub> وارد شده از روزه ها عبور می کند (Casson and Hetherington, 2010). بنابراین، روزه ها و تغییرات روزه ها برای درک چگونگی تنظیم تبادل گاز توسط گیاهان، از جمله جذب CO<sub>2</sub> و از دست دادن آب، بسیار مهم است (Engineer et al., 2016; Meinzer et al., 2017). با این حال، تحقیقات تجربی کمی در مورد تأثیر تغییرات مختلف مرتبط با روزه ها از قبیل پوشش های مومی، پلاگ های روزه ای و کریپت ها یا غارهای روزه ای در تبادل گازها انجام شده است.

اهداف پژوهش حاضر بررسی تأثیر پوشش مومی سطح برگ بر نور، اتلاف آب کوتیکولی، فتوسنتز و تعرق در گیاه *Leucadendron lanigerum* (Proteaceae) بررسی اثر پلاگ های روزه ای بر میزان جذب خالص CO<sub>2</sub>، میزان تعرق، هدایت روزه ای و راندمان مصرف آب در درخت *Agathis robusta* (Araucariaceae) و ارزیابی تأثیر کریپت های روزه ای بر فتوسنتز، تعرق و هدایت روزه ای در 15 گونه از *Banksia* (Proteaceae) بود.

## مواد و روش ها

گیاهان: بررسی پوشش مومی سطح برگ در 120 گونه از خانواده Proteaceae که در باغ های گیاه شناسی آدلاید، ویتونگا و کوه لوفتی استرالیا رشد می کنند، انجام شد. در بین این گونه ها *L. lanigerum* بیشترین واکس و پایدارترین پوشش مومی را نسبت به سایر گونه ها داشت. آزمایش ها بر روی نهال های 2 ساله *L. lanigerum* با ارتفاع 40 سانتی متر انجام شد. گیاهان در گلدان های 2 لیتری در گلخانه رشد کردند. در طول مطالعه، میانگین روزانه حداکثر چگالی شار فوتون 1450 ( $\mu\text{mol quanta m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )، میانگین حداکثر دمای شب و روز در گلخانه به ترتیب 18 و 28 درجه سانتیگراد و میانگین حداقل دمای شب و روز به ترتیب 9 و 12 °C، میانگین رطوبت 54 درصد در طول مطالعه بود. گیاهان با آب لوله کشی به صورت خودکار با اسپری به مدت 5 دقیقه هر 3 روز یکبار آبیاری شده بودند.

در مورد پلاگ های واکسی روزه ای، تمامی آزمایش ها روی نهال های 2 ساله و 50 سانتی متری *Agathis robusta* انجام شد که از جمله بازدانگان پهن برگی است که در مناطق گرمسیری و معتدل جنگل های بارانی دیده می شود. گیاهان مذکور به مدت یک سال در گلدان های 2 لیتری حاوی خاک آنالیز شده ی منطقه رشد و نمو طبیعی گیاهان در گلخانه همانند شرایط فوق پرورش داده شده بودند.

بازتاب نور برگهای با و بدون پوشش موم در محدوده تابش فعال فتوسنتزی (400-700 نانومتر) اندازه گیری شد (Taylor 1920). یک پروژکتور به عنوان منبع نور و یک حسگر کوانتومی (LiCor, Li-190SZ, Lincoln, USA) برای اندازه گیری شدت نور استفاده شد.

برای بررسی تاثیر موم بر از دست دادن آب و تبادل گاز برگ، واکسها از سطوح بالایی و پایینی برگ *L. lanigerum* با استفاده از بلوتک (Blu-Tack, Bostik, UK) حذف شدند. ماده غیر سمی بلوتک چندین بار به آرامی بر روی سطوح برگ فشار داده شد تا موم از سطوح برگ بدون آسیب برداشته و توسط میکروسکپ SEM تایید شد.

تعرق، جذب  $\text{CO}_2$  و هدایت روزنه ای با استفاده از یک آنالیز کننده قابل حمل (CIRAS-2, Herts, UK) اندازه گیری شد. در طول اندازه گیری ها، تفاوت فشار بخار آب درون و بیرون برگ (VPD) با تغییر فشار بخار گاز مرجع جریان یافته به محفظه برگ تغییر یافت. غلظت  $\text{CO}_2$  ppm 350، شدت نور  $650 \mu\text{mol quanta m}^{-2}\text{s}^{-1}$  که برای همه گونه ها اشباع کننده بود و دمای برگ  $25^\circ\text{C}$  بود. تعرق، هدایت روزنه ای و سرعت فتوسنتز پس از 20 دقیقه در هر VPD اندازه گیری شد.

در مورد کریپت های روزنه ای، سطح مقطع برگ و میکروگراف بیش از 110 گونه از خانواده Proteaceae مورد بررسی قرار گرفت. در بین این گونه ها، کریپت های روزنه ای تنها در گونه های جنس *Banksia* یافت شد. 14 گونه از *Banksia* و همچنین *Dryandra praemorsa* که در مطالعات فیلوژنتیک در جنس *Banksia* گروه بندی شده است، برای این مطالعه انتخاب شدند. نهال های دو ساله از 15 گونه به مدت یک سال در گلدان های 2 لیتری حاوی خاک آنالیز شده ی منطقه رشد و نمو طبیعی گیاهان در گلخانه همانند شرایط فوق پرورش داده شده بودند.

برای تهیه میکروگراف نمونه های مختلف، برگ ها در بخش های 1 سانتی متر مربعی بریده شدند، با نوار چسب دو طرفه روی پایه های آلومینیومی نصب شدند و در محفظه دستگاه فلزنشان، با یک لایه نازکی از طلا/پالادیم (20%/80٪) به ضخامت 4 نانومتر پوشیده شدند. نمونه های پوشش داده شده با بزرگنمایی از 100 × تا 5000 × با استفاده از میکروسکپ الکترونی نگاره Philips XL20 (SEM) بررسی شدند.

ابعاد کریپت با برداشتن مقاطع بسیار نازک از برگ ها با تیغ بدست آمد. مقاطع در محلول 25 درصد سفید کننده تجاری و آب قرار داده شدند تا سفید شوند. سپس قطعات برگی سفید شده در آب شیرین با چند قطره آمونیاک 2 درصد قرار داده شدند تا به حذف حباب های هوای محبوس شده در کریپت ها کمک کند و پس از شستن در آب مقطر به مدت 30 ثانیه با تولویدین بلو جهت بررسی با میکروسکپ نوری رنگ آمیزی شدند. اندازه گیری عمق کریپت و عرض ورودی و تراکم روزنه انجام شد. قطعات برگی تقریباً  $3 \times 3$  میلی متری در ویال های 2/5 میلی لیتری حاوی محلول 1:1 80% اتانل و 100% پراکسید هیدروژن قرار داده و در حمام آب با دمای  $60^\circ\text{C}$  تا زمانی که کوتیکول شروع به جدا شدن از برگ کند (حدود 48 ساعت) معلق شدند. سپس حدود یک چهارم این محلول تخلیه و با پراکسید هیدروژن 100 درصد جایگزین و پس از حدود 2 ساعت کوتیکول زیرین قطعات برگی را با پنس جدا کرده و قطعات برگی در آب شسته شدند. در نهایت مقاطع برگی دارای کریپت های روزنه ای که فقط در سطح زیرین برگ ها بودند، به مدت 30 ثانیه با رنگ تولویدین آبی رنگ آمیزی و بر روی لام های میکروسکوپی به صورت رو به بالا قرار داده شدند و میانگین تعداد روزنه در هر کریپت در میانگین تعداد کریپت ها در میلی متر مربع ضرب شد تا تراکم روزنه در واحد سطح به دست آید.

تجزیه و تحلیل داده ها:

روابط بین هدایت روزنه ای، تعرق و فتوسنتز به VPD با استفاده از ANOVA اندازه گیری های تکرارها با استفاده از بسته آماری JMPIN نسخه 2003، موسسه SAS تجزیه و تحلیل شد. سایر داده ها با استفاده از روش تحلیل کوواریانس (ANCOVA) و با استفاده از برنامه آماری JMPIN مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

## نتایج

### موم سطح برگ

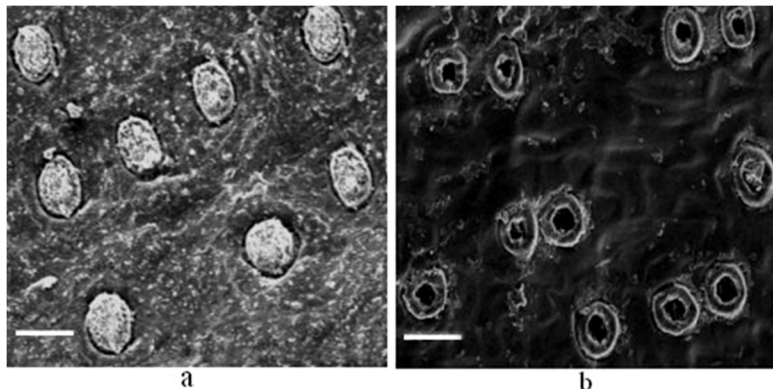
بررسی برش‌های برگ با استفاده از SEM و میکروسکپ نوری نشان داد که *L. lanigerum* آملی استوماتیک است، یعنی روزنه‌ها در هر دو سطح برگ‌ها وجود دارند. میکروگراف‌های SEM از سطوح برگ، وجود موم را در هر دو سطح رویی و زیرین برگ نشان داد. تجزیه و تحلیل SEM سطوح برگ، اثربخشی Blu-Tack را در حذف موم سطح برگ تایید کرد. با توجه به طبقه بندی موم سطوح برگی توسط Barthlott و همکاران (1998)، پوشش مومی روی سطوح برگ *L. lanigerum* به صورت صفحه ای با لبه های مشخص بود. رسوب موم ها به شکل صفحه روی برگ های جوان در بهار آغاز شد و در تابستان ادامه یافت. آسیب موم همراه با تبدیل موم از فرم صفحه ای به یک فرم مسطح در زمستان رخ داد.

میزان از دست دادن آب از برگ های *L. lanigerum* با و بدون موم سطوح برگی به ترتیب 4/85 و 8/86 گرم وزن تر برگ در تاریکی در طول 55 ساعت اندازه گیری بود (P=0.03) که نشان دهنده هدررفت معنی دار آب از سطح کوتیکول بود، زیرا روزنه ها در شرایط تاریکی بسته بودند. گرچه بازتاب نور از برگ های با موم سطوح برگی 4 درصد بیشتر از برگ های بدون موم بود، ولی این تفاوت معنی دار نبود (P=0.07). در عین حال، دمای برگ های بدون موم کمتر از برگ های شاهد بود.

میزان تعرق در برگ های بدون موم به طور قابل توجهی بیشتر از برگ های دارای موم بود (P<0.0001). همچنین میزان فتوسنتز در برگ هایی که موم از آنها جدا شده بود، در مقایسه با برگ های شاهد در محدوده  $650 \mu\text{mol quanta m}^{-2}\text{s}^{-1}$  به طور قابل توجهی بالاتر بود (P<0.0001). میزان بالاتر تعرق و فتوسنتز مشاهده شده در برگ های بدون موم به احتمال زیاد نتیجه کاهش مقاومت و نیز هدایت روزنه ای بالاتر در برابر تبدلات گازی از طریق روزنه بود.

### پلاگ های واکسی روزنه ای

بررسی برگ با استفاده از SEM و میکروسکپ نوری نشان داد که روزنه های *A. robusta* فقط در سطح زیرین برگ ها وجود دارند و مدخل ورودی همه روزنه ها توسط پلاگ های مومی مسدود شده اند (شکل 1a). میکروگراف ها همچنین کوتیکول برآمده اطراف روزنه ها را بر روی سطوح زیرین برگ نشان دادند. تجزیه و تحلیل SEM سطوح برگ، با برداشتن بیش از 90 درصد از پلاگ های روزنه ای، کارایی روش برداشتن پلاگ های روزنه ای توسط Blu-Tack را تایید کرد (شکل 1b).



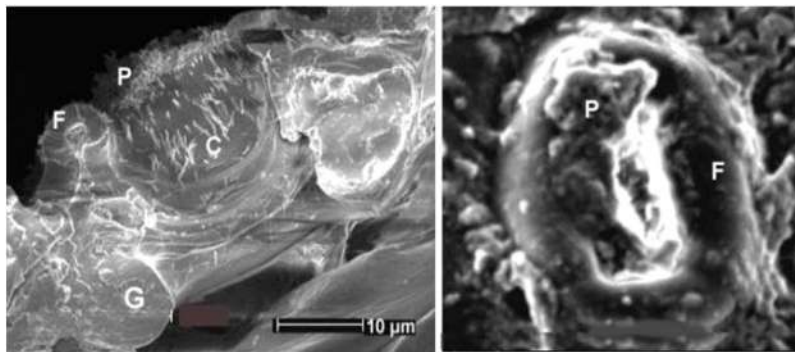
شکل 1. میکروگراف‌های سطح برگ *A. robusta* با پوشش مومی و پلاگ‌های روزنه ای (a) و پس از برداشتن پوشش مومی و پلاگ‌های روزنه ای توسط بلوتک (b). مقیاس 50 میکرومتر.

میزان اتلاف آب از برگ‌های *A. robusta* با و بدون پلاگ مومی به ترتیب 1/37 و 4/57 گرم وزن تر برگ در طول 55 ساعت اندازه‌گیری بود ( $P=0.0001$ ). این هدررفت آب از سطح کوتیکول رخ داد، زیرا روزنه‌ها در شرایط تاریکی که آزمایش در آن انجام شد، بسته بودند.

حضور یک پوشش مومی به طور قابل توجهی بر انعکاس سطوح برگ *A. Robusta*، در مقایسه با برگ‌هایی که فاقد پوشش مومی بودند ( $P=0.19$ ) تأثیر نداشت. بنابراین، سطح مومی برگ‌های *A. robusta* بعید است تأثیری بر فتوسنتز یا دمای برگ از طریق تأثیر بر جذب نور داشته باشد.

میزان تعرق در طول 20 دقیقه در نور  $650 \mu\text{mol quanta m}^{-2}\text{s}^{-1}$  و دمای برگ  $26^\circ\text{C}$  در برگ‌های بدون پلاگ به طور قابل توجهی بیشتر از برگ‌های شاهد بود ( $P<0.001$ ). میزان فتوسنتز نیز در برگ‌هایی که پلاگ‌ها از آنها کنده شده بود، در مقایسه با برگ‌های شاهد به طور قابل توجهی بالاتر بود ( $P<0.001$ ). میزان بالاتر تعرق و فتوسنتز مشاهده شده در برگ‌های بدون پلاگ به احتمال زیاد نتیجه کاهش مقاومت در برابر تبادل گاز و هدایت روزنه ای بیشتر از طریق روزنه بود.

بررسی‌های تشریحی با استفاده از SEM نشان داد که پلاگ‌های مومی به طور کامل اتاق روی روزنه‌های *A. Robusta* را پر نمی‌کنند، بلکه فقط در مرکز مدخل ورودی پیش‌اتاق استقرار دارند. بنابراین، پلاگ‌های مومی مانند یک درپوش واقع در قسمت بالایی پیش‌اتاق روزنه عمل می‌کنند و موم بسیار کمی در داخل محفظه وجود دارد (شکل 2).

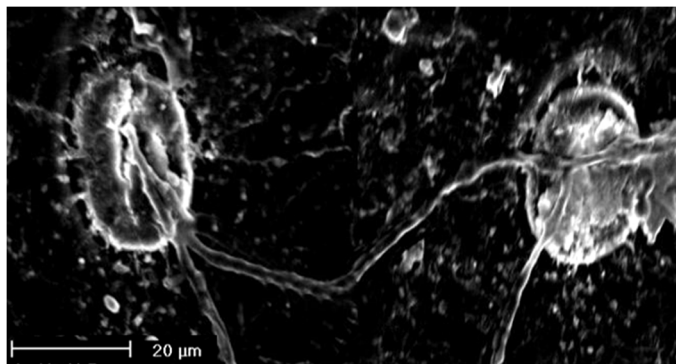


شکل 2. میکروگراف SEM از روزنه *A. robusta*، سلول‌های نگهبان (G)، حلقه‌های فلورین (F)، پیش‌اتاق روزنه (C) و پلاگ روزنه (P) را نشان می‌دهد. مقیاس برای هر دو میکروگراف 10 میکرومتر

تأثیر پلاگ روی قارچ

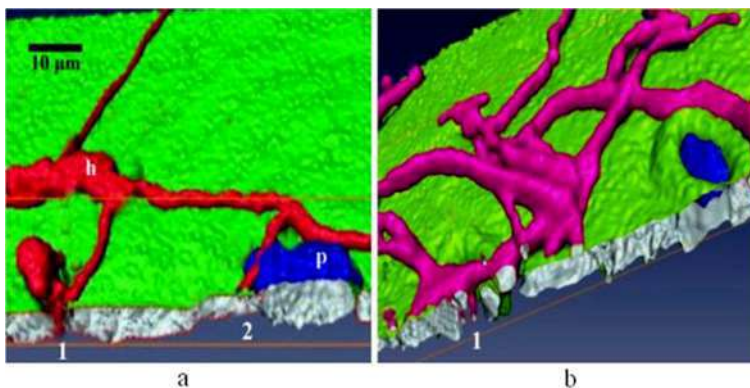
جوانه زنی هاگ‌های قارچ *B. cinerea* و *A. solani* روی برگ‌های جدا شده *A. robusta* 3 روز پس از اسپری برگی مشاهده شد. بررسی‌های SEM روی سطح زیرین برگ *A. robusta* آلوده به *B. cinerea* و *A. solani* نشان داد که هیف‌های قارچی از طریق روزنه‌هایی که به طور کامل با پلاگ‌های موم مسدود شده بودند، نفوذ نمی‌کنند، بلکه از طریق روزنه‌های فاقد و یا با پلاگ‌های مومی ناقص نفوذ می‌کردند (شکل 4).





شکل 3. میکروگراف SEM از سطح برگ *A. robusta* آلوده به *A. solani* روزنه‌های مسدود شده با یک پلاگ مومی کامل (راست) و پلاگ مومی ناقص (چپ). مقیاس 20 میکرومتر.

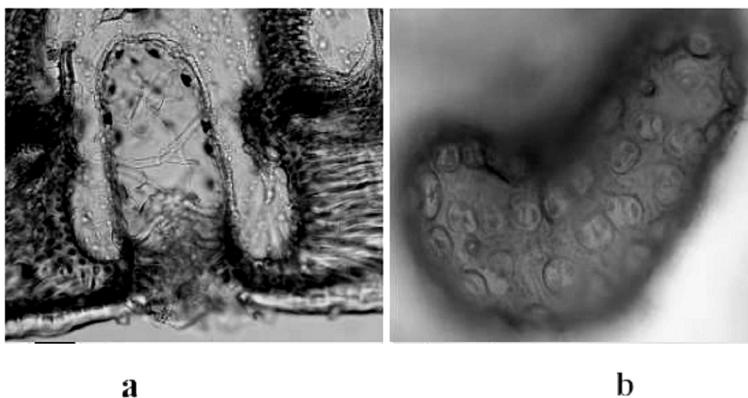
همچنین نتایج نشان داد که حلقه‌های بیرون زده فلورین روی سطح برگ *A. robusta* جهت رشد هیف‌ها را تغییر داده و احتمال نزدیک شدن هیف‌ها به منافذ روزنه را کاهش می‌دهند.



شکل 4. تصاویر سه بعدی میکروگراف LSCM از برگ *A. robusta*. نفوذ مستقیم هیف‌ها از طریق کوتیکول (a1) و انسداد هیف‌ها توسط پلاگ مومی (a2)، و نفوذ هیف‌ها از طریق روزنه فاقد پلاگ مومی (b1)، هیف (h)، پلاگ روزنه (p) سطح برگ (سبز)، هیف (قرمز) و پلاگ مومی (آبی). مقیاس برای هر دو تصویر 10 میکرومتر.

کریپت‌های روزنه‌ای

از 15 گونه انتخاب شده، در برخی گونه‌ها، مانند *B. marginata*، کرک‌های مترکم در سطح زیرین برگ‌ها و داخل غارها بود، در حالی که در گونه‌های دیگر، به عنوان مثال *B. baxteri*، کرک‌ها فقط در داخل غارها و بیشتر در ورودی غارها وجود داشت. همه گونه‌ها دارای کرک‌های کم و پراکنده فاقد کریپت در سطح بالایی بودند. عمق غارها در بین 15 گونه متفاوت، از 100 میکرومتر در *B. marginata* تا 425 میکرومتر در *B. blechnifolia* متغیر بود (شکل 5). عرض ورودی غارها نیز متفاوت، از 110 میکرومتر در *B. repens* تا 395 میکرومتر در *B. ashbyi* متغیر بود. دو گونه، *B. spinulosa* و *D. praemorsa* فاقد کریپت بودند. تراکم روزنه نیز در بین 15 گونه متفاوت، از 144 روزنه در *B. caleyi* تا 388 روزنه در هر میلی متر مترمربع در *B. speciosa*. ضخامت برگ نیز از  $200 \pm 11$  در *B. spinulosa* تا  $24 \pm 730$  میکرومتر در *B. blechnifolia* متغیر بود.



شکل 5. تصویر میکروسکپ نوری نمای مقطعی برگ *B. blechnifolia* که عمق و عرض یک کریپت، موقعیت روزنه ها در داخل غار و وجود کرک‌های متعدد در داخل و بیشتر در مدخل یک غار (a) و استقرار روزنه‌ها در داخل کریپت *B. blechnifolia* پس از برداشتن لایه کوتیکول زیرین (b). مقیاس هر دو تصویر 50 میکرومتر.

بر اساس نتایج این تحقیق، رابطه بین عمق کریپت ها و ضخامت برگ، مثبت و معنی‌دار بود ( $P < 0.001$ )، ولی بین عمق و عرض کریپت، رابطه منفی و معنی‌دار بود ( $P = 0.01$ ). همچنین رابطه بین عمق کریپت و تعرق معنی‌دار نبود ( $P = 0.49$ ).

#### بحث

##### پوشش مومی و تبادلات گازی

نتایج این مطالعه نشان داد که موقعیت موم روی سطح برگ و شکل بلورهای موم در *L. lanigerum* به سن برگ‌ها و فصل بستگی دارد. تولید و باززایی موم بیشتر در فصل بهار روی برگ‌هایی با سن حداکثر 2 سال اتفاق می افتد و تبدیل کریستال‌های موم از شکل صفحه ای به شکل مسطح همراه با کم و بیش فرسایش موم در زمستان اتفاق می افتد. موم‌های اپی کوتیکولی از دست دادن آب از سطح برگ را کاهش داد، ولی بازتاب نور از برگ را به‌طور معنی‌داری افزایش نداد. در عین حال، دمای برگ‌های بدون موم، احتمالاً به دلیل بالاتر بودن تبخیر و تعرق از برگ های بدون موم، کمتر از برگ‌های شاهد بود. بنابراین، نقش پوشش مومی برای کاهش تبخیر آب از سطح کوتیکول برگ، مهمتر از کاهش بازتاب نور و خنک نگه داشتن برگها بود. علاوه بر این، پوشش مومی برگ ها در ورودی حلقه‌های فلورین اطراف روزنه در *L. lanigerum*، مقاومت در برابر انتشار گازها را افزایش داد و به همین دلیل هدایت روزنه‌ای، تعرق و فتوسنتز برگ های با موم، کمتر از برگ‌های بدون موم بود.

##### پلاگ‌های روزنه ای و تبادلات گازی

عملکردهای پیشنهادی برای پلاگ های روزنه (انسداد پیش محفظه روزنه توسط موم) عبارتند از: کاهش از دست دادن آب، محافظت در برابر حشرات و قارچ ها، جلوگیری از ورود آب به منافذ روزنه و جلوگیری از تشکیل لایه آب روی برگ ها. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که برگ‌های دارای پلاگ به طور قابل توجهی نرخ تعرق، هدایت روزنه‌ای و سرعت فتوسنتز پایین‌تر، اما دمای برگ‌های بالاتری نسبت به برگ‌های بدون پلاگ داشتند. حداکثر نرخ فتوسنتز در 30 °C برای برگ‌های با پلاگ و 25 °C برای برگ های بدون پلاگ رخ داد. احتمالاً به این دلیل که نرخ تعرق بالاتر برگ‌های بدون پلاگ باعث بسته شدن زودرس روزنه‌ها شد. همچنین، از دست دادن آب کوتیکولی، که به صورت وزن

سنجی در طول 55 ساعت در یک اتاق تاریک اندازه گیری شد، در برگ های بدون موم و پلاگ به طور قابل توجهی بیشتر از برگ های با پلاگ بود.

#### پلاگ های روزنه ای و تهاجم قارچی

محافظت از روزنه در برابر تهاجم قارچ یکی دیگر از عملکردهایی است که به پلاگ های روزنه نسبت داده شده است. نتایج این مطالعه نشان داد که استقرار پلاگ ها سالانه اتفاق می افتد و برخلاف کرک ها، پلاگ های روزنه ای می توانند حداقل در دو سال اول عمر برگ جایگزین شوند. برگ هایی که بیش از 2 سال سن داشتند، نتوانستند یک پلاگ مومی کامل تولید کنند. بررسی برگ های آلوده به قارچ نشان داد که وقتی هیف ها سعی می کردند از طریق روزنه ها به بافت برگ نفوذ کنند، پلاگ های مومی راه آنها را مسدود کردند. هیف ها یا از طریق روزنه هایی که فاقد پلاگ های مومی بودند یا در مراحل بعدی، مستقیماً از طریق کوتیکول به بافت برگ نفوذ کردند. این عملکرد پلاگ روزنه ای می تواند برای درختانی که در محیط های جنگل های بارانی زندگی می کنند، حیاتی باشد. علاوه بر این، قابلیت ضد آب بودن پلاگ های مومی می تواند حذف اسپورهای قارچی از ورودی روزنه ها را در هنگام قرار گرفتن در معرض باد یا بارش تسهیل کند.

#### کریپت های روزنه ای و تبادل گاز

کریپت های روزنه ای از جمله نمونه هایی هستند که مفروضات متعددی در منابع وجود دارد مبنی بر اینکه این غارها، طول مسیر انتشار و در نتیجه مقاومت در برابر انتشار گازها را افزایش می دهند. نتایج این مطالعه نشان داد که حداکثر هدایت روزنه ای، تعرق و فتوسنتز ارتباطی با تراکم روزنه ها یا عرض یا عمق کریپت ها در گونه های مختلف بررسی شده ی *Banksia* ندارد. با این حال، کریپت های روزنه ای در هنگام بسته بودن روزنه ها بر از دست دادن آب کوتیکولی گونه های *Banksia* تأثیر گذاشتند. این می تواند برای گیاهانی که در محیط های خشک زندگی می کنند و با کمبود شدید آب مواجه هستند، برای کاهش اتلاف آب از اپیدرم در هنگام بسته شدن روزنه ها مهم باشد. برخلاف فرضیه تحقیق حاضر، داده ها نشان داد که کریپت های روزنه ای مقاومت در برابر انتشار گاز را به طور قابل توجهی افزایش نمی دهند. در عوض، کریپت ها ممکن است انتقال  $CO_2$  را به بافت های فتوسنتزی برگ های ضخیم تسهیل کنند. این ایده توسط رابطه مثبت معنی دار بین عمق کریپت و ضخامت برگ در گونه های مختلف *Banksia* در این مطالعه، پشتیبانی می شود. یک عملکرد دیگر می تواند جلوگیری از ورود ذرات به منافذ روزنه باشد که می تواند بر فعالیت فیزیولوژیکی برگ ها خصوصاً در مناطق خشک حاوی گرد و غبار فراوان، تأثیر بگذارد. در نتیجه، عملکرد دقیق کریپت ها هنوز مشخص نیست و باید تحقیقات بیشتری برای روشن شدن عملکرد آنها در محیط ها و گونه های مختلف انجام شود.

## The effect of some morphological and anatomical characteristics of leaves on the gas exchange of plants

Mansour Afshar-Mohammadian

Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Guilan, Iran

[afshar@guilan.ac.ir](mailto:afshar@guilan.ac.ir)

### Abstract

The leaves of plants show significant diversity in terms of morphology and anatomy. Many of these changes can be adaptations that optimize the physiological activity of plants and help plants survive in different

habitats. This study was conducted with the aim of investigating the performance of some leaf modifications, including leaf wax, plugs and stomatal crypts (caves). Investigations on the *Leucadendron lanigerum* showed that the amount of wax coating and their shape differ with the age of the leaves and the season. Wax coating significantly reduced cuticle water loss, but had no effect on light reflectance. The rate of photosynthesis and transpiration increased significantly in the leaves from which the wax was removed. This increase was most likely due to the increase in the stomatal conductance of the leaves after removing wax from the surface of the leaf cuticle. The effect of stomatal plugs on the gas exchange of *Agathis robusta* leaves showed that the leaves with waxy plugs had significantly lower transpiration, stomatal conductance and photosynthesis rate, but the leaf temperature was higher than the leaves without plug. In the leaves infected with the fungus, the waxy plugs prevented the penetration of fungal hyphae into the stomata. The hyphae entered the leaf tissue either through stomata that lacked wax plugs or directly through the cuticle. Therefore, stomatal plugs are an important obstacle for the penetration of fungi through the stomata. Finally, the investigation of the effect of stomatal crypts on water loss in different species of *Banksia* showed that, contrary to most existing assumptions, stomatal crypts do not have a significant role in reducing water loss from leaves.

**Keywords:** stomatal crypt; stomatal plug; wax; gas exchange

#### منابع

1. Barthlott W, Neinhuis C, Cutler D, Ditsch F, Meusel I, Theisen I, Wilhelmi H (1998) Classification and terminology of plant epicuticular waxes. *Botanical Journal of the Linnean Society* 12, 237-260.
2. Carpenter RJ (1994) Cuticular morphology and aspects of the ecology and fossil history of North Queensland rainforest Proteaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society* 116, 249-303.
3. Casson, S. A. and Hetherington, A. M. (2010) Environmental regulation of stomatal development. *Current Opinion in Plant Biology* 13(1):90-95.
4. Engineer, C. B., Hashimoto-Sugimoto, M., Negi, J., Israelsson-Nordström, M., Azoulay-Shemer, T., Rappel, W. J., ... and Schroeder, J. I. (2016) CO<sub>2</sub> sensing and CO<sub>2</sub> regulation of stomatal conductance: advances and open questions. *Trends in Plant Science* 21(1):16-30.
5. Groom PK, Lamont BB, Kupsky L (1994) Contrasting morphology and ecophysiology of co-occurring broad and terete leaves in *Hakea trifurcata* (Proteaceae). *Australian Journal of Botany* 42, 307-320.
6. Hauke V and Schreiber L (1998) Ontogenetic and seasonal development of wax composition and cuticular transpiration of ivy (*Hedera helix* L.) sun and shade leaves. *Planta Berlin* 207, 67-75.
7. Hill RS (1998a) Fossil evidence for the onset of xeromorphy and scleromorphy in Australian Proteaceae. *Australian Systematic Botany* 24, 391-400.
8. Hill RS (1998b) Poor soils and a dry climate: The evolution of the Australian scleromorphic and xeromorphic vegetation. *Australian Biologist* 11, 26-29.
9. Jordan A and Kruger H (1992) Structure of xerophytic plants from southern Africa: Leaf anatomy of *Antizoma miersiana* and *Diospyros ramulosa*. *Israel Journal Of Botany* 41, 57-65.
10. Kerstiens G (1997) In vivo manipulation of cuticular water permeance and its effect on stomatal response to air humidity. *New Phytologist* 137, 473-480.
11. Meinzer, F. C., Smith, D. D., Woodruff, D. R., Marias, D. E., McCulloh, K. A., Howard, A. R. and Magedman, A. L. (2017) Stomatal kinetics and photosynthetic gas exchange along a continuum of isohydric to anisohydric regulation of plant water status. *Plant, Cell & Environment* 40(8):1618-1628.
12. Neinhuis C and Barthlott W (1997) Characterization and distribution of water-repellent, self-cleaning plant surfaces. *Annals of Botany London* 79, 667-677.
13. Waldhoff D (2003) Leaf structure in trees of Central Amazonian floodplain forests (Brazil). *Amazoniana* 17, 451-469.

## بازتعریف امنیت آب شهری؛ باید‌ها و نبایدها

حجت میان‌آبادی<sup>1\*</sup>، سیده زهرا قریشی<sup>2</sup>

### چکیده

درک و شناخت جامع و صحیح از مفهوم «امنیت آب شهری» یکی از مهم‌ترین مراحل سیاست‌گذاری آبی در حوزه مدیریت شهری است. ضرورت شناخت و تبیین جامع این مفهوم، پژوهشگران و سیاست‌گذاران را مجاب نموده است تا تعاریف مختلف و جنبه‌های متنوعی برای امنیت آب شهری ارائه دهند. این در حالی است که عمده این پژوهش‌ها تنها متمرکز بر تبیین بعد عینی و مؤلفه فیزیکی امنیت آب شهری بوده‌اند. براین اساس، برای مواجهه با نیاز روبه‌تزايد تبیین امنیت آب شهری جامع، در این پژوهش مفهوم امنیت آبی شهری در ذیل دو بُعد عینی و ذهنی تبیین می‌شود. نتایج بررسی‌ها نشان می‌دهد رسیدگی به (و نه لزوماً حل) مسائل درهم‌تنیده آب شهری نیازمند نگرشی جامع است که بتواند ابعاد عینی و ذهنی را به صورت توأمان مد نظر قرار دهد. آنچه که باعث شده است که مسائل مرتبط به امنیت آب شهری در کشور ما به درستی مورد تحلیل و بررسی قرار نگیرد آنست که این مسائل عمدتاً تنها در مؤلفه فیزیکی و با نگاه‌های صرفاً مهندسی و شاخص‌های صرفاً کمی و عددی مورد تحلیل و بررسی قرار گرفته‌اند و مباحث انسانی، اجتماعی و سیاسی مسائل آب و محیط‌زیست مورد غفلت جدی خبرگان جامعه و سیاست‌گذاران قرار گرفته است. بر این اساس، باید تأکید کرد که مفهوم امنیت آب شهری، یک مفهوم صرفاً کمی، فنی و مهندسی نیست که با یک سری اقدامات و برنامه‌های صرفاً فنی و مهندسی بتوان به آن دست یافت و ضروری است که مسائل اجتماعی و سیاسی و مهم‌تر از همه، سیاست‌گذاری درهم‌تنیده نیز حتماً در دستورکار این مباحث قرار گیرند و با این نگاه نیاز است ابعاد مختلف و متغیر امنیت آبی شهری با توجه به شرایط طبیعی-انسانی هر منطقه بازتعریف شود.

<sup>1</sup> استادیار گروه مهندسی و مدیریت آب، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران، کدپستی: ۱۳۱۱۱-۱۴۹۷۷، تلفن تماس: ۰۲۱۴۸۲۹۲۴۷۳

[Hmianabadi@modares.ac.ir](mailto:Hmianabadi@modares.ac.ir)، (نویسنده مسول)

<sup>2</sup> دانش‌آموخته کارشناسی ارشد مدیریت منابع آب، گروه مهندسی آبیاری و آبادانی، دانشکده کشاورزی، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، البرز، ایران. کدپستی: ۳۱۵۸۷-۷۷۸۷۱، [Zghoreishy@ut.ac.ir](mailto:Zghoreishy@ut.ac.ir)

## بهینه سازی کشت بافت و انتقال ژن تولید کننده رنگ آبی به لیلیوم

پریسا کوباز<sup>1\*</sup>، ملیحه فلاح پور<sup>1،2</sup>، علیرضا قنبری<sup>2</sup>، اسماعیل چمنی<sup>2</sup> و پژمان آزادی<sup>3</sup>

<sup>1</sup>بخش فیزیولوژی مولکولی، پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی، سازمان تحقیقات ترویج و آموزش کشاورزی کرج، ایران

<sup>2</sup>گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

<sup>3</sup>بخش مهندسی ژنتیک، پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی، سازمان تحقیقات ترویج و آموزش کشاورزی کرج،

\* نویسنده مسئول: [pkoobaz@abrii.ac.ir](mailto:pkoobaz@abrii.ac.ir)

### چکیده

تولید رنگ آبی در گل‌های زینتی برای اصلاح گران رشته باغبانی بسیار با اهمیت است. لیلیوم پس از لاله مقام دوم تولید در دنیا بین گیاهان پیازی را دارد ولی تولید لیلیوم آبی تا کنون محقق نشده است. نسبت و میزان تولید آنتوسیانین‌های دلفینیدین، سیانیدین و پلارگونیدین تعیین کننده رنگ گل بوده و دلفینیدین مسئول تولید رنگ آبی است. در مرحله اول، ژن F3'5'H جداسازی شده و کاست حاوی این ژن ساخته و برای انتقال به روش اگرواینفیلتراسیون آماده شد. سپس برای تعیین وارپته مناسب برای تولید رنگ آبی از روش تزریق برای تولید رنگ موقت در گل‌های 6 وارپته با رنگ‌های مختلف استفاده شد. برای تعیین موفقیت انتقال ژن گذرا، میزان آنتوسیانین‌ها در نمونه‌های انتقال یافته با دستگاه HPLC اندازه گیری شد. به صورت همزمان بهینه‌سازی کشت بافت برای تولید کالوس و پیاز از فلس‌های پیازهای تجاری برای انتقال ژن پایدار انجام شد. ریزنمونه‌ها روی محیط MS به همراه ویتامین‌های B5، BAP، NAA کالوس تولید نموده و از کالوس‌ها و پیاز برای انتقال ژن استفاده شد. نتایج نشان داد دو وارپته بریندیدی و گاجو بیشترین میزان دلفینیدین پس از تزریق با کاست حاوی ژن F3'5'H را نشان دادند. انتقال دایم ژن مورد نظر به کالوس‌های رقم بریندیدی و گاجو انجام شد. مراحل بعدی تحقیق در حال انجام است.

واژگان کلیدی: انتقال ژن، آنتوسیانین، رنگ آبی، لیلیوم

### مقدمه:

جنس لیلیوم یا سوسن تک لپه بوده و یکی از 220 جنس متعلق به خانواده لیلیاسه<sup>3</sup> می‌باشد. لیلیوم از مهم‌ترین محصولات پیازی به شمار می‌رود که دومین درجه در بین گل‌های پیازی پس از لاله و هفتمین درجه را در بین گل‌های شاخه بریده دنیا به خود اختصاص داده است (1). بیشتر گیاهان زینتی با توجه به صفات زیبایی خود از جمله رنگ گل انتخاب می‌شوند که بسیاری از این ارقام همچون رز، میخک، داوودی، لیلیوم و ژربرا فاقد رنگ گل بنفش تا آبی هستند که دلیل آن عدم وجود آنتوسیانین مبتنی بر دلفینیدین<sup>4</sup> می‌باشد. بنابراین تولید ارقام اصلاح شده ژنتیکی با گل‌های آبی رنگ برای اصلاح‌کنندگان باغبانی بسیار حائز اهمیت است (2). با کنترل

<sup>3</sup> Liliaceae

<sup>4</sup> Delphinidin

میزان بیان ژن‌های مربوط به مسیر بیوسنتز رنگدانه‌های رنگ گل، می‌توان به وارپته‌هایی با رنگ جدید دست یافت. اساس و مبنای این عمل، از چند سال پیش از طریق جداسازی ژن‌های بیوسنتز رنگ آبی بنا گذاشته شده است. در سال‌های اخیر، اصلاح ژنتیکی گیاهان با استفاده از آگروباکتریوم تومفشینس<sup>5</sup> به‌عنوان یک روش انتقال ژن بسیار محبوب به شمار می‌رود (3). در لیلیوم نیز توسعه یک روش انتقال ژن برای اصلاح صفات و یا ایجاد رنگ گل جدید، نیازمند یک پروتکل مطلوب ترانسفورماسیون ژنتیکی<sup>6</sup> و همچنین توسعه یک روش کشت بافتی مؤثر برای باززایی بافت گیاه از ریزنمونه تغییر یافته ژنتیکی می‌باشد (4). تاکنون انتقال ژن دایم رنگ آبی به لیلیوم انجام نشده است.

### مواد و روشها:

با هدف امکان‌سنجی تهیه سازه ژنی و تأیید روش مورد استفاده و همچنین استفاده از سازه ژنی در مراحل بعدی آزمایش جهت انتقال ژن، از گیاه تجاری زینتی بنفشه (*Viola x wittrockiana*) که توالی ژن F3'5'H آن در بانک‌های اطلاعاتی از جمله بانک ژن (NCBI (National Center for Biotechnology Information) موجود است، استفاده شد (شکل 1). ژن F3'5'H با استفاده از آنزیم جداسازی و پس از بررسی اندازه و جهت ژن، درون سازه pTZ57R/T جا داده شد (سازه B). همچنین از یک سازه دیگر دریافتی از ژاپن که حاوی دو ژن دیگر همراه ژن مورد نظر بودند نیز استفاده شد (سازه C). برای بررسی پاسخ ارقام مختلف به دریافت ژن‌ها از روش آگرواینفیلتراسیون در شش رقم تجاری لیلیوم به نام‌های پاراگونه، اروندرود، گاجو، بریندیس، آمیگا و رویال‌ترینیتی استفاده شد تا ارقامی که در بیان موقت پاسخ بهتری نشان می‌دهند برای انتقال پایدار ژن هدف معرفی گردند. به منظور بررسی اثر سازه‌های تزریق‌شده بر میزان ترکیبات مورد نظر آنتوسیانین (دلفینیدین، سیانیدین و پلارگونیدین) در گلبرگ‌های لیلیوم، آنتوسیانین استخراج شد و در کنار استانداردهای دلفینیدین، سیانیدین و پلارگونیدین به دستگاه HPLC تزریق شد. برای تهیه ریزنمونه، قسمت انتهایی هر فلس برش خورده و در محیط کشت پایه MS با ویتامین‌های گامبورگ (B5) همراه با مقادیر مختلف NAA به‌علاوه BAP، ساکارز و آگار برای تولید کالوس و پیازچه کشت داده شد. در نهایت، به منظور القاء تولید دلفینیدین و تولید رنگیزه آبی در گلبرگ، انتقال ژن هدف (F3'5'H) با استفاده از *Agrobacterium tumefaciens* در دو رقم لیلیوم که پاسخ بهتری به آگرواینفیلتراسیون نشان دادند، روی کالوس و قطعات جدا کشت فلس انجام گرفت و عملکرد ژن نیز پس از انتقال مورد بررسی قرار گرفت.

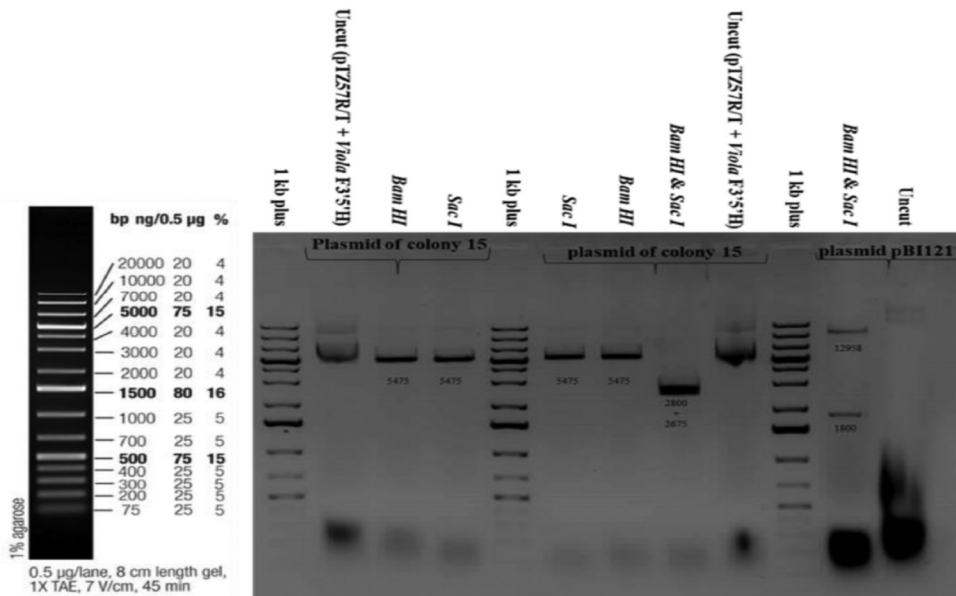
### نتایج و بحث

#### تهیه سازه ژنی حامل ژن F3'5'H با استفاده از گلبرگ *Viola x wittrockiana*

سازه تک‌ژنی حامل ژن F3'5'H از گیاه بنفشه تهیه شد و *pBI121-35S-Viola F3'5'H* نام گرفت و در نهایت برای انتقال موقت و پایدار ژن F3'5'H به ترتیب در گلبرگ‌ها و ریزنمونه‌های درون شیشه‌ای لیلیوم مورد استفاده قرار گرفت (شکل 1).

<sup>5</sup> *Agrobacterium tumefaciens*

<sup>6</sup> Genetic Transformation



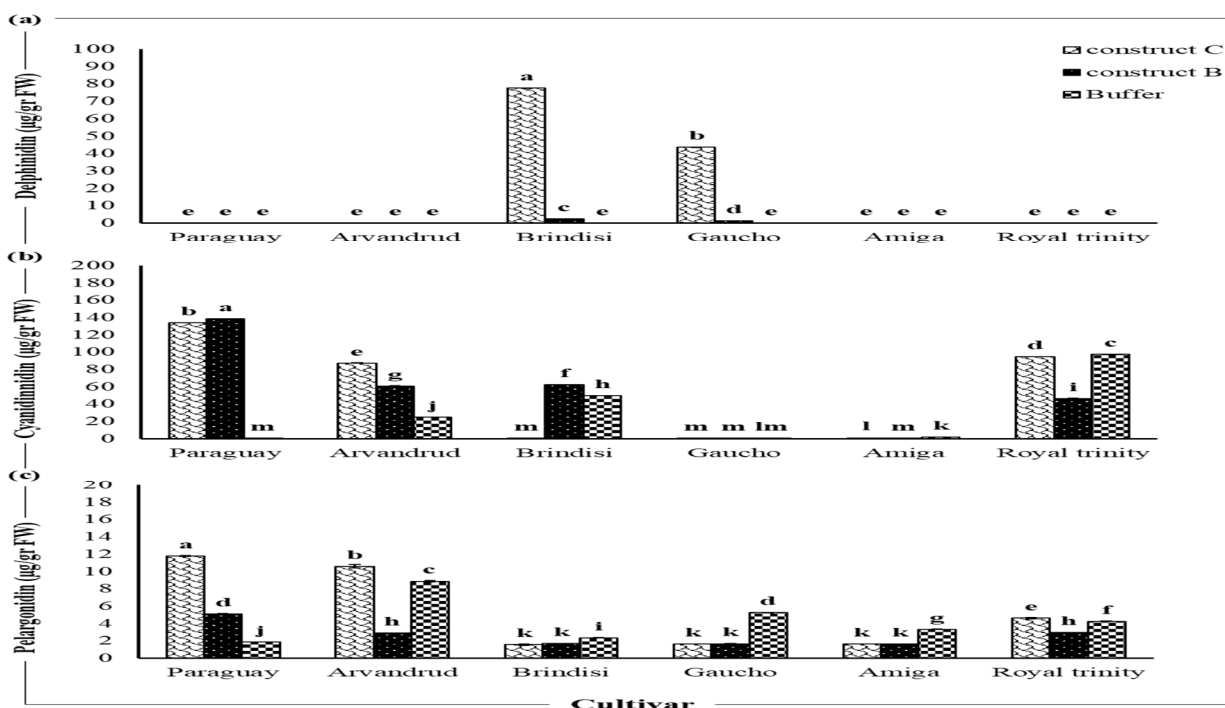
شکل 1- تصویر ژل الکتروفورز مربوط به قطعات تکثیر شده ساختار سازه *F3'5'H Viola* جهت تأیید اندازه و جهت ژن درج شده. پلاسمید حاصله، ژن *F3'5'H Viola* را حمل می‌کند که برای مشاهده باندهای مورد نظر (5475 bp) یک بار توسط آنزیم‌های *BamHI* و *SacI* هضم آنزیمی شد. سپس برای مشاهده باندهای مد نظر (2800 bp + 2675 bp) مجدداً توسط آنزیم‌های *BamHI* و *SacI* هضم آنزیمی شد. پس از تأیید توالی، ژن *F3'5'H* با جایگاه‌های *BamHI* و *SacI* درون سازه دوتایی *pBI121* درج شد و برای مشاهده باندهای مورد نظر (1800 bp + 12958 bp) بررسی شد

اثر رقم و سازه ژنی بر مقدار ترکیبات آنتوسیانین در گلبرگ‌های آگرواینفیلتراسیون شده لیلیوم و معرفی ارقام مناسب جهت انتقال پایدار ژن

نتایج 6 روز پس از تزریق دو سازه ژنی B و C نشان داد که اثر متقابل بین رقم و سازه ژنی بر میزان ترکیبات آنتوسیانینی تجمع یافته، معنی‌دار بوده است. به این صورت که تجمع دلفینیدین در کنار سیانیدین و پلارگونیدین در دو رقم "بریندیسی" و "گاچو" که به ترتیب گلبرگ‌های صورتی روشن و سفید با مرکز صورتی دارند، دیده شد. به‌ویژه سازه C بیش از سازه B سبب افزایش تجمع دلفینیدین در هر دو رقم شده است. میزان دلفینیدین اندازه‌گیری شده در رقم بریندیسی و گاچو که با سازه C تزریق شده بودند به ترتیب برابر با 77/63 و 43/57 میکروگرم در گرم بافت تر بود که تقریباً به ترتیب 40 و 20 برابر بیشتر از میزان دلفینیدین تجمع یافته در گلبرگ‌های تزریق شده این ارقام با سازه B می‌باشد. در گلبرگ‌های تزریق شده این دو رقم با سازه C، در محل تزریق رنگ گل از صورتی به بنفش تغییر یافته است. در چهار رقم دیگر اروندرود، پاراگوئه، آمیگا و رویال‌ترینیتی هیچ تجمعی از دلفینیدین در گلبرگ‌های تزریق شده با سازه‌های ژنی B و C دیده نشد. همچنین میزان سیانیدین در دو رقم پاراگوئه و اروندرود با تزریق هر دو سازه B و C نسبت به شاهد تزریق شده با بافر افزایش نشان داده است. در رقم بریندیسی، سازه B همچنان که سبب افزایش دلفینیدین شده است، میزان سیانیدین را نیز افزایش داده است اما تزریق سازه C در این رقم باعث افزایش دلفینیدین و کاهش سیانیدین شده است. در رقم گاچو، مقدار سیانیدین با تزریق هیچ یک از دو سازه B و C به‌طور معنی‌دار تحت تأثیر قرار نگرفته



است. تزریق هر دو سازه B و C در دو رقم آمیگا و رویال ترینیتی، سبب کاهش محتوای سیانیدین نسبت به شاهد گشته است (شکل 2). میزان پلارگونیدین در گلبرگ‌های تزریق شده با سازه C در ارقام پاراگوئه، اروندرود و رویال ترینیتی به صورت معنی دار افزایش یافته است اما تزریق این سازه در دو رقم بریندیزی و گاجو سبب کاهش تجمع پلارگونیدین شده است. با تزریق سازه B، مقدار پلارگونیدین در رقم پاراگوئه افزایش و در پنج رقم دیگر کاهش یافته است. بنا بر نتایج به دست آمده، یک همبستگی منفی معنی دار میان دلفینیدین و سیانیدین ( $r = -0.32, p < 0.05$ ) و همچنین بین دلفینیدین و پلارگونیدین ( $r = -0.27, p < 0.05$ ) در تمام گلبرگ‌های تزریق شده دیده شد. از این دو رقم با استفاده از اگرواینفیلتراسیون برای انتقال ژن به کالوس و قطعات جداگشت تولید کننده پیازچه به صورت باززایی مستقیم استفاده شد. مراحل تولید گیاهچه های تراریخته در حال انجام است.



شکل 2- مقایسه میانگین اثر رقم و سازه بر ترکیبات آنتوسیانین در گلبرگ‌های لیلیوم پس از اگرواینفیلتراسیون. (a) دلفینیدین، (b) سیانیدین و (c) پلارگونیدین. ستون‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، تفاوت آماری معنی داری نشان نداده‌اند

## نتیجه گیری

نتایج انتقال موقت ژن در گل‌های لیلیوم تأیید نمود که اگرواینفیلتراسیون روشی سریع و مؤثر برای سنجنش عملکرد ژن بیگانه در گیاه لیلیوم می‌باشد که با استفاده از این روش از طریق بررسی بیان موقت ژن‌ها و همچنین اندازه‌گیری ترکیبات آنتوسیانیدینی می‌توان واکنش گیاه به دریافت ژن خارجی را در مدت زمان بسیار کوتاه‌تر نسبت به انتقال پایدار ژن بررسی نمود و به این ترتیب قادر خواهیم بود تا ارقام مطلوب را برای انتقال پایدار ژن انتخاب نماییم. همچنین با بهینه سازی کشت بافت و استفاده از ریزنمونه‌های مختلف می‌توان موفق به افزایش نرخ تراریزش در ریزنمونه‌های لیلیوم شد و با استفاده از این پروتکل بهینه، ژن

مربوط به رنگ آبی را به ریزنمونه‌های این گیاه انتقال داد.

منابع

- 1) Azadi, P., H. Bagheri, A. Molaahmad Nalouisi, F. Nazari, S.F. Chandler, 2016. Current status and biotechnological advances in genetic engineering of ornamental plants. *Biotechnology Advances*, 1: 34 (6): 1073-1090.
- 2) Qi, Y., Q. Lou, Y. Quan, Y. Liu, Y. Wang, 2013. Flower-specific expression of the *Phalaenopsis* flavonoid 3', 5'-hydroxylase modifies flower color pigmentation in *Petunia* and *Lilium*. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 115: 263-273
- 3) Buddharak, Ph., R. Chundet, W. U-kong, 2015. A protocol for Agrobacterium-mediated transformation of *Kalanchoë blossfeldiana* with a flavonoid 3',5' hydroxylase (F3'5'H) gene. *African Journal of Biotechnology*, 14 (39): 2765-2769.
- 4) Kanchanapoom, K., T. Ponpiboon, W. Wirakiat, K. Kanchanapoom, 2011. Regeneration of lily (*Lilium longiflorum* 'Easter lily') by callus derived from leaf explants cultured in vitro. *Science Asia*, 37: 373-376.

## Optimizing tissue culture and transferring blue color producing gene to *Lilium*

Parisa Koobaz<sup>1\*</sup>, Maliheh Fallahpour<sup>1,2</sup>, Alireza Ghanbarib<sup>2</sup>, Esmail Chamani<sup>2</sup>, Pejman

Azadi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Molecular Physiology, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran;

<sup>2</sup>Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

<sup>3</sup> Department of Genetic Engineering, Agriculture Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran;

Corresponding Author: \*pkoobaz@abrii.ac.ir

### Abstract

The production of blue color in ornamental plants is very important for horticultural breeders. After tulip, lily is the second most produced bulb flower in the world, although, the production of blue lily has not been realized until now. The ratio and amount of production of anthocyanins such as delphinidin, cyanidin and pelargonidin determine the color of the flower, and delphinidin is responsible for the production of blue color. In the first step, F3'5'H and F3'H genes were isolated and cassettes containing these genes were made. The made cassettes were prepared for transfer by agroinfiltration method. Then, to determine the suitable variety for producing blue color, the injection method was used to produce temporary color in the flowers of 6 varieties with different colors. In order to determine the success of transient gene transfer, the amount of anthocyanins in the transferred samples was measured by HPLC. At the same time, optimization of tissue culture for the production of callus and bulbs from external scales of commercial bulbs was carried out for stable gene transfer. Explants on MS medium with B5 vitamins including NAA, BAP (0.03 and 0.3 mg/liter) were produced callus that were used for gene transfer. The results showed that Brindisi and Gaucho varieties showed the highest amount of delphinidin after injection with the cassette containing the F3'5'H gene. The cassette containing this gene was transferred to the calli of Brindisi and Gaucho cultivars. The next stages of the research are underway.

**Keywords:** Anthocyanin, Blue color, Gene transformation, lily

## بررسی پتانسیل سنجش از دور در پایش تنش های گیاه

مهديه حسينجاني زاده

استاديار، دكتري زمين شناسي، سنجش از دور زمين شناختي، گروه اكلوژي، پژوهشكده علوم محيطي، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته

[mh.hosseinjani@gmail.com](mailto:mh.hosseinjani@gmail.com)

### چکیده

سنجش از دور و تصاویر ماهواره‌ای به دلیل مزایایی که به ویژه از نظر مقیاس مکانی، هزینه، غیرمخرب بودن و سرعت در مقایسه با روش‌های سنتی زمینی دارند، به طور فزاینده‌ای برای اندازه‌گیری تنش گیاهان مورد استفاده قرار گرفته‌اند. هدف اصلی این تحقیق ارائه مرور کلی از پتانسیل سنجش از دور و کاربردهای آن برای پایش تنش‌های گیاهی است. برای این منظور ابتدا خصوصیات طیفی گیاه و روش‌های تصویربرداری سنجش از دور در پایش تنش‌های گیاه بررسی و در ادامه ویژگی‌ها و محدوده‌های طیفی مورد کاربرد در گیاهان متحمل تنش ذکر شده‌اند. سپس طیف وسیعی از کاربردهای سنجش از دور در رابطه با تشخیص تنش گیاهی به منظور شناسایی روندهای کلی در محدوده‌های طیفی بیان شده‌اند. نتایج نشان داد تکنیک‌های سنجش از دور و تصاویر ماهواره‌ای می‌توانند اطلاعات مربوط به تنش گیاهان، محتوای آب، رنگدانه‌های برگ و دمای تاج پوشش در مناطق بزرگ و دورافتاده را فراهم نمایند و برای نظارت بر پوشش گیاهی و جنگل‌ها در سطح منطقه‌ای یا حتی جهانی مفید باشند. این امر به ویژه با توجه به نقش مهمی که جنگل‌ها در چرخه جهانی آب، انرژی و تعادل کربن ایفا می‌کنند بسیار مهم است.

واژگان کلیدی: سنجش از دور، طیف‌نمایی، محدوده فرورسرخ، محدوده مرئی، تنش گیاه

### مقدمه

کاهش منابع طبیعی و همچنین فعالیت‌های انسانی چالش‌های جدی در کشاورزی پایدار ایجاد کرده و باعث کاهش بازدهی محصولات کشاورزی، تهدید امنیت و ایمنی غذایی شده است. تنش‌های گیاهی که منجر به کاهش رشد و عملکرد گیاه می‌شوند به عنوان یک عامل محیطی مهم، اثرات مخربی بر محصولات کشاورزی، منابع طبیعی و جنگل‌ها دارند. این تنش‌ها از عوامل مختلفی مانند کمبود آب و مواد مغذی، شوری خاک، دما، نور، مواد شیمیایی کشاورزی، آلاینده‌های هوا، بیماری‌ها و آفات ناشی می‌شوند که به صورت مستقیم و غیرمستقیم تأثیرات مخربی بر محصولات کشاورزی، منابع طبیعی و جنگل‌ها دارند. مدیریت مناسب و پایش منظم این تنش‌ها برای حفظ منابع طبیعی و محیط زیست بسیار حائز اهمیت است و تشخیص آنها یکی از حیاتی‌ترین موارد در بهبود بازدهی محصولات در نظر گرفته می‌شود. برخی از علائم تنش گیاهی شامل کاهش رشد، تغییر در رنگ برگ‌ها، زردی یا خشک شدن برگ‌ها، کاهش عملکرد و کیفیت محصول می‌باشد.

اثر عوامل تنش‌زا در یک مقیاس طولی گسترده، اعم از کل سیستم کشت تا سطح سلولی آشکار می‌شود و برای اندازه‌گیری پاسخ‌های فیزیولوژیکی به موقعیت تنش یکسری از تکنیک‌های تشخیصی کمی و کیفی مخرب و غیرمخرب توسعه داده شده است.

سنجش‌ازدور از روش‌های مناسب و غیرمخرب برای پایش و اندازه‌گیری تنش‌های گیاهی است که به کمک طیف‌سنج‌های زمینی، داده‌های تصویری و اطلاعات بدست آمده از سکوهای فضابرد و هوابرد بدون تماس فیزیکی انجام می‌شود. در این روش با توجه به توان تفکیک مکانی، طیفی، رادیومتری و زمانی سنجنده‌ها امکان مانیتورینگ و پایش تغییرات گیاهان فراهم می‌شود. با سنجش از دور امکان بررسی محصولات کشاورزی و تشخیص تنش محصول به لطف روش‌های نوآورانه و پیچیده تجزیه و تحلیل داده‌ها در فواصل زمانی و فصول زراعی مختلف وجود دارد. از جمله کاربردهای سنجش از دور در پایش تنش‌های گیاهی می‌توان به تعیین تغییرات در پوشش گیاهی و کیفیت خاک، ارزیابی تنش آبی و تنش حرارتی، شناسایی آلودگی‌ها و بیماری‌ها اشاره کرد. با توجه به موارد فوق هدف اصلی این تحقیق بررسی پتانسیل سنجش از دور در پایش تنش‌های گیاه است. برای این منظور ابتدا خصوصیات بازتابی گیاه و روش‌های تصویربرداری در تنش گیاه ذکر شده و در ادامه ویژگی‌ها و محدوده‌های طیفی مورد کاربرد در گیاهان متحمل تنش بررسی شده‌اند.

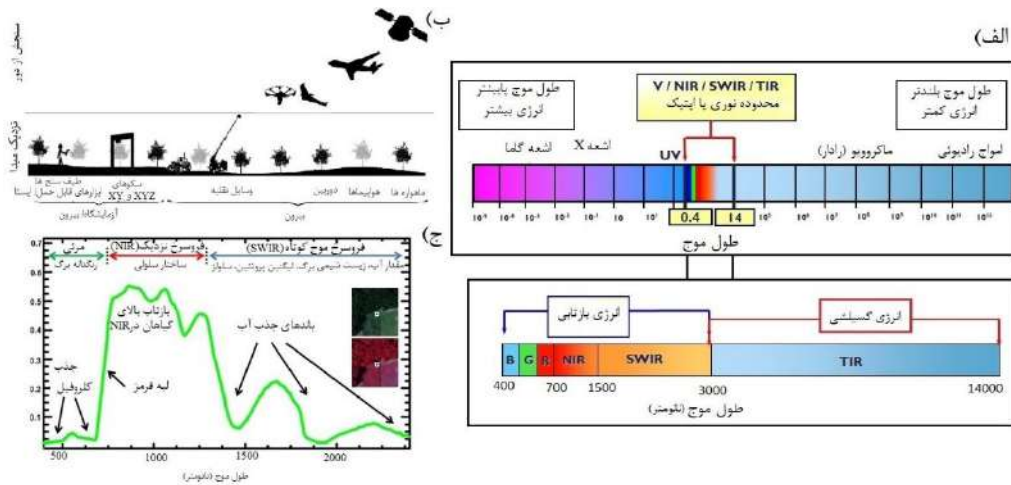
#### خصوصیات طیفی گیاه و روش‌های سنجش از دور:

هنگامی که امواج نوری به جسم برخورد می‌کنند، ممکن است جذب، عبور یا بازتاب و در برخی موارد، مجدداً گسیل یابند که می‌تواند به عنوان ویژگی‌های طیفی شناسایی و به صورت غیرمخرب توسط سنجنده‌های نوری ثبت و مشخص شوند. در سنجش از دور برای بررسی خصوصیات گیاهان از روش‌های مختلف مانند تصاویر ماهواره‌ای فضابرد و هوابرد، تصاویر هوایی و پهپادها، سکوهای زمینی و طیف‌سنج‌ها می‌توان استفاده کرد. در شکل 1 سکوهای اصلی سنجش از دور، محدوده‌های مختلف طیف الکترومغناطیس، روش‌های تصویربرداری در پایش تنش گیاه و ویژگی‌های بازتابی طیف گیاه سبز نشان داده شده است.

ساختار داخلی برگ و اجزای بیوشیمیایی، مانند میزان سبزی (رنگدانه‌های کلروفیل و کاروتنوئید)، آب، نیتروژن، سلولز و لیگنین نقش عمده‌ای در ویژگی‌های طیفی گیاهان در طول موج‌های مختلف دارند (شکل 1 ج). رفتار طیفی پوشش گیاهی در محدوده‌های مرئی و فروسرخ پایه نظری برای طراحی و گسترش روش‌های پردازشی مانند تکنیک‌های پردازش فراطیفی و شاخص‌های طیفی را شکل می‌دهد. رنگدانه‌ها، به ویژه کلروفیل از عوامل اولیه کنترل پاسخ طیفی برگ‌ها در طول موج‌های مرئی هستند. ناحیه فروسرخ به دو بخش فروسرخ بازتابی و فروسرخ گسیلشی تقسیم می‌شود (شکل 1 الف). تصویربرداری بازتابی بیانگر بخش بازتابی طیف است و بیشتر طیف‌سنج‌ها، سنجنده‌های تصویربرداری چند طیفی و ابرطیفی محدوده‌های طیفی مرئی، فروسرخ نزدیک و فروسرخ موج کوتاه را پوشش می‌دهند. این تصویربرداری می‌تواند مواد بیوشیمیایی مختلف، مقدار آب، ساختار سلولی مزوفیل، پروتئین نیتروژن و سلولز را اندازه‌گیری کند (Raymond Hunt et al., 1987, Zhang et al., 2013). اغلب برای تشخیص وضعیت فیزیولوژیکی و مورفولوژی تنش، تصویربرداری فروسرخ با تصویربرداری مرئی ترکیب می‌شود. بازتاب طیفی گیاه سبز در مادون قرمز نزدیک<sup>7</sup> (NIR) بالا و در ناحیه مرئی پایین است. این امر به دلیل جذب بالای کلروفیل در ناحیه مرئی و بازتاب قوی توسط ساختارهای داخلی و محتوای آب سلول‌های گیاه در NIR است. کلروفیل همچنین مسئول رنگ سبز گیاهان است و نور را به بهترین نحو در طول موج‌های آبی و قرمز طیف نور مرئی جذب و در نور سبز بازتاب می‌دهد. کاهش غلظت کلروفیل برگ در گیاهان تحت تنش، توانایی گیاهان در جذب تابش‌های خورشیدی را تغییر می‌دهد و با کاهش بازتاب سبز و افزایش در بازتاب‌های قرمز و آبی،

<sup>7</sup> Near Infrared (NIR)

الگوهای بازتاب طیف گیاه تغییر می‌کند. طول موج‌های بازتابی خاصی در طیف قرمز و مادون قرمز نزدیک به تغییرات رنگدانه‌های کلروفیل پاسخ می‌دهند و حداکثر حساسیت بازتابی به محتوای کلروفیل در طول موج‌های 550 و 700 نانومتر گزارش شده است (Blackburn, 1999). باند لبه قرمز حدود 700 نانومتر به دلیل مطابقت آن با آستانه بین محدوده طیفی با جذب نور بالا (کمتر از 700 نانومتر) و بازتاب نور بالا (بیشتر از 700 نانومتر) توسط رنگدانه‌های کلروفیل بسیار منحصر به فرد است. در فرسوخ نزدیک پوشش گیاهی بازتاب بالایی دارد که بواسطه‌ی ساختار سلولی، هوا و آب درون برگ رخ می‌دهد. در منحنی پاسخ طیفی پوشش گیاهی سالم، "لبه قرمز" قسمت شیب دار منحنی در حدواسط انتقال از طول موج قرمز به NIR قرار دارد و بعد از لبه قرمز، فلات NIR و بازتاب بالایی وجود دارد (شکل 1 ج). شیب این منحنی می‌تواند نشان دهنده تنش گیاه و غلظت کلروفیل باشد (Carter and Knapp, 2001). علاوه بر این، گیاهان در ناحیه مادون قرمز موج کوتاه<sup>8</sup> (SWIR) به دلیل جذب آب و سلولز در بافت‌های گیاهی بازتاب کمی دارند. آب سیمای جذبی قوی در فرسوخ موج کوتاه 1400 و 1900 نانومتر دارد. بافت‌های گیاهی با افزایش محتوای آب تمایل به کاهش بازتاب در این طول موج‌ها را دارند. همچنین با کاهش محتوای آب، بازتاب در ناحیه NIR کاهش می‌یابد در حالی که بازتاب در ناحیه مرئی افزایش می‌یابد. بخش فرسوخ حرارتی یا گسیلشی با تصویربرداری بازتابی متفاوت است و اشعه ساطع شده از سطح نمونه اندازه‌گیری می‌شود (Messina and Modica, 2020). این بخش که اطلاعات مربوط به دمای سطح زمین و تاج پوشش را فراهم می‌کند برای بررسی‌هایی دمائی می‌تواند مفید باشد.



شکل 1- الف) محدوده‌های مختلف طیف الکترومغناطیس، ب) سکوهای اصلی سنجش از دور و روش‌های تصویربرداری در پایش تنش گیاه در محدوده بازتابی و گسیلشی، ج) ویژگی‌های بازتابی طیف گیاه سبز

### 3- تشخیص تنش‌های گیاهان

فیزیولوژی و مورفولوژی گیاهان در شرایط تنش متحمل یک سری تغییرات می‌شوند که بر ویژگی‌های طیفی گیاه تأثیر می‌گذارند. کاربردهای سنجش از دور برای تشخیص و پایش تنش گیاهان به سرعت از دهه 1970، توسعه یافته و شامل طیف گسترده‌ای از

<sup>8</sup> Short wave Infrared

تکنیک‌ها برای بررسی وضعیت آب در گیاهان و خسارت ناشی از کمبود آب، خشکسالی، حمایت از آبیاری در زمین‌های کشاورزی با محصولات زراعی آسیب‌پذیر، تنش حرارتی، شناسایی آلودگی‌ها و بیماری‌ها در جنگل‌ها می‌باشند (Zhang et al., 2013, Jackson et al., 2004, Ramoelo et al., 2015, Le et al., 2023, Goodwin et al., 2005, Radeloff et al., 1999, Mastrodimos et al., 2019). یکی از راه‌ها برای اندازه‌گیری تنش گیاهان اندازه‌گیری تغییر در بازتاب مرئی و فرسرخ نزدیک است. به طور کلی گیاهان دارای تنش، بازتاب پایینی در طول موج فرسرخ نزدیک و بازتاب بالاتری در ناحیه مرئی دارند. همچنین اندازه‌گیری تغییرات در خصوصیات گرمایی گیاه با استفاده از سنجنده‌های فرسرخ گرمایی نیز یکی دیگر از راه‌های تشخیص تنش بویژه تنش آبی گیاهان است. گیاهانی که تحت تنش قرار می‌گیرند ممکن است بدلیل کاهش تبخیر و تعرق دمای برگ بالاتری داشته باشند (Farooq et al., 2009, Liu et al., 2020).

بازتاب طیفی پوشش گیاهی در بخش مرئی از طیف به شدت تحت تأثیر رنگدانه‌ها به ویژه کلروفیل a و b است. رنگدانه‌های کاروتن، زانتوفیل و آنتوسیانین نیز بر جذب و بازتاب برگ تأثیر می‌گذارند. اطلاعات در مورد رنگدانه‌ها، به ویژه کلروفیل، در کاربردهای مختلف از کشاورزی تا مطالعات منابع طبیعی مورد استفاده است و می‌تواند به عنوان شاخص وضعیت فیزیولوژیکی استفاده شوند (Gamon et al., 1997). بخش فرسرخ نزدیک طیف با تغییرات در سطح سلولی، از جمله هیدراتاسیون، سلامت و همچنین زیست توده در ارتباط است و همبستگی بالایی با زیست توده جنگل‌های سخت چوب نشان داده است (Rock, 1986, Zhang and Zhou, 2019). همچنین مطالعات نشان داده‌اند سن برگ با افزایش جذب NIR در پوشش گیاهی در مناطق گرمسیری ارتباط دارد (Roberts et al., 1998). از آنجایی که NIR می‌تواند برای ارزیابی سلامت پوشش گیاهی مورد استفاده قرار گیرد، ابزار مهمی در پایش برگ‌ریزی درختان به دلیل آفات یا شرایط محیطی نیز می‌باشد. برای مثال از بازتاب NIR برای تشخیص سطوح برگ‌ریزی ناشی از کرم جوانه کاج خاکستری<sup>9</sup> در ویسکانسین، ایالات متحده آمریکا (Radeloff et al., 1999) و پاتوژن فارچی در استرالیا (Goodwin et al., 2005) استفاده شده است. بخش فرسرخ موج کوتاه به شدت تحت تأثیر جذب آب قرار دارد. رطوبت موجود در برگ باعث جذب تشعشعات مادون قرمز موج کوتاه می‌شود و این بخش از طیف در تخمین مقدار آب گیاه مورد استفاده قرار می‌گیرد (Ustin et al., 2004). مطالعات زیادی ارتباط معنادار بین بازتاب NIR، SWIR و مقدار آب در پوشش گیاهی و خاک را تایید کرده‌اند (Ceccato et al., 2001, Gao, 1996, Raymond Hunt et al., 1987). محتوای آب گیاهان بویژه در زمان ارزیابی خطر آتش‌سوزی جنگل و تعیین کمبود آب در محصولات کشاورزی بسیار اهمیت دارد. تصویربرداری حرارتی فرسرخ امکان تصویرسازی تغییرات دمایی در سطح گیاهان تحت تنش را فراهم می‌کند. به عنوان مثال، تعدیل در وضعیت آب یک گیاه تحت تنش منجر به تغییر در تعرق برگ و هدایت گاز می‌شود. این همراهی تغییرات منجر به اختلاف دما می‌شود و می‌تواند توسط سنجنده‌های تصویربرداری حرارتی بارزسازی شود. همچنین در یک مطالعه با اندازه‌گیری تغییرات دما در انگور با استفاده از فرسرخ حرارتی یک روش برای تشخیص زودهنگام عفونت‌های فارچی ارائه شد (Mastrodimos et al., 2019).

با توجه به خصوصیات طیفی گیاهان، روش‌های پردازشی و شاخص‌های طیفی مختلفی از جمله شاخص تفاضل نرمال شده پوشش گیاهی (NDVI)، شاخص تفاضل نرمال شده آب (NDWI) و شاخص‌های کلروفیل (CIs) توسط محققین برای پایش تغییر در

<sup>9</sup> Jack Pine

کاربرد	منبع	فرمول	شاخص طیفی
روش سریع برای تشخیص گیاهان از سایر عوارض موجود در تصویر	Jordan, 1969	$SR = NIR/RED$	Simple Ratio Index (SR) شاخص نسبی ساده
شاخص سلامت پوشش گیاهی	Rouse et al., 1973	$NDVI = (NIR-RED)/(NIR+RED)$	Normalised Difference Vegetation Index (NDVI) شاخص تفاضل نرمال شده پوشش گیاهی
یکی از پرکاربردترین شاخصها است که اثرات خاک نیز در این شاخص در نظر گرفته می شود.	Huete, 1988	$SAVI = (NIR-RED)(1+L)/(NIR+RED+L)$	Soil-adjusted Vegetation Index (SAVI) شاخص پوشش گیاهی تعدیل شده خاک
نشان دادن مقدار آب در گیاه	Raymond Hunt et al., 1987	$LWCI = -\log(1-NIR+SWIR) / -\log(1-NIR,FT+SWIR,FT)$	Leaf Water Content Index (LWCI) شاخص مقدار آب برگ
نشان دادن تغییرات مربوط به مقدار آب در پهنه های آبی و گونه های مختلف گیاه	Gao, 1996	$NDWI = (NIR-SWIR)/(NIR+SWIR)$	Normalised Difference Water Index (NDWI) شاخص تفاضل نرمال شده آب
تجزیه و تحلیل تنش تاج پوشش، خطر آتش سوزی، مطالعات فیزیولوژی اکوسیستم، پیش بینی بهره وری	Ceccato et al., 2001	$MSI = 1667/927$	Moisture Stress Index (MSI) شاخص تنش رطوبت
تشخیص تنش آب	Fensholt and Sandholt, 2003	$SIWSI = SWIR - SWIR/NIR + NIR$	Shortwave Infrared Water Stress Index (SIWSI) شاخص تنش آب فرورسرخ موج کوتاه
برای تشخیص تنش خشکی و مناطق با پتانسیل بالا برای احتراق	Maki et al., 2004	$VDI = 1 - A'E/A'C'$	Vegetation Dryness Index (VDI) شاخص خشکی پوشش گیاهی
تعیین مقدار کلروفیل در گیاه	Carlson and Ripley, 1997	$NDVI = NIR - RED-Edge / NIR+(RED-Edge)$	Normalised Difference Red-Edge index (NDRE) شاخص تفاضل نرمال شده لبه قرمز
اندازه گیری واکنش گیاهان به تنش، سلامت پوشش گیاهی	Sukhova and Sukhov, 2020, Gamon et al., 1997	$PRI = 531-570 / 531+570$	Photochemical Reflectance Index (PRI) شاخص بازتاب فتوشیمی
اندازه گیری مقدار کلروفیل، پایش تغییر در گیاهان و خصوصیات فیزیولوژی	Gitelson et al., 2003	$CI = (NIR / RED-Edge) - 1$	Chlorophyll Index (CI) شاخص کلروفیل
شاخصی برای تشخیص کمبود آب محصول بر اساس دمای برگ.	Jackson et al., 1981))	$CWSI = (Tc-Ta)m - (Tc-Ta)LL / (Tc-Ta)UL+(Tc-Ta)LL$	Crop Water Stress Index (CWSI) شاخص تنش آب محصولات
پایش وضعیت آب زمین های زراعی	Joshi et al., 2021))	$TVWSI = d(SWCI, NDVI) / RLST$	Temperature Vegetation Water Stress Index (TVWSI) شاخص تنش آب پوشش گیاهی دما

گیاهان و خصوصیات فیزیولوژی مربوطه، ارزیابی کلروفیل و مقدار آب توسعه یافته است. تعدادی از این شاخصها در جدول 1 خلاصه شده اند و اطلاعات بیشتر درباره این شاخصها، اصول و روش های استفاده شده در مراجع مربوطه آنها ارائه شده است.

جدول 1- شاخص های سنجش از دور که برای آشکارسازی تنش آبی گیاهان استفاده شده است.

### نتیجه گیری

نتایج بررسی ها نشان داد که تحقیقات گسترده ای در مورد تشخیص و اندازه گیری تنش گیاه با استفاده از فناوری های سنجش از دور، نزدیک مبدا و داده های زمینی انجام شده است. تکنیک های زمینی برای اندازه گیری های دقیق تر و صحت زمینی داده های سنجش از راه دور مناسب تر هستند و تصاویر سنجش از دور می توانند داده های ارزشمندی از پوشش گیاهی، خاک و فاکتورهای محیط زیست در مناطق وسیع بدون تماس فیزیکی ارائه دهند. ابزارهای تصویربرداری در محدوده مادون قرمز مرئی، طیفی و حرارتی امکان جمع آوری داده ها برای مطالعات کمی، نظارت بر محصول و بررسی تنش گیاهی را فراهم می کنند. با توجه به این کاربردها، سنجش از

دور می‌تواند به بهبود عملکرد و بهره‌وری کشاورزی و مدیریت منابع طبیعی کمک کند و به عنوان یک ابزار موثر برای پایش تنش‌های گیاهی استفاده شود. بسیاری از مطالعات بر روی پهنای باند طیفی گسترده متمرکز شده‌اند و توصیه می‌شود که محققان ابتدا از یافته‌های طیفی برای شناسایی و تفسیر الگوهای تنش گیاهی استفاده کنند و بر مبنای ویژگی‌های طیفی سنجنده مناسب انتخاب و پردازش‌ها انجام شود. بیشتر شاخص‌های طیفی برای یک گونه منفرد با اندازه و شکل برگ، سطح برگ و ساختار داخلی ثابت به دست آمده‌اند، که ممکن است سودمندی آنها با توجه به گونه‌ها و شرایط مکان متفاوت باشد. بنابراین، متداول‌ترین شاخص‌های گزارش شده در ادبیات باید با داده‌های واقعی ارزیابی شوند. حقیقت‌یابی زمینی داده‌های سنجش از دور کار آسانی نیست، به ویژه هنگامی که مقیاس‌های زمانی و مکانی متفاوت در نظر گرفته شود و بسته به مقیاسی که در آن تحقیق انجام می‌شود، پیشنهاد می‌شود که یک رویکرد عملی برای ارزیابی تنش گیاه از طریق استفاده از حداقل اندازه‌گیری زمینی اتخاذ شود.

## References

- Blackburn, G. A., 1999. Relationships between Spectral Reflectance and Pigment Concentrations in Stacks of Deciduous Broadleaves. *Remote Sensing of Environment*, 70, 224-237.
- Carlson, T. N. & Ripley, D. A., 1997. On the relation between NDVI, fractional vegetation cover, and leaf area index. *Remote Sensing of Environment*, 62, 241-252.
- Carter, G. A. & Knapp, A. K., 2001. Leaf optical properties in higher plants: linking spectral characteristics to stress and chlorophyll concentration. *American Journal of Botany*, 88, 677-684.
- Ceccato, P., Flasse, S., Tarantola, S., Jacquemoud, S. & Grégoire, J.-M., 2001. Detecting vegetation leaf water content using reflectance in the optical domain. *Remote Sensing of Environment*, 77, 22-33.
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D. & Basra, S. M. A., 2009. Plant Drought Stress: Effects, Mechanisms and Management. In: Lichtfouse, E., Navarrete, M., Debaeke, P., Véronique, S. & Alberola, C. (eds.) *Sustainable Agriculture*. Dordrecht: Springer Netherlands.
- Fensholt, R. & Sandholt, I., 2003. Derivation of a shortwave infrared water stress index from MODIS near- and shortwave infrared data in a semiarid environment. *Remote Sensing of Environment*, 87, 111-121.
- Gamon, J. A., Serrano, L. & Surfus, J. S., 1997. The photochemical reflectance index: an optical indicator of photosynthetic radiation use efficiency across species, functional types, and nutrient levels. *Oecologia*, 112, 492-501.
- Gao, B.-C., 1996. NDWI—A normalized difference water index for remote sensing of vegetation liquid water from space. *Remote Sensing of Environment*, 58, 257-266.
- Gitelson, A. A., Gritz, Y. & Merzlyak, M. N., 2003. Relationships between leaf chlorophyll content and spectral reflectance and algorithms for non-destructive chlorophyll assessment in higher plant leaves. *Journal of Plant Physiology*, 160, 271-282.
- Goodwin, N., Coops, N. C. & Stone, C., 2005. Assessing plantation canopy condition from airborne imagery using spectral mixture analysis and fractional abundances. *International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation*, 7, 11-28.
- Huete, A. R. 1988. A soil-adjusted vegetation index (SAVI). *Remote Sensing of Environment*, 25, 295-309.
- Jackson, R. D., Idso, S. B., Reginato, R. J. & Pinter JR., P. J., 1981. Canopy temperature as a crop water stress indicator. *Water Resources Research*, 17, 1133-1138.
- Jackson, T. J., Chen, D., Cosh, M., Li, F., Anderson, M., Walthall, C., Doriaswamy, P. & Hunt, E. R., 2004. Vegetation water content mapping using Landsat data derived normalized difference water index for corn and soybeans. *Remote Sensing of Environment*, 92, 475-482.
- Jordan, C. F. و 1969. Derivation of Leaf-Area Index from Quality of Light on the Forest Floor. *Ecology*, 50, 663-666.
- Joshi, R. C., Ryu, D., Sheridan, G. J. & Lane, P. N. J., 2021. Modeling Vegetation Water Stress over the Forest from Space: Temperature Vegetation Water Stress Index (TVWSI). *Remote Sensing*, 13, 4635.
- Le, T. S., Harper, R. & Dell, B., 2023. Application of Remote Sensing in Detecting and Monitoring Water Stress in Forests. *Remote Sensing*, 15, 3360.
- Liu, N., Deng, Z., Wang, H., Luo, Z., Gutiérrez-Jurado, H. A., He, X. & Guan, H., 2020. Thermal remote sensing of plant water stress in natural ecosystems. *Forest Ecology and Management*, 476, 118433.



- Maki, M., Ishihara, M. & Tamura, M., 2004. Estimation of leaf water status to monitor the risk of forest fires by using remotely sensed data. *Remote Sensing of Environment*, 90, 441-450.
- Mastrodimos, N., Lentzou, D., Templalaxis, C., Tsitsigiannis, D. I. & Xanthopoulos, G., 2019. Development of thermography methodology for early diagnosis of fungal infection in table grapes: The case of *Aspergillus carbonarius*. *Computers and Electronics in Agriculture*, 165, 104972.
- Messina, G. & Modica, G., 2020. Applications of UAV Thermal Imagery in Precision Agriculture: State of the Art and Future Research Outlook. *Remote Sensing* [Online], 12.
- Radeloff, V. C., Mladenoff, D. J. & Boyce, M. S., 1999. Detecting Jack Pine Budworm Defoliation Using Spectral Mixture Analysis: Separating Effects from Determinants. *Remote Sensing of Environment*, 69, 156-169.
- Ramoelo, A., Dzikiti, S., Van Deventer, H., Maherry, A., Cho, M. A. & Gush, M., 2015. Potential to monitor plant stress using remote sensing tools. *Journal of Arid Environments*, 113, 134-144.
- Raymond Hunt, E., Rock, B. N. & Nobel, P. S., 1987. Measurement of leaf relative water content by infrared reflectance. *Remote Sensing of Environment*, 22, 429-435.
- Roberts, D. A., Nelson, B. W., Adams, J. B. & Palmer, F., 1998. Spectral changes with leaf aging in Amazon caatinga. *Trees*, 12, 315-325.
- Rock, B., Vogelmann, J., Williams, D., Vogelmann, A., and Hoshizaki, T., 1986. Remote detection of forest damage. *BioScience*, 36, 439-445.
- Rouse, J. W., Haas, R. H., Schell, J. A. & Deering, D. W., 1973. Monitoring vegetation systems in the great plains with ERTS. 1973.
- Sukhova, E. & Sukhov, V., 2020. Relation of Photochemical Reflectance Indices Based on Different Wavelengths to the Parameters of Light Reactions in Photosystems I and II in Pea Plants. *Remote Sensing* [Online], 12.
- Ustin, S. L., Roberts, D. A., Gamon, J. A., Asner, G. P. & Green, R. O., 2004. Using Imaging Spectroscopy to Study Ecosystem Processes and Properties. *BioScience*, 54, 523-534.
- Zhang, F. & Zhou, G., 2019. Estimation of vegetation water content using hyperspectral vegetation indices: a comparison of crop water indicators in response to water stress treatments for summer maize. *BMC Ecology*, 19, 18.
- Zhang, Y., Peng, C., Li, W., Fang, X., Zhang, T., Zhu, Q., Chen, H. & Zhao, P., 2013. Monitoring and estimating drought-induced impacts on forest structure, growth, function, and ecosystem services using remote-sensing data: recent progress and future challenges. *Environmental Reviews*, 21, 103-115.

## Investigation of remote sensing potential to monitor plant stress

Mahdieh Hosseinjanizadeh

<sup>3</sup>Department of Ecology, Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran. [mh.hosseinjani@gmail.com](mailto:mh.hosseinjani@gmail.com)

### Abstract

Remote sensing techniques are increasingly being used to measure plant stress due to their advantages, especially in terms of spatial scale, cost, non-destructiveness, and speed as compared to traditional terrestrial methods. This research aims to provide an overview of remote sensing potential and applications for monitoring plant stresses. For this purpose, spectral characteristics of plants and imaging remote sensing techniques for monitoring plant stress were examined. Then a wide range of remote sensing applications for plant stress detection were stated in different parts of spectra to identify overall trends. Results revealed that remote sensing techniques and satellite images can provide information on plant stress, water content, leaf pigments, and canopy temperature across large and remote areas. This information will be useful for monitoring vegetation and forests at a regional or even global scale in remote or inaccessible areas. This is especially important given the significant role that forests play in the global water cycle, energy, and carbon balance.

**Keywords:** remote Sensing, Spectroscopy, Infrared, region, Visible region, plant stress

## تأثیر پارامترهای روزنه‌ای و تنظیم اسمزی در مقاومت به خشکی برخی هیبریدهای کلونی

### پسته

مژده اسکو<sup>1</sup>، محمودرضا روزبان<sup>2\*</sup>، سعادت ساریخانی<sup>2</sup>، محمد مهدی عرب<sup>3</sup> و کورش وحدتی<sup>2</sup>

<sup>1</sup> دانشجوی دکتری علوم و مهندسی باغبانی گرایش فیزیولوژی تولید و پس از برداشت، دانشکده فناوری کشاوری ابوریحان دانشگاه تهران

<sup>2</sup> عضو هیات علمی گروه باغبانی دانشکده فناوری کشاورزی ابوریحان، دانشگاه تهران

<sup>3</sup> عضو هیات علمی گروه بیوتکنولوژی دانشگاه تربیت مدرس

\* نویسنده مسئول: mroozban@ut.ac.ir

### چکیده

خشکی مهمترین عامل محدودکننده رشد و توسعه کشت درختان پسته در ایران به شمار می‌رود. اگرچه درختان پسته نسبت به خشکی تا حدودی مقاوم هستند اما کمیت و کیفیت محصول تولیدی در شرایط تنش خشکی به صورت قابل توجهی کاهش می‌یابد. به منظور ارزیابی مقاومت به خشکی هیبریدهای کلونی پسته، آزمایشی به صورت فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی به اجرا در آمد. فاکتورهای مورد مطالعه در این آزمایش، شامل هفت هیبرید بین‌گونه‌ای پسته و دو سطح تنش خشکی (شاهد و تنش) بودند. اعمال تنش خشکی در آزمایش حاضر، به صورت قطع کامل آبیاری انجام شد در حالیکه گیاهان شاهد نیاز آبی خود را به کامل دریافت می‌کردند. یک ماه پس از قطع آبیاری، ویژگی‌های روزنه‌ای، دمای برگ و پتانسیل اسمزی برگ و ریشه گیاهان مورد ارزیابی قرار گرفت. بر اساس نتایج بدست آمده، اختلاف معنی‌داری از نظر دمای برگ و ویژگی‌های روزنه‌ای (تراکم روزنه، طول شکاف روزنه، عرض شکاف روزنه، طول روزنه و عرض روزنه) بین کلون‌های مختلف تحت شرایط تنش و شاهد مشاهده نشد. بررسی پتانسیل اسمزی برگ و ریشه نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف از لحاظ میزان اسمولیت‌های موجود در ریشه و برگ وجود دارد. بیشترین مقدار اسمولیت‌های برگ و ریشه به مقاومترین کلون (C9-4) اختصاص داشت این در حالی است که کلون‌های حساس، پایین‌ترین مقدار اسمولیت‌ها را در برگ و ریشه داشتند. پتانسیل اسمزی برگ در هیبرید آروتا تحت تنش نسبت به شاهد این کلون اختلاف معنی‌داری نداشت اما تحت تاثیر تنش مقدار اسمولیت‌های این کلون در ریشه نسبت به کنترل افزایش معنی‌داری داشت. آزمایش حاضر نشان داد که پارامترهای روزنه‌ای، نقش معنی‌داری در ایجاد مقاومت به خشکی در هیبریدهای بین‌گونه‌ای پسته ایفا نمی‌کنند. در نتیجه برای شناسایی مکانسیم‌های مقاومت به خشکی در این هیبریدها، باید به بررسی و تبیین رابطه بین معماری ریشه و خصوصیات رشدی و بررسی و درک مکانسیم مولکولی دخیل در تحمل به خشکی پرداخت.

**واژه‌های کلیدی:** آروتا، پتانسیل اسمزی، تعدیل روزنه‌ای، تنش خشکی، هیبریدهای بین‌گونه‌ای

### مقدمه

پسته از نظر سطح زیر کشت و درآمد ارزی، مهم‌ترین محصول کشاورزی ایران است. این محصول، 60 درصد از کل صادرات محصولات کشاورزی ایران را به خود اختصاص داده، و از مهم‌ترین اقلام صادراتی غیر نفتی ایران به شمار می‌آید. اگرچه درختان

پسته نسبت به خشکی مقاوم هستند با این وجود، لزوماً در شرایط خشکی عملکرد مطلوب بدست نمی‌آید (11). در دهه اخیر کشت پسته در ایران با مشکلات جدی از جمله کم آبی و شوری روبه‌رو شده است و عملکرد در واحد سطح به طور چشمگیری کاهش یافته است (12). لذا لازم است به منظور تولید پایدار این محصول استراتژیک، یک راهبرد مدیریتی پایدار اتخاذ نمود (1). استفاده از پایه‌های مقاوم به خشکی می‌تواند استراتژی اصلی برای تولید پایدار در این شرایط باشد (6). در سه دهه گذشته، پایه  $UCB1 (P. atlantica \times P. integerrima)$  به عنوان یک پایه هیبرید بین‌گونه‌ای به دلیل مقاومت به بیماری‌ها، دوره نونهالی کوتاه و قدرت ریکاوری بالا برای عبور از تنش‌ها، معرفی شده است (5). اما خزان دیررس و عدم شناخت واکنش ارقام ایرانی روی این پایه، مهمترین چالش استفاده از این پایه است. پررشدی و دوره نونهالی کوتاه آن، سبب شده تا در برنامه اصلاح پایه پسته در کشور نیز به این ترکیب هیبریدی توجه بسیاری شود که این موضوع منجر به معرفی پایه آروتا (*Arota*) به عنوان یک پایه هیبرید بین‌گونه‌ای ( $P. atlantica \times P. integerrima$ ) حاصل از ارزیابی نتایج 222 تلاقی کنترل شده، است (2). آنچه در خصوص تمام این هیبریدهای تجاری و امیدبخش مورد چالش است بررسی میزان تحمل این پایه‌ها به تنش‌های غیرزیستی به ویژه تنش خشکی است که ضروری است پیش از توسعه باغ‌های پسته با این پایه‌ها، ارزیابی تحمل به تنش خشکی آن‌ها مورد بررسی قرار گیرد.

## مواد و روش

به منظور درک مکانیسم‌های مقاومت به خشکی در هیبریدهای بین‌گونه‌ای پسته و ارزیابی پاسخ به تنش خشکی در برخی پایه‌های تجاری و امیدبخش پسته از منظر تنظیم اسمزی برگ و ریشه، و شاخص‌های روزنه‌ای، پژوهش حاضر طی سال‌های 1401-1402 در گلخانه‌ها و آزمایشگاه‌های موسسه پژوهشی فناوری‌های باغبانی رویش سبز فردا (پیستات) و دانشکده فناوری کشاورزی (ابوریحان) دانشگاه تهران انجام شد. فاکتورهای مورد مطالعه در این طرح شامل هفت پایه کلونال UCB1، آروتا (C1)، C2، C16-1، C8-3، C4-2، C9-4 و دو سطح تنش (شاهد و تنش) بودند که مواد گیاهی به صورت نهال‌های یکدست کشت‌بافتی از موسسه پیستات تهیه شدند. این آزمایش به صورت فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با 14 ترکیب تیماری و 3 تکرار و 10 مشاهده در هر تکرار (در مجموع 30 گیاه برای هر ترکیب تیمار) اجرا شد. اعمال تنش به روش قطع آبیاری و به مدت 30 روز به طول انجامید. دمای برگ (با استفاده از ترمومتر فرو سرخ)، ویژگی روزنه‌ای (3) و پتانسیل اسمزی برگ و ریشه (7) اندازه‌گیری شدند.

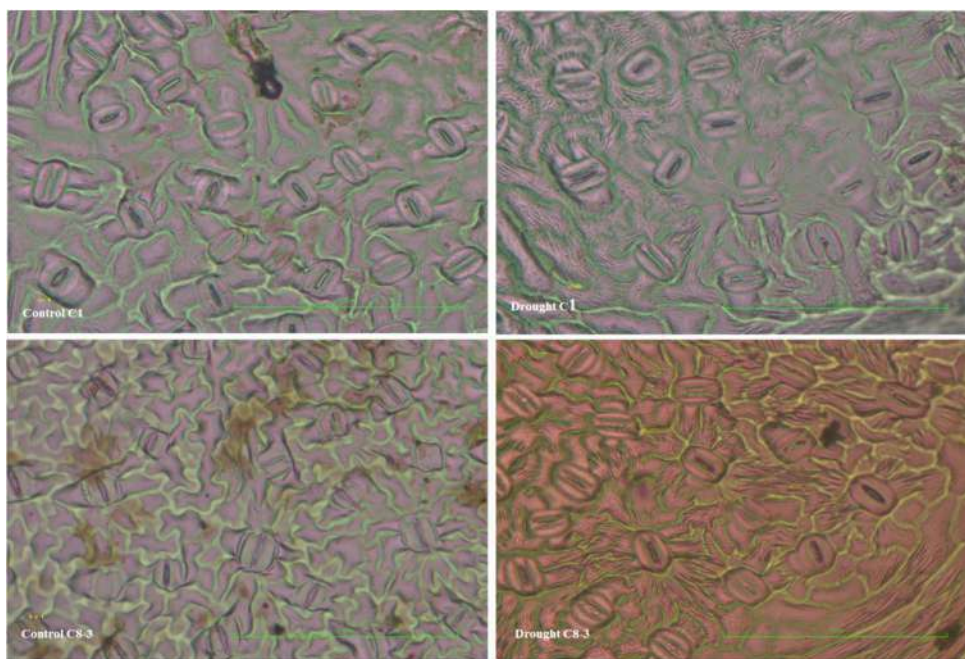
## نتایج

نتایج نشان داد کلون‌های مختلف، پاسخ‌های متفاوتی در برابر تنش خشکی نشان دادند. مقاومترین کلون‌ها در این پژوهش C9-4 و آروتا (C1) بودند که کمتر تحت تاثیر تنش قرار گرفتند و در شرایط تنش بالاترین شادابی را نسبت به کلون‌های دیگر دارا بودند. حساس‌ترین کلون، C8-3 بوده که به شدت تحت تاثیر تنش قرار گرفت.



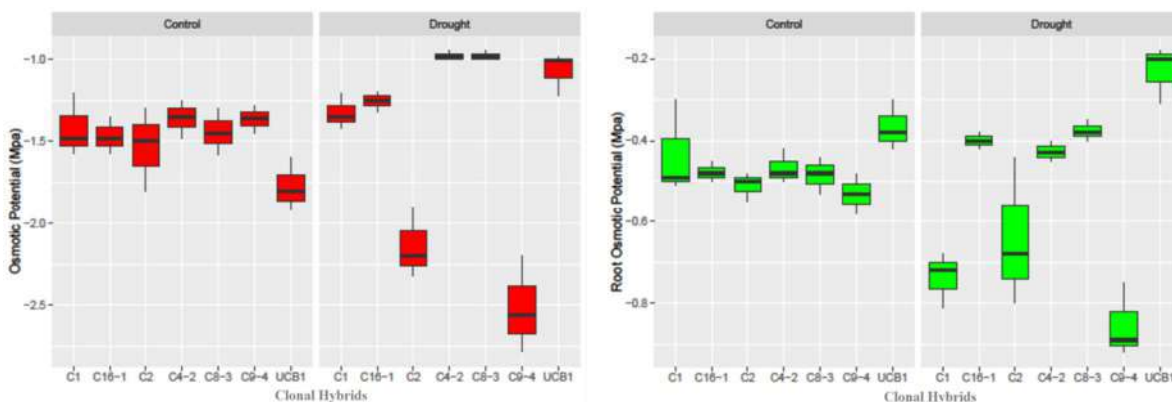
شکل 1. کلون مقاوم آروتا (الف) و کلون حساس C8-3 (ب)

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، اختلاف معنی داری بین تیمارهای مختلف از نظر تراکم روزنه، طول شکاف روزنه، عرض شکاف روزنه، طول روزنه و عرض روزنه وجود ندارد. همچنین به دلیل عدم تعدیل روزنه‌ای کلون‌ها در شرایط تنش، اختلاف معنی داری بین دمای برگ کلون‌های مختلف در شرایط تنش و شاهد وجود نداشت.



شکل 2. اثر تنش خشکی بر ویژگی‌های روزنه‌ای کلون آروتا (بالا) و C8-3 (پایین)

بررسی پتانسیل اسمزی برگ و ریشه هیبریدهای کلونی پسته نشان داد که اختلاف معنی داری بین تیمارهای مختلف وجود دارد. کلون C9-4 بیشترین مقدار اسمولیت‌ها را در برگ داشته و نسبت به شاهد خود افزایش قابل توجهی در میزان اسمولیت های برگ نشان داد. در آروتا، اختلاف معنی داری از نظر پتانسیل اسمزی برگ بین شاهد و کنترل وجود نداشت. اما کلون‌های UCB1، C8-3، C4-2 و C16-1 نه تنها قادر به افزایش اسمولیت برگ نبودند بلکه نسبت به شاهد کاهش معنی داری داشتند. بیشترین پتانسیل اسمزی ریشه به دو کلون مقاوم C9-4 و آروتا اختصاص داشت. میزان اسمولیت‌ها در C2 نیز تحت تنش افزایش یافت اما UCB1، C8-3، C4-2 و C16-1 کاهش معنی داری در اسمولیت‌های ریشه در اثر اعمال تنش نشان دادند.



شکل 2- اثر تنش خشکی بر پتانسیل اسمزی برگ و ریشه هیبریدهای کلونی پسته

## بحث

تنش آبی اغلب با کاهش پتانسیل آبی خاک ایجاد می‌شود. گیاهان از راهبردهای مختلفی برای جلوگیری از اتلاف آب در شرایط تنش بهره می‌گیرند. راهبردهای اصلی گیاهان برای حفظ کمبود آب، تغییر در سطح مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی، متابولیکی و مولکولی می‌باشد (1). تنظیم گشودگی روزنه در پتانسیل آب کمتر، نتیجه‌ی یک مکانیسم تنظیم اسمزی است. این مکانیسم، به برگ‌ها اجازه می‌دهد تا تورژسانس خود را در پتانسیل‌های آبی پایین‌تر حفظ کنند و در نتیجه امکان رشد خود را حفظ نمایند (8). کنترل روزنه‌ای یک مکانیسم ویژه و مهم در گونه‌های متحمل به خشکی است که به واسطه تعدیل روزنه‌ای این تحمل را بدست آورند. در نتیجه‌ی بسته شدن روزنه‌ها، دمای برگ به علت کاهش تعرق در گیاهان تحت تنش خشکی، افزایش می‌یابد (9). در مطالعه حاضر اختلاف معنی داری بین تیمارها از نظر ویژگی‌های روزنه‌ای پیدا نشد. این نتایج نشان می‌دهد که هیبریدهای بین گونه‌ای مورد استفاده در این پژوهش از مکانیسم تنظیم روزنه‌ای برای کنترل هدررفت آب برخوردار نیستند بلکه مکانیسم‌های دیگری در مقاومت کلون‌ها به تنش خشکی نقش دارد. با توجه به عدم کنترل گشودگی روزنه‌ها در شرایط تنش، دمای برگ در بین تیمارهای مختلف معنی دار نبود (4).

تحمل به خشکی به عنوان توانایی رشد، گلدهی و نمایش عملکرد اقتصادی، تحت شرایط مقدار آب کمتر از حد مطلوب تعریف می‌شود. در این مرحله، مکانیسم‌هایی مانند تجمع املاح سازگار و پروتئین‌های محافظ، سخت شدن دیواره سلولی، سم زدایی ROS و تغییرات متابولیک در ایجاد تحمل به خشکی دخیل هستند (10). پژوهش حاضر نشان داد کلون‌های متحمل به خشکی با افزایش قابل توجهی در اسمولیت‌های ریشه و برگ همراه بودند در حالیکه کلون‌های حساس نه تنها قادر به سنتز اسمولیت نبودند بلکه

کاهش معنی‌داری در اسمولیت ریشه و برگ نسبت به شاهد داشتند. پژوهشگران در تحقیقات خود بیان کرده‌اند، تنش خشکی به طور غیرمستقیم، موجب افزایش مواد جامد محلول، کاهش میزان اسید کل، افزایش در محتوای برخی اسیدهای آمینه همچون پرولین، افزایش آنتوسیانین و افزایش آنتی‌اکسیدان‌ها در ژنوپ‌های مقاوم می‌گردد (13).

### نتیجه‌گیری کلی

مطالعه حاضر نشان داد تعدیل روزنه‌ای در مقاومت کلون‌ها به تنش خشکی نقشی ایفای نمی‌کند بلکه مکانیسم‌های دیگری در تحمل کلون‌ها به تنش خشکی دخیل هستند که مطالعات بعدی باید در راستای بررسی و تبیین رابطه بین معماری ریشه و خصوصیات رشدی در مقاومت به تنش خشکی هیبریدهای مورد آزمون و بررسی و درک مکانیسم مولکولی دخیل در تحمل به خشکی در هیبریدهای کلونی بین گونه‌ای انجام گیرد.

### تشکر و قدردانی

بدینوسیله از موسسه پژوهشی فناوری‌های باغبانی رویش سبز فردا (پیستاتپ) که مواد گیاهی مورد نیاز این پژوهش را فراهم نمودند و نیز صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور (INSF) به خاطر حمایت‌های خود در اجرای این پژوهش، تشکر و قدردانی می‌گردد.

### منابع مورد استفاده

1. **Abobatta, W. F. (2019).** Drought adaptive mechanisms of plants—a review. *Advances in Agriculture and Environmental Science: Open Access (AAEOA)*, 2(1), 42–45. <https://doi.org/10.30881/aaeo.00021>
2. **Akbari, M., Hokmabadi, H., Heydari, M., & Ghorbani, A. (2020).** ‘Arota’: A New Interspecific Hybrid Pistachio Rootstock. *HortScience*, 55(6), 965–966.
3. **Aliniaiefard, S., and Van Meeteren, U. (2016).** Stomatal characteristics and desiccation response of leaves of cut chrysanthemum (*Chrysanthemum morifolium*) flowers grown at high air humidity. *Scientia Horticulturae*, 205, 84–89. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.04.025>
4. **Hamed, S. B., Lefi, E. E., and Chaieb, M. (2022).** Growth Phenology of Pistachio Seedlings under Water Stress and Rehydration Conditions. *Journal of Plant Biology and Crop Research*, 5(1), 1060. <http://meddocsonline.org>.
5. **Jacygrad, E., Preece, J. E., Palmer, W. J., Michelmore, R., & Golino, D. (2020).** Phenotypic segregation of UCB-1 hybrid pistachio rootstock. *Trees - Structure and Function*, 34(2), 531–541.
6. **Khoyerd, F. F., Shamshiri, M. H., and Estaji, A. (2016).** Changes in some physiological and osmotic parameters of several pistachio genotypes under drought stress. *Scientia Horticulturae*, 198, 44–51. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.11.028>
7. **Mart, K. B., Veneklaas, E. J., and Bramley, H. (2016).** Osmotic potential at full turgor: An easily measurable trait to help breeders select for drought tolerance in wheat. *Plant Breeding*, 135(3), 279–285. <https://doi.org/10.1111/pbr.12367>
8. **Moriana, A., Memmi, H., Centeno, A., Martín-Palomo, M. J., Corell, M., Torrecillas, A., and Pérez-López, D. (2018).** Influence of rootstock on pistachio (*Pistacia vera* L. cv Kerman) water relations. *Agricultural Water Management*, 202, 263–270. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2017.12.026>
9. **Nezami, S. R., Yadollahi, A., Hokmabadi, H., and Tajabadipour, A. (2021).** Changes in Drought Tolerance Mechanism at Different Times of Stress and Re-hydration in Hybrid Pistachio Rootstock S. R. Nezami et al *Journal of Nuts* 12(0) (2021) 000-000. *Journal of Nuts Journal Homepage: Ijnrs.Damghaniau.Ac.Ir Journal of Nuts*, 12(0), 0–000. <https://doi.org/10.22034/jon.2021.1937156.1122>
10. **Osmolovskaya, N., Shumilina, J., Kim, A., Didio, A., Grishina, T., Bilova, T., Keltsieva, O. A., Zhukov, V., Tikhonovich, I., Tarakhovskaya, E., Frolov, A., and Wessjohann, L. A. (2018).** Methodology of drought stress research: Experimental setup and physiological characterization. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(12). <https://doi.org/10.3390/ijms19124089>
11. **Pourmohammadali, B., Hosseinifard, S. J., Hassan Salehi, M., Shirani, H., and Esfandiarpour**

- Boroujeni, I. (2019).** Effects of soil properties, water quality and management practices on pistachio yield in Rafsanjan region, southeast of Iran. *Agricultural Water Management*, 213, 894–902. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2018.12.005>
12. **Raoufi, A., Salehi, H., Rahemi, M., Shekafandeh, A., and Khalili, S. (2021).** In vitro screening: The best method for salt tolerance selection among pistachio rootstocks. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 20(3), 146–154. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2020.12.010>
13. **Romero, H., Pott, D. M., Vallarino, J. G., and Osorio, S. (2021).** Metabolomics-based evaluation of crop quality changes as a consequence of climate change. In *Metabolites* (Vol. 11, Issue 7). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/metabo11070461>

## Effect of Stomatal Parameters and Osmoregulation on Drought Resistance in some Pistachio Clonal Hybrids

Mozhdeh Osku<sup>1</sup>, Mahmoud Reza Roozban<sup>2\*</sup>, Saadat Sarikhani<sup>2</sup>, Mohammad Mehdi Arab<sup>3</sup> and Kouros Vahdati<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Ph.D Candidate, Department of Horticulture, College of Aburaihan, University of Tehran, Iran

<sup>2</sup> Academic Board Member, Department of Horticulture, College of Aburaihan, University of Tehran, Iran

<sup>3</sup> Academic Board Member, Department of Biotechnology, Tarbiat Modares University Tehran, Iran

\*Corresponding Author: [mr00zban@ut.ac.ir](mailto:mr00zban@ut.ac.ir)

### Abstract

Drought is considered the most important limiting factor for the growth and development of pistachio cultivation in Iran. Although pistachio trees are somewhat resistant to drought, the quantity and quality of the nuts significantly decrease under drought stress conditions. To evaluate the drought resistance of pistachio hybrids, a factorial experiment based on a randomized complete block design was conducted. The factors studied in this experiment included seven interspecific pistachio hybrids and two levels of drought stress (control and stress). Drought stress in the current experiment was imposed by water withholding, while the control plants received their water requirement in full. One month after irrigation cessation, stomatal parameters, leaf temperature, and leaf and root osmotic potential of the plants were evaluated. Based on the results, no significant differences were found in terms of leaf temperature and stomatal parameters (stomatal density, stomatal aperture length, and width, stomatal length and width) between clones under stress and control conditions. The evaluation of leaf and root osmotic potential showed significant differences in the amount of osmolality present in the root and leaf between different treatments. The highest amount of leaf and root osmolality was allocated to the most resistant clone (C9-4), while the sensitive clones had the lowest amount of osmolality in their leaf and root. The leaf osmotic potential of the Arota hybrid did not show a significant difference under stress compared to the control, but under stress, the amount of osmolality in its root had a significant increase compared to the control. The present experiment showed that stomatal parameters do not play a significant role in creating drought resistance in interspecific pistachio hybrids. Therefore, in order to identify the mechanisms underlying drought resistance in these hybrids, it is necessary to investigate and explain the relationship between root architecture and growth characteristics, as well as to study and understand the molecular mechanisms involved in drought tolerance.

**Keywords:** Arota, osmotic potential, stomatal regulation, drought stress, interspecific hybrids.

## بررسی مکانیسم مولکولی تحمل به سرما در نخود زراعی با استفاده از مطالعه مقایسه ای کل ترانسکرپتوم

علیرضا اکبری<sup>1\*</sup>، نازنین امیربختیار<sup>3</sup>، معصومه پوراسماعیل<sup>3</sup>، احمد اسماعیلی<sup>2</sup>، مهدی زهراوی<sup>3</sup>، علی بیگدلی<sup>1</sup>، زهرا سادات شبر<sup>1\*</sup>

1- گروه پژوهشی زیست‌شناسی سیستمها، پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

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

3- بخش تحقیقات ژنتیک و بانک ژن گیاهی ملی ایران، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

### چکیده:

نخود (*Cicer arietinum*) یکی از حبوبات مهمی است که در بسیاری از نقاط جهان رشد می‌کند. نخود به عنوان گونه‌ای حساس به سرما طبقه‌بندی می‌شود. کاهش ناگهانی در زمستان و سرمای دیرس اواخر بهار منجر به کاهش قابل توجهی در تولید نخود می‌شود. شناسایی ژن‌های کدکننده و غیرکدکننده و مکانیسم‌های دخیل در تحمل به سرما در راستای اصلاح مولکولی این گیاه برای این صفت ضروری است. در این مطالعه، ترانسکرپتوم دو ژنوتیپ نخود کابلی سارال (متحمل به سرما) و ILC533 (حساس به سرما) مورد توالی‌یابی و مقایسه قرار گرفت. ژن‌های کدکننده و غیرکدکننده (miRNAها و lncRNAها) پاسخ دهنده به تنش سرما شناسایی شدند و الگوی بیان آنها در دو ژنوتیپ مورد بررسی قرار گرفت. همچنین، ژن‌های دارای بیان افتراقی که به طور اختصاصی در ژنوتیپ متحمل به تنش سرما پاسخ دادند مشخص شدند و آنالیز هستی‌شناسی آنها انجام شد. بررسی هم‌زمان ژن‌های کدکننده و غیرکدکننده پاسخ دهنده به تنش سرما در ارقام آستانه‌ای، نشان داد که ژنوتیپ متحمل مکانیسم‌های کارآمدتری را برای افزایش تحمل به سرما به کار گرفته است که شامل miRNAها و lncRNAهایی است که ژن‌های تنظیمی کلیدی مثل عوامل رونویسی را تنظیم کرده و منجر به راه اندازی به موقع فرآیندهای دخیل در تحمل به سرما می‌شوند.

واژگان کلیدی: نخود، تنش سرما، RNA غیرکدکننده، RNA-seq

### مقدمه

نخود یکی از مهمترین محصولات مناطق سردسیر است که در مناطق خشک و نیمه‌خشک جهان کشت می‌شود، در سال 2020، تولید جهانی نخود 15 میلیون تن از مساحت 14 میلیون هکتار برآورد شد (FAO, 2019). نخود به عنوان گونه‌ای حساس به سرما طبقه‌بندی می‌شود. کاهش ناگهانی دمای پاییز، دمای یخبندان در زمستان و سرمای دیرس اواخر بهار منجر به تلفات قابل توجهی در تولید نخود می‌شود (حدود 40٪ کاهش کلی) (Dinari et al., 2013). گیاهان با تغییر سطوح بیان ژن‌های مرتبط با تنش، که منجر به تغییرات در چندین فرآیند بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی و مولکولی می‌شود، به تنش سرما پاسخ می‌دهند (Liu et al., 2019, Sharma)



(and Nayyar, 2016). علاوه بر این مطالعات پیشین در مورد RNAهای غیرکدکننده گیاهی نشان می‌دهد که RNAهای غیرکدکننده نقش امیدوارکننده‌ای برای افزایش تحمل تنش در گیاهان دارند، زیرا آنها می‌توانند چندین ژن که بیشتر آنها عوامل رونویسی هستند را هدف قرار دهند (Liu et al., 2017). علاوه بر این، RNAهای غیرکدکننده سایر واسطه‌های مرتبط با تنش مانند پیام‌رسانها، پروتئین‌کینازها، اجزای سیگنال‌دهی فیتوهورمون‌ها و آنزیم‌های از بین برنده انواع اکسیژن فعال (ROS) را نیز تنظیم می‌کنند (Singh et al., 2021). این مطالعه راه را برای درک مکانیسم‌های مولکولی نهفته در پاسخ به تنش سرما و تحمل بهتر تنش در نخود باز می‌کند. شناسایی ژن‌های کدکننده و غیرکدکننده مهم دخیل در تحمل به تنش سرما در نخود به گسترش ارقام جدید متحمل به سرما در این گیاه کمک می‌کند که با استفاده از تکنیک‌های جدید زیست‌فن‌آوری و ابزارهای بیوانفورماتیک، امکان‌پذیر می‌باشد.

#### مواد و روش‌ها

در این مطالعه از دو ژنوتیپ نخود کابلی با فنوتیپ آستانه‌ای به نام‌های سارال (متحمل به سرما) و ILC533 (حساس به سرما) استفاده شد. گیاهان در یک اتاقک رشد با دمای  $20 \pm 3$  درجه سانتی‌گراد، دوره نوری 16/8 (روز/شب) و رطوبت نسبی 75 درصد رشد کردند. در مرحله 4-5 برگی، نیمی از گیاهان در معرض دمای 4 درجه سانتی‌گراد و بقیه در دمای  $20 \pm 3$  درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از 12 و 72 ساعت، نمونه‌های برگ‌ها از هر دو گیاه شاهد و تحت تیمار سرما تهیه شد. RNA کل از هر دو نمونه شاهد و تحت تیمار سرما با استفاده از کیت RNeasy Plant Mini (Qiagen) بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده استخراج شد. کتابخانه‌های cDNA از RNA کل استخراج شده از دو تکرار زیستی شاهد و تیمار سرما در 12 ساعت ساخته شد. توالی‌یابی به فرمت Paired end با استفاده از پلت فرم Illumina Hiseq 2500 در مؤسسه بیوانفورماتیک Novogene (پکن، چین) انجام شد. از نرم‌افزار تحت لینوکس FastQC برای کنترل کیفیت داده‌های اولیه حاصل از توالی‌یابی RNA استفاده شد. داده‌های حاصل از توالی‌یابی با استفاده از نرم‌افزار تحت لینوکس TopHat بر روی ژنوم رفرنس نخود نقشه‌یابی شدند. همگذاری ترانسکرپتوم با استفاده از نرم‌افزار Cufflinks انجام شد. برای مشخص کردن ژن‌های با بیان متفاوت تحت دو شرایط شاهد و تنش سرما از نرم‌افزار تحت لینوکس Cuffdiff استفاده شد. عوامل رونویسی پاسخ‌دهنده به تنش (TFs)<sup>10</sup>، مسیرهای متابولیکی و هستی‌شناسی (GO)<sup>11</sup> ژن‌های پاسخ‌دهنده به تنش تجزیه و تحلیل شد. آنالیزهای بیوانفورماتیکی با استفاده از سرور پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی ایران انجام شد. پیش‌بینی ریزRNAها توسط نرم‌افزار C-mii با استفاده از رویکرد جستجوی همولوژی براساس پارامترهای پیش فرض انجام شد. برای پیش‌بینی ژن‌های هدف miRNAها از نرم‌افزار (<https://www.zhaolab.org/psRNATarget/analysis>) psRNATarget استفاده شد. پیش‌بینی lncRNAها با استفاده از PLncPRO انجام شد. برای شناسایی ژن‌های هدف lncRNAها از نرم‌افزار LncTar (<http://www.cuilab.cn/lncTar>) استفاده شد.

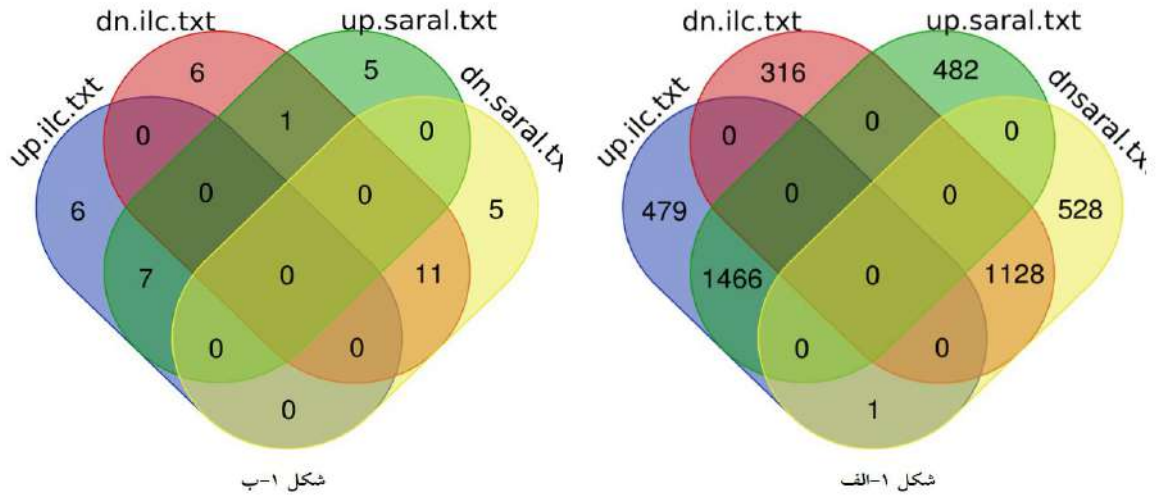
#### نتایج و بحث

بعد از توالی‌یابی، حذف آداپتورها و خوانش‌های با کیفیت پایین منجر به شناسایی 199 میلیون خوانش تمیز باقی مانده شد که بیش از 88,70 درصد از آنها دارای امتیاز کیفیت Phredlike در سطح Q30 بودند. در رقم سارال و لاین ILC533 به ترتیب 3726 و 3485 ژن تحت شرایط تنش بیان افتراقی نشان دادند. ژن‌های افتراقی که به طور اختصاصی در دو ژنوتیپ به تنش سرما پاسخ دادند

<sup>10</sup> Transcription Factor

<sup>11</sup> Gene Ontology

با استفاده از رسم ون دیاگرام مشخص شدند (شکل 1-الف). آنالیز هستی‌شناسی مربوط به ژن‌های افتراقی افزایش بیان یافته در هر دو رقم نشان داد که در بخش فرآیندهای زیستی، گروه‌های مهمی چون پاسخ به تحریک کننده‌ها، پاسخ به تنش و پاسخ به تحریک کننده‌های غیرزیستی غنی شده بودند. در بخش اجزای سلولی، غشا پلاسمایی و دیواره سلولی دارای فراوانی معنی‌دار بودند (شکل 2). در رقم سارال، مسیرهای برتر<sup>12</sup> KEGG شامل مسیرهای ریبوزومی، سیگنالینگ هورمون‌های گیاهی و مسیرهای MAPK بودند که مسیرهای مهمی در پاسخ به تنش‌های زنده و غیر زنده در گیاهان می‌باشند.



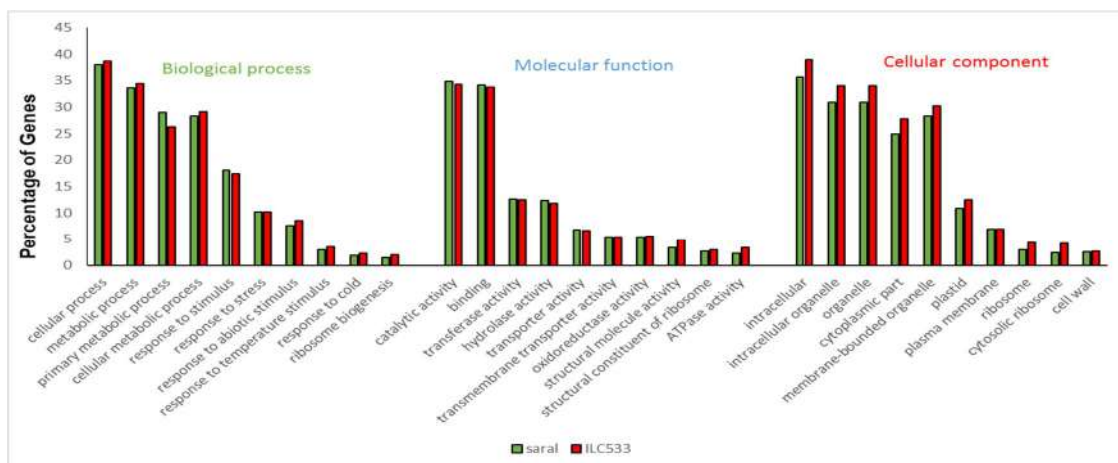
شکل 1- مقایسه نحوه پاسخ ژن‌های افتراقی (الف) و ریزRNAها (ب) به تنش سرما در ژنوتیپ‌های متحمل و حساس تحت بررسی

up. ilc ژن‌ها با افزایش بیان معنی‌دار در لاین ILC533 در تنش سرما، dn.ilc: ژن‌ها با کاهش بیان معنی‌دار در لاین ILC533 در تنش سرما، up.saral:

ژن‌ها با افزایش بیان معنی‌دار در رقم سارال در تنش سرما، dn.saral: ژن‌ها با کاهش بیان معنی‌دار در رقم سارال در تنش سرما

up.ilc: ریزRNAهای با افزایش بیان معنی‌دار در رقم ILC در شرایط تنش سرما dn.ilc: ریزRNAهای با کاهش بیان معنی‌دار در رقم ILC

up.saral: ریزRNAهای با افزایش بیان معنی‌دار در رقم Saral dn.saral: ریزRNAهای با کاهش بیان معنی‌دار در رقم Saral



شکل 2- طبقه‌بندی GO برای ژن‌های با بیان افتراقی در ژنوتیپ‌های Saral و ILC533

در این مطالعه، در مجموع 100 و 103 miRNA با جستجوی همسانی به ترتیب در ژنوتیپ متحمل و حساس پیش‌بینی شد. به طوریکه، تعداد 29 و 31 ریز RNA بالغ افتراقی، به ترتیب برای رقم سارال و لاین ILC533 شناسایی شد. ریز RNAهای افتراقی که به طور اختصاصی در دو ژنوتیپ به تنش سرما پاسخ دادند با استفاده از رسم وندیاگرام مشخص شدند (شکل 1ب). نتایج حاصل از شناسایی ژن‌های هدف در بین ژن‌های دچار بیان افتراقی نشان داد که بیشتر ژن‌های هدف پیش‌بینی شده از گروه عوامل رونویسی هستند. همچنین در این مطالعه، تعداد 3068 رونوشت lncRNA برای رقم سارال و تعداد 3096 رونوشت lncRNA برای لاین ILC533 شناسایی شد. که از این تعداد، 55 و 38 lncRNA دچار بیان افتراقی به ترتیب برای رقم سارال و لاین ILC533 شناسایی شد. نتایج نشان داد که در رقم سارال از بین 55 lncRNA دچار بیان افتراقی در مجموع 25 lncRNA، 227 ژن با بیان افتراقی را به عنوان تارگت هدف قرار می‌دهد. همچنین نتایج نشان داد که در رقم ILC533 از بین 38 lncRNA دچار بیان افتراقی در مجموع 12 lncRNA، 139 ژن با بیان افتراقی را به عنوان تارگت هدف قرار می‌دهد.

به طور کلی ژن‌های پیش‌بینی شده هدف غیرکدکننده‌ها، عمدتاً در فرآیندهای پاسخ به تنش‌های غیرزیستی نقش دارند. برای مثال miR156 که به عنوان یکی از miRNAهای اصلی درگیر در تحمل سرما شناخته شده است، تحت تنش سرما در سارال افزایش بیان و در ILC533 کاهش بیان داشت. شواهد نشان می‌دهد که miRNAها با هدف قرار دادن فاکتورهای رونویسی، نقش‌های مختلفی را در عملکرد گیاه از رشد تا پاسخ به تنش ایفا می‌کنند. مطالعات پیشین نشان دادند که بیش بیان OsmiR156 تحمل تنش به سرما را در گونه‌های مختلف گیاهی افزایش می‌دهد. نتایج آنها نشان داد افزایش بیان OsmiR156 سبب کاهش بیان ژن *OsSPL3* می‌شود که به نوبه خود سبب افزایش بیان ژن‌های *OsMYB2* و *OsMYB3R-2* می‌شود. از طرفی افزایش بیان *OsMYB2* سبب افزایش بیان ژن‌های پاسخ به تنش *OsLEA3*، *OsCTP1* و *OsDREB2A* می‌شود و از این طریق سبب مقابله با تنش سرما می‌شود (Zhou et al., 2019) که مطابق با یافته‌های ما در این مطالعه بود.

همچنین بررسی برهمکنش بین miRNAها و lncRNAها نشان داد که miR156 با دو lncRNA (LOC101492349, LOC113786203, LOC101509731) در رقم سارال و با دو lncRNAs (NC\_021161.1:26907224-26908469) در رقم ILC533

برهمکنش دارد. علاوه بر این، miR319 را می‌توان به عنوان یکی دیگر از miRNAهای مهم درگیر در تحمل سرما در نخود در نظر گرفت که به طور انحصاری در رقم متحمل (Saral) در پاسخ به تنش سرما، کاهش بیان داشت. ژن فاکتورهای رونویسی (*TCP4*، *TCP2*) و *TCP* هدف اصلی miR319 است (Jones et al., 2004). مطالعات اخیر نشان داده اند که افزایش *TCP4* می‌تواند به طور قابل توجهی ضخامت دیواره سلولی را افزایش دهد، تشکیل آوند چوبی و رسوب لیگنین و سلولز را بهبود بخشد. افزایش ضخامت دیواره سلولی و lignification می‌تواند تحمل سرما را در گیاهان افزایش دهد. همچنین بررسی برهمکنش بین miRNAها و lncRNAها نشان داد که miR319 با یک lncRNA (LOC113786218) در رقم سارال برهمکنش دارد. در نهایت، بیان اختصاصی غیرکدکننده‌ها در پاسخ به تنش سرما و نقش آنها در کنترل عوامل رونویسی می‌تواند باعث افزایش پویایی و انعطاف‌پذیری شبکه تنظیمی ژن‌ها باشد و آزادی عمل بیشتری را در نحوه پاسخ به تنش سرما موجب شود.

به طور کلی، تجزیه و تحلیل مقایسه‌ای پاسخ‌های دوژنوتیپ آستانه ای نخود به تنش سرما در سطح رونویسی نشان داد که ژنوتیپ متحمل مکانیسم‌های کارآمدتری را برای افزایش تحمل به سرما به کار گرفته است. این نتایج درک ژنتیک زیربنایی تحمل تنش سرما را بهبود می‌بخشد، که در نهایت می‌تواند به افزایش تحمل سرما در ژنوتیپ‌های نخود کمک کند. هم اکنون در ادامه پژوهش‌های گزارش شده در این مقاله، با استفاده از ابزارهای تحلیلی و بررسی ارتباطات بین ژنی از طریق بررسی شبکه هم بیانی و استخراج دستجات ژن‌های هم بیان و همچنین با استفاده از رویکردهای یادگیری ماشینی و یادگیری عمیق، تلاش می‌شود ژن‌های کلیدی نقش آفرین در تحمل به تنش سرما در نخود تعیین شوند تا بتوان براساس توالی این ژن‌ها، نشانگرهایی برای گزینش یا انتقال تحمل به سرما در برنامه‌های اصلاحی نخود توسعه داد.

## منابع

- DINARI, A., NIAZI, A., AFSHARIFAR, A. R. & RAMEZANI, A. 2013. Identification of upregulated genes under cold stress in cold-tolerant chickpea using the cDNA-AFLP approach. *PLoS one*, 8, e52757.
- LIU, Q., YAN, S., YANG, T., ZHANG, S., CHEN, Y. Q. & LIU, B. 2017. Small RNAs in regulating temperature stress response in plants. *Journal of Integrative Plant Biology*, 59, 774-791.
- LIU, Y., DANG, P., LIU, L. & HE, C. 2019. Cold acclimation by the CBF-COR pathway in a changing climate: Lessons from *Arabidopsis thaliana*. *Plant cell reports*, 38, 511-519.
- PRAKASH, P., GHOSLIYA, D. & GUPTA, V. 2015. Identification of conserved and novel microRNAs in *Catharanthus roseus* by deep sequencing and computational prediction of their potential targets. *Gene*, 554, 181-195.
- Jones-Rhoades, M.W. and D.P. Bartel, 2004 Computational identification of plant microRNAs and their targets, including a stress-induced miRNA. *Molecular cell*, 14(6): p. 787-799.
- SHARMA, K. D. & NAYYAR, H. 2016. Regulatory networks in pollen development under cold stress. *Frontiers in plant science*, 7, 402.
- SINGH, D., SINHA, V., KUMAR, A. & TEOTIA, S. 2020. Small RNAs and cold stress tolerance. *Plant Small RNA*. Elsevier.
- SINGH, P., DUTTA, P. & CHAKRABARTY, D. 2021. miRNAs play critical roles in response to abiotic stress by modulating cross-talk of phytohormone signaling. *Plant Cell Reports*, 40, 1617-1630

Zhou, M. and W. Tang, 2019 MicroRNA156 amplifies transcription factor-associated cold stress tolerance in plant cells. *Molecular Genetics and Genomics*,. **294**(2): p. 379-393

## Investigating the molecular mechanism of cold tolerance in chickpea using a comparative whole transcriptome study

Alireza Akbari<sup>1,2</sup>, Nazanin Amirbakhtiar<sup>3</sup>, Masoumeh Pouresmael<sup>3</sup>, Ahmad Ismaili<sup>2</sup>, Mehdi Zahravi<sup>3</sup>, Ali Bigdeli<sup>1</sup>, Zahra-Sadat Shobbar<sup>1\*</sup>

1. Department of Systems Biology, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII), Agricultural Research, Education and Extension Organization, Karaj, Iran
2. Department of Plant Production and Genetic Engineering, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran.
3. Department of Genetics and National Plant Gene Bank of Iran, Seed and Plant Improvement Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Karaj, Iran

### Abstract

Chickpea (*Cicer arietinum*) is one the important pulses grown in several parts of the world. Chickpea is classified as a chilling-susceptible species A sudden drop of autumn temperature, freezing temperatures in winter, and late spring cold events result in significant losses of chickpea production. Identification of coding and non-coding genes and the mechanisms involved in cold tolerance is necessary for the molecular breeding of this plant for this trait. In the current study, the transcriptome of two Kabuli chickpea genotypes including Saral (cold tolerant) and ILC533 (cold sensitive) were sequenced and compared. Coding and non-coding genes (miRNAs and lncRNAs) responsive to cold stress were identified and their expression patterns were investigated in two genotypes. Also, the differentially expressed genes which were inclusively cold responsive in the tolerant genotype were identified and the gene ontology analysis was performed. The concurrent study of coding and non-coding genes responding to cold stress in contrasting cultivars showed that the tolerant genotype employed more efficient mechanisms to increase cold tolerance, including miRNAs and lncRNAs, which control key regulatory genes such as transcription factors, to the timely launch of processes involved in cold tolerance.

**Keywords:** Chickpea, Cold stress, NON-coding RNA, RNA-seq

## رویدادهای متابولیسمی و مولکولی درگیر در کاهش زنده‌مانی و رویش دانه‌های گردو

حمیدرضا صادقی پور<sup>1\*</sup>، سیده فاطمه فلاح<sup>2</sup>، ماکسیم دانچنکو<sup>3</sup>، پیتربارات<sup>4</sup>، گیزا بودسو<sup>5</sup>، فرشید قادری فر<sup>6</sup> و مسعود گلعلی پور<sup>7</sup>

1- نویسنده مسئول: دانشیار گروه زیست‌شناسی، دانشگاه گلستان، گرگان، ایران، ایمیل: h.r.sadeghipour@gmail.com

2- دانشجوی دکتری گروه زیست‌شناسی، دانشگاه گلستان، گرگان، ایران

3- موسسه ژنتیک و بیوتکنولوژی گیاهی، مرکز علوم گیاهی و تنوع زیستی، آکادمی علوم اسلواکی، نیترا، اسلواکی

4- گروه گلیکوبیولوژی، موسسه شیمی، آکادمی علوم اسلواکی، براتیسلاوا، اسلواکی

5- مرکز تحقیقات پرورش میوه، موسسه علوم باغبانی، دانشگاه کشاورزی و علوم زیستی مجارستان، بوداپست، مجارستان

6- استاد گروه زراعت، دانشکده تولیدات گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

7- دانشیار گروه ژنتیک انسانی، دانشگاه علوم پزشکی گرگان

### چکیده

زوال دانه را کاهش قابلیت جوانه‌زنی پس از نگهداری در انبار تعریف کرده‌اند. دانه‌های گردو منبعی سرشار از لیپید و پروتئین هستند اما سرعت زوال می‌یابند. در مطالعه حاضر، دو رهیافت شیمیایی و مولکولی جهت شناسایی زوال دانه‌های گردو اتخاذ شد. در رهیافت اول دانه‌ها با ترکیبات پرواکسیدان/آنتی اکسیدان و مهارکننده لیپازی بصورت انفرادی یا ترکیبی پیش‌تیمار شدند و پس از اعمال زوال کنترل شده (3 روز، 45 درجه سانتی‌گراد) رویش آنها بررسی شد. در رهیافت دوم، الگوی پروتئوم دانه‌های زوال یافته (CD) در مقایسه با دانه‌های تیمار شده با سیانید (CN) با قدرت جوانه‌زنی بالا و شاهد آبنوشی (IM) مقایسه شد. نتایج نشان داد که ترکیبات پرواکسیدان و آنتی اکسیدان/مهارکننده لیپازی بترتیب سبب کاهش و افزایش رویش پس از زوال می‌شوند و پیش‌تیمار دانه با مهارکننده لیپازی شرط لازم و کافی برای افزایش رویش پس از زوال است. بر اساس مطالعات پروتئومیکس، 155 پروتئین از 930 پروتئین شناسایی شده دارای فراوانی متفاوت در دانه‌های زوال یافته، تیمار شده با سیانید و شاهد آبنوشی بودند. زوال دانه همراه با کاهش فراوانی پروتئین‌های مرتبط با متابولیسم لیپیدها، کربوهیدراتها، پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه و اسیدهای نوکلئیک و افزایش فراوانی پروتئین‌های مقابله با تنش اکسیداتیو، ترجمه و گلیکولیز است. این یافته‌ها حاکی از این است که علت کاهش رویش دانه در طی زوال ناشی از تنش اکسیداتیو است که سوخت آن کاتابولیسم لیپیدهای ذخیره‌ای است. از سوی دیگر تضعیف مسیرهای گلوکونوژنز، گلیکولیز، چرخه کربس و متابولیسم ترمیمی و فعال شدن چاپرون‌ها بخشی از پاسخ دانه‌های گردو در مقابل شرایط تشدیدکننده زوال است.

واژگان کلیدی: سیانید، لیپاز، تنش اکسیداتیو، پروتئوم و زوال دانه گردو

### مقدمه

زوال دانه را کاهش قابلیت جوانه‌زنی پس از نگهداری در انبار تعریف کرده‌اند. زوال دانه‌های روغنی همراه با افزایش فعالیت آنزیم‌های فسفولیپاز و لیپوکسیژناز، انباشتگی اسیدهای چرب، فسفاتیدیک اسید و افزایش پراکسیداسیون لیپید است و بعلاوه افزایش تنفس میتوکندریایی را منشاء تنش اکسیداتیو در طی زوال دانسته‌اند. شرایط محیطی بویژه رطوبت و دمای محیط این فرآیند را تسریع می‌کنند. علیرغم مطالعات بسیار انجام شده در مورد زوال، مطالعات اندکی موفق به ارائه تصویری جامع از مکانیسم زوال در گونه‌های

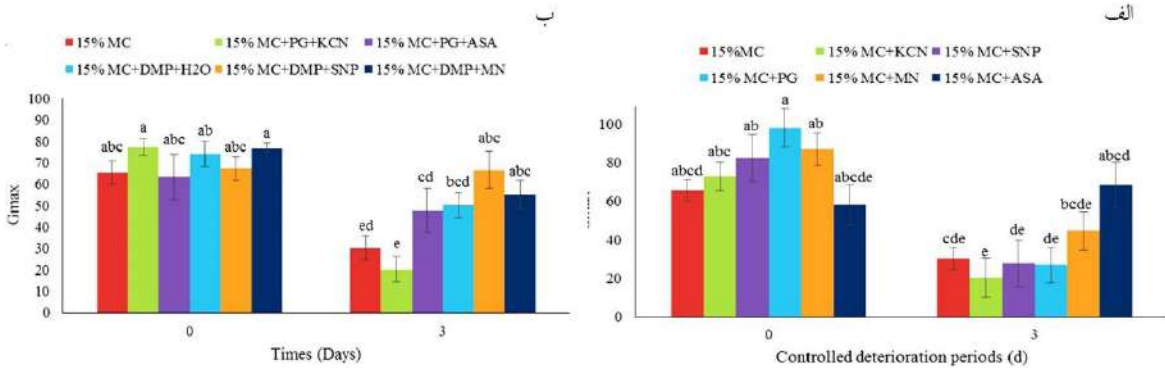
شناخته شده دانه‌های روغنی شده‌اند. گردو یکی از درختان مهم اقتصادی کشورهای مناطق معتدله است. دانه‌های آن دارای ذخایر زیاد تری گلیسرید (تا 70%) است اما این دانه در شرایط انبارداری بسرعت زوال می‌یابد. در نتیجه از یک سو قابلیت رویش آن بسرعت کاهش یافته و از سوی دیگر کیفیت تغذیه‌ای آن نیز تنزل می‌یابد. دانه‌های تازه برداشت شده گردو قبل از جوانه‌زنی دارای فعالیت لیپازی بوده و مهار این فعالیت با دی‌فنیل متیل فسفانات (DMP) سبب حفظ قدرت جوانه‌زنی دانه پس از مواجهه با شرایط زوال می‌شود (Pournik et al., 2019). بنابراین، فرضیه اول مطالعه حاضر این است که شکستن ذخایر لیپیدی عامل بروز تنش اکسیداتیو و در نتیجه مرگ دانه‌ها در شرایط زوال است. از سوی دیگر، تشدید رویش دانه‌های گردو در شرایط مناسب (مثل تیمار استراتیغیکاسیون یا سیانید) همراه با تشدید فعالیت‌های آنزیمی مرتبط با گلوکونوژنز لیپیدها است (Gerivani et al., 2016) در حالی که شرایطی که سبب کاهش رویش می‌شوند (مثل آبنوشی دانه در دمای محیط یا گرما) منجر به تشدید فعالیت آنزیم‌های میتوکندریایی، افزایش فعالیت لیپوکسیژناز، لیپاز، تشدید پراکسیداسیون لیپید، کاهش سطوح قند و تشدید دی‌آمیناسیون اکسایشی اسیدهای آمینه می‌شوند (Keshavrzian et al., 2014; Zarei-Ghadikolaee et al., 2010). بنابراین فرضیه دوم مطالعه حاضر این است که زوال سبب کاهش پروتئین‌های درگیر در مسیرهای متابولیسمی گلوکونوژنز و مواجهه با تنش اکسیداتیو شده و با ازدیاد پروتئین‌های لیپازی و تنفسی بر شدت تنش اکسیداتیو افزوده که نتیجه آن کاهش رویش دانه است.

### مواد و روش‌ها

در این مطالعه از دانه‌های گردو (*Juglans regia* L.) استفاده شد. میزان رطوبت اولیه دانه (MC) بر اساس وزن تر حدود 6% بود. آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی به صورت فاکتوریل انجام شد. در آزمایش اول فاکتورها شامل سطح رطوبت، زمان زوال و پیش‌تیمار با بازدارنده لیپازی دی‌فنیل متیل فسفانات (DMP)، ترکیبات آنتی‌اکسیدان آسکوربات و پرواکسیدان منادایون، پروپیل گالات، سیانیدپتاسیم و سدیم نیتروپروساید بود. در آزمایش دوم (پروتئومیکس)، تغییرات پروتئوم دانه‌های گردو در تیمارهای زوال کنترل شده (CD: دمای 45 درجه سانتی‌گراد)، سیانید پتاسیم (KCN) و شاهد آبنوشی (IM) همگی با محتوای رطوبت 15% در قیاس با دانه‌های خشک (رطوبت 6%) بررسی شد. آزمایش رویش دانه‌ها در بستر شنی به مدت 40 روز در دمای 25 درجه سانتی‌گراد انجام شد (Pournik et al., 2019). در آنالیز پروتئوم دانه‌های گردو، از محور جنینی دانه‌های گردو جهت استخراج پروتئین با فنل و رسوب‌دهی با استات آمونیوم استفاده شد (Klubicová et al., 2011). کلیه مراحل مطابق با روش Škodová-Sveráková و همکاران (2021) انجام شد.

### نتایج

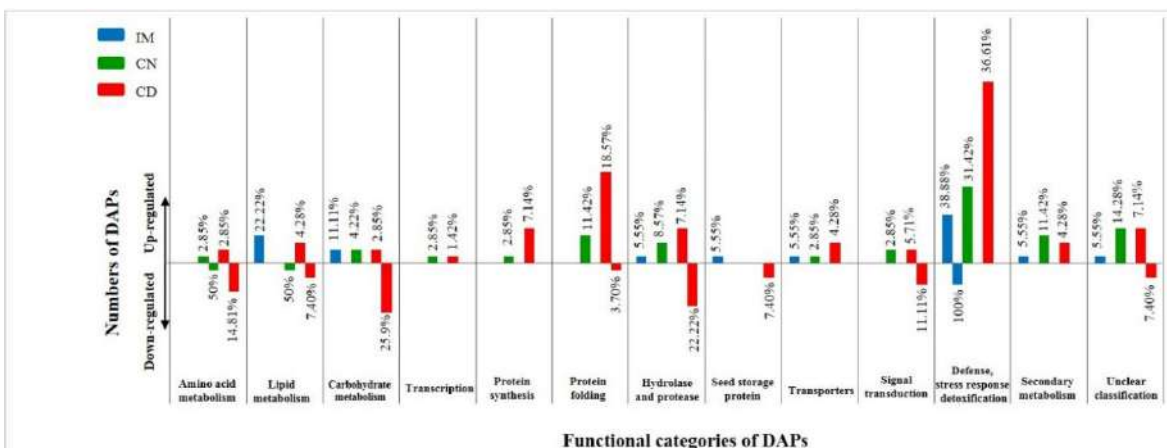
شکل 1 الف درصد رویش نهایی (Gmax) در دانه‌های گردو با سطح رطوبتی 15% پرایم شده با آب (شاهد) یا هریک از محلول‌های مختلف آنتی‌اکسیدان و پرواکسیدان (آب مقطر، KCN، SNP، PG، ASA و MN) در حالت بدون زوال و زوال یافته به مدت 3 روز را نشان می‌دهد. زوال کنترل شده به مدت 3 روز، سبب کاهش معنی‌دار رویش در کلیه تیمارهای پرایمینگ به استثنای ASA (68/23%) شد و در این شرایط رویش سایر تیمارهای پرایمینگ با شاهد دارای تفاوت معنی‌داری نبود.



شکل 1. (الف) درصد رویش نهایی ( $G_{max}$ ) در دانه‌های گردو با سطح رطوبتی 15% پرایم شده با آب (شاهد) یا هریک از محلول‌های مختلف آنتی‌اکسیدان و پرواکسیدان (آب مقطر، KCN، SNP، PG، ASA و MN) در حالت بدون زوال و زوال یافته به مدت 3 روز و (ب) درصد رویش نهایی دانه‌هایی که پیش‌تیمارهای ترکیبی (شامل PG+ASA، PG+KCN، DMP+H<sub>2</sub>O، DMP+SNP، DMP+KCN) در سطح رطوبت نهایی 15% را دریافت کرده بودند در دو حالت قبل از زوال و پس از زوال کنترل شده به مدت 3 روز. در آزمایش دوم (شکل 1 ب) رویش دانه‌هایی که بصورت ترکیبی (شامل PG+ASA، PG+KCN، DMP+H<sub>2</sub>O، DMP+SNP و DMP+KCN) در سطح رطوبت نهایی 15% پیش‌تیمار شده بودند در دو حالت قبل از زوال و پس از زوال کنترل شده به مدت 3 روز بررسی شد. کمترین درصد رویش مربوط به دانه‌های شاهد با سطح رطوبتی 15% (30/22%) و تیمار PG+KCN (20/35%) بود، اما بیشترین رویش نسبت به دانه‌های شاهد زوال یافته به ترتیب در پیش‌تیمارهای DMP+SNP (66/65%)، DMP+MN (55/23%)، DMP+H<sub>2</sub>O (50/21%) و PG+ASA (47/73%) مشاهده شد.

شکل 2 نمایی از رده‌بندی کارکردی پروتئین‌های با فراوانی متفاوت در تیمارهای مختلف دانه‌های گردو بر اساس پایگاه داده UniprotKB را نشان می‌دهد. بر این اساس پروتئین‌های با فراوانی افزایش/کاهش یافته در تیمارهای آبنوشی شاهد، سیانید و زوال در مقایسه با دانه خشک نشان داده شده‌اند. پروتئین‌هایی که بیشترین تغییرات در فراوانی را داشتند به ترتیب در دانه‌های زوال یافته، دانه‌های تیمار سیانید و شاهد آبنوشی بود. در دانه‌های زوال یافته، بیشترین پروتئین‌های با فراوانی افزوده مربوط به فرآیندهای دفاعی، پاسخ به تنش و سمیت زدایی بود و پس از آن پروتئین‌های مربوط به فرآیندهای خمش پروتئین، سنتز پروتئین، هیدرولیتیک و پروتئولیتیک، ترانسای سیگنال، متابولیسم لیپید و کربوهیدرات فراوانی بیشتری را نشان دادند. در مقابل در دانه‌های زوال یافته، بیشترین پروتئین‌های با فراوانی کاهش یافته در فرآیندهای به ترتیب متابولیسم کربوهیدرات، هیدرولازی/پروتئازی، متابولیسم اسید آمینه و ترانسای سیگنال دخالت داشتند. در دانه‌های تیمار شده با سیانید، بیشترین پروتئین‌های با فراوانی افزوده مربوط به فرآیندهای دفاعی، پاسخ به تنش/سم‌زدایی، متابولیسم ثانویه، هیدرولازی/پروتئاز و تا حدودی متابولیسم کربوهیدرات بود.





شکل 2. مقایسه فرآیندهای تشدید شده و تضعیف شده نسبت به دانه خشک در دانه‌های گردو شاهد آبنوشی (IM)، تیمار شده با سیانید (CN) و زوال یافته (CD) بر اساس پروتئین‌های با فراوانی افزوده و کاهش یافته. درصدی درج شده در بالای هر ستون نشان‌دهنده فراوانی نسبی هر فرآیند در تیمار مطالعه شده است.

## بحث

پیش تیمار دانه‌های گردو با ترکیبات پرواکسیدان (PG، SNP، MN و KCN) سبب کاهش شدید رویش در طی زوال شد (شکل 1 الف). پس از زوال، دانه‌هایی که پیش تیمار آسکوربات را دریافت کرده بودند دارای بیشترین رویش بودند. سرکوب فعالیت اکسیداز جایگزین توسط PG و یا مهار کمپلکس IV میتوکندری توسط KCN و یا SNP می‌تواند منجر به حادثه شدن تنش اکسیداتیو و در نتیجه کاهش رویش شود (Ratajczak et al., 2019). از سوی دیگر، پیش تیمار آسکوربات دانه‌های گردو می‌تواند سبب توان افزوده آن‌ها در مقابله با تنش اکسیداتیو در طی زوال شود. بنابراین، ترکیبات پرواکسیدان سبب تشدید زوال و ترکیبات آنتی اکسیدان سبب مهار زوال دانه‌های گردو می‌شوند. حفظ قابلیت رویش دانه‌های گردو در طی زوال از طریق پیش تیمار با مهارکننده لیپازی DMP را ناشی از ممانعت از شکستن ذخایر لیپیدی دانه‌ها دانسته‌اند (Pournik et al., 2019). شکستن لیپیدها برای تأمین کربن و انرژی رویش لازم است و همچنین می‌تواند منشاء تولید ROS باشد (Xiang et al., 2023). لذا آزمایش دوم (شکل 1 ب) در جستجوی پاسخ به این سوال بود که آیا کاهش رویش دانه‌های گردو در طی زوال ناشی از بروز تنش اکسیداتیو متعاقب شکستن ذخایر لیپیدی است؟ بیشترین رویش پس از زوال، به ترتیب در پیش تیمارهایی اتفاق افتاد که در آن‌ها شکستن ذخایر لیپیدی (DMP+ASA)، (DMP+MN و DMP+H<sub>2</sub>O) یا تنش اکسیداتیو (PG+ASA) مهار شده بود. پیش تیمار دانه‌های گردو با آسکوربات نقش اصلی کاتابولیسم لیپید در تشدید تنش اکسیداتیو طی زوال دانه‌های گردو را نشان داد زیرا پالایش ROS تولیدی ناشی از کاتابولیسم لیپید، کارآمدترین راه مقابله با اثرات نامطلوب زوال بر رویش است. کمترین رویش پس از زوال در پیش تیماری اتفاق افتاد که در آن شکستن ذخایر لیپیدی همراه با احتمال بروز تنش اکسیداتیو شدید (PG + KCN) بود (شکل 1 ب). بنابراین، کاهش زنده‌مانی دانه‌های گردو در طی زوال ناشی از بروز تنش اکسیداتیوی است که خاستگاه آن شکستن ذخایر لیپیدی است.

نتایج بدست آمده از رهیافت پروتئومیکس نشان داد که زوال توان بسیاری از مسیرهای متابولیکی دانه‌های گردو را متاثر می‌سازد. در این راستا زوال سبب تغییر و اختلال در شکستن پروتئین‌های ذخیره‌ای و متابولیسم اسیدهای آمینه، تشدید تنفس، تضعیف گلوکونوژنز ذخایر لیپیدی، تقویت فرآیند ترجمه پروتئین‌ها و مهمتر از همه فعال شدن انبوهی از چاپرون‌ها و پروتئین‌های شوک

حرارتی و سیستم پالاینده گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود. در مقابل فعال شدن فرآیند رویش دانه مستلزم انباشت پروتئین‌هایی است که سبب تقویت گلوکوئوژنز ذخایر لیپیدی شده و از طرفی کاتابولیسم تنفسی پروتئین‌ها و اسیدهای آمینه را در حد بهینه کنترل می‌کنند.

منابع

Gerivani, Z., Vashae, E., Sadeghipour, H.R., Aghdasi, M., Shobbar, Z.S. and Azimmohseni, M., 2016. Short versus long term effects of cyanide on sugar metabolism and transport in dormant walnut kernels. *Plant Science*, 252, pp.193-204.

Keshavarzian, M., Gerivani, Z., Sadeghipour, H.R., Aghdasi, M. and Azimmohseni, M., 2013. Suppression of mitochondrial dehydrogenases accompanying post-glyoxylate cycle activation of gluconeogenesis and reduced lipid peroxidation events during dormancy breakage of walnut kernels by moist chilling. *Scientia Horticulturae*, 161, pp.314-323.

Klubíková, K., Danchenko, M., Skultety, L., Berezhna, V.V., Hricová, A., Rashydov, N.M. and Hajduch, M., 2011. Agricultural recovery of a formerly radioactive area: II. Systematic proteomic characterization of flax seed development in the remediated Chernobyl area. *Journal of proteomics*, 74(8), pp.1378-1384.

Pournik, S., Abbasi-Rostami, M., Sadeghipour, H.R. and Ghaderi-Far, F., 2019. True lipases beside phospholipases contribute to walnut kernel viability loss during controlled deterioration and natural aging. *Environmental and Experimental Botany*, 164, pp.71-83.

Ratajczak, E., Małeczka, A., Ciereszko, I. and Staszak, A.M., 2019. Mitochondria are important determinants of the aging of seeds. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(7), p.1568.

Škodová-Sveráková, I., Záhonová, K., Juricová, V., Danchenko, M., Moos, M., Baráth, P., Prokopchuk, G., Butenko, A., Lukáčová, V., Kohútová, L. and Bučková, B., 2021. Highly flexible metabolism of the marine euglenozoan protist *Diplonema papillatum*. *BMC biology*, 19(1), pp.1-21.

Xiang, F., Liu, W.C., Liu, X., Song, Y., Zhang, Y., Zhu, X., Wang, P., Guo, S. and Song, C.P., 2023. Direct balancing of lipid mobilization and reactive oxygen species production by the epoxidation of fatty acid catalyzed by a cytochrome P450 protein during seed germination. *New Phytologist*, 237(6), pp.2104-2117.

Zarei-Ghadikolaee, M., Abdolzadeh, A. and Sadeghipour, H.R., 2010. Arginase, glutamine synthetase and glutamate dehydrogenase activities in moist chilled and warm-incubated walnut kernels. *Trees*, 24(3), pp.425-433.

Molecular and metabolic events leading to viability loss and declined germination in walnut kernels

Hamid Reza Sadeghipour<sup>1\*</sup>, Seyede Fatemeh Fallah<sup>2</sup>, Maksym Danchenko<sup>3</sup>, Peter Baráth<sup>4</sup>, Géza Bujdosó<sup>5</sup>, Farshid Ghaderi-Far<sup>6</sup>, and Masoud Golalipour<sup>7</sup>

1-Associate Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, Golestan University, Gorgan, Iran, \*Correspondence; Email: [h.r.sadeghipour@gmail.com](mailto:h.r.sadeghipour@gmail.com)

2-PhD student, Department of Biology, Faculty of Sciences, Golestan University, Gorgan, Iran

3-Institute of Plant Genetics and Biotechnology, Plant Science and Biodiversity Centre, Slovak Academy of Sciences, Nitra, Slovakia

4-Department of Glycobiology, Institute of Chemistry, Slovak Academy of Sciences, Bratislava, Slovakia

5-Research Centre for Fruit Growing, Institute of Horticultural Sciences, Hungarian University of Agriculture and Life Sciences, Budapest, Hungary

6-Professor, Department of Agronomy, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

7-Associate Professor, Medical Cellular and Molecular Research Center, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran

### **Metabolic and molecular events involved in the reduction of viability and germination of walnut seeds**

Long term storage of nuts which results in viability loss, declined germination and reduced nutritional quality is known as aging. Walnut kernels are rich in lipid and protein stores yet they age rapidly in storage. In this study both chemical and proteomic approach were adopted to reveal the metabolic and molecular mechanisms of aging in walnut kernels. In the chemical approach, control non-primed and primed kernels with lipid mobilization inhibitors, pro-oxidants or antioxidants were aged by controlled deterioration and their germination was compared. In the proteomic approach, the proteomes of kernels with low, medium and high germination potentials were compared in controlled deteriorated (CD), imbibed (IM) and cyanide-treated (CN) kernels, respectively. Data from use of chemicals showed that pro-oxidants compromised but antioxidants or lipid mobilization inhibitor improved germination of aging kernels. Also, prevention of lipid mobilization even in the presence of pro-oxidants was sufficient for improved germination of aging kernels. In the proteomic approach, 155 differentially abundant proteins out of 930 were identified. Protein folding, translation/degradation, stress response/detoxification and glycolysis were upregulated but gluconeogenesis and amino acid metabolism were down-regulated in CD kernels. CN kernels however, gluconeogenesis and oxidative pentose phosphate were upregulated. Thus, declined germination of CD kernels is due to lipid mobilization which sparks respiration and oxidative stress. These in turn compromise lipid gluconeogenesis necessary for kernel germination.

Keywords: cyanide, lipase, oxidative stress, proteome, kernel aging

## نقش ممانعت کننده های اتیلن در کشت بافت گیاهی

علی اکبر احسانپور\*، سمیه زارعی و مظفر باقر زاده

\*دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم و فناوریهای زیستی، گروه زیست شناسی گیاهی و جانوری

\* [aliakbarehsanpour2@gmail.com](mailto:aliakbarehsanpour2@gmail.com)

مقد مه:

اتیلن توسط بافت‌های کشت شده تولید می‌شود و بخشی از آن در فضای سر جمع می‌شود ولی مقدار آن بسته به مرحله رشد کشت، متفاوت است. مطالعات نشان داده است که اگرچه اتیلن ممکن است رشد قطعاتی مثل کالوس را در برخی گیاهان تقویت کند ولی ممکن است مانع تولید ساقه شود. در شرایط کشت در شیشه قطعات گیاهی و یا کالوس و سوسپانسیون سلولی هورمون اتیلن به دلایل مختلفی تولید می‌شود که اغلب اثرات زیان بار و ناهنجاری‌های زیستی متفاوتی ایجاد می‌کند و در بسیاری از گیاهان از جمله سیب‌زمینی اتیلن تولید شده باعث کاهش رشد و نمو و تغییرات مورفولوژیکی از جمله کاهش سطح برگ، افزایش طول میان‌گره، کاهش وزن خشک، ضعیف شدن ساقه و ایجاد ریشه‌های مویین فرعی (ناجنا) روی ساقه در کشت‌های کوتاه مدت 3 الی 4 هفته‌ای گیاه سیب‌زمینی و اثراتی چون ضعیف شدن گیاه را در کشت‌های طولانی مدت چند ماهه بدون هیچ واکنشی (ذخیره سازی بلند مدت) به دنبال دارد گیرنده‌های اتیلن (ETR1, ETR2, ERS1, ERS2, EIN4) تنظیم کننده‌های منفی مسیر انتقال سیگنال اتیلن اند و در غشای پلاسمایی و غشا شبکه اندوپلاسمی قرار گرفته‌اند. بعضی از اجزای مسیر سیگنالینگ اتیلن نظیر CRT و EIN2 هم دارای میانکنش با گیرنده‌ها بوده و یک کمپلکس سیگنالی را در ER تشکیل می‌دهند. در غیاب اتیلن فسفریلاسیون پروتئین CTR1 باعث فسفریله و غیر فعال شدن پروتئین EIN2 (تنظیم کننده مثبت مسیر سیگنالی پاسخ به اتیلن) می‌شود. در حضور اتیلن، هورمون از طریق یک کوفاکتور مس به گیرنده خودش در بخش N - ترمینال گیرنده متصل شده و از طریق نوعی تغییر در کانفورماسیون کمپلکس CTR1- گیرنده، CTR1 را در وضعیت غیر فعال قرار داده و به نوبت اثر مهارتی آن بر روی EIN2 برداشته می‌شود. فرم فعال EIN2 سپس دستخوش تجزیه پروتئولیزی شده و دامین C-ترمینال آن از غشای ER جدا و وارد هسته می‌شود. در هسته EIN2 از تجزیه فاکتورهای رونویسی پاسخ به اتیلن (EIN3/EIL1) توسط پروتئین‌های F-box (EBF1/2) جلوگیری نموده و از طرفی باعث القای تجزیه EBF1/2 نیز می‌شود. دایمری شدن EIN3/EIL1 و اتصالشان به ناحیه پرموتری ژن‌های مربوط به فاکتورهای رونویسی ژن‌های پاسخ‌دهنده به اتیلن (ERF)، بیان ژن‌های بعدی را سبب می‌شود [59]. ثابت شده است که یون نقره ( $Ag^+$ ) به عنوان بازدارنده عمل اتیلن، جایگزین کوفاکتور مس در گیرنده اتیلن شده و از فعالیت اجزای مسیر سیگنالینگ اتیلن و در نتیجه پاسخ‌های فیزیولوژیکی مرتبط با اتیلن جلوگیری می‌نماید.

جدول ۱- بازدارنده های اتیلن و جایگاه عمل آنها

بازدارنده	اختصار	جایگاه عمل	شکل کاربرد
۲- آمینو اتیوکسی وینیل گلیسین	2-Aminoethoxyvinyl glycine	AVG	ACC سینتاز مایع
۲- آمینوکسی استیک اسید	2-Aminooxyacetic acid	AOA	ACC سینتاز مایع

مایع	ACC اکسیداز	AIB	Aminoisobutyric acid	آمینوایزوبوتیریک اسید
مایع	ACC اکسیداز	Co <sup>2+</sup>	Cobalt ions	یون کبالت
گاز	گیرنده اتیلن	1-MCP	1-Methylcyclopropene	۱-متیل سیکلوپروپان
مایع	گیرنده اتیلن	NBD	2,5- Norbornadiene	۲ و ۵-نوربورنادین
مایع	گیرنده اتیلن	Ag <sup>+</sup> AgNO <sub>3</sub> STS	Silver ions Silver nitrate Silver thiosulfate	یون نقره نیترات نقره تیوسولفات نقره
گاز	گیرنده اتیلن	TCO	<i>trans</i> -cyclooctene	ترانس-سیکلواکتن

مواد و روشها

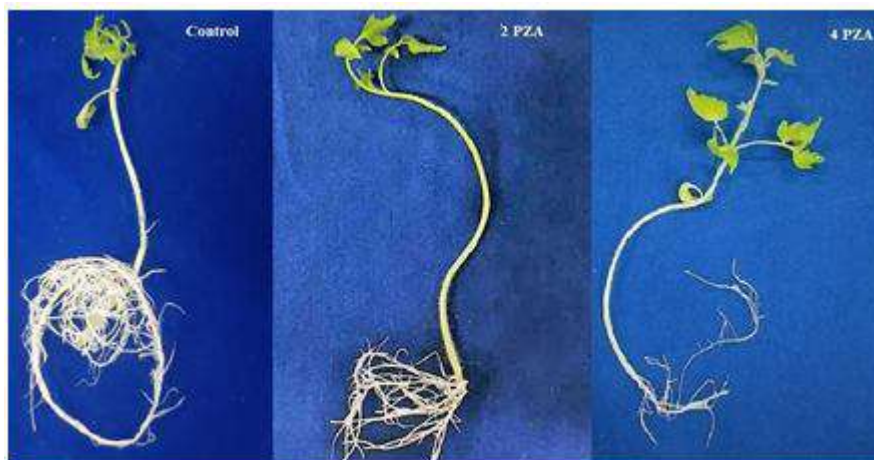
در مطالعات متعددی از تیترا نقره، تیوسولفات نقره، نانونقره، کلرور کبالت و پیرازیناماید در محدوده غلظت های متفاوت در شرایط کشت بافت استفاده شده است.

نتایج

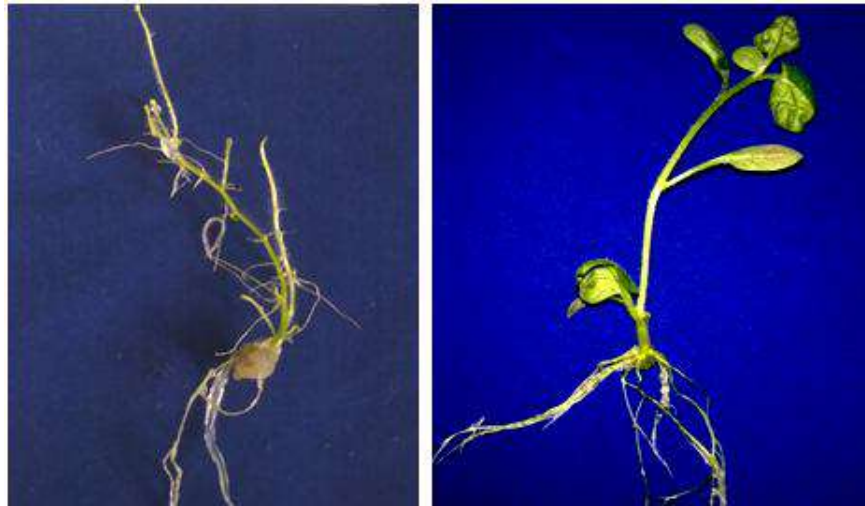


اثر نیترات نقره بر سیب زمینی

اثر تیوسولفات نقره بر سیب زمینی

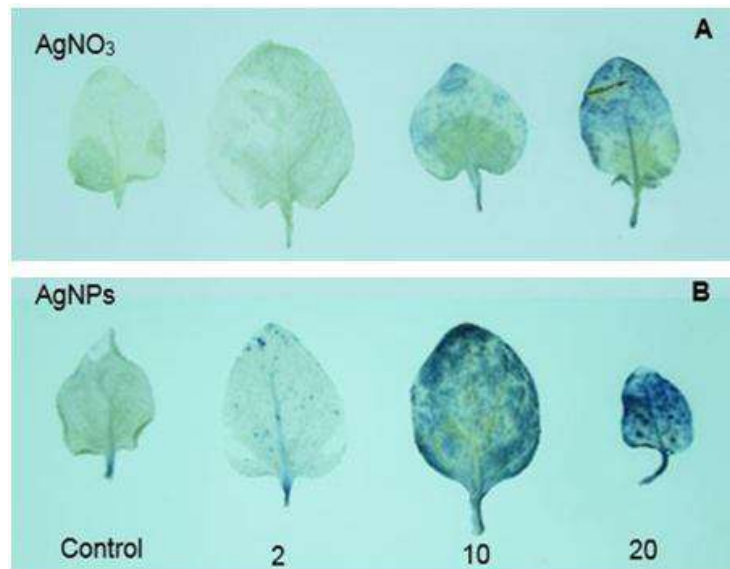


اثر پیرازیناماید بر گیاه گوجه فرنگی

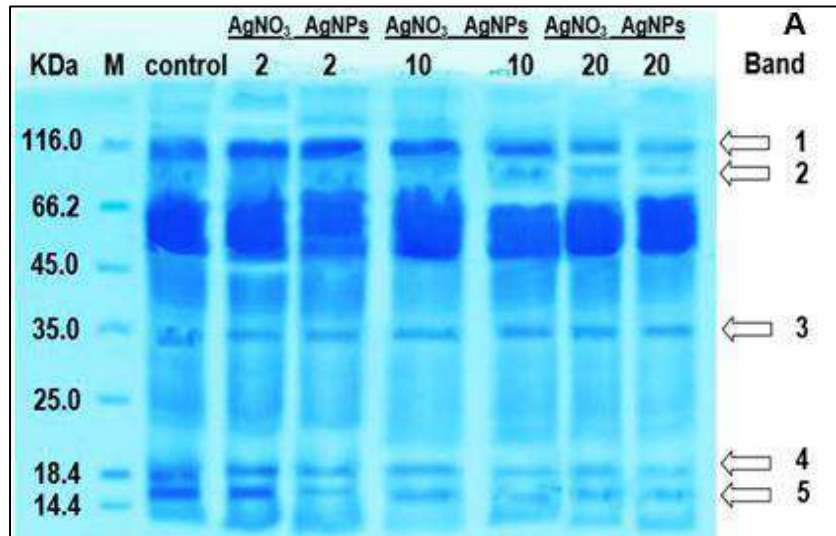


اثر کرور کبالت بر رشد گیاه سیب زمینی

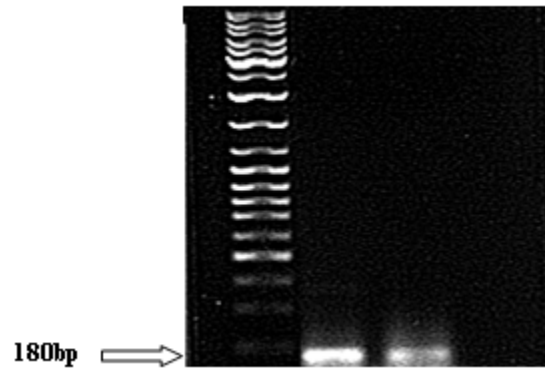
اثرات منفی ممانعت کننده های اتیلن بر کشت سیب زمینی



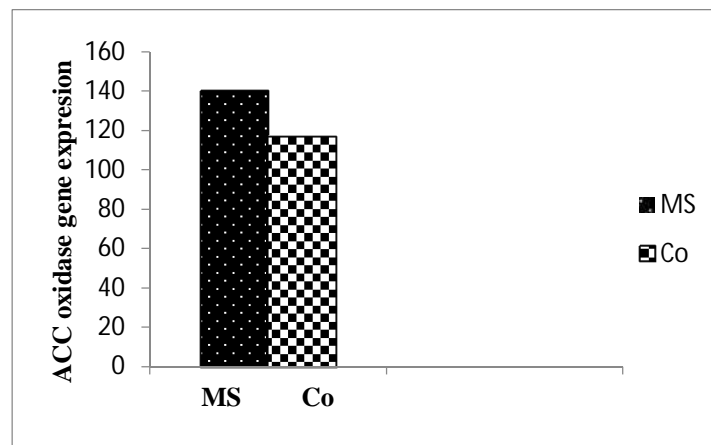
- تاثیر غلظت های مختلف نانونقره و نیترات نقره بر تجمع بافتی سوپراکسید ( $O_2^{\cdot-}$ )

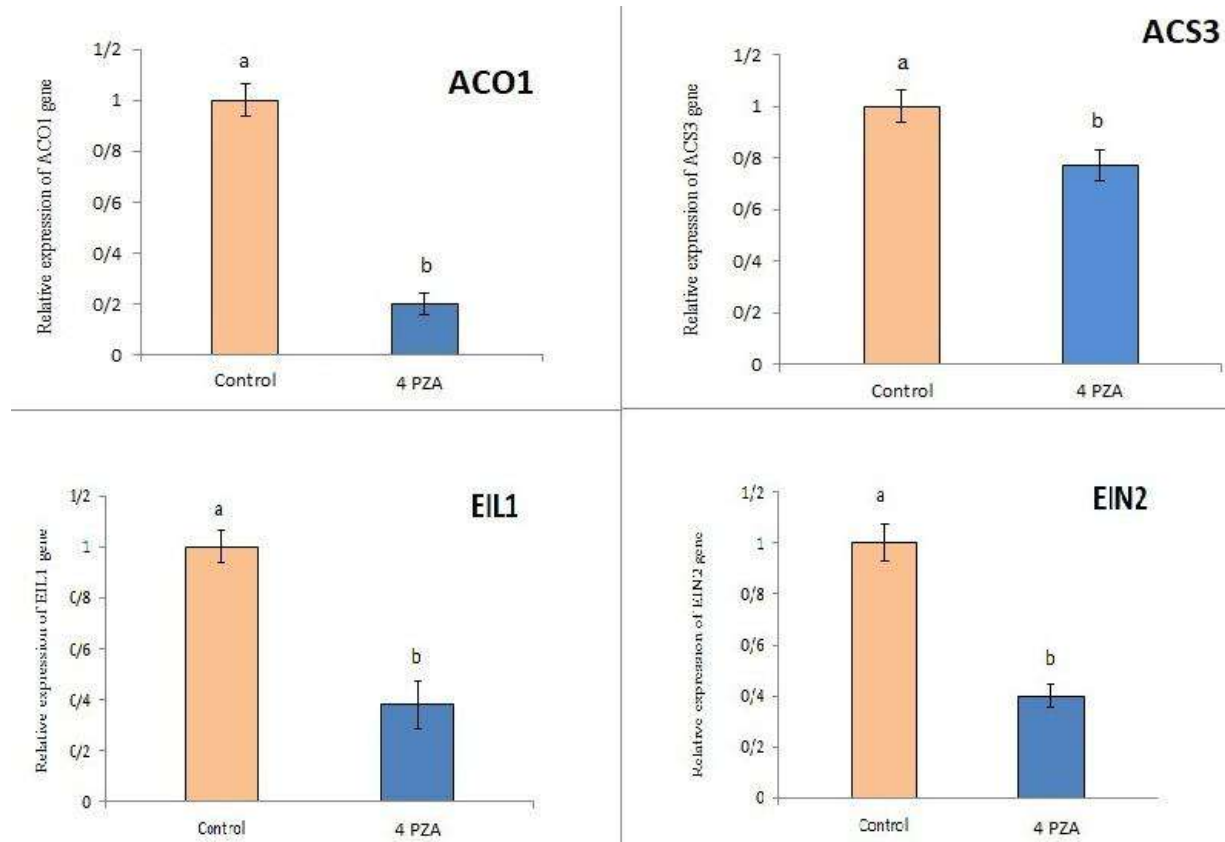


اثر ممانعت کننده های اتیلن بر الگوی پروتئینی سیب زمینی



اثر  $CoCl_2$  بر بیان ژن ACC اکسیداز در گیاه سیب زمینی.





اثر پیرازینامید بر بیان ژن های و ACS3T EIL1 T EIN2 ACo-ACo1T در گیاه گوجه فرنگی

#### بحث

اثر ممانعت کننده های اتیلن در گیاه سیب زمینی در مطالعات متعدد تا حدودی گزارش شده است. در شرایط کشت بافت گیاهی بطور اساسی اثر اتیلن و ممانعت کننده های اتیلن حد اقل در سطح سلولی و مولکولی بخوبی شناخته شده نیست.

در بین ممانعت کننده های اتیلن احتمالاً پیرازینامید با ممانعت از بیان ژن ACC اکسیداز و کاهش تولید اتیلن در شرایط کشت در شیشه می تواند بر روند تقسیم سلولی اثر گذاشته و با افزایش سرعت تقسیم سلولی و افزایش تعداد سلول در واحد سطح می تواند رشد سیب زمینی را بهبود بخشد و برگ های بزرگتری را تولید نماید. بر اساس این نتایج پیرازینامید بیشترین افزایش سطح را در غلظت های ۲،۴ میلی گرم PZA نشان داد. این نتایج با نتایج حاصل از افزایش سطح برگ در مطالعات پیشین در کاربرد بازدارنده های فعالیت و عملکرد اتیلن (STS) (Rostami and Ehsanpour., 2009) و نانوقره (Ehsanpour and Nejadi., 2013) روی گیاه سیب زمینی، کاربرد نیترات نقره  $AgNO_3$  در محیط کشت گیاه *Ficus* (Jackson, 1991) مطابقت دارد. اگر چه مکانیزم عمل یون نقره با یون کبالت در افزایش سطح برگ گیاه سیب زمینی کاملاً متفاوت است اما در نهایت اثر رشد و نمو



مشاهده شده از نظر سطح برگ مشابه هم هستند. همچنین Jayakumar و همکارانش نشان دادند که غلظت مناسب کبالت سبب افزایش سطح برگ در گیاه سویا شد (2009). در مطالعات دیگری، کبالت سبب افزایش سطح برگ و افزایش وزن خشک در *Arachis hypogaea* نشان داد (Basu., 2011). در غلظت 2 میلی‌گرم نیترات نقره هم افزایش معنی دار سطح برگ را نسبت به نمونه کنترل نشان داد

#### منابع

- Adkin, S. W., Kunanuvatchaidach, R., Gray, S. J., Adkins, A. L., (1993). Effect of ethylene and culture environment on rice callus proliferation. *Journal of Experimental Botany*, 44(12), 1829-1835.
- Bleecker, A. B., Kende, H. (2000). Ethylene: a gaseous signal molecule in plants. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*.16, 1-18.
- Djanaguiraman, M., Prasad PVV and Al-Khatib, K. (2011) Ethylene perception inhibitor 1-MCP decreases oxidative damage of leaves through enhanced antioxidant defense mechanisms in soybean plants grown under high temperature stress. *Environmental and experimental botany*. 71, 215-222.
- Ehsanpour, A.A.** and Jones, M. G. K. (2001). Plant regeneration from mesophyll protoplasts of potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivar Delaware using silver thiosulfate (STS). *Journal of Science* 12, 103-110.
- Z. Najati and **A. A. Ehsanpour** (2013) Application of nanosilver on potato plant growth and viability of protoplasts *BIOLOGICAL LETTERS*50: 35-43.
- M. Taghizadeh and **A. A. Ehsanpour** (2014) The in vitro effects of CoCl<sub>2</sub> as ethylene synthesis inhibitor on PI based protein pattern of potato plant (*Solanum tuberosum* L.) *Journal of Cell and Molecular Research* 1-41-46.
- M. Bagherzadeh and **A. A. Ehsanpour** (2015) Physiological and biochemical responses of potato (*Solanum tuberosum*) to silver nanoparticles and silver nitrate treatments under in vitro conditions. *INDIAN JOURNAL OF PLANT PHYSIOLOGY* 20:352-359.

## کاربردهای فناوری پلاسمای سرد در کشاورزی

<sup>1</sup>فاطمه نصیبی

\*دانشیار فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر کرمان

Email : Nasibi.f@uk.ac.ir

<sup>2</sup>هادی نوری

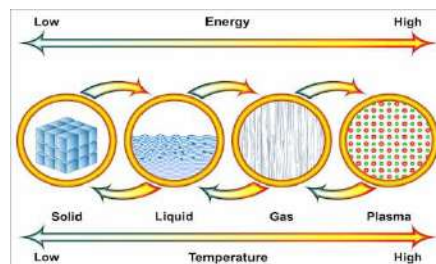
استادیار دانشکده فیزیک، دانشگاه شهید باهنر کرمان

### چکیده:

پلاسمای سرد یکی از فناوریهای جدیدی است که اثرات مثبت آن در جوانه زنی، رشد و تحمل گیاهان به تنشهای زیستی و غیر زیستی در سالهای اخیر گزارش شده است. پلاسمای سرد که عنوان عنصر چهارم طبیعت را به خود اختصاص داده است، در حقیقت گاز یونیزه شده‌ای متشکل از یون‌ها، الکترون‌ها، اتم‌های خنثی، رادیکال‌ها و گونه‌های برانگیخته است. ویژگی مهم پلاسمای سرد، شکل‌گیری آن در دمای پایین (حدود دمای اتاق) است. بنابراین، می‌توان از آن برای تیمار سطوح زنده استفاده کرد. وجود یون‌ها، الکترون‌ها، اتم‌ها و رادیکال‌ها، پلاسمای سرد را به شدت واکنش‌پذیر کرده و به همین علت می‌تواند هر سطحی را دستخوش تغییرات کند. از اثرات پلاسمای سرد بر گیاهان میتوان به موارد زیر اشاره کرد: (1) افزایش میزان و سرعت جوانه‌زنی بذر گیاهان، (2) بهبود ویژگی‌های گیاه از جمله گسترش بیشتر و بهتر ریشه گیاه، (3) افزایش جذب و نفوذ آب به بذر و گیاه و کاهش مصرف آب آبیاری، (4) افزایش جذب عناصر غذایی و بهبود تغذیه گیاه، (5) افزایش تحمل و مقاومت گیاه نسبت به تنش‌های زیستی و غیر زیستی، (6) از بین بردن آلودگی‌های قارچی و باکتریایی سطح بذر، میوه‌ها و سبزیجات بدون نیاز به مصرف مواد شیمیایی

**کلمات کلیدی:** پلاسمای سرد، سد تخلیه دی الکتریک، آب فعال شده با پلاسمای

**تعریف پلاسمای سرد:** پلاسمای سرد که عنوان عنصر چهارم طبیعت را به خود اختصاص داده است، در حقیقت گاز یونیزه شده‌ای متشکل از یون‌ها، الکترون‌ها، اتم‌های خنثی، رادیکال‌ها و گونه‌های برانگیخته است (شکل 1). به بیان ساده، اگر محفظه‌ای پر از گاز (بخار آب، هوا، اکسیژن، دی‌اکسید کربن، نیتروژن، آرگون، فلئوئورکربن و...) وجود داشته باشد، بر اثر اختلاف ولتاژ، الکترون‌ها در فاصله بین دو الکترود شتاب گرفته و با برخورد به مولکول‌های گاز آنها را یونیزه می‌کنند و به این ترتیب، پلاسمای سرد ایجاد و ولتاژهای متفاوت و وجود گازهای گوناگون منجر به ایجاد پلاسمایی با ویژگی‌های متفاوت می‌شود (Laroussi, M. (2002)).



شکل شماره 1: حالات مختلف مواد در طبیعت

پلازما پر انرژی ترین شکل ماده محسوب می شود و بسیار مشابه به حالت گازی است. اما مهم ترین تفاوت های پلازما با حالت گاز شامل موارد زیر است:

- پلازما دارای هدایت الکتریکی بسیار بالایی است.
- پلازما به میدان های الکتریکی و مغناطیسی نسبت به میدان گرانشی حساس تر است.
- حرکت ذرات باردار در پلازما، منجر به تولید میدان مغناطیسی و الکتریکی می شود.
- به دلیل بی نظمی شدید و سطح انرژی بالا در پلازما، این حالت، تابش الکترومغناطیسی مختص به خود را ایجاد می کند.

**انواع پلازما:** انواع مختلف پلازما بر اساس خصوصیات مختلفی مانند درجه حرارت و فشار دسته بندی می شوند. این نوع دسته بندی به فهم بهتر ما در مورد عملکرد پلازما و نحوه استفاده از آن کمک می کند. (Federic et al., 2016). برخی از انواع پلازما عبارتند از:

- **پلاسمای سرد:** در این حالت، الکترون ها دمای بسیار بالایی دارند، اما ذرات سنگین تر مانند یونها و مولکول ها در دمای پایین تری حفظ می شوند که از این جا نام پلاسمای سرد به آن داده شده است. ویژگی مهم پلاسمای سرد، شکل گیری آن در دمای پایین (حدود دمای اتاق) است (Laroussi, 2002). این خاصیت (نزدیک بودن دما با دمای اتاق) باعث می شود پلاسمای سرد بتواند در دمای اتاق کار کند و بنابراین برای کاربردهایی که نیاز به دماهای پایین دارند، مانند برخی کاربردهای پزشکی یا کشاورزی، مناسب باشد.

- **پلاسمای گرم:** در این نوع پلازما، الکترون ها، یونها و ذرات بی بار دمای تقریباً یکسانی دارند و معمولاً در ستارگان یا هسته های فیوژنی وجود دارند (هسته ی فیوژنی اشاره به یک فرایند هسته ای دارد که در آن دو یا چند هسته ی سبک با یکدیگر ترکیب شده و یک هسته ی سنگین تر را تولید می کنند. این فرایند با تولید انرژی فراوان همراه است و منبع اصلی انرژی خورشید و سایر ستارگان است) (Federic et al., 2016).

- **پلاسمای غیر ترمویونیک:** در این نوع پلازما، دمای الکترون ها از دمای یونها بیشتر است. این نوع پلازما عموماً در اتمسفر زمین یافت می شوند (Howes, G.G., 2018).

- **پلاسمای فشار بالا و فشار پایین:** این دسته بندی بر اساس فشار گاز است که پلازما از آن تولید می شود. پلاسمای فشار بالا در فشارهای بالاتر از یک اتمسفر تولید می شود، در حالی که پلاسمای فشار پایین در فشارهای پایین تر از 1 تور (که حدود 0,001 اتمسفر است) تولید می شود (Lieberman et al., 2005).

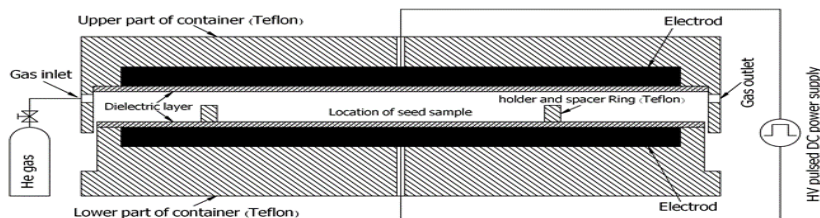
اجزای پلازما: یک دستگاه پلازما معمولاً از اجزای زیر تشکیل شده است (Thiyagarajan et al., 2013):

1. **منبع گاز:** گاز مورد نیاز برای تولید پلازما میتواند گازهای مختلفی باشد اما اکسیژن، نیتروژن، آرگون و هلیوم بیشتر استفاده می شوند.

2. تزریق کننده گاز: یک دستگاه که میزان و سرعت جریان گاز را کنترل می کند.
3. منبع تغذیه: برای ایجاد و حفظ پلاسما، منبع تغذیه الکتریکی برای تولید جریان و ولتاژ لازم است.
4. الکترودها: الکترودها نقش مهمی در تولید پلاسما دارند. بسته به طراحی، الکترودها می توانند در داخل یا خارج از دستگاه قرار گیرند.
5. محفظه: کابین و یا جایی است که در آن پلاسما تولید می شود.

روشهای استفاده از پلاسما در تحقیقات زیستی: در تحقیقات زیستی دو روش اصلی استفاده از پلاسما شامل صفحات دی الکتریک (DBD)<sup>13</sup> و آب فعال شده با پلاسما (PAW)<sup>14</sup> است.

**تخلیه سد دی الکتریک: Dielectric Barrier Discharge (DBD)** یا بارالکتریکی با مانع عایق، یک فرایند پلاسمایی است که در آن الکتریسیته از طریق ماده ای غیرهادی یا عایق انتقال می یابد. این فرایند اغلب در تولید پلاسما در دمای محیط استفاده می شود و برای مجموعه ای از کاربردها مانند تصفیه گازها، ایجاد اکسیداسیون سطحی، تخریب مواد آلی، افزایش جوانه زنی بذر در کشاورزی و غیره استفاده می شود (lu et al., 2012). در DBD، دو الکتروود با یک یا دو لایه ی عایق بین آنها قرار دارد. این لایه ی عایق باعث می شود برق از طریق اتصال مستقیم به محیط میانی انتقال نیابد، بلکه باید یک فرایند تخلیه پلاسمایی ایجاد شود. برق از طریق یک تخلیه پلاسمایی با دمای پایین که در میان محیط میانی ایجاد می شود، انتقال می یابد. این پلاسما باعث یونیزاسیون گازها در محیط میانی و ایجاد رادیکال های فعال می شود، که در بسیاری از کاربردهای فناوری پلاسما مورد استفاده قرار می گیرد (شکل 2) lu et al., 2012).

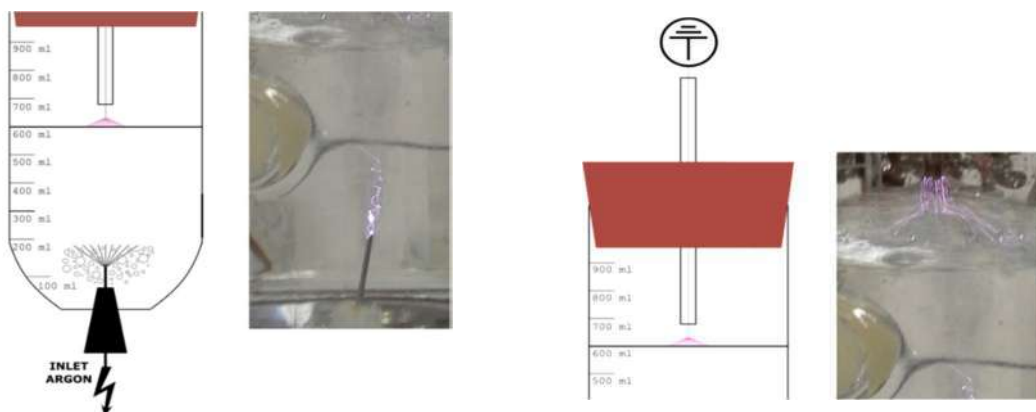


شکل شماره 2: ساختار شماتیک یک سد دی الکتریک

<sup>13</sup> - Dielectric Barrier Discharge

<sup>14</sup> -Plasma Activated water

**آب فعال شده با پلاسما:** آب فعال شده با پلاسما یا PAW (Plasma Activated Water) نوعی آب است که به علت تماس با پلاسما فعال شده است. پلاسما، به واسطه الکترون‌ها، یون‌ها و رادیکال‌های آزاد قادر است مولکول‌های آب را تجزیه کند و به این ترتیب ترکیبات فعال از جمله رادیکال‌ها، اوزون، پراکسید هیدروژن و یون‌های مختلف را تولید کند (شکل 3). این ترکیبات از نظر شیمیایی فعال هستند و می‌توانند با مواد مختلف واکنش دهند (Zhou, R., et al 2020). همانند DBD آب پلاسما نیز در پزشکی و صنایع غذایی کاربرد فراوانی دارد و عمدتاً برای ضد عفونی کردن و از بین بردن باکتریها، ویروسها و قارچها بکار می‌رود (Zhou, R., et al. 2020). در کشاورزی نیز برای از بین بردن عوامل بیماریزا، افزایش مقاومت به تنشها و افزایش جوانه زنی بذر کاربرد دارد (Thirumdas, R., et al 2018).



شکل شماره 3: روشهای مختلف تولید آب فعال شده با پلاسما

### مهمترین کاربردهای فناوری پلاسما در کشاورزی

**افزایش جوانه زنی بذرها:** در تیمار بذور، پلاسما می‌تواند روی کل جنین تأثیر بگذارد و باعث جوانه‌زنی سریع‌تر و تشکیل سیستم ریشه‌ای قوی‌تر شود و در نتیجه مقاومت گیاهچه به تنش افزایش یابد اما اگر پلاسما با دوز بالا استفاده شود باعث مهار جوانه زنی میشود لذا برای استفاده از این فناوری در جوانه زنی بذرها باید آزمایشات مقدماتی جهت بهینه‌سازی انجام گیرد و یک دوز بهینه از پلاسما را نمیتوان به تمام آزمایشات تعمیم داد زیرا گونه‌های مختلف گیاهی به طور متفاوتی به تیمار پلاسما واکنش نشان می‌دهند. در تیمار بذرها با DBD مشاهده شده که ذرات واکنشی پلاسما به سطح دانه حمله می‌کنند که منجر به خراشیدگی سطح و/یا ایجاد ترک‌های کوچک می‌شود. این فرآیندها آب دوستی سطح بذر را افزایش می‌دهند در نتیجه جذب آب دانه افزایش می‌یابد. البته فرض بر این است که پس از آن فعل و انفعالات گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن (RONS) که منجر به تغییرات کوچک در بذر و فعال کردن آنزیمهای آن میشود. افزایش فعالیت آمیلازها، پروتئازها و فیتاز در بذرهای تیمار شده با پلاسما سرد مشاهده شد. برخی محققان معتقدند که پلاسما فعالیت آنزیم را بدون آسیب جدی به آنزیم، احتمالاً با القای تغییرات در ساختار سه بعدی پروتئین، تغییر می‌دهد. آنها فعالیت آنزیم را به تغییرات در ساختار سوم و چهارم پروتئین به دلیل وجود ذرات واکنش پذیر پلاسما نسبت دادند. در بسیاری از بذرهای تیمار شده با پلاسما کاهش هورمون ABA، افزایش قندها و محتوی پرولین دیده شده است. علاوه بر این در صورت وجود گونه‌های فعال نیتروژن در آب پلاسما این مواد میتوانند به عنوان منبع نیتروژن در دسترس بذر قرار گیرند و جوانه زنی بهتری را داشته باشند.

**کاهش بیماریهای گیاهی:** در مورد استفاده از پلاسما در کاهش بیماریهای گیاهی تحقیقات گسترده ای انجام شده و در این تحقیقات با استفاده از پاشش آب فعال شده با پلاسما در صد بیماریها در گیاهان کاهش چشمگیری داشته است. پراکسید هیدروژن و نیتریک اکسید در PAW هر دو بیان پروتئین های مرتبط با بیماری زا (PR)، فعالیت آنزیم آنتی اکسیدانی، سالیسیلیک اسید (SA)، و آنزیم های مسیر جاسمونیک اسید (JA) را از طریق مسیرهای سیگنالینگ MAPK القا می کنند؛ این پروتئین های دفاعی و فیتوهورمون ها مسیر دفاع گیاه در برابر عوامل بیماری زا را تقویت می کنند.

**افزایش رشد و افزایش مقاومت به تنشهای غیر زیستی:** امروزه مشکلات و چالشهایی در بخش کشاورزی و باغبانی وجود دارد که حل بسیاری از آنها نیازمند تحقیقات بنیادی و کاربردی در این زمینه است. یکی از مشکلات کشاورزی گیاهان زراعی کاهش تحمل گیاهان به تنشهای محیطی است که امروزه با کاهش آب ایجاد شده و نیازمند کشت گیاهان با مقاومت بیشتر در برابر تنشهای محیطی است. تنشهای شوری، خشکی و سرما از عمده ترین تنشهایی هستند که سالانه خسارات زیادی در بخش کشاورزی ایجاد میکنند. بسیاری از تحقیقات انجام شده استفاده از برخی تنظیم کننده های رشد و نمو گیاهان را در این بخش توصیه کرده اند که متاسفانه برخی از آنها قیمت بالایی دارند و قابلیت استفاده در وسعت زیاد را ندارند و مقرون به صرفه نیستند و بعضا برخی از آنها ترکیبات جانبی دارند که افزایش آنها در خاک برای مدت زمان طولانی اثرات مخربی را به دنبال دارد. استفاده از روشهای فیزیکی که بدون اضافه کردن مواد شیمیایی بتواند مقاومت گیاه را در برابر تنشها افزایش دهد بسیار ارزشمند است و با بررسی سطح آزمایشگاهی و مکانیسم عملکرد آن میتوان آن را به کشاورزان توصیه کرد. در مورد گیاهانی که برای احیای بیابانها و یا مراتع و جنگلهای طبیعی استفاده میشوند جوانه زنی و رشد به موقع از اهمیت فراوانی برخوردار است زیرا این گیاهان به طور مصنوعی آبیاری نمیشوند و باید در فصل بارشهای طبیعی قدرت رشد خود را افزایش دهند. استفاده از روشهای شیمیایی و فیزیکی برای افزایش جوانه زنی بذر این گیاهان در بسیاری از مطالعات گزارش شده است اما استفاده از پلاسما و یا آب فعال شده با پلاسما برای تولید نهالهای مقاوم این گیاهان ارزش زیادی خواهد داشت.

**اصلاح خاک:** استفاده از آفت کش ها و عدم وجود کشت پایدار و دامداری منجر به فرسایش بسیاری از خاک ها شده است. علاوه بر این بسیاری از خاکها در مناطق مختلف به عوامل متعددی آلوده می شوند که اصلاح و پاکسازی آن بسیار دشوار و هزینه بر است. بنابراین دانشمندان تمرکز خود را بر روی فن آوری های جدید، از جمله پلاسماهای سرد برای اصلاح خاک معطوف کرده اند. مطالعات موجود نشان می دهد که تکنولوژی پلاسماهای سرد می تواند به طور موثر بر تخریب آلودگی های خاک تاثیر گذارد به طور مثال پلاسماهای سرد اثر مهمی در اصلاح خاک آلوده به کلرامفنیکول داشته است و تا حدود 81 درصد آلودگی را برطرف ساخته است. البته کارایی این فناوری به ولتاژ، نوع گاز، و رطوبت خاک نیز بستگی دارد. آزمایش دیگر نشان داد که پلاسما دارای تاثیر خوبی در تخریب موثر گلیفوزات خاک (حدود 94 درصد) بدون تاثیر منفی بر جوانه زنی دانه و رشد نهال دارد. همچنین گزارش شده است که استفاده از پلاسماهای سرد برای پاک کردن خاک می تواند منجر به کاهش تعداد میکروارگانیسم های بیماریزای خاک شود. البته در این روش اشکالاتی مانند حذف باکتریهای مفید خاک نیز وجود دارد.

**رفع آلودگی آب و هوا:** پلاسماهای سرد همچنین می تواند برای تصفیه هوا و آب از آلایندهها استفاده شود. برخی مطالعات نشان داده اند که این فناوری می تواند باعث از بین رفتن مواد آلایندههای هوا و آب مانند سموم صنعتی، مواد آلی فرار و باکتریها شود (Kim, H.H., 2004). در تصفیه آب خصوصا پلاسماهای سرد می تواند بسیاری از میکروبها را از بین ببرد، بدون اینکه نیاز به استفاده

از مواد شیمیایی خاص یا تمیز کردن فیزیکی داشته باشد. همچنین، پلاسما می‌تواند برخی از آلاینده‌های شیمیایی مانند فنل‌ها و نیترات‌ها را از آب حذف کند (Gururani et al., 2020) با حذف این آلودگیها می‌توان کیفیت آب کشاورزی را بهتر نمود. **استریل کردن در صنایع غذایی:** در صنایع غذایی، پلاسما می‌تواند برای از بین بردن باکتری‌ها و میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و افزایش دوره نگهداری محصولات غذایی استفاده شود (Nwabor et al., 2014). در مقایسه با روش‌های سنتی مثل حرارت و تابش، استفاده از پلاسما سرد به منظور استریلیزاسیون، کمتر به محیط زیان می‌رساند و برخی از مواد را که با روش‌های سنتی نمی‌توان استریل کرد، می‌توان با پلاسما سرد استریل کرد (Laroussi, 2002).

**استفاده به عنوان کود در زمینهای کشاورزی و گلخانه‌ها:** آب فعال شده با پلاسما می‌تواند همانند نوعی کود ارگانیک رشد گیاه را بهبود بخشد. البته لازم است در این مورد از هوا و یا گاز نیتروژن در سیستم پلاسما استفاده کرد تا گونه‌های فعال نیتروژن تولید شده و باعث رشد گیاه شود. مکانیسم PAW برای رشد گیاه یک اثر هم‌افزایی در سیاری از عوامل در نظر گرفته شده است. اول، چون نیترات جزئی عناصر پرمصرف بوده است بنابراین با اضافه شدن گونه‌های فعال نیتروژن و جذب آنها توسط گیاه رشد گیاه تسریع می‌شود. دوم، ROS، به خصوص پراکسید هیدروژن، نقش حیاتی به عنوان یک مولکول سیگنال در افزایش مکانیسم‌های تحمل گیاه، کاهش آسیب اکسیداتیو به گیاه و حفظ فعالیت‌های فیزیولوژیکی و متابولیکی گیاه دارد. در نهایت، RONS می‌تواند رشد گیاه را با تاثیر بر سطح هورمون‌های گیاهی مانند ایندول استیک اسید (IAA) و ابسیزیک اسید افزایش دهد. مشاهده شده است که در برخی گیاهان مانند ماش تیمار پلاسما باعث افزایش محتوای IAA شده است. اسید ابسیزیک هورمونی است که رشد گیاه را مهار می‌کند و تقسیم سلولی و توسعه آن را مهار می‌کند. محققان گزارش کرده‌اند که RONS بیان برخی ژن‌ها را از طریق آبشار MAPK فعال می‌کند و محتوای ابسیزیک اسید را کاهش می‌دهد و در نتیجه رشد گیاه را تشویق می‌کنند.

**افزایش عمر ماندگاری گل‌های شاخه بریده:** مدیریت پس از برداشت یک مساله مهم در مورد گیاهان زینتی است و در این زمینه نسبت به سایر محصولات باغبانی توجه کمتری شده است. مصرف کنندگان نیاز دارند که گیاهان زینتی که دارای عمر گلجایی طولانی باشد را استفاده کنند که بخشی از آن از طریق ایجاد واریته‌های جدید و بخشی از طریق اعمال مدیریت پس از برداشت و افزایش در عمر گلجای تامین می‌شود. بی‌شک، در صورت مفید بودن استفاده از پلاسما سرد به عنوان یک فناوری مدرن در افزایش عمر پس از برداشت گل‌های شاخه بریده، این روش هزینه‌ها و دردهای خیلی کمتری نسبت به روش‌های مشابه و مرسوم دارد. از طرفی، مزایایی همچون مصرف انرژی کم در این سیستم مبتنی بر پلاسما سرد، انعطاف پذیری و تطبیق پذیری نسبتا بالا، عدم نیاز به اضافه کردن مواد شیمیایی، جمع و جور بودن و دارا بودن قابلیت نصب در هر موقعیت فیزیکی، کم بودن قیمت آن در مقایسه با سایر سیستم‌های مشابه، این فناوری را به عنوان یک روش شاخص در دنیا معرفی کرده است. بنابراین می‌توان استفاده از پلاسما را به عنوان روشی مناسب، مقرون به صرفه و سازگار با محیط زیست درخصوص افزایش عمر پس از برداشت گل‌های شاخه بریده به عنوان روشی اقتصادی و کاربردی توصیه کرد.

**افزایش عمر پس از برداشت میوه‌ها:** سابقه استفاده از پلاسما در افزایش عمر پس از برداشت میوه‌ها بیشتر از سایر موارد کاربردی بوده است. در این روش میوه‌ها به طور مستقیم تحت تاثیر پلاسما سرد قرار گرفته و تا حدود زیادی عمر انبارمانی آنها افزایش یافته است. اما مطالعات ما نشان داده است که استفاده از PAW به جای استفاده مستقیم از تابش پلاسما بطور موثر تری می‌تواند عمر پس از برداشت میوه‌ها را افزایش دهد.

افزایش ترکیبات ثانویه دارویی: تولید ترکیبات ثانویه دارویی در گیاهان در واقع پاسخ دفاعی آنها در برابر تنشهای زیستی و غیر زیستی است. استفاده از فنوری پلاسما یا آب فعال شده با پلاسما میتواند با ایجاد یک تنش خفیف باعث افزایش این ترکیبات در گیاهان در شرایط کشت بافت و یا مزرعه شود.

محدودیت های استفاده از تکنولوژی پلاسمای سرد: مثل هر چیز دیگری در طبیعت، تکنولوژی پلاسما نیز دارای محدودیت هایی است. مهمترین این محدودیت ها در ادامه آورده شده است: (1) این فرایند در برخی موارد اسیدیته و سفتی محصولات غذایی تیمار شده را افزایش می دهد که همیشه مطلوب نیست. (2) مشاهده شده است که رنگ برخی میوه ها و سبزیجات تازه تحت تاثیر پلاسما کاهش می دهد که میتواند منجر به کاهش بازار پسندی آن شود. (3) در محصولاتی که حاوی چربی هستند، تیمار پلاسما می تواند باعث اکسیداسیون چربی شده و طعم و مزه آن محصول را تغییر دهد.

#### منابع:

1. Federici, G., Skinner, C.H., Brooks, J.N., Coad, J.P., Grisolia, C., Haasz, A.A., Hassanein, A., Philipps, V., Pitcher, C.S., Roth, J. and Wampler, W.R., 2001. Plasma-material interactions in current tokamaks and their implications for next step fusion reactors. *Nuclear Fusion*, 41(12), p.1967.
2. Gururani, P., Bhatnagar, P., Bisht, B., Kumar, V., Joshi, N.C., Tomar, M.S. and Pathak, B., 2021. Cold plasma technology: advanced and sustainable approach for wastewater treatment. *Environmental Science and Pollution Research*, pp.1-21.
3. Howes, G.G., 2018. Laboratory space physics: Investigating the physics of space plasmas in the laboratory. *Physics of plasmas*, 25(5).
4. Kim, H.H., 2004. Nonthermal plasma processing for air pollution control: a historical review, current issues, and future prospects. *Plasma Processes and Polymers*, 1(2), pp.91-110.
5. Laroussi, M., 2002. Nonthermal decontamination of biological media by atmospheric-pressure plasmas: review, analysis, and prospects. *IEEE Transactions on plasma science*, 30(4), pp.1409-1415.
6. Liao, X., Liu, D., Xiang, Q., Ahn, J., Chen, S., Ye, X., & Ding, T. (2017). Inactivation mechanisms of non-thermal plasma on microbes: A review. *Food control*, 75, 83-91.
7. Lieberman, M.A. and Lichtenberg, A.J., 1994. Principles of plasma discharges and materials processing. *MRS Bulletin*, 30(12), pp.899-901.
8. Liu, Y., Ye, N., Liu, R., Chen, M., & Zhang, J. (2020). H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> mediates the regulation of ABA catabolism and GA biosynthesis in Arabidopsis seed dormancy and germination. *Journal of experimental botany*, 61(11), 2979-2990.
9. López, M., Calvo, T., Prieto, M., Múgica-Vidal, R., Muro-Fraguas, I., Alba-Elías, F., & Alvarez-Ordóñez, A. (2019). A review on non-thermal atmospheric plasma for food preservation: Mode of action, determinants of effectiveness, and applications. *Frontiers in microbiology*, 10, 622.
10. Nwabor, O.F., Onyeaka, H., Miri, T., Oibileke, K., Anumudu, C. and Hart, A., 2022. A cold plasma technology for ensuring the microbiological safety and quality of foods. *Food Engineering Reviews*, 14(4), pp.535-554.
11. Sera, B., Spatenka, P., Šerý, M., Vrchotova, N. and Hruskova, I., 2010. Influence of plasma treatment on wheat and oat germination and early growth. *IEEE Transactions on Plasma Science*, 38(10), pp.2963-2968.
12. Thirumdas, R., Kothakota, A., Annapure, U., Siliveru, K., Blundell, R., Gatt, R. and Valdramidis, V.P., 2018. Plasma activated water (PAW): Chemistry, physico-chemical properties, applications in food and agriculture. *Trends in food science & technology*, 77, pp.21-31.
13. Thiyagarajan, M., Sarani, A., & Deshmukh, R. R. (2013). Plasma sources for medical applications - A comparison. *Journal of Medical Physics / Association of Medical Physicists of India*, 38(1), 18-25
14. Zhang, K., Perussello, C. A., Milosavljević, V., Cullen, P. J., Sun, D. W., & Tiwari, B. K. (2019). Diagnostics of plasma reactive species and induced chemistry of plasma treated foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(5), 812-825.
15. Zhou, R., Zhou, R., Wang, P., Xian, Y., Mai-Prochnow, A., Lu, X., Cullen, P.J., Ostrikov, K.K. and Bazaka, K., 2020. Plasma-activated water: Generation, origin of reactive species and biological applications. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 53(30), p.303001.



## اهمیت استفاده از گیاهان سازگار و بومی در منظرسازی کم نیاز به آب در فضاهای سبز شهری (نمونه موردی: بلوار جنوبی ورودی دانشگاه صنعتی اصفهان)

نعمت‌اله اعتمادی<sup>1\*</sup>، مائده ایزدی<sup>2</sup>، بهرام عراقی<sup>3</sup>

- 1-استاد گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی- دانشگاه صنعتی اصفهان
  - 2- طراح محیط زیست، کارشناس طراحی فضای سبز دانشگاه صنعتی اصفهان
  - 3-کارشناس ارشد اصلاح نباتات، کارشناس فضای سبز دانشگاه صنعتی اصفهان
- \*نویسنده مسئول: [etemadin@iut.ac.ir](mailto:etemadin@iut.ac.ir)

### چکیده

منظرسازی کم‌نیاز به آب (Xeriscaping) باعث بهبود شرایط زیست محیطی می‌شود. در این روش با استفاده از گیاهان مقاوم به خشکی و منظرسازی مناسب با شرایط آب‌وهوایی هر منطقه، مصرف آب برای نگهداری منظر کاهش می‌یابد. از این روش می‌توان برای کاهش هزینه‌های مربوط به آبیاری، نگهداری گیاهان و انرژی مصرفی استفاده کرد. منظرسازی کم نیاز به آب در مناطق مرکزی ایران با توجه به کمبود منابع آبی و افزایش دمای هوا در شهرها می‌تواند به کاهش مصرف آب در فضاهای سبز شهری کمک کند. به عنوان نمونه موردی، بازطراحی محوطه ورودی جنوبی دانشگاه صنعتی اصفهان به وسعت 2 هکتار بر اساس اصول منظرسازی کم نیاز به آب و استفاده از گیاهان سازگار از سال 1392 مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به خشک شدن چمن‌ها در بلوار جنوبی دانشگاه، طرح جدید بر اساس حفظ درختان مسن، در نظرگیری مهم‌ترین دیدها، حضور رنگ در منظر در همه فصول سال، جایگزینی گیاهان آسیب‌دیده و دارای نیاز آبی بالا با گیاهان سازگار و کم‌نیاز به آب، ارائه و اجرا شد. گیاهانی مانند به‌ژاپنی و چنار حذف شده و سرو نوش و ارغوان و درختانی که نیاز آبی کمتری داشتند، حفظ شدند. پهنه‌های سبز در مکان‌های مهم جانمایی شد و بخش‌هایی با اهمیت کمتر با سنگریزه‌های رنگی پوشش داده شدند. در نزدیکی ورودی در بخش میانی که دید کمتری وجود داشت گیاه بادامک (*Amygdalus Scoparia*) با نیاز آبی بسیار کم کشت شد. در بخش‌های زیر کشت درختان، سطح خاک با مالچ چوب (چیپس چوب) پوشانده شد.

واژگان کلیدی: گیاهان سازگار، منظرسازی کم‌نیاز به آب، مصرف آب، فضایی سبز

### مقدمه

بخش اعظم ایران به دلیل موقعیت جغرافیایی و قرارگیری در کمربند خشک نیم‌کره شمالی، دارای اقلیم خشک و نیمه‌خشک است و محدودیت منابع آبی به‌ویژه در سال‌های اخیر مهم‌ترین چالش در توسعه و نگهداری فضای سبز در این مناطق است. متأسفانه الگوی فضای سبز شهری فعلی کشور برگرفته از الگوهای منظرسازی اروپا و آمریکا با آب‌وهوای معتدل

و پرباران است. یکی از روش‌های پیشنهادی استفاده از منظرسازی کم‌نیاز به آب می‌باشد. این روش علاوه بر حفظ منابع آبی فراوانی رنگ، بافت و تنوع را به منظر اضافه می‌کند.

منظرسازی کم‌نیاز به آب شامل هفت اصل اساسی می‌باشد که این اصول بسته به کاربری و شرایط اقلیمی، خاک، آب و مشکلات هر سایت مورد ارزیابی قرار گرفته و انطباق داده می‌شود. در طراحی منظر برای مدیریت منابع آبی و افزایش بهره‌وری سیستم آبیاری، دسته‌بندی و جانمایی گیاهان برحسب نیاز آبی در پهنه‌های مختلف صورت گرفته (هیدروزونینگ Hydrozoning) و در بیشتر پهنه‌ها گیاهان دارای نیاز آبی کم و متوسط کشت می‌شوند (Çetin et al., 2017; Bodah and Bodah, 2018). با استفاده از منظرسازی کم‌نیاز به آب می‌توان، مصرف آب را 15 تا 60 درصد نسبت به روش متداول کاهش داد (Çetin et al., 2018). از سوی دیگر، انتخاب گیاهان مناسب و سازگار با شرایط هر منطقه از مهم‌ترین اصول منظرسازی کم‌نیاز به آب است. بررسی و تشخیص گونه‌های مقاوم به خشکی و سازگار با منطقه نیاز به تخصص و تجربه بالا در این زمینه داشته تا بتوان از افزایش تنوع گیاهی و پایداری فضای سبز کمک نمود. بر اساس پژوهش انجام شده در دانشگاه صنعتی اصفهان، هزینه‌های نگهداری سالانه منظر در فضای سبز کم‌نیاز به آب در مقایسه با روش مرسوم (پهنه‌های چمن کاری وسیع، گل‌های فصلی و گیاهان با نیاز آبی بالا) بین 35 تا 65 درصد کاهش یافته است. این در حالی است که علاوه بر مدیریت منابع آبی و کاهش مصرف آب، هزینه نیروی انسانی، مصرف کود و سموم شیمیایی و در نتیجه آسیب‌های زیست‌محیطی نیز کاهش یافته است (اعتمادی و همکاران، 1399). تحقیقات انجام شده نشان داد با به‌کارگیری مالچ نیاز آبی گیاهان یک‌سوم کاهش یافت. در این رابطه، استفاده از مالچ کاه و کلش حاصل از گیاهان گندم، برنج و ذرت در باغات انجیر سبب افزایش ذخیره رطوبتی خاک تا 27/5 درصد گردید (تدین، 1398). از جمله مزایای کاربرد گونه‌های بومی در فضای سبز شهری می‌توان به حفظ ذخایر ژنی فلور منطقه یا کشور، تحمل به شرایط اقلیمی خاص به دلیل بومی بودن و تنش‌های محیطی (خشکی، شوری، گرما و سرما)، گوناگونی رنگ، قدرت پوشاندگی زمین و جلوگیری از فرسایش خاک و تثبیت زمین‌های نرم و سست، نیاز آبی کم، رشد کم و قابلیت رشد در خاک‌های مختلف، کاهش هزینه‌های نگهداری با توجه به تحمل بیشتر گیاهان بومی به تنش‌های محیطی و تحمل بهتر آلودگی‌های محیط شهری اشاره نمود (اسماعیلی شریف، 1387؛ بتولی، 1399). بدیهی است شناسایی، تکثیر و استقرار گیاهان سازگار به شرایط بوم‌شناسی نواحی گرم و خشک کشور، پاسخ بسیار مناسبی برای حل مشکلات فضای سبز شهری این مناطق ارائه می‌کند (بتولی، 1399).

### مواد و روش‌ها

دانشگاه صنعتی اصفهان دارای فضای سبزی با مساحت 290 هکتار شامل 200 هکتار اراضی جنگلی و 90 هکتار پردیس می‌باشد. تا پیش از سال 1390، پردیس دانشگاه شامل قطعات جنگلی، گیاهان پوششی، درختچه و گیاهان دائمی، برخی قسمت‌ها بدون پوشش گیاهی (خاک) و نیز 16 هکتار پهنه‌های چمن کاری بود. با تشدید بحران آب و کاهش منابع آبی در دسترس، حفظ و نگهداری فضای سبز دانشگاه به ویژه پهنه‌های چمن کاری شده با مشکل جدی روبرو شد. لذا، به منظور کاهش مصرف آب و بهبود وضعیت فضای سبز موجود، بازطراحی فضای سبز پردیس دانشگاه براساس رویکرد منظرسازی کم‌نیاز به آب شروع گردید. در نتیجه این اقدامات، تاکنون 18 هکتار از مساحت پردیس دانشگاه بازطراحی شد و به عنوان نمونه موردی، طرح اجرا شده و تغییرات بلوار جنوبی دانشگاه صنعتی اصفهان به مساحت 1/9 هکتار در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفت.

در این طرح، با توجه به خشک شدن چمن‌ها در بلوار جنوبی دانشگاه طرح جدید بر اساس حفظ درختان مسن، در نظریه‌ری مهم‌ترین دیدها، حضور رنگ در منظر در همه فصول سال، جایگزینی گیاهان آسیب‌دیده و دارای نیاز آبی بالا با گیاهان سازگار و کم‌نیاز به آب، ارائه و اجرا شد. گیاهانی مانند به‌ژاپنی، چنار و ... حذف شده و سرو، نوش، ژونی‌پروس و درختانی که نیاز آبی کمتری داشتند حفظ شدند. پهنه‌های سبز در مکان‌های مهم جانمایی شد و بخش‌هایی با اهمیت کمتر با سنگریزه‌های رنگی پوشش داده شدند. ترکیب گیاهانی مانند بلوط، زیتون تلخ، زرشک زینتی، انارگل، خرزهره، پیراکانتا، رزماری، ارغوان، یوکا، پامپاس گراس، برگ نقره‌ای برای طراحی کاشت استفاده شد. در نزدیکی ورودی در بخش میانی که دید کمتری وجود دارد گیاه *Amygdalus scoparia* با نیاز آبی بسیار کم کشت شد. در بخش‌های زیر کشت درختان و درختچه‌ها، سطح خاک با مالچ چوب (چیپس چوب) پوشانده شد (اعتمادی و همکاران، 1398).

### نتایج و بحث

پیش از بازطراحی بلوار جنوبی دانشگاه، پوشش زمینی این فضای سبز از چمن‌های رایج (Mixsport) بود (به مرور زمان و دلیل کمبود آب علف هرز مرغ غالبیت یافته بود). همه گیاهان موجود در این فضا همزمان با چمن آبیاری می‌شدند و به طور میانگین برای آبیاری هر هکتار چمن روزانه 100 مترمکعب آب مصرف می‌گردید. با توجه به کمبود منابع آب، تعداد دفعات آبیاری در طول یکسال به جای 240 مرتبه 120 دفعه انجام گردید؛ بنابراین، میزان 24000 مترمکعب آب در طول سال برای آبیاری این فضا مصرف می‌شد.

بر اساس نتایج موجود در جدول 1، با بازطراحی این محوطه میزان آب مصرفی برای آبیاری کامل در طول یکسال معادل 2880000 لیتر و یا 2880 مترمکعب می‌باشد. با در نظرگیری تعداد دفعات و دور آبیاری می‌توان گفت 9/6 مترمکعب آب برای آبیاری این فضا در هر روز مورد نیاز است. بنابراین، پس از تغییرات اعمال شده و طراحی فضا بر اساس اصول منظرسازی کم‌نیاز به آب میزان مصرف آب روزانه از 200 مترمکعب به 9/6 مترمکعب و میزان آب مصرفی سالانه از 24000 به 2880 مترمکعب رسیده است. این اعداد اهمیت و تغییرات چشمگیر در آب مورد نیاز برای نگهداری فضای سبز را به خوبی نشان می‌دهند. تغییرات اعمال شده در این مطالعه، بر اساس رویکرد منظرسازی کم‌نیاز آب شامل پهنه‌بندی فضا بر اساس میزان مصرف آب، به کارگیری گونه‌های گیاهی مقاوم به خشکی، استفاده از مالچ آلی چیپس چوب اطراف تشتک درختان و درختچه‌ها و مالچ معدنی (شن‌های رنگی) و کاهش سطوح چمن کاری شده بود. در بازطراحی انجام شده، سطح زیر کشت به 37 درصد فضا کاهش داده شد و میزان تاج پوشش محوطه در حال حاضر حدود 60 درصد می‌باشد.

جدول 1- بررسی میزان آب مصرفی در بلوار جنوبی دانشگاه صنعتی اصفهان

نوع درخت - درختچه	تعداد درخت	تعداد قطره چکان	ساعت کارکرد (در هر دور آبیاری)	دبی قطره چکان (لیتر بر ساعت)	دفعات آبیاری (در یک سال زراعی)	میزان آب مصرفی (لیتر در سال)
زیتون تلخ	66	4	8	4	60	506880
چنار	4	15	8	4	60	115200
سرو خمیره ای-ژونی پروس	45	3	8	4	60	259200
سرو ناز- سرو نقره ای	75	3	8	4	60	432000
نارون - ابریشم ایرانی	15	3	8	4	60	86400
خرزهره	57	3	8	4	60	328320
انارگل	45	3	8	4	60	259200
ارغوان	15	3	8	4	60	86400
سایر	140	3	8	4	60	806400
					جمع	2880000

### نتیجه گیری کلی

با توجه به اطلاعات ارائه شده می توان گفت با کاهش سطح کاشت، به کارگیری اصول منظرسازی کم نیاز به آب، تغییر پوشش گیاهی و نیز استفاده از سیستم آبیاری کارآمد می توان میزان مصرف آب را به مقدار قابل توجهی کاهش داد. میزان آب مصرفی روزانه در بلوار جنوبی دانشگاه صنعتی اصفهان پس از بازطراحی، به میزان حدود یک بیستم کاهش یافته است. همچنین میزان آب مصرفی سالانه در مجموع به میزان حدود یک هشتم کاهش یافته است. با توجه به این اعداد، وسعت فضای سبز و بحران کمبود آب در کشور، لزوم استفاده از منظرسازی کم نیاز به آب به جای روش های مرسوم و پهنه های وسیع چمن کاری آشکار است.

### منابع و مراجع مورد استفاده

- اعتمادی، ن. ایزدی، م.، و عراقی، ب. 1398. بازطراحی فضاهای سبز شهری با تکیه بر اصول منظرسازی کم نیاز به آب (Xeriscaping) در راستای رسیدن به توسعه پایدار: نمونه موردی فضای سبز دانشگاه صنعتی اصفهان. اولین رویداد ملی سازگاری با کم آبی.
- اعتمادی، ن.، ایزدی، م.، و عراقی، ب. 1399. مدیریت فضاهای سبز شهری با تکیه بر اصول منظرسازی کم نیاز به آب (Xeriscaping): نمونه موردی دانشگاه صنعتی اصفهان. سومین کنگره بین المللی و چهارمین کنگره ملی گل و گیاهان زینتی، دانشگاه اهواز، اهواز، ایران.
- اسماعیلی شریف، م. 1387. جمع آوری، شناسایی و تعیین مراحل فنولوژیک تعدادی از گیاهان بومی علفی عرصه های منابع طبیعی به منظور استفاده در فضای سبز شهر اصفهان. طرح تحقیقاتی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان.

4. بتولی، ح. 1399. دستورالعمل فنی بهره‌گیری از چندگونه گیاه بومی ناحیه رویشی ایرانی - تورانی به منظور کشت در فضای سبز مناطق گرم و خشک کشور. سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور
5. تدین، م. س.، صادقی، س. 1398. دستورالعمل استفاده مالچ آلی و مصنوعی در کشاورزی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی. موسسه تحقیقات خاک و آب: 1-54.
6. نیکبخت، ع.، اعتمادی، ن.، قیصری، م.، و صرامی، ج. 1391. طراحی و نظارت بر اجرای فضای سبز محوطه‌های دانشگاه صنعتی اصفهان بر اساس اصول کم‌نیاز به آب. گروه پژوهشی مهندسی فضای سبز شهری، دانشگاه صنعتی اصفهان.

5. Bodah, E.T., and Bodah, B.W., (2017). Landscaping in times of climate change: considerations for water conservation. *Revista de Arquiteutura IMED*, 6(1), 14-21

6. Boot, T., and Parchomchuk, J. 2009. Xeriscape design concepts for large lots; solutions to the challenges of landscaping on the west Bench, Penticton, BC, Canada.

7. Çetin, N., Mansuroğlu, S., and Önaç, A.K. 2018. Xeriscaping Feasibility as an Urban Adaptation Method for Global Warming: A Case Study from Turkey. *Polish Journal of Environmental Studies*, 27(3), 1009–1018.

8. Detweiler, A.J. 2005. An introduction to Xeriscaping in the high desert and pictorial plant guide for central and eastern Oregon, Oregon State University Extension Service.

9. Gill, S.E., Handley, J.F., Ennos, A.R. and Pauleit, S. 2007. Adapting cities for climate change: the role of the green infrastructure. *Built environment*, 33(1), pp.115-133.

## **The importance of using compatible and native plants in Xeriscaping in urban green spaces (case study: south boulevard entrance at Isfahan University of Technology)**

**Nematollah Etemadi<sup>1</sup> \*Maedeh Izadi<sup>2</sup> Bahram Araghi<sup>3</sup>**

Address 1: Department of Horticulture, College of Agriculture,  
Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

Address 2: Environmental Designer, Paya Manzar Zندهroud Knowledge Enterprise Company, Isfahan  
University of Technology, Isfahan, Iran

Address 3: Department of agriculture, College of Agriculture,  
Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

### **Abstract**

Xeriscaping improves environmental conditions. In this method, by using drought-resistant plants and suitable landscaping based on climate of each region, water consumption for landscape maintenance is reduced. This method can be used to reduce costs related to irrigation, plant maintenance and energy consumption. Xeriscaping in the central regions of Iran due to the limitation of water resources and the increase in temperatures in cities can be helpful to reduce water consumption in urban landscape. As a case study, the redesign of the southern entrance area of Isfahan University of Technology with an area of 2 hectares based on the principles of Xeriscaping and the use of compatible plants since 2012 has been assessed. Due to the drying of the turfgrass on the southern boulevard of this university, the new plan based on the preservation of old trees, considering the most important views, the presence of color in the landscape in all seasons, replacing damaged plants which had high water needs with compatible plants, was formed and implemented. Green areas were placed in important locations, and less important parts were covered with colored pebbles. Near the entrance, in the middle part where there was less visibility, the plants *Amygdalus Scoparia* with very little water requirement, were cultivated. Under the trees, the soil surface was covered with wood mulch (wood chips).

**Keywords:** Compatible plants, Xeriscaping, Water consumption, Green space

## کاهش اثرات زوال بذر گندم با استفاده از پیش تیمار هیومیک اسید

امیر رئیسوندی<sup>1</sup>، محمود غلامی<sup>2\*</sup>، حمیدرضا عیسوند<sup>3</sup>

1- دانشجوی کارشناسی ارشد آگروتکنولوژی - فیزیولوژی گیاهان زراعی، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه

لرستان

[Raeisvandi.am@fa.lu.ac.ir](mailto:Raeisvandi.am@fa.lu.ac.ir)

2- استادیار گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان

[Gholami.ma@lu.ac.ir](mailto:Gholami.ma@lu.ac.ir)

3- استاد گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان

[Eisvand.hr@lu.ac.ir](mailto:Eisvand.hr@lu.ac.ir)

### چکیده

به منظور کاهش میزان زوال بذر گندم، آزمایشی بصورت طرح کاملاً تصادفی با 11 تیمار بذر با هیومات پتاسیم پودری بصورت بذرمال شامل پیش تیمار از 1% تا 10% وزنی به همراه عدم پیش تیمار (شاهد) در چهار تکرار در آزمایشگاه فیزیولوژی بذر دانشگاه لرستان بر روی رقم آذر 2 اجرا شد. آزمون جوانه زنی بذور تیمار شده یکبار قبل از انبارداری و بار دوم بعد از انبارداری (چهار ماه نگهداری بذرها در ماه‌های گرم سال داخل ظروف دربسته در دمای اتاق) انجام شد. قبل از انبارداری بسیاری از صفات مورد مطالعه از جمله وزن خشک و تر ریشه چه و ساقه چه تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند. بیشترین طول ساقه چه و ریشه چه به ترتیب در تیمار 1% و 2% هیومات پتاسیم مشاهده شد. در تیمار 10% هیومات پتاسیم سرعت و درصد جوانه زنی بصورت معنی داری کاهش یافت. اما پس از دوره انبارداری، بیشترین درصد و سرعت جوانه زنی در تیمارهای 7% تا 10% هیومات پتاسیم مشاهده شد. درصد جوانه زنی در تیمار شاهد 53% نسبت به قبل از دوره انبارداری کاهش یافت. در مجموع بهترین نتایج برای تعدیل زوال بذر در تیمار 8% وزنی هیومات پتاسیم پودری بصورت بذرمال مشاهده شد.

واژگان کلیدی: انبارداری، هیومات پتاسیم، سرعت جوانه زنی

### مقدمه

زوال بذر موجب کاهش جوانه زنی و سبز شدن بذر در مزرعه شده و می‌تواند از طریق کاهش تراکم بوته در هکتار بر عملکرد نهایی تاثیر گذار باشد. عوامل مختلفی می‌تواند باعث زوال بذر شود. در زمان انبارداری، دما، رطوبت نسبی محیط و به طبع آن، محتوی رطوبت بذر می‌تواند بر میزان زوال بذر در دوره انبارداری موثر باشد [1]. مجموعه عوامل محیطی غالباً موجب یکسری واکنش های بیوشیمیایی شده که عمدتاً بر ساختار غشاهای زیستی تاثیر گذاشته و موجب نقصان عملکرد آنها می‌شود [2]. عامل اصلی تخریب غشاء، پراکسیداسیون لیپیدها و افزایش اسیدهای چرب آزاد است [3]. افزایش رادیکال‌های آزاد از دیگر عوامل موثر بر زوال بذر است [4]. در تحقیقی پیشنهاد شد که برای بهبود کیفیت بذور زوال یافته آفتابگردان می‌توان از هیدروپرایمینگ و اسید جیبرلیک در غلظت 75 پی پی ام استفاده کرد [5]. در تحقیق دیگری بیان شد که پرایمینگ با سالیسیلیک اسید، میزان پروتئین، کاتالاز و آسکوربات پروکسیداز را افزایش می‌دهد [6]. پیش تیمار بذور با هیومیک اسید موجب افزایش فعالیت پروتئین‌ها، آنزیم‌ها و

کربوهیدرات‌ها شده و سرعت جوانه زنی افزایش یافت [7]. مصرف 0,1 تا 1% هیومیک اسید موجب افزایش جوانه‌زنی و طول ریشه‌چه و ساقه‌چه در بذور گندم شد [8]. پیش تیمار بذور با هیومات پتاسیم می‌تواند در کاهش زوال بذر گندم موثر باشد [9]. در این تحقیق از محلول‌هایی با غلظت 1 تا 2 در هزار هیومات پتاسیم استفاده نمودند و تاثیر غلظت‌های بالاتر و روش بذرمال بر زوال بذر را بررسی نکردند.

هدف از این تحقیق، بررسی امکان تعدیل زوال بذر گندم با استفاده از روش بذرمال نمودن بذور با هیومات پتاسیم پودری به منظور افزایش امکان انبارداری بذور، کاهش هزینه‌های انبارداری و حفظ بنبه بذر برای سبز شدن پس از انبارداری بود.

### مواد و روش‌ها

به منظور بررسی تاثیر سطوح مختلف پرایمینگ بذور گندم دیم آذر 2 بر جوانه زنی و صفات مرتبط با آن، تست جوانه زنی بذور گندم، در قالب طرح کاملاً تصادفی با 4 تکرار در آزمایشگاه فیزیولوژی بذر دانشگاه لرستان طی دو مرحله اجرا شد. برای این منظور، بذور در ابتدا به نسبت‌های 1 تا 10 درصد وزنی با هیومات پتاسیم پودری بذرمال شدند. یک تیمار شاهد، بدون بذرمال نمودن بذور نیز در نظر گرفته شد (در مجموع 11 تیمار). تعداد 25 بذر در هر پتری‌دیش مورد کشت قرار گرفت. سپس بذور در ژرمیناتور با دمای 25 درجه سانتیگراد و رطوبت 75 درصد قرار گرفت و تعداد بذور جوانه زده در هر روز شمارش شد. پس از یک دوره 7 روزه، درصد جوانه زنی نهایی، سرعت جوانه زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه، وزن تر و خشک ساقه‌چه و ریشه‌چه اندازه‌گیری شد. سپس بذور در ظروف شفاف در بسته قرار داده شد و برای مدت بیش از 4 ماه (از خرداد تا پایان تابستان) در محیط اتاق نگهداری شد. پس از گذشت این مدت، مجدداً تست جوانه زنی تکرار شد و صفات مورد نظر اندازه‌گیری شد.

داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS20 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. داده‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح احتمال 5% مورد مقایسه قرار گرفتند و نمودارها با استفاده از نرم افزار Excell رسم گردید.

### نتایج و بحث

مقایسه میانگین صفات اندازه‌گیری شده در آزمایش اول (اثر هیومیک اسید بدون انبارداری بذرها) نشان داد که وزن تر و خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه تحت تاثیر سطوح مختلف تیمار پرایمینگ قرار نگرفت اما طول ساقه‌چه و ریشه‌چه اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال 5% نشان داد. اختلاف بین تیمارها در رابطه با صفت طول ساقه‌چه واضح‌تر بود. بطوریکه طول ساقه‌چه در تیمار شاهد بصورت معنی‌داری کمتر از تیمار 1% بود ولی تیمار شاهد با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری نداشت. در تحقیقات دیگر، مصرف 0,1 تا 1% هیومات پتاسیم موجب افزایش جوانه‌زنی و طول ریشه‌چه و ساقه‌چه در بذور سویا و لوبیا شد [8]. از نظر سرعت جوانه‌زنی تیمار شاهد با تیمارهای 9% و 10% هیومیک اسید اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال 5% نشان داد. بطوریکه در این تیمارها بیش از 10 درصد سرعت جوانه‌زنی در مقایسه با شاهد کاهش یافت. کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی می‌تواند به دلیل اثر اسمز و غلظت بالای هیومیک اسید در محیط پتری‌دیش باشد. نتایج، پس از دوره انبارداری بذور، نشان داد که تاثیر پیش تیمار هیومیک اسید روی بذور معنی‌دار بوده و همه صفات اندازه‌گیری شده تحت تاثیر سطوح تیمار هیومیک اسید قرار گرفتند (شکل 1). مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال 5% نشان داد که بیشترین درصد جوانه‌زنی در تیمارهای 8% و 9% بوده لکن این دو تیمار با تیمارهای 6%، 7% و 10% اختلاف معنی‌داری نداشتند (جدول 2). با کاهش درصد پیش تیمار، درصد جوانه‌زنی به شدت کاهش یافت. بطوریکه درصد جوانه‌زنی در تیمار 8% و 9% برابر با 100 درصد بوده و درصد جوانه‌زنی در تیمار شاهد



برابر با 46% محاسبه گردید. تحقیقات نشان داد که تیمار بذر با هیومیک اسید می تواند در تعدیل اثرات نامطلوب شرایط نگهداری بذر موثر باشد و زوال بذر را کاهش دهد [9].

جدول (1) میانگین صفات اندازه گیری شده تحت تاثیر سطوح مختلف هیومیک اسید پودری، قبل از زوال بذر

وزن خشک ریشه چه (gr)	وزن خشک ساقه چه (gr)	وزن تر ریشه چه (gr)	وزن تر ساقه چه (gr)	طول ریشه چه (Cm)	طول ساقه چه (Cm)	سرعت جوانه زنی	درصد جوانه زنی	پیش تیمار هیومیک پودری (%)
0.04 a	0.04 a	0.21 a	0.25 a	5.70 ab	10.22 bcd	24.29 a	99 a	0
0.03 a	0.04 a	0.12 a	0.29 a	4.60 b	12.95 a	23.71 ab	100 a	1
0.03 a	0.04 a	0.15 a	0.29 a	7.85 a	12.32 ab	23.54 ab	100 a	2
0.02 a	0.04 a	0.07 a	0.33 a	5.40 ab	12.10 abc	24.68 a	100 a	3
0.04 a	0.04 a	0.15 a	0.32 a	4.25 b	10.95 abcd	24.12 a	99 a	4
0.04 a	0.04 a	0.16 a	0.29 a	4.25 b	9.68 cd	22.42 ab	98 a	5
0.03 a	0.04 a	0.14 a	0.29 a	7.15 ab	10.50 abcd	23.63 ab	99 a	6
0.02 a	0.04 a	0.14 a	0.29 a	5.07 ab	9.72 cd	22.87 ab	100 a	7
0.02 a	0.05 a	0.12 a	0.30 a	5.95 ab	10.52 abcd	23.52 ab	100 a	8
0.03 a	0.04 a	0.13 a	0.28 a	5.22 ab	9.70 cd	21.26 b	100 a	9
0.02 a	0.05 a	0.08 a	0.29 a	4.47 b	9.12 d	17.68 c	91 b	10

\* در هر ستون، میانگین هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون دانکن در سطح 5 درصد تفاوت معنی داری باهم ندارند.



شکل 1- شرایط جوانه زنی و رشد گیاهچه ها در پتری دیش، 5 روز پس از شروع آزمون

بیشترین میزان سرعت جوانه زنی در تیمارهای 7%، 8% و 9% مشاهده شد که بصورت معنی داری در سطح احتمال 5% با سایر تیمارها و حتی تیمار 10% اختلاف معنی دار داشتند. با کاهش درصد پیش تیمار هیومیک اسید از 6%، سرعت جوانه زنی به صورت معنی داری در سطح احتمال 5% کاهش یافت. برخی گزارش ها حاکی است پیش تیمار بذور با هیومیک اسید موجب افزایش فعالیت پروتئین ها، آنزیم ها و کربوهیدرات ها شده و سرعت جوانه زنی افزایش می یابد [7].

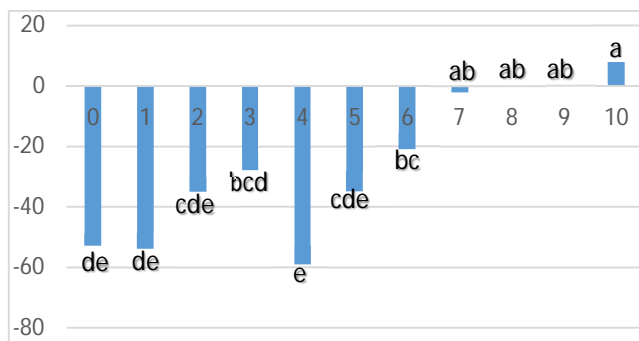
جدول (2) میانگین صفات اندازه گیری شده تحت تاثیر سطوح مختلف هیومیک اسید پودری، پس از زوال بذر

وزن خشک ریشه چه (gr)	وزن خشک ساقه چه (gr)	وزن تر ریشه چه (gr)	وزن تر ساقه چه (gr)	طول ریشه چه (Cm)	طول ساقه چه (Cm)	سرعت جوانه زنی	درصد جوانه زنی	پیش تیمار هیومیک پودری (%)
0.00 b	0.01 c	0.07 d	0.11 c	0.25 d	0.96 d	3.30 a	46 cd	0
0.01 b	0.01 c	0.10 d	0.11 c	0.32 d	0.79 d	3.04 a	46 cd	1
0.02 b	0.04 c	0.09 d	0.22 c	0.42 d	0.93 d	3.85 a	65 bcd	2

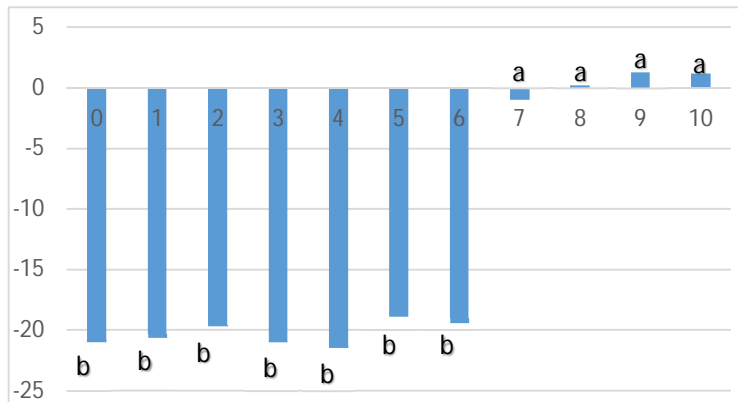
۳	72 abc	3.67 <sup>a</sup>	0.80 <sup>d</sup>	0.54 <sup>d</sup>	0.20 <sup>c</sup>	0.15 <sup>d</sup>	0.03 <sup>c</sup>	0.02 <sup>b</sup>
۴	40 <sup>d</sup>	2.63 <sup>a</sup>	1.14 <sup>d</sup>	0.37 <sup>d</sup>	0.15 <sup>c</sup>	0.07 <sup>d</sup>	0.02 <sup>c</sup>	0.00 <sup>b</sup>
۵	63 bcd	3.52 <sup>a</sup>	1.29 <sup>d</sup>	0.93 <sup>d</sup>	0.16 <sup>c</sup>	0.15 <sup>d</sup>	0.03 <sup>c</sup>	0.01 <sup>b</sup>
۶	78 <sup>ab</sup>	4.21 <sup>a</sup>	1.21 <sup>d</sup>	0.43 <sup>d</sup>	0.20 <sup>c</sup>	0.22 <sup>d</sup>	0.04 <sup>c</sup>	0.02 <sup>b</sup>
۷	98 <sup>a</sup>	21.92 <sup>c</sup>	10.00 <sup>a</sup>	8.46 <sup>b</sup>	1.70 <sup>a</sup>	2.58 <sup>b</sup>	0.21 <sup>b</sup>	0.64 <sup>a</sup>
۸	100 <sup>a</sup>	23.75 <sup>c</sup>	10.67 <sup>a</sup>	11.62 <sup>a</sup>	1.85 <sup>a</sup>	3.24 <sup>a</sup>	0.28 <sup>a</sup>	0.91 <sup>a</sup>
۹	100 <sup>a</sup>	22.58 <sup>c</sup>	8.79 <sup>b</sup>	8.12 <sup>b</sup>	1.70 <sup>a</sup>	2.40 <sup>b</sup>	0.24 <sup>ab</sup>	0.61 <sup>a</sup>
۱۰	99 <sup>a</sup>	18.88 <sup>b</sup>	7.42 <sup>c</sup>	5.29 <sup>c</sup>	1.20 <sup>b</sup>	1.36 <sup>c</sup>	0.21 <sup>b</sup>	0.18 <sup>b</sup>

\*در هر ستون، میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند براساس آزمون دانکن در سطح 5 درصد تفاوت معنی‌داری باهم ندارند. بیشترین طول ساقه چه در تیمارهای 7% و 8% و بیشترین طول ریشه چه در تیمار 8% مشاهده شد که بصورت معنی‌داری در سطح احتمال 5% با سایر تیمارها اختلاف داشت. کمترین طول ساقه چه و ریشه چه نیز در تیمار شاهد مشاهده شد. تمجید و همکاران [9] در تحقیقات خود ابراز نمودند که مهمترین عامل در افزایش طول ریشه‌چه در شرایط تیمار برای ایجاد پیری زودرس در بذر گندم، اعمال پیش تیمار هیومیک اسید بود. وزن تر و خشک ساقه‌چه و ریشه‌چه نیز تغییرات مشابهی داشت و در همه موارد بالاترین میانگین مربوط به تیمار 8% بود. در تحقیق دیگری مصرف 0.1 تا 1% هیومیک اسید موجب افزایش جوانه زنی و طول ریشه‌چه و ساقه‌چه شد [8].

در برخی تیمارها، پس از دوره انبارداری سرعت و درصد جوانه‌زنی، نسبت به قبل از دوره انبارداری، به شدت کاهش یافت (شکل 2 و 3). کمترین درصد جوانه‌زنی در تیمار 4% با حدود 60% کاهش جوانه‌زنی مشاهده شد. هرچند این تیمار با تیمار شاهد با بیش از 50% کاهش درصد جوانه‌زنی اختلاف معنی‌داری نداشت (شکل 2). اما با افزایش پیش تیمار بذور با هیومیک اسید میزان کاهش درصد جوانه‌زنی کاهش یافت. گزارش شده که پیش تیمار بذور گندم با هیومات پتاسیم می‌تواند در کاهش زوال بذر گندم موثر باشد [9] که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. در تیمار 7% هیومیک اسید، پس از زوال بذر، فقط 2% کاهش جوانه زنی در مقایسه با قبل از زوال بذر مشاهده شد و در تیمارهای 8% و 9% هیچگونه تغییری در درصد جوانه زنی مشاهده نشد. حتی پس از زوال بذر، درصد جوانه زنی در تیمار 10% هیومیک اسید به میزان 8% افزایش یافت (شکل 2). کمترین میزان تغییر در سرعت جوانه‌زنی در تیمارهای 7%، 8%، 9%، و 10% مشاهده شد (شکل 3) و این تیمارها اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. لکن در سایر تیمارها سرعت جوانه زنی بین 19 تا حدود 22 درصد کاهش یافت.



شکل 2- تغییر درصد جوانه زنی پس از زوال بذر (مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن در سطح 5% انجام شده است و میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند تفاوت معنی‌داری ندارند).



شکل 3- تغییر سرعت جوانه زنی پس از زوال بذر (مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن در سطح 5% انجام شده است و میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند تفاوت معنی‌داری باهم ندارند).

### نتیجه گیری

پیش تیمار هیومیک اسید پودری بصورت بذرمال به مقدار بیش از 7% وزنی توانسته مانع از زوال بذر در شرایط آزمایش شود و لذا می‌تواند مدت و قابلیت انبارداری در بذر گندم را افزایش دهد. هرچند در غلظت‌های بالاتر از 7% برخی صفات کاهش یافتند اما در مجموع اختلاف معنی‌داری نداشتند و بهترین نتایج در تیمار 8% هیومات پتاسیم بصورت بذرمال در بذر گندم دیم آذر 2 بدست آمد.

### References

- Ghassemi-Golezani, K., Bakhshy, J., Yaeghoob, R. and Hossainzadeh-mahooty, A., 2010. Seed vigor and field performance of winter oilseed rape (*Brassica napus* L.) cultivars. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, **38**(3), pp. 146-150.
- Balešević-Tubić, S., Malencic, D., Tatic, M., and Miladinovic, J., 2005. influence of aging process on biochemical changes in sunflower. *Helia*, **28**(42), pp. 107-114.
- Priestley, D.A. & Leopold, A.C., 1983. Lipid changes during natural aging of soybean seeds. *Physiologia Plantarum*, 1983. **59**(3), pp. 467-470.
- Asgharipour, M. & Rafiei, M., 2011. The effect of different concentrations of humic acid on seed germination behavior and vigor of barley. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, **5**(12), pp. 610-613.
- Patil, R., Junne, S., Wadje, S., 2010. Effect of Potassium Humate on Seed Germination, Seedling Growth and Chlorophyll Contents of *Glycine max* (L.) Merrill and *Phaseolus mungo* L. *Madras Agricultural Journal*, **97** (jan-mar), p. 1.
- بیتا اسکویی، سامان شیدایی. (1396). مقاله مروری: زوال بذر. علوم و تحقیقات بذر ایران، **4**(3)، صص. 125-143.
- آمنه اکبرزاده شرفی، حمیدرضا عیسوند، ناصر اکبری، داریوش گودرزی. (1399). کاربرد جیبرلین و اسید آسکوربیک به منظور کاهش خسارت زوال بذر آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.) تحت دو شرایط قبل و بعد از زوال. علوم گیاهان زراعی ایران، **51**(2)، صص. 121-131.
- رضا افروشه، حمیدرضا بلوچی، محسن موحدی دهنوی، محمد حسین قرینه. (1397). تأثیر اسید سالیسیلیک و زوال بذر بر شاخص‌های جوانه‌زنی و تغییرات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بذر گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.). رقم صغه. علوم و فناوری بذر ایران، **7**(1)، صص. 53-64.
- علی تمجید و رضا شهریاری. (1395). هیومات پتاسیم عاملی برای کاهش زوال بذر گندم. اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی، **4**(40)، صص. 1070-1055.

## Mitigation of deterioration impacts of wheat seeds through the utilization of humic acid priming



Amir Raisvandi<sup>1</sup>, Mahmoud Gholami<sup>2\*</sup>, Hamid-Reza Eivand<sup>3</sup>

1-M.Sc. student of Agrotechnology- crop physiology, plant production and genetic engineering department, Faculty of Agriculture, Lorestan university, Khorramabad, Iran.

[Raeisvandi.am@fa.lu.ac.ir](mailto:Raeisvandi.am@fa.lu.ac.ir)

2- Assistant professor of plant production and genetic engineering department, Faculty of Agriculture, Lorestan university, Khorramabad, Iran

[Gholami.ma@lu.ac.ir](mailto:Gholami.ma@lu.ac.ir)

3- professor of plant production and genetic engineering department, Faculty of Agriculture, Lorestan university, Khorramabad, Iran

[Eivand.hr@lu.ac.ir](mailto:Eivand.hr@lu.ac.ir)

### Abstract

In order to minimize seed wheats deterioration, an experiment was conducted on the basis of completely randomized design with 11 levels of potassium humate priming treatments, ranging from 1% to 10% W/w seed coating, and no priming as a control in 4 replications in seed physiology laboratory of Lorestan university on the Azar 2 wheat variety before storage. Subsequently, the seeds were stored in sealed transparent plastic containers at room temperature for four months (the warm months of the year). Dry and fresh weight of plumule and radicle, seed germination percentage and germination speed were not affected under treatments, after the first experiment. The longest plumule and radicle were observed in 1% and 2% priming treatments. Just, germination percentage and germination rate were decreased in 10% priming treatment. After storage period, germination percentage and germination speed were highest in the 7% to 10% humic acid treatments. A sharp decline in germination percentage, by 53% compared to before storage occurred in control treatment. In general, 8% W/w seed coating priming treatment using potassium humate seed coating was the most effective in reducing seed deterioration.

**Keywords:** Storage, Potassium humate, Germination speed

## اثر تنش شوری، ترهالوز و قارچ *Serendipita indica* بر جوانه‌زنی گوجه‌فرنگی

زهراموحدی<sup>1\*</sup>، رحیمه ترک دهنو<sup>2</sup>، مهدی قبولی<sup>3</sup>

**\*1-** نویسنده مسئول: استادیار، دکتری اصلاح نباتات، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ملایر

[Zahra\\_movahedi\\_312@yahoo.com](mailto:Zahra_movahedi_312@yahoo.com)

**2-** دانشجوی کارشناسی ارشد تولید محصولات گلخانه‌ای، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ملایر

**3-** دانشیار، دکتری بیوتکنولوژی، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ملایر

### چکیده

در حال حاضر تنش شوری یک مسئله جدی زیست محیطی است که بر رشد و نمو و عملکرد بسیاری از گیاهان تأثیر می‌گذارد. بهره‌برداری از فعل و انفعالات همزیستی بین قارچ‌ها و گیاهان، همراه با استفاده از محافظ‌های اسمزی مانند ترهالوز، یک استراتژی امیدوارکننده برای کاهش تنش‌های محیطی ارائه می‌دهد. برای تعیین مکانیسم *Serendipita indica*، ترهالوز و تحمل تنش شوری، اثر تلفیقی قارچ اندوفیت *S. indica* و کلرید سدیم (شاهد، 50 و 200 میلی‌مولار) و ترهالوز (شاهد، 25 و 50 میلی‌مولار) بر جوانه‌زنی گیاه گوجه‌فرنگی به صورت آزمایش فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با 3 تکرار بررسی شده است. نتایج نشان داد که تنش شوری باعث کاهش درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه، وزن تر ریشه‌چه و ساقه‌چه، میزان پتاسیم و افزایش میزان سدیم و فنول گردید. از طرف دیگر *S. indica* و ترهالوز پارامترهای جوانه‌زنی را بهبود بخشیدند. همچنین نتایج نشان داد که کاربرد ترهالوز و تلقیح با *S. indica* اثرات منفی تنش شوری را کاهش داده است.

**واژگان کلیدی:** جوانه‌زنی، کلرید سدیم، قارچ اندوفیت، ترهالوز

### مقدمه

جوانه زدن بذر یک فرآیند بیولوژیکی مهم است که از نظر چرخه زندگی گیاه و تولید محصول بسیار مهم است. بذر با کیفیت و جوانه‌زنی بذر مستقیماً روی محصول نهایی تأثیر می‌گذارد. عوامل درونی و بیرونی بسیاری این مرحله از رشد گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Ahmed and Khan, 2010). یکی از عوامل مهمی که می‌تواند جوانه‌زنی را تحت تأثیر قرار دهد، شوری می‌باشد. شوری از طریق کاهش پتانسیل آب و سمیت یون‌های خاص از قبیل سدیم و کلر و کاهش یون‌های مورد نیاز مانند کلسیم و پتاسیم بر جوانه زدن بذور و رشد آنها تأثیر می‌گذارد (Ghoulam and Fares, 2001). شوری در ابتدا باعث کاهش جذب آب توسط بذرها به دلیل پتانسیل پایین اسمزی محیط شده و در مرحله دوم باعث سمیت و ایجاد تغییر در فعالیت‌های آنزیمی می‌شود (Mssai et al., 2004). در گیاهان، قند و نشاسته نقش کلیدی در تعداد بی‌شماری از فرآیندهای بیولوژیک دارند. ترهالوز به عنوان یک تنظیم‌کننده اصلی متابولیسم کربن، نقش اساسی در رشد و نمو گیاه دارد (Barraza et al., 2016). ترهالوز یک دی ساکارید غیر احیا کننده با عملکردهای چندگانه، یک ماده تنظیم‌کننده اسمزی است و اولین بار از قارچ ergot در گیاه چاودار کشف شد (Almeida et al., 2007). ترهالوز در رشد گیاه و همچنین پاسخ به تنش‌هایی مانند شوری، خشکی و سرما، به عنوان منبع انرژی و کربن نقش مهمی را دارد (Li et al., 2011). یکی دیگر از عواملی که می‌تواند سبب القای مقاومت در برابر عوامل زیستی و غیر زیستی، پاتوژن‌ها، شوری و خشکی شود تلقیح با قارچ‌های اندوفیت می‌باشد (Yang et al., 2012). یکی از این قارچ‌های اندوفیت، قارچی بنام

*Piriformospora indica* می‌باشد. *P. indica* برخلاف قارچ‌های آربوسکولار، می‌تواند در صورت نبود میزبان در محیط‌های ساده یا پیچیده به رشد خودشان ادامه دهند و همین امر سبب برتری این قارچ شده و امکان کشت را در محیط‌های مصنوعی فراهم می‌آورد. در واقع می‌توان چنین بیان کرد که قارچ شبه میکوریز *P. indica* یک قارچ اندوفیتی هست که همزیستی آن مسالمت آمیز و اختیاری بوده، برعکس آربوسکولار که همزیستی آن به صورت اجباری است (Varma et al., 1999). با توجه به مطالب گفته شده هدف از انجام این مطالعه بررسی تنش شوری، قارچ *P. indica* و ترهالوز بر جوانه‌زنی گیاه گوجه‌فرنگی می‌باشد.

### مواد و روش‌ها

این آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار انجام شد. استفاده از قارچ *S. indica* (شاهد و اسپور) به عنوان فاکتور اول، سطوح مختلف کلرید سدیم (شاهد، 50 و 200 میلی‌مولار) به عنوان فاکتور دوم و غلظت‌های مختلف ترهالوز (شاهد، 25 و 50 میلی‌مولار) به عنوان فاکتور سوم بود.

**کشت قارچ و آماده سازی اسپور:** جدایه قارچ *S. indica* مطابق با روش قبولی و همکاران (Ghabooli et al., 2013) در تعداد کافی پتری دیش محتوای محیط کشت پیچیده (حاوی عناصر میکرو، ماکرو، نمک‌ها، پیتون و عصاره مخمر)، کشت داده و در دمای 24 درجه سانتی‌گراد درون شیکر انکوباتور به مدت 4 هفته نگهداری شد. پس از مدت‌زمان لازم جهت تولید اسپور، مقدار 20-30 میلی‌لیتر محلول آب توئین 20 درصد به هر پتری دیش افزوده شد و پس از جمع‌آوری اسپورهای قارچ تعداد آن‌ها با استفاده از لام نئوبار شمارش گردید.

**آماده سازی و تلقیح بذر:** ابتدا بذر گیاه گوجه‌فرنگی تهیه شد. ضدعفونی کردن بذرها با هیپوکلرید سدیم 5 درصد به مدت 5 دقیقه، سه بار شستشو با آب مقطر و سپس با الکل (اتانول 70 درصد) به مدت 30 ثانیه ضدعفونی شده و مجدداً سه بار شستشو با آب مقطر انجام شد. پس از 48 ساعت از کشت بذور در ژرمیناتور (در این زمان جوانه‌ها حدوداً نیم تا یک سانتی‌متر بودند) تلقیح صورت گرفت. به منظور تلقیح با اسپور، بذور جوانه زده با اندازه تقریباً یکسان، داخل ظرف یکبار مصرف حاوی اسپور قرار داده شده و به مدت 30 دقیقه شیک شدند و سپس اعمال تیمار کلرید سدیم و ترهالوز انجام شد. تمامی تیمارها به علاوه شاهد در دمای 25 درجه ژرمیناتور (16 ساعت روشنایی و 8 ساعت تاریکی) و رطوبت نسبی 45 درصد گذاشته شدند. 24 ساعت پس از شروع آزمایش، شمارش تعداد بذرهاى جوانه زده شروع شد و تا پایان آزمایش شمارش بذرهاى جوانه زده در زمان مشخصی انجام شد و در این آزمایش صفات مرتبط با جوانه‌زنی همچون درصد جوانه‌زنی کل، طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، وزن تر ریشه‌چه و ساقه‌چه مورد ارزیابی و محاسبه قرار گرفتند. استخراج و اندازه‌گیری فنول کل به روش Zhu and Yao (2004) صورت گرفت. اندازه‌گیری سدیم و پتاسیم هم با دستگاه فلیم‌فتمتر اندازه‌گیری شد. در نهایت آنالیز آماری بر اساس آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی، با استفاده از نرم افزار آماری SPSS انجام شد. جهت بیان تفاوت‌های آماری از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد.

### نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل سطوح مختلف کلرید سدیم، ترهالوز و قارچ اندوفیت *S. indica* برای صفات درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه، وزن تر ریشه‌چه و ساقه‌چه، میزان فنول، سدیم و پتاسیم در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. بر اساس نتایج مقایسه میانگین بیشترین درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه، وزن تر ریشه‌چه و ساقه‌چه و میزان پتاسیم

مربوط به تلقیح با قارچ *S. indica*، کاربرد 50 میلی مولار ترهالوز و در عدم حضور کلرید سدیم بوده و کمترین میزان شاخص‌های گفته شده در عدم کاربرد قارچ *S. indica* و ترهالوز و در غلظت 200 میلی مولار کلرید سدیم مشاهده گردید (جدول 1 و 2). همچنین نتایج نشان داد که میزان سدیم و فنول گیاهان گوجه‌فرنگی تحت تنش شوری افزایش یافت. تلقیح با قارچ *S. indica* کاربرد ترهالوز باعث افزایش میزان فنول در گیاهان تحت تنش شوری شدند و بدین ترتیب اثرات منفی ناشی از تنش شوری را کاهش دادند. مقدار سدیم موجود در برگ گیاهان تلقیح شده با قارچ بصورت تنها و در ترکیب با ترهالوز که توانایی بیشتری در تحمل تنش شوری نشان دادند، نسبت به گیاهان شاهد کمتر بود (جدول 1). تنش شوری یکی از مهمترین تنش‌های غیرزیستی است که رشد و نمو و فعالیت‌های فیزیولوژیکی گیاه گوجه‌فرنگی را تحت تاثیر قرار می‌دهد. نتایج مربوط به درصد جوانه‌زنی نشان داد که تنش شوری باعث کاهش درصد جوانه‌زنی شده است. از طرفی کاربرد قارچ *S. indica* و ترهالوز باعث افزایش درصد جوانه‌زنی و کاهش اثرات منفی تنش شوری شده است. در گیاهان مختلف تحت تاثیر تلقیح با قارچ *S. indica* درصد و سرعت جوانه‌زنی افزایش یافته است (Barazani *et al.*, 2005; Varma *et al.*, 2005;). که با نتایج این مطالعه همخوانی دارد. تاثیر مثبت ترهالوز بر جوانه‌زنی نیز در گیاه خیار گزارش گردیده است (Huang *et al.*, 2023). همچنین میزان زیست توده در گیاهان تلقیح شده با قارچ *S. indica* افزایش داشته است. مطالعات نشان داده است که تلقیح گیاهان با قارچ *S. indica* سبب افزایش تولید هورمون سیتوکینین شده که این مساله می‌تواند دلیل احتمالی افزایش زیست توده در گیاهان تلقیح شده باشد (Ahmadvand and Hajinia, 2018). در مطالعه حاضر، زیست توده ریشه و اندام هوایی گیاهان تیمار شده با ترهالوز بیشتر از گیاهان تیمار نشده بودند که این نتایج با یافته‌های سایر محققان مبنی بر کاربرد ترهالوز برای کاهش اثرات منفی تنش شوری روی رشد و عملکرد گیاه تطابق دارد (Chang *et al.*, 2014; Nawaz *et al.*, 2022).

**جدول 1- مقایسه میانگین تاثیرات تنش شوری، ترهالوز و قارچ *S. indica* درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه، وزن تر و خشک ریشه‌چه در آزمایش جوانه‌زنی**

ترکیبات تیماری	درصد جوانه‌زنی (%)	طول ریشه‌چه (cm)	طول ساقه‌چه (cm)	وزن تر ساقه‌چه (g)	وزن تر ریشه‌چه (g)	فنول (mg/g DW)	پتاسیم (%)	سدیم (%)
P <sub>0</sub> T <sub>0</sub> S <sub>0</sub>	80/7 cd	7/2 b-d	5/1 b	0/6924 b	0/1653 ab	0/35 h	0/47 d	0/022 hi
P <sub>0</sub> T <sub>0</sub> S <sub>1</sub>	58/2 g	5/3 g	4/5 cd	0/5712 e	0/1209 ef	0/38 g	0/30 gh	0/043 d
P <sub>0</sub> T <sub>0</sub> S <sub>2</sub>	56/9 g	5/2 g	3/5 e	0/4912 h	0/0985 g	0/43 d	0/11 i	0/12 a
P <sub>0</sub> T <sub>1</sub> S <sub>0</sub>	83/6c	7/3 a-d	5/4 ab	0/7151 b	0/1677 ab	0/36 f	0/51 c	0/020 i
P <sub>0</sub> T <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	69/4ef	6/5 de	4/6 cd	0/618 d	0/1272 d-f	0/46 cd	0/31 g	0/034 f
P <sub>0</sub> T <sub>1</sub> S <sub>2</sub>	60/2 fg	5/6 f	3/7 e	0/5112 h	0/1022 f	0/47 cd	0/27 h	0/051 b
P <sub>0</sub> T <sub>0</sub> S <sub>0</sub>	85/7 c	7/4 a-c	5/4 ab	0/7479 ab	0/1766 a	0/36 f	0/54 bc	0/023 hi
P <sub>0</sub> T <sub>0</sub> S <sub>1</sub>	71/8 e	6/6 de	4/7 c	0/639 cd	0/1358 cde	0/49 c	0/35 f	0/031 g
P <sub>0</sub> T <sub>0</sub> S <sub>2</sub>	61/3 fg	5/8 ef	3/8 de	0/5417 gh	0/1158 ef	0/51 c	0/29 gh	0/048 c
P <sub>1</sub> T <sub>1</sub> S <sub>0</sub>	90/3 b	7/6 ab	5/5 ab	0/7506 a	0/1805 a	0/39 e	0/57 b	0/019 hi
P <sub>1</sub> T <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	72/2 e	6/6 de	4/8 c	0/645 cd	0/1458 bcd	0/52 bc	0/39 e	0/025 h
P <sub>1</sub> T <sub>1</sub> S <sub>2</sub>	64/3 f	5/7 ef	3/9 de	0/5602 g	0/1205 ef	0/55 b	0/32 g	0/039 e
P <sub>1</sub> T <sub>0</sub> S <sub>0</sub>	92/04 a	7/7 ab	5/6 a	0/7524 a	0/1819 a	0/41 e	0/59 ab	0/021 h

0/025 h	0/42 de	0/53 bc	0/1504 bc	0/6631 c	4/9 bc	6/7 c-e	75/4 de	P <sub>1</sub> T <sub>0</sub> S <sub>1</sub>
0/029 g	0/38 e	0/57 b	0/1252 d-f	0/5813 g	4/1 d	6/4 de	66/2 f	P <sub>1</sub> T <sub>0</sub> S <sub>2</sub>
0/017 j	0/62 a	0/40 e	0/1838 a	0/7712 a	5/7 a	7/9 a	98/04 a	P <sub>1</sub> T <sub>1</sub> S <sub>0</sub>
0/022 hi	0/44 dE	0/56 b	0/1596 ab	0/6832 bc	5/0 b	7/1 b-d	78/2 d	P <sub>1</sub> T <sub>1</sub> S <sub>1</sub>
0/031 g	0/41 de	0/62 a	0/1312 de	0/6125 f	4/2 d	6/5 de	68/3 ef	P <sub>1</sub> T <sub>1</sub> S <sub>2</sub>

میانگین‌هایی که در یک ستون حروف مشابهی دارند از لحاظ آماری در سطح احتمال 1% تفاوت معنی‌داری ندارند.

P<sub>0</sub> تلقیح نشده با قارچ، P<sub>1</sub> تلقیح شده با قارچ، T<sub>0</sub> صفر میلی‌مولار ترهالوز، T<sub>1</sub> 25 میلی‌مولار ترهالوز، T<sub>2</sub> 50 میلی‌مولار ترهالوز، S<sub>0</sub> صفر میلی‌مولار کلرید سدیم، S<sub>1</sub> 50 میلی‌مولار کلرید سدیم، S<sub>2</sub> 200 میلی‌مولار کلرید سدیم

### نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر با هدف ارزیابی تاثیر تنش شوری، تلقیح با قارچ *S. indica* و ترهالوز بر پارامترهای جوانه‌زنی گیاه گوجه‌فرنگی بود. پژوهش حاضر نشان داد که کاربرد *S. indica* و ترهالوز باعث بهبود پارامترهای جوانه‌زنی شده است که به نوبه خود می‌تواند استقرار گیاه و رشد گیاه را افزایش دهد. همچنین تنش شوری باعث کاهش صفات جوانه‌زنی گردید. از طرف دیگر تلقیح با قارچ *S. indica* و کاربرد ترهالوز توانسته است اثرات منفی ناشی از تنش شوری را کاهش دهد. در مجموع نتایج نشان داد که کاربرد میکروارگانیسم‌های مفید مانند قارچ‌های مفید می‌تواند یک راهکار مناسب برای افزایش پارامترهای جوانه‌زنی و کاهش اثرات منفی ناشی از تنش شوری در نظر گرفته شود.

### منابع و مراجع مورد استفاده

Ahmadvand, G. and Hajinia, S., 2018. Effect of endophytic fungus *Piriformospora indica* on yield and some physiological traits of millet (*Panicum miliaceum*) under water stress. *Crop Pasture Sci*, 69(6),594–605.

Ahmed, M.Z. and Khan, M.A., 2010. Tolerance and recovery responses of plays halophytes to light, salinity and temperature stresses during seed germination. *Funct Ecol*, 205(11),764–771.

Almeida, A.M., Cardoso, L.A., Santos, D.M., Torné, J.M and Fevereiro, P.S., 2007. Trehalose and its applications in plant biotechnology. *In Vitro Cell Dev-Pl*, 43(3),167–177.

Barazani, O.; Benderoth, M.; Groten, K.; Kuhlemeier, C. and Baldwin, I.T., 2005. *Piriformospora indica* and *Sebacina vermifera* increase growth performance at the expense of herbivore resistance in *Nicotiana attenuata*. *Oecologia*, 146, 234–243.

Barraza, A., Contreras-Cubas, C., Estrada-Navarrete, G., Reyes, J.L., Juárez-Verdayes, M.A., Avonce, N. and Sanchez, F., 2016. The class II trehalose 6-phosphate synthase gene PvTPS9 modulates trehalose metabolism in *Phaseolus vulgaris* nodules. *Front Plant Sci*, 7,1589.

Chang, B., Yang, L., Cong, W., Zu, Y. and Tang, Z., 2014. The improved resistance to high salinity induced by trehalose is associated with ionic regulation and osmotic adjustment in *Catharanthus roseus*. *Plant Physiol Biochem*, 77,140-148



Ghabooli, M., Khatabi, B., Ahmadi, F.S., Sepehri, M., Mirzaei, M., Amirkhani, A. and Salekdeh, G.H., 2013. Proteomics study reveals the molecular mechanisms underlying water stress tolerance induced by *Piriformospora indica* in barley. *Journal of proteomics*, 94, 289-301.

Huang, P., Li, C., Che, P. *et al.* 2023. Hydrogen Gas Enhanced Seed Germination by Increasing Trehalose Biosynthesis in Cucumber. *J Plant Growth Regul*, 3908–3922 .

Leidi, E. O., Nogales, R. and Lips, S. H., 1991. Effect of salinity on cotton Plants grown under nitrate and ammonium nutrition at different calcium levels. *Fild Crop. Res*, 26, 35-44

Li, H.W., Zang, B.S., Deng, X.W. and Wang, X.P., 2011. Overexpression of the trehalose-6-phosphate synthase gene OsTPS1 enhances abiotic stress tolerance in rice. *Planta*, 234(5), 1007–1018.

Massai, R., Remorin, D. and Tattini, M., 2004. Gas exchange, water relation and osmotic adjustment in towscion/rootstock combinations of prunus under various salinity concentrations. *Plant and Soil*, 259,153-162.

Nawaz, M., Hassan, M.U., Chattha, M.U. *et al.* 2022. Trehalose: a promising osmo-protectant against salinity stress—physiological and molecular mechanisms and future prospective. *Mol Biol Rep*, 11255–11271.

Varma, A., Verma, S., Sahay, N., Butehorn, B. and Franken, P., 1999. *Piriformospora indica*, a cultivable plant-growth-promoting root endophyte. *Appl. Environ. Microbiol.* 65(6), 2741-2744.

Varma, A.; Bakshi, M.; Lou, B.; Hartmann, A. and Oelmüller, R., 2012. *Piriformospora indica*: A Novel Plant Growth-Promoting Mycorrhizal Fungus. *Agric. Res.* 1, 117–131.

Yang, Y.Z., Zha, F., Zhang, J.M., Dong, S.Q. and Zhu. J.Q., 2012. Effects of *Piriformospora indica* on cotton resistance to waterlogged stress. *Adv. J. Food Sci. Technol.* 4, 413-416.

Zhu, H.H. and Yao, Q., 2004. Localized and systemic increase of phenols in tomato roots induced by *Glomus versiforme* inhibits *Ralstonia solanacearum*. *J. Phytopathol.* 152, 537-542.

## Effects of salinity stress, trehalose and *Serendipita indica* inoculation on germination of Tomato

Zahra Movahedi<sup>1\*</sup>, Rahimeh Tork Dehnoo<sup>2</sup>, Mehdi Ghabooli<sup>3</sup>

1\*, 2, 3 Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Malayer University, Malayer, Iran

✉ Corresponding author. E-mail addresses: [zahra\\_movahedi\\_312@yahoo.com](mailto:zahra_movahedi_312@yahoo.com)

### Abstract

Salinity is now an increasingly serious environmental issue that affects the growth and yield of many plants. The exploitation of symbiotic interactions between fungi and plants, coupled with the application of osmoprotectants such as trehalose (Tre), presents a promising strategy for mitigating environmental stress. To determine the mechanism of *Serendipita indica* and Tre-mediated salinity

stress tolerance, , the interaction effect of *S. indica*, three salinity levels (0, 50 and 200 mM NaCl) and three Tre levels (0, 25 and 50 mM ) on germination of tomato was investigated according to a factorial experiment based on completely randomize design (CRD) with 3 replication. The results showed that salinity stress significantly decreased germination percentage, radical length, hypocotyl length, seedling fresh weight and K with increasing Na and phenol content. Meanwhile, *S. indica* and Tre treatments promoted germination parameter. The results indicate that the negative effects of NaCl on tomato plants were alleviated after *S. indica* inoculation and trehalose.

Keywords: Germination, NaCl, Endophyte fungi, Trehalose

## تأثیر اسید آسکوربیک و اسید هیومیک بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه نعناع فلفلی تحت شرایط تنش خشکی

زهرا موحدی<sup>1\*</sup>، سیما قیاسی<sup>2</sup>، مجید رستمی<sup>3</sup>

**\*1-** نویسنده مسئول: استادیار، دکتری اصلاح نباتات، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ملایر

[Zahra\\_movahedi\\_312@yahoo.com](mailto:Zahra_movahedi_312@yahoo.com)

**2-** دانشجوی کارشناسی ارشد تولید محصولات گلخانه‌ای، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ملایر

**3-** دانشیار، دکتری فیزیولوژی گیاهی، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ملایر

### چکیده

تنش خشکی یکی از مهم‌ترین فاکتورهای کاهش عملکرد و تولید در گیاهان زراعی، باغی و دارویی در جهان می‌باشد. اسید هیومیک به‌عنوان یک اسید آلی و آسکوربات به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی می‌تواند در جهت بهبود عملکرد گیاهان در شرایط تنش خشکی موثر واقع شوند. به منظور ارزیابی تعدیل تنش خشکی با استفاده از اسید هیومیک و اسید آسکوربیک در گیاه دارویی نعناع فلفلی، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل خشکی (شاهد و تنش خشکی) و اسید هیومیک و اسید آسکوربیک در سه سطح (0، 2 و 4 گرم در لیتر) بود. نتایج نشان داد که کلروفیل a تحت تاثیر تنش خشکی کاهش یافت و کاربرد اسید هیومیک و اسید آسکوربیک تا حدودی توانست سبب جبران این خسارت شود. مقدار کلروفیل b و کاروتنوئید نیز تحت تنش خشکی کمتر از شاهد بود و کاربرد اسید هیومیک و اسید آسکوربیک در سطوح بالا، موجب افزایش گردید. همچنین تنش خشکی موجب افزایش پرولین، آنتوسیانین و مالون دی‌آلدئید گردید. این نتایج می‌تواند گویای اثر تعدیل‌کننده تخفیف‌دهنده‌ها به ویژه کاربرد سطوح بالای آنها بر فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه نعناع فلفلی تحت تنش خشکی باشد.

**واژگان کلیدی:** تنش خشکی، اسید هیومیک، اسید آسکوربیک، نعناع فلفلی

### مقدمه

نعنائیان یکی از بزرگترین تیره‌های گیاهی است که بسیاری از گیاهان دارویی اعم از ریحان، نعناع، مریم‌گلی، مرزه، مرزنگوش، پونه کوهی، زوفا، آویشن، اسطوخودوس و بادرنجبویه در این تیره جای دارند. این گیاهان در اغلب نواحی یافت می‌شوند ولی محل انتشار آن‌ها بیشتر در منطقه مدیترانه است. تیره نعنائیان دارای 187 جنس و 3000 گونه است. نعناع فلفلی با نام عمومی Peppermint و نام علمی *Mentha piperita* متعلق به خانواده Lamiaceae یک نعناع هیبریدی است که از تلاقی بین گونه‌های نعناع *Mentha spicata* و نعناع آبی *Mentha aquatic* حاصل شده است. این گیاه بومی خاورمیانه و اروپا است و به صورت کشت یا وحشی یافت می‌شود (Tafrihi et al., 2021). گیاهان طی دوران رشد خود با تنش‌های متعدد محیطی مواجه

می‌شوند که هر یک از آن‌ها اثرات متفاوتی بر رشد و عملکرد گیاه می‌گذارند. از بین عوامل محیطی تنش‌زا، اولین عامل کاهش عملکرد عوامل بیماری‌زا و دومین عامل خشکی می‌باشد. در میان تنش‌های غیرزیستی، خشکی و تنش گرمایی دو تهدید حیاتی برای رشد محصولات زراعی و کشاورزی پایدار در سراسر جهان هستند (Boyer., 1982 ; Awasthi *et al*, 2014). تنش خشکی در نتیجه بارندگی ناکافی یا کمبود رطوبت خاک ممکن است واکنش‌های بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی و ژنتیکی مختلفی را در گیاهان ایجاد کند که رشد محصول را به شدت محدود می‌کند. از دیدگاه کشاورزی خشکی عبارت است از ناکافی بودن مقدار و توزیع آب قابل استفاده در طی دوره رشد گیاه که این امر موجب کاهش بروز توان کامل ژنتیکی گیاه می‌گردد. تنش گرمایی غالباً با تنش خشکی در شرایط مزرعه همراه است. گیاهان با تنظیم فیزیولوژی، مورفولوژی یا متابولیسم خود برای به حداقل رساندن آسیب‌های ناشی از استرس، با زندگی در شرایط تنش سازگار می‌شوند. تغییرات در فرآیندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی گیاه که در نهایت باعث آسیب و یا مرگ می‌شود، به عنوان تنش گیاه در نظر گرفته می‌شود (Atkinson and Urwin., 2012). خشکسالی، شوری و دما عوامل محیطی اصلی هستند که بر توزیع جغرافیایی و بهره‌وری گیاهان تأثیر می‌گذارند و هم‌چنین کیفیت در کشاورزی و غذا را تهدید می‌کند. با توجه به مطالب گفته شده جستجو برای محصولات متحمل جدید برای مواجهه با این شرایط نامطلوب برای ایجاد استراتژی‌های سازگاری در کشاورزی مهم است. با توجه به این که تنش خشکی از رایج‌ترین تنش‌های محیطی در ایران است، انجام مطالعات مورفولوژیک و فیزیولوژیک و به کارگیری اسید هیومیک و اسید آسکوربیک به منظور بررسی واکنش ارقام حساس و متحمل به خشکی نعنای فلفلی، می‌تواند به عنوان شاخصی برای شناخت نحوه سازگاری و تحمل به خشکی ارقام مفید واقع شود. کاربرد عناصر غذایی کم مصرف از قبیل اسید هیومیک و استفاده از ترکیباتی از قبیل اسید آسکوربیک باعث افزایش شاخص‌های رشد گیاهان در مقابله با تنش‌های محیطی از جمله تنش کم آبی شده است. از این رو تحقیق حاضر به منظور بررسی اثر محلول پاشی اسید هیومیک و اسید آسکوربیک بر فیزیولوژی گیاه نعنای فلفلی در شرایط تنش خشکی صورت گرفته است.

## مواد و روش‌ها

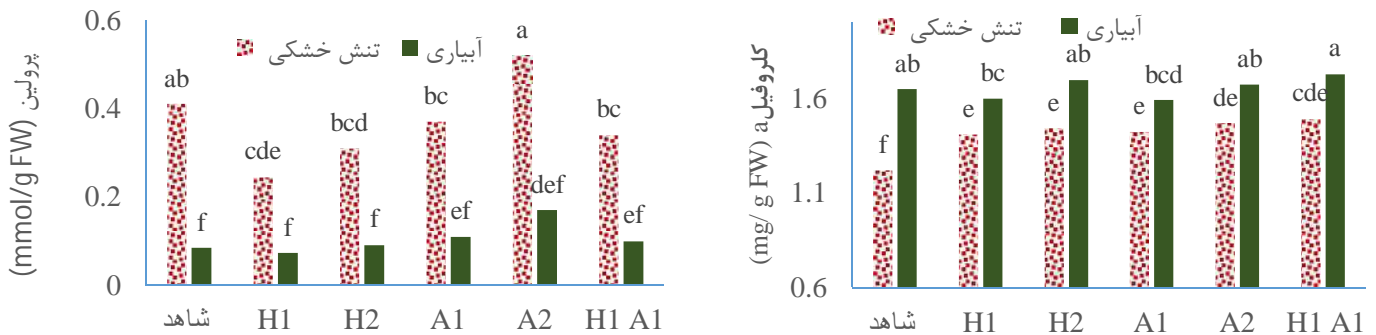
این آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار انجام شد. تنش خشکی (شاهد و 50 درصد ظرفیت گلدانی) به عنوان فاکتور اول، تخفیف دهنده‌های تنش خشکی (شاهد، 2 و 4 گرم در لیتر اسید هیومیک، 2 و 4 گرم در لیتر اسید اسکوربیک) به عنوان فاکتور دوم بود.

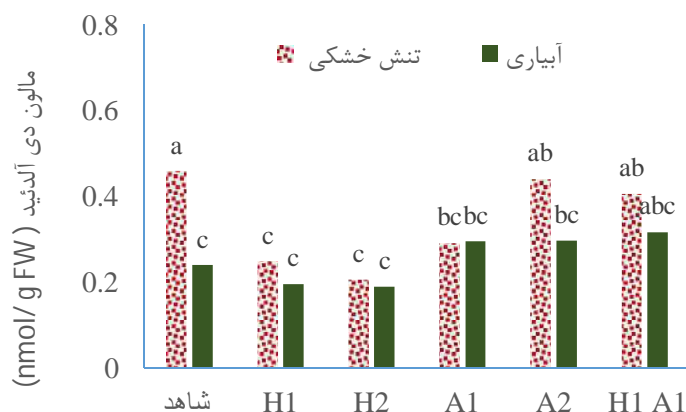
ابتدا خاک گلدان‌ها به نسبت 2 قسمت خاک باغچه یک قسمت ماسه و یک قسمت مخلوط کود دامی و ورمی کمپوست آماده شدند و سپس 3 عدد نشاء 4 برگی در هر گلدان کشت شد و پس از اطمینان از استقرار گیاهچه‌ها تیمارها اعمال شدند و آبیاری بر حسب ضرورت با توجه به شرایط تنش یا بدون تنش به روش وزنی تنظیم گردید. در پایان آزمایش برای اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی 0/2 گرم بافت تازه برگ در 10 سی سی استون 80% ساییده شده و سپس جذب نمونه‌ها در طول موج‌های 470، 663، 645 محاسبه گردید (Arnon, 1967). سنجش نشت الکترولیت بر اساس روش Ben-Hamed و همکاران (2007)، سنجش مالون‌دی‌آلدئید بر اساس روش Davey و همکاران (2005) و برای اندازه‌گیری پرولین روش Bates و همکاران (1973) استفاده شد. در نهایت آنالیز

آماري بر اساس آزمايش فاکتوريل در قالب طرح کاملاً تصادفي با استفاده از نرم افزار آماري SPSS انجام شد. جهت بيان تفاوت‌هاي آماري از آزمون چند دامنه‌اي دانکن استفاده شد.

## نتایج و بحث

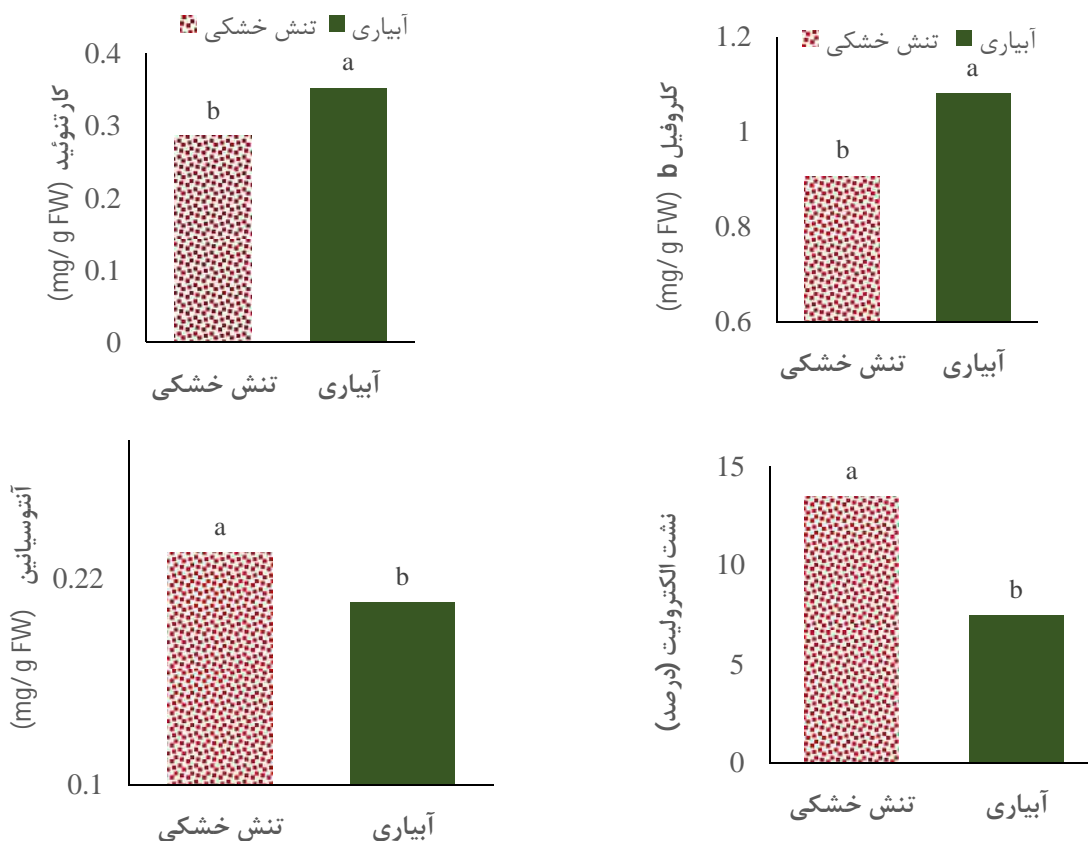
بر اساس نتایج به دست آمده اثر متقابل تیمارهای مختلف اسید هیومیک و اسید آسکوربیک با سطوح تنش خشکی بر میزان رنگیزه کلروفیل a، مالون دی آلدئید و پرولین معنی‌دار بود (شکل 1). در اثر اعمال تنش خشکی میزان کلروفیل a در همه تیمارهای آزمایشی به صورت معنی‌داری کاهش یافت که این امر بیانگر اثرات مخرب تنش خشکی بر تولید یا حفظ رنگیزه‌های فتوسنتزی است. در شرایط بدون تنش هیچ یک از تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری با شاهد نداشت در حالیکه در شرایط تنش خشکی همه تیمارها با شاهد اختلاف معنی‌داری داشتند و این نکته بیانگر آن است که در شرایط تنش استفاده از ترکیبات اسید هیومیک و اسید آسکوربیک می‌تواند به صورت معنی‌داری باعث افزایش میزان این رنگیزه شود. بر اساس نتایج مقایسه میانگین (شکل 1) تنش خشکی باعث افزایش معنی‌دار میزان پرولین و مالون دی آلدئید گردید و کاربرد اسید هیومیک و اسید آسکوربیک طور همزمان میزان پرولین و مالون دی آلدئید را در شرایط نرمال آبیاری افزایش داده و در شرایط تنش خشکی اسید آسکوربیک بخصوص در غلظت بالاتر تاثیر بیشتری بر میزان پرولین و مالون دی آلدئید داشته است. برای صفات کلروفیل b و کاروتنوئید نیز اثرات ساده تنش و اثر ساده تخفیف دهنده‌های تنش (اسید آسکوربیک و اسید هیومیک) معنی‌دار گردید ولی اثر متقابل آنها معنی‌دار نبود. نتایج اثر ساده تنش خشکی (شکل 2) کاهش میزان کاروتنوئید و کلروفیل b تحت شرایط تنش خشکی را نشان داد. همچنین نتایج نشان داد (شکل 3) که کاربرد اسید هیومیک و اسید آسکوربیک باعث افزایش میزان کاروتنوئید و کلروفیل b شده است. میزان نشت الکترولیت نیز تحت تنش خشکی افزایش داشت (شکل 2). برای میزان آنتوسیانین نیز اثرات ساده تنش و اثر ساده تخفیف دهنده‌های تنش معنی‌دار گردید ولی اثر متقابل آنها معنی‌دار نبود. نتایج مقایسه میانگین اثر ساده تخفیف دهنده‌های تنش نشان داد که بیشترین میزان آنتوسیانین در کاربرد 2 گرم در لیتر اسید هیومیک بدست آمد. همچنین نتایج اثر ساده تنش خشکی افزایش میزان آنتوسیانین تحت تنش خشکی را نشان داد (شکل 2 و 3).



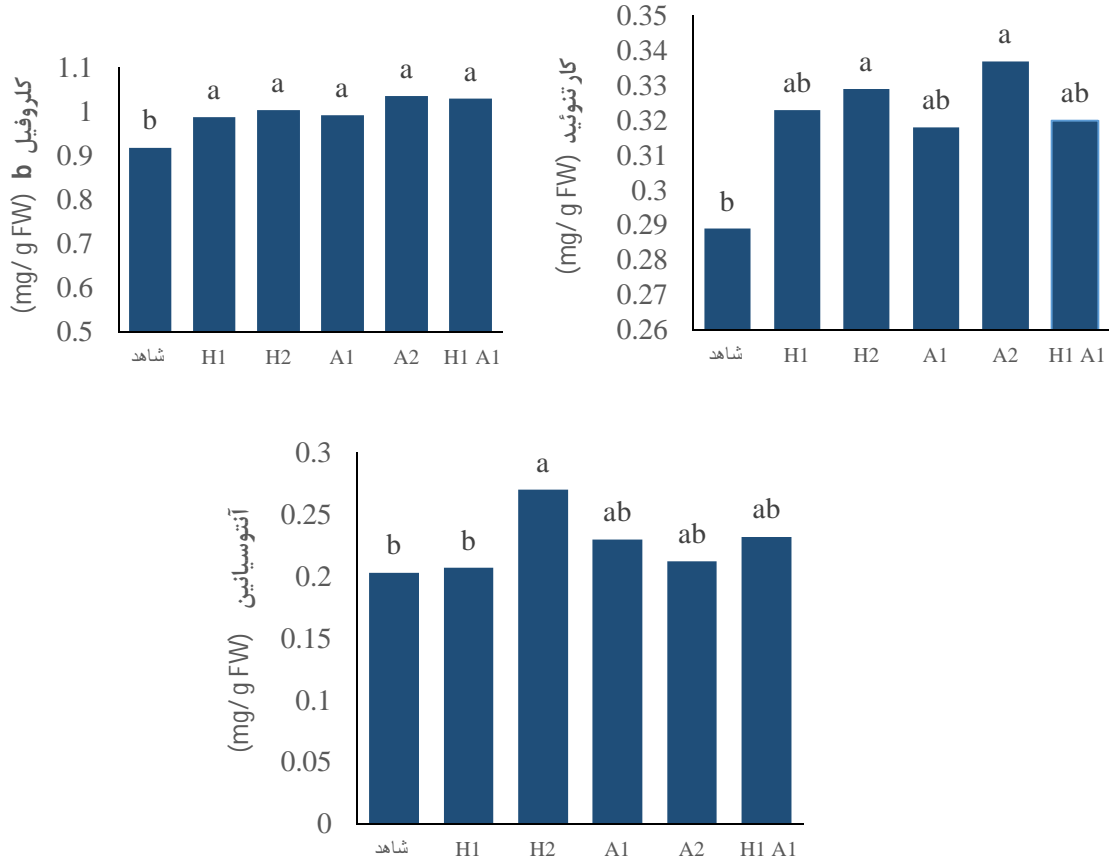


شکل 1- اثر متقابل تیمارهای آزمایشی و سطوح تنش بر میزان رنگیزه کلروفیل a، پرولین و مالون دی آلدئید

H1: غلظت 2 گرم در لیتر اسید هیومیک، H2: غلظت 4 گرم در لیتر اسید هیومیک، A1: غلظت 2 گرم در لیتر اسید آسکوربیک، A2: غلظت 4 گرم در لیتر اسید آسکوربیک در هزار اسید آسکوربیک



شکل 2- اثر تنش خشکی بر میزان رنگیزه کلروفیل b، کاروتنوئید و آنتوسیانین



شکل 3- اثر اسید هیومیک و اسید آسکوربیک بر میزان رنگیزه کلروفیل b، کاروتنوئید و آنتوسیانین

### نتیجه گیری

مطالعه حاضر با هدف ارزیابی تاثیر تنش خشکی، اسید هیومیک و اسید آسکوربیک بر برخی صفات فیزیولوژیکی نعنای فلفلی بود. پژوهش حاضر نشان داد تنش خشکی اثرات منفی بر صفات فیزیولوژیکی گیاه نعنای فلفلی داشت. کاربرد اسید هیومیک و اسید آسکوربیک ب القای تغییرات فیزیولوژیکی گیاه باعث کاهش اثرات منفی تنش خشکی در این گیاه شد.

### منابع و مراجع مورد استفاده

- Arnon, A.N., 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agron. J.* 23,112-121.
- Atkinson, N.J. and Urwin, P.E., 2012. The interaction of plant biotic and abiotic stresses: from genes to the field. *Journal of experimental botany*, 63(10): 3523-3543.
- Awasthi, R., Kaushal, N., Vadez, V., Turner, N.C., Berger, J., Siddique, K.H. and Nayyar, H., 2014. Individual and combined effects of transient drought and heat stress

on carbon assimilation and seed filling in chickpea. *Functional Plant Biology*, 41(11), 1148-1167.

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

Ben Hamed, K., Castagna, A., Salem, E., Ranieri, A. and Abdelly. C., 2007. Sea fennel (*Crithmum maritimum L.*) under salinity conditions, a comparison of leaf and root antioxidant responses. *Plant Growth Reg.* 53, 185-194.

Boyer, JS., 1982. Plant productivity and environment. *Science*. 218,443-8

Davey, M.W., Stals, E., Panis, B., Keulemans, J. and Swennen. R.L., 2005. High-throughput determination of malondialdehyde in plant tissues. *Anal Biochem*. 347, 201-207

Tafrihi, M., Imran, M., Tufail, T., Gondal, T.A., Caruso, G., Sharma, S., Sharma, R., Atanassova, M., Atanassov, L., Valere Tsouh Fokou, P. and Pezzani, R., 2021. The wonderful activities of the genus *Mentha*: Not only antioxidant properties. *Molecules*, 26(4), p.1118.

## **The effect of ascorbic acid and humic acid on the some physiological characteristics of peppermint under drought stress conditions**

Zahra Movahedi<sup>1\*</sup>, Sima Ghiyasi<sup>2</sup>, Majid Rostami<sup>3</sup>

<sup>1\*</sup>, <sup>2</sup>, <sup>3</sup> Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Malayer University, Malayer, Iran

✉ Corresponding author. E-mail addresses: [zahra\\_movahedi\\_312@yahoo.com](mailto:zahra_movahedi_312@yahoo.com)

### **Abstract**

Drought stress is one of the most important factors in yield loss and production of field crops, horticulture and herbs in the world. Humic acid as an organic acid and ascorbate as a powerful antioxidant can be effective to improve the yield in water stress conditions. In order to evaluate adjusting drought stress by using humic acid and ascorbic acid in peppermint, factorial experiment in a completely randomized design with three replications was conducted. Experimental treatments included drought stress (control and drought stress), humic acid and ascorbic acid in three levels (0, 2 and 4 g/l). The result showed that chlorophyll a decreased by drought stress and the application humic acid and ascorbic acid could compensation this damage. Chlorophyll b and carotenoid in drought stress was less than control and application of humic acid and high levels of ascorbic acid was increased chlorophyll b and carotenoid. Also, proline, anthocyanin and malondialdehyde increased significantly under drought stress. This result could indicate moderating effect of the mitigation on physiological processes of peppermint plant under drought stress, especially in high levels of their usage.

Keywords: Drought stress, Humic acid, Ascorbic acid, Peppermint





## ارزیابی اثر سدیم نیتروپروساید بر جوانه زنی بذر بامیه تحت تنش مس

سرور عارفی<sup>1\*</sup>، جلیل خارا<sup>2\*</sup>

1- دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه

[S.arefi@urmia.ac.ir](mailto:S.arefi@urmia.ac.ir)

2- دانشیار گروه زیست شناسی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه

[jakhara@yahoo.com](mailto:jakhara@yahoo.com)

### چکیده

نیتریک اکسید (NO) یک مولکول فعال زیستی در گیاهان است که نقش مهمی در فرآیندهای مختلف فیزیولوژی که شامل تسریع در جوانه زنی بذر، کاهش خواب بذر، دخالت در سبز شدن توسط نور و پاسخ به تنش های زیستی و غیرزیستی از جمله فلزات سنگین، تنش خشکی، شوری در گیاهان را تنظیم می کند. مس یک ریزمغذی اصلی گیاهی است که برای اجزای تشکیل دهنده پروتئین چندآنزیم مورد نیاز است اما وجود مقادیر بسیار زیاد مس، برای رشد گیاه بسیار سمی است و اساساً باعث آسیب گردیده و به توقف کامل رشد گیاه ختم می گردد. برای مشاهده اثر متقابل نیتریک اکساید بر تنش مس، تیمار سدیم نیترو پروساید دهنده (NO) در یک سطح 150 میکرومولار و تنش مس در چهار سطح 0، 50، 100، 200 میکرومولار استفاده شد. آزمایش ها در قالب طرح کاملاً تصادفی و با چهار تکرار انجام شد. نتایج نشان داد که تنش مس باعث کاهش درصد جوانه زنی، سرعت جوانه زنی و طول گیاهچه گردید همچنین مشاهده شد که سدیم نیتروپروساید تاثیر مثبتی بر جوانه زنی داشته و هم در شاهد و هم در تیمارهای تنش دیده سبب افزایش جوانه زنی می شود.

واژگان کلیدی: نیتریک اکسید، فلز سنگین، درصد جوانه زنی، بامیه

### مقدمه:

گیاه بامیه با نام علمی (*Abelmoschus esculentus*) متعلق به خانواده Malvaceae یکی از گیاهان گرمسیری و نیمه گرمسیری است که پراکندگی این گیاه در خاورمیانه (ایران) گزارش شده است (Adelakun et al., 2009). جوانه زنی بذر و رشد اولیه گیاهچه، مراحل رشد گیاه هستند که بیشترین حساسیت را به تنش فلزات سنگین دارند (Parera et al., 2023; Seneviratne et al., 2019). اولین مکانیسم های سمیت فلزات سنگین از طریق اختلال در فعالیت کاتالیزوری آنزیم ها، آسیب به غشای سلولی و محدود کردن رشد ریشه بروز می یابد. این کاهش در رشد ریشه در اثر کاهش تقسیم سلولی اتفاق می افتد (Verma; 2007). تحقیقات انجام شده در این زمینه حاکی از کاهش درصد و سرعت جوانه زنی و همچنین کاهش رشد ریشه چه و ساقه چه در مرحله جوانه زنی و گیاهچه ای بذر گیاهان در اثر سمیت عنصر مس می باشد (Sabeti et al., 2011). بررسی جوانه زنی یکی از روش های اساسی برای تعیین اثرات سمی مس روی گونه های مختلف گیاه است، در بسیاری از گیاهان مانند برنج، لوبیا، نخود و سویا مس باعث کاهش جوانه زنی می شود (Adrees et al., 2015). اکسید نیتریک (NO)، یک مولکول گازی بی رنگ، یک رادیکال آزاد چربی دوست است که به راحتی در غشای پلاسمایی پخش می شود NO. به عنوان یک پیام رسان شیمیایی، نقش مهمی در رشد، نمو گیاهان و پاسخ به تنش های زیستی و غیر زنده ایفا می کند. علاوه

بر این، بیان زن را تنظیم می‌کند و به رشد گیاه و مکانیسم های دفاعی کمک می‌کند (khan et al., 2023). سدیم نیترو پروساید یک ترکیب رهاکننده نیتریک اکساید (NO) است که نقش آن در گیاهان موضوع پژوهش‌های مختلفی بوده است. (Kutcher et al., 2005; He et al., 2012; He et al., 2014) هدف از این تحقیق بررسی اثر تنش سولفات مس و تعدیل کننده سدیم نیترو پروساید بر سرعت جوانه زنی و درصد جوانه زنی و طول گیاهچه بامیه رقم کلمسون بود.

#### مواد و روش:

در این تحقیق از بذرهای بامیه واریته کلمسون که از شرکت (AvanMashreghZamin) تهیه شده بود استفاده شد 50 عدد بذر سالم در پتری حاوی کاغذ واتمن خیس شده به (مقدار مساوی) در ژرمیناتور قرار گرفت. سدیم نیتروپروساید در یک سطح 150 میکرو مولار و تنش مس در چهار سطح 0، 50، 100، 200 میکرومولار استفاده شد و آزمایش‌ها در قالب طرح کاملا تصادفی و با چهار تکرار انجام شد. در این پژوهش به مدت یک هفته تعداد بذرهای جوانه زده در هر پتری به فواصل یک روزه شمارش و ثبت گردید. معیار جوانه زنی بیرون آمدن نوک ریشه چه از پوسته بذر و رشد آن در نظر گرفته و سپس درصد جوانه زنی و سرعت جوانه زنی (Me Guire, 1962) از رابطه 1 و 2 محاسبه شد و آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی اجرا گردید.

#### رابطه 1

$$P G = \frac{n_i}{N} \times 100$$

در این معادله PG: درصد جوانه زنی،  $n_i$ : تعداد بذرهای جوانه زده تا روز  $i$ ام و N: تعداد کل بذرهای می باشد.

#### رابطه 2

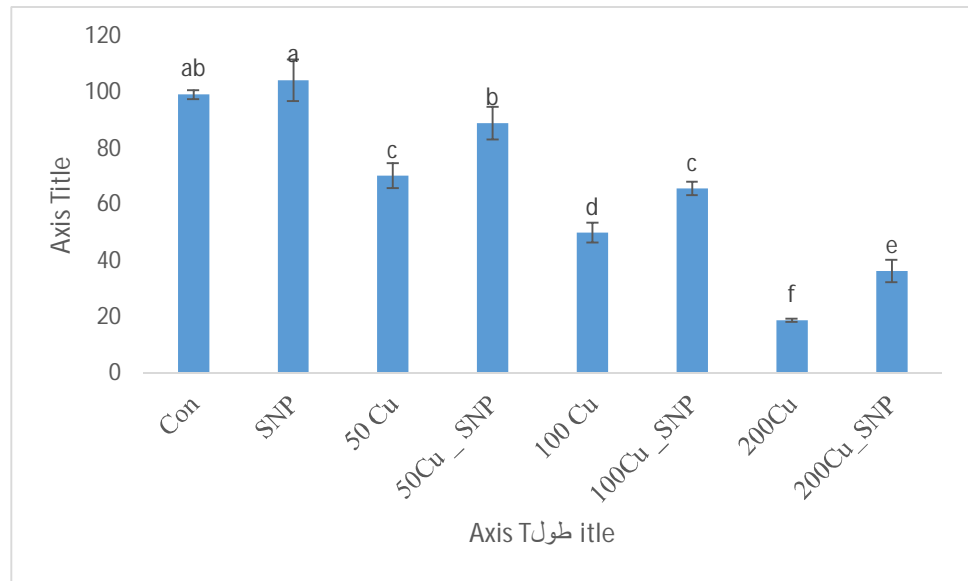
$$RS = \sum_{i=1}^n \left( \frac{S_i}{D_i} \right)$$

در این معادله RS: سرعت جوانه زنی،  $S_i$ : تعداد بذرهای جوانه زده در هر روز و D: تعداد روزهای سپری شده از شروع آزمایش می باشد. تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS و ترسیم نمودارها با استفاده از برنامه EXCEL صورت گرفت.

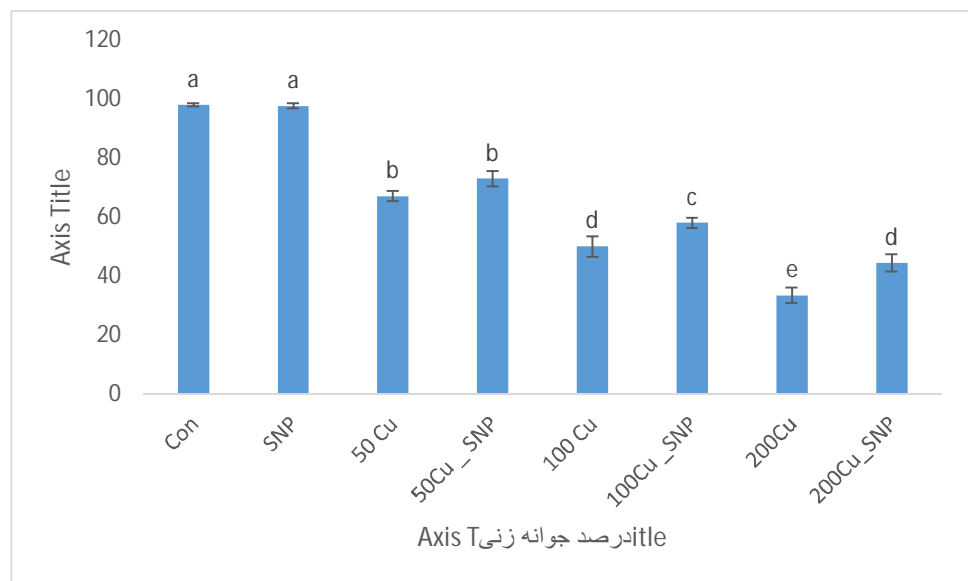
#### نتایج:

غلظت‌های مختلف سولفات مس و برهم کنش آن با سدیم نیترو پروساید نسبت به شاهد روند کاهشی را نشان می‌دهند بیشترین کاهش در سرعت جوانه زنی و درصد جوانه زنی در غلظت 200 میکرومولار سولفات مس مشاهده شد (نمودار 1 و 2). در مرحله رشد گیاهچه بیشترین تغییرات میزان طول گیاهچه تحت تاثیر تنش سولفات مس بود. با افزایش غلظت سولفات مس به خصوص در غلظت 200 میکرو مولار تا 70 درصد رشد گیاهچه نسبت به شاهد کاهش یافت (نمودار 3). کاربرد سدیم نیتروپروساید موجب افزایش درصد و سرعت جوانه زنی و طول گیاهچه شد که در سطح (P<1%) معنی دار بودند.

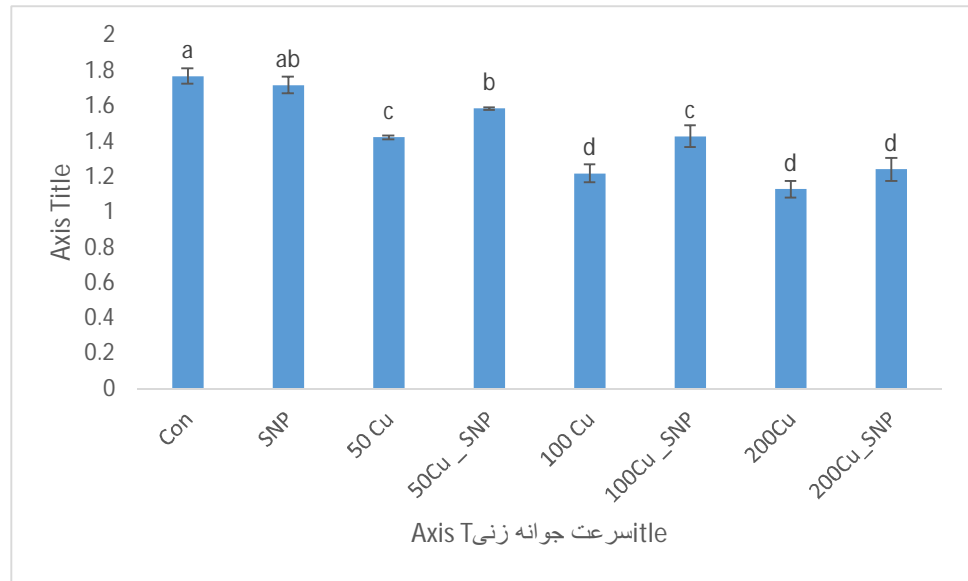
1- اثرات مختلف سولفات مس و برهم کنش آن با سدیم نیتروپروساید بر طول گیاهچه



2- اثرات مختلف سولفات مس و برهم کنش آن با سالیسیلیک اسید بر درصد جوانه زنی رقم



## 2- اثرات مختلف سولفات مس و برهم کنش آن با سالیسیک اسید بر سرعت جوانه زنی رقم



## 3- اثرات مختلف سولفات مس و برهم کنش آن با سدیم نیتروپروساید بر سرعت جوانه زنی رقم

بحث:.

بنابراین، ارزیابی تحمل فلزات سنگین در طول جوانه زنی و رشد اولیه گیاهچه ممکن است بینشی در مورد تحمل این گونه ها در مراحل بعدی چرخه زندگی آنها ارائه دهد [۳۲،۳۹]. گزارش ها حاکی از آن است که افزایش غلظت مس باعث کاهش درصد جوانه زنی در بذرها می گردد (Davis, 1991). فلزات سنگین اثرات مهارکنندگی خود را بر جوانه زنی دانه ها به روش های گوناگون اعمال می کنند، برخی از فلزات سنگین با مهار هیدرولیز نشاسته اندوسپرم از جوانه زنی و رشد اولیه دانه رست ها جلوگیری می کند و برخی دیگر، با آسیب رساندن به رویان از جوانه زنی دانه جلوگیری می کنند. (Mishra and chouhuri, 1997). در پژوهشی اثرات فلزات سنگین را بر روی جوانه زنی بذرها *Lens esculenta* (Ayus Kadioglu, 1997) مورد بررسی قرار دادند که نتیجه آن کاهش درصد جوانه زنی بود و هم چنین کاهش درصد جوانه زنی در دو رقم 30 و 35 بذور *Vigna radiata* L. تحت تنش سولفات مس ثبت شده است (Prakash Verma, 2011). که این نتایج گزارش شده با نتایج پژوهش ما همسو بود. NO یک محرک قوی جوانه زنی است و این عمل توسط فلزات سنگین ممانعت نمی شود. طبق بررسی ها اثر تحریکی NO در مراحل اولیه جوانه زنی مشخص تر بوده و چون خروج ریشه چه به عنوان معیار جوانه زنی محسوب می شود عمل NO به احتمال قوی مربوط به طول شدن ریشه در مراحل اولیه پس از جوانه زنی می باشد. البته تصور می شود اثر NO روی رشد ریشه مربوط به جذب آب نمی باشد. همچنین SNP موجب تحریک جوانه زنی دانه و رشد ریشه لوبیا نیز شده است (Kopyra and Gwóz'dz, 2003). مشاهده شده است که تصاعدهای گازی حاوی NO و NO<sub>2</sub> نتوانسته اند جوانه زنی بذر را القاء کنند. تحریک جوانه

زنی نوری توسط NO برای دانه‌های کاهو ثابت شده است (Beligni and Lamattina, 2000). گزارش شده است که NO فرآیندهای سلولی را به روش‌های مختلف تنظیم می‌کند. سرکوب سیتوکروم اکسیداز (COX) با واسطه NO در طول جوانه زنی بذر، تنظیم دقیق تنفس را قادر می‌سازد تا از بی‌اکسیژن شدن بافت‌ها جلوگیری کند (khan et al., Pandey et al., 2019). این امر تولید ROS، آسیب DNA و تخریب لیپید را به حداقل می‌رساند. علاوه بر این، NO بیان ژن‌های مربوط به چرخه سلولی را تحریک می‌کند و غلظت اسیدهای آمینه درون سلولی را که برای سنتز پروتئین در طول جوانه زنی بذر ضروری هستند، را افزایش می‌دهد.

### نتیجه گیری کلی:

در پژوهش ما کاربرد سدیم نیترو پروساید باعث کاهش سمیت تنش مس و افزایش درصد و سرعت جوانه زنی شد.

### منابع

- Ayus, F. A. and Kadioglu, A., 1997, Effect of heavy metals (Zn, Cd, Cu, Ni, Hg) on the soluble protein bands of germination lens esculenta L. Seed Turkish Journal of Botany, 21(2), 85-88.
- Besson-Bard, C., Courtois, A., Gauthier, A., Dahan, J., Dobrowolska, G., Jeandroz, S., Pugin, A., and endehenne, D.** 2008b. Nitric oxide in plants: production and cross-talk with Ca<sup>2+</sup> signalling. *Molecular Plant*. 1: 218-228.
- Khan, M., Ali, S., Al Azzawi, T. N. I., & Yun, B. W. (2023). Nitric Oxide Acts as a Key Signaling Molecule in Plant Development under Stressful Conditions. *International journal of molecular sciences*, 24(5), 4782.
- Davis, W. J., Jones, H. G., 1991, Abscisic acid physiology and biochemistry, bioess Biochemical changes in barley plant after excessive supply of copper and manganese, *Environ exp bot*, 52: 253-266.
- He, H.Y., Zhan, J., He, L.F. and Gu, M.H.** 2012. Nitric oxide signaling in aluminum stress in plants. *Protoplasma* 249: 483-492
- He, J.Y., Ren, Y.F., Chen, X.L., Chen, H.** 2014. Protective roles of nitric oxide on seed germination and seedling growth of rice (*Oryza sativa* L.) under cadmium stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 108, 114-119.
- Kutcher, H.R., Malhi, S.S. and Gill, K.S.** 2005. Topography and management of nitrogen and fungicide affects diseases and productivity of canola. *Agronomy Journal* 97(2): 533-541
- Li, Q., Niud, H., Yind, J., Wanga, M., Shaob, H., Dengd, D., Chend, X., Rend, J., and Li, Y.** 2008. Protective role of exogenous nitric oxide against oxidative-stress induced by salt stress in barley (*Hordeum vulgare*). *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 65: 220-225.
- Lopez-Carrion, A., Castellano, R., Rosales, M., Ruiz, J. and Romero, L.** 2008. Role of nitric oxide under saline stress: implications on proline metabolism. *Biologia Plantarum*. 52: 587. <https://doi.org/10.1007/s10535-008-0117-1>
- M., Ali S., Rizwan M., Zia-Ur-Rehman M., Ibrahim M., Abbas F., et al. (2015). Mechanisms of silicon-mediated alleviation of heavy metal toxicity in plants: review. *Ecotoxicol. Environmental. Safety*. 119, 186-197.

Pandey S., Kumari A., Shree M., Kumar V., Singh P., Bharadwaj C., Loake G.J., Parida S.K., Masakapalli S.K., Gupta K.J. Nitric oxide accelerates germination via the regulation of respiration in chickpea. *J. Exp. Bot.* 2019;70:4539–4555.

Parera, V., Parera, C. A., & Feresin, G. E. (2023). Germination and Early Seedling Growth of High Andean Native Plants under Heavy Metal Stress. *Diversity*, 15(7), 824.  
Prakash Verma, J., Singh, V. and Yadav, J., 2011, Effect of copper sulphate on seed Germination, plant Growth and Peroxidase activity of Mung bean (*Vigna radiata*), *International Journal of Botany*, 7(2), 200-204

Samma, M.K.; Zhou, H.; Cui, W.; Zhu, K.; Zhang, J.; Shen, W. Methane alleviates copper-induced seed germination inhibition and oxidative stress in *Medicago sativa*. *Biometals* 2017, 30, 97–111. [Google Scholar] [CrossRef]  
Seneviratne, M.; Rajakaruna, N.; Rizwan, M.; Madawala, H.M.S.P.; Ok, Y.S.; Vithanage, M. Heavy metal-induced oxidative stress on seed germination and seedling development: A critical review. *Environ. Geochem. Health* 2019, 41, 1813–1831. [Google Scholar] [CrossRef]

## Investigating the effect of sodium nitroprusside on the germination of okra seeds under copper sulfate stress

1-PhD in Plant Physiology

2- Assistant professor of biology group

[Sorur.arefi@yahoo.com](mailto:Sorur.arefi@yahoo.com)

**Nitric oxide (NO) is a biologically active molecule in plants that plays an important role in various physiological processes, which include accelerating seed germination, reducing seed dormancy, interfering with greening by light, and responding to biotic and abiotic stresses, including: metals. Regulates heavy, drought stress, salinity in plants. Copper is a main plant micronutrient that is needed for the components of multi-enzyme proteins, but the presence of very large amounts of copper is very toxic for plant growth and basically causes damage and ends in the complete stop of plant growth. To observe the interaction between nitric oxide and copper tension, sodium nitroprusside (NO) donor treatment was used at a level of 150  $\mu\text{M}$  and copper tension at four levels of 200, 100, 0.50  $\mu\text{M}$ . The experiments were conducted in the form of a completely randomized design with four replications. The results showed that copper stress decreased the germination percentage, germination speed and seedling length. It was also observed that sodium nitroprusside had a positive effect on germination and it increased germination both in control and stressed treatments.**

Key words: nitric oxide, heavy metal, germination percentage, okra

## بررسی اثرات تنش خشکی و سطوح مختلف زئولیت بر برخی صفات زراعی و بیوشیمیایی ارقام کنجد

1- مهناز نارویی

دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی گروه زراعت دانشکده کشاورزی دانشگاه زابل

2- علیرضا سیروس مهر

\*دانشیار، فیزیولوژی گیاهان زراعی، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل

[asirousmehr@uoz.ac.ir](mailto:asirousmehr@uoz.ac.ir)

3- مهدی دهمرده

دانشیار، اکولوژی گیاهان زراعی، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل

3- اسماعیل سیدآبادی

استادیار ماشین های کشاورزی، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل

### چکیده

تنش خشکی از عوامل محیطی مهمی است که بر عملکرد و کیفیت محصول کنجد تاثیر می گذارد. به منظور بررسی اثرات تنش خشکی و سطوح زئولیت بر عملکرد و برخی ویژگی های ارقام کنجد آزمایشی به صورت اسپلت پلات فاکتوریل در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با 3 تکرار در چاه نیمه زابل اجرا شد. عامل اصلی شامل سه سطح آبیاری a1: طبق آبیاری منطقه، a2: قطع آبیاری در پنجاه درصد گلدهی و a3: قطع آبیاری در پنجاه درصد دانه بندی و عوامل فرعی شامل ارقام کنجد (هلیل، دشتستان و داراب) و چهار سطح زئولیت (0، 3، 6 و 9 تن در هکتار) بود. بیشترین ارتفاع بوته (11/3 سانتی متر) از عدم تنش خشکی و کاربرد 9 تن در هکتار زئولیت و رقم دشتستان، عملکرد دانه (1/3 تن در هکتار) عدم تنش خشکی و کاربرد 9 تن زئولیت و رقم داراب، بیشترین محتوای پروتئین (0/85 میلی گرم بر گرم وزن تر) تنش خشکی شدید و عدم کاربرد زئولیت و رقم داراب و محتوای کربوهیدرات های محلول (0/85 میلی گرم بر گرم وزن تر) تنش خشکی شدید و عدم کاربرد زئولیت و رقم هلیل حاصل گردید. نتایج نشان داد که زئولیت با کم کردن اثرات منفی تنش خشکی باعث بهبود صفات مورد بررسی کنجد میشود و رقم داراب نسبت به دو رقم دیگر برتری دارد.

### مقدمه

کنجد (*Sesamum indicum* L.) از قدیمی ترین محصول دانه روغنی شناخته شده است و اولین روغن مصرف شده توسط انسان است. با این حال، تقاضا برای دانه های کنجد در دو دهه اخیر به دلیل کیفیت بالای روغن، محتوای پروتئین، محتوای آنتی اکسیدانی و سازگاری گسترده در محیط های با شرایط آب و هوایی سخت افزایش یافته است (Myint et al., 2020). در میان تنش های غیرزیستی متنوع، مطالعات متعدد نشان داده اند که خشکسالی نامطلوب ترین تنش است و باعث

کاهش قابل توجه عملکرد و صفات کیفی می‌شود (Wang et al., 2019). گیاهان معمولاً مکانیسم‌های مختلفی جهت مقابله با تنش کم‌آبی دارند و از طریق القای انواعی از پاسخ‌های مورفولوژیکی، بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی به تنش سازگار می‌شوند (Mirzaee et al., 2013). تجمع پرولین در گیاهان تحت تنش، به‌واسطه سنتز پرولین و غیرفعال شدن تخریب آن است. افزایش محتوای پرولین در شرایط تنش باعث محافظت غشای سلولی، پروتئین‌ها، آنزیم‌های سیتوپلاسمی و مهار گونه‌های فعال اکسیژن و حذف رادیکال‌های آزاد می‌گردد (Liang et al., 2013). ژنولیت‌ها آلومینوسیلیکات‌های هیدراته با اتم‌های اکسیژن هستند که به شبکه سه بعدی  $SiO_4$  و  $AlO_4$  متصل می‌شوند. ژنولیت‌ها از طریق توانایی جذب انتخابی و همچنین آزادسازی کنترل شده کاتیون‌ها، باعث افزایش مواد مغذی موجود و در نتیجه بهبود رشد و نمو گیاه می‌شوند (Harb and Mahmoud, 2009). هدف از اجرای آزمایش بررسی اثرات تنش خشکی و سطوح ژنولیت بر عملکرد و برخی ویژگی‌های ارقام کنگد می‌باشد.

### مواد و روش‌ها

این پژوهش در دانشگاه زابل (چاه نیمه) و در سال زراعی 98-99 به صورت اسپلنت پلات فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با 3 تکرار اجرا گردید. ویژگی‌های خاک آزمایش در جدول 1 آمده است.

#### جدول 1: خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک

عمق	هدایت الکتریکی	واکنش گلیکول	کربن آلی	ازت کل	فسفر قابل جذب	پتاسیم قابل جذب	درصد رس	درصد لای	درصد شن
0-30	4/3	8/4	0/35	0/31	6/2	145	15	37	48

عامل اصلی تنش خشکی شامل سه سطح آبیاری a1: طبق آبیاری منطقه، a2: قطع آبیاری در پنجاه درصد گلدهی و a3: قطع آبیاری در پنجاه درصد دانه‌بندی، عامل‌های فرعی شامل ارقام کنگد (هلیل، دشتستان و داراب) و چهار سطح ژنولیت (0، 3، 6 و 9 تن در هکتار) بود. از روش Bates و همکاران (1973) جهت اندازه‌گیری پرولین و از روش Irigoyen و همکاران (1992) برای اندازه‌گیری محتوای کربوهیدرات‌های محلول استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با کمک نرم افزار MSTATC انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

### نتایج و بحث

ارتفاع بوته: با توجه به جدول تجزیه واریانس داده‌ها اثرات برخی منابع تغییر معنی دار شد. با توجه به جدول مقایسه میانگین اثرات سه جانبه تیمارهای آزمایشی بیشترین ارتفاع بوته (111/3 سانتی متر) از عدم تنش خشکی و کاربرد 9 تن در هکتار ژنولیت و رقم دشتستان به دست آمد. در بسیاری از تحقیقات اثر منفی تنش خشکی بر ارتفاع بوته گزارش شده است (Harb and Mahmoud, 2009)، که دلیل آن را می‌توان از یک طرف به کاهش طول دوره رشد نسبت داد و از طرف دیگر حضور آب در بافتهای گیاهی از طریق افزایش پتانسیل فشاری موجب افزایش اندازه سلول و افزایش رشد می‌گردد و در شرایط تنش کمبود آب از رشد سلولی ممانعت می‌کنند محققان گزارش کردند که وجود ژنولیت میزان ضریب تبادل کاتیونی و دسترسی گیاه را به عناصر غذایی



افزایش داده و تخلخل خاک را بالا برده سبب گردید که ارتفاع بوته در سطح مطلوبی حفظ گردد و گیاه رشد رویشی خود را بخوبی طی نماید (Hazrati et al., 2022).

وزن هزار دانه: با توجه به جدول تجزیه واریانس داده هابرخی اثرات ساده، دو جانبه و اثرسه جانبه در سطح احتمال یک درصد معنی دار شد. مقایسه میانگین تیمارهای آزمایشی نشان داد بیشترین وزن هزار دانه (3/5 گرم) در عدم تنش خشکی و کاربرد 9 تن ژئولیت و رقم داراب حاصل گردید (جدول 3). مصرف ژئولیت به دلیل در اختیار گذاشتن رطوبت مناسب برای گیاه، موجب افزایش وزن هزار دانه نسبت به شرایط عدم مصرف ژئولیت شده است (سیبی و همکاران، 1390). وزن هزار دانه بستگی به دوره پر شدن دانه و میزان فتوسنتز در این مرحله دارد. کاهش رطوبت، موجب کوتاه شدن دوره پر شدن و کاهش سرعت فتوسنتز شده، در نتیجه وزن هزار دانه کاهش مییابد.

عملکرد دانه: با توجه به جدول تجزیه واریانس برخی اثرات منابع تغییر معنی دار شد. مقایسه میانگین اثرسه جانبه تیمارها نشان داد بیشترین عملکرد دانه (1/3 تن در هکتار) عدم تنش خشکی و کاربرد 9 تن ژئولیت و رقم داراب حاصل گردید. تنش خشکی باعث بسته شدن روزنه ها شده، فتوسنتز کاهش یافته، فرایندهای سوخت و ساز، جذب و تجمع مواد مغذی ضروری دچار اختلال می شوند در نتیجه رشد گیاه را کاهش داده و عملکرد کاهش مییابد. با مصرف ژئولیت، رطوبت مورد نیاز گیاه تامین شده، در نتیجه تا حدودی از کاهش عملکرد جلوگیری و موجب افزایش عملکرد گیاه نسبت به عدم کاربرد ژئولیت شد.

پرویلین: با توجه به جدول تجزیه واریانس داده ها اثر ساده تنش، ژئولیت، رقم و اثر متقابل تنش در ژئولیت، تنش در رقم، ژئولیت×تنش×رقم در سطح احتمال یک درصد معنی دار شد. مقایسه میانگین تیمارهای آزمایشی نشان داد بیشترین محتوای پرویلین (0/85 میلی گرم بر گرم وزن تر) تنش خشکی شدید و عدم کاربرد ژئولیت و رقم داراب حاصل گردید (جدول 3).

کربوهیدرات های محلول: با توجه به جدول تجزیه واریانس داده ها اثر ساده تنش، ژئولیت، رقم و اثر متقابل تنش در ژئولیت، ژئولیت×تنش×رقم در سطح احتمال یک درصد معنی دار شد. مقایسه میانگین تیمارهای آزمایشی نشان داد بیشترین محتوای کربوهیدراتهای محلول (0/85 میلی گرم بر گرم وزن تر) تنش خشکی شدید و عدم کاربرد ژئولیت و رقم هلیل حاصل گردید (جدول 3).

جدول 2- تجزیه داده های صفات مورد بررسی در کنجد

میانگین مربعات

منابع تغییر	درجه آزادی	ارتفاع بوته	وزن دانه	100 عملکرد دانه	پرویلین	کربوهیدرات های محلول
تکرار	2	10/16	0/86	0/001	0/000	45/64
تنش	2	1147/03**	3/44**	0/46**	0/37**	10669/02**
اشتباه آزمایشی	4	1/27	0/01	0/001	0/000	9/33

3326/52**	0/3**	0/63**	2/62**	2517/19**	3	زئولیت
481/68**	0/004**	0/007**	0/04**	60/93**	6	تنش×زئولیت
88/2**	0/173**	0/86**	1/2**	299/52**	2	رقم
3/86ns	0/016**	0/001ns	0/03**	3/63ns	4	تنش×رقم
16/88**	0/015**	0/001ns	0/01ns	7/81*	6	زئولیت×رقم
10/44**	0/002**	0/004**	0/02**	9/59**	12	تنش×زئولیت×رقم
1/89	0/000	0/001	0/005	2/53	66	اشتباه آزمایشی
3/86	3/54	4/43	2/49	1/7	-	ضریب تغییرات%

جدول 3-مقایسه میانگین اثرات سه جانبه تیمارهای آزمایشی بر میانگین صفات مورد بررسی کنجد

مکان	تنش	زئولیت	رقم	ارتفاع بوته (سانتی متر)	وزن 100 دانه	عملکرد دانه (تن در هکتار)	پرولین (میلی گرم بر گرم وزن	کربوهیدراتهای محلول (میلی گرم بر گرم وزن تر)
زابل	a 1	0	هلیل	84	2/6	0/7	0/35	21/8
		0	دشتستان	84/2	2/6	0/71	0/43	22/5
		0	داراب	91	2/7	1	0/51	23/3
		3	هلیل	100/4	2/9	0/81	0/25	17/9
		3	دشتستان	100/9	2/9	0/82	0/27	25/8
		3	داراب	104/6	3/1	1/14	0/31	21/5
		6	هلیل	105/7	3	0/99	0/2	16/9
		6	دشتستان	105/8	3/1	1/02	0/24	17/3
		6	داراب	108/1	3/3	1/2	0/25	18
		9	هلیل	105	3	1/07	0/2	14/7
		9	دشتستان	111/3	3/3	1/08	0/2	15/2
		9	داراب	110/2	3/5	1/31	0/23	16/6
	a 2	0	هلیل	79/5	2/2	0/6	0/37	44/3

45/3	0/49	0/61	2/4	79/6	دشتستان	0	
46/4	0/57	0/87	2/8	83/2	داراب	0	
41/6	0/28	0/7	2/7	89/8	هلپل	3	
43/5	0/33	0/72	2/8	92/1	دشتستان	3	
44/2	0/41	0/96	2/9	95/3	داراب	3	
24/7	0/27	0/75	2/8	93/6	هلپل	6	
27/8	0/3	0/86	2/8	94/2	دشتستان	6	
28/8	0/34	1/09	3	104/3	داراب	6	
18/5	0/22	0/96	3/1	104/2	هلپل	9	
19/8	0/26	0/96	3/1	107/6	دشتستان	9	
22/3	0/32	1/2	3/4	110/2	داراب	9	
75/4	0/46	0/5	1/8	72	هلپل	0	a 3
71/1	0/66	0/51	1/9	76	دشتستان	0	
72/5	0/85	0/73	2/3	78/8	داراب	0	
60/3	0/37	0/65	2	79/5	هلپل	3	
65	0/53	0/66	½	81/9	دشتستان	3	
65/8	0/61	0/89	2/5	84/4	داراب	3	
41	0/32	0/65	2/4	87/1	هلپل	6	
43	0/44	0/67	2/5	86/8	دشتستان	6	
44/7	0/49	0/99	2/8	91/3	داراب	6	
29/3	0/33	0/84	2/7	91/8	هلپل	9	
36/8	0/37	0/86	2/7	94/1	دشتستان	9	
38/3	0/4	1/2	3/1	99	داراب	9	

### نتیجه گیری

کاربرد 9 تن زئولیت در هکتار به دلیل خاصیت جذب، نگهداری و افزایش دسترسی به رطوبت در شرایط تنش کم آبی، موجب کاهش شدت و اثر زیان بار تنش در کنگد گردید. کاربرد زئولیت در شرایط عدم تنش خشکی را میتوان به افزایش توان جذب مواد غذایی و عناصر غذایی خاک که توسط زئولیت ایجاد میگردد، نیز ارتباط داد. بر این اساس، به نظر میرسد میتوان افزودن زئولیت به خاک را به عنوان یکی از راهکارهای امکان پذیر برای کاهش اثر کمبود آب بر تولید گیاهان زراعی و رقم داراب برای بررسی بیشتر معرفی نمود.

### منابع و مراجع مورد استفاده

- سیبی، م.، میرزاخانی. و م. گماریان. 1390. اثر تنش آبی، مصرف زئولیت و سالیسیلیک اسید بر عملکرد و اجزای عملکرد گلرنگ بهار. یافته‌های نوین کشاورزی. جلد 5، شماره 3: 275-290
- Myint, D., Gilani, S. A., Kawase, M., and Watanabe, K. N. (2020). Sustainable sesame (*Sesamum indicum* L.) production through improved technology: an overview of production, challenges and opportunities in Myanmar. *Sustainability* 12:3515.
- Wang, B., Liu, C., Zhang, D., He, C., Li, Z. (2019). Effects of maize organ-specific drought stress response on yields from transcriptome analysis. *BMC Plant Biol.* 19 (1), 335–343.
- Hazrati, S.; Khurizadeh, S.; Sadeghi, A.R. Application of zeolite improves water and nitrogen use efficiency while increasing essential oil yield and quality of *Salvia officinalis* under water-deficit stress. *Saudi J. Biol. Sci.* 2022, 29, 1707–1716.
- Harb, E. M. Z and M. A, Mahmoud. 2009. Enhancing of growth, essential oil yield and components of yarrow plant (*Achillea millefolium* L.) growth under safe agriculture conditions using zeolite and compost. 4rd Conference on Recent Technologies in Agriculture. Giza. Egypt.
- Liang, X., Zhang, L., Natarajan, S.K. and Becker, D.F., 2013. Proline Mechanisms of Stress Survival. *Antioxid Redox Signal*, 19 (9): 998–1011.
- Irigoyen, j. j., Emerich, D.W. and Sanchez-Dias, M. water stress induced changes in concentrations of prolin and total soluble sugars in nodu lated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Physiology. Plant*, 1992. 84: 55-60.
- Bates, L. S., Waldren, S. P., Teare, I. D. Rapid determination of free proline for water–stress studies. *Plant soil*, 1973. 39: 205-207.
- Mirzaee, M., Moieni, A. and Ghanati, F., 2013. Effects of drought stress on the lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in two canola (*Brassica napus* L.) cultivar. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 15: 593-602.

## Investigating the effects of drought stress and different levels of zeolite on some agronomic and biochemical traits of sesame cultivars

Mahnaz Narouei<sup>1</sup>, Alireza Sirousmehr<sup>2\*</sup>, Mehdi Dahmardeh<sup>3</sup>, Esmaeel Seyedabadi<sup>3</sup>

1-Ph.D. student in crop physiology, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, University of Zabol

2-\*Associate Professor in Crop physiology, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, University of Zabol, [asirousmehr@uoz.ac.ir](mailto:asirousmehr@uoz.ac.ir)

3-Associate Professor in Crop ecology, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, University of Zabol

3-Assistant Professor in Agricultural Machinery , Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, University of Zabol

## Abstract

Drought stress is one of the important environmental factors that affect the performance and quality of sesame. In order to investigate the effects of drought stress and different levels of zeolite on the yield and some quantitative characteristics of experimental sesame cultivars in the form of a factorial split plot in the form of a randomized complete block design with 3 replications in two locations of the research farm of the Agricultural Research Institute (Chah Nimeh) and the center Agricultural research were implemented. The main factor of drought stress includes three levels of irrigation: a1: according to the irrigation of the region, a2: interruption of irrigation at 50% of flowering and a3: interruption of irrigation at 50% of seeding and the secondary factor includes sesame varieties (Halil, Dashestan and Darab) and four levels of zeolite. (0, 3, 6 and 9 tons per hectare). Zeolite was mixed with soil before planting. The investigated characteristics are plant height, 100 seed weight, seed yield, proline content and soluble carbohydrates. According to the results of the highest plant height (11.3 cm) from the absence of drought stress and the application of 9 tons per hectare of zeolite and the Dashtestan variety, the grain yield (1.3 tons per hectare) from the absence of drought stress and the application of 9 tons of zeolite and the variety Darab, the highest content of proline (0.85 mg/g fresh weight) severe drought stress and no use of zeolite and variety Darab and content of soluble carbohydrates (0.85 mg/g fresh weight) severe drought stress and no use of zeolite and variety Halil was obtained. The results showed that zeolite improves the investigated characteristics of sesame by reducing the negative effects of drought stress, and Darab cultivar is superior to the other two cultivars.

**Key words:** Darab, Dashtestan, seed yield, Number of capsules, Proline.

## بررسی اثر تنظیم کننده‌های رشد و اسیدهای هیومیک و سیلیکون بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی و عملکرد دانه گلرنگ در شرایط آبیاری شور

ایوب امیری<sup>1</sup>، علیرضا سیروس مهر<sup>2</sup>، احمد قنبری<sup>3</sup>، محمدرضا اصغری پور<sup>3</sup>، اسماعیل سید آبادی<sup>3</sup>

1- دانشجوی دکتری گروه زراعت دانشکده کشاورزی دانشگاه زابل

2\* - نویسنده مسئول: \*دانشیار فیزیولوژی گیاهان زراعی، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل

[asirousmehr@uoz.ac.ir](mailto:asirousmehr@uoz.ac.ir)

3- استاد اکولوژی گیاهان زراعی، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل

3- استاد اکولوژی گیاهان زراعی، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل

3- استادیار ماشین‌های کشاورزی، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل

### چکیده

به منظور بررسی تاثیر محلول پاشی سالیسیلیک اسید، سدیم نیتروپروساید، اسید سیلیکون و مصرف خاکی اسید هیومیک در شرایط تنش شوری بر برخی ویژگی‌های گیاه گلرنگ، آزمایشی به صورت اسپلت پلات فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی اگریزون متعلق به هلدینگ ایکو واقع در کرمان انجام شد. تیمارها شامل تنش شوری: (آبیاری شور کامل 1650 دسی زیمنس بر متر، آبیاری شور یک در میان 1650 دسی زیمنس بر متر و آبیاری شور دو در میان 1650 دسی زیمنس بر متر) به عنوان عامل اصلی و سطوح استفاده اسید هیومیک (5، 10 و 15 لیتر در هکتار) به عنوان عامل فرعی و سطوح محلول پاشی اسید سیلیکون (2 میلی مولار)، سدیم نیتروپروساید (1 میلی مولار)، سالیسیلیک اسید (0/5 گرم در لیتر) به عنوان عامل فرعی فرعی بود. نتایج نشان داد که بیشترین تعداد دانه در طبق (44/7) از سطح آبیاری شور با فاصله دو هفته یکبار و کاربرد 15 لیتر در هکتار اسید هیومیک، بیشترین وزن 1000 دانه (44/41 گرم) از سطح شوری آبیاری دو هفته یکبار، بیشترین عملکرد دانه از آبیاری با آب شور دو هفته یکبار و همینطور کاربرد 15 لیتر در هکتار اسید هیومیک، بیشترین محتوای پرولین (0/813 میلی گرم بر گرم وزن تر) از عدم کاربرد اسید هیومیک و آبیاری با آب شور کامل و بیشترین مقدار کلروفیل کل (1/46 میلی گرم بر گرم وزن تر) از کاربرد 15 لیتر در هکتار اسید هیومیک و آبیاری با آب شور دو هفته یکبار حاصل گردید.

واژگان کلیدی: پرولین، کلروفیل کل، سیلیکون، تنش شوری

### مقدمه

گلرنگ با نام علمی (*Carthamus thinctorius* L) از آن دسته گیاهانی است که برای تولید روغن با کیفیت و کمیت ایده‌آل نیازمند خاکی با کیفیت مطلوب می‌باشد. درصد روغن در دانه گلرنگ بین 20 تا 40 درصد متغیر هست و مصارف آن بیشتر در تهیه

روغن‌های صنعتی، نقاشی و رنگرزی، روغن خوراکی، استفاده‌های دارویی و تغذیه دام می‌باشد. از میان تنش‌های غیر زیستی، شوری خاک یکی از بدترین و مخرب‌ترین آنها به شمار می‌آید. شوری بدین معناست که حضور نمک‌های قابل حمل و عناصر معدنی در محلول خاک بیش از اندازه می‌باشد که منجر به تجمع نمک در ناحیه ریشه گیاه شده و در نتیجه گیاه را در جذب آب مورد نیاز از محلول خاک دچار اشکال می‌کند (Shannon and Grieve, 1998). شوری یکی از با اهمیت‌ترین تنش‌های محیطی می‌باشد که رشد و نمو گیاهان به خصوص در مناطق خشک و نیمه خشک را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Ashraf and Harris, 2004). اسید سالیسیلیک نقش بسیار مهمی در تنظیم فرایندهای فیزیولوژیکی مختلف گیاه مانند جوانه زدن بذر، بسته شدن روزنه‌ها، مهار بیوسنتز اتیلن گیاه، محتوی کلروفیل، تولید گرما و گلیکولیز، افزایش میزان فتوسنتز و نیز تولید میوه ایفا می‌کند (El-Tayeb, 2005). اسید هیومیک یک ماده آلی طبیعی از خاک است که از تجزیه مواد آلی خصوصاً بقایای مرده گیاهی به دست می‌آید (El-Ghamry, 2009). یکی از اثرات مثبت اسید هیومیک تحریک و تحرک توسعه ریشه می‌باشد همچنین مواد هیومیکی به عنوان یک جزء مهم خصوصیات باروری خاک و کنترل ویژگی‌های بیولوژیکی و شیمیایی محیط ریزوسیفر می‌باشد (Trevisan et al., 2009). استفاده از سدیم نیتروپروساید سبب افزایش عملکرد صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه کدو پوست‌کاغذی در شرایط تنش خشکی داشت (بدالهی و اصغری پور، 1390). اسید سیلیکون مزایای بسیاری برای تولید محصول بوجود می‌آورد و به صورت مستقیم و غیرمستقیم بر رشد گیاهان تأثیر گذار است که در همین راستا نتایج گزارشی از کاهش اثر تنش‌های متعدد شامل خشکی، شوری و نیز سمیت فلزات سنگین در اثر تغذیه با اسید سیلیکون مناسب محقق گردیده است (Liang et al., 1966). با توجه به اهمیت گلرنگ به عنوان یک گیاه دانه روغنی مهم در کشور و اثرات منفی تنش شوری بر روی این گیاه و از طرفی تأثیر اسید هیومیک و تنظیم کننده‌های رشد بر عملکرد این‌آزمایش به منظور بررسی تأثیر محلول پاشی سالیسیلیک اسید، سدیم نیتروپروساید، اسید سیلیکون و مصرف خاکی اسید هیومیک در شرایط تنش شوری بر ویژگی‌های کیفی و کمی گیاه گلرنگ اجرا گردید.

### مواد و روش‌ها

این پژوهش طی سال زراعی 99-1398 در شهر کرمان انجام شد. آزمایش بصورت اسپلت پلات فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با 3 تکرار در مزرعه تحقیقاتی آگریزون واقع در کرمان انجام گرفت. تیمارها شامل: 1- دوره آبیاری: (آبیاری شور کامل 1650 دسی‌زیمنس متر، آبیاری شور یک هفته در میان 1650 دسی‌زیمنس متر، آبیاری شور دو هفته در میان 1650 دسی‌زیمنس متر) به عنوان عامل اصلی در مرحله شروع گلدهی اعمال گردید، البته قبل از شروع اعمال تیمارها آبیاری به صورت متعارف و هر هفته انجام گرفت 2- سطوح استفاده اسید هیومیک (5 و 10 و 15 لیتر در هکتار) در دو مرحله شروع گلدهی و پایان گرده افشانی و هر مرحله یک دفعه اعمال شد 3- سطوح محلول‌پاشی اسید سیلیکون (2 میلی‌مولار)، سدیم نیتروپروساید (1 میلی‌مولار)، سالیسیلیک اسید (0/5 گرم در لیتر) در دو مرحله شروع گلدهی و پایان گرده افشانی و هر مرحله یک دفعه اعمال گردید که به عنوان عوامل فرعی بود. کشت به صورت ردیفی با فاصله بین ردیف 40 سانتی‌متر و فاصله بین بوته‌ها روی ردیف 10 سانتی‌متر به صورت خطی انجام شد. آبیاری به صورت غرقابی بود و بعد از سبز شدن گیاهان و در دو مرحله شروع گلدهی و پایان گرده افشانی اقدام به محلول‌پاشی سدیم نیتروپروساید و اسید سالیسیلیک و اسید سیلیکون شد. اسید هیومیک مورد استفاده خاکی از نوع مایع بود بذر مورد استفاده رقم گلدشت بود. برداشت با رعایت اثرات حاشیه‌ای، انجام شد. برای اندازه‌گیری میزان پرولین از روش باتز و همکاران (Bates et al., 1973) و برای اندازه‌گیری کلروفیل کل از روش Arnon (1965) استفاده شد.

### جدول 1: خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک

عمق	هدایت الکتریکی (ds/m)	اسیدیته	کربن آلی	ازت کل	درصد رس	درصد لای	درصد شن
0-30	0/75	7/9	0/11	0/031	15	13	70

تجزیه و تحلیل داده‌ها با کمک نرم افزار MSTATC انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

## نتایج و بحث

تعداد دانه در طبق: با توجه به جدول تجزیه واریانس داده‌ها اثر ساده شوری، اسید هیومیک و همچنین اثر متقابل تنش شوری و اسید هیومیک معنی دار می باشد (جدول 2). مقایسه میانگین اثر متقابل تنش شوری در اسید هیومیک نشان داد که بیشترین تعداد دانه در طبق (44/7) از سطح آبیاری شور با فاصله دو هفته یکبار و کاربرد 15 لیتر در هکتار اسید هیومیک به دست آمد (جدول 3).

وزن 1000 دانه: با توجه به جدول تجزیه واریانس داده‌ها اثر ساده شوری، اسید هیومیک و هورمون معنی دار می باشد (جدول 2). با توجه به جدول 4، 5 و 6 مقایسه میانگین اثر ساده تنش شوری بیشترین مقدار وزن 1000 دانه (44/41 گرم) از سطح شوری آبیاری دو هفته یکبار، بیشترین میانگین اثر ساده اسید هیومیک (44/7 گرم) در اثر کاربرد 15 لیتر در هکتار اسید هیومیک و بیشترین مقدار وزن 1000 دانه برای اثر ساده هورمون (43/26 گرم) در اثر کاربرد سالیسیلیک اسید حاصل گردید.

عملکرد دانه: با توجه به جدول تجزیه واریانس داده‌ها اثر ساده شوری، اسید هیومیک معنی دار می باشد (جدول 2). با توجه به جدول مقایسه میانگین اثر ساده تیمار تنش شوری بیشترین مقدار عملکرد دانه (1616 کیلوگرم در هکتار) از آبیاری با آب شور دو هفته یکبار و بیشترین مقدار عملکرد دانه (1397 کیلوگرم در هکتار) از کاربرد 15 لیتر در هکتار اسید هیومیک حاصل شد (جدول 4).

پرولین: با توجه به جدول تجزیه واریانس داده‌ها اثر ساده شوری، اسید هیومیک، هورمون و همچنین اثر متقابل تنش شوری و اسید هیومیک معنی دار می باشد (جدول 2). با توجه به جدول مقایسه میانگین اثر متقابل تنش شوری و اسید هیومیک بیشترین مقدار محتوای پرولین (0/813 میلی گرم بر گرم وزن تر) از عدم کاربرد اسید هیومیک و آبیاری با آب شور کامل حاصل گردید (جدول 3). مشاهدات نشان داد که با افزایش شدت تنش میزان پرولین در گیاه افزایش یافته است. مدارک به دست آمده نشان می دهند که اغلب آمینو اسیدها مثل پرولین ممکن است نقش محافظت کننده برای تیلاکوئیدهای کلروپلاست و دیگر سیستم های غشایی تحت شرایط تنش داشته باشند (Heber et al., 1971).

کلروفیل کل: با توجه به جدول 2 تجزیه واریانس داده‌ها اثر ساده شوری، اسید هیومیک و همچنین اثر متقابل تنش شوری و اسید هیومیک معنی دار می باشد. بیشترین مقدار کلروفیل کل (1/46 میلی گرم بر گرم وزن تر) از کاربرد 15 لیتر در هکتار اسید هیومیک و آبیاری با آب شور دو هفته یکبار حاصل گردید (جدول 3).



نتایج حاصل از اندازه گیری کلروفیل کل برگ ها، روند کاهش تدریجی را همراه با افزایش تنش شوری نشان داد کاهش این رنگیزه های مهم فتوسنتزی می تواند به علت اختلال در جذب عناصر غذایی ضروری در سنتز رنگیزه های فتوسنتزی باشد

جدول 2- تجزیه واریانس داده های صفات مورد بررسی در گلرنگ

میانگین مربعات		درجه آزادی		منابع تغییر	
کلروفیل کل	پرولین	عملکرد دانه	وزن 1000 دانه	تعداد دانه در طبق	تکرار
0/72	0/003	69690/8	402/8	146/01	2
0/45**	0/3**	1524395/5**	127/3**	948/45**	2
0/006	0/005	7348/04	6/01	40/14	4
0/06**	0/114**	45613/3**	82/8**	122/75**	2
0/01**	0/016**	1180/4ns	5/6ns	22/04*	4
0/002ns	0/015**	572/4ns	14/7*	12/6ns	2
0/000ns	0/001ns	3689/3ns	2/63ns	1/01ns	4
0/000ns	0/001ns	1169/9ns	3/35ns	0/53ns	4
0/000ns	0/001ns	3576/8ns	4/5 ns	4/38ns	8
0/002	0/001	2650/1	3/5	7/01	48
3/58	3/89	3/7	4/37	7/38	-

جدول 3- مقایسه میانگین اثر متقابل تنش شوری و اسید هیومیک روی میانگین صفات مورد بررسی گلرنگ

تنش شوری	اسید هیومیک	تعداد دانه در طبق	پرولین (میلی گرم بر گرم وزن تر)	کلروفیل کل (میلی گرم بر گرم وزن تر)
آبیاری با آب شور کامل	5	29/2ef	0/813a	1/08f
	10	27/5ef	0/807a	1/12ef
	15	33e	0/739b	1/13e
	5	34/5d	0/555e	1/2d

1/26c	0/652d	36/4c	10	آبیاری با آب شور یک هفته در میان
1/27c	0/681cd	37/1c	15	
1/29c	0/501f	38/8c	5	آبیاری با آب شور دو هفته در میان
1/36b	0/553e	41/8b	10	
1/46 a	0/695 c	44/7 a	15	

**جدول 4-مقایسه میانگین اثر ساده شوری روی میانگین صفات مورد بررسی گلرنگ**

عملکرد دانه	وزن 1000 دانه (گرم)	تنش شوری
1616 a	40/37 b	آبیاری با آب شور کامل
1315 b	43/78 a	آبیاری با آب شور یک هفته در میان
1147 c	44/41 a	آبیاری با آب شور دو هفته در میان

**جدول 5-مقایسه میانگین اثر ساده اسید هیومیک روی میانگین صفات مورد بررسی گلرنگ**

عملکرد دانه	وزن 1000 دانه (گرم)	اسید هیومیک (لیتر در هکتار)
1316 c	41/22 c	5
1365 b	42/63 b	10
1397 a	44/7 a	15

**جدول 6-مقایسه میانگین اثر ساده هورمون روی میانگین صفات مورد بررسی**

پرویلین	وزن 1000 دانه (گرم)	هورمون
0/651	42 b	اسید سیلیکون (2 میلی مولار)
0/654	43/3 a	سدیم نیتروپروساید (1 میلی مولار)
0/694	43/26 a	سالیسیلیک اسید (0/5 گرم در لیتر)

**نتیجه گیری**

نتایج این تحقیق نشان داد با افزایش سطوح تنش شوری، تعداد دانه در طبق، عملکرد دانه، وزن 1000 دانه و کلروفیل کاهش و میزان پرویلین افزایش میابد همچنین اسید هیومیک و هورمون های مورد استفاده باعث بهبود صفات مورد بررسی در گیاه گلرنگ می شود.

## منابع و مراجع مورد استفاده

- یدالهی، پ و اصغری پور، م.ر. 1393. اثرات سدیم نیتروپروساید و اسید آسکوربیک بر رشد، خصوصیات مورفولوژیکی و عملکرد کدوی پوست کاغذی تحت شرایط کم آبیاری. مجله پژوهشهای به زراعی. جلد 6، شماره 2، تابستان 1393.
- Arnon, D. I. 1965. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenol-oxidase in *Beta vulgaris*
- Ashraf, M. and Harris, P.J.C. 2004. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. *Plant Science*. 166: 3–16.
- Bates, L. S., Waldern, R. P. and Teave, I. D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*, 39: 205-207.
- El-Tayeb, M.A. 2005. Response of barley Gains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. *Plant Growth Regulation*, 45: 215-225.
- El-Ghamry, A. M., Abdel-Hai, K. M. and Ghoneen, K. M. 2009. Amino and humic acids promote growth, yield and disease resistance of Faba bean cultivated in clay soil. *Australian Journal of Basic Applied Sciences*, 3(2): 731-739.
- Shannon, M. C. and Grieve, C. M. 1998. Tolerance of vegetable crops to salinity. *Scientia Horticulturae*. 78: 5-38.
- Trevisan S., Pizzeghello D., Ruperti B., Francioso O., Sassi A., Palme K., Quaggiotti S., and Nardi S. 2009. Humic substances induce lateral root formation and expression of the early auxin-responsive IAA19 gene and DR5 synthetic element in *Arabidopsis*. *Biologia Plantarum* 12: 604-614.
- Liang, Y., Chen, Q., Zhang, W. and Ding, R. 1996. Exogenous silicon increases antioxidant enzyme activity and reduces lipid peroxidation in root of salt-stressed barley (*Hordeum vulgare* L.). *Plant Physiology*, 160: 1157-1167.
- Heber, U., Tyankova L., and Santarius, K. A. 1971. Stabilization and inactivation of biological membranes during freezing in the presence of amino acids. *Biochim. Biophys. Acta*. 241:578-592.

## Investigating the effect of growth regulators and humic and silicon acids on some physiological characteristics and yield of safflower seeds under saline irrigation conditions

Ayub Amiri<sup>1</sup>, Alireza Sirousmehr<sup>2\*</sup>, Ahmad Ghanbari<sup>3</sup>, Mohamadreza Asgharipour<sup>3</sup>, Esmaeel Seyedabadi<sup>3</sup>

1-Ph.D. student in crop physiology, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, University of Zabol

2-\*Associate Professor in Crop physiology, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, University of Zabol, [asirousmehr@uoz.ac.ir](mailto:asirousmehr@uoz.ac.ir)

3- Professor in Crop ecology, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, University of Zabol

3- Professor in Crop ecology, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, University of Zabol

3-Assistant Professor in Agricultural Machinery, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, University of Zabol

### Abstract

In order to investigate the effect of foliar spraying of salicylic acid, sodium nitroprusside, silicon acid and soil application of humic acid under salinity stress conditions on the qualitative and quantitative characteristics of the safflower plant, an experiment in the form of a factorial split plot in the form of a randomized complete block design with three replications It was carried out at Agrizon research farm belonging to IbcO Holding located in Kerman. The treatments include salinity stress: (full saline irrigation 1650 deciSiemens/m, saline

irrigation one in between 1650 deciSiemens/m and saline irrigation two in one 1650 deciSiemens/m) as the main factor and levels of humic acid use (5, 10 and 15 liters per hectare) as secondary agent and the application levels of silicon acid (2 mM), sodium nitroprusside (1 mM), salicylic acid (0.5 g/liter) as secondary agent. The measured traits included the number of seeds per plant, weight of 1000 seeds, seed yield, proline content and total chlorophyll. The results showed that the highest number of seeds according to (44.7) saline irrigation level with biweekly season and application of 15 liters per hectare of humic acid, the highest amount of 1000 seed weight (44.41 gr) from biweekly irrigation salinity level The highest average simple effect of humic acid (44.7 gr) due to the application of 15 liters per hectare of humic acid and the highest amount of weight of 1000 seeds for the simple effect of hormones (43.26 gr) due to the application of salicylic acid, the highest amount of seed yield (1616 kg/ha) from irrigation with saline water once every two weeks and the highest amount of grain yield (1397 kg/ha) from the application of 15 liters/ha of humic acid, the highest amount of proline content (0.813 mg/g fresh weight) from the absence of acid application Humic and irrigation with full saline water and humic, the highest amount of total chlorophyll (1.46 mg/g fresh weight) was obtained from the application of 15 liters per hectare of humic acid and irrigation with saline water once every two weeks.

**Key words:** Proline, Total chlorophyll, Silicon, Salinity stress

## اثر سطوح کمپوست، محلول پاشی آهن و روی بر عملکرد و برخی ویژگی‌های کاملینا

1- عبدالعلی میرفتح الهی

دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل

2- علیرضا سیروس مهر

\*دانشیار، فیزیولوژی گیاهان زراعی، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل

[asirousmehr@uoz.ac.ir](mailto:asirousmehr@uoz.ac.ir)

3- عیسی خمیری

دانشیار، فیزیولوژی گیاهان زراعی، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل

3- احمدقنبری

استاد اکولوژی گیاهان زراعی، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل

3- مریم اله دو

استاد یار اصلاح نباتات، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل

### چکیده

در سراسر جهان، تقاضا برای دانه‌های روغنی به طور پیوسته در حال افزایش است. گیاه روغنی جدید کاملینا و ویژگی‌های زراعی مفید آن با توجه به کشاورزی پایدار اخیراً علاقه به این گیاه روغنی را برانگیخته است. هدف از این مطالعه، ارزیابی پاسخ کاملینا به کاربرد سطوح کمپوست، آهن و روی بر برخی ویژگی‌های زراعی این گیاه می‌باشد. بدین منظور آزمایشی به صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با 3 تکرار در پژوهشگاه زابل (زهک) اجرا شد. عامل اصلی شامل 4 سطح کمپوست (0، 10، 20 و 30 تن در هکتار) و عامل فرعی شامل 4 سطح محلول پاشی کود ریزمغذی (عدم کاربرد، آهن به میزان دو در هزار، روی به میزان سه در هزار و آهن+روی) بود. تیمار کمپوست قبل از کشت برای هر کرت محاسبه شده و با خاک مخلوط و محلول پاشی آهن و روی در دو مرحله (پنجه‌دهی و قبل از ساقه‌روی) انجام شد. نرم افزار آماری SAS جهت تجزیه و تحلیل‌های آماری استفاده شد. مقایسه میانگین با روش حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) انجام شد. نتایج نشان داد که بیشترین ارتفاع بوته (82/9 سانتی متر)، تعداد دانه در خورجین (18/67)، بیشترین عملکرد دانه (1270 کیلوگرم در هکتار)، بیشترین درصد نیتروژن (6/1 درصد) و بیشترین درصد پروتئین (20/6 درصد) از کاربرد 30 تن در هکتار کمپوست و محلول پاشی توام آهن و روی حاصل گردید. نتایج نشان داد که کاربرد کمپوست و محلول پاشی آهن و روی باعث بهبود صفات زراعی گردید.

واژگان کلیدی: تعداد خورجین، کاملینا، آهن، کمپوست، روی.

مقدمه

کاملینا (*Camelina sativa L.*) متعلق به خانواده Brassicaceae است و دارای فواید بسیاری در زمینه‌های صنعتی و تغذیه‌ای است، زیرا روغن دانه آن دارای اسیدهای چرب منحصر به فرد است (Angelopoulou et al., 2019). این گیاه به خوبی با منطقه نیمه خشک سازگار است و برای تولید دانه و روغن کشت می‌شود (Obour et al., 2015). روغن کاملینا دارای اسید چرب غنی با سطوح بالایی از اسید آلفا لینولنیک و اسید لینولئیک است (Toncea et al., 2013). همچنین در بسیاری از مناطق به دلیل پتانسیل زیاد آن در رشد توده گیاهی به عنوان ماده خام برای سوخت‌های زیستی و برای خوراک دام استفاده می‌شود. کاربرد کمپوست در کشاورزی، بواسطه تأثیر آن بر افزایش کارایی گیاه در استفاده از آب و همچنین رهاسازی عناصر غذایی، می‌تواند سبب افزایش رشد و عملکرد گیاه شود. ریزمغذی‌ها نقش منحصر به فردی در رشد و نمو گیاهان دارند و در بسیاری از موارد عامل محدود کننده‌ای برای حداکثر تولید هستند (Souri et al., 2019) آهن یکی از عناصر ضروری برای رشد گیاه است و در واکنش‌های فتوسنتزی بسیار مهم است و آنزیم‌های متعددی را فعال می‌کند که در انتقال انرژی، کاهش و تثبیت نیتروژن، تشکیل لیگنین و سهم آن در سنتز ربونوکلئیک اسید نقش دارند. (Souri et al., 2019) روی دومین فلز واسطه فراوان در موجودات پس از آهن است. همچنین، روی تنها فلزی است که در هر شش کلاس آنزیمی وجود دارد: اکسیدوردوکتازها، ترانسفرازها، هیدرولازها، لیازها، ایزومرازها و لیگازها (Auld, 2001). علاوه بر این، چندین واکنش توسط ترکیبات آهن و روی در گیاهان کاتالیز می‌شود. آهن و روی ریز مغذی‌های ضروری برای انسان، حیوانات و گیاهان هستند. این آزمایش به منظور ارزیابی اثر سطوح کمپوست و محلول‌پاشی آهن و روی بر عملکرد و برخی ویژگی‌های کاملینا اجرا گردید.

## مواد و روش‌ها

به منظور ارزیابی اثر سطوح کمپوست و محلول‌پاشی آهن و روی بر عملکرد و برخی ویژگی‌های زراعی، فیزیولوژیکی و درصد روغن کاملینا آزمایشی به صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در 3 تکرار در پژوهشکده کشاورزی دانشگاه زابل (چاه نیمه) واقع در شهرستان زهک اجرا شد. عامل اصلی شامل 4 سطح کمپوست (0، 10، 20 و 30 تن در هکتار) و عامل فرعی شامل 4 سطح کود ریز مغذی شامل: عدم کاربرد، آهن به میزان دو در هزار، روی به میزان سه در هزار و آهن+روی بود. تیمار کمپوست قبل از کشت برای هر کرت اندازه‌گیری و با خاک مزرعه مخلوط شد و محلول‌پاشی آهن و روی در دو مرحله (پنجه-دهی و قبل از ساقه‌روی) انجام شد. ویژگی‌های مورد بررسی شامل ارتفاع بوته، قطر ساقه اصلی، تعداد خورجین و تعداد دانه در خورجین اندازه‌گیری شد. ویژگی‌های خاک محل اجرای آزمایش در جدول 1 آورده شده است.

جدول 1: خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک

عمق	هدایت الکتریکی	واکنش گل اشباع	کربن آلی	ازت کل	فسفر قابل جذب	پتاسیم قابل جذب	درصد رس	درصد لای	درصد شن
0-30	4/3	8/4	0/35	0/031	6/2	145	15	37	48

برداشت بصورت دستی از دو خط میانی هر کرت به طول 2 متر و با حذف اثر حاشیه ای، انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با کمک نرم افزار SAS انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

## نتایج و بحث

ارتفاع بوته: با توجه به جدول تجزیه واریانس داده‌ها اثر ساده کمپوست و محلول پاشی در سطح احتمال یک درصد معنی دار اما اثرات متقابل آنها غیر معنی دار شد (جدول 2). با توجه به جدول 3 اثر ساده کمپوست نشان داد که بیشترین ارتفاع بوته (90/2 سانتی متر) از کاربرد 30 تن در هکتار کمپوست حاصل شد. اثر ساده محلول پاشی نشان داد که بیشترین ارتفاع بوته (82/9 سانتی متر) از محلول پاشی توام آهن و روی به دست آمد (جدول 4).

تعداد دانه خورجین: با توجه به جدول تجزیه واریانس داده‌ها اثر ساده کمپوست و محلول پاشی و اثرات متقابل آنها در سطح احتمال یک درصد معنی دار شد (جدول 2). مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارهای آزمایشی نشان داد که بیشترین تعداد دانه در خورجین (18/67) از کاربرد 30 تن در هکتار کمپوست و محلول پاشی توام آهن و روی به دست آمد (جدول 5).

عملکرد دانه: با توجه به جدول تجزیه واریانس داده‌ها اثر ساده کمپوست و محلول پاشی و اثرات متقابل آنها در سطح احتمال یک درصد معنی دار شد (جدول 2). مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارهای آزمایشی نشان داد که بیشترین عملکرد دانه (1270 کیلوگرم در هکتار) از کاربرد 30 تن در هکتار کمپوست و محلول پاشی توام آهن و روی به دست آمد (جدول 5).

درصد نیتروژن: با توجه به جدول تجزیه واریانس داده‌ها اثر ساده کمپوست و محلول پاشی و اثرات متقابل آنها در سطح احتمال یک درصد معنی دار شد (جدول 2). مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارهای آزمایشی نشان داد که بیشترین درصد نیتروژن (6/1 درصد) از کاربرد 30 تن در هکتار کمپوست و محلول پاشی توام آهن و روی به دست آمد (جدول 5).

درصد پروتئین: با توجه به جدول تجزیه واریانس داده‌ها اثر ساده کمپوست و محلول پاشی و اثرات متقابل آنها در سطح احتمال یک درصد معنی دار شد (جدول 2). مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارهای آزمایشی نشان داد که بیشترین درصد پروتئین (20/6 درصد) از کاربرد 30 تن در هکتار کمپوست و محلول پاشی توام آهن و روی به دست آمد (جدول 5).

## جدول 2- تجزیه واریانس داده‌های صفات مورد بررسی در کاملینا

میانگین مربعات						
منابع تغییر	درجه آزادی	ارتفاع بوته	تعداد دانه خورجین	عملکرد دانه	نیتروژن	پروتئین
تکرار	2	172/62	15/02	3543/7	0/003	0/09

200/27**	5/12**	317330/2**	16/25**	864/62**	3	کمپوست
1/18	0/03	39/08	0/02	15/06	6	اشتباه آزمایشی
341/09**	8/73**	31765/02**	7/58**	99/96**	3	محلول پاشی
1/94**	0/05Ns	2816/8**	0/19**	4/29ns	9	کمپوست+محلول پاشی
0/4	0/01	19/25	0/02	2/12	24	اشتباه آزمایشی
2/7	2/29	1/4	0/87	1/83	-	ضریب تغییرات%

جدول 3-مقایسه میانگین اثر ساده کمپوست روی میانگین صفات مورد بررسی

کمپوست (تن در هکتار)	ارتفاع بوته (سانتی متر)	قطر ساقه (میلی متر)
0	71/5 c	6/8 d
10	74/5 c	7/7 c
20	83 b	8/4 b
30	90/2 a	9/1 a

جدول 4-مقایسه میانگین اثر ساده محلول پاشی روی میانگین صفات مورد بررسی

محلول پاشی	ارتفاع بوته	قطر ساقه (میلی متر)
0	76 c	7/4 d
Fe	80/5 b	8/1 b
Zn	79/8 b	7/9 c
Fe+Zn	82/9 a	8/6 a

جدول 5-مقایسه میانگین اثر متقابل کمپوست و محلول پاشی روی میانگین صفات مورد بررسی

کمپوست	محلول پاشی	عملکرد دانه	نیترژن	پروتئین
0	0	840/7 l	2/5 i	9/58e
Fe	Fe	865/7 k	3/6 g	6/29 fg
Zn	Zn	862 k	3/7 g	5/56 fgh
Fe+Zn	Fe+Zn	885/5 j	4/6 e	6/59 fg



4/64 h	3/2 h	996/3 i	0	10
5/09 gh	4/1f	1140 f	Fe	
7/13 f	4/2 f	1123 g	Zn	
2/7 i	5 d	1197 d	Fe+Zn	
11/6 d	3/7 g	1077 h	0	20
12/13 cd	4/6 e	1204 d	Fe	
12 cd	4/7 e	1196 d	Zn	
17/63 b	5/9 b	1231 c	Fe+Zn	
12/3 d	3/8 g	1183 e	0	30
14/43 c	5/2 c	1242 b	Fe	
14/65 c	5/3 c	1233 c	Zn	
20/6 a	6/1 a	1270 a	Fe+Zn	

### نتیجه گیری

باتوجه به نتایج می‌توان چنین استنباط کرد کاربرد کمپوست در کشاورزی، بواسطه‌ی تأثیر آن بر افزایش کارایی گیاه در استفاده از آب و همچنین رهاسازی عناصر غذایی، می‌تواند سبب افزایش رشد و عملکرد گیاه شود از طرفی بهبود صفات رشدی گیاه کاملینا در نتیجه کاربرد توأم عناصر کم مصرف آهن و روی ممکن است به دلیل افزایش شدت فتوسنتز و فعالیت‌هایی باشد که منجر به افزایش تقسیم سلول و طویل شدن آنها می‌شود. علل این افزایش را میتوان به نقش مثبت آهن بر افزایش میزان تولید کلروفیل و نمو کلروپلاست و به تبع آن افزایش میزان فتوسنتز و تولید کربوهیدرات نسبت داد که در نتیجه بالا رفتن میزان مواد فتوسنتزی شرایط بهتری برای رشد و نمو گیاه فراهم میشود. افزایش عملکرد دانه در اثر کاربرد آهن و روی، ممکن است به دلیل تأثیر این عناصر بر سنتز کلروفیل و پروتئین برای رشد بهینه و همچنین افزایش فعالیت سیستم آنزیمی گیاه باشد

### منابع و مراجع مورد استفاده

- Angelopoulou, F., Tsiplakou, E. and Bilalis, D. 2019. Impact of Compost Application on Fall-seeded Camelina Yield and Seed Quality. Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca Horticulture, 76(2): 151-153.
- Obour, A.K., Sintim, H.Y., Obeng, E. and Zheljzakov, V.D.J. 2015. Oilseed camelina *Camelina sativa* L. Crantz production systems prospects and challenges in the USA great plains. Advances in Plants and Agriculture Research 2(2).

- Toncea, I., Necseriu, D., Prisecaru, T., Balint, L.N., Ghilvacs, I. and Popa, M. 2013. and oil composition of Camelia-first romanian cultivar of camelina (*Camelina sativa*, L. Crantz). *Romanian Biotechnological Letters*, 18(5): 8594-8602.
- Souri, M.K., Naiji, M. and Kianmehr, M.H. (2019). Nitrogen release dynamics of a slow release urea pellet and its effect on growth, yield, and nutrient uptake of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). *Journal of Plant Nutrition*. 42(6), 604-614.

## The effect of compost levels, iron and zinc foliar application on yield and some characteristics of *Camelina*

Abdolali Mirfatholaahi<sup>1</sup>, Alireza Sirousmehr<sup>2\*</sup>, Issa Khammari<sup>3</sup>, Ahmad Ghanbari<sup>3</sup>, Maryam Allahdu<sup>3</sup>

1-Ph.D. student in crop physiology, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, University of Zabol

2-\*Associate Professor in Crop physiology, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, University of Zabol, [asirousmehr@uoz.ac.ir](mailto:asirousmehr@uoz.ac.ir)

3- Associate Professor in Crop physiology, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, University of Zabol

3- Professor in Crop ecology, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, University of Zabol

3-Assistant Professor in Plant breeding, Department of Plant breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Zabol

### Abstract

Worldwide, the demand for oilseeds is steadily increasing. The new *Camelina* oil plant and its useful agronomic properties with regard to sustainable agriculture have recently aroused interest in this oil plant. Despite the great interest in *Camelina*, the potential of organic cultivation has not been noticed by researchers. The aim of this study is to evaluate the response of *Camelina* to the application of compost, iron and zinc levels on some agricultural characteristics of this plant. For this purpose, a split-plot experiment was conducted in the form of a randomized complete block design with 3 replications at Zabol University Research Institute (Zahak). The main factor includes 4 levels of compost (0, 10, 20, and 30 tons per hectare) and the secondary factor includes 4 levels of micronutrient fertilizer application (non-application, iron at the rate of two per thousand, zinc at the rate of three per thousand, and iron+zinc). Was. Compost treatment before cultivation was calculated for each plot and mixed with soil and iron and zinc foliar spraying was done in two stages (stemming and before stemming). The studied characteristics included the height of the plant, the diameter of the main stem, the number of silique, the number of seeds per silique. The results showed that the highest plant height (82.9 cm), the number of seeds in silique (18.67), the highest seed yield (1270 kg/ha), the highest seed yield (6.1 %) and the highest percentage of protein (20.6 %) was obtained from the application of 30 tons per hectare of compost and foliar application of iron and zinc. The results showed that compost and foliar application of iron and zinc improved agricultural traits.

**Key words:** Number of silique, *Camelina*, Iron, Campost, Zinc.

## بررسی کاربرد هیومیک اسید، آمینو اسید و کود زیستی بر خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه دارویی زنجبیل (*Zingiber officinale*)

فاطمه آزادی<sup>1</sup> عزیزاله خیری<sup>2</sup> محسن ثانی خانی<sup>3\*</sup>

- 1- دانشجوی کارشناسی ارشد، علوم باغبانی، گرایش گیاهان دارویی دانشگاه زنجان
- 2- دانشیار دانشگاه زنجان، علوم باغبانی، دکترای فیزیولوژی و اصلاح گیاهان دارویی، ادویه ای و عطری
- 3- استادیار دانشگاه زنجان، علوم باغبانی، دکترای گیاهان دارویی

نویسنده مسئول مقاله: [fatemeh.azadi1997@gmail.com](mailto:fatemeh.azadi1997@gmail.com)

### چکیده

به منظور بررسی کاربرد هیومیک اسید، آمینو اسید و کود زیستی بر خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه دارویی زنجبیل آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با هفت تیمار و پنج تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه زنجان انجام گردید. تیمارهای آزمایش شامل شامل اسید آمینه در دو غلظت یک و دو گرم در لیتر، کود زیستی EM در دو غلظت یک و دو میلی لیتر در لیتر و اسید هیومیک در دو سطح دو و چهار گرم در لیتر بود. با توجه به نتایج بدست آمده. بیشترین میزان کلروفیل a از تیمار کود زیستی دومیلی لیتر در لیتر (0/4920) دیده شد و همچنین کمترین میزان کلروفیل a از تیمار شاهد (0/1472) بدست آمد. نتایج نشان داد بیشترین میزان کلروفیل b در تیمار آمینو اسید دو گرم در لیتر (1/85 میلی گرم در گرم) مشاهده شد در کل تیمارهای هیومیک اسید، آمینو اسید و کود زیستی موجب افزایش کلروفیل b نسبت به شاهد شد. بیشترین میزان کلروفیل کل از تیمار اسید آمینه دو گرم بر لیتر (2/245) بدست آمد. همچنین کمترین میزان کلروفیل کل هم از تیمار شاهد (0/504) مشاهده شد. تیمارهای هیومیک اسید، اسید آمینه و کود زیستی در افزایش میزان کاروتنوئید کل در گیاه زنجبیل موثر بودند، بیشترین میزان کاروتنوئید کل در تیمار کود زیستی 2 میلی لیتر در لیتر (0/994) میلی گرم در گرم و کمترین میزان کاروتنوئید کل در تیمار شاهد دیده شد. به طور کلی بررسی ها نشان داد هیومیک اسید، آمینو اسید و کود زیستی بر خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه دارویی زنجبیل تاثیر گذار است.

**کلمات کلیدی:** رنگیزه های کلروفیلی، کاروتنوئید کل.

### مقدمه

گیاه دارویی زنجبیل با نام علمی (*Zingiber officinale*) از خانواده Zingiberaceae گیاهی چندساله، علفی و نی مانند است زنجبیل برای حداکثر تولید خود نیاز بالایی به عناصر غذایی دارد (Kemper, 2000). استفاده از کودهای مناسب و کافی علاوه بر افزایش کمیت محصول تولیدی، بر ترکیبات دارویی آن نیز اثر گذار است. بنابراین گزینه های مدیریت عناصر غذایی برای این محصول شامل کودهای زیستی یا آلی یا مخلوطی از هر دو است چرا که مدیریت تغذیه مناسب به کاهش استفاده از کودهای شیمیایی و در نتیجه افزایش کیفیت کمک شایانی می نماید (Jaborova et al., 2021). کودهای بیولوژیک در حقیقت ماده ای شامل انواع مختلف

ریز موجودات آزادی بوده که توانایی تبدیل عناصر غذایی اصلی را از فرم غیر قابل دسترس به فرم قابل دسترس طی فرایندهای بیولوژیکی داشته و منجر به توسعه سیستم ریشه ای و جوانه زنی بهتر بذور می گردند (کوچکی و همکاران، 1387). یکی از کودهای آلی، اسید آمینه ها می باشند، اسید آمینه، فرم ارگانیک نیتروژن است. در دهه گذشته استفاده از محصولات با پایه آمینه اسید به وسیله پرورش دهندگان باعث بهبود عملکرد و رشد گیاهان مختلف گردیده است (آمینی فرد و همکاران، 2019). اسید هیومیک با اثر بر روی میزان فتوسنتز می تواند میزان تولید اسمیلات ها و در نتیجه رشد گیاه را افزایش دهد؛ و برای افزایش عملکرد محصول مؤثر واقع شود (Kaur et al., 2017). در پژوهشی در رابطه با تأثیر کودها و بسترهای مختلف کشت بر عملکرد و مواد مؤثره گیاه زنجبیل نتیجه این گونه شد که کاربرد منابع کودی شیمیایی و زیستی توأم با بسترهای کاشت آلی با افزایش حاصل خیزی بیشتر جهت تأمین رفع نیازهای غذایی زنجبیل جهت تولید مواد مؤثره، متمر ثمر بود (اکبری و همکاران، 1401). در تحقیقی نشان داده شد تأثیر اسید هیومیک بر وزن هزار دانه، تعداد چتر، تعداد شاخه جانبی، درصد اسانس و عملکرد اسانس گیاه دارویی زنیان معنی دار بود. (ابرعلمی و همکاران، 1394). در یک آزمایش دیگر نشان داده شد محلول-پاشی اسیدهای آمینه به عنوان نوعی محرک زیستی بر بهبود ویژگی های کیفی گیاه عروسک پشت-پرده تأثیر مثبتی داشته-اند و سبب افزایش تولید ترکیبات بیوشیمیایی گیاه شده است (صارمی و همکاران، 1400).، آزمایش حاضر به منظور تعیین اثر منابع مختلف کودی (اسید هیومیک؛ آمینو اسید و کود زیستی (EM) بر رشد، افزایش ریزوم و عملکرد گیاه دارویی زنجبیل و صفات قابل بررسی اعم (اسانس، ساقه و برگ و...) زنجبیل تحت شرایط گلخانه ای طراحی و اجرا گردید.

## مواد و روش ها

این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی با هفت تیمار و پنج تکرار اجرا گردید. تیمارهای مورد بررسی شامل اسید آمینه در دو غلظت یک و دو گرم در لیتر، کود زیستی EM (ای ام، ترکیبی ویژه از 120 گونه مختلف میکروارگانیسم های بی هوازی و هوازی اختیاری است که بطور کلی حاوی سه گروه اصلی از باکتری های فتوسنتز کننده، باکتری های اسید لاکتیک و مخمرها می باشد) در دو غلظت یک و دو میلی لیتر در لیتر و اسید هیومیک در دو سطح دو و چهار گرم در لیتر بود. در ابتدا، زنجبیل های برش خورده که هر کدام دارای دو یا سه جوانه رویشی و به وزن تقریبی 25 گرم در گلدان هایی به قطر و ارتفاع 25 سانتی متر با خاکی متشکل از 50 درصد خاک باغچه و 50 درصد ماسه، گیاه خاک، کود دامی کشت شدند و منابع مختلف کودی پس از استقرار گیاهان با فاصله یک ماهه به صورت کودآبیاری و اسید آمینه به صورت محلول پاشی در سه مرتبه انجام شد. گفتنی است این گیاه چندساله می باشد پس از گذشت نه ماه از کاشت نمونه گیری انجام و معمولاً بعد از گذشت هفت الی نه ماه حداکثر کمیت و کیفیت زنجبیل حاصل می شود. رنگیزه های کلروفیلی طبق روش آرنون (Arnon, 1949). از برگ تازه گیاه و طبق روش های گفته شده اندازه گیری گردید.

## نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر تیمار هیومیک اسید، اسید آمینه و کود زیستی در سطح یک درصد بر میزان کلروفیل آ، کلروفیل ب و کلروفیل کل گیاه زنجبیل معنی دار می باشد (جدول 1). نتایج مقایسه میانگین نشان داد تیمارهای هیومیک اسید، آمینو اسید و کود زیستی موجب افزایش کلروفیل آ نسبت به شاهد شدند. بیشترین میزان کلروفیل آ در تیمار کود زیستی 2 میلی لیتر در لیتر (0/49 میلی گرم در گرم) مشاهده شد. تیمار آمینو اسید دو گرم در لیتر (65/4 درصد) موجب افزایش کلروفیل آ نسبت به شاهد

شد. هیومیک اسید 4 گرم در لیتر (48/3 درصد) و کود زیستی یک میلی لیتر در لیتر (46/2 درصد) موجب افزایش میزان کلروفیل آن نسبت به شاهد شدند. کمترین میزان کلروفیل در شاهد (0/14 میلی گرم در گرم) مشاهده شد. (شکل 1-1).

جدول 1- نتایج تجزیه واریانس اثر تیمار کاربرد هیومیک اسید، آمینو اسید و کود زیستی بر خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه زنجبیل

منابع تغییرات	درجه آزادی	کلروفیل ب	کلروفیل کل	کاروتنوئید	کلروفیل آ
تیمار	6	1/32**	1/917**	0/27*	0/0813
خطای آزمایشی	28	0/00036	0/000465	0/014	0/00001
خطای کل	34	7/97	11/52	1/65	0/48
ضریب تغییرات %		2/16	1/86	3/05	1/56

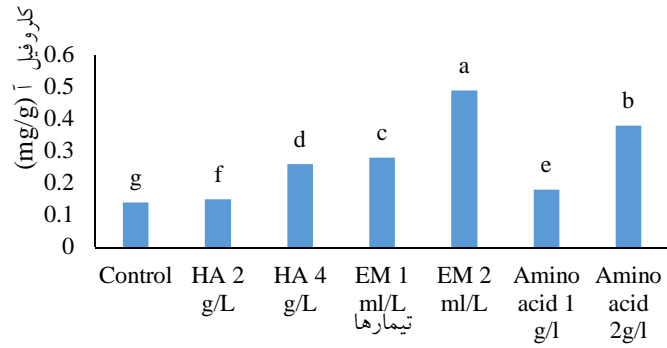
\*\*، \*، ns به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و غیرمعنی‌دار می‌باشد.

نتایج مقایسه میانگین نشان داد تیمارهای هیومیک اسید، آمینو اسید و کود زیستی موجب افزایش کلروفیل ب نسبت به شاهد شدند. بیشترین میزان کلروفیل ب در تیمار آمینواسید دو گرم در لیتر (1/85 میلی گرم در گرم) مشاهده شد. تیمار کود زیستی دو میلی لیتر در لیتر (64/2 درصد) و هیومیک اسید 4 گرم در لیتر (49/1 درصد) و کود زیستی یک میلی لیتر در لیتر (50/6 درصد) موجب افزایش میزان کلروفیل ب نسبت به شاهد شدند. کمترین میزان کلروفیل در شاهد (0/35 میلی گرم در گرم) مشاهده شد. (شکل 2-1).

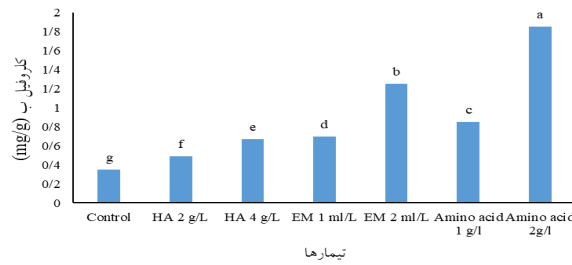
نتایج مقایسه میانگین نشان داد تیمارهای آمینو اسید دو گرم در لیتر و کود زیستی 2 میلی لیتر در لیتر به طور معنی‌داری موجب افزایش کلروفیل کل نسبت به شاهد شده‌اند. بیشترین میزان کلروفیل کل در تیمار آمینواسید دو گرم در لیتر (2/24 میلی گرم در گرم) مشاهده شد. میزان کلروفیل کل در تیمار کود زیستی دو میلی لیتر در لیتر (1/74 میلی گرم در گرم) و در تیمار آمینواسید یک گرم در لیتر (1/06 میلی گرم در گرم) مشاهده شد. تیمار کود زیستی یک میلی لیتر در لیتر (48/2 درصد) و هیومیک اسید 4 گرم در لیتر (45/3 درصد) و هیومیک اسید دو گرم در لیتر (15/4 درصد) موجب افزایش میزان کلروفیل کل نسبت به شاهد شدند. کمترین میزان کلروفیل در شاهد (0/5 میلی گرم در گرم) مشاهده شد (شکل 3-1).

نتایج مقایسه میانگین نشان داد تیمارهای هیومیک اسید، اسید آمینه و کود زیستی در افزایش میزان کاروتنوئید کل در گیاه زنجبیل موثر بودند، بیشترین میزان کاروتنوئید کل در تیمار آمینواسید دو گرم در لیتر (0/99 میلی گرم در گرم) و تیمار آمینواسید یک گرم در لیتر (0/98 میلی گرم در گرم) مشاهده شد. تیمار کود زیستی دو میلی لیتر در لیتر (68/4 درصد) موجب افزایش میزان کاروتنوئید نسبت به شاهد شد. کود زیستی یک میلی لیتر در لیتر (51/3 درصد) موجب افزایش میزان کاروتنوئید کل نسبت به شاهد شدند.

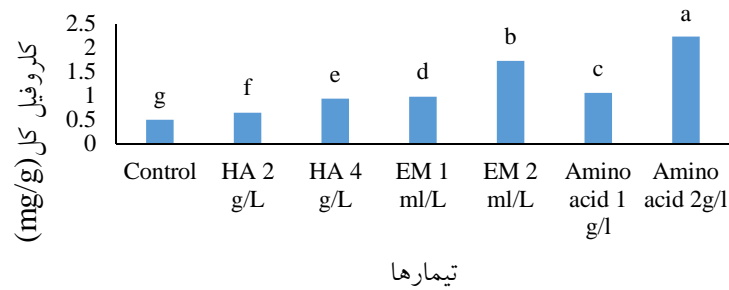
اختلاف قابل ملاحظه‌ای بین تیمار هیومیک اسید 4 گرم در لیتر و کود زیستی یک میلی لیتر در لیتر مشاهده نشد. کمترین میزان کاروتنوئید کل گیاه زنجبیل در شاهد 0/38 میلی گرم در گرم مشاهده شد.



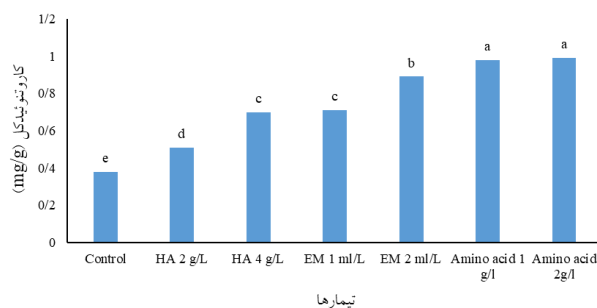
شکل 1-1- مقایسه میانگین اثر کاربرد هیومیک اسید، آمینو اسید و کود زیستی بر کلروفیل آ گیاه زنجبیل



شکل 1-2- مقایسه میانگین اثر کاربرد هیومیک اسید، آمینو اسید و کود زیستی بر کلروفیل ب گیاه زنجبیل



شکل 1-3- مقایسه میانگین اثر کاربرد هیومیک اسید، آمینو اسید و کود زیستی بر کلروفیل کل گیاه زنجبیل



شکل 1-6- مقایسه میانگین اثر کاربرد هیومیک اسید، آمینو اسید و کود زیستی بر کاروتنوئیدکل گیاه زنجبیل

## نتیجه گیری کلی

نتایج آزمایش حاضر نشان داد که هیومیک اسید، آمینو اسید و کود زیستی بر خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه دارویی زنجبیل در نهایت می تواند بر رشد، نمو و عملکرد گیاه اثر بگذارد

## منابع مورد استفاده

1. کوچکی، ع، تبریزی، ل، قربانی، ر. 1387. ارزیابی اثر کودهای بیولوژیکی بر ویژگی های رشد، عملکرد و خصوصیات کیفی گیاه دارویی زوفا. پژوهش های زراعی ایران. 6(1): 127-138.
2. امینی فرد، م، غلامی، م، بیات، ح، مرادی نژاد، ف. 1398. بررسی تاثیر کودهای اسید فولویک و اسید آمینه بر ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی، فعالیت آنتی اکسیدانی و رنگیزه های فتوسنتزی گیاه دارویی گشنیز. اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی. 7(1): 25-39.
3. اکبری، غلامعلی، میری، سیده اکرم، زینلی. (1401). بررسی تأثیر کودها و بسترهای مختلف کشت بر عملکرد و مواد مؤثره گیاه زنجبیل. فصلنامه علمی پژوهشی گیاهان دارویی 21(84): 75-86.
4. برغمندی، کاظم نجفی. (1394). تأثیر سطوح مختلف نیتروکسین و اسید هیومیک بر برخی ویژگی های کمی و اسانس گیاه دارویی زینان (*Carum* *copticum* (L.) CB Clarke علوم باغبانی 321-341(3): 29.
5. صارمی، قلی پور، عباسدخت، نقدی بادی، مهرآفرین اصغری. (1401). بررسی اثر محلول پاشی انواع اسیدهای آمینه بر پاسخ های بیوشیمیایی گیاه دارویی *Physalis alkekengi* L. اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی 9(2): 39-52.
6. Jabborova, D. Sayyed, R. Z. Azimov, A. Jabbarov, Z. Matchanov, A. Enakiev, Y. and Datta, R. 2021. Impact of mineral fertilizers on mineral nutrients in the ginger rhizome and on soil enzymes activities and soil properties. Saudi Journal of Biological Sciences. 28(9), 5268-5274
7. Kemper, K. J. 2000. Ginger (*Zingiber officinale*). Longwood Herbal Task Force, 3, 1-18
8. Kaur, R. Dhillon, W. S. & Kang, S. K. 2017. Effect of humic acid and foliar application of amino acids on growth and essential oil yield of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.). Plant Archives. 17(Supplement), 1383-1386.

## Investigating the use of humic acid, amino acid and biofertilizer on morpho-physiological and phytochemical characteristics of the ginger medicinal plant (*Zingiber officinale*)

Fatemeh Azadi <sup>1\*</sup>, Azizolלה Khairi <sup>2</sup>, Mohsen Sanikhani <sup>3</sup>

- 1- Ph Master's student, horticultural sciences, Zanjan University, majoring in medicinal plants
- 2- Professor, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Zanjan University, Zanjan.
- 3- Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran  
.\*Corresponding Author: fatemeh.azadi1997@gmail.com

## Abstract

In order to investigate the application of humic acid, amino acid and biofertilizer on the morphophysiological and phytochemical properties of ginger medicinal plant, an experiment was conducted in the form of a completely randomized design with seven treatments and five replications in the research greenhouse of Zanjan University. The experimental treatments included amino acid at two concentrations of one and two grams per liter, EM biofertilizer at two concentrations of one and two milliliters per liter, and humic acid at two levels of two and four grams per liter. According to the results obtained. The highest amount of chlorophyll a was seen from the biofertilizer treatment of two milliliters per liter (0.4920) and the lowest amount of chlorophyll a was obtained from the control treatment (0.1472). The results showed that the highest amount of chlorophyll b was observed in the amino acid treatment of 2 grams per liter (1.85 mg/gram). In general, humic acid, amino acid and biofertilizer treatments increased chlorophyll b compared to the control. The highest amount of total chlorophyll was obtained from the amino acid treatment of two grams per liter (2.245). Also, the lowest amount of total chlorophyll was observed from Tamar Shahed (0.504). Humic acid, amino acid and biofertilizer treatments were effective in increasing the amount of total carotenoid in ginger plant, the highest amount of total carotenoid in biofertilizer treatment was 2 ml/liter (0.994) mg/g and the lowest amount of total carotenoid was seen in the control treatment. In general, the investigations showed that humic acid, amino acid and biofertilizer have an effect on the morphophysiological and phytochemical properties of ginger medicinal plant.

Key words: Chlorophyll pigments, Total carotenoid



## ارزیابی لاین‌های امیدبخش کلزا در شرایط تنش‌های محیطی آخر فصل منطقه سیستان با

### استفاده از روش‌های تجزیه چندمتغیره

بهنام بخشی<sup>1\*</sup>، حسن امیری اوغان<sup>2</sup> و محمد کشت‌گر خواجه‌داد<sup>1</sup>

1- بخش تحقیقات علوم زراعی - باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی سیستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج

کشاورزی، زابل، ایران. b.bakhshi@areeo.ac.ir

2- موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

### چکیده

با توجه به تنش‌های محیطی آخر فصل منطقه سیستان از جمله گرما و خشکی، ضرورت دارد تا لاین‌های کلزای بهاره سازگار با خصوصیات مطلوب پرمحصولی و زودرسی برای این منطقه شناسایی شوند. در این تحقیق، تعداد 10 لاین امیدبخش کلزای بهاره انتخابی از آزمایش‌های مقدماتی در اقلیم گرم شمال و جنوب کشور، در شرایط منطقه سیستان به همراه سه رقم شاهد دلگان، صفار و RGS003 در طی دو فصل زراعی مورد ارزیابی قرار گرفتند. صفات روز تا آغاز گل‌دهی، روز تا پایان گلدهی، طول دوره گل‌دهی، روز تا رسیدگی، ارتفاع (سانتی‌متر)، تعداد شاخه در بوته، تعداد خورجین در بوته و تعداد دانه در خورجین از لاین‌های کشت شده یادداشت‌برداری شدند. پس از برداشت نیز صفات عملکرد دانه (کیلوگرم در هکتار) و وزن هزار دانه (گرم) ثبت شدند. بررسی تجزیه واریانس مرکب نشان داد که اثر ژنوتیپ برای تمام صفات مورد ارزیابی معنی‌دار شده است. مقایسه میانگین عملکرد لاین‌های مورد بررسی نشان داد که لاین‌های شماره 9، 10 و 7 به ترتیب با میانگین عملکرد 3137، 3105 و 3096 به عنوان سه لاین امیدبخش برتر و با میانگین عملکرد بالاتر از ارقام شاهد می‌باشند. همچنین لاین‌های شماره 9 و 10 علاوه بر خصوصیت پرمحصولی دارای زودرسی مطلوب و بدون اختلاف معنی‌دار با رقم بسیار زودرس صفار بودند. نتایج بررسی همبستگی بین صفات کمی مورد بررسی نیز نشان داد که عملکرد دانه همبستگی مثبت و معنی‌دار با صفات ارتفاع بوته، تعداد دانه در خورجین، تعداد خورجین در بوته و همچنین تعداد شاخه در بوته دارد.

واژگان کلیدی: تنش‌های محیطی، کلزا، لاین‌های امیدبخش، زودرسی

### مقدمه

بر اساس گزارش فائو، کلزا (*Brassica napus* L.;  $2n=38$ ) به عنوان دومین محصول دانه روغنی بعد از سویا مورد توجه است که سطح زیر کشت آن 44130191 هکتار را در جهان شامل می‌شود (FAO, 2018). اما کشت کلزا در ایران بخصوص در مناطق گرم و خشک از جمله سیستان با مشکل تنش‌های محیطی از جمله خشکی و گرمای بالا بخصوص در آخر فصل مواجه است. در انتخاب رقم باید سازگاری

رقم، کیفیت بذر، ویژگی های خاک و شرایط آب و هوایی، عملکرد دانه و صفات دیگری مانند زودرسی، مقاومت به ریزش، مقاومت به خوابیدگی بوته، مقاومت به بیماری ها و سایر خصوصیات زراعی مورد توجه قرار گیرد. مرادی و همکاران (2017) عکس العمل 17 رقم کلزا را در شرایط مزرعه‌ای در دزفول مطالعه کردند و اظهار داشتند که بین ارقام مورد بررسی از لحاظ عملکرد و دیگر صفات اختلاف معنی داری وجود دارد. آنها همچنین گزارش کردند که عملکرد دانه در صفات مورد بررسی با وزن هزار دانه و تعداد دانه در خورجین بیشترین همبستگی مثبت و در سطح معنی داری 1 درصد داشته است (Moradi et al., 2017). بخشی و همکاران (2021) به منظور مقایسه مقدماتی عملکرد ارقام و لاین‌های بهاره کلزا، آزمایشی با 21 تیمار در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار به مدت یک سال زراعی (1398-1399) در مناطق گرگان، ساری، رشت، زابل و برازجان مورد بررسی قرار دادند. مقایسه میانگین عملکرد دانه نشان داد که ژنوتیپ‌ها از نظر عملکرد دانه دارای اختلاف معنی داری در سطح یک درصد بودند؛ در نهایت با استفاده از روش‌های تجزیه چندمتغیره، هشت ژنوتیپ برتر از نظر خصوصیات زراعی و عملکردی از بین سایر ژنوتیپ‌ها انتخاب شدند (Bakshsh et al., 2021). با توجه به اثرات ناشی از تغییر اقلیم، افزایش دما، فرا رسیدن زودهنگام گرما و تشدید تنش خشکی انتهای فصل در منطقه، ضرورت دارد تا علاوه بر عملکرد بالا به صفاتی چون زودرسی در به‌نژادی کلزا توجه شود. هدف از اجرای این آزمایش بررسی مقدماتی 10 لاین امیدبخش کلزای بهاره متحمل به شرایط تنش‌های محیطی آخر فصل به همراه چهار رقم شاهد در منطقه گرم و خشک سیستان است که با استفاده از روش‌های آماری تجزیه چندمتغیره شناسایی شدند.

## مواد و روش ها

به منظور مقایسه عملکرد و انتخاب برترین‌ها از لاین‌های امیدبخش کلزای بهاره، تعداد 10 لاین به همراه چهار رقم شاهد در آزمایشی در منطقه سیستان در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار و به مدت دو سال زراعی (1400-1399 و 1401-1400) کشت و مورد ارزیابی قرار گرفتند. لاین‌های بهاره مورد استفاده در این پروژه، در مرحله خلوص بوده و به روش شجره ای بدست آمده‌اند. در اجرای این تحقیق از ارقام دلگان، صفار و RGS003 به عنوان شاهد استفاده شد. در طول فصل زراعی، صفات روز تا آغاز گل‌دهی، روز تا پایان گلدهی، طول دوره گل‌دهی، روز تا رسیدگی، ارتفاع (سانتی‌متر)، تعداد شاخه در بوته، تعداد خورجین در بوته و تعداد دانه در خورجین یادداشت‌برداری شدند. هر لاین در 4 خط 5 متری به فاصله 30 سانتیمتر از هم کشت و تراکم بوته در واحد سطح حدود 60 بوته در متر مربع بدست آمد. پس از شخم، دیسک (برای خرد شدن کلوخه‌ها) و ماله (جهت تسطیح) انجام شد. کوددهی بر اساس نتایج آزمایشات تجزیه خاک انجام پذیرفت. کشت در اول آبان و به صورت هیرم‌کاری انجام و در مرحله شش برگگی وجین به صورت دستی انجام پذیرفت. آبیاری در پنج مرحله رشدی گیاه شامل: روزت، غنچه‌دهی، شروع گل‌دهی، خورجین‌دهی و پرشدن‌دانه‌ها انجام پذیرفت. پس از برداشت، صفات عملکرد دانه (کیلوگرم در هکتار) و وزن هزار دانه (گرم) نیز ثبت شدند. تجزیه واریانس مرکب در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی برای عملکرد دانه و سایر صفات کمی انجام شد. در ادامه مقایسه میانگین عملکرد ژنوتیپ‌های مورد بررسی با استفاده از روش حداقل اختلاف معنی دار (LSD) انجام شد. تجزیه همبستگی بین صفات مورد بررسی برای صفات کمی با استفاده از روش پیرسون انجام شد. به منظور انجام آنالیزهای آماری از نرم‌افزار SPSS استفاده شد. در نهایت با استفاده از روش‌های آماری بهترین ژنوتیپ‌ها حاصل از نتایج سال اول و دوم پروژه شناسایی شدند.

## نتایج و بحث

بررسی تجزیه واریانس (جدول 1) مرکب نشان داد که اثر ژنوتیپ برای صفات عملکرد دانه، روز تا آغاز گلدهی، روز تا پایان گلدهی، روز تا رسیدگی، ارتفاع بوته، تعداد شاخه در بوته، تعداد خورجین در بوته، تعداد دانه در بوته و وزن هزار دانه معنی دار شده است. بنابراین

ژنوتیپ‌های مورد بررسی دارای تفاوت‌های معنی‌داری با یکدیگر از نظر خصوصیات مورفولوژیک و فنولوژیک بودند. همچنین اثر متقابل سال در ژنوتیپ برای تمامی صفات مورد بررسی معنی‌دار شد. بررسی ضریب تغییرات نشان داد بیشترین تغییرات اتفاق افتاده متعلق به صفات تعداد شاخه در بوته، عملکرد دانه، تعداد دانه در بوته و طول دوره گلدهی بوده است.

مقایسه میانگین با روش حداقل اختلاف معنی‌دار برای صفات کمی مورد بررسی انجام شد. بررسی میانگین عملکرد لاین‌های مورد بررسی با میانگین کل 2535 کیلوگرم در هکتار نشان داد که لاین شماره 9 با عملکرد 3137 کیلوگرم در هکتار به عنوان برترین لاین امیدبخش از نظر عملکرد است. همچنین لاین‌های شماره 10 و 7 که دارای میانگین عملکرد 3105 و 3096 کیلوگرم در هکتار بودند، تفاوت معنی‌داری را لاین شماره 9 نشان ندادند. همچنین، شاهد‌های RGS003 (شماره 12) و دلگان (شماره 11) به ترتیب با میانگین عملکرد 2857 و 2806 کیلوگرم در هکتار رتبه‌های بعدی را از نظر عملکرد نشان دادند. رقم شاهد RGS003 (شماره 12) تفاوت معنی‌داری را با سه ژنوتیپ برتر 9، 10 و 7 نشان نداد؛ اما رقم دلگان (شماره 11) دارای تفاوت معنی‌دار با لاین‌های 10 و 7 بود. از نظر تعداد روز تا شروع گلدهی، رقم شاهد صفار (شماره 13) سریع‌تر از سایر لاین‌ها و ارقام شاهد وارد مرحله گلدهی شد (99 روز). لاین‌های امیدبخش 9 و 10 به ترتیب بعد از رقم صفار و بدون اختلاف معنی‌دار با این رقم و پس از 100 و 101 روز وارد مرحله آغاز گلدهی شدند. لاین‌های شماره 3 و 7 دیرتر از سایر لاین‌ها و ارقام شاهد وارد مرحله آغاز گلدهی شدند و با ارقام شاهد RGS003 (شماره 12) و دلگان (شماره 11) اختلاف معنی‌داری نداشتند. رقم شاهد صفار (شماره 13) سریع‌تر از سایر لاین‌ها و ارقام و پس از 156 روز وارد مرحله خاتمه گلدهی شد. لاین‌های 9 و 10 نیز بدون اختلاف معنی‌دار و پس از 157 روز خاتمه گلدهی در آن‌ها مشاهده شد. از نظر تعداد روز تا رسیدگی نیز مجدداً رقم صفار (شماره 13) سریع‌تر از سایر ژنوتیپ‌های مورد بررسی و پس از 165 روز وارد مرحله رسیدگی شد. لاین‌های 9 و 10 نیز بدون اختلاف معنی‌دار و پس از 166 روز رسیدگی در آن‌ها مشاهده شد. بنابراین بر اساس نتایج اطلاعات مراحل فنولوژی لاین‌های امیدبخش مورد بررسی، لاین‌های شماره 9 و 10 که از نظر تمام خصوصیات فنولوژی از جمله تعداد روز تا شروع گلدهی، خاتمه گلدهی و رسیدگی اختلاف معنی‌داری را با ژنوتیپ شاهد زودرس صفار (شماره 13) نشان ندادند به عنوان لاین‌های امیدبخش زودرس معرفی می‌شوند. این دو لاین همچنین دارای خصوصیت پرمحصولی نیز بودند. معمولاً ارقام پرمحصول دیررسی بیشتری دارند. بنابراین وجود دو صفت مهم پرمحصولی و زودرسی در لاین‌های امیدبخش 9 و 10 از ویژگی بسیار مهم برای آن‌ها به‌شمار می‌رود.

نتایج بررسی همبستگی بین صفات کمی مورد بررسی نشان داد که عملکرد دانه همبستگی مثبت و معنی‌دار با صفات ارتفاع بوته، تعداد دانه در خورجین، تعداد خورجین در بوته و همچنین تعداد شاخه در بوته دارد. بنابراین افزایش کمی صفاتی از جمله ارتفاع بوته، تعداد دانه در خورجین، تعداد خورجین در بوته و تعداد شاخه در بوته باعث افزایش عملکرد در لاین‌های بهاره کلزا خواهد شد. همچنین بین این صفات که در افزایش عملکرد نقش دارند شامل ارتفاع بوته، تعداد خورجین در بوته و تعداد شاخه در بوته ارتباط مثبت و معنی‌دار وجود دارد. همبستگی مثبت عملکرد دانه با صفات تعداد خورجین در بوته (Baradaran et al., 2007, FROOGHI et al., 2017) و صفت تعداد دانه در خورجین (Ismaili et al., 2015, FROOGHI et al., 2017, Moradi et al., 2017) قبلاً نیز گزارش شده است. بررسی همبستگی بین اجزای عملکرد نیز همبستگی بالایی را بین آنها نشان داد. صفت وزن هزاردانه با صفت تعداد خورجین در بوته همبستگی مثبت و معنی‌داری را نشان داد. صفت تعداد دانه در خورجین با صفات تعداد شاخه در بوته و تعداد خورجین در بوته دارای همبستگی مثبت و معنی‌دار بود. صفت تعداد خورجین در بوته نیز با صفات تعداد شاخه در بوته و ارتفاع بوته همبستگی مثبت و معنی‌داری را نشان داد. همچنین بررسی همبستگی خصوصیات فنولوژی نشان داد که صفت تعداد روز تا آغاز گلدهی با تعداد روز تا خاتمه گلدهی ارتباط مستقیم و معنی‌دار دارد. همچنین صفت تعداد روز

تا رسیدگی با صفات تعداد روز تا شروع گلدهی و تعداد روز تا خاتمه گلدهی همبستگی مثبت و معنی داری را نشان داد (جدول 5). حادث شدن سریع تر زمان گل دهی از ویژگی های مطلوب در ارقام کلزای بهاره بخصوص در اقلیم گرم می باشد. دلایل آن طی نمودن سریع تر مراحل فنولوژیک و عدم برخورد با تنش گرما و خشکی آخر فصل و از طرف دیگر طولانی تر شدن دوره پر شدن دانه دانه است. در حقیقت زمانی که گلدهی زودتر اتفاق می افتد، به همان نسبت نیز گلبرگ ها سریع تر ریزش می یابند و بنابراین سایه اندازی ناشی از گل ها بر روی برگ های درون کانونی کاهش خواهد یافت که این مسئله از طریق افزایش مقدار تشعشع نفوذ کرده به داخل کانونی، فتوسنتز را افزایش داده و به رشد بهتر خورجین ها کمک می کند (Friedt and Snowdon, 2009).

جدول 1- نتایج تجزیه واریانس، میانگین، ضریب تغییرات و حداقل اختلاف معنی دار برای صفات کمی مورد ارزیابی

منابع تغییرات	درجه آزادی	عملکرد دانه (تن در هکتار)	روز تا آغاز گلدهی (روز)	روز تا خاتمه گلدهی (روز)	روز تا رسیدگی (روز)	طول دوره گلدهی (روز)	ارتفاع بوته (سانتی متر)	تعداد شاخه در بوته	تعداد خورجین در بوته	تعداد دانه در خورجین (گرم)	وزن هزار دانه (گرم)
ژنوتیپ	13	1225391**	51.8**	43.3**	33.2**	34.95	163.9*	1.8**	715.4*	14.3*	0.13*
سال	1	2844372**	197.2**	1950.0**	1272.1**	3387.2**	1413.1**	32.1*	4912.3**	2.51	0.55*
سال × بلوک	4	13941	44.32	5.2	8.6	25.6	2.8	1.5	94.59	0.89	0.00
سال × ژنوتیپ	13	388476*	21.7**	52.1**	32.6**	45.5**	80.1**	2.3**	329.7*	6.1*	0.08*
خطا	52	77294	44.5	7.7	5.9	14.1	9.1	0.5	50.6	3.88	0.01
میانگین		2535.67	104.6	160.2	168.7	55.6	129.1	7.1	219.9	20.1 0	3.74
حداقل اختلاف معنی دار (5%)		322.73	3.9	3.6	3.1	4.4	3.5	0.8	8.3	2.3	0.15

### سپاسگزاری

این پژوهش بر اساس نتایج حاصل از اجرای پروژه ملی مصوب به شماره 03-03-0304-155-991248 موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر در منطقه سیستان است. بدینوسیله از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر به پاس تامین هزینه های اجرای پروژه و نیز از مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی سیستان (زابل) به جهت فراهم نمودن امکانات اجرای پروژه تقدیر و تشکر به عمل می آید.

# Evaluation of promising oilseed rape lines to the late-season environmental stresses of the Sistan region using multivariate analysis methods

Behnam Bakhshi<sup>\*1</sup>, Hassan Amiri Oghan<sup>2</sup> and Mohammad Keshtgar Khajedad<sup>1</sup>

1-Horticulture Crops Research Department, Sistan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Zabol, Iran

2-Seed and Plant Improvement Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran

## Abstract

Considering the late-season environmental stress of the Sistan region such as heat and drought, it is necessary to identify new adaptable spring oilseed rape lines with the characteristics of high-yielding and early maturity. In this research, the number of 10 promising spring oilseed rape lines which selected from the preliminary tests in the warm climate of the north and south of Iran, were evaluated under the conditions of the Sistan region, along with the three check varieties including Dalgan, Saffar and RGS003 during two cropping seasons. The characteristics of days to the beginning of flowering, days to the end of flowering, length of the flowering period, days to maturity, height (cm), number of branches per plant, number of pods per plant and number of seeds per pod were evaluated from the cultivated lines. After harvesting, the characteristics of grain yield (kg/hectare) and one-thousand seed weight (grams) were recorded. Analysis of composite variance showed that genotype effect was significant for all evaluated traits. Comparison of the mean yield of investigated lines showed that lines number 9, 10 and 7 are the three most promising lines with a mean yield of 3137, 3105 and 3096, respectively, and with a higher mean yield than the check cultivars. Additionally, lines number 9 and 10, in addition to high-yielding characteristics, showed favorable early maturity and no significant difference with the very early maturing Saffar variety. The results of the correlation between the investigated quantitative traits showed that grain yield has a positive and significant correlation with the traits of plant height, number of grains per pod, number of pods per plant, and number of branches per plant.

**Keywords:** Environmental stress, Early maturity, Oilseed rape, Promising lines,

منابع

Bakhshi, B., Oghan, H. A., Alizadeh, B., Rameeh, V., Payghamzadeh, K., Kiani, D., Rabiee, M., Rezaizad, A., Shiresmaeili, G. & Dalili, A. J. B. 2021. Identification Of Promising Oilseed Rape Genotypes For The Tropical Regions Of Iran Using Multivariate Analysis.

Baradaran, R., Majidi, H. E., Darvish, F. & Azizi, M. 2007. Study Of Correlation Relationships And Path Coefficient Analysis Between Yield And Yield Components In Rapeseed (Brassica Napus L.).

Fao 2018. "Food And Agriculture Organization Of The United Nations, Food And Agricultural Commodities Production. Available Ongenotype: [Http://www.fao.org/statistics/en](http://www.fao.org/statistics/en) ".

Friedt, W. & Snowdon, R. 2009. Oilseed Rape. *Oil Crops*. Springer.



- Frooghi, A., Biyabani, A., Rahemi, K. A. & Rassam, G. 2017. Relationships Of Phenology And Physiological Traits With The Yield Of Rapeseed (*Brassica Napus L.*) In Northern Khorasan.
- Ismaili, A., Nourozi, A. A., Zebarjadi, A., Drikvand, R. & Azizi, K. 2015. Study On Heritability And Path Analysis Of Different Traits, Seed Yield And Oil Yield Of Canola In Climatically Condition Of Khoramabad, Iran.
- Moradi, M., Soltani Hoveize, M. & Shahbazi, E. J. J. O. C. B. 2017. Study The Relations Between Grain Yield And Related Traits In Canola By Multivariate Analysis. 9, 187-194.

## انتخاب لاین‌های امیدبخش زودرس و پرمحصول کلزا با استفاده از شاخص انتخاب ژنوتیپ

### ایده‌آل (SIIG) و تجزیه به عامل‌ها

بهنام بخشی<sup>1\*</sup>، حسن امیری اوغان<sup>2</sup> و محمد کشت‌گر خواجه‌داد<sup>1</sup>

1- بخش تحقیقات علوم زراعی - باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی سیستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج

کشاورزی، زابل، ایران. b.bakhshi@areeo.ac.ir

2- موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال بذر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

### چکیده

با توجه به اثرات ناشی از تغییر اقلیم بخصوص در مناطق گرم و خشک، ضرورت دارد تا علاوه بر شناسایی لاین‌های پرمحصول، ویژگی‌های دیگری از جمله زودرسی و اجزای عملکرد نیز در انتخاب ژنوتیپ‌های مطلوب در اولویت قرار گیرند. بنابراین نیاز است با استفاده از روش‌های آماری با قابلیت انتخاب همزمان چندین صفت مطلوب بر این چالش فائق آمد. در این تحقیق، تعداد 10 لاین امیدبخش کلزای بهاره انتخابی از آزمایش‌های مقدماتی در اقلیم گرم شمال و جنوب کشور، در شرایط منطقه سیستان به همراه سه رقم شاهد دلگان، صفار و RGS003 در طی دو فصل زراعی مورد ارزیابی قرار گرفتند. صفات کمی، عملکرد و اجزای عملکرد در طی دوره رشدی و پس از برداشت ثبت شدند. در این مطالعه از شاخص انتخاب ژنوتیپ ایده‌آل (SIIG) به منظور انتخاب ژنوتیپ‌های برتر دارای چندین صفت مطلوب به صورت همزمان استفاده شد. رتبه‌بندی لاین‌ها و ارقام مورد بررسی با استفاده از شاخص انتخاب ژنوتیپ ایده‌آل نشان داد که لاین‌های امیدبخش 10، 9، 7، 1 و 8 به ترتیب با کمترین فاصله از ژنوتیپ ایده‌آل و با بیشترین فاصله از ژنوتیپ غیرایده‌آل به عنوان برترین لاین‌های بررسی شده در این مطالعه می‌باشند. همچنین، بای‌پلات دو مولفه اول حاصل از تجزیه به مولفه‌های اصلی نیز سه لاین امیدبخش 9، 10 و 7 را به عنوان برترین لاین‌ها شناسایی کرد. بنابراین سه لاین امیدبخش شناسایی شده با ویژگی پرمحصولی، زودرسی و سایر خصوصیات مطلوب زراعی، به عنوان لاین‌های سازگار با منطقه سیستان شناسایی شدند.

واژگان کلیدی: تجزیه به عامل‌ها، کلزا، لاین‌های امیدبخش، شاخص انتخاب ژنوتیپ ایده‌آل

### مقدمه

دانه‌های روغنی پس از غلات، دومین ذخائر غذایی جهان را تشکیل می‌دهند این گیاهان بعنوان مهمترین منبع تامین‌کننده روغن با تامین اسیدهای چرب غیراشباع شناخته شده‌اند. در سال 2013 میلادی سهم آسیا از این سطح کشت 14749852 هکتار و تولید 23337116 تن بود. سه کشور کانادا، چین و هند به ترتیب دارای مقام اول، دوم و سوم از جهت سطح زیرکشت بودند. براساس گزارش فائو، ایران رتبه بیست و

هفتم را در تولید کلزا در جهان دارد [1]. خانواده شببو دارای محصولات زراعی مهمی هستند که از بین آنها از گونه Brassica بیش از هزاران سال برای تهیه روغن استفاده می‌شود [2, 3]. کشت کلزا در ایران بخصوص در مناطق گرم و خشک از جمله سیستان با مشکل تنش‌های محیطی از جمله خشکی و گرمای بالا مواجه است. میزان بارندگی در ایران در طی چهار دهه گذشته کاهش یافته است [4] در حالی که کلزا محصولی است که به مناطق با میزان بارندگی بالا سازگار است و به طور معنی‌داری تحت تاثیر شرایط تنش خشکی قرار می‌گیرد [5, 6]. تغییرات اقلیمی باعث افزایش تنش‌های محیطی از جمله گرما و تنش خشکی شده که تولید کلزا را تحت تاثیر قرار داده‌اند [7]. بنابراین شناسایی ارقام سازگار در این شرایط بخصوص گرمای بالا از برنامه‌های اصلی در به‌نژادی کلزا است. در انتخاب رقم باید سازگاری رقم، کیفیت بذر، ویژگی‌های خاک و شرایط آب و هوایی، عملکرد دانه و صفات دیگری مانند زودرسی، مقاومت به ریزش، مقاومت به خوابیدگی بوته، مقاومت به بیماری‌ها و سایر خصوصیات زراعی مورد توجه قرار گیرد. تورلینگ (1991) رشد اولیه سریع، گلدهی زود هنگام پس از روزت، ساقه‌های کوتاه و ضخیم، برخورداری از تعداد خورجین 5000 تا 8000 عدد در متر مربع، طول و عمودی بودن خورجین‌ها و افزایش تعداد خورجین در ساقه اصلی و کاهش تعداد ساقه‌های فرعی را از خصوصیات ایده آل کلزا جهت تولید عملکرد بالا ذکر نمودند [8]. کشت کلزا در تناوب زراعی با گندم در دستور کار وزرات جهاد کشاورزی در برخی از استان‌های کشور از جمله استان سیستان و بلوچستان است. تغییر الگوی کشت در منطقه سیستان و رعایت تناوب گندم - کلزا از برنامه‌های اساسی پیش رو در منطقه سیستان است و برنامه‌ریزی برای توسعه این گیاه زراعی در کشاورزی منطقه سیستان روز به روز شتاب بیشتری به خود گیرد. در حال حاضر عمده ارقامی که در استان سیستان و بلوچستان کشت می‌شوند از هیبریدهای هایولا هستند که با توجه به هیبرید و وارداتی بودن والدین آن، ریسک بسیار بالایی بدلیل وابستگی به یک رقم متوجه کلزاکاران استان است. از طرف دیگر باید در نظر داشت به منظور افزایش ترغیب کشاورزان برای کشت ارقام آزادگرده افشان کلزا، باید ارقام جدیدی که در منطقه توسعه می‌یابند از عملکرد مطلوبی برخوردار باشند. همچنین با توجه به اثرات ناشی از تغییر اقلیم، افزایش دما، فرا رسیدن زود هنگام گرما و تشدید تنش خشکی انتهای فصل در منطقه، ضرورت دارد تا علاوه بر عملکرد بالا به صفاتی چون زودرسی در به‌نژادی کلزا توجه شود. هدف از اجرای این آزمایش بررسی مقدماتی 10 لاین امیدبخش کلزای بهاره به همراه چهار رقم شاهد در منطقه گرم و خشک سیستان است با استفاده از شاخص انتخاب ژنوتیپ ایده‌آل و تجزیه به عامل‌ها است.

## مواد و روش‌ها

به منظور انتخاب برترین لاین‌های متحمل به تنش‌های محیطی منطقه سیستان تعداد 10 لاین به همراه چهار رقم شاهد در آزمایشی در منطقه سیستان در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار و به مدت دو سال زراعی (1399-1400 و 1401-1400) کشت و مورد ارزیابی قرار گرفتند. در اجرای این تحقیق از ارقام دلگان، صفار و RGS003 به عنوان شاهد استفاده شد. در طول فصل زراعی، صفات روز تا آغاز گل‌دهی، روز تا پایان گلدهی، طول دوره گل‌دهی، روز تا رسیدگی، ارتفاع (سانتی‌متر)، تعداد شاخه در بوته، تعداد خورجین در بوته و تعداد دانه در خورجین یادداشت‌برداری شدند. هر لاین در 4 خط 5 متری به فاصله 30 سانتیمتر از هم کشت و تراکم بوته در واحد سطح حدود 60 بوته در متر مربع بدست آمد. پس از شخم، دیسک (برای خرد شدن کلوخه‌ها) و ماله (جهت تسطیح) انجام شد. کوددهی بر اساس نتایج آزمایشات تجزیه خاک انجام پذیرفت. کشت در اول آبان و به صورت هیرم‌کاری انجام و در مرحله شش برگگی و جین به صورت دستی انجام پذیرفت. آبیاری در پنج مرحله رشدی گیاه شامل: روزت، غنچه‌دهی، شروع گل‌دهی، خورجین‌دهی و پرشدن دانه‌ها انجام پذیرفت. پس از برداشت، صفات عملکرد دانه (کیلوگرم در هکتار) و وزن هزار دانه (گرم) نیز ثبت شدند. تجزیه به عامل‌ها به منظور شناسایی عامل‌های اصلی و با استفاده از همبستگی پیرسون محاسبه شد. با استفاده از دو مولفه اول، بای‌پلات برای صفات کمی ترسیم شد. همچنین با استفاده از روش



شاخص ژنوتیپ ایده‌آل (SIIG<sup>15</sup>) [9]، میانگین عملکرد ژنوتیپ‌ها در طی دو سال رتبه‌بندی شدند. به منظور انجام آنالیزهای آماری از نرم‌افزارهای XLSTAT و SPSS استفاده شد.

## نتایج و بحث

ژنوتیپ‌های مورد بررسی در این مطالعه بر اساس شاخص انتخاب ژنوتیپ ایده‌آل (SSIG) رتبه‌بندی شدند. مقدار شاخص انتخاب ژنوتیپ ایده‌آل بین صفر تا یک متغیر است و هرچه ژنوتیپ مورد نظر به ژنوتیپ ایده‌آل نزدیک‌تر باشد مقدار شاخص انتخاب ژنوتیپ ایده‌آل آن به یک نزدیک‌تر خواهد بود و ژنوتیپ‌هایی که مقدار شاخص آنها نزدیک به صفر باشد، به عنوان ضعیف‌ترین ژنوتیپ در نظر گرفته می‌شوند [10]. در این روش، بهترین ژنوتیپ، نزدیک‌ترین ژنوتیپ به ژنوتیپ‌های ایده‌آل و دورترین از ژنوتیپ‌های غیرایده‌آل یا ضعیف است [10]. در این تحقیق، به منظور انتخاب ژنوتیپ ایده‌آل مقادیر حداکثر برای صفات طول دوره گل‌دهی، تعداد شاخه جانبی، ارتفاع بوته، تعداد خورجین در بوته، تعداد دانه در خورجین، وزن هزاردانه و عملکرد دانه و مقادیر حداقل برای صفات تعداد روز تا گلدهی، تعداد روز تا خاتمه گلدهی و تعداد روز تا رسیدگی در نظر گرفته شد. بر این اساس رتبه‌بندی ژنوتیپ‌های مورد بررسی انجام شد و لاین‌های امیدبخش 10، 9، 7، 1 و 8 به ترتیب با کمترین فاصله از ژنوتیپ ایده‌آل و بیشترین فاصله از ژنوتیپ غیرایده‌آل به عنوان برترین ژنوتیپ‌ها شناخته شدند. ارقام شاهد دلگان، صفار و RGS003 به ترتیب در رتبه‌های بعدی پس از لاین‌های امیدبخش برتر مشاهده شدند. بنابراین لاین‌های امیدبخش 10، 9، 7، 1 و 8 دارای خصوصیات برتر از نظر عملکرد و خصوصیات زراعی نسبت به ارقام شاهد مورد بررسی در این مطالعه می‌باشند. لاین‌های امیدبخش 2، 5، 4، 6 و 3 نیز به ترتیب رتبه‌های بعدی را پس از ارقام شاهد مورد بررسی کسب نمودند. بنابراین لاین‌های امیدبخش 2، 5، 4، 6 و 3 به دلیل رتبه پایین شاخص انتخاب ژنوتیپ ایده‌آل و همچنین قرار گرفتن در رتبه‌های بعد از ارقام شاهد، قابلیت انتخاب نداشتند و به عنوان لاین‌های نامطلوب طبقه‌بندی شدند.

رتبه‌بندی لاین‌های امیدبخش مورد بررسی با استفاده از شاخص ژنوتیپ ایده‌آل در مقایسه با روش رتبه‌بندی با میانگین عملکرد مقادیر رتبه نسبتاً نزدیکی را نشان داد. به طوری که مقادیر این دو روش رتبه‌بندی در لاین‌های امیدبخش بسیار نزدیک‌تر به یکدیگر نسبت به برخی از ارقام شاهد از جمله RGS003 مشاهده شد. این نتیجه نشان می‌دهد لاین‌های امیدبخش مورد بررسی در این مطالعه از خصوصیات مطلوب زراعی علاوه بر عملکرد برخوردار هستند. رتبه پایین تر رقم شاهد RGS003 در شاخص رتبه‌بندی ژنوتیپ ایده‌آل نسبت به روش رتبه‌بندی میانگین عملکرد بیانگر این مطلب است که این رقم اگرچه عملکرد نسبتاً مطلوب (رتبه 4) داشته است؛ اما به دلیل برخی از خصوصیات نامطلوب زراعی از جمله دیررسی رتبه پایین تری (رتبه 8) را در روش رتبه‌بندی با شاخص ژنوتیپ ایده‌آل کسب کرده است.

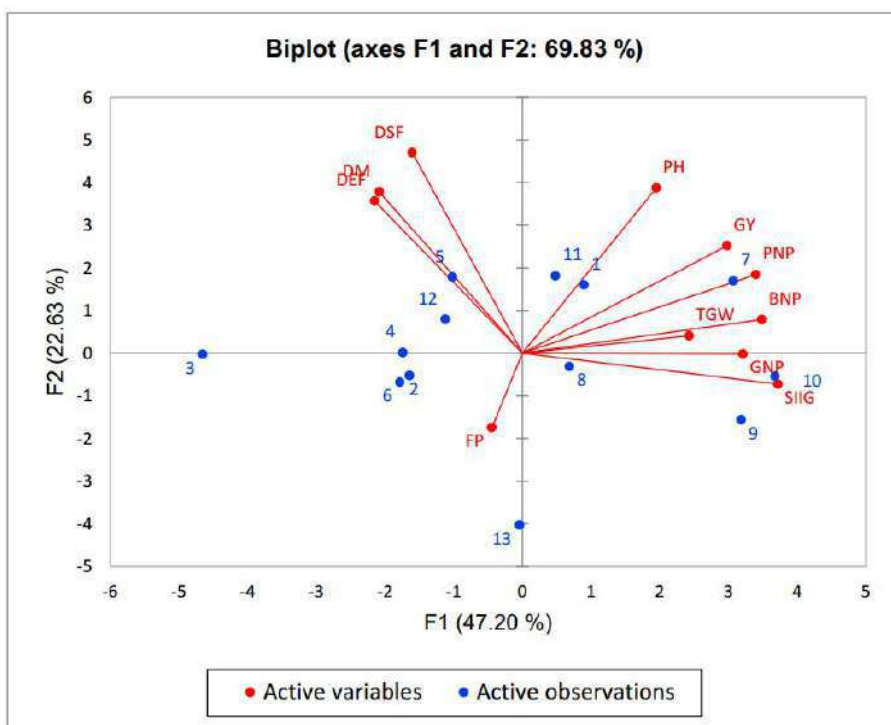
همچنین، بررسی همبستگی بین شاخص انتخاب ژنوتیپ ایده‌آل و صفات کمی مورد بررسی نشان داد که شاخص انتخاب ژنوتیپ ایده‌آل همبستگی مثبت و معنی‌داری را با صفات عملکرد دانه، تعداد دانه در خورجین، تعداد خورجین در بوته، تعداد شاخه در بوته، وزن هزار دانه و تعداد روز تا آغاز گلدهی دارد. این نتیجه نشان می‌دهد که صفات کمی مورد بررسی تأثیر مهمی در رتبه‌بندی ژنوتیپ‌ها داشته و در این بین صفات مذکور و بخصوص عملکرد و اجزای آن بیشترین تأثیر را داشته‌اند. بنابراین شاخص ژنوتیپ ایده‌آل می‌تواند به عنوان یک شاخص

<sup>15</sup> Selection index of ideal genotype

چندصفتی کارآمد در انتخاب ژنوتیپ‌های برتر با در نظر گرفتن مقادیر ایده‌آل برای هر صفت در نظر گرفته شود؛ به طوری که در نهایت ژنوتیپ منتخب نه تنها دارای عملکرد بالا است بلکه از نظر سایر صفات زراعی نیز وضعیت مطلوبی را خواهد داشت.

تجزیه به مولفه‌های اصلی نشان داد که دو مولفه اول 69/83 درصد از تغییرات موجود و سه مولفه اول 85/05 درصد از تغییرات موجود را پوشش داده‌اند. از طرف دیگر، صفت ارتفاع بوته به همراه صفات فنولوژی شامل تعداد روز تا شروع گلدهی، تعداد روز تا خاتمه گلدهی و تعداد روز تا رسیدگی بیشترین همبستگی را با مولفه دوم نشان دادند. صفت طول دوره گلدهی نیز بیشترین همبستگی را با مولفه سوم نشان داد. بخشی و همکاران (2021) در بررسی لاین‌های بهاره کلزا بیشترین همبستگی در عامل اول را با صفات فنولوژیک و عملکردی گزارش کردند [11]. تجزیه به مولفه‌های اصلی نشان داد شاخص انتخاب ژنوتیپ ایده‌آل دارای بیشترین همبستگی با مولفه اول به همراه صفات عملکرد دانه، تعداد شاخه در بوته، تعداد خورجین در بوته، تعداد دانه در خورجین و وزن هزار دانه است. نمودار بای‌پلات (شکل 1) نیز با استفاده از دو عامل اول ارتباط بین صفات کمی را به وضوح نشان داد (شکل 1). همچنین با استفاده از نمودار بای‌پلات پراکنش لاین‌ها و ارقام با استفاده از دو مولفه اول مشخص شد و لاین‌های 9، 10 و 7 از سایر لاین‌ها و ارقام مورد بررسی متمایز و به عنوان لاین‌های برتر از نظر شاخص انتخاب ژنوتیپ ایده‌آل و همچنین عملکرد و اجزای آن شناخته شدند. همچنین با استفاده از نمودار بای‌پلات مشخص شد که شاخص انتخاب ژنوتیپ ایده‌آل برای مناسبی را از صفات کمی مورد بررسی تشکیل داده که انتخاب ژنوتیپ‌های برتر را تسهیل می‌کند.

در نهایت رتبه‌بندی لاین‌ها با استفاده از شاخص ژنوتیپ ایده‌آل و همچنین نمودار بای‌پلات نشان داد سه لاین امیدبخش 9، 10 و 7 دارای خصوصیات مطلوب از جمله پرمحصولی، خصوصیات زراعی مناسب و زودرسی می‌باشند و به عنوان لاین‌های سازگار با منطقه سیستان معرفی می‌شوند.



شکل 1: بای پلات صفات کمی به همراه شاخص انتخاب ژنوتیپ ایده آل و پراکنش ژنوتیپ های کلزای مورد بررسی با استفاده از دو مولفه اول

سپاسگزاری

این پژوهش بر اساس نتایج حاصل از اجرای پروژه ملی مصوب به شماره 03-03-0304-155-991248 موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر در منطقه سیستان است. بدینوسیله از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر به پاس تامین هزینه های اجرای پروژه و نیز از مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی سیستان (زابل) به جهت فراهم نمودن امکانات اجرای پروژه تقدیر و تشکر به عمل می آید.

## Selection of promising early-maturing and high-yielding oilseed rape lines using the ideal genotype selection index (SIIG) and factor analysis

Behnam Bakhshi<sup>\*1</sup>, Hassan Amiri Oghan<sup>2</sup> and Mohammad Keshtgar Khajedad<sup>1</sup>

1-Horticulture Crops Research Department, Sistan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Zabol, Iran

2-Seed and Plant Improvement Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran

### Abstract

Considering the effects of climate change, especially in hot and dry regions, it is necessary to prioritize high-yielding lines in addition to other characteristics, such as early maturity and yield components, in the selection of desirable genotypes. Therefore, it is necessary to overcome this challenge by using statistical methods with the ability to simultaneously select several desirable traits. In this research, the number of 10 promising spring oilseed rape lines selected from the preliminary experiments in the warm climate of the north and south of the country, under the conditions of the Sistan region, along with the three check cultivars Dalgan, Saffar and RGS003, were evaluated during two cropping seasons. Quantitative traits, yield and yield components were recorded during the growth period and after harvest. In this study, the Ideal Genotype Selection Index (SIIG) was used to select superior genotypes with several desirable traits simultaneously. The ranking of investigated lines and cultivars using the ideal genotype selection index showed that the promising lines 10, 9, 7, 1 and 8 are respectively the least distant from the ideal genotype and the most distant from the non-ideal genotype as the best lines examined in this study. Additionally, the biplot of the first two components resulting from decomposition into principal components also identified three promising lines 9, 10 and 7 as the best lines. Therefore, three promising lines identified with high yield, early maturity and other favorable agronomic characteristics were identified as lines compatible with Sistan region.

**Key word:** Factor analysis, Ideal Genotype Selection Index, Oilseed rape, Promising lines,

منابع

1. FAO, "Food and Agriculture Organization of the United Nations, Food and Agricultural Commodities Production. Available on genotype: <http://www.fao.org/statistics/en>". 2018.
2. Warwick, S., A. Francis, and I. Al-Shehbaz, *Brassicaceae: species checklist and database on CD-Rom*. Plant Systematics and Evolution, 2006. **259**(2-4): p. 249-258.
3. Wu, W., B.L. Ma, and J.K. Whalen, *Enhancing rapeseed tolerance to heat and drought stresses in a changing climate: perspectives for stress adaptation from root system architecture*, in *Advances in Agronomy*. 2018, Elsevier. p. 87-157.
4. Tabari, H., H. Abghari, and P. Hosseinzadeh Talaei, *Temporal trends and spatial characteristics of drought and rainfall in arid and semiarid regions of Iran*. Hydrological Processes, 2012. **26**(22): p. 3351-3361.
5. Richards, R., *Genetic analysis of drought stress response in rapeseed (Brassica campestris and B. napus)*. I. Assessment of environments for maximum selection response in grain yield. Euphytica, 1978. **27**(2): p. 609-615.
6. Resketo, P. and L. Szabo, *The effect of drought on development and yield components of soybean*. Int. J. Trop. Agric, 1992. **8**: p. 347-354.
7. Lobell, D.B. and S.M. Gourdji, *The influence of climate change on global crop productivity*. Plant physiology, 2012. **160**(4): p. 1686-1697.
8. Thurling, N.J.F.C.R., *Application of the ideotype concept in breeding for higher yield in the oilseed brassicas*. 1991. **26**(2): p. 201-219.
9. Zali, H. and A.J.J.o.C.B. Barati, *Evaluation of selection index of ideal genotype (SIIG) in other to selction of barley promising lines with high yield and desirable agronomy traits*. p. 0-0.
10. Zali, H., et al. *Appraising of drought tolerance relying on stability analysis indices in canola genotypes simultaneously, using selection index of ideal genotype (SIIG) technique: Introduction of new method*. in *Biological Forum*. 2015. Research Trend.
11. Bakhshi, B., et al., *Identification of promising oilseed rape genotypes for the tropical regions of Iran using multivariate analysis*. 2021.
12. Abdollahi Hesar, A., et al., *Evaluation of some autumn canola genotypes based on agronomy traits and SIIG index*. 2020.
13. Arshadi Bidgoli, M., et al., *Evaluation of Diversity and Relationship among Yield and Yield Components of Rapeseed Genotypes (Brassica napus L.)*. 2018.
14. Baradaran, R., et al., *Study of correlation relationships and path coefficient analysis between yield and yield components in rapeseed (Brassica napus L.)*. 2007.

## بررسی تأثیر تعدیل تنش خشکی بر رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه آجوگا (*Ajuga reptans* L.)

### با استفاده از قارچ میکوریزا

زهرا قربانی<sup>1\*</sup>، وحید قنادر قرصی<sup>2</sup>، محمود شور<sup>3</sup>، زهرا کریمیان<sup>4</sup>

**1\***- دانشجوی دکترا باغبانی، گروه علوم باغبانی و فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

Z\_gh1994@yahoo.com

**2**- فارغ التحصیل کارشناسی ارشد باغبانی، گروه علوم باغبانی و فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

**3**- دانشیار، گروه علوم باغبانی و فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

**4**- دانشیار، گروه علوم باغبانی و فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

### چکیده

گیاهان پوششی یکی از اجزا مهم فضای سبز شهری هستند که می‌توانند گزینه مناسبی جهت جایگزینی نسبی با چمن‌ها باشند. یکی از راهکارها برای غلبه بر اثرات نامطلوب تنش آبی کاربرد قارچ میکوریزا است که نشان دهنده یک همزیستی مفید با ریشه گیاه میزبان می‌باشد. به همین دلیل در این پژوهش به منظور کاهش اثرات تنش آبی و افزایش تحمل به این تنش، استفاده از میکوریزا در گیاه پوششی آجوگا (*Ajuga reptans* L.) مورد بررسی قرار گرفت. به منظور بررسی تأثیر قارچ‌های میکوریزا و تنش خشکی بر رشد و عملکرد گیاه آجوگا آزمایشی گلدانی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در گلخانه گروه علوم باغبانی دانشگاه فردوسی مشهد در سال 1396-97 انجام شد. تیمارهای مورد آزمایش شامل میکوریزا در سه سطح (شاهد)، تلقیح با گونه *Glomus mosseae* و *G. intraradices* و خشکی در سه سطح 100% FC (شاهد)، 60% FC (تنش خشکی ملایم) و 30% FC (تنش خشکی شدید) بود. نتایج حاصل نشان داد که هشت هفته پس از آغاز تیمارهای خشکی، فاکتورهای کلروفیل کاهش یافتند. نتایج نشان داد که اثرات متقابل تنش خشکی و میکوریزا بر کلروفیل *a* و کل اثر معنی داری داشت. به طور کلی، کاربرد قارچ میکوریزا سبب افزایش مقاومت به خشکی در گیاه آجوگا شد. همچنین نتایج نشان داد که بیشترین تأثیرات مربوط به قارچ *Glomus mosseae* است و بر روی بیشتر صفات مورد بررسی بهتر عمل کرده است.

**واژگان کلیدی:** کلروفیل، همزیستی، گیاه پوششی، فضای سبز، رنگیزه فتوسنتزی

### مقدمه

گیاهان پوششی، با تنوع بالا قابلیت گسترش در اقلیم‌های متنوع، بعضاً با نیاز آبی و مراقبتی پایین هستند، که در برخی موارد گزینه‌ی مناسب تری نسبت به چمن‌ها برای کشت در فضای سبز می‌باشند. (صفری و همکاران، 1394). در دهه گذشته تغییرات آب و هوایی به شدت شرایط محیطی را تحت تأثیر قرار داده و اثرات منفی بر توسعه و بهره‌وری گیاهان داشته است. (ولپ و همکاران، 2018). جنس آجوگا متعلق به خانواده Lamiales بوده و تقاضا به دلیل خواص دارویی، جنبه زینتی و داروسازی افزایش پیدا کرده است. گونه‌هایی از این گیاه به دلیل جمع‌آوری بیش از حد برای مقاصد زینتی و دارویی و تخریب زیستگاه‌ها و جنگل‌زدایی به سرعت کاهش یافته‌اند. (پارک، 2017). قارچ‌های میکوریزا در طبیعت نقش مؤثری در تأمین نیازهای آبی و تغذیه‌ای گیاهان به عهده دارند و گیاهان دارای همزیستی میکوریزایی می‌توانند غلظت زیادتری از فلزات سنگین، شوری و خشکی خاک

را تحمل کرده و در برابر عوامل بیماری زای مختلف و گرمای زیاد خاک تحمل نشان دهند (اصلان پور، 1395). به همین منظور در تحقیق حاضر به بررسی اثرات این قارچ ها در کاهش تنش خشکی پرداخته شده است.

### مواد و روش ها

این پژوهش در سال 1396-97 در گلخانه گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد انجام گرفت. خاک مورد استفاده ترکیبی از ماسه، خاک لومی و خاک برگ به نسبت 1:1:1 بود. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد، که فاکتورهای مورد بررسی شامل تیمارهای در سه سطح 100% FC (شاهد)، 60% FC (تنش خشکی ملایم) و 30% FC (تنش خشکی شدید) و تیمارهای قارچ میکوریزا شامل دو گونه قارچ میکوریزا در سه سطح (شاهد، تلقیح با گونه *Glomus mosseae* و *G. intraradices*) بودند. گونه های میکوریزای بکار رفته در این پژوهش از شرکت زیست فناور توران سمنان تهیه شدو بذره های گیاه آجوگا نیز از پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد تهیه گردیدند. پس از پر کردن گلدان با خاک در زیر سطح ریشه حدود 50 گرم قارچ میکوریزا به گلدان اضافه گردیده و پس از آن نشاء گیاه مورد نظر در داخل گلدان قرار گرفت. به مدت 60 روز تا استقرار کامل بوته های آجوگا، آبیاری برای تمام تیمارها به طور یکسان و کامل صورت گرفت پس از آن براساس تیمارهای تعریف شده سطوح خشکی مورد نظر در آزمایش بر روی گیاهان اعمال شد و در نهایت پس از 100 روز گیاهانی که تیمار بر روی آن ها صورت گرفته بود، جهت انجام آزمایشات برداشت شدند.

غلظت کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید از طریق روابط ارائه شده توسط لیچ و همکاران (1987) به دست آمد. داده های به دست آمده از آزمایش با استفاده از نرم افزار آماری Minitab19.11 تجزیه شدند. مقایسات میانگین نیز با استفاده از روش دانکن در سطح احتمال پنج درصد صورت گرفت. شکل ها و معادالت مربوط به روابط بین متغیرهای مورد بررسی با استفاده از نرم افزار Excel تهیه گردید.

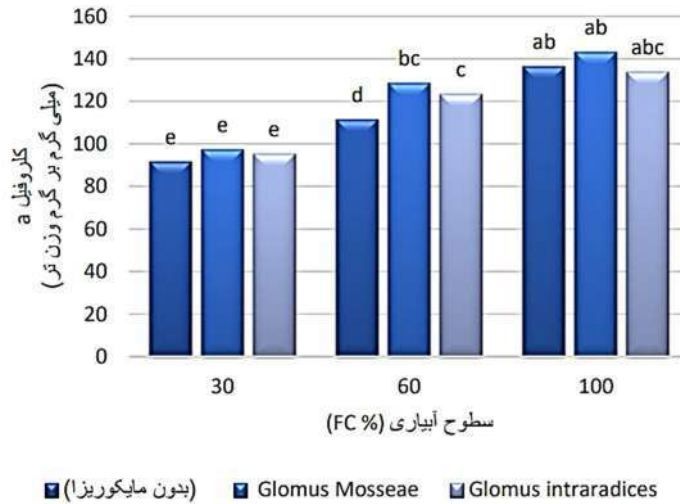
### نتایج و بحث

جدول 1. میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس رنگیزه های فتوسنتزی آجوگا تلقیح شده با میکوریزا تحت تنش خشکی

ضریب تغییرات	درجه آزادی	کلروفیل a (mg/g FW)	کلروفیل b (mg/g FW)	کلروفیل کل (mg/g FW)
خشکی	2	4254/47**	39/5628**	569/77**
مایکوریزا	2	227/02**	2/5467*	275/05**
خشکی* مایکوریزا	4	55/28*	0/1665 <sup>ns</sup>	53/57*
خطا	27	14/73	0/5505	15/82
%ضریب تغییرات		16/18	10/85	15/32

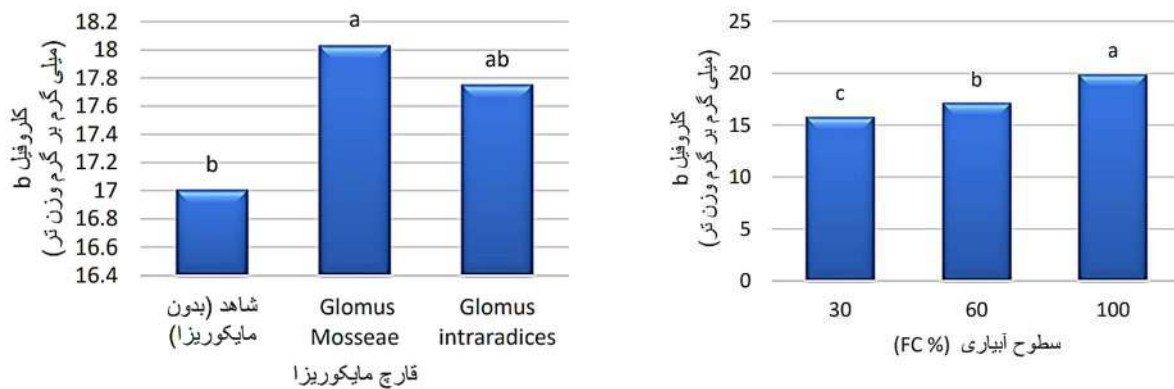
ns و \*\* و \*\*\*: به ترتیب نمایانگر غیر معنی دار بودن و تفاوت معنی دار در سطح احتمال پنج و یک درصد می باشد

**کلروفیل a:** نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول 1) نشان داد که اثرات ساده سطح احتمال 1 درصد و اثر متقابل تیمارها در سطح احتمال 5 درصد بر کلروفیل a معنی‌دار بود. با توجه به نتایج مقایسه میانگین داده‌ها (شکل 1) بیشترین کلروفیل a در تیمار سطح آبیاری 100 درصد ظرفیت زراعی همراه با کاربرد *Glomus mosseae* (91/48) مشاهده شد.



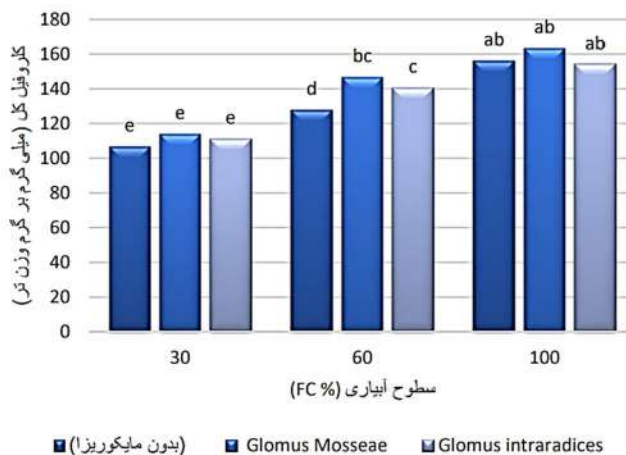
شکل 1. مقایسه میانگین کلروفیل a تحت تأثیر متقابل تیمارهای قارچی و سطوح مختلف آبیاری در گیاه آجوگا

**کلروفیل b:** نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول 1) نشان می‌دهد که اثر ساده سطوح آبیاری در سطح احتمال 1 درصد و قارچ مایکوریزا در سطح احتمال 5 درصد بر کلروفیل b معنی‌دار شد. با توجه به نتایج مقایسه میانگین داده‌ها بیشترین میزان کلروفیل b در تیمار سطح آبیاری 100 درصد ظرفیت زراعی (19/89) مشاهده شد. همچنین بیشترین میزان کلروفیل b در کاربرد *G. mosseae* (18/03) مشاهده شد (شکل 2).



شکل 2. مقایسه میانگین کلروفیل b تحت تأثیر سطوح مختلف آبیاری b و تحت تأثیر تیمارهای قارچی

کلروفیل کل: نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول 1) نشان داد که اثرات ساده در سطح احتمال 1 درصد و اثر متقابل تیمارها در سطح احتمال 5 درصد بر کلروفیل کل معنی‌دار بود. با توجه به نتایج مقایسه میانگین داده‌ها (شکل 3) بیشترین کلروفیل کل در تیمار سطح آبیاری 100 درصد ظرفیت زراعی همراه با کاربرد *Glomus mosseae* (163/28) مشاهده شد.



شکل 3. مقایسه میانگین کلروفیل کل تحت تأثیر متقابل تیمارهای قارچی و سطوح مختلف آبیاری

به طور کلی مقدار کلروفیل به عنوان یک معیار بسیار مفید همواره برای ارزیابی وضعیت فیزیولوژیکی گیاه مورد توجه قرار گرفته است (هوانگ و ژیانگ، 2001). هیف‌های قارچ با جذب و نگهداری آب در خود و انتقال آن به سیستم گیاه از تخریب کلروفیل توسط کلروفیل‌الز و پراکسیداز که در شرایط خشکی عمل می‌کنند جلوگیری می‌کند (وانگ و همکاران، 2000).

### نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که تنش آبی، پارامترهای فتوسنتزی راکاهش داد. در پایان این آزمایش مشخص شد که کاربرد قارچ‌های مایکوریزا در بیشتر صفات اثرات معنی‌داری بر رنگیزه‌های فتوسنتزی به منظور کاهش و تعدیل نمودن تنش خشکی در گیاه آجوگا می‌گذارد. به طور کلی می‌توان به این نکته اشاره کرد که گیاهان آجوگا به خوبی می‌توانند با قارچ‌های مایکوریزا به خصوص گونه *Glomus mosseae* همزیستی برقرار کرده و از رشد و استقرار بهتری در شرایط تنش خشکی برخوردار شوند همچنین می‌توان اظهار داشت تلقیح با قارچ‌های مایکوریزا اثرات نامطلوب تنش خشکی را در گیاهان تا حدودی تعدیل می‌کند. در پایان می‌توان گفت که در شرایط کم آبی با مدیریت صحیح منابع آب و استفاده صحیح از کودهای بیولوژیک بخصوص قارچ‌های مایکوریزا می‌توان ضمن کاهش میزان آب مصرفی و ارتقاء سلامت گیاه گامی مهم در راستای کشاورزی پایدار برداشت.

### منابع و مراجع مورد استفاده

نسیم صفری؛ فاطمه کاظمی، علی تهرانی فر (1394). استفاده از گیاهان پوششی در فضای سبز شهری و کارکرد های آنها با تاکید بر مناطق خشک. اولین همایش ملی فضای سبز کم آب، اریههست، کاشان.



محمد اصلان پور (1395). بررسی اثرات تلقیح قارچ میکوریزا و تنش خشکی بر رشد، روابط آبی و جذب عناصر غذایی

انگور سفید بیدانه. پایان نامه دوره دکتری، دانشگاه فردوسی مشهد.

Volpe, V., Chitarra, W., Cascone, P., Volpe, MG., Bartolini, P., Moneti, G., Pieraccini, G., Di Serio, C., Maserti, B., Guerrieri, E., and Balestrini, R. 2018. The association with two different arbuscular mycorrhizal fungi differently affects water stress tolerance in tomato. *Front. Plant Sci.*, 9:1480.

Wang, C., Knill, E., Glik, G. and Defago, G. 2000. Effect of trans fernse 1- aminocyclopropan-1- carboxylic acid (Acc) deaminase genes derivative CHA96 on their growth-promoting and disease suppressive capacities. *Canadian Journal of Microbial*, 46: 888-907.

Park, H.Y., Kim, D.H., and Sivanesan, I. 2017. Micropropagation of *Ajuga* species: a mini review. *Biotechnology Letters*, 39(9): 1291-1298.

Jiang, Y., and Huang, B. 2001. Drought and heat stress injury to two cool-season turfgrass in relation to antioxidant metabolism and lipid peroxidation. *Crop Science*, 41:436-442

## Investigating the effect of drought stress adjustment on the photosynthetic pigments of *Ajuga reptans* using mycorrhizal fungi

Zahra Ghorbani<sup>1\*</sup>, Vahid ghannad ghorssi<sup>2</sup>, Mahmoud Shoor<sup>3</sup>, Zahra Karimian<sup>4</sup>

1\* Horticulture PhD student, Department of Horticulture and Green Space Sciences, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad

2- Graduated Master of Horticulture, Department of Horticulture and Green Space, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad

3- Associate Professor, Department of Horticulture and Green Space Sciences, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad

4- Associate Professor, Department of Horticulture and Green Space Sciences, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad

### Abstract

Covering plants are one of the important components of the urban green space, which can be a suitable option for a relative replacement with lawns. One of the solutions to overcome the adverse effects of water stress is the use of mycorrhizal fungus, which shows a beneficial symbiosis with the root of the host plant. For this reason, in order to reduce the effects of water stress and increase the tolerance to this stress, the use of mycorrhiza in *Ajuga reptans* L. was studied. In order to investigate the effects of mycorrhizal fungi and drought stress on the growth and performance of *Ajuga* plant, a factorial pot experiment was conducted in the form of a completely randomized design in the greenhouse of the Department of Horticultural Sciences of Ferdowsi University of Mashhad in 2016-2017. The tested treatments included mycorrhiza at three levels (control, inoculation with *Glomus mosseae* and *G. intraradices* and drought at three levels of 100% FC (control), 60% FC (mild drought stress) and 30% FC (severe drought stress). The results showed that eight weeks after the beginning of drought treatments, chlorophyll factors decreased and carotenoid increased. In inoculation with mycorrhizal mushroom, chlorophyll b increased significantly and carotenoid decreased. In general, the use of mycorrhizal mushroom increased resistance to drought. Also, the results showed that the most effects are related to *Glomus mosseae* mushroom and it performed better on most of the investigated traits.)

**Keywords:** Chlorophyll, symbiosis, cover plant, green space, photosynthetic pigments

## اثر مایه‌زنی با جدایه‌های تریکودرما بر شاخص‌های مورفولوژیکی شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.) در شرایط کم‌آبی

زینب فضلی<sup>1</sup>، زهره طغرانگار<sup>2\*</sup>، الهه وطن خواه<sup>2</sup>، امانی فر ستاره<sup>3</sup>، رقیه همتی<sup>4</sup>

1- دانشجوی کارشناسی ارشد، رشته فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم، دانشگاه زنجان

2- استادیار، سیستماتیک گیاهی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه زنجان

\* نویسنده مسئول Ztohranegar@znu.ac.ir

3- استادیار، فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه زنجان

4- استادیار، بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان

5- دانشیار، بیماری‌شناسی گیاهی، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان

### چکیده

افزایش تحمل گیاه در شرایط کم‌آبی با کاربرد ریزجانداران مفید خاک به‌عنوان محرک‌های رشدی برای کاهش آسیب‌های ناشی از تنش یکی از راهکارهای نوین در زمینه کشاورزی پایدار به‌شمار می‌شود. بدین منظور این پژوهش برای ارزیابی اثر جدایه‌های قارچ *Trichoderma* بر شاخص‌های رشدی گیاه شیرین‌بیان تحت سطوح مختلف آبیاری به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با 4 تکرار انجام شد. در این تحقیق، شیرین‌بیان مایه‌زنی شده با *T. harzianum* (T25) و *T. Viride* (T36) و بدون مایه‌زنی در معرض سطوح مختلف خشکی (100% شاهد)، 70% و 40% ظرفیت‌زراعی (FC) قرار گرفتند. نتایج نشان داد که تنش کم‌آبی به‌طور معنی‌داری موجب کاهش وزن‌های تر و خشک بخش هوایی و کل گیاه، طول بخش هوایی و ریشه، محتوای نسبی آب (RWC) و سطح برگ در سطح 40%FC گردید اما برعکس وزن‌های تر و خشک ریشه و نسبت وزن خشک ریشه به بخش هوایی (R/S) را در این سطح افزایش داد. اثر مثبت مایه‌زنی هر دو جدایه‌ی قارچ *Trichoderma* بر وزن‌های تر و خشک بخش هوایی و ریشه، طول بخش هوایی و ریشه، R/S، وزن خشک کل گیاه، سطح برگ و RWC در دو سطح تنش مشاهده گردید. براساس نتایج حاصل از این پژوهش کاربرد هر دو جدایه‌ی قارچ تریکودرما به‌ویژه T36 می‌تواند به‌عنوان کود زیستی مناسب برای کاهش اثرات منفی ناشی از تنش خشکی و بهبود رشد گیاه شیرین‌بیان پیشنهاد شود.

واژگان کلیدی: قارچ اندوفیت، شاخص‌های رشدی، شیرین‌بیان، کم‌آبی

### مقدمه

خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی محدودکننده رشد و عملکرد محصولات کشاورزی است (1). ایران جزو مناطق خشک و نیمه خشک جهان به‌شمار می‌رود و عوامل مختلفی مانند کاهش ظرفیت نزولات آسمانی، توزیع نامنظم بارندگی، شدت و مدت زمان خشکسالی و میزان پیشرفت تنش که منجر به کمبود آب می‌شود از شایع‌ترین موانع رشد مناسب گیاهان چندساله به‌شمار می‌رود (2). تنش خشکی موجب افت پتانسیل آبی خاک و ایجاد کم‌آبی در سلول و در نهایت باعث مهار تقسیم و توسعه سلولی می‌شود، در نتیجه با کاهش اندازه برگ، ممانعت از تولید شدن ساقه و ریشه و اختلال در نوسانات روزنه‌ای، جذب عناصر غذایی و میزان آب گیاه و نیز کارایی استفاده از آب و در نتیجه رشد و توسعه گیاه کاهش می‌یابد (3) و

4). در شرایط کمبود آب با کاهش سطح برگ و افت جذب نور و به دنبال آن کاهش ظرفیت فتوسنتزی و محدود شدن فرآورده‌های آن، وزن خشک ریشه و ساقه، ارتفاع گیاه و در نهایت رشد و عملکرد گیاه کم می‌شود (5). استفاده از میکروارگانیسم‌های مفید خاک به عنوان کودهای زیستی و ارزیابی عملکرد گیاهان در شرایط تنش به منظور کاهش خسارت‌های ناشی از تنش‌های محیطی جزو راهکارهای نوین در کشاورزی پایدار در مناطق خشک و نیمه خشک، محسوب می‌شود (6). یکی از قارچ‌های اندوفیت خاکزی، غیربیماری زا، فرصت طلب و همزیست با ریشه گیاهان می‌باشد، قارچ تریکودرما (*Trichoderma*) است که از قارچ‌های رشته‌ای متعلق به راسته هیپوکرال (*Hypocreales*) و رده آسکومیست‌ها (*Ascomycetes*) می‌باشد که به عنوان ابزار زیستی در زمینه‌ی کشاورزی پایدار کاربرد دارد (7). قارچ تریکودرما با بهبود ظرفیت جذب آب و مواد مغذی در گیاه، تحریک رشد آنها، تنظیم و القای فاکتورهای رشدی موجب افزایش مقاومت گیاه در برابر شرایط نامساعد محیطی از جمله تنش خشکی می‌گردد (8). گیاه دارویی شیرین بیان با نام علمی *Glycyrrhiza glabra* L. متعلق به خانواده حبوبات (*Fabaceae*) گیاهی علفی و چند ساله است که به واسطه دارا بودن ترکیبات دارویی متنوع در ریشه و ریزوم خود که مهم‌ترین آن‌ها ساپونین تری‌ترپنوئیدی به نام گلیسیریزین یا اسید گلیسیریزیک است که از دیرباز توجه مردم و محققان را به خود جلب نموده و در صنایع غذایی، دارویی و حتی دخانیات حائز اهمیت بوده و کاربرد دارد (9). بنابراین در این پژوهش به منظور ارزیابی پتانسیل کاربرد جدایه‌های قارچ تریکودرما برای تعدیل تنش ناشی از کمبود آب و بهبود رشد گیاه شیرین بیان انجام شد.

#### مواد و روش‌ها

این تحقیق برای بررسی سطوح مختلف خشکی روی گیاه شیرین بیان به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با 4 تکرار در آزمایشگاه تحقیقاتی گروه زیست شناسی دانشگاه زنجان انجام شد. بذره‌های گیاه شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.) تهیه شده از شرکت پاکان بذر اصفهان، بعد از ضدعفونی سطحی در شرایط کنترل شده کشت شدند. گونه‌های قارچی مورد استفاده در این تحقیق شامل قارچ‌های *Trichoderma viride* (T36) و *Trichoderma harzianum* (T25) بودند که در محیط مصنوعی PDA (Potato dextrose agar) کشت و اسپورهای آن با جمعیت  $2/7 \times 10^7$  به عنوان مایه تلقیح به کار برده شد. در این تحقیق بذرها به سه قسمت مساوی تقسیم شدند یک سوم از آن‌ها به مایه تلقیح قارچ *T. Viride* و یک سوم دیگر به مایه تلقیح قارچ *T. harzianum* آغشته شدند و مابقی بذرها بدون تلقیح با قارچ تریکودرما به عنوان گیاهان شاهد در گلدان‌های استریل حاوی 1900 گرم خاک استریل در عمق یک سانتی متری خاک کشت شدند. جهت اطمینان از تلقیح بذرها با گونه‌های قارچ تریکودرما، گلدان‌های حاوی بذره‌های تلقیح شده، 10 میلی‌لیتر مایه تلقیح قارچ (تهیه شده در آزمایشگاه قارچ‌شناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان) نیز دریافت کردند. پس از جوانه‌زنی بذرها، گلدان‌ها در اتاق رشد با دوره نوری 16 ساعت روشنایی و 8 ساعت تاریکی و در دمای  $25 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد به مدت دو ماه نگهداری شدند. گلدان‌ها در حد ظرفیت زراعی با آب مقطر آبیاری گردیدند. سپس گیاهان تحت تیمار خشکی شامل سه سطح 100 درصد (شاهد) (S0)، 70 درصد (تنش متوسط) (S1) و 40 درصد ظرفیت زراعی (تنش شدید) (S2) قرار گرفتند. دو ماه پس از اعمال تنش، بوته‌ها برداشت و شاخص‌های رشد مانند وزن های تر و خشک بخش هوایی و زیرزمینی، طول بخش هوایی و زیرزمینی، سطح برگ و محتوای نسبی آب برگ (RWC) (10) اندازه‌گیری شدند. رسم نمودارها با نرم افزار Excel نسخه 2016 و تجزیه آماری با نرم افزار SPSS نسخه 24 و مقایسه میانگین‌ها و بررسی معنی‌دار بودن اختلافات با آزمون دانکن در سطح احتمال آماری 5 درصد انجام شد.

## نتایج و بحث

نتایج نشان داد که تنش کم آبی به طور معنی داری موجب کاهش وزن های تر و خشک و طول بخش هوایی و وزن های تر و خشک کل گیاه در سطح 40FC% و نیز کاهش سطح برگ، RWC و طول ریشه در هر دو سطح 70FC% و 40FC% گردید اما برعکس وزن های تر و خشک ریشه و نسبت وزن خشک ریشه به بخش هوایی (R/S) را در هر دو سطح تنش افزایش داد. اثر مثبت مایه زنی هر دو جدایه ی قارچ *Trichoderma* بر وزن های تر و خشک و طول ریشه، وزن تر بخش هوایی و R/S در تمام سطوح رطوبتی، وزن خشک و طول بخش هوایی، وزن خشک کل گیاه، سطح برگ و RWC در دو سطح تنش و وزن تر کل گیاه در سطوح بدون تنش و 70FC% مشاهده گردید. به نظر می رسد تنش خشکی سبب کاهش ظرفیت فتوسنتزی، کاهش هورمون های محرک رشد گیاهی در بخش زیرزمینی و هوایی و نیز افزایش مواد بازدارنده ی رشد از جمله اسید آسبیزیک (ABA) می گردد و به دنبال آن با کاهش شاخص های رشد مانند وزن خشک ریشه و ساقه، رشد رویشی گیاه را محدود می کند (11). محققان در تحقیقات خود روی گیاهان مختلف دارویی نظیر آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*)، کلپوره (*Teucrium polium*)، کاکوتی کوهی (*Ziziphora clinopodioides*) و آویشن باغی (*Thymus vulgaris*) تحت تنش خشکی پیشنهاد کردند که سیستم ریشه ای حجیم تر و نیز وزن خشک ریشه بیشتر و افزایش نسبت ریشه به ساقه در این گیاهان می تواند معیار مناسبی برای گزینش گونه های متحمل به خشکی باشد. قارچ های تریکودرما با کنترل زیستی در برابر عوامل بیماری زای خاکری، توانایی حل کردن عناصر نامحلول، افزایش جذب و انتقال مواد مغذی ضروری، ساخت هورمون های رشدی، افزایش تولید و انتقال آمینواسیدها و کربوهیدرات ها در بخش زیرزمینی گیاهان، دفع مواد سمی و القای مقاومت در برابر عوامل نامساعد محیطی باعث تحریک رشد و نمو گیاهان می گردند (12). در تحقیقی روی گیاه ریحان مقدس افزایش وزن تر و خشک بخش هوایی و ریشه و نیز وزن کل گیاه با کاربرد جدایه های تریکودرما تحت شرایط تنش خشکی مشاهده شد که دلیل آن همیاری قارچ تریکودرما در بهبود جذب آب و مواد مغذی گزارش گردید (13) که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد. تحت تنش کم آبی کاهش تورژسانس سلولی باعث کاهش رشد و توسعه سلول ها می گردد بنابراین از اولین نشانه های محسوس کمبود آب در گیاهان، کاهش اندازه و سطح برگ و نیز ارتفاع گیاهان می باشد. همچنین هنگام بروز تنش خشکی پتانسیل آبی و محتوای نسبی آب برگ کاهش می یابد که منجر به کاهش سرعت فتوسنتز و در نتیجه کاهش رشد و عملکرد گیاه می شود (14). افزایش سطح برگ و RWC برگ در گیاهان تیمار شده با قارچ تریکودرما گزارش شده است (6) که با نتایج تحقیق حاضر همسو می باشد. قارچ تریکودرما با تولید فاکتورهای محرک رشدی همانند اکسین، سیتوکینین، اتیلن و مولکول های شبه سیتوکینین همچون زآتین و جیبرلین در گیاهان موجب افزایش رشد و توسعه اندام های هوایی به ویژه اندازه و سطح برگ می گردد (15). برقراری رابطه همزیستی بین قارچ و گیاه میزبان از طریق حفظ سلامت ریشه های موین موجب توسعه بخش زیرزمینی گیاه و تماس آن با حجم بیشتری از توده خاک می شود، بنابراین با افزایش سیستم ریشه ای و افزایش قابلیت جذب آب خاک، محتوای رطوبتی درون گیاه حفظ می شود (16).

جدول 1. مقایسه میانگین های اثر سطوح مختلف خشکی و جدایه های قارچ تریکودرما بر شاخص های رشد گیاه شیرین بیان

RWC (%)	LA (mm <sup>2</sup> )	TFW (g pot <sup>-1</sup> )	TDW (g pot <sup>-1</sup> )	RDW/SD W	Lr (cm)	Ls (cm)	DWR (g pot <sup>-1</sup> )	DWs (g pot <sup>-1</sup> )	FWr (g pot <sup>-1</sup> )	FWs (g pot <sup>-1</sup> )	سطوح خشک	قارچ
4/6 <sup>ab</sup>	559 <sup>ab</sup>	0/023 <sup>cd</sup>	0/055 <sup>d</sup>	2/53 <sup>f</sup>	9/32 <sup>c</sup>	1/6 <sup>bc</sup>	0/092 <sup>d</sup>	0/040 <sup>c</sup>	0/052 <sup>d</sup>	0/170 <sup>b</sup>	S0	C
9	1					4		0				
42/9 <sup>c</sup>	4191 <sup>c</sup>	0/024 <sup>c</sup>	0/058 <sup>d</sup>	3/40 <sup>de</sup>	7/7 <sup>d</sup>	1/4 <sup>cd</sup>	0/142 <sup>c</sup>	0/042 <sup>c</sup>	0/088 <sup>bc</sup>	0/173 <sup>b</sup>	S1	
						3						

35/5 <sup>d</sup>	1921 <sup>e</sup>	0/018 <sup>e</sup>	0/043 <sup>e</sup>	4/24 <sup>c</sup>	6/68 <sup>d</sup>	11/0 <sup>d</sup>	0/137 <sup>c</sup>	0/027 <sup>d</sup>	0/074 <sup>cd</sup>	0/101 <sup>d</sup>	S2	
55/2 <sup>a</sup>	6321 <sup>a</sup>	0/025 <sup>bc</sup>	0/064 <sup>cd</sup>	3/17 <sup>e</sup>	10/88 <sup>b</sup>	1/3 <sup>cd</sup>	0/130 <sup>c</sup>	0/041 <sup>c</sup>	0/070 <sup>cd</sup>	0/122 <sup>cd</sup>	S0	
5/2 <sup>ab</sup>	4181 <sup>c</sup>	0/030 <sup>a</sup>	0/078 <sup>b</sup>	4/19 <sup>c</sup>	1/35 <sup>ab</sup>	1/16 <sup>b</sup>	0/183 <sup>b</sup>	0/044 <sup>c</sup>	0/108 <sup>ab</sup>	0/156 <sup>bc</sup>	S1	T25
2					1							
4/3 <sup>bc</sup>	2170 <sup>e</sup>	0/019 <sup>e</sup>	0/073 <sup>bc</sup>	5/00 <sup>b</sup>	1/05 <sup>ab</sup>	1/3 <sup>bc</sup>	0/233 <sup>a</sup>	0/041 <sup>c</sup>	0/114 <sup>a</sup>	0/104 <sup>d</sup>	S2	
8					1	4						
5/6 <sup>ab</sup>	497 <sup>bc</sup>	0/030 <sup>a</sup>	0/072 <sup>bc</sup>	3/19 <sup>e</sup>	12/4 <sup>a</sup>	1/8 <sup>bc</sup>	0/156 <sup>bc</sup>	0/052 <sup>b</sup>	0/071 <sup>cd</sup>	0/231 <sup>a</sup>	S0	
4	4					3						
5/1 <sup>ab</sup>	491 <sup>bc</sup>	0/028 <sup>ab</sup>	0/090 <sup>a</sup>	3/86 <sup>cd</sup>	1/85 <sup>ab</sup>	19/3 <sup>a</sup>	0/235 <sup>a</sup>	0/061 <sup>a</sup>	0/087 <sup>bc</sup>	0/241 <sup>a</sup>	S1	T36
2	6				1							
5/0 <sup>ab</sup>	3091 <sup>d</sup>	0/020 <sup>de</sup>	0/065 <sup>cd</sup>	5/90 <sup>a</sup>	1/33 <sup>ab</sup>	1/0 <sup>bc</sup>	0/249 <sup>a</sup>	0/042 <sup>c</sup>	0/081 <sup>c</sup>	0/139 <sup>bcd</sup>	S2	
4					1	4						

**C، T25 و T36** به ترتیب عبارتند از گیاهان بدون مایه زنی با قارچ، مایه زنی شده با قارچ *T. harzianum* و مایه زنی شده با قارچ *FWS.T. Viride*: وزن تر اندام هوایی، **FW<sub>R</sub>**: وزن تر ریشه، **DW<sub>S</sub>**: وزن خشک اندام هوایی، **DW<sub>R</sub>**: وزن خشک ریشه، **LS**: طول اندام هوایی، **LR**: طول ریشه، **RDW/SW**: نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی، **TDW**: وزن خشک کل گیاه، **TDW**: وزن خشک کل گیاه، **LA**: سطح برگ و **RWC**: محتوای نسبی آب برگ. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری ندارند (آزمون دانکن،  $p \leq 0/05$ ).

### نتیجه‌گیری

به‌طور کلی در این تحقیق استفاده از جدایه‌های قارچ تریکودرما به‌ویژه T36 موجب بهبود تمام صفات رویشی گیاه شیرین بیان در شرایط تنش خشکی گردید. در واقع قارچ تریکودرما با افزایش حلالیت عناصر غذایی و تنظیم اسیدیته محیط خاک و بهبود سیستم ریشه‌ای موجب جذب بهتر آب و بهره‌وری موثرتر از آن و در نتیجه تخفیف و تعدیل تنش خشکی گردید و موجب بازیابی رشد گیاه شیرین بیان شد.

### منابع

- 1-Taiz, L, Zeiger, E., 2006. Plant physiology. 4<sup>th</sup> ED. Sinauer Associates, Inc, Publishers Sunderland, Massachusetts.
- 2- Asante, F., Guodaar, L., Saasi Arimiyaw, S. (2021) Climate change and variability awareness and livelihood adaptive strategies among smallholder farmers in semi-arid northern Ghana. Environmental Development, 39: 100629.
- 3- Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Khan, M.I.R., Al Mahmud, J., Alam, M.M. & Fujita, M. (2020). Regulation of reactive oxygen species metabolism and glyoxalase systems by exogenous osmolytes confers thermotolerance in Brassica napus. Gesunde Pflanzen 72: 3-16
- 4- Wu, Q.S., Zou, Y.N., 2017. Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Tolerance of Drought Stress in Plants. In: Wu, Q.S. (eds) Arbuscular Mycorrhizas and Stress Tolerance of Plants. Springer, pp. 25-41.
- 5- Hlavacova, M., Klem, K., Rapantova, B., Novotna, K., Urban, O., Hlavinka, P., Smutna, P., Horakova, V., Skarpa, P., Wimmerova, M., Orsag, M., Jurecka. F. and Trnka, M. 2018. Interactive effects of high temperature and drought stress during stem elongation, anthesis and early grain filling on the yield formation and photosynthesis of winter wheat. Field Crops Research. 221:182-195.
- 6- ذکاوتی، ح.ر، شور، م، روحانی، ح، فاضلی کاخکی، ف. و گنجی‌مقدم، ا. (1398). تأثیر جدایه‌های قارچ تریکودرما بر تغییرات مورفوفیزیولوژیک گیاه گل مریم (*Polianthes tuberosa*) تحت تنش خشکی. علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای 10(3): 39-54.
- 7- Soleimani M, Afyuni M, Hajbasi MA, Nourbakhsh F, Sabzalian MR, Christensen JH. (2010). Phytoremediation of an aged petroleum contaminated soil using endophyte infected and non-infected grasses. Chemosphere. Nov;81(9):1084-90.
- 8- Mohammadi-kashka, F., Pirdashti, H., Yaghoobian, Y., Baharisaravi, H. (2015). Effect of coexistence of Trichoderma, quasi- mycorrhizal fungi and phosphate-soluble bacteria on the photosynthetic pigments of the pepper plant (*Capsicum annuum* L). 4<sup>th</sup> National Congress of Organic and Conventional Agriculture. 19-20. Ardabil. Iran. [In Persian with English Summary].

- 9- Movahhed Haghghi, T., Saharkhiz, M.J. (2022). Mycorrhizal colonization and silicon nutrition mitigates drought stress in Licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) with morphophysiological and biochemical perspectives, *Industrial Crops and Products*, 178: 114650.
- 10- Weatherley, P. (1950) Studies in the water relations of the cotton plant. *New Phytologist* 49(1): 81-97.
- 11- Ahmed, H. G. M., Zeng, Y., Shah, A. N., Yar, M. M., Ullah, A. and Ali, M. (2022) Conferring of drought tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes using seedling indices. *Frontiers in Plant Science* 13: 1-12.
- 12- Mazhabi, M., Nemati, H., Rouhani, H., Tehranifar, A., Mahdikhani- Moghadam, E., Kaveh, A., and A. Rezaee. (2011). The effect of *Trichoderma* on polianthes qualitative and quantitative properties. *J. of Anim. Plant Sci.* 21(3): 617-621.
- 13- Tallapragada, P., 2013. Study on growth and biomass of *Ocimum sanctum* plants and protein profiling of *Trichoderma harzianum*. *International Journal of Pharma and BioSciences*. 0975-6299.
- ۱۴- حیدرپور، اسماعیل پور ب، اشرف سلطانی ع و خرم دل س (1399): تأثیر ورمی کمپوست بر خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و عملکرد مرزه (*Satureja hortensis* L.) تحت رژیم‌های مختلف آبیاری. نشریه بوم‌شناسی کشاورزی، جلد 12، شماره 3، صفحات 507-522.
- 15- Osiewacz, H.D. and Scheckhuber, C.Q. 2002. Senescence in *Podospora anserina*. In *Molecular biology of fungal development*. H. D. Osiewacz, ed. Marcel Dekker, New York. p. 87-108
- 16- Hirayama, M., Ada, Y.W. & Nemoto, H. (2006). Astimation of drought tolerance based on leaf temperature in upland rice breeding. *Breeding Science*, 56, 47-54

## The effect of inoculation with *Trichoderma* isolates on the morphological parameters of liquorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) under water deficit conditions

Zynab Fazli<sup>1</sup>, Zohreh Toghranegar<sup>2,\*</sup>, Elaheh Vatankhah<sup>2</sup>, Setareh Amanifar<sup>3</sup>, Roghieh Hemmati<sup>4</sup>

1- M. Sc. Student, Biology Department, Faculty of Sciences, University of Zanjan

2- Assistant Prof., Biology Department, Faculty of Sciences, University of Zanjan

\*Ztoghranegar@znu.ac.ir

3- Assistant Prof., Soil Science Department, Faculty of Agriculture, University of Zanjan

4- Associate Prof., Plant Pathology Department, Faculty of Agriculture, University of Zanjan

### Abstract

Increasing plant tolerance under drought conditions by using beneficial microorganisms as growth stimulators to reduce damage caused by stress is one of the new solutions in the field of sustainable agriculture. Accordingly, this research was conducted to evaluate the effect of *Trichoderma* fungi isolates on liquorice growth parameters under different irrigation levels in a factorial completely randomized design with four replications. In this research, liquorice inoculated with *T.harzianum* T25 and *T.viride* T36 and without inoculation exposed to different drought stress levels (100% (control), 70% and 40% of crop capacity (FC)). The results indicated that drought stress significantly decreased shoot and plant fresh and dry weights, shoot and root lengths, leaf relative water content (RWC) and leaf area at 40% FC level, while conversely, it caused an increase in root fresh and dry weights and root/shoot dry weights ratio (R/S) at the same levels. The positive effect of inoculation with both *Trichoderma* isolates was observed in shoot and root fresh and dry weights, shoot and root lengths, R/S, plant dry weight, leaf area and RWC at two stress levels. According to the results of this study, the application of both *Trichoderma* isolates, especially *T.viride*, can be suggested as beneficial biofertilizers in reducing the adverse effects of drought stress and

**Keywords:** endophyte fungus, growth parameters, liquorice, water deficit improve liquorice growth.

## ارزیابی اثر عصاره گیاه کاکوتی کوهی بر فعالیت و بیان پراکسیداز نو ترکیب لپیدیوم در ابا (LDP)

علی ریاحی مدوار<sup>۱\*</sup>، محدثه سپاهی باغان<sup>۲</sup>، مجید حلیمی خلیل آباد<sup>۳</sup>، مجتبی مرتضوی<sup>۴</sup>، محبت نداف<sup>۵</sup>، فهیمه بهرام نژاد<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup>دانشیار، گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه کوثر بجنورد، ایران.

<sup>۲</sup>دانشجوی دکتری تخصصی، گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه فردوسی، مشهد، ایران.

<sup>۳</sup>استادیار، گروه شیمی، دانشکده علوم پایه و فنی مهندسی، دانشگاه کوثر بجنورد، ایران.

<sup>۴</sup>دانشیار، گروه بیوتکنولوژی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان، ایران

<sup>۵</sup>استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، صندوق پستی 4697-19395، تهران، ایران.

<sup>۶</sup>دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه بیوتکنولوژی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان، ایران.

\* [Riahi.ali@gmail.com](mailto:Riahi.ali@gmail.com) پست الکترونیکی نویسنده مسؤل:

### چکیده

عصاره‌های گیاهی حاوی متابولیت‌های ثانویه می‌باشند که علاوه بر خاصیت ضد میکروبی، قادرند بعضی از مکانیسم‌های دفاعی گیاه مانند فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (مثل پراکسیدازها) را در برابر عوامل میکروبی افزایش دهند. پراکسیدازها آنزیم‌های متعلق به گروه اکسیدوردوکتازها هستند. آن‌ها در طیف وسیعی از زمینه‌ها مانند پزشکی، سنتز شیمیایی، و آنالیز نمونه‌های بالینی و زیست محیطی کاربرد دارند. در این تحقیق، تأثیر عصاره کاکوتی کوهی بر فعالیت و همچنین بیان پراکسیداز نو ترکیب LDP تولید شده در باکتری *E. coli* مورد ارزیابی قرار گرفت. به این منظور، ابتدا عصاره گیاه کاکوتی کوهی تهیه شد. سپس عصاره با غلظت نهایی 2/5mg/ml و 5mg/ml همزمان با IPTG (غلظت 0/1 میلی‌مولار) به محیط کشت باکتری اضافه گردید و به مدت 7 ساعت در دمای 18 درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. میزان بیان ژن آنزیم در حضور عصاره در مقایسه با نمونه کنترل (فاقد عصاره) با استفاده از ژل الکتروفورز SDS-PAGE بررسی گردید. نتایج نشان داد که بیان آنزیم مذکور، در حضور غلظت‌های مختلف عصاره، نسبت به کنترل کاهش یافته است. علاوه بر این، میزان فعالیت این آنزیم در حضور غلظت‌های

مذکور عصاره، به ترتیب حدود 77 و 80 درصد نسبت به نمونه کنترل کاهش نشان داد. در مجموع به نظر می‌رسد اثرات مهاری عصاره این گیاه بر بیان ژن آنزیم پراکسیداز، مسئول کاهش بیان آنزیم و فعالیت آن می‌باشد.

**واژه‌های کلیدی:** عصاره کاکوتی کوهی، آنزیم پراکسیداز، نوترکیب LDP، فعالیت آنزیم، ژل SDS-PAGE

#### مقدمه

پراکسیدازها آنزیم‌های کلیدی متعلق به گروه اکسیدوردوکتازها هستند. آن‌ها به طور گسترده در موجودات زنده توزیع شده‌اند و سلول‌ها را از آسیب ناشی از  $H_2O_2$  حفظ می‌کنند (1). پراکسیدازها در طیف وسیعی از زمینه‌ها مانند پزشکی، آنالیز نمونه‌های غذا، فرآیند سفیدکنندگی زیستی و زیست محیطی کاربرد دارند (2). پراکسیدازهای گیاه (EC: 1.11.1.7)، خانواده بزرگ چندژنی در گیاهان هستند که در دیواره سلولی و واکوئل یافت می‌شوند. آن‌ها در طیف وسیعی از فرآیندهای فیزیولوژیکی مانند تشکیل لیگنین، متابولیسم اکسین، دفاع گیاهان، ترمیم زخم، همچنین ایجاد گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) دخالت دارند. پراکسیدازها همچنین در کنترل خسارت آلودگی هوا، سمیت زدایی از آب و خاک نقش دارند. پراکسیدازهای گیاهی به دلیل pH بهینه خنثی و ویژگی سوبسترای وسیعی که دارند و قادرند از انواع مختلفی از کروموفورهای سنتتیک به عنوان دهنده الکترون استفاده کنند، به عنوان کاتالیزورهای زیستی توجه زیادی را به خود جلب کرده‌اند (3). به دلیل اهمیت پراکسیدازها، اخیراً ژن کدکننده آنزیم پراکسیداز از گیاه *Lepidium draba* (LDP) جداسازی شده و پس از شناسایی و تعیین توالی، در میزبان *E. coli* کلون و بیان گردیده است. این آنزیم، از زنجیره پلی‌پپتیدی با طول 308 اسیدآمینو تشکیل شده است و وزن مولکولی آن حدود 27 کیلودالتون تخمین زده شده است (4).

عصاره‌های گیاهی دارای منشأ طبیعی هستند و خاصیت ضد میکروبی دارند. تاکنون گزارشی مبنی بر مقاومت بیمارگرها نسبت به عصاره‌های گیاهی گزارش نشده است. آن‌ها قادرند بعضی از مکانیسم‌های دفاعی گیاه از جمله فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند پراکسیدازها را با افزایش بیان ژن آن‌ها افزایش دهند (5).

گیاه کاکوتی کوهی (*Ziziphora clinopodioides*) از جمله گیاهان دارویی از تیره نعناعیان است (6). استفاده از سیستم‌های میکروبی یک رویکرد رایج در تولید پروتئین‌های نوترکیب می‌باشد و در بین آن‌ها سیستم باکتریایی پرکاربردترین است. سیستم بیان پروکاریوتی *E. coli* در مقایسه با سایر میزبان‌ها به دلیل مزایای مختلف از جمله، شرایط کشت ارزان برای رشد، ژنتیک کاملاً شناخته شده و سینتیک رشد ساده و سریع، ترانسفورماسیون آسان DNA خارجی، همچنان محبوب‌ترین سیستم بیان پروتئین‌های نوترکیب است (7). آنزیم پراکسیداز از گیاه *Lepidium draba* (LDP) به صورت نوترکیب در باکتری *E. coli* T7 Shuffle تولید گردیده است. هدف از این مطالعه بررسی اثر عصاره کاکوتی کوهی بر فعالیت و همچنین بیان پراکسیداز نوترکیب لپیدیوم درابا (LDP) در این باکتری می‌باشد.



## مواد و روش‌ها

### تهیه و آماده سازی عصاره

عصاره گیاه از اندام هوایی (50 گرم) آن در حلال اتانل 96% به روش سوکسوله و به مدت 4 ساعت استخراج شد. سپس حلال موجود در عصاره توسط دستگاه روتاری اوپراتور حذف گردید. عصاره غلیظ شده در آن در دمای 40 درجه سانتی‌گراد به مدت 48 ساعت خشک گردید. بعد از خشک شدن، عصاره در دمای 4 درجه سانتی‌گراد در یخچال جهت انجام آزمایشات بعدی نگهداری شد.

### ارزیابی اثر عصاره کاکوتی کوهی بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز نو ترکیب LDP

در این مطالعه، باکتری *E. coli T7* حاوی ژن پراکسیداز LDP در محیط LB مایع حاوی 50 میکروگرم در میلی‌لیتر کانامایسین کشت داده شد و در دمای 37 درجه سانتی‌گراد برای مدت 16 ساعت انکوبه گردید. سپس کشت لگاریتمی از باکتری مورد نظر تهیه شد به طوری که جذب در طول موج 600 نانومتر به 0/6 برسد. در این مرحله IPTG با غلظت 0/1 میلی‌مولار همزمان با عصاره با غلظت‌های 2/5 mg/ml و 5 mg/ml به محیط کشت اضافه گردید. محیط کشت حاوی باکتری به مدت 7 ساعت با 120 دور در دقیقه در دمای 18 درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. در ادامه سلول‌ها بمدت 10 دقیقه سانتریفوژ با دور 9000 rpm جمع‌آوری شدند. لیز سلول‌ها، در بافر لیز حاوی ایمیدازول (10 میلی‌مولار) و NaCl (300 میلی‌مولار) انجام گرفت. سوسپانسیون لیز سلولی با دور 9000 rpm به مدت 40 دقیقه سانتریفوژ شد و به روش برادفورد تعیین غلظت گردید (8). محلول رویی به عنوان محلول حاوی آنزیم برای ادامه آزمایشات در یخچال نگهداری گردید.

به منظور سنجش فعالیت آنزیم، آنزیم با غلظت 50 میکروگرم در میلی‌لیتر (حجم 100 میکرولیتر) با سوبستراهای TMB و H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> به ترتیب با غلظت 0/6 میلی‌مولار و 1 میلی‌مولار در بافر فسفات 50 میلی‌مولار با pH7 و در حجم نهایی 1 میلی‌لیتر تهیه گردید. سپس جذب TMB اکسید شده در طول موج 653 نانومتر در فواصل زمانی 30 ثانیه به مدت 5 دقیقه قرائت شد (9). برای محاسبه فعالیت آنزیم از فرمول 1 استفاده گردید:

$$Unit\ activity\ (U/ml) = \frac{\Delta A \times V}{\epsilon \times v \times Time(min)} \quad (1)$$

$\Delta A$ : تغییر جذب در طول موج 653 نانومتر،  $V$ : حجم کل مخلوط واکنش (1ml)،  $\epsilon$ : ضریب خاموشی مولی TMB ( $mol^{-1}cm^{-1}$ )  $(3/9 \times 10^4)$ ،  $v$ : حجم نمونه آنزیم (0/1ml)،  $Time$ : زمان بر حسب دقیقه.

### بررسی میزان بیان پراکسیداز نو ترکیب LDP

برای سنجش اثر عصاره بر بیان پروتئین LDP، از ژل الکتروفورز SDS-PAGE 12% استفاده گردید. مقایسه میزان بیان آنزیم پراکسیداز نوترکیب در حضور عصاره بعد از رنگبری از ژلها در مقایسه با نمونه کنترل (بدون عصاره) انجام گردید (10).

## نتایج

ارزیابی اثر عصاره کاکوتی کوهی بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز نوترکیب LDP

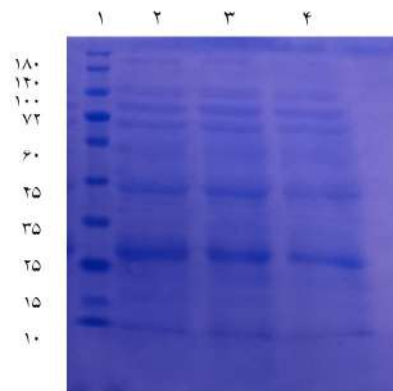
میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز نوترکیب LDP، توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد (جدول 1). نتایج نشان دهنده کاهش حدود 77 و 80 درصدی فعالیت آنزیم بترتیب در حضور عصاره با غلظت 2/5 mg/ml و 5 mg/ml می باشد.

LDP جدول 1. ارزیابی اثر عصاره کاکوتی کوهی بر فعالیت آنزیم پراکسیداز نوترکیب

نمونه	(U/ml) فعالیت آنزیم
کنترل	2/2
(2/5) mg/ml عصاره	0/52
(5) mg/ml عصاره	0/43

ارزیابی اثر عصاره کاکوتی کوهی بر میزان بیان پراکسیداز نوترکیب LDP

شکل 1، اثر عصاره بر بیان پراکسیداز نوترکیب LDP را بر روی ژل SDS-PAGE نشان می دهد. نتایج حاکی از این است که بیان آنزیم LDP در حضور عصاره نسبت به نمونه کنترل بطور قابل توجهی کاهش یافته است.



، (2) (kDa). شماره 1 تا 4 به ترتیب (1) مارکر وزن مولکولی 1LDP. اثر عصاره کاکوتی کوهی بر بیان پراکسیداز نو ترکیب شکل ، 2/5 mg/ml. (4) اثر عصاره با غلظت mg/ml نمونه کنترل (فاقد عصاره)، (3) اثر عصاره با غلظت

### بحث و نتیجه گیری

هدف از پژوهش حاضر، تعیین اثر عصاره کاکوتی کوهی بر فعالیت و همچنین بیان پراکسیداز نو ترکیب LDP بود. به این منظور از غلظت‌های مختلف عصاره (غلظت‌های زیر MIC - 25 mg/ml) به کشت لگاریتمی باکتری مورد نظر اضافه شد، از نمونه فاقد عصاره به عنوان نمونه کنترل استفاده گردید. نتایج این پژوهش نشان داد که عصاره در غلظت‌های 2/5 و 5 میلی گرم بر میلی لیتر دارای اثر کاهشی بر بیان آنزیم مذکور در این باکتری می‌باشند. همچنین فعالیت آنزیم پراکسیداز در حضور عصاره بطور قابل توجهی کاهش نشان داد. کاهش بیان آنزیم پراکسیداز، می‌تواند به دلیل کاهش بیان ژن این آنزیم در حضور عصاره باشد. شجاعی و همکاران (1397)، اثر عصاره الکلی آرتیمیزیا را بر بیان ژن های *icaA* *icaD* *ebps* در استافیلوکوکوس اورئوس با روش Real-Time PCR ارزیابی کردند. نتایج بررسی آن‌ها نشان داد که عصاره الکلی آرتیمیزیا اثر مهارتی بر بیان ژن های مذکور دارد (11). نتایج حاصل از تحقیق شجاعی و همکاران با نتایج حاصله از این تحقیق همخوانی دارد.

### تقدیر و تشکر

این تحقیق با حمایت مالی دانشگاه کوثر بجنورد با قرارداد شماره 0109232958 انجام شده است. بنابراین مجری و همکاران مراتب سپاس و قدردانی خود را از آن دانشگاه محترم اعلام می‌دارند.

### منابع

1. Bansal, N., & Kanwar, S. S., 2013. Peroxidase (s) in environment protection. *The Scientific World Journal*, 2013, 1-9
2. Akhtar, S., Khan, A. A., & Husain, Q., 2004. An economical, simple and high yield procedure for the immobilization/stabilization of peroxidases from turnip roots. *Journal of Scientific & Industrial Research*, Vol. 63, pp 540-547.
3. Twala, P. P., Mitema, A., Baburam, C., & Feto, N. A., 2020. Break throughs in the discovery and use of different peroxidase isoforms of microbial origin. *AIMS microbiology*, 6(3), pp. 330.
4. Fattahian, Y., Riahi-Madvar, A., Mirzaee, R., Torkzadeh-Mahani, M. and Asadikaram, G., 2017a. Heterologous Expression, Purification and Characterization of a Peroxidase Isolated from *Lepidium draba*. *The protein journal*, 36(6), pp. 461-71.
5. اسماعیل زنگویی، عیدی بازگیر، جلال غلام نژاد، مصطفی درویش نیا. (1397). بررسی فعالیت آنزیم های پراکسیداز و کاتالاز و میزان بیان ژنهای رمزکننده آن در میوه سیب تحت تنش بیمارگر *expansum Penicillium* و عصاره پوست سبز گردو. *مجله سلول و بافت*، 9 (2)، صص. 175-159.
6. محبت نداف (1400). مطالعه فلوریستیک و معرفی گیاهان دارویی منطقه بابا امان، خراسان شمالی. *مجله پژوهش های گیاهی (مجله زیست شناسی ایران)*. 34 (1)، صص. 219-205.

7. **Rosano, G. L., & Ceccarelli, E. A., 2014.** Recombinant protein expression in *Escherichia coli*: advances and challenges. *Frontiers in microbiology*, 5: pp. 172.
8. **Krainer, F.W. Pletzenauer, R. Rossetti, L. Herwig, C. Glieder, A. Spadiut, O., 2014.** Purification and basic biochemical characterization of 19 recombinant plant peroxidase isoenzymes produced in *Pichia pastoris*. *Protein Expression and Purification*. 95, pp. 104–112.
9. **Bradford, M.M., 1976.** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72 (1–2): pp. 248–254.
10. **Riahi-Madvar, A., Hosseinkhani, S., 2009.** Design and characterization of novel trypsin-resistant firefly luciferases by site-directed mutagenesis. *Protein Engineering, Design and Selection*, 22: pp. 655-663.
11. **غزاله شجاعی، عباس اخوان سپه‌ی، رباب رفیعی طباطبایی، کامییز تحویل‌داری (1397).** ارزیابی اثر عصاره الکلی آرتیمیزیان اولیورینا بر بیان ژنهای *icaA*، *icaD* و *ebps* در استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین. مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان شماره 17، صص. 169-176.

## Investigation the effect of *Ziziphora clinopodiodes* extract on activity and expression of *Lepidium draba* peroxidase

Ali Riahi-Madvar<sup>1</sup>, Mohaddeseh Sepahi Baghan<sup>2</sup>, Majid Halimi Khalilabad<sup>3</sup>, Mojtaba Mortazavi<sup>4</sup>, Mohabbat Nadaf<sup>5</sup>, Fahiemeh Bahramnejad<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Department of Molecular and Cell Biology, Faculty of Basic Sciences, Kosar University of Bojnord, Iran.

<sup>2</sup> Department of Chemistry, Faculty of Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

<sup>3</sup> Department of Chemistry, Faculty of Basic Sciences, Kosar University of Bojnord, Iran.

<sup>4</sup> Department of Biotechnology, Institute of Science and High technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran.

<sup>5</sup> Department of Biology, Payame Noor University, P.O. BOX 19395-4697 Tehran, Iran.

\* Email corresponding author: [riahi.ali@gmail.com](mailto:riahi.ali@gmail.com)

### Abstract

Plant extracts contain secondary metabolites that, in addition to antimicrobial properties, are able to increase some of the plant's defense mechanisms, such as the activity of antioxidant enzymes (such as peroxidases) against microbial agents. Peroxidases are enzymes belonging to the oxidoreductases group. They are widely used in several fields such as medicine, chemical synthesis, and environmental study. In this research, the effect of *Ziziphora clinopodiodes* extract were investigated on the activity and expression of recombinant *Lepidium draba* peroxidase in *Escherichia coli* bacteria. At first, the plant extract was prepared. Then, final concentration of 2.5 mg/ml and 5 mg/ml of the plant extract were added to the culture medium simultaneously with IPTG (concentration of 0.1 mM), before being incubated for 7 hours at 18 °C. Following, the level of enzyme expression was investigated in the presence of the extract compared to the control sample (absence of the extract) using SDS-PAGE gel electrophoresis. Based on the results, expression of mentioned enzyme was reduced in the presence of different concentrations of the extract compared to the control. In addition, activity of the enzyme in the presence of 2.5 mg/ml and 5 mg/ml of the extract decreased about 77 and 80% respectively, compared to the control sample. In overall, it seems inhibitory effect of the

plant extract on the peroxidase gene expression level is responsible for reduction of the enzyme expression and activity.

**Keywords:** Ziziphora clinopodiodes extract, *Lepidium draba* recombinant peroxidase (LDP), peroxidase activity, SDS-PAGE gel electrophoresis

## ارزیابی محتوی فنل کل اکوتایپ های بومی کاسنی

نرجس قلی پور<sup>1\*</sup>، علیرضا رضانی<sup>1</sup>، اسماعیل خسروی<sup>2</sup>، ناصر صفایی<sup>3</sup>، سید صفاعلی فاطمی<sup>1</sup>، فروغ سنجریان<sup>1</sup>

\*narjes.gholipour@gmail.com

1- پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران، ایران

2- گروه علوم و زراعت باغبانی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

3- دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

### چکیده

کاسنی (*Cichorium intybus*) از خانواده Asteraceae به عنوان یک گیاه مهم در طب سنتی و همچنین مورد استفاده در صنایع غذایی شناخته شده است. با توجه به مقادیر بالای ترکیبات فنلی در این گیاه به ویژه در ریشه و برگها، متناسب با اهمیت آن در میان گیاهان دارویی قرار می گیرد. کاسنی یک گیاه مدیترانه ای است و پراکندگی وسیعی در نواحی مختلف ایران دارد. در این مطالعه اکوتایپ های کاسنی از نقاط مختلف ایران جمع آوری شد. محتوی فنلی اندام های هوایی و ریشه های گیاهان جمع آوری شده با استفاده از معرف فولین سیوکالتو اندازه گیری شد. محتوی فنل کل در ریشه های گیاه بیش از اندام های هوایی بود. بیشترین مقدار فنل کل در ریشه اکوتایپ جمع آوری شده از منطقه فرخ شهر  $132.563 \pm 3.1213 \text{mg/gDW GAE}$  بود. کمترین محتوی فنل کل نیز مربوط به اندام های هوایی اکوتایپ گلپایگان  $21.9376 \pm 3.45 \text{mg/gDW GAE}$  بود. به طور کلی، اکوتایپ های مختلف گیاهان بدلیل تنوع ژنتیکی و برای پاسخ به شرایط محیطی خاص در هر منطقه، مقدار ترکیبات فنلی متفاوتی را نشان می دهند.

**واژگان کلیدی:** اکوتایپ، کاسنی، محتوی فنلی کل

### مقدمه

کاسنی یک گیاه دارویی است که در بسیاری از نقاط جهان یافت می شود و از نظر تاریخی در طب سنتی مختلف برای درمان انواع بیماری ها به کار رفته است. نام علمی آن "*Cichorium intybus*" می باشد و دارای ساقه های عمودی و برگ های متناوب است که به طول چند سانتیمتر می رسند. گل های آبی روشن تا آبی تیره کاسنی نیز بر روی ساقه ها به شکل خوشه های کروی قرار دارند. خواص دارویی کاسنی به عنوان یک گیاه دارویی گسترده است. از جمله خواص معروف آن می توان به خاصیت ضد التهابی، ضد اسپاسمی و آرامبخش برای سیستم گوارش اشاره کرد (Katiyar et al., 2015). کاسنی معمولاً به عنوان یک مدر طبیعی نیز شناخته می شود که ممکن است در بهبود عملکرد کلی کلیه ها و دفع زائادات مخلوط با ادراک کمک کند. این گیاه همچنین دارای خواص ضد اکسیدانی می باشد و می تواند به کنترل سطح چربی خون و حفظ سلامت قلب کمک کند. علاوه بر این، برخی مطالعات نشان داده اند که مصرف کاسنی ممکن است در کاهش التهابات مفاصل و تسکین دردهای مرتبط با برخی اختلالات مفصلی نیز مؤثر باشد. اکوتایپ های گیاهی متفاوت در ترکیبات شیمیایی و خصوصیات فیزیکی خود تفاوت های زیادی دارند. یکی از این خصوصیات که

تأثیر مستقیمی بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه دارد، میزان فنل‌ها است. فنل‌ها گروهی از ترکیبات شیمیایی هستند که خواص آنتی‌اکسیدانی زیادی دارند و می‌توانند در جلوگیری از آسیب به سلول‌ها و بافت‌ها نقش داشته باشند. گیاهان مختلف مقادیر متفاوتی از فنل‌ها را تولید می‌کنند، و این مقادیر می‌توانند به طور مستقیم تأثیرگذار بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنها باشند. گیاهان با فنل‌های بیشتر معمولاً دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری هستند. مواد فنلی یکی از گروه‌های اصلی ترکیبات فیتوشیمیایی در کاسنی هستند. این ترکیبات شیمیایی شامل فنل‌ها، فلاونونوئیدها، کومارین‌ها، و ترکیبات اسانس می‌شوند. فنل‌ها به عنوان ترکیباتی با خواص آنتی‌اکسیدانی مهم شناخته شده‌اند. آنتی‌اکسیدان‌ها نقش حیاتی در محافظت از سلول‌ها در برابر آسیب‌های اکسیداتیو دارند و از فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنها برای مقابله با رادیکال‌های آزاد بهره‌می‌برند. فلاونونوئیدها نیز جزء مهمی از فیتوشیمیایی کاسنی هستند و دارای خصوصیات ضد التهابی می‌باشند. این ترکیبات ممکن است در کاهش التهابات مرتبط با بیماری‌ها و تسکین علائم مرتبط با آنها نقش داشته باشند. همچنین، برخی از کومارین‌ها که در کاسنی یافت می‌شوند، ممکن است به عنوان مواد ضد میکروپ و ضد قارچ نیز عمل کنند (Birsra and Sarbu, 2023). در این مطالعه اکوتایپ‌های بومی از نقاط مختلف کشور جمع‌آوری شده و مقدار فنل کل در اندام‌های هوایی آنها مورد بررسی قرار گرفت.

### مواد و روش‌ها

در این مطالعه اکوتایپ‌های بومی از 11 منطقه کشور در مدت 4 ماه جمع‌آوری شد. طول و عرض جغرافیایی هر منطقه توسط GPS ثبت شد. جمع‌آوری نمونه‌ها با رعایت کامل ملاحظات زیست‌محیطی صورت گرفت. نمونه سالم و کامل برای شناسایی از خاک بیرون آورده شده و در کاغذ کاهی قرار داده شد. نمونه‌ها توسط آقای دکتر محمودی (موسسه جنگل‌ها و مراتع، ایران، تهران) با مقایسه با نمونه هرباریومی مورد شناسایی قرار گرفتند. پس از خشک شدن نمونه‌ها، عصاره الکلی از اندام‌های هوایی و همچنین ریشه تهیه شد و ترکیبات فنلی در آن مورد سنجش قرار گرفت. برای اینکار از معرف فولین سیتوکالیو استفاده شد. بدین صورت که به 250 میکرولیتر عصاره الکلی 4 میلی لیتر آب مقطر و 500 میکرولیتر  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  و در نهایت 250 میکرولیتر معرف فولین - سیوکالتو اضافه شد. این مخلوط به خوبی ورتکس شده و پس از 30 دقیقه در تاریکی نگهداری شد. جذب نمونه‌ها در طول موج 760 نانومتر خوانده شد. برای کمی‌سازی داده‌ها از منحنی استاندارد گالیک اسید استفاده شد.

### نتایج و بحث

ترکیبات فنلی گیاهی شامل گروه وسیع از ترکیبات شیمیایی با خصوصیات متنوع هستند و در سلامت عمومی انسان‌ها نقش‌های مهمی ایفا می‌کنند. ترکیبات فنلی به عنوان آنتی‌اکسیدان‌ها عمل کرده و از سلول‌ها در برابر آسیب‌های اکسیداتیو و رادیکال‌های آزاد محافظت می‌کنند. این ترکیبات با خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌توانند در حفاظت از DNA و سلول‌ها در برابر آسیب‌های اکسیداتیو و تغییرات ژنتیکی ناشی از آنها نقش داشته باشند. از طرف دیگر، بسیاری از ترکیبات فنلی دارای خصوصیات ضد التهابی هستند و در کاهش التهابات در بدن نقش داشته دارند. برخی از ترکیبات فنلی، مانند رزوراترول که در انگور و شراب قرار دارد، می‌تواند به سلامت قلبی کمک کرده و فشار خون را کاهش دهند. برخی دیگر نیز دارای خواص ضد میکروبی و ضد قارچی هستند و می‌توانند در مقابل عفونت‌ها و بیماری‌های مرتبط با میکروپ‌ها مؤثر باشند. مصرف منظم ترکیبات فنلی از طریق مواد غذایی مختلف می‌تواند به عنوان یک عامل پیشگیری از بسیاری از بیماری‌های مزمن، از جمله بیماری‌های قلبی، سرطان و دیابت، مؤثر باشد. اگرچه ترکیبات فنلی معمولاً از طریق مصرف مواد غذایی مختلف بدست می‌آیند، اما می‌توان از عصاره‌ها و عصاره‌های گیاهی نیز برای بهره‌مندی

از این خواص استفاده کرد. در این مطالعه مقدر ترکیبات فنلی موجود در اندام های هوایی و ریشه اکوتایپ های مختلف بومی ایران بررسی شد. بطور کلی محتوی فنل کل در ریشه بیش از اندام های هوایی بود. مقدار فنل کل در ریشه اکوتایپ جمع آوری شده از منطقه فرخ شهر  $132.563 \pm 3.1213 \text{mg/gDW GAE}$  بود که بیشتر مقدار اندازه گیری شده در این تحقیق بود. کمترین در ریشه اکوتایپ خوش بیلاق  $63.733 \pm 6.713 \text{mg/gDW GAE}$  مشاهده شد. نتایج نشان داد که اکوتایپ جمع آوری شده از ناحیه کلاچای با  $79.277 \pm 3.13 \text{mg/gDW GAE}$  بیشترین مقدار انباشت از ترکیبات فنلی را در اندام های هوایی دارا است. کمترین مقدار ترکیبات فنلی در اندام هوایی مربوط به اکوتایپ جمع آوری شده از منطقه گلپایگان با  $21.9376 \pm 3.45 \text{mg/gDW GAE}$  است (جدول 1).

جدول 1- محتوای فنلی کل عصاره های الکلی ریشه و اندام هوایی از اکوتایپ های مختلف *Chicorium intybus*.

اکوتایپ	محتوای فنل کل mg/gDW GAE	
	ریشه	اندام هوایی
داران	$90.489 \pm 2.61$	$29.582 \pm 2.44^f$
فرخ شهر	$132.563 \pm 3.123$	$41.636 \pm 1.629^d$
گلپایگان	$69.304 \pm 3.196$	$21.938 \pm 1.545^g$
کاشان	$79.911 \pm 3.147$	$38.898 \pm 2.884^{de}$
کلاچای	$78.322 \pm 3.517$	$79.277 \pm 1.567^a$
لرستان	$94.044 \pm 6.161$	$51.351 \pm 1.643^c$
نجف آباد	$73.866 \pm 11.335$	$53.736 \pm 1.488^c$
سوادکوه	$97.6 \pm 3.462$	$43.721 \pm 2.071^d$
شاهرود	$64.711 \pm 2.481$	$29.484 \pm 0.559^f$
خوش بیلاق	$63.733 \pm 6.713$	$29.298 \pm 1.258^f$
طالقان	$79.933 \pm 8.147$	$34.026 \pm 2.068^{de}$
تهران	$90.845 \pm 3.288$	$64.462 \pm 1.660^b$

حروف مختلف نمایانگر تفاوت معنی دار در میانگین های موجود در ستون هاست. نتایج حاصل از سه تکرار و بصورت  $\text{Mean} \pm \text{SE}$  آمده است. ترکیبات فنلی از اهمیت بسیاری در گیاهان برخوردارند و در تعداد زیادی از واکنش ها و فرایندهای زیستی مختلف در گیاهان نقش دارند. ترکیبات فنلی در فرایندهای مختلف فیزیولوژی گیاهان از جمله تنظیم رشد و تکامل، تنظیم فعالیت آنزیم ها و تولید متابولیت

های ثانویه نقش دارند. این ترکیبات در مقابله با تنش‌های زیستی مختلف مانند حملات قارچی، باکتریایی، و ویروسی، به گیاهان کمک کنند. برخی از ترکیبات فنلی می‌توانند از گیاهان در برابر آسیب ناشی از تنش‌های غیر زیستی مانند فلزات سنگین و تابشات مضر فرابنفش (UV) خورشید محافظت کنند. تنوع ژنتیکی، پاسخ به شرایط و تنش‌های خاص محیطی، تغییر در تنظیم مسیرهای بیوشیمیایی و فعالیت آنزیم‌ها، و همچنین واکنش‌های خاص به سایر میکروارگانیسم‌ها و گیاهان منجر به تغییر در مقدار ترکیبات زیستی از جمله ترکیبات فنلی اکوتایپ‌های گیاه می‌شود (Ouédraogo et al., 2022).

### نتیجه‌گیری

تأثیر بافت‌ها بر مقدار ترکیبات فنلی به طور کلی به فعالیت بیوشیمیایی و نیازهای محیطی و دفاعی گیاه مرتبط است. هر گونه تغییر در شرایط محیطی، وابستگی به فعالیت آنزیم‌ها و مسیرهای بیوشیمیایی می‌تواند مقدار و نوع ترکیبات فنلی را در هر بافت گیاهی تحت تأثیر قرار دهد. مقدار ترکیبات زیستی از جمله ترکیبات فنلی اکوتایپ‌های گیاه بدلائیل ژنتیکی و اپی ژنتیکی، تطابق با شرایط محیطی خاص منطقه‌ای، و تعامل با سایر موجودات زنده منطقه می‌تواند متفاوت باشد.

### تشکر و قدردانی

نویسندگان از پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری و دانشگاه تربیت مدرس (طرح 839) تشکر و قدردانی می‌کنند.

### منابع و مراجع مورد استفاده

**Katiyar, P., Kumar, A., Mishra, A.K., Dixit, R.K., Kumar, A., Kumar, R. and Gupta, A.K., 2015.** Kasni (*Cichorium intybus* L.) A propitious traditional medicinal herb. *Int J Pharmacogn*, 8, pp.368-380.

**Birsa, M.L. and Sarbu, L.G., 2023.** Health Benefits of Key Constituents in *Cichorium intybus* L. *Nutrients*, 15(6), p.1322.

**Ouédraogo, R.J., Ouattara, L., Kabre, P., Sanou, Y., Somda, M.B., Ouoba, P. and Ouédraogo, G.A., 2022.** Season and Ecotype Effects on Soluble Phenolic Compounds Content and Antioxidant Potential of *Tamarindus indica* and *Mitragyna inermis*. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 10(5), pp.145-158.

## Evaluation of total phenolic content of native chicory ecotypes

Narjes Gholipour<sup>1\*</sup>, Alireza Ramezani<sup>1</sup>, Esmail Khosravi<sup>2</sup>, Naser Safaie<sup>3</sup>, Seyed Safa-ali Fatemi<sup>1</sup>, Forough Sanjarian<sup>1</sup>

\*narjes.gholipour@gmail.com

1) National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology, Tehran, Iran

2) Department of horticultural Science and Agronomy, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

3) Department of Plant Pathology, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

*Cichorium intybus*, a member of the Asteraceae family, is a medicinal plant well-recognized in traditional medicine and acknowledged for its significance in the food industry. Given its high concentrations of phenolic compounds, particularly in the roots and leaves, it stands out among medicinal plants. Chicory is a Mediterranean plant with widespread distribution in various regions of Iran. In this study, ecotypes of chicory were collected from various locations throughout Iran. The phenolic content of both aerial parts and roots of the collected plants was quantified using the Folin-Ciocalteu method. Particularly, the total phenolic content in the roots exceeded that in the aerial parts, with the highest concentration recorded in the roots of the ecotype sourced from Farokhshahr ( $132.563 \pm 3.1213$  mg/gDW GAE). Conversely, the Golpayegan ecotype exhibited the lowest total phenolic



content ( $21.9376 \pm 3.45$  mg/gDW GAE). Overall, different ecotypes of the plant exhibit varying levels of phenolic compounds, reflecting their response to specific environmental conditions and the genetic diversity inherent to each region.

**Keywords:** Chicory, ecotype, total phenolic content

## اثر ملاتونین پرایمینگ بر رنگریزه‌های فتوسنتزی و سرعت فتوسنتز کینوا در شرایط تنش آبی

سید عبدالرضا کاظمینی<sup>1\*</sup>، مریم صمدی<sup>2</sup>

<sup>1\*</sup>-استاد بخش تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز

[akazemeini@shirazu.ac.ir](mailto:akazemeini@shirazu.ac.ir)

<sup>2</sup>-دانشجوی دکتری بخش تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز

### چکیده

تنش آبی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی است که فتوسنتز و عملکرد گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد. به منظور ارزیابی اثر تنش آبی و پرایمینگ بذر بر غلظت رنگریزه‌های فتوسنتزی و سرعت فتوسنتز کینوا آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز در سال 1399 انجام شد. تیمارها شامل چهار سطح تنش آبی (100% ظرفیت زراعی، 80% ظرفیت زراعی، 60% ظرفیت زراعی و 40% ظرفیت زراعی) و سه سطح پرایمینگ با محلول ملاتونین، هیدروپرایم و بدون پرایم بود. نتایج نشان داد تنش خشکی موجب کاهش غلظت رنگریزه‌های فتوسنتزی شد. ملاتونین پرایمینگ در شرایط تنش شدید (40% ظرفیت زراعی) موجب افزایش 1/52 و 1/23 برابری غلظت کلروفیل a و کلروفیل b نسبت به شاهد (بذر خشک) شد. ملاتونین پرایمینگ محتوای ملاتونین درون‌زا را نسبت به بذر خشک 1/80 برابر افزایش داد. پرایم بذر با ملاتونین با افزایش محتوای ملاتونین درون‌زا موجب افزایش غلظت رنگریزه‌های فتوسنتزی و افزایش سرعت فتوسنتز کینوا شد.

واژگان کلیدی: کلروفیل a، کلروفیل b، کاروتنوئید، ملاتونین درون‌زا

### مقدمه

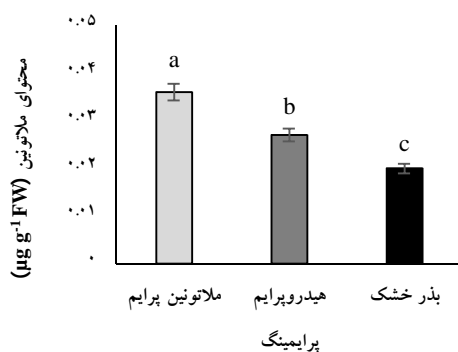
تنش آبی از مخرب‌ترین تنش‌های زیست‌محیطی و محدود کننده تولید محصولات زراعی است که بر غلظت رنگریزه‌های فتوسنتزی، سرعت فتوسنتز و رشد تأثیر می‌گذارد (1). کینوا، گیاهی سه کربنه، علفی و یک‌ساله از خانواده تاج خروس است که جزو شبه غلات دسته‌بندی می‌شود. کینوا تنها گیاهی است که کل آمینواسیدهای بدن انسان را تامین می‌کند و نسبت به تنش‌های محیطی متحمل است (2). کاهش غلظت رنگریزه‌های فتوسنتزی و کاهش سرعت فتوسنتز خالص در شرایط تنش خشکی در کینوا گزارش شده است (1). پرایمینگ بذر یک روش کاربردی برای کاهش اثرات منفی تنش‌های غیرزیستی است و باعث افزایش سرعت و درصد جوانه‌زنی می‌شود (3). ملاتونین یک محرک زیستی است که در رشد، نمو و پاسخ گیاهان به تنش‌های زیستی و غیرزیستی نقش مهمی ایفا می‌کند. ملاتونین موجب پایداری غشای سلول و کلروپلاست شده و از این طریق مانع تجزیه کلروفیل می‌شود (4). همچنین اثر ملاتونین بر سرعت فتوسنتز و فعالیت آنزیم‌هایی چون روبیسکو می‌تواند بر تولید خالص اولیه تأثیر مثبت داشته باشد (4). در همین راستا از آنجا که در ارتباط با کاربرد ملاتونین در کینوا اطلاعاتی وجود ندارد، این پژوهش با هدف بررسی اثر ملاتونین بر رنگریزه‌های فتوسنتزی و محتوای ملاتونین درون‌زای برگ کینوا در شرایط تنش آبی انجام شد.

### مواد و روش‌ها

این پژوهش در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه شیراز در تابستان سال 1399 به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل چهار سطح تنش آبی (100 درصد ظرفیت زراعی (شاهد)، 80 درصد ظرفیت زراعی (تنش ملایم)، 60 درصد ظرفیت زراعی (تنش متوسط) و 40 درصد ظرفیت زراعی (تنش شدید)) و سه سطح پرایمینگ بذر با محلول ملاتونین، هیدروپرایم و بذر خشک (شاهد) بود. غلظت مناسب ملاتونین (20 میکرومولار) و مدت زمان پرایم (چهار ساعت) با ملاتونین و آب معمولی در یک آزمایش جداگانه تعیین شد. جهت اعمال تنش آبی در گلدان از روش وزنی استفاده شد (1). دور آبیاری هفت روز تعیین گردید. در تاریخ یک تیر ماه در هر گلدان پنج کیلویی 10 عدد بذر کینوا رقم تیتیکاکا در عمق یک سانتی متری کشت و پس از رسیدن به مرحله چهار برگی تراکم بوته در هر گلدان به پنج بوته رسید. اعمال تنش آبی پس از استقرار کامل بوته و 14 روز پس از کاشت آغاز و تا زمان گلدهی ادامه یافت. در شروع گلدهی سرعت فتوسنتز با استفاده از دستگاه فتوسنتز متر LCI اندازه گیری شد. در مرحله گلدهی نمونه برداری جهت اندازه گیری غلظت رنگیزه های فتوسنتزی و محتوای ملاتونین انجام شد. غلظت رنگیزه های فتوسنتزی شامل کلروفیل a، b و کاروتنوئید با روش آرنون (5) و با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر مدل Genway اندازه گیری شد. محتوای ملاتونین با روش آرنائو و رویز (6) و با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا مدل Knauer اندازه گیری شد. پس از جمع آوری داده ها، تجزیه واریانس صفات اندازه گیری شده با نرم افزار SAS و مقایسه میانگین داده ها با آزمون LSD در سطح احتمال 5 درصد انجام شد.

## نتایج و بحث

نتایج نشان داد تنش آبی به طور معنی داری منجر به افزایش محتوای ملاتونین برگ شد. محتوای ملاتونین برگ در شرایط تنش آبی 40، 60 و 80 درصد ظرفیت زراعی نسبت به شاهد، به ترتیب 2/80، 2/20 و 1/46 برابر افزایش یافت (شکل 1). نتایج همچنین نشان داد بیشترین محتوای ملاتونین برگ (0/036 میکروگرم بر گرم وزن تر) در تیمار ملاتونین پرایم و کمترین آن (0/022 میکروگرم بر گرم وزن تر) در تیمار شاهد (بذر خشک) مشاهده شد (شکل 2). محققان گزارش کردند در شرایط تنش افزایش بیان ژن های کدکننده بیوسنتز ملاتونین منجر به افزایش تولید ملاتونین درون زا و افزایش مقاومت به تنش می گردد (4).



شکل 2- اثر پرایمینگ بر محتوای ملاتونین برگ کینوا



شکل 1- اثر تنش آبی بر محتوای ملاتونین برگ کینوا

بر اساس نتایج به دست آمده، تنش آبی منجر به کاهش غلظت کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید شد و در هر سطح تنش آبی بیشترین غلظت کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید بطور معنی داری در تیمار ملاتونین پرایم مشاهده شد (جدول 1). کاهش غلظت

کلروفیل a و b در شرایط تنش خشکی به دلیل تخریب غشای تیلاکوئیدهای کلروپلاست، اکسیداسیون نوری مولکول کلروفیل و افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز بوده است (4). کاهش غلظت کاروتنوئید در شرایط تنش ممکن است به تجزیه بتاکاروتن و تداخل با چرخه زانتوفیل که منجر به تولید زنازانتین می‌شود، مربوط باشد (3). پرایم با ملاتونین در شرایط تنش شدید توانست غلظت کلروفیل a را نسبت به شاهد (بذر خشک) 52/50 درصد افزایش دهد (جدول 1). روند تغییرات غلظت کلروفیل b نیز مشابه کلروفیل a بود و پرایم بذر با ملاتونین در سطوح تنش آبی 40، 60 و 80 % ظرفیت زراعی، غلظت کلروفیل b را نسبت به شاهد (بذر خشک) به ترتیب 23/09، 23/33 و 37/14 درصد افزایش داد (جدول 1). نتایج همچنین نشان داد بیشترین غلظت کاروتنوئید در شرایط بدون تنش در تیمار ملاتونین پرایم به دست آمد و همین روند در سایر سطوح تنش آبی نیز مشاهده شد (جدول 1). محققان گزارش کردند ملاتونین پرایمینگ می‌تواند محتوای کلروفیل و سرعت فتوسنتز را با به تاخیر انداختن تجزیه پروتئین، کاهش تولید گونه‌های فعال اکسیژن و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی افزایش دهد (4). تنش آبی موجب کاهش سرعت فتوسنتز گردید، به طوری که بیشترین سرعت فتوسنتز در تیمار 100 % ظرفیت زراعی و پرایم با ملاتونین (18/20 میکرومول دی‌اکسید کربن بر متر مربع بر ثانیه) و کمترین سرعت فتوسنتز در تیمار 40 % ظرفیت زراعی و بذر خشک (3/80 میکرومول دی‌اکسید کربن بر متر مربع بر ثانیه) مشاهده شد (جدول 1). نتایج نشان داد تنش آبی موجب کاهش سرعت فتوسنتز شد. ملاتونین پرایم در شرایط تنش آبی شدید (40 % ظرفیت زراعی) توانست سرعت فتوسنتز را نسبت به هیدروپرایم و بذر خشک به میزان 1/17 و 1/53 برابر افزایش دهد و اثر تنش آبی را تعدیل نماید (جدول 1). محققان گزارش کردند ملاتونین با افزایش فعالیت آنزیم روبیسکو منجر به افزایش سرعت فتوسنتز و تعدیل اثرات منفی تنش آبی می‌گردد (6).

جدول 1- مقایسه میانگین برهمکنش تنش آبی و پرایمینگ بر رنگریزه‌های فتوسنتزی و سرعت فتوسنتز کینوا

تنش آبی ظرفیت زراعی	پرایمینگ	کلروفیل a (mg g <sup>-1</sup> FW)	کلروفیل b (mg g <sup>-1</sup> FW)	کاروتنوئید (mg g <sup>-1</sup> FW)	سرعت فتوسنتز ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )
% 100	ملاتونین پرایم	0/94 <sup>a</sup>	0/51 <sup>a</sup>	0/66 <sup>a</sup>	18/20 <sup>a</sup>
	هیدروپرایم	0/82 <sup>bc</sup>	0/44 <sup>b</sup>	0/57 <sup>bc</sup>	14/75 <sup>b</sup>
	بذر خشک	0/77 <sup>c</sup>	0/41 <sup>c</sup>	0/50 <sup>c</sup>	9/13 <sup>c</sup>
% 80	ملاتونین پرایم	0/90 <sup>ab</sup>	0/48 <sup>ab</sup>	0/63 <sup>ab</sup>	13/69 <sup>b</sup>
	هیدروپرایم	0/78 <sup>c</sup>	0/40 <sup>c</sup>	0/54 <sup>c</sup>	9/28 <sup>c</sup>
	بذر خشک	0/65 <sup>de</sup>	0/35 <sup>d</sup>	0/45 <sup>de</sup>	7/33 <sup>de</sup>
% 60	ملاتونین پرایم	0/69 <sup>d</sup>	0/37 <sup>d</sup>	0/48 <sup>d</sup>	8/26 <sup>cd</sup>
	هیدروپرایم	0/65 <sup>de</sup>	0/35 <sup>d</sup>	0/45 <sup>de</sup>	7/28 <sup>de</sup>
	بذر خشک	0/56 <sup>f</sup>	0/30 <sup>f</sup>	0/39 <sup>f</sup>	6/61 <sup>ef</sup>
% 40	ملاتونین پرایم	0/61 <sup>ef</sup>	0/32 <sup>ef</sup>	0/42 <sup>ef</sup>	5/82 <sup>fg</sup>
	هیدروپرایم	0/52 <sup>g</sup>	0/30 <sup>ef</sup>	0/41 <sup>ef</sup>	4/97 <sup>gh</sup>
	بذر خشک	0/40 <sup>h</sup>	0/26 <sup>g</sup>	0/34 <sup>g</sup>	3/80 <sup>h</sup>

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه در سطح احتمال 5 درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

نتیجه‌گیری

کینوا به عنوان گیاهی متحمل به تنش آبی شناخته می شود اما غلظت رنگریزه های فتوسنتزی و سرعت فتوسنتز در شرایط تنش آبی به شدت تحت تاثیر قرار می گیرد. نتایج نشان داد کاربرد ملاتونین با افزایش غلظت کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئیدها منجر به افزایش سرعت فتوسنتز و تعدیل اثر تنش آبی می گردد.

## منابع

- 1- Aziz, A., Akram, N. A., and Ashraf, M. 2018. Influence of natural and synthetic vitamin C (ascorbic acid) on primary and secondary metabolites and associated metabolism in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) plants under water deficit regimes. *Plant physiology and Biochemistry*, 123, 192-203.
- 2- Derbali, W., Manaa, A., Goussi, R., Derbali, I., Abdely, C., and Koyro, H. W. 2021. Post-stress restorative response of two quinoa genotypes differing in their salt resistance after salinity release. *Plant Physiology and Biochemistry*, 164, 222-236.
- 3- Guo, Y., Li, D., Liu, L., Sun, H., Zhu, L., Zhang, K., and Li, C. 2022. Seed priming with melatonin promotes seed germination and seedling growth of *Triticale hexaploide* L. under PEG-6000 induced drought stress. *Frontiers in Plant Science*, 13, 12-29.
- 4- Gao, W., Feng, Z., Bai, Q., He, J., and Wang, Y. 2019. Melatonin mediated regulation of growth and antioxidant capacity in salt tolerant naked oat under salt stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 20, 1176-1184.
- 5- Arnon, D. I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 24, 11-24.
- 6- Arnao, M. B., and Ruiz, J. 2009. Functions of melatonin in plants: a review. *Journal of Pineal Research*, 59, 133-150.

## Effect of Melatonin Priming on Photosynthetic Pigments and Photosynthetic Rate of Quinoa under Water Stress

Seyed Abdolreza Kazemeini<sup>1\*</sup>, Maryam Samadi<sup>2</sup>

1\*. Professor, Department of Plant Production and Genetics, School of Agriculture, Shiraz University  
akazemeini@shirazu.ac.ir

2. Ph.D. Student, Department of Plant Production and Genetics, School of Agriculture, Shiraz University

Corresponding author: [akazemeini@shirazu.ac.ir](mailto:akazemeini@shirazu.ac.ir)

### Abstract

Water stress is the most important environmental stresses that affects plants photosynthesis and yield. In order to evaluate the effects of water stress and seed priming on photosynthetic pigment concentrations and photosynthetic rate of quinoa, a factorial experiment was conducted in a completely randomized design with three replications at greenhouse of School of Agriculture, Shiraz University, in 2020. Treatments included four levels of water stress (100%, 80%, 60% and 40% field capacity) and three levels of priming with melatonin solution, hydropriming and without priming. The results indicated that water stress reduced photosynthetic pigment concentrations. Melatonin priming increased chlorophyll a and chlorophyll b concentrations to 1.52 and 1.23 times, compared to the control (dry seed) under severe water stress (40 % FC). Melatonin priming

increased endogenous melatonin content by 1.80 times, compared to the dry seed. Seed priming with melatonin by increasing the endogenous melatonin content led to an increase in photosynthetic pigment concentrations and increased photosynthetic rate of quinoa.

**Keywords:** Chlorophyll a, Chlorophyll b, Carotenoids, Endogenous melatonin

## تأثیر برخی تیمارهای شکست خواب بر جوانه زنی بذر گیاه دارویی قاصدک (*Taraxacum officinale. L*)

نرگس فقهی<sup>1</sup>، زهرا ناظم بکائی<sup>2</sup>، خدیجه کیارستمی<sup>2</sup>، منیر حسین زاده نمین<sup>2</sup>

1. دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه الزهراء(س)

[Faghihi.nn76@gmail.com](mailto:Faghihi.nn76@gmail.com)

2. دانشیار گروه زیست شناسی(علوم گیاهی)، دانشکده علوم پایه، دانشگاه الزهراء(س)

[Kh.kiarostami@alzahra.ac.ir](mailto:Kh.kiarostami@alzahra.ac.ir)

### چکیده

گیاه دارویی قاصدک (*Taraxacum officinale. L*) بومی کشور ایران می باشد. بذر این گیاه دارای خواب بوده و جوانه زنی آن نیز بسیار کند می باشد. بنابراین کوتاه نمودن دوره خواب و افزایش جوانه زنی بذرها توسط روش های آزمایشگاهی مختلف می تواند در احیای این گیاه دارویی مهم موثر باشد. به منظور ارزیابی اثر تیمارهای مختلف بر شکست خواب و جوانه زنی بذر گیاه قاصدک آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با 10 تیمار و 10 تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل (سرما خشک، سرما مرطوب، استفاده از جبریلین) به مدت 24 ساعت بودند. نتایج تجزیه واریانس داده ها نشان داد که بین تیمارهای اعمال شده، از نظر تأثیرگذاری بر درصد جوانه زنی معنی دار نبوده است. نتایج حاصل از بررسی اثر پیش تیمارهای مختلف (سرما خشک، سرما مرطوب، استفاده از جبریلین) بر جوانه زنی بذر گیاه نشان داد که بیشترین جوانه زنی با استفاده از غلظت 20 میلی گرم در لیتر هورمون جبریلین بدست آمد و پس از آن غلظت 5 میلی گرم در لیتر جبریلین با (5 نمونه در 10 تکرار) بیشترین درصد جوانه زنی را داشتند.

**واژگان کلیدی:** جوانه زنی، خواب بذر، درصد جوانه زنی، گیاه دارویی قاصدک

### مقدمه

قاصدک با نام علمی *Taraxacum officinale L* از خانواده Asteraceae است. قاصدک گیاهی علفی، پایا، شیرابه دار، اغلب پوشیده از کرک های تار عنکبوتی، به ارتفاع 1/5 تا 45 سانتی متر است. گیاه قاصدک، گل های بسیار ریزی دارند که با هم جمع شده و تشکیل یک گل آذین می دهند(1). پزشکان چینی برای افزودن پاسخ ایمنی به عفونت های دستگاه تنفس فوقانی نظیر برونشیت، پنومونی، عفونت دستگاه ادراری، هپاتیت و عفونت پستان قاصدک را به کار می بردند(2). قاصدک منبع غنی از مواد آلی A، B، D و مواد معدنی شامل آهن، پتاسیم و روی است. قاصدک به طور خودرو در بیشتر مزرعه ها و دشت ها، در وسط چمن، حاشیه شوره زار، کنار جاده ها و به طور کلی در همه

جا می‌روید. در چمن، مراتع و بسیاری مزارع به عنوان یک علف هرز مشکل محسوب می‌شود (3). منشاء آن‌ها بیشتر در شمال، شمال غربی، غرب، مرکز و شمال شرقی ایران است. همچنین در افغانستان، آسیای صغیر، لبنان، سوریه توزیع شده است (4). بذر قسمتی از گیاه است که کاشته می‌شود تا جوانه زند و گیاهی شبیه گیاه اصلی یا پایه مادری به وجود آورد. بذر ممکن است به شکل دانه، میوه یا غده، پیاز، ساقه، برگ و یا قسمتی از بافت گیاه باشد. (5). مکانیزم خواب بذر منجر به یکنواختی در سبز شدن گیاهان شده و امکان بقای گونه را در طی زمان میسر می‌سازد. یکی از مشکلاتی که اغلب، کشت گیاهان خانواده کاسنی با آن مواجه است، جوانه زنی اندک به دلیل خواب بذر است. خواب بذر یکی از مهم‌ترین سازوکارها در به تأخیر انداختن جوانه زنی و حفظ بقا در گیاهان است. خواب وقف‌های موقت در نمو و جوانه زنی بذر است که در این وضعیت حتی با وجود مهیا بودن شرایط برای جوانه زنی، بذر برای مدت نامعلومی در حالت استراحت باقی می‌ماند (6). خواب بذر در واقع یک پدیده فیزیولوژیک است که بذرهای بسیاری از گیاهان دارویی و خودرو با آن مواجه هستند و به بذرهای این امکان را می‌دهد که در شرایط نامساعد زنده بمانند (7). به منظور شکستن خواب بذر از روش‌های مختلفی استفاده می‌شود که بستگی به شرایط رویشگاهی گونه گیاه و نوع خواب دارد. سرمادهی مرطوب روشی کاربردی برای تسهیل جوانه زنی بذرهای در حال خواب است (8). به نظر می‌رسد که سرمادهی منجر به ایجاد تغییراتی در تعادل مواد بازدارنده و محرک جوانه زنی در برخی گونه‌ها شده و به این صورت باعث شکستن خواب بذر می‌شود (9). کلیه فرآیندهای مرتبط با رشد، نمو و متابولیسم در گیاهان به نوعی توسط هورمون‌ها کنترل می‌شود (10). هورمون گیاهی هستند که کنترل‌کننده خواب اولیه بذرها هستند. همچنین جیبرلین با القای جوانه زنی بر خواب بذر تأثیر می‌گذارد (11). نتایج اکثر تحقیقات نشان داده است، که بذرهای برخی از گیاهان از جمله گیاهان دارویی و برخی گیاهان خودرو به دلیل سازگاری‌های اکولوژیک دارای مکانیزم‌های مختلف خواب مانند پوسته سخت، فیزیولوژیکی، القایی و غیره می‌باشند (12). چن و همکاران (2007)، شکستن خواب و جوانه زنی بذرهای بدون پوسته با تیمار اسید جیبرلیک را مطالعه کرده و نتیجه گرفتند که جوانه زنی نمونه بذرهای این گونه افزایش یافت. در شکستن خواب بذرهای بادام Zeinalabedini و همکاران (2009)، به این نتایج دست یافتند که جوانه زنی بذر این گونه با افزایش غلظت اسید جیبرلیک افزایش می‌یابد (13). هدف از این تحقیق ارزیابی بهترین تیمار برای شکستن خواب بذر گیاه قاصدک است.

## مواد و روش‌ها

به منظور ارزیابی تأثیر تیمارهای مختلف بر شکست خواب و جوانه زنی بذر قاصدک آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی در 10 تکرار در آزمایشگاه تحقیقاتی زیست‌شناسی دانشگاه الزهرا تهران در سال 1402 انجام شد بذر گونه قاصدک از شرکت منصوری استان گیلان خریداری گردید. با انجام آزمایش‌های اولیه مشخص گردید که بذر قاصدک دارای خواب اولیه بوده و در شرایط معمولی قادر به جوانه زنی نیست، به این دلیل از تیمارهای مختلفی جهت رفع خواب بذر استفاده شد. تیمارهای اعمال شده شامل: 1- سرمادهی بذرها به مدت 24 ساعت در دمای 19- درجه سانتی‌گراد 2- سرمادهی مرطوب به مدت 24 ساعت در دمای 19- درجه سانتی‌گراد 3- سرمادهی بذرها به مدت 2 روز در دمای 3 درجه سانتی‌گراد 4- سرمادهی بذرها به مدت 4 روز در دمای 3 درجه سانتی‌گراد 5- سرمادهی بذر به مدت 7 روز در دمای 3 درجه سانتی‌گراد 6- سرمادهی و خیساندن در جیبرلین با غلظت 0/5 میلی‌گرم در لیتر به مدت 24 ساعت در دمای 3 درجه سانتی‌گراد 7- سرمادهی و خیساندن در جیبرلین با غلظت 5 میلی‌گرم در لیتر به مدت 24 ساعت در دمای 3 درجه سانتی‌گراد و شستشو با آب مقطر و دوباره سرمادهی به مدت 24 ساعت در دمای 3 درجه سانتی‌گراد 8- سرمادهی و خیساندن در جیبرلین با غلظت 10 میلی‌گرم در لیتر به مدت 24 ساعت در دمای 3 درجه سانتی‌گراد و شستشو با آب مقطر و دوباره سرمادهی به مدت 24 ساعت در دمای 3 درجه سانتی‌گراد 9- سرمادهی و خیساندن

در جیبرلین با غلظت 15 میلی گرم در لیتر به مدت 24 ساعت در دمای 3 درجه سانتی گراد و شستشو با آب مقطر و دوباره سرمادهی به مدت 24 ساعت در دمای 3 درجه سانتی گراد -10- سرمادهی و خیساندن در جیبرلین با غلظت 20 میلی گرم در لیتر به مدت 24 ساعت در دمای 3 درجه سانتی گراد و شستشو با آب مقطر و دوباره سرمادهی به مدت 24 ساعت در دمای 3 درجه سانتی گراد. بعد از تیماردهی بذرها، بذور ابتدا به مدت 5 دقیقه در الکل 70 درصد خیسانده شد و توسط آب مقطر شستشو داده شده و به مدت 15 دقیقه در هیپوکلریت سدیم 20 درصد خیسانده شده و بعد از اتمام کار با آب مقطر شستشو داده شدند. سپس بذرها به پتری دیش ها منتقل شدند. پس از کشت بذور در پتری دیش، پتری ها را در اتاقک کشت قرار می دهیم.

درصد جوانه زنی: (تعداد بذرهای جوانه زده به تعداد بذرهای کاشته شده)×100

**آنالیزهای آماری:** داده های آزمایش با استفاده از نرم افزار آماری SPSS تجزیه و تحلیل و مقایسه میانگین داده ها با استفاده از آزمون چند دامناهی دانکن انجام شد. هم چنین رسم نمودار با استفاده از نرم افزار Excel انجام شد.

### جدول 1- تیمارهای آزمون شکست خواب بذر

علامت اختصاری	تیمار
P-1	سرمادهی بذرها به مدت 24 ساعت در دمای 19- درجه سانتی گراد
P-ch2	سرمادهی مرطوب به مدت 24 ساعت در دمای 19- درجه سانتی گراد
P-2	سرمادهی بذرها به مدت 2 روز در دمای 23 درجه سانتی گراد
P-4	سرمادهی بذرها به مدت 4 روز در دمای 3 درجه سانتی گراد
P-7	سرمادهی بذر به مدت 7 روز در دمای 3 درجه سانتی گراد
GA <sub>3</sub> 0/5	سرمادهی و خیساندن در جیبرلین با غلظت 0/5 میلی گرم در لیتر به مدت 24 ساعت در دمای 3 درجه سانتی گراد
GA <sub>3</sub> 5	سرمادهی و خیساندن در جیبرلین با غلظت 5 میلی گرم در لیتر به مدت 24 ساعت در دمای 3 درجه سانتی گراد و شستشو با آب مقطر و دوباره سرمادهی به مدت 24 ساعت در دمای 3 درجه سانتی گراد
GA <sub>3</sub> 10	سرمادهی و خیساندن در جیبرلین با غلظت 10 میلی گرم در لیتر به مدت 24 ساعت در دمای 3 درجه سانتی گراد و شستشو با آب مقطر و دوباره سرمادهی به مدت 24 ساعت در دمای 3 درجه سانتی گراد
GA <sub>3</sub> 15	سرمادهی و خیساندن در جیبرلین با غلظت 15 میلی گرم در لیتر به مدت 24 ساعت در دمای 3 درجه سانتی گراد و شستشو با آب مقطر و دوباره سرمادهی به مدت 24 ساعت در دمای 3 درجه سانتی گراد
	سرمادهی و خیساندن در جیبرلین با غلظت 20 میلی گرم در لیتر به مدت 24 ساعت در دمای 3 درجه سانتی گراد و شستشو با آب مقطر و دوباره سرمادهی به مدت 24 ساعت در دمای 3 درجه سانتی گراد

GA <sub>3</sub> 20	
--------------------	--

### نتایج و بحث

تجزیه واریانس درصد جوانه زنی نشان داد اثر تیمارهای مختلف بر درصد جوانه زنی بذر قاصدک در سطح احتمال 1 و 5 درصد معنی دار ( $P > 0/05$ ) نبوده است (جدول 2).

جدول 2- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) جوانه زنی بذرهای گیاه قاصدک تحت تاثیر تیمارهای شکست خواب

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
تیمارها	9	ns 124/889
خطا	81	124/889
کل	90	

ns: عدم معنی داری

باتوجه به نتایج مقایسه میانگین ها، بیشترین درصد جوانه زنی مربوط به تیمار سرمادهی و خیساندن در جیبرلین با غلظت 20 میلی گرم در لیتر به مدت 24 ساعت در دمای 3 درجه سانتی گراد و شستشو با آب مقطر و دوباره سرمادهی به مدت 24 ساعت در دمای 3 درجه سانتی گراد بوده است (شکل 1).





شکل 1- نمودار مقایسه میانگین های درصد جوانه زنی تحت تاثیر تیمارهای مختلف برای شکست خواب



شکل 2 جوانه زنی تحت تاثیر تیمارهای مختلف برای شکست خواب

بذر بسیاری از گیاهان بلافاصله پس از رسیدگی و قرار گرفتن در شرایط مناسب جوانه نمی زنند. وجود عواملی مانند پوسته سخت و یا نارس بودن رویان موجب تاخیر در جوانه زنی بسیاری از بذرهای می شود. به همین ترتیب امروزه با استفاده از روش درون شیشه ای که بر اثر آزمایش و تجربه به دست آمده، وجود خواب در بذرهای تشخیص داده شده است. پیش تیمار بذر یک روش معمول برای افزایش درصد، سرعت و یکنواختی جوانه زنی و سبز شدن بذر تحت شرایط نامساعد محیطی می باشد (۱۴). امروزه جیبرلین ها به عنوان یکی از مهم ترین تنظیم کننده های رشد گیاهی شناخته شده اند که به طور طبیعی در گیاهان عالی وجود دارند (15). اثر پیش تیمار بذر با جیبرلین بر روی جوانه زنی و رشد گیاهچه بذر چاودار کوهی نشان داد که تیمار بذر با جیبرلین سبب افزایش درصد جوانه زنی، سرعت جوانه زنی، طول گیاهچه می شود (16). پیش تیمار بذر با جیبرلین موجب افزایش درصد جوانه زنی می شود ولی در پژوهش ما اثر جیبرلین با غلظت های 5، 10، 15 و 20 میلی گرم در لیتر تنها غلظت 20 میلی گرم در لیتر و بعد از آن غلظت 5 میلی گرم در لیتر بیشترین درصد جوانه زنی را داشته و غلظت های 10 و 15 میلی گرم در لیتر جیبرلین اثر اندکی بر جوانه زنی بذر را داشت. بر اساس نتایج یوسفی راد و همکاران (1395) پیش تیمار بذر اسپرس با جیبرلین سبب بهبود و افزایش شاخص های جوانه زنی اسپرس شد (17). برخی بذرهای برای تحریک جوانه زنی نیاز به پیش تیمار سرما دارند. مراحلی که در آن بذرهای تحت تاثیر سرمای کم و مداوم قرار می گیرند، تیمار سرمادهی نامیده می شود (18). (مک آرتور (1989) و میر و منسون (1991) در بررسی های خود روی گونه *K. prostrata* بر نیاز سرمایی بذر آن جهت تحریک جوانه زنی تاکید نموده اند (19). صابری و کریمیان (2017) تیمار هورمون اسید جیبرلیک را برای بذرهای *Datura stramonium* مورد استفاده قرار دادند و نتیجه گرفتند که درصد و سرعت جوانه زنی در بذرهای تیمار شده افزایش یافت (20). اسعدی و حشمتی (2015) تأثیر هورمون اسید جیبرلیک را بر روی جوانه زنی آویشن خراسانی و آویشن شیرازی مورد بررسی قرار دادند و نتیجه گرفتند که این تیمار سبب افزایش جوانه زنی بذرهای گردید (21).

## نتیجه گیری

به طور کلی یکی از اصول مهم برای تولید انبوه و اقتصادی گیاه ارزشمند دارویی قاصدک اعمال تیمارهای مناسب برای شکستن خواب بذر آن می باشد و بدون اعمال این تیمارها، به دلیل جوانه زنی کند و ضعیف آن کشت گسترده آن با شکست مواجه خواهد شد. بنابراین هنگام کشت این گیاه در سطح وسیع به منظور موفقیت بیشتر، برای شکست خواب بذرهای میتوان از خیساندن بذرها در محلول جیبرلین 20 میلی گرم در لیتر (به مدت 24 ساعت) استفاده کرد.

## منابع

1. زرگری، علی. گیاهان دارویی. تهران: انتشارات دانشگاه تهران. 1371، ج. 3.
2. Blumental M, Cladbery A. Brink man expanded commission E Monographs. Newton, MA: Integrative Medicine Communications. J Herbal/medicine 2000; 13: 78-83
3. Popay, I., Champion, P., & James, T. (2010). An illustrated guide to common weeds of New Zealand.
4. Sang R, Yu Y, Ge B, Xu L, Wang Z, Zhang X (2019) Taraxasterol from Taraxacum prevents concanavalin A-induced acute hepatic injury in mice via modulating TLRs/NF-Kb and Bax/Bc1-2 signalling pathways. ARTIFICIAL CELLS, NANOMEDICINE, AND BIOTECHNOLOGY 47(1):3929–3937
5. Song, J., Fan, H., Zhao, Y., Jia, Y., Du, Y. and Wang, B. 2008. Effect of salinity on germination, seedling emergence, seedling growth and ion accumulation of a euhalophyte Suaeda salsa in an intertidal zone and on saline inland. Journal of Aquatic Botany, 88: 331–337.
6. Garcia-Gusano, M., Martýnez-Gomez, P. and Dicenta, F. 2004. Breaking seed dormancy in almond (Prunus dulcis (Mill.) D.A. Webb). Scientia Horticulturae, 99: 363.370. (Journal)
7. Ehyae, H. and Hoseyni, M. 2011. Evaluation of sleep characteristics of germination and seed mass in medicinal plants. Iranian Journal of Crop Science, 9(4): 651-658. (In Persian)(Journal)
8. Bello, I.A., Hatteiman-Valentini, H. and Owen, M.D.K. 1998. Effects of stratification, temperature and oxygen on woolly cupgrass (Eriochloa villosa) seed dormancy. Weed Science, 46: 526-529. (Journal)
9. Parmenter, G.A., Burton, L.C. and Littlejohn, R.P., 1996. Chilling requirement of commercial Echinacea seeds. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science, 24: 109-114. (Journal)
10. Khan, A.A., 1971. Cytokinins: Permissive Role in Seed Germination. Science, 171: 853-859. (Journal)
11. Iglesias, R.G. and Babiano, M.J. 1997. Endogenous abscisic acid during the germination of chickpea seed. Physiologia Plantarum, 100: 500-504. (Journal)
12. Sarmadnia, GH. 1996. Principles of seed science and technology (Translated). Jahade Daneshgahi. Mashhd. 228p
13. Zeinalabedini, M., Majourhat, K., KhayamNekoui, M., Hernandez, J.A. and Martinez-Gomes, P., 2009. Breaking seed dormancy in long term stored seeds from iranian wild almond species. Seed Science and Technology, 37: 267-275
14. Patade, V.Y., Maya, K., and Zakwan, A. 2011. Seed priming mediated germination improvement and tolerance to subsequent exposure to cold and salt stress in capsicum. Research Journal of Seed Science. 4 (3):125-136.
15. Hedden, P., and Proebsting, W.M. 1999. Genetic analysis of gibberellins Biosynthesis is. Plant physiology. 119: 365-370

۱۶. Ansari, O., Choghazardi, H. R., Sharif Zadeh, F., and Nazarli, H. 2012. Seed reserve utilization and seedling growth of treated seeds of mountain rye (*Secale Montanum*) as affected by drought stress. *Cercetări Agronomice în Moldova*. 2(150): 43-48

۱۷. یوسفی راد، مقدسی، محمد شریف، معصومی زواریان، اصغری، نجاتی و ماهرخ. (2016). تأثیر پیش تیمارهای هورمونی و اسمزی بر شاخص‌های جوانه‌زنی و بیوشیمیایی در بذر اسپرس، یافته‌های نوین کشاورزی، 10 (شماره 3 بهار 1395) 39، 216-225.

18. Cavieres, A. and Sierra-Almeida, A. 2018. Assessing the importance of coldstratification for seed germination in alpine plant species of the High-Andes of central Chile. *J. Per. Plant Ecol. Evol. Sys.* 30: 125-131

۱۹. McArthur, E., Blauer, A. and Stevens, R. 1989. Forage Kochia competition with cheat grass in central UTAH. Symposium on cheat grass invasion, shrub die-off, and other aspects of shrub biology and manage. Las Vegas, NV, April 5-7

۲۰. Saberi, M. and Karimian, V. 2018. Effect of chemical stimulants on improvement of growth, support, and Reproduction of *Datura stramonium* Medicinal Plant under stress with Allopathic compounds of *Eucalyptus Camaladulensis*. *J. Range.* 12: 4. 401-410. (In Persian)

۲۱. Assadi, A.M. and Heshmati, Gh.A. 2015. The effect of different treatments on breaking seeds dormancy and inducing germination of *Thymus transcaucasicus* Ronn. And *Zataria multiflora* Boiss. *J. Plant Res.* 28: 1. 12-21. (In Persian)

## The effect of some treatments of sleep failure on the germination of medicinal plant seeds) *Taraxacum officinale*. L(

Narges Faqhei.<sup>1</sup> Zahra Nazim Bekai.<sup>2</sup> Khadijah Kiarostami.<sup>2</sup> Munir Hosseinzadeh Namin.<sup>2</sup>

1. Master student of Plant Physiology, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Al-Zahra University

[Faghghi.nn76@gmail.com](mailto:Faghghi.nn76@gmail.com)

2. Assistant Professor, Department of Biology (Plant Sciences), Faculty of Basic Sciences, Al-Zahra University

### Abstract

medicinal plant (*Taraxacum officinale* L.) is native to Iran. seeds are dormant and their germination is very slow. Therefore, shortening the dormancy period and increasing seed germination by various laboratory methods can be effective in reviving this important medicinal plant. In order to evaluate the effect of different treatments on dormancy failure and germination of *Taraxacum officinale* seeds, an experiment was conducted in the form of a completely randomized design with 10 treatments and 10 repetitions. The test treatments included (dry cold, wet cold, use of gibberellin) for 24 hours. The results of variance analysis of the data showed that there was no significant difference between the applied treatments in terms of

affecting the germination percentage. The results of investigating the effect of different pretreatments (dry cold, wet cold, use of gibberellin) on the germination of seeds showed that the highest germination was obtained using a concentration of 20 mg/l of gibberellin hormone, followed by a concentration of 5 mg /l gibberellin with (5 samples in 10 replicates) had the highest germination percentage.

**Key words:** germination, germination percentage, seed dormancy, *Taraxacum officinale* medicinal plant

## از BAP و 2,4-D بررسی سنجش ترکیبات فنل و فلاونوئیدی در تیمارهای هورمونی *Dracocephalum moldavica. L* ریزنمونه های مختلف گیاه

نرگس فقهی<sup>1</sup>، زهرا ناظم بکائی<sup>2</sup>، خدیجه کیارستمی<sup>2</sup>، منیر حسین زاده نمین<sup>2</sup>

3. دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه الزهرا(س)

[Faghihi.nn76@gmail.com](mailto:Faghihi.nn76@gmail.com)

4. دانشیار گروه زیست شناسی (علوم گیاهی)، دانشکده علوم پایه، دانشگاه الزهرا(س)

[Kh.kiarostami@alzahra.ac.ir](mailto:Kh.kiarostami@alzahra.ac.ir)

### چکیده

گیاه بادرشبو (*Dracocephalum moldavica. L*) گیاهی علفی و یکساله از خانواده نعناعیان است. این گیاه با خاصیت آنتی اکسیدانی بالا، خواص درمانی بسیاری دارد. در پژوهش حاضر اثر محیط کشت، غلظت های مختلف هورمون 2,4-D و BAP و نوع ریزنمونه در نرخ کال زایی و محتوای ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی گیاه بادرشبو بررسی و مشخص شد که تیمار موثر بر درصد کالوس زایی در ریزنمونه ی برگ لپه ای با

غلظت 0/25 میلی گرم در لیتر 2,4-D و BAP بوده است. بررسی محتوای فنل و فلاونوئید در شرایط نشان داد که بیشترین میزان فنل در ریزنمونه برگ لپه ای در غلظت 0/5 میلی گرم در لیتر 2,4-D و BAP و بیشترین میزان فلاونوئید در شرایط نور ریزنمونه برگ در غلظت 0/5 میلی گرم در لیتر 2,4-D و BAP است. این شرایط می تواند پیشنهاد استفاده از غلظت تیمارهای هورمونی یاد شده را برای افزایش ترکیبات ثانویه با خاصیت آنتی اکسیدانی بالا ارائه دهد.

**واژه های کلیدی:** بادرشبو، تنظیم کننده های رشد، ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی، کشت درون شیشه ای

## مقدمه

گیاهان به عنوان منبع مهمی برای داروها، نقش کلیدی در سلامت مردم جهان دارند و بسیاری از مواد دارویی با ارزش جزء متابولیت های ثانویه گیاهان هستند (1). در برخی موارد سنتز مصنوعی این مواد مشکل است و یا اینکه تولید مصنوعی آن ها از لحاظ اقتصادی مقرون به صرفه نیست. در چنین مواردی، استفاده از کشت بافت و سلول گیاهی ابزار قدرتمندی برای تولید متابولیت های ثانویه محسوب می شود (2). برداشت مستمر گیاهان دارویی برای استخراج ترکیبات ارزشمند موجود در آن ها، علاوه بر آسیب به گیاهان، تاثیر سوئی بر جوامع گیاهی و زیستگاه آن ها دارد. از سویی، این ترکیبات ساختار پیچیده ای دارند و سنتز آن ها با استفاده از روش های شیمیایی پرهزینه و مشکل است، به همین علت، استفاده از روش های زیست فناوری کشت سلول و بافت گیاهی می تواند روش جایگزینی برای تولید این ترکیبات باشد (3). بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.) گیاهی است علفی و یکساله از خانواده نعنائیان تمامی اندام گیاه حاوی اسانس است و مقدار آن در قسمت های مختلف متفاوت است. گل و اندام رویشی بادرشبو (برگ ها و ساقه های جوان) دارای بیشترین درصد اسانس هستند. درصد اسانس بادرشبو متغیر بوده و به بخش های مختلف گیاه و عوامل اکولوژیکی بستگی دارد (4). اسانس بادرشبو دارای خاصیت ضد میکروبی و باکتریایی بوده و التیام دهنده زخم و جراحی ها است. اسانس این گیاه در صنایع داروسازی، آرایشی و بهداشتی، غذایی و عطرسازی، کاربردهای فراوانی دارد. این گیاه خاصیت آنتی اکسیدانی و ضد توموری دارد (5).

کشت کالوس از بافت های ساختاری ناهمگن ایجاد می شود. با این وجود، کالوس به اندازه کافی همگن است که امکان افزایش را برای تولید نسخه های یکسان از گیاهان با ویژگی های مورد نظر فراهم می کند. ترکیبات فنلی آنتی اکسیدانی ممکن است به عنوان اجزای مهارکننده رادیکال های آزاد یا کلات کننده یون های فلزی فعال در واکنش های احیا که قادر به کاتالیز پراکسیداسیون لیپیدها هستند، مصرف شوند (6). فلاونوئیدها یکی از بزرگترین گروه های ترکیبات طبیعی جزء ترکیبات فنلی هستند (7). به دلیل وجود فلاونوئید لوتولین در گیاه بادرشبو از آن برای درمان برونشیت های مزمن استفاده می شود (8). بیشترین و کمترین ترکیبات فنلی یافت شده در بادرشبو به ترتیب کافنیک اسید و وانیلیک اسید هستند. این گیاه یک آنتی اکسیدان طبیعی برای کاهش تنش اکسیداتیو در انسان است (9). در مطالعه ای بر روی خواص آنتی اکسیدانی گیاه بادرشبو نشان داده شد که عصاره آبی این گیاه با کمک اهداء الکترون می تواند موجب ختم واکنش های زنجیره ای رادیکال های آزاد شود. هم چنین عصاره آبی این گیاه موجب احیای یون  $Fe^{2+}$  و کلات شدن آن می شود. عصاره این گیاه دارای قابلیت تجزیه رادیکال های سنتزی و زیستی مانند یون سوپراکسید است و از فسفولیپیدها و کربوهیدرات ها در مقابل تجزیه شدن به وسیله ی رادیکال های هیدروکسیل حد واسط محافظت می کند (10). هدف از انجام این آزمایش بررسی سنجش ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی گیاه بادرشبو از کالوس های حاصل از تیمارهای هورمونی مختلف 2 و 4 دی کلروفونوکسی استیک اسید و بنزیل آمینوپورین است.

## مواد و روش ها

**آماده سازی مواد گیاهی:** بذرهای گیاه بادرشبو در مهر ماه سال 1402 از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه گردید. در ابتدا بذرها با مقداری ماده شوینده و آب مقطر شستشو داده شده و بعد از سترون سازی برای کشت بافت به کار رفتند.

**سترون سازی نمونه ها:** سترون سازی با فرو بردن بذرها به مدت 5 دقیقه در الکل 70 درصد، و شستشو با آب مقطر به مدت 5 دقیقه و سپس به مدت 15 دقیقه در هیپوکلریت سدیم 20 درصد و 3 بار شستشو با آب مقطر سترون انجام شد.

**عملیات کشت:** در بررسی حاضر، کشت دو نوع ریزنمونه در محیط کشت MS در تیمارهای هورمونی 2,4-D با 2 غلظت (0/25 و 0/5 میلی گرم در لیتر) و BAP با 3 غلظت (0، 0/25 و 0/5 میلی گرم در لیتر) به صورت آزمایش فاکتوریل و در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. به این منظور بعد از جوانه زنی بذرهای گیاه بادرشبو و تبدیل به گیاه کامل قسمت های برگ و برگ لپه ای توسط اسکالپل برش زده و به عنوان ریزنمونه در نظر گرفته شده است و در محیط کشت MS در غلظت های ذکر شده تیمارهای هورمونی 2,4-D و BAP قرار گرفتند و در اتاقک رشد با دمای  $25 \pm 2$  درجه سانتی گراد در شرایط روشنایی نگهداری شدند. در این مدت 2 بار عمل واکشت انجام شد. کالوس های حاصل پس از دو ماه برداشت شدند. کالوس های حاصل برای بررسی سنجش ترکیبات فنل و فلاونوئیدی ابتدا به مدت 4 ساعت در آون با دمای 70 درجه قرار گرفته و توسط ترازو وزن خشک آن ها اندازه گیری شد.

**تهیه عصاره از کالوس:** 0/1 گرم از پودر خشک کالوس با 5 میلی لیتر متانول 80% ساییده شد و پس از ریختن درون لوله آزمایش و بعد به مدت 90 دقیقه در بن ماری با درجه با دمای 70 درجه سانتی گراد قرار گرفت. سپس به مدت 10 دقیقه سانتریفیوژ شد. عصاره ی مورد نیاز برای سنجش میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی تهیه شد.

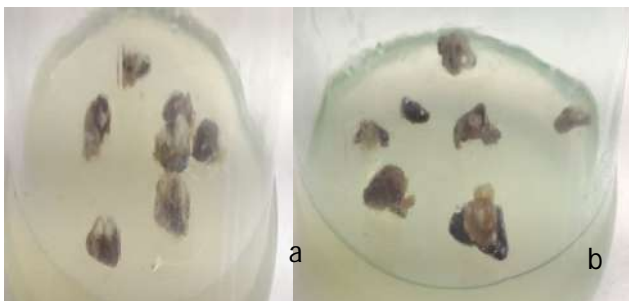
**سنجش ترکیبات فنلی:** 0/1 میلی لیتر از نمونه به همراه 1/8 میلی لیتر آب مقطر در یک لوله آزمایش مخلوط شدند، به مخلوط حاصل 2/5 میلی لیتر معرف فولن - سیوکالتو اضافه شد. بعد از 5 دقیقه 2 میلی لیتر محلول سدیم کربنات 7 درصد به لوله های آزمایش اضافه شد. برای هر نمونه سه تکرار در نظر گرفته شد. پس از یک ساعت وقفه، جذب نوری مخلوط واکنش با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل CECIL, CE1021) در طول موج 760 نانومتر اندازه گیری شد.

**سنجش ترکیبات فلاونوئیدی:** 0/1 میلی لیتر از عصاره با 0/1 میلی لیتر کلراید آلومینیوم 10 درصد و 0/1 میلی لیتر استات پتاسیم مخلوط شد و 2/8 میلی لیتر آب مقطر به آن اضافه گردید. پس از گذشت 30 دقیقه جذب در طول موج 415 نانومتر خوانده شد.

**آنالیز آماری:** پس از انجام آزمایشات اطلاعات (داده ها) مربوط به درصد کالوس زایی، وزن خشک و سنجش فنل و فلاونوئید محاسبه گردید. جهت رسم نمودار از نرم افزار Excel استفاده گردید. همچنین از نرم افزار SPSS ورژن 25 برای تجزیه واریانس دوطرفه و چند طرفه و میانگین داده ها و رتبه بندی میانگین ها از آزمون چند دامنه ای دانکن استفاده گردید.

## نتایج

نتایج حاصل از تحلیل واریانس داده ها در شرایط روشنایی نشان داد که اثر نوع ریزنمونه در شرایط نور در شاخص های نرخ کالوس زایی، وزن خشک معنی دار ( $P < 0/05$ ) بوده است و بر محتوای فنل و فلاونوئیدی معنی دار ( $P > 0/05$ ) نبوده است. همچنین اثر متقابل ریزنمونه و تیمار هورمونی بر چهار شاخص کالوس زایی، وزن خشک، فنل و فلاونوئید معنی دار ( $P < 0/05$ ) بوده است. هم چنین اثر تیمارها بر شاخص های کالوس زایی، وزن خشک کالوس و محتوای فلاونوئیدی معنی دار ( $P < 0/05$ ) بوده است و بر شاخص محتوای فنل معنی دار ( $P > 0/05$ ) نبوده است (جدول 1). کالوس های تشکیل شده در تیمارهای هورمونی اکسین و سیتوکینین حاصل از ریزنمونه های مختلف در شرایط روشنایی در شکل (1) نشان داده شده است که کالوس های حاصل شرایط روشنایی وضعیت شیشه ای و شفافیتی نداشتند. ارزیابی نرخ کال زایی در غلظت های مختلف هورمون 2,4-D و BAP در محیط MS در شرایط روشنایی نشان داد که در غلظت 0/5 میلی گرم در لیتر 2,4-D و BAP، در ریزنمونه برگ و غلظت 0/25 میلی گرم در لیتر 2,4-D و BAP بیشترین درصد کالوس زایی را داشتند. هم چنین در ریزنمونه برگ بیشترین درصد کالوس زایی (100 درصد) در غلظت 0/25 میلی گرم در لیتر 2,4-D در ترکیب با 0/5 میلی گرم در لیتر BAP بوده است. بررسی وزن خشک کالوس های حاصل در شرایط روشنایی نشان داد که کالوس های ریزنمونه برگ لپه ای در غلظت 0/5 میلی گرم در لیتر هورمون های 2,4-D و BAP بالاترین شاخص را داشتند. ریزنمونه برگ لپه ای با غلظت 0/5 میلی گرم در لیتر 2,4-D و BAP بیشترین میزان فنل را در شرایط نور داشت. هم چنین بیشترین میزان فلاونوئید در ریزنمونه برگ با غلظت 0/25 میلی گرم در لیتر هورمون های 2,4-D و BAP بوده است (شکل 2).



و 2,4-D 0/25 (a) ریزنمونه برگ (MS شکل 1- کالوس های حاصل از ریزنمونه ی برگ و برگ لپه ای در شرایط روشنایی در محیط کشت BAP و 2,4-D 0/5 (b) در غلظت 0/5 و BAP و ریزنمونه برگ لپه ای (BAP)

جدول 1- میانگین مربعات مربوط به برخی صفات کالوسهای حاصل از ریزنمونه و تیمارهای گیاه بادرشبودر شرایط نور

منبع تغییر	درجه آزادی	درصد کالوس زایی	وزن خشک کالوس	فنل	فلاونوئید
------------	------------	-----------------	---------------	-----	-----------





## بحث

اکسین و سیتوکینین به عنوان تنظیم کننده های رشد گیاهی، فاکتورهای کلیدی برای کنترل تقسیم سلولی در شرایط کشت بافت می باشند. استفاده از اکسین (2,4-D) و سیتوکینین (BAP) به منظور تولید کالوس در کشت بافت گیاهان زیادی گزارش شده است (11). نتایج این پژوهش نشان داد که در هر دو ریزنمونه (برگ و برگ لپه ای)، هرچند با افزایش غلظت هورمون 2,4-D درصد رشد و القای کالوس در شرایط نور و تاریکی نیز افزایش یافت. بررسی جنس های خانواده نعنائیان و تحقیق بر روی نعناع فلفلی مشخص کرد که این گیاه بیشترین کالوس زایی را در غلظت های متوسط 2,4-D دارد (12). در پژوهش محب الدینی و همکاران (1398) از غلظت 0/5 میلی گرم در لیتر هورمون BAP به همراه 0/5 میلی گرم در لیتر هورمون 2,4-D بیشترین کالوس زایی انجام شد (13). براساس نتایج Hung & Tasi (2004)، در شرایط درون شیشه ای رزماری، غلظت های 0/5 میلی گرم در لیتر از هر کدام از هورمون های BAP و 2,4-D در محیط کشت، بهترین نتیجه را در کالوس زایی داشتند (14). اثرات آنتی اکسیدانی مواد گیاهی تا حدودی به حضور ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی آن ها نسبت داده می شود که در تمام قسمت های مختلف گیاهی برگ، میوه، دانه، ریشه و پوست وجود دارند (15). ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی از جمله متابولیت های ثانویه آنتی اکسیدانی در گیاهان هستند که محتوای آن ها می تواند تحت تاثیر تنش های محیطی تغییر یابد. نور یکی از عوامل محیطی مهم بوده که در افزایش ترکیبات زیستی فعال در گیاهان تاثیر دارد. نور با اثر بر آنزیم های مسیر بیوستیزی متابولیت های ثانویه نظیر فنیل آلانین آمونیولیز (PAL) سبب تغییر محتوای متابولیت ها می شود (16). براساس پژوهش Shoja و همکاران (2022) نتایج نشان داده اند که بیشترین ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی روی محیط پایه با 0/5 میلی گرم در لیتر هورمون 2,4-D به همراه 0/5 میلی گرم در لیتر هورمون BAP، غلظت 0/5 میلی گرم در لیتر هورمون 2,4-D به همراه 1 میلی گرم در لیتر هورمون BAP بوده است (17).

## نتیجه گیری

گیاه بادرشبو از گیاهان دارویی مهم در درمان برخی برخی بیماری ها می باشد. نتایج این پژوهش به طور کلی نشان داد که اثرمتقابل تنظیم کننده های رشد و نوع جداکشت صفات مختلف کالوس زایی مانند درصد القای کالوس، وزن خشک کالوس، میزان فنل و فلاونوئید را تحت تاثیر قرار میدهد و میزان این تاثیر به نوع جداکشت و غلظت های مختلف تنظیم کننده های رشد بستگی دارد و کالوس زایی در گیاه بادرشبو نیازمند حضور هورمون های رشد است.

## منابع

1. Constabel, F. (1990). Biotechnology of medicinal plants. *Planta medica* , 56 (05), 421-425
2. Ravishankar, G. A. and Venkataraman, L. V. (1998) Rapid multiplication of plants from cultured axillary buds of *Mentha piperita*. *Philippine Journal of Science* 117(2): 121- 129.
3. Rao, S. R., & Ravishankar, G. A. (2002). Plant cell cultures: chemical factories of secondary metabolites. *Biotechnology advances*, 20(2), 101-153
4. Nasrabadi, B., Omid Baygi, R., and Sfidkon F. 2007. Effect of sowing time on biological growth yield and essential oil content in dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.). *Iran. J. Med. Arom. Plants.*, 23(3): 307- 314. (In Persian)

۵. **Hussein, M.S., El-Shrbeny, S.E., Khilil, M.Y., Naguib, N.Y., and Aly, S.M. 2006.** Growth characters and chemical constituents of *Dracocephalum moldavica* L. plants in relation to compost fertilizer and planting distance. *J. Sci. Hortic.*, 108: 322-331
۶. **Schroeter, H., Boyd, C., Spencer, J. P. E., Williams, R. J., Cadenas, E. and Rice-Evans, C. (2002)** MAPK signaling in neurodegeneration: influence of flavonoids and of nitric oxide. *Neurobiology of Aging* 23: 861-880
۷. **Thrugnanavel, A., Amutha, R., Baby Rani, W., Indira, K., Mareeswari, P., Muthulaksmi, S. and Parthiban, S. (2007)** Studies regulation of flowering in acid lime (*Citrus aurantifolia* swingle.). *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences* 3(4): 239-241
۸. **Mehrabani, M., Roholahi, S., and Foruomadi, A. 2005.** Phytochemical studies of *Dracocephalum polychaetum* Bornm. *Journal of Medicine Plants*, 4 (16):36-42
۹. **ASLANIPOUR B., HEIDARI R., FARNAD N. (2017)** Phenolic combination and comparison of antioxidant activity in three different alcoholic extracts of *Dracocephalum moldavica* L. *Turkish Journal of Agriculture – Food Science and Technology*, 5:199-206
۱۰. **Babalar, M., Mohtashami, S., Ebrahimzadeh Musavi, S.M. and Mirjalili, M.H. 2014.** The effect of different packaging methods on quantitative and qualitative characteristics of Dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 30(1): 142-156
۱۱. **Khorrami Raad, M., Bohluli Zanjani, S., Ramezani Sayyad, A., Maghsudi, M., and Kaviani, B. 2012.** Effect of cultivar, type and age of explants, light conditions and plant growth regulators on callus formation of anthurium, americaneurasian. *AmericanEurasian Journal of Sustainable Agriculture*. 12(6): 706-7
۱۲. **Ebrahimi M (1996)** Embryogenesis in peppermint plant and determine the amount of menthol in laboratory cultures. M.Sc. thesis. Tarbiat Moallem University (In Persian)
۱۳. **محب الدینی, میرزاده قصابه, رعنا, بهنامیان, چمنی و فتحی. (2019).** بررسی اثر تنظیم کننده های رشد گیاهی بر ریزازدیادی و باززایی *Thymus daenensis* *Clake* (پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی. 11(31), 124-133.
۱۴. **Huang, P.L. and Tsai, C.C. (2004).** Micropropagation and cell suspension culture of *Rosmarinus officinalis*. *Research Bulletin of Kaohsiung District Agricultural Research and Extension Station*, 15(2): 33-43
۱۵. **Wolniak, M., Tomczykowa, M., Tomczyk, M., Gudej, J. and Wawer, I. 2007,** Antioxidant activity of extracts and flavonoids from *Bidens 186*ripartite. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 64(5):441-447
۱۶. **Azad, M. O. K., et al., “Effect of artificial LED light and FAR infrared irradiation on phenolic compound, isoflavones and antioxidant capacity in soybean (*Glycine max* L.) sprout”. *Foods*, Vol. 7, 2018, pp. 1-10.**
۱۷. **Shoja, A. A., Çirak, C., Ganjeali, A., & Cheniany, M. (2022).** Stimulation of phenolic compounds accumulation and antioxidant activity in in vitro culture of *Salvia tebesana* Bunge in response to nano-TiO<sub>2</sub> and methyl jasmonate elicitors. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 149(1-2), 423-440.

## Assessment of phenolic and flavonoid compounds in 2,4 D and BAP hormone treatments from different explants of *Dracocephalum moldavica*. L

Narges Faqhei<sup>1</sup>, Zahra Nazim Bekai<sup>2</sup>, Khadijah Kiarostami<sup>2</sup>, Munir Hosseinzadeh Namin<sup>2</sup>

1. Master student of Plant Physiology, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Al-Zahra University

[Faghihi.nn76@gmail.com](mailto:Faghihi.nn76@gmail.com)

2. Assistant Professor, Department of Biology (Plant Sciences), Faculty of Basic Sciences, Al-Zahra University (S)

## Abstract

*Dracocephalum moldavica* (*Dracocephalum moldavica*. L) is a herbaceous and annual plant of the mint family. This plant has many healing properties with high antioxidant properties. In the present study, the effect of culture medium, different concentrations of 2,4-D and BAP hormone and the type of explant on callus formation rate and the content of phenolic and flavonoid compounds of dracocephalum moldavica plant were investigated and it was found that the treatment was effective on the percentage of callus formation in cotyledon leaf explants. It was with a concentration of 0.25 mg/l of 2,4-D and BAP. The investigation of the phenolic and flavonoid content in the conditions showed that the highest amount of phenolic in the cotyledon leaf explant at a concentration of 0.5 mg/l of 2,4-D and BAP and the highest amount of flavonoid in the light condition of the leaf explant at the concentration of 0.5 mg/l is 2,4-D and BAP. These conditions can suggest using the concentration of the mentioned hormonal treatments to increase the secondary compounds with high antioxidant properties.

**Keywords:** *Dracocephalum moldavica*, growth regulators, phenolic and flavonoid compounds, in vitro culture

## تأثیر تیمار اسیدآگزالیک بر حفظ کیفیت پس از برداشت میوه زالزالک

### (*Crataegus monogyna*)

ولی ربیعی<sup>1\*</sup>، علی سلیمانی<sup>1</sup>، ساناز مولائی<sup>1</sup>، سید رئوف حسینی<sup>1</sup>

دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم باغبانی، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

استاد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

دانش آموخته دکتری علوم باغبانی، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

\*نویسنده مسئول: rabiei@znu.ac.ir

## چکیده

میوه زالزالک از لحاظ تغذیه‌ای بسیار غنی بوده، اما به دلیل ماندگاری پایین عرضه و بازاریابی آن با مشکلاتی مواجه است. هدف از این پژوهش بررسی اثر تیمار اسیدآگزالیک بر کیفیت تغذیه‌ای و ظاهری میوه زالزالک طی 20 روز انبارمانی در دمای صفر درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی 90 درصد بود. این مطالعه به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام پذیرفت. تیمارهای مورد مطالعه شامل اسیدآگزالیک 5 و 10 میلی‌مولار و آب مقطر به عنوان شاهد بود و صفات مورد نظر در فواصل زمانی 5، 10، 15 و 20 روز انبارمانی ارزیابی شدند. نتایج به دست آمده نشان داد میزان ترکیبات فنولی کل و فلاونوئید در میوه‌های تحت تیمار اسیدآگزالیک نسبت به میوه‌های شاهد به طور معنی داری بالاتر بود و در پایان 20 روز انبارمانی در دمای صفر درجه سانتی‌گراد در میوه‌های تیمار شده با اسیدآگزالیک 10 میلی‌مولار به ترتیب به  $59/1 \text{ mg GAE } 100\text{g}^{-1}$  و  $14/6 \text{ mg QE } 100\text{g}^{-1}$  رسید. این تیمار همچنین سبب افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و میزان آنتوسیانین میوه‌های تیمار شده طی دوره انبارمانی شد. همچنین، این تیمار سطح مالون‌دی‌آلدهید (به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدهای غشا) و نشأت الکتروولیت را به خوبی کنترل نموده است. در نتیجه می‌توان اظهار نمود که تیمار اسیدآگزالیک به طور موثر سبب افزایش و حفظ کیفیت تغذیه‌ای میوه زالزالک طی دوره انبارمانی شده

است، از این رو کاربرد این تیمار به عنوان یک ترکیب طبیعی، ایمن و دوستدار محیط زیست جهت افزایش تحمل به تنش سرمایی و حفظ خواص کیفی میوه زالزالک طی انبارمانی توصیه می‌گردد.

**واژگان کلیدی:** انبارمانی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، ترکیبات فنولی، تیمار پس از برداشت

## مقدمه

زالزالک با نام علمی *Crataegus monogyna* درختی خزان کننده متعلق به خانواده روزاسه<sup>16</sup> می‌باشد. زالزالک به طور گسترده در مناطق معتدله و سردسیری در سراسر جهان رشد می‌کند. مرکز تنوع ژنتیکی زالزالک از ترکیه تا ایران متغیر است. این میوه فرازگرا بوده و پس از برداشت در معرض تغییرات نامطلوب ناشی از ناپهنجاری‌های فیزیولوژیکی و فعالیت‌های آنزیمی قرار دارد. از آنجایی که عمر کوتاه پس از برداشت محدودیتی برای توزیع و بازاریابی میوه زالزالک است، استفاده از فناوری‌های سازگار با محیط زیست مانند نگهداری در سردخانه برای حفظ کیفیت، به تأخیر انداختن پیری و افزایش ماندگاری میوه زالزالک توصیه شده است. بسیاری با این حال، آسیب سرمازدگی میوه که به وسیله حفره‌ای شدن سطح میوه آشکار می‌شود، یک محدودیت غالب برای استفاده از انبار سرد است. این تغییرات را نمی‌توان به طور کامل متوقف نمود اما با به کارگیری برخی تیمارها و فن‌آوری‌های پس از برداشت می‌توان این تغییرات را تا حد امکان کنترل نمود. یکی از تیمارهای پیشنهاد شده جهت اعمال پیش و پس از برداشت در محصولات، اسیدآگزالیک می‌باشد، این ترکیب یک اسید آلی بوده که به طور گسترده در در گیاهان تولید شده و به عنوان یک ترکیب ایمن شناخته شده است. مطالعات اخیر نشان داده که اسیدآگزالیک نقش مهمی را در پاسخ به تنش و القای مقاومت سیستمیک ایفا می‌کند (1). کاربرد پیش و پس از برداشت اسیدآگزالیک جهت افزایش ماندگاری و حفظ کیفیت پس از برداشت میوه‌ها و سبزی‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفته است. در میوه گیلاس تیمار اسیدآگزالیک سبب افزایش محتوای ترکیبات فنولی، آنتوسیانین و فعالیت آنتی‌اکسیدانی طی دوره انبارمانی شده است (2). در میوه هلو نیز استفاده پس از برداشت اسیدآگزالیک به طور معنی‌داری موجب افزایش میزان فنول کل، فلاونوئیدها و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی طی دوره انبارمانی شد (3). از این رو هدف از مطالعه اخیر، ارزیابی تاثیر تیمار پس از برداشت اسیدآگزالیک بر حفظ کیفیت ظاهری و تغذیه‌ای میوه انار طی دوره 20 روز انبارمانی در دمای صفر درجه سانتی‌گراد می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

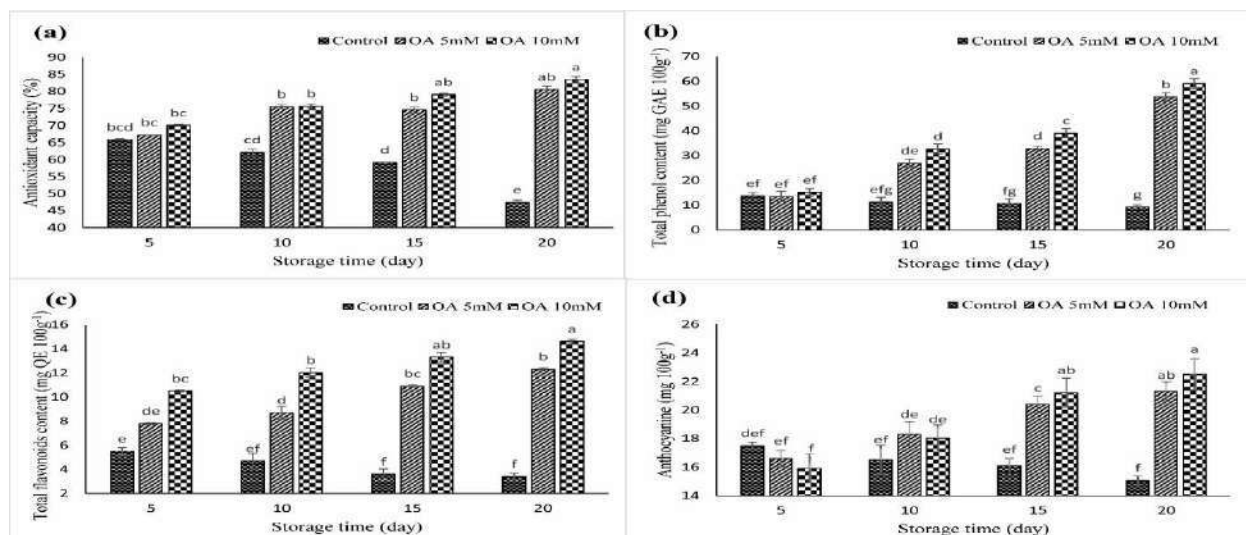
در این مطالعه میوه‌های بالغ زالزالک از یک باغ در توابع سقز، استان کردستان جمع‌آوری و به آزمایشگاه فیزیولوژی پس‌از برداشت دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان منتقل شد. میوه‌ها پس از تیمار با اسیدآگزالیک (5 و 10 میلی مولار)، بسته‌بندی شده و برای نگهداری به سردخانه‌ای با دمای صفر درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی 90 درصد منتقل گردید. نمونه‌برداری در فواصل زمانی 5، 10، 15 و 20 روز نگهداری در سردخانه انجام گرفت. جهت اندازه‌گیری فنول کل روش ارائه شده توسط (4) مورد استفاده قرار گرفت. برای تعیین میزان فلاونوئید کل از روش اسپکتروفتومتریک استفاده شد (5). اندازه‌گیری میزان آنتوسیانین با استفاده از روش

<sup>16</sup> Rosaceae

تفاوت pH انجام شد (6) و برای سنجش ظرفیت آنتی اکسیدانی روش DPPH مورد استفاده قرار گرفت (7). در نهایت برای اندازه گیری مالون دی آلدئید از روش تیوباربیوتیک اسید (8) و جهت اندازه گیری نشت یونی روش توصیف شده توسط (9) مورد استفاده قرار گرفت. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی انجام گرفته و نتایج به دست آمده از آزمایش ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه 22 آنالیز شده و مقایسه میانگین ها نیز توسط آزمون دانکن در سطح احتمال 5 درصد انجام گردید.

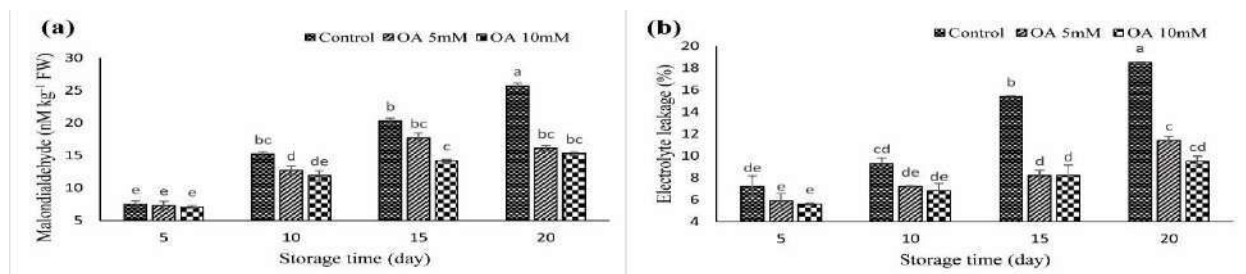
## نتایج و بحث

نتایج نشان دهنده روند صعودی ملایمی در ظرفیت آنتی اکسیدانی در میوه های تیمار شده بود، اما این روند در میوه های شاهد به صورت نزولی بوده و در پایان دوره انبارمانی بالاترین (83/6 درصد) ظرفیت آنتی اکسیدانی به میوه های تیمار شده با اسیدآگزالیک 10 میلی مولار تعلق داشت (شکل 1 (a)). میزان فنول کل در میوه های تیمار شده طی 20 روز انبارمانی دارای روند صعودی می باشد اما در میوه های شاهد میزان فنول کل طی انبارمانی روند نزولی خفیفی را نشان داده است. در پایان دوره انبارمانی کمترین میزان ( $9/2 \text{ mg GAE } 100\text{g}^{-1}$ ) فنول کل مربوط به میوه های شاهد بود و بالاترین محتوای فنول کل ( $59/1 \text{ mg GAE } 100\text{g}^{-1}$ ) نیز در میوه های تیمار شده با اسیدآگزالیک 10 میلی مولار مشاهده شد (شکل 1 (b)). داده های حاصل از ارزیابی میزان فلاونوئید نشان دهنده افزایش محتوای این پارامتر در میوه های تیمار شده طی انبارمانی می باشد، بیشترین ( $14/6 \text{ mg QE } 100\text{g}^{-1}$ ) و کمترین ( $3/4 \text{ mg QE } 100\text{g}^{-1}$ ) میزان فلاونوئید در پایان انبارمانی به ترتیب مربوط به میوه های تیمار شده با اسیدآگزالیک 10 میلی مولار و میوه های شاهد بود (شکل 1 (c)). با توجه به شکل 1 (d) میزان آنتوسیانین در میوه های تیمار شده برعکس میوه های شاهد، صعودی بوده و در پایان 20 روز انبارمانی بالاترین ( $22/5 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$ ) محتوای آنتوسیانین در میوه های تیمار شده با اسیدآگزالیک 10 میلی مولار مشاهده شد.



شکل 1. تغییرات ظرفیت آنتی اکسیدانی (a)، محتوای فنول کل (b)، محتوای فلاونوئید کل (c) و محتوای آنتوسیانین (d)، میوه زالزالک در پاسخ به کاربرد پس از برداشت اسیدآگزالیک در طول نگهداری به مدت 20 روز در دمای صفر درجه سانتی گراد. حروف مختلف نشان دهنده معنی دار بودن اختلاف میانگین ها در سطح  $P \leq 0/05$ . خطوط عمودی نشانگر خطای استاندارد میانگین ها (SE) می باشد.

تجمع مالون‌دی‌آلدهید و میزان نشت یونی در میوه‌های تیمار شده و شاهد روند صعودی داشت، اما در میوه‌های تیمار شده، شیب این روند کندتر بوده و از افزایش زیاد این دو فاکتور جلوگیری به عمل آمده است. در پایان 20 روز انبارمانی بیشترین تجمع ملون‌دی‌آلدهید ( $25/7 \text{ nM kg}^{-1} \text{ FW}$ ) و میزان نشت یونی (18/5 درصد) مربوط به میوه‌های شاهد بوده و کمترین مقدار هر دو فاکتور در میوه‌های تیمار شده با اسیدآزالیک 10 میلی‌مولار مشاهده شده است (شکل 2 (a,b)).



شکل 2. تغییرات تجمع مالون‌دی‌آلدهید (a) و نشت یونی (b)، میوه زالزالک در پاسخ به کاربرد پس از برداشت اسیدآزالیک در طول نگهداری به مدت 20 روز در دمای صفر درجه سانتی‌گراد. حروف مختلف نشان‌دهنده معنی‌دار بودن اختلاف میانگین‌ها در سطح  $P \leq 0/05$ . خطوط عمودی نشانگر خطای استاندارد میانگین‌ها (SE) می‌باشد.

سیستم آنتی‌اکسیدانی در گیاهان مسئول حذف  $\text{ROS}^{17}$  بوده که نقش حیاتی در مقابله گیاه با تنش‌های اکسیداتیو دارد. سیستم آنتی‌اکسیدانی دارای اجزای آنزیمی و غیر آنزیمی جهت حذف ROSها می‌باشد. فنول‌ها یکی از مهمترین اجزای تشکیل دهنده سیستم آنتی‌اکسیدانی میوه‌ها و سبزی‌ها می‌باشد. فلاونوئیدها نیز از مهمترین ترکیبات فنولی و یکی از اجزای غیر آنزیمی سیستم آنتی‌اکسیدانی هستند که مسئول دریافت الکترون بوده و می‌توانند به طور مستقیم در حذف ROSها مشارکت کنند. آنتوسیانین نیز نیز به عنوان یکی از اجزای ترکیبات فنولی مسئول ایجاد رنگ قرمز-آبی در بسیاری از میوه‌ها و سبزی‌ها می‌باشد و اثرات مثبتی بر سلامتی انسان دارد. یکی از مهمترین ویژگی‌های بیولوژیکی ترکیبات فنولی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. افزایش میزان ترکیبات فنولی در طول دوره نگهداری در سردخانه نشان‌دهنده تداوم بیوسنتز مثبتی بر فعالیت بالای آنزیم‌های مسیر سنتز این ترکیبات پس از برداشت می‌باشد (3). نشت یونی یک پارامتر موثر برای سنجش تمامیت غشای سلولی است، بنابراین به عنوان شاخص یکپارچگی غشا در نظر گرفته می‌شود. آسیب به غشای سلولی مهمترین نتیجه سرمازدگی به عنوان یکی از تنش‌های اکسیداتیو است که منجر به آسیب به ساختار سلولی، افزایش نشت یونی و پراکسیداسیون لیپیدها می‌شود (10). میزان تجمع مالون‌دی‌آلدهید به عنوان محصول نهایی پراکسیداسیون لیپیدها، شاخصی برای ارزیابی میزان پراکسیداسیون لیپیدها و آسیب غشای سلولی است. حفظ ساختار غشای سلولی می‌تواند موجب افزایش تحمل به سرما در میوه‌های انبارشده در دمای پایین شود (1). با توجه به مسائل بیان شده در مورد تأثیر اسیدآزالیک در کاهش میزان نشت یونی و مالون‌دی‌آلدهید که نشان‌دهنده حفظ تمامیت و کاهش آسیب غشای سلولی است و همچنین تأثیر مثبت بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی، به احتمال زیاد کاهش میزان سرمازدگی در نمونه‌های تیمار شده می‌تواند به دلیل افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و حفظ تمامیت غشای سلولی باشد.

<sup>17</sup>Reactive oxygen species

## نتیجه گیری

تیمار پس از برداشت میوه زالزالک با اسیدآگزالیک به طور کلی سبب حفظ ویژگی‌های کیفی و تغذیه‌ای میوه در طول 20 روز انبارمانی در دمای صفر درجه سانتی‌گراد شد. کاربرد این تیمار موجب کاهش علائم سرمازدگی و حفظ کیفیت میوه‌های تیمار شده گشت که این مسئله با سطوح پایین مالون‌دی‌آلدهید، نشت یونی و سطوح بالای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، فنول کل، فلاونوئیدها و آنتوسیانین همراه بود.

## منابع و مراجع مورد استفاده

- 1. Razavi, F., Mahmoudi, R., Rabiei, V., Aghdam, M.S. and Soleimani, A., 2018.** Glycine betaine treatment attenuates chilling injury and maintains nutritional quality of hawthorn fruit during storage at low temperature. *Scientia Horticulturae*, 233, pp.188-194.
- 2. Valero, D., Diaz-Mula, H.M., Zapata, P.J., Castillo, S., Guillen, F., Martínez-Romero, D. and Serrano, M., 2011.** Postharvest treatments with salicylic acid, acetylsalicylic acid or oxalic acid delayed ripening and enhanced bioactive compounds and antioxidant capacity in sweet cherry. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(10), pp.5483-5489.
- 3. Razavi, F. and Hajilou, J., 2016.** Enhancement of postharvest nutritional quality and antioxidant capacity of peach fruits by preharvest oxalic acid treatment. *Scientia Horticulturae*, 200, pp.95-101.
- 4. Singleton, V.L. and Rossi, J.A., 1965.** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), pp.144-158.
- 5. Zhishen, J., Mengcheng, T. and Jianming, W., 1999.** The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food chemistry*, 64(4), pp.555-559.
- 6. Giusti, M. M. and Wrolstad, E., 2001.** Anthocyanins. Characterization and Measurement with UV-visible Spectroscopy. pp. F1.2.1–F1.2.13. In: Wrolstad, E. (ed). *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. Wiley, New York.
- 7. Dehghan, G. and Khoshkam, Z., 2012.** Tin (II)-quercetin complex: Synthesis, spectral characterisation and antioxidant activity. *Food Chemistry*, 131(2), pp.422-426.
- 8. Hodges, D.M., Lester, G.E., Munro, K.D. and Toivonen, P.T.A., 2004.** Oxidative stress: importance for postharvest quality. *HortScience*, 39(5), p.924.
- 9. Mirdehghan, S.H., Rahemi, M., Castillo, S., Martínez-Romero, D., Serrano, M. and Valero, D., 2007.** Pre-storage application of polyamines by pressure or immersion improves shelf-life of pomegranate stored at chilling temperature by increasing endogenous polyamine levels. *Postharvest Biology and Technology*, 44(1), pp.26-33.
- 10. Rasouli, M., Saba, M.K. and Ramezani, A., 2019.** Inhibitory effect of salicylic acid and Aloe vera gel edible coating on microbial load and chilling injury of orange fruit. *Scientia Horticulturae*, 247, pp.27-34.





## اثرات کاربرد برگی سالیسیلیک اسید بر فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه گندم و تریتیکاله در

### شرایط تنش شوری

محمد حسین آذرگون<sup>1</sup>، وحید براتی<sup>2\*</sup>، احسان بیژن زاده<sup>2</sup>، حمیدرضا بوستانی<sup>3</sup>

<sup>1</sup> دانشجوی کارشناسی ارشد بخش آگرواکولوژی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی داراب، دانشگاه شیراز، داراب، ایران.

<sup>2</sup> بخش آگرواکولوژی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی داراب، دانشگاه شیراز، داراب، ایران.

<sup>3</sup> بخش علوم خاک، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی داراب، دانشگاه شیراز، داراب، ایران.

\* نویسنده مسئول، پست الکترونیکی: [y.barati@shirazu.ac.ir](mailto:y.barati@shirazu.ac.ir)

#### چکیده :

با توجه به اهمیت گندم و تریتیکاله و لزوم کاهش اثرات تنش شوری در این گیاهان کاربرد مواد کاهنده تنش مانند سالیسیلیک اسید ضروری به نظر می‌رسد. در این راستا آزمایشی به منظور بررسی اثر سالیسیلیک اسید بر فعالیت آنزیم کاتالاز در گندم و تریتیکاله در شرایط تنش شوری در سال زراعی 1401-1402 در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی داراب اجرا شد. آزمایش بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. فاکتورها شامل نوع گیاه (گندم و تریتیکاله)، کاربرد برگی سالیسیلیک اسید (0 و 0/5 و 1 و 1/5 میلی مولار)، شوری (0 و 12 دسی زیمنس برمتر) بود. تنش شوری سبب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به شرایط مطلوب شد. اما، این افزایش در گیاه تریتیکاله نسبت به گندم بیشتر بود. بیشترین مقدار فعالیت آنزیم کاتالاز در شرایط تنش شوری و کاربرد 1 میلی مولار سالیسیلیک اسید بدست آمد.

**کلمات کلیدی :** تنش شوری، سالیسیلیک اسید، گندم، تریتیکاله، فعالیت آنزیم کاتالاز

#### مقدمه

با توجه به اهمیت گندم و تریتیکاله و لزوم کاهش سطح تنش شوری در این گیاهان، کاربرد مواد کاهنده سطح تنش مانند سالیسیلیک اسید ضروری به نظر می‌رسد. تنش‌های محیطی از عوامل اصلی کاهنده عملکرد غلات در مناطق جنوبی ایران به شمار می‌روند. تریتیکاله گیاهی جدید و ساخته دست بشر است که از تلاقی گندم (والد ماده) و چاودار (والد نر) بوجود آمده است. این گیاه بدلیل صفات مطلوب گندم (پتانسیل زیاد تولید محصول و کیفیت مطلوب دانه) و صفات مطلوب چاودار (تحمل به تنش‌های زیستی و غیر زیستی) موفق‌ترین گیاه ساخت دست بشر می‌باشد (5). از اینرو، این گیاه می‌تواند جایگزین مناسبی برای گندم در مناطق جنوبی ایران باشد. شوری آب و خاک یکی از تنش‌های جدی در کشاورزی است که میزان تولید محصول را تحت تأثیر خود قرار داده است (4). برخی از پژوهش‌ها (3) نشان داده‌اند که کاربرد سالیسیلیک اسید در بروز واکنش مناسب گیاهان به تنش‌های محیطی همانند شوری و خشکی نقش مهمی دارد. بنابراین، با توجه به اهمیت گندم و تریتیکاله در مناطق جنوبی ایران و نیاز به اقداماتی جهت کاهش اثرات نامطلوب تنش شوری، کاربرد موادی مانند سالیسیلیک اسید ضروری به نظر می‌رسد. در این راستا هدف از

انجام این آزمایش بررسی اثر کاربرد برگی سالیسیلیک اسید بر فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه گندم و تریپتیکاله تحت شرایط تنش شوری بود.

### مواد و روش‌ها

این آزمایش بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. فاکتورها شامل نوع گیاه (گندم رقم، مهرگان و تریپتیکاله رقم، هاشمی)، کاربرد برگی سالیسیلیک اسید (0 و 0/5 و 1 و 1/5 میلی مولار)، شوری (0 و 12 دسی زیمنس برمتر) بود. تعداد 10 عدد بذر بعد از ضدعفونی کردن در گلدانهای 5 کیلوگرمی کاشته شده که در مرحله 3 برگی به 5 عدد تنک گردید. سالیسیلیک اسید به صورت محلول پاشی برگی در دو مرحله پنجه زنی و گلدهی و شوری هم طی 4 مرحله تا رسیدن به شوری مورد نظر در مرحله پنجه زنی اعمال شد. تجزیه آماری داده ها به روش تجزیه واریانس با استفاده از نرم افزار SAS 9.4 صورت گرفت و میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال 5 درصد مقایسه شدند.

### نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که برهمکنش تیمار شوری و گیاه زراعی در سطح احتمال 5 درصد بر فعالیت آنزیم کاتالاز معنی‌دار بود (جدول 1). بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز (1/920 واحد در دقیقه در گرم وزن تر) در گیاه تریپتیکاله در شرایط تنش شوری و کمترین فعالیت آنزیم کاتالاز (1/058 واحد در دقیقه در گرم وزن تر) در گیاه گندم در شرایط مطلوب مشاهده گردید (شکل 1). با بررسی بیشتر این برهمکنش مشخص گردید که شوری باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه گندم و تریپتیکاله به ترتیب به مقدار 47/2 و 61/30 درصد نسبت شاهد گردید (شکل 1). به طور کلی، گیاه تریپتیکاله نسبت به گندم دارای رشد بهتر و عملکرد بالاتری بود (داده‌ها نشان داده نشده است) و در شرایط تنش نیز سطح فعالیت آنزیم کاتالاز به عنوان کاهش دهنده رادیکال های آزاد اکسیژن نسبت به گندم افزایش بیشتری داشت. گیاهان با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان تحت تنش شوری، انواع اکسیژن فعال را کنترل می کنند و تحمل به تنش را افزایش می دهند (1).

جدول 1 - نتایج حاصل از تجزیه واریانس فعالیت آنزیم کاتالاز.

منبع تغییرات	درجه آزادی	فعالیت آنزیم کاتالاز (واحد در دقیقه در گرم وزن تر)
تنش شوری	1	4/57**
گیاه زراعی	1	0/722**
سالیسیلیک اسید	3	0/424**
شوری × گیاه زراعی	1	0/146*
شوری × سالیسیلیک اسید	3	0/074*
گیاه زراعی × سالیسیلیک اسید	3	0/029 <sup>NS</sup>

0/011<sup>NS</sup>

3

شوری × گیاه زراعی × سالیسیلیک اسید

10/74

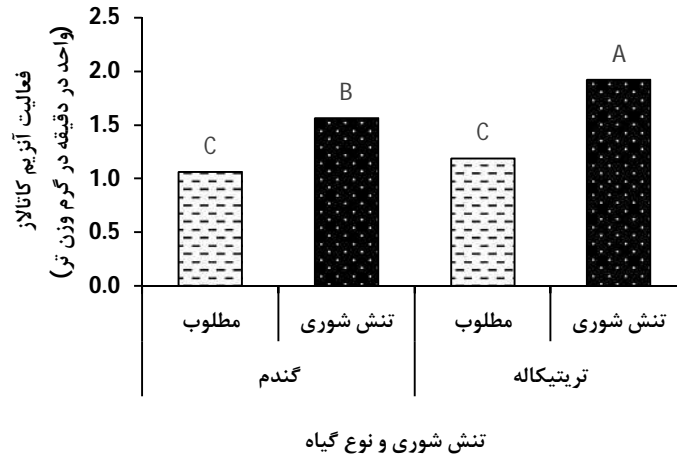
ضرب تغییرات

\*\* معنی داری در سطح احتمال 1 درصد. \* معنی داری در سطح احتمال 5 درصد. NS عدم معنی داری.

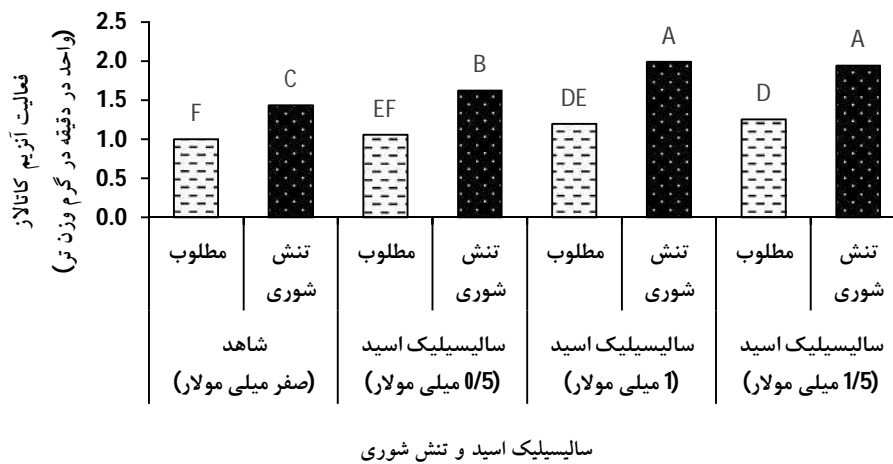
نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس نشان داد که برهمکنش تیمار شوری و سالیسیلیک اسید در سطح احتمال 5 درصد بر فعالیت آنزیم کاتالاز معنی دار بود (جدول 1). بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز (1/985 واحد در دقیقه در گرم وزن تر) در تیمار 1 میلی مولار سالیسیلیک اسید و شرایط تنش شوری و کمترین فعالیت آنزیم کاتالاز (1 واحد در دقیقه در گرم وزن تر) در تیمار صفر سالیسیلیک اسید و شرایط مطلوب مشاهده گردید (شکل 2). با مقایسه سطوح سالیسیلیک اسید مشخص گردید که اعمال شوری باعث افزایش معنی دار فعالیت آنزیم کاتالاز در سطوح 0 و 0/5 و 1 و 1/5 میلی مولار به ترتیب به میزان 43 و 52/8 و 65/8 و 55/2 درصد نسبت شاهد گردید (شکل 2). سالیسیلیک اسید ترکیب فنلی داشته و دارای خاصیت آنتی اکسیدانی می باشد که با تاثیر بر فعالیت آنزیمهای کاتالاز و پراکسیداز آثار ناشی از تنش شوری را می کاهد (2).

### نتیجه گیری

تنش شوری سطح فعالیت آنزیم کاتالاز را به طور معنی داری در گیاه گندم و تریتیکاله افزایش داد. اما، این افزایش در گیاه تریتیکاله بیشتر بود. این افزایش بیشتر در گیاه تریتیکاله نشان از پتانسیل بالاتر این گیاه در مقابله با تنش شوری در مقایسه با گندم است. با کاربرد سالیسیلیک اسید به مقدار 1 میلی مولار در شرایط تنش شوری بیشترین سطح فعالیت آنزیم کاتالاز رخ داد. بنابراین، استفاده از گیاه تریتیکاله در شرایط تنش شدید شوری (12 دسی زیمنس بر متر) و همزمان کاربرد برگی 1 میلی مولار سالیسیلیک اسید سبب کاهش موثر سطح تنش شوری شده و از اینرو قابل توصیه است.



شکل 1- اثر برهمکنش تنش شوری × نوع گیاه بر فعالیت آنزیم کاتالاز. میانگین‌های با حروف مشابه بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن (DMRT) شکل 1-، تنش شوری: 12 دسی زیمنس بر متر ( $0 \text{ dSm}^{-1}$ ) تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال 5 درصد ندارند. مطلوب: بدون تنش شوری ( $12 \text{ dSm}^{-1}$ ).



شکل 2- اثر برهمکنش تنش شوری × سالیسیلیک اسید بر فعالیت آنزیم کاتالاز. میانگین‌های با حروف مشابه بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن (DMRT) شکل 2-، تنش شوری: 12 دسی زیمنس بر متر ( $0 \text{ dSm}^{-1}$ )، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال 5 درصد ندارند. مطلوب: بدون تنش شوری ( $12 \text{ dSm}^{-1}$ ).

## منابع و مراجع مورد استفاده

- 1- Demiral, T. and Turkan, I., 2005. Comparative lipid peroxidation, antioxidant defense systems and proline content in roots of two rice cultivars differing in salt tolerance. *Environmental and Experimental Botany*, 53 (3), pp. 247-257.
- 2- El-Tayeb, M. A., 2005. Response of barley grains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. *Plant growth regulation*, 45(3), pp. 215-224.
- 3- Hayat, S., Ali, B., & Ahmad, A., 2007. Salicylic acid, biosynthesis, metabolism and physiological role in plants. In *Salicylic acid: A plant hormone*. Springer, Dordrecht, pp.1-14.
- 4- Lobell, D. B., & Asner, G. P., 2003. Climate and management contributions to recent trends in U. S. *Agricultural yields Science*, 299 (5609), 1032.

- 5- Mergoum, M. and Gomez, H., 2009. Triticale improvement and production. *FAO Plant Production and Protection*, 11, pp. 123-145.

## Effects of foliar application of salicylic acid on catalase activity of wheat and triticale under salinity stress

Mohammad Hossein Azargoon<sup>1</sup>, Vahid Barati<sup>2\*</sup>, Ehsan Bijanzadeh<sup>2</sup>, Hamid Reza Boostani<sup>3</sup>

<sup>1</sup> MSc student, Department of Agroecology, College of Agriculture and Natural Resources of Darab, Shiraz University, Darab, Iran.

<sup>2</sup> Department of Agroecology, College of Agriculture and Natural Resources of Darab, Shiraz University, Darab, Iran.

<sup>3</sup> Department of Soil science, College of Agriculture and Natural Resources of Darab, Shiraz University, Darab, Iran.

\* Corresponding Author, Email: [v.barati@shirazu.ac.ir](mailto:v.barati@shirazu.ac.ir)

### Abstract

With respect to necessity of decreasing the negative effects of saline stress in wheat and triticale, it seems using of alleviated saline stress substances such as salicylic acid is crucial. Therefore, a greenhouse experiment was conducted to investigate the effect of salicylic acid on catalase activity of wheat and triticale in 1401-1402 growing season in the college of Agriculture and Natural Resources of Darab – Shiraz University. The experiment was conducted as factorial in the form of a completely randomized design in three replicates. Factors included plant type (wheat and triticale), foliar application of salicylic acid (0, 0.5, 1.5 and 1 mM) and salinity (0 and 12 dSm<sup>-1</sup>). The salinity stress caused increasing catalase activity as compared to normal condition. However, the increment was higher in triticale as compared to wheat. The highest value of catalase activity was achieved under saline stress via 1mM salicylic acid foliar application.

**Keywords:** Salinity stress, salicylic acid, wheat, triticale, catalase.

## اثر تنش کم آبی و محلول پاشی متانول بر کلروفیل گندم دوروم

احمد درگاهی<sup>1</sup>، احمد کوچک زاده<sup>2\*</sup>، سید عطااله سیادت<sup>3</sup>، محمد رضا مرادی تلاوت<sup>2</sup>

1- دانش آموخته کارشناسی ارشد زراعت گروه تولید و ژنتیک گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان

2- دانشیار رشته زراعت گروه تولید و ژنتیک گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان

3- استاد رشته زراعت گروه تولید و ژنتیک گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان

\*[koochekzadeh@asnrukh.ac.ir](mailto:koochekzadeh@asnrukh.ac.ir)

### چکیده

متانول ماده‌ای است که از مواد کربنی مانند چوب و زیست توده گیاهی تولید شده و قادر است غلظت دی‌اکسیدکربن در داخل گیاه و در نتیجه راندمان فتوسنتزی آن را افزایش داده که نتیجه آن ارتقای تولید ماده خشک در گیاهان است. گیاهان در شرایط مزرعه معمولاً با تنش‌های مختلفی مواجه هستند که یکی از مهم‌ترین آن‌ها تنش خشکی است. بنابراین هر سال مقدار قابل توجهی از تولیدات کشاورزی کشور کاهش می‌یابد. گندم دوروم (*Triticum durum* L.) یکی از محصولات استراتژیک کشور بوده که در تولید آرد ماکارونی مورد استفاده قرار می‌گیرد. در این بررسی به منظور مطالعه تأثیر متانول بر رنگیزه‌های فتوسنتزی گندم دوروم در شرایط کم‌آب‌باری آخر فصل، آزمایشی در سال زراعی 94-1393 در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان به صورت اسپلیت پلات در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با 4 تکرار انجام شد. در این آزمایش دو فاکتور آبیاری با 2 سطح نرمال و تنش خشکی آخر فصل رشد (کم‌آب‌باری) در کرت‌های اصلی و محلول پاشی غلظت‌های مختلف متانول با 5 سطح صفر (تیمار شاهد بدون مصرف متانول)، 7، 14، 21 و 28 درصد حجمی متانول به صورت تصادفی در کرت‌های فرعی قرار گرفتند. تنش کم‌آب‌باری هم‌زمان با شروع مرحله گلدهی با قطع آبیاری اعمال شد. با اعمال تنش خشکی در ابتدای شروع مرحله گلدهی، اولین محلول پاشی متانول انجام و با فاصله زمانی هر 10 روز، دو بار دیگر در کرت‌های آزمایشی این محلول پاشی انجام شد. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت متانول شاخص‌های اندازه‌گیری شده در شرایط کم‌آب‌باری بهبود یافت. به طوری که با مصرف 28 درصد حجمی متانول، شاخص پایداری کلروفیل 14 درصد، مقدار کلروفیل a، 39 و کلروفیل b، 33/8 درصد نسبت به شاهد افزایش یافت.

**واژه‌های کلیدی:** رنگیزه‌های فتوسنتزی، شاخص پایداری کلروفیل، عدد کلروفیل متر، محتوای آب نسبی برگ

### 1- مقدمه

در میان عوامل محدود کننده عملکرد، کمبود آب بخصوص در مناطق خشک و نیمه خشک بیش از هر عامل دیگری، تولید گیاهان زراعی را از طریق اختلال در فرآیندهای فیزیولوژیک و زیستی با محدودیت روبرو کرده و بازده عملکردی گیاه را کاهش می‌دهد. یکی از آثار تنش خشکی بر گیاهان، تأثیر بر کلروپلاست و در نتیجه بر مقدار کلروفیل می‌باشد. گزارش‌هایی مبنی بر کاهش محتوای کلروفیل برگ در شرایط تنش خشکی وجود دارد (شوتز و فانگ‌میر، 2001). صدیق و همکاران (2000) گزارش کردند که در شرایط محدودیت آب، محتوای نسبی آب برگ‌ها به علت کاهش پتانسیل آب برگ و کاهش جذب آب از ریشه‌ها کاهش می‌یابد و با کاهش محتوای نسبی آب در چنین شرایطی، هدایت روزنه‌ای، فتوسنتز، رشد و تولید کاهش می‌یابد. محمدخانی و حیدری (2007) گزارش کردند که تنش خشکی باعث افزایش نشت الکترولیت و در نتیجه کاهش شاخص کلروفیل و کاهش عملکرد دانه شد. متانول یا الکل چوب ضمن کاربرد در بهداشت، صنعت و سوخت موتورهای با سیستم احتراق داخلی می‌تواند سبب افزایش غلظت دی‌اکسیدکربن در گیاه شده، شاخص‌های فیزیولوژیکی گیاه را در شرایط کم‌آب‌باری بهبود دهد. حسین زاده و همکاران (1393) اظهار داشتند که کاربرد متانول تحت شرایط تنش خشکی با افزایش محتوای نسبی آب و CO<sub>2</sub> درون سلولی برگ، موجب بهبود محتوای کلروفیل و آسیمیلایون CO<sub>2</sub> و در نتیجه افزایش پایداری برگ نخود شد؛ آن‌ها گزارش کردند که 30 درصد حجمی

متانول بیشترین اثر را بر مقدار کلروفیل a, b و کلروفیل کل داشت. در مجموع با توجه به تحقیقات انجام شده می توان اظهار داشت که تیمار نمودن گیاهان زراعی سه کربنه با محلول متانول، باعث افزایش تثبیت دی اکسید کربن در آن ها و در نهایت افزایش عملکرد و اجزای عملکرد در اغلب گیاهان سه کربنه تیمار شده با آن گردید. لذا این پژوهش با استفاده از تیمارهای مختلف متانول بر گندم دوروم در شرایط کم آبیاری آخر فصل در شرایط آب و هوایی خوزستان طراحی گردید.

## 2- مواد و روش ها

این آزمایش در سال زراعی 94-1393 در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان به صورت اسپلینت پلات در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با 4 تکرار انجام شد. در این آزمایش دو فاکتور آبیاری با 2 سطح نرمال و تنش خشکی آخر فصل رشد (کم آبیاری) در کرت های اصلی و محلول پاشی غلظت های مختلف متانول با 5 سطح صفر (تیمار شاهد بدون مصرف متانول)، 7، 14، 21 و 28 درصد حجمی متانول به صورت تصادفی در کرت های فرعی قرار گرفتند. رقم گندم دوروم مورد استفاده جهت کاشت، یاواروس و با تراکم 400 بوته در مترمربع بود. بذر این رقم از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان تهیه گردید. تنش کم آبیاری همزمان با شروع مرحله گلدهی با قطع آبیاری اعمال شد. با اعمال تنش خشکی در ابتدای شروع مرحله گلدهی، اولین محلول پاشی متانول انجام و با فاصله زمانی هر 10 روز، دو بار دیگر در کرت های آزمایشی این محلول پاشی انجام شد. ویژگی های شاخص پایداری کلروفیل، عدد کلروفیل متر، مقدار کلروفیل a, b و نسبت آن ها در مرحله گلدهی اندازه گیری و با استفاده از نرم افزار آماری SAS تجزیه و تحلیل شدند. مقایسه میانگین ها با آزمون LSD و رسم منحنی ها بوسیله اکسل انجام شد.

## 3- نتایج و بحث

تجزیه واریانس داده ها در جدول 1 و مقایسه میانگین آن ها در جدول 2 آورده شده است. نتایج نشان داد که تنها اثر ساده عوامل آزمایشی بر صفات اندازه گیری شده معنی دار بود و اثر متقابل آن ها معنی دار نشد.

### 1-3- شاخص پایداری کلروفیل

اثر ساده آبیاری و محلول پاشی متانول بر شاخص پایداری کلروفیل معنی دار شد (جدول 1). نتایج نشان داد که شاخص پایداری کلروفیل در شرایط کم آبیاری آخر فصل نسبت به آبیاری نرمال در گندم دوروم، به شکل معنی دار کاهش داشت به طوری که از 87 به 72 درصد تقلیل یافت که کاهش 17/2 درصدی را نشان داد (جدول 2). منصوری فر و همکاران (1391) بیان کردند که در شرایط تنش، میزان پرولین افزایش یافته و خسارت به غشاء افزایش یافت؛ آن ها اظهار داشتند که ارقامی که تولید پرولین بیشتری داشتند، کمترین میزان شاخص پایداری غشاء را دارا بودند. همچنین ارقامی که پرولین کمتری تولید کردند، بیشترین مقدار کلروفیل a, b و کل را داشتند (منصوری فر و همکاران، 1391). نتایج جدول 2 نشان داد که کاربرد 28 درصد حجمی متانول شاخص پایداری کلروفیل را ارتقا داده و از 73 به 85 درصد رساند. هر چند که با کاربرد 21 و 14 درصد حجمی متانول تفاوت معنی دار نداشت. حسین زاده و همکاران (1393) در پژوهشی بر روی نخود اعلام کردند متانول تأثیر معنی داری بر شاخص پایداری کلروفیل داشت؛ نتایج آن ها حاکی از آن است که 30 درصد حجمی متانول بیشترین تأثیر را بر پایداری کلروفیل داشت. در شرایط تنش متانول باعث افزایش پایداری کلروفیل می شود. شوتز و فانگمیر (2001) گزارش کردند که در شرایط تنش خشکی، محتوای کلروفیل برگ

کاهش یافت؛ بنابراین کاربرد متانول با افزایش محتوای نسبی آب و CO<sub>2</sub> درون سلولی برگ، محتوای کلروفیل و آسیمیلسیون CO<sub>2</sub> و در نتیجه افزایش پایداری برگ را بهبود می دهد (حسین زاده و همکاران، 1393).

جدول 1 تجزیه واریانس اثر سطوح آبیاری و متانول بر صفات اندازه گیری شده (میانگین مربعات)

منابع تغییر	درجه آزادی	شاخص پایداری کلروفیل	عدد کلروفیل متر	کلروفیل a	کلروفیل b	نسبت کلروفیل a/b
بلوک	3	0/0005**	1/60 <sup>ns</sup>	0/147	0/017	0/065
آبیاری	1	0/2295**	208/39**	0/938**	0/282**	0/054**
بلوک * آبیاری	3	0/0026	3/62	0/030	0/013	0/025
متانول	4	0/0220**	20/22**	0/652**	0/234**	0/044 <sup>ns</sup>
آبیاری * متانول	4	0/0019 <sup>ns</sup>	6/04 <sup>ns</sup>	0/127 <sup>ns</sup>	0/025 <sup>ns</sup>	0/077 <sup>ns</sup>
خطای آزمایش	12	0/0018	3/06	0/028	0/020	0/022
ضریب تغییرات (/.)		5/41	3/76	12/93	13/67	12/19

ns, \* و \*\*, به ترتیب غیر معنی دار، معنی دار در سطح احتمال خطای 5 و 1 درصد

جدول 2 مقایسه میانگین اثر سطوح آبیاری و متانول بر صفات اندازه گیری شده

منابع تغییر	شاخص پایداری کلروفیل	عدد کلروفیل متر	کلروفیل a	کلروفیل b	نسبت کلروفیل a/b
	(درصد)	میلی گرم بر گرم وزن تر برگ	میلی گرم بر گرم وزن تر برگ	میلی گرم بر گرم وزن تر برگ	میلی گرم بر گرم وزن تر برگ
آبیاری	87 <sup>a</sup>	48/72 <sup>a</sup>	1/45 <sup>a</sup>	1/13 <sup>a</sup>	1/27 <sup>a</sup>
کم آبیاری	72 <sup>b</sup>	44/15 <sup>b</sup>	1/15 <sup>b</sup>	0/96 <sup>b</sup>	1/20 <sup>b</sup>
LSD	0/095	3/518	0/324	0/215	0/295
سطوح متانول	73 <sup>c</sup>	44/36 <sup>c</sup>	1/035 <sup>c</sup>	0/849 <sup>d</sup>	1/239 <sup>a</sup>
(درصد حجمی)	76 <sup>bc</sup>	45/48 <sup>bc</sup>	1/041 <sup>c</sup>	0/914 <sup>dc</sup>	1/142 <sup>a</sup>



1/202 <sup>a</sup>	1/072 <sup>bc</sup>	1/281 <sup>b</sup>	46/42 <sup>abc</sup>	80 <sup>ab</sup>	14
1/323 <sup>a</sup>	1/115 <sup>ab</sup>	1/478 <sup>ab</sup>	47/57 <sup>ab</sup>	84 <sup>a</sup>	21
1/306 <sup>a</sup>	1/282 <sup>a</sup>	1/696 <sup>a</sup>	48/33 <sup>a</sup>	85 <sup>a</sup>	28
0/156	0/147	0/174	1/805	0/044	LSD

در هر ستون، اعدادی که حداقل یک حرف مشترک داشته باشند، در سطح احتمال خطای 5 درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

### 2-3- عدد کلروفیل متر

بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس داده‌ها (جدول 1)، کم‌آبیاری آخر فصل، عدد کلروفیل را به شکل معنی‌دار کاهش داد به طوری که بیش‌ترین و کم‌ترین عدد کلروفیل مربوط به آبیاری نرمال و کم‌آبیاری به ترتیب با میانگین 48/72 و 44/15 بود (جدول 2). از جمله دلایلی که برای کاهش محتوای کلروفیل در شرایط تنش خشکی عنوان شده می‌توان به گرانوله شدن فسفولیپیدهای غشای سلولی و ایجاد منافذی در ساختار غشاء اشاره کرد که این خود نیز موجب ناپایداری غشای سلولی (حقی‌نژاد و همکاران، 1395) و اندامک‌های درون سلول از جمله کلروفیل (اورابی و همکاران، 2010) می‌شود. کاربرد 28 درصد حجمی متانول، عدد کلروفیل را نسبت به شاهد 8/2 درصد افزایش داد و از 44/36 به 48/33 رساند. بیش‌ترین شاخص کلروفیل در محلول‌پاشی 30 درصد حجمی متانول و در شرایط آبیاری کامل و کم‌ترین آن در شرایط عدم محلول‌پاشی متانول و قطع آبیاری در مرحله آبستنی به دست آمد (آقایی و همکاران، 1399). نادعلی و همکاران (1389) در پژوهشی میزان کلروفیل برگ چغندر قند در شرایط تنش را بررسی کرده و اعلام نمودند بیش‌ترین میزان محتوای کلروفیل برگ متعلق به سطح محلول‌پاشی شده توسط 21 درصد حجمی متانول و کم‌ترین میزان کلروفیل مربوط به سطح شاهد بود که 18 درصد اختلاف وجود داشت.

### 3-3- رنگیزه‌های فتوسنتزی

در شرایط کم آبیاری آخر فصل، مقدار کلروفیل a، b و نسبت کلروفیل a به b در گندم دوروم نسبت به آبیاری نرمال به ترتیب 20/7، 15/1 و 5/5 درصد کاهش یافت (جدول 2). به نظر می‌رسد در شرایط تنش خشکی، غشای سلولی به دلیل تولید انواع اکسیژن فعال مانند رادیکال‌های سوپراکسید، هیدروکسیل و پراکسید هیدروژن آسیب دیده (آقایی و همکاران، 1399) و تخریب رنگدانه‌ها را باعث می‌شود (اورابی و همکاران، 2010). گزارش شده است کمبود آب، محتوای کلروفیل a، b و کل را کاهش داد و کلروفیل b کاهش شدیدتری را نسبت به کلروفیل a نشان داد (منصوری‌فر و همکاران، 1391). نتایج جدول 2 نشان داد که در این آزمایش مقدار محلول‌پاشی متانول بر مقدار کلروفیل a، b و نسبت آن‌ها در گندم دوروم متفاوت بود. به طوری که کاربرد 28 درصد حجمی متانول، مقدار کلروفیل a و b را به ترتیب نسبت به شاهد 39 و 33/8 درصد افزایش داد. هرچند با کاربرد 21 درصد حجمی متانول اختلاف معنی‌دار نداشتند. با این حال بیش‌ترین نسبت کلروفیل a به b با مصرف 21 درصد حجمی متانول حاصل شد و به 1/32 میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ رسید که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار نشان نداد. حسین زاده و همکاران (1393) اظهار داشتند که کاربرد متانول تحت شرایط تنش خشکی با افزایش محتوای نسبی آب و CO<sub>2</sub> درون سلولی برگ، موجب بهبود محتوای کلروفیل و آسیمیلاسیون CO<sub>2</sub> و در نتیجه افزایش پایداری برگ نخود شد. آن‌ها گزارش کردند که 30 درصد حجمی متانول بیش‌ترین اثر

را بر مقدار کلروفیل a, b و کلروفیل کل داشت. احتمالاً کاربرد متانول در شرایط تنش خشکی به واسطه بهبود محتوای نسبی آب و پروتئین و در نتیجه افزایش پایداری غشا می باشد (احمدپور و همکاران، 1395).

#### 4- نتیجه گیری

کم آبی یکی از مهم ترین عوامل محدود کننده تولید در کشاورزی به ویژه در مناطق خشک و نیمه خشک به حساب می آید و کمبود آب به ویژه در مراحل زایشی به علت عدم بارش و یا توزیع نامناسب بارندگی از علل محدود کننده عملکرد به شمار می رود. در تنش های شدید، به دلیل تغییر فسفولیپیدهای غشا و عدم توانایی در حفظ ساختار یکپارچه آن، تخریب غشاهای تیلوکوئیدهای کلروپلاست اتفاق افتاده و به دنبال آن پایداری کلروفیل و میزان آن در برگ کاهش می یابد. کاربرد متانول تحت شرایط تنش خشکی، محتوای نسبی آب را افزایش داده که این خود موجب بهبود محتوای کلروفیل و در نتیجه افزایش پایداری برگ می شود.

#### 5- سپاسگزاری

نویسندگان صمیمانه از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان که زمینه را برای اجرای این پژوهش فراهم ساختند تشکر و قدردانی می نمایند.

#### فهرست منابع

- 1- آقایی، ف.، سید شریفی، ر.، خماری، س. و نریمانی، ح. 1399. تاثیر متانول بر عملکرد دانه، شاخص های فلورسانس کلروفیل و برخی ویژگی های فیزیولوژیک گندم در شرایط قطع آب. *تولید گیاهان زراعی*. 13 (4): 151-172.
- 2- احمد پور، ر.، آرمند، ن.، حسین زاده، س. ر. و رژه، م. 1395. ارزیابی تأثیر محلول پاشی متانول بر برخی شاخص های مورفولوژیک، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی عدس تحت شرایط تنش کم آبی. *پژوهش های حبوبات ایران*. 7 (2): 202-214.
- 3- حسین زاده، س.، چینیانی، م. و سلیمی، ا. 1393. بررسی اثر متانول بر برخی ویژگی های فیزیولوژیک نخود تحت تنش خشکی. *نشریه پژوهش های حبوبات ایران*. 5 (2): 71-82.
- 4- حقی نژاد، ن.، اویسی، م. و نصری، م. 1395. بررسی اثر محلول پاشی متانول بر صفات زراعی و مورفوفیزیولوژیک آفتابگردان روغنی تحت شرایط تنش قطع آب. *پژوهش های زراعی در حاشیه کویر*. 13 (3): 189-199.
- 5- منصوری فر، س.، شعبان، م.، قبادی، م. و صباغپور، س. ح. 1391. خصوصیات فیزیولوژیک ارقام نخود زراعی تحت اثر تنش خشکی و کود نیتروژنه آغازگر. *نشریه پژوهش های حبوبات ایران*. 3 (1): 53-66.
- 6- نادعلی، ا.، پاک نژاد، ف.، مرادی، ف.، نصری، م. و پازوکی، ع. 1389. اثر محلول پاشی متانول بر محتوای آب نسبی، محتوای کلروفیل و فلورسانس کلروفیل برگ چغندر قند در شرایط تنش کمبود آب. *علوم گیاهان زراعی ایران*. 41 (4): 731-740.
- 7- Mohammadkhani, N. and Heidari, R. 2007. Effect of drought stress on protective enzyme activities and lipid peroxidation in two maize cultivars. *Pakistan journal of Biological Sciences*. 10 (21): 3835-3840.
- 8- Orabi, S. A., Salman, S. R. and Shalaby, A. F. 2010. Increasing resistance to oxidative damage in cucumber plants by exogenous application of salicylic acid and paclobutrazol. *World Journal of Agricultural Sciences*. 6 (3): 252-259.
- 9- Schutz, M. and Fangmeier, A. 2001. Growth and yield responses of spring wheat to elevated CO<sub>2</sub> and water limitation. *Environmental Pollution*. 114 (2): 187-194.
- 10- Siddique, M. R. B., Hamid, A. and Islam, M. S. 2000. Drought stress effects on water relations of wheat. *Botanical bulletin Academia Science*. 41 (1): 35-39.

## Effect of Drought Stress and Methanol Spraying on Chlorophyll of Durum Wheat

A. Dargahi<sup>1</sup>, A. Koochekzadeh<sup>2\*</sup>, S. A. Siadat<sup>3</sup>, M. R. Moradi Talavat<sup>2</sup>

1. MSc. Graduated of Plant Production and Genetics Department, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Iran
  2. Associate Professor of Plant Production and Genetics Department, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Iran
  3. Professor of Plant Production and Genetics Department, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Iran
- \*[koochekzadeh@asnrukh.ac.ir](mailto:koochekzadeh@asnrukh.ac.ir)

### Abstract

Methanol is a substance that is produced from carbon materials such as wood and plant biomass and is able to increase the concentration of carbon dioxide inside the plant and thus increase its photosynthetic efficiency, which results in the promotion of dry matter production in plants. Plants in field conditions are usually faced with various stresses, one of the most important of these, is drought stress. Therefore, a significant amount of the country's agricultural production decreases every year. Durum wheat (*Triticum durum* L.) is one of the strategic products of the country, which is used in pasta flour. In this study, the effect of methanol on the photosynthesis pigments of durum wheat in the condition of low irrigation at the end of the season, an experiment was conducted in the Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan in 2013-2014, in split plot in a randomized complete block design with four replications. In this experiment, the irrigation factor with two levels, normal and drought stress at the end of the growing season (less irrigation) in the main plots, and foliar application of different concentrations of methanol with five levels, zero (control treatment without methanol consumption), 7, 14, 21 and 28 percent by volume of methanol were randomly placed in sub-plots. Low irrigation stress was applied with the beginning of the flowering stage. By applying of drought stress, the first foliar application with methanol was carried out and with interval of 10 days, this foliar spraying was done two more times in the plots. The results showed that with the increase of methanol concentration, the measured indicators improved in the condition of low irrigation. So that with the consumption of 28% by volume of methanol, the chlorophyll stability index increased by 14%, chlorophyll a 39% and chlorophyll b increased by 33.8% in relative to the control.

**Keywords:** chlorophyll stability index, chlorophyll meter number, leaf relative water content photosynthetic pigments,

## اثر کم آبی آخر فصل و محلول پاشی متانول بر برخی شاخص های فیزیولوژیک گندم دوروم

احمد کوچک زاده<sup>1\*</sup>، سید عطااله سیادت<sup>2</sup>، محمد رضا مرادی تلاوت<sup>3</sup>، احمد درگاهی<sup>4</sup>

1.\* نویسنده مسوؤل: دانشیار گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان

[koochehzadeh@asnrukh.ac.ir](mailto:koochehzadeh@asnrukh.ac.ir)

2 و 3 و 4 به ترتیب استاد، دانشیار و دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم

کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان

### چکیده

در این بررسی به منظور مطالعه تأثیر متانول بر شاخص های فیزیولوژیک گندم دوروم (*Triticum durum* L.) در شرایط کم آبیاری آخر فصل، آزمایشی به صورت اسپلیت پلات در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با 4 تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایشی شامل آبیاری با 2 سطح نرمال و تنش خشکی آخر فصل رشد (کم آبیاری) در کرت های اصلی و محلول پاشی غلظت های مختلف متانول با 5 سطح صفر (تیمار شاهد بدون مصرف متانول)، 7، 14، 21 و 28 درصد حجمی متانول به صورت تصادفی در کرت های فرعی قرار گرفتند. تنش کم آبیاری هم زمان با شروع مرحله گلدهی با قطع آبیاری اعمال شد. با اعمال تنش خشکی در ابتدای شروع مرحله گلدهی، اولین محلول پاشی متانول انجام و با فاصله زمانی هر 10 روز، دو بار دیگر در کرت های آزمایشی این محلول پاشی انجام شد. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت متانول شاخص های اندازه گیری شده در شرایط کم آبیاری بهبود یافت. به طوری که با مصرف 28 درصد حجمی متانول، محتوای آب نسبی برگ 33/21 درصد و شاخص پایداری غشاء 19/63 درصد افزایش یافت. مقدار نیتروژن برگ، دانه و کل بوته نیز با کاربرد متانول به طور معنی داری زیاد شد.

**واژگان کلیدی:** شاخص پایداری غشاء، محتوای آب نسبی برگ، نیتروژن دانه

### 1- مقدمه

آب یکی از مهم ترین عوامل مؤثر در تولید کشاورزی است که کمبود آن در بین عوامل محدود کننده تولید بیش ترین سهم را در کاهش عملکرد دارد. استفاده از رژیم های کم آبیاری با صرفه جویی در مصرف آب می تواند به عنوان یک مدیریت آب در مزرعه در افزایش سطح زیر کشت و نیز در تعیین الگوی کشت کمک نماید. صدیق و همکاران (1999) گزارش کردند که احتمالاً خشکی به عنوان مهم ترین فاکتور کنترل کننده عملکرد محصولات، تقریباً بر کلیه فرایندهای رشد گیاه تأثیرگذار است (10). گزارش شده است که محلول پاشی متانول، نیاز آبی گیاهان را در شرایط گرم و نور مستقیم خورشید کاهش داد (8). آزمایش در گیاهان مختلف نشان داد که تنش خشکی تا چندین برابر نشت سلولی را افزایش داد (11). در شرایط تنش خشکی گیاه با کاهش تعداد و سطح برگ ها، سطح فتوسنتز کننده خود را کم کرده که در نهایت ظرفیت فتوسنتزی گیاه کاهش می یابد (2). همچنین در آزمایشی دیگر محلول پاشی متانول سبب افزایش سطح برگ در آفتابگردان شد (5). گزارش شده است که در گیاهان محلول پاشی شده با متانول، آسیمیلاسیون نیتروژن از طریق تولید اوره از باکتریایی افزایش یافت (4). طبق گزارشات زیبک و همکاران (2003)، افزایش غلظت دی اکسید کربن می تواند آثار ناشی از تنش های کم آبی را کاهش دهد؛ زیرا روزه های آن ها بسته است، تعرق کاهش یافته، و بنابراین فتوسنتز خالص افزایش می یابد (12). بنابراین به کار بردن موادی مانند متانول که بتواند سبب افزایش غلظت دی اکسید کربن در گیاه شود، شاخص های فیزیولوژیکی گیاه را در شرایط کم آبیاری بهبود می دهد. آن ها همچنین دریافتند که گیاهان تیمار شده با متانول

کمتر مستعد کمبود آب بوده و در برخی موارد عملکرد آن‌ها با گیاهان آبیاری شده برابر بود (12). پل شکن پهلوان و همکاران (1386) گزارش کردند که غلظت نیتروژن، فسفر و پتاسیم در دانه گیاه در آبیاری معمول کمتر از تنش بود اما جذب این عناصر در کل اندام‌های هوایی بیشتر بود (1). با توجه به محدودیت منابع آب در مناطق خشک و نیمه خشک ایران و ایجاد شرایط کم آبی (تنش خشکی) در آخر فصل گندم و با توجه به پژوهش‌های انجام شده مبنی بر اعمال متانول در کنترل آسیب‌های ایجاد شده در شرایط کم آبی، این پژوهش با استفاده از تیمارهای مختلف متانول بر گندم دوروم در شرایط کم آبیاری آخر فصل در شرایط آب و هوایی خوزستان طراحی گردید.

## 2- مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال زراعی 94-1393 در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان به صورت اسپلیت پلات در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با 4 تکرار انجام شد. در این آزمایش دو فاکتور آبیاری با 2 سطح نرمال و تنش خشکی آخر فصل رشد (کم آبیاری) در کرت‌های اصلی و محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف متانول با 5 سطح صفر (تیمار شاهد بدون مصرف متانول)، 7، 14، 21 و 28 درصد حجمی متانول به صورت تصادفی در کرت‌های فرعی قرار گرفتند. رقم گندم دوروم مورد استفاده جهت کاشت، یاواروس و با تراکم 400 بوته در مترمربع بود. بذر این رقم از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان تهیه گردید. تنش کم آبیاری همزمان با شروع مرحله گلدهی با قطع آبیاری اعمال شد. با اعمال تنش خشکی در ابتدای شروع مرحله گلدهی، اولین محلول‌پاشی متانول انجام و با فاصله زمانی هر 10 روز، دو بار دیگر در کرت‌های آزمایشی این محلول‌پاشی انجام شد. ویژگی‌های محتوای آب نسبی برگ، شاخص پایداری غشاء در مرحله گلدهی و مقدار نیتروژن برگ، دانه و بوته پس از برداشت محصول اندازه‌گیری و با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS تجزیه و تحلیل شدند. مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD و رسم منحنی‌ها بوسیله اکسل انجام شد.

## 3- نتایج و بحث

نتایج نشان داد که اثر متقابل سطوح مختلف آبیاری و متانول فقط بر صفات محتوای آب نسبی برگ و شاخص پایداری غشاء معنی‌دار بود.

جدول 1 مقایسه میانگین اثر سطوح آبیاری و متانول بر صفات اندازه‌گیری شده

منابع تغییر	محتوای آب نسبی برگ	شاخص پایداری غشاء	مقدار نیتروژن برگ	مقدار نیتروژن دانه	مقدار نیتروژن بوته
	(درصد)	(درصد)	(درصد)	(درصد)	(درصد)
آبیاری نرمال	81 <sup>a</sup>	78 <sup>a</sup>	2/18 <sup>a</sup>	1/78 <sup>a</sup>	2/04 <sup>a</sup>
کم آبیاری	56 <sup>b</sup>	61 <sup>b</sup>	1/48 <sup>b</sup>	0/86 <sup>b</sup>	1/60 <sup>b</sup>
LSD	0/103	0/140	1/387	2/309	1/278

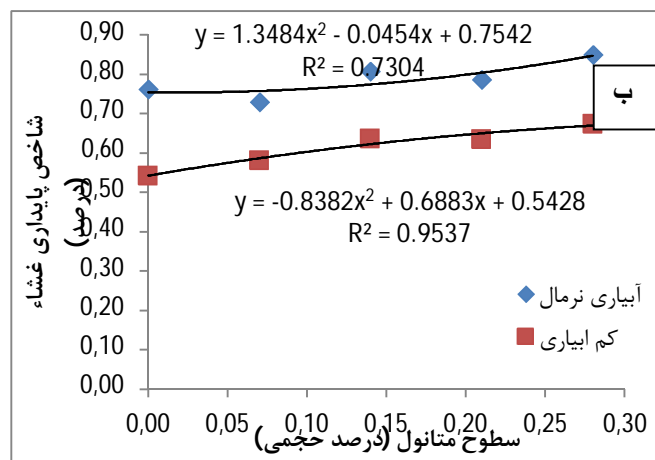
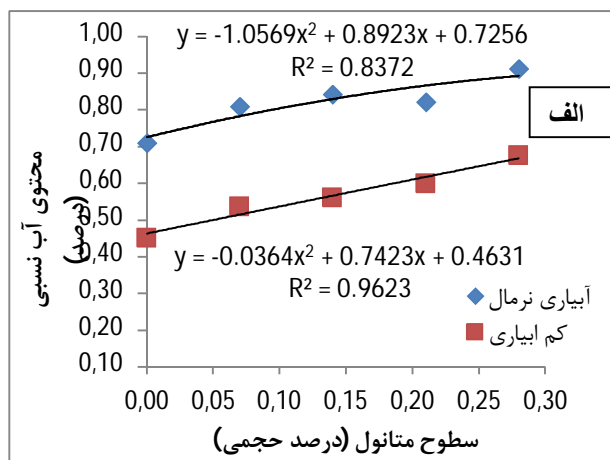
1/59 <sup>b</sup>	1/09 <sup>b</sup>	1/68 <sup>b</sup>	65 <sup>b</sup>	58 <sup>c</sup>	صفر	سطوح متانول
1/65 <sup>b</sup>	1/42 <sup>b</sup>	1/75 <sup>b</sup>	65 <sup>b</sup>	67 <sup>b</sup>	7	(درصد حجمی)
2/02 <sup>a</sup>	1/88 <sup>ab</sup>	2/11 <sup>ab</sup>	72 <sup>a</sup>	70 <sup>b</sup>	14	
1/84 <sup>ab</sup>	2/38 <sup>a</sup>	2/19 <sup>ab</sup>	71 <sup>a</sup>	71 <sup>b</sup>	21	
1/99 <sup>a</sup>	2/27 <sup>a</sup>	2/39 <sup>a</sup>	76 <sup>a</sup>	79 <sup>a</sup>	28	
0/712	0/797	0/954	0/047	0/052	LSD	

در هر ستون، اعدادی که حداقل یک حرف مشترک داشته باشند، در سطح احتمال خطای 5 درصد اختلاف معنی دار ندارند. نمودار رگرسیونی اثر متقابل سطوح مختلف آبیاری و متانول بر محتوای آب نسبی برگ نشان داد با افزایش سطح متانول میزان محتوای آب نسبی برگ افزایش یافت (شکل 1 الف). بدون مصرف متانول (تیمار شاهد) کم آبیاری آخر فصل باعث کاهش 36/26 درصدی محتوای آب نسبی برگ شد و از 0/71 درصد در آبیاری نرمال به 0/45 درصد رسید. با مصرف متانول محتوای آب نسبی برگ افزایش یافته به طوری که با مصرف 28 درصد حجمی، این اختلاف به 25/75 درصد کاهش یافت و از 0/91 درصد در آبیاری نرمال به 0/68 درصد در کم آبیاری رسید. نانومورا و بنسون (1997) در پژوهشی بر روی گندم اعلام نمودند محلول پاشی متانول سبب دو برابر شدن میزان قند تولید شده در برگ این گیاهان و در نتیجه افزایش مواد اسمزی درون بافتها شد؛ این امر باعث شده تا آب با نیروی بیشتری از خاک جذب شود و موجب افزایش محتوای آب نسبی برگ شود (7). مولنار و همکاران (2005) اظهار کردند که تنش خشکی محتوای آب نسبی برگ را کاهش داد (6).

نتایج این تحقیق نشان داد که تنش کم آبیاری، شاخص پایداری غشاء در گندم دوروم را به شدت کاهش داد. به طوری که در شرایط شاهد (بدون مصرف متانول)، شاخص پایداری غشاء 28/85 درصد کم شد و از 0/76 به 0/54 در صد رسید. پس از مصرف متانول این مقدار به شکل معنی دار افزایش یافت، به طوری که در آبیاری نرمال و کم آبیاری به ترتیب از 0/76 در شاهد به 0/85 در صد، و از 0/54 در شاهد به 0/68 در صد با مصرف 28 درصد حجمی متانول رسید (شکل 1 ب). گزارش شده است که در تنش های شدید، به دلیل تغییر فسفولیپیدهای غشاء و عدم توانایی در حفظ ساختار یکپارچه آن موجب می شود نشت یونی غشاء در شرایط تنش به شدت افزایش یابد (9). حسین زاده و همکاران (1393) در پژوهشی اعلام کردند بیشترین میزان پایداری غشاء با مصرف 25 درصدی متانول بود که با سطوح 20 و 30 درصد حجمی اختلاف معنی داری نداشت (3).

در شرایط کم آبیاری آخر فصل، درصد نیتروژن برگ، دانه و بوته گندم نسبت به آبیاری نرمال به ترتیب 51/7، 32/1 و 21/6 درصد کاهش یافت (جدول 1). نتایج نشان داد که در این آزمایش مقدار محلول پاشی متانول بر درصد نیتروژن برگ، دانه و بوته گندم دوروم متفاوت بود. به طوری که کاربرد 28 درصد حجمی متانول، نیتروژن برگ را نسبت به شاهد 29/7 درصد افزایش داد. هر چند با کاربرد 21 و 14 درصد حجمی متانول اختلاف معنی دار نداشت. همچنین کاربرد متانول با غلظت 21 درصد حجمی، مقدار نیتروژن دانه را به 2/38 درصد رساند که با شاهد اختلاف 54/2 درصدی داشت. با این حال بیشترین مقدار نیتروژن کل بوته با

مصرف 14 درصد حجمی متانول حاصل شد و به 2/02 درصد رسید که نسبت به شاهد 21/3 درصد افزایش نشان داد. البته این مقدار نیتروژن با کاربرد 28 و 21 درصد حجمی متانول اختلاف معنی دار نشان نداد. با افزایش تنش کمبود آب، جذب نیتروژن، فسفر و پتاسیم کاهش اما غلظت آن‌ها در دانه گندم افزایش یافت؛ دلیل آن اثر رقت و کاهش عملکرد دانه در شرایط تنش عنوان شد (1).



شکل 1 اثر متقابل سطوح مختلف آبیاری و متانول بر محتوای آب نسبی برگ و شاخص پایداری غشاء گندم دوروم

#### 4- نتیجه گیری

استفاده از رژیم‌های کم آبیاری با صرفه جویی در مصرف آب می‌تواند به عنوان یک مدیریت آب در مزرعه در افزایش سطح زیر کشت و نیز در تعیین الگوی کشت بهینه کمک نماید. سازگاری به خشکی در گیاهان بستگی به وضعیت آب در گیاه داشته به طوری که زیاد بودن میزان آب نسبی برگ یک معیار گزینش برای تحمل به خشکی است. همچنین یک استراتژی مهم برای بهبود تحمل خشکی در گیاهان، حفظ تمامیت غشاء سلولی پس از تحمیل تنش خشکی است. متانول ماده‌ای است که با افزایش غلظت دی‌اکسیدکربن در داخل گیاه و بالا بردن راندمان فتوسنتزی آن و در نهایت افزایش محتوای آب نسبی برگ و شاخص پایداری غشاء وضعیت گیاه را در شرایط کم‌آبی بهبود می‌دهد.

#### تشکر و قدردانی

نویسندگان صمیمانه از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان که زمینه را برای اجرای این پژوهش فراهم ساختند تشکر و قدردانی می‌نمایند.

#### منابع مورد استفاده

- 11- محمد رضا پل شکن پهلوان، سید علیرضا موحدی نائینی، غلامرضا اعتصام، غلامعلی کیخا. 1386. تأثیر روش‌های مختلف کاشت و مقادیر مختلف آبیاری بر رشد و عملکرد گیاه گندم. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی. 14(5)، صص. 1-10.

- 12- عباس حسنی، رضا امیدییگی. 1381. اثرات تنش آبی بر برخی خصوصیات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و متابولیکی گیاه ریحان. *مجله دانش کشاورزی*. 12 (3)، صص. 47-59.
- 13- سعید رضا حسین زاده، منیره چنایانی، اعظم سلیمی. 1393. بررسی اثر متانول بر برخی ویژگی های فیزیولوژیک نخود تحت تنش خشکی. *نشریه پژوهش های حبوبات ایران*. 5 (2)، صص. 71-82.
- 14- **Abanda-Nkpwatt, D., Musch, M., Tschiersch, J., Soeime, M. and Schwab, W. 2006.** Molecular interaction between *Methylobacterium extorquens* and seedling: growth promotion methanol consumption and localization of the methanol emission site. *Journal of Experimental Botany*. 57(15), pp.4025-4032.
- 15- **Hernandez, L.F., C.N. Pellegrini and L.M. Malla. 2000.** Effect of foliar application of methanol on growth and yield of sunflower (*Helianthus annuus L.*). *Phyton-Revista Internacional de Botanica Experimental*. 66, pp.1-8.
- 16- **Molnar, I., Dulai, S., Csernák, Á., Pronay, J. and Molnar-Lang, M. 2005.** Photosynthetic responses to drought stress in different *Aegilops* species. *Acta Biology*. 49, pp.141-142.
- 17- **Nonomura, A.M. and Benson, A. 1997.** Method and composition for enhancing carbon fixation in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. USA. 89, pp.9794-9798.
- 18- **Nonomura, A.M. and Benson, A. 1992.** The path of carbon in photosynthesis: improved crop yields with methanol. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. USA. 89, pp.9794-9798.
- 19- **Osakabe, Y., Osakabe, K., Shinozaki, K. and Tran, L. 2014.** Response of plants to water stress. *Plant Science*. 5 (86).
- 20- **Siddique, M. R. B., Hamid, A. and Islam, M. S. 1999.** Drought stress effects on photosynthetic rate and leaf gas exchange of wheat. *Botanical Bulletin Academia Science*. 40, pp.141-145.
- 21- **Vasquez -Tello, A., Zuili-Fudil, Y., Phamthi, A. T., Vieira, D. A., and Silva, J. B. 1990.** Electrolyte and pi leakages and soluble sugar content as physiological tests for screening resistance to water stress in *Phaseolus* and *Vigna* species. *Journal of Experimental Botany*. 41 (228), pp.188-194.
- 22- **Zbiec, I., Karczmarczyk, S. and Podsiadlo, C. 2003.** Response of some Cultivated Plants to Methanol as Compared to Supplemental Irrigation. *Journal of Polish Agricultural Universities*. 6(1), pp.1-7.

## Effect of Water Restriction and Methanol Foliar Application on Some Physiological Characteristics of Durum Wheat

A. Koochekzadeh<sup>1\*</sup>, S. A. Siadat<sup>2</sup>, M. R. Moradi Talavat<sup>3</sup> and A. Dargahi<sup>4</sup>

1\*-Corresponding author: Associate Professor, Department of plant Production and Genetic, College of Agriculture, Agricultural Sciences and Natural Resources of Khuzestan

[koochekzadeh@asnrukh.ac.ir](mailto:koochekzadeh@asnrukh.ac.ir)

2, 3 and 4, Professor, Associate Professor and Student of plant Production and Genetic, College of Agriculture, Agricultural Sciences and Natural Resources of Khuzestan

### Abstrac

In this study, the effect of methanol on the physiological characteristics of durum wheat (*Triticum durum L.*) in the condition of low irrigation at the end of the season, an experiment was conducted in split plot in a randomized complete block design with four replications. The irrigation factor with two levels, normal and drought stress at the end of the growing season (less irrigation) in the main plots, and foliar application of different concentrations of methanol with five levels, zero (control treatment without methanol consumption), 7, 14, 21 and 28 percent by volume of methanol were randomly placed in sub-plots. Low irrigation stress was applied with the beginning of the flowering stage. By applying of drought stress, the first foliar application with methanol was carried out and with interval of 10 days, this foliar spraying was done two more times in the plots. The results showed that with the increase of methanol concentration, the measured indicators improved in the condition of low irrigation. So that with the consumption of 28% by volume of methanol, the relative water content of leaves increased by 33.21% and the membrane stability index increased by 19.63%. The amount of nitrogen in leaves, seeds and the whole plant was significantly increased with the use of methanol.

**Keywords:** leaf relative water content, membrane stability index, seed nitrogen



## تأثير تنش خشکی و کاربرد قارچ میکوریزا بر برخی صفات فیزیولوژیک اکوتیپ های آویشن شیرازی

اشرف آقاباباپور دهکردی<sup>1\*</sup>، سعدالله هوشمند<sup>2</sup>، شهرام محمدی<sup>3</sup>، رودابه راوش<sup>4</sup>

\* نویسنده مسئول: دانشجوی دکتری ژنتیک و به نژادی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد

Email: [Aghababapor@yahoo.com](mailto:Aghababapor@yahoo.com)

2- استاد، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد

3- استاد، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد

4- استادیار، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد

### چکیده

در این تحقیق به بررسی اثر قارچ میکوریزا بر کاهش اثرات تنش خشکی در هشت اکوتیپ گیاه آویشن شیرازی پرداخته شده است. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی شامل ترکیب دو سطح تنش خشکی شامل 50 درصد و 90 درصد ظرفیت زراعی خاک (به ترتیب تنش خشکی و بدون تنش خشکی) و دو سطح اعمال و عدم اعمال قارچ میکوریزا با سه تکرار روی بوته های دو ساله اکوتیپ های آویشن شیرازی انجام شد. نتایج نشان داد که تنش خشکی باعث کاهش معنی دار عملکرد خشک بوته (33/55%) و محتوای نسبی آب (09/49%) و افزایش معنی دار پرولین (34/43%) گردیده است و تأثیر معنی داری بر کاروتنوئید نداشت. کاربرد میکوریزا افزایش کلیه صفات مذکور را در پی داشته است. در این تحقیق با کاربرد قارچ میکوریزا اکوتیپ صفاهشهر بالاترین افزایش عملکرد خشک و اکوتیپ قصرقند بالاترین افزایش غلظت پرولین را نشان دادند. بالاترین افزایش محتوای نسبی آب با کاربرد میکوریزا در اکوتیپ فریدن مشاهده شد. به طور کلی تنش خشکی رشد گیاه را محدود می کند و همزیستی گیاه با قارچ میکوریزا آسیب ناشی از تنش خشکی را کاهش می دهد.

**کلمات کلیدی:** آویشن شیرازی، محتوای آب نسبی، کاروتنوئید، پرولین.

### مقدمه

آویشن شیرازی با نام علمی *Zataria multiflora* Boiss یکی از گونه های مهم تیره نعناع (*Lamiaceae*) می باشد. اسانس آویشن شیرازی دارای خواص آنتی اکسیدانی می باشد (Mojaddar Langroodi et al., 2019) و خواص ضد درد، ضد میکروبی، ضد اسپاسم و ضد التهابی دارد (Azadi et al., 2020; Barghi et al., 2021). خشکی بیش از ده درصد زمین های زراعی را تحت تأثیر قرار داده بنابراین شناسایی گیاهان مقاوم در برابر تنش خشکی ضروری است (Wang et al., 2018).

استفاده بی رویه از کودهای شیمیایی منجر به آلودگی محیط زیست، مواد غذایی، آب های سطحی و زیرزمینی، و در نهایت تهدید سلامتی استفاده کنندگان می گردد علاوه بر این تأثیر شدیدی بر تنوع زیستی و عملکرد اکوسیستم دارد (Nouri et al., 2015). قارچ های میکوریزا همزیست اجباری ریشه گیاه هستند و از این طریق رشد، جذب مواد غذایی و تولید بیوماس را در شرایط طبیعی و تنش افزایش می دهند (Laurindo et al., 2020). این مطالعه با هدف بررسی اثر قارچ میکوریزا بر خصوصیات فیزیولوژی هشت اکوتیپ گیاه دارویی آویشن شیرازی انجام شده است.

### مواد و روش ها

این مطالعه در سال های 1399 و 1400 در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد، بر روی هشت اکوتیپ آویشن شیرازی (*Z. multiflora Boiss.*) شامل نمونه های جمع آوری شده از مناطق صفا شهر، نی ریز، خانه خوره و فسا (واقع در استان فارس)، فریدن، بهارستان، کلاه قاضی (واقع در استان اصفهان) و قصر قند (واقع در استان سیستان و بلوچستان) انجام شد. بذور اکوتیپ های آویشن شیرازی فوق الذکر در سال 1399 در سینی نشاء، در بستری با ترکیب پیت ماس و کوکوپیت به نسبت 4:1 کشت شدند. پس از شش هفته نشاها به گلدان پلاستیکی به ابعاد 12×15 سانتی متر منتقل گردید. آبیاری با توجه به نیاز گیاه هر 3-2 روز یک بار انجام شد. پس از گرم شدن هوا و رشد مناسب گیاهچه ها، گلدان ها به بیرون از گلخانه انتقال داده شد.

در بهار سال 1400 یک آزمایش فاکتوریل با سه عامل (اکوتیپ، تنش خشکی و قارچ میکوریز) و سه تکرار روی این بوته های دو ساله اجرا شد. سطوح تنش خشکی شامل دو سطح 90 درصد (بدون تنش خشکی) و 50 درصد (تنش خشکی) ظرفیت زراعی خاک بود. قارچ میکوریزا آربوسکولار در دو سطح (اعمال و عدم اعمال قارچ) به کار برده شد. در این راستا بوته ها از ارتفاع پنج سانتی متری سطح خاک سرزنی شدند و آبیاری و مراقبت های لازم به مدت دوماه انجام و سپس عوامل تنش خشکی و قارچ اعمال گردیدند. تنش خشکی به روش وزنی صورت گرفت. برای اعمال قارچ میکوریزا آربوسکولار در هر واحد آزمایش (گلدان)، سه حفره به عمق 4-5 سانتی متر در اطراف ریشه ایجاد شد و در هر حفره 20 گرم مایه تلقیح قارچ میکوریزا آربوسکولار (خریداری شده از شرکت زیست فناوران سبز) ریخته شد. یک و نیم ماه بعد از اعمال تیمارها، نمونه ریشه ها جهت رنگ آمیزی و اثبات همزیستی قارچ میکوریزا تهیه شد (Phillips & Hayman, 1970). پس از اعمال تیمارها، صفات عملکرد خشک بوته، محتوای نسبی آب، غلظت کاروتنوئید و پرولین اندازه گیری شد. پس از اعمال تنش خشکی گیاه از پنج سانتی متری خاک گلدان قطع شد و وزن تر آن به دست آمد. سپس نمونه ها در دمای اتاق و در سایه خشک شدند و پس از آن وزن خشک اندازه گیری شد. محتوای نسبی آب طبق روش Turner (1986) محاسبه شد. محتوای کاروتنوئید با استفاده از روش Lichtenthaler (1987) و محتوای پرولین با روش Bates و همکاران (1973) تعیین شد. داده ها در قالب طرح فاکتوریل و طرح پایه کاملاً تصادفی با استفاده از نرم افزار SAS9.4 مورد تجزیه واریانس قرار گرفتند و میانگین ها با آزمون حداقل تفاوت معنی دار (LSD) در سطح احتمال 5% مقایسه شدند.

## نتایج و بحث

**عملکرد خشک بوته:** نتایج آنالیز واریانس حاکی از وجود اثر معنی دار اکوتیپ، تنش خشکی و کاربرد میکوریزا و کلیه اثرات متقابل آن ها بر عملکرد خشک بوته بود (جدول 1). نتایج مقایسه میانگین ها (جدول 2) نشان داد تنش خشکی باعث کاهش معنی دار عملکرد خشک بوته (1/84 گرم) شده است. میزان کاهش عملکرد خشک بوته نسبت به شاهد در اثر تنش خشکی از 0/37 گرم (اکوتیپ قصرقند) تا 4/32 گرم (اکوتیپ نی ریز) متغیر است. در اکوتیپ های مختلف با کاربرد میکوریزا دامنه افزایش عملکرد نسبت به شاهد از 2/17 گرم (اکوتیپ قصرقند) تا 7/77 گرم (اکوتیپ صفا شهر) به دست آمد (جدول 2). افزایش عملکرد به دلیل افزایش سطح جذب ریشه ها از طریق نفوذ میسلیوم قارچ در خاک و بالطبع دسترسی گیاه به حجم بیشتری از خاک می باشد (Pouzesh-Shirazi et al., 2018).

جدول (1) تجزیه واریانس صفات مورفولوژیک اکوتیپ های آویشن شیرازی تحت تأثیر تنش خشکی و کاربرد قارچ میکوریزا

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات
عملکرد خشک بوته	محتوای نسبی آب	کاروتنوئید
	پرولین	

440/53**	0/96**	3881/49**	64/47**	7	اکوتیپ (E)
121/27**	9/84**	2919/78**	190/18**	1	تنش خشکی (S)
363/83**	9/73**	2017/66**	464/55**	1	میکوریزا (M)
133/60**	0/34**	543/60**	3/37**	7	S×E
149/10**	0/32**	69/28*	9/36**	7	M×E
213/75**	4/37**	6/20 <sup>ns</sup>	6/76**	1	M×S
292/26**	0/21*	15/21**	2/03**	7	M×S×E
2/07	0/04	11/25	0/23	64	خطا
3/83	17/42	8/38	9/42		CV

ns و \*\* و \* به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطوح احتمال 1 و 5 درصد.

جدول (2) مقایسه میانگین عملکرد خشک بوته (gr) اکوتیپ های آویشن شیرازی تحت تأثیر تنش خشکی و کاربرد قارچ میکوریزا

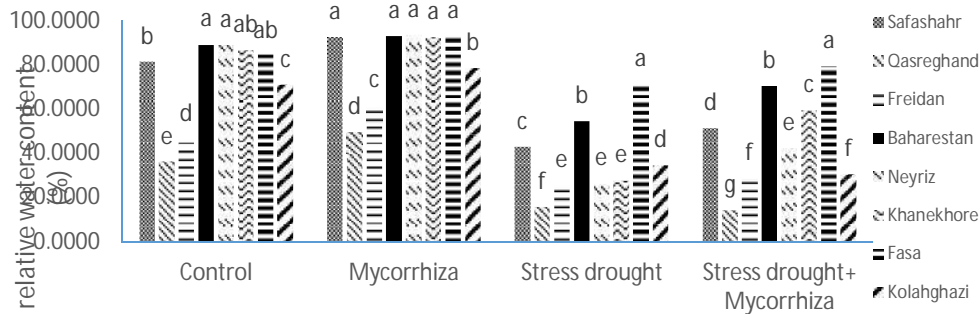
اکوتیپ	شاهد †	کاربرد میکوریزا	تنش خشکی	تنش خشکی و کاربرد میکوریزا
صفا شهر	4/03c	11/8ab	0/58c	5/82b
قصر قند	0/75e	2/92g	0/38c	0/89e
فریدن	1/75d	4/43f	0/48c	2/04d
بهارستان	5/30b	12/21a	3/64a	7/86a
نی ریز	6/43a	10/22d	2/11b	8/37a
خانه خوره	5/27b	11/09bc	3/19a	7/87a
فسا	5/96ab	10/38cd	3/48a	7/79a
کلاه قاضی	3/48c	9/38e	0/85c	5/01c
میانگین ‡	4/12c	9/05a	1/84d	5/71b
میانگین سطوح تنش ‡		6/58a		3/77b

† در هر ستون میانگین اکوتیپ های دارای حرف مشترک در آزمون  $LSD_{0.05}$  اختلاف معنی داری ندارند.

‡ در ردیف میانگین های دارای حرف مشترک در آزمون  $LSD_{0.05}$  اختلاف معنی داری ندارند.

**محتوای آب نسبی (RWC):** نتایج تجزیه واریانس تأثیر معنی دار اکوتیپ، تنش خشکی و کاربرد میکوریزا و کلیه اثرات متقابل آن ها به استثنای اثر متقابل تنش خشکی × کاربرد میکوریزا را بر محتوای آب نسبی نشان داد که بیانگر تفاوت اکوتیپ های مورد بررسی و تأثیر تنش خشکی و قارچ میکوریزا و نیز برهمکنش این عوامل در تأثیر بر محتوای آب نسبی است (جدول 1). با توجه

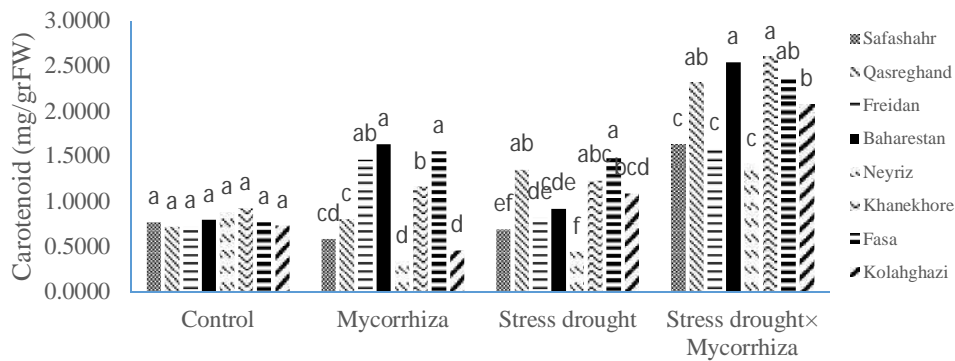
به نتایج مقایسه میانگین (شکل 1) کمترین محتوای آب نسبی در تنش خشکی (42/08 درصد) به دست آمد که نسبت به آبیاری نرمال کاهش معنی داری به میزان 45/65 درصد نشان داد. با کاربرد میکوریزا محتوای آب نسبی افزایش یافت. در مطالعه زاریک و همکاران (2016) بر روی گیاه *Cupressus atlantica* G. گیاهان همزیست با میکوریزا محتوای نسبی آب را در بافت هوایی خود حفظ کردند.



شکل (1) مقایسه میانگین محتوای آب نسبی اکوتیپ های آویشن شیرازی تحت تأثیر تنش خشکی و کاربرد قارچ میکوریزا

ستونهای دارای حرف مشترک اختلاف معنی داری در سطح احتمال 5% با آزمون LSD ندارند.

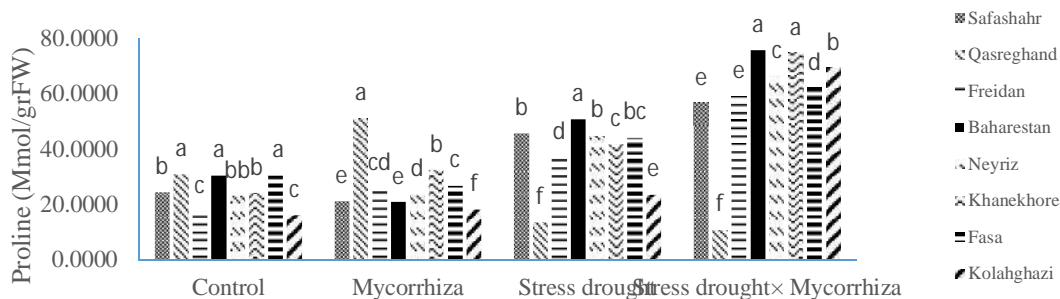
**کاروتنوئید:** با توجه به نتایج تجزیه واریانس اثر اکوتیپ، تنش خشکی و کاربرد میکوریزا و کلیه اثرات متقابل آن ها بر محتوای کاروتنوئید معنی دار بود (جدول 1). در مقایسه میانگین میزان کاروتنوئید در شرایط تنش خشکی نسبت به آبیاری نرمال 41/55 درصد (در آبیاری نرمال 0/9 و در تنش خشکی 1/54 میلی گرم در گرم بافت تر) افزایش نشان داد. کاربرد میکوریزا در شرایط بدون تنش و تنش خشکی باعث افزایش میزان کاروتنوئید (به ترتیب به میزان 21/78 و 51/20 درصد) گردیده است (شکل 2).



شکل (2) مقایسه میانگین محتوای کاروتنوئید اکوتیپ های آویشن شیرازی تحت تأثیر تنش خشکی و کاربرد قارچ میکوریزا

ستونهای دارای حرف مشترک اختلاف معنی داری در سطح احتمال 5% با آزمون LSD ندارند.

**پرولین:** نتایج تجزیه واریانس حاکی از تأثیر معنی دار ( $p < 0/01$ ) اکوتیپ، تنش خشکی و کاربرد میکوریزا و کلیه اثرات متقابل آن ها بر پرولین بود (جدول 1). نتایج مقایسه میانگین (شکل 3) بیانگر آن است که میزان پرولین در تنش خشکی نسبت به آبیاری نرمال 46/12 درصد افزایش (به ترتیب 26/26 و 48/74 میکرو مول در گرم وزن تر برگ) یافت. با کاربرد میکوریزا محتوای پرولین در اکوتیپ های مختلف عکس العمل های متفاوتی نشان داد. در مطالعه زاریک و همکاران (2016) بر روی گیاه *Cupressus atlantica* G. در شرایط تنش خشکی 25 و 50 درصد، کاربرد میکوریزا باعث افزایش معنی دار محتوای پرولین در برگ های گیاهان همزیست شد.



شکل (3) مقایسه میانگین محتوای پرولین اکوتیپ های آویشن شیرازی تحت تأثیر تنش خشکی و کاربرد قارچ میکوریزا

ستونهای دارای حرف مشترک اختلاف معنی داری در سطح احتمال 5% آزمون LSD ندارند.

#### منابع:

- Azadi, M., Jamali, T., Kianmehr, Z., Kavooosi, G. and Ardestani, S.K., 2020. In-vitro (2D and 3D cultures) and in-vivo cytotoxic properties of *Zataria multiflora* essential oil (ZEO) emulsion in breast and cervical cancer cells along with the investigation of immunomodulatory potential. *Journal of Ethnopharmacology*, 257, 112865.
- Barghi, M., Ashrafi, M., Aminlari, M., Namazi, F. and Nazifi, S., 2021. The protective effect of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil on CCl4 induced liver fibrosis in rats. *Drug and Chemical Toxicology*, 44(3), 229-237.
- Bates, L.S., Waldren, R.P., and Teare, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39(1): 205-207.
- Ghilavizadeh, A., M.T. Darzi, and M.H.S. Hadi., 2013. Effects of bio fertilizer and plant density on essential oil content and yield traits of Ajowan (*Carum copticum*). *Middle-East Journal of Scientific Research*, 14(11): 1508-1512.
- Laurindo, L.K., Augusto, T., Silva, L.J.R. and Casal, T.B., 2020. Fungos micorrízicos arbusculares. In: Tancredo, S.L. (Ed.), Indicadores Da Qualidade Do Solo Em Sistemas Agroflorestais e Ecossistemas Associados. *PPGEAN, Curitiba*, pp. 7-23.
- Lichtenthaler, H.K., 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomern branes. *Met. Enzym*, 148:350-382.
- Mojaddar Langroodi, A., Tajik, H. and Mehdizadeh, T., 2019. Antibacterial and antioxidant characteristics of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil and hydroalcoholic extract of *Rhus coriaria* L. *Journal of Food Quality and Hazards Control*, 6(1): 16-24.
- Nouri, E., Breuillinsessoms, F., Feller, U., and Reinhardt, D., 2015. Phosphorus and nitrogen regulate arbuscular mycorrhizal symbiosis in *Petunia* hybrid. *PLoS One* 9, e90-841.
- Phillips, J.M. and Hayman, D.S., 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular Arbuscular mycorrhiza fungi for rapid assessment of infection. *Mycol. Soc. Journal*, 55: 159-161.

- Pouzesh-Shirazi, M., Haghghania, H., Khademi, R., 2018. Effect of mycorrhizal symbiosis on nutrient uptake and water use efficiency of Tomato under drought stress. *Journal of Water and Soil*. 32(4): 809-820. (In Persian)
- Turner, N.C., 1986. Crop water deficits: a decade of progress. *Advances in Agronomy*, 39: 1-51.
- Wang, Y., Wang, M., Li, Y., Wu, A., and Huang, J., 2018. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on growth and nitrogen uptake of *Chrysanthemum morifolium* under salt stress. *PLoS One*, 13 (4).
- Zarik, L., Meddich, A., Hijri, M., Hafidi, M., Ouhammou, A., Ouahmane, L., Duponnois, R. and Boumezzough, A., 2016. Use of arbuscular mycorrhizal fungi to improve the drought tolerance of *Cupressus atlantica* G. *Plant biology and pathology*, 339 (5-6): 185-196.

## The effect of drought stress and application of mycorrhiza fungi on some physiological traits of *Zataria multiflora* Boiss. ecotypes

A. Aghabapoor Dehkordi<sup>1\*</sup>, S. Houshmand<sup>2</sup>, SH. Mohammady<sup>3</sup> and R. Ravesh<sup>4</sup>

- 1- Corresponding author: Ph.D. student of genetics and plant race, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran
- 2- Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran
- 3- Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran
- 4- Assistant Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

Email: [Aghabapoor@yahoo.com](mailto:Aghabapoor@yahoo.com)

### Abstract

In this study, the effect of mycorrhizal fungi on reducing the effect of drought stress in eight ecotypes of *Zataria multiflora* Boiss. was investigated. A factorial experiment was conducted based on a completely randomized design, including two levels of drought stress (with and without drought stress) and two levels of arbuscular mycorrhizal fungus inoculation (with and without inoculation), were applied on two-years-old plants of *Z. multiflora* ecotypes with three replications. Results showed that drought stress reduced the mean of plant dry yield (55.33%), relative water content (49.09%) and proline content (34.43%) and did not have significant effect on carotenoid. Mycorrhiza application increased all of these traits. In this research, by using of mycorrhiza fungus the highest increase in dry yield was observed in Safashahr ecotype and highest increase in proline content was observed in Qasreghand ecotype. The highest increase in relative water content with mycorrhiza application was observed in Freidan ecotype. Overall, drought stress can limit plant growth and application of mycorrhiza fungi reduces the damage caused by drought stress.

**Key words:** *Zataria multiflora* Boiss, relative water content, carotenoid, proline.

## ساخت سامانه اوراکسپرسور *DREB1A* تحت کنترل پرموتور *RD29A*

رئوف مازندرانی<sup>1</sup>

<sup>1</sup>دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه گلستان

\*محمد باقر باقریه نجار<sup>2</sup>، مهناز اقدسی<sup>3</sup>

<sup>2,3</sup>عضو هیات علمی گروه زیست شناسی، دانشگاه گلستان

[mbbagherieh@gmail.com](mailto:mbbagherieh@gmail.com)

### چکیده

فاکتورهای رونویسی به عنوان گروه‌های هدف برای تنظیم بیان ژن جهت افزایش مقاومت گیاه به تنش‌های محیطی، برای تولید گیاهان تراریخته شناخته می‌شوند. بیان ژن *DREB1A* موجب القای ژن‌های پائین‌دست از جمله ژن *RD29A* می‌شود که مقاومت گیاه به تنش سرما را افزایش می‌دهد. بیش‌بیانی ژنهای مرتبط با افزایش مقاومت گیاهان در تنش‌های مختلف توسط پرموتور *RD29A*-*35S*، اغلب در شرایط غیر تنش باعث کاهش رشد گیاهان می‌شود. در این تحقیق از پرموتور القایی *RD29A* استفاده شد که فقط در شرایط تنش فعال می‌گردد. ژن *RD29A* دارای پرموتور منحصر به فردی است که دارای عناصر فعال سیس یعنی *DRE* و *ABRE* می‌باشد که می‌تواند تحت تنش‌های خشکی، شوری و سرما القا می‌گردد. برای ساخت سامانه ژنتیکی *RD29A:DREB1A*، استخراج DNA گیاه مدل آرابیدوپسیس، تکثیر قطعات ژن *DREB1A* و پرموتور ژن *RD29A* با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز PCR انجام شد. با آنزیم‌های برش دهنده *HindIII*، *XbaI* و *BamHI*، هضم آنزیمی برای هر دو قطعه ژنی صورت گرفت. الحاق قطعات برش خورده در حضور آنزیم‌ها، انجام پذیرفت. ترانسفورماسیون سامانه ژنتیکی به پلاسمید *pBluescript* با هدف تکثیر این سامانه در باکتری *E. coli* صورت گرفت. پس از کشت دادن و رشد باکتری بر روی محیط *LAIX* (محیط LB حاوی آنتی بیوتیک آمپی‌سیلین و مواد *IPTG* و *XGAL*) و اسکرین کلونی‌های سفید-آبی، استخراج پلاسمید جهت دریافت ژن نیز انجام شد. هضم آنزیمی با آنزیم‌های *HindIII* و *BamHI*، حضور قطعه به طول 4593 bp متعلق به ژن کانستراکت مورد نظر را تایید کرد. انتقال این کانستراکت به گیاهان مختلف جهت تولید گیاهان زراعی و باغی مقاوم به تنش سرما در دست بررسی است.

کلمات کلیدی: *DREB1A*، *RD29A*، *pBluescript*، *LAIX*، لیگاسیون

### مقدمه

از آنجائی که گیاهان همواره در جای خود ثابت هستند، رشد و عملکردشان به شدت تحت تأثیر تنش‌های غیرزیستی همچون خشکی، شوری و تغییرات دمایی است. کشف فرآیندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیک و تنظیمی و مکانیسم‌های دفاعی و انتقال آن به سایر گیاهان، باعث بهبود تحمل گیاهان تراریخته به تنش شده، که خود یک هدف مهم اصلاح نژاد گیاهی می‌باشد (برای و همکاران، 2000). در این بین عوامل رونویسی، در تنظیم انتقال پیام و بیان ژن‌های مرتبط با تنش درگیر هستند (شینوزاکی و همکاران،

1999). DREB (Dehydration Responsive Element Binding factor). عوامل رونویسی هستند که یک سری از ژن‌های مربوط به تنش غیرزیستی را القاء می‌کنند و موجب افزایش تحمل گیاهان به تنش می‌شوند (یاماگوچی شینوزاکی و شینوزاکی، 1994 - 2005).

بیش‌بینی ژن *DREB1A* در گیاه تراریخت آرابیدوپسیس تحت کنترل پروموتور *35S-CaMV* باعث مقاومت گیاه در شرایط تنش سرمایی می‌شود (جاگلو و همکاران، 1998). فاکتور رونویسی *DREB1A* توسط کاسوگا و همکاران (1999) در آرابیدوپسیس *تالیانا* و تحت دو پروموتور *35S-CaMV* و *RD29A* اوراکسپرس شد. گیاهان آرابیدوپسیس تراریخت در مقایسه با گیاهان وحشی مقاومت معنی‌دار و قابل توجهی به تنش خشکی، شوری و سرما نشان دادند. پروموتور *RD29A* دو نوع عنصر عمل‌کننده سیس دارد که در دو مسیر مستقل و وابسته به *ABA* فعالیت دارند. در واقع دو نوع *DRE* در پروموتور *RD29A* وجود دارد. بنابراین بیان فاکتور رونویسی *DREB1A* همزمان با بیان ژن *RD29A* سبب مقاومت بهتر گیاه در برابر تنش می‌شود (یاماگوچی و شینوزاکی، 1994).

کاسوگا و همکاران در سال 2004 گزارش کردند که تیمار گیاه آرابیدوپسیس تحت کنترل پروموتور *RD29A* رشد بهتری نسبت به گیاهی که تحت کنترل پروموتور *35S-CaMV* قرار گرفت. در این تحقیق و با توجه به نقش پروموتور ژن *RD29A* در افزایش بیان فاکتورهای رونویسی *DREB*. تصمیم گرفتیم قطعات ژن *DREB1A* و پروموتور ژن *RD29A* را از آرابیدوپسیس *تالیانا* جداسازی کرده و پس از تکثیر در *E. coli*، همسانه‌سازی کنیم تا در نهایت این سامانه ساخته شده در آگروباکتریوم کلون و برای ایجاد گیاهان زراعی مقاوم به تنش خشکی مورد استفاده قرار گیرد.

#### مواد و روش‌ها

سطح بذرهای گونه‌ی آرابیدوپسیس *تالیانا* (*Arabidopsis thaliana*) و واریته کلمبیا (*Col-0*) استریل، و به مدت 2 - 1 ساعت در زیر لامینارفلو در شرایط استریل خشک و بر روی پلیت‌های حاوی محیط استریل موراشیک-اسکوگ (MS) کشت شدند. برگها در نیتروژن مایع منجمد شدند و DNA بر اساس دلاپورتا و همکاران (1983) استخراج شد. تکثیر قطعات ژنی *DREB1A* و *RD29A* طبق روش کهن و همکاران (2013) انجام شد. (پرایمرهای PCR برای تکثیر cDNA در صورت درخواست توالی آنها ارایه می‌شود).

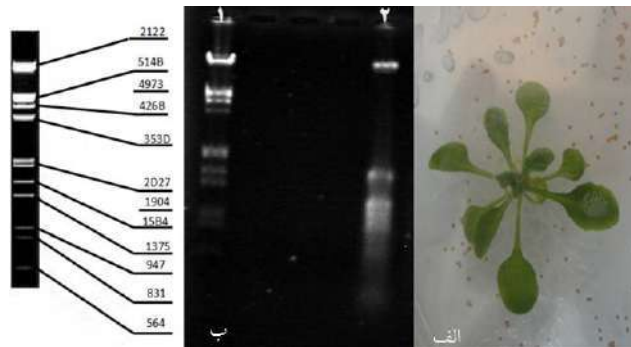
تخلیص محصول PCR با استفاده از کیت BioNEER انجام شد. جهت تایید قطعات ژنی، الکتروفورز محصول تخلیص با آگارز 0/01 صورت گرفت. برای رویت قطعات اسید نوکلئیک بر روی ژل، از رنگ اتیدیوم بروماید و جهت عکس‌برداری از دستگاه UV-trans eliminator (GelDocument) استفاده گردید. جهت انجام لیگاسیون و الحاق قطعات ژنی به پلاسمید *pBluescript*، ابتدا هضم دو آنزیمی هر دو قطعه ژن و پلاسمید با آنزیم‌های *XbaI*، *HindIII* و *BamHI* انجام گرفت (کهن و همکاران، 2012). پس از تهیه سلول‌های مستعد ترانسفورماسیون، عمل لیگاسیون با آنزیم‌های *HindIII* و *BamHI* صورت پذیرفت. سپس باکتری‌های ترانسفورم شده بر روی محیط LAIX که حاوی آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین جهت تأیید رشد باکتری که پلاسمید را دریافت نموده و مواد IPTG و XGAL جهت تأیید پلاسمیدی که ژن مورد نظر را دریافت نموده است، کشت داده شدند. جهت کنترل صحت روند آزمایش، پلاسمیدهای بسته *pBluescript* نیز به این باکتری‌های مستعد منتقل و بر روی پلیت‌های حاوی آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین



کشت داده شد. برای غربالگری کلنی‌های سفید-آبی، از تک کلنی سفید، درون محیط LB+amp مایع کشت داده و پس از 16 ساعت در دمای 37 درجه، استخراج پلاسمید از سلول باکتری صورت پذیرفت. جهت بررسی صحت اندازه قطعه‌ی پلاسمید، آن را بر روی ژل لود نموده و عکس‌برداری صورت گرفت.

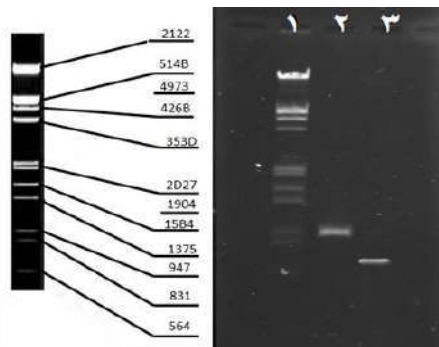
## نتایج

کشت بذره‌ای آراییدوپسیس در پلیت‌های حاوی محیط موراشیک-اسکوگ (MS) برای تولید گیاهچه‌های استریل (شکل 1- الف) انجام شد. جهت تکثیر قطعات ژنومی پروموتور *RD29A* و ژن *DREB1A*، استخراج DNA گیاه به روش دلاپورتا (1983) از برگ‌های جوان گیاهچه‌های 2-3 هفته‌ای آراییدوپسیس انجام و پس از الکتروفورز از ژل مربوطه عکس تهیه شد. DNA استخراج و باند مناسبی در محدوده 21 kb مشاهده گردید (شکل 1- ب).



شکل 1 - الف) کشت بذره‌ای آراییدوپسیس در پلیت حاوی محیط موراشیک-اسکوگ (MS). ب) DNA برگ آراییدوپسیس. ستون 1 مارکر *EcoRI/HindIII* و باند موجود در محدوده 21 kb. ستون 2 نشان دهنده وجود DNA آراییدوپسیس است.

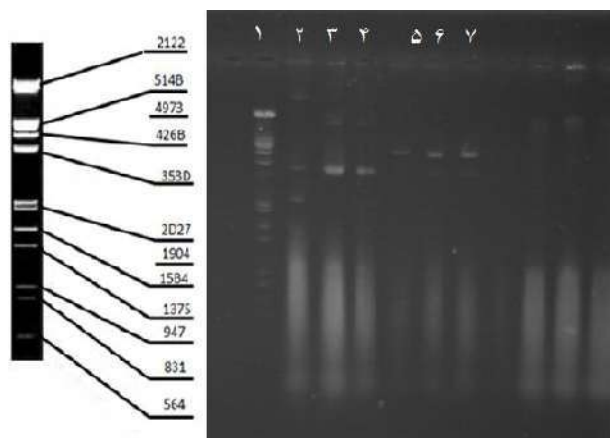
تکثیر قطعات ژنومی پروموتور *RD29A* و ژن *DREB1A* انجام شد (شکل 2). محصولات PCR برای استفاده در مراحل بعدی کلونینگ به وسیله کیت خالص سازی محصول PCR (شرکت Bioneer) تخلیص شد (شکل 2).



شکل 2 - ستون 1 مارکر و ستون 2 پروموتور ژن *RD29A* (924 bp) و ستون 3 ژن *DREB1A* (668 bp)

باکتری *E. coli* حاوی پلاسمید را که از مرکز تحقیقات ژنتیک کشور تهیه کردیم در محیط‌های LB مایع و جامد کشت داده، از آن‌جائی که پلاسمید *pBluescript* دارای ژن مقاومت به آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین می‌باشد به محیط‌های فوق، آمپی‌سیلین اضافه کردیم (شکل ضمیمه 1). پلاسمید از باکتری استخراج و جهت حذف DNA باکتری و با استفاده از کیت خالص سازی ژل (Bioneer)، از روی ژل خالص سازی گردید (شکل ضمیمه 1). کشت باکتری در محیط LB برای تهیه سلول‌های مستعد باکتری *E. coli* سویه *DH5α* انجام گردید. جهت انجام لیگاسیون و الحاق قطعات ژنی به یکدیگر و به پلاسمید، ابتدا طبق پروتکل هضم آنزیمی و بر اساس دستورالعملی که همراه آنزیم‌های خریداری شده (شرکت TAKARA ژاپن)، به طور جداگانه از محصول PCR و پلاسمید خالص شده، هضم همزمان دو آنزیمی با آنزیم‌های *XbaI* و *HindIII* و *BamHI* انجام شد. سپس با آنزیم T4 DNA Ligase جهت کلون شدن کانستراکت ساخته شده در پلاسمید، قرار داده شد. بعد از لیگاسیون به کمک سلول‌های مستعد عمل ترانسفورماسیون صورت گرفت. باکتری‌های ترانسفورم شده بر روی محیط LAIX که حاوی آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین جهت تائید رشد باکتری که پلاسمید را دریافت نموده و مواد IPTG و XGAL جهت تائید پلاسمیدی که ژن مورد نظر را دریافت نموده است، کشت داده شدند. باکتری‌هایی که پلاسمید شامل قطعه‌ای از DNA (به احتمال زیاد ژن مورد نظر) را دریافت نمودند کلنی‌های سفید رنگ ایجاد نمودند (شکل ضمیمه 2).

جهت بررسی صحت واکنش Ligation و نیز واکنش کلونینگ انجام شده، پس از کشت کلنی‌های سفید در محیط LB+ampicilin مایع، واکنش استخراج پلاسمید انجام و پس از الکتروفورز نمودن، از آن عکس تهیه شد. بر اساس وجود باندهی در محدوده بالاتر از 4200 bp و کمتر از 4900 bp (مورد انتظار ما 4593 bp) بر روی ژل، قطعات ژنی *RD29A* و *DREB1A* به پلاسمید منتقل شدند. در شکل 3 چاهک اول مربوط به مارکر، چاهک 2 پلاسمید حلقوی، چاهک 3 و 4 پلاسمید برش خورده که به صورت خطی در آمده است و چاهک‌های 5 و 6 و 7 پلاسمید استخراج شده از کلونی‌های سفید است که حاوی کانستراکت *RD29A:DRB1A* می‌باشد.



شکل 3 - باندهای موجود بر روی ژل، ساخت سامانه *RD29A:DREB1A* را نشان می‌دهد.

جهت تأیید مجدداً، باند مورد نظر از روی ژل استخراج و هضم آنزیمی با آنزیمهای *HindIII* و *BamHI* مجدداً صورت گرفت تا امکان هر گونه اشتباهی از بین برود. از سامانه فوق برای تحمل گیاه به تنش استفاده خواهد شد.

## بحث

با کشف مسیرهای سیگنالی پاسخ به تنش در گیاهان زراعی و غیر زراعی، تولید گیاهان مقاوم به تنش‌های محیطی مورد توجه قرار گرفت. هدف این تحقیق شناسایی، جداسازی و کلون کردن یک سامانه ژنی دخیل در مقاومت گیاه به تنش‌های محیطی از گیاه مدل *آرابیدوپسیس تالیانا* است که با بیان ژن‌های درگیر در تنش‌های محیطی منجر به تولید گیاهان تراریخت مقاوم به تنش‌های محیطی خواهد شد. از این رو و با آگاهی از نحوه تنظیم ژن‌ها در خلال سازگاری با سرما و شناخت عناصر سیس، نوردین و همکاران در سال 1993 عنوان کردند که این عناصر سیس در پروموتور ژن *LT178* وجود دارد. نقش این عناصر توسط یاماگوچی شینوزاکی و شینوزاکی در سال 1994 به اثبات رسید. این محققان ثابت کردند که در نواحی پروموتور ژن‌های *RD29A/COR78/LT178* عناصر تکراری سیس (CRT) وجود دارد که مسئول پاسخ به دمای پایین، خشکی و شوری زیاد است. از طرف دیگر ساکاموتو و همکاران (2000) پیشنهاد دادند که پروموتور *RD29A/LT178* هدف فاکتورهای رونویسی دیگری نیز می‌باشند. با بیان ژن *DREB1A* تحت تنش سرما و *DREB2A* تحت تنش خشکی و شوری و اثر آنان بر پروموتورهای القائی تنش، ژن‌های پائین‌دست آنان خصوصاً ژن *RD29A* بیان می‌شوند. از طرفی وقتی خود ژن *DREB1A* نیز متصل به ژن القائی تنش با همان عناصر فعال سیس باشد، انتظار داریم ژن *DREB1A* مجدداً بیان شوند که می‌تواند اثر مضاعفی بر مقاومت گیاه به تنش محیطی باشد. تاثیر افزایش بیان این ژن‌ها در گیاهان تراریخت نشان داد که ژن‌های *SOS2*, *AVP1*, *TPS1*, *CAX1*, *DREB1A* تفاوت قابل توجهی با سایر ژن‌ها داشتند. در نهایت ژن *DREB1A* که بیان بیش از 40 ژن را تنظیم می‌کند و تأثیر بیان بالای آن در مقاومت جامع به تنش‌های محیطی بسیار معنی‌دار است جهت اتصال پروموتور ژن *RD29A* به آن انتخاب گردید. هاک و همکاران (2002) اعلام کردند که بیان سطح بالای *DREB1/CBF1*، *DREB1A/CBF3* یا *CBF4* در گیاهانی که دوره سازگاری را نگذرانده‌اند، باعث بیان دائمی ژن‌های دارای پروموتورهای حاوی عنصر *LTRE/DRE* و افزایش سطح تحمل یخ‌زدگی و خشکی می‌شود. بنابراین اهمیت اتصال پروموتور تحریک شونده در تنش‌های غیرزیستی مزیتی بر پروموتور *35S-CaMV* خواهد بود.

## نتیجه‌گیری

افزایش توانایی یک عامل رونویسی مهم که می‌تواند بیان بسیاری از ژن‌های هدف را فعال کند، بسیار پراهمیت جلوه می‌کند. در حقیقت در بسیاری از مطالعات، اووراکسپرس شدن عامل رونویسی *DREB* قابل تحریک با تنش، بیان بسیاری از ژن‌های هدف را که در ناحیه پروموتورشان عنصر *DRE* داشته‌اند، فعال کرده است و گیاهان تراریخته به دست آمده، تحمل به تنش بهبود یافته‌ای داشته‌اند. تأخیر در رشد ناشی از اووراکسپرس *AtDREB1A* تحت کنترل پروموتور دائمی *35S-CaMV* با جایگزینی پروموتور القائی *RD29A* که در شرایط تنش تحریک می‌شود، در *آرابیدوپسیس* (کازوگا و همکاران، 1999) و توتون تراریخته (کازوگا و

همکاران، 2004) و سیب زمینی تراریخت (بهنام و همکاران، 2006) جبران شد. این مساله ثابت می کند که اووراکسپرس *DREB1A* با استفاده از پرموتور القائی *RD29A*، برای بهبود تحمل گیاه به خشکی، سرما و شوری بدون عواقب بد روی رشد گیاه مؤثر است

## Construction of *DREB1A* overexpression system under the control of *RD29A* promoter

### Abstract

Transcription factors are known as target groups for regulating gene expression to increase plant resistance to environmental stresses, for the production of transgenic plants. Expression of *DREB1A* gene induces downstream genes, including *RD29A* gene, which increases plant resistance to cold stress. Overexpression of genes related to increasing plant resistance in different stresses by *35S-CaMV* promoter often causes a decrease in plant growth in non-stress conditions. In this research, the inducible promoter *RD29A* was used, which is activated only under stress conditions. *RD29A* gene has a unique promoter that has cis-active elements, namely DRE and ABRE, which can be induced under drought, salt, and cold stresses. To construct the *RD29A:DREB1A* genetic system, DNA extraction of Arabidopsis model plant, amplification of *DREB1A* gene fragments and *RD29A* gene promoter were performed using PCR polymerase chain reaction. Enzymatic digestion was done for both gene fragments with *HindIII*, *XbaI* and *BamHI* cutting enzymes. The joining of the cut fragments was done in the presence of enzymes. The genetic system was transformed into *pBluescript* plasmid with the aim of multiplying this system in *E.coli* bacteria. After culturing and growing bacteria on LAIX medium (LB medium containing ampicillin antibiotic and IPTG and XGAL substances) and white-blue screen colonies, plasmid extraction was also done to get the gene. Enzyme digestion with *HindIII* and *BamHI* enzymes confirmed the presence of the 4593 bp fragment belonging to the desired construct gene. The transfer of this construct to different plants is under investigation to produce agricultural and garden plants resistant to cold stress.

**Keywords:** *DREB1A*, *RD29A*, *pBluescript*, LAIX, ligation

### منابع

- Behnam B., Kikuchi A., Celebi-Toprak F., Yamanaka S., Kasuga M., Yamaguchi-Shinozaki K., Watanabe K. N. (2006). The Arabidopsis *DREB1A* gene driven by the stress-inducible *rd29A* promoter increases salt-stress tolerance in proportion to its copy number in tetrasomic tetraploid potato (*Solanum tuberosum*). *Plant Biotech*, No. 23: 169-177.
- Bray E. A., Bailey-Serres J., and Weretilnyk E. (2000). Responses to abiotic stresses. In *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*, Buchanan B. B., Gruissem W., and Jones R. L., eds (Rockville, M. D.: American Society of Plant Biologists), pp. 1158-1203.
- Dellaporta, S. L., Wood, J. & Hicks, J. B. (1983). A plant DNA miniprep: version II. *Plant Molecular Biology Reporter*, 1(4): 19-21.
- Fowler S., Thomashow M. F. (2002). Arabidopsis transcriptome profiling indicates that multiple regulatory pathways are activated during cold acclimation in addition to the CBF cold response pathway. *Plant Cell*. 14: 1675-1690.

- Gilmour S.J., Sebolt A.M., Salazar M.P., Everard J.D., Thomashow M.F. (2000).** Over-expression of the Arabidopsis CBF3 transcriptional activator mimics multiple biochemical changes associated with cold acclimation. *Plant Physiol.*, 124:1854-1865.
- Haake V., Cook D., Riechmann J.L., Pineda O., Thomashow M.F., Zhang J.Z. (2002)** Transcription factor CBF4 is a regulator of drought adaptation in Arabidopsis. *Plant Physiol* 130:639-648.
- Jaglo-Ottosen K.R., Gilmour S.J., Zarka D.G., Schabenberger O., Thomashow M.F. (1998).** Arabidopsis CBF1 overexpression induces cold genes and enhances freezing tolerance. *Science* 280:104-106.
- Kasuga M., Liu Q., Miura S., Yamaguchi-Shinozaki K., Shinozaki K. (1999).** Improving plant drought, salt, and freezing tolerance by gene transfer of a single stress-inducible transcription factor. *Nat Biotechnol* 17:287-291.
- Kasuga M., Miura S., Shinozaki K., Yamaguchi-Shinozaki K. (2004).** A combination of the Arabidopsis DREB1A gene and stress inducible rd29A promoter improved drought- and low-temperature stress tolerance in tobacco by gene transfer. *Plant Cell Physiol* 45(3):346-350.
- Kohan, E.B., Bagherieh-Najjar, M.B., Aghdasi, M., & Bahrami, A.R. (2012).** Design and make up 35S::DREB1A molecular construct to produce environmental stress tolerant plants. *Journal of Cell and Molecular Research*, 4(2), 76-80.
- Lin, R.C., Park, H.J., & Wang, H.Y. (2008).** Role of Arabidopsis RAP2.4 in regulating light- and ethylene-mediated developmental processes and drought stress tolerance. *Molecular plant*, 1(1), 42-57.
- Liu Q., Kasuga M., Sakuma Y., Abe H., Miura S., Yamaguchi-Shinozaki K., Shinozaki K. (1998).** Two transcription factors, DREB1 and DREB2, with an EREBP/AP2 DNA binding domain separate two cellular signal transduction pathways in drought- and low-temperature-responsive gene expression, respectively, in Arabidopsis. *Plant Cell* 10:1391-1406
- Nordin K.V.T., Palva E.T. (1993).** Differential expression of two related, low-temperature-induced genes in Arabidopsis thaliana (L.) Heynh. *Plant Mol Biol.* Feb 21(4):641-653.
- Oh S.J., Song S.I., Kim Y.S., Jang H.J., Kim S.Y., Kim M.J., Kim Y.K., Nahm B.H., Kim J.K. (2005).** Arabidopsis CBF3/DREB1A and ABF3 in Transgenic Rice Increased Tolerance to Abiotic Stress without Stunting Growth. *Plant Physiol.* 138:341-351.
- Pellegrineschi A., Reynolds M., Pacheco M., Brito R., Almeraya R., Yamaguchi-Shinozaki K., Hoisington D. (2004).** Stress-induced expression in wheat of the Arabidopsis thaliana DREB1A gene delays water stress symptoms under greenhouse conditions. *Genome* 47:493-500.
- Sakamoto A., Valverde R., Alia C.T.H., Murata N. (2000).** Transformation of Arabidopsis with the codA gene for choline oxidase enhances freezing tolerance of plants. *Plant J* 22:449-453.
- Shinozaki K., Yamaguchi-Shinozaki K. (1999).** Molecular responses to drought stress. In: Shinozaki K., Yamaguchi-Shinozaki K. (eds) *Molecular responses to cold, drought, heat and salt stress in higher plants*. RGLandes, Austin, T. X., pp: 11-28.
- Yamaguchi-shinozaki K., Shinozaki K. (1994).** A novel Cis-acting element in an Arabidopsis gene is involved in responsiveness to drought, low-temperature, or high-salt stress. *Plant Cell* 6(2):251-264.
- Yamaguchi-Shinozaki K., Shinozaki K. (2005).** Organization of cis-acting regulatory elements in osmotic- and cold stress responsive promoters. *Trends Plant Sci* 10:88-94.
- Yamaguchi-shinozaki K., Shinozaki K. (1994).** A novel Cis-acting element in an Arabidopsis gene is involved in responsiveness to drought, low-temperature, or high-salt stress. *Plant Cell* 6(2):251-264.

## ارزیابی رشد و پاسخ آنتی اکسیدانی گیاه تاج خروس وحشی (*Amaranthus retroflexus* L.) به فناترن و پیرن از گروه ترکیبات آروماتیک چند حلقه‌ای

زهرا احمدزاده هوج<sup>1\*</sup>، سید یحیی صالحی لیسار<sup>2</sup>، سربه تاریقلیزاده<sup>3</sup>

1- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی، گروه زیست‌شناسی گیاهی، سلولی و ملکولی، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

\*نویسنده مسئول: [Zahra.ahmadzadeh99@ms.tabrizu.ac.ir](mailto:Zahra.ahmadzadeh99@ms.tabrizu.ac.ir)

2- اسناد، گروه زیست‌شناسی گیاهی، سلولی و ملکولی، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

3- دکتری فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست‌شناسی گیاهی، سلولی و ملکولی، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

### چکیده

یکی از مشکلات زیست محیطی ورود ترکیبات آلاینده آلی پایدار به محیط زیست است. تاج خروس وحشی یکی از علف‌های هرز رایج شناخته شده در جهان می‌باشد. پژوهش حاضر با هدف بررسی اثرات پیرن و فناترن از ترکیبات آروماتیک چند حلقه‌ای رایج، بر رشد و پاسخ آنتی اکسیدانی گیاه تاج خروس وحشی انجام گرفت. در یک طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار گیاهان در شرایط گلخانه‌ای به صورت هیدروپونیک بر روی بستر جامد پرلیت کشت داده شدند و اثر غلظت‌های 0، 150، 300، 450 و 600 ppm از ترکیبات پیرن و فناترن بر شاخص‌های رشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که هر دو آلاینده بیومس را کاهش دادند، اما تاثیر پیرن بیشتر از فناترن بود. به جز آنزیم کاتالاز در ریشه، فعالیت دو آنزیم دیگر با افزایش غلظت آلاینده‌ها بطور معنی‌داری کاهش یافت. این نتایج نشان می‌دهد که به احتمال زیاد تنش اکسیداتیو عامل کاهش رشد و اثرات زیانبار PAHs در خاک‌های آلوده به این مواد می‌باشد.

**واژگان کلیدی:** تاج خروس وحشی، ترکیبات آروماتیک حلقوی، تنش اکسیداتیو، شاخص‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک

### 1- مقدمه

هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای (PAHs)<sup>18</sup> آلاینده‌های آلی هستند که به دلایل طبیعی و فعالیت‌های انسانی به محیط زیست آزاد می‌شوند. وجود این ترکیبات فراگیر، تأثیر بالقوه منفی بر سلامتی موجودات زنده از جمله گیاهان دارد و در نتیجه، سرنوشت و حذف آنها از خاک، توجه بسیاری را در بین محققان به خود جلب کرده است. گیاه پالایی، ریزوسفرپالایی و سایر تکنیک‌های نوظهور می‌توانند برای حذف PAHs از خاک و آب آلوده استفاده شوند. گیاه پالایی یک استراتژی ایمن است که دارای مزایای اقتصادی بدون خطرات اکولوژیکی و بهداشتی است (Akash et al., 2022). جنس تاج خروس با حدود 75 تا 95 گونه بیش‌تر در مناطق معتدله و حاره‌ای جهان پراکنش دارند و علاوه بر این که به‌عنوان غذا و گیاه دارویی به کار می‌روند، از علف‌های هرز شناخته شده نیز محسوب می‌شوند. این گیاه می‌تواند به عنوان یک گیاه مدل برای بررسی جذب و انتقال آلاینده‌های محیط زیست مفید

<sup>18</sup> . Polycyclic Aromatic Hydrocarbons

باشد. در شرایط نامطلوب، گیاهان تعداد زیادی از گونه‌های ROS را تولید می‌کنند که در تنظیم فرآیندهای مختلف از جمله دفاع در برابر پاتوژن‌ها، مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده<sup>19</sup> و رفتار روزنه‌ای نقش دارند. این واکنش‌ها اثرات عمیق یا برگشت‌ناپذیری بر رشد بافت‌ها و اندام‌ها دارند که اغلب منجر به رشد غیرطبیعی یا مرگ گیاه می‌شود. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان عمدتاً شامل سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گلووتاتیون پراکسیداز هستند (Mittler, 2017). مطالعات متعددی در مورد استفاده از روش‌های گیاه پالایی در حذف هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای از خاک‌های آلوده صورت گرفته است ولی هیچ مطالعه‌ای بر روی گیاه تاج خروس وحشی از این نظر صورت نگرفته است. از اینرو، در این مطالعه میزان مقاومت گیاه تاج خروس وحشی نسبت به آلاینده‌های پیرن و فنانترو مورد بررسی قرار گرفت.

## 2- مواد و روش‌ها

**کاشت و تیمار گیاهان تاج خروس وحشی:** پس از ضد عفونی پرلیت با استفاده از اتوکلاو، پیرن و فنانترو در سطوح مختلف صفر (شاهد)، 150، 300، 450 و 600 ppm در اتانول حل شدند و به پرلیت اضافه گردیدند. بذور ضد عفونی شده گیاه تاج خروس وحشی با فاصله مناسب از هم در داخل پرلیت به تعداد 100 عدد در هر گلدان کشت داده شدند و به اتفاق رشد در شرایط فتوپریود 16 ساعت روشنایی و 8 ساعت تاریکی قرار گرفتند و با محلول هوگلند در حد ظرفیت زراعی آبیاری شدند. کشت گیاهان به صورت طرح کامل تصادفی با سه تکرار صورت گرفت.

**اندازه‌گیری شاخص‌های رشدی گیاهان:** اندام‌های هوایی و ریشه در هر گیاه از هم جدا گردید و با استفاده از ترازو وزن‌تر نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. همچنین طول اندام هوایی و طول ریشه محاسبه گردید. سپس اندام‌های هوایی و ریشه به صورت جداگانه در آون به مدت 24 ساعت در دمای 60 درجه سانتیگراد نگهداری گردیدند و نهایتاً وزن خشک نمونه‌ها اندازه‌گیری و ثبت گردید.

**سنجش فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانت:** فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر و با اندازه‌گیری میزان کاهش جذب نوری پراکسید هیدروژن در طول موج 240 نانومتر، فعالیت آنزیم پراکسیداز با اندازه‌گیری افزایش جذب نور در طول موج 470 نانومتر طی پلیمریزاسیون گایاکول و تشکیل تتراگایاکول (Change and Maechly, 1955) و سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز با اندازه‌گیری میزان کاهش جذب در طول موج 290 نانومتر (Boominathan and Doran, 2002) انجام گرفت.

**آنالیز آماری:** رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار Microsoft Office Excel 2016، و آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه 16 انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش مدل خطی عمومی (GLM)20 و آزمون توکی در سطح احتمال 1 درصد انجام گردید.

## 3- نتایج و بحث

**تأثیر پیرن و فنانترو بر شاخص‌های رشدی اندام‌های هوایی و ریشه:** نتایج نشان داد که تمام شاخص‌های رشدی تحت تأثیر این ترکیبات روند کاهشی ولی متفاوت را نشان دادند. بازدارندگی رشدی این ترکیبات با افزایش غلظت آنها بیشتر شد و در مجموع اثرات بازدارندگی رشدی توسط پیرن بیشتر از فنانترو بود. کاهش معنی‌دار رشد و تولید بیومس در حضور ترکیبات پیرن و فنانترو

<sup>19</sup> Programmed Cell Death

<sup>20</sup> General Linear Model

در مطالعات دیگر روی ذرت (Houshani et al., 2019)، ارزن (Tarigholizadeh et al., 2021) و آرابیدوپسیس تالیانا (Liu et al., 2009) قبلاً نیز گزارش شده است. استراتژی برخی گیاهان متحمل به تنش PAHs رشد آهسته بخش‌های هوایی و رشد سریع ریشه است که باعث محدودیت انتقال آلاینده‌ها از ریشه به بخش‌های هوایی می‌گردد. در این حالت آلاینده‌ها در ریشه نگهداری شده و انتقال آب و عناصر غذایی به گیاه بیشتر خواهد بود که نوعی روش مقابله با تنش می‌باشد.

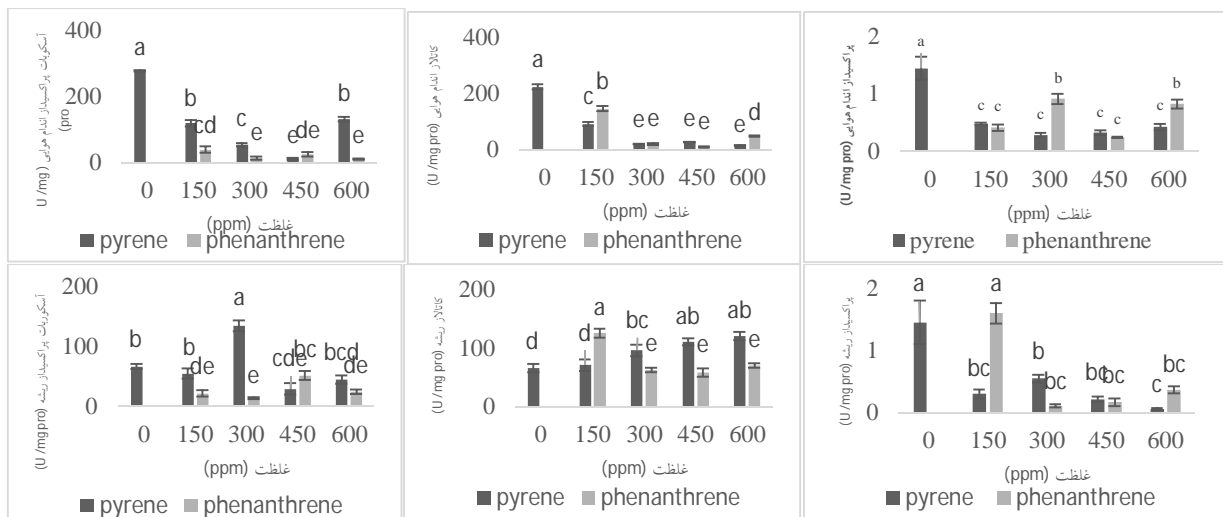
**جدول 1- تاثیر غلظت‌های مختلف پیرن و فنانترن بر شاخص‌های رشد گیاه تاج خروس وحشی. داده‌ها میانگین سه تکرار  $\pm$  خطا استاندارد هستند و حروف یکسان نشان دهنده عدم تفاوت معنی دار در سطح احتمال 1% می‌باشند.**

تیماز	ریشه		اندام هوایی		غلظت (ppm)	
	ارتفاع (cm)	وزن خشک ( $\text{mg plant}^{-1}$ )	ارتفاع (cm)	وزن خشک ( $\text{mg plant}^{-1}$ )		
شاهد	15/00 $\pm$ 2/ 65 <sup>bc</sup>	0/14 $\pm$ 0/014 <sup>b</sup>	33/50 $\pm$ 0/50 <sup>a</sup>	0/91 $\pm$ 0/06 <sup>a</sup>	0	
پیرن	18/83 $\pm$ 3/33 <sup>ab</sup>	0/05 $\pm$ 0/001 <sup>de</sup>	24/00 $\pm$ 1/32 <sup>cd</sup>	0/47 $\pm$ 0/05 <sup>bc</sup>	150	
	13/50 $\pm$ 0/50 <sup>bc</sup>	0/04 $\pm$ 0/003 <sup>ef</sup>	22/33 $\pm$ 0/76 <sup>cde</sup>	0/35 $\pm$ 0/04 <sup>c</sup>	300	
	8/83 $\pm$ 1/04 <sup>c</sup>	0/01 $\pm$ 0/002 <sup>f</sup>	13/50 $\pm$ 1/32 <sup>f</sup>	0/13 $\pm$ 0/01 <sup>d</sup>	450	
	19/33 $\pm$ 2/52 <sup>ab</sup>	0/05 $\pm$ 0/002 <sup>de</sup>	20/33 $\pm$ 2/02 <sup>de</sup>	0/34 $\pm$ 0/04 <sup>c</sup>	600	
فنانترن	26/00 $\pm$ 3/00 <sup>a</sup>	0/19 $\pm$ 0/009 <sup>a</sup>	29/50 $\pm$ 0/50 <sup>b</sup>	1/04 $\pm$ 0/02 <sup>a</sup>	150	
	19/83 $\pm$ 0/76 <sup>ab</sup>	0/10 $\pm$ 0/003 <sup>c</sup>	25/83 $\pm$ 1/44 <sup>bc</sup>	0/61 $\pm$ 0/07 <sup>b</sup>	300	
	16/50 $\pm$ 1/50 <sup>b</sup>	0/06 $\pm$ 0/003 <sup>d</sup>	23/67 $\pm$ 0/29 <sup>cde</sup>	0/40 $\pm$ 0/01 <sup>c</sup>	450	
	13/40 $\pm$ 1/85 <sup>bc</sup>	0/02 $\pm$ 0/003 <sup>f</sup>	19/83 $\pm$ 0/76 <sup>e</sup>	0/19 $\pm$ 0/01 <sup>d</sup>	600	

**تاثیر پیرن و فنانترن بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت:** تحت تاثیر تیمار پیرن و فنانترن در ریشه و اندام هوایی گیاه تاج خروس وحشی، فعالیت پراکسیداز در مقایسه با گیاه شاهد کاهش یافت. در مطالعه‌ای جداگانه فلوئورن که جزء ترکیبات PAHs می‌باشد، چنین تاثیری بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاه گندم گزارش شده است (Salehi-Lisar and Deljoo, 2015). با توجه به نتایج به دست آمده هر چند آنزیم پراکسیداز از آنزیم‌های مهم در جاروب کردن رادیکال‌های آزاد و ایجاد مقاومت برای گیاه در حالت تنش می‌باشند، اما به احتمال زیاد نقش این آنزیم در غلظت‌های پایین آلاینده‌ها تعیین کننده است و در غلظت‌های بالا کارایی خود را از دست می‌دهد. فعالیت کاتالاز در اندام هوایی با افزایش غلظت پیرن و فنانترن در مقایسه با گیاه شاهد به طور معنی داری کاهش یافت، در حالی که در ریشه افزایش معنی داری در مقایسه با شاهد مشاهده شد. در مطالعه هوشنی و همکاران (2019) نیز مشاهده شده است که تیمار فنانترن در گیاه ذرت باعث کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز در اندام هوایی می‌گردد، در حالی که در غلظت‌های بالای پیرن افزایش فعالیت آنزیم مشاهده شده است. روند کاهشی در فعالیت آنزیم کاتالاز در اندام هوایی گیاه تاج خروس وحشی



را می‌توان به عنوان عدم درگیری این آنزیم در سیستم دفاعی گیاه در مقابل تنش اکسیداتیو فرض کرد. همچنین، غیر فعال شدن آنزیم کاتالاز در شرایط تنش اکسیداتیو ممکن است به واسطه بازداشته شدن سنتز آنزیم و یا غیر فعال شدن آنزیم توسط اکسیژن منفرد، پراکسید هیدروژن و آنیون هیدروکسیل باشد (Hosseini Boldaji et al., 2012). فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در اندام هوایی گیاه تاج خروس وحشی در غلظت‌های مختلف تنش پیرن و فناترن کاهش یافت در حالی که در ریشه فعالیت آن در تنش پیرن تا غلظت 300 ppm افزایش نشان داد ولی در ادامه با افزایش غلظت پیرن تا 600 ppm کاهش فعالیت نشان داد. همچنین میزان فعالیت این آنزیم در تنش فناترن با افزایش غلظت در مقایسه با گیاه شاهد کاهش معنی‌داری داشت. در یک بررسی روی گیاه آرابیدوپسیس *تالیانا* غلظت پایین از فناترن باعث افزایش آنزیم آسکوربات پراکسیداز گشته است اما ادامه افزایش غلظت منجر به کاهش فعالیت این آنزیم شده است (Liu et al., 2009).



شکل 1- تاثیر غلظت‌های مختلف پیرن و فناترن بر آنزیم‌های پراکسیداز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در گیاه تاج خروس وحشی. داده‌ها میانگین سه تکرار  $\pm$  خطا استاندارد هستند و حروف یکسان نشان دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال 1٪ می‌باشند.

#### 4- نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر نشان داد که افزایش غلظت فناترن و پیرن در گیاه تاج خروس وحشی منجر به کاهش معنی‌دار شاخص‌های رشدی ریشه و اندام هوایی این گیاه شد به طوری که کاهش رشد در حضور پیرن به مراتب بیشتر از فناترن مشاهده گردید.

#### 5- منابع

Akash, S., Sivaprakash, B., Rajamohan, N., and Selvankumar, T., 2022. Biotransformation as a tool for remediation of polycyclic aromatic hydrocarbons from polluted environment-review on toxicity and treatment technologies. *Environmental Pollution*, 120923.

Boominathan, R., and Doran, P. M., 2002. Ni-induced oxidative stress in roots of the Ni hyperaccumulator, *Alyssum bertolonii*. *New phytologist*, 156(2), pp.205-215.

Change, B., and Maehly, A. C., 1955. Assay of catalases and peroxidase. *Methods Enzymol*, 2, pp. 764-775.

- Hosseini Boldaji, S. A., Khavari-Nejad, R. A., Hassan Sajedi, R., Fahimi, H., and Saadatmand, S., 2012. Water availability effects on antioxidant enzyme activities, lipid peroxidation, and reducing sugar contents of alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Acta physiologiae plantarum*, 34, 1177-1186.
- Houshani, M., Salehi-Lisar, S. Y., Motafakkerazad, R., and Movafeghi, A., 2019. Uptake and distribution of phenanthrene and pyrene in roots and shoots of maize (*Zea mays* L.). *Environmental Science and Pollution Research*, 26, pp.9938-9944.
- Liu, H., Weisman, D., Yuan-bei, Y., Cui, B., Huang, Y., Colon-Carmona, A., and Wang, Z., 2009. An oxidative stress response to polycyclic aromatic hydrocarbon exposure is rapid and complex in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Science*. 176: pp.375-382.
- Mittler, R., 2017. ROS are good. *Trends in plant science*, 22(1), pp. 11-19.
- Salehi-Lisar, S. Y., Deljoo, S., & Harzandi, A. M., 2015. Fluorene and phenanthrene uptake and accumulation by wheat, alfalfa and sunflower from the contaminated soil. *International journal of phytoremediation*, 17(12), pp.1145-1152.
- Tarigholizadeh, S., Motafakkerazad, R., Salehi-Lisar, S. Y., Mohajel Kazemi, E., Sushkova, S., and Minkina, T., 2022. Phenanthrene uptake and translocation by *Panicum miliaceum* L. tissues: an experimental study in an artificial environment. *Environmental Geochemistry and Health*, pp.1-12.

## Evaluation of growth and antioxidant response of *Amaranthus retroflexus* L. to phenanthrene and pyrene from polycyclic aromatic compounds

Zahra Ahmadzadeh Hooch<sup>1\*</sup>, Seyed Yahya Salehi-Lisar<sup>2</sup>, Sarieh Tarigholizadeh<sup>3</sup>

1. MSc of Plant Physiology, Department of Plant, Cell and Molecular Biology, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran

Corresponding author: [Zahra.ahmadzadeh99@ms.tabrizu.ac.ir](mailto:Zahra.ahmadzadeh99@ms.tabrizu.ac.ir)

2. Professor of Plant Physiology, Department of Plant, Cell and Molecular Biology, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran
3. PhD of Plant Physiology, Department of Plant, Cell and Molecular Biology, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran

### Abstract

One of the environmental problems is the entry of persistent organic pollutant compounds such as polycyclic aromatic compounds into the environment. Redroot pigweed (*Amaranthus retroflexus* L.) is one of the most common weeds known in the world. The present study was conducted with the aim of investigating the effects of pyrene and phenanthrene on growth and antioxidant response of the redroot pigweed. In a completely randomized design with three replications, plants were grown hydroponically under greenhouse conditions on perlite and the effect of 0, 150, 300, 450 and 600 ppm of pyrene and phenanthrene growth parameters antioxidant enzymes activity were measured. The results showed that both pollutants reduced the biomass of plants, but the effect of pyrene was higher than that of phenanthrene. Except for the catalase activity in the roots, the activity of two other enzymes decreased significantly with the increase in the concentration of pollutants. These results show that oxidative stress is most likely the cause of growth reduction and the harmful effects of PAHs in soils contaminated with these substances.

**Key words:** *Amaranthus retroflexus*, cyclic aromatic compounds, oxidative stress, morphological and physiological indicators

## مقایسه ترکیبات فنلی در اندام های مختلف گیاهان سیر جمع آوری شده از استان های

### مختلف ایران

ساناز علی آبادی<sup>1</sup>

<sup>1</sup> کارشناسی ارشد علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس

محسن شریفی<sup>2\*</sup>

<sup>2\*</sup> گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس

آدرس ایمیل:

Sanaz.aliabadi@modares.ac.ir

### چکیده

پیازچه گیاه سیر (*Allium sativum* L.) از دیرباز، به عنوان یک عامل ضد ویروسی، ضد باکتریایی و ضد قارچی کاربرد داشته است. مطالعات نشان می‌دهند که بخشی از این خواص به ترکیبات فنلی این گیاه مربوط می‌شود. همچنین مشخص شده است که خواص دارویی سیر توسط عوامل محیطی و فیزیکی تحت تاثیر قرار می‌گیرد. بنابراین، این پژوهش به منظور بررسی اثر شرایط مختلف آب و هوایی و همچنین فرایند فرآوری بر مقدار ترکیبات فنلی اندام های مختلف گیاه سیر انجام شد. برای این منظور، بوته‌های سیر تازه از مزارع سه استان مازندران، آذربایجان شرقی و همدان جمع آوری شدند. سپس، بخشی از پیازچه‌های بوته‌های جمع آوری شده به روش خانگی فرآوری و به سیر سیاه تبدیل شدند. نتایج نشان دادند که به طور کلی گیاهان جمع آوری شده از استان آذربایجان شرقی بیشترین مقدار ترکیبات فنلی را دارا بوده و در این میان، اندام برگ بیشترین سهم را به خود اختصاص داده است. همچنین، نتایج HPLC نشان داد که میزان زیادی از این ترکیبات در اندام برگ، سینامیک اسید و گالیک اسید می‌باشند. میزان این فنلیک اسیدها در برگ گیاهان مازندران 3 برابر بیشتر از محتوای آن‌ها در برگ گیاهان استان‌های دیگر بود. این مشاهدات تایید کننده نقش شرایط آب و هوایی و همچنین نوع اندام در تجمع ترکیبات فنلی در گیاه سیر می‌باشد. از طرف دیگر مشخص شد که میزان ترکیبات فنلی مورد بررسی در سیر سیاه تقریباً دو برابر سیر تازه بود که احتمالاً به دلیل آزاد شدن و تغییرات شیمیایی آن‌ها تحت تاثیر دمای بالا می‌باشد.

واژگان کلیدی: فنلیک اسیدها، ترکیبات فنلی، سیر، سیر فرآوری شده، شرایط مختلف آب و هوایی

### مقدمه

سیر (*Allium sativum*) گیاهی تک لپه از خانواده Alliaceae بوده که به دلیل داشتن انواع متابولیت های ثانوی خواص دارویی فراوانی دارد. گروهی از این متابولیت های ثانوی ترکیبات فنلی می‌باشند. این ترکیبات حاوی یک یا چند حلقه بنزنی و گروه های هیدروکسیل بوده و از همین جهت دارای خاصیت پاداکسایدنگی بالایی هستند. مطالعات نشان داده است که محتوای کمی و کیفی این ترکیبات در گیاهان تحت تاثیر عوامل مختلفی مانند شرایط محیطی، ژنوم و عوامل زراعی تغییر می‌یابد<sup>(1)</sup>. همچنین عملیات حرارتی که منجر به واکنش های قهوه ای شدن غیر آنزیمی مانند واکنش میلارد، کاراملی شدن و اکسیداسیون شیمیایی می‌شوند نیز می‌توانند بر میزان ترکیبات ثانوی و خواص دارویی اثر داشته باشند. مشخص شده است که سیر سیاه خاصیت پاداکسایدنگی بیشتری در مقایسه با سیر خام دارد<sup>(2)</sup>. فنلیک اسیدها از جمله پاداکسایدنگه های مهمی هستند که از موجود زنده در برابر اثرات منفی

رادیکال های آزاد محافظت می کنند. گزارش شده است کافئیک اسید و پس از آن فرولیک اسید را فنلیک اسید غالب در پیازچه سیر هستند<sup>(۴،۵)</sup>. Kim و همکاران نیز در سال 2013 مقدار ترکیبات فنلی موجود در سیر حرارت دیده را به طور معنی داری بیشتر از سیر تازه و بخارپز گزارش کردند. بنابراین، این مطالعه به منظور مقایسه میزان ترکیبات فنلی کل و اسیدهای فنلی در اندام های مختلف گیاهان سیر رشد کرده در شرایط آب و هوایی مختلف و همچنین مقایسه این ترکیبات بین سیر تازه و سیر سیاه انجام شد.

## مواد و روش ها

### جمع آوری و آماده سازی نمونه ها

بوته های کامل سیر از شهرستان رستم کلا واقع در استان مازندران، شهرستان آذرشهر واقع در استان آذربایجان شرقی، و شهرستان نهاوند یکی از شهرستان های استان همدان در اواخر دوره رویشی به ترتیب در اوایل خرداد ماه، اواخر خرداد ماه و نیمه تیر ماه جمع آوری شدند. پس از انتقال به آزمایشگاه، اندام های مختلف آن ها جدا و بوسیله آون در دمای 40 درجه سانتی گراد به مدت 48 ساعت خشک شدند.

### فرآوری سیر سیاه

به منظور فرآوری سیر سیاه، ابتدا حبه های سیر تازه را به همراه پوسته خارجی در داخل ظروف آلومینیومی قرار داده و بوسیله فویل کاملا پوشانده شدند. سپس ظرف های حاوی سیرها به مدت 28-30 روز داخل زودپز در دمای متغیر 50-60 درجه سانتیگراد قرار داده شدند<sup>(۶)</sup>.

### اندازه گیری ترکیبات فنلی کل

سنجش ترکیبات فنلی کل به روش فولین دنیس انجام شد. برای این منظور، 0,1 گرم بافت خشک اندام های برگ، ساقه، پیازچه و سیر سیاه در 2 میلی لیتر متانول اسیدی همگن و سانتریفیوژ شد. سپس 0,5 میلی لیتر عصاره متانولی به 2,5 میلی لیتر فولین 10 درصد و 2 میلی لیتر کربنات سدیم 7,5 درصد اضافه شد. جذب مخلوط واکنش یک ساعت بعد در طول موج 730 نانومتر توسط دستگاه اسپکتوفتومتر خوانده شد<sup>(۸)</sup>.

### اندازه گیری فنلیک اسیدها

برای استخراج ترکیبات فنلی 0/4 گرم بافت خشک اندام های ساقه، برگ، پیازچه و سیرسیاه در 2 میلی لیتر متانول ساییده شد. محلول به دست آمده پس از 3 ساعت شیک شدن سانتریفیوژ شد. محلول روشنوار خشک شده و سپس آن 4 میلی لیتر استونیتریل افزوده شد. سپس 3 میلی لیتر آن-هگزان به آن اضافه شد تا محلول به دو فاز تقسیم شود. فاز استونیتریل جدا و خشک شد. در نهایت رسوب خشک شده در 500 میکرولیتر متانول حل شد و به دستگاه HPLC تزریق شد<sup>(۹)</sup>.

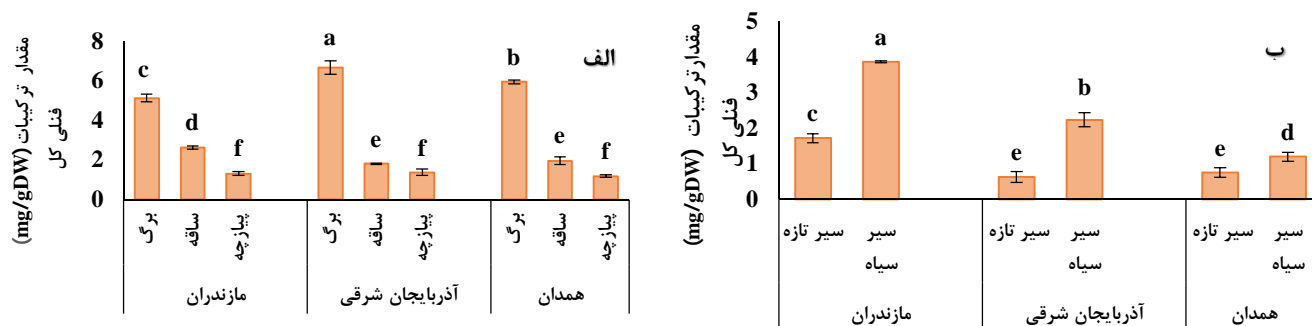
### تجزیه و تحلیل آماری

آنالیزهای آماری در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار مستقل انجام گرفت. مقایسه میانگین ها با استفاده از نرم افزار SPSS انجام شد. آزمون دانکن نیز جهت معنی دار بودن تفاوت ها در سطح  $p \leq 0/05$  انجام شد.

## نتایج

### بررسی مقدار ترکیبات فنلی کل

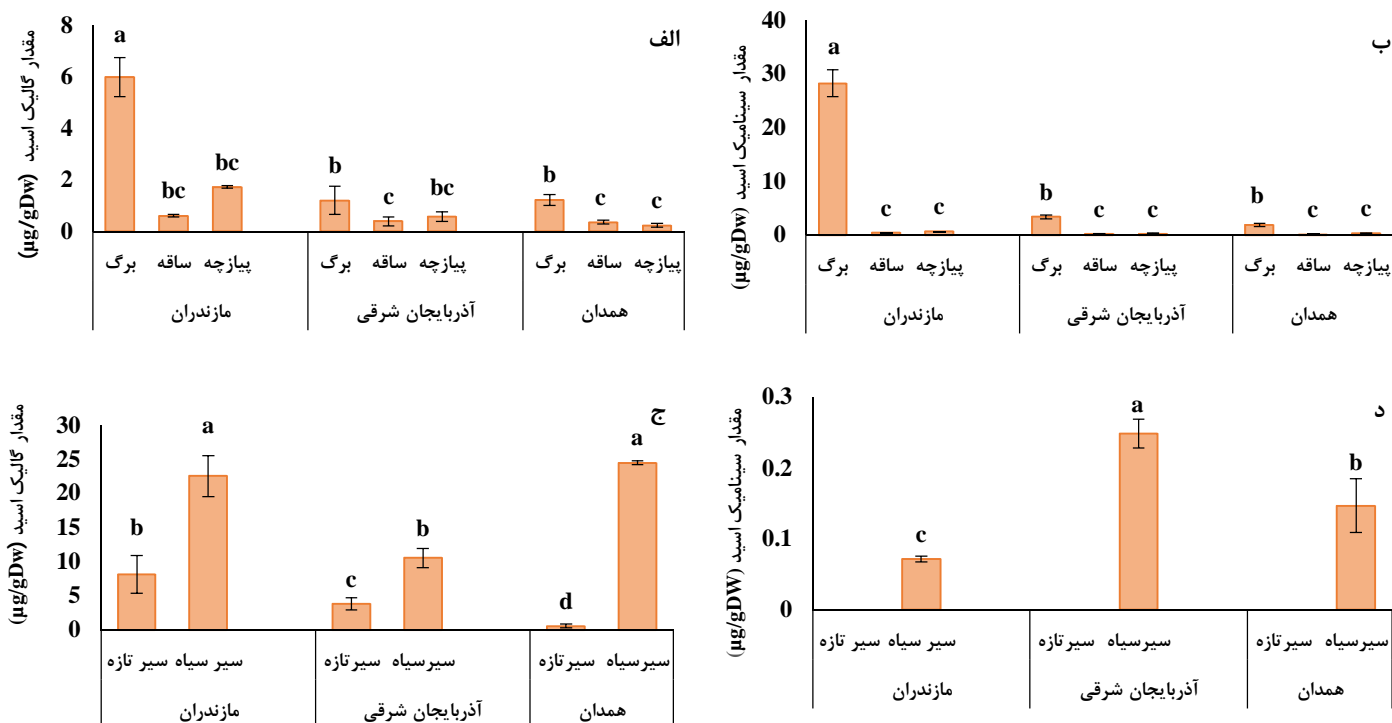
بیشترین مقدار ترکیبات فنلی کل در برگ گیاه سیر و کمترین مقدار آن در پیازچه مشاهده شد. به طور کلی مقدار ترکیبات فنلی کل بوته های جمع آوری شده از استان های مختلف تفاوت معنی داری داشت. همچنین میزان ترکیبات فنلی کل در سیر سیاه بیشتر از سیر تازه گزارش شد (شکل 3-1).



شکل 3-1- مقدار ترکیبات فنلی کل در اندام های مختلف گیاهان سیر جمع آوری شده از استان های آذربایجان شرقی، مازندران و همدان (الف) و سیر تازه و سیر سیاه (ب). مقادیر میانگین سه تکرار و حروف متفاوت نشان دهنده ی تفاوت معنی دار در سطح ( $p < 0/05$ ) می باشد.

#### بررسی مقدار اسید های فنلی

نتایج نشان دهنده تفاوت معنی دار میزان گالیک اسید و سینامیک اسید در برگ نسبت به سایر اندام ها بود. این تفاوت در برگ گیاهان جمع آوری شده از استان مازندران بسیار زیاد بود (شکل 3-2 الف و ب). همچنین مشخص شد که مقدار این دو اسید فنلی در سیر سیاه تقریباً دو برابر بیشتر از سیر تازه می باشد (شکل 3-2 ج و د).



شکل 2-3- مقدار گالیک اسید و سینامیک اسید در اندام های مختلف گیاهان جمع آوری شده از استان های آذربایجان شرقی، مازندران و همدان ( الف و ب) و سیر سیاه و سیر تازه (ج و د). مقادیر نشان داده شده میانگین سه تکرار و حروف متفاوت نشان دهنده ی تفاوت معنی دار در سطح ( $p < 0/05$ ) می باشد.

### بحث

ترکیبات فنلی بزرگترین گروه پاداکساینده طبیعی موجود در تمام قسمت های گیاه از جمله ریشه، ساقه، برگ، دانه ها، گل ها و میوه ها می باشند که توزیع مساوی در این اندام ها ندارند<sup>(7)</sup>. نتایج ما نشان داد که بیشترین تجمع ترکیبات فنلی در برگ گیاه سیر است که احتمالاً میزان زیادی از این ترکیبات در اندام برگ سینامیک و گالیک اسید می باشند. همچنین مشاهده شد که در گیاهان رشد کرده در استان های مختلف با شرایط آب و هوایی متفاوت مقدار ترکیبات فنلی متفاوت است، به طوری که تقریباً اختلاف 3 برابر بین مقدار اسیدهای فنلی اندازه گیری شده در برگ گیاهان مازندران و دو استان دیگر بود. مطالعات نشان دادند که شرایط آب و هوایی و دمای محیط می تواند با اثر بر فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیااز به عنوان آنزیم کلیدی در سنتز ترکیبات فنلی، مقدار تولید این ترکیبات را تغییر دهند.

همچنین نتایج نشانگر افزایش زیاد ترکیبات فنلی در سیر سیاه نسبت به سیر تازه بود. میزان فنل کل و اسیدهای فنلی مورد بررسی به میزان تقریبی دو برابر افزایش نشان دادند. ترکیبات فنلی معمولاً در شبکه های پکتین یا سلولزی سبزیجات ذخیره می شوند، افزایش محتوی کل ترکیبات فنلی آزاد در طی عملیات حرارتی احتمالاً به دلیل آزاد شدن آن ها از پیوند (استروف و گلیکوزیده) تحت تأثیر دمای بالا و یا به احتمال زیاد به دلیل افزایش مداوم سطوح ترکیبات فنلی پیچیده در نتیجه مراحل بعدی واکنش قهوه ای شدن می باشد<sup>(7)</sup>. پردازش حرارتی همچنین می تواند منجر به تولید اسیدهای فنلی متفاوتی می شود<sup>(1)</sup>.

### نتیجه گیری

به طور کلی، ترکیبات فنلی تفاوت معنی داری را میان بوته های سیر جمع آوری شده در استان های مختلف و همچنین اندام های مختلف آن ها نشان دادند. این نتایج نمایانگر تاثیر گذاری ژنوتیپ و مکان بر ترکیبات فنلی می باشد. بیشترین مقدار این ترکیبات مربوط به اندام هوایی برگ گیاه سیر که محل سنتز ترکیبات فنلی می باشد، بود. همچنین میزان ترکیبات فنلی در طول دوره تبدیل شدن سیر تازه به سیر سیاه افزایش یافتند.

### منابع

1. Afzaal, M., Saeed, F., Rasheed, R., Hussain, M., Aamir, M., Hussain, S., Mohamed, A., Alamri, M., and Anjum, F.M., 2021. Nutritional, biological, and therapeutic properties of black garlic: a critical review. *International Journal of Food Properties*, 24(1), pp.1387-1402.
2. Bae, S.E., Cho, S.Y., Won, Y.D., Lee, S.H., and Park, H.J., 2014. Changes in S-allyl cysteine contents and physicochemical properties of black garlic during heat treatment. *LWT-Food Science and Technology*, 55(1), pp.397-402.
3. Najman, K., Sadowska, A., and Hallmann, E., 2020. Influence of thermal processing on the bioactive, antioxidant, and physicochemical properties of conventional and organic agriculture black garlic (*Allium sativum* L.). *Applied Sciences*, 10(23), pp.8638.
4. Alarcón-Flores, M.I., Romero-González, R., Martínez Vidal, J.L., and Garrido Frenich, A., 2014. Determination of phenolic compounds in artichoke, garlic and spinach by ultra-high-performance liquid chromatography

coupled to tandem mass spectrometry. *Food analytical methods*, 7, pp.2095-2106.

5. Piazzon, A., Vrhovsek, U., Masuero, D., Mattivi, F., Mandoj, F., and Nardini, M., 2012. Antioxidant activity of phenolic acids and their metabolites: synthesis and antioxidant properties of the sulfate derivatives of ferulic and caffeic acids and of the acyl glucuronide of ferulic acid. *Journal of agricultural and food chemistry*, 60(50), pp.12312-12323.
6. Nakagawa, K., Maeda, H., Yamaya, Y., and Tonosaki, Y., 2020. Maillard reaction intermediates and related phytochemicals in black garlic determined by EPR and HPLC analyses. *Molecules*, 25(19), pp.4578.
7. Lachowicz, S., Kolniak-Ostek, J., Oszmiański, J., and Wiśniewski, R., 2017. Comparison of phenolic content and antioxidant capacity of bear garlic (*Allium ursinum* L.) in different maturity stages. *Journal of food processing and preservation*, 41(1), pp.e12921.
8. Ainsworth, E.A. and Gillespie, K.M., 2007. Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin–Ciocalteu reagent. *Nature protocols*, 2(4), pp.875-877.
9. Owen, R.W., Haubner, R., Mier, W., Giacosa, A., Hull, W.E., Spiegelhalder, B., and Bartsch, H., 2003. Isolation, structure elucidation and antioxidant potential of the major phenolic and flavonoid compounds in brined olive drupes. *Food and Chemical Toxicology*, 41, pp.703–717.

## Comparison of phenolic compounds in different organs of garlic plants collected from different provinces of Iran

Sanaz Aliabadi<sup>1</sup>

Mohsen Sharifi<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Department of Plant Biology, Faculty of Biological Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

Email address: sanaz.aliabadi@modares.ac.ir

### Abstract

The bulb of the garlic (*Allium sativum* L.) has been used as an anti-viral, anti-bacterial and anti-fungal agent from past until today. The studies indicated that some of these properties are related to the garlic's phenolic compounds. It has also been found that medicinal properties of garlic are affected by environmental and physical factors. Therefore, this research was conducted to investigate the effect of different weather conditions and also the processing procedure on the amounts of phenolic compounds in various organs of garlic plant. For this, garlic plants were collected from three regions of Iran including Mazandaran, East Azarbaijan and Hamedan provinces. Then, some of the bulb were processed by a home method and turned into black garlic. The results showed that plants collected from East Azarbaijan has the highest amounts of phenolic compounds and in between, leaf has the largest contribution. Furthermore, HPLC results showed that probably a large amount of these compounds in leaf are cinnamic acid and gallic acid. The amounts of these phenolic acids in leaves of Mazandaran plants were 3 times higher than their contents in the leaves of other provinces' plants. These observations can confirm the role of weather conditions and the type of organ in the accumulation of phenolic compounds in garlic plant. On the other hand, it was found that the amounts of studied phenolic compounds in black garlic were almost twice that of fresh one, which is probably due to their release and chemical changes under the influence of high temperature.

**Keyword:** Different weather condition, Garlic, Phenolic acid, Phenolic compounds, Processed garlic.

## بررسی برخی خصوصیات مرتبط با رشد و تکثیر و ترکیبات اصلی دارویی زعفران زراعی در

### سنین مختلف رشد در زنجان

کیوان آقائی<sup>1\*</sup>، محسن فتحی<sup>1</sup>، علی عمارلو<sup>2</sup>

1: گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه زنجان

2: دانشیار زراعت، پژوهشکده فناوری های نوین زیستی، دانشگاه زنجان

\*: نویسنده مسئول: کیوان آقائی، استادیار فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه زنجان [keyvanaghahi@znu.ac.ir](mailto:keyvanaghahi@znu.ac.ir)

### چکیده

زعفران (*Crocus sativus* L.) از قدیمی ترین گیاهان دارویی و ادویه ای جهان است. عوامل زیادی در کمیت و کیفیت محصول تولیدی آن نقش دارند که یکی از مهم ترین آنها سن مزرعه می باشد. به منظور بررسی اثر سن مزرعه بر برخی صفات مرتبط با تکثیر و متابولیت های ثانویه زعفران پژوهشی به صورت طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در مزرعه پژوهشی گیاهان دارویی دانشگاه زنجان اجرا گردید. جهت اجرای آزمایش، سه مزرعه زعفران با سنین بیولوژیکی یک ساله، دو ساله و پنج ساله به عنوان تیمارهای آزمایش انتخاب و سپس از هر مزرعه، سه کرت به صورت تصادفی انتخاب و صفات مورد نظر اندازه گیری شدند. نتایج نشان داد، با افزایش سن مزرعه، تعداد بنه های دختری، وزن تر توده اولیه، تعداد گل، عملکرد گل و عملکرد خشک کلاله افزایش یافت و در مزرعه با سن پنج سال بیشترین مقادیر از نظر صفات فوق مشاهده گردید. همچنین مشخص گردید که سن گیاه بر میزان و نوع ترکیبات موثره گیاه اثر دارد. بیشترین میزان کروسین و سافرانال به ترتیب با 14/66 و 8/904 میلی گرم بر گرم وزن خشک کلاله، در مزرعه پنج ساله زعفران مشاهده گردید.

کلمات کلیدی: تعداد گل، زعفران، سافرانال، سن مزرعه، کروسین.

### مقدمه

زعفران زراعی (*Crocus sativus* L.) از قدیمی ترین گیاهان دارویی و ادویه ای و یکی از گران بها ترین ادویه های جهان است که با نام چاشنی طلایی شناخته می شود (Menia et al., 2018). علاوه بر این، زعفران، به عنوان یک گیاه دارویی در درمان برخی بیماری ها نظیر ناراحتی های کبدی، پیشگیری از انواع سرطان، آسم و اختلالاتی همانند گرفتگی عضلات، بهبود الگوی خواب، سلامت قلب و تقویت دستگاه گوارش کاربرد دارد (Ferrara et al., 2014). کمیت و کیفیت زعفران به عوامل متعددی از قبیل خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک، تراکم بوته، روش کشت، اندازه بنه جهت کاشت، شرایط اقلیمی محل کاشت، میزان بارندگی، مدیریت های زراعی و دوره بهره برداری (سن مزرعه) بستگی دارد (ملافیلابی و همکاران، 1393). یکی از عوامل مؤثر بر عملکرد کمی و کیفی زعفران سن مزرعه (مدت زمان بهره برداری) می باشد که نقش به سزایی در محصول تولیدی دارد (نظری پور و همکاران، 1401). به نظر می رسد که استان زنجان از نظر آب و هوایی کاملاً برای کشت زعفران مناسب باشد زیرا این استان و شهرهای اطراف آن زمستان های سرد و بسیار پر بارانی دارد و در فصل تابستان هم دارای هوای گرم و معتدل است که برای کشت زعفران مناسب



است. به همین دلیل مطالعه حاضر می‌تواند کیفیت زعفران‌های کشت شده در مزرعه گیاهان دارویی را به صورت پایلوت مورد بررسی قرار دهد تا با نتایج حاصل از آن بتوان امکان کشت و بهره‌برداری از این گیاه با ارزش دارویی در زنجان را مورد ارزیابی قرار داد.

### مواد و روشها

این پژوهش در سال زراعی 1400-01 به صورت طرح کاملاً تصادفی در مزرعه پژوهشی پژوهشگاه فناوری‌های نوین زیستی دانشگاه زنجان با مختصات جغرافیایی  $48^{\circ} 24' 15''$  طول شرقی و  $36^{\circ} 40' 37''$  عرض شمالی و ارتفاع 1638 متر از سطح دریا اجرا گردید. ابتدا سه مزرعه ارگانیک آزمایشی زعفران کشت شده با سنین بیولوژیکی یک ساله، دو ساله و پنج ساله به عنوان تیمارهای آزمایش انتخاب شدند. سپس از هر مزرعه، سه کرت به ابعاد  $3 \times 4$  متر (12 متر مربع) به صورت تصادفی انتخاب گردید تا صفات اولیه مورد بررسی از گیاهان این کرت‌ها برداشت گردد. جهت اندازه‌گیری همه صفات به غیر از عملکرد، تعداد پنج بانه در مرحله گل‌دهی از خاک خارج و صفات مورد نظر در زمان مناسب و با کمک وسایل مورد نیاز اندازه‌گیری گردید. صفات مورد اندازه‌گیری در این پژوهش شامل وزن تر توده اولیه، تعداد بنه‌های دختر، تعداد گل و نیز مقدار و ترکیبات تشکیل دهنده اصلی دارویی این گیاه در کلاله‌های آن بود. پس از اندازه‌گیری صفات و ثبت داده‌های به دست آمده در اکسل، داده‌ها توسط نرم افزار SAS var. 9.1 تجزیه تجزیه واریانس شدند. مقایسه میانگین داده‌ها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال یک درصد صورت گرفت. رسم نمودارها نیز توسط Excel (نسخه 2016) انجام گردید.

### نتایج و بحث

#### اثر سن گیاه بر تعداد بنه دختر

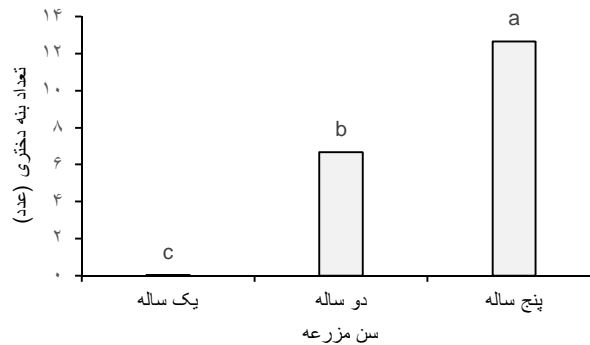
بین مزارع یک ساله، دو ساله و پنج ساله از نظر تعداد بنه‌های دختر تفاوت معنی‌داری ( $P \leq 0/01$ ) وجود داشت (جدول 1). مزرعه یک ساله زعفران فاقد بنه‌های دختر بود. تعداد بنه‌های دختر در مزرعه دو ساله و پنج ساله به ترتیب 6/67 و 12/66 عدد بود که تفاوت قابل توجهی با یکدیگر داشتند (شکل 1). بررسی‌ها نشان داده است که در پایان سال اول، در حدود 70 درصد بنه‌های دختر دارای وزن کمتری می‌باشند. بنه‌های مادری در سال دوم به صورت توده متراکمی در کنار یکدیگر قرار می‌گیرند و از بخش بالایی این توده، تشکیل بنه‌های دختر آغاز می‌شود. با توجه به فرآیند تقسیم بنه مادری، تولید بنه‌های دختر ریزتر در سال‌های بعدی و همچنین به دلیل افزایش تراکم بنه‌های دختر در خاک، تشکیل بنه‌های دختر به ازای هر بنه مادری در مراحل اولیه، میانی و پایانی رشد زعفران در سال‌های بعدی معمولاً بعد از مدتی روند کاهشی به خود می‌گیرد (Koocheki & Seyyedi, 2015).

جدول 1- نتایج تجزیه واریانس تأثیر سن گیاه بر صفات مورفولوژیکی و زراعی زعفران.

منابع تغییرات	درجه آزادی	تعداد بنه دختر	وزن تر توده اولیه	وزن تر غده مادری	تعداد گل	عملکرد گل	عملکرد کلاله خشک
تکرار	2	ns0/063	ns0/75	ns2/96	ns16/44	ns0/255	ns0/0011
تیمار	2	**115/36	**797/94	**20/63	**181/77	**61/72	**0/147
خطای آزمایشی	4	2/31	4/01	3/84	4/94	0/053	0/002

ضرب تغییرات	-	23/28	6/23	14/96	10/31	1/19	12/44
-------------	---	-------	------	-------	-------	------	-------

\*, \*\*, ns: به ترتیب بیانگر معنی داری در سطح پنج درصد، یک درصد و عدم معنی داری.



شکل 1- تأثیر سن گیاه بر تعداد بنه‌های دختری زعفران.

نتایج اثر سن گیاه بر وزن تر توده اولیه

وزن تر توده اولیه زعفران مزرعه یک ساله، دوساله و پنج ساله در سطح حتمال یک درصد با یکدیگر تفاوت معنی داری داشتند (جدول 1). وزن تر توده اولیه زعفران مزرعه سن یک ساله و پنج ساله به ترتیب با 17/70 و 49/82 گرم کمترین و بیشترین وزن تر توده اولیه را دارا بودند (شکل 2). وزن تر توده اولیه زعفران توده دو ساله با 28/84 گرم نسبت به زعفران مزرعه یک ساله 62/93 درصد بالاتر و نسبت به مزرعه پنج ساله 42/11 درصد پایین تر بود (شکل 2). عملکرد زعفران در

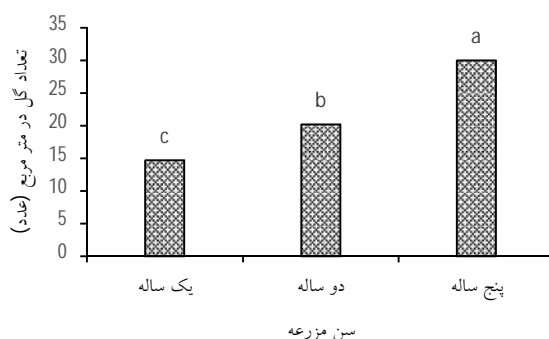


شکل 2- تأثیر سن گیاه بر وزن تر توده اولیه.

سال اول به شدت متأثر از اندازه و ذخائر بنه‌های مادری بوده که با رشد و نمو خود در سال اول، سبب وجود آمدن بنه‌های دختری می‌شوند که به عنوان عامل تکثیر گیاه در سال دوم محسوب شده و بنه‌های تولید شده جدید نیز به صورت تسلسل عملکرد سال‌های بعدی را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Mohammad Abadi et al., 2011).

### نتایج اثر سن گیاه بر تعداد گل

تعداد گل در مزارع سنین مختلف زعفران در سطح احتمال یک درصد با یکدیگر تفاوت معنی‌داری داشتند (جدول 1). مزرعه زعفران پنج ساله با 30 عدد گل در متر مربع بیشترین و مزرعه زعفران یک ساله با 14/6 عدد کمترین تعداد گل را در متر مربع داشت (شکل 3). تعداد گل در سال دوم و سال پنجم به ترتیب به میزان 36/4 و 104 درصد نسبت به سال اول افزایش یافت (شکل 3). در پژوهشی گزارش گردیده که افزایش سال برداشت (سن مزرعه) از یک سال به دو سال منجر به افزایش تعداد گل شد، در حالی که افزایش سال برداشت بنه (سن مزرعه) از دو به چهار سال کاهش تعداد گل را به دنبال داشت (کوچکی و تیموری، 1393).



شکل 3- تأثیر سن گیاه بر تعداد گل در هر متر مربع.

### نتایج اثر سن گیاه بر محتوای کروسین، پیکروکروسین و سافرانال

نتایج نشان داد که با افزایش سن مزرعه میزان ماده کروسین کاهش پیدا کرد به طوری که کمترین میزان کروسین در مزارع سنین دو ساله و پنج ساله مشاهده گردید در حالی که مزارع سنین یک ساله با 132/31 میلی گرم بر گرم وزن تر بیشترین ماده را داشت (جدول 2). مقدار ماده پیکروکروسین در مزارع سنین یک ساله و دو ساله با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشتند در حالی که در مزرعه پنج ساله با 47/97 میلی گرم بر گرم، کمترین مقدار ماده پیکروکروسین را داشت. غلظت سافرانال در کلاله با افزایش سن مزارع افزایش پیدا کرد به طوری که مزارع پنج ساله با 89/04 میلی گرم بر گرم وزن تر بیشترین میزان سافرانال را دارا بود. میزان سافرانال در مزارع سنین یک ساله و دو ساله از نظر آماری تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند (جدول 2).

جدول 2- مقایسه میانگین صفات بیوشیمیایی کلاله در سنین یک، دو و پنج ساله زعفران

سن مزرعه	کروسین (میلی گرم بر گرم وزن خشک)	پیکروکروسین (میلی گرم بر گرم وزن خشک)	سافرانال (میلی گرم بر گرم وزن خشک)
یک ساله	b132/31	a96/80	b78/50
دو ساله	a142/02	a105/96	b51/62
پنج ساله	a146/64	b47/97	a89/04

در هر ستون سطوح تیماری که دارای حروف مشترک هستند بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی داری ندارند.

بنابراین یکی از دلایل افزایش متابولیت‌ها، مواد مؤثره کلاله زعفران، خصوصیات کمی و کیفی گل را می‌توان افزایش رشد و نمو و تولید مواد فتوسنتزی بیشتر در بنه‌های درشت‌تر دانست (انصاریان مهابادی و همکاران، 1396). گزارش گردیده که دلیل کاهش متابولیت‌های ثانویه در زعفران در مزارع با سن بیولوژیکی بالا، به دلیل کاهش اندازه بنه در مزارع سنین بالا، نزدیک شدن بنه‌ها به سطح خاک و کاهش دسترسی به عناصر غذایی و همچنین کاهش فعالیت آنزیم‌های دخیل در بیوسنتز این ترکیبات باشد (تاجیک و همکاران، 1391). به‌طور کلی، سنتز متابولیت‌های ثانویه در گیاه متأثر از متابولیت‌های اولیه است و هر عاملی که سبب تقویت فتوسنتز و متابولیت‌های اولیه شود، افزایش مقادیر متابولیت‌های ثانویه گیاه را در پی دارد. ترکیبات ثانویه شیمیایی در گیاهان تحت تأثیر چند ژن که بر اثر شرایط محیطی و تنش‌ها تغییر می‌کنند، سنتز می‌شوند و به نظر می‌رسد نقش مهمی در سازوکار دفاعی گیاهان دارویی در شرایط تنش دارند (توکلی و همکاران، 1399).

### نتیجه گیری

بطور کلی با توجه به نتایج این تحقیق مشخص گردید که سن گیاه یا مزرعه بر شاخص های رشد و تکثیر گیاه زعفران زراعی تاثیر گذار بوده که صفاتی مانند: تعداد بنه‌های دختر، وزن تر توده اولیه، تعداد گل، عملکرد گل و عملکرد خشک کلاله با افزایش سن گیاه افزایش یافت و در مزرعه با سن پنج سال بیشترین مقادیر از نظر صفات فوق مشاهده گردید.

منابع

- انصاریان مهابادی، ش.، دادی، ا.، قربانی جاوید، م.، و سلطانی، ا. 1396. تأثیر پرایمینگ بنه با اسید سالیسیلیک و وزن بنه مادری بر گلدهی و خصوصیات کیفی کلاله زعفران. زراعت و فناوری زعفران، 7(1): 41-53.
- تاجیک، س.، زرین کمر، ف.، بطحائی، س.ز. 1391. بررسی میزان رنگیزه کاروتنوئیدی کروسین، پیکروکروسین و سافرئال در گونه زعفران *Crocus sativus* L. در مناطق قائن و طبس. مجله زیست‌شناسی ایران، 25(3): 423-429.
- توکلی، ف.، رفیعی‌الحسینی، م.، راوش، ر.، رفیعیان کوپایی، م. 1399. بررسی متابولیت‌های ثانویه و ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیکی گیاه زعفران تحت تأثیر الیستور پلی‌اتیلن‌گلیکول. مجله زیست‌شناسی گیاهی ایران، 12(45): 23-42.
- کوچکی، ع.، ثابت تیموری، م. 1393. تأثیر سن مزرعه، وزن بنه و مقادیر کود دامی بر عملکرد بنه و کلاله زعفران (*Crocus sativa* L) در شرایط مشهد. نشریه زراعت، 105: 148-157.
- ملافیلابی، ع.، کوچکی، ع.، رضوانی مقدم، پ.، نصیری محلاتی، م. 1393. اثر سن مزرعه و منطقه بر عملکرد و فراوانی بنه در گروه های مختلف وزنی زعفران زراعی (*Crocus sativus* L.). پژوهشهای زراعی ایران، 12(4): 605-612.
- نظری پور، ه.، خوشحال دستجردی، ج.، براتیان، ع. 1401. بررسی اثر سن گیاه زعفران بر میزان تولید محصول آن در استان لرستان. جغرافیا و برنامه‌ریزی محیطی، 86(2): 1-16.

Ferrara, L., Naviglio, D., Gallo, M., 2014. Extraction of Bioactive Compounds of Saffron (*Crocus sativus* L.) by Ultrasound Assisted Extraction (UAE) and by Rapid Solid-Liquid Dynamic Extraction (RSLDE), European Scientific Journal, 10 (3): 1-13.

Koocheki, A., Rezvani Moghaddam, P., Mollafilabi, A., and Seyyedi, S.M. 2012. Effects of high corm planting density and applying manure on flower and corm yields of saffron (*Crocus sativus* L.). 4th International Saffron Symposium: Advanced in Saffron Biology Technology and Trade. 22–25 October 2012.

Menia, M., Iqbal, S., Zahida, R., Tahir, S., Kanth, RH, Saad, AA, and Hussian, A., 2018. Production technology of saffron for enhancing productivity, Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 7 (1):1033-1039.

Mohammad Abadi, A.A., Rezvani Moghaddam, P., and Fallahi, J. 2011. Effects of planting pattern and the first irrigation date on growth and yield of saffron (*Crocus sativus* L.). Agroecology 3 (1): 84-93.

## **Analysis of some growth and propagation related traits and major medicinal compounds of saffron at different growth stages in ZANJAN**

### **Abstract**

Saffron (*Crocus sativus* L.) is one of the oldest medicinal and spice plants in the world. Among several factors affecting the quantity and quality of its by-products, the age of the farm is the most effective. In order to investigate the effects of field age on some propagation related traits and secondary metabolites of saffron, a research was conducted in a completely randomized design with three replications at the research field of medicinal plants of the University of Zanjan. Three saffron farms with different biological ages of one year, two and five years old were selected as experimental treatments, and then three plots were randomly selected from each farm and the desired traits were measured. Results showed that, increasing of the age of saffron plants in this experiment increased the number of daughter bud, weight of initial mass, number of flowers, flower yield and dry yield of stigma. Increasing of plant age also changed the amount and also kinds of secondary metabolites of saffron. The highest amount of crosin and safranal 14.66 and 8.904 mg/g dry weight of stigma respectively, were obtained from 5-year-old plants.

**Keywords:** Crosin, Field age, Number of flower, Saffron, Safranal



کودها می‌تواند رشد گیاه را تا حدودی بهبود بخشد. بنابراین، برای افزایش تولید و کیفیت گیاهان زراعی می‌بایست شرایط لازم جهت رشد گیاه را با توجه به عناصر مورد نیاز آن و با مصرف اصولی کود تأمین نمود (18). ویناس پساب حاصل از تولید الکل است و به طور متوسط در ازای تولید هر لیتر الکل 12 لیتر ویناس تولید می‌شود که به علت دارابودن مواد آلی فراوان و غلظت بالای نیتروژن و پتاسیم، کلسیم، منیزیم و مقادیری نیتروژن و فسفر منبع مهمی از عناصر غذایی به ویژه برای کشاورزی ارگانیک به حساب می‌آید (14). از طرف دیگر یکی از انواع کودهای کم‌خطر برای محیط‌زیست، کودهای زیستی هستند که در آن‌ها از تأثیر ریز جانداران بر روابط خاک و گیاه بهره برده می‌شود. کودهای بیولوژیک یا زیستی از طریق مکانیسم‌های مختلف مانند تجزیه ماده آلی، افزایش دسترسی به مواد غذایی و آب برای گیاه، باز چرخ مواد غذایی و کنترل آفات، رشد و عملکرد گیاهان را بهبود می‌بخشند (8). EM علامت اختصاری واژه Effective Microorganism و یا میکروارگانیسم‌های مؤثر، ترکیبی ویژه از 120 گونه مختلف میکروارگانیسم‌های هوازی و بی‌هوازی است که شامل جمعیت‌های غالب باکتری‌های اسیدلاکتیک و مخمرها و تعداد کمی از باکتری‌های فتوسنتز کننده و اکونومیست‌ها است. سیب‌زمینی با نام علمی (*Solanum tuberosum* L.) با نام انگلیسی Potato یکی از اعضای مهم خانواده *Solanaceae*، گیاهی یکساله، سرمدوست و علفی است که غده‌های زیرزمینی آن مورد استفاده قرار می‌گیرد. این گیاه به دلیل بسیاری از مزیت‌های تولیدی از جمله عملکرد بیشتر آن در مقایسه با گیاهان دانه‌ای، تبدیل به یک گیاه زراعی مهم در بسیاری از مناطق کشاورزی دنیا شده است و چهارمین محصول کشاورزی از نظر اهمیت بعد از غلاتی مانند برنج، گندم و ذرت و دومین محصول زراعی مهم در سبد غذایی خانوار مطرح است. (1 و 2). سیب‌زمینی زرد، رقم جلی (Jelly) این رقم با دوره رشد نیمه دیررس، دوره خواب طولانی و گسترش شاخ و برگ زیاد است. نحوه عملکرد یا میزان برداشت سیب‌زمینی یکی از مواردی به شمار می‌آید که قبل از انتخاب رقم مناسب برای کشت آن را مورد بررسی قرار می‌دهند. رقم جلی یکی از بهترین نژادهای سیب‌زمینی به شمار می‌آید؛ زیرا عملکرد خیلی بالایی دارد و از این‌رو، این رقم مشتری خیلی زیادی خواهد داشت. نکته مثبت دیگری که درباره رقم جلی وجود دارد، مقاومت زیاد آن در برابر بیماری‌ها و آفات است. به گونه‌ای که می‌تواند یکی از سیب‌زمینی‌های خیلی خوب برای انبار کردن به شمار آید. عملکرد سیب‌زمینی تابع عوامل متعدد از جمله تغذیه متعادل و آبیاری مناسب است. شرایط مطلوب برای رشد سیب‌زمینی، پتانسیل ماتریک نسبتاً ثابت و کم، سرعت بالای انتشار اکسیژن خاک، میزان تابش ورودی و کافی بودن مواد غذایی خاک از عوامل مؤثر بر عملکرد سیب‌زمینی است و در بین عوامل محیطی، رطوبت خاک به عنوان یک عامل محدودکننده مهم در تولید و کیفیت این محصول محسوب می‌شود (4). با توجه به اینکه سیب‌زمینی گیاهی پر محصول بوده و در مدت کوتاهی به مواد غذایی زیادی نیاز دارد که این مقدار را خاک نمی‌تواند بدون کود دهی تأمین کند، همچنین ریشه گیاه سیب‌زمینی بسیار ضعیف بوده و به سختی می‌تواند مواد غذایی خاک را در اوایل رشد جذب کند، بنابراین کوددهی نقش مؤثری در رشد و افزایش عملکرد این گیاه ایفا می‌کند و در مقابل کوددهی عکس‌العمل مناسبی از خود نشان می‌دهد (6). معمولاً تأمین و افزایش مقدار مواد آلی در خاکی که در آن کشت و کار شده است، بسیار مشکل و مخارج آن نیز گران است از طرف دیگر بهبود شرایط فیزیکی و شیمیایی خاک، می‌تواند در تحمل به شرایط خشکی در گیاهان، مد نظر قرار گیرد. برای تأمین مواد آلی در خاک باید مقداری از بقایای گیاهی به زمین برگردانده شود و این مقدار بستگی به شرایط خاک و اقلیم منطقه دارد. در دهه اخیر استفاده از ضایعات با ماده آلی بالا، مانند کودهای حیوانی، فاضلاب، فضولات شهری، کمپوست، بقایای گیاهی و محصولات جانبی صنعتی، برای اصلاح خاک‌های فقیر از لحاظ مواد مغذی برای گیاه و همچنین برای حفظ سطوح مواد آلی خاک و جلوگیری از نابودی آن‌ها با هزینه‌ای پایین رواج یافته است (17). استفاده از ریزجانداران مؤثر همراه با کودهای آلی،

روش مناسبی برای تأمین و آزادسازی مواد غذایی از منابع کودی مورد استفاده می‌باشد. بسیاری از مطالعات نشان می‌دهند که تلقیح خاک مزرعه با ریزجانداران مؤثر علاوه بر افزایش کیفی و کمی محصول، کیفیت خاک را نیز بهبود می‌بخشد. فعالیت میکروبی و آزادسازی عناصر غذایی موجود در کلونیدهای خاک، اصلاح ویژگی فیزیکی خاک و در نتیجه تهویه بهتر آن می‌تواند از دلایل افزایش عملکرد در روش‌های تغذیه تلفیقی و ارگانیک باشد (12). هدف از این پژوهش بررسی اثر کودهای زیستی و آلی بر تأثیر کودهای زیستی و آلی بر ویژگی‌های فیزیولوژیک سیب‌زمینی تحت تنش خشکی است.

## مواد و روش

آزمایش به صورت اسپلینت پلات در قالب طرح پایه بلوک‌های کاملاً تصادفی در سه تکرار در دانشگاه شهرکرد اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل فاکتور اول: تنش خشکی در سه سطح 60، 90 و 120 میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر کلاس A، فاکتور دوم: کودهای زیستی EM و کود آلی ویناس (مصرف در حد مطلوب) و ترکیبی از هر دو، شاهد بود. عملیات تهیه بستر شامل شخم، دیسک، تسطیح با توجه به شرایط زمین انجام خواهد شد. کرت‌هایی به ابعاد 4×3/5 متر ایجاد که در هر کرت 4 ردیف کاشت به فاصله 70 سانتی‌متر از یکدیگر ایجاد خواهد شد. بوته‌ها با فاصله 25 سانتی‌متر و براساس شرایط آب و هوایی منطقه در اواسط فصل بهار کشت خواهد شد. فاصله بین کرت‌ها و بلوک‌ها از یکدیگر یک متر در نظر گرفته شد. کود زیستی EM استفاده شده در این پژوهش از شرکت امکان‌پذیر پارس، کود آلی ویناس از شرکت الکل خرمشهر توسط شرکت تجهیز صنعت باران و سیب‌زمینی زرد رقم جلی از مجتمع کشاورزی شهسان‌رویش تهیه شد. کودهای شیمیایی بر مبنای آزمون خاک و توصیه آزمایشگاه قبل از کاشت به خاک اضافه شد. میزان مصرف کودهای زیستی EM و کود آلی ویناس بر اساس توصیه آزمایشگاه و براساس میزان مصرف مطلوب، همراه با آبیاری مصرف شدند. صفات وزن تر و خشک تک بوته، نسبی آب برگ (16)، شاخص پایداری غشای سلولی (9) و ارتفاع بوته با متر در زمان رسیدگی فیزیولوژیک در زمان برداشت اندازه‌گیری شدند. در نهایت تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS و رسم نمودارها توسط نرم افزار EXCEL انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها به روش LSD در سطح احتمال 5% صورت گرفت.

## بحث و نتایج

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر انفرادی تیمارهای تنش خشکی و کود، بر تمامی صفات به جز شاخص پایداری غشای سلولی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بودند همچنین اثر برهمکنش این تیمارها در سطح احتمال یک درصد برای تمامی صفات معنی‌دار بوده است (جدول 1). نتایج حاصل از اثر برهمکنش تیمارها نشان می‌دهد که بیشترین ارتفاع بوته در برهمکنش دوگانه تیمار کودی ترکیبی \* تنش خشکی 60 (78/08 سانتی‌متر) و کمترین آن از تیمار ساده شاهد 120 (57/02) سانتی‌متر، وزن تر و خشک بوته برهمکنش دوگانه تیمار کودی ترکیبی \* تنش خشکی 90 و 60 (523/3 و 68/99 گرم) و کمترین آن شاهد 120 (253/6 و 32/01 گرم)، محتوای نسبی آب برگ در برهمکنش دوگانه تیمار کودی ترکیبی \* تنش خشکی 60 (71/81%) و کمترین آن شاهد 120 (40/95%)، شاخص پایداری غشای سلولی در برهمکنش دوگانه تیمار کودی ترکیبی \* تنش خشکی 120 (69/15%) و کمترین آن برهمکنش دوگانه تیمار کودی ترکیبی \* تنش خشکی 60 (40/19%) به دست آمد (شکل 1).

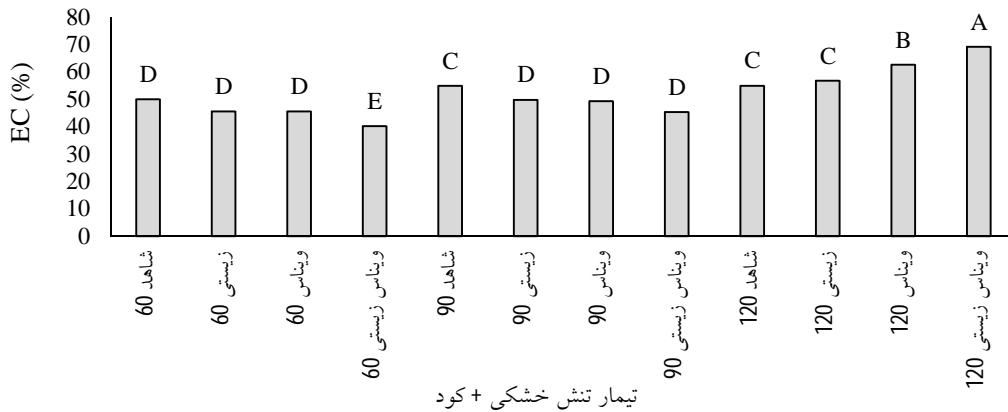
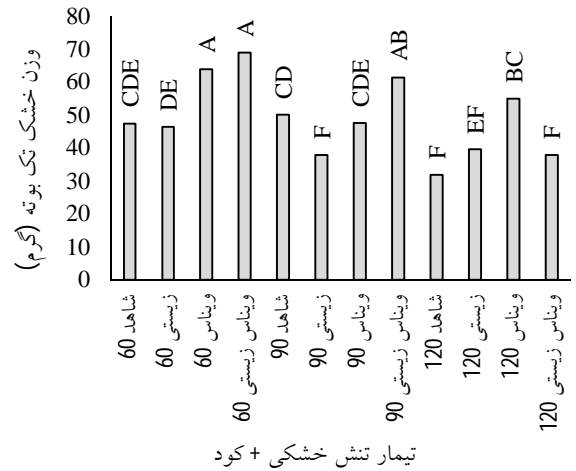
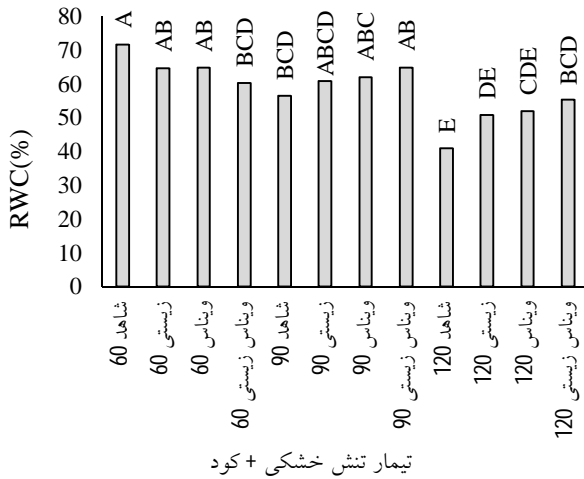
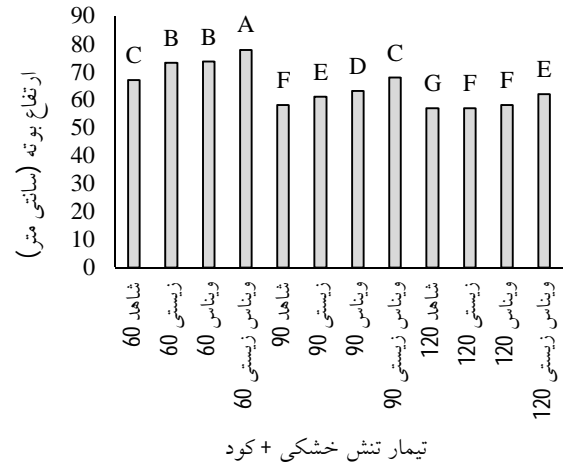
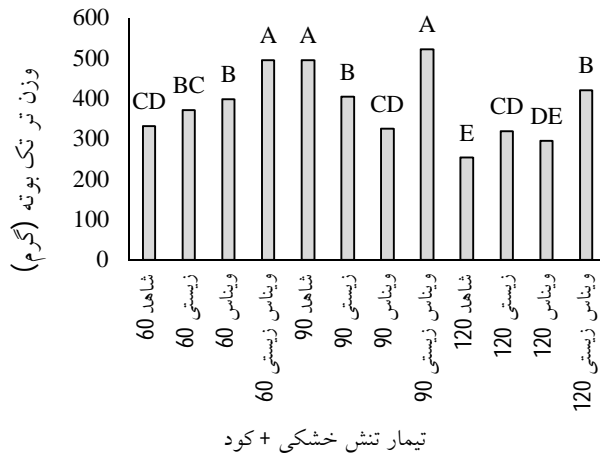


سیب‌زمینی یک محصول زراعی حساس به کمبود عناصر غذایی است زیرا سیستم ریشه‌ای آن گسترده نیست؛ بنابراین نیاز به مقادیر بالایی از عناصر غذایی برای تولید کامل عملکرد بالقوه دارد (11) فراهمی عناصر غذایی در طول دوره رشد و قابل دسترس با کاربرد کودهای زیستی و آلی موجب شد که صفات مورد بررسی در این تیمارها افزایش یابد. به دلیل وجود ارتباط مستقیم بین ارتفاع بوته و طول دوره رویش گیاه که از خصوصیات گیاهشناسی این رقم است، این رقم از ارتفاع بیشتری برخوردار بود. مصرف کودهای زیستی و آلی اثربخشی مثبتی بر ارتفاع بوته سیب‌زمینی داشت. این مسئله حاکی از نقش مفید کودها در تقویت اندام‌های رویشی گیاه از جمله ساقه‌های هوایی است نتایج مشابهی مدنی و همکاران (3) نیز گزارش شده است. ماده خشک کل گیاه یا عملکرد زیستی نتیجه مواد فتوسنتزی است. ماده خشک اندام‌ها با گذشت زمان کاهش می‌یابد و علت آن انتقال مواد فتوسنتزی به غده‌هاست (7) عملکرد زیستی در کلیه ژنوتیپ‌ها در شرایط تنش نسبت به شاهد مربوطه کاهش یافت. به گونه‌ای که گزارش شده است سیب‌زمینی قرار گرفته در معرض تنش خشکی متوسط، منجر به کاهش بیوماس بالای زمین می‌شود (13). کلارک و اسمیت (10) بیان کردند که تفاوت میان ارقام از نظر **RWC** ناشی از مکانیسم‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک متفاوت نظیر تغییر اندازه برگ، زاویه برگ، وجود یا عدم وجود موم و بازتاب برگ و روزنه‌ها بوده که در بین ارقام متحمل و حساس وجود دارد این پژوهشگران نشان دادند که ارقام مقاوم به تنش **RWC** بالاتری دارند که با نتایج این پژوهش یکسان است. شکل 1 نشانگر آن است که در تمامی ارقام با افزایش شدت تنش از پایداری غشاء سلولی کاسته شده است. این موضوع نشان می‌دهد که هر چه وقوع تنش در مراحل انتهایی تر رشد رخ دهد، نشت از دیواره بیشتر می‌شود که با نتایج شیبایرو و همکاران (15) که نشان دادند تنش خشکی از تکامل دیواره ممانعت نموده و باعث نشت از دیواره سلولی و کاهش رطوبت غده می‌شود، مطابقت دارد.

جدول 1 - نتایج تجزیه واریانس برای صفات مورد بررسی در گیاه سیب‌زمینی رقم جلی

EC	RWC	وزن خشک تک بوته	وزن تر تک بوته	ارتفاع بوته	درجه آزادی	منبع تغییرات
166/192**	10/671 ns	211/953**	9607/361 **	0/612 <sup>ns</sup>	2	بلوک
767/864 **	787/741**	728/700**	41132/016**	646/783**	2	تنش خشکی
5/276	43/929	9/802	736/129	1/422	4	خطای A
11/218 <sup>ns</sup>	25/124**	555/278**	36076/485**	113/110**	3	تیمار کودی
103/791**	96/419**	202/171**	9006/818**	6/821*	6	تنش * کود
7/993	2/660	13/975	486/461	1/177	6	خطای B
7/085	38/486	21/350	856/03	0/302	12	خطای کل
5/11	10/55	9/40	7/57	0/84	-	ضریب تغییرات (%)

ns عدم معنی‌داری، \* و \*\* به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال 5 و 1%



شکل 1- اثر تیمار های تنش\* کود بر صفات ارتفاع بوته، وزن تر و خشک تک بوته، RWC و EC گیاه سیب زمینی رقم جلی ستون هایی که دارای حروف مشترک هستند براساس آزمون LSD در سطح احتمال 5% با یکدیگر اختلاف معنی دار ندارند.

نتیجه گیری

در حال حاضر اکثر خاک‌های زراعی از کاهش میکروارگانسیم‌های مفید و افزایش میکروارگانسیم‌های زیانبار به دلیل افزایش pH خاک رنج می‌برند. همچنین بسیاری از عناصر مصرف شده به دلیل غیرقابل دسترس بودن در خاک تجمع پیدا کرده اند. استفاده از کودهای زیستی و آلی می‌تواند در رهاسازی و قابل دسترس کردن عناصر و بهبود شرایط خاک و در نهایت تولید محصول زراعی سالم تر مفید باشند. در مطالعه حاضر کاربرد کودهای زیستی و آلی در سیب‌زمینی نشان داد که این کودها قابلیت بهبود ویژگی‌های فیزیولوژیک گیاه را داشته است. به نظر می‌رسد مصرف این کودها در شرایط کمبود آب می‌تواند در بهبود ویژگی‌های رویشی گیاه مؤثر باشد.

### تشکر و قدردانی

بدین وسیله از حمایت‌های دانشگاه شهرکرد که در انجام این پژوهش یاری نمودند کمال تشکر و قدردانی را داریم.

### منابع

1. زینب اورسنجی، مهدی تنهاخواجه. (1396). بررسی تأثیر کاربرد بهبود دهنده‌های رشد و کودهای شیمیایی بر رشد و عملکرد سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum*). نشریه تولید گیاهان زراعی. جلد 10: 173-186.
2. محمودرضا تدین. (1399). تبارشناسی چند گیاه فرنگی ایران. انتشارات دانشگاه شهرکرد. 226 صفحه.
3. حمید مدنی، محمدعلی ملبوبی، حسن حسن آبادی. (1383). تأثیر کود زیستی فسفات بارور-2 بر عملکرد و سایر خصوصیات زراعی سیب‌زمینی (رقم آگریا). دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اراک. صفحه 291.
4. یحیی آبادی مجتبی، محسن دهقان. (1400). اثر تنش خشکی و مصرف کودهای آلی بر عملکرد و اجزای عملکرد سیب‌زمینی (مطالعه موردی استان اصفهان). تحقیقات آب و خاک ایران. دوره 52. شماره 2.
5. علی ماهرخ، و فرهاد عزیزی. (1392). تأثیر کاربرد ژئولیت طبیعی بر تحمل به تنش کم آبیاری در ذرت دانه‌ای. نشریه پژوهش‌های زراعی ایران. 12(2): 296-304.
6. Anonymous. 2005. Potatoes in Ardabil province. Agriculture Organization of Ardebil province. PP. 185.
7. 12. Bagherniae Kasbakhi, M. and Hassanpanah, D., 2014. Evaluation of yield and tuber yield components in the hybrids produced from crosses of Agria and Ceaser potato cultivars. In: Proceeding of the 1st E- Conferences on New Finding in Environment and Agricultural Ecosystems. University of Tehran, Iran. (In Farsi).
8. Berg, G., Zachow, C., Phillips. J. and Tilcher. R. (2013). Next-generation bio products sowing the seeds of success for sustainable agriculture. Agron. J. 3: 648-656.
9. Bian, Sh., & Jiang Y. (2008). Reactive oxygen species, antioxidant enzyme activities and gene expression patterns in leaves and roots of Kentucky bluegrass in response to drought stress and recovery. Scientia Horticulturae 120: 264-270.
10. Clark, J. M. and Townkey-Smith., T. F., 1984. Screening and selection techniques for improving drought resistance. In: Vose/P.B.x And S.g..Blixt(eds). Crop breeding, a contemporary basis. Pergammon Press.U.K. pp. 37-162.
11. 16.Haddad, M., Bani-Hani, N.M., AlTabbal, J.A. and Al-Fraihat, A. H., 2016. Effect of different potassium nitrate levels on yield and quality of potato tubers. J. Food Agric. Environ. 14: 1. 101-107.

12. Higa, T. and Parr, J. F. (1994). Beneficial and Effective Microorganisms for a sustainable agriculture and environment. International Nature Farming Research Centre, Atami, Japan, 160 pp.
13. 30. Laei, G., Noryan, M. and Afshari, H., 2012. Determination of the planting depth of potato seed tuber yield and yield components of two varieties agria and draga response curves seed. *Annals of Biological Research* 12: 5521-5528.
14. Madejon, E., Lopez, R., Murillo, J.M. and Cabrera, F. (2001). Agricultural use of three (sugar-beet) vinasse composts: "Effect on crops and chemical properties of a cambisol in the Guadalquivir river valley (SW Spain)". *Agriculture, Ecosystems and Environment Journal*, 84: 53–65.
15. Shibairo, S. I., Opadhyaya, M. K. and Toivonen, P. M. A., 1998 . Influence of pre harvest water stress on post harvest moisture loss of carrots (*Daucus carota* L.). *J. Hort. Sci. and Biotech.* 73:3,347-352.
16. Sairam, R.K. & Saxena, D.C. (2001). Oxidative stress and antioxidants in wheat genotypes: possible mechanism of water stress tolerance. *Journal of Agronomy and Crop Science* 184: 55-61.
17. Tejada, M. and Gonzalez, J.L. (2004). Effects of application of a byproduct of the two-step olive oil mill process on maize yield. *Agron. J.* 96: 692-699.
18. Yaseen, M., Ahmad, W., Arshad, M. and Ali, Q. (2011). Response of wheat (*Triticum aestivum* L.) to foliar feeding of micronutrients. *International Journal for Agro Veterinary and Medical Sciences.* 5(2): 209-220.

## The effect of biological and organic fertilizers on some characteristics of potato plants under drought stress

Marzieh Hassani<sup>1</sup>, Mahmoud Reza Tadayon<sup>2\*</sup>, Majid Olia<sup>3</sup>

<sup>1</sup> PhD Student in Crop Physiology, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Iran

<sup>\*2</sup> Professor of the Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Iran.

[mrtadayon@gmail.com](mailto:mrtadayon@gmail.com)

<sup>3</sup> Majid Olia, Associate Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Iran

### Abstract

The present study was conducted in order to investigate the effect of biological and organic fertilizers on the physiological characteristics of potato under drought stress in the form of a split plot in the form of a completely randomized block design and in three replications in the research farm of Shahrekord University. The experimental treatments included the first factor: drought stress at three levels of 60, 90 and 120 mm of evaporation from the surface of the class A pan, and the second factor: EM biofertilizer and Vinas organic fertilizer (optimal consumption) and a combination of both were the controls. In this experiment, plant height, wet and dry weight of a single plant, relative humidity of leaf water, and cell membrane stability index were measured. The variance analysis of the data revealed that the treatments, except for the cell membrane stability index, had a significant impact on all traits. The results showed that combined fertilizer treatment (vinas+EM) in potato plant and stress 60 the maximum plant height (78.08 cm) and dry weight of single plant (68.99 grams) and stress 90 wet weight of single plant (523.3 g) and tension of 120 cell membrane stability index (69.15%) and control stress of 60 leaf water relative humidity (71.81%). In general, this experiment demonstrated the superiority of combined fertilizer treatment on potato plants under drought stress.

**Keyword:** Leaf relative humidity, Plant height, Plant weight, Vinas, Water deficit

## تعیین برخی ترکیبات غذا- دارویی در جلبک قهوه‌ای سارگاسوم بوویانوم سواحل بوشهر

مریم اکبری<sup>1</sup>، رویا رضوی زاده<sup>2</sup> و غلامحسین محبی<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>دکتری رشته زیست شناسی - فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

<sup>2</sup>دانشیار، دکتری زیست شناسی - فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

<sup>3</sup>استاد یار، دکتری سم شناسی، مرکز تحقیقات زیست فناوری دریایی خلیج فارس، پژوهشکده علوم زیست پزشکی، دانشگاه علوم

پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران

Mohebbi hsn@yahoo.com

### چکیده

جلبک های دریایی، به دلیل خواص عملکردی و غذا- دارویی منحصر به فرد در حوزه های مختلف غذایی، پزشکی و آرایشی اهمیت زیادی یافته اند. یکی از این ماکرو جلبک ها، ماکرو جلبک سارگاسوم می باشد که حاوی این متابولیت های فعال زیستی می باشد که پتانسیل های دارویی و غذایی بیشماری ایجاد نموده اند. هدف این مطالعه، شناسایی ترکیبات شیمیایی موجود و تعیین برخی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و غذا- دارویی جلبک قهوه ای سارگاسوم بوویانوم سواحل بوشهر بود. ترکیبات شیمیایی توسط دستگاه GC-MS شناسایی و تعیین مقدار شدند. نتایج طیف سنجی جرمی تعداد 17 نوع ترکیب شیمیایی با گروه های عاملی و ساختارهای مختلف نظیر آلکالوئیدها، استروئیدها، آمینواسیدها، استرهای اسید چرب، الکل ها، دی آکسالان و گروه های ساده آلی دیگر نظیر آلکان و آلکن در این ماکرو جلبک شناسایی گردید و در این بین استر اسید چرب بیشترین فراوانی را دارا بود. در ماکرو جلبک سارگاسوم بوویانوم ترکیبات شیمیایی شناسایی شده را به عنوان غذای عملگرایی بالقوه و یک بسته غذا- دارویی کامل می توان مطرح نمود.

**کلید واژه:** سارگاسوم بوویانوم، متابولیت ثانویه، ماکرو جلبک، ترکیبات غذا- دارویی

### مقدمه

جلبک های دریایی موجودات فتوسنتز کننده هستند و زیست توده ای اولیه در مناطق جذر و مدی را تشکیل می دهند (Wichachucherd et al., 2010). متابولیت های ثانویه اغلب به یک گروه کوچک از گونه های درون یک گونه تکاملی منحصر می شوند. این ترکیبات غالباً نقش مهمی را در سیستم دفاعی گیاهان دیگر سیستم های دفاعی بین گونه ها بازی می کنند.

جلبک های جنس سارگاسوم، اوکروفیتا (Ochrophyta)، به طور گسترده ای از عرض های جغرافیایی معتدل تا گرمسیری اقیانوس های جهان توزیع شده اند و نسبت به سایر جلبک ها، فعالانه مورد مطالعه قرار گرفته اند (Ye et al., 2009). در

دهه‌های گذشته، توجه محققان به برخی خصوصیات نوتریسیوتیکال (Khalifeh et al., 2021) و فعالیت‌های مختلف بیولوژیکی چون خواص آنتی‌اکسیدانی (Hwang et al., 2010)، ضد التهابی (Yang et al., 2013)، تحریک‌کنندگی سیستم ایمنی (Zhang et al., 2012)، ضد قارچی (Kim et al., 2007)، فیبرینولیتیک (Wu et al., 2009)، ضد باکتریایی (Arun Kumar et al., 2005)، ضد ویروسی (Plouguerné et al., 2013) و ضد سرطانی (Ayyad et al., 2011) گونه‌های خاصی از این جلبک‌ها معطوف گشته‌اند.

متابولیت‌های ثانویه بر اساس منشاء بیوسنتز آن‌ها در سه گروه ترپنوئیدها، فلاونوئیدها و ترکیبات فنولی و پلی فنولیک و همچنین، آلکالوئیدهای حاوی نیتروژن و ترکیبات حاوی سولفور قرار گرفته‌اند. آلکالوئیدها، گروه بزرگ و متنوع از ترکیبات ساختاری هستند که عمدتاً در محیط هیدرو اتانولی محلول هستند و به عنوان نمک (مثل کلریدها یا سولفاتها) قرار می‌گیرند (Justin et al., 2014).

Máximo و همکاران در سال 2018 در تحقیقی بر روی متابولیت‌های ثانویه و فعالیت زیستی ماکرو جلبک مهاجم در جنوب اروپا، نقش پدیده‌های مهاجم مرتبط با جلبکها و پیامدهای آن بر اکوسیستم پرداختند. سه نمونه از جلبکهای مهاجم اروپا متعلق به جلبکهای سبز، قرمز و قهوه ای انتخاب شدند. در گونه اسپاراگوپسیس به طور عمده با ترکیبات هالوژنه روبرو شدند. از گونه کالریا 11، چندین ترپنوئید و آلکالوئید جدا شد در حالی که در سارگاسوم مروت‌ترپنوئیدها غالب هستند. لذا هدف این مطالعه شناسایی متابولیت‌های ثانویه ماکرو جلبک سارگاسوم بدست آمده از سواحل بوشهر می باشد.

## مواد و روش‌ها

نمونه جلبک سارگاسوم بوویانوم، از فاصله جزر و مدی سواحل روستای چاهک شهرستان گناوه، بدلیل تمرکز این زیست‌مندان دریایی در این منطقه در زمستان سال 1400 جمع‌آوری گردید. پس از شناسایی جلبک توسط پژوهشگران پژوهشکده زیست فناوری خلیج فارس دانشگاه علوم پزشکی بوشهر و جداسازی اولیه عوامل اضافی از جلبک و شستشوی اولیه با آب دریا به آزمایشگاه منتقل گردیدند. جلبک‌های جمع‌آوری شده پس از شستشوی مجدد با آب دریا و جداسازی گل و لای و اپی‌فیت‌های متصل به آنها، با آب تمیز شستشو داده شدند. نمونه جلبک خشک، توسط آسیاب برقی بصورت پودر در آمد. نمونه‌های پودر شده، جهت تعیین متابولیت‌های ثانویه، تازمان آنالیز در لوله‌های فالتکونی، در دمای 20°C- نگهداری گردیدند (Khalifeh et al., 2021).

در این مطالعه ترکیبات شیمیایی جلبک سارگاسوم مورد بررسی قرار گرفت و ترکیبات شیمیایی توسط دستگاه GC-MS شناسایی و تعیین مقدار شدند. جهت تعیین ترکیبات شیمیایی، به 2 گرم پودر جلبک، 10 میلی لیتر مخلوط حلال‌های متانول؛ کلروفرم و آن هگزان (1:1:1)، افزوده و پس از مخلوط شدن طی 48 ساعت توسط روتاتور با دور rpm 100، محلول رویی جدا شد. پس از آن، حلال‌ها توسط روتاری تغلیظ گردیدند.

جهت آنالیز عصاره، دستگاه GC-MS (Agilent5977MS-A, GC-5890B) و یک ستون کاپیلاری HP-5 MS (طول: 30 متر، قطر داخلی: 250 میکرومتر و ضخامت فیلم: 25 میکرومتر)، به کار گرفته شد. (Kishimoto et al., 2005).

نتایج

#### 1.4. شرایط منطقه نمونه برداری

شرایط منطقه نمونه برداری جلبک شامل مقادیر pH (8/32)، هدایت الکتریکی (62200 ms/cm)، شوری (42%)، اکسیژن محلول در آب (mg/l) و کدورت (1907NTU) بود.

در آنالیز GC-MS نمونه جلبک سارگاسوم بوویانوم در مطالعه اخیر، در تیمار کنترل تعداد 17 نوع ترکیب شیمیایی با گروه‌های عاملی و ساختارهای مختلف نظیر آلکالوئیدها، استروئیدها، آمینواسیدها، استرهای اسید چرب، الکل‌ها، دی‌اکسلان، و گروه‌های ساده آلی دیگر نظیر آلکان و آلکن شناسایی گردید (جدول شماره 1).

جدول (1) ترکیبات شیمیایی حاصل از آنالیز GC-MS در نمونه کنترل جلبک سارگاسوم بوویانوم

ردیف	RT	نام ترکیب	نوع ترکیب	فرمول مولکولی	وزن مولکولی (g/m)	فراوانی (%)
A <sub>1</sub>	6/741	Threonine	آمینواسید	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>3</sub>	119/12	0/076
A <sub>2</sub>	7/77	Heptadecane,2,6,10,14-tetramethyl	آلکان	C <sub>17</sub> H <sub>28</sub> O <sub>4</sub>	296/4	0/046
A <sub>3</sub>	9/186	2-Imino-6-mercapto-4,4-dimethyl-1,2,3,4-tetrahydro-pyridine-3,5-dicarbonitrile	پیریدین	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> N <sub>4</sub> S	206	0/348
A <sub>4</sub>	10/434	l-valine,3-mercapto	مشتقات آمینواسید	C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub> S	149/21	0/073
A <sub>5</sub>	12/725	Tridecanoic acid,methylester	استر اسید چرب	C <sub>13</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>	214	0/291
A <sub>6</sub>	10/062	1,3-dioxolane-2-heptanenitrile,α-methyl-ε-oxo-2-phenyl	دی اکسلان	C <sub>17</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>3</sub>	287/35	0/148
A <sub>7</sub>	17/451	9-Hexadecanoic acid, methylester,(z)	استر اسید چرب	C <sub>17</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	268	39/942
A <sub>8</sub>	18/447	Dodecane,2,6,11-trimethyl	آلکان	C <sub>15</sub> H <sub>32</sub>	212/41	0/612
A <sub>9</sub>	21/890	1,3,12-nonadecatriene	آلکن	C <sub>19</sub> H <sub>34</sub>	262	26/801
A <sub>10</sub>	22/059	2-methyl-z,z-3,13-octadecadienol	الکل	C <sub>19</sub> H <sub>36</sub> O	280	23/521

4/615	307	$C_{18}H_{17}N_3O_2$	ایندول آلکالوئید	11h-6,10-metheno(1,6)diazacyc lotridecino(10,9-b)indol-11-one,1,2,3,4,5,12-hexahydro-5-hydroxy	22/767	A <sub>11</sub>
0/396	162	$C_{12}H_{18}$	دی-ان(آلکن)	1,8-nonadiene,2-methyl-5,7-dimethylene	25/552	A <sub>12</sub>
0/277	534	$C_{30}H_{46}O_8$	گلیکوزید استروئید	Periplocyamarin	25/623	A <sub>13</sub>
0/242	234	$C_9H_{16}BrNO$	پپیریدینون آلکالوئید برومینه	2-piperidinone,n-(4-bromo-n-butyl)	26/388	A <sub>14</sub>
1/130	286	$C_{15}H_{26}O_3S$	استر دی اکسلان	4-ally-2-t-butyl-(1,3)dioxolane-4-carbothioic acid,s-t-butyl ester	26/697	A <sub>15</sub>
0/183	281	$C_{17}H_{19}N_3O$	ایندول آلکالوئید	3h-3a-Azacyclopenta(a)indene-2-carbonitrile,3-oxo-1-(piperidin-1-y)-4,5,6,7-tetrahydro	29/384	A <sub>16</sub>
1/263	310	$C_{20}H_{26}N_2O$	آسپیدوفراکتینین آلکالوئید	Aspidofractinine-3-methanol	29/615	A <sub>17</sub>

### بحث و نتیجه گیری کلی

در مطالعه حاضر، بر اساس نتایج حاصل از آنالیز GC-MS در استخراج متانول؛ کلروفورم؛ ان-هگزان (1:1:1) در گروه کنترل نمونه جلبک سارگاسوم بوویانوم به دست آمده از سواحل بوشهر تعداد 17 نوع ترکیب شیمیایی با ساختارهای شیمیایی و گروه‌های عاملی مختلف و هسته‌های منحصر به فردی نظیر چهار ترکیب آلکالوئیدی با هسته‌های پیریدینی، ایندولی، پپیریدینی، دو استر دی‌اکسلان، دو آلکان، سه آلکن، دو استر اسید چرب، دو آمینواسید و یک گلیکواستروئید یافت گردیدند. در آنالیز GC-MS نمونه جلبک سارگاسوم بوویانوم SA<sub>7</sub> (استر اسید چرب) با میزان 32/942 درصد مشاهده گردید. پس از آن، به ترتیب SA<sub>9</sub> (آلکن) و SA<sub>10</sub> (الکل) با میزان 26/801 و 23/521 درصد مشاهده گردید. در بین آلکالوئیدها نیز ایندول آلکالوئید با میزان 4/615 درصد مشاهده گردید. آمینواسیدها، آلکانها، آلکالوئیدها، آلکنها، استر اسید چرب، الکل، دی اکسلان و گلیکوزید استروئید به ترتیب در گروه کنترل با فراوانی 0/149، 0/658، 6/651، 27/197، 40/233، 23/521 و 1/278 درصد مشاهده گردید. طبقه‌بندی‌های مختلفی برای آلکالوئیدها وجود دارد. آلکالوئیدها را می‌توان بر اساس پیش ساز مولکولی، ساختارها، منشاء آنها با مسیرهای بیولوژیکی مورد استفاده برای بدست آوردن مولکول طبقه بندی کرد. بر اساس مطالعه (Verpoorte, 2005)، آنها اغلب بر اساس اسکلت مولکولی خود به دو گروه اصلی آلکالوئیدهای ایندولی و ایزوکنینولینی و دیگر آلکالوئیدهای تروپانی، استروئیدال، پیریدینی و



پیرولیزیدینی طبقه بندی می گردند. بر اساس یافته های Dey و همکاران (2020)، آکالوئیدها تنوع زیادی را نه تنها در منشاء گیاهی و بیوشیمیایی خود بلکه در ساختار و عملکرد دارویی نشان می دهند (Dey et al. 2020).

آکالوئیدهای دریایی، آکالوئیدهای ایندول، آکالوئیدهای کینولین، آکالوئیدهای پیرولیزیدین، آکالوئیدهای تروپان، آکالوئیدهای پیرولیدین، سزکویی ترپن، پیریدین آکالوئیدها، آکالوئیدهای ایمیدازول جزو این گروه می باشند (Aniszewski, 2007).

آکالوئیدهای پیریدین دارای فعالیت CNS از گیاهان، قارچها، باکتریها، دوزیستان و منابع دریایی جدا شده اند. آکالوئیدهای SA<sub>3</sub> از نمونه جزء آکالوئید پیریدینی در مطالعه حاضر هستند (Kobayashi et al 1990).

در مطالعه حاضر SA<sub>11</sub> و SA<sub>14</sub> دارای هسته ایندول آکالوئیدی هستند. آکانها ترکیباتی هستند که کاملاً از اتمهای کربن و هیدروژن تشکیل شده اند که توسط پیوندهای منفرد کربن-کربن و کربن-هیدروژن به یکدیگر متصل شده اند. آکانها همچنین در سالهای اخیر توجه زیادی را به دلیل خواص شیمیایی بهتر مانند حلالیت پایین آب و چگالی بالا جلب کرده اند (Sun et al., 2017). بعلاوه، ترکیبات آکانی SA<sub>2</sub>، SA<sub>8</sub> از نمونه جلبک سارگاسوم بوویانوم، در زمره آکانها به شمار می روند. ترکیبات آکانی SA<sub>9</sub>، SA<sub>12</sub> از نمونه جلبک سارگاسوم بوویانوم، در زمره آکانها به شمار می روند. می توان گفت که متابولیت های استخراج شده از عصاره جلبک سارگاسوم بوویانوم دارای خواص آنتی اکسیدانی، کولین استرازی که در درمان بیماری آلزایمر کاربرد دارد، به هرحال بررسی اثر این ترکیبات نیازمند به مطالعه بیشتر می باشد.

منابع

- Sumner, L. W., Zhenjiang, L., Basil, J. N., Kabuki, S. (2014). Modern plant metabolomics: advanced natural product gene discoveries, improved; technologies, and future prospects. *National Library of Medicine*, 32(2), 212-229.
- Aniszewski, T. (2007) *Alkaloids—Secrets of Life Alkaloids Chemistry, Biological Significance Application and Ecological Role*. 1st Edition, Elsevier, Amsterdam.
- Arunkumar, E., Forbes, C. C., Noll, B. C., & Smith, B. D. (2005). Squaraine-Derived Rotaxanes: Sterically Protected Fluorescent Near-IR Dyes. *Journal of the American Chemical Society*, 127(10), 3288–3289. doi:10.1021/ja042404n
- Arunkumar, K., Selvapalam, N. and Rengasamy, R. (2005) The antibacterial compound sulphoglycerolipid 1-0
- Ayyad, S. E., Ezmirly, S. T., Basaif, S. A., Alarif, W. M., Badria, A. F. and Badria, F. A. (2011) Antioxidant, cytotoxic, antitumor, and protective DNA damage metabolites from the Red Sea Brown alga *Sargassum* sp. *Pharmacognosy Research* 3: 160-165.
- Blakeley, S., Hayes, M. (2017). Algal proteins extraction, application, and challenges concerning production. *Foods*, 6 (5), 33.
- Dey, P., Kundu, A., Kumar, A., Gupta, M., Lee, B. M., Bhakta, T., ... Kim, H. S. (2020). Analysis of alkaloids (indole alkaloids, isoquinoline alkaloids, tropane alkaloids). *Recent Advances in Natural Products Analysis*, 505–567. doi:10.1016/b978-0-12-816455-6.00015-9

- Hwang, G.-J., & Tsai, C.-C. (2011). *Research trends in mobile and ubiquitous learning: a review of publications in selected journals from 2001 to 2010. British Journal of Educational Technology, 42(4), E65–E70.* doi:10.1111/j.1467-8535.2011.01183.x
- Jastin, N., Kabera, E. S., Ally, R., M, X. H.E. (2014). Plant Secondary Metabolites Biosynthesis, Classification, Function and Pharmacological Properties. *Journal of Pharmacy and Pharmacology, 2, 377-392.*
- Karuppusamy, S. (2009). A review on trends in production of secondary metabolites from higher plants by investor tissue, organ and cell cultures. *Journal of Medicinal Plants Research, 3 (13), 1222-1239.*
- Khalifeh, T., Vazirizadeh, A., Mohebbi, G. H., Barmak, A. R. and Darabi, A. H. (2021) Determination of some
- Kim, J. S., Kuk, E., Yu, K. N., Kim, J.-H., Park, S. J., Lee, H. J., ... Cho, M.-H. (2007). *Antimicrobial effects of silver nanoparticles. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine, 3(1), 95–101.* doi:10.1016/j.nano.2006.12.001
- Kishimoto, T., Wanikawa, A., Kagami, N., & Kawatsura, K. (2005). *Analysis of Hop-Derived Terpenoids in Beer and Evaluation of Their Behavior Using the Stir Bar–Sorptive Extraction Method with GC-MS. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53(12), 4701–4707.* doi:10.1021/jf050072f.
- Kobayashi, S. Sakai, A., & Oiyama, I. Cryopreservation of nucellar cells of navel orange (*Citrus sinensis* Osb. var. *brasiliensis* Tanaka) by vitrification. *Plant Cell Reports 9, 30–33 (1990).* <https://doi.org/10.1007/BF00232130>
- Kokilam, G., Vasuki, S. and Sajitha, N. (2013). Biochemical composition, alginic acid yield and antioxidant activity of brown seaweeds from Mandapam region, Gulf of Mannar. *Journal of Applied Pharmaceutical Science, 3: 99–104*
- Máximo, P., Ferreira, L., Branco, P., Lima, P., Lourenço, A. (2018). Secondary metabolites and Biological Activity of Invasive Macroalgae of Southern Europe. *Marine Drugs, 16(8), 265.* doi:10.3390/md16080265.
- nutraceutical compounds, amino acids and fatty acids present in the extracts of *Sargassum boveanum* algae obtained from the Coastal Waters of Central Bushehr, Iran. *Iran South Medical Journal 24: 134-159.*
- palmitoyl-3-O-(6'-sulpho- $\alpha$ -quinovopyranosyl)-glycerol from *Sargassum wightii* Greville (Phaeophyceae). *Botanica Marina 48: 441-445.*
- Plouguerné, E., de Souza, L. M., Sasaki, G. L., Cavalcanti, J. F., Villela Romanos, M. T., da Gama, B. A. P., et al. (2013). Antiviral sulfoquinovosyldiacylglycerols (SQDGs) from the brazilian brown seaweed *Sargassum vulgare*. *Mar. Drugs 11, 4628–4640.* doi: 10.3390/md11114628
- Schardl, C. L., Panaccione, D. G., & Tudzynski, P. (2006). *Chapter 2 Ergot Alkaloids – Biology and Molecular Biology. The Alkaloids: Chemistry and Biology, 45–86.* doi:10.1016/s1099-4831(06)63002-2
- Sun, Y., Frankenberg, C., Wood, J. D., Schimel, D. S., Jung, M., Guanter, L., ... Yuen, K. (2017). *OCO-2 advances photosynthesis observation from space via solar-induced chlorophyll fluorescence. Science, 358(6360), eaam5747.* doi:10.1126/science.aam5747.
- Sun, Y., Lei, C., Khan, E., Chen, S. S., Tsang, D. C. W., Ok, Y. S., ... Li, X. (2017). *Nanoscale zero-valent iron for metal/metalloid removal from model hydraulic fracturing wastewater. Chemosphere, 176, 315–323.* doi:10.1016/j.chemosphere.2017.02.119.
- Verpoorte, R. (2005) Elicitor Signal Transduction Leading to Production of Plant Secondary Metabolites. *Biotechnology Advances, 23, 283-333.*
- Wichachucherd. B , Songklanakarin J. Sci. Technol. 38 (1), 105-111, 2016
- Wu, W., Hasumi, K., Peng, H., Hu, X., Wang, X. and Bao, B. (2009) Fibrinolytic compounds isolated from a brownalga, *Sargassum fulvellum*. *Marine Drugs 7: 85-94.*

- Yang, X. S., & He, X. (2013). *Bat algorithm: literature review and applications. International Journal of Bio-Inspired Computation*, 5(3), 141. doi:10.1504/ijbic.2013.055093
- Ye, L., & Keogh, E. (2009). Time series shapelets. Proceedings of the 15th ACM SIGKDD International Conference on Knowledge Discovery and Data Mining - KDD '09. doi:10.1145/1557019.1557122
- Zhang, J., Lindsay, R., Schweiger, A., & Steele, M. (2013). *The impact of an intense summer cyclone on 2012 Arctic sea ice retreat. Geophysical Research Letters*, 40(4), 720–726. doi:10.1002/grl.50190.
- Zhang, R. L., Luo, T. N. and Zhou, S. K. (2012) Evaluation of antioxidant and immunity-enhancing activities of *Sargassum pallidum* aqueous extract in Gastric Cancer Rats. *Molecules* 17: 8419-8429.
- Zhao, J., Davis, L.C. and Verpoorte, R. (2005) Elicitor Signal Transduction Leading to Production of Plant Secondary Metabolites. *Biotechnology Advances*, 23, 283-333.

Determination of some food-drug compounds in brown algae *Sargassum bouvianum* of Bushehr coast

**Maryam Akbari<sup>1</sup>, Roya Razavizadeh<sup>2</sup>, Gholamhossein Mohebbi<sup>3\*</sup>**

<sup>1</sup>PhD in Biology-Plant Physiology, Department of Biology, Payam Noor University, Tehran, Iran

<sup>2</sup>Associate Professor, PhD in Biology - Plant Physiology, Department of Biology, Payam Noor University, Tehran, Iran

<sup>3</sup>Assistant Professor, Doctor of Toxicology, Persian Gulf Marine Biotechnology Research Center, Biomedical Sciences Research Institute, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran

**Mohebbi hsn@yahoo.com**

## Abstract

Seaweeds have gained great importance in various fields of food, medicine and cosmetics due to their unique functional and food-pharmaceutical properties. One of these macroalgae is *Sargassum* macroalgae, which contains these biologically active metabolites that have created numerous medicinal and food potentials. The aim of this study was to identify the existing chemical compounds and determine some physicochemical and food-medicinal properties of the brown algae *Sargassum bouvianum* of Bushehr beaches. Chemical compounds were identified and quantified. Chemical compounds were identified and quantified by GC-MS. The mass spectrometry results of 17 types of chemical compounds with different functional groups and structures such as alkaloids, steroids, amino acids, fatty acid esters, alcohols, dioxalan and other simple organic groups such as alkane and alkane were identified in this macroalgae. Among them, fatty acid ester was the most abundant.

**Keywords:** *Sargassum bouvianum*, secondary metabolite, macroalgae, food-drug compounds

## اثر تنش شوری بر جوانه‌زنی و برخی شاخص‌های بذر گیاه *Humulus lupulus L.*

نویسنده اول:

مریم عبدالجلیل‌زاده<sup>1</sup>، مقطع کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست‌شناسی گیاهی و سلولی و مولکولی، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز

[ma.abdoljalilzadeh@gmail.com](mailto:ma.abdoljalilzadeh@gmail.com)

نویسنده دوم:

دکتر سید یحیی صالحی لیسار<sup>2</sup>، استاد گروه زیست‌شناسی گیاهی و سلولی و مولکولی، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز

نویسنده سوم:

دکتر حمیده بخشایشان اقدم<sup>3</sup>، گروه زیست‌شناسی گیاهی و سلولی و مولکولی، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز

### چکیده

شوری آب و خاک طی سال‌های اخیر به یک مسئله قابل توجه در ممانعت از رشد گیاهان تبدیل شده است و لزوم مطالعه روی آن برای ارائه راهکارهای کاهش اثرات نمک و افزایش بهره‌وری محصول احساس می‌شود. به منظور بررسی اثر تنش شوری بر جوانه‌زنی بذر گیاه *Humulus lupulus* آزمایشی بر اساس طرح کاملاً تصادفی با 4 تکرار انجام شد. بذرهای سترون شده با محلول هیپوکلریت سدیم 2 درصد به مدت 2 ماه در یخچال (به منظور شکستن خواب دانه) در دمای 4- درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. بعد از گذشت این مدت، بذرها در محیط آزمایشگاه داخل پتری دیش بر بستر کاغذ صافی منتقل شدند و تحت تیمار شوری قرار گرفتند. تیمارهای اعمال شده شامل شوری 0 (به عنوان شاهد)، 3، 6، 9 و 12 دسی‌زیمنس بر متر در نظر گرفته شد. تغییرات جوانه‌زنی بذرها به مدت 15 روز ثبت گردید. با توجه به نتایج حاصل از مطالعه گیاه مورد نظر، مشخص گردید که با افزایش میزان تنش شوری، درصد و سرعت جوانه‌زنی به طور معنی‌داری نسبت به شاهد کاهش یافتند و کاهش طول دانه‌رست‌های این گیاه نیز مشاهده شد. با افزایش میزان شوری، شاخص تحمل و شاخص قدرت روند کاهشی و درصد سمیت روند افزایشی داشت.

واژگان کلیدی: تنش شوری، جوانه‌زنی، شاخص‌های جوانه‌زنی، رازک، *Humulus lupulus*

### مقدمه

گیاه *Humulus lupulus L.* از تیره Canabaceae که به رازک معروف است، به طور گسترده برای استفاده در صنعت آبجوسازی کشت می‌شود. گل آذین ماده آن به دلیل داشتن برخی متابولیت‌های ثانویه به طور خاص مورد توجه است و تلخی، عطر و خاصیت ضد عفونی‌کنندگی به آبدو می‌بخشد (Bocquet et al. 2018). این گیاه به دلیل داشتن برخی ترکیبات خاص در صنعت

داروسازی، آرایشی و بهداشتی کاربرد فراوانی دارد که اثرات آرام‌بخشی و آنتی‌اکسیدانی، بهبوددهندگی علائم یائسگی، کمک به درمان سندرم روده تحریک‌پذیر و اثرات ضد ویروسی، ضد سرطانی و ضد باکتریایی مربوط به ترکیبات این گیاه است (Bocquet et al. 2008, Karabín et al. 2016, Ahmadi et al. 2018). تنش شوری یک تهدید بزرگ برای کشاورزی مدرن است که با ایجاد تنش آبی و سمیت سلولی، در تمام فرایندهای جوانه‌زنی، رشد و نمو، فتوسنتز و عملکرد گیاهان اختلال ایجاد می‌کند. شوری با ایجاد اختلال در فعالیت آنزیم‌های  $\alpha$  و  $\beta$ -آمیلاز و  $\alpha$ -گلوکوزیداز، منجر به تأخیر در جوانه‌زنی و کاهش درصد جوانه‌زنی می‌شود. هم‌چنین هومئوستازی آبسزیک اسید و جیبرلیک اسید، دو هورمون اصلی تنظیم‌کننده فرایند جوانه‌زنی، را برهم می‌زند (Parihar et al. 2015, El Moukhtari et al. 2020). اهمیت و حساسیت موضوع تنش‌ها به ویژه تنش شوری با افزایش میزان شوری آب‌های اراضی اطراف دریاچه ارومیه و کشت رازک در این مناطق کاملاً مشهود است. از این‌رو در این پژوهش سعی گردیده که نقش تنش شوری در فرایند جوانه‌زنی بذر رازک مورد بررسی قرار گیرد تا راهکارهای مناسب جهت افزایش بهره‌وری محصول و تعدیل اثرات تنش شوری در این گیاه ارائه گردد.

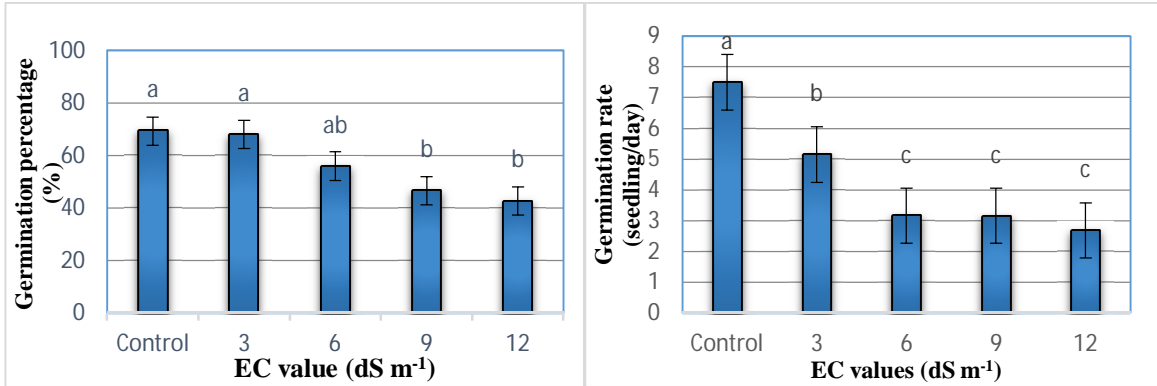
## مواد و روش‌ها

بذرهای گیاه رازک از یک مزرعه در منطقه خسروشاه تبریز جمع‌آوری گردید. آب شور مورد نیاز از منطقه شندآباد شبستر در نزدیکی دریاچه ارومیه تهیه شد. به منظور جوانه‌زنی بذرهای ابتدا عمل‌گزینش بذرهای یک دست و سالم انجام شد. سپس پوسته خارجی بذرهای جدا گردید و به منظور سترون شدن به مدت 15 دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم 2 درصد قرار گرفتند و چندین بار با آب مقطر به منظور از بین رفتن اثرات محلول هیپوکلریت سدیم شستشو داده شدند. بذرهای سترون بر روی کاغذ صافی مرطوب منتقل شدند و به مدت 2 ماه در یخچال قرار گرفتند. بعد از گذشت این مدت، بذرهای بر روی کاغذ صافی منتقل شدند و تحت تیمار شوری قرار گرفتند. تیمار شوری در 5 سطح با EC برابر با 0، 3، 6، 9 و 12 دسی زیمنس بر متر اعمال شد. در بررسی جوانه‌زنی هر تیمار در چهار تکرار 25 تایی بذر انجام گرفت. مدت جوانه‌زنی بذرهای 15 روز تعیین شد. به منظور تعیین درصد و سرعت جوانه‌زنی، تعداد بذرهای جوانه‌زده شمارش شد و سرعت جوانه‌زنی محاسبه گردید ((Maguire 1962). طول دانه‌رست‌های حاصل نیز تعیین شد. پارامترهای شاخص تحمل، شاخص قدرت و درصد سمیت محاسبه شد (Kumar and Jagannath 2015). آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS با آزمون Tukey در سطح احتمال  $p \leq 0/05$  انجام گرفت و نمودارها توسط نرم‌افزار Excel رسم گردید.

## نتایج

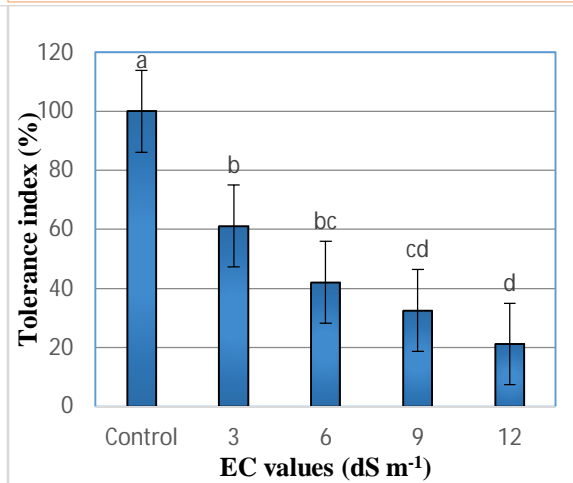
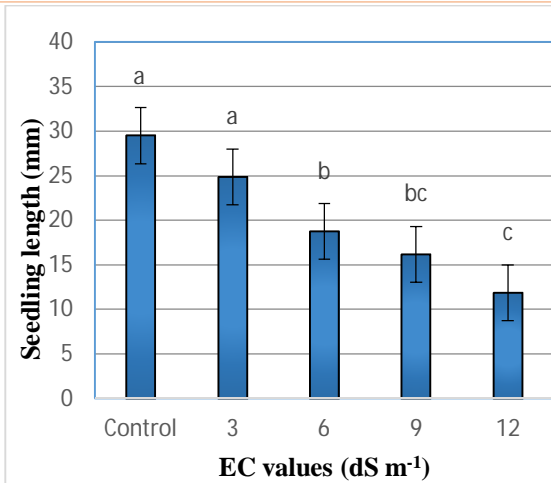
بررسی تاثیر تیمار شوری بر جوانه‌زنی در گیاه رازک نشان داد که اعمال تیمار 9 و 12 دسی زیمنس بر متر باعث کاهش معنی‌دار ( $p \leq 0/05$ ) درصد جوانه‌زنی بذر نسبت به شاهد، تیمار 3 و 6 دسی زیمنس بر متر شد. با اعمال تیمار شوری، به طور کلی سرعت جوانه‌زنی بذر در همه تیمارها نسبت به شاهد کاهش یافت. افزایش غلظت نمک بیش از 3 دسی زیمنس بر متر، موجب کاهش طول دانه‌رست‌ها گردید. شاخص تحمل به طور معنی‌داری ( $p \leq 0/05$ ) با افزایش میزان شوری در سطوح جوانه‌زنی گیاه رازک کاهش یافت. تأثیر شوری بر روی شاخص قدرت در تیمارهای 6، 9 و 12 دسی زیمنس بر متر باعث کاهش معنی‌دار این شاخص نسبت به نمونه شاهد و تیمار 3 شد. تیمار شوری با ایجاد اثرات سمی بر روی رازک باعث کاهش عملکرد آن گردید. با افزایش

میزان شوری، به طور معنی داری ( $p \leq 0.05$ ) درصد سمیت افزایش یافت، به طوری که در تیمار 12 دسی زیمنس بر متر بیشترین میزان سمیت تا 78/86 درصد نسبت به شاهد مشاهده شد.



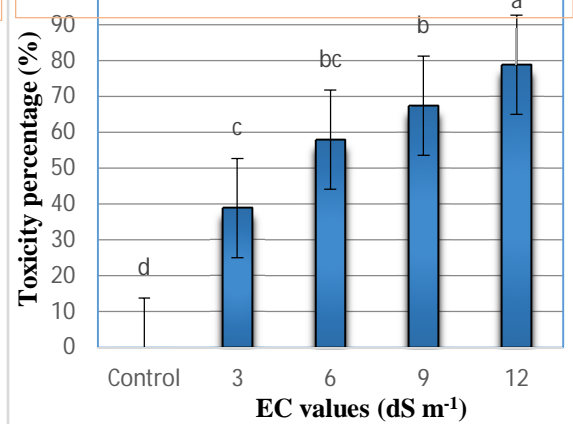
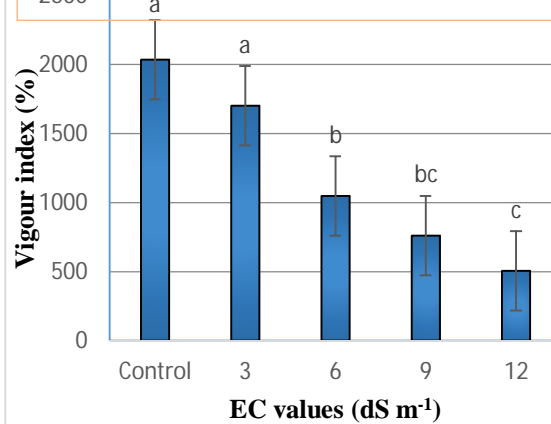
شکل 2. سرعت جوانه زنی بذر تحت تیمار شوری

شکل 1. درصد جوانه زنی بذر تحت تیمار شوری



شکل 4. شاخص تحمل در غلظت های مختلف شوری

شکل 3. طول دانه رست های رازک تحت تیمار شوری



شکل 6. درصد سمیت در غلظت های مختلف شوری

شکل 5. شاخص قدرت در غلظت های مختلف شوری

## بحث

فرایند جوانه‌زنی بذر، به عنوان یک مرحله پویا در چرخه زندگی گیاهان شناخته شده است. در مطالعه حاضر، کاهش سرعت و درصد جوانه‌زنی بذرها تحت تنش شوری، می‌تواند به دلیل افزایش پتانسیل اسمزی سلول‌های گیاهی و کاهش جذب آب توسط بذر باشد. اختلال در فعالیت هورمون‌هایی از قبیل جیبرلین می‌تواند روند جوانه‌زنی را در گیاه تحت تنش شوری به تأخیر بیندازد (Sharma et al. 2012)). ترکیبی از دو فاکتور اثرات اسمزی و اثرات سمیت نمک نیز می‌تواند در عدم توانایی بذر برای رشد جنین دخیل باشد. شوری با ایجاد اختلال در تقسیم سلولی باعث کاهش رشد طولی سلول‌ها می‌گردد. پارامترهای شاخص تحمل، شاخص قدرت و درصد سمیت نیز نشان‌دهنده مقاومت گیاهان تحت تنش می‌باشد.

## منابع

- Ahmadi, G. M., Soleymani, M. h. and Aroudi, M. (2008) 'Simultaneous determination of main effective constituents for hops extracts'.
- Bocquet, L., Sahpaz, S., Hilbert, J., Rambaud, C. and Rivière, C. (2018) 'Humulus lupulus L., a very popular beer ingredient and medicinal plant: Overview of its phytochemistry, its bioactivity, and its biotechnology', *Phytochemistry reviews*, 17(5), 1047-1090.
- El Moukhtari, A., Cabassa-Hourton, C., Farissi, M. and Savouré, A. (2020) 'How does proline treatment promote salt stress tolerance during crop plant development?', *Frontiers in plant Science*, 11, 1127.
- Karabín, M., Hudcová, T., Jelínek, L. and Dostálek, P. (2016) 'Biologically active compounds from hops and prospects for their use', *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(3), 542-567.
- Kumar, N. and Jagannath, S. (2015) 'Assessment of allelopathic efficacy of Parthenium hysterophorus L. plant parts on seed germination and seedling growth of Phaseolus vulgaris L', *Brazilian Journal of Biological Sciences*, 2(3), 85-90.
- Maguire, J. D. (1962) 'Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor', *Crop Sci.*, 2, 176-177.
- Parihar, P., Singh, S., Singh, R., Singh, V. P. and Prasad, S. M. (2015) 'Effect of salinity stress on plants and its tolerance strategies: a review', *Environmental science and pollution research*, 22(6), 4056-4075.
- Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S. and Pessaraki, M. (2012) 'Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions', *Journal of botany*, 2012.

## The effect of salinity stress on germination and some indices of *Humulus lupulus* L. seeds

Maryam Abdoljalilzadeh\*, Seyed Yahya Salehi-Lisar, Hamideh Bakhshayeshan-Agdam

\*[ma.abdoljalilzadeh@gmail.com](mailto:ma.abdoljalilzadeh@gmail.com)

### Abstract

In recent years, water and soil salinity has become a significant problem in preventing the growth of plants, and it is felt necessary to study it to provide solutions to reduce the effects of salt and increase crop productivity. In order to investigate the effect of salinity stress on *Humulus lupulus* seed germination, an experiment was conducted based on a completely randomized design with 4 replications. The sterilized seeds with 2% sodium hypochlorite solution were placed in the refrigerator (in order to break seed dormancy) at  $-4^{\circ}\text{C}$  for 2 months. After this period, the seeds were transferred to the filter paper bed in the laboratory environment and subjected to salt treatment. The applied treatments included salinity of 0 (as control), 3, 6, 9 and  $12\text{ ds m}^{-1}$ . Changes in seed germination were recorded for 15 days. According to the results obtained from the study of the plant in question, it was found that with the increase in salinity stress, the percentage and speed of germination decreased significantly compared to the control, and a decrease in the length of the seedlings of this plant was also observed. With the increase of salinity, tolerance index and vigour index decreased and toxicity percentage increased.

**Keywords:** Salinity stress, Germination, Germination parameters, Hops, *Humulus lupulus*.



## ارزیابی پاسخ صفات فیزیولوژیک گلرنگ به تغذیه برگی روی و همزیستی میکوریزایی در

### شرایط تنش شوری

مژده بوستانیان<sup>1\*</sup>، پرویز احسان زاده<sup>2</sup>

1- نویسنده مسئول: کارشناسی ارشد رشته آگروتکنولوژی-فیزیولوژی گیاهان زراعی، گروه تولید و ژنتیک گیاهی،

دانشکده مهندسی کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

[boostanian.mb@gmail.com](mailto:boostanian.mb@gmail.com)

2- استاد گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده مهندسی کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

[ehsanzadehp@gmail.com](mailto:ehsanzadehp@gmail.com)

#### چکیده

گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) یک گیاه دانه روغنی ارزشمند است که با بسیاری از اراضی زراعی کشور سازگاری خوبی دارد. همچنین متحمل به انواع تنش‌های زنده و غیر زنده به ویژه تنش‌های شوری و خشکی است. عنصر روی نقش مهمی در سنتز و عملکرد پروتئین‌ها، آنزیم‌ها و فتوسنتز گیاه دارد. مقدار روی قابل دسترس گیاه در زمین‌های کشاورزی به ویژه در خاک‌های آهکی و شور بسیار کم است. قارچ میکوریزا با افزایش سطح تبادل ریشه و خاک، تغذیه معدنی گیاه را با افزایش جذب آب در گیاهان بهبود می‌بخشد. این پژوهش به صورت آزمایش گلدانی از اواسط اسفند ماه 1400 تا تابستان 1401 در دانشگاه صنعتی اصفهان به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار به اجرا درآمد. در این آزمایش تاثیر دو سطح تلقیح و عدم تلقیح قارچ میکوریزا و دو سطح صفر و تغذیه برگی روی بر ژنوتیپ کوسه گلرنگ تحت شرایط سه سطح صفر، 60 و 120 میلی مولار NaCl بررسی شد. تنش شوری موجب کاهش غلظت پتاسیم و روی برگ، کلروفیل a و کلروفیل b، و وزن خشک کل گیاه ولی باعث افزایش نسبت کارتنوئید به کلروفیل و غلظت سدیم برگ گلرنگ شد. محلول پاشی روی و تلقیح قارچ میکوریزایی از طریق افزایش ویژگی‌هایی نظیر غلظت کلروفیل‌های a و b، و غلظت روی برگ و بهبود تعادل یون‌های سدیم و پتاسیم سبب تعدیل اثرات منفی شوری در گلرنگ شد.

واژگان کلیدی: گلرنگ، میکوریزا، روی، شوری، سدیم

#### مقدمه

از بین دانه‌های روغنی سازگار با شرایط کشور، گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) از جایگاه خاصی برخوردار بوده و این گیاه از نظر بوم شناختی با بسیاری از اراضی زراعی کشور سازگاری خوبی دارد (1). روی (Zn) نقش فیزیولوژیک حیاتی در سنتز

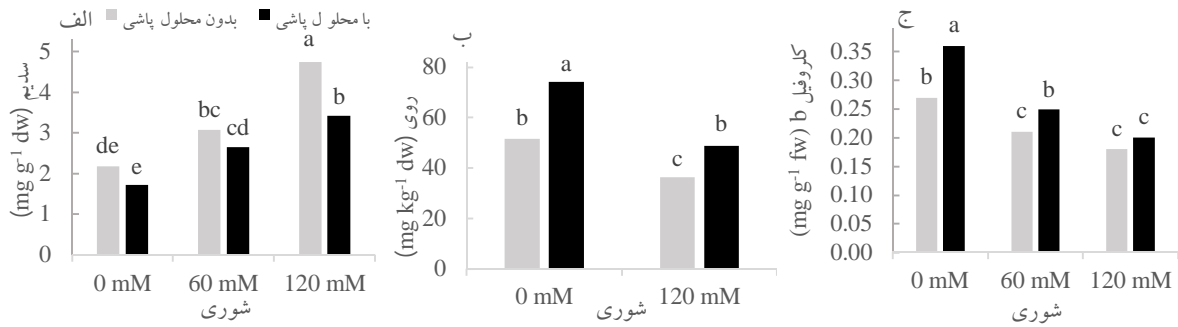
و عملکرد پروتئین‌ها، فعال شدن آنزیم‌ها و فتوسنتز برگ دارد (5). در خاک‌های شور و سدیمی حلالیت عناصر کم مصرف ضروری برای رشد گیاه از جمله روی کم می‌باشد. بنابراین اغلب وضعیت تغذیه‌ای عناصر کم مصرف گیاهانی که در این نوع خاک‌ها رشد می‌کنند نامطلوب می‌باشد (2). در شرایط نامطلوب، محلول پاشی روی رشد و نمو گیاه را افزایش می‌دهد (6). تشکیل شبکه هیف توسط قارچ میکوریزا با ریشه‌های گیاه به طور قابل توجهی دسترسی ریشه‌ها را به سطح وسیعی از خاک افزایش می‌دهد و از طریق کمک به جذب آب و برخی عناصر معدنی باعث بهبود رشد گیاه بویژه در شرایط تنش می‌شود (3).

### مواد و روش‌ها

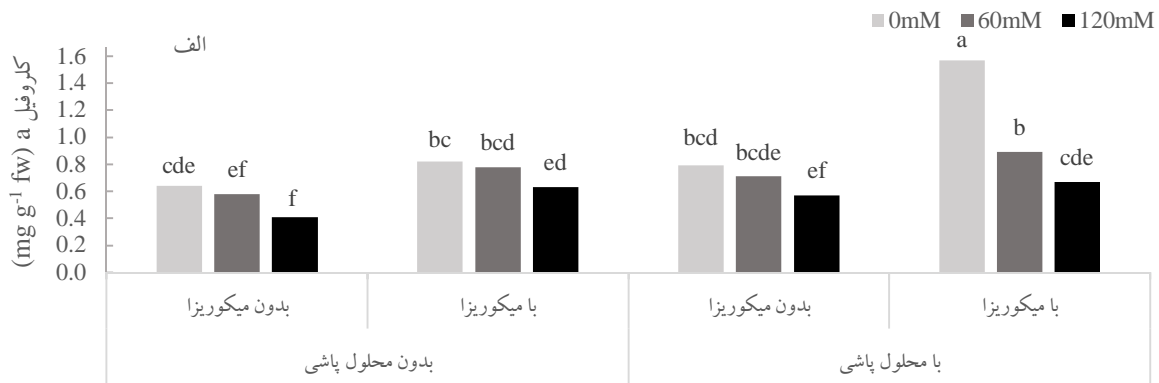
در این آزمایش تاثیر دو سطح قارچ میکوریزا (عدم تلقیح و تلقیح با قارچ میکوریزا گونه *Funneliformis mosseae*) و دو سطح محلول پاشی سولفات روی (صفر و 3 گرم سولفات روی در 1000 میلی لیتر آب مقطر) بر گیاه گلرنگ (ژنوتیپ کوسه) تحت تنش شوری در سه سطح (صفر یا شاهد و 60 و 120 میلی مولار NaCl) به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار در دانشگاه صنعتی اصفهان از هفته دوم اسفند ماه 1401 تا تیر ماه 1402 در گلدان‌هایی از جنس پلی اتیلن با ارتفاع 70 و قطر 12 سانتی متر انجام گرفت. تنش شوری پس از استقرار کامل گیاهان (کد BBCH:18) (4) اعمال گشت و تا پایان آزمایش (کد BBCH:97) ادامه یافت. برای جلوگیری از وارد شدن شوک اسمزی به گیاهان، میزان نمک محاسبه شده برای هر تیمار شوری به تدریج به آب آبیاری اضافه شد. برای جلوگیری از تجمع نمک در خاک گلدان‌ها در هر دور آبیاری 15% آب اضافی برای نیاز آبخویی در نظر گرفته شد. محلول پاشی سولفات روی سه هفته پس از اعمال تیمار شوری (کد BBCH:50) در دونوبت به فاصله یک هفته انجام گرفت. نمونه برداری برگ تازه جهت اندازه گیریهای فیزیولوژیک در هفته سوم پس از محلول پاشی سولفات روی (کد BBCH:65) انجام شد و ماده خشک نهایی نیز در پایان رشد گیاهان اندازه گیری شد. تجزیه واریانس نتایج به دست آمده بر اساس طرح بلوک کامل تصادفی با نرم افزار (SAS) و ترسیم نمودارها با نرم افزار (EXCEL) انجام گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون کمترین تفاوت معنی دار (LSD) در سطح احتمال 5% انجام شد.

### نتایج و بحث

با تشدید شوری بر غلظت سدیم برگ هم گیاهان محلول پاشی شده و هم محلول پاشی نشده افزوده شد ولی این افزایش در گیاهان محلول پاشی شده کمتر بود (شکل 1-الف). اگرچه با تشدید شوری از غلظت کلروفیل **b** و روی برگ کاسته شد ولی محلول پاشی روی سبب افزایش مقدار این دو صفت شد (شکل 1-الف و ب). با افزایش سطوح شوری غلظت کلروفیل **a** چه در حضور و چه در غیاب تیمارهای محلول پاشی روی و میکوریزا کاهش یافت. با این حال در حضور محلول پاشی روی غلظت کلروفیل **a** گیاهان تیمار شده با میکوریزا در شرایط تنش شوری بیشتر از گیاهان تیمار نشده با میکوریزا بود و این افزایش در شرایط شوری شاهد و متوسط بیشتر از شوری شدید بود (شکل 2).

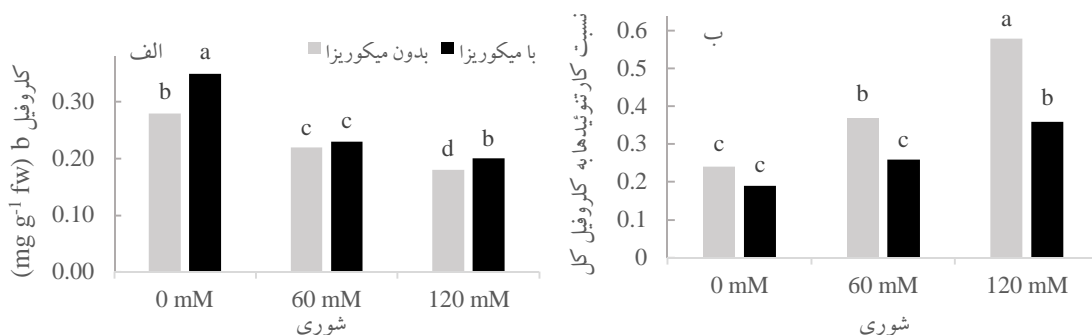


شکل (1) اثر متقابل محلول پاشی روی در قارچ میکوریزا در شوری بر الف) غلظت روی، ب) سدیم برگ و ج) غلظت کلروفیل b. بر اساس آزمون LSD حروف مشابه در سطح پنج درصد اختلاف معنی دار ندارند.

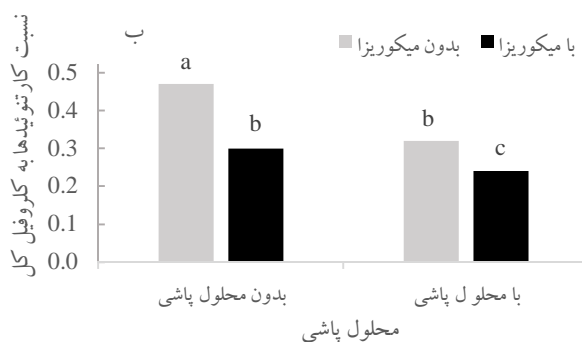


شکل (2) اثر متقابل محلول پاشی روی در قارچ میکوریزا در شوری بر غلظت کلروفیل a. بر اساس آزمون LSD حروف مشابه در سطح پنج درصد اختلاف معنی دار ندارند.

با افزایش شوری غلظت کلروفیل b چه در حضور و چه در غیاب قارچ میکوریزا کاهش یافت. با این حال غلظت کلروفیل b گیاهان تیمار شده با میکوریزا در شرایط تنش شوری بیشتر از گیاهان تیمار نشده با میکوریزا بود (شکل 3-الف). در اثر شوری نسبت کارتنوئیدها به کلروفیل کل در هردو تیمار تلقیح و عدم تلقیح میکوریزایی افزایش یافت در حالی که این افزایش در گیاهان تلقیح شده با میکوریزا کمتر از گیاهان تلقیح نشده بود (شکل 3-ب). محلول پاشی روی موجب کاهش نسبت کارتنوئیدها به کلروفیل کل شد و این کاهش در حضور قارچ میکوریزا چشمگیرتر بود (شکل 4).



شکل (3) اثر متقابل قارچ میکوریزا در شوری بر الف) غلظت کلروفیل b و ب) نسبت کارتئونیدها به کلروفیل کل. بر اساس آزمون LSD حروف مشابه در سطح پنج درصد اختلاف معنی دار ندارند.



شکل 4- اثر متقابل محلول پاشی روی در قارچ میکوریزا بر نسبت کارتئونیدها به کلروفیل کل. بر اساس آزمون LSD حروف مشابه در سطح پنج درصد اختلاف معنی دار ندارند.

جدول (1) مقایسه میانگین اثر عوامل آزمایشی بر غلظت پتاسیم برگ و وزن خشک کل گیاه در گلرنگ.

عامل آزمایشی	غلظت پتاسیم برگ (mg g <sup>-1</sup> )	وزن خشک کل گیاه (g)
محلول پاشی بدون محلول پاشی	b22/32	a15/14
با محلول پاشی	a26/31	b12/68
<b>LSD(%5)</b>	<b>2/58</b>	<b>2/32</b>
قارچ میکوریزا بدون میکوریزا	b21/02	a16/11
با میکوریزا	a27/61	b11/71

2/32	2/58	LSD(%)
a18/79	a32/13	0 (mM) شوری
b13/35	b22/72	60
c9/59	c18/09	120
2/84	3/16	LSD(%)

در هر عامل آزمایشی و برای هر صفت میانگین‌های حداقل با یک حرف مشترک تفاوت معنی دار بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال 5% ندارند.

با توجه به نتایج بدست آمده غلظت پتاسیم برگ با محلول پاشی سولفات روی و با کاربرد قارچ میکوریزا افزایش یافت (جدول 1). این صفت با افزایش سطوح شوری کاهش یافت (جدول 1). در این آزمایش شوری باعث کاهش معنی دار وزن خشک کل گیاه گردید (جدول 1). تلقیح میکوریزا و محلول پاشی روی سبب افزایش وزن خشک کل نسبت به شاهد و در سطوح مختلف شوری شد (جدول 1).

#### نتیجه‌گیری

شوری موجب کاهش غلظت پتاسیم و روی برگ و باعث افزایش نسبت کارتنوئید به کلروفیل کل و غلظت سدیم برگ و احتمالا سمیت یونی در گیاه گلرنگ شد و این امر موجب کاهش مولفه‌های فتوسنتزی (غلظت کلروفیل a، کلروفیل b) و در نهایت وزن خشک کل در گیاه شد. می‌توان نتیجه گرفت که شوری سبب اختلال در وضعیت فتوسنتزی و یونی و تولید ماده خشک گلرنگ می‌شود، اما کاربرد قارچ میکوریزا و محلول پاشی روی موجب افزایش مولفه‌های فتوسنتزی و بهبود شرایط تغذیه‌ای و رشدی گیاه و کاهش اثرات زیانبار شوری می‌شود و تحمل این گونه بومی دانه روغنی را به تنش شوری افزایش می‌دهد.

#### منابع

امید ابروزن، محمدرضا داداشی، ابوالفضل فرجی و آسیه سیاهمرگویی. (1400). 'مطالعه تاثیر تاریخ کاشت و تراکم بوته بر عملکرد دانه، اجزای عملکرد، کیفیت علوفه و میزان روغن ارقام مختلف گلرنگ در منطقه گنبد کاوس'، نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی، (28)، صص. 117-130.

مرضیه اسدی، مرتضی زاهدی، محمدحسین اهتمام و امیرحسین خوشگفتارمنش. (1395). 'تأثیر کاربرد اکسیدروی به شکل نانوذرات بر رشد و محتوای یونی چهار رقم گندم تحت تنش شوری'. علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای، (25)، صص. 25-33.

Bowles, T.M., Barrios-Masias, F.H., Carlisle, E.A., Cavagnaro, T.R., and Jackson, L.E., 2016. Effects of arbuscular mycorrhizae on tomato yield, nutrient uptake, water relations, and soil carbon dynamics under deficit irrigation in field conditions. *Science of The Total Environment*, 566, pp.1223-1234 81

Meier, U. 2003. Phenological Growth Stages. In: Phenology: An Integrative Environmental Science. Kluwer Academic Pub., Dordrecht. The Netherlands.

Tsonev, T. and Lidon, F.J.C., 2012. Zinc in plants- an overview. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 24, pp.322-333.

Zafar, S., Ashraf, M.Y. and Saleem, M., 2017. Shift in physiological and biochemical processes in wheat supplied with zinc and potassium under saline condition. *Journal of Plant Nutrition*, 41, pp.19-28.

### Evaluation of physiological responses of safflower to foliar-applied zinc and mycorrhizal inoculation under salinity stress

Mozhdeh Boostanian<sup>1\*</sup>, Parviz Ehsanzadeh<sup>2</sup>

Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan-84156 83111, Iran<sup>+</sup>

\*Corresponding author: [boostanian.mb@gmail.com](mailto:boostanian.mb@gmail.com)

#### Abstract

Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) is an oilseed crop, known for its adaptation to the climatic and edaphic conditions of Iran. It has the capability to grow and produce an acceptable grain yield under marginal soil conditions. It is tolerant to an array of environmental constraints, including drought and salinity. Zinc is involved in the synthesis of proteins and activity of many enzymes and plays role in the photosynthetic functions. Mycorrhizae increases the access of the plant root to the soil and hence enhances the absorption of soil water and minerals. Salt stress is a major constraint to the plant growth and productivity under the arid-semiarid climatic conditions. Thus, safflower was exposed to foliar Zn application and soil mycorrhizal inoculation in a 3-replicates randomized complete block design pot experiment from March to July 2022 in the Isfahan University of Technology, Isfahan, Central Iran. This experiment sought to examine effectiveness of Zn and mycorrhizae amendments in amelioration of salt stress. Salinity suppressed Zn and K concentrations, chlorophyll a, chlorophyll b, total dry mass, despite increasing carotenoids/chlorophyll and Na concentrations. Though, both Zn and mycorrhizae applications tended to mitigate the adverse effects of salinity through enhancing photosynthetic attributes (chlorophyll a and chlorophyll b concentrations), ionic balance (Na and K status) and consequently plant growth. The presented findings taken together, are suggestive of beneficial effects of foliar-applied Zn and mycorrhizae inoculation to the safflower's physiological attributes and dry mass production. Moreover, the above amendments lead to improvements in photosynthetic and growth of safflower under saline conditions, leading consequently to its salt tolerance.

**Keywords:** Safflower, Mycorrhizae, Zn, salinity, Na

## بررسی کاربرد کودهای زیستی بر روی رنگیزه فتوستتزی و کاروتنوئیدی گیاه دارویی زنجبیل (*Zingiber officinale*)

فاطمه آزادی<sup>1\*</sup> عزیزاله خیری<sup>2</sup> محسن ثانی خانی<sup>3</sup>

4- دانشجوی کارشناسی ارشد، علوم باغبانی، گرایش گیاهان دارویی دانشگاه زنجان

5- دانشیار دانشگاه زنجان، علوم باغبانی، دکترای فیزیولوژی و اصلاح گیاهان دارویی، ادویه ای و عطری

6- استادیار دانشگاه زنجان، علوم باغبانی، دکترای گیاهان دارویی

\* نویسنده مسئول مقاله: fatemeh.azadi1997@gmail.com

### چکیده

به منظور بررسی کاربرد هیومیک اسید، آمینو اسید و کود زیستی بر خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه دارویی زنجبیل آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با هفت تیمار و پنج تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه زنجان انجام گردید. تیمارهای آزمایش شامل اسید آمینه در دو غلظت یک و دو گرم در لیتر، کود زیستی EM در دو غلظت یک و دو میلی لیتر در لیتر و اسید هیومیک در دو سطح دو و چهار گرم در لیتر بود. با توجه به نتایج بدست آمده. بیشترین میزان کلروفیل a از تیمار کود زیستی دومیلی لیتر در لیتر (0/4920) دیده شد و همچنین کمترین میزان کلروفیل a از تیمار شاهد (0/1472) بدست آمد. نتایج نشان داد بیشترین میزان کلروفیل b در تیمار آمینو اسید دو گرم در لیتر (1/85 میلی گرم در گرم) مشاهده شد در کل تیمارهای هیومیک اسید، آمینو اسید و کود زیستی موجب افزایش کلروفیل b نسبت به شاهد شد. بیشترین میزان کلروفیل کل از تیمار اسید آمینه دو گرم بر لیتر (2/245) بدست آمد. همچنین کمترین میزان کلروفیل کل هم از تیمار شاهد (0/504) مشاهده شد. تیمارهای هیومیک اسید، اسید آمینه و کود زیستی در افزایش میزان کاروتنوئید کل در گیاه زنجبیل موثر بودند، بیشترین میزان کاروتنوئید کل در تیمار کود زیستی 2 میلی لیتر در لیتر (0/994) میلی گرم در گرم و کمترین میزان کاروتنوئید کل در تیمار شاهد دیده شد. به طور کلی بررسی ها نشان داد هیومیک اسید، آمینو اسید و کود زیستی بر خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه دارویی زنجبیل تاثیر گذار است.

کلمات کلیدی: رنگیزه های کلروفیلی، کاروتنوئید کل.

### مقدمه

گیاه دارویی زنجبیل با نام علمی (*Zingiber officinale*) از خانواده Zingiberaceae گیاهی چندساله، علفی و نی مانند است زنجبیل برای حداکثر تولید خود نیاز بالایی به عناصر غذایی دارد (Kemper, 2000). استفاده از کودهای مناسب و کافی علاوه بر افزایش کمیت محصول تولیدی، بر ترکیبات دارویی آن نیز اثرگذار است. بنابراین گزینه های مدیریت عناصر غذایی برای این محصول شامل کودهای زیستی یا آلی یا مخلوطی از هر دو است چرا که مدیریت تغذیه مناسب به کاهش استفاده از کودهای شیمیایی و در نتیجه افزایش کیفیت کمک شایانی می نماید (Jaborova et al., 2021). کودهای بیولوژیک در حقیقت ماده ای شامل انواع مختلف ریز موجودات آزادی بوده که توانایی تبدیل عناصر غذایی اصلی را از فرم غیر قابل دسترس به فرم قابل دسترس طی فرایندهای بیولوژیکی داشته و منجر به توسعه سیستم ریشه ای و جوانه زنی بهتر بذور می گردند (کوچکی و همکاران، 1387).

یکی از کودهای آلی، اسیدآمینها می باشند، اسید آمینه، فرم ارگانیک نیتروژن است. در دهه گذشته استفاده از محصولات با پایه آمینه اسید به وسیله پرورش دهندگان باعث بهبود عملکرد و رشد گیاهان مختلف گردیده است (امینی فرد و همکاران، 2019). اسید هیومیک با اثر بر روی میزان فتوسنتز می تواند میزان تولید اسمیلاتها و در نتیجه رشد گیاه را افزایش دهد؛ و برای افزایش عملکرد محصول مؤثر واقع شود (Kaur et al., 2017). در پژوهشی در رابطه با تأثیر کودها و بسترهای مختلف کشت بر عملکرد و مواد مؤثره گیاه زنجبیل نتیجه این گونه شد که کاربرد منابع کودی شیمیایی و زیستی توأم با بسترهای کاشت آلی با افزایش حاصل خیزی بیشتر جهت تأمین رفع نیازهای غذایی زنجبیل جهت تولید مواد مؤثره، متمر ثمر بود (اکبری و همکاران، 1401). در تحقیقی نشان داده شد تأثیر اسید هیومیک بر وزن هزار دانه، تعداد چتر، تعداد شاخه جانبی، درصد اسانس و عملکرد اسانس گیاه دارویی زنیان معنی دار بود. (ابرعمدی و همکاران، 1394). در یک آزمایش دیگر نشان داده شد محلول پاشی اسیدهای آمینه به عنوان نوعی محرک زیستی بر بهبود ویژگی های کیفی گیاه عروسک پشت پرده تأثیر مثبتی داشته اند و سبب افزایش تولید ترکیبات بیوشیمیایی گیاه شده است (صارمی و همکاران، 1400). ، آزمایش حاضر به منظور تعیین اثر منابع مختلف کودی (اسید هیومیک؛ آمینو اسید و کود زیستی (EM) بر رشد، افزایش ریزوم و عملکرد گیاه دارویی زنجبیل و صفات قابل بررسی اعم (اسانس، ساقه و برگ و...) زنجبیل تحت شرایط گلخانه ای طراحی و اجرا گردید.

#### مواد و روش ها

این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی با هفت تیمار و پنج تکرار اجرا گردید. تیمارهای مورد بررسی شامل اسید آمینه در دو غلظت یک و دو گرم در لیتر، کود زیستی EM (ای ام)، ترکیبی ویژه از 120 گونه مختلف میکروارگانیسم های بی هوازی و هوازی اختیاری است که بطور کلی حاوی سه گروه اصلی از باکتری های فتوسنتز کننده، باکتری های اسید لاکتیک و مخمرها می باشد) در دو غلظت یک و دو میلی لیتر در لیتر و اسید هیومیک در دو سطح دو و چهار گرم در لیتر بود. در ابتدا، زنجبیل های برش خورده که هر کدام دارای دو یا سه جوانه رویشی و به وزن تقریبی 25 گرم در گلدان هایی به قطر و ارتفاع 25 سانتی متر با خاکی متشکل از 50 درصد خاک باغچه و 50 درصد ماسه، گیاه خاک، کود دامی کشت شدند و منابع مختلف کودی پس از استقرار گیاهان با فاصله یک ماهه به صورت کود آبیاری و اسید آمینه به صورت محلول پاشی در سه مرتبه انجام شد. گفتنی است این گیاه چندساله می باشد پس از گذشت نه ماه از کاشت نمونه گیری انجام و معمولاً بعد از گذشت هفت الی نه ماه حداکثر کمیت و کیفیت زنجبیل حاصل می شود. رنگیزه های کلروفیلی طبق روش آرنون (Arnon, 1949). از برگ تازه گیاه و طبق روش های گفته شده اندازه گیری گردید.

#### نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر تیمار هیومیک اسید، اسید آمینه و کود زیستی در سطح یک درصد بر میزان کلروفیل آ، کلروفیل ب و کلروفیل کل گیاه زنجبیل معنی دار می باشد (جدول 1). نتایج مقایسه میانگین نشان داد تیمارهای هیومیک اسید، آمینو اسید و کود زیستی موجب افزایش کلروفیل آ نسبت به شاهد شدند. بیشترین میزان کلروفیل آ در تیمار کود زیستی 2 میلی لیتر در لیتر (0/49 میلی گرم در گرم) مشاهده شد. تیمار آمینو اسید دو گرم در لیتر (65/4 درصد) موجب افزایش کلروفیل آ نسبت به شاهد شد. هیومیک اسید 4 گرم در لیتر (48/3 درصد) و کود زیستی یک میلی لیتر در لیتر (46/2 درصد) موجب افزایش میزان کلروفیل آ نسبت به شاهد شدند. کمترین میزان کلروفیل در شاهد (0/14 میلی گرم در گرم) مشاهده شد. (شکل 1-1).



جدول 1- نتایج تجزیه واریانس اثر تیمار کاربرد هیومیک اسید، آمینو اسید و کود زیستی بر خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه زنجبیل

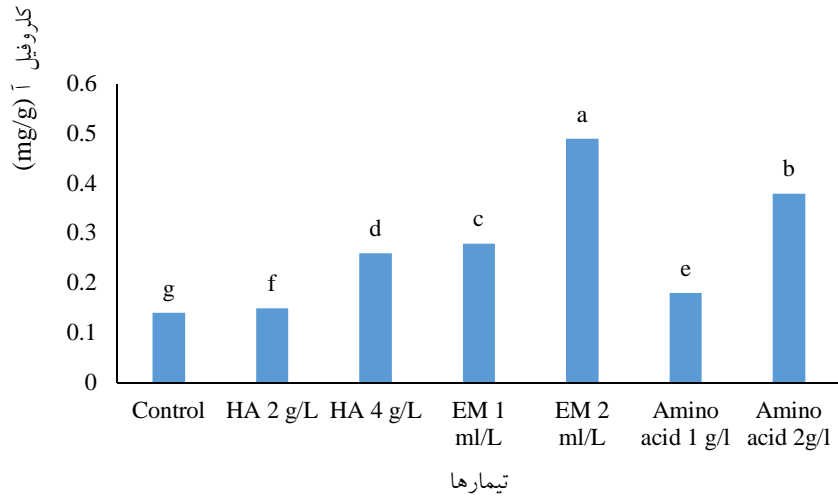
منابع تغییرات	درجه آزادی	کاروفیل ب	کلروفیل کل	کاروتنوئید	کلروفیل آ
تیمار	6	1/32**	1/917**	0/27*	0/0813
خطای آزمایشی	28	0/00036	0/000465	0/014	0/00001
خطای کل	34	7/97	11/52	1/65	0/48
ضریب تغییرات %		2/16	1/86	3/05	1/56

\*\*، \*، ns به ترتیب معنی دار در سطح احتمال 1 و 5 درصد و غیر معنی دار می باشد.

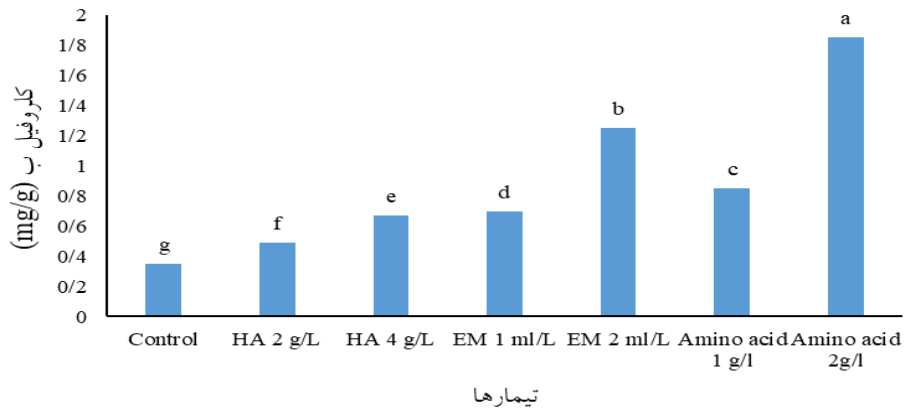
نتایج مقایسه میانگین نشان داد تیمارهای هیومیک اسید، آمینو اسید و کود زیستی موجب افزایش کلروفیل ب نسبت به شاهد شدند. بیشترین میزان کلروفیل ب در تیمار آمینواسید دو گرم در لیتر (1/85 میلی گرم در گرم) مشاهده شد. تیمار کود زیستی دو میلی لیتر در لیتر (64/2 درصد) و هیومیک اسید 4 گرم در لیتر (49/1 درصد) و کود زیستی یک میلی لیتر در لیتر (50/6 درصد) موجب افزایش میزان کلروفیل ب نسبت به شاهد شدند. کمترین میزان کلروفیل در شاهد (0/35 میلی گرم در گرم) مشاهده شد. (شکل 2-1).

نتایج مقایسه میانگین نشان داد تیمارهای آمینو اسید دو گرم در لیتر و کود زیستی 2 میلی لیتر در لیتر به طور معنی داری موجب افزایش کلروفیل کل نسبت به شاهد شده. بیشترین میزان کلروفیل کل در تیمار آمینواسید دو گرم در لیتر (2/24 میلی گرم در گرم) مشاهده شد. میزان کلروفیل کل در تیمار کود زیستی دو میلی لیتر در لیتر (1/74 میلی گرم در گرم) و در تیمار آمینواسید یک گرم در لیتر (1/06 میلی گرم در گرم) مشاهده شد. تیمار کود زیستی یک میلی لیتر در لیتر (48/2 درصد) و هیومیک اسید 4 گرم در لیتر (45/3 درصد) و هیومیک اسید دو گرم در لیتر (15/4 درصد) موجب افزایش میزان کلروفیل کل نسبت به شاهد شدند. کمترین میزان کلروفیل در شاهد (0/5 میلی گرم در گرم) مشاهده شد (شکل 3-1).

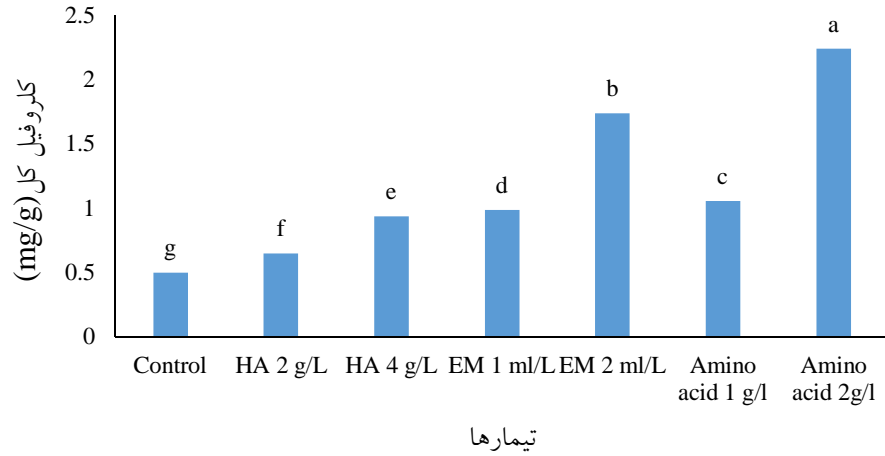
نتایج مقایسه میانگین نشان داد تیمارهای هیومیک اسید، اسید آمینه و کود زیستی در افزایش میزان کاروتنوئید کل در گیاه زنجبیل موثر بودند، بیشترین میزان کاروتنوئید کل در تیمار آمینواسید دو گرم در لیتر (0/99 میلی گرم در گرم) و تیمار آمینواسید یک گرم در لیتر (0/98 میلی گرم در گرم) مشاهده شد. تیمار کود زیستی دو میلی لیتر در لیتر (68/4 درصد) موجب افزایش میزان کاروتنوئید نسبت به شاهد شد. کود زیستی یک میلی لیتر در لیتر (51/3 درصد) موجب افزایش میزان کاروتنوئید کل نسبت به شاهد شدند. اختلاف قابل ملاحظه ای بین تیمار هیومیک اسید 4 گرم در لیتر و کود زیستی یک میلی لیتر در لیتر مشاهده نشد. کمترین میزان کاروتنوئید کل گیاه زنجبیل در شاهد (0/38 میلی گرم در گرم) مشاهده شد.



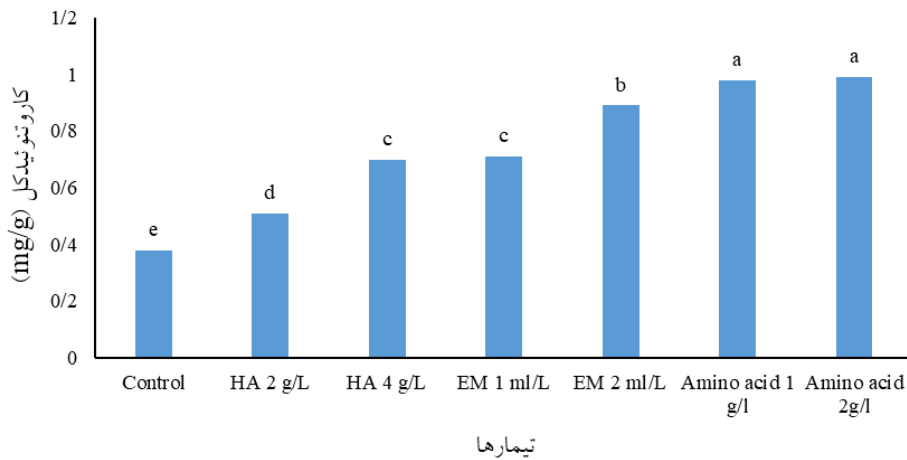
شکل 1-1- مقایسه میانگین اثر کاربرد هیومیک اسید، آمینو اسید و کود زیستی بر کلروفیل آ گیاه زنجبیل



شکل 1-2- مقایسه میانگین اثر کاربرد هیومیک اسید، آمینو اسید و کود زیستی بر کلروفیل ب گیاه زنجبیل



شکل 3-1- مقایسه میانگین اثر کاربرد هیومیک اسید، آمینو اسید و کود زیستی بر کلروفیل کل گیاه زنجبیل



شکل 1-6- مقایسه میانگین اثر کاربرد هیومیک اسید، آمینو اسید و کود زیستی بر کاروتنوئید کل گیاه زنجبیل

### نتیجه گیری کلی

نتایج آزمایش حاضر نشان داد که هیومیک اسید، آمینو اسید و کود زیستی بر خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه دارویی زنجبیل در نهایت می تواند بر رشد، نمو و عملکرد گیاه اثر بگذارد

### منابع مورد استفاده

- کوچکی، ع، تبریزی، ل، قربانی، ر. 1387. ارزیابی اثر کودهای بیولوژیکی بر ویژگی های رشد، عملکرد و خصوصیات کیفی گیاه دارویی زوفا. پژوهش های زراعی ایران. 6(1): 127-138.
- امینی فرد، م، غلامی، م، بیات، ح، مرادی نژاد، ف. 1398. بررسی تاثیر کودهای اسید فولویک و اسید آمینه بر ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی، فعالیت آنتی اکسیدانی و رنگیزه های فتوستتزی گیاه دارویی گشنیز. اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی. 7(1): 25-39.

11. اکبری، غلامعلی، میری، سیده اکرم، زینلی. (1401). بررسی تأثیر کودها و بسترهای مختلف کشت بر عملکرد و مواد مؤثره گیاه زنجبیل. فصلنامه علمی پژوهشی گیاهان دارویی 21(84):75-86.
12. برغمندی، کاظم نجفی. (1394). تأثیر سطوح مختلف نیتروکسین و اسید هیومیک بر برخی ویژگی‌های کمی و اسانس گیاه دارویی زنبان (*Carum* *copticum* (L.) CB Clarke علوم باغبانی 29(3):321-341.
13. صارمی، قلی پور، عباسدخت، نقدی بادی، مهرآفرین، اصغری. (1401). بررسی اثر محلول‌پاشی انواع اسیدهای آمینه بر پاسخ‌های بیوشیمیایی گیاه دارویی *Physalis alkekengi* L. اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی 9(2):39-52.
14. Jabborova, D. Sayyed, R. Z. Azimov, A. Jabbarov, Z. Matchanov, A. Enakiev, Y. and Datta, R. 2021. Impact of mineral fertilizers on mineral nutrients in the ginger rhizome and on soil enzymes activities and soil properties. Saudi Journal of Biological Sciences. 28(9), 5268-5274
15. Kemper, K. J. 2000. Ginger (*Zingiber officinale*). Longwood Herbal Task Force, 3, 1-18
16. Kaur, R. Dhillon, W. S. & Kang, S. K. 2017. Effect of humic acid and foliar application of amino acids on growth and essential oil yield of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.). Plant Archives. 17(Supplement), 1383-1386.

## Investigating the use of biofertilizers on the photosynthetic and carotenoid pigments of ginger medicinal plant (*Zingiber officinale*)

Fatemeh Azadi <sup>1\*</sup>, Azizolleh Khairi <sup>2</sup>, Mohsen Sanikhani <sup>3</sup>

- 4- Ph Master's student, horticultural sciences, Zanjan University, majoring in medicinal plants
  - 5- Professor, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Zanjan University, Zanjan.
  - 6- Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran
- \*Corresponding Author: fatemeh.azadi1997@gmail.com

### Abstract

In order to investigate the application of humic acid, amino acid and biofertilizer on the morphophysiological and phytochemical properties of ginger medicinal plant, an experiment was conducted in the form of a completely randomized design with seven treatments and five replications in the research greenhouse of Zanjan University. The experimental treatments included amino acid at two concentrations of one and two grams per liter, EM biofertilizer at two concentrations of one and two milliliters per liter, and humic acid at two levels of two and four grams per liter. According to the results obtained. The highest amount of chlorophyll a was seen from the biofertilizer treatment of two milliliters per liter (0.4920) and the lowest amount of chlorophyll a was obtained from the control treatment (0.1472). The results showed that the highest amount of chlorophyll b was observed in the amino acid treatment of 2 grams per liter (1.85 mg/gram). In general, humic acid, amino acid and biofertilizer treatments increased chlorophyll b compared to the control. The highest amount of total chlorophyll was obtained from the amino acid treatment of two grams per liter (2.245). Also, the lowest amount of total chlorophyll was observed from Tamar Shahed (0.504). Humic acid, amino acid and biofertilizer treatments were effective in increasing the amount of total carotenoid in ginger plant, the highest amount of total carotenoid in biofertilizer treatment was 2 ml/liter (0.994) mg/g and the lowest amount of total carotenoid was seen in the control treatment. In general, the investigations showed that humic acid, amino acid and biofertilizer have an effect on the morphophysiological and phytochemical properties of ginger medicinal plant.

**Key words:** Chlorophyll pigments, Total carotenoid

## ارزیابی فعالیت ضد میکروبی عصاره کاکوتی کوهی علیه باکتری *Escherichia coli* T7

### Shuffle

علی ریاحی مدوار<sup>1\*</sup>، محدثه سپاهی باغان<sup>2</sup>، مجید حلیمی خلیل آباد<sup>3</sup>، مجتبی مرتضوی<sup>4</sup>، محبت نداف<sup>5</sup>، فهیمه بهرام نژاد<sup>6</sup>

<sup>1</sup>دانشیار، گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه کوثر بجنورد، ایران.

<sup>2</sup>دانشجوی دکتری تخصصی، گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه فردوسی، مشهد، ایران.

<sup>3</sup>استادیار، گروه شیمی، دانشکده علوم پایه و فنی مهندسی، دانشگاه کوثر بجنورد، ایران.

<sup>4</sup>دانشیار، گروه بیوتکنولوژی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان، ایران.

<sup>5</sup>استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، صندوق پستی 4697-19395، تهران، ایران.

<sup>6</sup> دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه بیوتکنولوژی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری

پیشرفته، کرمان، ایران

\* [Riahi.ali@gmail.com](mailto:Riahi.ali@gmail.com) \* پست الکترونیکی نویسنده مسؤل:

### چکیده

عصاره‌های گیاهی ترکیبات فعال زیستی متعددی دارند و می‌توانند رشد باکتری را مهار نمایند یا سبب کشتن باکتری‌ها شوند. *E. coli* یکی از عوامل اصلی مرگ و میر در سراسر جهان است. هدف از انجام این مطالعه، ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی عصاره کاکوتی کوهی بر باکتری *Escherichia coli* T7 Shuffle (*E. coli* T7) است. جهت بررسی فعالیت ضد میکروبی، تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره کاکوتی کوهی (2/5، 5، 10، 25 mg/ml) بر باکتری *E. coli* T7 از روش دیسک دیفیوژن، چاهک‌گذاری و رقت‌سازی در مایع استفاده شد و قطر هاله عدم رشد در مقایسه با آنتی‌بیوتیک جنتامایسین بررسی گردید. علاوه بر این درصد مهار رشد باکتری در حضور غلظت‌های مختلف عصاره و حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC)، با استفاده از روش رقت‌سازی در مایع تعیین شد. نتایج نشان داد که اثر ضدباکتریایی عصاره کاکوتی در روش چاهک‌گذاری بیشتر از روش دیسک دیفیوژن است. مقدار MIC عصاره علیه باکتری مذکور 25 mg/ml بدست آمد. نتایج حاصله نشان دهنده خاصیت ضدباکتریایی عصاره این گیاه روی باکتری *E. coli* T7 است و با افزایش غلظت، اثر مهاری آن افزایش می‌یابد.

واژه‌های کلیدی: عصاره گیاهی کاکوتی کوهی، فعالیت ضدباکتریایی، درصد مهار رشد، *Escherichia coli* T7 Shuffle

### مقدمه

استفاده بیش از حد از آنتی‌بیوتیک‌ها برای سلامت انسان، اکوسیستم و محیط زیست مخرب است. همچنین می‌تواند بروز پاتوژن‌های مقاوم به دارو را افزایش دهد (1). با توجه به نرخ هشدار دهنده افزایش مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها در پاتوژن‌ها، ضروری است، محققان جایگزین‌های ایمن و پایدار دیگری را برای آنتی‌بیوتیک‌ها بررسی کنند. عصاره‌های گیاهی از ترکیبات فعال زیستی متعددی از جمله پلی‌فنل‌ها، تریپن‌ها و فیتواسترول‌ها تشکیل شده‌اند و حالت‌های متعدد عملکردی را از مهار تا کشتن باکتری‌ها نشان می‌دهند. لازم است مطالعات علمی در رابطه با فعالیت آنتی‌باکتریایی عصاره‌های گیاهی صورت گیرد زیرا ممکن است منبعی برای توسعه داروهای ضد میکروبی جدید باشند (2).

باکتری *E. coli* یک باکتری گرم منفی از خانواده انتروباکتریاسه است. دمای بهینه رشد آن 37 درجه سانتی گراد است (3) و زمان دو برابر شدن آن 20 دقیقه است (4). این باکتری رشد سریعی دارد و سیستم‌های تولید و ترشح آنزیم در آن‌ها به خوبی شناخته شده است و رایج‌ترین میکروارگانیسم برای تولید صنعتی آنزیم‌ها نوترکیب محسوب می‌شود (5). سوش‌های مختلفی شامل *E. coli* BL21 و *E. coli* T7 از این باکتری برای این منظور مهندسی شده‌اند (6). در سوش *E. coli* T7 امکان تشکیل پل‌های دی سولفید همزمان با سنتز پروتئین فراهم شده است. از این باکتری به عنوان میزبان جهت تولید آنزیم پراکسیداز نوترکیب از گیاه *Lepidium draba* (LDP) استفاده شده است. عصاره‌های گیاهی دارای خاصیت ضد میکروبی هستند (7). جنس *Ziziphora* متعلق به خانواده *Lamiaceae* است که عمدتاً در مناطق کوهستانی مدیترانه اروپا، آسیا و آفریقا پراکنده شده است. این گیاه با نام فارسی کاکوتی از چهار گونه تشکیل شده است (8). گیاه کاکوتی کوهی *Z. clinopodioides* Lam از جمله گیاهان دارویی است که محل رویش آن در نواحی دامنه‌ای و گاهی ارتفاعات بالای کوهستان در خراسان شمالی است که در گویش محلی با نام «آنخ» شناخته می‌شود (9). گیاهان این جنس *Ziziphora* غنی از مونوترپن‌ئیدها و ترکیبات فنلی مانند تیمول، پولگون، پیپریتون و *p-menth-3-en-8-ol* می‌باشند که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدان و ضد میکروبی باشد (10، 11). هدف از پژوهش حاضر، ارزیابی فعالیت ضد میکروبی عصاره کاکوتی کوهی بر روی باکتری *E. coli* T7 است.

#### مواد و روش‌ها

#### تهیه و آماده سازی عصاره

عصاره گیاه از اندام هوایی (50 گرم) آن در حلال اتانل 96% به روش سوکسوله و به مدت 4 ساعت استخراج شد. سپس حلال حاوی عصاره توسط دستگاه روتاری اوپراتور حذف گردید. عصاره غلیظ شده در آون در دمای 40 درجه سانتی‌گراد به مدت 48 ساعت خشک گردید. بعد از خشک شدن، عصاره در دمای 4 درجه سانتی‌گراد در یخچال جهت انجام آزمایشات بعدی نگهداری شد.

#### تعیین فعالیت ضد میکروبی عصاره کاکوتی

#### روش دیسک دیفیوژن و روش چاهک‌گذاری

بمنظور بررسی اثر فعالیت ضد میکروبی از غلظت‌های مختلف عصاره (2/5، 5، 10، 25 mg/ml) استفاده گردید. از DMSO به عنوان کنترل منفی و از جنتامایسین به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. بمنظور تعیین فعالیت ضد میکروبی به روش دیسک دیفیوژن، سوسپانسیون باکتری معادل 0/5 مک‌فارلند به صورت یکنواخت روی محیط کشت مولر هیتون آگار کشت داده شد. دیسک‌ها حاوی غلظت‌های مختلف بر روی محیط کشت مولر هیتون آگار حاوی باکتری گذاشته شد و به مدت 24 ساعت در دمای 37 درجه انکوبه گردید. سپس پلیت‌ها از لحاظ رشد باکتری مورد بررسی قرار گرفتند.

برای تعیین حساسیت باکتری نسبت به عصاره به روش انتشار در چاهک، پس از کشت باکتری بر روی سطح محیط کشت مولر هیتون آگار، در فواصل معین چاهک‌ها به قطر 5 میلی‌متر ایجاد گردید. 100 میکرولیتر از غلظت‌های مختلف به هر چاهک اضافه شد. بعد از 24 ساعت انکوباسیون در دمای 37 درجه سانتی‌گراد قطر هاله عدم رشد اندازه‌گیری شد.

#### روش رقت‌سازی در مایع، تعیین MIC و درصد مهار رشد باکتری *E. coli* T7

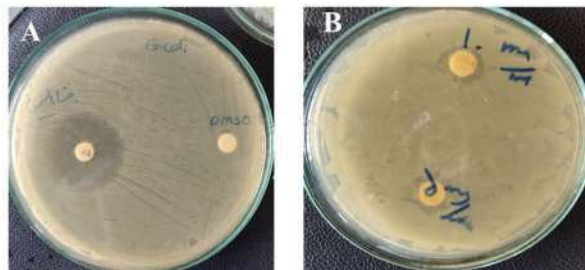
در روش رقت‌سازی در مایع، از کشت شبانه باکتری مذکور در محیط کشت LB، کشت تازه‌ای بمدت 3 ساعت بدست آمد. محلول استوک 0/2 گرم بر میلی‌لیتر عصاره در آب مقطر تهیه شد و غلظت‌های مختلف عصاره تهیه گردید و از هر کدام یک میلی‌لیتر در هر فالکون استریل ریخته، سپس 10 میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی حاوی  $10^6$  CFU/ml به هر فالکون اضافه گردید (گروه اصلی). فالکون‌هایی که حاوی محیط کشت و فاقد عصاره بودند، به عنوان کنترل منفی و فالکون‌هایی که حاوی غلظت‌های تهیه شده عصاره در محیط کشت و فاقد باکتری بودند، به عنوان گروه شاهد در نظر گرفته شدند. به عنوان کنترل مثبت یک میلی‌لیتر محیط کشت و 10 میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری حاوی  $10^6$  CFU/ml به هر فالکون اضافه گردید. سپس فالکون‌ها به شیکرانکوباتور با دور 120 rpm و دمای 37 درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. برای ارزیابی اثر عصاره، جذب گروه شاهد از گروه اصلی کسر گردید و با جذب حاصل از کسر کنترل مثبت از جذب کنترل منفی مقایسه گردید. درصد مهار رشد بعد از 24 ساعت انکوباسیون با استفاده از معادله 1 تعیین گردید.

$$\%GI = 100 - \left( \frac{OD600 \text{ در حضور عصاره}}{OD600 \text{ کنترل مثبت}} \right) * 100$$

## نتایج و بحث

### قطر هاله عدم رشد در روش دیسک دیفیوژن و روش چاهک‌گذاری

در روش دیسک دیفیوژن، هاله‌ای از کاهش رشد باکتری مورد نظر اطراف دیسک‌ها با غلظت‌های مختلف عصاره نسبت به کنترل مثبت مشاهده گردید. اما در تمامی غلظت‌ها کلنی‌هایی از باکتری در این هاله قابل مشاهده بود. قطر هاله عدم رشد برای آنتی‌بیوتیک جنتامایسین، 25 میلی‌متر بدست آمد. لذا از روش چاهک‌گذاری برای ارزیابی اثر ضدباکتریایی عصاره استفاده گردید. در روش چاهک‌گذاری، قطر هاله عدم رشد باکتری در غلظت 25mg/ml عصاره، به ترتیب 11 میلی‌متر بدست آمد. در روش چاهک‌گذاری اثر ضدباکتریایی عصاره کاکوتی کوهی بر روی باکتری مذکور بیشتر از روش دیسک دیفیوژن بود (به عنوان مثال، دو نمونه از اثر آنتی‌بیوتیک جنتامایسین و DMSO و اثرات غلظت‌های مختلف عصاره بر باکتری در شکل 1 آورده شده است). در بررسی‌های مشابه دیگر نیز مشخص شده که اثر ضدباکتریایی عصاره گیاهان در روش چاهک‌گذاری در مقایسه با روش دیسک دیفیوژن بیشتر بوده است. دلیل آن می‌تواند نفوذ کم مواد موثره عصاره گیاهان در دیسک‌ها باشد که به دنبال آن انتشار مواد موثره عصاره از دیسک به سطح محیط کشت کمتر از میزان نفوذ عصاره از چاهک به محیط کشت است (12).



شکل 1. اثر آنتی‌بیوتیک جنتامایسین و DMSO (سمت چپ) به روش دیسک دیفیوژن (A)، بررسی اثر ضدباکتریایی غلظت‌های 10 mg/ml و

5 عصاره کاکوتی کوهی علیه باکتری *E. coli* T7 (B).

تعیین MIC و درصد مهار رشد غلظت‌های مختلف عصاره بر روی باکتری *E. coli*

درصد مهار رشد باکتری *E. coli* در غلظت‌های مختلف عصاره در جدول 1 آورده شده است. غلظت‌های مختلف عصاره کاکوتی کوهی درصدهای مختلفی از مهار رشد باکتری را نشان دادند. با افزایش غلظت عصاره، درصد مهار رشد باکتری مذکور افزایش یافت. غلظت 25 mg/ml به عنوان MIC عصاره کاکوتی کوهی علیه این باکتری تعیین شد.

جدول 1. درصد مهار رشد باکتری *E. coli* در حضور غلظت‌های مختلف عصاره کاکوتی کوهی.

غلظت (mg/ml)	2/5	5	10	25
درصد مهار رشد (%GI)	78	84	94	100

### نتیجه گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که عصاره کاکوتی کوهی می‌تواند از رشد باکتری *E. coli* T7 ممانعت نماید. در این پژوهش، مقدار MIC عصاره کاکوتی کوهی علیه این باکتری، 25 mg/ml و قطر هاله عدم رشد در این غلظت، 11 میلی متر بدست آمد. اثرات آنتی باکتریایی کم عصاره احتمالاً به این دلیل وجود دیواره در این باکتری گرم منفی است.

### تقدیر و تشکر

این تحقیق با حمایت مالی دانشگاه کوثر بجنورد با قرارداد شماره 0109232958 انجام شده است. بنابراین مجری و همکاران مراتب سپاس و قدردانی خود را از آن دانشگاه محترم اعلام می‌دارند.

### منابع

- Masoumian M, Zandi M., 2017. Antimicrobial activity of some medicinal plant extracts against multidrug resistant bacteria. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*, 19(11). pp. 1-8.
- McMurray, R. L., Ball, M. E. E., Tunney, M. M., Corcionivoschi, N., & Situ, C., 2020. Antibacterial activity of four plant extracts extracted from traditional Chinese medicinal plants against *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, and *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *Enteritidis*. *Microorganisms*, 8(6), pp. 962.
- Marino M., 1989. Expression systems for heterologous protein production. *BioPharm*, 2, 18-33.
- Rosano, G. L., & Ceccarelli, E. A., 2014. Recombinant protein expression in *Escherichia coli*: advances and challenges. *Frontiers in microbiology*, 5, 172.
- Twala, P. P., Mitema, A., Baburam, C., & Feto, N. A., 2020. Break throughs in the discovery and use of different peroxidase isoforms of microbial origin. *AIMS microbiology*, 6(3), 330.
- شکوفه رضایی، احمد فرهاد طالبی. (1399). بهبود تولید پروتئین های نو ترکیب در باکتری اشرشیاکلی. *مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی و مولکولی*. 38)، صص. 11-29.
- اسماعیل زنگویی، عیدی بازگیر، جلال غلام نژاد، مصطفی درویش نیا. (1397). بررسی فعالیت آنزیم های پراکسیداز و کاتالاز و میزان بیان ژنهای رمزکننده آن در میوه سیب تحت تنش بیمارگر *Penicillium expansum* و عصاره پوست سبز گردو. *مجله سلول و بافت*، 9 (2)، صص. 175-159.
- Rechinger KH. Satureja. In: Cavaleiro C, Salgueiro LR, Antunes T, eds., 1980. *Flora Iranica*. Graz, Austria: Sevinate. 4.
- محبت نداف (1400). مطالعه فلوریستیک و معرفی گیاهان دارویی منطقه بابا امان، خراسان شمالی. *مجله پژوهش های گیاهی (مجله زیست شناسی ایران)*. جلد 34 (1)، صص. 205-219.
- Aliakbarlu, J., & Shameli, F., 2013. In vitro antioxidant and antibacterial properties and total phenolic contents of essential oils from *Thymus vulgaris*, *T. kotschyanus*, *Ziziphora tenuior* and *Z. clinopodioides*. *Turkish Journal of Biochemistry*, 38(4). 425-431.
- Sajadi, S. E., GHASEMI, D. N., & Baluchi, M., 2003. Volatile constituents of *Ziziphora clinopodioides* Lam. *Pajouhesh-va-sazandegi*. Pp. 97-100.



12. هادی کوهساری، مریم صادق شش پلی، منیره جاهدی، مریم ظهیری، علی صادق. (1393). بررسی فعالیت ضدباکتریایی دو گیاه دارویی *L. Trachyspermum copticum* و *L. Ziziphora tenuior* در منطقه آزادشهر استان گلستان. فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی، (37)، صص. 49-56.

## Evaluation of antimicrobial activity of *Ziziphora clinopodioides* extracts against *Escherichia coli* T7 Shuffle

Ali Riahi-Madvar<sup>\*1</sup>, Mohaddeseh Sepahi Baghan<sup>2</sup>, Majid Halimi Khalilabad<sup>3</sup>, Mojtaba Mortazavi<sup>4</sup>, Mohabbat Nadaf<sup>5</sup>, Fahiemeh Bahramnejad<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Department of Molecular and Cell Biology, Faculty of Basic Sciences, Kosar University of Bojnord, Iran.

<sup>2</sup> Department of Chemistry, Faculty of Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

<sup>3</sup> Department of Chemistry, Faculty of Basic Sciences, Kosar University of Bojnord, Iran.

<sup>4</sup> Department of Biotechnology, Institute of Science and High technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran.

<sup>5</sup> Department of Biology, Payame Noor University, P.O. BOX 19395-4697 Tehran, Iran.

\* Email corresponding author: [riahi.ali@gmail.com](mailto:riahi.ali@gmail.com)

### Abstract

Plant extracts consist of numerous bioactive compounds that can inhibit or kill bacteria. *Escherichia coli* represents a major cause of mortality worldwide. The aim of this study is to determinate the antibacterial activity of *Ziziphora clinopodioides* extract against *Escherichia coli* T7 Shuffle (*E. coli* T7). To investigate the antimicrobial activity, disk-diffusion, well-diffusion and dilution methods were conducted at different concentrations of extract (2.5, 5, 10 and 25 mg/ml) on the bacteria. The diameter of inhibition zones was compared with gentamicin. In addition, percentage of growth inhibition of bacteria in the presence of different concentrations of extract and minimum inhibitory concentration (MIC) was determined using dilution method. The results showed that the antibacterial effect of extract was higher in the well-diffusion method than in the disc diffusion. The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of *Z. clinopodioides* extract for *E. coli* T7 was 25 mg/ml. The obtained results show inhibitory effects of *Z. Clinopodioides* extract on *E. coli* T7 and its inhibitory effect is increases by increasing the concentration of the extract.

**Keywords:** Extract of *Ziziphora clinopodioides*, Antibacterial activity, MIC, *Escherichia coli* T7 Shuffle

## اثر قارچ سرندیپیتا ایندیکا بر میزان کلونیزه شدن ریشه و برخی شاخص‌های رشدی گیاه ریحان سبز

صالح شهابی‌وند<sup>1\*</sup>، سیما پراوند<sup>1</sup>

<sup>1</sup>: گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مراغه، مراغه

### چکیده

قارچ‌های آندوفیت ریشه، میکروارگانیسم‌های خاک محسوب می‌شوند که با ایجاد تغییرات فیزیولوژیکی در گیاهان میزان خود عملکرد آن‌ها را در رابطه با رشد و تولید متابولیت‌های ثانویه گیاهی تحت تأثیر قرار می‌دهند. یکی از بارزترین این میکروارگانیسم‌ها که کاربردهای زیست- (شاهد و سه سطح قارچ با مقادیر مختلف) بر میزان همزیستی و *S. indica* است. در این پژوهش، تأثیر قارچ *Serendipita indica* فناورانه دارد، (مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که قارچ آندوفیت اثرات مثبت *Ocimum basilicum* L. شاخص‌های رشدی گیاه دارویی ریحان سبز) معنی‌داری بر پارامترهای رشدی دارد. با افزایش میزان قارچ در خاک، درصد همزیستی، وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی و تعداد برگ در بعنوان یک محرک زیستی باعث افزایش *S. indica* گیاه، به طور معنی‌دار افزایش یافت. با استفاده از این نتایج می‌توان گفت که قارچ شاخص‌های رشدی و برخی متابولیت‌های ثانویه در گیاه ریحان سبز می‌شود.

**واژگان کلیدی:** گیاه دارویی، قارچ آندوفیت، همزیستی

### 1. مقدمه

قارچ *Serendipita indica* که پیش از این *Piriformospora indica* نام داشت از قارچ‌های بازیدیومیست بوده که در راسته Sebacinals قرار دارد. این قارچ از اندوفیت‌های ریشه گیاهان خشکی‌زی محسوب می‌شود که با ریشه طیف وسیعی از میزبان‌های گیاهی از جمله گیاهان دارویی رابطه همزیستی برقرار می‌کند. قارچ *S. indica*، باعث افزایش زیست‌توده در گیاهان زیادی مانند گیاهان مهم اقتصادی و دارویی می‌شود و به تنهایی دارای خصوصیات مهم عملکردی مانند افزایش دهنده رشد در گیاه و افزایش مقاومت گیاه همزیست در برابر تنش‌های محیطی مانند فلزات سنگین، بیماری‌های قارچی، خشکی، دما و نمک بوده و نیز به عنوان علف‌کش زیستی، تعدیل‌کننده ایمنی، کود زیستی و ابزار برای تحقیقات پایه‌ای مطرح است (Bagde et al., 2010). همچنین متابولیت‌های ثانویه گیاهان مختلفی که دارای اهمیت اقتصادی هستند را تغییر داده و رشد کلی و تولید بذر گیاهان را نیز می‌تواند افزایش دهد (Varma et al., 2012). *S. indica*، در بیشتر خصوصیات مشابه قارچ‌های میکوریز آربوسکولار (Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF)) است ولی برخلاف قارچ‌های میکوریز می‌تواند به آسانی و به‌طور مجزا از گیاه میزبان، در محیط‌های با ترکیبات حداقل و یا پیچیده رشد کند (Varma et al., 2012).

ریحان سبز (*Ocimum basilicum* L.) گیاهی علفی، یک ساله و معطر بوده و متعلق به تیره نعناع یا Lamiaceae که تا 150 گونه بوته‌ای و علفی برای این جنس معرفی شده است. گیاه ریحان از قدیم به طور سنتی به عنوان یک گیاه خوراکی، زینتی و دارویی در درمان بیماری‌هایی چون سردرد، سرفه، اسهال، انگل‌ها، زگیل‌ها و ناراحتی‌های کلیوی و مداوای بزرگ شدن طحال مورد استفاده قرار می‌گیرد. در طب سنتی از برگ‌ها و نوک گل‌های ریحان به عنوان ضد نفخ، افزایش دهنده شیر، درمان برخی ناراحتی‌های قلبی، اشتها آور و داروی گیاهی ضد تشنج هم استفاده می‌شده است. ریحان همانند سایر گیاهان خانواده نعناع منبع ترکیبات حلقوی و اسانس است که دافع حشرات بوده و عملکرد ضد انگلی، ضد باکتریایی، ضد قارچی و آنتی‌اکسیدانی دارد و در صنایع آرایشی و بهداشتی نیز استفاده می‌شود (Omidbaigi, 2008).

با توجه به مطالعات قبلی که درباره تاثیر قارچ *S. indica*، به عنوان محرک رشد و تغییردهنده متابولیت‌های ثانویه گیاهان مختلف انجام شده، تحقیق حاضر در جهت بررسی تاثیر غلظت‌های مختلف قارچ آندوفیت مذکور روی میزان همزیستی و شاخص‌های رشدی گیاه دارویی ریحان سبز، انجام شده است.

## 2. مواد و روش‌ها

### 1.2. تکثیر قارچ *S. indica*

جهت تکثیر قارچ *S. indica* از محیط تغییر یافته آسپرژیلوس (Hill & Kafer, 2001) استفاده شد که این محیط دارای عناصر ماکرو، عناصر میکرو، پیتون، گلوکز، عصاره مخمر و ویتامین‌ها می‌باشد. برای تکثیر قارچ در شرایط استریل قطعه‌ای به ابعاد  $1 \times 1 \times 0.2$  سانتی‌متر از محیط جامد اولیه، که در آزمایشگاه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی دانشگاه مراغه موجود بود، جدا و به طور وارونه بر روی محیط جدید در پلیت قرار داده شد، پلیت‌ها به مدت دو هفته در انکوباتور با دمای  $29 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و وقتی میسلیم‌های قارچ به صورت متحدالمرکز رشد کردند از انکوباتور خارج و برای تیمار با گیاه آماده شد.

### 2.2. تهیه نمونه گیاهی و گلدان‌ها

برای ضد عفونی، بذرها به مدت پنج دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم نیم درصد قرار گرفته، سپس سه بار با آب مقطر شستشو داده شدند. پس از ضد عفونی، بذرها به پلیت‌های استریل محتوی کاغذ صافی اتو کلاو شده، منتقل شدند. کف هر پلیت شیشه‌ای، کاغذ صافی حاوی آب قرار گرفت تا رطوبت مورد نیاز بذر تأمین گردد. وقتی بذرها به اندازه چند میلی‌متر درون پلیت‌ها جوانه زدند (72 ساعت پس از قرارگیری در پلیت) به گلدان منتقل شدند.

### 3.2. تهیه و ضد عفونی خاک

خاک مورد استفاده برای گلدان‌ها از خاک مزرعه دانشگاه مراغه تهیه شد. به خاک تهیه شده به نسبت 1 به 3 ماسه اضافه شد (ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاک در جدول 1 آمده است). به منظور حذف میکروارگانسیم‌های خاک مورد استفاده، نمونه خاک درون کیسه‌های پارچه‌ای در دستگاه اتو کلاو با دمای 120 درجه سانتی‌گراد و به مدت یک ساعت استریل شد. گلدان‌های مورد استفاده به قطر دهانه 23 سانتی‌متر و ارتفاع 20 سانتی‌متر ابتدا با آب شستشو شده و با محلول هیپوکلریت سدیم دو درصد ضد عفونی شدند و سپس خاک به گلدان‌ها اضافه شد. در ضمن برای زه‌کشی بهتر دانه‌های ماسه درشت‌تر در ته گلدان‌ها قرار داده شدند.

جدول 1- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده

شن	سیلت	رس	EC (dS/m)	pH	آهک	ماده آلی
76%	15%	9%	1/79	7/3	0/96 %	1/20 %
فسفر قابل جذب (mg/kg)	ازت کل (درصد)	پتاسیم قابل جذب (mg/kg)	آهن قابل جذب (mg/kg)	مس قابل جذب (mg/kg)	منگنز قابل جذب (mg/kg)	
19/56	0/06	258	1/42	0/1	0/77	

## 4.2. اعمال تیمارها و شرایط رشدی

در 3 نقطه از سطح خاک گلدان با فاصله حدود 5 سانتی متر و به عمق 1 سانتی متر در زیر هر 3 بذر بسته به میزان غلظت تلقیح برای غلظت یک (سطح اول): تعداد یک تکه از محیط کشت جامد قارچ به ابعاد  $1 \times 1 \times 0/2$  سانتی متر، برای غلظت دو (سطح دوم): تعداد دو تکه از محیط کشت جامد قارچ به ابعاد  $1 \times 1 \times 0/2$  سانتی متر، برای غلظت سه (سطح سوم): تعداد سه تکه از محیط کشت جامد قارچ به ابعاد  $1 \times 1 \times 0/2$  سانتی متر قرار گرفت و برای نمونه شاهد بدون اعمال تیمار با قارچ، عمل کاشت انجام شد. آبیاری دستی، در پای گلدان به صورت یک روز در میان به مدت 40 روز انجام شد.

## 5.2. اندازه گیری پارامترهای رشدی

گیاهان پس از برداشت از محل یقه به دو قسمت مجزای اندام هوایی (ساقه به همراه برگ‌ها) و ریشه تقسیم شده و در ادامه ریشه با آب مقطر شستشو شدند. طول اندام هوایی و طول ریشه با استفاده از خط کش تعیین و تعداد برگ در هر بوته به صورت تصادفی شمارش شد. پس از جدا نمودن گیاه از قسمت یقه، وزن تر برای کلیه تیمارها محاسبه گردید. سپس نمونه‌ها در درون پاکت کاغذی و به مدت 48 ساعت در دمای 55 درجه سانتی گراد در دستگاه آون قرار داده شدند تا وزن خشک آنها تعیین گردد. وزن تر و خشک به وسیله ترازوی دیجیتالی با دقت 0/01 تعیین شد.

## 6.2. بررسی میزان همزیستی (درصد کلونیزه شدن)

جهت بررسی میزان همزیستی بین قارچ و ریشه گیاه، ریشه‌های ریز و نرم تر به آرامی در آب جاری شسته شده و در 10 KOH درصد در دمای 90 درجه سانتی گراد به مدت 20 دقیقه نیم جوش شد و در HCL 1 درصد به مدت 20 دقیقه غوطه ور شد. ریشه‌ها، به مدت 20 دقیقه در محلول با نسبت 1:1 تریان بلو 0/05 درصد و لاکتوفنول جوشانده و رنگ آمیزی شد و سپس به مدت یک شب در لاکتوفنول نگه داشته شد تا سلول‌های پوستی بی‌رنگ شوند. به این طریق فقط ریشه‌های دارای همزیستی میکوریزی رنگ گرفتند. برای تعیین درصد همزیستی، ریشه‌ها در پلیتی که از قبل به مربع‌های  $0/5 \times 0/5$  سانتی متر تقسیم شده بود، پخش شدند. سپس نقاطی از خطوط افقی و عمودی مربع‌ها که ریشه‌های دارای همزیستی میکوریزی (با رنگ آبی) قطع کرده بودند، شمارش گردید. درصد همزیستی از تقسیم نقاطی که دارای همزیستی قارچی بودند بر تعداد کل نقاط، ضرب در 100، محاسبه شد (Giovannetti and Mosse, 1980).

## 7.2. تجزیه آماری

داده‌های مربوط به این پژوهش با برنامه Excel ثبت و با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS Ver. 9 آنالیز شد، مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال 5 درصد صورت گرفت و نمودارها با استفاده از برنامه Excel رسم شدند.

## 3. نتایج

### 1.3. همزیستی گیاه ریحان سبز با قارچ *S. indica*

نتایج جدول 2 نشان می‌دهد که اثر همزیستی قارچ *S. indica* با ریشه گیاه ریحان سبز بر درصد همزیستی در سطح احتمال 1 درصد معنی دار است.

جدول 2- تجزیه واریانس درصد همزیستی ریشه گیاه ریحان سبز و قارچ *S. indica*

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات
تیمار	3	791/66**
اشتباه	8	27/08
ضریب تغییرات		36/73

جدول مقایسه میانگین مربوط به درصد همزیستی (جدول 3) نشان داد که با افزایش سطوح قارچ در محیط کشت، میزان کلونیزاسیون قارچ با محیط کشت به طور معنی داری افزایش یافته، به طوری که بیشترین مقدار کلونیزاسیون ریشه در بالاترین مقدار قارچ (سطح سوم) با مقدار 36% مشاهده شد.

جدول 3- مقایسه میانگین درصد همزیستی ریشه گیاه ریحان سبز و قارچ *S. indica*

تیمار	درصد همزیستی
شاهد	0 C
سطح اول قارچ	5 C
سطح دوم قارچ	15 B
سطح سوم قارچ	A 36

جدول 4 که مربوط به تجزیه واریانس اثر قارچ اندوفیت بر پارامترهای رشدی ریحان سبز است نشان می دهد که اثر قارچ بر وزن تر ریشه، وزن خشک اندام هوایی، طول ریشه و تعداد برگ در سطح احتمال یک درصد و بر وزن تر اندام هوایی در سطح پنج درصد معنی دار است ولی اثر اندوفیت بر وزن خشک ریشه و طول اندام هوایی معنی دار نیست (جدول 4).

جدول 4- تجزیه واریانس اثر همزیستی قارچ *S. indica* روی پارامترهای رشدی گیاه ریحان سبز

منابع تغییر	درجه آزادی	وزن تر ریشه	وزن تر اندام هوایی	وزن خشک ریشه	وزن خشک اندام هوایی	طول ریشه	طول اندام هوایی	تعداد برگ
تیمار	3	5/07**	82/54*	ns0/16	2/68**	123/52**	ns117/85	721/22**
اشتباه	8	0/36	13/37	0/60	0/24	14/38	58/00	50/66
ضریب تغییرات		23/39	28/25	40/61	22/85	15/43	18/63	15/64

نتایج مربوط به مقایسه میانگین های مربوط به صفات رشدی (جدول 5) نشان داد که با افزایش میزان قارچ در خاک، مقدار شاخص های رشدی نیز بیشتر شد بطوریکه حداکثر میزان این شاخص ها در بالاترین سطح قارچ در محیط کشت مشاهده شد. بالاترین سطح قارچ (سطح 3 قارچ) باعث افزایش 173% در وزن تر ریشه، 115% در وزن تر اندام هوایی، 122% در وزن خشک ریشه، 149% در وزن خشک اندام هوایی، 84% در طول ریشه، 28% در طول اندام هوایی و 110% در تعداد برگ در بوته شد (جدول 5).

جدول 5- مقایسه میانگین اثر همزیستی قارچ *S. indica* روی پارامترهای رشدی گیاه ریحان سبز

تیمار	وزن توریشه	وزن تراندام	وزن خشک ریشه	وزن خشک اندام هوایی	طول ریشه	طول اندام هوایی	تعداد برگ
شاهد	b1/63	b9/10	a 0/36	b1/32	c17/83	a36/83	c31/33
غلظت 1	b1/80	b8/46	a0/44	b1/42	bc21/96	a34/33	bc36/00
غلظت 2	b 2/46	ab14/53	a0/81	a2/55	b25/50	a45/00	b48/66
غلظت 3	a 4/46	a19/66	a0/80	a3/29	a32/96	a47/33	a66/00

حروف مشابه در هر ستون اختلاف آماری معنی داری در سطح 5 درصد ندارند؛ مقایسه میانگین‌ها حاصل از آزمون چند دامنه دانکن می باشد.

#### 4. بحث و نتیجه گیری

در تحقیق حاضر مشاهده شد که قارچ *S. indica* باعث افزایش در پارامترهای رشدی شامل طول ریشه و اندام هوایی، وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی و تعداد برگ گیاه ریحان سبز شده است. اهمیت برقراری ارتباط هم‌زیستی قارچ *S. indica* با گیاهان مختلف در تحریک رشد گیاه و در نتیجه افزایش عمل کرد آن و نیز افزایش توان تحمل گیاه به تنش‌های مختلف توسط پژوهشگران بسیاری گزارش شده است. در پژوهشی خالید و همکارانش (Khalid et al., 2017) نشان دادند که گیاه *Brassica campestris* تیمار شده با قارچ *S. indica* رشد بهتری را نسبت به گیاهان شاهد داشته است. سو و همکارانش (Su et al., 2017) در بررسی‌هایی که انجام دادند مشاهده کردند که قارچ *S. indica* با تاثیر بر گیاه *Brassica napus* (کلزا) باعث افزایش پارامترهای زراعی مانند بیومس ریشه و اندام هوایی شد. بررسی‌های انجام شده نشان داده که میزان اکسین گیاهان آلوده به قارچ *S. indica* نسبت به انواع گیاهان شاهد به صورت معنی داری بیشتر است. در این راستا شاه و همکارانش (2019) نشان دادند که قارچ *S. indica* توانایی تولید اکسین از پیش ساز آن، تریپتوفان را در محیط کشت را دارد که با تولید مواد غذایی و هورمون‌ها بطور موثری به رشد گیاهان کمک می کند (Shah et al., 2019). یکی از مکانیسم‌های درگیر در بهبود رشد توسط *S. indica* ممکن است افزایش جذب درشت مغذی‌ها و ریز مغذی‌ها از محیط کشت باشد. علاوه بر این، رشد افزایش یافته تحت همزیستی *S. indica* را می توان به افزایش محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی و نیز شاخص‌های فلورسانس کلروفیل نسبت داد (Shahabivand et al., 2020).

#### منابع

1. Bagde, U. S., Prasad, R., & Varma, A., 2010. Interaction of mycobiont: *Piriformospora indica* with medicinal plants and plants of economic importance. *African Journal of Biotechnology*, 9(54), 9214-9226.
2. Varma, A., Sherameti, I., Tripathi, S., Prasad, R., Das, A., Sharma, M., ... & Rastogi, K., 2012. The symbiotic fungus *Piriformospora indica*. In *Fungal associations* (pp. 231-254). Springer.
3. Omidbaigi, R., 2008. Production and Processing of medicinal plants. Astan'e Qods'e Razavi publication.
4. Hill, T. W., & Kafer, E., 2001. Improved protocols for Aspergillus minimal medium: trace element and minimal medium salt stock solutions. *Fungal Genetics Reports*, 48(1), 20-21.
5. Giovannetti, M., & Mosse, B., 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New phytologist*, 84(3), 489-500.
6. Khalid, M., Hassani, D., Liao, J., Xiong, X., Bilal, M., & Huang, D., 2018. An endosymbiont *Piriformospora indica* reduces adverse effects of salinity by regulating cation transporter genes, phytohormones, and antioxidants in *Brassica campestris* ssp. *Chinensis*. *Environmental and Experimental Botany*, 153, 89-99.

7. Su, Z. Z., Wang, T., Shrivastava, N., Chen, Y. Y., Liu, X., Sun, C., ... & Lou, B. G., 2017. *Piriformospora indica* promotes growth, seed yield and quality of *Brassica napus* L. *Microbiological Research*, 199, 29-39.
8. Shah, S., Thapa, B. B., Chand, K., Pradhan, S., Maharjan, A., Verma, A. & Pant, B., 2019. *Piriformospora indica* promotes the growth of the in-vitro-raised *Cymbidium aloifolium* plantlet and their acclimatization. *Plant Signaling & Behavior*, 14(6), 1-7.
9. Shahabivand, S., Parvaneh, A., Aliloo, A.A. 2020. Different response of *Alyssum montanum* and *Helianthus annuus* to cadmium bioaccumulation mediated by the endophyte fungus *Serendipita indica*. *Acta Ecologica Sinica*, 40(4), 315-322.

## The effects of fungus *Serendipita indica* on root colonization and some growth parameters of *Ocimum basilicum* L.

Saleh Shahabivand<sup>1\*</sup>, Sima Paravand<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Biology, Faculty of Basic sciences, University of Maragheh

Email: shahabi70@yahoo.com

### Abstract

Root endophytic fungi are soil microorganisms that affect the growth parameters by causing physiological changes in their host plants. One of the most valuable of these microorganisms for biotechnological applications is *Serendipita indica*. In this study, the effects of *S. indica* (control and three different amounts of fungus) on the symbiosis percent and growth parameters of medicinal plant green basil (*Ocimum basilicum* L.) were investigated. The results showed that endophyte fungus had significant positive effects on growth parameters. By increasing the amounts of fungus in the soil, symbiosis percent, fresh and dry weights of root and shoot and leaves number per plant were significantly increased. Using these results, it can be said that *S. indica* as a biotic stimulant increases growth indices in green basil.

**Keywords:** Medicinal plant, Endophytic fungus, Symbiosis

## مقایسه صفات مورفوفیزیولوژیکی ارقام پر محصول چغندر علوفه‌ای در شرایط شور در شرایط زارع

احمد قاسمی<sup>1</sup>، مهدی صادقی شعاع<sup>2</sup>، محمدرضا نارویی راد<sup>3</sup> و غلامحسین رنجبر<sup>4</sup>

\* 1- عضو هیات علمی بخش تحقیقات زراعی و باغی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی سیستان، سازمان

تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

ghasemiahmad@yahoo.com

2- عضو هیات علمی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندر قند کرج، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران،

ایران

3- عضو هیات علمی بخش تحقیقات زراعی و باغی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی سیستان، سازمان

تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

4- عضو هیات علمی موسسه تحقیقات شوری یزد، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

### چکیده

کشت ارقام پر محصول چغندر علوفه‌ای جامون، آلیانکا، فلدهر و کارا به مساحت 2000 متر از هر رقم در شرایط بهره بردار در روستای قاسم آباد شهرستان زابل و روستای ملاابراهیم شهرستان هامون صورت گرفت. شوری آب آبیاری  $EC=5$  دیسزیمنس بر متر بود. زمان کشت اول آبان-ماه و زمان برداشت 20 اردیبهشت-ماه انجام شد. فاصله ردیف کاشت 50 سانتی-متر و فاصله روی ردیف 20 سانتی-متر در نظر گرفته شد. در زمان برداشت به صورت تصادفی از 30 نقطه 10 متر مربعی برداشت صورت گرفت نتایج تی تست در دو منطقه نشان داد که بین ارقام از نظر عملکرد علوفه تر و خشک ریشه و اندام هوایی تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود دارد. در روستای قاسم آباد رقم جامون به ترتیب با میانگین عملکرد علوفه‌تر و خشک ریشه 118/424 و 22/346 تن در هکتار و در روستای ملا ابراهیم رقم جامون به ترتیب با میانگین عملکرد علوفه‌تر و خشک ریشه 116/422 و 20/111 تن در هکتار بیشترین میزان عملکرد تر و خشک ریشه را به خود اختصاص داد. بنابراین با توجه به شور بودن آب چاهک‌ها کشت رقم جامون نسبت به سایر ارقام از عملکرد بیشتری برخوردار بود که برای کشت در منطقه سیستان و مناطق هم اقلیم کشور مناسب می باشد.

واژگان کلیدی: چغندر علوفه‌ای، عملکرد ریشه، عملکرد اندام هوایی، بهره بردار

### مقدمه

چغندر علوفه‌ای یکی از گیاهان علوفه‌ای متحمل به خشکی و شوری است که نه تنها به عنوان یک منبع انرژی در رژیم غذایی روزانه گاو پیشنهاد می‌شود بلکه یک کشت مناسب برای خاک‌هایی با شرایط نامناسب مثل خاک‌های شور است (Gaivoronskii, 1981). قاسمی و همکاران (1400) گزارش دادند که بهترین تاریخ کاشت چغندر علوفه‌ای در منطقه سیستان اول آبان-ماه و بهترین زمان برداشت 20 اردیبهشت ماه در رقم جامون می باشد. قاسمی و همکاران (1400) در بررسی



ده رقم تجاری چغندر علوفه‌ای گزارش دادند که در منطقه زابل هشت ژنوتیپ از ده ژنوتیپ مورد ارزیابی بدون بولت بودند که عملکردهای مناسبی را داشتند به طوری که میانگین عملکرد ریشه این هشت ژنوتیپ 158/68 تن در هکتار و میانگین عملکرد ماده خشک 26/73 تن در هکتار بدست آمد. خان و همکاران (2002) گزارش کردند که در بین تمام گیاهان زراعی، چغندر علوفه‌ای تنها گیاه مقاوم به شوری است که بیشترین عملکرد بیوماس در هکتار را داراست و می‌تواند در مناطق شور باعث بهبود شرایط اجتماعی-اقتصادی کشاورزان خرده‌پا گردد. علاوه بر آن، تولید خوراک دام مرغوب در زمستان و نیز خاصیت اصلاحی این محصول برای خاک های شور از دیگر امتیازات چغندر علوفه‌ای می‌باشد.

نلسون و همکاران (2008) با مقایسه سه رقم چغندر علوفه‌ای Kyros, Magnum و Colosse نشان دادند که رقم Magnum دارای عملکرد بالاتری نسبت به دو رقم دیگر بوده، و از مزیت‌های دیگری از قبیل عمق شیار ریشه کمتر و شکل طوقه یکسان در سطح خاک و درصد ماده خشک بیشتر برخوردار بود.

### مواد و روش‌ها

این آزمایش در مزرعه بهره برداران در شهرستان هامون (روستای ملاابراهیم) و در شهرستان زابل (روستای قاسم آباد) کشت گردید. به دلیل اینکه میانگین شوری آب بیشتر چاهک‌ها در منطقه 5 دسی زیمنس بر متر می‌باشد این عدد انتخاب گردید. آب آبیاری در این دو مزرعه دارای  $Ec = 5$  دسی زیمنس بر متر بود. ارقام مورد کشت در این مزرعه رقم کارا، فلدهر، جامون و آینکا بود. هر رقم در سطح 1000 مترمربع کشت گردید. عملیات تهیه زمین شامل شخم، دیسک، تسطیح (توسط لولر)، مرزبندی انجام گردید. به دلیل عدم وجود ماشین‌آلات چغندر کار در منطقه جوی‌های با عرض 50 سانتی متر با شیار ساز تراکتور ایجاد و پس از آن بادست مرتب‌سازی شد. کوددهی بر اساس نتایج آزمون خاک و نیاز چغندر علوفه‌ای انجام شد. تمامی کود فسفره (با احتساب 200 کیلوگرم در هکتار) و پتاسیم (با احتساب 150 کیلوگرم در هکتار) به همراه 50 کیلوگرم کود اوره (با احتساب 200 کیلوگرم در هکتار) هم‌زمان با کاشت و باقیمانده کود اوره به صورت سرک در زمان تشکیل و بزرگ شدن غده‌ها در طول فصل کاشت استفاده شد. کاشت در اول آبان‌ماه 1401 صورت گرفت. آبیاری طرح براساس نیاز آبی و در مراحل رشدی گیاه به صورت شیاری انجام شد. زمین انتخاب شده زمین معمول کشاورز بود. کشت به صورت ردیفی با 50 سانتیمتر فاصله بین ردیف و فاصله روی ردیف 20 سانتی‌متر و عمق کاشت 1 سانتیمتر صورت گرفت. در طول دوره رشد ضمن انجام مراقبت‌های زراعی معمول، یادداشت‌برداری‌های لازم از صفات زراعی شامل: عملکرد اندام هوایی، عملکرد ریشه، عملکرد ماده خشک اندام هوایی، عملکرد ماده خشک ریشه، طول ریشه، قطر ریشه، تعداد برگ، طول برگ و عرض برگ انجام گرفت. برای تعیین اجزاء عملکرد 30 بوته به صورت تصادفی انتخاب و اندازه‌گیری صورت گرفت. برای اندازه‌گیری عملکرد اندام هوایی و عملکرد ریشه سی نمونه تصادفی 8 متری در طول ردیف‌ها برداشت و وزن گردید و به هکتار تعمیم داده شد. در نهایت با استفاده از آزمون تی استیودنت مقایسه میانگین در دو منطقه صورت گرفت. در طی مراحل مختلف رشد نیز با هماهنگی همکاران ترویج، کشاورزان پیشرو از نزدیک با ارقام جدید آشنا شدند.

## نتایج و بحث

نتایج عملکرد و برخی صفات زراعی ارقام چغندر علوفه‌ای در طول دوره رشد در روستای قاسم آباد شهرستان زابل در جدول 1 آمده است.

جدول 1: میانگین عملکرد و اجزای عملکرد در ارقام چغندر علوفه‌ای در روستای قاسم آباد

رقم	عملکرد اندام هوایی (تن در هکتار)	عملکرد ریشه (تن در هکتار)	عملکرد ماده خشک اندام هوایی (تن در هکتار)	عملکرد ماده خشک ریشه (تن در هکتار)
جامون	70/253	118/424	8/271	22/346
آلیانکا	65/227	108/773	7/980	19/617
فلدهر	54/284	93/218	6/084	12/440
کارا	40/452	54/895	6/001	8/459

جدول 2- نتایج آزمون تی استیودنت در روستای قاسم آباد برای صفات مختلف

صفات اندازه‌گیری شده	مقایسه رقم جامون با آلیانکا	مقایسه رقم جامون با فلدهر	مقایسه رقم جامون با کارا
عملکرد اندام هوایی	4/619**	10/081ns	25/987**
عملکرد ریشه	3/320*	9/267ns	40/825**
عملکرد ماده خشک اندام هوایی	1/021ns	5/475**	14/258**
عملکرد ماده خشک ریشه	3/308*	17/210**	25/863**
طول ریشه	1/488ns	13/913**	19/053**
قطر ریشه	3/334*	6/524**	10/849**

\*, \*\*, ns: به ترتیب معنی‌دار در سطح پنج و یک درصد، ns برابر با عدم تفاوت معنی‌دار

نتایج آزمون تی استیودنت در روستای قاسم آباد برای عملکرد اندام هوایی (جدول 2) نشان داد که رقم جامون با ارقام آلیانکا، فلدهر و کارا تفاوت آماری معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد نشان داد. بیشترین مقدار عملکرد اندام هوایی در رقم جامون با میانگین 70/253 تن در هکتار و پس از آن ارقام آلیانکا، فلدهر و کارا به ترتیب با میانگین‌های 65/227، 54/284 و 40/452 تن در هکتار در مکان‌های دوم تا چهارم قرار گرفتند (جدول 1). میزان افزایش عملکرد اندام هوایی رقم جامون نسبت به ارقام دیگر آلیانکا، فلدهر و کارا به ترتیب 7/70، 29/41 و 73/67 درصد بیشتر بود. بین ارقام مختلف چغندر علوفه‌ای در روستای قاسم آباد از نظر عملکرد ریشه تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود داشت (جدول 2). بیشترین عملکرد ریشه در رقم جامون با میانگین 118/424 تن در هکتار حاصل شد (جدول 1). پس از این رقم، ارقام آلیانکا، فلدهر و کارا به ترتیب در رده‌های بعدی قرار گرفتند. میزان افزایش عملکرد در رقم جامون نسبت به ارقام آلیانکا، فلدهر و کارا به ترتیب برابر 8/87، 27/03 و 115/72 درصد می‌باشد. اختلاف بین ارقام مورد بررسی از نظر عملکرد ماده خشک اندام هوایی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول 2). نتایج بررسی و مقایسه میانگین عملکرد ماده خشک اندام هوایی حاکی از آن است که بیشترین عملکرد ماده خشک اندام هوایی متعلق به رقم جامون به میزان 8/271 تن در هکتار و ارقام آلیانکا، فلدهر و کارا به ترتیب به میزان 7/980، 6/084 و 6/001 تن در هکتار در

رتبه‌های بعدی قرار گرفتند (جدول 1). نتایج میانگین‌ها برای عملکرد ماده خشک ریشه نشان داد که بین ارقام جامون، آلیانکا، فلدهر و کارا اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد بود (جدول 2). عملکرد ماده خشک ریشه در ارقام جامون، آلیانکا، فلدهر و کارا به ترتیب برابر 22/346، 19/617، 12/440 و 8/459 تن در هکتار برآورد شد (جدول 1).

### نتایج آزمایش در شهرستان هامون:

نتایج آزمایش ارقام مختلف چغندر علوفه‌ای در شهرستان هامون روستای ملا ابراهیم نشان داد که بین ارقام مختلف مورد بررسی برای عملکرد اندام هوایی اختلاف آماری یک درصد مشاهده شد (جدول 3). بیشترین میزان عملکرد اندام هوایی به میزان 71/425 تن در هکتار در رقم جامون مشاهده شد که نسبت به رقم آلیانکا، فلدهر و کارا به ترتیب 7/12، 15/534 و 30/642 تن در هکتار

### جدول 3: نتایج آزمون تی استیودنت برای صفات مختلف ارقام چغندر علوفه‌ای در روستای ملا ابراهیم

صفات اندازه‌گیری شده	مقایسه رقم جامون با آلیانکا	مقایسه رقم جامون با فلدهر	مقایسه رقم جامون با کارا
عملکرد اندام هوایی	5/706**	10/349**	36/931**
عملکرد ریشه	6/464**	25/107**	59/864**
عملکرد ماده خشک اندام هوایی	2/697*	13/187**	9/606**
عملکرد ماده خشک ریشه	0/669ns	14/110**	30/065**

\*، \*\* و ns: به ترتیب معنی‌دار در سطح پنج و یک درصد، ns برابر با عدم تفاوت معنی‌دار

### جدول 4: میانگین عملکرد و اجزای عملکرد در ارقام چغندر علوفه‌ای در روستای ملا ابراهیم

رقم	عملکرد اندام هوایی (تن در هکتار)	عملکرد ریشه (تن در هکتار)	عملکرد ماده خشک اندام هوایی (تن در هکتار)	عملکرد ماده خشک ریشه (تن در هکتار)
جامون	71/425	116/422	8/785	20/111
آلیانکا	64/305	109/574	8/053	19/521
فلدهر	55/891	92/393	6/507	12/837
کارا	40/783	56/313	5/854	8/815

ادامه جدول 4: میانگین عملکرد و اجزای عملکرد در ارقام چغندر علوفه‌ای در روستای ملا ابراهیم

از عملکرد بیشتری برخوردار بود (جدول 4). از نظر عملکرد ریشه بین ارقام مختلف اختلاف آماری معنی‌دار مشاهده شد (جدول 3). همچنین نتایج نشان داد که بیشترین عملکرد ریشه با میانگین 116/422 تن در هکتار به رقم جامون تعلق گرفت و نسبت به ارقام آلیانکا، فلدهر و کارا به ترتیب 6/24، 26 و 106/74 درصد افزایش عملکرد داشت (جدول 4). در بین ارقام مورد بررسی از نظر عملکرد ماده خشک اندام هوایی بین رقم جامون با آلیانکا در سطح احتمال 5 درصد و بین رقم جامون با فلدهر و کارا در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌دار ملاحظه شد (جدول 3). بیشترین مقدار عملکرد ماده خشک اندام هوایی در رقم جامون با 8/785 تن در هکتار مشاهده شد که نسبت به ارقام آلیانکا، فلدهر و کارا 732، 2278 و 2931 کیلوگرم در هکتار از عملکرد بیشتری

برخوردار بود (جدول 4). نتایج آزمون تی برای عملکرد ماده خشک ریشه نشان داد که بین رقم جامون با آلیانکا در روستای ملا ابراهیم تفاوت آماری معنی داری مشاهده نشد در صورتی که بین رقم جامون با فلدهر و کارا تفاوت آماری در سطح احتمال یک درصد مشاهده شد (جدول 3). بیشترین میزان عملکرد ماده خشک ریشه در رقم جامون با عملکرد 20/111 تن در هکتار حاصل شد که نسبت به ارقام آلیانکا، فلدهر و کارا 3/02، 56/66 و 128/14 درصد افزایش عملکرد نشان داد (جدول 4).

#### نتیجه گیری

با توجه به نتایج به دست آمده، کشت چغندر علوفه ای رقم جامون به دلیل عملکرد بالای تر و خشک ریشه، علوفه تر و خشک اندام هوایی در هر دو منطقه در شرایط آبیاری شور چاهکها نسبت به سایر ارقام برتری داشت. در شرایط منطقه سیستان و مناطق هم اقلیم آن در کشور می تواند مورد کشت و کار قرار گیرد.

## Comparison of morpho-physiological traits of high-yielding fodder beet cultivars in saline conditions and in the field conditions

Ahmad Ghasemi<sup>1</sup>, Mehdi Sadeghi Shoa<sup>2</sup>, Mohammad Reza Naroui Rad<sup>3</sup> and Gholamhassan Ranjbar<sup>4</sup>

\* 1- faculty member of the agricultural and horticultural research department of Sistan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Tehran, Iran

ghasemiahmad@yahoo.com

#### Abstract:

Cultivation of high yield fodder beet cultivars Jamun, Alianka, Feldeher and Kara in an area of 2000 meters of each variety was carried out in Qasimabad village of Zabol city and Mollabrahim village of Hamon city. Irrigation water salinity was  $E_c=5$  decisiemens/meter. Planting date was done on November 1st and harvesting time was done on May 20th. At the time of harvesting, 30 points of 10 square meters were randomly selected. The results of the t-test in two regions showed that there is a significant difference between the cultivars in terms of wet and dry fodder yield roots and shoots at the probability level of 1%. In Qasim Abad village, the variety of jamun with an average fresh and dry forage yield of 118.424 and 22.346 tons per hectare, respectively, and in the village of Molla Ibrahim, the variety of jamun with an average fresh and dry forage yield of 116.422 and 20.111, respectively has the highest fresh and dry forage yield.

**Key words:** fodder beet, root yield, shoot yield, farmer

## اثر تنظیم کننده‌های رشد گیاهی بر کالوس زایی و تولید ترکیبات فنیل پروپانوییدی گیاه *(Dracocephalum moldavica L)* بادرشبو در شرایط درون شیشه ای

آزاده غلامی<sup>1</sup>، خدیجه کیارستمی<sup>2\*</sup>، زهرا ناظم بکائی<sup>2</sup>، مریم کمالی پور آزاد<sup>3</sup>

- 1- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهرا [2kh.kiarostami@alzahra.ac.ir](mailto:2kh.kiarostami@alzahra.ac.ir)
- 2- دانشیار فیزیولوژی گیاهی، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهرا (\*نویسنده مسئول)
- 3- دانش آموخته دکتری فیزیولوژی گیاهی، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهرا

### چکیده

بادرشبو (*Dracocephalum moldavica L*)، گیاهی دارویی و بسیار ارزشمند از خانواده نعنائیان است. استفاده از ترکیبات دارویی گیاهان رشد یافته در طبیعت همراه با موانعی می باشد، جهت غلبه بر این موانع، با استفاده از روش کشت بافت و اعمال تنظیم کننده های رشد گیاهی مناسب بر القاء کالوس ها و تولید ترکیبات ثانوی با خواص دارویی از جمله فنیل پروپانویدها، میتوان راندمان تولید این متابولیت های ثانوی موثر را از نظر کمی و کیفی ارتقاء بخشید. در این آزمایش از محیط کشت پایه MS استفاده شد و اثر تلفیقی سطوح مختلف تنظیم کننده های رشد گیاهی 2,4-D (0, 0.25, 0.5 میلی گرم در لیتر) و KIN (0, 0.25, 0.5 میلی گرم در لیتر) و دو نوع ریز نمونه برگگی و ساقه ای، بر نرخ کال زایی، محتوای ترکیبات فنیل پروپانوییدی، شامل ترکیبات فنلی و فلاونوییدی مورد بررسی قرار گرفت. بررسی ها نشان داد، بیشترین درصد القای کالوس (80%) در محیط MS حاوی 0.25 میلی گرم در لیتر 2,4-D و 0.25 میلی گرم در لیتر KIN در ریز نمونه برگگی می باشد. بیشترین میزان محتوای ترکیبات فنلی و فلاونوییدی، در ریز نمونه ساقه ای و در محیط کشت MS غنی شده با 0.25 میلی گرم در لیتر 2,4-D مشاهده شد. نتایج پژوهش حاضر نشان می دهد که تکنیک کالوس زایی گیاه بادرشبو می تواند شیوه مناسبی برای تولید ترکیبات و مشتقات فنیل پروپانوییدی در شرایط درون شیشه ای باشد.

کلمات کلیدی: بادرشبو، تنظیم کننده های رشد گیاهی، ترکیبات فنیل پروپانوییدی، کالوس زایی

### مقدمه

بادرشبو با نام علمی (*Dracocephalum moldavica L.*) از خانواده Lamiaceae و گیاهی دارویی، معطر، علفی، یکساله، و بومی آسیای مرکزی است. این خانواده گیاهی به عنوان منابع غنی از اسانس ها و ترکیبات فنیل پروپانوییدی از جمله فلاونویدها و ترکیبات فنلی، ترپنوئیدها، گلیکوزیدها و آگلیکون ها شناخته شده اند (1 و 2). عصاره آبی *D. moldavica* حاوی ترکیباتی است که معمولاً برای اهداف پزشکی و تغذیه ای استفاده می شود (3 و 4). از مزایای استفاده از این گیاه شامل ترکیبات دارویی با ارزش آن است به طوری که در صورت عدم وجود این ترکیبات، بسیاری از داروهای شیمیایی قابلیت تولید نخواهند داشت زیرا مراحل تولید این ترکیبات موثره به صورت مصنوعی فرآیندی بسیار پیچیده، زمان بر، پر هزینه و دارای اثرات جانبی مخرب می باشد. یکی

از مشکلات استفاده از این گیاه، یکساله بودن آن است که سبب می شود تا هر ساله عملیات کشت انجام شود ولی با روش کشت بافت می توان بر این مشکلات غلبه کرد، از دیگر مشکلات میتوان به تغییرات فصلی، تنوع ژنتیکی، استفاده از سموم، کود و علف کش در مزرعه اشاره کرد (5). یافتن روشی مناسب بر اساس تکنیک های کشت بافت گیاهی که در آن تکثیر انبوه و آسان کالوس های (سلول های بنیادی) تولید کننده متابولیت های ثانوی با ارزش دارویی صورت پذیرد، امری ضروری به نظر می رسد. متابولیت های ثانوی چون ترکیبات فنلی به مقدار کم در کشت بافت و اندام تولید می شوند. استفاده از محرک هایی چون تنظیم کننده های رشد گیاهی (Plant Growth Regulators ;PGR) می تواند تولید متابولیت های ثانوی را بهبود بخشد. متابولیت های ثانوی گیاهان، مانند ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی، نقش مرکزی را در سیستم دفاعی گیاه ایفا می کنند. ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی توسط مسیر بیوسنتزی فنیل پروپانوئیدی تولید می شوند. به همین دلایل، کشت آزمایشگاهی شرایط را برای تولید ترکیبات فنلی فراهم می کند (6). هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی تاثیر غلظت های مختلف تیمارهای تلفیقی تنظیم کننده های رشد گیاهی شامل 2 و 4 - دی کلرو فنوکسی استیک اسید (2,4-D) و کینتین (KIN) بر میزان القاء کالوس در ریز نمونه های برگ و ساقه ای و به دنبال آن ارزیابی محتوای ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در کالوس های حاصل از گیاه بادرشبو می باشد. تا ضمن بهینه سازی کشت سلولی درون شیشه ای آن، بستر مناسب برای انجام سایر پژوهش ها نظیر اعمال ایستورهای (محرک ها) مناسب در محیط کشت بهینه کالوس زایی، جهت افزایش حداکثری کیفیت و کمیت ترکیبات دارویی با ارزش اقتصادی فراهم شود.

#### مواد و روش ها

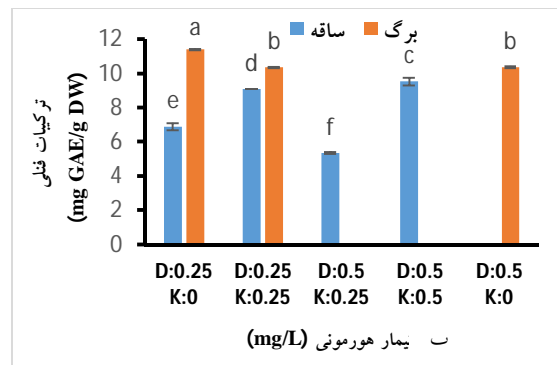
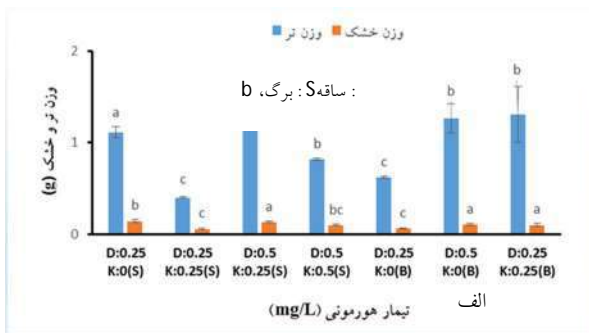
جهت ضد عفونی کردن بذرهای گیاه بادرشبو و تولید گیاهچه های سترون جهت تهیه ریز نمونه، از روش وارسته، 1399 استفاده شد (9). ریز نمونه های برگ و ساقه ای در محیط کشت پایه MS (Murashige, & Skoog, 1996) حاوی تنظیم کننده های رشد گیاهی شامل 2,4-D (0, 0,25 و 0,5 میلی گرم در لیتر) و KIN (0, 0,25 و 0,5 میلی گرم در لیتر) با pH 5,8، کشت و در اتاق رشد با شرایط دمایی 24-25 درجه سانتی گراد و دوره نوری 16 ساعت روشنایی و 8 ساعت تاریکی نگهداری شدند. کالوس بدست آمده بعد از گذشت سه هفته واگشت گردیدند. تاثیر ریز نمونه ها در یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار و هر تکرار حاوی 5 ریز نمونه بررسی شد. در این آزمایش درصد القاء کالوس به ازای هر ریز نمونه، وزن خشک و تر کالوس ها، ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی آنها محاسبه شد. برای تجزیه و تحلیل داده های آماری از نرم افزار SPSS 26 و برای مقایسه میانگین ها از آزمون چند دامنه ای دانکن استفاده شد.

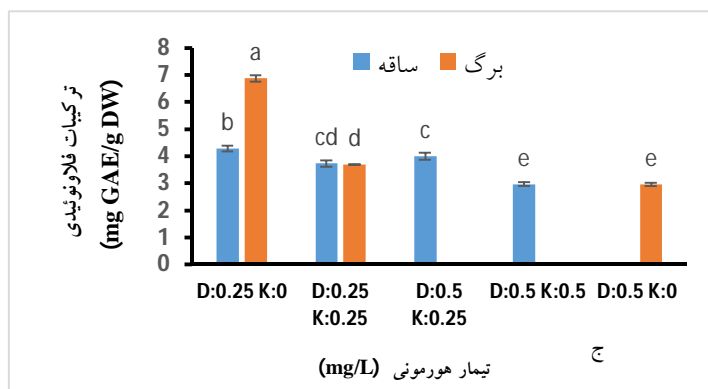
#### نتایج و بحث:

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد، نمونه های شاهد (ریز نمونه های قرار داده شده در محیط کشت MS فاقد تنظیم کننده رشد) هیچ گونه کالوسی تولید نکردند از این رو در بررسی ها در نظر گرفته نشدند. بیشترین درصد کالوس زایی مرتبط با تیمارهای هورمونی 0.25 میلی گرم در لیتر 2,4-D و 0.25 میلی گرم در لیتر KIN در ریز نمونه برگ (80%) و 0.5 میلی گرم در لیتر 2,4-D و 0.5 میلی گرم در لیتر KIN در ریز نمونه ساقه ای (78%) بود. بیشترین میزان وزن تر و خشک به ترتیب 1.31 g و 0.13g در محیط کشت غنی شده با 0.5 میلی گرم در لیتر 2,4-D و 0.25 میلی گرم در لیتر KIN در ریز نمونه ساقه ای مشاهده شد (شکل 1 الف). بیشترین میزان محتوای ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی به ترتیب با مقادیر  $11.40 \text{ mg g}^{-1} \text{ DW}$  (شکل 1 ب) و  $\text{mg}$

$6.87 \text{ g}^{-1} \text{ DW}$  (شکل 1ج) متعلق به کالوس های حاصل از ریز نمونه برگگی و در محیط کشت MS غنی شده با 0.25 میلی گرم در لیتر 2,4-D بود. نتایج حاصل از تحلیل واریانس داده ها نشان داد که اثر نوع ریز نمونه و تیمار هورمونی مختلف و همچنین اثر متقابل نوع ریز نمونه و تیمارهای هورمونی مختلف بر شاخص های کالوس زایی، وزن خشک، محتوای فنلی و فلاونوئیدی معنی دار (در سطح  $P < 0.01$ ) بوده است. اما اثر نوع ریز نمونه بر شاخص وزن تر معنی دار نبود (جدول 1).

این تحقیق گزارشی از القای بافت کالوس در گیاه بادرشبو می باشد. و براساس نتایج مشخص شد که با افزایش کمی در میزان هورمون ها، کالوس زایی افزایش می یابد و بیشترین درصد القاء کالوس در نسبت های مساوی از اکسین و سیتوکینین و در ریز نمونه برگگی حاصل شده است که این نتیجه با نتایج بسیاری از محققین دیگر در این خصوص مطابقت دارد (6 و 7) و گزارش های بسیاری وجود دارد که تاکید شده است که تعادل بین اکسین ها و سیتوکینین ها به عنوان PGRs در محیط کشت برای القاء کالوس ضروری است، که به طور هم افزایی برای بهبود تقسیم سلولی به عنوان یک فرآیند حیاتی برای القاء کالوس عمل می کند (6). پاسخ های متفاوت ریزنمونه ها به تیمارهای هورمونی ممکن است مرتبط با نوع ریز نمونه، پتانسیل های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی متفاوت ریز نمونه ها باشد (6). در محیط کشت شاهد و فاقد هر گونه PGRs هیچ گونه کالوس زایی مشاهده نشد، که نشان دهنده ضرورت کاربرد برون زا PGRs جهت القاء کالوس می باشد، این نتیجه با نتایج بسیاری از محققین دیگر از جمله ساغریان و همکاران (6) مطابقت دارد. در تحقیقی که بر روی همین گونه انجام شد مشخص شد تولید کالوس در محیط کشت حاوی هورمون NAA و BAP صورت می گیرد (8). در تحقیقی دیگر بر روی بادرشبو مشخص شد بهترین غلظت هورمونی جهت القای کالوس 2-4D و BAP از ریزنمونه های برگ و ساقه بود (9). ترکیبات فنیل پروپانوئیدی منجمله فنلیک ها و فلاونوئیدها، از مهم ترین ترکیبات ثانوی با خواص دارویی می باشند که در پاسخ به شرایط محیطی در گیاهان تولید می شوند. غلظت و عناصر محیطی کشت نقش موثری در تولید این ترکیبات دارند. داده های ما نشان داد که محیط های کشت غنی شده با PGRs سبب القاء مسیر بیوسنتزی فنیل پروپانوئیدی و به دنبال آن سبب افزایش تولید ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی می شود که با نتایج بسیاری از پژوهشگران مطابقت دارد (6). چندین مطالعه گزارش کرده اند که کاربرد برون زا بر کشت های سلولی سبب افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز که آنزیم کلیدی مسیر بیوسنتزی فنیل پروپانوئیدی است می شوند که به دنبال آن انباشتگی متابولیت های ثانوی از جمله فنلیک ها و فلاونوئیدها حادث می شود (6).





شکل 1: مقایسه میانگین غلظت های مختلف 2,4-D و KIN با ریز نمونه های برگ و ساقه (الف) وزن تر و خشک کالوس (ب) ترکیبات فنلی (ج) ترکیبات فلاونوئیدی گیاه بادرشبو در محیط کشت MS. میانگین هایی که در هر ستون، حداقل یک حرف مشترک دارند، مطابق آزمون دانکن اثر معنی داری ندارند ( $P>0.05$ )

منابع تغییرات	درجه آزادی	وزن خشک	وزن تر	فلاونوئید	فول
2-4D	2	0.021**	1.948**	43.211**	184.583**
Kin	2	0.007*	0.0798*	16.939**	51.092**
ریز نمونه	1	0.005**	0.034ns	0.350**	0.283**
2-4D*kin	4	0.005**	0.396**	15.994**	69.041**
ریز نمونه*2-4D	2	0.003**	0.215**	5.455**	13.360**
ریز نمونه*Kin	2	0.002**	0.339**	13.768**	82.007**
ریز نمونه*2-4D*Kin	4	0.015**	1.611**	5.373**	45.499**
خطا	36	6.802E-05	0.020	0.010	0.018
کل	54				

جدول 1: میانگین مربعات مربوط به برخی صفات کالوسهای حاصل از ریز نمونه و تیمارهای متفاوت در گیاه بادرشبو  
\*\* معنی داری در سطح احتمال 1 درصد ، ns عدم معنی داری

## نتیجه گیری کلی

پژوهش حاضر تایید می کند که کاربرد برون زا تیمارهای هورمونی 2,4-D و KIN در غلظت های منتخب، در القاء کالوس از ریز نمونه برگ و ساقه بادرشبو موثر هستند. و هورمون 2,4-D می تواند سبب افزایش حداکثری میزان فنل ها و فلاونوئیدها در ریز نمونه های برگ گیاه بادرشبو گردد و این شیوه را به عنوان یک تکنیک موثر جهت تامین ترکیبات دارویی فنیل پروپانوئیدی در شرایط کشت کالوس معرفی نماید.

## منابع

1. Dastmalchi, K., Dorman, D., Kosar, M., Hiltunen, R. (2007). Chemical composition and in vitro antioxidant evaluation of a watersoluble Moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.) extract. *LWT* 40, 239–248.
2. Simea, S., Ielciu, I., Hanganu, D., Niculae, M., Pall, E., Burtescu, R.F., Olah, N.-K., Cenariu, M., Oniga, I., Benedec, D. (2023) Evaluation of the Cytotoxic, Antioxidative and Antimicrobial Effects of



- Dracocephalum moldavica* L. Cultivars. *Molecules*, 28, 1604. <https://doi.org/10.3390/molecules28041604>.
3. **Aslanipour, B., Heidari, R., Farnad, N. (2017).** Phenolic Combination and Comparison of Antioxidant Activity in Three Different Alcoholic Extracts of *Dracocephalum moldavica* L. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 5(3): 199-20
4. **Fattahi A, Shakeri A, Tayarani-Najaran Z, et al. (2021).** UPLC-PDA- ESI- QTOF- MS/ MS and GC-MS analysis of Iranian *Dracocephalum moldavica* L.. *Food Sci Nutr.*;9:4278-4286. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2396>
5. **Elias E. Elemike, Ifeyinwa Monica Uzoh, Damian C. Onwujiwe and Olubukola Oluranti Babalola. (2019).** The Role of Nanotechnology in the Fortification of Plant Nutrients and Improvement of Crop Production. *Appl. Sci.* 9, 499; doi:10.3390/app903049
6. **Sagharyan, M., Ganjeali, A., Cheniany, M., & Kouhi, S. M. M. (2020).** Optimization of callus induction with enhancing production of phenolic compounds production and antioxidants activity in callus cultures of *Nepeta binaloudensis* Jamzad (Lamiaceae). *Iranian Journal of Biotechnology*, 18(4), e2621.
7. (2019). بررسی اثر تنظیم کننده های رشد گیاهی بر ریزازدیادی و باززایی آویشن. مهدی محب الدینی، میرزاده قصابه، بهنامیان، چمنی، رقیه فتحی پژوهشنامه اصلاح گیاهان زرتعی. 11(31). 133-124. (Thymus daenensis Clake) دناپی
8. **سید مهدی رضوی، علیرضا قاسمیان، سونیا موسوی ثمرین، هما عرش نشین. (1395).** القا بافت کالوس و آنالیز مواد مؤثره اسانس گیاه دارویی *Dracocephalum moldavica* L. اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی، 4(2)، 88-94.
9. **نفیسه وارسته خانلری، خدیجه کیارستمی، منیر حسین زاده نمین، محمد عبدلی (1399)**، درصد القا کالوس در گیاه دارویی *Dracocephalum moldavica* L.، ششمین کنفرانس بین المللی علوم صنایع غذایی، کشاورزی ارگانیک و امنیت غذایی <https://civilica.com/doc/1195903>

## The effect of plant growth regulators on callogenesis and production of phenylpropanoid compounds at *invitro* culture of *Dracocephalum moldavica* L.

Gholami A.<sup>1</sup>, Kiarostami Kh.<sup>2\*</sup>, Nazem bokae Z.<sup>2</sup>, Kamalipour Azad. M<sup>3</sup>

1. Master student of Plant Physiology, Department of Plant Sciences, Faculty of Biological Sciences, Alzahra University
2. Associate Professor of Plant Physiology, Department of Plant Sciences, Faculty of Biological Sciences, Alzahra University (\*corresponding author email: [kh.kiarostami@alzahra.ac.ir](mailto:kh.kiarostami@alzahra.ac.ir))
3. Ph.D. in Plant Physiology, Department of Plant Sciences, Faculty of Biological Sciences, Alzahra University

### Abstract

*Dracocephalum moldavica* L. is a very valuable medicinal plant from Lamiaceae family. The use of medicinal compounds of plants grown in nature is associated with obstacles, in order to overcome them, using the tissue culture method, including the application of suitable plant growth regulators for callus induction and then leading them to produce compounds with medicinal properties, including phenylpropanoids, so that the production of these effective secondary metabolites can be quantitatively and qualitatively improved.

In this research, the effect of different PGR such as 2,4-D (0, 0.25 and 0.5 mg/L), KIN (0, 0.25 and 0.5 mg/L) and also the explant sources (leaf and stem) were investigated on the germination rate, the content of phenylpropanoid compounds, including phenolic and flavonoid compounds. Investigations showed that leaf explant formed the highest percentage of callus induction (80%) in MS medium with 0.25 mg/L 2,4-D and 0.25 mg/L KIN.

The highest content of phenolic and flavonoid compounds was observed in medium containing 0.25 mg/L 2,4-D respectively. The results of present study showed that the callus induction technique of *Dracocephalum moldavica* L. can be a suitable method for the production of phenylpropanoid compounds and its derivatives.

Key words: Callogenesis, *Dracocephalum moldavica* L, Phenylpropanoids, Plant growth regulators

## استفاده از باکتریها به عنوان کودزیستی و بررسی صفات رشد در سه گونه گندم، ذرت و

### کلزا

#### نویسندگان:

بنفشه حیدری کهلی<sup>1</sup>، لیلا زرنندی میاندوآب<sup>2</sup>، نادر چاپارزاده<sup>3</sup>

1- دانشجوی دکتری رشته فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان

Email: [banafshehk@gmail.com](mailto:banafshehk@gmail.com)

2- دانشیار، رشته فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان

3- استاد، رشته فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان

#### چکیده

یکی از صنایعی که امروزه مورد توجه بسیاری است صنعت کود می باشد. از آنجایی که کودهای شیمیایی حاوی نیتروژن گازهای گلخانه‌ای منتشر می‌کنند بنابراین استفاده از کودهای زیستی در جهت کاهش انتشار گازهای گلخانه‌ای کمک شایانی خواهد کرد. بهبود رشد محصول تحت تنش به ابزارهای کشف نشده طبیعت بستگی دارد که یکی از این ابزارها میکروبا هستند. در این تحقیق اثر کود باکتریایی بر روی صفات رشد سه گونه گیاهی گندم، ذرت و کلزا بررسی شد. پارامترهای رشد اندازه‌گیری شده در این بررسی عبارتند از: وزن تر و خشک (بیوماس، ساقه و ریشه)، ارتفاع گیاه، سطح برگ (LA)، سطح ویژه برگ (SLA)، درصد رطوبت نسبی برگ (RWC)، موجودی آب هر واحد سطح برگ (LWCA). نتایج به دست آمده نشان داد که استفاده از کود باکتریایی به طور معنی داری باعث افزایش صفات رشد در هر سه گونه گیاهی شده است که به خصوص در مورد ذرت این افزایش مشهود است. واژگان کلیدی: کود باکتریایی، گندم، ذرت، کلزا، صفات رشد.

#### مقدمه

ریزوباکترهای محرک رشد گیاهی (PGPR)<sup>21</sup> باکتری‌های طبیعی خاک هستند که می‌توانند با بهبود بهره‌وری و ایمنی گیاهان برای گیاهان مفید باشند. این باکتری‌ها با ریزوسفر، بخشی از خاک که تحت تأثیر ریشه گیاهان و ترشحات آنها قرار دارد، مرتبط هستند. با توجه به تعامل آنها با گیاهان، PGPR را می‌توان به باکتری‌های همزیست، که در داخل گیاهان زندگی می‌کنند و متابولیت‌ها را با آنها به طور مستقیم مبادله می‌کنند، و ریزوباکتری‌های آزاد که در خارج از سلول‌های گیاهی زندگی می‌کنند، تقسیم کرد. بیشتر باکتری‌های همزیست در فضاهای بین سلولی گیاه میزبان زندگی می‌کنند، اما برخی از باکتری‌ها هستند که می‌توانند تعاملات متقابل واقعی با میزبان خود ایجاد کنند و به سلول‌های گیاهی نفوذ کنند. علاوه بر این، برخی از آنها می‌توانند فیزیولوژی خود را با گیاه ادغام کنند و در نتیجه ساختارهای تخصصی تشکیل شود. شناخته شده ترین باکتری‌های همزیست متقابل، ریزوبیا هستند که ارتباط همزیستی با گیاهان زراعی حیوانات ایجاد می‌کنند و نیتروژن اتمسفر را برای گیاه در ساختارهای ریشه خاصی به نام ندول تثبیت می‌کنند.

<sup>21</sup> Plant Growth-Promoting Rhizobacteria

کودهای زیستی باکتریایی می توانند رشد گیاه را از طریق چندین مکانیسم مختلف بهبود بخشند: (1) سنتز مواد مغذی گیاهی یا فیتوهورمون ها، که می توانند توسط گیاهان جذب شوند، (2) بسیج ترکیبات خاک، در دسترس قرار دادن آنها برای گیاه برای استفاده به عنوان مواد مغذی، (3) حفاظت از گیاهان در شرایط استرس زا، در نتیجه خنثی کردن اثرات منفی استرس، یا (4) دفاع در برابر عوامل بیماری‌زای گیاهی، کاهش بیماری‌ها یا مرگ گیاهان. [1].

اصطلاح کودهای زیستی میکروبی با فرمولاسیون سوش‌های با چگالی کافی در شکل فعال یا غیرفعال میکروارگانیسم‌ها مرتبط است که می‌تواند در ریزوسفرها برای رشد گیاه استفاده شود. میکروب‌های مورد استفاده می‌توانند یک سوبه یا در ترکیب با اثرات مفید خاص مختلف باشند [2].

### مواد و روش‌ها

**آماده سازی بذور:** بذرها را با محلول هیپوکلریت سدیم 10 درصد ضدعفونی کرده و سپس با آب شستشو می‌دهیم.

**آماده سازی گلدانها:** گلدانها را تمیز شسته و با آب اکسیژنه ضدعفونی کرده و اجازه می‌دهیم تا خشک شود. کف گلدانها جهت زهکشی بهتر سنگریزه می‌گذاریم و به مقدار 2 کیلوگرم خاک اتوکلاو شده در هر گلدان ریخته و بذرها را می‌کاریم.

**آماده کردن کود:** ابتدا 100 میلی لیتر محیط TSB<sup>22</sup> آماده کرده و به مقدار 34 میکرولیتر از کوکتل باکتریایی را داخل آن ریخته و به مدت 48 ساعت در دمای اتاق و روی دستگاه شیکر می‌گذاریم. پس از این مدت به نسبت 1:1 محلول محیط کشت و کوکتل را با ملاس چغندر قند مخلوط می‌کنیم.

**آماده کردن محلول آبیاری:** مقدار 238 میکرولیتر از کود آماده شده را به مقدار آبی که به گلدانها می‌خواهیم بدهیم اضافه می‌کنیم.

کوددهی در سه مرحله انجام می‌شود: (1) زمان کاشت بذر، (2) زمان پنجه‌زنی و (3) قبل از گلدهی

**تعیین وزن تر و خشک بیوماس، ساقه و ریشه:** جهت تعیین وزن بیوماس، گلدانها به مدت یک ساعت در داخل آب غوطه‌ور گردیده و بلافاصله روی غربال 1 میلی‌متری شسته شده و گیاه همراه ریشه‌ها جدا گردیده و وزن آن اندازه‌گیری شد. پس از آن گیاه را داخل پاکت گذاشته و درون آن با دمای 70 درجه سانتیگراد و به مدت 48 ساعت گذاشته شد تا خشک شود و سپس با ترازویی به دقت 0/001 گرم وزن شد.

**تعیین سطح برگ (LA<sup>23</sup>):** بعد از جدا کردن برگ کامل از ساقه، سطح برگ با دستگاه سطح برگ سنچ 240V.AC اندازه‌گیری شد. سطح برگها با استفاده از برنامه Windias محاسبه شدند.

**تعیین سطح ویژه برگی (SLA<sup>24</sup>) [3]:** این معیار از طریق رابطه زیر در هر زمان معین می‌تواند تعیین شود:

$$SLA = \frac{\text{سطح برگ در گیاه}}{\text{وزن ماده خشک برگ}} \quad (1)$$

<sup>22</sup> Tryptic Soy Broth

<sup>23</sup> Leaf Area

<sup>24</sup> Specific Leaf area

تعیین میزان درصد رطوبت نسبی برگ ( $RWC^{25}$ ) [4]: برای اندازه‌گیری این پارامتر نمونه‌ها در ساعت 8 صبح در شرایطی که دمای گلخانه بین 16-18 درجه سانتیگراد بود انجام شد. برای اندازه‌گیری  $RWC$  از هر گلدان 3 بوته انتخاب و از هر بوته برگهای انتهایی گیاه که شامل برگهای جوانتر بود به وزن 100 میلی‌گرم (این مقدار برای تمام تکرارها ثابت بود) به‌وسیله قیچی برش داده شد. بلافاصله برگهای جدا شده با ترازوی یک هزارم گرم با دقت و به میزان وزن فوق توزین شدند. پس از توزین، برگها در داخل لوله‌های آزمایش درب‌دار محتوی آب مقطر غوطه‌ور شده و در سایه قرار گرفتند. پس از انجام نمونه برداری کلیه لوله‌های آزمایش محتوی برگها به آزمایشگاه منتقل و به مدت 6 ساعت نگهداری شدند. به‌منظور جلوگیری از هر گونه تنفس و هر گونه کاهش احتمالی در وزن برگها آنها در محیط نسبتاً خشک و بدون نور نگهداری شدند. پس از گذشت 6 ساعت برگها را از داخل لوله‌های آزمایش در آورده و سریعاً با کاغذ خشک‌کن آب روی برگها خشک گردید و با ترازوی یک هزارم گرم وزن آماس برگها تعیین شد. سپس برگها به داخل آون الکتریکی با دمای 75 درجه سانتیگراد منتقل شده و بعد از 24 ساعت وزن خشک برگها با ترازوی دارای دقت 0/001 گرم بدست آمد.

مقدار رطوبت نسبی برگها با استفاده از رابطه زیر بدست آمد:

$$RWC = \frac{WF - WD}{WT - WD} * 100 \quad (2)$$

که در این رابطه:  $WF$  وزن تر برگها،  $WD$  وزن خشک برگها و  $WT$  وزن آماس برگها می‌باشد. در این رابطه وزن تر برگها ( $WF$ ) برابر با 100 میلی‌گرم (0/1 گرم) می‌باشد.

تعیین موجودی آب هر واحد سطح برگ ( $LWCA^{26}$ ) [3]: این معیار از طریق رابطه زیر در هر زمان محاسبه می‌شود:

$$LWCA = \frac{\text{وزن خشک برگ} - \text{وزن تر برگ}}{\text{سطح برگ}} \quad (3)$$

## نتایج و بحث

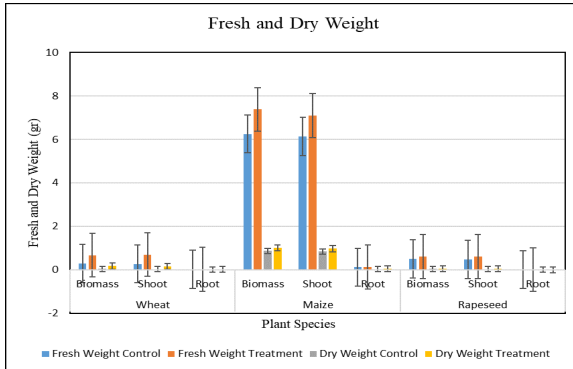
بسیاری از مطالعات در گلخانه‌ها و مزارع تأثیر ریزوباکترها و گونه‌های اندوفیت را بر رشد گیاهان، عملکرد دانه محصولات یکساله و ارقام محصولات مختلف برای صرفه جویی در مصرف کودها یا کاهش آلودگی ناشی از مواد شیمیایی کشاورزی یا هر دو مورد ارزیابی قرار داده‌اند. آروسپیریلوم رئیس فهرست PGPR ارزیابی شده در سراسر جهان در دهه‌ها آزمایش است (Burdman و همکاران، 2000؛ Dobbelaere و همکاران، 2001 و 2003؛ Okon و Labandera-González، 1994؛ Vesey؛ Lucy et al., 2004). مطالعات متنوعی در مورد اثرات ریزوباکتری‌های دیگر بر رشد گیاه منتشر شده است (Kennedy et al., 2004؛ Lucy et al., 2004). [5]

براساس نتایج به دست آمده در این بررسی بیشترین افزایش در مورد بوته ذرت مشاهده شد. در آزمایشی که در سال 1395 توسط زمانی و همکاران [6] بر روی گیاه رازیانه انجام شد نیز نتایج مشابهی به دست آمد و استفاده از کودهای زیستی اثر معنی‌داری در بهبود صفات رازیانه داشت. همچنین مهرآفرین و همکاران (1390) و همینطور ایزدی و همکاران (1389) گزارش کرده‌اند که

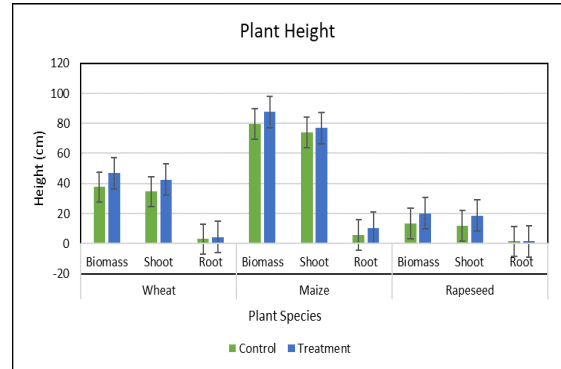
25 Relative Water Content

26 Leaf Water Content Per Unit Leaf Area

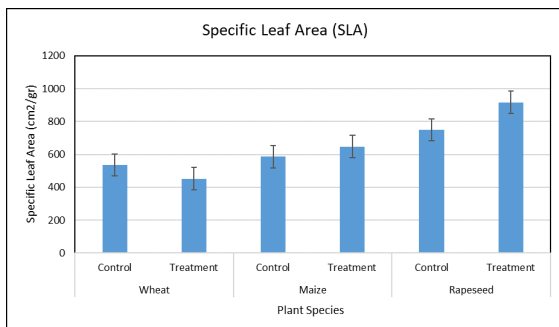
استفاده از کودهای زیستی باکتریایی باعث افزایش ارتفاع گیاه نعنای فلفلی نسبت به گیاه شاهد شده است که این نتایج نیز در تأیید این بررسی انجام شده است. کود باکتریایی مورد استفاده در این بررسی همچنین باعث افزایش وزن بوته و همینطور سطح برگ شده و موجودی آب هر واحد سطح برگ را در گیاه ذرت افزایش داده است. در بررسی که در سال 1395 توسط حکم علی پور [7] انجام شد نیز نتایج مشابهی به دست آمد و گزارش شد که تلقیح باکتری به گیاه نعنای فلفلی باعث افزایش صفات رشدی این گیاه شده است که در تأیید یافته‌های بررسی حاضر است.



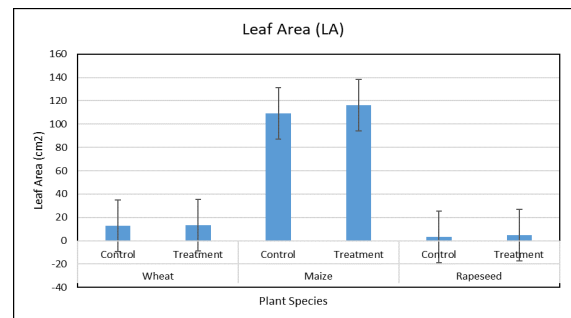
شکل 2. وزن تر و خشک گیاه



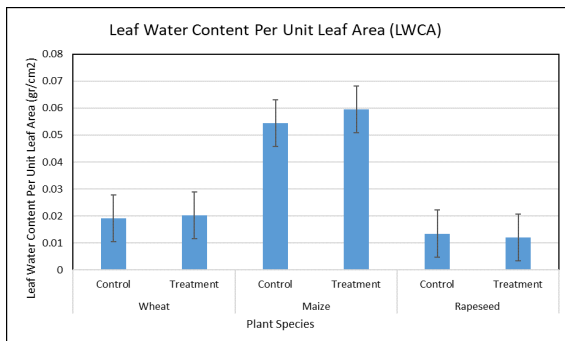
شکل 1. ارتفاع گیاه



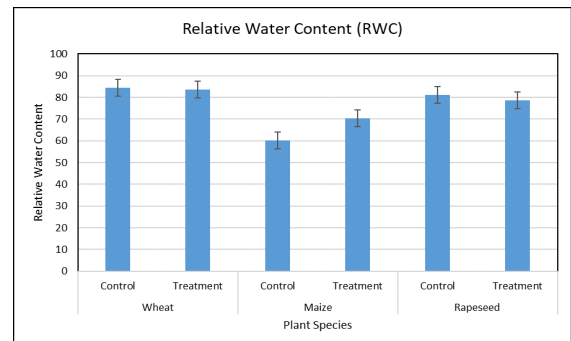
شکل 4. سطح ویژه برگ



شکل 3. سطح برگ



شکل 6. موجودی آب هر واحد سطح برگ



شکل 5. درصد رطوبت نسبی برگ

## نتیجه گیری

استفاده بیش از حد از مواد شیمیایی خطرناک، آفت کش‌هایی که به‌عنوان کود استفاده می‌شود، خطر بالایی را برای کشاورزی قریب الوقوع به‌همراه دارد. جایگزینی برای این مواد شیمیایی خطرناک می‌تواند کودهای زیستی باشد که می‌تواند کشاورزی پایدار را فراهم کند زیرا کودهای زیستی به افزایش عملکرد محصول، حفظ و پایداری حاصلخیزی خاک کمک می‌کنند. این می‌تواند به تأمین تقاضای مصرف مواد غذایی در سطح جهان کمک کند. میکروب‌ها می‌توانند با کمک به حل شدن مواد مغذی ضروری مورد نیاز در رشد محصولات کشاورزی مانند نیتروژن، فسفر، پتاسیم، روی و سیلیس که به شکل نامحلول هستند، به تقویت ایمنی، رشد محصولات کشاورزی کمک کنند. مزیت استفاده از کودهای زیستی مقرون به صرفه بودن، غیر سمی بودن آنها، کمک به کاهش آلودگی آب‌های زیرزمینی و همچنین سازگار با محیط زیست است [2].

علیرغم مزایای بی‌شک اقتصادی و زیست محیطی برخی از گونه‌های باکتریایی به‌عنوان کودهای زیستی، کاربرد چنین PGPR هایی به دلیل اهمیت آنها به‌عنوان پاتوژن‌های فرصت طلب در عفونت‌های بیمارستانی و در بیماران مبتلا به بیماری‌های مختلف باید با دقت بسیار مورد ارزیابی قرار گیرد [5].

## تشکر و قدردانی

از خانمها حمیده عبدالرحمنی و الهام بهادر و آقای نوید پورکار که در انجام این بررسی همکاری کردند کمال تقدیر و تشکر را دارم.

## منابع و مراجع مورد استفاده

- [1] **Paula García-Fraile, Esther Menéndez, Raúl Rivas. 2015.** Role of bacterial biofertilizers in agriculture and forestry[J]. AIMS Bioengineering, 2(3): 183-205. doi: 10.3934/bioeng.2015.3.183
- [2] **Singh, P., FNU, K., Encarnaçao, T. 2023.** Marine Bacteria for Biofertilizers. In: Encarnaçao, T., Canelas Pais, A. (eds) Marine Organisms: A Solution to Environmental Pollution?. Environmental Challenges and Solutions. Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-031-17226-7\\_9](https://doi.org/10.1007/978-3-031-17226-7_9)
- [3] **عشریه، ه. 1379.** بررسی بردباری و مقاومت به شوری دو گیاه *Cynodon dactylon*. و *Agropyron cristatum* L. پایان‌نامه کارشناسی ارشد زیست‌شناسی. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال. 283 صفحه.
- [4] **مسعودسینکی، ج. 1381.** بررسی جنبه‌های فیزیولوژیک مقاومت به خشکی و شوری در سورگوم. پایان‌نامه کارشناسی ارشد زراعت. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات. 192 صفحه.
- [5] **Fuentes-Ramirez, L.E., Caballero-Mellado, J. 2005.** Bacterial Biofertilizers. In: Siddiqui, Z.A. (eds) PGPR: Biocontrol and Biofertilization. Springer, Dordrecht. [https://doi.org/10.1007/1-4020-4152-7\\_5](https://doi.org/10.1007/1-4020-4152-7_5)
- [6] **زمانی، فاطمه، امیرنیا، رضا، رضائی چپانه، اسماعیل، رحیمی، امیر. 1397.** بررسی اثر کودهای زیستی باکتریایی و قارچ میکوریزا بر عملکرد دانه و ترکیبات شیمیایی اسانس سه توده رازیانه، به زراعی کشاورزی، 20(4): 831-848. doi: 10.22059/jci.2018.259818.2045
- [7] **حکم علی پور، س. 1396.** ارزیابی تاثیر باکتریهای محرک رشد گیاهی و کود نیتروژن بر عملکرد و برخی صفات زراعی و فیزیولوژیک گیاه دارویی نعنای فلفلی (*Mentha piperita* L). مجله اکوفیزیولوژی گیاهی. 28: 133-144.

## The utilization of bacteria as a fertilizer and the quantitative analysis of growth characteristics in three varieties of wheat, corn, and canola

Banafsheh Heidari Koholi<sup>1</sup>, Leila Zarandi Miandoab<sup>2</sup>, Nader Chaparzadeh<sup>2</sup>

1. Azarbaijan Shahid Madani University

Email: [banafshehkh@gmail.com](mailto:banafshehkh@gmail.com)

2. Azarbaijan Shahid Madani University

2. Azarbaijan Shahid Madani University

### Abstract

The fertilizer industry is currently of great interest due to the environmental impact of chemical fertilizers containing nitrogen, which emit greenhouse gases. The use of biological fertilizers can help to reduce these emissions. It is important to explore nature's undiscovered tools, such as microbes, to improve crop growth under stress. This research investigates the effect of bacterial fertilizer on the growth characteristics of three plant species: wheat, corn, and canola. This study measured the growth parameters of wet and dry weight (biomass, stem, and root), plant height, Leaf Area (LA), Specific Leaf Area (SLA), Relative Water Content (RWC), and Leaf Water Content Per Unit Leaf Area (LWCA). The results indicate that the use of bacterial fertilizer significantly increased the growth characteristics of all three plant species, particularly in the case of corn.

**Keywords:** Bacterial fertilizer, wheat, corn, canola, growth parameters.

## بررسی خصوصیات فیزیولوژیک و عملکرد ارقام گلرنگ در واکنش به تنش رطوبتی

پری حسنوند<sup>1</sup>

\*نویسنده مسئول: دانشجوی دکتری زراعت، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند

Parihasanvand168@gmail.com

غلامرضا زمانی<sup>1</sup>

دانشیار فیزیولوژی گیاهان زراعی، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند

علی اکبر مقصودی مود<sup>2</sup>

دانشیار فیزیولوژی گیاهان زراعی، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان

### چکیده

به منظور بررسی تأثیر تنش رطوبتی بر برخی صفات فیزیولوژیک و عملکرد دانه ارقام گلرنگ، آزمایشی به صورت اسپلیت پلات در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کرمان در سال 99-1398 اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل سه سطح آبیاری (100، 60 و 40 درصد نیاز آبی گیاه) در کرت‌های اصلی و سه رقم گلرنگ (فرمان، پدیده و پرنیان) به عنوان عامل فرعی بودند. نتایج نشان داد افزایش سطح تنش رطوبتی موجب کاهش معنی‌دار عملکرد دانه و محتوای نسبی آب و افزایش نشت یونی و دمای کانوپی گردید و مقادیر این صفات در بین ارقام متفاوت بود. بیشترین عملکرد دانه و محتوای نسبی آب از تیمار 100 درصد نیاز آبی گیاه به ترتیب با مقدار 2330/77 کیلوگرم بر هکتار و 82/06 درصد حاصل شد. همچنین بیشترین نشت یونی و دمای کانوپی از تیمار 40 درصد نیاز آبی گیاه به ترتیب با مقدار 70/08 درصد و 32/32 درجه سانتی‌گراد به دست آمد. در بین ارقام مورد مطالعه رقم فرمان بالاترین محتوای نسبی آب (75/62 درصد) و عملکرد دانه (1592/64 کیلوگرم بر هکتار) را دارا بود.

واژگان کلیدی: دمای کانوپی، عملکرد دانه، نشت یونی، نیاز آبی

### مقدمه

گلرنگ (*Carthamus tinctorius*) گیاهی یکساله از تیره آفتابگردان و به عنوان گیاه زراعی چند منظوره روغنی، دارویی و صنعتی مطرح می‌باشد. گلرنگ به علت داشتن خصوصیات فیزیولوژیک و مورفولوژیک ویژه، گیاهی متحمل به خشکی شناخته شده و جهت کشت در اراضی مواجهه با کمبود آب بسیار مناسب می‌باشد (1). یکی از اصلی‌ترین تنش‌های غیر زنده خسارت‌زا و محدودکننده رشد در گیاهان، تنش رطوبتی می‌باشد (2). نتایج گزارش پاسخ فیزیولوژیک ارقام گلرنگ به تنش رطوبتی نشان داد که آبیاری 50 درصد ظرفیت زراعی خاک سبب عکس‌العمل‌های متفاوت صفات محتوی نسبی آب برگ، نشت یونی از غشای سلول، رنگدانه‌های فتوسنتزی، کارایی مصرف آب و درصد روغن و عملکرد دانه ارقام مورد مطالعه گردید (3). پاسخ‌های فیزیولوژیک و مورفولوژیک بر مبنای شناسایی تأثیر تنش بر عملکرد نهایی گیاهان می‌باشد (4). افزایش دانش ما از مقاومت به تنش رطوبتی و



یافتن روش‌های مؤثر جهت کاهش اثرات مضر تنش بر گیاهان اهمیت زیادی خواهد داشت (5). از این جهت، هدف از این مطالعه مقایسه سه رقم گلرنگ از نظر واکنش به تیمارهای تنش رطوبتی و شناسایی صفات فیزیولوژیک و زراعی به‌منظور انتخاب ارقام متحمل به تنش می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه شهید باهنر کرمان در سال 1398-99 اجرا گردید. آزمایش به‌صورت اسپلیت پلات در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتورهای مورد مطالعه شامل سه سطح آبیاری 100، 60 و 40 درصد نیاز آبی گیاه و سه رقم گلرنگ مورد آزمایش به‌نام‌های فرامان، پدیده و پرنیان بودند. عامل تنش رطوبتی به‌عنوان فاکتور کرت‌های اصلی و ارقام گلرنگ به‌عنوان فاکتور کرت‌های فرعی در نظر گرفته شدند. ارقام مورد بررسی گلرنگ از ارقام جدید و بدون خار بوده که توسط مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج انتخاب و تهیه شدند. کرت‌های آزمایشی به‌صورت شش خط کاشت با طول سه متر با فاصله بین ردیف‌های کاشت 50 سانتی‌متر و فاصله بین بوته‌ها 7-5 سانتی‌متر طراحی و انجام شد. اعمال تنش رطوبتی بعد از آبیاری اولیه در طول دوره رشد، بر اساس مقادیر نیاز آبی گلرنگ و دور آبیاری محاسبه‌شده با نرم‌افزار cropwat version 8i، به‌وسیله پمپ آبیاری انجام گرفت. میزان آب ورودی به مزرعه با کنتور اندازه‌گیری شد. جهت تعیین میزان محتوای نسبی آب برگ گلرنگ در مرحله گلدهی از هر تیمار 3 برگ از برگ‌های توسعه‌یافته بوته جدا و در پاکت‌های زیپ‌دار قرار داده و بلافاصله به آزمایشگاه منتقل و وزن تر آن‌ها ثبت گردید. برگ‌ها سپس به‌مدت 24 ساعت در آب مقطر غوطه‌ور و وزن آماس اندازه‌گیری شد. برگ‌های آماس یافته پس از خشک کردن با کاغذ صافی به‌مدت 48 ساعت در آون 70 درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و وزن خشک آن‌ها ثبت شد (6). محتوای نسبی آب برگ از طریق فرمول زیر محاسبه گردید.

$$\text{(وزن خشک - وزن در حالت آماس)} / \text{(وزن خشک - وزن تر)} = \text{محتوای نسبی آب برگ}$$

اندازه‌گیری دمای برگ با استفاده از دماسنج مادون قرمز مدل T2-825 ساخت کارخانه تستو (Testo) ایتالیا بعد از اعمال تنش رطوبتی در ساعت 13 به‌وقت محلی از 4 موقعیت هر کرت ثبت گردید (7). در هنگام تنش کم آبی از میزان پتانسیل آب گیاه و تعرق کاسته می‌گردد. بنابراین بر اساس بیلان انرژی در برگ، کاهش تعرق سبب بالا رفتن دمای کانوپی گیاه می‌شود (8). جهت تعیین درصد نشت یونی دو نمونه برگ توسعه‌یافته و جوان از هر بوته جدا و سپس به قطعات کوچکتر تقسیم شدند. این قطعات در ارلن‌های حاوی 50 میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر شده قرار گرفتند. ارلن‌های حاوی نمونه‌های برگی به‌مدت 6 ساعت بر روی دستگاه شیکر قرار داده شد و هدایت الکتریکی هر نمونه به‌وسیله دستگاه EC متر اندازه‌گیری و  $(EC_1)$  ثبت شد. سپس ارلن‌های حاوی نمونه‌های گیاهی در طول شب در فریزر با دمای 75- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. در نهایت ارلن‌ها از فریزر خارج شده و پس از ذوب یخ آن‌ها در شرایط آزمایشگاه، یک‌بار دیگر به‌مدت 6 ساعت بر روی شیکر گذاشته شدند و  $(EC_2)$  ثبت شد. در نهایت با استفاده از فرمول زیر مقدار EC محاسبه گردید (9).

$$((EC_1/EC_2) \times 100)$$

جهت برآورد عملکرد دانه، پس از مرحله رسیدگی فیزیولوژیک بوته‌ها با حذف اثر حاشیه‌ای دو متر مربع در هر کرت آزمایشی برداشت و نمونه‌برداری صورت گرفت. در نهایت تجزیه داده‌ها و مقایسه میانگین‌ها با نرم‌افزار آماری MSTATC و تعیین همبستگی صفات به‌روش دانکن با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه 16 انجام گردید.

## نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد تیمارهای رطوبتی و رقم بر صفات محتوای نسبی آب، دمای کانوپی، نشت یونی و عملکرد دانه تأثیر معنی‌داری داشت (جدول 1). در حالی که اثرات متقابل تنش رطوبتی و رقم برای صفات مورد مطالعه معنی‌دار نبود (جدول 1). بر اساس نتایج محتوای نسبی آب برگ در سطح احتمال یک درصد تحت تأثیر تیمار رطوبتی و رقم قرار گرفت (جدول 1). در این آزمایش، مقدار محتوای نسبی آب با افزایش میزان تنش رطوبتی کاهش یافت. بیشترین میزان محتوای نسبی آب از تیمار 100 درصد نیاز آبی گیاه با مقدار 82/06 درصد و کمترین میزان آن از تیمار 40 درصد با مقدار 64/93 درصد حاصل شد (جدول 2). ارقام مختلف گلرنگ دارای عملکرد متفاوتی در شرایط محیطی یکسان می‌باشند. بیشترین محتوای نسبی آب در رقم فرامان با مقدار 75/62 درصد حاصل گردید (جدول 2). به گزارش محققین محتوای نسبی آب برگ در شرایط کمبود آب و تداوم آن در طول فصل به‌طور مداوم کاهش یافته و افت رشد گیاه را باعث می‌شود (10). نتایج گزارش قاسمی و افخمی (2018) نشان داد با اعمال تنش رطوبتی بر روی گیاه گلرنگ مقدار محتوای نسبی آب برگ نسبت به شرایط شاهد به‌طور چشمگیری کاهش یافت (11). در طی یک مطالعه بررسی تعداد ارقام زیادی گلرنگ نشان داد محتوای نسبی آب برگ در ارقام متحمل به تنش رطوبتی بالاتر بود که این امر با تنظیم اسمزی و کنترل تعرق و میزان جذب بیشتر آب از ریشه‌ها در ارتباط بود (12). از روش‌های رایج ارزیابی شدت تنش رطوبتی در گیاهان، اندازه‌گیری دمای کانوپی است (13). نتایج داده‌ها نشان داد اثر تیمار رطوبتی و رقم بر دمای کانوپی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول 1). اعمال تنش رطوبتی موجب افزایش دمای کانوپی در ارقام گلرنگ گردید. بیشترین دمای کانوپی از تیمار رطوبتی 40 درصد نیاز آبی گیاه با مقدار 32/32 درجه سانتی‌گراد حاصل شد (جدول 2). بالاترین و پایین‌ترین دمای کانوپی نیز به ترتیب در ارقام پرنیان و فرامان با میانگین 32/53 و 29/23 درجه سانتی‌گراد مشاهده گردید (جدول 2). در شرایط تنش رطوبتی افزایش تنفس و کاهش تعرق موجب افزایش دمای کانوپی گیاه می‌شود (14).

جدول 1- تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده ارقام گلرنگ

Table 1- Variance analysis of the measured traits of safflower cultivars

Mean squares	میانگین مربعات		محتوای نسبی آب	درجه	منابع تغییر
	نشت یونی	دمای کانوپی	نسبی آب	آزادی	S.O.V
عملکرد دانه (کیلوگرم بر هکتار) Grain yield (kg.h <sup>-1</sup> )	electrolyte leakage (%)	Canopy temperature (°C)	Relative water content (%)	df	
83346,52**	167,39**	2,57*	8,95 <sup>ns</sup>	2	Replication
5644054,42**	213,79**	14,04**	661,24**	2	Treatment
10188,75	0,81	0,48	18,28	4	Error (a)
114336,53**	123,71**	26,55**	61,87**	2	Cultivar
26454,78 <sup>ns</sup>	1,73 <sup>ns</sup>	0,81 <sup>ns</sup>	5,24 <sup>ns</sup>	4	Treatment×Cultivar
16368,19	1,12	2,52	13,25	12	Error (b)
8,65	1,61	5,09	4,97		ضریب تغییرات (درصد) Coefficient variability (%)

\*, \*\* و ns به ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال 5 و 1 درصد و غیر معنی‌دار

\*, \*\* and ns: Significant at 5 and 1% probability levels respectively and not significant.

نتایج نشان داد اثر تیمار رطوبتی و رقم در سطح احتمال یک درصد بر نشت یونی معنی‌دار بود (جدول 1). بیشترین میزان نشت یونی از تیمار 40 درصد نیاز آبی گیاه با مقدار 70/08 درصد حاصل شد (جدول 2). ساجدی و همکاران افزایش نشت یونی گلرنگ با افزایش تنش رطوبتی را گزارش دادند (15). بالاترین نشت یونی در ارقام مورد مطالعه مربوط به رقم پرنیان با مقدار 69/10 درصد بود (جدول 2). بر اساس نتایج این آزمایش تیمار رطوبتی و رقم بر صفت عملکرد دانه در سطح احتمال یک درصد تأثیر معنی‌داری داشت (جدول 1). بیشترین عملکرد دانه از تیمار رطوبتی 100 درصد نیاز آبی گیاه با مقدار 2330/77 کیلوگرم بر هکتار حاصل شد (جدول 1). همچنین بیشترین عملکرد دانه در رقم فرامان با مقدار 1592/46 کیلوگرم بر هکتار مشاهده شد (جدول 2). بر اساس گزارش نوروبی و کاظمینی با کاهش مقدار آبیاری از 75 به 50 درصد ظرفیت زراعی گلرنگ، عملکرد دانه به‌طور معنی‌داری (63 درصد) کاهش یافت (16).

جدول 2- مقایسه میانگین صفات اندازه‌گیری شده در تیمارهای تنش رطوبتی و رقم

Table 2- Mean comparison traits measured in water stress and cultivar treatments

عملکرد دانه (کیلوگرم بر هکتار) Grain yield (kg.h <sup>-1</sup> )	نشت یونی (درصد) electrolyte leakage (%)	دمای کانوپی (درجه سانتی‌گراد) Canopy temperature (°C)	محتوای نسبی آب (درصد) Relative water content (%)	تیمار Treatment
2330,77 <sup>a</sup>	60,42 <sup>c</sup>	29,84 <sup>b</sup>	82,06 <sup>a</sup>	تیمار رطوبتی 100 درصد نیاز آبی 100% plant water requirement
1340,45 <sup>b</sup>	66,37 <sup>b</sup>	31,33 <sup>ab</sup>	72,92 <sup>b</sup>	تیمار رطوبتی 60 درصد نیاز آبی 60% plant water requirement
765,19 <sup>c</sup>	70,08 <sup>a</sup>	32,32 <sup>a</sup>	64,93 <sup>c</sup>	تیمار رطوبتی 40 درصد نیاز آبی 40% plant water requirement
1592,64 <sup>a</sup>	61,72 <sup>c</sup>	29,23 <sup>b</sup>	75,62 <sup>a</sup>	Faraman فرامان
1476,52 <sup>ab</sup>	66,04 <sup>b</sup>	31,72 <sup>a</sup>	73,84 <sup>ab</sup>	Padideh پدیده
1367,25 <sup>b</sup>	69,10 <sup>a</sup>	32,53 <sup>a</sup>	70,46 <sup>b</sup>	Parnian پرنیان

میانگین‌های دارای یک حرف مشترک برای هر ستون میانگین، اختلاف معنی‌داری با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

Means followed by the same letters for each factor are not significantly different by the Duncan test at 5% probability level.

### نتیجه‌گیری

صفات محتوای نسبی آب برگ و نشت یونی می‌توانند به‌عنوان یک شاخص فیزیولوژیک مهم جهت انتخاب ارقام متحمل به تنش رطوبتی به‌کار روند. می‌توان نتیجه گرفت ارقامی که محتوای نسبی آب بالاتر و نشت یونی و دمای کانوپی پایین‌تری نسبت به سایر ارقام داشته باشند از عملکرد دانه بیشتری برخوردار خواهند بود. در این آزمایش رقم فرامان به‌دلیل داشتن عملکرد دانه بالاتر به‌عنوان یک رقم متحمل به تنش رطوبتی معرفی و جهت کاشت در مناطق کم آب پیشنهاد می‌گردد.

### منابع

1. Mohammadi, M., Ghassemi-Golezani, K., Zehtab-Salmasi, S. and Nasrollahzade, S., 2016. Assessment of some physiological traits in spring safflower (*Carthamus tinctorius* L.) cultivars under water stress. *International Journal Life Sciences*, 10, PP. 58-64.

2. **Fanaie, H. M., Keikha, H. and Piri, E., 2015.** Effect of seed priming on grain and oil yield of Safflower under irrigation deficit conditions. *Iranian Journal of Seed Science and Research*, 2 (2), pp. 49-59. (In Persian with English abstract).
3. **Bortolheiro, F.P.A.P. and Silva, M.A., 2017.** Physiological response and productivity of safflower lines under water deficit and rehydration. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 89(4), pp. 3051-3066.
4. **Prins, A.H. and Verkaar, H.J., 1992.** Defoliation: do physiological and morphological responses lead to (over) compensation in: Ayres, P.G. (Ed.), *Pests and Pathogens. Plant Responses to Foliar Attack*, Bios Scientific Publishers. Oxford, UK, pp. 13-21.
5. **Fleta-Soriano, E. and Munné-Bosch, S., 2016.** Stress memory and the inevitable effects of drought: a physiological perspective. *Frontiers in Plant Science*, 7, pp 1-6.
6. **Smart, R. E. and Bingham, G. E., 1974.** Rapid estimates of relative water content. *Plant Physiology*, 53, pp. 258-260.
7. **Balota, M., Payne, W.A., Evett, S.R. and Lazar, M.D., 2007.** Canopy temperature depression sampling to assess grain yield and genotypic differentiation in winter wheat. *Crop Science Journal*, 47, pp. 1518-1529.
8. **Carcova, J., Maddonni, G. A. and Ghera, C. M., 1998.** Crop water stress index of three maize hybrids grown in soils with different quality. *Field Crops Research*, 55, pp. 165-174.
9. **Gusta, L.V., Fowler, D. B. and Tyler, N.J., 1982.** Factors influencing hardening and survival in winter wheat. *Mechanisms and Crop Implications*, Vol.2 Academic Press, London.
10. **Singh, D.P., Singh, P., Kumar, A. and Sharma, H.C., 1985.** Transpiration Cooling as a screening technique for drought tolerance in oilseed Brassica. *Annals of Botany*, 56, pp. 815-820.
11. **Ghassemi-Golezani, K. and Afkhami, A., 2018.** Changes in some morpho-physiological traits of safflower in response to water deficit and nano-fertilizers. *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences*, 12 (3), pp. 391-398.
12. **Achhale, D., 2016.** Screening of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) Genotypes for drought tolerance. MSc dissertation. College of Agriculture, the Rajmata Vijayaraje Scindia Krishi Vishwa Vidyalaya, Gwalior, Indore (MP), pp. 75.
13. **Fanaei, H.R., Galavi, M., Kafi, M. and Ghanbari Bonjar, A., 2009.** Amelioration of water stress by potassium fertilizer in two oilseed species. *International Journal of Plant Production*, 3(2), pp. 41-45.
14. **Emam, Y., Shekoofa, A., Salehi, F. and Jalali, A.H., 2010.** Water stress effects on two common bean cultivars with contrasting growth habits. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences*, 9(5), pp. 495-499.
15. **Sajedi, N.A., Ferasat, M., Mirzakhani, M. and Mashhadi Akbar Boojar, M., 2012.** Impact of water deficit stress on biochemical characteristics of safflower cultivars. *Physiology Molecular Biology of Plants*, 18(4), pp. 323-329.
16. **Noroozi, M. and Kazemeini, S. A., 2013.** Effect of irrigation deficit and plant density on growth and seed yield of safflower. *Iranian Journal of Field Crops Research*, 10, pp. 781-788. (In Persian)

## Evaluation of physiological characteristics and yield of safflower cultivars in response to water stress

Pari Hasanvand<sup>1</sup>

\*Corresponding Author: PhD student of Agronomy, Department of Agriculture, Faculty of Agriculture, Birjand University

Parihasanvand168@gmail.com

Gholam Reza Zamani<sup>1</sup>

Associate Professor, Department of Agriculture, Faculty of Agriculture, Birjand University

## Ali Akbar Maghsoudi Moud<sup>2</sup>

Associate Professor, Department of Agriculture, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University

### Abstract

In order to evaluate the effect of water stress on some physiological traits and grain yield of safflower cultivars, an experiment was conducted as split-plot based on randomized complete block design with three replications at the experimental field Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar university of Kerman, Iran during 2019-2020. Experimental treatments included three irrigation levels (100, 60 and 40 % of full crop water requirement) in the main-plots and three safflower cultivars (Faraman, Padideh and Parnian) assigned to the sub-plots. The results showed that increasing the level of water stress caused decreased grain yield, relative water content and increased electrolyte leakage and canopy temperature significantly. Amounts of these traits were significantly different among genotypes. Meanwhile Highest values of grain yield and relative water content observed in the treatment of 100% of full crop water requirement with 2330.77 kg/ha and 82.06%, respectively. Also, the highest values of electrolyte leakage and canopy temperature observed in the treatment of 40% of full crop water requirement with values of 70.08% and 32.32°C, respectively. The results showed that among the cultivars studied, Faraman cultivar had the highest relative water content (75.62%) and grain yield (1592.64 kg/ha).

**Key words:** Water requirement, Ion leakage, Canopy temperature, Grain yield

## بررسی درون‌رایانه‌ای عوامل محیطی موثر در رونویسی ژن هیدروکسی متیل بوتانیل دی

### فسفات ردوکتاز *Dunaliella salina*

پریسا ظرافت دوست<sup>1\*</sup>، لایلا زرندی میان‌دوآب<sup>2</sup>، نادر چا‌پارزاده<sup>3</sup>

1- دانشجوی مقطع کارشناسی ارشد، رشته ی بیوشیمی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید مدنی

آذربایجان، تبریز، ایران (نویسنده مسئول)، [Parisa.z7697@gmail.com](mailto:Parisa.z7697@gmail.com)

2- استادیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران

3- استاد گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران

#### چکیده

زمانی که جلبک *Dunaliella salina* در معرض تنش یا شرایط محدود کننده رشد قرار می‌گیرد، بتاکاروتن را در گویچه‌های لیپیدی در استرومای کلروپلاست انباشته می‌کند و باعث تغییر رنگ جلبک از سبز به قرمز می‌شود. رنگ طبیعی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی بتاکاروتن باعث شده‌است تا کاربردهای متنوعی در صنایع پزشکی، داروسازی و صنعتی داشته باشد. ابزار تنظیم مسیر بیوسنتز بتاکاروتن در *D. salina* آنزیم‌های این مسیر است و مقدار بتاکاروتن تولیدی به فعالیت و مقدار این آنزیم‌ها بستگی دارد. یکی از آنزیم‌های مهم این مسیر، آنزیم 4-هیدروکسی-3-متیل بوت-2-انیل-2 دی فسفات ردوکتاز محصول ژن HDR می‌باشد. مقدار این آنزیم تابعی از سرعت رونویسی و به دنبال آن ترجمه می‌باشد. تنظیم سرعت رونویسی به فاکتورهای رونویسی بستگی دارد که هر کدام طی مسیر ترانسکریپشنی علامت خاصی فعال شده و قادر به نشستن روی ناحیه تنظیمی DNA پروموتور می‌شوند. در واقع عوامل محیطی با تحریک مسیرهای سیگنالینگ ویژه و از طریق TFها بر نحوه رونویسی از ژن HDR تاثیر می‌گذارند. در این پژوهش از دانش بیوانفورماتیک برای شناسایی و تجزیه و تحلیل درون‌رایانه‌ای عناصر تنظیمی ژن HDR در مسیر بیوسنتز بتاکاروتن در *D. salina*، بررسی و یافتن پروموتور این ژن و TFهای برهم‌کنش‌کننده با آن پروموتور و تاثیر عوامل محیطی بر بیان ژن HDR استفاده شد. نتایج پژوهش نشان داد که تنش‌های محیطی مانند شوری، دمای زیاد و خشکی به ترتیب بیشترین تاثیر را بر رونویسی ژن HDR دارند.

**واژگان کلیدی:** درون‌رایانه‌ای، تنظیم رونویسی ژن، بتاکاروتن، دونالیالسالینا، آنزیم 4-هیدروکسی-3-متیل بوت-2-انیل-2 دی فسفات ردوکتاز

#### مقدمه

جلبک‌های سرده *Dunaliella* به شاخه کلروفیتا، راسته کلایدومونادالز و خانواده دونالیالاسه تعلق دارند. گونه‌های *Dunaliella* تک سلولی، تاژکدار و ساکن اکوسیستم‌های متنوعی با شوری‌ها و اسیدیته مختلف در جای‌جای جهان هستند. *Dunaliella* دارای کلروپلاست فنجان‌ی شکل محتوی رنگدانه‌های کلروفیل *a* و *b*، کاروتنوئیدهایی چون آلفا و بتاکاروتن، ویولاگزانتین، نوگزانتین، زئاگزانتین و لوتیین می‌باشند.

در موجودات فتوسنتزکننده کاروتنوئیدها به عنوان ترکیبات ساختاری در تشکیل فتوسیستم‌ها، رنگدانه‌های کمکی جمع‌کننده نور، ابزار خاموش‌سازی غیرفتوشیمیایی و از بین برنده‌ی گونه‌های فعال اکسیژن عمل می‌کنند. کاروتنوئیدها خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارند

و این ویژگی موجب شده است تا کاربردهای مهم صنعتی داشته باشند. از این رو در صنایع غذایی، آرایشی و بهداشتی و تغذیه دام و طیور از کاروتنوئیدهایی مانند بتاکاروتن به صورت گسترده استفاده می‌شود (Combe et al., 2015).

کاروتنوئیدها باعث محافظت انسان در برابر بیماری‌هایی مانند انواع تومورها، سرطان‌های دستگاه گوارش، سرطان سینه، سرطان‌های پوست مانند ملانوما، سرطان‌های اپی‌درموئید سر و گردن و کارسینوماهای غدد ترشحی مانند پانکراس می‌شود. همچنین خواص آنتی‌اکسیدانی کاروتنوئیدها منجر به کاهش التهاب در بدن می‌شود. خواص ضد التهابی کاروتنوئیدها در واقع با بهبود سلامت قلب و عروق همراه است. تحقیقات نشان می‌دهد که این ویژگی‌های درمانی به قابلیت محافظت کاروتنوئیدها در برابر رادیکال‌های آزاد و اثر روی سیستم ایمنی مرتبط است.

زمانی که جلبک *Dunaliella salina* در معرض تنش یا شرایط محدودکننده رشد قرار می‌گیرد، بتاکاروتن را در گویچه‌های لیپیدی در استرومای کلروپلاست تولید و انباشته می‌کند که این پدیده منجر به تغییر رنگ جلبک از سبز به قرمز می‌شود. انباشتگی بتاکاروتن در *D. salina* در شرایط محیطی مختلف مانند دمای بالا، شوری بالا و محدودیت نیتروژن متفاوت است (Lamers et al., 2010).

در جلبک‌های سبز فقط مسیر پلاستییدی MEP پیش‌سازهای بیوستتز همه ایزوپرنوئیدها را فراهم می‌کند. ایزوپرنوئیدها یا ترپنوئیدها گروه بزرگی از متابولیت‌های ثانویه می‌باشند که شامل چندین ترکیب مهم اقتصادی و بیولوژیک مانند کاروتنوئیدها هستند. پیش ماده اولیه حاصل از فتوستتز شامل پیرووات و گلیسرآلدئیدسه‌فسفات طی مراحل متعدد آنزیمی در نهایت به کاروتنوئیدهایی شامل بتاکاروتن، آلفا کاروتن و لیکوپن تبدیل می‌شوند (Ramos et al., 2011).

ابزار تنظیم مسیر بیوستتز بتاکاروتن در *D. salina* آنزیم‌های این مسیر است و 18 آنزیم در این مسیر نقش دارد. مقدار بتاکاروتن تولیدی به فعالیت و مقدار این آنزیم‌ها بستگی دارد. مقدار یا محتوای آنزیم تابعی از سرعت رونویسی و به دنبال آن ترجمه می‌باشد و فعالیت آنزیم تابعی از تغییرات پس از ترجمه و شرایط بهینه لازم برای فعالیت آنزیم است. مقدار این آنزیم‌ها نیز به میزان رونویسی بستگی دارد. تنظیم سرعت رونویسی به نحوه اتصال RNA پلیمراز به منطقه پرموتری ژن مرتبط بوده که این امر خود، نتیجه تجمع پروتئین‌های قابل اتصال به DNA ناحیه cis در بالادست کدون شروع می‌باشد. فاکتورهای رونویسی<sup>28</sup> پروتئین‌های متنوعی هستند که هر کدام طی مسیر ترانسکریپشن علامت خاصی فعال شده و قادر به اتصال به DNA پرموتر می‌شوند. عوامل محیطی با تحریک مسیرهای سیگنالینگ ویژه و از طریق TFها بر نحوه رونویسی از ژن‌ها تاثیر می‌گذارند (Saibo et al., 2009).

یکی از آنزیم‌های مهم در بیوستتز بتاکاروتن در *D. salina*، آنزیم 4-هیدروکسی-3-متیل بوت-2-انیل-2-دی فسفات‌ردوکتاز می‌باشد. این آنزیم محصول ژن HDR می‌باشد که در کلروپلاست قرار دارد. آنزیم 4-هیدروکسی-3-متیل بوت-2-انیل-2-دی فسفات‌ردوکتاز، آنزیم کلیدی آخرین مرحله مسیر متیل اریتریتول فسفات (MEP) است که ایزوپنتنیل دی فسفات و دی متیل آلایل دی فسفات را سنتز می‌کند که برای تنظیم بیوستتز ایزوپرنوئید مهم است. این آنزیم یک پروتئین آهن-گوگرد است که شامل یک خوشه [3Fe-4S] یا یک خوشه [4Fe-4S] است.

خاموش شدن این ژن می‌تواند باعث کاهش کلروفیل و رنگدانه‌های کاروتنوئید مشتق شده از ایزوپرنوئید شود و بیان بیش از حد

<sup>27</sup> DNA binding protein

<sup>28</sup> Transcription factor

آن به افزایش تولید کاروتنوئید مشتق شده از ایزوپرنوئید و تولید بیش از حد تاکسادیین تا 13 برابر در آراییدوپسیس منجر می-شود (Hsieh et al., 2014). هدف این پژوهش بررسی تاثیر عوامل مختلف محیطی بر بیان ژن HDR از طریق فاکتورهای رونویسی می باشد.

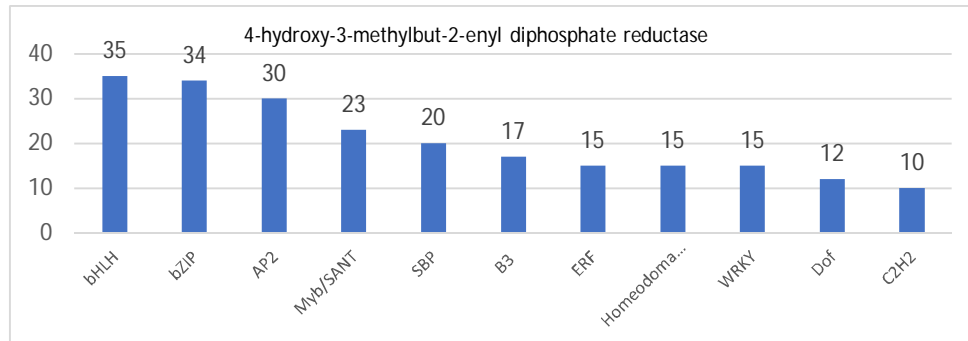
### مواد و روش ها

از دانش بیوانفورماتیک که یک دانش بین رشته ای جدید است، برای شناسایی و تجزیه و تحلیل درون رایانه ای عناصر تنظیمی ژن HDR در *D. salina* بررسی و یافتن پروموتور این ژن و فاکتورهای رونویسی برهم کنش کننده با آن پروموتور و تاثیر عوامل محیطی بر بیان این ژن استفاده شد. ابتدا از طریق پایگاه داده NCBI محدوده ژن HDR و نواحی تنظیمی بالادست آن را مشخص شد. با تعدادی از نرم افزارهای برخط قابل استفاده (پایگاه های داده <http://itak.feilab.net> و <http://plantfdb.gao-lab.org>) محل استقرار اجزاء کمپلکس رونویسی و محل اتصال فاکتورهای رونویسی مفروض را تعیین و سپس اطلاعات بدست آمده تجزیه و تحلیل گردید.

ارزیابی های آماری: برای ارزیابی های آماری، فراوانی مربوط به هر یک از فاکتورهای رونویسی متصل شونده به ژن HDR محاسبه و برای رسم نمودارها نیز از نرم افزار Excel استفاده شد.

### نتایج و بحث

بیوسنتز کاروتنوئیدها در *D. salina* در استرومای کلروپلاست این تاژکدار فتوسنتز کننده صورت می گیرد. با استفاده از پایگاه های داده، فاکتورهای رونویسی که به پروموتور ژن HDR متصل می شوند و همچنین فراوانی آنها بدست آمد که در نمودار شماره ۱ ارائه شده است.



نمودار ۱- فاکتورهای رونویسی موثر بر رونویسی ژن HDR

طی بررسی هریک از فاکتورهای رونویسی موثر در رونویسی ژن HDR که تحت تاثیر کدام تنش ها قرار می گیرند، اطلاعات بدست آمده نشان داد که شوری، دمای بالا، خشکی، سردی، تنش اکسیداتیو، استرس شبکه آندوپلاسمی، تنش اسمزی، دمای پایین، شرایط انجماد، فلزات سنگین، کمبود آهن، pH بالا و کمبود مواد مغذی از عمده ترین موارد می باشند. فراوانی تنش های شوری، دمای بالا، خشکی، سردی، شرایط انجماد، شرایط اسمزی و تنش اکسیداتیو



به ترتیب بیشترین تاثیر را بر رونویسی ژن HDR می‌گذارند. عواملی مانند استرس شبکه آندوپلاسمی، فلزات سنگین، کمبود آهن، pH بالا، دمای پایین و کمبود مواد مغذی تاثیر کمتری بر رونویسی این ژن می‌گذارند. به نظر می‌رسد *D. salina* تک سلولی مقاوم آب‌های شور و تحت تبخیر بالا با درک شرایط محیطی و به کارگیری روش‌های هوشمندانه و کاملاً هماهنگ در شرایط محیطی شور، نور بالا و دمای زیاد که مهم‌ترین عوامل محیطی زندگی *D. salina* هستند، فاکتورهای رونویسی متاثر از این عوامل محیطی را به سمت پروموتور آنزیم 4-هیدروکسی-3-متیل بوت-2-انیل-2 دی فسفات ردوکتاز گسیل می‌دارد تا با تشکیل کمپلکس‌های رونویسی ویژه میزان رونویسی از ژن HDR را افزایش داده و باعث افزایش تولید بتاکاروتن به عنوان یک مولکول محافظتی شود. با افزایش تولید بتاکاروتن رنگ جلبک از سبز به قرمز تغییر می‌یابد و این امر موجبات بقا و زندگی موفق این موجود کوچک در شرایط بسیار سخت محیطی و ادامه روند فتوسنتز را فراهم می‌سازد.

### نتیجه‌گیری

آنزیم 4-هیدروکسی-3-متیل بوت-2-انیل-2 دی فسفات ردوکتاز که محصول ژن HDR می‌باشد یکی از آنزیم‌های کلیدی در مسیر بیوسنتز بتاکاروتن در *D. salina* می‌باشد. فاکتورهای رونویسی متعددی مانند bHLH، AP2، ERF، و SBP بر رونویسی از ژن HDR اثر می‌گذارند و هر یک از این فاکتورهای رونویسی تحت کنترل تنش‌های شوری، دمای زیاد و خشکی به ترتیب بیشترین تاثیر را بر رونویسی ژن HDR و تولید آنزیم 4-هیدروکسی-3-متیل بوت-2-انیل-2 دی فسفات ردوکتاز دارند.

### منابع و مراجع مورد استفاده

- [1] COMBE, C., HARTMANN, P., RABOUILLE, S., TALEC, A., BERNARD, O. & SCIANDRA, A. 2015. Long-term adaptive response to high-frequency light signals in the unicellular photosynthetic eukaryote *Dunaliella salina*. *Biotechnology and Bioengineering*, 112, 1111-1121.
- [2] LAMERS, P. P., VAN DE LAAK, C. C., KAASENBROOD, P. S., LORIER, J., JANSSEN, M., DE VOS, R. C., BINO, R. J. & WIJFFELS, R. H. 2010. Carotenoid and fatty acid metabolism in light-stressed *Dunaliella salina*. *Biotechnology and bioengineering*, 106, 638-648.
- [3] RAMOS, A. A., POLLE, J., TRAN, D., CUSHMAN, J. C., JIN, E.-S. & VARELA, J. C. 2011. The unicellular green alga *Dunaliella salina* Teod. as a model for abiotic stress tolerance: genetic advances and future perspectives. *Algae*, 26, 3-20.
- [4] Saibo, N.J., Lourenço, T. and Oliveira, M.M., 2009. Transcription factors and regulation of photosynthetic and related metabolism under environmental stresses. *Annals of botany*, 103(4), pp.609-623.
- [5] Hsieh, W.Y., Sung, T.Y., Wang, H.T. and Hsieh, M.H., 2014. Functional evidence for the critical amino-terminal conserved domain and key amino acids of Arabidopsis 4-HYDROXY-3-METHYLBUT-2-ENYL DIPHOSPHATE REDUCTASE. *Plant physiology*, 166(1), pp.57-69.

## Computer investigation of environmental factors affecting *Dunaliella salina* hydroxy methyl butanyl diphosphate reductase gene transcription

Parisa Zaraf Dost<sup>1\*</sup>, Leila Zarandi Miandoab<sup>2</sup>, Nader Chaparzadeh<sup>3</sup>

1-Master's degree student, Biochemistry, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Shahid Madani University of Azerbaijan, Tabriz, Iran, [Parisa.z7697@gmail.com](mailto:Parisa.z7697@gmail.com)

2- Associated professor, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Shahid Madani University of Azerbaijan, Tabriz, Iran

3- Professor, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Shahid Madani University of Azerbaijan, Tabriz, Iran

## Abstract

When *Dunaliella salina* is exposed to stress or growth-limiting conditions, it produces and accumulates beta-carotene in the lipid vesicles in the chloroplast stroma, causing the color of the algae to change from green to red. The natural color and antioxidant properties of beta-carotene have made it have various applications in medicine, pharmacy and industry.

The means of regulating the beta-carotene biosynthesis pathway in *D. salina* are the enzymes of this pathway, and the amount of beta-carotene produced depends on the activity and amount of these enzymes. One of the important enzymes of this path is 4-hydroxy-3-methylbut-2-enyl-2-diphosphate reductase enzyme, the product of HDR gene. The amount of this enzyme is a function of the speed of transcription followed by translation. Regulation of transcription speed depends on transcription factors, each of which is activated during a specific signal transduction pathway and is able to sit on promoter DNA. In fact, environmental factors affect the transcription of the HDR gene by stimulating special signaling pathways and through TFs.

In this research, bioinformatics knowledge is used to identify and analyze the regulatory elements of the HDR gene in the path of beta-carotene biosynthesis in *D. salina*, investigate and find the promoter of this gene and TFs interacting with that promoter, and the effect of environmental factors on HDR gene expression. The results of the research show that environmental stresses such as salinity, high temperature and drought respectively have the greatest effect on HDR gene transcription.

**Keywords:** In-computer, regulation of gene transcription, beta-carotene, *dunaliella salina*, 4-hydroxy-3-methylbut-2-enyl-2-diphosphate reductase enzyme

## بررسی اثر جلبک *Sargassum ilicifolium* بر عملکرد گندم نان رقم چمران 2 در استان خوزستان

پگاه اسکندرپور خرمی<sup>1</sup>، اعظم سلیمی<sup>2\*</sup>، سید منصور سیدنژاد<sup>3</sup>، عبدالعلی گیلانی<sup>4</sup>  
1- دانشجوی کارشناسی ارشد زیست شناسی گیاهی گرایش فیزیولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه خوارزمی، کرج،  
ایران

2- \*دانشیار گروه آموزشی علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

[salimi@khu.ac.ir](mailto:salimi@khu.ac.ir)

3- استا گروه آموزشی زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه چمران اهواز، ایران

4- استادیار پژوهشی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خوزستان، اهواز، ایران

### چکیده

در حال حاضر دغدغه ی کشاورزان سطح جهان افزایش میزان تولید و عملکرد محصولات کشاورزیست تا بتواند پاسخگوی نیاز روزافزون جهانی باشد. راه حل ارائه شده استفاده از کود های شیمیایی بود که نتیجه ی مثبتی در بر داشت اما از طرفی دیگر سبب تخریب محیط زیست و آسیب به سلامت موجودات زنده شده است. بنابراین بهترین راه حل استفاده از کود های زیستی به عنوان مکمل کود های شیمیایی است تا بتوان میزان مصرف کود های شیمیایی را کاهش داد. در این مقاله درصدد استفاده از عصاره آبی جلبک *S. ilicifolium* با هدف بررسی تاثیر آن بر گندم نان *T. aestivum* رقم چمران 2 برآمدیم. پس از بررسی عملکرد در این گندم، مشاهده شد که غلظت 100% این عصاره تاثیر مثبتی بر عملکرد این گندم داشته و بنابراین میتواند به عنوان یک کود ارگانیک پیشنهاد مناسبی برای استفاده در کنار کود شیمیایی باشد.

واژگان کلیدی: گندم، چمران 2، جلبک، *Sargassum ilicifolium*، عملکرد

### مقدمه

گندم جز سه غله ی مهم بوده و بطور گسترده ای در مناطق مختلف آب و هوایی در سراسر جهان، از جمله ایران، کشت میشود(1). دلیل اهمیت گندم به عنوان یک ماده ی غذایی، گستردگی شیوه ی مصرف آن، از جمله نان، شیرینی، ماکارونی، پاستا، نودل و.. است که سبب شده بیشترین سهم تغذیه ای در سراسر جهان را برعهده بگیرد(2).

مهمترین مسئله ی حال حاضر جهان، افزایش روزافزون جمعیت و نیاز به منابع غذایی است. این در حالیست که مسئله ی کاهش سطح زیر کشت نیز مطرح است. کشاورزان، تاکنون با استفاده از کود های شیمیایی، توانسته اند عملکرد محصولات کشاورزی از جمله گندم را افزایش دهند که این به نوبه ی خود موفقیت بزرگی

محسوب میشد، تا اینکه افزایش غلظت این مواد در محیط در طی سال های متمادی، سبب بروز آلودگی خاک و آب های زیرزمینی و بروز مشکلات سلامتی در انسان و سایر موجودات زنده شده است. کود های شیمیایی غیر قابل جایگزینی و حذف کاملند ولی میتوان با استفاده از مواد ارگانیک، تحت عنوان کود های زیستی، میزان مصرف این کود ها را کاهش داده و در عین حال همان نتیجه و چه بسا، نتیجه ای مطلوب تر از قبل را دریافت کرد(3). در طی حدود پنجاه سال اخیر، محققان با هدف یافتن مواد ارگانیک مناسب برای استفاده به عنوان کود، به نتایجی همچون استفاده از انواع قارچ ها، باکتری ها و همچنین جلبک ها رسیدند(4).

جلبک ها گیاهانی آبی با کاربرد های بسیار متنوع از جمله در صنایع غذایی و دارو سازی و ... هستند. این گیاهان ترکیبات زیستی مهمی را می سازند. عصاره ی آنها با دارا بودن موادی مثل هورمون های رشد از قبیل اکسین و سیتوکینین، عناصر ضروری، ویتامین ها، اسید های آمینه آزاد، و پروتئین ها، تاثیر مثبتی در جوانه زنی، ریشه زایی، و عملکرد گیاهان کشاورزی دارند(۳،۵،۶،۷،۸).

در این مقاله تاثیر عصاره آبی جلبک قهوه ای *Sargassum ilicifolium* به صورت اسپری برگ، بر گندم نان *T.aestivum* واریته چمران 2 مورد بررسی قرار گرفته است. این رقم با شجره ی *Attola50y//Attila/bacanara* حاصل از برنامه ی به نژادی ملی غلات کشور بوده و از دو رگ گیری بین دو والد چمران (*Attila50y*) و لاین (*Attila/Bacanora*) در سال زراعی 76-1375 در کرج است و در حال حاضر در جنوب کشور کشت می شود(9).

## مواد و روش ها

### مشخصات جغرافیایی منطقه مورد مطالعه

این پروژه در مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خوزستان، ایستگاه تحقیقات کشاورزی شاورر، با موقعیت جغرافیایی 48 درجه و 27 دقیقه شرقی و 31 درجه و 50 دقیقه شمالی انجام گردید.

### جمع آوری جلبک

جلبک مورد استفاده در این پروژه جلبک قهوه ای *Sargassum ilicifolium* بوده که بطور گسترده ای در سواحل جنوبی کشور رشد میکند. این جلبک، از محل مرکز تحقیقات شیلاتی آبهای دور، واقع در منطقه چابهار، به صورت خشک، همراه با گواهینامه ی تایید گونه، صادره از همین مرکز، خریداری شد. جلبک ها از منطقه ساحلی چابهار، با مشخصات جغرافیایی 17 درجه و 25 دقیقه ی شمالی و 37 درجه و 60 دقیقه ی شرقی در طول تابستان 1400 جمع آوری شد.

### تهیه بذر گندم

بذر گندم رقم چمران 2 از محل مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خوزستان، خریداری شد.

## کاشت گندم

رقم چمران 2 تیپ بهاره بوده و به علت نوع آب و هوای منطقه، در پاییز کشت می شود. بنابراین کاشت در تاریخ اول دی ماه 1400، به شیوه ی گلدانی در سطل هایی با قطر 30 سانتی متر و گنجایش حدودی 20 کیلوگرم خاک انجام گردید. در هر گلدان 1 گرم بذر کاشته شد. به صورتیکه یک گلدان به عنوان شاهد یعنی با تیمار کود شیمیایی و غلظت صفر کود جلبکی، یک گلدان با تیمار کود شیمیایی و غلظت کود جلبکی 50% و یک گلدان هم با تیمار کود شیمیایی و غلظت کود جلبکی 100% در نظر گرفته شد. آزمایش با سه تکرار انجام شد.

## تهیه کود جلبکی

جلبک ها ابتدا با کمک دستگاه آسیاب خانگی، آسیاب شدند. پودر جلبک با کمک آب دیونیزه (1:10) به کمک حرارت زیر نقطه جوش (80درجه) به مدت 60 دقیقه عصاره گیری شد. عصاره حاصله به کمک صافی صاف شده و تفاله جلبک جدا شد. سپس عصاره سه مرتبه ی دیگر به کمک کاغذ صافی صاف گردید. عصاره حاصله به عنوان 100% در نظر گرفته شد (10). با کمک آب مقطر، رقت های (صفر) آب مقطر، 50% و 100% تهیه شد.

## استفاده از کود شیمیایی

باتوجه به ضرورت حضور کود شیمیایی و غیر قابل جایگزینی بودن آن و با هدف بررسی صرف تاثیر عصاره جلبکی، تغییری در میزان کود شیمیایی اعمال نشده و همان مقادیر معمول گفته شده توسط مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خوزستان، یعنی میزان 3 گرم کود پایه برای هر گلدان مصرف شد.

## تاریخ و نحوه ی برداشت و کود دهی

در تاریخ 30 دی 1400، در مرحله پنجه زنی (چهار برگی)، گلدان ها به سه دسته تقسیم و به ترتیب با کود های جلبکی صفر، 50% و 100%، به صورت اسپری برگی، تیمار شدند. در نهایت برای همه گلدانها، به صورت یکسان، کود دهی با کود شیمیایی انجام شد.

در تاریخ 19 اسفند 1400، در مرحله آغاز رشد زایشی که گندم ها تازه به سنبله رفته بودند، مجددا با کود جلبکی تیمار شدند.

در تاریخ 15 اردیبهشت 1401، در مرحله رسیدگی کامل، با هدف سنجش عملکرد، برداشت انجام شد.

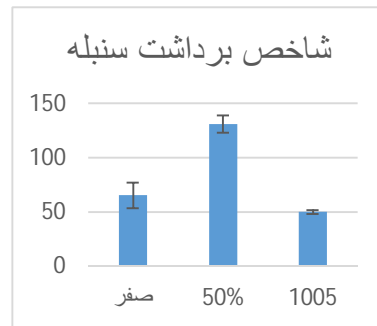
## اندازه گیری صفات عملکردی

وزن کل بوته، تعداد دانه در سنبله، وزن هزاردانه، شاخص برداشت سنبله، و شاخص برداشت کل اندازه گیری شد

## نتایج و بحث

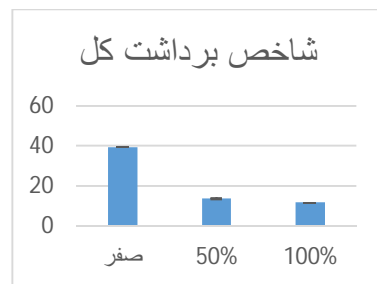
## وزن کل بوته





### شاخص برداشت کل

بیشترین میزان شاخص برداشت کل مربوط به غلظت صفر و کمترین آن مربوط به غلظت 100% است.



### نتیجه گیری

با توجه به تاثیر مثبت غلظت 100% عصاره جلبکی بر عملکرد گندم نان رقم چمران 2 میتوان این عصاره را به عنوان یک ترکیب ارگانیک برای افزایش عملکرد گندم پیشنهاد کرد.

### منابع و مراجع مورد استفاده

- 1-P.R.Shewry,2009. Wheat. Journal of Experimental Botany, 60(6), pp. 1537-1553.
- 2- Salma Latique, Mohamed Aymen Elouaer, Halima Chernane, Cherif Hannachi, Mimoun Elkaoua, 2014. Effect of Seaweed Liquid of *Sargassum vulgare* on Growth of Durum Wheat Seedling(*Triticum durum* L) under salt stress. International Journal of Innovation and Applied Studies, 7(4), pp. 1430-1435.
- 3- H.B. Papenfus, M.G. Kulkarni, W.A. Strik, J.F. Finnie, J. Van Staden,2013, Effect of a commercial seaweed extract (Kelpak) and Polyamines on nutrient-deprived (N,P and K) okra seedlings. Science Horticulturae; 151,pp.142-146.
- 4- Guangxu Zhao, Xiaoling Zhu, Gang Zheng, Guangfan Meng, Ziliang Dong , Ju Hye Baek , Che Ok Jeon , Yanlai Yao, Yuan Hu Xuan, Jie Zhang, Baolei Jia.2023. Development of biofertilizers for sustainable agriculture over four decades (1980–2022). Geography and sustainability.
- 5- V. Erulan, P. Soundarapandian, G. Thirumaran and G. Ananthan,2009. Studies on the Effect of *Sargassum polycystum* (C.Agardh, 1824) Extract on the Growth and Biochemical Composition of *Cajanus cajan* (L.) Mill sp. American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.; 6(4), pp. 392-399.
- 6- D.I. Sanchez-Machado, J. Lopez-Cervantes, J. Lopez-Hernández, P. Paseiro-Losada,2004. Fatty acids, total lipid, protein and ash contents of processed edible seaweeds. Food Chemistry; 85, pp.439-444.

- 7- Gireesh R, Haridevi CK, Salikutty Joseph, 2011. Effect of Ulva lactuca extract on growth and proximate composition of Vigna unguiculata L. Walp. Journal of Research in Biology; 8, pp. 624-630.
- 8- Kinga Matysiak, Sylwia Kaczmarek, Roman Krawczyk, 2011. Influence of Seaweed Extract and Mixture of Humic and Fulvic acid on Germination and Growth of Zea mays L. Scientiarum Polonorum; 10(1), pp. 33-45.
- 9- اسماعیل زاده مقدم، محسن 1396. گزارش معرفی لاین جدید گندم نان رقم سارنگ (S-91-15) مناسب کاشت برای اقلیم گرم و خشک جنوب کشور. کرج: موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر.
- 10- فاطمه شهبازیو 1392. تاثیر عصاره های جلبکی Nizimuddinia, Gracilaria, Ulva fasciata بر شاخص های رشد، بیوشیمیایی و فعالیت آنتی اکسیدانی گندم Triticum aestivum var, chamran. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه خوارزمی. تهران.

عنوان، چکیده و واژگان کلیدی مقاله به انگلیسی

## Investigating the effect of *Sargassum ilicifolium* algae on the yield of chamran 2 bread wheat in Khuzestan province

### Abstract

Currently, the concern of farmers worldwide is to increase the production and performance of agricultural products in order to meet the increasing global needs. The proposed solution was the use of chemical fertilizers, which had a positive result, but on the other hand, it has caused the destruction of the environment and damage to the health of living organisms. Therefore, the best solution is to use biofertilizers as a supplement to chemical fertilizers to reduce the consumption of chemical fertilizers. In this article, we tried to use the aqueous extract of *S. ilicifolium* algae with the aim of investigating its effect on *T. aestivum* bread wheat of Chamran variety 2. After examining the performance of this wheat, it was observed that the concentration of 100% of this extract had a positive effect on the performance of this wheat and therefore it can be a good suggestion as an organic fertilizer to be used along with chemical fertilizer.

Keywords (Times New Roman pt. 12 Bold): wheat, chamran2, algae, *Sargassum ilicifolium*, yield



## اثر سدیم نیتروپروساید بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی گیاه بادرنجبویه (*Melissa officinalis L.*) تحت تنش خشکی

بیوند رحمانی زاده<sup>1</sup>

1- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه مهندسی بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران

مهدی منصوری<sup>2\*</sup>

\*2- استادیار، گروه مهندسی بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران

m.mansouri@uk.ac.ir

شهرام پورسیدی<sup>2</sup>

3- دانشیار، گروه مهندسی بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران

سارا عابدینی<sup>3</sup>

4- دانش آموخته دکتری، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران

### چکیده

کاربرد تنظیم کننده‌های رشد مانند سدیم نیتروپروساید (SNP) به منظور کاهش اثرات منفی تنش خشکی به عنوان شایع‌ترین تنش محیطی، مورد توجه می‌باشد. به منظور بررسی اثر کاربرد SNP بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی گیاه دارویی بادرنجبویه تحت تنش خشکی، آزمایش با دو سطح تنش خشکی و 100 SNP میکرومولار طراحی و انجام شد. نتایج نشان داد کاربرد SNP موجب افزایش معنی‌دار رنگیزه‌های فتوسنتزی، ترکیبات فنلی و پرولین نسبت به شاهد و تیمارهای تنش خشکی بدون کاربرد SNP شد. نتایج به طور کلی نشان داد که کاربرد SNP در تنش خشکی موجب بهبود صفات فیزیولوژیکی و کاهش شدت تنش آبی می‌شود که به طور کلی نقش حفاظتی و تعدیل‌کنندگی SNP بر تنش خشکی با تاثیر مثبت بر شرایط تغذیه‌ای گیاه و تنظیم اسمزی را نشان می‌دهد.

واژگان کلیدی: بادرنجبویه، پرولین، تنش خشکی، سدیم نیتروپروساید.

### مقدمه

بادرنجبویه (*Melissa officinalis L.*) گیاه دارویی ارزشمند از تیره نعنائیان است که از عصاره آن در زمینه‌های مختلف پزشکی، داروسازی و صنایع غذایی استفاده می‌شود (1). تنش خشکی یکی از مخرب‌ترین تنش‌های محیطی است که رشد و عملکرد گیاهان را بیش از هر تنش محیطی دیگر کاهش می‌دهد (2). یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌های تحمل تنش خشکی پاسخ‌های فیزیولوژیکی گیاهان به تنش خشکی، از جمله افزایش ترکیبات فعال اسمزی مانند پرولین است. پرولین علاوه بر محافظت اسمزی گیاهان به طور مستقیم و یا غیر مستقیم با

ماکروملکولها برهم کنش دارند و به حفظ شکل و ساختار آنها کمک می‌کند (3). کاربرد برونزاد ملکولهای سیگنالیک مانند سدیم نیتروپروساید یک ابزار بالقوه برای بهبود سازگاری گیاه در شرایط تنش است (4). مطالعه-ای با بررسی تغییرات ناشی از کاربرد SNP در صفات فیزیولوژیک گیاه وتیور تحت خشکی نشان داد که کاربرد SNP اثرات منفی تنش خشکی را کاهش می‌دهد. در مطالعه‌ای دیگر محلول پاشی SNP (100 میکرومولار) باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های سیستم دفاعی گیاه شد (5). بنابراین مطالعه حاضر با هدف بررسی واکنش گیاه بادرنجبویه به اثر تعدیل کنندگی SNP در شرایط تنش خشکی انجام شد.

### مواد و روش‌ها

این آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی (CRD) در سه تکرار در گلخانه انجام شد. پنج تیمار آزمایش شامل شاهد (تحت آبیاری نرمال و بدون محلول پاشی SNP)، دو سطح تنش خشکی قطع آبیاری هشت و قطع آبیاری ده روزه و بدون محلول پاشی SNP و تیمارهای تحت تنش خشکی به همراه محلول پاشی SNP با غلظت 100 میکرومولار بودند. صفات مورد ارزیابی عبارت از کلروفیل a و b، کارتنوئید، فنل کل و پرولین بودند (6). داده‌های حاصل توسط نرم افزار SPSS مورد تجزیه تحلیل قرار گرفتند (تجزیه واریانس و مقایسه میانگین به روش دانکن).

### نتایج و بحث

تنش خشکی به طور معنی‌داری موجب کاهش میزان کلروفیل a، b، کلروفیل کل و میزان کارتنوئیدها نسبت به شاهد شد (جدول 1). از آنجایی که تنش موجب افزایش رادیکال‌های آزاد می‌شود و تخریب رنگیزه‌ها و تخریب کلروفیل و غشای کلروپلاست می‌شود، بنابراین افزایش رنگیزه‌ها موجب تقویت سیستم فتوسنتز گیاه می‌شود. افزایش مشاهده در میزان کلروفیل b در گیاهان تیمار شده با SNP مرتبط با نقش ROS در مهار افزایش پایداری کلروفیل در شرایط تنش و افزایش دسترسی به آهن از طریق تبدیل آکونیتاز (یکی از ترکیبات چرخه کربس) به IRP1 (پروتئین تنظیم کننده آهن) می‌باشد. پژوهش‌های پیشین نیز تاثیر مثبت SNP بر افزایش میزان کلروفیل و کارتنوئیدها در شرایط تنش نیز نشان داده‌اند (5).

اعمال تنش خشکی و کاربرد SNP هر دو باعث افزایش معنی‌دار محتوی فنل کل نسبت به شاهد شدند (جدول 1). ترکیبات فنلی نقش یک آنتی‌اکسیدان را بازی می‌کنند و با مهار ROS از تنش اکسیداتیو ممانعت می‌کنند (7). کایا و همکاران (2019) نیز با بررسی نقش احتمالی SNP در سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی ناشی از براسینوستروئید در گیاه نعنای فلفلی نیز به افزایش ترکیبات فنلی در گیاهان تیمار شده با SNP در شرایط تنش خشکی اشاره کردند (8).

بیشترین میزان پرولین به عنوان شاخص واکنش به تنش از برهمکنش تنش خشکی و SNP به دست آمد که به طور معنی‌داری از شاهد و تیمار تنش خشکی بدون کاربرد SNP بیشتر بود (جدول 1). پرولین علاوه بر نقش خود به عنوان یک تنظیم کننده اسمزی، در محافظت از ساختار آنزیم‌ها و پروتئین‌ها، به عنوان منبع کربن و نیتروژن برای رشد پس از اعمال تنش، کاهش دهنده اثرات مضر ROS و از بین برنده رادیکال‌های هیدروکسیل،

تنظیم نسبت  $NADP^+/NADPH$  و اتصال به غشای فسفولیپیدی و تغییر لایه هیدراته اطراف ملکول‌های زیستی و محافظت و تثبیت غشاها نقش دارد (9). نتایج مشابهی توسط قدکچیاصل و همکاران (2017) برای گیاه *Rubus idaeus* در معرض تنش شوری و تن و همکاران (2008) در نهال‌های گندم تحت تنش اسمزی نیز گزارش شده است (5).

جدول 1- مقایسات میانگین تأثیر SNP بر صفات اندازه‌گیری شده در گیاه بادرنجبویه تحت تنش خشکی

(μmol g <sup>-1</sup> F.W.)					تیمار
پرولین	فنل کل	کارتونید	کلروفیل b	کلروفیل a	
27/0±0/02 <sup>d</sup>	21/0±0/8 <sup>c</sup>	2/0±7/3 <sup>bc</sup>	5/0±0/3 <sup>a</sup>	15/0±1/1 <sup>b</sup>	شاهد
38/0±1/04 <sup>c</sup>	30/1±6/6 <sup>d</sup>	2/0±1/1 <sup>c</sup>	4/0±1/1 <sup>b</sup>	14/0±3/2 <sup>c</sup>	خشکی متوسط
49/0±0/02 <sup>b</sup>	35/0±1/7 <sup>c</sup>	1/0±1/0 <sup>d</sup>	3/0±1/2 <sup>c</sup>	12/0±1/2 <sup>d</sup>	خشکی شدید
62/0±2/01 <sup>a</sup>	42/2±4/4 <sup>b</sup>	3/0±3/2 <sup>b</sup>	4/0±5/2 <sup>b</sup>	16/0±1/0 <sup>a</sup>	خشکی متوسط و SNP
55/0±5/01 <sup>ab</sup>	46/0±9/9 <sup>a</sup>	4/0±6/2 <sup>a</sup>	3/0±4/2 <sup>c</sup>	13/0±0/2 <sup>d</sup>	خشکی شدید و SNP

داده‌های ارائه شده مقادیر میانگین ± انحراف معیار هستند (n=3) و بر اساس آزمون دانکن، میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال 5 درصد ندارند.

#### نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که تنش خشکی ضمن کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی گیاه بادرنجبویه موجب افزایش فنل کل و پرولین شد. کاربرد SNP با تنظیم استرس اکسیداتیو و تغییر و حفاظت سیستم‌های دفاعی اکسیداتیو تحمل گیاه به تنش خشکی را بهبود می‌بخشد. آزمایش‌های بیشتر امکان تعیین میزان مناسب این ترکیب را برای بهبود صفات مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در گیاهان تحت تنش‌های مختلف فراهم می‌کند که می‌تواند از نظر زراعی مفید باشد.

#### منابع و مراجع مورد استفاده

- 1) Safari, F., Akramian, M., Salehi-Arjmand, H. and Ghorbanpour, M., 2023. Nitric oxide-induced physiochemical alterations and gene expression in lemon balm (*Melissa officinalis* L.) under water deficit stress. *Journal of Plant Growth Regulation*, 42(9), pp.5438-5451.
- 2) Neill, S., Barros, R., Bright, J., Desikan, R., Hancock, J., Harrison, J., Morris, P., Ribeiro, D. and Wilson, I., 2008. Nitric oxide, stomatal closure, and abiotic stress. *Journal of experimental botany*, 59(2), pp.165-176.
- 3) Saini, S., Sharma, P., Singh, P., Kumar, V., Yadav, P. and Sharma, A., 2023. Nitric oxide: An emerging warrior of plant physiology under abiotic stress. *Nitric Oxide*.
- 4) Simea, □., Ielciu, I., Hanganu, D., Niculae, M., Pall, E., Burtescu, R.F., Olah, N.K., Cenariu, M., Oniga, I., Benedec, D. and Duda, M., 2023. Evaluation of the Cytotoxic, Antioxidative and Antimicrobial Effects of *Dracocephalum moldavica* L. Cultivars. *Molecules*, 28(4), p.1604.
- 5) Safari, M., Arghavani, M., Kheiry, A. and Ghorbanpour, M., 2023. Sodium nitroprusside-induced changes in physiological traits and essential oil ingredients in vetiver grass (*Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberty) under water deficit stress. *Journal of Plant Growth Regulation*, 42(10), pp.5991-6004.

- 6) Danaee, E. and Abdossi, V., 2022. The effects of drought stress and sodium nitroprusside on growth indices and enzymatic activity of *Satureja hortensis*. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)*, 35(2), pp.326-341.
- 7) Safari, F., Akramian, M. and Salehi-Arjmand, H., 2020. Physiochemical and molecular responses of salt-stressed lemon balm (*Melissa officinalis* L.) to exogenous protectants. *Acta physiologiae plantarum*, 42, pp.1-10.
- 8) Kazempour, A., Sharghi, Y., Modarres Sanavi, S.A.M. and Zahedi, H., 2023. Effect of amino acid foliar application on morphophysiological characteristics and thyme essential oil under different irrigation regimes. *Journal of Plant Process and Function*, 12(53), pp.71-90.
- 9) Zhou, Q., Tian, Y., Li, X., Wu, Z., Wang, X. and Dong, S., 2023. SNP application improves drought tolerance in soybean. *Scientific Reports*, 13(1), p.10911.

## Effect of sodium nitroprusside on some physiological characteristics of Lemon Balm (*Melissa officinalis* L.) under drought stress

Peyvand Rahmanizadeh<sup>1</sup>

<sup>1</sup>MSc student, Biotechnology Department, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

Mehdi Mansouri \*<sup>2</sup>

<sup>2\*</sup>Assistant professor, Biotechnology Department, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

[m.mansouri@uk.ac.ir](mailto:m.mansouri@uk.ac.ir)

Shahram Pourseyedi<sup>2</sup>

<sup>2</sup>Associate professor, Biotechnology Department, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

Sara Abedini<sup>3</sup>

<sup>3</sup>Ph.D. Student, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

### Abstract

As a novel antioxidant and growth regulators, sodium nitroprusside (SNP) can be used to mitigate the adverse effects of various abiotic stresses, especially drought stress, which is known as the most common environmental stress. Therefore, the aim of this investigation was to study the impact of SNP (100 mM) on several physiological characteristics of Lemon Balm (*Melissa officinalis* L.) under two levels of drought stress. The results showed that the application of SNP significantly increased photosynthetic pigments, total phenol, and proline content compared to control and drought-stressed plants. Overall, the results demonstrated that the exogenous application of SNP improved the physiological traits and mitigated the intensity of drought stress, indicating the protective and modulating role of SNP on drought stress with a positive effect on plant nutritional conditions and osmotic regulation.

**Keywords:** Lemon balm, Proline, Drought stress, Sodium Nitroprusside.

## اثر سدیم نیتروپروکساید بر بیان ژن تیروزین آمینوترانسفراز در گیاه بادرنجبویه تحت تنش

### خشکی

پیوند رحمانی زاده<sup>1</sup>

1- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه مهندسی بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران

مهدی منصوری<sup>2\*</sup>

2\* - استادیار، گروه مهندسی بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران

m.mansouri@uk.ac.ir

شهرام پورسیدی<sup>2</sup>

3- دانشیار، گروه مهندسی بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران

### چکیده

گیاه بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) یکی از گیاهان دارویی ارزشمند با کاربردهای دارویی و درمانی بسیار است. در پژوهش حاضر، تغییرات ناشی از تنش خشکی و کاربرد سدیم نیتروپروکساید (SNP)، به عنوان تولید کننده نیتریک اکساید (NO)، در بیان ژن آنزیم تیروزین آمینوترانسفراز (TAT) در گیاه بادرنجبویه مورد بررسی قرار گرفت. این آزمایش با دو سطح تنش خشکی (متوسط و شدید) و نیتروپروکساید 100 میکرومولار و در شرایط گلخانه‌ای انجام شد. نتایج نشان داد که بیان ژن مورد نظر در تمامی تیمارها نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری داشت. بیشترین بیان ژن مربوط به تنش خشکی شدید همراه با کاربرد SNP بود. بنابراین به نظر می‌رسد که SNP می‌تواند ضمن کاهش اثرات نامطلوب تنش خشکی موجب افزایش بیان ژن‌های دخیل در مسیر بیوسنتزی رزمارینیک اسید در گیاه بادرنجبویه شود.

واژگان کلیدی: تنش خشکی، نیتروپروکساید سدیم، بادرنجبویه، تیروزین آمینوترانسفراز

### مقدمه

گیاه بادرنجبویه با نام علمی *Melissa officinalis* L. از خانواده نعنائیان (Lamiaceae) می‌باشد. این گیاه از نواحی غربی و مرکزی ایران تا غرب اروپا پراکنش جغرافیایی دارد (1). از جمله خواص این گیاه میتوان به فعالیت‌های ضد ویروس، ضد حساسیت، ضد رماتیسم، ضد میکروب و ضد توموری آن اشاره کرد که بیشترین خاصیت درمانی این گیاه به وجود ماده رزمارینیک اسید نسبت داده می‌شود (2). این ماده جزء ترکیبات فنولی می‌باشد که حدود 10 برابر ویتامین‌های A و E خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارد. این ماده در گیاه از طریق مسیر بیوسنتزی فنیل پروپانوئید و تیروزین تولید می‌شود و در واقع یک استر از کافئیک اسید و 3، 4-دی هیدروفنیل لاکتیک اسید است. بطور کلی اسید آمینه تیروزین و فنیل آلانین سوبستراهای مسیر اصلی تولید رزمارینیک اسید هستند

که توسط آنزیمهای تیروزین آمینوترانسفراز (*TAT*) و فنیل آلانین آمینو لیاز (*PAL*) کاتالیز میشوند (3). تنش‌های غیر زیستی تهدید کننده رشد و نمو گیاهان و تاثیر گذار بر عملکرد گیاهان زراعی می‌باشند. یکی از مهم‌ترین عوامل محدود کننده عملکرد گیاهان در بسیاری از مناطق خشک و نیمه خشک جهان تنش خشکی است. نیتروپروساید سدیم SNP ترکیب آزاد کننده اکسیدنیتریک (*NO*) است که نقش‌های متعددی در رشد و توسعه گیاهان بر عهده دارد (4). اکسیدنیتریک یکی از مولکولهای فعال زیستی است که در بسیاری از کارکردهای سلولی در گیاه از رشد ریشه تا پاسخ‌های سازشی به تنش‌های زیستی و غیر زیستی نقش تنظیم کننده دارد (5). تاکنون تحقیقات مختلفی در زمینه استفاده از SNP در خصوص کاهش اثر تنش خشکی در گیاهان مختلف از جمله گیاه برگ بیدی و لوبیا انجام شده است (6). در پژوهشی اثر الیستورهای عصاره مخمر و مس به صورت سولفات بر میزان تولید رزمارینیک اسید گیاهان سی روزه بادرنجبویه به مدت‌های 4، 8 و 16 ساعت اعمال شد. محققان گزارش کردند که اثر عصاره مخمر بر میزان تولید رزمارینیک اسید اثر مثبت و معنی دار دارد. همچنین میزان رزمارینیک اسید نیز تحت تاثیر تیمار مس نیز افزایش معنی دار نشان داد (7). در مطالعه‌ای که به منظور اثر تنش گرمای 38 درجه سانتی‌گراد به مدت 5 ساعت بر روی میزان تولید رزمارینیک اسید در گیاه دارویی بادرنجبویه انجام شد، مشخص شد که تحت تنش گرمایی میزان رزمارینیک اسید به طور معنی داری نسبت به شاهد افزایش داشت (8). بنابراین مطالعه حاضر با هدف بررسی تغییرات بیان ژن *TAT* در واکنش گیاه بادرنجبویه به اثر تعدیل کننده SNP در شرایط تنش خشکی انجام شد.

## مواد و روش‌ها

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی **CRD** با سه تکرار در گلخانه دانشگاه شهید باهنر کرمان انجام شد. پنج تیمار آزمایش شامل کنترل (تحت آبیاری نرمال و بدون محلول پاشی **SNP**)، دو سطح تنش خشکی متوسط و شدید و بدون محلول پاشی **SNP** و تیمارهای تحت تنش خشکی متوسط و شدید به همراه محلول پاشی **SNP** با غلظت 100 میکرومولار بودند. پس از اعمال تیمارها، نمونه‌گیری از برگ گیاه انجام شد. به منظور بررسی بیان ژن استخراج **RNA** کل با استفاده از کیت شرکت دنا زیست آسیا و مطابق دستورالعمل کیت انجام شد. 2 میکروگرم از **RNA** استخراج شده طبق دستورالعمل شرکت سازنده تحت تیمار داکسی ریبونوکلاز **(DNase I)** (شرکت سیناکلون، تهران) قرار گرفت. مراحل ساخت **cdNA** و تکثیر ژن با استفاده از کیت‌های شرکت پارس توس مطابق دستورالعمل کیت انجام شد. داده‌های حاصل توسط نرم افزار **REST** مورد تجزیه تحلیل قرار گرفتند و رسم نمودار توسط نرم افزار **Excel** انجام شد.

## نتایج و بحث

کمیت و کیفیت **RNA** استخراج شده با استفاده از روش اسپکتروفوتومتر (مدل **NanoDrop One C**, ThermoScientific) و با تفکیک باندهای **rRNA** بر روی ژل آگارز یک درصد بررسی شد. تنش خشکی به طور معنی داری موجب افزایش بیان ژن مورد نظر شد. نتایج این تحقیق نشان داد، تحت شرایط تنش خشکی بیان ژن *TAT* افزایش معنی داری نسبت به گیاهان کنترل می‌یابد که این افزایش بیان با میزان تنش رابطه مستقیمی دارد. همچنین مشخص شد که تیمار گیاهان بادرنجبویه با محلول **SNP** 100

میکرومولار، علاوه بر اثرات مثبت بر تحمل تنش با عث افزایش بیان بیشتر ژن مذکور در شرایط تنش خشکی می شود. بیشترین افزایش بیان ژن *TAT* در گیاهان تحت تیمار توام خشکی شدید و SNP 100 میکرومولار مشاهده شد. نریمانی و همکاران (1396) گزارش کردند که کاربرد SNP با غلظت 25 میکرومولار در کشت درون شیشه‌ای نوشاخه‌های پونه‌سا بی کرک باعث افزایش 37/7 درصدی میزان تولید رزمارینیک اسید شد (9). افزایش بیان ژنهای رزمارینیک اسید سینتاز و فنیل آلانین آمونیلایز و همچنین افزایش تولید رزمارینیک اسید در پاسخ به تنش شوری و خشکی در گیاه بادرنجبویه گزارش شده است (10).

با توجه به تاثیر مثبت استفاده از SNP در تعدیل اثرات مخرب تنش ها در گیاهان و همچنین نقش آن در افزایش میزان رزمارینیک اسید در تحقیقات قبلی، نتایج این تحقیق اثر هم‌افزایی تنش خشکی و SNP در افزایش بیان ژن *TAT* و احتمالاً افزایش میزان رزمارینیک اسید را نشان داد.

### نتیجه گیری

نتایج نشان داد که تنش خشکی باعث افزایش بیان ژن *TAT* می شود که احتمالاً منجر به افزایش تولید رزمارینیک اسید در گیاه می شود. همچنین SNP با تنظیم استرس اکسیداتیو و تغییر سیستم‌های دفاع آنتی اکسیدانی گیاهان را در برابر اثرات تنش محافظت می کند و تحمل گیاه به تنش خشکی را در شرایط تنش بهبود می بخشد. آزمایشهای بیشتر امکان تعیین میزان مناسب این ترکیب را برای بهبود صفات مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در گیاهان تحت تنش‌های مختلف فراهم می کند که می تواند از نظر زراعی و تولید متابولیت‌های ثانویه ارزشمند، مفید باشد.

### منابع و مراجع مورد استفاده

- 1) Salar, E., Khavari-Nejad, R.A., Mandoulakani, B.A. and Najafi, F., 2021. Effects of TiO<sub>2</sub> Nanoparticles on Activity of Antioxidant Enzymes, the Expression of Genes Involved in Rosmarinic Acid Biosynthesis and Rosmarinic Acid Content in *Dracocephalum kotschyi* Boiss. *Russian Journal of Plant Physiology*, 68, pp.118-125.
- 2) Capecka, E., Mareczek, A., and Leja, M., 2005. Antioxidant activity of fresh and dry herbs of some Lamiaceae species. *Food chemistry*, 93(2), pp.223-226.
- 3) Petersen, M., and Simmonds, M. S., 2003. Rosmarinic acid. *Phytochemistry*, 62(2), pp.121-125.
- 4) Lau, S. E., Hamdan, M. F., Pua, T. L., Saidi, N. B., and Tan, B. C., 2021. Plant nitric oxide signaling under drought stress. *Plants*, 10(2), pp.360.
- 5) Liu, X., Wang, L., Liu, L., Guo, Y., and Ren, H., 2011. Alleviating effect of exogenous nitric oxide in cucumber seedling against chilling stress. *African Journal of Biotechnology*, 10(21), pp.4380-4386.
- 6) García-Mata, C., and Lamattina, L., 2010. Hydrogen sulphide, a novel gasotransmitter involved in guard cell signalling. *New phytologist*, 188(4), pp.977-984.
- 7) Park, W.T., Arasu, M.V., Al-Dhabi, N.A., Yeo, S.K., Jeon, J., Park, J.S., Lee, S.Y. and Park, S.U., 2016. Yeast extract and silver nitrate induce the expression of phenylpropanoid biosynthetic genes and induce the accumulation of rosmarinic acid in *Agastache rugosa* cell culture. *Molecules*, 21(4), p.426.

- 8) Pistelli, L., Tonelli, M., Pellegrini, E., Cotrozzi, L., Pucciariello, C., Trivellini, A., and Nali, C., 2019. Accumulation of rosmarinic acid and behaviour of ROS processing systems in *Melissa officinalis* L. under heat stress. *Industrial Crops and Products*, 138, pp.111469.
- 9) Narimani, R., Moghaddam, M., Hemati, N. and Mojarab, S., 2017. Effect of abiotic elicitor sodium nitroprusside (SNP) on production of rosmarinic acid in shoot regeneration of Catmint Hairless (*Nepeta nuda* L.). *Journal of Medicinal Plants Biotechnology*, 3(1), pp.1-8.
- 10) Dehghani, M. and Dahajipour Heidarabadi, M., 2022. Comparison of physiological and molecular responses of *Melissa officinalis* L. to osmotic stress imposed by drought and salinity with iso-osmotic potential in hydroponic culture. *Journal of Plant Process and Function*, 11(50), pp.91-104.

## The effect of Sodium nitroprusside on tyrosine aminotransferase gene expression in lemon balm under drought stress

Peyvand Rahmanizadeh<sup>1</sup>

<sup>1</sup>MSc student, Biotechnology Department, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

Mehdi Mansouri <sup>\*2</sup>

<sup>2\*</sup> Assistant professor, Biotechnology Department, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

[m.mansouri@uk.ac.ir](mailto:m.mansouri@uk.ac.ir)

Shahram Pourseyedi<sup>2</sup>

<sup>2</sup>Associate professor, Biotechnology Department, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

### Abstract

Lemon balm (*Melissa officinalis* L.) is one of the valuable medicinal plants that have many medicinal and therapeutic applications. In the current study, we investigated the expression of the *TAT* gene in lemon balm plants under drought stress and exogenous application of sodium nitroprusside (SNP). The experiment was conducted with two levels of drought stress (moderate and severe) and 100  $\mu$ M SNP in greenhouse conditions. The results showed that there was a significant upregulation of *TAT* gene in all treatments compared to the control. The highest expression of *TAT* gene was observed in plants treated with severe drought stress and SNP treatment. Therefore, it seems that SNP can increase the expression of genes involved in the rosmarinic acid biosynthesis pathway in the lemon balm plant, while reducing the adverse effects of drought stress.

**Keywords:** Drought stress, Lemon balm, Tyrosine aminotransferase, Sodium nitroperoxide.



## الگوی بیان ژن های NRAMP و APX و قابلیت گیاه پالایی گیاه *L.perenne* در خاک آلوده به کادمیوم

ثنا رزوقی بستک<sup>1\*</sup>، حمیدرضا کاوسی<sup>2</sup>، مهدی منصوری بابهنکی<sup>2</sup>، مهدی سرچشمه پور<sup>2</sup>

<sup>1</sup>\* نویسنده مسئول: کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان

sanarazooghi@agr.uk.ac.ir

<sup>2</sup>- دانشیار، هیئت علمی دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان

### چکیده

موضوع آلودگی خاک توسط مواد شیمیایی باعث افزایش نگرانی هائی در مورد محیط زیست شده است. در میان آنها، فلزات سنگین نیز به دلیل عدم تجزیه پذیری و اثرات فیزیولوژیکی آنها بر موجودات زنده حتی در غلظت های کم اهمیت دارند. محققان روش جدیدی را با استفاده از پتانسیل گیاهان برای رفع آلودگی خاک و حفظ این سرمایه ملی ابداع کرده اند. روش گیاه پالایی از نظر اقتصادی مقرون به صرفه، دوستدار محیط زیست و رویکردی مناسب از نظر زیبا شناختی است. در این تحقیق پتانسیل گیاه پالایی گیاه *Lolium perenne* برای اصلاح خاک های آلوده به کادمیوم مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور، میزان تجمع کادمیوم در بافت ریشه و اندام هوایی، شاخص های فاکتور انتقال (TF) و تجمع زیستی (BAF) و الگوی بیان ژن های APX و NRAMP مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نتایج نشان داد که میزان تجمع کادمیوم در ریشه به مراتب بیشتر از اندام هوایی بود و  $TF < 1$  نیز نشان دهنده انتقال کمتر کادمیوم به اندام هوایی بود. همچنین میزان بیان هر دو ژن مورد بررسی تحت تاثیر کادمیوم در هر دو بافت نسبت به شاهد افزایش یافت. هر چند میزان بیان در بافت ریشه نسبت به اندام هوایی به مراتب بیشتر بود. به طور خلاصه، نتایج ما نشان داد که گیاه *Lolium perenne* احتمالاً با استفاده از فعال سازی مکانیسم دفاعی آنتی اکسیدانی و کلات کردن و جایگذاری سلولی یون ها تحمل به غلظت های مختلف کادمیوم آزمایش شده را نشان می دهد و دارای پتانسیل بالایی برای استخراج گیاهی کادمیوم و تثبیت گیاهی در خاک های آلوده به کادمیوم است.

واژگان کلیدی: پالایش زیستی، فلزات سنگین، بیان ژن، فیزیولوژی، مولکولی

### مقدمه

خاک بستری است که بقاء میلیون ها انسان به آن وابسته است و یکی از مهمترین اجزاء محیط زیست محسوب می شود. با توجه به محدود بودن منابع خاک، آلودگی آن یکی از مهمترین معضلات زیست محیطی در همه کشورها محسوب می شود (Munzel et al, 2023). طبق تعریف آلودگی خاک به حضور یک عنصر یا ماده شیمیایی در خارج از مکان و یا وجود آن در غلظتی بالاتر از حد معمولی که اثرات مخربی بر موجودات زنده غیرهدف دارد اطلاق می شود (Rodríguez-Eugenio et al., 2018). موضوع آلودگی خاک با مواد شیمیایی زائد باعث افزایش نگرانی های زیادی در مورد محیط زیست شده است. در چند دهه اخیر، آلودگی خاک با فلزات سنگین به دلیل پایداری طولانی مدت فلزات سنگین در خاک، غیر قابل تجزیه بودن و تاثیرات زیان آور

آن‌ها بر سیستم‌های زنده مختلف تبدیل به یک بحران زیست محیطی حاد در سطح دنیا شده است (Cui et al 2021). آلودگی خاک با فلزات سنگین از طریق فرسایش طبیعی سنگها و فعالیتهای بشری از قبیل احتراق سوخت‌های فسیلی، انواع فعالیت‌های صنعتی، تصفیه سنگ‌های حاوی فلز، دفع کنترل‌شده و کنترل‌نشده انواع پساب‌ها، استفاده از انواع کودهای شیمیایی، لجن فاضلاب، حشره کش‌ها، آفت‌کش‌ها و کمپوست زباله شهری اتفاق می‌افتد (Zhang et al, 2023). فلزات سنگین عموماً به فلزاتی اطلاق می‌شود که دارای چگالی بالاتر از 5 گرم بر سانتی‌متر مکعب باشد، یا به عبارتی دیگر فلزاتی که عدد اتمی آن‌ها بالای 20 باشد در گروه فلزات سنگین قرار می‌گیرد (Adreano, 1986; B. J. Alloway, 2012). ورود فلزات سنگین به گیاه با بروز نشانه‌های سمیت از جمله کاهش رشد، مهار فتوسنتز، القا و مهار آنزیم‌ها، تغییر عملکرد روزنه، خروج کاتیون‌ها و ایجاد رادیکال‌های آزاد همراه است (Li et al., 2014).

ایجاد رادیکال‌های آزاد و تنش اکسیداتیو به عنوان یک اثر مهم اولیه قرارگرفتن در معرض غلظت‌های فلزات سنگین در نظر گرفته می‌شود. تولید ترکیبات ROS عامل اصلی بروز تنش اکسیداتیو می‌باشد. گیاهان در برابر این تنش‌ها از سازوکارهای تحمل استفاده می‌کنند که شامل دفاع آنتی‌اکسیداتیو آنزیمی و غیر آنزیمی می‌باشد (Hui et al., 2020). همچنین کلاته کردن فلزات با انواع لیگاندها و جایگذاری داخل سلولی یا انتقال آنها، یک ساز و کار مهم دیگر به وسیله گیاهان برای سمیت زدایی فلزات در بافت‌های گیاهی است (Cobbet 2000). هنگامی که فلزات وارد سیتوزول سلول‌های گیاه می‌شوند، انواع لیگاندهای آلی و معدنی نظیر قیتوکلاتینها، متالوتیونینها، ارگانیک اسیدها و اسیدهای آمینه به آنها متصل شده، غلظت یونهای فلزی آزاد را کاهش داده و مکان‌های فعال متابولیکی سلول را از اثرات سمی فلزات محافظت می‌نمایند (Clemens, 2001; Cobbett, 2000). گیاهان برای انجام بسیاری از کارکردهای ضروری از جذب فلز گرفته تا جایگذاری داخل سلولی و ذخیره سازی فلزات به ناقل‌های فلزی نیاز دارند.

کادمیوم (Cd) یکی از سمی‌ترین فلزات سنگین است که تهدید جدی برای سلامت انسان و کیفیت محیط زیست ایجاد می‌کند. کادمیوم می‌تواند از منابع طبیعی و انسانی مختلفی مانند معدن، ذوب، کود، سموم و زباله‌های صنعتی وارد سیستم‌های خاک و آب شود و با تجمع در زنجیره غذایی، اثرات مخربی بر روی گیاهان، حیوانات و انسان‌ها داشته باشد. در غلظت‌های کم نیز می‌تواند سمیت ایجاد کند. کادمیوم در غلظت‌های سمی باعث کلروز، ممانعت رشد، قهوه‌ای شدن نوک ریشه، کاهش جذب نیترات، تغییر نفوذپذیری غشا پلاسمایی، کاهش محتوای آب در گیاهان می‌گردد (Chi et al., 2019).

روشهای پالایش خاکهای آلوده به فلزات سنگین شامل روشهای فیزیکی و شیمیایی مانند شستشوی شیمیایی فلزات، خاکبرداری، استخراج و یا تثبیت گونه‌های یونی آلاینده توسط الکترودهای قرار داده شده در خاک و... است که اغلب با مشکلاتی مانند هزینه زیاد، تخریب ساختار فیزیکی و شیمیایی و فعالیتهای حیاتی خاک مواجه‌اند. لذا روشهای اصلاح (حیا) پرهزینه فیزیکی و شیمیایی با روشهای زیست‌شناختی مبتنی بر دانش از قبیل تجزیه میکروبی پیشرفته یا گیاه پالایی جایگزین شده‌اند (متشرع زاده و ثواقبی فیروزآبادی، 1393).

گیاه پالایی، یک فن آوری سبز و دوستدار محیط زیست است و در آن با استفاده از گیاهان، آلاینده ها را از آب های سطحی، خاک و لایه های رسوبی پالایش و جدا می کنند و به علت ارزان بودن، سادگی، مقبولیت همگانی، حفظ و نگهداری کیفیت های فیزیکی - شیمیایی و بیولوژیکی خاک توجه پژوهشگران را به خود معطوف داشته است (Gunther et al., 1996; April and Sims, 1900).

گیاهان متنوعی در این راستا مورد توجه قرار گرفته اند که در اکثر مطالعات گونه های چمنی و لگومی در کاهش آلودگی ها بیش از دیگر گیاهان مورد توجه بوده اند (April and Sims, 1900). در این تحقیق قابلیت گیاه *Lolium perenne* جهت پالایش زیستی خاک آلوده به کادمیوم مورد بررسی قرار گرفت جهت ارزیابی این قابلیت میزان جذب کادمیوم و بیان ژن های APX و NRAMP در بافت ریشه و اندام هوایی گیاه پس از 60 روز از قرار گرفتن در معرض غلظت های مختلف کادمیوم اندازه گیری شد.

### مواد و روش ها

#### کاشت و تیماردهی

بذر گیاه *L. perenne* مورد استفاده در این آزمایش از شرکت پاکان بذرافسافهان تهیه شد. گلدان هایی با حجم 2 کیلوگرم خاک و شن (1:3) که از الک شماره 4 عبور داده شده بودند، آماده شدند. آزمایش در 2 غلظت متفاوت به همراه 3 تکرار انجام گردید. از این رو خاک گلدان ها با سولفات کادمیوم هشت آب (Cdso<sub>4</sub>.8H<sub>2</sub>O) در غلظت های 100، 200 میلی گرم در کیلوگرم، جداگانه تیمار داده شدند. همچنین خاک ها پس از تیماردهی به مدت 30 روز انکوبه شدند. به دلیل اینکه پراکندگی عناصر فلزی در خاک به خوبی صورت گیرد، خاک ها در مدت انکوبه در حالت اشباع یعنی در حد ظرفیت زراعی خود بودند. برای جلوگیری از تبخیر زیاد خاک ها در این مدت درون پلاستیک نگهداری شدند. سپس بذر ها کاشته شدند و 60 روز تحت تنش رشد کردند. پس از این زمان با دقت برداشت شدند و جهت اندازه گیری معیارهای بعدی در فریزر منفی 70 °C قرار گرفتند.

#### تعیین غلظت کادمیوم

پس از برداشت گیاهان و تقسیم کردن آن ها به ریشه و اندام هوایی به صورت مجزا، در دستگاه آون به مدت 72 ساعت در دمای 60 °C قرار گرفتند. بلافاصله پس از خشک شدن در آون، نمونه ها به خوبی پودر شدند و پس از اندازه گیری وزن خشک نمونه ها، در داخل کوره با دمای 600 °C به مدت 5 ساعت خاکستر شدند. پس از خاکستر شدن نمونه ها، 20 میلی لیتر پرکلریک اسید (HClO) : نیتریک اسید (HNO<sub>3</sub>) (با نسبت 1:4) به هر کدام جهت انجام هضم آنزیمی اضافه گردید. پس از عبور از کاغذ صافی از محلول حاصل برای سنجش میزان کادمیوم در نمونه ها به وسیله دستگاه طیف سنج جذب اتمی استفاده شد. ظرفیت زیست پالایی گیاه با استفاده از شاخص های فاکتور انتقال (TF) و فاکتور تجمع زیستی (BAF) با فرمول زیر ارزیابی شد:

TF = غلظت کادمیوم در اندام هوایی / غلظت کادمیوم در ریشه

BAF = غلظت کادمیوم در بافت گیاهی / غلظت کادمیوم در خاک

## استخراج RNA

استخراج RNA از نمونه‌های گیاهی تیمار شده به وسیله کیت استخراج و جداسازی RNA (غیرستونی) از شرکت دنازیست انجام شد. بنابراین مطابق دستورکار این کیت، جداسازی و استخراج RNA صورت گرفت.

## سنتز cDNA

برای سنتز cDNA از کیت سنتز شرکت پارس طوس استفاده گردید.

## بررسی میزان بیان ژن های *Apx* و *Nramp* با کمک روش Real time PCR

واکنش Real time PCR با حجم نهایی 20 میکرولیتر با استفاده از دستگاه Real-Time PCR (Rotor Gene Q. Series) با استفاده از کیت مخصوص SYBR Green Real Time PCR Master Mix شرکت پارس طوس انجام شد.

## آنالیز آماری

کلیه آزمایشات در قالب طرح کاملاً تصادفی با 3 تکرار انجام شد. تجزیه واریانس داده‌های بدست آمده با استفاده از نرم افزار آماری SAS 9.4 انجام گرفت و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال 5% صورت گرفت. برای تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از Real time PCR و بررسی میزان تغییرات بیان ژن از نرم‌افزار REST و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده گردید.

## نتایج و بحث

### تعیین غلظت کادمیوم در ریشه

نتایج نشان داد که میزان تجمع کادمیوم در ریشه به مراتب بیشتر از اندام هوایی می باشد. در بافت ریشه با افزایش غلظت کادمیوم در محیط میزان تجمع این عنصر افزایش یافت بطوریکه بیشترین میزان کادمیوم به میزان 220 میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک در غلظت 200 میلی‌گرم بر کیلوگرم یافت شد. در اندام هوایی میزان تجمع به مراتب در مقایسه با ریشه کمتر بود، بیشترین میزان تجمع کادمیوم در این بافت در غلظت 100 میلی‌گرم بر کیلوگرم مشاهده شد و پس از آن با افزایش میزان کادمیوم در محیط از میزان تجمع آن در اندام هوایی کاسته شد.

پتانسیل گیاه پالایی گیاه با استفاده از اندازه گیری فاکتور تجمع زیستی (BAF) و شاخص های فاکتور انتقال (TF) ارزیابی شد (جدول 1) و BAF مهم ترین متغیرهای زیستی در غربالگری ظرفیت گیاه پالایی و شاخص های حیاتی برای ارزیابی توانایی گیاه در انباشته کردن فلزات هستند (Kumar et al. 2022). در تمام غلظت های اعمال شده، نسبت Cd اندام هوایی به ریشه، که فاکتور انتقال (TF) نامیده می شود،  $1 <$  بود که نشان دهنده

پتانسیل پایین تر انتقال کادمیوم به اندام هوایی در گیاه است. شاخص BAF در ریشه برای غلظت های 100 و 200 میلی گرم بر کیلوگرم کادمیوم به ترتیب 1,6 و 1,1 بود در حالی که در غلظت های مشابه این مقادیر در اندام هوایی به ترتیب 0,4 و 0,08 بود که نشاندهنده تجمع به مراتب کمتر کادمیوم در این بافت می باشد.

با توجه به مقادیر BAF، ظرفیت تجمع فلزات سنگین با استفاده از یکی از چهار گروه محاسبه شد BAF 1: (شدید)، 0,1 - 1 (متوسط)، 0,01 - 0,1 (ضعیف)، و 0,001 - 0,01 (بدون تجمع) (Kabata-Pendias and Pendias 1999). براساس تعریف بالا، گیاه *L.perenne* یک تجمع دهنده قوی به نظر می رسد که کاندیدای مناسبی برای گیاه پالایی cd میباشد با این حال، انتقال ریشه به ساقه کم گیاه آن را به عنوان یک گونه محتمل برای تثبیت کادمیوم در محیط ریشه در خاک های آلوده معرفی میکند. انتقال مقادیر بسیار کم کادمیوم از ریشه ها به بخش های فوق زمینی، به خصوص در تیمار 200 mg/Kg، ممکن است یک روش گیاهی برای جلوگیری از آسیب ناشی از سمیت Cd به دستگاه فتوسنتزی موجود در برگ ها باشد (Marques et al. 2018). گیاهانی که جذب فلزات سنگین مضر را به زیست توده هوایی محدود می کنند، به عنوان "حذف کننده" (Excluder) شناخته می شوند. گیاهان حذف کننده سطوح بالایی از فلزات سنگین در ریشه خود دارند و  $TF < 1$  را نشان می دهند، و برای تثبیت خاک و جلوگیری از آلودگی بیشتر به کار می روند (Baker et al. 2000).

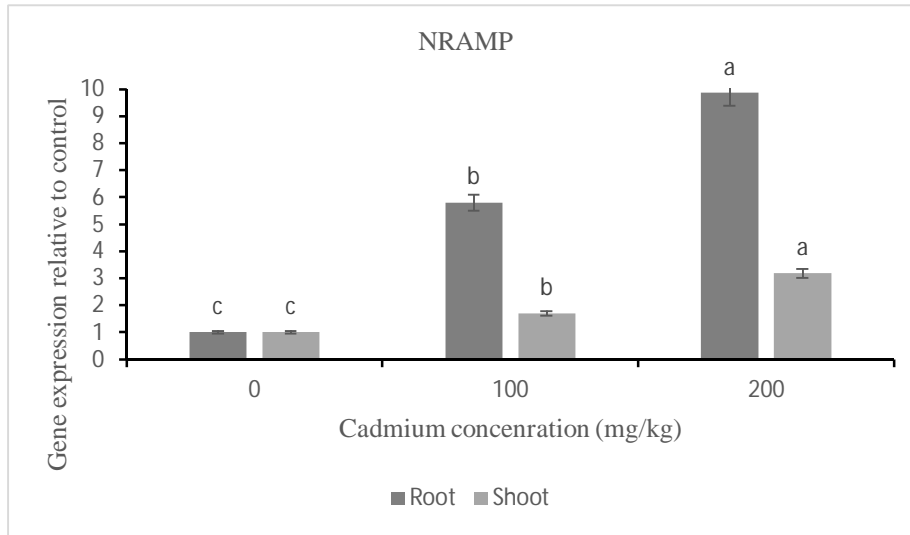
جدول 1 میزان جذب کادمیوم در ریشه و ساقه گیاه *L.perenne* و معیارهای مرتبط

Cd Level (mg/Kg)	Shoot	Root	TF	BAF <sup>shoot</sup>	BAF <sup>Root</sup>
100	40.48 A	168.76 B	1.68 A	0.4	1.68
200	16.84 B	220.16 A	1.1 B	0.084	1.1

### بررسی بیان ژن NRAMP

همان طور که در شکل 1 مشاهده می شود میزان بیان ژن nramp در گیاه *L.perenne* با افزایش غلظت کادمیوم در محیط در هر دو بافت در مقایسه با شاهد افزایش یافته است. میزان افزایش بیان این ژن در بافت ریشه به مراتب بیشتر از اندام هوایی بود به طوری که بیشترین میزان بیان این ژن در بافت ریشه و در غلظت نهائی کادمیوم مشاهده شد (حدود 10 برابر نسبت به شاهد).

ژن nramp که کدکننده یک خانواده از پروتئین های ناقل فلزات است. این پروتئین ها در جابه جایی فلزات سنگین از غشاهای سلولی و آزادسازی آن ها در محیط داخلی یا خارجی سلول نقش دارند. تنظیم بیان ژن nramp می تواند میزان جذب و انباشت کادمیوم در گیاهان را کنترل کند.

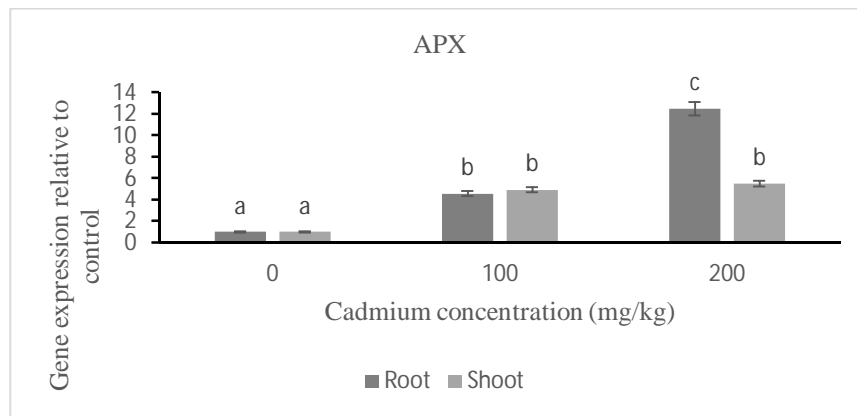


شکل 1 میزان بیان ژن NRAMP در گیاه *L. perenne* تحت تنش کادمیوم

### بررسی بیان ژن APX

همان طور که در شکل 2 مشاهده می شود میزان بیان ژن APX در گیاه *L. perenne* با افزایش غلظت کادمیوم در محیط در مقایسه با شاهد در هر دو بافت افزایش یافت. در هر دو غلظت میزان بیان ژن در بافت ریشه نسبت به اندام هوایی بیشتر بود. بیشترین میزان بیان در بافت ریشه و در غلظت 200 میلی گرم بر کیلوگرم کادمیوم مشاهده شد (بیش از 12 برابر). در اندام هوایی بین میزان بیان ژن در دو غلظت تفاوت معنی داری وجود نداشت.

ژن *apx* که کدکننده آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) است. این آنزیم یکی از آنتی‌اکسیدان‌های مهم در گیاهان است که در حذف گونه‌های فعال اکسیژنی ناشی از تنش کادمیوم نقش دارد. افزایش بیان ژن *apx* در گیاهان می‌تواند مقاومت آن‌ها را در برابر سمیت کادمیوم افزایش دهد.



شکل 2 میزان بیان ژن APX در گیاه *L. perenne* تحت تنش کادمیوم

### نتیجه‌گیری

این تحقیق با هدف بررسی قابلیت گیاه پالائی *L.perenne* در خاک‌های آلوده به کادمیوم انجام شد. میزان بیان ژنهای *apx* و *nramp* در هر دو بافت در مقایسه با شاهد افزایش یافت. اگر چه میزان بیان در بافت ریشه به مراتب بیشتر از اندام هوایی بود. تجمع کادمیوم در ریشه بیشتر از اندام هوایی گیاه بود. فاکتور جابجایی و ضریب تجمع زیستی در اندام هوایی هر دو زیر 1 بودند که نشان‌دهنده سطوح پایین تجمع کادمیوم در قسمت‌های بالای زمینی گیاهان است. از طرفی میزان تجمع زیتی کادمیوم در بافت ریشه بیش از 1 بود. بر اساس این یافته‌ها می‌توان نتیجه گرفت که این گیاه پتانسیل بالایی برای استخراج گیاهی کادمیوم و تثبیت گیاهی خاک‌های آلوده به این عنصر معدنی دارد و احتمالاً از طریق فعال کردن سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و کلات کردن یونها و جایگذاری داخل سلولی آنها با تنش ناشی از کادمیوم مقابله می‌کند.

### منابع و مراجع مورد استفاده

- Hui, L., Huang, W.X., Gao, M.Y., Li, X., Xiang, L., Mo, C.H., Li, Y.W., Cai, Q.Y., Wong, M. H., Wu, F.Y. (2020). AM fungi increase uptake of Cd and BDE-209 and activities of dismutase and catalase in amaranth (*Amaranthus hypochondriacus* L.) in two contaminants spiked soil. *Ecotox. Environ. Safe* 195, 110485.
- Li, Z. Y., Ma, Z.W., van der Kuijp, T.J., Yuan, Z., Huang, L. (2014) A review of soil heavy metal pollution from mines in China: pollution and health risk assessment. *Sci. Total Environ.* 468, 843-853.
- Gunther, T., U. Dornberger, W. Fritsche. (1996). Effects of ryegrass on biodegradation of hydrocarbons in soil. *Chemosphere*, 33: 203-215.
- Aprill, W., R.C. Sims. (1990). Evaluation of use of prairie grasses for stimulating polycyclic aromatic hydrocarbon treatment in soil. *Chemosphere*. 20: 253-256.
- Chi, S., Qin, Y., Xu, W., Chai, Y., Feng, D., Li, Y., ... & He, Z. (2019). Differences of Cd uptake and expression of OAS and IRT genes in two varieties of ryegrasses. *Environmental Science and Pollution Research*, 26, 13717-13724
- Rodríguez-Eugenio, N., McLaughlin, M., & Pennock, D. (2018). Soil pollution: a hidden reality.
- Adreano, D. (1986). Trace elements in terrestrial environments. In: Springer-Verlag New York Inc., New York, US
- Alloway, B. J. (2012). Heavy metals in soils: trace metals and metalloids in soils and their bioavailability (Vol. 22): Springer Science & Business Medi
- Cobbett, C. S. (2000). Phytochelatins and their roles in heavy metal detoxification. *Plant physiology*, 123(3), 825-832
- Clemens, S. (2001). Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis. *Planta*, 212(4), 475-486.
- Baker A, Mcgrath S, Reeves R, Smith JAC (2000) Metal Hyperaccumulator Plants: A Review of the Ecology and Physiology of a Biological Resource for Phytoremediation of Metal-Polluted Soils. In: Terry

N, Banuelos G (eds) Phytoremediation of contaminated soil and water. Lewis Publishers, London, UK, pp. 85–107.

- Kabata-Pendias A, Pendias H (1999) Biogeochemistry of trace elements, PWN Scientific Publisher, Warsaw, Poland.
- Kumar A, Tripti, Raj D, Maiti SK, Maleva M, Borisova G (2022) Soil Pollution and Plant Efficiency Indices for Phytoremediation of Heavy Metal(loid)s: Two-Decade Study (2002–2021). *Metals* 12(8):1330.
- Marques D, Veroneze-Júnior V, Silva A, Ricardo Mantovani J, César Magalhães P, Souza T (2018) Copper toxicity on photosynthetic responses and root morphology of *Hymenaea courbaril* L. (Caesalpinioideae). *Water Air Soil Pollut* 229(5):138.
- Münzel, T., Hahad, O., Daiber, A., & Landrigan, P. J. (2023). Soil and water pollution and human health: what should cardiologists worry about?. *Cardiovascular research*, 119(2), 440-449.
- Cui, H., Zhou, J., Li, Z., & Gu, C. (2021). Soil and Sediment Pollution, Processes and Remediation. *Frontiers in Environmental Science*, 9, 651.
- Zhang, X., Gustave, W., He, L., & Yang, X. (Eds.). (2023). *Soil pollution, risk assessment and remediation*. Frontiers Media SA

## NRAMP and APX Gene Expression Template and Phytoremediation Potential of *L.perenne* in Cadmium Contaminated Soil

### Abstract

The issue of soil contamination by waste chemicals has raised concerns about the environment. Among them, heavy metals are also known to be important in low concentrations due to their no-degradability and physiological effects on living organisms. Researchers have developed a new method using the potential of plants to eliminate soil pollution and preserve this national capital. Phytoremediation is a cost-effective, environmentally friendly, and aesthetically pleasing approach. In this research, the phytoremediation potential of *Lolium perenne* for remediation of cadmium-contaminated soil was assessed. For this purpose, the amount of cadmium accumulation in root and shoot tissues, transfer factor and bioaccumulation factor indexes and expression pattern of APX and NRAMP genes were analyzed. The results showed that the amount of cadmium accumulation in the root was much higher than in the aerial organs, and the  $TF < 1$  indicates less transfer of cadmium to the shoot. Also the expression pattern of both studied genes increased under the influence of cadmium in both tissues compared to the control. Although the level of expression in the root tissue was much higher than in the shoot. In summary, our results suggested that the *Lolium perenne* plant probably exhibits tolerance to the different Cd concentrations tested using activation of antioxidant defense mechanism and chelation of ions and cellular sequestration and possesses a high potential for both cadmium phytoextraction and phytostabilization in Cd-contaminated soils.

**Keywords:** Bio remediation, Heavy metals, Gene expression, Physiology, Molecular



## اثر تنش آبی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان ژنوتیپ‌های سورگوم دانه‌ای

سید عبدالرضا کاظمینی<sup>2</sup>؛ افشار استخر<sup>2\*</sup>؛ زهرا بهشت آئین<sup>1</sup>

1- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد بخش تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز

[z.beheshtaeen@gmail.com](mailto:z.beheshtaeen@gmail.com)

2- استاد بخش تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز و عضو هیئت علمی (استادیار) مرکز تحقیقات کشاورزی و

منابع طبیعی استان فارس

### چکیده

تنش آبی یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی است که رشد و عملکرد گیاهان را تحت تاثیر قرار می‌دهد. به منظور بررسی اثر تنش آبی بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز و کاتالاز در ژنوتیپ‌های سورگوم دانه‌ای، آزمایشی در سال زراعی 1397 در مزرعه‌ی تحقیقاتی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس واقع در ایستگاه زرقان به صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با 3 تکرار انجام شد. تیمارها شامل تنش آبی در 3 سطح به صورت آبیاری پس از 60 میلی‌متر (آبیاری معمولی یا بدون تنش)، 120 میلی‌متر (تنش ملایم) و 180 میلی‌متر (تنش شدید) تبخیر از سطح تشتک تبخیر کلاس آ به عنوان عامل اصلی و ژنوتیپ‌های سورگوم دانه‌ای به عنوان عامل فرعی (9 ژنوتیپ) در نظر گرفته شدند. نتایج نشان داد که میزان فعالیت هر سه آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز و کاتالاز در تمام ژنوتیپ‌های سورگوم به صورت معنی‌داری تحت اثر تنش آبی، ژنوتیپ و نیز برهمکنش آن‌ها قرار گرفتند. بیشترین میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز و کاتالاز به ترتیب در ژنوتیپ‌های G79، G134 و G86 تحت تنش آبی شدید مشاهده شد که به ترتیب افزایش 3/1، 3 و 2/3 برابری در مقایسه با سطح آبیاری معمولی داشتند.

واژگان کلیدی: پراکسید هیدروژن، پراکسیداز و کاتالاز.

### مقدمه

کمبود آب یک مشکل جهانی روبه افزایش است که به صورت منفی بر رشد و عملکرد گیاهان تاثیر می‌گذارد. سورگوم گیاهی است چهار کربنه و به منظور تولید علوفه، غذا و سوخت زیستی استفاده می‌شود (1). این گیاه با پتانسیل تولید بالا در مقایسه با سایر غلات مانند ذرت، نسبت به شرایط کمبود آب متحمل‌تر است. تقریباً 85 درصد از کشت جهانی سورگوم در محیط‌های خشک متمرکز شده‌است و یکی از منابع اصلی غذا برای انسان در مناطق خشک آسیا و آفریقا است. مشابه دیگر محصولات زراعی، شرایط کمبود آب موجب اختلال و کاهش تولید سورگوم می‌شود و هنگامی که کمبود آب در مرحله‌ی رشدی قبل از گلدهی اتفاق می‌افتد، این اختلال شدیدتر می‌شود. در شرایط تنش، مانند کمبود آب، گونه‌های آزاد اکسیژن (ROS)، مانند پراکسید هیدروژن ( $H_2O_2$ ) در کلروپلاست، پراکسی زوم، میتوکندری و سیتوزول تولید می‌شوند. علی‌رغم نقش ROS در بسیاری از مسیرهای سیگنالی مختلف برای تحمل تنش، زمانی که میزان تولید آن‌ها بسیار بالاتر از میزان حذف آن‌ها باشد، می‌توانند برای متابولیسم سلولی سمی باشند و موجب تنش اکسیداتیو شوند. برای مقابله با تنش اکسیداتیو، گیاهان متحمل به کمبود آب دارای یک سیستم پیچیده دفاع آنتی اکسیدانی آنزیمی (مانند آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، پراکسیداز (POD) و کاتالاز (CAT)) و غیر آنزیمی هستند (2).

هدف از انجام این پژوهش ارزیابی میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز در ژنوتیپ‌های سورگوم دانه‌ای تحت شرایط تنش آبی بود.

### مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی اثر تنش آبی بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز و کاتالاز ژنوتیپ‌های سورگوم دانه‌ای پژوهشی در سال زراعی 1397 در مزرعه‌ی تحقیقاتی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس واقع در ایستگاه زرقان اجرا شد. آزمایش به‌صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با 3 تکرار انجام شد که تنش آبی در 3 سطح به‌صورت آبیاری پس از 60 میلی‌متر (آبیاری معمولی یا بدون تنش)، 120 میلی‌متر (تنش ملایم) و 180 میلی‌متر (تنش شدید) تبخیر از سطح تشتک تبخیر کلاس آ به عنوان عامل اصلی و ژنوتیپ‌های سورگوم دانه‌ای به عنوان عامل فرعی (جدول 1) در نظر گرفته شدند. بذر سورگوم در هر کرت آزمایشی که شامل چهار ردیف به طول 5 متر با فاصله ردیف 60 سانتی‌متر و فاصله بوته روی ردیف 10 سانتی‌متر بود به‌صورت دستی در تاریخ 16 خرداد کشت شد. مبارزه با علف‌های هرز به‌صورت مکانیکی و وجین دستی انجام شد. نیاز آبی گیاه با استفاده از رابطه پنمن ماتیت و ضریب گیاهی (معادله 1) و هم‌چنین اطلاعات هواشناسی ایستگاه هواشناسی زرقان محاسبه شد و از پیش از شروع ظهور خوشه به بعد تنش آبی اعمال شد. میزان آب آبیاری بر اساس سطوح تیمار به وسیله کنتور حجمی و روش آبیاری توسط سامانه آبیاری قطره‌ای نواری انجام شد. در زمان گلدهی، نمونه‌برداری از برگ پرچم به منظور تعیین میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان شامل سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز و کاتالاز انجام شد و میزان فعالیت آن‌ها به ترتیب از روش‌های بیچامپ و فریدوویچ (Beauchamp & Fridovich, 1971)، چانس و ماهلی (Chance & Maehly, 1995) و دهیندزا و همکاران (Dhindsa et al., 1981) اندازه‌گیری شد. تجزیه و تحلیل آماری توسط نرم‌افزار SAS 9.4 صورت گرفت که پس از تجزیه واریانس، مقایسه میانگین‌ها با آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) انجام شد.

جدول 1- اسامی و کدهای مربوط به ژنوتیپ‌های سورگوم دانه‌ای

ژنوتیپ	MGS2	KGS23	TN-04-78	TN-04-79	TN-04-129	TN-04-134	TN-04-59	TN-04-86	TN-04-90
کد	شاهد	KGS23	G <sub>78</sub>	G <sub>79</sub>	G <sub>129</sub>	G <sub>134</sub>	G <sub>59</sub>	G <sub>86</sub>	G <sub>90</sub>

$$ET_o = \frac{0.408\Delta(Rn - G) + \gamma \left[ \frac{890}{T + 273} \right] U2(ea - ad)}{\Delta + \gamma(1 + 0.34 U2)} \times KC \quad (1)$$

### نتایج و بحث

نتایج نشان داد که فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز و کاتالاز به‌صورت معنی‌داری تحت اثر تنش آبی، ژنوتیپ و نیز برهمکنش آن‌ها در سطح یک درصد قرار گرفتند. بیشترین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در شرایط آبیاری معمولی در ژنوتیپ KGS23 بدست آمد که با ژنوتیپ شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت. در شرایط تنش‌های ملایم و شدید ژنوتیپ G<sub>79</sub> بیشترین فعالیت این آنزیم را داشت که به ترتیب 1/41، 1/22 برابر ژنوتیپ شاهد در سطوح آبیاری مربوطه بود (جدول 2). سیستم‌های آنتی اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی همانطور که مسئول حذف گونه‌های آزاد اکسیژن (ROS) هستند، به‌عنوان شاخصی از مکانیسم‌های فیزیولوژیکی هستند که با میزان متحمل بودن به کمبود آب مرتبط می‌باشند (2). آنزیم سوپراکسید دیسموتاز یکی از موثرترین

آنزیم‌های آنتی اکسیدان درون سلولی است، به طوری که بسیاری از پژوهشگران بر این باورند که قوی‌ترین آنتی اکسیدان شناخته شده‌ای است که موجب پایداری گیاه در برابر بسیاری از تنش‌های محیطی می‌شود (3).

جدول 2- تاثیر تنش آبی بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان سوپر اکسید دیسموتاز، پراکسیداز و کاتالاز (واحد بر میلی گرم

پروتئین) در ژنوتیپ‌های سورگوم دانه‌ای

ژنوتیپ‌های سورگوم دانه‌ای									سطح تنش آبی	آنزیم آنتی اکسیدان
G <sub>90</sub>	G <sub>86</sub>	G <sub>59</sub>	G <sub>134</sub>	G <sub>129</sub>	G <sub>79</sub>	G <sub>78</sub>	KGS23	Control		
11/60 <sup>ef</sup>	8/72 <sup>gh</sup>	9/02 <sup>gh</sup>	9/25 <sup>gh</sup>	10/44 <sup>fg</sup>	8/61 <sup>gh</sup>	7/51 <sup>h</sup>	12/01 <sup>ef</sup>	11/46 <sup>ef</sup>	بدون تنش	سوپر اکسید
12/10 <sup>ef</sup>	13/37 <sup>de</sup>	12/81 <sup>e</sup>	13/00 <sup>e</sup>	15/63 <sup>c</sup>	17/34 <sup>c</sup>	16/07 <sup>c</sup>	15/27 <sup>cd</sup>	12/24 <sup>ef</sup>	ملايم	دیسموتاز
23/50 <sup>b</sup>	23/16 <sup>b</sup>	22/87 <sup>b</sup>	23/46 <sup>b</sup>	26/35 <sup>a</sup>	27/07 <sup>a</sup>	22/64 <sup>b</sup>	24/16 <sup>b</sup>	22/16 <sup>b</sup>	شدید	
3/78 <sup>i-n</sup>	3/14 <sup>m-p</sup>	5/14 <sup>h-k</sup>	4/22 <sup>j-m</sup>	2/12 <sup>p</sup>	5/84 <sup>f-h</sup>	4/67 <sup>h-l</sup>	2/67 <sup>n-p</sup>	3/34 <sup>m-o</sup>	بدون تنش	پراکسیداز
5/53 <sup>g-i</sup>	5/30 <sup>h-j</sup>	5/80 <sup>f-h</sup>	8/53 <sup>bc</sup>	2/60 <sup>np</sup>	7/46 <sup>c-e</sup>	6/52 <sup>e-g</sup>	4/23 <sup>j-m</sup>	4/57 <sup>i-l</sup>	ملايم	
7/29 <sup>de</sup>	6/79 <sup>ef</sup>	7/66 <sup>c-e</sup>	12/71 <sup>a</sup>	4/00 <sup>k-m</sup>	9/08 <sup>b</sup>	8/35 <sup>b-d</sup>	6/69 <sup>e-g</sup>	5/78 <sup>f-h</sup>	شدید	
5/57 <sup>j-m</sup>	6/97 <sup>i-k</sup>	7/33 <sup>ij</sup>	4/73 <sup>im</sup>	6/44 <sup>i-l</sup>	4/60 <sup>m</sup>	4/47 <sup>m</sup>	5/28 <sup>k-m</sup>	3/93 <sup>m</sup>	بدون تنش	کاتالاز
10/19 <sup>e-g</sup>	11/54 <sup>de</sup>	9/29 <sup>f-h</sup>	11/65 <sup>de</sup>	8/41 <sup>g-i</sup>	6/74 <sup>i-k</sup>	6/88 <sup>i-k</sup>	8/31 <sup>hi</sup>	5/44 <sup>k-m</sup>	ملايم	
14/99 <sup>ab</sup>	16/46 <sup>a</sup>	16/03 <sup>a</sup>	7/00 <sup>ij</sup>	10/91 <sup>ef</sup>	10/94 <sup>ef</sup>	13/71 <sup>bc</sup>	13/14 <sup>cd</sup>	10/97 <sup>ef</sup>	شدید	

( $P < 5\%$  ندارند LSD میانگین‌های با حروف مشابه اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون)

به‌طور کلی در تمام ژنوتیپ‌ها با اعمال تنش آبی فعالیت آنزیم پراکسیداز افزایش یافت و بیشترین فعالیت این آنزیم در شرایط آبیاری معمولی در ژنوتیپ G<sub>79</sub> به میزان 5/84 واحد بر میلی‌گرم پروتئین بود و در شرایط تنش‌های ملايم و شدید در ژنوتیپ G<sub>134</sub> به ترتیب به میزان 8/53 و 12/71 واحد بر میلی‌گرم پروتئین بدست آمد (جدول 2). در شرایط تنش خشکی و شوری گونه‌های فعال اکسیژن مانند پراکسید هیدروژن به ساختار گیاهان آسیب می‌رساند و گیاهان با توجه به میزان تحمل به تنش آبی و به‌منظور کاهش خسارات ناشی از تنش اکسیداتیو که توسط گونه‌های فعال اکسیژن ایجاد شده از مکانیسم‌هایی مانند تولید و تحریک فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان استفاده می‌کنند. در این مکانیسم آنزیم پراکسیداز در غیرفعال سازی پراکسید هیدروژن، نقش اصلی را دارد، هم‌چنین این آنزیم در چرخه‌ی گلوکوتایون که در دفع مسمویت هیدروژن پراکسید موثر است، نقش دارد (3).

بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز در شرایط آبیاری معمولی در ژنوتیپ G<sub>59</sub> به میزان 7/33 واحد بر میلی‌گرم پروتئین بود، در حالی که در شرایط تنش ملايم در ژنوتیپ G<sub>134</sub> به میزان 11/65 واحد بر میلی‌گرم پروتئین بود. تحت شرایط تنش شدید بیشترین میزان فعالیت این آنزیم در ژنوتیپ G<sub>86</sub> بدست آمد که 1/50 برابر ژنوتیپ شاهد بود (جدول 2). در مواجهه با تنش‌های محیطی مانند تنش خشکی که موجب افزایش گونه‌های آزاد اکسیژن (ROS) می‌شوند، گیاهان از مکانیسم تولید آنزیم‌های آنتی اکسیدان برخوردار هستند که در میان این آنزیم‌ها، آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز با غیرفعال سازی پراکسید هیدروژن بیشترین تأثیر را دارند. آنزیم کاتالاز متعلق به گروه پروتئین‌های آهن‌دار است که فعالیت آن در شرایط تنش به‌خصوص تنش خشکی به دلیل افزایش یافتن سطح پراکسید هیدروژن در گیاهان، افزایش می‌یابد (3).

## نتیجه گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که میزان فعالیت آنزیم‌های مورد بررسی با افزایش یافتن شدت تنش آبی به‌منظور مقابله با تنش اکسیداتیو ناشی از افزایش گونه‌های آزاد اکسیژن (ROS)، به‌صورت قابل توجهی افزایش یافت. اما میزان این افزایش‌ها در هرکدام از ژنوتیپ‌های مورد بررسی متفاوت بود به‌طوری که بیشترین میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان سوپراکسیددیسموتاز، پراکسیداز و کاتالاز به‌ترتیب در ژنوتیپ‌های G<sub>79</sub>، G<sub>134</sub> و G<sub>86</sub> تحت تنش آبی شدید مشاهده شد.

## منابع

1- Sher, A., Hassan, M. U., Sattar, A., Ul-Allah, S., Ijaz, M., Hayyat, Z., Bibi, Y., Hussain, M., & Qayyum, A. (2023). Exogenous application of melatonin alleviates the drought stress by regulating the antioxidant systems and sugar contents in sorghum seedlings. *Biochemical Systematics and Ecology*, 107, 104-110.

2- Avila, R. G., Magalhães, P. C., da Silva, E. M., de Souza, K. R. D., Campos, C. N., de Alvarenga, A. A., & de Souza, T. C. (2021). Application of silicon to irrigated and water deficit sorghum plants increases yield via the regulation of primary, antioxidant, and osmoregulatory metabolism. *Agricultural Water Management*, 255, 107-117.

علیرضا عمادی، امید علیزاده، بهرام امیری، هادی پیرسته انوشه، مهدی زارع. (1401). تاثیر تنش خشکی و شوری بر عملکرد، ویژگی‌های بیوشیمیایی و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی سورگوم علوفه‌ای، نشریه پژوهش آب در کشاورزی، 36(2)، 217-232.

## Effect of Water Stress on the Activity of Antioxidant Enzymes of Grain Sorghum Genotypes

Zahra Behesht Aeen<sup>1\*</sup>, Seyed Abdolreza Kazemeini<sup>2</sup>, Afshar Estakhr<sup>2</sup>

1. The Former Graduate Student, Department of Plant Production and Genetics, School of Agriculture, Shiraz University  
[z.beheshtaeen@gmail.com](mailto:z.beheshtaeen@gmail.com)

2. Professor, Department of Plant Production and Genetics, School of Agriculture, Shiraz University, and Faculty member, Agricultural and Natural Resources Research Center of Fars Province, Zarghan, Iran

### Abstract

Water stress is one of the most crucial environmental stresses, which can affect the growth and yield of plants. To evaluate the effect of water stress on the activity of antioxidant enzymes superoxide dismutase, peroxidase, and catalase in grain sorghum genotypes, a field study was conducted in 2018 at the Agricultural and Natural Resources Research Center of Fars Province, Zarghan. The experimental design was split plot arranged in a randomized complete block design with three replications. The main factor was irrigation regimes [normal irrigation (60 mm), moderate stress (120 mm), and severe stress (180 mm evaporation from the surface of evaporation pan class A)] and sorghum genotypes (9 genotypes) were considered as sub-factors. The results showed that the activity level of all enzymes was significantly affected by water stress, genotype, and their interaction. The highest levels of activity of antioxidant enzymes superoxide dismutase, peroxidase, and catalase were observed in G<sub>79</sub>, G<sub>134</sub>, and G<sub>86</sub> genotypes under severe water stress, respectively, which increased by 1.3, 3, and 2.3 times in comparison with normal irrigation condition.

**Keywords:** Hydrogen peroxide, Peroxidase, Catalase.

## تأثیر محلول پاشی ملاتونین بر بهبود خصوصیات کمی میوه خرما رقم مرداسنگ

سکینه ملائی محمدآبادی<sup>1</sup>، محبوبه محمدی<sup>2</sup>، سمیه رستگار<sup>2</sup>

1- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم باغبانی، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران. پست

الکترونیکی: [mollaeisakineh@gmail.com](mailto:mollaeisakineh@gmail.com)

2- \*نویسنده مسئول: دانشیار گروه علوم باغبانی، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه هرمزگان، بندرعباس،

ایران. پست الکترونیکی: [rastegarhort@gmail.com](mailto:rastegarhort@gmail.com), [s.rastegar@hormozgan.ac.ir](mailto:s.rastegar@hormozgan.ac.ir)

2- دانشجوی دکتری، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران.

### چکیده

خرما یکی از مهم ترین محصولات صادراتی در بخش کشاورزی ایران است. سهم قابل توجه خرما از صادرات غیرنفتی ایران گویای اهمیت تولید با کیفیت این محصول نسبت به سایر محصولات کشاورزی است این پژوهش با هدف بهبود کیفیت و خصوصیات کمی میوه خرما رقم مرداسنگ از طریق بررسی برخی پاسخ های میوه خرما به محلول پاشی با ملاتونین صورت گرفت. این پژوهش در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با 3 تکرار بر روی درختان خرما مرداسنگ 11 ساله در یک باغ خرما در بخش رودخانه شهرستان رودان انجام شد. محلول پاشی ملاتونین در سه سطح با غلظت های صفر (به عنوان شاهد آب مقطر)، 100 و 200 میکرومولار انجام شد. بر اساس نتایج به دست آمده استفاده از ملاتونین تأثیر معنی داری بر درصد کاهش وزن کل میوه خرما، وزن گوشت و وزن هسته داشت. بطوریکه ملاتونین در غلظت 100 بطور معنی داری وزن گوشت را نسبت به شاهد و غلظت 200 ملاتونین افزایش داد. و همچنین استفاده از ملاتونین با غلظت 200 سبب افزایش طول و قطر میوه خرما نسبت به ملاتونین غلظت 100 و گروه شاهد شد.

واژگان کلیدی: محلول پاشی، مرداسنگ، ملاتونین، میوه خرما

### مقدمه

خرما (*Phoenix dactylifera*<sup>۲۹</sup> L) یکی از قدیمی ترین درختان میوه مورد استفاده انسان و از تیره های مهم گونه آرکاسه است و از مهم ترین میوه ها محسوب می شود. که حاوی مقادیر قابل توجهی مواد مغذی ضروری، مواد معدنی، ویتامین ها، فیبرهای غذایی کربوهیدرات ها است (Al-Mssallem et al 2020). درخت خرما برای کاشت در مناطقی با زمستان ملایم و تابستان گرم و خشک مناسب است. درخت خرما از گیاهانی است که از قدیم کشت آن در مناطق جنوبی کشور متداول بوده است و در حال حاضر کشور ما ایران از تولید کنندگان مهم آن بشمار میرود، یکی از بخش های استان هرمزگان بخش رودخانه است که از بخش های مهم تولید این محصول است که بخش عمده ای از معیشت اهالی آن به خرما وابسته است. ملاتونین که در سال 1995 در گیاهان شناسایی شد (Dubbel et al., 1995). یک مولکول سیگنال

<sup>29</sup> *Phoenix dactylifera*

دهنده مهم در اندام‌های مختلف گیاه است که نقش‌های محوری در تنظیم طیف گسترده‌ای از فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه دارد، با پتانسیل زیادی برای کاربرد آن در صنعت باغبانی مورد توجه گسترده‌ای قرار گرفته است. (Aghdam *et al.*, 2020; Tiwari *et al.*, 2020). در سال‌های اخیر مطالعات متعددی در مورد تأثیر محلول‌پاشی ملاتونین پیش از برداشت بر میوه‌ها و سبزیجات گزارش شده است که نشان می‌دهد این ماده ایمن و غیر سمی برای انسان است و تأثیر مثبتی بر ماندگاری و کیفیت مواد غذایی دارد. (Aghdam *et al.* 2023). اخیراً تأثیر ملاتونین بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی میوه توجه گسترده‌ای را به خود جلب کرده است. با توجه به اینکه تاکنون هیچ پژوهشی در مورد تأثیر محلول‌پاشی قبل از برداشت ملاتونین بر کیفیت میوه خرما مرداسنگ گزارش نشده است، در این تحقیق این موضوع مورد بررسی قرار گرفت.

### مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال 1402 در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در یک باغ خرما در روستای کریم‌آباد بخش رودخانه شهرستان رودان با مختصات جغرافیایی (57 درجه و 29 درجه شرقی و 27 درجه و 59 درجه شمالی) با 3 تیمار و 3 تکرار بر روی 9 اصله درخت خرما مرداسنگ 11 ساله انجام شد که با فاصله 8\*8 از هم دیگر قرار داشتند. محلول‌پاشی در مرحله کیمری در سه نوبت با فاصله ده روز انجام شد به طوری که کل سطح خوشه‌های درخت خرما کاملاً محلول‌پاشی شد. به منظور بررسی تأثیر ملاتونین بر خصوصیات کمی میوه خرما 2 ماه پس از تیمار، میوه‌ها در شهریورماه برداشت و به آزمایشگاه منتقل و صفات کمی میوه‌ها شامل وزن میوه، وزن گوشت، وزن هسته، طول میوه و قطر میوه اندازه‌گیری شد (شکل 1). تجزیه و تحلیل داده‌ها توسط نرم‌افزار SAS ارزیابی شد.



شکل 1\_ برداشت و اندازه‌گیری صفات کمی خرما مرداسنگ

### نتایج و بحث

بر اساس نتایج به‌دست آمده استفاده از ملاتونین تأثیر معنی داری بر درصد کاهش وزن کل میوه خرما، وزن گوشت و وزن هسته داشت. بطوریکه ملاتونین در غلظت 100 میکرومولار بطور معنی داری وزن گوشت را نسبت به شاهد و غلظت 200 میکرومولار ملاتونین افزایش داد. همچنین استفاده از ملاتونین با غلظت 200 میکرومولار سبب افزایش طول و قطر میوه خرما نسبت به ملاتونین غلظت 100 میکرومولار و گروه شاهد شد (جدول 1)

جدول 1. مقایسه میانگین اثرات محلول پاشی ملاتونین بر صفات مرتبط با طول و قطر میوه، وزن هسته، وزن گوشت و وزن

میوه در خرما می برداسنگ

تیمار	وزن میوه	وزن گوشت	وزن هسته	قطر	طول	طول / قطر
شاهد	92,5 c	65,5 c	27a	19c	29b	2,4a
ملاتونین 100	118,3a	91a	27a	23b	34a	1,47b
ملاتونین 200	109,3b	82b	27a	26,6a	33,5a	1,25b

در مطالعات قبلی گزارش شده که تیمار قبل از برداشت انار با ملاتونین باعث افزایش عملکرد محصول (تعداد میوه در هر درخت و کیلوگرم در هر درخت)، و همچنین ویژگی‌های کیفیت میوه مانند اندازه میوه (قطر و وزن) بیشتر شد (Medina et al 2021). همچنین تیمار محلول پاشی ملاتونین باعث افزایش وزن و عملکرد میوه زردآلو شد (Abdel-Naby et al 2019). تیمار قبل از برداشت ملاتونین در طول رشد و رسیدن سیب مورد مطالعه قرار گرفته در نتیجه تیمار ملاتونین قبل از برداشت باعث افزایش اندازه و وزن میوه شده است (Verde et al 2022). همچنین گزارش شده تیمار میوه جوان انگور با 100 میلی گرم در لیتر ملاتونین می تواند باعث بزرگ شدن اندازه میوه و افزایش وزن میوه تا 6,6 درصد شود (Meng et al 2015). محلول پاشی قبل از برداشت ملاتونین به طور قابل توجهی بر کیفیت میوه گلابی تأثیر گذاشت، محلول پاشی 100 میکرومول در لیتر ملاتونین به طور قابل توجهی کیفیت ظاهری میوه گلابی (از جمله وزن، اندازه و رنگ) را بهبود بخشید (Zhao et al 2023). همچنین در مطالعه‌ای در گیلان شیرین مشاهده شد که تیمار قبل از برداشت ملاتونین با غلظت 50 و 100 میکرومولار باعث بهبود وزن میوه‌ها شد (Xia et al 2020).

### نتیجه گیری

به طور کلی در پایان تحقیق چنین می توان استنباط نمود که محلول پاشی با ملاتونین باعث بهبود خصوصیات میوه خرما می گردد بر اساس نتایج بدست آمده از محلول پاشی ملاتونین مشخص شد که استفاده ملاتونین تأثیر معنی داری بر درصد افزایش وزن کل میوه خرما، وزن گوشت و وزن هسته داشت. بطوریکه ملاتونین در غلظت 100 میکرومولار بطور معنی داری وزن گوشت را نسبت به شاهد و غلظت 200 میکرومولار ملاتونین افزایش داد. و همچنین استفاده از ملاتونین با غلظت 200 میکرومولار سبب افزایش طول و قطر گوشت میوه خرما نسبت به ملاتونین غلظت 100 میکرومولار و گروه شاهد شد. با توجه به اینکه میوه خرما با کمیت بالا از اهمیت اقتصادی بالایی برخوردار است با استفاده از ملاتونین می توان خرما با کمیت بهتر برای صادرات این محصول ارزشمند تولید نمود.

### منابع

- El-Naby, A., Abdelkhalek Ahmed Mohamed, M. and El-Naggar, Y.I.M., 2019. Effect of melatonin, GA3 and NAA on vegetative growth, yield and quality of ‘Canino’ apricot fruits. *Acta Scientiarum Polonorum. Hortorum Cultus*, 18(3).
- Aghdam, M.S., Mukherjee, S., Flores, F.B., Arnao, M.B., Luo, Z. and Corpas, F.J., 2022. Functions of melatonin during postharvest of horticultural crops. *Plant and Cell Physiology*, 63(12), pp.1764-1786.

- Aghdam, M.S., Luo, Z., Li, L., Jannatizadeh, A., Fard, J.R. and Pirzad, F., 2020. Melatonin treatment maintains nutraceutical properties of pomegranate fruits during cold storage. *Food Chemistry*, 303, p.125385.
- Al-Mssallem, M.Q., Alqurashi, R.M. and Al-Khayri, J.M., 2020. Bioactive compounds of date palm (*Phoenix dactylifera* L.). *Bioactive Compounds in Underutilized Fruits and Nuts*, pp.91-105.
- Medina-Santamarina, J., Serrano, M., Lorente-Mento, J.M., García-Pastor, M.E., Zapata, P.J., Valero, D. and Guillén, F., 2021. Melatonin treatment of pomegranate trees increases crop yield and quality parameters at harvest and during storage. *Agronomy*, 11(5), p.861.
- Meng, J.F., Xu, T.F., Song, C.Z., Yu, Y., Hu, F., Zhang, L., Zhang, Z.W. and Xi, Z.M., 2015. Melatonin treatment of pre-veraison grape berries to increase size and synchronicity of berries and modify wine aroma components. *Food chemistry*, 185, pp.127-134.
- Tiwari, R.K., Lal, M.K., Naga, K.C., Kumar, R., Chourasia, K.N., Subhash, S., Kumar, D. and Sharma, S., 2020. Emerging roles of melatonin in mitigating abiotic and biotic stresses of horticultural crops. *Scientia Horticulturae*, 272, p.109592.
- Verde, A., Míguez, J.M. and Gallardo, M., 2022. Role of melatonin in apple fruit during growth and ripening: possible interaction with ethylene. *Plants*, 11(5), p.688.
- Xia, H., Shen, Y., Shen, T., Wang, X., Zhang, X., Hu, P., Liang, D., Lin, L., Deng, H., Wang, J. and Deng, Q., 2020. Melatonin accumulation in sweet cherry and its influence on fruit quality and antioxidant properties. *Molecules*, 25(3), p.753.
- Zhao, L., Yan, S., Wang, Y., Xu, G. and Zhao, D., 2023. Evaluation of the Effect of Preharvest Melatonin Spraying on Fruit Quality of 'Yuluxiang' Pear Based on Principal Component Analysis. *Foods*, 12(18), p.3507.

## The effect of melatonin foliar application on improving the quantitative characteristics of Mardasang date fruit

Sakineh Mollai Mohammadabadi<sup>1</sup>, Mahbobeh Mohammadi<sup>2</sup>, Somayeh Rastegar<sup>2\*</sup>

1- Master's student of horticultural sciences, department of horticultural sciences, faculty of agriculture and natural resources, Hormozgan University, Bandar Abbas, Iran

2-\* Corresponding author: Associate Professor of Department of Horticultural Sciences, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Hormozgan University, Bandar Abbas, Iran. Email: rastegarhort@gmail.com, s.rastegar@hormozgan.ac.ir

2- PhD student, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Hormozgan University, Bandar Abbas, Iran.

### Abstract

Dates are one of the most important export products in Iran's agricultural sector. The significant share of dates in Iran's non-oil exports shows the importance of quality production of this product compared to other agricultural products. This research was conducted with the aim of improving the quality and quantitative characteristics of Mardasang date fruit by examining some responses of date fruit to foliar spraying with melatonin. This research was conducted in the form of randomized complete block design with 3 replications on 11-year-old Mardasang date trees in a date garden in the river section of Rodan city. Foliar spraying of melatonin was done at three levels with concentrations of zero (distilled water as control), 100 and 200  $\mu\text{M}$ . Based on the obtained results, the use of melatonin had a significant effect on the percentage of total weight loss of date fruit, flesh weight and kernel weight. So that melatonin at a concentration of 100 significantly increased the weight of meat compared to the control and a concentration of 200 melatonin. Also, the use of melatonin with a concentration of 200 increased the length and diameter of date fruits compared to melatonin with a concentration of 100 and the control group.

**Keywords:** foliar spray, Mardasang, melatonin, date fruit



## بررسی اثر محلول پاشی عصاره جلبک دریایی بر بهبود خصوصیات کمی میوه خرما رقم کلوته

سکینه ملائی محمدآبادی<sup>1</sup>، محبوبه محمدی<sup>2</sup>، سمیه رستگار<sup>2</sup>

1- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم باغبانی، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران. پست

الکترونیکی: [mollaeisakineh@gmail.com](mailto:mollaeisakineh@gmail.com)

2- نویسنده مسئول: دانشیار گروه علوم باغبانی، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه هرمزگان، بندرعباس،

ایران. پست الکترونیکی: [rastegarhort@gmail.com](mailto:rastegarhort@gmail.com), [s.rastegar@hormozgan.ac.ir](mailto:s.rastegar@hormozgan.ac.ir)

2- دانشجوی دکتری، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران.

### چکیده

خرما یکی از میوه‌های مهم و استراتژیک در ایران است که هم سهم عمده‌ای در تأمین اشتغال و معیشت مردم ایفا می‌نماید و هم بخشی از آن به خارج از کشور صادر می‌شود. افزایش خصوصیات کمی میوه خرما از طریق محلول پاشی با عصاره جلبک دریایی می‌تواند هم در بهبود معیشت و هم در افزایش صادرات آن مؤثر باشد. ثابت شده است که عصاره جلبک دریایی باعث افزایش بهره‌وری در بسیاری از محصولات کشاورزی می‌شود، اما تحقیقات محدودی در مورد استفاده از آنها در تولید خرما با خصوصیات میوه بهتر وجود دارد. این پژوهش با هدف بهبود خصوصیات کمی میوه خرما رقم کلوته از طریق بررسی برخی پاسخ‌های میوه خرما به محلول پاشی با عصاره جلبک دریایی صورت گرفت. این پژوهش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با 3 تکرار بر روی درختان خرما 11 ساله در یک باغ تجاری خرما در شهرستان رودان انجام شد. محلول پاشی عصاره جلبک دریایی در سه سطح با غلظت‌های صفر (به عنوان شاهد آب مقطر)، 0/002 و 0/003 در هزار میلی‌لیتر انجام شد. بر اساس نتایج به دست آمده استفاده از عصاره جلبک دریایی تأثیر معنی‌داری بر درصد افزایش وزن کل میوه خرما، وزن گوشت و وزن هسته داشت. بطوریکه عصاره جلبک دریایی در غلظت 0/002 به طور معنی‌داری وزن گوشت را نسبت به شاهد و غلظت 0/003 عصاره جلبک دریایی افزایش داد. و همچنین استفاده از عصاره جلبک دریایی با غلظت 0/002 سبب افزایش وزن گوشت میوه خرما نسبت به 0/003 عصاره جلبک دریایی و گروه شاهد شد.

واژگان کلیدی: خصوصیات کمی، عصاره جلبک دریایی، کلوته، محلول پاشی، میوه خرما

### مقدمه

خرما با نام علمی (*Phoenix dactylifera* L)<sup>30</sup>، گیاهی تک‌لپه، دوپایه و از مهم‌ترین گونه‌های اقتصادی تیره آراکاسه (*Araceae*)<sup>31</sup> است و از نظر تولید میوه عمر اقتصادی درخت خرما حدود 40 سال است (Mostaan et al., 2017) خرما

<sup>30</sup> *Phoenix dactylifera* L

<sup>31</sup> *Araceae*

یکی از میوه‌های مهم و استراتژیک در ایران است که هم سهم عمده‌ای در تأمین اشتغال و معیشت مردم ایفا می‌نماید و هم بخشی از آن به خارج از کشور صادر می‌شود. افزایش کیفیت خرما از طریق محلول‌پاشی با تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی می‌تواند هم در بهبود معیشت و هم در افزایش صادرات آن مؤثر باشد. خرما یکی از قدیمی‌ترین درختان میوه مورد استفاده انسان است. نخل یکی از مهمترین درختان میوه ایران در مناطق خشک و نیمه خشک است به گونه‌ای که در سال 1400، خرما با تولید حدود 1/5 میلیون تن و سهم 6/7 درصدی از کل محصولات باغبانی در کشور، در رتبه پنجم قرار گرفت (Agricultural Statistics, 2022). همچنین در سطح جهانی ایران بعد از کشور مصر و عربستان در رتبه سوم میزان تولید و بعد از عراق و الجزایر در رتبه سوم سطح زیر کشت قرار دارد (FAO, 2021). جلبک‌های دریایی منابع غنی و متنوعی از محصولات طبیعی زیست فعال هستند که به عنوان عوامل بالقوه زیستی و دارویی در نظر گرفته شده‌اند (Nabti et al., 2017) تصور می‌شود که تأثیر مفید چنین عصاره‌هایی با ترکیباتی مرتبط است که ممکن است شامل بتائین‌ها، الیگوساکاریدها، پلی آمین‌ها، سیتوکینین‌ها و یا هورمون‌های دیگر باشد، اما محدود نمی‌شود (Nabti et al., 2017). با توجه به اینکه پژوهشی در مورد تأثیر محلول‌پاشی قبل از برداشت عصاره جلبک دریایی بر خصوصیات کمی میوه خرما گزارش نشده است، در این تحقیق این موضوع مورد بررسی قرار گرفت.

### مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال 1402 در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در یک باغ تجاری خرما در روستای کریم‌آباد بخش رودخانه شهرستان رودان با مختصات جغرافیایی (57 درجه و 29 درجه شرقی و 27 درجه و 59 درجه شمالی) با 3 تیمار و 3 تکرار بر روی 9 اصله درخت خرما کلوته 11 ساله انجام شد که با فاصله 8\*8 از هم دیگر قرار داشتند. محلول‌پاشی در مرحله‌ی کیمری در سه نوبت با فاصله ده روز انجام شد به طوری که کل سطح خوشه‌های درخت خرما کاملاً خیس شود. به منظور بررسی اثر عصاره جلبک دریایی بر خصوصیات کمی و کیفی میوه خرما 2 ماه پس از تیمار، میوه‌ها در شهریورماه برداشت (شکل 1) و به آزمایشگاه منتقل و صفات کمی و کیفی میوه‌ها شامل وزن میوه، وزن گوشت، وزن هسته، طول میوه و عرض میوه اندازه‌گیری شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها توسط نرم‌افزار SAS ارزیابی شد.



### شکل 1- محلول پاشی و برداشت میوه خرماي کلوته

#### نتایج و بحث

بر اساس نتایج به دست آمده استفاده از عصاره جلبک دریایی تاثیر معنی داری بر درصد کاهش وزن کل میوه خرما، وزن گوشت و وزن هسته داشت. بطوریکه عصاره جلبک دریایی در غلظت 0/002 بطور معنی داری وزن گوشت را نسبت به شاهد و غلظت 0/003 عصاره جلبک دریایی افزایش داد. و همچنین استفاده از عصاره جلبک دریایی با غلظت 0/002 سبب افزایش وزن گوشت میوه خرما نسبت به 0/003 عصاره جلبک دریایی و گروه شاهد شد (جدول 1)

جدول 1. مقایسه میانگین اثرات محلول پاشی عصاره جلبک دریایی بر صفات مرتبط با طول و قطر میوه، وزن هسته، وزن گوشت و وزن میوه در خرماي کلوته

Treatment	وزن میوه	وزن گوشت	وزن هسته	قطر	طول
Control	76.30c	67c	9.30b	23a	36a
alga .002	88.3a	78a	10.30a	21.50c	34b
alga .003	84.86b	75b	9.63ab	22.50b	35ab

اخیرا گزارش شده است که استفاده از محرک های زیستی مبتنی بر جلبک دریایی بر روی گیاهان زراعی می تواند منجر به بهبود عملکرد میوه و تولید میوه هایی با اندازه بزرگ و با کیفیت برتر شده است (Rouphael *et al* 2017). تعدادی از نشریات دریافته اند که استفاده از عصاره جلبک دریایی زمانی که در کشاورزی معمولی گنجانده شود از نظر اقتصادی مقرون به صرفه است (Mattner *et al.* 2018; Arioli *et al.* 2021a, b). عصاره جلبک دریایی علاوه بر مزایای اقتصادی، مزایای عملی دیگری نیز دارد. عصاره جلبک دریایی مکمل محلول های حفاظتی محصول است، ذاتاً زیست تخریب پذیر و بی خطر است و اثربخشی آنها برای بسیاری از محصولات مفید است، به ویژه در شرایط تنش ناشی از نوسانات فصلی و ناهنجاری های آب و هوایی (Shukla *et al.* 2019; Li *et al.* 2022). گزارش شده است که استفاده از عصاره جلبک دریایی در تولید آووکادو عملکرد قابل فروش آووکادو (سینی های میوه) را به ازای هر درخت تا 21 درصد افزایش می دهد و این منجر به افزایش 24 درصدی در بازده تولیدکنندگان می شود (Arioli *et al.* 2023). همچنین تاثیر عصاره جلبک دریایی و مخمر در گوجه فرنگی عملکرد تولید را از نظر مقدار و اندازه میوه افزایش داد و منجر به تولید محصولات قابل فروش بیشتر شد (Mannino *et al* 2020). با مطالعه تاثیر محلول پاشی عصاره جلبک دریایی بر رشد و عملکرد سیب زمینی گزارش شد که با کاربرد عصاره جلبک دریایی در مراحل مختلف رشد، عملکرد و کیفیت غده سیب زمینی افزایش یافت. همچنین محلول پاشی برگی جلبک دریایی طی دوره رشد رویشی میوه ها سبب افزایش اندازه، وزن و عملکرد میوه می شود که ممکن است به دلیل تاثیر مثبت عصاره جلبک دریایی بر سطوح درونزا محرک های رشد، مواد مغذی ماکرو و میکرو و کربوهیدرات ها باشد. افزایش عملکرد در گیاهان تیمار شده با جلبک دریایی به تنظیم کننده های رشدی مانند اکسین، جیبرلین و به ویژه سیتوکینین ها نیز مرتبط است (Mahmud, *et al.*, 2016).

## نتیجه گیری

بررسی نتایج پژوهش حاضر نشان داد که محلول پاشی با عصاره جلبک دریایی باعث بهبود خصوصیات کمی میوه خرما می گردد بر اساس نتایج بدست آمده از محلول پاشی عصاره جلبک دریایی مشخص شد که استفاده از عصاره جلبک دریایی تاثیر معنی داری بر درصد کاهش وزن کل میوه خرما، وزن گوشت و وزن هسته داشت. بطوریکه عصاره جلبک دریایی در غلظت 0/002 بطور معنی داری وزن گوشت را نسبت به شاهد و غلظت 0/003 عصاره جلبک دریایی افزایش داد. و همچنین استفاده از عصاره جلبک دریایی با غلظت 0/002 سبب افزایش وزن گوشت میوه خرما نسبت به 0/003 عصاره جلبک دریایی و گروه شاهد شد. بنابراین پیشنهاد میشود برای فروش بهتر میوه خرما در بازارهای رقابتی جهانی فروش میوه خرما، افزایش خصوصیات کمی میوه خرما میتواند به صادرات آن با قیمت بهتر کمک کند و از این طریق نقش مهمی در بهبود صادرات میوه و وضعیت اقتصادی کشاورزان ایفا میکند.

## منابع و مراجع مورد استفاده

Agricultural Statistics. (2022). Volume 3: Horticultural and greenhouse Products. Tehran, Ministry of Jihad Agriculture, Vice President of Statistics, Information and Communication Technology Center. 307p.

Arioli, T., Villalta, O.N., Hepworth, G., Farnsworth, B. and Mattner, S.W., 2023. Effect of seaweed extract on avocado root growth, yield and post-harvest quality in far north Queensland, Australia. *Journal of Applied Phycology*, pp.1-11.

Arioli, T., Hepworth, G., Farnsworth, B., Kasinadhuni, N., Noune, C. and Mattner, S., 2021. Effect of seaweed-extract application on sugarcane yield in Australia. In *Proc Aust Soc Sugar Cane Technol* (Vol. 42, pp. 637-644).

FAO. (2021). Food and Agriculture Organization of the United Nations. Available at: <https://www.fao.org/faostat/en/#data>

Li J, Van Gerrewey T, Geelen D (2022) A meta-analysis of biostimulant yield effectiveness in field trials. *Front Plant Sci* 13:836702

Mahmud, T. SH.M., F.K.M. Shaaban, M.M. Morsey and M.Y.I. El-Nagger. 2016. Study on the effect of pre-harvest treatments by seaweed extract and amino acids on anna apple growth, leaf mineral content, yield, fruit quality at harvest and storability. *Int. J. Chemtech Re.* 9(5): 161-171.

Mannino, G., Campobenedetto, C., Vigliante, I., Contartese, V., Gentile, C. and Berteà, C.M., 2020. The application of a plant biostimulant based on seaweed and yeast extract improved tomato fruit development and quality. *Biomolecules*, 10(12), p.1662.

Mattner, S.W., Milinkovic, M. and Arioli, T., 2018. Increased growth response of strawberry roots to a commercial extract from *Durvillaea potatorum* and *Ascophyllum nodosum*. *Journal of applied phycology*, 30(5), pp.2943-2951.

Mostaan, A., Latifian, M., and Torahi, A. 2017. Technical guide for planting, protecting and harvesting dates. Agricultural Education Press 282 pp. (In Farsi)

Rouphael, Y., Colla, G., Giordano, M., El-Nakhel, C., Kyriacou, M.C. and De Pascale, S., 2017. Foliar applications of a legume-derived protein hydrolysate elicit dose-dependent increases of growth, leaf mineral composition, yield and fruit quality in two greenhouse tomato cultivars. *Scientia horticulturae*, 226, pp.353-360

Shukla, P.S., Mantin, E.G., Adil, M., Bajpai, S., Critchley, A.T. and Prithiviraj, B., 2019. *Ascophyllum nodosum*-based biostimulants: Sustainable applications in agriculture for the stimulation of plant growth, stress tolerance, and disease management. *Frontiers in plant science*, 10, p.655.

## Investigating the effect of foliar application of seaweed extract on improving the quantitative characteristics of Kloteh date fruit

Sakineh Mollai Mohammadabadi<sup>1</sup>, Mahbobeh Mohammadi<sup>2</sup>, Somayeh Rastegar<sup>2\*</sup>

- 1- Master's student of horticultural sciences, department of horticultural sciences, faculty of agriculture and natural resources, Hormozgan University, Bandar Abbas, Iran
- 2-\* Corresponding author: Associate Professor of Department of Horticultural Sciences, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Hormozgan University, Bandar Abbas, Iran. Email: rastegarhort@gmail.com, s.rastegar@hormozgan.ac.ir
- 2- PhD student, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Hormozgan University, Bandar Abbas, Iran.

### Abstract

Dates are one of the important and strategic fruits in Iran, which plays a major role in providing employment and livelihood of the people, and a part of it is exported abroad. Increasing the quantitative characteristics of date fruit through foliar spraying with seaweed extract can be effective both in improving livelihood and increasing its export. Seaweed extracts have been proven to increase productivity in many agricultural crops, but there is limited research on their use in producing dates with better fruit characteristics. This research was carried out with the aim of improving the quantitative characteristics of Kloteh date fruit by examining some responses of date fruit to foliar spraying with seaweed extract. This research was conducted in the form of randomized complete block design with 3 replications on 11-year-old date trees in a commercial date orchard in Rodan city. Foliar spraying of seaweed extract was done at three levels with concentrations of zero (distilled water as a control), 0.002 and 0.003 per thousand milliliters. Based on the obtained results, the use of seaweed extract had a significant effect on the percentage of increase in the total weight of date fruit, meat weight, and hessene weight. So that seaweed extract at a concentration of 0.002 significantly increased the weight of meat compared to the control and the concentration of seaweed extract at 0.003. Also, the use of seaweed extract with a concentration of 0.002 increased the weight of date fruit meat compared to 0.003 seaweed extract and the control group.

**Key words:** Quantitative characteristics, seaweed extract, Clote, foliar application, date fruit

## مطالعه اثر مقادیر مختلف نیتروژن بر عملکرد و اجزاء عملکرد کلزا در ایران با استفاده از

### روش فراتحلیل

سمانه متقی<sup>1</sup>

استادیار گروه کشاورزی دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

samanehmottaghi@yahoo.com

امید لطفی فر<sup>2</sup>

استادیار گروه کشاورزی دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

### چکیده

این آزمایش با هدف بررسی اثر مقادیر متفاوت نیتروژن بر عملکرد و اجزاء عملکرد کلزا با استفاده از متآنالیز انجام شد. نتایج نشان داد که کاربرد نیتروژن به طور میانگین سبب افزایش 56/2 درصدی تعداد خورجین در بوته، 17/7 درصدی تعداد دانه در خورجین، 35/9 درصدی وزن هزار دانه و در نهایت افزایش 76 درصدی عملکرد دانه شد و کاهش 2/8 درصدی میزان روغن دانه را به همراه داشت. بالاترین افزایش تعداد دانه در خورجین (36/8 درصد) و عملکرد دانه در دامنه‌ی 300-226 کیلوگرم در هکتار دیده شد. همچنین بالاترین میزان افزایش تعداد خورجین در بوته (81/7 و 85/3 درصد) به ترتیب در دو سطح 300-226 و 151-225 کیلوگرم نیتروژن در هکتار دیده شد. بالاترین افزایش وزن هزار دانه در دامنه‌ی 150-76 نیتروژن در هکتار (38/3 درصد) و بالاترین تعداد خورجین در بوته از دو دامنه‌ی 151-225 و 226-300 کیلوگرم نیتروژن در هکتار به دست آمد. استفاده از نیتروژن منجر به کاهش میزان روغن دانه گردید که بالاترین کاهش از دامنه‌ی 226-300 کیلوگرم نیتروژن در هکتار گزارش شد. بر اساس نتایج بهترین میزان نیتروژن در تولید عملکرد دانه در 226-300 و 151-225 کیلوگرم نیتروژن در هکتار بود که با توجه به عدم معنی داری دو تیمار مذکور، برای گیاه کلزا، سطح 151-225 کیلوگرم نیتروژن توصیه می‌شود.

واژگان کلیدی: اجزاء عملکرد، روغن، عملکرد دانه، فراتحلیل و کلزا

### مقدمه

کلزا یکی از مهمترین گیاهان زراعی است که عمدتاً با هدف تولید روغن خوراکی کشت می‌گردد و رتبه سوم بالاترین تولید روغن خوراکی را بعد از نخل روغنی و سویا در اختیار دارد. در تولید کلزا، مصرف کود نیتروژن نقش مهم و حیاتی در رسیدن به پتانسیل عملکرد دارد و مصرف بهینه نیتروژن از یک طرف نقش به‌سزایی در افزایش عملکرد و کیفیت کلزا و روغن دانه داشته و از طرف دیگر از بروز آلودگی‌های زیست محیطی و به هم خوردن تعادل عناصر غذایی خاک جلوگیری می‌کند (3) بر اساس تحقیقات مصرف نیتروژن با کاهش ریزش گل‌ها، افزایش سطح سبز گیاه و تعداد شاخه‌های فرعی در کلزا، باعث افزایش تعداد خورجین‌ها و وزن هزار دانه شده و باعث افزایش عملکرد می‌شود (4).

اگرچه پژوهش‌های زیادی در باره‌ی تاثیر کاربرد کودهای حاوی نیتروژن بر عملکرد و اجزاء عملکرد کلزا انجام گرفته است ولی میزان تاثیر آن و همچنین مقدار کود توصیه شده برای حصول بالاترین عملکرد کلزا در مطالعات مختلف با هم متفاوت است که منجر به عدم بیان نظر قطعی در مورد میزان تاثیرگذاری کود نیتروژن بر این گیاه می‌گردد. متاآنالیز می‌تواند با در نظر گرفتن میزان تاثیرگذاری اطلاعات موجود در هر یک از مطالعات، به جمع‌بندی و تفسیر یافته‌ها و اطلاعات بزرگ کمک کند (Gurevitch & hedges, 1999). هدف از این مطالعه انجام یک فراتحلیل برای تجزیه و تحلیل داده‌های منتشر شده از مطالعات مربوط به تأثیر کود نیتروژن بر عملکرد دانه و روغن و اجزاء عملکرد گیاه کلزا در ایران است.

### مواد و روش‌ها

داده‌های مورد استفاده در این آزمایش از مرور کلیه مقالات چاپ شده در نشریات فارسی از سال 1383 تا کنون که از سایت پایگاه مرکز اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی (SID) به دست آمده است. کلیه مقالاتی که در آن اثر کود نیتروژن بر عملکرد و اجزاء عملکرد کلزا مطالعه شده بود جمع‌آوری شده و اطلاعات آن شامل تعداد خورجین در بوته، تعداد دانه در خورجین و وزن هزار دانه، میزان روغن دانه، عملکرد دانه از مقالات استخراج شد. میانگین ویژگی‌های یاد شده از مقالاتی که در آن‌ها تیمارهای استفاده از مقادیر مختلف کود نیتروژن با شاهد عدم کاربرد نیتروژن مقایسه شده بود، استخراج گردید. همچنین تعداد تکرار نیز برای هر میانگین یادداشت شد. از 108 مقاله موجود در رابطه با کاربرد نیتروژن در گیاه کلزا در پایگاه اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی (SID)، در 67 مقاله، اثر مقادیر مختلف کاربرد نیتروژن بر عملکرد و اجزاء عملکرد گیاه مذکور، مورد آزمایش قرار گرفته بودند. متاآنالیز اثرات هر یک از تیمارها در مطالعات مختلف را با استفاده از مقیاس مشترک میزان اثر، ارزیابی می‌کند. میزان اثر نیز به صورت لگاریتم طبیعی ( $\ln R$ ) نسبت پاسخ و با استفاده از رابطه (1) محاسبه شد (2):

$$\ln R = \ln \left( \frac{\bar{X}_P}{\bar{Y}_C} \right) \quad \text{رابطه (1)}$$

که در آن  $\bar{X}_P$  و  $\bar{Y}_C$  به ترتیب شامل میانگین هر ویژگی در تیمار کاربرد نیتروژن و تیمار عدم کاربرد نیتروژن هستند. هر یک از میانگین‌ها در هر مطالعه با استفاده از تعداد تکرار وزن دهی شدند.

$$W_i = n \quad \text{رابطه (2)}$$

که در آن  $W_i$  عبارت است از وزن اختصاص یافته به مشاهده  $i$  و  $n$  تعداد تکرار در مورد هر تیمار است. وزن دهی با این هدف انجام می‌شود که تاثیر و وزن هر تیمار در آزمایش‌های بزرگ باید نسبت به آزمایشات کوچک بالاتر باشد (1). اندازه اثر میانگین با استفاده از رابطه (3) محاسبه شد:

$$\overline{\ln R} = \frac{\sum (\ln R_i \times W_i)}{\sum (W_i)} \quad \text{رابطه (3)}$$

که در آن  $\ln R_i$  عبارت است از اندازه اثر برای ویژگی‌های عملکرد دانه و روغن و ماده خشک، تعداد خورجین در بوته، تعداد دانه در خورجین، وزن هزار دانه و میزان روغن که در مشاهده " $i$ " ثبت شده است. برای کمک به تفسیر داده‌ها، نتایج به صورت درصد تغییر در هر ویژگی در اثر کاربرد نیتروژن نسبت به عدم کاربرد نیتروژن گزارش گردید. در مورد ویژگی‌هایی که کاربرد کود نیتروژن سبب افزایش میزان ویژگی شده بود نمودارها به صورت درصد افزایش و در مورد ویژگی‌هایی اعمال کود

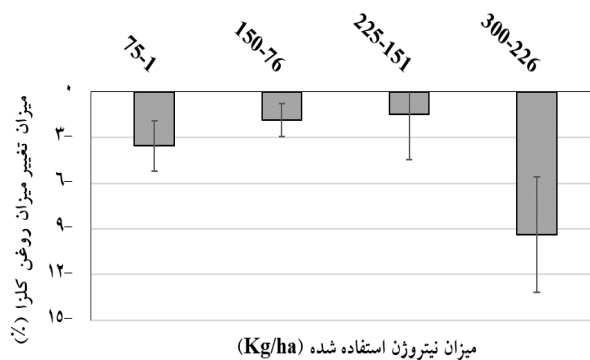
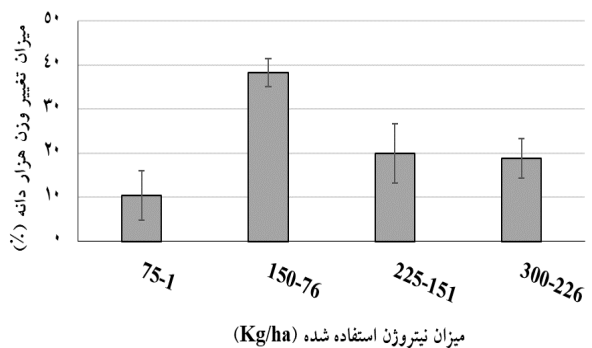
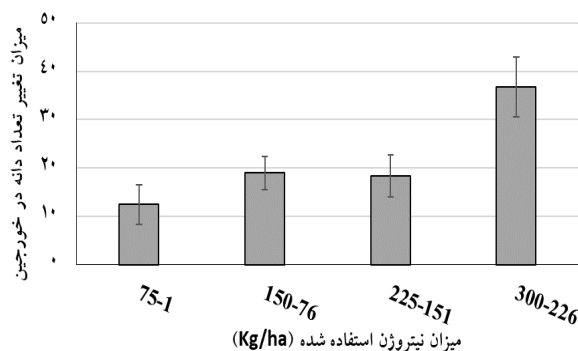
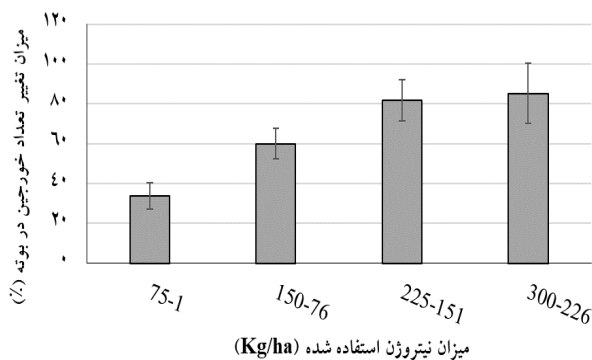
سبب کاهش ویژگی شده بود نمودارها به صورت درصد کاهش و با استفاده از نرم افزار Excel رسم گردیدند. به منظور نشان دادن معنی‌داری یا عدم معنی‌داری اختلاف تیمارها، روی هر یک از ستون‌ها از انحراف معیار در سطح 5 درصد استفاده شد.

### نتایج و بحث

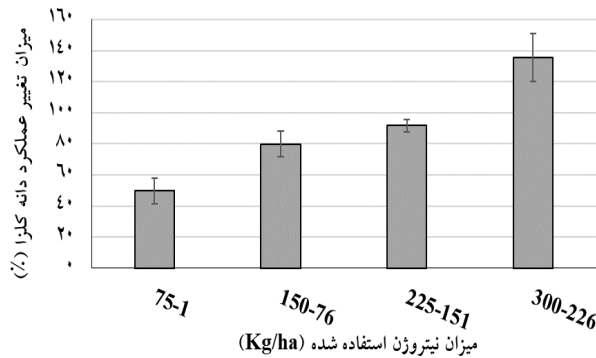
استفاده از کود نیتروژن در مقادیر مختلف نسبت به عدم مصرف آن باعث افزایش معنی‌دار در همه صفات به استثنای میزان روغن گردید. بر اساس نتایج استفاده از نیتروژن به طور میانگین سبب افزایش 56/2 درصدی تعداد خورجین در بوته، 17/7 درصدی تعداد دانه در خورجین و 35/9 درصدی وزن هزار دانه شد که افزایش اجزاء عملکرد منجر به افزایش عملکرد دانه به میزان 76 درصد شد اما در مورد میزان روغن دانه کاهش 2/8 درصدی ثبت گردید (شکل 1).

تعداد خورجین در بوته: نتایج نشان می‌دهد که افزودن کود نیتروژن به خاک در همه سطوح باعث افزایش معنی‌دار تعداد خورجین در بوته گردید. در بین اجزاء عملکرد این صفت بالاترین تاثیر را از نیتروژن گرفت. دو دامنه‌ی 226-300 و 151-225 کیلوگرم نیتروژن در هکتار هر کدام به ترتیب با 58/3 و 81/7 درصد افزایش به صورت معنی‌دار بالاترین تعداد خورجین را تولید کردند (شکل 1).

تعداد دانه در خورجین: این جزء از عملکرد نیز به طور معنی‌دار با افزودن هر یک از سطوح کود نیتروژن افزایش معنی‌دار نسبت به شاهد بدون استفاده از کود نیتروژن داشت. کاربرد میزان 226-300 کیلوگرم نیتروژن در هکتار با افزایش 36/8 درصدی، بالاترین تاثیر مثبت را بر تعداد خورجین در بوته داشت.







شکل 1. درصد تغییرات تعداد خورجین در بوته، تعداد دانه در خورجین، وزن هزار دانه، میزان روغن و عملکرد دانه گیاه کلزا تحت تاثیر استفاده از مقادیر مختلف کود نیتروژن (erro bar ها نشان دهنده انحراف معیار در سطح 5 درصد است)

وزن هزار دانه: در بین اجزاء عملکرد، وزن هزار دانه کمترین میزان تاثیر را از کاربرد کود نیتروژن پذیرفت با اینحال استفاده از نیتروژن در تمامی سطوح سبب افزایش معنی دار وزن هزار دانه گردید ولی در هر یک از سطوح میزان افزایش متفاوت بود. بالاترین میزان افزایش در سطح 76-150 کیلوگرم با 38/3 درصد دیده شد.

درصد روغن: درصد روغن با افزایش نیتروژن با کاهش روبرو شد و در تمامی سطوح به استثنای 151-225 کیلوگرم نیتروژن در هکتار، میزان کاهش این صفت نسبت به تیمار عدم استفاده از کود نیتروژن معنی دار بود. تیمار 226-300 کیلوگرم نیتروژن در هکتار با کاهش 9 درصدی درصد روغن، بالاترین میزان کاهش وزن هزار دانه را به خود اختصاص داد.

عملکرد دانه: استفاده از کود نیتروژن با تاثیر مثبت نیتروژن بر اجزاء عملکرد دانه در تمامی سطوح سبب افزایش معنی دار عملکرد دانه گردید. با افزایش میزان نیتروژن استفاده شده، میزان عملکرد دانه افزایش یافت و بدین ترتیب بالاترین میزان افزایش عملکرد دانه در سطح 226-300 کیلوگرم نیتروژن در هکتار دیده شد (135/5 درصد) و سطوح 151-225، 76-150 و 1-75 کیلوگرم نیتروژن در هکتار (به ترتیب با 91/7، 79/7 و 49/7 درصد افزایش) در جایگاه‌های بعدی قرار گرفتند.

#### نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق نشان می‌دهد که افزودن کود نیتروژن به خاک با افزایش تمامی اجزاء عملکرد، افزایش عملکرد را به همراه دارد و در بین این اجزاء تعداد خورجین در بوته، بالاترین تاثیر و وزن هزار دانه گمترین تاثیر را از افزایش نیتروژن خاک پذیرفتند. هرچند افزودن 226-300 کیلوگرم نیتروژن به خاک بالاترین عملکرد را تولید کرد، با این حال آلودگی ایجاد شده در اثر نیتروژن بالا، منجر به محدودیت مصرف می‌شود. به نظر می‌رسد اقداماتی از قبیل تقسیط مصرف کود، استفاده از کودهای پوشش‌دار، قرار دادن گیاهان تثبیت کننده نیتروژن در تناوب و استفاده از باکتری‌ها و موجودات تثبیت کننده نیتروژن می‌تواند راهکاری مناسب جهت تامین نیتروژن گیاه، با کمترین خسارت به محیط زیست باشد.

#### منابع و مراجع مورد استفاده

1. Gurevitch, J. and Hedges, L.V. 1999. Statistical issues in ecological Meta-Analysis. *Ecology*. 80, pp.1142-1149
2. Hedges, L.V., Gurevitch, J. and Curtis, P. 1999. The meta-analysis of response ratios in experimental ecology. *Ecology*. 80, pp.1150-1156.
3. Ma, B.L. and Herath, A.W. (2016). Timing and rates of nitrogen fertilizer application on seed yield, quality and nitrogen-use efficiency of canola. *Crop Pasture Science*, 67(2), pp.167-180

- Rameeh, V. and Salimi, M.B. (2015). Effect of different nitrogen rates on phenology, plant height, yield components and seed yield of rapeseed (*Brassica napus* L.). *Journal of Plant Production*. 2(1), pp.1-12.

## Study of the Effect of Different Amounts of Nitrogen On Yield and Yield Components of Canola in Iran Using Meta-Analysis Method

Samaneh Mottaghi<sup>1</sup>

Assistant Professor, Department of Agriculture, Payame noor University, Tehran, Iran  
[samanehmottaghi@yahoo.com](mailto:samanehmottaghi@yahoo.com)

Omid Lotfifar<sup>2</sup>

Assistant Professor, Department of Agriculture, Payame noor University, Tehran, Iran

### Abstract

This experiment was conducted with the aim of investigating the effect of different amounts of nitrogen on yield and yield components of rapeseed using meta-analysis. The results showed that the application of nitrogen caused an average increase of 56.2% in the number of spikelet per plant, 17.7% in the number of seeds in a spikelet, 35.9% in the weight of one thousand seeds, and finally a 76% increase in seed yield and a decrease of 2.8%. It yielded a percentage of seed oil. The highest increase in the number of seeds was seen in pod (36.8 percent) and the yield of seeds was seen in the range of 226-300 meters in the field. Also, the highest rate of increase in plant yield (81.7% and 85.3%) was seen at two levels of nitrogen in water, 226-300 and 151-225, respectively. The highest increase in the weight of a thousand seeds in the ranges of 76-150 nitrogen in the ground (38.3 percent) and the highest number of pods per plant from the two ranges. 151-225 and 226-300 nitrogen were obtained in the ground. With the reduction of nitrogen in reducing the amount of oil seeds, it decreased to 226-300 nitrogen. According to the results, the best amount of nitrogen in the production of seed yield was at 226-300 and 151-225 nitrogen in the ground, and due to the absence of treatment, the level of 151-25 nitrogen is recommended for rapeseed.

**Keywords:** Meta-analysis, Oil, Rapeseed, Seed Yield, Yield components.

## بررسی اثر تنش شوری و خشکی بر جوانه‌زنی گلرنگ در مرحله جوانه‌زنی

سمانه متقی<sup>1</sup>

1. استادیار گروه کشاورزی دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

[samanehmottaghi@yahoo.com](mailto:samanehmottaghi@yahoo.com)

امید لطفی‌فر<sup>2</sup>

2. استادیار گروه کشاورزی دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

### چکیده

به منظور بررسی اثر تنش خشکی (حاصل از پلی‌اتیلن گلیکول) و تنش شوری (NaCl) بر جوانه‌زنی و رشد اولیه گلرنگ، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل نوع تنش (خشکی و شوری) و شدت تنش (شاهد عدم تنش، -0/3، -0/6، -0/9 و 1/2- مگاپاسکال) بود. صفات مورد بررسی عبارت بودند از درصد جذب رطوبت، درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، طول ساقه‌چه و ریشه‌چه و شاخص بنیه گیاهچه. نتایج نشان داد که اثر نوع تنش و سطح تنش بر تمام صفات معنی‌دار بود و اثر متقابل هم به استثنای میزان جذب رطوبت و طول ریشه‌چه، بر سایر صفات در سطح 1 درصد معنی‌دار بود. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که گیاه گلرنگ در مرحله جوانه‌زنی نسبت به تنش شوری مقاومت بالاتری دارد به طوری که در پتانسیل 1/2- مگاپاسکال NaCl نسبت به عدم تنش منجر به کاهش 20 درصدی میزان جوانه‌زنی، 42 درصدی سرعت جوانه‌زنی، 78 درصدی طول ریشه‌چه، 84 درصدی طول ساقه‌چه و 83 درصدی طول ساقه‌چه شد درحالی‌که این کاهش برای صفات مذکور در تنش به ترتیب، در حالی‌که این میزان در پتانسیل 1/2- PEG نسبت به عدم تنش، به ترتیب کاهش 81، 94، 97 و 100 درصدی صفات مذکور گردید. با توجه به مقاومت بالای گلرنگ به تنش شوری و ضمن انجام آزمایشات تکمیلی تا مرحله رسیدگی کامل، می‌توان از این گیاه بومی کشور جهت حصول روغن در مناطق تحت تنش شوری استفاده کرد ولی در نقاطی که امکان بروز تنش خشکی وجود دارد کشت بذری این گیاه توجیه ندارد.

واژگان کلیدی: تنش خشکی، تنش شوری، جوانه‌زنی و گلرنگ.

### مقدمه

با توجه به روند صعودی مصرف روغن‌های نباتی و هزینه زیاد تأمین روغن از طریق واردات، توسعه کشت گیاهان روغنی سازگار با اقلیم کشور حائز اهمیت است. با توجه به وجود تنوع در توده‌ها و ارقام گلرنگ و ویژگی‌های قابل توجه گلرنگ مانند مقاومت نسبی به شوری، کم‌آبی و خشکی، تطابق دوره رشد گلرنگ با بارش‌ها، وجود ارقام وحشی گلرنگ در کشور و کیفیت عالی روغن، گلرنگ (*Carthamus tinctorius*) را به‌عنوان گزینه‌ای مناسب در کنار سایر محصولات روغنی دیگر مطرح نموده است (3). روغن گلرنگ با دارا بودن بیش از 90 درصد اسیدهای چرب غیراشباع به‌خصوص اسید لینولئیک و اولئیک همواره به‌عنوان یک روغن با ارزش محسوب شده است (4).

مرحله جوانه‌زنی از حساسترین مرحله رشدی گیاه در شرایط تنش‌های خشکی و شوری است و در صورتی که گیاه این مرحله را به‌خوبی تحمل کند، معمولاً سایر مرحله‌های رشد را بدون مشکل سپری خواهد کرد (2). جوانه‌زنی در تعیین تراکم کافی بوته در واحد سطح اهمیت بالایی دارد و بذریابی، مناسب کشت هستند که به‌صورت کامل و سریع جوانه بزنند (5). تراکم مناسب بوته و یکنواختی مزرعه، از مرحله‌های حیاتی در زندگی گیاه و عملکرد محصول محسوب می‌شود که در صورت جوانه‌زنی مناسب قابل حصول است (1).

با توجه به توصیه محققین به جایگزین کردن بذر با نشاء برای کشت گلرنگ و مقاومت بالای گلرنگ در برابر خشکی و شوری در مراحل بعدی رشد، بررسی مقاومت این گیاه در مرحله جوانه‌زنی به تنش‌های خشکی و شوری می‌تواند جهت توصیه به خزان‌های تولید کننده نشاء قابل استفاده باشد.

### مواد و روش‌ها

این تحقیق در آزمایشگاه بخش علف‌های‌هرز مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور به صورت فاکتوریل سه عاملی و در قالب طرح کاملاً تصادفی بر گلرنگ رقم پدیده اجرا شد که در آن عامل اول نوع تنش شامل تنش شوری (ایجادشده توسط کلرید سدیم) و خشکی (ایجادشده توسط پلی‌اتیلن‌گلایکول) و عامل دوم سطوح مختلف پتانسیل رطوبتی شامل صفر (آب مقطر دوبار تقطیرشده)، 0/3، 0/6، 0/9 و 1/2- مگاپاسکال بودند. برای هر سطح از تیمارها، 4 پتری‌دیش شیشه‌ای 9 سانتی‌متری در نظر گرفته شد که کف آن با دو لایه کاغذ صافی پوشانده شده بود. کف هر یک از ظرف‌ها، 7 میلی‌متر مکعب محلول مورد نظر هر تیمار ریخته شد و پس از قرار گرفتن 25 بذر در داخل هر پتری و روی کاغذ صافی، درب پتری‌ها بسته شده و جهت جلوگیری از تبخیر آب و عدم تغییر غلظت محلول طی آزمایش، با استفاده از نوار پارافیلیم درب پتری‌ها عایق شد. بذریابی جوانه‌زده محسوب شد که طول ریشه‌چه حداقل 2 میلیمتر بود. تعداد بذر جوانه‌زده هر 24 ساعت یکبار و به مدت 14 روز شمارش شد و در پایان 14 روز تعداد بذر جوانه‌زده به عنوان درصد جوانه‌زنی نهایی محسوب شد. سرعت جوانه‌زنی با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد:

$$Gr = (10 \times n1) + \dots + (1 \times n14) \quad \text{رابطه (1)}$$

که در آن GR سرعت جوانه‌زنی و 1 تا 14 n تعداد بذر جوانه‌زده در روز 1 الی 14 بود .

برای محاسبه طول اجزاء گیاهچه از هر پتری 10 بذر جوانه زده انتخاب و میانگین آن به عنوان طول ریشه چه و ساقه‌چه ثبت شد. همچنین شاخص بنیه گیاهچه نیز با استفاده از رابطه 2 محاسبه شد:

$$SVI = GR \times SL \quad \text{رابطه (2)}$$

که در آن GP درصد جوانه‌زنی نهایی، SL طول گیاهچه و SVI شاخص بنیه گیاهچه را نشان می‌دهد. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS انجام شد. مقایسه میانگین‌ها نیز به روش LSD در سطح 5 درصد انجام و نمودارها نیز با استفاده از نرم‌افزار Excel رسم شد.

### نتایج و بحث

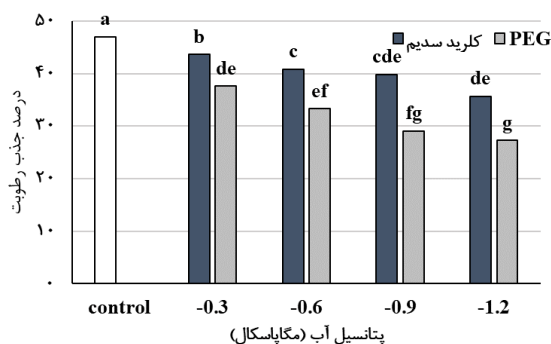
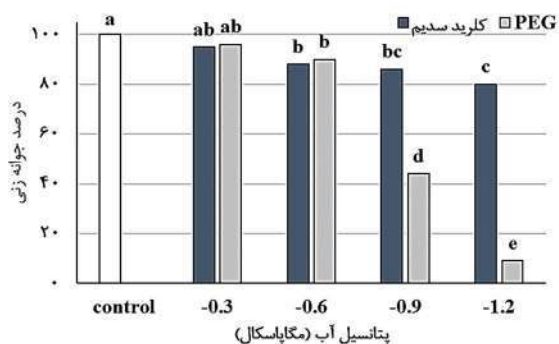
نتایج مقایسه میانگین درصد جوانه‌زنی نشان داد که در پتانسیل 0/3- مگاپاسکال، این صفت در هیچ یک از دو تنش شوری و خشکی نسبت به تیمار عدم تنش، اختلاف معنی‌دار نداشتند. اختلاف بین دو نوع تنش در پتانسیل‌های 0/3 و 0/6- معنی‌دار نبود با تشدید پتانسیل اسمزی به 0/9- و 1/2- مگاپاسکال، درصد جوانه‌زنی در تنش خشکی با شدت زیادی کاهش یافت و اختلاف

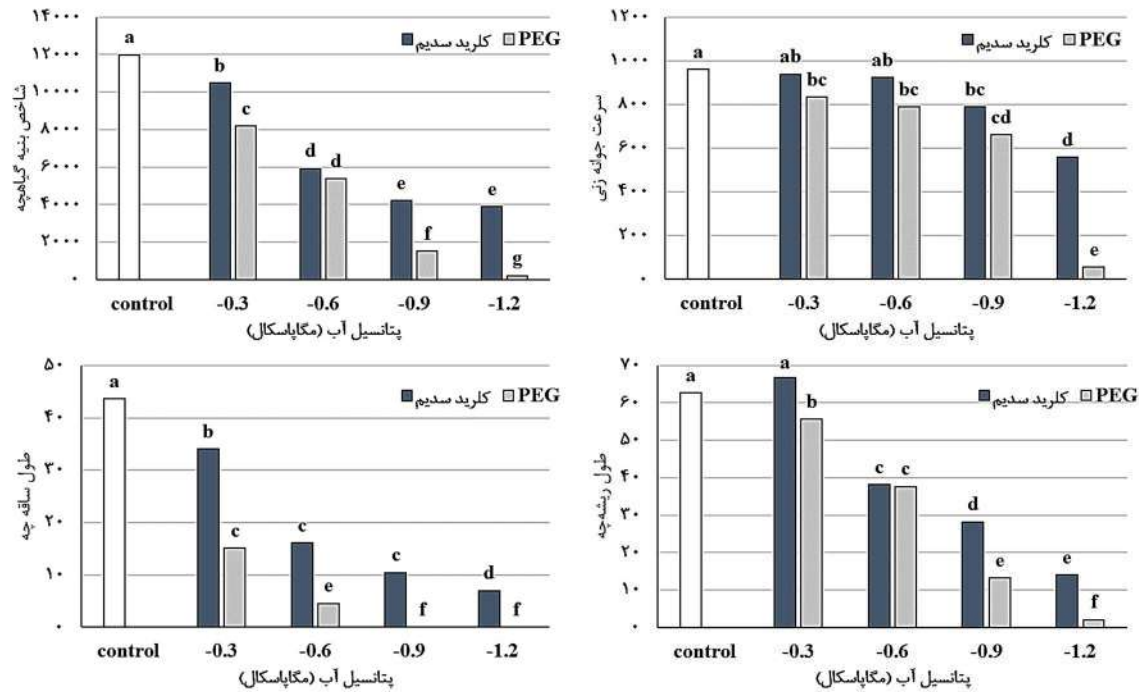
بین دو نوع تنش خشکی شوری معنی دار گردید. بر این اساس پتانسیل‌های  $-0/3$ ،  $-0/6$ ،  $-0/9$  و  $-1/2$  مگاپاسکال نسبت به شاهد در تنش خشکی حاصل از PEG منجر به کاهش 4، 10، 56 و 91 درصدی و در تنش شوری حاصل از NaCl منجر به کاهش 5، 12، 14 و 20 درصدی میزان جوانه‌زنی شد.

در ارتباط با درصد رطوبت جذب شده نیز نتایج حاکی است که هر دو تنش در تمامی سطوح نسبت به تیمار شاهد جذب رطوبت کمتری داشتند. همچنین در تمامی پتانسیل‌های مورد آزمایش، تنش حاصل از PEG نسبت به NaCl به صورت معنی دار جذب آب کمتری داشت.

در رابطه با سرعت جوانه‌زنی تاثیر منفی تنش حاصل از PEG بسیار بالاتر بود و در تمامی سطوح این تنش میزان این صفت نسبت به شاهد کاهش معنی دار داشت ولی در تنش شوری حاصل از NaCl تا پتانسیل  $-0/6$  مگاپاسکال، سرعت جوانه‌زنی کاهش معنی داری نسبت به شاهد نداشت. میزان کاهش سرعت جوانه‌زنی در پتانسیل‌های  $-0/3$ ،  $-0/6$ ،  $-0/9$  و  $-1/2$  مگاپاسکال نسبت به شاهد در تنش خشکی حاصل از PEG منجر به کاهش 13، 18، 31 و 94 درصدی و در تنش شوری حاصل از NaCl منجر به کاهش 2، 4، 18 و 42 درصدی سرعت جوانه‌زنی شد.

مقایسه میانگین‌ها حاکی است که در پتانسیل  $-0/3$  حاصل از NaCl نسبت به شاهد عدم تنش، طول ریشه‌چه افزایش 6 درصدی نشان داد ولی در سطوح  $-0/6$ ،  $-0/9$  و  $-1/2$  مگاپاسکال کاهش معنی دار و به میزان 39، 55 و 78 درصدی نسبت به شاهد مشاهده شد. در تنش حاصل از PEG میزان کاهش در پتانسیل‌های  $-0/3$ ،  $-0/6$ ،  $-0/9$  و  $-1/2$  مگاپاسکال نسبت به عدم تنش طول ریشه‌چه به ترتیب به میزان 11، 40، 79 و 97 درصد کاهش نشان داد. در بین صفات اندازه‌گیری شده، هر دو نوع تنش بالاترین تاثیر منفی را بر طول ساقه‌چه نشان دادند. پتانسیل‌های  $-0/3$ ،  $-0/6$ ،  $-0/9$  و  $-1/2$  مگاپاسکال در تنش حاصل از NaCl منجر به کاهش 22، 63، 76 و 84 درصدی و در تنش حاصل از PEG سبب کاهش 63، 87، 100 و 100 درصدی طول ساقه‌چه شد. در تمامی پتانسیل‌های مورد آزمون طول ریشه‌چه و ساقه‌چه نسبت به تنش حاصل از PEG نسبت به تنش حاصل از NaCl به طور معنی دار پایین تر بود.





شکل 1- اثر سطوح مختلف تنش خشکی و شوری بر جوانه زنی و رشد اولیه گلرنگ

شاخص بینه گیاهچه نیز به شدت تحت تاثیر تنش های ایجاد شده توسط NaCl و PEG قرار گرفت. نتایج نشان داد که تمامی سطوح در هر دو تنش منجر به کاهش معنی دار این شاخص شده که این میزان در پتانسیل های  $-0/3$ ،  $-0/6$ ،  $-0/9$  و  $-1/2$  مگاپاسکال حاصل از PEG این کاهش به ترتیب 12، 50، 65 و 68 بوده و در تنش حاصل از NaCl به ترتیب 32، 55، 87 و 98 درصد بود. همچنین به استثنای پتانسیل  $-0/6$  مگاپاسکال، در سایر سطوح تنش، شاخص بینه گیاهچه در تنش خشکی حاصل از NaCl بالاتر از PEG بود.

### نتیجه گیری

بر اساس نتایج به دست آمده، مقاومت گلرنگ در مرحله جوانه زنی در تنش شوری نسبت به تنش خشکی به صورت معنی دار بالاتر بود و جهت حصول نشاء و جوانه بهتر می توان از آب با نمک پایین هم استفاده نمود ولی تنش خشکی خفیف هم قادر به کاهش قدرت جوانه زنی این گیاه خواهد شد. همچنین علی رغم حفظ توان جوانه زنی این گیاه در سطوح شدید تنش به ویژه تنش شوری، ولی با توجه به افت شدید سایر صفات که اکثر آنها با قدرت سبز شدن همبستگی بالایی دارند، بهتر است در تولید نشاء و همچنین در مراحل اولیه رشد، گیاه را از هر گونه تنش بخصوص تنش خشکی دور نگه داشت.

### منابع و مراجع مورد استفاده :

1. Cheng, Z. and Bradford, K.J. 1999. Hydrothermal time analysis of tomato seed germination responses to priming treatments. *Journal of Experimental Botany*. 50, pp. 89-99.
2. Farzadmehr, J., Ramezani, M., Behbahani, N. and Moeini, N. 2011. The effect of salinity and drought stress on germination characteristics and seedling growth of *Salsola arbuscula*. *Iranian Natural Resources*, 64 (2), pp. 217-227.

3. Haghshenas, R., Sharafi, S., and Gholinezhad, E., 2020. Effect of different levels of drought stress and mycorrhiza on yield of safflower cultivars. *Agricultural Knowledge and Sustainable Production*. 30(2), pp.91-109.
4. Kumari, A. 2017. *Safflower*. Lap Lambert Academic Publishing. 96 p.
5. Tazikeh, N., Dadashi, M.R. and Jafari, M.J. 2013. Study of germination two wheat cultivars under salt and drought stress. *Journal of Seed Science and Research*. 3 (4), pp.1-7.

## Investigating The Effect of Salinity and Drought Stress On Safflower Germination in The Germination Stage.

**Samaneh Mottaghi<sup>1</sup>**

**1. Assistant Professor, Department of Agriculture, Payame noor University, Tehran, Iran**  
[samanehmottaghi@yahoo.com](mailto:samanehmottaghi@yahoo.com)

**Omid Lotfifar<sup>2</sup>**

**2. Assistant Professor, Department of Agriculture, Payame noor University, Tehran, Iran**

### Abstract

In order to investigate the effect of drought stress (from polyethylene glycol) and salinity stress (NaCl) on germination and early growth of safflower, a factorial experiment was conducted in the form of a completely randomized design with four replications. The experimental treatments included the type of stress (dryness and salinity) and intensity of stress (no stress control, -0.3, -0.6, -0.9 and -1.2 MPa). The studied traits were moisture absorption percentage, germination percentage, germination speed, stem and root length and seedling stand index. The results showed that the effect of stress type and stress level was significant on all traits, and the interaction effect was significant on other traits except moisture absorption rate and root length at 1% level. The comparison of the averages showed that the safflower plant has a higher resistance to salinity stress in the germination stage, so that in the potential of -1.2 MPa NaCl compared to no stress, it led to a 20% reduction in the germination rate, 42% in the germination speed, 78% in the root length, 84 percentage of stem length and 83% of stem length, while this reduction for the mentioned traits in stress, respectively, while this amount in PEG-1.2 potential compared to no stress, was 81, 94, 97 and 100% reduction of the mentioned traits, respectively. . Considering the high resistance of safflower to salinity stress and while conducting additional tests until the full ripening stage, this native plant of the country can be used to obtain oil in areas under salinity stress, but in places where there is a possibility of drought stress, the seed cultivation of this plant is justified. does not have.

**Key words:** Drought stress, salinity stress, germination and Safflower.

## تأثیر نانولوله‌های کربنی چند جداره و نانوذرات اکسید منیزیم و اکسید آهن بر متابولیت‌های ثانویه گیاه درمنه خزری (*Artemisia annua* L.)

عذرا صبور<sup>1</sup>، سودابه نظرپور<sup>2</sup>

<sup>1\*</sup>دانشیار، دکتری فیزیولوژی گیاهی، علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهرا (س)

[saboora@alzahra.ac.ir](mailto:saboora@alzahra.ac.ir)

<sup>2</sup>دانشجو، دکتری فیزیولوژی گیاهی، علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهرا (س)

### چکیده

نانوالیسیستورها عوامل بیولوژیکی و غیربیولوژیکی هستند که می‌توانند بر سنتز متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی تأثیر بگذارند. درمنه خزری (*Artemisia annua*) یک گیاه دارویی با ارزش دارای ترکیبات فنلی موثر در درمان بیماری‌های سرطان، قلبی و عروقی و مالاریا می‌باشد. این مطالعه به منظور بررسی اثرات تیمارهای نانولوله کربنی چند دیواره‌ای و نانوذرات اکسید منیزیم و اکسید آهن در غلظت‌های 50 و 100 میلی‌گرم بر لیتر بصورت جداگانه و در ترکیب با 100 میلی‌گرم بر لیتر نانولوله کربنی چند دیواره‌ای بر مقدار فنلیک کل و فلاونوئید گیاه درمنه خزری در زمان‌های 0، 24 و 120 ساعت پس از تیمار انجام شد. نتایج نشان داده است که مقدار فنلیک کل و فلاونوئید تحت تیمارهای ذکر شده نسبت به نمونه شاهد در زمان‌های مورد بررسی افزایش یافت. تفاوت میان میانگین‌ها در سطح احتمال 5 درصد معنی‌دار بودند. یافته‌ها نشان داد که نانولوله کربنی در ترکیب با نانوذرات اکسید منیزیم و اکسید آهن بطور شاخص در افزایش مقدار متابولیت‌های ثانویه گیاه نقش دارد.

واژگان کلیدی: الیسیستور، درمنه خزری، فنلیک کل، فلاونوئید، نانومواد، متابولیت‌های ثانویه

### مقدمه

نانوتکنولوژی به دلیل دخالت گسترده در حوزه‌های مختلف علم و فناوری توجه قابل توجهی را به خود جلب کرده است. با توجه به خواص مکانیکی و فیزیکوشیمیایی منحصر به فرد نانولوله‌های کربنی به عنوان راه حلی بالقوه برای مشکلات مختلف با اهمیت بیولوژیکی مورد بررسی قرار گرفته‌اند (۱). نانوذرات به عنوان مهم‌ترین ابزار فناوری با خواص فیزیکی و شیمیایی خاص، در مقایسه با مواد انبوه، نه تنها به رشد گیاهان کمک می‌کنند، بلکه منجر به درک و کشف بهتر مکانیسم‌های فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی که در رشد گیاهان مؤثر هستند می‌شوند (۲). ترکیبات فعال زیستی از جمله فلاونوئیدها، اسیدهای فنولیک به دلیل کاربردهای گسترده‌ای که در صنایع پزشکی، دارویی، آرایشی، کشاورزی و صنایع غذایی دارند، محصولاتی با ارزش تجاری هستند. یک استراتژی که برای افزایش تولید ترکیبات فعال زیستی در گیاهان اعمال می‌شود، استخراج کنترل شده می‌باشد. اخیراً بسیاری از محققان نقش نانوذرات (NPs) را به عنوان یک محرک جدید برای بیوسنتز ترکیبات فعال زیستی مورد مطالعه قرار داده‌اند و گزارش



شده است که نانوذرات می‌توانند متابولیسم ثانویه گیاه در سیستم‌های گیاهی و کشت را تحت تأثیر قرار دهند (۳). تأثیر نانولوله‌های کربنی چندجداره‌ای و نانوذرات اکسید منیزیم و اکسید آهن د بر مقدار فنلیک کل و فلاونوئیدها در مطالعات گذشته در گیاهان مختلف گزارش شده است (۱، ۴). درمنه آنوا (*Artemisia annua L.*) یک گیاه دارویی از خانواده Asteraceae است. بومی مناطق آسیا بوده، اما در کشورهای مختلف اروپا نیز کشت می‌شود. ترکیبات فلاونوئیدی در گیاه درمنه خزری دارای اثرات مفید در درمان بیماری‌های قلبی و عروقی، مالاریا و همچنین درمان سلول‌های سرطان سینه می‌باشند. از آنجاییکه تاکنون تأثیر تیمار نانومواد از جمله نانولوله‌های کربنی چند جداره‌ای و نانوذرات اکسید منیزیم و اکسید آهن بصورت مستقل و ترکیبی در گیاه درمنه مورد بررسی قرار نگرفته است در این مطالعه اندازه‌گیری‌ها با هدف تعیین کمیت مقدار فنلیک کل و فلاونوئیدها از برگ گیاه درمنه خزری تحت تیمار نانولوله کربنی چند جداره‌ای و نانوذرات اکسید منیزیم و اکسید آهن بصورت مستقل و ترکیبی انجام شد.

## مواد و روش‌ها

### کاشت، تیمار و برداشت گیاه

کشت مزرعه‌ای گیاه درمنه خزری در مزرعه گیاهی و تحقیقاتی دانشکده علوم زیستی در دانشگاه الزهرا (س) تهران در بهار 1401 انجام شد. آبیاری قطعه زمین دو روز یکبار صورت گرفت. گیاهان رشد 70 روزه تحت تیمار قرار گرفتند. تیمارها شامل نانولوله کربنی چند دیواره‌ای (MVCTNs) و نانوذره اکسید منیزیم (MgO) و اکسید آهن ( $Fe_3O_4$ ) هر کدام در غلظت‌های 50 و 100 میلی‌گرم بر لیتر و تیمارهای ترکیبی شامل نانولوله کربنی چند دیواره‌ای در غلظت 100 میلی‌گرم بر لیتر توام با نانوذرات اکسید آهن یا اکسید منیزیم در غلظت‌های 50 و 100 میلی‌گرم بر لیتر بود. بعد از اعمال تیمارها به صورت افشانه برگی، برداشت برگ چهارم گیاهان از راس در زمان‌های 0، 24 و 120 ساعت پس از تیمار انجام شد. نمونه‌های برداشت شده بلافاصله روی یخ به سردخانه آزمایشگاه منتقل و برای سنجش پارامترهای فیزیولوژی نگهداری شدند.

### سنجش ترکیبات فنلی کل

عصاره‌گیری: استخراج عصاره با روش مارینوا و همکاران با استفاده از متانول 80 درصد انجام شد (5).

### سنجش فنل کل

سنجش فنل کل با روش مارینوا و همکاران انجام شد (5). از عصاره تهیه شده با سه تکرار 0/2 میلی‌لیتر برداشته و به آن 0/2 میلی‌لیتر فولین (1:15 v/v) اضافه شد. سپس ورتکس گردید بعد از 5 دقیقه استراحت 2/5 میلی‌لیتر کربنات سدیم 7 درصد به آن اضافه شد. حجم محلول با آب مقطر به 5 میلی‌لیتر رسانده شد. پس از بستن در لوله‌ها و قرار دادن در تاریکی به مدت 90 دقیقه جذب در طول موج 750 نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. مقدار فنل کل با استفاده منحنی استاندارد تعیین شد و برحسب میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک بیان شد.

### سنجش فلاونوئید

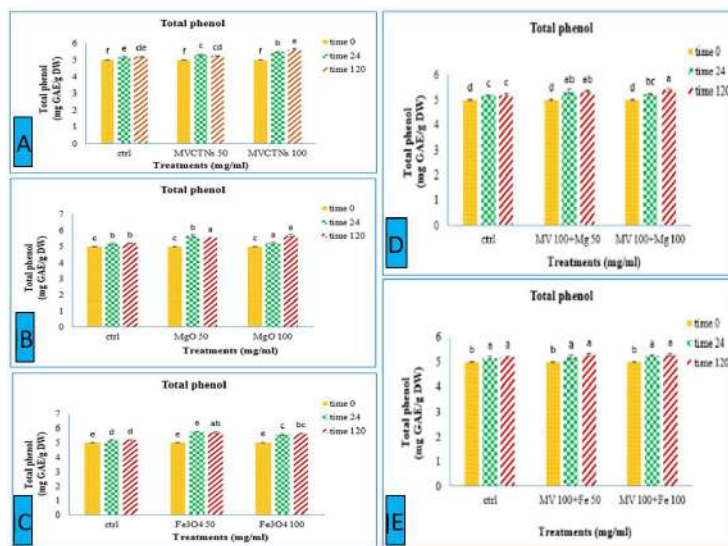
سنگش فلاونوئید کلی با استفاده از روش بکتوو و همکاران انجام شد (6). از عصاره تهیه شده 0/2 میلی لیتر برداشته و 0/2 میلی لیتر آلومینیوم کلرید، 0/1 میلی لیتر اسید استیک 33 درصد و 4/5 میلی لیتر اتانول 90 درصد به آن اضافه گردید. بعد از انجام ورتکس و بستن در لوله ها و قرار دادن به مدت 30 دقیقه در دمای محیط جذب در طول موج 414 نانومتر خوانده شد. این عمل با سه تکرار انجام شد. مقدار فلاونوئید کل با استفاده از منحنی استاندارد تعیین شد و برحسب میلی گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک بیان شد.

## آنالیز آماری

کلیه آزمایش ها حداقل در سه تکرار مستقل انجام شد و تجزیه و تحلیل آماری داده ها به کمک نرم افزار SPSS version 22 و استفاده از آزمون واریانس یک طرفه ANOVA و آزمون چند دامنه ای دانکن برای تعیین معنی دار بودن تفاوت مانگین ها انجام شد. سطح معنی داری اختلاف میان گروه ها برای همه آزمون ها 5 درصد در نظر گرفته شد. برای رسم نمودارها از برنامه 2013 Excell استفاده شد.

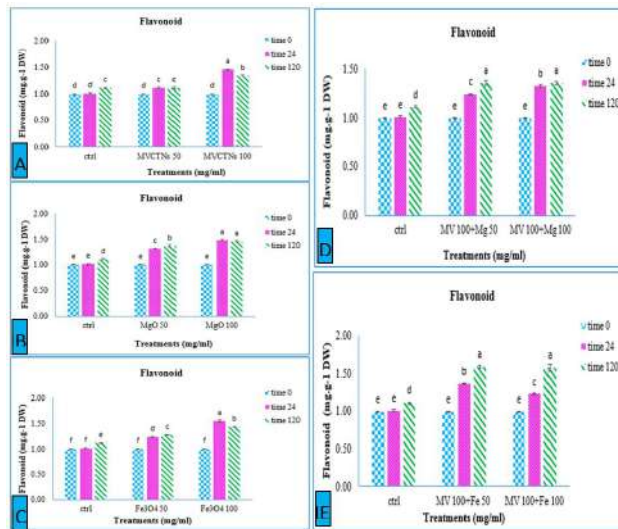
## نتایج و بحث

نتایج نشان داده است که تحت تأثیر تیمارهای جداگانه نانولوله کربنی چند دیواره ای و نانوذره اکسید منیزیم و نانوذره اکسید آهن در غلظت های 50 و 100 میلی گرم بر لیتر و تیمارهای ترکیبی شامل نانولوله کربنی چند دیواره ای در غلظت 100 میلی گرم بر لیتر در ترکیب با هر کدام از نانوذرات اکسید منیزیم و اکسید آهن در غلظت های 50 و 100 میلی گرم بر لیتر مقدار فنلیک کل نسبت به نمونه شاهد در زمان های 0، 24 و 120 ساعت افزایش یافت. بیشترین افزایش مقدار ترکیبات فنلیک کل به ترتیب مربوط به تیمار نانوذره اکسید آهن در غلظت 50 میلی گرم در میلی لیتر در زمان 120 ساعت و نانوذره اکسید منیزیم در غلظت 100 میلی گرم در میلی لیتر در زمان 120 ساعت و نانوذره اکسید منیزیم در غلظت 50 میلی گرم در میلی لیتر در زمان 120 ساعت (درصد افزایش به ترتیب 1/11، 1/10 و 1/09 درصد) می باشد. این افزایش در سطح 5 درصد معنی دار بود (شکل 1).



شکل 1- تأثیر تیمارهای مستقل و توام نانولوله کربنی و نانوذرات اکسید منیزیم و اکسید آهن در زمان‌های 0، 24 و 120 ساعت بر مقدار فنلیک کل. (A) نانولوله کربنی چند دیواره‌ای در دو غلظت 50 و 100 میلی‌گرم بر لیتر (B) نانوذره اکسید منیزیم در دو غلظت 50 و 100 میلی‌گرم بر لیتر (C) نانوذره اکسید آهن در دو غلظت 50 و 100 میلی‌گرم بر لیتر (D) نانولوله کربنی چند دیواره‌ای در غلظت 100 میلی‌گرم بر لیتر در ترکیب با نانوذره اکسید منیزیم در دو غلظت 50 و 100 میلی‌گرم بر لیتر (E) نانولوله کربنی چند دیواره‌ای در غلظت 100 میلی‌گرم بر لیتر در ترکیب با نانوذره اکسید آهن در دو غلظت 50 و 100 میلی‌گرم بر لیتر

نتایج حاصل نشان داده است که تحت تأثیر تیمارهای مستقل نانولوله کربنی چند دیواره‌ای و نانوذره اکسید منیزیم و نانوذره اکسید آهن در غلظت‌های 50 و 100 میلی‌گرم بر لیتر و تیمارهای توام شامل نانولوله کربنی چند دیواره‌ای در غلظت 100 میلی‌گرم بر لیتر در ترکیب با هر کدام از نانوذرات اکسید منیزیم و اکسید آهن در دو غلظت بررسی شده مقدار فلاونوئید نسبت زمان‌های 0، 24 و 120 ساعت افزایش یافت. بیشترین افزایش مقدار فلاونوئید به ترتیب مربوط به تیمار توام نانولوله کربنی چند جداره با نانوذره اکسید آهن غلظت 50 میلی‌گرم در میلی‌لیتر در زمان 120 ساعت، تیمار توام نانولوله کربنی چند جداره با نانوذره اکسید آهن غلظت 100 میلی‌گرم در میلی‌لیتر در زمان 120 ساعت و تیمار نانوذره اکسید آهن با غلظت 100 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در زمان 24 ساعت (درصد افزایش به ترتیب 1/43، 1/42 و 1/53 درصد) می‌باشد. این افزایش در سطح 5 درصد معنی‌دار بود (شکل 2).



شکل 2- تأثیر تیمارهای مستقل و توام نانولوله کربنی چند دیواره‌ای و نانوذرات اکسید منیزیم و اکسید آهن در زمان‌های 0، 24 و 120 ساعت بر مقدار فلاونوئید. (A) نانولوله کربنی چند دیواره‌ای در دو غلظت 50 و 100 میلی‌گرم بر لیتر (B) نانوذره اکسید منیزیم در دو غلظت 50 و 100 میلی‌گرم بر لیتر (C) نانوذره اکسید آهن در دو غلظت 50 و 100 میلی‌گرم بر لیتر در ترکیب با نانوذره اکسید منیزیم در دو غلظت بررسی شده (E) نانولوله کربنی چند دیواره‌ای در غلظت 100 میلی‌گرم بر لیتر در ترکیب با نانوذره اکسید آهن در دو غلظت بررسی شده

### فنلیک کل و فلاونوئیدها

تیمار نانولوله کربنی چند دیواره‌ای، نانوذرات اکسید منیزیم و اکسید آهن بصورت مستقل بر مقدار فنلیک کل و فلاونوئیدها در گیاه درمنه خزری (*Artemisia annua*) تاکنون انجام نشده است و برای اولین بار تأثیر تیمارهای ذکر شده در گیاه درمنه خزری مورد

بررسی قرار گرفت. تأثیر نانولوله کربنی چند دیواره‌ای در گیاه آویشن (*Thymus daenensis celak*) بر مقدار فنلیک کل و فلاونوئیدها گزارش شده است (1). تأثیر نانوذرات اکسید منیزیم و اکسید آهن در گیاه سویا بر مقدار فنلیک کل و تأثیر نانوذره اکسید آهن بر مقدار فنلیک کل و فلاونوئیدها در گیاه بادرنجبویه (*Dracocephalum kotschyi*) گزارش شده است که تحت تیمارهای ذکر شده مقدار فنلیک کل و فلاونوئید افزایش یافته است (4، 7). نتایج حاصل از پژوهش ما با نتایج پژوهش‌های گزارش شده همخوانی دارد. در مورد تأثیر تیمار ترکیبی نانولوله کربنی چند دیواره‌ای با نانوذرات اکسید منیزیم و آهن بر مقدار فنلیک کل و فلاونوئیدها گزارشی از قبل مشاهده نشده است و این گزارش برای اولین بار در گیاه درمنه خزری (*Artemisia annua L.*) منتشر می‌شود. افزایش فعالیت تولید متابولیت‌های ثانویه تحت تأثیر تیمار نانومواد می‌تواند به این دلیل باشد که نانومواد می‌توانند بعنوان السیتورها باعث ایجاد آبشارهای انتقال علامت شده منجر به بیان ژن‌های مختلف رمزگذار آنزیم‌های دخیل در فعال‌سازی بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه شوند. از جمله تغییر ساختار فضایی آنزیم‌های مختلف در معرض نانولوله‌های کربنی چند دیواره‌ای مانند فنیل آلانین آمونیاک‌لیاز که در بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه دخالت دارند (8). تیمار ترکیبی نانولوله کربنی با هر کدام از نانوذرات موجب می‌شود توانایی نانوذرات برای عبور از دیواره و سدهای سلولی افزایش یافته و در سلول گیاهی تجمع کنند. تجمع نانوذراتی مثل اکسید منیزیم و اکسید آهن که در بسیاری از فرآیندهای متابولیسمی و بیوشیمیایی گیاه مشارکت دارند مفید است و محتوای بالای این عناصر ضروری در گیاه تأثیر بیشتری در سنتز و تولید متابولیت‌های ثانویه می‌گذارد (9).

### نتیجه‌گیری

بررسی متابولیت‌های ثانویه ارزشمند مانند ترکیبات فلاونوئیدی در گیاهان دارویی از اهمیت فوق العاده‌ای برخوردار است. گیاه درمنه خزری (*Artemisia annua*) گیاه دارویی مهم و با ارزش دارای ترکیبات فلاونوئیدی با اثرات درمانی قابل توجهی می‌باشد. براساس نتایج بدست آمده از پژوهش حاصل بیشترین تأثیر در بین تیمارهای استفاده شده در این پژوهش مربوط به تیمارهای ترکیبی نانولوله کربنی چند دیواره‌ای توأم با نانوذرات اکسید آهن و اکسید منیزیم می‌باشد. در واقع نانوتکنولوژی کربنی این پتانسیل را دارد که در کاربردهای پیشرفته مختلف در زمینه کشاورزی از جمله زیست‌شناسی، حفاظت از گیاهان، پزشکی مورد استفاده قرار گیرد. نانولوله کربنی چند دیواره‌ای، یک محصول نانومواد مقرون به صرفه می‌تواند در ترکیب با نانوذرات ضروری، رشد گیاه، عملکرد و تولید متابولیت‌های ثانویه با ارزش دارویی را بهبود بخشد.

### منابع

1. Samadi, S., Saharkhiz, M.J., Azizi, M., Samiei, L. and Ghorbanpour, M., 2020. Multi-walled carbon nanotubes stimulate growth, redox reactions and biosynthesis of antioxidant metabolites in *Thymus daenensis celak*. in vitro. *Chemosphere*, 249, pp1-12.
2. Shahhoseini, R., Azizi, M., Asili, J., Moshtaghi, N. and Samiei, L., 2020. Effects of zinc oxide nanoelicitors on yield, secondary metabolites, zinc and iron absorption of Feverfew (*Tanacetum parthenium (L.) Schultz Bip.*). *Acta physiologiae plantarum*, 42, pp 1-18.
3. Rivero-Montejo, S.D.J., Vargas-Hernandez, M. and Torres-Pacheco, I., 2021. Nanoparticles as novel elicitors to improve bioactive compounds in plants. *Agriculture*, 11(2), pp 134.

4. Ramadan, A.A.E., El-Bassiouny, H.M.S., Bakry, B.A., Abdallah, M.M.S. and El-Enany, M.A.M., 2020. Growth, yield and biochemical changes of soybean plant in response to iron and magnesium oxide nanoparticles. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 23(3), pp 406-417.
5. Marinova, D.; Ribarova, F.; Atanassaova, M., 2005. Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy*, 40(3), pp 255–260.
6. Beketov, E. V., Pakhomov, V. P. and Nesterova, O. V., 2005. Improved method of flavonoid extraction from bird cherry fruits. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 39(6), pp 316-318.
7. Nourozi, E., Hosseini, B., Maleki, R. and Abdollahi Mandoulakani, B., 2019. Iron oxide nanoparticles: a novel elicitor to enhance anticancer flavonoid production and gene expression in *Dracocephalum kotschyi* hairy-root cultures. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(14), pp 6418-6430.
8. Hatami, M., Naghdi Badi, H., & Ghorbanpour, M., 2019. Nano-elicitation of secondary pharmaceutical metabolites in plant cells: A review. *Journal of Medicinal Plants*, 18(71), pp 6-36.
9. Bhati, A., Tripathi, K. M., Singh, A., Sarkar, S., Sonkar, S. K., 2018. Exploration of nano carbons in relevance to plant systems. *New Journal of Chemistry*, 42(20), pp 16411-16427.

## The effect of multi-walled carbon nanotubes and magnesium oxide and iron oxide nanoparticles on the secondary metabolites in *Artemisia annua* L.

Azra saboora<sup>1\*</sup>, Sodabeh Nazarpour<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Plant Sciences, Faculty of Biological Science, Alzahra University

<sup>2</sup>Department of Plant Sciences, Faculty of Biological Science, Alzahra University

\* Corresponding author e-mail: [saboora@alzahra.ac.ir](mailto:saboora@alzahra.ac.ir)

### Abstract

Nanoelicitors are biological and non-biological factors that can affect the synthesis of secondary metabolites in medicinal plants. *Artemisia annua* is a valuable medicinal plant with phenolic compounds effective in the treatment of cancer, cardiovascular and malaria diseases. This study was conducted to investigate the effects of treatments of multi-walled carbon nanotubes and magnesium oxide and iron oxide nanoparticles alone in concentrations of 50 and 100 mg/liter separately and in combination with 100 mg/liter of multi-walled carbon nanotubes on phenolic and flavonoid content of *Artemisia annua* at 0, 24 and 120 hours after treatment. The results showed that compared to the control, the total phenolic and flavonoids content under the mentioned treatments increased at all of the studied times. The different among means were significant at the  $p < 0.05$ . The findings show that carbon nanotubes combined with magnesium oxide and iron oxide nanoparticles play an important role in increasing the amount of plant secondary metabolites.

**Keywords:** *Artemisia annua* L., elicitor, flavonoids, nanomaterials, total phenolics

## تاثیر آسکوربیک اسید بر روی میزان متابولیت‌های ثانویه گیاه کینوا تحت تنش کمبود آب

سید فاطمه موسوی ساردو<sup>1</sup>

<sup>1</sup>عضو هیات علمی دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

\* نویسنده مسئول: سید فاطمه موسوی ساردو

[Mfateme604@pnu.ac.ir](mailto:Mfateme604@pnu.ac.ir)

### چکیده

گیاه کینوا با نام علمی *Chenopodium quinoa* Wild.، متعلق به خانواده تاج خروس (Amaranthaceae) می‌باشد. این گیاه جایگزین مناسبی برای غلات می‌باشد. به منظور تاثیر اثر اسید اسکوربیک بر روی بهبود تنش و نیز میزان متابولیت‌های ثانویه آزمایشی به صورت اسپلیت پلات در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتور اصلی سه سطح تیمار آبیاری شامل: آبیاری تا مرحله رسیدگی کامل (شاهد)، آبیاری تا شروع مرحله خمیری (تنش آبی ملایم) و آبیاری تا شروع مرحله گلدهی (تنش آبی شدید) و فاکتور فرعی آسکوربیک اسید در دو سطح (0 و 2 میلی‌مولار)، بود. صفات مورد بررسی شامل میزان کربوهیدرات، محتوای فنل کل، محتوای فلاونوئید کل و میزان آنتوسیانین بود. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که برای کلیه صفات مورد بررسی اثر فاکتور اصلی، فاکتور فرعی و نیز اثر متقابل تنش و اسید اسکوربیک معنی دار بود. با افزایش تنش میزان متابولیت‌های ثانویه کاهش یافته ولی کاربرد اسید اسکوربیک منجر به بهبود صفات شد. به طوریکه در تنش شدید و کاربرد اسید اسکوربیک بیشترین میزان متابولیت‌های ثانویه مشاهده شد.

واژگان کلیدی: اسید اسکوربیک، فنل، فلاونوئید، آنتوسیانین

### مقدمه

گیاه کینوا با نام علمی *Chenopodium quinoa* Wild.، متعلق به خانواده تاج خروس (Amaranthaceae) می‌باشد (Aziz et al., 2018). این گیاه ارزش غذایی بالایی داشته و به تنش‌های غیرزنده از جمله خشکی و شوری تحمل نشان می‌دهد، از این رو بهترین گیاه جایگزین غلات می‌توان در نظر گرفت (Prager et al., 2018). دانه‌های این گیاه دارای محتوای بالایی از اسیدهای چرب، ویتامین‌ها، مواد معدنی، فلاونوئیدها، فیبرهای غذایی و پلی‌فنول‌ها هستند (Alvarez-Jubete et al., 2010). برای بهبود تحمل گیاه به تنش خشکی و افزایش عملکرد گیاه تحت شرایط تنش خشکی در طول چند دهه اخیر، به موازات اصلاح سنتی و تکنیک‌های بیوتکنولوژیکی، استراتژی‌های متعددی پیشنهاد شده است. این تکنیک‌ها شامل تیمار قبل از کاشت بذر یا محلول‌پاشی با آنتی-اکسیدان‌ها، ویتامین‌ها و ترکیب‌های محافظت‌کننده اسمزی مانند گلیسین بتائین، پرولین، آسکوربیک اسید یا ترهالوز است (Elewa et al. 2017b). آسکوربیک اسید به عنوان یک آنتی‌اکسیدان، یک کوفاکتور آنزیمی و یک پیشساز برای سنتز آگزالات و تارتارات عمل می‌کند. آن هم‌چنین یک پیوند با کلروپلاست بر قرار می‌کند که اثر تنش اکسیداتیو بر فتوسنتز را کاهش می‌دهد. علاوه بر این، تغییر تقسیم سلولی را کاهش می‌دهد و به عنوان یک بستر اولیه در مسیر چرخه‌ای سم‌زدایی آنزیمی پراکسید هیدروژن عمل می‌کند (Gaafar et al., 2020).

El-Bially و همکاران (2018) با مطالعه آفتابگردان تحت شرایط تنش کمبود آب گزارش کردند که محتوای کلروفیل برگ و مقادیر عملکرد دانه در گیاهان تیمار شده با آسکوربیک اسید در مقایسه با گیاهان تیمار نشده افزایش داشت که نقش مثبت آسکوربیک اسید را در کاهش اثرات نامطلوب تنش آبی آشکار کرد. در مطالعه دیگری بهبود محتوای پروتئین، کلروفیل، کاروتنوئید و کربوهیدرات‌های محلول در گیاه لفل با محلول پاشی آسکوربیک اسید مشاهده شد (Khazaei et al., 2020). در گیاه کینوا نیز بهبود رشد گیاه، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و مولکول‌های آنتی‌اکسیدان با محلول پاشی آسکوربیک اسید به دست آمد (Aziz et al., 2018). لذا در این تحقیق به منظور بررسی نقش موثر آسکوربیک اسید در بهبود صفات بیوشیمیایی، کاربرد آن در شرایط تنش خشکی بر روی این گیاه بررسی شد.

### مواد و روش ها

گیاه کینوا رقم تی‌تی‌کاکا از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی کرمان تهیه شد. این پژوهش در ایستگاه مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی کرمان واقع در 22 کیلومتری جنوب شهر کرمان با موقعیت جغرافیایی 57 درجه، 4 دقیقه و 55 طول شرقی و 30 درجه، 17 دقیقه و 21 ثانیه عرض شمالی و ارتفاع 1830 متر از سطح دریا اجرا شد. این منطقه دارای آب و هوای خشک و نیمه‌معتدل بوده و متوسط بارندگی سالیانه آن در حدود 150 میلی‌لیتر در سال‌های پرباران می‌باشد. آزمایش به صورت اسپلینت پلات با طرح پایه بلوک کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. فاکتور اصلی شامل سه سطح تیمار آبیاری (آبیاری تا مرحله رسیدگی کامل (شاهد)، آبیاری تا شروع مرحله گلدهی (تنش آبی شدید) و آبیاری تا شروع مرحله خمیری (تنش آبی ملایم) و فاکتور فرعی آسکوربیک اسید در دو سطح (0 و 2 میلی‌مولار)، فاکتور گلاسیسین بتائین در دو سطح (0 و 3 میلی‌مولار) بود. محلول پاشی آسکوربیک اسید در 2 مرحله یک‌بار در مرحله شروع گلدهی و بار دوم 2 هفته پس از محلول پاشی نوبت اول با استفاده از سم‌پاش دستی در غروب آفتاب به مدت دو روز متوالی انجام شد. صفات بیوشیمیایی مورد بررسی شامل میزان فنل کل (TPC) که بر اساس روش Ardestani و Yazdanparast (2007)، میزان فلاونوئید کل (TFC) که بر اساس روش Zhang و همکاران (2015)، میزان آنتوسیانین که بر اساس روش Wanger و همکاران (1979) و محتوای کربوهیدرات که بر اساس روش Keles و Oncle (2004) اندازه‌گیری شده بود، می‌باشد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم افزار SAS نسخه 9/2 انجام شد. قبل از تجزیه واریانس، نرمال بودن داده‌ها و نیز خطاها بر اساس آزمون کولموگروف-اسمیرنوف بررسی شد. آزمون مقایسه میانگین حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال 5 درصد انجام شد.

### نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس صفات نشان داد که اثر تنش خشکی، کاربرد اسید اسکوربیک و نیز اثر متقابل تنش و اسید اسکوربیک در تمام متابولیت‌های ثانویه معنی‌دار بود (جدول 1). با توجه به معنی‌دار بودن اثر متقابل در کلیه صفات، اقدام به آزمون مقایسه میانگین برای اثر متقابل صفات کردیم. نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل دو فاکتور نشان داد که در صفت میزان کربوهیدرات با افزایش تنش میزان کربوهیدرات کاهش یافته ولی کاربرد اسید اسکوربیک سبب بهبود میزان کربوهیدرات شده و در شرایط تنش آبی شدید (a3) سبب افزایش میزان کربوهیدرات شده است. محتوای فنل و فلاونوئید کل نیز با افزایش تنش کاهش یافته ولی کاربرد اسید اسکوربیک در شرایط تنش شدید سبب افزایش این متابولیت‌های ثانویه شده است. به طوریکه میزان فنل کل در شرایط تنش شدید و کاربرد اسید اسکوربیک (a3c1) به بیشترین مقدار رسیده و در گروه A قرار گرفته است و بعد از آن در شرایط تنش ملایم و کاربرد اسید

اسکوربیک (a2c1). در گروه B قرار گرفته است. محتوای فلاونوئید کل نیز در شرایط تنش شدید و کاربرد اسید اسکوربیک (a3c1) دارای بیشترین مقدار بوده و در گروه A قرار گرفته و بعد از آن در شرایط تنش ملایم و کاربرد اسید اسکوربیک در گروه B و در شرایط نرمال با به کارگیری اسید اسکوربیک و بدون اسید اسکوربیک در گروه C قرار گرفت. میزان آنتوسیانین نیز در شرایط تنش شدید و کاربرد اسید اسکوربیک دارای بیشترین مقدار بوده و در گروه A قرار گرفت (شکل 1).

جدول 1- تجزیه واریانس متابولیت های ثانویه کینوا تحت تنش خشکی و کاربرد اسید اسکوربیک

میانگین مربعات					
منابع تغییرات	درجه آزادی	هیدرات کربن	محتوای فنل کل	محتوای فلاونوئید کل	آنتوسیانین کل
بلوک	2	0/0057	0/00027	0/0009	0/000041
تنش	2	0/01 <sup>n.s</sup>	0/00044 <sup>**</sup>	0/0064 <sup>**</sup>	0/00089 <sup>**</sup>
تکرار × تنش	4	0/0192	0/00014	0/000464	0/000070
اسکوربیک اسید	1	0/3445 <sup>**</sup>	0/00261 <sup>**</sup>	0/0165 <sup>**</sup>	0/00167 <sup>**</sup>
تنش × اسکوربیک اسید	2	0/0691 <sup>*</sup>	0/000246 <sup>**</sup>	0/00732 <sup>**</sup>	0/000481 <sup>**</sup>
خطا	24	0/0139	0/00002	0/00022	0/00001
ضرب تغییرات	-	4/67	0/828	2/23	2/5

تأثیر تنش رطوبتی و تنظیم کننده‌های رشدی بر روی محتوای پرولین و کربوهیدرات در گیاه کینوا توسط Elewa و همکاران (2017) و بر روی محتوای پروتئین توسط Elewa و همکاران (2017b) و Aziz و همکاران (2017) مطابق با نتایج ما مشاهده شد. Farooq و همکاران (2020) تأثیر تنش خشکی و اسمولیت آسکوربیک اسید را بر روی گیاه گلرنگ مشابه با نتایج ما گزارش کردند. Khazaei و همکاران (2020) گزارش کردند که محتوای کربوهیدرات‌های محلول با تنش خشکی در گیاه فلغل طبق نتایج ما افزایش یافت و کاربرد آسکوربیک اسید باعث افزایش بیشتر محتوای کربوهیدرات‌های محلول در گیاهانی شد که در شرایط خشکی متوسط و شدید قرار داشتند. ترکیبات آلی با وزن مولکولی پایین، مانند کربوهیدرات‌های محلول، پرولین و سایر اسیدهای آمینه، می‌توانند پتانسیل اسمزی سلول را برای بهبود جذب آب تحت تنش خشکی تنظیم کنند و از آنزیم‌ها، غشاهای بیولوژیکی و دستگاه فتوسنتزی در برابر آسیب اکسیداتیو محافظت کنند.

تغییرات در غلظت کربوهیدرات‌ها در القای مکانیسم‌های مقاومت در برابر تنش خشکی بسیار مهم است، زیرا این ترکیبات به طور مستقیم با واکنش‌های فیزیولوژیکی مانند فتوسنتز و هم‌چنین انتقال مواد فتوسنتز و تنفس در ارتباط هستند. عوامل زیادی برای افزایش کربوهیدرات‌های محلول در شرایط تنش ذکر شده است. در شرایط تنش، افزایش نسبت ساکارز به نشاسته و تجزیه نشاسته، علاوه بر کاهش انتقال ساکارز به خارج از برگ، منجر به افزایش کربوهیدرات‌های محلول می‌شود (Farahani et al., 2020).

تأثیر تنش رطوبتی و تنظیم کننده‌های رشدی بر روی متابولیت‌های ثانویه گیاه کینوا توسط محققین متعددی مشابه با نتایج ما گزارش شده است (Elewa et al., 2017a, Aziz et al., 2017, Elewa et al., 2017b). در سایر گیاهان نیز تأثیر تنش رطوبتی و تنظیم کننده‌های رشدی بر روی متابولیت‌های ثانویه مانند گیاه گلرنگ (Farooq et al., 2020)، گیاه لوبیا (Gaafar et al., 2020) و گیاه ذرت (Shafiq et al., 2021) مشاهده شده است.

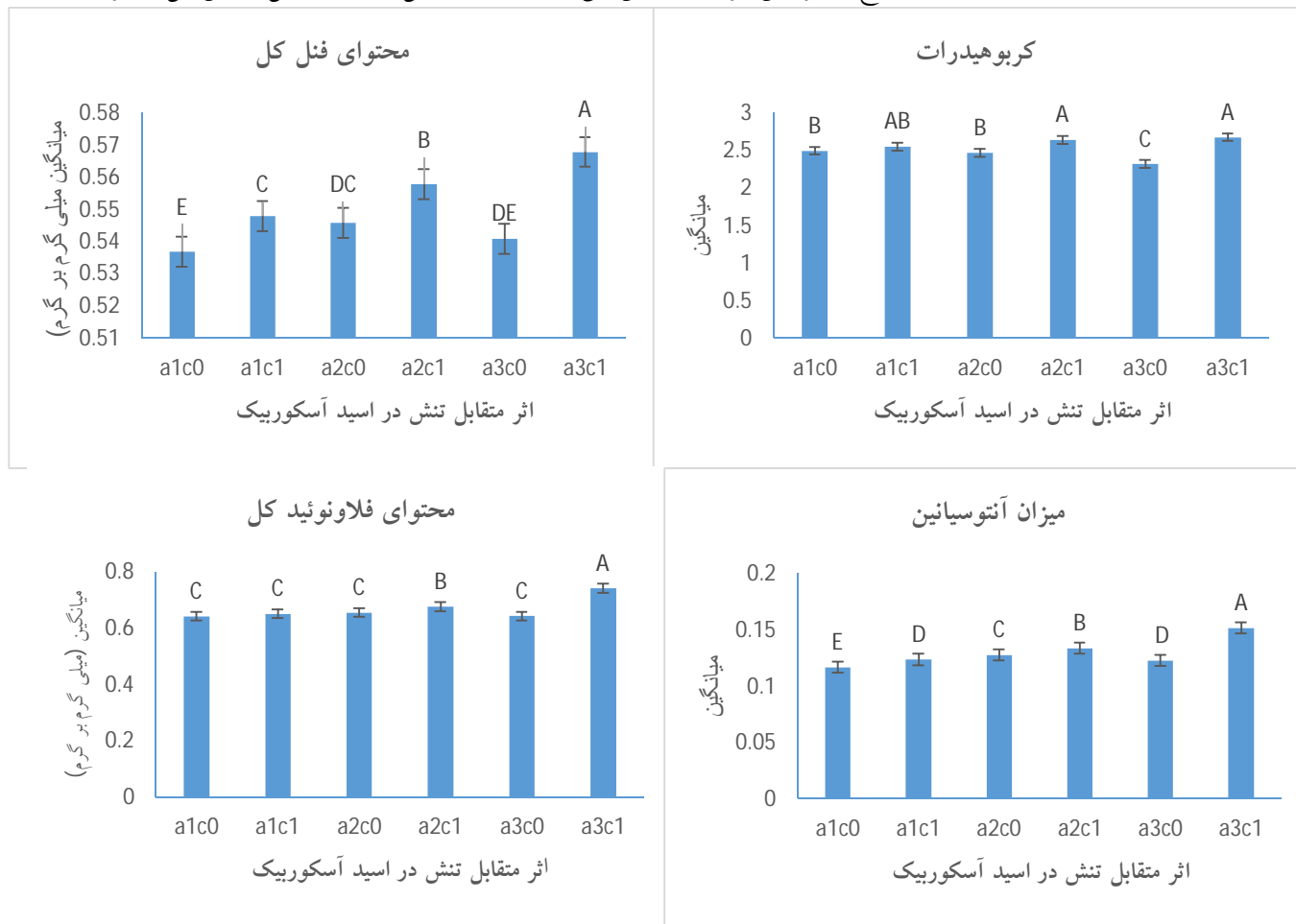


آنتی اکسیدان‌های غیرآزیمی، مانند فنل‌های کل، متابولیت‌های ثانویه‌ای هستند که در جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدی و تجزیه پروتئین‌ها، از بین بردن گونه‌های فعال اکسیژن و جلوگیری از آسیب DNA نقش دارند (Quan et al., 2016).

در پاسخ به کمبود آب، مکانیسم‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مختلفی در گیاهان برای کاهش اثرات زیان‌آور تنش توسعه یافته است. اختلالات ایجاد شده در نتیجه تنش خشکی در فرآیند متابولیسم منجر به افزایش سنتز ترکیبات فنلیک می‌شود. ترکیبات فنلیک یک نقش مهم به عنوان آنتی‌اکسیدان‌ها در مهار رادیکال‌های آزاد بازی می‌کنند (Huang et al., 2005).

مشابه با نتایج این تحقیق افزایش محتوای فنلیک‌ها تحت شرایط تنش خشکی در گیاه کینوا مشاهده شد. این افزایش محتوای فنلی در پاسخ به تنش خشکی گیاه کینوا ممکن است به این دلیل باشد که متابولیت‌ها (فنولیک‌ها) در مهار گونه‌های فعال اکسیژن عمدتاً از طریق آنزیم‌های آنتی‌اکسیداتیو با استفاده از پلی‌فنل‌ها به عنوان سوپراکسیداز مشارکت داشته‌اند. در این مطالعه، هم‌چنین محلول‌پاشی با پرولین باعث افزایش معنی‌دار محتوای فنلی کینوا در مقایسه با شاهد (تیماز نشده) تحت آبیاری نرمال یا تنش خشکی شد (Elewa et al., 2017a).

Gaafar و همکاران (2020) مطابق با نتایج ما گزارش کردند که تنش آبی محتوای فنلیک کل، فلاونوئید کل و تانن کل در برگ



بهتر است جدول‌ها در داخل متن و پس از جایی که به آنها ارجاع می‌شود، درج شوند. عنوان ستون‌های جداول باید به

صورت وسط چین (9 B Lotus pt. پررنگ) و کلیه متن‌ها در داخل جدول اگر فارسی باشند به صورت راست چین صورت وسط چین (10 B Lotus pt. نازک) و اگر لاتین باشند به صورت چپ چین (8 Times New Roman) باید تایپ شوند. همه شکل 1- اثر متقابل تنش و اسید اسکوربیک در میزان متابولیت های ثانویه گیاه کینوا.  $a1c0$ = بدون تنش و عدم کاربرد اسید اسکوربیک،  $a1c1$ = بدون تنش و کاربرد اسید اسکوربیک،  $a2c0$ = تنش ملایم و عدم کاربرد اسید اسکوربیک،  $a2c1$ = تنش ملایم و کاربرد اسید اسکوربیک،  $a3c0$ = تنش شدید و عدم کاربرد اسید اسکوربیک،  $a3c1$ = تنش شدید و کاربرد اسید اسکوربیک)

### نتیجه گیری

با افزایش تنش میزان متابولیت های ثانویه کاهش یافته ولی به کارگیری اسید اسکوربیک در شرایط تنش شدید منجر به بهبود عملکرد متابولیت های ثانویه شده و در شرایط تنش شدید و کاربرد اسید اسکوربیک ( $a3c1$ ) و نیز تنش ملایم و کاربرد اسید اسکوربیک ( $a2c1$ ) بیشترین افزایش میزان متابولیت های ثانویه مشاهده شد.

### منابع

- Aziz, A., Akram, N.A. and Ashraf, M. 2018. Influence of natural and synthetic vitamin C (ascorbic acid) on primary and secondary metabolites and associated metabolism in quinoa (*Chenopodium quinoa* Wild.) plants under water deficit regimes. *Plant Physiology and Biochemistry*, 123: 192-203.
- Alvarez-Jubete, L., Arendt, E.K. and Gallagher. 2010. Nutritive value of pseudocereals and their increasing use as functional gluten-free ingredients. *Trends Food Science Technology*, 21: 106-113.
- Ardestani, A. and Yazdanparast, R. 2007. Antioxidant and free radical scavenging potential of *Achillea santolina* extracts. *Food Chemistry*, 104: 21-29.
- Prager, A., Munz, S., Nkebiwe, P. Mast and Graeff-Honninger. 2018. Yield and quality characteristics of different quinoa (*Chenopodium quinoa* Wild.) cultivars grown under field conditions in Southwestern Germany. *Agronomy*, 8: 197-216.
- Elewa, T.A., Sadak, M.Sh. and Dawood, M.G. 2017b. Improving drought tolerance of quinoa plant by foliar treatment of trehalose. *Agricultural Engineering International: CIGR Journal. Special issue*, 2: 245-254.
- Gaafar, A.A., Ali, S.I., El-Shawadfy, M.A., Salama, Z.A., Sekara, A., Ulrichs, Ch. And Abdelhamid, M.T. 2020. Ascorbic acid induces the increase of secondary metabolites, antioxidant activity of the common bean under water stress conditions. *Plants*, 9:627.
- El-Bially M. Saady H. El-Metwally Shahin M. 2018. Efficacy of ascorbic acid as a cofactor for alleviating water deficit impacts and enhancing sunflower yield and irrigation water-use efficiency. *Agricultural Water Management*, 208: 132-139.
- Elewa, T.A. Sadak, M.Sh. and Saad, A. M. 2017a. Proline treatment improves physiological responses in quinoa plants under drought stress. *Bioscience Research*, 14: 21-33.
- Elewa, T.A., Sadak, M.Sh. and Dawood, M.G. 2017b. Improving drought tolerance of quinoa plant by foliar treatment of trehalose. *Agricultural Engineering International: CIGR Journal. Special issue*, 2: 245-254.
- Khazaei, Z., Esmailpour, B. and Estati, A. 2020. Ameliorative effects of ascorbic acid on tolerance to drought stress on pepper (*Capsicum annum* L.) plants. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 26: 1649-1662.
- Keles, Y. and Oncel, I. 2004. Growth and solute composition on two wheat species experiencing combined influence of stress conditions. *Russian Journal of Plant Physiology*, 51: 203-208.

- Farooq, A., Bukhari, S.A., Akram, N.A., Ashraf, M., Wijaya, L., Alyemeni, M.N. et al. 2020. Exogenously applied acid-mediated changes in osmoprotection and oxidative defence system enhanced water stress tolerance in different cultivars of safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Plants*, 9:104.
- Farahani, S. Shahsavari, N. Mohammadi Arasteh, M. 2020. Effect of potassium sulfate on the physiological characteristics of canola cultivars in late season drought stress conditions. *Journal of Plant Nutrition*, 43: 9.
- Gaafar, A.A., Ali, S.I., El-Shawadfy, M.A., Salama, Z.A., Sekara, A., Ulrichs, Ch. And Abdelhamid, M.T. 2020. Ascorbic acid induces the increase of secondary metabolites, antioxidant activity of the common bean under water stress conditions. *Plants*, 9:627.
- Huang, D., Ou, B. and Prior, R.L. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 53: 1841-1856.
- Quan, N., Anh, L.A., Khang, D. et al. 2016. Involvement of secondary metabolites in response to drought stress of rice (*Oryza sativa* L.). *Agriculture*, 6:23.
- Shafiq, S., Akram, N. A., Ashraf, M., Garcia-Caparrós, P., Ali, O.M. and Latef, A.A.H.A. 2021. Influence of glycine betaine (natural and synthetic) on growth, metabolism and yield production of drought-stressed maize (*Zea mays* L.) plants. *Plants*, 10: 2540.
- Wagner, G.J. 1979. Content and vacuole/extravacuole distribution of neutral sugars, free amino acids and anthocyanin in protoplasts. *Plant Physiology*, 64: 88-93.
- Zhang, D. Y., Yao, X. H., Duan, M. H., Wei, F. Y., Wu, G. H. and Li, L. 2015. Variation of essential oil content and antioxidant activity of *Lonicera* species in different sites of China. *Industrial Crops and Products*, 77: 772-779.

## The effect of ascorbic acid on the amount of secondary metabolites of quinoa plant under water deficit stress

Seyed Fatemeh Mousavi Sardou<sup>1</sup>, member of science, Payam Nour University

Email: mfateme604@pnu.ac.ir

### Abstract

The quinoa plant with the scientific name *Chenopodium quinoa* Wild. belongs to the Amaranthaceae family. This plant is a suitable substitute for cereals. In order to determine the effect of ascorbic acid on the improvement of stress and the amount of secondary metabolites, a split plot experiment was conducted in the form of a randomized complete block design with three replications. The main factor of three levels of irrigation treatment includes: irrigation until the full ripening stage (control), irrigation until the beginning of the pulp stage (mild water stress) and irrigation until the beginning of the flowering stage (severe water stress) and the secondary factor of ascorbic acid in two levels (0 and 2) milli-molar, was The studied traits included carbohydrate content, total phenol content, total flavonoid content and anthocyanin content. The results of analysis of variance showed that the effect of the main factor, the secondary factor and the interaction effect of stress and ascorbic acid were significant for all investigated traits. With increasing stress, the amount of secondary metabolites decreased, but the use of ascorbic acid led to the improvement of traits. Thus, the highest amount of secondary metabolites was observed in severe stress and ascorbic acid application. **Keywords:** Ascorbic acid, Flavonoid, Phenol, Anthocyanin

مقایسه کاربرد متفاوت ریبوفلاوین خارجی (محلول پاشی و هیدروپونیک) بر

رشد و ترکیبات فنولیک کلزا

## سیده زهرا سادات نیا<sup>1</sup>، طاهره السادات آفاجانزاده<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران

<sup>2</sup>دانشیار فیزیولوژی مولکولی گیاهی، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران

\*نویسنده مسئول: دانشیار فیزیولوژی مولکولی گیاهی، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران

[t.aghajanzadeh@umz.ac.ir](mailto:t.aghajanzadeh@umz.ac.ir)

### چکیده:

ریبوفلاوین یکی از ویتامین‌های خانواده B است که به عنوان کوآنزیم بسیاری از آنزیم‌های متابولیکی، در انتقال الکترون، چرخه اسید سیتریک، فتوسنتز و ترمیم DNA نقش دارد. این مطالعه با هدف مقایسه تاثیر ریبوفلاوین بصورت محلول پاشی و جذب از طریق ریشه و افزودن آن به محیط کشت هیدروپونیک با غلظت 100 میکرومولار در گیاه کلزا انجام شد. نتایج نشان داد وزن تر و خشک اندام هوایی گیاه کلزا در تیمار ریبوفلاوین بصورت محلول پاشی تفاوت معنی داری نسبت به گیاه کنترل نداشت اما تیمار گیاه با ریبوفلاوین به صورت هیدروپونیک موجب کاهش معنی داری در حد 20 و 27 درصد به ترتیب در وزن تر و خشک اندام هوایی نسبت به گیاه کنترل شد. همچنین میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئیدها در تیمار گیاه با ریبوفلاوین به صورت هیدروپونیک به ترتیب 80، 78 و 36 درصد نسبت به میزان رنگدانه‌ها در گیاه کنترل کاهش یافته است. درحالیکه میزان فنل و فلاونوئید اندام هوایی در گیاهان تیمار شده با ریبوفلاوین هم به صورت محلول پاشی و هم هیدروپونیک تفاوت معنی داری از نظر آماری با میزان این ترکیبات در گیاه کنترل نشان ندادند.

**واژگان کلیدی:** ترکیبات فنولیک، رشد، ریبوفلاوین، محلول پاشی، هیدروپونیک

### مقدمه:

ریبوفلاوین یکی از ویتامین‌های گروه B و محلول در آب است. ریبوفلاوین بر رشد و نمو تاثیر می‌گذارد و در انواع فرآیند های اکسید و احیا که بر پاسخ های دفاعی گیاه تاثیر می‌گذارند، شرکت می‌کند. بنابراین ریبوفلاوین ماهیت آنتی اکسیدانی دارد و در کاهش آسیب های اکسیداتیو داخل سلول ضروری است (1). ریبوفلاوین در تشکیل اکسین، افزایش طول سلول‌ها و حفظ سلول‌ها از عوارض جانبی و نیز افزایش سطح برگ نقش دارد (2). در مطالعه حاضر تاثیر کاربرد خارجی ریبوفلاوین به صورت محلول پاشی و جذب از طریق ریشه و افزودن به محیط کشت هیدروپونیک بر پارامترهای رشد و ترکیبات فنولیک در گیاه کلزا بررسی و مقایسه شده است.

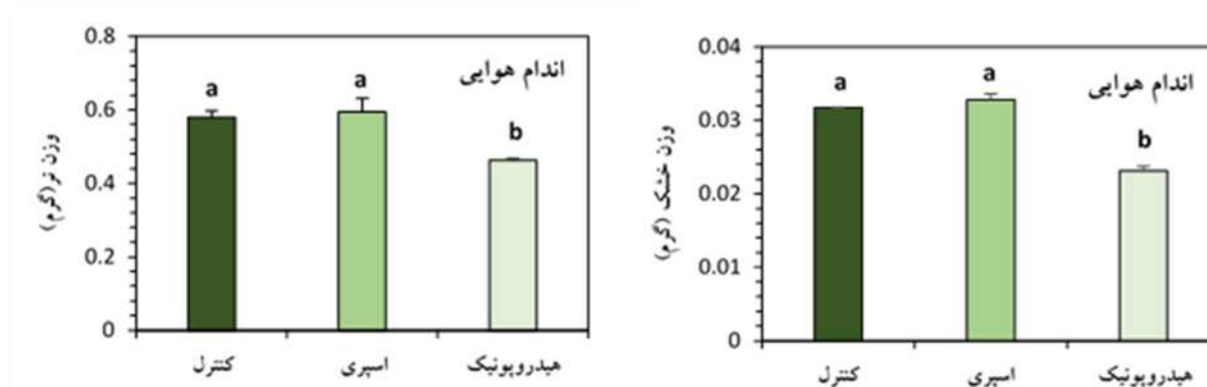
### مواد و روش ها:

بذرهای گیاه کلزا از اتحادیه شرکت های تعاونی روستایی شهرستان آمل تهیه شد. ابتدا بذرها با محلول هیپوکلریت سدیم یک درصد ضدعفونی و سپس در ظروف استریل حاوی پرلیت ضدعفونی شده به منظور جوانه زنی در اتاق کشت قرار داده شد. سپس دانه

رست‌های ده روزه به محیط کشت هوگلند 25 درصد منتقل شدند. گیاهان تحت تیمار ریپوفلاوین بصورت محلول پاشی (هر پنج روز) و افزودن ریپوفلاوین به محیط کشت هیدروپونیک با غلظت 100 میکرومولار (از ابتدای انتقال گیاه) به مدت 30 روز در اتاق کشت کنترل شده از نظر رطوبت، دما و نور رشد داده شدند. پس از جمع آوری، اندام هوایی و ریشه از محل یقه جدا شدند و بلافاصله وزن تر اندام هوایی اندازه گیری شد. رنگدانه‌ها با استفاده از استون 80 درصد استخراج و توسط روش اسپکتروفتومتری در طول موج‌های 470، 646، 663 سنجش شد (3). جهت استخراج ترکیبات فنولیک از متانول 70 درصد استفاده شد. سپس فلاونوئیدها با روش Akkol و همکاران و ترسیم نمودار استاندارد روتین سنجیده شد (4). سنجش فنل با استفاده از روش Singleton و همکاران و ترسیم نمودار استاندارد اسید گالیک انجام شد (5).

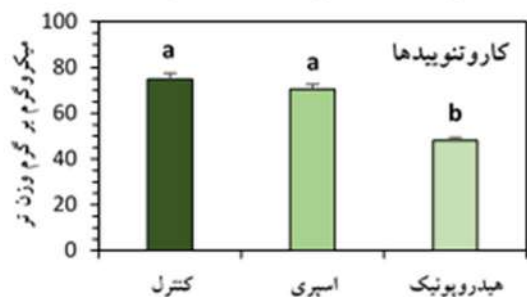
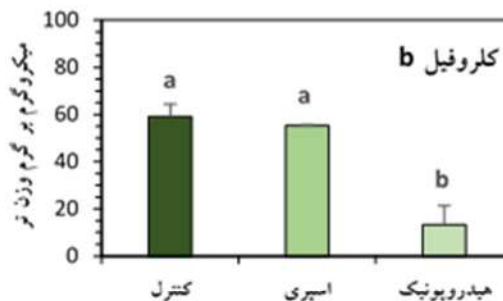
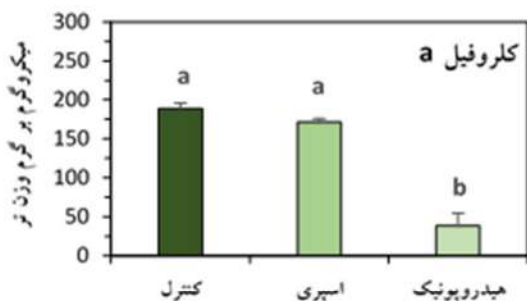
### نتایج و بحث :

وزن تر و خشک اندام هوایی گیاه کلزا در تیمار ریپوفلاوین بصورت محلول پاشی از لحاظ آماری تفاوت معنی داری با گیاه کنترل نشان نداده است. اما وزن تر و خشک اندام هوایی در تیمار گیاه با ریپوفلاوین بصورت هیدروپونیک به ترتیب حدود 20 و 27 درصد نسبت به کنترل کاهش داشت (شکل 1).



شکل 1: تاثیر ریپوفلاوین بصورت محلول پاشی و هیدروپونیک بر وزن تر و خشک اندام هوایی گیاه کلزا. حروف متفاوت بر روی نمودار ستونی نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح احتمال یک درصد می باشد.

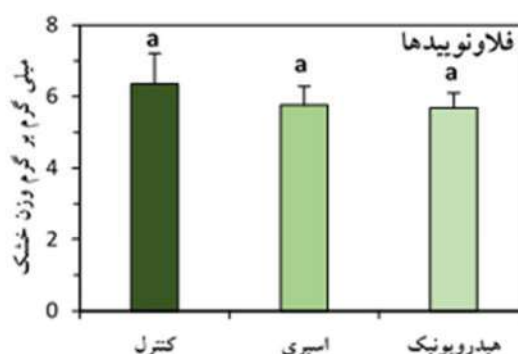
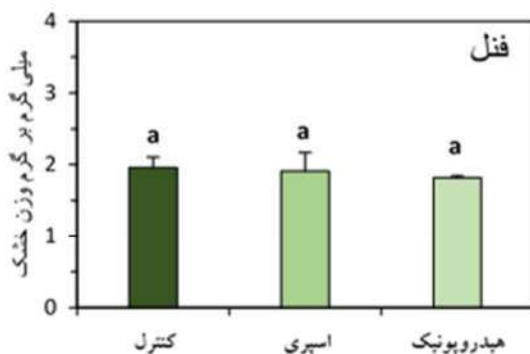
نتایج نشان داد کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئیدها در تیمار ریپوفلاوین بصورت محلول پاشی نسبت به کنترل از لحاظ آماری تفاوت معنی داری را نشان نداد. اما کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئیدها در تیمار گیاه با ریپوفلاوین بصورت هیدروپونیک به ترتیب 80، 78 و 36 درصد نسبت به کنترل کاهش داشته است.



شکل ۲: تاثیر ریپوفلاوین بصورت محلول پاشی و هیدروپونیک بر رنگدانه های گیاه کلزا. حروف متفاوت بر روی سطح نمودار ستونی نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح احتمال یک درصد می باشد (شکل ۲).

کاهش رشد و کاهش میزان رنگدانه های فتوسنتزی در تیمار گیاه با ریپوفلاوین به صورت هیدروپونیک (جذب ریشه ای) ممکن است به دلیل افزایش جذب عناصر آهن و روی از طریق ریشه و ایجاد سمیت در گیاه باشد (6).

نتایج نشان داد میزان فنل و فلاونوئیدهای اندام هوایی در گیاهان تیمار شده با ریپوفلاوین هم به صورت محلول پاشی و هم هیدروپونیک تفاوت معنی داری از نظر آماری با میزان این ترکیبات در گیاه کنترل نداشت (شکل 3).



شکل ۳: تاثیر ریپوفلاوین بصورت محلول پاشی و هیدروپونیک بر مقدار ترکیبات فنولی در گیاه کلزا. حروف متفاوت بر روی نمودار ستونی نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح احتمال یک درصد می باشد.

نتیجه گیری:

نتایج به دست آمده نشان داد که استفاده از ریوفلاوین بصورت هیدروپونیک در مقایسه با محلول پاشی نه تنها به بهبود گیاه کمکی نمی‌کند بلکه تاثیر منفی بر رشد گیاه می‌گذارد. همچنین ریوفلاوین بصورت هیدروپونیک تاثیر منفی بر میزان رنگدانه‌ها داشته است.

#### منابع:

- 1- **Aghajanzadeh, T. A., & Jazayeri, O. (2018).** Riboflavin Induces Different Defense Responses against *Pycularia oryzae* in Improved and Traditional Rice (*Oryza sativa* L.) Cultivars. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 20(5), 1071-1082.
- 2- **Abood, N. M., & Abdulhameed, Z. A. (2017).** Response of some sorghum (*Sorghum bicolor*, L. Moench) cultivars to foliar spraying of riboflavin growth, grain yield and proline content. *Journal of Plant Production*, 8(11), 1093-1101
- 3- **Lichtentaler, H. K. (1987).** In Plant Cell Membranes. Methods in Enzymology 1987 Elsevier.
- 4- **Akkol EK, Göger F, Koşar M, Başer KHC. (2008).** "Phenolic composition and biological activities of *Salvia halophila* and *Salvia virgata* from Turkey". *Food Chemistry*, 108(3): 942-949.
- 5- **Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999).** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In Methods in enzymology (Vol. 299, pp. 152-178). Academic press.
- 6- **Antonopoulou, C., Dimassi, K., Therios, I., Chatzissavidis, C., & Tsirakoglou, V. (2005).** Inhibitory effects of riboflavin (Vitamin B2) on the in vitro rooting and nutrient concentration of explants of peach rootstock GF 677 (*Prunus amygdalus* × *P. persica*). *Scientia horticulturae*, 106(2), 268-272.

## Comparison of different application of external riboflavin (foliar application and hydroponic solution) on the growth and phenolic compounds of canola

Seyede Zahra Sadatnia<sup>1</sup>, Tahereh A. Aghajanzadeh<sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup>Master student of Plant Physiology, Department of Plant Science, Faculty of Basic Sciences, University of Mazandaran

<sup>2</sup> Associate Professor of Plant Molecular Physiology, Department of Plant Science, Faculty of Basic Sciences, University of Mazandaran

\*Corresponding author: [T.aghajanzadeh@umz.ac.ir](mailto:T.aghajanzadeh@umz.ac.ir)

#### Abstract:

Riboflavin is one of the vitamins B type, which plays a role as a coenzyme of many metabolic enzymes, in electron transfer, citric acid cycle, photosynthesis and DNA repair. This study was conducted with the aim of comparing the effect of riboflavin as a foliar application and absorption through the roots and adding it to the hydroponic culture medium with a concentration of 100 micromolar in canola. The results showed that the fresh and dry weight of canola in the riboflavin treatment by foliar spraying was not significantly different from the control plant, but the hydroponic treatment of the plant with riboflavin was resulted in a significant decrease of 20 and 27% in fresh and dry weight, respectively. Also, the content of chlorophyll a, chlorophyll b and carotenoids in plant treatment with riboflavin hydroponically was decreased by 80, 78 and 36%, respectively, compared to the content of pigments in the control plant. While the content of phenols and flavonoids in shoot of the plants treated with riboflavin both by foliar spraying and hydroponics did not show any significant difference with the content of these compounds in the control plants.

Keywords: Growth, riboflavin, foliar application, hydroponic

## تأثیر کاربرد خارجی تیامین بر رشد، رنگدانه ها و ترکیبات آنتی اکسیدانت کلزا تحت تنش

مس

شقایق مرادی<sup>1</sup>، طاهره السادات آقاجانزاده<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران

<sup>2</sup>دانشیار فیزیولوژی مولکولی گیاهی، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران

\*نویسنده مسئول: دانشیار فیزیولوژی مولکولی گیاهی، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران

[T.aghajanzadeh@umz.ac.ir](mailto:T.aghajanzadeh@umz.ac.ir)

### چکیده:

سمیت مس رشد گیاه را مهار می‌کند و فرآیندهای مهم بیوشیمیایی مانند فتوسنتز و تنفس را مختل می‌کند و باعث ایجاد استرس اکسیداتیو و ایجاد گونه‌های اکسیژن فعال می‌شود. در مطالعه‌ی حاضر تأثیر کاربرد خارجی تیامین (75 میلی‌گرم بر لیتر) به صورت محلول پاشی بر اثرات نامطلوب مس (20 ماکرومولار) در گیاه کلزا بررسی شد. به منظور انجام این پژوهش جوانه‌های ده روزه گیاه کلزا در محیط کشت هیدروپونیک در شرایط کنترل شده تحت تیمارهای مس، تیامین و مخلوط مس و تیامین رشد داده شدند. نتایج نشان داد که تیامین سبب بهبود رشد گیاه کلزا تحت تنس مس نشد اما منجر به افزایش میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئیدها در حدود 19، 62 و 30 درصد شد. بنابراین تیامین خسارات ناشی از سمیت مس بر میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی را کاهش داد. همچنین تیامین سبب کاهش معنی‌دار میزان فلاوینوئیدها در حد 30 درصد در گیاه تحت تنش مس شد اما بر میزان فلاونول بی تأثیر بود.

واژگان کلیدی: ترکیبات فنولیک، تیامین، رنگدانه، کلزا، مس

### مقدمه:

سمیت فلزات سنگین به عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده رشد گیاهان زراعی در نظر گرفته می‌شود (1). در سال‌های اخیر آلودگی مس در خاک‌های کشاورزی به دلیل استفاده خودسرانه از سموم دفع آفات، قارچ‌کش‌ها، پساب‌های صنعتی و فاضلاب‌ها افزایش یافته است (2). ویتامین‌های گروه B تأثیر قابل توجهی بر رشد، نمو و عملکرد محصولات گیاهی دارند (3). تیامین (ویتامین B1) یک ویتامین محلول در آب است که برای رشد و تمایز برخی از گونه‌های گیاهی مورد نیاز است و به عنوان یک کوآنزیم در متابولیسم کربوهیدرات‌ها مانند گلیکولیز، چرخه کربس و چرخه پنتوز فسفات نقش دارد (4). در مطالعه حاضر تأثیر کاربرد خارجی تیامین بر بهبود شرایط استرس‌زای مس در گیاه کلزا از طریق اندازه‌گیری رشد، میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی و ترکیبات فنولیک مورد بررسی قرار گرفت.

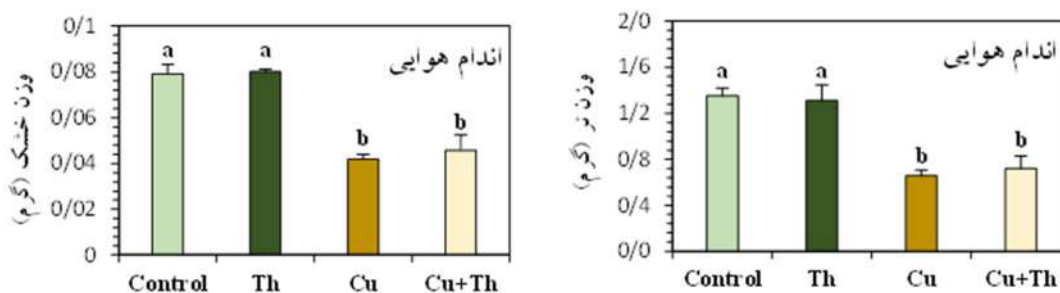
مواد و روش‌ها:



جوانه‌های ده روزه گیاه کلزا در یک اتاق کشت کنترل شده و در محیط کشت هیدروپونیک تحت تیمارهای مس (20 ماکرومولار)، تیمار (75 میلی‌گرم بر لیتر) و مخلوط مس و تیمار (به ترتیب 20 ماکرومولار و 75 میلی‌گرم بر لیتر) رشد داده شدند. گیاه هر 5 روز یک بار به صورت محلول پاشی تحت تیمار تیمار قرار گرفت. تیمار مس با اضافه کردن ترکیب  $CuCl_2$  به محلول غذایی یک روز پس از انتقال گیاه به محیط کشت هیدروپونیک اضافه گردید. همچنین دو هفته پس از کشت، محلول غذایی تعویض گردید. پس از گذشت 25 روز نمونه‌های گیاهی جمع آوری شدند. پارامترهای رشد از جمله وزن تر و وزن خشک با استفاده از ترازو اندازه‌گیری شدند. جهت استخراج رنگدانه‌ها از استون 80 درصد استفاده و با استفاده از روش اسپکتوفتومتری در طول موج‌های 470، 646 و 663 نانومتر سنجش شدند (5). استخراج عصاره‌ی گیاهی جهت سنجش ترکیبات فنولیک با استفاده از متانول 70 درصد انجام شد (6). ارزیابی فلاوینوئید با استفاده از عصاره‌ی گیاهی، کلرید آلومینیوم 10 درصد، استات پتاسیم 1 مولار و روش اسپکتوفتومتری در طول موج 415 نانومتر و سنجش فلاونول با استفاده از عصاره‌ی گیاهی، کلرید آلومینیوم 2 درصد، استات سدیم 5 درصد و روش اسپکتوفتومتری در طول موج 440 نانومتر انجام شد (7).

### نتایج و بحث:

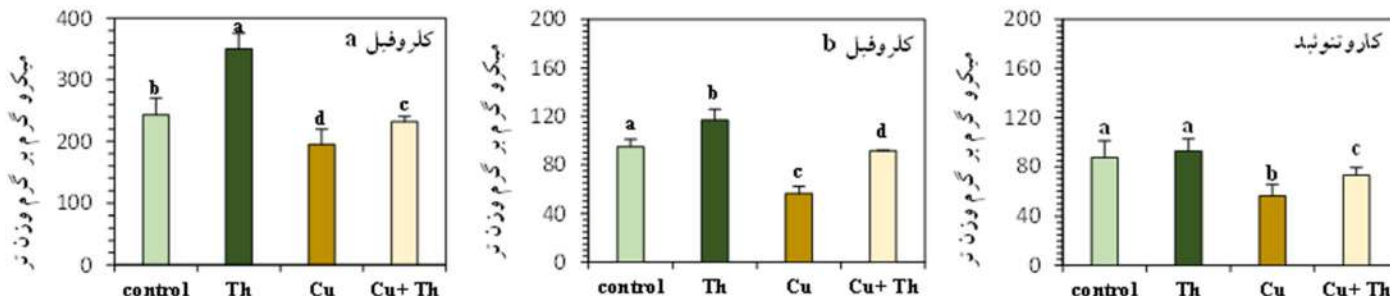
نتایج حاصل از اندازه‌گیری‌ها نشان داد که تحت تنش مس وزن تر و خشک اندام هوایی گیاه کلزا نسبت به کنترل به ترتیب 51 و 47 درصد کاهش یافت. مس ممکن است به دلیل واکنش پذیری بالا با اسیدهای آمینه به صورت مستقیم بر اتصالات عرضی اجزای دیواره سلولی تأثیر بگذارد و سبب کاهش رشد گیاه شود (8). استفاده از تیمار خارجی به همراه مس نتوانست این کاهش وزن را بهبود دهد و از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری میان وزن تر و خشک اندام هوایی گیاه کلزا، در تیمار مس و مخلوط تیمار و مس وجود نداشت (شکل 1).



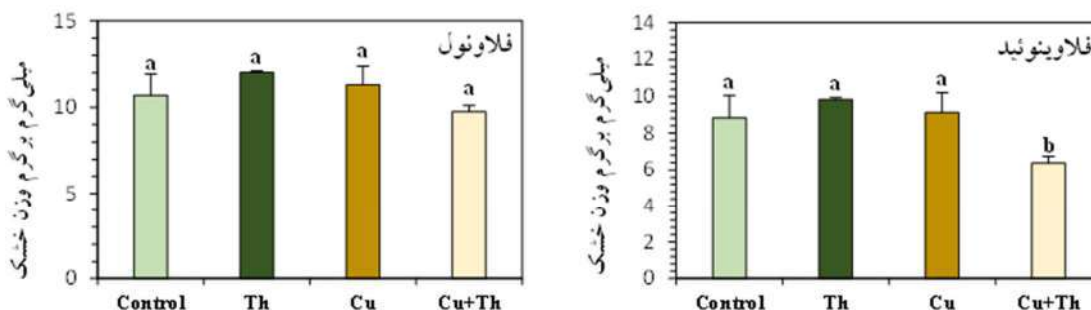
شکل 1: تأثیر سمیت عنصر مس (Cu)، تیمار (Th) و مخلوط تیمار و مس (Cu+Th) بر وزن تر و خشک اندام هوایی گیاه کلزا. حروف لاتین غیر مشابه روی ستون‌های نشان‌دهنده تفاوت معنادار در سطح احتمال یک درصد می‌باشد.

همچنین نتایج نشان داد که میزان کلروفیل a و b و کاروتنوئیدها در اندام هوایی گیاه کلزا تحت تنش مس نسبت به کنترل به ترتیب 20، 41 و 36 درصد کاهش یافت اما استفاده از تیمار تیمار سبب بهبود این خسارت گردید و میزان کلروفیل a و b و کاروتنوئید را نسبت به تیمار مس به ترتیب 19، 62 و 30 درصد افزایش داد (شکل 2). اثر مس بر کاهش سنتز کلروفیل ممکن است به دلیل

تأثیر مهاری مس در مرحله تشکیل اسید  $\delta$ -آمینولوونیک یا تأثیر مستقیم مس از طریق مهار جذب آهن که برای تشکیل کلروفیل ضروری است، باشد (10).



شکل ۲: تأثیر سمیت عنصر مس (Cu)، تیمارین (Th) و مخلوط تیمارین و مس (Cu+Th) بر میزان کلروفیل a و b و کاروتنوئیدهای اندام هوایی گیاه کلزا. حروف لاتین غیر مشابه روی ستونهای نمودار نشان دهنده تفاوت معنادار در سطح یک درصد می‌باشد. میزان ترکیبات فنولیک (فلاونول و فلاوینوئید) تحت تنش مس از لحاظ آماری نسبت به کنترل تفاوت معنی‌داری نشان نداد. تیمار گیاه تحت تنش مس با تیمارین تأثیر معنی‌داری بر میزان فلاونول نگذاشت اما میزان فلاوینوئید را 30 درصد کاهش داد (شکل 3).



شکل ۳: تأثیر سمیت عنصر مس (Cu)، تیمارین (Th) و مخلوط تیمارین و مس (Cu+Th) بر میزان ترکیبات فنولیک اندام هوایی گیاه کلزا. حروف لاتین غیر مشابه روی ستونهای نمودار نشان دهنده تفاوت معنادار در سطح یک درصد می‌باشد.

### نتیجه‌گیری:

نتایج بدست آمده نشان داد که سمیت مس اثرات نامطلوبی در میزان رشد اندام هوایی و رنگدانه‌های فتوسنتزی گیاه کلزا دارد. استفاده از تیمارین خارجی اگرچه نتوانست مانع از کاهش وزن تر و خشک گیاه تحت تنش مس گردد اما خسارات ناشی از مس بر رنگدانه‌های فتوسنتزی را جبران کرده و میزان آنها را افزایش داده است.

### منابع و مراجع مورد استفاده:

- (1) Farid, M., Shakoor, M. B., Ehsan, S., Ali, S., Zubair, M., & Hanif, M. S. (2013). Morphological, physiological and biochemical responses of different plant species to Cd stress. *International Journal of Chemical Biochemical Sciences*, 3(53.60).

- (2) Adrees, M., Ali, S., Rizwan, M., Ibrahim, M., Abbas, F., Farid, M., & Bharwana, S. A. (2015). The effect of excess copper on growth and physiology of important food crops: a review. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(11), 8148-8162.
- (3) Filimovo, P. N. (1967). Effect of vitamin B12 on the growth, development and yield of certain crops. *Soviet Plant Physiology*, 14, 72-76.
- (4) Bonner, J. (1940). On the growth factor requirements of isolated roots. *American Journal of Botany*, 692-701.
- (5) Lichtentaler, H. K. (1987). In *Plant Cell Membranes. Methods in Enzymology* 1987 Elsevier.
- (6) Thygesen, K., Alpert, J. S., White, H. D., Jaffe, A. S., Apple, F. S., Galvani, M., ... Clemmensen, P. M. (2007). Universal definition of myocardial infarction: Kristian Thygesen, Joseph S. Alpert and Harvey D. White on behalf of the Joint ESC/ACCF/AHA/WHF Task Force for the Redefinition of Myocardial Infarction. *European heart journal*, 28(20), 2525-2538.
- (7) Akkol EK, Göger F, Koşar M, Başer KHC. (2008). "Phenolic composition and biological activities of *Salvia halophila* and *Salvia virgata* from Turkey". *Food Chemistry*, 108(3): 942-949.
- (8) Thimann, K. V., & Biradivolu, R. (1994). Actin and the elongation of plant cells II. The role of divalent ions. *Protoplasma*, 183, 5-9.
- (9) Dutta, R. K., & Maharia, R. S. (2012). Antioxidant responses of some common medicinal plants grown in copper mining areas. *Food Chemistry*, 131(1), 259-265.

## The effect of external application of thiamine on growth, pigments, and antioxidant compounds of canola under copper stress

Shaghayegh Moradi<sup>1</sup>, Tahereh A. Aghajanzadeh<sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup>Master student of Plant Physiology, Department of Plant Science, Faculty of Basic Sciences, University of Mazandaran

<sup>2</sup>Associate Professor of Plant Molecular Physiology, Department of Plant Science, Faculty of Basic Sciences, University of Mazandaran

\*Corresponding author: [T.aghajanzadeh@umz.ac.ir](mailto:T.aghajanzadeh@umz.ac.ir)

### Abstract:

Copper toxicity inhibits plant growth and disrupts important biochemical processes such as photosynthesis and respiration, and lead to oxidative stress and subsequently the production of reactive oxygen species. In the present study, the effect of external application of thiamine (75 mg/liter) in the form of foliar spraying on the adverse effects of copper (20  $\mu$ M) in canola was investigated. In order to carry out this research, 10-day-old seedlings were grown in hydroponic culture medium under controlled conditions under treatments of copper, thiamine and copper and thiamine mixture. The results showed that thiamine did not improve the growth of canola under copper stress, but it led to an increase in the content of chlorophyll a, chlorophyll b and carotenoids in about 19, 62 and 30 percent. Therefore, thiamine reduced the damages caused by copper toxicity through photosynthetic pigments. Also, thiamine caused a significant decrease in the content of flavonoids in about 30 percent in plants under copper stress, but it had no effect on the content of flavonols.

**Keywords:** Copper, thiamine, canola, chlorophyll, phenolic compounds

## اثر تغذیه برگ‌های منابع روی بر رشد گل‌آذین و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه دارویی

### بادرشبویه

صالح شهابی‌وند<sup>1\*</sup>، احمد آقایی<sup>2\*</sup>، شمسی اطهائی<sup>3</sup>

**\*1:** دانشیار، دکتری فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مراغه

[Shahabi70@yahoo.com](mailto:Shahabi70@yahoo.com), [aghaee2001@yahoo.com](mailto:aghaee2001@yahoo.com)

**\*2:** استادیار، دکتری فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مراغه

**3:** کارشناس ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مراغه

### چکیده

بادرشبویه گیاهی دارویی یک‌ساله متعلق به خانواده نعناعیان است که به دلیل خواص اسانس خود به‌طور گسترده برای درمان دردها و اختلالات گوارشی مورد استفاده قرار می‌گیرد. به‌منظور ارزیابی اثر کاربرد برگ‌های فلز روی بر برخی شاخص‌های رشدی گل‌آذین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بادرشبویه، این آزمایش در شرایط گلخانه بر پایه طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمارها شامل نانو ذرات اکسیدروی (با غلظت‌های 0، 25، 50، 100 میلی‌گرم بر لیتر) و اکسید روی (با غلظت‌های 0، 25، 50، 100 میلی‌گرم بر لیتر) بودند. نتایج نشان داد که کاربرد برگ‌های اکسید روی و نانوذره روی در غلظت‌های مختلف باعث افزایش معنی‌دار در تعداد، طول و وزن تر و خشک گل‌آذین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز) شد. بیشترین و کمترین میزان شاخص‌های مورد مطالعه به ترتیب در گیاهان محلول‌پاشی شده با نانو ذرات اکسید روی (غلظت میلی‌گرم بر لیتر) و گیاهان شاهد، به‌دست آمد. به‌طور کلی، کاربرد برگ‌های نانو ذرات اکسید روی می‌تواند رشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را افزایش داده و به‌عنوان یک روش مناسب جهت جایگزین کردن کودهای شیمیایی پیشنهاد می‌شود.

**واژگان کلیدی:** آنتی‌اکسیدان، اکسید روی، کاربرد برگ‌ها، نانوذره

### مقدمه

گیاه دارویی بادرشبویه (*Dracocephalum moldavica* L.) گیاهی یک‌ساله از خانواده Lamiaceae و راسته Lamiales است. در طب سنتی برای درمان معده درد، ناراحتی‌های کبدی، سردرد و نفخ معده مصرف می‌شود. متابولیت‌های ثانویه این گیاه دارای خواص ضد باکتریایی، ضد روماتیسمی، ضد سرطانی، ضد جهش‌زایی، آنتی‌اکسیدانی و ضد عفونی‌کننده هستند (1). ریزمغذی روی یکی از مواد مغذی ضروری است که برای رشد و نمو گیاه ضروری است. کمبود روی در خاک باعث کمبود روی در گیاهان و در نتیجه زنجیره غذایی می‌شود. به دلیل فراهمی زیستی کمتر روی در خاک، محلول‌پاشی اشکال مختلف روی به برگ‌ها در مقایسه با روش‌های کاربرد خاکی مطلوب است و محلول‌پاشی عناصر، کمبود آنها را کاهش داده، از علائم سمیت جلوگیری و آلودگی ناشی از کود را کاهش می‌دهد (2). در مقایسه با روش‌های سنتی، محلول‌پاشی نانو کودها می‌تواند محصولات را به تدریج و در شرایط کنترل‌شده‌تری تغذیه کند و در نتیجه علائم سمیت را در خاک کاهش دهد (3). نانو کودها به دلیل حلالیت بالا و اندازه کوچکشان سریع‌تر توسط گیاه جذب می‌شوند.

هدف از این آزمایش، بررسی و مقایسه اثر اکسید روی و نانوذرات روی بر رشد گل آذین و فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان برگ گیاه دارویی و ارزشمند بادرشبویه در شرایط گلخانه بود.

### مواد و روش‌ها

طرح آزمایشی در قالب طرح کاملا تصادفی با چهار تکرار در هر تیمار انجام شد. بذره‌های بادرشبویه تهیه شده از آزمایشگاه باغبانی دانشگاه مراغه، به مدت 5 دقیقه با هیپوکلریت سدیم 5% ضد عفونی و سپس بذرها چندین بار با آب مقطر استریل شسته شدند. برای جوانه زنی، 30 بذر روی کاغذ صافی مرطوب در هر ظرف پتری با قطر 8 سانتی متر قرار داده شد. از خاک سطحی مزرعه دانشگاه مراغه، خاک شنی - لومی (0 تا 25 سانتی متر) برداشت شد. این نمونه خاک با نسبت 4:1 با ماسه مخلوط شد. خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک مورد استفاده در مطالعه ما به شرح زیر بود: 68% ماسه، 20% سیلت، 12% رس، 1/2% ماده آلی، 0/05% نیتروژن کل، 7 mg/kg فسفر، 35 mg/kg پتاسیم قابل جذب، 1/28 mg/kg روی قابل جذب، پی اچ 7/2 و EC برابر 1/98. بذور یکنواخت سه روز پس از جوانه زنی بذر در گلدان‌های انتخابی (با قطر دهانه 25 سانتی متر و ارتفاع 30 سانتی متر) پر شده از 7 کیلوگرم خاک، کشت شدند. در هر گلدان هشت دانه کاشته و در مرحله دو برگی، چهار بوته نگهداری شد. گیاهان آزمایشی در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه مراغه تحت دوره نوری 14 ساعت در روز در سیکل روز/شب 20/30 درجه سانتی‌گراد با میانگین رطوبت نسبی 55 تا 70 درصد رشد کردند. به منظور حفظ رطوبت خاک، آبیاری هر روز تا نزدیک به ظرفیت مزرعه با استفاده از آب دیونیزه انجام شد.

اکسید روی و نانوذرات اکسید روی مورد استفاده از شرکت پیشگامان دانش ایران خریداری شد. نانوذرات روی دارای خلوص 99 درصد و همچنین چگالی 5/606 گرم بر سانتی‌متر مکعب و اندازه 20 تا 30 نانومتر بودند. برای تیمارهای محلول پاشی، چهار سطح اکسید روی (0، 25، 50، 100 میلی گرم در لیتر) و چهار سطح نانوذرات اکسید روی (0، 25، 50، 100 میلی گرم در لیتر) با آب دیونیزه تهیه شد. پس از گذشت 40 روز از زمان کاشت، محلول پاشی به مدت 3 بار و هر کدام به فاصله 15 روز انجام شد. برای جلوگیری از سوختن برگها، محلول پاشی در غروب آفتاب انجام شد. برای گیاهان تیمار نشده همزمان با تیمارها از اسپری آب مقطر استفاده شد. نمونه‌های گیاهی 15 روز پس از آخرین محلول پاشی برداشت شدند. پس از شستن نمونه‌ها، وزن تر، طول و تعداد گل آذین در هر بوته اندازه گیری شد. برای آنالیزهای بیوشیمیایی، نمونه‌ها در نیتروژن مایع منجمد شدند. نمونه‌های گیاهی در دمای اتاق در سایه به مدت یک هفته تا رسیدن به وزن ثابت خشک شده و وزن خشک نمونه‌ها با استفاده از ترازوی 0/001 گرم ثبت شد.

جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، عصاره آنزیمی، بر اساس روش قناتی و همکاران (4) استخراج شد. فعالیت آنزیم کاتالاز به روش Aebi (5) اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به روش Nakano و Asada (6) اندازه‌گیری گردید و فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPX) به روش Chance و Maehly (7) اندازه‌گیری شد. تجزیه آماری با استفاده از نرم افزار SPSS Version 19 انجام گرفت و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال 5 درصد مشخص شد. نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel 2016 رسم شدند.

### نتایج و بحث

نتایج جدول 1 نشان داد که اعمال تیمارها تاثیر مثبتی روی شاخص‌های رشدی گل‌آذین داشته است. طول گل‌آذین در سطح 100 میلی‌گرم اکسید روی و در سطوح 50 و 100 میلی‌گرم نانوذره روی، دارای افزایش معنی‌دار نسبت به شاهد بود، اما تعداد گل‌آذین تنها در سطح 100 میلی‌گرم نانوذره افزایش معنی‌دار در مقایسه با گونه‌های شاهد داشت (جدول 1). در مورد وزن تر و خشک گل‌آذین، تیمار اکسید روی در سطح 100 میلی‌گرم و تیمار نانوذره در همه سطوح، باعث افزایش معنی‌دار شاخص‌های رشدی مورد

تیمار	غلطت (میلی‌گرم بر لیتر)	طول گل‌آذین (سانتی‌متر)	وزن تر گل‌آذین (گرم)	تعداد گل‌آذین	وزن خشک گل‌آذین (گرم)
شاهد	0	19/2 c	1/46 c	1/2 b	0/40e
اکسید روی	25	20/2 bc	1/50 c	1/4 b	0/41 e
اکسید روی	50	23/4 bc	1/70 c	1/5 b	0/51 de
اکسید روی	100	25/1 b	2/56 b	1/8 b	0/70 bc
نانوذره روی	25	24/1 bc	2/43 b	1/8 b	0/59 cd
نانوذره روی	50	31/7 a	2/80 ab	2/0 ab	0/75 b
نانوذره روی	100	35/7 a	3/20 a	2/8 a	0/96 a

جدول 1- تاثیر غلظت‌های مختلف اکسید روی و نانوذره اکسید روی بر شاخص‌های رشدی گل‌آذین بادربویه

حروف غیر مشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال 5 درصد بر اساس آزمون LSD می‌باشد.

نظر نسبت به شاهد شدند، ولی سایر تیمارها تاثیر معنی‌دار بر وزن خشک اندام هوایی نداشتند (جدول 1). در تحقیقی دیگر، نصیری و همکاران (8) گزارش دادند که کاربرد روی موجب افزایش 46 درصد عملکرد گل بابونه آلمانی می‌شود و دلیل آن افزایش تعداد و اندازه گل است. آنها بیان کردند که روی در ساختار آنزیم‌هایی که ساخت تریپتوفان را بر عهده دارند، دخیل است و این ماده پیش‌نیاز تولید اکسین است که سبب تولید دانه‌گرده می‌شود. روی همچنین سبب افزایش تولید اتیلن می‌شود که این هورمون نیز سبب گلدهی می‌شود. در مورد همه شاخص‌های رشدی مطالعه شده، اثر تیمار نانوذره در افزایش پارامترهای رشدی بیشتر از تیمار اکسید روی بود و بیشترین مقدار شاخص مورد نظر در سطح 100 میلی‌گرم بر لیتر نانوذره روی و کمترین مقدار شاخص رشدی در گیاهان شاهد مشاهده شد (جدول 1). در طی تحقیقی مشابه تاثیر نانوذره اکسید روی بر ارتفاع بوته، طول ریشه و سطح ریشه گیاه ماش بارزتر از اثر اکسید روی معمولی بود (9).

اندازه کوچک، قابلیت حل شدن آسان، بالا بودن سطح تماس و ماهیت قابل توزیع نانوذرات، نه تنها انتقال آن‌ها را از طریق مسیرهای آپوپلاستی و سمپلاستی تسهیل می‌کند، بلکه نانوذره را که در مواد لیپوفیل قابلیت انتشار بیشتری دارد، قادر می‌سازد تا از سطح برگ عبور کرده و یونهای روی را از طریق کوتیکول (دارای اسید چرب) آزاد کند (10).

نتایج جدول 2 نشان داد که هر سه آنزیم آنتی‌اکسیدان برگ (کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز) تحت تاثیر تیمارهای اعمال شده در همه سطوح، قرار گرفتند و کاربرد غلظت‌های مختلف اکسید روی و نانوذره روی در هر سطح تیمار، باعث افزایش معنی‌دار در میزان فعالیت آنزیم‌های مذکور نسبت به سطح قبلی شد. بالاترین میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در سطح 100 میلی‌گرم نانوذره روی دیده شد به طوری که تحت تیمار مذکور میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز 72 درصد، آسکوربات پراکسیداز 713 درصد و گایاکول پراکسیداز 85 درصد افزایش فعالیت در مقایسه با گیاهان شاهد داشتند (جدول 2). در آزمایش مشابه، کاربرد برگی

نانوذره اکسید روی، باعث افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در گیاه ذرت شد (11). اگر چه عنصر روی برای بسیاری از فرآیندهای متابولیسی سلول عنصر مهمی است اما غلظت زیاد آن فتوستتزر را مختل کرده و تنش اکسیداتیو ایجاد می کند بطوریکه افزایش تولید گونه های فعال اکسیژن در اثر تیمار نانوذره روی در گیاه پیاز مشخص شده است (12). نتایج آزمایش ما به همراه نتایج آزمایشات قبلی موید این نکته است که افزایش میزان آنزیم های آنتی اکسیدان می تواند پاسخ دفاعی گیاه برای افزایش رادیکالهای آزاد ناشی از افزایش غلظت روی در گیاه باشد، هر چند که گیاه توانسته این اثر منفی را با افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان جبران نموده و رشد خود را جبران کند.

جدول 2- تاثیر غلظت های مختلف اکسید روی و نانوذره اکسید روی بر فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی بادرشوبوه

میزان فعالیت GPX برگ (U/mg prot. min)	میزان فعالیت APX برگ (U/mg prot. min)	میزان فعالیت CAT برگ (U/mg prot. min)	غلظت (میلی گرم بر لیتر)	تیمار
13/24 g	0/53 g	15/15 g	0	شاهد
16/78 f	0/73 f	17/20 f	25	اکسید روی
17/12 e	0/84 e	18/71 e	50	اکسید روی
20/32 c	1/79 c	21/63 c	100	اکسید روی
19/51 d	1/00 d	20/33 d	25	نانوذره روی
22/81 b	2/87 b	23/94 b	50	نانوذره روی
24/62 a	4/31 a	26/19 a	100	نانوذره روی

حروف غیر مشابه در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح احتمال 5 درصد بر اساس آزمون حداقل تفاوت معنی دار (LSD) می باشد.

## منابع

- Mohammadi, M.H., Panahirad, S., Navai, A., Bahrami, M.K., Kulak, M., Gohari, G., 2021. Cerium oxide nanoparticles (CeO<sub>2</sub> -NPs) improve growth parameters and antioxidant defense system in Moldavian Balm (*Dracocephalum moldavica* L.) under salinity stress. *Plant Stress*, 1, 100006.
- Hussain, A., Ali, S., Rizwan, M., Rehman, M.Z., Javed, M.R., Imran, M., Chatha, S.A.S., Nazir, R., 2018. Zinc oxide nanoparticles alter the wheat physiological response and reduce the cadmium uptake by plants. *Environ. Pollut.* 242, 1518-1526.
- Kah, M., Kookana, R.S., Gogos, A., Bucheli, T.D., 2018. A critical evaluation of nanopesticides and nanofertilizers against their conventional analogues. *Nat. Nanotechnol.* 13, 677-684.
- Ghanati, F., Morita, A. and Yokota, H. (2002). Induction of suberin and increase of lignin content by excess Boron in Tobacco cell. *Soil Science and Plant Nutrition*, 48(3), 357-364.
- Aebi, H., 1984. Catalase in Vitro. *Methods in Enzymology*, 105, 121-126.
- Nakano, Y. and Asada, K., 1987. Purification of ascorbate peroxidase in spinach chloroplasts; its inactivation in ascorbate-depleted medium and reactivation by monodehydroascorbate radical. *Plant and Cell Physiology*, 28, 131-140.
- Chance, B. and Maehly, A. C., 1955. Assay of catalase and peroxidase. In: *Methods in enzymology* (Eds. Colowick, S. P. and Kaplan, N. O.) Academic Press, New York. Pp. 764-775.
- Nasiri, Y., Zehtab-Salmasi, S., Nasrullahzadeh, S., Najafi, N. and Ghassemi-Golezani, K., 2010. Effects of foliar application of micronutrients (Fe and Zn) on flower yield and essential oil of Chamomile (*Matricaria chamomilla*). *Journal Medicinal Plants Research*, 4(17), 1733-1737.

9. **Raliya, R., Tarafdar, J.C. and Biswas, P., 2016.** Enhancing the mobilization of native phosphorus in the mung bean rhizosphere using ZnO nanoparticles synthesized by soil fungi. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64 (16), 3111–3118.
10. **Singh, A., Singh, N. B., Afzal, S., Singh, T. and Hussain, I., 2018.** Zinc oxide nanoparticles: a review of their biological synthesis antimicrobial activity uptake translocation and biotransformation in plants. *Journal of Materials Science*, 53, 185–201.
11. **Rizwan, M., Ali, S., ur Rehman, M. Z., Adrees, M., Arshad, M., Qayyum, M. F., Ali, L., Hussain, A., Chatha, S. A. S. and Imran, M., 2019.** Alleviation of cadmium accumulation in maize (*Zea mays* L.) by foliar spray of zinc oxide nanoparticles and biochar to contaminated soil. *Environmental Pollution*, 248, 358–367.
12. **Kumari, M., Mukherjee, A., and Chandrasekaran, N., 2009.** Genotoxicity of silver nanoparticles in *Allium cepa*. *Science of Total Environment*, 407, 5243–5246.

## Effect of foliar feeding of zinc sources on the growth of inflorescence and antioxidant enzymes of medicinal plant dragonhead

Saleh Shahabivand<sup>1,\*</sup>, Ahmad Aghaee<sup>1,\*</sup>, Shamsi Athayi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Maragheh

\*E-mail: shahabi70@yahoo.com; aghaee2001@yahoo.com

### Abstract

Dragonhead is an annual plant from Lamiaceae family, which is widely used for the treatment of pain and digestive disorders due to its essential oil properties. In order to evaluate the effect of foliar application of zinc on some growth indicators of inflorescences and the activity of antioxidant enzymes of dragonhead, this experiment was conducted in greenhouse conditions based on a completely randomized block design with three replicates. The treatments included zinc oxide nanoparticles (0, 25, 50, 100 mg/L) and zinc oxide (0, 25, 50, 100 mg/L). The results showed that the foliar application of zinc oxide and zinc nanoparticles in different concentrations caused a significant increase in the number, length and fresh and dry weight of inflorescences and the activity of antioxidant enzymes (catalase, ascorbate peroxidase and guaiacol peroxidase). The highest and lowest values of the studied indicators were obtained in plants sprayed with zinc oxide nanoparticles (100 mg/L) and control plants, respectively. In general, foliar application of zinc oxide nanoparticles can increase the growth indicators of inflorescences and antioxidant enzymes activity of dragonhead, and is suggested as a suitable method to replace chemical fertilizers.

**Keywords:** Antioxidant, Foliar application, Nano-particle, Zinc oxide



## بررسی اثر تیمارهای مختلف شکستن خواب بذر بر ویژگی‌های جوانه‌زنی گیاه دارویی

### مینای پرکپه‌ای (*Tanacetum polycephalum*)

طهماسب آسمانه<sup>1\*</sup>، عیسی پوربهشت زاده<sup>2</sup>

<sup>1\*</sup> - نویسنده مسئول: دانشیار فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه یاسوج

asemaneh@yu.ac.ir

<sup>2</sup> - کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه یاسوج

#### چکیده

شناخت خفتگی بذر گیاهان دارویی و عوامل موثر بر شکستن خواب بذر، جهت کشت گسترده آنها، ضروری می‌باشد. مینای پرکپه‌ای (*Tanacetum polycephalum*) از جمله گیاهان دارویی متعلق به تیره آفتابگردان است که بذر آن دارای خفتگی است. لذا در این پژوهش اثر تیمارهای تاریکی، پیش‌سرما دهی، نیترات پتاسیم، جیبرلیک اسید، آبشویی و پیش‌سرما دهی به همراه تاریکی، بر درصد و سرعت جوانه‌زنی و شاخص بنیه بذر این گیاه، در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی، مورد بررسی قرار گرفت. تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات تیمارها، بر شاخص‌های جوانه‌زنی معنی‌دار بوده و بهترین تیمارهای شکستن خواب بذر این گیاه دارویی عبارتند از: تیمار تلفیقی تاریکی و پیش‌سرما دهی به مدت دو هفته و تیمار تلفیقی آبشویی و تاریکی، که درصد جوانه‌زنی را تا حدود 93 درصد و بنیه بذر را تا حدود 94 درصد نسبت به شاهد افزایش داد. همچنین به نظر می‌رسد نوع خفتگی بذر این گیاه، فیزیولوژیک می‌باشد.

**واژگان کلیدی:** خفتگی بذر، شاخص‌های جوانه‌زنی، مینای پرکپه‌ای

#### مقدمه

امروزه نظر به اهمیت درمانی و اقتصادی گیاهان دارویی و صنعتی، اهلی کردن و کشت آنها در سیستم‌های زراعی، ضرورتی اجتناب‌ناپذیر است. دستیابی به این هدف در گام اول نیاز به مطالعات فیزیولوژیک بذر از جمله بررسی خصوصیات جوانه‌زنی و ارزیابی بنیه بذر در شرایط آزمایشگاهی و عرصه طبیعی دارد (1). اگر با وجود فراهم بودن کلیه شرایط، بذرها قادر به جوانه‌زنی نباشند، گفته می‌شود که این بذرها دارای خواب هستند. انواع خواب بذر شامل فیزیکی، مورفولوژیک، مورفوفیزیولوژیک، فیزیولوژیک و چندگانه می‌باشد که در بذور گونه‌های گیاهی وجود دارد (2). انجمن بین‌المللی آزمون بذر (ISTA<sup>1</sup>) روش‌های مختلفی برای شکستن خواب و تحریک جوانه‌زنی بذور گیاهان پیشنهاد نموده‌اند که از مهمترین آنها می‌توان به سرما دهی، خراش دهی، استفاده از محلول‌های محرک جوانه‌زنی (جیبرلیک اسید، نیترات پتاسیم) دوره‌های نوری، دمایی و غیره اشاره نمود (3). برطبق گزارشات، جنس‌های تیره آفتابگردان دارای نوعی خواب می‌باشند و عمدتاً خواب بذر آنها فیزیولوژیک می‌باشد که تیمارهایی از قبیل درجه حرارت‌های مختلف، دوره‌های نوری، پیش‌سرما دهی، نیترات پتاسیم و اسیدجیبرلیک می‌توانند منجر به شکستن خواب بذر و جوانه‌زنی آنها شوند (4). گیاه مینای پرکپه‌ای، متعلق به تیره آفتابگردان، گیاهی است که برای درمان سردرد، میگرن، بالا بودن

چربی خون و دیابت کاربرد دارد. مهم‌ترین ترکیبات شیمیایی این گیاه برنیول، بتاپینن، آلفاپینن، کامفن، آلفاترپینیول و سینیول می‌باشند (5). این گونه گیاهی، از جمله گیاهان دارویی منطقه دنا واقع در استان کهگیلویه و بویراحمد می‌باشند که بذر آن با حدود چهار درصد جوانه زنی، دارای خفتگی است و تاکنون اطلاعات علمی اندکی در مورد آن گزارش شده است. بر همین اساس پژوهش پیش‌رو، در زمینه بررسی جوانه‌زنی بذر این گیاه دارویی ارزشمند، به انجام رسید.

### مواد و روش‌ها

بذر گونه‌ی گیاهی مینای پرکپه‌ای، از رویشگاه طبیعی این گیاه در منطقه دنا واقع در استان کهگیلویه و بویراحمد جمع‌آوری شد و پس از خشک کردن، بوجاری، حذف بذور پوک، جهت انجام این تحقیق استفاده گردید. عملیات آزمایشگاهی در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی در سه تکرار و هر تکرار شامل 100 عدد بذر سالم انجام گردید. ابتدا، بذرها در محلول هیپوکلریت سدیم پنج درصد به مدت پنج دقیقه ضدعفونی شد و پس از شستشو با آب مقطر، از بستر کاغذ صافی درون پتری‌دیش برای کشت بذرها استفاده گردید. جهت اعمال تیمار تاریکی، دو میلی لیتر آب مقطر به هر پتری‌دیش اضافه گردید و در اتاق کشت قرار داد شدند و سطح پتری‌دیش‌ها به وسیله نایلون‌های مشکی ضخیم کاملاً پوشیده شد و پس از 10 روز بذوری که گیاهچه سالم ایجاد کردند شمارش گردید. جهت اعمال تیمار آبی، بذرها، به مدت 24 ساعت در آب جاری شستشو گردید، سپس پتری‌دیش‌ها در اتاقک رشد قرار داد شدند. جهت اعمال تیمارهای شیمیایی، دو میلی لیتر از محلول‌های نترات پتاسیم یک و سه درصد و جیبرلیک اسید با غلظت‌های 100 و 500 قسمت در میلیون (ppm) به‌طور جداگانه به هر پتری‌دیش اضافه گردید. جهت اعمال تیمار پیش‌سرما دهی، بذور، به مدت دو ساعت در آب مقطر خیسانده شدند تا آبیگری نمایند، سپس به مدت دو هفته در دمای دو تا پنج درجه سانتی-گراد نگهداری شدند. پس از اعمال تیمارها، پتری‌دیش‌ها، در اتاقک رشد در شرایط محیطی دما و نور متناوب (20 درجه سانتی‌گراد در مدت 16 ساعت روشنایی و 15 درجه سانتی‌گراد در مدت 8 ساعت تاریکی) قرار داده شد و در طول مدت 10 روز آزمایش، بذور جوانه‌زده شمارش گردید و مطابق فرمول‌های ذیل، درصد جوانه‌زنی (GP)، سرعت جوانه‌زنی (SG) و شاخص بینه بذر (SV)، محاسبه گردید (4).

$$GP = \frac{n}{N} \times 100 \quad (1)$$

$$SG = \sum \left( \frac{n}{t} \right) \quad (2)$$

$$SV = \frac{SL \times GP}{100} \quad (3)$$

در این معادله‌ها n، تعداد بذر جوانه زده، N، تعداد کل بذر کشت شده، t، تعداد روز تا شمارش مورد نظر و SL، طول گیاهچه بر حسب میلی‌متری باشد. تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام گرفت.

## نتایج و بحث

آنالیز واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تیمارهای مختلف شکستن خواب بذر بر درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و شاخص بنیه بذر گیاه مینای پرکپه‌ای، در سطح پنج درصد معنی‌دار گردید. مطابق جدول شماره 1، میانگین درصد جوانه‌زنی بذر گیاه مینای پرکپه‌ای تحت تاثیر تیمار تاریکی (10 درصد)، جیبرلیک اسید 100 ppm (12/6 درصد)، دو هفته پیش‌سرما دهی (25 درصد)، پیش‌سرما دهی به همراه تاریکی (61/6 درصد) و آبشویی همراه با تاریکی (62 درصد)، نسبت به شاهد (چهار درصد)، دارای اختلاف معنی‌دار بود. همچنین تیمارهای پیش‌سرما دهی و جیبرلیک اسید، منجر به افزایش معنی‌دار سرعت جوانه‌زنی بذر این گیاه، در قیاس با شاهد گردید. علاوه بر این، تیمارهای جیبرلیک اسید 100 ppm، دو هفته پیش‌سرما دهی، پیش‌سرما دهی همراه با تاریکی و آبشویی همراه با تاریکی، باعث افزایش معنی‌دار بنیه‌ی بذر این گیاه تا حدود 94 درصد، نسبت به شاهد گردید. نتایج فوق را می‌توان با شواهد و مدارک ذیل تفسیر و یا تایید نمود. در توافق با نتایج این پژوهش، تاثیر مثبت تیمار پیش‌سرما دهی و جیبرلیک اسید، بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذر برخی گیاهان دیگر نیز، گزارش شده است (6). سرما و جیبرلیک‌اسید، با آزادسازی یا فعال سازی آنزیم‌های تجزیه کننده‌ی ذخیره غذایی بذر، پیش‌ماده و انرژی مورد نیاز جوانه زنی بذر فراهم می‌کند (7). رفع خواب بذر در اثر سرما را می‌توان ناشی از، تغییر شکل در ساختار آنزیمی، متابولیسم نوکلئیک اسیدها، کاهش یا حذف بازدارنده‌های جوانه زنی مانند آبسزیک اسید و یا فعال کردن و سنتز جیبرلیک‌اسید، دانست (8). شستشوی بذر با آب از جمله روش‌های موثر در شکستن خواب فیزیولوژیکی بذر ناشی از وجود ترکیبات باز دارنده است (3).

جدول (1) مقایسه اثر تیمارهای مختلف شکستن خفتگی بذر بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذر گیاه مینای پرکپه‌ای

شاخص‌های جوانه زنی			تیمارها
بنیه بذر	سرعت جوانه زنی در روز	درصد جوانه زنی	
1/3 e	1/9 de	4/0 e	شاهد (آب مقطر)
2/5 de	1/7 e	7/8 de	نترات پتاسیم 1 درصد
1/5 e	1/5 ef	5/0 e	نترات پتاسیم 3 درصد
3/4 de		10/0 cd	تاریکی
2/4 de	2/6 b	6/5 de	یک هفته پیش سرما دهی
8/7 c	6/5 a	25/0 b	دو هفته پیش سرما دهی
3/8 d	2/7 bc	12/6 c	جیبرلیک اسید 100 ppm
2/6 de	2/2 cd	6/9 de	جیبرلیک اسید 500 ppm
19/2 b		61/6 a	دو هفته پیش سرما دهی + تاریکی
21/3 a		62/0 a	آبشویی + تاریکی

حروف غیر مشترک در هر ستون، نشان دهنده اختلاف معنی‌دار میانگین شاخص جوانه‌زنی در تیمارهای مختلف بر اساس آزمون دانکن می‌باشد. ( $p \leq 0.05$ )

## نتیجه‌گیری نهایی

تیمارهای جیبرلیک اسید، پیش‌سرما‌دهی، آبشویی و تاریکی باعث افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی و شاخص بینه بذر بذور مینای پرکپه‌ای گردید که در این میان، تیمارهای تلفیقی تاریکی و پیش‌سرما‌دهی به مدت دو هفته و تیمار تلفیقی آبشویی و تاریکی، به عنوان بهترین تیمار شکستن خواب بذر این گیاه توصیه می‌شود. به نظر می‌رسد یکی از دلایل خفتگی بذر این گیاه، وجود ترکیبات بازدارنده در پوسته بذر و یا کمبود هورمونهای محرک جوانه‌زنی باشد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که خفتگی بذر این گیاه از نوع فیزیولوژیک می‌باشد.

### منابع

- 1- **Chakraborty D., Bhattacharya P.K., Bandyopadhyay A. and Gupta K. 2003.** Studies on the germination behavior of *Basilicum polystachyon* an ethnobotanically important medicinal plant. *Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 25, pp.58-62.
- 2- **Baskin, J.M. and Baskin, C.C. 2004.** A classification system for seed dormancy. *Seed Science Research*, 14, pp.1-16.
- 3- **Copeland, L.O. and McDonald, M.B. 2001.** Principles of seed science and technology (4th ed.). Kluwer Academic.
- 4- **ISTA. 2011.** International Rules for Seed Testing, The Germination Test. Chapter 5: 1-57. International Seed Testing Assemblage, Bassersdorf, Switzerland.
- 5- **Karimian, H., Mohan, S., Moghadamtousi, S.Z., Fadaeinasab, M., Razavi, M., Arya, A., Kamalidehghan, B., Ali, H.M. and Noordin, M.I. 2014.** *Tanacetum polycephalum* (L.) Schultz-Bip. induces mitochondrial-mediated apoptosis and inhibits migration and invasion in MCF7 cells. *Molecules*, 19(7), pp.9478-501.
- 6- **Zhang, Y., Fu, C., Zhou, R., Liu, Z. and Feng, C. 2023.** Effect of prechilling and exogenous gibberellin on seed germination of *Primulina eburnea*: a calcium-rich vegetable. *Seed Science and Technology*, 51, pp. 1-6.
- 7- **Yamaguchi, S., and Kamiya, Y. 2000.** Gibberellin biosynthesis: its regulation by endogenous and environmental signals. *Plant Cell Physiology*, 41(3), pp.251-257.
- 8- **Koornneff, M.L., Bentsink, and Hilhorst, H. 2002.** Seed dormancy and germination. *Current Opinion in Plant Biology*, 5, pp.33-36.

## Study of dormancy breaking treatments effect on germination characteristics of *Tanacetum polycephalum*

Tahmaseb Asemaneh\*<sup>1</sup>, Purbeheshtzade Isa<sup>1</sup>

Department of Biology, Faculty of Science, Yasouj University, Yasouj, Iran.

Email: [asemaneh@yu.ac.ir](mailto:asemaneh@yu.ac.ir)

### Abstract

It is necessary to know seed dormancy of medicinal plants and the factors affecting seed dormancy breaking for their widespread cultivation. *Tanacetum polycephalum* is one of the medicinal plants belong to the sunflower family, whose seeds are dormant. Therefore, in this study, the effects of darkness, pre-chilling, potassium nitrate, gibberellic acid, washing and pre-chilling treatments combined with darkness, on germination percentage, speed of seed germination and seed vigor of the plant were investigated in a completely randomized statistical design. The analysis of variance of data showed that the effect of treatments on germination characteristics were significant and the best seed dormancy breaking treatment of this medicinal plant are: pre-chilling for two weeks and washing in combination with darkness, in which increased the germination percentage to about 93% and the seed vigor to about 94%, compared to the control. It also seems that the seed dormancy type of the plant is physiologic.

**Keywords:** Germination characteristics, Seed dormancy, *Tanacetum polycephalum*

## تغییرات درصد و ترکیبات اسانس بالنگوی شهری تحت تاثیر آرایش کاشت

ویدا فتاحی<sup>1</sup>، علیرضا پیرزاد<sup>2\*</sup>، سعیده رحیمزاده<sup>3</sup>

<sup>1</sup>دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

<sup>2\*</sup>استاد، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

[a.pirzad@urmia.ac.ir](mailto:a.pirzad@urmia.ac.ir)

<sup>3</sup>محقق پسادکتری دکتری، گروه اکوفیزیولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

### چکیده

تصمیمات استراتژیک کشاورزی مانند تاریخ و فاصله کاشت، تأثیر مستقیمی بر مدیریت تولید و کیفیت محصول دارند. آزمایشی به صورت کرت های خرد شده در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی در سه تکرار به منظور بررسی تأثیر تاریخ کاشت (27 اسفند، 13 فروردین و 29 فروردین) و فواصل کاشت (20×3، 20×5 و 30×2 سانتی متر بین ردیف و بین بوته) روی کمیت و کیفیت اسانس بالنگوی شهری اجرا شد. بیشترین درصد اسانس (0/34 درصد)، در تاریخ کاشت 27 اسفند مشاهده شد. بیشترین درصد در مهمترین ترکیبات موجود در اسانس بالنگوی شهری (تیمول، کاروفیلن، فیتول) در تاریخ کاشت 29 فروردین و فاصله کاشت 30×2 بدست آمد. نهایتاً تاریخ کاشت اول برای حصول حداکثر کمیت اسانس در بالنگوی شهری توصیه می شود.

**واژگان کلیدی:** اسانس، بالنگوی شهری، تاریخ کاشت، تیمول

### مقدمه

با توجه به اینکه در کشور محدودیت منابع آبی داریم، بنابراین در حوزه زراعت باید به سمت کشت گیاهانی برویم که نیاز آبی کمتری دارند و از نظر ارزش اقتصادی توجیه پذیر باشند و گیاه دارویی بالنگو یکی از آنهاست. بالنگوی شهری (*Lallemantia iberica* Fish. et Mey.) گیاهی دارویی و یکساله از خانواده نعنائیان، حاوی اسانس، روغن و موسیلاژ است (1). رشد و نمو گیاهان دارویی و ساخت مواد مؤثره در آنها متأثر از عوامل ژنتیکی و محیطی بوده و حداکثر عملکرد کمی و کیفی معمولاً زمانی به دست می آید که ترکیب مناسبی از عوامل محیطی برای گیاه فراهم باشد. می توان با روش هایی اثرات محیطی را به گونه ای مدیریت نمود که گیاه تحت آن شرایط پتانسیل بالقوه خود را ظاهر کند و در این بین دو عامل تاریخ کاشت و تراکم گیاه نقشی اساسی در دستیابی به شرایط مناسب در طول دوره رشد و نمو جهت حصول حداکثر عملکرد کمی و کیفی در گیاهان دارویی ایفا می نمایند (2). تاریخ کاشت با تأثیر بر طول روز، رطوبت نسبی هوا و مقدار نور دریافتی، تغییرات قابل توجهی در رشد و همچنین کمیت و کیفیت ماده مؤثره گیاه دارد. آرایش کاشت به علت تفاوت در چگونگی توزیع و تراکم گیاهی، باعث تغییر در جذب تابش خورشیدی توسط گیاه و تغییر در عملکرد می شود (3). شناخت عوامل افزایش دهنده کمیت و کیفیت گیاهان دارویی امری ضروری است که متناسب با نوع گیاه می تواند جهت دستیابی به عملکرد مطلوب بررسی شود. با توجه به خواص تغذیه ای و دارویی فراوان گیاه بالنگو و نیز کشت پراکنده و محدود آن توصیه می شود برای کشت وسیع آن، اطلاعات کافی درباره کشت آن خصوصاً تاریخ کشت

مطلوب و فواصل کاشت مناسب وجود داشته باشد. این پژوهش با هدف بررسی تأثیر تاریخ کاشت و فاصله کاشت بر درصد و کیفیت اسانس گیاه دارویی بالنگو در شرایط آب و هوایی ارومیه انجام شد.

### مواد و روش ها

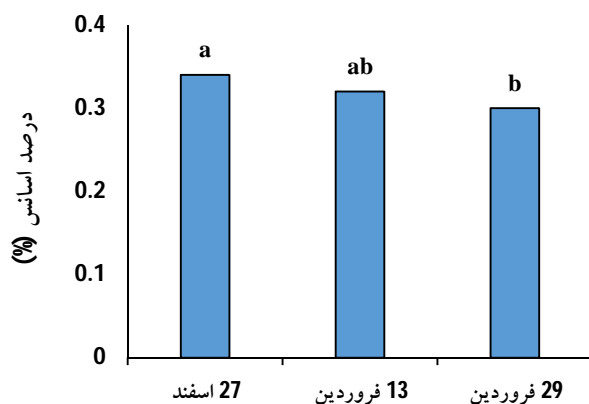
طرح آزمایشی بکار رفته، اسپلیت پلات در قالب طرح بلوکهای کامل تصادفی با سه تکرار بود که فاکتورها شامل سه تاریخ کاشت به عنوان کرت اصلی (27 اسفند، 13 فروردین و 29 فروردین) و فاصله کاشت (3×20، 5×20 و 2×30 سانتی متر بین ردیف و بین) به عنوان کرت فرعی بود. در مرحله گلدهی کامل بوته ها برداشت و هواخشک شدند. به منظور استخراج اسانس از اندامهای هوایی خشک شده، از روش تقطیر با بخار آب توسط دستگاه کلونجر استفاده گردید. نمونه خشک شده گیاه (بخش هوایی شامل گل و برگ) بمدت 3 ساعت در دستگاه جوشانده شد. درصد اسانس بر مبنای وزن خشک بالنگو و با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد:

$$\text{وزن نمونه خشک (گرم)} / \text{وزن اسانس (گرم)} = \text{درصد اسانس}$$

مقدار و نوع ترکیبات تشکیل دهنده اسانس در یک تکرار و با دستگاههای کروماتوگرافی گازی مدل Hewlett-packard-5890 و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی اندازه گیری شد. تجزیه واریانس داده ها با استفاده از نرم افزار SAS 9.1 و مدل خطی GLM انجام شد. مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون آماری SNK در سطح احتمال 5 درصد صورت گرفت.

### نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تاریخ کاشت بر درصد اسانس دانه بالنگو در سطح آماری 1 درصد معنی دار شد. مقایسه میانگین ها نشان داد که بیشترین درصد اسانس سرشاخه های گلدار (0/34 درصد) از گیاهان بالنگوی کاشت شده در 27 اسفند بدست آمد. تاریخ کاشت های بعدی در 13 و 29 فروردین، درصد اسانس کمتری داشتند (شکل 1).



شکل 1- مقایسه میانگین اثر تاریخ کاشت روی درصد اسانس بالنگو

تعداد 23 ترکیب تشکیل دهنده اسانس گیاه بالنگوی شهری با توجه به تاریخها و فواصل مختلف کاشت شناسایی، و نوع و درصد مهمترین اجزای اسانس در جدول 1 گزارش شده است. بطور کلی میانگین درصد مهمترین ترکیبات موجود در

اسانس بالنگوی شهری (که درصد بالاتری را به خود اختصاص داده بودند)، در تاریخ کاشت 29 فروردین و در بین فواصل مختلف کاشت برای هر سه تاریخ کاشت در آرایش کاشت 30×2 بیشتر بود.

جدول 1- درصد ترکیبات اسانس گیاه بالنگو تحت تاثیر تاریخ کاشت و فاصله کاشت.

ترکیبات	تاریخ کاشت 27 اسفند			تاریخ کاشت 13 فروردین			تاریخ کاشت 29 فروردین		
	20×3	20×5	30×2	20×3	20×5	30×2	20×3	20×5	30×2
Limonene	-	-	-	-	-	-	-	2/01	-
Linalool	3/50	3/90	3/54	2/59	3/26	2/78	2/61	3/44	2/43
Geraniol	-	3/86	-	-	3/18	-	1/68	2/08	1/73
<b>Thymol</b>	4/22	2/28	4/29	3/68	2/39	3/79	7/39	7/50	<b>8/85</b>
Carvacrol	-	6/27	-	-	2/53	-	1/75	2/72	1/67
Germacrene-d	2/70	2/72	2/77	4/04	-	4/13	1/32	-	1/36
Delta-Cadinene	3/10	3/57	2/28	-	3/16	-	-	2/13	-
Beta-Calacorene	3/01	2/42	3/10	1/43	3/63	1/25	4/97	3/37	5/58
Germacrene-D-4-ol	2/40	2/25	2/42	2/65	2/27	2/79	2/21	-	2/01
Spathulenol	8/79	7/61	8/87	14/58	7/57	15/08	12/74	10/00	12/41
<b>Caryophyllene</b>	28/45	24/4	28/24	28/31	25/55	29/28	31/01	27/12	<b>30/42</b>
Alpha-Cadinol	-	-	-	9/34	-	9/15	-	-	-

-epi-Alpha-Bisabolol	3/50	2/81	3/61	5/67	3/57	5/50	5/97	5/40	6/59
Nonacosane	-	4/56	-	1/59	4/51	1/61	1/56	3/11	1/67
<b>Phytol</b>	<b>4/64</b>	<b>2/06</b>	<b>4/49</b>	<b>5/63</b>	<b>3/32</b>	<b>5/59</b>	<b>7/45</b>	<b>5/40</b>	<b>8/69</b>

برخورد گیاهان با روزهای گرم و آفتابی می‌تواند سبب تشکیل میزان بالای اسانس در سرشاخه‌های گلدار شود. بیشترین درصد مهمترین ترکیبات موجود در اسانس بالنگوی شهری در تاریخ کاشت 29 فروردین بدست آمد و بیشترین درصد ترکیبات تیمول، کاریوفیلین، و فیتول در فاصله کاشت 30×2 مشاهده شد. اگرچه مواد مؤثره موجود در گیاهان دارویی تحت عوامل ژنتیکی ساخته می‌شوند ولی عوامل اقلیمی محل رویش تأثیر بسزایی در کمیت و کیفیت این مواد دارند (4). بنابراین فعالیت بیولوژیک و کاربرد اسانس در صنایع مختلف بستگی به ترکیبات شیمیایی موجود در آن دارد که خود تحت تأثیر عوامل محیطی، شرایط کاشت، مرحله رشد و زمان برداشت می‌باشد.

#### نتیجه‌گیری

بر اساس صفات مورد بررسی، تاریخ کاشت 27 اسفند و 29 فروردین به ترتیب نشان‌دهنده حداکثر کمیت و کیفیت اسانس در گیاه بالنگوی شهری بود.

#### منابع و مراجع مورد استفاده

1. Ion, V., Basa, A.G., Sandoiu, D.I. and Obrisca, M., 2011. Results regarding biological characteristics of the species *Lallemantia iberica* in the specific conditions from south Romania. *Scientific Papers, UASVM Bucharest, Series A*, 54, pp. 275-280.
2. Costa, R., Pinheiro, N., Sofia Almeida, A., Gomes, C., Coutinho, J., Coco, Costa, R. and Macas, B., 2013. Effect of sowing date and seeding rate on bread wheat yield and test weight under Mediterranean conditions. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 25, pp. 951-961.
3. Abbaszadeh, B., Sefidkon, F., Haghghi, M. and Karegar Hajiabadi, E., 2014. The effect of planting time and planting density on yield and essential oil of *Satureja sahendica* bornm. *Journal of Medicinal Plants and By-products*, 2, pp.141-146.
4. Basiri, M. H. and Nadjafi, F., 2019. Effect of plant density on growth, yield and essential oil characteristics of Iranian Tarragon (*Artemisia dracuncululus* L.) landraces. *Scientia Horticulturae*, 257, 108655.



# Changes in the essential oil percentage and constituents of *Lallemantia* impressed by planting date and spacing

Vida Fattahi<sup>1</sup>, Alireza Pirzad<sup>2\*</sup>, Saeedeh Rahimzadeh<sup>3</sup>

<sup>1,2</sup> Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

<sup>3</sup>Postdoctoral Researcher, Department of Plant Eco-physiology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz

\* [a.pirzad@urmia.ac.ir](mailto:a.pirzad@urmia.ac.ir)

### Abstract

Agricultural strategic decisions, like planting dates and spaces, directly impact crop production and quality. A field split-plot experiment based on a randomized complete block design with three replications was carried out to study the influence of planting dates (18 March, 2 April and 18 April) and spacing (20×3, 20×5 and 30×2cm inter- and intra-row spacing) on the quality and quality of essential oil in *Lallemantia iberica*. The highest essential oil percentage (0.34 %) was observed on 18 March planting date. The maximum of important compounds in the essential oil of *Lallemantia* (Thymol, Caryophyllene, Phytol) was obtained on 18 April and at a planting distance of 20×3. In conclusion, the early planting date was suggested to produce the maximum quality of essential oil in *Lallemantia*.

**Keywords:** Essential oil, Dragon's head, Planting date, Thymol

## اثر اسید هیومیک بر شاخص سطح برگ و عملکرد در کشت مخلوط گندم و عدس در شرایط

### دیم

\* علی عبدالهی<sup>1</sup>، جواد حمزه‌ئی<sup>2</sup>، اکبر علی‌وردی<sup>3</sup>

1- کارشناس ارشد اکولوژی گیاهان زراعی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا همدان

aliabdolahi33743@gmail.com

2 و 3- دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا همدان

### چکیده

کشت مخلوط گیاهان زراعی موجب کنترل فرسایش و حفاظت خاک و آب، تثبیت بیولوژیک نیتروژن، افزایش کمیت و کیفیت محصول تولیدی و کنترل علف‌های هرز می‌گردد. از این رو به منظور بررسی اثر اسید هیومیک بر رشد و عملکرد گندم و عدس در کشت‌های خالص و مخلوط در شرایط دیم، آزمایشی در سال زراعی 99-1398 در مزرعه ای واقع در شهرستان قهاوند انجام شد. این آزمایش به صورت فاکتوریل در سه تکرار اجرا شد. فاکتورهای آزمایشی شامل الگوهای مختلف کشت در 4 سطح (کشت خالص گندم، کشت خالص عدس و کشت‌های مخلوط نواری L3:W6 و L6:W12 (ردیف عدس:ردیف گندم) و مصرف اسید هیومیک در سه سطح (صفر، 6 و 12 کیلوگرم در هکتار) بود. در گندم، اثر اصلی کشت مخلوط بر عملکرد بیولوژیک و شاخص سطح برگ معنی‌دار بود. همچنین، عملکرد دانه به طور معنی‌داری تحت تأثیر الگوی کشت قرار گرفت. اثر اسید هیومیک نیز بر تمامی صفات معنی‌دار بود. اثر متقابل الگوی کشت در اسید هیومیک نیز بر صفات عملکرد دانه گندم و بیولوژیک عدس معنی‌دار شد. کاربرد 12 کیلوگرم اسید هیومیک در هکتار منجر به افزایش عملکرد گندم شد. در کل، الگوی کشت L3:W6 و کاربرد 12 کیلوگرم اسید هیومیک در هکتار جهت حصول حداکثر عملکرد در کشت مخلوط گندم و عدس دیم مناسب است.

واژگان کلیدی: کشت مخلوط، عملکرد بیولوژیک، گندم، عدس

### مقدمه

امروزه با توجه به نیازمندی‌های رو به رشد جمعیت در حال گسترش، افزایش تولید در واحد سطح و پایداری تولید محصولات غذایی یکی از دغدغه‌های اساسی در جوامع بشری می‌باشد. حدود 63 درصد سطح زیر کشت گندم در ایران به صورت دیم است که در طول فصل رشد در معرض تنش خشکی قرار دارد، زیرا حدود 90 درصد این زمین‌ها در مناطقی با بارندگی کمتر از 500 میلی متر قرار دارند (فائو، 2018). حبوبات یکی از مهم‌ترین منابع پروتئینی در رژیم غذایی بسیاری از مردم کشورهای در حال توسعه می‌باشند. میزان پروتئین حبوبات در حدود دو برابر غلات بوده و منابع ارزان و با کیفیت مناسب به شمار می‌روند. در ایران، عدس دومین گیاه پس از نخود از نظر سطح زیرکشت و تولید در شرایط دیم دارای اهمیت است. یکی از مؤلفه‌های مؤثر در افزایش تولید پایدار، سیستم‌های کشت مخلوط گیاهان زراعی است (حمزه‌ئی و همکاران، 1391). کودهای آلی از قدیم در کشاورزی مورد استفاده

قرار گرفته‌اند اما در چند دهه اخیر استفاده بی‌رویه از کودهای شیمیایی سبب کم توجهی به آن‌ها شده است (من هونگ و همکاران، 2020). اسید هیومیک به دو صورت مستقیم و غیر مستقیم بر رشد گیاه تأثیر می‌گذارد، که شامل بهبود بخشیدن به خواص خاک مانند تراکم، تهویه، نفوذپذیری، ظرفیت نگهداری آب، انتقال عناصر کم مصرف و قابل استفاده کردن این مواد می‌باشد (من هونگ و همکاران، 2020). هدف از اجرای این تحقیق تعیین نسبت برابری زمین در کشت مخلوط عدس و گندم تحت تأثیر کاربرد اسید هیومیک بر رشد و عملکرد گیاهان گندم و نخود می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

آزمایش در سال زراعی 1398 در مزرعه‌ای واقع در شهرستان قهاوند در استان همدان انجام گرفت. موقعیت جغرافیایی محل آزمایش در 49 درجه طول شرقی و 34 درجه عرض شمالی قرار دارد و ارتفاع آن از سطح دریا 1624 متر می‌باشد. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار اجرا شد. به طوری که فاکتورهای آزمایشی شامل الگوهای مختلف کشت در 4 سطح (کشت خالص گندم، کشت خالص عدس و کشت‌های مخلوط نواری با نسبت 6W:3L و 12W:6L (ردیف عدس:ردیف گندم) و مصرف اسید هیومیک به صورت خاک مصرف در مرحله کاشت در سه سطح (صفر، 6 و 12 کیلوگرم در هکتار از ترکیب تجاری اوریکس هیوم) بود. ارقام مورد استفاده برای عدس و گندم به ترتیب رقم محلی و سرداری بودند. صفات عملکرد دانه، عملکرد بیولوژیک و شاخص سطح برگ برای گندم و عدس اندازه‌گیری شد. به منظور اندازه‌گیری عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیک دو گونه، در هر کرت بعد از حذف اثر حاشیه (ردیف‌های کناری و نیم متر از طرفین ردیف‌های وسطی)، سطحی به اندازه دو متر مربع از هر کرت به طور تصادفی انتخاب و برداشت شد. اندازه‌گیری‌های شاخص سطح برگ توسط کاغذ شطرنجی انجام شد. نمونه‌برداری صفات پس از حذف حاشیه (نیم متر از بالا و پایین و یک ردیف کشت از طرفین) به میزان 2 متر مربع جهت بررسی عملکرد و اجزای عملکرد گندم و عدس برداشت شد. پس از وارد کردن داده‌ها به کامپیوتر و تست فرضیات تجزیه واریانس و اطمینان از نرمال بودن داده‌ها، تجزیه واریانس داده‌ها توسط نرم افزار آماری SAS 9.1 صورت گرفت. مقایسه میانگین‌های اثرات ساده با استفاده از آزمون LSD در سطح آماری 5% انجام شد.

## نتایج و بحث

### شاخص سطح برگ گندم

نتایج نشان داد که از بین عوامل مورد بررسی تنها اثرات اصلی الگوی کشت و اسید هیومیک بر شاخص سطح برگ گندم داریم رقم سرداری معنی‌دار بود و اثر متقابل تأثیر معنی‌داری بر این صفت نداشت (جدول 1).

جدول 1- تجزیه واریانس ( میانگین مربعات) اثر الگوی کشت در کاربرد اسید هیومیک بر صفات شاخص سطح برگ، عملکرد دانه و بیولوژیک گندم و

عدس		گندم		مجموع		درجه آزادی	منبع تغییرات
عملکرد دانه	شاخص سطح برگ	عملکرد بیولوژیک	شاخص سطح برگ	عملکرد دانه	عملکرد بیولوژیک		
عدس	عدس	عدس	عدس	عدس	عدس		
124/73**	0/13 <sup>ns</sup>	10/46**	0/16**	471/98**	44963/31**	2	تکرار
1441/77**	0/19*	7934/75**	0/30*	14706/62**	29586/45**	2	الگوی کشت

8402/42**	2242/30**	20242/26**	0/21*	1971/01**	34177/99**	1/04**	2	اسید هیومیک
1628/18*	539/83*	1652/25*	0/014 <sup>ns</sup>	418/52*	2016/69 <sup>ns</sup>	0/059 <sup>ns</sup>	4	الگوی کشت × اسید هیومیک
353/34	131/97	571/81	0/04	134/19	3132/75	0/078	16	خطا
11/16	15/76	9/07	15/54	12/13	18/43	10/06	-	ضریب تغییرات (%)

ns، \* و \*\*: به ترتیب غیرمعنی دار و معنی دار در سطح احتمال پنج و یک درصد می باشد.

نتایج مقایسه میانگین اثر اصلی الگوی کشت حاکی از آن بود که بیشترین مقدار شاخص سطح برگ با میانگین 2/98 مربوط به تیمار کشت خالص گندم بود و کمترین میزان نیز با میانگین 2/63 مربوط به تیمار کشت مخلوط گندم و عدس با نسبت های 12:6 بود (جدول 2). در خصوص اثر کاربرد اسید هیومیک همانطور که در تحقیق حاضر نیز اشاره شده است بالاترین شاخص سطح برگ گندم با میانگین 3/12 مربوط به تیمار کاربرد 12 کیلوگرم در هکتار اسید هیومیک بود و کمترین میزان نیز با میانگین 2/43 از تیمار شاهد بدست آمد (جدول 2-3).

جدول 2- مقایسه میانگین اثرات اصلی کشت مخلوط و کاربرد اسید هیومیک بر عملکرد بیولوژیک، شاخص سطح برگ و عملکرد دانه گندم و عدس دیم

کشت مخلوط	شاخص سطح برگ گندم	عملکرد بیولوژیک گندم (گرم در متر مربع)	شاخص سطح برگ عدس
خالص	2/98 <sup>a</sup>	368/45 <sup>a</sup>	1/58 <sup>a</sup>
6:3	2/71 <sup>ab</sup>	282/82 <sup>b</sup>	1/37 <sup>ab</sup>
12:6	2/63 <sup>b</sup>	259/58 <sup>b</sup>	1/29 <sup>b</sup>
هیومیک (کیلوگرم در هکتار)			
0	2/43 <sup>c</sup>	236/28 <sup>b</sup>	1/25 <sup>b</sup>
6	2/77 <sup>b</sup>	317/36 <sup>a</sup>	1/42 <sup>ab</sup>
12	3/12 <sup>a</sup>	357/21 <sup>a</sup>	1/57 <sup>a</sup>

میانگین هایی که دارای حروف مشترک می باشد اختلاف معنی داری در سطح احتمال 5 ندارند.

### عملکرد بیولوژیک گندم

با توجه به نتایج تجزیه واریانس ارائه شده در جدول 1، اثر اصلی الگوی کشت و اثر کاربرد اسید هیومیک بر عملکرد بیولوژیک گندم دیم رقم سرداری در سطح احتمال 1 درصد معنی دار شد، ولی اثر متقابل این دو تاثیر معنی داری بر این صفت نداشت. نتایج مقایسه میانگین اثر اصلی الگوی کشت حاکی از آن بود که بیشترین مقدار عملکرد بیولوژیک با میانگین 368/45 گرم در متر مربع مربوط به تیمار کشت خالص گندم بود و کمترین میزان نیز با میانگین 259/58 گرم در متر مربع مربوط به الگوی کشت 12:6 بود (جدول 2). در شرایط کاربرد اسید هیومیک نیز به دلیل فراهمی عناصر غذایی برای گیاه رشد رویشی و زایشی گیاه بهبود یافت. بالاترین عملکرد بیولوژیک گندم با میانگین 357/21 گرم در متر مربع مربوط به تیمار کاربرد 12 کیلوگرم در هکتار اسید هیومیک بود و کمترین میزان نیز با میانگین 236/28 گرم در متر مربع از تیمار شاهد بدست آمد (جدول 2-3). این امر نیز بیانگر آن است که در تیمارهای کاربرد اسید هیومیک مقدار عناصر غذایی در دسترس برای گیاه افزایش یافته و منجر به رشد بیشتر گیاه گردیده است.

صالحی و همکاران (1392) با انجام آزمایشی جهت بررسی و تعیین مقدار مناسب مصرف ماده آلی هیومیک اسید بر روی سه رقم گوجه‌فرنگی گزارش دادند که غلظت 1/5 کیلوگرم در هکتار بیش‌ترین تأثیر را در افزایش بیوماس، شاخص بریکس و وزن کل میوه در بوته داشته و بیش‌ترین تعداد میوه در بوته در واکنش به سطح مصرف 2 کیلوگرم در هکتار هیومیک اسید به دست آمد.

### عملکرد دانه گندم

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات اصلی الگوی کشت و اسید هیومیک و اثر متقابل این دو بر عملکرد دانه گندم در سطح احتمال 1 درصد معنی‌دار شد (جدول 1). نتایج مقایسات میانگین اثر متقابل کشت مخلوط در اسید هیومیک بیانگر آن بود که بالاترین عملکرد دانه گندم در این تحقیق با میانگین 156/2 گرم در متر مربع مربوط به کشت خالص گندم و مصرف 12 کیلوگرم در هکتار اسید هیومیک بود و کمترین میزان نیز با میانگین 59/5 گرم در متر مربع مربوط به کشت مخلوط با نسبت 12:6 و عدم مصرف اسید هیومیک بود (شکل 1). خان و همکاران (2013) با بررسی اثر هیومیک اسید گزارش کردند که مصرف حاکی هیومیک اسید به مقدار 15، 30 و 45 پی‌پی‌ام به ترتیب سبب افزایش عملکرد نخود به میزان 21، 26 و 32 درصد شد، در حالی که محلول‌پاشی هیومیک اسید به همین مقدار به ترتیب 8، 16 و 24 درصد عملکرد نخود را افزایش داد.



شکل 1- نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل الگوی کشت در کاربرد اسید هیومیک بر عملکرد دانه گندم دیم رقم سرداری

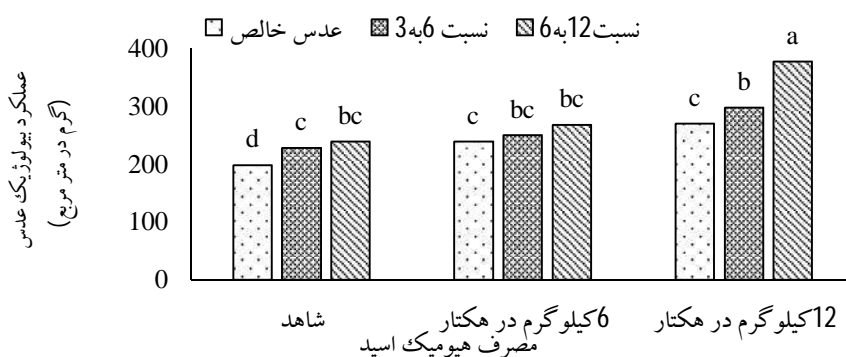
### شاخص سطح برگ عدس

نتایج نشان داد که اثرات اصلی الگوی کشت در سطح 5 درصد و کاربرد اسید هیومیک در سطح یک درصد بر شاخص سطح برگ عدس معنی‌دار شد ولی اثر متقابل این دو بر شاخص سطح برگ معنی‌دار نشد (جدول 1). نتایج مقایسات میانگین اثر اصلی الگوی کشت حاکی از آن بود که شاخص سطح برگ با میانگین 1/58 از کشت خالص عدس بدست آمد و کمترین میزان نیز با میانگین 1/29 مربوط به الگوی کشت 12:6 گندم به عدس بود (جدول 2). نتایج مقایسه میانگین اثر اصلی مصرف اسید هیومیک نشان داد که بیشترین شاخص سطح برگ با میانگین 1/57 از کاربرد 12 کیلوگرم اسید هیومیک در هکتار بدست آمد و کمترین میزان نیز با میانگین 1/24 مربوط به تیمار عدم استفاده از اسید هیومیک بود (جدول 2). از آنجا که نفوذ بیشتر نور به داخل کانوپی باعث ریزش دیرتر برگ‌های پایین کانوپی می‌شود (بلاد و بیکر، 1972) بنابراین به نظر می‌رسد که افزایش بیشتر شاخص سطح برگ در کانوپی خالص عدس به علت نفوذ نور به کف کانوپی باشد. بر اساس نتایج به دست آمده در خصوص کشت مخلوط سویا با

ذرت، علت کاهش شاخص سطح برگ در کشت مخلوط نسبت به تک کشتی غالبیت بالای ذرت و عدم دریافت نور کافی جهت فتوسنتز و رشد سویا اعلام شد (رحیمی و همکاران، 2003).

### عملکرد بیولوژیک عدس

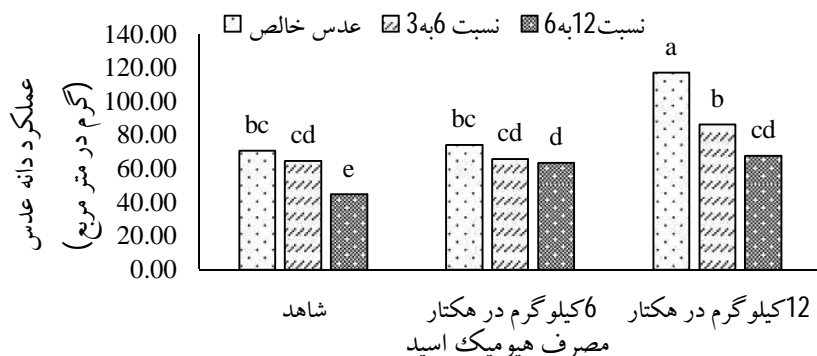
نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات اصلی الگوی کشت و اسید هیومیک و اثر متقابل آنها بر عملکرد بیولوژیک عدس در سطح احتمال یک درصد معنی دار شد (جدول 1). نتایج مقایسات میانگین اثر متقابل کشت مخلوط در اسید هیومیک بیانگر آن بود که بالاترین عملکرد بیولوژیک عدس در این تحقیق با میانگین 377/76 گرم در متر مربع مربوط به تیمار کشت 12:6 و مصرف 12 کیلوگرم در هکتار اسید هیومیک بود و کمترین میزان نیز با میانگین 198/9 گرم در متر مربع مربوط به تیمار شاهد (عدم مصرف اسید هیومیک) و کشت خالص عدس بود (شکل 2). تونا و اوراک (2007) در کشت مخلوط ماشک با یولاف گزارش کردند که عملکرد بیولوژیکی هر یک از گیاهان کشت شده در مخلوط به طور معنی داری نسبت به کشت خالص آن‌ها کاهش یافت. ال قمری و همکاران (2009)، نیز افزایش عملکرد بیولوژیکی در نخود به موازات افزایش مصرف اسید هیومیک را گزارش کرده‌اند.



شکل 2- مقایسه میانگین اثر متقابل الگوی کشت در کاربرد اسید هیومیک بر عملکرد بیولوژیک عدس دیم

### عملکرد دانه عدس

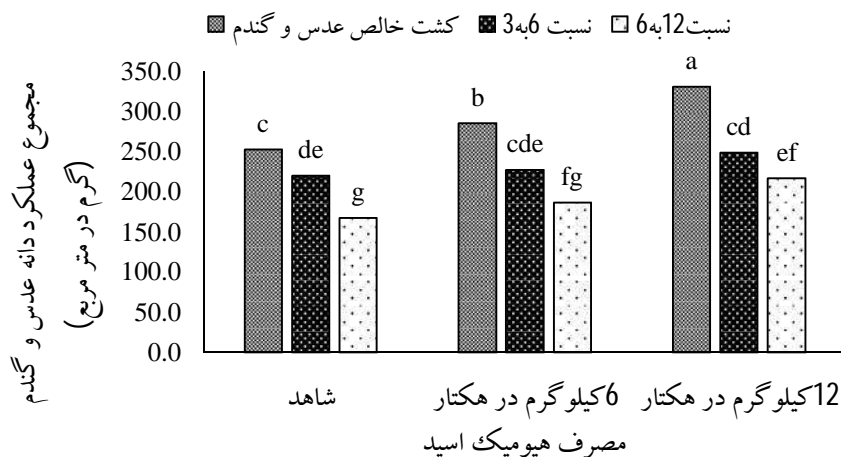
نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات اصلی الگوی کشت و اسید هیومیک و اثر متقابل آن‌ها بر عملکرد دانه عدس در سطح احتمال یک درصد معنی دار شد (جدول 1). مقایسات میانگین اثر متقابل الگوی کشت در اسید هیومیک بیانگر آن بود که بالاترین عملکرد دانه عدس با میانگین 117/33 گرم در متر مربع مربوط به کشت خالص عدس و مصرف 12 کیلوگرم در هکتار اسید هیومیک بود و کمترین میزان نیز با میانگین 44/8 گرم در متر مربع مربوط به تیمار شاهد و در کشت مخلوط با نسبت 12:6 بود (شکل 3). طبق نتایج تحقیقات به عمل آمده در شرایط تنش خشکی یا دیم استفاده از کودهای آلی با تأثیر در خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی خاک در مقایسه با کودهای شیمیایی سبب بهبود عملکرد گیاهان زراعی می‌شود (جباری و خالقی‌نژاد، 2014). در همین رابطه در مطالعه حق پرست و همکاران (2012)، در بررسی کاهش آثار منفی تنش خشکی در نخود با کاربرد اسید هیومیک مشخص شد که استفاده از محلول‌پاشی با ترکیبات اسید هیومیک، تعداد نیام در بوته، تعداد دانه در بوته و نهایتاً عملکرد را در ارقام مختلف تحت تأثیر قرار داد که با نتایج این تحقیق و سایر تحقیقات مربوط (شریفی، 2017)، همخوانی دارد.



شکل 3- مقایسه میانگین اثر متقابل الگوی کشت و کاربرد اسید هیومیک بر عملکرد دانه عدس دیم

### مجموع عملکرد دانه عدس و گندم

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات اصلی الگوی کشت و اسید هیومیک و اثر متقابل آن‌ها بر مجموع عملکرد دانه گندم و عدس در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول 1). نتایج مقایسات میانگین اثر متقابل الگوی کشت و اسید هیومیک بیانگر آن بود که بالاترین مجموع عملکرد دانه گندم و عدس با میانگین 273/54 گرم در متر مربع مربوط به تیمار کشت خالص (گندم و عدس) در اسید هیومیک 12 کیلوگرم در هکتار بود و کمترین میزان نیز با میانگین 104/32 گرم در متر مربع مربوط به تیمار شاهد و در کشت مخلوط با نسبت 12:6 بود که این امر به دلیل کمبود عناصر غذایی در تیمار شاهد اسید هیومیک و کشت مخلوط با نسبت 12:6 با رقابت بر سر منابع غذایی منجر به کاهش اجزای عملکرد و در نهایت عملکرد دانه گردیده است (شکل 4)



شکل 4- مقایسه میانگین اثر متقابل الگوی کشت و کاربرد اسید هیومیک بر مجموع عملکرد دانه گندم و عدس دیم

### نتیجه‌گیری

در بین تیمارهای کشت مخلوط بهترین ترکیب نسبت 6:3 بود که موجب افزایش عملکرد گندم و عدس گردید و سودمندی بیشتری نسبت به کشت مخلوط با نسبت 12:6 داشت. در مورد کاربرد اسید هیومیک نیز تیمار برتر کاربرد 12 کیلوگرم در هکتار از این کود بود که منجر به افزایش عملکرد گندم و عدس دیم گردید.

## منابع

**Fao, Ifad, Unicef, Wfp and Who (2018).** "The State of Food Security and Nutrition in the World". Building resilience for peace and food security.

حمزهئی، ج.، سیدی، م.، احمدوند، گ. و ابوطالبیان، م. ع (1391). "تاثیر کشت مخلوط افزایشی بر سرکوب علف‌های هرز، عملکرد و اجزای عملکرد نخود و جو". مجله تولید فرآوری محصولات زراعی و باغی. جلد 2 (3): 43 تا 56.

**Man-hong, Y., Lei, Z., Sheng-tao, X., McLaughlin, N.B., Jing-hui, L (2020).** "Effect of water soluble humic acid applied to potato foliage on plant growth, photosynthesis characteristics and fresh tuber yield under different water deficits". Scientific Reports. 10(1): 1-10.

صالحی، ب.، باقرزاده، ع.، قاسمی، م. و ابراهیمی، م (1392). "بررسی اثر مقادیر مختلف کود آلی اسید هیومیک بر کیفیت و کمیت ارقام گوجه‌فرنگی (Lycopersium esculantum)". نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی، جلد 20 (4): 189-198.

**Blad, B.L., and Backer, D.G (1972)** "Orientation and distribution of leaves within soybean canopies". Agronomy Journal 64: 26-29.

**Rahimy, M.M., Mazaheri, D., Khodabandeh, N., Heidari H (2003).** "Assessment of product in corn and soybean intercropping in Arsanjan region". Agricultural Science. 9: 109-126. (In Persian with English Summary).

**Tuna, C., Orak, A (2007).** "The role of intercropping on yield potential of common vetch/oat cultivated in pure stand and mixtures". Journal of Agriculture Biological Science, 2: 14-19.

**El-Ghamry, A.M., El-Hai, K.A., Ghoneem, K.M (2009).** "Amino and humic acids promote growth, yield and disease resistance of faba bean cultivated in clayey soil". Australian Journal of Basic and Applied Sciences. 3:731-739.

**Jabbari, F. Khaleghnezhad, V (2014).** "Consideration of some biofertilizers effect on water relations and gas exchange of chickpea (Cicer arietinum L.) under irrigated and rainfed conditions". Iranian Journal of Field Crop Science, 45(1): 53-64. (In Persian).

**Haghparsat, M., Maleki Farahani, S., Sinaki, J.M., Zarei, G (2012).** "Mitigation of drought stress in chickpea through application of humic acid and seaweed extract". Crop Production in Environmental Stress, 4(1): 59-71. (In Persian).

**Sharifi, P (2017).** "Studying maize growth indices in different water stress conditions and the use of humic acid". Biomedical and Pharmacology Journal, 10(1): 303-310.

## Effect of humic acid on leaf area index and yield in wheat and lentil mixed crop under dry conditions

### Abstract

The mixed cultivation of agricultural plants controls erosion and protects soil and water, biological stabilization of nitrogen, increases the quantity and quality of the produced product, and controls weeds. Therefore, in order to investigate the effect of humic acid on the growth and yield of wheat and lentils in pure and mixed crops under dry conditions, an experiment was conducted in the crop year of 2018-2019 in a field located in Qahavand city. This experiment was carried out factorially in three replications. The experimental factors include different cultivation patterns at 4 levels (pure wheat cultivation, pure lentil cultivation, and strip mixed crops L3:W6 and L6:W12 (lentil row: wheat row) and humic acid consumption at three levels (zero, 6 and 12 kg/ hectare) was. In wheat, the main effect of intercropping on biological yield and leaf area index was significant. Also, grain yield was significantly affected by the cultivation pattern. The effect of humic acid was also significant on all traits. The interaction effect of cultivation pattern in humic acid was also significant on wheat and lentil biological traits. The application of 12 kg of humic acid per hectare led to an increase in wheat yield. In general, the cultivation pattern L3:W6 and the application of 12 kg of humic acid per hectare is suitable for obtaining maximum yield in mixed cultivation of wheat and lentils.

**Key words:** mixed cropping, biological yield, wheat, lentils



## تأثیر 24-اپی براسینولید و عصاره گل کلم بر صفات فیزیولوژیکی کینوا در سطوح شوری

روژین سهرابی<sup>1</sup>، علیرضا پیرزاد<sup>2\*</sup>، محسن نیازخانی<sup>3</sup>، توج میرمحمودی<sup>4</sup>

<sup>1</sup>دانشجوی کارشناسی ارشد رشته آگروتکنولوژی گرایش علوم و تکنولوژی بذر، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

[rozhin.sohrabii@gmail.com](mailto:rozhin.sohrabii@gmail.com)

<sup>2\*</sup>استاد فیزیولوژی گیاهان زراعی، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

[a.pirzad@urmia.ac.ir](mailto:a.pirzad@urmia.ac.ir)

<sup>3</sup>استادیار گروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی، مؤسسه آموزش عالی آفاق ارومیه

[Mohsen.n114@gmail.com](mailto:Mohsen.n114@gmail.com)

<sup>4</sup>استادیار، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مهاباد

[toraj73@yahoo.com](mailto:toraj73@yahoo.com)

### چکیده

شوری یکی از مهم‌ترین عوامل تنش غیرزیستی است که می‌تواند بهره‌وری محصولات را کاهش دهد. به منظور بررسی تأثیر 24-اپی براسینولید و عصاره گل کلم، به عنوان منبع ارزان و طبیعی از براسینواستروئید، بر برخی صفات فیزیولوژیکی و عملکرد ارقام حساس و مقاوم به شوری کینوا در سطوح مختلف شوری، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد مهاباد انجام شد. عامل اول شوری در دو سطح (عدم شوری، شوری با غلظت 15 دسی‌زیمنس بر متر)، عامل دوم، ارقام کینوا با مقاومت متفاوت به شوری (دو رقم، شامل رقم تی‌تی‌کاکا و ساجما به ترتیب مقاوم و حساس به شوری) و عامل سوم، سه سطح محلول‌پاشی (شامل شاهد بدون محلول‌پاشی، محلول‌پاشی با 24-اپی براسینولید (0/1 میلی‌گرم در لیتر) و محلول‌پاشی با عصاره گل کلم (200 میلی‌گرم در لیتر)) بود. نتایج نشان داد که محلول‌پاشی 24-اپی براسینولید و عصاره گل کلم باعث افزایش کاروتنوئید، و کاهش نشت یونی برگ شد.

واژگان کلیدی: اپی‌براسینولید، شوری، عصاره گل کلم، کلروفیل، نشت یونی

### مقدمه

به لحاظ سیستماتیک، کینوا به خانواده (Amaranthaceae)، جنس (*Chenopodium*) و گونه (*quinoa*) تعلق دارد. اگر به کینوا به عنوان یک محصول فاقد گلوتن نگاه شود، انتظار می‌رود تقاضا برای بذر کینوا به طور روزافزون افزایش یابد. این در صورتی است که قیمت جهانی کینوا 15 تا 25 برابر قیمت جهانی مهم‌ترین غله دنیا یعنی گندم است (Abdellatif, 2018). سطح زیر کشت جهانی این محصول بیش از 190 هزار هکتار، و مقدار تولید آن بیش از 147 هزار تن می‌باشد (FAO, 2021). شوری از طریق کاهش پتانسیل آب و سمیت یون‌های خاص از قبیل سدیم و کلر و همچنین کاهش یون‌های غذایی مورد نیاز گیاه مانند کلسیم و پتاسیم بر جوانه‌زنی بذور و رشد آن‌ها تأثیر منفی می‌گذارد. وجود نمک زیاد در محلول خاک باعث برهم زدن تعادل یونی در گیاهان می‌گردد (Tarchoun et al., 2022). کینوا از نظر تحمل تنش‌های غیرزیستی به عنوان محصولی با ارزش شناخته شده است. در کینوا، پانیکول، برگ و ساقه کینوا با کیسه‌های نمکی پوشیده شده‌اند. این کیسه‌ها سلول‌های تخصصی هستند که نمک در آن‌ها وجود دارد و به درون آن ترشح می‌شود. در بین غلات، جو از سایر گیاهان نسبت به تنش شوری متحمل‌تر است ولی گیاه در شوری 25 دسی‌زیمنس بر متر از بین می‌رود. در صورتی که در این شوری عملکرد کینوا 50 درصد کاهش می‌یابد (Bonales-Alatorre et al., 2013). اولین بار براسینواستروئیدها از عصاره‌های دانه گرده بالغ گیاه کلزا (*Brassica napus* L.) استخراج و به عنوان ششمین گروه از

تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی در نظر گرفته شده‌اند. به‌طور کلی براسینواستروئیدها در رشد و نمو گیاهان، فعالیت‌های فیزیکی و حیاتی همانند تقسیم سلولی، رشد رویشی، تولیدمثل و جوانه‌زنی بذر، به ویژه در شرایط تنش شوری، نقش ایفا می‌کنند (Nolan et al., 2019). بررسی میزان جبران تولید کلروفیل و کارتنوئید، و کاهش نشت یونی توسط منابع هورمون براسینواستروئید در شرایط شوری از اهداف این مطالعه می‌باشد.

### مواد و روش‌ها

آزمایش به‌صورت گلدانی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد مهاباد اجرا شد. دمای روزانه گلخانه  $33 \pm 3$ ، دمای شب  $14 \pm 3$  درجه سانتی‌گراد و رطوبت آن در حدود 25 تا 80 درصد تنظیم گردید. فاکتور اول شامل ارقام کینوا (تی‌تی‌کاکا متحمل به شوری و ساچما نیمه‌حساس به شوری)، فاکتور دوم شامل سه سطح کاربرد مواد ضدتنش (بدون کاربرد مواد (شاهد)، کاربرد 24-اپی براسینولید (0/1 میلی‌گرم در لیتر) و کاربرد عصاره گل کلم (200 میلی‌گرم در لیتر) در دو مرحله (مرحله اول در 30% گل‌دهی و مرحله دوم گل‌دهی کامل) و فاکتور سوم دو سطح شوری آب آبیاری (بدون شوری و 15 دسی‌زیمنس) بود. در مرحله رشد رویشی (بعد از 20 روز از محلول‌پاشی مرحله اول) بوته‌ها با خاک از ریشه خارج گردیده و به آزمایشگاه منتقل شدند و میزان کلروفیل a و b برگ، کارتنوئید، محتوی نسبی آب برگ، یون سدیم و پتاسیم، و نشت یونی اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری کلروفیل و کارتنوئید در روش استون 80 درصد با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Cecil CE2501)، مقادیر جذب در طول موج‌های 663/2، 646/8 و 470 نانومتر قرائت شد. بر اساس فرمول‌های زیر میزان کلروفیل کل، کلروفیل a، کلروفیل b و کارتنوئید برحسب میلی‌گرم در گرم وزن تر محاسبه شد (Arnon, 1949). اندازه‌گیری هدایت الکتریکی (نشت یونی) با استفاده از دستگاه EC متر (Aqualytic sensdirect CD24) استفاده شد. میزان سدیم و پتاسیم برگ به روش نشر شعله ای (Hamada and Elnay, 1944) صورت گرفت. از نرم افزار SAS-9.2 برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده گردید. مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح 5 درصد انجام شد.

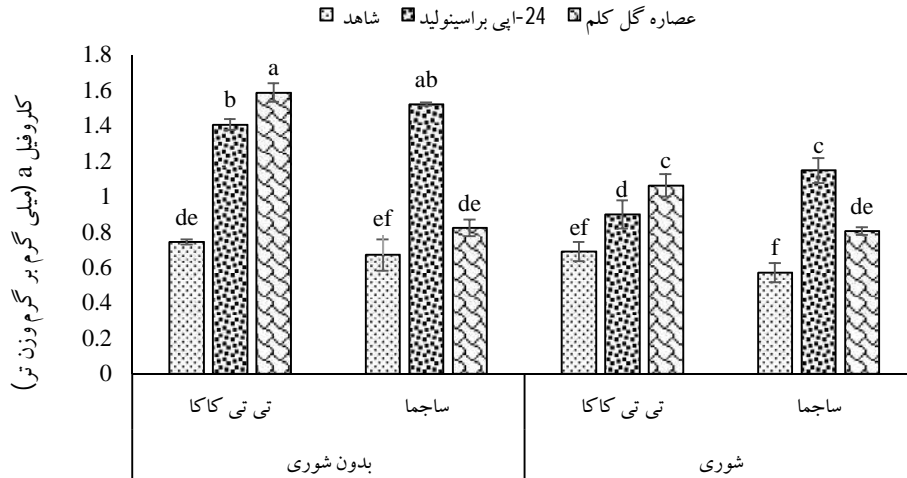
### نتایج و بحث

طبق نتایج مقایسه میانگین، بیشترین مقدار کلروفیل a ( $1/60$  میلی‌گرم برگرم وزن تر) به بوته‌های رقم تی‌تی‌کاکا تحت محلول‌پاشی عصاره گل کلم در شرایط عدم شوری اختصاص داشت که تفاوت معنی‌داری با محلول‌پاشی 24-اپی براسینولید در همین سطح شوری و رقم ساچما نداشت. در رقم تی‌تی‌کاکا در هر دو شرایط عدم شوری و شوری، محلول‌پاشی هر دو نوع ماده ضد تنش اثر افزایشی معنی‌داری بر مقدار کلروفیل a نسبت به شاهد داشت و این افزایش تحت عصاره گل کلم بیشتر بود. در رقم ساچما نیز محلول‌پاشی هر دو ماده اثری افزایشی بر مقدار کلروفیل a داشت (شکل 1).

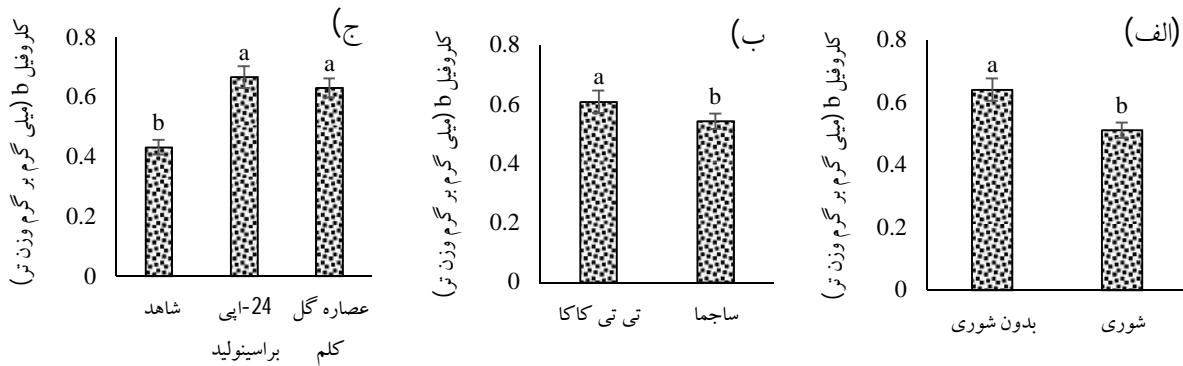
تحت تنش شوری مقدار کلروفیل b کاهش 20/25 درصدی و معنی‌داری نسبت به شاهد داشت (شکل 2-الف). مقدار کلروفیل b در رقم ساچما 10/82 درصد کمتر از تی‌تی‌کاکا بود (شکل 2-ب). تحت محلول‌پاشی توسط 24-اپی براسینولید و عصاره گل کلم، مقدار کلروفیل b برگ کینوا به ترتیب افزایش 35/30 و 31/40 درصدی نسبت به شاهد نشان داد (شکل 2-ج).

در هر رقم و هر تیمار از محلول‌پاشی مقدار کارتنوئید برگ تحت شوری کاهش داشت و این کاهش در رقم تی‌تی‌کاکا معنی‌دار بود. بنابراین بیشترین مقدار کارتنوئید برگ به بوته‌های رقم تی‌تی‌کاکا، تحت محلول‌پاشی 24-اپی براسینولید در شرایط عدم شوری اختصاص داشت که تفاوت معنی‌داری با محلول‌پاشی عصاره گل کلم در همین سطح شوری و همین رقم نداشت. همچنین در هر

رقم و هر سطح شوری با محلول پاشی 24-ایی براسینولید و عصاره گل کلم مقدار کاروتنوئید برگ افزایش معنی داری نسبت به شاهد داشت (شکل 3).



شکل 1- مقایسه میانگین تغییرات مقدار کلروفیل a برگ کینوا تحت اثر متقابل شوری × رقم × محلول پاشی. حروف غیرمشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح احتمال 5 درصد می باشند. Error Bars=±SD

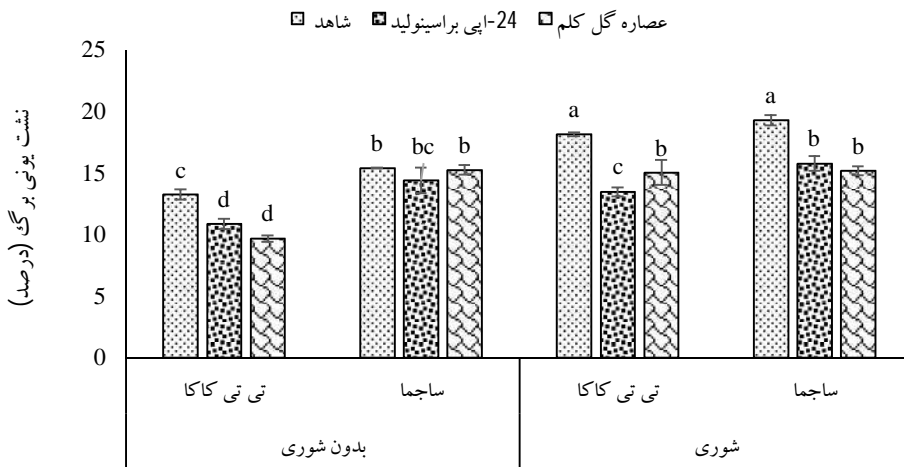


شکل 2- مقایسه میانگین تغییرات مقدار کلروفیل b کینوا تحت تأثیر شوری (الف)، رقم (ب) و محلول پاشی (ج). حروف غیرمشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح احتمال 5 درصد می باشند. Error Bars=±SD

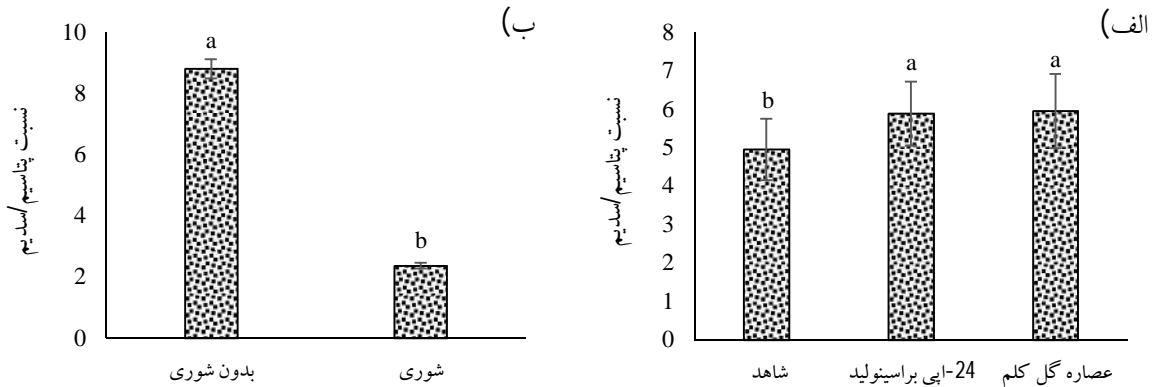


شکل 3- مقایسه میانگین تغییرات مقدار کاروتنوئید برگ کینوا تحت اثر متقابل شوری × رقم × محلول پاشی حروف غیرمشابه نشاندهنده تفاوت معنی دار در سطح احتمال 5 درصد می باشند. Error Bars=±SD

نشت یونی برگ در شرایط عدم شوری در رقم تی تی کاکا و در شرایط شوری در هر دو رقم تی تی کاکا و ساجما، تحت محلول پاشی 24-اپی براسینولید و عصاره گل کلم کاهش معنی داری نسبت به شاهد داشت، اما در شرایط عدم شوری و در رقم ساجما تحت محلول پاشی این دو ماده ضد تنش تغییر معنی داری در نشت یونی برگ نسبت به شاهد مشاهده نشد (شکل 4). نسبت پتاسیم به سدیم با محلول پاشی 24-اپی براسینولید و عصاره گل کلم به ترتیب افزایش 15/9 و 16/9 درصدی نسبت به شاهد داشت (5-الف). همچنین نسبت پتاسیم به سدیم تحت تنش شوری کاهش 73 درصدی نسبت به شاهد داشت (5-ب).



شکل 4- مقایسه میانگین تغییرات نشت یونی برگ کینوا تحت اثر متقابل شوری × رقم × محلول پاشی. حروف غیرمشابه نشاندهنده تفاوت معنی دار در سطح احتمال 5 درصد می باشند. Error Bars=±SD



شکل 5- مقایسه میانگین نسبت پتاسیم به سدیم علفه کینوا تحت تأثیر محلول پاشی (الف) و شوری (ب).

حروف غیر مشابه نشاندهنده تفاوت معنی دار در سطح احتمال 5 درصد می باشند. Error Bars=±SD

طبق نتایج بررسی حاضر همچون کلروفیل مقدار کاروتنوئید برگ نیز تحت تنش شوری کاهش داشت و غلظت کلروفیل برگ نشانگر تشکیل کلروپلاست، کارایی فتوسنتزی و سلامت عمومی گیاهان است. شوری اثر کاهشی شدیدی بر مقدار کلروفیل برگ داشت (Tarchoun et al., 2022) اما با محلول پاشی براسینولید و بهبود تشکیل رنگدانه‌های فتوسنتزی تحت این هورمون، تولید کلروفیل در شرایط شوری بهبود یافت (Otie et al., 2021). محلول پاشی 24-اپی براسینولید و عصاره گل کلم در دو شرایط تنش و عدم تنش باعث افزایش مقدار کاروتنوئید برگ شدند. شوری یکپارچگی غشاء را با افزایش سلولی کاهش می‌دهد و افزایش نشت یونی یک شاخص فیزیولوژیکی تنش است (Wani et al., 2019). طبق نتایج بررسی حاضر نشت یونی برگ تحت تنش شوری افزایش داشت و این افزایش در تیمار شاهد و عدم محلول پاشی 24-اپی براسینولید و عصاره گل کلم بیشتر بود. محلول پاشی این دو ماده در شرایط تنش شوری تا حدودی باعث افزایش پایداری غشاء شد و از افزایش نشت یونی جلوگیری کرد. این اثرات سودمند اپی براسینولید را می‌توان به حفظ یکپارچگی و سیالیت غشای پلاسمایی و کانال‌های یونی که توسط املاح سازگار القا شده توسط اپی براسینولید ارتقا می‌یابد، نسبت داد (Wani et al., 2019). تجمع زیاد سدیم، باعث کاهش جذب پتاسیم و نسبت  $K^+/Na^+$  می‌شود، که با عدم تعادل در غلظت‌های یونی، فعالیت‌های متابولیکی سلول‌های گیاهی را مختل می‌کند.

### نتیجه‌گیری کلی

طبق نتایج کلی تحت تنش شوری کاروتنوئید، نشت یونی، نسبت پتاسیم به سدیم و کلروفیل (a و b) افزایش معنی‌داری نسبت به عدم شوری داشتند. محلول پاشی 24-اپی براسینولید و عصاره گل کلم باعث بهبود صفات کاروتنوئید، نشت یونی، نسبت پتاسیم به سدیم و کلروفیل (a و b) در برگ کینوا شد. تغییرات کلروفیل در ارقام متفاوت بود.

### منابع مورد استفاده

- ✓ Abdellatif, A. S. A. 2018. Chemical and technological evaluation of Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) cultivated in Egypt. *Acta Scientific Nutritional Health*, 2, pp. 42-53.
- ✓ Arnon, D.I., 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 24(1), p.1.

- ✓ Bonales-Alatorre, E., Shabala, S., Chen, Z.H. and Pottosin, I. 2013. Reduced tonoplast fast-activating and slow-activating channel activity is essential for conferring salinity tolerance in a facultative halophyte, quinoa. *Plant Physiology*, 162(2), pp. 940-952.
- ✓ FAO. 2021. Available at; <http://www.irc.fao.org/en/about-fao> iyq.
- ✓ Hamada, A.M. and Elnay, A.E. 1994. Effect of NaCl Salinity on growth, Pigment and mineral element contents, and gas exchange of broad bean and Pea Plants. *Journal of Biological Plantarum*, 36, pp. 75-81.
- ✓ Nolan, T., Vukasinovic, N., Liu, D., Russinova, E. and Yin, Y. 2019. Brassinosteroids: multi-dimensional regulators of plant growth, development, and stress responses. *Plant Cell*, <https://doi.org/10.1105/tpc.19.00335>.
- ✓ Otie, V., Udo, I., Shao, Y., Itam, M. O., Okamoto, H., An, P. and Eneji, E. A. 2021. Salinity effects on morpho-physiological and yield traits of soybean (*Glycine max* L.) as mediated by foliar spray with brassinolide. *Plants*, 10(3), 541.
- ✓ Tarchoun, N., Saadaoui, W., Mezghani, N., Pavli, O. I., Falleh, H. and Petropoulos, S. A. 2022. The effects of salt stress on germination, seedling growth and biochemical responses of tunisian squash (*Cucurbita maxima* Duchesne) germplasm. *Plants*, 11(6), 800.
- ✓ Wani, A. S., Tahir, I., Ahmad, S. S., Dar, R. A. and Nisar, S. 2017. Efficacy of 24-epibrassinolide in improving the nitrogen metabolism and antioxidant system in chickpea cultivars under cadmium and/or NaCl stress. *Scientia Horticulturae*, 225, pp. 48-55.

## Effect of 24-epibrassinolide and cauliflower extract on physiological traits of quinoa at salinity levels

Rozhin Sohrabi<sup>1</sup>, Alireza Pirzad<sup>2\*</sup>, Mohsen Niazkhani<sup>3</sup>, Touraj MirMahmoudi<sup>4</sup>

MSc. Student, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia-Iran.

[rozhin.sohrabii@gmail.com](mailto:rozhin.sohrabii@gmail.com)

Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia-Iran.

[a.pirzad@urmia.ac.ir](mailto:a.pirzad@urmia.ac.ir)

Assistant Professor, Department of Plant Protection, Afagh University, Urmia-Iran. [Mohsen.n114@gmail.com](mailto:Mohsen.n114@gmail.com)

Islamic Azad Assistant Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, University, Mahabad Branch. [toraj73@yahoo.com](mailto:toraj73@yahoo.com)

### Abstract

Salinity is one of the most important abiotic stress factors that can reduce crop productivity. In order to investigate the effect of 24-epibrassinolide and cauliflower extract, as a cheap and natural source of brassinosteroid, on some physiological traits and yield of salinity-sensitive and tolerant quinoa cultivars at different salinity levels, a factorial experiment in the form of a completely randomized design with four replications It was done in the laboratory (germination) and the research greenhouse of the Faculty of Agriculture of Mahabad Azad University in the spring and summer of 2022, respectively. The first factor is salinity at two levels (no salinity, salinity with a concentration of 15 dS/m), the second factor, quinoa cultivars with different resistance to salinity (two cultivars, including TTKaka and Sajma cultivars, respectively resistant and sensitive to salinity) and the third factor, There were three levels of foliar application (control without foliar application, foliar application with 24-epibrassinolide (0.1 mg/L) and foliar application with cauliflower extract (200 mg/L)). The results showed that foliar application of 24-epibrassinolide and cauliflower extract increases carotenoid, and decreases ionic leakage of leaves.

**Keywords:** Cauliflower extract, Chlorophyll, Epibrassinolide, Ion leakage, Salinity.

## ارزیابی اثر سطوح تنش رطوبتی بر برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی سه رقم گلرنگ

غلامرضا زمانی<sup>1</sup>

دانشیار فیزیولوژی گیاهان زراعی، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند

پری حسنونند<sup>1</sup>

\*نویسنده مسئول: دانشجوی دکتری زراعت، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند

Parihasanvand168@gmail.com

علی اکبر مقصودی مود<sup>2</sup>

دانشیار فیزیولوژی گیاهان زراعی، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان

### چکیده

به منظور بررسی اثر سطوح تنش رطوبتی بر برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی و عملکرد روغن گیاه گلرنگ آزمایشی در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کرمان به صورت کرت‌های خرد شده در قالب پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. فاکتورهای آزمایش شامل تیمار رطوبتی در سه سطح (100، 60 و 40 درصد نیاز آبی گیاه) به عنوان فاکتور اصلی و سه رقم گلرنگ (فرمان، پدیده و پرنیان) به عنوان فاکتور فرعی بودند. نتایج نشان داد اثر تیمارهای رطوبتی بر صفات مورد مطالعه معنی‌دار بود، به طوری که تیمار رطوبتی 40 درصد نیاز آبی موجب کاهش 71/61، 23/91، 42/85 درصدی به ترتیب کلروفیل a، کلروفیل b و عملکرد روغن نسبت به تیمار 100 درصد نیاز آبی گیاه گردید. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که در بین ارقام گلرنگ از نظر همه صفات مورد بررسی تفاوت معنی‌داری وجود داشت. بیشترین میزان کلروفیل a، b، کل و عملکرد روغن مربوط به رقم فرمان بود. همچنین بر همکنش تیمار رطوبتی و رقم تأثیر معنی‌داری بر کلروفیل کل داشت. با توجه به نتایج به دست آمده رقم فرمان یک رقم متحمل به تنش رطوبتی بود.

واژگان کلیدی: عملکرد روغن، کلروفیل، گلرنگ، نیاز آبی

### مقدمه

در سراسر دنیا تنش رطوبتی به عنوان مهمترین تهدید جهت کاهش تولید فرآورده‌های کشاورزی محسوب می‌شود و در مناطق خشک و نیمه خشک این موضوع دارای اهمیتی دو چندان است (1). یکی از قدیمی‌ترین گیاهان زراعی دانه روغنی گلرنگ می‌باشد که به دلیل مقاومت به تنش رطوبتی و سیستم ریشه‌ای عمیق و متراکم، کارایی بالایی در استفاده از رطوبت خاک داراست (2). در شرایط کنونی بیش از 90 درصد روغن مورد نیاز در ایران از طریق واردات فراهم می‌گردد که همین دلیل کشور را با چالش اساسی روبرو کرده است (3). برجسته‌ترین محصول اقتصادی گلرنگ عملکرد روغن می‌باشد لذا شرایط محیطی و روش‌های مدیریتی کشت می‌توانند عملکرد دانه و روغن را تغییر دهند (4). از عوامل محدود کننده غیر روزنه‌ای در شرایط تنش رطوبتی کاهش میزان کلروفیل

می‌باشد (5). کاهش میزان کلروفیل در شرایط تنش رطوبتی می‌تواند به دلیل از بین رفتن رنگیزه‌ها و کاهش تولید آن‌ها و نیز اختلال در فعالیت آنزیم‌های مسئول سنتز و رنگدانه‌های فتوسنتزی باشد (6). سارکر و اوبا (2018) کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل) را تحت تأثیر تنش رطوبتی گزارش کرده‌اند (7). نتایج گزارش شده از تحقیقات ظفری و همکاران (2017) حاکی از آن است که مقاومت ارقام مختلف گلرنگ به تنش رطوبتی با یکدیگر متفاوت می‌باشد (8). بر همین اساس به منظور ارزیابی اثر تنش رطوبتی بر رنگیزه‌های فتوسنتزی و عملکرد روغن در بین ارقام مورد مطالعه در شرایط آب و هوایی استان کرمان، آزمایشی طراحی و اجرا شد.

### مواد و روش‌ها

آزمایش حاضر در سال زراعی 99-1398 در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کرمان به صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار به اجرا درآمد. تیمارهای تنش رطوبتی شامل 100، 60 و 40 درصد نیاز آبی گیاه در کرت‌های اصلی و سه رقم گلرنگ مورد آزمایش شامل فرامان، پدیده و پرنیان در کرت‌های فرعی قرار گرفتند. پس از عملیات آماده‌سازی زمین، کشت به صورت دستی انجام شد. هر واحد آزمایشی شامل شش ردیف کشت و هر ردیف به طول سه متر و با فاصله ردیف 50 سانتی‌متر بود. فاصله بین بوته‌ها نیز 5-7 سانتی‌متر منظور شد. بلافاصله بعد از کشت، آبیاری اولیه برای همه تیمارها انجام شد. اعمال تنش رطوبتی بعد از آبیاری اولیه در طول دوره رشد، بر اساس مقادیر نیاز آبی گلرنگ و دور آبیاری محاسبه شده با نرم‌افزار cropwat version 8i، به وسیله پمپ آبیاری انجام گرفت. میزان آب ورودی به مزرعه با کنتور حجمی اندازه‌گیری شد. جهت اندازه‌گیری میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی ابتدا 0/2 گرم از نمونه برگ فریز شده بعد از همگن شدن در 15 میلی‌متر استون سانتریفیوژ شد. اندازه‌گیری غلظت کلروفیل a، b و کل در طول موج‌های 666، 653 و 470 نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتوفوتومتر جنوی (مدل Jenway 6305) انجام شد (9).

$$Chla=15.65 \times A666 - 7.34 \times A653 \quad [1]$$

$$Chlb=27.05 \times A653 - 11.21 \times A666 \quad [2]$$

$$Chl_{total}=Chla+chlb \quad [3]$$

به منظور اندازه‌گیری محتوای روغن دانه از روش استخراج با حلال هگزان و دستگاه سوکسله انجام شد (10). عملکرد روغن از حاصل ضرب درصد روغن در عملکرد دانه حاصل گردید. تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS و رسم جداول با اکسل و مقایسه میانگین صفات اندازه‌گیری شده، با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

### نتایج و بحث

جدول تجزیه واریانس نشان داد مقدار کلروفیل a در سطح احتمال یک درصد تحت تأثیر تیمار رطوبتی و رقم معنی‌دار شد (جدول 1). بیشترین میزان کلروفیل a در شرایط 100 درصد نیاز آبی گیاه (1/61 میلی‌گرم بر گرم وزن تر) بود (جدول 2). مقدار کلروفیل a با کاهش میزان آب در دسترس گیاه به طور معنی‌داری کاهش یافت به طوری که در 40 درصد نیاز آبی گیاه نسبت به 100 درصد نیاز آبی 42/85 درصد کاهش یافت. به گزارش نیاکان و قربانلی (2007) تنش رطوبتی موجب هیدرولیز پروتئین‌های تیلاکوئیدی، کاهش مقدار کلروفیل a و b، تخریب رنگدانه‌ها و تشکیلات فتوسنتزی گردید (11).

جدول 1- تجزیه واریانس صفات مورد بررسی گلرنگ تحت تنش رطوبتی

Table 1- Analysis of variance in safflower characteristics under water stress



میانگین مربعات M.S.					
عملکرد روغن Oil yield (کیلوگرم بر هکتار) (kg/ha)	کلروفیل کل T. Chl (mg. g <sup>-1</sup> Fw)	کلروفیل b Chl b	کلروفیل a Chl a	درجه آزادی df	منابع تغییر S.O.V
224397,37*	0,473**	0,022*	0,517*	2	تکرار Replication
620721,21**	1,002**	0,031*	1,087**	2	آبیاری Irrigation
12529,37	0,015	0,002	0,045	4	خطای a Error (a)
13317,21**	0,191**	0,010**	0,354**	2	رقم Cultivar
3424,98 <sup>ns</sup>	0,004*	0,0002 <sup>ns</sup>	0,011 <sup>ns</sup>	4	آبیاری × رقم Irrigation × Cultivar
1719,44	0,001	0,0002	0,017	12	خطای b Error (b)
9,61	2,15	3,23	10,47		ضریب تغییرات (درصد) Coefficient variability (%)

\*، \*\* و ns به ترتیب معنی دار در سطوح احتمال 5 و 1 درصد و غیر معنی دار

\*, \*\* and ns: Significant at 5 and 1% probability levels respectively and not significant.

جدول تجزیه واریانس نشان داد میزان کلروفیل b تحت تأثیر تیمار رطوبتی در سطح احتمال 5 درصد معنی دار بود (جدول 1). همچنین رقم در سطح احتمال یک درصد بر میزان کلروفیل b اثر معنی داری داشت (جدول 1). بیشترین کلروفیل b در تیمار رطوبتی 100 درصد نیاز آبی (0/46 میلی گرم بر گرم وزن تر) و در رقم فرامان (0/44 میلی گرم بر گرم وزن تر) مشاهده شد (جدول 2). میزان کلروفیل b در تیمار رطوبتی 40 درصد نیاز آبی 23/91 درصد نسبت به تیمار رطوبتی 100 درصد نیاز آبی کاهش نشان داد. به گزارش سی و سه مرده و همکاران (2003) اعمال تنش خشکی غلظت کلروفیل a را به طور متوسط 35 درصد و غلظت کلروفیل b را 38 درصد کاهش داده است (12).

## جدول 2- مقایسه میانگین صفات مورد مطالعه در تیمارهای تنش رطوبتی و رقم

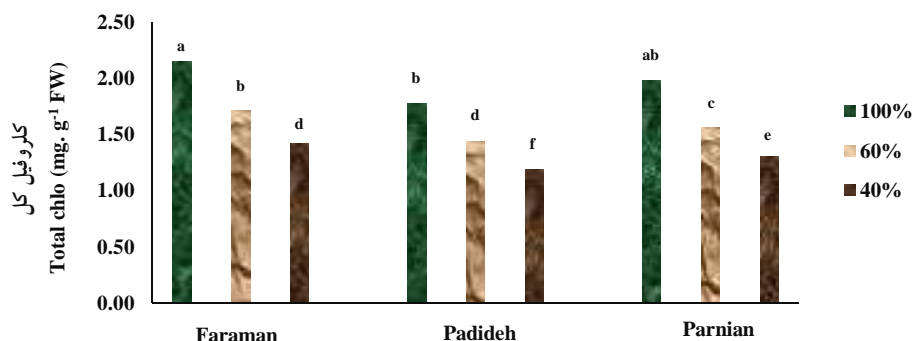
Table 2- Mean comparison traits measured in water stress and cultivar treatments

عملکرد روغن Oil yield	کلروفیل b Chl b	کلروفیل a Chl a	تیمار Treatment
719,05 <sup>a</sup>	0,46 <sup>a</sup>	1,61 <sup>a</sup>	تیمار رطوبتی 100 درصد نیاز آبی 100% plant water requirement
371,86 <sup>b</sup>	0,39 <sup>b</sup>	1,17 <sup>b</sup>	تیمار رطوبتی 60 درصد نیاز آبی 60% plant water requirement
204,13 <sup>c</sup>	0,35 <sup>c</sup>	0,92 <sup>c</sup>	تیمار رطوبتی 40 درصد نیاز آبی 40% plant water requirement
461,78 <sup>a</sup>	0,44 <sup>a</sup>	1,45 <sup>a</sup>	فرامان Faraman
444,93 <sup>a</sup>	0,37 <sup>c</sup>	1,17 <sup>b</sup>	پدیده Padideh
388,34 <sup>b</sup>	0,39 <sup>b</sup>	1,07 <sup>b</sup>	پرنیان Parnian

میانگین های دارای حروف مشترک، از نظر آماری بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال 5 درصد با یکدیگر تفاوت معنی دار ندارند.

Means which follow the same letter are not statistically different at 5% probability level based on Duncan test.

عملکرد روغن به طور معنی داری تحت اثرات تیمار رطوبتی و رقم در سطح احتمال یک درصد قرار گرفت اما اثرات متقابل این دو عامل بر عملکرد روغن معنی دار نبود (جدول 1). نتایج مقایسه میانگین نشان داد بیشترین میزان عملکرد روغن در تیمار رطوبتی 100 درصد نیاز آبی (719/05 کیلوگرم بر هکتار) و در رقم فرامان (461/78 کیلوگرم بر هکتار) مشاهده شد (جدول 2). نتایج حاکی از آن است که مقدار عملکرد روغن با کاهش میزان آب آبیاری دارای روند کاهشی است و در تیمار 40 درصد نیاز آبی گیاه کاهش 71/61 درصدی نسبت به تیمار رطوبتی 100 درصد نیاز آبی نشان داد. پژوهش‌های شیراسماعیلی و همکاران (2018) نشان داد عملکرد روغن در بین ارقام مختلف متفاوت می‌باشد که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد (13).



شکل 1- اثر متقابل سطوح رطوبتی و رقم بر محتوای کلروفیل کل در گلرنگ. حروف مشابه در  $P < 0.05$  تفاوت معنی داری ندارند.

Fig. 1. Interaction effect of water levels and cultivar on total chlorophyll of safflower similar letters are not significantly different at  $p < 0.05$ .

نتایج تجزیه واریانس نشان داد محتوای کلروفیل کل تحت تأثیر اثرات متقابل تیمار رطوبتی و رقم معنی دار بود (جدول 1). افزایش تنش رطوبتی موجب کاهش معنی دار کلروفیل کل گردید به طوری که بیشترین محتوای کلروفیل کل با میانگین (2/15 میلی گرم بر گرم وزن تر) از رقم فرامان در تیمار رطوبتی 100 درصد نیاز آبی گیاه حاصل شد (شکل 1). بیشترین کلروفیل کل بعد از فرامان در رقم پرنیان با مقدار (1/98 میلی گرم بر گرم وزن تر) در تیمار رطوبتی 100 درصد مشاهده شد (شکل 1).

### نتیجه گیری

نتایج نشان داد تنش رطوبتی سبب کاهش معنی دار صفات کلروفیل a, b، کل و عملکرد روغن در بین ارقام مورد بررسی گلرنگ گردید. بر اساس نتایج این آزمایش با تشدید تنش رطوبتی عملکرد روغن در هر سه رقم کاهش قابل توجهی نشان داد ولی میزان کاهش در رقم فرامان به دلیل افت کمتر کلروفیل و فتوسنتز بالاتر نسبت به سایر ارقام کمتر بود. بنابراین با توجه به عملکرد قابل قبول و مقاومت نسبی به تنش رطوبتی، به نظر می‌رسد فرامان رقم مناسبی جهت کاشت برای شرایط آب و هوایی کرمان باشد.

### منابع

1. Snyder, R. L., 2017. Climate change impacts on water use in horticulture. *Horticulturae*, 3, pp. 1-9.
2. Das, R. Ch., Somanagouda, G. and Singh, B., 2017. Effect of integrated nutrient management (INM) practices on growth, yield and oil yield of safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 6 (4), pp. 511-516.
3. Taleshi, K., Shokohfar, A., Rafiee, M., Noormahamadi, G. and Sakinejhad, T., 2012. Safflower yield respond to chemical and biotic fertilizer on water stress condition. *World Applied Sciences Journal*. 20, pp. 1472-1477.

4. Roche, J., Mouloungui, Z., Cerny, M. and Merah, O., 2019. Effect of sowing dates on fatty acids and phytosterols patterns of (*Carthamus tinctorius* L.). *Applied Sciences*. 9, pp. 2839.
5. Behra, R. K., Mishra, P. C. and Choudhury, N. K., 2002. High irradiance and water stress induce alterations in pigment composition and chloroplast activities of primary wheat leaves. *Journal of Plant Physiology*. 159, pp. 967- 973.
6. Voleti, S. R., Singh, V. P. and Uprety, P. C., 1998. Chlorophyll and proline as affected by moisture stress in young and mature leaf tissues of Brassica carinata hybrids and their plants. *Journal of Agronomy and Crop Science*. 180(2), pp. 123-126.
7. Sarker, U. and Oba, S., 2018. Drought stress enhances nutritional and bioactive compounds, phenolic acids and antioxidant capacity of Amaranthus leafy vegetable. *BMC Plant Biology*. 18, pp. 258.
8. Zafari, M., Ebadi, A., Jahanbakhsh Godehahriz, S. and Sedghi, M., 2017. Evaluating some physiological characteristics of safflower cultivars (*Carthamus tinctorius* L.) under water deficit stress and brassinosteroide application. *Journal of Crop Ecophysiology*. 11(4), pp. 743- 758. [In Persian with English Summary].
9. Arnon, A., 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal*. 23(1), pp. 112-121.
10. Shayesteh, S., 2011. Check the nutritional quality of forage straw on water resources in the Sistan region. Master's thesis, University of Zabol. [In Persian].
11. Niakan, M. and Ghorbanli, M., 2007. Effects of water stress on growth indices, factors in photosynthesis, protein and ion content in aerial and underground parts of two soybean cultivars. *Rostaniha* 8, pp. 17-29 (in Persian).
12. Siosemardeh, A., Ahmadi, A., Poustini, K. and Ebrahimzadeh, H., 2003. Stomatal and nonstomatal limitations to photosynthesis and their relationship with drought resistance in wheat cultivars. *Iranian Journal of Agriculture Science*. 35(1), pp. 93-106. (In Persian with English abstract).
13. Shiresmaeili, Gh., Maghsudi Mood, A.A., Khajueinejad, G.R. and Abdoshahi, R., 2018. Yield and oil percentage of safflower cultivars (*Carthamus tinctorius* L.) in spring and summer planting seasons affected by drought stress. *Journal of Crop Ecophysiology*. 12(2), pp. 237-252. [In Persian with English Summary].

## The effect of water stress levels on some biochemical characteristics of three safflower cultivars

Gholam Reza Zamani<sup>1</sup>

Associate Professor, Department of Agriculture, Faculty of Agriculture, Birjand University

Pari Hasanvand<sup>1</sup>

\*Corresponding Author: PhD student of Agronomy, Department of Agriculture, Faculty of Agriculture, Birjand University

Parihasanvand168@gmail.com

Ali Akbar Maghsoudi Moud<sup>2</sup>

Associate Professor, Department of Agriculture, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University

### Abstract

In order to investigate the effect of water stress levels on some biochemical characteristics and oil yield of safflower, an experiment was carried out as split plots based on randomized complete blocks design with three replications at the experimental field Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar university of Kerman. The experimental factors included water treatment at three levels of (100, 60 and 40% of full crop water requirement) in the main- factors and three safflower cultivars, (Faraman, Padideh and Parnian) assigned to the sub- factors. The results showed that the effect of water treatments on the studied traits was significant, so that the water treatment of 40% of full crop water requirement caused a decrease of 42.85, 23.91, and 71.61%, respectively, in chlorophyll a, chlorophyll b and oil yield compared to the 100% of full crop water requirement. Comparison of average data showed that Significant differences found among safflower cultivars in term of all investigated traits. Meanwhile highest values of chlorophyll a, b, total and oil yield observed in Faraman cultivar. Also, the interaction effects between water treatment and cultivar were significant in case of total chlorophyll. According to the results, Faraman was a water stress tolerant cultivar.

**Keywords:** chlorophyll, oil yield, safflower, water requirement

## ارزیابی شاخص‌های تحمل به تنش خشکی برای انتخاب ژنوتیپ‌های برتر در گیاه گوار

### (*Cyamopsis tetragonoloba* L.)

سید عبدالرضا کاظمینی<sup>1\*</sup>، فاطمه السادات قابوس<sup>2</sup>، حیدر مفتاحی‌زاده<sup>3</sup>

3- استاد بخش تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز

نویسنده مسئول: [akezemeini@shirazu.ac.ir](mailto:akezemeini@shirazu.ac.ir)

4- دانشجوی دکتری بخش تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز

5- دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه اردکان یزد

#### چکیده

تنش خشکی یکی از مهم‌ترین عوامل محدود کننده تولید گیاهان زراعی در مناطق خشک و نیمه خشک به حساب می‌آید. به منظور ارزیابی شاخص‌های مؤثر تحمل به تنش خشکی بر شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی گیاه گوار، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز انجام گرفت. تیمارها شامل وضعیت آبی (نرمال و تنش خشکی) و 10 ژنوتیپ گوار بودند. همبستگی مثبت در مقایسه وزن خشک شاخساره 10 ژنوتیپ گیاه گوار در شرایط آبیاری نرمال و تنش خشکی با شاخص‌های MP (میانگین حسابی)، GMP (میانگین هندسی بهره‌وری) و STI (تحمل به تنش) می‌تواند در انتخاب ژنوتیپ‌های متحمل به تنش خشکی مؤثر باشد. به طور کلی، ژنوتیپ HG با برخورداری از بالاترین مقادیر سه شاخص تحمل، متحمل‌ترین ژنوتیپ به تنش خشکی شناخته شد. در مقابل، کمترین مقادیر MP، GMP و STI به ترتیب در ژنوتیپ‌های RGC-1036 و RGC-936 مشاهده گردید که بیانگر حساسیت بالای این دو ژنوتیپ به تنش خشکی است.

کلمات کلیدی: وزن خشک اندام هوایی، شاخص میانگین حسابی، شاخص تحمل به تنش

#### مقدمه

گوار (*Cyamopsis tetragonoloba* L.) گیاهی علفی و یکساله از تیره فاباسه بوده که بومی هند و پاکستان است. این گیاه در مناطق خشک و نیمه خشک آسیا و آفریقا کشت می‌شود. دانه‌های گوار حاوی صمغ گالاتومانان، یک گلیکوزید پلی‌ساکارید نرم و انعطاف‌پذیر بوده که به عنوان افزودنی در صنایع غذایی، دارویی و صنعتی به طور گسترده مورد استفاده قرار می‌گیرد. وزن خشک اندام هوایی گوار نشان دهنده میزان ماده خشک تولید شده توسط گیاه است که با رشد و عملکرد گیاه ارتباط مستقیم دارد. توسعه ژنوتیپ‌های جدید گیاه گوار با افزایش توانایی مقاومت در برابر تنش خشکی، به منظور استقرار تولید در محیط‌های مستعد خشکی و نیز در مناطقی با الگوهای آب و هوایی متغیر، امری ضروری است (1)

شاخص MP یا میانگین بهره‌وری نشان‌دهنده میانگین پتانسیل عملکرد یک ژنوتیپ در محیط‌های آبیاری نرمال و خشکی است. شاخص GMP یا میانگین بهره‌وری هندسی، بازده عملکرد در دو تیمار آبیاری (نرمال و تنش خشکی) را به طور یکپارچه اندازه‌گیری می‌کند و ژنوتیپ‌های با GMP بالاتر، تفاوت‌های نسبتاً کمتری در عملکرد بین موقعیت‌های تحت تنش و بدون

تنش نشان می‌دهند. شاخص STI یا شاخص تحمل تنش، معیاری برای ثبات عملکرد یا زیست توده تحت تنش القایی در رابطه با شرایط بدون تنش است (3). شناسایی ژنوتیپ‌های گوار با پتانسیل بالای عملکرد وزن خشک اندام هوایی می‌تواند منابع ارزشمندی برای توسعه تولید ارقام سازگار در مناطق خشک را فراهم کند و لذا ارزیابی ژنوتیپ‌های گوار بر اساس شاخص‌های تحمل به تنش خشکی روشی مهم است تا تغییرپذیری ژنوتیپ‌ها را در تحمل به شرایط محدودیت آب آشکار سازد.

#### مواد و روش‌ها

جهت ارزیابی تاثیر تنش خشکی بر وزن خشک اندام هوایی و شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل به تنش خشکی با بهره‌گیری از شاخص‌های تحمل به تنش، 10 ژنوتیپ مختلف گوار با منشأهای گوناگون (جدول 1) و در قالب طرح فاکتوریل بر پایه طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار در دو شرایط آبیاری نرمال (100% ظرفیت مزرعه) و تنش شدید (40% ظرفیت مزرعه) در گلخانه تحقیقاتی بخش تولید و ژنتیک گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز در سال 1401 اجرا گردید. اعمال تنش خشکی از مرحله گیاهچه‌ای شروع و تا زمان گلدهی ادامه داشت. محاسبه و انتخاب شاخص‌های تحمل (معادلات 1 و 2 و 3) و بررسی در جدول ضریب همبستگی، مقایسه میانگین‌ها با آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) انجام شد. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.4، صورت گرفت (2).

معادله 1- شاخص میانگین حسابی (MP)

$$MP = \frac{(Yp + Ys)}{2}$$

معادله 2- شاخص میانگین هندسی بهره‌وری (GMP)

$$GMP = \sqrt{(Yp * Ys)}$$

معادله 3- شاخص تحمل به تنش (STI)

$$STI = \frac{Yp * Ys}{Yp^2}$$

#### نتایج و بحث

نتایج همبستگی نشان می‌دهد که سه شاخص MP، GMP و STI همبستگی مثبت و معنی‌داری با عملکرد وزن خشک اندام هوایی پایدار و بالا در هر دو وضعیت آبی نرمال به ترتیب با مقادیر  $(R^2=94^{**})$ ،  $(R^2=65^{**})$  و  $(R^2=59^{**})$  و تنش خشکی به ترتیب با مقادیر  $(R^2=51^{**})$ ،  $(R^2=85^{**})$  و  $(R^2=89^{**})$  دارند. به‌طور مشخص، MP یا میانگین بهره‌وری نشان‌دهنده میانگین پتانسیل عملکرد یک ژنوتیپ در محیط‌های آبیاری نرمال و تنش خشکی است (جدول 2). همبستگی معنی‌دار MP با عملکرد در سناریوهای بدون تنش (Yp) و تنش (Ys) نشان می‌دهد که MP به‌طور موثری پتانسیل عملکرد بالایی را در شرایط بهینه با عملکرد مناسب در شرایط تنش خشکی ترکیب می‌کند. به‌طور مشابه، GMP یا میانگین بهره‌وری هندسی، عملکرد بازده در دو وضعیت آبی نرمال و تنش خشکی را به‌طور یکپارچه اندازه‌گیری می‌کند. ارتباط مثبت قوی GMP با Yp و Ys نشان می‌دهد که ژنوتیپ‌های با GMP بالاتر، تفاوت‌های نسبتاً کمتری در عملکرد بین موقعیت‌های تحت تنش و بدون تنش نشان

می‌دهند. در نهایت، STI یا شاخص تحمل تنش، معیاری برای ثبات عملکرد یا زیست توده تحت تنش القایی در رابطه با کنترل بدون تنش است (3). همبستگی مثبت STI نشان می‌دهد که این شاخص به درستی ژنوتیپ‌های متحمل را با کمی کردن توانایی آن‌ها در محدود کردن کاهش عملکرد ناشی از تنش خشکی در مقایسه با ژنوتیپ‌های حساس که در معرض کاهش شدید تنش هستند، متمایز می‌کند. بنابراین، بر اساس همبستگی معنی‌دار آن‌ها، MP، GMP و STI به عنوان معیارهای مناسب برای غربال ژنوتیپ‌های گوار مقاوم به خشکی با عملکرد وزن خشک اندام هوایی پایدار و بالا در شرایط رشد بهینه و

جدول 2- ضرایب همبستگی بین شاخص‌های تحمل و عملکرد دانه در شرایط تنش و بدون تنش

همچون شاخص	HM	YSI	DI	YI	STI	GMP	SSI	MP	TOL	YS	YP	شاخص
غیر بهینه											1	YP
تنش خف										1	0/19 <sup>ns</sup>	YS
MP در									1	-0/19 <sup>ns</sup>	0/92 <sup>**</sup>	TOL
GMI در								1	0/74 <sup>**</sup>	0/51 <sup>**</sup>	0/94 <sup>**</sup>	MP
بن سطح						1	1	0/40 <sup>*</sup>	0/86 <sup>**</sup>	-0/51 <sup>**</sup>	0/66 <sup>**</sup>	SSI
به طور						0/98 <sup>**</sup>	-0/01 <sup>ns</sup>	0/86 <sup>**</sup>	0/32 <sup>ns</sup>	0/85 <sup>**</sup>	0/65 <sup>**</sup>	GMP
ژنوتیپ					1	0/89 <sup>**</sup>	-0/11 <sup>ns</sup>	0/81 <sup>**</sup>	0/24 <sup>ns</sup>	0/89 <sup>**</sup>	0/59 <sup>**</sup>	STI
شاخص				1	0/89 <sup>**</sup>	0/67 <sup>**</sup>	-0/76 <sup>**</sup>	0/51 <sup>**</sup>	-0/19 <sup>ns</sup>	0/99 <sup>**</sup>	0/19 <sup>ns</sup>	YI
کل، ژ		1	0/76 <sup>**</sup>	0/51 <sup>**</sup>	0/11 <sup>ns</sup>	0/60 <sup>**</sup>	-0/76 <sup>**</sup>	0/22 <sup>ns</sup>	-0/46 <sup>**</sup>	0/91 <sup>**</sup>	-0/10 <sup>ns</sup>	DI
رتیب در	1	0/33 <sup>ns</sup>	0/81 <sup>**</sup>	0/97 <sup>**</sup>	0/95 <sup>**</sup>	0/94 <sup>**</sup>	-0/33 <sup>ns</sup>	0/64 <sup>**</sup>	-0/02 <sup>ns</sup>	0/97 <sup>**</sup>	0/36 <sup>*</sup>	YSI
												HM

ns \* و \*\* به ترتیب عدم معنی‌داری، معنی‌داری در سطح احتمال پنج و یک درصد است.

ژنوتیپ‌های RGC-1036 و RGC-936 مشاهده گردید که بیانگر حساسیت بالای این دو ژنوتیپ به تنش خشکی است (جدول 3)

جدول 3- مقایسه میانگین شاخص‌های MP، GMP، STI برای ژنوتیپ‌های گوار

ژنوتیپ‌ها	STI	GMP	MP
C	0/28 <sup>C-E</sup>	0/49 <sup>CD</sup>	0/59 <sup>A</sup>
Saravan	0/45 <sup>BC</sup>	0/61 <sup>A-C</sup>	0/70 <sup>A</sup>
L2	0/35 <sup>CD</sup>	0/52 <sup>CD</sup>	0/63 <sup>A</sup>
Avdak Erect Stem	0/41 <sup>CD</sup>	0/59 <sup>B-D</sup>	0/65 <sup>A</sup>
Pakistani Mass	0/32 <sup>CD</sup>	0/52 <sup>CD</sup>	0/65 <sup>A</sup>
RGC-936	0/11 <sup>E</sup>	0/30 <sup>EF</sup>	0/32 <sup>B</sup>
RGC-1036	0/10 <sup>E</sup>	0/29 <sup>F</sup>	0/30 <sup>B</sup>
Pakistan Breeding Variety (S6560)	0/23 <sup>DE</sup>	0/45 <sup>DE</sup>	0/76 <sup>A</sup>
Khatam Erect Stem	0/63 <sup>AB</sup>	0/73 <sup>AB</sup>	0/76 <sup>A</sup>
HG	0/70 <sup>A</sup>	0/76 <sup>A</sup>	0/81 <sup>A</sup>

نتیجه‌گیری

در این تحقیق، ژنوتیپ‌های با بالاترین عملکرد در شرایط تنش خشکی نه تنها در شاخص‌های کلیدی مرتبط با عملکرد وزن خشک اندام هوایی گیاه، مانند MP و GMP، بلکه در STI نیز توانستند عملکرد پایدار و بازدهی بالا را در شرایط خشکی حفظ کنند. این نتایج نشان می‌دهد که شاخص‌های MP، GMP و STI به عنوان معیارهای موثری برای ارزیابی تحمل به خشکی در ژنوتیپ‌های گوار مورد استفاده قرار گرفته‌اند و ژنوتیپ‌هایی مانند HG و Khatam Erect Stem به عنوان گزینه‌های متحمل به خشکی شناخته شده‌اند، در حالی که RGC-1036 و RGC-936 حساسیت بیشتری به تنش خشکی نشان داده‌اند.

منابع

- 1- Vishnyakova, M. A., Frolova, N., & Frolov, A. (2023). Drought Stress Response in Guar (*Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub): Physiological and Molecular Genetic Aspects. *Plants*, 12(23), 3955.
- 2- Sun, F., Chen, Q., Chen, Q., Jiang, M., & Qu, Y. (2023). Yield-based drought tolerance index evaluates the drought tolerance of cotton germplasm lines in the interaction of genotype-by-environment. *PeerJ*, 11, e14367.
- 3- Sanogo, S. A., Diallo, S., Batiemo, T. B. J., Ishola, A. I., Sawadogo, N., & Nyadanu, D. (2023). Screen House Assessment of Cowpea [*Vigna unguiculata* (L.)] Genotypes for Drought Tolerance Using Selection Indices. *Agricultural Sciences*, 14(4), 457-473.

## Evaluation of Drought Stress Tolerance Indices for Selection of Superior Genotypes in Guar Plant (*Cyamopsis tetragonoloba* L.)

Seyed Abdolreza Kazemeini<sup>1\*</sup>, Fatemeh Sadat Ghabous<sup>2</sup>, Heidar Meftahizadeh<sup>3</sup>

3. Professor of Plant Production and Genetics Department of School of Agriculture, Shiraz University  
akazemeini@shirazu.ac.ir
4. Ph.D. Student of Plant Production and Genetics Department of School of Agriculture, Shiraz University
5. Assistant Professor of Department of Horticultural Science, Colloge of Agriculture & Natural Resource, Ardakan University, Ardakan, Iran

Corresponding author: [akazemeini@shirazu.ac.ir](mailto:akazemeini@shirazu.ac.ir)

### Abstract

One of the main factors limiting crop production in arid and semi-arid regions is drought stress. A factorial experiment with three replications and a completely randomized block design was carried out in the greenhouse of Shiraz University's Faculty of Agriculture to evaluate the important markers of drought tolerance and pinpoint genotypes resistant to drought stress in guar (*Cyamopsis tetragonoloba*) plants. Ten guar genotypes and two irrigation regimes (Normal and Drought stress) constituted the treatments. Selecting guar genotypes tolerant to drought stress can be accomplished through positive correlations between the dry weight of shoots across 10 genotypes under normal irrigation and drought stress conditions and the indices of MP (Mean Performance), GMP (Geometric Mean Productivity), and STI (Stress Tolerance Index). With the highest values for each of the three tolerance indices, genotype HG was found to be the most resilient to drought stress overall. The genotypes RGC-1036 and RGC-936, on the other hand, had the lowest MP, GMP, and STI values, indicating a high susceptibility to drought stress.

**Keywords:** Shoot Dry Weight, Geometric Mean Productivity, Stress Tolerance Index

## با و بدون قارچ *Lolium perenne* بررسی میزان مقاومت به خشکی در ده ژنوتیپ

### اندوفایت

فاطمه رئیسی وانانی<sup>1</sup>، لیلیا شبانی<sup>2</sup>، محمدرضا سبزه‌علیان<sup>2</sup>

[1fatemehraeisi20@gmail.com](mailto:1fatemehraeisi20@gmail.com) - دکترای فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهرکرد،

2- دکترای فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهرکرد

2- گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان 84156-83111

### چکیده

تنش خشکی چالشی مداوم برای گیاهان است و به عنوان یک عامل محدودکننده شدید بهره‌وری گیاهان در نظر گرفته می‌شود که پیش‌بینی می‌شود شدت و حدت آن در آینده نزدیک نیز افزایش یابد. مطالعات مختلف حاکی از بهبود مقاومت به خشکی در حضور اندوفایت‌ها بوده است. به منظور مقایسه نقش حضور اندوفایت‌ها در تحمل تنش خشکی در گیاه *Lolium perenne* آزمایشی در سال‌های 96-1394 اجرا گردید. در این پژوهش ده ژنوتیپ لولیم از نظر واکنش به تیمارهای آلودگی و عدم آلودگی به قارچ اندوفایت و دو سطح تیمار آبی شامل آبیاری مطلوب و تنش خشکی (20% FC)، در سه مرحله زمانی در قالب طرح کاملاً تصادفی ارزیابی شدند. نتایج آزمایش نشان داد که تنش خشکی، ژنوتیپ و تقابل حضور و عدم حضور قارچ روی شاخص‌های مختلف مورد ارزیابی اثر معنی‌دار دارد. تحت شرایط تنش خشکی، ژنوتیپ‌های همزیست با قارچ اندوفایت دارای بیشترین مقدار RWC بودند. این ژنوتیپ‌ها تحت شرایط خشکی در افزایش شاخص‌های میزان وزن تر و خشک اندام هوایی و وزن خشک ریشه موفق‌تر بودند. حضور قارچ اندوفایت سبب افزایش هورمون آبسزیزیک اسید (با کاهش میزان تجزیه) جهت مقابله با تنش خشکی و کاهش آسیب‌های ثانویه ناشی از آن در ژنوتیپ‌ها شد. با وجود اختلافاتی که در پاسخ ژنوتیپ‌های تحت تنش آلوده به اندوفایت وجود داشت، نتایج این بررسی مشخص کرد که نقش اندوفایت‌ها در کاهش اثرات مخرب تنش خشکی بسیار پررنگ است و باعث افزایش مقاومت گیاه به تنش خشکی می‌شوند.

**کلمات کلیدی:** تنش خشکی، اندوفایت، لولیم پرنه، آبسزیزیک اسید

### مقدمه

رای‌گراس چند ساله *Lolium perenne* یکی از مهم‌ترین گیاهان چراگاهی، علوفه‌ای و چمن در جهان است. این گیاه از جنبه تولید علوفه در شرایط محیط‌های معتدله در سراسر جهان ارزش اقتصادی دارد و به عنوان یک گیاه مرتعی با ارزش برای احداث و توسعه چراگاه‌ها و چمن‌زارها معرفی کرده‌اند (1).



رشد و نمو گیاهان زراعی معمولاً توسط تنش محیطی تحت تأثیر قرار می‌گیرد که متعاقباً باعث کاهش تولید گیاه می‌شود. از میان تمام انواع تنش‌های محیطی، تنش خشکی به عنوان مخرب‌ترین تنش آسیب‌زننده به تولید گیاهی در نظر گرفته می‌شود (2).

در مطالعات گوناگون، اندوفایت‌های قارچی نشان داده‌اند که تحمل گیاه را در برابر شرایط محدود کننده آب افزایش می‌دهند. ضمن توجه به این نکته که پاسخ‌های گیاهی به تنش آب پیچیده هستند و عملکردی از زمان و مکان، که در آن مکانیسم‌های چندوجهی از سطوح ژنتیکی، مولکولی و بیوشیمیایی دخالت دارد (3)؛ سازگاری‌های وارد شده توسط اندوفایت‌ها می‌توانند به عنوان مکانیسم‌های دوری، تحمل و بهبود از خشکی طبقه‌بندی شوند. یکی از تنظیم‌کننده‌های مهم که رشد و نمو گیاه را با پاسخ به محیط همراه می‌کند هورمون سس‌کوئی‌تریپنویید آبسزیک اسید است. آبسزیک اسید نقش مهمی در پروسه‌های سلولی مثل نمو دانه، خواب، جوانه‌زنی، رشد رویشی و پاسخ به تنش‌های محیطی دارد. این عملکردهای متنوع آبسزیک اسید دخالت مکانیسم‌های تنظیمی پیچیده‌ای را نشان می‌دهد که تولید، تجزیه، تشخیص سیگنال و انتقال آن را کنترل می‌کند (4).

تغییر مقدار آبسزیک اسید در پاسخ به تنش در مطالعات مختلفی بیان شده است. افزایش معنی‌داری در مقدار فیتوهورمون اندوژن آبسزیک اسید در گیاهان آلوده به اندوفایت در مطالعات گوناگون بیان شده است. در سال 2007، Herrera-Medina و همکاران گزارش کردند که گیاهان آلوده به قارچ اندوفایت دارای مقدار آبسزیک اسید بیشتری در برگ‌ها و ریشه‌ها بودند. در حالی که مقدار آبسزیک اسید در گیاهان کنترل پایین بود. در پژوهش Wang و همکاران (2014) به افزایش غلظت آبسزیک اسید در روزهای 11-3 تنش خشکی اشاره شده است. با توجه به اهمیت تنش خشکی در ایران و کاربردهای متنوع گیاهان علفی لزوم بررسی اثر تنش خشکی روی این گیاهان آشکار می‌شود. به همین منظور در این پژوهش تغییرات ایجاد شده در میزان آبسزیک اسید و مقاومت به خشکی در ده ژنوتیپ آلوده و غیرآلوده مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش

این پژوهش در سال‌های 1396-1394 در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه صنعتی اصفهان واقع در 40 کیلومتری جنوب غربی اصفهان در منطقه لورک شهرستان نجف‌آباد و گلخانه دانشگاه دولتی شهرکرد اجرا گردید.

ده ژنوتیپ شامل چهار ژنوتیپ فاقد قارچ اندوفایت (E-) و شش ژنوتیپ دارای قارچ (E+) در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه صنعتی به شکل کشت در خاک بودند که به صورت کشت گلدانی به گلخانه تحقیقاتی شهرکرد با دمای  $25 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد، رطوبت 60-40 درصد و با تناوب نوری 16 ساعت روشنایی و 8 ساعت تاریکی انتقال یافتند. پس از تثبیت و رشد گیاه، تکثیر انجام شد. آزمایش به صورت طرح کاملاً تصادفی و تحت دو تیمار ژنوتیپ‌های آلوده و عدم آلوده به قارچ اندوفایت، دو سطح از تیمار آبی شامل آبیاری مطلوب و تنش خشکی (20% FC) در سه تکرار انجام شد. تنش خشکی روی این گیاهان به مدت یک ماه اعمال گردید.

سنجش میزان آبسزیک اسید مطابق Kelen و همکاران (2004) و سایر شاخص‌ها مطابق Vanani و همکاران (2020) انجام شد.

## آنالیزهای آماری

آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار به ازای هر تیمار اجرا شد. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار SAS و MSTATC با استفاده از آنالیز واریانس (ANOVA) به صورت فاکتوریل (دو سطح خشکی و ده ژنوتیپ) تجزیه و تحلیل شد.

## نتایج

نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌های وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی و میزان نسبی آب در گیاهان لولیوم نشان دهنده تاثیر معنی دار تنش خشکی، ژنوتیپ و حضور قارچ اندوفایت و اثرات متقابل آنها بود. مطابق با جدول 1، بالاترین مقادیر را در فاکتورهای رویشی در شرایط حضور قارچ اندوفایت می توان مشاهده کرد. مطابق با این جدول، بالاترین مقادیر شاخص های رشد وزن خشک قسمت هوایی، ریشه، وزن تر قسمت هوایی و RWC، به ترتیب در ژنوتیپ های S9، C6، S9، C10 و S9 می توان مشاهده کرد.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس میزان تولید آبسزیک اسید نشان داد، سه متغیر تنش خشکی، ژنوتیپ و قارچ اندوفایت به صورت جداگانه بر میزان تولید این ترکیب تاثیر معنی دار داشتند. اثر متقابل تنش و ژنوتیپ نیز از نظر آماری تاثیر معنی دار داشت. تفاوت در بین گیاهچه‌های آلوده به قارچ و نیز غیر آلوده در سطح 0/05 و 0/01 معنی دار بود. مطابق جدول 2 بالاترین مقدار هورمون آبسزیک اسید در گیاهان لولیوم بدون قارچ اندوفایت و کمترین مقدار آن در ژنوتیپ‌های دارای همزیست قارچ اندازه گیری شد. در ژنوتیپ‌های دارای قارچ اندوفایت بالاترین مقدار آبسزیک اسید در ژنوتیپ C6 و بالاترین مقدار در ژنوتیپ‌های بدون قارچ در Speedy بدست آمد. کمترین مقدار آبسزیک اسید در ژنوتیپ‌های دارای قارچ C9 و C10 و در ژنوتیپ‌های بدون قارچ S3 ثبت شد.

جدول 1: مقایسه میانگین تأثیر ژنوتیپ و قارچ اندوفایت بر شاخص‌های رشد در ده ژنوتیپ گیاه لولیوم پرنه.

RWC (%)	وزن خشک (g)		ژنوتیپ	گروه	
	وزن تر (g)	قسمت هوایی			
79/23b	44/97 c	257/83 d	9/2 c	C8	
79/56b	41/65 d	287/50 a	7/45 d	S10	
89/21a	50/99 a	282/33 b	12/13 a	S9	EI
89/51a	47/75 bc	268/33 c	11/34 b	C10	
77/68c	48/82 ab	235/33 e	11/98 a	C9	میانگین
89/08a	49/68 ab	288/50 a	11/44 b	C6	
84/04A	47/31A	269/97A	10/59A		
58/60 d	29/77 c	246/16 a	7/15 c	C7	EF
78/34 a	28/67 c	233/33 b	8/55 a	S3	
67/37 b	40/11 b	245/83 a	8/44 a	Vigor	
61/61 c	46/38 a	213/33 c	7/74 b	Speedy	
66/48B	36/23B	234/66B	7/97 B		میانگین

EF: دارای قارچ اندوفایت، EI: بدون قارچ اندوفایت. حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی دار در سطح احتمال 0/05 است.

جدول 2: مقایسه میانگین تأثیر تنش خشکی، ژنوتیپ و قارچ اندوفایت بر میزان آبسزیک اسید (ABA) در برگ ده ژنوتیپ گیاه لولیوم.

گروه	ژنوتیپ	میزان ABA (μmol/gFW)
------	--------	----------------------

239/09 c	C8	
444/37 b	S10	
157/40 e	S9	
198/59 d	C10	EI
196/42 d	C9	
484/27 a	C6	
282/8B		میانگین
283/63 b	C7	
268/46b	S3	
275/00 b	Vigor	EF
339/04 a	Speedy	
286/72A		میانگین

حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی دار در سطح 0/05 است.

## بحث

در مطالعات مختلف نشان داده شده است که واکنش گیاهان به تنش‌های محیطی بسته به گونه گیاهی، ژنوتیپ، سن، سطح و مدت فاکتورهای تنش، آب و هوا و شرایط خاک در سطوح مختلف سازمانی به میزان قابل توجهی متفاوت است؛ به عبارت دیگر حساسیت گیاه در مقابل تنش به وسیله‌ی فاکتورهای ژنتیکی کد کننده صفات مورفولوژیکی، فنولوژیکی، فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی تعیین می‌شود؛ اما در این میان عواملی نیز ممکن است باعث تغییراتی در گیاه شوند که مقاومت گیاه را در برابر تنش‌ها افزایش دهند، اثرات مضر تنش را ممانعت و یا کاهش دهند که در مقالات مختلف به عوامل کمک‌کننده متفاوتی به گیاهان اشاره شده است. در این پژوهش تاثیر حضور قارچ اندوفایت در گیاه لولیوم در پاسخ به تنش خشکی نشان داده شده است. از اولین واکنش‌ها به تنش خشکی، کاهش رشد است. در این تحقیق نیز کاهش وزن تر و خشک طی تنش خشکی در ژنوتیپ‌های لولیوم مشاهده شد که می‌تواند به خاطر ممانعت از انبساط و رشد سلولی و کاهش رشد و فتوستتیز باشد. همچنین بستن منافذ روزنه‌ای و در نتیجه اثر در فتوستتیز نیز می‌تواند از دیگر دلایل کاهش رشد باشد. بایستی توجه نمود که شاخص‌های رشد گیاهان تحت تاثیر ژنوتیپ نیز قرار دارد به گونه‌ای که در این پژوهش ژنوتیپ‌های یک گروه هم مقادیر متفاوتی از شاخص‌ها را نشان داده‌اند (9).

اولین و ساده‌ترین شاخص در جهت جداسازی گیاهان مقاوم به خشکی، شاخص RWC است. در بررسی حاضر در شرایط تنش خشکی گیاهان دارای قارچ اندوفایت مقدار RWC بالاتری را نشان دادند بنابراین مطابق نظر Nxele و همکاران (2017) می‌توان بیان داشت گیاهان دارای قارچ به خشکی مقاوم‌تر هستند. افزایش طول و مقدار ریشه به‌عنوان مکانیسمی جهت افزایش جذب آب در ژنوتیپ‌های آلوده و غیرآلوده قابل مشاهده است. ولی میزان افزایش ریشه در ژنوتیپ‌های همزیست با قارچ به شکل قابل توجهی بیشتر است. پس این افزایش طول و مقدار ریشه می‌تواند به‌عنوان مکانیسمی از طرف قارچ‌های اندوفایت در افزایش RWC و ایجاد مقاومت به خشکی در نظر گرفته شود. اینگونه به نظر رسید که در بررسی موجود گیاهان دارای قارچ اندوفایت بسته به ژنوتیپ با

اتخاذ مکانیسم‌هایی نظیر افزایش طول ریشه، مقدار ریشه و افزایش اسموپروتکتانت‌ها (مانند پرولین که در ادامه اشاره خواهد شد) به بالا نگه داشتن RWC در برگ‌های لولیوم به خصوص در شرایط تنش خشکی کمک می‌کنند. آبسزیک اسید به‌عنوان سیگنال شیمیایی تنش، از ریشه به ساقه انتقال یافته و باعث ممانعت توسعه برگ و پاسخ‌های کوتاه‌مدت نظیر بسته شدن روزنه‌ها می‌شود. آبسزیک اسید در تنظیم پاسخ‌های سیستمیک به تنش غیرزیستی دخالت دارد قبل از اینکه تغییرات مشهودی در آب برگ یا وضعیت مواد غذایی اتفاق افتد (11).

مطابق با تحقیقات مختلف، تنش خشکی همراه با حضور اندوفایت موجب افزایش مقدار آبسزیک اسید شد. تفاوت میزان این هورمون در گروه‌های دارای اندوفایت و بدون اندوفایت تحت تنش خشکی و در ژنوتیپ‌ها قابل مشاهده بود. تولید هورمون آبسزیک اسید و افزایش مقدار آن در ژنوتیپ‌های دارای اندوفایت در افزایش مقاومت به خشکی مشاهده شده در این بررسی موثر می‌باشد. مطابق با آنچه در بررسی‌های مختلف ارائه شد ژنوتیپ‌های لولیوم همزیست افزایش مقدار آبسزیک اسید و به دنبال آن مقاومت بیشتر در برابر تنش را همراه با صفاتی نظیر رشد بیشتر ریشه، بیوماس بیشتر، تنظیم اسمزی موثرتر و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالاتر نشان دادند.

### نتیجه گیری

این پژوهش به منظور بررسی مکانیسم‌های تحمل به خشکی در جمعیت‌های چچم چندساله با حضور قارچ اندوفایت صورت گرفت. همچنین اثرات قارچ اندوفایت موجود در چچم‌های بومی ایران بر اجزای عملکرد فیزیولوژیک و مولکولی و مقایسه آن‌ها با گیاهان بدون قارچ از اهداف این پژوهش بود. در این راستا 6 جمعیت حاوی قارچ اندوفایت و 4 جمعیت عاری از قارچ استفاده گردید. نتایج حاصل از این پژوهش پیشنهاد می‌کند که لولیوم پرنه می‌تواند از حضور قارچ اندوفایت برای رشد بیشتر و مقاومت بهتر در برابر تنش خشکی بهره بگیرد. جمع‌بندی نتایج حاصل از بیوماس اندام هوایی، وزن خشک و تراکم ریشه و محتوای RWC (همراه با داده‌های مولکولی، در اینجا ارائه نگردیده است) توانایی بیشتر لولیوم‌های همزیست با قارچ در خصوص بهبود ویژگی‌های رشدی و فتوسنتزی در مقایسه با گیاهان غیرهمزیست را نشان می‌دهد. هورمون آبسزیک اسید نقش مهمی در تنش خشکی و ایجاد مقاومت در گیاهان دارد، پس عاملی که باعث افزایش مقدار این هورمون در گیاه شود در مقاوم‌سازی گیاهان به تنش خشکی نقش دارد، و قارچ‌های اندوفایت به‌عنوان عاملی باعث افزایش مقدار این هورمون در گیاهان تحت تنش شدند. البته میزان افزایش کاملاً تحت تأثیر ژنوتیپ بوده و در همه گیاهان مشابه عمل نکرد. بالاترین میزان آبسزیک اسید در ژنوتیپ S10 اندازه‌گیری شد از طرف دیگر کمترین مقدار نیز در ژنوتیپ‌های دارای قارچ ثبت شد.

### منابع

- 1) **Mirjalili, S. A., Bennett, S. J. and Poorazizi, E. (2008)** 'A phenetic analysis on the genus *Lolium* (Poaceae) in Iran', *Plant Systematics and Evolution*, 274, pp. 203-208.
- 2) **Ullah, S. (2019)** 'Phytochemicals Screening and Chromatographic Separation of Bio Active Compound from the Roots of *Berberis Lyceum*', *Journal of Biotechnology & Bioinformatics Research*. SRC/JBBR-101. DOI: doi.org/10/47363.JBBR/2019 (1), 101, pp. 3.
- 3) **Xu, Z. and Zhou, G. (2006)** 'Nitrogen metabolism and photosynthesis in *Leymus chinensis* in response to long-term soil drought', *Journal of Plant Growth Regulation*, 25, pp. 252-266.

- 4) Mehrotra, R., Bhalothia, P., Bansal, P., Basantani, M. K., Bharti, V. and Mehrotra, S. (2014) 'Abscisic acid and abiotic stress tolerance–Different tiers of regulation', Journal of plant physiology, 171(7), pp.496-486 .
- 5) Herrera-Medina, M. J., Steinkellner, S., Vierheilig, H., Ocampo Bote, J. A. and Garcia Garrido, J. (2007) 'Abscisic acid determines arbuscule development and functionality in the tomato arbuscular mycorrhiza', New Phytologist, 175(3), pp. 554-564.
- 6) Wang, X., Vignjevic, M., Jiang, D., Jacobsen, S. and Wollenweber, B. (2014) 'Improved tolerance to drought stress after anthesis due to priming before anthesis in wheat (*Triticum aestivum* L.) var. Vinjett', Journal of experimental botany, 65(22), (pp. 6441-6456.
- 7) Kelen, M., Demiralay, E. C., ŞEN, S. and ALSANCAK, G. Ö. (2004) 'Separation of abscisic acid, indole-3-acetic acid, gibberellic acid in 99 R (*Vitis berlandieri* x *Vitis rupestris*) and rose oil (*Rosa damascena* Mill.) by reversed phase liquid chromatography', Turkish Journal of Chemistry, 28(5), pp. 603-610
- 8) Vanani, F. R., Shabani, L., Sabzalian, M. R., Dehghanian, F. and Winner, L. (2020) 'Comparative physiological and proteomic analysis indicates lower shock response to drought stress conditions in a self-pollinating perennial ryegrass', Plos one, 15(6), pp .e0234317.
- 9) Rao, S., Anuradha, K., Sarangi, S. and Bhat, S. (2005) 'Weakening of charge order and antiferromagnetic to ferromagnetic switch over in Pr<sub>0.5</sub>Ca<sub>0.5</sub>MnO<sub>3</sub> nanowires', Applied Physics Letters.(18)87 ,
- 10) Nxele, X., Klein, A. and Ndimba, B. K. (2017) 'Drought and salinity stress alters ROS accumulation, water retention, and osmolyte content in sorghum plants', South African journal of botany, 108, pp. 261-266
- 11) Sallam, A., Alqudah, A. M., Dawood, M. F., Baenziger, P. S. and Börner, A. (2019) 'Drought stress tolerance in wheat and barley: advances in physiology, breeding and genetics research', International journal of molecular sciences, 20(13), pp. 31.37

## Study of drought resistance in ten genotypes of *Lolium perenne* with and without endophytic fungi

F. Raeisi-Vanani<sup>1</sup>, L. Shabani<sup>2</sup>, M.R. Sabzalian<sup>3</sup>

1- Department of Plant Science, Faculty of Science, Shahrekord University, Shahr e kord, Iran

2- Department of Plant Science, Faculty of Science, Shahrekord University, Shahr e kord, Iran

3- Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan 84156-83111

### Abstract

Drought stress is a constant challenge for plants and is considered as a severe limiting factor of plant productivity, which is expected to increase in severity in the near future. Various studies have indicated the improvement of drought resistance in the presence of endophytes. In order to compare the role of endophytes in drought stress tolerance in *Lolium perenne*, an experiment was conducted in 2014-2016. In this research, ten *Lolium* genotypes were evaluated in terms of response to treatments of contamination and non-contamination with endophyte fungus and two water treatment levels, including optimal irrigation and drought stress (20% FC), in three time stages in the form of a completely randomized design. The results of the experiment showed that drought stress, genotype and contrast of the presence and absence of fungus have a significant effect on the various evaluated indicators. with endophyte fungi had the highest amount of RWC. Under drought conditions, these genotypes were more successful in increasing the indices of wet and dry weight of aerial parts and dry weight of roots. The presence of endophyte fungus caused an increase in ABA hormone (by reducing the amount of decomposition) to deal with drought stress and reduce the secondary damage caused by it in the genotypes. Despite the differences in the response of genotypes under stress infected with endophytes, the results of this study determined that the role of endophytes in reducing the destructive effects of drought stress is very significant and they increase plant resistance to drought stress.

**Key words:** Drought stress, Endophyte, *Lolium perenne*, Abscisic acid,

# تجزیه و تحلیل ترنسکریپتوم گیاه خارمریم به منظور شناسایی ژن‌های دخیل در پاسخ به تنش

## خشکی

فهمه سیستانی نژاد<sup>1</sup>

1\_ دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه مهندسی بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران

\* مهدی منصوری<sup>2</sup>

2\_ استادیار، گروه مهندسی بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران

[m.mansouri@uk.ac.ir](mailto:m.mansouri@uk.ac.ir)

حمیدرضا کاوسی<sup>2</sup>

2\_ دانشیار، گروه مهندسی بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران

جعفر ذوالعلی<sup>2</sup>

2\_ دانشیار، گروه مهندسی بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران

## چکیده

تنش خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیرزیستی است که مانع از رشد، نمو و عملکرد گیاهان در سراسر جهان می‌شود. با توجه به اینکه کشور ایران در منطقه گرم و نیمه خشک واقع شده است، به همین دلیل توسعه و کشت ارقام متحمل به خشکی امری ضروری می‌باشد. خارمریم (*Silybum marianum*)، یکی از گیاهان دارویی مهم است که دارای متابولیت ارزشمندی به نام سیلیمارین است. در این تحقیق با استفاده از داده‌های ترنسکریپتومی (RNASeq) موجود در دادگان SRA که در ارتباط با تنش خشکی در این گیاه می‌باشد ژن‌های با بیان افتراقی شناسایی و عملکردشان مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد در گیاهان تحت تیمار با تنش خشکی متوسط، مجموعاً 728 ژن و در گیاهان تیمار شده با تنش خشکی شدید، 989 ژن نسبت به گیاه کنترل بیان ژن افتراقی و معنی دار داشتند. آنالیز عملکردی ژن‌های با بیان افتراقی و مسیرهای بیوسنتزی متأثر از تنش خشکی انجام شد و مشخص شد برخی از ژن‌های دخیل در بیوسنتز سیلیمارین نیز تحت تاثیر تنش خشکی قرار می‌گیرند.

واژگان کلیدی: سیلیمارین، خشکی، گیاهان دارویی، ترنسکریپتومیکس

## مقدمه

گیاه خارمریم (*Silybum marianum*) یک گونه گیاهی است که از خانواده کاسنی (Asteraceae) معرفی می‌شود. این گیاه به عنوان یک منبع ارزشمند از ترکیبات بیولوژیکی فعال شناخته شده است و اهمیت زیادی در حوزه‌های علمی و کاربردی دارد [1]. خار مریم و بالخصوص ترکیب سیلیمارین آن با خواص ضد التهابی و آنتی‌اکسیدانی شناخته شده است که این ترکیب اثرات مثبتی در کاهش التهاب و استئاتوزیس در سلول‌های کبدی دارد که در درمان کبد چرب نقش دارد [2]. تنش خشکی یکی از مهم‌ترین محدودکننده‌های رشد و توسعه گیاهان در سراسر جهان است. در شرایط خشکی، گیاهان با کاهش تأمین آب برای فرآیندهای فیزیولوژیکی خود روبرو می‌شوند که می‌تواند منجر به کاهش عملکرد محصول، کاهش کیفیت محصول، و افت کارایی عملکردی

گیاهان گردد. مطالعه تنش خشکی و مکانیزم‌های مولکولی آن به ما اجازه می‌دهند تا تغییرات در ژن‌ها و مولکول‌های گیاهی در پاسخ به تنش خشکی را به دقت بررسی و شناسایی کنیم. تعیین تغییرات در ترنسکریپتوم یا توالی ژنوم گیاهان تحت تنش خشکی می‌تواند به ما اطلاعات بیشتری در مورد مکانیزم‌های تنظیم ژنی، تولید پروتئین‌ها، و ترکیب متابولیت‌ها در شرایط تنش ارائه دهند. ترنسکریپتوم و تجزیه و تحلیل ژنوم گیاهان تحت تنش خشکی تمامی فعالیت‌های گیاه را در سطح مولکولی مورد مطالعه قرار می‌دهد [3]. ترنسکریپتوم به ما امکان می‌دهد تا از تغییرات در میزان و الگوی بیان ترنسکریپت‌های ژنهای گیاه در پاسخ به تنش خشکی مطلع شویم. ترنسکریپتوم به ما در فهم بهتر تنظیم ژن‌ها در مسیرهای مختلفی که در پاسخ به تنش خشکی نقش دارند کمک کند [4]. علاوه بر این، با استفاده از ترنسکریپتوم می‌توانیم به شناسایی مکانیزم‌های مولکولی که در پاسخ به تنش خشکی در گیاهان خارمریم نقش دارند، بپردازیم. تحلیل ترنسکریپتومی به ما امکان می‌دهد تا این تغییرات را به دقت بررسی و شناسایی کنیم [5]. استفاده از تکنولوژی توالی‌یابی نسل جدید، توانایی ما را در تحلیل ترنسکریپتوم از جنبه‌های کمی و کیفی سلول‌ها و پاسخ سیستم‌های بیولوژیکی و مسیرهای ژنتیکی مرتبط با مقاومت به تنش‌های خشکی را شناسایی کرده و درک عمیق‌تری از پاسخ گیاهان به شرایط خشکی به محققین می‌دهد [6]. بنابراین استفاده از داده‌های ترنسکریپتوم در مطالعه تنش خشکی در خار مریم می‌تواند به درک عمیق‌تر از پاسخ ژنتیکی و مولکولی این گیاه به تنش خشکی کمک کند. نتایج این تحقیق اطلاعات مفیدی در مورد توالی ژن‌ها و عملکرد آنها در تنظیم پاسخ به تنش خشکی در خار مریم نقش داشته باشد فراهم نماید.

## مواد و روش‌ها

### آنالیزهای بیوانفورماتیک

در این تحقیق داده‌های ترنسکریپتومی گیاه خارمریم در پاسخ به تنش خشکی از دادگان SRA با شماره دسترسی PRJNA659420 دانلود گردید. این اطلاعات نتیجه اعمال تنش خشکی متوسط (FC 40 درصد) و شدید (FC 70 درصد) بر روی گیاه خارمریم همراه با اطلاعات گیاه کنترل می‌باشد. پس از ارزیابی کمیت و کیفیت داده‌های توالی‌یابی و پیرایش داده‌های با کیفیت پایین، با استفاده از نرم افزار Trinity ترنسکریپتوم مرجع بازسازی شد. به منظور شناسایی ژن‌های با بیان افتراقی در پاسخ به تنش خشکی داده‌های توالی‌یابی شده برای هر یک از شرایط کنترل، تنش خشکی متوسط و شدید با استفاده از نرم افزار Bowtie 2 بر روی ترنسکریپتوم مرجع منطبق شد و با استفاده از بسته‌ی نرم افزاری RSEM و نرم افزار edgeR ژن‌های با بیان افتراقی شناسایی شد. آنالیز عملکردی ژن‌های با بیان افتراقی با استفاده از نرم افزار Omicsbox و جستجوی BLASTX در دادگان NR انجام شد. همچنین انتولوژی ژن‌ها بر اساس پیش فرضهای نرم افزار انجام شد. با استفاده از دادگان KEGG مسیرهای بیوسنتزی مورد بررسی قرار گرفت و ژن‌های مرتبط با هر یک از مسیرهای بیوسنتزی مشخص گردید.

## نتایج و بحث

نتایج ارزیابی کیفیت داده‌های توالی‌یابی نشان داد برای نمونه‌های کنترل و تنش خشکی متوسط (FC 40 درصد) و شدید (FC 70 درصد) به ترتیب ۶۴۵،۰۲۲،۰۸، ۶۵۰،۴۶۵،۲۰، ۱۶۰،۱۸۷،۶۰۴ خوانش با کیفیت  $Q > 20$  انتخاب شد. نتایج بازسازی ترنسکریپتوم مرجع با استفاده از نرم افزار Trinity در جدول 1 ارائه شده استفاده شد.

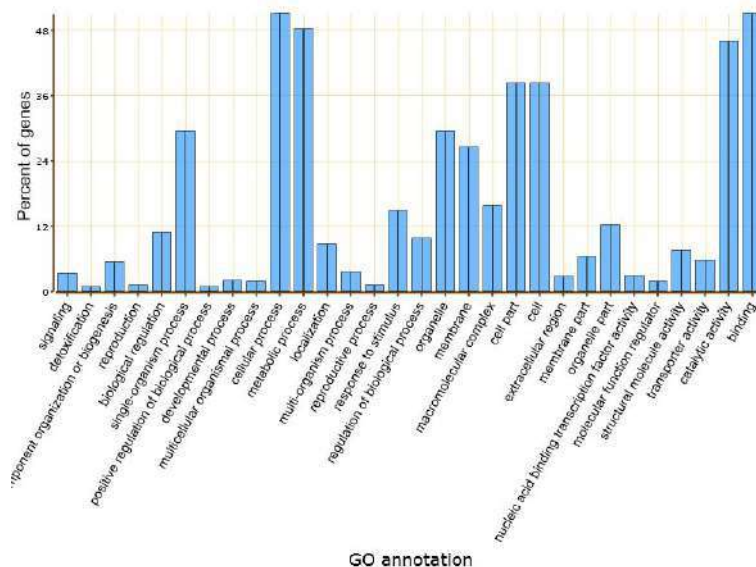
جدول 1: شاخصه‌های ترنسکریپتوم بازسازی شده از مجموع خوانش‌های حاصل از گیاه خار مریم تولید شده توسط نرم افزار

Trinity	
شاخصه ترنسکریپتوم	
تعداد ژن‌ها	۶۹۹،۵۹
تعداد ترنسکریپت‌ها	۱۰۰،۹۴۹

1408 (bp)	N50 ترنسکرپت‌ها
873/5 (bp)	میانگن طول یونی ژن‌ها
541 (bp)	میانگن طول ترنسکرپت‌ها
۸۸.۲۱۴.۱۰۸ (bp)	مجموع طول ترنسکرپت‌ها

نتایج آنالیز افتراقی نشان داد در گیاهان تحت تیمار با تنش خشکی متوسط مجموعاً 728 ژن و در گیاهان تیمار شده با تنش خشکی شدید 989 ژن نسبت به گیاه کنترل بیان ژن افتراقی و معنی دار ( $FDR < 0,05$ ) داشتند. در تنش خشکی متوسط 608 ژن کاهش بیان و 120 ژن افزایش بیان نشان دادند در حالی که در تنش خشکی شدید 550 ژن کاهش بیان و 439 ژن افزایش بیان داشتند. همچنین مشخص شد که 153 عدد از این ژن‌ها به صورت مشترک در تنش خشکی متوسط و شدید دارای نقش می باشند.

نتایج آنالیزهای عملکردی ژنهای با بیان افتراقی نشان داد که مجموعاً 1178 عدد از آنها دارای توالی های مشابه در دادگان NR می باشند. آنالیز آنتولوژی ژن های مذکور برای 727 عدد از آنها با موفقیت انجام شد. نتایج آنتولوژی ژنهای با بیان افتراقی نشان داد که در گروه عملکرد مولکولی (MF)، اتصال (Binding) و فعالتهای کاتالیتیک (Catalytic activity) بیشترین ژنها و در گروه فرایندهای بیولوژیک (BP)، فرایندهای سلولی (Cellular process) و فرایندهای متابولیک (Metabolic process) بیشترین ژنها را تشکیل میدهند (شکل 1).



شکل 1: آنتولوژی ژن‌های دارای بیان افتراقی

به منظور شناسایی مسیرهای بیوسنتزی متأثر از تنش خشکی ژن های با بیان افتراقی با ژن های مشابه در دادگان KEGG جستجوی بلاست انجام شد و برای ژن های متناظر KO در نظر گرفته شد. مسیرهای بیوسنتزی برای 471 ژن با بیان افتراقی مشخص گردید. برخی از ژن های مرتبط با انتقال سیگنال با واسطه هورمون های گیاهی و MAPکیناز در این تحقیق شناسایی شد.

### نتیجه گیری

نتایج این تحقیق نشان میدهد، در پاسخ به تنش خشکی شدید تعداد ژن بیشتری به صورت معنی دار بیان افتراقی نشان میدهند. همچنین آنالیزهای عملکردی، تغییر بیان تعدادی از ژنهای دخیل در بیوسنتز سیلیمارین همچون پراکسیدازها را نیز نشان میدهد که احتمالاً تولید سیلیمارین تحت تاثیر تنش خشکی قرار میگیرد.

منابع و مراجع مورد استفاده



1. **Rolnik, A. and B. Olas**, *The plants of the Asteraceae family as agents in the protection of human health*. International journal of molecular sciences, **2021**. 22(6): p. 3009.
2. **Gillessen, A. and H.H.-J. Schmidt**, *Silymarin as supportive treatment in liver diseases: A narrative review*. Advances in therapy, **2020**. 37(4): p. 1279-1301.
3. **Li, M., et al.**, *Transcriptome analysis reveals key drought-stress-responsive genes in soybean*. Frontiers in Genetics, **2022**. 13: p. 1060529.
4. **Wang, X., et al.**, *Advances in Transcriptomics in the Response to Stress in Plants*. Global Medical Genetics, **2020**. 7(02): p. 030-034.
5. **Fang, T., et al.**, *A novel TF molecular switch-mechanism found in two contrasting ecotypes of a psammophyte, Agriophyllum squarrosum, in regulating transcriptional drought memory*. BMC Plant Biology, **2023**. 23(1): p. 167.
6. **Xiao, M., et al.**, *Transcriptome analysis based on next-generation sequencing of non-model plants producing specialized metabolites of biotechnological interest*. Journal of biotechnology, **2013**. 166(3): p. 122-134.

## Transcriptome analysis of Milk thistle to identify drought-stress responsive genes

Fahimeh Sistani nejad <sup>1</sup>

<sup>1</sup>MSc student, Biotechnology Department, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

**Mehdi Mansouri** \*<sup>2</sup>

<sup>2</sup>\*Assistant professor, Biotechnology Department, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran. [m.mansouri@uk.ac.ir](mailto:m.mansouri@uk.ac.ir)

**Hamid Reza Kavousi**<sup>2</sup>

<sup>2</sup>Associate professor, Biotechnology Department, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

**Jafar Zolala**<sup>2</sup>

<sup>2</sup>Associate professor, Biotechnology Department, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

### Abstract

Drought stress is one of the most important abiotic stresses that hinder plants' growth, development, and productivity around the world. Given that Iran is located in warm and semi-arid area, development and cultivation of drought-tolerant cultivars is essential. Milk thistle (*Silybum marianum*) is one of the most popular medicinal plants. One of its pharmacological active constituents is known as silymarin. In this study, using publicly available transcriptome sequencing data from SRA database, we investigated the molecular response of Milk thistle to drought stress. The results showed that 728 and 989 genes significantly deregulated in moderate and severe drought stress respectively. The functional analysis of differentially expressed genes indicated that some genes associated with the silymarin biosynthetic pathway were also affected by drought stress.

## غذایی فراسودمند تولید اسپیرولینای غنی شده با ریزمغذی کلسیم به عنوان مکمل

محبوبه قنبرزاده<sup>1\*</sup>، فاطمه قلی‌زاده<sup>2</sup>

<sup>1\*</sup>دانش آموخته دکتری تخصصی، فیزیولوژی گیاهی، گروه پژوهشی زیست‌فناوری تولید و فراوری ریزجلبک‌ها، جهاد دانشگاهی مازندران، ایران

E-mail: \* [ghanbarzadehm@gmail.com](mailto:ghanbarzadehm@gmail.com)

<sup>2</sup>دانشجوی دکتری تخصصی، فیزیولوژی گیاهی، گروه پژوهشی زیست‌فناوری تولید و فراوری ریزجلبک‌ها، جهاد دانشگاهی مازندران، ایران

### چکیده:

در این مطالعه، اثر غلظت‌های مختلف کلسیم بر رشد و انباشتگی این ریزمغذی در سیانوباکتری اسپیرولینا پلاتنسیس مورد بررسی قرار گرفت. داده‌های بدست آمده نشان داده است که سیانوباکتری اسپیرولینا پلاتنسیس قادر به تحمل غلظت‌های مختلف عنصر کلسیم می‌باشد. حداکثر پارامترهای رشد اسپیرولینا پلاتنسیس در غلظت‌های 0/08 گرم در لیتر کلسیم بدست آمده است. حداکثری انباشتگی زیستی در 0/2 گرم در لیتر کلسیم بدست آمده است. انتخاب غلظت مناسب جهت تولید اسپیرولینای غنی شده با کلسیم بر اساس همه پارامترها شامل فاکتورهای رشد، انباشتگی عنصر کلسیم با ICP، در نظر گرفتن دوز روزانه مصرف کلسیم و دوز روزانه مصرف پودر اسپیرولینا پلاتنسیس صورت گرفته است. بطور کلی، نتایج این بررسی نشان داده است که 0/15 گرم بر لیتر کلسیم کلرید غلظت مناسب جهت غنی‌سازی اسپیرولینا می‌باشد که می‌تواند برای تولید مکمل‌های غذایی فراسودمند پیشنهاد گردد. **واژگان کلیدی:** انباشتگی زیستی، پارامترهای رشد، ریزجلبک اسپیرولینا پلاتنسیس، یون کلسیم

### مقدمه

کمبود مواد معدنی و ویتامین‌های مختلف در کنار هم اغلب با عنوان گرسنگی پنهان و یا گرسنگی سلولی بیان می‌شود که امروزه یکی از جدی‌ترین چالش‌ها در حوزه سلامت انسان محسوب می‌شود. کمبود ریزمغذی‌ها سالیانه بیش از 5 درصد از درآمد ناخالص ملی کشور را کاهش می‌دهد. کلسیم در بسیاری از مواد غذایی وجود دارد و به علت اینکه بدن قادر به ساخت آن نیست، بایستی به مقدار کافی از راه غذا دریافت شود. حتی بعد از تکمیل و توقف رشد طولی استخوان‌های بدن (یعنی بعد از دوران رشد) بایستی به مقدار لازم دریافت شود، زیرا از راه‌های مختلفی از بدن دفع می‌شود. زمانی که افراد نتوانند از طریق غذا به مقدار کافی کلسیم دست یابند، از کلسیم موجود در استخوان‌ها (منبع ذخیره کلسیم) استفاده می‌کنند که باعث کاهش استحکام استخوان‌ها می‌شود. چنین افرادی نیاز به دریافت مکمل کلسیم یا غذاهای غنی شده با کلسیم دارند. یکی از راهبردهای مداخله‌ای در برابر سوء تغذیه ریزمغذی‌ها، غنی‌سازی غذاهای مرسوم با ریزمغذی‌ها است. طبق برآوردهای جهانی هزینه‌ای که صرف غنی‌سازی مواد غذایی می‌شود در مقایسه با هزینه عوارض و بیماری‌های ناشی از کمبود ریزمغذی‌ها و کاهش توان اقتصادی جامعه پایین می‌باشد. در سال‌های اخیر مصرف مکمل غذایی مشتق از منابع طبیعی به دلیل عدم عوارض جانبی، قیمت پایین و خاصیت آنتی‌اکسیدانی به منظور پیشگیری و درمان بسیاری از بیماری‌ها رواج یافته است. اسپیرولینا به‌عنوان یک غذای فراسودمند مطرح است. اسپیرولینا جزء سرده‌هایی است که با افزودن ریزمغذی‌ها به محیط کشت جلبک، ضمن دستیابی به محصول غنی‌شده به عنوان غذای فراسودمند،

ارزش غذایی آن بهبود می یابد (Tuhy et al. 2015). هدف از تحقیق حاضر، بررسی اثر غلظت های مختلف عنصر کلسیم بر پارامترهای رشد اسپیرولینا پلاتنسیس، بررسی انباشتگی کلسیم در ریزجلبک اسپیرولینا پلاتنسیس و یافتن مناسب ترین غلظت کلسیم جهت غنی سازی بیومس اسپیرولینا پلاتنسیس با چشم انداز توسعه مواد غذایی کاربردی می باشد.

### مواد و روش ها

**کشت اسپیرولینا پلاتنسیس در حضور غلظت های مختلف  $CaCl_2$  (منبع کلسیم):** به منظور مطالعه انباشتگی ریزمغذی کلسیم و اثر آن بر رشد اسپیرولینا پلاتنسیس اقدام به تهیه محیط کشت Zarrouk همراه با غلظت های مختلف  $CaCl_2$  (0/15، 0/1، 0/08) و 0/2 گرم در لیتر) گردید.

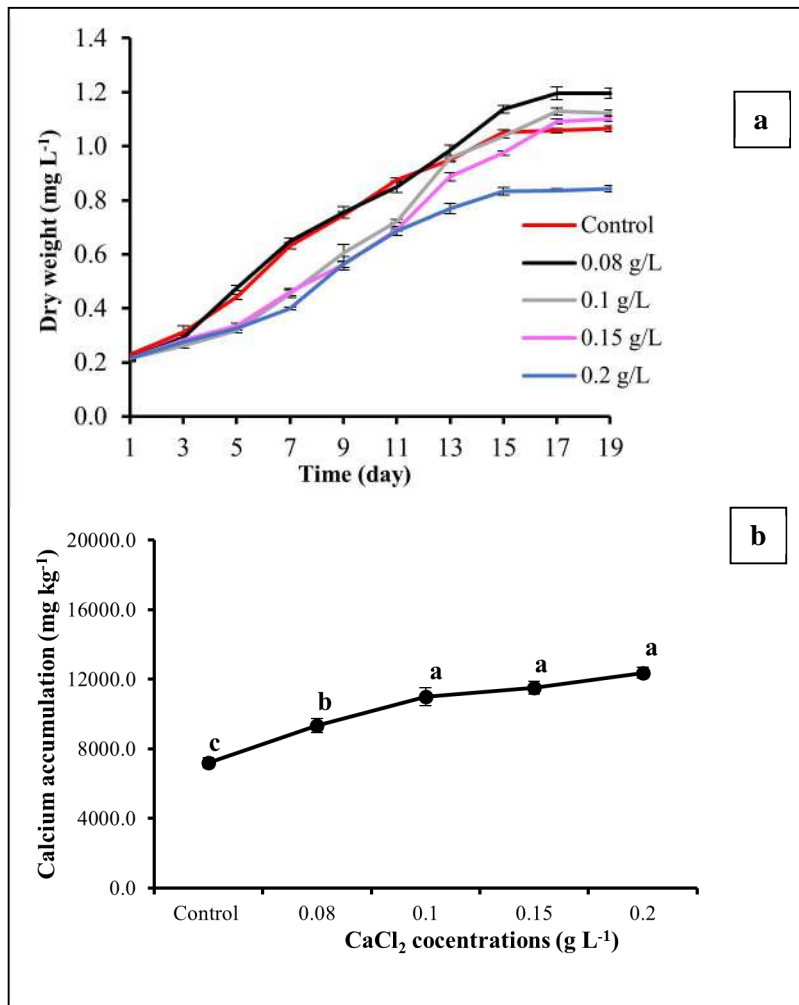
**سنجش نرخ رشد و تعیین مقدار عنصر کلسیم:** رشد سیانوباکتری با استفاده از روش Leganés (1987) اندازه گیری شد. تعیین غلظت عنصر کلسیم در بافت توسط دستگاه ICP-MS انجام شد.

**تحلیل های آماری:** تحلیل آماری نتایج با استفاده از روش one-way analysis of variance و آزمون دانکن در سطح 0/05 با استفاده از نرم افزار SPSS (نسخه 21) انجام گرفت.

### نتایج و بحث

نتایج حاصل از بررسی مراحل رشد و انباشتگی عنصر کلسیم در سیانوباکتری اسپیرولینا پلاتنسیس در حضور غلظت های مختلف  $CaCl_2$  اثر غلظت های مختلف کلسیم کلرید (0/15، 0/1، 0/08) و 0/2 گرم در لیتر) بر وضعیت رشد اسپیرولینا پلاتنسیس مورد بررسی قرار گرفت. پارامترهای رشدی در گونه مذکور در غلظت 0/08 گرم در لیتر  $CaCl_2$  و نمونه شاهد از روز اول تا یازدهم آزمایش تفاوت معنی داری را نسبت به سایر غلظت های کلسیم از خود نشان داده است. از روز سیزدهم آزمایش، اسپیرولینا پلاتنسیس تیمار شده با 0/1 و 0/15 گرم در لیتر  $CaCl_2$  رشد بیشتری نسبت به 0/2 گرم در لیتر  $CaCl_2$  نشان داد و این روند را تا پایان آزمایش حفظ گردید.

بیشترین غلظت بیومس در غلظت 0/08 گرم در لیتر  $CaCl_2$  به دست آمد. رشد اسپیرولینا پلاتنسیس در محیط کشت حاوی 0/2 گرم در لیتر  $CaCl_2$  کمتر از نمونه شاهد بود (شکل 1a).



شکل 1- اثر غلظت های مختلف  $\text{CaCl}_2$  بر میزان رشد (a) و انباشتگی عنصر کلسیم (b) در ریزجلبک اسپیرولینا پلاتنسیس

کلسیم نقش مهمی را در رشد و نمو، از جمله ترانسپانسی علامت، مقاومت به پاتوژن‌ها، تحمل به تنش، افزایش بیومس و سنتز کلروفیل ایفا می‌کند (Aghofack-Nguemezi and Tatchago 2010). فرایندهایی که در آن یون‌های کلسیم شرکت می‌کنند بشمار بوده و تقریباً همه جنبه‌های رشد و نمو گیاه را در بر می‌گیرد. در بررسی انجام شده توسط Shi و همکاران (2013) مشاهده شده است که غلظت‌های متوسط کلسیم موجب افزایش رشد در سیانوباکتری *Microcystis aeruginosa* شده است. آن‌ها پیشنهاد کردند که کلسیم ممکن است در تمایز سلول یا چرخه سلولی *Microcystis aeruginosa* دخالت داشته باشد. فعالیت فتوسیستم II، تثبیت نیتروژن، تمایز هتروسیت، جذب فسفات و پاسخ‌های فتوتاکتیک جزء فرایندهای وابسته به کلسیم هستند. همچنین مشاهده شد که غلظت‌های بالای کلسیم رشد ریزجلبک مذکور را مهار می‌کنند. مکانیسم مسمومیت فلزات در غلظت‌های بالا از طریق مسدود کردن گروه‌های عملکردی در مولکول‌های مهم مانند آنزیم‌ها، پلی‌نوکلئوتیدها، سیستم‌های انتقال مواد مغذی ضروری و یون‌ها، دنا توره و غیرفعال شدن آنزیم‌ها، اختلال فیزیولوژیکی در سلول و غشای سلولی و نیز تشکیل رادیکال‌های آزاد می‌باشد. نتایج نشان داده است که انباشتگی کلسیم در غلظت‌های 0/08، 0/1، 0/15 و 0/2 گرم در لیتر  $\text{CaCl}_2$  نسبت به نمونه شاهد بترتیب به میزان 52/94، 29/85،

59/91 و 79/91 درصد افزایش داشته است (شکل 1b). ریزجلبک‌ها دارای گروه‌های متصل به فلزات در سطح سلول‌های خود بوده و نیز دارای سیستم‌های کارآمد ذخیره‌سازی فلزات هستند (Knutsson et al. 2016). ریزجلبک‌ها می‌توانند از خود در برابر سمیت ایجاد شده توسط فلزات با استفاده از سازوکارهای مختلف نظیر سازوکار دفع، جذب در سطح سلول یا انباشتگی داخل سلولی محافظت نمایند. دیواره سلولی ریزجلبک‌ها دارای انواعی از پلی‌ساکاریدها و پروتئین‌ها همراه با تعداد بیشماری از مکان‌های فعالی هستند که قادر به اتصال به یون‌های فلزی هستند.

### نتیجه‌گیری

در بررسی حاضر با توجه به دوز مصرفی توصیه شده، میزان انباشتگی کلسیم در سلول و دوز روزانه مصرف پودر اسپیرولینا غلظت 0/15 گرم بر لیتر کلسیم کلرید جهت غنی‌سازی انتخاب گردید. بطور کلی، نتایج این بررسی نشان داده است که سیانوباکتری اسپیرولینا پلاتنسیس قادر به جذب و انباشتگی کلسیم در سلول‌های خود بوده و این نتایج می‌تواند برای غنی‌سازی بیومس ریزجلبک اسپیرولینا پلاتنسیس با ریزمغذی با هدف توسعه غذاهای کاربردی پیشنهاد گردد که می‌تواند یک جایگزین مناسب جهت جلوگیری از کمبودهای تغذیه‌ای مطرح باشد.

### منابع انگلیسی

- Aghofack-Nguemezi, J., & Tatchago, V. (2010). Effects of fertilizers containing calcium and/or magnesium on the growth, development of plants and the quality of tomato fruits in the western highlands of Cameroon. *International Journal of Agricultural Research*, 5, 821-831
- Aghofack-Nguemezi, J., & Tatchago, V., 2010. Effects of fertilizers containing calcium and/or magnesium on the growth, development of plants and the quality of tomato fruits in the western highlands of Cameroon. *International Journal of Agricultural Research*, 5, 821-831
- Knutsson, P., Vilg, J.V., Knutsson, J. and Steenari, B.M., 2016. Phycoremediation of heavy metals. In *Energy and Clean Technologies Conference Proceedings, Sgem 2016, Vol I* (pp. 533-540). Stef92 Technology Ltd.
- Leganés, F., Sánchez-Maeso, E., & Fernández-Valiente, E., 1987. Effect of indoleacetic acid on growth and dinitrogen fixation in cyanobacteria. *Plant and cell physiology*, 28, 529-533
- Shi, J., Wu, Z., & Song, L.R., 2013. Physiological and molecular responses to calcium supplementation in *Microcystis aeruginosa* (Cyanobacteria). *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 47, 51-61
- Tuhy, L., Samoraj, M., Witkowska, Z., & Chojnacka, K., 2015. Biofortification of maize with micronutrients by *Spirulina*. *Open Chemistry*, 13

## Production of *Spirulina platensis* fortified with calcium as a functional dietary supplement

Mahboobe Ghanbarzadeh<sup>1\*</sup>, Fateme Gholizadeh<sup>2</sup>

<sup>1\*</sup> Department Biotechnology of microalgae production and processing, Academic Center for Education, Culture & Research (ACECR), Mazandaran, Iran Email: \*ghanbarzadehm@gmail.com

<sup>2</sup> Department Biotechnology of microalgae production and processing, Academic Center for Education, Culture & Research (ACECR), Mazandaran, Iran

### Abstract

The various concentrations of calcium on *Spirulina platensis* growth and its accumulation were investigated. Data depict that *S. platensis* could tolerate different concentrations of calcium. Maximum growth parameters were exhibited by *S. platensis* at 0.08 g L<sup>-1</sup> calcium. The maximum bioaccumulation value was observed in 0.2 g L<sup>-1</sup> calcium. The appropriate concentration to produce *S. platensis* fortified with calcium was selected based on using growth parameters, calcium accumulation, Recommended Dietary Allowances (RDAs) for calcium consumption, and dosage of *S. platensis* consumption per day. Overall, this study indicated that 0.15 g L<sup>-1</sup> calcium is an appropriate concentration to produce fortified *S. platensis*, and it suggested producing a functional dietary supplement.

**Keywords:** Bioaccumulation, Growth parameters, *Spirulina platensis*, calcium ion

## بررسی اثر محلول پاشی عصاره جلبک دریایی بر بهبود خصوصیات کمی میوه خرما رقم مضافتی

محبوبه محمدی<sup>1</sup>، سکینه ملائی محمدآبادی<sup>2</sup>، سمیه رستگار<sup>2</sup>

1- دانشجوی دکتری، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران.

پست الکترونیکی: [mahbobemohamadi00@gmail.com](mailto:mahbobemohamadi00@gmail.com)

2- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم باغبانی، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران.

2- \* نویسنده مسئول: دانشیار گروه علوم باغبانی، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران.

پست الکترونیکی: [rastegarhort@gmail.com](mailto:rastegarhort@gmail.com), [s.rastegar@hormozgan.ac.ir](mailto:s.rastegar@hormozgan.ac.ir)

### چکیده

پژوهش حاضر با هدف ارزیابی محلول پاشی عصاره جلبک دریایی بر خصوصیات کمی خرما رقم مضافتی، در قالب طرح آماری فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سال 1402 انجام شد. عصاره جلبک دریایی در سه سطح با غلظت‌های (صفر) شاهد آب مقطر، دو در هزار و سه در در هزار میلی‌لیتر) طی سه دوره در مرحله کیمری با فواصل ده روز محلول پاشی شد. بر اساس یافته‌های این پژوهش نشان داد که استفاده از عصاره جلبک دریایی تاثیر معنی داری بر افزایش وزن میوه خرما، وزن گوشت و وزن هسته داشت. بطوریکه عصاره جلبک دریایی در غلظت سه در هزار میلی‌لیتر به صورت معنی داری وزن گوشت را نسبت به غلظت دو در هزار میلی‌لیتر عصاره جلبک و شاهد افزایش داد.

واژگان کلیدی: خرما مضافتی، عصاره جلبک دریایی، محلول پاشی، بهبود کیفیت

### مقدمه

نخل خرما (*Phoenix dactylifera* L.<sup>32</sup>) متعلق به خانواده *Arecaceae*<sup>33</sup> است دیپلوئید ( $2n = 36$ )، دوپایه با ساختارهای مختلف واریته‌ای که در مناطق خشک و نیمه خشک دنیا کشت می‌شود (Solangi *et al.*, 2023). این میوه سرشار از فیبرهای غذایی، کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها، ویتامین‌ها، مواد معدنی، فنولیک، تانن‌ها و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی است (Bentrad *et al.*, 2020). عصاره جلبک دریایی به طور طبیعی تجزیه پذیر و سازگار با محیط زیست هستند، بنابراین برای انسان و محیط زیست بی خطراند (Jumadi *et al.*, 2023). عصاره جلبک دریایی با ایفای نقش مهمی در متابولیسم و بهره‌وری گیاهان، به عنوان جایگزین مناسب برای کودهای شیمیایی، به ویژه در باغبانی و کشاورزی مورد استفاده قرار گرفته است (Moreno-Escamilla *et al.*, 2018). عصاره جلبک دریایی حاوی محلول غنی از مواد مغذی می‌باشد که سبب افزایش رشد گیاه، فتوسنتز و انعطاف پذیری در برابر تنش‌های محیطی می‌شود. ترکیبات متنوع آن، از جمله پلی ساکاریدها، اکسین‌ها، جیبرلین‌ها و عناصر ضروری متعدد، این پتانسیل را دارد که نه تنها عملکرد

<sup>32</sup> *Phoenix dactylifera* L

<sup>33</sup> *Arecaceae*

محصول را افزایش دهد بلکه کیفیت میوه را نیز بهبود بخشد (Ali et al., 2021). استفاده از 0/3 یا 0/4 درصد عصاره جلبک روی درختان سیب رقم آنا در مراحل مختلف از جمله قبل از گلدهی، در زمان شکوفه‌دهی کامل و یک ماه بعد، باعث بهبود رشد قابل توجهی شد. اثرات مثبت در طول ساقه، ضخامت، محتوای کلروفیل برگ، درصد تشکیل میوه، عملکرد و اندازه‌گیری‌های مختلف میوه مشاهده شد. علاوه بر این، خواص میوه، مانند مواد جامد محلول و محتوای قند کل، در مقایسه با درختان تیمار نشده، روند افزایشی را نشان دادند (Mosa et al., 2022). این پژوهش با هدف بررسی تاثیر محلول‌پاشی عصاره جلبک دریایی بر کمیت و کیفیت خرما مضافتی در زمان برداشت آن انجام شد.

### مواد و روش‌ها

این آزمایش در خرداد ماه سال 1402 در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در یک نخلستان در استان هرمزگان شهرستان رودان بخش رودخانه با مختصات جغرافیایی (57 درجه و 29 درجه شرقی و 27 درجه و 59 درجه شمالی) با 3 تیمار (کنترل (آب مقطر)، دو در هزار و سه در در هزار میلی‌لیتر) و 3 تکرار بر 9 اصله درخت خرما مضافتی 11 ساله انجام شد. عملیات محلول‌پاشی نخل خرما طی سه مرحله با فاصله ده روز انجام شد. با هدف بررسی تاثیر عصاره جلبک دریایی بر خصوصیات کمی و کیفی میوه خرما 2 ماه پس از تیمار، میوه‌ها در شهریورماه برداشت و به آزمایشگاه دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه هرمزگان منتقل و صفات کمی و کیفی میوه‌ها شامل وزن میوه، وزن گوشت، وزن هسته، طول و قطر میوه اندازه‌گیری شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS و Excel انجام گرفت.

### نتایج و بحث

بر اساس نتایج به‌دست آمده استفاده از عصاره جلبک دریایی تاثیر معنی داری بر افزایش وزن میوه خرما، وزن گوشت و وزن هسته داشت. بطوریکه عصاره جلبک دریایی در غلظت سه در هزار میلی‌لیتر به صورت معنی داری وزن گوشت را نسبت به غلظت دو در هزار میلی‌لیتر عصاره جلبک دریایی و کنترل افزایش داد. و همچنین استفاده از عصاره جلبک دریایی با غلظت سه در هزار میلی‌لیتر سبب افزایش وزن گوشت و طول میوه خرما نسبت به غلظت دو در هزار میلی‌لیتر عصاره جلبک دریایی و گروه کنترل شد (جدول 1).

جدول 1. مقایسه میانگین اثرات محلول‌پاشی عصاره جلبک دریایی بر صفات مرتبط با وزن میوه، وزن گوشت، وزن هسته،

طول و قطر میوه و نسبت طول به قطر میوه در خرما مضافتی

تیمار	وزن میوه	وزن گوشت	وزن هسته	طول میوه	قطر میوه	طول/ قطر
کنترل	92c	82,06c	9,33ab	21,16c	19,53b	1,08b
عصاره جلبک دو در هزار میلی‌لیتر	115,6b	105,66b	10a	33,86b	21,83a	1,55a
عصاره جلبک سه در هزار میلی‌لیتر	128,6a	119,6a	9b	36,5a	23,5a	1,55a

عصاره جلبک دریایی سرشار از درشت مغذی‌ها، ریز مغذی‌ها و متابولیت‌های ثانویه است (Quitério *et al.*, 2022). بنابراین، کاربرد عصاره جلبک رشد گیاه را با بهبود جذب عناصر غذایی، کارایی استفاده از مواد مغذی و مقاومت گیاهان در برابر تنش‌ها تحریک می‌کند (Amlani *et al.*, 2022). در مطالعه‌ای استفاده از عصاره جلبک به‌طور قابل توجهی باعث بهبود عملکرد آوکادو (کیلوگرم میوه در هر درخت)، سفتی پوست و گوشت میوه شد. افزایش عملکرد با تعداد میوه بیشتر در هر درخت همراه بود که نشان می‌دهد عصاره جلبک دریایی باعث بهبود تشکیل میوه و ماندگاری در هر درخت می‌شود (Arioli *et al.*, 2023). علاوه بر این، کاربرد عصاره جلبک دریایی در میوه کیوی ده روز پس از تشکیل میوه رشد قابل توجهی در طول و قطر میوه در حال رشد، وزن و عملکرد کل میوه ایجاد کرد که نسبت به میوه‌های گروه شاهد قابل توجه بود (Rana *et al.*, 2023). همچنین در پژوهشی سریونی و همکاران استفاده از عصاره جلبک دریایی در ترکیب با اسیدهای آمینه برای افزایش رشد و عملکرد برنج توصیه کردند (Sriyuni *et al.*, 2020). اثر مثبت محلول پاشی عصاره جلبک دریایی بر صفات کیفی غذایی دانه را می‌توان با وجود مواد فعال زیستی مختلف و همچنین متابولیت‌های ثانویه توضیح داد. چنین موادی با کاهش نرخ تخریب کلروفیل، محتوای کلروفیل بالایی را در برگ‌های گیاه حفظ می‌کنند که در نهایت ظرفیت و کارایی تولید فتوآسمیلیت‌ها را برای مدت طولانی‌تری حفظ می‌کند و سپس بر کیفیت غذایی دانه‌ها منعکس می‌شود (Mukherjee and Patel, 2020).

### نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که استفاده از محلول‌پاشی عصاره جلبک دریایی سبب بهبود خصوصیات کمی میوه‌های خرما می‌شود. بر اساس یافته‌های به‌دست‌آمده از محلول‌پاشی با عصاره جلبک دریایی، مشخص شد که استفاده از این عصاره تأثیر قابل توجهی بر افزایش وزن میوه‌های خرما، وزن گوشت و وزن هسته داشت. بنابراین کاربرد عصاره جلبک دریایی به صورت محلول‌پاشی در مراحل مختلف رشد میوه خرما با غلظت سه در هزار میلی‌لیتر به صورت قابل توجهی منجر به افزایش وزن گوشت میوه‌های خرما نسبت به غلظت دو در هزار میلی‌لیتر عصاره جلبک دریایی و گروه کنترل گردید. بنابراین پیشنهاد می‌شود از عصاره جلبک دریایی برای بهبود خصوصیات کمی میوه خرما در سایر ارقام مهم و تجاری در سایر مناطق خرما خیز کشور نیز مورد بررسی قرار گیرد.



شکل 1. محلول‌پاشی میوه خرما با مضافتی با عصاره جلبک دریایی



- Mukherjee, A. and Patel, J.S., 2020. Seaweed extract: biostimulator of plant defense and plant productivity. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 17, pp.553-558.
- Sriyuni, O., Mansyurdin, M., Izmiarti, T. and Noli, Z.A., 2020. Application of Seaweed Extract *Sargassum cristaefolium* and amino acid to growth and yield of upland rice (*Oryza Sativa* L.). *International Journal of Scientific & Technology Research*, 9(3), pp.2014-2018.
- Jumadi, O., Annisi, A.D., Abd Djawad, Y., Bourgougnon, N., Amaliah, N.A., Asmawati, A., Manguntung, A.B. and Inubushi, K., 2023. Brown algae (*Sargassum* sp) extract prepared by indigenous microbe fermentation enhanced tomato germination parameters. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 47, p.102601.
- Solangi, N., Abul-Soad, A.A., Jatoi, M.A., Mirani, A.A. and Markhand, G.S., 2023. Micropropagation of elite date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cultivars Samany and Bertamoda through immature inflorescence explants. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*.
- Quitério, E., Grosso, C., Ferraz, R., Delerue-Matos, C. and Soares, C., 2022. A Critical Comparison of the advanced extraction techniques applied to obtain health-promoting compounds from seaweeds. *Marine Drugs*, 20(11), p.677.
- AMLANI, M. and Yetgin, S., 2022. Seaweeds: Bioactive components and properties, potential risk factors, uses, extraction and purification methods. *Marine Science and Technology Bulletin*, 11(1), pp.9-31.
- Moreno-Escamilla, J.O., Alvarez-Parrilla, E., de la Rosa, L.A., Núñez-Gastélum, J.A., González-Aguilar, G.A. and Rodrigo-García, J., 2018. Effect of elicitors in the nutritional and sensorial quality of fruits and vegetables. In *Preharvest Modulation of Postharvest Fruit and Vegetable Quality* (pp. 71-91). Academic Press.
- Bentrad, N. and Hamida-Ferhat, A., 2020. Date palm fruit (*Phoenix dactylifera*): Nutritional values and potential benefits on health. In *The Mediterranean Diet* (pp. 239-255). Academic Press.
- Ali, Omar, Adesh Ramsubhag, and Jayaraj Jayaraman. "Biostimulant properties of seaweed extracts in plants: Implications towards sustainable crop production." *Plants* 10, no. 3 (2021): 531.
- Mosa, W.F., Sas-Paszt, L., Głuszek, S., Górnik, K., Anjum, M.A., Saleh, A.A., Abada, H.S. and Awad, R.M., 2022. Effect of some biostimulants on the vegetative growth, yield, fruit quality attributes and nutritional status of apple. *Horticulturae*, 9(1), p.32.
- Arioli, T., Villalta, O.N., Hepworth, G., Farnsworth, B. and Mattner, S.W., 2023. Effect of seaweed extract on avocado root growth, yield and post-harvest quality in far north Queensland, Australia. *Journal of Applied Phycology*, pp.1-11.
- Rana, V.S., Sharma, V., Sharma, S., Rana, N., Kumar, V., Sharma, U., Almutairi, K.F., Avila-Quezada, G.D., Abd\_Allah, E.F. and Gudeta, K., 2023. Seaweed Extract as a Biostimulant Agent to Enhance the Fruit Growth, Yield, and Quality of Kiwifruit. *Horticulturae*, 9(4), p.432.

## Investigating the effect of foliar application of seaweed extract on the improvement of the quantitative characteristics of Mozafati date fruit

Mahbobeh Mohammadi<sup>1</sup>, Sakineh Mollai Mohammadabadi<sup>2</sup>, Somayeh Rastegar<sup>2\*</sup>

1- PhD student, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Hormozgan University, Bandar Abbas, Iran.

mahbobemohamadi00@gmail.com Email

2- Master's student of horticultural sciences, department of horticultural sciences, faculty of agriculture and natural resources, Hormozgan University, Bandar Abbas, Iran

2-\* Corresponding author: Associate Professor of Department of Horticultural Sciences, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Hormozgan University, Bandar Abbas, Iran. Email: rastegarhort@gmail.com, s.rastegar@hormozgan.ac.ir

### Abstract

The present study was conducted with the aim of evaluating the foliar application of seaweed extract on the quantitative characteristics of Mozafati dates in the form of a factorial statistical design based on a randomized complete block design in 1402. Seaweed extract was sprayed at three levels with concentrations (zero (distilled water control), two per thousand and three per thousand milliliters) during three periods in the chimeric phase with ten days' intervals. Based on the findings of this research, it showed that the use of seaweed extract had a significant effect on the increase of date fruit weight, meat weight and kernel weight. So that seaweed extract at a concentration of three thousand milliliters significantly increased the weight of meat compared to a concentration of two thousand milliliters of algae extract and the control.

**Keywords:** extra dates, seaweed extract, foliar application, quality improvement

## بررسی امکان انتقال ژن به واسطه نانوذرات سوپرپارامغناطیسی آهن سنتز شده به روش سبز با استفاده از عصاره آبی گیاه دارویی مرزه به باکتری *E. coli*

محدثه عامری اختیاری آبادی<sup>1</sup>

1- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه مهندسی بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران

شهرام پورسیدی<sup>2\*</sup>

2- دانشیار، گروه مهندسی بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران

[spseyedi@uk.ac.ir](mailto:spseyedi@uk.ac.ir)

سارا عابدینی<sup>3</sup>

3- دانش‌آموخته دکتری، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران

آزاده لهراسبی نژاد<sup>4</sup>

4- دانشیار، گروه مهندسی بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران

حکیمه منصوری<sup>5</sup>

5- دانشیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران

### چکیده

فناوری DNA نو ترکیب جنبه مهمی از بیوتکنولوژی گیاهی و مهندسی ژنتیک می‌باشد که این فناوری با اهدافی از جمله همسانه سازی و دست‌ورزی هدفمند ژن‌ها و یا تولید متابولیت‌ها و پروتئین‌های نو ترکیب ارزشمند با انتقال ژن تولید کننده آن‌ها به سلول باکتری و تولید در مقیاس وسیع در بیوراکتورها می‌تواند به کار برده شود. با توجه به محدودیت‌های روش‌های متداول انتقال DNA نو ترکیب به میکروارگانیسم‌ها پژوهش حاضر، برای اولین بار با هدف بررسی امکان انتقال ژن به واسطه نانو حامل مبتنی بر نانوذرات سوپرپارامغناطیسی آهن سنتز شده به روش سبز و توسط عصاره آبی گیاه مرزه (*SPIONPs@pGreen*) به باکتری اشیرشیاکلی (*E. coli*) اجرا شد. نتایج نشان داد نانوذرات مورد بررسی ضمن اینکه فاقد هرگونه سمیت برای سلول‌های باکتریایی هستند، توانایی بالایی در انتقال پلاسمید به درون سلول باکتری *E. coli* دارند. بنابراین، روش ارائه شده در این پژوهش می‌تواند به عنوان یک روش ساده، ارزان، بدون محدودیت و سازگار با محیط زیست در انتقال ژن به باکتری‌ها مورد استفاده قرار گیرد.

واژگان کلیدی: انتقال ژن، پلاسمید pGreen، نانوحامل، نانوذرات سوپر پارامغناطیسی آهن.

مقدمه

در بیوتکنولوژی گیاهی فناوری DNA نوترکیب و مهندسی ژنتیک و ویرایش ژنوم بر استفاده از سلول‌های باکتری‌ها برای همسانه‌سازی ژن، تولید انبوه پروتئین‌ها و متابولیت‌های مورد نظر تکیه دارند. همه باکتری‌ها از تکنیک‌های مرسوم انتقال DNA نوترکیب به باکتری تبعیت نمی‌کنند. بارمنفی پوشش سلولی باکتری‌ها موجب دفع DNA با بارمنفی می‌شود (1). متداول‌ترین روش‌ها برای انتقال ژن به باکتری، روش شوک حرارتی و الکتروپوریشن هستند که هر دو روش با محدودیت‌هایی روبه‌رو هستند از جمله هر دو روش به سلول‌هایی با توانایی بالا برای پذیرش مواد ژنتیکی خارجی، ترکیبی از عملیات شیمیایی و دمایی و دستگاه‌های تخصصی وابسته هستند (2). از این رو نیاز به یک روش انتقال پلاسمید جایگزین لازم به نظر می‌رسد.

در این راستا، به نظر می‌رسد که نانو زیست‌فناوری به عنوان حوزه جدیدی از علم با کاربردهای روز افزون در حوزه‌های مختلف از جمله پزشکی و کشاورزی و موفقیت نانوذرات در انتقال ژن به سلول‌های گیاهی و جانوری، می‌تواند در جهت کاربرد نانوذرات به عنوان نانو حامل در انتقال ژن به میکروارگانیسم‌ها مفید و راهگشا باشد (3). در این مطالعه امکان انتقال پلاسمید pGreen به واسطه نانو حامل SPIONPs@pGreen به باکتری *E. coli* مورد بررسی قرار گرفت.

#### مواد و روش‌ها

در این پژوهش از نانوذرات عامل‌دار شده با پلی‌مر کاتیونی پلی اتیلن ایمین (PEI) یعنی SPIONPs-PEI (اهدایی بخش بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان) (4) و پلاسمید pGreen حامل ژن‌های *lacZ* و مقاومت به کانامایسین استفاده شد. پس از تهیه نانوذرات عامل‌دار شده، نانو حامل با ترکیب مقدار مناسب از پلاسمید و نانوذرات آماده شد و جهت انتقال ژن به باکتری مورد استفاده قرار گرفت. به منظور انتقال پلاسمید به باکتری ابتدا باکتری *E. coli* سویه DH5α فاقد پلاسمید در محیط کشت LB فاقد آنتی بیوتیک در دمای 37°C و دور 150 rpm کشت داده شد. پس از 4 ساعت به 700 میکرولیتر از باکتری رشد یافته مقدار مناسب از نانو حامل SPIONPs@pGreen اضافه شد و پس از هم‌کشتی به مدت یک شب سانتریفیوژ با دور 6000rpm، 10 دقیقه و دمای محیط انجام شد. رسوب باکتری به صورت خطی بر روی محیط کشت LB جامد حاوی آنتی بیوتیک کانامایسین، IPTG و X-Gal کشت داده شد.

#### نتایج و بحث

پس از هم‌کشتی باکتری *E. coli* فاقد پلاسمید با نانو حامل SPIONPs@pGreen، کلونی‌های آبی بر روی محیط کشت باکتری مشاهده شدند و این تأیید کننده انتقال موفق پلاسمید pGreen به سلول باکتری می‌باشد (شکل 1). رنگ آبی کلونی‌های باکتری که حاصل بیان ژن گزارشگر *LacZ* بر روی پلاسمید pGreen درون سلول باکتری است. X-Gal سوبسترای آنزیم بتا گالاکتوزیداز است که حضور آن در محیط رشد باکتری حاوی پلاسمید pGreen موجب می‌شود در پی بیان ژن *Lac Z* و تولید آنزیم بتاگالاکتوزیداز، این ماده شکسته شود و باعث تولید رنگ آبی غیر محلول دی کلرو دی برومو-ایندیگو شود (5).



**شکل 1** ظهور کلونی های آبی پس از هم کشتی باکتری های *E.coli* فاقد پلاسمید با نانوحامل *SPIONPs@pGreen*

با توجه به اینکه نانوحامل دارای بار مثبت است می تواند توسط نیروی الکتروستاتیک به بارهای منفی سطح سلول باکتری جذب شود و پس از تعامل با دیواره سلولی و غشای سلول باکتری از آنها عبور کرده و ضمن محافظت پلاسمید آن را به درون سلول باکتری انتقال دهد. اگرچه Nagamani و همکاران (2019) نیز موفق به انتقال پلاسمید توسط نانوذرات به باکتری *E.coli* شدند (6)، اما آنها در مطالعه خود از نانوذرات نقره استفاده کردند که در مطالعات قبلی عدم سمیت نانوذرات آهن نسبت به نقره در غلظت های مشخص اثبات شده است (7). بنابراین، نانوذرات با غلظت به کار برده شده ضمن داشتن توانایی بالا در انتقال پلاسمید به باکتری، همچنین فاقد هرگونه سمیت برای سلول های باکتریایی هستند.

#### نتیجه گیری

در این پژوهش نانوذرات توسط یک روش ساده، ارزان و دوستدار محیط زیست تهیه شدند. نتایج نیز نشان داد انتقال ژن به واسطه نانوذرات به باکتری به راحتی، با حداقل محدودیت، کمترین هزینه و راندمان بالا قابل انجام است. این روش در مقایسه با روش های مرسوم انتقال ژن ضمن صرفه جویی در هزینه، وقت و انرژی یک روش دوستدار محیط زیست است.

#### منابع و مراجع مورد استفاده

4) سارا عابدینی، شهرام پورسیدی، جعفر ذوالعلی، روح اله عبدالشاهی. (1402). 'بهبودسازی انتقال ژن موقت به گیاه پروانش (*Catharanthus roseus* L. از طریق معرفی نانوحامل نانوذرات ابرپارامغناطیسی اکسید آهن سنتز شده به روش سبز و نانولوله های کربنی'، مجله بیوتکنولوژی کشاورزی، 15(1)، صص 61- 80.

1) Ameh, T., Gibb, M., Stevens, D., Pradhan, S.H., Braswell, E. and Sayes, C.M., 2022. Silver and copper nanoparticles induce oxidative stress in bacteria and mammalian cells. *Nanomaterials*, 12(14), p.2402.

2) Wang, B.P., Yuan, Y.M., Yang, S., Xu, Y., Liao, C.Y. and Niu, F.X., 2023. Ultrasound-Mediated DNA Transformation of Bacteria. *Processes*, 11(7), p.2163.

3) Squire, H.J., Tomatz, S., Voke, E., González-Grandío, E. and Landry, M., 2023. The emerging role of nanotechnology in plant genetic engineering. *Nature Reviews Bioengineering*, 1(5), pp.314-328.

5) Yan, P., Zeng, Y., Shen, W., Tuo, D., Li, X. and Zhou, P., 2020. Nimble cloning: a simple, versatile, and efficient system for standardized molecular cloning. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 7, p.460.

- 6) Nagamani, G., Alex, S., Soni, K.B., Anith, K.N., Viji, M.M. and Kiran, A.G., 2019. A novel approach for increasing transformation efficiency in *E. coli* DH5 $\alpha$  cells using silver nanoparticles. *3 Biotech*, 9(3), p.113.
- 7) Adabavazeh, F., Pourseyedi, S., Nadernejad, N., Razavizadeh, R. and Mozafari, H., 2022. Evaluation of synthesized magnetic nanoparticles and salicylic acid effects on improvement of antioxidant properties and essential oils of *Calotropis procera* hairy roots and seedlings. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 151(1), pp.133-148.

## Exploring the potential of green synthesized superparamagnetic iron oxide nanoparticles using the aqueous extract of *Satureja hortensis* for *E. coli* DH5 $\alpha$ cells transformation

Mohadeseh Ameri ekhtiyarabadi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>MSc student, Biotechnology Department, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

Shahram Pourseyedi \*<sup>2</sup>

<sup>2\*</sup> Associate professor, Biotechnology Department, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

[spseyedi@uk.ac.ir](mailto:spseyedi@uk.ac.ir)

Sara Abedini<sup>3</sup>

<sup>3</sup>Ph.D. Student, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

Azadeh Lorasbi-Nejad<sup>4</sup>

<sup>4</sup>Associate professor, Biotechnology Department, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

Hakimeh Mansouri<sup>5</sup>

<sup>5</sup>Associate professor, Department of Biology, Faculty of Science, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

### Abstract

Recombinant DNA technology is a key element of plant biotechnology and genetic engineering. It is utilized for cloning and targeted gene manipulation or the production of recombinant proteins and valuable metabolites by their producing gene transfer to the bacteria cell and large-scale production of them in bioreactors. Considering the conventional methods' limitations for recombinant DNA transfer to microorganisms, this study, for the first time, aims to explore the potential of nanocarriers based on green-synthesized superparamagnetic iron oxide nanoparticles using the aqueous extract of *Satureja hortensis* (SPIONPs@pGreen) for *Escherichia coli* bacteria cell transformation (*E. coli* DH5 $\alpha$ ). The results indicated that the investigated nanoparticles, while not having any toxicity for bacterial cells, have a high ability to transfer plasmid into *E. coli* bacteria cells. Therefore, the method presented in this research can be used as a simple, cheap, unrestricted, and environmentally friendly method for gene transfer to bacteria. Therefore, the approach outlined in this study offers a simple, cost-effective, unrestricted, and eco-friendly method for gene transfer to the bacteria cell.

**Keywords:** Gene transfer, Iron superparamagnetic nanoparticles, Nanocarrier, pGreen plasmid.

## تأثیر منابع مختلف زغال زیستی روی عملکرد و اجزا عملکرد ارزن (*Setaria italica*) در شرایط تنش آبی

1- \* محمد کشاورز: دانشجوی کارشناسی ارشد، بخش اگرواکولوژی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی داراب، دانشگاه شیراز  
mkeshavarz925@gmail.com

2- احسان بیژن‌زاده، دانشیار، بخش اگرواکولوژی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی داراب، دانشگاه شیراز  
bijanzd@shirazu.ac.ir

3- فاطمه مرزبان: دانشجوی کارشناسی ارشد، بخش علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی شیراز، دانشگاه شیراز  
fatemehmarzban2017@gmail.com

### چکیده

زغال زیستی می‌تواند نقش مهمی در کاهش اثرات منفی تنش آبی روی ویژگی‌های بیوشیمیایی و عملکرد ارزن‌ها داشته باشد. به منظور بررسی تأثیر منابع مختلف زغال زیستی روی صفات بیوشیمیایی و عملکرد ارزن در شرایط تنش آبی، آزمایشی به صورت طرح کاملاً تصادفی شامل 4 نوع زغال زیستی تغاله ریشه شیرین‌بیان، کمپوست زباله شهری، کود گاوی و کاه و کلش پنبه به میزان دو درصد وزنی در سه سطح آبیاری 50%، 75% و 100% ظرفیت مزرعه‌ای و با 3 تکرار اجرا شد. صفات مورد اندازه‌گیری شده شامل کلروفیل a و کلروفیل b، فعالیت آنزیم کاتالاز و عملکرد دانه بودند. نتایج، نشان داد بیشترین مقدار کلروفیل a و عملکرد دانه به ترتیب 30/7 درصد و 5/6 درصد در تیمار آبیاری بر اساس 75% نیاز آبی با استفاده از زغال زیستی زباله شهری به دست آمد. همچنین بیشترین مقدار کلروفیل b به میزان 14/6 درصد مربوط به تیمار 50 درصد آبی با استفاده از زغال زیستی پنبه مشاهده گردید. فعالیت کاتالاز در تیمار 100 درصد نیاز آبی با استفاده از زغال زیستی زباله شهری و به میزان 2/35 درصد نسبت به شاهد به دست آمد. کاربرد زغال زیستی زباله شهری و همچنین آبیاری با 75 درصد نیاز می‌تواند منجر به حداکثر میزان عملکرد و خصوصیات رشد گیاه ارزن شود.

واژگان کلیدی: فعالیت کاتالاز، کلروفیل، کمپوست زباله شهری، تغاله شیرین‌بیان

### مقدمه

ارزن از غلات سنتی در نواحی خشک و نیمه‌خشک مناطق گرمسیری محسوب می‌شود. داشتن ویژگی‌هایی چون رشد سریع بودن، تحمل نسبی بالا به خشکی، چرخه زندگی چهار کربنه و کارایی مصرف آب بالاتر نسبت به گونه‌های گیاهی سه کربنه، کارایی خود را جهت کشت در نواحی کم‌آب به خوبی نشان داده است (Kazemi Arbat, 1995). امروزه نبود پوشش گیاهی کافی و مناسب، کاهش بازگشت بقایای گیاهی به خاک را موجب گشته و در نتیجه خاک با کمبود مواد آلی مواجه می‌شود. بازگردانی این بقایا به خاک به ویژه در مناطق خشک و نیمه‌خشک از ارکان مهم کشاورزی پایدار می‌باشد. امروزه با سوزاندن بقایای گیاهی در مزرعه و ضایعات کشاورزی و دامی در دمای زیاد و در شرایط بی‌هوازی امکان ذخیره‌سازی طولانی مدت کربن در خاک به علت حضور کربن بیوشیمیایی مقاوم، به وجود می‌آید (Zimmerman and Ahn, 2011). این ترکیب آلی که برای بهبود و اصلاح ویژگی‌های خاک و افزایش مواد غذایی و ظرفیت نگهداری آب در خاک مورد استفاده قرار می‌گیرد بیوجار (زغال زیستی) نام دارد (Artiola

(et al., 2012). کشور ایران در اقلیم خشک و نیمه‌خشک قرار گرفته و بارش‌های کمی در سال‌های اخیر صورت گرفته است و با توجه به ارزش و اهمیت بسیار زیاد غلات همچون ارزن، بنابراین جهت افزایش عملکرد به استفاده از راه‌کارهای نوین برای حفظ رطوبت جهت کاهش اثرات منفی تنش آبی ضروری به نظر می‌رسد. ارزن به‌خاطر داشتن پروتئین و مواد معدنی بالا نسبت به برنج و گندم، از ارزش و اهمیت خاصی برخوردار می‌باشد. بنابراین جهت افزایش عملکرد ضرورت دارد از اصلاح‌کننده‌های خاک به‌عنوان نگهدارنده رطوبت جهت کاهش اثرات منفی تنش آبی استفاده شود. در بسیاری از منابع به جنبه‌های مثبت کاربرد مواد آلی مثل زغال زیستی به‌عنوان نگهدارنده رطوبت خاک و عناصر غذایی گیاه از طریق افزایش فعالیت‌های بیوشیمیایی گیاه اشاره شده است (عباسعلیان و همکاران، 1401). هدف از انجام این تحقیق، بررسی تأثیر کاربرد زغال زیستی و تنش آبی بر صفات بیوشیمیایی، و عملکرد ارزن بوده، تا بتوان راه‌کاری برای تولید پایدار محصول با مصرف آب کمتر به‌دست آورد.

## مواد و روش‌ها

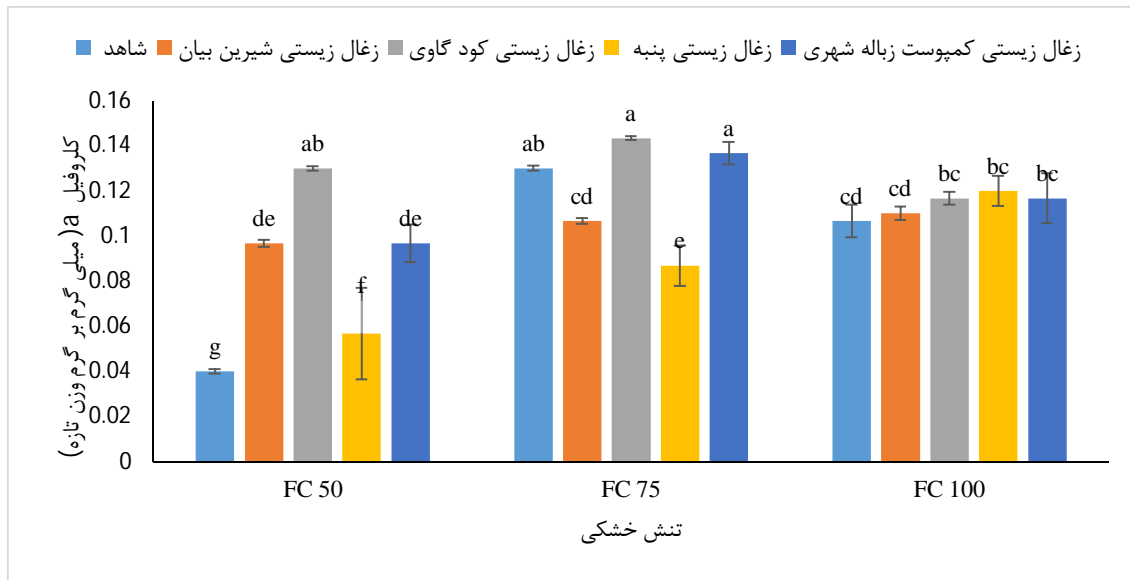
این پژوهش در سال 1401 در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی داراب به‌منظور بررسی اثر زغال زیستی بر صفات بیوشیمیایی و عملکرد عملکرد ارزن رقم باستان در شرایط تنش آبی، به‌صورت طرح کاملاً تصادفی شامل 4 نوع زغال زیستی تفاله ریشه شیرین‌بیان، کمپوست زباله شهری، کود گاوی و کاه و کلش پنبه به میزان دو درصد وزنی در سه سطح آبیاری (تنش آبی) 50%، 75% و 100% ظرفیت مزرعه‌ای و با 3 تکرار اجرا شد. زغال زیستی طی فرایند گرماگافت آهسته تولید گردید. بدین منظور در ابتدا مواد اولیه را آسیاب کرده و داخل کوره به مدت 2 ساعت در دمای 400 درجه سانتی‌گراد در شرایط کم اکسیژن قرار گرفتند (Lehmann et al., 2015). قبل از کشت، هر یک از زغال‌های زیستی به مقدار 2 درصد به خاک اضافه گردیدند. در هر گلدان 10 بذر ارزن کشت شد و پس از جوانه‌زدن و استقرار کامل به چهار بوته تقلیل یافت. اندازه‌گیری مقدار کلروفیل با استفاده از روش دی‌متیل سولفوکساید اندازه‌گیری شد و با استفاده از فرمول‌های معرفی شده توسط (Arnon, 1967) محاسبه و اندازه‌گیری شد. به‌منظور ارزیابی فعالیت آنزیم کاتالاز از روش سان و همکاران (Sun et al., 2013) استفاده شد. برای اندازه‌گیری عملکرد دانه کل خوشه‌های برداشت شده از هر تیمار جدا شد و بعد از جداسازی دانه، دانه‌ها با ترازوی دیجیتال وزن گردید و عملکرد دانه در هر گلدان به دست آمد. تجزیه آماری توسط نرم‌افزار SAS انجام گرفت و مقادیر میانگین به روش LSD در سطح 5 درصد انجام شد.

## نتایج و بحث

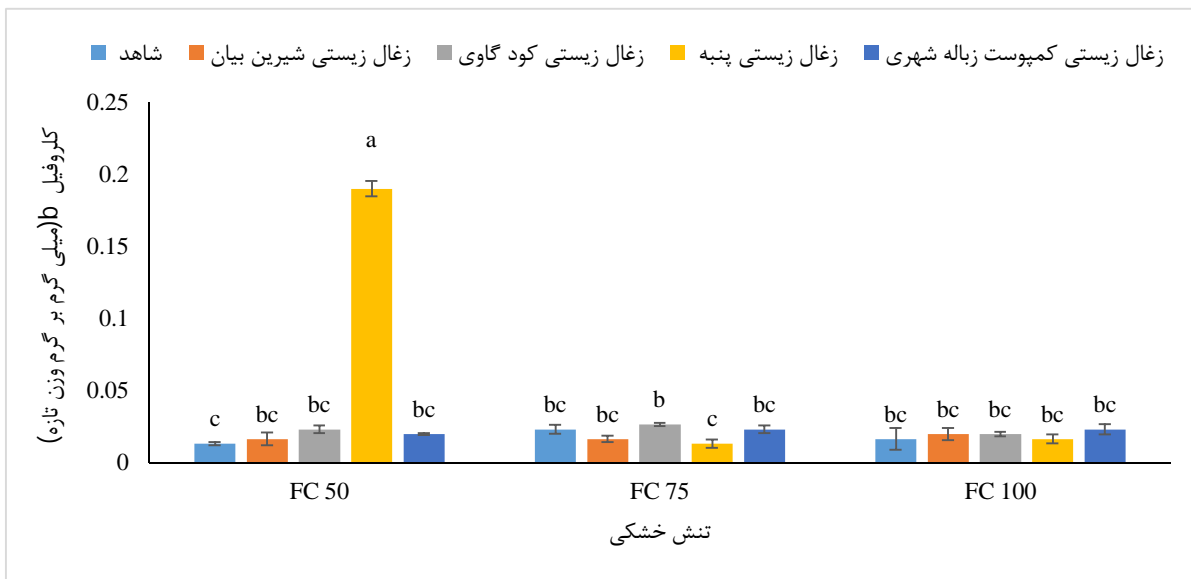
### کلروفیل a

مقدار کلروفیل a با توجه به نتایج مقایسه میانگین داده‌ها افزایش در مقدار کلروفیل a به میزان 0/137 میلی‌گرم بر گرم وزن تر (30/7 درصد نسبت به شاهد) و 0/143 میلی‌گرم بر گرم وزن تر (28 درصد نسبت به شاهد) به‌ترتیب در شرایط تنش آبی 75 درصد نیاز آبی و با کاربرد زغال زیستی کمپوست زباله شهری و کود گاوی مشاهده شد بر اساس نتایج، مقدار کلروفیل a در نیاز آبی 75 بیشتر از نیاز آبی 100 درصد شد اما اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند (شکل 1). محتوی کلروفیل a در گیاه بادام زمینی به‌طور قابل توجهی تحت تأثیر مصرف زغال زیستی قرار گرفت مقدار کلروفیل a با توجه به نتایج مقایسه میانگین داده‌ها افزایش در مقدار کلروفیل a به میزان 0/137 میلی‌گرم بر گرم وزن تر (30/7 درصد نسبت به شاهد) و 0/143 میلی‌گرم بر گرم وزن تر (28 درصد

نسبت به شاهد) به ترتیب در شرایط تنش آبی 75 درصد نیاز آبی و با کاربرد زغال زیستی کمپوست زباله شهری و کود گاوی مشاهده شد بر اساس نتایج، مقدار کلروفیل a در نیاز آبی 75 بیشتر از نیاز آبی 100 درصد شد اما اختلاف معنی داری با هم نداشتند (شکل 1). محتوی کلروفیل a در گیاه بادام زمینی به طور قابل توجهی تحت تاثیر مصرف زغال زیستی قرار گرفت (Agegehu et al., 2015).



شکل 1- مقایسه میانگین اثر متقابل زغال زیستی و تنش آبی بر کلروفیل a بوته ارزن باستان  
مقدار کلروفیل b: نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که، بیشترین مقدار کلروفیل b به میزان 0/19 میلی گرم بر گرم وزن تر (14/6 درصد نسبت به شاهد) در تیمار آبی 50 درصد نیاز آبی و با کاربرد زغال زیستی پنبه مشاهده شد (شکل 2).



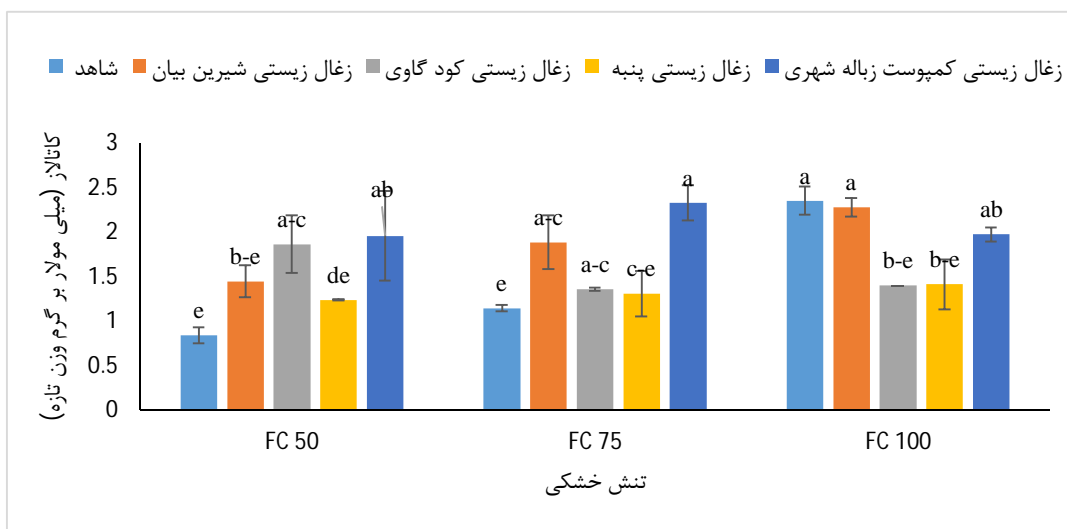


شکل 2- مقایسه میانگین اثر متقابل زغال زیستی و تنش آبی بر کلروفیل b بوته ارزن باستان

فعالیت کاتالاز

بر اساس نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها (شکل 4) با اعمال آبیاری، بیشترین مقدار کاتالاز مربوط به زغال زیستی زباله شهری با مقدار 2/35 میلی مولار بر گرم وزن تازه بر اساس آبیاری در 100 درصد نیاز آبی به دست آمد. همچنین در تیمار 75 درصد نیاز آبی با استفاده از زغال زیستی زباله شهری مقدار فعالیت کاتالاز 2/33 میلی مولار بر گرم وزن تازه به دست آمد. ولی اختلاف معنی داری بین این دو تیمار مشاهده نشد.

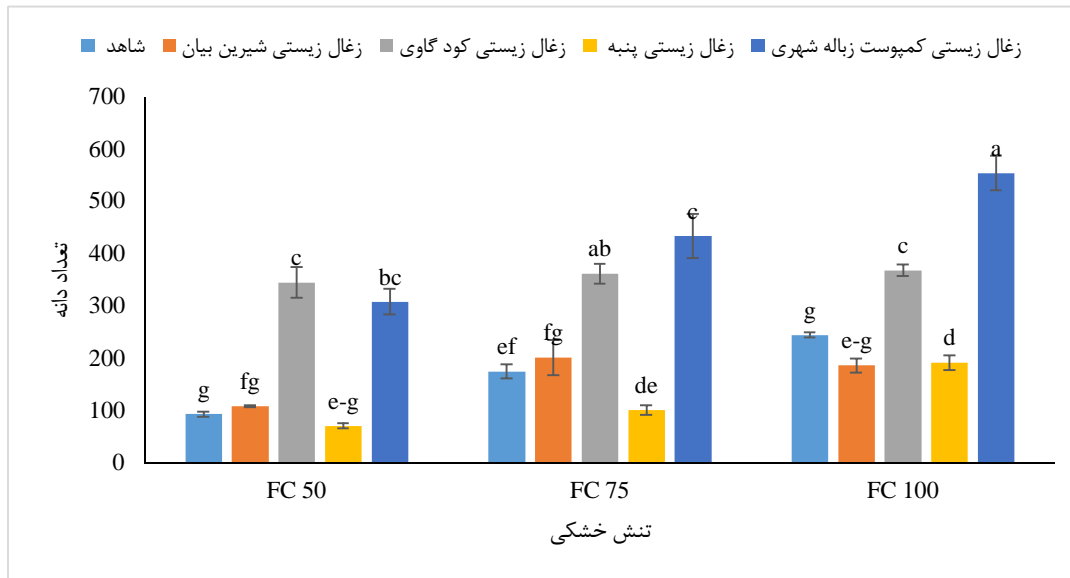
شکل 3- مقایسه میانگین اثر متقابل زغال زیستی و تنش آبی بر فعالیت کاتالاز بوته ارزن باستان



عملکرد دانه

عملکرد دانه از مهمترین شاخص‌های اقتصادی در گیاهان دانه‌ای محسوب می‌شود. با روند افزایش در میزان آبیاری، تعداد دانه در گیاه ارزن باستان افزایش یافت. با کاربرد زغال زیستی این میزان افزایش در تعداد دانه نسبت به شاهد در شکل زیر مشاهده می‌شود. در تیمار شاهد بدون استفاده از زغال زیستی با افزایش میزان آبیاری تعداد دانه مقدار افزایشی از خود نشان داد. بیشترین مقدار دانه مربوط به تیمار زغال زیستی زباله شهری با آبیاری 100 درصد نیاز آبی به تعداد 555 عدد و کمترین مقدار در تعداد دانه مربوط به تیمار شاهد با آبیاری 50 درصد نیاز آبی به تعداد 93 عدد بود. بیشترین و کمترین تعداد دانه به ترتیب در زغال زیستی زباله

شهری (555 عدد)، کود گاوی (368 عدد)، شاهد (245 عدد)، پنبه (192) و شیرین بیان (187 عدد) با آبیاری 100 درصد نیاز آبی مشاهده شد.



شکل 4- مقایسه میانگین اثر متقابل زغال زیستی و تنش آبی بر عملکرد دانه بوته ارزن باستان

#### نتیجه گیری

استفاده از گیاهان سازگار به کم آبی جهت تغییر در الگوی کشت، از راه‌های مقابله با تنش آبی می‌باشد. ارزن‌ها از مقاومت نسبی به خشکی برخوردار هستند. اما ممکن است رشد و نمو این گیاهان بر اثر کم آبی کاهش یابد. استفاده از زغال زیستی باعث مقاومت گیاه در شرایط کم آبی می‌شود. در مجموع نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تنش آبی سبب کاهش معنی‌دار صفات بیوشیمیایی و عملکرد گردید. نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از زغال زیستی سبب افزایش عملکرد و اجزای عملکرد شد. استفاده از زغال زیستی زباله شهری منجر به افزایش 5/6 درصدی عملکرد دانه شد. همچنین با استفاده از زغال زیستی زباله شهری افزایش 30/7 درصدی در مقدار کلروفیل a در تیمار 75 درصد نیاز آبی مشاهده گردید. نتایج نشان داد کاربرد زغال زیستی زباله شهری و همچنین آبیاری در سطح 75 درصد نیاز آبی می‌تواند اثر مطلوب‌تری بر روی پارامترهای گیاه بر جا گذارد.

#### منابع

حیاتی، ا.، رمرودی، م.، گلوی، م. (1390). تأثیر زمان کاربرد پتاسیم بر عملکرد و محتوای پروتئین دانه ارزن دم‌روباهی در رژیم‌های متفاوت آبیاری. مجله تولید و فرآوری محصولات زراعی و باغی، 1(2): 35-44.  
کافی، م.، برزویی، ا.، صالحی، م.، کمندی، ع.، معصومی، ع. و نباتی، ج. 1388. فیزیولوژی تنش‌های محیطی در گیاهان، جهاد دانشگاهی مشهد.

Agegnehu, G., M. Bass, A., N. Nelson, P., Muirhead, B., Wright, G. and I. Bird, M. 2015. Biochar and biochar-compost as soil amendments: Effects on peanut yield, soil properties and greenhouse gas emissions in tropical North Queensland, Australia. Agriculture, Ecosystems and Environment. 213: 72-85.

Ahmed S.M. Saleh, Qing Zhang, Jing Chen, and Qun Shen. 2013. Millet Grains: Nutritional Quality, Processing, and Potential Health Benefits. Institute of Food Technologists. doi: 10.1111/1541-4337.12012.



- Arnon, A. N. 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal*, 23:112-121.
- Artiola JF, Rasmussen C and Freitas R. (2012). Effects of a biochar-amended alkaline soil on the growth of romaine lettuce and bermudagrass. *Soil Science* 177, 561-570.
- Hafeez, A., Razzaq, A., Mahmood, T., Jhanzab, H.M., (2015). Potential of Copper Nanoparticles to Increase Growth and Yield of Wheat, *Journal of Nanoscience with Advanced Technology*, 1(1): 1-6.
- Kazemi Arbat, H. (1995). *Special agronomy*. Vol. 1: Cereal crops, Center of University Press, Tehran, Iran.
- Kumari, S. (1988). The effects of soil moisture stress on the development and yield of millet. *Agron. J.* 57: 480-487.
- Lehmann, J., & Joseph, S. (Eds.) (2015). *Biochar for environmental management: science, technology and implementation*. Routledge.
- Mirzaei, A., and Jokar, M. 2014. Water use efficiency in plants crop and its ecological approaches. National Conference on energy consumption optimization in Science and Engineering. Kome Elmavaran danesh. R. S. Institute
- Sun, Y., F. Yan, and F. Liu. 2013. Drying/rewetting cycles of the soil under alternate partial root-zone drying irrigation reduce carbon and nitrogen retention in the soil-plant systems of potato. *Agr. Water Manag.* 128: 85-91.
- Zimmerman, AR, Gao., B and Ahn, MY. (2011). Positive and negative carbon mineralization priming effects among a variety of biochar-amended soils. *Soil Biology and Biochemistry* 43, 1169-1179.

## Effect of different sources of biochar on yield and yield components of millet (*Setaria italica*) under water stress conditions

Keshavarz Mohammad, Ehsan bizhanzadeh, Ali Bahpori

Department of Agroecology, Darab Faculty of Agriculture and Natural Resources, Shiraz University

### Abstract

Millet is one of the cereals of warm regions, which have high resistance in dry and semi-arid regions. In order to investigate the effect of different sources of biochar on the yield and yield components of millet under water stress conditions, an experiment was carried out in a completely randomized design including 4 types of biochar: licorice root pulp, urban waste compost, cow manure and straw and cotton stubble at the rate of 2% by weight in three irrigation levels (water stress) 50%, 75% and 100% of the field capacity and with 3 replications. The traits measured included chlorophyll a and chlorophyll b, catalase enzyme activity and seed yield. The results showed that the highest amount of chlorophyll a and grain yield were obtained, respectively, 30.7% and 5.6% in the treatment of 75 water needs using municipal waste biochar. Also, the highest amount of chlorophyll b was observed at the rate of 14.6% related to the treatment of 50% water using cotton biochar. Catalase activity in the treatment of 100% water requirement using urban waste biochar was obtained at a rate of 2.35% compared to the control. The application of municipal waste biochar as well as irrigation with 75% requirement can help the performance and growth characteristics of millet plant.

**Keyword:** Biochar, Millet and yield

## مقایسه تغییرات محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی در دو گونه مریم گلی تحت تاثیر قارچ

### *Glomus mosseae*

مرضیه فتوت<sup>1\*</sup>، فرزانه نجفی<sup>1</sup>، رمضانعلی خاوری نژاد<sup>1</sup>، داریوش طالعی<sup>2</sup>، فرهاد رجالی<sup>3</sup>

\* نویسنده مسئول: دانشجو، دکتری فیزیولوژی گیاهی، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی دانشگاه خوارزمی

[m.fotovvat1@yahoo.com](mailto:m.fotovvat1@yahoo.com)

1-دانشیار، دکتری فیزیولوژی گیاهی، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی دانشگاه خوارزمی

1-استاد، دکتری فیزیولوژی گیاهی، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی دانشگاه خوارزمی

2-دانشیار، دکتری بیوتکنولوژی گیاهی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه شاهد

3-دانشیار، دکتری خاک شناسی، مؤسسه تحقیقات خاک و آب کشور

### چکیده

امروزه بهینه سازی رشد گیاهان دارویی مورد توجه بسیاری از پژوهشگران قرار گرفته است. قارچ‌های میکوریز آربوسکولار به فراوانی در خاک اکثر اکوسیستم‌ها وجود دارد و با ریشه بیش از 80 درصد گیاهان خشکی همزیستی‌های متقابل تشکیل می‌دهند. از آنجایی که کلروفیل یک رنگدانه مهم فتوسنتزی است که به طور مستقیم با تولید زیست توده گیاهی مرتبط است، در این پژوهش تاثیر همزیستی قارچ *Glomus mosseae* بر محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل‌های *a*، *b*، کلروفیل کل و کارتنوئیدها) در دو گونه از جنس مریم-گلی به نام‌های *Salvia officinalis* L. و *Salvia nemorosa* L. بررسی شد. برای این منظور بذره‌های مورد نظر در خاک حاوی مایه تلقیح قارچ کاشته شدند. بعد از 4 ماه رشد در محیط کنترل شده، محتوای رنگیزه‌ها مورد سنجش قرار گرفتند. نتایج نشان داد که کاربرد *G. mosseae* موجب افزایش محتوای رنگیزه‌ها در هر دو گونه شد و بیشترین تاثیر در گونه *S. nemorosa* مشاهده شد. این نتایج علاوه بر تایید اهمیت همزیستی میکوریزایی در ارتقای فعالیت فتوسنتزی، نشان داد که همزیستی *G. mosseae* در گونه‌های مختلف گیاهی اثرات متفاوتی بر محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی دارد که می‌تواند به علت تفاوت‌های ژنتیکی آنها باشد.

واژگان کلیدی: کلروفیل، میکوریز، همزیستی، *S. nemorosa*، *S. officinalis*.

### مقدمه

قارچ‌های میکوریز آربوسکولار (AMF)<sup>34</sup> اعضای از شاخه گلومرومیکوتا<sup>35</sup> هستند که به فراوانی در خاک اکثر اکوسیستم‌ها وجود دارد. آنها با ریشه بیش از 80 درصد گیاهان خشکی همزیستی‌های متقابل تشکیل می‌دهند (Ye et al., 2022).

<sup>34</sup> Arbuscular mycorrhizal fungi

<sup>35</sup> Glomeromycota

کلروفیل یک رنگدانه مهم فتوسنتزی است که به طور مستقیم با تولید زیست توده گیاهی مرتبط است (Hu et al., 2015). در طول حمله علفخواران، گیاهان گونه های اکسیژن فعال ( $^{36}\text{ROS}$ ) یعنی رادیکال سوپراکسید، اکسیژن منفرد، رادیکال هیدروکسیل، و پراکسید هیدروژن تولید می کنند. تولید بیش از حد ROS در حمله علفخواران به کلروپلاست آسیب می رساند که بر رشد گیاه تأثیر منفی می گذارد. تلقیح AMF کارایی فتوسنتزی گیاه و محتوای کلروفیل را در طول حمله حشرات افزایش می دهد (Gupta et al., 2021, Mathur et al., 2018).

AMF باعث تغییرات سیتولوژی در گیاه میزبان می شود مانند افزایش تعداد پلاست ها و میتوکندری ها که منجر به فعالیت چرخه تری کربوکسیلیک اسید و مسیرهای بیوسنتزی پلاستی و بنابراین افزایش تولید متابولیت های اولیه و ثانویه می شود. علاوه بر این AMF فعالیت فتوسنتزی را توسط افزایش سطح رنگیزه های فتوسنتزی و تخلیه کربن تحریک می کند (Pedone-Bonfim et al., 2015). بر اساس مطالعات صورت گرفته AMF فتوسنتز را در *S. fruticosa* با بهبود فتوسیستم II بهبود می دهد (Moustakas et al., 2020). از آنجایی که AMF در گونه های مختلف گیاهی اثرات متفاوتی دارد، این پژوهش، با هدف بررسی تأثیر همزیستی قارچ *Glomus mosseae* بر محتوای رنگیزه های فتوسنتزی دو گونه دارویی و مهم از جنس مریم گلی (*Salvia L.*) به نام های *S. officinalis* و *S. nemorosa* انجام شد.

## مواد و روش ها

### 1- منطقه مورد مطالعه

بذر گونه های *S. officinalis* و *S. nemorosa* از منطقه خراسان رضوی با عرض جغرافیایی "36° 14' 17/93" و طول جغرافیایی "59° 40' 25/48" جمع آوری شدند. اینوکولوم های *G. mosseae* از موسسه آب و خاک کرج تهیه شدند.

### 2 کشت گلدانی

برای کشت درگلدان ابتدا بذرها سترون شدند. سپس بذره های سترون به منظور جوانه زنی در کوکوپیت در شرایط آزمایشگاهی کشت داده شدند. بعد از یک ماه، بوته های یکنواخت 2-4 برگی به گلدان های پلاستیکی به عمق 11 سانتی متر محتوی خاک باغچه و پوکه معدنی به نسبت 2:1 منتقل شدند. مقدار 20 گرم میکوریز *G. mosseae* در همان ابتدای انتقال گیاهچه ها، در عمق 1-2 سانتی متری با سطح خاک مخلوط گردید. به منظور تامین عناصر غذایی هفته ای دوبار از محلول غذایی هوگلدن استفاده گردید. در طول دوره رشد مقدار فسفر محلول غذایی به منظور ترغیب همزیستی نصف شد. بعد از 4 ماه رشد رویشی گیاه، برگ ها برای انجام آزمایش جدا شدند.

### 3- سنجش میزان رنگیزه های فتوسنتزی (کلروفیل ها و کاروتنوئیدها)

ابتدا 0/03 گرم از برگ تازه گیاه وزن شد و با 3 میلی لیتر استون 80% در هاون بخوبی همگن شد. سپس به مدت 10 دقیقه در دور 6000rpm سانتریفیوژ شد. روی شناور جدا و سپس حجم محلول به 5 میلی لیتر رسانده شد. جذب

<sup>36</sup> Reactive oxygen species

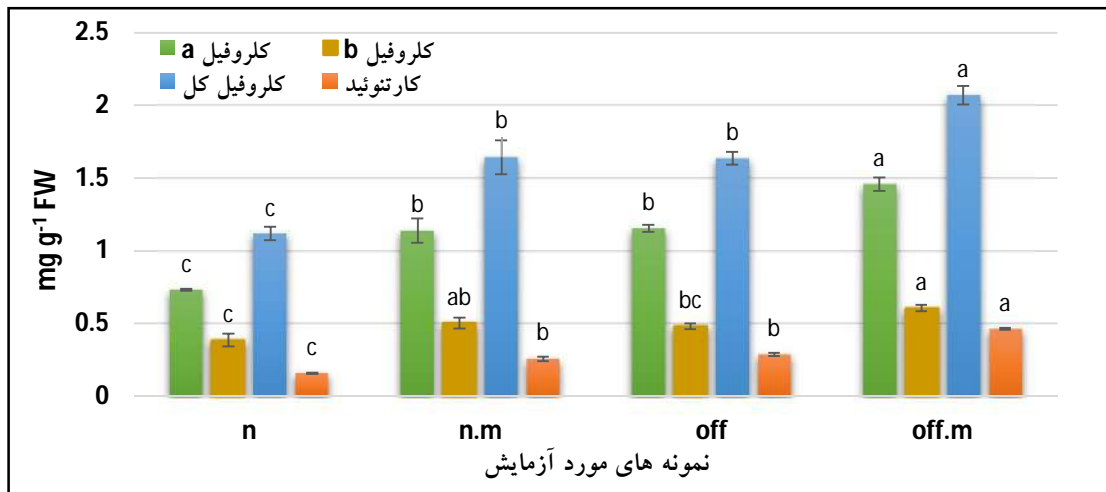
نوری عصاره در طول موج‌های 470، 647 و 663 نانومتر توسط دستگاه طیف سنج نوری UV-Vis مدل T80 محصول شرکت PG Instruments بدست آمد. مقدار رنگیزه‌ها بر حسب میلی‌گرم در گرم بافت تر با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه گردید (Lichtenthaler, 1987).

$$a \text{ کلروفیل } (\text{mg g}^{-1} \text{ FW}) = (12.25 \times A_{663} - 2.79 \times A_{647}) \times V / 1000W$$

$$b \text{ کلروفیل } (\text{mg g}^{-1} \text{ FW}) = (21.50 \times A_{647} - 5.1 \times A_{663}) \times V / 1000W$$

$$\text{کاروتنوئید } (\text{mg g}^{-1} \text{ FW}) = ((1000 \times A_{470}) - (1.82 \times Chla) - (85.02 \times Chlb)) / 198 \times V / 1000W$$

که در این فرمول  $Chla$ : غلظت کلروفیل  $a$ ،  $Chlb$ : غلظت کلروفیل  $b$ ،  $A$ : میزان جذب نوری در طول موج مربوطه،  $V$ : حجم عصاره



و  $W$ : وزن نمونه تر می‌باشد. غلظت نمونه‌ها بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه گردید.

### 3- تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

آزمایشات بر اساس طرح آماری بلوک‌های کاملاً تصادفی اجرا شده است. برای تعیین معنی‌دار بودن تفاوت بین میانگین‌ها، ابتدا داده‌ها به کمک آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) توسط نرم افزار SPSS (ویرایش 26) تجزیه و تحلیل شدند؛ سپس میانگین‌ها با کمک آزمون چند دامنه‌ای دانکن مقایسه و گروه‌بندی و تفاوت بین آن‌ها در سطح  $P \leq 0/05$  تعیین شد. نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel رسم شدند.

### نتایج و بحث

نتایج تغییرات میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در برگ‌های *S. nemorosa* و *S. officinalis* تحت تیمار میکوریزی شدن در شکل 1 نشان داده شده است. مقایسه‌ی میانگین داده‌ها نشان داد که با کاربرد قارچ *G. mosseae* محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی مورد بررسی به طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد در هر دو گونه افزایش می‌یابد. این افزایش در گونه *S. nemorosa* نسبت به گونه *S. officinalis* کمی بیشتر بود. بر اساس نتایج مطالعه حاضر بیشترین تاثیر قارچ *G. mosseae* بر محتوای کارتنوئید برگ‌ها بود که به ترتیب 1/60 و 1/62 برابر نسبت به گروه شاهد در گونه‌های *S. nemorosa* و *S. officinalis* بود.

غلظت بالای کلروفیل در نمونه‌های میکوریزی می‌تواند به دریافت انرژی بالا از نور، جذب فسفر به عنوان حامل انرژی در فرایند فتوسنتز، جذب عناصر ضروری در سنتز کلروفیل (مانند آهن، منیزیم، نیتروژن و کربن) (de Assis et al., 2020, Selvaraj and Chellappan, 2006, Krishna et al., 2005)، بهبود آنزیم‌های درگیر در سنتز زنجیره پپتیدی کلروفیل و همچنین افزایش تعرق و هدایت روزنه‌ای نسبت داده شود (Rashidi et al., 2022). بر اساس گزارش Heng و همکاران (2015) محتوای کلروفیل در *S. miltiorrhiza* تحت تاثیر میکوریز و سطوح مختلف سلنیوم افزایش یافت. AMF محتوای کلروفیل را در گونه‌های *S. officinalis* (Kumar et al., 2015)، *Solanum nigrum*، *Digitaria sanguinalis* و *Ipomoea purpurea* افزایش داد که این افزایش بسته به نوع AMF در گونه‌های مختلف متفاوت بود (Rashidi et al., 2022).

شکل 1: نمودار مقایسه میانگین اثر *G. mosseae* (m) بر محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی در برگ *S. nemorosa* (n) و *S. officinalis* (off). حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح احتمال  $P \leq 0/05$  می‌باشد.

### نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که همزیستی با *G. mosseae* بر محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی هر دو گونه مریم‌گلی مورد مطالعه تاثیر مثبت دارد اما در گونه *S. nemorosa* این افزایش کمی بیشتر بود که می‌تواند به علت تفاوت‌های ژنتیکی بین این دو گونه باشد. همچنین با توجه به اهمیت این رنگیزه‌ها در تولید زیست توده گیاهی، می‌توان همزیستی با میکوریز را روشی سودمند در کشت گیاهان دارویی ارزشمند به حساب آورد.

### تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از مسئولین دانشگاه خوارزمی و مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه شاهد تشکر و قدردانی می‌کنند.

### منابع

- de Assis, R. M. A., Carneiro, J. J., Medeiros, A. P. R., de Carvalho, A. A., da Cunha Honorato, A., Carneiro, M. A. C., Bertolucci, S. K. V. and Pinto, J. E. B. P., 2020. Arbuscular mycorrhizal fungi and organic manure enhance growth and accumulation of citral, total phenols, and flavonoids in *Melissa officinalis* L. *Industrial Crops and Products*, 158, pp. 112981.
- Gupta, S., Thokchom, S. D. and Kapoor, R., 2021. Arbuscular mycorrhiza improves photosynthesis and restores alteration in sugar metabolism in *Triticum aestivum* L. grown in arsenic contaminated soil. *Frontiers in Plant Science*, 12, pp. 640379.
- Heng, I., Qiao, Y., Qi, J., Wu, H. and Yang, X., 2015. Effect of AM fungi and different selenium levels on the quality of *Salvia miltiorrhiza* Bge. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research (IJPSR)*, 6, pp. 4174-4180.
- Hu, X., Makita, S., Schelbert, S., Sano, S., Ochiai, M., Tsuchiya, T., Hasegawa, S. F., Hörtensteiner, S., Tanaka, A. and Tanaka, R., 2015. Reexamination of chlorophyllase function implies its involvement in defense against chewing herbivores. *Plant physiology*, 167, pp. 660-670.
- Krishna, H., Singh, S., Sharma, R., Khawale, R., Grover, M. and Patel, V., 2005. Biochemical changes in micropropagated grape (*Vitis vinifera* L.) plantlets due to arbuscular-mycorrhizal fungi (AMF) inoculation during ex vitro acclimatization. *Scientia horticulturae*, 106, pp. 554-567.
- Kumar, A., Mangla, C. and Aggarwal, A., 2015. Significant effect of mycorrhization on some physiological parameters of *Salvia officinalis* Linn. plant. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 4, pp. 90-96.
- Lichtenthaler, H. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Meth Enzimol* 148: 350-382.

**Mathur, S., Sharma, M. P. and Jajoo, A.,2018.** Improved photosynthetic efficacy of maize (*Zea mays*) plants with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) under high temperature stress. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 180, pp. 149-154.

**Moustakas, M., Bayçu, G., Sperdoui, I., Eroğlu, H. and Eleftheriou, E. P.,2020.** Arbuscular mycorrhizal symbiosis enhances photosynthesis in the medicinal herb *Salvia fruticosa* by improving photosystem II photochemistry. *Plants*, 9, pp. 962.

**Pedone-Bonfim, M. V. L., da Silva, F. S. B. and Maia, L. C.,2015.** Production of secondary metabolites by mycorrhizal plants with medicinal or nutritional potential. *Acta physiologiae plantarum*, 37, pp. 1-12.

**Rashidi, S., Yousefi, A. R., Pouryousef, M. and Goicoechea, N.,2022.** Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on the accumulation of secondary metabolites in roots and reproductive organs of *Solanum nigrum*, *Digitaria sanguinalis* and *Ipomoea purpurea*. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 9, pp. 1-11.

**Selvaraj, T. and Chellappan, P.,2006.** Arbuscular mycorrhizae: a diverse personality. *Journal of Central European Agriculture*, 7, pp. 349-358.

**Ye, Q., Wang, H. and Li, H.,2022.** Arbuscular mycorrhizal fungi improve growth, photosynthetic activity, and chlorophyll fluorescence of *vitis vinifera* l. cv. ecolly under drought stress. *Agronomy*, 12, pp. 1563.

## Comparison of Changes in the Content of Photosynthetic Pigments in Two *Salvia* L. Species under the Influence of *Glomus mosseae*

Marzieh Fotovvat<sup>1\*</sup>, Farzaneh Najafi<sup>1</sup>, Ramazan Ali Khavari-Nejad<sup>1</sup>, Daryush Talei<sup>2</sup>, Farhad Rejali<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Department of Plant Sciences, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran

<sup>2</sup> Medicinal Plants Research Center, Shahed University, Tehran, Iran

<sup>3</sup> Soil and Water Research Institute, Karaj, Iran

E-mail: m.fotovvat1@yahoo.com

### Abstract

Nowadays, the optimization of the growth of medicinal plants has attracted the attention of many researchers. Arbuscular mycorrhizal fungi are abundant in the soil of most ecosystems and form mutual symbiosis with the roots of more than 80% of terrestrial plants. Since chlorophyll is an important photosynthetic pigment that is directly related to plant biomass production, in this study the effect of *Glomus mosseae* symbiosis on the content of photosynthetic pigments (chlorophylls *a*, *b*, total chlorophylls and carotenoids) was investigated in two species *Salvia*. For this purpose, the seeds of *S. officinalis* and *S. nemorosa* were planted in soil containing fungal inoculum. After 4 months of growth in a controlled environment, the content of photosynthetic pigments was measured. The results showed that the use of *G. mosseae* increased the content of pigments in both species and the greatest effect was observed in *S. nemorosa*. These results, in addition to confirming the importance of mycorrhizal symbiosis in enhancing photosynthetic activity, showed that the symbiosis of *G. mosseae* with different plant species has different effects on the content of photosynthetic pigments, which could be due to their genetic differences.

**Keywords:** Chlorophyll, Mycorrhizal, *S. nemorosa*, *S. officinalis*, Symbiosis.



## تأثیر باکتری‌های سودوموناس پوتیدا و فلورسنس در سمیت کلرید مس در نعنای سنبله‌ای

مریم حق‌مدد میلانی<sup>1\*</sup>، نسیم سفیدی<sup>2</sup>، محمد کاظم بهرامی<sup>3</sup>، حبیب فرهادی<sup>4</sup> و غلامرضا گوهری<sup>5</sup>

<sup>1\*</sup> - نویسنده مسئول: دانش‌آموخته، کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مراغه.

آدرس پست الکترونیکی [maryam.haghdamad@gmail.com](mailto:maryam.haghdamad@gmail.com)

2 - دانش‌آموخته، کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی میکروبی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مراغه.

3 - استادیار، دکتری تخصصی تکوین، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مراغه.

4 - دانش‌آموخته، کارشناسی ارشد کشاورزی، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه.

5 - دانشیار، دکتری تخصصی فیزیولوژی و اصلاح درختان میوه، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی،

دانشگاه مراغه.

### چکیده

باکتری‌های سودوموناس پوتیدا و سودوموناس فلورسنس از جمله باکتری‌های محرک رشد گیاه هستند که می‌توانند باعث تحریک رشد و افزایش مقاومت گیاهان در برابر تنش‌های محیطی مختلف مانند فلزات سنگین شوند. لذا، این پژوهش در سال 1399 به منظور بررسی تأثیر باکتری‌های سودوموناس پوتیدا و سودوموناس فلورسنس بر کاهش اثرات نامطلوب تنش کلرید مس در گیاه نعنای سنبله‌ای در گلخانه تحقیقاتی گروه علوم و مهندسی باغبانی دانشگاه مراغه اجرا گردید. این پژوهش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار انجام شد. نتایج این پژوهش نشان داد تنش سمیت کلرید مس تأثیر منفی بر رنگیزه‌های فتوسنتزی داشت، در حالی که کاربرد این باکتری‌ها باعث افزایش این شاخص گردید. این باکتری‌ها از طریق افزایش فعالیت مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانسی و محتوای پرولین باعث بهبود عملکرد و رشد گیاه و در نهایت افزایش مقاومت گیاه نعنای سنبله‌ای در برابر تنش کلرید مس شدند. به طور کلی، نتایج این پژوهش نشان داد استفاده از باکتری‌های محرک رشد در مناطقی که گیاهان از مشکل تنش سمیت عنصر سنگین مس خاک رنج می‌برند می‌تواند به عنوان یک راهکار مفید برای افزایش تحمل گیاهان نسبت به تنش فوق در نظر گرفته شوند.

**واژگان کلیدی:** باکتری‌های محرک رشد، فلزات سنگین، کودهای زیستی، گیاهان دارویی.

### مقدمه

نعناع سنبله‌ای (*Mentha spicata* L.)، گیاهی چند ساله، پایدار و علفی است و یکی از گیاهان مهم خانواده نعنائیان به شمار می‌رود (۱). این گیاه دارای خواص مفید زیادی است و از این رو، در بسیاری از صنایع از جمله صنایع مواد غذایی، آرایشی و بهداشتی، شیرینی‌پزی و داروسازی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲). همچنین، از این گیاه برای درمان بسیاری از بیماری‌ها مانند: برونشیت، مشکلات گوارشی، تنفسی، تهوع، ناراحتی‌های کبدی، روماتیسم و اسپاسم عضلات استفاده می‌شود (۳ و ۴). در حال حاضر، در میان عوامل مختلف تنش‌زا برای گیاهان، سمیت فلزات سنگین یک مشکل زیست‌محیطی جهانی محسوب می‌شود. این سمیت عمدتاً ناشی از فعالیت‌های انسانی مانند استخراج معادن، آبیاری با فاضلاب و استفاده از محصولاتی است که حاوی فلزات سنگین با غلظت‌های سمی می‌باشد (۵). یکی از مهمترین جنس‌های باکتری‌های محرک

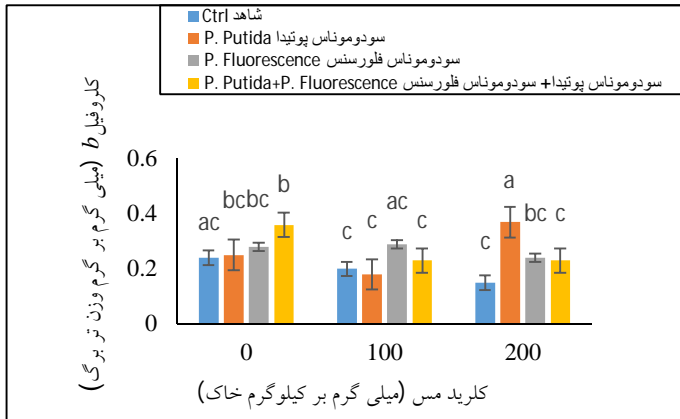
رشد جنس سودوموناس می باشد که در تولید کودهای باکتریایی برای افزایش عملکرد گیاهان مورد استفاده قرار می گیرد و در حال حاضر، این کودها جزء محصولات تجاری محسوب می شوند (6). از آنجایی که نعنای سنبله ای دارای خواص تغذیه ای، آنتی اکسیدانتی و دارویی بالایی می باشد، یافتن روش هایی برای افزایش عملکرد و تحمل این گیاه در مقابل تنش های مختلف محیطی می تواند گامی مهم و ارزشمند در بخش کشاورزی باشد. یکی از راهکارهای موثر برای غلبه بر اثرات نامطلوب تنش کلرید مس، کاربرد باکتری های محرک رشد جنس سودوموناس می باشد که بر رشد و متابولیسم گیاهان مفید می باشد.

## ش ها

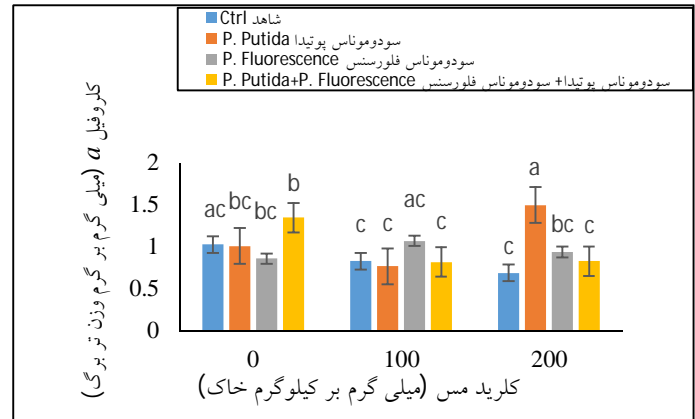
این پژوهش در سال 1399 در گلخانه تحقیقاتی گروه علوم و مهندسی باغبانی در دانشکده کشاورزی دانشگاه مراغه به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار اجرا گردید. به منظور آلوده سازی خاک، محلول کلرید مس در سه غلظت صفر، 100 و 200 میلی گرم بر کیلوگرم خاک تهیه و به طور یکنواخت بر روی خاک موجود در گلدانها اسپری شد و کاملاً با خاک مخلوط گردید. یک ماه پس از کاشت و در مرحله سه برگی، تلقیح خاک با باکتری های محرک رشد صورت گرفت. یک ماه بعد از انجام آخرین مرحله تلقیح و در زمان گلدهی، گیاهان برای اندازه گیری رنگیزه های فتوسنتزی و برخی شاخص های بیوشیمیایی برداشت گردیدند. در نهایت محتوی رنگیزه های فتوسنتزی به روش آرنون (1967) (7)، میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز طبق روش Giannopolitis و Ries (1977) (8)، میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز طبق روش پاندا (2003) (9) و میزان محتوی پرولین با روش بیتس و همکاران (1973) (10) اندازه گیری شد. در نهایت، آنالیز آماری تجزیه واریانس داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS صورت گرفت.

## نتایج و بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان داد با افزایش غلظت کلرید مس و بدون تیمار اختلاف معنی داری در میزان کلروفیل  $a$  و کلروفیل  $b$  وجود نداشت. بیشترین میزان محتوی کلروفیل  $a$  و  $b$  در شرایط تنش 200 میلی گرم بر کیلوگرم خاک و در تیمار سودوموناس پوتیدا مشاهده گردید (شکل 1 و 2). کاهش رنگدانه های فتوسنتزی در شرایط تنش فلزات سنگین ممکن است به دلیل کمبود ناحیه مسئول جذب نور در برگ و فتوسنتز باشد، یا ممکن است به دلیل تخریب کلروفیل با افزایش فعالیت آنزیم های تجزیه کننده کلروفیل (کلروفیلاز) باشد. از دلایل دیگر کاهش رنگدانه های فتوسنتزی در شرایط تنش می توان به انواع گونه های فعال اکسیژن اشاره کرد که موجب تخریب کلروفیل و آسیب به رنگدانه های فتوسنتزی می گردد (11). باکتری های سودوموناس پوتیدا و فلورسنس با افزایش میزان رنگیزه های فتوسنتزی باعث بهبود فتوسنتز در گیاه نعنای سنبله ای شدند. این باکتری ها می توانند گونه های فعال اکسیژن تولید شده را توسط آنزیم های آنتی اکسیدانتی حذف کنند (12).



شکل 2: اثر متقابل غلظت‌های مختلف کلرید مس و باکتری‌های محرک

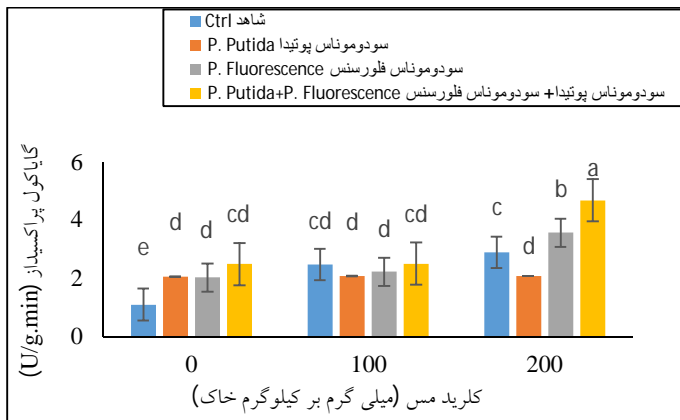


شکل 1: اثر متقابل غلظت‌های مختلف کلرید مس و باکتری‌های محرک

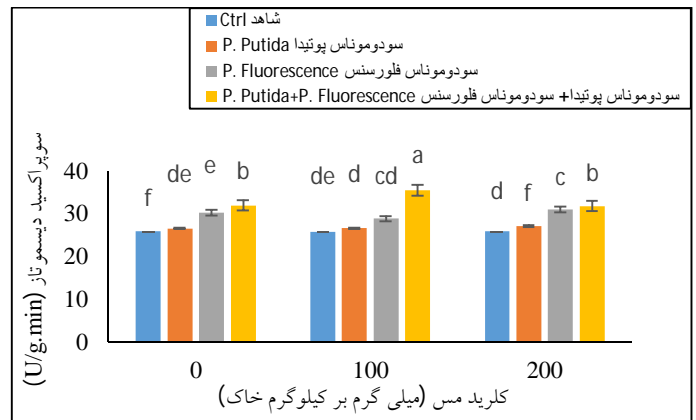
رشد بر میزان محتوی کلروفیل *b* در گیاه نعنای سنبله‌ای

رشد بر میزان محتوی کلروفیل *a* در گیاه نعنای سنبله‌ای

میزان فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و گایاکول پراکسیداز با افزایش غلظت تنش کلرید مس بدون تیمار نسبت به گیاهان در شرایط بدون تنش افزایش یافتند ولی اختلاف معنی‌داری در فعالیت این دو آنزیم در شرایط تنش 100 و 200 میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک و بدون تیمار وجود نداشت. همچنین، بیشترین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در شرایط تنش 100 میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک و در تیمار ترکیبی سودوموناس پوتیدا و فلورسنس بود و بیشترین میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در شرایط تنش 200 میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک و در تیمار ترکیبی سودوموناس پوتیدا و فلورسنس دیده شد (شکل 3 و 4). با قرار گرفتن گیاهان در معرض سمیت مس، پاسخ دفاعی آنتی‌اکسیدانتی گیاهان به دلیل تولید و تجمع گونه‌های فعال اکسیژن افزایش می‌یابد. افزایش سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی به عنوان یک مکانیسم دفاعی ثانویه محسوب می‌شود که با افزایش فعالیت این آنزیم‌ها، آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از تنش مس به حداقل می‌رسند (13).



شکل 4: اثر متقابل غلظت‌های مختلف کلرید مس و باکتری‌های محرک



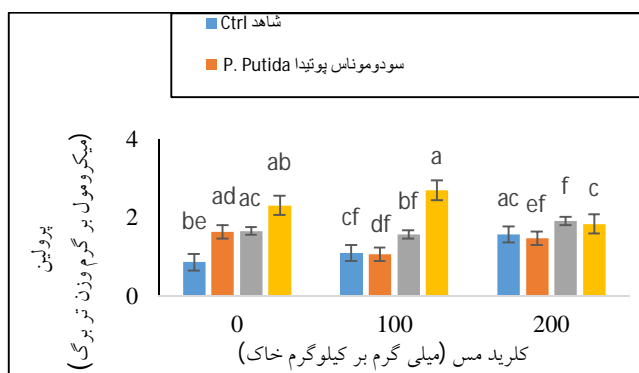
شکل 3: اثر متقابل غلظت‌های مختلف کلرید مس و باکتری‌های محرک

رشد بر میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در گیاه نعنای سنبله‌ای

رشد بر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گیاه نعنای سنبله‌ای

تیمارهای سودوموناس پوتیدا و فلورسنس اثر هم‌افزایی نسبت به تنش کلرید مس در میزان محتوی پرولین داشتند به جز در تیمار سودوموناس پوتیدا در هر دو سطح 100 و 200 میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک تنش کلرید مس (شکل 5).

پرویلین با جلوگیری از تخریب پروتئین‌ها، حفظ تعادل پتانسیل اکسایش-کاهش، حذف رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن، افزایش مقاومت به تنش، جلوگیری از مهار نوری و جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدهای اشباع و اکسیداسیون پروتئین، نقش مثبتی بر کاهش اثرات تنش وارد شده بر گیاهان دارد (۱۴).



شکل 5: اثر متقابل غلظت‌های مختلف کلرید مس و باکتری‌های محرک رشد بر میزان محتوی پرویلین در گیاه نعنای سنبله‌ای. نتیجه‌گیری

براساس نتایج بدست آمده، کاربرد باکتری‌های سودوموناس پوتیدا و فلورسنس از طریق افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی سوپراکسید دیسموتاز و گایاکول پراکسیداز و محتوی پرویلین باعث افزایش میزان کلروفیل *a* و *b* و در نهایت رشد و عملکرد گیاه نعنای سنبله‌ای در شرایط تنش کلرید مس شدند. بنابراین می‌توان گفت کاربرد باکتری‌های سودوموناس پوتیدا و فلورسنس می‌تواند در شرایط تنش فلز سنگین مس باعث بهبود صفات فتوسنتزی و فعالیت آنتی‌اکسیدانتی گیاه نعنای سنبله‌ای شود.

### تشکر و قدردانی

این مقاله به یاد استاد گرانقدرم زنده یاد دکتر محمدکاظم بهرامی که در طول این پژوهش در کنار ما بودند، تقدیم می‌گردد.

### منابع و مراجع مورد استفاده

1. LAWRENCE, B. M. 2006. *Mint: the genus Mentha*, CRC press.
2. Bensabah, F., Houbairi, S., Essahli, M., Lamiri, A. and Naja, J., 2013. Chemical composition and inhibitory effect of the essential oil from *Mentha Spicata* irrigated by wastewater on the corrosion of aluminum in 1 molar hydrochloric acid. *Electrochim. Acta*, 31, pp.195-206.
3. Prakash, O.M., Chandra, M., Pant, A.K. and Rawat, D.S., 2016. Mint (*Mentha spicata* L.) oils. In *Essential oils in food preservation, flavor and safety* (pp. 561-572). Academic Press.
4. Mahboubi, M., 2021. *Mentha spicata* L. essential oil, phytochemistry and its effectiveness in flatulence. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 11(2), pp.75-81.
5. Chibuike, G.U. and Obiora, S.C., 2014. Heavy metal polluted soils: effect on plants and bioremediation methods. *Applied and environmental soil science*, 2014.
6. Rodríguez, H. and Fraga, R., 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology advances*, 17(4-5), pp.319-339.
7. Arnon, A.N., 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy journal*, 23(1), pp.112-121.
8. Giannopolitis, C.N. and Ries, S.K., 1977. Superoxide dismutases: II. Purification and quantitative relationship with water-soluble protein in seedlings. *Plant physiology*, 59(2), pp.315-318.

9. **Panda, S.K., Singha, L.B. and Khan, M.H., 2003.** Does aluminium phytotoxicity induce oxidative stress in greengram (*Vigna radiata*). *Bulgarian Journal of Plant Physiology*, 29(1-2), pp.77-86.
10. **Bates, L.S., Waldren, R.A. and Teare, I.D., 1973.** Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and soil*, 39, pp.205-207.
11. **Usman, K., Al Jabri, H., Abu-Dieyeh, M.H. and Alsafran, M.H., 2020.** Comparative assessment of toxic metals bioaccumulation and the mechanisms of chromium (Cr) tolerance and uptake in *Calotropis procera*. *Frontiers in plant science*, 11, p.883.
12. **Strzalka, K., Kostecka-Gugala, A. and Latowski, D., 2003.** Carotenoids and environmental stress in plants: significance of carotenoid-mediated modulation of membrane physical properties. *Russian Journal of Plant Physiology*, 50, pp.168-173.
13. **Islam, F., Yasmeen, T., Ali, Q., Mubin, M., Ali, S., Arif, M.S., Hussain, S., Riaz, M. and Abbas, F., 2016.** Copper-resistant bacteria reduces oxidative stress and uptake of copper in lentil plants: potential for bacterial bioremediation. *Environmental Science and Pollution Research*, 23, pp.220-233.
14. **Islam, M.M., Hoque, M.A., Okuma, E., Banu, M.N.A., Shimoishi, Y., Nakamura, Y. and Murata, Y., 2009.** Exogenous proline and glycinebetaine increase antioxidant enzyme activities and confer tolerance to cadmium stress in cultured tobacco cells. *Journal of plant physiology*, 166(15), pp.1587-1597.

## **Effect of *Pseudomonas putida* and *Pseudomonas fluorescens* bacteria on copper chloride toxicity in *Mentha spicata* L.**

Maryam Haghmadad Milani<sup>\*1</sup>, Nasim Sefidi<sup>2</sup>, Mohammad Kazem Bahrami<sup>3</sup>, Habib Farhadi<sup>4</sup> and Gholamreza Gohari<sup>5</sup>

\* Corresponding author: Graduate, Master of Science in Plant Physiology, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Maragheh.

2- Graduate, Master of Science in Microbial Biotechnology, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Maragheh.

3-Assistant Professor, PhD. in Development, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Maragheh.

4- Graduate, Master of Science in Horticulture, Department of Horticultural Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Maragheh.

5-Associate Professor, Ph.D. in Physiology and Breeding of Fruit Trees, Department of Horticultural Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Maragheh.

\*Corresponding author: [maryam.haghmadad@gmail.com](mailto:maryam.haghmadad@gmail.com)

### **Abstract**

*Pseudomonas putida* and *Pseudomonas fluorescens* bacteria are plant growth-promoting bacteria. They can stimulate growth and enhance plant resistance to different environmental stresses such as heavy metal toxicity. Therefore, this research was carried out in 2020 in order to investigate the effect of *Pseudomonas putida* and *Pseudomonas fluorescens* bacteria on reducing the adverse effects of copper chloride stress on *Mentha spicata* L. in the research greenhouse of the Horticultural Science and Engineering Department of the University of Maragheh. This research performed as a factorial based on the design of completely randomized blocks with four replications. The results showed that copper chloride toxicity had a negative effect on photosynthetic pigments, while the use of these bacteria increased these parameters. Through increasing the activity of antioxidant mechanisms and proline content, these bacteria improved the yield and growth of the plant and finally increased the resistance of *M. spicata* L. to copper chloride stress. In general, the results of this research showed that the use of growth-promoting bacteria in areas where plants suffer from the stress problem of copper element in the soil can be considered as a useful solution to increase the tolerance of plants to the aforementioned stress.

**Keywords:** Growth-promoting bacteria, Heavy metals, Biological fertilizers, Medicinal plants.

## تاثیر تنش شوری ( $K_2SO_4$ و $KCl$ ) بر پارامترهای فیزیولوژیک گیاه کلزا در شرایط

### کشت مزرعه ای

معصومه سلیمانی ورکی<sup>1</sup>، طاهره السادات آقاجانزاده<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران

<sup>2</sup> دانشیار فیزیولوژی مولکولی گیاهی، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران

\* نویسنده مسئول: دانشیار فیزیولوژی مولکولی گیاهی، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران

آدرس پست الکترونیکی: [t.aghajanzadeh@umz.ac.ir](mailto:t.aghajanzadeh@umz.ac.ir)

### چکیده

تنش شوری رشد و نمو گیاهان را مختل می‌کند و با تولید رادیکال‌های آزاد باعث ایجاد استرس اکسیداتیو در گیاهان می‌شود. پژوهش حاضر در قالب آزمایش فاکتوریل و بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در به صورت کشت مزرعه‌ای اجرا شد. اعمال تیمارها و تنش‌ها نیز از مرحله 5 برگی آغاز و به صورت دوبرار در هفته به مدت 5 ماه انجام شد. نتایج نشان داد که وزن تر و خشک اندام هوایی در گیاهان تیمار شده با  $K_2SO_4$  در غلظت‌های 80 و 120 میلی مولار نسبت به کنترل به طور معنی داری کاهش یافتند. کاهش وزن تر و خشک اندام هوایی در گیاهان تیمار شده با  $K_2SO_4$  نسبت به گیاهان تیمار شده با  $KCl$  در غلظت‌های 80 و 120 میلی مولار به طور معنی داری کاهش یافت. همچنین میزان کلروفیل  $a$  و  $b$  در گیاهان تحت هر دو تیمار  $K_2SO_4$  و  $KCl$  با افزایش غلظت در مقایسه با کنترل کاهش یافت. همچنین میزان فنل و فلاونوئید در گیاهان تحت تیمارهای  $K_2SO_4$  و  $KCl$  با افزایش غلظت نسبت به کنترل افزایش یافت. همچنین میزان پراکسید هیدروژن در گیاهان تیمار شده با  $K_2SO_4$  در غلظت‌های 40، 80 و 120 میلی مولار به ترتیب 1/8، 2 و 2/1 برابر و در گیاهان تیمار شده با  $KCl$  در غلظت 240، 83/3 درصد افزایش یافت.

**واژگان کلیدی:** پارامترهای فیزیولوژیک، کلزا، کلرید پتاسیم، نمک سولفوردار

### مقدمه

حدود 20 درصد از زمینهای کشاورزی جهان تحت تاثیر شوری هستند و سالانه حدود 250 تا 500 هزار هکتار زمینهای کشاورزی در سراسر دنیا در اثر شوری از چرخه تولید محصولات غذایی خارج می‌شوند (1). تنش شوری به صورت کوتاه مدت منجر به پدیده کم‌آبی، پژمردگی و کاهش سرعت رشد در برگ‌های جدید گیاهان می‌شود. اما تنش شوری طولانی مدت می‌تواند باعث ایجاد مسمومیت و افزایش غلظت یون‌ها در برگ‌های پیر شده و در نهایت منجر به ریزش برگ‌ها شود (2). گیاهان زراعی توانایی‌های متفاوتی برای مقاومت در برابر تنش شوری دارند. هنگامی که سطح تنش شوری بیشتر از مقاومت گیاهان باشد، به دلیل آسیب‌های سلولی، عدم تعادل یونی، پراکسیداسیون لیپیدی، تولید گونه‌های فعال اکسیژن، اختلالات متابولیکی و آسیب فشار اسمزی بالا رشد و نمو طبیعی گیاهان محدود می‌شود (3). درک نقش نمک‌های سولفات دار که در آب دریا و همچنین رسوب

مرطوب گازهای گوگرددار اتمسفری وجود دارند نیز در ایجاد شوری و سمیت در گیاهان حائز اهمیت می باشد. هدف از مطالعه حاضر درک بهتر پاسخهای فیزیولوژیکی گیاه زراعی کلزا در مقابل تنش شوری‌های مختلف نمکهای کلرید دار (KCL) و سولفات دار ( $K_2SO_4$ ) می باشد.

#### مواد و روشها

بذرهای کلزا از اداره جهاد کشاورزی ساری تهیه شدند. آزمایش مزرعه ای به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوکهای کامل تصادفی با 3 تکرار اجرا شد. تیمارهای شوری شامل نمک (KCL) در غلظتهای مختلف 80، 160 و 240 میلی مولار و سولفات دار ( $K_2SO_4$ ) در غلظت های 40، 80 و 120 میلی مولار بود که در 3 تکرار انجام شد. میزان پتاسیم نمکها یکسان در نظر گرفته شد. پس از جمع آوری گیاه و انتقال آنها به آزمایشگاه، ریشه از اندام هوایی جدا شده و وزن تر آنها اندازه گیری شده است. جهت تعیین وزن خشک، نمونه های گیاهی به مدت 24 ساعت در دمای 80 درجه سانتی گراد در آون خشک شدند. جهت استخراج کلروفیل a و b از استون 80 درصد استفاده و با استفاده از روش اسپکتروفتومتری در طول موج 663 و 646 نانومتر سنجش شد (4). سنجش میزان فنل با استفاده از روش اسپکتروفتومتری و معرف فولین در طول موج 765 نانومتر و سنجش میزان فلاونوئید با استفاده از روش اسپکتروفتومتری و با استفاده از ترکیبات کلرید آلومینیوم و استات پتاسیم در طول موج 415 نانومتر انجام شد (6 و 5). غلظت پراکسید هیدروژن از طریق معرف یدید پتاسیم در طول موج 390 نانومتر تعیین شد (7).

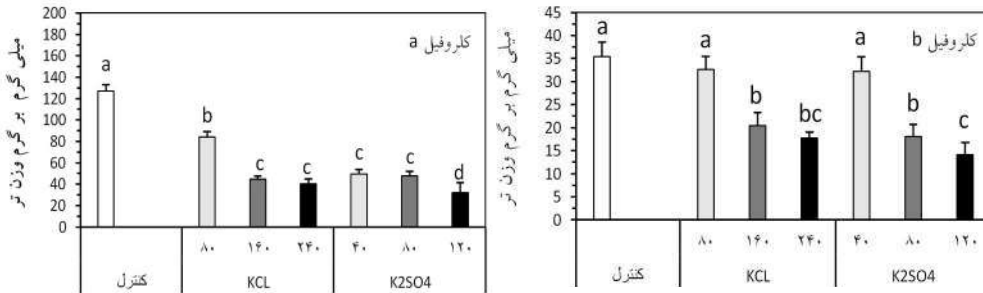
#### نتیجه و بحث

نتایج نشان داد که وزن تر اندام هوایی گیاهان تیمار شده با KCl در غلظت 240 میلی مولار 20/2 درصد نسبت به کنترل کاهش یافت. وزن تر اندام هوایی در گیاهان تیمار شده با  $K_2SO_4$  در غلظت 40، 80 و 120 میلی مولار به ترتیب 17، 29/7 و 38/4 درصد نسبت به کنترل کاهش یافت (جدول 1). نتایج حاصل از وزن تر و خشک نشان داد که سمیت در گیاهان تیمار شده با  $K_2SO_4$  بیشتر از گیاهان تیمار شده با KCl بود.

تیمار	غلظت (میلی مولار)	وزن تر اندام هوایی (گرم)	وزن خشک اندام هوایی (گرم)
کنترل		13/8 ± 0/6 a	8/80 ± 0/77 a
KCl	80	13/0 ± 1/5 ab	7/47 ± 0/09 b
	160	12/4 ± 1/3 ab	6/71 ± 0/34 b
	240	11/0 ± 0/8 b	5/69 ± 0/51 c
$K_2SO_4$	40	11/4 ± 1/1 b	5/92 ± 0/20 bc
	80	9/7 ± 1/0 bc	5/29 ± 0/45 c
	120	8/5 ± 0/7 c	3/94 ± 0/36 d

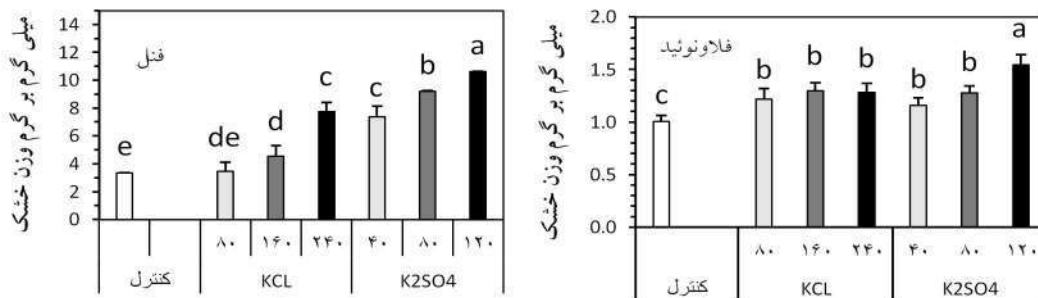
جدول 1: تاثیر تیمار KCl (80، 160 و 240 میلی مولار) و تیمار  $K_2SO_4$  در غلظت های (40، 80 و 120 میلی مولار) بر وزن تر و خشک اندام هوایی گیاه کلزا. حروف متفاوت برای هر پارامتر نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح احتمال یک درصد می باشد.

براساس نتایج بدست آمده میزان کلروفیل a در گیاهان تحت تاثیر تیمار KCl در غلظت 80 میلی مولار، 34 درصد و در غلظت 160 و 240 میلی مولار 65 درصد در مقایسه با کنترل کاهش یافت. اگرچه میزان کلروفیل a در گیاهان تحت تاثیر تیمار  $K_2SO_4$  در مقایسه با کنترل کاهش یافت. (شکل 1) میزان کلروفیل b در گیاهان تیمار شده با KCl در غلظتهای 160 و 240 میلی مولار به ترتیب 43 و 50 درصد در مقایسه با کنترل کاهش یافت. همچنین میزان کلروفیل b در گیاهان تیمار شده با  $K_2SO_4$  در غلظتهای 80 و 120 به ترتیب 49 و 60 درصد کاهش یافت. (شکل 1)



شکل 1: تاثیر تیمار KCl (80، 160، 240 میلی مولار) و  $K_2SO_4$  (40، 80 و 120 میلی مولار) بر میزان کلروفیل a و b در گیاه کلزا. حروف متفاوت روی نمودار ستونی نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح احتمال یک درصد می باشد

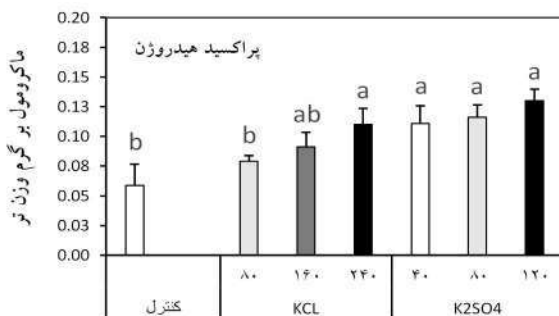
نتایج نشان داد که میزان فنل اندام هوایی در گیاهان تحت تیمار KCl به ترتیب در غلظتهای 160 و 240 میلی مولار 1/3 و 2/3 برابر در مقایسه با کنترل افزایش یافت. اگرچه میزان فنل اندام هوایی در گیاهان تحت تاثیر تیمار  $K_2SO_4$  1/7، 2/2 و 3/1 برابر نسبت به کنترل افزایش یافت (شکل 2). نتایج نشان داد میزان فلاونوئید در گیاهان تحت تیمار KCl در هر سه غلظت 21 درصد در مقایسه با کنترل افزایش یافت. بطوریکه میزان فلاونوئید اندام هوایی در گیاهان تحت تیمار  $K_2SO_4$  با افزایش غلظت به ترتیب 14، 27 و 52 درصد نسبت به کنترل افزایش یافت (شکل 2).



شکل 2: تاثیر تیمار KCl (80، 160، 240 میلی مولار) و تیمار  $K_2SO_4$  (40، 80 و 120 میلی مولار) بر میزان فنل و فلاونوئید اندام هوایی گیاه کلزا. حروف متفاوت روی نمودار ستونی نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح احتمال یک درصد می باشد.

براساس نتایج بدست آمده، میزان پراکسید هیدروژن در گیاهان تیمار شده با KCl در غلظت 80 میلی مولار تفاوت معنی داری با نسبت به کنترل نداشت. درحالیکه در غلظت 160 و 240 میلی مولار 50 و 83 درصد افزایش یافت. اگرچه میزان پراکسید هیدروژن در گیاهان تیمار شده با  $K_2SO_4$  در غلظتهای 40 و 80 و 120 میلی مولار در مقایسه با کنترل افزایش چشمگیری نشان داد (شکل 3)





شکل 3: تاثیر تیمار KCl (160، 80 و 240 میلی مولار) و تیمار  $K_2SO_4$  در غلظت های (40، 80 و 120 میلی مولار) بر میزان پراکسید هیدروژن اندام هوایی گیاه کلزا. حروف متفاوت روی نمودار ستونی نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح احتمال یک درصد می باشد.

### جمع بندی:

پارامترهای رشد، رنگدانه های فتوسنتزی و میزان پراکسید هیدروژن نشان داد که نمک های کلریدی و سولفاتی در گیاه کلزا مخصوصا در غلظتهای بالای به کار برده شده در مطالعه حاضر باعث ایجاد سمیت در گیاه کلزا شد. اگرچه به نظر می رسد که نمک های سولفاتی سمیت بالاتری در مقایسه با نمک کلریدی داشتند.

### فهرست مراجع

- 1) Skaggs, H.T., Van Genuchten, M.Th., Shouse, P. J., and Poss, J.A., 2006. Macroscopic approaches to root water uptake as a function of water and salinity stress. *Agricultural Water Management* 86(1-2): 140- 149.
- 2) Munns, R., 2005. Genes and salt tolerance: bringing them together. *New Phytol* 167:645–663.
- 3) Munns R, Tester M., 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *The Annual of Plant Biology*.651-681.
- 4) Lichtenthaler, H., 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*, 148, 350-382.
- 5) Singleton, V. L., R. Orthofer and R. M. Lamuela-Raventós., 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folinciocalteu reagent. *Methods in enzymology* 299, 152-178.
- 6) Akkol, E. K., Göger, F., Koşar, M., and Başer, K. H. C., 2008. Phenolic composition and biological activities of *Salvia halophila* and *Salvia virgata* from Turkey. *Food Chemistry*, 108(3), 942-949.
- 7) Velikova, V., Yordanov, I., and Edreva, A. J. P. S., 2000. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. *Plant science*, 151(1), 59-66.

## The effect of salinity stress (KCL and K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) on the physiological parameters of canola under field cultivation conditions

Masoumeh soleymani<sup>1</sup>, Tahereh A. Aghajanzadeh<sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup>Master student of Plant Physiology, Department of Plant Science, Faculty of Basic Sciences, University of Mazandaran

<sup>2</sup>Associate Professor of Plant Molecular Physiology, Department of Plant Science, Faculty of Basic Sciences, University of Mazandaran

\*Corresponding author: t.aghajanzadeh@umz.ac.ir

### Abstract

Salt stress disrupts the growth and development of the plants and causes oxidative stress in plants by producing the free radicals. The current research was carried out in the form of a factorial experiment and based on a randomized complete block design in three replications in the form of field cultivation. The application of treatments and stresses also started from the 5-leaf stage and was done twice a week for 5 month The results showed that the fresh and dry weight of the shoot in plants treated with KCL at 240 mM concentration and the fresh and dry weight of the shoot in plants treated with K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> at 80- and 120-mM concentrations were significantly reduced compared to the control. The decrease in fresh and dry weight of the shoots was higher in plants treated with K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> than in plants treated with KCL. The content of the chlorophyll a and b in plants under the influence of both KCL and K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> treatments was decreased with increasing the concentration compared to the control. Also, the content of the phenol and flavonoids in plants treated with KCL and K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> was increased with increasing the concentration compared to the control. Also, the content of hydrogen peroxide in plants treated with K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> at concentrations of 40, 80 and 120 mM was increased by 1.8, 2 and 2.1 times respectively and in plants treated with KCL at a concentration of 240 by 83.3 %.

**Keywords:** Physiological parameters, canola, potassium chloride, sulphurous salt

## بررسی اثر پرایمینگ با عصاره سیانوباکتری *Nostoc sp.* روی برخی پارامترهای رشد گیاهچه‌های ذرت

معصومه قنبری<sup>1</sup>، احسان نظیفی<sup>1\*</sup>، صدیقه کلیج<sup>1</sup>، سعید میرزائزاد<sup>2</sup>

<sup>1</sup> دانشگاه مازندران، دانشکده علوم پایه، گروه علوم گیاهی

<sup>2</sup> دانشگاه مازندران، دانشکده علوم پایه، گروه فیزیک

مؤلف مسئول: استادیار فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه مازندران، دانشکده علوم پایه، گروه علوم گیاهی

[e.nazifi@umz.ac.ir](mailto:e.nazifi@umz.ac.ir)

### چکیده

به منظور افزایش تولید گیاهان زراعی در واحد سطح راه‌های مختلفی وجود دارد که از جمله آنها استفاده از بذر با کیفیت بالاست. پرایمینگ بذر روشی ساده و کم هزینه برای افزایش کیفیت بذر است که در صورت انجام صحیح آن به افزایش عملکرد منجر می‌شود. پرایمینگ بذر به اعمال هر نوع تیماری قبل از کاشت به منظور ارتقاء مؤلفه‌هایی چون جوانه زنی، استقرار اولیه و غیره اطلاق می‌شود. سیانوباکتری جنس *Nostoc* قابلیت تثبیت ازت اتمسفری را دارند. از این رو در این پژوهش از عصاره آبی سیانوباکتری *Nostoc* جهت پرایمینگ بذر استفاده شد و سپس پارامترهای رشد گیاهچه‌های حاصل بررسی گردید. برای تهیه ی عصاره ی سیانوباکتری، مقدار 0/5 گرم از سیانوباکتری آسیاب شده با 100 میلی لیتر آب مقطر به مدت 24 ساعت روی دستگاه شیکر قرار گرفت. تیمارهای مورد استفاده در 6 سطح (صفر، 12/5، 25، 50، 75 و 100 درصد) با 4 تکرار انجام شد. نتایج نشان داد که تیمار با غلظت‌های 50، 75 و 100 درصد عصاره بیشترین میزان وزن تر و خشک ساقه‌چه را داشت در حالی که غلظت‌های مختلف عصاره تفاوت معنی‌داری را در میزان وزن تر و خشک ریشه‌چه‌ها ایجاد نکرد. همچنین غلظت‌های 50 و 100 درصد عصاره بیشترین میزان طول ساقه‌چه و غلظت 100 درصد بیشترین میزان طول ریشه‌چه را نشان داد. نتایج حاضر اشاره دارد به این که استفاده از سیانوباکتری *Nostoc* در پرایمینگ بذرهای ذرت می‌تواند در بهبود پارامترهای رشد گیاهچه‌های ذرت موثر باشد.

**واژگان کلیدی:** پارامترهای رشد، پرایمینگ، جوانه‌زنی، ذرت، سیانوباکتری

### مقدمه

روند افزایشی جمعیت جهان منجر به افزایش تقاضا برای تامین مواد غذایی شده است که تاثیر زیادی بر شیوه‌های کشاورزی و بهره‌وری آن دارد (10). محصولات مبتنی بر مواد شیمیایی به‌طور گسترده‌ای در کشاورزی مورد استفاده قرار گرفته اند یا به‌عنوان محرک رشد گیاه (بهبود عملکرد محصولات زراعی) و یا به عنوان عوامل حفاظت از گیاهان (محافظت از گیاهان در برابر شرایط مختلف تنش). اما اغلب این عوامل سمی هستند و تجمع آنها در گیاهان و خاک می‌تواند تهدیدی برای انسان و محیط زیست باشد (8، 12). استفاده از کودهای شیمیایی، آفت‌کش‌ها و محرک‌های رشد می‌تواند مشکلات زیست محیطی جدی ایجاد کند و منجر به کمبود منابع محدود مانند فسفر و پتاسیم شود و در نتیجه موجب افزایش هزینه‌های بعدی شود. یکی از جایگزین‌های ممکن برای توسعه کشاورزی پایدارتر و بسیار موثر، استفاده از ترکیبات زیستی شناخته شده در تغذیه، حفاظت و تحریک رشد محصولات است (13). در این میان، زیست توده جلبک‌ها و سیانوباکتری‌ها به‌دلیل پتانسیل غیرقابل انکار آنها به‌عنوان منبع مواد مغذی و متابولیت‌های ضروری با فعالیت‌های زیستی

مختلف مورد توجه ویژه قرار گرفته‌اند که می‌تواند به‌طور قابل توجهی عملکرد محصولات را بهبود بخشد (4). در واقع طیف گسترده‌ای از ترکیبات فعال بیولوژیکی استخراج شده از جلبک‌ها و سیانوباکتری‌ها به‌عنوان مثال فنول‌ها، تریپنئیدها، اسیدهای چرب آزاد، پلی‌ساکاریدها، کاروتنوئیدها، مواد شبه‌هورمونی، فیتوهورمون‌ها و پروتئین‌ها اثرات امیدوارکننده‌ای در تولید محصولات زراعی نشان داده‌اند (6، 8، 11). سیانوباکتری *Nostoc* یکی از جنس‌های رشته‌ای غیر منشعب هتروسیست دار است که پراکنش جهانی دارد (2). گونه *N. commune* به‌دلیل فعالیت تثبیت  $N_2$ ، پلی‌ساکارید خارج سلولی، سیستم فتوسنتزی، و به‌ویژه توانایی تحمل خشکی، تصور می‌شود که در کاربردهای کشاورزی بسیار مفید هستند. همه اینها تا حد زیادی به بهبود کیفیت خاک‌های فقیر از مواد مغذی کمک می‌کند (7).

گیاه ذرت (*Zea mays L.*) یکی از مهمترین گیاهان زراعی است که از لحاظ میزان تولید بعد از گندم رتبه دوم، و مکان سوم را بعد از گندم و برنج، از نظر سطح زیر کشت دارد. در سال‌های اخیر نیز کشت ذرت در ایران از اهمیت بیشتری برخوردار گردیده است (3). پرایمینگ بذر روشی ساده و کم هزینه برای افزایش کیفیت بذر است که در صورت انجام صحیح آن به افزایش عملکرد منجر می‌شود. پرایمینگ بذر به اعمال هر نوع تیماری قبل از کاشت به منظور ارتقاء مؤلفه‌هایی چون جوانه‌زنی، استقرار اولیه و غیره اطلاق می‌شود. بذر به واسطه پرایمینگ و پیش از قرار گرفتن در بستر خود به لحاظ فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی دچار تغییر می‌شود که تبعات آنها در گیاه حاصل از آن نیز دیده می‌شود. به طور کلی این موارد را می‌توان در چگونگی جوانه‌زنی، استقرار اولیه گیاهچه، بهره‌برداری بهتر از نهاده‌های محیطی، مقاومت بیشتر در برابر شرایط نامساعد محیطی، رقابت بهتر با علف‌های هرز، زودرسی و افزایش کمی و کیفی محصول مشاهده کرد. با وجود فواید این روش بزرگترین عیب بذرهای پرایم شده این است که نمی‌توان آنها را انبار کرد و بایستی هرچه زودتر بعد از پرایمینگ کشت شوند. یادآوری می‌شود پارامترهایی نظیر پتانسیل اسمزی محلول پرایمینگ، مدت زمان پرایمینگ، دمای پرایمینگ، تهویه محلول پرایمینگ، کنترل عوامل بیماری‌زا در حین پرایمینگ و نحوه خشک کردن بذر پس از پرایمینگ بر میزان تأثیر این تکنیک مؤثرند (1) از اینرو در پژوهش حاضر به منظور افزایش تولید گیاهان زراعی در واحد سطح از پرایمینگ بذر ذرت با غلظت‌های مختلف عصاره آبی گونه *Nostoc sp.* استفاده و سپس پارامترهای رشد گیاهچه‌ها بررسی شد.

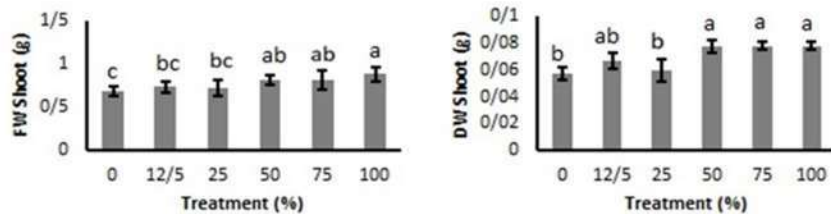
## مواد و روش‌ها

در این آزمایش از بذرهای ذرت رقم هیبرید سینگل کراس 704 از نوع علوفه ای استفاده شد. به منظور بررسی اثر محرک‌های رشد زیستی از عصاره آبی سیانوباکتری *Nostoc sp.* به شکل پرایمینگ استفاده شد. برای تهیه ی عصاره ی سیانوباکتری، مقدار 0/5 گرم از سیانوباکتری آسیاب شده با 100 میلی‌لیتر آب مقطر به مدت 24 ساعت روی دستگاه شیکر قرار گرفت. تیمارهای مورد استفاده در 6 سطح (صفر، 12/5، 25، 50، 75 و 100 درصد) با 4 تکرار انجام شد. ابتدا تمامی بذرها به مدت 2 دقیقه در اتانول 70 درصد ضد عفونی شدند و پس از چند بار شست و شو با آب مقطر به مدت 8 ساعت در غلظت‌های مختلف عصاره ی جلبکی خیسانده شدند. سپس بذرها را با آب مقطر آبکشی نموده و به مدت 2 ساعت در هوای آزاد و در شرایط سایه قرار داده شدند تا کاملاً خشک شوند. در ادامه تعداد 10 عدد بذر را در هر ظرف کشت قرار داده و به آن 10 میلی‌لیتر آب مقطر اضافه کردیم. ظروف کشت در قفسه‌های کشت با دوره نوری 14 ساعت روشنایی و 10 ساعت تاریکی و در دمای 25 درجه سانتیگراد قرار داده شدند. بعد از 6 روز برداشت انجام شد و پارامترهای رشدی گیاهچه شامل درصد جوانه‌زنی طول ساقه‌چه، طول ریشه‌چه، طول گیاهچه، وزن تر گیاهچه، وزن تر ریشه‌چه، وزن تر ساقه‌چه، وزن خشک گیاهچه، وزن خشک ریشه‌چه و وزن خشک ساقه‌چه اندازه‌گیری گردید. معیار جوانه زنی به صورت رویش ریشه‌چه به طول 2 میلی متر در نظر گرفته شد.

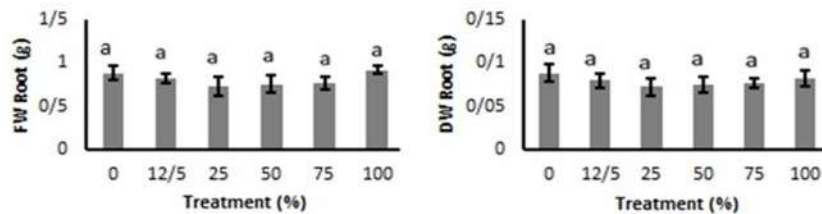
آنالیز آماری داده ها توسط نرم افزار SPSS 18 انجام شد و برای مقایسه میانگین ها از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال 5 درصد استفاده شد.

## نتایج

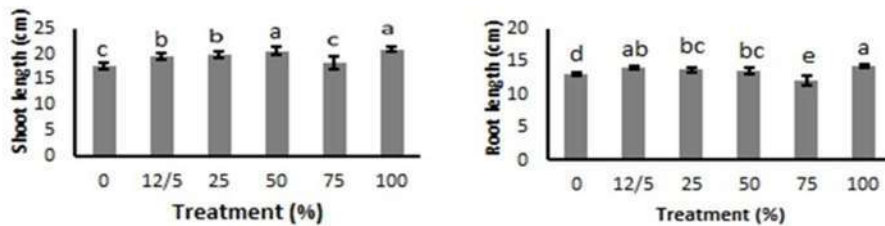
پرایمینگ بذرهای ذرت با غلظت های مختلف عصاره ی *Nostoc sp.* نشان داد که افزایش غلظت عصاره منجر به افزایش وزن تر و وزن خشک ساقه چه شد. به طوری که تیمار با غلظت های 50، 75 و 100 درصد عصاره بیشترین میزان وزن تر و وزن خشک ساقه چه را نشان دادند (شکل 1).



شکل 1. وزن تر و خشک ساقه چه گیاهچه های حاصل از بذرهای پرایمینگ شده با غلظت های مختلف عصاره *Nostoc sp.* پرایمینگ بذرها با غلظت های مختلف عصاره تفاوت معنی داری را در میزان وزن تر و خشک ریشه چه نشان نداد (شکل 2).



شکل 2. وزن تر و خشک ریشه چه گیاهچه های حاصل از بذرهای پرایمینگ شده با غلظت های مختلف عصاره *Nostoc sp.* پرایمینگ بذرها با غلظت های مختلف عصاره منجر به افزایش معنی دار طول ساقه چه و ریشه چه نسبت به نمونه شاهد نیز شد. به طوری که غلظت های 50 و 100 درصد عصاره بیشترین میزان طول ساقه چه و غلظت 100 درصد عصاره بیشترین میزان طول ریشه چه را نشان داد (شکل 3).



شکل 3. طول ساقه چه و ریشه چه گیاهچه های حاصل از بذرهای پرایمینگ شده با غلظت های مختلف عصاره *Nostoc sp.*

## بحث

در پژوهش حاضر پرایمینگ بذرهای ذرت با غلظت های مختلف عصاره ی *Nostoc sp.* منجر به بهبود پارامترهای رشد در گیاهچه های ذرت شد. به طوری که افزایش وزن تر و خشک ساقه چه و افزایش طول ریشه چه و ساقه چه مشاهده شد.

در پژوهشی اثر پرایمینگ با عصاره جلبک دریایی بر مولفه‌های جوانه‌زنی و صفات رشدی گیاهچه گشنیز (*Coriandrum sativum*) در زمان‌های مختلف انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل زمان پرایمینگ در دو سطح (12 و 24 ساعت) و غلظت عصاره جلبک دریایی در 6 سطح بود. در این آزمایش ابتدا محلول عصاره جلبک دریایی در چهار غلظت 1، 2، 3، 4 میلی‌لیتر بر لیتر استفاده شد. پرایمینگ بذرها با عصاره جلبک منجر به افزایش معنی‌دار سرعت و درصد جوانه‌زنی شد. پرایمینگ بذر گشنیز با عصاره جلبک دریایی باعث بهبود ویژگی‌های جوانه‌زنی و گیاهچه گشنیز شد. برای رسیدن به حداکثر جوانه‌زنی غلظت و زمان پرایمینگ مهم بود که بر اساس نتایج این آزمایش 12 ساعت پرایمینگ با 2 میلی‌لیتر عصاره جلبک دریایی بهترین تیمار بود (4).

استفاده از ریزجلبک‌ها و سیانوباکتری‌ها و یا عصاره آنها جدا از اثرات مفید آنها در سطح خاک و محافظت از گیاهان می‌تواند مستقیماً رشد و نمو گیاهان را از طریق بهبود سرعت جوانه‌زنی و ویژگی‌های رشد گیاه مانند افزایش طول ساقه و ریشه، افزایش سطح برگ و محتوای غذایی بالاتر تحریک کند. این پیشرفت‌ها در نتیجه‌ی فعالیت متابولیت‌های ریزجلبک/سیانوباکتری به دست می‌آیند که قادر به تحریک چندین واکنش متابولیکی مانند تنفس، فتوسنتز، سنتز اسید نوکلئیک، تولید کلروفیل و جذب یون‌ها می‌باشد (5).

### نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که استفاده از عصاره سیانوباکتری در پرایمینگ بذرها می‌تواند در بهبود پارامترهای رشد گیاهچه‌های حاصل موثر باشد. به طوری که پرایمینگ بذرها با عصاره سیانوباکتری منجر به افزایش وزن تر و خشک ساقه‌چه شد در حالی که روی وزن تر و خشک ریشه‌چه اثری نداشت. همچنین پرایمینگ بذرها با عصاره سیانوباکتری منجر به افزایش معنی‌داری در طول ساقه‌چه و ریشه‌چه نسبت به شاهد شد.

### منابع و مراجع مورد استفاده

- 1- محسن آذرینا و حمیدرضا عیسوند. (1392). پرایمینگ روشی برای بهبود کیفیت بذر جهت افزایش رشد و عملکرد گیاهان زراعی. نشریه یافته‌های تحقیقاتی در گیاهان زراعی و باغی 2(4): 277-287.
- 2- فیروزه چلبیان و احمد مجد. (1380). تالوفیت‌ها. تهران: آبیژ. 246 ص.
- 3- قربان نورمحمدی، سیادت و کاشانی. (1376). زراعت غلات. انتشارات دانشگاه شهید چمران اهواز. 246 ص.
- 4- عالیه شفیعی پور و کامبیز مشایخی. (1400). بررسی اثر پرایمینگ با عصاره جلبک دریایی بر مولفه‌های جوانه‌زنی و صفات رشدی گیاهچه گشنیز (*Coriandrum sativum*) در زمان‌های مختلف. نشریه تحقیقات بذر 11(1): 44 ص.

5-Górka, B., Korzeniowska, K., Lipok, J., Wiczorek, P.P. (2018). The Biomass of Algae and Algal Extracts in Agricultural Production: *In Algae Biomass. Characteristics and Applications, Science and Business Media LLC*. Berlin, Germany (pp. 103–114). Springer.

6-Gonçalves, A. L. (2021). The Use of Microalgae and Cyanobacteria in the Improvement of Agricultural Practices: A Review on Their Biofertilising, Biostimulating and Biopesticide Roles. *Applied Sciences*, 11, 871-892.

7-Han, X., Zeng, H., Bartocci, P., Fantozzi, F., Yan, Y. (2018). Phytohormones and Effects on Growth and Metabolites of Microalgae. A Review. *Fermentation*, 4, 25

8-Katoh, H., Furukawa, J., Tomita-Yokotani, K. i., & Nishi, Y. (2012). Isolation and purification of an axenic diazotrophic drought-tolerant cyanobacterium, *Nostoc commune*, from natural cyanobacterial crusts and its utilization for field research on soils polluted with radioisotopes. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1817, 1499-1505.

9-Pan, S., Jeevanandam, J., & Danquah, M. K. (2019). Benefits of algal extracts in sustainable agriculture. In *Grand Challenges in Algal Biotechnology* (pp. 501-534). Springer, Cham.

10-Potts, M., & Whitton, B. A. (Eds.). (2007). *The ecology of cyanobacteria: their diversity in time and space*. Springer Science & Business Media.

11-Ronga, D., Biazzi, E., Parati, K., Carminati, D., Carminati, E., & Tava, A. (2019). Microalgal biostimulants and biofertilisers in crop productions. *Agronomy*, 9(4), 192.

12-Singh, R., Parihar, P., Singh, M., Bajguz, A., Kumar, J., Singh, S., ... & Prasad, S. M. (2017). Uncovering potential applications of cyanobacteria and algal metabolites in biology, agriculture and medicine: current status and future prospects. *Frontiers in microbiology*, 8, 515.

13-Win, T. T., Barone, G. D., Secundo, F., & Fu, P. (2018). Algal biofertilizers and plant growth stimulants for sustainable agriculture. *Industrial Biotechnology*, 14(4), 203-211.

## Investigating the effect of priming with the extract of cyanobacterium *Nostoc* sp. on some growth parameters of corn seedlings

### Abstract

In order to increase the production of crops per unit area, there are different ways that use high quality seeds. Seed priming is a simple and low-cost method to increase seed quality that if done correctly, leads to increased yield. Seed priming is applied to any type of treatment before planting in order to enhance components such as germination, initial establishment and so on. The cyanobacteria *Nostoc* species has the ability to stabilize atmospheric nitrogen. Therefore, in this study, the effect of aqueous extract of *Nostoc* green algae as priming and as biofertilizer was investigated at germination stage of maize crop. For preparation of cyanobacteria extract, 0.5 g of cyanobacteria ground with 100 ml distilled water was placed on shaker for 24 hours. The treatments were applied in 6 levels (0, 12.5, 25, 50, 75 and 100%) with 4 replications. The results showed that treatment with 50, 75 and 100 percent of the extract had the highest fresh and dry weight of shoot, while different concentrations of extract did not significantly differ in fresh and dry weight of rootlets. Also, 50 and 100% concentrations of extract showed the highest shoot length and 100% concentration of root length. The results indicate that the use of *Nostoc* sp. in priming of maize seeds can be effective in improving the growth parameters of seedlings.

**Keywords:** Cyanobacteria, Germination, Growth parameters, Maize, Priming

اثر پرایمینگ بذر بر پارامترهای بیوشیمیایی گیاهچه‌های ذرت رقم هیبرید سینگل کراس 704

معصومه قنبری<sup>1</sup>، احسان نظیفی<sup>1\*</sup>، صدیقه کلیج<sup>1</sup>، سعید میرزائزاد<sup>2</sup>

<sup>1</sup>دانشگاه مازندران، دانشکده علوم پایه، گروه علوم گیاهی

<sup>2</sup>دانشگاه مازندران، دانشکده علوم پایه، گروه فیزیک

مؤلف مسئول: استادیار فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه مازندران، دانشکده علوم پایه، گروه علوم گیاهی

[e.nazifi@umz.ac.ir](mailto:e.nazifi@umz.ac.ir)

## چکیده

بذر به واسطه پرایمینگ و پیش از قرار گرفتن در بستر خود به لحاظ فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی دچار تغییر میشود که تبعات آنها در گیاه حاصل از آن نیز دیده می شود. به طور کلی این موارد را می توان در چگونگی جوانه زنی، استقرار اولیه گیاهچه، بهره برداری بهتر از نهاده های محیطی، مقاومت بیشتر در برابر شرایط نامساعد محیطی، رقابت بهتر با علف های هرز، زودرسی و افزایش کمی و کیفی محصول مشاهده کرد. به همین منظور در این تحقیق از بذر های پرایم شده ذرت با عصاره آبی سیانوباکتری *Nostoc sp.* استفاده شد. برای تهیه ی عصاره ی سیانوباکتری، مقدار 0/5 گرم از سیانوباکتری آسیاب شده با 100 میلی لیتر آب مقطر به مدت 24 ساعت روی دستگاه شیکر قرار گرفت. محلول های پرایمینگ مورد استفاده شامل 6 سطح آب مقطر، عصاره نوستوکی 12/5 درصد، 25 درصد، 50 درصد، 75 درصد و 100 درصد در 4 تکرار انجام شد. نتایج نشان داد که به طوری که غلظت 50 درصد عصاره بیشترین میزان کلروفیل a را نشان داد. میزان کلروفیل b در غلظت های 75 و 100 درصد عصاره کاهش یافت. همچنین میزان کاروتنوئید تنها در غلظت 50 درصد افزایش معنی داری را نسبت به شاهد نشان داد. افزایش غلظت عصاره منجر به کاهش ترکیباتی مانند فنول و فلاونوئید شد. نتایج حاضر نشان داد که استفاده از عصاره آبی سیانوباکتری *Nostoc sp.* جهت پرایمینگ بذر ذرت می تواند در افزایش رنگدانه های فتوسنتزی گیاهچه های ذرت موثر باشد.

واژگان کلیدی: پرایمینگ، سیانوباکتری، عصاره آبی، کاروتنوئید، کلروفیل a

## مقدمه

کیفیت بذر به ویژه قوه زیست و قدرت رویش بر استقرار عملکرد گیاهان زراعی تأثیر بسیار زیادی دارد. گیاهان سالم که دارای شبکه ریشه ای توسعه یافته هستند، کارآیی بیشتری در استفاده آب و عناصر غذایی محدود کننده از خاک داشته و شرایط نامساعد مانند دوره های خشکی را بهتر تحمل می کنند. همچنین بین رشد اولیه قوی گیاهچه ها و عملکردهای بالاتر، رابطه مثبت وجود دارد (6). پرایمینگ بذر به عنوان یک راهکار جهت افزایش سرعت تولید و استقرار مطلوب گیاه مطرح است. بنیه، استقرار و تراکم مطلوب گیاهچه را می توان به کمک انواع روش های پرایمینگ بذر که باعث افزایش سرعت و یکنواختی جوانه زنی می شوند بهبود بخشید (7). پرایمینگ، قرار دادن بذر قبل از کاشت در یک محلول با پتانسیل آبی، هورمونی و بیوپرایمینگ است. پرایمینگ می تواند باعث افزایش خروج سریع تر گیاهچه، افزایش درصد جوانه زنی، افزایش سرعت جوانه زنی، تحمل بهتر گیاه به خشکی از طریق توسعه ریشه ها تحت شرایط متغیر محیطی، گلدهی زودتر و افزایش کمی و کیفی عملکرد شود (9). بدین منظور بذرها در آب، هورمون های تحریک کننده یا بازدارنده رشد و یا محلول های مختلف اسمزی خیسانده شده و سپس تا رطوبت اولیه خشکانده می شوند (3، 6).



ذرت یکی از مهمترین گیاهان زراعی هست که برای تولید علوفه غیر مرتعی مورد استفاده قرار می‌گیرد و دانه آن به مصرف تغذیه طیور و بخش هوایی آن پس از برداشت در مرحله شیری شدن دانه برای تولید علوفه سیلویی مصرف می‌شود (1). در نظام‌های کشاورزی پایدار کاربرد کودهای زیستی از اهمیت ویژه‌ای در افزایش تولید محصول و حفظ حاصلخیزی پایدار خاک برخوردار است (14).

جلبک‌ها و سیانوباکتری‌ها، منبع مهمی از ترکیبات زیستی فعال هستند که می‌توانند به‌طور قابل توجهی بهره‌وری کشاورزی را بهبود بخشند. تنوع گسترده‌ای از ترکیبات موجود در آنها همراه با عملکردهای متعددشان در تولید محصولات زراعی، امکان استفاده از آنها را به عنوان عصاره خالص یا به‌عنوان کمپوست خام جلبکی فراهم می‌کند. علاوه بر این، این نوع متابولیت‌ها بر تولید محصولات در سطوح مختلف تاثیر می‌گذارند. برخی از عصاره‌ها و میکروارگانیسم‌ها از طریق بهبود کیفیت خاک، منجر به افزایش بهره‌وری محصولات می‌شوند. سایرین نیز رشد محصولات را از طریق محافظت در برابر شرایط تنش زیستی و غیرزیستی افزایش می‌دهند. همچنین برخی از متابولیت‌ها به‌طور مستقیم بر تحریک رشد گیاه عمل می‌کنند. برخی از گونه‌های جلبک و سیانوباکتری و عصاره‌ی آنها به‌دلیل تاثیر مثبت آنها در سطح خاک باعث بهبود خاک می‌شوند (3، 12، 13). استفاده از ریزجلبک‌ها و سیانوباکتری‌ها و یا عصاره آنها جدا از اثرات مفید آنها در سطح خاک و محافظت از گیاهان می‌تواند مستقیماً رشد و نمو گیاهان را از طریق بهبود سرعت جوانه‌زنی و ویژگی‌های رشد گیاه مانند افزایش طول ساقه و ریشه، افزایش سطح برگ و محتوای غذایی بالاتر تحریک کند. این پیشرفت‌ها در نتیجه‌ی فعالیت متابولیت‌های جلبک/سیانوباکتری به دست می‌آیند که قادر به تحریک چندین واکنش متابولیکی مانند تنفس، فتوسنتز، سنتز اسید نوکلئیک، تولید کلروفیل و جذب یون‌ها می‌باشد (13).

گونه *N. commune* به‌دلیل فعالیت تثبیت  $N_2$ ، پلی‌ساکارید خارج سلولی، سیستم فتوسنتزی، و به‌ویژه توانایی تحمل خشکی، تصور می‌شود که در کاربردهای کشاورزی بسیار مفید هستند (8). از اینرو در پژوهش حاضر اثر پرایمینگ بذر ذرت با عصاره آبی *N. commune* روی میزان متابولیت‌های گیاهی گیاهچه‌های ذرت بررسی شد.

## مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر عصاره سیانو باکتری‌ها به عنوان محرک زیستی بر مولفه‌های بیوشیمیایی ذرت، سیانوباکتری *Nostoc sp.* و بذر ذرت رقم سینگل کراس 704 علوفه ای انتخاب شد. این سیانوباکتری از محوطه دانشگاه مازندران جمع‌آوری و پس از شستشو با آب شهری و آب مقطر، در شرایط سایه خشک شد. سپس با آسیاب برقی پودر شدند و 0,5 گرم از آن با 100 میلی‌لیتر آب مقطر به مدت 24 ساعت روی دستگاه شیکر عصاره‌گیری شدند. محلول‌های پرایمینگ مورد استفاده شامل 6 سطح آب مقطر، عصاره نوستوکی 12,5 درصد، 25 درصد، 50 درصد، 75 درصد و 100 درصد در 4 تکرار انجام شد. بذرها به مدت 2 دقیقه با اتانول 70 درصد ضد عفونی شدند و پس از شست و شو با آب مقطر، به مدت 8 ساعت در غلظت‌های مختلف عصاره ی جلبکی قرار گرفتند. سپس بذرها را با آب مقطر آبکشی نموده و به مدت 2 ساعت در هوای آزاد و در شرایط سایه قرار داده شدند تا کاملاً خشک شوند. تعداد 10 عدد بذر در هر ظرف کشت قرار گرفت و به آن 10 میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. ظروف کشت در قفسه‌های کشت با دوره نوری 14 ساعت روشنایی و 10 ساعت تاریکی با دمای 25

درجه سانتیگراد به مدت 6 روز قرار گرفتند. به منظور سنجش کلروفیل a, b و کاروتنوئید، 0,10 گرم برگ در 6 میلی لیتر متانول 90 درصد سائیده شد و سپس به مدت 10 دقیقه در دستگاه اولتراسونیک قرار گرفت. بعد از 5 دقیقه سانتریفیوژ با سرعت 4000 دور بر دقیقه، محلول رویی جدا شد. میزان جذب عصاره به دست آمده در طول موج‌های 665، 652 و 470 نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده شد و با فرمول‌های زیر میزان کلروفیل a, b و کاروتنوئید محاسبه شد.

$$Ca = 16,82 A_{665.2} - 9,28 A_{652.4} \quad (1)$$

$$Cb = 36,92 A_{652.4} - 16,54 A_{665} \quad (2)$$

$$C(x+c) = (1000 A_{470} - 1,91 Ca - 95,15 Cb)/225 \quad (3)$$

به منظور سنجش فنول و فلاونوئید، 0,10 گرم برگ در 6 میلی لیتر متانول 80 درصد سائیده شد و سپس به مدت 10 دقیقه در دستگاه اولتراسونیک قرار گرفت. بعد از 5 دقیقه سانتریفیوژ با سرعت 4000 دور بر دقیقه، محلول رویی جدا شد. جهت سنجش فنول از روش رنگ سنجی Folin-Ciocalteu و جهت سنجش فلاونوئید از روش رنگ سنجی کلراید آلومینیوم استفاده شد.

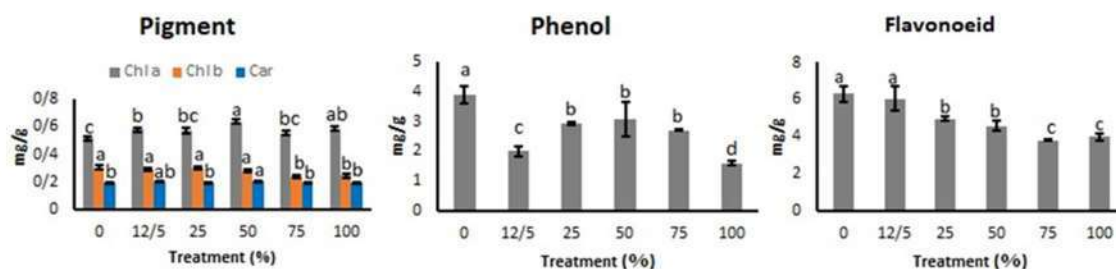
تجزیه آماری داده ها توسط نرم افزار SPSS انجام شد و برای مقایسه میانگین ها از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال 5 درصد استفاده شد.

## نتایج

پرایمینگ بذرهای ذرت با غلظت‌های مختلف *Nostoc sp.* تغییراتی را در میزان متابولیت‌های موجود در گیاهچه‌های ذرت در مقایسه با نمونه‌ی شاهد نشان داد.

تیمار با غلظت‌های مختلف عصاره‌ی *Nostoc sp.* منجر به افزایش معنی‌دار میزان کلروفیل a در مقایسه با نمونه‌ی شاهد شد. به طوری که غلظت 50 درصد عصاره بیشترین میزان کلروفیل a را نشان داد.

میزان کلروفیل b در غلظت‌های 12,5، 25 و 50 درصد تفاوت معنی‌داری با نمونه شاهد نداشت و در غلظت‌های 75 و 100 درصد کاهش یافت. میزان کاروتنوئید کل نیز تنها در غلظت 50 درصد افزایش معنی‌داری را نسبت به نمونه شاهد نشان داد. محتوای فنول و فلاونوئید کل گیاهچه‌های حاصل از پرایمینگ بذرها در اغلب تیمارها کاهش معنی‌داری را نسبت به نمونه شاهد نشان داد و افزایش غلظت عصاره منجر به کاهش این ترکیبات شد.



شکل 1. متابولیت‌های حاصل از بذرهای پرایمینگ شده با غلظت‌های مختلف عصاره آبی *Nostoc sp.*

در این پژوهش پرایمینگ بذرهای ذرت با غلظت‌های مختلف عصاره *Nostoc .sp* انجام شد و نتایج نشان داد که میزان کلروفیل **a** و کاروتنوئید در مقایسه با نمونه‌های شاهد افزایش معنی‌داری یافت. این تیمارها منجر به افزایش میزان رنگدانه‌های کلروفیل **b**، فنول و فلاونوئید در مقایسه با نمونه‌های شاهد نشد و افزایش غلظت عصاره منجر به کاهش میزان آن‌ها شد.

در پژوهشی پرایمینگ بذرهای گیاه *Lupinus termis* تیمار شده با عصاره *Anabaena oryzae* و *Cylindrospermum muscicula* انجام شد و منجر به افزایش میزان کلروفیل **a** و **b**، کلروفیل کل و کاروتنوئید کل شد که به اسید جیبرلیک ترشح شده توسط این سیانوباکتری‌ها نسبت داده شد (10).

زیست توده ریز جلبک‌ها و سیانوباکتری‌ها به دلیل پتانسیل غیرقابل انکار آنها به عنوان منبع مواد مغذی و متابولیت‌های ضروری با فعالیت‌های زیستی مختلف مورد توجه ویژه قرار گرفته‌اند که می‌تواند به‌طور قابل توجهی عملکرد محصولات را بهبود بخشد (4). در واقع طیف گسترده‌ای از ترکیبات فعال بیولوژیکی استخراج شده از جلبک‌ها و سیانوباکتری‌ها به عنوان مثال فنول‌ها، تریپنوئیدها، اسیدهای چرب آزاد، پلی‌ساکاریدها، کاروتنوئیدها، مواد شبه‌هورمونی، فیتوهورمون‌ها و پروتئین‌ها اثرات امیدوارکننده‌ای در تولید محصولات زراعی نشان داده‌اند (11).

#### نتیجه‌گیری

نتایج حاضر نشان داد که استفاده از عصاره آبی جلبک سبز آبی *Nostoc .sp* جهت پرایمینگ بذر ذرت می‌تواند در افزایش رنگدانه‌های فتوسنتزی گیاهچه‌های ذرت موثر باشد. پرایمینگ بذر با عصاره سیانوباکتری منجر به افزایش کلروفیل **a** و کاروتنوئید شد در حالی که محتوای فنول و فلاونوئید کل گیاهچه‌های حاصل در اغلب تیمارها کاهش معنی‌داری را نسبت به نمونه شاهد نشان داد.

#### منابع و مراجع مورد استفاده

- 1- بی نام (1384). آمارنامه کشاورزی. جلد اول محصولات زراعی و باغی (سال زراعی 83-1382). نشریه شماره 83/06 دفتر آمار و فناوری و اطلاعات معاونت برنامه‌ریزی و اقتصادی وزارت جهاد کشاورزی تهران.
- 2- حمیدرضا عیسوند، محسن آذرنیا و فرهاد نظریانفروزآبادی (1390). بررسی اثر جیبرلین و اسیدآبسیسیک بر سبز شدن و برخی خصوصیات فیزیولوژیکی بذر و گیاهچه نخود در شرایط دیم و آبی. مجله علوم گیاهان زراعی ایران 42 (4): 789-797

3-Baweja, P., Kumar, S., Kumar, G., Giri, B., Prasad, R., Wu, Q.-S., Varma, A., Eds. (2019). Organic fertilizer from algae. A novel approach towards sustainable agriculture: *In Biofertilizers for Sustainable Agriculture and Environment*. Cham, Switzerland (pp. 353–370). Springer.

4-Gonçalves, A. L. (2021). The Use of Microalgae and Cyanobacteria in the Improvement of Agricultural Practices: A Review on Their Biofertilising, Biostimulating and Biopesticide Roles. *Applied Sciences*, 11, 871-892.

5-Górka, B., Korzeniowska, K., Lipok, J., Wiczorek, P.P. (2018). The Biomass of Algae and Algal Extracts in Agricultural Production: *In Algae Biomass. Characteristics and Applications*, Science and Business Media LLC. Berlin, Germany (pp. 103–114). Springer.

6-Harris, D, Tripathi RS, Joshi A (2000) On-farm seed priming to improve crop establishment and yield in direct-seeded rice, in IRRI: International Workshop on Dry-seeded Rice Technology, held in Bangkok, 25-28 January 2000 International Rice Research Institute, Manila, Philippines, 164 pp.

7-Heydecker W, Coolbear P (1978) Seed treatment for improved performance: Survey and attempted prognosis. Seed Sci. Technol. 5: 353-425.

8-Katoh, H., Furukawa, J., Tomita-Yokotani, K. i., & Nishi, Y. (2012). Isolation and purification of an axenic diazotrophic drought-tolerant cyanobacterium, *Nostoc commune*, from natural cyanobacterial crusts and its utilization for field research on soils polluted with radioisotopes. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1817, 1499-1505.

9-Musa AM, Harris D, Johansen C, Kumar J (2001) Short duration chickpea to replace fallow after Aman rice: the role of on-farm seed priming in the High Barind Tract of Bangladesh. Exp. Agri. 37: 509-521.

10-Martinez, G.A., Chaves, A.R. and An-on, M.C. (1996) Effect of exogenous application of gibberellic acid on color change and phenylalanine ammonia-lyase, chlorophyllase, and peroxidase activities during ripening of strawberry fruit (*Fragaria x ananassa* Duch.). *J Plant Growth Regul* 15, 139-146.

11-Pan, S., Jeevanandam, J., & Danquah, M. K. (2019). Benefits of algal extracts in sustainable agriculture. In *Grand Challenges in Algae Biotechnology* (pp. 501-534). Springer, Cham.

12-Priya, M., Gurung, N., Mukherjee, K., & Bose, S. (2014). Microalgae in removal of heavy metal and organic pollutants from soil: In *Microbial Biodegradation and Bioremediation*, Das, S., Ed., Oxford, UK (pp. 519-537). Elsevier.

13-Renuka, N., Guldhe, A., Prasanna, R., Singh, P., & Bux, F. (2018). Microalgae as multi-functional options in modern agriculture: current trends, prospects and challenges. *Biotechnology advances*, 36(4), 1255-1273.

14-Sharma, A.K. (2003) Biofertilizers for Sustainable Agriculture. Updesh Purohit for Agrobios, Jodhpur, 41-46.

## The effect of seed priming on biochemical parameters of hybrid maize single cross 704 seedlings

### Abstract

Seed is changed physiologically and biochemically by priming and before being placed in its bed, which can be seen in the resulting plant. In general, these factors can be seen in the way of germination, seedling initial establishment, better utilization of environmental inputs, better resistance to adverse environmental conditions, better competition with weeds, early maturity and increase in quantitative and qualitative yield. For this purpose, primed corn seeds were used in priming solutions of aqueous extract of *Nostoc sp.* cyanobacteria. For preparation of cyanobacteria extract, 0.5 g of cyanobacteria milled with 100 ml distilled water was placed on shaker machine for 24 hours. Priming solutions including 6 levels of distilled water, Nosoki extract (12.5%), 25%, 50%, 75% and 100% in 4 replications were performed. The results showed that the concentration of 50% of the extract showed the highest chlorophyll a content. Chlorophyll b content decreased in concentrations of 75 and 100% of the extract. Also, carotenoid content at 50% concentration showed a significant increase compared to the controls. Increasing the concentration of the extract led to a reduction in compounds such as phenol and flavonoids. The results showed that the use of aqueous extract of *Nostoc sp.* for priming of maize seeds can be effective in increasing the photosynthetic pigments of corn seedlings.

**Keywords:** Aqueous extract, Carotenoid, Chlorophyll a, Cyanobacteria, Priming

## بررسی تاثیر سیلیس و نانو ذرات سیلیس بر رنگدانه های فتوستتزی و جذب برخی عناصر در گیاهچه های گندم تحت تنش شوری

معصومه هاشم زاده<sup>1</sup>، محمود ملکی<sup>2</sup>، مهدی رحیمی<sup>2</sup>

(1) دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان

(2) گروه بیوتکنولوژی، پژوهشکده علوم محیطی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان، ایران.

### چکیده:

گندم یک گیاه نسبتاً حساس به تنش های غیر زنده است و به طور مستقیم در این تنش ها عملکرد آن کاهش می یابد. نقش مفید سیلیکون در تحقیقات مختلف به اثبات رسیده است. بنابراین آزمایش حاضر به منظور بررسی اثر سیلیکون بر جذب عناصر مختلف و نیز محتوی کلروفیل و کاروتنوئید در گیاهچه های گندم (رقم پیشتاز) تحت تنش شوری انجام شد. بدین منظور آزمایشی فاکتوریل سه عاملی (سیلیس اکسید به عنوان عامل اول در چهار سطح، نانوذره سیلیس اکسید به عنوان عامل دوم در چهار سطح و تنش شوری به عنوان عامل سوم در دو سطح) بر پایه طرح بلوک های کامل تصادفی با سه تکرار در گلدان بر روی گندم نان رقم پیشتاز در گلخانه تحقیقاتی در سال 1401 انجام شد. صفات کلروفیل آ، ب، کل، محتوی کاروتنوئید، یون سدیم، یون پتاسیم و یون آهن اندازه گیری و مورد تحلیل آماری قرار گرفتند. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تفاوت معنی داری بین اثرات متقابل سه گانه صفات مورد مطالعه در سطح یک درصد وجود دارد. مقایسه میانگین ها نشان داد که تیمار 15 میلی گرم بر لیتر نانو سیلیس در غیاب سیلیس (a2b1c2) بیشترین میزان کلروفیل آ و تیمار 45 mg/L سیلیس و نانو سیلیس (a2b4c4) بیشترین میزان کلروفیل ب، کلروفیل کل و کاروتنوئید را تحت تنش شوری نشان دادند. تیمارهای سیلیس و نانو سیلیس تا حد زیادی محتوی سدیم در بافت برگ را کاهش داده اند. در شرایط تنش شوری تیمارهای 15 میلی گرم بر لیتر سیلیس و 30 میلی گرم بر لیتر نانو سیلیس (a2b3c2) بیشترین میزان یون پتاسیم را نشان دادند. در شرایط تنش شوری تیمارهای 15 میلی گرم بر لیتر سیلیس و 45 میلی گرم بر لیتر نانو سیلیس (a2b2c4) بیشترین میزان محتوی آهن را نشان دادند. نتایج این مطالعه نشان دهنده پتانسیل بالای تیمار همزمان گیاهان زراعی با سیلیس اکسید و نانوذره سیلیس اکسید تحت شرایط تنش شوری است.

کلمات کلیدی: تنش شوری، سیلیس، گندم، کلروفیل.

### مقدمه

گندم (*Triticum aestivum* L.) یک محصول محبوب در سراسر جهان است. مهمترین عوامل محیطی که به تولید محصولات زراعی آسیب می رساند شوری خاک، دما، خاک غیر حاصلخیز و کمبود منابع آبی است، اما تحقیقات برای غلبه بر این شرایط و رشد بهتر

محصولات با تولید کارآمد برای رفع نیاز مردم در حال انجام است. تنش شوری یک تهدید زیست محیطی برای همه انواع مواد غذایی در سراسر جهان است. شوری باعث ایجاد سمیت یونی در گیاهان و کاهش عملکرد گیاه می شود. این کاهش به دلیل از دست دادن فعالیت کلروپلاست، تغییرات متابولیکی مانند افزایش ROS و کاهش در واکنش های فتوسنتزی ایجاد می شود (1).

تا کنون رویکردهای مختلفی در برابر تنش شوری بکار گرفته شده اند و مکمل سیلیکون (Si) یکی از آنهاست. تحت تنش شوری کاربرد Si به طور قابل توجهی تولید ROS را کاهش می دهد (2). تحمل به شوری در گندم با به کار بردن سیلیکون افزایش یافته است که این افزایش تحمل به کاهش جذب یون سدیم و افزایش جذب یون پتاسیم، بهبود محتوی کلروفیل و افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی نسبت داده شده است که در نهایت باعث افزایش رشد گندم شده است (3). هدف از این مطالعه بررسی اثر سیلیکون بر جذب عناصر مختلف و نیز محتوی کلروفیل و کاروتنوئید در گیاهچه های گندم (رقم پیشتاز) تحت تنش شوری بود.

### مواد و روشها

این مطالعه به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد. بذور گندم با الکل 70% به مدت 30 ثانیه ضد عفونی شدند و پس از طی شدن این مدت، سه بار بذور را با آب مقطر و هر بار به مدت دو دقیقه شستشو شدند. بذرها در عمق دو سانتیمتر از سطح گلدان در پرلیت کشت شدند. آبیاری اولیه تا ظهور گیاهچه ها با آب معمولی انجام شد. بعد از جوانه زنی و ظاهر شدن سبزینگی آبیاری با استفاده از محلول هوگلند انجام گرفت. در مرحله دو برگی، ابتدا تیمارهای  $SiO_2$  ( $b1=0$ ،  $b2=15$ ،  $b3=30$  و  $b4=45$  میلی گرم بر لیتر) و نانوذرات  $SiO_2$  ( $c1=0$ ،  $c2=15$ ،  $c3=30$  و  $c4=45$  میلی گرم بر لیتر) با حل شدن در محلول هوگلند اعمال گردیدند. لازم به ذکر است که ابتدا محلول غلیظ اولیه از سیلیکون دی اکسید و نانو سیلیکون دی اکسید با غلظت 2000 میلی گرم بر لیتر تهیه شد و سپس از این محلول اولیه برای تهیه محلول های مورد نظر استفاده گردید. محلول هوگلند بدون نانوذرات  $SiO_2$  به عنوان شاهد استفاده شد. سه تکرار از هر تیمار در نظر گرفته شد. پس از انجام یک هفته تیماردهی سیلیس و نانوسیلیس، تنش شوری در دو سطح صفر و 100 میلی مولار ( $a1=0$  و  $a2=100$ ) اعمال گردید. تنش شوری به تدریج به گیاهچه اعمال گردید. تنش شوری نیز مانند تیماردهی قبلی به مدت هفت روز اعمال گردید. در نهایت پس از هفت روز اعمال تنش شوری، صفات کلروفیل آ، ب، کل، محتوی کاروتنوئید، یون سدیم، یون پتاسیم و یون آهن اندازه گیری شدند. سپس تمامی داده ها با استفاده از نرم افزارهای Excel و SAS آنالیز شدند.

### نتایج و بحث

مقایسه میانگین اثر متقابل سه گانه سیلیس × نانوذره سیلیس × تنش شوری نشان داد که در شرایط نرمال تیمار 30 میلی گرم بر لیتر سیلیس در غیاب نانوسیلیس ( $a1b3c1$ ) و در شرایط تنش شوری تیمار 15 میلی گرم بر لیتر نانوسیلیس در غیاب سیلیس ( $a2b1c2$ ) بیشترین میزان کلروفیل آ را نشان دادند (شکل A-1). مقایسه میانگین اثر متقابل سه گانه نشان داد که در شرایط نرمال تیمارهای 45 میلی گرم بر لیتر سیلیس و 45 میلی گرم بر لیتر نانوسیلیس ( $a1b4c4$ ) و در شرایط تنش شوری تیمارهای 45 میلی گرم بر لیتر

سیلیس و 45 میلی گرم بر لیتر نانوسیلیس (a2b4c4) و 45 میلی گرم بر لیتر سیلیس و 30 میلی گرم بر لیتر نانوسیلیس (a2b4c3) بیشترین میزان کلروفیل ب را نشان دادند (شکل B-1). همچنین، در شرایط نرمال تیمارهای 45 میلی گرم بر لیتر سیلیس و 45 میلی گرم بر لیتر نانوسیلیس (a1b4c4) و 45 میلی گرم بر لیتر سیلیس و 15 میلی گرم بر لیتر نانوسیلیس (a1b4c2) بیشترین مقدار کلروفیل کل را نشان دادند و در شرایط تنش شوری تیمارهای 45 میلی گرم بر لیتر سیلیس و 45 میلی گرم بر لیتر نانوسیلیس (a2b4c4) بیشترین میزان کلروفیل کل را نشان دادند (شکل C-1). مقایسه میانگین اثر متقابل سه گانه سیلیس × نانوذره سیلیس × تنش شوری نشان داد که در شرایط نرمال تیمارهای 45 میلی گرم بر لیتر سیلیس و 45 میلی گرم بر لیتر نانوسیلیس (a1b4c4) و در شرایط تنش شوری تیمارهای 45 میلی گرم بر لیتر سیلیس و 45 میلی گرم بر لیتر نانوسیلیس (a2b4c4) بیشترین میزان کاروتنوئید را نشان دادند (شکل D-1).

تیمار تنش شوری بدون اعمال تیمارهای سیلیس و نانو سیلیس (a2b1c1) بیشترین مقدار محتوی سدیم را به خود اختصاص دادند (شکل E-1). مقایسه میانگین اثر متقابل سه گانه نشان داد که در شرایط نرمال تیمار 15 میلی گرم بر لیتر سیلیس و بدون حضور نانوسیلیس (a1b2c1) و در شرایط تنش شوری تیمارهای 15 میلی گرم بر لیتر سیلیس و 30 میلی گرم بر لیتر نانوسیلیس (a2b3c2) بیشترین میزان یون پتاسیم را نشان دادند (شکل F-1). مقایسه میانگین اثر متقابل سه گانه سیلیس × نانوذره سیلیس × تنش شوری نشان داد که در شرایط نرمال تیمارهای 15 میلی گرم بر لیتر سیلیس و 15 میلی گرم بر لیتر نانوسیلیس (A1B2C2)، 15 میلی گرم بر لیتر نانوسیلیس و بدون حضور سیلیس (A1B1C2) و 45 میلی گرم بر لیتر سیلیس در غیاب نانوسیلیس (A1B4C1) بیشترین مقدار محتوی آهن را به خود اختصاص دادند. در شرایط تنش شوری تیمارهای 15 میلی گرم بر لیتر سیلیس و 45 میلی گرم بر لیتر نانوسیلیس (A2B2C4) بیشترین میزان محتوی آهن را نشان دادند (شکل G-1).

محصولاتی که معمولاً در شرایط تنش شوری رشد می کنند، ممکن است به مشکلات مختلفی از جمله سمیت و از دست دادن تولید دچار شوند. تنش شوری همچنین مسئول کاهش محتوای کلروفیل است و به واکنش فتوستتوز در برگها آسیب می رساند (1). سیلیکون اگرچه عنصر ضروری در رشد گندم نیست، اما کاربرد آن برای رشد گیاه مفید است. پتانسیل گیاه را در برابر تنش شوری افزایش می دهد. در مطالعه حاضر اثر سیلیکون در شرایط شور و غیر شور مشهود بود. هنگامی که سیلیکون در گندم استفاده شد، محتوای کلروفیل، کاروتنوئید و میزان جذب یونهای پتاسیم و آهن را بهبود بخشید. همچنین از جذب میزان بالای یون سدیم جلوگیری کرد. در مطالعه دیگری، تنها غلظت بالاتر NaCl باعث کاهش قابل توجهی در غلظت کلروفیل کل (Chla + Chlb) شد و استفاده از سیلیکون در گیاهان تحت تنش، محتوای آن را به میزان قابل توجهی به سطح قابل مقایسه با میزان ثبت شده برای شاهد افزایش داد (4). همچنین تیمار سیلیکون باعث افزایش محتوی یون پتاسیم در گیاهچه های گندم تحت تنش شوری شد (5).

نتیجه گیری:

نتایج این تحقیق حاکی از تأثیر مثبت سیلیکون بر گندم‌های رشد یافته تحت تنش شوری بود. سیلیکات سدیم می‌تواند به عنوان یک منبع کارآمد سیلیکون برای کاهش اثر تنش شوری استفاده شود و می‌تواند برای بهبود رشد ارقام گندم کشت شده در مناطق شور مورد استفاده قرار گیرد.

#### منابع:

1. Parida AK, Das AB (2005) Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology*.
2. Gunes A, Inal A, Bagci EG, Pilbeam DJ (2007) Silicon-mediated changes of some physiological and enzymatic parameters symptomatic for oxidative stress in spinach and tomato grown in sodic-B toxic soil. *Plant Soil* 290(1–2):103–114.
3. Ali A, ul Haq T, Mahmood R, Jaan M, Abbas MN (2016) Stimulating the anti-oxidative role and wheat growth improvement through silicon under salt stress. *Silicon*:1–4
4. Sienkiewicz-Cholewa, U., Sumisławska, J., Sacala, E., Dziagwa-Becker, M. and Kieloch, R., 2018. Influence of silicon on spring wheat seedlings under salt stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 40, pp.1-8.
5. Am, D., Mm, H., N, S. and AA, E.A., 2018. Effect of silicon on the tolerance of wheat (*Triticum aestivum* L.) to salt stress at different growth stages: case study for the management of irrigation water. *Plants*, 7(2), p.29.

#### **Studying the impact of silica and silica nanoparticles on photosynthetic pigments and the absorption of certain elements in wheat seedlings under salt stress**

Masoumeh Hashemzadeh<sup>1</sup>, Mahmood Maleki<sup>2</sup> Mehdi Rahimi<sup>2</sup>

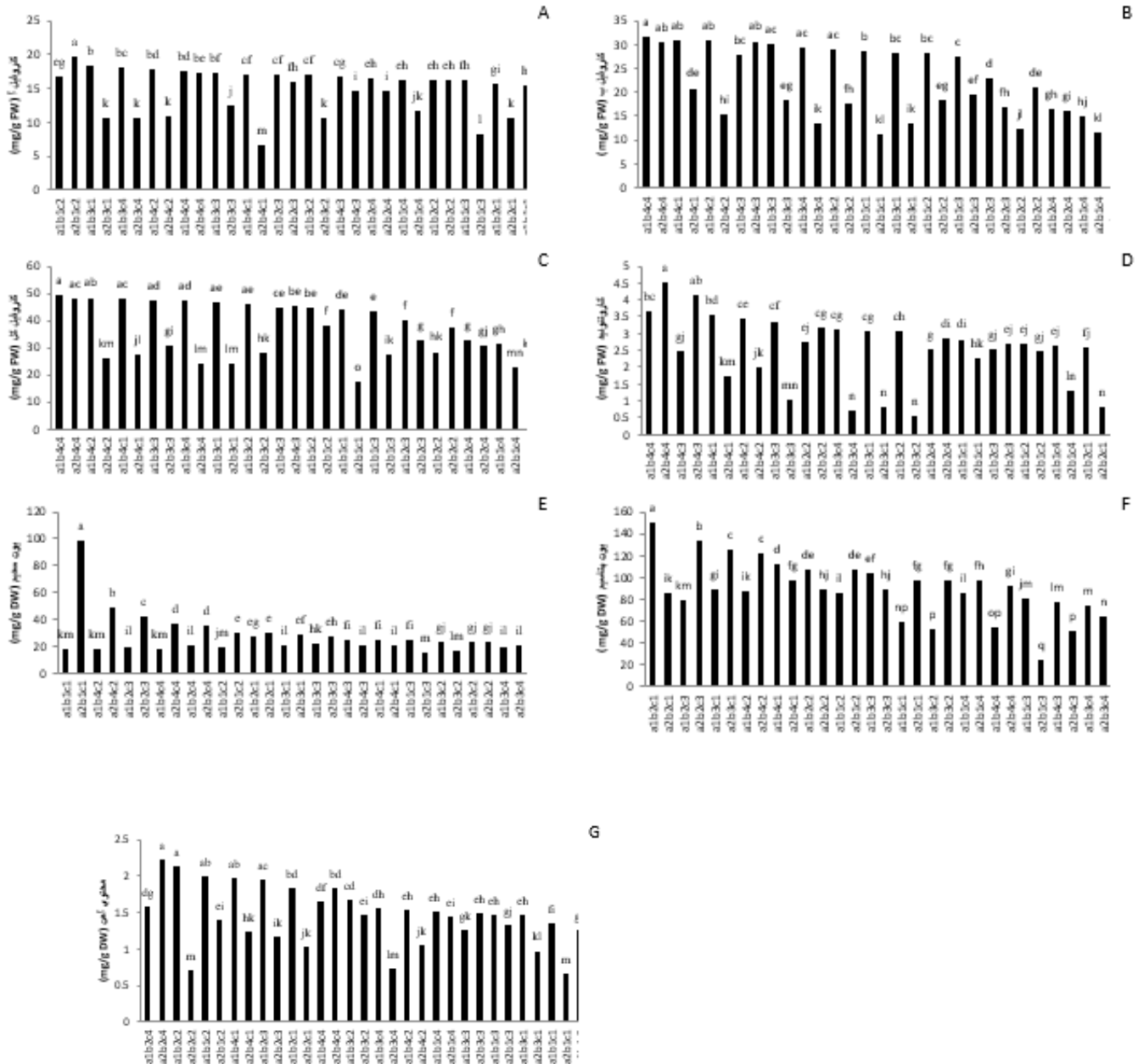
<sup>1</sup> MSc student of agricultural biotechnology, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran

<sup>2</sup> Dept. of Biotechnology, Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran.

Wheat is sensitive to abiotic stresses, leading to decreased yield. Silicon has been shown to play a beneficial role in various studies. This experiment aimed to investigate the impact of silicon on the absorption of different elements, as well as the chlorophyll and carotenoid content in wheat seedlings (Pishtaz variety) under salt stress. For this purpose, a three-way factorial experiment (silicon oxide as the first factor in four levels, silicon oxide nanoparticle as the second factor in four levels, and salinity stress as the third factor in two levels) based on a randomized complete block design with three replications in a pot was done on Pishtaz variety in the greenhouse in 1401. Chlorophyll a, b, total, carotenoid content, sodium ion, potassium ion, and iron ion were measured and analyzed statistically. The results indicated significant differences in the studied traits at a 1% significance level. Notably, treatments with 15 mg/L of nanosilica showed the highest chlorophyll a content, while treatments with 45 mg/L of silica and nanosilica exhibited the highest chlorophyll b, total chlorophyll, and carotenoid levels under salt stress. Additionally, silica and nano-silica treatments significantly reduced sodium content in leaf tissue. Furthermore, treatments with 15 mg/L silica and 30 mg/L nanosilica showed the highest potassium ion levels under salinity stress, while treatments with 15 mg/L silica and 45 mg/L nanosilica exhibited the highest iron content. These findings demonstrate the potential of simultaneous treatment of agricultural plants with silica oxide and silica nanoparticles under salt stress conditions.

Key words: salt stress, silica, wheat, chlorophyll.





شکل 1- مقایسه میانگین اثر متقابل سه گانه شوری «سیلیکون دی اکسید» «ناتو سیلیکون دی اکسید» برای صفات (A)، کلروفیل (B)، کلروفیل کل (C)، کاروتنوئید (D)، یون سدیم (E)، یون پتاسیم (F)، یون آهن (G).

## بررسی تاثیر سیلیس و نانو ذرات سیلیس بر رشد گیاهچه‌های گندم تحت تنش شوری

معصومه هاشم زاده<sup>1</sup>، محمود ملکی<sup>2</sup>، مهدی رحیمی<sup>2</sup>

(1) دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان

فناوری و تکمیلی صنعتی تحصیلات دانشگاه محیطی، علوم و پیشرفته تکنولوژی و علوم پژوهشگاه محیطی، علوم پژوهشگاه بیوتکنولوژی، (2) گروه پیشرفته، کرمان، ایران.

### چکیده:

سیلیس (Si) اثرات مفیدی بر طیف وسیعی از پارامترهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیک گونه‌های گیاهی، به ویژه تحت تنش‌های غیرزیستی دارد. با این حال، اثرات آنها بر گیاه گندم نان تحت تنش شوری به خوبی شناخته نشده است. بنابراین، هدف از این مطالعه، ارزیابی اثرات مقایسه‌ای سیلیس اکسید و نانوذره سیلیس اکسید بر گیاهچه‌های گندم تحت تنش شوری است. بدین منظور آزمایشی فاکتوریل سه عاملی (سیلیس اکسید به عنوان عامل اول در چهار سطح، نانوذره سیلیس اکسید به عنوان عامل دوم در چهار سطح و تنش شوری به عنوان عامل سوم در دو سطح) بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در گلدان بر روی گندم نان رقم پیش‌تاز در گلخانه تحقیقاتی در سال 1401 انجام شد. صفات طول ریشه و اندام هوایی و نیز وزن تر و خشک ریشه و همچنین وزن تر و خشک اندام هوایی اندازه‌گیری و مورد تحلیل آماری قرار گرفتند. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین اثرات متقابل سه گانه صفات مورد مطالعه در سطح یک درصد وجود دارد. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین رشد ریشه در شرایط تنش شوری در تیمارهای 45 میلی‌گرم بر لیتر سیلیس و 15 میلی‌گرم بر لیتر نانوسیلیس و 45 میلی‌گرم بر لیتر سیلیس و 30 میلی‌گرم بر لیتر نانو سیلیس اتفاق افتاده است. بیشترین رشد بخش هوایی در شرایط تنش شوری در تیمار 30 میلی‌گرم بر لیتر سیلیس و 30 میلی‌گرم بر لیتر نانو سیلیس، اتفاق افتاده است. بهترین تیمار موثر بر وزن تر و خشک ریشه و بخش هوایی تحت تنش شوری، تیمار همزمان سیلیس اکسید سطح 30 میلی‌گرم بر لیتر و نانوذره سیلیس اکسید در سطح 15 میلی‌گرم بر لیتر بود. نتایج این مطالعه نشان دهنده پتانسیل بالای تیمار همزمان گیاهان زراعی با سیلیس اکسید و نانوذره سیلیس اکسید تحت شرایط تنش شوری است.

کلمات کلیدی: تنش شوری، سیلیس، نانو سیلیس، گیاهچه گندم.

### مقدمه

تنش شوری یکی از مهم‌ترین عوامل محدود کننده رشد گیاه و عملکرد در سراسر جهان است تنش شوری 20% از زمین‌های قابل کشت جهان را تحت تاثیر قرار می‌دهد و به خاطر تغییر آب و هوا و فعالیت‌های انسانی به طور مداوم در حال افزایش است. تنش محیطی از جمله شوری می‌تواند حدود 50 درصد از تلفات تولید را به دنبال داشته باشد (1). واکنش گیاهان به شوری را می‌توان

در دو مرحله توصیف کرد، در طول مرحله اول، شوری به دلیل کاهش پتانسیل آب خاک، موجب تنش اسمزی می‌شود (2). فاز دوم در عرض چند روز یا هفته گسترش می‌یابد و یون‌های  $\text{Na}^+$  در بافت‌های گیاهی مختلف تجمع می‌یابند و باعث کاهش عملکرد و حتی مرگ گیاه می‌شوند (3). شوری همچنین بر تحولات فنولوژیکی گندم مانند تعداد برگ، گسترش برگ، و نسبت ریشه به ساقه و تولید زیست توده تاثیر منفی می‌گذارد (4). شوری با کاهش در دسترس بودن رطوبت خاک و به دلیل اثرات سمی یون‌های سدیم و کلرید در غلظت‌های بالا به گیاه، تاثیر منفی بر رشد و عملکرد گیاهان زراعی می‌گذارد (5). تنش شوری تمام مراحل فنولوژیکی گندم، تعداد پنجه بارور را کاهش می‌دهد، تعداد سنبله در سنبله را کاهش می‌دهد، وزن دانه را کاهش می‌دهد و بر عملکرد دانه تاثیر منفی می‌گذارد (6).

قریب به 151 سال است که زیست شناسان عقیده بر مفید بودن سیلیس برای گیاهان دارند، به طور واضح سیلیس به ویژه در شرایط تحت تنش (تنش شوری و خشکی) برای رشد و نمو گیاه، مفید است (7). سیلیس برای تغذیه گیاه ضروری نمی‌باشد زیرا گیاهان عالی می‌توانند بدون سیلیس چرخه زندگی خود را تکمیل نمایند. سیلیس با فواید فراوانی که برای گیاهان دارد از جمله افزایش رشد، کمیت محصول و عملکرد، فتوسنتز، تثبیت گاز نیتروژن، به طور اختصاصی پاسخ دادن به تنش‌های زنده و غیر زنده به عنوان عنصر شبه ضروری در گیاهان مقبول است. با وجود کثرت مطالعات اخیر، ساز و کار قطعی اثرات سیلیس مشخص نیست. اگرچه بینش‌های مفیدی در انتقال غشایی سیلیس و نقش تسهیل‌کنندگی سیلیس در تنش‌های زنده یافت شده است، مطالعات نشان داده است که سیلیس در مقاوم شدن گیاهان به بیماری نقش دارد که علت آن را باید در سازوکار جذب، انتقال و تجمع سیلیس در گیاهان جستجو نمود (8).

فناوری نانو یک زمینه تحقیقاتی نوین قرن 21 است و تاثیر بسیار ارزشمندی بر اقتصاد، صنعت و زندگی مردم می‌گذرد. نانو ذرات دارای خصوصیات وابسته به اندازه، نسبت سطح به حجم بالا و خصوصیات نوری منحصر به فرد هستند و خاصیت فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی برجسته‌ای دارند (7). استفاده از فناوری نانو در کشاورزی به دلیل توسعه استراتژی‌های پایدار جدید، اهمیت زیادی دارد. به طور کلی، هدف اصلی این تحقیق بررسی اثر سیلیس و نانو سیلیس بر روی رشد گیاهچه‌های گندم نان تحت تنش شوری است.

#### مواد و روشها

این مطالعه به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد. بذور گندم با الکل 70% به مدت 30 ثانیه ضد عفونی شدند و پس از طی شدن این مدت، سه بار بذور را با آب مقطر و هر بار به مدت دو دقیقه شستشو شدند. بذرها در عمق دو سانتیمتر از سطح گلدان در پرلیت کشت شدند. آبیاری اولیه تا ظهور گیاهچه‌ها با آب معمولی انجام شد. بعد از جوانه زنی و ظاهر شدن سبزیگی آبیاری با استفاده از محلول هوگلند انجام گرفت. در مرحله دو برگی، ابتدا تیمارهای  $\text{SiO}_2$  ( $b_1=0$ ،  $b_2=15$ ،  $b_3=30$  و  $b_4=45$  میلی‌گرم بر لیتر) و نانوذرات  $\text{SiO}_2$  ( $c_1=0$ ،  $c_2=15$ ،  $c_3=30$  و  $c_4=45$  میلی‌گرم بر لیتر) با حل شدن در محلول هوگلند اعمال گردیدند. لازم به ذکر است که ابتدا محلول غلیظ اولیه از سیلیکون دی‌اکسید و نانو سیلیکون دی‌اکسید با

غلظت 2000 میلی گرم بر لیتر تهیه شد و سپس از این محلول اولیه برای تهیه محلول‌های مورد نظر استفاده گردید. محلول هوگلند بدون نانوذرات  $\text{SiO}_2$  به عنوان شاهد استفاده شد. سه تکرار از هر تیمار در نظر گرفته شد. پس از یک هفته تیماردهی، تنش شوری در دو سطح صفر و 100 میلی مولار ( $a_1=0$  و  $a_2=100$ ) اعمال گردید. لازم به ذکر است که تنش شوری به تدریج اعمال گردید. تنش شوری به مدت هفت روز اعمال گردید. در نهایت پس از هفت روز اعمال تنش شوری، صفات مورفولوژیک شامل طول ریشه و بخش هوایی، وزن تر ریشه و بخش هوایی، وزن خشک ریشه و بخش هوایی اندازه گیری شدند. سپس تمامی داده ها با استفاده از نرم افزارهای Excel و SAS آنالیز شدند.

### نتایج و بحث

تجزیه واریانس صفتهای طول ریشه، طول بخش هوایی، وزن تر ریشه، وزن تر بخش هوایی، وزن خشک ریشه و وزن خشک بخش هوایی نشان داد که اثر سیلیس (B)، اثر نانوذره سیلیس (C)، اثر متقابل دوگانه  $A \times B$ ، اثر متقابل دوگانه  $B \times C$  و اثر متقابل سه گانه  $A \times B \times C$  در سطح پنج و یک درصد معنی دار گردیدند. مقایسه میانگین اثر متقابل سه گانه سیلیس  $\times$  نانوذره سیلیس  $\times$  تنش شوری نشان داد که بیشترین رشد ریشه در شرایط نرمال در تیمارهای 15 میلی گرم بر لیتر سیلیس، 30 میلی گرم بر لیتر نانو سیلیس (تیمار  $a_1b_2c_3$ )، 15 میلی گرم بر لیتر سیلیس و بدون تیمار نانوسیلیس ( $a_1b_2c_1$ ) و 30 میلی گرم بر لیتر نانو سیلیس و در غیاب سیلیس ( $a_1b_1c_3$ ) اتفاق افتاد. (شکل 1-A). بیشترین رشد ریشه در شرایط تنش شوری در تیمارهای 45 میلی گرم بر لیتر سیلیس و 15 میلی گرم بر لیتر نانو سیلیس ( $a_2b_4c_2$ ) و 45 میلی گرم بر لیتر سیلیس و 30 میلی گرم بر لیتر نانو سیلیس ( $a_2b_4c_3$ ) اتفاق افتاده است (شکل 1-A). بیشترین رشد بخش هوایی در تیمارهای 15 میلی گرم بر لیتر سیلیس، 30 میلی گرم بر لیتر نانو سیلیس (تیمار  $a_1b_2c_3$ )، 15 میلی گرم بر لیتر سیلیس و بدون تیمار نانوسیلیس ( $a_1b_2c_1$ )، 30 میلی گرم بر لیتر سیلیس و نانوسیلیس ( $a_1b_3c_3$ ) و نیز 15 میلی گرم بر لیتر سیلیس، 45 میلی گرم بر لیتر نانو سیلیس ( $a_1b_2c_4$ ) در شرایط نرمال اتفاق افتاده است (شکل 1-B). بیشترین رشد بخش هوایی در شرایط تنش شوری در تیمار 30 میلی گرم بر لیتر سیلیس و 30 میلی گرم بر لیتر نانو سیلیس ( $a_2b_3c_3$ )، اتفاق افتاده است (شکل 1-B).

در شرایط نرمال در حضور 45 میلی گرم بر لیتر نانو سیلیس و بدون حضور سیلیس بیشترین میزان وزن تر ریشه را نشان دادند (شکل 1-C). در شرایط تنش شوری تیمارهای 15 میلی گرم بر لیتر نانو سیلیس و بدون حضور سیلیس ( $a_2b_1c_2$ )، 30 میلی گرم بر لیتر سیلیس و نانوسیلیس ( $a_2b_3c_3$ )، 30 میلی گرم بر لیتر سیلیس و 15 میلی گرم بر لیتر نانو سیلیس ( $a_2b_3c_2$ ) و 45 میلی گرم بر لیتر سیلیس بدون حضور نانوسیلیس ( $a_2b_4c_1$ ) بیشترین میزان وزن تر ریشه را نشان دادند (شکل 1-C). مقایسه میانگین اثر متقابل سه گانه سیلیس  $\times$  نانوذره سیلیس  $\times$  تنش شوری نشان داد که تیمارهای 30 میلی گرم بر لیتر نانو سیلیس و بدون تیمار سیلیس ( $a_1b_1c_3$ ) در شرایط تنش نرمال بیشترین میزان وزن تر بخش هوایی را نشان دادند (شکل 1-D). در شرایط تنش شوری تیمارهای 15 میلی گرم بر لیتر سیلیس و 45 میلی گرم بر لیتر نانو سیلیس ( $a_2b_2c_4$ )، 30 میلی گرم بر لیتر سیلیس و 15 میلی گرم بر لیتر نانو سیلیس ( $a_2b_3c_2$ ) و 15 میلی گرم بر لیتر نانو سیلیس بدون حضور سیلیس ( $a_2b_1c_2$ ) بیشترین میزان وزن تر بخش هوایی را نشان دادند

(شکل D-1). در شرایط نرمال تیمار 15 میلی گرم بر لیتر سیلیس و 15 میلی گرم بر لیتر نانوسیلیس (a1b2c2) بیشترین مقدار وزن خشک ریشه را نشان داد (شکل E-1). تیمار 30 میلی گرم بر لیتر سیلیس و 15 میلی گرم بر لیتر نانوسیلیس (a2b3c2) در شرایط تنش شوری بیشترین میزان وزن خشک ریشه را نشان دادند (شکل E-1). در شرایط نرمال تیمار 30 میلی گرم بر لیتر سیلیس و 15 میلی گرم بر لیتر نانوسیلیس (a1b3c2) و در شرایط تنش شوری تیمارهای 30 میلی گرم بر لیتر سیلیس و 15 میلی گرم بر لیتر نانوسیلیس (a2b3c2) و تیمار 45 میلی گرم بر لیتر نانوسیلیس و بدون سیلیس (a2b1c4) بیشترین میزان وزن خشک بخش هوایی را نشان دادند (شکل F-1).

علت اصلی کاهش رشد تحت تنش شوری به دلیل جذب یون‌های خاص (Cl و Na) در سطح فوق بهینه، سمیت یونی خاص نامیده می‌شود (7). سدیم و کلر انباشته شده در برگها تا سطوح سمی فرآیندهای متابولیک در سیتوپلاسم را مختل کرده و رشد و نمو گیاهان گندم را به تاخیر می‌اندازد. آسیب و از دست دادن برگ به دلیل تجمع بیش از حد نمک ممکن است عامل مهمی در کنترل اندازه تاج پوششی فعال باشد (7). همچنین، شوری با ایجاد عدم تعادل در جذب مواد معدنی و کاهش جذب آب توسط گیاهان باعث تغییرات در گیاهان در سطوح مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و متابولیک می‌شود. سیلیکون عملکرد مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و متابولیکی گیاهان را در شرایط شور و غیر شور ارتقا می‌دهد. بهبود عملکرد گیاهان نیز، رشد بهتر آنها را تضمین می‌کند که منجر به افزایش عملکرد و عوامل مؤثر در عملکرد در بسیاری از گونه‌های گیاهی در حال رشد در شرایط آزمایشگاهی، گلخانه‌ای و مزرعه می‌شود. افزودن سیلیکون با غلظت 5,0 میلی مولاری به محلول کشت باعث افزایش صفات طول ریشه، وزن تر ریشه و وزن تر برگ گراس خمیده خزنده و گراس (zoysia (creeping bent grass and zoysia grass) در گیاهچه‌های تیمار شده با سیلیکون شد (9). همچنین کاربرد اکسید سیلیکون اکسید یوم (SiO<sub>2</sub>) با غلظت 0/46 میلی مولار باعث افزایش وزن خشک (34 درصد) و سطح برگ گیاهان *Prosopis juliflora* نسبت به گیاهان شاهد شد که در خاک شور و تحت آبیاری با آب شور (260 میلی مولار) به مدت 24 روز رشد یافته بودند، گردید (10).

#### نتیجه گیری:

در حال حاضر هر روز بر جمعیت جهان افزوده می‌شود و به تبع آن نیازهای غذایی بشر هم افزایش می‌یابد. با این حال شدت و وسعت تنش‌های مختلف محیطی نیز افزایش می‌یابند. به همین دلیل برای تامین نیازهای غذایی انسانها، سعی بر حفظ عملکرد گیاهان زراعی تحت شرایط تنشی است. گزارشات مختلفی نشان دهنده تاثیر مثبت عنصر سیلیکون اکسید یوم بر روی گیاهان تحت شرایط تنش غیر زنده بویژه شوری است. در این مطالعه هم تاثیر این عنصر در قالب تیمار سیلیکون اکساید و نانوذره سیلیکون اکساید بر روی گیاهچه‌های گندم تحت شرایط تنش شوری بود. نتایج نشان داد که تیمار همزمان سیلیکون اکساید و نانوذره سیلیکون اکساید می‌تواند تاثیر مثبت و معنی داری بر روی رشد گیاهچه‌های گندم تحت تنش شوری بگذارد و این می‌تواند پتانسیل تیمار همزمان این دو تیمار را تحت شرایط تنش‌های غیرزنده بویژه تنش شوری بر روی گیاهان نشان دهد.

#### منابع

- [1]. Bodner, G., A. Nakhforoosh, and H.-P. Kaul, Management of crop water under drought: a review. *Agronomy for Sustainable Development*, 2015. 35: p. 401-442.
- [2]. Chai, Q., et al., Regulated deficit irrigation for crop production under drought stress. A review. *Agronomy for sustainable development*, 2016. 36: p. 1-21.
- [3]. Arora, N.K., Impact of climate change on agriculture production and its sustainable solutions. *Environmental Sustainability*, 201. (2)2 : (p. 95-96.
- [4]. Horváth, I.T., et al.,  $\gamma$ -Valerolactone—a sustainable liquid for energy and carbon-based chemicals. *Green Chemistry*, 2008. 10(2): p. 238-242.
- [5]. Acquaah, G., Principles of plant genetics and breeding. 2009: John Wiley & Sons.
- [6]. Arzani, A. and M. Ashraf, Smart engineering of genetic resources for enhanced salinity tolerance in crop plants. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2016. 35(3): p. 146-189.
- [7]. Shabala, S. and R. Munns, Salinity stress: physiological constraints and adaptive mechanisms, in *Plant stress physiology*. 2017, Cabi Wallingford UK. p. 24-63.
- [8]. Munns, R., R.A. James, and A. Läuchli, Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *Journal of experimental botany*, 2006. 5:(5)7 p. 1025-1043.
- [9]. Linjuan, Z., et al., Effects of silicon on the seedling growth of creeping bentgrass and zoysiagrass. *Silicon in Agriculture*. LE Datnoff, GH Snyder, and GH Korndorfer, eds. Elsevier Science. Amsterdam, The Netherlands, 1999: p. 381.
- [10]. Bradbury, M. and R. Ahmad, The effect of silicon on the growth of *Prosopis juliflora* growing in saline soil. *Plant and Soil*, 1990. 125(1): p. 71-74.

## Investigating the impact of silica and nano-silica on the growth of wheat seedlings under salt stress

Masoumeh Hashemzadeh<sup>1</sup>, Mahmood Maleki<sup>2</sup> Mehdi Rahimi<sup>2</sup>

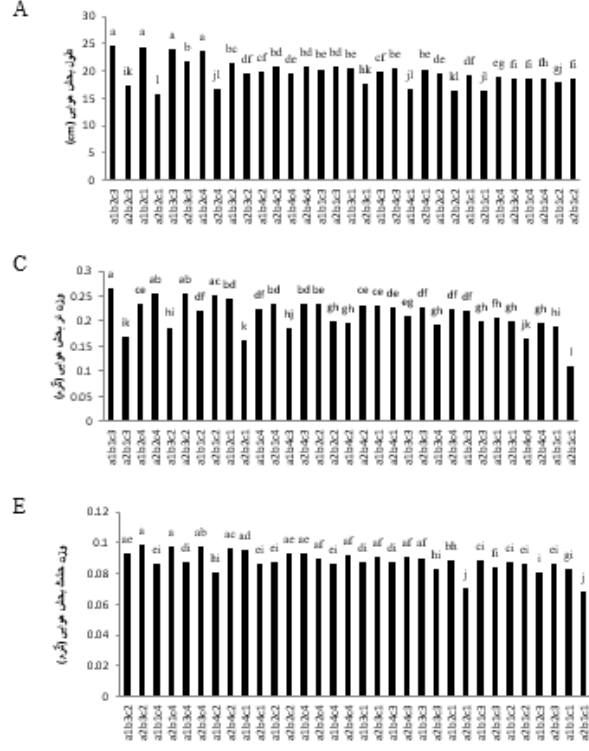
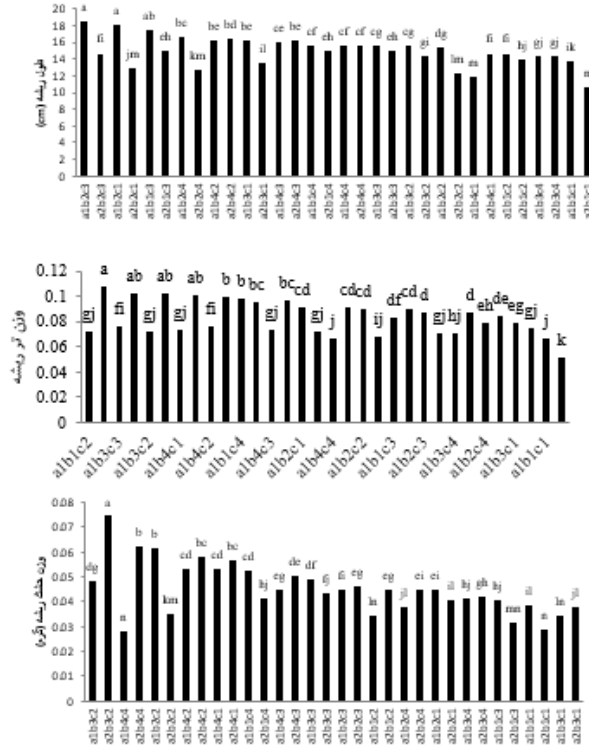
<sup>1</sup>. MSc student of agricultural biotechnology, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran

<sup>2</sup>. Dept. of Biotechnology, Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran.

### Abstract

Silicon (Si) has beneficial effects on a wide range of biochemical and physiological reactions of plant species, especially under abiotic stresses. However, their effects on wheat (*Triticum aestivum* L.) under salt stress are not well understood. Therefore, the aim of this study is to evaluate the effects of silicon oxide and silicon oxide nanoparticles on wheat seedlings under salt stress. For this purpose, a three-way factorial experiment (silicon oxide as the first factor in four levels, silicon oxide nanoparticle as the second factor in four levels, and salinity stress as the third factor in two levels) based on a randomized complete block design with three replications in a pot was done on Pishtaz variety in the greenhouse in 1401. The traits of root and shoot length, as well as fresh and dry weight of root and shoot were measured and subjected to statistical analysis. The results of variance analysis showed that there is a significant difference between the interaction effects of salt\*SiO<sub>2</sub>\*SiO<sub>2</sub>NP for the studied traits at the level of 1%. The mean comparison also showed that the greatest root growth under salinity stress conditions was observed in the groups treated with 45 mg/l silica and 15 mg/l nanosilica, as well as 45 mg/l silica and 30 mg/l nanosilica. The highest shoot growth under salt stress conditions was observed in the treatment with 30 mg/l silica and 30 mg/l nanosilica. The most effective treatment for wet and dry root and shoot weight under salinity stress was the combined use of 30 mg/liter silica oxide and 15 mg/liter silica nanoparticles. This study demonstrates the significant potential of treating agricultural plants with both silica oxide and silica nanoparticles simultaneously under salt stress conditions.

Key words: salinity stress, silica, nano silica, wheat seedling.



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر متقابل سه گانه شوری-سیلیکون دی‌اکسید-نانو سیلیکون دی‌اکسید برای صفات طول ریشه (A)، طول بخش هوایی (B)، وزن سرریشه (C)، وزن سرریخش هوایی (D)، وزن خشک ریشه (E)، وزن خشک بخش هوایی (F)، محتوای یون سدیم (G) و کلروفیل کل (H).

## بررسی امکان انتقال ژن موقت به واسطه نانوحامل مبتنی بر نانو لوله‌های کربنی تک دیواره به سلول‌های برگ گیاه توتون (*Nicotiana tabacum*)

مهديه اسدی کرم<sup>1</sup>

1- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه مهندسی بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران

شهرام پورسیدی<sup>2\*</sup>

2- دانشیار، گروه مهندسی بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران

[spseyedi@uk.ac.ir](mailto:spseyedi@uk.ac.ir)

سارا عابدینی<sup>3</sup>

3- دانش‌آموخته دکتری، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران

جعفر ذوالعلی<sup>4</sup>

4- دانشیار، گروه مهندسی بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران

نازی نادر نژاد<sup>5</sup>

5- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران

### چکیده

علیرغم چندین دهه پیشرفت در بیوتکنولوژی گیاهی، با توجه به محدودیت‌های روش‌های رایج انتقال ژن به گیاه، از جمله محدودیت گونه گیاهی آگروباکتریوم و آسیب به بافت و ژن هدف و نیاز به تجهیزات تخصصی، روش‌های انتقال ژن کارآمد برای مهندسی ژنتیک گیاه ضروری به نظر می‌رسد. در پژوهش حاضر، امکان توانایی نانوحامل مبتنی بر نانولوله‌های کربنی تک دیواره (SWCNTs@pBI121) جهت انتقال ژن به سلول‌های برگ گیاه توتون (*Nicotiana tabacum*) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به دست آمده و مشاهده سیگنال فلورسانت ژن گزارشگر *mgfp5-ER* توانایی نانوحامل SWCNTs@pBI121 در عبور از موانع سلولی و انتقال موفق ژن به سلول‌های دیواره‌دار گیاهی را تأیید کرد. بنابراین، روش ارائه شده در این پژوهش می‌تواند به عنوان یک روش ساده، ارزان، بدون نیاز به تجهیزات تخصصی و سازگار با محیط زیست در انتقال ژن به سلول‌های گیاهی بدون محدودیت گونه گیاهی مورد استفاده قرار گیرد.

واژگان کلیدی: انتقال ژن موقت، مهندسی ژنتیک، نانو حامل، نانولوله کربنی تک دیواره.

مقدمه



مهندسی ژنتیک گیاهی یک استراتژی کلیدی برای اصلاح گیاهان با ویژگی‌های ارزشمند مانند افزایش عملکرد و ارزش غذایی، افزایش تحمل به تنش‌های زیستی و غیرزیستی، جذب کارآمد مواد مغذی و تحمل به علف‌کش‌ها است. سیستم‌های انتقال ژن متداول از جمله انتقال ژن به واسطه آگروباکتریوم، پلی‌اتیلن گلیکول (PEG) و یا ویروس‌ها و بمباران ذره‌ای (بیولیستیک) است. این روش‌ها در بسیاری از گونه‌های گیاهی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. با این حال، محدودیت‌های این روش‌ها کاربرد گسترده آنها را محدود می‌کند (1). در حالی که در بسیاری از گونه‌های گیاهی انتقال ژن (DNA یا RNA) به سلول‌های گیاهی وابسته به ژنوتیپ است و محدودیت اصلی در انتقال ژن به سلول‌های گیاهی است. بنابراین، نیاز به توسعه ناقل‌های ژن جدید برای مهندسی ژنتیک و روش‌های انتقال ژن کارآمد برای مهندسی ژنتیک ضروری است (2).

پیشرفت‌های سریع در نانومواد موجب شده است که پتانسیل ایجاد انقلاب در حوزه‌های علمی مانند پزشکی و کشاورزی را داشته باشند. گزارش شده است که نانوذرات به دلیل اندازه کوچک (کمتر از 100 نانومتر)، خواص فیزیکی و شیمیایی منحصر به فرد به طور مستقیم می‌توانند توسط سلول‌های جانوری و گیاهی جذب شوند (3). همچنین، می‌توان تغییراتی در سطوح نانومواد ایجاد کرد که به آنها امکان می‌دهد به عنوان ناقل انتقال اسیدهای نوکلئیک و پروتئین‌ها عمل کنند. مطالعات مختلف نشان داده‌اند که نانومواد به DNA پلاسمیدی یا RNA ضمن حفاظت از آنها، امکان عبور از دیواره‌های سلولی سخت و چندلایه گیاهی را می‌دهند (4).

#### مواد و روش‌ها

جهت تهیه مواد گیاهی بذور توتون در گلدان کشت شدند و در شرایط گلخانه قرار گرفتند. در پژوهش حاضر از SWCNTs عامل‌دار شده با پلی‌مر کاتیونی پلی‌اتیلن ایمین (PEI) یعنی SWCNTs-PEI (اهدایی بخش بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان) (5) و پلاسمید *pBI121-mgfp5-ER* (حاوی ژن کد کننده پروتئین فلورسنت) استفاده شد. پس از تهیه نانوذرات عامل‌دار شده، نانوحامل با ترکیب مقدار مناسب از پلاسمید و نانوذرات آماده شد و جهت انتقال ژن به سلول‌های برگ گیاه توتون مورد استفاده قرار گرفت. سپس جهت انتقال ژن به برگ گیاه توتون از روش اینفیلتریشن به وسیله سرنگ استفاده شد. بدین ترتیب که، از برگ‌های جوان گیاه توتون رشد یافته در گلخانه برای انتقال ژن استفاده شد. سطح زیرین برگ کاملاً تمیز شد و سوسپانسیون حاوی نانوحامل با فشار آرام سرنگ بدون سوزن به برگ تزریق شد. سپس تا زمان ردیابی سیگنال فلورسنت به مدت 72 ساعت در تاریکی قرار گرفت (5).

#### نتایج و بحث

**72 ساعت پس از اینفیلتریشن توسط سرنگ، ردیابی سیگنال فلورسنت پروتئین mGFP5-ER توسط دستگاه Gel Documentation تحت اشعه UV با طول موج 365 نانومتر مورد ارزیابی قرار گرفت. بر اساس تصاویر به دست آمده، موفقیت**

نانوحامل SWCNTs@pBI121 حاوی ژن مورد نظر به واسطه لکه‌های نوری سبز رنگ در برگ‌های گیاه توتون به خوبی تأیید شد.



شکل 1.1) اینفیلتریشن توسط سرنگ، 2A) برگ ترنسفورم نشده (شاهد) و 2B) برگ ترنسفورم شده توسط سرنگ و مشاهده سیگنال فلورسنت پروتئین Mgfp5-ER

استفاده از نانو لوله‌های کربن عامل دار شده با پلی اتیلن ایمین برای انتقال ژن روشی سریع، آسان و کم هزینه است و بر خلاف بسیاری از تکنیک‌های رایج نه تنها موجب سمیت سلولی نمی‌شود بلکه رشد سلولی را نیز تحریک می‌کند (6). نداشتن محدودیت در نوع گیاه میزبان (تک لپه و دو لپه)، همبند نبود مشکلات تهیه و نگهداری باکتری نوترکیب از مزایای این روش نسبت به آگروباکتریوم است و در مدت زمان کوتاه‌تری قابل اجراست. همچنین در مقایسه با روش بیولیستیک کم هزینه و مقرون به صرفه است (7). با توجه به موفقیت SWCNTs در انتقال ژن، انتظار می‌رود در آینده‌ای نزدیک نانولوله‌های کربنی به عنوان یکی از نوافلان پر کاربرد انتقال ژن در گیاهان مطرح شوند.

### نتیجه گیری

در پژوهش حاضر، نانوحامل SWCNTs@pBI121 به دلیل اندازه بسیار کوچک و ویژگی‌های نانولوله‌های کربنی، به عنوان حامل جدید ژن جهت انتقال ژن به سلول‌های برگ گیاه توتون با روش اینفیلتریشن به کار گرفته شد. نتایج نیز نشان داد انتقال ژن به واسطه نانوذرات به سلول‌های دیواره‌دار گیاهی به راحتی، با حداقل محدودیت، کمترین هزینه و راندمان بالا قابل انجام است. این روش در مقایسه با روش‌های مرسوم انتقال ژن ضمن صرفه جویی در هزینه، وقت و انرژی یک بدون وابستگی به ژنوتیپ گیاهی است.

### منابع و مراجع مورد استفاده

- 5) سارا عابدینی، شهرام پورسیدی، جعفر ذوالعلی، روح اله عبدالشاهی. (1402). 'بهینه‌سازی انتقال ژن موقت به گیاه پروانش (*Catharanthus roseus* L. از طریق معرفی نانوحامل نانوذرات ابرپارامغناطیسی اکسید آهن سنتز شده به روش سبز و نانولوله‌های کربنی'، مجله بیوتکنولوژی کشاورزی، 15(1)، صص 61-80.

1. Squire, H.J., Tomatz, S., Voke, E., González-Grandío, E. and Landry, M., 2023. The emerging role of nanotechnology in plant genetic engineering. *Nature Reviews Bioengineering*, 1(5), pp.314-328.
2. Lu, Y., Tian, Y., Shen, R., Yao, Q., Wang, M., Chen, M., Dong, J., Zhang, T., Li, F., Lei, M. and Zhu, J.K., 2020. Targeted, efficient sequence insertion and replacement in rice. *Nature Biotechnology*, 38(12), pp.1402-1407.
3. Foroutan, Z., Afshari, A.R., Sabouri, Z., Mostafapour, A., Far, B.F., Jalili Nik, M. and Darroudi, M., 2022. Plant-based synthesis of cerium oxide nanoparticles as a drug delivery system in improving the anticancer effects of free temozolomide in glioblastoma (U87) cells. *Ceramics International*, 48(20), pp.30441-30450.
4. Kwak, S.Y., Lew, T.T.S., Sweeney, C.J., Koman, V.B., Wong, M.H., Bohmert-Tatarev, K., Snell, K.D., Seo, J.S., Chua, N.H. and Strano, M.S., 2019. Chloroplast-selective gene delivery and expression in planta using chitosan-complexed single-walled carbon nanotube carriers. *Nature nanotechnology*, 14(5), pp.447-455.
6. Adabavazeh, F., Pourseyedi, S., Nadernejad, N., Razavizadeh, R. and Mozafari, H., 2022. Evaluation of synthesized magnetic nanoparticles and salicylic acid effects on improvement of antioxidant properties and essential oils of *Calotropis procera* hairy roots and seedlings. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 151(1), pp.133-148.
7. Demirer, G.S., Zhang, H., Goh, N.S., González-Grandío, E. and Landry, M.P., 2019. Carbon nanotube-mediated DNA delivery without transgene integration in intact plants. *Nature Protocols*, 14(10), pp.2954-2971.

## Investigating the possibility of gene delivery into leaf cells of *Nicotiana tabacum* using nanocarriers based on single-walled carbon nanotubes

Mahtab Asadi Karam<sup>1</sup> Shahram Pourseyedi<sup>\*2</sup> Sara Abedini<sup>3</sup> Jafar Zolala<sup>4</sup> Nazi Nadernejad<sup>5</sup>

<sup>1</sup>MSc student, Biotechnology Department, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

<sup>2\*</sup> Associate professor, Biotechnology Department, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

[spseyedi@uk.ac.ir](mailto:spseyedi@uk.ac.ir)

<sup>3</sup>Ph.D. Student, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

<sup>4</sup> Associate professor, Biotechnology Department, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

<sup>5</sup> Assistant professor, Department of Biology, Faculty of Science, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

### Abstract

Despite the progress made in plant biotechnology, given the constraints of current plant gene transfer methods, such as the limitations of common gene transfer methods, including the limitation of plant species, damage to target tissue and genes, and specialized equipment requirement, highly efficient gene delivery methods are essential for plant genetic engineering. This study explored the potential of a nanocarrier using single-walled carbon nanotubes (SWCNTs@pBI121) for transferring genes to leaf cells of *Nicotiana tabacum*. The results demonstrated that the SWCNTs@pBI121 nanocarrier was able to pass through cell barriers and successfully transfer the gene to plant cells, as confirmed by the detection of the fluorescent signal of the mgfp5-ER reporter gene. Therefore, this approach could offer a simple, cost-effective, and eco-friendly alternative for gene transfer to plant cells, without the limitations of plant species and the need for specialized equipment.

**Keywords:** Genetic engineering, Nanocarrier, Single-walled carbon nanotube, Transient gene delivery.

## واکنش ژنوتیپ های مختلف گلرنگ برای تحمل به شوری و خشکی

مینا امیری<sup>1</sup>، محمد مهدی مجیدی<sup>2</sup>، قدرت الله سعیدی<sup>2</sup>

1- دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک و به‌نژادی گیاهی، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، آدرس پست الکترونیک: [minaamiri@ag.iut.ac.ir](mailto:minaamiri@ag.iut.ac.ir)

2- اساتید ژنتیک و به‌نژادی، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

### چکیده

از تلاقی بین گونه‌ای می‌توان به منظور افزایش تنوع ژنتیکی، انتقال سازگاری به تنش‌های شوری و خشکی تکاملی و ایجاد ارقام جدید استفاده کرد. در این مطالعه 9 لاین خالص نوترکیب (RIL) هستند که از تلاقی دو به دو سه گونه *C. tinctorius*، *C. oxycanthus palaestinus* (سه جمعیت حاصل از تلاقی بین گونه‌ای TP، TO و PO) حاصل شده‌اند. این لاین‌ها به همراه 3 گونه‌ی والدینی و همچنین 2 رقم رایج داخلی کشور (رقم‌های Koose, Padide) و 22 ژنوتیپ منتخب جهانی و ژنوتیپ‌های پایدار حاصل از مطالعات قبلی در مجموع 36 ژنوتیپ در سه محیط خشکی (90 درصد تخلیه رطوبتی)، نرمال (50 درصد تخلیه رطوبتی) و شوری ( $EC_w=20dSm^{-1}$ ) بررسی شدند. نتایج این مطالعه نشان داد تنوع کافی در ژرم پلاسم حاصل از تلاقی بین گونه‌ای از لحاظ کلیه صفات و تحمل به تنش شوری و خشکی وجود دارد. نتایج همچنین نشان داد که در اثر بروز تنش خشکی و شوری در گیاه گلرنگ، کاهش عملکرد و کاهش در میزان صفات مورفولوژی و فیزیولوژی گیاه اتفاق افتاد. همچنین بین میزان عملکرد و محتوای نسبی آب برگ ارتباط وجود داشت. نتایج نشان داد که گیاه گلرنگ در برابر تنش شوری تحمل بیشتری نسبت به تنش خشکی نشان می‌دهد با این حال برخی ژنوتیپ‌های متحمل به هردو شرایط تنش خشکی و شوری شناسایی شدند. در نهایت می‌توان ژنوتیپ‌های G60 و G43 را به عنوان ژنوتیپ‌هایی که تحمل بیشتری در برابر تنش نسبت به سایرین داشته‌اند معرفی کرد. واژگان کلیدی: گلرنگ، شوری، خشکی، محتوای نسبی آب برگ، تنگنای ژنتیکی

### مقدمه

خشکی و شوری مهمترین تنش‌های غیر زیستی عمده هستند که بر رشد و توسعه گیاهان تأثیر منفی می‌گذارند و در حال حاضر برای اکثر کشورهای جهان یک چالش محسوب می‌شوند (4). گیاه دانه روغنی و دارویی گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L) یکی از گیاهان بومی کشور است که وجود انواع تیپ‌های وحشی آن در سراسر کشور نشان از سازگاری این گیاه با شرایط بومی ایران دارد (1). با توجه به خشک‌سالی‌های اخیر و کمبود آب، بهبود ویژگی‌هایی نظیر تحمل به تنش‌های محیطی بویژه شوری و خشکی از طریق بهره‌گیری از ژنوم‌های وحشی و ژرم پلاسم جهانی می‌تواند منجر به ایجاد ارقامی مناسب برای جایگزینی در الگوی کشت گردد. مطالعه ی ابراهیمی و همکاران (1395) به منظور بررسی پایداری یک کلکسیون جهانی گلرنگ نشان داد که ارقام خارجی عملکرد و تحمل به تنش خشکی بالاتری نشان دادند (2). مطالعه اسپنانی به منظور بررسی اثر تنش خشکی بر ویژگی‌های

مورفولوژیک، زراعی و فیزیولوژیک در سه ژرم پلاسم حاصل از سه تلاقی بین گونه‌ای در شرایط نشان داد که برای صفات مورد بررسی بین و درون جمعیت‌ها تفاوت معنی‌داری وجود دارد. تنوع ایجاد شده در هر جمعیت در نسل پنجم نسبت به نسل سوم و چهارم در هر دو شرایط نرمال و استرس خشکی افزایش یافت که نشان داد برای ایجاد تنوع تلاقی بین گونه‌ای موفقیت آمیز بوده است.

برنامه اصلاح گلرنگ از طریق تلاقی بین گونه‌ای از سال 1390 در دانشگاه صنعتی اصفهان آغاز و لاین‌های خالص نوترکیب نسل یازدهم فراهم شد که در کنار ژرم پلاسم زراعی می‌تواند در برنامه‌های اصلاحی این گیاه مورد استفاده قرار گیرد. در مطالعات قبلی از بین ارقام مورد مطالعه تعدادی ژنوتیپ متحمل به تنش شوری و همچنین تعدادی ژنوتیپ متحمل به تنش خشکی شناسایی شدند و ارزیابی بهترین و متحمل‌ترین لاین‌های حاصل از تلاقی بین گونه‌ای و ژرم پلاسم زراعی گلرنگ (داخلی و خارجی) تحت تنش شوری و تنش خشکی و بررسی تنوع آن‌ها در مزرعه صورت گرفت. بررسی پاسخ ژنوتیپ‌ها به تنش شوری و خشکی و گزینش بهترین و متحمل‌ترین ژنوتیپ‌های ژرم پلاسم از اهداف این پژوهش است.

## مواد و روش‌ها

تعداد 36 ژنوتیپ (ترکیبی از لاین‌های نوترکیب در نسل F10 حاصل از سه تلاقی بین گونه‌ای دو به دو سه گونه *C. tinctorius*، *C. oxyacanthus*، *C. palaestinus* (سه جمعیت حاصل از تلاقی بین گونه‌ای TP، TO و PO به شرح زیر) به همراه 3 گونه‌ی والدینی و همچنین 2 رقم رایج داخلی کشور (رقم‌های Koose, Padide) و 22 ژنوتیپ منتخب جهانی و ژنوتیپ‌های پایدار حاصل از مطالعات قبلی (3) در مزرعه پژوهشی دانشگاه صنعتی اصفهان در سه محیط جداگانه (نرمال، تنش شوری و تنش خشکی) هر کدام در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در سه تکرار ارزیابی شدند. تهیه ژنوتیپ‌های اولیه از ژنوتیپ‌های خارجی در دهه 90 شمسی از بانک‌های ژن گیاهی آلمان و آمریکا و ژنوتیپ‌های داخلی نیز از ژنوتیپ‌های موجود در پروژه گلرنگ گروه تولید و ژنتیک گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان بوده است. نوع آبیاری بصورت قطره‌ای بود. اعمال هر دو تنش خشکی و شوری قبل از تکمه دهی انجام گرفت و تا این زمان آبیاری به طور یکسان برای همه تیمارها انجام شد. آبیاری تیمار نرمال در زمان 50 درصد تخلیه رطوبتی از حد زراعی مزرعه ( $MAD = 50\%$ ) و آبیاری تیمار تنش خشکی در زمان 90 درصد تخلیه رطوبتی از حد زراعی مزرعه ( $MAD = 90\%$ ) انجام گرفت. تیمار نهایی تنش شوری در این مطالعه در سطح 200 میلی مولار اعمال شد. زمان اعمال تیمار شوری هم زمان با تیمار نرمال بود ولی آبیاری با آب شور (نمک طعام) انجام شد. در صورت لزوم در آبیاری بعدی ضریب کسر آبشویی اعمال گردید. صفات محتوی نسبی آب برگ، ارتفاع بوته، تعداد انشعاب در هر بوته، تعداد غوزه در هر بوته، عملکرد دانه مورد بررسی قرار گرفتند. در ادامه برای آنالیز داده‌ها از نرم افزارهای Excel، SAS 9.04 و Statgraphics استفاده شد.

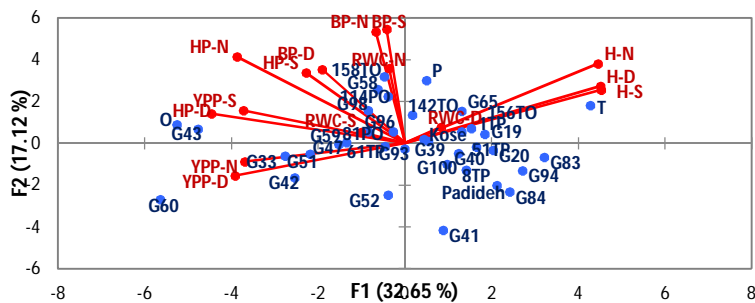
## نتایج و بحث

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس بیان کننده آن بود که تاثیر ژنوتیپ و محیط (تیمار) بر تمامی صفات مورد مطالعه معنی دار بوده است که نشان دهنده تنوع ژنتیکی بالا در ژرم پلاسم مورد مطالعه می‌باشد (نتایج آورده نشده است). در اثر اعمال تنش خشکی

و شوری، کاهش عملکرد و محتوی نسبی آب برگ اتفاق افتاده است (جدول 1). کاهش در محتوی نسبی آب برگ با کاهش در میزان فتوسنتز و نهایتاً کاهش تولید همراه است. کاهش ارتفاع بوته صرفاً در اثر اعمال تنش شوری مشاهده شد. کاهش تعداد غوزه در بوته و تعداد انشعاب در بوته بین ژنوتیپ هایی که در معرض تنش شوری بوده اند بیشتر از آن هایی که در معرض تنش خشکی بوده اند اتفاق افتاده است. گزارش شده است که گلرنگ تحت شرایط تنش به جای کاهش سهم بیومس نسبت به دانه، بیشتر متکی بر کاهش ماده ی خشک و عملکرد دانه از طریق کاهش فتوسنتز و تعرق است (5). در تنش خشکی گیاه با چند دوره کاهش دریافت آب مصرفی مواجه می شود و همین کاهش دریافت آب مصرفی باعث کاهش بیشتر محتوی نسبی آب برگ و عملکرد گیاه شده است. به طور کلی نتایج این مطالعه نشان می دهد که گیاه گلرنگ در برابر تنش شوری تحمل بیشتری نسبت به تنش خشکی نشان می دهد. بر اینند صفات (شکل 1) در این مطالعه نشان می دهد G43 (PI 386174) از سوریه، G60 (PI 657819) از اردن، PI 386173)G42 از سوریه، G33 (PI 305528) از سودان، O (C. oxyacanthus)، (C. tinctorius \* C. palaestinus) 61TP نسبت به سایرین عملکرد بهتری نشان داده اند که در این بین والد وحشی (O (C. oxyacanthus) به دلیل خصلت وحشی بودن خود مقاومت خوبی نسبت به شرایط تنش داشته است. در نتیجه می توان ژنوتیپ های G43 و G60 حاصل از این مطالعه را به عنوان ژنوتیپ هایی که تحمل بیشتری در برابر تنش نسبت به سایرین داشته اند معرفی کرد.

جدول (1) دامنه تغییرات و میانگین صفات مختلف در ژنوتیپ های منتخب جهانی و ترکیب (RILs) گیاه گلرنگ در سه محیط عدم تنش، تنش شوری و تنش خشکی

صفات	دامنه		میانگین		درصد تغییر در اثر تنش	
	شوری	نرمال	شوری	نرمال	خشکی	شوری
ارتفاع بوته (cm)	136-76	148-107	114 <sup>c</sup>	130 <sup>a</sup>	121 <sup>b</sup>	-12
تعداد انشعاب در بوته	17-4	16-6	9 <sup>b</sup>	10 <sup>a</sup>	10 <sup>a</sup>	-10
تعداد غوزه در بوته	35-9	38-11	19 <sup>ab</sup>	20 <sup>a</sup>	17 <sup>b</sup>	-5
عملکرد تک بوته (g)	58-7	74-13	20 <sup>b</sup>	27 <sup>a</sup>	12 <sup>c</sup>	-26
محتوی نسبی آب برگ (RWC)	79-39	99-64	59 <sup>b</sup>	86 <sup>a</sup>	52 <sup>c</sup>	-31



شکل (1) بای پلات تجزیه به مولفه های اصلی در ارزیابی ژنوتیپ های مختلف گلرنگ برای تحمل به شوری و خشکی (H-S و H-D، H-N)، HP-N، HP-D، HP-S، BP-N، BP-D، BP-S، YPP-N، YPP-D، YPP-S، RWC-N، RWC-D، RWC، میانگر: ارتفاع، تعداد غوزه در بوته، تعداد انشعاب در بوته، عملکرد تک بوته، عملکرد و محتوی نسبی آب برگ به ترتیب در محیط های نرمال، خشکی و شوری هستند)

### نتیجه گیری

به طور کلی نتایج این مطالعه نشان داد که تنوع کافی در ژرم پلاسما مورد مطالعه از لحاظ کلیه صفات و تحمل به تنش شوری و خشکی وجود دارد. در تنش خشکی گیاه با چند دوره کاهش دریافت آب مصرفی مواجه می‌شود و همین کاهش دریافت آب مصرفی باعث کاهش بیشتر محتوای نسبی آب برگ و عملکرد گیاه شد. با توجه به نتایج بدست آمده از بررسی این نتایج، (PI 386174) G43 از سوریه، (PI 657819) G60 از اردن، (PI 386173) G42 از سوریه، G33 (PI 305528) از سودان، (C. *oxyacanthus*)، (C. *tinctorius* \* C. *palaestinus*) نسبت به سایرین متحمل تر بودند. از این ژنوتیپ ها می‌توان برای داشتن عملکرد بهتر برای کشت گلرنگ در شرایط تنش شوری یا خشکی استفاده کرد.

## منابع

1. خیرالله ابوالحسنی، قدرت‌الله سعیدی. (1385). بررسی صفات زراعی ژنوتیپ گلرنگ در دو رژیم رطوبتی در اصفهان. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، 13، صص. 5-43.
2. Ebrahimi, F., Majidi, M. M., Arzani, A. and Mohammadi nejad, GH. 2016. Oil and seed yield stability in a worldwide collection of safflower under arid environments of Iran. *Euphytica*, 212: 131-144.
3. Espanani, S., M.M. Majidi, G. Saeidi, H. Alaei, and V. Rezaei. 2019. Wide hybridization and introgression breeding in safflower: Effectiveness of different selection methods. *Plant Breed.* 138:846-861.
4. Goharrizi KJ, Hamblin MR, Karami S, Nazari M. 2021. Physiological, biochemical, and metabolic responses of abiotic plant stress: salinity and drought. *Turkish Journal of Botany* 45 SI-1: 623-642.
5. Singh, S., Angadi S. V., Grover K., Begna S. and Auld D. 2016. Drought response and yield formation of spring safflower under different water regimes in the semiarid Southern High Plains. *Agric. Water Manag.* 163: 354-362.

## Response of different genotypes of safflower for tolerance to salinity and drought

Mina Amiri<sup>1</sup>, Mohammad Mahdi Majidi<sup>2</sup>, Qadratullah Saedi<sup>2</sup>

1-Master Student at Isfahan University Of Technology (Email: [minaamiri@ag.iut.ac.ir](mailto:minaamiri@ag.iut.ac.ir))

2-Professors of Genetic and Plant Breeding, Department of Agronomy and Plant breeding, college of agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

## Abstract

Interspecific hybridization can be used to increase genetic diversity, transfer evolutionary adaptation (salinity and drought) and create new varieties. In this study, 9 recombinant inbred lines (RILs) that were obtained from crossing of three species *C. tinctorius*, *C. palaestinus*, and *C. oxyacanthus* along with three 3 parental species as well as 2 common domestic varieties (Koose, Padide numbers) and 22 worldwide genotypes, totally 36 genotypes, were evaluated under three environments (90% moisture depletion), normal (50% moisture depletion) and salinity (ECw=20dSm-1). The results showed that there is sufficient diversity in the germplasm in terms of all traits and tolerance to salinity and drought. The results also showed that as a result of drought and salinity stress in the safflower plants, there was a decrease in yield, morphological and physiological traits. There was also a relationship between yield and relative leaf water content. The results showed that the safflower plant showed more tolerance to salinity stress than to drought stress, however, some genotypes were identified that were tolerant to both stress conditions. Finally, G60 and G43 genotypes can be introduced as genotypes that have more tolerance to both stress for future studies.

**Keywords:** safflower, salinity, drought, relative leaf water content, recombinant pure line (RIL), global germplasm, genetic bottleneck

## بررسی اثر مقادیر مختلف روی و منگنز در محلول غذایی بر عملکرد و شاخص کلروفیل تریپچه

میترا پاشایی، فرهاد بهتاش\* و حنیفه سید حاجی زاده

گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، ص.پ. 55136-553، مراغه، ایران

نویسنده مسوول مکاتبات: [behtash@maragheh.ac.ir](mailto:behtash@maragheh.ac.ir)

### چکیده

کشت هیدروپونیک با وجود نیاز به تخصص کافی و سرمایه اولیه نسبتاً بالا در مقایسه با کشت خاکی مزایای بسیاری از جمله استفاده کمتر از مواد شیمیایی و در نتیجه سالم‌تر بودن محصولات کشاورزی در کشت سبزی‌ها دارد اما به هر حال تأمین مواد غذایی متناسب با نیازهای گیاهان در محلول غذایی یکی از چالش‌های مهم در این مقوله می‌باشد. به همین منظور برای بررسی تأثیر منگنز و روی در محلول غذایی بر میزان عملکرد و کلروفیل برگ تریپچه آزمایشی بصورت فاکتوریل، در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در 3 تکرار انجام شد. برای این منظور روی (Zn) در سه سطح (0/05، 5 و 10 میلی‌گرم در لیتر) از منبع سولفات روی و منگنز (Mn) در سه سطح (0/5، 2 و 4 میلی‌گرم در لیتر) از منبع سولفات منگنز، مورد استفاده قرار گرفت. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت منگنز در محلول غذایی مقدار کلروفیل برگ 16% و عملکرد 57% کاهش یافت در حالیکه با افزایش غلظت روی در محلول غذایی مقدار کلروفیل برگ 16% و عملکرد 99% افزایش یافت.

**کلمات کلیدی:** سبزینه، عملکرد، کشت هیدروپونیک، عناصر ریز مغذی

### مقدمه

در سراسر جهان روند افزایش جمعیت رو به رشد است. از آنجایی که نیمی از جمعیت جهان در مناطق شهری زندگی می‌کنند، بنابراین الگوهای مصرفی برای مواد غذایی تغییر یافته است. به همین دلیل عرضه محصولات کشاورزی باید با استانداردهای بالاتری از نظر سلامت مواد غذایی صورت گیرد (Mouroutoglou et al, 2021). با توجه به تحقیقات تا سال 2050 جمعیت انسان در روی کره زمین به حدود 9/6 میلیارد نفر می‌رسد که با افزایش چنین جمعیتی نیاز به تکنیک‌های کشاورزی متناوب برای کمک به تغذیه انسان و آسیب نرساندن به محیط‌زیست می‌باشد. یکی از این شیوه‌های تولید، کشت هیدروپونیک می‌باشد که امروزه در بیشتر کشورها مورد توجه قرار گرفته است. به طور کلی در کشت هیدروپونیک با وجود نیاز به تخصص کافی و سرمایه اولیه نسبتاً بالا در مقایسه با کشت خاکی مزایای بسیاری مانند عملکرد بالا، نیاز به نیروی کار کم، آسان بودن کارها، عدم نیاز به رعایت تناوب کشت، کنترل علف‌های هرز، یکنواختی رشد گیاهان، حداقل اتلاف آب، عدم رقابت گیاهان برای آب و عناصر غذایی، امکان تأمین مواد غذایی متناسب با نیازهای گیاهان و استفاده کمتر از مواد شیمیایی و در نتیجه سالم‌تر بودن محصولات کشاورزی مشاهده می‌گردد (Jan et al, 2020).



عنصر روی (Zn) در فرآیند رشد و نمو در گیاهان و جانوران نقش دارد و عنصری مهم و ضروری محسوب می‌شود (Sturikova et al., 2018). علاوه بر این در بسیاری از واکنش‌های آنزیمی، فرآیندهای متابولیکی، اکسایش و کاهش، شرکت در ساختار آنزیم‌های موثر در متابولیسم نیتروژن، انتقال انرژی و سنتز پروتئین‌ها دخالت دارد (Mousavi et al., 2012). کمبود عنصر روی به عنوان عامل محدود کننده در کاهش و تاخیر در رشد و نمو گیاهان عمل می‌کند و منجر به کاهش عملکرد در گیاهان می‌شود. منگنز (Mn) در فرآیندهای مختلفی در چرخه زندگی گیاه دخالت دارد که می‌توان به فتوسنتز، تنفس، حذف گونه‌های فعال اکسیژن، دفاع در برابر عوامل بیماری‌زا و سیگنال‌دهی هورمونی اشاره کرد. در آراییدوپسیس، 398 آنزیم حاوی منگنز در محل اتصال فلز پیش‌بینی شده است که نشان می‌دهد منگنز نقش کوفاکتور دارد. در بسیاری از آنزیم‌ها، منگنز با کاتیون‌های دو ظرفیتی دیگر مانند گیاهان کلسیم، کبالت، مس، منیزیم یا روی قابل تعویض است. تنها کمپلکس تکامل‌دهنده اکسیژن در فتوسیستم II، سوپراکسید دیسموتاز منگنز و اکسیداز اگزالات به طور انحصاری به منگنز نیاز دارند (Alejandro et al., 2020). یکی از عملکردهای گیاه که به خوبی مطالعه شده در متابولیسم گیاه که به منگنز بستگی دارد، واکنش تقسیم آب در فتوسیستم II است که اولین مرحله فتوسنتز است. این فرآیند به چهار منگنز نیاز دارد تا دو مولکول آب را به چهار الکترون، چهار پروتون و اکسیژن مولکولی تقسیم کند (Bricker et al., 2012).

تربچه از خانواده شب بو است که دارای ریشه‌های خوراکی می‌باشد. دوره کشت، اندازه و رنگ متفاوتی در تربچه‌ها وجود دارد. عطر و طعم موجود در تربچه متمایز از دیگر سبزیجات مشابه است (Dehghani et al, 2011). تربچه، از سبزیهای بدون چربی و کلسترول است. فیبر از مهمترین مواد موجود در تربچه است. تربچه دارای ویتامین‌های C، K، B6، نیاسین و فولات است. تربچه حاوی کلسیم، پتاسیم، مس، اسید فولیک و آنتوسیانین است. مصرف مداوم تربچه، باعث حرکت آسان روده می‌شود و در نتیجه منجر به بهبود تدریجی اشتها می‌شود (Baek et al, 2016). هدف از این پژوهش بررسی اثر مقادیر مختلف روی و منگنز در محلول غذایی بر روی عملکرد و شاخص کلروفیل و غلظت عناصر ریزمغذی در غده و اندام هوایی تربچه می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

برای انجام این پژوهش ابتدا بذر رقم چری بل تربچه خریداری شد و در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه مراغه کشت شد. به منظور تامین مواد غذایی تربچه از محلول غذایی هوگلند استفاده شد. این آزمایش به صورت فاکتوریل با دو فاکتور روی (Zn) در سه سطح (0/05، 5 و 10 میلی گرم در لیتر) و منگنز (Mn) در سه سطح (0/5، 2 و 4 میلی گرم در لیتر) و در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا شد. به منظور اعمال تیمار منگنز از منبع کودی سولفات منگنز و جهت اعمال تیمار روی از منبع کودی سولفات روی استفاده شد. pH محلول غذایی در حدود 6/5 تنظیم شد. تیمارهای کودی بعد از مرحله گیاهچه‌ای اعمال شد. رشد بوته‌ها تا ایجاد غده ادامه یافت. پس از تشکیل غده در تربچه در روز 30 ام، عملکرد و شاخص کلروفیل در نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. قبل از تجزیه آماری، تست نرمال بودن داده‌ها انجام و سپس تجزیه و تحلیل آماری داده‌های به دست آمده از اندازه‌گیری صفات

مورد نظر با استفاده از نرم افزار MSTATC صورت پذیرفت. برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون دانکن در سطح احتمال 5 درصد و برای ترسیم نمودارها نیز از نرم افزار Excel استفاده گردید.

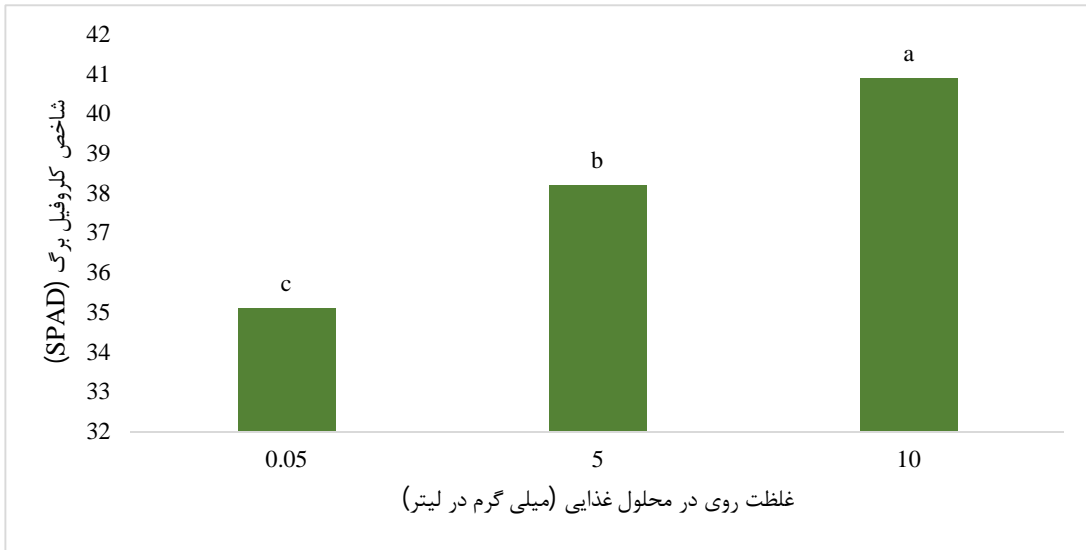
### نتایج و بحث

تاثیر غلظت‌های مختلف روی و منگنز در محلول غذایی بر شاخص کلروفیل برگ تربچه در سطح احتمال 1% معنی دار شد. نتایج مقایسات میانگین نشان داد که با افزایش غلظت منگنز در محلول غذایی از 0/5 به 4 میلی‌گرم در لیتر، شاخص کلروفیل از 41/9 به 34/9 کاهش یافت (شکل الف). برعکس با افزایش مقدار روی در محلول غذایی از 0/05 تا 10 میلی‌گرم در لیتر، مقدار شاخص کلروفیل از 35/1 به 40/9 افزایش یافت (شکل ب). بطوریکه بیشترین شاخص کلروفیل برگ در محلول‌های غذایی حاوی کمترین میزان منگنز و بیشترین میزان روی بدست آمد (شکل 1).

الف



ب



شکل 1- تاثیر غلظت های مختلف الف) منگنز و ب) روی بر شاخص کلروفیل برگ تربچه

تاثیر غلظت های مختلف روی و منگنز در محلول غذایی بر مقدار عملکرد تربچه نیز در سطح احتمال 1% معنی دار شد. نتایج مقایسات میانگین نشان داد که با افزایش غلظت منگنز در محلول غذایی از 0/5 به 4 میلی گرم در لیتر، میزان عملکرد تک بوته تربچه از 21/7 به 11/4 گرم در بوته کاهش یافت (شکل 2الف). برعکس با افزایش مقدار روی در محلول غذایی از 0/05 تا 10 میلی گرم در لیتر، مقدار عملکرد تک بوته از 12 به 23/9 گرم در بوته افزایش یافت (شکل 2ب) بطوریکه بیشترین شاخص مقدار عملکرد در محلول های غذایی حاوی کمترین میزان منگنز و بیشترین میزان روی بدست آمد (شکل 2).

الف



ب



شکل 2- تاثیر غلظت های مختلف الف (منگنز و ب) روی بر عملکرد تربچه

در آزمایش ما نیز تاثیر افزایش روی در محلول غذایی در افزایش عملکرد، بیشتر از منگنز مشهود بود. منگنز عنصر ضروری کم مصرف است، اما با این حال غلظت های بالای منگنز برای گیاه سمی است (Rezaei and Farbodnia, 2008). در خاک های اسیدی سمیت منگنز عمومی تر از کمبود منگنز است بطوریکه با افزایش غلظت منگنز میزان کلروفیل کاهش می یابد. در پژوهش حاضر نیز، تیمار با غلظت های بالای منگنز باعث کاهش شاخص کلروفیل برگ و عملکرد تربچه شد. مهار سنتز کلروفیل به وسیله منگنز اضافی به علت کمبود آهن است که با تجمع پروتوپورفیرین منیزیم و مونو متیل استر آن همراه است. همچنین سنتز کلروفیل در مرحله بعدی جایگزینی منیزیم در حلقه تتراپیرول به آهن نیاز دارد. غلظت زیاد منگنز با جلوگیری از جذب روی باعث کاهش مقدار کلروفیل و در نتیجه عملکرد می شود (Cstorday et al., 1999).

#### منابع

Alejandro, S., Holler, S., Merier, B. and Peiter, E. 2020. Manganese in plants: from acquisition to subcellular allocation, *Frontiers in Plant Science*, 11(300): 1-23

Rezaei, K. and Farbodnia, T. (2008) The response of pea plant to manganese toxicity in solution culture. *Journal of Agricultural Science* 3:248- 251.

Baek, J., Rohb, H., Choic, C., Baekb, K. and Hyun Kim, K. (2016). *Raphanussativussprout causes selective cytotoxic effect on p53-deficient human lung cancer cells in vitro*. *Natural Product Communications*, 12 (2), 237-241.

Bondarava, N., Un, S., & Krieger-Liszka, A. (2007). Manganese binding to the 23 kDa extrinsic protein of Photosystem II. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1767(6), 583-588.

Venkatesan, S., Hemalatha, K. V. and Jayaganesh, S. (2007) Characterization of manganese toxicity and its influence on nutrient uptake, antioxidant enzymes and biochemical parameters in tea. *Journal of Phytochemistry* 2: 52-60.

Dehghani, F., Azizi, M. and Reza Panjehshahin, M. (2011). *The effects of aqueous extract of raphanus sativus on glucose, triglyceride and cholesterol in diabetic rats*. Iranian Journal of Pharmacology & Therapeutics, 12, 56-67.

Jan, S., Rashid, Z., Ahmad Ahngar, T., Iqbal, S. 2020. *Hydroponics – A Review*. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 9(8), 1779-1787.

Mouroutoglou, C., Kotsiras, A., Ntatsi, G. and Savvas, D. (2021). *Impact of the hydroponic cropping system on growth, yield, and nutrition of a greek sweet onion (Allium Cepa L.) Landrace*. Horticulturae, 7, 432.

Mousavi, S. R., Galavi, M., & Rezaei, M. (2012). The interaction of zinc with other elements in plants: a review. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, 4(24), 1881-1884

Stanton, C., Sanders, D., Krämer, U., & Podar, D. (2021). Zinc in plants: Integrating homeostasis and biofortification. *Molecular Plant*.

Stengel, A., Gügel, I. L., Hilger, D., Rengstl, B., Jung, H., & Nickelsen, J. (2012). Initial steps of photosystem II de novo assembly and preloading with manganese take place in biogenesis centers in Synechocystis. *The Plant Cell*, 24(2), 660-675.

Sturikova, H., Krystofova, O., Huska, D., & Adam, V. (2018). Zinc, zinc nanoparticles and plants. *Journal of hazardous materials*, 349, 101-110.

Cstorday, K., Gombos, Z. and Zalontal, B. (1999) Manganese and cobalt toxicity in chlorophyll biosynthesis. *Journal of Agricultural Science* 3:248-251.

### **Investigating the effect of different concentrations of zinc and manganese in nutrient solution on yield and chlorophyll index of radish**

**Mitra Pashaei, Farhad Behtash\* and Hanifeh Seyed Hajizadeh**

*Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, 55136-553, Maragheh, Iran*  
*Corresponding author's email: [fbehtash@maragheh.ac.ir](mailto:fbehtash@maragheh.ac.ir)*

#### **Abstract**

Despite the need for sufficient expertise and relatively high initial capital, hydroponic cultivation has many advantages compared to soil cultivation, such as the use of less chemicals and as a result, the agricultural products are healthier in vegetable cultivation. However, the provision of food in accordance with the needs of plants in nutrient solution is one of the important challenges in this category. For this purpose, to investigate the effect of manganese and zinc in nutrient solution on yield and leaf chlorophyll of radish, a factorial experiment was conducted based on a completely randomized design in 3 replications. For this purpose, zinc sulfate at three levels (0.05, 5 and 10 mg L<sup>-1</sup>) and manganese sulfate at three levels (0.5, 2 and 4 mg L<sup>-1</sup>) were used. The results showed that by increasing the concentration of manganese in the nutrient solution, the amount of leaf chlorophyll decreased by 16% and yield by 57%, while by increasing the concentration of zinc in the nutrient solution, the amount of leaf chlorophyll increased by 16% and the yield increased by 99%.

**Key word;** Greenness, Yield, Hydroponic culture, micronutrient elements

## بررسی انباشت نیکل و روی در گیاه مینای پرگپه‌ای (*Tanacetum polycephalum*)

احمد مهتدی\*

\* دانشیار فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه یاسوج

[a.mohtadi@yu.ac.ir](mailto:a.mohtadi@yu.ac.ir)

### چکیده

گیاه مینای پرگپه‌ای (*Tanacetum polycephalum*) گیاهی است که معمولاً در نواحی مرکزی ایران یافت می‌شود، به‌ویژه در خاک‌های فلزدار که غلظت روی و نیکل در خاک نسبتاً زیاد است. برای بررسی میزان انباشت و تحمل فلزات نیکل و روی در گیاه *T. polycephalum*، گیاهان در شرایط کنترل شده در معرض غلظت‌های مختلف نیکل و روی قرار گرفتند. این آزمایش شامل چهار سطح نیکل (0، 10، 50 و 250 میکرومولار) و روی (2، 10، 50 و 250 میکرومولار) در محلول غذایی هوگلند به مدت 21 روز بود. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت روی و نیکل در محلول غذایی، وزن خشک اندام هوایی و ریشه گیاه *T. polycephalum* کاهش یافت. شاخص تحمل نیکل 41 و برای فلز روی 52 در بالاترین غلظت این فلزات بود. علاوه بر این، انباشت نیکل و روی در گیاه *T. polycephalum* به طور مستقیم با غلظت آنها در محیط ارتباط داشت. در بالاترین غلظت فلزات، انباشت نیکل و روی در اندام هوایی *T. polycephalum* به ترتیب 583 میکروگرم در گرم و 1736 میکروگرم در گرم بود. ضریب جابجایی فلز روی بیش از 1 بود که نشان داد در قسمت های هوایی *T. polycephalum* مقدار فلز بیشتری نسبت به ریشه انباشته شده است. بر اساس این یافته ها می‌توان نتیجه گرفت که گیاه *T. polycephalum* گیاهی نسبتاً متحمل به فلز است و تحمل بالایی به نیکل و روی دارد.

واژگان کلیدی: رشد، شاخص تحمل، ضریب جابجایی، فلز سنگین.

### مقدمه

خاک‌های سرپانتین محیط‌های تنش‌زایی هستند که گونه‌های گیاهی مختلف را پشتیبانی می‌کنند، اما نسبت کلسیم به منیزیم کمی دارند. از نظر مواد مغذی ضروری مانند نیتروژن، فسفر و پتاسیم ضعیف بوده و حاوی چندین فلز سنگین هستند (1). نیکل عنصری ضروری برای رشد گیاه، فعال شدن آنزیم و فرآیندهای متعدد فیزیولوژیکی است، اما غلظت بیش از حد آن می‌تواند باعث تولید گونه‌های فعال اکسیژن شود که منجر به سمیت گیاهی و اختلال در بسیاری از فرآیندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی گیاه می‌شود (2).

مقادیر بیش از حد روی می‌تواند اثرات مضر در گیاهان ایجاد کند، هرچند روی یک ریزمغذی ضروری برای رشد آنها است. سطوح بالای روی می‌تواند رشد و نمو گیاه را کاهش داده، متابولیسم را مختل کند و باعث آسیب اکسیداتیو در گونه‌های مختلف گیاهی شود (3). گیاهانی که می‌توانند در خاک‌های آلوده به فلزات بدون سمیت زنده بمانند و تکثیر شوند، به عنوان متالوفیت شناخته می‌شوند (4). برخی از این گیاهان حذف‌کننده‌هایی هستند که می‌توانند این عناصر را از بافت‌های خود حذف کنند، در حالی که برخی دیگر شاخص‌هایی هستند که حضور این فلزات را از طریق تغییر در الگوی رشد آنها نشان می‌دهند. در نهایت،

برخی از گیاهان به دلیل توانایی منحصر به فرد آنها در تحمل و انباشتن این فلزات در شاخه های خود به عنوان (بیشتر) انباشته کننده طبقه بندی می شوند (5).

گیاه مینای پرکپه ای (*Tanacetum polycephalum* Sch.Bip.) از خانواده Asteraceae، گیاهی معطر و چند ساله است که در خاک های سرپانتین و کالامین در بخش مرکزی ایران یافت می شود. در این مطالعه توانایی گیاه *T. polycephalum* در تحمل و تجمع نیکل و روی در شرایط کنترل شده بررسی شد.

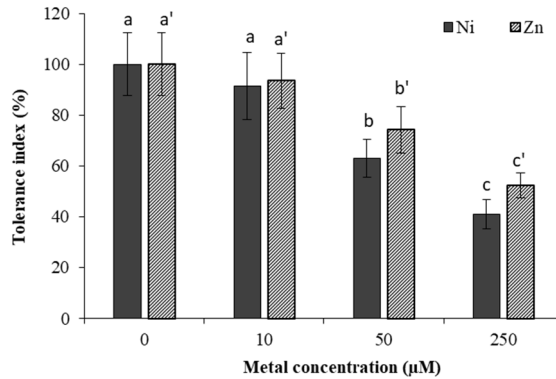
### مواد و روش ها

بذر گیاه مینای پرکپه ای از گیاهانی که در یک منطقه معدنی متروکه در نزدیکی انارک در بخش مرکزی ایران رشد می کردند، جمع آوری شد. بذرها در پیت ماس کشت شدند و دو هفته بعد، گیاهچه های حاصل به سیستم هیدروپونیک منتقل شدند. هر گلدان پلی اتیلن یک لیتری حاوی سه گیاه بود و با محلول اصلاح شده هوگلند نیم قدرت پر شد. گیاهان در اتاقک رشد تحت شرایط کنترل شده قرار گرفتند و محلول غذایی هر هفته تعویض شد. پس از یک دوره 14 روزه قبل از کشت، گیاهان تحت غلظت های مختلف (صفر (شاهد)، 10، 50 و 250 میکرومولار) نیکل به صورت نترات نیکل و (2 (شاهد)، 10، 50 و 250 میکرومولار) روی به صورت سولفات روی قرار گرفتند. سه گلدان با سه بوته در غلظت برای آزمایش استفاده شد. سه هفته پس از اعمال تیمار گیاهان برداشت شدند. پس از برداشت، بوته ها به بخش های هوایی و ریشه تقسیم شدند. وزن خشک شده هر قسمت پس از خشک کردن در دمای 70 درجه سانتی گراد به مدت 72 ساعت اندازه گیری شد. میزان فلز نیکل و روی با استفاده از دستگاه جذب اتمی اندازه گیری شد و شاخص تحمل و فاکتور انتقال فلزات محاسبه شد.

داده ها با استفاده از آنالیز واریانس مدل خطی (ANOVA) برای تعیین تحمل گیاه و مقایسه انباشت روی و نیکل در ریشه و اندام هوایی گیاه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. قبل از هر آنالیز واریانس، همگنی واریانس و نرمال بودن توزیع ارزیابی شد.

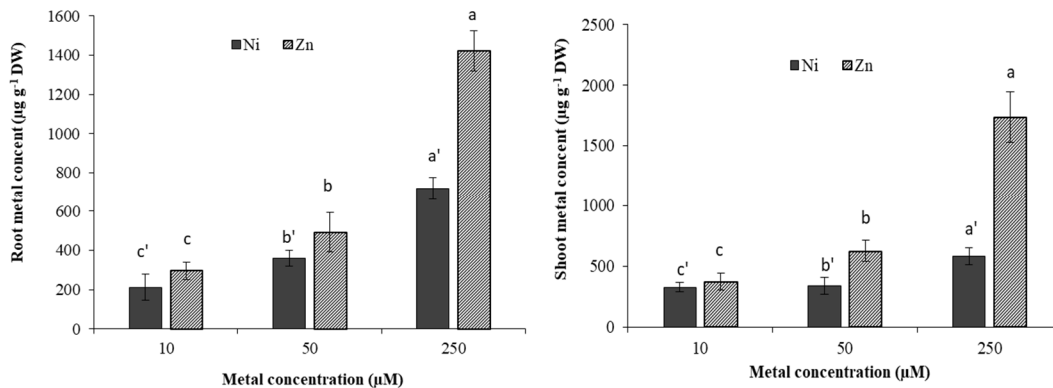
### نتایج و بحث

نتایج نشان داد که *T. polycephalum* قادر به رشد در محلول حاوی 50 میکرومولار نیکل و روی بود، بدون اینکه علائم سمیت قابل مشاهده ای را نشان دهد. اما با افزایش سطوح نیکل و روی، زیست توده گیاه به شدت کاهش یافت. در غلظت های بالاتر روی و نیکل، گیاهان نکروز، کلروز برگ و توقف رشد را نشان دادند. تفاوت معنی داری در وزن خشک ریشه و اندام هوایی و شاخص تحمل در 10 میکرومولار نیکل و روی نسبت به شاهد وجود نداشت. وزن خشک ریشه در غلظت های 50 و 250 میکرومولار نیکل به ترتیب 36 و 61 درصد نسبت به شاهد کاهش داشت. در حالی که وزن خشک ریشه در غلظت های 50 و 250 میکرومولار روی به ترتیب 25 و 42 درصد نسبت به شاهد کاهش یافت. وزن خشک اندام هوایی در غلظت های 50 و 250 میکرومولار نیکل به ترتیب 37 و 58 درصد نسبت به شاهد کاهش داشت. در حالی که وزن خشک اندام هوایی در غلظت های 50 و 250 میکرومولار روی به ترتیب 26 و 50 درصد نسبت به شاهد کاهش یافت. شاخص تحمل در مورد نیکل 37 و 59 درصد و در مورد روی 28 و 48 درصد بترتیب در غلظت 50 و 250 میکرومولار نسبت به شاهد کاهش داشت (شکل 1).



شکل 1- میانگین شاخص تحمل *T. polycephalum* تیمار شده با غلظت‌های مختلف نیکل و روی (0-250 میکرومولار)

همانطور که در شکل 2 نشان داده شده است، با افزایش غلظت این فلزات در محلول غذایی، غلظت نیکل و روی انباشته شده در ریشه و بخش هوایی گیاهان افزایش یافت. در ریشه‌ها تجمع نیکل و روی در غلظت 50 و 250 میکرومولار به ترتیب 360 و 720 میکروگرم در گرم و 492 و 1421 میکروگرم در گرم بود. تجمع روی در اندام هوایی و ریشه در مقایسه با تیمار نیکل در تمام سطوح مربوطه بیشتر بود (شکل 2). در تمام تیمارهای روی، غلظت روی در اندام هوایی نسبت به ریشه بیشتر است. برای روی، فاکتور جابجایی به ترتیب از 1/26 در 10 میکرومولار به 1/22 در تیمارهای روی 250 میکرومولار کاهش یافت. در مقابل، ضریب انتقال نیکل از 1/53 در 10 میکرومولار به 0/81 در تیمار 250 میکرومولار نیکل کاهش یافت.



شکل 2- میانگین غلظت روی و نیکل ریشه و بخش هوایی در گیاه *T. polycephalum* تیمار شده با غلظت‌های مختلف نیکل و روی

نتایج نشان داد که زیست توده ریشه و اندام هوایی گیاه در تیمارهای نیکل و روی در مقایسه با شاهد به طور معنی‌داری کاهش یافت. مطالعات مختلف نشان داده‌اند که سطوح بالای نیکل می‌تواند اثرات منفی بر پارامترهای مختلف رویشی مانند ارتفاع گیاه و زیست توده خشک و تر در محصولات کشاورزی داشته باشد (2). اثر سمی نیکل بر روی ریشه گیاه می‌تواند فعالیت میتوزی مریستم ریشه را تا حد زیادی کاهش دهد و منجر به کاهش رشد ریشه شود (6).



سمیت روی باعث ایجاد علائم مختلفی در گیاهان می شود که از جمله آنها می توان به توقف رشد، کاهش عملکرد، تداخل با جذب منگنز، منیزیم و فسفر و کلروز ناشی از کمبود آهن اشاره کرد (3). در محلول غذایی با افزایش سطوح روی و نیکل، شاخص تحمل گیاه *T. polycephalum* کاهش یافت. تحمل گیاه به فلزات سنگین معمولاً با اندازه گیری میزان مهار فلز موجود در محلول غذایی از رشد ریشه یا اندام هوایی انجام می شود (7). مطالعه ما کاهش واضحی در رشد گیاه در غلظت 50 میکرومولار نیکل و روی در محلول غذایی نشان داد. کاهش زیست توده در این گیاه به دلیل افزایش سطوح نیکل و روی ممکن است به دلیل تداخل آنها با فرآیندهای بیوشیمیایی و متابولیک مانند سنتز کلروفیل و پروتئین باشد.

توانایی گیاهان در جذب فلزات سنگین تحت تأثیر عوامل مختلفی از جمله ترکیب ژنتیکی، سطح ریشه، ظرفیت جذب یون، ترشحات ریشه و سرعت تبخیر و تعرق می باشد. ضریب جابجایی فلز پارامتری است که برای تعیین رابطه بین میزان تجمع فلزات در ریشه و میزان آنها در قسمت های هوایی گیاه استفاده می شود. نتایج مطالعه ما حاکی از آن است که گیاه *T. polycephalum* را نمی توان بر اساس محتوای نیکل و روی به عنوان گونه بیش انباشتگر طبقه بندی کرد. براساس نتایج حاصل از این تحقیق می توان این گیاه را یک گونه گیاهی متحمل به فلزات با تحمل نسبتاً بالا به نیکل و روی در نظر گرفت.

### نتیجه گیری

این مطالعه به بررسی تحمل و انباشت روی و نیکل در گیاه *Tanacetum polycephalum* گونه ای گیاهی که معمولاً در خاک های فلزدار در ایران یافت می شود، پرداخت. افزایش غلظت روی و نیکل در محلول غذایی باعث کاهش وزن خشک ریشه و اندام هوایی در این گیاه شد. همچنین این گیاه دارای تحمل نسبتاً بالایی به نیکل و روی بوده بطوری که دارای شاخص تحمل 41 برای نیکل و 52 برای روی در غلظت 250 میکرومولار می باشد. فاکتور جابجایی روی در این گیاه بیش از 1 بود که نشان داد در قسمت های هوایی نسبت به ریشه هایشان مقدار بیشتری روی انباشته شده است.

### منابع

1. Rajakaruna, N. 2018. Lessons on evolution from the study of edaphic specialization. *The Botanical Review*, 84(1), pp.39-78.
2. Shahzad B, Tanveer M, Rehman A, Cheema SA, Fahad S, Rehman S, and Sharma A. 2018. Nickel; whether toxic or essential for plants and environment - A review. *Plant Physiology and Biochemistry*, 132, pp.641-651.
3. Kaur, H., and Garg, N. 2021. Zinc toxicity in plants: a review. *Planta*, 253, pp. 129.
4. Wojcik M., Gonnelli C., Selvi F., Dresler S., Rostanski A., Vangronsveld J. 2017. Metallophytes of serpentine and calamine soils – their unique ecophysiology and potential for phytoremediation. *Advances in Botanical Research*, 83, pp.1-42.
5. Baker, A. J. M. 1981. Accumulators and excluders - strategies in the response of plants to heavy metals. *Journal of Plant Nutrition*, 3, pp.643-654.
6. Hassan, M.U., Chattha, M.U., Khan, I., Chattha, M.B., Aamer, M., Nawaz, M., Ali, A., Khan, M.A.U., and Khan, T.A. 2019. Nickel toxicity in plants: reasons, toxic effects, tolerance mechanisms, and remediation possibilities—a review. *Environmental Science and Pollution Research*, 26, pp.12673-12688.
7. Parlak, K. U. 2016. Effect of nickel on growth and biochemical characteristics of wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. *NJAS-Wageningen Journal of Life Sciences*, 76, pp.1-5.

## Accumulation of nickel and zinc in *Tanacetum polycephalum*

Ahmad Mohtadi\*

Department of Biology, Faculty of Science, Yasouj University

\*Corresponding Author: [a.mohtadi@yu.ac.ir](mailto:a.mohtadi@yu.ac.ir)

### Abstract

*Tanacetum polycephalum* Sch.Bip. is a commonly found plant in the central part of Iran, particularly in serpentine and calamine soils, where the soil concentrations of zinc (Zn) and nickel (Ni) are relatively high. To investigate the tolerance and accumulation of these metals in *T. polycephalum*, the plants were exposed to different concentrations of Ni and Zn in controlled conditions. The experiment involved using four levels of Ni (0, 10, 50, and 250  $\mu$ M) and Zn (2, 10, 50, and 250  $\mu$ M) in the Hoagland's nutrient solution for 21 days. As the concentration of Zn and Ni increased in the external solution, the dried weight of the shoots and roots of *T. polycephalum* decreased. The tolerance index of *T. polycephalum* was 41 (Ni) and 52 (Zn) at the highest concentration of the metals. Moreover, the accumulation of Ni and Zn in *T. polycephalum* was directly proportional to their concentration in the medium. At the highest metal concentrations, the accumulation of Ni and Zn in the aerial parts of *T. polycephalum* was 583  $\mu$ g g<sup>-1</sup> and 1736  $\mu$ g g<sup>-1</sup>, respectively. The translocation factor of Zn was more than 1, which showed aerial parts of *T. polycephalum* accumulated more amount of metal than their roots. Based on these findings, it can be concluded that *T. polycephalum* is a relatively metal-tolerant plant and has a high tolerance to both Ni and Zn.

**Keywords:** Growth, Heavy metal, Translocation factor, Tolerance index

## مقایسه ترکیبات زیست فعال در عصاره اتانولی گیاهان دارویی آویشن، زوفا، گلپر و

### اسطوخودوس

فاطمه شهدادی<sup>1</sup>، اعظم سیدی<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> گروه صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جیرفت، جیرفت، ایران

<sup>2</sup> گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جیرفت، جیرفت، ایران

\* نویسنده مسئول: a.seiedi@ujiroft.ac.ir

### چکیده

هدف از این پژوهش مقایسه ترکیبات فنلی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و مقدار ویتامین ث موجود در عصاره اتانولی گیاهان دارویی آویشن، زوفا، گلپر و اسطوخودوس بود. این پژوهش به صورت طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار در دانشگاه جیرفت در سال 1401 انجام شد. گیاهان آویشن، گلپر و اسطوخودوس از منطقه کرمان و زوفا از منطقه بلوچستان تهیه شدند. برای اندازه‌گیری ترکیبات فنلی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان ویتامین ث به ترتیب از روش‌های فولین سیوکالتو، جذب رادیکال آزاد و یدومتري استفاده گردید. نتایج نشان داد تفاوت معنی‌داری بین ترکیبات زیست فعال ذکر شده در گیاهان مختلف وجود داشت. مقدار ترکیبات فنلی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در آویشن و زوفا به طور معنی‌داری بیشتر از گلپر و اسطوخودوس بود. همچنین زوفا به طور معنی‌داری دارای بالاترین مقدار ویتامین ث در بین گیاهان مورد بررسی بود. به طوریکه آویشن به ترتیب 53 و 58 درصد ترکیبات فنلی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بیشتر و زوفا 72% ویتامین ث بیشتری نسبت به گیاه اسطوخودوس داشتند. **واژگان کلیدی:** ترکیبات فنلی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ویتامین ث، گیاهان دارویی.

### مقدمه

استفاده از گیاهان دارویی در طب سنتی به‌عنوان منابع درمانی، سابقه طولانی دارد. گیاهان دارویی به دلیل منشأ طبیعی، ارزش فرهنگی و طیف گسترده فعالیت‌های دارویی، احتمالات امیدوارکننده‌ای را برای کشف و توسعه داروهای جدید ارائه می‌دهند. گیاهان دارویی به عنوان منابع فراوان ترکیبات زیست فعال با پتانسیل درمانی متنوع عمل می‌کنند. بسیاری از ترکیبات فعال زیستی موجود در گیاهان دارویی شامل آلکالوئیدها، فلاونوئیدها، ترپنوئیدها، فنولیک‌ها و اسانس‌ها هستند. خصوصیات فارماکولوژیک این مواد شامل اثرات ضد باکتریایی، آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی، ضد سرطانی و تعدیل‌کننده ایمنی آنها می‌باشد (Ahmad Dar et al., 2023). ترکیبات زیست فعال مشتق شده از گیاهان دارویی دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی هستند که رادیکال‌های آزاد را خنثی می‌کند و سبب کاهش آسیب اکسیداتیو می‌شوند. پلی‌فنول‌ها مانند فلاونوئیدها و اسیدهای فنولیک، آنتی‌اکسیدان‌های شناخته شده‌ای هستند که در گیاهان یافت می‌شوند و سبب خنثی کردن گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و مهار پراکسیداسیون چربی می‌شوند (Ahmad Dar et al., 2023).

آویشن با نام علمی *Thymus vulgaris* L. از تیره لامیاسه (Lamiaceae)، یک گیاه دارویی چند منظوره است که در سراسر جهان پراکنده شده است. برگ‌های آویشن محبوبترین بخش این گیاه هستند که به صورت ادویه نیز در سراسر جهان مورد استفاده قرار می‌گیرند. اسانس و عصاره آویشن خواص آنتی‌باکتری، ضد قارچ، آنتی‌اکسیدان، ضد ویروسی، ضد سرطانی، ضد التهاب، ضد

اسپاسم، محرک سیستم ایمنی، کاهش انتشار گاز متان و همچنین خواص کنه کشی را داراست (Orłowska et al., 2015؛ صالحی و همکاران، 2018).

اسطوخودوس با نام علمی *Lavandula angustifolia* از تیره لامیاسه (Lamiaceae) و از گیاهان دارویی استان کرمان، گیاهی دائمی با بوته‌ای به ارتفاع یک متر، ساقه‌ای چهار گوش، برگ‌هایی باریک و نوک تیز و گل‌هایی به رنگ آبی مایل به بنفش از تیره نعناعیان می باشد. ترکیبات سازنده اسانس این گیاه شامل مشتقات کومارین، تری‌ترین‌ها، تانن‌ها و فنیل کربوکسیلیک اسیدهایی از قبیل رزمارینیک اسید است (Biljana et al., 2010). در سال‌های اخیر این گیاه به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی خود مورد توجه واقع شده است ولی اطلاعات محدودی در این زمینه وجود دارد (Biljana et al., 2010; Georgieva et al., 2006).

گلپر با نام علمی *Heracleum persicum* L. از خانواده چتریان (Apiaceae) می‌باشد. گیاه گلپر بطور گسترده در ایران پراکنده شده است، اما بهترین رشد را در مناطق مرطوب و مغذی، به ویژه در مناطق کوهستانی شمال با ارتفاع مختلف از 1500 تا 2500 متر دارا می باشد (حسینی فر و همکاران، 2016). طبیعت گلپر گرم بوده و ترکیبات شیمیایی گلپر شامل استات هکسیلیک، استات استیک، بوتیرات استیلیک، آنتول و اسیدهای مختلف دیگر است که بوی تند گلپر را سبب می‌شود. آنتول-1 متوکسی-4-ایزوپروپینیل - بنزن ترکیبی معطر با کاربردهای تجاری فراوان در صنایع غذایی و عطر سازی است (جعفرزاده و همکاران، 2014).

زوفا یا آویشن بلوچستان با نام علمی *Hyssopus officinalis* L. گیاهی است از تیره لامیاسه (Lamiaceae) که در نواحی کوهستانی استان سیستان و بلوچستان می‌روید و در زبان محلی به آن ازگند می‌گویند. عصاره این گیاه دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ضد باکتریایی، ضد قارچی، ضد ویروسی به ویژه ایدز و در صنایع غذایی، آرایشی و بهداشتی کاربردهای فراوانی دارد (امید بیگی، 1381). از آنجایی که نوع گیاه بر ترکیبات موثره آن تأثیر می‌گذارد هدف این مطالعه مقایسه ترکیبات فنلی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ویتامین ث گیاهان آویشن، اسطوخودوس، گلپر و زوفا بود.

#### مواد و روش‌ها

**تهیه اسانس:** برای استخراج عصاره، 10 گرم پودر برگ و شاخساره گیاهان مورد مطالعه با 100 میلی لیتر اتانول 50 درصد مخلوط و به مدت 12 ساعت در دمای اتاق نگهداری شد. هر چند مدت یک بار نمونه‌ها با شیکر هم زده شد. بعد از طی شدن مدت زمان استخراج، عصاره‌ها با کاغذ صافی واتمن شماره یک صاف شد. سپس مایع فیلتر شده با ضخامت کم در پلیت‌های شیشه‌ای ریخته و زیر هود قرار داده شد تا اتانول خارج شود (ستایی مختاری و همکاران، 1400).

**اندازه‌گیری ترکیبات فنولی:** برای اندازه‌گیری ترکیبات فنولی از روش فولین سیو کالتو استفاده شد. برای رسم منحنی کالیبراسیون از اسید گالیک به عنوان استاندارد استفاده شد و نتایج برحسب میلی‌گرم اسید گالیک در گرم وزن خشک نمونه محاسبه شد (عربشاهی دلویی و عروج، 2006).

**اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی:** فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش به دام اندازی رادیکال (DPPH) اندازه‌گیری شد فعالیت برحسب درصد نسبی جذب رادیکال آزاد DPPH محاسبه شد (Bios, 1958).

**اندازه‌گیری ویتامین ث:** برای اندازه‌گیری ویتامین ث از روش یدومتری استفاده شد. برای این منظور 20 میلی لیتر آب مقطر، 10 میلی عصاره گیاهان و 2/5 میلی لیتر محلول نشاسته را داخل بشر ریخته و با محلول ید در یدور پتاسیم تا ظهور رنگ خاکستری

تیتراژ گردید. مقدار ید در معادله زیر قرار گرفت و مقدار ویتامین ث بر حسب میلی گرم بر گرم محاسبه شد: میزان ویتامین ث = مقدار ید در یدور پتاسیم مصرفی  $\times 8/8$

**تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها:** برای تجزیه واریانس داده‌ها و مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن از نرم‌افزار SAS و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار EXCEL استفاده شد.

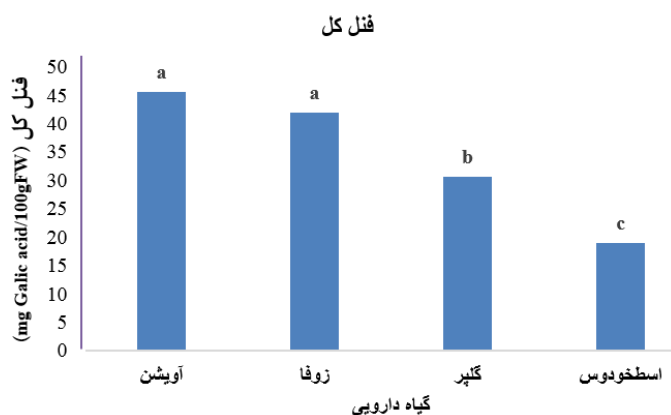
**نتیجه‌گیری و بحث:** مطابق نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول 1) نوع گیاه دارویی اثر معنی‌داری در سطح یک درصد بر فنل کل، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و ویتامین ث داشت.

جدول 1- تجزیه واریانس تاثیر نوع گیاه دارویی بر ترکیبات زیست فعال عصاره اتانولی

منابع تغییرات	فنل کل	ظرفیت آنتی‌اکسیدانی	ویتامین ث
نوع گیاه دارویی	355/63**	1133/02**	703/30**
بلوک	12/04 <sup>ns</sup>	0/33 <sup>ns</sup>	2/74 <sup>ns</sup>
خطای آزمایشی	8/53	10/14	8/28
ضریب تغییرات	8/19	4/69	8/45

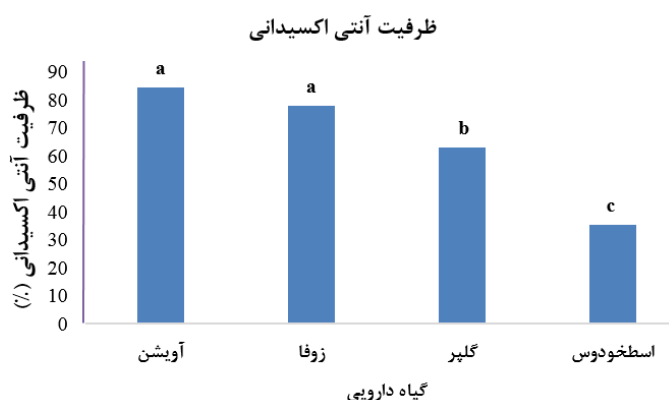
ns و \*\* به ترتیب نشان دهنده غیر معنی‌داری و معنی‌داری در سطح یک درصد براساس آزمون دانکن و

**فنل کل:** مطابق نتایج مقایسه میانگین داده‌ها (شکل 1) در بین گیاهان مورد آزمایش به ترتیب بیشترین (45/59 میلی‌گرم گالیک اسید/100 گرم وزن خشک نمونه) و کمترین (18/97 میلی‌گرم گالیک اسید/100 گرم وزن خشک نمونه) مقدار فنل کل در گیاه آویشن و اسطوخودوس مشاهده گردید به طوریکه آویشن 53 درصد فنل بیشتری نسبت به گیاه اسطوخودوس داشت. ستایی مختاری و همکاران (1400) میزان ترکیبات فنلی عصاره اتانولی آویشن منطقه جیرفت را 61/67 میلی‌گرم گالیک اسید در گرم وزن خشک نمونه بدست آوردند. در پژوهشی Messaoud و همکاران (2012) محتوای فنل کل اسطوخودوس را 31/3 میلی‌گرم گالیک اسید/گرم وزن نمونه گزارش کردند.



**شکل 1:** مقایسه میانگین مقدار ترکیبات فنلی عصاره اتانولی گیاهان دارویی آویشن، زوفا، گلپر و اسطوخودوس. ستون‌های دارای حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد برحسب آزمون دانکن می‌باشند.

**ظرفیت آنتی اکسیدانی:** مطابق نتایج مقایسه میانگین داده‌ها در بین گیاهان مورد آزمایش به ترتیب بیشترین (84/53) و کمترین (35/24) مقدار ظرفیت آنتی اکسیدانی در گیاه آویشن و اسطوخودوس مشاهده گردید به طوریکه آویشن 58 درصد ظرفیت آنتی اکسیدانی بیشتری نسبت به گیاه اسطوخودوس داشت. در پژوهشی (Vals et al., 2014) مقدار ترکیبات فنولی در عصاره زوفا را که با استفاده از روش مسراسیون و حلال اتانول استخراج شده بود را 4/71 میلی گرم بر گرم گیاه گزارش نمودند و اعلام نمودند این گیاه دارای خصوصیات آنتی اکسیدانی و دارویی است که به دلیل دارا بودن ترکیبات فنولی است. علت بیشتر بودن فعالیت آنتی اکسیدانی در دو گیاه آویشن و زوفا را می توان به بیشتر بودن محتوای فنولی کل در این گیاهان نسبت داد. رابطه زیادی بین فعالیت گیرندگی رادیکال با میزان ترکیبات فنولی در گیاهان گزارش شده است (Dorman et al., 2003).

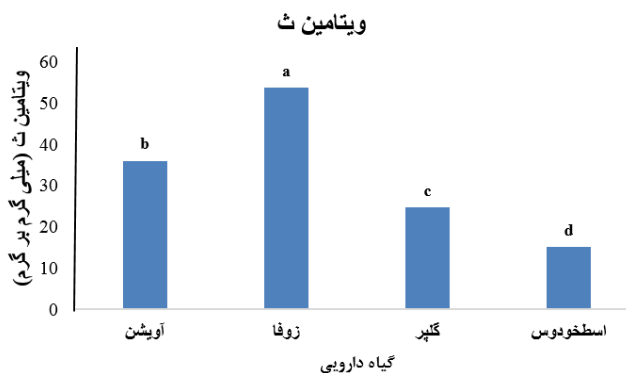


**شکل 2:** مقایسه میانگین ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره اتانولی گیاهان دارویی آویشن، زوفا، گلپر و اسطوخودوس. ستون‌های دارای حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح احتمال یک درصد برحسب آزمون دانکن می‌باشند.

نتایج سوادکوهی و همکاران (1401) نشان داد میزان فعالیت ضد رادیکالی عصاره در غلظت 400 پی پی ام را 93 درصد گزارش نمودند و نشان دادند با افزایش غلظت عصاره گیاه زوفا، میزان مهار رادیکال‌های آزاد DPPH افزایش یافت که بیشتر از میزان بدست آمده در مطالعه حاضر بود. حسینی نیافر و همکاران (1397) میزان فعالیت ضد رادیکالی عصاره اتانولی اسطوخودوس در غلظت 0/5 میلی گرم بر لیتر را 61/48 درصد گزارش کردند. ترکیبات مختلفی که در اسانس اسطوخودوس وجود دارند شامل آلفا پینن، آلفا فلاندرین، اوژنول، کارواکرول، تیمول، فنچون، ترپینولن، آلفا ترپینن، ترپینن - 4 - آل و 1 و 8-سینئول دارای فعالیت آنتی اکسیدانی هستند. علاوه بر این، گزارش شده است که آلفا-سینئول فعالترین ترکیب در کاهش تولید اکسیژن فعال نسبت به سایر مونوترپن‌ها است و همانند ترکیبات فنولی قادرند رادیکال‌های آزاد را با اهدای هیدروژن به آنها از بین ببرند (Benabdelkader et al., 2011). در پژوهش ستایی مختاری و همکاران (1400) میزان فعالیت ضد رادیکالی عصاره اتانولی آویشن منطقه جیرفت را در غلظت 500 پی پی ام، 69 درصد گزارش نمودند که در مقایسه با مقدار بدست آمده در پژوهش حاضر کمتر بود.

**ویتامین ث:** مطابق نتایج مقایسه میانگین داده‌ها در بین گیاهان مورد آزمایش به ترتیب بیشترین و کمترین (به ترتیب 54 و 15 میلی گرم در گرم) مقدار ویتامین ث در گیاه زوفا و اسطوخودوس مشاهده گردید به طوریکه آویشن 72 درصد ویتامین ث بیشتری

نسبت به گیاه اسطوخودوس داشت. تاکنون گزارشی مبنی بر اندازه‌گیری مقدار ویتامین ث در عصاره گیاهان دارویی مذکور گزارش نشده است.



**شکل 3:** مقایسه میانگین مقدار ویتامین ث عصاره اتانولی گیاهان دارویی آویشن، زوفا، گلپر و اسطوخودوس. ستون‌های دارای حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد برحسب آزمون دانکن می‌باشند.

### نتیجه‌گیری کلی

نتایج این تحقیق نشان داد که تفاوت معنی‌داری در ترکیبات زیست فعال گیاهان موجود در عصاره اتانولی گیاهان آویشن، زوفا، گلپر و اسطوخودوس وجود داشت. مقدار ترکیبات فنلی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در آویشن و زوفا به طور معنی‌داری بیشتر از گلپر و اسطوخودوس بود. همچنین زوفا به طور معنی‌داری دارای بالاترین مقدار ویتامین ث در بین گیاهان مورد بررسی بود. با در نظر گرفتن مقدار و نوع ترکیبات زیست فعال گیاهان مختلف می‌توان به صورت تخصصی‌تر از آنها در صنعت داروسازی و همچنین طب سنتی استفاده نمود.

### منابع

- امید بیگی، ر. 1381. بررسی کشت و سازگاری در شمال تهران. علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، شماره ۲، ۲۴۰.
- حسینی نیافر، ر. نجفی، غ.ر. و فدائیان، م. 1397. بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره اسطوخودوس استخراج شده به روش سوکسله. بیولوژی کاربردی، 8(2): 25-30.
- رضایی سوادکوهی، ن. آریایی، پ. و چرمچیان لنگرودی، م. 1401. استخراج و ریز پوشانی عصاره گیاه و تأثیر آن بر پایداری اکسیداتیو سیستم مدل غذایی (روغن سویا). نوآوری در علوم و فناوری غذایی، 14(3): 11-25.
- ستایی مختاری، ط. شهدادی، ف. و صالحی ساردویی، ع. 1400. تأثیر حلال‌های مختلف بر میزان درصد مهار رادیکال آزاد و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان بومی شهرستان جیرفت. کارافن، 18(4): 145-158.

Ahmad Dar, R., Shahnawaz, M., Ahanger, M.A. and Maji, I. (2023). Exploring the diverse bioactive compounds from medicinal plants: A Review. *The Journal of Phytopharmacology*, 12(3):189-195.

Arabshahi-Delouee S, Urooj A. (2006). Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L.) leaves. *Food Chemistry*, 102: 1233-40.

- Arya, S.P., Mahajan, M. and Jain, P. (2000). Non-spectrophotometric methods for the determination of vitamin C. *Analytica Chimica Acta*, 417(1): 1-14.
- Benabdelkader T, Zitouni A, Guitton Y, Jullien F, Maitre D, Casabianca H, Legendre L. and Kameli A. (2011). Essential oils from wild populations of Algerian *Lavandula stoechas* L.: composition, chemical variability, and in vitro biological properties. *Chemistry & Biodiversity*.; 8(5):937-53.
- Biljana, B., Sanda, V., Adelheid, B. and Maja, B. (2010). Evaluation of antioxidant potential of *Lavandula x intermedia* Emeric ex Loisel. 'Budrovka': A Comparative study with *L. angustifolia* Mill. *Molecules*. 15: 5971-5987.
- Bios MS. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 26: 1199-2000.
- Dorman, H. J., Koşar, M., Kahlos, K., Holm, Y., and Hiltunen, R. (2003). Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from *Mentha* species, hybrids, varieties, and cultivars. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51(16), 4563-4569.
- Georgieva, M., Kuzevab, S., Pavlova, A., Kovachevac, E and Ilieva, M. (2006). Enhanced rosmarinic acid production by *Lavandula vera* MM cell suspension culture through elicitation with vanadyl sulfate. *Zeitschrift für Naturforschung*. 61c: 241-244.
- Hoseinifar, S.H., Zoheiri, F. and Lazado, C.C. (2016). Dietary phytoimmunostimulant Persian hogweed (*Heracleum persicum*) has more remarkable impacts on skin mucus than on serum in common carp (*Cyprinus carpio*). *Fish & shellfish immunology*, 59, pp.77-82.
- Jafarzadeh, L., Sedighi, M., Behzadian, M., Ansari-Samani, R., Shahinfard, N. and Rafieian-Kopaei, M. (2014). The teratogenic and abortifacient effects of *Heracleum Persicum* hydroalcoholic extract and its correlation with mothers' estrogen and progesterone in Balb/C Mice. *Journal of Babol University of Medical Sciences*, 16(3): pp.26-32.
- Vlase, L., Benedec, D., Hanganu, D., Damian, G., Csillag, I., Sevastre, B., Mot, A.C., Silaghi-Dumitrescu, R. and Tilea, I. (2014). Evaluation of antioxidant and antimicrobial activities and phenolic profile for *Hyssopus officinalis*, *Ocimum basilicum* and *Teucrium chamaedrys*. *Molecules*, 19(5):5490-5507.
- Orłowska, M., Kowalska, T., Sajewicz, M., Pytlakowska, K., Bartoszek, M., Polak, J. and Waksmundzka-Hajnos, M., (2015). Antioxidant activity of selected thyme (*Thymus* L.) species and study of the equivalence of different measuring methodologies. *Journal of AOAC International*, 98(4):876–882.
- Salehi, B., Mishra, A.P., Shukla, I., Sharifi-Rad, M., Contreras, M. del M., Segura- Carretero, A., Fathi, H., Nasrabadi, N.N., et al. (2018). Thymol, thyme, and other plant sources: Health and potential uses. *Phytotherapy Research*, 32(9):1688–1706.

### Comparison of bioactive compounds in the ethanolic extracts of Thyme, Hyssop, Angelica and Lavender medicinal plants

Fatemeh Shahdadi<sup>1</sup>, Azam Seyedi\*<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Food Industry Science, Faculty of Agriculture, University of Jiroft, Jiroft, Iran

<sup>2</sup> \* Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Jiroft, Jiroft, Iran

\*Corresponding Author: a.seiedi@ujiroft.ac.ir

#### Abstract

The aim of this research was to compare the phenolic compounds, antioxidant capacity and vitamin C content in the ethanolic extracts of Thyme, Hyssop, Angelica and Lavender medicinal plants. This research was conducted as a completely randomized block design in three replications at University of Jiroft in 1401. Thyme, Angelica and Lavender plants were obtained from Kerman province region and Hyssop from Balochistan province region. The results showed that there was a significant difference between the mentioned bioactive compounds. The amount of phenolic compounds and antioxidant capacity in Thyme and Hyssop were significantly higher than Angelica and Lavender. Also, Hyssop, significantly had the highest amount of vitamin C among the examined plants. Thus, Thyme had 53% and 58% more phenolic compounds and antioxidant capacity, respectively, and hyssop had 72% more vitamin C than lavender.

**Keywords:** antioxidant activity, medicinal plants, phenolic compounds, vitamin C.



## بررسی پروفایل اسید چرب و محتوای لیپید کل پسته تیمارشده با پلاسمای سرد

مهديه بختیاری رضانی<sup>1\*</sup>، سارا هجری<sup>2</sup>، فاطمه امانی هارونی<sup>3</sup>

<sup>1\*</sup> استادیار، دکتری تخصصی فیزیک پلاسما، پژوهشکده پلاسما و گداخت هسته‌ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، سازمان انرژی

اتمی، تهران، ایران

[mahdiyeh.bakhtiyari@gmail.com](mailto:mahdiyeh.bakhtiyari@gmail.com)

<sup>2</sup> پژوهشگر، دکترای فیزیولوژی گیاهی، شرکت توسعه فناوری پلاسما، تهران، ایران

<sup>3</sup> پژوهشگر، دکترای مهندسی کشاورزی، شرکت توسعه فناوری پلاسما، تهران، ایران

### چکیده

کاربرد پلاسمای سرد در مراحل مختلف تولید مواد غذایی مانند کاهش بار میکروبی یا حذف سموم طبیعی مورد بررسی قرار گرفته است. علاوه بر اثبات کارایی این فناوری در صنایع غذایی که بسیار به آن پرداخته شده، اثبات عدم ایجاد اثر نامطلوب بر کیفیت مواد غذایی نیز اساسی و مهم است. بنابراین در این مطالعه تأثیر پلاسمای سرد غیرمستقیم در زمان‌های تیمار مختلف (5، 10، 20 و 40 دقیقه) بر ارزش غذایی پسته با تمرکز بر پروفایل اسیدهای چرب آزاد، لیپید کل و شاخص پراکسید مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که تیمار پسته با پلاسمای سرد تا مدت 20 دقیقه، اثری بر پروفایل اسیدهای چرب آزاد نداشت، لیکن اعمال 40 دقیقه‌ای پلاسما موجب تغییر در پالمیتیک اسید و لینولئیک اسید شد. پلاسما در تمام تیمارها تأثیری بر شاخص پراکسید نداشت، لیکن محتوای لیپید کل را کمی کاهش داد که می‌توان آن را به توانایی گونه‌های اکسیژن و نیتروژن فعال در اکسیداسیون لیپیدها نسبت داد.

**واژگان کلیدی:** پلاسمای سرد، پسته، پروفایل اسیدهای چرب، لیپید کل، شاخص پراکسید

### مقدمه

صنعت غذا باید به طور مستمر با نیازهای جمعیت رو به رشد جهان سازگار شود. این سازگاری باید در محدوده منابع موجود و الزامات نظارتی محقق شود. برای مقابله با چالش‌های نوظهور امنیت و ایمنی غذایی نیاز به نوآوری و ابداع روش‌های جدید است. روش نوظهور فناوری پلاسما سرد توانسته در دو دهه اخیر نقش مؤثر خود را در افزایش کیفیت و کمیت مواد غذایی اثبات کند (1). پلاسما، گازی یونیزه متشکل از فوتون‌ها، میدان الکترومغناطیس، رادیکال‌ها، یون‌ها و اتم‌های برانگیخته است. پلاسما سرد پتانسیل زیادی برای غیرفعال کردن باکتری‌ها، ویروس‌ها و قارچ‌ها و حذف مایکوتوکسین‌ها در مواد غذایی جانوری و گیاهی دارد و می‌تواند به دلیل دمای پایین فرآوری به طور گسترده در صنایع غذایی استفاده شود (2). لیکن چالش پنهان در ورای کاربرد پلاسما در صنایع غذایی، ماتریکس پیچیده مواد غذایی است که از مقادیر مختلف پروتئین، لیپید، کربوهیدرات، آب و ... تشکیل شده است. ماتریکس مواد غذایی، پیچیدگی واکنش‌های گونه‌های فعال پلاسما را افزون می‌کند. برخی از ترکیبات غذایی می‌توانند اثر گونه‌های فعال پلاسما را خنثی و برخی اثر آن را تشدید کنند (3). از این رو بررسی اثر پلاسما بر کیفیت محصولات غذایی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است.

در این پژوهش پلاسمای سرد فشار اتمسفری حاصل از سیستم پلاسمایی تخلیه سد دی الکتریک برای بررسی اثر پلاسمای غیرمستقیم بر پروفیل اسیدهای چرب آزاد، محتوای لیپید کل و شاخص پراکسید پسته مورد استفاده قرار گرفت. مغز پسته به دلیل وجود محتوای بالای اسیدهای چرب غیراشباع، پروتئین‌ها، مواد معدنی، ویتامین‌ها، فیتواستروئول‌ها و پلی‌فنل‌ها برای ارتقاء سلامت انسان مفید است. بنابراین حفظ کیفیت آن از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است.

### مواد و روش‌ها

در این آزمایش، ابتدا پسته همگن و سپس به پنج گروه تیماری هر گروه واجد سه دسته تکرار، تقسیم شد. سپس نمونه‌های پسته در فاصله 2 cm از جفت‌الکترودهای دستگاه تخلیه سد دی الکتریک قرار گرفت و به مدت 0، 5، 10، 20 و 40 دقیقه با پلاسمای سرد حاصل از گاز کاری هوا، در ولتاژ 15 kV و فرکانس 8 kHz تیمار شد. پروفایل اسیدهای چرب آزاد با استفاده از کروماتوگرافی گازی و طبق استاندارد شماره 4091 و 13126-2 و شاخص پراکسید طبق استاندارد شماره 4179 اندازه‌گیری شد. محتوای لیپید کل نیز طبق استاندارد 11691 سنجش شد. داده‌های به دست آمده پس از اطمینان از نرمال بودن، بر اساس آنالیز واریانس یک‌طرفه تجزیه و تحلیل و مقایسه میانگین با بهره‌گیری از آزمون دانکن در پایه آماری 5 درصد انجام شد.

### نتایج و بحث

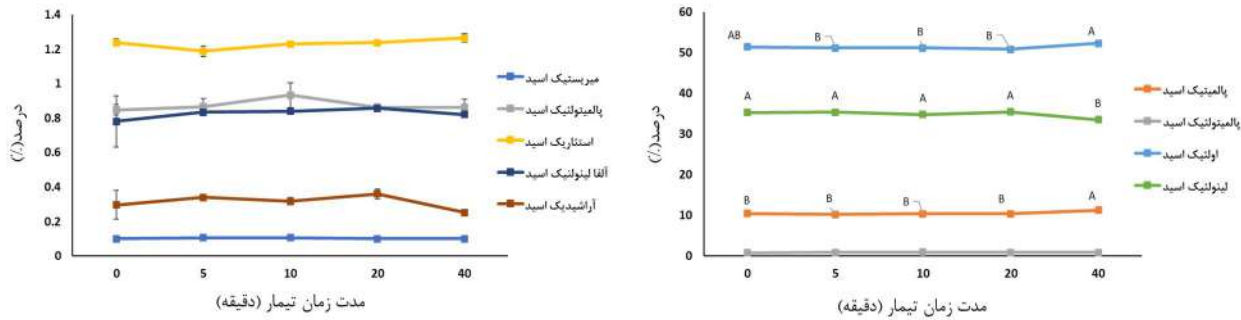
کیفیت آجیل معمولاً با اندازه‌گیری مقدار پراکسید و غلظت اسید چرب آزاد تخمین زده می‌شود (8). جدول 1 نتایج تأثیر مدت زمان اعمال پلاسما بر پروفایل اسیدهای چرب آزاد پسته خشک را نشان می‌دهد.

جدول 1: تحلیل واریانس (میانگین مربع‌ها) پیامد مدت زمان تیمار پلاسمای سرد بر پروفایل اسید چرب پسته

آماره F							
میرستیک اسید	پالمیتیک اسید	پالمیتوئیک اسید	استئاریک اسید	اولئیک اسید	لینوئیک اسید	$\alpha$ -لینوئیک اسید	آرشدیک اسید
3/00 <sup>ns</sup>	3/72 <sup>**</sup>	1/58 <sup>ns</sup>	6/82 <sup>ns</sup>	3/63 <sup>**</sup>	10/52 <sup>**</sup>	0/55 <sup>ns</sup>	2/86 <sup>ns</sup>

\*\* وجود تفاوت معنی‌دار در سطح 0/01، ns عدم وجود تفاوت معنی‌دار

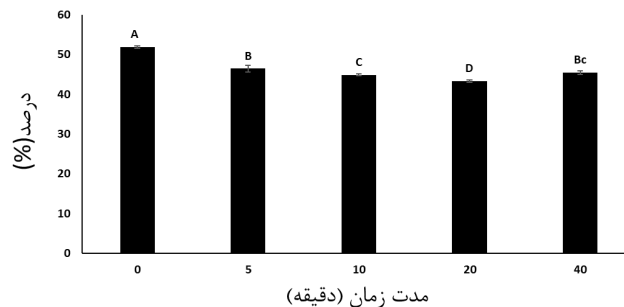
تماس غیرمستقیم با پلاسمای سرد منجر به تغییر معنی‌داری در محتوای آرشدیک اسید،  $\alpha$ -لینوئیک اسید، میریستیک اسید، پالمیتوئیک اسید و استئاریک اسید در تمام گروه‌های تیماری نسبت به شاهد نشد. تفاوت معنی‌داری در پالمیتیک اسید و لینوئیک اسید بین تیمارهای 5 تا 20 دقیقه‌ای با شاهد مشاهده نشد، درحالی‌که پالمیتیک اسید و لینوئیک اسید پس از تیمار 40 دقیقه‌ای به ترتیب افزایش و کاهش یافت و به 11,25% و 33,48% رسید. اولئیک اسید در تیمار 40 دقیقه‌ای نیز اگرچه تفاوت معنی‌داری با شاهد نداشت، اما از باقی تیمارها بیشتر بود. بنابراین استفاده از پلاسمای سرد تأثیر قابل توجهی بر اسیدهای چرب آزاد نداشت (شکل 1).



شکل 1: تأثیر زمان تیمار اعمال پلاسمای سرد بر پروفایل اسیدهای چرب (\*حروف غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار است)

در این مطالعه شاخص پراکسید در تمام نمونه‌های پسته خشک منفی بود که نشان از عدم تأثیر پلاسمای سرد بر اکسیداسیون اسیدهای چرب داشت. لیکن با افزایش زمان تیمار، محتوای لیپید کل به تدریج کمی کاهش یافت، به نحوی که تیمارهای 5 تا 40 min به ترتیب 10,5%، 13,4%، 16,5% و 12,4% کاهش در محتوای لیپید کل را نسبت به شاهد نشان دادند (شکل 2).

گرچه مقادیر زیاد اسیدهای چرب و روغن، پسته را به یک منبع غنی از مواد مغذی تبدیل کرده، اما وجود پیوندهای مضاعف متعدد در اسیدهای چرب غیراشباع، این مغز را مستعد و حساس به اکسیداسیون خودبه‌خود کرده است (4). RONS می‌تواند به پیوندهای C-H در گروه متیل حمله و اتم‌های هیدروژن را حذف کند. از آنجایی که برداشتن یک اتم هیدروژن از پیوندهای C-H موجود بین پیوندهای دوگانه، انرژی بسیار کمتری نیاز دارد، هرچه یک اسید چرب پیوندهای دوگانه بیشتری داشته باشد (مانند اسید لینولئیک)، بیشتر در معرض RONS قرار می‌گیرد (3). وقتی لیپیدها در طول اکسیداسیون در معرض RONS قرار می‌گیرند، رادیکال‌های پراکسی و هیدروپراکسیدهای لیپیدی تشکیل می‌شود که خود به عنوان RONS عمل می‌کنند و می‌توانند واکنش‌های زنجیره‌ای پراکسیداسیون لیپیدی خود تکثیرشونده را آغاز کنند (3 و 5). مثلاً، اکسیداسیون اسیدهای چرب چندگانه غیراشباع لینولنیک اسید و لینولئیک اسید منجر به تشکیل مالون دی‌آلدئید و 4-هیدروکسی-2-نونال می‌شود که بسیار واکنش‌پذیرند و با پروتئین و اسید نوکلئیک، پیوندهای هم‌یوغ ایجاد می‌کنند. واکنش RONS با اسیدهای چرب چندگانه غیراشباع حتی می‌تواند اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه‌تر تولید کند (3).



شکل 2: تأثیر زمان تیمار اعمال پلاسمای سرد بر لیپید کل (\*حروف غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار است)

## نتیجه گیری

تغییر ترکیب مواد غذایی از جمله اکسیداسیون لیپیدها حین اعمال تیمار پلاسمایی، یک مشکل نگران‌کننده در مواد غذایی و یک فرایند چالش‌برانگیز است که نیاز به بهینه‌سازی پارامترهای سیستم پلاسمایی دارد. در این مطالعه کاربرد پلاسمای سرد غیرمستقیم حتی در زمان مواجهه طولانی مدت 40 دقیقه‌ای تأثیر چندانی بر محتوای اسیدهای چرب، لیپید کل و شاخص پراکسید در نمونه‌های پسته نداشت. بنابراین پلاسمای سرد غیرمستقیم می‌تواند بدون اثر نامطلوب بر پسته برای اهداف گوناگون مورد استفاده قرار گیرد.

## منابع

1. Misra, N.N., Schlüter, O., and Cullen, P.J., 2016. Plasma in food and agriculture. In *Cold plasma in food and agriculture* (pp.1-16). Academic Press.
2. Pérez-Andrés, J.M., Álvarez, C., Cullen, P., Tiwari, B.K., 2019. Effect of cold plasma on the techno-functional properties of animal protein food ingredients. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 58, 102205.
3. Surowsky, B., Bußler, S., and Schlüter, O.K., 2016. Cold plasma interactions with food constituents in liquid and solid food matrices. In *Cold plasma in food and agriculture* (pp. 179-203). Academic Press.
4. Roozban, M.R., Mohamadi, N., and Vahdati, K., 2005. Fat content and fatty acid composition of four Iranian pistachio (*Pistacia vera* L.) varieties grown in Iran. In *IV International Symposium on Pistachios and Almonds*, 726, pp.573-578.
5. Vatansever, F., de Melo, W.C., Avci, P., Vecchio, D., Sadasivam, M., Gupta, A., ... and Hamblin, M.R., 2013. Antimicrobial strategies centered around reactive oxygen species–bactericidal antibiotics, photodynamic therapy, and beyond. *FEMS microbiology reviews*, 37(6), pp.955-989.

## Investigating the fatty acid profile and total lipid content of pistachios treated with cold plasma

Mahdiyeh Bakhtiyari-Ramezani<sup>1\*</sup>, Sara Hejri<sup>2</sup>, Fatemeh Amani Haroni<sup>3</sup>

<sup>1\*</sup> Assistant Professor, Ph.D. in Plasma Physics, Plasma and Nuclear Fusion Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute (NSTRI), Tehran, Iran

[mahdiyeh.bakhtiyari@gmail.com](mailto:mahdiyeh.bakhtiyari@gmail.com)

<sup>2</sup> Researcher, PhD in Plant Physiology, Plasma Technology Development Company, Tehran, Iran

<sup>3</sup> Researcher, PhD in Agricultural Engineering, Plasma Technology Development Company, Tehran, Iran

### Abstract

The application of cold plasma in different stages of food production, such as microbial load reduction or natural toxins removal, has been investigated. In addition to proving the efficiency of this technology in the food industry, which has been the topic of many discussions, it is also essential to prove that it does not have an adverse effect on the quality of food. Therefore, in this study, the effect of indirect cold plasma at different treatment times (5, 10, 20, and 40 minutes) on the nutritional value of pistachio was investigated, focusing on the free fatty acid profile, total lipid, and peroxide index. The results showed that treating pistachios with cold plasma for up to 20 minutes had no effect on the free fatty acid profile, but palmitic acid and linoleic acid underwent changes after being treated by plasma for 40 minutes. Plasma did not affect the peroxide index in all treatments, but it slightly reduced the total lipid content, which can be attributed to the ability of reactive oxygen and nitrogen species in lipid oxidation.

**Keywords:** Cold plasma, Pistachio, Fatty acid profile, Total lipid, Peroxide index

## بررسی تاثیر کلرید کادمیوم بر خصوصیات فیزیولوژیک و مورفولوژیک کالوس گلرنگ

شهاب ابوالقاسمی<sup>1</sup>، حسن رهنما<sup>2\*</sup>، فروغ سنجریان<sup>3</sup>، حسن زینالی<sup>4</sup>

1. دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، گروه زراعت و اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران

2. دانشیار پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

3. استادیار پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری

4. استاد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران

\*[shahab.abg@gmail.com](mailto:shahab.abg@gmail.com)

### چکیده

آلودگی محیط زیست به عنوان چالش اساسی امروزی، در نتیجه عواملی همچون صنعتی تر شدن، شهرنشینی، افزایش جمعیت و مصرف زیاد کود و آفت کش ها بروز می کند. این آلودگی ها به خصوص تجمع عناصر سنگین در مناطق شهری-صنعتی، منجر به کاهش کیفیت و کمیت محصولات کشاورزی می شود. سمیت عناصر برای گیاهان متغیر بوده و به گونه گیاهی، غلظت عنصر و ویژگی های خاک وابسته است. گیاهان در برابر ترکیبات مخرب از مکانیزم های دفاعی چون افزایش فعالیت آنتی اکسیدان ها استفاده می کنند. گیاه گلرنگ یکی از گیاهان مقاوم به تنش های محیطی است، اما تأثیرات کادمیوم بر روی آن کمتر مورد مطالعه قرار گرفته است. در این تحقیق، تأثیر کلرید کادمیوم بر کالوس زایی گیاه گلرنگ مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان دادند که کادمیوم تأثیرات معنی داری بر وزن تر کالوس ها دارد، و در غلظت 0 و 20 میلی گرم در لیتر کلرید کادمیوم بیشترین و کمترین وزن تر مشاهده شد. فعالیت آنزیم های سوپر اکسید دیسموتاز، گاپاکول پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز در غلظت های 5 و 0 میلی گرم در لیتر کلرید کادمیوم بیشترین و کمترین فعالیت را نشان دادند. نتایج حاصل نشان داد که سیستم آنزیم های آنتی اکسیدانی در سلول های گیاه گلرنگ تا غلظت 5 میلی گرم/لیتر کادمیوم، تا حدی قدرت مقابله با رادیکال های آزاد را داشته و در غلظت های بالاتر نقش حفاظتی آنها کاهش پیدا می کند.

واژگان کلیدی: آنزیم های آنتی اکسیدان، درون شیشه ای، کالوس، کادمیوم، گلرنگ.

### مقدمه

آلودگی محیط زیست از چالش های مهم در دنیای امروز است و از عواملی نظیر رشد صنایع، گسترش شهرها، افزایش جمعیت و مصرف بیش از حد کودها و آفت کش ها ناشی می شود. این آلودگی ها، به ویژه تجمع عناصر سنگین در مناطق شهری-صنعتی، به کاهش کیفیت و کمیت محصولات تولیدی انجامیده و تأثیرات زیان باری را در زیست محیطی ایجاد می کنند (17). مقدار سمیت هر عنصر برای گیاهان مختلف متفاوت است و بستگی به گونه گیاهی، غلظت عنصر، و خاصیت اسیدیته خاک، و ترکیبات خاک دارد. برخی عناصر ضروری هستند اما اگر بیش از حد جذب شوند، به رشد و نمو گیاهان آسیب می رسانند. بنابراین گیاهان باید عناصر ضروری را تا حد پایین تر از آستانه سمیت جذب و از جذب عناصر غیرضروری اجتناب کنند (3).

کادمیوم یک عنصر غیر ضروری و یکی از سمی‌ترین عناصر در میان فلزات سنگین است و دوام زیستی بالایی دارد. در گیاهان قرارگیری در معرض کادمیوم سبب علائم مسمومیت زیادی مثل مهار رشد، فعال‌سازی و مهار آنزیم‌ها اختلال در روابط آب-گیاه، متابولیسم یونها و تشکیل رادیکال‌های آزاد می‌شود. کادمیوم همچنین از طریق مهار بیوسنتز کلروفیل و کاهش فعالیت آنزیم‌های درگیر در تثبیت کربن دی‌اکسید باعث اختلال در متابولیسم کلروپلاست می‌شود. این اختلالات نه تنها به کاهش رشد و وزن زنده گیاهان منجر می‌شوند، بلکه تأثیرات جدی بر سلامت گیاهان و عملکرد آنها نیز دارد (12، 13).

گیاه گلرنگ، یک گیاه دانه‌روغنی بومی ایران است و به دلیل ویژگی‌های منحصر به فرد خود، توجه محققان و کشاورزان را به خود جلب کرده است. این گیاه به دلیل نیاز کم به آب، ریشه‌های عمیق، و مقاومت در برابر خشکی و همچنین تحمل شوری، اهمیت ویژه‌ای در زراعت و کشاورزی ایران دارد (2). اگرچه تحقیقات متعددی در زمینه تحمل گیاه گلرنگ به تنش‌های محیطی مانند شوری و خشکی انجام شده است، اما به نظر می‌رسد که تاکنون توجه کافی به اثرات فلزات سنگین بر رشد این گیاه نشده و نیاز به انجام تحقیقات بیشتر در این زمینه احساس می‌شود (2).

با توجه به موارد فوق هدف از این پژوهش بررسی اثرات سمیت کلرید کادمیوم بر خصوصیات مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه گلرنگ در شرایط درون شیشه‌ای می‌باشد. بدین منظور آزمایشی برای بررسی میزان کالوس‌زایی گلرنگ در غلظت‌های مختلف کلرید کادمیوم طراحی شد. هدف از طراحی این آزمایش در شرایط درون شیشه‌ای ایجاد شرایط آزمایشی استاندارد تر و حذف فرآیندهای تداخلی است.

## مواد و روش‌ها

در این پژوهش از رقم پدیده گلرنگ استفاده شد. بذره‌های مورد نیاز از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه گردید. ضدعفونی کردن بذر: ابتدا بذور گلرنگ تحت شرایط استریل در اتانول 70% به مدت 1 دقیقه و پس از شستشو با آب مقطر استریل به مدت 10 دقیقه در محلول کلرید جیوه (HgCl<sub>2</sub>) 1% قرار گرفتند. بعد از ضدعفونی، بذرها 3 مرتبه با آب مقطر استریل در فاصله زمانی 5 دقیقه‌ای، شسته شدند.

تهیه محیط کشت: از محیط کشت MS با غلظت 15 گرم در لیتر ساکارز و 0/8 درصد آگار (pH 5/8) استفاده و در هر ظرف هشت عدد بذر کشت شد و سپس در اتاقک رشد با دمای C 25 و دوره نوری (16 - 8) نگهداری شدند. از گیاهچه‌های هفت روزه به منظور گرفتن نمونه‌های لپه برگ برای مرحله کالوس‌زایی استفاده شد. برای ساخت محیط کالوس‌زایی از ترکیب محیط کشت MS با غلظت 30 گرم در لیتر ساکارز و 0/8 درصد آگار (pH 5/8) و با ترکیب هورمونی TDZ: 1 mg/l و NAA: 0.1 mg/l استفاده شد؛ غلظت (0، 1.5، 5، 10، 20 میلی‌گرم بر لیتر) کلرید کادمیوم قبل از اتوکلاو به محیط کالوس‌زایی اضافه شده و محیط در ظروف پتری (10Cm) توزیع شد.

نمونه‌های لپه برگ به صورتی که پشت نمونه بر روی محیط کشت قرار بگیرد به طور یکنواخت توزیع شد و سپس در اتاقک رشد با دمای C 25 و دوره نوری (16 - 8) نگهداری شدند. 30 روز بعد صفات درصد کالوس‌زایی، وزن تر کالوس و فعالیت سه آنزیم گایاکول پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز اندازه‌گیری شد.

میزان القای کالوس (%) = (تعداد کل ریزنمونه‌هایی که کالوس دادند/ تعداد کل ریزنمونه‌های کشت شده) × 100% (16).

استخراج پروتئین: به منظور بررسی فعالیت آنزیم‌های مذکور، پروتئین محلول کالوس استخراج شد. بدین منظور مقدار 1 گرم از بافت برگ منجمد شده در ازت مایع در هاون چینی سرد و در ظرف یخ با 1 میلی‌لیتر بافر فسفات یکنواخت شد و سپس به مدت

20 دقیقه با سرعت 12000 دور در دقیقه و دمای 4 درجه سانتی‌گراد، سانتریفیوژ شد. غلظت پروتئین کل محلول رویی از روش بردفورد و با استاندارد پروتئین گاما گلوبولین پلاسمای گاوی (BSA) بدست آمد و از آن برای مطالعه آنزیم های سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز، استفاده گردید.

سنجش فعالیت آنزیمی: سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با اندازه گیری توانایی آن از احیای نوری نیتروبلو تترازولیم کلراید (NBT) انجام گرفت. مخلوط واکنش شامل سدیم فسفات 0/05 مولار (pH 7)، اتیلن دی آمین استیک اسید (EDTA)، ال-متیونین 0/02 مولار، نیتروبلو تترازولیم (NBT) 0/015 مولار، ریپوفلاوین، 100 میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. جذب نوری نمونه ها بعد از قرارگیری در مقابل لامپ فلورسنت در 560 نانومتر خوانده و تفاوت جذب بین هر نمونه با شاهد محاسبه شد. جذب آنها یک واحد فعالیت آنزیمی SOD مقداری از آنزیم است که موجب 50 درصد ممانعت از احیای نیتروبلو تترازولیم به فورمازان می گردد.

سنجش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز با روش Zhang و همکاران انجام شد (18). به این منظور مخلوط واکنش شامل سدیم فسفات 50 میلی مولار (pH 7)، محلول گایاکول 10 میلی مولار، آب اکسیژنه (3 درصد) و 100 میکرولیتر عصاره آنزیم تهیه شد. تغییرات جذب در طول موج 470 نانومتر هر ده ثانیه به مدت یک دقیقه اندازه گیری شد.

برای اندازه گیری فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در حمام آب با دمای 40 °C، بافر فسفات 50 میلی مولار، پیروگالل 20 میلی مولار و 100 میکرولیتر عصاره آنزیمی با هم مخلوط شدند. پس از ده دقیقه تغییرات جذب در طول موج 470 نانومتر هر ده ثانیه به مدت یک دقیقه اندازه گیری شد.

تجزیه داده‌های آماری: آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی در پنج تکرار انجام شد و نرمال بودن داده‌ها و تجزیه و تحلیل داده‌های آزمایش با استفاده از نرم افزار SPSS Statistics 26 و مقایسات میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح معنی داری 1% بررسی شد. نمودارهای مربوطه با استفاده از نرم افزار اکسل رسم گردید.

## نتایج و بحث

به منظور اندازه‌گیری صفات درصد کالوس‌زایی، وزن تر کالوس و همچنین استخراج پروتئین تام کالوس‌ها بعد از مدت 30 روز مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. با توجه به نتایج تجزیه واریانس، بین گروه‌های تیماری برای صفت درصد کالوس‌زایی تفاوت معنی‌دار وجود نداشت اما برای صفت وزن تر کالوس تفاوت معنی‌داری در سطح 1% مشاهده شد بر اساس نتایج مقایسه میانگین صفت وزن تر کالوس، بیشترین میزان وزن مربوط به تیمارهای غلظت صفر، 1/5 میلی گرم در لیتر کلرید کادمیوم و کمترین میزان مربوط به غلظت 20 میلی گرم در لیتر کلرید کادمیوم مشاهده شد (شکل 1-الف). گنجی و همکاران (4) اظهار نمودند که افزایش غلظت کلرید کادمیوم موجب کاهش معنی‌دار وزن تر کالوس درختچه زیتنی طاووسی نسبت به کالوس‌های شاهد در شرایط درون شیشه‌ای می‌شود. نتایج ما هم نشان داد که غلظت‌های بالای کادمیوم موجب ممانعت از رشد سلول‌ها و رشد کالوس می‌شود.

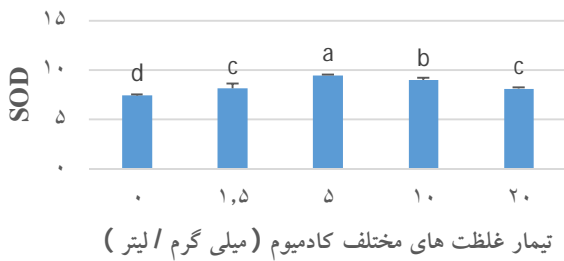
### فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز، گایاکول پراکسیداز و پلی فنیل اکسیداز

با توجه به نتایج تجزیه واریانس، در فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز تفاوت معنی‌داری در سطح 1 درصد مشاهده شد (شکل 1). بر اساس نتایج مقایسه میانگین کمترین فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در غلظت 0 و 20 میلی گرم در لیتر کلرید کادمیوم و بیشترین در 5 میلی گرم در لیتر کلرید کادمیوم مشاهده شد. (شکل 1-ب) این افزایش و سپس کاهش در فعالیت آنزیم سوپر

اکسید دیسموتاز توسط سایر محققین نیز گزارش شده است (۱،۱۰). در فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز تفاوت معنی داری در سطح 5% مشاهده شد. بر اساس نتایج مقایسه میانگین کمترین فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در غلظت صفر میلی گرم در لیتر کلرید کادمیوم و بیشترین در 5 میلی گرم در لیتر کلرید کادمیوم مشاهده شد. (شکل 1 - ج) این افزایش و سپس کاهش در فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز توسط سایر محققین نیز گزارش شده است (۷،۱۴،۱۵). در فعالیت آنزیم پلی فنیل اکسیداز تفاوت معنی داری در سطح 1 درصد مشاهده شد. بر اساس نتایج مقایسه میانگین کمترین فعالیت آنزیم پلی فنیل اکسیداز در غلظت صفر میلی گرم در لیتر کلرید کادمیوم و بیشترین در 5 میلی گرم در لیتر کلرید کادمیوم مشاهده شد (شکل 1 - د) این افزایش و سپس کاهش در فعالیت آنزیم پلی فنیل اکسیداز توسط سایر محققین نیز گزارش شده است (۷،۹،۱۴).

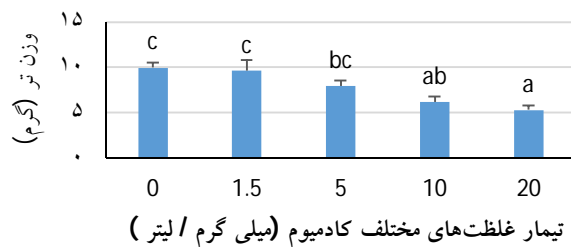
فلزات سنگین به طور مستقیم یا غیرمستقیم از طریق تشکیل گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) باعث آسیب اکسیداتیو به گیاهان می‌شوند. با این حال، کادمیوم یک فلز فعال ردوکس نیست، بر خلاف مس یا آهن که به نظر می‌رسد مستقیماً بر روی تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) از طریق واکنش‌های فنتون و هابر وایس تأثیر می‌گذارند، عمل نمی‌کند. کادمیوم با مهار انتقال الکترون واکنش نوری فتوسیستم II (PSII) را متوقف می‌کند و به طور غیرمستقیم می‌تواند با اختلال در کلروپلاست به تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) منجر شود. به همین دلیل، سمیت کادمیوم نیز باعث ایجاد تنش اکسیداتیو می‌شود (5). گیاهان از روش‌های متعددی برای حذف یا کاهش ترکیبات مخرب بهره می‌برند. یکی از این مکانیسم‌های دفاعی، افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها از جمله آنزیم‌های پراکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز است. این آنزیم‌ها تا جایی که ممکن است ترکیبات میانجی اکسیژنی را حذف یا خنثی می‌کنند. به عنوان مثال، با اثر سوپراکسید دیسموتاز، رادیکال‌های سوپراکسید به پراکسید هیدروژن تبدیل می‌شوند و فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز آسکوربات، کاتالاز و پراکسیداز گایاکول جلوی انباشت پراکسید هیدروژن را می‌گیرند. این تنظیم به حفظ تعادل بین تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و نابودی آنها کمک می‌کند و از این‌رو کارایی و بقای سیستم را تضمین می‌کند (8).

آنزیم سوپراکسید دیسموتاز



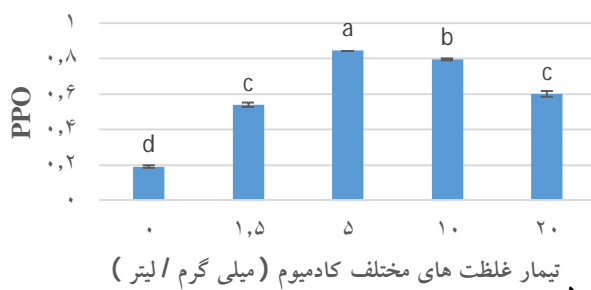
ب

نمودار وزن تر



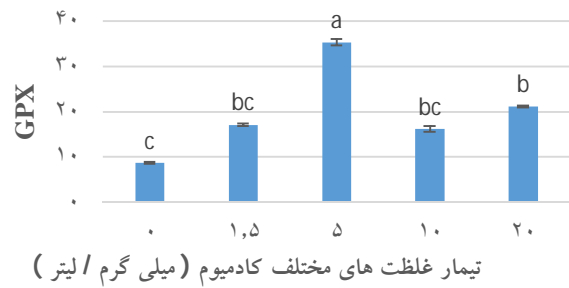
تیمار غلظت‌های مختلف کادمیوم (میلی گرم / لیتر)

آنزیم پلی فنیل اکسیداز



د

آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز



ج



شکل 1: الف: تاثیر غلظت‌های مختلف کلرید کادمیوم بر وزن تر کالوس. ب، ج و د: به ترتیب میزان فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز، گایاکول پراکسیداز و آنزیم پی فنل اکسیداز در غلظت‌های مختلف کلرید کادمیوم.

### نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که فلز کادمیم در غلظت‌های به کار رفته می‌تواند باعث کاهش معنی‌دار توانایی زیستی سلول‌های کالوس در گیاه گلرنگ شود. اگرچه با افزایش غلظت کادمیوم مکانیزم دفاعی آنزیمی این گیاه برای مقابله با اثر تخریبی رادیکال‌های تولید شده افزایش می‌یابد ولی این افزایش فعالیت در غلظت‌های بالای کادمیوم قدرت حفظ توانایی زیستی سلول‌های گیاه گلرنگ در رویارویی با مسمومیت ناشی از فلز کادمیم را ندارد.

### منابع

- 1\_ سولماز احمدوند، رامین بهمنی، داوود حبیبی و پیمان فروزش. (1391). بررسی اثر کلرید کادمیوم بر پارامترهای رشدی و برخی صفات فیزیولوژیک در گیاهچه‌های لوبیا. نشریه زراعت و اصلاح نباتات ایران، 8(4): 167-182.
  - 2\_ نسیم پورقاسمیان و پرویز احسان زاده. (1392). بررسی پاسخ‌های آنتی‌اکسیداتیو به آلودگی کادمیومی خاک و ارتباط آن با برخی صفات فیزیولوژیک در ژنوتیپ‌های گلرنگ. مجله فرآیند و کارکرد گیاهی، 2(3)، 15-30.
  - 3\_ عبدالحسین رضائی، حمید رضا بلوچی، محسن موحدی دهنوی، ابراهیم ادهمی. (2018). تأثیر انواع پرایمینگ بر شاخص‌های جوانه‌زنی و آنزیم‌های بذر سورگوم (*Sorghum bicolor* L.) ژنوتیپ SOR834 تحت سمیت کلرید و نترات کادمیوم. مجله تولیدات گیاهی، 41(1)، 69-82.
  - 4\_ مینا تقی زاده، محبوبه گنجی دستجردی، علی خدیوی و منصور قربانپور. (1398). اثر EMS در ایجاد مقاومت و تجمع کادمیوم در کالوس درختچه زینتی طاووسی. مجله فرآیند و کارکرد گیاهی، 8(32)، 419-432.
  - 5\_ Bahmani, R., Bihamta, M.R., Nilforooshan, B., Rezai, K. and Hassibi, A.R., 2013. The effect of biofertilizers on some physiological traits in different genotypes of bean plant under cadmium stress. In *Iranian Crop Science Congress* (Vol. 3, pp. 1-5).
  - 6\_ Cho, U.H. and Seo N.H., 2005. Oxidative stress in Arabidopsis thaliana exposed to cadmium is due to hydrogen peroxide accumulation. *Plant Science*, 168(1), pp.113-120.
  - 7\_ Cho, U.H. and Seo, N.H., 2005. Oxidative stress in Arabidopsis thaliana exposed to cadmium is due to hydrogen peroxide accumulation. *Plant Science*, 168(1), pp.113-120.
  - 8\_ Hall, J.Á., 2002. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *Journal of experimental botany*, 53(366), pp.1-11.
  - 9\_ Kováčik, J., Klejdus, B., Hedbavny, J., Štork, F. and Bačkor, M., 2009. Comparison of cadmium and copper effect on phenolic metabolism, mineral nutrients and stress-related parameters in Matricaria chamomilla plants. *Plant and soil*, 320, pp.231-242.
  - 10\_ Mobin, M. and Khan, N.A., 2007. Photosynthetic activity, pigment composition and antioxidative response of two mustard (*Brassica juncea*) cultivars differing in photosynthetic capacity subjected to cadmium stress. *Journal of Plant Physiology*, 164(5), pp.601-610.
  - 11\_ Sandalio, L.M., Dalurzo, H.C., Gomez, M., Romero-Puertas, M.C. and Del Rio, L.A., 2001. Cadmium-induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants. *Journal of experimental botany*, 52(364), pp.2115-2126.
  - 12\_ Valentovičová, K., Halušková, L.U., Huttová, J., Mistrík, I. and Tamás, L., 2010. Effect of cadmium on diaphorase activity and nitric oxide production in barley root tips. *Journal of plant physiology*, 167(1), pp.10-14.
- Vassilev, A., Tsonev, T. and Yordanov, I., 1998. Physiological response of barley plants (*Hordeum vulgare*) to cadmium contamination in soil during ontogenesis. *Environmental Pollution*, 103(2-3), pp.287-293.

- 13\_ Ying, R.R., Qiu, R.L., Tang, Y.T., Hu, P.J., Qiu, H., Chen, H.R., Shi, T.H. and Morel, J.L., 2010. Cadmium tolerance of carbon assimilation enzymes and chloroplast in Zn/Cd hyperaccumulator *Picris divaricata*. *Journal of plant physiology*, 167(2), pp.81-87.
- 14\_ Zelinová, V., Mistrík, I., Pavlovkin, J. and Tamás, L., 2013. Glutathione peroxidase expression and activity in barley root tip after short-term treatment with cadmium, hydrogen peroxide and t-butyl hydroperoxide. *Protoplasma*, 250, pp.1057-1065.
- 15\_ Zheng, G., Lv, H.P., Gao, S. and Wang, S.R., 2010. Effects of cadmium on growth and antioxidant responses in *Glycyrrhiza uralensis* seedlings. *Plant, Soil and Environment*, 56(11), pp.508-515.
- 16\_ Sahraroo, A., Babalar, M., Mirjalili, M.H., Moghaddam, M.R.F. and Ebrahimi, S.N., 2014. In-vitro callus induction and rosmarinic acid quantification in callus culture of *Satureja khuzistanica* Jamzad (Lamiaceae). *Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR*, 13(4), p.1447.
- 17\_ Vassilev, A., Tsonev, T. and Yordanov, I., 1998. Physiological response of barley plants (*Hordeum vulgare*) to cadmium contamination in soil during ontogenesis. *Environmental Pollution*, 103(2-3), pp.287-293.
- 18\_ Zhang, J.F., Liu, H., Sun, Y.Y., Wang, X.R., Wu, J.C. and Xue, Y.Q., 2005. Responses of the antioxidant defenses of the Goldfish *Carassius auratus*, exposed to 2, 4-dichlorophenol. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 19(1), pp.185-190.

## The Effect of Cadmium Chloride on Physiological and Morphological Characteristics of Safflower Callus

Shahab Abolghasemi<sup>1</sup>, Hassan Rahnama<sup>2\*</sup>, Forough Sanjerian<sup>3</sup>, Hassan Zeinali<sup>4</sup>

1. M.Sc. Student in Agricultural Biotechnology, Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran
2. Associate Professor, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Karaj, Iran
3. Assistant Professor, National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology, Tehran
4. Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran"

\* [shahab.abg@gmail.com](mailto:shahab.abg@gmail.com)

### Abstract

Today, environmental pollution appears as a major challenge as a result of factors such as industrialization, urbanization, population growth, and high consumption of fertilizers and pesticides. These pollutions, especially the accumulation of heavy elements in urban-industrial areas, lead to a decrease in the quality and quantity of agricultural products. The toxicity of elements for plants is variable and depends on plant species, element concentration and soil characteristics. Plants use defense mechanisms against harmful compounds such as increasing the activity of antioxidants. Safflower plant is one of the plants resistant to environmental stress, but the effects of cadmium on it have been less studied. In this research, the effect of cadmium chloride

on the callus formation of safflower plant was investigated. The results showed that cadmium has a significant effect on the fresh weight of callus and the highest and lowest fresh weight were observed in concentrations of 0 and 20 mg/liter of cadmium chloride. The activity of superoxide dismutase, guaiacol peroxidase and polyphenol oxidase enzymes showed the highest and lowest activity in concentrations of 5 and 0 mg/liter of cadmium chloride. The results showed that the system of antioxidant enzymes of safflower plant cells up to a concentration of 5 mg/liter of cadmium has some power to deal with free radicals and their protective role decreases at higher concentrations..

**Keywords:** Antioxidant Enzymes, Cadmium, Callus, In Vitro, Safflower.

## بررسی تاثیر کلرید کادمیوم بر جوانه‌زنی بذر و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گلرنگ

شهاب ابوالقاسمی<sup>1</sup>، حسن رهنما<sup>2\*</sup>، فروغ سنجریان<sup>3</sup>، حسن زینالی<sup>4</sup>

5. دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، گروه زراعت و اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران

6. دانشیار پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

7. استادیار پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست‌فناوری، تهران

8. استاد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران

[shahab.abg@gmail.com](mailto:shahab.abg@gmail.com)

### چکیده

فلزات سنگین مانند کادمیوم به عنوان مواد آلاینده محیطی به سلامت انسان‌ها و محیط‌زیست آسیب می‌زنند. گیاهان به دلیل جذب این فلزات از خاک در معرض خطرات زیادی از جمله کاهش رشد و عملکرد گیاهی و تخریب فعالیت میکروبی خاک قرار دارند. گیاه گلرنگ یکی از گیاهان مقاوم به تنش‌های محیطی است، مطالعات زیادی در مورد اثرات کادمیوم بر گلرنگ صورت نگرفته است. در این تحقیق، تأثیر کلرید کادمیوم بر جوانه‌زنی بذرهای گلرنگ مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان دادند که کادمیوم تأثیرات معنی‌داری بر وزن تر گیاهچه‌ها دارد، و در غلظت 0 و 100 میلی‌گرم در لیتر کلرید کادمیوم بیشترین و کمترین وزن تر مشاهده شد. همچنین، فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در غلظت‌های 60 و 100 میلی‌گرم در لیتر کلرید کادمیوم بیشترین و کمترین فعالیت را نشان داد. برای آنزیم گایاکول پراکسیداز، بیشترین فعالیت در غلظت 60 میلی‌گرم در لیتر کلرید کادمیوم و کمترین فعالیت در غلظت صفر میلی‌گرم در لیتر کلرید کادمیوم مشاهده شد برای آنزیم پلی فنول اکسیداز بیشترین فعالیت در غلظت 80 میلی‌گرم در لیتر کلرید کادمیوم و کمترین فعالیت در غلظت صفر میلی‌گرم در لیتر کلرید کادمیوم مشاهده شد این مطالعه به درک بهتر از تأثیر کادمیوم بر گیاهان مقاوم به تنش کمک می‌کند.

واژگان کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، جوانه‌زنی، درون‌شیشه‌ای، کادمیوم، گلرنگ،

### مقدمه

زمانی که مقدار یون‌های فلزات سنگین در محیط بالا باشد، ریشه گیاهان بیش از حد این فلزات را از خاک جذب و به بخش‌های هوایی خود منتقل می‌کنند. این عمل منجر به صدمات متابولیکی و کاهش رشد و عملکردی گیاه می‌شود. به علاوه، فلزات سنگین می‌توانند فعالیت میکروبی و ارزش تغذیه‌ای خاک را کاهش دهند (8).

کادمیوم یکی از فلزات سنگین است که به دلیل خصوصیات خود، به عنوان یک ماده آلاینده مهم در محیط زیست شناخته می‌شود. این فلز به دلیل سمیت بالا حتی در مقادیر کم می‌تواند به سلامت انسان‌ها و سایر موجودات (از جمله گیاهان) آسیب برساند (12). کادمیوم که عنصر غیر ضروری برای گیاهان است، دوام بیولوژیکی بالایی دارد و به سرعت توسط ریشه‌های بسیاری از گیاهان جذب و از طریق زنجیره غذایی به انسان منتقل می‌شود (11). گیاهان تحت تنش آلودگی به فلزات سنگین، درجات متفاوتی از مسمومیت را نمایان می‌کنند. مسمومیت‌ها ناشی از تنش‌های اکسیداتیو است که منجر به تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژنی، از جمله پراکسید هیدروژن، رادیکال سوپر اکسید، رادیکال هیدروکسیل و اکسیژن یکتایی می‌شود (10). رادیکال‌های آزاد اتم‌ها یا مولکول‌هایی

با الکترون جفت نشده هستند که توانایی دارند به طور برگشتناپذیر به مولکول‌های سیستم‌های زیستی نظیر اسیدهای نوکلئیک، پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه آزاد، لیپیدها، لیپوپروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها آسیب برسانند. این مسائل می‌توانند در تحلیل اثرات آلودگی به فلزات سنگین بر رشد و عملکرد گیاهان در محیط‌های مختلف مورد توجه قرار گیرند (6). محققان در تلاش هستند تا استقرار گیاهچه‌ها را در شرایط تنش بهبود بخشند. وجود مقادیر بالایی از غلظت‌های کادمیم در محیط کشت، درصد جوانه‌زنی را به طور معنی داری کاهش می‌دهد. اختلال در سرعت جوانه‌زنی و رشد گیاه ممکن است از طریق چندین عامل نظیر کاهش آب در سلول‌ها، سخت‌شدن دیواره سلول و کاهش در جذب عناصر غذایی ضروری به وقوع بپیوندد. به علاوه، کاهش در وزن زنده گیاه به دلیل اختلال در فرآیندهای فتوسنتز، تنفس و متابولیسم نیتروژن در اثر غلظت‌های بالای کادمیم رخ می‌دهد (2).

با توجه به موارد فوق هدف از این پژوهش بررسی اثرات سمیت کلرید کادمیوم بر خصوصیات مورفولوژیک و فیزیولوژیک جوانه زنی بذر گلرنگ در شرایط درون شیشه‌ای می‌باشد. بدین منظور آزمایشی برای بررسی میزان جوانه‌زنی بذر گلرنگ رقم پدیده در غلظت‌های مختلف کلرید کادمیوم طراحی شد. هدف از طراحی این آزمایش در شرایط درون شیشه‌ای ایجاد شرایط آزمایشی استاندارد تر و حذف فرآیندهای تداخلی است.

### مواد و روش‌ها

در این پژوهش از رقم پدیده گلرنگ استفاده شد. بذره‌های مورد نیاز از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه گردید. ضدعفونی کردن بذر: ابتدا بذور گلرنگ تحت شرایط استریل در اتانول 70% به مدت 1 دقیقه و پس از شستشو با آب مقطر استریل به مدت 10 دقیقه در محلول کلرید جیوه (HgCl<sub>2</sub>) 1% قرار گرفتند. بعد از ضدعفونی، بذور 3 مرتبه با آب مقطر استریل در فاصله زمانی 5 دقیقه‌ای، شسته شدند.

تهیه محیط کشت: از محیط کشت MS با غلظت 15 گرم در لیتر ساکارز و 0/8 درصد آگار (pH 5/8) به علاوه 9 غلظت (0، 10، 20، 30، 40، 50، 60، 80 و 100 میلی‌گرم بر لیتر) کلرید کادمیوم استفاده و در هر ظرف هشت عدد بذر کشت شد و سپس در اتاقک رشد با دمای C 25 و دوره نوری (16 - 8) نگهداری شدند. 15 روز بعد از کاشت صفات درصد جوانه‌زنی، وزن تر گیاهچه و فعالیت سه آنزیم گایاکول پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز اندازه‌گیری شد. برای محاسبه درصد جوانه‌زنی از فرمول زیر استفاده شد (9).

$$PG = \left( \frac{N_i}{N} \right) \times 100$$

که در این فرمول PG درصد جوانه‌زنی و  $N_i$  تعداد بذره‌های جوانه‌زده و N تعداد کل بذر است.

استخراج پروتئین: به منظور بررسی فعالیت آنزیم‌های مذکور، پروتئین محلول برگ استخراج شد بدین منظور مقدار 1 گرم از بافت برگ منجمد شده در ازت مایع در هاون چینی سرد و در ظرف یخ با 1 میلی‌لیتر بافر فسفات یکنواخت شد و سپس به مدت 20 دقیقه با سرعت 12000 دور در دقیقه و دمای 4° درجه سانتی‌گراد، سانتریفیوژ شد. غلظت پروتئین کل محلول رویی از روش بردفورد و با استاندارد پروتئین گاما گلوبولین پلاسمای گاو (BSA) بدست آمد و از آن برای مطالعه آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، گایاکول پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز، استفاده گردید.

فعالیت آنزیمی: سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با اندازه‌گیری توانایی آن از احیای نوری نیتروبلو تترازلیوم کلراید (NBT) انجام گرفت. مخلوط واکنش شامل سدیم فسفات 0/05 مولار (pH 7)، اتیلن دی آمین استیک اسید (EDTA)، ال-متیونین 0/02 مولار، نیتروبلو تترازولیم (NBT) 0/015 مولار، ریپوفلاوین، 100 میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. جذب نوری نمونه

ها بعد از قرارگیری در مقابل لامپ فلورسنت در 560 نانومتر خوانده و تفاوت جذب بین هر نمونه با شاهد محاسبه شد. جذب آنها یک واحد فعالیت آنزیمی SOD مقداری از آنزیم است که موجب 50 درصد ممانعت از احیای نیتروبلوتترازولیم به فورمازان می گردد.

سنجش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز با روش Zhang و همکاران انجام شد (15). به این منظور مخلوط واکنش شامل سدیم فسفات 50 میلی مولار (pH 7)، محلول گایاکول 10 میلی مولار، آب اکسیژنه (3 درصد) و 100 میکرولیتر عصاره آنزیم تهیه شد. تغییرات جذب در طول موج 470 نانومتر هر ده ثانیه به مدت یک دقیقه اندازه گیری شد.

برای اندازه گیری فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در حمام آب با دمای 40 °C، بافر فسفات 50 میلی مولار، پیروگالال 20 میلی مولار و 100 میکرولیتر عصاره آنزیمی با هم مخلوط شدند. پس از ده دقیقه تغییرات جذب در طول موج 470 نانومتر هر ده ثانیه به مدت یک دقیقه اندازه گیری شد.

تجزیه داده‌های آماری: آزمایشات در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد و نرمال بودن داده‌ها و تجزیه و تحلیل داده های آزمایش با استفاده از نرم افزار SPSS Statistics 26 و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح معنی داری 1% بررسی شد. نمودارهای مربوطه با استفاده از نرم افزار اکسل رسم گردید.

## نتایج و بحث

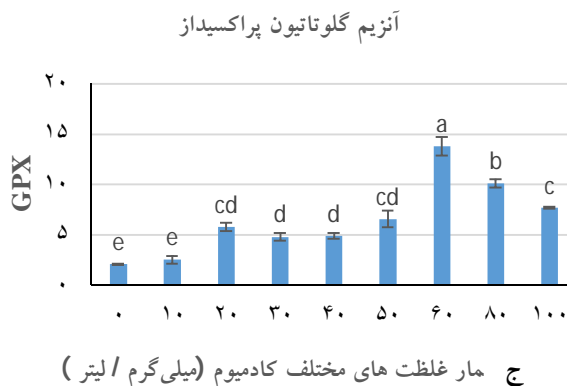
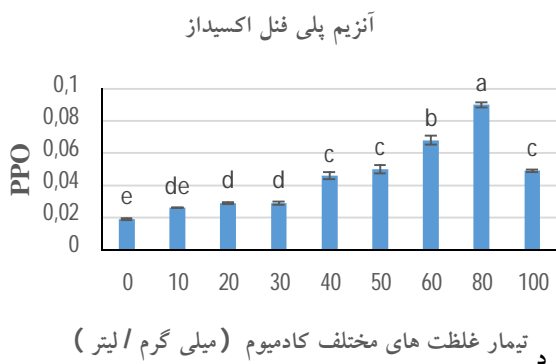
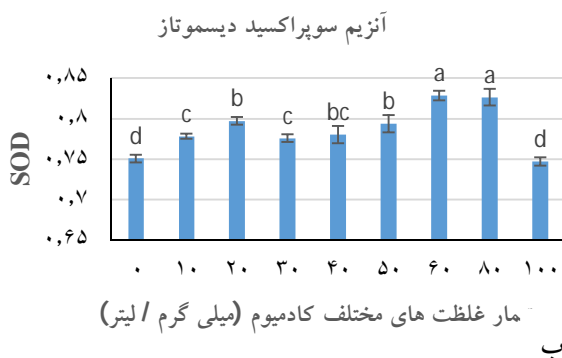
جهت اندازه‌گیری صفات درصد جوانه‌زنی، وزن تر و همچنین استخراج پروتئین تام گیاهچه‌های سترون بعد از مدت 15 روز مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند (شکل 1). با توجه به نتایج تجزیه واریانس، بین گروه‌های تیماری برای صفت درصد جوانه‌زنی تفاوت معنی‌دار وجود نداشت اما برای صفت وزن تر تفاوت معنی‌داری در سطح 1% مشاهده شد. بر اساس نتایج مقایسه میانگین صفت وزن تر گیاهچه، بیشترین میزان وزن مربوط به تیمارهای غلظت صفر، 10 و 20 میلی‌گرم در لیتر کلرید کادمیوم و کمترین میزان مربوط به غلظت‌های 60، 80 و 100 میلی‌گرم در لیتر کلرید کادمیوم مشاهده شد (شکل 1-الف). یوسفی و همکاران (3) اظهار کردند که افزایش غلظت کلرید کادمیوم موجب کاهش معنی‌دار وزن تر گیاهچه‌های نیشکر نسبت به گیاهچه‌های شاهد در شرایط درون شیشه‌ای می‌شود. این نتایج می‌توانند نشان دهنده تأثیر مخرب کادمیوم بر رشد و وزن گیاهچه‌ها باشد.

### فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز، گایاکول پراکسیداز و پلی فنیل اکسیداز

با توجه به نتایج تجزیه واریانس، در فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز تفاوت معنی داری در سطح 1 درصد مشاهده شد. بر اساس نتایج مقایسه میانگین کمترین فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در غلظت 100 میلی‌گرم در لیتر کلرید کادمیوم و بیشترین میزان فعالیت در 60 میلی‌گرم در لیتر کلرید کادمیوم مشاهده شد (شکل 1-ب). این افزایش و سپس کاهش در فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز توسط سایر محققین نیز گزارش شده است (۱۸). در فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز تفاوت معنی داری در سطح 1 درصد مشاهده شد. بر اساس نتایج مقایسه میانگین کمترین فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در غلظت صفر میلی‌گرم در لیتر کلرید کادمیوم و بیشترین در 60 میلی‌گرم در لیتر کلرید کادمیوم مشاهده شد (شکل 1-ج). این افزایش در فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز توسط سایر محققین نیز گزارش شده است (5,13,14). در فعالیت آنزیم پلی فنیل اکسیداز تفاوت معنی داری در سطح 1 درصد مشاهده شد. بر اساس نتایج مقایسه میانگین کمترین فعالیت آنزیم پلی فنیل اکسیداز در غلظت صفر میلی‌گرم در لیتر کلرید

کادمیوم و بیشترین مقدار فعالیت آنزیم در 20 و 80 میلی گرم در لیتر کلرید کادمیوم مشاهده شد (شکل 1 - د) این افزایش و سپس کاهش در فعالیت آنزیم پلی فنیل اکسیداز توسط سایر محققین نیز گزارش شده است (5,7,13).

گیاهان مکانیزم‌های مختلفی برای حذف یا کاهش ترکیبات مخرب دارند. یکی از این سیستم‌های دفاعی، افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها از جمله آنزیم‌های پراکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز است. این آنزیم‌ها می‌توانند تا حد امکان حد واسط‌های اکسیژنی را حذف یا خنثی کنند. به عنوان مثال، رادیکال‌های سوپر اکسید، با عملکرد سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) به هیدروژن پراکسید ( $H_2O_2$ ) تبدیل می‌شوند، و فعالیت آنزیم‌های اسکوربات پراکسیداز (APX)، کاتالاز (CAT) و گایاکول پراکسیداز (GPX) از تجمع هیدروژن پراکسید جلوگیری می‌کند. به این ترتیب، حفظ تعادل میان تولید گونه‌های فعال اکسیژن و نابودی آن، بقایای سیستم را تضمین می‌کند (4).



شکل 1: الف: تاثیر غلظت های مختلف کلرید کادمیوم بر وزن تر گیاهچه. ب، ج و د: به ترتیب میزان فعالیت آنزیم های سوپر اکسید دیسموتاز، گایاکول پراکسیداز و آنزیم پی فنیل اکسیداز در غلظت های مختلف کلرید کادمیوم.

### نتیجه گیری

در این تحقیق، تاثیر کلرید کادمیوم بر خصوصیات فیزیولوژیک و مورفولوژیک جوانه زنی بذر گیاه گلرنگ مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که افزایش غلظت کلرید کادمیوم منجر به کاهش معنی دار در وزن تر گیاهچه‌ها می‌شود. این تغییرات به عنوان

نشانه‌های سمیت کادمیوم بر رشد گیاهچه‌ها در شرایط آزمایشی درون شیشه‌ای تلقی می‌شوند. همچنین، افزایش غلظت کادمیوم منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز، گایاکول پراکسیداز و پلی‌فنیل اکسیداز شد. این تغییرات در فعالیت آنزیمی نیز تأثیر سمیت کادمیوم را تایید می‌کنند. به طور کلی، نتایج این تحقیق نشان می‌دهند که تنش کادمیوم می‌تواند به طور معنی‌داری بر رشد و سلامت گیاهچه‌های گلرنگ تأثیر بگذارند. هرچند سیستم دفاع آنتی‌اکسیدان گیاه گلرنگ با افزایش غلظت کادمیوم می‌تواند تا حد زیادی از اثرات مخرب آن جلوگیری کند ولی با افزایش بیشتر غلظت کادمیوم، توانایی این سیستم دفاعی نیز مختل شده و در نهایت منجر به مرگ سلول و گیاه می‌شود. این یافته‌ها می‌توانند به بهبود استراتژی‌های کاشت گلرنگ در شرایط محیطی با تنش‌های فلزات سنگین کمک کرده و تأمین امنیت غذایی و حفاظت از محیط زیست را ترویج دهند.

## منابع

- 1\_ سولماز احمدوند، رامین بهمنی، داوود حبیبی و پیمان فروزش. (1391). بررسی اثر کلرید کادمیوم بر پارامترهای رشدی و برخی صفات فیزیولوژیک در گیاهچه های لوبیا. نشریه زراعت و اصلاح نباتات ایران، 8(4): 167-182.
- 2\_ خدیجه بادپا، محسن موحدی دهنوی، علیرضا یدوی. (1394). واکنش جوانه‌زنی بذر گلرنگ (*Carthamus tinctorius*) تحت تنش نیترات کادمیوم به پرایمینگ سالیسیلیک اسید، نشریه زراعت و اصلاح نباتات ایران، 8(4): 167-182.
- 3\_ زینب یوسفی، مریم کلاهی، احمد مجد، پریسا جنوبی. (1397). اثر کادمیوم بر ویژگی های ریختی - تشریحی و میزان رنگیزه های گیاه نیشکر (*Saccharum officinarum* L.) واریته 48-103 Cp در شرایط درون شیشه، 'مجله پژوهشهای گیاهی' (مجله زیست شناسی ایران). 31(4): 994-1006.

- 4\_Bahmani, R., Bihamta, M.R., Nilforooshan, B., Rezai, K. and Hassibi, A.R., 2013. The effect of biofertilizers on some physiological traits in different genotypes of bean plant under cadmium stress. In *Iranian Crop Science Congress* (Vol. 3, pp. 1-5).
- 5\_Cho, U.H. and Seo, N.H., 2005. Oxidative stress in *Arabidopsis thaliana* exposed to cadmium is due to hydrogen peroxide accumulation. *Plant Science*, 168(1), pp.113-120.
- 6\_Hall, J.Á., 2002. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *Journal of experimental botany*, 53(366), pp.1-11.
- 7\_Kováčik, J., Klejdus, B., Hedbavny, J., Štokr, F. and Bačkor, M., 2009. Comparison of cadmium and copper effect on phenolic metabolism, mineral nutrients and stress-related parameters in *Matricaria chamomilla* plants. *Plant and soil*, 320, pp.231-242.
- 8\_Mobin, M. and Khan, N.A., 2007. Photosynthetic activity, pigment composition and antioxidative response of two mustard (*Brassica juncea*) cultivars differing in photosynthetic capacity subjected to cadmium stress. *Journal of Plant Physiology*, 164(5), pp.601-610.
- 9\_Salimi, H. and Ghorbanli, M., 2001. A study on seed germination of *Avena ludoviciana* and the effective factors in seed dormancy breaking. *Rostaniha*, 2(1), pp.41-56.
- 10\_Schickler, H. and Caspi, H., 1999. Response of antioxidative enzymes to nickel and cadmium stress in hyperaccumulator plants of the genus *Alyssum*. *Physiologia plantarum*, 105(1), pp.39-44.
- 11\_Vassilev, A., Tsonev, T. and Yordanov, I., 1998. Physiological response of barley plants (*Hordeum vulgare*) to cadmium contamination in soil during ontogenesis. *Environmental Pollution*, 103(2-3), pp.287-293.
- 12\_Valentovičová, K., Halušková, L.U., Huttová, J., Mistrík, I. and Tamás, L., 2010. Effect of cadmium on diaphorase activity and nitric oxide production in barley root tips. *Journal of plant physiology*, 167(1), pp.10-14.
- 13\_Zelinová, V., Mistrík, I., Pavlovkin, J. and Tamás, L., 2013. Glutathione peroxidase expression and activity in barley root tip after short-term treatment with cadmium, hydrogen peroxide and t-butyl hydroperoxide. *Protoplasma*, 250, pp.1057-1065.
- 14\_Zheng, G., Lv, H.P., Gao, S. and Wang, S.R., 2010. Effects of cadmium on growth and antioxidant responses in *Glycyrrhiza uralensis* seedlings. *Plant, Soil and Environment*, 56(11), pp.508-515.

15 Zhang, J.F., Liu, H., Sun, Y.Y., Wang, X.R., Wu, J.C. and Xue, Y.Q., 2005. Responses of the antioxidant defenses of the Goldfish *Carassius auratus*, exposed to 2, 4-dichlorophenol. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 19(1), pp.185-190.

## The Effect of Cadmium Chloride on Seed Germination and Antioxidant Enzyme Activities in Safflower

Shahab Abolghasemi<sup>1</sup>, Hassan Rahnema<sup>2\*</sup>, Forough Sanjerian<sup>3</sup>, Hassan Zeinali<sup>4</sup>

1. M.Sc. Student in Agricultural Biotechnology, Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran
2. Associate Professor, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Karaj, Iran
3. Assistant Professor, National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology, Tehran
4. Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran
5. Resources, University of Tehran

[\\*shahab.abg@gmail.com](mailto:*shahab.abg@gmail.com)

### Abstract

Heavy metals such as cadmium as environmental pollutants harm human health and the environment. Due to the absorption of these metals from the soil, plants are exposed to many risks, including the reduction of plant growth and performance and the destruction of soil microbial activity. The safflower plant is one of the plants resistant to environmental stresses, there have not been many studies on the effects of cadmium on safflower. In this research, the effect of cadmium chloride on the germination of safflower seeds was investigated. The results showed that cadmium has significant effects on the fresh weight of seedlings, and the highest and lowest fresh weight was observed at the concentration of 0 and 100 mg/liter of cadmium chloride. Also, the activity of superoxide dismutase enzyme showed the highest and lowest activity at concentrations of 60 and 100 mg/liter of cadmium chloride. For the enzyme guayacol peroxidase, the highest activity was observed at the concentration of 60 mg/liter of cadmium chloride and the lowest activity at the concentration of 0 mg/liter of cadmium chloride. For the enzyme polyphenyloxidase, the highest activity was observed at the concentration of 80 mg/liter of cadmium chloride and the lowest activity at the concentration of Zero mg/L of cadmium chloride was observed. This study helps to better understand the effect of cadmium on stress-resistant plants.

**Keywords:** Antioxidant Enzymes, Cadmium, In Vitro, Germination, Safflower.



## تأثیر میکروپلاستیک پلی وینیل کلراید بر شاخص‌های جوانه زنی و مراحل اولیه رشد

### گیاه کوشیا (*Bassia scoparia*)

عاطفه میرزایی<sup>1</sup>، علی سپهری<sup>2\*</sup>

1- دانشجوی دکتری آگروتکنولوژی، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا

2- دانشیار گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا

\* a\_sepohri@basu.ac.ir

#### چکیده

آلودگی پلاستیک‌ها در محیط‌های آبی و خاکی به یک مسئله زیست محیطی مهم تبدیل شده است. پلی وینیل کلراید یکی از پرمصرف‌ترین پلاستیک‌ها در سراسر جهان است که به راحتی تجزیه نشده و پس از استفاده به محیط زیست و خاک‌های زراعی وارد می‌شود. به منظور ارزیابی اثرات میکروپلاستیک پلی وینیل کلراید بر شاخص‌های جوانه زنی و مراحل اولیه رشد گیاه دارویی کوشیا آزمایشی در آزمایشگاه تحقیقاتی فیزیولوژی گیاهان زراعی دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا در سال 1400 انجام شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام گردید. تیمارهای مورد بررسی شامل 5 غلظت میکروپلاستیک پلی وینیل کلراید (0، 1، 2، 4 و 6 درصد) بود. اثر میکروپلاستیک پلی وینیل کلراید بر شاخص‌های درصد و سرعت جوانه زنی، متوسط زمان جوانه زنی، شاخص ویگور، طول ساقه چه و طول ریشه چه، ظرفیت آنتی اکسیدانی کل و مهار رادیکال‌های آزاد در سطح یک درصد و بر درصد جوانه زنی در سطح 5 درصد معنی دار شد. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که افزایش میکروپلاستیک پلی وینیل کلراید تا سطح 6 درصد نسبت به شاهد درصد جوانه زنی را کاهش داد، به طوری که بیشترین میزان درصد جوانه زنی در شرایط بدون تنش به میزان 98/66 درصد بدست آمد. کمترین میزان درصد جوانه زنی در میکروپلاستیک 6 درصد مشاهده شد. کمترین میزان سرعت جوانه زنی مربوط به سطح 4 درصد میکروپلاستیک 30/74 بود که نسبت به تیمار شاهد 54/09 کاهش یافته است. با افزایش درصد میکروپلاستیک پلی وینیل کلراید میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی کل و درصد مهار رادیکال‌های آزاد به نسبت شاهد افزایش یافت.

**واژگان کلیدی:** میکروپلاستیک، جوانه زنی، کوشیا، پلی وینیل کلراید، شاخص ویگور.

#### مقدمه:

استفاده گسترده از پلاستیک‌ها در سراسر جهان منجر به پراکندگی و تجمع زباله‌های پلاستیکی در محیط‌های آبی و خاکی شده و تبدیل به یک مسئله مهم زیست محیطی شده است (4). دراکوسیستم‌های کشاورزی منشأ میکروپلاستیک‌های اولیه از کاربرد لجن فاضلاب بوده که برای حاصلخیز کردن خاک استفاده می‌شود، در حالی که میکروپلاستیک‌های ثانویه از فیلم‌های مالچ پلاستیکی و یا از مواد پلاستیکی مورد استفاده برای پوشش گلخانه‌ها، کشت‌های زیرپلاستیکی و .. منشأ می‌گیرند. آلاینده‌های شیمیایی آزاد شده توسط میکروپلاستیک‌ها توسط گیاهان جذب و باعث تنش اکسیداتیو می‌شوند. میکروپلاستیک‌ها با تشکیل یک مانع فیزیکی جذب آب را کاهش داده و می‌تواند وزن خشک ساقه و ریشه را کاهش دهد (10). پلی وینیل کلراید (PVC) در میان سایر پلاستیک‌ها یکی از

پرمصرف ترین پلاستیک‌ها بوده و آلودگی بیشتری را ایجاد می‌کند. پلی وینیل کلراید در کشاورزی به طور گسترده در پوشش گلخانه‌های خورشیدی، پلاستیکی و سایر تاسیسات کشاورزی استفاده شده و بلافاصله پس از استفاده به محیط زیست وارد می‌شود (5). میکروپلاستیک‌ها از تجمع مواد معدنی از طریق ریشه جلوگیری کرده و با تجمع بر روی سطوح ریشه بر رشد، فیزیولوژی و بیوشیمی گیاهان تاثیر می‌گذارند (5). کوشیا (*B. scoparia*) یک هالوفیت علفی با تولید علوفه زیاد، سازگار و مقاوم به شوری و خشکی است (9). کوشیا به علت سازگاری بالا با دماها و اقلیم‌های مختلف دامنه گسترش وسیعی دارد. نتایج مطالعه حاضر می‌تواند بینش جدیدی در مورد اثرات بیولوژیکی میکروپلاستیک‌ها بر مراحل اولیه رشد کوشیا و همچنین خطر اکولوژیکی آنها در محیط خاک ارائه دهد.

### مواد و روش ها:

این پژوهش به منظور ارزیابی اثرات میکروپلاستیک پلی وینیل کلراید بر شاخص های جوانه زنی گیاه دارویی کوشیا در آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهان زراعی گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا در سال 1400 انجام شد. آزمایش جوانه زنی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در سه تکرار انجام گردید. تیمارها شامل پنج غلظت میکروپلاستیک پلی وینیل کلراید (0، 1، 2، 4 و 6 درصد) بود. به منظور انجام آزمایش 100 عدد بذر ضد عفونی شده در پتری‌دیش 14 سانتی متری استریل، بر روی یک لایه کاغذ صافی قرار داده شدند. آزمون جوانه زنی استاندارد در دمای 25 درجه سانتیگراد به مدت 10 روز انجام و شمارش هر 24 ساعت یک بار تا روز دهم انجام گردید. درصد جوانه زنی (GP)، سرعت جوانه زنی (GR)، متوسط زمان جوانه زنی (MGT)، شاخص ویگور (VI)، طول ساقه چه و ریشه چه طبق روابط زیر اندازه گیری شد.

$$GP = (Ng/Tn) \times 100 \quad (1) \quad Ng \text{ تعداد بذره‌های جوانه زده، } Tn \text{ تعداد کل بذور}$$

$$GR = \sum (Gt/Dt) \quad (2) \quad Gt \text{ تعداد بذره‌های جوانه زده در روز } t \text{ ام، } Dt \text{ تعداد روز پس از کاشت}$$

$$MGT = \sum (Gt/Tt) / \sum Gt \quad (3) \quad Gt \text{ تعداد بذره‌های جوانه زده در روز } t \text{ ام، } Tt \text{ زمان متناظر برای } Gt \text{ در روزها.}$$

$$VI = \text{وزن خشک گیاهچه} \times \text{درصد جوانه زنی} \quad (4)$$

ظرفیت آنتی اکسیدانی کل نمونه ها بر اساس روش (Pavithra and Vadivukkarasi, 2015) انجام شد (7). ظرفیت مهار رادیکال آزاد (Inhibition ratio) نیز طبق روش (Brand-Williams et al., 1995) تعیین شد (2).

$$\text{Inhibition ratio (\%)} = [(A_{\text{blank}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{blank}}] \times 100 \quad (5) \quad A_{\text{blank}} \text{ میزان جذب شاهد و } A_{\text{sample}} \text{ میزان جذب نمونه‌های آزمایشی}$$

داده ها با نرم افزار SAS تجزیه واریانس و میانگین ها نیز توسط آزمون LSD در سطح احتمال 5 درصد انجام شد.

### نتایج و بحث:

نتایج نشان داد اثر پلی وینیل کلراید بر شاخص های سرعت جوانه زنی، متوسط زمان جوانه زنی، شاخص ویگور، طول ساقه چه و طول ریشه چه در سطح یک درصد و بر درصد جوانه زنی در سطح 5 درصد معنی دار است (جدول 1). نتایج مقایسه میانگین ها نشان داد که افزایش میکروپلاستیک پلی وینیل کلراید تا سطح 6 درصد، جوانه زنی را کاهش داد،

بیشترین درصد جوانه زنی در شرایط بدون میکروپلاستیک به میزان 98/66 درصد بدست آمد و کمترین درصد جوانه زنی در میکروپلاستیک 6 درصد مشاهده شد (جدول 2). قبلا گزارش شده قرار گرفتن بذر گیاهان در معرض 2 درصد میکروپلاستیک سبب کاهش 60 درصدی جوانه زنی می شود (8). سرعت جوانه زنی بذر نیز تحت تاثیر میکروپلاستیک قرار گرفت (جدول 1). کمترین میزان سرعت جوانه زنی مربوط به در سطح 4 درصد میکروپلاستیک 30/74 بود که نسبت به تیمار شاهد 54/09 کاهش یافته است (جدول 2). مطالعات قبلی نیز نشان داده اند که میکروپلاستیک می تواند سرعت جوانه زنی بذر را مهار کند (1). بیشترین زمان متوسط جوانه زنی مربوط به سطح 4 درصد میکروپلاستیک 3/93 روز و کمترین متوسط زمان جوانه زنی مربوط به تیمار شاهد و 2 درصد میکروپلاستیک به ترتیب 1/75 و 2/55 روز بود (جدول 2). شاخص ویگور، طول ساقه و طول ریشه چه با افزایش درصد میکروپلاستیک پلی وینیل کلراید تا سطح 4 درصد روندی کاهشی داشتند. همچنین مقایسه میانگین های شاخص ویگور نشان داد که با افزایش میکروپلاستیک پلی وینیل کلراید از 1 تا 6 درصد به ترتیب 61/13، 64/82، 66/07 و 58/67 گرم در روز کاهش یافت. کمترین مقدار طول ساقه چه و ریشه چه مربوط به تیمار 4 درصد میکروپلاستیک به ترتیب 1/49 و 0/89 سانتی متر بود (جدول 2). گزارش شده

جدول 1. تجزیه واریانس تاثیر میکروپلاستیک پلی وینیل کلراید بر شاخص های جوانه زنی و آنتی اکسیدانی کوشیا.

میانگین مربعات (Ms)

منابع تغییرات	درجه	درصد	سرعت جوانه	متوسط	شاخص	طول ساقه	طول ریشه	ظرفیت آنتی	مهار
آزادی	جوانه زنی	جوانه زنی	زنی	زمان جوانه	ویگور	چه	چه	اکسیدانی کل	رادیکال های
		(%)		زنی	گرم در	(سانتی متر)	(سانتی متر)	(mg AAE g <sup>-1</sup> FW)	آزاد
				(روز)	(روز)				(%)
میکروپلاستیک	4	64/60*	601/90**	2/17**	10/08**	1/38**	3/66**	21554/55**	1187/38**
خطا	10	14/47	23/78	0/05	0/19	0/05	0/08	22/87	10/51

ضریب تغییرات (%): - 4/12 10/91 8/00 10/08 12/99 17/99 2/93 8/36

ns, \*, \*\* به ترتیب غیر معنادار و معنادار در سطح احتمال 5 و 1 درصد.

میکروپلاستیک‌ها با اندازه ذرات کم و غلظت بالا سمیت آشکاری برای رشد بذر داشته و باعث کاهش طول ریشه چه و ساقه چه می‌شوند (3). اثر میکروپلاستیک بر روی ظرفیت آنتی اکسیدانی کل و درصد مهار رادیکال‌های آزاد در سطح 1 درصد معنی دار بود (جدول 1). با افزایش غلظت پلی وینیل کلراید میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی کل به نسبت شاهد افزایش یافت که بیشترین میزان آنتی اکسیدان در میکروپلاستیک 6 درصد و کمترین میزان آنتی اکسیدان در تیمار شاهد بود (جدول 2). درصد فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد به طور مستقیم با ظرفیت آنتی اکسیدانی کل موجود در گیاه مرتبط است. فعالیت آنتی اکسیدان کل و درصد مهار رادیکال‌های آزاد در تمام غلظت‌های میکروپلاستیک در مقایسه با شاهد به طور معنی‌داری بیشتر بوده است (۴). نتیجه گیری: نتایج نشان داد که با افزایش غلظت میکروپلاستیک پلی وینیل کلراید در محیط درصد جوانه زنی و شاخص‌های مرتبط با آن کاهش یافت. میکروپلاستیک‌ها با اندازه ذرات کم و غلظت بالا می‌توانند اثرات سمی آشکاری را بر رشد بذور داشته و باعث کاهش ویژگی‌های رشدی و عملکرد گیاهان می‌شوند.

جدول 2. مقایسه میانگین میکروپلاستیک پلی وینیل کلراید بر شاخص‌های جوانه زنی بذر کوشیا.

میکروپلاستیک (%)	درصد جوانه زنی (%)	سرعت جوانه زنی	متوسط زمان جوانه زنی (روز)	شاخص ویگور (گرم در روز)	طول ساقه چه (سانتی متر)	طول ریشه چه (سانتی متر)	ظرفیت آنتی اکسیدانی کل (mg AAE g <sup>-1</sup> FW)	مهار رادیکال‌های آزاد (%)
0	98/66 <sup>a</sup>	66/97 <sup>a</sup>	1/75 <sup>d</sup>	6/51 <sup>a</sup>	3/07 <sup>a</sup>	3/53 <sup>a</sup>	43/30 <sup>e</sup>	17/97 <sup>d</sup>
1	93/33 <sup>ab</sup>	34/36 <sup>c</sup>	3/49 <sup>b</sup>	2/53 <sup>b</sup>	1/63 <sup>b</sup>	1/08 <sup>b</sup>	176/70 <sup>c</sup>	29/66 <sup>c</sup>
2	88/66 <sup>b</sup>	46/87 <sup>b</sup>	2/55 <sup>c</sup>	2/29 <sup>b</sup>	1/51 <sup>b</sup>	1/10 <sup>b</sup>	141/90 <sup>d</sup>	26/87 <sup>c</sup>
4	96/66 <sup>a</sup>	30/74 <sup>c</sup>	3/93 <sup>a</sup>	2/21 <sup>b</sup>	1/40 <sup>b</sup>	0/89 <sup>b</sup>	234/90 <sup>b</sup>	64/93 <sup>a</sup>
6	88/33 <sup>b</sup>	44/41 <sup>b</sup>	2/71 <sup>c</sup>	2/69 <sup>b</sup>	1/79 <sup>b</sup>	1/26 <sup>b</sup>	245/10 <sup>a</sup>	54/30 <sup>b</sup>

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف غیر مشابه نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار می‌باشد.

#### منابع مورد استفاده

1. Bosker, T., Bouwman, L. J., Brun, N. R., Behrens, P. and Vijver, M. G. 2019. Microplastics accumulate on pores in seed capsule and delay germination and root growth of the terrestrial vascular plant *Lepidium sativum*. *Chemosphere*, 226, 774-781.
2. Brand-Williams, W., Cuvelier, M.-E. and Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28, 25-30.
3. Ge, J., Yang, Q., Fang, Z., Liu, S., Zhu, Y., Yao, J., MA, Z., Goncalves, R. J. and Guan, W. 2022. Microplastics impacts in seven flagellate microalgae: Role of size and cell wall. *Environmental research*, 206, 112598.
4. Huang, F., Hu, J., Chen, L., Wang, Z., Sun, S., Zhang, W., Jiang, H., Luo, Y., Wang, L. and Zeng, Y. 2023. Microplastics may increase the environmental risks of Cd via promoting Cd uptake by plants: A meta-analysis. *Journal of Hazardous Materials*, 448, 130887.

5. **Khalid, N., Aqeel, M. and Noman, A. 2020.** Microplastics could be a threat to plants in terrestrial systems directly or indirectly. *Environmental Pollution*, 267, 115653.
6. **Maity, S., Chatterjee, A., Guchhait, R., De, S. and Pramanick, K. 2020.** Cytogenotoxic potential of a hazardous material, polystyrene microparticles on *Allium cepa* L. *Journal of hazardous materials*, 385, 121560 .
7. **Pavithra, K. and Vadivukkarasi, S. 2015.** Evaluation of free radical scavenging activity of various extracts of leaves from *Kedrostis foetidissima* (Jacq.) Cogn. *Food Science and Human Wellness*, 4, 42-46.
8. **Pflugmacher, S., Tallinen, S., Kim, Y. J., Kim, S. and Esterhuizen, M. 2021.** Ageing affects microplastic toxicity over time: Effects of aged polycarbonate on germination, growth, and oxidative stress of *Lepidium sativum*. *Science of the Total Environment*, 790, 148166.
9. **Shi, R., Liang, L., Liu, W. and Zeb, A. 2022.** *Kochia scoparia* L., a newfound candidate halophyte, for phytoremediation of cadmium-contaminated saline soils. *Environmental Science and Pollution Research*, 29, 44759-44768.
10. **Wang, T., Hu, M., Song, L., Yu, J., Liu, R., Wang, S., Wang, Z., Sokolova, I. M., Huang, W. and Wang, Y. 2020.** Coastal zone use influences the spatial distribution of microplastics in Hangzhou Bay, China. *Environmental Pollution*, 266, 115137.

## Effect of polyvinyl chloride microplastic on germination indices and early growth stages of *Kochia (Bassia scoparia)* plant

Atefeh Mirzaei<sup>1</sup>, Ali Sepehri<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> Ph.D student, Department of Plant production and genetics, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

<sup>2\*</sup> Associate Professor, Department of Plant production and genetics, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.

\* a\_sepehri@basu.ac.ir

### Abstract

The pollution of plastics in water and soil environments has become an important environmental problem. Polyvinyl chloride is one of the most widely used plastics in the world, which is not easily decomposed and enters the environment and agricultural soils after use. In order to evaluate the effects of Polyvinyl chloride toxicity on the germination indicators of *Kochia* plant, an experiment was carried out in the crop physiology laboratory, plant production and genetics, faculty of agriculture, Bu-Ali Sina University in 1400. A factorial experiment based on a completely random design in three replications were used. The investigated treatments included 5 concentrations of polyvinyl chloride microplastics (0, 1, 2, 4 and 6%). The effect of polyvinyl chloride microplastic on germination rate, average germination time, vigor index, stem length, root length, total antioxidant and free radical inhibition percentage was significant at 1% level and on germination percentage at 5% level. The results showed that increasing the amount of polyvinyl chloride microplastic up to 6% compared to the control reduced the germination percentage, so that the highest germination percentage was obtained in non-stressed conditions by 98.66%. The lowest percentage of germination was observed in 6% microplastic. The lowest rate of germination was 30.74 at the level of 4% microplastic, which has decreased compared to the control treatment by 54.09. By increasing the percentage of polyvinyl chloride microplastics, the total antioxidant capacity and free radical inhibition percentage increased compared to the control.

**Keywords:** Microplastic, Germination, *Kochia*, polyvinyl chloride, vigor index.

## بررسی واکنش ارقام گوجه فرنگی به تراکم های کشت مختلف در شهرستان دشتستان استان

### بوشهر

داود کیانی<sup>1\*</sup>، مرضیه عباباف<sup>2</sup>

1- استادیار، بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان بوشهر، سازمان تحقیقات،

آموزش و ترویج کشاورزی، بوشهر، ایران

d.kiani@areeo.ac.ir

2- دانش آموخته دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی، دانشگاه شاهد تهران، تهران، ایران

### چکیده

گوجه‌فرنگی با نام علمی (*Solanum lycopersicum* L.) دومین سبزی مهم اقتصادی پس از سیب‌زمینی در جهان است. تراکم بوته گوجه‌فرنگی از عوامل مؤثر بر تولید گوجه‌فرنگی است و مدیریت آن برای افزایش عملکرد میوه در واحد سطح ضروری است. انتخاب رقم یکی از مهم‌ترین تصمیمات مدیریت در مزرعه است و با وجود واریته‌های فراوان موجود می‌تواند امری ضروری به نظر برسد. به منظور بررسی اثر ارقام مختلف گوجه‌فرنگی در تراکم‌های متفاوت پژوهشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی ایستگاه تحقیقات کشاورزی برازجان استان بوشهر انجام شد. تیمارها شامل پنج رقم تجاری (Elisa و Sama, Brivio, SV 8320 TD, Berneta) و تراکم‌های کشت شامل 20، 25 و 30 هزار بوته در هکتار بودند. در پایان آزمایش صفات کیفی گوجه‌فرنگی اندازه‌گیری شد. آنالیز داده‌ها نشان داد که در صفات کیفی ارقام Elisa و Sama عملکردهای بهتری دارند، به طوری که بیشترین مقدار بریکس میوه (4/07) در رقم Elisa، بیشترین طول میوه در ارقام Elisa و Sama و بالاترین قطر میوه در رقم SV 8320 TD مشاهده شد.

واژگان کلیدی: ژنوتیپ، گوجه‌فرنگی، طول میوه.

### مقدمه

گوجه‌فرنگی با نام علمی (*Solanum lycopersicum* L.) از خانواده Solanaceae دومین سبزی مهم اقتصادی پس از سیب‌زمینی در جهان است (Ayuso Yuste et al., 2022) که تولید آن از مناطق گرمسیری تا معتدل گسترش می‌یابد. فرآورده‌های گوجه‌فرنگی به طور گسترده‌ای در تغذیه روزانه انسان به کار می‌روند و منابعی غنی از نظر مواد فعال زیستی مانند ویتامین‌ها، ترکیبات فنولیک، اسید اسکوربیک، لیکوپن و کاروتنوئیدها هستند که نقشی کلیدی در سلامت انسان دارند. این ترکیبات فعال زیستی، به ویژه لیکوپن، می‌توانند به کاهش سرطان‌ها و بیماری‌های قلبی عروقی کمک کنند (Ali et al., 2020). تراکم بوته گوجه‌فرنگی از عوامل مؤثر بر تولید گوجه‌فرنگی است و مدیریت آن برای افزایش عملکرد میوه در واحد سطح ضروری است. در واقع تراکم، یکی از عوامل

مؤثر در تولید بهینه می‌باشد و هدف این است که ترکیب مناسبی از عوامل محیطی برای حصول عملکرد کمی و کیفی تأمین گردد (Candian et al., 2017).

انتخاب رقم یکی دیگر از مهم‌ترین تصمیمات مدیریت در مزرعه است و با وجود واریته‌های فراوان موجود می‌تواند امری ضروری به نظر برسد؛ بنابراین به عنوان یک معیار مهم باید در هر سیستم کشت در نظر گرفته شود (Maboko et al., 2010). در پژوهشی علی و همکاران (2016) با ارزیابی 48 رقم گوجه‌فرنگی گزارش کردند که مؤثرترین صفات بر عملکرد میوه، وزن میوه، طول و عرض میوه و تعداد میوه در بوته هست. آن‌ها همچنین تنوع بسیار بالایی از لحاظ این صفات در بین ارقام محلی، هیبرید و تجاری کشت شده مشاهده کردند. از این رو مطالعه عملکرد، اجزای عملکرد و صفات مرتبط با آن به منظور دستیابی به ژنوتیپ‌های مطلوب گوجه‌فرنگی با حداکثر عملکرد کمی و کیفی تحت شرایط محیطی در هر منطقه از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. از این رو پژوهش حاضر با هدف ارزیابی و بررسی واکنش 5 رقم مختلف گوجه‌فرنگی تجاری نسبت به تراکم‌های مختلف با کمک بررسی صفات مورفولوژیک و عملکردی تحت شرایط محیطی فضای باز انجام شد.

## مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر ارقام مختلف گوجه‌فرنگی در تراکم‌های متفاوت، پژوهشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی ایستگاه تحقیقات کشاورزی برازجان استان بوشهر با مختصات طول جغرافیایی 51 درجه و 17 دقیقه شرقی و عرض 21 درجه و 2 دقیقه شمالی، ارتفاع 110 متر از سطح دریا و میانگین بارندگی سالانه حدود 300-250 میلی‌متر اجرا شد. تیمارهای این آزمایش شامل پنج رقم تجاری (Elisa و Sama, Brivio, SV 8320 TD, Berneta) و تراکم‌های کشت شامل 20، 25 و 30 هزار بوته در هکتار بود. فاصله بین نوارهای آبیاری دو متر و فواصل بین بوته‌ها روی ردیف به ترتیب 25، 20 و 16 سانتی‌متر برای حصول تراکم‌های 20، 25 و 30 هزار بوته در هکتار به صورت کشت دو طرفه بودند. در ابتدا نمونه مرکبی از خاک از عمق‌های 0-30 سانتی‌متر تهیه شد، سپس خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آن در آزمایشگاه آب و خاک تعیین شد. پیش از انتقال نشاء، عملیات آماده‌سازی زمین انجام شد و کودها بر اساس آزمون خاک و توصیه بخش تحقیقات آب و خاک مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان بوشهر در تمام کرت‌ها به صورت یکسان در داخل جوی و زیر محل استقرار نوارهای آبیاری پیش از انتقال نشاء استفاده شد. نشاهای گوجه‌فرنگی پس از 6 هفته در مرحله چهار تا پنج برگی در طول نوارهای آبیاری قطره‌ای در مزرعه کشت شدند. کرت‌ها در ابعاد 24 متر مربع آماده شدند، به طوری که تعداد خطوط کشت در هر تکرار 3 عدد و طول ردیف‌های کاشت در تمامی تیمارها 4 متر بود. برداشت 100 تا 130 روز پس از کشت صورت گرفت. در پایان صفات کمی (طول میوه، قطر میوه) و کیفی (اندازه پریکارپ و بریکس (با استفاده از دستگاه رفاکتومتر دیجیتال شرکت ATAGO مدل PAL-3 ساخت کشور ژاپن) گوجه‌فرنگی (بهزادی و رخشنده رو، 1393) اندازه‌گیری شد. تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 و مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

## نتایج و بحث

## اندازه پریکارپ

آنالیز واریانس داده‌ها نشان داد که تراکم و ارقام گوجه‌فرنگی و اثر متقابل آن‌ها بر اندازه پریکارپ تأثیر معنی‌داری ندارد (جدول 1).

جدول 1- تجزیه واریانس داده‌ها برای صفات عملکرد و اجزای عملکرد ارقام گوجه‌فرنگی در تراکم‌های مختلف کشت

منابع تغییرات	درجه آزادی	اندازه پریکارپ	مقدار کل مواد جامد (بریکس)	طول میوه	قطر میوه
تکرار	2	0/56	0/04	0/22	0/83
رقم	4	n.s0/24	**0/58	**7/72	**2/60
تراکم	2	n.s0/10	n.s0/24	**2/97	n.s0/20
رقم × تراکم	8	n.s0/36	n.s0/07	n.s0/70	n.s0/46
خطا	28	0/29	0/08	0/47	0/25
ضریب تغییرات		11/33	7/89	10/31	8/12

\*, \*\*, و ns به ترتیب معنی‌دار بودن در سطح احتمال پنج درصد، یک درصد و عدم معنی‌داری را نشان می‌دهد.

## بریکس

مقدار کل مواد جامد (بریکس) و pH مهم‌ترین معیارهای کیفی در تولید رب گوجه‌فرنگی می‌باشند. درصد مواد جامد کل یکی از ویژگی‌های شیمیایی رب حاصل از گوجه‌فرنگی است، به طوری که هرچه مقدار مواد جامد کل بیشتر باشد، تأثیر بیشتری بر ویژگی‌های فیزیکی فرآورده‌های حاصل از گوجه‌فرنگی خواهد داشت.

تجزیه داده‌ها نشان داد رقم تأثیر معناداری در سطح احتمال یک درصد بر بریکس دارد (جدول 1). بیشترین مقدار بریکس در رقم Elisa با میانگین 4/07 مشاهده شد؛ اگرچه با دیگر ارقام (Brivio و Berneta, SV 8320 TD) اختلاف معنی‌داری نداشت (جدول 2). کمترین مقدار این صفت (3/37) در رقم Sama مشاهده شد. نتایج این پژوهش با مطالعه‌ای که بهزادی و رخشنده رو (1393) بر روی آرایش کشت بر گوجه‌فرنگی انجام دادند همخوانی دارد آن‌ها نیز دریافتند که اثر فواصل روی ردیف و بین ردیف بر ویژگی‌های کیفی میوه شامل درصد مواد جامد محلول معنی‌دار نبود.

## طول میوه

نتایج آنالیز واریانس نشان داد که ژنوتیپ و تراکم‌های مختلف بر طول میوه تأثیر معنی‌داری دارد (جدول 1). بیشترین طول میوه در ارقام Elisa (7/38 سانتی‌متر) و Sama (7/85 سانتی‌متر) و کمترین آن در رقم SV 8320 TD با میانگین 5/52 سانتی‌متر مشاهده شد.



(جدول 2). هم‌چنین بین ارقام Berneta و Brivio تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. مقایسه تراکم‌های مختلف نشان داد که در تراکم 25000 بوته در هکتار بیشترین طول میوه حاصل شده که البته تفاوت معنی‌داری با 20000 بوته ندارد (جدول 2).

### قطر میوه

نتایج آنالیز واریانس نشان داد که ژنوتیپ‌های مختلف بر قطر میوه تأثیر معنی‌داری دارد (جدول 1). به طوری که بیشترین قطر میوه در رقم SV 8320 TD و کمترین آن در رقم Elisa مشاهده شد. بین ارقام Sama، Brivio و Berneta اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول 2).

جدول 2- مقایسه میانگین اثر رقم و تراکم کشت در گوجه‌فرنگی بر صفات کیفی

رقم	بریکس	طول میوه (سانتی‌متر)	قطر میوه (سانتی‌متر)
SV 8320 TD	ab83/3	c52/5	a02/7
Berneta	ab66/3	b29/6	bc97/5
Brivio	ab77/3	b41/6	b09/6
Elisa	a07/4	a38/7	c55/5
Sama	b37/3	a85/7	b24/6
تراکم			
20000		ab57/6	
25000		a18/7	
30000		b32/6	

میانگین‌هایی که حروف مشترک دارند در سطح احتمال پنج درصد آزمون LSD تفاوت معنی‌داری ندارند.

### نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج حاصل شده از این پژوهش، بر اساس صفات کیفی، ارقام Elisa و Sama وضعیت بهتری نسبت به دیگر ارقام دارند. بنابراین چنانچه تولید کیفی محصول مد نظر باشد ارقام Elisa و Sama به عنوان رقم‌های مناسب کشت در استان بوشهر پیشنهاد می‌گردد.

### منابع مورد استفاده

1. بهزادی، بهرام. رخشنده رو، مجید. 1393. تعیین مناسب‌ترین آرایش کاشت گوجه‌فرنگی در روش آبیاری قطره‌ای نواری. مجله بهزراعی نهال و بذر. 4:(3)20: 389-400.

2. Ayuso-Yuste, M. C., González-Cebrino, F., Lozano-Ruiz, M., Fernández-León, A. M., & Bernalte-García, M. J. (2022). Influence of ripening stage on quality parameters of five traditional tomato varieties grown under organic conditions. *Horticulturae*, 8(4), 313.
3. Ali, M. Y., Sina, A. A. I., Khandker, S. S., Neesa, L., Tanvir, E. M., Kabir, A., ... & Gan, S. H. (2020). Nutritional composition and bioactive compounds in tomatoes and their impact on human health and disease: A review. *Foods*, 10(1), 45.
4. Candian, J. S., Martins, B. N. M., Cardoso, A. I. I., Evangelista, R. M., & Fujita, E. (2017). Stem conduction systems effect on the production and quality of mini tomato under organic management. *Bragantia*, 76, 238-245.
5. Ali, A., Hussain, I., Khan, A., Khan, J., Rehman, M. U., & Riaz, A. (2016). Evaluation of various tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) cultivars for quality, yield and yield components under agro climatic condition of Peshawar. *ARPJ Agric Biol Sci*, 11(2), 59-
6. Maboko, M. M., Du Plooy, C. P., & Bertling, I. (2010, August). Performance of tomato cultivars in temperature and non-temperature controlled plastic tunnels. In *XXVIII International Horticultural Congress on Science and Horticulture for People (IHC2010): International Symposium on 927* (pp. 405-411).

## Evaluation of the reaction of tomato to different cultivars and planting densities in Dashtestan city, Bushehr province

Davood Kiani<sup>1\*</sup>, marziyeh ababaf<sup>2</sup>

1- Assistant Professor, Bushehr Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Bushehr, Iran.  
d.kiani@areeo.ac.ir

2- Ph.D. of Agronomy, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agricultural Sciences, University of Shahed, Tehran, Iran

### Abstract

Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) is the second most-consumed vegetable in the world after potato (*S. tuberosum* L.). Tomato plant density is one of the factors affecting tomato production and its management is necessary to increase fruit yield per unit area. Variety selection is a crucial farm management decision despite the abundance of options it can appear overwhelming. In order to investigate the effect of different tomato cultivars in different densities a factorial study was conducted in the Agricultural Research Station of Borazjan, Bushehr province to evaluate the impact of different tomato cultivars at varying densities. The research followed a randomized complete block design with three replications. The treatments were included five commercial cultivars (Berneta, SV 8320 TD, Brivio, Sama and Elisa) and three planting densities (20000, 25000 and 30000 plants/ha). At the end experiment, the quality traits of tomato were measured. The results revealed that Elisa and Sama cultivars performed better in terms of quality traits. The Elisa cultivar had the highest brix value of 4.07, while both Elisa and Sama cultivars had the longest fruit length. Alos the highest fruit diameter was in SV 8320 TD cultivar.

**Keywords:** Fruit length, Genotype, Tomato

## ارزیابی اثر غلظت‌های مختلف بنزیل آدنین بر ریزازدیادی گیاه ونوس حشره‌خوار (*Dionaea muscipula*)

منیژه اسلامی

1- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

[manijheeslami@yahoo.com](mailto:manijheeslami@yahoo.com)

مهناز کریمی

2- استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

حسین مرادی

2- دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

### چکیده

استفاده از فناوری کشت بافت می‌تواند مطلوب‌ترین روش تکثیر سریع گیاهان زینتی در زمانی کوتاه محسوب شود. ونوس حشره‌خوار (*Dionaea muscipula*) یک گیاه زینتی در حال انقراض است که مطالعه کمی بر روی ریزازدیادی آن انجام شده است. به دلیل مشکلات تکثیر جنسی و غیرجنسی این گونه، در این تحقیق امکان تکثیر این گیاه به روش کشت درون شیشه‌ای با استفاده از ریزنمونه‌های گیاهچه بالغ مورد بررسی قرار گرفت و هدف از این تحقیق، بررسی اثر غلظت‌های مختلف بنزیل آدنین (BA) بر ریزازدیادی ونوس حشره‌خوار بود. بدین منظور، آزمایشی به صورت طرح کاملاً تصادفی با 3 تکرار انجام شد. گیاهچه‌ها در محیط کشت موراشیگ و اسکوگ (MS) با غلظت‌های مختلف بنزیل آدنین (BA) (0/1، 0/3 و 0/5 میلی‌گرم در لیتر) کشت شدند و بعد از گذشت 45 روز برخی از صفات مورفولوژیکی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که کمترین تعداد جنین و بیشترین تعداد برگ، تعداد ریشه و شاخص ریشه زایی مربوط به محیط کشت حاوی 0/1 میلی‌گرم بر لیتر بوده است و بیشترین تعداد جنین نیز در محیط کشت حاوی 0/3 میلی‌گرم بر لیتر بوده است.

واژگان کلیدی: سیتوکینین، کشت بافت، گیاه گوشت‌خوار، محیط کشت ام اس.

### مقدمه

از زمان‌های دور گیاهان گوشت‌خوار یکی از موضوعات جالب و مورد علاقه بوده است. گیاهان گوشت‌خوار گیاهانی هستند که بسیاری از مواد مغذی خود را از طریق تله و مصرف جانوران، معمولاً حشرات و بندپایان به دست می‌آورند و در مناطقی که در آن خاک دارای فقر مواد غذایی (به‌ویژه نیتروژن) است، رشد می‌کنند (Ellison and Gotelli, 2009). ونوس حشره‌خوار (*Dionaea muscipula*) تنها گونه جنس *Dionaea*، یک گیاه نیمه گرمسیری گوشت‌خوار است که بومی مناطق دشت ساحلی کارولینای شمالی و جنوبی در جنوب شرقی ایالات متحده رشد می‌کند و در حال انقراض است (Horner et al., 2014). کشت بافت از روش‌های مؤثر ازدیاد انبوه گیاهان است. تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی نقش بسیار بارزی در ریزازدیادی دارند. در این میان، سیتوکینین‌ها معمولاً در محیط‌های کشت ریزازدیادی برای افزایش تکثیر سرشاخه مورد استفاده قرار می‌گیرند که در غلظت‌های بالا موجب تشکیل جوانه و تقسیم سلولی شده و رشد و تشکیل کالوس را سبب می‌شوند (Movahedi et al., 2016). در کشور ما تکثیر این گیاه بیشتر از طریق بذر صورت می‌گیرد که سرعت پایین جوانه‌زنی بذر،

تفرق صفات و عدم یکنواختی گیاهان وجود دارد. هدف از اجرای پژوهش حاضر بررسی برخی از پاسخ‌های مورفولوژیک گیاه ونوس حشره‌خوار به سطوح مختلف بنزیل آدنین می‌باشد.

### مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر به صورت طرح کاملاً تصادفی با 3 تکرار در آزمایشگاه کشت بافت دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری اجرا شد. بدین منظور بنزیل آدنین (BA) با سه سطح (0/10، 0/30 و 0/50 میلی‌گرم بر لیتر) در محیط کشت موراشیگ اسکوک با 5/8 PH استفاده شد و بعد از 45 روز برخی از صفات را مورد بررسی قرار دادیم. صفات مورد بررسی شامل تعداد جنین، تعداد برگ، تعداد ریشه و شاخص ریشه زایی بوده است که به ترتیب با شمارش و از طریق فرمول زیر محاسبه شدند.

$$(1) \quad \text{تعداد ریشه تولید شده در هر ریزنمونه} \\ \text{شاخص ریشه زایی} = \frac{\text{تعداد کل ریزنمونه‌های انتخاب شده}}{\text{تعداد ریشه زایی}} \times 100$$

نرمال‌سازی داده‌های به دست آمده، تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماري SAS انجام شد.

### نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس و مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که اثر هورمون BA بر تعداد جنین در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که با افزایش غلظت تنظیم‌کننده رشدی در محیط کشت کاهش معنی‌داری در میانگین شاخص ریشه زایی مشاهده شد، به طوری که بیشترین شاخص ریشه زایی را در غلظت‌های 0/1 میلی‌گرم بر لیتر BA به دست آمد و کمترین میانگین مربوط به تیمار BA با غلظت 0/3 میلی‌گرم بر لیتر بود (جدول و شکل 1). در همین راستا، سایر پژوهشگران نیز بیان داشتند که مطالعات در مورد ریزازدیادی سایر گیاهان زیتنی حاکی از اهمیت سیتوکینین‌ها است (kaviani and ghaffari, 2016). سیتوکینین‌ها معمولاً در محیط‌های کشت ریزازدیادی برای افزایش تکثیر سرشاخه مورد استفاده قرار می‌گیرد (Jain, 2010) و همچنین علاوه بر تأثیر روی تقسیم سلولی گیاهی بر سایر جنبه‌های فیزیولوژی و نمو تنظیم شده با نور شامل تمایز کلروپلاست و نمو (توسعه متابولیسم) مؤثر می‌باشند (miandoab et al., 2018). هم‌راستا با یافته‌های پژوهش حاضر، پژوهشگران بیان داشتند که تنظیم‌کننده رشد Kin، BA، TDZ، 2ip و Kin تأثیر معنی‌داری بر درصد باززایی، درصد ریشه‌زایی، طول گیاهچه، تعداد ریشه و وزن خشک گیاهچه‌ها لیلیوم داشت، به طوری که کاربرد تنظیم‌کننده رشد گیاهی Kin، BA و TDZ به ترتیب بیشترین افزایش را در وزن خشک گیاهچه‌ها، طول آن و تولید ریشه داشته است (sharifi et al., 2017). در پژوهشی دیگر 12 گونه گیاهی را در شرایط کشت بافت با تک هورمون بنزیل آدنین کشت کردند و به این نتیجه رسیدند که بهترین تیمار برای شاخه‌دهی و رشد بین 0/1 تا 2/5 میلی‌گرم بر لیتر BA می‌باشد و برای ریشه‌زایی بهتر است از یک نوع اکسین نیز استفاده شود (Norton and Boe, 1982).

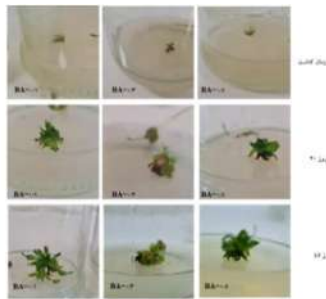
جدول (1) مقایسه میانگین صفات مورفولوژیکی گیاه ونوس حشره‌خوار تحت سطوح مختلف بنزیل

آدنین

بنزیل آدنین (میلی گرم در لیتر)	شاخص ریشه زایی	تعداد ریشه	تعداد برگ	تعداد جنین
--------------------------------	----------------	------------	-----------	------------

0/3c	13/33a	3a	99/97a	0/1
7/33 a	2/66 c	0/33 b	14/80 c	0/3
2/66 b	6/66 b	1/33 b	48/10 b	0/5
**	*	**	*	معنی داری
33/52	10/80	47/91	43/68	ضریب تغییرات

\* و \*\* به ترتیب معنی داری در سطح پنج و یک درصد. در هر ستون حروف مشابه از نظر آماری اختلاف معنی داری در سطح پنج درصد ندارند.



شکل (1) نمایی کلی از رشد گیاه ونوس حشره خوار

### نتیجه گیری

در این تحقیق مشاهده گردید که کمترین تعداد جنین و بیشترین تعداد برگ و شاخص ریشه زایی مربوط به محیط کشت حاوی BA 0/1 میلی گرم بر لیتر بوده است و بیشترین تعداد جنین نیز در محیط کشت حاوی BA 0/3 میلی گرم بر لیتر بوده است. نتایج حاکی از آن است که اگر هدف از کشت بافت این گیاه تعداد جنین بالا در مدت زمان کم باشد استفاده از غلظت 0/3 میلی گرم بر لیتر بهترین نتیجه را خواهد داشت.

### منابع و مراجع مورد استفاده

- ELLISON, A. M. & GOTELLI, N. J. 2009. Energetics and the evolution of carnivorous plants—Darwin's 'most wonderful plants in the world'. *Journal of Experimental Botany*, 60, 19-42.
- HORNER, J. D., HODCROFT, E. B., HALE, A. M. & WILLIAMS, D. A. 2014. Clonality, genetic variation, and the origin of isolated western populations of the carnivorous plant, *Sarracenia alata*. *The Journal of the Torrey Botanical Society*, 141, 326-337.
- JAIN, S. M. 2010. *Protocols for in vitro propagation of ornamental plants*, Springer.
- KAVIANI, B. & GHAFFARI, S. 2016. The effect of different concentrations of kinetin and naphthalene acetic acid on micropropagation of *Lisianthus* (*Eustoma grandiflorum*). *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)*, 28, 1088-1096.
- MIANDOAB, L. Z., HEJAZI, M. A. & NASIRI, M. 2018. The Effect of Cytokinin on Growth and Physiology of *Dunaliella salina*. *Journal of Applied Biology*, 31, 121-132.
- MOVAHEDI, M., GHASEMIOMRAN, V. & TORABI, S. 2016. Effect of explants type and plant growth regulators on in vitro callus induction and shoot regeneration of *Cannabis sativa* L. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 32, 83-97.
- NORTON, M. E. & BOE, A. A. 1982. In Vitro Propagation of Ornamental Rosaceous Plants 1. *HortScience*, 17, 190-191.

SHARIFI, A., KEYKHA, F., YAZDI, M. & BAGHERI, A. 2017. Effect of Cultivar and Plant Growth Regulators on Invitro Regeneration of *Lilium* Spp. Utilizing Thin Cell Layer Explants. *Journal Of Horticultural Science*, 31, 555-564.

## Evaluation of different effects of benzyl adenine on the micropropagation of Venus Flytrap (*Dionaea muscipula*)

1-Manijhe Eslami

M.S. Student, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Crop Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

[manijheeslami@yahoo.com](mailto:manijheeslami@yahoo.com)

2-Mahnaz Karimi

Assistant Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Crop Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

2-Hossein Moradi

Assistant Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Crop Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

### Abstract

The most ideal technique for quickly multiplying ornamental plants in a short of time is the application of tissue culture technology. The endangered Venus flytrap (*Dionaea muscipula*) is an ornamental plant whose micropropagation has received little research. Venus fly trap is an extinct plant. Tissue culture is one of the effective methods of mass plant production. For this purpose, venus fly trap explants were planted in MS medium containing plant growth regulator BA three levels (0/1, 0/3 and 0/5 mg/l). For this purpose, an experiment in a randomized complete design was conducted with 3 replications. After 45 days Morphological characteristics (number of roots, number of leaves, number of embryo and Response percent in roots) were evaluated. The results showed that the lowest number of embryos, the highest number of leaves, number of roots and rooting index were related to the culture medium containing BA 0.1 mg/l and the highest number of embryos in the culture medium containing BA 0.3 mg/l.

**Keywords:** Carnivorous plant, Cytokinin, Tissue culture, MS medium.

## تاثیر سن گیاه بر برخی ویژگی های رشدی و ترکیبات موثره گیاه دارویی آرتیشو

### (*Cynara scolymus* L.)

کیوان آقائی<sup>1\*</sup>، سعید تقیلو<sup>1</sup>، علی عمارلو<sup>2</sup>

1: گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه زنجان

2: دانشیار پژوهشکده فناوری های نوین زیستی، دانشگاه زنجان

\*: نویسنده مسئول: کیوان آقائی، استادیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه زنجان keyvanaghaei@znu.ac.ir

#### چکیده

کنگر فرنگی (*Cynara scolymus* L.) با نام عمومی آرتیشو گیاهی علفی و چندساله متعلق به تیره آستراسه است که پیشینه کشت آن به هزاران سال پیش می‌رسد. این گیاه دارای خاصیت دارویی، غذایی و علوفه ای است. کاپیتول های آن خواص غذایی داشته و از برگهای آن برای اهداف پزشکی از قبیل درمان بیماریهای کبدی استفاده می‌شود. عوامل زیادی در کمیت و کیفیت محصول تولیدی آن نقش دارند که یکی از آنها سن مزرعه می‌باشد. به منظور بررسی اثر سن مزرعه بر برخی صفات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و متابولیت‌های ثانویه کنگر فرنگی پژوهشی در قالب طرح کاملاً تصادفی در مزرعه پژوهشی گیاهان دارویی دانشگاه زنجان انجام شد. جهت اجرای این تحقیق، دو مزرعه کنگر فرنگی با سنین بیولوژیکی یک ساله و دو ساله به عنوان تیمارهای آزمایش انتخاب و سپس از هر مزرعه، سه کرت به صورت تصادفی انتخاب و صفات مورد نظر اندازه گیری شدند. نتایج نشان داد، در سال اول وزن خشک برگ نسبت به سال دوم بالاتر بود اما غلظت رنگیزه های کلروفیلی و کاروتنوئیدی در سال دوم نسبت به سال اول بالاتر بود. تعداد ترکیبات مؤثره برگ در سال اول بیشتر از سال دوم بود. عمده ترین ترکیبات تشکیل دهنده برگ شامل 1-اکساسپیرو اکتان با 26/18 درصد، پنتاکوسادیونیک اسید با 21/24 درصد، اینوسیتول با 10/97 درصد و ترامتیل اکتاهیدرونفتالن با 9/61 درصد بود. به طور کلی نتایج نشان دهنده تأثیر معنی‌دار و قابل توجه سن بیولوژیکی گیاه بر ترکیبات مؤثره کنگر فرنگی بود.

کلمات کلیدی: آرتیشو، اکساسپیرو اکتان، ترکیبات ثانویه، سن بیولوژیکی، کاپیتول.

#### مقدمه

کنگر فرنگی (*Cynara scolymus* L.) با نام عمومی آرتیشو گیاهی علفی و چندساله متعلق به تیره آستراسه است که پیشینه کشت آن به هزاران سال پیش می‌رسد (1). این گیاه بومی جنوب مدیترانه و شمال آفریقا است و امروزه در بسیاری از مناطق دنیا از جمله ایالات متحده امریکا، ایتالیا، اسپانیا، فرانسه، ترکیه، ایران و چین کشت می‌شود (2). کنگر فرنگی دارای خاصیت دارویی، غذایی و علوفه‌ای است (3). این گیاه در میان یونانیان و رومیان به عنوان غذا و دارو مورد توجه بوده (1) و کاپیتول‌های آن برای اهداف تغذیه‌ای و برگ‌ها برای اهداف پزشکی از قبیل درمان بیماری‌های کبدی استفاده می‌شود (4). اندام‌های مختلف کنگر فرنگی مانند طبق نابالغ، برگ‌های گوشتی و نهج آن مصارف خوراکی

دارند (1). کنگر منبعی از ویتامین ث، مواد معدنی مانند پتاسیم، سدیم، فسفر و آهن، فیبر، اینولین (5) و پلی فنل‌ها به ویژه اسید کافئولینیک و فلاونوئیدها محسوب می‌شود (6). همچنین این گیاه در بسیاری از نقاط جهان به عنوان علوفه خشک یا سیلو شده برای تغذیه دام‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد (7).

باید توجه داشت که میزان مواد موثر در گیاه به هیچ وجه ثابت نبوده و متناسب با کیفیت رشد گیاه تغییر می‌نماید. چندین عامل در میزان مواد مؤثر تأثیر داشته و باید در هنگام برداشت گیاهان مورد توجه قرار گیرند. یکی از این عوامل زمان برداشت محصول می‌باشد. تغییراتی که در میزان مواد مؤثره گیاه در طول سال و حتی در ساعات یک روز وجود دارد اهمیت برداشت گیاهان دارویی را در زمانی که گیاه دارای حداکثر میزان مواد مؤثر است، نمایان می‌سازد (8). با توجه به موارد گفته شده، پژوهش حاضر به منظور مقایسه خصوصیات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و متابولیت‌های ثانویه کنگر فرنگی به صورت کاملاً ارگانیک، در سال اول و دوم در مزرعه پژوهشی دانشگاه زنجان طراحی و اجرا گردید.

### مواد و روشها

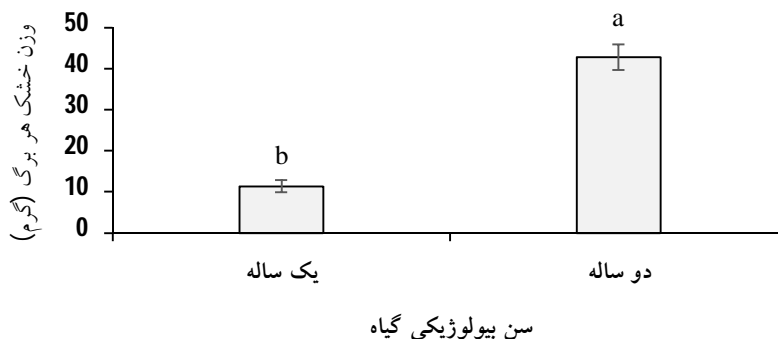
جهت اجرای پژوهش حاضر، دو مزرعه کنگر فرنگی کشت شده در مزرعه پژوهشی پژوهشکده فناوری‌های نوین زیستی دانشگاه زنجان با سنن بیولوژیکی یک ساله و دو ساله انتخاب گردید. سپس از هر مزرعه، سه کرت به ابعاد 3×4 متر (12 متر مربع) به صورت تصادفی انتخاب گردید سپس از هر یک از کرت‌ها چند بوته بطور تصادفی انتخاب شد و نمونه‌های برگ و میوه جهت بررسی برخی صفات رشدی و نیز ترکیبات مؤثره برداشت شد. پس از اندازه‌گیری صفات و ثبت داده‌های به دست آمده در اکسل، داده‌ها توسط نرم افزار SAS var. 9.1 تجزیه تجزیه واریانس شدند. مقایسه میانگین داده‌ها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد صورت گرفت. رسم نمودارها نیز توسط Excel انجام گردید.

### نتایج و بحث

#### اثر سن بیولوژیکی بر وزن خشک برگ

وزن خشک برگ در سال اول کمترین (11/36 گرم) و در سال دوم بیشترین (42/80 گرم) مقدار را داشت (شکل 1). افزایش وزن خشک برگ در سال دوم را می‌توان این گونه استدلال نمود که در سال اول گیاه بیشترین مواد فتوسنتزی خود را صرف تولید و گسترش ریشه‌ها و استقرار خود نموده و در نتیجه برگ‌های تولیدی از نظر سطح و اندازه نسبت به سال دوم کمتر بوده است. گزارش گردیده است که عملکرد ماده خشک کنگر فرنگی در مرحله بذردهی به علت بالا بودن سطح برگ بالاتر از سایر مراحل است (9) که هسمو با نتایج به دست آمده در این پژوهش می‌باشد.





شکل 1- تأثیر سن بیولوژیکی گیاه بر وزن خشک برگ

### اثر سن بیولوژیکی بر میزان رنگیزه های کلروفیلی و کاروتنوئیدی

رنگیزه های کلروفیلی برگ شامل کلروفیل a, b و کل و همچنین کاروتنوئیدها به طور معنی داری ( $P \leq 0/01$ ) تحت تأثیر سن بیولوژیکی گیاه قرار داشت (جدول 1). غلظت کلروفیل a, b و کل در سن دوم گیاه به ترتیب به میزان 141/7، 59/5 و 111/4 درصد نسبت به سال اول افزایش داشت (جدول 1).

جدول 1- نتیجه مقایسه میانگین تأثیر سن بیولوژیکی گیاه بر رنگیزه های کلروفیلی و کاروتنوئیدی برگ کنگر فرنگی

تیمار	کلروفیل a (میلی گرم بر گرم وزن تر)	کلروفیل b (میلی گرم بر گرم وزن تر)	کلروفیل کل (میلی گرم بر گرم وزن تر)	کاروتنوئید (میلی گرم بر گرم وزن تر)
سال اول	2/47 ± 0/02b	1/46 ± 0/04b	3/93 ± 0/12b	7/29 ± 1/2b
سال دوم	5/97 ± 0/03a	2/33 ± 0/07a	8/31 ± 0/3a	15/81 ± 2/8a

تیمارهای دارای حروف مشترک بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی داری با یکدیگر ندارند

غلظت کاروتنوئیدها نیز در سال اول 7/29 میلی گرم بر گرم وزن تر بود که در سال دوم به 15/81 میلی گرم بر گرم وزن تر رسید که افزایشی 117/9 درصدی داشت (جدول 1). بالاتر بودن غلظت رنگیزه های کلروفیلی در سال دوم را می توان به سرمایه گذاری گیاه جهت ساخت رنگیزه جهت بالاتر بردن سرعت فتوسنتز دانست که نقش مهمی در نمو زایشی و تولید گل و میوه خواهد داشت. همچنین با توجه به نقش محافظتی کاروتنوئیدها در برگ، می توان این گونه استدلال نمود که به علت رشد زایشی در سال دوم و اهمیت برگ ها در ساخت ترکیبات فتوسنتزی، گیاه به منظور حفاظت از اندام های فتوسنتز کننده خود (برگ ها) غلظت کاروتنوئیدها را جهت کاهش خطرات احتمالی وارده به برگ، افزایش می دهد.

### اثر سن بیولوژیکی گیاه بر متابولیت های ثانویه برگ

نتایج آنالیز ترکیبات ثانویه برگ کنگر فرنگی در سال اول منجر به شناسایی 27 نوع ترکیب گردید که عمده ترین ترکیبات تشکیل دهنده شامل 1-اکسازسیپرو [2,5] اکتان، 5,5-دی متیل -4- (3- متیل -1,3- بوتادینیل) ( $C_{14}H_{22}O$ ) با 26/18 درصد، پنتاکوسادپونیک اسید ( $C_{25}H_{42}O_2$ ) با 21/24 درصد، اینوسیترول ( $C_6H_{12}O_6$ ) با 10/97 درصد و ترامتیل اکتاهیدرونیفتال با 9/61 درصد بود (جدول 2).

Compound Label (برگ سال اول B <sub>1</sub> )	RT	Name	DB Formula	Value compound%
Cpd 1: 3-Furaldehyde	6.852	3-Furaldehyde	C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	1.29
Cpd 2: 2-Cyclopenten-1-one, 2-hydroxy-	8.126	2-Cyclopenten-1-one, 2-hydroxy-	C <sub>5</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	1.24
Cpd 3: 2-Oxopentanedioic acid	8.877	2-Oxopentanedioic acid	C <sub>5</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub>	2.06
Cpd 4: 1,4-Butanediamine, 2,3-dimethoxy-N,N,N',N'-tetramethyl-, [S-(R*,R*)]-	9.23	1,4-Butanediamine, 2,3-dimethoxy-N,N,N',N'-tetramethyl-, [S-(R*,R*)]-	C <sub>10</sub> H <sub>24</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0.48
Cpd 6: 2,4-Dihydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furan-3-one	11.287	2,4-Dihydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furan-3-one	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	1.04
Cpd 7: Propanoic acid, anhydride	11.514	Propanoic acid, anhydride	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub>	1.03
Cpd 8: 1,2-Benzenediol, mono(methylcarbamate)	11.88	1,2-Benzenediol, mono(methylcarbamate)	C <sub>8</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>3</sub>	1.37
Cpd 9: Thiophene, 2-propyl-	12.309	Thiophene, 2-propyl-	C <sub>7</sub> H <sub>10</sub> S	2.09
Cpd 10: Propane, 2-methoxy-2-methyl-	13.274	Propane, 2-methoxy-2-methyl-	C <sub>5</sub> H <sub>12</sub> O	0.8
Cpd 11: Pentanoic acid	14.107	Pentanoic acid	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	0.62
Cpd 12: Butanoic acid, 2-methyl-	14.681	Butanoic acid, 2-methyl-	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	1.8
Cpd 13: .beta.-D-Glucopyranose, 1,6-anhydro-	15.255	.beta.-D-Glucopyranose, 1,6-anhydro-	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	4.5
Cpd 14: Pentanoic acid, 2-hydroxy-, ethyl ester	16.309	Pentanoic acid, 2-hydroxy-, ethyl ester	C <sub>5</sub> H <sub>12</sub> O	0.37
Cpd 15: Butanoic acid, anhydride	16.523	Butanoic acid, anhydride	C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>	0.68
Cpd 17: Valeric anhydride	17.261	Valeric anhydride	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O <sub>3</sub>	0.38
Cpd 19: Inositol	18.353	Inositol	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	<b>10.97</b>
Cpd 20: Phthalic acid, cyclobutyl isobutyl ester	18.914	Phthalic acid, cyclobutyl isobutyl ester	C <sub>16</sub> H <sub>20</sub> O <sub>4</sub>	0.34
Cpd 21: 2-Methylheptanoic acid	19.255	2-Methylheptanoic acid	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	0.75
Cpd 22: Phthalic acid, cyclobutyl isobutyl ester	19.703	Phthalic acid, cyclobutyl isobutyl ester	C <sub>16</sub> H <sub>20</sub> O <sub>4</sub>	0.46
Cpd 23: Trans-1-methyl-2-nonyl-cyclohexane	20.693	Trans-1-methyl-2-nonyl-cyclohexane	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub>	1.2
Cpd 25: 2,4a,5,8a-Tetramethyl-1,2,3,4,4a,7,8,8a-octahydronaphthalen-1-ol	22.882	2,4a,5,8a-Tetramethyl-1,2,3,4,4a,7,8,8a-octahydronaphthalen-1-ol	C <sub>14</sub> H <sub>24</sub> O	<b>9.61</b>
Cpd 26: Isophthalic acid, 2-formylphenyl propyl ester	22.989	Isophthalic acid, 2-formylphenyl propyl ester	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>5</sub>	1.44
Cpd 27: 1-Oxaspiro[2.5]octane, 5,5-dimethyl-4-(3-methyl-1,3-butadienyl)-	23.305	1-Oxaspiro[2.5]octane, 5,5-dimethyl-4-(3-methyl-1,3-butadienyl)-	C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> O	<b>26.18</b>
Cpd 28: Tricyclo(5.2.1.0(2,6)) decanedimethanol	23.418	Tricyclo(5.2.1.0(2,6))decanedimethanol	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	4.07
Cpd 29: 10-12-Pentacosadiynoic acid	23.538	10-12-Pentacosadiynoic acid	C <sub>25</sub> H <sub>42</sub> O <sub>2</sub>	<b>21.24</b>
Cpd 30: N-Hydroxy-12 azadispiro(4,1,4,2)tridec- 8-ene-6,13-dione	24.157	N-Hydroxy-12-azadispiro(4,1,4,2)tridec-8-ene-6,13-dione	C <sub>12</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>3</sub>	0.53
Cpd 32: 4-(Fluoromethyl)-5-methyl-2-phenyl- 2H-1,2,3-triazole	29.267	4-(Fluoromethyl)-5-methyl-2-phenyl-2H-1,2,3-triazole	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> FN <sub>3</sub>	0.97

جدول 2- درصد و نوع ترکیبات ثانویه تشکیل دهنده برگ کنگر فرنگی در سال اول.

تعداد ترکیبات ثانویه تشکیل دهنده برگ در سن بیولوژیکی سال دوم، 14 ترکیب بود که عمده ترین آن‌ها شامل اسکیلو-اینوسیتول ( $C_6H_{12}O_6$ ) با 59/01 درصد، ایزودسیل بنزوات ( $C_{17}H_{26}O_2$ ) با 20/46 درصد، دی اتیل پیروکربنات ( $C_6H_{10}O_5$ ) با 4/71 درصد بیشترین ترکیبات تشکیل دهنده بودند. یکی از ترکیبات مشترک شناسایی شده برگ، ترکیب ۴،۲-دی هیدروکسی-۵،۲-دی متیل-3-(2H)-فوران-3-ون ( $C_6H_8O_4$ ) در سال اول به میزان 1/04 درصد بود که در سال دوم کاهش یافت و به 0/91 درصد رسید. ترانس-1-متیل-2-نونیل-سیکلو هگزان نیز یکی از ترکیبات شناسایی شده برگ بود که غلظت آن در سال اول (1/2 درصد) و دوم (1/21 درصد) مشابه بود. به طور کلی تعداد ترکیبات تشکیل دهنده برگ در سال اول 13 ترکیب بیشتر از سال دوم بود. 59 درصد ترکیب تشکیل دهنده برگ در سال دوم اسکیلو-اینوسیتول ( $C_6H_{12}O_6$ ) بود که درصد قابل توجهی است.

### نتیجه گیری کلی

بطور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که سن بیولوژیکی گیاه کنگر فرنگی بر تعداد و درصد ترکیبات ثانویه تاثیر دارد و بر خلاف انتظار تعداد ترکیبات موثره در برگ با افزایش سن یعنی در سال دوم کاهش نشان داد.

### منابع

- Lattanzio, V., Kroon, P.A., Linsalata, V. and Cardinali, A. 2009. Globe artichoke: a functional food and source of nutraceutical ingredients. *Journal of Functional Foods*, 1(2): 131-144.
- Dosi, R., Daniele, A., Guida, V., Ferrara, L., Severino, V. and Di Maro, A. 2013. Nutritional and metabolic profiling of the globe artichoke (*Cynara scolymus* L. 'Capuanella' heads) in province of Caserta, Italy. *Australian Journal of Crop Science*. 7: 1927-1934.
- Lombardo, S., Pandino, G., Mauro, R., & Mauromicale, G. 2008. Polyphenol content in globe artichoke [*Cynara cardunculus* L. var. *scolymus* (L.) Fiori] as affected by genotype, head part and harvest time. In *Proceedings of the 24th International Conference on Polyphenols* (pp. 563-564).
- Nasser, A.M. 2012. Phytochemical study of *Cynara scolymus* L. (Artichoke) (Asteraceae) cultivated in Iraq, detection and identification of phenolic acid compounds cynarin and chlorogenic acid. *Iraqi Journal of Pharmaceutical Sciences*, 21(1): 6-13.
- Pandino, G., Lombardo, S., Mauromicale, G. and Williamson, G. 2011. Profile of polyphenols and phenolic acids in bracts and receptacles of globe artichoke (*Cynara cardunculus* var. *scolymus*) germplasm. *Journal of Food Composition and Analysis*. 24: 148-153.
- Falco, B., Incerti, G., Amato, M. & Lanzotti, V. 2015. Artichoke: botanical, agronomical, phytochemical, and pharmacological overview. *Phytochemistry Reviews*, 14(6), 993-1018.
- Salman FM and Ahmed SM. 2014. Utilization of artichoke (*Cynara scolymus*) by-products in sheep feeding. *American Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*, 14 (7): 624-630.
- Thompson, R. 1900. The gardener's assistant: a practical and scientific exposition of the art of gardening in all its branches (Vol. 2). Gresham Publishing Company.
- Fateh, E., Chaichi, M.R., Ashorabadi, E.S., Mazaheri, D., Jafari, A.A., and Rengel, Z. 2009. Effects of organic and chemical fertilizers on forage yield and quality of globe artichoke (*Cynara scolymus* L.). *Asian Journal of Crop Science*, 1(1): 40-48.

## Effect of plant age on some growth factors and secondary metabolite of artichoke (*Cynara scolymus* L.) as medicinal plant

### Abstract

*Cynara scolymus* L., commonly known as artichoke, is a perennial herbaceous plant belonging to the genus *Astraceae*, whose history of cultivation goes back thousands of years. Artichoke has medicinal, food and fodder properties. Capitols of this plant have nutritional and leaves are used for medical purposes such as the treatment of liver diseases. Many factors involve in the quantity and quality of products of this plant. One of them is the age of the farm. Based on this, in order to investigate the effect of field age on some morphological, physiological and secondary metabolites of artichoke, a research was carried out in a completely randomized design at the research field of medicinal plants at the University of Zanjan. To perform the experiment, two artichoke farms with biological ages of one year and two years were selected as experimental treatments, and then three plots were randomly selected from each farm and the desired traits were measured. The results showed that; at first year the amount of leaf dry matter was higher than second year however, the contents of chlorophylls and carotenoids increased at two-years old plants. Total number of leaf secondary metabolites at year one was higher than that of year two. Major secondary compounds which were detected in the leaf extract of artichoke were as follows: 1-Oxaspiro [2.5]octane (26.18 %), Pentacosadiynoic acid (21.24%), Inositol (10.97%) and Tetramethyl-...octahydronaphthalen (9.61%). Generally, results of this project showed a considerable effect of biological age of plant on kinds and number of secondary metabolites of leaf in artichoke.

**Keywords:** Artichoke, Biological age, Capitols, Oxaspiro[2.5]octane, Secondary metabolites.

## بررسی اثر کود نیتروژن بر میزان کلروفیل و قندهای محلول در گیاه گوجه فرنگی

بهزاد امرایی

استادیار گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

b.amraei@pnu.ac.ir

### چکیده

به منظور بررسی تاثیر مقادیر نیتروژن بر میزان کلروفیل و قندهای محلول گیاه گوجه فرنگی پژوهشی بر اساس طرح فاکتوریل با سه تکرار در مزرعه به عمل آمد. کود نیتروژن بر اساس آزمون خاک محاسبه گردید و در سه سطح به صورت 100، 150 و 200 کیلوگرم در هکتار تعیین گردید که در مراحل مختلف رشد گیاه و همزمان با دوره آبیاری در اختیار گیاه قرار گرفت. سپس به منظور بررسی تاثیر مقادیر ازت به کار رفته بر روی تیمارهای مورد آزمایش در مراحل مختلف رشد از گیاه نمونه برداری شد و سپس برخی از خصوصیات کمی و کیفی نمونه ها مورد اندازه گیری قرار گرفت. بر اساس نتایج به دست آمده مشخص شد که اثرات بر میزان کلروفیل و قندهای محلول معنی دار بود. همچنین با افزایش مقادیر ازت میزان کلروفیل برگ افزایش نشان داد و برعکس میزان قندهای محلول با افزایش ازت کاهش نشان داد. در نهایت با توجه به شرایط آب و هوایی منطقه و نوع خاک مورد آزمایش سطح کودی 200 کیلوگرم در هکتار ازت برای دستیابی به عملکرد بالاتر از لحاظ صفات کمی و کیفی توصیه می شود.

واژگان کلیدی: کود ازت، گوجه فرنگی، قندهای محلول، کلروفیل

### مقدمه

اهمیت گوجه فرنگی به علت وجود انواع ویتامین ها و املاح معدنی است که به مقدار زیاد در آن یافت می شود. گوجه فرنگی به کمبود مواد غذایی بسیار حساس است و از بین مواد مغذی کود ازت نقش مهم تری در رشد و نمو گیاه دارد و عملکرد محصول را به طور قابل ملاحظه ای افزایش می دهد. مصرف بهینه کود ازت برای گیاه بسیار مهم است. اگر مقدار ازت خاک خیلی کمتر از حد لازم باشد، رشد گیاه کند شده و رنگ بوته ها میل به زرد خواهد شد، اندازه، رنگ، مزه و درصد مواد جامد در میوه در اثر مصرف زیاد ازت کاهش و اسیدیته قابل سنجش افزایش می یابد. به طور کلی ازت زیاد سبب بروز کاهش مقاومت گیاه نسبت به بیماری ها می شود. هرگاه قدرت تامین ازت قابل استفاده خاک برای تغذیه گیاه کافی نباشد باید ازت قابل استفاده خاک را افزایش داد (7). استفاده کافی و به هنگام نیتروژن نه تنها ایجاد بیشترین درآمد است، بلکه از تجمع زیاد نیترات در نیمرخ خاک نیز جلوگیری شده و تلفات آبشویی را به کمترین اندازه ممکن رسانده و در نهایت مانع از آلوده شدن آبهای زیرزمین می شود.

هاشمی و کاشی (4) در آزمایشات خود مشاهده کردند که عملکرد کل محصول گوجه فرنگی در سطوح مختلف کودی نیتروژن که عبارت از 50، 100، 150، 200، 250 کیلوگرم در هکتار می باشند، تفاوت بسیار معنی داری وجود دارد و بیشترین محصول در سطوح 150 و 200 کیلوگرم در هکتار کود نیتروژن به دست آمده است.

در یک پژوهش با بررسی اثرات آبیاری و چهار سطح کود نیتروژن بر روی گیاه گوجه فرنگی به این نتیجه رسیدند که میزان ماده خشک، عملکرد میوه بازار پسند، استحکام میوه، جذب نیتروژن و کارایی مصرف آب در اثر افزایش کود نیتروژن افزایش یافتند (6). با آزمایشاتی که بر روی گیاهان زراعی انجام شد به این نتیجه رسیدند که با افزایش ازت، رنگبزه های فتوسنتزی از جمله کلروفیل افزایش پیدا می کند. کود ازت به دلیل اینکه باعث بالا نگه داشتن سطح برگ می شود بنابراین مواد فتوسنتزی نیز افزایش می یابد (5).

موسوی و فائز نیا (3)، گزارش کردند که با افزایش میزان مصرف کود ازت، غلظت ازت در برگ افزایش که به دنبال آن کلروفیل نیز افزایش می یابد. تحقیقات صورت گرفته نشان داده که ازت تاثیرگذار بر قندها می باشد، هنگامی که نیتروژن در مقادیر زیاد به

گیاه داده شود مقدار کربوهیدرات ها کاهش می یابد اما هنگامی که نیتروژن تقلیل یابد مقدار هیدرات های کربن افزایش خواهد یافت (1 و 2). کمبود نیتروژن از طریق کاهش سرعت رشد برگ و کاهش تکامل برگ های موجود، تکامل کانوپی برگ را محدود می نماید و باعث تجمع قند در برگ های منبع می گردد (8).

صبری و همکاران (9)، در تحقیقی که در آن اثر سطوح کود ازت که شامل صفر، 22، 66، 44 و 88 میلی گرم نیتروژن در لیتر بود بر روی گوجه فرنگی بررسی نمودند. نتایج نشان داد عملکرد محصول از 43 تا 111 تن در هکتار متغیر بود، کمترین عملکرد مربوط به تیمار کودی صفر بود. همچنین درصد ماده خشک با افزایش میزان کود ازت افزایش یافت و بر عکس ویتامین C با افزایش مصرف کود ازت، کاهش نشان داد.

این تحقیق به منظور بررسی تاثیر مقادیر کود ازت بر برخی از خصوصیات کمی و کیفی گوجه فرنگی و دست یابی به مقدار بهینه کود ازت مورد استفاده در اراضی کشاورزی منطقه صورت گرفت.

## مواد و روش ها

این پژوهش در اراضی کشاورزی استان لرستان (کوهدشت) انجام شد. از طریق آزمایش خاک قبل از عملیات زراعی میزان ازت مورد نیاز در پژوهش محاسبه گردید. در آزمایش خاک علاوه بر میزان ازت خاک مقدار دیگر عناصر مورد نیاز جهت رشد گیاه از جمله پتاسیم و فسفر مورد اندازه گیری قرار گرفت که مقادیر آنها در جدول 1 مشاهده می شود. آب مورد استفاده از منابع آب زیرزمینی که از یکی از چاهای واقع در همان منطقه تامین گردید که EC آن برابر با 0,57 میلی موس بر سانتیمتر می باشد.

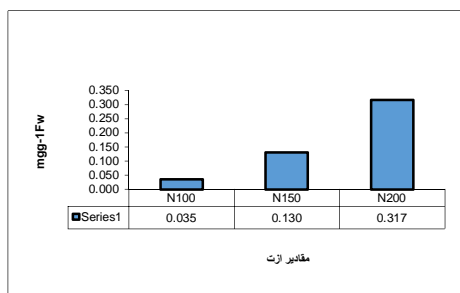
جدول 1- بررسی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش

بافت خاک	PH	درصد نیتروژن	فسفر (PPM)	پتاسیم (ppm)
لومرسی	۷/۷	۰/۱۳۳	۱۰/۴	۳۴۰

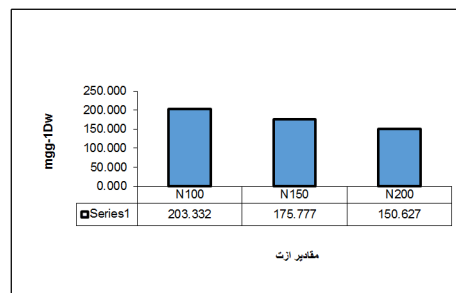
در این پژوهش از طرح فاکتوریل با سه تکرار و سه سطح کود ازت شامل 100، 150 و 200 کیلوگرم در هکتار بر اساس آزمون خاک استفاده گردید. فاصله ردیف ها 130 سانتی متر، فاصله بوته ها روی ردیف 35 سانتی متر و طول هر خط کاشت 10 متر در نظر گرفته شد. در این پژوهش از روش آبیاری جوی پشته همراه با کوددهی سنتی بر روی تیمارهای مورد آزمایش صورت گرفت. عملیات آماده سازی زمین در فروردین ماه صورت گرفت و نشاء گوجه فرنگی در بیستم اردیبهشت ماه به زمین منتقل و عملیات کاشت صورت گرفت. اولین آبیاری بلافاصله پس از عملیات کاشت نشاء ها در تمامی تیمارها به طور یکسان صورت گرفت. در مراحل بعدی رشد عملیات زراعی از قبیل مبارزه با آفات، وجین علف های هرز در تمامی تیمارها صورت گرفت. سپس در مراحل مختلف رشد و همزمان با آبیاری کود ازت بر اساس میزان های تعیین شده در اختیار تیمار های مورد آزمایش قرار گرفت. سپس در مراحل مختلف رشد از تیمارها نمونه برداری شد و اندازه گیری های لازم از قبیل عملکرد، وزن میوه، نیترات، میزان کلروفیل، قندهای محلول، وزن خشک و پارامترهای دیگری مورد اندازه گیری و بررسی قرار گرفتند. اندازه گیری میزان کلروفیل و قندهای محلول بر اساس قدرت جذبی در طول موج و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر و رسم نمودار استاندارد صورت گرفت.

## نتایج و بحث

پس از اتمام آزمایش و جمع آوری داده ها تجزیه و تحلیل آماری انجام و مقایسه میانگین بر اساس آزمون دانکن صورت گرفت. بر اساس نتایج به دست آمده مشخص شد با افزایش مقادیر ازت میزان کلروفیل افزایش نشان داد به طوری که بیشترین میزان کلروفیل مربوط به تیمارهایی بود که از 200 کیلوگرم کود نیتروژن در هکتار استفاده شد نتایج تاثیر مقادیر ازت بر میزان کلروفیل در نمودار 1 مشاهده می شود. مطالعات هوآنگ و همکاران (5)، موسوی و فائزینیا (3)، نیز حاکی از افزایش میزان کلروفیل با افزایش مقادیر ازت می باشد.



نمودار 1- تاثیر مقادیر ازت بر میزان کلروفیل



نمودار 2- تاثیر مقادیر ازت بر میزان قندهای محلول

میزان قندهای محلول نیز با افزایش مقادیر ازت کاهش نشان داد به طوری که بیشترین مقدار قندهای محلول مربوط به تیمارهایی بود که از 100 کیلوگرم در هکتار کود ازت مورد استفاده قرار گرفت، نتایج مربوط به تاثیر مقادیر ازت بر قندهای محلول در نمودار 2 مشاهده می شود. نتایج مطالعات راهداری (2) و رومهلد (8) نیز حاکی از کاهش میزان قندهای محلول همزمان با افزایش مصرف ازت می باشد. همچنین با افزایش مصرف کود ازت، میزان PH میوه افزایش می یابد و برعکس با افزایش مصرف کود ازت در تیمارها باعث کاهش استحکام میوه و همچنین کاهش مقدار ویتامین C خواهد شد. مطالعات هاشمی (4)، نشان داد که با افزایش مصرف کود ازت مقدار PH میوه افزایش می یابد.

در این پژوهش برخی از صفات فیزیولوژیکی مورد اندازه گیری قرار گرفت که این اندازه گیری ها در ارتباط با سطوح مختلف کود ازت مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. با توجه به شرایط آب و هوایی منطقه، نوع خاک مورد آزمایش و نتایج به دست آمده در بررسی تاثیر مقادیر ازت مورد استفاده در این پژوهش بر خصوصیات کمی و کیفی گیاه مورد آزمایش برای دست یابی به شرایط بهینه صفات کمی و کیفی سطح کودی 200 کیلوگرم در هکتار کود ازت توصیه می شود.

منابع

- 1- امرایی، بهزاد و لاری یزدی، حسین، 1386. بررسی اثر مقادیر ازت بر قندهای محلول برگ و ریشه در گیاه کلزا، اولین همایش ملی زیست شناسی گیاهی، دانشگاه پیام نور تالش
- 2- راهداری، پروانه، (1379). بررسی برخی از عوامل محیطی بر روی میزان کاروتنوئیدها و فلاونوئیدهای گیاه همیشه بهار، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه تربیت معلم تهران
- 3- موسوی، ف. فائزینا، ف. 1380. اثر مقادیر مختلف آب و کود ازت بر خصوصیات کمی و کیفی سیب زمینی، یازدهمین همایش کمیته ملی آبیاری و زهکشی ایران، مقاله شماره 19.
- 4- هاشمی، ح. و ع. کاشی، 1371. اثر نیتروژن روی خواص کمی و کیفی چهار رقم گوجه فرنگی. پایان نامه کارشناسی ارشد گروه باغبانی، دانشگاه تهران.

5-Huang, D. jang, Y. Yang, J and sun, 2004. Effects of nitrogen deficiency on gas exchange, chlorophyll fluorescence and antioxidant enzymes in leaves of Rice plants. Volum 42, number 3, pp. 355-364.

6-Hegdes, D.M. and K. Srinivas, 1990. Effect of irrigation and nitrogen fertilizer on yield, nutrient uptake, and water use of tomato. Gartenbauwissenschaft, 55, 137-177.

7-Kovalenko, C.G and Cameron, D.R, 1975. Nitrogen transformation in soil-plant system in three years of field experiments using tracer and non-tracer methods on an ammonium fixing soil.

8-Romheld, V. 1991. The role of phytosiderophores in a causation of iron and other micronutrients in graminaceous soil. 121-134

9-Sabri,O and I. Adem,2004. Nitrogen-water relation of tomato by drip fertigation. International soil congress, june7-10, 2004, Turkey.

## Effect of Nitrogen Fertilizer on Chlorophyll content and Soluble sugar in Tomato

Behzad Amraei

Assistant professor, Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran

### Abstract

In order to study effect nitrogen fertilizer on physiological character tomato. Study based on factorial plan with three repetitions. Nitrogen computed based on soil test and determined amount of nitrogen in 3 level, 100, 150, 200 Kg/Ha that given to plant in different stages of plant growth at the same time as irrigation. Then in order to study of effect of nitrogen in different stage of growth have sample of plant and analyzed them. The result of this research effect of nitrogen on the amount of chlorophyll and soluble sugars was significant. Also, the amount of chlorophyll increased with the increase of nitrogen, and on the contrary, the amount of soluble sugars decreased with the increase of nitrogen. At the last according to the climatological condition of studies area, suggest amount of nitrogen 200 Kg/Ha.

**Key words:** water, nitrogen fertilizer, tomato, yield



## تأثیر پرایمینگ سالیسیلیک اسید، سدیم نیتروپروساید و باکتری محرک رشد آزوسپیریلیوم بر روی برخی صفات مورفولوژیکی در نخود رقم نصرت

علی بنگاه\*

دانشجوی کارشناسی ارشد، رشته ی ژنتیک و تولیدات گیاهی، دانشکده ی کشاورزی، دانشگاه شیراز، ایران

Ali.bonghah98@gmail.com

### چکیده

به منظور بررسی اثر پیش تیمار باکتری *Azusprillium sp* (محرک رشد گیاه) (غلظت 5 در هزار) و ترکیبات سدیم نیتروپروساید (SNP) و سالیسیلیک اسید (SA) (در سه غلظت 50، 100 و 150 میکروگرم بر میلی لیتر) بر روی برخی صفات مورفولوژیکی نخود رقم نصرت (وزن تر بوته، طول بوته و طول ریشه) در سال زراعی 1401-1402، آزمایشی به صورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. نتایج نشان داد که تلقیح باکتری و تیمار فیتومتابولیت های مذکور (SA، SNP) به صورت منفرد و مخلوط به طور معنی داری سبب افزایش رشد رویشی و وزن تر گیاه تک بوته ها با گذشت زمان از هفته ی اول تا سوم شد. تیمار مخلوط باکتری محرک رشد با فیتومتابولیتها اثر هم افزایی بیشتری در افزایش رشد رویشی و وزن تر گیاه مخصوصا در غلظت های بالا و در هفته های دوم و سوم نسبت به تیمارهای منفرد *Azusprillium sp*، SA و SNP و گیاهان کنترل منفی (گیاهان تیمار نشده با موارد فوق) در سطح احتمال 5 درصد داشت. با توجه به نقش و اهمیت باکتری های محرک رشد گیاه و فیتومتابولیت های گیاهی در تغذیه و سلامت گیاه، بویژه در تولید محصولات سالم و ارگانیک، شناخت ویژگی ها و مکانیسم های تأثیر آنها بر گیاه، و نیز چالش های کاربرد آنها در شرایط مزرعه، در مدیریت استفاده از آنها ضرورت دارد.

### مقدمه

نخود مهم ترین گیاه از تیره حبوبات است که در مناطق غرب و شمال غرب کشور به عنوان یک گیاه بهاره و غالباً به صورت دیم کشت شده و با استفاده از رطوبت ذخیره شده در خاک چرخه زیستی خود را تکمیل می کند. همچنین به خاطر نقش آن در حاصلخیزی خاک جایگاه ویژه ای در تناوب با سایر محصولات خصوصاً غلات دارد. جوانه زنی مطلوب بذور و در نتیجه استقرار بهتر گیاهچه در شرایط سخت محیطی نقش مهمی در عملکرد نهایی گیاهان دارا می باشد (Wang et al., 2021). به دلیل اینکه رشد گیاهچه در مرحله جوانه زنی متکی به مواد غذایی ذخیره شده در بذر است و علاوه بر مقدار ماده غذایی ذخیره ای کارایی و سرعت بکارگیری آن در فعالیت های متابولیکی گیاهچه می تواند بر سرعت و میزان رشد نهایی گیاهچه قبل از ورود به مرحله مستقل رشدی مؤثر باشد لذا استفاده از روش هایی نظیر پیش تیمار بذور برای بهبود جوانه زنی و استقرار مناسب گیاه، در شرایط نامساعد محیطی ضروری است (Aghashiry et al., 2012). پیش تیمار بذر تکنیکی است که به واسطه آن بذور پیش از قرار گرفتن در بستر کشت از لحاظ فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی آمادگی جوانه زنی را به دست می آورند. این امر سبب تغییرات زیستی و فیزیولوژیکی زیادی در بذور و همچنین گیاه حاصل از آن می گردد. در نتیجه این عمل در جوانه زنی و استقرار اولیه گیاه، زودرسی و افزایش کمی و کیفی

محصول قابل مشاهده می‌باشد (Seyed Dorraji et al., 2010). گزارش‌های مختلف حاکی از آن است که پیش تیمار بذر باعث افزایش درصد، سرعت و یکنواختی جوانه‌زنی و سبز شدن بذر می‌گردد (Mao et al., 2011). در این پژوهش به منظور بررسی اثر ریزوباکتری‌های *Azusprillium* sp (غلظت 5 در هزار) محرک رشد گیاه و ترکیبات سدیم نیتروپروساید و سالیسیلیک اسید (در سه غلظت 50، 100 و 150 میکروگرم بر میلی‌لیتر) بر محتوای وزن تر و رشد رویشی نخود رقم نصرت در سال زراعی 1401-1402، آزمایشی به صورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در شرایط گلخانه‌ای اجرا شد.

## مواد و روش‌ها

### طرح آزمایش، اعمال تیمارها و اندازه‌گیری محتوای کلروفیل

به منظور بررسی اثر پیش تیمار SA (در سه غلظت 50، 100 و 150 میکروگرم بر میلی‌لیتر)، ترکیب SNP (در سه غلظت 50، 100 و 150 میکروگرم بر میلی‌لیتر) (شرکت سیگما-آلدریج آمریکا تحت لیسانس مرک آلمان) و *Azusprillium* sp (غلظت 5 در هزار، جدایه ایرانی جداسازی و در بخش تحقیقات بیولوژی خاک موسسه تحقیقات خاک و آب (ارزانش و همکاران، 1389)) بر روی صفات رویشی، بذر نخود رقم نصرت در شرایط گلخانه‌ای پیش تیمار و این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با 3 تکرار انجام شد. ابتدا بستر کشت برای کاشت بذرهای نخود آماده و خاک قابل کشت به مدت 1 ساعت در دمای 121 درجه‌ی سلسیوس تحت فشار 1/5 اتمسفر ضد عفونی شد و به لیوان‌های کاغذی انتقال یافت. سپس بذرهای نخود پس از ضد عفونی سطحی با هیپوکلریت سدیم 1 درصد و آبکشی، کشت شدند. حدود 2 هفته پس از کشت، نشاها به گلدان‌های اصلی در جعبه‌های شیشه‌ای جهت ممانعت از ورود حشرات ناقل منتقل شدند. در مرحله‌ی 4 هفتگی کامل بوته‌های نخود با تیمارهای مذکور پرایمینگ شدند. جهت بررسی میزان رشد رویشی و وزن تر در گیاهان تیمار شده و شاهد (بدون تیمار)، 7، 14 و 21 روز پس از اعمال تیمارها وزن تر بوته با ترازوی حساس دیجیتال و طول ریشه و شاخسار با خط کش دقیق به منظور تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه 25 استفاده شد. برای بررسی اثر تیمارهای مورد مطالعه برخی شاخص‌های رویشی از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون توکی استفاده شد. برای رسم نمودارها نیز از نرم‌افزار Genex6 استفاده شد.

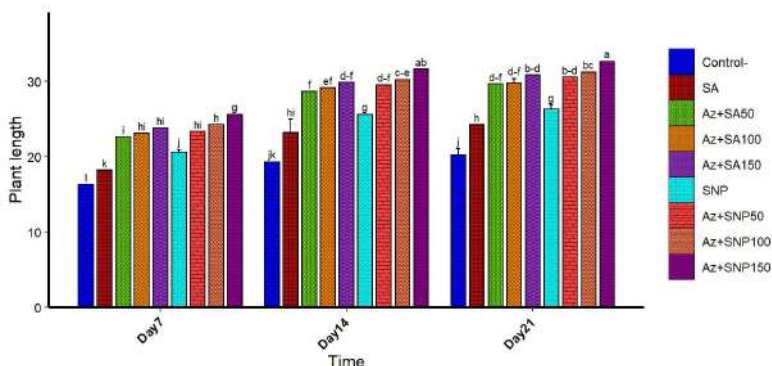
## نتایج

### طول گیاه

در این آزمون، افزایش معنی‌داری در رشد طولی گیاه در تمامی تیمارهای نخود پیش تیمار شده با SA (50، 100 و 150 میکروگرم)، SNP (50، 100 و 150 میکروگرم) و آزوسپیریلیوم (5 در هزار) در هفته‌ی اول تا سوم نسبت به گیاهان شاهد مشاهده شد. در گیاهان تیمار شده با SNP و SA و آزوسپیریلیوم افزایش رشد طولی گیاه از هفته‌ی اول به خصوص هفته‌های دوم و سوم در سطح احتمال 5 درصد نسبت به شاهد (بوته‌های تیمار نشده با ترکیبات فوق) مشاهده گردید. ولی روند افزایش رشد طولی بوته در هفته‌ی دوم و سوم (با گذشت زمان) نسبت به یکدیگر در سطح احتمال 5 درصد در برخی تیمارها مخصوصاً تیمارهای منفرد معنادار نبود. در حالت تیمارهای انفرادی تاثیر SNP نسبت به SA در تمامی غلظت‌ها بالاتر بود. و در ترکیب SNP و SA در هر سه غلظت با آزوسپیریلیوم در مجموع ترکیب SNP+AZ بهتر از ترکیب SA+AZ بود (جداول 1 و شکل 1).

جدول 1- مقایسه میانگین تاثیر پیش تیمار SA ، SNP و آزوسپیریلیوم در هفته اول، دوم و سوم بر طول نخود

parameters	Df	Sum.Sq	Mean.Sq	F.value	p
Time	2	643.7918	321.89593	1922.82965	0.00000
Treatments	8	966.6244	120.82806	721.76051	0.00000
interaction	16	17.6659	1.10412	6.59541	0.00000
Residuals	54	9.0400	0.16741		



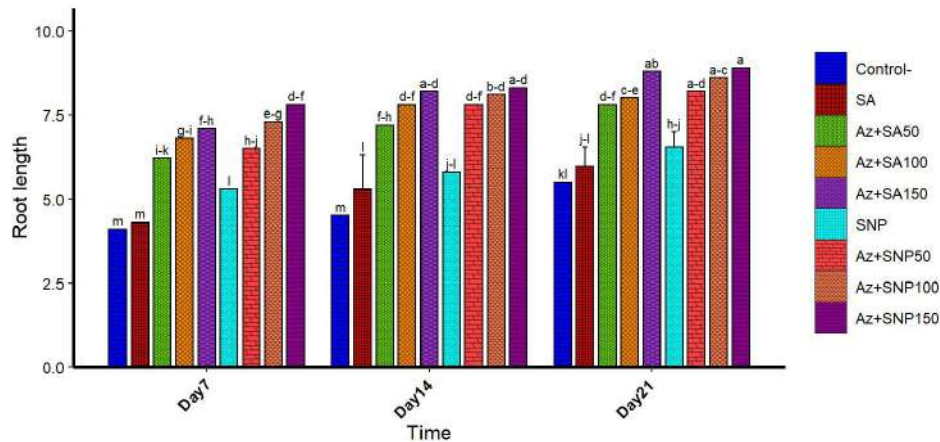
شکل 1- نمودار مقایسه میانگین تاثیر پیش تیمار SA ، SNP و آزوسپیریلیوم در هفته اول، دوم و سوم روی طول بوته نخود

### طول ریشه

در این آزمون، افزایش معنی داری در رشد طولی ریشه در تمامی تیمارهای نخود پیش تیمار شده با SA، SNP و آزوسپیریلیوم در هفته اول تا سوم نسبت گیاهان شاهد مشاهده شد. در گیاهان تیمار شده با SA و SNP و آزوسپیریلیوم بیشترین رشد رویشی ریشه در هفته دوم در غلظت‌های 100 و 150 میکروگرم بر میلی‌لیتر به صورت منفرد و ترکیبی با آزوسپیریلیوم در سطح احتمال 5 درصد مشاهده گردید. بیشترین افزایش رشد طولی ریشه در تیمار AZ+SNP150 و کمترین محتوای کلروفیل در تیمار منفرد SA50 و بعد از آن در گیاهان شاهد مشاهده شد. در ترکیب AZ+SNP100,150 و AZ+SA100,150 تفاوت معناداری بیشتری در سطح احتمال 5 درصد در افزایش رشد طولی ریشه وابسته به غلظت SA و SNP مشاهده شد. روند رشد طولی ریشه در هفته دوم و سوم در تیمار فیتومتابولیت‌ها (SA, SNP) به صورت منفرد (بر خلاف تیمار این ترکیبات با باکتری آزوسپیریلیوم) نسبت به یکدیگر در سطح احتمال 5 درصد معنادار نبود. در حالت تیمارهای انفرادی تاثیر SNP نسبت به SA در تمامی غلظتها بالاتر بود. و در ترکیب SNP و SA در هر سه غلظت با آزوسپیریلیوم در مجموع ترکیب SNP+AZ بهتر از ترکیب SA+AZ بود (جدول 2 و شکل 2).

جدول 2- مقایسه میانگین تاثیر پیش تیمار SA ، SNP و آزوسپیریلیوم در هفته اول، دوم و سوم روی طول ریشه نخود

parameters	Df	Sum.Sq	Mean.Sq	F.value	p
Time	2	28.02889	14.01444	244.64871	0.00000
Treatments	8	127.33778	15.91722	277.8653	0.00000
interaction	16	1.62222	0.10139	1.76994	0.06082
Residuals	54	3.09333	0.05728		



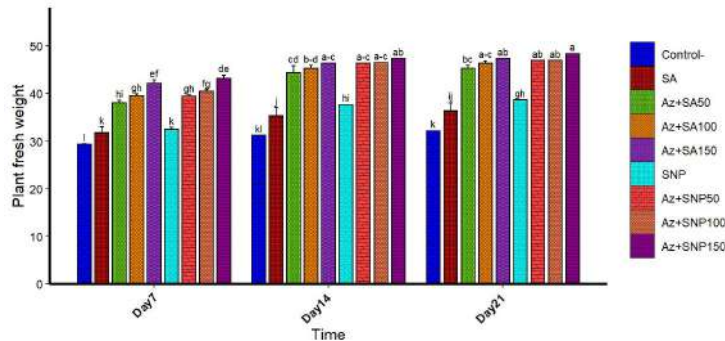
شکل 2- نمودار مقایسه میانگین تاثیر پیش تیمار SNP، SA و آزوسپیریلیوم در هفته اول، دوم و سوم روی طول ریشه نخود

### وزن تر بوته

در این آزمون، افزایش معنی داری در وزن تر بوته در تمامی تیمارهای نخود پیش تیمار شده با SA، SNP و آزوسپیریلیوم در هفته اول تا سوم نسبت گیاهان شاهد مشاهده شد. در گیاهان تیمار شده با SA و SNP و آزوسپیریلیوم بیشترین وزن تر بوته در هفته دوم در غلظتهای 100 و 150 میکروگرم بر میلی لیتر به صورت منفرد و ترکیبی با آزوسپیریلیوم در سطح احتمال 5 درصد مشاهده گردید. بیشترین افزایش وزن تر بوته در تیمار AZ+SNP150 و کمترین وزن تر بوته در تیمار منفرد SA50 و بعد از آن در گیاهان شاهد مشاهده شد. در ترکیب AZ+SA100,150 و AZ+SNP100,150 تفاوت معناداری بیشتری در سطح احتمال 5 درصد در افزایش وزن تر بوته وابسته به غلظت SA و SNP مشاهده شد. روند افزایش وزن تر بوته در هفته دوم و سوم در تیمار فیتومتابولیتها (SA, SNP) به صورت منفرد (بر خلاف تیمار این ترکیبات با باکتری آزوسپیریلیوم) نسبت به یکدیگر در سطح احتمال 5 درصد معنادار نبود. در حالت تیمارهای انفرادی تاثیر SNP نسبت به SA در تمامی غلظتها بالاتر بود. و در ترکیب SNP و SA در هر سه غلظت با آزوسپیریلیوم در مجموع ترکیب SNP+AZ بهتر از ترکیب SA+AZ بود (جدول 2 و شکل 2).

جدول 2- مقایسه میانگین تاثیر پیش تیمار SNP، SA و آزوسپیریلیوم در هفته اول، دوم و سوم روی وزن تر بوته

parameters	Df	Sum.Sq	Mean.Sq	F.value	p
Time	2	525.8359	262.91797	564.03728	0.00000
Treatments	8	2218.1439	277.26799	594.82233	0.00000
interaction	16	36.7878	2.29924	4.93255	0.00000
Residuals	54	25.1713	0.46614		



شکل 3- نمودار مقایسه میانگین تاثیر پیش تیمار SA، SNP و آزوسپریلیوم در هفته‌ی اول، دوم و سوم روی وزن تر بوته

### نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که پیش تیمار ریزوباکتری‌های *Azospirillum sp* (غلظت 5 در هزار) محرک رشد گیاه و ترکیبات سدیم نیتروپروساید و سالیسیک اسید (در سه غلظت 50، 100 و 150 میکروگرم بر میلی‌لیتر) بر روی رشد رویشی و وزن تر بوته‌های نخود رقم نصرت نقش مهمی در افزایش رشد بوته‌های نخود مخصوصاً در تیمارهای SA و SNP در غلظتهای بالا و همچنین به صورت ترکیب این فیتومتابولیتها با باکتری آزوسپریلیوم دارد. نتایج افزایش رشد حاصل در نخود بیانگر موثر بودن نقش این ترکیبات داشته است، ازسویی با در نظر گرفتن مزایای زیست‌محیطی فیتومتابولیتها و باکتریهای محرک رشد گیاهی و همچنین هزینه‌های فراوان سموم شیمیایی از نظر اقتصادی و هزینه‌های جبران‌ناپذیر زیست‌محیطی آنها، می‌توان تیمارهای فوق را در جهت افزایش تولید نخود مورد استفاده قرار داد (Ulukan *et al.*, 2012).

### تشکر و قدردانی

از تمام دوستانی که در انجام این پروژه اینجانب را یاری نمودند سپاسگزارم

### منابع

- Aghashiry, S.A.A., Kordlaghari, K.P., Rahimi, A. and Shefazadeh, M.K., 2012. Effects of different levels of potassium soleplate and super-absorbent on yield and yield components of wheat in the Boyerahmad region. *International Journal of AgriScience*, 2(6), pp.505-510.
- Seyed Dorraji, S., Golchin, A. and Ahmadi, S., 2010. The Effects of Different Levels of a Superabsorbent Polymer and Soil. *Water and Soil*, 24(2).
- Mao, S., Islam, M.R., Xue, X., Yang, X., Zhao, X. and Hu, Y., 2011. Evaluation of a water-saving superabsorbent polymer for corn (*Zea mays L.*) production in arid regions of Northern China. *African Journal of Agricultural Research*, 6(17), pp.4108-4115.
- Ulukan, H., Bayraktar, N. and Koçak, N., 2012. Agronomic Importance of First Development of Chickpea (*Cicer arietinum L.*). *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 15(4), pp.203-207.
- Vaughan, D. and Malcom, R.E. 1985. Influence of humic substances on growth and physiological processes. *In*: D. Vaughan, R.E. Malcom (eds.). *Soil Organic matter and biological activity*. Martinus Nijhoff/Junk W Publishers, Dordrecht, Pp. 37-75.
- Wang, J., Li, Y., Li, A., Liu, R.H., Gao, X., Li, D., Kou, X. and Xue, Z., 2021. Nutritional constituent and health benefits of chickpea (*Cicer arietinum L.*): A review. *Food Research International*, 150, p.110790.

# تأثیر پرایمینگ سالیسیلیک اسید، سدیم نیتروپروساید و باکتری محرک رشد آزوسپیریلیوم بر محتوای کربوهیدرات و پروتئین محلول کل در نخود رقم نصرت

علی بنگاه\*

دانشجوی کارشناسی ارشد، رشته ی ژنتیک و تولیدات گیاهی، دانشکده ی کشاورزی، دانشگاه شیراز، ایران

Ali.bonghah98@gmail.com

## چکیده

به منظور بررسی اثر پیش تیمار باکتری *Azusprillium sp* (محرک رشد گیاه) (غلظت 5 در هزار) و ترکیبات سدیم نیتروپروساید و سالیسیلیک اسید (در سه غلظت 50، 100 و 150 میکروگرم بر میلی لیتر) بر محتوای کربوهیدرات و پروتئین محلول کل در نخود رقم نصرت در سال زراعی 1401-1402، آزمایشی به صورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. نتایج نشان داد که تلقیح خاکی باکتری و تیمار فیتومتابولیت های مذکور به صورت منفرد و مخلوط به طور معنی داری سبب افزایش محتوای کربوهیدرات و پروتئین محلول تک بوته ها با گذشت زمان از هفته ی اول تا سوم شد. مخلوط باکتری محرک رشد با فیتومتابولیتها (ترکیبات SA و SNP) اثر هم افزایی بیشتری در افزایش محتوای کربوهیدرات و پروتئین محلول گیاه مخصوصاً در غلظت های بالا و در هفته های دوم و سوم نسبت به تیمارهای منفرد *Azusprillium sp*، SA و SNP و گیاهان کنترل منفی (گیاهان تیمار نشده با موارد فوق) در سطح احتمال 5 درصد داشت. با توجه به نقش و اهمیت باکتری های محرک رشد گیاه و فیتومتابولیت های گیاهی در تغذیه و سلامت گیاه، بویژه در تولید محصولات سالم و ارگانیک، شناخت ویژگی ها و مکانیسم های تأثیر آنها بر گیاه، و نیز چالش های کاربرد آنها در شرایط مزرعه، در مدیریت استفاده از آنها ضرورت دارد.

## مقدمه

افزایش تولید و تجارت نخود، نیاز به بهبود روش های تولید آن، روز به روز بیشتر احساس میشود، به طوری که در کشورهای تولیدکننده تحقیقات به زراعی آن بیشتر مورد توجه قرار گرفته است (Kaur et al., 2021). حیوانات به دلیل میزان پروتئین بالا (تقریباً دو برابر غلات) و توانایی تثبیت بیولوژیک ازت در کشاورزی و تغذیه بشر اهمیت قابل توجهی دارند. در بین حبوبات، نخود یکی از مهمترین آنهاست که از نظر سطح زیر کشت با داشتن متجاوز از 10 میلیون هکتار سطح زیر کشت جهانی، پس از لوبیای معمولی رتبه دوم و از نظر میزان تولید دانه پس از لوبیا و نخود فرنگی رتبه سوم را به خود اختصاص داده است (Nabati et al., 2023). در کشور ما نیز نخود نسبت به سایر حبوبات از سطح زیر کشت، تولید و اهمیت بیشتری برخوردار است، اما عملکرد آن نسبتاً پایین است. پتانسیل پایین عملکرد ارقام نخود را می توان به علت به کارگیری نادرست و محدود نهاده های کشاورزی و عدم استفاده از ترکیبات افزایش دهنده رشد گیاهی و مناسب تولید دانست. عامل مهم دیگری که سبب کاهش تولید و نوسان های دائمی یا موقتی عملکرد آن می شود، حساسیت ارقام موجود به تنش های زیستی (آفات و بیماری ها) و غیرزیستی (خشکی شوری، سرما و ...) است. در میان تنش های غیرزیستی شوری آب و خاک بر رشد و عملکرد نخود تأثیر منفی دارند؛ به طوری که در خاک های شور عملکرد گیاه اندک است (Pati et al., 2018).

برخی از روش‌ها مانند پرایمینگ خارجی بذر با فیتومتابولیتها و باکتری‌های افزایش دهنده رشد گیاهی می‌تواند روی بنیه‌ی بذر حاصل و دستیابی به عملکردهای بالا در کشت بعدی موثر باشد و درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و قدرت جوانه‌زنی بذرهای حاصل در طیف وسیعی از شرایط مختلف افزایش می‌یابد (Pati *et al.*, 2018). پرایمینگ مناسب بذر و گیاه مادری جوانه‌زنی بذر بر تراکم نهایی بوته در واحد سطح تأثیر مهمی داشته و تراکم کافی بوته در واحد سطح هنگامی حاصل می‌شود که بذرهای حاصل از گیاه مادری به‌طور کامل و با سرعت کافی جوانه بزنند. درصد و یکنواختی سبز شدن همچنین بر عملکرد کمی و کیفی بذرهای حاصل تأثیر می‌گذارد، بنابراین مرحله جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه مرحله حساس و مهمی بوده که در استقرار مطلوب گیاهچه‌ها و عملکرد نهایی محصول نقش مهمی دارد. فرایند جوانه‌زنی شامل انتقال مواد ذخیره‌ای به محور جنین و شروع فعالیت‌های متابولیکی و رشد بذر است. بالا بودن میزان ذخایر مواد آلی بذر منجر به جوانه‌زنی سریع و یکنواخت بذر و تولید بوته‌های نیرومند می‌شود (Vishwas *et al.*, 2017). در این پژوهش به منظور بررسی اثر ریزوباکتری‌های *Azospirillum sp* (غلظت 5 در هزار) محرک رشد گیاه و ترکیبات سدیم نیتروپروساید و سالیسیلیک اسید (در سه غلظت 100، 50 و 150 میکروگرم بر میلی‌لیتر) بر محتوای کربوهیدرات و پروتئین محلول کل نخود رقم نصرت در سال زراعی 1401-1402، آزمایشی به صورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در شرایط گلخانه‌ای اجرا شد.

#### مواد و روش‌ها

##### طرح آزمایش، اعمال تیمارها و اندازه‌گیری محتوای کلروفیل

به‌منظور بررسی اثر پیش‌تیمار SA (در سه غلظت 50، 100 و 150 میکروگرم بر میلی‌لیتر)، ترکیب SNP (در سه غلظت 50، 100 و 150 میکروگرم بر میلی‌لیتر) (شرکت سیگما-آلدریج آمریکا تحت لیسانس مرک آلمان) و *Azospirillum sp* (غلظت 5 در هزار، جدایه‌ی ایرانی جداسازی و در بخش تحقیقات بیولوژی خاک موسسه تحقیقات خاک و آب (ارزانش و همکاران، 1389)) بر محتوای کربوهیدرات و پروتئین محلول، بذر نخود رقم نصرت در شرایط گلخانه‌ای پیش‌تیمار و این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با 3 تکرار انجام شد. ابتدا بستر کشت برای کاشت بذرهای نخود آماده و خاک قابل کشت به مدت 1 ساعت در دمای 121 درجه‌ی سلسیوس تحت فشار 1/5 اتمسفر ضدعفونی شد و به لیوان‌های کاغذی انتقال یافت. سپس بذرهای نخود پس از ضدعفونی سطحی با هیپوکلریت سدیم 1 درصد و آبکشی، کشت شدند. حدود 2 هفته پس از کشت، نشاها به گلدان‌های اصلی در جعبه‌های شیشه‌ای جهت ممانعت از ورود حشرات ناقل منتقل شدند. در مرحله‌ی 4 هفتگی کامل بوته‌های نخود با تیمارهای مذکور پرایمینگ شدند. جهت بررسی محتوای کربوهیدرات و پروتئین محلول بوته در گیاهان تیمار شده و شاهد (بدون تیمار)، 7، 14 و 21 روز پس از اعمال تیمارها محتوای کربوهیدرات و پروتئین محلول به ترتیب با روش Irigoyen و همکاران در سال 1992 استفاده شد (Irigoyen *et al.*, 1992) و Bates و همکاران در سال 1973 صورت گرفت (Bates *et al.*, 1973). به‌منظور تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه 52 استفاده شد. برای بررسی اثر تیمارهای مورد مطالعه بر محتوای کربوهیدرات و پروتئین محلول بوته از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون توکی استفاده شد. برای رسم نمودارها نیز از نرم‌افزار Genex6 استفاده شد.

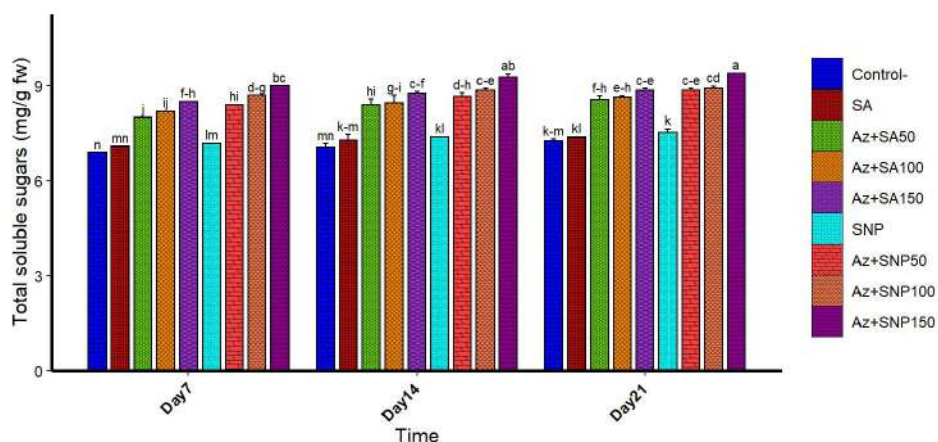
#### نتایج

##### محتوای کربوهیدرات محلول کل

در این آزمون، افزایش معنی‌داری در محتوای کربوهیدرات محلول کل در تمامی تیمارهای نخود پیش‌تیمار شده با SA (50، 100 و 150 میکروگرم)، SNP (50، 100 و 150 میکروگرم) و آزوسپیریلیوم (5 در هزار) در هفته‌ی اول تا سوم نسبت به گیاهان شاهد مشاهده شد. در گیاهان تیمار شده با SA و SNP و آزوسپیریلیوم محتوای کربوهیدرات محلول کل در هفته‌ی اول به‌خصوص هفته‌های دوم و سوم در سطح احتمال 5 درصد نسبت به شاهد (بوته‌های تیمار نشده با ترکیبات فوق) مشاهده گردید. ولی روند افزایش کلروفیل a در هفته‌ی دوم و سوم (با گذشت زمان) نسبت به یکدیگر در سطح احتمال 5 درصد در بیشتر تیمارها معنادار نبود. در حالت تیمارهای انفرادی تاثیر SNP نسبت به SA در تمامی غلظتها بالاتر بود. و در ترکیب SNP و SA در هر سه غلظت با آزوسپیریلیوم در مجموع ترکیب SNP+AZ بهتر از ترکیب SA+AZ بود (جداول 1 و شکل 1).

جدول 1- مقایسه میانگین تاثیر پیش تیمار SNP، SA و آزوسپیریلیوم در هفته‌ی اول، دوم و سوم روی محتوای کربوهیدرات محلول کل نخود

parameters	Df	Sum.Sq	Mean.Sq	F.value	p
Time	2	2.05136	1.02568	136.19672	0.00000
Treatments	8	43.01877	5.37735	714.04098	0.00000
interaction	16	0.13531	0.00846	1.12295	0.35874
Residuals	54	0.40667	0.00753		



شکل 1- نمودار مقایسه میانگین تاثیر پیش تیمار SNP، SA و آزوسپیریلیوم در هفته‌ی اول، دوم و سوم روی محتوای کربوهیدرات محلول کل نخود

### محتوای پروتئین محلول کل

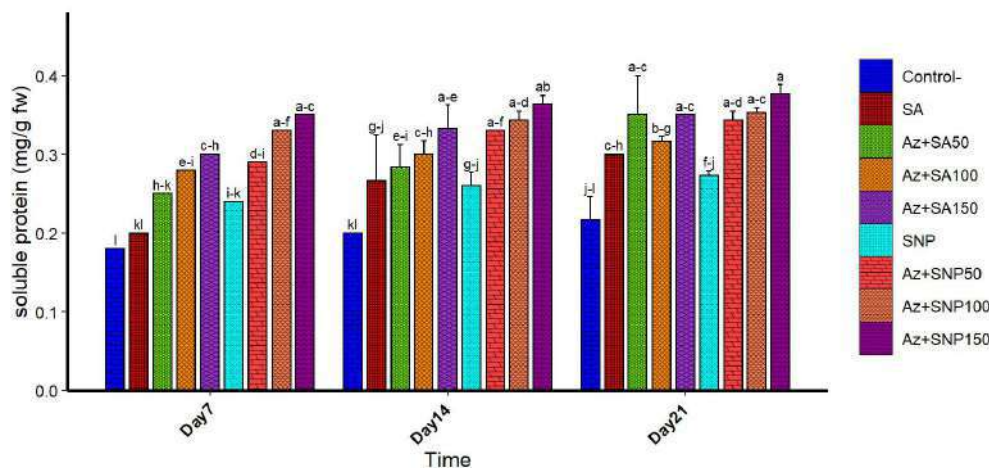
در این آزمون، افزایش معنی‌داری در محتوای پروتئین محلول کل در تمامی تیمارهای نخود پیش‌تیمار شده با SA، SNP و آزوسپیریلیوم در هفته‌ی اول تا سوم نسبت به گیاهان شاهد مشاهده شد. در گیاهان تیمار شده با SA و SNP و آزوسپیریلیوم بیشترین محتوای پروتئین محلول کل در هفته‌ی دوم در غلظتهای 100 و 150 میکروگرم بر میلی‌لیتر به صورت منفرد و ترکیبی با آزوسپیریلیوم در سطح احتمال 5 درصد مشاهده گردید. بیشترین افزایش محتوای کلروفیل در تیمار AZ+SNP150 و کمترین محتوای کلروفیل در تیمار منفرد SA50 و بعد از آن در گیاهان شاهد مشاهده شد. در ترکیب AZ+SA100,150 و AZ+SNP100,150 تفاوت معناداری بیشتری در سطح احتمال 5 درصد در افزایش



پروتئین محلول کل وابسته به غلظت SA و SNP مشاهده شد. روند افزایش پروتئین محلول کل در هفته‌ی دوم و سوم در تیمار فیتومتابولیت‌ها (SA, SNP) به صورت منفرد (بر خلاف تیمار این ترکیبات با باکتری آزوسپریلیوم) نسبت به یکدیگر در سطح احتمال 5 درصد معنادار نبود. در حالت تیمارهای انفرادی تاثیر SNP نسبت به SA در تمامی غلظتها بالاتر بود. و در ترکیب SNP و SA در هر سه غلظت با آزوسپریلیوم در مجموع ترکیب SNP+AZ بهتر از ترکیب SA+AZ بود (جداول 2 و شکل 2).

جدول 2- مقایسه میانگین تاثیر پیش تیمار SA ، SNP ، و آزوسپریلیوم در هفته‌ی اول، دوم و سوم روی محتوای پروتئین محلول کل روی نخود

parameters	Df	Sum.Sq	Mean.Sq	F.value	p
Time	2	0.03547	0.01773	50.04878	0.00000
Treatments	8	0.18762	0.02345	66.19077	0.00000
interaction	16	0.01178	0.00074	2.07753	0.02364
Residuals	54	0.01913	0.00035		



شکل 2- نمودار مقایسه میانگین تاثیر پیش تیمار SA ، SNP ، و آزوسپریلیوم در هفته‌ی اول، دوم و سوم روی محتوای پروتئین محلول کل روی نخود

## نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که پیش تیمار ریزوباکتری‌های *Azospirillum* sp (غلظت 5 در هزار) محرک رشد گیاه و ترکیبات سدیم نیتروپروساید و سالیسیلیک اسید (در سه غلظت 50، 100 و 150 میکروگرم بر میلی‌لیتر) بر محتوای کربوهیدرات و پروتئین محلول بوته‌های نخود رقم نصرت نقش مهمی در افزایش محتوای کلروفیل بوته‌های نخود مخصوصاً در تیمارهای SA و SNP در غلظتهای بالا و همچنین به صورت ترکیب این فیتومتابولیتها با باکتری آزوسپریلیوم دارد. نتایج افزایش محتوای کربوهیدرات و پروتئین محلول کل حاصل در نخود بیانگر موثر بودن نقش این ترکیبات داشته است، ازسوی با در نظر گرفتن مزایای زیست‌محیطی فیتومتابولیتها و باکتریهای محرک رشد

گیاهی و همچنین هزینه‌های فراوان سموم شیمیایی از نظر اقتصادی و هزینه‌های جبران‌ناپذیر زیست‌محیطی آنها، می‌توان تیمارهای فوق را در جهت افزایش تولید نخود مورد استفاده قرار داد.

## تشکر و قدردانی

از تمام دوستانی که در انجام این پروژه اینجانب را یاری نمودند سپاسگزارم

## منابع

- Bates, L.S., Waldren, R.A. and Teare, I.D., 1973.** Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and soil*, *39*, pp.205-207.
- Irigoyen, J.J., Einerich, D.W. and Sánchez-Díaz, M., 1992.** Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Physiologia plantarum*, *84*(1), pp.55-60.
- Kaur, R. and Prasad, K., 2021.** Technological, processing and nutritional aspects of chickpea (*Cicer arietinum*)-A review. *Trends in Food Science & Technology*, *109*, pp.448-463.
- Nabati, J., Mirmiran, S.M., Yousefi, A., Zare Mehrjerdi, M., Ahmadi-lahijani, M.J. and Nezami, A., 2023.** Identification of diverse agronomic traits in chickpea (*Cicer arietinum* L.) germplasm lines to use in crop improvement. *Legume Science*, *5*(2), p.e167.
- Patil, K., Ravat Anilkumar, L., Trivedi, V., Hirpara, A. and Sasidharan, N., 2018.** Effect of seed priming treatment in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *IJCS*, *6*(4), pp.1064-1069.
- Vishwas, S., Chaurasia, A.K., Bara, B.M., Debnath, A., Parihar, N.N., Brunda, K. and Saxena, R., 2017.** Effect of priming on germination and seedling establishment of chickpea (*Cicer arietinum* L.) seeds. *Journal of pharmacognosy and phytochemistry*, *6*(4), pp.72-74.
- Wang, J., Li, Y., Li, A., Liu, R.H., Gao, X., Li, D., Kou, X. and Xue, Z., 2021.** Nutritional constituent and health benefits of chickpea (*Cicer arietinum* L.): A review. *Food Research International*, *150*, p.110790.

## تأثیر پرایمینگ سالیسیلیک اسید، سدیم نیتروپروساید و باکتری محرک رشد آزو اسپیریلیوم بر محتوای کلروفیل I، II و کلروفیل کل نخود رقم نصرت

علی بنگاه\*

دانشجوی کارشناسی ارشد، رشته ی ژنتیک و تولیدات گیاهی، دانشکده ی کشاورزی، دانشگاه شیراز، ایران

Ali.bonghah98@gmail.com

### چکیده

به منظور بررسی اثر ریزوباکتری های *Azusprillium sp* (غلظت 5 در هزار) محرک رشد گیاه و ترکیبات سدیم نیتروپروساید و سالیسیلیک اسید (در سه غلظت 50، 100 و 150 میکروگرم بر میلی لیتر) بر محتوای کلروفیل نخود (رقم کرمانشاهی در سال زراعی 1401-1402، آزمایشی به صورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. نتایج نشان داد که تلقیح خاکی با باکتری ها به طور معنی داری سبب بهبود محتوای کلروفیل تک بوته ها گردید. ترکیب باکتری محرک رشد با ترکیبات SA و SNP اثر هم افزایی در افزایش کلروفیل گیاه مخصوصا در غلظت های بالا نسبت به تیمارهای منفرد *Azusprillium sp*، SA و SNP و گیاهان کنترل منفی (گیاهان تیمار نشده با موارد فوق) در سطح احتمال 5 درصد داشت. با توجه به نقش و اهمیت باکتری های محرک رشد گیاه و فیتومتابولیت های گیاهی در تغذیه و سلامت گیاه، بویژه در تولید محصولات سالم و ارگانیک، شناخت ویژگی ها و مکانیسم های تأثیر آنها بر گیاه، و نیز چالش های کاربرد آنها در شرایط مزرعه، در مدیریت استفاده از آنها ضرورت دارد.

### مقدمه

نخود (*Cicer arietinum*) منبع غذایی سرشار از پروتئین، ویتامین و فیبر است، به همین دلیل مصرف نخود در رژیم غذایی از اهمیت بالایی برخوردار می باشد. میانگین تولید نخود در ایران، برابر با 85 هزار تن در سال است؛ که از این میزان 24% را کشت آبی و 76% آن را کشت دیمی تشکیل می دهد. با کاهش سطح زیر کشت نخود در سال زراعی 98-99 نسبت به سال قبل، تولید این محصول از 105 هزار تن در سال 98-99 به 249 هزار تن در سال 99-1400 رسید (FAO, 2019). در ایران 3 استان، پیشرو و بزرگ در تولید لوبیا وجود دارند؛ که به طور میانگین استان کرمانشاه، لرستان و ایلام در رتبه های اول تا سوم تولیدکنندگان نخود قرار دارند. در ایران سرانه مصرف نخود در حدود چهار کیلوگرم در سال است، این در حالی است که سرانه مصرف جهانی آن حدود یک کیلوگرم می باشد (Nabati et al., 2023). انواع نخود با داشتن 20% تا 25% پروتئین و 50% تا 65% کربوهیدرات از نظر ارزش غذایی جایگزین مهمی برای منابع پروتئینی حیوانی محسوب می شوند. این محصول در مقایسه با غلات 2-3 برابر و در مقایسه با سایر محصولات نشاسته ای تا 20 برابر پروتئین بیشتری دارد (Wang et al., 2021).

برخی از روش ها مانند پرایمینگ خارجی بذر با فیتومتابولیتها و باکتری های افزایش دهنده رشد گیاهی می تواند روی بنیه ی بذر حاصل و دستیابی به عملکردهای بالا در کشت بعدی موثر باشد و درصد جوانه زنی، سرعت جوانه زنی و قدرت جوانه زنی بذرهای حاصل در طیف وسیعی از شرایط مختلف افزایش می یابد (Pati et al., 2018). پرایمینگ مناسب بذر و گیاه مادری جوانه زنی بذر بر تراکم نهایی بوته در واحد

سطح تأثیر مهمی داشته و تراکم کافی بوته در واحد سطح هنگامی حاصل می‌شود که بذرها حاصل از گیاه مادری به‌طور کامل و با سرعت کافی جوانه بزنند. درصد و یکنواختی سبز شدن همچنین بر عملکرد کمی و کیفی بذرها تأثیر می‌گذارد، بنابراین مرحله جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه مرحله حساس و مهمی بوده که در استقرار مطلوب گیاهچه‌ها و عملکرد نهایی محصول نقش مهمی دارد. فرایند جوانه‌زنی شامل انتقال مواد ذخیره‌ای به محور جنین و شروع فعالیت‌های متابولیکی و رشد بذر است. بالا بودن میزان ذخایر مواد آلی بذر منجر به جوانه‌زنی سریع و یکنواخت بذر و تولید بوته‌های نیرومند می‌شود (Vishwas *et al.*, 2017). در این پژوهش به منظور بررسی اثر ریزوباکتری‌های *Azospirillum sp* (غلظت 5 در هزار) محرک رشد گیاه و ترکیبات سدیم نیتروپروساید و سالیسیلیک اسید (در سه غلظت 100، 50 و 150 میکروگرم بر میلی‌لیتر) بر محتوای کلروفیل نخود رقم نصرت در سال زراعی 1401-1402، آزمایشی به صورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار بر روی محتوای کل گیاه اجرا شد.

## مواد و روش‌ها

### طرح آزمایش، اعمال تیمارها و اندازه‌گیری محتوای کلروفیل

به‌منظور بررسی اثر پیش‌تیمار SA (در سه غلظت 50، 100 و 150 میکروگرم بر میلی‌لیتر)، ترکیب SNP (در سه غلظت 50، 100 و 150 میکروگرم بر میلی‌لیتر) (شرکت سیگما-آلد ریچ آمریکا تحت لیسانس مرک آلمان) و *Azospirillum sp* (غلظت 5 در هزار، جدایه‌ی ایرانی جداسازی و در بخش تحقیقات بیولوژی خاک موسسه تحقیقات خاک و آب (ارزانش و همکاران، 1389)) بر محتوای کلروفیل بذر نخود رقم کرمانشاه در شرایط گلخانه‌ای پیش‌تیمار و این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با 3 تکرار انجام شد. ابتدا بستر کشت برای کاشت بذرها، نخود آماده و خاک قابل کشت به مدت 1 ساعت در دمای 121 درجه‌ی سلسیوس تحت فشار 1/5 اتمسفر ضدعفونی شد و به لیوان‌های کاغذی انتقال یافت. سپس بذرها، نخود پس از ضدعفونی سطحی با هیپوکلریت سدیم 1 درصد و آبکشی، کشت شدند. حدود 2 هفته پس از کشت، نشاها به گلدان‌های اصلی در جعبه‌های شیشه‌ای جهت ممانعت از ورود حشرات ناقل منتقل شدند. در مرحله‌ی 4 هفتگی کامل بوته‌های نخود با تیمارهای مذکور پرایمینگ شدند. جهت بررسی محتوای کلروفیل a، II و کلروفیل کل در گیاهان تیمار شده، 7، 14 و 21 روز پس از اعمال تیمارها محتوای کلروفیل با روش لیشتن تالر و ولبورن در سال 1983 استفاده شد (Lichtentaller & Welburn, 1983).

## نتایج

### محتوای کلروفیل I

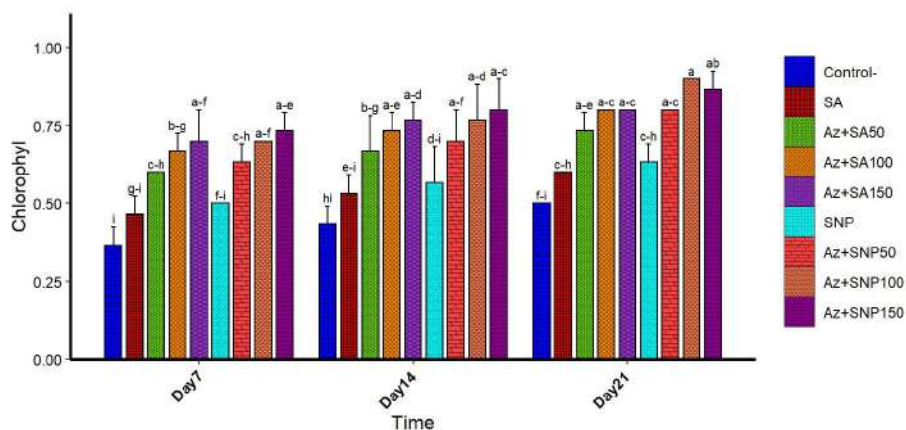
در این آزمون، افزایش معنی‌داری در محتوای کلروفیل I در تمامی تیمارهای نخود پیش‌تیمار شده با SA (50، 100 و 150 میکروگرم)، SNP (50، 100 و 150 میکروگرم) و آزوسپیریلیوم (5 در هزار) در هفته‌ی اول تا سوم نسبت به گیاهان شاهد مشاهده شد. در گیاهان تیمار شده با SA و SNP و آزوسپیریلیوم محتوای کلروفیل I در هفته‌ی اول به‌خصوص هفته‌های دوم و سوم در سطح احتمال 5 درصد نسبت به شاهد (بوته‌های تیمار نشده با ترکیبات فوق) مشاهده گردید. ولی روند افزایش کلروفیل a در هفته‌ی دوم و سوم (با گذشت زمان) نسبت به یکدیگر در سطح احتمال 5 درصد در بیشتر تیمارها معنادار نبود. در حالت تیمارهای انفرادی تأثیر SNP نسبت به SA در تمامی غلظتها بالاتر بود. و در ترکیب SNP و SA در هر سه غلظت با آزوسپیریلیوم در مجموع ترکیب SNP+AZ بهتر از ترکیب SA+AZ بود (جداول 1 و شکل 1).

جدول 1- مقایسه میانگین تاثیر پیش تیمار SNP، SA و آزوسپیریلیوم در هفته‌ی اول، دوم و سوم روی محتوای کلروفیل I روی نخود

parameters	Df	Sum.Sq	Mean.Sq	F.value	p
Time	2	0.26765	0.13383	32.84848	0.00000
Treatments	8	1.16321	0.14540	35.68939	0.00000
interaction	16	0.01235	0.00077	0.18939	0.99967
Residuals	54	0.22000	0.00407		

Groups	variable	Mean	sd	N	sig	Summary
Day7:Control-	Chlorophyl	0.3667	0.0577	3	i	ref
Day7:SA	Chlorophyl	0.4667	0.0577	3	g-i	ns
Day7:Az+SA50	Chlorophyl	0.6000	0.0000	3	c-h	**
Day7:Az+SA100	Chlorophyl	0.6667	0.0577	3	b-g	***
Day7:Az+SA150	Chlorophyl	0.7000	0.1000	3	a-f	****
Day7:SNP	Chlorophyl	0.5000	0.0000	3	f-i	ns
Day7:Az+SNP50	Chlorophyl	0.6333	0.0577	3	c-h	**
Day7:Az+SNP100	Chlorophyl	0.7000	0.0000	3	a-f	****
Day7:Az+SNP150	Chlorophyl	0.7333	0.0577	3	a-e	****
Day14:Control-	Chlorophyl	0.4333	0.0577	3	hi	ns
Day14:SA	Chlorophyl	0.5333	0.0577	3	e-i	ns
Day14:Az+SA50	Chlorophyl	0.6667	0.1155	3	b-g	***
Day14:Az+SA100	Chlorophyl	0.7333	0.0577	3	a-e	****
Day14:Az+SA150	Chlorophyl	0.7667	0.0577	3	a-d	****
Day14:SNP	Chlorophyl	0.5667	0.1155	3	d-i	ns
Day14:Az+SNP50	Chlorophyl	0.7000	0.1000	3	a-f	****
Day14:Az+SNP100	Chlorophyl	0.7667	0.1155	3	a-d	****
Day14:Az+SNP150	Chlorophyl	0.8000	0.1000	3	a-c	****
Day21:Control-	Chlorophyl	0.5000	0.0000	3	f-i	ns
Day21:SA	Chlorophyl	0.6000	0.0000	3	c-h	**
Day21:Az+SA50	Chlorophyl	0.7333	0.0577	3	a-e	****
Day21:Az+SA100	Chlorophyl	0.8000	0.0000	3	a-c	****
Day21:Az+SA150	Chlorophyl	0.8000	0.0000	3	a-c	****
Day21:SNP	Chlorophyl	0.6333	0.0577	3	c-h	**
Day21:Az+SNP50	Chlorophyl	0.8000	0.0000	3	a-c	****
Day21:Az+SNP100	Chlorophyl	0.9000	0.0000	3	a	****
Day21:Az+SNP150	Chlorophyl	0.8667	0.0577	3	ab	****



شکل 1- نمودار مقایسه میانگین تاثیر پیش تیمار SNP، SA و آزوسپیریلیوم در هفته‌ی اول، دوم و سوم روی محتوای کلروفیل I روی نخود

## II محتوای کلروفیل

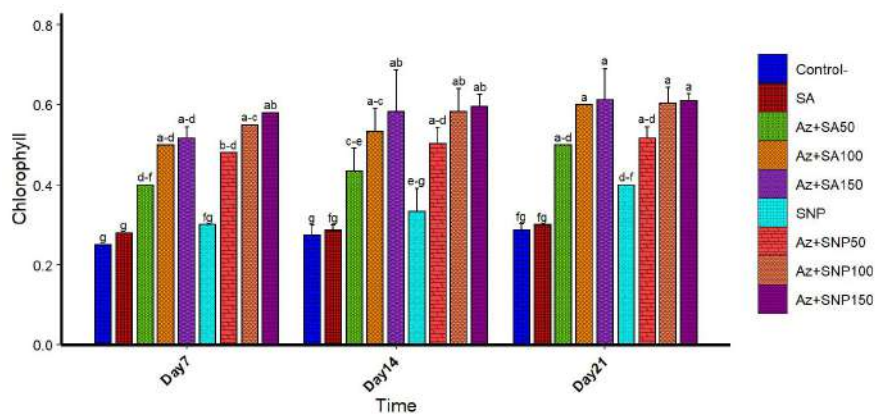
در این آزمون، افزایش معنی‌داری در محتوای کلروفیل II در تمامی تیمارهای نخود پیش تیمار شده با SA، SNP و آزوسپیریلیوم در هفته‌ی دوم و سوم نسبت گیاهان تیمار شده هفته‌ی اول و همچنین نسبت به گیاهان شاهد مشاهده شد. در گیاهان تیمار شده با SNP و SA و آزوسپیریلیوم بیشترین محتوای کلروفیل II در هفته‌ی دوم در غلظت‌های 100 و 150 میکروگرم بر میلی‌لیتر به صورت منفرد و ترکیبی با آزوسپیریلیوم در سطح احتمال 5 درصد مشاهده گردید. بیشترین افزایش محتوای کلروفیل در تیمار AZ+SNP150 و کمترین محتوای کلروفیل در تیمار منفرد SA50 و بعد از آن در گیاهان شاهد مشاهده شد. در ترکیب AZ+SA100,150 و AZ+SNP100,150 تفاوت معناداری در سطح احتمال 5 درصد در افزایش محتوای کلروفیل وابسته به غلظت SA و SNP مشاهده نشد. روند افزایش کلروفیل II در هفته‌ی دوم و سوم نسبت به یکدیگر در سطح احتمال 5 درصد معنادار نبود. در حالت تیمارهای انفرادی تاثیر SNP نسبت به SA در تمامی غلظتها بالاتر بود. و در ترکیب SNP و SA در هر سه غلظت با آزوسپیریلیوم در مجموع ترکیب SNP+AZ، بهتر از ترکیب SA+AZ بود (جداول 2 و شکل 2).

جدول 2- مقایسه میانگین تاثیر پیش تیمار SA، SNP و آزوسپیریلیوم در هفته‌ی اول، دوم و سوم روی محتوای کلروفیل II روی نخود

parameters	Df	Sum.Sq	Mean.Sq	F.value	P
Time	2	0.05485	0.02742	19.86852	0.00000
Treatments	8	1.19304	0.14913	108.04584	0.00000
interaction	16	0.01698	0.00106	0.76867	0.71201
Residuals	54	0.07453	0.00138		

Groups	variable	mean	sd	N	sig	Summary
Day7:Control-	Chlorophyll	0.2500	0.0000	3	g	Ref
Day7:SA	Chlorophyll	0.2800	0.0000	3	g	Ns
Day7:Az+SA50	Chlorophyll	0.4000	0.0000	3	d-f	**
Day7:Az+SA100	Chlorophyll	0.5000	0.0000	3	a-d	****
Day7:Az+SA150	Chlorophyll	0.5167	0.0289	3	a-d	****
Day7:SNP	Chlorophyll	0.3000	0.0000	3	fg	Ns
Day7:Az+SNP50	Chlorophyll	0.4800	0.0000	3	b-d	****
Day7:Az+SNP100	Chlorophyll	0.5500	0.0000	3	a-c	****
Day7:Az+SNP150	Chlorophyll	0.5800	0.0000	3	ab	****
Day14:Control-	Chlorophyll	0.2733	0.0252	3	g	Ns
Day14:SA	Chlorophyll	0.2867	0.0115	3	fg	Ns
Day14:Az+SA50	Chlorophyll	0.4333	0.0577	3	c-e	****
Day14:Az+SA100	Chlorophyll	0.5333	0.0577	3	a-c	****
Day14:Az+SA150	Chlorophyll	0.5833	0.1041	3	ab	****
Day14:SNP	Chlorophyll	0.3333	0.0577	3	e-g	ns
Day14:Az+SNP50	Chlorophyll	0.5033	0.0404	3	a-d	****
Day14:Az+SNP100	Chlorophyll	0.5833	0.0577	3	ab	****
Day14:Az+SNP150	Chlorophyll	0.5967	0.0289	3	ab	****
Day21:Control-	Chlorophyll	0.2867	0.0153	3	fg	ns
Day21:SA	Chlorophyll	0.3000	0.0000	3	fg	ns
Day21:Az+SA50	Chlorophyll	0.5000	0.0000	3	a-d	****
Day21:Az+SA100	Chlorophyll	0.6000	0.0000	3	a	****
Day21:Az+SA150	Chlorophyll	0.6133	0.0777	3	a	****
Day21:SNP	Chlorophyll	0.4000	0.0000	3	d-f	**
Day21:Az+SNP50	Chlorophyll	0.5167	0.0289	3	a-d	****
Day21:Az+SNP100	Chlorophyll	0.6033	0.0404	3	a	****
Day21:Az+SNP150	Chlorophyll	0.6100	0.0173	3	a	****



شکل 2- نمودار مقایسه میانگین تاثیر پیش تیمار SNP، SA و آزوسپیریلیوم در هفته اول، دوم و سوم روی محتوای کلروفیل II روی نخود

### محتوای کلروفیل کل

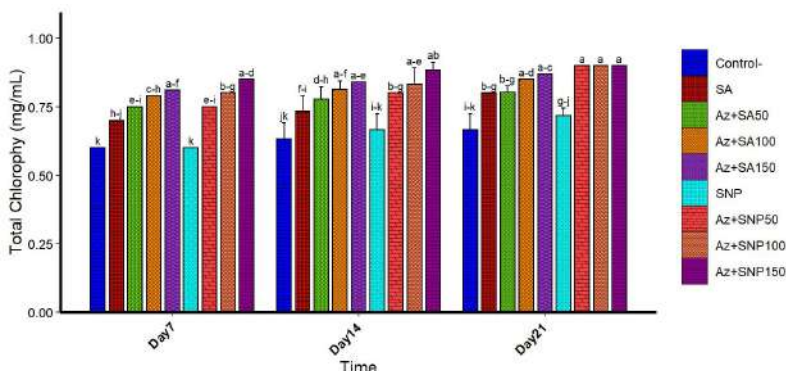
در این آزمون، افزایش معنی داری در محتوای کلروفیل کل در تمامی تیمارهای نخود پیش تیمار شده با SA، SNP و آزوسپیریلیوم در هفته اول تا سوم نسبت به گیاهان شاهد مشاهده شد. در گیاهان تیمار شده با SNP و SA و آزوسپیریلیوم بیشترین محتوای کلروفیل کل در هفته دوم و سوم در سطح احتمال 5 درصد مشاهده گردید. ولی روند افزایش کلروفیل a در هفته دوم و سوم در غلظتهای 100 و 150 میکروگرم بر میلی لیتر SA و SNP و ترکیب آن با آزوسپیریلیوم در سطح احتمال 5 درصد معنادار نبود. در حالت تیمارهای انفرادی تاثیر SNP نسبت به SA در تمامی غلظتها بالاتر بود. و در ترکیب SNP و SA در هر سه غلظت با آزوسپیریلیوم در مجموع ترکیب SNP+AZ بهتر از ترکیب SA+AZ بود (جدول 3 و شکل 3).

جدول 3- مقایسه میانگین تاثیر پیش تیمار SNP، SA و آزوسپیریلیوم در هفته اول، دوم و سوم روی محتوای کلروفیل کل روی نخود

parameters	Df	Sum.Sq	Mean.Sq	F.value	p
Time	2	0.09594	0.04797	58.78517	0.00000
Treatments	8	0.51300	0.06412	78.57905	0.00000
interaction	16	0.01643	0.00103	1.2587	0.25736
Residuals	54	0.04407	0.00082		

Groups	Variable	mean	sd	N	sig	Summary
Day7:Control-	Total Chlorophy (mg/mL)	0.6000	0.0000	3	k	ref
Day7:SA	Total Chlorophy (mg/mL)	0.7000	0.0000	3	h-j	*
Day7:Az+SA50	Total Chlorophy (mg/mL)	0.7500	0.0000	3	e-i	****
Day7:Az+SA100	Total Chlorophy (mg/mL)	0.7900	0.0000	3	c-h	****
Day7:Az+SA150	Total Chlorophy (mg/mL)	0.8100	0.0000	3	a-f	****
Day7:SNP	Total Chlorophy (mg/mL)	0.6000	0.0000	3	k	ns
Day7:Az+SNP50	Total Chlorophy (mg/mL)	0.7500	0.0000	3	e-i	****
Day7:Az+SNP100	Total Chlorophy (mg/mL)	0.8000	0.0000	3	b-g	****
Day7:Az+SNP150	Total Chlorophy (mg/mL)	0.8500	0.0000	3	a-d	****
Day14:Control-	Total Chlorophy (mg/mL)	0.6333	0.0577	3	jk	ns
Day14:SA	Total Chlorophy (mg/mL)	0.7333	0.0577	3	f-i	***

Day14:Az+SA50	Total Chlorophy (mg/mL)	0.7767	0.0462	3	d-h	****
Day14:Az+SA100	Total Chlorophy (mg/mL)	0.8133	0.0321	3	a-f	****
Day14:Az+SA150	Total Chlorophy (mg/mL)	0.8400	0.0000	3	a-e	****
Day14:SNP	Total Chlorophy (mg/mL)	0.6667	0.0577	3	i-k	ns
Day14:Az+SNP50	Total Chlorophy (mg/mL)	0.8000	0.0000	3	b-g	****
Day14:Az+SNP100	Total Chlorophy (mg/mL)	0.8333	0.0577	3	a-e	****
Day14:Az+SNP150	Total Chlorophy (mg/mL)	0.8833	0.0289	3	ab	****
Day21:Control-	Total Chlorophy (mg/mL)	0.6667	0.0577	3	i-k	ns
Day21:SA	Total Chlorophy (mg/mL)	0.8000	0.0000	3	b-g	****
Day21:Az+SA50	Total Chlorophy (mg/mL)	0.8033	0.0231	3	b-g	****
Day21:Az+SA100	Total Chlorophy (mg/mL)	0.8500	0.0000	3	a-d	****
Day21:Az+SA150	Total Chlorophy (mg/mL)	0.8700	0.0000	3	a-c	****
Day21:SNP	Total Chlorophy (mg/mL)	0.7167	0.0289	3	g-j	**
Day21:Az+SNP50	Total Chlorophy (mg/mL)	0.9000	0.0000	3	a	****
Day21:Az+SNP100	Total Chlorophy (mg/mL)	0.9000	0.0000	3	a	****
Day21:Az+SNP150	Total Chlorophy (mg/mL)	0.9000	0.0000	3	a	****



شکل 3- نمودار مقایسه میانگین تاثیر پیش تیمار SNP، SA و آزوسپریلیوم در هفته‌ی اول، دوم و سوم روی محتوای کلروفیل II روی نخود

### نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که پیش تیمار ریزوباکتری‌های *Azospirillum* sp (غلظت 5 در هزار) محرک رشد گیاه و ترکیبات سدیم نیتروپروساید و سالیسیلیک اسید (در سه غلظت 50، 100 و 150 میکروگرم بر میلی‌لیتر) بر محتوای کلروفیل نخود رقم کرمانشاهی نقش مهمی در افزایش محتوای کلروفیل بوته‌های نخود مخصوصا در تیمارهای SA و SNP در غلظتهای بالا و به صورت ترکیب این فیتومتابولیتها با باکتری آزوسپریلیوم دارد. نتایج افزایش محتوای کلروفیل حاصل در نخود بیانگر موثر بودن نقش این ترکیبات داشته است، از سویی با در نظر گرفتن مزایای زیست‌محیطی فیتومتابولیتها و باکتریهای محرک رشد گیاهی و همچنین هزینه‌های فراوان سموم شیمیایی از نظر اقتصادی و هزینه‌های جبران‌ناپذیر زیست‌محیطی آنها، می‌توان تیمارهای فوق را در جهت افزایش تولید نخود مورد استفاده قرار داد.

### تشکر و قدردانی

از تمام دوستانی که در انجام این پروژه اینجانب را یاری نمودند سپاسگزارم

منابع



**Kaur, R. and Prasad, K.,** 2021. Technological, processing and nutritional aspects of chickpea (*Cicer arietinum*)-A review. *Trends in Food Science & Technology*, *109*, pp.448-463.

**Nabati, J., Mirmiran, S.M., Yousefi, A., Zare Mehrjerdi, M., Ahmadi-lahijani, M.J. and Nezami, A.,** 2023. Identification of diverse agronomic traits in chickpea (*Cicer arietinum* L.) germplasm lines to use in crop improvement. *Legume Science*, *5*(2), p.e167.

**Patil, K., Ravat Anilkumar, L., Trivedi, V., Hirpara, A. and Sasidharan, N.,** 2018. Effect of seed priming treatment in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *IJCS*, *6*(4), pp.1064-1069.

**Vishwas, S., Chaurasia, A.K., Bara, B.M., Debnath, A., Parihar, N.N., Brunda, K. and Saxena, R.,** 2017. Effect of priming on germination and seedling establishment of chickpea (*Cicer arietinum* L.) seeds. *Journal of pharmacognosy and phytochemistry*, *6*(4), pp.72-74.

**Wang, J., Li, Y., Li, A., Liu, R.H., Gao, X., Li, D., Kou, X. and Xue, Z.,** 2021. Nutritional constituent and health benefits of chickpea (*Cicer arietinum* L.): A review. *Food Research International*, *150*, p.110790.

## تأثیر نانولوله‌های کربنی بر ویژگی‌های مورفولوژیک و محتوای قندهای محلول گیاه بامیه

### تحت تنش شوری

محمد رضا سرافراز اردکانی<sup>1</sup>، سروش کارگر خرمی<sup>2</sup>، رشید جامعی<sup>3</sup>

\* 1- نویسنده مسئول: استادیار، دکتری تخصصی فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه یزد

Sarafraz.ardakani@yazd.ac.ir

2- دانشجوی دکتری، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه

3- استاد، دکتری تخصصی فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه

### چکیده

فناوری نانو می‌تواند زمینه مناسبی را برای ایجاد شرایط رشد بهتر برای گیاهان بویژه در مواجهه با تنش‌های محیطی فراهم کند. بدین منظور پژوهشی به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی به منظور بررسی تأثیر نانولوله‌های کربنی چند جداره (0 و 100 میلی‌گرم بر لیتر) بر شاخص‌های مورفولوژیک و محتوای قندهای محلول ریشه و بخش هوایی گیاه بامیه (*Hibiscus L. esculentus*) تحت سطح مختلف تنش شوری (0، 50، 100 و 150 میلی‌گرم بر لیتر) در شرایط گلخانه‌ای انجام گرفت. تنش شوری در بالاترین سطح خود (150 میلی‌گرم بر لیتر) سبب بیشترین کاهش طول، وزن تر و خشک بخش هوایی و ریشه، محتوای قندهای محلول بخش هوایی و نیز ضریب آلومتری گردید. همچنین غلظت 150 میلی‌گرم بر لیتر شوری سبب بیشترین افزایش معنی‌دار محتوای قندهای محلول کل ریشه گردید. علیرغم تأثیر افزایشی معنی‌دار تیمار انفرادی نانولوله‌های کربن بر طول و محتوای قندهای محلول بخش هوایی و وزن تر و خشک ریشه و بخش هوایی، این تیمار باعث کاهش معنی‌دار شاخص‌های رشد هر دو بخش هوایی و ریشه و قندهای محلول ریشه در سطوح مختلف شوری نسبت به تیمار فاقد نانولوله کربنی (کنترل) گردید. بنابراین نتایج نشان می‌دهد تیمار نانولوله‌های کربن در شرایط بدون تنش باعث ارتقای صفات رشدی گیاه بامیه شده است در حالیکه غلظت بکار رفته این نانولوله (100 میلی‌گرم بر لیتر) طی بروز تنش در محیط باعث کاهش صفات رویشی گیاه شده است و ازگان کلیدی: تنش شوری، شاخص‌های رشد، نانولوله کربن، گیاه بامیه.

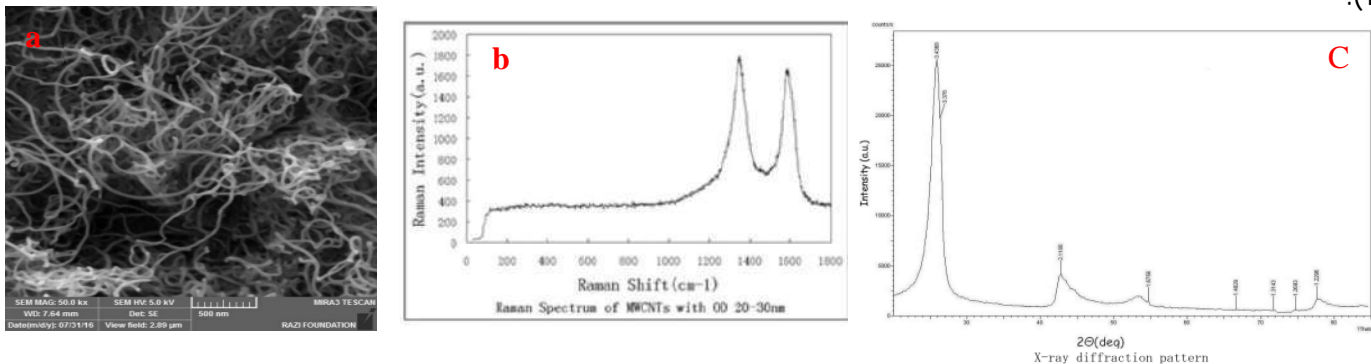
### مقدمه

امروزه شوری خاک و آب یکی از موانع و محدودیتهای استفاده از این منابع در تولید بهینه محصولات کشاورزی به شمار می‌آید (1). اثر زیانبار شوری بالا بر روی گیاهان را می‌توان در سطح کل گیاه، مانند تغییرات صفات رویشی، عملکرد، کاهش محصول یا مرگ گیاه مشاهده کرد (2). افزودن نانو ذرات به محلول غذایی گیاهان به‌عنوان کود به دلیل داشتن اثرهای بی‌نظیر آنها مانند نفوذ سریع‌تر و راحت‌تر به درون غشای سلولی، توجه زیادی را در بین تولیدکنندگان به خود جلب کرده است (3). نانولوله‌های کربنی یکی از ساختارهای بسیار منحصر به فرد بوده و در تمامی شاخه‌های علوم و فناوری نانو مورد استفاده قرار می‌گیرند (4). برخی مطالعات انجام شده نشان داده است که کاربرد نانولوله‌های کربنی در محیط گیاه ذرت سبب افزایش رشد و نمو ریشه‌ها گردیده است (5). تأثیر نانوذرات بر گیاهان بستگی به ترکیب، غلظت، اندازه و خواص فیزیکی و شیمیایی نانو ذرات

و همچنین گونه گیاهی، مرحله رشدی گیاه، روش و مدت زمان قرار گرفتن در معرض آنها دارد (2). گیاه بامیه<sup>37</sup> متعلق به خانواده پنیرکیان<sup>38</sup> یکی از مهمترین سبزیجات است که در مناطق گرم و گرمسیری کاشته می‌شود، و یک جایگاه خاص در برنامه غذایی روزانه دارد (6). با توجه به اهمیت شور شدن خاک در مناطق پرورش این گیاه و از طرفی کمبود اطلاعات کافی در رابطه با اثرات توامان نانو لوله های کربنی و تنش‌های مختلف به ویژه تنش شوری بر روی گیاهان مختلف و گیاه بامیه، این تحقیق می‌تواند زمینه‌ساز مطالعات بیشتر نانولوله‌ها و اثرات آنها در تنش‌های محیطی گردد.

## مواد و روش

بذرهای گیاه بامیه رقم کلمسون اسپینلس<sup>39</sup> با قدرت جوانه زنی 85 تا 99 درصد از یک شرکت هلندی<sup>40</sup> تهیه گردیدند. نانولوله‌های کربنی چند جداره<sup>41</sup> از شرکت نانوسانی مشهد<sup>42</sup> خریداری شدند. خصوصیات این نانو لوله‌ها به وسیله میکروسکوپ الکترونی نگاره<sup>43</sup> با دستگاه راش اشعه ایکس<sup>44</sup> و طیف رامان با OD کمتر از 50 نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر<sup>45</sup> تعیین شدند (شکل‌های 1).



شکل 1. تصویر میکروسکوپ الکترونی نانولوله‌های کربنی تهیه شده (a)، طیف رامان (b) و تصویر X-ray نانولوله های کربنی (C) بذرها پس از ضد عفونی شدن با هیپوکلریت سدیم 10% و شستشو با آب مقطر، برای جوانه‌زنی به پتری دیش‌هایی (نگهداری شده در آن با دمای 27 درجه سانتی گراد و به مدت 96 ساعت) منتقل شدند. سپس گیاهچه‌ها به گلدان‌های پلاستیکی منتقل شده و در اتاقک‌های کشت (16 ساعت روشنایی و 8 ساعت تاریکی، دمای 18-29 درجه سانتی گراد و رطوبت 65%) قرار داده شدند. محلول پایه نانو ذرات تهیه گردید و سپس به مدت 40 دقیقه در دستگاه اولتراسونیک قرار داده شد. در نهایت غلظت‌های مورد نیاز (0 و 100 mg/lit) به وسیله محلول هوگلند به حجم مورد نیاز رسانده شدند (7). فرایند اعمال تیمار نانولوله های کربنی و تنش شوری بعد از 35 روز رشد در شرایط محیطی یکنواخت، به مدت 14 روز با غلظت 0.5 و 100 میلی گرم برلیتر نمک کلرید سدیم و توامان با نانو لوله های کربنی که محلول غذایی هوگلند اضافه شده بودند انجام شد. فرایند شستشو نیز هر دو روز یکبار با آب مقطر انجام شد. پس از برداشت طول اندام هوایی و ریشه با استفاده از خط کش اندازه‌گیری گردید. وزن تر و خشک نمونه ها با

<sup>37</sup> *Hibiscus esculentus* L.

<sup>38</sup> Malvaceae

<sup>39</sup> *Clemson Spineless*

<sup>40</sup> Bakker Brothers

<sup>41</sup> Multi-Walled carbon Nano-tubes (MWCNT)

<sup>42</sup> Iranian Nanomaterials Pioneers Company, Mashhad, Iran

<sup>43</sup> Hitachi S-4160, Tokyo, Japan

<sup>44</sup> XRD: Philips-X'Pert MPD X-ray refractometer

<sup>45</sup> UV-Vis spectrophotometer: T80+ UV-VIS spectrophotometer PG instruments Ltd, UK

استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت 0/0001 محاسبه شدند. محتوای قندهای محلول کل بر اساس روش فنل- اسید سولفوریک آنالیز گردید. بر این اساس مقدار جذب عصاره استخراج شده با اتانول 80% و غلظت‌های مختلف گلوکز - محلول استاندارد- که با فنل 5% و سولفوریک اسید 98% تیمار شده بودند قرائت شد (8).

### نتایج و بحث

مقایسه میانگین‌ها نشان داد که طول، وزن تر و خشک ریشه و بخش هوایی در شوری 50 میلی مولار افزایش معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) یافت در حالیکه با افزایش بیشتر شوری در محیط و ویژه در شوری 150 میلی مولار، به پایین‌ترین مقدار در مقایسه با سایر تیمارها رسیدند. روند مزبور در مورد تغییرات شاخص آلومتری (نسبت وزن خشک ریشه به وزن خشک ساقه) تکرار شد. همچنین محتوای قندهای محلول کل ریشه و بخش هوایی در شوری 50 میلی مولار افزایش و در شوری‌های 100 و 150 میلی‌مولار کاهش معنی‌داری پیدا کرد (جدول 1). در تحقیق انجام شده بر روی توده‌های گیاه رازیانه رویش یافته در شرایط حضور نمک در محیط مشخص شد که تنش شوری با کاهش پتانسیل آبی محیط سبب کاهش جذب آب توسط گیاه می‌شود. همچنین در کنار کاهش جذب آب، برهم خوردن جذب مواد غذایی -عدم تعادل یونی- و افزایش خسارت اکسیداتیو باعث کاهش رشد و تولید بیومس می‌شوند (9). در تطابق با مطالعات حاضر، تغییرات وزن تر و خشک بخش ریشه و هوایی ارتباط مستقیمی با تغییرات میران متابولیسم ترکیبات آلی و ویژه تجمع کربوهیدرات‌ها دارد. کربوهیدرات‌ها محلول با به تنظیم تعادل اسمزی و نقش آنتی‌اکسیدانی خود باعث بهبود شاخص‌های رشد می‌شوند (10).

### جدول 1. اثر سطوح مختلف شوری و نانولوله کربن بر صفات مورفولوژیک و محتوای قندهای محلول کل گیاه بامیه

نتایج نشان داد که تیمار 100 میلی‌گرم بر لیتر نانولوله کربن در شرایط بدون تنش به طور معنی‌داری سبب افزایش طول ساقه، وزن تر و خشک ریشه و بخش هوایی و نیز محتوای قند محلول بخش هوایی شد. با اینحال در بررسی تیمارهای دارای تنش شوری، اختلاف معنی‌داری مابین تیمار وجود و عدم استعمال نانوذره بر طول ریشه و ساقه مشاهده نشد. تیمار نانولوله کربنی سبب افزایش

محل	قند محلول	قند محلول	ضریب	وزن خشک	وزن خشک	تر	وزن تر	وزن تر	طول ساقه	طول ریشه	نانولوله	تنش	سطح	
(mg/g FW)	(mg/g FW)	آلومتری	ساقه (mg)	ریشه (mg)	ساقه (mg)	ریشه (mg)	ساقه (mg)	ریشه (mg)	(mm)	(mm)	کربن (mg/l)	(mg/l)	(mg/l)	
b <sup>97/00</sup>	b <sup>49/00</sup>	bc <sup>0/201</sup>	c	1/34	b	0/26	c	10/32	bc	2/92	b	24/66	b <sup>21/00</sup>	0
a <sup>126/00</sup>	a <sup>62/33</sup>	ab <sup>0/221</sup>	b	1/52	a	0/33	ab	12/28	ab	3/22	b	24/33	ab <sup>23/00</sup>	0
bc <sup>86/33</sup>	a <sup>60/33</sup>	cd <sup>0/172</sup>	d	1/10	c	0/19	d	7/83	d	2/01	c	18/66	c <sup>17/66</sup>	100 (کنترل)
c <sup>75/33</sup>	a <sup>61/33</sup>	d <sup>0/138</sup>	e	0/89	d	0/12	e	6/00	de	1/48	d	14/66	d	12/66
a <sup>122/33</sup>	b <sup>47/67</sup>	bc <sup>0/201</sup>	a	1/84	a	0/37	a	13/05	a	3/80	a	27/33	ab <sup>23/00</sup>	0
a <sup>136/00</sup>	a <sup>66/33</sup>	ab <sup>0/233</sup>	bc	1/46	a	0/34	b	11/59	a	3/50	b	22/66	ab <sup>22/66</sup>	50
b <sup>91/33</sup>	b <sup>47/33</sup>	a <sup>0/252</sup>	de	0/94	b	0/23	d	7/53	c	2/70	c	18/33	c <sup>16/33</sup>	100
c <sup>73/00</sup>	b <sup>39/67</sup>	d <sup>0/132</sup>	f	0/66	e	086/0	e	5/83	e	1/03	d	14/00	d	12/66

معنی‌دار وزن تر ریشه و نیز کاهش وزن تر ساقه در گیاهان بامیه تحت تنش شوری 100 میلی‌گرم بر لیتر نسبت به حالت عدم استعمال نانولوله گردید. کاربرد نانوذره سبب افزایش معنی‌دار وزن خشک ریشه و ضریب آلومتری در شوری 100 میلی‌گرم بر لیتر و البته کاهش معنی‌دار این شاخص در هر دو بخش ریشه و هوایی در شوری 150 میلی‌گرم بر لیتر شد. همچنین کاهش معنی‌دار

قندهای محلول کل ریشه در تیمارهای مختلف شوری تحت کاربرد نانولوله کربنی نسبت به عدم استعمال نانولوله کربنی مشاهده شد (جدول 1). در پژوهش انجام شده بر روی گیاه گوجه فرنگی دریافت کننده غلظت‌های نانولوله‌های کربنی چند جداره سنتزی، افزایش رشد و تقسیم سلولی تنها در شرایط بدون تنش مشاهده شد (11). همچنین مغایر با نتایج بدست آمده، تیمار نانولوله‌های کربنی در شرایط بدون تنش سبب کاهش میزان وزن خشک در گیاه آراییدوپسیس گردیده است (12). تاثیر متفاوت نانولوله‌های کربنی بر شاخص‌های رشدی بستگی زیادی به افزایش بیان ژن‌های آکوپورینی، نرخ تنفس خاک، متابولیسم گیاه، مقدار ماده موثره این ترکیب، چگونگی کاربرد، شرایط خاک و میزان تنش‌های وارد بر گیاه بستگی دارد که پاسخ‌های متناقصی در شرایط مختلف را ایجاد می‌کند (11). موافق با نتایج بدست آمده، تاثیر تیمار انفرادی نانولوله‌های کربن با تاثیر بر افزایش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی سبب افزایش فتوسنتز و مخزن کربوهیدراتی می‌شوند که ابتدا در بخش هوایی آشکار می‌شود (13). با اینحال افزایش خسارت‌های اکسیداتیو نظیر پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از سمیت این ترکیب و تلفیق آن با بروز تنش در محیط بویژه در بافت‌های فتوسنتزی بازخورد عکس را دارد که منجر به کاهش سطح قندها و کاهش رشد یا عدم تاثیر معنی‌دار بر شاخص‌های رشدی می‌شود (14).

### نتیجه‌گیری

افزایش معنی‌دار شاخص‌های رشد گیاه بامیه در سطح 50 میلی مولار نمک (کمترین غلظت) و کاهش آنها در سطوح بالای شوری این گیاه را به عنوان گیاه متحمل به سطوح پایین شوری در محیط معرفی کند. تیمار انفرادی نانولوله‌های کربنی باعث افزایش شاخص‌های رشد و قندهای محلول کل گردید در حالیکه برهمکنش تیمار نانولوله با سطوح شوری و بویژه غلظت نمک 150 میلی‌گرم بر لیتر باعث کاهش اکثر شاخص‌ها شده است که می‌تواند به علت ایجاد سمیت تشدید یافته ایجاد شده این ترکیب در حالت تلفیق شوری برای گیاه باشد.

### منابع

- 1 -Hong-Bo, S., Zong Suo, L. and Ming-An, S., 2006. Osmotic regulation of 10 wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes at soil water deficits. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces Journal*, 47, pp. 132-139.
- 2 -Hatami, M. and Ghorbanpour, M., 2014. Defense enzyme activities and biochemical variations of *Pelargonium zonale* in response to nanosilver application and dark storage. *Turkish Journal of Biology*, 38, pp. 130 - 139.
- 3 -Khodakovskaya, M., Dervishi, E., Mahmood, M., Xu, Y., Li, Z., Watanabe, F. and Biris, A. S., 2009. Carbon nanotubes are able to penetrate plant seed coat and dramatically affect seed germination and plant growth. *ACS Nano*, 3, pp. 3221– 3227.
- 4 -Hoffman, G.J., Mass, E.V., Prichard, T.L. and Meyer, J.L., 1983. Salt tolerance of corn in the Sacramento-San Joaquin Delta of California. *Irrigation Science*, 4, pp. 31- 44.
- 5 -Becana, M., Moran, J. and Iturbe-Ormaetxe., I., 1998. Iron dependent oxygen free radical generation in plants subjected to environmental stress: toxicity and antioxidant protection. . *Plant and Soil*, 201, pp. 137-147 .
- 6 -Hasegawa, P., Bressan, R.A., Zhu, J.K. and Bohnert, H.J., 2000. Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 51, pp. 463-499.
- 7 -Kocal, N., Sonnewald, U. and Sonnewald, S., 2008. Cell wall- bound invertase limits sucrose export and is involved in symptom development and inhibition of photosynthesis during compatible interaction between tomato and *Xanthomonas campestris* pv. *Vesicatoria* . *Plant Physiology*, 148, pp. 1523-1536.
- 8 -Hellubust, J. A. and Craigie, J. S., 1978. *Handbook of Physiological and Biochemical Methods*. Cambridge University Press, Cambridge

- 9 -Beyk-Khormizi, A., Hosseini Sarghein, S., Sarafraz-Ardakani, M.R., Moshtaghioun, S.M., Seyed Mousavi-Kouhi, S.M. 2028. Alleviation of Salinity Stress by Vermicompost Extract: A Comparative Study on Five Fennel Landraces, 17, pp. 2123-2130
- 10 -Sarafraz-Ardakani, M. R., Khavari-Nejad, R.A., Moradi, F. and Najafi, F., 2014. Abscisic acid and cytokinin-induced carbohydrate and antioxidant levels regulation in drought-resistant and-susceptible wheat cultivar during grain filling under field conditions. International Journal of Biosciences, 8, pp. 11-24.
- 11 -Khodakovskaya, M.V., Kim, B.S., Kim, J.N., Alimohammadi, M., Dervishi, E., Mustafa T. and Cernigla, C.E., 2013. Carbon nanotubes as plant growth regulators: effects on tomato growth, reproductive system, and soil microbial community. Small, 9, pp. 115-123.
- 12 -Lin, C., Fugetsu, B., Su, Y. and Watari, F., 2009. Studies on toxicity of multi-wall carbon nanotubes on Arabidopsis T87 suspension cells. Journal of Hazardous Materials, 170, pp. 578-583.
- 13 -Andersen, L., Williams, M.H. and Serek, M., 2004. Reduced water availability improves drought tolerance of potted miniature roses: Is the ethylene pathway involved . Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 79, pp. 1-13.
- 14 -Kumar, V., Kumari, A., Guleria, P. and Kumar Yadav, S., 2012. Evaluating the oxicity of selected types of nano-chemicals. Review of Environmental Contamination and Toxicology.

## Effect of Carbon Nanotubes on morphologic traits and soluble sugars in Okra under salinity stress

Mohammad Reza Sarafraz Ardakani<sup>1</sup>, Soroush Kargar Khorami<sup>2</sup>, Rashid Jamei<sup>2</sup>

1- Department of Biology, Faculty of Science, Yazd University

2- Department of Biology, Faculty of Science, Urmia University

Email: sarafraz.ardakani@yazd.ac.ir

### Abstract

Nano technology can provide a suitable field for creating better growth conditions for plants, especially in order to environmental stresses. In this regard, a factorial research in a factorial experiment as completely randomized design carried out to investigate the effect of multi-walled carbon nanotubes (0 as control and 100 mg/l) on the morphological traits and the content of soluble sugars of the Okra plant (*Hibiscus esculentus* L) under different levels of salinity stress (0 as control, 50, 100 and 150 mg/l) was done in greenhouse conditions. Highest level of salinity stress (150 mg/l) caused the most decrease in the length, fresh and dry weight of the shoot and root, the soluble sugar content in shoot and also allometric index. Also, the concentration of 150 mg/l of salinity caused the most significant increment in the content of root total soluble sugars. Despite the significant increasing effect of individual treatment carbon nanotubes on the length and content of soluble sugars of the shoot and fresh and dry weight of the root and shoot, this treatment resulted a significant decrease in growth traits of both shoot and root and also root soluble sugars under different salinity levels compared to treatment without carbon nanotubes. Therefore the results show that the carbon nanotube under non stress conditions has improved the growth traits of okra plants, while the applied carbon nanotube has decreased generative traits during salinity stress.

**Key words:** carbon nanotube, growth traits, Okra, salinity stress.

مقایسه زمان برداشت چهار رقم پسته زیر کاشت در شهرستان اردکان بر اساس شاخص‌های

رنگ

محمد رضا سرافراز اردکانی<sup>1</sup>، احمد شاکر اردکانی<sup>2</sup>

\*نویسنده مسئول: استادیار، دکتری تخصصی فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه یزد

[Sarafraz.ardakani@yazd.ac.ir](mailto:Sarafraz.ardakani@yazd.ac.ir)

2-دانشیار، دکتری تخصصی صنایع غذایی، گروه فیزیولوژی و تکنولوژی پس از برداشت، پژوهشکده پسته، موسسه تحقیقات و علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی

## چکیده

پسته (*Pistachia vera*) یکی از مهم‌ترین مغزهای درختی تجاری ایران است که کیفیت آن با زمان برداشت محصول ارتباط تنگاتنگی دارد. بدین منظور آزمایشی با سه تکرار به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی برای بررسی میزان ارتباط ویژگی‌های رنگ ( $L^*$ ،  $a^*$  و  $b^*$ ) پوست نرم رویی و استخوانی میوه با زمان رسیدن چهار رقم اکبری، کله قوچی، بادامی محلی و حاج عبدالله‌ی طی چهار زمان مختلف برداشت انجام شد. مولفه‌های  $L^*a^*b^*$  رنگ با دستگاه هانتربل استخراج شد. با سپری شدن از اولین زمان برداشت (اواسط مردادماه) و بویژه در مقایسه با برداشت چهارم (اواخر شهریورماه)، شاخص‌های  $L^*$  و  $b^*$  در پوست نرم رویی و استخوانی در تمام ارقام کاهش معنی‌داری نشان دادند. همچنین میزان شاخص  $a^*$  در پوست نرم رویی و استخوانی با نزدیک شدن به انتهای شهریورماه در رقم‌های مورد مطالعه به طور معنی‌داری نسبت به اولین برداشت افزایش یافت. با توجه به شدت مولفه‌های رنگ بیشترین و کمترین میزان تغییرات طی برداشت‌های مختلف به ترتیب در ارقام حاجی عبدالله‌ی و کله قوچی مشاهده شد که می‌تواند به ترتیب بیانگر تقدم و تاخر زمان برداشت دو رقم حاج عبدالله‌ی و کله قوچی در شهرستان اردکان باشد.

واژگان کلیدی: پسته، شاخص رنگ  $L^*a^*b^*$ ، هانتربل

## مقدمه

پسته (*Pistachia vera* L.) یکی از محصولات مهم باغبانی کشور با ارزش غذایی، دارویی و تجاری قابل توجه است. کمیت و کیفیت این محصول بسیار تحت تاثیر زمان برداشت و بالتبع عوامل متعدد تغذیه‌ای، تنش‌های زیستی و غیرزیستی، آب و هوایی، آبیاری و یژگی‌های خاک می‌باشد (1). عدم برداشت به موقع نه تنها بر روی محصول سال جاری بلکه بدلیل رقابت جوانه‌ها و میوه‌های در حال شکل‌گیری بر کمیت و کیفیت محصول سال بعد نیز اثرگذار است (2و3). رنگ محصول اولین شاخصی است که به چشم می‌آید و حتی می‌تواند بیانگر تغییرات بیوشیمیایی، کیفیت و عیوب درونی و حتی تعیین‌کننده زمان برداشت میوه باشد. به منظور آنالیز رنگی از ابزار و شاخص‌های استاندارد استفاده می‌شود. فضای رنگی  $L^*a^*b^*$  یا CIELab یک استاندارد شناخته شده بین‌المللی است که  $L^*$  نشان دهنده میزان براق بودن (0 تا 100)،  $a^*$  بیان‌کننده رنگ در بازه سبز تا قرمز (+120 تا -120) و  $b^*$  دامنه رنگ آبی تا قرمز از +120 تا -120 می‌باشد (4). تحقیقات نشان داده است که عدم برداشت به موقه پسته رقم واحدی باعث کاهش کیفیت محصول و افزایش آلودگی به آفلاتوکسین شده است که می‌تواند باعث ایجاد بسیاری از سرطان‌ها مانند بدخیمی‌های دستگاه گوارش، خون و حتی سینه گردد (5). در مطالعه دیگر انجام شده بر روی ارقام احمد آقایی، بادامی زرنندی، کله قوی و واحدی در بازه زمانی 23 مرداد الی 11 مهرماه مشخص شد که درصد شکافتن، شکافتن زودرس، ترک خوردگی پوسته و درصد پوسته شدن تا آخرین هفته برداشته‌شده طور مستمر افزایش یافت در حالیکه عدم بلوغ، تعداد آجیل در اونس و میزان رطوبت در طول هفته‌های برداشت کاهش یافت. همچنین شکافتن اولیه، ترک پوسته و آلودگی آفلاتوکسین هسته بتدریج از 13 سپتامبر افزایش یافت و میزان چربی و قند در اواسط ستامبر در اوج خود بود (6). تحقیقات انجام گرفته بیشتر در مورد ارتباط شاخص‌های

رنگ با کیفیت مواد غذایی در صنایع غذایی من جمله نوع فرآوری، برشته کردن پسته یا حفظ ارزش غذایی در بسته بندی محصول بوده است (7). بنابراین با توجه به اینکه ارتباط شاخص‌های رنگی طی رسیدن محصول پسته کمتر مورد بررسی قرار گرفته و روش مزبور می‌تواند یک روش کم هزینه و کاربردی در برآورد برداشت محصول پسته قلمداد شود، یا اینکه حداقل تقدم و تاخر زمان رسیدن محصول را بین ارقام مقایسه کند. بنابراین در پژوهش انجام گرفته، تغییرات شاخص‌های رنگ 4 رقم از پسته‌های تحت کاشت در شهرستان اردکان به نام‌های بادامی محلی، حاج عبداللهی، اکبری و کله قوچی طی زمان رسیدن مورد بررسی قرار گرفت.

### مواد و روش

این پژوهش در ایستگاه تحقیقاتی پسته شهرستان اردکان و دانشگاه یزد در تابستان سال 1402 انجام شد. در این تحقیق نمونه برداری از چهار رقم پسته حاج عبداللهی، اکبری، کله قوچی و بادامی محلی از مزرعه ایستگاه تحقیقاتی پسته شهرستان اردکان (با موقعیت طول جغرافیایی ° 20/54 و عرض جغرافیایی ° 18/32) انجام شد. هر درخت به عنوان یک تکرار در نظر گرفته شد. برداشت پسته از اول مردادماه و هر دو هفته یکبار انجام شد. در هر برداشت پوست نرم رویی از پوست سخت استخوانی جدا گردید و شاخص‌های  $L^*a^*b^*$  پوست نرم و پوست سخت استخوانی توسط دستگاه هانترلب (Colorimeter, Minolta CR-400) اندازه گیری شد (4). آنالیز داده‌ها بر اساس فاکتوریل و طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در مسیر GLM و با استفاده از نرم افزار SPSS (نسخه 26) انجام گرفت. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون چند دامنه دانکن انجام شد.

### نتایج و بحث

تجزیه داده‌ها شامل تیمار انفرادی زمان برداشت و نوع رقم و نیز برهمکنش آنها بر شاخص‌های رنگ  $L^*a^*b^*$  در سطح خطای 1% و 5% در جدول 1 بیان شده است.

جدول 1. تجزیه واریانس فضای رنگی مورد مطالعه در گیاه پسته (*Pistachia vera*). میانگین مربعات شاخص‌های  $L^*N$  (شاخص L پوشش نرم بیرونی میوه)،  $L^*P$  (شاخص L پوشش سخت یا استخوانی داخلی)،  $a^*N$  (شاخص a پوشش نرم بیرونی میوه)،  $a^*P$  (شاخص a پوشش سخت یا استخوانی داخلی)،  $b^*N$  (شاخص b پوشش نرم بیرونی میوه)،  $b^*P$  (شاخص b پوشش سخت یا استخوانی داخلی).

\* معنی داری در سطح 1 درصد، \*\* معنی داری در سطح 5 درصد، ns عدم معنی داری

نمودار 1 نشان می‌دهد که در مرحله‌ای که پسته‌ها نرسیده‌اند، مقدار شاخص L پوست نرم بیرونی میوه در تمام ارقام در بالاترین میزان خود می‌باشد. با نزدیک شدن به فصل برداشت (بویژه در برداشت چهارم) نزول شاخص L در تمام ارقام (بویژه در ارقام اکبری و بادامی محلی) به صورت معنی‌داری قابل مشاهده است. شاخص L طی برداشت اول انجام شده در پوست استخوانی تمام ارقام تقریباً در یک سطح (بدون اختلاف معنی دار با یکدیگر در سطح معنی داری 5%) می‌باشند. با ورود به برداشت دوم افت این

شاخص به	منابع تغییرات	$L^*N$	$L^*P$	$a^*N$	$a^*P$	$b^*N$	$b^*P$
نسبت به	زمان	** 118	** 2723/05	** 392/52	** 320/89	** 1505/63	** 352/76
برداشت اول	رقم	** 10/18	ns 5/99	ns 72/36	ns 11/36	** 192/23	* 30/18
می‌شود در	زمان هر رقم	** 4/87	ns 20/19	** 134/33	** 14/33	** 107/42	** 60/65
رقم اکبری	خطا	39/62	18/05	34/14	4/29	17/10	7/07



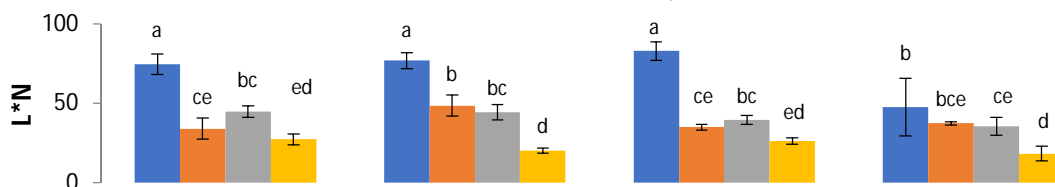
معنی دار این  $R^2$  تبیین شده 0/827 0/878 0/840 0/566 0/905 0/898 شاخص در

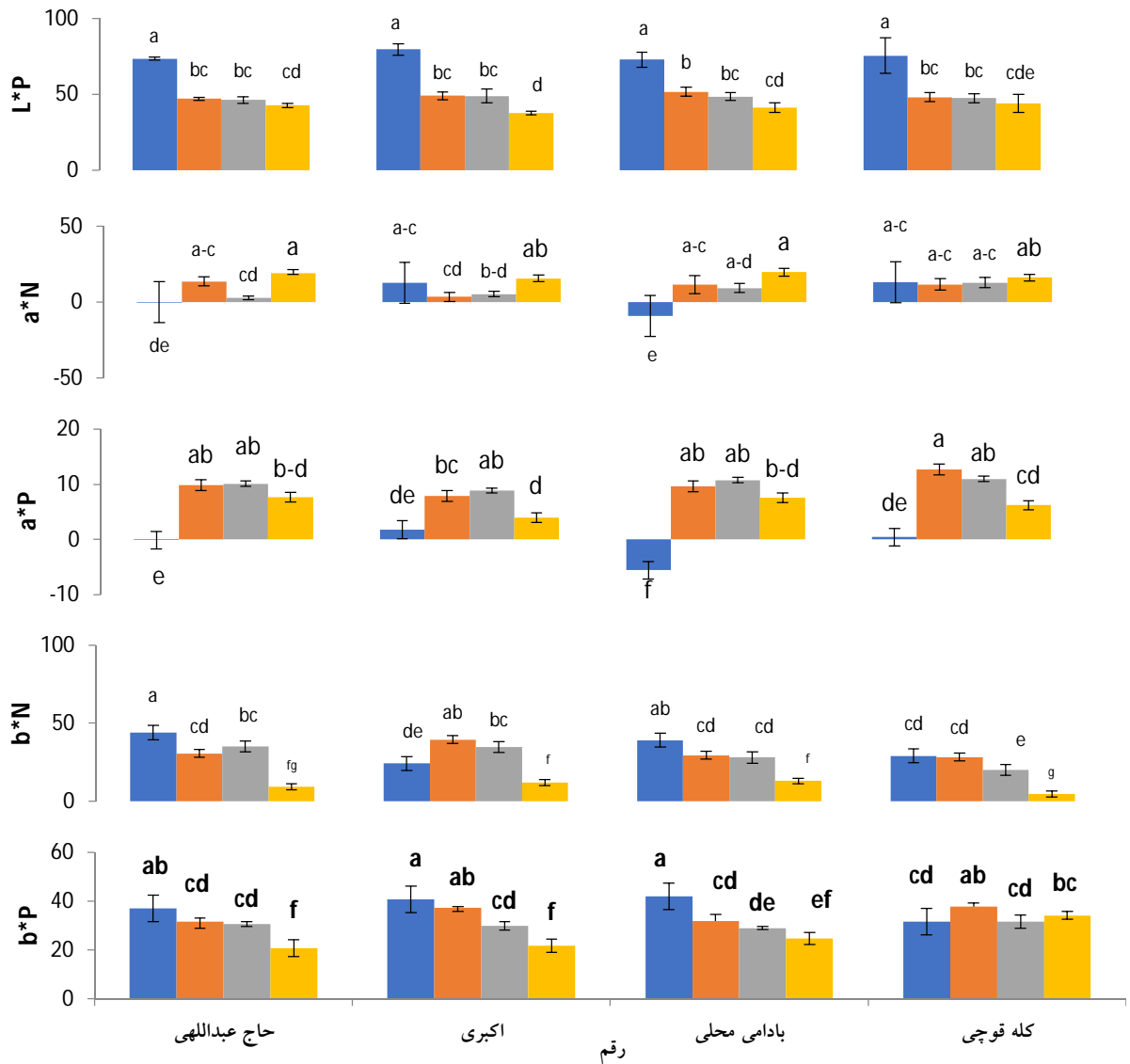
برداشت چهارم به نسبت برداشت‌های دوم و سوم مشاهده شد. شاخص a در برداشت اول در نزولی‌ترین حالت خود می‌باشد. با سپری شدن زمان برداشت، افزایش مقدار شاخص a در چهار رقم مورد مطالعه مشاهده شد بطوریکه در برداشت چهارم بیشترین مقدار معنی‌دار شاخص بویژه در ارقام حاج عبداللهی و بادامی محلی به نسبت به برداشت اول به میزان 11 و 7 برابر مشاهده شد. روند تغییرات صعودی شاخص a در پوست نرم بیرونی میوه در ارقام حاج عبداللهی و بادامی محلی بویژه در برداشت چهارم بیشتر بود. شاخص a در پوست استخوانی در تمام ارقام مورد مطالعه و بویژه در رقم بادامی محلی در اولین برداشت در کمترین مقدار قرار دارد. میزان این شاخص در برداشت دوم افزایش معنی‌دار محسوسی نشان داد و سپس در برداشت‌های سوم و چهارم روند نزولی به خود گرفت. میزان شاخص b در قسمت رویی بافت مغز ارقام مورد مطالعه ابتدا در برداشت‌های دوم و سوم افزایش معنی‌داری نسبت به برداشت اول نشان داد. با اینحال کاهش این شاخص در برداشت چهارم تنها در رقم بادامی محلی (تنها نسبت به برداشت سوم) معنی‌دار بود. مقدار شاخص b پوست نرم بیرونی یا اگزوکارپ در ارقام حاج عبداللهی، بادامی محلی و کله قوچی که در اولین برداشت در بیشترین مقدار خود قرار داشت، شاخص b پوست نرم بیرونی در برداشت چهارم قابل ملاحظه بود در ارقام حاج عبداللهی، اکبری، بادامی محلی و کله قوچی به ترتیب به میزان 5، 2، 3 و 6 برابر نسبت به برداشت اول کاهش یافت. تحلیل داده‌ها نشان داد شاخص b در برداشت چهارم افت قابل توجهی نسبت به سایر برداشت‌های انجام شده بویژه با برداشت اول در ارقام حاج عبداللهی (35%)، اکبری (48%) و بادامی محلی (40%) نشان می‌دهد.

تحقیقات نشان داده است که موافق با نتایج بدست آمده همزمان با رسیدن فصل برداشت مقدار شاخص  $L^*$  و  $b^*$  در قسمت نرم و استخوانی پریکارپ افت قابل ملاحظه‌ای پیدا می‌کند که نشان دهنده از بین رفتن حالت سبز و براق بافت نرم رویی و کدر شدن پوست استخوانی دارد. در این حالت انتظار می‌رود شاخص a افزایش یابد که بویژه در پوست نرم نشان دهنده ظهور رنگ قرمز می‌باشد (7). همچنین زردی ظهور بیش از حد رنگ زرد می‌تواند نشانی بر ظهور لکه پوستی (افزایش مقدار آفلاتوکسین) باشد. با این حال بیشترین تطابق مابین مقدار عددی شاخص‌های برآورد شده با توجه به فاصله زمانی از اولین برداشت می‌تواند یک شاخص نسبی از زمان برداشت مناسب را ارائه کند (8).

### نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که شاخص‌های  $L^*$ ،  $b^*$  در هر دو بخش پوست نرم رویی و استخوانی و شاخص  $a^*$  در پوست نرم رویی که به ترتیب نشان دهنده میزان روشنایی و بازه رنگی آبی تا زرد می‌باشند در طول فصل برداشت بویژه در رقم حاج عبداللهی بیشترین تغییرات را داشته‌اند. بر اساس ارزیابی مولفه‌های رنگ، زمان برداشت رقم حاج عبداللهی و اکبری زودتر از زمان برداشت دو رقم بادامی محلی و کله قوچی پیش‌بینی می‌شود. هر چند برای یک پیش‌بینی دقیق‌تر آنالیز شاخص‌های رنگ بافت مغز، تغییرات محتوای رنگیزه‌ای بویژه در بافت نرم رویی و بافت مغز نیز ضروری می‌باشد.





شکل 1. تغییرات شاخص های L\*N (شاخص L پوشش نرم بیرونی میوه)، L\*P (شاخص L پوشش استخوانی داخلی)، a\*N (شاخص a پوشش نرم بیرونی میوه)، a\*P (شاخص a پوشش استخوانی داخلی)، b\*N (شاخص b پوشش نرم بیرونی میوه)، b\*P (شاخص b پوشش استخوانی داخلی). در ارقام پسته حاج عبداللهی، بادامی محلی، اکبری و کله قوچی طی زمان های مختلف برداشت در مزرعه.. حروفی مشابه نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار در سطح خطای 5% است.

## منابع

1- مریم رفیع زاده، فاطمه میردامادیهها. (1378). تعیین مناسب ترین زمان برداشت پسته به منظور بهینه

کردن کیفیت محصول در رقم اوحدی. گزارش نهایی مؤسسه تحقیقات پسته کشور.

2-Silva, A. L. C., Caruso, C. S., Moreira, R. D. A. and Horta, A. N. C. G., 2005. Growth characteristic and dynamic protein synthesis in callus culture from Glycine. Ciencia e Agrotecnologia. 29, pp.178-186.

3- Fabri, A., Ferguson, L. and Polito, V. S., 1998. Crop load related deformity of developing Pistacia veracv 'Kerman' nuts. Scientia Horticulturae, 77, pp. 219-234.

- 4- Mendozaa, F., Dejmeckb, P. and Aguileraa, J., 2006. Calibrated color measurements of agricultural foods using image analysis, Journal of Postharvest and Biology and Technology, 41, pp. 285-295.
- 5- Mousavi-Kouhi, S.M., Beyk-Khormizi, A., Amiri, M.S., Mashreghi, M., Hashemzadeh, A., Mohammadzadeh, V., Alavi, F., Mottaghipisheh, J., Sarafraz Ardakani, M.R. and Taghavizadeh Yazdi M.E., 2023. Plant Gel-Mediated Synthesis of Gold-Coated Nanoceria Using *Ferula gummosa*: Characterization and Estimation of Its Cellular Toxicity toward Breast Cancer Cell Lines. Journal of Functional Biomaterials. 14, pp. 1-12.
- 6- Panahi, B. and Khezri, M., 2011. Effect of harvesting time on nut quality of pistachio (*Pistacia vera* L.) cultivars. Scientia Horticulture, 4, pp. 730-734.
- 7- Yagoobi-Soureh, A., Alizadeh-Khaled Abad, M. and Rezazad, M. 2013. Application of image processing for determination of L\*, a\* and b\* indices in color measurement of foods. 3, pp. 411-422.
- 8- Ardakani, A.S.H., 2006. The vital role of pistachio processing industries in development of Iran non-oil exports. Acta Horticulture 726, pp. 579-582.
- 9- Shaker ardekani, A., Karim, R., Mohd Ghazali, H. and Chin, N. L., 2011. Effect of roasting conditions on hardness, moisture content and colour of pistachio kernels. International Food Research Journal 18, pp. 723-729.

## Harvest time Comparison of four cultivated pistachio varieties in Ardakan city based on color index

Mohammad Reza Sarafraz Ardakani<sup>1</sup>, Ahmad Shaker Ardakani<sup>2</sup>

1-Department of Biology, Faculty of Science, Yazd University

Email: [sarafraz.ardakani@yazd.ac.ir](mailto:sarafraz.ardakani@yazd.ac.ir)

2-Pistachio Research Center, Horticultural Sciences Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO)

### Abstract.

Pistachio (*Pistachio vera*) is one of the most important commercial tree nuts in Iran, whose quality is closely related to the harvest time. For this purpose, an experiment was conducted as a factorial based on completely randomized design in three replications to investigate the relationship between the color attributes ('L', 'a' and 'b' values) of soft and bony shell of pistachio nuts including Akbari, Kalleh ghochi, Badami mahalli and Haji abdollahi during four harvesting time. L\*a\*b\* indices were extracted with hunterlab device. After the first harvest time (mid-August) and especially compared to the forth harvest (late September), L\* and a\* indices in soft and bony shell showed significant decrease in all cultivars. Also, the a\* index in the soft and bony shell increased significantly as the end of September approached in the studied cultivars compared to the first harvest. According to intensity of color attributes, the highest and least amount of changes during the harvest times was observed in Haji abdollahi and Kalleh ghochi cultivar, respectively which can indicate early and late harvest abdollahi and Kalleh ghochi cultivar in Ardakan city.

**Key words:** Pistachio, L\*a\*b\* color indices, Hunterlab.

بررسی حساسیت لاین های جهش یافته آراییدوپسیس در نبود ژن اسپارتیل پروتئاز در برابر

باکتری سودوموناس سیرینگه

شقایق نظری کدخدائی<sup>1</sup>، مسعود احمدی افزادی<sup>2\*</sup>، سعید میرزایی<sup>2</sup>، مریم عبدلی نسب<sup>2</sup>

1-دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک و به نژادی گیاهی، گروه بیوتکنولوژی، پژوهشکده علوم محیطی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان.

نویسنده مسئول: shaghayeghnazari20@gmail.com

2- استادیار، گروه بیوتکنولوژی، پژوهشکده علوم محیطی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان.

## چکیده

در این مطالعه میزان مقاومت گیاه آرابیدوپسیس (گونه Col0) و لاین های موتانت آن که با روش CRISPR/Cas9 ژن اسپارتیل پروتئاز در آن ها خاموش شده بود در برابر باکتری سودوموناس سیرینگه در شرایط آزمایشگاهی ارزیابی شد. تصویر نمونه های بدست آمده به وسیله نرم افزار imagej مورد ارزیابی قرار گرفت. هم چنین صفات مورفولوژیک گیاه اندازه گیری و مقایسه شد. نتایج بررسی آزمایشگاهی نشان داد که نمونه وحشی Col0 که ژن مذکور در آن فعال بود، نسبت به لاین های موتانت آن در برابر باکتری مقاوم بوده و لکه های بیماری روی برگ های آن مشاهده نشد. موتانت های Asp1 و Asp5 با ایجاد لکه های بیماری روی برگ های آن ها، نسبت به بیماری حساسیت نشان دادند. در نتیجه چنین احتمال می رود که ژن اسپارتیل پروتئاز در فرآیند ایجاد مقاومت در برابر باکتری سودوموناس سیرینگه نقش داشته باشد.

واژگان کلیدی: آرابیدوپسیس تالیانا، باکتری سودوموناس سیرینگه، ژن اسپارتیل پروتئاز، CRISPR/Cas9

## مقدمه

آرابیدوپسیس (*Arabidopsis thaliana*) یک گیاه کوچک و بومی اروپا، آسیا و شمال غربی آفریقا است. آرابیدوپسیس تالیانا یکساله و دولپه ای و از خانواده شب بویان<sup>46</sup> است. این گیاه اولین گیاهی است که ژنوم آن به طور کامل توالی یابی شد و به عنوان یک گیاه مدل در زیست شناسی گیاهی استفاده می شود (1). از آنجا که آرابیدوپسیس تقریباً ژن تکراری ندارد و در دسترس بودن تمام توالی ژنوم این گیاه که دارای 3000 ژن است که فقط روی 5 جفت کروموزوم قرار دارند که منجر به سادگی کار با آن شده است. اخیراً به طور گسترده از آرابیدوپسیس تالیانا برای بررسی همزمان بیان ژن ها طی حمله بیمارگر و تیمارهای غیر زنده استفاده شده است (2).

سودوموناس سیرینگه، به عنوان یکی از مهم ترین مدل های آسیب شناسی در مطالعه اکولوژی باکتریایی، سازوکارهای آسیب شناسی تکوینی و سیستم ایمنی گیاهان به شمار رفته است. به علت اهمیت فراوان در پژوهش های زیستی پایه، به ویژه در شیوع بیماری های به لحاظ اقتصادی مهم، این باکتری به عنوان باکتری شماره یک در آسیب شناسی گیاهی مولکولی انتخاب شده است (3). مایه زنی گیاه آرابیدوپسیس تالیانا با باکتری *Pseudomonas syringae* به عنوان یک مدل مهم برای مطالعه واکنش های گیاهی میکروبی مورد استفاده بوده که منجر به رشد و پیشرفت های بی شماری در درک سیستم ایمن گیاهی و مکانیزم های آسیب شناسی تکوینی شده است. ارزیابی عفونت باکتریایی و بیماری های گیاهی از آزمون های اصلی در مطالعه برهم کنش های گیاهان و عوامل بیماری زا است. باکتری سودوموناس سیرینگه از طریق زخم ها یا روزنه های باز ناشی از آسیب های طبیعی وارد غشای برگ های گیاهان شده و با جذب مواد مغذی درون فضای آپوپلاستی برگ ها تکثیر یافته و خارج سلول های گیاهی تجمع می یابد، سپس سلول های گیاه

<sup>46</sup> Brassicaceae

حضور میکروب را درک نموده و پاسخ‌های دفاعی را برای محدود کردن رشد باکتری فعال می‌کنند که بسیاری این پاسخ‌ها با بیان ژن‌ها در ارتباط هستند (3).

توالی ژنوم آرابیدوپسیس اطلاعاتی در مورد مکمل پروتئین‌های آسپارتیک یک گیاه به ما داده است (4). پروتئین‌های آسپارتیک خانواده ای از آنزیم‌ها هستند که در تعدادی از فرآیندهای بیولوژیکی مهم نقش دارند (5). بررسی تعداد نسبتاً کمی از ژن‌های پروتئاز نقش مهمی را برای پروتئازها در انتقال سیگنال، رشد برگ و جنین و مقاومت به بیماری نشان داده است (6). پروتئازهای آسپارتیک یکی از چهار کلاس مکانیکی آنزیم‌های پروتئولیتیک هستند. پروتئازهای آسپارتیک (Aps) یک خانواده از آنزیم‌های پروتئولیک هستند که به طور گسترده در بین موجودات زنده از جمله مهره داران، گیاهان، مخمرها، نماتدها، انگل‌ها، قارچ‌ها و ... توزیع شده‌اند. این آنزیم‌ها تجزیه کننده هستند که با استفاده از یک مولکول آب و در PH اسیدی فعال می‌شوند (7).

در این تحقیق از لاین‌هایی که در آنها ژن آسپارتیل پروتئاز با استفاده از روش CRISPR/Cas9 خاموش شده بود، استفاده شد تا میزان حساسیت این لاین‌ها در مقابل گونه وحشی مورد ارزیابی قرار گیرد.

## مواد و روش‌ها

بر اساس مطالب موجود بحث مقاومت گیاهان با وجود ژن آسپارتیل پروتئاز<sup>47</sup> (Asp) در برابر بیماری‌ها، با استفاده از گیاه مدل آرابیدوپسیس در نبود ژن مقاوم Asp، در برابر باکتری سودوموناس سیرینگه، پژوهشی صورت گرفت و میزان مقاومت گیاه در برابر باکتری اندازه گیری و بررسی شد.

## 1) مواد گیاهی

از دو لاین جهش یافته تولید شده با روش CRISPR/Cas 9 به نام‌های Asp1 و Asp5، هم چنین نمونه وحشی Col0 استفاده شد. برای این پژوهش آزمایشی بر پایه طرح کاملاً تصادفی در قالب سه تکرار در دانشگاه تحصیلات تکمیلی و فناوری‌های پیشرفته بدین شرح انجام شد. در این آزمایش ابتدا سه گل‌دان با زیرگل‌دانی آماده گردید و داخل هر گل‌دان کوکویت ریخته شد، در هر گل‌دان مقدار تقریبی 50 بذر کاشته شد، در گل‌دان اول بذر رقم وحشی کولومبیا (Col0) کاشته و آبیاری شد، به ترتیب در دو گل‌دان دیگر بذرهای Asp1 (لاین جهش یافته اول) و Asp5 (لاین جهش یافته پنجم) که دو لاین جهش یافته مستقل برای ژن آسپارتیل پروتئاز به روش CRISPR/Cas9 هستند، کاشته و آبیاری شدند. گل‌دان‌ها آبیاری شده و به منظور جوانه زنی در دمای 25 درجه سانتی‌گراد و روز بلند (16 ساعت روشنایی و 8 ساعت تاریکی) درون دستگاه ژرمیناتور داخل آزمایشگاه قرار گرفتند. پس از جوانه زدن گیاهان، 60 گل‌دان تهیه شد و داخل هر کدام کوکویت ریخته شد و یک نشا از نشاهای سبز شده به داخل هر گل‌دان انتقال یافت. آبیاری به صورت هفته ای سه مرتبه با کود کامل و کود آهن انجام گرفت.

## 2) سویه باکتری

<sup>47</sup> *aspartyl protease*

باکتری سودوموناس سیرینگه از دانشگاه شیراز تهیه شد. هود لامینار با الکل 70 درصد ضدعفونی شد و از روی سویه اولیه باکتری روی محیط کشت LB (Luria-Bertani)، در شرایط استریل درون پلیت با استفاده از لوپ استریل شده با شعله مستقیم کشت خطی صورت گرفت و پلیت به مدت 48 ساعت در دمای 30 درجه سانتی گراد درون انکوباتور قرار گرفت. پس از دو روز و مشاهده رشد باکتری درون پلیت، باکتری درون یخچال با دمای 20- درجه سانتی گراد، قرار گرفت.

## 1-2 روش تهیه سوسپانسیون باکتری برای تلقیح به گیاهان

محیط کشت LB مایع تهیه و درون اتوکلاو استریل شد. سپس زیر هود لامینار که با الکل 70 درصد ضدعفونی شده بود منتقل گردید. پلیت باکتری کشت داده شده نیز از یخچال خارج و پس از استریل کردن زیر هود قرار گرفت. داخل یک فالكون که از قبل با اتوکلاو استریل شده بود به اندازه 10 میلی لیتر محیط کشت مایع ریخته شد و یک لوپ باکتری از روی محیط کشت جامد برداشته و درون محیط کشت مایع قرار داده و مخلوط گردید. سپس درون شیکر انکوباتور با دمای 30 درجه سانتی گراد بصورت افقی به مدت 24 ساعت قرار داده شد. روز بعد OD نمونه با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتری (UV-Vis مدل Cary60) با طول موج 600 گرفته شد که 0/3 بود. نمونه درون دستگاه سانتریفیوژ با دور 2500 و زمان 10 دقیقه قرار گرفت. پس از سانتریفیوژ شدن رسوب گذاری اتفاق افتاد و مایع رویی بیرون ریخته شد و به آن 1/2 میلی لیتر سیلوت اضافه و با سمپلر هم زده شد. درون یک فالكون دیگر مقدار 5 میلی لیتر آب مقطر استریل و 1/2 میلی لیتر سیلوت اضافه و مخلوط گردید. نمونه ها برای تلقیح آماده شدند.

## 2-2 تلقیح سوسپانسیون باکتری به گیاهان

پس از گذشت یک ماه و رشد کردن گیاهان، به ده گلدان از هر رقم جهش یافته، با سوسپانسیون باکتری مایه زنی شد و ده گلدان نیز به عنوان شاهد در نظر گرفته شدند و با آب مایه زنی شدند. به این صورت که برای نمونه وحشی Col0 به 10 گلدان، هر گلدان دو برگ مقدار 20 میکرولیتر باکتری مایه زنی شد و 10 گلدان شاهد Col0 نیز با مخلوط آب و سیلوت مایه زنی شدند. مایع زنی باکتری برای موتانت های Asp1 و Asp5 نیز به همین صورت انجام انجام گرفت. پس از گذشت 3 روز از تلقیح لکه های آلودگی روی برخی از برگ های موتانت هایی که با باکتری تلقیح شده بودند مشاهده شد. سپس میزان آلودگی ایجاد شده روی هر یک از نمونه های اندازه گیری و داده ها مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین خصوصیات مورفوفیزیولوژیک گیاهان مانند ارتفاع با استفاده از خط کش، وزن خشک تک بوته و وزن بذر با استفاده از ترازو اندازه گیری و مقایسه شد. تعداد برگ های هر گیاه شمرده و یادداشت گردید.

## 3-2 تجزیه و تحلیل داده ها

داده های این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و با استفاده از نرم افزار مینی تب ورژن 17 و در سطح آماری یک درصد مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. مقایسه میانگین ها نیز با روش توکی و در سطح آماری پنج درصد انجام پذیرفت. رسم نمودارها برای تیمارهای معنی دار شده نیز با استفاده از نرم افزار اکسل انجام پذیرفت.

## نتایج و بحث

## 1) نتایج تجزیه واریانس

بررسی نتایج تجزیه واریانس، نشان داد که برای صفت تعداد غلاف در هر بوته ( $P=0.357$ ) و وزن دانه ( $P=0.086$ ) تعداد شاخه های جانبی هر بوته ( $P=0.0997$ ) بین تیمارها تفاوت معنی داری وجود نداشت (جدول 1). برای صفت ارتفاع هر بوته ( $P=0.014$ ) و صفت تعداد برگ های هر بوته ( $P=0.015$ ) و وزن خشک تک بوته ( $P=0.05$ ) در سطح 5 درصد و برای صفت درصد آلودگی ( $P=0.001$ ) تفاوت معنی داری در بین تیمارها دیده شد (جدول 1).

## 2) نتایج مقایسه میانگین

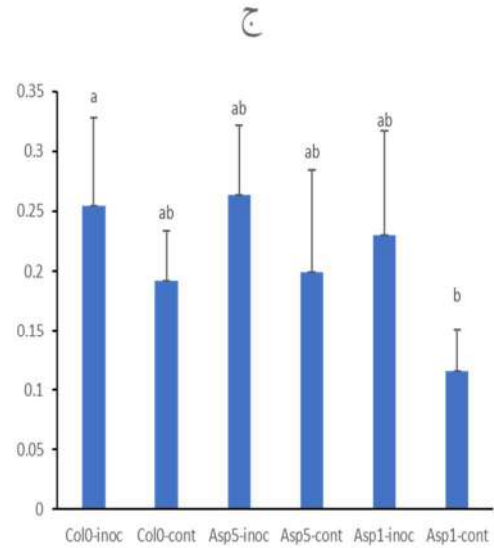
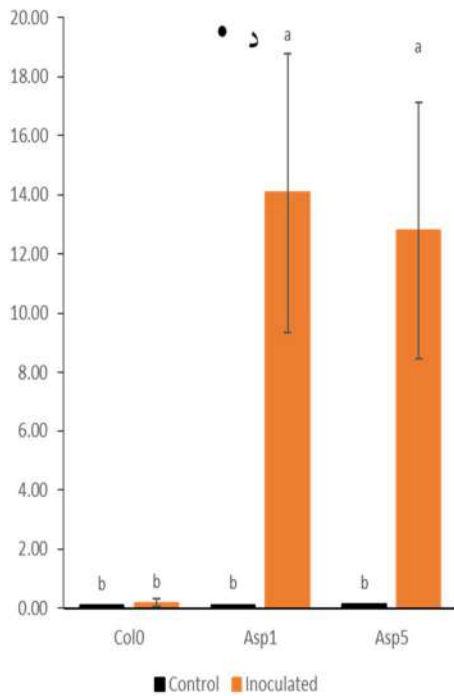
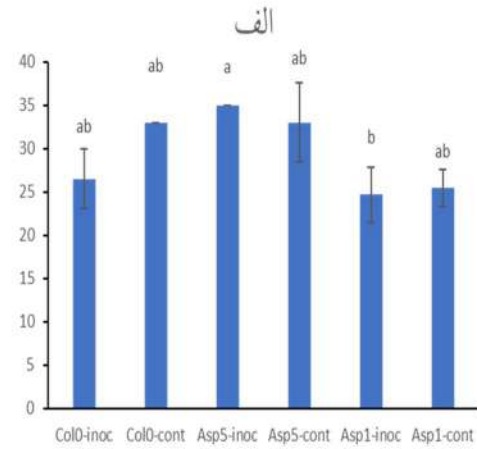
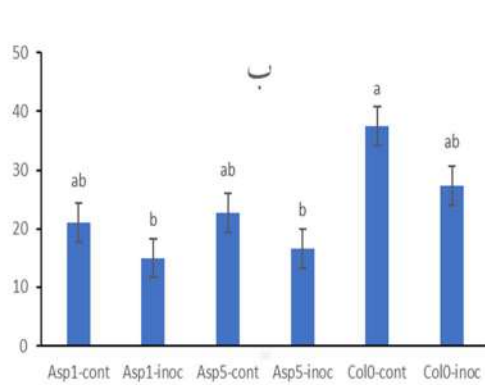
برای صفت ارتفاع و تعداد برگ های هر بوته و وزن خشک تک بوته و درصد آلودگی تیمارها مقایسه میانگین با روش توکی<sup>48</sup> انجام گرفت. بر اساس نتایج مقایسه میانگین ها برای صفت ارتفاع، بیشترین ارتفاع برای تیمار Asp5 تلقیح شده با باکتری و کمترین ارتفاع برای تیمار Asp1 تلقیح شده با باکتری بود (شکل الف). برای صفت تعداد برگ در بوته بیشترین تعداد برگ برای تیمار Col0 کنترل و کمترین تعداد برگ برای تیمار Asp1 تلقیح شده بود (شکل ب). برای صفت وزن خشک تک بوته بیشترین وزن برای تیمار Col0 کنترل و کمترین وزن برای تیمار Asp1 کنترل بود (شکل ج). بیشترین درصد آلودگی بین تیمارها، Asp1 تلقیح شده و کمترین درصد آلودگی برای تیمار Asp5 تلقیح شده بود (شکل د).

جدول 1 نتایج تجزیه واریانس برای صفات مورد بررسی

میانگین مربعات							
منابع تغییرات	ارتفاع (cm)	تعداد برگ	وزن خشک تک بوته (gr)	تعداد شاخه های جانبی	تعداد غلاف	وزن دانه (gr)	درصد آلودگی
آلودگی	51,52*	159,55*	0,012045*	0,1368 <sup>ns</sup>	636,2 <sup>ns</sup>	0,000313 <sup>ns</sup>	407,95***
خطا	10,22	34,05	0,00461	2,2308	483,6	0,000136	5,93
کل	359,8	1172,2	0,15705	29,6842	6566	0,004149	2330,3

ns معنی دار نبوده است، \* در سطح 0,05 معنی دار بوده است، \*\* در سطح 0,01 معنی دار بوده است، \*\*\* در سطح 0,001 و کمتر معنی دار بوده است.

<sup>48</sup> Tukey



نمودار 1- نتایج مقایسه میانگین صفات مورد بررسی: الف) ارتفاع هر بوته، ب) تعداد برگ در هر بوته،

ج) وزن خشک تک بوته، د) درصد آلودگی

### نتیجه گیری

نتایج به دست آمده نشان داد که ژن (Asp) در گیاه آرابیدوپسیس باعث ایجاد مقاومت در برابر عامل بیماری (باکتری سودوموناس سیرینگه) شده است و خاموش بودن ژن باعث ایجاد حساسیت در گیاه در برابر عامل بیماری شده است.

### منابع



1. Cheng CY, Krishnakumar V, Chan AP, Thibaud Nissen F, Schobel S, Town CD. Araport11: a complete reannotation of the Arabidopsis thaliana reference genome. *The Plant Journal*. 2017;89(4):789-804.
2. Holub EB. Natural history of Arabidopsis thaliana and oomycete symbioses. *The Downy Mildews-Genetics, Molecular Biology and Control*. 2008:91-109.
3. Gimenez-Ibanez S, Rathjen JP. The case for the defense: plants versus Pseudomonas syringae. *Microbes and Infection*. 2010;12(6):428-37.
4. Faro C, Gal S. Aspartic proteinase content of the Arabidopsis genome. *Current Protein and Peptide Science*. 2005;6(6):493-500.
5. Cooper J. Aspartic proteinases in disease: a structural perspective. *Current drug targets*. 2002;3(2):155-73.
6. Beers EP, Jones AM, Dickerman AW. The S8 serine, C1A cysteine and A1 aspartic protease families in Arabidopsis. *Phytochemistry*. 2004;65(1):43-58.
7. Simoes I, Faro C. Structure and function of plant aspartic proteinases. *European journal of biochemistry*. 2004;271(11):2067-75.

## Evaluation of disease sensitivity in Arabidopsis mutant lines for the aspartyl protease gene

Shaqayeq Nazari-kadkhodae<sup>1</sup>, Masoud Ahmadi-afzadi<sup>2\*</sup>, Saeid Mirzaei<sup>2</sup>, Maryam Abdolinasab<sup>2</sup>

Department of Biotechnology, Institute of Science High Technology & Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran

Shaghayeghnazari20@gmail.com

### Abstract

In this study, the level of resistance of Arabidopsis thaliana plant and its mutant lines, in which the aspartyl protease resistant gene was silenced by CRISPR cas9 method, was investigated in laboratory conditions against Pseudomonas syringae. The image of the obtained samples was evaluated by imagej software. Also, the morphological traits of the plant were measured and compared. The results of laboratory investigations showed that the wild Col0 sample, in which the resistance gene was active, was resistant to bacteria compared to its mutant lines, and no disease spots were observed on its leaves. Asp1 and Asp5 mutants were not resistant to the disease by developing disease spots on their leaves. As a result, aspartyl protease gene makes Arabidopsis thaliana resistant to Pseudomonas syringae than its mutants.

**Key words:** Arabidopsis thaliana, Pseudomonas syringae, aspartyl protease, Crisper cas9

## مقایسه پتانسیل آللوپاتیک برخی از گیاهان دارویی خانواده نعنائیان

ساسان محسن زاده<sup>\*</sup>، مهناز برمشوری

\* نویسنده مسئول: استاد فیزیولوژی گیاهی گروه زیست شناسی دانشکده علوم دانشگاه شیراز

\* mohsenz@shirazu.ac.ir

## 2- دانش آموخته ارشد فیزیولوژی گیاهی گروه زیست شناسی دانشکده علوم دانشگاه شیراز

## چکیده

پتانسیل آللوپاتیک چهار گونه از گیاهان دارویی خانواده نعناعیان به نامهای گوش بره، فراسیون، پونه سا و پنج انگشت بررسی شدند. پتانسیل آللوپاتیک از طریق اثر بر جوانه زنی بذر و رشد گیاهچه دژگال بررسی گردید. افزایش غلظت عصاره آبی گیاهان باعث کاهش جوانه زنی، طول ساقه و ریشه گیاهچه دژگال شد. بعلت پتانسیل آللوپاتیک این گیاهان، می توان از ترکیبات موجود آنها در کنترل علف های هرز از جمله دژگال استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: آللوپاتی، خانواده نعنائیان، دژگال، گیاهان دارویی

## مقدمه

از بین گیاهان دارویی، تیره نعناعیان اهمیت زیادی دارد. گیاه گوش بره *Phlomis olivieri* یک گیاه گلدار از خانواده نعناعیان (Lamiaceae) و بومی ایران می باشد. جنس *Phlomis* در فلور ایرانیکا دارای 17 گونه است. گونه *P. olivieri* فقط در ایران یافت می شود. (1). گیاه فراسیون *Marrubium vulgare* یک گیاه گلدار از خانواده نعناعیان بومی اروپا، شمال آفریقا و جنوب غربی آسیای مرکزی است (2). پونه سا یا *Nepata ucrainica* یک گیاه گلدار از خانواده نعناعیان و علفی چندساله است که تا 60 سانتیمتر رشد می کند. این جنس دارای 225 گونه است (3). پنج انگشت (*Vitex agnus-castus*) یک گیاه گلدار از خانواده نعناعیان به ارتفاع 1 تا 5 متر رشد می کند. این گیاه ساکن مناطق با آب شور است (4). دژگال (*Echinochloa spp*) دژگال یا سوروف یک علف هرز بومی آسیا است که در حال حاضر در تمامی دنیا گسترده شده است. سوروف یک علف هرز یکساله با برگ های کشیده و از خانواده غلات است که از طریق بذر تکثیر میشود. جنس این علف هرز دارای بیش از 50 گونه است. ارتفاع و خصوصیات کلی گیاهشناسی این علف هرز شبیه به برنج میباشد و در نگاه کلی و بدون توجه به برخی خصوصیات مورفولوژی، امکان شناسایی این گیاه از برنج وجود ندارد (5). آللوپاتی یک پدیده بیولوژیکی است که توسط یک ارگانسیم با تولید یک یا چند ماده شیمیایی بر جوانه زنی، رشد، بقا و تولید مثل سایر موجودات تاثیر می گذارد. این مواد به عنوان آللوکمیکال ها شناخته می شوند. مواد آللوکمیکال متابولیت های ثانویه ای هستند که برای متابولیسم (یعنی رشد، تکوین و تولید مثل) موجود تولید کننده آنها ضروری نمی باشند (6). اثرات آللوپاتی موضوع تحقیقات بیشماری در کشاورزی است (7). در این پژوهش پتانسیل آللوپاتیک چهار گونه از گیاهان دارویی خانواده نعناعیان بررسی شد.

## مواد و روشها

گیاه *V. agnus-castus* از ایستگاه تحقیقاتی فسا در استان فارس تهیه گردید. گیاهان *M. vulgare* و *P. olivieri* و *N. ucrainica* از مرکز تحقیقات حسن آباد شیراز در زمان شروع گلدهی جمع آوری گردیدند. بذر گیاه دژگال شامل *Echinochloa*

*oryzoides* و *E. crus-gali* از موسسه تحقیقات برنج تبریز تهیه گردیدند. جهت تهیه عصاره متانولی، مقدار 0/1 گرم و برای تهیه عصاره آبی، مقدار 10 گرم پودر درون فالكون دارای پوشش آلومینیم ریخته شد. سپس 10 میلی لیتر متانول 99 درصد یا 100 میلی لیتر آب مقطر به هر یک از فالكون‌ها اضافه گردید. به مدت 48 ساعت در دمای اتاق بر روی شیکر قرار داده شدند. به ترتیب صفر، 1/0، 2/0، 3/0، 4/0 و 5/0 میلی لیتر عصاره به ویال‌های اضافه گردید. سپس حجم محلول در ویال‌ها با آب مقطر به 5,0 میلی لیتر رسانده شد تا غلظت‌های مختلف عصاره حاصل گردد. پس از گذشت حدود دو الی سه روز مریستم ریشه و پس از آن مریستم اندام هوایی ظاهر گردید. پس از گذشت یک هفته شاخص‌هایی مانند درصد جوانه زنی، طول ریشه چه و ساقه چه اندازه گیری و ثبت گردید. کلیه داده‌ها با استفاده از برنامه آماری SPSS 24 و Excel 2016 با آزمون ANOVA دو طرفه در سطح  $\alpha=0/05$  تجزیه و تحلیل گردید. تمام آزمایش‌ها در سه تکرار انجام گرفت.

### نتایج و بحث

مقایسه درصد جوانه زنی بذره‌های تیمار شده با غلظت‌های مختلف عصاره آبی گیاهان مورد مطالعه نشان داد که گیاه *N. ucrainica* دارای بیشترین پتانسیل آللوپاتی بوده است بطوریکه کمترین درصد جوانه زنی در حضور عصاره این گیاه با غلظت 0/3 و 0/4 گرم در 5 میلی لیتر آب مقطر صورت پذیرفته است. مقایسه میانگین جوانه زنی بذر دژگال در حضور غلظت‌های مختلف عصاره نشان داد که بیشترین اثر بر جوانه زنی مربوط به گیاه *N. ucrainica* می باشد. در بین گیاهان دیگر مورد مطالعه اختلاف معنی دار آماری در سطح  $\alpha=0/05$  در پتانسیل آللوپاتی مشاهده نگردید (جدول 1).

جدول 1- مقایسه درصد جوانه زنی علف هرز دژگال در حضور غلظت‌های مختلف عصاره آبی گیاهان دارویی

g DW 5ml <sup>-1</sup>	<i>Nepeta ucrainica</i>	<i>Marrobbium vulgare</i>	<i>Vitex agnus-castus</i>	<i>Phlomis olivieri</i>
0	10 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
0,1	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
0,2	87 <sup>a</sup>	83 <sup>a</sup>	93 <sup>a</sup>	87 <sup>a</sup>
0,3	0 <sup>b</sup>	63 <sup>a</sup>	90 <sup>a</sup>	77 <sup>b</sup>
0,4	0 <sup>b</sup>	63 <sup>c</sup>	70 <sup>b</sup>	43 <sup>c</sup>
0,5	-	27 <sup>d</sup>	0 <sup>c</sup>	10 <sup>d</sup>
میانگین	47,77*	73,33**	75,55**	69,44**

اعداد با حروف متفاوت در هر ستون براساس آزمون دانکن ( $\alpha=0/05$ ) دارای اختلاف معنی دار هستند. هر عدد میانگین سه تکرار  $\pm$  Standard Error (می باشد. ستاره ها اختلاف معنی دار میانگین ها را نشان می دهند.

مقایسه میانگین رشد طول ریشه با غلظت های مختلف عصاره آبی گیاهان مورد مطالعه نشان داد که گیاه *N. ucrainica* که دارای بیشترین پتانسیل آللوپاتی بوده از کمترین رشد ریشه نیز برخوردار می باشد. مقایسه میانگین بین گروه های مورد مطالعه نیز نشان داد که میانگین رشد طول ساقه در دو گروه *V. agnus-castus* و *N. ucrainica* معنی دار می باشد. در رابطه با بررسی اثر عصاره بر رشد ریشه گیاهچه دژگال، عصاره گیاه دارویی *N. ucrainica* بیشترین ممانعت را از رشد ریشه بعمل آورده است. با افزایش غلظت عصاره ها رشد ریشه کاهش بیشتری نشان می دهد که در اکثر موارد میزان کاهش از لحاظ آماری معنی دار می باشد. کمترین اثر مربوط به گیاهان *P. olivieri* و *M. vulgare* بوده است. همچنین اختلاف معنی دار آماری در میانگین طول ریشه چه بین دو گیاه *N. ucrainica* و *V. agnus-castus* با یکدیگر و با دو گیاه دارویی دیگر وجود دارد (جدول 2 و 3).

جدول 2- مقایسه طول ساقه چه علف هرز دژگال بر حسب سانتیمتر در حضور غلظت های مختلف عصاره آبی گیاهان دارویی

g DW 5ml <sup>-1</sup>	<i>Nepeta ucrainica</i>	<i>Marrobium vulgare</i>	<i>Vitex agnus-castus</i>	<i>Phlomis olivieri</i>
0	5,1 ± 0,44 <sup>a</sup>	5,1 ± 0,44 <sup>a</sup>	5,1 ± 0,44 <sup>a</sup>	5,1 ± 0,44 <sup>a</sup>
0,1	0,23 ± 0,03 <sup>b</sup>	3,5 ± 0,28 <sup>a</sup>	3,2 ± 0,43 <sup>a</sup>	3,2 ± 0,41 <sup>a</sup>
0,2	0,1 ± 0,03 <sup>b</sup>	1,5 ± 0,23 <sup>b</sup>	0,2 ± 0,05 <sup>b</sup>	2,6 ± 0,35 <sup>a</sup>
0,3	0,0 ± 0,00 <sup>b</sup>	1,06 ± 0,12 <sup>b</sup>	0,13 ± 0,03 <sup>b</sup>	2,3 ± 0,40 <sup>b</sup>
0,4	0,0 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,5 ± 0,01 <sup>b</sup>	5,1 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,5 ± 0,11 <sup>c</sup>
0,5	-	0,25 ± 0,03 <sup>b</sup>	00 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,2 ± 0,05 <sup>c</sup>
میانگین	1,03 ± 0,11 <sup>*</sup>	2,00 ± 0,20 <sup>***</sup>	1,47 ± 0,24 <sup>**</sup>	2,33 ± 0,30 <sup>***</sup>

اعداد با حروف متفاوت در هر ستون براساس آزمون دانکن ( $\alpha = 0/05$ ) دارای اختلاف معنی دار هستند. هر عدد میانگین سه تکرار  $\pm$  (Standard Error) می باشد. ستاره ها اختلاف معنی دار میانگین ها را نشان می دهند.

جدول 3- مقایسه میانگین طول ریشه علف هرز دژگال بر حسب سانتیمتر در حضور غلظت های مختلف عصاره آبی گیاهان دارویی

g DW 5ml <sup>-1</sup>	<i>Nepeta ucrainica</i>	<i>Marrobium vulgare</i>	<i>Vitex agnus-castus</i>	<i>Phlomis olivieri</i>
0	4,5 ± 0,50 <sup>a</sup>	4,5 ± 0,50 <sup>a</sup>	4,5 ± 0,50 <sup>a</sup>	4,5 ± 0,50 <sup>a</sup>
0,1	0,1 ± 0,03 <sup>b</sup>	3,5 ± 0,26 <sup>a</sup>	4,0 ± 0,05 <sup>a</sup>	4,0 ± 0,20 <sup>a</sup>
0,2	0,1 ± 0,00 <sup>b</sup>	1,8 ± 0,16 <sup>b</sup>	0,6 ± 0,25 <sup>b</sup>	2,5 ± 0,75 <sup>b</sup>
0,3	0,0 ± 0,00 <sup>b</sup>	1,03 ± 0,03 <sup>c</sup>	0,33 ± 0,05 <sup>c</sup>	1,0 ± 0,05 <sup>c</sup>
0,4	0,0 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,36 ± 0,06 <sup>d</sup>	0,1 ± 0,00 <sup>c</sup>	0,36 ± 0,00 <sup>d</sup>
0,5	-	0,23 ± 0,03 <sup>d</sup>	0,0 ± 0,00 <sup>c</sup>	0,13 ± 0,00 <sup>d</sup>

میانگین  $0,83 \pm 0,08^{***}$   $2,06 \pm 0,14^*$   $1,58 \pm 0,14^{**}$   $2,09 \pm 0,28^*$

اعداد با حروف متفاوت در هر ستون براساس آزمون دانکن ( $\alpha = 0/05$ ) دارای اختلاف معنی دار هستند. هر عدد میانگین سه تکرار  $\pm$  (Standard Error) می باشد. ستاره ها اختلاف معنی دار میانگین ها را نشان می دهند.

نتایج نشان میدهد که با افزایش غلظت عصاره گیاهان مورد مطالعه در محیط بذر دژگال، جوانه زنی، طول ریشه و طول ساقه این گیاه را کاهش به طوریکه بیشترین درصد جوانه زنی در تیمار شاهد به میزان 100 درصد و کمترین آن در عصاره آبی گیاه *N. ucrainica* در غلظت 5/5 گرم وزن خشک در میلی لیتر مشاهده گردید. همچنین طبق نتایج عصاره آبی گیاهان استفاده شده طول ریشه و ساقه گیاهان دژگال را با افزایش غلظت به طور معنی دار کاهش دادند به طوریکه طول ساقه از 5/1 سانتی متر در تیمار شاهد به 0/1 سانتی متر در عصاره آبی گیاه *N. ucrainica* و طول ریشه نیز از 4/5 سانتی متر در تیمار شاهد به 0/1 سانتی متر تقلیل یافت. اثر آلوپاتی 5 گیاه از خانواده نعنا را بر بذر دژگال بررسی گردید و بیان داشتند که استفاده مستقیم عصاره خام گیاه *Leucas aspera* و *Hyptis suaveolens* می تواند بعنوان علف کش زیستی مورد استفاده قرار گیرد (8).

#### نتیجه گیری

در این پژوهش پتانسیل آلوپاتیک چهار گونه از گیاهان دارویی خانواده نعنائیان به نامهای فارسی گوش بره، فراسیون، پونه سا و پنج انگشت بررسی شدند. این گیاهان بعلت پتانسیل آلوپاتیک، می توان از ترکیبات موجود آنها در کنترل علف های هرز از جمله دژگال استفاده نمود. لذا کاشت آنها توسط کشاورزان و شرکتهای دارویی و کشاورزی توصیه می گردد. این گیاهان مرتعی بوده ولی قابلیت ترویج و کشت شدن را دارند لذا ترویج و اشاعه علوم و فناوری این گیاهان دارویی از طریق نتایج این مقاله قابل انجام است.

#### منابع

- 1- Sarkhail, P., Abdollahi, M., and Shafiee, A., 2003. Antinociceptive effect of *Phlomis olivieri* Benth., *Phlomis anisodonta* Boiss. and *Phlomis persica* Boiss. total extracts. *Pharmacological Research*, 48(3), 263-266. [https://doi.org/10.1016/s1043-6618\(03\)00151-8](https://doi.org/10.1016/s1043-6618(03)00151-8)
- 2- Acimovic, M., Jeremic, K., and Salaj, N., 2020. *Marrubium vulgare* L.: A Phytochemical and Pharmacological Overview. *Molecules*, 25(12), 2898. <https://doi.org/10.3390/molecules25122898>
- 3- Sharma, A., Cooper, R., Bhardwaj, G., and Connoo D.S., 2021. The genus *Nepeta*: Traditional uses, phytochemicals and pharmacological properties. *Journal of Ethnopharmacology*, 268, 113679. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113679>
- 4- Schellenberg, R., 2001. Treatment for the premenstrual syndrome with *Agnus castus* fruit extract: prospective, randomized, placebo controlled study. *BMJ*, 322(7279), 134-137. <https://doi.org/10.1136/bmj.322.7279.134>
- 5- Sparacino, A. C., Santin, C., Ditto, D., and Tano, F., 2007. Morphological characteristics of the most spread *Echinochloa* spp. in Italian rice-fields. *Proceedings of the 4th Temperate Rice Conference*, Novara, Italy.
- 6- Stamp, N., 2003. Out of the quagmire of plant defense hypotheses. *The Quarterly Review of Biology*, 78(1), 23-55. <https://doi.org/10.1086/367580>

- 7- **Kong, C. H., Hu, F., Wang, P., and Wu, J. L., 2008.** Effect of allelopathic rice varieties combined with cultural management options on paddy field weeds. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 64(3), 276-282. <https://doi.org/10.1002/ps.1521>
- 8- **Islam, A. K. M., and Kato-Noguchi, H., 2013.** Allelopathic potential of five Labiatae plant species on barnyard grass (*Echinochloa crus-galli*). *Australian Journal of Crop Science*, 7(9), 69-74. <https://doi.org/10.3316/informit.619567483321284>.

## Comparing the Allelopathic Potential of Some Medicinal Plants of Lamiaceae Family

Sasan Mohsenzadeh\*, Mahnaz Barmeshuri

Email: \*1- Professor of plant physiology, Department of Biology, School of Science, Shiraz University, Shiraz, Iran  
[mohsenz@shirazu.ac.ir](mailto:mohsenz@shirazu.ac.ir)

Master of plant physiology, Department of Biology, School of Science, Shiraz University, Shiraz, Iran -2

### Abstract

Allelopathic potential of four medicinal plants from Lamiaceae family, namely *Marrobium vulgare*, *Vitex agnus-castus*, *Phlomis olivieri*, and *Nepeta ucrainica*, were investigated. The potential allelopathic effects of the extracts were examined by seed germination and seedling growth of *Echinochloa oryzoides*. The allelochemicals in these extracts caused a reduction in seed germination and seedling growth of *E. oryzoides*. In the presence of the aqueous extract of *N. ucrainica*, shoot length decreased in control plants. The presence of allelochemicals provides an opportunity for weed control in agriculture.

**Keywords:** Allelopathy, *Echinochloa oryzoides*, Lamiaceae family, Medicinal Plant

آب پلاسما و تأثیر آن در افزایش عمر انبارمانی میوه شلیل رقم شبرنگ

## سمیه مقدسی<sup>1\*</sup>، زهرا پاک‌کیش<sup>2</sup>، فاطمه نصیبی<sup>2</sup> و هادی نوری<sup>2</sup>

1- \* نویسنده مسئول: دانشجوی کارشناسی ارشد، بخش مهندسی علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان.

Email : moghadasisomaieh15@gmail.com

2- به ترتیب دانشیاران و استادیار بخش مهندسی علوم باغبانی، زیست‌شناسی و فیزیک دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان.

### چکیده

در پژوهش حاضر به بررسی اثرات تیمار با آب پلاسما روی مقاومت به سرمای میوه شلیل رقم شبرنگ در طی انبارمانی در دمای پایین پرداخته شده است. آزمایشی به صورت طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام و میوه‌های شلیل با آب مقطر (شاهد)، آب پلاسما به مدت 4 دقیقه و آب پلاسما به مدت 8 دقیقه تیمار و سپس در دمای  $5 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی 85-90 درصد، به مدت 30 روز نگهداری شدند. پارامترهایی مانند؛ میزان سرمازدگی، مقدار پراکسیداسیون لیپیدها و درصد نشت یونی مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج حاکی از آن بود که در میوه‌های تیمار شده میزان سرمازدگی، پراکسیداسیون لیپیدها و نشت یونی در طی انبارمانی کمتر بود. کاربرد آب پلاسما به مدت 8 دقیقه مؤثرترین تیمار برای مقاومت به سرما در میوه شلیل رقم شبرنگ بوده است. **واژگان کلیدی:** آب پلاسما، انبارمانی، سرمازدگی، شلیل.

### مقدمه

میوه شلیل جزء میوه‌های گوشتی و آبدار است و به خاطر داشتن آب زیاد و سرعت بالای تنفس، در معرض فساد شدید بوده و عمر انبارمانی کوتاهی خواهد داشت. این میوه از نظر رفتار تنفسی جزء میوه‌های فرازگرا است. از این رو در دمای معمولی به سرعت رسیده و فاسد می‌شود. کاهش سرعت رسیدن و به تعویق انداختن مرحله پیری در این میوه به منظور افزایش عمر نگهداری آن بسیار ضروری است (1). بیماری‌های بعد از برداشت نقش مهمی در محدود کردن عمر انبارمانی میوه شلیل دارند. پوسیدگی بعد از برداشت مهم‌ترین فاکتوری است که طول عمر بسیاری از محصولات آبدار برداشت شده را محدود می‌سازد. برای افزایش عمر انباری شلیل، به انبار صفر درجه سانتی‌گراد نیاز است اما این دما در طولانی مدت باعث سرمازدگی و قهوه‌ای شدن میوه شلیل می‌گردد (2). استرس سرمازدگی در هسته‌داران باعث پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء می‌شود. هسته‌داران مستعد سرمازدگی در طی دوره انبارمانی هستند که علائم آن قهوه‌ای شدن درونی، ناتوانی در رسیدن و کاهش بو و مزه می‌باشد (3).

در این پژوهش اثرات کاربرد آب پلاسما بر عمر انبارمانی میوه فرازگرای شلیل که دچار فساد پس از برداشت زیادی نیز است، مورد بررسی قرار گرفت. زمانی که یک سلول زنده تحت تنش قرار می‌گیرد، شروع به سنتز موادی نموده که بتواند خود را در مقابل شرایط تنش حفظ نماید (4). آب پلاسما نوع جدیدی از آب است که فاقد مواد شیمیایی، نمک و فرآیندهای مضر می‌باشد که به نام آب فعال پلاسما (PAW) شناخته شده، که از فعال شدن آب تحت تأثیر پلاسما تولید می‌شود. آب حاصل از تکنولوژی پلاسما دارای مقدار بالای pH بوده و از گونه‌های رادیکال O، رادیکال H، رادیکال OH، نیتروژن واکنش پذیر و اکسیژن تشکیل شده است. در طی فرایند پلاسمایی شدن، اسیدیته، رسانایی و پتانسیل کاهش اکسیژن آب تغییر می‌یابد. حالات متفاوتی برای تولید آب فعال شده با پلاسما وجود دارد. پلاسما یا مستقیماً در آب قرار داده می‌شود و یا تخلیه پلاسما در بالای سطح آب صورت می‌گیرد. مهم‌ترین کاربرد آب فعال پلاسما، ضد عفونی میکروبی مواد غذایی و تجهیزات صنایع غذایی است. آب فعال پلاسما در مدیریت

مزارع کشاورزی نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد. هم‌چنین نشان داده است که تأثیر بسیار خوبی در جوانه‌زنی بذور دارد. از این رو آب فعال پلاسما به عنوان یک فناوری جدید در افزایش درصد جوانه‌زنی و سرعت رشد بذور به شمار می‌آید. در این زمینه گزارش شده است که تیمار بذور گیاه گل آهار و چاودار با آب فعال پلاسما سبب افزایش بیوماس ریشه، طول دو برابر ریشه و افزایش جوانه‌زنی گردیده است. در این مطالعه نشان داده شد که پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های تشکیل شده، قادر به عبور از غشای سلولی و فعال کردن سلول‌های دخیل در فرآیندهای جوانه‌زنی بودند. تأثیر آب فعال پلاسما بر جوانه‌زنی بذور عدس نشان داد که رادیکال‌های نیتروژن و پراکسید هیدروژن تولید شده، جوانه‌زنی را تا حدود 80 درصد بهبود می‌بخشند (5). بنابراین کاربرد تیمار آب پلاسما جهت افزایش مقاومت سلول‌های زنده به انواع تنش‌ها قایل توجه می‌باشد.

از آنجایی که میوه‌های شلیل بسیار فسادپذیر می‌باشند، بنابراین استفاده از روش‌ها و تکنیک‌هایی که عمر انبارمانی این فرآورده‌ها را به حداکثر برساند، بسیار مورد توجه خواهد بود. بنابراین هدف از این پژوهش، به حداقل رساندن ضایعات در پس از برداشت و حفظ خصوصیات کیفی میوه شلیل رقم شبرنگ در طول مدت انبارمانی میوه با استفاده از آب پلاسما بوده است.

### مواد و روش‌ها

این پژوهش روی میوه شلیل رقم شبرنگ در زمان رسیدن کامل، به صورت آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با 3 تیمار و 4 تکرار در طی 30 روز انبارمانی انجام شده است. تیمارها شامل؛ آب مقطر (شاهد)، آب پلاسما به مدت 4 دقیقه و آب پلاسما به مدت 8 دقیقه بودند. میوه‌های شلیل بعد از تیمار به روش غوطه‌وری، به سردخانه با دمای  $5 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی 85-90 درصد انتقال یافتند. سپس به فاصله هر 10 روز یک بار در طول 30 روز انبارمانی، به طور تصادفی میوه‌ها انتخاب و میزان سرمازدگی، پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء و نشت یونی میوه‌ها ارزیابی گردید. آنالیز آماری داده‌ها با نرم‌افزار SAS و بررسی مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال 5 درصد، انجام و رسم نمودارها توسط نرم‌افزار Excel صورت گرفت.

### نتایج و بحث

#### درصد نشت یونی

طبق نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر، بیشترین درصد نشت یونی با گذشت زمان از نگهداری میوه‌ها، در نمونه شاهد رخ داد. کاربرد تیمار آب پلاسما 8 دقیقه در تمام زمان‌ها موجب کاهش درصد نشت یونی گردید (شکل 1).

شکل 1. اثر تیمار آب پلاسما روی میزان نشت یونی میوه شلیل رقم شبرنگ در طی انبارمانی.

میانگین‌های دارای حروف مشابه از نظر آماری اختلاف معنی‌داری در سطح 5% آزمون چند دامنه‌ای دانکن ندارند.

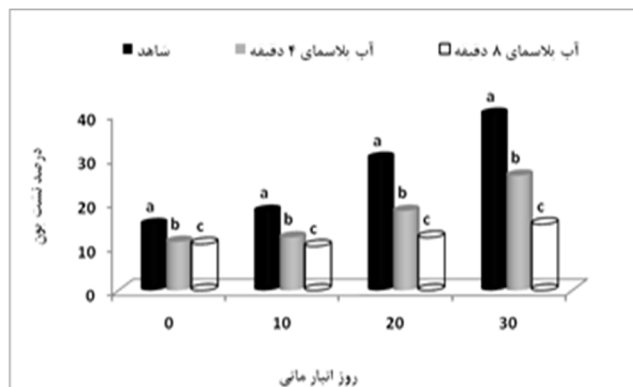
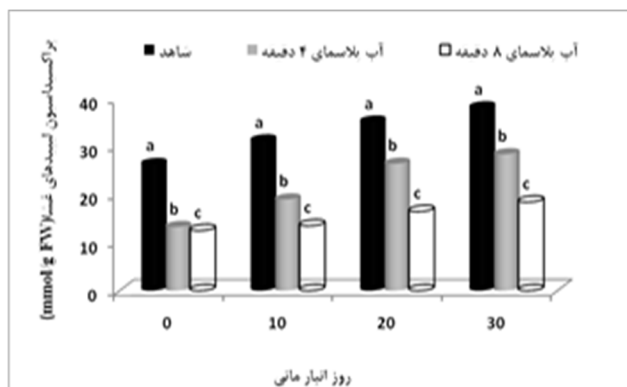
#### درصد میوه‌های سرمازده



نتایج بیانگر آن بود که میزان سرمازدگی در میوه‌های شلیل تیمار شده و تیمار نشده، طی انبارمانی افزایش یافت ولی میوه‌های تیمار شده در پایان دوره انبارمانی، با میزان سرمازدگی کمتر با نمونه شاهد تفاوت معنی‌داری داشتند و کمترین میزان سرمازدگی محصولات در ابتدا مربوط به تیمار 8 دقیقه آب پلاسما و سپس 4 دقیقه بود (شکل 2).  
شکل 2. اثر تیمار آب پلاسما روی میزان میوه‌های سرمازده شلیل رقم شبرنگ در طی انبارمانی.  
میانگین‌های دارای حروف مشابه از نظر آماری اختلاف معنی‌داری در سطح 5% آزمون چند دامنه‌ای دانکن ندارند.

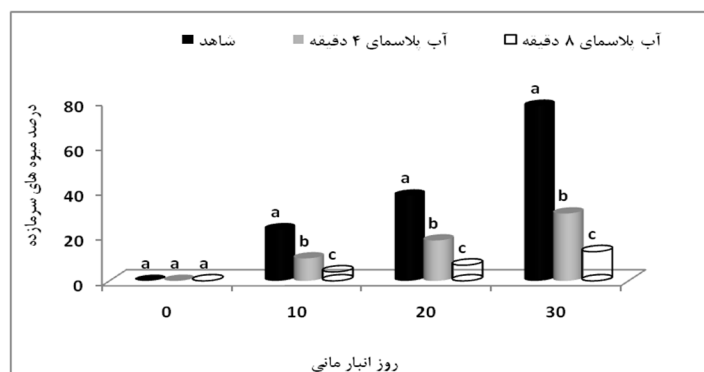
### پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء

بررسی نتایج حاکی از آن بود که روند افزایشی در مقادیر پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء در طی روزهای انبارمانی وجود داشته است با این حال در مقایسه با شاهد در تمامی بازه‌های زمانی مورد مطالعه، کاربرد آب پلاسما 8 دقیقه به طور معنی‌داری میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء را کاهش داد (شکل 3). زمانی که سلول‌های زنده در معرض تنش قرار می‌گیرند، برای مقابله با تنش، تولید اسمولیت کرده و با ایجاد مکانیسم غیر آنزیمی از سلول محافظت می‌کنند. یکی از آسیب‌های اصلی تنش به سلول، رهاسازی یونها به فضای بین سلولی است. تحقیقات نشان داده که آب پلاسما باعث پایداری فرم طبیعی پروتئین‌ها شده و از به هم خوردن طبیعی ترکیبات آنزیمی جلوگیری می‌کند. نقش آب پلاسما در فعال شدن سیستم آنتی‌اکسیدانی نیز به اثبات رسیده است (5).  
شکل 3. اثر تیمار آب پلاسما روی پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء میوه شلیل رقم شبرنگ در طی انبارمانی.



میانگین‌های دارای حروف مشابه از نظر آماری اختلاف معنی‌داری در سطح 5% آزمون چند دامنه‌ای دانکن ندارند.

### نتیجه‌گیری



میوه شلیل تا حدی به سرما مقاوم است. زمانی سلول زنده تحت شرایط تنش قرار می‌گیرد، آسیب خواهد دید که شدت این آسیب به میزان و مدت تنش بستگی دارد. کاربرد تیمارهایی مانند آب پلاسما که باعث افزایش مقاومت سلول به تنش می‌شوند، ضروری است. سلول‌های زنده مکانیسم‌های دفاعی قوی و متعددی از جمله؛ مکانیسم‌های آنزیمی و غیر آنزیمی دارند که با حفظ و پایداری غشای سلول، جلوگیری از نشت یون و حفاظت از ماکرومولکول‌ها، در برابر تنش مقاومت می‌نمایند. با توجه به نتایج تحقیق فعلی کاربرد آب پلاسما جهت افزایش مقاومت به سرما در میوه شلیل رقم شبرنگ در طی دوره انبارمانی، قابل توصیه است.

#### منابع

1. Liu, J.H., Nada, K., Pang, Z.M., Honda, C., Kitashiba, H. and Moriguchi, T. 2017. Role of polyamines in peach fruit development and storage. *Tree Physiology*, 26(1), 791-798.
2. Chris, B.W. and Jacquelin, F.M. 2012. Production guide for storage of organic fruits and vegetables. Cornell University Cooperative Extension, 320.
3. Crisosto, C.H., Mitchell, F.G. and Ju, Z. 2016. Susceptibility to chilling injury of peach, nectarin and plum cultivars growth in California. *Horticultural Science*, 34(2), 1116-1118.
4. Azymi, S., Sofalian, O., Jahanbakhsh, G.S. and Khomari, S. 2012. Effect of chilling stress on soluble protein, sugar and prolin accumulation in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) genotypes. *International Journal of Agricultural Crop Sciences*, 4(12), 825-830.
5. Yadav, V., Singh, P.N. and Yadav, P. 2016. Effect of foliar fertilization of boron, zinc and iron on fruit growth and yield of low-chill peach cv. Sharbati. *Scientific and Research Publications*, 3(8), 2250-2256.

### **Plasma water and its effect on increasing the shelf life of the nectarine fruit of the Shabrang variety**

Somaieeh Moghadasi <sup>\*1</sup>, Zahra Pakkish <sup>2</sup>, Fatemeh Nasibi <sup>2</sup> and Hadi Noori <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Master Science (MSc.) Student, Department of Horticultural Sciences, Agricultural College, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

Email : moghadasisomaieeh15@gmail.com

<sup>2</sup> Associate professors and Assistant professor Respectively, Department of Horticultural, Biology and Physics Shahid Bahonar University of Kerman, Iran.

#### Abstract

In the current study, the effects of treatment with plasma water on the cold resistance of the nectarine fruit of the Shabrang variety during storage at low temperature have been investigated. An experiment was conducted in a completely randomized design with three repetitions and the nectarine fruits were treated with distilled water (control), plasma water for 4 minutes and plasma water for 8 minutes, and then at a temperature of  $5 \pm 1$  °C and a relative humidity of 85-90 % were kept for 30 days. Parameters such as; the degree of chilling, the amount of lipid peroxidation and the percentage of ion leakage were investigated. The results indicated that the amount of chilling, lipid peroxidation and ion leakage during storage was lower in the treated fruits. Application of plasma water for 8 minutes has been the most effective treatment for cold resistance in nectarine fruit of Shabrang variety.

**Keywords:** Chilling, Nectarine, Plasma water, Storage.

## اثرات پوشش دهی بذر و محلول پاشی محرک های رشد بر عملکرد دانه و برخی صفات فیزیولوژیک بالنگو

امیرضا مریدی چشمه گچی<sup>1\*</sup>، علی رسائی<sup>2</sup> و عبدالوهاب عبدالهی<sup>2</sup>

1- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه گیاهان دارویی، موسسه آموزش عالی غیرانتفاعی جهاد دانشگاهی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران.

2- استادیار پژوهش، معاونت سرارود، مؤسسه تحقیقات کشاورزی دیم کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرمانشاه، ایران.

\* moridi1amirreza@gmail.com

### چکیده

این آزمایش با هدف بررسی اثرات پیش تیمار بذر و محلول پاشی محرک های مختلف رشد و نمو بر عملکرد کمی و کیفی گیاه بالنگوی شهری (رقم سارا) در مزرعه تحقیقاتی معاونت موسسه تحقیقات کشاورزی دیم به صورت فاکتوریل بر پایه طرح بلوک های کامل تصادفی با سه تکرار در سال 401-1400 اجرا شد. تیمارها شامل پوشش دهی بذور با هیومیک اسید در سه غلظت (صفر، نیم و یک لیتر در 100 لیتر آب) و محلول پاشی هیومیک اسید (5 لیتر در هکتار)، براسینواستروئید (2 گرم در 10 لیتر آب) و سیتوکینین (10 میلی لیتر در 1 لیتر آب) بود. نتایج نشان داد پوشش بذر با محلول یک لیتر هیومیک اسید بیشترین میانگین درصد سبز مزرعه، عملکرد دانه، NDVI و عملکرد روغن به ترتیب با مقادیر 19 درصد، 472 کیلوگرم در هکتار، 0/59 و 158 کیلوگرم در هکتار داشت. همچنین بیشترین میانگین عملکرد دانه (480 کیلوگرم در هکتار)، SPAD (38)، درصد روغن (33/5 درصد)، عملکرد روغن (158/7 کیلوگرم در هکتار) و NDVI (0/62) در تیمار محلول پاشی سیتوکینین در مرحله ابتدای تشکیل دانه به دست آمد. اثرات متقابل بین پیش تیمار بذر و محلول پاشی محرک های رشد بر صفات مذکور معنی دار نبود. به طور کلی نتایج این آزمایش نشان داد که پیش تیمار بذر با غلظت یک درصد اسید هیومیک و محلول پاشی سیتوکینین بیشترین اثر مثبت را بر روی صفات مورد بررسی در گیاه بالنگو شهری تحت شرایط آب و هوایی شهرستان کرمانشاه داشت.

کلید واژه ها: بالنگو، عملکرد دانه، عملکرد روغن، NDVI

### مقدمه

در حال حاضر کاربرد گیاهان دارویی و معطر به قلمروی بسیار فراتری از صنایع داروسازی راه یافته است و تعداد بی شماری از صنایع دیگر نیز به عنوان فناوری همگرا، در حال گرایش به استفاده از این گیاهان در محصولات خود هستند. گیاه دارویی - روغنی بالنگوی شهری با نام علمی (*Lallemantia iberica* L.) دارای اهمیت دارویی، صنعتی و روغنی است (صمدی، 1396). بذرهاي این گیاه حاوی ترکیبات موسیلاژی می باشد. موسیلاژها به دلیل ویژگی های با ارزش از جمله پایدارکنندگی، سوسپانسیون کنندگی و امولسیون کنندگی، کاربردهای فراوانی در صنایع نساجی و داروسازی دارند و در درمان بیماری های کبد، کلیه و اختلالات عصبی کاربرد دارند (نقی زاده و همکاران، 1400). همچنین حاوی بیش از 30 درصد روغن خشک و حاوی اسیدهای چرب شامل 6/5 درصد پالمیتیک، 1/8 درصد استئاریک، 10/3 درصد اولئیک، 10/8 درصد لینولئیک و 68 درصد اسید لینولیک می باشد. روغن این گیاه با درصد بالای اسید لینولئیک در کاربردهای صنعتی و غذایی در رقابت با گیاهانی مانند کنان موفق تر عمل می کند (Rahimi et al., 2016). با توجه به اینکه کرمانشاه جز مناطق نیمه خشک محسوب می شود و این گیاه نیز مقاومت خوبی به تنش خشکی دارد



بنابراین کاشت این گیاه در دیم‌زارها به عنوان یک گیاه دارویی- روغنی می‌تواند سودمند باشد. عملکرد یک گیاه دارویی مانند بالنگوی شهری از مراحل ابتدائی رشد و نمو و استقرار مناسب بذر در خاک آغاز می‌شود، بنابراین استفاده از پیش تیمارهای مناسب و محرک‌های رشد بذر جهت بهبود جوانه‌زنی و تکمیل مراحل رشد و نمو به افزایش عملکرد کمی و کیفی این گیاه منجر خواهد شد (بلدی و همکاران، 1393). پیش تیمار بذر سبب کوتاه شدن زمان کاشت تا سبز شدن و حفاظت بذرهای از عوامل زنده و غیر زنده در مرحله‌ی بحرانی استقرار گیاهچه می‌شود. محلول‌پاشی برگی با هورمون‌های گیاهی، محرک‌های رشد و سایر عناصر مفید، به عنوان تأمین کننده تکمیلی عناصر کم مصرف و پر مصرف برای ارتقای عملکرد کیفی و کمی گیاهان دارویی استفاده و پیشنهاد شده است (سعیدی و همکاران، 2021). اسید هیومیک از جمله ترکیبات آلی است که به دلیل وجود ترکیبات هورمونی اثرات مفیدی در افزایش و بهبود تولید محصولات کشاورزی دارد (Nori-Shargh et al., 2009). از مزایای مهم اسید هیومیک می‌توان به قابلیت کلات کنندگی عناصر غذایی مختلف مانند سدیم، پتاسیم، منیزیم، روی، کلسیم، آهن، مس و سایر عناصر در جهت غلبه بر کمبود عناصر غذایی اشاره کرد (Rahimizadeh et al., 2009). یافتن روش‌هایی جهت افزایش رشد و نمو با حداکثر کارایی، عملکرد کمی و کیفی و بازدهی همراه با کمترین عوارض جانبی جهت پرورش گیاهان دارویی مانند بالنگوی شهری، همواره یکی از دغدغه‌های اصلی پژوهشگران این حوزه بوده است.

با توجه به مطالب بیان شده، این تحقیق با هدف اثرات پیش تیمار بذر و محلول‌پاشی محرک‌های مختلف رشد و نمو بر عملکرد کمی و کیفی دانه و برخی صفات فیزیولوژیک بالنگوی شهری انجام شد.

## مواد و روش‌ها

این آزمایش در مزرعه تحقیقاتی معاونت موسسه تحقیقات کشاورزی دیم سرارود کرمانشاه به صورت فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در سال 401-1400 اجرا شد. تیمارها شامل پوشش‌دهی بذور با هیومیک اسید در سه غلظت (صفر، نیم و یک لیتر در 100 لیتر آب) و یک مرتبه محلول‌پاشی هیومیک اسید (5 لیتر در هکتار)، براسینواستروئید (2 گرم در 10 لیتر آب) و سیتوکینین (10 میلی لیتر در 1 لیتر آب) در زمان بعد از گلدهی (ابتدای تشکیل دانه) همراه تیمار شاهد (عدم محلول‌پاشی) بود. بذور گیاه بالنگوی شهری رقم سارا قبل از کاشت توسط غلظت‌های مختلف هیومیک اسید پیش تیمار شدند. کشت در تاریخ 9 اسفند توسط بذرکار آزمایشی (پلنتر) در عمق حدود 3-4 سانتی متری انجام شد.

## صفات اندازه‌گیری شده در آزمایش:

در زمان رسیدگی کامل به منظور محاسبه عملکرد دانه، بعد از حذف اثر حاشیه‌ها، برداشت در سطح یک مترمربع صورت گرفت و پس از جدا کردن کاه و کلش عملکرد نهایی دانه ثبت شد. شاخص نرمال شده تفاوت پوشش گیاهی (NDVI) با قرار دادن دستگاه قابل حمل NDVI به فاصله یک متر بالای پوشش گیاهی اندازه‌گیری شد. رنج داده‌ها بین -1 تا +1 است. هر چه به +1 نزدیکتر باشد وضعیت گیاه بهتر است. با استفاده از دستگاه SPAD از هر کرت آزمایشی پنج نمونه به صورت تصادفی اندازه‌گیری شد و در نهایت میانگین آن‌ها به عنوان شاخص سبزی‌نگی برگ ثبت شد. برای سنجش درصد روغن بذور، 20 گرم بذر بالنگو کاملاً تمیز شده از هر

تیمار وزن شد و توسط دستگاه NMR درصد روغن قرائت شد. عملکرد روغن نیز از حاصل ضرب عملکرد دانه در درصد روغن به دست آمد.

بررسی نرمال بودن و تجزیه واریانس داده‌ها به ترتیب با نرم افزارهای SPSS 16.0 و SAS 9.1 انجام گرفت. مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی دار (LSD) و در سطح احتمال پنج درصد انجام شد. نمودارها با استفاده از Excel رسم گردید.

## نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر پیش تیمار بذر بر عملکرد دانه، NDVI، عملکرد روغن و پوشش سبز گیاهچه معنی دار بود (جدول 1). همچنین اثر محلول پاشی محرک‌های مختلف رشد و نمو بر عملکرد دانه، NDVI، میزان سبزی‌نگی برگ، درصد عملکرد روغن معنی دار شد (جدول 1). اما اثرات متقابل بین پیش تیمار بذر و محلول پاشی محرک‌های مختلف رشد و نمو بر هیچ کدام از صفات معنی دار نبود (جدول 1). بیشترین عملکرد دانه، NDVI، عملکرد روغن و پوشش سبز گیاهچه به ترتیب با میانگین‌های 472 کیلوگرم در هکتار، 0/59، 158 کیلوگرم در هکتار و 19 درصد با کاربرد پیش تیمار هیومیک اسید با غلظت یک درصد به دست آمد (جدول 2). کمترین میانگین صفات مذکور مربوط به تیمار شاهد (بدون پیش تیمار) بود (جدول 2). همچنین محلول پاشی سیتوکینین با غلظت 10 میلی لیتر در یک لیتر آب در مرحله ابتدای تشکیل دانه بیشترین میزان عملکرد دانه (480 کیلوگرم در هکتار)، NDVI (0/62)، SPAD (37/8)، درصد روغن (34/1) و عملکرد روغن (163/7 کیلوگرم در هکتار) را نسبت به سایر تیمارهای محلول پاشی و شاهد داشت (جدول 3). کاربرد اسید هیومیک می‌تواند از طریق افزایش متابولیسم سلول و افزایش غلظت کلروفیل برگ عملکرد گیاهان را افزایش دهد (Nardi, 2002). نشان داده شده است که تولید هورمون‌ها و آنزیم‌های گیاهی و همچنین افزایش وزن ریشه و اندام هوایی، محتوای کلروفیل و میزان فتوسنتز به دنبال کاربرد هیومیک اسید باعث بهبود عملکرد می‌شود (بیبوردی و ابراهیمیان، 2013).

جدول 1- تجزیه واریانس اثرهای پیش تیمار بذر و محلول پاشی محرک‌های مختلف رشد بر عملکرد کمی و کیفی دانه و برخی صفات فیزیولوژیک بالنگو

میانگین مربعات							
منابع تغییرات	درجه آزادی	عملکرد دانه	NDVI	SPAD	درصد روغن	عملکرد روغن	پوشش سبز گیاهچه
تکرار	2	2088/19 <sup>ns</sup>	0/0009 <sup>ns</sup>	9/0833 <sup>ns</sup>	0/871 <sup>ns</sup>	169/36 <sup>ns</sup>	38/88 <sup>**</sup>
پیش تیمار بذر	2	22781/69*	0/008 <sup>**</sup>	3/583 <sup>ns</sup>	0/116 <sup>ns</sup>	2621/02*	17/97*
محلول پاشی	3	21569/80*	0/019 <sup>**</sup>	57/074*	1/707*	2968/17*	-
پیش تیمار بذر × محلول پاشی	6	1472/47 <sup>ns</sup>	0/0006 <sup>ns</sup>	3/879 <sup>ns</sup>	0/242 <sup>ns</sup>	201/5 <sup>ns</sup>	-
خطای آزمایش	22	6255/55	0/0013	15/598	0/463	679/69	1/37
ضریب تغییرات (درصد)		18/73	6/425	11/338	2/03	18/39	7/20

ns، \* و \*\* به ترتیب غیرمعنی دار و معنی دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

استفاده از اسید هیومیک جذب ازت و فسفر را بیشتر می کند که این امر باعث افزایش تولید قند و افزایش فتوسنتز گیاه می شود. این موارد می تواند باعث افزایش مواد ذخیره شده در گیاه شود و در نتیجه باعث افزایش عملکرد دانه در هکتار شود (زندگی و همکاران، 1400؛ حیدری و همکاران، 1398). در آزمایشی غلظت 4 در هزار اسید هیومیک باعث افزایش عملکرد روغن در گیاه گلرنگ (رقم فرمان) شد (زندگی و همکاران، 1400). سیتوکینین ها می توانند تولید و تنظیم هورمون های رشدی گیاه را تحت تاثیر قرار دهند. این هورمون ها می توانند رشد و توسعه گیاه را تحریک کنند و در نتیجه، عملکرد بیولوژیک گیاه را افزایش دهند که می تواند به افزایش درصد روغن کمک کند خواجهی و همکاران (1401) گزارش کردند که کاربرد غلظت 50 میکرومولار کیتین (نوعی هورمون سیتوکینین)، بر روی ارقام اسکار و قاسم آفتابگردان، عملکرد دانه را به ترتیب به میزان 56 و 46 درصد، عملکرد زیست توده را به میزان 52 و 50 درصد و عملکرد روغن را 68 و 38 درصد در مقایسه با شرایط عدم کاربرد هورمون افزایش داد.

جدول 2- مقایسه میانگین اثرهای پیش تیمار بذر بالنگو با غلظت های مختلف هیومیک اسید بر عملکرد کمی، کیفی و برخی صفات فیزیولوژیک

پیش تیمار بذر	عملکرد دانه (کیلوگرم در هکتار)	NDVI	عملکرد روغن (کیلوگرم در هکتار)	پوشش سبز گیاهچه (درصد)
شاهد	392/50 <sup>b</sup>	0/549 <sup>b</sup>	131/67 <sup>b</sup>	14/3 <sup>b</sup>
هیومیک اسید (0/5 درصد)	401/75 <sup>b</sup>	0/555 <sup>b</sup>	134/75 <sup>b</sup>	15/5 <sup>b</sup>
هیومیک اسید (1 درصد)	472/17 <sup>a</sup>	0/598 <sup>a</sup>	158/67 <sup>a</sup>	19/0 <sup>a</sup>
LSD5%	66/96	0/0309	22/07	2/65

میانگین های دارای حروف مشابه در هر ستون براساس آزمون حداقل اختلاف معنی دار (LSD)، در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی دار بایکدیگر ندارند.

جدول 3- مقایسه میانگین اثرهای محلول پاشی محرک های مختلف رشد بر عملکرد کمی، کیفی و برخی صفات فیزیولوژیک بالنگو

پیش تیمار بذر	عملکرد دانه (کیلوگرم در هکتار)	NDVI	SPAD	درصد روغن	عملکرد روغن (کیلوگرم در هکتار)
شاهد	363/11 <sup>b</sup>	0/512 <sup>c</sup>	31/66 <sup>b</sup>	33/011 <sup>b</sup>	119/89 <sup>c</sup>
هیومیک اسید	410/78 <sup>ab</sup>	0/563 <sup>b</sup>	34/55 <sup>ab</sup>	33/522 <sup>ab</sup>	137/67 <sup>bc</sup>
براسینوستروئید	433/89 <sup>ab</sup>	0/568 <sup>b</sup>	35/33 <sup>ab</sup>	33/533 <sup>ab</sup>	145/56 <sup>ab</sup>
سیتوکینین	480/78 <sup>a</sup>	0/625 <sup>a</sup>	37/77 <sup>a</sup>	34/077 <sup>a</sup>	163/67 <sup>a</sup>
LSD5%	77/32	0/0356	3/861	0/665	25/48

میانگین های دارای حروف مشابه در هر ستون براساس آزمون حداقل اختلاف معنی دار (LSD)، در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی دار بایکدیگر ندارند.

## نتیجه‌گیری

به‌طور کلی نتایج این آزمایش نشان داد که پیش تیمار بذر با غلظت یک درصد اسید هیومیک و محلول‌پاشی سیتوکینین بیشترین اثر مثبت را بر روی صفات مورد بررسی در گیاه بالنگو شهری تحت شرایط آب و هوایی شهرستان کرمانشاه داشت.

## منابع

سهیلا صمدی. (1396). بالنگوی شهری: گیاهی داروئی، روغنی و صنعتی. تهران: انتشارات فروزش، صص 104-1.

مهدی، نقی زاده، رزیتا، کبیری، کبری، مقصودی. (1400). ارزیابی تأثیر محلول‌پاشی ملاتونین و اسید آسکوربیک بر عملکرد دانه و موسیلاژ *Plantago ovate Forssk*، فصلنامه تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. 37(6). صص 919-908.

سجاد بلدی، حمیدرضا بلوچی، علی مرادی، محسن موحدی دهنوی. (1393). بهبود خصوصیات جوانه‌زنی بذر زوال‌یافته گیاه دارویی بالنگوی شهری با استفاده از پیش تیمارهای متفاوت، اولین کنگره بین‌المللی و سیزدهمین کنگره ملی علوم زراعت و اصلاح نباتات، کرج: موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، صص 4-1.

محسن سعیدی، فواد مرادی، علی احمدی، کاظم پوستینی، گودرز نجفیان. (1385). اثر محلول‌پاشی اسید آبسزیک و سیتوکینین در مراحل مختلف رشد دانه بر پاره‌ای از جنبه‌های فیزیولوژیک روابط منبع و مخزن در دو رقم گندم. نشریه علوم زراعی ایران، 8 (3)، 268-282.

ندا زندی، شیوا خالص رو، هدیه بدخشان، غلام‌رضا حیدری. (1400). تأثیر محلول‌پاشی اسید هیومیک بر عملکرد و صفات مورفولوژیک برخی ارقام گلرنگ. دانش کشاورزی و تولید پایدار، 31 (4)، 35-48.

مصطفی حیدری، احمد پایدار، مهدی برادران فیروزآباد، محمد عابدینی اسفهلانی. (1398). تأثیر تنش خشکی و کاربرد اسید هیومیک بر عملکرد کمی، رنگدانه‌های فتوسنتزی و مقادیر عناصر معدنی دانه آفتابگردان. علوم گیاهان زراعی ایران، 50(4)، 51-62.

محبوبه خواجه‌جوی، افراسیاب راهنماقهفرخی، موسی مسگرپاشی، سید امیر موسوی، متیو هریسون. (1401). اثر هورمون سیتوکینین بر صفات مورفولوژیکی، عملکرد دانه و روغن آفتابگردان (*Helianthus annuus L.*) در شرایط تنش گرمای آخر فصل، نشریه فیزیولوژی گیاهان زراعی، 14(56)، 63-78.

Nori-Shargh, D., Kiaei, S.M., Deyhimi, F., Mozaffarian, V., and Yahyaei, H. 2009. The volatile constituents analysis of *Lallemantia iberica* (M.B). Fischer & Meyer from Iran. *Natural Product Research* 23: 546-548 .

Rahimizadeh, M., kashani, A., zare Fizabady, A., Madani, H and sohani, H. 2009. Effect of Micronutrient fertilizer on sunflower growth yeild in draught stress condition.

Nardi, S., Pizzoghlo, D. A., Muscolo, A. and Vianello, A. 2002. Physiological effects of humic substances on higher plant. *Soil Biological and Biochemistry*, 34, 1527-1536

Bybordi, A., and Ebrahimian, E. 2013. Growth, yield and quality components of canola fertilized with urea and zeolite. *Commun. Soil Science and Plant Analysis*. 44, 2896–2915. doi: 10.1080/00103624.2013.823986

## The effects of seed coating and foliar application of growth stimulants on seed yield and some physiological traits of Balango

Amir-Reza Moridi Cheshmegachi<sup>1\*</sup>, Ali Rasaei<sup>2</sup>, Abdolvahab Abdolahi<sup>2</sup>

1- Department of Medicinal plant, Kermanshah ACECR Institute of Higher Education, Kermanshah, Iran

2- Sararod Branch, Dryland Agricultural Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Kermanshah, Iran.

\* [moridilamirreza@gmail.com](mailto:moridilamirreza@gmail.com)

### Abstract:

This experiment was conducted to investigate the effects of seed pre-treatment and foliar application of different growth and development stimulants on the quantitative and qualitative yield of the Balango plant (Sara cultivar) in the research farm of the Dryland Agricultural Research Sub-Institute as factorial based on a randomized complete block design with three replications during the 2021-2022 cropping seasons. The treatments were included seed coating with humic acid in three concentrations (0, 0.5 and 1 liter per 100 liters of water) and foliar spraying of humic acid (5 liters per hectare), brassinosteroid (2 grams per 10 liters of water) and cytokinin (10 ml per 1 liter of water). The results showed that the seed coating with a solution of one liter of humic acid had the highest mean of grown seedling percentage, seed yield, NDVI and oil yield with values of 19%, 472 kg/ha, 0.59 and 158 kg/ha respectively. Also, the highest average of seed yield (480 kg/ha), SPAD (38), oil percentage (33.5%), oil yield (158.7 kg/ha) and NDVI (0.62) was obtained in cytokinin foliar treatment in the initial stage of seed formation. The interaction effects between seed pretreatment and foliar spraying of growth stimulants were not significant. In general, the results of this experiment showed that seed pretreatment with a concentration of 1% humic acid and cytokinin foliar spraying had the most positive effect on the investigated traits in Balingo plant under the weather conditions of Kermanshah city.

**Keywords:** Balango, grain yield, oil yield, NDVI



## اثر پلی وینیل کلراید بر خصوصیات جوانه‌زنی و گیاهچه‌ای ارزن دم روباهی

### (*Setaria italica* L.) تحت تنش کادمیوم

سپیده نیکومرام<sup>1</sup>، علی سپهری<sup>2</sup>

1- دانشجوی دکتری آگروتکنولوژی، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا

s.nikoumaram@yahoo.com

2- دانشیار گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا

#### چکیده

کادمیوم و ذرات پلاستیک در خاک‌های زراعی از تهدیدات بالقوه برای تولیدات کشاورزی و سلامت انسان به شمار می‌روند. در این مطالعه اثر کادمیوم و ذرات پلاستیک پلی وینیل کلراید بر روی گیاهچه‌های ارزن دم روباهی رقم باستان، بررسی شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار، با غلظت‌های 0، 100، 150 و 200 میکرومولار کادمیوم و پلی وینیل کلراید 0 و 1 درصد انجام شد. صفات درصد و سرعت جوانه‌زنی، متوسط زمان جوانه‌زنی، شاخص بنیه گیاهچه، درصد بازدارندگی جوانه‌زنی، طول و وزن خشک ساقه و ریشه مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج این پژوهش، حضور پلی وینیل کلراید در محیط کشت منجر به بهبود شرایط نامطلوب تنش کادمیوم گردید. به طوری که مصرف پلی وینیل کلراید به میزان 1 درصد تحت غلظت 200 میکرومولار کادمیوم، منجر به افزایش 43% درصد جوانه‌زنی و کاهش 52% درصد بازدارندگی جوانه‌زنی شد. به نظر می‌رسد ذرات پلی وینیل کلراید در محیط جوانه‌زنی گیاهچه‌های ارزن دم روباهی با کاهش اثرات نامطلوب تنش کادمیوم، شرایط بهتری را برای جوانه زنی و رشد اولیه گیاهچه‌ها فراهم می‌کند.

**واژگان کلیدی:** ارزن دم روباهی، پلی وینیل کلراید، تنش، جوانه زنی، کادمیوم.

#### مقدمه

کادمیوم به عنوان یکی از رایج‌ترین آلاینده‌های فلزی، با تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن منجر به آسیب اکسیداتیو در گیاهان شده و باعث اختلال در ویژگی‌های فیزیولوژیکی طی مراحل مختلف رشدی می‌شود (5). پلی وینیل کلراید یکی از پر مصرف‌ترین پلاستیک‌ها است، در برابر تجزیه مقاوم بوده و به آسانی بازیافت نمی‌شود (6). ذرات پلی وینیل کلراید انباشته شده در خاک به دلیل ساختار و فضای خالی، ظرفیت جذب بالایی برای کادمیوم نسبت به سایر پلاستیک‌ها دارد؛ همچنین تعامل بین ذرات پلاستیک و کادمیوم رفتار محیطی، فراهمی زیستی و سمیت آن‌ها را تغییر می‌دهد، در نتیجه ذرات پلاستیک می‌تواند اثرات نامطلوب یا مفیدی بر جوانه‌زنی و رشد گیاهان داشته باشد (4).

#### مواد و روش‌ها

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه تحقیقاتی فیزیولوژی گیاهان زراعی دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا انجام شد. از چهار غلظت کادمیوم (0، 100، 150 و 200 میکرومولار)، دو غلظت پلی وینیل کلراید (0 و 1 درصد) با قطر ذرات 75 میکرومتر و بذر ارزن دم روباهی رقم باستان استفاده شد. بذور ضد عفونی شده با محلول هیپوکلریت 5 درصد به منظور آزمون جوانه‌زنی استاندارد در دمای 25 درجه سانتی‌گراد به مدت 7 روز در پتری استریل نگهداری شدند. شمارش بذور هر 24 ساعت یک بار تا روز هفتم انجام گرفت. به منظور اندازه‌گیری وزن خشک، اندام‌های گیاهی به مدت 48 ساعت در

آون 70 درجه سانتی گراد خشک گردید و با ترازو (0/001 گرم) وزن شدند. شاخص بنیه گیاهیچه، درصد، سرعت، متوسط مدت زمان و درصد بازدارندگی جوانه زنی بر اساس روابط زیر محاسبه شدند. تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار SAS (Ver. 9.4) انجام و برای مقایسه میانگین داده ها از آزمون حداقل اختلاف معنی دار LSD در سطح احتمال 5 درصد استفاده گردید.

$$\text{درصد جوانه زنی} = \frac{\text{تعداد بذرهای جوانه زده}}{\text{تعداد کل بذرها}} \times 100 \quad \text{(رابطه 1)}$$

$$\text{سرعت جوانه زنی} = \frac{\text{تعداد بذر جوانه زده در شمارش اول}}{\text{تعداد روز شمارش اول}} + \dots + \frac{\text{تعداد بذر جوانه زده در شمارش آخر}}{\text{تعداد روز شمارش آخر}} \quad \text{(رابطه 2)}$$

$$\text{میانگین طول گیاهیچه (cm)} \times \text{جوانه زنی استاندارد (\%)} = \text{شاخص بنیه گیاهیچه} \quad \text{(رابطه 3)}$$

$$\text{متوسط مدت زمان جوانه زنی بذر} = \frac{\sum Nidi}{N} \quad \text{(رابطه 4)}$$

Ni تعداد بذر جوانه زده در روز i، N تعداد کل بذور جوانه زده و Di تعداد روز پس از شروع آزمایش

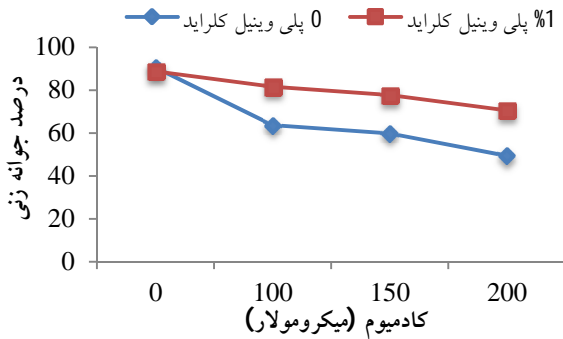
$$\text{درصد بازدارندگی جوانه زنی} = \frac{\text{بذرهای جوانه زده شاهد} - \text{بذرهای جوانه زده از هر تیمار}}{\text{بذرهای جوانه زده شاهد}} \times 100 \quad \text{(رابطه 5)}$$

## نتایج و بحث

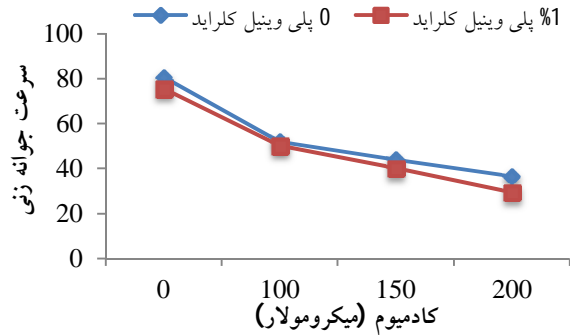
نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر برهمکنش فلز سنگین کادمیوم و پلی وینیل کلراید بر تمامی صفات مورد بررسی به جزء سرعت جوانه زنی در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد حضور ذرات پلی وینیل کلراید در محیط تحت تنش کادمیوم سبب بهبود صفات به غیر از سرعت جوانه زنی شد. کادمیوم و رسوبات پلاستیک متصل به پوسته بذر می‌تواند جذب آب که اولین مرحله جوانه زنی است را به تأخیر انداخته و در نهایت سرعت جوانه زنی را کاهش دهد (1). در بالاترین غلظت کادمیوم استفاده از ذرات پلی وینیل کلراید به ترتیب منجر به افزایش 43% و 314% درصد جوانه زنی و شاخص ویگور نسبت به حضور 200 میکرومولار کادمیوم به تنهایی شد (شکل 1- الف و ت). گزارش شده پلی وینیل کلراید ظرفیت جذب بالایی برای کادمیوم دارد و این امر ممکن است از اثرات نامطلوب کادمیوم بر خصوصیات جوانه زنی بذر و بنیه گیاهیچه جلوگیری کند (4). متوسط مدت زمان جوانه زنی به دنبال شرایط تنشی افزایش می‌یابد، ولی در حضور ذرات پلی وینیل کلراید نسبت به تنش کادمیوم این زمان کمتر شد (شکل 1- پ). آبگریز بودن سطوح ذرات پلاستیک احتمالاً باعث اختلال در جذب آب به همراه کادمیوم توسط ریشه شده؛ لذا در شرایط تنش کادمیوم حضور ذرات پلاستیک می‌تواند جوانه زنی و رشد گیاهیچه را بهبود بخشد (2). براساس شکل 1- ت، بیشترین بازدارندگی جوانه زنی در غلظت 200 میکرومولار کادمیوم مشاهده شد، که به دنبال استعمال پلی وینیل کلراید به میزان 52% از بازدارندگی جوانه زنی کاسته شد.

پلاستیک‌ها اثر سمی آلاینده‌ها بر گیاهان را از طریق کاهش سطح تماس و فراهمی زیستی آن‌ها، کاهش می‌دهند (7). وجود همزمان ذرات پلی وینیل کلراید و کادمیوم در محیط رشد، باعث بیشتر بودن طول ریشه و ساقه نسبت به تنش کادمیوم شد (شکل 2- الف و ب). به طوری که با حضور پلی وینیل کلراید در غلظت 100 میکرومولار کادمیوم به ترتیب 14% و 25% افزایش در طول ساقه و ریشه مشاهده شد. با توجه به اینکه شاخص وزن خشک معیار خوبی برای تخمین میزان تنش است، در حضور 1 درصد پلی وینیل کلراید تحت 150 میکرومولار کادمیوم وزن خشک ساقه و ریشه به ترتیب 20% و 210% نسبت به تنش کادمیوم افزایش یافتند (شکل

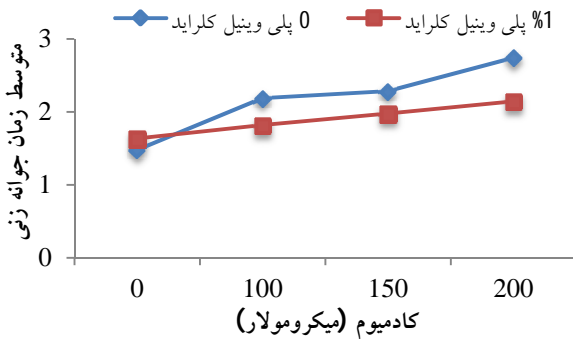
الف



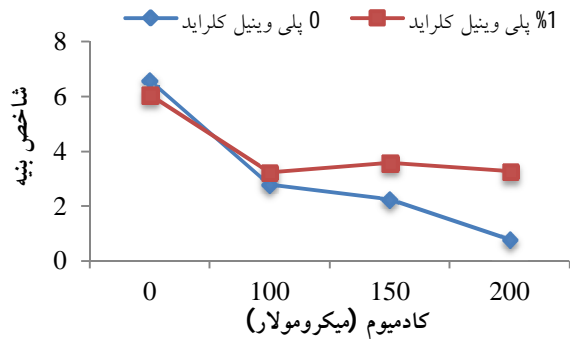
ب



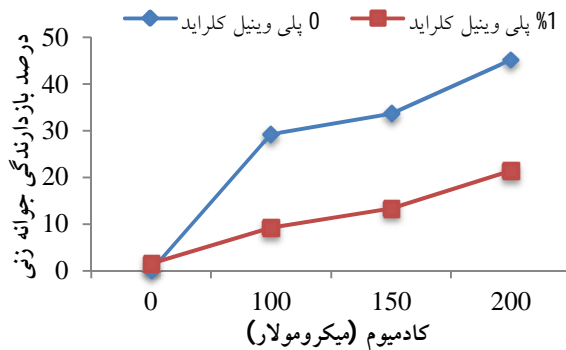
ج



ت



ث



شکل 1- درصد (الف)، سرعت (ب)، متوسط زمان جوانه زنی (پ)، شاخص بینه (ت) و درصد بازدارندگی جوانه زنی (ث)

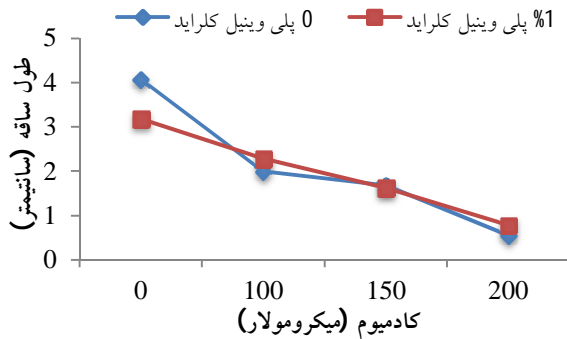
در پاسخ به سطوح مختلف کادمیوم و پلی وینیل کلراید

2- پ و ت). گزارش شده تیمار ترکیبی کادمیوم و غلظت‌های کم پلاستیک سمیت کادمیوم را با ارتقای متابولیسم کربوهیدرات و اسیدهای آمینه کاهش می‌دهد، در نتیجه منجر به افزایش رشد و بیوماس گیاهچه‌ها می‌شود (3).

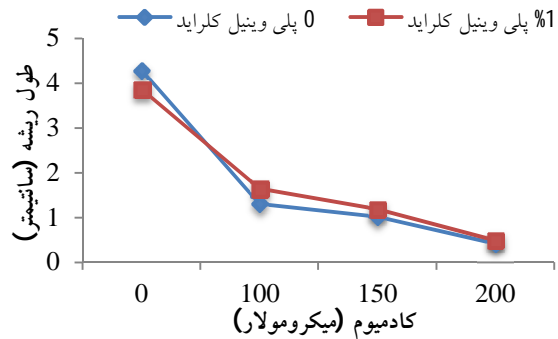
### نتیجه گیری

با توجه به این‌که فلز سنگین کادمیوم باعث اختلال در صفات جوانه زنی و رشدی گیاهچه‌های ارزن دم روباهی شد. بر اساس نتایج به دست آمده حضور ذرات پلاستیک پلی وینیل کلراید تا اندازه‌ای باعث بهبود و تعدیل شرایط تنش کادمیوم و شاخص‌های مورد بررسی به خصوص درصد جوانه زنی، شاخص بینه و میزان بازدارندگی جوانه زنی گردید.

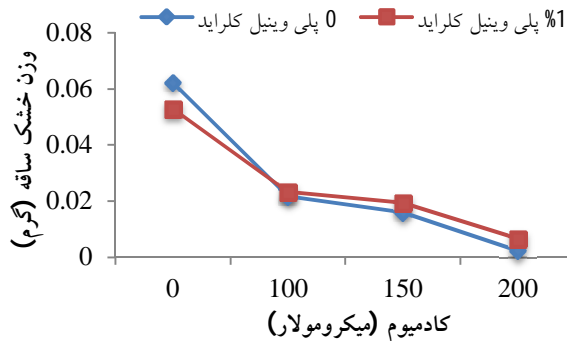
الف



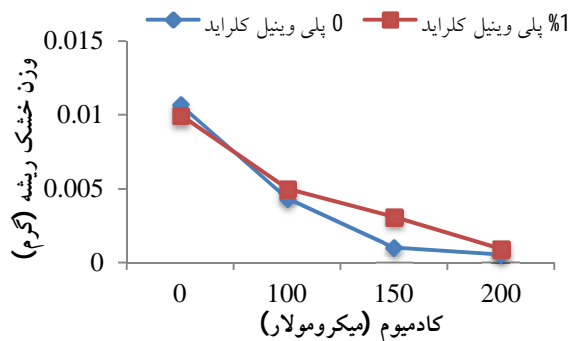
ب



ج



د



شکل 2- طول ساقه (الف)، طول ریشه (ب)، وزن خشک ساقه (پ) و وزن خشک ریشه (ت) در پاسخ به سطوح مختلف کادمیوم و پلی وینیل کلراید

#### منابع مورد استفاده

- BOSKER, T., BOUWMAN, L. J., BRUN, N. R., BEHRENS, P. & VIJVER, M. G. 2019. Microplastics accumulate on pores in seed capsule and delay germination and root growth of the terrestrial vascular plant *Lepidium sativum*. *Chemosphere*, 226, 774-781.
- DE SOUZA MACHADO, A. A., LAU, C. W., KLOAS, W., BERGMANN, J., BACHELIER, J. B., FALTIN, E., BECKER, R., GÖRLICH, A. S. & RILLIG, M. C. 2019. Microplastics Can Change Soil Properties and Affect Plant Performance. *Environmental Science & Technology*, 53, 6044-6052.
- DING, T., WEI, L., HOU, Z., LI, J., ZHANG, C. & LIN, D. 2022. Microplastics altered contaminant behavior and toxicity in natural waters. *Journal of Hazardous Materials*, 425, 127908.
- GUO, X., HU, G., FAN, X. & JIA, H. 2020. Sorption properties of cadmium on microplastics: The common practice experiment and A two-dimensional correlation spectroscopic study. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 190, 110118.
- KANU, A. S., ASHRAF, U., MO, Z., FUSEINI, I., MANSARAY, L. R., DUAN, M., PAN, S. & TANG, X. 2017. Cadmium Uptake and Distribution in Fragrant Rice Genotypes and Related Consequences on Yield and Grain Quality Traits. *Journal of Chemistry*, 2017, 1405878.
- RAGAERT, K., DELVA, L. & VAN GEEM, K. 2017. Mechanical and chemical recycling of solid plastic waste. *Waste Management*, 69, 24-58.
- ZHANG, G., ZOU, Y., XU, Q., WANG, Y., LIU, C., & LI, F. 2019. Proceedings of joint effect of microplastics and pollutants in water. *Transactions of Oceanology and Limnology*, 2, 59-69.

## The effect of polyvinyl chloride on germination and seedling characteristics of foxtail millet (*Setaria italica* L.) under cadmium stress

Sepideh Nikoumaram<sup>1\*</sup>, Ali Sepehri<sup>2</sup>

<sup>1,2</sup>Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

\* Email: s.nikoumaram@yahoo.com

### Abstract

Cadmium and plastic particles are potential threats to agricultural production and human health. In this research, the cadmium's negative impact in the presence of plastic particles was investigated in the foxtail millet (*Setaria italica* L., cv. Bastan) seedlings. The experiment was arranged in a factorial completely randomized design with three replicates, including four concentrations of cadmium 0, 100, 150, and 200  $\mu\text{M}$  and polyvinyl chloride plastic 0 and 1%. The traits of germination percentage and rate, average germination time, seedling vigor index, germination inhibition percentage, length, and dry weight of stem and root were investigated. According to our results, the presence of polyvinyl chloride in the seedling culture improved cadmium-damaging conditions. So, 1% polyvinyl chloride application under the 200  $\mu\text{M}$  cadmium led to an increase in germination percentage by 43.2% and a decrease in the germination inhibition percentage by 52.4%. It seems that the polyvinyl chloride particles reduced the cadmium adverse effect and provided the proper conditions for better growth of foxtail millet seedlings.

**Keywords:** Cadmium, Foxtail millet, Germination, Polyvinyl chloride, Stress.

اثر براسینواسترئوئید و مخمر بر پارامترهای رشد بامیه (*Abelmoschus esculentus* L.) در

مزرعه

سید وحید سعیدی حسینی<sup>1</sup>، سید محمدجواد آروین<sup>1</sup>، فاطمه نژادعلیمرادی<sup>2\*</sup>

1- کارشناس ارشد و استاد علوم باغبانی، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران  
2- \*نویسنده مسئول: استادیار، دکتری تخصصی فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران  
Alimoradi@pnu.ac.ir

## چکیده

استفاده از تنظیم کننده رشد براسینواستروئید و کود زیستی عصاره مخمر می‌تواند بر رشد و عملکرد گیاه تاثیر گذار باشد. در این پژوهش، اثر خیساندن بذر (پرایمینگ بذر) بامیه در محلول‌های حاوی 0، و 0/75 میلی‌مولار براسینواستروئید به مدت 24 ساعت و سپس دو بار محلول‌پاشی گیاهان با عصاره مخمر با غلظت 7 گرم در لیتر بر میزان محصول و کیفیت میوه بامیه مطالعه گردید. اثر متقابل تیمارهای براسینواستروئید و محلول‌پاشی گیاهان با عصاره مخمر بر کلیه صفات اندازه‌گیری شده معنی‌دار بود و سبب بهبود پارمترهای کمی و کیفی میوه گردید. در مقایسه با شاهد، ترکیب دو تیمار براسینواستروئید و مخمر منجر به افزایش تعداد میوه در بوته (79 درصد)، وزن میوه در بوته (75 درصد)، محتوای آب نسبی برگ (23 درصد)، شاخص کلروفیل (35 درصد)، ویتامین C میوه (38 درصد) و قندهای محلول (20 درصد) و کاهش 55 درصدی نشت یونی برگ گردید.

واژگان کلیدی: بامیه، پرایمینگ بذر، براسینواستروئید، عصاره مخمر

## مقدمه

بامیه<sup>49</sup>، متعلق به خانواده Malvaceae و دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی، تعدیل‌کننده سیستم ایمنی، کاهش‌دهنده چربی، ضد سرطان، ضد باکتری و ضد دیابت می‌باشد (1). پرایمینگ<sup>50</sup> یا خیساندن بذر یک فرآیند فیزیولوژیکی کم‌هزینه و مؤثر است که منجر به افزایش رشد و نمو گیاه می‌شود (2). براسینواستروئیدها هورمون‌های استروئیدی هستند که در مکانیسم پاسخ گیاهان به تنش‌های زیستی و غیر زیستی نقش دارند (3). پرایمینگ بذر با 5 میکرومولار براسینولید منجر به بهبود رشد یونجه (4)، همچنین پرایمینگ دانه بادام زمینی با 0/15 ppm براسینواستروئید عملکرد بادام زمینی را افزایش داد (5). مخمر نان<sup>51</sup> محرک زیستی است که به دلیل داشتن اسیدهای آمینه، هورمون‌ها، ویتامین‌ها و همچنین ریزمغذی‌ها اثرات مفیدی بر رشد گیاهان ایفا می‌کند (6). محلول‌پاشی با عصاره 2 درصد مخمر پارمترهای رشد، عملکرد و کیفیت نخود را باعث افزایش داد (7). پژوهش حاضر به منظور مطالعه اثر تیمارهای براسینواستروئید به صورت پرایمینگ بذر و محلول‌پاشی با عصاره مخمر بر رشد و عملکرد میوه بامیه انجام شد.

## مواد و روش‌ها

این پژوهش به منظور بررسی اثر خیساندن بذر با براسینواستروئید و/یا محلول‌پاشی گیاهان با عصاره مخمر بر شاخص‌های رشد و عملکرد گیاه بامیه در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کرمان اجرا شد. در این آزمایش اثر خیساندن بذر با براسینواستروئید (صفر و 0/75 میکرومولار) و محلول‌پاشی با عصاره مخمر (صفر و 7 گرم در لیتر) در سه مرحله انجام و

<sup>49</sup> *Abelmoschus esculentus* L.

<sup>50</sup> Priming

<sup>51</sup> *Saccharomyces cerevisiae*

پارامترهای محتوی آب نسبی برگ(8)، نشت یونی(9)، تعداد میوه، وزن کل میوه در بوته، شاخص کلروفیل، ویتامین C(10) و مواد جامد محلول(11) اندازه گیری شد.

**تجزیه و تحلیل آماری:** داده‌ها با نرم افزار SPSS تحت آنالیز واریانس قرار گرفته و اختلاف میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال 5 درصد مقایسه شدند.

### نتایج و بحث

خیساندن بذر با براسینوستروئید سبب افزایش شاخص‌های رشدی و عملکردی گیاه شامل وزن و تعداد میوه، محتوای نسبی آب، ویتامین C، TSS و شاخص کلروفیل گردید و نشت یونی را کاهش داد. محلول پاشی گیاه با مخمر نیز بر پارامترهای ذکر شده اثر معنی‌داری داشت. در مقایسه با شاهد، ترکیب دو تیمار Br و مخمر منجر به افزایش تعداد میوه در بوته (79 درصد)، وزن میوه در بوته (75 درصد)، محتوای آب نسبی برگ (23 درصد)، شاخص کلروفیل (35 درصد)، ویتامین C میوه (38 درصد) و قندهای محلول (20 درصد) و کاهش 55 درصدی نشت یونی برگ گردید.

آماده‌سازی بذر یک راهکار جهت افزایش جوانه‌زنی، کیفیت گیاهچه‌های تولیدی و استقرار مطلوب گیاه می‌باشد. مشابه پژوهش حاضر، اثر براسینوستروئید در گیاه باقلا(12) و ذرت(13) و اثر مخمر در گیاه برنج (14)، باقلا(15) سیر(16) و چغندر قند(17) مشاهده شده است. افزایش شاخص‌های رشدی در اثر کاربرد براسینوستروئید در بامیه(18)، فلفل(19) و گودوچی(20) اثر عصاره مخمر در باقلا(21) را می‌توان به کاهش نشت یونی و افزایش پایداری غشا نسبت داد(22).

**جدول 1- اثر پرایمینگ بذر با محلول سالیسیلیک اسید بر پارامترهای جوانه‌زنی بذر و رشد نشاء گوجه‌فرنگی**

شاخص کلروفیل	TSS (%)	ویتامین C (میلی‌گرم در 100 گرم)	نشت یونی (%)	محتوای نسبی آب برگ (%)	وزن میوه در بوته (گرم)	تعداد میوه در بوته	عصاره مخمر (گرم در لیتر)	Br ( $\mu\text{M}$ )
40 <sup>c</sup>	2/5 <sup>b</sup>	25/2 <sup>b</sup>	45 <sup>a</sup>	62 <sup>c</sup>	350 <sup>c</sup>	42 <sup>c</sup>	0	0
46 <sup>b</sup>	2/6 <sup>b</sup>	27 <sup>b</sup>	40 <sup>b</sup>	68 <sup>b</sup>	435 <sup>b</sup>	53 <sup>b</sup>	7	0
50 <sup>b</sup>	2/85 <sup>a</sup>	32 <sup>a</sup>	38 <sup>b</sup>	71 <sup>b</sup>	450 <sup>b</sup>	55 <sup>b</sup>	0	0/75
54 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>	35 <sup>a</sup>	25 <sup>c</sup>	76 <sup>a</sup>	615 <sup>a</sup>	75 <sup>a</sup>	7	0/75

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال 5 درصد، اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

گزارش شده است بهبود شاخص‌های رشد و عملکرد گیاه با کاربرد عصاره مخمر می‌تواند به دلیل افزایش سطح هورمون اندروژن بویژه جیبرلین، اکسین و سیتوکنین و ریزمغذی‌ها باشد که منجر به طول شدن و تقسیم سلولی می‌شود(16). براسینوستروئیدها بر بسیاری از صفات زراعی مهم مرتبط با رشد، فتوسنتز، عملکرد و کیفیت محصول تأثیر می‌گذارند(23) (Nie et al, 2017). افزایش شاخص‌های عملکردی گیاه تحت تأثیر عصاره مخمر از طریق حفظ ثبات غشاء، اثر بر فتوسنتز و اختصاص کربوهیدرات بیشتری به بخش‌های زایشی گیاه و افزایش عملکرد گیاه می‌باشد(16). کاربرد عصاره مخمر به همراه میکرو کلات روی سبب افزایش قابل

توجهی در تشکیل و عملکرد میوه باقلا شد که ناشی از حضور سیتوکینین و همچنین اسیدهای آمینه در عصاره مخمر است که با تحریک تشکیل گل و رشد لوله گرده، تشکیل میوه و دانه نیز افزایش می‌یابد (15).

### نتیجه‌گیری

پژوهش حاضر نشان داد که پرایم کردن بذر بامیه در محلول Br و سپس محلول پاشی گیاه با عصاره مخمر باعث بهبود رشد و نمو، عملکرد میوه و صفات کیفی آن می‌گردد. بنابراین استفاده از پرایمینگ بذر و کود زیستی، به عنوان یک راهکار مدیریتی ساده و کم هزینه و حفظ محیط زیست برای افزایش عملکرد محصولات زراعی می‌توان در نظر گرفت.

### Reference:

- 1-Elkhalifa, A. E.O., Alshammari, E., Adnan, M., Alcantara, J.C., Awadelkareem, A.M., Eltoun, N.E., and Ashraf, S.A., 2021. Okra (*Abelmoschus esculentus*) as a potential dietary medicine with nutraceutical importance for sustainable health applications. *Molecules*, 26(3): 696.
- 2-Rhaman, M.S., Imran, S., Rauf, F., Khatun, M., Baskin, C.C., Murata, Y. and Hasanuzzaman, M., 2020. Seed priming with phytohormones: An effective approach for the mitigation of abiotic stress. *Plants*, 10: 37.
- 3-Bajguz, A., and Hayat, S., 2009. Effects of brassinosteroids on the plant responses to environmental stresses. *Plant Physiology and Biochemistry*, 47(1): 1-8.
- 4-Zhang, S., Hu, J., Zhang, Y., Xie, X. and Knapp, A., 2007. Seed priming with brassinolide improves lucerne (*Medicago sativa* L.) seed germination and seedling growth in relation to physiological changes under salinity stress. *Australian Journal of Agricultural Research*, 58: 811-815.
- 5-Huang, L., Zhang, L., Zeng, R., Wang, X., Zhang, H., Wang, L., Liu, S., Wang, X. and Chen, T., 2020. Brassinosteroid priming improves peanut drought tolerance via eliminating inhibition on genes in photosynthesis and hormone signaling. *Genes*, 11(8): 919.
- 6-Doklega, S., 2018. Okra plants response to farmyard manure, mineral and some bio-fertilizers. *Journal of Plant Production*, 9(2): 165-172.
- 7-Mahmoud, R.A., El-Desuki, M., Mona, M.A. M., and Aisha, H.A., 2013. Effect of compost levels and yeast extract application on the pea plant growth, pod yield and quality. *Journal of Applied Sciences Research*, 9(1): 149-155.
- 8-Hayat, S., Ali, B., Hasan, S. A. and Ahmad, A., 2007. Brassinosteroid enhanced the level of antioxidants under cadmium stress in *Brassica juncea*. *Environmental and experimental botany*, 60(1): 33-41.
- 9-Ben Hamed, K., Castagna, A., Salem, E., Ranieri, A. and Abdelly, C., 2007. Sea fennel (*Crithmum maritimum* L.) under salinity conditions: a comparison of leaf and root antioxidant responses. *Plant growth regulation*, 53(3): 185-194.
- 10-Fu, X.P., Li, J.P., Zhou, Y., Ying, Y.B., Xie, L.J., Niu, X.Y., Yan, Z.K. and Yu, H.Y. 2009. Determination of soluble solid content and acidity of loquats based on FT-NIR spectroscopy. *Journal of Zhejiang University Science*, 10(2): 120-125.
- 11-Javanmardi, J. and Kubota, C., 2006. Variation of lycopene, antioxidant activity, total soluble solids and weight loss of tomato during postharvest storage. *Postharvest biology and technology*, 41(2): 151-155.
- 12-Talaat, N. B., & Abdallah, A. M., 2010. Effect of 28-homobrassinolide and 24-epibrassinolide on the growth, productivity and nutritional value of two faba bean (*Vicia faba* L.) cultivars. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 56(6): 649-669.
- 13-Holá, D., Rothová, O., Kočová, M., Kohout, L., and Kvasnica, M. 2010. The effect of brassinosteroids on the morphology, development and yield of field-grown maize. *Plant growth regulation*, 61(1): 29-43.
- 14-Dewedar, G.A., & Ibrahim, E.A.M., 2016. Effect of foliar application of yeast on yield and seed quality of some rice cultivars. *Journal Plant Production, Mansoura University*, 7(6), 593-601.



- 15- Mady, M.A. 2009. Effect of foliar application with yeast extract and Zinc on fruit setting and yield of faba bean (*Vicia faba* L.). *The Journal of Biological Chemistry Science*, 4(2), 109-127.
- 16-Shalaby, T.A., and El-Ramady, H., 2014. Effect of foliar application of bio-stimulants on growth, yield, components, and storability of garlic (*Allium sativum* L.). *Australian Journal of Crop Science*, 8(2), 271-283.
- 17-Ibrahim, S.M., Ibrahim, H.A., and Omer, A.M., 2012. Comparative study of the effects of some organic extract on sugar beet yield under saline conditions. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 6, 664-674.
- 18-Khan, M.W., Shahid, M.A., and Balal, R.M., 2017. Determination of Critical Level of Brassinosteroid (24-epibrassinoloid) for Heat-tolerance in Okra (*Abelmoschus esculentus* L.). *B. Life and Environmental Sciences*, 54 (3), 207-217.
- 19-Houimli, S.I. M., Denden, M., and Mouhandes, B.D., 2010. Effects of 24-epibrassinolide on growth, chlorophyll, electrolyte leakage and proline by pepper plants under NaCl-stress. *EurAsian Journal of BioSciences*, 4, 96-104.
- 20-Raghu, K., and Rao, R., 2016. Effect of brassinosteroids on antioxidants content and radical scavenging activity of *Tinospora cordifolia* (Willd.) Miers ex Hook. F & Thoms. *Journal of Medicinal Plants*, 4(5), 117-121.
- 21-El-Shraiy, A.L., Hegazi, A.M., and Hikal, M.S., 2016. nodule formation, antioxidant enzymes activities and other biochemical changes in salt stressed *Faba Bean* plants treated with *Glycine betaine*, *Arbuscular mycorrhiza* fungi and yeast extract. *Middle East Journal of Applied Sciences*, 6(4): 1076-1099.
- 22-Krishna, P., Prasad, B.D., and Rahman, T., 2017. Brassinosteroid action in plant abiotic stress tolerance. In *Brassinosteroids* (pp. 193-202). Humana Press, New York, NY.
- 23-Nie, S., Huang, S., Wang, S., Cheng, D., Liu, J., Lv, S., Li, Q. and Wang, X., 2017. Enhancing brassinosteroid signaling via overexpression of tomato (*Solanum lycopersicum*) SIBRI1 improves major agronomic traits. *Frontiers in Plant Science*, 8: 1386.

## Effect of brassinosteroid and yeast on quantitative and qualitative parameters of *Abelmoschus esculentus* L. in the field

Seyed Vahid Saedi Hosseini<sup>1</sup>, Seied Mohammad Javad Arvin<sup>1</sup>, Fatemeh Nejad-Alimoradi<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Horticulture, College of Agriculture, Bahonar University, Kerman, Iran

<sup>2</sup>Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran

\*Corresponding Author: [Alimoradi@pnu.ac.ir](mailto:Alimoradi@pnu.ac.ir)

### Abstract

The use of brassinosteroid (Br) growth regulator and yeast extract bio-fertilizer can affect plant growth and performance. In this research, the effect of soaking okra seeds (seed priming) in solutions containing 0, and 0.75 mM Br for 24 hours and then spraying the plants twice with yeast extract with a concentration of 7 grams per liter on the yield and quality of okra fruit was studied. The results showed that the interaction effect of Br treatments and foliar spraying of plants with yeast extract was significant on all the measured traits and led to the improvement of the quantitative and qualitative parameters of the fruit. Compared to the control, the combination of Br and yeast led to an increase in the number of fruits per plant (79%), fruit weight per plant (75%), relative leaf water content (23%), chlorophyll index (35%), fruit vitamin C. (38 percent) and soluble sugars (12 percent) and a 55 percent reduction in ion leakage.

**Keywords:** *Abelmoschus esculentus*, brassinosteroid, seed priming, yeast extract

اثر سالیسیلیک اسید بر جوانه زنی بذر و رشد نشاء گوجه فرنگی (*Solanum lycopersicum*)

حمیدرضا درفش<sup>1</sup>، سید محمد جواد آروین<sup>2</sup>، فاطمه نژادعلیمرادی<sup>3\*</sup>

1- کارشناس ارشد و استاد علوم باغبانی، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید بهنر کرمان، کرمان، ایران

2- \*نویسنده مسئول: استادیار، دکتری تخصصی فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

Alimoradi@pnu.ac.ir

## چکیده

جوانه زنی و رشد اولیه نشاء گیاهان، از مهم ترین عوامل مؤثر بر استقرار گیاه و تولید محصول است. پرایمینگ هورمونی با سالیسیلیک اسید نقش مهمی در متابولیسم بذر و تنظیم رشد و نمو گیاه ایفا می کند. در این تحقیق، اثر خیساندن بذر (پرایمینگ بذر) در محلول های حاوی 0، 0/1، 0/25، 0/5 میلی مولار SA به مدت 24 ساعت بر خصوصیات جوانه زنی بذر و همچنین خصوصیات نشاء (وزن تر و خشک گیاه، نشت یونی، محتوای آب نسبی گیاه و شاخص کلروفیل برگ) مطالعه گردید. نتایج نشان داد در مقایسه با شاهد، کلیه تیمارها SA باعث بهبود درصد و سرعت جوانه زنی، افزایش ارتفاع، وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه و همچنین افزایش محتوای آب نسبی، شاخص کلروفیل برگ و کاهش نشت یونی برگ گردید. اگرچه در اکثر موارد، اختلاف معنی داری بین تیمارهای SA در پارامترهای اندازه گیری شده مشاهده نگردید اما به طور کلی اثر 0/5 میلی مولار نسبت به سایر غلظت ها شاخص تر بود.

واژگان کلیدی: پرایمینگ بذر، سالیسیلیک اسید، *Solanum lycopersicum*

## مقدمه

گوجه فرنگی<sup>52</sup> گیاهی یک ساله، متعلق به خانواده Solanaceae و محصول زراعی مهم و تجاری در سطح جهان است، که منبع غالب کاروتنوئیدهایی مانند لیکوپن و اسید آسکوربیک با خواص آنتی اکسیدانی می باشد (1). پرایمینگ<sup>53</sup> یا خیساندن بذر یک فرآیند فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی کم هزینه و مؤثر است که منجر به تحریک جوانه زنی بذر، بهبود پارامترهای مورفولوژیکی و افزایش رشد و نمو گیاه تحت تنش غیرزیستی می شود (2) و پرایمینگ با سالیسیلیک اسید نمونه ای از بیوپرایمینگ است (3). مشخص شده است که SA نقش کلیدی در تنظیم رشد و نمو گیاه و در پاسخ به تنش های محیطی دارد. علاوه بر این، نقش آن در فرایند گلپولیز، جوانه زنی بذر، عملکرد میوه، گلدهی در گیاهان گرمزا، جذب و انتقال یونی، نرخ فتوسنتز، هدایت روزنه ای و تعرق ثابت شده است (6). پژوهش حاضر به منظور مطالعه اثر تیمارهای SA به صورت پرایمینگ بذر بر جوانه زنی و تولید نشاء گوجه فرنگی در گلخانه انجام شد.

## مواد و روش ها

این پژوهش در دو مرحله (آزمایش جوانه زنی بذر در پتری دیش، آزمایش تولید نشاء در گلخانه) انجام شد. آزمایش جوانه زنی بذر با طرح پایه ی کاملاً تصادفی و با چهار تکرار (20 بذر در هر پتری دیش) انجام و پس از 10 روز پارامترهای جوانه زنی شامل درصد و سرعت جوانه زنی اندازه گیری شد (7). آزمایش تولید نشاء در قالب طرح کاملاً تصادفی با 3 تکرار (هر تکرار شامل 20 عدد گلدان) انجام شد. تیمارها در مرحله جوانه زنی و تولید نشاء شامل خیساندن بذر در محلول SA با غلظت های 0، 0/1، 0/25 و 0/5 میلی مولار به مدت 24 ساعت بود. پس از 7 هفته،

<sup>52</sup> *Solanum lycopersicum* L.

<sup>53</sup> Priming

پارامترهای محتوای آب نسبی برگ (8)، نشت یونی (9) طول و ارتفاع ریشه و اندام هوایی، وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی اندازه گیری شد.

تجزیه و تحلیل آماری: داده‌ها با نرم افزار SPSS تحت آنالیز واریانس قرار گرفته و اختلاف میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال 5 درصد مقایسه شدند.

### نتایج و بحث

سطوح مختلف SA، بر پارامترهای جوانه‌زنی و رشد نشاء، معنی دار بود. در مقایسه با شاهد غلظت 0/5 میلی مولار SA، به ترتیب درصد و سرعت جوانه‌زنی را 16 و 29 درصد محتوی نسبی آب را 18 درصد، ارتفاع نشاء را 105 درصد و شاخص کلروفیل را 18 درصد افزایش و نشت یونی را کاهش داد. بیشترین وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی نشاءهای گوجه‌فرنگی در مقایسه با شاهد، مربوط به تیمار SA با غلظت 0/5 اختصاص داشت و به ترتیب در ریشه 62 و 63 درصد و در اندام هوایی 120 و 124 درصد آن‌ها را افزایش داد. با وجود اینکه تفاوت معنی‌داری بین سطوح مختلف SA در این پارامترها مشاهده نشد ولی با شاهد اختلاف معنی‌داری نشان دادند (جدول 1).

گزارش‌ها نشان می‌دهد که SA ویژگی‌های رشدی، سطح برگ، ماده خشک و تولید در گوجه‌فرنگی را افزایش می‌دهد (10، 11، 12 و 13). گزارش شده‌است که SA با حفظ و بهبود سیستم ریشه‌ای گیاهان خیار، بهبود جذب مواد مغذی، افزایش کربوهیدرات گل‌ها و میوه‌ها، و در نتیجه‌ی همه اینها، تعداد و اندازه میوه‌ها افزایش یافته است (14). (Abbasi et al. 2020) همچنین SA با افزایش رشد ریشه در دوره رویشی تا حدودی مسئول تولید و بهره‌وری بالاتر گوجه‌فرنگی است (15).

جدول 1- اثر پرایمینگ بذر با محلول سالیسیلیک اسید بر پارامترهای جوانه‌زنی بذر و رشد نشاء گوجه‌فرنگی

شاخص کلروفیل	نشت یونی (%)	وزن خشک ریشه (میلی‌گرم)	وزن تر ریشه (گرم)	وزن خشک اندام هوایی (میلی‌گرم)	وزن تر اندام هوایی (گرم)	ارتفاع نشاء (cm)	محتوای نسبی آب برگ (%)	سرعت جوانه‌زنی (در روز)	جوانه‌زنی (%)	SA (mM)
44 <sup>b</sup>	69 <sup>a</sup>	43 <sup>b</sup>	1 <sup>c</sup>	129 <sup>c</sup>	1/54 <sup>c</sup>	3/8 <sup>b</sup>	54 <sup>b</sup>	2/40 <sup>b</sup>	80 <sup>b</sup>	0
50 <sup>a</sup>	59 <sup>b</sup>	61 <sup>a</sup>	1/3 <sup>b</sup>	212 <sup>b</sup>	2/7 <sup>b</sup>	6/3 <sup>a</sup>	61 <sup>a</sup>	2/8 <sup>a</sup>	91 <sup>a</sup>	0/1
51 <sup>a</sup>	57 <sup>b</sup>	63 <sup>a</sup>	1/35 <sup>b</sup>	236 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>	7/1 <sup>a</sup>	63 <sup>a</sup>	2/9 <sup>a</sup>	93 <sup>a</sup>	0/25
52 <sup>a</sup>	56 <sup>b</sup>	71 <sup>a</sup>	1/62 <sup>a</sup>	289 <sup>a</sup>	3/4 <sup>a</sup>	7/8 <sup>a</sup>	66 <sup>a</sup>	3/1 <sup>a</sup>	94 <sup>a</sup>	0/5

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال 5 درصد، اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

کاربرد برون‌زای SA، پارامترهای رشد گیاه مانند ارتفاع بوته، ماده خشک اندام هوایی و ریشه را افزایش داده است. محتوای آب نسبی شاخص مناسبی برای بیان وضعیت آب برگ در گیاهان زراعی می‌باشد. مشابه این پژوهش، پرایمینگ با SA محتوای آب نسبی در گوجه‌فرنگی (15) را افزایش داد. محلول‌پاشی با غلظت 150 میلی‌گرم در لیتر SA و به صورت پرایمینگ بذر در 100 میلی‌گرم در لیتر منجر به بهبود عملکرد گیاه شد (16). روش‌های مختلف کاربرد SA از خیساندن بذر (پرایمینگ) تا محلول‌دهی به خاک (ریشه) یا کاربرد برگی بررسی شده، با این حال، نتایج متضادی گزارش شده‌است. افزایش شاخص اندازه‌گیری کلروفیل و

سرعت فتوسنتز در گیاهان به دلیل کاربرد SA منجر به افزایش کلی رشد گیاه و عملکرد میوه می شود (16). اثربخشی کاربرد SA تا حد زیادی به گونه های گیاهی و روش مصرف همراه با دوز مصرف بستگی دارد (16).

### نتیجه گیری

جوانه زنی و رشد اولیه نشاء گیاهان، از مهم ترین عوامل مؤثر بر استقرار گیاه و تولید محصول است. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که پرایمینگ بذر با SA به طور چشمگیری پارامترهای جوانه زنی بذر و رشد اولیه گیاه بهبود بخشید و غلظت 0/5 میلی مولار آن نسبت به سایر غلظت ها مؤثرتر بود.

### Reference:

- 1-Salim, M.M.R., Rashid, M.H., Hossain, M.M. and Zakaria, M., 2020. Morphological characterization of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) genotypes. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences, 19: 233-240.
- 2-Rhman, M.S., Imran, S., Rauf, F., Khatun, M., Baskin, C.C., Murata, Y. and Hasanuzzaman, M., 2020. Seed priming with phytohormones: An effective approach for the mitigation of abiotic stress. Plants, 10: 37.
- 3-Zhao, T., Deng, X., Xiao, Q., Han, Y., Zhu, S. and Chen, J., 2020. IAA priming improves the germination and seedling growth in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) via regulating the endogenous phytohormones and enhancing the sucrose metabolism. Industrial Crops and Products, 155: 112788.
- 4-Wiszniewska, A. 2021. Priming strategies for benefiting plant performance under toxic trace metal exposure. Plants, 10: 623.
- 5-Aires, E.S., Ferraz, A.K.L., Carvalho, B.L., Teixeira, F.P., Putti, F.F., de Souza, E.P., ... & Ono, E.O., 2022. Foliar application of salicylic acid to mitigate water stress in tomato. Plants, 11(13), 1775.
- 6-Hayat, Q., Hayat, S., Irfan, M., and Ahmad, A. 2010. Effect of exogenous salicylic acid under changing environment: a review. Environmental and experimental botany, 68(1), 14-25.
- 7- Maguire, J.D., 1962. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. Crop Science, 2: 176-177.
- 8-Hayat, S., Ali, B., Hasan, S. A. and Ahmad, A., 2007. Brassinosteroid enhanced the level of antioxidants under cadmium stress in *Brassica juncea*. Environmental and experimental botany, 60(1): 33-41.
- 9-Ben Hamed, K., Castagna, A., Salem, E., Ranieri, A. and Abdelly, C., 2007. Sea fennel (*Crithmum maritimum* L.) under salinity conditions: a comparison of leaf and root antioxidant responses. Plant growth regulation, 53(3): 185-194.
- 10-El-Hady N, ElSayed A.I., El-Saadany S.S., Deligios P.A., Ledda L., 2021. Exogenous application of foliar salicylic acid and propolis enhances antioxidant defenses and growth parameters in tomato plants. Plants 10:74.
- 11-Galviz-Fajardo, Y.C., Bortolin, G.S., Deuner, S., Amarante, L.D., Reolon, F., and Moraes, D.M.D., 2020. Seed priming with salicylic acid potentiates water restriction-induced effects in tomato seed germination and early seedling growth. Journal of Seed Science, 42. 20-31.
- 12-Gharbi, E., Lutts, S., Dailly, H., and Quinet, M., 2018. Comparison between the impacts of two different modes of salicylic acid application on tomato (*Solanum lycopersicum*) responses to salinity. Plant Signaling & Behavior, 13(5): e1469361.

**13-Lobato, A.K.D.S., Barbosa, M.A.M., Alsahli, A.A., Lima, E.J.A., and Silva, B.R.S.D. 2021.** Exogenous salicylic acid alleviates the negative impacts on production components, biomass and gas exchange in tomato plants under water deficit improving redox status and anatomical responses. *Physiologia Plantarum*, 172(2), 869-884.

**14-Abbasi, F., Khaleghi, A. and Khadivi, A., 2020.** The effect of salicylic acid on physiological and morphological traits of cucumber (*Cucumis sativus* L. cv. Dream). *Gesunde Pflanzen* 72:155–162.

**15-Souri, M.K., and Tohidloo, G., 2019.** Effectiveness of different methods of salicylic acid application on growth characteristics of tomato seedlings under salinity. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 6(1), 1-7.

**16-Chakma, R., Biswas, A., Saekong, P., Ullah, H., and Datta, A., 2021.** Foliar application and seed priming of salicylic acid affect growth, fruit yield, and quality of grape tomato under drought stress. *Scientia Horticulturae*, 280: 109904.

## Effect of salicylic acid on seed germination and seedling growth of *Solanum lycopersicum* L.

Hamid Reza Darafshi<sup>1</sup>, Seied Mohammad Javad Arvin<sup>1</sup>, Fatemeh Nejad-Alimoradi<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Horticulture, College of Agriculture, Bahonar University, Kerman, Iran

<sup>2</sup>Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran

\*Corresponding Author: [Alimoradi@pnu.ac.ir](mailto:Alimoradi@pnu.ac.ir)

### Abstract

Germination and initial growth of seedlings are one of the most important factors affecting plant establishment and crop production. Hormonal priming with salicylic acid (SA) plays an important role in seed metabolism and regulation of plant growth and development. In this research, the effect of soaking seeds (seed priming) in solutions containing 0, 0.1, 0.25, 0.5 mM SA for 24 hours on seed germination characteristics as well as seedling characteristics (plant wet and dry weight, ion leakage, relative plant water content and leaf chlorophyll index) were studied. The results showed that compared to the control, all SA treatments improved the percentage and speed of germination, increased height, wet and dry weight of shoot and root, as well as increased relative water content, leaf chlorophyll index and reduced leaf ion leakage. Although in most cases, no significant difference was observed between SA treatments among the measured parameters, but in general, the effect of 0.5 mM was more significant than other concentrations.

**Keywords:** salicylic acid, seed priming, *Solanum lycopersicum*

## واکنش رشد و نمو گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum* L.) به تیمارهای سالیسیلیک اسید

### در مزرعه

حمیدرضا درفش<sup>1</sup>، سید محمدجواد آروین<sup>2</sup>، فاطمه نژادعلیمرادی<sup>3\*</sup>

1- کارشناس ارشد و استاد علوم باغبانی، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

2- نویسنده مسئول: استادیار، دکتری تخصصی فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

Alimoradi@pnu.ac.ir

### چکیده

تیمار بذر گیاهان در مراحل اولیه رشد با غلظت‌های مناسب سالیسیلیک اسید باعث بهبود رشد و نمو و افزایش محصول می‌گردد. در دو آزمایش گلخانه‌ای و مزرعه، اثر خیساندن بذر (پرایمینگ بذر) گوجه‌فرنگی در محلول‌های حاوی 0، 0/25 و 0/5 میلی‌مولار سالیسیلیک اسید بر رشد و نمو و تولید محصول مطالعه گردید. نتایج نشان داد در مقایسه با شاهد، تیمارهای سالیسیلیک اسید باعث بهبود کلیه پارامترهای اندازه‌گیری شده گردید و در اکثر موارد، تفاوت معنی‌داری بین دو غلظت 0/25 و 0/5 میلی‌مولار سالیسیلیک اسید مشاهده نگردید. افزایش تعداد شاخه‌های جانبی، تعداد خوشه‌های گل، کلروفیل کل برگ، تعداد میوه در بوته، وزن کل میوه در بوته، مقدار کاروتنوئید، ویتامین C، TSS تحت تأثیر تیمارهای سالیسیلیک اسید مشاهده گردید. همچنین تیمارهای سالیسیلیک اسید باعث کاهش pH و افزایش TA عصاره میوه شدند که از ویژگی‌های مهم کیفی گوجه‌فرنگی محسوب می‌شوند. بنابراین، استفاده از سالیسیلیک اسید به منظور افزایش کمیت و کیفیت میوه گوجه‌فرنگی حائز اهمیت است.

**واژگان کلیدی:** تنظیم‌کننده رشد، پرایمینگ بذر، سالیسیلیک اسید، گوجه‌فرنگی

### مقدمه

گوجه‌فرنگی<sup>54</sup> محصول زراعی متعلق به خانواده Solanaceae است که از نظر اهمیت در رتبه دوم بعد از سیب زمینی قرار دارد و در سراسر دنیا در مزارع و گلخانه‌ها رشد می‌کند (1). نقش اسید سالیسیلیک در فرایند گلیکولیز، جوانه‌زنی بذر، عملکرد میوه، گلدهی در گیاهان گرم‌آب، جذب و انتقال یونی، نرخ فتوسنتز، هدایت روزنه‌ای و تعرق ثابت شده است (2). در ارزن انگشتی، تحریک گلدهی، و در توت فرنگی، سیب و انبه، افزایش تعداد و وزن میوه تحت تیمار SA مشاهده شد (3). بیشتر مطالعات تنظیم‌کننده‌های رشد از جمله SA بر روی گیاهانی که تحت شرایط محیط کنترل شده در آزمایشگاه رشد کرده‌اند، انجام شده است. با این حال، تیمارهای کمی در مزرعه وجود دارد که تحت شرایط رشد واقعی انجام شده باشد. پژوهش حاضر به منظور مطالعه اثر تیمارهای SA به صورت محلول‌پاشی بر عملکرد میوه گوجه‌فرنگی انجام شد.

### مواد و روش‌ها

این پژوهش به منظور بررسی اثر خیساندن بذر با SA بر شاخص‌های رشد و عملکرد گیاه بامیه در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کرمان و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی اجرا شد. کوددهی در مزرعه با استفاده از 200

<sup>54</sup> *Solanum lycopersicum* L.

کیلوگرم اوره و 100 کیلوگرم فسفات آمونیوم و 100 کیلوگرم سولفات پتاسیم انجام گرفت و نصف مقدار کود اوره به همراه کودهای فسفره و پتاسه قبل از کشت در سطح زمین پخش و سپس با گاوآهن زمین شخم زده شد. سپس از بوته‌های حاوی میوه رسیده، نمونه‌برداری انجام و پارامترهای محتوی آب نسبی برگ (4)، وزن خشک بوته، تعداد شاخه جانبی و تعداد خوشه گل‌دهنده، تعداد روز تا گلدهی، تعداد میوه، وزن کل میوه برداشت‌شده در بوته (عملکرد بوته)، pH میوه، کلروفیل و کاروتنوئید (5)، ویتامین C (6)، مواد جامد محلول (7) و اسید قابل تیتراسیون (8) اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل آماری: داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS تحت آنالیز واریانس قرار گرفته و اختلاف میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال 5 درصد مقایسه شدند.

### نتایج و بحث

در مقایسه با شاهد، غلظت‌های مختلف SA بر وزن خشک بوته، تعداد شاخه جانبی، تعداد خوشه گل‌دهنده و وزن کل میوه، کلروفیل کل، کاروتنوئید، ویتامین C، مواد جامد محلول (TSS) و اسید قابل تیتراسیون (TA) در بوته گوجه‌فرنگی معنی‌دار بود و منجر به افزایش این پارامترها شد اما بین دو غلظت SA تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. بیشترین افزایش (53 درصد) تعداد میوه مربوط به تیمار 0/5 میلی‌مولار بود. تیمار SA، تعداد روز تا گلدهی و pH عصاره میوه نیز به‌طور معنی‌داری کاهش داد. اسیدی‌ترین میزان pH میوه مربوط به تیمار SA و قلبایی‌ترین حالت که برابر با pH بالاتر می‌باشد نیز در تیمار شاهد مشاهده شد و تفاوتی بین دو سطح تیماری SA مشاهده نشد (جدول 1 و 2).

افزایش وزن میوه در پژوهش حاضر تحت تاثیر تیمار SA با گزارش سایر محققین در توت‌فرنگی (9)، سبب (10)، گوجه‌فرنگی (1)، انبه (11) و خیار (12) مطابقت دارد. همچنین غلظت 1 میلی‌مولار SA با افزایش ماده خشک ریشه، عملکرد بلال، محتوای آب نسبی برگ و محتوای پرولین آزاد در شوری متوسط نتایج امیدوارکننده‌ای ارائه داد. پرایمینگ بذرها با 1 میلی‌مولار SA می‌تواند یک رویکرد امیدوارکننده برای تولید ذرت در سطح شوری متوسط تا 6 دسی‌زیمنس بر متر باشد (13). در پژوهش حاضر، اثر پرایمینگ SA بر صفات کیفی میوه، به طور قابل توجه‌ای چشمگیر بود. در مجموع، تیمارهای SA باعث بهبود پارامترهای کیفی میوه شامل کاروتنوئید، ویتامین C، TSS، pH و TA گردید.

جدول 1- اثر کاربرد سالیسیلیک اسید بر پارامترهای رشد گوجه‌فرنگی در مزرعه

SA (mM)	وزن خشک بوته (گرم)	تعداد شاخه جانبی	تعداد شاخه گل‌دهنده	تعداد روز تا گلدهی	تعداد میوه در بوته	وزن کل میوه در بوته
0	401 <sup>b</sup>	11 <sup>b</sup>	17 <sup>b</sup>	57 <sup>a</sup>	29/5 <sup>c</sup>	129 <sup>c</sup>
0/25	620 <sup>a</sup>	17/5 <sup>a</sup>	27 <sup>a</sup>	52 <sup>b</sup>	39/2 <sup>b</sup>	236 <sup>a</sup>
0/5	638 <sup>a</sup>	18/5 <sup>a</sup>	29 <sup>a</sup>	52 <sup>b</sup>	45/3 <sup>a</sup>	289 <sup>a</sup>

جدول 2- اثر کاربرد سالیسیلیک اسید بر پارامترهای فیزیولوژیکی گوجه‌فرنگی در مزرعه

SA (mM)	کلروفیل کل (mg/g FW)	کاروتنوئید (mg/g FW)	ویتامین C (میلی‌گرم در 100 گرم)	pH عصاره میوه	TSS	TA

3/4 <sup>b</sup>	4/4 <sup>b</sup>	4/9 <sup>a</sup>	25 <sup>b</sup>	28 <sup>b</sup>	11 <sup>b</sup>	0
4 <sup>a</sup>	5/2 <sup>a</sup>	4 <sup>b</sup>	31 <sup>a</sup>	31/5 <sup>a</sup>	14/1 <sup>a</sup>	0/25
4 <sup>a</sup>	5/3 <sup>a</sup>	4 <sup>b</sup>	32 <sup>a</sup>	31/7 <sup>a</sup>	15/1 <sup>a</sup>	0/5

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال 5 درصد، اختلاف معنی‌داری با هم ندارند. در صنایع غذایی، ارزیابی کیفی میوه‌ها و سبزیجات به عوامل متعددی مانند TSS، pH و غیره بستگی دارد. در محصولات میوه، سطح قند تا حد زیادی کیفیت میوه را تعیین می‌کند (14). خیساندن دانه‌های ذرت در 0,3 میلی مولار تا 0,9 میلی مولار SA درصد و سرعت جوانه زنی و طول ساقه بالاتر نشان داد، اما اثر آن در غلظت‌های بالاتر کاهش یافت (15). پرایمینگ بذر با غلظت 1200 میکرومولار SA، منجر به افزایش معنی‌دار محتوای آب نسبی و عملکرد دانه گندم شده است در حالی که غلظت‌های بالاتر از 1200 میکرومولار SA اثر مهاری داشته است (16). گزارش شده است که پارامترهای رشد و فعالیت فتوسنتزی، قندهای محلول کل (TSS) در برگ و ریشه در پاسخ به هر دو روش کاربرد پرایمینگ بذر و محلول‌دهی SA به ریشه، افزایش یافته است (17). در مطالعه حاضر، pH میوه تحت تیمار با SA در مقایسه با شاهد کاهش نشان داد. اثربخشی کاربرد SA تا حد زیادی به گونه‌های گیاهی، مرحله رشد، غلظت به کار رفته، روش کاربرد و شرایط محیطی بستگی دارد.

### نتیجه‌گیری

پژوهش حاضر نشان داد که پرایم کردن بذر گوجه‌فرنگی در محلول SA باعث بهبود رشد و نمو، عملکرد میوه و صفات کیفی آن می‌گردد. در روش استفاده از پرایمینگ بذر، به دلیل مصرف ناچیز ماده شیمیایی و آسان بودن مصرف آن، کمک بزرگی به حفظ محیط زیست و کاهش هزینه‌های تولید خواهد نمود.

### Reference:

- 1-Chakma, R., Biswas, A., Saekong, P., Ullah, H., and Datta, A., 2021. Foliar application and seed priming of salicylic acid affect growth, fruit yield, and quality of grape tomato under drought stress. *Scientia Horticulturae*, 280: 109904.
- 2-Hayat, Q., Hayat, S., Irfan, M., and Ahmad, A., 2010. Effect of exogenous salicylic acid under changing environment: a review. *Environmental and experimental botany*, 68(1), 14-25.
- 3-Koo, Y.M., Heo, A.Y., and Choi, H.W., 2020. Salicylic acid as a safe plant protector and growth regulator. *The plant pathology journal*, 36(1): 1-20.
- 4-Hayat, S., Ali, B., Hasan, S. A. and Ahmad, A., 2007. Brassinosteroid enhanced the level of antioxidants under cadmium stress in *Brassica juncea*. *Environmental and experimental botany*, 60(1): 33-41.
- 5-Lichtenthaler, H.K., 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. In *Methods in Enzymology*, Vol. 148, 350-382.
- 6-Fu, X.P., Li, J.P., Zhou, Y., Ying, Y.B., Xie, L.J., Niu, X.Y., Yan, Z.K. and Yu, H.Y. 2009. Determination of soluble solid content and acidity of loquats based on FT-NIR spectroscopy. *Journal of Zhejiang University Science*, 10(2): 120-125.
- 7-Javanmardi, J. and Kubota, C., 2006. Variation of lycopene, antioxidant activity, total soluble solids and weight loss of tomato during postharvest storage. *Postharvest biology and technology*, 41(2): 151-155.



- 8-Rasiouny, F.M., 1996. Blueberry fruit quality and storability influenced by postharvest application of polyamines and heat treatments. In Proceeding Florida State Horticultural Society. Florida State Horticultural Society, 109: 269-271.
- 9-Kazemi, M., 2013. Foliar application of salicylic acid and calcium on yield, yield component and chemical properties of strawberry. Bull. Environ. Pharmacol. Life Sci. 2:19-23.
- 10-Shaaban, M.M., Abd El-Aal, A.M.K. and Ahmed, F.F., 2011. Insight into the effect of salicylic acid on apple trees growing under sandy saline soil. Res. J. Agric. Biol. Sci. 7:150-156
- 11-Ngullie, C.R., Tank, R.V. and Bhandari, D.R., 2014. Effect of salicylic acid and humic acid on flowering, fruiting, yield and quality of mango (*Mangifera indica* L.) cv. KESAR. Adv. Res. J. Crop Improv. 5:136-139.
- 12-Abbasi, F., Khaleghi, A. and Khadivi, A., 2020. The effect of salicylic acid on physiological and morphological traits of cucumber (*Cucumis sativus* L. cv. Dream). Gesunde Pflanzen, 72:155-162.
- 13-Islam, A.T., Ullah, H., Himanshu, S.K., Tisarum, R., Chaum, S., and Datta, A., 2022. Effect of salicylic acid seed priming on morpho-physiological responses and yield of baby corn under salt stress. Scientia Horticulturae, 304, 111304.
- 14-Moghimi, A., Aghkhani, M.H., Sazgarnia, A., and Sarmad, M., 2010. Vis/NIR spectroscopy and chemometrics for the prediction of soluble solids content and acidity (pH) of kiwifruit. Biosystems engineering, 106(3), 295-302.
- 15-Sallam, A.M. and Ibrahim, H.I.M., 2015. Effect of grain priming with salicylic acid on germination speed, seedling characters, anti-oxidant enzyme activity and forage yield of teosinte. Am. Eurasian J. Agric. Environ. Sci. 15:744-753.
- ۱۶- عبداللهی، م. و شکاری، ف. 1393. تغییرات فیزیولوژیک در گیاهان گندم بر اثر تیمار بذری با سالیسیلیک اسید تحت شرایط کشت دیر هنگام. مجله زیست شناسی کاربردی. 62-45.
- 17-Galviz, Y.C., Bortolin, G.S., Guidorizi, K.A., Deuner, S., Reolon, F., and de Moraes, D., M., 2021. Effectiveness of seed priming and soil drench with salicylic acid on tomato growth, physiological and biochemical responses to severe water deficit. Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 21(3), 2364-2377.

## Response of *Solanum lycopersicum* L. growth and development to salicylic acid in the field

Hamid Reza Darafshi<sup>1</sup>, Seied Mohammad Javad Arvin<sup>1</sup>, Fatemeh Nejad-Alimoradi<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Horticulture, College of Agriculture, Bahonar University, Kerman, Iran

<sup>2</sup>Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran

\*Corresponding Author: [Alimoradi@pnu.ac.ir](mailto:Alimoradi@pnu.ac.ir)

**Abstract :** Pretreatment of plant seeds in the early stages of growth with appropriate concentrations of salicylic acid (SA) improves growth and increases yield. In two greenhouse and field experiments, the effect of soaking tomato seeds (seed priming) in solutions containing 0, 0.25 and 0.5 mM SA as well as foliar spraying of plants after transplanting to the field with the mentioned solutions on growth and production was studied. The results showed that compared to the control, SA treatments improved all measured parameters, and in most cases, no significant difference was observed between the two concentrations of 0.25 and 0.5 mM SA. An increase in the number of lateral branches, the number of flower clusters, the total leaf chlorophyll, the number of fruits per plant, the total weight of fruit per plant, the amount of carotenoid, vitamin C, and TSS was observed under the influence of SA treatments. Also, SA treatments decreased pH and increased TA of fruit extract, which are important quality characteristics of tomato processing. Therefore, it is important to use SA in order to increase the quantity and quality of tomato fruit.

**Keywords:** growth regulator, salicylic acid, seed priming, *Solanum lycopersicum*

## اثرات کود و زغال زیستی بر محتوای نسبی آب برگ تریتیکاله در شرایط تنش آبی آخر فصل

گلنوش ناصری مینابی<sup>1</sup>، وحید براتی<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> دانشجوی کارشناسی ارشد بخش آگرواکولوژی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی داراب، دانشگاه شیراز، داراب، ایران.

<sup>2</sup> استادیار بخش آگرواکولوژی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی داراب، دانشگاه شیراز، داراب، ایران.

\* نویسنده مسئول، پست الکترونیکی: [v.barati@shirazu.ac.ir](mailto:v.barati@shirazu.ac.ir)

### چکیده :

به منظور ارزیابی اثرات منابع مختلف کودی، بقایای گیاهی و زغال زیستی بر محتوای نسبی آب برگ تریتیکاله (*Triticosecale* × Wittmak) در شرایط تنش آبی آخر فصل، این آزمایش به صورت اسپلیت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در سه تکرار، در مزرعه پژوهشی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی داراب - دانشگاه شیراز در سال زراعی 99-1398 انجام شد. تیمارها در این پژوهش شامل: آبیاری به عنوان عامل اصلی: 1- مطلوب: آبیاری بر اساس نیاز آبی گیاه تا مرحله رسیدگی فیزیولوژیک و 2- تنش آبی: آبیاری بر اساس نیاز آبی گیاه تا مرحله شیرگی، عامل‌های فرعی شامل سه سطح مواد آلی: 1- بدون کاربرد مواد آلی (شاهد)، 2- کاربرد 5000 کیلوگرم بر هکتار بقایای گندم به خاک، 3- کاربرد 5000 کیلوگرم بر هکتار زغال زیستی بقایای گندم به خاک و سه سامانه کودی: 1- بدون کاربرد کود (شاهد)، 2- شیمیایی: کاربرد 150 و 50 کیلوگرم بر هکتار به ترتیب نیتروژن (از منبع اوره) و فسفر (از منبع سوپرفسفات تریپل) با توجه به آزمون خاک، 3- تلفیقی: کاربرد کودهای شیمیایی نیتروژن و فسفر به میزان نصف نیاز گیاه با توجه به آزمون خاک (75 و 25 کیلوگرم بر هکتار به ترتیب نیتروژن (از منبع اوره) و فسفر (از منبع سوپرفسفات تریپل) + باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن (*Azospirillum brasilense*) و حل کننده فسفر (*Pseudomonas fluorescense*) بود. نتایج نشان داد که تنش آبی سبب کاهش محتوای نسبی آب برگ پرچم شد، اما، این کاهش در شرایط در تیمارهای شاهد، تلفیقی و شیمیایی متفاوت و به ترتیب به مقدار 13/1، 9 و 16/7 درصد بود. همچنین، کاهش محتوای نسبی آب برگ به واسطه ی تنش آبی در تیمارهای بدون مواد آلی، بقایا و زغال زیستی متفاوت و به ترتیب 19/4، 11/1 و 8/8 درصد بود. با توجه به کمترین مقدار کاهش بواسطه ی تنش آبی نسبت به شرایط مطلوب رطوبتی در تیمارهای کود تلفیقی و استفاده از زغال زیستی، کاربرد این رژیم‌های کودی و مواد آلی به صورت با هم، در شرایط بروز تنش آبی مشابه، در مناطق جنوبی ایران توصیه می شود.

کلمات کلیدی : سامانه کودی، تنش آبی، مواد آلی

### مقدمه

بر اساس برخی از پژوهش‌ها استفاده از باکتری *Azospirillum brasilense* و حل کننده فسفر *Pseudomonas fluorescense* به عنوان کود زیستی سبب کاهش اثرات تنش آبی در غلاتی مانند جو شده است (1). از طرفی استفاده از مواد آلی نیز سبب افزایش قابلیت نگهداری آب در خاک و بقای بیشتر باکتری‌ها می شوند (2). اثرات کودهای زیستی و یا مواد آلی بر کاهش شدت تنش آب به صورت مستقل در منابع مورد بررسی قرار گرفته است. اما، اثرات برهمکنش این دو بویژه در مناطق جنوبی ایران کمتر مورد توجه

قرار گرفته است. از اینرو، این پژوهش به بررسی اثر برهمکنش این دو عامل بر محتوای نسبی آب برگ پرچم گیاه تریتیکاله پرداخته است.

## مواد و روش‌ها

این آزمایش به صورت اسپلینت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در سه تکرار اجرا شد. تیمارها در این پژوهش شامل: آبیاری به عنوان عامل اصلی: 1- مطلوب: آبیاری بر اساس نیاز آبی گیاه تا مرحله رسیدگی فیزیولوژیک و 2- تنش آبی: آبیاری بر اساس نیاز آبی گیاه تا مرحله شیری، عامل‌های فرعی شامل سه سطح مواد آلی: 1- بدون کاربرد مواد آلی (شاهد)، 2- کاربرد 5000 کیلوگرم بر هکتار بقایای گندم به خاک، 3- کاربرد 5000 کیلوگرم بر هکتار زغال زیستی بقایای گندم به خاک و سه سامانه کودی: 1- بدون کاربرد کود (شاهد)، 2- شیمیایی: کاربرد 150 و 50 کیلوگرم بر هکتار به ترتیب نیتروژن (از منبع اوره) و فسفر (از منبع سوپرفسفات تریپل) با توجه به آزمون خاک، 3- تلفیقی: کاربرد کودهای شیمیایی نیتروژن و فسفر به میزان نصف نیاز گیاه با توجه به آزمون خاک (75 و 25 کیلوگرم بر هکتار به ترتیب نیتروژن (از منبع اوره) و فسفر (از منبع سوپرفسفات تریپل) + باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن (*Azospirillum brasilense*) و حل کننده فسفر (*Pseudomonas fluorescens*) بود که به صورت فاکتوریل در هر تکرار قرار گرفتند.

تعداد 5 برگ پرچم در مرحله خمیری شدن دانه به طور تصادفی از قسمت مرکزی هر کرت برداشت شد و محتوای نسبی آب برگ پرچم توسط معادله زیر اندازه‌گیری شد.  $W_1$ : وزن تازه برگ (گرم)،  $W_2$ : وزن اشباع برگ (گرم)،  $W_3$ : وزن خشک برگ (گرم)

$$RWC = \frac{W_1 - W_3}{W_2 - W_3} \times 100$$

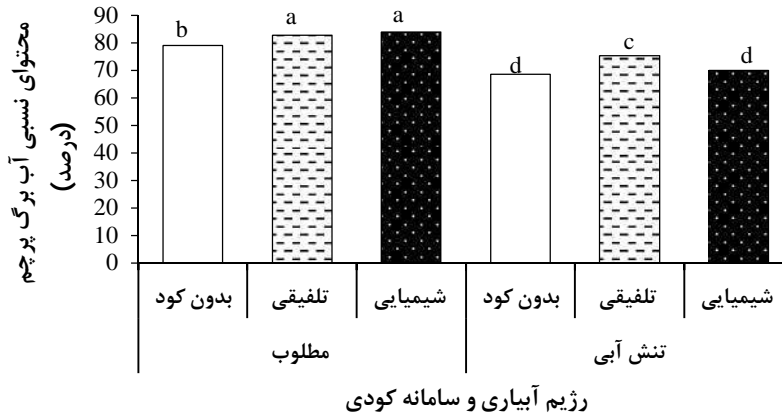
تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.4 انجام شد. میانگین‌ها با استفاده از آزمون کمترین اختلاف معنی‌دار

(LSD) در سطح احتمال 5 درصد مقایسه و شکل‌ها با استفاده از نرم افزار Excel رسم شدند.

## نتایج و بحث

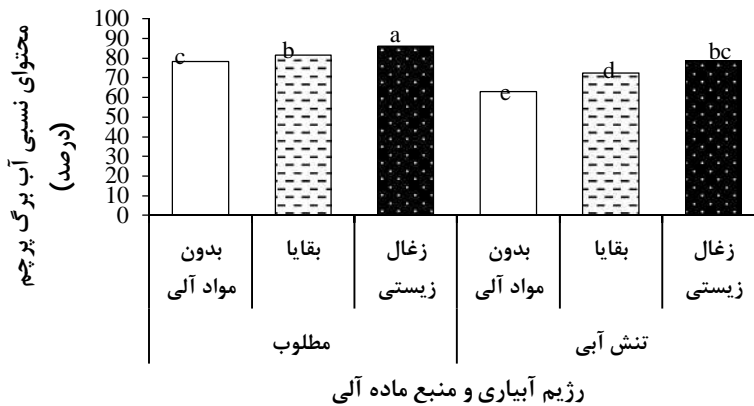
### محتوای نسبی آب برگ پرچم

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که، محتوای نسبی آب برگ پرچم به طور معنی‌داری در سطح احتمال 5 درصد تحت تاثیر برهم‌کنش تیمار رژیم آبیاری × سامانه کودی قرار گرفت. این برهم‌کنش نشان داد که تنش آبی سبب کاهش معنی‌دار محتوای نسبی آب برگ پرچم در تیمارهای شاهد، تلفیقی و شیمیایی به ترتیب به مقدار 13/1، 9 و 16/7 درصد شد (شکل 1). کمترین مقدار کاهش در تیمار تلفیقی نشان دهنده کاهش اثرات تنش در شرایط حضور باکتری‌های تحریک کننده رشد در تیمار تلفیقی است. کاهش میزان محتوای رطوبت نسبی در شرایط تنش آبی را سایر پژوهشگران در گیاه جو مشاهده کرده‌اند (2). در راستای نتایج پژوهش حاضر، برخی از پژوهشگران (2) نشان دادند که گیاهان در معرض تنش در شرایط کاربرد باکتری‌های آزوسپیریلوم محتوای نسبی آب برگ بیش‌تری داشتند.



شکل 1- اثر برهمکنش رژیم آبیاری × سامانه کودی بر محتوای نسبی آب برگ پرچم. میانگین‌های با حروف مشابه بر اساس آزمون کم‌ترین اختلاف معنی‌دار (LSD)، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال 5 درصد ندارند.

براساس نتایج تجزیه واریانس، محتوای نسبی آب برگ پرچم به طور معنی‌داری در سطح احتمال 5 درصد تحت تاثیر برهم‌کنش تیمار رژیم آبیاری × منبع ماده آلی قرار گرفت. بیش‌ترین محتوای نسبی آب برگ پرچم (86/2 درصد) در تیمار زغال زیستی-آبیاری مطلوب رخ داد و کم‌ترین مقدار آن (63 درصد) نیز در تیمار بدون بقایا-تنش آبی بود (شکل 2). بررسی این برهمکنش از زاویه‌ای دیگر نشان داد که تنش آبی مقدار محتوای نسبی آب برگ پرچم را در تمامی تیمارهای مواد آلی به طور معنی‌دار کاهش داد. اما، مقدار این کاهش‌ها در تیمارهای مختلف متفاوت بود (19/4، 11/1 و 8/8 درصد به ترتیب در تیمارهای بدون بقایا، با بقایا و زغال زیستی) (شکل 2). مقدار کم‌تر کاهش در تیمار زغال زیستی و بقایا نسبت به شاهد، نشان‌دهنده وقوع تنش کم‌تر در این تیمارها در شرایط تنش آبی بود. برخی از پژوهشگران بیان کردند که حضور بقایا در شرایط تنش آبی سبب کاهش شدت تنش در گیاه گندم شده است (3).



شکل 2- اثر برهم‌کنش رژیم آبیاری × منبع ماده آلی بر محتوای نسبی آب برگ پرچم. میانگین‌های با حروف مشابه بر اساس آزمون کم‌ترین اختلاف معنی‌دار (LSD)، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال 5 درصد ندارند.

نتیجه‌گیری

تنش آبی به طور معنی داری سبب کاهش معنی دار محتوای نسبی آب برگ پرچم در گیاه تریتیکاله در همه‌ی سامانه‌های کودی شد. اما، این کاهش در سامانه کود تلفیقی کمترین مقدار خود را نشان داد. مواد آلی همچنن، تنش آبی سبب کاهش محتوای نسبی آب برگ پرچم در شرایط کاربرد همه‌ی انواع مواد آلی شد. اما، کمترین مقدار کاهش در شرایط استفاده از زغال‌زیستی رخ داد بنابراین، استفاده از گیاه تریتیکاله در شرایط تنش آبی در صورت استفاده از منابع کودی نیتروژن و فسفر به صورت تلفیقی (کاربرد کودهای شیمیایی نیتروژن و فسفر به میزان نصف نیاز گیاه با توجه به آزمون خاک (75 و 25 کیلوگرم بر هکتار به ترتیب نیتروژن (از منبع اوره) و فسفر (از منبع سوپرفسفات تریپل) + باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن (*Azospirillum brasilense*) و حل کننده‌ی فسفر (*Pseudomonas fluorescense*)) و کاربرد منابع آلی به صورت زغال‌زیستی به میزان 5000 کیلوگرم بر هکتار قابل توصیه است.

#### منابع و مراجع مورد استفاده

- 1) Niazi-ardakani, M., Barati, V., Bijanzadeh, E. and Behpoori. A. 2020. Effects of Different Nitrogen Fertilizer Sources and Crop Residues on Yield and Yield Components of Barley (*Hordeum vulgare* L.) under Late Season Water Stress. Journal of Agroecology. 12(1): 107-126.
- 2) Niazi-ardakani, M., Barati, V., and Bijanzadeh, E. 2020. Physiological and biochemical characteristics of barley as affected by biofertilizer, crop residues and water stress. Journal of Plant Process and Function 9 (36): 279 – 298. (In Persian with English abstract).
- 3) Sadeghi, H. (2007). The effect of different amounts of plant residues and nitrogen levels on morphological characteristics, yield and yield components of two varieties of dryland wheat. Ph.D. Thesis. Shiraz University.

### Effects of bio-fertilizer and biochar on relative water content of triticale under late season water stress

Golnoosh Naseri minabi<sup>1</sup>, Vahid Barati<sup>2\*\*</sup> Corresponding Author, Email: [v.barati@shirazu.ac.ir](mailto:v.barati@shirazu.ac.ir)

<sup>1</sup> M.Sc. student, Department of Agroecology, College of Agriculture and Natural Resources of Darab, Shiraz University, Darab, Iran.

<sup>2</sup> Assistant Professor of Department of Agroecology, College of Agriculture and Natural Resources of Darab, Shiraz University, Darab, Iran.

**Abstract:** In order to investigate the effects of different fertilizer systems and organic matter sources on the flag leaf relative water content (RWC) of triticale (*Triticosecale* Wittmac) under deficit irrigation conditions, this research was carried out as a split factorial based on a randomized complete block design with three replicates at the experimental farm of the Darab College of Agriculture and Natural Resources, Shiraz University, in 2019-2020 growing season. Treatments included two irrigation levels as the main plots [1. Normal irrigation (IR<sub>N</sub>): irrigation based on the plant's water requirement up to the physiological maturity and 2. Irrigation with water stress (IR<sub>ws</sub>): irrigation based on the plant's water requirement up to the milking stage]. Also, sub plots were three levels of soil organic amendments [1. without organic matter (R<sub>0</sub>), 2. Residue: returning 5 ton wheat residues ha<sup>-1</sup> to the soil, 3. Biochar: returning 5 ton wheat residues biochar ha<sup>-1</sup> to the soil] and three nitrogen (N) and phosphorus (P) fertilizer sources [control (N<sub>0</sub>P<sub>0</sub>), no N and P fertilizer; chemical (N<sub>150</sub>P<sub>50</sub>), 150 kg N ha<sup>-1</sup> and 50 kg P ha<sup>-1</sup>; integrated (Bio + N<sub>75</sub>P<sub>25</sub>), Biofertilizer (*Azospirillum brasilense* + *Pseudomonas fluorescense*) + 75 kg N ha<sup>-1</sup> and 25 kg P ha<sup>-1</sup>]. Results showed that the water stress treatment decreased RWC at all fertilizer and organic matter treatments, however, these decrements were different in N<sub>0</sub>P<sub>0</sub>, N<sub>150</sub>P<sub>50</sub> and Bio + N<sub>75</sub>P<sub>25</sub> treatments (13.1%, 9 and 16.7%, respectively) and also in R<sub>0</sub>, Residue and biochar treatments (19.4%, 11.1% and 8.8%, respectively). With respect to the lowest reduction in integrated (Bio + N<sub>75</sub>P<sub>25</sub>) fertilizer and biochar application by water stress, these treatments are recommended for the similar conditions of water-restricted areas of Southern Iran.

**Keywords:** Fertilizer system, water stress, organic matter

## مطالعه بیوانفورماتیکی ژن Catalase در چند گیاه مختلف

لیلا آهانگر<sup>1\*</sup>، مریم بهاری تهرانی<sup>2</sup>

<sup>1\*</sup> استادیار گروه تولیدات گیاهی، دانشگاه گنبد کاووس و <sup>2</sup> دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی دانشگاه گنبد کاووس

نویسنده مسئول : L.ahangar63@gmail.com

### چکیده :

کاتالاز به عنوان یکی از مهمترین آنزیم های آنتی اکسیدانی است که با تجزیه  $H_2O_2$  به تعادل گونه های اکسیژن فعال کمک کرده و نقش مهمی در در گیاهان در مقابل تنش اکسیداتیو به عهده دارد. در این پژوهش به منظور بررسی و مطالعه ژن کاتالاز، توالی ژنومی ژن کاتالاز در چندین نمونه گیاهی مختلف (آراییدوپسیس تالیانا، آراییدوپسیس لیراتا، برنج، گندم، جو، ذرت، کلزا، کلم راپا، کلم برگ، سویا، ماش، پنبه، کرچک، کنجد، بادام زمینی) از سایت NCBI استخراج و مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بیانگر این بود که طول ژن کاتالاز از 2837-4496 جفت نوکلئوتید در گیاهان مورد بررسی متغیر بوده است. نتایج هم‌ردیفی نشان داد که توالی نوکلئوتیدی ژن Cat در گونه‌های مورد مطالعه دارای بیش از 75 درصد شباهت و توالی اسیدآمینه آنها دارای بیش از 86 درصد شباهت می‌باشد. نقطه ایزوالکتریک بین 7,08-6/643 متغیر بود و این پروتئین با فراوانی بالا در ناحیه پراکسیزوم قرار دارد. ترسیم درخت فیلوژنتیکی نیز حاکی از قرار گیری گیاهان مورد مطالعه در دو گروه مجزا بود.

کلمات کلیدی : کاتالاز، آنتی اکسیدان، هم ردیفی و تنش اکسیداتیو

### مقدمه :

کاتالاز جزء اولین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کشف و شناسایی شده است (2و6). کاتالاز نقش بسیار مهمی برای حفظ سلول در برابر آسیب‌های حاصل از  $H_2O_2$  تحت شرایط تنش محیطی (زیستی و غیرزیستی) در گیاه دارد (4و5). نقش کاتالاز در سیستم دفاعی و پدیده پیری در گیاهان نیز به اثبات رسیده است (7). طی گزارشات اعلام شده افزایش میزان آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز باعث افزایش تحمل گیاه به تنش‌های محیطی می‌گردد (6). با افزایش میزان کاتالاز به علت نقش آن در زدودن  $H_2O_2$  از محیط، به کاهش تنفس نوری و کاهش نقطه جبرانی  $CO_2$  نیز کمک می‌نماید. کاتالاز علاوه بر اینکه  $H_2O_2$  را از محیط حذف می‌کند، کمبود اکسیژن حاصل از واکنش مهار را نیز جبران می‌نماید (10). این آنزیم فقط در پراکسیزوم قرار دارد ولی برای زدودن اثرات سمی ROSها در زمان تنش مورد نیاز می‌باشد (8). در تحقیقی بررسی تاثیر تنش عنصر روی در گیاه ماش سیاه (*Vigna mungol*) نشان داده شده که کاتالاز در شرایط کمبود و افزایش میزان عنصر روی در خاک افزایش پیدا می‌کند (3). تنش خشکی بر فعالیت کاتالاز در گیاهان از جمله ذرت، گندم، جو، کنجد و سویا موثر بوده و موجب افزایش فعالیت این آنزیم می‌شود (1). با توجه به اهمیت ژن کاتالاز در این مطالعه به بررسی بیوانفورماتیکی این ژن در چند گیاه مختلف پرداخته شده است.

### مواد و روش‌ها:

در این مطالعه از توالی ژن‌های گیاهان مختلف از جمله آراییدوپسیس تالیانا، آراییدوپسیس لیراتا، برنج، گندم، جو، ذرت، کلزا، کلم راپا، کلم برگ، سویا، ماش، پنبه، کرچک، کنجد، بادام زمینی استفاده گردید. توالی نوکلئوتیدی و اسیدآمینه ژن کاتالاز از

بانک ژنی NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) بازیابی شد. اسامی گیاهان، طول ژن و شماره دستیابی آنها در جدول 1، اشاره گردیده است. جهت هم‌ردیفی توالی‌ها و ترسیم درخت فیلوژنتیکی از نرم افزار MEGA استفاده شد. به منظور بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی پروتئین کاتالاز شامل تعداد اسید آمینه، وزن مولکولی، نقطه ایزوالکتریک، شاخص ناپایداری، شاخص آلیفاتیک و متوسط هیدروپاتی کل پروتئین در 15 گیاه متفاوت از ابزار ProtParam در Expasy استفاده گردید. همچنین جایگاه سلولی پروتئینها نیز با استفاده از ابزار آنالین WoLF PSORT پیش بینی شد.

## نتایج و بحث

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که طول ژن کاتالاز از 4496-2837 جفت نوکلئوتید در گیاهان مورد بررسی متغیر بوده است (جدول 1). طول این پروتئین در تمامی گیاهان 492 اسید آمینه است (جدول 1). نتایج هم‌ردیفی نشان داد که توالی نوکلئوتیدی ژن‌های Cat در گونه‌های مورد بررسی دارای بیش از 75 درصد شباهت و توالی اسید آمینه آنها دارای بیش از 86 درصد شباهت می‌باشد. بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی نشان داد که وزن مولکولی این پروتئین در گونه‌های مختلف نزدیک به هم و حدود 56762 دالتون با فرمول مولکولی  $C_{2557}H_{3858}N_{722}O_{723}S_{15}$  بود. نقطه ایزوالکتریک بین 7/08-6/643 متغیر بود. پروتئین با شاخص ناپایداری پایین تر از 40 به عنوان پروتئین پایدار و بالاتر از 40 به عنوان پروتئین ناپایدار شناخته می‌شوند. بنابراین پروتئین کاتالاز در *Brassica napus*, *Brassica rapa*, *Brassica oleracea*, *Vigna radiata*, *Sesamum indicum* و *Arachis hypogaea* ناپایدار و در بقیه گونه‌ها پایدار پیش بینی شدند. جایگاه سلولی این پروتئین در تمامی گونه‌ها با فراوانی بالا در پر اکسیژوم و سپس میتوکندری و با فراوانی کم در سیتوزول پیش بینی شد.

نتایج حاصل از درخت فیلوژنتیکی نشان داد که توالی ژن Cat در گونه‌های *Brassica Arabidopsis lyrata*, *Arabidopsis thaliana*, *Glycin max*, *Arachis hypogaea*, *Gossypium hirsutum*, *Ricinus communis*, *Brassica rapa*, *Brassica oleracea*, *napus* و *Vigna radiata* در یک گروه و توالی ژن Cat در گونه‌های *Sesamum indicum* و *Zea mays*, *Triticum aestivum*, *Oryza sativa* و *Hordeum vulgare* در گروهی دیگر قرار گرفتند (شکل 1). در گروه اول گونه‌های *Arabidopsis thaliana* و *Arabidopsis lyrata* شبیه بودند و *Glycin max*, *Arachis hypogaea* و *Vigna radiata* دارای شباهت بیشتری نسبت به یکدیگر بودند و *Sesamum indicum* شباهت کمتری با سایر گونه‌های این گروه داشت (شکل 1). در گروه دوم نیز *Oryza sativa* و *Triticum aestivum* بیشتر به یکدیگر شبیه بودند و *Zea mays* و *Hordeum vulgare* دارای شباهت بیشتری با یکدیگر بودند.

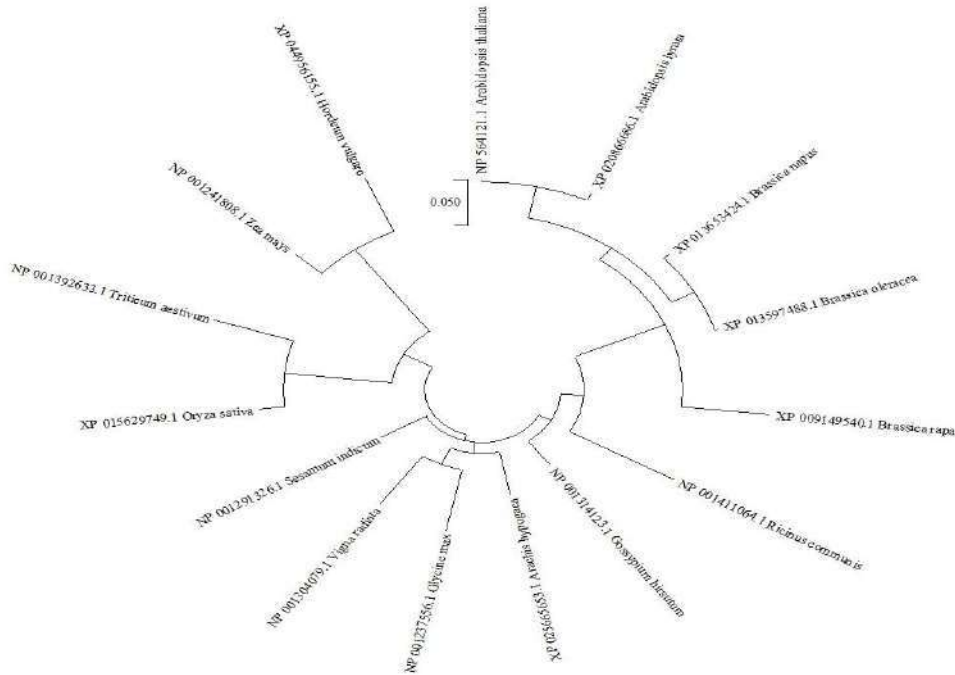
جدول 1- بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی پروتئین کاتالاز در 15 گونه ی گیاهی مختلف

نام گونه Species name	شماره دسترسی ژن Gene ID	طول ژن Gene length bp	طول پروتئین Protein length (aa)	وزن مولکولی Molecular weight	نقطه ایزوالکتریک Theoretical pI	شاخص ناپایداری Instability index	شاخص آلیفاتیک Aliphatic index	متوسط هیدروپاتی کل GRAVY
<i>Arabidopsis thaliana</i>	NC_003070.9	3545	492	56762.07	6.95	38.38	70.91	-0.559
<i>Arabidopsis lyrata</i>	NW_003302555.1	3304	492	56813.07	6.80	38.93	70.33	-0.563
<i>Oryza sativa</i>	NC_029258.1	3290	492	56763.92	6.93	34.39	70.14	-0.592
<i>Triticum aestivum</i>	NC_057804.1	4123	492	56793.96	6.52	37.60	69.15	-0.595
<i>Zea mays</i>	NC_050100.1	4496	492	56756.32	6.96	29.36	71.12	-0.515
<i>Hordeum vulgare</i>	NC_058524.1	3884	492	56586.03	6.68	30.55	69.94	-0.515
<i>Brassica napus</i>	NC_063440.1	3104	492	56904.30	6.83	40.28	70.12	-0.558
<i>Brassica rapa</i>	NC_024800.2	4914	492	56703.92	6.43	43.07	71.52	-0.564
<i>Brassica oleracea</i>	NC_027754.1	2837	492	56897.26	6.82	40.44	69.92	-0.564
<i>Glycine max</i>	NC_038253.2	3105	492	56847.03	6.77	38.79	72.11	-0.602
<i>Vigna radiata</i>	NC_028355.1	4249	492	56844.14	6.79	40.21	72.72	-0.529
<i>Gossypium hirsutum</i>	NC_053437.1	3365	492	56855.20	6.58	38.15	71.34	-0.537
<i>Ricinus communis</i>	NC_063257.1	3183	492	56463.90	7.08	36.06	74.07	-0.517
<i>Sesamum indicum</i>	NC_026146.1	4083	492	57024.44	6.92	40.63	69.76	-0.592
<i>Arachis hypogaea</i>	NC_037634.1	3410	492	56955.22	6.80	42.09	73.48	-0.562

شناسایی موتیف های حفاظت شده در کاتالاز 1 در گونه های گیاهی مختلف

به منظور بررسی و مشخص کردن میزان تشابه و تفاوت توالی پروتئین کاتالاز در 15 گونه گیاهی مختلف، از نرم افزار MEME استفاده شد (شکل 2). بر این اساس 15 موتیف حفاظت شده با طول بین 6 تا 50 آمینو اسید در تمامی گیاهان شناسایی شد که نشان از این است که این پروتئین به شدت محافظت شده است. به منظور بررسی بیشتر این موتیف ها از ابزار آنالین InterPro استفاده شد. موتیف 1، 2، 3، 4، 5 و 8 به عنوان دومین Catalase\_core و موتیف 6 به عنوان دومین Catalase immune-responsive پیش بینی شد.





شکل 1- درخت  
فیلوژنتیکی ترسیم شده  
به کمک نرم افزار  
MEGA برای پانزده  
گیاه مورد بررسی

Name	p-value	Motif Locations
NP_564121.1	0.00e+0	[Motif 1-15]
XP_020866686.1	0.00e+0	[Motif 1-15]
XP_015629749.1	0.00e+0	[Motif 1-15]
NP_001392633.1	0.00e+0	[Motif 1-15]
NP_001241808.1	0.00e+0	[Motif 1-15]
XP_044956155.1	0.00e+0	[Motif 1-15]
XP_013653424.1	0.00e+0	[Motif 1-15]
XP_009149540.1	0.00e+0	[Motif 1-15]
XP_013597488.1	0.00e+0	[Motif 1-15]
NP_001237556.1	0.00e+0	[Motif 1-15]
NP_001304079.1	0.00e+0	[Motif 1-15]
NP_001314123.1	0.00e+0	[Motif 1-15]
NP_001411064.1	0.00e+0	[Motif 1-15]
NP_001291326.1	0.00e+0	[Motif 1-15]
XP_025665653.1	0.00e+0	[Motif 1-15]

**Motifs:**

1. [Red] 2. [Cyan] 3. [Green] 4. [Purple] 5. [Yellow] 6. [Light Green] 7. [Dark Blue] 8. [Magenta] 9. [Orange] 10. [Light Yellow] 11. [Light Green] 12. [Light Blue] 13. [Light Blue] 14. [Dark Blue] 15. [Light Purple]

شکل 2 - موتیف های موجود در توالی پروتئین کاتالاز 1 در 15 گونه ی گیاهی مختلف. در قسمت پایین 15 موتیف با رنگ ها و سایز های مختلف مشخص شده اند.

**نتیجه گیری**

در این مطالعه ژن کاتالاز در 15 گیاه مختلف شناسایی شد که بر اساس همولوژی در 2 گروه اصلی طبقه بندی شدند. پروتئین های واقع در زیرگروه های مختلف از نظر ساختار ژنی، موتیف های حفاظت شده، جایگاه سلولی و خصوصیات فیزیکوشیمیایی از

حفاظت‌شدگی بالایی برخوردار بوده که این امر می‌تواند بیانگر شباهت‌های کارکردی آن‌ها در زیرگروه‌های مختلف باشد. به‌طور کلی، این یافته‌ها اطلاعات مفیدی را برای درک بهتر کارکرد ژن کاتالاز فراهم آورده و راه را برای استفاده از ژن‌های این خانواده برای دستیابی به تحمل گیاهان در برابر تنش‌های غیرزیستی تسهیل می‌نمایند.

منابع

- 1- محرم نژاد، سجاد. (1399). بررسی تحمل به تنش کم آبی 11 هیبرید ذرت (*Zea mays* L) در مرحله گیاهچه ای با اندازه گیری سیستم دفاع آنتی اکسیدانی و صفات فیزیولوژیکی. فیزیولوژی گیاهان زراعی، 12(1)، صفحات 77-89.
2. Desikan, R., Cheung M., Bright, J., Henson, D., Hancock, J., and Neills, L., 2004. ABA hydrogen peroxide and nitric oxide signaling in stomatal guard cells. *Journal of Experimental Botany*. 55(395): 205-212.
3. Gupta, B., Pathak, G.C., Pandey, N., 2011. Induction of oxidative stress and antioxidant responses in *Vigna mungo* by zinc stress. *Journal of plant physiology*. 58(1):85-91.
4. Magbanua, Z.V., Moraes, C.M.D., Brooks, T.D., Williams, W.P., and Luthe, D.S., 2007. Is Catalase activity one of the factors associated with maize resistance to *A. Spergilud flavus*. *Molecular plant microbe Interact*. 20:697-706.
5. Mallic, N., and Mohn, F.H. 2000. Reactive oxygen species: response of algal cells. *Journal of plant physiology*. 157(2), 183-193.
6. Mhamdi, A., Queval, G., Ghaouchs., V.W., Breusegem F.V., and Noctor G. 2010. Catalase function in plants: a focus on Arabidopsis mutants as stress-mimic models. *Journal of Experimental Botany*. 61:4107-4320.
7. Mura, A., Pintus, F., Medda, R., Floris, G., Rinaldi, A.C., Padiglia, A., 2007. Catalase and antiquity from Euphorbia characids: Two proteins involved in plant defense. *Biochemistry* 72: 501-508.
8. Sharma, P., Jha, A.B., Dubey, R.S., Pessarakli, M., 2012. Reactive Oxygen species, oxidative damage, and antioxidant defense mechanism in plants under stressful conditions. *Journal of Botany*. 1: 26-38
9. Su, J., Wang, X., Song, W., Bai, X., and Li, C. 2016. Reducing Oxidative stress and hepatic protective effect of water extracts from Pu-erh tea on rats with high-fat diet. *Food science and Human wellness*. 5:199-206.
10. Teleahmad, S., and Hadad, R., 2010. Effects of silicon on antioxidant enzymes activities and osmotic adjustment contents in two bread wheat genotypes under drought stress conditions. *Seed and plant production*, 26(2): 207-225.

## Bioinformatics study catalase gene at several different plants

Leila Ahangar<sup>\*1</sup>, Maryam bahary tehrani<sup>2</sup>

<sup>1\*</sup>-Assistant Professor, Gonbad Kavous University. Corresponding: (L.ahangar63@gmail.com)

<sup>2</sup>-Master of science- agricultural biotechnology, Gonbad Kavous University

### Abstract

Catalase is one of the most important antioxidant enzymes that helps balance reactive oxygen species by breaking down  $H_2O_2$  and plays an important role in plants against oxidative stress. In this research, in order to investigate and study the catalase gene, the genomic sequence of the catalase gene in several different plant samples (*Arabidopsis thaliana*, *Arabidopsis lyrata*, rice, wheat, barley, corn, rapeseed, Rapa cabbage, cabbage, soybean, mung bean, cotton, castor, sesame, peanut) were extracted from the NCBI website and analyzed. The results showed that the length of the catalase gene varied from 2837-4496 nucleotide pairs in the investigated plants. The alignment results showed that the nucleotide sequence of the Catalase gene in the studied species has more than 75% similarity and their amino acid sequence has more than 86% similarity. The isoelectric point varied between 6.643-7.08 and this protein is located in the peroxisome area with high abundance. The drawing of the phylogenetic tree also indicated the placement of the studied plants in two separate groups.

**Keywords:** Catalase, Antioxidant, Alignment and Oxidative stress

## بررسی اثر دز کود پارس بر روی صفات رشد بر روی سه گونه گندم، ذرت و کلزا

لیلا زرنندی میاندوآب<sup>1</sup>، نوید پورکار جدید<sup>2</sup>، الهام بهادر<sup>3</sup>

- 1- دکتر لیلا زرنندی میاندوآب، دانشیار و عضو هیات علمی دانشکده شهید مدنی آذربایجان، زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، تبریز، ایران
- 2- \* نوید پورکار جدید، دانشجوی کارشناسی زیست شناسی گیاهی و عضو انجمن مخترعان ایران، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان دانشکده علوم پایه، تبریز، ایران azamani13451345@gmail.com
- 3- الهام بهادر، دانشجوی دکترا فیزیولوژی گیاهی، زیست شناسی، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان دانشکده علوم پایه، تبریز، ایران

### چکیده

کود آلی به عنوان یک اصل کلیدی کشاورزی پایدار، کمک زیادی به بهبود حاصلخیزی خاک می کند. از این رو، هدف این تحقیق، بررسی تاثیر دز کود پارس بر صفات رشدی سه گونه زراعی گندم، ذرت و کلزا می باشد. تیمارها شامل سطح صفر، 1 و 2 گرم کود به ازای 2 کیلوگرم خاک بود. پارامترهای رشد از جمله وزن تر و خشک، ارتفاع گیاه، سطح برگ، سطح ویژه برگ، درصد رطوبت نسبی برگ، موجودی آب هر واحد سطح برگ و همچنین شاخص پایداری غشاء سلولی اندازه گیری شد. نتایج به دست آمده نشان داد که تیمار 1 گرم کود اثر بهتری بر صفات رشدی گیاه داشته و تیمار 2 گرم در برخی گلدانها باعث ممانعت از رشد شده و به نظر می رسد استفاده مقادیر بالای کود منجر به ایجاد اثرات سمیت و مهار رشد شده باشد.

**واژگان کلیدی:** دز کود پارس، کود آلی، صفات رشد، شاخص پایداری غشا سلول، گندم، ذرت، کلزا.

### مقدمه

کودهای آلی منابع معدنی طبیعی در دسترس بوده که حاوی مقادیر متوسطی از مواد مغذی ضروری گیاه هستند و قادر به کاهش مشکلات مرتبط با کودهای شیمیایی می باشند، همچنین لزوم استفاده مداوم از کودهای شیمیایی را برای حفظ حاصلخیزی خاک کاهش می دهند. کودهای آلی به تدریج مواد مغذی را در محلول خاک آزاد کرده و تعادل مواد مغذی را برای رشد سالم گیاهان زراعی حفظ می کنند. همچنین به عنوان یک منبع انرژی موثر برای میکروبهای خاک عمل می کنند که به نوبه خود ساختار خاک و رشد محصول را بهبود می بخشد. با این حال، استفاده نادرست از کودهای آلی منجر به کوددهی بیش از حد یا بیشبود عناصر غذایی در خاک می شود. از این رو، رهاسازی کنترل شده کودهای آلی یک راه موثر و پیشرفته برای غلبه بر این اثرات و حفظ عملکرد کشاورزی پایدار است [1].

### مواد و روشها

در این مقاله از کود آلی دز کود پارس در 2 تیمار استفاده شده است که مواد اصلی تشکیل دهنده این کود ازت، پتاسیم، فسفر، کربن آلی، منیزیم، کلسیم، بور، آهن، روی، منگنز و ... می باشد.

**آماده سازی بذور:** بذرها سه گونه زراعی مورد استفاده کشاورزان منطقه آذربایجان انتخاب و با محلول هیپوکلریت سدیم 10 درصد ضد عفونی و سپس با آب شستشو داده شد.

**آماده سازی گلدانها:** سطح داخلی گلدانها تمیز شسته و با آب اکسیژنه ضد عفونی گردید. جهت زهکشی بهتر کف گلدانها سنگریزه قرار داده شد و به مقدار 2 کیلوگرم خاک اتوکلاو شده در هر گلدان ریخته و بذرها کاشته شدند. با توجه به وزن خاک

گلدان ها به ازای هر گلدان، صفر، 1 و یا 2 گرم کود اضافه شد. آبیاری هر هفته 2 بار با آب لوله کشی انجام شد. پس از 67 روز برداشت نمونه ها صورت گرفت.

**تعیین وزن تر و خشک بیوماس، ساقه و ریشه:** جهت تعیین وزن بیوماس، گلدانها به مدت یک ساعت در داخل آب غوطه ور گردیده و بلافاصله روی غربال 1 میلی متری شسته شده و گیاه همراه ریشه ها جدا گردیده و وزن آن اندازه گیری شد. پس از آن گیاه را داخل پاکت گذاشته و درون آون با دمای 70 درجه سانتیگراد و به مدت 48 ساعت گذاشته شد تا خشک شود و سپس با ترازوی به دقت 0/001 گرم وزن شد.

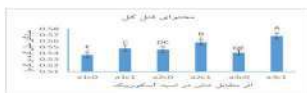
**تعیین سطح برگ (LA<sup>55</sup>):** بعد از جدا کردن برگ کامل از ساقه، سطح برگ با دستگاه سطح برگ سنج 240V.AC اندازه گیری شد. سطح برگها با استفاده از برنامه Windias محاسبه شدند.

**تعیین سطح ویژه برگی (SLA<sup>56</sup>) [2]:** این معیار از طریق رابطه زیر در هر زمان معین می تواند تعیین شود:

$$SLA = \frac{\text{سطح برگ در گیاه}}{\text{وزن ماده خشک برگ}} \quad (1)$$

**تعیین میزان درصد رطوبت نسبی برگ (RWC<sup>57</sup>) [3]:** برای اندازه گیری این پارامتر نمونه ها در ساعت 8 صبح در شرایطی که دمای گلخانه بین 16-18 درجه سانتیگراد بود انجام شد. برای اندازه گیری RWC از هر گلدان 3 بوته انتخاب و از هر بوته برگهای انتهایی گیاه که شامل برگهای جوانتر بود به وزن 100 میلی گرم (این مقدار برای تمام تکرارها ثابت بود) به وسیله قیچی برش داده شد. بلافاصله برگهای جدا شده با ترازوی یک هزارم گرم با دقت و به میزان وزن فوق توزین شدند. پس از توزین، برگها در داخل لوله های آزمایش درب دار محتوی آب مقطر غوطه ور شده و در سایه قرار گرفتند. پس از انجام نمونه برداری کلیه لوله های آزمایش محتوی برگها به آزمایشگاه منتقل و به مدت 6 ساعت نگهداری شدند. به منظور جلوگیری از هر گونه تنفس و هر گونه کاهش احتمالی در وزن برگها آنها در محیط نسبتاً خشک و بدون نور نگهداری شدند. پس از گذشت 6 ساعت برگها را از داخل لوله های آزمایش در آورده و سریعاً با کاغذ خشک کن آب روی برگها خشک گردید و با ترازوی یک هزارم گرم وزن آماس برگها تعیین شد. سپس برگها به داخل آون الکتریکی با دمای 75 درجه سانتیگراد منتقل شده و بعد از 24 ساعت وزن خشک برگها با ترازوی دارای دقت 0/001 گرم بدست آمد.

مقدار رطوبت نسبی برگها با استفاده از رابطه زیر بدست آمد:



(2)

که در این رابطه: WF وزن تر برگها، WD وزن خشک برگها و WT وزن آماس برگها می باشد. در این رابطه وزن تر برگها (WF) برابر با 100 میلی گرم (0/1 گرم) می باشد.

**تعیین موجودی آب هر واحد سطح برگ (LWCA<sup>58</sup>) [2]:** این معیار از طریق رابطه زیر در هر زمان محاسبه می شود:

55 Leaf Area  
56 Specific Leaf ares  
57 Relative Water Content  
58 Leaf Water Content Per Unit Leaf Area

$$LWCA = \frac{\text{وزن خشک برگ} - \text{وزن تر برگ}}{\text{سطح برگ}} \quad (3)$$

تعیین شاخص پایداری غشا سلولی [4]: برای تعیین شاخص پایداری غشا سلولی، 0/1 گرم از برگ دوم گیاهان برداشت شده از هر تیمار، توزین و داخل دو گروه لوله آزمایش حاوی 10 میلی لیتر آب مقطر گذاشته شدند. یک گروه از لوله‌ها به مدت 30 دقیقه در بن ماری 40 درجه سانتیگراد و گروه دیگر به مدت 10 دقیقه در بن ماری 100 درجه سانتیگراد قرار گرفتند. پس از کاهش دمای لوله‌ها تا حد دمای محیط هدایت الکتریکی نمونه‌ها به وسیله دستگاه EC meter (مدل 4520 شرکت JENWAY) اندازه‌گیری و سپس شاخص پایداری غشا از رابطه زیر به دست آمد:

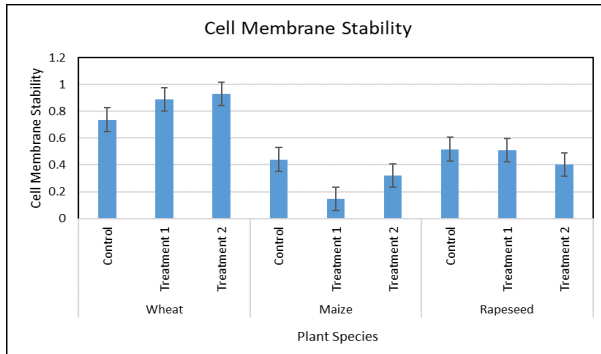
$$(4) \quad \text{هدایت الکتریکی آب در دمای } 100^{\circ}\text{C} / \text{هدایت الکتریکی آب در دما } 40^{\circ}\text{C} - 1 = \text{شاخص پایداری غشا}$$

### آنالیز آماری

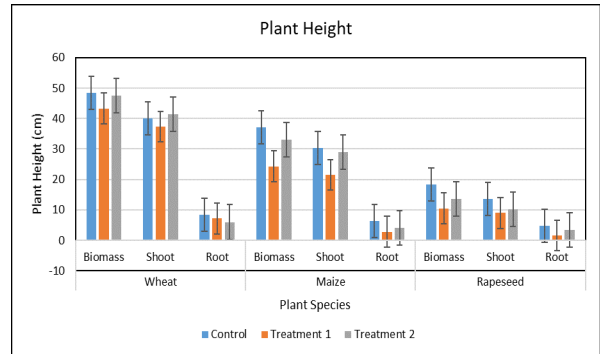
آنالیزهای آماری توسط نرم افزارهای SPSS و اکسل انجام شده است.

### نتایج و بحث

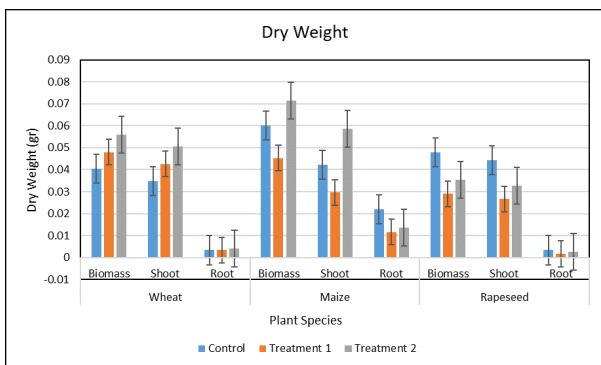
نتایج حاصل در اشکال 1 الی 8 ارائه شده است. بر اساس داده‌های شکل 1 ظاهراً تیمار دز کود پارس تاثیر معنی داری بر طول بخش هوایی و ریشه گیاهان مورد مطالعه نداشته است. اما تاثیر آن بر افزایش شاخص پایداری غشاء به ویژه در گندم واضح و معنی دار است (شکل 2). همچنین هر دو غلظت کود افزایش معنی داری در وزن تر و خشک و سطح برگ گیاهان تک لپه (گندم و ذرت) داشته ولی اثر آن بر گیاه دولپه کلزا کاهشی بوده است (شکل 3 و 4 و 5). سطح ویژه برگگی (شکل 6) میزان سطح برگ یک گیاه بر اساس وزن خشک برگها را نشان می دهد. کاهش SLA در هر سه گیاه تحت تیمار غلظت 1 و 2 گرم کود حاکی از تشکیل برگ-های ضخیم می باشد.



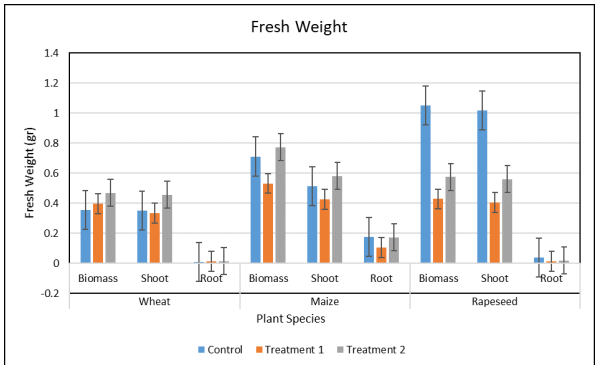
شکل 2. پایداری غشا سلولی



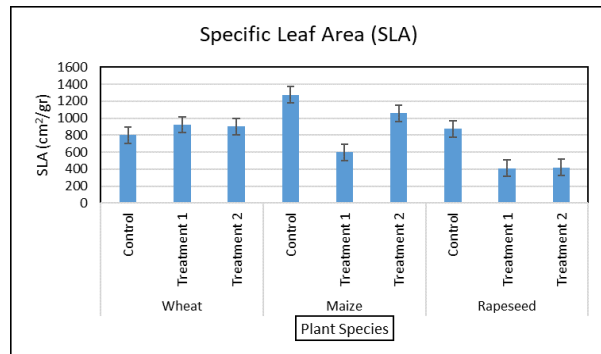
شکل 1. ارتفاع گیاه



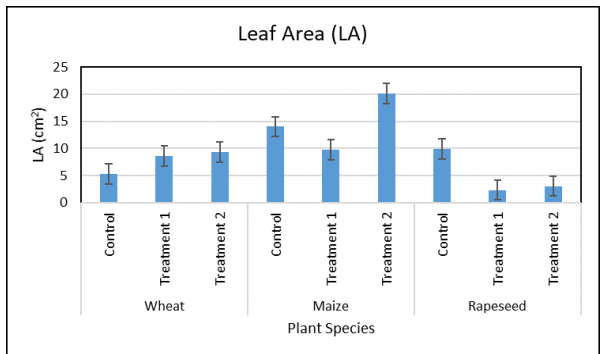
شکل 4. وزن خشک گیاه



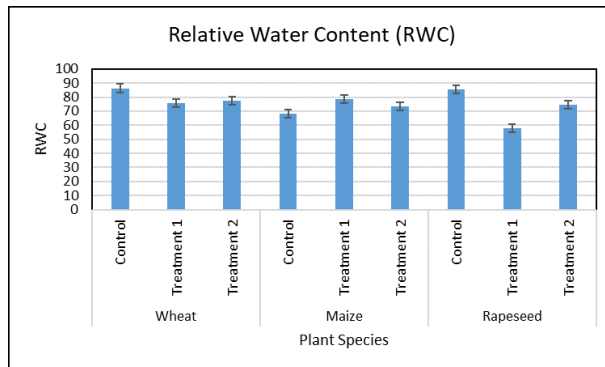
شکل 3. وزن تر گیاه



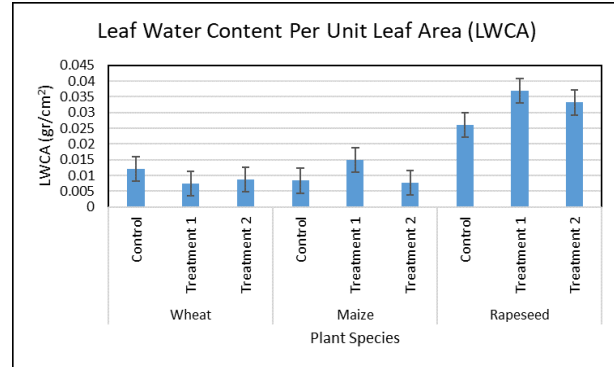
شکل 6. سطح ویژه برگ



شکل 5. سطح برگ



شکل 8. درصد رطوبت نسبی برگ



شکل 7. موجودی آب هر واحد سطح برگ

محتوای آب در واحد سطح برگ مطابق شکل 7 تفاوت معنی داری بین تیمارهای شاهد و کودی هر سه گیاه را نشان نمی دهد و با توجه به کاهش SLA می توان نتیجه گرفت افزایش ضخامت برگ مستقل از محتوی آب آن بوده و به انباشتگی ماده آلی و فتواسیمیلیت ها مرتبط است. نتایج شکل 8 نیز موید این فرضیه است زیرا کاهش درصد رطوبت نسبی برگ در هر سه گیاه را نشان می دهد.

### نتیجه گیری

نتایج به دست آمده نشان داد که تیمار 2 گرم کود بر کیلوگرم خاک اثر بهتری بر صفات رشدی بویژه وزن خشک گیاهان تک لپه (گندم و ذرت) داشته ولی در کلزا احتمالاً موجب بیشبود عناصر و بروز علائم سمیت شده است. بنظر می رسد این کود برای استفاده در مزارع گیاهان تک لپه مناسبتر باشد.

### منابع و مراجع مورد استفاده

- [1] Hitha Shaji, Vinaya Chandran, Linu Mathew, 2021, Chapter 13 - Organic fertilizers as a route to controlled release of nutrients, Editor(s): F.B. Lewu, Tatiana Volova, Sabu Thomas, Rakhimol K.R., Controlled Release Fertilizers for Sustainable Agriculture, Academic Press, Pages 231-245, ISBN 9780128195550, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819555-0.00013-3>.
- [2] عشریه، ه. 1379. بررسی بردباری و مقاومت به شوری دو گیاه *Agropyron cristatum* L. و *Cynodon dactylon*. پایان نامه کارشناسی ارشد زیست شناسی. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال. 283 صفحه.
- [3] مسعودسینکی، ج. 1381. بررسی جنبه های فیزیولوژیک مقاومت به خشکی و شوری در سورگوم. پایان نامه کارشناسی ارشد زراعت. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات. 192 صفحه.
- [4] Sairam, R. K. and G. C. Siravastava. 2002. Changes in antioxidant activity in subcellular fractions of tolerant and susceptible wheat genotypes in response to longterm salt stress. Plant sci. 162: 897-907.

## Investigating the Impact of Organic Fertilizer on the Growth Characteristics of Wheat, Maize and Rapeseed

### Abstract

As a crucial element of sustainable agriculture, organic fertilizer significantly enhances soil fertility. The aim of this research is to examine the effects of organic fertilizer on the growth characteristics of three different plant species: wheat, corn, and rapeseed. The study utilized 1 gram and 2 grams of fertilizer as treatments. Growth parameters measured in this study include: fresh and dry weights (biomass, shoot, and root), plant height, leaf area (LA), specific leaf area (SLA), relative water content (RWC), leaf water content per unit leaf area (LWCA), and cell membrane stability index are measured. The results indicate that applying 1 gram of fertilizer had a more positive impact on plant growth characteristics than using 2 grams, as the latter caused growth inhibition. Excessive fertilizer usage can lead to nutrient depletion in the soil, ultimately prompting crop loss.

**Keywords:** Pars fertilizer dez, Organic Fertilizer, Growth parameters, cell membrane stability index, wheat, corn, rapeseed

## پاسخ های آنتی اکسیدانی و فیزیولوژی گندم ساختگی تحت تنش خشکی

نیلوفر مختاری<sup>1</sup>، محمد مهدی مجیدی<sup>2</sup> و آقافر میرلوحی<sup>2</sup>

1- دانشجوی دکتری ژنتیک و به‌نژادی گیاهی، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، آدرس پست الکترونیک:

[niloomokhtari@yahoo.com](mailto:niloomokhtari@yahoo.com)

2- اساتید ژنتیک و به‌نژادی، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

### چکیده

گندم‌های ساختگی که به‌طور مصنوعی از تلاقی ارقام گندم دوروم یا ایمر (تتراپلوئید) با جد *Ae. tauschii* (دیپلوئید) ایجاد می‌شوند، منبع مفیدی از ژن‌های جدید برای گندم نان معمولی (*Triticum aestivum* L.) است. در این پژوهش پاسخ گندم‌های ساختگی برای تحمل به خشکی بر اساس فعالیت‌های فیزیولوژیک، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و تحمل به خشکی مطالعه شد. طیف وسیعی از تنوع و مقادیر بالای وراثت پذیری برای عملکرد دانه، صفات فیزیولوژیک و آنتی‌اکسیدانی مشاهده شد که نشان می‌دهد ژرم پلاسما گندم ساختگی، یک منبع ژنی ارزشمند برای بهبود تحمل به خشکی گندم است. کاهش عملکرد دانه (YLD)، شاخص سطح برگ (LAI)، محتوای نسبی آب (RWC) و افزایش محتوای مالون دی‌آلدئید در اثر تنش خشکی (MDA) مشاهده شد. علاوه بر آن، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی آسکوربات پراکسیداز (APX)، کاتالاز (CAT) و پراکسیداز (POD) و همچنین رنگدانه‌های فتوسنتزی، پروکلین (Pro) و محتوای MDA تحت تنش آبی افزایش یافت. برتری گندم‌های ساختگی در مقایسه با لاین‌های گندم معمولی تحت تنش آبی با بهبود عملکرد دانه، صفات فیزیولوژیک، رنگدانه‌های فتوسنتزی، RWC بالاتر، محتوای کمتر MDA و فعالیت پراکسیداز ( $H_2O_2$ ) محرز بود. پاسخ‌های متفاوت به تنش آبی در ژرم پلاسما و بین گندم ساختگی و معمولی نشان می‌دهد که انتخاب برای ژنوتیپ‌های سازگار و مناسب برای تحمل به خشکی در ژرم پلاسما گندم ساختگی امکان‌پذیر است.

**واژگان کلیدی:** گندم ساختگی، فیزیولوژی، خشکی، سیستم آنتی‌اکسیدانی، تنوع ژنتیکی.

### مقدمه

گندم معمولی (*Triticum aestivum* L.) یکی از مهمترین غلات و منبع اصلی غذایی در سراسر جهان است که از سه ژنوم دیپلوئید: *T. urartu*، *Aegilops speltoides* و *Ae. Tauschii* تشکیل شده است (1). بخش زیاد تنوع ژنتیکی اولیه در گندم نان که از اجداد آن به ارث رسیده است، در اثر پدیده تنگنای تکاملی بواسطه هزاران سال انتخاب طبیعی و مصنوعی از دست رفته است (2). به نژادگران، به تازگی از طریق تلاقی *T. turgidum* با *Ae. tauschii* و تولید ارقام ساختگی اولیه و پیشرفته، مسیر جدیدی جهت افزایش تنوع ژنتیکی درون گندم پیش گرفته اند زیرا این دو گونه اجدادی، منبع غنی از ژن‌های برتر تحمل به تنش‌های زیستی و غیرزیستی از جمله مقاومت به خشکی (3) جهت ایجاد گندم مدرن هستند (1 و 3).

تنش‌های زنده و غیرزنده متعددی موجب از بین رفتن و کاهش عملکرد گندم می‌شوند که اصلاح گندم جهت تحمل به این تنش‌ها را برای به نژادگران به امری ضروری تبدیل کرده است. با توجه به افزایش دمای جهانی و محدودیت منابع آبی، به نظر می‌رسد که تنش خشکی سهم زیادی در کاهش عملکرد محصولات کشاورزی دارد. از این‌رو امروزه یکی از مهم‌ترین اهداف به



نژادی در گیاهان زراعی، ایجاد مقاومت نسبت به تنش خشکی و افزایش کارایی مصرف آب است (1). خشکی باعث برانگیختگی پروسه تولید اکسیژن فعال (ROS) می شود (4) که متابولیسم سلولی طبیعی را مختل کرده و به لیپیدها، پروتئین ها، کلروفیل و DNA آسیب می رساند (5). بررسی صفات فیزیولوژیک از جمله میزان پرولین، پایداری غشاء سلولی در شرایط تنش، تداوم فتوسنتز، فعالیتهای آنتی اکسیدانی و محتوای نسبی آب برگ جهت شناسایی ارقام متحمل به خشکی در گیاهان مورد توجه بسیاری از محققان قرار گرفته است (6). اخیراً، نشان داده شده است که گندم های ساختگی، عملکرد زراعی بهتر و فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتری دارد (7) که نشان دهنده پتانسیل ژنتیکی فوق العاده گندم ساختگی برای بهبود عملکرد و پایداری عملکرد در شرایط خشکسالی و تنش گرمایی است. برای غلبه بر مشکل تنش های غیر زیستی در گندم بویژه در شرایط تغییر اقلیم، بسیاری از محققان استفاده از گندم های ساختگی را بدلیل تنوع ژنتیکی گسترده تر پیشنهاد می دهند (8). هدف از این مطالعه بررسی تنوع ژنتیکی ژرم پلاسما گندم های ساختگی تحت تنش خشکی بر اساس آنزیم های بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی و آنتی اکسیدانی و شناسایی لاین های برتر متحمل به خشکی بر اساس شاخص های خشکی و حساسیت و ویژگی های فیزیولوژیکی بوده است.

## مواد و روش ها

در این مطالعه از 99 لاین گندم (تهیه شده از بانک ژن سیمیت) و 8 رقم گندم نان معمولی که شامل 4 رقم خارجی (AAC Scotia، Carberry، Norwell و Sable) و 4 رقم گندم نان ایرانی (روشن، پیشتاز، قدس و کویر) به صورت آزمایش تجزیه مرکب در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی در دو سال 1397 و 1398 در شرایط تنش خشکی و عدم تنش با دو تکرار در مزرعه ای تحقیقاتی دانشگاه صنعتی اصفهان واقع در شهرستان نجف آباد ارزیابی شدند. تمامی کرت ها تا 50 درصد خوشه دهی از نظر آبیاری و اعمال مدیریت های زراعی به صورت یکسان در نظر گرفته شدند. در زمان شروع اعمال تنش، رطوبت خاک در عمق توسعه ریشه (عمق 0 تا 20، 20 تا 40 و 40 تا 60 سانتی متر) اندازه گیری شد و با در نظر داشتن اطلاعات هواشناسی (برای پیش بینی زمان آبیاری) و همچنین در نظر گرفتن درصد تخلیه مجاز خاک (40% برای شاهد و 90% برای تنش)، زمان و میزان آب مورد نیاز برای تیمارها تعیین شد. صفاتی از قبیل اندازه گیری سطح برگ، میزان رنگیزه های برگ (کلروفیل a، b، کل و کارنوئید)، غلظت مالون دی آلدئید، میزان پرولین برگ، محتوای نسبی آب برگ و آنزیم های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز اندازه گیری شدند.

## نتایج و بحث

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس، بیان کننده آن بود که رژیم های رطوبتی برای صفات مورد مطالعه (به جز chl a و chl b) معنی دار بود (نتایج نشان داده نشده است). مقادیر LAI، RWC و YLD به دلیل کمبود آب به طور قابل توجهی کاهش یافت (جدول 1). ضریب تنوع ژنوتیپی بالا (GCV) برای همه صفات به ویژه برای POX (53/38)، APX (39/53)، MDA (38/64) و H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (34/47) مشاهده شد که نشان دهنده تنوع ژنتیکی بالا در ژرم پلاسما مورد مطالعه می باشد. آنزیم های آنتی اکسیدانی (APX، CAT، POX و پروتئین، H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> و YLD در شرایط تنش آبی وراثت پذیری بالاتری داشتند (جدول 1). وراثت پذیری عملکرد دانه متوسط (32/24) بود که کمتر از وراثت پذیری صفات فیزیولوژیک (به جز RWC و LAI) بود. تنوع ژنوتیپی مربوط به اکثر صفات، مانند عملکرد، در شرایط تنش آبی نسبت به نرمال کاهش یافت. در تحقیق حاضر، وراثت پذیری اکثر متغیرها در دسته بالا طبقه بندی شد که نشان می دهد این ژرم پلاسما گندم ساختگی، می تواند به عنوان منبع عالی در برنامه های اصلاحی گندم استفاده شود (9).

برای اکثر صفات مورد مطالعه تفاوت معنی داری بین لاین های ساختگی و گندم معمولی مشاهده شد (نتایج آورده نشده است). نتایج نشان داد که فعالیت APX، POX و H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> در گندم های معمولی بیشتر از ساختگی در شرایط تنش آبی بود، در حالی که محتوای CAT، Chlb، Tch، RWC و YLD در ساختگی بیشتر بود (نتایج آورده نشده است). نتایج این پژوهش نشان داد که گندم های ساختگی نسبت به گندم های معمولی تحت تنش آبی به ویژه از نظر YLD، Tch و RWC برتری دارند. تفاوتی بین ژنوتیپ های ساختگی و گندم معمولی از نظر محتوای پروتئین، Chl a، CAR، MDA، LAI و Pro در شرایط تنش آبی مشاهده نشد. در شرایط نرمال، RWC در گندم ساختگی بیشتر از گندم معمولی بود، در حالی که برای اکثر صفات دیگر، تفاوت معنی داری بین این دو گروه مشاهده نشد. یافته های ما با تحقیقات قبلی که برتری گندم های ساختگی را در مقایسه با گندم های معمولی با استفاده از

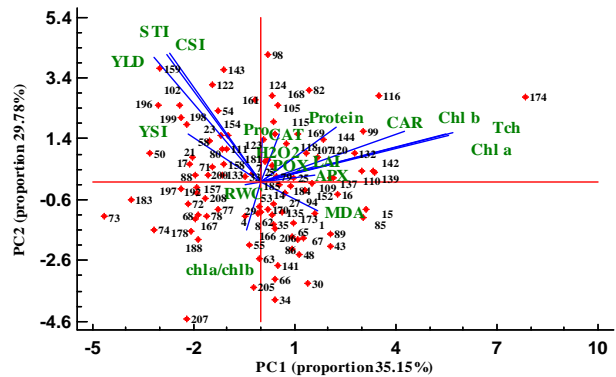
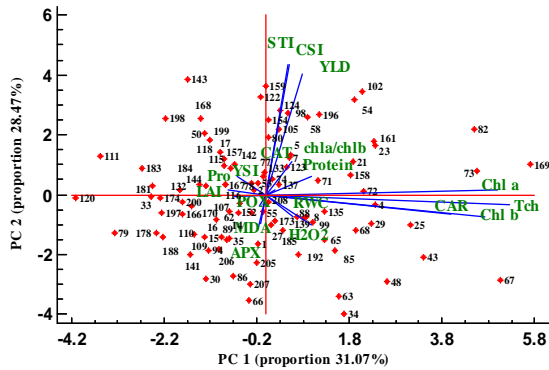
جدول 1. مقایسه میانگین، ضریب تنوع ژنتیکی (GCV) و وراثت پذیری (h<sup>2</sup>) صفات فیزیولوژیک و عملکرد

صفات	میانگین	ضریب تنوع ژنتیکی	وراثت پذیری
	نرمال	تنش	نرمال
کاتالاز (μmole of H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> decomposed min <sup>-1</sup> mg <sup>-1</sup> protein)	2/47 <sup>b</sup>	2/87 <sup>a</sup>	57/73
آسکوربات پراکسیداز (μmole of monodehydroascorbate formed min <sup>-1</sup> mg <sup>-1</sup> protein)	۶/۸۹ <sup>b</sup>	9/13 <sup>a</sup>	84/76
پراکسیداز (increase in absorbance min <sup>-1</sup> mg <sup>-1</sup> protein)	12/15 <sup>b</sup>	15/23 <sup>a</sup>	92/72
پروتئین (mg ml <sup>-1</sup> )	1/17 <sup>a</sup>	1/21 <sup>a</sup>	85/06
کلروفیل a (mg ml <sup>-1</sup> )	1/91 <sup>b</sup>	2/18 <sup>a</sup>	68/18
کلروفیل b (mg ml <sup>-1</sup> )	0/64 <sup>b</sup>	0/72 <sup>a</sup>	78/58
کاروتنوئید (mg ml <sup>-1</sup> )	0/42 <sup>b</sup>	0/51 <sup>a</sup>	71/22
کلروفیل کل (mg ml <sup>-1</sup> )	1/67 <sup>b</sup>	1/89 <sup>a</sup>	72/90
نسبت کلروفیل a/b	2/98 <sup>a</sup>	3/00 <sup>a</sup>	66/55
پراکسید هیدروژن (μm g <sup>-1</sup> )	1/91 <sup>b</sup>	2/29 <sup>a</sup>	80/00
مالون دی آلدهید (μm g <sup>-1</sup> )	11/76 <sup>b</sup>	17/18 <sup>a</sup>	81/29
پرولین (μm g <sup>-1</sup> )	4/64 <sup>b</sup>	5/09 <sup>a</sup>	63/27
محتوای نسبی آب (%)	79/43 <sup>a</sup>	61/80 <sup>b</sup>	20/69
شاخص سطح برگ (mm <sup>2</sup> )	4261/90 <sup>a</sup>	2975/30 <sup>b</sup>	15/63
عملکرد (g/m <sup>2</sup> )	992/07 <sup>a</sup>	683/91 <sup>b</sup>	32/24

در هر صفت (ردیف) میانگین هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون LSD در سطح 5 درصد تفاوت معناداری با یکدیگر ندارند.

صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی مختلف تحت کنترل و تنش های اسمزی نشان می داد، مطابقت داشت (10). گندم ساختگی می تواند متابولیت ها را سریعتر از برگ ها و ساقه ها به دانه های در حال رشد، تحت تنش خشکی جابجا کند (10). نتایج نشان داد که گندم ساختگی در تنش آبی، Tch و Chlb بیشتری دارد. پرادان و همکاران (11) نشان داد که کاهش عملکرد دانه گندم ساختگی (25 درصد) کمتر از گندم نان (47 درصد) بود که ممکن است به دلیل میزان کلروفیل برگ در شرایط خشکی باشد. بر اساس همبستگی و تجزیه و تحلیل PCA، سه شاخص متحمل STI، YSI و CSI با عملکرد در هر دو شرایط رطوبتی همبستگی مثبت داشتند (شکل 1). علاوه بر آن، YSI رابطه مثبت و معنی داری با RWC داشت که نشان می دهد انتخاب بر اساس RWC بالاتر ممکن است منجر به پایداری ژنوتیپ های بالاتر در شرایط خشکی شود که با نتایج ابراهیمیان و همکاران همسو است (12). همچنین، می توان از ارتباط منفی بین شاخص تحمل به خشکی (CSI) و MDA، برای انتخاب غیرمستقیم تحمل به خشکی استفاده کرد. با

استفاده از صفات فیزیولوژیکی، عملکردی و شاخص های تحمل به تنش، ژنوتیپ های مقاوم به خشکی شناسایی شدند. در این راستا ژنوتیپ های 54، 98، 102، 105، 122، 124، 143، 159، 196 و 198 رتبه بالاتری را نشان دادند. لاین های گندم ساختگی دارای مقادیر بیشتری از فعالیت آنزیمی و محتوای رنگدانه بودند که به طور مستقیم یا غیرمستقیم می توانند به عنوان ژنوتیپ های شکل (1) پراکندگی ژنوتیپ ها برای دو صفت پروتئین و عملکرد دانه در محیط نرمال (سمت چپ) و محیط دارای تنش شوری (سمت راست) برتر در برنامه های اصلاحی گندم استفاده شوند.



نتیجه گیری

تنوع ژنتیکی فعالیت های آنزیم های آنتی اکسیدانی، فعالیت های اکسیدانی غیر آنزیمی، عملکردی و شاخص های تحمل نشان دهنده این است که جمعیت های گندم ساختگی تنوع ژنتیکی بالایی از نظر تولید و تحمل به خشکی دارند. این پتانسیل برای اصلاح گندم برای مقابله با تغییرات آب و هوایی جهان بویژه در مناطق خشک بسیار مفید است. برتری گندم های ساختگی در مقایسه با گندم معمولی از نظر عملکرد در تنش خشکی نشان داد که با استفاده از گندم های ساختگی می توان تنوع ژنتیکی و پتانسیل سازش برای ارقام مدرن گندم را افزایش داد. گندم های ساختگی تحت تنش با صفات فیزیولوژیک برتر از جمله میزان بالای رنگدانه ها همبستگی نشان دادند. همچنین در ژنوتیپ های متحمل به خشکی، میزان حداقل MDA و محتوای بالای رنگدانه گزارش شد. ژنوتیپ های متحمل به خشکی (54، 98، 102، 105، 122، 124، 143، 159، 196 و 198) جهت استفاده مستقیم یا غیرمستقیم در برنامه های اصلاحی معرفی شدند. این یافته ها در اصلاح ارقام گندم با استفاده از گندم های ساختگی بعنوان یک منبع ژنتیکی برای مقابله با تنگنای ژنتیکی بکار برده می شود.

منابع

- Gordon, E., Kaviani, M., Kagale, S., Payne, T. and Navabi A., 2018. Genetic diversity and population structure of synthetic hexaploid-derived wheat (*Triticum aestivum* L.) accessions. *Genetic Resources and Crop Evolution*, <https://doi.org/10.1007/s10722-018-0711-9>.

2. Cavanagh, C.R., Chao, Sh., Wang, Sh. and Akhunov, E., 2013. Genome-wide comparative diversity uncovers multiple targets of selection for improvement in hexaploid wheat landraces and cultivars. *Proceedings of National Academy of Sciences*, 110(20), 8057-8062. <https://doi.org/10.1073/pnas.1217133110>.
3. Li, A., Liu, D., Yang, W., Kishii, M. and Mao, L., 2018. Synthetic Hexaploid Wheat: Yesterday, Today, and Tomorrow. *Crop Genetics and Breeding*, 4, 552-558. <https://doi.org/10.1016/j.eng.2018.07.001>.
4. Kadkhodaie, A., Razmjoo, J., Zahedi, M. and Pessaraki, M., 2014. Selecting sesame genotypes for drought tolerance based on some physiochemical traits. *Agronomy Journal*, 106, 111-118.
5. Sobhanian, N., Heidari, B., Tahmasebi, S., Dadkhodaie, A. and McIntyre, C. L., 2019. Response of quantitative and physiological traits to drought stress in the Serim82/Babax wheat population. *Euphytica*, 32, 1-15.
6. Majidi, M.M., Bahrami, S., Abtahi, M., Mirlohi, A.F. and Araghi, B., 2016. Genetic analysis of seed-related traits in smooth bromegrass (*Bromus inermis*) under well-watered and water-stressed conditions. *Grass and Forage Science*, 72, 163-173. <https://doi.org/10.1111/gfs.12230>.
7. Song, Q., Liu, C., Bachir, D.G., Chen, L. and Hu, Y., 2017. Drought resistance of new synthetic hexaploid wheat accessions evaluated by multiple traits and antioxidant enzyme activity. *Field Crops Research*, 210, 91-103. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fcr.2017.05.028>.
8. Bhatta, M., Morgounov, A., Belamkar, V., Poland, J. and Baenziger, P.S., 2018. Unlocking the novel genetic diversity and population structure of synthetic hexaploid wheat. *BMC Genome*, 19(1), 591. <https://doi.org/10.1186/s12864-018-4969-2>.
9. Dabholkar, A.R., 1992. Elements of biometrical genetics. New Delhi, India: Concept publishing company.
10. Yang, J., Zhang, J., Wang, Z., Zhu, Q. and Liu, L., 2001. Water deficit-induced senescence and its relationship to the remobilization of pre-stored carbon in wheat during grain filling. *Agronomy Journal*, 93, 196-206. [doi:10.2134/agronj2001.931196x](https://doi.org/10.2134/agronj2001.931196x).
11. Pradhan, G.P., Prasad, P.V., Fritz, A.K., Kirkham, M.B. and Gill, B.S., 2012. Effects of drought and high temperature stress on synthetic hexaploid wheat. *Functional Plant Biology*, 39(3), 190-198. [doi:10.1071/FP11245](https://doi.org/10.1071/FP11245).
12. Ebrahimiyan, M., Majidi, M.M., Mirlohi, A.F. and Gheysari, M., 2012. Drought-tolerance indices in a tall fescue population and its polycross progenies. *Crop and Pasture Science*, 63, 360-9. <https://doi.org/10.1071/CP11279>.

## Physiological and antioxidant responses of synthetic wheat under drought stress

Niloofer Mokhtari, Mohammad Mahdi Majidi\*, Aghafakhr Mirlohi

Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, 8415683111, Iran

\*Corresponding author: Niloofer Mokhtari; E-mail: niloomokhtari@yahoo.com

**Abstract :** Synthetic hexaploid wheats derived lines (SHW-DL), created artificially by crossing different durum wheat cultivars (AABB) with *Ae. tauschii* (DD), proved to be a beneficial source of new genes for common bread wheat (*Triticum aestivum* L). As world population and climate change impact increases, especially in arid environments, high-yielding drought-tolerant wheat varieties is needed. Here, we studied the response of a panel of 91 SHW-DL for drought tolerance based on physiological, antioxidant enzyme activities and drought tolerance indices. A wide range of variation and high values of heritability was observed for grain yield, physiological and antioxidant traits indicating that the SHW-DL panel constitutes a valuable gene source for drought tolerance improvement of wheat. Despite decreases in grain yield (YLD), leaf area index (LAI) and relative water content (RWC) an increase in the content of malondialdehyde (MDA) was observed. Moreover, the antioxidant enzyme activities of ascorbate peroxidase (APX), catalase (CAT) and peroxidase (POD), and also photosynthetic pigments, proline (Pro), and MDA content were increased under water stress. The superiority of SHW-DL compared to common wheat lines under water stress was correlated with improved grain yield, physiological and biochemical traits such as higher photosynthetic pigments and RWC and lower content of MDA and peroxidase ( $H_2O_2$ ) activity. Different responses to water stress within the germplasm and between synthetic and common wheat suggest that selection for adaptive and suitable genotypes is possible for drought tolerance in synthetic wheat germplasm. Several genotypes with high drought tolerance were identified to be directly used in breeding programs or indirectly by crossing them with other wheat germplasm collections.

**Keywords:** Synthetic wheat, Physiology, Drought, Antioxidant system, Genetic variation

## مطالعه و مقایسه‌ی ترپنوئیدهای گیاه دارویی آویشن شیرازی *Thymus kotschyanus* و

### آویشن کوهی *Zataria multiflora*

آذرخرده بین<sup>1\*</sup>، فاطمه دانشمند<sup>2\*</sup>، فاطمه برزگری فیروزآبادی<sup>2</sup>

<sup>1</sup>دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

[akhwrdbbyn@gmail.com](mailto:akhwrdbbyn@gmail.com)

<sup>2</sup>گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

#### چکیده

مقدمه: آویشن از با ارزش‌ترین گیاهان دارویی ایران و یکی از جنس‌های خانواده نعناع است که در زیر خانواده پونه‌سای قرار دارد. گیاهان منبع گسترده‌ای از متابولیت‌های ثانویه هستند که ترپنوئیدها از دسته این متابولیت‌ها هستند. در این مطالعه، ترکیبات ترپنوئیدی دو گیاه *Zataria multiflora* (آویشن شیرازی) و *Thymus kotschyanus* (آویشن کوهی) جمع‌آوری شده از استان کرمان مورد بررسی قرار گرفت. روش کار: جهت شناسایی ترپنوئیدها از کروماتوگرافی گازی- طیف سنج جرمی استفاده شد. نتیجه تحقیق: در پژوهش حاضر 20 ترکیب ترپنوئیدی در هر دو گیاه *Zataria multiflora* و *Thymus kotschyanus* مورد شناسایی قرار گرفت که هر دو گیاه دارای ترکیبات ترپنوئیدی مشابه بودند، اما درصد این ترکیبات متفاوت بود. ترکیب Carvacrol دارای بالاترین مقدار در هر دو گیاه به ترتیب برابر با 55/8 درصد و 37/95 درصد بود. کمترین غلظت مربوط به  $\alpha$ -thujene (0/11 درصد) در گیاه *Thymus kotschyanus* و  $\beta$ -Pinene (0/32 درصد) در گیاه *Zataria multiflora* بود. وجود ترکیبات ترپنوئیدی مانند Carvacrol، می‌تواند نشان دهنده برخی از خواص درمانی دو گیاه مورد مطالعه باشد. واژگان کلیدی: آویشن شیرازی، آویشن کوهی، ترپنوئیدها، اسانس، کروماتوگرافی گازی- طیف سنج جرمی

#### مقدمه

ایران دارای تنوع اقلیمی و تنوع زیستی منحصر به فردی است. جنس آویشن یکی از جنس‌های مهم خانواده Lamiaceae که در مناطق مدیترانه، آسیا، جنوب اروپا و شمال آفریقا پیدا می‌شود (6). ترپنوئیدها از دسته متابولیت‌های ثانویه هستند که اهمیت آنها برای گیاهان دارای ماهیت اکولوژیک است (9). ترپنوئیدها از اتصال واحدهای 5 کربنه ایزوپرن تشکیل شده‌اند که دارای نقش‌هایی مانند هورمون‌های گیاهی و آنتی‌اکسیدان‌ها می‌باشند. ترپنوئیدها در روابط و دفاع گیاهان نظیر جلب گرده افشان‌ها، پراکنش دانه‌ها، فیتوکسین‌های رقابتی، آنتی‌بیوتیک‌ها، دفع علف خواران و توکسین‌ها نقش ایفا می‌کنند (5). با توجه به این نکته که آویشن شیرازی و آویشن کوهی از گیاهان دارویی پر استفاده در طب سنتی می‌باشند و در بسیاری از موارد به جای یکدیگر نیز فروخته و یا استفاده می‌شوند، هدف از این مطالعه مقایسه ترکیبات ترپنوئیدی موجود در این دو گیاه جمع‌آوری شده از استان کرمان می‌باشد. محمدی و همکاران (1398) در بررسی خصوصیات آویشن باغی و دو توده بومی آویشن خراسانی در شرایط آب و هوای مشهد با آنالیز GC-MS نشان دادند اسانس آویشن باغی و آویشن خراسانی به ترتیب دارای 31 و 27 ترکیب بودند (1). نژادمحمدنامقی و همکاران (1400) مشخص کردند متابولیت‌های ثانویه در گیاه آویشن در سه منطقه اقلیمی خشک، نیمه خشک و

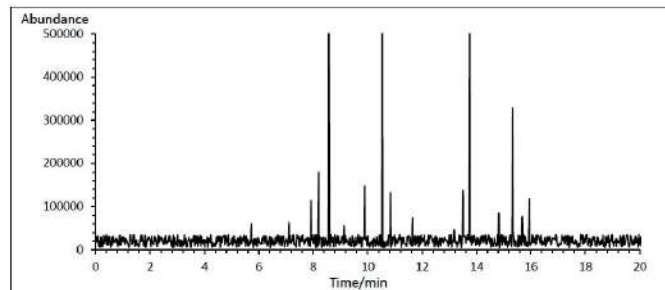
نیمه مرطوب متفاوت و با افزایش شدت خشکی، متابولیت‌های ثانویه در مراحل مختلف رویشی به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد.  
(2).

### مواد و روش‌ها

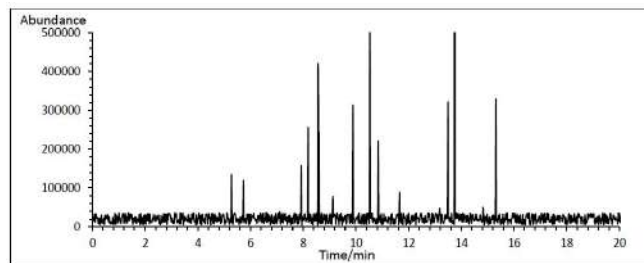
گیاه *Thymus kotschyanus* از منطقه سربیژن ساردوئیه (جیرفت) و گیاه *Zataria multiflora* از محدوده معدن فاریاب استان کرمان جمع‌آوری و توسط دکتر سید منصور میرتاج‌الدینی شناسایی و تأیید شدند. جهت استخراج اسانس، از سوکسله استفاده شد، 50 گرم بافت خشک قسمت‌های هوایی هر دو گیاه هیدرواستیل شدند. تقطیر بدست آمده با حلال استون و سولفات سدیم بدون آب خشک گردید. جهت بررسی ترپنوئیدها از کروماتوگرافی گازی - طیف سنج جرمی استفاده شد (4).

### نتایج

در بررسی محتوای ترپنوئیدها، در هر دو گیاه 20 ترکیب ترپنوئیدی شناسایی شد (نمودار 1 و 2). در گیاه *Thymus kotschyanus* بیشترین غلظت را Carvacrol (55/58 درصد) و کمترین غلظت را  $\alpha$ -thujene (0/11 درصد) و در گیاه *Zataria multiflora* بیشترین غلظت را Carvacrol (37/95 درصد) و کمترین غلظت را  $\beta$ -Pinene (0/32 درصد) داشت (جدول 1).



نمودار 1- کروماتوگرام GC-MS ترکیبات ترپنوئیدی در گیاه *Thymus kotschyanus*



نمودار 2- کروماتوگرام GC-MS ترکیبات ترپنوئیدی در گیاه *Zataria multiflora*

در جدول 1، مقایسه ترکیبات ترپنوئیدی دو گیاه *Thymus kotschyanus* و *Zataria multiflora* آورده شده است.

جدول 1- مقایسه ترکیبات ترپنوئیدی در دو گیاه *Thymus kotschyanus* و *Zataria multiflora*

<i>Zataria multiflora</i> (%)	<i>Thymus kotschyanus</i> (%)	نام ترکیب ترپنوئیدی
2/53	0/11	$\alpha$ -thujene

2/23	0/87	$\alpha$ -Pinene
0/53	0/37	Camphen
0/32	0/35	$\beta$ -Pinene
0/72	0/91	$\beta$ -Myrcene
2/96	1/66	$\alpha$ -Phellandrene
4/80	2/63	$\alpha$ -Terpinene
7/90	7/80	p-Cymene
1/46	0/81	$\beta$ -Phellandrene
5/87	2/17	1,8-Cineole
11/47	12/02	$\gamma$ -Terpinene
4/16	1/94	cis-ocimene
1/68	1/09	Linalool
0/88	0/68	4-Terpineol
6/03	2	Thymol
37/95	55/58	Carvacrol
0/92	1/23	Carvacrylacetate
6/18	4/8	$\beta$ -caryophyllene
0/61	1/14	$\alpha$ -humulene
0/64	1/73	caryophylleneoxide

### بحث

در این تحقیق، 20 ترکیب ترپنوئیدی در هر دو گیاه مورد مطالعه شناسایی گردید که ترکیب Carvacrol دارای بیشترین میزان بود. کارواکرول و تیمول از ترکیبات اصلی اسانس آویشن هستند که در آب به صورت نامحلول می‌باشند اما در الکل و اتر حل می‌گردند (7). در تحقیقی Mojaddar Langroodi و همکاران در سال 2019، 36 ترکیب از اسانس آویشن شیرازی به وسیله دستگاه GC/MS شناسایی که کارواکرول با 46/82 درصد به عنوان ترکیب اصلی این گیاه می‌باشد (8). در مطالعه‌ای Alsaraf و همکاران در سال 2020 در بررسی ترکیبات اسانس آویشن عمانی، 11 ترکیب شناسایی گردید که کارواکرول 29/59 درصد و گاماترپینن با 29/12 درصد از ترکیبات اصلی بودند (3). Sadeghi و همکاران در سال 2015 در بررسی ترکیبات شیمیایی اسانس آویشن شیرازی، 50 ترکیب شناسایی، که ترکیبات اصلی این گیاه لینالول 55/69-0/93 درصد بود (10).

### نتیجه گیری

در این تحقیق در هر دو گیاه مورد مطالعه ترکیبات ترپنوئیدی مشابه بودند، اما درصد این ترکیبات در دو گیاه مورد بررسی متفاوت بود. بیشترین ترکیب ترپنوئیدی در هر دو گیاه مربوط به Carvacrol بود که میزان آن در گیاه *Thymus kotschyanus* بیشتر بود.

منابع و مراجع مورد استفاده

- (1) **سمانه محمدی، مجید عزیزی ارانی، جمیل واعظی. (1398).** مقایسه خصوصیات مورفولوژیکی، محتوا و اجزای اسانس آویشن باغی و دو توده بومی آویشن خراسانی در شرایط آب و هوای مشهد، نشریه علوم باغبانی، 33(4)، صص. 567-576.
- (2) **علیرضا نژادمحمدنامقی، سعید جاهدی پور، زهرا قلیزاده. (1400).** بررسی اثر ارتفاع از دریا و اقلیم بر تغییرات متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی آویشن و درمنه، مجله زیست فناوری گیاهان دارویی، 7(2)، صص. 48-53.

- (3) **Alsaraf, S., Hadi, Z., Al-Lawati, W. M., Al Lawati, A. A., Khan, S. A. 2020.** Chemical composition, in vitro antibacterial and antioxidant potential of Omani Thyme essential oil along with in silico studies of its major constituent. *Journal of King Saud University-Science*, 32, pp.1-21.
- (4) **Bettaieb I, Bourgou S, Wannas WA, Hamrouni I, Limam F, Marzouk B. 2010.** Essential oils, phenolics, and antioxidant activities of different parts of cumin (*Cuminum cyminum* L.). *Journal of Agricultural and Food, Chemistry*, 58(19), pp.10410-10418.
- (5) **Estevez, J. M., Cantero, A., Reichler, S., Leon, P. 2001.** 1-Deoxy-D-xylulose-5-phosphate synthase, a limiting enzyme for plastidic isoprenoid biosynthesis in plants. *Biological Chemistry*, 276, pp.22901-22909.
- (6) **Maksimovic, Z., Stojanovic, D., Sostaric, I., Dajic, Z., Ristic M. 2008.** Composition and radical-scavenging activity of *Thymus glabrescens* Willd. (Lamiaceae) essential oil. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88, pp.2036-2041.
- (7) **Meeran, N., Fizur, M., Javed, H., Al Tae, H., Azimullah, S., Ojha, S.K. 2017.** Pharmacological properties and molecular mechanisms of thymol: prospects for its therapeutic potential and pharmaceutical development. *Frontiers in Pharmacology*, 8, pp. 380.
- (8) **Mojaddar Langroodi, A., Tajik, H., Mehdizadeh, T. 2019.** Antibacterial and antioxidant characteristics of *Zataria multiflora* Boiss essential Oil and hydroalcoholic extract of *Rhus coriaria* L. *Journal of Food Quality and Hazards Control*, pp.16-24.
- (9) **Ramachandra Rao, S., Ravishankar, G.A. 2000.** Plant cell cultures: Chemical factories of secondary metabolites. *Biotechnology Advances*, 20pp.101-153.
- (10) **Sadeghi, H., Robati, Z. Saharkhiz, M. J. 2015.** Variability in *Zataria multiflora* Bioss. essential oil of twelve populations from Fars province, Iran. *Industrial Crops and Products*, 67, pp.221-226.

## Study and comparison of terpenoids of medicinal plants *Thymus kotschyanus* and *Zataria multiflora*

Azar khordeBin<sup>\*1</sup>, Fatemeh Daneshmand<sup>\*2</sup>, Fatemeh Barzegari Firouzabadi<sup>2</sup>

1 Master's student in Biochemistry, Payame Noor University, Tehran, Iran

2 Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran

[akhwrdbyn@gmail.com](mailto:akhwrdbyn@gmail.com)\*1

### Abstract

**Introduction:** Thyme is one of the most valuable medicinal plants in Iran and one of the genera of the mint family, which is under the Ponesai family. Plants are a wide source of secondary metabolites, among which terpenoids are a class of metabolites. In this study, the terpenoid compounds of two plants *Zataria multiflora* (Shirazi thyme) and *Thymus kotschyanus* (Mountain thyme) collected from Kerman province were investigated. **Methodology:** Gas chromatography-mass spectrometer was used to identify terpenoids. **Research result:** In this research, 20 terpenoid compounds were identified in both *Thymus kotschyanus* and *Zataria multiflora* plants, both plants had similar terpenoid compounds, but the percentage of these compounds was different. The composition of Carvacrol had the highest amount in both plants, equal to 55.8% and 37.95%, respectively. The lowest concentration was related to  $\alpha$ -thujene (0.11%) in *Thymus kotschyanus* and  $\beta$ -Pinene (0.32%) in *Zataria multiflora*. The presence of terpenoid compounds such as Carvacrol can indicate some of the therapeutic properties of the two studied plants.

**Keywords:** *Zataria multiflora*, *Thymus kotschyanus*, terpenoids, Essential oil, Gas Chromatography-Mass spectrometer



## سنتز سبز نانوذرات اکسید مس با استفاده از عصاره گیاهچه‌های زنیان رشدیافته در محیط

### کشت MS

مریم آخوندی<sup>1</sup>، مریم دهجی‌پور حیدرآبادی<sup>2</sup>، سیده هدی حکمت‌آرا<sup>3</sup>، خلیل ملک‌زاده<sup>2</sup>

<sup>1</sup> دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، گروه ژنتیک و تولید گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان، رفسنجان

رفسنجان

<sup>2</sup> اعضای هیأت علمی گروه ژنتیک و تولید گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان، رفسنجان

<sup>3</sup> عضو هیأت علمی گروه فیزیک، دانشکده علوم پایه، دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان، رفسنجان

\* نویسنده مسئول: استادیار گروه ژنتیک و تولید گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان، رفسنجان

m.dahaji@vru.ac.ir

### چکیده

سنتز زیستی نانوذرات در تحقیقات علم بیونانوتکنولوژی، موضوعی مهم و در حال توسعه است. در این پژوهش به منظور سنتز زیستی نانوذرات مس، آزمایشی با استفاده از عصاره گیاهان زنیان رشد یافته در کشت درون شیشه‌ای، در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. بعد از اضافه کردن عصاره گیاه به محلول سولفات مس pH محیط واکنش در محدوده‌های 7 و 10 تنظیم شد. تغییر رنگ تدریجی عصاره گیاه زنیان در مجاورت با سولفات مس، سنتز نانوذرات مس را نشان داد. با مشاهده باند قوی در ناحیه 220-280 نانومتر احیای یون‌های مس به نانوذرات مس تأیید شد. سنتز نانوذرات مس در pH10 با سرعت بیشتری نسبت به pH7 آغاز شد. بیشترین میزان نانوذرات مس در pH10 و زمان 5 ساعت بعد از شروع واکنش مشاهده شد.

**واژگان کلیدی:** زنیان، بیوسنتز، کشت درون شیشه‌ای، نانوذرات مس

### مقدمه

نانوفناوری نقش مهمی در بهبود تولیدات کشاورزی به‌عهده دارد. در این زمینه نانوذرات فلزی، در تولید نانوکودها در کشاورزی نقش بسزایی دارند. تهیه شیمیایی و فرایندهای حالت جامد، مانند آسیاب کردن و چگالش بخار، روش‌های معمول ساخت نانوذرات، اما گران‌قیمت هستند. به همین دلیل، تقاضا برای تولید نانوذرات با روش‌های دوست‌دار محیط زیست به وجود آمده است. یکی از این روش‌های تولید جایگزین، تولید نانوذرات با استفاده از روش‌های بیولوژیک است (1). در سال‌های اخیر روش بیوسنتز با استفاده از عصاره گیاهان توجه بیشتری را به خود اختصاص داده است. عصاره‌های گیاهی، حاوی مولکول‌های مختلف زیستی هستند که می‌توانند به عنوان پوشش‌دهنده و پایدارکننده نانوذرات استفاده شوند (2). گزارش‌هایی مبنی بر سنتز سبز نانوذرات مس با ابعاد 25 نانومتر با استفاده از عصاره بذر زیره (3) و نانوذرات مس با ابعاد 22 نانومتر با استفاده از عصاره بذر بادیان رومی (4) ارائه شده است. در این پژوهش، سنتز زیستی نانوذرات مس با استفاده از عصاره گیاه دارویی زنیان رشد یافته در محیط کشت MS بررسی شده است.

**مواد و روش‌ها**

جوانه‌زنی بذرها را زنیان بعد از ضد عفونی سطحی آنها در محیط کشت حاوی آب و آگار انجام و پس از گذشت یک هفته تعداد 10 عدد گیاهچه‌های یکنواخت، انتخاب و به محیط MS با اسیدیته معادل 5/7 منتقل شدند. بعد از گذشت 50 روز بخش هوایی گیاهان جهت سنتز نانوذرات مس برداشت شد. عصاره‌گیری با اضافه کردن 1/5 گرم نمونه به 50 میلی‌لیتر آب مقطر در حال جوش انجام و با استفاده از کاغذ واتمن صاف شد. عصاره‌های به دست آمده به نسبت 1:9 با نمک سولفات مس یک میلی‌مولار مخلوط و pH در دو محدوده‌ی 7 و 10 تنظیم و با استفاده از شیکر به‌طور پیوسته هم زده شد. نمونه‌برداری از هر یک از محلول‌ها در زمان‌های متفاوت 1، 2، 3، 4، 5 و 24 ساعت پس از آغاز واکنش انجام شد. طیف جذبی نانوذرات با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری (Avanties Avaspec-20488، ساخت آمریکا) در محدوده 300 تا 700 نانومتر اندازه‌گیری و منحنی‌های جذب با استفاده از نرم‌افزار Excel رسم شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال 5% انجام شد.

### نتایج و بحث

عصاره تهیه شده از بخش هوایی گیاهان رشد یافته در محیط MS (شکل 1 الف، ب) بعد از افزودن محلول سولفات مس و تنظیم pH تغییر رنگ نشان داد (شکل 1 ج، د). تغییر رنگ عصاره در مجاورت نمک سولفات مس نشان دهنده‌ی احیای یون‌های مس به نانوذرات آن است. احیای یون‌های مس به نانوذرات مس تأییدی بر رزونانس پلاسمون سطحی نانوذرات مس است. براساس نمودارهای جذب نوری نانوذرات مس، ماکزیمم پیک جذبی در محدوده‌ی طول موج 220 تا 280 نانومتر رخ داد (شکل 2).



الف



ب



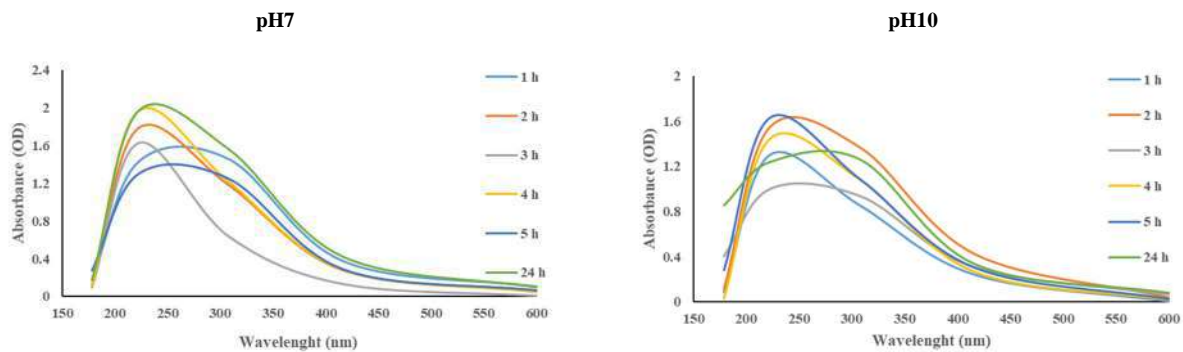
ج



د

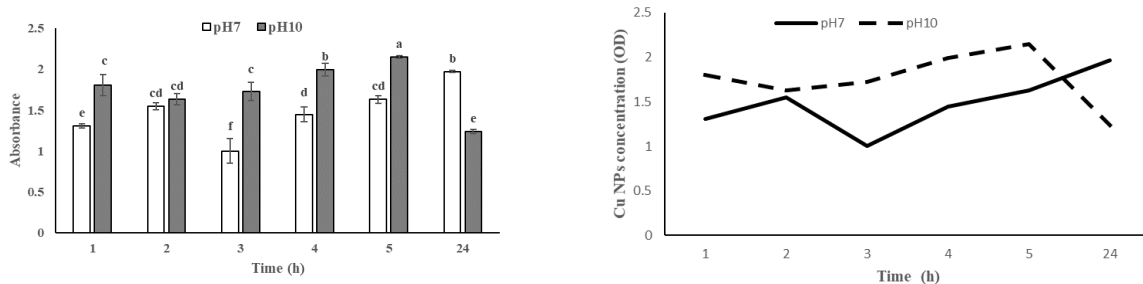
شکل 1. مراحل استخراج عصاره گیاهچه‌های زنیان کشت شده در محیط کشت MS و بیوسنتز نانوذرات مس. الف) گیاهان رشد یافته در محیط MS بعد از گذشت 50 روز، ب) عصاره بخش هوایی گیاهچه‌های زنیان، ج) مخلوط محلول سولفات مس و عصاره گیاهچه در pH 7 و د) مخلوط محلول سولفات مس و عصاره گیاهچه در pH 10

بیشترین میزان سنتز نانوذرات مس در زمان‌های 4 ساعت و 2 ساعت پس از شروع واکنش در pH 7 و pH 10 به ترتیب مشاهده شد. با گذشت زمان در میزان سنتز نانوذرات مس افزایشی مشاهده نشد (شکل 2).



شکل 2. جذب نوری نانوذرات مس بیوسنتز شده با استفاده از عصاره گیاه زنیان

همان طور که در شکل 3 نشان داده شده است شروع سنتز نانوذرات مس در pH 10 نسبت به pH 7 سریع تر بود. با گذشت زمان تا 2 ساعت سرعت سنتز در هر دو pH یکسان و با گذشت زمان تا 5 ساعت سرعت سنتز نانوذرات مس در pH 10 بیشتر و در زمان 24 ساعت سرعت سنتز در pH 7 بیشتر بود (شکل 3 الف). میزان سنتز نانوذرات مس در pH 10 و زمان 5 ساعت بعد از شروع واکنش بیشترین مقدار بود (شکل 3 ب).



شکل 3. سرعت بیوسنتز نانوذرات مس در زمان های مختلف در pH های مختلف (الف)، غلظت نانوذرات مس بیوسنتز شده در زمان های مختلف در pH های مختلف (ب). حروف غیریکسان، معرف تفاوت معنی دار در سطح احتمال  $P \leq 0/05$  بر اساس آزمون دانکن می باشد.

خواص نوری نانوذرات یکی از ویژگی های منحصر به فرد آن ها است که با شکل، اندازه، غلظت و حالت تجمع نانوذرات تغییر می کند. نانوذرات فلزی به علت دارا بودن الکترون های آزاد، باندهای جذب نوری در لحظه برخورد با نور نشان می دهند (5). pH محیط یکی از مهم ترین عوامل مؤثر بر اندازه، شکل و زمان سنتز نانوذرات است. افزایش تشکیل مراکز هسته زایی با افزایش pH و در نتیجه افزایش احیای یون های فلزی مس به نانوذرات مس مرتبط می باشد. همچنین، pH محیط واکنش از طریق تعامل بین گروه های عاملی در عصاره گیاه و یون های فلزی، زمان احیای نمک فلزی را تحت تأثیر قرار می دهد. عامل زمان نیز در سنتز نانوذرات دارای نقش بسیار مهمی است. زمان کم، امکان احیا تمام یون های فلزی و تبدیل آن ها را به نانوذرات فلزی را مهیا نمی نماید. از طرفی دیگر، زمان زیاد نیز در این فرآیند تأثیر بسزایی ندارد (6).

منابع

- 1- Sintubin, L., De Windt, W., Dick, J., Mast, J., Van Der Ha, D., Verstraete, W. and Boon, N., 2009. Lactic acid bacteria as reducing and capping agent for the fast and efficient production of silver nanoparticles. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 84, pp. 741-749.
- 2- Patel, P., Patel, K. and Gandhi, T., 2011. Evaluation of effect of *Taxus baccata* leaves extract on bronchoconstriction and bronchial hyper reactivity in experimental animals. *Journal of Young Pharmacists*, 3, pp. 41-47.
- 3- Rajesh, K.M., Ajitha, B., Reddy, Y.A.K., Suneetha, Y., Reddy, P.S. and Ahn, C.W., 2018. A facile bio-synthesis of copper nanoparticles using *Cuminum cyminum* seed extract: antimicrobial studies. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 9, pp. 035005.
- 4- Elamin, N.Y. and Taha, A., 2023. Biogenic Synthesis of Copper Oxide Nanoparticles Using *Pimpinella anisum* Seed Extract Characterization and Antibacterial activity. *Oriental Journal of Chemistry* 39, pp. 69-74.
- 5- Zhu, H., Zhang, C. and Yin, Y., 2005. Novel synthesis of copper nanoparticles: influence of the synthesis conditions on the particle size. *Nanotechnology*, 16, pp. 3079-3083.
- 6- Akintelu, S.A., Oyebamiji, A.K., Olugbeko, S.C. and Latona, D.F., 2021. Green chemistry approach towards the synthesis of copper nanoparticles and its potential applications as therapeutic agents and environmental control. *Current Research in Green and Sustainable Chemistry*, 4, pp. 100176.

## Biosynthesis of Cu nanoparticles using the extract of *Carum copticum* grown in MS culture medium

Maryam Akhondi<sup>1</sup>, Maryam Dahajipour Heidarabadi<sup>2\*</sup>, Seyyede Hoda Hekmatara<sup>3</sup>,  
Khalil Malekzadeh<sup>2</sup>

<sup>1</sup>MSc student in Agricultural Biotechnology, Department of Genetics and Plant Production, Faculty of Agriculture, Vali-e-Asr University of Rafsanjan, Rafsanjan

<sup>2</sup>Assistant Professor, Department of Genetics and Plant Production, Faculty of Agriculture, Vali-e-Asr University of Rafsanjan, Rafsanjan

<sup>3</sup>Associate Professor, Department of Physics, Faculty of Science, Vali-e-Asr University of Rafsanjan, Rafsanjan

\* Corresponding author email: m.dahaji@vru.ac.ir

### Abstract

Biosynthesis of nanoparticles is an important and developing topic in bio-nanotechnology research. In this research, for the biosynthesis of copper nanoparticles, an experiment was done using the extract of *Carum copticum* grown *in vitro*, in a completely randomized design with three repetitions. After adding the plant extract to the copper sulfate solution, the pH of the reaction medium was adjusted at the range of 7 and 10. The gradual color change of the extract of *Carum copticum* plant in the vicinity of copper sulfate showed the synthesis of copper nanoparticles. The reduction of copper ions to copper nanoparticles was confirmed by observing a strong band in the range of 220-280 nm. The synthesis of copper nanoparticles started at pH 10 at a faster rate than at pH 7. The highest amount of copper nanoparticles was observed at pH 10 and 5 hours after the start of the reaction.

**Keywords:** Biosynthesis; *Carum copticum*; Cu nanoparticles; *In vitro*

## مشخصات فیزیکی و شیمیایی روغن بذر گیاه شاخ بزی (*Proboscidea jussieui*)

سعید میرزایی<sup>1</sup>، مطهره مهدوی تیکدری<sup>2</sup>

1-استادیار گروه پژوهشی بیوتکنولوژی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و

فناوری پیشرفته، کرمان، ایران. [Email: mirzaei.s@kgut.ac.ir](mailto:mirzaei.s@kgut.ac.ir)

2-دانشجوی سابق کارشناسی ارشد رشته باغبانی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران. [Email: m\\_mahdavi\\_88@yahoo.com](mailto:m_mahdavi_88@yahoo.com)

### چکیده:

در سال‌های اخیر با رشد دانش عمومی، تقاضای مردم برای مصرف روغن‌هایی که علاوه بر تأمین انرژی و ایجاد طعم برای سلامتی هم مفید باشد، افزایش یافته است. به همین دلیل نیاز به منابع جدید غذایی بخصوص پروتئین‌ها و چربی‌های گیاهی بیشتر احساس می‌شود. در این تحقیق آزمون‌های فیزیکوشیمیایی شامل ارزیابی وضعیت ظاهری روغن، عدد اسیدی، عدد پراکسید و ویسکوزیته بررسی شدند. در این بررسی درصد روغن بذر شاخ بزی، از روش پرس سرد و حلال n هگزان استفاده شد. عدد یدی با روش استاندارد ملی (4886، 4888)، عدد پراکسید به روش یدومتری و تعیین نقطه پایانی به روش چشمی (سازمان استاندارد ملی، 4179) و ویسکوزیته روغن گیاه شاخ بزی با استفاده از دستگاه ویسکومتر تعیین گردید. این بررسی‌ها نشان دادند که روغن استخراج شده در دمای محیط مایع و به رنگ زرد شفاف است و درصد روغن با پوست 24/7 درصد است. عدد یدی و عدد پراکسید به ترتیب 103/83 (gr/100gr oil) و 2/87 (meq/kg) است. و میزان ویسکوزیته آن 34/24 (mm<sup>2</sup>/s) تعیین شد.

واژگان کلیدی: روغن، گیاه شاخ بزی، عدد یدی، ویسکوزیته.

### مقدمه:

رشد جمعیت و افزایش مصرف از یک سو و ضرورت‌های تغذیه‌ای از سوی دیگر، باعث شد که صنعت روغن از قرن نوزدهم به بعد، رشد و توسعه چشمگیری داشته باشد. به‌طوریکه در حال حاضر تقریباً 200 میلیون تن چربی و روغن تولید می‌شود (Bueno-Ferrer et al., 2010). در سال‌های اخیر با رشد دانش عمومی، تقاضای مردم برای مصرف روغن‌هایی که علاوه بر تأمین انرژی و ایجاد طعم برای سلامتی هم مفید باشند، افزایش یافته است. به همین دلیل نیاز به منابع جدید غذایی بخصوص پروتئین‌ها و چربی‌های گیاهی بیشتر احساس می‌شود (Jnawali et al., 2016).

با توجه به نیاز روز افزون به روغن‌های نباتی و وابستگی شدید کشور در این مورد، می‌بایست توجه ویژه‌ای به توسعه و گسترش کشت دانه‌های روغنی و یافتن منابع جدید روغن مبذول شود. گیاه شاخ بزی گیاهی است یکساله با نام علمی *Proboscidea jussieui*، دو لپه و از خانواده Martyniaceae می‌باشد (Riffle, et al., 1991) این گیاه بومی شمال مکزیک و جنوب غربی آمریکا می‌باشد و در استان کرمان بخوبی رشد می‌کند. این گیاه دارای میوه‌های کپسولی شکل است که دارای بیش از 100 دانه و دارای روغن می‌باشند (شکل 1).



شکل 1. تصویر گل گیاه شاخ بزی (الف)، بذر با پوست (ب) و بدون پوست (پ)

با توجه به اهمیت این موضوع، به منظور شناسایی منبع جدید روغن گیاهی، میزان روغن و ویژگی‌های بیوشیمیایی و فیزیکی دانه شاخ‌بزی، از جمله عدد یدی، عدد پراکسید و ویسکوزیته مورد بررسی قرار گرفت تا پتانسیل این گیاه برای تامین روغن و معرفی شدن بعنوان یک منبع جدید ارزیابی گردد.

#### مواد و روش‌ها:

در این تحقیق بذرهای گیاه شاخ بزی از نظر میزان روغن، عدد یدی، عدد پراکسید و ویسکوزیته مورد بررسی قرار گرفتند. آزمایشات روی بذرها در دو تکرار انجام پذیرفت. جهت آماده سازی نمونه‌ها ابتدا، بذرها توسط دستگاه آسیاب برقی پودر گردید، سپس این پودرها تا زمان انجام آزمایش در ظروف تیره و در یخچال نگهداری شدند. برای استخراج روغن از دانه‌های مورد بررسی از دو روش استخراج سرد توسط حلال n-hexane به روش خیساندن و روش پرس سرد استفاده شد. در روش پرس سرد دانه‌های سالم مورد استفاده قرار گرفت.

#### آزمون‌های شیمیایی:

عدد یدی روغن شاخ بزی با روش استاندارد ملی (4886, 4888) انجام گرفت. بدین صورت که مقدار 0/25 گرم از نمونه روغن مایع را در یک ارلن مایر درب‌دار تمیز به دقت وزن کرده، 10 میلی لیتر کلروفرم به آن افزوده و روغن را در آن حل می‌کنیم. به وسیله یک پی پت 0/25 میلی لیتر محلول هانوس را به آرامی به بالن افزوده، در بالن را گذاشته، آن را به آرامی هم زده و به مدت نیم ساعت در تاریکی می‌گذاریم و گاهی ارلن را تکان می‌دهیم (زمان خالی شدن پی پت برای نمونه و شاهد باید مشابه باشد). پس از 30 دقیقه، در بالن را برداشته، ابتدا 10 میلی لیتر محلول پتاسیم آیداید به آن افزوده و ارلن را کاملاً تکان داده و سپس با 10 میلی لیتر آب مقطر تازه جوشیده درب و جدار ارلن را می‌شوئیم. محلول را با سدیم تیوسولفات که به صورت قطره قطره اضافه می‌شود و

در حالی که ارلن را به طور یکنواخت تکان می‌دهیم عیارسنجی می‌کنیم تا محلول زرد رنگ تقریباً بی رنگ شود. سپس چند قطره شناساگر نشاسته به آن افزوده و عیارسنجی را ادامه می‌دهیم تا رنگ آبی کاملاً از بین برود. در خاتمه، درب ارلن را گذاشته و آن را به شدت تکان داده تا هر گونه ید باقیمانده به صورت محلول در کلروفورم جذب محلول پتاسیم آیداید شود. روش محاسبه عدد یدی به روش هانوس توسط فرمول زیر محاسبه می‌گردد:

$$\text{عدد یدی} = \frac{12.96 \times n \times (v_1 - v_2)}{m}$$

نرمالیتة سدیم تیوسولفات = N

حجم سدیم تیوسولفات مصرفی برای شاهد بر حسب ml =  $v_1$

حجم سدیم تیوسولفات مصرفی برای نمونه بر حسب ml =  $v_2$

وزن نمونه برداشته شده بر حسب گرم = M

ثابت عددی = 12/96

عدد پراکسید به روش یدومتری و تعیین نقطه پایانی به روش چشمی (سازمان استاندارد ملی، 4179) انجام گرفت. برای انجام آزمایش 5 گرم روغن مایع را در ارلن وزن کرده، 30 میلی لیتر محلول اسید استیک کلروفورم به آن افزوده و هم زده تا روغن در آن حل شد. به این محلول 0/5 میلی لیتر محلول یدید پتاسیم اشباع شده افزوده و پس از یک دقیقه، 30 میلی لیتر آب به آن اضافه گردید. محلول را به آرامی با تیوسولفات سدیم 0/01 نرمال تیترا کرده و پس از آنکه رنگ زرد آن از بین رفت تقریباً 0/5 میلی لیتر شناساگر 1 درصد به آن افزوده و تیتراسیون را ادامه داده تا رنگ آبی محو گردید. طی تیتراسیون محلول به شدت تکان داده شد تا ید از لایه کلروفورم آزاد شود. سپس عدد پراکسید بر حسب میلی اکسی والان در کیلوگرم با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید.

$$1000 \times \text{حجم نمونه} / \text{تیوسولفات نرمالیتة} \times \text{حجم مصرفی تیوسولفات} = \text{عدد پراکسید}$$

### آزمون فیزیکی:

ویسکوزیته روغن گیاه شاخ بزی با استفاده از دستگاه ویسکومتر در دمای 40 درجه سانتی‌گراد با استفاده از لوله موئین N20083 اندازه گیری شد، ضریب لوله مذکور 0/159 می‌باشد.

### نتایج و بحث:

میزان روغن استخراج شده در روش استفاده از حلال n هگزان از بذر شاخ بزی همراه با پوست معادل 34/17 گرم بر 148 گرم بذر (22/93 درصد وزن بذر) بود. در روش استفاده از پرس سرد، میزان روغن استخراج شده از بذر همراه با پوست 18/5 گرم بر 75 گرم (24/7 درصد وزن بذر) بدست آمد. با توجه به نتایج میتوان گفت که دانه گیاه شاخ بزی غنی از روغن بوده و در صورت حذف پوسته بذر درصد روغن بذر بدون پوست بیشتر خواهد شد و تا حدود 40 درصد می‌تواند روغن افزایش یابد.

اندیس یدی، میزان غیراشباع بودن یک ماده چرب را مشخص می‌کند و به نوعی نشانگر ساختار اسیدهای چرب است (پروانه، 1377). عدد یدی روغن این گیاه 103/83 گرم بر 100 گرم چربی بدست آمد. که این مقدار کمی بیش از محدوده استاندارد meqKOH/g 100-80 که توسط AOAC(1990) گزارش شده است، می‌باشد. این نتیجه با گزارشات دیگر محققین سازگار می‌باشد (Atasie *et al.*, 2007; Elleuch *et al.*, 2009).

میزان عدد پراکسید روغن شاخ بزی 2/87 میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم تعیین شد. این مقدار در محدوده استاندارد 10meqKOH/g-2 که توسط AOAC(1990) گزارش شده است، قرار می‌گیرد. این شاخص در روغن‌ها معمولاً در ارتباط با فساد شیمیایی بوده و اندازه‌گیری آن در شروع اکسیداسیون اهمیت دارد و در واقع یک شاخص کیفی می‌باشد. بر طبق یافته‌های گولا و واگرای (2011) روغن‌های تازه معمولاً اندیس پراکسید پایین‌تر از 10 میلی‌اکی‌والان بر گرم دارند.

میانگین ویسکوزیته در دمای 40 درجه سانتیگراد 34/24 میلی‌متر مربع بر ثانیه است. ویسکوزیته با افزایش وزن مولکولی افزایش می‌یابد و با افزایش سطح غیراشباع و دمای بالا کاهش می‌یابد. پائین بودن مقدار ویسکوزیته نشان دهنده سبک بودن روغن است و احتمالاً بسیار غیراشباع هستند (Nangbes *et al.*, 2013) که می‌تواند نشان از کیفیت روغن باشد.

### نتیجه‌گیری:

نتایج این تحقیق نشان داد که دانه گیاه شاخ‌بزی از نظر محتوی روغن غنی بوده و تا حدود 25 درصد روغن دارد و در صورت حذف پوسته بذر این درصد بسیار بیشتر هم خواهد بود و معادل با سایر دانه‌های روغنی خواهد بود. از نظر آنالیزهای مورد مطالعه نیز این روغن قابلیت قرار گرفتن در گروه روغن‌های خوراکی را دارد. بنابراین مطالعات تکمیلی برای پی بردن به ارزش واقعی این روغن، استفاده از آن بعنوان خوراکی و بهداشتی و حتی صنعتی مورد نیاز است.

### تقدیر و تشکر:

این پژوهش در قالب طرح پژوهشی شماره 01/3344/ص/7 با استفاده از اعتبارات پژوهشی - پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان، ایران انجام شده است.

### REFERENCE:

**Bueno-Ferrer, C., Garrigós, M. C and Jiménez, A. 2010.** Characterization and thermal stability of poly (vinyl chloride). *Polymer Degradation and Stability*. Volume 95, Issue 11, Pages 2207-2212.

**Jnawali, P., Kumar, V. and Tanwar, B. 2016.** CELIAC DISEASE: Overview and considerations for development of gluten-free food. *Food Technology and Nutrition*, School of Agriculture, Lovely Professional University, Phagwara, Punjab144411, India. 1-33.

**Riffle, M. S., Waller, G. R and Murray, D. S. 1991.** Composition of essential oil from *Proboscidea louisianica* (Martyniaceae). *Proc. Okla. Acad. Sci* 71, 35-42.

استاندارد ملی ایران: اندازه‌گیری عدد یدی در روغن‌ها و چربی‌های خوراکی (4888). 1396. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.



AOAC, 1990. Official Method of Analysis, 17th ed., Association of Official Analytical Chemists, USA.

## Physical and chemical characteristics of the seed oil of hornwort plant (*Proboscidea jussieui*)

Saeid Mirzaei<sup>1</sup>, motahare Mahdavi tikdari<sup>2</sup>

- 1- Department of Biotechnology, Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, kerman. Iran. Email: [s.mirzaei@kgut.ac.ir](mailto:s.mirzaei@kgut.ac.ir)
- 2- Former Master of Arts Student of Horticulture, Agricultural Faculty, Tabriz University, Tabriz, Iran.

### Abstract

In recent years, with the growth of public knowledge, people's demand for consuming oils that are useful for health in addition to providing energy and creating flavor has increased. For this reason, the need for new food sources, especially proteins and vegetable fats, is felt more. In this research, physicochemical tests included evaluation of the oil's appearance, acid number, peroxide number and viscosity. In this study, the percentage of ram's horn plant seed oil was used by cold pressing method and n-hexane solvent. The iodine value was determined by the national standard method (4888, 4886), the peroxide value was determined by the iodometric method and the end point was determined by the visual method (National Standard Organization, 4179) and the viscosity of the oil of the ram's horn

plant was determined using a viscometer. These tests showed that the extracted oil is liquid at room temperature, transparent yellow, and the percentage of oil with skin is 24.7%. Its iodine number, peroxide number and are 103.83 (gr/100gr oil), 2.87 (meq/kg) respectively. its viscosity index determined to be 34.24 (mm<sup>2</sup>/s).

**Keywords:** oil, ram's hornplant, iodine value, viscosity.

## اثرات تنش خشکی و قارچ میکوریز آربوسکولار بر برخی صفات مورفولوژیک گونه‌های آویشن (*Thymus spp.*)

فریبا آذربار بارده، سعداله هوشمند، محمد ربیعی، رودابه راوش

گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد

آدرس پست الکترونیک نویسنده مسئول (s\_hoshmand@yahoo.com)

### چکیده

آویشن یک گیاه دارویی و ادویه‌ای مهم است و در طی قرون مختلف در تغذیه به عنوان یک ادویه و درمان برای کنترل عفونت‌ها و التهاب‌ها مورد استفاده قرار گرفته است و کاربرد آن می‌تواند در بهبود سلامت و کیفیت زندگی انسان مؤثر باشد. در این مطالعه، طی یک آزمایش فاکتوریل با سه تکرار تأثیر تنش خشکی با دو سطح (90 و 50 درصد ظرفیت زراعی)، و اعمال قارچ میکوریز در دو سطح (کاربرد یا عدم کاربرد قارچ) بر برخی صفات مورفولوژیک نه اکوتیپ از سه گونه آویشن شامل *Thymus vulgaris*، *T. serpyllum* و *T. pulegiodes* در شرایط گلخانه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج تجزیه واریانس نشان داد بجز اثر ماکوریز بر طول برگ و وزن تر بوته، عوامل اصلی شامل اکوتیپ، تنش خشکی و اعمال قارچ میکوریز و اثرات متقابل دو طرفه و سه طرفه این عوامل بر صفات مورد بررسی اثر معنی دار دارد. هرچند میزان شدت تغییرات اکوتیپ‌ها تحت تأثیر تنش خشکی و اعمال قارچ متفاوت بود، اما در کل تنش خشکی باعث کاهش در اغلب صفات از جمله ارتفاع بوته، طول برگ، مساحت برگ و وزن تر بوته گردید. از طرف دیگر بکارگیری قارچ میکوریز افزایش مقادیر صفات را در اغلب اکوتیپ‌ها با شدت‌های متفاوت به دنبال داشت، بکارگیری قارچ میکوریز می‌تواند این کاهش را تعدیل و در برخی موارد بطور کامل جبران نماید. لذا برای بهبود صفات گونه‌های آویشن استفاده از این قارچ در شرایط تنش و بدون تنش خشکی توصیه می‌شود.

واژگان کلیدی: تنش خشکی، قارچ میکوریز، *Thymus ssp*

### مقدمه

یکی از مهم‌ترین و پیچیده‌ترین جنس‌های خانواده *Lamiaceae*، جنس *Thymus* است که از 250 تا 350 گونه تشکیل شده است و در اروپا، آسیا، شمال آفریقا و جزایر قناری پراکنده شده است این گیاهان از قدیم‌الایام به دلیل خواص ارزشمند دارویی خود که با ترکیبات شیمیایی آنها به ویژه اسانس آن مرتبط است مورد استفاده قرار می‌گرفته است. در میان این گونه‌ها، *T. vulgaris* که سابقه طولانی استفاده برای مصارف مختلف غذایی و دارویی دارد از جمله فعالیت‌های ضد روماتیسمی، ضد عفونی کننده، ضد اسپاسم، ضد میکروبی، ضد التهابی، ضد نفخ، ادرارآور و خلط آور دارد.

تنش خشکی یکی از محدودیت‌های عمده‌ای است که تولید محصول را در سراسر جهان محدود می‌کند. مدل‌های رشد محصول پیش بینی می‌کنند که این موضوع در آینده شدیدتر نیز خواهد بود. خشکی رشد طبیعی و روابط آبی را مختل می‌کند و کارایی مصرف آب را در گیاهان کاهش می‌دهد. با این حال، گیاهان در واکنش به تنش خشکی دارای انواع پاسخ‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در سطوح سلولی و کل ارگانیسم هستند که آن را به یک پدیده پیچیده تر تبدیل می‌کند. سرعت فتوسنتز عمدتاً با بسته شدن روزنه، آسیب غشاء و اختلال در فعالیت آنزیم‌هایی که در سنتز ATP دخیل هستند، کاهش می‌یابد. گیاهان طیف وسیعی از مکانیسم‌ها را برای مقاومت در برابر تنش خشکی نشان می‌دهند، مانند کاهش اتلاف آب با افزایش مقاومت انتشاری، افزایش جذب آب با سیستم‌های ریشه کارآمد و عمیق، و برگ‌های کوچکتر برای کاهش تلفات تعرق، تولید اسمولیت‌های با وزن مولکولی کم، از جمله گلیسین بتائین، پرولین. سایر اسیدهای آمینه‌ها و اسیدهای آلی نیز نقش حیاتی در حفظ عملکرد سلولی در شرایط خشکی دارند (یوسف زاده و همکاران، 2022).

میکوریز آربوسکولار یک ارتباط بیولوژیکی دوجانبه سودمند بین گونه‌های شاخه قارچی گلومرومیکوتا و ریشه‌های گیاهان عالی است. تصور می‌شود که این همزیستی به گیاهان سبز فرصت حمله به زمین‌های خشک را در حدود 450 میلیون سال قبل داده است و اکثریت قریب به اتفاق گیاهان زمینی موجود این ارتباط را حفظ کرده‌اند. قارچ‌های میکوریز آربوسکولار (AM) عملکردهای اکولوژیکی مختلفی را در ازای کربن فتوسنتزی میزبان انجام می‌دهند که تقریباً همیشه به تناسب میزبان از سطح فردی تا جامعه کمک می‌کند و در شرایط تنش خشکی به تحمل به خشکی گیاهان مختلف از جمله گیاهان دارویی همچون آویشن شیرازی کمک می‌کند (آقاباباپور و همکاران 1402).

از آنجایی که آویشن دارای خواص دارویی و غذایی است، جزء گیاهانی می‌باشد که اهمیت فراوانی دارد، کشت علمی آن می‌تواند نقش مهمی در صنعت داروسازی، ایجاد اشتغال، صادرات غیر نفتی، جلوگیری از برداشت بی‌رویه رویشگاه‌های طبیعی و جلوگیری از فرسایش ژنتیکی داشته باشد. در این تحقیق اثر قارچ میکوریز و تنش خشکی را بر روی برخی صفات مورفولوژیک نه ژنوتیپ از سه گونه مختلف گیاه آویشن بررسی گردید.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی مورد استفاده در این پژوهش نه اکوتیپ از سه گونه مختلف گیاه آویشن شامل چهار ژنوتیپ با کدهای Thy1, Thy9, Thy12, Thy17 از گونه *Thymus vulgaris* L، سه ژنوتیپ با کدهای Thy13, Thy24, Thy23 از گونه *Thymus pulegiodes* L. و دو ژنوتیپ با کدهای CHAM و SERP از گونه *Thymus serpyllum* L. می‌باشد، بذور ژنوتیپ‌های آویشن از کشور آلمان دریافت شد.

کشت بذرها در سینی نشاء در شرایط گلخانه در بستری با ترکیب پیت ماس و کوکوپیت به نسبت چهار به یک انجام شد. پس از شش هفته نشاءها به گلدان به ابعاد 15×12 سانتی متر منتقل شدند و آبیاری با توجه به نیاز گیاه هر 2-3 روز یک بار انجام شد.

آزمایش به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه دانشگاه شهرکرد انجام شد. عوامل مورد بررسی شامل تنش خشکی (دو سطح 90 و 50 درصد ظرفیت زراعی)، قارچ میکوریز (دو سطح استفاده و عدم استفاده) و ژنوتیپ‌های آویشن (9 ژنوتیپ) بود.

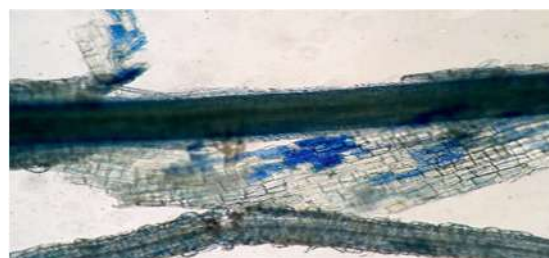
برای اعمال تیمار قارچ میکوریز در هر گلدان سه حفره ایجاد کرده و در هر حفره 20 گرم خاک حاوی قارچ میکوریز اضافه شد. برای تعیین درصد کلونیزه شدن ریشه گیاه آویشن با میکوریز، قسمتی از ریشه تازه گیاهان (حدود 0/2 گرم) به صورت تصادفی انتخاب می‌شود و برای تعیین درصد کلونیزه شدن قارچ میکوریز با ریشه‌ها از روش جوانتی و موسه (1980) استفاده شد.

یک و نیم ماه بعد از مصرف قارچ میکوریز به مدت چهار هفته تنش خشکی و به روش وزنی اعمال شد. در این راستا ظرفیت مزرعه ایی خاک مورد استفاده تعیین و بر اساس رسیدن رطوبت خاک به سطوح 90 و 50 درصد ظرفیت زراعی (به ترتیب شاهد و تنش خشکی) آبیاری انجام شد. بعد از اتمام دوره یک ماهه تنش، صفات مورد مطالعه مورد بررسی قرار گرفت.

صفات مورد بررسی در این پژوهش شامل صفات مورفولوژیکی شامل ارتفاع بوته، طول برگ، عرض برگ، تعداد برگ و وزن تر بوته بود. پس از جمع‌آوری داده‌ها، تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SAS و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی دار (LSD) در سطح احتمال یک درصد انجام شد.

## نتایج

نتایج عکس‌برداری‌های میکروسکوپی نشان داد (شکل 1) قارچ میکوریز به خوبی با تمامی ژنوتیپ‌های آویشن مورد ارزیابی رابطه هم‌زیستی را برقرار کرده و در ریشه این گیاهان مستقر شده است.



شکل 1- نمونه ای از عکس میکروسکوپی برقراری رابطه هم‌زیستی قارچ میکوریز با ریشه اکوتیپ‌های آویشن (*Thymus spp.*)

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های آزمایش نشان داد بجز اثر ماکوریز برای طول برگ و وزن تر بوته، عوامل اصلی شامل اکوتیپ، تنش خشکی و اعمال قارچ میکوریز و اثرات متقابل دو طرفه و سه طرفه این عوامل بر صفات مورد بررسی اثر معنی داری دارد (داده‌های آورده نشده است). معنی دار شدن اثر اکوتیپ بیانگر تنوع ژنتیکی اکوتیپ‌های مورد بررسی برای این صفات می‌باشد.

باشد. همچنین معنی دار شدن اثر تنش خشکی و کاربرد میکوریز بیانگر بروز متفاوت صفات در سطوح هر عامل بوده و از طرف دیگر معنی دار شدن اثرات متقابل عوامل بیانگر واکنش متفاوت صفات در مواجهه با سطوح هر یک از عوامل در سطوح عامل دیگر می باشد.

با توجه به معنی دار شدن اثر متقابل سه گانه اکوتیپ، تنش و کاربرد قارچ، میانگین صفات برای ترکیب سطوح این سه عامل در جدول 1 آورده شده است. میانگین ارتفاع بوته اکوتیپ ها در شرایط بدون تنش خشکی و عدم کاربرد قارچ میکوریز، بین 12/3 سانتیمتر (اکوتیپ TH23 از گونه *T. pulegiodes*) تا 34/9 سانتی متر (اکوتیپ TH17 از گونه *T. vulgaris*) متغیر بود. تنش خشکی باعث کاهش ارتفاع بوته در همه اکوتیپ ها شد. به نحوی که دامنه تغییرات در شرایط تنش و بدون اعمال قارچ به ، بین 9/4 سانتیمتر (اکوتیپ SERP از گونه *T. serpyllum*) تا 27/0 سانتی متر (اکوتیپ THY1 از گونه *T. vulgaris*) رسید. در کل تنش

جدول 1- میانگین برخی صفات مورفولوژیک ژنوتیپ‌هایی از سه گونه آویشن در سطوح تنش خشکی و قارچ میکوریز

سطح تنش	گونه	ارتفاع بوته (سانتی متر)		طول برگ (میلی‌متر × ۱۰)		عرض برگ (میلی‌متر × ۱۰)		مساحت برگ (میلی‌متر مربع)		وزن تر بوته (گرم)
		بدون میکوریز	میکوریز	بدون میکوریز	میکوریز	بدون میکوریز	میکوریز	بدون میکوریز	میکوریز	
بدون تنش	THY1	29/8f	30/0f	48/3f	51/3e	31/7gh	34/6de	1318p	11/3q	1/75gh
	THY9	30/8ef	37/4c	40/7jz	41/0hij	25/9kl	27/9jz	1318p	14/1p	1/89nop
	TH12	23/3k	28/4gh	59/7b	51/7e	37/9c	42/0ab	3118ef	33/1abc	2/56c
	TH17	24/9d	29/2b	34/1j	34/1j	34/8de	31/9gh	3219bcd	25/4j	2/17ef
	TH13	25/1j	45/0a	51/8e	56/0c	42/9a	41/9ab	30/1g	34/0a	1/27ij
	TH23	12/3q	15/3p	34/9i	41/9hi	31/8gh	30/8h	31/2f	32/8bcde	1/97mno
	TH24	18/4no	35/5d	56/0c	52/9de	41/8ab	31/8gh	14/4p	14/2p	2/24d
	CHAM	17/5o	31/5e	21/2no	19/7o	12/7p	18/0o	19/4n	32/7cde	1/60s
	SERP	12/7q	23/9jk	39/7j	41/3hij	27/2ijk	26/7jk	18/0o	28/6h	1/95f
	THY1	27/0i	27/8hi	49/3f	46/25	31/88	31/77	22/87	25/10	1/59
	THY9	21/5l	34/4d	25/3kl	40/4fz	37/8c	37/8c	11/9q	14/2p	1/70h
	TH12	20/2lm	25/0j	54/6cd	31/8m	35/8d	27/9i	26/9i	27/6i	1/14jkl
TH17	23/4k	28/2bc	51/8e	52/9de	25/9kl	23/9ef	31/9ef	33/5ab	1/18jk	
TH13	18/7no	29/6fg	51/8e	61/8a	40/7b	37/0gh	22/1m	32/7def	1/85g	
TH23	10/8r	12/6q	40/9hij	45/8g	22/8n	41/9ab	19/8n	23/1	1/82opq	
TH24	14/3p	24/6jk	51/8e	44/9g	32/0gh	32/0gh	14/4p	24/1kl	2/17de	
CHAM	12/3q	27/5hi	23/0n	20/7o	14/0o	14/0o	27/0i	30/2g	1/91nop	
SERP	9/4r	16/0mn	42/7h	37/0k	21/7n	24/2m	25/6j	25/1jk	1/68rs	
میانگین در شرایط تنش خشکی		17/50	26/52	45/47	41/75	28/21	30/67	21/28	25/41	1/55

برای هر صفت میانگین‌های دارای حرف مشترک در آزمون LSD و در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌داری ندارند

خشکی باعث کاهش میانگین ارتفاع بوته اکوتیپ ها از 22/76 به 17/50 سانتی متر گردید. بکارگیری قارچ میکوریز در هر دو شرایط بدون تنش و تنش خشکی، افزایش ارتفاع بوته را به دنبال داشت. هرچند این افزایش به نوع اکوتیپ و شرایط تنش بستگی داشت، به نحوی که به عنوان مثال در اکوتیپ TH13 از گونه *T. pulegiodes* در شرایط بدون تنش با افزایش حدود 20 سانتی متری در پی اعمال قارچ مواجه شد، بطور کلی استفاده از قارچ میکوریز در شرایط بدون تنش میانگین ارتفاع بوته اکوتیپ ها از 22/76 به 31/81 سانتی متر و در شرایط تنش خشکی این کاربرد ارتفاع بوته را از 17/50 به 26/52 افزایش داده است. اکوتیپ ها از نظر ویژگی های طول، عرض و مساحت برگ واکنش متفاوتی به تنش خشکی و کاربرد قارچ نشان دادند. بطوری که به عنوان مثال طول برگ اکوتیپ TH13 با اعمال تنش خشکی در هر دو شرایط با و بدون قارچ افزایش نشان داده است در حالی

که این صفت در شرایط مشابه برای اکوتیپ THY9 از گونه *T. vulgaris* با کاهش مواجه بوده است. بر مبنای میانگین کل اکوتیپ ها تنش خشکی بجز طول برگ، کاهش عرض برگ و سطح برگ را به دنبال داشته است و از طرف دیگر کاربرد قارچ مایکوریز بجز طول و عرض برگ به ترتیب در شرایط تنش بدون تنش افزایش طول، عرض و مساحت برگ را ایجاد نموده است. میانگین وزن تر بوته اکوتیپ ها در شرایط بدون تنش خشکی و عدم کاربرد قارچ مایکوریز، بین 0/6 گرم در بوته (اکوتیپ CHAM از گونه *T. serpyllum*) تا 2/34 گرم (TH24 از گونه *T. pulegiodes*) متغیر بود. تنش خشکی باعث کاهش کاهش این ویژگی گردید و در مجموع میانگین وزن تر بوته اکوتیپ ها را از 1/59 به 1/47 گرم کاهش داد. اعمال قارچ مایکوریز در هر دو محیط بدون تنش و تنش خشکی، بجز موارد معدود، وزن تر اکوتیپ ها را افزایش داد و باعث افزایش میانگین از 1/59 به 1/68 گرم در محیط بدون تنش و از 1/47 به 1/55 گرم در محیط تنش شد.

### بحث و نتیجه گیری

در این پژوهش تاثیر همزمان تنش خشکی و کاربرد قارچ مایکوریز بر برخی صفات مورفولوژیک اکوتیپ هایی از سه گونه آویشن *Thymus spp.* مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بیانگر تفاوت معنی دار اکوتیپ ها از نظر صفات مورد بررسی در هر یک از سطوح تنش خشکی و اعمال قارچ مایکوریز بود. عباسی و همکاران (1397) نیز تنوع ژنتیکی برای صفات مورفولوژیک را در گونه های دیگر آویشن *Thymus spp.* گزارش نموده اند. هرچند میزان شدت تغییرات اکوتیپ ها تحت تاثیر تنش خشکی و اعمال قارچ متفاوت بود، اما در کل تنش خشکی باعث کاهش در اغلب صفات مورد بررسی گردید و از طرف دیگر بکارگیری قارچ مایکوریز افزایش مقادیر صفات را در اغلب اکوتیپ ها به دنبال داشت. تاثیر کاهنده تنش خشکی در گونه های آویشن (یوسف زاده و همکاران، 2022) و در آویشن شیرازی (آقاباباپور و همکاران (1402) گزارش شده است. همچنین آقاباباپور و همکاران (1402) بر تاثیر افزایش بکارگیری قارچ مایکوریز بر صفات مورفوفیزیولوژیک در گیاه آویشن شیرازی تاکید دارند. نتیجه گیری کلی آنکه، اکوتیپ های مورد مطالعه ضمن تنوع بالا برای صفات مورد بررسی، در قبال تنش خشکی و اعمال قارچ مایکوریز واکنش متفاوتی از خود بروز دادند. هرچند تنش خشکی کاهش صفات را در گونه های آویشن به دنبال دارد، بکارگیری قارچ مایکوریز می تواند این کاهش را تعدیل و در برخی موارد بطور کامل جبران نماید. لذا برای بهبود صفات گونه های آویشن استفاده از این قارچ در شرایط تنش و بدون تنش خشکی توصیه می شود.

### منابع

- آقاباباپور، ا.، س. هوشمند، ش. محمدی، ر. راوش. 1402. تاثیر همزیستی قارچ میکوریزا بر برخی صفات مورفو-فیزیولوژیکی اکوتیپ های آویشن شیرازی تحت شرایط تنش خشکی. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. تحت انتشار
- عباسی، ش.، س. هوشمند، ن. میرآخوری، ر. راوش. 1397. ارزیابی ویژگی های مورفولوژیک، ساختار کرک و ارتباط آنها با میزان اسانس در چهار گونه آویشن (*Thymus sp*) تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. 34، 5: 859-869

Yousefzade, K., S. Houshmand, B. Shiran, S. Mousavi-Fard, H. Zeinali, N. Nikoloudakis, M. M.Gheisari, D. Fanourakis. 2022. Joint Effects of Developmental Stage and Water Deficit on Essential Oil Traits (Content, Yield, Composition) and Related Gene Expression: A Case Study in Two *Thymus* Species. *Agronomy*.12: 1-19.

## اثر کاربرد گاما آمینوبوتریک اسید در پاسخ گیاه توت فرنگی به تنش گرمایی

الهه اکبری<sup>1</sup>

\* نویسنده مسئول: دانشجوی دکتری، رشته مهندسی کشاورزی، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

[e.akbari@ag.iut.ac.ir](mailto:e.akbari@ag.iut.ac.ir)

مهدیه غلامی<sup>2</sup>

2- دانشیار، دکتری فیزیولوژی درختان میوه، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

[mah.gholami@iut.ac.ir](mailto:mah.gholami@iut.ac.ir)

بهرام بانی نسب<sup>2</sup>

2- استاد، دکتری فیزیولوژی درختان میوه، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

[bbanin@iut.ac.ir](mailto:bbanin@iut.ac.ir)

### چکیده

تنش گرمایی اثرات منفی زیادی را بر رشد و نمو گیاه القا می‌کند و این آسیب ممکن است همراه با پیش بینی گرم شدن جهانی هوا در آینده برجسته شود. هدف از این تحقیق بررسی متابولیسم و نقش کاربرد خارجی گاما آمینوبوتریک اسید در القای تحمل به تنش در گیاهان، در رقم کاماروسا گیاه توت فرنگی بود. بدین منظور نهال‌های توت فرنگی در مرحله 4 تا 5 برگ کاملاً گسترش یافته، تیمار گاما آمینوبوتریک اسید باغلظت‌های 0/5، 1 و 5 میلی مولار را به صورت محلول پاشی 2 مرتبه و با فاصله زمانی 48 ساعت دریافت کردند و شروع تنش حرارتی 24 ساعت پس از آخرین محلول پاشی اعمال شد. در تیمار شاهد محلول پاشی با آب مقطر انجام شد. پس از اعمال تیمارها، گیاهان به اتاقک رشد با دمای 25 و 40 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 70% و 1200 لوکس نوری منتقل شدند. گیاهان پس از 10 ساعت اعمال تنش دمایی مورد نظر از اتاقک رشد خارج و برخی صفات فیزیولوژیک اندازه گیری شد. نتایج حاصل از آزمایش نشان داد، کاربرد خارجی 5 میلی مولار گابا، به طور معنی داری باعث افزایش محتوای کربوهیدرات محلول، میزان گابای درونی و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز و همچنین کاهش پر اکسید هیدروژن، پرولین و درصد نشت یونی نسبت به تیمار شاهد در دمای 40 درجه سلسیوس شد.

**واژگان کلیدی:** آنزیم‌های آنتی اکسیدانی، شوک حرارتی، گاما آمینوبوتریک اسید، گیاه توت فرنگی

### مقدمه

گاما- آمینوبوتریک اسید<sup>59</sup> (گابا) القا کننده درونی مکانیسم دفاعی گیاه است که نقش مهمی در پاسخ گیاه به تنش‌های محیطی ایفا می‌کند. گابا می‌تواند به طور ویژه باعث حفاظت از گیاه در برابر تنش دمایی بالا شود. گابا می‌تواند باعث کاهش آسیب‌های ناشی از تنش دمایی در گیاهان از طریق جلوگیری از پیری برگ، بهبود فتوسنتز و تحریک فعالیت آنزیم آنتی اکسیدانی شود. علاوه بر این مسیر تولید گابا که وابسته به چرخه TCA است، نقش حیاتی را در تحمل گرما توسط تحریک گابا ایفا می‌کند (4). گابا در فشار تورگر برگ، تثبیت کربن و مسیرهای آسمیلاسیون درگیر است. گابا مکانیسم‌های بیولوژیک متعددی مانند، ایجاد حالت بافر در متابولیسم کربن و نیتروژن، ذخیره نیتروژن و تنظیم pH سیتوزول را راه اندازی می‌کند. تعداد زیادی از تحقیقات در گیاهان تجمع

<sup>59</sup>. Gamma amino butyric acid (GABA)

سریع گابا در پاسخ به انواع تنش‌های محیطی شامل دمای بالا، افزایش فشار اسمزی، دمای پایین، شوری بالا و سمیت فلزات سنگین را نشان داده‌اند. مطالعات نشان داد کاربرد گابا باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپر اکسید دسموتاز، گلوکاتایون ردوکتاز و آسکوربات پراکسیداز در گیاه برنج تحت شرایط تنش گرمایی (35 درجه سلسیوس در روز و 30 درجه سلسیوس در شب) در کوتاه مدت (10 روز) شد، که نشان دهنده اثر حفاظتی و غیرمستقیم گابا در برابر آسیب‌های اکسیداتیو است (3).

با اینکه توت‌فرنگی (*Fragaria × ananassa* Duch.) در طیف گسترده‌ای از شرایط آب و هوایی کشت می‌شود، اما دما یک عامل مهم محدود کننده برای رشد آن است. دمای پایه برای رشد توت‌فرنگی، دماهای بالاتر از دمای انجماد است و با افزایش دما به 20 تا 26 درجه سلسیوس (دمای بهینه) سرعت رشد آن افزایش می‌یابد (1). افزایش دما یک فاکتور محدود کننده برای پرورش توت‌فرنگی و تعداد زیادی از گونه‌های گیاهی در نتیجه افزایش گرم شدن جهانی هوا در آینده است. تنش دمای بالا یک تنش محیطی مهم است که رشد، متابولیسم و عملکرد گیاهان را در سرتاسر جهان تهدید می‌کند (3).

هدف از این پژوهش بررسی مسیرهای متابولیکی مرتبط با گابا در رقم توت‌فرنگی حساس (کاماروسا) به تنش حرارتی و اثرات احتمالی سنتز گابای درون سلولی در کاهش آسیب‌های دمای بالا در ارقام توت‌فرنگی بود.

### مواد و روش‌ها

پراکسیداسیون چربی برگ بر اساس تولید پراکسید هیدروژن اندازه‌گیری شد. محتوای کربوهیدرات محلول توسط روش یم و ویلیس (1954) انجام شد (9). محتوای نسبی آب برگ توسط روش بارس و ودولی (1962) انجام شد (10). میزان مالون دی‌آلدئید برگ برگ توسط روش هس و پاکر انجام شد (11). غلظت گابا در برگ توسط روش کوماتسوزاکی و همکاران همراه با کمی تغییرات انجام شد (12). 1 گرم از برگ همراه با 5 میلی لیتر اتانول 80% همگن و پس از سانترفیوژ مراحل عصاره‌گیری انجام شد. عصاره بدست آمده توسط دستگاه کنستراتور خشک‌شد و پس از مشتق‌سازی توسط دستگاه HPLC میزان گابا محاسبه شد. فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز توسط روش ناکانو و آسادا (9)، فعالیت آنزیم کاتالاز توسط روش چانس و مهلی (10)، فعالیت آنزیم سوپر اکسید دسموتاز توسط روش بانوچامپ و فریدوویچ (11) اندازه‌گیری شد. این تحقیق به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح تجزیه مرکب کاملاً تصادفی (دما) با 4 تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل تیمار گاما آمینوبوتریک اسید (0.0، 0.5، 1 و 5 میلی مولار) و شرایط دمایی (25 و 40 درجه سلسیوس) بود.

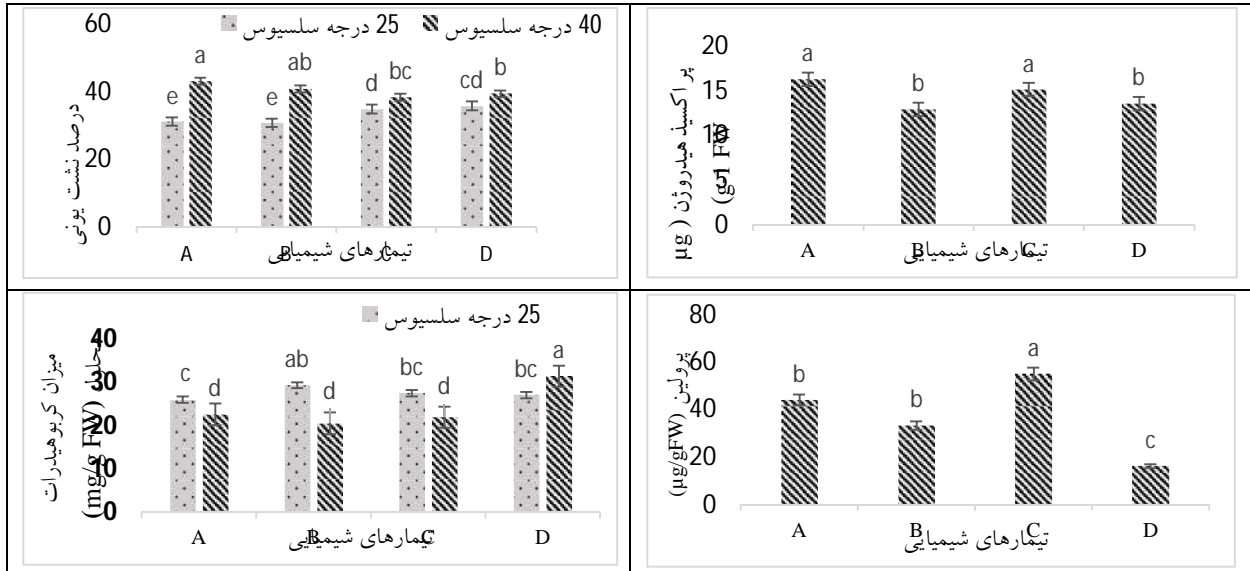
### نتایج و بحث

اعمال تنش حرارتی در گیاه توت‌فرنگی باعث افزایش درصد نشت یونی در تمامی تیمارها شد. اگرچه در تیمار گابا با غلظت‌های 1 و 5 میلی مولار درصد نشت یونی در دمای 40 درجه سلسیوس نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری را نشان داد (شکل 1). در دمای بالا، سیالیت بسیار زیاد چربی‌های غشاء سلول سبب کاهش وظایف فیزیولوژیک آن می‌شود. دمای بالا همچنین سبب تغییر در ترکیب غشاء و ساختار آن می‌شود و می‌تواند باعث نشت یون‌ها شود (2). کاربرد خارجی 25 میکرو مولار گابا در کاهو باعث کاهش روند افزایشی نشت یونی و افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و سوپر اکسید دسموتاز در گیاهان تحت شرایط تنش شوری شد (12) که مطابق با نتایج حاصل از این پژوهش در تیمارهای گابا در غلظت 1 و 5 میلی مولار است.

نتایج حاصل از پژوهش نشان داد کاربرد 0/5 و 5 میلی مولار گابا باعث کاهش معنی‌دار شاخص پراکسید هیدروژن در گیاهان توت‌فرنگی رقم کاماروسا تحت تنش دمایی 40 درجه سلسیوس نسبت به شاهد شد (شکل 1). کاربرد خارجی گابا باعث افزایش فعالیت



آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و محتوای آنتی‌اکسیدان، کاهش تجمع پراکسید هیدروژن و مالون دی‌آلدهید و حفاظت از پایداری ساختار غشای سلول و در نتیجه باعث کاهش ایجاد آسیب ناشی از تنش شوری و افزایش تحمل به تنش در گیاهان می‌شود (13).



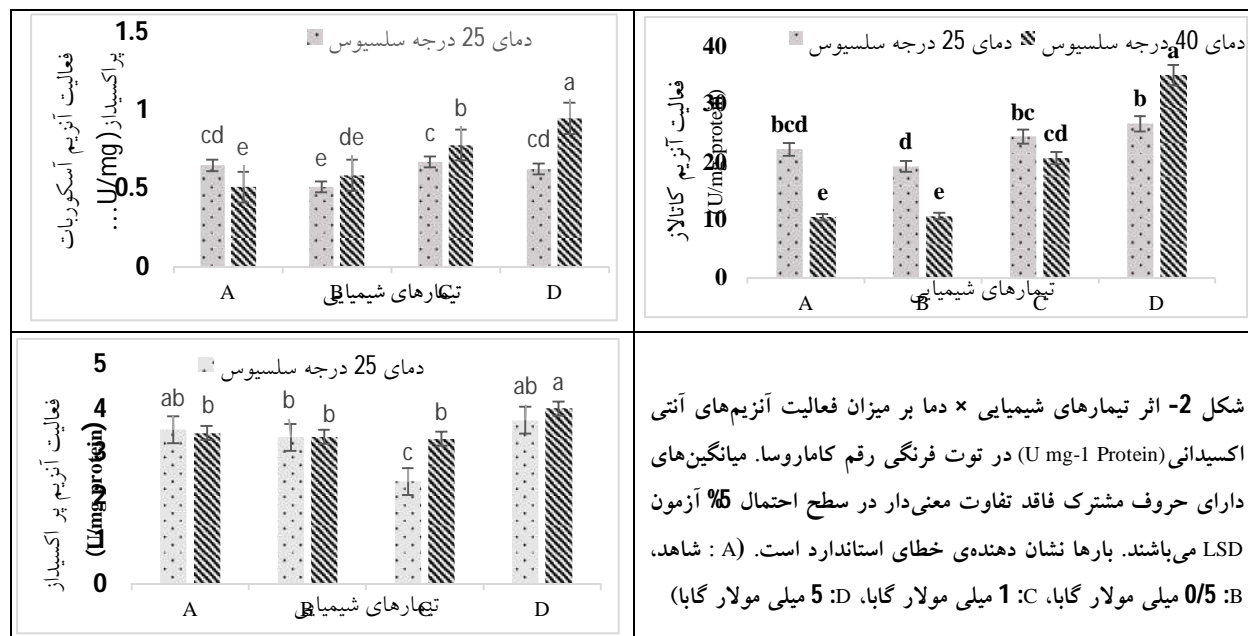
شکل 1- اثر تیمارهای شیمیایی بر برخی صفات فیزیولوژیک گیاه توت فرنگی رقم کاماروسا. میانگین‌های دارای حروف مشترک فاقد تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال 5% آزمون LSD می‌باشند. بارها نشان دهنده‌ی خطای استاندارد است. (A: شاهد، B: 0/5 میلی مولار گابا، C: 1 میلی مولار گابا، D: 5 میلی مولار گابا)

تنش حرارتی باعث کاهش میزان کربوهیدرات محلول در گیاهان شاهد شد. اگر چه محتوای کربوهیدرات محلول در تیمارهای 5 میلی مولار گابا نسبت به شاهد در دمای 25 و 40 درجه سلسیوس به طور معنی‌داری بیشتر بود (شکل 1). گابا ممکن است به عنوان یک منبع حد واسط در چرخه TCA، به منظور حفظ هموستازی متابولیک باشد (12). مطالعات نشان داد کاربرد خارجی گابا می‌تواند باعث افزایش قندها و قندهای الکلی در گیاه آگروستیس تحت شرایط تنش دمایی گردد (14). بیش‌ترین میزان پرولین در تیمار دمایی 40 درجه سلسیوس و در تیمار 1 میلی مولار گابا مشاهده شد (شکل 4). گلوتامین به عنوان یک پیش‌ماده مهم بیوسنتز گابا، به صورت متناوب تعادل کربن به نیتروژن در گیاهان را تنظیم می‌کند. درگیری گلوتامین در بیوسنتز کلروفیل و پرولین در طول نمو و تکامل برگ گزارش شده است. در این پژوهش کاربرد خارجی 1 میلی مولار گابا می‌تواند از طریق تامین گابای درونی در گیاه باعث وارد شدن سهم بیش‌تری از پیش‌ماده گلوتامین در مسیر سنتز پرولین شود (3). بیش‌ترین غلظت گابا در تیمارهای کاربرد خارجی گابا در هر سه غلظت و دمای 40 درجه سلسیوس و نیز تیمار 0/5 میلی مولار گابا در دمای 25 درجه سلسیوس مشاهده شد (جدول 1). مطالعات نشان داد، علاوه بر نقش موثر گابا درونی، کاربرد خارجی این ترکیب نیز سبب افزایش تحمل گیاهان به تنش‌های محیطی می‌شود (3). در گیاهان نقش القای گابا در تحمل به تنش دمایی می‌تواند وابسته به توانایی گابا به منظور کاهش آسیب‌های اکسیداسیون مختلف، افزایش فعالیت فتوسنتزی و حفظ وضعیت اسمزی و نیز افزایش مسیر تولید گابا باشد.

جدول 1: تاثیر کاربرد گابا و تیمار دمایی بر میزان گاما آمینو بوتیریک اسید (ppm) درونی در گیاه توت فرنگی رقم کاماروسا

میزان گابا	دما	غلظت	تیمار	
0/492	25	0	شاهد	
				40
	0/5	25		10
	2/02	40		2/81
2/29	25	5	گابا	
				40
2/5	40			

بررسی فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز نشان داد در گیاه توت فرنگی رقم کاماروسا بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم‌ها d آنتی اکسیدانی در تیمار 5 میلی مولار گابا و در دمای 40 درجه سلسیوس مشاهده شد (شکل 2). گابا باعث کاهش آسیب‌های ناشی از تنش دمایی در گیاهان از طریق جلوگیری از پیری برگ، بهبود فتوسنتز و تحریک فعالیت آنزیم آنتی اکسیدانی می‌شود که منطبق با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در تیمار 5 میلی مولار گابا و در دمای 40 درجه سلسیوس است. کاربرد خارجی گابا باعث بهبود فعالیت آنزیم کاتالاز، سوپراکسید دسموتاز و گلوتاتیون ردوکتاز در برگ برنج پس از مدت زمان کوتاه قرار گرفتن در معرض تنش حرارتی شد که نشان دهنده نقش حمایت کننده گابا در برابر گونه‌های فعال اکسیژن است (15).



### نتیجه گیری

در مجموع، کاربرد 5 میلی مولار گابا توانست از طریق افزایش محتوای کربوهیدرات محلول، گابای درونی و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان و همچنین کاهش پراکسید هیدروژن، و درصد نشت یونی باعث القای تحمل به شرایط تنش در گیاه توت فرنگی شود.

## برخی از منابع:

- (1) Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Alam, M. M., Roychowdhury, R. and Fujita, M., 2013. Physiological, biochemical, and molecular mechanisms of heat stress tolerance in plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 14, pp.9643-9684.
- (3) Seifikalhor, M., Aliniaefard, S., Hassani, B., Niknam, V. and Lastochkina, O., 2019. Diverse role of  $\gamma$ -aminobutyric acid in dynamic plant cell responses. *Plant Cell Reports*, 38, pp.847-867.
- (4) Podlesakova, K., Ugena, L., Spichal, L., Dolezal, K. and De. Diego, N., 2018. Phytohormones and polyamines regulate plant stress responses by altering GABA pathway. *New Biotechnology*, 48, pp.53-65.
- (10) Chance, B., and Maehly, S.K., 1955. Assay of catalase and peroxidase. *Methods Enzymol*, 2, pp.764-775.
- (11) Beauchamp, C., and Fridovich, J., 1971. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry*, 44, pp. 276-287.
- (12) Seifikalhor, M., Aliniaefard, S., Seif, M., Javadi Asayesh, E., Bernard, F., Hassani, B. and Li, T., 2018. Enhanced salt tolerance and photosynthetic performance: Implication of  $\gamma$ -amino butyric acid application in salt-exposed lettuce (*Lactuca sativa* L.) plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 130, pp.157-172.
- (14) Hijaz, F., Nehela, Y. and Killiny, N., 2018. Application of gamma-aminobutyric acid increased the level of phytohormones in *Citrus sinensis*. *Planta*, 248, pp.909-918.
- (15) Sita, K. and Kumar, V., 2020. Role of gamma amino butyric acid (GABA) against abiotic stress tolerance in legumes: a review. *Plant Physiology Reports*, 25, pp.654- 663.

## Effect of $\gamma$ -Aminobutyric acid on strawberry response to heat stress

Elaheh Akbari<sup>1\*</sup>, Mahdiyeh Gholami<sup>2</sup>, Bahram Baninasab<sup>2</sup>

1\* Ph. D student of Horticultural Science, Department of Horticulture, College of Agriculture, Isfahan

University of Technology, 84156-83111 Isfahan, Iran

2 Associate Professor, Department of Horticulture, College of Agriculture, Isfahan

University of Technology, 84156-83111 Isfahan, Iran

2 Professor, Department of Horticulture, College of Agriculture, Isfahan

University of Technology, 84156-83111 Isfahan, Iran

\* Corresponding Author: e.akbari@ag.iut.ac.ir

### Abstract:

Heat stress induces many negative effects on plant growth and development and this damage may be highlighted along with the prediction of global warming in the future. The purpose of this research was to investigate the metabolism and the role of application of gamma-aminobutyric acid (GABA) in strawberry 'Camarosa'. For this purpose, strawberries the stage of 4 to 5 fully expanded leaves were treated with GABA at 0.5, 1 and 5 mM and started heat stress was applied 24 hours after the last foliar application. After applying the treatments, the plants were transferred to the growth chamber with temperature of 25 and 40 °C, relative humidity of 70% and 1200 lux of light. After 10 hours of applying the temperature stress, the plants were taken out of the growth chamber and some physiological traits were measured. The results showed that the external application of 5 mM GABA significantly increased the content of soluble carbohydrates, internal GABA and the activity of catalase, ascorbate peroxidase and peroxidase enzymes, and reduced hydrogen peroxide and the percentage of ion leakage, compared to the control treatment at 40 °C.

**Keywords:** Enzymatic antioxidants,  $\gamma$ -Aminobutyric acid (GABA), Heat stress, Strawberry

اثر کلرید کلسیم بر محتوای گاما آمینوبوتیریک اسید و کاهش آسیب تنش دمایی در گیاه

توت فرنگی

## الهه اکبری<sup>1</sup>

\* نویسنده مسئول: دانشجوی دکتری، رشته مهندسی کشاورزی، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

[e.akbari@ag.iut.ac.ir](mailto:e.akbari@ag.iut.ac.ir)

## مهدیه غلامی<sup>2</sup>

2- دانشیار، دکتری فیزیولوژی درختان میوه، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

[mah.gholami@iut.ac.ir](mailto:mah.gholami@iut.ac.ir)

## بهرام بانی نسب<sup>2</sup>

2- استاد، دکتری فیزیولوژی درختان میوه، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

[bbanin@iut.ac.ir](mailto:bbanin@iut.ac.ir)

## چکیده

تنش دمای بالا باعث ایجاد برخی از تغییرات فیزیولوژیک، بیوشیمیایی و مولکولی در متابولیسم گیاه می‌شود. هدف از این تحقیق بررسی کاربرد کلرید کلسیم بر غلظت گاما آمینوبوتیریک اسید و اثر آن بر القای تحمل به تنش در گیاهان توت فرنگی رقم کاماروسا بود. بدین منظور نهال‌های توت فرنگی در مرحله 4 تا 5 برگ کاملاً گسترش یافته، تیمار کلرید کلسیم با غلظت‌های 10، 15 و 20 میلی مولار را به صورت محلول پاشی دریافت کردند و شروع تنش حرارتی از روز چهارم اعمال شد. پس از اعمال تیمارها، گیاهان به اتفاق رشد با دمای 25 و 40 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 70% و 1200 لوکس نوری منتقل شدند. گیاهان پس از 10 ساعت اعمال تنش خارج و برخی صفات فیزیولوژیکی اندازه گیری شد. نتایج حاصل از آزمایش نشان داد، کاربرد 15 میلی مولار کلرید کلسیم، به طور معنی داری باعث افزایش میزان کربوهیدرات محلول، میزان گابای درونی و محتوای نسبی آب برگ و نیز کاهش پر اکسید هیدروژن و مالون دی آلدئید در دمای 40 درجه سلسیوس شد.

**واژگان کلیدی:** شوک حرارتی، کلرید کلسیم، گاما آمینوبوتیریک اسید، گیاه توت فرنگی

## مقدمه

با اینکه توت فرنگی (*Fragaria × ananassa* Duch.) در طیف گسترده ای از شرایط آب و هوایی کشت می‌شود، اما دما یک عامل مهم محدود کننده برای رشد آن است. دمای پایه برای رشد توت فرنگی، دماهای بالاتر از دمای انجماد است و با افزایش دما به 20 تا 26 درجه سلسیوس (دمای بهینه) سرعت رشد آن افزایش می‌یابد (1). افزایش دما یک فاکتور محدود کننده برای پرورش توت فرنگی و تعداد زیادی از گونه‌های گیاهی در نتیجه افزایش گرم شدن جهانی هوا در آینده است. تنش دمای بالا یک تنش محیطی مهم است که رشد، متابولیسم و عملکرد گیاهان را در سرتاسر جهان تهدید می‌کند (3).

گاما- آمینوبوتیریک اسید<sup>60</sup> (گابا) القا کننده درونی مکانیسم دفاعی گیاه است که نقش مهمی در پاسخ گیاه به تنش‌های محیطی ایفا می‌کند. گابا می‌تواند به طور ویژه باعث حفاظت از گیاه در برابر تنش دمای بالا شود. گابا می‌تواند باعث کاهش آسیب‌های ناشی از تنش دمایی در گیاهان از طریق جلوگیری از پیری برگ، بهبود فتوسنتز و تحریک فعالیت آنزیم آنتی اکسیدانی شود. علاوه بر این مسیر تولید گابا که وابسته به چرخه TCA است، نقش حیاتی را در تحمل گرما توسط تحریک گابا ایفا می‌کند (4).

<sup>60</sup>. Gamma amino butyric acid (GABA)

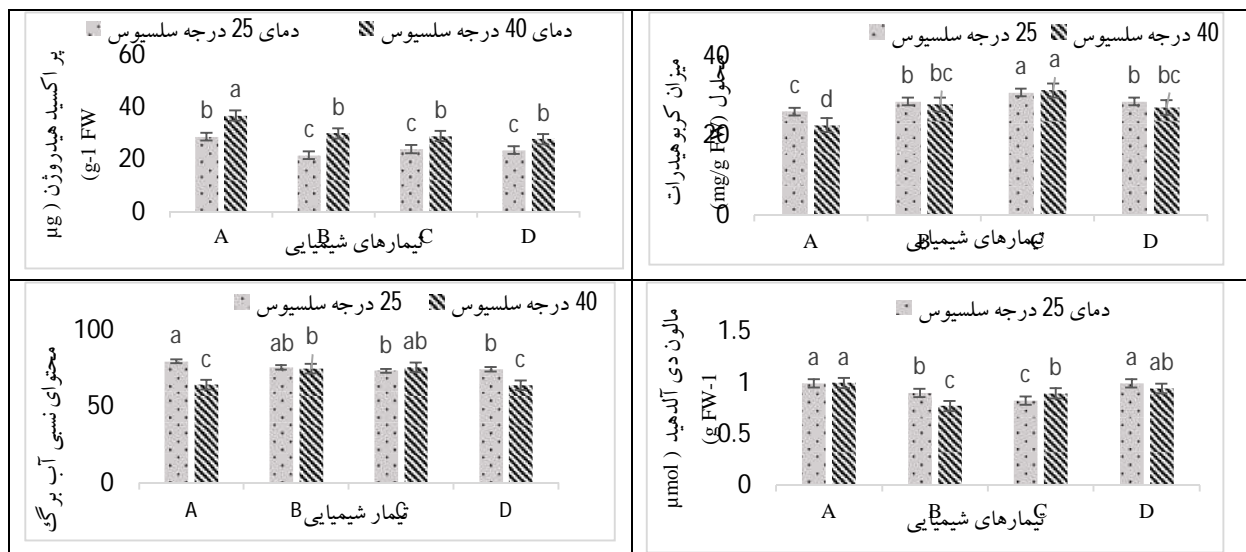
در شرایط تنش، سطوح کلسیم در سلول افزایش می‌یابد که باعث تحریک بیان ژن کالمودولین (CaM) می‌شود. پروتئین کالمودولین و کلسیم ( $Ca^{2+}$ ) یک کمپلکس فعال ایجاد می‌کنند که به آنزیم گلوتامات دکربوکسیلاز باند می‌شود. آنزیم گلوتامات دکربوکسیلاز، گلوتامات را به منظور تولید گابا دکربوکسیله کرده و بدین صورت بیوستتاز گابا را تحریک می‌کند. کاربرد کلسیم به صورت پس از برداشت در سبب باعث افزایش فعالیت مسیر گابا از طریق افزایش سطوح رونویسی ژن‌های سنتز آن شد (5). همچنین کاربرد پس از برداشت کلسیم در گلابی (6) به واسطه تحریک و بیان ژن کالمودولین باعث افزایش فعالیت آنزیم گلوتامات دکربوکسیلاز و تولید گابا شد. هدف از این تحقیق بررسی کاربرد خارجی کلرید کلسیم بر غلظت گاما آمینوبوتیریک اسید درونی گیاه و اثر آن از طریق این مکانیسم بر القای تحمل به تنش در گیاهان توت فرنگی رقم کاماروسا بود.

### مواد و روش‌ها

پراکسیداسیون چربی برگ بر اساس تولید پراکسید هیدروژن اندازه‌گیری شد. محتوای کربوهیدرات محلول توسط روش یم و ویلیس (1954) انجام شد (9). محتوای نسبی آب برگ توسط روش بارس و ودولی (1962) انجام شد (10). میزان مالون دی‌آلدئید برگ برگ توسط روش هس و پاکر انجام شد (11). غلظت گابا در برگ توسط روش کوماتسوزاکی و همکاران همراه با کمی تغییرات انجام شد (12). 1 گرم از برگ همراه با 5 میلی لیتر اتانول 80% همگن و پس از سانترفیوژ مراحل عصاره‌گیری انجام شد. عصاره بدست آمده توسط دستگاه کنستراتور خشک‌شد و پس از مشتق‌سازی توسط دستگاه HPLC میزان گابا محاسبه شد.

### نتایج و بحث

نتایج حاصل از پژوهش نشان داد کاربرد کلرید کلسیم در تمامی غلظت‌های مورد استفاده باعث کاهش معنی‌دار شاخص پراکسید هیدروژن در گیاهان توت فرنگی رقم کاماروسا تحت تنش دمایی 40 درجه سلسیوس نسبت به شاهد شد (شکل 1). کاربرد خارجی گابا باعث افزایش فعالیت و محتوای آنتی‌اکسیدان، کاهش تجمع پراکسید هیدروژن و حفاظت از پایداری ساختار غشای سلول و در نتیجه باعث کاهش ایجاد آسیب ناشی از تنش شوری در گیاهان شد. با افزایش میزان گابای درونی و به دنبال آن افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، میزان پراکسید هیدروژن در گیاه کاهش می‌یابد که همسو با نتایج بدست آمده در این پژوهش است. تنش حرارتی باعث کاهش میزان کربوهیدرات محلول در گیاهان شاهد شد. اگر چه محتوای کربوهیدرات محلول در تیمار 15 میلی مولار کلرید کلسیم نسبت به شاهد در دمای 25 و 40 درجه سلسیوس به طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها بود (شکل 1). گابا ممکن است به عنوان یک منبع حد واسط در چرخه TCA، به منظور حفظ هموستازی متابولیکی باشد (14). مطالعات نشان داد کاربرد خارجی گابا می‌تواند باعث افزایش قندها و قندهای الکلی در گیاه بنت گراس خزنده تحت شرایط تنش دمایی گردد (15). نتایج حاصل از آزمایش نشان داد، کاربرد کلرید کلسیم در غلظت‌های 10 و 15 میلی مولار کلرید کلسیم باعث افزایش معنی‌دار محتوای نسبی آب برگ نسبت به تیمار شاهد در دمای 40 درجه سلسیوس شد (شکل 1). گیاهان متابولیسم‌های خود را به روش‌های مختلفی به ویژه از طریق تولید حل‌شونده‌های سازگار که قادر به سازماندهی پروتئین‌ها و ساختارهای سلولی هستند و حفظ فشار تورژسانس سلول توسط تنظیم اسمزی در پاسخ به دمای بالا تغییر می‌دهند (3). در این پژوهش نیز کاربرد 15 میلی مولار کلسیم توانست از طریق القای افزایش تولید گابا به عنوان یک ترکیب محافظ اسمزی، باعث افزایش معنی‌دار محتوای نسبی آب برگ نسبت به شاهد در دمای 40 درجه سانتی‌گراد شود.



شکل 1- اثر تیمارهای شیمیایی x دما بر صفات فیزیولوژیک توت فرنگی رقم کاماروسا. میانگین‌های با حروف مشترک فاقد تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال 5% آزمون LSD می‌باشند. (A: شاهد، B: 10 میلی مولار کلرید کلسیم، C: 15 میلی مولار کلرید کلسیم، D: 20 میلی مولار کلرید کلسیم)

نتایج حاصل از آزمایش نشان داد، کاربرد کلرید کلسیم در غلظت‌های 10 و 15 میلی مولار کلرید کلسیم باعث کاهش معنی‌دار میزان مالون دی آلدئید برگ نسبت به تیمار شاهد در دمای 40 درجه سلسیوس شد (شکل 1). افزایش میزان مالون دی آلدئید به عنوان یک شاخص توسعه پراکسیداسیون چربی و آسیب رادیکال‌های آزاد به غشا سلولی تحت تنش دمای بالا است. افزایش غلظت مالون دی آلدئید در نتیجه اعمال تنش دمای بالا در گیاه لوییا مشاهده شد (16) که همسو با نتایج بدست آمده در این پژوهش است. در بین تیمارهای مختلف، بیش‌ترین غلظت گابا در تیمار 15 میلی مولار کلرید کلسیم و دمای 40 درجه سلسیوس مشاهده شد (جدول 1). افزایش سطح کلسیم در سلول باعث تحریک بیان ژن کالمودولین می‌شود. این پروتئین و کلسیم یک کمپلکس فعال ایجاد می‌کنند که به آنزیم گلوتامات دکربوکسیلاز باند می‌شود. آنزیم گلوتامات دکربوکسیلاز، گلوتامات را به منظور تولید گابا دکربوکسیله کرده و بدین صورت بیوستنز گابا را تحریک می‌کند. از اینرو کاربرد 15 میلی مولار کلرید کلسیم در این پژوهش توانست به طور معنی‌داری باعث افزایش گابای درونی شود. کاربرد کلسیم به صورت پس از برداشت در سیب باعث افزایش فعالیت مسیر گابا از طریق افزایش سطوح رونویسی ژن‌های بیوستنز گابا شد (5).

جدول 1: تاثیر کاربرد کلرید کلسیم و تیمار دمایی بر میزان گاما آمینو بوتیریک اسید (ppm) درونی در توت فرنگی رقم کاماروسا

تیمار	غلظت	دما	میزان گابا
شاهد	0	25	0/492
		40	1/249
	10	25	0/506
		40	0/464
کلرید کلسیم	15	25	3/587
		40	4/131
	20	25	2/96
		40	1/12

نتیجه گیری

نتایج حاصل از آزمایش نشان داد، کاربرد خارجی 15 میلی مولار کلرید کلسیم در گیاهان توت فرنگی رقم کاماروسا تحت تنش دمایی، می‌تواند از طریق افزایش میزان کربوهیدرات محلول، گابای درونی و محتوای نسبی آب برگ و همچنین کاهش پر اکسید هیدروژن و مالون دی آلدئید نسبت به تیمار شاهد باعث القای تحمل به شرایط تنش در گیاه شود.

منابع:

- (1) Maugham, T., Black, B. and Drost, D. T., 2015. Critical temperature for sub-lethal cold injury of strawberry leaves. *Scientia Horticulturae*, 183, pp.8-12.
- (4) Seifikalhor, M., Aliniaiefard, S., Hassani, B., Niknam, V. and Lastochkina, O., 2019. Diverse role of  $\gamma$ -aminobutyric acid in dynamic plant cell responses. *Plant Cell Reports*, 38, pp.847-867.
- (5) Han, S., Liu, H., Han, Y., He, Y., Nan, Y., Qu, W. and Rao, J., 2020. Effects of calcium treatment on malate metabolism and  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) pathway in postharvest apple fruit. *Food Chemistry*, 334, pp.127479.
- (6) Li, J., Qian, Z., Xin, Z., Baodong, W., Yingbo, Z. and Shujuan, J., 2020. Calcium treatment alleviates pericarp browning of 'Nanguo' pears by regulation the GABA shunt after cold storage. *Front Plant Science*, 11, 580986.
- (14) Seifikalhor, M., Aliniaiefard, S., Seif, M., Javadi Asayesh, E., Bernard, F., Hassani, B. and Li, T., 2018. Enhanced salt tolerance and photosynthetic performance: Implication of  $\gamma$ -amino butyric acid application in salt-exposed lettuce (*Lactuca sativa* L.) plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 130, pp.157-172.
- (15) Hijaz, F., Nehela, Y. and Killiny, N., 2018. Application of gamma-aminobutyric acid increased the level of phytohormones in *Citrus sinensis*. *Planta*, 248, pp.909-918.
- (16) Priya, M., Sharma, L., Kaur, R., Bindumadhava, H., M. Nair, R., Siddique, K. H. M. and Nayyar, H. 2019. GABA ( $\gamma$ -aminobutyric acid), as a thermo-protectant, to improve the reproductive function of heat stressed mungbean plants. *Scientific Reports*, 9, 7788.

## The effect of exogenous Calcium chloride on internal changes of gamma-aminobutyric acid and alleviates heat stress damage in strawberry

Elaheh Akbari<sup>1\*</sup>, Mahdiyeh Gholami<sup>2</sup>, Bahram Baninasab<sup>2</sup>

1\* Ph. D student of Horticultural Science, Department of Horticulture, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, 84156-83111 Isfahan, Iran

2 Associate Professor, Department of Horticulture, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, 84156-83111 Isfahan, Iran

2 Professor, Department of Horticulture, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, 84156-83111 Isfahan, Iran

\* Corresponding Author: e.akbari@ag.iut.ac.ir

### Abstract:

High temperature stress causes some physiological, biochemical and molecular changes in plant metabolism. The purpose of this research was to investigate the application of calcium chloride on the concentration of gamma-aminobutyric acid in the plant and its effect on the stress tolerance in strawberry 'Camarosa'. For this purpose, strawberries at the stage of 4 to 5 fully expanded leaves were treated with calcium chloride at 10, 15, 20 mM, and heat stress was applied from the fourth day. The plants then were transferred to the growth chamber with temperature of 25 and 40 °C, relative humidity of 70% and 1200 lux of light. After 10 hours of applying the desired temperature stress, the plants were taken out and some physiological traits were measured. The results showed that the application of 15 mM calcium chloride significantly increased the amount of soluble carbohydrates, internal GABA, relative content of leaf water, and reduced hydrogen peroxide and malondialdehyde compared to the control treatment at 40 °C. **Keywords:** Calcium chloride,  $\gamma$ -Aminobutyric acid (GABA), Heat stress, Strawberry

### بررسی پروفایل اسید چرب میوه پسته تیمار شده با پلاسمای سرد هوا

مهديه بختیاری رضائی<sup>1\*</sup>، فاطمه امانی هارونی<sup>2</sup>

<sup>1\*</sup> استادیار، دکتری تخصصی فیزیک پلاسما، پژوهشکده پلاسما و گداخت هسته‌ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، سازمان انرژی اتمی، تهران، ایران

\*نویسنده مسئول: [mahdiyeh.bakhtiyari@gmail.com](mailto:mahdiyeh.bakhtiyari@gmail.com)

<sup>2</sup> پژوهشگر، دکتری مهندسی کشاورزی، شرکت توسعه فناوری پلاسما، تهران، ایران

## چکیده

کاربرد فناوری پلاسما سرد در مراحل مختلف تولید مواد غذایی مورد بررسی قرار گرفته است. پلاسما سرد به واسطه تولید رادیکال‌های بسیار واکنش‌پذیر و گونه‌های اکسیژن و نیتروژن و همچنین میدان الکتریکی می‌تواند به غشا و دیواره سلولی باکتری و قارچ‌ها حمله کند. علاوه بر اثبات کارکرد این فناوری در صنایع غذایی که بسیار به آن پرداخته شده است، یکی از موضوعات اساسی و مهم، عدم ایجاد اثر نامطلوب بر کیفیت ماده غذایی است. بنابراین در این مطالعه تاثیر پلاسما سرد در زمان‌های تیمار مختلف (5، 10، 20، 40 دقیقه) بر ارزش غذایی پسته با تمرکز بر اسیدهای چرب آزاد و شاخص پراکسید بررسی شد. مقایسه نتایج با شاهد نشان داد که پلاسمادهی پسته تا مدت 20 دقیقه بر پروفیل اسید چرب اثر ندارد. اعمال 40 دقیقه‌ای پلاسما موجب کاهش بعضی از اسیدهای چرب نظیر اسید استئاریک و لینولئیک شد که می‌توان به تاثیر اکسیداسیونی گونه‌های فعال پلاسما نسبت داد. بنابراین با بهینه کردن زمان اعمال پلاسما سرد می‌توان از این فناوری برای کاهش باریکروبی و استریل کردن میوه پسته بدون تاثیر بر پروفیل اسید چرب استفاده کرد.

واژگان کلیدی: پسته، فناوری پلاسما سرد، پروفیل اسیدهای چرب، پلاسما

## مقدمه

پسته<sup>61</sup> عضوی از خانواده *Anacardiaceae* است و معروف‌ترین آجیل درختی در جهان است. مغز پسته به دلیل وجود محتوای بالای اسیدهای چرب غیر اشباع، پروتئین‌ها، مواد معدنی، ویتامین‌ها، فیتواسترول‌ها و پلی فنل‌ها به عنوان غذای ارتقاء دهنده سلامت شناخته شده است. از طرف دیگر امروزه تمایل به مصرف غذاهای تازه و کمتر فراوری شده افزایش یافته است (1). اگرچه امروزه روش‌های فراوانی برای فرآوری مواد غذایی وجود دارد، این روش‌ها می‌توانند تأثیر منفی بر کیفیت مواد غذایی و ویژگی‌های حسی داشته باشند. به همین دلایل، صنایع غذایی پیوسته به دنبال روش‌های جایگزین برای بهبود در تولید و نگهداری مواد غذایی است (2). پلاسما، گاز یونیزه شده متشکل از ذرات باردار مثبت و منفی، میدان الکترومغناطیسی، فوتون است. پلاسما سرد پتانسیل زیادی برای غیرفعال کردن باکتری‌ها، ویروس‌ها، میکوتوکسین‌ها و غیره در غذاهای گیاهی و حیوانی (مانند میوه‌های تازه و خشک، سبزیجات، آب‌میوه‌ها، آجیل‌ها، پوسته تخم‌مرغ، تخم‌مرغ‌ها) دارد و به دلیل دمای پایین فرآوری آن به طور گسترده در صنایع غذایی کاربرد دارد و می‌تواند از آسیب ناشی از فناوری پردازش حرارتی جلوگیری کند (3). گونه‌های فعال پلاسمایی سرد مانند نیتريت فعال (اکسیدهای تولید شده در طی فرآوری آن) می‌تواند به طور موثر میکروارگانیسم‌های موجود در سطح غذا را از بین ببرد و باعث تغییر در ویژگی‌های عملکردی غذا شود (4). علاوه بر گونه‌های فعال، فوتون‌های فرابنفش و ذرات باردار پلاسما نیز دارای اثر سترون‌سازی است (5, 6).

<sup>61</sup> *Pistacia vera L.*



این فناوری به دلیل کارایی بالا، حفاظت از محیط زیست و عدم وجود پسماندهای شیمیایی روز به روز محبوب تر می شود. از آنجاکه نگرانی تاثیر بر کیفیت ماده غذایی توسط این فناوری ممکن است مطرح شود، در این مقاله اثر اعمال پلاسما در زمان های مختلف بر اسیدهای چرب آزاد و شاخص پراکسید در پسته خشک بررسی شد.

## مواد و روش ها

در این آزمایش، ابتدا کل پسته همگن و به پنج گروه تیماری که هر گروه واجد سه دسته تکرار بود، تقسیم شد. سپس نمونه های پسته در فاصله 2 cm از الکترودها قرار گرفت و به مدت 5، 10، 20 و 30 دقیقه با پلاسما سرد اتمسفری با گاز کاری هوا، ولتاژ 15 kV و فرکانس 8,75 kHz تیمار شد. پروفیل اسید چرب با استفاده از کروماتوگرافی گازی و طبق استاندارد شماره 4091 و 2 - 13126 انجام شد. شاخص پراکسید نیز طبق استاندارد شماره 4179 اندازه گیری شد. داده های به دست آمده پس از اطمینان از نرمال بودن براساس آنالیز واریانس یک طرفه (one way Anova) برای زمان های گوناگون تیمار و شاهد در سه تکرار انجام شد. مقایسه میانگین با بهره گیری از آزمون دانکن در پایه آماری 5 درصد انجام شد.

## نتایج و بحث

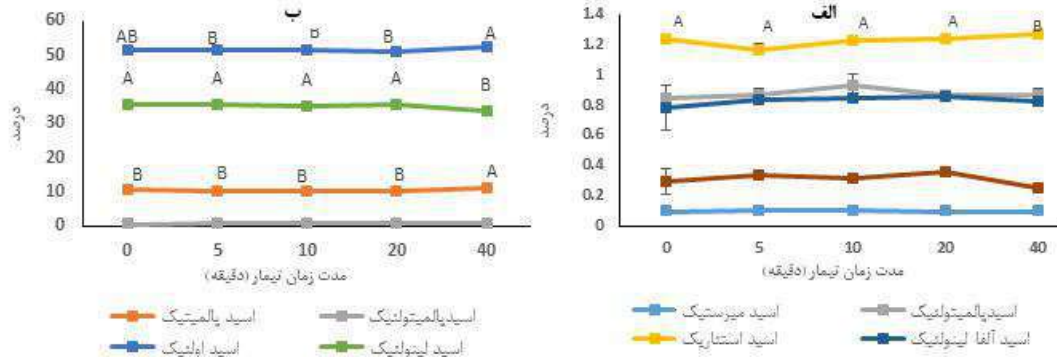
پلاسما سرد روشی بدون پسماند، بی ضرر، سازگار با محیط زیست، سریع و قابل اجرا برای ضد عفونی محصولات غذایی حساس به گرما به ویژه آلودگی قارچی و مایکوتوکسین ارائه می دهد (6). از طرف دیگر اکسیداسیون روغن، ترش شدن خشکبار را تسریع و ماندگاری آن را کوتاه می کند (7). ماندگاری آجیل معمولاً با اندازه گیری مقدار پراکسید و غلظت اسید چرب آزاد تخمین زده می شود (8). جدول 1 نتایج تاثیر مدت زمان اعمال پلاسما بر پروفیل اسیدهای چرب آزاد پسته خشک را نشان می دهد.

جدول 1: تحلیل واریانس (میانگین مربع ها) پیامد مدت زمان تیمار پلاسما سرد بر پروفیل اسید چرب پسته خشک

آماره F							
اسید	اسید	اسید	اسید	اسید	اسید	اسید	اسید
میرستیک	پالمیتیک	پالمیتولیک	استتاریک	اولئیک	لینولئیک	لینولئیک	آلفا
3/00 <sup>ns</sup>	3/72 <sup>**</sup>	1/58 <sup>ns</sup>	6/82 <sup>**</sup>	3/63 <sup>**</sup>	10/52 <sup>**</sup>	0/55 <sup>ns</sup>	2/86 <sup>ns</sup>
مدت زمان تیمار							

\*: وجود تفاوت معنی دار در سطح 0/01. ns: عدم وجود تفاوت معنی دار

همانگونه که نمودار 1-الف دیده می شود اعمال پلاسما سرد تاثیر معنی داری بر کمیت (درصد) اسیدهای چرب میرستیک، پالمیتولیک، آلفا لینولئیک در قیاس با شاهد نداشته است. اما اعمال پلاسما موجب کاهش معنی دار کمیت اسید استتاریک در تیمار 40 دقیقه شده است.



نمودار 1: تأثیر زمان تیمار اعمال پلاسمای سرد بر تغییرات پروفیل اسیدهای چرب (آزمون دانکن).

\* حروف غیرمشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار است.

در نمودار 1-ب اعمال پلاسمای سرد تأثیر معنی داری بر کمیت پالمیتولئیک نداشته، ولی در تیمار 40 دقیقه اسید لینولئیک کاهش و اسید پالمیتیک افزایش داشته است. که ممکن است به دلیل رادیکالهای آزاد (گونههای فعال اکسیژن و نیتروژن) موجود در پلاسمای سرد باشد که موجب اکسیداسیون خودکار چربیها و لیپیدهای موجود در غذا شده است (9). بررسیها همچنین نشان داد که شاخص پراکسیداسیون در تمام نمونههای پسته خشک منفی بود که نشان از عدم تأثیر فاحش پلاسمای سرد بر اکسیداسیون اسیدهای چرب دارد.

تأثیر زمان پردازش پلاسمای سرد و جریان گاز بر پروفایل اسید چرب در آب پنیر نیز بررسی شده است. نتایج، تغییرات بیشتر در پروفایل اسیدهای چرب را با افزایش مدت زمان اعمال پلاسمای سرد نشان داد (10). مطالعات در مورد اثرات پلاسمای سرد بر لیپیدها در محصولات غذایی مختلف بسیار محدود است. با این حال، بر اساس مطالعات گزارش شده، زمان تیمار و گاز پلاسمای می توان به عنوان عوامل موثر بر اکسیداسیون لیپید در نظر گرفت (7). تنظیم بهینه فناوری پلاسمای متناسب با میزان اسید چرب نمونه می تواند آن را به عنوان عامل ضد عفونی کننده میوه پسته معرفی کند.

### نتیجه گیری

اکسیداسیون لیپیدها یک مشکل نگران کننده در مواد غذایی است. این تغییرات می تواند تأثیر منفی روی طعم، رنگ، ارزش غذایی و ماندگاری داشته باشد. جلوگیری از اکسیداسیون لیپید غذاهای پرچرب هنگام اعمال پلاسمای سرد یک کار چالش برانگیز است که نیاز به بهینه سازی پارامترهای محصول و دستگاه در طول اعمال پلاسمای دارد. استفاده از فناوری پلاسمای سرد با توان مناسب و کوتاه کردن زمان پردازش و انتخاب نوع مناسب غذا همگی برای غلبه بر اکسیداسیون لیپید راههای موثری هستند.

### منابع

1. Makari M, Hojjati M, Shahbazi S, Askari H. Elimination of *Aspergillus flavus* from pistachio nuts with dielectric barrier discharge (DBD) cold plasma and its impacts on biochemical indices. *Journal of Food Quality*. 2021;2021:1-12.
2. Chen G, Dong S, Zhao S, Li S, Chen Y. Improving functional properties of zein film via compositing with chitosan and cold plasma treatment. *Industrial Crops and Products*. 2019;129:318-26.
3. Pérez-Andrés JM, Álvarez C, Cullen P, Tiwari BK. Effect of cold plasma on the techno-functional properties of animal protein food ingredients. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 2019;58:102205.
4. Li M, Li X, Han C, Ji N, Jin P, Zheng Y. Physiological and metabolomic analysis of cold plasma treated fresh-cut strawberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2019;67(14):4043-53.

5. Huang M, Zhuang H, Zhao J, Wang J, Yan W, Zhang J. Differences in cellular damage induced by dielectric barrier discharge plasma between *Salmonella Typhimurium* and *Staphylococcus aureus*. *Bioelectrochemistry*. 2020;132:107445.
6. Guo J, Huang K, Wang J. Bactericidal effect of various non-thermal plasma agents and the influence of experimental conditions in microbial inactivation: A review. *Food Control*. 2015;50:482-90.
7. Pankaj SK, Wan Z, Keener KM. Effects of cold plasma on food quality: A review. *Foods*. 2018;7(1):4.
8. Bai SH, Trueman SJ, Gama T, Jones K, Walton D, Randall B, et al., editors. Shelf life of macadamia kernels of different origin. VI International Conference Postharvest Unlimited 1256; 2017.
9. Franklin LM, Chapman DM, King ES, Mau M, Huang G, Mitchell AE. Chemical and sensory characterization of oxidative changes in roasted almonds undergoing accelerated shelf life. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2017;65(12):2549-63.
10. Bora J, Khan T, Mahnot NK. Cold plasma treatment concerning quality and safety of food: A review. *Current Research in Nutrition and Food Science Journal*. 2022;10(2):427-46.

## Investigating the fatty acid profile of pistachio fruit treated with cold air plasma

Mahdiyeh Bakhtiyari-Ramezani<sup>1\*</sup>, Fatemeh Amani Haroni<sup>2</sup>

<sup>1\*</sup> Assistant Professor, Ph.D. in Plasma Physics, Plasma and Nuclear Fusion Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute (NSTRI), Tehran, Iran

\*Corresponding author: mahdiyeh.bakhtiyari@gmail.com

<sup>2</sup> Researcher, PhD in Agricultural Engineering, Plasma Technology Development Company, Tehran, Iran

### Abstract

Cold plasma technology has been studied for its potential applications in various stages of food production. The technology has the ability to attack bacterial and fungal membranes and cell walls by generating powerful radicals, oxygen, and nitrogen species, as well as an electric field. In addition to its well-documented usefulness in the food industry, a critical factor is that it maintains the quality of food without compromise. As a result, the study focused on the levels of free fatty acids and peroxidation index in relation to different processing times of cold plasma (5, 10, 20, and 40 minutes) to determine the impact on the nutritional quality of pistachios. After a 20-minute plasma treatment of pistachio, there were no changes observed in the normal fatty acid profile when compared with the control study. The application of plasma for 40 minutes resulted in a reduction of certain fatty acids, including stearic and linoleic acid, which is possible due to the oxidizing effect of plasma active species. Hence, by optimizing the exposure time of cold plasma, the method can be utilized to reduce the microbial load and sterilize pistachio fruits without affecting the fatty acid profile.

**Key word:** Pistachios, Cold plasma technology, Fatty acid profile, Plasma

## بررسی اثرات ملاتونین و نانوذرات اکسید روی بر متابولیسم اولیه گیاه شاهدانه

ذکیه پورشیخعلی<sup>1\*</sup>، حکیمه علومی<sup>2</sup>، امین باقی زاده<sup>3</sup>

<sup>1</sup> کارشناسی ارشد علوم گیاهی گرایش فیزیولوژی، گروه اکولوژی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان

<sup>2</sup> دانشیار فیزیولوژی گیاهی، گروه اکولوژی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان

<sup>3</sup> دانشیار اصلاح نباتات، گروه بیوتکنولوژی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان

نویسنده مسئول: zakiyehpoursheikhali@gmail.com

### چکیده

این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی با 3 تکرار به صورت فاکتوریل و در شرایط گلخانه‌ای انجام شد. در این آزمایش اثرات ملاتونین با غلظت صفر و 12 ppm در شرایط حضور نانوذرات اکسید روی با غلظت‌های صفر، 5 و 10 ppm بر متابولیسم گیاه شاهدانه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که تیمار نانوذرات اکسید روی در شرایط حضور و عدم حضور ملاتونین، به طور مثبت بر متابولیسم اولیه گیاه شاهدانه تأثیر گذار بود. افزایش متابولیت‌های اولیه از جمله کربوهیدرات‌ها، نیتروژن آلی و پروتئین در تمامی تیمارها مشاهده شد. اثر تیمار نانوذرات اکسید روی بدون حضور ملاتونین بر صفات اندازه‌گیری شده، بیشتر از استفاده همزمان آن با ملاتونین بود. با وجود سطح بالای روی در اندام هوایی شاهدانه در پایان آزمایش، اثرات تنشی مشاهده نشد. فراهمی روی در مراحل اولیه رشد رویشی باعث بهبود خصوصیات رشدی گیاه شد. بر اساس این نتایج، تیمار نانوذرات اکسید روی اثر قابل توجهی بر متابولیسم گیاه شاهدانه و ویژگی‌های رشدی گیاه شاهدانه دارد. بنابراین استفاده از نانوذرات اکسیدروی به تنهایی و یا همزمان با ملاتونین برای بهبود خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی گیاه شاهدانه توصیه می‌شود.

**واژگان کلیدی:** گیاه شاهدانه، نانوذرات اکسید روی، متابولیسم گیاه، ملاتونین

### مقدمه

کودهای نانوذرات روشی جدید و کارآمد برای بهبود عملکرد گیاهانی است که برای دستیابی به سیستم‌های کشاورزی پایدارتر در سراسر جهان اهمیت بسیاری دارند [1]. موادی که اندازه ذرات 1 تا 100 نانومتر دارند، ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی جدیدی در مقایسه با مواد با اندازه بزرگ دارند [2]. جذب نانوذرات (NPs) در گیاهان بهتر از مواد شیمیایی مشابهی است که در اندازه بزرگ بر گیاه اعمال می‌شود. محلول‌پاشی نانوذرات، روشی ساده‌تر در نظر گرفته می‌شود، زیرا گیاهان در مقایسه با کاربرد خاکی کودهای شیمیایی می‌توانند مستقیماً جذب شوند. دومین مزیت اصلی محلول‌پاشی نانوکودها این است که مقدار بسیار کمی کود در مقایسه با کاربرد خاکی این مواد مورد نیاز است [3]. در نتیجه کاهش آلودگی خاک را به دنبال دارند. در این پژوهش از نانوذرات روی استفاده شد. روی، متعلق به گروه ریز مغذی‌ها است که برای رشد بهینه گیاهان ضروری است. واکنش‌های متابولیکی حیاتی در گیاه وابسته به روی هستند، در واقع فعالیت بسیاری از آنزیم‌ها به روی وابسته است. استفاده از نانوذرات اکسید روی منجر به افزایش برخی ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیکی مانند شاخص سطح برگ، پروتئین، لیپید، فیبر و کربوهیدرات در اسفناج شده

است. افزایش وزن خشک قسمت هوایی و فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در طی استفاده از نانوذرات در ذرت نیز مشاهده شده است.

ملاتونین، یک مولکول زیستی غیرسمی است که نقش‌های تنظیمی متفاوتی در رشدونمو گیاهان ایفا می‌کند. ملاتونین (N-acetyl-5-methoxytryptamine) یک ایندول‌آمین است که در سال 1995 برای اولین بار در گیاهان پیشرفته گزارش شد [4]. ملاتونین یک مولکول با عملکرد چندگانه در گیاهان است که دارای اثرات مفید متعددی است [5]. استفاده از ملاتونین به عنوان یک محرک زیستی برای تولید محصول پایدار بدون تأثیر بر محیط خارجی، می‌تواند اهمیت زیادی داشته باشد. گزارش شده است که تیمار ملاتونین باعث بهبود فعالیت فتوسنتزی، افزایش هموستاز ردوکس، افزایش رشد و نمو ریشه و افزایش طول ریشه در جو، گندم، گیلاس و برنج شده است.

هدف کلی از این تحقیق بررسی نقش تیمار نانوذرات اکسید روی و ملاتونین بر متابولیسم گیاه شاهدانه بود. شاهدانه (*Cannabis sativa*) گیاهی یک ساله و دو پایه از خانواده *Cannabinaceae* است. این گیاه هزاران سال است که بدلیل ویژگی‌های منحصر به فرد خود در پزشکی، صنایع سرگرمی و صنعتی، آن شناخته شده است [6].

## مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال‌های 1401 و 1402 در گلخانه دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته انجام شد. بذر گیاه شاهدانه *Cannabis sativa* رقم مشهد، در گلدان حاوی خاک شسته شده کاشته شد. آبیاری گلدان حاوی بذر با آب مقطر انجام شد و بعد از یک هفته به صورت یک روز در میان به آنها محلول غذایی هیدروپونیک اعمال شد. گیاهان برای رشد بهینه در شرایط استاندارد نوری، دمایی و رطوبتی در گلخانه قرار گرفتند. این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار و به صورت فاکتوریل دو عاملی اجرا شد. پس از رشد کافی گیاهان و گسترش کامل برگ سوم، تیمار ملاتونین با غلظت‌های صفر و 12 ppm و غلظت بهینه نانوذرات اکسید روی (صفر، 5 ppm و 10 ppm) آغاز شد. ملاتونین در سه مرحله (ابتدا، وسط و انتهای دوره) و نانوذرات اکسید روی به صورت محلول پاشی یک روز در میان، تیماردهی شد. طول دوره تیمار دو هفته در نظر گرفته شد. پس از اتمام تیماردهی، برداشت گیاهان و فریز آنها یا خشک شدن برای سنجش پارامترهایی که به نمونه خشک نیاز داشت انجام شد. وزن تر اندام هوایی و ریشه، وزن خشک ریشه و اندام هوایی اندازه‌گیری شد. برای خشک کردن نمونه‌های گیاهی، ابتدا در فویل آلومینیومی پیچیده شدند و سپس به مدت دو روز درون آون با دمای 80 درجه سانتیگراد قرار داده شدند.

سنجش کلروفیل کل و کاروتنوئیدها با استخراج آنها با استون به روش *Lichtenthaler* در سال 1987 انجام شد [7]. همچنین مقدار مواد جامد محلول برحسب درجه بریکس (قند) در گرم بافت تازه برگ گیاه توسط دستگاه رفاکتومتر مدل Atago در دمای اتاق، سنجش شد. برای سنجش پروتئین و نیتروژن آلی ماده خشک از دستگاه Vapodest50s ساخت کشور آلمان (شرکت Gerhardt) استفاده شد. برای سنجش مقدار روی (روش جذب اتمی) از برگ پودر شده، که در دمای اتاق خشک شده بود، استفاده شد [8]. برای تجزیه و تحلیل‌های آماری از نرم‌افزار SAS استفاده شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون LSD و برای رسم شکل‌ها و جداول از برنامه Excel استفاده شد.

## نتایج و بحث

نتایج آنالیز واریانس نشان داد اثر متقابل ملاتونین و نانوذرات اکسید روی در تمامی صفات مورد بررسی از جمله وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه، کلروفیل کل، کاروتنوئیدها، قند، محتوای پروتئین و نیتروژن آلی در سطح 1 و 5 درصد معنی دار بودند ( $P \leq 0/05$ ). اثر متقابل ملاتونین توام با نانوذرات اکسید روی نیز اثر افزایشی بر وزن خشک اندام هوایی داشت. اما بیشترین اثر بر افزایش وزن خشک اندام هوایی (57/66 درصد) را تیمار نانوذرات اکسید روی با غلظت 10 ppm داشت. بیشترین افزایش وزن ریشه، در اثر ساده تیمار نانوذرات اکسید روی با غلظت 10 ppm، با افزایش تقریبی سه برابر نسبت به نمونه کنترل، مشاهده شد. اثر ساده تیمار نانوذرات اکسید روی با غلظت 10 ppm، بر وزن خشک ریشه افزایش تقریبی سه برابر نسبت به نمونه کنترل داشت. بیشترین اثر بر افزایش محتوای کلروفیل کل (17/27 درصد) مربوط به تیمارهای نانوذرات اکسید روی در غلظت 10 ppm و اثر متقابل این تیمار با ملاتونین (12/5 درصد) بودند. اثر ساده تیمارهای 10 ppm و 5 ppm نانوذرات اکسید روی بیشترین میزان افزایش کاروتنوئیدها (به ترتیب 87/45 و 52/75 درصد) را داشتند. بیشترین افزایش محتوای پروتئین (21/64 درصد) نسبت به نمونه کنترل مربوط به اثر ساده تیمار نانوذرات اکسید روی با غلظت 10 ppm بود. بیشترین درصد نیتروژن آلی (21/43 درصد) نسبت به نمونه کنترل مربوط به اثر ساده تیمار نانوذرات اکسید روی با غلظت 10 ppm بود. بیشترین میزان درصد مواد جامد محلول (تقریباً بیشتر از دو برابر نسبت به نمونه کنترل)، مربوط به اثر ساده تیمار نانوذرات اکسید روی در غلظت 10 ppm بود. نتایج تجمع عنصر روی در اندام هوایی نیز نشان داد که میزان روی در اندام هوایی افزایش داشت (جدول 1).

جدول 1- مقایسه میانگین اثر ملاتونین، اثر نانوذرات اکسید روی و اثر متقابل آنها بر وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه، کلروفیل کل، کاروتنوئیدها، درصد پروتئین، درصد نیتروژن آلی، درصد کربوهیدرات‌ها و میزان روی در اندام هوایی و ریشه

Root Zinc (mg/gdw)	Shoot Zinc (mg/gdw)	درصد کربوهیدراتها (%)	درصد نیتروژن آلی (%)	درصد پروتئین (%)	کاروتنوئیدها (mg g <sup>-1</sup> fw)	کلروفیل کل (mg g <sup>-1</sup> fw)	Root DW (g/plant)	Root FW (g/plant)	Shoot DW (g/plant)	Shoot FW (g/plant)	نانوذرات اکسید روی (ppm)	ملاتونین (ppm)
0/27±0/04 <sup>c</sup>	0/45±0/05 <sup>c</sup>	0/07±0/05 <sup>c</sup>	2/8±0/00 <sup>c</sup>	17/47±0/00 <sup>c</sup>	2/1±0/13 <sup>c</sup>	14/37±0/08 <sup>c</sup>	0/11±0/002 <sup>f</sup>	0/69±0/006 <sup>c</sup>	0/46±0/004 <sup>c</sup>	2/11±0/009 <sup>d</sup>	0	0
0/38±0/01 <sup>a</sup>	0/75±0/01 <sup>bc</sup>	0/2±0/00 <sup>ab</sup>	2/95±0/04 <sup>b</sup>	18/92±0/06 <sup>b</sup>	3/21±0/02 <sup>b</sup>	15/32±0/15 <sup>c</sup>	0/33±0/01 <sup>b</sup>	2/22±0/19 <sup>b</sup>	0/67±0/02 <sup>b</sup>	2/73±0/12 <sup>b</sup>	5	0
0/4±0/01 <sup>a</sup>	0/88±0/04 <sup>a</sup>	0/25±0/05 <sup>a</sup>	3/4±0/06 <sup>a</sup>	21/26±0/37 <sup>a</sup>	3/87±0/13 <sup>a</sup>	16/85±0/14 <sup>a</sup>	0/53±0/02 <sup>a</sup>	2/7±0/12 <sup>a</sup>	0/72±0/02 <sup>a</sup>	3/06±0/06 <sup>a</sup>	10	0
0/31±0/01 <sup>bc</sup>	0/58±0/07 <sup>d</sup>	0/17±0/05 <sup>b</sup>	3/05±0/11 <sup>b</sup>	19/5±0/003 <sup>b</sup>	2/55±0/1 <sup>d</sup>	14/94±0/01 <sup>d</sup>	0/18±0/004 <sup>e</sup>	1/11±0/11 <sup>d</sup>	0/62±0/01 <sup>c</sup>	2/42±0/05 <sup>c</sup>	0	12
0/32±0/05 <sup>b</sup>	0/68±0/04 <sup>c</sup>	0/22±0/08 <sup>ab</sup>	2/96±0/04 <sup>b</sup>	18/83±0/06 <sup>b</sup>	2/87±0/27 <sup>c</sup>	15/01±0/09 <sup>d</sup>	0/3±0/01 <sup>c</sup>	1/18±0/15 <sup>c</sup>	0/57±0/003 <sup>d</sup>	2/19±0/1 <sup>d</sup>	5	12
0/35±0/02 <sup>ab</sup>	0/79±0/05 <sup>b</sup>	0/2±0/00 <sup>ab</sup>	2/97±0/02 <sup>b</sup>	18/93±0/07 <sup>b</sup>	3/1±0/14 <sup>c</sup>	16/17±0/06 <sup>b</sup>	0/22±0/02 <sup>d</sup>	1/67±0/04 <sup>c</sup>	0/57±0/01 <sup>d</sup>	2/21±0/17 <sup>d</sup>	10	12

اعداد میانگین سه تکرار  $\pm$ SD هستند. حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون LSD می‌باشند.

در این مطالعه، افزایش جامدات محلول در تیمار نانوذرات اکسید روی به صورت پاششی را می‌توان به نقش روی در سنتز و انتقال کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌ها نسبت داد. این حقایق نشان می‌دهد که در دسترس بودن عنصر روی (به شکل نانوذره) برای گیاه، میزان غلظت آن، استفاده به صورت محلول‌پاشی طی مراحل اصلی رشد رویشی، مؤثرتر بوده و دارای اهمیت فیزیولوژیکی است، عملکردهایی که می‌توانند کیفیت محصولات را بهبود بخشند. افزایش میزان نیتروژن آلی (به عنوان جزء اصلی کلروفیل) در تیمارها،

تصدیق کننده افزایش کلروفیل است. نانوذرات بدلیل حلالیت پذیری بالا، ماهیت توزیع پذیری طبیعی و سایز کوچکشان، نه تنها باعث تسهیل انتقال در مسیرهای آپوپلاستی و سمپلاستی در سطح ریشه می شوند بلکه آنها را قادر می سازد که از سطح برگ عبور کرده و یونهای روی را در کوتیکول آزاد کنند. بهبود رشد گیاه شاهدانه می تواند در نتیجه اثر خود عنصر روی باشد که کوفاکتور بسیاری از آنزیمهای مهم درگیر در فعالیتهای فیزیولوژیکی و بیولوژیکی گیاه است.

### نتیجه گیری

نانوذرات اکسید روی در حضور و عدم حضور ملاتونین، به طور مثبت بر متابولیسم گیاه شاهدانه تأثیر گذاشت. افزایش متابولیتهای اولیه، کربوهیدراتها و پروتئین در تمامی تیمارها مشاهده شد. در دسترس بودن روی (به شکل نانوذره و استفاده به صورت پاششی) باعث تحریک متابولیسم اولیه و افزایش رشد در گیاه شاهدانه شده است. این نتایج تایید کننده تأثیر نانوذرات اکسید روی به تنهایی و همزمان با ملاتونین بعنوان فاکتور موثر بر روی کیفیت گیاه شاهدانه می باشد.

### منابع

- [1] Rossi, L., et al., *Effects of foliar application of zinc sulfate and zinc nanoparticles in coffee (Coffea arabica L.) plants*. Plant Physiology and Biochemistry, **2019**. 135: p. 160-166.
- [2] El-Zohri, M., N.A. Al-Wadaani, and S.O. Bafeel, *Foliar sprayed green zinc oxide nanoparticles mitigate drought-induced oxidative stress in tomato*. Plants, **2021**. 10(11): p. 2400.
- [3] Hussain, A., et al., *Zinc oxide nanoparticles alter the wheat physiological response and reduce the cadmium uptake by plants*. Environmental Pollution, **2018**. 242: p. 1518-1526.
- [4] Paredes, S.D., et al., *Phytomelatonin: a review*. Journal of experimental botany, **2009**. 60(1): p. 57-69.
- [5] Wang, Y., R.J. Reiter, and Z. Chan, *Phytomelatonin: a universal abiotic stress regulator*. Journal of Experimental Botany, ۲۰۱۸. ۶۹(۵): p. ۹۷۴-۹۶۳.
- [6] Datta, S., et al., *Wonder or evil?: multifaceted health hazards and health benefits of Cannabis sativa and its phytochemicals*. Saudi journal of biological sciences, **2021**. 28(12): p.
- [7] Lichtenthaler, H.K., *Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes*, in *Methods in enzymology*. **1987**, Elsevier. p. 350-382.
- [8] Hume-Rothery, W., *The structure of metals and alloys*. Indian Journal of Physics, **1969**. 11: p. 74-74.

## Investigating the effects of melatonin and zinc oxide nanoparticles on the primary metabolism of Cannabis sativa

Zakiyeh Poursheikhali<sup>1\*</sup>; Hakimeh Oloumi<sup>2</sup>; Amin Baghizadeh<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Master's degree in plant sciences, majoring in physiology, Department of Ecology, Graduate University of Industrial and Advanced Technology, Kerman

<sup>2</sup>Associate Professor of Plant Physiology, Department of Ecology, Graduate University of Industrial and Advanced Technology, Kerman

<sup>3</sup>Associate Professor of Plant Breeding, Department of Biotechnology, Graduate University of Industrial and Advanced Technology, Kerman

Author: zakiyehpoursheikhali@gmail.com

## Abstract

This research was carried out in the form of a completely randomized design with 3 replications in a factorial manner and in greenhouse conditions. In this experiment, the effects of melatonin hormone with a concentration of zero and 12 ppm in the presence of zinc oxide nanoparticles with concentrations of zero, 5 and 10 ppm on the primary metabolism of cannabis plants were investigated. The results showed that the treatment of zinc oxide nanoparticles in the presence and absence of melatonin had a positive effect on the primary metabolism of the *Cannabis sativa*. An increase in primary metabolites including carbohydrates, organic nitrogen and protein was observed in all treatments. The effect of zinc oxide nanoparticles treatment without the presence of melatonin on the measured traits was greater than its simultaneous use with melatonin. Despite the high level of zinc in the aerial parts of cannabis at the end of the experiment, no stress effects were observed. Availability of zinc in the early stages of vegetative growth improved the growth characteristics of the plant. Based on these results, the treatment of zinc oxide nanoparticles has a significant effect on the metabolism of the *Cannabis* plant and the growth characteristics of the *Cannabis sativa*. Therefore, the use of zinc oxide nanoparticles alone or simultaneously with melatonin is recommended to improve the morphophysiological characteristics of the *Cannabis sativa*.

**Keywords:** *Cannabis sativa*; Zinc oxide nanoparticles; Plant metabolism; Melatonin



## تاثیر پرایمینگ قارچ‌های ارتقاءدهنده‌ی رشد گیاه شامل: *G. Glomus fasciculatum*, *G. mosseae intraradices* به صورت منفرد و در ترکیب با عناصر ریزمغذی بر روی فلاونوئید و محتوای پروتئین و کربوهیدرات محلول کل در عدس رقم رباط

سعیده دهقانپور فراشاه\*

نویسنده مسئول: استادیار گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور تهران، ایران.

[sdfarashah@pnu.ac.ir](mailto:sdfarashah@pnu.ac.ir)

سهیلا پورمحمدی

دانشجوی کارشناسی ارشد، رشته ی علوم باغبانی، دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی ابهر

[pourmohamadisoheila@gmail.com](mailto:pourmohamadisoheila@gmail.com)

### چکیده

به‌منظور بررسی اثر پیش تیمار باکتری *Glomus fasciculatum*، *G. mosseae* (غلظت 5 در هزار) به صورت منفرد و در ترکیب با عناصر ریز مغذی (2 در هزار) بر روی فلاونوئید و محتوای پروتئین و کربوهیدرات محلول کل در عدس رقم رباط در سال زراعی 1401-1402، آزمایشی به صورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. نتایج نشان داد که پرایمینگ بذر عدس با قارچ‌های محرک رشد گیاهی مذکور به صورت منفرد و در ترکیب با عناصر ریزمغذی به‌طور معنی‌داری سبب افزایش روی فلاونوئید و محتوای پروتئین و کربوهیدرات محلول کل بوته گیاه شد. تیمار قارچ‌های محرک رشد در مخلوط با عناصر ریزمغذی اثر هم‌افزایی بیشتری در افزایش شاخص‌های فوق نسبت به تیمارهای منفرد قارچی و گیاهان کنترل منفی (بذرهای پرایمینگ نشده با تیمارهای فوق) در سطح احتمال 5 درصد داشت. با توجه به نقش و اهمیت قارچ‌های محرک رشد گیاه و عناصر ریزمغذی گیاهی در تغذیه و سلامت گیاه، بویژه در تولید محصولات سالم و ارگانیک، شناخت ویژگی‌ها و مکانیسم‌های تأثیر آنها بر گیاه، و نیز چالش‌های کاربرد آنها در شرایط مزرعه، در مدیریت استفاده از آنها ضرورت دارد.

### مقدمه

در خانواده حبوبات، عدس از گیاهان قدیمی تحت کشت توسط انسان به شمار می‌رود که سابقه آن به 13 هزار سال قبل از میلاد مسیح می‌رسد (Singh et al., 2014). طبق گزارش مرکز فناوری اطلاعات و ارتباطات وزارت جهاد کشاورزی در سال زراعی 1399-1400، سطح کشت محصولات زراعی در ایران حدود 12 میلیون هکتار بوده که از این مقدار حدود 1/7 درصد تحت کشت حبوبات بوده است. در میان حبوبات، سطح زیر کشت عدس به دو صورت آبی و دیم به ترتیب 4050 و 108386 هکتار بوده است (Parchami-Araghi et al., 2020). در پژوهشی گزارش شد از مجموع اراضی تحت کشت عدس در ایران، حدود 115 هزار تن

دانه عدس به دست می‌آید که میانگین عملکرد آن 511 کیلوگرم در هکتار می‌باشد (Nazemi *et al.*, 2011). به دلیل اینکه رشد گیاهچه در مرحله جوانه‌زنی متکی به مواد غذایی ذخیره شده در بذر است و علاوه بر مقدار ماده غذایی ذخیره‌ای کارایی و سرعت بکارگیری آن در فعالیت‌های متابولیکی گیاهچه می‌تواند بر سرعت و میزان رشد نهایی گیاهچه قبل از ورود به مرحله مستقل رشدی مؤثر باشد لذا استفاده از روش‌هایی نظیر پیش تیمار بذور برای بهبود جوانه‌زنی و استقرار مناسب گیاه، در شرایط نامساعد محیطی ضروری است (Aghashiry *et al.*, 2012). پیش تیمار بذر تکنیکی است که به واسطه آن بذور پیش از قرار گرفتن در بستر کشت از لحاظ فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی آمادگی جوانه‌زنی را به دست می‌آورند. این امر سبب تغییرات زیستی و فیزیولوژیکی زیادی در بذور و همچنین گیاه حاصل از آن می‌گردد. در نتیجه این عمل در جوانه‌زنی و استقرار اولیه گیاه، زودرسی و افزایش کمی و کیفی محصول قابل مشاهده می‌باشد (Seyed Dorraji *et al.*, 2010). گزارش‌های مختلف حاکی از آن است که پیش تیمار بذر باعث افزایش درصد، سرعت و یکنواختی جوانه‌زنی و سبز شدن بذر می‌گردد (Mao *et al.*, 2011). عدس با دارا بودن درصد قابل توجهی پروتئین و با توجه به غنی بودن از اسیدهای آمینه که مکمل پروتئینی خوبی برای غلات می‌باشد حائز اهمیت است. از سوی دیگر با توجه به پایین بودن عملکرد عدس در کشور که بیشتر بدلیل تشه‌های محیطی می‌باشد، مطالعه در زمینه بهبود تولید محصول عدس دارای اهمیت زیادی است (Aghashiry *et al.*, 2012). در این پژوهش به منظور بررسی اثر پیش تیمار باکتری *Glomus fasciculatum*، *G. intraradices*، *G. mosseae* (غلظت 5 در هزار) به صورت منفرد و در ترکیب با عناصر ریز مغذی (2 در هزار) فلاونوئید و محتوای پروتئین و کربوهیدرات محلول کل در عدس رقم رباط در سال زراعی 1401-1402، آزمایشی به صورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در شرایط گلخانه‌ای اجرا شد.

## مواد و روش‌ها

### طرح آزمایش، اعمال تیمارها و اندازه‌گیری فلاونوئید، محتوای کربوهیدرات و پروتئین محلول بوته

به منظور بررسی اثر پیش تیمار باکتری *Glomus fasciculatum*، *G. intraradices*، *G. mosseae* (غلظت 5 در هزار) به صورت منفرد و در ترکیب با عناصر ریز مغذی (2 در هزار) بر محتوای فلاونوئید، محتوای کربوهیدرات و پروتئین محلول بوته، بذر عدس رقم رباط در شرایط گلخانه‌ای پیش تیمار و این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با 3 تکرار انجام شد. ابتدا بستر کشت برای کاشت بذرهای عدس آماده و خاک قابل کشت به مدت 1 ساعت در دمای 121 درجه‌ی سلسیوس تحت فشار 1/5 اتمسفر ضد عفونی شد و به لیوان‌های کاغذی انتقال یافت. سپس بذرهای عدس پس از ضد عفونی سطحی با هیپوکلریت سدیم 1 درصد و آبکشی، کشت شدند. حدود 2 هفته پس از کشت، نشاها به گلدان‌های اصلی در جعبه‌های شیشه‌ای جهت ممانعت از ورود حشرات ناقل منتقل شدند. در مرحله‌ی 4 هفتگی کامل بوته‌های عدس با تیمارهای مذکور پرایمینگ (پیش تیمار) شدند. جهت بررسی محتوای کل کلروفیل (Lichtenthaler and Wellburn, 1983)، محتوای نسبی آب بوته (Shirvanshah *et al.*, 2018) و فنل کل گیاه (Alara *et al.*, 2021) تر در گیاهان تیمار شده و شاهد (بدون تیمار)، 7، 14 و 21 روز پس از اعمال تیمارها انجام شد. به منظور تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه 25 استفاده شد. برای بررسی اثر تیمارهای مورد مطالعه برخی شاخص‌های رویشی از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون توکی استفاده شد. برای رسم نمودارها نیز از نرم‌افزار Genex6 استفاده شد.

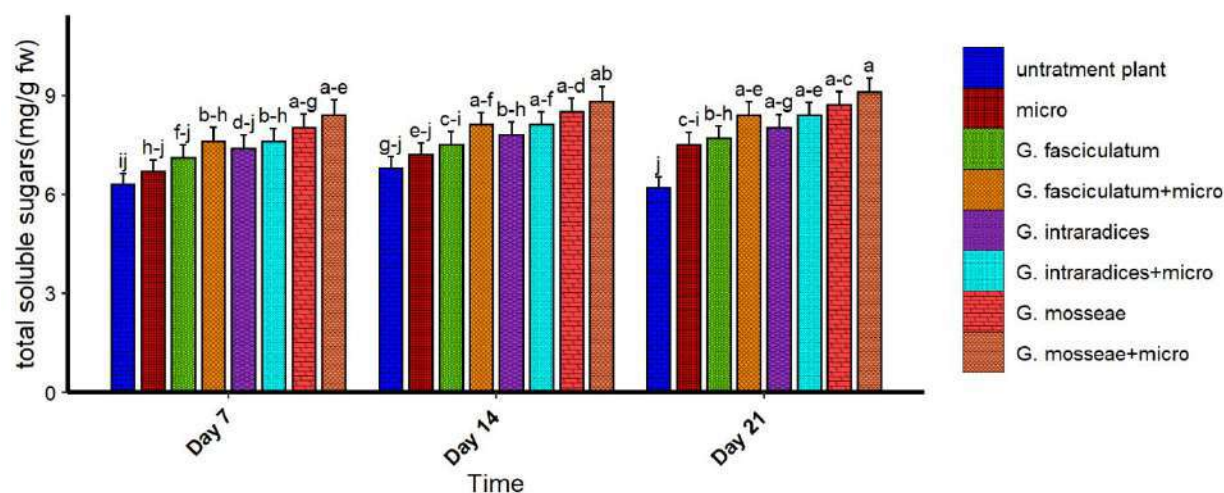
## نتایج

### محتوای کربوهیدرات محلول

در این آزمون، افزایش معنی داری در محتوای کربوهیدرات محلول در تمامی بذره‌های عدس پیش تیمار شده با *Glomus fasciculatum*، *G. mosseae*، *intraradices* (غلظت 5 در هزار) به صورت منفرد و به خصوص در ترکیب با عناصر ریز مغذی (2 در هزار) در بذره‌های پرایمینگ شده نسبت به گیاهان شاهد مشاهده شد. در بذره‌های تیمار شده افزایش محتوای کربوهیدرات محلول از هفته‌ی اول به خصوص هفته‌های دوم و سوم در سطح احتمال 5 درصد نسبت به شاهد (بوته‌های تیمار نشده با ترکیبات فوق) مشاهده گردید. در تیمارهای منفرد بیشترین تاثیر پرایمینگ تیمارها به ترتیب مربوط به تیمار *G. mosseae*، سپس *G. intraradices* و بعد از آن در *Glomus fasciculatum* و در نهایت تیمار عناصر ریز مغذی نسبت به شاهد (بدون تیمار) بود. به همین ترتیب در تیمارهای قارچی در ترکیب با عناصر ریز مغذی تاثیر هم افزایی محتوای کربوهیدرات محلول داشتند (جداول 1 و شکل 1).

جدول 1- بررسی اثر پیش تیمار باکتری *Glomus fasciculatum*، *G. intraradices*، *G. mosseae* (غلظت 5 در هزار) به صورت منفرد و در ترکیب با عناصر ریز مغذی (2 در هزار) بر محتوای کربوهیدرات محلول

parameters	Df	Sum.Sq	Mean.Sq	F.value	p
Time	2	4.89250	2.44625	15.5718	0.00001
Treatment	7	34.47875	4.92554	31.35389	0.00000
interaction	14	1.30750	0.09339	0.5945	0.85590
Residuals	48	7.54055	0.15709		



شکل 1- نمودار بررسی اثر پیش تیمار باکتری *Glomus fasciculatum*، *G. intraradices*، *G. mosseae* (غلظت 5 در هزار) به صورت

منفرد و در ترکیب با عناصر ریز مغذی (2 در هزار) بر محتوای کلروفیل گیاه

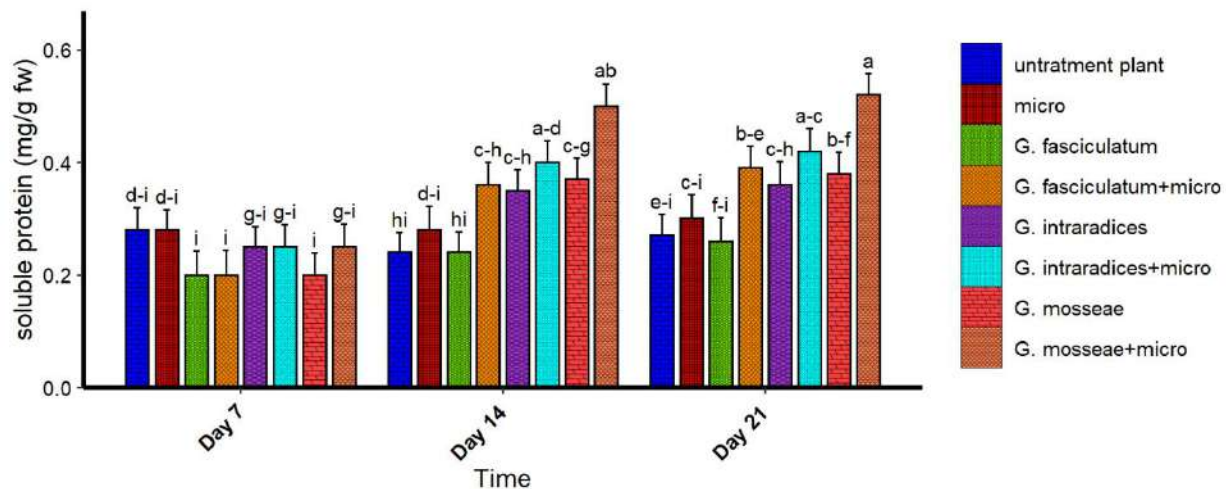
### محتوای پروتئین محلول کل

در این آزمون، افزایش معنی داری در محتوای پروتئین محلول کل در تمامی بذره‌های عدس پیش تیمار شده با *Glomus fasciculatum*، *G. mosseae*، *intraradices* (غلظت 5 در هزار) به صورت منفرد و به خصوص در ترکیب با عناصر ریز مغذی (2 در هزار) در بذره‌های پرایمینگ شده نسبت به گیاهان شاهد مشاهده شد. در بذره‌های تیمار شده افزایش محتوای پروتئین محلول کل از هفته‌ی اول تا هفته‌ی سوم ادامه داشته و در سطح احتمال 5 درصد نسبت به شاهد (بوت‌های تیمار نشده با ترکیبات فوق) مشاهده گردید. در تیمارهای منفرد بیشترین تاثیر پرایمینگ قارچ در محتوای پروتئین محلول کل به ترتیب مربوط به تیمار *G. mosseae*، سپس *G. intraradices* و بعد از آن *Glomus fasciculatum* و در نهایت تیمار عناصر ریز مغذی بود. به همین ترتیب در تیمارهای قارچی در ترکیب با عناصر ریز مغذی به خصوص در ترکیب *G. mosseae* + عناصر ریز مغذی تاثیر هم‌افزایی بر محتوای پروتئین محلول کل بوت‌ها داشتند. و روند افزایش محتوای پروتئین محلول کل بوت‌ها در هفته‌ی اول تا سوم (با گذشت زمان) نسبت به یکدیگر در سطح احتمال 5 درصد در برخی تیمارها مخصوصاً تیمارهای مخلوط در سطح 5 درصد معنادار بود. (جداول 2 و شکل 2).

جدول 2- بررسی اثر پیش تیمار باکتری *Glomus fasciculatum*، *G. intraradices*، *G. mosseae* (غلظت 5 در هزار) به صورت منفرد و

در ترکیب با عناصر ریز مغذی (2 در هزار) بر محتوای پروتئین محلول کل

parameters	Df	Sum.Sq	Mean.Sq	F.value	p
Time	2	0.21182	0.10591	68.12095	0.00000
Treatment	7	0.21279	0.03040	19.55157	0.00000
interaction	14	0.13098	0.00936	6.01719	0.00000
Residuals	48	0.07463	0.00155		



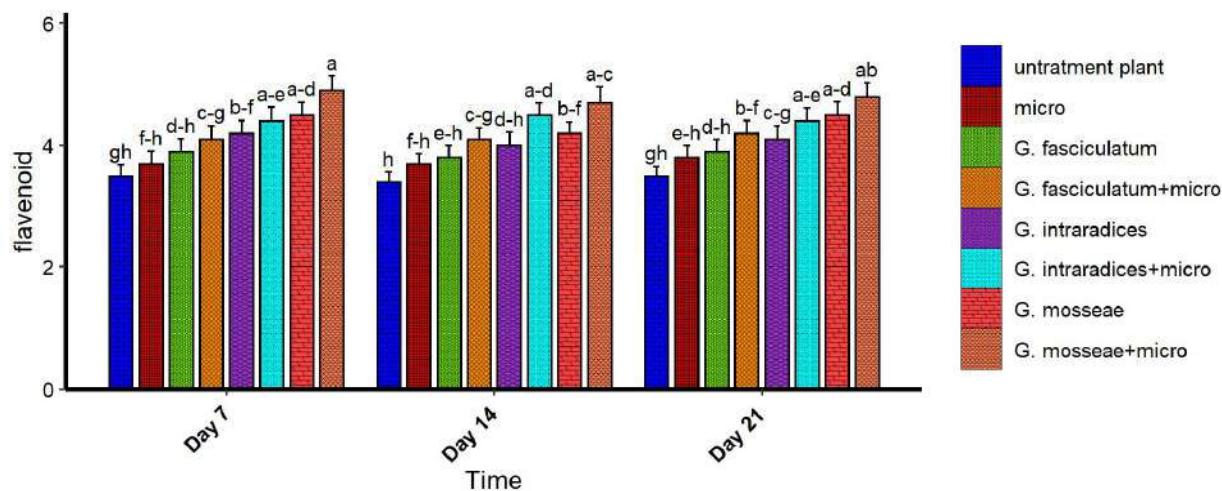
شکل 2- نمودار بررسی اثر پیش تیمار باکتری *Glomus fasciculatum*، *G. intraradices*، *G. mosseae* (غلظت 5 در هزار) به صورت منفرد و در ترکیب با عناصر ریز مغذی (2 در هزار) بر محتوای پروتئین محلول کل

### محتوای فلاونوئید بوته

در این آزمون، افزایش معنی داری در محتوای فلاونوئید بوته در تمامی بذره‌های عدس پیش تیمار شده با *Glomus fasciculatum*، *G. intraradices*، *G. mosseae* (غلظت 5 در هزار) و عناصر ریز مغذی (2 در هزار) نسبت به گیاهان شاهد و تیمار نشده مشاهده شد. در بذره‌های تیمار شده با قارچها نسبت به هم تفاوت معناداری در افزایش محتوای فلاونوئید بوته نسبت به همدیگر در سطح احتمال 5 درصد در هفته ی دوم و سوم در برخی تیمارهای مخصوصا تیمارهای منفرد مشاهده نشد (جدول 3 و شکل 2).

جدول 3- بررسی اثر پیش تیمار باکتری *Glomus fasciculatum*، *G. intraradices*، *G. mosseae* (غلظت 5 در هزار) به صورت منفرد و در ترکیب با عناصر ریز مغذی (2 در هزار) بر محتوای فلاونوئید بوته

parameters	Df	Sum.Sq	Mean.Sq	F.value	P
Time	2	0.160	0.08000	1.85328	0.16776
Treatment	7	11.520	1.64571	38.1246	0.00000
interaction	14	0.240	0.01714	0.39713	0.96904
Residuals	48	2.072	0.04317		



جدول 3- نمودار بررسی اثر پیش تیمار باکتری *Glomus fasciculatum*، *G. intraradices*، *G. mosseae* (غلظت 5 در هزار) به صورت منفرد و در ترکیب با عناصر ریز مغذی (2 در هزار) بر محتوای فلاونوئید بوته

### نتیجه گیری کلی

نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که افزایش معنی‌داری در فلاونوئید و محتوای پروتئین و کربوهیدرات محلول کل در عدس رقم رباط در تمامی بذره‌های عدس پیش‌تیمار شده با *G. mosseae*، *G. intraradices*، *Glomus fasciculatum* (غلظت 5 در هزار) و عناصر ریز مغذی به صورت منفرد و به خصوص در ترکیب با عناصر ریز مغذی (2 در هزار) در بذره‌های پرایمینگ شده نسبت به گیاهان شاهد در سطح احتمال 5 درصد مشاهده شد. نتایج افزایش رشد حاصل در عدس بیانگر موثر بودن نقش این ترکیبات داشته است، ازسویی با در نظر گرفتن مزایای زیست‌محیطی قارچهای محرک رشد گیاهی در همکاری با عناصر ریزمغذی و همچنین هزینه‌های فراوان سموم شیمیایی از نظر اقتصادی و هزینه‌های جبران‌ناپذیر زیست‌محیطی آنها، می‌توان تیمارهای فوق را در جهت افزایش تولید عدس مورد استفاده قرار داد.

### تشکر و قدردانی

از تمام دوستانی که در انجام این پروژه اینجانب را یاری نمودند سپاسگزارم.

**Aghashiry, S.A.A., Kordlaghari, K.P., Rahimi, A. and Shefazadeh, M.K., 2012.** Effects of different levels of منابع potassium soleplate and super-absorbent on yield and yield components of wheat in the Boyerahmad region. *International Journal of AgriScience*, 2(6), pp.505-510.

**Alara, O.R., Abdurahman, N.H. and Ukaegbu, C.I., 2021.** Extraction of phenolic compounds: A review. *Current Research in Food Science*, 4, pp.200-214.

**Shivakrishna, P., Reddy, K.A. and Rao, D.M., 2018.** Effect of PEG-6000 imposed drought stress on RNA content, relative water content (RWC), and chlorophyll content in peanut leaves and roots. *Saudi journal of biological sciences*, 25(2), pp.285-289.

**Seyed Dorraji, S., Golchin, A. and Ahmadi, S., 2010.** The Effects of Different Levels of a Superabsorbent Polymer and Soil. *Water and Soil*, 24(2).

**Lichtenthaler, H.K. and Wellburn, A.R., 1983.** Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents.

**Mao, S., Islam, M.R., Xue, X., Yang, X., Zhao, X. and Hu, Y., 2011.** Evaluation of a water-saving superabsorbent polymer for corn (*Zea mays* L.) production in arid regions of Northern China. *African Journal of Agricultural Research*, 6(17), pp.4108-4115.

**Nezami, A., Bagheri, A.R., Porsa, H., Zafranieh, M. and Khamadi, N., 2010.** Evaluation of cold tolerant lentil genotypes (*Lens culinaris* Medik.) in fall planting under supplementary irrigation. *Iranian Journal Pulses Research*, 1(2).

**Parchami-Araghi, F. and Haghayeghi-Moghaddam, S.A., 2023.** Assessment of applied water and irrigation performance indicators in winter barley (a case study: Ardabil province, Iran). *Iranian Journal of Soil and Water Research*, 54(4), pp.559-578.

Singh, S. (2014). PM Gaur, SK Chaturvedi, NP Singh, and JS Sandhu. *Broadening the genetic base of grain legumes*, 51.

## نقش پیش تیمار برخی از قارچ‌های ارتقاءدهنده‌ی رشد گیاه به صورت منفرد و در ترکیب با عناصر ریزمغذی بر روی محتوای کلروفیل کل، آب نسبی و فنول در عدس رقم رباط

سعیده دهقانپور فرآشاه\*

نویسنده مسئول: استادیار گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور تهران، ایران.

[sdfarashah@pnu.ac.ir](mailto:sdfarashah@pnu.ac.ir)

سهیلا پورمحمدی

دانشجوی کارشناسی ارشد، رشته ی علوم باغبانی، دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی اهر

[pourmohamadisoheila@gmail.com](mailto:pourmohamadisoheila@gmail.com)

### چکیده

به منظور بررسی اثر پیش تیمار باکتری *Glomus fasciculatum*، *G. intraradices*، *G. mosseae* (غلظت 5 در هزار) به صورت منفرد و در ترکیب با عناصر ریز مغذی (2 در هزار) بر روی محتوای کلروفیل، آب نسبی بوته و محتوای فنل کل عدس رقم رباط در سال زراعی 1402-1401، آزمایشی به صورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. نتایج نشان داد که پرایمینگ قارچ‌های محرک رشد گیاهی مذکور به صورت منفرد و در ترکیب با عناصر ریزمغذی به طور معنی‌داری سبب افزایش محتوای کلروفیل، محتوای آب نسبی گیاه و فنل کل بوته گیاه شد. تیمار قارچ‌های محرک رشد با عناصر ریزمغذی اثر هم‌افزایی بیشتری در افزایش محتوای کلروفیل و محتوای آب نسبی گیاه در هفته‌های دوم و سوم نسبت به تیمارهای منفرد قارچی و گیاهان کنترل منفی (بذرهای پرایمینگ نشده با تیمارهای فوق) در سطح احتمال 5 درصد داشت. با توجه به نقش و اهمیت قارچ‌های محرک رشد گیاه و عناصر ریزمغذی گیاهی در تغذیه و سلامت گیاه، بویژه در تولید محصولات سالم و ارگانیک، شناخت ویژگی‌ها و مکانیسم‌های تأثیر آنها بر گیاه، و نیز چالش‌های کاربرد آنها در شرایط مزرعه، در مدیریت استفاده از آنها ضرورت دارد.

### مقدمه

در خانواده حبوبات، عدس از گیاهان قدیمی تحت کشت توسط انسان به شمار می‌رود که سابقه آن به 13 هزار سال قبل از میلاد مسیح می‌رسد (Singh et al., 2014). طبق گزارش مرکز فناوری اطلاعات و ارتباطات وزارت جهاد کشاورزی در سال زراعی 1399-1400، سطح کشت محصولات زراعی در ایران حدود 12 میلیون هکتار بوده که از این مقدار حدود 1/7 درصد تحت کشت حبوبات بوده است. در میان حبوبات، سطح زیر کشت عدس به دو صورت آبی و دیم به ترتیب 4050 و 108386 هکتار بوده است (Parchami-Araghi et al., 2020). در پژوهشی گزارش شد از مجموع اراضی تحت کشت عدس در ایران، حدود 115 هزار تن دانه عدس به دست می‌آید که میانگین عملکرد آن 511 کیلوگرم در هکتار می‌باشد (Nazemi et al., 2011). به دلیل اینکه رشد گیاهچه در مرحله جوانه‌زنی متکی به مواد غذایی ذخیره شده در بذر است و علاوه بر مقدار ماده غذایی ذخیره‌ای کارایی و سرعت

بکارگیری آن در فعالیتهای متابولیکی گیاهچه می تواند بر سرعت و میزان رشد نهایی گیاهچه قبل از ورود به مرحله مستقل رشدی مؤثر باشد لذا استفاده از روش هایی نظیر پیش تیمار بذور برای بهبود جوانه زنی و استقرار مناسب گیاه، در شرایط نامساعد محیطی ضروری است (Aghashiry *et al.*, 2012). پیش تیمار بذر تکنیکی است که به واسطه آن بذور پیش از قرار گرفتن در بستر کشت از لحاظ فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی آمادگی جوانه زنی را به دست می آورند. این امر سبب تغییرات زیستی و فیزیولوژیکی زیادی در بذور و همچنین گیاه حاصل از آن می گردد. در نتیجه این عمل در جوانه زنی و استقرار اولیه گیاه، زودرسی و افزایش کمی و کیفی محصول قابل مشاهده می باشد (Seyed Dorraji *et al.*, 2010). گزارش های مختلف حاکی از آن است که پیش تیمار بذر باعث افزایش درصد، سرعت و یکنواختی جوانه زنی و سبز شدن بذر می گردد (Mao *et al.*, 2011). در این پژوهش به منظور بررسی اثر پیش تیمار باکتری *Glomus fasciculatum*، *G. intraradices*، *G. mosseae* (غلظت 5 در هزار) به صورت منفرد و در ترکیب با عناصر ریز مغذی (2 در هزار) بر محتوای وزن تر و رشد رویشی عدس رقم رباط در سال زراعی 1401-1402، آزمایشی به صورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با سه تکرار در شرایط گلخانه ای اجرا شد.

#### مواد و روش ها

##### طرح آزمایش، اعمال تیمارها و اندازه گیری محتوای کلروفیل، فنول و محتوای آب نسبی بوته

به منظور بررسی اثر پیش تیمار باکتری *Glomus fasciculatum*، *G. intraradices*، *G. mosseae* (غلظت 5 در هزار) به صورت منفرد و در ترکیب با عناصر ریز مغذی (2 در هزار) بر محتوای وزن تر و رشد رویشی عدس رقم رباط بر روی صفات رویشی، بذر عدس رقم رباط در شرایط گلخانه ای پیش تیمار و این آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی با 3 تکرار انجام شد. ابتدا بستر کشت برای کاشت بذره های عدس آماده و خاک قابل کشت به مدت 1 ساعت در دمای 121 درجه ی سلسیوس تحت فشار 1/5 اتمسفر ضد عفونی شد و به لیوان های کاغذی انتقال یافت. سپس بذره های عدس پس از ضد عفونی سطحی با هیپوکلریت سدیم 1 درصد و آبکشی، کشت شدند. حدود 2 هفته پس از کشت، نشاها به گلدان های اصلی در جعبه های شیشه ای جهت ممانعت از ورود حشرات ناقل منتقل شدند. در مرحله ی 4 هفتگی کامل بوته های عدس با تیمارهای مذکور پرایمینگ (پیش تیمار) شدند. جهت بررسی محتوای کل کلروفیل (Lichtenthaler and Wellburn, 1983)، محتوای نسبی آب بوته (Shirvanshah *et al.*, 2018) و فنل کل گیاه (Alara *et al.*, 2021) تر در گیاهان تیمار شده و شاهد (بدون تیمار)، 7، 14 و 21 روز پس از اعمال تیمارها انجام شد. به منظور تجزیه و تحلیل آماری داده ها از نرم افزار SPSS نسخه 25 استفاده شد. برای بررسی اثر تیمارهای مورد مطالعه برخی شاخص های رویشی از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه و برای مقایسه میانگین ها از آزمون توکی استفاده شد. برای رسم نمودارها نیز از نرم افزار Genex6 استفاده شد.

#### نتایج

##### محتوای کلروفیل کل

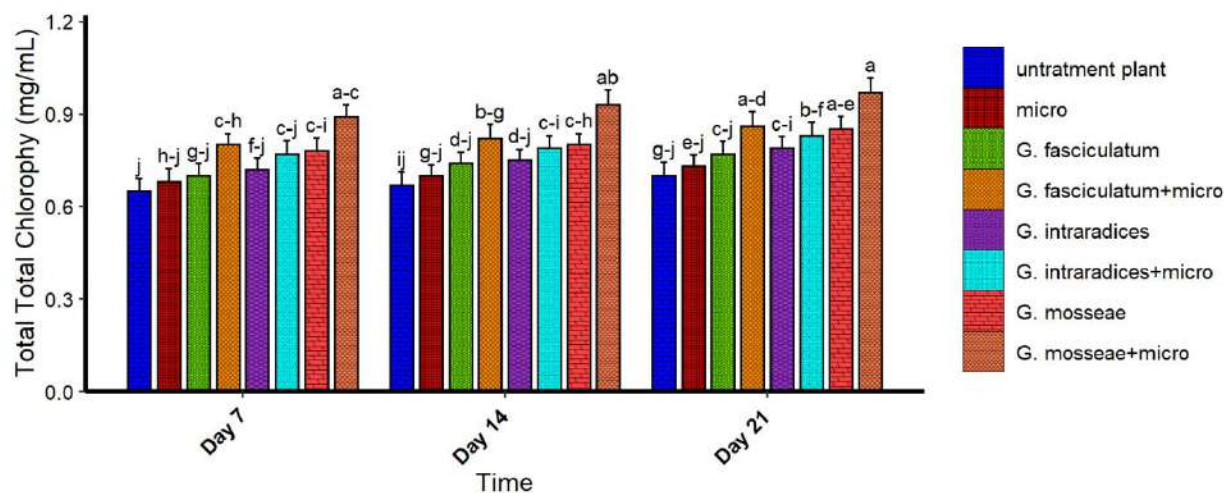
در این آزمون، افزایش معنی داری در محتوای کلروفیل کل در تمامی بذره های عدس پیش تیمار شده با *Glomus fasciculatum*، *G. intraradices*، *G. mosseae* (غلظت 5 در هزار) به صورت منفرد و به خصوص در ترکیب با عناصر ریز مغذی (2 در هزار) در بذره های پرایمینگ شده نسبت به گیاهان شاهد مشاهده شد. در بذره های تیمار شده افزایش محتوای کلروفیل کل از هفته ی اول به خصوص هفته های دوم



و سوم در سطح احتمال 5 درصد نسبت به شاهد (بوته‌های تیمار نشده با ترکیبات فوق) مشاهده گردید. در تیمارهای منفرد بیشترین تاثیر پرایمینگ تیمارها به ترتیب مربوط به تیمار *G. mosseae*، سپس *G. intraradices* و بعد از آن در *Glomus fasciculatum* و در نهایت تیمار عناصر ریز مغذی نسبت به شاهد (بدون تیمار) بود. به همین ترتیب در تیمارهای قارچی در ترکیب با عناصر ریز مغذی تاثیر هم افزایی بر محتوای کلروفیل کل داشتند (جداول 1 و شکل 1).

جدول 1- بررسی اثر پیش تیمار باکتری *Glomus fasciculatum*، *G. intraradices*، *G. mosseae* (غلظت 5 در هزار) به صورت منفرد و در ترکیب با عناصر ریز مغذی (2 در هزار) بر محتوای کلروفیل کل گیاه

parameters	Df	Sum.Sq	Mean.Sq	F.value	p
Time	2	0.04927	0.02464	14.61671	0.00001
Treatment	7	0.41119	0.05874	34.84936	0.00000
interaction	14	0.00173	0.00012	0.0731	1.00000
Residuals	48	0.08091	0.00169		



شکل 1- نمودار بررسی اثر پیش تیمار باکتری *Glomus fasciculatum*، *G. intraradices*، *G. mosseae* (غلظت 5 در هزار) به صورت منفرد و در ترکیب با عناصر ریز مغذی (2 در هزار) بر محتوای کلروفیل کل گیاه

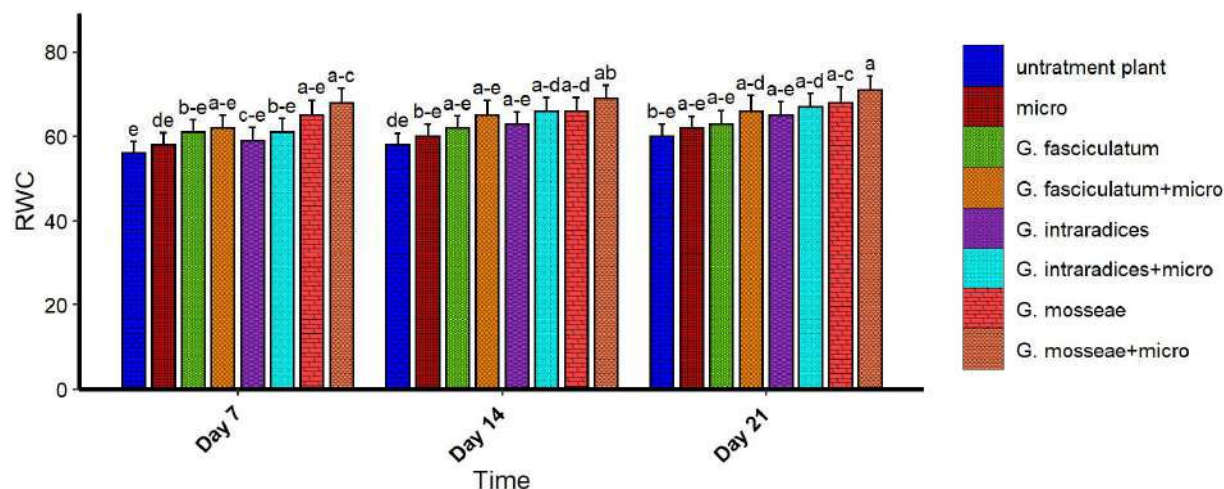
محتوای نسبی آب (RWC)

در این آزمون، افزایش معنی داری در محتوای نسبی آب در تمامی بذره‌های عدس پیش تیمار شده با *Glomus fasciculatum*، *G. intraradices*، *G. mosseae* (غلظت 5 در هزار) به صورت منفرد و به خصوص در ترکیب با عناصر ریز مغذی (2 در هزار) در بذره‌های پرایمینگ شده نسبت به گیاهان شاهد مشاهده شد. در بذره‌های تیمار شده افزایش محتوای نسبی آب از هفته‌ی اول تا هفته‌ی سوم ادامه داشته و در سطح احتمال 5 درصد نسبت به شاهد (بوته‌های تیمار نشده با ترکیبات فوق) مشاهده گردید. در تیمارهای منفرد بیشترین تاثیر پرایمینگ

قارچ در رشد طولی ریشه به ترتیب مربوط به تیمار *G. mosseae*، سپس *G. intraradices* و بعداً از آن *Glomus fasciculatum* و در نهایت تیمار عناصر ریز مغذی بود. به همین ترتیب در تیمارهای قارچی در ترکیب با عناصر ریز مغذی به خصوص در ترکیب *G. mosseae* + عناصر ریز مغذی تأثیر هم‌افزایی بر افزایش طول بوته داشتند. ولی روند افزایش رشد طولی بوته در هفته‌ی اول تا سوم (با گذشت زمان) نسبت به یکدیگر در سطح احتمال 5 درصد در برخی تیمارها مخصوصاً تیمارهای مخلوط در سطح 5 درصد معنادار بود. (جدول 2 و شکل 2).

جدول 2- بررسی اثر پیش تیمار باکتری *Glomus fasciculatum*، *G. intraradices*، *G. mosseae* (غلظت 5 در هزار) به صورت منفرد و در ترکیب با عناصر ریز مغذی (2 در هزار) بر محتوای نسبی آب بوته

parameters	Df	Sum.Sq	Mean.Sq	F.value	P
Time	2	194.250	97.12500	9.75711	0.00028
Treatment	7	810.875	115.83929	11.63714	0.00000
interaction	14	31.750	2.26786	0.22783	0.99793
Residuals	48	477.805	9.95428		



شکل 2- نمودار بررسی اثر پیش تیمار باکتری *Glomus fasciculatum*، *G. intraradices*، *G. mosseae* (غلظت 5 در هزار) به صورت منفرد و در ترکیب با عناصر ریز مغذی (2 در هزار) بر رشد طولی ریشه

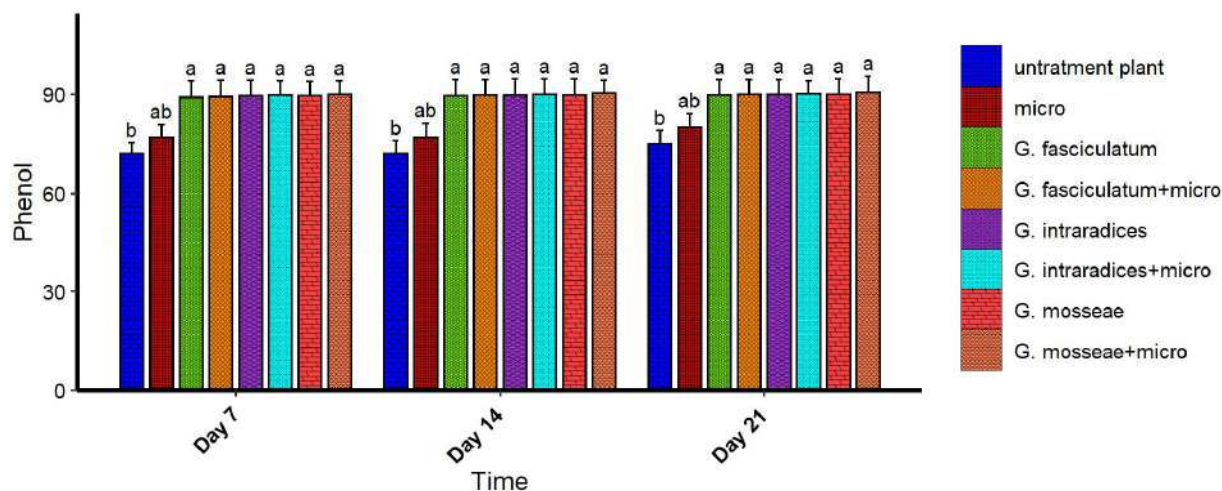
## محتوای فنل کل

در این آزمون، افزایش معنی‌داری در محتوای فنل بوته در تمامی بذره‌های عدس پیش تیمار شده با *Glomus fasciculatum*، *G. intraradices*، *G. mosseae* (غلظت 5 در هزار) و عناصر ریز مغذی (2 در هزار) نسبت به گیاهان شاهد و تیمار نشده مشاهده شد. در بذره‌های تیمار شده با قارچها نسبت به هم تفاوت معناداری در افزایش محتوای فنل نسبت به همدیگر در سطح احتمال 5 درصد از هفته‌ی اول تا سوم مشاهده نشد.

در صورتیکه پیش تیمار بذر با قارچهای محرک رشد فوق نسبت به پرایمینگ آن با عناصر غذایی ریز مغذی باعث افزایش محتوای فنل کل گیاه در سطح احتمال 5 درصد شد. (جدول 3 و شکل 2).

**جدول 3-** بررسی اثر پیش تیمار باکتری *Glomus fasciculatum*، *G. intraradices*، *G. mosseae* (غلظت 5 در هزار) به صورت منفرد و در ترکیب با عناصر ریز مغذی (2 در هزار) بر محتوای فنل کل بوته

parameters	Df	Sum.Sq	Mean.Sq	F.value	p
Time	2	17.3149	8.65745	0.43977	0.64676
Treatment	7	2889.6334	412.80477	20.96901	0.00000
interaction	14	21.3803	1.52716	0.07757	1.00000
Residuals	48	944.9480	19.68642		



**جدول 3-** نمودار بررسی اثر پیش تیمار باکتری *Glomus fasciculatum*، *G. intraradices*، *G. mosseae* (غلظت 5 در هزار) به صورت منفرد و در ترکیب با عناصر ریز مغذی (2 در هزار) بر محتوای فنل کل بوته

### نتیجه گیری کلی

نتایج حاصل از این تحقیق نشان می دهد که افزایش معنی داری در محتوای کلروفیل، آب نسبی بوته و محتوای فنل کل گیاه در تمامی بذرهایی عدس پیش تیمار شده با *Glomus fasciculatum*، *G. intraradices*، *G. mosseae* (غلظت 5 در هزار) و عناصر ریز مغذی به صورت منفرد و به خصوص در ترکیب با عناصر ریز مغذی (2 در هزار) در بذرهایی پرایمینگ شده نسبت به گیاهان شاهد در سطح احتمال 5 درصد مشاهده شد. نتایج افزایش رشد حاصل در عدس بیانگر موثر بودن نقش این ترکیبات داشته است، ازسویی با در نظر گرفتن مزایای زیست محیطی قارچهای محرک رشد گیاهی در همکاری با عناصر ریز مغذی و همچنین هزینه های فراوان سموم شیمیایی از نظر اقتصادی و هزینه های جبران ناپذیر زیست محیطی آنها، می توان تیمارهای فوق را در جهت افزایش تولید عدس مورد استفاده قرار داد.

### تشکر و قدردانی

از تمام دوستانی که در انجام این پروژه اینجانب را یاری نمودند سپاسگزارم.

## منابع

- Aghashiry, S.A.A., Kordlaghari, K.P., Rahimi, A. and Shefazadeh, M.K., 2012.** Effects of different levels of potassium soleplate and super-absorbent on yield and yield components of wheat in the Boyerahmad region. *International Journal of AgriScience*, 2(6), pp.505-510.
- Alara, O.R., Abdurahman, N.H. and Ukaegbu, C.I., 2021.** Extraction of phenolic compounds: A review. *Current Research in Food Science*, 4, pp.200-214.
- Shivakrishna, P., Reddy, K.A. and Rao, D.M., 2018.** Effect of PEG-6000 imposed drought stress on RNA content, relative water content (RWC), and chlorophyll content in peanut leaves and roots. *Saudi journal of biological sciences*, 25(2), pp.285-289.
- Seyed Dorraji, S., Golchin, A. and Ahmadi, S., 2010.** The Effects of Different Levels of a Superabsorbent Polymer and Soil. *Water and Soil*, 24(2).
- Lichtenthaler, H.K. and Wellburn, A.R., 1983.** Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents.
- Mao, S., Islam, M.R., Xue, X., Yang, X., Zhao, X. and Hu, Y., 2011.** Evaluation of a water-saving superabsorbent polymer for corn (*Zea mays* L.) production in arid regions of Northern China. *African Journal of Agricultural Research*, 6(17), pp.4108-4115.
- Nezami, A., Bagheri, A.R., Porsa, H., Zafranieh, M. and Khamadi, N., 2010.** Evaluation of cold tolerant lentil genotypes (*Lens culinaris* Medik.) in fall planting under supplementary irrigation. *Iranian Journal Pulses Research*, 1(2).
- Parchami-Araghi, F. and Haghayeghi-Moghaddam, S.A., 2023.** Assessment of applied water and irrigation performance indicators in winter barley (a case study: Ardabil province, Iran). *Iranian Journal of Soil and Water Research*, 54(4), pp.559-578.
- Singh, S. (2014). PM Gaur, SK Chaturvedi, NP Singh, and JS Sandhu. *Broadening the genetic base of grain legumes*, 51.

## بررسی برخی صفات مورفولوژیکی عدس رقم رباط در پیش تیمار منفرد و ترکیبی عناصر

### ریزمغذی با قارچهای بهبوددهندهی رشد گیاهی

سهیلا پورمحمدی: نویسنده مسئول: دانشجوی کارشناسی ارشد، رشته ی علوم باغبانی، دانشکدهی کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی ابهر

[pourmohamadisoheila@gmail.com](mailto:pourmohamadisoheila@gmail.com)

سعیده دهقانپور فریاد: استادیار گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور تهران، ایران. [sdfarashah@pnu.ac.ir](mailto:sdfarashah@pnu.ac.ir)

#### چکیده

به منظور بررسی اثر پیش تیمار باکتری *Glomus fasciculatum*، *G. intraradices*، *G. mosseae* (غلظت 5 در هزار) به صورت منفرد و در ترکیب با عناصر ریز مغذی (2 در هزار) بر روی برخی صفات مورفولوژیکی عدس رقم رباط (وزن تر بوته، طول بوته و طول ریشه) در سال زراعی 1401-1402، آزمایشی به صورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. نتایج نشان داد که پرایمینگ قارچ های محرک رشد گیاهی مذکور به صورت منفرد و در ترکیب با عناصر ریزمغذی به طور معنی داری سبب افزایش رشد رویشی و وزن تر گیاه تک بوته ها شد. تیمار قارچهای محرک رشد با عناصر ریزمغذی اثر هم افزایی بیشتری در افزایش رشد رویشی و وزن تر گیاه مخصوصا در هفته های دوم و سوم نسبت به تیمارهای منفرد قارچی و گیاهان کنترل منفی (بذرهای پرایمینگ نشده با تیمارهای فوق) در سطح احتمال 5 درصد داشت. با توجه به نقش و اهمیت قارچهای محرک رشد گیاه و عناصر ریزمغذی گیاهی در تغذیه و سلامت گیاه، بویژه در تولید محصولات سالم و ارگانیک، شناخت ویژگی ها و مکانیسم های تأثیر آنها بر گیاه، و نیز چالش های کاربرد آنها در شرایط مزرعه، در مدیریت استفاده از آنها ضرورت دارد.

#### مقدمه

در خانواده حبوبات، عدس از گیاهان قدیمی تحت کشت توسط انسان به شمار می رود که سابقه آن به 13 هزار سال قبل از میلاد مسیح می رسد (Singh et al., 2014). طبق گزارش مرکز فناوری اطلاعات و ارتباطات وزارت جهاد کشاورزی در سال زراعی 1399-1400، سطح کشت محصولات زراعی در ایران حدود 12 میلیون هکتار بوده که از این مقدار حدود 1/7 درصد تحت کشت حبوبات بوده است. در میان حبوبات، سطح زیر کشت عدس به دو صورت آبی و دیم به ترتیب 4050 و 108386 هکتار بوده است (Parchami-Araghi et al., 2020). در پژوهشی گزارش شد از مجموع اراضی تحت کشت عدس در ایران، حدود 115 هزار تن دانه عدس به دست می آید که میانگین عملکرد آن 511 کیلوگرم در هکتار می باشد (Nazemi et al., 2011). به دلیل اینکه رشد گیاهیچه در مرحله جوانه زنی متکی به مواد غذایی ذخیره شده در بذر است و علاوه بر مقدار ماده غذایی ذخیره ای کارایی و سرعت بکارگیری آن در فعالیت های متابولیکی گیاهیچه می تواند بر سرعت و میزان رشد نهایی گیاهیچه قبل از ورود به مرحله مستقل رشدی مؤثر باشد لذا استفاده از روش هایی نظیر پیش تیمار بذور برای بهبود جوانه زنی و استقرار مناسب گیاه، در شرایط نامساعد محیطی ضروری است (Aghashiry et al., 2012). پیش تیمار بذر تکنیکی است که به واسطه آن بذور پیش از قرار گرفتن در بستر کشت از لحاظ فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی آمادگی جوانه زنی را به دست می آورند. این امر سبب تغییرات زیستی و فیزیولوژیکی زیادی در بذور و همچنین گیاه حاصل از آن می گردد. در نتیجه این عمل در جوانه زنی و استقرار اولیه گیاه، زودرسی و افزایش کمی

و کیفی محصول قابل مشاهده می‌باشد (Seyed Dorraji et al., 2010). گزارش‌های مختلف حاکی از آن است که پیش تیمار بذر باعث افزایش درصد، سرعت و یکنواختی جوانه‌زنی و سبز شدن بذر می‌گردد (Mao et al., 2011). در این پژوهش به منظور بررسی اثر پیش تیمار باکتری *Glomus fasciculatum*، *G. intraradices*، *G. mosseae* (غلظت 5 در هزار) به صورت منفرد و در ترکیب با عناصر ریز مغذی (2 در هزار) بر محتوای وزن تر و رشد رویشی عدس رقم رباط در سال زراعی 1401-1402، آزمایشی به صورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در شرایط گلخانه‌ای اجرا شد.

## مواد و روش‌ها

**طرح آزمایش، اعمال تیمارها و اندازه‌گیری محتوای کلروفیل:** به منظور بررسی اثر پیش تیمار باکتری *Glomus fasciculatum*، *G. intraradices*، *G. mosseae* (غلظت 5 در هزار) به صورت منفرد و در ترکیب با عناصر ریز مغذی (2 در هزار) بر محتوای وزن تر و رشد رویشی عدس رقم رباط بر روی صفات رویشی، بذر عدس رقم رباط در شرایط گلخانه‌ای پیش تیمار و این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با 3 تکرار انجام شد. ابتدا بستر کشت برای کاشت بذرهای عدس آماده و خاک قابل کشت به مدت 1 ساعت در دمای 121 درجه‌ی سلسیوس تحت فشار 1/5 اتمسفر ضد عفونی شد و به لیوان‌های کاغذی انتقال یافت. سپس بذرهای عدس پس از ضد عفونی سطحی با هیپوکلریت سدیم 1 درصد و آبکشی، کشت شدند. حدود 2 هفته پس از کشت، نشاها به گلدان‌های اصلی در جعبه‌های شیشه‌ای جهت ممانعت از ورود حشرات ناقل منتقل شدند. در مرحله‌ی 4 هفتگی کامل بوته‌های عدس با تیمارهای مذکور پرایمینگ (پیش تیمار) شدند. جهت بررسی میزان رشد رویشی بوته، ریشه و وزن تر در گیاهان تیمار شده و شاهد (بدون تیمار)، 7، 14 و 21 روز پس از اعمال تیمارها وزن تر بوته با ترازوی حساس دیجیتال و طول ریشه و شاخسار با خط کش دقیق به منظور تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه 25 استفاده شد. برای بررسی اثر تیمارهای مورد مطالعه برخی شاخص‌های رویشی از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون توکی استفاده شد. برای رسم نمودارها نیز از نرم‌افزار Genex6 استفاده شد.

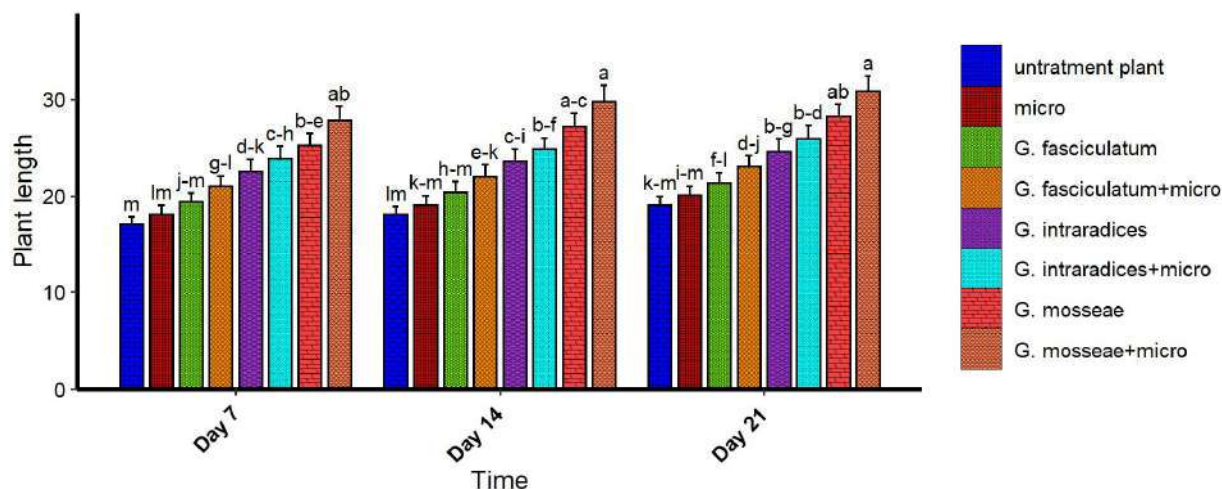
## نتایج

طول گیاه: در این آزمون، افزایش معنی‌داری در رشد طولی گیاه در تمامی بذرهای عدس پیش تیمار شده با *Glomus fasciculatum*، *G. intraradices*، *G. mosseae* (غلظت 5 در هزار) به صورت منفرد و به خصوص در ترکیب با عناصر ریز مغذی (2 در هزار) در بذرهای پرایمینگ شده نسبت به گیاهان شاهد مشاهده شد. در بذرهای تیمار شده افزایش رشد طولی گیاه از هفته‌ی اول به خصوص هفته‌ی دوم و سوم در سطح احتمال 5 درصد نسبت به شاهد (بوته‌های تیمار نشده با ترکیبات فوق) مشاهده گردید. در تیمارهای منفرد بیشترین تاثیر پرایمینگ قارچ به ترتیب مربوط به تیمار *G. mosseae*، سپس *G. intraradices* و در نهایت *Glomus fasciculatum* بود. به همین ترتیب در تیمارهای قارچی در ترکیب با عناصر ریز مغذی تاثیر هم افزایی بر افزایش طول بوته داشتند. ولی روند افزایش رشد طولی بوته در هفته‌ی دوم و سوم (با گذشت زمان) نسبت به یکدیگر در سطح احتمال 5 درصد در برخی تیمارها مخصوصاً تیمارهای منفرد معنادار نبود. (جدول 1 و شکل 1).

**جدول 1- بررسی اثر پیش تیمار باکتری *Glomus fasciculatum*، *G. intraradices*، *G. mosseae* (غلظت 5 در هزار) به صورت منفرد و در ترکیب با عناصر ریز مغذی (2 در هزار) بر رشد طولی گیاه**

parameters	Df	Sum.Sq	Mean.Sq	F.value	p
Time	2	61.0000	30.50000	21.33389	0.00000

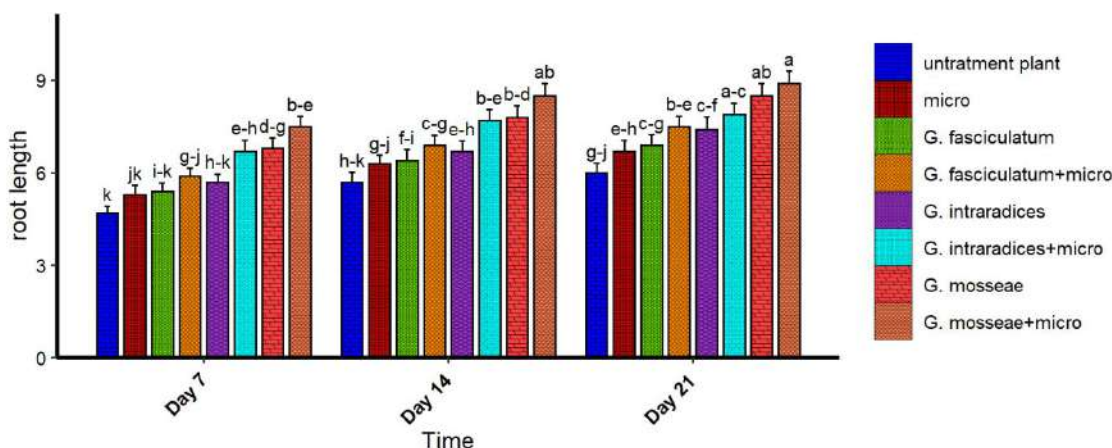
Treatment	7	968.5123	138.35891	96.77816	0.00000
interaction	14	3.0000	0.21429	0.14989	0.99980
Residuals	48	68.6232	1.42965		



شکل-1 نمودار بررسی اثر پیش تیمار باکتری *Glomus fasciculatum*، *G. intraradices*، *G. mosseae* (غلظت 5 در هزار) به صورت منفرد و در ترکیب با عناصر ریز مغذی (2 در هزار) بر رشد طولی گیاه

طول ریشه: در این آزمون، افزایش معنی داری در رشد طولی ریشه در تمامی بذره‌های عدس پیش تیمار شده با *Glomus fasciculatum*، *G. intraradices*، *G. mosseae* (غلظت 5 در هزار) به صورت منفرد و به خصوص در ترکیب با عناصر ریز مغذی (2 در هزار) در بذره‌های پرایمینگ شده نسبت به گیاهان شاهد مشاهده شد. در بذره‌های تیمار شده منفرد و آزوسپیریلیوم افزایش رشد طولی ریشه از هفته‌ی اول تا هفته‌ی ادامه داشته سوم در سطح احتمال 5 درصد نسبت به شاهد (بوته‌های تیمار نشده با ترکیبات فوق) مشاهده گردید. در تیمارهای منفرد بیشترین تاثیر پرایمینگ قارچ در رشد طولی ریشه به ترتیب مربوط به تیمار *G. mosseae*، سپس *G. intraradices* و در نهایت *Glomus fasciculatum* بود. به همین ترتیب در تیمارهای قارچی در ترکیب با عناصر ریز مغذی به خصوص در ترکیب *G. mosseae* + میکرو تاثیر هم افزایی بر افزایش طول بوته داشتند. ولی روند افزایش رشد طولی بوته در هفته‌ی اول تا سوم (با گذشت زمان) نسبت به یکدیگر در سطح احتمال 5 درصد در برخی تیمارها مخصوصاً تیمارهای ترکیبی معنادار بود. (جدول 2 و شکل 2).

جدول-2 بررسی اثر پیش تیمار باکتری *Glomus fasciculatum*، *G. intraradices*، *G. mosseae* (غلظت 5 در هزار) به صورت منفرد و در ترکیب با عناصر ریز مغذی (2 در هزار) بر رشد طولی ریشه



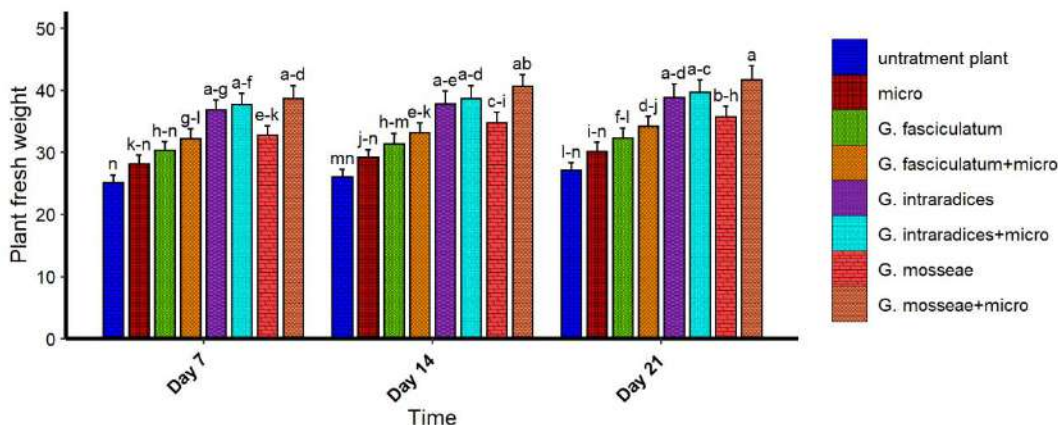
جدول 2- نمودار بررسی اثر پیش تیمار باکتری *Glomus fasciculatum*، *G. intraradices*، *G. mosseae* (غلظت 5 در هزار) به صورت منفرد و در ترکیب با عناصر ریز مغذی (2 در هزار) بر رشد طولی ریشه

وزن تر بوته: در این آزمون، افزایش معنی داری در وزن تر بوته در تمامی بذره‌های عدس پیش تیمار شده با *Glomus fasciculatum*، *G. intraradices* و *G. mosseae* (غلظت 5 در هزار) به صورت منفرد و به خصوص در ترکیب با عناصر ریز مغذی (2 در هزار) در بذره‌های پرایمینگ شده نسبت به گیاهان شاهد و تیمار نشده مشاهده شد. در بذره‌های تیمار شده منفرد و مخصوصاً بذره‌های پیش تیمار شده مخلوط قارچ و ریزمغذی افزایش رشد طولی گیاه از هفته‌ی اول به خصوص هفته‌های دوم و سوم در سطح احتمال 5 درصد نسبت به شاهد (بوته-های تیمار نشده با ترکیبات فوق) مشاهده گردید. در تیمارهای منفرد بیشترین تاثیر پرایمینگ قارچ به ترتیب مربوط به تیمار *G. mosseae*، سپس *G. intraradices* و در نهایت *Glomus fasciculatum* بود. به همین ترتیب در تیمارهای قارچی در ترکیب با عناصر ریز مغذی تاثیر هم افزایی بر افزایش وزن تر بوته داشتند. ولی روند افزایش وزن تر بوته در هفته‌ی دوم و سوم (با گذشت زمان) نسبت به یکدیگر در سطح احتمال 5 درصد در برخی تیمارها مخصوصاً تیمارهای منفرد معنادار نبود. (جدول 3 و شکل 2).

parameters	Df	Sum.Sq	Mean.Sq	F.value	p
Time	2	61.000	30.50000	10.35624	0.00018
Treatment	7	1533.973	219.13901	74.40839	0.00000
interaction	14	3.000	0.21429	0.07276	1.00000
Residuals	48	141.364	2.94508		

جدول 3- بررسی اثر پیش تیمار باکتری *Glomus fasciculatum*، *G. intraradices*، *G. mosseae* (غلظت 5 در هزار) به صورت منفرد و در ترکیب با عناصر ریز مغذی (2 در هزار) بر وزن تر بوته





جدول 3- نمودار بررسی اثر پیش تیمار باکتری *Glomus fasciculatum*، *G. intraradices*، *G. mosseae* (غلظت 5 در هزار) به صورت منفرد و در ترکیب با عناصر ریز مغذی (2 در هزار) بر وزن تر بوته

**نتیجه گیری کلی:** نتایج حاصل از این تحقیق نشان می دهد که افزایش معنی داری در رشد طولی بوته، ریشه و وزن تر گیاه در تمامی بذریه های عدس پیش تیمار شده با *Glomus fasciculatum*، *G. intraradices*، *G. mosseae* (غلظت 5 در هزار) به صورت منفرد و به خصوص در ترکیب با عناصر ریز مغذی (2 در هزار) در بدرهای پرایمینگ شده نسبت به گیاهان شاهد در سطح احتمال 5 درصد مشاهده شد. نتایج افزایش رشد حاصل در عدس بیانگر موثر بودن نقش این ترکیبات داشته است، ازسویی با در نظر گرفتن مزایای زیست محیطی قارچهای محرک رشد گیاهی در همکاری با عناصر ریز مغذی و همچنین هزینه های فراوان سموم شیمیایی از نظر اقتصادی و هزینه های جبران ناپذیر زیست محیطی آنها، می توان تیمارهای فوق را در جهت افزایش تولید عدس مورد استفاده قرار داد.

**تشکر و قدردانی:** از تمام دوستانی که در انجام این پروژه اینجانب را یاری نمودند سپاسگزارم.

منابع

Aghashiry, S.A.A., Kordlaghari, K.P., Rahimi, A. and Shefazadeh, M.K., 2012. Effects of different levels of potassium soleplate and super-absorbent on yield and yield components of wheat in the Boyerahmad region. *International Journal of AgriScience*, 2(6), pp.505-510.

Seyed Dorraji, S., Golchin, A. and Ahmadi, S., 2010. The Effects of Different Levels of a Superabsorbent Polymer and Soil. *Water and Soil*, 24(2).

Mao, S., Islam, M.R., Xue, X., Yang, X., Zhao, X. and Hu, Y., 2011. Evaluation of a water-saving superabsorbent polymer for corn (*Zea mays* L.) production in arid regions of Northern China. *African Journal of Agricultural Research*, 6(17), pp.4108-4115.

Nezami, A., Bagheri, A.R., Porsa, H., Zafranieh, M. and Khamadi, N., 2010. Evaluation of cold tolerant lentil genotypes (*Lens culinaris* Medik.) in fall planting under supplementary irrigation. *Iranian Journal Pulses Research*, 1(2).

Parchami-Araghi, F. and Haghayeghi-Moghaddam, S.A., 2023. Assessment of applied water and irrigation performance indicators in winter barley (a case study: Ardabil province, Iran). *Iranian Journal of Soil and Water Research*, 54(4), pp.559-578.

Singh, S. (2014). PM Gaur, SK Chaturvedi, NP Singh, and JS Sandhu. *Broadening the genetic base of grain legumes*, 51.

## تأثیر نانو ذره منیزیم اکسید بر محتوای رنگیزه های فتوسنتزی و کربوهیدرات ها در کشت

### های درون شیشه زرین گیاه *Dracocephalum kotschy* Boiss

زهرا چکیده خون<sup>1</sup>، عدرا صبورا<sup>2\*</sup>، مریم کمالی پور آزاد<sup>3</sup>، زهرا جهان بخشی<sup>4</sup>

1- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهرا

[2saboor@alzahra.ac.ir](mailto:2saboor@alzahra.ac.ir) - دانشیار فیزیولوژی گیاهی، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهرا (\*نویسنده مسئول).

3- دانش آموخته دکتری فیزیولوژی گیاهی، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهرا

4- دانش آموخته کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهرا

#### چکیده

زرین گیاه (*Dracocephalum kotschy* Boiss)، گیاهی دارویی و بسیار نادر از خانواده نعنائیان است، روش های تکثیر جایگزین از جمله، ریز ازدیادی درون شیشه ای که مبتنی بر کشت بافت گیاهی است، روشی مناسب برای تکثیر این گیاه است. در این تحقیق، اندام زایی غیر مستقیم میانگه های حاصل از کشت بذر تحت تیمار هورمونی مورد بررسی قرار گرفت و سپس تاثیر تیمار نانو ذره اکسید منیزیم بر تغییر برخی پارامترهای بیوشیمیایی نوشاخه ها، ارزیابی شد. میانگه حاصل از کشت بذر پس از 30 روز قرار گرفتن در محیط کشت MS حاوی 5 میلی گرم در لیتر BAP و 0/25 میلی گرم در لیتر NAA اندام زایی غیر مستقیم را نشان دادند. نانو ذره منیزیم اکسید در غلظت های مختلف بر روی نوشاخه ها اسپری شد. نتایج نشان داد با افزایش غلظت منیزیم اکسید محتوای رنگیزه های فتوسنتزی افزایش یافت، بیشترین مقدار کلروفیل a، b و کاروتنوئیدها در تیمار 25 میلی گرم در لیتر و بالاترین محتوای قندهای احیاکننده و پلی ساکاریدها در تیمار 100 میلی گرم در لیتر منیزیم اکسید حاصل گردید. به طور کلی از نتایج به دست آمده چنین استنباط می شود که با افزایش غلظت نانو ذرات، محتوای قند های احیاکننده کاهش و محتوای پلی ساکاریدها افزایش می یابد تا با انباشت این عنصر در دیواره سلولی اثرات نامطلوب آنرا مهار کند.

**کلمات کلیدی:** باززایی غیر مستقیم، رنگیزه های فتوسنتزی، زرین گیاه، قندهای احیا کننده، نانو ذرات منیزیم اکسید

#### مقدمه

زرین گیاه یا بادرنجبویه دنیایی با نام علمی *Dracocephalum kotschy* Boiss یکی از گیاهان دارویی و معطر تیره نعنائیان می باشد. این گیاه بومی ایران بوده و در رویشگاه های کوهستانی و مرتفع پراکنش دارد. در طب سنتی از *D. kotschy* به دلیل خاصیت ضد اسپاسم و ضد درد برای ناراحتی های معده و کبد استفاده شده است (1). این گیاه تکثیر سلول های تومور را مهار می کند؛ بنابراین در توسعه داروهای موثر در برابر سرطان استفاده شده است (2). رزمارینیک اسید (RA) یکی از آنتی اکسیدان های طبیعی کارآمد با

اثرات دارویی متعدد این گیاه است. با توجه به خطر انقراض و نابودی این گیاه دارویی، روش های تکثیر جایگزین از جمله، ریز ازدیادی درون شیشه ای مبتنی بر کشت بافت گیاهی روشی مناسب جهت تکثیر این گیاه می باشد اما کاهش تبادلات گازی در ظرف های کشت ممکن است به انباشتگی اتیلن و CO<sub>2</sub> منجر شود که تجزیه رنگیزه های فتوسنتزی، کاهش شدت فتوسنتز و فرآورده های فتوسنتزی مانند قند را در پی دارد (3). جهت غلبه بر این موارد، اسپری نانوذره منیزیم بر گیاهچه های حاصل از کشت بافت پیشنهاد می شود.

اخیرا، نانوذرات اکسیدهای فلزی، چون اکسید منیزیم در کشاورزی مورد استفاده قرار گرفته اند. این ترکیبات باعث تقسیم و افزایش ابعاد سلولی می شوند و القاء کالوس دهی را در شرایط تاریکی در محیط های درون شیشه ای (in vitro) تحریک می نمایند. نانوذرات فوق در شرایط نوری با تاثیر بر تنظیم برخی آنزیم ها و بیوسنتز ناقلین فتوسنتزی باعث سرعت بخشیدن به انتقال انرژی نورانی، جلوگیری از فروپاشی کلروپلاست ها و بالا بردن ظرفیت فتوسنتزی انجام می شوند (4). بنابراین استفاده از نانوذرات منیزیم اکساید با احتمال بروز سمیت پائین، برای تحریک متابولیسم گیاه و افزایش ترکیبات موثره مناسب است.

از آنجا که روش تکثیر این گیاه در ایران، به واسطه کاشت بذر است و رویش گیاه به شرایط آب و هوایی ویژه ای نیاز دارد و جوانه زنی محدود بوده استفاده از روش کشت بافت، جایگزین مناسبی برای تکثیر گیاه است، از سوی دیگر، برگ های این گیاه دارویی مصرف خوراکی دارند و از این رو، تولید گیاهان سالم و بدون ویروس که تنها به روش کشت بافت امکان پذیر حاصل می شود، ضروری به نظر می رسد. از اینرو، بهینه سازی کشت بافت زین گیاه و تاثیر نانوذره منیزیم اکسید بر محتوای رنگیزه های فتوسنتزی و قندهای محلول در گیاهان حاصل از کشت بافت در این تحقیق بررسی خواهد شد.

## مواد و روش ها

بذر ها در ابتدا با الکل 70% و هیپوکلریت سدیم تجاری 20% سترون و روی محیط MS (5) جامد فاقد هورمون کشت شدند. کشت ها در اتاقک رشد با دوره نوری 16 ساعت روشنایی و 8 ساعت تاریکی و در دمای 24 درجه سانتی گراد نگهداری شدند. میانگرم های حاصل به منظور اندام زایی غیر مستقیم تحت تیمار هورمونی 5 میلی گرم در لیتر BAP و 0/25 میلی گرم در لیتر NAA قرار گرفتند و پس از گذشت 30 روز و ایجاد نوشاخه، نانوذره اکسید منیزیم (MgO از شرکت نانو صدرا مشهد) در غلظت های 0، 25، 50 و 100 میلی گرم در لیتر روی اندام هوایی اسپری شد و پس از 10 روز نمونه ها برداشت سنجش ها انجام شد.

محتوای رنگیزه های فتوسنتزی به روش Porra و همکاران (6) عصاره گیری و جذب نمونه ها در طول موج های 470، 646، 8 و 663، 2 نانومتر خوانده شد. غلظت رنگیزه های فتوسنتز بر حسب میلی گرم برگرم وزن تر (mg g<sup>-1</sup> FW) محاسبه شد. برای تهیه عصاره کربوهیدرات ها، 0/05 گرم نمونه خشک گیاه با 2 میلی لیتر اتانول 80% (در 4 مرحله) عصاره گیری شد و پس از سانتریفوژ محلول روشناور خشک و طبق روش Somogyi (7) قندهای احیا کننده سنجیده شد. رسوب باقیمانده از مرحله اول برای

استخراج پلی ساکاریدها استفاده و با روش فنل سولفوریک سنجیده شد (8). محتوای قندهای احیاکننده و پلی ساکاریدها برحسب میلی گرم بر گرم وزن خشک ( $\text{mg g}^{-1} \text{ DW}$ ) محاسبه شد.

آزمایش های انجام شده بر اساس طرح بلوک های کاملاً تصادفی در 3 تکرار انجام شد. تجزیه واریانس یکطرفه داده ها (ANOVA) با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه 27 در سطح  $P < 0/05$  تجزیه و تحلیل و برای مقایسه میانگین ها از آزمون توکی (Tukey) استفاده شد.

## نتایج و بحث

### تغییر محتوی رنگیزه های فتوسنتزی نوشاخه تحت تیمار های مختلف

در تیمار با منیزیم اکسید  $25 \text{ mg L}^{-1}$  بیشترین محتوای کلروفیل a ( $0/2 \text{ mg g}^{-1} \text{ FW}$ )، کلروفیل b ( $0/12 \text{ mg g}^{-1} \text{ FW}$ ) و کاروتنوئیدها ( $0/33 \text{ mg g}^{-1} \text{ FW}$ ) سنجیده شد. کمترین محتوای رنگیزه های فتوسنتزی نیز در تیمار شاهد مشاهده شد به طوری که محتوای کلروفیل a، b و کاروتنوئید به ترتیب برابر  $0/08$ ،  $0/07$  و  $0/12$  میلی گرم به ازای هر گرم وزن تر نوشاخه بود.

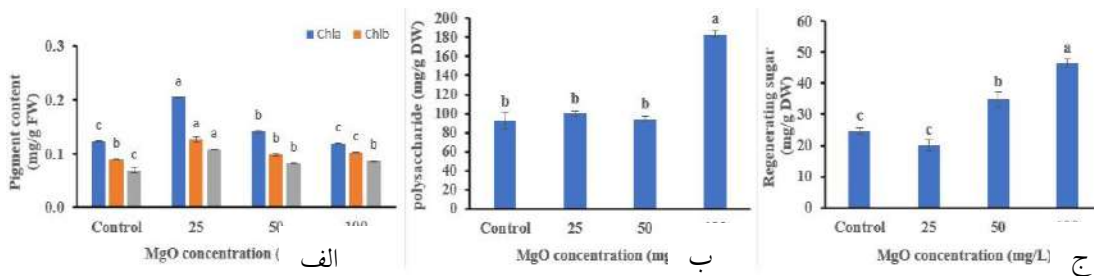
### تغییر محتوی کربوهیدرات های نوشاخه تحت تیمار های مختلف

بیشترین محتوای قند های احیاکننده و پلی ساکاریدی با تیمار منیزیم اکسید  $100 \text{ mg L}^{-1}$  به ترتیب با مقادیر  $46/47 \text{ mg g}^{-1} \text{ DW}$  و  $183/43 \text{ mg g}^{-1} \text{ DW}$  مشاهده شد. کمترین محتوای قندهای احیاکننده در تیمار  $100 \text{ mg L}^{-1}$  ( $20 \text{ mg g}^{-1} \text{ DW}$ ) و کمترین محتوای قندهای پلی ساکاریدی در نمونه شاهد ( $92/4 \text{ mg g}^{-1} \text{ DW}$ ) دیده شد.

نتایج این پژوهش نشان داد محتوای همه ی رنگیزه های فتوسنتزی در تیمار با منیزیم اکسید نسبت به نمونه شاهد افزایش پیدا کرد. با توجه به اینکه منیزیم در مرکز ساختار حلقه پورفیرین قرار دارد و در جذب نوری توسط کلروفیل ها نقش دارد در افزایش فعالیت فتوسنتزی و تولید کربوهیدرات ها (9) و واکنش های احیایی انتقال الکترون، واکنش های تنفسی و بیوسنتز هورمون ها نیز دخالت دارد. تجمع نانو ذره منیزیم اکسید در غلظت های بالاتر باعث تولید انبوه گونه های فعال اکسیژن (ROS) شده، فرآیندهای متابولیسمی از جمله کاهش محتوای کلروفیل گیاه را بدنبال دارد. بر این اساس در تیمار  $25 \text{ mg L}^{-1}$  نانو اکسید منیزیم بالاترین محتوای رنگیزه ها دیده شد اما با افزایش غلظت این نانوذره از محتوای همه رنگیزه ها کاسته شد (شکل 1). افزایش تولید رنگیزه های فتوسنتزی در برگ *Arachis hypogaea* و *tetragonoloba* پس از تیمار با منیزیم اکسید، نسبت به نمونه شاهد، گزارش شده است (10، 11). اما در ذرت، کاهش غلظت کلروفیل هنگام تیمار با غلظت های بالای  $\text{MgO-NP}$  ( $< 50 \text{ ppm}$ ) دیده شد که این امر به کاهش محتوای کمپلکس جمع کننده نور (LHC II) در غشای تیلاکوئیدی گیاهان تیمار شده نسبت داده شد (12).

محتوای قند های احیاکننده نوشاخه ها تحت تیمار  $25 \text{ mg L}^{-1}$  کمترین مقدار محاسبه شد. با توجه به افزایش محتوای کلروفیل در این تیمار، به نظر می رسد حدواسط های فتوسنتزی برای تولید متابولیت های دیگر مصرف شده است. اما در تیمار  $50 \text{ mg L}^{-1}$  باتوجه به روند کاهش محتوای کلروفیل افزایش محتوای قندهای محلول ناشی از نقش این ترکیبات برای مقابله با ROS است. روند

افزایش انباشتگی قندهای احیاکننده در تیمار  $100 \text{ mg L}^{-1}$  نشان دهنده نقش این ترکیبات در تحمل تنش است. متابولیسم قندها و توزیع مواد فتوسنتزی در گیاهان تحت تنش تغییر می کند. افزایش فعالیت آنزیم های تجزیه کننده قندهای غیرمحلول، نظیر انورتاز و سوکروز سنتتاز می تواند منجر به افزایش تولید آنها شود. گزارش شده است که کادمیوم در گیاه برنج (*Oryza sativa*)، و نانوذره اکسید آلومینیوم در گیاه لوبیا (*Phaseolus vulgaris*) نیز سبب افزایش قندهای احیاءکننده شده اند (13) که با نتایج مطالعه ما مطابقت دارد. تغییر محتوای کربوهیدرات ها به دلیل ارتباط مستقیم با فرایندهای فیزیولوژیکی نظیر فتوسنتز، انتقال مواد و تنفس اهمیت خاصی دارند. افزایش قندهای محلول در شرایط تنش به عنوان یک ساز و کار تحمل، باعث تنظیم پتانسیل آب سلول در بخش سیتوزول، برای مقابله با غلظت بالای یون های جذب شده و تجمع یافته در واکوئل و موجب حفظ و نگهداری مولکول های زیستی و غشاها می گردد (14). در واقع با کاهش مصرف کربوهیدرات ها برای رشد گیاه که در اثر تنش پیشبود منیزیم ایجاد می شود، تجمع کربوهیدرات های محلول و پلی ساکاریدها رخ می دهد. انباشتگی قندهای محلول در سلول می تواند به علت تجزیه نشاسته به واحدهای کوچکتر و در نتیجه کاهش نشاسته در سلول باشد (15). برخلاف این نتایج افزایش محتوای پلی ساکاریدهای نوشاخه های زرین گیاه در حضور غلظت های بالای نانوکسید منیزیم ( $100 \text{ mg L}^{-1}$ ) می تواند ناشی از نقش ریز رشته های سلولزی دیواره برای اتصال به  $\text{MgO-NP}$  اضافی و مهار اثرات نامطلوب این نانوذرات باشد. نتایج ما با یافته هایی مطابقت دارد که نشان داد محتوای کربوهیدرات ها در گیاهان لوبیا و ذرت تیمار شده با نانو ذرات نقره در غلظت های  $20 - 60 \text{ mg L}^{-1}$  افزایش یافت اما در تیمار با غلظت های  $80 - 100 \text{ mg L}^{-1}$  کاهش یافت (16). تیمار *Ocimum basilicum* با نانوذرات آهن ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) نشان داد که با افزایش غلظت نانوذرات سطح کربوهیدرات کل به طور معنی داری افزایش یافت (17)



شکل 1 الف) مقایسه تغییرات محتوای رنگیزه های فتوسنتزی، ب) محتوای قند های پلی ساکاریدی و ج) محتوای قند های احیا کننده در

تحت تیمار نانوذرات اکسید منیزیم *D. kotschy*

نتیجه گیری

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که نوشاخه های حاصل از باززایی میانگه زرین گیاه همانند گیاه کامل عمل نموده و تحت تیمار نانوذرات اکسید منیزیوم در غلظت مناسب فتوسنتز بهبود یافته با افزایش محتوای رنگیزه های فتوسنتزی، محتوای قند های احیاکننده افزایش می یابد و در غلظت های بالای این نانوذرات که باعث مسمومیت گیاه می شود محتوای پلی ساکاریدها افزایش یافته اثرات نامطلوب آنرا مهار می کند. تحت شرایط فوق احتمالاً با افزایش گونه های فعال اکسیژن دفاع پاد اکسایشی گیاه فعال برای MgO-NP شده و محتوای سایر متابولیت ها نیز تغییر می کند. بررسی تغییرات و سنجش متابولیت های ثانویه گیاه تحت اثر تحقیقات آینده توصیه می شود.

## منابع

1. Jahanian F., Ebrahimi S A., Rahbar Roshandel N., Mahmoudian M. 2005, Xanthomicrol is the main cytotoxic component of *Dracocephalum kotschy* and a potential ant. *Phytochemistry*, 66: 1581- 1592.
2. Cordell, G.A., Beecher, C.W.W., Pezzuoto, J.M., 1991. Can ethnopharmacology contributes to the development of new anticancer drugs? *J. Ethnopharmacol.* 32, 117–133.
3. Lucchesini, M., Monteforti, G., Mensuali-Sodi, A. and Serra, G. (2006) Leaf ultrastructure, photosynthetic rate and growth of myrtle plantlets under different in vitro culture conditions. *Biologia Plantarum* 50: 161-168.
4. Gao, F, Chao, I, Zheng, L, Mingyu, S, Xiao, W, Yang, F, Cheng, W, Ping, Y. (2006). Mechanism of nano anatase TiO<sub>2</sub> on promoting photosynthetic carbon reaction of spinach, *Biological Trace Element Research*, 111 .239-245.
5. Classic Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant*, 15, 473-497
6. Porra, R. J., Thompson, W. A. A., & Kriedemann, P. E. (1989). Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 975(3), 384-394.
7. Somogyi, M. (1952). Notes on sugar determination. *Journal of biological chemistry*, 195, 19-23.
8. DuBois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. T., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical chemistry*, 28(3), 350-356.
9. Hermans, C., F. Bourgis, M. Faucher, S. Delrot, R. J. Strasser, and N. Verbruggen. 2005. Magnesium deficiency in sugar beets alters sugar partitioning and phloem loading in young mature leaves. *Planta* 220 (4):541–9. doi: 10.1007/s00425-004-1376-5.
10. Jhansi, K., Jayarambabu, N., Reddy, K. P., Reddy, N. M., Suvarna, R. P., Rao, K. V., ... & Rajendar, V. (2017). Biosynthesis of MgO nanoparticles using mushroom extract: effect on peanut (*Arachis hypogaea* L.) seed germination. *3 Biotech*, 7, 1-11.
11. Raliya, R.; Tarafdar, J.C.; Singh, S.K.; Gautam, R.; Choudhary, K.; Maurino, V.G. and Saharan, V. 2014. MgO nanoparticles biosynthesis and its effect on chlorophyll contents in the leaves of clusterbean (*Cyamopsis tetragonoloba* L.). *Adv. Sci. Eng. Med.*, 6: 538-545.
12. Jayarambabu, N., S. B. Kumari, V. K. Rao, and Y. T. Prabhu. 2016. Enhancement of growth in maize by biogenic synthesized MgO nanoparticles. *International Journal of Pure and Applied Zoology*

13. Richharia, A., Shah, K., & Dubey, R. S. (1997). Nitrate reductase from rice seedlings: Partial purification, characterization and the effects of in situ and in vitro NaCl salinity. *Journal of plant physiology*, 151(3), 316-322.
14. Sinnah, V.R., Ellis, R.H., John, P., 1998, Irrigation and seed quality development in rapid recycling Brassica, soluble carbohydrate and heat stable proteins, *Ann. Bot.* 82: 647–655
15. زنی و رشد در سه گونه اکالیپتوس فصلنامه پژوهشی تحقیقات ۱۳۸۵. تاثیر سطوح مختلف عناصر سنگین بر جوانه. شریعت، آ.، عصاره، م. ح. م. ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران، جلد ۱۴ (۱): ۱۲۰-۱۱۲
16. Salama H. 2012. Effects of silver nano-particles in some crop plants, common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and corn (*Zea mays* L.). *Int Res J Biotech.*;3(10): 190-7
17. Elfeky AS, Mohammed MA, Khater MS, Osman YAH, et al. 2013. Effect of magnetite nano-fertilizer on growth and yield of *Ocimum basilicum* L. *International Journal of Indigenous Medical Plants*, 46(3): 1286-1293

## Effect of MgO-NPs on the content of photosynthetic pigments and carbohydrates in regenerated shoots of *Dracocephalum kotschy* Boiss

Chakideh Khoon Z.<sup>1</sup>, Saboora A.<sup>2\*</sup>, Kamalipour Azad M.<sup>3</sup> Jahanbakhshi Z.<sup>4</sup>

1. Master student of Plant Physiology, Department of Plant Sciences, Faculty of Biological Sciences, Alzahra University
2. Associate Professor of Plant Physiology, Department of Plant Sciences, Faculty of Biological Sciences, Alzahra University (\*corresponding author email: saboora@alzahra.ac.ir)
3. Ph.D. in Plant Physiology, Department of Plant Sciences, Faculty of Biological Sciences, Alzahra University
4. M.S. in Plant Physiology, Department of Plant Sciences, Faculty of Biological Sciences, Alzahra University

*Dracocephalum kotschy* Boiss. is a very rare medicinal plant from Lamiaceae family. Alternative propagation methods, including in vitro micropropagation, which is based on plant tissue culture, is a suitable method for propagating of this plant. In this research, induction of indirect organogenesis from internodes explants which obtained from germinated seeds was studied, and then the effect of MgO-NPs treatment was evaluated on some biochemical parameters of regenerated shoots. Indirect organogenesis was induced on the internode explants after 30 days cultured on the MS medium containing 5 mg L<sup>-1</sup> BAP and 0.25 mg L<sup>-1</sup> NAA. MgO-NPs in different concentrations were sprayed on the regenerated shoots. The results showed that the content of photosynthetic pigments increased with the increase of MgO-NPs concentration, the highest content of chlorophyll a, b and carotenoids was obtained at 25 mg L<sup>-1</sup> MgO-NPs and the highest content of reducing sugars and polysaccharides was obtained by treatment of 100 mg L<sup>-1</sup> MgO-NPs. In general, it can be concluded, by increasing the concentration of this nanoparticles, the content of reducing sugars decreases and the content of polysaccharides increases to inhibit its adverse effects by accumulating this element in the cell wall.

**Keywords:** indirect regeneration, photosynthetic pigments, *D. kotschy*, reducing sugars, MgO-NPs

## مطالعه و مقایسه ترکیبات ترپنوئیدی گیاه دارویی مریم گلی شکننده *Salvia macilenta*

### رویش یافته در شرایط اقلیمی متفاوت استان کرمان

نرگس خواجهونی نژاد<sup>1\*</sup>، فاطمه دانشمند<sup>2\*</sup>، امیرعباس مینایی فر<sup>2</sup>

<sup>1</sup>دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

[Khajoiengarg@gmail.com](mailto:Khajoiengarg@gmail.com)

<sup>2</sup>گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

### چکیده

مقدمه: *Salvia macilenta* گیاهی دارویی که در درمان بیماری‌های تنفسی کاربرد دارد. ترپنوئیدها بزرگترین گروه از متابولیت‌های ثانویه هستند که تولید آن‌ها در گیاهان مانند سایر متابولیت‌های ثانویه تحت تاثیر عوامل محیطی مختلف قرار می‌گیرد. در این پژوهش، ترکیبات ترپنوئیدی گیاه رویش یافته در مناطق اقلیمی متفاوت استان کرمان (کهنوج و دهبکری) مورد مطالعه و مقایسه قرار گرفت. روش کار: بعد از جمع‌آوری و تایید نمونه‌های گیاهی، ترکیبات ترپنوئیدی آنها با استفاده از کروماتوگرافی GC-MS بررسی شد. نتایج: 28 ترکیب ترپنوئیدی در گیاه رویش یافته در منطقه کهنوج و 27 ترکیب ترپنوئیدی در گیاه رویش یافته در منطقه دهبکری شناسایی شد که در گیاهان منطقه کهنوج ترکیب Menthol دارای بیشترین میزان و ترکیب trans-Caryophyllene دارای کمترین و در گیاهان منطقه دهبکری ترکیب Menthone دارای بیشترین میزان و ترکیب  $\alpha$ -bisabolene دارای کمترین مقدار بود. ترکیب pulgone تنها در منطقه کهنوج دیده شد. نتیجه‌گیری: نوع و مقدار ترکیبات ترپنوئیدی در گیاهان مورد مطالعه رویش یافته در شرایط اقلیمی مختلف استان کرمان، متفاوت بود. کلمات کلیدی: اقلیم، ترپنوئیدها، مریم گلی شکننده، GC-MS، متابولیت ثانویه

### مقدمه

گیاه مریم گلی شکننده با نام علمی *Salvia macilenta* به خانواده Lamiaceae متعلق است که به‌طور وحشی در برخی از مناطق استان کرمان رویش دارد (3). کاربرد این گیاه در درمان بیماری‌ها، در صنعت و طعم‌دهنده‌های خوراکی مشخص است (5). متابولیت‌های ثانویه گیاهی ترکیباتی آلی هستند که ساختار شیمیایی پیچیده‌تری نسبت به متابولیت‌های اولیه دارند. ترپن‌ها گروه بزرگی از متابولیت‌های ثانویه هستند که طیف گسترده‌ای از آنها توسط گیاهان تولید می‌شوند (6). عوامل اکولوژیک نقش عمده‌ای در بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه دارند (1). با توجه به تاثیر عوامل محیطی، عوامل اکولوژیکی بر میزان بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه و با توجه به ارزش دارویی گیاهان خانواده نعناع، هدف از این پژوهش مطالعه و مقایسه ترکیبات ترپنوئیدی در گیاه *Salvia macilenta* ی رویش یافته در دو منطقه متفاوت آب و هوایی استان کرمان (کهنوج، منطقه گرمسیر) و (ده بکری، منطقه سردسیر) است. در پژوهشی که Russo و همکاران (2013) بر روی ترکیبات گیاه *Salvia officinalis*، مشخص شد منوترپن‌های اکسیژن‌دار (60/32 تا 80/61 درصد) بخش اصلی اسانس این گیاه را در اقلیم‌ها تشکیل می‌دهند (7).

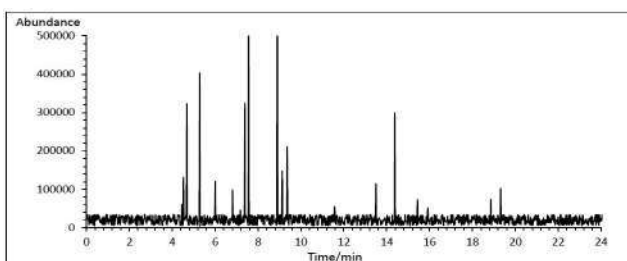
### مواد و روش‌ها



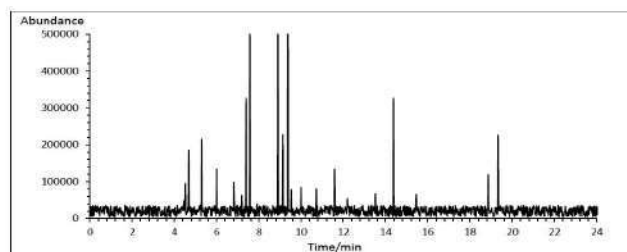
گیاه *Salvia* از دو منطقه با اقلیم متفاوت کرمان (کهنوج و دهبکری) جمع‌آوری و توسط دکتر سید منصور میرتاج‌الدینی شدند. جهت استخراج اسانس، از سوکسله استفاده و سپس با دستگاه هم GC-MS ترکیبات ترپنوئیدی شناسایی شدند (6).

## نتایج

در گیاه *Salvia macilenta* جمع‌آوری شده از منطقه دهبکری و کهنوج به ترتیب 27 (نمودار 1) و 28 (نمودار 2) ترکیب ترپنوئیدی شناسایی شد (نمودار 2) که به ترتیب بیشترین مقدار مربوط به ترکیب Menthone (26/60 درصد) در اقلیم دهبکری و ترکیب Menthol (22/30 درصد) در اقلیم کهنوج بود.



نمودار 1- کروماتوگرام GC-MS ترکیبات ترپنوئیدی در گیاه *Salvia macilenta* منطقه دهبکری



نمودار 2- کروماتوگرام GC-MS ترکیبات ترپنوئیدی در گیاه *Salvia macilenta* منطقه کهنوج

در جدول 1، مقایسه ترکیبات ترپنوئیدی گیاه مریم‌گلی شکننده در دو منطقه دهبکری و کهنوج کرمان آورده شده است.

جدول 1- مقایسه ترکیبات ترپنوئیدی گیاه *Salvia macilenta* در مناطق دهبکری و کهنوج

نام ترکیب ترپنوئیدی	کهنوج (%)	دهبکری (%)
3-Octanol	0/88	1/23
Sabinene	1/72	2/64
$\beta$ -Myrcene	3/37	6/50
$\alpha$ -pinene	3/92	8/09

2/42	2/44	Camphene
1/96	1/79	$\beta$ -pinene
0/92	1/15	$\alpha$ -Terpinene
6/54	5/94	Limonene
16/44	9/71	1,8-Cineole
0/42	0/71	$\gamma$ -Terpinene
0/50	0/52	Linalool
26/60	16/62	Menthone
2/97	4/15	Menthofuran
4/22	22/30	Menthol
0/64	1/44	Carvacrol
0/69	1/54	$\alpha$ -Terpineol
-	1/47	Pulgone
1/10	2/44	Menthyl acetate
0/51	0/97	$\alpha$ -Bourbonene
0/60	0/38	trans-Caryophyllene
2/30	1/22	trans- $\beta$ -Farnesene
6/02	5/95	Germacrene-D
1/48	1/20	Elemol
1/04	0/59	Caryophyllen oxide
1/50	2/16	$\alpha$ -Guaiene
2/05	4/12	$\alpha$ -Cadiene
0/10	0/57	$\alpha$ -bisabolene
0/40	0/58	$\beta$ -bisabolene

## بحث

آب و هوا یکی از مهمترین عواملی است که در تولیدات گیاهی تاثیر بسزایی دارد. شهرستان کهنوج نمونه‌ای مناسب از آب و هوای منطقه گرم و خشک و شهرستان دهبکری نمونه‌ای از آب و هوای کوهستانی در استان کرمان است (2). در این مطالعه در گیاه *Salvia macilenta* منطقه دهبکری، 27 ترکیب ترپنوئیدی و در گیاهان منطقه کهنوج 28 ترکیب ترپنوئیدی شناسایی شد که به ترتیب بیشترین مقدار مربوط به ترکیب Menthone (26/60 درصد) و ترکیب Menthol (22/30 درصد) بود. ترکیب pulgone تنها در منطقه کهنوج دیده شد.

## نتیجه گیری

با توجه به روند تغییرات مشاهده شده در میزان ترپنوئیدها در گیاه *Salvia* جمع‌آوری شده از دو منطقه سردسیر (دهبکری) و گرمسیر (کهنوج) استان کرمان، می‌توان نتیجه گرفت عوامل اکولوژیکی بر میزان و نوع ترکیبات ترپنوئیدی در گیاه تاثیرگذار بوده و در گیاهان رویش یافته در دو اقلیم متفاوت، در استان کرمان میزان و نوع این متابولیت‌های ثانویه متفاوت هستند.

## منابع و مراجع مورد استفاده

- (1) ذوافقاری عرفان، زاهدی قوام‌الدین، مظفریان ولی‌الله. (1392). بررسی مهمترین عوامل محیطی موثر بر استقرار درختچه پیرو. تحقیقات جنگل و صنوبر ایران، 21(3)، صص 495-505.
- (2) شاه‌نوشی میلاد، عطایی هوشمند، طباطبایی مهدیه. (1394). بررسی نقش آب و هوا در سطح کشت خرما در شهرستان کهنوج. کنفرانس بین‌المللی پژوهش‌های نوین در علوم کشاورزی و محیط زیست، کوالالامپور، مالزی.
- (3) محمدرضا اخگر، پیمان رجایی، سمیه اماندادی. (1391). بررسی ترکیبات شیمیایی اسانس برگ، گل، ساقه و ریشه *Salvia macilenta*، دوماهنامه، علمی - پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، 30(4)، صص 656-664.
- (4) Alizadeh, A., Shaabani, M. 2012. Essential oil composition, Phenolic content, antioxidant and antimicrobial activity in *Salvia officinalis* L. cultivated in Iran. *Advances in Environmental Biology*, 6(1), pp. 221-226.
- (5) Gershenzon, J., Croteau, R. 1991. Terpenoids. In Herbivores their interaction with secondary plant metabolites, Vol I: The chemical participants. 2nd ed. G.A. Rosenthal and M.R. Berenbaum, eds, Academic press, San Diego, pp. 165-219.
- (6) Ghiasy-Oskoe M, AghaAlikhani M, Sefidkon F, Mokhtassi-Bidgoli A, Ayyari M .2020. Blessed thistle growth, essential oil content, yield and composition as influenced by plant density and nitrogen fertilizer. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 23(2), pp.276-291
- (7) Russo, A., Formisano C., Rigano D., Senatore F., Delfine S., Cardile V. 2013. Chemical Composition and Anticancer Activity of Essential Oils of Mediterranean Sage (*Salvia officinalis* L.) Grown in Different Environmental Conditions , *Food and Chemical Toxicology*, 55, pp. 42-47.

## Study and comparison of terpenoid compounds of *Salvia macilenta* medicinal plant grown in different climatic conditions of Kerman province.

Narges Khajoiernarges<sup>\*1</sup>, Fatemeh Daneshmand<sup>\*2</sup>, Amir Abbas Minaeifar<sup>2</sup>

1 Master's student in Plant Physiology, Payame Noor University, Tehran, Iran

2 Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran

[Khajoiernarges@gmail.com](mailto:Khajoiernarges@gmail.com)

**Abstract :** Introduction: *Salvia macilenta* is a medicinal plant used in the treatment of respiratory diseases. Terpenoids are the largest group of secondary metabolites whose production in plants, like other secondary metabolites, is affected by various environmental factors. In this research, the terpenoid compounds of plants grown in different climatic regions of Kerman province (Kohnuj and Dehbakri) were studied and compared. Methodology: After collecting and confirming plant samples, their terpenoid compounds were analyzed using GC-MS chromatography. Results: 28 terpenoid compounds were identified in the plant grown in Kohnuj region and 27 terpenoid compounds were identified in the plant grown in Dehbakari region. Menthol compound has the highest amount and trans-Caryophyllene compound has the lowest amount in the plants of Kohnuj region and Menthone compound has the highest amount in the plants of Dehbakri region. The amount and composition of  $\alpha$ -bisabolene had the lowest value. The composition of pulgone was seen only in the Kohnuj region. Conclusion: The type and amount of terpenoid compounds in the studied plants grown in different climatic conditions of Kerman province were different.

Keywords: climate, terpenoids, fragile sage, GC-MS, secondary metabolite

## مدلسازی فرآیند خشک شدن هویج با استفاده از مایکروویو

سینا آقائی (نویسنده مسئول)<sup>62</sup>، لیلا زرنندی میانداآب<sup>63</sup>، نادر چاپارزاده<sup>64</sup>

### چکیده

یکی از روش‌های خشک کردن میوه‌ها و سبزیجات، استفاده از دستگاه مایکروویو است. در این روش امواج با قدرت بالا به درون آنها نفوذ کرده و موجب ایجاد گرمای درونی می‌شود؛ بنابراین سرعت انجام این فرآیند بسیار زیاد شده و مدت زمان انجام آن کاهش چشمگیری دارد. در این پژوهش، ابتدا ریشه هویج (بخش خوراکی) به ضخامت‌های 5 میلی‌متری برش داده شد. آزمایش‌ها در توان‌های 300، 400 و 500 وات مایکروویو انجام شد. نتایج آزمایش‌ها نشان داد که قطعات برش داده شده در توان‌های 300، 400 و 500 وات به ترتیب در مدت زمان 930 ثانیه، 660 ثانیه و 600 ثانیه خشک شدند. همچنین با بررسی مقادیر  $R^2$  و RMSE مشخص شد که مدل پیچ بهترین همخوانی را با داده‌های به دست آمده داشت.

**کلیدواژه‌ها:** خشک کردن، مایکروویو، مدل‌سازی، هویج

### مقدمه

هویج یکی از مهم‌ترین سبزیجاتی است که در سرتاسر جهان رشد می‌کند. هویج گیاهی دو ساله با نام علمی *Daucus carota* و از خانواده چتریان می‌باشد. این گیاه یکی از سبزی‌های مهم است که در تغذیه انسان استفاده می‌شود و به دلیل دارا بودن ویتامین، مواد معدنی و سایر مواد غذایی با ارزش، در رژیم غذایی روزانه انسان قرار می‌گیرد. هویج منبع مهم بتاکاروتن می‌باشد که نقش مهمی در پیشگیری از سرطان دارد. این گیاه به صورت خام، پخته، آب میوه و شوربجیات مصرف می‌شود. هویج خشک نیز در سوپ‌ها و از پودر آن در شیرینی و سس‌ها استفاده می‌شود (1). خشک کردن میوه‌ها یکی از راه‌های کاهش ضایعات و جلوگیری از تخریب آنها به مرور زمان می‌باشد. از این رو، خشک کردن ماندگاری میوه‌ها و سبزیجات را افزایش می‌دهد (2). در خشک کردن، علاوه بر جلوگیری از فساد ماده غذایی ناشی از میکروارگانیسم‌ها یا واکنش‌های شیمیایی، وزن ماده غذایی کاهش می‌یابد و در هزینه‌های حمل و نقل و نگهداری، صرفه‌جویی می‌شود (3). کم بودن کارایی انرژی و طولانی بودن زمان خشک کردن طی دوره سرعت نزولی از معایب مهم خشک کردن با جریان هوای داغ (روش جابجایی) است. به دلیل کاهش ضریب هدایت حرارتی مواد غذایی در دوره سرعت نزولی فرآیند خشک کردن با روش جابجایی، سرعت انتقال حرارت به قسمت‌های درونی ماده غذایی کاهش می‌یابد (4 و 5). در مایکروویو انرژی الکترومغناطیسی به طور مستقیم به انرژی جنبشی مولکول‌های آب تبدیل می‌شود؛ بنابراین

<sup>62</sup> دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان - [hadisnow@gmail.com](mailto:hadisnow@gmail.com)

<sup>63</sup> گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران

<sup>64</sup> گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران

حرارت در درون محصول تولید شده و موانعی که موجب هدر رفت انرژی جهت انتقال آن از سطح به درون ماده غذایی می شود، وجود ندارد (6).

از طرفی دیگر، مدل سازی فرآیند خشک شدن به محققین کمک می کند که تا زمان رسیدن به محتوای رطوبتی مناسب را تخمین زده و از هدر رفت انرژی جلوگیری کنند. همچنین مدل سازی فرآیند خشک شدن به علت عدم امکان اندازه گیری پیوسته جرم در برخی دستگاه های تجاری و صنعتی ضرورتی دوچندان پیدا می کند (7 و 8).

باتوجه به موارد بیان شده، هدف از این پژوهش خشک کردن هویج با استفاده از توان های مختلف مایکروویو و مدل سازی این فرآیند جهت انتخاب بهترین مدل پیش بینی کننده خشک کردن هویج با استفاده از دستگاه مایکروویو بود.

### مواد و روش ها

به منظور انجام آزمایش ها، هویج های یکدست و یکنواخت از نظر رسیدگی و شاخصه های فیزیکی انتخاب شدند. سپس در دمای 4 درجه سانتی گراد تا زمان انجام آزمایش ها نگهداری شدند. هویج ها با دستگاه مخصوص برش، به ضخامت 5 میلی متری برش داده شدند. سپس میزان رطوبت اولیه آنها مطابق با روش استاندارد (4 ساعت در دمای 105 درجه درون آون) محاسبه شد (9).

برای انجام آزمایش ها از دستگاه مایکروویو پاناسونیک مدل NN-ST656W با 3 توان 300، 400 و 500 وات استفاده شد. وزن نمونه ها هر 30 ثانیه تا رسیدن به رطوبت نهایی توسط ترازوی Sartorius مدل CP153 با دقت 0/01 اندازه گیری شد. نمونه ها به صورت متقارن درون مایکروویو قرار گرفتند؛ زیرا حداکثر انرژی مایکروویو در مرکز آن جذب می شود.

نسبت رطوبت با توجه به رطوبت اولیه، رطوبت تعادلی و رطوبت توده در هر لحظه طی خشک شدن به وسیله رابطه (1) محاسبه شد:

$$MR = M_t - M_e / M_0 - M_e \quad (1)$$

در این رابطه، MR: نسبت رطوبت،  $M_t$ : رطوبت توده در لحظه جاری بر پایه خشک،  $M_e$ : رطوبت تعادلی، و  $M_0$ : رطوبت اولیه توده محصول است. طرف چپ معادله، نسبت رطوبت که مشخص کننده فرآیند خشک کردن است را نشان می دهد. براساس پژوهش های انجام شده، در محصولاتی که دارای رطوبت زیاد هستند معادله (1) به صورت معادله (2) ساده می شود.

$$MR = M_t / M_0 \quad (2)$$

جهت مدل سازی فرآیند، از نرم افزار متلب استفاده شد و دو معیار آماری ضریب همبستگی  $R^2$  و مربع میانگین خطای نسبی RMSE برای مقایسه نتایج و تعیین بهترین برازش انتخاب شد.

$$R^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (MR_{exp,i} - \overline{MR}_{pre})(MR_{exp,i} - \overline{MR}_{pre})}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (MR_{exp,i} - \overline{MR}_{pre})^2 \sum_{i=1}^n (MR_{exp,i} - \overline{MR}_{pre})^2}} \quad (3)$$

$$RMSE = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (MR_{exp,i} - \overline{MR}_{pre})^2} \quad (4)$$

که  $MR_{exp,i}$ ،  $i$  امین نسبت رطوبت آزمایشی و  $MR_{pre,i}$ ،  $i$  امین نسبت رطوبت پیش بینی شده،  $N$  تعداد مشاهدات و  $Z$  تعداد ثابت‌ها می‌باشد.

معادلات مختلفی برای پیش‌بینی روند خشک‌شدن محصولات ارائه شده است که در جدول (1) آورده شده‌اند (10).

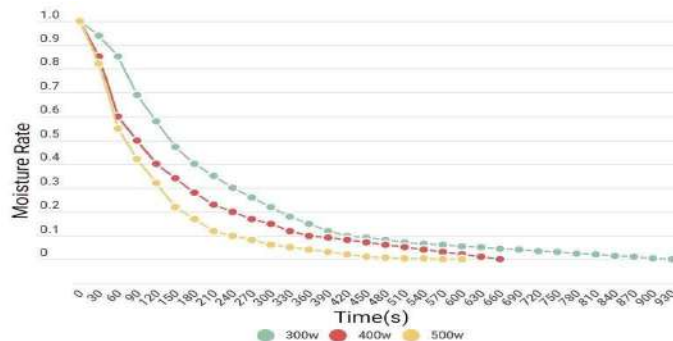
جدول 1: مدل‌های مورد استفاده جهت پیش‌بینی روند خشک‌شدن

شماره مدل	نام مدل	معادله مدل
1	مدل نیوتن	$MR = \exp(-kt)$
2	مدل پیچ	$MR = \exp(-kt^n)$
3	مدل اصلاح شده پیچ	$MR = \exp(-(kt)^n)$
4	مدل وانگ و سینگ	$MR = 1 + a.t + b.t^2$
5	مدل هندرسون و پابیس	$MR = a.\exp(-kt)$
6	مدل لگاریتمی	$MR = a.\exp(-kt) + c$
7	مدل تقریبی انتشار	$MR = a \exp(-kt) + (1-a)\exp(-kbt)$
8	مدل اصلاح شده پیچ 2	$MR = \exp(-c(t/L)^n)$
9	مدل میدیلی	$MR = a.\exp(-kt^n) + b.t$

بهترین برازشی که بتواند خصوصیات قطعات هویج را توصیف کند، باید دارای بیشترین ضریب همبستگی  $R^2$  و کمترین مقدار مربع میانگین خطای نسبی RMSE باشد.

## نتایج و بحث

رطوبت اولیه نمونه‌ها مطابق روش استاندارد (9) 88 درصد اندازه‌گیری شد. شکل 1 مقادیر اندازه‌گیری شده رطوبت برحسب زمان در مایکروویو با توان‌های 300، 400 و 500 وات را نشان می‌دهد.



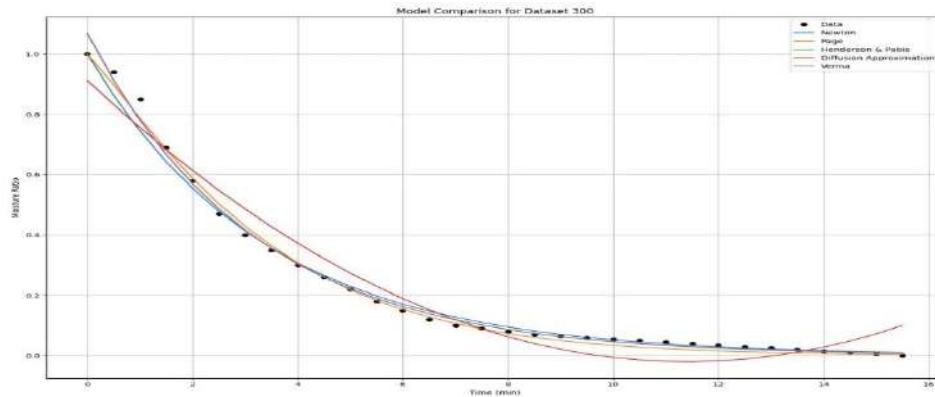
شکل 1: مقادیر اندازه‌گیری شده رطوبت بر حسب زمان در توان‌های مختلف

در آون با توان‌های 300، 400 و 500 وات، به ترتیب 930، 660 و 600 ثانیه زمان صرف خشک‌شدن قطعات هویج شد. مطابق جدول 2، مدل پیچ بهترین برازش را در مقایسه با سایر مدل‌ها جهت پیش‌بینی روند خشک‌شدن هویج داشت.

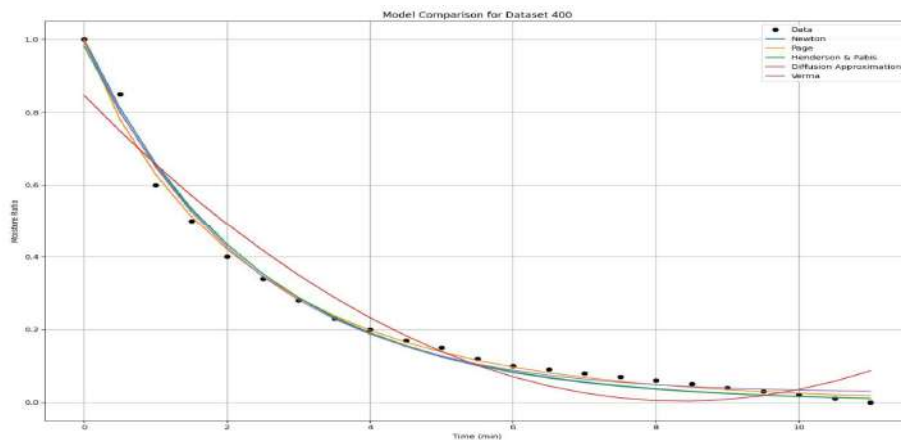
جدول 2: مقادیر به دست آمده برای  $R^2$  و RMSE مربوط به مدل‌های مختلف

مدل	توان (وات)	$R^2$	RMSE
نیوتن	300	0/990821	0/027201
پیچ	300	0/995404	0/019247
هندرسون و پابیس	300	0/994785	0/020501
انتشار تقریبی	300	0/957553	0/058495
ورما	300	0/994791	0/020490
نیوتن	400	0/992105	0/023584
پیچ	400	0/995253	0/018288
هندرسون و پابیس	400	0/992465	0/023040
انتشار تقریبی	400	0/943117	0/063307
ورما	400	0/993844	0/020825
نیوتن	500	0/996328	0/016720
پیچ	500	0/997036	0/015021
هندرسون	500	0/996898	0/015366
انتشار تقریبی	500	0/930370	0/072816
ورما	500	0/996899	0/015365

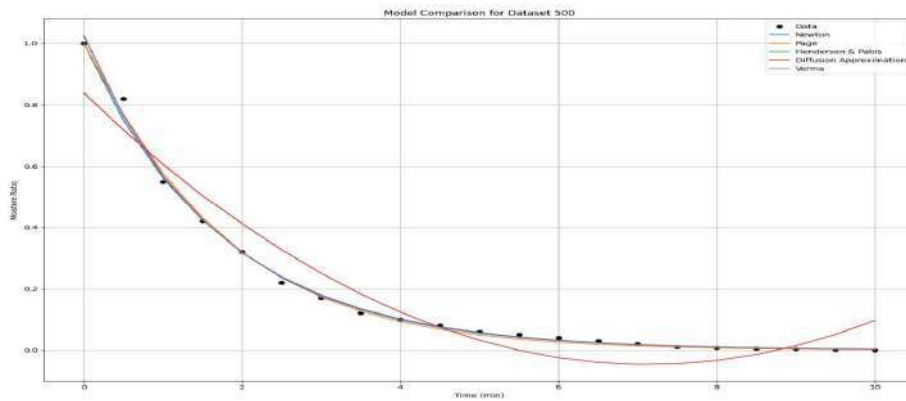
مطابق نتایج به دست آمده، مدل پیچ بالاترین  $R^2$  و پایین‌ترین RMSE را در مقایسه با سایر مدل‌ها داشت.



شکل 2: مقایسه مقادیر اندازه‌گیری شده با مدل‌های مختلف در توان 300 وات



شکل 3: مقایسه مقادیر اندازه‌گیری شده با مدل‌های مختلف در توان 400 وات



شکل 4: مقایسه مقادیر اندازه‌گیری شده با مدل‌های مختلف در توان 500 وات

نتایج مربوط به اندازه‌گیری رطوبت برحسب زمان در توان‌های مختلف، توسط پژوهش‌های دیگری نیز تایید شده است. برای نمونه در پژوهشی نتایج نشان داد که محتوای رطوبتی قطعات هویج به ضخامت 5 میلی‌متر در مایکروویو با توان‌های 300، 400 و 500 وات به ترتیب در مدت زمان 15 دقیقه و 20 ثانیه، 11 دقیقه و 9 دقیقه و 50 ثانیه به صفر رسید (11). هرچند پیرامون مدل‌سازی فرآیند تحت این شرایط تحقیقی صورت نگرفته است اما می‌توان به نتایج پژوهش‌های مشابه روی میوه‌ها و سبزیجات دیگر اشاره کرد. به عنوان مثال برای مدل‌سازی فرآیند خشک‌کردن لیموترش و حلقه‌های پیاز در مایکروویو، مدل پیچ به عنوان بهترین مدل انتخاب شد (12 و 13).

## نتیجه‌گیری

خشک‌کردن یکی از روش‌های نگهداری میوه‌ها و سبزیجات در طولانی مدت است. با استفاده از دستگاه مایکروویو می‌توان سبزیجات را به خوبی خشک‌کرد، زیرا امواج پرانرژی آن به خوبی وارد ماده غذایی شده و موجب ایجاد گرمای درونی می‌شود. در این پژوهش با استفاده از 3 توان مایکروویو (300، 400 و 500 وات) به مقایسه سرعت خشک‌شدن هویج در این دستگاه پرداخته و فرآیند را مدل‌سازی کردیم که در نهایت مدل پیچ به عنوان بهترین مدل جهت پیش‌بینی روند خشک‌شدن هویج در مایکروویو انتخاب شد.

## منابع

1- Erenturk, S., and K. Erenturk. 2007. Comparison of genetic algorithm and neural network approaches for the drying process of carrot. Journal of Food Engineering 78: 905-912.

2- رستمی باروجی، رضا، سیدلو هریس، سیدصادق، دهقان نیا، جلال. 1396. شبیه‌سازی عددی فرآیندهای انتقال رطوبت و گرما در خشک‌کردن همرفتی هویج پیش‌تیمار شده با امواج اولتراسوند و مایکروویو، ماشین‌های کشاورزی، (17)، 97-113.

3- Koç, B., Eren, İ., & Kaymak Ertekin, F. 2008. Modelling bulk density, porosity and shrinkage of quince during drying: The effect of drying method. Journal of Food Engineering, 85(3), 340-349.



- 4- **Adu, B. and L. Otten. 1996.** Effect of increasing hygroscopicity on the microwave heating of solid foods. *Journal of Food Engineering.*, 27: 35-44.
- 5- **Feng, H. and J. Tang. 1998.** Microwave finish drying of diced apples in a spouted bed. *Journal of Food Science.*, 63: 679-683.
- 6- **Krulis, M., Kühnert, S., Leiker, M. et al. 2005.** Influence of energy input and initial moisture on physical properties of microwave-vacuum dried strawberries. *Eur Food Res Technol* 221, 803–808.
- 7- **حیدری، محمد مهدی، نصیری، سیدمهدی. 1394.** مدل‌سازی ریاضی فرآیند خشک‌شدن لایه نازک میوه گلابی و بررسی اثر دما و سرعت هوای خشک کن بر تغییر رطوبت نسبی هوای خروجی. *مجله علوم و صنایع غذایی ایران*; 12(48): 229-215.
- 8- **سیگاری، حامد، طبسی زاده، محمد، عباسپور فرد، محمدحسین، گلزاریان، محمودرضا. 1394.** مدل‌سازی فرآیند خشک شدن کیوی در یک خشک کن تحت خلاء، پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران؛ 11(4): 391-382.
- 9- **Jahanbakhshi, A., Abbaspour-Gilandeh, Y., & Gundoshmian, T. M. 2018.** Determination of physical and mechanical properties of carrot in order to reduce waste during harvesting and post-harvesting. *Food Science & Nutrition*, 6(7), 1898- 1903.
- 10- **Ertekin, C. and Yaldiz, O. 2004.** Drying of Eggplant and Selection of a Suitable Thin Layer Drying Model. *Journal of Food Engineering*, 63, 349-359.
- 11- **قنبری، مانی، صحرائیان، سید مهدی. 1399.** بررسی و تحلیل سینتیک خشک کردن لایه‌های هویج با آون مایکروویو، فصلنامه علمی کارافن، 17(2). 134-127.
- 12- **یوسفی، علیرضا، قاسمیان، ناصر، سالاری، امیر. 1396.** مدل‌سازی سینتیک خشک کردن برش‌های لیموترش به روش تابش مادون قرمز با استفاده از شبکه‌های عصبی GMDH هیبریدی، فناوری‌های جدید در صنعت غذا، 5(1)، 105-91.
- 13- **یزدی، آرمان و کاشانی نژاد، مهدی و دارایی گرمه خانی، امیر. 1391.** بهینه سازی خشک کردن حلقه‌های پیاز با استفاده از ترکیب هوای داغ و مایکروویو، دومین سمینار ملی امنیت غذایی، سواد کوه.

## Modeling of carrot drying process using microwave

Sina Aghaei<sup>65</sup>, Leila Zarandi Miandoab<sup>66</sup>, Nader Chaparzadeh<sup>67</sup>

### Abstract

One of the ways to dry fruits and vegetables is to use a microwave. In this method, high power waves penetrate into them and cause internal heat; Therefore, the speed of this process is increased and the duration of its completion is significantly reduced. In this research, first the carrot root (edible part) was cut into 5 mm thickness. Experiments were performed at 300, 400 and 500 W microwave power. The results of the tests showed that the pieces cut at 300, 400, and 500 watts were dried in 930 seconds, 660 seconds, and 600 seconds, respectively. Also, by checking the values of  $R^2$  and RMSE, it was found that Page's model had the best agreement with the obtained data.

### Keyword

Drying, Microwave, Modeling, Carrots

<sup>65</sup> - PhD student of plant physiology, Shahid Madani University of Azarbaijan

<sup>66</sup> - Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Shahid Madani University of Azarbaijan, Tabriz, Iran

<sup>67</sup> - Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Shahid Madani University of Azarbaijan, Tabriz, Iran

## بررسی پاسخ‌های رشدی و فیزیولوژیکی 5 رقم انگور به تنش خشکی

شیوا خیاطی<sup>1</sup>

1. دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه ارومیه

[shiva.khayati2019@gmail.com](mailto:shiva.khayati2019@gmail.com)

ناصر عباسپور<sup>2\*</sup>

2. نویسنده مسئول: دانشیار، دکتری تخصصی فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه

ارومیه

[nabbaspour03@yahoo.com](mailto:nabbaspour03@yahoo.com)

[n.abbaspour@urmia.ac.ir](mailto:n.abbaspour@urmia.ac.ir)

فاطمه نژاد حبیب‌وش<sup>3</sup>

3. استادیار، دکتری تخصصی فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه ارومیه

[f.nejadhabibvash@urmia.ac.ir](mailto:f.nejadhabibvash@urmia.ac.ir)

### چکیده

تنش خشکی، مهم‌ترین فاکتور محیطی محدودکننده رشد، عملکرد و کیفیت محصولات زراعی از جمله انگور در سراسر جهان است. این پژوهش با هدف بررسی و مقایسه برخی از پاسخ‌های فیزیولوژیکی 5 رقم انگور متفاوت از نظر تحمل به خشکی به سطوح مختلف محدودیت آب صورت گرفت. به این منظور، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با 3 تکرار انجام گرفت. در این مطالعه، اثر غلظت‌های مختلف پلی‌اتیلن گلیکول (1%، 2% و 4%) در ارقام حسینی، گرند، لایروسکا، سیاه سردشت و گزندایی بر روی صفات فتوسنتز، تعرق، هدایت روزنه‌ای، محتوای نسبی آب، نشت یونی، وزن تر و خشک ریشه، وزن تر و خشک اندام هوایی و میزان کلروفیل a, b و کاروتنوئید در سطح احتمال 5% اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که با افزایش سطح تنش خشکی در 5 رقم انگور، پارامترهای رشدی، میزان فتوسنتز، محتوای نسبی آب برگ و میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی به طور معنی‌داری ( $P < 5\%$ ) کاهش یافت که بیشترین کاهش در سطح تنش 4% مشاهده شد. همچنین، با افزایش سطح تنش خشکی، میزان نشت یونی و کاروتنوئید افزایش معنی‌داری پیدا کرد. در بین ارقام مورد مطالعه، بیشترین میزان کاهش فتوسنتز مربوط به ژنوتیپ گزندایی (94/28 درصد کاهش) و کمترین میزان مربوط به ارقام لایروسکا و سردشت (به ترتیب 84/67 و 52/68) بود. همچنین، بیشترین میزان کاهش محتوای آب نسبی برگ در سطح 4% خشکی نسبت به شاهد مربوط به رقم حسینی و کمترین میزان کاهش مربوط به گزندایی بود. بیشترین میزان نشت الکترولیت در ژنوتیپ گرند و کمترین میزان در سردشت مشاهده گردید. نتایج نشان داد که با افزایش شدت تنش خشکی، پارامترهای رشدی در ارقام مورد مطالعه، کاهش پیدا کردند. به طور کلی، نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که تفاوت معنی‌داری در صفات اندازه‌گیری شده بین ارقام انگور در شرایط تنش وجود داشت. در این میان گزندایی بسیار حساس به تنش خشکی ارزیابی شد در حالیکه رقم سیاه سردشت توانست شرایط تنش را به خوبی تحمل کند.

واژگان کلیدی: انگور، تنش خشکی، پلی‌اتیلن گلیکول، فتوسنتز

## مقدمه:

انگور مهم‌ترین و با ارزش‌ترین میوه‌های دنیاست. سطح وسیعی از باغات میوه به این محصول با ارزش اختصاص دارد. این محصول باغی مهم‌ترین میوه گوشتی دنیا بوده به طوری که بر اساس گزارش خواربار کشاورزی سازمان ملل متحد در سال 1395 میزان تولید آن در ایران بیش از 3/17 میلیون تن و میانگین عملکرد آن 8 تن در هکتار بوده است (10). تنش خشکی در بیشتر مناطق دنیا از مهم‌ترین عوامل محدود کننده گسترش زادآوری و تولیدات گیاهی در سیستم‌های طبیعی و کشاورزی به شمار می‌آید، به طوری که مطالعات نشان می‌دهد از بین عوامل مختلف ایجاد کننده تنش‌های محیطی، تنش خشکی منجر به کاهش 45 درصدی تولیدات گیاهی شده است (10). گیاهان در برابر کمبود آب سریعاً واکنش نشان می‌دهند به طوری که اولین واکنش گیاهان و به خصوص درختان در برابر تنش کم آبی کاهش رشد رویشی می‌باشد. در طول کمبود آب رشد و نمو گیاه به تاخیر افتاده، اندازه برگ کاهش یافته و تغییرات آناتومیکی در اثر تغییر اندازه سلول‌ها، پیری و در نهایت مرگ در گونه‌های زیادی از گیاهان مشاهده شده است (15). کم آبی خصوصیات رویشی گیاهان از جمله وزن تر و خشک اندام‌ها، تعداد و سطح برگ را تحت تاثیر قرار می‌دهد (14). همچنین عوامل فیزیولوژیکی که تحت تاثیر خشکی قرار می‌گیرند عبارتند از: بازدارندگی فتوسنتزی و در نهایت کاهش رشد و تولید است (8). هدایت روزنه‌ای که کاهش فتوسنتز را تحت تاثیر قرار می‌دهد و شاخص مناسبی برای ارزیابی کاهش فتوسنتز در شرایط کم آبی است (11). مطالعات نشان می‌دهد که با کاهش محتوای نسبی آب برگ در تنش خشکی میزان هدایت روزنه‌ای و فتوسنتز، رشد و تولید کاهش می‌یابد (15). افزایش نشت یونی در تنش آبی نشان دهنده بروز آسیب‌های غشایی است (10). بنابراین باید تحقیقاتی در رابطه با کاهش اثرات کم آبی و افزایش توان گیاهان برای تحمل کم آبی صورت گیرد. مطالعات زیادی در مورد اثرات تنش خشکی بر روی محصولات کشاورزی مختلف انجام گرفته است. در مورد انگور می‌توان به تحقیق پلگرینو و همکاران (2005) اشاره کرد (4). وی و همکارانش صفات مرتبط با مقاومت به خشکی در انگور را مورد مطالعه قرار دادند و این صفات را در سه گروه طبقه‌بندی کردند: گروه اول مربوط به صفاتی مانند پتانسیل آب برگ و هدایت روزنه‌ای که از اهمیت بالایی برخوردار بودند. در گروه دوم صفاتی مانند دمای کانوپی، بازتابش نور برگ، میزان کلروفیل برگ، قطر تنه و سرعت جریان شیره پرورده را قرار دادند و در گروه سوم صفات رویشی را مورد بررسی قرار دادند. نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر ارقام بر روی صفات طول ساقه، تعداد برگ، طول ریشه و صفت تعداد ریشه‌های فرعی و اثر غلظت‌های مختلف پلی‌اتیلن‌گلیکول بر تمامی صفات در سطح احتمال 5% معنی‌دار بود. نتایج نشان داد شاخص‌های رشدی در غلظت 60 گرم بر لیتر کمترین رشد و در تیمار شاهد بیشترین افزایش مشاهده گردید. مقایسه میانگین داده‌ها مربوط به فاکتور ارقام نشان داد که به ترتیب بیشترین و کمترین مقدار طول ریشه، تعداد برگ و تعداد ریشه‌های فرعی را ارقام طول‌گوزو و اینه‌امجیی تولید نمودند. نتایج تجزیه واریانس داده‌های مربوط به سوربیتول نشان داد اثر ارقام و سوربیتول بر روی تمام صفات مورد بررسی در سطح احتمال 5% معنی‌دار بودند. تیمار شاهد و غلظت 30 گرم در لیتر سوربیتول به ترتیب کمترین و بیشترین مقدار را در صفات تعداد و طول ساقه، تعداد برگ و تعداد و طول ریشه را داشتند. مقایسه میانگین سوربیتول نشان داد که به ترتیب بیشترین و کمترین مقدار را ارقام سیاه و اینه‌امجیی تولید نمودند. در مطالعه‌ای دیگر رسولی و همکاران (2012)، وضعیت مقاومت 69 رقم انگور روسی را

نسبت به خشکی بررسی کردند و ارقام مورد بررسی خود را در چهار گروه بسیار مقاوم تا بسیار حساس تقسیم‌بندی کردند (1). تاثیر سطوح مختلف خشکی بر برخی از صفات ریخت‌شناسی و فیزیولوژیکی چهار رقم انگور غیر-پیوندی (سمرقندی، یاقوتی، رطبی و چفته) و پایه پیوندی R110، توسط بحرانی و همکاران در سال 1399 مورد مطالعه قرار گرفت. یافته‌های این پژوهشگران نشان داد که با افزایش شدت تنش خشکی، اغلب صفات ریخت‌شناسی مرتبط با رشد ظاهری انگور کاهش یافتند. برخی صفات فیزیولوژی (فنل، میزان کلروفیل کل و محتوای نسبی آب برگ) در مقایسه با شاهد کاهش یافتند. بیشتر تحقیقات صورت گرفته در زمینه کم آبی در شرایط مزرعه صورت گرفته است بر این اساس یکی از راه‌های مطالعه تنش کم آبی، مطالعه آن در شرایط آزمایشگاهی می‌باشد. بدین منظور برای بررسی اثرات تنش کم آبی با استفاده از تنظیم پتانسیل اسمزی در محیط کشت نیاز به موادی است که با ملکول‌های آب در محیط کشت درگیر شده و آن‌ها را از دسترس گیاه خارج کند و در ضمن وجود این مواد در محیط کشت فرآیند بیولوژیکی گیاه را تحت تاثیر قرار ندهد بدین منظور لاجرورف و همکاران (2019)، از بین 13 ترکیب مختلف شیمیایی پلی‌اتیلن‌گلیکول را به دلیل حلالیت بالا و چسبندگی کم توصیه کردند (1). پلی‌اتیلن‌گلیکول یک پلی‌مر قابل انعطاف و غیرسمی بوده و می‌تواند باعث شود فشار اسمزی منفی گردد. همچنین تمایلی به واکنش با مواد شیمیایی و بیولوژیکی ندارد و این خصوصیات پلی‌اتیلن‌گلیکول را به یکی از مفیدترین مولکول‌ها برای ایجاد فشار اسمزی منفی در آزمایشگاه‌های بیوشیمیایی (ویژه ایجاد تنش اسمزی) تبدیل کرده است. با توجه به این که در سال‌های آتی طبق پیش‌بینی‌ها، شدت خشکی و کمبود آب افزایش خواهد یافت، بنابراین دستیابی به راهکارهای مناسب جهت مقابله با تنش خشکی و شناسایی ارقام مقاوم به خشکی مهم و ضروری به نظر می‌رسد. از این رو این تحقیق، جهت بررسی تغییرات شاخص‌های رشدی و صفات فیزیولوژیکی در واکنش به تنش خشکی در 5 رقم انگور با هدف معرفی ارقام مقاوم و حساس انجام شد.

### مواد و روش‌ها:

**مواد گیاهی و صفات مورد مطالعه:** این آزمایش به صورت گلدانی در بهار 1402 در اتاق کشت گروه زیست‌شناسی دانشگاه ارومیه انجام گرفت. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام گرفت. در این پژوهش، قلمه‌های یک ساله ارقام حسینی، گزندایی، گزند، لایروسکا و سیاه سردشت از باغات انگور در آذربایجان غربی بدست آمد. صفاتی که مورد بررسی قرار گرفتند شامل محتوای نسبی آب برگ، نشت یونی، وزن تر ریشه و اندام هوایی، وزن خشک ریشه و اندام هوایی، میزان کلروفیل a، میزان کلروفیل b، کاروتنوئید، فتوستتوز، تعرق و هدایت روزنه‌ای بودند. تنش خشکی با پلی‌اتیلن‌گلیکول 6000 در چهار سطح 0% (شاهد)، 1%، 2% و 4% اعمال شد.

**تهیه محیط کشت:** بعد از تهیه قلمه از ژنوتیپ‌های مختلف انگور، قلمه‌ها به اتاق کشت انتقال یافته و بعد از ضد عفونی و تیمار اکسین در بستر حرارتی (heat bed) با دمای °C 25-35 و رطوبت نسبی حدود 80% قرار گرفتند. در ادامه بعد از ریشه‌زایی قلمه‌ها به گلدان‌های حاوی پرلیت انتقال یافته و بعد از باز شدن جوانه‌های برگی قلمه‌های ریشه‌دار و برگ‌دار ابتدا با محلول هوگلند 1/8 قدرت و بعد از سازگاری و گذشت دو هفته با محلول‌های هوگلند 1/4 و بعد 1/2 و در نهایت تمام قدرت انگور (حاوی ماکرونوترینت‌های 1M KNO<sub>3</sub>، 2M Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>، 2M MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O، 1M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> و میکرونوترینت‌های 28.5g l<sup>-1</sup> H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>،

شدند. وقتی گیاهان به حد مطلوب رشد (حداقل 4 برگ) رسیدند، دو هفته پس از شروع اعمال تنش گیاهان برداشت گردید و تا زمان استفاده در دمای 40- سانتی گراد نگهداری شدند.

**صفات رشدی:** جهت تعیین وزن خشک ریشه و اندام هوایی نمونه‌ها به تفکیک ریشه و اندام هوایی هر تیمار به مدت 48 ساعت در آن 70 درجه سانتیگراد قرار گرفته و سپس توزین شدند.

**فتوستت:** میزان فتوستت و تثبیت CO<sub>2</sub> و تغییرات آن طی تنش خشکی با استفاده از دستگاه اندازه گیری فتوستت HCM-1000, (Walz) و از طریق سنجش تبادل گاز به روش (Arnon, 1949) انجام گرفت.

**اندازه گیری رنگیزه‌های کلروفیل و کاروتنوئید:** برای اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوستت کلروفیل و کاروتنوئید از روش (Arnon, 1949) استفاده گردید. برای این منظور 0/05 گرم از وزن تر برگ را در هاون چینی که حاوی 5 میلی‌لیتر استون 100 درصد بود ساییده شد، عصاره حاصل به مدت 10 دقیقه با دور 3000g سانتریفیوژ شد و سپس فاز بالایی نمونه‌ها در لوله‌های اسپکتروفوتومتر ریخته شدند و جذب آن‌ها در طول موج های 647, 470 و 663 نانومتر خوانده شد. برای محاسبه کلروفیل a, کلروفیل b و کاروتنوئیدها از فرمول‌های زیر استفاده شد:

$$Chl_a = 12.7 A_{663} - 2.69 A_{647} \quad (1)$$

$$Chl_b = 22.9 A_{647} - 4.68 A_{663} \quad (2)$$

$$Car = A_{470} - (0.114)A_{663} - (0.638)A_{647} \quad (3)$$

**محتوای آب نسبی برگ:** برای اندازه‌گیری محتوای آب نسبی برگ، 10 دیسک به قطر 8 میلی‌متر از قسمت میانی پهنک‌ها تهیه شد. دیسک‌ها وزن شده و داخل پتری دیش‌های درب‌دار حاوی آب مقطر قرار گرفتند. قطعات برگ به مدت 4 ساعت در یخچال با دمای 5 درجه و در شرایط تاریکی نگهداری شده و پس از آن برای حذف رطوبت اضافی، دیسک‌ها بین دو کاغذ صافی قرار گرفتند سپس وزن آماس آنها اندازه‌گیری شد. سپس دیسک‌های برگ را به آن 70 درجه سانتیگراد منتقل کرده و بعد از 48 ساعت وزن خشک آنها تعیین شد. برای تعیین محتوای آب نسبی برگ از معادله زیر استفاده گردید که در آن FW (وزن تر برگ)، DW (وزن خشک برگ)، SW (وزن اشباع یا آماس برگ) می‌باشد.

$$RWC = (FW - DW) * 100 / (TW - DW) \quad (4)$$

**اندازه‌گیری نشت یونی:**

پس از برداشت 0/3 گرم از بافت تر برگ توزین شده و در داخل ویال‌های حاوی 10 میلی‌لیتر آب دیونیزه قرار گرفتند. سپس نمونه‌ها روی شیکر قرار داده شده و بعد از 24 ساعت نشت الکترولیت‌ها با استفاده از دستگاه EC متر اندازه‌گیری شد (EC1). بدین منظور ویال‌ها به مدت نیم ساعت در دمای 100 درجه داخل بن ماری جوش قرار داده شد. سپس نمونه‌ها به محیط آزمایشگاه منتقل شده و بعد از رسیدن دمای نمونه‌ها به دمای محیط، دوباره نشت الکترولیت‌های نمونه‌ها اندازه‌گیری شد (EC2).

$$\text{درصد خسارت} = EC1 / EC2 * 100 \quad (5)$$

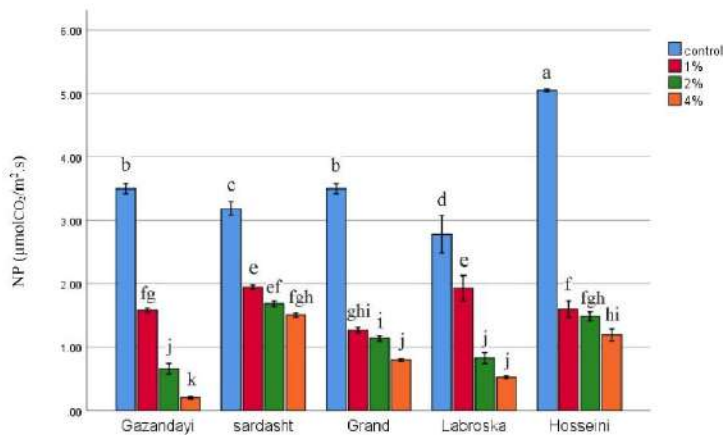
**تجزیه و تحلیل داده‌ها:**

روی داده‌های به دست آمده از آزمایش، تست فرضیات تجزیه واریانس و اطمینان از نرمال بودن داده‌ها توسط نرم افزار آماری SPSS (Ver. 26) انجام گرفت. مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌داری 5 درصد انجام شد.

## نتایج

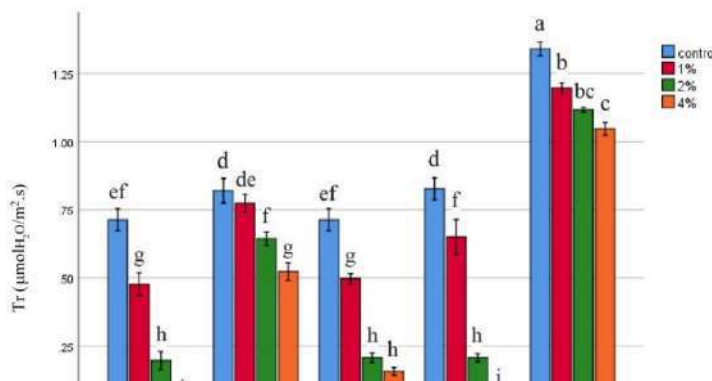
### فتوستنز (Photosynthesis):

نتایج آنالیز داده‌ها نشان داد که افزایش درصد خشکی در محیط کشت میزان فتوستنز، تعرق و هدایت روزنه‌ای در تمامی ژنوتیپ‌ها به صورت معنی‌داری کاهش یافت. در همه‌ی ژنوتیپ‌ها کمترین میزان فتوستنز در تیمار 4% خشکی و بیشترین آن در شاهد مشاهده گردید. نتایج GLM نشان داد که تفاوت بین ژنوتیپ‌ها در سطح آماری 5% معنی‌دار بود. بیشترین تاثیر پلی اتیلن گلیکول در کاهش فتوستنز مربوط به رقم گزندایی (94/29 درصد) و کمترین تاثیر آن در کاهش فتوستنز مربوط به رقم سردشت (52/84 درصد) بود (شکل 1). کاهش فتوستنز به دلیل کاهش جذب دی اکسید کربن و هم به دلیل کاهش فعالیت آنزیمی می‌باشد. علت اصلی محدود شدن فتوستنز، کاهش هدایت مزوفیلی می‌باشد (5). فعالیت فتوستنزی کلروپلاست جز واکنش‌های فیزیولوژیکی حساس گیاه در مقابل تنش خشکی می‌باشد که باعث تخریب غشا تیلاکوئیدی و عملکرد آن می‌گردد. در نتیجه فتوستنز و تولید محصول کاهش می‌یابد (5).



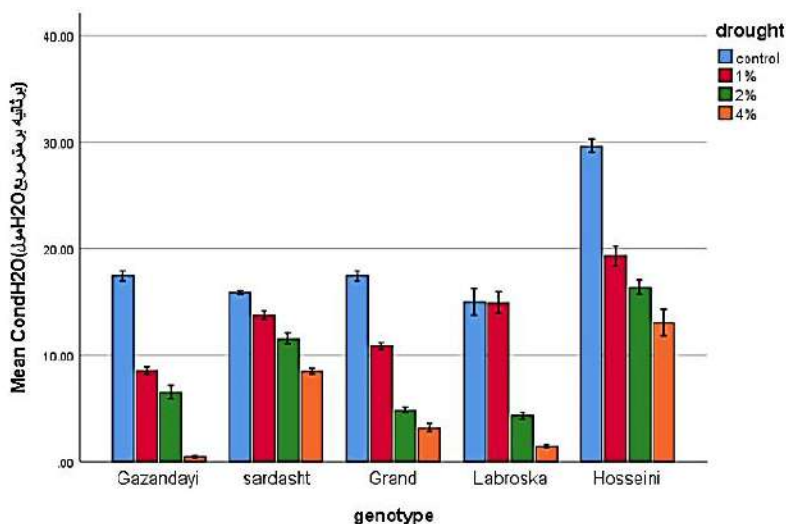
شکل 1- مقایسه میانگین تاثیر رقم مورد مطالعه بر میزان فتوستنز برگ انگور (حروف غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار بودن در سطح احتمال 5 درصد در بین میانگین‌ها در آزمون دانکن می‌باشند)

تعرق (Transpiration): با افزایش سطوح پلی اتیلن گلیکول، میزان تعرق در 5 ژنوتیپ به صورت معنی‌داری ( $P < 5\%$ ) کاهش یافت، به جز رقم گرند که کاهش میزان تعرق در سطوح 2 و 4 درصد پلی اتیلن گلیکول از نظر آماری معنی دار نبود (شکل 2). بر اساس آنالیز GLM تفاوت میان ژنوتیپ‌ها معنی‌دار بود. بیشترین تاثیر پلی اتیلن گلیکول در کاهش تعرق در رقم‌های گزن دایی و لابروسکا به ترتیب، 97/2 درصد و 92/02 درصد بدون تفاوت معنی دار بود. کمترین میزان کاهش تعرق در رقم حسینی مشاهده شد (22/4 درصد) (شکل 2).



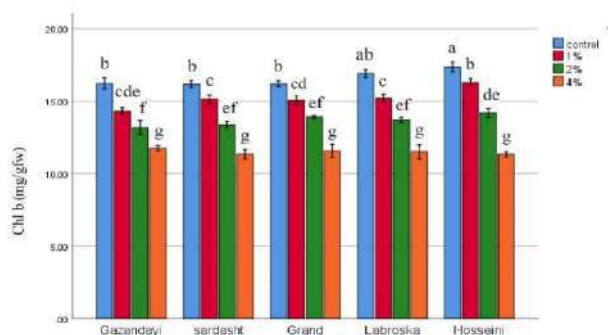
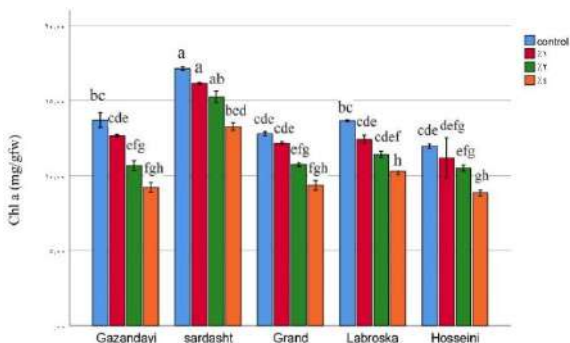
شکل 2- مقایسه میانگین تاثیر رقم مورد مطالعه بر میزان تعرق گیاه انگور (حروف غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار بودن در سطح احتمال 5 درصد در بین میانگین‌ها در آزمون دانکن می‌باشند)

هدایت روزنه ای (**Stomatal Conductivity**): همانند تعرق خشکی موجب کاهش میزان هدایت روزنه‌ای در تمامی ژنوتیپ‌ها گردید. بیشترین میزان هدایت روزنه‌ای مربوط به شاهد و کمترین آن مربوط به سطح پلی اتیلن گلیکول 4% بود (شکل 3). بیشترین کاهش هدایت روزنه‌ای در رقم گزن دایی (97/52 درصد) و کمترین میزان آن در رقم سردشت (48/02 درصد) مشاهده شد (شکل 3).



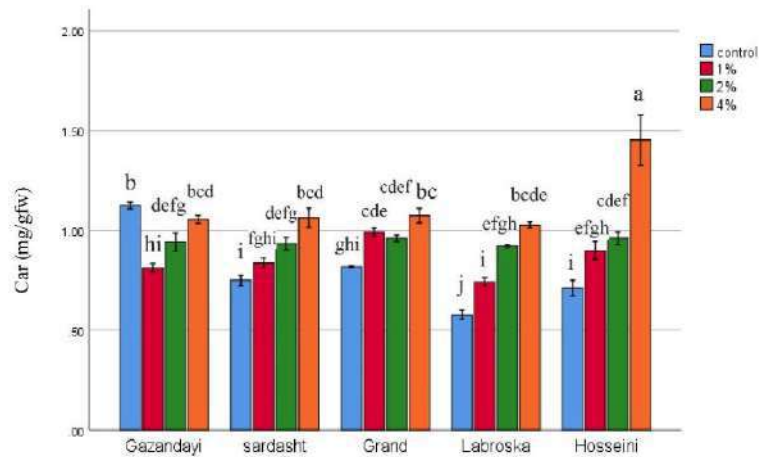
شکل 3- مقایسه میانگین تاثیر رقم مورد مطالعه بر میزان هدایت روزنه‌ای انگور (حروف غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار بودن در سطح احتمال 5 درصد در بین میانگین‌ها در آزمون دانکن می‌باشند)

کلروفیل (**Chlorophyll a,b**): محتوای کلروفیل a,b تحت تنش خشکی در تمامی ژنوتیپ‌های مورد بررسی کاهش یافت. نتایج مقایسات میانگین با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن نشان داد که پلی اتیلن گلیکول در میزان کلروفیل b ارقام انگور مورد مطالعه نتوانست تاثیر معنی دار آماری داشته باشد (شکل 4). بیشترین میزان کاهش کلروفیل b مربوط به رقم حسینی (34/74 درصد) و کمترین میزان کاهش مربوط به رقم گزندایی بود (27/62 درصد). بیشترین میزان کاهش کلروفیل a در رقم لابروسکا بود (46/72 درصد) (شکل 4). کمترین میزان کاهش این صفت در رقم حسینی (13/86 درصد) مشاهده شد. فتواکسیداسیون و از هم پاشیدگی کلروفیل سبب کم شدن میزان آن تحت تنش می‌گردد که به عنوان نشانگری از تنش اکسیداتیو این رنگیزه شناخته می‌شود و این کاهش کلروفیل، کلروپلاست را از آسیب گونه‌های فعال اکسیژن محافظت می‌کند. کم شدن کلروفیل در تنش خشکی نشانگر عامل محدودکننده غیرروزنه‌ای فتوسنتز می‌باشد (22).



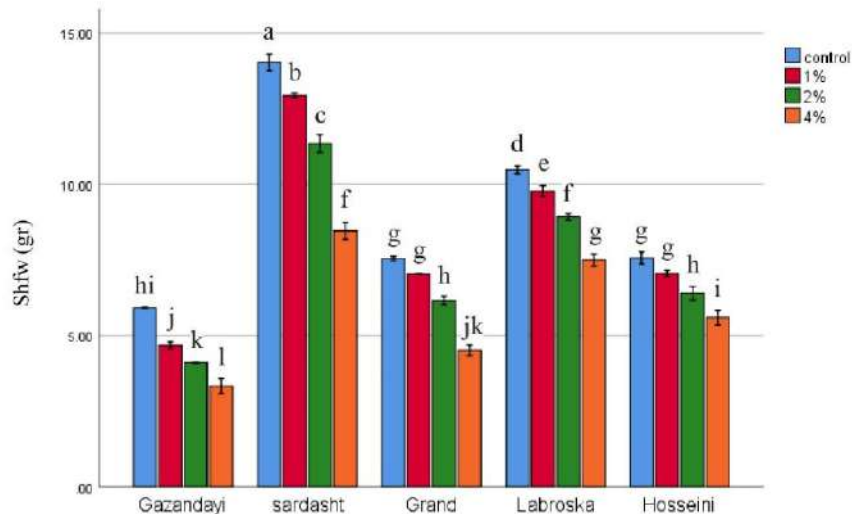
شکل 4- مقایسه میانگین تاثیر رقم مورد مطالعه بر میزان کلروفیل برگ انگور (حروف غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار بودن در سطح احتمال 5 درصد در بین میانگین ها در آزمون دانکن می باشند)

کاروتنوئید (Carotenoid): نتایج آنالیز آماری نشان داد که محتوای کاروتنوئید در اثر اعمال تنش خشکی در تمامی ژنوتیپها افزایش یافت. به طوری که بیشترین محتوای کاروتنوئید مربوط به سطح 4% پلی اتیلن گلیکول و کمترین میزان آن مربوط به شاهد می باشد (شکل 5). به طوری که در رقم حسینی میزان کاروتنوئید 2/04 برابر شاهد افزایش داشته است. کاروتنوئید که در جایگاه رنگیزه کمکی در فتوسنتز اثرگذار می باشد، نقش های دیگری دارد مانند حفاظت از غشا تیلاکوئیدی و جلوگیری از اکسیداسیون نوری کلروفیل دارد.



شکل 5- مقایسه میانگین تاثیر رقم مورد مطالعه بر میزان کاروتنوئید برگ انگور (حروف غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار بودن در سطح احتمال 5 درصد در بین میانگین ها در آزمون دانکن می باشند)

وزن تر اندام هوایی (Shoot Fresh Weight): سطوح مختلف پلی اتیلن گلیکول تاثیر معنی داری (P<5%) بر کاهش وزن تر اندام هوایی داشت. به طوری که با افزایش سطح پلی اتیلن گلیکول، وزن تر اندام هوایی در تمامی ژنوتیپها کاهش یافت (شکل 6). این کاهش در وزن تر اندام هوایی در سطح 4% پلی اتیلن گلیکول نسبت به شاهد در ژنوتیپ گزندایی، سردشت، گرند، لابروسکا و حسینی به ترتیب برابر 26/19، 28/48، 40/2، 39/6، 43/80 بود.

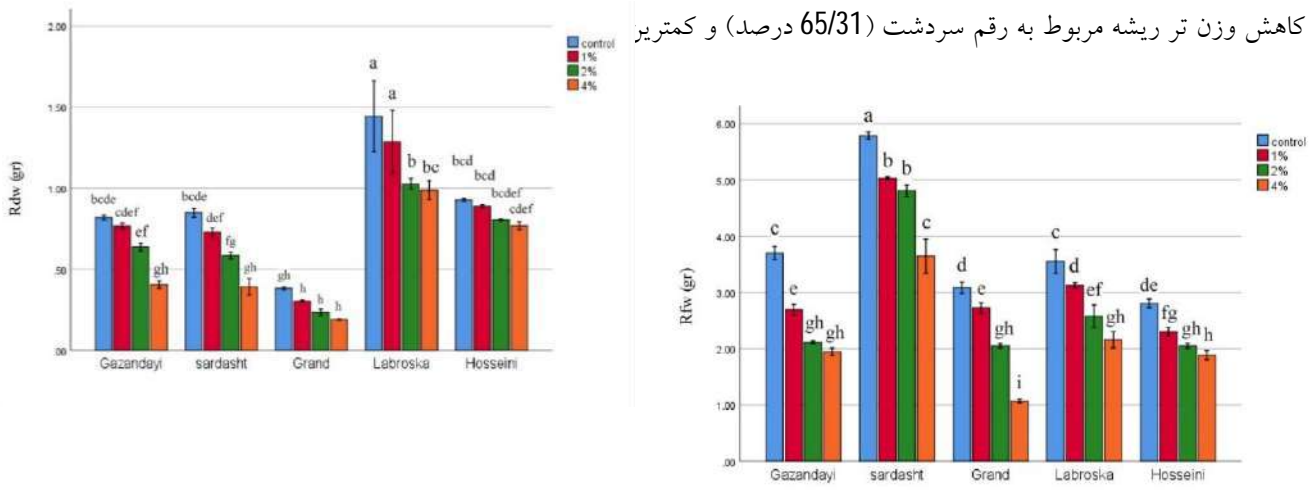




شکل 6- مقایسه میانگین تاثیر رقم مورد مطالعه بر میزان وزن تر اندام هوایی گیاه انگور (حروف غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار بودن در سطح احتمال 5 درصد در بین میانگین‌ها در آزمون دانکن می‌باشند)

وزن تر ریشه (Root Fresh Weight): سطوح مختلف پلی اتیلن گلیکول تاثیر معنی‌داری ( $P < 5\%$ ) بر کاهش وزن تر ریشه داشت. به طوری که با افزایش سطح پلی اتیلن گلیکول، وزن تر ریشه در تمامی ژنوتیپ‌ها کاهش یافت (شکل 7). بیشترین

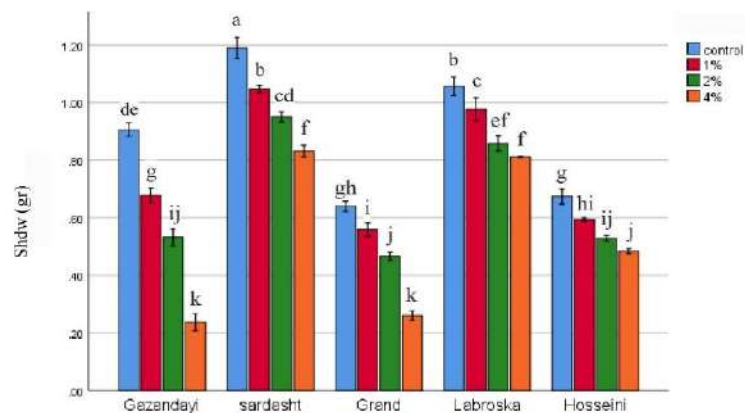
کاهش وزن تر ریشه مربوط به رقم سردشت (65/31 درصد) و کمترین



شکل 7- مقایسه میانگین تاثیر رقم مورد مطالعه بر میزان وزن تر ریشه گیاه انگور (حروف غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار بودن در سطح احتمال 5 درصد در بین میانگین‌ها در آزمون دانکن می‌باشند)

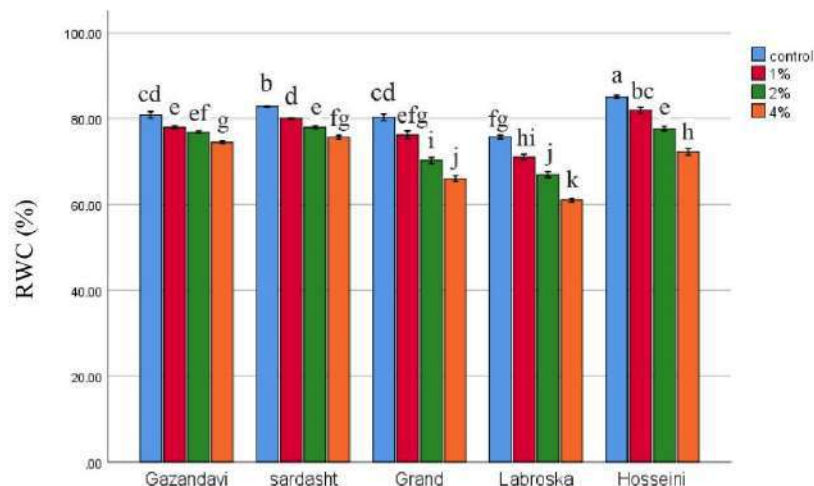
وزن خشک ریشه و اندام هوایی (Shoot and Root Dry Weight):

خشکی موجب کاهش وزن خشک اندام هوایی و ریشه گردید، به طوری که بیشترین میزان وزن خشک اندام هوایی در شاهد و کمترین میزان آن در سطح 4% پلی اتیلن گلیکول مشاهده شد (شکل 8). بر اساس آنالیز GLM، تفاوت بین سطوح خشکی و ژنوتیپ‌ها در سطح آماری 5٪ معنی‌دار بود. بیشترین میزان کاهش وزن خشک ریشه در رقم سردشت (53/4 درصد) و کمترین کاهش در رقم حسینی (16/98 درصد) مشاهده شد. بیشترین میزان کاهش وزن خشک اندام هوایی در رقم گزندایی (73/81 درصد) و کمترین کاهش در رقم لابروسکا (23/27 درصد) مشاهده شد.



شکل 8- مقایسه میانگین تاثیر رقم مورد مطالعه بر میزان وزن خشک ریشه و اندام هوایی گیاه انگور (حروف غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار بودن در سطح احتمال 5 درصد در بین میانگین‌ها در آزمون دانکن می‌باشند)

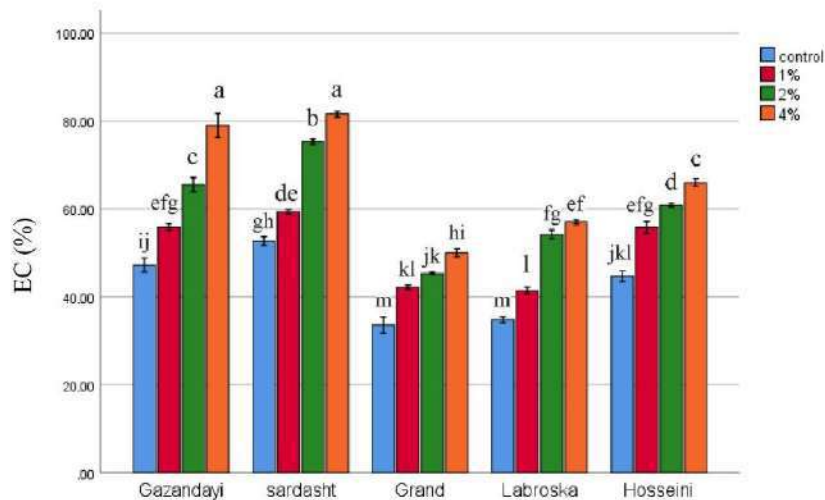
محتوای نسبی آب برگ (**Relative leaf Water Content**): نتایج نشان داد که با افزایش درصد پلی اتیلن گلیکول، محتوای نسبی آب برگ در تمامی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه کاهش یافت. به طوری که بیشترین محتوای نسبی آب مربوط به شاهد و کمترین محتوای آن مربوط به 4 درصد پلی اتیلن گلیکول بود (شکل 9). آنالیز GLM تفاوت معنی داری ( $P < 5\%$ ) را بین ژنوتیپ‌ها نشان داد به طوری که بیشترین میزان کاهش محتوای نسبی آب برگ در سطح 4% خشکی نسبت به شاهد، مربوط به رقم حسینی با 15/46 درصد و کمترین میزان کاهش مربوط به گزندایی و سردشت (به ترتیب، 8/88 درصد و 8/83 درصد) بدون تفاوت معنی دار بود. کاهش محتوای آب نسبی برگ در شرایط تنش هم به علت جذب آب کمتر بوسیله ریشه‌ها و هم به علت تعرق بیشتر آب بوسیله برگ‌ها می‌باشد که سبب بسته شدن روزنه‌ها می‌شود (17).



شکل 9- مقایسه میانگین تاثیر رقم مورد مطالعه بر میزان RWC (حروف غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار بودن در سطح احتمال 5 درصد در بین میانگین‌ها در آزمون دانکن می‌باشند)

نشت الکترولیت (**Electrolyte**): نتایج مطالعه حاضر نشان داد که نشت الکترولیت با افزایش سطوح خشکی به طور معنی داری در تمامی ژنوتیپ‌ها افزایش یافته است. به طوری که بیشترین میزان نشت الکترولیت‌ها مربوط به سطح 4% پلی اتیلن گلیکول و کمترین میزان آن مربوط به شاهد بود (شکل 10). بر اساس آنالیز GLM، تفاوت بین ژنوتیپ‌ها و سطوح خشکی معنی دار بود. بر این اساس بیشترین میزان نشت الکترولیت در ژنوتیپ‌های لابروسکا و گزندایی (به ترتیب 1/63 و 1/66 برابر شاهد) و کمترین میزان آن در رقم حسینی (1/46 برابر شاهد) مشاهده گردید (شکل 10). نشت عناصر ضروری به خارج از سلول به علت پراکسیداسیون چربی‌های غشا سبب اختلال در عملکرد غشا و به هم خوردگی تعادل متابولیکی می‌گردد. افزایش نشت یونی

تحت تنش خشکی مشاهده شده است. آسیب غشا سلول در تنش خشکی مانع تکامل دیواره سلولی می شود در نتیجه سبب نشت یونی از دیواره می گردد (5).



10- مقایسه میانگین تاثیر رقم مورد مطالعه بر میزان نشت الکترولیت گیاه انگور (حروف غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار بودن در سطح احتمال 5 درصد در بین میانگین ها در آزمون دانکن می باشند)

#### بحث

تنش آب می تواند بسیاری از جنبه های متابولیسم و رشد گیاه را تحت تاثیر قرار دهد. کمبود آب با تاثیر بر آماس سلولی و در نتیجه باز و بسته شدن روزنه ها، فرآیندهای فتوسنتزی و تعرق را نیز تحت تاثیر قرار داده و از طرف دیگر با تاثیر بر فرآیندهای آنزیمی که به طور مستقیم با پتانسیل آب کنترل می شود بر رشد گیاه اثر منفی می گذارد (5). زمانی که در شرایط تنش خشکی ارتفاع گیاه و تعداد برگ کاهش می یابد به دنبال آن وزن تر و خشک اندام هوایی کم می شود. در تحقیقات انجام شده روی گیاهان مختلف روند نزولی وزن تر و خشک اندام هوایی طی پتانسیل های منفی تر گزارش شده است (5). در زیتون در شرایط تنش خصوصیات رویشی شامل ارتفاع، وزن تر و خشک اندام ها، تعداد و سطح برگ ها تحت تاثیر قرار می گیرند (9). خشکی در توت فرنگی باعث کاهش سطح برگ و وزن ریشه و میزان محصول می گردد (13).

**RWC**: گیاهان در شرایط کم آبی، به روش های مختلفی فعالیت های فیزیولوژیکی خود را حفظ می کنند. برای مثال بسیاری از گیاهان با افزایش غلظت یون ها در سلول های برگ، ریشه و سایر اندام ها در واکنش به تنش خشکی آماس خود را حفظ می کنند (20). رسولی (1381) اظهار داشت ارقامی از انگور که در شرایط خشکی خاک توانایی جذب آب بیشتر با راندامان مصرف آب زیادتری داشته باشند و بتوانند محتوای نسبی آب اندام های خود را بالاتر نگه دارند، مقاومت بیشتری به خشکی خاک خواهند داشت. کاهش محتوای نسبی آب برگ سبب کم شدن فتوسنتز و کلروفیل می گردد زیرا سبب بسته شدن روزنه ها و کاهش فراهمی  $CO_2$  به مزوفیل گردیده است (19). محتوای نسبی آب برگ به عنوان شاخصی مناسب از وضعیت آب برگ ها است که در صورت پیشرفت

تنش خشکی کاهش یافته و مسبب تغییرهایی در غشا یاخته ای و در نتیجه افزایش نشت الکترولیت می‌گردد. در حقیقت نشت الکترولیت می‌تواند به عنوان یک شاخص از چگونگی آسیب های وارده به یاخته های برگ در طی تنش خشکی مطرح باشد (12).

EC: تنش خشکی موجب افزایش پراکسیداسیون چربی ها و به دنبال آن‌ها کاهش شاخص پایداری غشای سلولی در گیاهان مختلف می‌شوند (23). در تنش های شدید بعضی از قسمت های فسفولیپیدهای دولایه‌ای غشا حالت کروی گرفته و ساختار غشا به ساختار منفذدار تبدیل می‌شود و نشت مواد روی می‌دهد. یکی از روش های تعیین میزان خسارت به غشا سلولی به اثر تنش خشکی، اندازه گیری نشت الکترولیت ها از بافت ها می‌باشد (23). نشت عناصر ضروری به خارج از سلول به علت پراکسیداسیون چربی های غشاست. اختلال در عملکرد غشا و به هم خوردگی تعادل متابولیکی می‌گردد (7). افزایش نشت یونی تحت تنش خشکی مشاهده شده است. آسیب غشا سلول در تنش خشکی مانع تکامل دیواره سلولی می‌شود در نتیجه سبب نشت یونی دیواره می‌گردد (24).

رنگیزه‌ها: کاهش مقدار رنگیزه های فتوسنتزی در شرایط تنش خشکی یکی از عوامل غیر روزنه ای است که موجب کاهش فتوسنتز می‌شود. کلروفیل مهم ترین رنگیزه دخیل در فتوسنتز است که نور را در نواحی آبی و قرمز طیف مرئی جذب می‌نماید. در میان انواع مختلف کلروفیل، کلروفیل a مهم ترین نوع می‌باشد. کلروفیل b یک رنگیزه کمکی است که در فتوسنتز نیز نقش دارد. در شرایط خشکی تشکیل پلاستید های جدید و مقادیر کلروفیل a و b کاهش پیدا کرده است و نسبت آن ها تغییر می‌یابد (3). در شرایط خشکی، خشک شدن بافت های برگ نه تنها مانع ساخته شدن کلروفیل می‌گردد بلکه به نظر می‌رسد که تخریب کلروفیل موجود را باعث شود (3). کاهش محتوای رنگیزه ها، چه در اثر کاهش سرعت سنتز و چه در نتیجه سزیم تر آن ها یکی از علائم آشکار تنش اکسیداتیو القا شده توسط تنش خشکی می‌باشد (22). طبق تحقیقات انجام شده (20) بر روی درختان *Arbutus undero* در شرایط تنش خشکی با محتوای آب نسبی 68% میزان کارتنوئید به موازات کلروفیل تغییر نشان داد. کارتنوئیدها در جایگاه رنگیزه کمکی در فتوسنتز اثرگذار می‌باشد و همچنین در حفاظت از غشای تیلاکوئیدی و جلوگیری از اکسیداسیون نوری کلروفیل نقش دارند (16).

### نتیجه گیری

نتایج نشان داد که در همه ارقام با افزایش شدت تنش خشکی وزن تر و خشک گیاه و همچنین وزن خشک ریشه و سایر پارامترهای رشدی کاهش پیدا کردند. بیشترین کاهش محتوای نسبی آب برگ مربوط به رقم لایروسکا و کمترین آن مربوط به رقم گزندایی بود. افزایش درصد خشکی میزان فتوسنتز، تعرق و هدایت روزنه‌ای در تمامی ژنوتیپ‌ها به صورت معنی‌دار کاهش یافت که در همه ژنوتیپ‌ها کمترین میزان فتوسنتز در تیمار 4% خشکی و بیشترین آن در شاهد مشاهده شد و در سطح 5% معنی‌داری بیشترین میزان کاهش مربوط به لایروسکا و کمترین آن مربوط به گزندایی می‌باشد. و همین طور تعرق گیاه هم در کمترین سطح خود یعنی 4% خشکی و بیشترین میزان آن در سطوح پایین خشکی و شاهد مشاهده شد. کلروفیل a, b در تمامی ژنوتیپ‌های مورد بررسی تحت تنش خشکی کاهش پیدا کردند که بیشترین محتوای کلروفیل مربوط به شاهد و کمترین آن مربوط به سطح 4% خشکی است. وزن تر و خشک اندام هوایی در همه ژنوتیپ‌ها روند کاهشی رو داشته است. اما در کارتنوئید و نشت یونی با افزایش اعمال تنش خشکی به طور معنی‌داری در تمامی ژنوتیپ‌ها ما شاهد افزایش آنها بوده‌ایم، که در نشت یونی بیشترین میزان در رقم گزند و کمترین آن مربوط به سردشت می‌باشد. تنوع پایه‌های انگور امکان سازگاری آن با اکثر خاک‌ها فراهم نموده است. ریشه انگور نسبتاً ژرف است به این دلیل انگور در برابر کم آبی پایدار می‌باشد و می‌توان آن را در اکثر نقاط ایران پرورش داد (6). نتایج حاصل از این تحقیق

نشان می‌دهد که تفاوت معنی‌داری در صفات اندازه‌گیری شده بین ارقام انگور در شرایط تنش وجود دارد. ارقامی مانند گزندایی و لابروسکا بسیار حساس به تنش خشکی بوده و این واکنش بیشتر در گزندایی مشاهده شد، در حالیکه رقم سردشت توانست شرایط تنش را به خوبی تحمل کند و در دو رقم گرند و حسینی تحمل نسبتاً خوبی به تنش خشکی مشاهده گردید.

## منابع و مراجع

- 1- لاجرورف، 2019. بررسی مقاومت به خشکی چند رقم انگور در شرایط آزمایشگاهی. مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران) (علمی)، 32 (1)، pp.10-22.
- 2- بحرانی، عبادی، زمانی، ذبیح‌اله و فتاحی مقدم، 2020. تأثیر سطوح مختلف خشکی در برخی صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک به‌منظور انتخاب متحمل‌ترین پایه انگور. پژوهش‌های تولید گیاهی، 27 (1)، pp.41-56.
- 3- دری، نوری‌نیا and عباسعلی، 2004. تأثیر تنش خشکی بر برخی ویژگیهای گیاهی *Plantago ovata* Forsk. تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران، 12 (2)، pp.131-142.
- 4- رسولی و گل‌محمدی، 2009. ارزیابی تحمل به تنش خشکی ارقام انگور استان قزوین. نهال و بذر، 25 (2)، pp.349-359.
- 5- نباتی، جعفر and کافی، 2010. فیزیولوژی تنش‌های محیطی در گیاهان.
- 6- نجاتیان محمدعلی، 1397. مقایسه تحمل به سرما در برخی ارقام انگور ایران و اروپا.
- 7- Blokhina, O., Virolainen, E. and Fagerstedt, K.V., 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Annals of botany*, 91(2), pp.179-194.
- 8- Chaves, M.M., Pereira, J.S., Maroco, J., Rodrigues, M.L., Ricardo, C.P.P., Osório, M.L., Carvalho, I., Faria, T. and Pinheiro, C., 2002. How plants cope with water stress in the field? Photosynthesis and growth. *Annals of botany*, 89 (7), pp.907-916.
- 9- Dichio, B., Romano, M., Nuzzo, V. and Xiloyannis, C., 2000, September. Soil water availability and relationship between canopy and roots in young olive trees (cv Coratina). In *IV International Symposium on Olive Growing* 586 (pp. 255-258).
- 10- Emam, Y. and Zavarehi, M., 2005. Drought tolerance in higher (Genetically, Physiological and Molecular Biological Analysis).
- 11- Flexas, J. and Medrano, H., 2002. Drought inhibition of photosynthesis in C3 plants: stomatal and non stomatal limitations revisited. *Annals of botany*, 89 (2), pp.183-189.
- 12- Fu, J., Fry, J. and Huang, B., 2004. Minimum water requirements of four turfgrasses in the transition zone. *HortScience*, 39(7), pp.1740-1744.
- 13- Grant, O.M., Johnson, A.W., Davies, M.J., James, C.M. and Simpson, D.W., 2010. Physiological and morphological diversity of cultivated strawberry (*Fragaria × ananassa*) in response to water deficit. *Environmental and Experimental Botany*, 68(3), pp.264-272.
- 14- Higgs, K.H. and Jones, H.G., 1990. Response of apple rootstocks to irrigation in south-east England. *Journal of Horticultural Science*, 65 (2), pp.129-141.
- 15- Jaleel, C.A., Manivannan, P., Lakshmanan, G.M.A., Gomathinayagam, M. and Panneerselvam, R., 2008. Alterations in morphological parameters and photosynthetic pigment responses of *Catharanthus roseus* under soil water deficits. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, 61 (2), pp.298-303.
- 16- Lawlor, D.W. and Cornic, G., 2002. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant, cell & environment*, 25(2), pp.275-294.
- 17- Lebon, E., Pellegrino, A., Louarn, G. and Lecoq, J., 2006. Branch development controls leaf area dynamics in grapevine (*Vitis vinifera*) growing in drying soil. *Annals of Botany*, 98 (1), pp.175-185.

- 18- **Lemos, E.E.P. and Baker, D.A., 1998.** Shoot regeneration in response to carbon source on internodal explants of *Annona muricata* L. *Plant growth regulation*, 25, pp.105-112.
- 19- **Lu, C. and Zhang, J., 1998.** Effects of water stress on photosynthesis, chlorophyll fluorescence and photoinhibition in wheat plants. *Functional Plant Biology*, 25(8), pp.883-892.
- 20- **Morgan, J.M., 1984.** Osmoregulation and water stress in higher plants. *Annual review of plant physiology*, 35(1), pp.299-319.
- 21- **Munné-Bosch, S. and Peñuelas, J., 2004.** Drought-induced oxidative stress in strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) growing in Mediterranean field conditions. *Plant Science*, 166(4), pp.1105-1110.
- 22- **Smirnoff, N., 1993.** Tansley Review No. 52. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. *New phytologist*, pp.27-58.
- 23- **Taiz, L. and Zeiger, E. (2006).** *Plant Physiology* (4th ed.). Publishers sunderland, Massachu setts, 738.
- 24- **Vannozzi, G. and Larner, F., 2007.** Proline accumulation during drought rhizogene in maize. *Journal of Plant Physiology*, 85, pp.441-467.

## Investigation of growth and physiological responses of 5 grape varieties to drought stress

### Abstract

Drought stress is the most important environmental factor limiting the growth, yield and quality of crops, including grapes, all over the world. This research was conducted with the aim of investigating and comparing some physiological responses of 5 different grape cultivars in terms of drought tolerance to different levels of water limitation. For this purpose, a factorial experiment was conducted in the form of a completely randomized design with 3 replications. In this study, the effect of different concentrations of polyethylene glycol (PEG) (1%, 2% and 4%) on Hosseini, Grand, Labruska, Siah Sardasht and Gazandai genotypes was investigated determining net photosynthesis, transpiration rate, stomatal conductance, relative water content (RWC), ion leakage (EC), root and shoot fresh and dry weights, chlorophyll a, b and carotenoid content. The results showed that with increasing drought stress level in all the genotypes, growth parameters, net photosynthesis, relative water content of leaf and the amount of photosynthetic pigments decreased significantly ( $P < 5\%$ ). The maximum decrease was observed at 4% PEG treatment. Also, ion leakage and carotenoid content increased significantly with increasing the level of drought stress. Among the genotypes studied, the lowest and highest rate of net photosynthesis decline was observed respectively in Gazandai and Labrusca. Also, the highest and lowest decrease in leaf RWC at 4% dry level compared to the control, was determined in Hosseini and Gazandai respectively. Meanwhile, the highest and lowest amount of electrolyte leakage was respectively observed in Grand and Sardasht genotypes. Overall results showed that among the genotypes exposed to PEG dryness, Siah Sardasht has a great capacity to tolerate drought stress while Gazandai seems to be very sensitive to water deficiency.

**Keyword:** grapes, drought stress, polyethylene glycol, photosynthesis

## بررسی تاثیر باکتری محرک رشد گیاه *Bacillus halotolerans* بر روی خصوصیات

### فیزیولوژیکی گیاه ذرت تحت تنش خشکی

نعمت صمیمی<sup>1\*</sup>، اصغر مصلح آرانی<sup>2</sup>، حسن اعتصامی<sup>3</sup>، مریم السادات میرباقری فیروزآباد<sup>4</sup>، محسن صادقیان

چکیده

خشکسالی یکی از مهم ترین عوامل محدود کننده تولید محصولات زراعی در سراسر جهان است. گیاهان از مکانیسم های فیزیولوژیکی مختلفی برای مقابله با تنش خشکی استفاده می کنند. ریزوباکترهای محرک رشد گیاه می توانند با تولید ترکیبات مختلف به گیاهان کمک کنند تا با استرس محیطی مقابله کنند. در این تحقیق اثر ریزوباکتری های محرک رشد گیاه بر ویژگی های بیوشیمیایی گیاه ذرت در شرایط تنش کم آبی مورد بررسی قرار گرفت. تیمارها شامل باکتری در دو سطح شاهد و تلقیح با باسیلوس هالوتولرانس و سه سطح دوره آبیاری 3، 6 و 9 روزه بود. نتایج نشان داد که طولانی تر شدن دوره آبیاری باعث کاهش معنی دار میزان کلروفیل کل، کلسیم، فسفر و قندهای محلول و افزایش میزان پرولین و کاروتنوئیدها شد. تلقیح با باسیلوس هالوتولرانس، میزان کلروفیل، فسفر و کلسیم را به ترتیب 10، 39 درصد و (آبیاری 6 روزه) 33 درصد در طول دوره آبیاری 9 روزه افزایش داد. همچنین تلقیح با باسیلوس هالوتولرانس باعث کاهش محتوای پرولین (84 درصد در آبیاری 9 روزه) و کاروتنوئیدها (23 درصد در آبیاری 6 روزه) شد. بنابراین، نتیجه گیری شد که باسیلوس هالوتولرانس می تواند به عنوان ابزاری موثر برای بهبود تحمل گیاه ذرت در برابر تنش خشکی استفاده شود.

واژگان کلیدی: تنش خشکی، *Bacillus halotolerans*، ذرت

مقدمه

خشکی به عنوان تأثیرگذارترین عامل بر رشد گیاه از جایگاه ویژه ای در میان تنش های محیطی برخوردار است. انتظار می رود خشک سالی تا سال 2050 باعث مشکلات جدی رشد گیاهان برای محصولات زراعی بیش از 50 درصد از زمین های زراعی شود (Ashraf and Wu 1994). در برخی مناطق، رویدادهای بارندگی شروع به کاهش کرده اند و افزایش شدید دما در حال شایع تر شدن است (به طور بالقوه به دلیل گرم شدن زمین). در نتیجه، مشکلات شدید خشک سالی در پنبه (*Gossypium hirsutum L*)، ذرت (*Zea mays L*) و سویا (*Glycine max L*) در بسیاری از مناطق تولید زراعی در سراسر جهان مشاهده شده است (Change 2013). بنابراین، تمرکز عمده تحقیقات بر توسعه استراتژی های مدیریتی است تا بتواند بر محدودیت های خشک سالی غلبه کند.

در دهه های گذشته، تحقیقات گسترده ای برای کاهش تأثیر تنش خشکی بر رشد و تولید گیاهان انجام شده است، مانند توسعه واریته های مقاوم به خشکی، ارزیابی تأثیر تغییر تاریخ کاشت محصول و تغییرات در شیوه های مدیریت منابع و همچنان نشان داده شد که تنش های شیمیایی روی فیزیولوژی گیاهان اثر دارد (Shanker and Venkateswarlu 2009).

باین حال، بسیاری از این فن‌ها به هزینه حساس هستند. یک استراتژی جایگزین برای کاهش اثرات مضر تنش خشکی بر محصولات می‌تواند استفاده از میکروارگانیسم‌ها، از جمله قارچ‌های میکوریزی آربوسکولار (قارچ‌های AM) که همزیستی با این قارچ‌ها اثرات مثبتی بر فیزیولوژی گیاه می‌گذارد یا باکتری‌های خاک باشد (Forchetti et al. 2010; Marulanda et al. 2009).

مطالعات متعددی برای بررسی نقش ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) در مدیریت تنش‌های زیستی (از طرف موجودات زنده وارد می‌شود) و غیر زیستی انجام شده است (Ngumbi and Kloepper 2016; Sandhya et al. 2009; Yildirim et al. 2011). مکانیسم‌های احتمالی تحمل به خشکی گیاه ناشی از ریزوباکتری‌ها عبارتند از: (1) تولید هورمون‌های گیاهی مانند اسید آبسزیک (ABA)، اسید جبرلیک، سیتوکینین‌ها و ایندول-3-استیک اسید (IAA). (2) ACC-دآمیناز برای کاهش سطح اتیلن در ریشه. (3) تحمل سیستمیک ناشی از ترکیبات باکتریایی (Kim et al. 2012; Timmusk et al. 2014).

چندین مطالعه گزارش کرده‌اند که سویه‌های خاصی از PGPR می‌توانند رشد گیاه را در شرایط تنش خشکی بهبود بخشند و گیاهان را از اثرات مضر کمبود آب محافظت کنند (Cohen et al. 2015; Kim et al. 2012; Wang et al. 2012). لیم و کیم (2013) گزارش کردند که *Bacillus licheniformis K11* با تولید اکسین و 1-آمینو سیکلوپروپان-1-کربوکسیلیک اسید (ACC)-دآمیناز، تنش خشکی را در فلفل (*Capsicum annuum L.*) کاهش داد. تلقیح گونه‌های باسیلوس در سورگوم (*Sorghum bicolor*) تحت تنش خشکی منجر به رطوبت بهتر خاک، افزایش طول ساقه و بیوماس خشک ریشه شد و در نتیجه رشد نهال سورگوم را بهبود بخشید (Grover et al. 2014). قاسم و همکاران (2013) سویه‌های *Bacillus* و *Azospirillum* را بر روی گندم (*Triticum aestivum*) تحت شرایط خشک‌سالی پیش‌رونده (با توقف آب به مدت 4، 5 یا 7 روز) تلقیح کردند و دریافتند که PGPR بقای گیاهچه را افزایش می‌دهد، وزن زیست‌توده تازه و خشک و آب بافت گیاه را بهبود می‌بخشد. نتایج مشابهی نیز در نهال‌های ذرت با سویه‌های مختلف PGPR مشاهده شد (Naseem and Bano 2014; Sandhya et al. 2010). در مجموع این مطالعات نشان داد که PGPR می‌تواند پارامترهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی نهال ذرت مانند محتوای نسبی آب، افزایش سطح پرولین، قندها و اسیدهای آمینه آزاد و کاهش نشت الکترولیت و فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی را بهبود بخشد و در نتیجه رشد گیاه را بهبود بخشد و خشک‌سالی را کاهش دهد. در این تحقیق تاثیر باکتری محرک رشد گیاه بر روی گیاه ذرت تحت تنش کم‌آبایی بررسی شد.

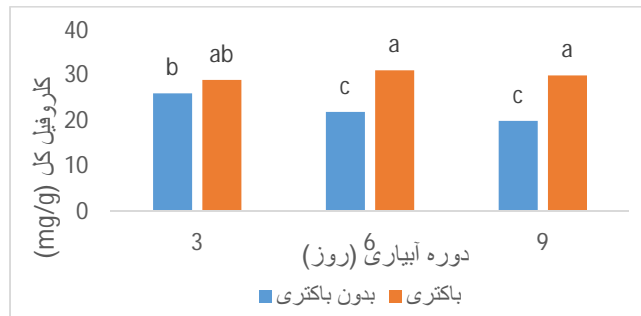
## مواد و روش‌ها

این پژوهش در بهار 1402 در گلخانه تحقیقاتی دانشکده منابع طبیعی دانشگاه یزد با کشت بذور ذرت آغاز شد. آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب یک طرح کامل تصادفی انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل *Bacillus halotolerans* و شاهد و سه سطح آبیاری شامل آبیاری 3 روزه (شاهد)، 6 روزه (متوسط) و 9 روزه (شدید) در 3 تکرار بود. برای کشت ذرت، خاکی با نسبت 1:1:2 به ترتیب با ماسه بادی، خاک زراعی و کود گاوی برای هر گلدان آماده شد. بذور ذرت با باکتری محرک رشد گیاه *Bacillus halotolerans* تلقیح و کشت شد. سه هفته پس از رشد نهال‌ها تحت تیمار خشکی قرار گرفتند. تیمارهای خشکی تا دو ماه پس از رشد ذرت ادامه یافت. خصوصیات فیزیولوژیکی از قبیل مقدار کلروفیل کل و کارتنوئید (Lichtenthaler, H.K., 1987)، پرولین (Bates, et al., 1973) قند محلول (Kochert, G., 1978)، عنصر کلسیم و فسفر برگ اندازه‌گیری شد.

## نتایج و بحث

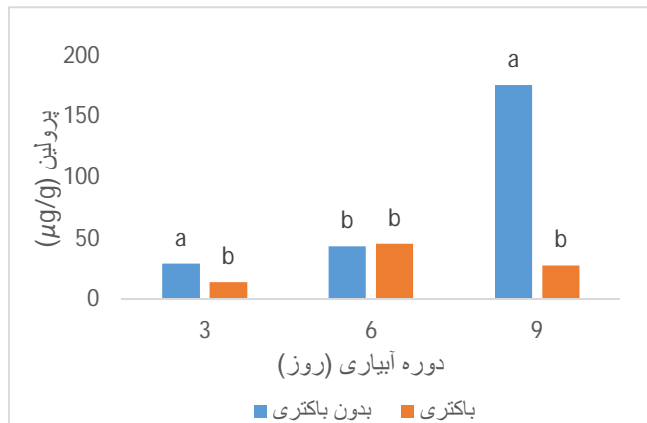


**محتوای کلروفیل:** نتایج نشان داد که افزایش دوره آبیاری به 6 و 9 روز مقدار کلروفیل را بطور معنی داری کاهش داد. تلقیح گیاه ذرت با باکتری محرک رشد *Bacillus halotolerans* مقدار کلروفیل را در هر دو دوره آبیاری 6 و 9 روزه افزایش یافته است. این افزایش در آبیاری 3 روزه معنی دار نبود (شکل 1). افزایش مقدار کلروفیل ممکن است به علت تولید سیدروفور و اکسین توسط این باکتری‌ها باشد. سیدروفور میل ترکیبی شدیدی برای پیوند با برخی از کاتیون‌ها از جمله آهن III دارد، که از عناصر ضروری برای ساخت کلروفیل است (Santoyo et al., 2019).



شکل 3: اثر متقابل دوره آبیاری و باکتری محرک رشد *B. halotolerans* بر مقدار کلروفیل گیاه ذرت. میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال 5 درصد معنی دار نیستند.

**مقدار پرولین:** نتایج نشان داد که محتوای پرولین با افزایش دوره آبیاری به 6 و 9 روز مقدار پرولین به طور معنی داری افزایش یافت. به طوریکه مقدار پرولین در آبیاری 9 روزه نسبت به شاهد 83 درصد افزایش یافت. تلقیح باکتری باعث کاهش معنی دار مقدار پرولین در دوره آبیاری 9 روزه نسبت به شاهد شد. مقدار کاهش 84 درصد بود. پرولین، نقش اساسی در تنظیم اسمزی در گیاهان دارد. تجمع اسید آمینه پرولین رابطه‌ای مثبت با افزایش مقاومت گیاه به کم آبی در تنش‌های شوری و خشکی دارد و در صورت نیاز تجزیه و به عنوان منبع نیتروژن و انرژی مورد استفاده گیاه قرار می‌گیرد (Mosleh Arani et al., 2018). تلقیح با باکتری‌های محرک رشد گیاه باعث کاهش محتوی پرولین در ذرت شد، باکتری‌های محرک رشد گیاه با افزایش جذب پتاسیم از طریق اسیدی کردن محیط ریزوسفر، افزایش جذب آب از طریق تولید اکسین و افزایش حجم ریشه، در کاهش تنش مشارکت می‌کنند، که این خود کاهش تولید پرولین را توجیه می‌کند. کاهش محتوای پرولین در شرایط تنش‌های زیستی در تیمارهای تلقیحی با باکتری محرک رشد گیاه در مطالعات دیگر نیز گزارش شده است (Zilaie et al., 2022).



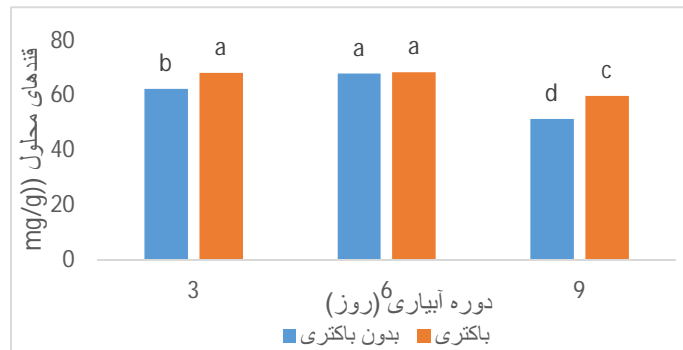
شکل 4: اثر متقابل دوره آبیاری و باکتری محرک رشد *B. halotolerans* بر مقدار پرویلین گیاه ذرت. میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال 5 درصد معنی‌دار نیستند.

محتوای کاروتنوئید: نتایج نشان می‌دهد که با افزایش دوره آبیاری به 6 و 9 روز تغییر معنی‌داری در مقدار کاروتنوئید به دست آمد. تلقیح با باکتری محرک رشد گیاه مقدار کاروتنوئید در آبیاری 6 روزه نسبت به شرایط بدون باکتری کاهش معنی‌دار داد. به طوریکه مقدار کاروتنوئید در دوره آبیاری 6 روزه نسبت به شاهد 23 درصد کاهش داشت. کاهش کاروتنوئید بعنوان آنتی‌اکسیدان در ذرت نشان‌دهنده بهبود شرایط حیاتی گیاه تحت تاثیر باکتری محرک رشد قابل توجه می‌باشد.



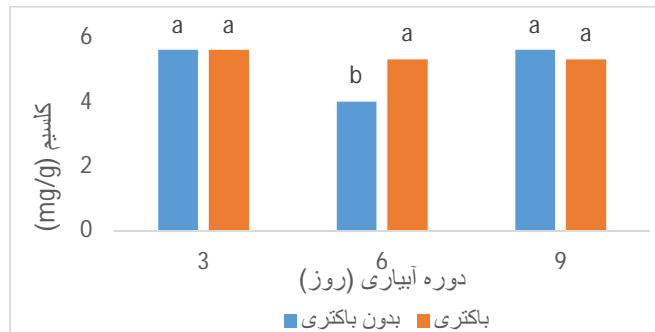
شکل 5: اثر متقابل دوره آبیاری و باکتری محرک رشد *B. halotolerans* بر مقدار کاروتنوئید گیاه ذرت. میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال 5 درصد معنی‌دار نیستند.

قند: نتایج نشان داد که افزایش دوره آبیاری سبب کاهش مقدار قندهای محلول در گیاه ذرت شد. تلقیح با باکتری محرک رشد گیاه مقدار قندهای محلول در گیاه ذرت را در دوره آبیاری 3 و 9 روزه نسبت به شاهد افزایش داد و مقدار آن در دوره 3 روزه 9 درصد و در دوره 9 روزه 16 درصد بود (شکل 4). افزایش قندهای محلول در گیاه ذرت بدلیل افزایش مقدار کلروفیل در تحت تاثیر باکتری محرک رشد بوده که این افزایش سبب بهبود فرایند فتوسنتز و تولید بیشتر قندهای محلول شد.



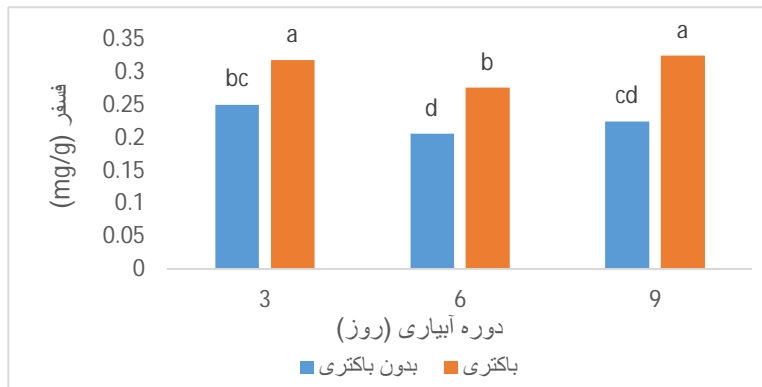
شکل 6: اثر متقابل دوره آبیاری و باکتری محرک رشد *B. halotolerans* بر مقدار قندهای محلول گیاه ذرت. میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال 5 درصد معنی‌دار نیستند.

کلسیم: نتایج نشان داد که با افزایش دوره آبیاری به 6 روز، عنصر کلسیم در گیاه ذرت به طوری معنی‌داری کاهش پیدا کرده است. تلقیح با باکتری محرک رشد روی عنصر کلسیم گیاه ذرت در دوره آبیاری 3 و 9 روزه نسبت به شاهد اثر معنی‌داری نداشت ولی در دوره آبیاری 6 روزه باعث افزایش معنی‌دار مقدار کلسیم شد. این مقدار در دوره آبیاری 6 روزه 33 درصد بود.



شکل 7: اثر متقابل دوره آبیاری و باکتری محرک رشد *B. halotolerans* بر مقدار کلسیم گیاه ذرت. میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال 5 درصد معنی‌دار نیستند.

فسفر: نتایج نشان داد که با افزایش دوره آبیاری به 6 و 9 روز، عنصر فسفر در گیاه ذرت به طوری معنی‌داری کاهش پیدا کرد. تلقیح با باکتری محرک رشد گیاه باعث افزایش فسفر گیاه ذرت در دوره آبیاری 6، 3 و 9 روزه نسبت به شاهد شد. این معنی‌داری در دوره 3 روزه 22 درصد و در دوره آبیاری 6 روزه 24 درصد بوده و در دوره آبیاری 9 روزه 39 درصد بود. باکتری محرک رشد با اثر بر اسیدیته خاک و با ترشح اسیدهای آلی و فسفات‌ها ترکیبات فسفاتی غیرمحلول را به شکل جذب و استفاده برای گیاه درمی‌آورد.



شکل 6: اثر متقابل دوره آبیاری و باکتری محرک رشد *B. halotolerans* بر مقدار فسفر گیاه ذرت. میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال 5 درصد معنی‌دار نیستند.

### نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که باکتری‌های محرک رشد گیاه، ویژگی‌های فیزیولوژیکی گیاه ذرت را نسبت به تیمار شاهد بهبود بخشیدند. با این حال، اجرای پژوهش‌های تکمیلی به صورت مزرعه‌ای ضروری است تا عملکرد و کارایی این سویه باکتریایی به‌عنوان زاد مایه کود زیستی مناسب برای مقابله با شرایط تنش خشکی اثبات شود.

### فهرست منابع

- مصلح آرانی، ا.، رفیعی، آ.، تابنده، آ. و عظیم زاده، ح. ر. (1396) بررسی پاسخ مورفولوژیک و فیزیولوژیک اندام هوایی و زیرزمینی گیاه لیلکی (*Gleditschia caspica*) در برابر تنش شوری. مجله زیست‌شناسی گیاهی 9: 1-12.
- Ashraf, M. and L. Wu (1994). "Breeding for salinity tolerance in plants." *Critical Reviews in Plant Sciences* 13(1): 17-42.
- Bates, L.S., R.a. Waldren, and I. Teare, (1973) *Rapid determination of free proline for water-stress studies*. Plant and soil. 39: p. 205-207.
- Change, I. C. (2013). "The physical science basis." (No Title).
- Cohen, A. C., R. Bottini, M. Pontin, F. J. Berli, D. Moreno, H. Boccanlandro, C. N. Travaglia and P. N. Piccoli (2015). "Azospirillum brasilense ameliorates the response of Arabidopsis thaliana to drought mainly via enhancement of ABA levels." *Physiologia Plantarum* 153(1): 79-90.
- Forchetti, G., O. Masciarelli, M. J. Izaguirre, S. Alemanno, D. Alvarez and G. Abdala (2010). "Endophytic bacteria improve seedling growth of sunflower under water stress, produce salicylic acid, and inhibit growth of pathogenic fungi." *Current microbiology* 61: 485-493.
- Grover, M., R. Madhubala, S. Z. Ali, S. Yadav and B. Venkateswarlu (2014). "Influence of Bacillus spp. strains on seedling growth and physiological parameters of sorghum under moisture stress conditions." *Journal of Basic Microbiology* 54(9): 951-961.
- Kim, Y.-C., B. R. Glick, Y. Bashan and C.-M. Ryu (2012). "Enhancement of plant drought tolerance by microbes." Plant responses to drought stress: from morphological to molecular features: 383-413.
- Kochert, G., (1978) *Carbohydrate determination by the phenol-sulfuric acid method*. Handbook of physiological methods, Physiological and biochemical methods: p. 95.
- Lichtenthaler, H.K., (1987) Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes, in *Methods in enzymology*, Elsevier. p. 350-382.

Marulanda, A., J.-M. Barea and R. Azcón (2009). "Stimulation of plant growth and drought tolerance by native microorganisms (AM fungi and bacteria) from dry environments: mechanisms related to bacterial effectiveness." *Journal of Plant Growth Regulation* **28**: 115-124.

Naseem, H. and A. Bano (2014). "Role of plant growth-promoting rhizobacteria and their exopolysaccharide in drought tolerance of maize." *Journal of Plant Interactions* **9**(1): 689-701.

Ngumbi, E. and J. Kloepper (2016). "Bacterial-mediated drought tolerance: current and future prospects." *Applied Soil Ecology* **105**: 109-125.

Sandhya, V., S. Z. Ali, M. Grover, G. Reddy and B. Venkateswarlu (2010). "Effect of plant growth promoting *Pseudomonas* spp. on compatible solutes, antioxidant status and plant growth of maize under drought stress." *Plant growth regulation* **62**: 21-30.

Timmusk, S., I. A. Abd El-Daim, L. Copolovici, T. Tanilas, A. Kännaste, L. Behers, E. Nevo, G. Seisenbaeva, E. Stenström and Ü. Niinemets (2014). "Drought-tolerance of wheat improved by rhizosphere bacteria from harsh environments: enhanced biomass production and reduced emissions of stress volatiles." *PloS one* **9**(5): e96086.

Shanker, A. K. and Venkateswarlu, B (2009). "Climate change and agriculture: adaptation and mitigation strategies." *Indian Journal of Agronomy* **54**(2): 226-230.

Wang, C.-J., W. Yang, C. Wang, C. Gu, D.-D. Niu, H.-X. Liu, Y.-P. Wang and J.-H. Guo (2012). "Induction of drought tolerance in cucumber plants by a consortium of three plant growth-promoting rhizobacterium strains." *Plos one* **7**(12): e52565.

Yildirim, E., M. Turan, M. Ekinci, A. Dursun and R. Cakmakci (2011). "Plant growth promoting rhizobacteria ameliorate deleterious effect of salt stress on lettuce." *Sci Res Essays* **6**(20): 4389-4396.

Santoyo, G., Sánchez-Yáñez, J. M. and Santos-Villalobos, S. D. L. (2019) Methods for Detecting Biocontrol and Plant Growth-Promoting Traits in Rhizobacteria. In *Microbes and Signaling Biomolecules against Plant Stress*. Pp. 133–149. Springer: Singapore.

Zilaie, M. N., Arani, A. M., Etesami, H., Dinarvand, M. and Dolati, A. (2022) Halotolerant plant growth-promoting rhizobacteria-mediated alleviation of salinity and dust stress and improvement of forage yield in the desert halophyte *seidlitzia rosmarinus*. *Environmental and Experimental Botany* **201**: 104952.

## The effect of plant growth promoting rhizobacteria on the physiological characteristics of *Zea mays* under drought stress

Nimat Samimi<sup>1\*</sup>, Asghar Mosleh Arani<sup>2</sup>, Hassan Etesami<sup>3</sup>, Maryam Mirbagheri<sup>4</sup>, Mohsen Sadeghian<sup>5</sup>

<sup>\*1</sup> Mr. Student, Environmental pollution, Faculty of Natural Resources, Yazd University, Yazd, Iran,

[samimi.nimat@gmail.com](mailto:samimi.nimat@gmail.com)

<sup>2</sup> Department of Environmental Sciences, Faculty of Natural Resources, Yazd University, Yazd, Iran;

[amosleh@yazd.ac.ir](mailto:amosleh@yazd.ac.ir)

<sup>3</sup> Department of Soil Sciences, Faculty of Agricultural Engineering and Technology, Tehran University, Tehran, Iran; [hassanetesami@ut.ac.ir](mailto:hassanetesami@ut.ac.ir)

<sup>4</sup> Department of Biology, Faculty of Science, Yazd University, Yazd, Iran, [m.mirbagheri@yazd.ac.ir](mailto:m.mirbagheri@yazd.ac.ir)

<sup>5</sup> Department of Desert management, Faculty of Natural Resources, Yazd University, Yazd, Iran, [m.sadeghian@staff.yazd.ac.ir](mailto:m.sadeghian@staff.yazd.ac.ir)

### Abstract

Drought is one of the most important factors limiting crop production worldwide. Plants use different physiological mechanisms to deal with drought stress. Plant growth promoting rhizobacteria can help plants to deal with environmental stress by producing different compounds. In this research, the effect of plant growth promoting rhizobacteria on the biochemical characteristics of *Zea mays* under water deficit stress was investigated. The treatments included bacteria in two levels of control and inoculation with *Bacillus halotolerans* and three levels of irrigation periods of 3, 6 and 9 days. The results showed that the longer irrigation period caused a significant decrease in the amount of total chlorophyll, calcium, phosphorus and soluble sugars and increased the amount of proline and

carotenoids. Inoculation with *Bacillus halotolerans* increased the amount of chlorophyll, phosphorus and calcium by 10%, 39% and (6 days irrigation) 33%, respectively, during the 9-day irrigation period. Also, inoculation with *Bacillus halotolerans* decreased the content of proline (84% in 9-day irrigation) and carotenoids (23% in 6-day irrigation). Therefore, it was concluded that *Bacillus halotolerans* can be used as an effective tool to improve *Zea mays* tolerance to drought stress.

**Keywords:** drought stress, *Bacillus halotolerans*, *Zea mays*

## بهبود صفات فتوسنتزی و عملکرد ریشه چغندر قند از طریق هیدروپرایمینگ بذر و محلول پاشی اسید هیومیک در شرایط تاخیر کاشت

علی سرخوش<sup>1\*</sup> 1. نویسنده مسئول، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بو علی سینا، همدان، ایران، رایانامه:

[ali.sarkhosh7@gmail.com](mailto:ali.sarkhosh7@gmail.com)

محمد علی ابوطالبیان<sup>2</sup> 2. گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بو علی سینا، همدان، ایران، رایانامه:

[m.aboutaleblian@basu.ac.i](mailto:m.aboutaleblian@basu.ac.i)

حامد منصوریان<sup>3</sup> 3. مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی، همدان، ایران، رایانامه: [h.mansory@gmail.com](mailto:h.mansory@gmail.com)

### چکیده

این پژوهش در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار به صورت اسپلیت پلات فاکتوریل اجرا شد. عامل اصلی چهار تاریخ کشت 5 و 19 فروردین، 2 و 16 اردیبهشت 1400 و عوامل هیدروپرایمینگ (در دو سطح بذور هیدروپرایم شده و پرایم نشده) و محلول پاشی اسید هیومیک (در دو سطح اسپری آب و محلول پاشی 6 در هزار اسید هیومیک) بصورت فاکتوریل در کرت‌های فرعی قرار داده شدند. نتایج نشان داد که هر دو تیمار هیدروپرایمینگ بذر و محلول پاشی اسید هیومیک همراه با هم و در کنار

تاریخ مناسب کاشت می‌تواند سبب بهبود صفات فتوسنتزی و عملکرد ریشه چغندر قند گردد. همچنین در شرایط تاخیر در کاشت کاربرد همراه با هم پرایمینگ بذر و اسید هیومیک باعث کاهش میزان دی اکسید کربن زیر روزنه تا 20/37 درصد و هدایت روزنه ای تا 52 درصد و افزایش 29/4 درصدی عملکرد ریشه نسبت به تیمار بدون پرایمینگ و بدون محلول پاشی گردید همچنین تاخیر 14 روزه در کاشت چغندر قند با کاربرد پرایمینگ بذر و محلول پاشی اسید هیومیک جبران گردید. بطور کلی کاربرد همراه با هم هر دو تیمار (پرایمینگ بذر و محلول پاشی اسید هیومیک) در تمام تاریخ‌های کشت سودمند بود.

کلمات کلیدی: تاریخ کاشت، دی اکسید کربن زیر روزنه، هدایت روزنه ای، محلول پاشی اسید هیومیک، عملکرد ریشه

## مقدمه

چغندر قند (*Beta vulgaris L*) یکی از دو محصول رایج تولید کننده قند دنیا می‌باشد (Gomaa et al., 2022). گزارش شده است که کاشت زودهنگام چغندر قند باعث افزایش محسوس محتوای قند ناخالص و بالاترین عملکرد ریشه و قند می‌شود (Gobareh et al., 2019). بهره‌وری چغندر قند اغلب به دلیل جوانه‌زنی ناهمگن در مزرعه، احتمالاً به دلیل وجود مواد بازدارنده در پریکارپ بذر و همچنین حمله عوامل بیماری‌زا، محدود می‌شود (Dotto & Silva., 2017). پرایمینگ بذر یکی از روش‌های بهبود استقرار بذر است که می‌تواند باعث بهبود عملکرد گیاه در شرایط نامساعد محیطی شود (Absalan et al., 2017). یکی از موارد مهم در کشاورزی اکولوژیک، استفاده از مواد آلی است و اسیدهای آلی به عنوان یکی از منابع مهم مواد آلی مطرح هستند، همچنین مواد هیومیکی به عنوان مخلوطی از ترکیبات آلی مختلف باقیمانده که از گیاهان و حیوانات حاصل میشوند، معرفی شده اند (Ghorbani et al., 2010). از مزایای مهم اسید هیومیک میتوان به قابلیت کلات‌کنندگی عناصر غذایی مختلف مانند سدیم، پتاسیم، منیزیم، روی، کلسیم، آهن، مس و سایر عناصر در جهت غلبه بر کمبود غذایی اشاره کرد که این موضوع سبب افزایش طول و وزن ریشه و آغازش ریشه های جانبی می گردد (Ghorbani et al., 2010). به نظر می رسد استفاده از تکنیک های ساده و کم هزینه ای همچون هیدروپرایمینگ بذر، انتخاب بهترین زمان کاشت و محلول پاشی اسید هیومیک باعث بهبود شاخص های فیزیولوژیکی رشد و تولید عملکرد ریشه چغندر قند بیشتر با کاربرد نهاده های زراعی مناسب باشد که در این تحقیق مورد ارزیابی قرار گرفته است.

## مواد و روشها

به منظور مطالعه پرایمینگ بذر و محلول پاشی اسید هیومیک بر برخی شاخص های فیزیولوژیک رشد و عملکرد چغندر قند در تاریخ های مختلف کاشت، آزمایشی به صورت بلوک کامل تصادفی با سه تکرار به صورت اسپلیت پلات فاکتوریل در شهرستان اسدآباد در سال 1400 اجرا شد. عامل اصلی چهار تاریخ کشت 5 و 19 فروردین، 2 و 16 اردیبهشت 1400 بود و عوامل هیدروپرایمینگ (در دو سطح بذور هیدرو پرایم شده و پرایم نشده) و محلول پاشی اسید هیومیک (در دو سطح محلول پاشی 6 در هزار اسید هیومیک و اسپری آب معمولی) بصورت فاکتوریل در کرت های فرعی منظور شدند. محلول پاشی طی دو مرحله 4-6 برگگی و زمانی که کانوپی 20-30 درصد سطح زمین را پوشانده بود، بر اساس مقیاس BBCH<sup>68</sup> انجام شد (سینار و اونای 2021). رقم مورد استفاده در این طرح دوروتی بود. هر کرت از 6 خط کاشت با فواصل 50 سانتی متر به طول 5 متر با تراکم 10 بوته در متر مربع تنظیم شد و فاصله بین کرت ها یک خط نکاشت و فاصله بین بلوک ها 2 متر

<sup>68</sup> - Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt and Chemical industry

در نظر گرفته شد. کودهای فسفاته و پتاسه و یک سوم کود مورد نیاز نیتروژنی بر اساس نتایج آزمون خاک مصرف گردید. آبیاری به روش بارانی کلاسیک ثابت صورت گرفت. پس از استقرار بوته ها در سطح خاک و انجام مراحل محلولپاشی اسید هیومیک از 40 روز پس از کاشت به فاصله هر 15 روز 8 مرحله نمونه برداری به منظور ارزیابی شاخص های فیزیولوژیک انجام گرفت. برای سنجش صفات فتوسنتزی مانند هدایت روزنه ای و غلظت دی اکسید کربن زیر روزنه از دستگاه فتوستیز متر مدل ADC BioScientific LCi T System Serial No.34834 استفاده شد. برداشت نهایی از کرت ها پس از سپری شدن 180 روز از تاریخ کاشت، در چهار مرحله و با فاصله دو هفته ای و در تاریخ های 31 شهریور، 14 مهر، 28 مهر و 12 آبان و پس از حذف دو ردیف کناری و حذف نیم متر از ابتدا و انتهای هر کرت به عنوان اثر حاشیه ای، از چهار ردیف وسط کرت یعنی در سطحی معادل 2 متر مربع صورت گرفت. عملیات برداشت (شامل کندن و سرزنی چغندر قند) به صورت دستی و توسط نیروی کارگری انجام شد. مقادیر به دست آمده پس از توزین به عنوان عملکرد ریشه چغندر قند ثبت شد. داده های مربوط به صفات فتوسنتزی و عملکرد ریشه برداشت شده تجزیه واریانس شدند. داده ها با استفاده از نرم افزار SAS بعد از اطمینان از نرمال بودن باقیمانده ها آنالیز واریانس شد و برای مقایسه میانگین از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح پنج درصد استفاده شد. به منظور تهیه نمودار روند تغییرات شاخص های فیزیولوژیک رشد از برنامه Excel و برای برازش داده از نرم افزار Slide Write V7.1 استفاده شد (مونت و همکاران 2013).

## نتایج و بحث

نتایج آنالیز واریانس بیانگر معنی دار شدن تمامی اثرات ساده و برهمکنش عوامل آزمایش بر تمامی صفات مورد آزمایش (به غیر از برهمکنش دوگانه پرایم بذر و محلول پاشی) بر عملکرد ریشه و (تاریخ کاشت و محلول پاشی) بر میزان دی اکسید کربن زیر روزنه می باشد (جدول 1). بر اساس نتایج جدول 2 بالاترین میزان دی اکسید کربن زیر روزنه در تیمار تاریخ کاشت اول، بدون پرایمینگ بذر و بدون محلول پاشی با 31/82 درصد افزایش نسبت به تیمار تاریخ کاشت اول همراه با پرایمینگ بذر و محلول پاشی اسید هیومیک بدست آمد. همچنین بالاترین میزان هدایت روزنه ای در تیمار تاریخ کاشت سوم همراه با پرایمینگ بذر و محلول پاشی اسید هیومیک و کمترین میزان نیز در تیمار تاریخ کاشت چهارم، بدون پرایمینگ و بدون محلول پاشی اسید هیومیک بدست آمد (جدول 2).

جدول 1- تجزیه واریانس صفات اندازه گیری شده تحت تأثیر پرایمینگ بذر و محلول پاشی در تاریخ های مختلف کاشت.

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		دی اکسید کربن زیر روزنه	هدایت روزنه ای
تکرار	2	<sup>ns</sup> 2/33	<sup>ns</sup> 1/34
تاریخ کاشت	3	**30/97	**30/61
خطای الف	6	3/13	14/53
پرایم بذر	1	**123/1	**313/47
محلولپاشی	1	**64/73	**1124/47
تاریخ کاشت × پرایمینگ	3	**5/73	**14/69
عملکرد ریشه			**7/09
			**78/53
			1/12
			**85/07
			**55/18
			<sup>ns</sup> 1/26



**5/52	*3/49	<sup>ns</sup> 0/97	3	تاریخ کاشت × محلول پاشی
<sup>ns</sup> 0/68	*5/88	**5/67	1	پرایمینگ × محلول پاشی
*3/05	**7/65	*4/11	3	تاریخ کاشت × پرایمینگ × محلول پاشی
18/54	0/00014	174/69	24	خطای ب
5/35	5/42	4/75	-	ضریب تغییرات (%)

ns, \* و \*\* ترتیب غیر معنی دار، معنی دار در سطح 5% و 1% می باشد.

ns, \* and \*\* are non-significant, significant at the 5% and 1% levels, respectively.

در همه تاریخ‌های کشت ترکیب هیدروپرایمینگ بذر و محلول پاشی اسید هیومیک سبب افزایش معنی دار عملکرد ریشه نسبت به شرایط شاهد (عدم پرایم و اسپری آب) شد. البته در تاریخ کاشت چهارم تحت شرایط هیدروپرایمینگ محلول پاشی با اسید هیومیک تفاوتی با اسپری آب نشان نداد. همچنین ترکیب هیدروپرایمینگ و محلول پاشی اسید هیومیک تا سومین تاریخ کاشت نه تنها سبب جبران تاخیر کشت شد بلکه نسبت به تاریخ کاشت اول تحت شرایط عدم پرایم و نبود محلول پاشی اسید هیومیک منجر به افزایش معنی دار عملکرد ریشه گردید حتی در تاریخ های کشت دوم و سوم استفاده جداگانه از هیدروپرایمینگ یا اسید هیومیک نسبت به تیمار شاهد در تاریخ کاشت اول افزایش معنی دار عملکرد ریشه مشاهده شد (جدول 3). نتایج تحقیقات Mohamadian (2016) نشان داده است که در زراعت چغندر قند با 26 روز تاخیر در کاشت، عملکرد ریشه 11 درصد کاهش یافت که در این تحقیق نیز نتایج مشابهی بین تاریخ کاشت اول و سوم بدست آمد (جدول 3). موضوع مهم دیگر اینست که در حالت کاربرد جداگانه هیدروپرایمینگ و اسید هیومیک، در کشت اول اسید هیومیک بهتر از پرایمینگ عمل کرد در صورتی که در تاریخ های کشت سوم و چهارم این تیمار پرایمینگ بود که بهتر از محلول پاشی اسید هیومیک عملکرد ریشه را بهبود بخشید و البته در تاریخ کشت دوم هر دو تیمار در سطح یکسانی سبب افزایش عملکرد ریشه شدند (جدول 3). بنظر می رسد در کشت اول که سطح برگ بیشتری وجود داشته است (Rinaldi & Vonella, 2006)، جذب اسید هیومیک نیز بیشتر بوده و مفیدتر از پرایمینگ بذر عمل کرده است. محققین اعلام کردند محلول پاشی ترکیبات آلی هیومیکی باعث بهبود جذب مواد مغذی، محتوای کلروفیل، ویژگی های رشد و عملکرد می شود (Turan et al., 2022). اما در دو کشت آخر (سوم و چهارم) پرایمینگ بذر بر اسید هیومیک برتری داشت (جدول 3) که بنظر می رسد در شرایط تاخیر زیاد در کشت، پرایم کردن با افزودن سرعت استقرار (Jokar et al., 2018) مفیدتر بوده است زیرا سطح کم برگها در این هنگام جذب مناسبی از اسید هیومیک ندارد. Nardi et al., (2005) گزارش دادند که هیدروپرایمینگ بذور چغندر قند می تواند محتوای کلروفیل کل و میزان فتوسنتز گیاه را افزایش دهد.

جدول 2- جدول اثرات متقابل سه گانه تاریخ کاشت، پرایم بذر و محلول پاشی بر صفات فتوسنتزی و عملکرد چغندر قند.

تاریخ کاشت	پرایم بذر	محلول پاشی	دی اکسید کربن زیر روزنه	هدایت روزنه ای	عملکرد ریشه (kg.h)
	بدون پرایم	اسپری آب	a322/67	ef0/2	def90502/23
		محلول پاشی اسید هیومیک	ab316/67	cd0/24	bc99050/4
تاریخ کاشت اول		اسپری آب	cde289	cd0/24	cde93731/37
	پرایم با آب	محلول پاشی اسید هیومیک	j220	b0/27	a119182/9

efg86878/64	h0/17	def275/33	اسپری آب	بدون پرایم	
b104991/46	fg0/19	hi247/67	محلول پاشی اسید هیومیک	تاریخ کاشت دوم	
b105657/44	ef0/21	ghi248	اسپری آب	پرایم با آب	
a119024/3	cd0/24	ij230/33	محلول پاشی اسید هیومیک	بدون پرایم	
g80535/64	gh0/17	abc309/67	اسپری آب	تاریخ کاشت سوم	
efg85714/88	ef0/21	cde290/33	محلول پاشی اسید هیومیک	پرایم با آب	
def89611/57	b0/26	efg266/33	اسپری آب	بدون پرایم	
cd95443/01	a0/3	ij238	محلول پاشی اسید هیومیک	تاریخ کاشت چهارم	
h65980/54	i0/12	a325	اسپری آب	پرایم با آب	
h71828/42	de0/22	abc310	محلول پاشی اسید هیومیک		
fg82828/88	cd0/23	bcd296/33	اسپری آب		
efg85277/53	bc0/25	efg270	محلول پاشی اسید هیومیک		

### نتیجه گیری کلی

عملکرد اقتصادی مناسب در چغندر قند تابع رشد رویشی مناسب در اوایل فصل رشد و تخصیص و توزیع مناسب مواد فتوسنتزی به ریشه است، لذا کشت بهنگام این گیاه اهمیت بسیار زیادی دارد. همچنین رخداد بارندگیهای پایایی در اوایل بهار و عدم امکان آماده سازی زمین برای کشت و نیز رقابت کشت محصولاتی مثل گندم و جو در اوایل بهار از نظر نیاز آبی از دلایل به تاخیر افتادن کشت چغندر قند می باشند. تاخیر در کاشت با هدف گریز از سرمای دیررس بهاره باعث هدر رفت منابع پایه تولید از جمله آب و خاک و کارایی پایین در تولید و عملکرد این محصول می گردد. لذا با اتخاذ شیوه های مدیریت صحیح زراعی و بکار گیری تکنیک های کاربردی و کم هزینه ای مانند هیدروپرایمینگ بذر و محلول پاشی اسید هیومیک در کنار تاریخ مناسب کاشت می تواند سبب بهبود صفات فتوسنتزی همچون دی اکسید کربن زیر روزه و هدایت روزه ای گردید. همچنین تاریخ کاشت مناسب به همراه پرایمینگ بذر و محلول پاشی اسید هیومیک باعث افزایش تولید ریشه تا 80/34 نسبت به کاشت تاخیری و بدون پرایمینگ بذر و بدون محلول پاشی گردید. همچنین تاخیر 14 روزه در کاشت چغندر قند با کاربرد پرایمینگ بذر و محلول پاشی اسید هیومیک جبران گردید. بطور کلی کاربرد همراه با هم هر دو تیمار (پرایمینگ بذر و محلول پاشی اسید هیومیک) در تمام تاریخهای کشت سودمند بود.

### منابع

صدرآبادی حقیقی، رضا، امیرمرادی، شهرام، میرشاهی، علیرضا. (1390). بررسی شاخص های رشد ارقام تجاری و رایج چغندر قند در کشت کرپه در منطقه چناران (خراسان رضوی)، 'پژوهشهای زراعی ایران' 9(3), pp. 505-513. doi: 10.22067/gsc.v9i3.11999

نصرت، نصرت الله، گلدانی، مرتضی، رضایی، جواد. (1399). 'تأثیر کود نیتروژن و باکتری محرک رشد بر شاخص های رشد چغندر قند (Beta vulgaris L) در کشت تاخیری، اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی' 55 (3) 14, pp. 381-400. doi: 10.30495/jcep.2020.679069

Dotto L, and Silva VN. 2017. Beet seed priming with growth regulators. Semina: Ciências Agrárias, 38(4), 1785-1798.

- Gobarah ME, Hussein MM, Tawfik MM, Ahmed AG and Mohamed MF. 2019. Effect of different sowing dates on quantity and quality of some promising sugar beet (*Beta vulgaris* L.) varieties under North Delta, condition. Egyptian Journal of Agronomy, 41, 343–354. DOI: [10.21608/agro.2019.20126.1197](https://doi.org/10.21608/agro.2019.20126.1197)
- Sadrabadi Haghghi R, Amir moradi Sh, Mirshahi A. 2011. Investigation of Growth Analysis of Conventional and Commercial Sugar Beet (*Beta vulgaris*) Varieties at Delayed Planting Date in Chenaran(Khorasan Razavi Province). Volume 9, Issue 3 - Serial Number 23. Pages 505-513.

## Improvement of photosynthetic traits and root performance of sugar beet through seed hydropriming and humic acid foliar application in late planting conditions.

A. Sarkhosh<sup>69</sup>

Corresponding author, Department of Agriculture, Faculty of Agriculture, Bu Ali Sina University, Hamedan, Iran, email: [ali.sarkhosh7@gmail.com](mailto:ali.sarkhosh7@gmail.com)

M. A. Aboutalebian<sup>2</sup>

Department of Agriculture, Faculty of Agriculture, Bo Ali Sina University, Hamadan, Iran, e-mail: [m.aboutalebian@basu.ac.ir](mailto:m.aboutalebian@basu.ac.ir)

H. Mansoori<sup>3</sup>

Agricultural and Natural Resources Research Center, Hamadan, Iran, e-mail: [h.mansory@gmail.com](mailto:h.mansory@gmail.com)

### Abstract

This research was carried out in the form of a randomized complete block design with three replications in the form of a factorial split plot. The main factors of four planting dates, 5 and 19 April, 2 and 16 May 1401, and hydropriming factors (on two levels of hydroprimed and unprimed seeds) and humic acid spraying (on two levels of water spray and foliar spraying of 6 per thousand humic acid) as Factorials were placed in subplots. The results showed that both treatments of seed hydropriming and humic acid foliar spraying along with the appropriate planting date can improve the photosynthetic traits and root performance of sugar beet. Also, in the conditions of delay in planting, the application together with seed priming and humic acid reduces the amount of carbon dioxide below the stomata up to 20.37% and the stomatal conductivity up to 52% and increases the root yield by 29.4% compared to the treatment without priming and without foliar spraying was done, and the 14-day delay in sugar beet planting was compensated by using seed priming and humic acid foliar spraying. In general, the simultaneous application of both treatments (seed priming and humic acid foliar spraying) was beneficial in all cultivation dates.

**Keywords:** date of planting, carbon dioxide under the stomata, stomatal conductance, humic acid foliar application, root performance

<sup>69</sup>, <sup>2</sup> and <sup>3</sup> PhD student and associate professors in the Department of Agriculture and Plant Breeding, Bu Ali Sina University and member of the academic staff of Hamedan Agricultural and Natural Resources Research Center, respectively

## بررسی برخی ترکیبات بیوشیمیایی گیاه همیشه بهار در خاک شور

مهدی عمادی<sup>1\*</sup>، وحیدرضا صفاری<sup>2</sup>، علی اکبر مقصودی مود<sup>2</sup>

<sup>1\*</sup> دانشجوی کارشناسی ارشد بخش علوم و مهندسی باغبانی دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

Email : [M.emadi@agr.uk.ac.ir](mailto:M.emadi@agr.uk.ac.ir)

<sup>2</sup> دانشیاران دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

### چکیده

گیاه همیشه بهار یکی از رایج ترین گل‌های باغچه ای در ایران است که به دلیل عادت رشدی، گلدهی زود هنگام، رنگ زیبای گل و رایحه معطر آن، مورد توجه طراحان فضای سبز شهری قرار گرفته است. چالشی که کشت و کار این گیاه با آن روبروست وجود سطح بالایی از شوری در خاک‌های فضای سبز مناطق شهری جنوب و جنوب شرق ایران است. از این رو این پژوهش به منظور بررسی تاثیر اسید سالیسیلیک و تیمین بر برخی شاخص‌های بیوشیمیایی گیاه همیشه بهار در قالب آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملا تصادفی در خاکی با شوری 10 دسی زیمنس بر متر اجرا گردید. محلولپاشی گیاهان در طی دو مرحله از دوره رشد با مواد یاد شده صورت پذیرفت و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز و نیز میزان پرولین ارزیابی شد. در این پژوهش کاربرد اسید سالیسیلیک و تیمین باعث افزایش میزان فعالیت آنزیمی گردید. هم‌چنین برهمکنش این دو ماده سبب کاهش مقادیر پرولین شد. **واژگان کلیدی:** آنزیم، اسید سالیسیلیک، تیمین، همیشه بهار.

## مقدمه

گل همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.) از خانواده کاسنی<sup>70</sup> به عنوان یک گیاه یکساله در برنامه گلکاری قرار می‌گیرد اما می‌تواند به صورت علفی چندساله به زندگی خود ادامه دهد که در این حالت گل‌ها مرغوبیت و زیبایی سال اول خود را ندارند (1). به دلیل رنگ زیبای گل و رایحه معطری که دارد به صورت گسترده در باغ‌ها و فضای سبز شهری و مناظر کشت و از لحاظ گلدهی به دو نوع گل پرپر و کم‌پر تقسیم‌بندی شده و دارای گل‌هایی با رنگ‌های زرد و نارنجی می‌باشد (2). یکی از مشکلات عمده کشت و کار گیاهان زینتی در فضای سبز مناطق خشک و نیمه خشک ایران وجود خاک‌های شور در این مناطق می‌باشد که آثار مخربی روی فرایندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهان دارند و در نهایت منجر به کاهش رشد گیاهان می‌شوند. در این پژوهش تاثیر دو ماده اسید سالیسیلیک، به دلیل ایجاد مقاومت و تیامین به خاطر نقش کوفاکتوری که در پاسخ به تنش‌های غیره زنده در گیاهان دارند، مورد مطالعه و بررسی قرار گرفت. اسید سالیسیلیک همانند یک آنتی اکسیدان غیر آنزیمی نقش مهمی در ایجاد مقاومت به تنش‌های محیطی، تاثیر بر القای گلدهی، رشد و نمو، تاثیر در فستوتز و باز و بسته شدن روزنه‌ها دارد (3). تیامین (ویتامین B<sub>1</sub>) سبب ورود مواد اکسیدکننده به چرخه کربس برای تولید انرژی و مهار رادیکال‌های آزاد اکسیژن، تنش زدایی و ایجاد مقاومت به تنش‌های زنده و غیرزنده در گیاهان می‌گردد (4).

## مواد و روش‌ها

این آزمایش گلدانی با خاکی با ترکیب حجمی دو قسمت ماسه، یک قسمت رس و یک قسمت کود دامی پوسیده با شوری 10 دسی زیمنس بر متر در پاییز سال 1401 در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کرمان در محدوده دمایی 20-30 درجه سانتی گراد با رطوبت 60 درصد به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با 12 تیمار و 5 تکرار انجام شد. تیمارهای مورد استفاده شامل: دو نوبت محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک در چهار سطح (0، 100، 200، 300 میلی‌گرم بر لیتر) و تیامین در سه سطح (0، 100 و 200 میلی‌گرم بر لیتر) بودند. نخستین محلول‌پاشی 20 روز پس از انتقال نشاها در مرحله 6-8 برگگی و دومین بار 10 روز بعد صورت گرفت. بعد از رشد کامل بوته‌ها اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز و مقدار پرولین انجام شد. سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز به روش (Liang et al., 2018)، فعالیت آنزیم کاتالاز به روش (Zhang et al., 2013) و مقدار پرولین به روش (Carillo et al., 2008) صورت پذیرفت. داده‌های حاصل از این آزمایش توسط نرم افزار SAS تجزیه و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد صورت گرفت.

## نتایج و بحث

### فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز

بر اساس یافته‌ها، افزایش در میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز به ویژه در غلظت 100 میلی‌گرم بر لیتر اسید سالیسیلیک در برگ‌های گیاه همیشه بهار مشاهده شد. کاربرد اثر ساده تیامین اختلاف چندانی را نسبت به نمونه شاهد نشان نداد، اگرچه برهمکنش غلظت 100 میلی‌گرم بر لیتر اسید سالیسیلیک و تیامین باعث افزایش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز در برگ شد

اسید سالیسیلیک (میلی گرم برلیتر)	تیامین (میلی گرم بر لیتر)	پراکسیداز (واحد بر میلی گرم پروتئین)	کاتالاز (واحد بر میلی گرم پروتئین)	پرولین (میلی گرم بر گرم وزن تر)
	0	4/50 <sup>de</sup>	1/20 <sup>e</sup>	4/84 <sup>a</sup>
0	100	3/98 <sup>e</sup>	1/19 <sup>e</sup>	4/49 <sup>b</sup>
	200	4/76 <sup>cd</sup>	1/30 <sup>de</sup>	4/43 <sup>bc</sup>
	0	6/91 <sup>a</sup>	2/35 <sup>abc</sup>	2/91 <sup>fg</sup>
100	100	6/96 <sup>a</sup>	2/44 <sup>ab</sup>	2/77 <sup>g</sup>
	200	6/92 <sup>a</sup>	2/64 <sup>a</sup>	2/42 <sup>h</sup>
	0	6/11 <sup>b</sup>	2/03 <sup>c</sup>	3/33 <sup>d</sup>
200	100	6/31 <sup>ab</sup>	2/10 <sup>bc</sup>	3/25 <sup>de</sup>
	200	6/43 <sup>ab</sup>	2/13 <sup>bc</sup>	3/08 <sup>ef</sup>
	0	5/05 <sup>dc</sup>	1/57 <sup>d</sup>	4/50 <sup>b</sup>
300	100	5/21 <sup>c</sup>	2/49 <sup>bc</sup>	4/28 <sup>c</sup>
	200	5/42 <sup>c</sup>	1/64 <sup>d</sup>	4/28 <sup>c</sup>

(جدول 1). تنش‌های محیطی غیرزنده سبب افزایش رادیکال‌های آزاد اکسیژن در گیاهان می‌شوند که نقش مخربی بر فعالیت‌های سلولی و غشاء دارند (5). از این رو می‌توان افزایش این دو آنزیم را به نقش اسید سالیسیلیک در جذب مواد مغذی، محافظت از غشاء، ترمیم فتوستنتز، مقابله با مسیرهای سیگنال گونه‌های اکسیژن واکنش پذیر، افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و کاهش تنش اکسیداتیو در گیاه نسبت داد (3). در گزارشی، تیمار گل آنتوریوم با اسید سالیسیلیک سبب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز شد (6). کاربرد اسید سالیسیلیک در دوره پس از برداشت گل رز، باعث کاهش فعالیت پراکسیداز شد و پیری گل‌ها را به تعویق انداخت (7). به نظر می‌رسد که تیامین نیز در عملکردهای فیزیولوژیکی به عنوان کوفاکتور در واکنش‌های آنزیمی دخالت دارد (4). تیامین با انجام عمل کاتالیزوری در متابولیسم پروتئین‌ها، موجب بهبود میزان پروتئین و فعالیت آنزیم‌ها می‌گردد و از این رو باعث بهبود ماندگاری گل‌های لیلیوم روی بوته می‌شود (8).

جدول 1. مقایسه میانگین برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی مورد ارزیابی در گل همیشه بهار.

میانگین‌های دارای حروف مشترک، اختلاف معنی داری در سطح پنج درصد آزمون چند دامنه‌ای دانکن ندارند.

### تجمع پرولین

نتایج حاکی از حضور بیشتر پرولین در تیمار شاهد بود. پرولین یک تنظیم کننده اسمزی در گیاهان است که تحت شرایط خشکی، شوری، دماهای پائین و سایر عواملی که باعث کاهش پتانسیل آب سلول می شوند، تولید می‌گردد. کاهش پرولین در اثر کاربرد اسید سالیسیلیک در این تحقیق احتمالاً، می‌تواند در رابطه با کاهش و یا تنظیم آنزیم‌های کاهش دهنده پرولین باشد (9). اسید سالیسیلیک عموماً میزان هورمون اسید آبسزیک را در گیاه افزایش می‌دهد که این هورمون نقش کلیدی در انگیزش برخی پروتئین‌ها دارد و بنابراین نقش اسید سالیسیلیک کنترل تغییر مقدار پرولین از طریق هورمون اسید آبسزیک است (10). نتایج همچنین نشان داد که با افزایش غلظت تیمار در کلیه سطوح اسید سالیسیلیک، میزان این ماده روند کاهشی را نشان می‌دهد (جدول 1).

### نتیجه‌گیری

گیاه همیشه بهار به عنوان یک گیاه زینتی به دلیل سازگاری با شرایط آب و هوایی ایران در اکثر نقاط در طراحی فضای سبز شهری مورد استفاده قرار می‌گیرد. شوری خاک در مناطق خشک و نیمه خشک یکی از عوامل مهمی است که رشد این گیاه را تحت تاثیر قرار می‌دهد. در این مطالعه کاربرد تیمارهای اسید سالیسیلیک و تیمار توانستند موجب بهبود فعالیت آنزیمی در راستای کاهش و یا کنترل شرایط ایجاد شده تنش محیطی غیر زنده باشند، اگرچه ترکیب‌های متفاوت از غلظت‌های این دو ماده موجب کاهش میزان پرولین گردید.

### منابع

1. قاسمی قهساره، م. کافی، م. (1389)، گلکاری علمی و عملی، چاپ سوم، 396 ص.
2. Bayat, H., M. Alirezaie and H. Neamati. (2012). Impact of exogenous salicylic acid on growth and ornamental characteristics of calendula (*Calendula officinalis* L.) under salinity stress. *Journal of stress Physiology and Biochemistry*. 8(1): 258-267.
3. Xu, E. and Brosch'e, M. (2014). Salicylic acid signaling inhibits apoplasmic reactive oxygen species signaling. *BMC Plant Biology*. 14: 155.
4. Goyer, A. (2010). Thiamine in plants: Aspects of its metabolism and functions. *Phytochemistry* 71: 1615-1624.
5. Shahid, M.A., Sarkhosh, A., Khan, N., Balal, R.M., Ali, S., Rossi, L., Gomez, C., Mattson, N., Nasim, W., and GarciaSanchez, F. 2020. Insights into the physiological and biochemical impacts of salt stress on plant growth and development. *Journal of Agronomy*. 10: 938.

6. Promyou, S., S. Ketsa and W. G. van Doorn. (2012). Salicylic acid alleviates chilling injury Anthurium flower. *Postharvest Biology and Technology*. 64: 104- 110. 5.
7. Gerailoo, S. and M. Ghasemnezhad. (2011). Effect of salicylic acid on antioxidant enzyme activity and petal senescence in “Yellow Island” cut rose flowers. *J. Fruit Ornament. Plant Res.* 19(1): 183-193..
8. بابا ربیع، م. زارعی، ب. بادلی، س. و. و، ملازاده. 1397. تاثیر اسید سالیسیلیک و تیامین بر گلدهی و صفات ریخت شناختی گل شاخه بریده مریم در دو نظام آبکشتی و کشت در خاک. نشریه علوم باغبانی ایران. دوره 49. شماره 1. ص 233-243.
9. Sakhabutdinova, A.R., Fatkhutdinova, D.R., Bezrukova, M.V. and Shakirova, F.M. 2003. Salicylic acid prevents the damaging action of stress factors on wheat plants. *Bulgaria Plant Physio. J.* Pp: 314-319.
10. Shakirova, M., Sakhabutdinova, A.R.M., Bezrukova, V.R., Fakhotdinova, A. and Fakhotdinova, D.R. 2003. Change in the hormonal status of wheat (*Triticum annuum*) seedlings induced by salicylic acid and salinity. *J. Plant Sci.* 164: 317-322.

## Investigating the biochemical activities of marigolds in saline soil

Mehdi Emadi<sup>1\*</sup>, VahidReza Saffari<sup>2</sup>, Ali Akbar Maghsoudi moud<sup>2</sup>

<sup>1\*</sup>- M.Sc. Student. Department of Horticultural Science, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

Email : [M.emadi@agr.uk.ac.ir](mailto:M.emadi@agr.uk.ac.ir)

<sup>2</sup>- Associate Professors, College of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

### Abstract

The marigold plant is one of the most common garden flowers in Iran, which has attracted the attention of urban landscape designers due to its growth habit, early flowering, beautiful flower color and fragrant scent. The challenge faced by the cultivation of this plant is the existence of a high level of salinity in the soil of the landscapes of the urban areas in the south and southeast of Iran. Therefore, this research was conducted in order to investigate the effect of salicylic acid and thiamine on some biochemical indicators of marigold plant in the form of a factorial experiment based on a completely random design in a soil with a salinity of 10 ds/m Foliar spraying of plants was done during two stages of growth period with the mentioned substances and the activities of catalase and peroxidase enzymes and the amount of proline were evaluated. Results showed that, the use of salicylic acid and thiamine increased the enzyme activity. Also, the interaction of these two substances caused a decrease in the amount of proline.

**Keywords:** Enzym, Marigold, Salicylic acid, Thiamine.

## برهمکنش اسید سالیسیلیک و تیامین بر ویژگی‌های فتوسنتزی گیاه همیشه بهار

مهدی عمادی<sup>1\*</sup>، وحیدرضا صفاری<sup>2</sup>، علی اکبر مقصودی مود<sup>2</sup>

<sup>1\*</sup>- دانشجوی کارشناسی ارشد بخش علوم و مهندسی باغبانی دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

Email : [M.emadi@agr.uk.ac.ir](mailto:M.emadi@agr.uk.ac.ir)

<sup>2</sup>- دانشیاران دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

چکیده



گل همیشه بهار گیاهی با کاربردهای دارویی و زینتی است. در این پژوهش به منظور بررسی کاربرد غلظت های مختلف اسید سالیسیلیک و تیامین بر ویژگی های فتوسنتزی این گیاه در شرایط خاک شور، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه شهید باهنر کرمان انجام گردید. در این مطالعه اثرات اسید سالیسیلیک با چهار غلظت (0، 100، 200 و 300 میلی گرم بر لیتر) و تیامین با سه غلظت (0، 100 و 200 میلی گرم بر لیتر) بر صفات نرخ فتوسنتز خالص، تعرق و کارایی مصرف آب ارزیابی شد. نتایج بیانگر آن بود که اسید سالیسیلیک باعث افزایش میزان کارایی مصرف آب نسبت به نمونه شاهد شده است. همچنین برهمکنش اسید سالیسیلیک و تیامین در این تحقیق سبب افزایش نرخ فتوسنتز خالص و میزان تعرق در مقایسه با نمونه شاهد شد. بالاترین نرخ فتوسنتز خالص در بالاترین سطوح کاربردی تیامین و اسید سالیسیلیک به دست آمد.

**واژگان کلیدی:** اسید سالیسیلیک، تیامین، فتوسنتز، کارایی مصرف آب، همیشه بهار.

#### مقدمه

گل همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.) گیاهی علفی، یک ساله با گل های زرد و نارنجی از تیره کلاهیپرک سانان<sup>71</sup> و از محبوب ترین گیاهان زینتی است که در دنیا به دلیل مقاومت به شرایط محیطی مورد توجه می باشد. خاستگاه این گیاه مناطق مدیترانه، اروپا و غرب آسیا است (1). این گیاه زینتی، به خاطر ترکیبات دارویی فراوانی که دارد به عنوان یک گیاه دارویی نیز کشت می گردد. از ترکیبات عمده این گیاه می توان به فلاونوئیدها، ساپونین، فلاونولها و گلیکوزیدها اشاره نمود (2).

تنظیم کننده اسید سالیسیلیک یک نقش اساسی و مهم در فرایندهای فیزیولوژیکی مختلف در گیاهان ایفا می کند که از آن جمله می توان به فتوسنتز، رشد و نمو، سنتز پروتئین، ممانعت از بیوسنتز اتیلن، باز و بسته شدن روزنه ها و جذب یونها اشاره نمود (3).

هم چنین کاربرد ویتامین ها به مقدار کم برای رشد و نمو عادی بافت ها در گیاه مورد نیاز می باشد (4). یکی از این ویتامین ها، تیامین است که بر خصوصیات فیزیولوژیکی و رشدی گیاه اثر دارد (5).

#### مواد و روش ها

این پژوهش در پاییز سال 1401 در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه شهید باهنر کرمان و در محیط گلدان و در یک خاک لومی شنی با شوری 10 دسی زیمنس بر متر به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با کاربرد چهار سطح اسید سالیسیلیک (0، 100، 200 و 300 میلی گرم بر لیتر) و سه سطح تیامین (0، 100 و 200 میلی گرم بر لیتر) در پنج تکرار با هدف ارزیابی برخی پارامترهای فتوسنتزی در شرایط دمایی حداقل 20 و حداکثر 30 درجه سانتی گراد با رطوبت نسبی 60 درصد انجام گرفت. اولین مرحله محلولپاشی تیمارهای مورد استفاده روی گیاهان همیشه بهار در بازه 8-6 برگی و مرحله دوم با فاصله زمانی 10 روز پس از آن انجام گردید. پس از رشد کامل بوته و شروع گلدهی برای سنجش پارامترهای فتوسنتزی از قبیل: نرخ فتوسنتز خالص، میزان تعرق و کارایی مصرف آب از دستگاه فتوسنتز متر مدل KRA-PH-M استفاده شد. بدین صورت که در یک روز صاف و آفتابی و بدون وزش باد، گلدان های حاوی گیاهان تیمار شده به فضای خارج از گلخانه منتقل شده و پس از کالیبره کردن، هر نمونه توسط دستگاه

<sup>71</sup>- Asteraceae

فتوستنتر متر قرائت گردید. تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از آزمایش با نرم افزار SAS و مقایسات میانگین با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح پنج درصد انجام شد.

## نتایج و بحث

### پارامترهای فتوستنتری (نرخ فتوستنتر خالص، تعرق و کارایی مصرف آب)

بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش میزان نرخ فتوستنتر خالص و تعرق در نتیجه برهمکنش بالاترین سطوح غلظتی اسید سالیسیلیک و تیامین نسبت به نمونه شاهد و تیمارهای مورد مطالعه افزایش نشان داد. بالاترین میزان فتوستنتر خالص و تعرق در تیمار برهمکنش اسید سالیسیلیک 300 میلی گرم بر لیتر و تیامین 200 میلی گرم بر لیتر، بترتیب به مقدار 6/15 میلی مول دی اکسید کربن بر متر مربع بر ثانیه و 3/81 میلی مول آب بر متر مربع مشاهده گردید. همچنین بیشترین میزان کارایی مصرف آب در تیمار اثر ساده اسید سالیسیلیک 300 میلی گرم بر لیتر به مقدار 1/70 میلی مول مشاهده گردید (جدول 1). در تحقیقی کاربرد اسید سالیسیلیک سبب افزایش رنگیزه‌های فتوستنتری شد که این رنگدانه‌ها نقش مهمی در فتوستنتر ایفا می‌کنند. از این رو تغییر در مقدار آن‌ها، تغییرات در میزان فتوستنتر را مشخص می‌کند (6). محلولپاشی اسید سالیسیلیک با غلظت 150 میلی گرم بر لیتر در گیاه آفتابگردان نیز موجب کارایی بهتر مصرف آب شده است (7). در گزارشی دیگر، کاربرد اسید سالیسیلیک در غلظت 450 میلی گرم بر لیتر باعث کاهش میزان تعرق، کاهش هدایت روزنه‌ای و افزایش سرعت فتوستنتر در گیاه آویشن شد (8). در رابطه با اثر مثبت محلولپاشی تیامین بر ویژگی‌های فوق می‌توان بیان کرد که این اثر ناشی از نقش تیامین در سنتز پروتئین‌ها و کربوهیدرات می‌باشد. در نتیجه تولید انرژی افزایش و همچنین میزان فتوستنتر گیاه بهبود می‌یابد (9). در این زمینه محققان اظهار داشتند که کاربرد تیامین سبب افزایش عملکرد و رشد بهتر گیاه خردل شده است (10).

### جدول 1. بررسی مقایسه میانگین برخی ویژگی‌های فتوستنتری مطالعه شده در گیاه همیشه بهار.

میانگین‌های دارای حروف مشترک، اختلاف معنی داری در سطح پنج درصد آزمون چند دامنه‌ای دانکن ندارند.

### نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج یاد شده می‌توان اظهار داشت که کاربرد برهمکنش اسید سالیسیلیک 300 میلی گرم بر لیتر به همراه تیامین 200 میلی گرم بر لیتر توانسته است که نرخ فتوستنتر خالص را دو برابر نمونه شاهد افزایش دهد و در همین تیمار میزان تعرق نیز در بالاترین حد خود بوده است. بررسی دقیق داده‌ها نشان داد که نقش اسید سالیسیلیک در افزایش نرخ فتوستنتر در این تحقیق کلیدی تر از نقش تیامین بود.

### منابع

1. صمصام شریعت، ه. معطر، ف. 1383. گیاهان و داروهای طبیعی. نشر روزبهان. 126 ص.

2. Re, T. A., Mooney, D., Antignac, E., Dufour, E., Bark, I., Srinivasan, V., Nohynek, G., (2009). "Application of the threshold of toxicological concern approach for the safety evaluation of calendula flower (*Calendula officinalis*) 9 petals and extracts used in cosmetic and personal care products". Food and Chem. Tox., 47, 1246-1254.
3. Shakirova, M. F., Sakhabutdinova, A. R., Bezrukova, M. V., Fatkhutdinova, R. A., Fatkhutdinova, D. R., (2003). "Change in the hormonal status of wheat seedling induced by salicylic acid and salinity". J. Plant Sci., 164(3), 317-322.
4. Salehi, M., Saffari, V. R. & Farahmand, H. (2016). The effect of foliar application of BA, ascorbic acid and thiamine on some characteristics of morphological and biochemical of petunia. Journal of Crop production and processing, 6(19), 165 -174. (in Farsi).
5. Goyer, A. (2010). Thiamine in plants: aspects of its metabolism and functions. Phytochemistry. Phytochemistry, 71(14-15): 1615-1624.
6. Keshtehgar, A., Rigi, K. and Vazirimehr, M. (2013). Effects of salt stress in crop plants. Intl J Agri Crop Sci. 5 (23):2863-2867.
7. Hussain, M., Farooq, M., Jabran, K., Wahid, A., (2009). "Foliar application of Glycine-betaine and Salicylic acid improves growth, yield

کارایی مصرف آب (میلی مول)	تعرق (میلی مول آب بر مترمربع)	فتوستتز خالص (میلی مول دی اکسید کربن بر مترمربع بر ثانیه)	تیامین (میلی گرم بر لیتر)	اسید سالیسیلیک (میلی گرم بر لیتر)
1/41 <sup>c</sup>	2/17 <sup>e</sup>	3/32 <sup>h</sup>	0	
1/51 <sup>bc</sup>	2/32 <sup>de</sup>	3/66 <sup>gh</sup>	100	0
1/38 <sup>c</sup>	2/57 <sup>cde</sup>	3/82 <sup>g</sup>	200	
1/39 <sup>c</sup>	2/48 <sup>de</sup>	3/66 <sup>gh</sup>	0	
1/35 <sup>c</sup>	2/67 <sup>cd</sup>	4/16 <sup>fg</sup>	100	100
1/43 <sup>c</sup>	2/96 <sup>bc</sup>	4/45 <sup>ef</sup>	200	
1/43 <sup>c</sup>	3/39 <sup>ab</sup>	4/77 <sup>de</sup>	0	
1/45 <sup>bc</sup>	3/41 <sup>ab</sup>	4/88 <sup>de</sup>	100	200
1/47 <sup>bc</sup>	3/21 <sup>b</sup>	5/22 <sup>cd</sup>	200	
1/70 <sup>a</sup>	3/30 <sup>b</sup>	5/41 <sup>bc</sup>	0	
1/63 <sup>ab</sup>	3/31 <sup>b</sup>	5/77 <sup>ab</sup>	100	300
1/53 <sup>abc</sup>	3/81 <sup>a</sup>	6/15 <sup>a</sup>	200	

and water productivity of hybrid Sunflower planted by different sowing methods". Aus. J. of Basic. and Appl. Sci., 196(2), 136-145.

8. Najafian, Sh., Khoshkhui, M., Tavallali, V., Saharkhiz, M.J., 2009. Effect of Salicylic acid and Salinity in Thyme (*Thymus Vulgaris*): Investigation on changes in gas exchange, water relations, and membrane stabilization and biomass accumulation. Australian Journal of Basic and Applied Science. 3(3), 2620-2626.

some chemical constituents of M.M. (2007). Response of vegetative growth and ,9. Abdel- Aziz Nahed, G., Fatma, E.M. and Farahat of Agricultural Science, 3: 301- ascorbic acid and kinetin to Nurbaria. World Journal ,*podophyllum* to foliar application of thiamine *Syngonium* 305.

10. Azahar, S. (2016) Response of vitamin B1 (Thiamine hydrochloride) in improving growth and yield of mustard(*Brassica juncea* L.).

## Interaction of salicylic acid and thiamine on the photosynthetic characteristics of marigolds

Mehdi Emadi<sup>1\*</sup>, VahidReza Saffari<sup>2</sup>, Ali Akbar Maghsoudi moud<sup>2</sup>

1\* - M.Sc. Student. Department of Horticultural Science, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

Email : [M.emadi@agr.uk.ac.ir](mailto:M.emadi@agr.uk.ac.ir)

2- Associate Professors. College of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

### Abstract

Marigold is a plant with medicinal and ornamental uses. In this research, in order to investigate the application of different concentrations of salicylic acid and thiamine on the photosynthetic characteristics of this plant in saline soil conditions, a factorial experiment was conducted in the form of a completely randomized design with five replications in the research greenhouse of Shahid Bahonar University of Kerman. In this study, the effects of salicylic acid with four concentrations (0, 100, 200 and 300 mg/l) and thiamine with three concentrations (0, 100 and 200 mg/l) on the traits of net photosynthesis rate, transpiration and water use efficiency were evaluated. Results showed that salicylic acid increased the efficiency of water consumption compared to the control condition. Interaction of salicylic acid and thiamine in this research caused an increase in the rate of net photosynthesis and the rate of transpiration compared to the control. The highest net photosynthesis rate was obtained at the highest application levels of thiamine and salicylic acid.

**Keywords:** Marigold , Photosynthesis , Salicylic acid, Thiamine, Water use efficiency.

## بررسی تیمار آب پلاسما روی پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء میوه نارنگی طی انبارمان

ابراهیمی مهدیه<sup>1</sup>، پاک کیش زهرا<sup>2</sup> نوری هادی<sup>3</sup> و نصیبی فاطمه<sup>4</sup>

1- دانشجوی کارشناسی ارشد، بخش مهندسی علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

[mahdieh.ebrahimi2419@gmail.com](mailto:mahdieh.ebrahimi2419@gmail.com)

2- دانشیار، بخش مهندسی علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

[zahrapakkish@uk.ac.ir](mailto:zahrapakkish@uk.ac.ir)

3- استادیار بخش فیزیک، دانشکده علوم دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

[Hadi-noori@uk.ac.ir](mailto:Hadi-noori@uk.ac.ir)

4- دانشیار بخش زیست شناسی، دانشکده علوم دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

[nasibi.f@uk.ac.ir](mailto:nasibi.f@uk.ac.ir)

## چکیده

نارنگی یکی از مهمترین محصولات مرکبات در ایران است. این آزمایش برای تعیین اثر آب پلاسما، روی میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء نارنگی طی انبارمانی انجام شده است. میوه‌های نارنگی با آب مقطر (شاهد)، آب پلاسما به مدت 2.5 دقیقه و آب پلاسما به مدت 5 دقیقه تیمار و سپس در دمای  $5 \pm 1$  درجه سانتیگراد و رطوبت نسبی 90-85 درصد، به مدت 30 روز نگهداری شدند. آزمایش به صورت طرح کاملا تصادفی در سه تکرار انجام شد. نتایج نشان داد، کاربرد آب پلاسما نسبت به شاهد به طور معنی داری، روی فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی و کاهش پراکسیداسیون لیپیدها اثر داشت. به طور کلی میوه‌های تیمار شده با آب پلاسما 5 دقیقه، دارای بالاترین میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی و کاهش پراکسیداسیون لیپیدها را دارا بودند.

واژه های کلیدی: انبارمانی، آب پلاسما، نارنگی

## مقدمه

مرکبات گروهی از تجاری ترین محصولات باغبانی جهان هستند که به دلیل داشتن مواد غذایی ارزشمندی مانند لیمونوئید ها ، فلاونوئید ها ، پکتین ، کومارین ، آنتی اکسیدان های معروفی چون اسید آسکوربیک و کارتنوئید ها که از اجزای مهم رژیم غذایی انسان به شمار می روند مورد توجه هستند (فتاحی مقدم ، 1395) .

ایران یکی از کشورهای مهم در تولید برخی محصولات باغی مانند مرکبات است. نارنگی یکی از مهم ترین محصولات باغی است که در استان های شمالی و جنوبی کشور کشت می شود و نسبت به سایر مرکبات نزد مصرف کنندگان مقبولیت بیشتری دارد. مرکبات جزو میوه های نافراز گرا بوده و زمان برداشت و طول دوره انبار مانی می تواند تاثیر زیادی بر کیفیت میوه داشته باشند (فتوحی قزوینی و فتاحی مقدم، 1385). نارنگی بانام علمی ( Citrus tangerina ): میوه ای از تیره مرکبات است. نارنگی نسبت به پرتقال کوچک تر است و مزه ترش و شیرین تری دارد . نارنگی اورلاند تانجلو ( Orlando tangelo ) رقمی دورگه از تلاقی گریپ فروت دانکن و نارنگی دنسی است . این رقم دارای ویژگی هایی نظیر میان رس ، پرمحصول ، تحمل بیشتر نسبت به سرما نسبت به رقم مینولانانجلو ، میوه های کروی تا تخم مرغی ، اندازه ای متوسط تا درشت ، پوست نازک و به رنگ نارنجی روشن تا تیره و چسبیده به گوشت و گوشت معطر و کمی شیرین دارد. برای دستیابی به عملکرد بالا در این رقم به دگرگشتی نیاز است و مناسب ترین رقم های گرده دهنده شامل : تمپل ، کینو ، کلماتین و دنسی اند و با رقم مینولانجلو ناسازگار است (فتاحی مقدم ، 1395) . تا کنون تحقیقات زیادی در زمینه افزایش عمر انبارمانی مرکبات انجام شده است، مانند استفاده از تیمارهای فیزیکی مانند اشعه UV و تیمار آب گرم (Slaughter et al. 2008; Schirra et al., 1997; Odriozola-Serrano et al., 2007), شرایط دمایی (Obenland, et al., 2012) و تیمار های شیمیایی و کاربرد تنظیم کننده های گیاهی (Montesinos-Herrero and Palou 2010). (Schirra et al., 2005).

آب پلاسما برای استریل کردن محیط های آلوده به باکتری ها، ویروس ها، هاگ ها ، کپک ها و کنه ها شناخته شده است . آب پلاسما دارای مزیت های کیفی ، زیست محیطی و اقتصادی از جمله کمک به افزایش عمر تجاری محصول ( مدت ماندگاری مواد غذایی )، کاهش اتیلن، انگل ها ، کپک ها و قارچ ها است. اوزون گاز بیولوژیکی غیر تهاجمی است که هیچ اثری از خود به جا نمی گذارد و این اولین مزیت برای محیط زیست است . آب پلاسما به خاطر استفاده از آب کمتر و هم چنین مفید بودن برای محیط زیست از لحاظ اقتصادی به صرفه است (Horvitz and Cantalejo, 2014). اما بنظر می رسد پژوهشی پیرامون اثر آب پلاسما روی نارنگی صورت نگرفته است، لذا در بررسی پیش رو

تلاش شده تاثیر آب پلاسما بر روی میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشا و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی طی انبارمانی میوه نارنگی مورد بررسی قرار گیرد.

### مواد و روش‌ها

میوه های نارنگی از یک باغ تجاری خریداری شدند و میوه‌ها بسرعت به آزمایشگاه منتقل شدند. میوه‌های سالم، یکنواخت و عاری از هر نوع عامل بیماری را به منظور اعمال تیمار استفاده شدند. ابتدا میوه‌ها با آب معمولی کاملاً شسته تا تمام مواد زایدی که به سطح میوه چسبیده‌اند از آن جدا، سپس با آب شستشو و در نهایت میوه‌ها به طور کامل خشک و با آب پلاسما تیمار شدند. میوه‌ها با آب پلاسما به مدت 2,5 دقیقه و آب پلاسما به مدت 5 دقیقه و آب مقطر (شاهد)، به روش غوطه‌وری تیمار شدند. بعد از تیمار، میوه‌ها از آب خارج و در سبدهایی قرار داده تا کاملاً خشک شدند. بعد از خشک شدن و جذب شدن کامل مواد مذکور توسط میوه‌ها، آنها به سردخانه منتقل و در دمای  $5 \pm 1$  درجه سانتیگراد، به مدت 30 روز، قرار داده شدند. با فواصل زمانی هر 10 روز یکبار، میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشا و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی میوه‌های تیمار شده ارزیابی شدند.

**تجزیه و تحلیل آماری:** آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با 3 تیمار و در سه تکرار انجام گرفت. تجزیه آماری نتایج بدست آمده به کمک نرم افزار SAS و رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel انجام گرفت.

### نتایج و بحث

طبق نتایج بدست آمده، میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء، طی انبارمانی کاهش یافت و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی طی انبارمانی افزایش یافت و تیمار آب پلاسما به طور معنی داری ( $p < 0/01$ ) روی کاهش میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء و افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی اثر داشت (شکل 1-3). آب پلاسما دارای مولکول های اوزن می باشد، اوزن یک مولکول سه اتمی از اکسیژن است که به دلیل پتانسیل اکسیداسیون بالاتر به عنوان یک ضد عفونی کننده قوی شناخته شده است. اوزن اخیراً به ویژه از سوی تولیدکنندگان محصولات باغی تازه ارگانیک مورد توجه قرار گرفته است. یکی از خواص عمده اوزن که آن را به یک درمان موثر پس از برداشت تبدیل می کند، توانایی آن در ضد عفونی کردن محصولات تازه به طور موثر بدون باقی ماندن بقایای روی سطح است، عمدتاً به این دلیل که تجزیه می شود و اکسیژن تشکیل می دهد. اوزن یکی از درمان های موفق پس از برداشت است. اوزن با تاثیر بیوشیمیایی بر آنتی اکسیدان ها به عنوان اجزای اصلی رژیم غذایی محصولات تازه مورد بحث قرار گرفته است (Shezia et al., 2020). گزارش شده که کاربرد آب پلاسما عملکردهای تخریبی تنش های محیطی و زیستتیرا کاهش می دهد که احتمالاً این عمل آب پلاسما با کاهش تولید (ROS) و خسارات اکسیداتیو امکان پذیر است (Shezia et al., 2020). گزارشات متعددی وجود دارد که تحت تنش های غیر زیستی مانند خشکی، دمای بالا، دمای پائین، اشعه UV و گرما، گونه های فعال اکسیژن (ROS) تولید می شوند (Neill et al 2002, Vranova 2002). ROS ها فرایندهای مخرب متعددی را آغاز می نمایند اما در عین حال مسیرهای سیگنالینگ متفاوتی را هم فعال می کنند. بنابراین حفظ سطوح ROS موجب زنده ماندن ارگانسیم های گیاهی می شود (Vranova 2002) و طبق نتایج بدست آمده در تحقیق حاضر، تیمار آب پلاسما، با مکانسم هایی که در مورد آن شرح داده شد، روی فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی اثر افزایشی برای جلوگیری از تنش سرما داشته است. یانگ و همکاران (2002) گزارش نمودند، کاربرد آب پلاسما روی افزایش عمر پس از برداشت گل های شاخه بریده، عمر انبار مانی را افزایش داد، زیرا این ماده با فعال کردن مکانسیم های آنتی اکسیدانی، نظیر آنزیم های کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز، گونه های فعال اکسیژن و رادیکال های آزاد را از بین می برند و بدین ترتیب عمر انبار مانی را با کاهش آسیب سرمازدگی و کاهش پراکسیداسیون لیپیدهای غشا به حداقل می رسانند (Robinson et al., 2009)، که نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر، با پژوهش های انجام شده مطابقت دارد. کاربرد آب پلاسما باعث افزایش محتوای آنتی اکسیدانی سلول می شود (Xu et al., 2021)، بنابراین طبق نتایج حاصل از پژوهش حاضر افزایش محتوای آنزیم های آنتی اکسیدانی، بدیهی بوده است و با یافته های

پیشین مطابقت دارد.

## نتیجه گیری کلی

حساسیت به دمای پایین باعث محدود کردن عمر انبارمانی و کاهش کیفیت میوه ها می گردد. تغییر در واکنش های بیوشیمیایی و فیزیولوژی مختلف در داخل میوه به همراه وقوع نابسامانی های ظاهری از عوامل کاهش بازارپسندی در میوه ها در دمای پایین و در طول انبارمانی می باشند. اخیرا استفاده از آب پلاسما، به منظور افزایش عمر انبارمانی میوه ها مورد توجه قرار گرفته است. آب پلاسما، از تشکیل رادیکال فعال اکسیژن که باعث پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء می شوند، چون این ماده سبب افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی می گردد و با دخالت در بیان ژن های مختلف سلول زنده را در برابر تنش های مختلف محافظت می کند. خسارت سرمازدگی، محصول مرکبات را به شدت تحت تاثیر قرار داده و کاهش می دهند.

## منابع

**Montesinos-Herrero, C., Palou, L., 2010.** Combination of physical and low-toxicity chemical postharvest treatments for the management of citrus fruit: a review. *Stewart Postharvest Rev* 1:1.

**Neill, S., Desikan, R., Clarke, A., Hancock, J., 2002.** Nitric oxide is a novel component of abscisic acid signaling in stomatal guard cells. *Plant Physiol*, 128: 13-16.

**Odriozola-Serrano, I., Hernandez-Jover, T., Martn-Belloso, O., 2007.** Comparative evaluation of UV-HPLC methods and reducing agents to determine vitamin C in fruits. *Food Chem*, 105: 1151-1158.

**Obenland, D., Collin, S., Sievert, J., Arpaia, M. L., 2012.** Impact of high-temperature forced-air heating of navel oranges on quality attributes, sensory parameters, and flavor volatiles. *HorSci*, 47: 386-390.

**Schirra, M., D'hallewin, G., 1997.** Storage performance of Fortune mandarins following hot water dips. *Postharvest Biol Technol*, 10: 229-238.

**Schirra, M., Mulas, M., Fadda, A., Mignani, I., Lurie, S., 2005.** Chemical and quality traits of 'Olinda' and 'Campbell' oranges after heat treatment at 44 or 46\_C for fruit fly disinfestations. *Lebenson. Wiss. Technol*, 38:519-527.

**Vranova, E., Inze, D., Van Breusegem, F., 2002.** Signal transduction during oxidative stress: *J Exp Bot*, 53: 1227-1236.

**Horvitz, S., J.Cantalejo, M., 2014 .** Critical reviews in food science and nutrition, 54:3. 312-339.

**Robinson, S., Graham, T., Dixon, M. A., Zhng, Y., 2009.** Aqueous ozon can extend vase – life in cut rose. *the journal of horticultural science and biotechnology*, 84:1. 97-101.

**Sabelo Shezi, A., Lembe Samukelo Magwaza, A. B., Asanda Mditshwa, A., Samson Zeray Tesfay, A., 2020.** Changes in biochemistry of fresh produce in response to ozone postharvest treatment.

فتاحی مقدم (ج). (1395). برداشت، انبارداری و عرضه نارنگی، نشر آموزش کشاورزی

## Investigation of plasma water treatment on lipid peroxidation of tangerine fruit membrane during storage

Ebrahimi, Mahdieh<sup>1</sup>, Pakkish. Zahra<sup>2</sup>, Noori, Hadi<sup>3</sup> and Nasibi, Fatemeh<sup>4</sup>

1- Master Science (1-Master Science (MSc.) Student, Department of Horticultural Sciences, Agricultural College, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

2- Associate professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Iran

*E-mail: zahrpakkish@uk.ac.ir*

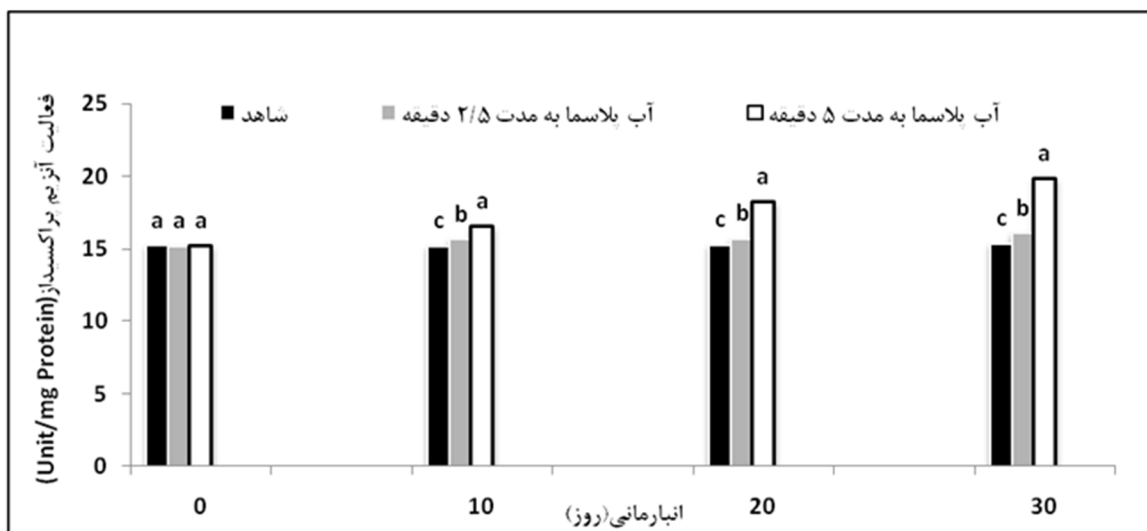
3- Assistant Professor, Department of Physics, Faculty of Science, Shahid Bahonerkerman University, Kerman, Iran

4-Associate Professor Department of Biology, Faculty of Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

### Abstract

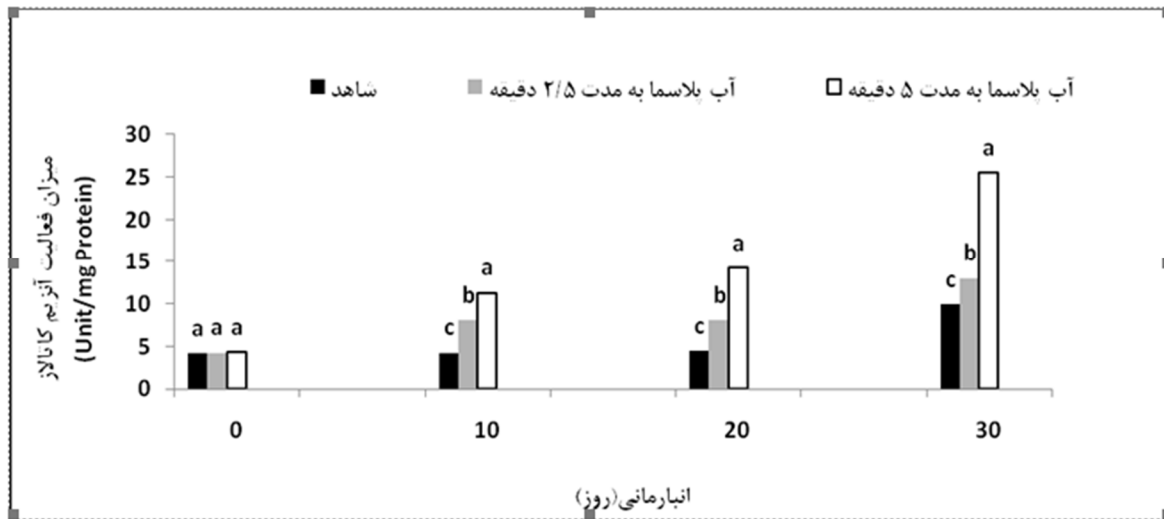
Tangerine is one of the most important citrus fruits in Iran. This experiment was conducted to determine the effect of plasma water on the peroxidation rate of tangerine membrane lipids during storage. Tangerine fruits were treated with distilled water (control), plasma water for 2.5 minutes and plasma water for 5 minutes and then stored at  $5\pm 1^\circ\text{C}$  temperature and 85-90% relative humidity for 30 days. The experiment was conducted as a completely randomized design in three replications. The results showed that the use of plasma water had a significant effect on the activity of antioxidant enzymes and reducing the peroxidation of lipids compared to the control. In general, fruits treated with plasma water for 5 minutes had the highest activity of antioxidant enzymes and reduced lipid peroxidation.

**Keywords:** storage, plasma water, tangerine

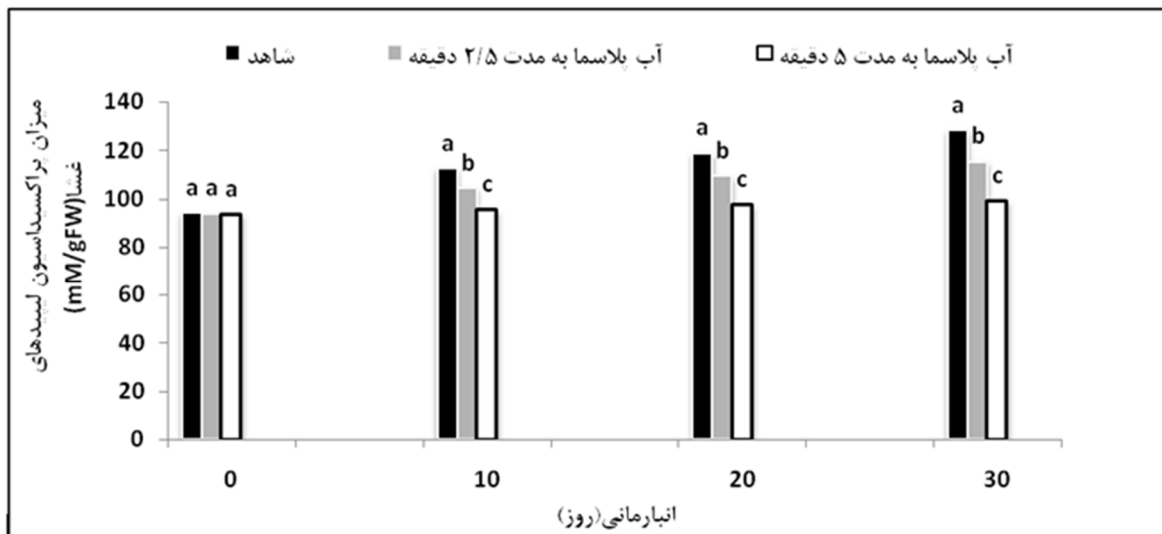


شکل 1- اثر تیمار آب پلاسما روی فعالیت آنزیم پراکسیداز میوه نارنگی طی انبارمانی. در هر ستون میانگین هایی که دارای حروف یکسانی هستند، در سطح 5% آزمون چند دامنه ای دانکن تفاوت معنی داری با هم ندارند.





شکل 2- اثر تیمار آب پلاسما روی فعالیت آنزیم کاتالاز میوه نارنگی طی انبار مانی. در هر ستون میانگین هایی که دارای حروف یکسانی هستند، در سطح 5% آزمون چند دامنه ای دانکن تفاوت معنی داری با هم ندارند.



شکل 3- اثر تیمار آب پلاسما روی میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشا میوه نارنگی طی انبار مانی. در هر ستون میانگین هایی که دارای حروف یکسانی هستند، در سطح 5% آزمون چند دامنه ای دانکن تفاوت معنی داری با هم ندارند.

## تأثیر فلزات سنگین کادمیوم، کروم و مس بر جوانه زنی بذر و رشد گیاهچه آویشن

<sup>1</sup> منصوره تشکری زاده

\* نویسنده مسئول: استادیار پژوهشی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان کرمان، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، کرمان، ایران.

mtashakorizadeh1981@gmail.com

<sup>2</sup> نرگس حاتمی

2- استادیار، موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

### چکیده

به منظور بررسی اثرات سمی فلزات سنگین کادمیوم (Cd)، کروم (Cr) و مس (Cu) بر جوانه زنی و رشد گیاهچه آویشن، آزمایشاتی در محیط‌های آبی با غلظت‌های 50، 100 و 150 میکرومولار از فلزات سنگین ذکر شده در طول 14 روز متوالی انجام شد. نتایج نشان داد که فلزات سنگین با کاهش جوانه‌زنی بذر، کاهش طول و وزن ریشه‌چه و ساقه‌چه، بر رشد طبیعی گیاهان تأثیر منفی می‌گذارند. اثرات سمی فلزات سنگین مورد مطالعه را می‌توان به ترتیب درجه بازدارنده به صورت  $Cd > Cr > Cu$  دسته بندی کرد. حداقل جوانه زنی و طول و وزن ریشه‌چه و ساقه‌چه در غلظت 150 میکرو مولار کادمیوم مشاهده شد و حداکثر این صفات در

غلظت 50 میکرو مولار مس مشاهده شد. این نتایج توانایی جوانه‌زنی و رشد بذر گیاه آویشن در غلظت‌های مختلف فلزات سنگین کادمیوم، کروم و مس در آب‌های آبیاری و خاک‌های تحت پرورش را نشان می‌دهد.

**واژگان کلیدی:** ریشه‌چه، ساقه‌چه، سمیت و فلز سنگین.

### مقدمه

آویشن (*Thymus vulgaris* L.) یکی از گیاهان تیره نعنائیان (Lamiaceae) است که در نواحی مختلف مدیترانه و برخی نواحی آسیا می‌روید و امروزه در مناطق مختلف جهان و از جمله در ایران کشت و تولید می‌شود (1). آویشن محتوی 0/8 تا 2/6 درصد (معمولاً 1 درصد) اسانس است که قسمت اعظم آن را فنل‌ها، هیدروکربن‌های مونوترپنی و الکل‌ها تشکیل می‌دهند. تیمول جزء اصلی ترکیبات فنلی در گیاه آویشن است. از برگ آویشن در فرآورده‌های غذایی و همچنین از اسانس گیاه در نوشیدنی‌ها و صنایع دارویی، بهداشتی و آرایشی استفاده‌های متنوعی می‌شود (1). فلزات سنگین چگالی بیشتر از 5 گرم بر سانتی‌متر مکعب و عدد اتمی بیشتر از 20 دارند. فلزات سنگینی مانند کادمیوم (Cd) و کروم (Cr) به مقدار کم در خاک یافت می‌شوند و اثرات زیستی بسیار مضر از خود نشان می‌دهند. در حالی که فلزاتی مانند مس (Cu) در غلظت‌های کم در حیات و رشد گیاه تاثیر مثبت دارند ولی در غلظت‌های زیاد دارای اثرات مضر و یکی از اجزای اصلی آلاینده‌های سمی در سراسر جهان به شمار می‌روند. میلیون‌ها نفر از کشورهای مختلف به دلیل آلودگی فلزات سنگین در معرض خطرات سلامتی قرار دارند (2). در گیاهان، فعالیت‌های سلولی که عمدتاً تحت تأثیر آلودگی فلزات سنگین قرار می‌گیرند عبارتند از: تنفس، تغذیه معدنی، فتوسنتز، بیان ژن و ساختار غشایی (3). اولین هدف فلزات سنگین، ساختار غشایی گیاه است و به دنبال آن باعث مهار جوانه زنی و تأخیر رشد در گیاه می‌شوند (3). هدف از این مطالعه بررسی اثر سمیت کادمیوم، کروم و مس بر جوانه زنی و رشد گیاهچه گیاه آویشن (*Tymus vulgaris*) می‌باشد.

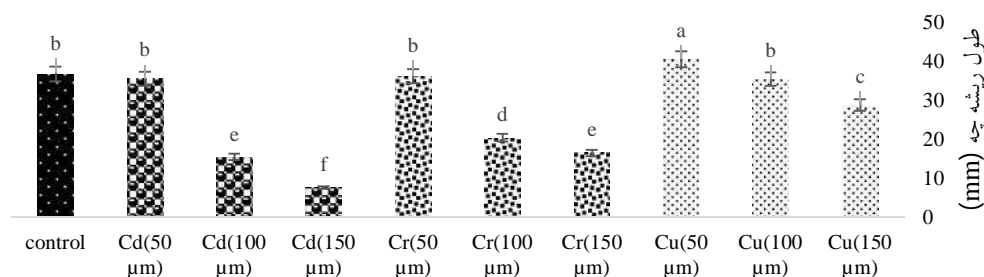
### مواد و روش‌ها

بذر آویشن از بانک ملی ژن بذر کرج تهیه شد. بذرها در ظروف پتری روی دو لایه کاغذ صافی قرار گرفتند. هر ظرف حاوی 50 دانه بود. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در هر تیمار انجام شد. در این تحقیق چهار تیمار شاهد، کادمیوم، کروم و مس مورد بررسی قرار گرفت. غلظت‌های مورد استفاده 0، 50، 100 و 150 میکرومولار بود. آزمایش‌ها در انکوباتور در دمای  $25 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد انجام شد. ملاک جوانه زنی بذر، ظهور ریشه‌چه به طول 2-5 میلی‌متر بود (4). جوانه زنی هر روز به مدت 14 روز ثبت شد و درصد جوانه زنی محاسبه شد. نهال‌ها پس از 14 روز برداشت شدند و طول ریشه‌چه و ساقه‌چه و وزن تر ریشه‌چه و ساقه‌چه ثبت شد. سپس نهال‌ها در آون با دمای 80 درجه سانتی‌گراد به مدت 24 ساعت خشک شدند و وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه اندازه‌گیری شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با آزمون ANOVA و نرم افزار SAS (ورژن 9/1) انجام و مقایسه میانگین‌ها بر مبنای آزمون دانکن در سطوح احتمال یک و پنج درصد صورت گرفت.

### نتایج و بحث

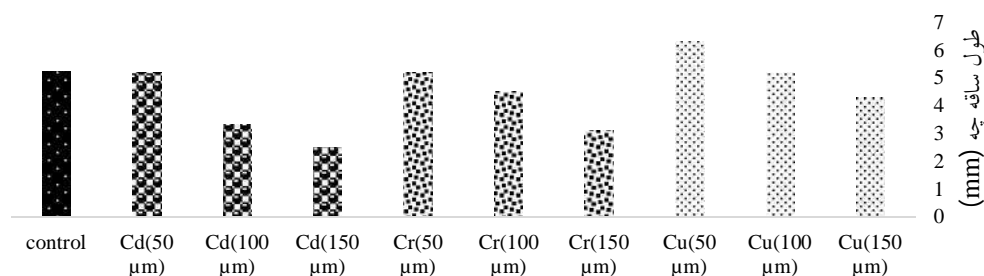
میانگین جوانه‌زنی بذر در در غلظت‌های 100 و 150 در تمام تیمارهای فلزات سنگین به طور معنی‌داری کمتر از شاهد بود ( $P < 0.05$ ). مس در مقایسه با غلظت‌های مشابه سایر فلزات سنگین اثر بازدارندگی کمتری بر جوانه‌زنی بذر داشت و حداکثر بازدارندگی در کروم (150 میکرومولار) با 53 درصد ثبت شد (جدول 1).

نتایج تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که اثرات غلظت فلزات سنگین بر رشد ریشه‌چه به طور قابل توجهی متفاوت از شاهد است ( $P < 0.01$ ). نتایج نشان داد که با افزایش غلظت کادمیوم، کروم و مس طول ریشه‌چه کاهش یافت. حداکثر طول ریشه‌چه در مس (50 میکرومولار) با 40/54 میلی‌متر و کمترین طول ریشه‌چه در کادمیوم (150 میکرومولار) مشاهده شد. مس در مقایسه با غلظت‌های مشابه سایر فلزات سنگین، اثرات بازدارندگی کمتری بر طول ساقه‌چه داشت و حداکثر بازدارندگی در کادمیوم (150 میکرومولار) ثبت شد (شکل 1).



شکل 1- تاثیر غلظت‌های مختلف فلزات سنگین مورد مطالعه روی طول ریشه‌چه

نتایج نشان داد که با افزایش غلظت های Cd، Cr و Cu وزن تر و خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه کاهش یافت ( $P < 0.01$ ). حداقل وزن تر و خشک ریشه‌چه در کادمیوم (150 میکرومولار) به ترتیب با 0/5 و 0/09 گرم و کمترین وزن تر و خشک اندام هوایی نیز در کادمیوم (150 میکرومولار) به ترتیب با 3/3 و 2/12 گرم ثبت شد. حداکثر وزن تر و خشک ریشه در غلظت 50 میکرومولار مس به ترتیب با 1/7 و 0/33 گرم و حداکثر وزن تر و خشک ساقه‌چه نیز در همین غلظت به ترتیب با 5/5 و 3/82 گرم مشاهده شد (جدول 1).



شکل 2- تاثیر غلظت‌های مختلف فلزات سنگین مورد مطالعه روی طول ساقه‌چه

جدول 1- مقایسه میانگین صفات مورد مطالعه در گیاه آویشن تحت غلظت‌های مختلف فلزات سنگین.

تیمار	غلظت ( $\mu\text{M}$ )	درصد جوانه زنی	وزن تر ریشه (g)	وزن تر ساقه (g)	وزن خشک ریشه (g)	وزن خشک ساقه (g)
شاهد	0	1/6 <sup>cd</sup>	1/5 <sup>b</sup>	5/01 <sup>ab</sup>	0/31 <sup>b</sup>	3/51 <sup>ab</sup>
Cd	50	1/7 <sup>c</sup>	1/3 <sup>c</sup>	4/8 <sup>bc</sup>	0/31 <sup>b</sup>	3/36 <sup>b</sup>
	100	1/1 <sup>f</sup>	0/9 <sup>de</sup>	4/3 <sup>d</sup>	0/17 <sup>ef</sup>	3/01 <sup>c</sup>
	150	0/6 <sup>h</sup>	0/5	3/3 <sup>f</sup>	0/09 <sup>h</sup>	2/12 <sup>e</sup>
	50	1/9 <sup>b</sup>	1/5 <sup>b</sup>	4/7 <sup>c</sup>	0/29 <sup>c</sup>	3/29 <sup>b</sup>

3/08 <sup>c</sup>	0/19 <sup>e</sup>	4/4 <sup>d</sup>	1 <sup>d</sup>	1/3 <sup>e</sup>	100	
2/52 <sup>d</sup>	0/13 <sup>g</sup>	3/6 <sup>e</sup>	0/7 <sup>e</sup>	0/8 <sup>g</sup>	150	
3/82 <sup>a</sup>	0/33 <sup>a</sup>	5/5 <sup>a</sup>	1/7 <sup>a</sup>	2/1 <sup>a</sup>	50	
3/43 <sup>ab</sup>	0/3 <sup>bc</sup>	4/9 <sup>b</sup>	1/5 <sup>b</sup>	1/5 <sup>d</sup>	100	Cu
3/01 <sup>c</sup>	0/25 <sup>d</sup>	4/3 <sup>d</sup>	1/3 <sup>c</sup>	1/3 <sup>e</sup>	150	

#### بحث

در این مطالعه با افزایش غلظت فلزات سنگین جوانه زنی بذر کاهش یافت که این کاهش در نتیجه ایجاد اختلال در خواص نفوذ پذیری غشای سلولی و کاهش جذب و انتقال آب و همچنین کاهش تحمل به تنش آبی رخ داد (5). در این تحقیق با افزایش غلظت های Cu و Cr، Cd، طول ریشه چه و ساقه چه و وزن ریشه چه و ساقه چه کاهش یافت. انسل و همکاران (2000) اثرات مشابه استفاده از کادمیوم در نهال گندم و نیلیما و ردی (2003) اثرات مشابه کادمیوم و جیوه را بر جوانه زنی بذر، رشد گیاهچه، وزن تر و خشک در *Solanum melongena* گزارش کردند (6 و 7). در این تحقیق مس در مقایسه با سایر فلزات سنگین اثر بازدارندگی کمتری بر جوانه زنی بذر داشت و در غلظت 50 میکرومولار باعث افزایش رشد و وزن تر و خشک ریشه چه و ساقه چه نسبت به گیاهان شاهد شد. این نشان می دهد که مس در این غلظت به عنوان یک ریزمغذی عمل کرده و نظیر سایر ریزمغذی ها، نقش اساسی در واکنش های فیزیولوژیک، بیوشیمیایی و فرایندهای متابولیکی گیاه ایفا کرده و منجر به افزایش کمی و کیفی محصول می شود (8).

#### نتیجه گیری

این بررسی نشان داد که فلزات سنگین اثرات بازدارندگی بر جوانه زنی بذر و رشد اولیه گیاهچه در گیاه آویشن دارند. شدت مهار رشد به طور مستقیم با غلظت محلول های فلزات سنگین مورد استفاده در این مطالعه متناسب بود. غلظت بالای فلزات سنگین منجر به کاهش درصد شاخص های تحمل در آویشن شد که به وضوح از مهار رشد گیاهچه مشهود بود. جذب فلزات سنگین توسط ریشه و انتقال آنها به اندام هوایی در غلظت های بالاتر می تواند باعث کاهش شدید تولید زیست توده و رشد گیاهچه شود.

#### منابع و مراجع مورد استفاده

1. Hosseinzadeh, S., Jafarikukhdan, A., Hosseini, A. and Armand, R., 2015. The application of medicinal plants in traditional and modern medicine: a review of *Thymus vulgaris*. International Journal of Clinical Medicine, 6(09), pp.635-642.
2. Li, Q., Cai, S., Mo, C., Chu, B., Peng, L. and Yang, F., 2010. Toxic effects of heavy metals and their accumulation in vegetables grown in a saline soil. Ecotoxicology and Environmental Safety, 73(1), pp.84-88.
3. Peixoto, P.H.P., Cambraia, J., Sant'Anna, R., Mosquim, P.R. and Moreira, M.A., 2001. Aluminum effects on fatty acid composition and lipid peroxidation of a purified plasma membrane fraction of root apices of two sorghum cultivars. Journal of Plant Nutrition, 24(7), pp.1061-1070.
4. ISTA. 1966. International Seed Testing Association. Proc Inter Seed Testing Assoc.;31:1-152.
5. Subin, M.P. and Francis, S., 2013. Phytotoxic effects of cadmium on seed germination, early seedling growth and antioxidant enzyme activities in *Cucurbita maxima* Duchesne. International Research Journal of Biological Sciences, 2(9), pp.40-47.
6. Öncel, I., Keleş, Y. and Üstün, A.S., 2000. Interactive effects of temperature and heavy metal stress on the growth and some biochemical compounds in wheat seedlings. Environmental pollution, 107(3), pp.315-320.

7. Neelima, P. and Reddy, K.J., 2003. Differential effect of cadmium and mercury on growth and metabolism of *Solanum melongena* L. seedlings. *Journal of Environmental Biology*, 24(4), pp.453-460.
8. Printz, B.; Guerriero, G.; Sergeant, k.; Audinot, J.N.; Guignard, C.; Renault, j.; Lutts, S. & Hausman, J.F. 2016. Combining-Omics to unravel the impact of copper nutrition on Alfalfa (*Medicago sativa*) stem metabolism. *Journal of Plant Cell Physiol* 57: 407-422.

## The Effect of Cadmium, Chromium and Copper on Seed Germination and Growth of seedlings of *Thymus vulgaris* L.

### Abstract

In order to investigate the toxic effects of heavy metals cadmium (Cd), chromium (Cr) and copper (Cu) on the germination and growth of thyme seedlings, tests were carried out in water environments with concentrations of 50, 100 and 150  $\mu\text{M}$  of heavy metals. It was done during 14 consecutive days. The results showed that heavy metals have a negative effect on the natural growth of plants by reducing seed germination, reducing the length and weight of roots and stems. The toxic effects of studied heavy metals can be classified according to the degree of inhibition as  $\text{Cd} > \text{Cr} > \text{Cu}$ . The minimum germination and length and weight of both roots and stems were observed at the concentration of 150  $\mu\text{M}$  cadmium, and the maximum of these traits was observed at the concentration of 50  $\mu\text{M}$  copper. These results show the germination and growth ability of thyme plant seeds in different concentrations of heavy metals chromium, cadmium and copper in irrigation water and cultivated soils.

**Key words:** Radicle, plumule, toxicity and heavy metal.

### تأثیر زمان محلول پاشی با پوترسین در بهبود کیفیت میوه پسته رقم احمد آقایی نجمه سالاری هنزا<sup>1\*</sup> و زهرا پاک کیش<sup>2</sup>

1- \* نویسنده مسئول: دانشجوی کارشناسی ارشد، بخش مهندسی علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان.

Email : [najmesalari2022@gmail.com](mailto:najmesalari2022@gmail.com)

2- دانشیار، بخش مهندسی علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان.

### چکیده

امروزه از هورمون‌ها به منظور بهبود رشد رویشی و زایشی در بسیاری از محصولات کشاورزی در دنیا استفاده می‌شود. هدف از انجام این تحقیق، افزایش وزن میوه، انس و در نهایت افزایش عملکرد پسته با استفاده از تیمار پوترسین در سه سطح (صفر، نیم و یک میلی‌مولار) در درختان پسته رقم احمد آقایی می‌باشد. بدین منظور آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار اجرا و محلول پاشی پوترسین بر روی درختان پسته مورد نظر در طی دو مرحله 60 و 75 روز بعد از تمام گل انجام گردید. بررسی نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین‌ها نشان داد که تیمار پوترسین با غلظت یک میلی‌مولار تأثیر معنی‌داری در افزایش وزن میوه، انس و عملکرد داشته است. بر اساس این نتایج، تیمار پوترسین یک میلی‌مولار در صفات مورد ارزیابی به عنوان بهترین تیمار و محلول پاشی در مرحله 60 روز بعد از تمام گل به عنوان بهترین زمان کاربرد، در پژوهش حاضر معرفی گردید.

واژگان کلیدی: پوترسین، پسته، رشد، عملکرد.

## مقدمه

پسته با نام علمی (*Pistacia vera* L.) یکی از مهم‌ترین محصولات باغی است که در ایران به طور ویژه کشت می‌شود و یکی از آجیل‌های مورد علاقه مردم جهان است که به طور گسترده در مناطق خشک و گرم خاورمیانه، کشورهای مدیترانه و ایالات متحده کشت می‌شود (1). در مقیاس جهانی میزان تولید پسته از سال 10 سال پیش تاکنون 856 هزار تن در هکتار افزایش یافته است (2). ارزش غذایی بالا و خندان بودن پسته، باعث گسترش مصرف آن به صورت خام و برشته در نقاط مختلف جهان شده است. برای موفقیت در تولید محصول با عملکرد بیشتر، تأمین مناسب مواد رشدی و عناصر غذایی مورد نیاز گیاه به همراه هورمون‌های رشدی لازم است. کاهش عملکرد پسته ممکن است به علت مشکلات فیزیولوژیکی متعدد از جمله؛ ریزش جوانه‌های گل، ریزش میوه‌ها، پوکی، ناخندانی، بد شکلی میوه‌ها و زود خندانی در این محصول باشد. این مشکلات می‌تواند ناشی از گرده افشانی، کوددهی نامناسب و شرایط نامساعد محیطی مانند خشکی و شوری باشد (3).

پلی‌آمین‌ها، پلی‌کاتیون‌های آلی با وزن مولکولی کم هستند که در یک محدوده وسیعی از فرایندهای متابولیکی و فیزیولوژیکی در گیاهان شامل؛ تقسیم سلولی، گل‌انگیزی و نمو اندام‌های زایشی، تشکیل، رشد و رسیدن میوه‌ها و واکنش به تنش‌های محیطی نقش دارند. با توجه به نقش پلی‌آمین‌ها در بسیاری از فرایندهای گیاه، به نظر می‌رسد استفاده از پوترسین جهت بالا بردن کیفیت و کمیت محصولات باغبانی می‌تواند به صورت تجاری مورد استفاده قرار گیرد. در این رابطه پژوهش‌های متعددی صورت گرفته است. گزارش شده که کاربرد پوترسین با غلظت یک میلی‌مولار در درختان گلابی قبل از انجام گرده افشانی، سبب افزایش سرعت جوانه زدن دانه گرده و رشد آن درون خامه گل‌ها شده و در نهایت موجب افزایش تشکیل میوه و عملکرد محصول گردیده است (4). از این رو استفاده از راهکارهایی جهت کاهش اثرات تنش‌های محیطی و اختلالات فیزیولوژیکی درختان پسته به منظور افزایش کمیت و کیفیت این محصول ضروری است. با توجه به اثرات مثبت پلی‌آمین‌ها در افزایش کیفیت، عملکرد میوه و افزایش رشد رویشی، این تحقیق با هدف بررسی تأثیر محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف پوترسین بر درختان پسته رقم احمد آقایی انجام شد.

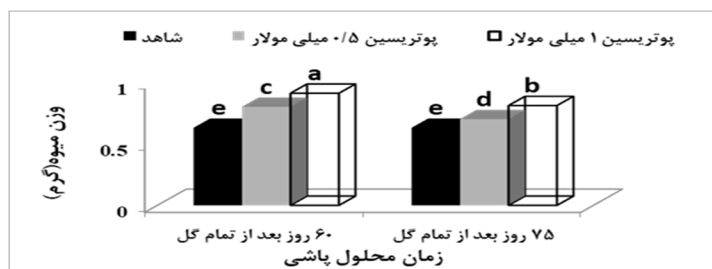
## مواد و روش‌ها

پژوهشی در سال 1401-1402 در یک باغ تجاری واقع در 60 کیلومتری استان کرمان در شهرستان زرنند، روی درختان 20 ساله پسته رقم احمد آقایی با فواصل کشت 4\*4، که در سال ON قرار داشتند، به صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی با 3 تیمار و 4 تکرار انجام گردید. به منظور دقت بیشتر و به حداقل رساندن خطا، درختانی که از نظر قدرت رشد و اندازه یکنواخت بودند، انتخاب و در هر درخت، دو شاخه در دو جهت شمالی و جنوبی به منظور اعمال تیمارها علامت گذاری شدند. سپس محلول‌پاشی با اسید آمینه پوترسین در غلظت‌های: صفر (شاهد)، 0/5 و 1 میلی‌مولار در دو مرحله 60 و 75 روز بعد از تمام گل انجام گردید. ویژگی‌هایی مانند؛ وزن میوه، انس و عملکرد اندازه‌گیری و ارزیابی شدند. آنالیز آماری داده‌ها توسط نرم‌افزار SAS و بررسی مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال 5 درصد، انجام و رسم نمودارها توسط نرم‌افزار Excel صورت گرفت.

## نتایج و بحث

**وزن میوه:** بررسی نتایج به دست آمده در این پژوهش حاکی از آن بود که کاربرد اسید آمینه پوترسین در هر دو مرحله 60 و 75 روز بعد از تمام گل، سبب بهبود وزن میوه در پسته رقم احمد آقایی در مقایسه با نمونه شاهد

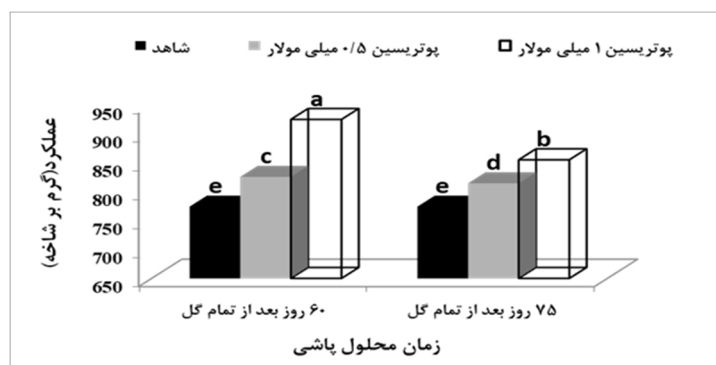
گردیده است که غلظت یک میلی مولار پوترسین اثرگذاری بهتری نسبت به غلظت نیم میلی مولار آن داشت و از نظر زمانی نیز بهترین موقع برای مصرف این ماده 60 روز پس از مرحله تمام گل بوده است (شکل 1). در گزارشی که روی درختان آلو صورت گرفته بود، جداسازی پلی آمین های درونی در مراحل مختلف گلدهی (گل های بسته، باز و گرده افشانی شده) نشان دهنده آن بود که میزان پلی آمین ها نقش مهمی در افزایش رشد میوه، وزن میوه و میزان عملکرد داشته است (5).



شکل 1. تأثیر زمان محلول پاشی با پوترسین بر وزن میوه پسته رقم احمد آقایی.

میانگین های دارای حروف مشابه از نظر آماری اختلاف معنی داری در سطح 5% آزمون چند دامنه ای دانکن ندارند.

انس: بیشترین میزان انس مربوط به تیمار شاهد در دو مرحله 60 و 75 روز بعد از تمام گل بود. کمترین میزان انس در تیمار پوترسین یک میلی مولار در مرحله 60 روز بعد از تمام گل و پس از آن نیز همین غلظت در مرحله 75 روز بعد از تمام گل بود (شکل 2).

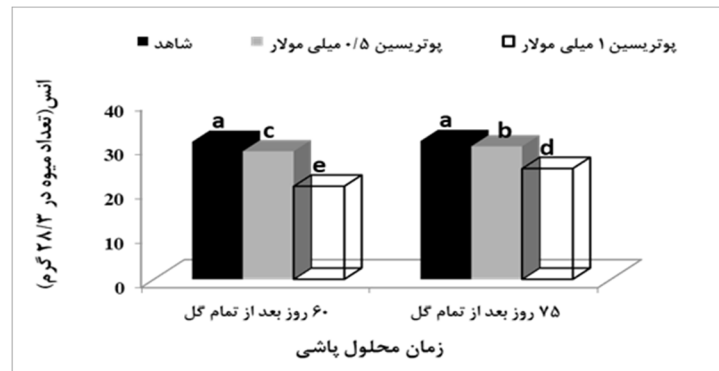


شکل 2. تأثیر زمان محلول پاشی با پوترسین بر انس پسته رقم احمد آقایی.

میانگین های دارای حروف مشابه از نظر آماری اختلاف معنی داری در سطح 5% آزمون چند دامنه ای دانکن ندارند.

عملکرد: بیشترین میزان عملکرد در پسته رقم احمد آقایی در تیمار پوترسین یک میلی مولار در مرحله 60 روز بعد از تمام گل و پس از آن نیز همین غلظت در مرحله 75 روز بعد از تمام گل بوده که در مقایسه با شاهد افزایش قابل توجهی داشت (شکل 3). در پژوهشی با تجزیه و بررسی فعالیت آنزیم های بیوسنتز کننده پلی آمین ها در طول مراحل رشد میوه هلو، مشخص گردید که پلی آمین ها در رشد و رسیدن میوه نقش مهمی ایفا می کنند و سطوح پلی آمین ها در طی مرحله تقسیم سلولی به مقدار زیادی، افزایش می یابند. در نتیجه با توجه به نقش پلی آمین ها در تنظیم فرایندهای مختلف، تأمین پلی آمین برونزا می تواند سبب بهبود تشکیل میوه، اندازه آن و نیز افزایش عملکرد شود (6). محلول پاشی پلی آمین ها روی میوه زردآلو سبب افزایش عملکرد، وزن میوه و حجم میوه ها شد (7).





شکل 3. تأثیر زمان محلول پاشی با پوترسین بر عملکرد پسته رقم احمد آقایی.

میانگین‌های دارای حروف مشابه از نظر آماری اختلاف معنی‌داری در سطح 5% آزمون چند دامنه‌ای دانکن ندارند.

### نتیجه‌گیری

در این پژوهش غلظت بالاتر پوترسین بر وزن میوه و عملکرد اثر مثبتی داشته است. در نهایت مقایسه بین دو زمان محلول پاشی (60 و 75 روز بعد از تمام گل) بیشترین عملکرد در شاخه، در مرحله 60 روز بعد از تمام گل بود. به طور کلی محلول پاشی با پوترسین در هر دو مرحله، به جهت بهبود رشد رویشی در طول فصل رشد و به دنبال آن افزایش عملکرد مؤثر می‌باشد. زیرا افزایش عملکرد بدون توجه به افزایش رشد رویشی، می‌تواند منجر به ضعف تدریجی درختان گردد. بنابراین با توجه به نتایج، به نظر می‌رسد کاربرد این ماده به صورت تجاری به دلیل افزایش عملکرد و سود اقتصادی در بسیاری از محصولات باغبانی، بتواند مورد توجه قرار گیرد.

### منابع و مراجع مورد استفاده

- Açikalin, K., Karaca, F. and Bolat, E. 2012. Pyrolysis of pistachio shell: effects of pyrolysis conditions and analysis of products. *Fuel*, 95(1), 169-77.
- Bartzas, G. and Komnitsas, K. 2018. Energy flow analysis in agriculture; the case of irrigated pistachio production in Greece. *Sustainable Energy Technologies and Assessments*, 28(2), 73-80.
- Taghizadeh-aliSaraei, A., Alizade-assar, H., Ghabadian, B. and Motevali, A. 2017. Potential of biofuel production from pistachio waste in Iran. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 72(2), 510-522.
- Franco-Mora, O., Tanabe, K., Tamura, F. and Itali, A. 2005. Effects of putrescine application on fruit set in 'Housui' Japanese pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai). *Scientia Horticulturae*, 104(1), 265-273.
- Diosa, P.D., Matillab, A.J. and Gallardo, M. 2006. Flower fertilization and fruit development prompt changes in free polyamines and ethylene in damson plum (*Prunus insititia* L.). *Journal of Plant Physiology*, 163(4), 86-97.
- Ziosi, V., Scaramagli, S., Bregoli, A.M., Biondi, S. and Torrigiani, P. 2003. Peach (*Prunus persica* L.) fruit growth and ripening: Transcript levels and activity of polyamine biosynthetic enzymes in the mesocarp. *Journal of Plant Physiology*, 160(1), 1109-1115.
- Enas, A.M.A., Sarwy, S.M.A. and Hassan, H.S.A. 2010. Improving Canino apricot trees productivity by foliar spraying with polyamines. *Journal of Applied Science of Research*, 6(9), 1359-1365.

## The effect of foliar spraying time with putrescine on improving the fruit quality of pistachio Ahmad Aghaei variety

Najme Salari Hanza<sup>\*1</sup> and Zahra Pakkish<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Master Science (MSc.) Student, Department of Horticultural Sciences, Agricultural College, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

Email : najmesalari2022@gmail.com

<sup>2</sup> Associate professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Iran.

## Abstract

Today, hormones are used to improve vegetative and reproductive growth in many agricultural products in the world. The purpose of this research is to increase fruit weight, weight and finally increase pistachio yield using putrescine treatment at three levels (0, 0.5 and 1 mM) in pistachio trees of Ahmad Aghaei variety. For this purpose, a factorial experiment was carried out in the form of a randomized complete block design with four replications and putresin foliar spraying on the desired pistachio trees during two stages, 60 and 75 days after flowering. Examining the results obtained from the comparison of averages showed that the treatment of putrescine with a concentration of 1 millimolar had a significant effect on increasing the weight of fruit, weight and yield. Based on these results, one millimolar putrescine treatment was introduced as the best treatment in the evaluated traits and foliar spraying at the stage of 60 days after flowering as the best application time was introduced in the present study.

**Keywords:** Growth, Pistachio, Putrescine, Yield.

## تأثیر دو گونه قارچ میکوریزی بر تعدیل تنش اکسیداتیو القا شده با آرسنیک در گیاه گلرنگ

حسن سالاری<sup>1,2\*</sup>، ریحانه عمواقایی<sup>2\*</sup>، حسین مظفری<sup>1</sup>

<sup>1</sup> گروه اکولوژی دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته

<sup>2</sup> گروه علوم گیاهی دانشگاه شهرکرد [ravhanehamooaghaie@yahoo.com](mailto:ravhanehamooaghaie@yahoo.com)

### چکیده

آرسنیک (As)، یک متالوئید بسیار سمی است که اثرات مضر بر رشد گیاهان دارد و سلامتی انسان را به خطر می اندازد. پیشنهاد شده است که تلقیح با قارچ های میکوریزی آربوسکولار (AFM) می تواند تحمل فلزات سنگین را در گیاهان افزایش دهد. بنابراین، در این مطالعه، اثر دو قارچ میکوریزی، *Rhizophagus intraradices* و *Funneliformis mosseae* بر میزان تنش اکسیداتیو و فعالیت آنزیمهای کاتالاز و پراکسیداز در گلرنگ رشد کرده در خاک های با غلظت های (0، 25، 50 و 100 میلی گرم آرسنیک در کیلوگرم خاک) بررسی شد. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت آرسنیک، میزان مالون دی آلدئید در برگ و ریشه افزایش یافت. تلقیح با هر دو قارچ میکوریزی به دلیل تشدید فعالیت کاتالاز و پراکسیداز، تنش اکسیداتیو در برگ و ریشه گیاهان تحت تنش آرسنیک را تعدیل کرد. اما *R. intraradices* کارآمدتر از *F. mosseae*. تنش اکسیداتیو القا شده با آرسنیک را کاهش داد.

**کلمات کلیدی:** آرسنیک، کاتالاز، پراکسیداز و گلرنگ

### مقدمه

بر اساس گزارش آژانس حفاظت از محیط زیست ایالات متحده (EPA)، متالوئید آرسنیک در کلاس A مواد سرطانزا و آلاینده محیط زیست برای انسان طبقه بندی شده است (Abbas et al., 2018). این متالوئید فعالیت بسیاری از آنزیم ها و واکنش های

بیوشیمیایی و زنجیره انتقال الکترون را در میتوکندری و کلروپلاست مختل می‌کند که این واکنش‌ها منجر به تولید گونه‌های فعال اکسیژن و آسیب اکسیداتیو در سلول‌های گیاهی می‌شود (Bali and Sidhu 2021). قارچ‌های میکوریزی که قادر به همزیستی با بیش از 80 درصد گیاهان عالی هستند، به دلیل داشتن شبکه هیف گسترده، جذب آب و مواد غذایی را در گیاهان بهبود می‌بخشند (Vafadar et al. 2013). علاوه بر این این قارچ‌ها فعالیت آنزیم‌های انتی‌اکسیدانی را در سلول تغییر می‌دهند که می‌تواند به بهبود تنش در گیاهان کمک کند. لذا در مطالعه حاضر، یک آزمایش گلدانی برای بررسی تاثیر دو گونه قارچی *Funneliformis mosseae* و *Rhizophagus irregularis* بر میزان تنش اکسیداتیو و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گلرنگ انجام شد.

### مواد و روش‌ها

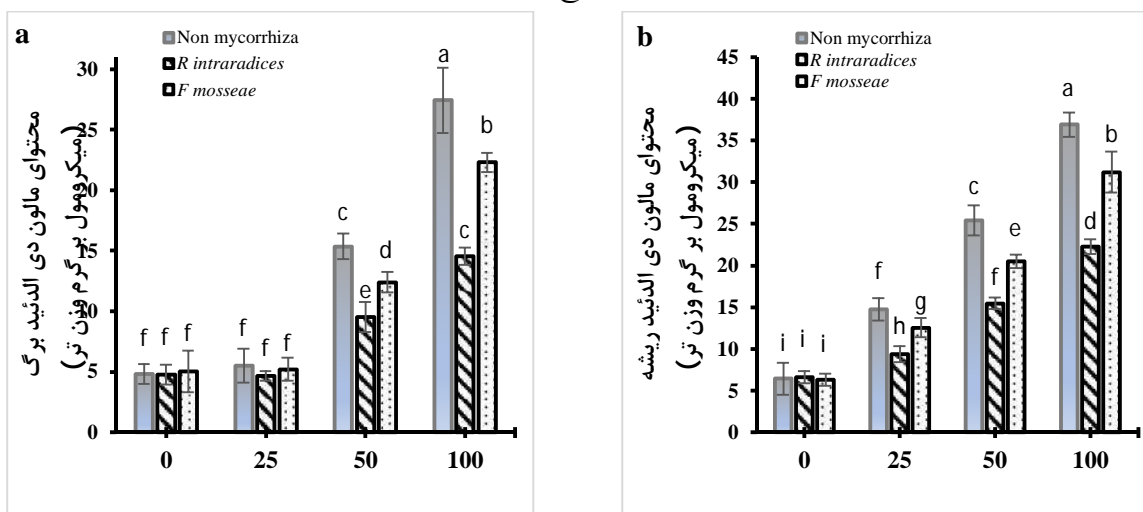
این آزمایش به صورت فاکتوریل با طرح کاملاً تصادفی با 4 سطح آرسنیک (0، 25، 50 و 100 میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم خاک) و سه تیمار تلقیح (شاهد غیرمیکوریزی و تلقیح با *R. intraradices* و *F. mosseae* با 3 تکرار انجام شد. خاک مورد استفاده در این آزمایش از یک منطقه کرمان که بدون آلودگی فلزات سنگین بود، جمع‌آوری شد. به منظور آلودگی خاک به غلظت‌های مختلف آرسنیک (0، 25، 50 و 100 میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک)، مقدار مورد نیاز آرسنات سدیم ( $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 0.7\text{H}_2\text{O}$ ) در 50 میلی‌لیتر آب مقطر حل شد و سپس کاملاً با خاک هر گلدان مخلوط شد و یکماه تثبیت شد. مایه تلقیح قارچ‌های میکوریزی، شامل خاک شنی، بخش‌های ریشه ذرت کلونیزه شده با قارچ‌های میکوریزی *Rhizophagus intraradices* و *Funneliformis mosseae* و هاگ و هیف‌های میکوریزی بود که از شرکت ارگانیک در همدان تکثیر شده بود. گیاهان به مدت 45 روز در گلخانه با دوره نوری 14/10 ساعت و دوره حرارتی 26 درجه سانتی‌گراد روز / 23 درجه سانتی‌گراد در شب و رطوبت نسبی 60 درصد رشد کردند. همه گلدان‌ها بسته به نیاز گیاهان و شرایط محیطی به خوبی آبیاری شدند. آسیب اکسیداتیو در برگ و ریشه گیاه گلرنگ با اندازه‌گیری میزان مالون‌دی‌آلدئید در بافت‌ها برآورد شد. اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید به روش (Packer and Heath 1969) انجام شد.

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان 0/25 گرم از بافت تازه ریشه و برگ‌های هر تیمار در محلول بافر عصاره‌گیری ساییده شد و از محلول رویی جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان استفاده گردید. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز 50 میکرولیتر عصاره آنزیمی با 2950 میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم 50 میلی‌مولار با pH=7 حاوی 15 میلی‌مولار پراکسید هیدروژن مخلوط شد. با استفاده از اسپکتروفتومتر جذب نوری این مخلوط با فواصل 20 ثانیه به مدت دقیقه خوانده شد که یک روند کاهشی را نشان داد که گویای میزان تجزیه پراکسید هیدروژن در دقیقه بود (Aebi, 1984). برای سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز از روش Doerge و همکاران (1997) استفاده شد. یک واحد از فعالیت آنزیم پراکسیداز بر اساس تغییر در جذب نوری در دقیقه مشابه آنچه قبلاً برای کاتالاز ذکر شد محاسبه شد. در نهایت فعالیت هر دو آنزیم بصورت واحد فعالیت آنزیم در هر گرم وزن تر ریشه یا برگ بیان شد.

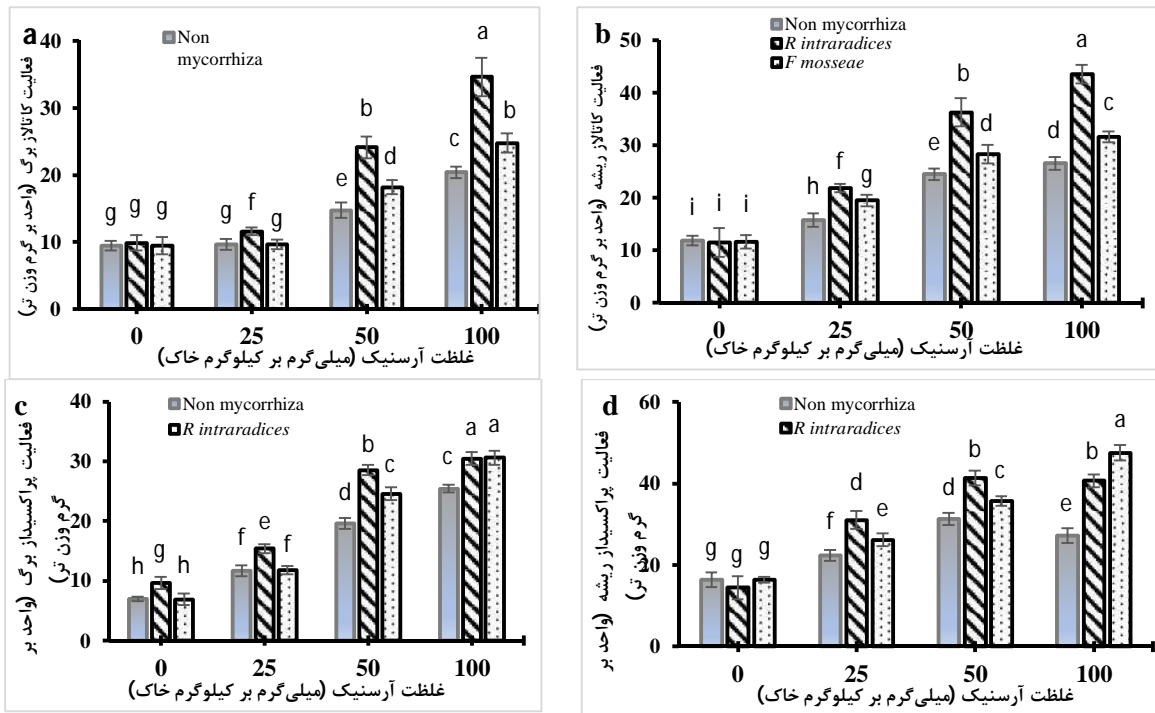
### نتایج و بحث

آرسنیک یک عنصر سمی است و احیای آرسنیک (تبدیل آرسنیک 5 ظرفیتی به آرسنیک سه ظرفیتی) بطور مستقیم یا بر هم خوردن فرآیندهای تنفسی و فتوسنتزی بطور غیرمستقیم، تولید گونه‌های فعال اکسیژن در گیاهان را القا می‌کند که می‌تواند باعث آسیب اکسیداتیو به پروتئین‌ها، لیپیدها و اسیدهای نوکلئیک شود (Chandrakar et al., 2016). نتایج ما هم نشان داد با افزایش غلظت

آرسنیک محتوای مالون دی الئید بعنوان یک شاخص تنش اکسیداتیو افزایش یافت. تنش اکسیداتیو بیشتر در ریشه‌ها نسبت به بخش هوایی (شکل 1) ممکن است تا حدی این نظر را تایید کند که احیاء As(V) به As(III) عمدتاً در ریشه‌ها رخ داده و منجر به تولید گونه‌های اکسیژن فعال بیشتر و پراکسیداسیون لیپیدی شدید در ریشه‌ها شده است. به هر حال، تلقیح با *R. intraradices* بیشتر از تلقیح با *F. mosseae*، فعالیت‌های کاتالاز و پراکسیداز را تشدید کرد (شکل 2) و در نتیجه به طور موثرتری محتوای مالون دی الئید (شکل 1) را در ریشه‌ها و برگ‌های گلرنگ تلقیح شده با *R. intraradices* کاهش داد.



شکل 1 اثرات متقابل غلظت‌های مختلف آرسنیک 0، 25، 50، 100 میلی‌گرم آرسنیک بر کیلوگرم خاک و تیمارهای مختلف تلقیح قارچ‌های میکوریزی (کنترل بدون تلقیح، *R. intraradices* و *F. mosseae*) بر پراکسیداسیون لیپیدی در برگ (a) و ریشه (b) گلرنگ. در نمودارها، حروف یکسان روی ستون‌ها عدم تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال 5 درصد است. نتایج نشان داد که صرف نظر از تلقیح قارچ‌های میکوریزی، فعالیت کاتالاز در برگ و ریشه گیاهان میکوریزی و غیر میکوریزی در پاسخ به افزایش سطح آرسنیک در خاک افزایش یافت. سطوح بالاتری از فعالیت کاتالاز در برگ و ریشه گیاهان میکوریزی نسبت به گیاهان غیر میکوریزی در تمام غلظت‌های آرسنیک ثبت شد. در 50 و 100 میلی‌گرم آرسنیک بر کیلوگرم خاک، فعالیت کاتالاز در ریشه و برگ گیاهان تلقیح شده با *R. intraradices* به طور قابل توجهی بیشتر از گیاهان تلقیح شده با *F. mosseae* بود. فعالیت پراکسیداز در برگ‌های گیاهان غیر میکوریزی در تمام سطوح آرسنیک افزایش یافت، اما در ریشه گیاهان غیر میکوریزی فعالیت این آنزیم تا 50 میلی‌گرم آرسنیک افزایش یافت و سپس در 100 میلی‌گرم آرسنیک بر کیلوگرم خاک در ریشه گیاهان غیر میکوریزی اندکی کمتر یافت. در غلظت‌های 25 و 50 میلی‌گرم آرسنیک بر کیلوگرم خاک، فعالیت پراکسیداز در برگ گیاهان تلقیح شده با *R. intraradices* بیشتر از گیاهان تلقیح شده با *F. mosseae* بود، اما در 100 میلی‌گرم آرسنیک بر کیلوگرم خاک تفاوت معنی‌داری بین آنها یافت نشد (شکل 1). در سطوح 50 و 25 میلی‌گرم آرسنیک بر کیلوگرم خاک، تلقیح با *R. intraradices* بیش از *F. mosseae* باعث افزایش فعالیت پراکسیداز در ریشه شد، اما نتیجه معکوس در 100 میلی‌گرم آرسنیک بر کیلوگرم خاک ثبت شد (شکل 2).



شکل 2 اثرات متقابل غلظت‌های مختلف آرسنیک 0، 25، 50، 100 میلی‌گرم آرسنیک بر کیلوگرم خاک و تیمارهای مختلف تلقیح قارچ‌های میکوریزی (کنترل بدون تلقیح، *R. intraradices* و *F. mosseae*) بر فعالیت‌های کاتالاز (a و b) و پراکسیداز (c و d) در برگ و ریشه گلرنگ مشابه نتایج ما، افزایش بیان ژن یا فعالیت سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز قبلاً در گندم تلقیح شده با *R. intraradices* (Sharma et al., 2017) و نخودفرنگی تلقیح شده با *G. mosseae* (Garg and Singla 2012) گزارش شده است. Yang و همکاران (2015) نشان دادند که همزیستی قارچ‌های میکوریزی با افاقایای سیاه قابلیت حذف گونه‌های فعال اکسیژن را بهبود و فعالیت‌های آنزیمی، تحت غلظت‌های مختلف تنش سرب افزایش داد. همچنین گزارش شده است که قارچ‌های میکوریزی سیستم آنتی‌اکسیدانی را در گیاه شنبلیله رشد یافته در خاک تحت تنش کادمیوم فعال و تحریک می‌کند (Hashem et al., 2016). بنابراین، کاهش تنش اکسیداتیو در ریشه و برگ یکی دیگر از راهکارهایی است که قارچ‌های میکوریزی به کمک آن به مقاومت در گیاهان میزبان کمک می‌کنند.

## منابع

- Abbas, G., Murtaza, B., Bibi, I., Shahid, M., Niazi, N. K., Khanm, M. I., Amjad, M., Hussain, M., 2018. Arsenic uptake, toxicity, detoxification, and speciation in plants: physiological, biochemical, and molecular aspects. *Int J Environ Res Public Health*. 15(1), 59.
- Aebi H. 1984. Catalase in vitro. *Methods Enzymol*, 105: 121–126.
- Bali, A.S., Sidhu, G.P.S., 2021. Arsenic acquisition, toxicity and tolerance in plants-From physiology to remediation: A review. *Chemosphere*. 283, 131050.
- Chandrakar, V., Yadu, B., Meena, R.K., Dubey, A., Keshavkant, S., 2016. Arsenic-induced genotoxic responses and their amelioration by diphenylene iodonium, 24-epibrassinolide and proline in *Glycine max* L. *Plant Physiol Biochem*. 112, 74–86.
- Doerge D.R., Divi R.L., Churchwell M.I. 1997. Identification of the colored guaiacol oxidation product produced by peroxidases. *Ann. Biochem*, 250: 10–17.
- Garg, N., Singla, P., 2012. The role of *Glomus mosseae* on key physiological and biochemical parameters of pea plants grown in arsenic contaminated soil. *Sci Hortic*. 143, 92–101.

Hashem, A., Abd\_Allah, E.F., Alqarawi, A.A. and Egamberdieva, D., 2016. Bioremediation of adverse impact of cadmium toxicity on *Cassia italica* Mill by arbuscular mycorrhizal fungi. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 23(1), pp.39-47.

Heath R.L., Packer L. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125: 189-198.

Sharma, S., Anand, G., Singh, N., Kapoor, R., 2017. Arbuscular mycorrhiza augments arsenic tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.) by strengthening antioxidant defense system and thiol metabolism. *Front Plant Sci.* 8, 906.

Vafadar, F., Amooaghaie, R., Otrushy, M., 2013. Effects of plant-growth-promoting rhizobacteria and arbuscular mycorrhizal fungus on plant growth, sativamide, NPK, and chlorophyll content of *Stevia rebaudiana*, *J Plant Interact.* 9, 128-136.

## Impact of two species mycorrhiza fungi on the moderation of As-induced oxidative stress in safflower plant

Hassan Salari<sup>1,2</sup>, Rayhaneh Amooaghaie<sup>\*1</sup>, Hossein Mozafari<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Plant Biology Department, Science Faculty, Shahrekord University

<sup>2</sup> Ecology Department, Kerman Graduate University of Technology

[rayhanehamooaghaie@yahoo.com](mailto:rayhanehamooaghaie@yahoo.com)

### Abstract

Arsenic (As), is a very toxic metalloid that has detrimental effects on plant growth and causes health risks to humans. It has been suggested that inoculation with Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) can increase heavy metal tolerance in plants. Therefore, in this study, the effect of two AMF, *Rhizophagus intraradices* and *Funneliformis mosseae* on MDA content and the activity of CAT and POD was assessed in safflower grown in soils spiked with 4 As concentrations (0, 25, 50, and 100 mg As/ kg soil). The results showed that As toxicity increased MDA content in leaves and roots. Inoculation with both AMF moderated oxidative stress due to accelerating CAT and POD activity in leaves and roots of As-stressed plants. But *R. intraradices* more efficiently than *F. mosseae* reduced As-induced oxidative stress.

**Key words:** Arsenic, CAT, POD and safflower.

## اثر هم افزایی تلقیح میکوریزی و ورمی کمپوست بر عملکرد گل و دانه و محتوای روغن و

### کارتامیدین گیاه گلرنگ *Carthamus tinctorius* تحت تنش آرسنیک

حسن سالاری<sup>1,2</sup>، ریحانه عموآقایی<sup>\*2</sup>، حسین مطفری<sup>1</sup>

<sup>1</sup> گروه اکولوژی دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته

<sup>\*2</sup> گروه زیست گیاهی دانشگاه شهرکرد [rayhanehamooaghaie@yahoo.com](mailto:rayhanehamooaghaie@yahoo.com)

### چکیده

اخیراً پیشنهاد شده است که کودهای زیستی می توانند رشد گیاه را در خاک های آلوده به فلزات سنگین بهبود بخشند. در این آزمایش اثر کاربرد ورمی کمپوست و قارچ میکوریز آربوسکولار بر عملکرد گل و دانه، کارتامیدین و میزان روغن دانه گلرنگ تحت تنش آرسنیک بررسی شد. نتایج نشان داد که با تنش آرسنیک عملکرد دانه و وزن گل، کارتامیدین و میزان روغن دانه گیاه گلرنگ کاهش یافت. استفاده از قارچ های میکوریزی و ورمی کمپوست به تنهایی یا به صورت ترکیبی باعث افزایش عملکرد گل و دانه، میزان روغن در دانه و سطح کارتامیدین در گلبرگ های گیاه گلرنگ در شرایط بدون تنش و تحت تنش آرسنیک شد. کاربرد ترکیبی مؤثرتر از کاربرد منفرد قارچ های میکوریزی و ورمی کمپوست بود. این یافته ها اهمیت کاربرد ترکیبی این کودهای زیستی را به عنوان یک رویکرد عملی جدید برای بهبود محصول گیاهان زراعی در مزارع آلوده به فلزات نمایان می کند.

**کلمات کلیدی:** قارچ‌های میکوریزی، ورمی‌کمپوست، گلرنگ، کارتامیدین و روغن دانه

#### مقدمه

در چند دهه گذشته، استفاده گسترده از کودها، سموم دفع آفات، پساب‌های صنعتی و زیرزمینی برای آبیاری محصولات کشاورزی، آلودگی آرسنیک را در خاک‌های کشاورزی در بسیاری از کشورها افزایش داده است. آرسنیک نه تنها رشد گیاه و حاصلخیزی خاک را محدود می‌کند، بلکه به عنوان یک ماده سرطان‌زا سلامت انسان و دام را نیز به خطر می‌اندازد (Gupta et al., 2022). با توجه به اثرات سرطان‌زای آرسنیک و همچنین با توجه به تقاضای روزافزون مردم برای تغذیه ایمن، یافتن یک شیوه کاربردی جدید و سالم برای محیط زیست برای بهبود تولید گلرنگ و ایمنی غذا در مزارع آلوده به آرسنیک ضروریست. جایگزینی کودهای شیمیایی با کودهای زیستی مانند میکوریز و ورمی‌کمپوست ممکن است رشد گیاه را در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین بهبود دهد. قارچ‌های میکوریزی می‌تواند pH را در ریزوسفر تغییر دهد که حلالیت مواد معدنی در خاک را بهبود می‌بخشد و گسترش ریشه های قارچ فراتر از محدوده ریشه‌ها، دسترسی به مواد مغذی را برای گیاهان افزایش می‌دهد و در نتیجه رشد گیاهان را افزایش می‌دهد (Vafadar et al., 2013). غنی‌سازی خاک با ورمی‌کمپوست از طریق تامین مواد مغذی ضروری، ایجاد یک محیط مناسب ریشه‌زایی و بهبود ساختار هوادهی و داشتن اجزای فعال در ورمی‌کمپوست مانند اسیدهای هیومیک و فولیک باعث بهبود رشد و محصول گیاهان می‌شود (Amooaghaie & Golmohammadi 2017; Joshi et al., 2015).

گلرنگ یک محصول دانه روغنی چند منظوره است که عمدتاً برای تولید روغن خوراکی با کیفیت بالا و غنی از اسیدهای غیراشباع کاشت می‌شود و از رنگدانه گلبرگهای آن بعنوان رنگ خوراکی استفاده می‌شود. بنابراین، مطالعه حاضر به بررسی تأثیر میکوریز و ورمی‌کمپوست به تنهایی یا به صورت ترکیبی بر روی میزان روغن و کارتامین گل در گلرنگ تحت تنش آرسنیک می‌پردازد.

#### مواد و روش‌ها

این آزمایش به صورت فاکتوریل با طرح کاملاً تصادفی با 2 سطح آرسنیک (0 و 80 میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم خاک) و 4 سطح کود زیستی (شاهد، ورمی‌کمپوست، میکوریز و ترکیب آنها) با 3 تکرار انجام شد. به منظور آلودگی خاک به غلظت‌های مختلف آرسنیک (0 و 80 میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک)، مقدار مورد نیاز آرسنات سدیم ( $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 0.7\text{H}_2\text{O}$ ) در 50 میلی‌لیتر آب مقطر حل شد و سپس کاملاً با خاک هر گلدان مخلوط شد. پس از تثبیت آرسنیک در خاک، ورمی‌کمپوست با نسبت 8 درصد وزنی مطابق طرح آماری به برخی گلدان‌ها اضافه شد. سپس برای تلقیح با *R. intraradices*، به ازای هر کیلوگرم خاک از هر گلدان 50 گرم مایه تلقیح در زمان کاشت در حدود 3 سانتی‌متر زیر بذر مخلوط شد و به همین میزان، مایه تلقیح اتوکلاو شده نیز به گلدان‌های تلقیح نشده اضافه شد. پس از اتمام دوره رشد و رسیدن بذرها و زرد و خشک شدن کامل گیاه پارامترهای وزن گل، کارتامین گل و روغن دانه اندازه‌گیری شدند. روغن دانه نیز به روش سوکسله و کارتامیدین در طول موج 400-408 نانومتر با استفاده از اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد (Mohammadi and Tavakoli 2015).

#### نتایج و بحث

نتایج نشان داد که سمیت آرسنیک باعث کاهش عملکرد دانه و گل شد و کاربرد میکوریز و ورمی‌کمپوست باعث بهبود این صفات در گیاهان گلرنگ در هر دو حالت بدون تنش و تحت تنش آرسنیک شد (جدول 1). به احتمال زیاد، رقابت بین آرسنات و فسفات برای ناقیلن فسفر واقع در غشای پلاسمایی باعث کمبود فسفر در گیاهان می‌شود و جریان انرژی در سلول را مختل می‌کند. علاوه

بر این، آرسنیک در متابولیسم اکسیداتیو و مکانیسم فتوسنتزی دخالت می‌کند، با گروه‌های سولفیدریل آنزیم‌ها و پروتئین‌های بافتی واکنش می‌دهد و در نتیجه تجمع محصولات فتوسنتزی را در مخزن کاهش می‌دهد (Gupta et al., 2022). کاهش فتوسنتز و تخصیص منابع به دفاع به دلیل تنش ناشی از فلزات سنگین از دیگر دلایل کاهش ویژگی‌های زراعی است. احتمالاً اثر میکوریز و یا ورمی‌کمپوست در تامین غلظت مواد معدنی ضروری به ویژه فسفر منجر به افزایش کارایی فتوسنتزی و در نتیجه افزایش و عملکرد گل و دانه شده است. اثر ورمی‌کمپوست بر افزایش عملکرد دانه گلرنگ در شرایط نرمال و تنش آبی (Taleshi et al., 2012) و عملکرد گل در گل داوودی (قادری و همکاران 1398) هم گزارش شده است.

همچنین Pedrosa و همکاران (2022) گزارش کردند که تلقیح بذر با قارچ‌های میکوریز آربوسکولار باعث بر افزایش عملکرد، تجمع زیست توده و بنیه گیاهی سویا و ذرت شد. در بررسی منابع تنها یک گزارش در مورد تأثیر قارچ‌های میکوریزی بر فنولوژی گل‌دهی گیاهان تحت تنش فلزات سنگین یافت شد که در آن افزودن مس باعث کوتاه شدن مدت گلدهی و همچنین تاخیر در تاریخ اوج گلدهی و کاهش بازده تولید مثل *Elsholtzia splendens* شد و تلقیح قارچ‌های میکوریزی باعث بهبود الگوی گل‌دهی و عملکرد گل به دلیل کاهش جذب مس و افزایش عرضه عناصر غذایی ضروری به ویژه فسفر به این گیاه شد (Jin et al., 2015).

جدول 1 اثرات متقابل ورمی‌کمپوست (8%) و تلقیح با *R. intraradices* بر وزن گل گلرنگ تحت تنش 80 میلی‌گرم آرسنیک بر کیلوگرم خاک.

آرسنیک خاک (میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک)	کود زیستی	وزن گل (گرم)	عملکرد دانه (گرم)
0	شاهد	0/511±0/013 <sup>d</sup>	2/55±0/023 <sup>d</sup>
	میکوریز	0/543±0/01 <sup>c</sup>	3/2±0/161 <sup>c</sup>
	ورمی کمپوست	0/586±0/008 <sup>b</sup>	3/53±0/136 <sup>b</sup>
	میکوریز + ورمی کمپوست	0/621±0/015 <sup>a</sup>	4/58±0/102 <sup>a</sup>
80	شاهد	0/276±0/015 <sup>h</sup>	0/92±0/06 <sup>g</sup>
	میکوریز	0/323±0/015 <sup>g</sup>	1/58±0/06 <sup>f</sup>
	ورمی کمپوست	0/38±0/02 <sup>f</sup>	1/93±0/14 <sup>e</sup>
	میکوریز + ورمی کمپوست	0/466±0/035 <sup>e</sup>	2/72±0/085 <sup>d</sup>

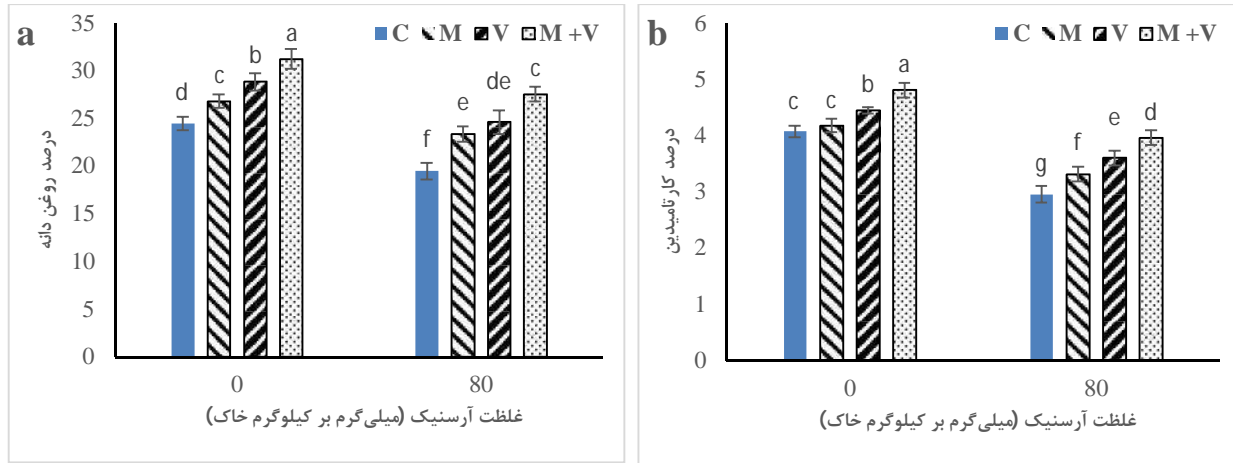
حروف یکسان در هر ستون نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال 5 درصد است.

در این مطالعه، تیمار ترکیبی مؤثرتر بود و وزن گل را به ترتیب به میزان 21/5 و 69 درصد در شرایط بدون تنش و تحت تنش آرسنیک افزایش داد (جدول 1). بطور مشابهی اثر ترکیبی کود ورمی‌کمپوست و میکوریز بر سطح برگ در سال اول و تعداد گل، عملکرد کلاله زعفران کلروفیل *a* و *b* و کلروفیل کل در سال دوم معنی‌دار بود (Jami et al., 2020). Hussain و همکاران (2016) هم بیان کردند تیمار همزمان با میکوریز و ورمی‌کمپوست به دلیل تامین بهتر عناصر غذایی مانند روی، مس، آهن، منگنز و فسفر باعث افزایش بیشتر عملکرد دانه گندم شد.

نتایج نشان داد که درصد کارتامیدین گل و روغن دانه تحت 80 میلی‌گرم آرسنیک بر کیلوگرم خاک کاهش یافت و تیمار خاک با ورمی‌کمپوست و میکوریز این صفات را در هر دو حالت بدون تنش و تنش آرسنیک بهبود بخشید. مطالعات قبلی نشان داد که جایگزینی بخشی از کود نیتروژن با ورمی‌کمپوست به طور قابل توجهی باعث افزایش ارتفاع بوته، شاخص سطح برگ، عملکرد دانه، ویژگی‌های زراعی، محتوای روغن و عملکرد روغن آفتابگردان شد (Ramesh 2017). کاربرد ورمی‌کمپوست هم رشد گیاه و تولید اسانس در آویشن را افزایش داد (Amooaghaie & Golmohammadi 2017).



نتایج نشان داد تیمار ترکیبی مؤثرتر بود و درصد کارتامیدین گل و روغن دانه به ترتیب به میزان 18 و 27/6 درصد در شرایط بدون تنش و 34 و 41/36 درصد در گیاهان تحت تنش آرسنیک افزایش داد (شکل 1).



شکل 1 اثرات متقابل ورمی کمپوست (8%) و تلقیح با *R. intraradices* بر درصد روغن دانه (a) و کارتامیدین گل (b) گلرنگ تحت تنش 80 میلی گرم آرسنیک بر کیلوگرم خاک. داده‌ها بصورت میانگین  $\pm$  SE و حروف یکسان روی ستون‌ها عدم تفاوت معنی دار بین میانگین‌های آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال 5 درصد است. پیشنهاد شده که ورمی کمپوست حاوی مقدار زیادی اسید هیومیک است که ممکن است رشد و توسعه ریشه‌های قارچ‌های میکوریزی را تحریک کند و آزادسازی آرام و پیوسته مواد مغذی از ورمی کمپوست، امکان کلونیزاسیون ریشه‌ها بوسیله قارچ‌های میکوریزی و استقرار آنها را افزایش می‌دهد و در نتیجه در تیمارهای کمپوست + قارچ‌های میکوریزی، رشد و متابولیسم گیاه به ویژه در شرایط تنش بیشتر تحریک می‌شود (Maji et al., 2017).

## منابع

- رحیم قادری؛ اسماعیل چمنی؛ حسن ملکی لجایر؛ موسی ترابی گییکلو؛ رسول آذرمی. 1398. واکنش دو رقم گل بریده داوودی به کاربرد پسماند کمپوست قارچ و ورمی کمپوست. دوره 29، شماره 3، مهر، صفحات 197-208
- Amooghahie, R., & Golmohammadi, S., (2017). Effect of vermicompost on growth, essential oil, and health of *Thymus vulgaris*. *Compost Science & Utilization*, 25, 166-177.
- Gupta, A., Dubey, P., Kumar, M., Roy, A., Sharma, D., Khan, M.M., Bajpai, A.B., Shukla, R.P., Pathak, N. and Hasanuzzaman, M., 2022. Consequences of arsenic contamination on plants and mycoremediation-mediated arsenic stress tolerance for sustainable agriculture. *Plants*, 11(23), p.3220.
- Hussain, S., Sharif, M., Khan, S., Wahid, F., Nihar, H., Ahmad, W., Khan, I., Haider, N. and Yaseen, T., 2016. Vermicompost and Mycorrhiza Effect on Yield and Phosphorus Uptake of Wheat Crop. *Sarhad Journal of Agriculture*, 32(4).
- Jami, N., Rahimi, A., Naghizadeh, M. and Sedaghati, E., 2020. Investigating the use of different levels of Mycorrhiza and Vermicompost on quantitative and qualitative yield of saffron (*Crocus sativus* L.). *Scientia Horticulturae*, 262, 109027.
- Jin, Z., Li, J. and Li, Y., 2015. Interactive effects of arbuscular mycorrhizal fungi and copper stress on flowering phenology and reproduction of *Elsholtzia splendens*. *PLoS One*, 10(12), 0145793.
- Maji, D., Misra, P., Singh, S. & Kalra, A., (2017). Humic acid rich vermicompost promotes plant growth by improving microbial community structure of soil as well as root nodulation and mycorrhizal colonization in the roots of *Pisum sativum*. *Applied soil ecology*. 110, 97-108.
- Mohammadi, M. and Tavakoli, H., 2015. Comparing the generalized Hoek-Brown and Mohr-Coulomb failure criteria for stress analysis on the rock's failure plane. *Geomechanics & engineering*, 9(1), 115-124.

Pedroso, R.M., Medeiros, C.A., Ometto, A., Paes, V., de Andrade, E.F., Inman, S., da Silva, J.R. and Pedros, G.M., 2022. Seed inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi propagules enhanced yield, biomass accumulation, and plant vigor of soybeans (*Glycine max*) and maize (*Zea mays*). *Australian Journal of Crop Science*, 16(5), 649-656.

Ramesh, S., 2017. Response of seed yield, nutrient uptake and nitrogen use efficiency to different sources of vermicompost and inorganic fertilizer in sunflower (*Helianthus annuus* L.) cultivation. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(6S), pp.1145-1148.

Taleshi, K., Shokoh-Far, A., Rafiee, M., Noormahmadi, G. and Sakinejad, T., 2012. Seed yield and oil and protein contents in seeds of safflower as influenced by vermicompost and nitrogen fertilizer under drought stress condition. *Research on Crops*, 13(3), pp.1005-1009.

Vafadar, F., Amooaghaie, R., & Otrushy, M., (2013). Effects of plant-growth-promoting rhizobacteria and arbuscular mycorrhizal fungus on plant growth, sativoside, NPK, and chlorophyll content of *Stevia rebaudiana*. *Journal of Plant Interaction*. 9, 128-136.

## Synergistic effect of mycorrhizal inoculation and vermicompost on seed and floret yield and oil and carthamide of safflower plant under arsenic stress

Hassan Salari<sup>1,2</sup>, Rayhaneh Amooaghaie<sup>\*1</sup>, Hossein Mozafari<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Plant Biology Department, Science Faculty, Shahrekord University

<sup>2</sup> Ecology Department, Kerman Graduate University of Technology

[rayhanehamooaghaie@yahoo.com](mailto:rayhanehamooaghaie@yahoo.com)

### Abstract

Recently, it has been suggested that biofertilizers can increase heavy metal tolerance in plants and improve plant growth in contaminated soils. In this experiment, the effect of single or combined application of vermicompost and arbuscular mycorrhizal fungi was investigated on flower weight, carthamide and seed oil content of safflower under As stress. The results showed that As stress decreased the flower weight, carthamide and seed oil content of safflower plants. Application of arbuscular mycorrhizal fungi and vermicompost either alone or in combination increased flower and seed yield, oil content in seeds and carthamide levels in petals of safflower plants under both non-stress and As stress conditions. The combined application was more effective than single treatment with arbuscular mycorrhizal fungi and vermicompost. These findings highlight the importance of combined application of these biofertilizers as a novel practical approach to improve food safety in metal-polluted fields.

**Key words:** Mycorrhizal fungi, vermicompost, safflower, carthamide and seed oil.

## اثر کود و تلقیح بذر با باکتری *Pantoea agglomerans* بر شاخص‌های رویشی و عملکرد کاهو (*Lactuca sativa*)

لیلا جعفری<sup>1</sup>، فرزین عبدالهی<sup>\*1</sup>، سعید آشوری<sup>2</sup>

<sup>1</sup> عضو هیأت علمی گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران

<sup>2</sup> دانشجوی سابق کارشناسی ارشد گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران

\*نویسنده مسئول: [fabdollahi@hormozgan.ac.ir](mailto:fabdollahi@hormozgan.ac.ir)

### چکیده

به منظور بررسی تأثیر کود بر کاهو در شرایط تلقیح بذر با باکتری *P. agglomerans* آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در گلخانه دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه هرمزگان در سه تکرار انجام شد. عوامل آزمایش شامل تلقیح یا عدم تلقیح بذر کاهو با باکتری *P. agglomerans* به عنوان عامل اول و سطوح کودی شامل کود اوره (108/7 و 217/4) و کود دامی (5000 و 10000 کیلوگرم در هکتار) به عنوان عامل دوم بودند.

نتایج این مطالعه نشان داد که بیشترین تعداد برگ (31/0) و شاخص سطح برگ (2/68) با کاربرد 217/4 کیلوگرم در هکتار کود اوره بدست آمد که با کاربرد 100000 کیلوگرم کود دامی در هکتار تفاوت معنی‌دار نداشتند. تلقیح بذر با باکتری *P. agglomerans* باعث افزایش معنی‌دار تعداد برگ در بوته و شاخص سطح برگ نهایی کاهو به ترتیب به میزان 12/54 و 26/5 درصد در مقایسه با عدم کاربرد این باکتری شد. کاربرد کود باعث افزایش میانگین صفات رویشی و عملکرد در مقایسه با شاهد (عدم کاربرد کود) می‌شود. از طرف دیگر در اغلب موارد میانگین صفات در شرایط تلقیح بذر بیشتر از شرایط عدم تلقیح بذر بود. این موضوع بیانگر تأثیر بیشتر کاربرد کود در شرایط تلقیح بذر با باکتری *P. agglomerans* می‌باشد. بیشترین ارتفاع بوته (31/2 سانتی‌متر)، سطح ویژه برگ (0/31 سانتی‌متر مربع بر گرم)، سرعت رشد محصول (3/98 گرم در روز در متر مربع) و عملکرد اقتصادی (80/0 تن در هکتار) با کاربرد کود اوره و تلقیح بذر بدست آمد که با کاربرد کود دامی به میزان 10000 کیلوگرم در هکتار و تلقیح بذر تفاوت معنی‌دار نداشت. در مجموع نتایج این مطالعه نشان داد که تلقیح بذر با باکتری *P. agglomerans* از طریق افزایش صفات رویشی باعث افزایش عملکرد اقتصادی کاهو شده است.

**واژه‌گان کلیدی:** اوره، عملکرد کاهو، کودهای زیستی، کود دامی

#### مقدمه

کاربرد کودهای شیمیایی به عنوان یک روش متداول برای بهبود حاصلخیزی خاک مطرح است. در دهه‌های اخیر افزایش تولید محصولات کشاورزی به کودهای شیمیایی به ویژه کودهای نیتروژن وابسته بوده است. این موضوع در در نظام‌های کشاورزی فشرده باعث افزایش آلودگی زیست محیطی و آسیب به بوم نظام‌های کشاورزی شده است. بطوری که استفاده مداوم از کودهای شیمیایی سبب تخریب ساختار خاک و کاهش پتانسیل تولید محصولات کشاورزی علیرغم استفاده از ارقام پر محصول شده است (Muriuki, 2017).

کاهو (*Lactuca sativa* L) از جمله مهمترین سبزی‌های سالادی مورد استفاده در جهان می‌باشد و مدیریت تغذیه از عوامل مهم و کلیدی در تعیین کیفیت و کمیت آن است. با این وجود به دلیل تجمع زیاد نیتروژن در برگ کاهو، کاربرد کودهای شیمیایی به ویژه کود نیتروژن با محدودیت زیادی مواجه است. از طرف دیگر به دلیل اینکه خاک‌های زراعی ایران از لحاظ ماده آلی فقیر می‌باشند لذا یکی از راهکارهای مهم در جهت افزایش عملکرد محصولات کشاورزی کاربرد کودهای آلی از جمله کود دامی می‌باشد. کودهای آلی منبع مفید و مهم افزایش مواد آلی خاک بوده و از طریق افزایش فعالیت میکروبی باعث بهبود ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی خاک، ساختمان خاک، تغییر و تبدیل عناصر غذایی خاک و افزایش کارایی مصرف عناصر غذایی می‌گردد (Muriuki, 2017).

در راستای اهداف کشاورزی پایدار و برای مقابله با اثرات سوء ناشی از کاربرد کودهای شیمیایی، کودهای زیستی به عنوان جایگزین کودهای شیمیایی مطرح شده است. کودهای زیستی ترکیبات حاوی انواع میکروارگانیسم‌های آزادی هستند که قادرند طی فرآیندهای بیولوژیکی عناصر غذایی را از حالت غیرقابل دسترس به شکل قابل دسترس درآورند که موجب بهبود جوانه‌زنی، استقرار و رشد گیاهان زراعی شوند. کودهای زیستی سبب تامین عناصر غذایی گیاه، حفظ تعادل مواد غذایی، کنترل بیماری‌های خاکی و بهبود کیفیت و پایداری ساختمان خاک می‌شود (Rao, 2014). باکتری *Pantoea agglomerans* توانایی بالا در تثبیت نیتروژن آزاد، آزادسازی فسفر غیرقابل دسترس خاک، تسریع رشد گیاه، تحریک جذب آب و مواد غذایی در برخی گیاهان دارد

(Dutkiewicz et al., 2016). مطالعات نشان داده است که حضور *P. agglomerans* در محیط ریزوسفر باعث افزایش عملکرد برخی سبزیجات می‌شود (Dursun et al., 2010).

با توجه با پایین بودن کارایی مصرف کود در محصولات کشاورزی ایران از جمله سبزیجات لازم است راهکارهای جدید در بهبود کارایی مصرف عناصر از جمله نیتروژن بکار رود. با در نظر گرفتن نقش باکتری *P. agglomerans* در بهبود جذب عناصر غذایی از جمله نیتروژن، لذا هدف از انجام این پژوهش بررسی تأثیر منابع مختلف نیتروژن بر شاخص‌های رویشی، کیفی و عملکرد کاهو در شرایط تلقیح بذر با این باکتری بود.

### مواد و روش‌ها

به منظور بررسی تأثیر منابع مختلف نیتروژن (اوره و کود دامی) بر شاخص‌های رویشی و عملکرد کاهو در شرایط تلقیح بذر با باکتری *P. agglomerans* آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در پاییز سال 1399 در گلخانه دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه هرمزگان در سه تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل تلقیح یا عدم تلقیح بذر کاهو با باکتری *P. agglomerans* به عنوان عامل اول و کاربرد سطوح نیتروژن خالص به عنوان عامل دوم بودند. بدین صورت که سطوح نیتروژن شامل تأمین نیتروژن با کود اوره و کود دامی هر کدام در دو سطح 50 و 100 کیلوگرم نیتروژن خالص همراه با شاهد بود. میزان کود دامی بر اساس درصد نیتروژن خالص موجود در آن (1%) در دو سطح 5 و 10 تن در هکتار به کار رفت.

آماده سازی زمین در آبان سال 1399، با نرم کردن کلوخه‌ها و قراردادن نوار تیپ انجام شد؛ سپس کرت بندی بلوک‌ها صورت گرفت. تعداد 30 واحد آزمایشی با ابعاد 1×1 متر آماده شد. کود زیستی حاوی باکتری *P. agglomerans* از آزمایشگاه فنی شرکت زیست فناوری سبز تهیه شد. این کود حاوی حدود  $10^9$  باکتری در هر گرم بود. قبل از کشت، بذور مطابق دستورالعمل شرکت تولید کننده (زیست فناوری سبز) بوسیله باکتری *P. agglomerans* تلقیح شد (روش بذرمال). کشت بذور بصورت ردیفی و با فاصله 50 سانتیمتر بین ردیف و فاصله 20 سانتیمتر روی ردیف در عمق 2-1 سانتی‌متر انجام شد. تمام کود دامی و نیمی از کود اوره بصورت پیش از کاشت استفاده شد. نیم دیگر کود اوره در مرحله 6 تا 8 برگی کاهو به صورت سرک استفاده شد. آبیاری بصورت نوار تیپ و هر 8 تا 10 روز یکبار انجام شد. در پایان آزمایش از هر واحد آزمایشی به صورت تصادفی 5 بوته انتخاب و جهت ارزیابی ویژگی‌های مورد نظر شامل ارتفاع بوته، تعداد برگ در بوته، شاخص سطح برگ (LAI)، وزن تر برگ، سطح ویژه برگ (SLA)، سرعت رشد محصول (CGR) و عملکرد به آزمایشگاه فیزیولوژی دانشگاه هرمزگان منتقل شد. برای ارزیابی تعداد برگ و عملکرد اقتصادی، پس از برداشت گیاهان، برگ‌های غیر قابل مصرف جدا شده و برگ‌های قابل مصرف به عنوان تعداد برگ و عملکرد اقتصادی شمارش و وزن شدند. سطح برگ نهایی با نرم افزار Digimizer، پس از اسکن تمام برگ‌ها سبز و سالم و بر حسب سانتی‌متر مربع بدست آمد. شاخص سطح برگ از تقسیم سطح برگ هر بوته بر مساحت اشغال شده توسط همان بوته بدست آمد. سطح ویژه برگ از تقسیم سطح برگ بر وزن خشک و سرعت رشد محصول به صورت تغییرات وزن تر بوته در واحد زمان در واحد سطح محاسبه شد. در پایان آزمایش، تجزیه واریانس داده‌های به‌دست‌آمده، به کمک برنامه آماری SAS (9/1) انجام شد. میانگین‌ها از طریق آزمون LSD در سطح آماری پنج درصد مقایسه شدند.

### نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر کود بر صفات ارتفاع بوته و سطح ویژه برگ در سطح پنج درصد و بر سایر صفات در سطح یک درصد معنی‌دار شد. اثر تلقیح بذر با باکتری بر صفات ارتفاع بوته و وزن تر برگ در سطح یک درصد و بر سایر صفات در سطح پنج درصد معنی‌دار شد. برهمکنش کود و باکتری بر صفات سرعت رشد محصول، و عملکرد اقتصادی در سطح پنج درصد و بر صفات ارتفاع بوته، وزن تر برگ و سطح ویژه برگ در سطح یک درصد معنی‌دار شد ولی بر تعداد برگ در بوته و شاخص سطح برگ تأثیر معنی‌دار نداشت (داده‌ها نشان داده نشده است).

بیشترین تعداد برگ (31/0) و شاخص سطح برگ (2/68) با کاربرد 217/4 کیلوگرم در هکتار کود اوره بدست آمد که با کاربرد 10000 کیلوگرم کود دامی در هکتار تفاوت معنی‌دار نداشتند. تلقیح بذر با باکتری *P. agglomerans* باعث افزایش معنی‌دار تعداد برگ در بوته و شاخص سطح برگ نهایی کاهو به ترتیب به میزان 12/54 و 26/5 درصد در مقایسه با عدم کاربرد این باکتری شد (داده‌ها نشان داده نشده است). مشابه این نتایج، Li و همکاران (2020) نشان دادند که حضور باکتری *P. agglomerans* در خاک باعث افزایش رشد رویشی و شاخص سطح برگ فلفل می‌شود. گزارش شده است که باکتری *P. agglomerans* از طریق تحریک جذب عناصر معدنی از جمله نیتروژن باعث افزایش رشد رویشی می‌شود (Dursun et al., 2010).

نتایج جدول 1 نشان داد که کاربرد کود باعث افزایش میانگین صفات رویشی و عملکرد در مقایسه با شاهد (عدم کاربرد کود) می‌شود. از طرف دیگر در اغلب موارد میانگین صفات در شرایط تلقیح بذر بیشتر از شرایط عدم تلقیح بذر بود. این موضوع بیانگر تأثیر بیشتر کاربرد کود در شرایط تلقیح بذر با باکتری *P. agglomerans* می‌باشد. نتایج این جدول نشان داد که بین دو سطوح کود اوره و دو سطح کود دامی تفاوت معنی‌دار وجود دارد و در اغلب صفات بیشترین میانگین صفات در سطوح بالای این کودها بدست آمده است. تأثیر کود اوره به میزان 108/7 و 217/4 کیلوگرم در هکتار به ترتیب مشابه با کود دامی به میزان 5000 و 10000 کیلوگرم کود دامی بود. در تأیید این نتایج Zandvakili و همکاران (2019) نیز گزارش کردند که کاربرد کود اوره و سطوح بالای کود دامی تأثیر مشابه بر وزن تر و عملکرد اقتصادی کاهو دارد. همچنین، Benincasa و همکاران (2011) نشان دادند که کودهای آلی باعث افزایش عملکرد اقتصادی کاهو مشابه با کودهای معدنی می‌شود.

بیشترین ارتفاع بوته (31/2 سانتی‌متر)، سطح ویژه برگ (0/31 سانتی‌متر مربع بر گرم)، سرعت رشد محصول (3/98 گرم در روز در متر مربع) و عملکرد اقتصادی (80/0 تن در هکتار) با کاربرد کود اوره و تلقیح بذر بدست آمد که با کاربرد کود دامی به میزان 10000 کیلوگرم در هکتار و تلقیح بذر تفاوت معنی‌دار نداشت (جدول 1). برخی مطالعات نشان داده‌اند که بالا بودن سطح ویژه برگ با فتوسنتز خالص بالاتر و در نتیجه سرعت رشد محصول بالاتر همراه است (Weraduwege et al., 2015). به نظر می‌رسد کودهای معدنی از جمله کود اوره در مقایسه با کودهای آلی از جمله کود دامی عناصر غذایی را به صورت محلول در خاک، با سرعت بیشتر و با فراهمی بالا در اختیار ریشه قرار می‌دهند که این موضوع باعث افزایش جذب عناصر توسط ریشه و در نتیجه افزایش رشد رویشی و عملکرد کاهو می‌شود (Yeshiwas et al., 2018). از طرف دیگر باکتری *P. agglomerans* باعث افزایش جذب عناصر غذایی توسط ریشه از طریق افزایش حلالیت پتاسیم و فسفر در خاک و همچنین افزایش تثبیت نیتروژن در محیط ریشه می‌گردد (Lorenzi et al., 2022; Dursun et al., 2010). در مجموع نتایج این پژوهش نشان داد که تلقیح بذر کاهو با باکتری *P. agglomerans* از طریق افزایش صفات رویشی باعث افزایش عملکرد اقتصادی کاهو شده است

**جدول 1- اثر متقابل کود و تلقیح بذر با باکتری *P. agglomerans* بر ویژگی‌های رویشی و عملکرد کاهو**

P. agglomerans	کود (کیلوگرم در هکتار)	ارتفاع بوته (سانتی متر)	وزن خشک برگ (گرم در بوته)	سطح ویژه برگ (سانتی متر مربع بر گرم)	سرعت رشد محصول (گرم در متر مربع در روز)	عملکرد اقتصادی (تن در هکتار)
عدم تلقیح بذر	108/7 (اوره)	23/7c	2/96d	0/21cd	2/02d	51/7ef
	217/4 (اوره)	28/6ab	3/77c	0/19cde	3/48a	69/3b
	5000 (کود دامی)	21/4c	2/52d	0/14f	2/19cd	46/0fg
	10000 (کود دامی)	24/8bc	3/99bc	0/15ef	2/66c	62/3cd
تلقیح بذر	شاهد	21/8c	2/49d	0/18def	1/09e	40/6gh
	108/7 (اوره)	24/1c	3/51c	0/26b	2/78bc	68/5bc
	217/4 (اوره)	31/2a	4/48ab	0/31a	3/98a	80/0a
	5000 (کود دامی)	24/6bc	3/61c	0/22bc	2/31cd	58/4de
	10000 (کود دامی)	28/5ab	4/79a	0/27ab	3/36ab	71/9ab

در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در سطح 5 درصد معنی دار نیستند.

### نتیجه‌گیری

در مجموع نتایج این پژوهش نشان داد که تلقیح بذر کاهو با باکتری *P. agglomerans* از طریق افزایش صفات رویشی باعث افزایش عملکرد اقتصادی کاهو شده است.

### منابع و مراجع مورد استفاده

- Benincasa, P., Guiducci, M., and Tei, F. 2011. The nitrogen use efficiency: meaning and sources of variation - case studies on three vegetable crops in central Italy. HortTechnology. 21: 266-273.
- Dursun, A., Ekinci, M. & Dönmez, M. F. 2010. Effects of foliar application of plant growth promoting bacterium on chemical contents, yield and growth of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) and cucumber (*Cucumis sativus* L.). Pakistan Journal of Botany, 42(5), 3349–3356.
- Dutkiewicz, J., Mackiewicz, B., Lemieszek, M. K., Golec, M., and Milanowski, J. 2016. *Pantoea agglomerans*: a mysterious bacterium of evil and good. Part IV. Beneficial effects. Annals of Agricultural and Environmental Medicine. 23:197-205.
- Lorenzi, A. S., Bonatelli, M. L., Chia, M. A., Peressim, L., and Quecine, M. C. 2022. Opposite sides of *Pantoea agglomerans* and its associated commercial outlook. Microorganisms. 10, 2072. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10102072>.
- Muriuki, A. W. 2017. Effect of organic and conventional farming systems on nitrogen use efficiency of potato, maize and vegetables in the Central highlands of Kenya. European Journal of Agronomy. 86:24-36.
- Weraduwage. S.M., Chen, J., Anozie, F.C., Morales, A., Weise, S.E., and Sharkey, T.D. 2015. The relationship between leaf area growth and biomass accumulation in *Arabidopsis thaliana*. Frontiers in Plant Science. 6:167. doi: 10.3389/fpls.2015.00167.
- Yeshiwas, Y., Yikeber, B. B., Chekol, A., and Walle, A. 2018. Effect of nitrogen fertilizer and farmyard manure on growth and yield of lettuce (*Lactuca sativa* L.) role of nitrogen fertilizer and farm yard manure on lettuce. International Journal of Agricultural Research. 13(2):74-79.

Zandvakili, O. R., Barker, A.V., Hashemi, M., Etemadi, F., and Autio, W. R. (2019). Comparisons of commercial organic and chemical fertilizer solutions on growth and composition of lettuce. *Journal of Plant Nutrition*, 42(9), 990-1000.

## Effect of Fertilizer and Seed Inoculation with *Pantoea agglomerans* Bacteria on Vegetative Indices and Yield of Lettuce (*Lactuca sativa*)

Leila Jafari<sup>1</sup>, Farzin Abdollahi<sup>1\*</sup>, Saeed Ashouri<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Faculty member of the Department of Horticulture, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran.

<sup>2</sup> Former graduate student of the Department of Horticulture, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran.

\*[fabdollahi@hormozgan.ac.ir](mailto:fabdollahi@hormozgan.ac.ir)

### Abstract

In order to investigate the effect of fertilizer on lettuce under seed inoculation conditions with *P. agglomerans* bacteria, a factorial experiment was carried out in a randomized complete block design in the greenhouse of the Faculty of Agriculture and Natural Resources at the University of Hormozgan, with three replications. The experimental factors included seed inoculation or non-inoculation with *P. agglomerans* bacteria as the first factor, and fertilizer levels including urea fertilizer (108.7 and 217.4 kg ha<sup>-1</sup>) and animal manure fertilizer (5000 and 10000 kg ha<sup>-1</sup>) as the second factor. The results of this study showed that the highest number of leaves (31.0) and leaf area index (2.68) were obtained with the application of 217.4 kg ha<sup>-1</sup> of urea fertilizer, which did not have a significant difference compared to the application of 10000 kg of animal manure per hectare. Seed inoculation with *P. agglomerans* bacteria led to a significant increase in leaves number per plant and the final leaf area index of lettuce by 12.54% and 26.5%, respectively, compared to the non-use of this bacteria. Fertilizer application resulted in an increase in the average growth and yield traits compared to the control (non-use of fertilizer). On the other hand, in most cases, the average traits were higher under seed inoculation than under non-inoculation conditions. This indicates the greater effect of fertilizer application under seed inoculation conditions with *P. agglomerans* bacteria. The highest plant height (31.2 cm), specific leaf area (0.31 cm<sup>2</sup>/g), product growth rate (3.98 g/day/m<sup>2</sup>), and economic yield (80.0 tons ha<sup>-1</sup>) were obtained with the application of urea fertilizer and seed inoculation, which did not have a significant difference compared to the application of 10000 kg of animal manure per hectare and seed inoculation. In conclusion, the results of this study showed that seed inoculation with *P. agglomerans* bacteria has led to an increase in economic yield of lettuce by increasing growth traits.

**Keywords:** Urea, Lettuce yield, Biofertilizers, Manure

بررسی اثر الیسیتورکیتوزان بر بهبود شاخص‌های بیوشیمیایی سوئیس چارد (*Beta vulgaris*)

*L. sub sp. vulgaris* در شرایط کم آبیاری

فاطمه خوارزمی<sup>1</sup>، فرزین عبدالمهی<sup>2\*</sup>، لیلا جعفری<sup>2</sup>

<sup>1</sup> دانشجوی سابق کارشناسی ارشد گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران

<sup>2</sup> عضو هیأت علمی گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران

\* نویسنده مسئول: [fabdollahi@hormozgan.ac.ir](mailto:fabdollahi@hormozgan.ac.ir)

### چکیده

به منظور بررسی تاثیر محلول پاشی کیتوزان بر برخی شاخص‌های بیوشیمیایی سوئیس چارد در شرایط کم آبیاری، آزمایشی به صورت اسپیلت پلات در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در سال 1399-1400 انجام

شد. فاکتورهای آزمایش شامل سطوح کم آبیاری به عنوان فاکتور اصلی در سه سطح شامل آبیاری در 50، 75 و 100 درصد ظرفیت زراعی به ترتیب معادل با کم آبیاری شدید، کم آبیاری متوسط و شاهد و فاکتور فرعی شامل کیتوزان در 4 سطح صفر، 500، 1000 و 1500 پی پی ام بود. نتایج اثر اصلی نشان داد کم آبیاری باعث کاهش معنی دار کلروفیل a، b و کل و همچنین کارتنوئید برگ سوئیس چارد در مقایسه با شاهد می شود. در این شرایط کاتالاز و پرولین برگ بطور معنی دار افزایش یافت. بیشترین میزان کاتالاز و پرولین در کم آبیاری شدید بدست آمد. از طرف دیگر محلول پاشی کیتوزان باعث افزایش معنی دار رنگیزه های گیاهی، کاتالاز و پرولین برگ شد. بیشترین میزان کاتالاز و پرولین به ترتیب با محلول پاشی 1500 و 1000 پی پی ام کیتوزان بدست آمد. در هر سطح کم آبیاری، محلول پاشی کیتوزان باعث افزایش میانگین صفات شد. بطوری که در شرایط کم آبیاری شدید محلول پاشی غلظت 1500 پی پی ام باعث افزایش کلروفیل a، b، کل و کاتالاز به ترتیب به میزان 19/5، 13/9، 16/9 و 41/5 درصد در مقایسه با شاهد شد. در شرایط کم آبیاری متوسط محلول پاشی 1500 پی پی ام کیتوزان باعث افزایش پرولین برگ به میزان 2/7 برابر در مقایسه با شاهد شد نتایج این پژوهش نشان داد که استفاده از کیتوزان از طریق بهبود شاخص های بیوشیمیایی راهکاری مناسب جهت مقابله با شرایط تنش آبی در گیاه سوئیس چارد می باشد.

**واژه گان کلیدی:** آنزیم کاتالاز، پرولین، تنش خشکی، چغندر برگی، کلروفیل

#### مقدمه

تنش خشکی یکی از عوامل مهم در محدودیت رشد و تولید محصولات کشاورزی مناطق خشک و نیمه خشک در جهان است و پیش بینی می شود تغییرات اقلیمی، اثر زیادی بر شدت و فراوانی خشکی ها در آینده داشته باشد. پاسخ گیاهان به خشکی متفاوت و تا حد زیادی بسته به گونه و شدت تنش می باشد. گیاهان با کاربرد راهکارهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی به همراه ویژگی های آناتومیک می توانند از اثرات منفی تنش خشکی بکاهند. (Arbona et al., 2017) سوئیس چارد (*Beta vulgaris subsp. vulgaris*) با نام انگلیسی Swiss chard از خانواده اسفناجیان بوده که برگ آن که به عنوان سبزی مصرف می شود سرشار از عناصر معدنی شامل کلسیم، فسفر و آهن، ویتامین ها، اسید فنولیک و فلاونوئیدها است. به همین دلیل مصرف این گیاه به عنوان سبزی در سال های اخیر به طور چشمگیر افزایش یافته است.

روش کم آبیاری از جمله راهکارهایی است که در دهه های اخیر به منظور مدیریت منابع آب همراه با تولید حداکثر محصول در شرایط کم آبی توسط محققان و کشاورزان مورد توجه قرار گرفته است. به کارگیری این راهکار به گیاهان اجازه می دهد تا مقداری از تنش آبی وارده را در طول فصل رشد تحمل کنند. در این روش در شرایط اعمال کم آبیاری در یک مرحله رشدی و یا در تمام فصل رشد، محصول تولید می شود. (Galindo et al., 2018) در سال های اخیر کم آبیاری به عنوان یک راهکار مدیریت پایدار منابع آب در تولید محصول سبزیجات مورد توجه قرار گرفته است. (Khapte et al., 2019)

استفاده از روش های زیستی که موجب تعدیل اثرات مخرب تنش کم آبی بر رشد و عملکرد گیاهان زراعی شود ضروری به نظر می رسد. (Arbona et al., 2017) اخیراً برخی پلیمرهای زیستی فاقد اثرات منفی زیست محیطی همانند کیتین و کیتوزان جهت بهبود سازگاری گیاهان زراعی و باغی به تنش های محیطی استفاده می شوند. کیتوزان، یک پلی ساکارید خطی و یک ماکرومولکول بیولوژیکی کاربردی است که از پوسته خارجی سخت پوستانی چون خرچنگ و میگو استخراج می شود. (Crini 2019)



در کشاورزی پایدار کاربرد کیتوزان به عنوان یک الیسیستور زیستی در بهبود ویژگی‌های کمی و کیفی محصولات کشاورزی مطرح شده است. ثابت شده است که این ترکیب با افزایش سنتز رنگیزه‌های گیاهی و تحریک فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه باعث افزایش مکانیزم دفاعی گیاه در برابر تنش‌های محیطی می‌شود (Sharif et al., 2018)). از آنجا که در ایران رابطه با تأثیر کیتوزان بر سوییچ چارد مطالعه‌ای انجام نشده است لذا این آزمایش به منظور بررسی تأثیر محلول‌پاشی کیتوزان بر تغییرات رنگیزه گیاهی، میزان پرولین و کاتالاز برگ این گیاه در شرایط کم‌آبیاری انجام شد.

### مواد و روش‌ها

این آزمایش به صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه شهید باهنر کرمان انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل سطوح کم‌آبیاری به عنوان فاکتور اصلی در سه سطح شامل آبیاری در 50، 75 و 100 درصد ظرفیت زراعی به ترتیب معادل با کم‌آبیاری شدید، کم‌آبیاری متوسط و شاهد و فاکتور فرعی شامل محلول کیتوزان در 4 سطح 0، 500، 1000، 1500 پی پی ام بود. بنابراین تعداد واحدهای آزمایشی 36 عدد با ابعاد 4 در 2 متر بود. آماده‌سازی بستر کاشت در اوایل شهریور 1400 انجام گرفت. در هر واحد آزمایشی بذرها با فاصله 35 سانتی‌متر از یکدیگر و به عمق یک سانتی‌متر با آرایش کاشت زیگزاکی دو طرف پشته کاشته شدند. پس از سبز شدن، بوته‌ها 36 کرت به طور مساوی تا مرحله 2 تا 4 برگگی بوته‌ها آبیاری شد. از این مرحله به بعد، اقدام به اعمال تیمارهای تنش گردید. تیمارهای آبیاری شامل آبیاری در 50، 75 و 100 درصد ظرفیت مزرعه اعمال شدند. جهت اعمال تیمارهای آبیاری، حجم آب آبیاری تیمار شاهد و تیمارهای کم‌آبیاری به ترتیب بر اساس تأمین 100، 75 و 50 درصد تخلیه رطوبت سهل‌الوصول، با اندازه‌گیری رطوبت خاک و با در نظر گرفتن عمق رشد ریشه، محاسبه شد. رطوبت خاک در ظرفیت زراعی و نقطه پژمردگی دائمی با استفاده از دستگاه صفحات فشاری به ترتیب به میزان 20 و 6 درصد وزنی تعیین گردید. محلول‌پاشی کیتوزان در غلظت‌های مورد نظر در سه مرحله 2 تا 4 برگگی، 6 تا 8 برگگی و دو هفته قبل از برداشت نهایی انجام شد. در پایان آزمایش میزان رنگیزه‌های گیاهی، پرولین و کاتالاز برگ اندازه‌گیری شد.

مقدار کلروفیل و کاروتنوئید به روش آرنون تعیین شد. از روش بیتس جهت اندازه‌گیری پرولین آزاد برگ استفاده شد. فعالیت کاتالاز براساس کاهش جذب آب اکسیژنه در طول موج 240 نانومتر اندازه‌گیری شد. در پایان آزمایش، تجزیه واریانس داده‌های به‌دست‌آمده، به کمک برنامه آماری (SAS 9/1) انجام شد. میانگین‌ها از طریق آزمون LSD در سطح آماری پنج درصد مقایسه شدند.

### نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که کم‌آبیاری، محلول‌پاشی کیتوزان و برهمکنش آنها بر تمام صفات ارزیابی شده اثر معنی‌دار دارند. بطوری‌که اثر آبیاری بر کلروفیل b و کاروتنوئید در سطح 5 درصد و بر سایر صفات در سطح یک درصد معنی‌دار شد. اثر کیتوزان بر صفات کلروفیل b، کل و کاروتنوئید در سطح 5 درصد و بر سایر صفات در سطح یک درصد معنی‌دار شد. برهمکنش کم‌آبیاری با کیتوزان بر پرولین در سطح یک درصد و بر سایر صفات در سطح پنج درصد معنی‌دار بود (داده‌ها نشان داده نشده است). بررسی نتایج جدول 1 نشان داد که کم‌آبیاری باعث کاهش معنی‌دار رنگیزه‌های گیاهی در مقایسه با شاهد می‌شود. بطوری‌که کمترین میزان کلروفیل a، b، کل در کم‌آبیاری شدید به ترتیب به میزان 22/28، 13/26 و 35/54 میلی‌گرم بر گرم وزن تر و کمترین میزان کاروتنوئید (4/00 میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در کم‌آبیاری متوسط بدست آمد. با کاهش حجم آبیاری میزان پرولین و کاتالاز برگ بطور معنی‌دار

افزایش یافت. بیشترین میزان پرولین (51/91) و کاتالاز (22/22) میکرومول بر گرم وزن تر) در کم آبیاری شدید بدست آمد (جدول 1). نتایج جدول 2 نشان داد که در هر سطح کم آبیاری، محلول پاشی کیتوزان باعث افزایش میانگین شاخص‌های بیوشیمیایی مرتبط با تحمل سوئیس چارد می‌گردد که این افزایش در اغلب موارد به ویژه در شرایط کم آبیاری شدید معنی دار بود (جدول 3). در بیشتر صفات ارزیابی شده بهترین غلظت کیتوزان جهت تعدیل اثرات منفی کم آبیاری غلظت‌های 1000 و 1500 پی پی ام بود. بطوری که در شرایط کم آبیاری شدید محلول پاشی غلظت 1500 پی پی ام باعث افزایش کلروفیل a، b، کل و کاتالاز به ترتیب به میزان 19/5، 13/9، 16/9 و 41/5 درصد در مقایسه با شاهد شد. همچنین در شرایط کم آبیاری متوسط محلول پاشی 1500 پی پی ام کیتوزان باعث افزایش پرولین برگ به میزان 2/7 برابر در مقایسه با شاهد شد (جدول 2).

جدول 1- اثر اصلی کم آبیاری و محلول پاشی کیتوزان بر برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی سوئیس چارد (*Beta Vulgaris subsp. Vulgaris*)

عامل	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کارتنوئید	پرولین	کاتالاز
	(میلی‌گرم بر گرم وزن تر)			(میکرومول بر گرم وزن تر)		
کم آبیاری						
شاهد	27/31 <sup>a</sup>	15/09 <sup>a</sup>	42/41 <sup>a</sup>	4/74 <sup>a</sup>	1/64 <sup>c</sup>	17/03 <sup>b</sup>
متوسط	25/63 <sup>ab</sup>	13/87 <sup>b</sup>	39/51 <sup>b</sup>	4/00 <sup>b</sup>	3/21 <sup>b</sup>	18/46 <sup>ab</sup>
شدید	22/28 <sup>b</sup>	13/26 <sup>b</sup>	35/54 <sup>c</sup>	4/22 <sup>b</sup>	5/91 <sup>a</sup>	22/22 <sup>a</sup>
کیتوزان						
شاهد	27/31 <sup>b</sup>	15/09 <sup>bc</sup>	42/41 <sup>c</sup>	3/68 <sup>b</sup>	2/75 <sup>c</sup>	17/03 <sup>b</sup>
500	28/47 <sup>ab</sup>	15/04 <sup>c</sup>	43/51 <sup>bc</sup>	4/33 <sup>a</sup>	3/44 <sup>b</sup>	19/70 <sup>ab</sup>
1000	28/53 <sup>ab</sup>	15/73 <sup>b</sup>	44/26 <sup>b</sup>	4/42 <sup>a</sup>	4/11 <sup>a</sup>	19/78 <sup>ab</sup>
1500	29/66 <sup>a</sup>	16/67 <sup>a</sup>	46/34 <sup>a</sup>	4/28 <sup>a</sup>	4/04 <sup>a</sup>	22/36 <sup>a</sup>

در هر ستون و برای هر عامل، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در سطح 5 درصد معنی دار نیستند.

نتایج این پژوهش نشان داد که کم آبیاری بر ویژگی‌های رنگیزه‌ای سوئیس چارد اثر منفی می‌گذارد. اما کاربرد کیتوزان به عنوان الیسیتور زیستی توانست این اثر منفی را بهبود بخشد. از طرف دیگر کم آبیاری باعث تحریک مکانیسم دفاعی شامل کاتالاز و پرولین شد. مشابه این نتایج شامخ و همکاران (1401) گزارش کردند که محلول پاشی کیتوزان باعث افزایش مکانیسم دفاعی گوجه‌فرنگی از طریق سنتز آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و پرولین در شرایط تنش خشکی می‌شود. در تأیید این نتایج گزارش شده است محدودیت آب باعث افزایش کاتالاز و پرولین می‌شود (Sharma et al., 2019). در این مطالعه در اغلب موارد کیتوزان باعث افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در شرایط کم آبیاری شد. مطالعات نشان داده‌اند که کیتوزان باعث تحریک فعالیت ژن‌های موجود در هسته و کلروپلاست می‌شود که مسئول سنتز آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان است (Dos Reis et al., 2019). همچنین کیتوزان پس از ورود به گیاه به اولیگومر کیتوزان تبدیل می‌شود که این ترکیب به عنوان پیام رسان ثانویه برای افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان عمل می‌کند (Hadwiger et al., 2015).

جدول 2- برهم کنش محلول پاشی کیتوزان بر برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی سوئیس چارد (*Beta Vulgaris subsp. Vulgaris*) در شرایط

کم آبیاری						
کاتالاز	پروکلین	کارتونیند	کلروفیل کل	کلروفیل b	کلروفیل a	کیتوزان
(میکرومول بر گرم وزن تر)			(میلی‌گرم بر گرم وزن تر)			پی پی ام
17/03 <sup>g</sup>	1/54 <sup>e</sup>	4/74 <sup>a</sup>	42/68 <sup>bcd</sup>	15/09 <sup>bc</sup>	27/32 <sup>bcd</sup>	0
19/70 <sup>ef</sup>	1/36 <sup>e</sup>	4/79 <sup>a</sup>	43/51 <sup>abc</sup>	15/04 <sup>bc</sup>	28/47 <sup>abc</sup>	500
19/79 <sup>ef</sup>	1/87 <sup>e</sup>	3/64 <sup>h</sup>	44/27 <sup>ab</sup>	15/73 <sup>ab</sup>	28/53 <sup>ab</sup>	1000
22/36 <sup>cd</sup>	1/78 <sup>e</sup>	4/55 <sup>abc</sup>	46/34 <sup>a</sup>	16/68 <sup>a</sup>	29/67 <sup>a</sup>	1500
18/46 <sup>fg</sup>	1/93 <sup>e</sup>	4/01 <sup>def</sup>	39/51 <sup>ef</sup>	13/87 <sup>def</sup>	25/63 <sup>de</sup>	0
21/56 <sup>de</sup>	3/12 <sup>d</sup>	3/98 <sup>efg</sup>	39/91 <sup>de</sup>	13/43 <sup>def</sup>	26/47 <sup>cd</sup>	500
23/14 <sup>cd</sup>	2/52 <sup>de</sup>	4/61 <sup>ab</sup>	42/36 <sup>b-e</sup>	14/35 <sup>cd</sup>	28/01 <sup>abc</sup>	1000
27/74 <sup>b</sup>	5/28 <sup>bc</sup>	3/88 <sup>fgh</sup>	43/58 <sup>abc</sup>	15/23 <sup>bc</sup>	28/35 <sup>abc</sup>	1500
22/23 <sup>d</sup>	4/78 <sup>c</sup>	4/43 <sup>bc</sup>	35/54 <sup>g</sup>	13/26 <sup>ef</sup>	22/28 <sup>f</sup>	0
24/63 <sup>c</sup>	5/86 <sup>b</sup>	4/33 <sup>bc</sup>	36/75 <sup>fg</sup>	12/88 <sup>f</sup>	23/86 <sup>ef</sup>	500
27/19 <sup>b</sup>	7/95 <sup>a</sup>	3/68 <sup>gh</sup>	40/81 <sup>cde</sup>	13/97 <sup>de</sup>	26/83 <sup>bcd</sup>	1000
31/46 <sup>a</sup>	5/05 <sup>bc</sup>	4/28 <sup>cde</sup>	41/55 <sup>b-e</sup>	15/10 <sup>bc</sup>	25/63 <sup>de</sup>	1500

در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در سطح 5 درصد معنی‌دار نیستند.

### نتیجه‌گیری

به طور کلی نتایج حاصل از آزمایش نشان داد که استفاده از کیتوزان از طریق افزایش رنگیزه‌های گیاهی، کاتالاز و پروکلین برگ راهکاری مناسب جهت مقابله با شرایط تنش آبی در گیاه سوئیس چارد می‌باشد.

### منابع و مراجع مورد استفاده

- شامخ، م. ر.، جعفری، ل.، و عبدالحی، ف. 1401. اثر محلول پاشی برخی تعدیل کننده‌های زیستی بر ویژگی‌های زیست‌شیمیایی، رویشی و عملکرد میوه گوجه‌فرنگی گلخانه‌ای در شرایط تنش خشکی. مجله علوم و فنون باغبانی ایران. 23(3): 425-436.
- Arbona, V., Manzi, M., Zandalinas, S., VivesPeris, V., Perez-Clemente R. M., and GomezCadenas, A. 2017. Physiological, metabolic, and molecular responses of plants to abiotic stress. In: Stress signaling in plants: Genomics and proteomics perspective. (eds. Sarwat, M., Ahmad, A., Abdin, M. Z. and Ibrahim, M. M.) Pp. 1-35. Springer International Publishing.
- Crini, G. 2019. Historical review on chitin and chitosan biopolymers. Environmental Chemistry Letters 17: 1623–1643.
- Dos Reis, C.O., P.C. Magalhaes, G.A. Roniel, G.A. Lorena, M.R. Valquiria, and T.C. Diogo. 2019. Action of N-Succinyl and NO-Dicarboxymethyl chitosan derivatives on chlorophyll photosynthesis and fluorescence in drought-sensitive maize. Journal of Plant Growth Regulation. 38: 619–630.
- Galindo, A., Collado, J., Griñán, I., Corell, M., Centeno, A., Martín-Palomo, M. J., Giron, I., Rodríguez, H., P., Cru, Z. P. Z., Memmi, H., Carbonell-Barrachina, A., Hernandez F., Torrecillas, A., Moriana A., and Pérez L. D. 2018. Deficit irrigation and emerging fruit crops as a strategy to save water in Mediterranean semiarid agrosystems. Agricultural Water Management. 202: 311-324.
- Hadwiger, L. A. 2015. Anatomy of a nonhost disease resistance response of pea to *Fusarium solani*: PR gene elicitation via DNase, chitosan and chromatin alterations. Frontier Plant Science. 6: 373. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00373>
- Khapte, P. S., Kumar, P., Burman, U., and Kumar, P. 2019. Deficit irrigation in tomato: Agronomical and physio-biochemical implications. Scientia Horticulture 248: 256-264.

Sharif, R., Mujtaba, M., Ur Rahman, M., Shalmani, A., Ahmad, H., Anwar, T., Tianchan, D. and Wang, X. 2018. The multifunctional role of chitosan in horticultural crops; A review. *molecules* 23: 872. <https://doi.org/10.3390/molecules23040872>

Sharma, A., B. Shahzad, V. Kumar, S.K. Kohli, G.P.S. Sidhu, A.S. Bali, N. Handa, D. Kapoor, R. Bhardwaj, and B. Zheng. 2019. Phytohormones regulate accumulation of osmolytes under abiotic stress. *Biomolecules*. 9: 285. <http://dx.doi.org/10.3390/biom9070285>

## Investigating the chitosan elicitor on biochemical indices of Swiss chard (*Beta vulgaris L. sub sp. vulgaris*) tolerance under deficit irrigation condition

Fatemeh Kharazmi<sup>1</sup>, Farzin Abdollahi<sup>2\*</sup>, Leila Jafari<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Former graduate student of the Department of Horticulture, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran.

<sup>2</sup> Faculty member of the Department of Horticulture, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran.

\*[fabdollahi@hormozgan.ac.ir](mailto:fabdollahi@hormozgan.ac.ir)

### Abstract

In order to investigate the effect of chitosan foliar spray on some characteristics of Swiss chard under deficit irrigation conditions, a randomized complete block experiment was conducted in split-plot design with three replications in the years 2021-2022. The experimental factors included deficit irrigation levels as the main factor at three levels including irrigation at 50%, 75%, and 100% of soil water holding capacity equivalent to severe and moderate deficit irrigation, and control, and chitosan as the sub-factor at four levels of 0, 500, 1000, and 1500 ppm. The main effect results of this experiment showed that deficit irrigation significantly decreased chlorophyll a, b, total chlorophyll, and carotenoids in Swiss chard leaves compared to full irrigation. However, under these conditions, catalase and leaf proline were significantly increased. The highest amount of catalase and proline were obtained under severe deficit irrigation. On the other hand, chitosan foliar spray significantly increased plant pigments, catalase, and leaf proline. The highest amount of catalase and proline were obtained with the application of 1500 and 1000 ppm chitosan, respectively. In every level of water deficit, chitosan spraying led to an increase in the average characteristics. In severe deficit irrigation condition, spraying a 1500 ppm concentration of chitosan caused an increase in chlorophyll a, b, total, and catalase by 19.5%, 13.9%, 16.9%, and 41.5%, respectively, compared to the control. Moreover, under moderate deficit irrigation conditions, chitosan spraying at a concentration of 1500 ppm caused a 2.7-fold increase in leaf proline content compared to the control. In general, the results of the experiment showed that the use of chitosan through increasing plant pigments, catalase, and leaf proline is an effective solution to cope with water stress conditions in Swiss chard.

**Keywords:** Catalase enzyme, proline, water stress, Swiss chard, chlorophyll.

### بررسی اثر گرد و خاک بر صفات فیزیولوژیک در چند ژنوتیپ گندم (*Triticum spp.*)

صبا عمید

نویسنده مسئول: دانشجوی دکتری رشته ژنتیک و به‌نژادی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام \*

[Saba\\_amid65@yahoo.com](mailto:Saba_amid65@yahoo.com)

آرش فاضلی

2-دانشیار گروه ژنتیک و به‌نژادی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام

**چکیده:** گرد و خاک به عنوان یک پدیده غیر زیستی تاثیر زیادی بر کیفیت و کمیت محصولات کشاورزی داشته‌است. لذا به منظور بررسی تاثیر گرد و خاک، بر ویژگی‌های فیزیولوژیک 11 ژنوتیوپ گندم، آزمایشی در سال زراعی 1401 در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام در قالب طرح فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام گردید. فاکتورهای مورد بررسی شامل دو شرایط (تنش و کنترل) و 11 ژنوتیوپ گندم بود. صفات محتوای نسبی آب برگ، نشت یونی،

پایداری غشا، پروتئین و پرولین در مرحله چهار برگی گندم بررسی شد. در اثر اعمال تنش گرد و خاک فاکتورهای محتوای نسبی آب برگ، نشت یونی، پایداری غشا و پروتئین کاهش و فقط پرولین افزایش یافت. لذا به طور کلی، تنش گرد و خاک تاثیر معنی داری در کاهش این صفات و نهایتاً عملکرد محصول خواهد داشت.

**واژگان کلیدی:** اسپکتروفتومتر، پرولین، پدیده گرد و خاک، صفات فیزیولوژی

#### مقدمه

گندم مهم‌ترین غله در سراسر جهان است که حدود 21 درصد از تولید جهانی غذا را به خود اختصاص می‌دهد. گندم از تیره گندمیان (Gramineae)، جنس *Triticum*، گیاهی یکساله، روز بلند و سه کربنه (C<sub>3</sub>) است. عوامل مختلفی عملکرد گندم را تحت تاثیر قرار می‌دهند. تنش‌های محیطی نظیر گرما، سرما، خشکی، شوری، فلزات سنگین، امواج مرئی، موادشیمیایی سمی، تنش‌های اکسیداسیونی ناشی از عوامل زنده و غیرزنده از مهم‌ترین عوامل محدودکننده تولیدات کشاورزی هستند (1).

طوفان‌های گرد و خاک پدیده‌هایی طبیعی هستند که به طور وسیعی در جهان به خصوص در مناطق خشک و نیمه خشک رخ می‌دهند. ذرات گرد و خاک با نشست بر اندام هوایی گیاه باعث تغییرات فیزیکی و شیمیایی مختلفی مانند مسدود کردن روزنه‌ها، کاهش فعالیت فتوسنتزی، ریزش برگ، مرگ بافت گیاهی، افزایش دما، تغییر در محتوای نسبی آب برگ و در نهایت کاهش عملکرد محصولات زراعی می‌شوند. تاثیر گرد و خاک بر روی گیاه ریحان، به دلیل کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی و آسیب به بافت گیاهی، کاهش رشد گیاه ریحان را در پی داشت (2). با توجه به شرایط آب و هوایی موجود در منطقه، یافتن ارقام گیاهی سازگار و مقاوم با شرایط تنش گرد و خاک در راستای اهداف افزایش تولید امری ضروری است (3). از آنجایی که تا کنون تحقیقی در این منطقه انجام نشده است، نتایج این پروژه اهمیت پدیده گرد و خاک و اثرات منفی آن را بر محصول استراتژیک گندم نشان می‌دهد و ضرورت مقابله با پدیده گرد و خاک و کاهش اثرات نامطلوب آن با انجام برنامه‌های مدون و طولانی مدت را بیش از پیش نمایان می‌کند.

#### مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال زراعی 1401 در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام در گلدان‌هایی با قطر 10 سانتیمتر، در قالب طرح فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام گردید. به منظور بررسی تاثیر پدیده گرد و خاک، بر خصوصیات فیزیولوژیک در 11 ژنوتیپ گندم (جدول 1)، بذور مربوط به ژنوتیپ‌ها از بانک ژن موسسه IPK آلمان تهیه گردید. فاکتورهای مورد بررسی شامل دو شرایط تنش و کنترل و 11 ژنوتیپ گندم بود.

جدول 1- مشخصات ژنوتیپ‌های گندم

cod	ACCENUMB	GENUS	SPECIES	ACQDATE	ORIGCTY
G1	TRI 9931	Triticum	aestivum	1972	USA
G2	TRI 10026	Triticum	aestivum	1972	SUN
G3	TRI 10592	Triticum	durum	1973	CYP
G4	TRI 10779	Triticum	durum	1974	GRC
G5	TRI 11309	Triticum	aestivum	1976	CZE
G6	TRI 15199	Triticum	aestivum	1986	ITA
G7	TRI 15655	Triticum	aethiopicum	1986	ETH

G8	TRI 15867	Triticum	aethiopicum	1986	ETH
G9	TRI 17563	Triticum	aestivum	1994	TJK
G10	TRI 17056	Triticum	aestivum	1993	ESP
G11	TRI 19821	Triticum	sp.	2003	TUR

به منظور شبیه‌سازی طوفان‌های گرد و خاک از خاک سطحی (5-0 سانتیمتری) در استان ایلام، منطقه بهرام آباد نمونه برداری صورت گرفت. سپس نمونه خاک با شماره مش 270 الک شد تا ذرات خاک به قطر 53 میکرون فراهم گردد. جهت ایجاد گرد و خاک در شرایط آزمایشگاهی، محیطی تقریباً بسته مشابه گلخانه آماده گردید و با تولید گرد و خاک، در مرحله چهاربرگی گیاه زراعی گندم، طی سه دوره طوفان پدیده گرد و خاک شبیه سازی شد. در هر دوره، 30 گرم گرد و خاک طی 24 ساعت به محفظه وارد شد و با استفاده از فن‌های کوچک که در نقاط مختلف اتاقک نصب شده بودند گرد و خاک به طور یکنواخت در محفظه انتشار پیدا کرد. چند روز بعد از اعمال تنش، محتوای نسبی آب برگ به روش ریچه و همکاران (1990)، نشت یونی روش لوتوس و همکاران (1995)، پایداری غشا روش کایا و همکاران (2002)، پروتئین روش بردفورد (1976) و پرولین روش شبنم و همکاران (2015) اندازه‌گیری شد (4, 5, 6, 7, 8). در نهایت پس از نرمال‌سازی داده‌ها، تجزیه واریانس با نرم‌افزار آماری SAS 9.2 و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار یا LSD انجام شد. شکل‌ها و نمودارها نیز با نرم‌افزار GraphPad Prism 8.4.3 رسم شدند.

### نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان می‌دهد که تنش بر تمامی صفات مورد ارزیابی اثر معنی‌داری دارد (جدول 2). در اثر تنش گرد و خاک فاکتورهای محتوای نسبی آب برگ، نشت یونی، پایداری غشا و پروتئین، کاهش و فقط پرولین افزایش یافت. همچنین اثر متقابل تنش و ژنوتیپ نیز در تمام صفات مورد نظر معنی‌دار شد.

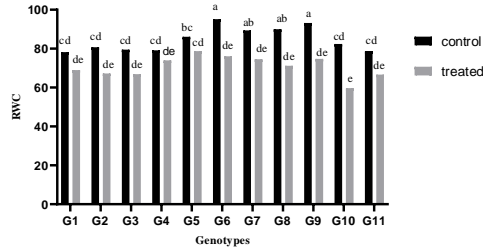
جدول 2- تجزیه واریانس تأثیر گرد و خاک بر خصوصیات فیزیولوژیکی 11 ژنوتیپ گندم.

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		محتوای نسبی آب	نشت یونی	پایداری غشا	پروتئین	پرولین
گرد و خاک	1	322/06**	4399/22**	14316/40**	222581/14**	64/64**
ژنوتیپ	10	162/97*	828/96**	992/80**	3097/01 <sup>ns</sup>	3 <sup>ns</sup>
اثر متقابل	10	252/27**	725/66**	128/80**	13092/45**	4/82*
خطا	44	76/22	284/51	109/12	5591/63	1/76
ضریب تغییرات		11/22	27/14	22/92	21/80	27/75

\*, \*\* و <sup>ns</sup> به ترتیب بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح 5 درصد، 1 درصد و غیر معنی‌دار

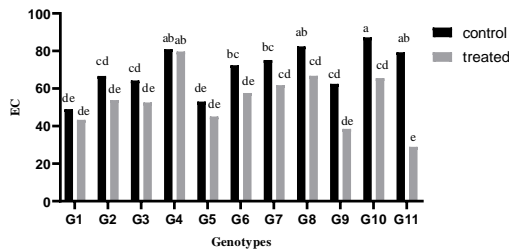
\*, \*\* and <sup>ns</sup> are significant at the 5% and 1% level and non-significant respectively

محتوای نسبی آب برگ: این شاخص بر اثر تیمار گرد و خاک در ژنوتیپ‌های گندم کاهش یافت. کمترین مقدار مربوط به G10 تحت تنش و بیشترین مقدار مربوط به ژنوتیپ G6 شاهد می‌باشد (نمودار 1). کاهش در محتوای نسبی آب برگ نشانگر کاهش فرآیندهای مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی در گیاه است (9).



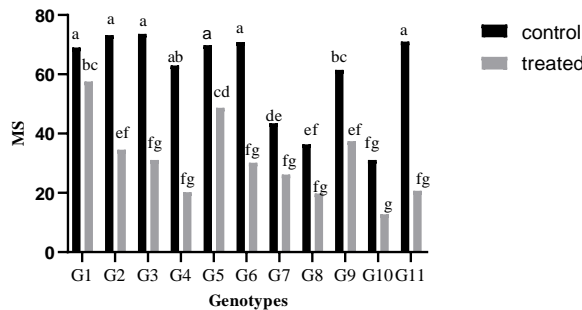
نمودار 1- مقایسه میانگین محتوای نسبی آب برگ ژنوتیپ‌های گندم تحت تنش گرد و خاک

**نشت یونی و پایداری غشا:** نشت یونی بر اثر تیمار گرد و خاک در ژنوتیپ‌های مورد آزمایش کاهش یافت. کمترین مقدار مربوط به ژنوتیپ G11 تیمار و بیشترین مقدار مربوط به G10 باشد (نمودار 2). گونه‌های فعال اکسیژن منجر به پراکسیداسیون لیپیدهای غشا و تغییر در نفوذپذیری غشا و خسارت به سلول می‌گردند. بنابراین، اندازه‌گیری آلدئیدهای تولید شده در طی پراکسیداسیون لیپیدها و اندازه‌گیری میزان نشت یونی شاخص‌های خوبی برای اندازه‌گیری میزان آسیب اکسیداتیو وارد شده به غشا هستند (10).



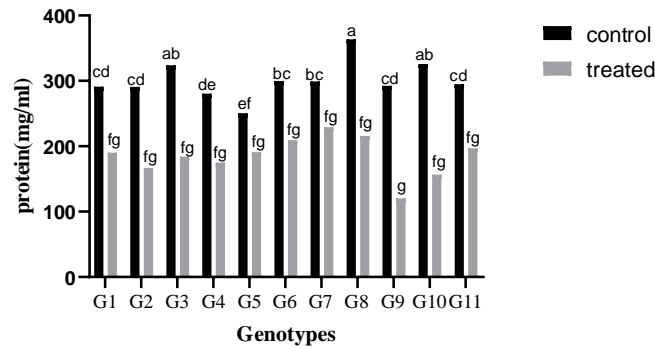
نمودار 2- مقایسه میانگین نشت یونی ژنوتیپ‌های گندم تحت تنش گرد و خاک

صفت پایداری غشا نیز در ژنوتیپ‌ها کاهش یافت. کمترین مقدار مربوط به G10 تیمار و بیشترین مقدار مربوط به G3 شاهد می‌باشد (نمودار 3). در گیاهانی که در معرض تنش‌های محیطی قرار گرفته‌اند، نفوذپذیری غشاهای سلولی به دلیل صدمات ناشی از تجمع گونه‌های فعال اکسیژن به‌ویژه یون‌های پراکسید افزایش می‌یابد که این امر منجر به کاهش تمامیت غشاها می‌گردد. به همین دلیل توان غشای سلولی برای کنترل ورود و خروج مواد نیز کاهش می‌یابد (11).



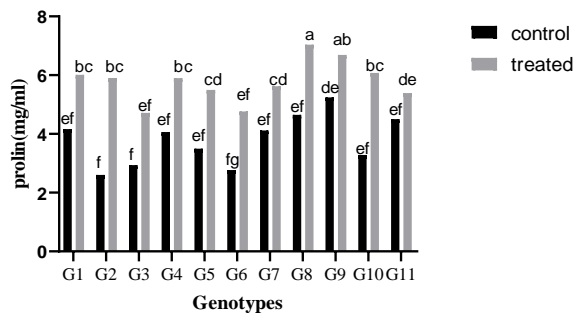
نمودار 3- مقایسه میانگین پایداری غشا ژنوتیپ‌های گندم تحت تنش گرد و خاک

**پروتئین:** بر اثر تیمار گرد و خاک پروتئین ژنوتیپ‌های مورد آزمایش کاهش یافت. کمترین مقدار مربوط به ژنوتیپ G9 تیمار و بیشترین مقدار مربوط به G8 شاهد می‌باشد (نمودار 4). این کاهش، به دلیل کاهش میزان تولید پروتئین، افزایش تجزیه پروتئین در اثر افزایش فعالیت آنزیم پروتئاز و یا تخریب توسط گونه‌های فعال اکسیژن می‌باشد (12).



نمودار 4- مقایسه میانگین پروتئین در ژنوتیپ‌های گندم تحت تنش گرد و خاک

**پروکلین:** بر اثر تیمار گرد و خاک، فقط پروکلین در ژنوتیپ‌های مورد آزمایش افزایش یافت. کمترین مقدار مربوط به G2 شاهد و بیشترین مقدار مربوط به G8 تیمار می‌باشد (نمودار 5). از مکانیزم‌های دفاعی که توسط گیاهان عالی تحت تنش‌های محیطی بکارگرفته می‌شود افزایش متابولیت‌های سازگار مانند پروکلین است. اسید پروکلین بدون شک به عنوان یک نشانگر تنش در نظر گرفته می‌شود. افزایش غلظت آن فراوان‌ترین و عمومی‌ترین پاسخی است که به محض ایجاد تنش مشاهده می‌شود و سطح آن اغلب توسط زیست‌شناسان اندازه‌گیری می‌گردد (13). پروکلین از طریق تنظیم اسمزی، جلوگیری از تخریب آنزیم‌ها و پاک کردن رادیکال‌های هیدروکسیل، تحمل گیاهان در برابر تنش‌ها را افزایش می‌دهد (14).



نمودار 5- مقایسه میانگین پروکلین در ژنوتیپ‌های گندم تحت تنش گرد و خاک

### نتیجه‌گیری

ذرات گرد و خاک به صورت مستقیم و غیرمستقیم بر روی گیاهان تاثیر می‌گذارد. مطالعات نشان داده است که دریافت تنش در سطح مولکولی، بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی به عواملی نظیر ژنوتیپ، سطح تنش (شدت و مدت تنش) و همچنین مرحله رشد و نموی گیاه بستگی دارد. بنابراین انتخاب ژنوتیپ‌های مقاوم به تنش برای تداوم پذیری کشت و تولید بهینه محصولات با اهمیت است (15).



مطالعه حاضر به بررسی اثر گرد و خاک در شرایط شبیه‌سازی شده بر صفات فیزیولوژی و رنگیزه‌های فتوسنتزی 11 ژنوتیپ گندم می‌پردازد. در مجموع گرد و خاک بر اغلب ویژگی‌های فیزیولوژی گیاه اثر معنی‌داری داشت؛ بدین صورت که در اثر تنش گرد و خاک، محتوای نسبی آب برگ، نشت یونی، پایداری غشا، پروتئین، کاهش یافته و تنها مقدار پرولین افزایش یافت. در نهایت با توجه به نتایج به دست آمده، ژنوتیپ‌های G6 و G11 در برابر تنش گرد و خاک پاسخ بهتری نشان دادند و این ژنوتیپ‌ها می‌توانند به‌عنوان گزینه کاندید برای گیاه متحمل به این تنش باشند.

#### منابع

- 1) Miao, Y., and Zentgraf, U. 2007. The Antagonist function of arabidopsis WRKY53 and ESR/ESP in leaf senescence is modulated by the jasmonic and salicylic acid equilibrium. The Plant Cell Online. 19, 819-830.
- 2) مظفر شریفی، طاهره بیرانوند. (1392). بررسی تاثیر گرد و غبار بر باردهی (وزن خشک، محتوای کلروفیل و فلونورسانس کلروفیل) گیاه ریحان سبز. اولین همایش سراسری کشاورزی و منابع طبیعی پایدار.
- 3) Farmer, A. 1993. The effects of dust on vegetation a review. Environment pollution, 79: 63-75.
- 4) Ritchie, S., Nguyen, H., and Haloday, A. 1990. Leaf water content and gas exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. Crop Science 30: 105-111
- 5) Lutts, S., Kinet, J., and Bouharmont, J. 1995. "Changes in plant response to NaCl during development of rice (*Oryza sativa* L.) varieties differing in salinity resistance". Journal of Experimental Botany, 46(12), 1843-1852.
- 6) Kaya, C., Kirnak, H., Higgs, D., and Satali, K. 2002. Supplementary calcium enhances plant growth and fruit yield in strawberry cultivars grown at high (NaCl) salinity. Plant Horticulture 93: 65-74.
- 7) Bradford, M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein- dye binding. J. Anal. Biochem. 72: 248-254.
- 8) Shabnam, N., Indu Tripathi, I., Sharmila, P., and Pardha-Saradhi, P. 2015. A rapid, ideal, and eco-friendlier protocol for quantifying proline. Article in Protoplasma
- 9) Cicek, N., and Cakirlar, H. 2002. The effect of salinity on some physiological parameters in two maize cultivars. Bulgican Journal Plant Physiology 28: 66 -74.
- 10) Bandoğlu, E., Egidogan, F., Yucel, M. and Avni Oktem, H. 2004. Antioxidant responses of shoots and roots of lentil to NaCl-salinity Stress. Plant Growth Regulation. 42: 69-77.
- 11) Yang, F., Hu, J., Li, J., Wu, X., and Qian, Y. 2009. Chitosan enhances leaf membrane stability and antioxidant enzyme activities in apple seedlings under drought stress. Plant Growth Regulation. 58, 131-136.
- 12) Rai, P. 2016. Impacts of particulate matter pollution on plants: Implications for environmental biomonitoring. Ecotoxicol. Environ. Saf. 129: 120-136.
- 13) Sanchita, G., Singh, R., Mishra, A., Dhawan, S., Shirke, P., Gupta, M., and Sharma, A. 2015. Physiological performance, secondary metabolite and expression profiling of genes associated with drought tolerance in *Withania somnifera*. Protoplasma.
- 14) Dar, M., Naikoo, M., Rehman, F., Naushin, F., and Khan, F. 2016. "Proline Accumulation in Plants: Roles in Stress Tolerance and Plant Development. In Osmolytes and Plants Acclimation to Changing Environment". Emerging Omics Technologies (pp. 155-166). Springer India.
- 15) George, D., and Ilias, F. 2007. Effects of inert dust on olive (*Olea europaea* L.) leaf physiological parameters. Environmental Science and Pollution Research 14: 212-214.

## analysis the effect of dust on physiological traits in several genotypes of wheat (*Triticum* spp.)

Saba Omid

\*Corresponding author: Ph.D. student in the field of genetics and plant breeding, Faculty of Agriculture, Ilam University

[Saba\\_amid65@yahoo.com](mailto:Saba_amid65@yahoo.com)

**Arash Fazli**

2-Associate Professor, Department of Genetics and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Ilam University

### Abstract

Dust as a non-biological phenomenon has had a great impact on the quality and quantity of agricultural products. Therefore, in order to investigate the effect of dust on the physiological characteristics of 11 wheat genotypes, an experiment was conducted in the agricultural year of 1401 in the research greenhouse of the Faculty of Agriculture of Ilam University in the form of a factorial design based on a completely random design in three replications. The investigated factors included two conditions (stress and control) and 11 wheat genotypes. The traits of relative leaf water content, ion leakage, membrane stability, protein and proline were investigated at the four-leaf stage of wheat. As a result of applying dust and soil stress, factors of relative leaf water content, ion leakage, membrane stability and protein decreased and only proline increased. Therefore, in general, dust stress will have a significant effect on the reduction of these traits and finally the yield of the product.

**Key words:** spectrophotometer, proline, dust storm, physiological traits

نقش آرژینین روی برخی ویژگی‌های کیفی میوه پسته (*Pistacia vera* L.) رقم احمد آقایی

امین کردی<sup>1\*</sup>، زهرا پاک‌کیش<sup>2</sup>، فاطمه نصیبی<sup>2</sup> و اسماعیل دره‌زرشکی<sup>2</sup>

1- \* نویسنده مسئول: دانشجوی کارشناسی ارشد، بخش مهندسی علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان.

Email : [aminkordi2573@gmail.com](mailto:aminkordi2573@gmail.com)

2- به ترتیب دانشیاران و استادیار، بخش مهندسی علوم باغبانی، زیست شناسی و متالوژی دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان.

## چکیده

امروزه از هورمون‌ها و عناصر غذایی برای بهبود رشد رویشی و زایشی در بسیاری از محصولات کشاورزی استفاده می‌شود. پسته نیز یکی از محصولات آجیلی مهم و استراتژیک بوده که افزایش ویژگی‌های کمی و کیفی آن حائز اهمیت است. بدین منظور آزمایشی به صورت یک طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار برای ارزیابی درصد خندانی، درصد پوکی و وزن میوه انجام گردید. در این تحقیق از اسید آمینه آرژینین در سه سطح (0، 0/5 و 1 میلی‌مولار) بر روی پسته رقم احمد آقایی به صورت محلول‌پاشی درختان مورد نظر در 60 روز بعد از تمام گل استفاده گردید. بررسی نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که تیمار آرژینین با غلظت 1 میلی‌مولار تأثیر معنی‌داری در افزایش درصد خندانی و وزن میوه داشته است و سبب کاهش معنی‌دار درصد پوکی در مقایسه با شاهد گردیده است. بر این اساس، تیمار آرژینین 1 میلی‌مولار بهترین اثر را بر بهبود ویژگی‌های کیفی پسته رقم احمد آقایی در این پژوهش داشت.

واژگان کلیدی: آرژینین، پسته، رشد، عملکرد.

## مقدمه

پسته اهلی با نام علمی (*Pistacia vera L.*) گیاهی نیمه گرمسیری از تیره پسته‌سانان است. کشور ایران مهم‌ترین تولیدکننده پسته و مرکز تنوع گونه‌های پسته در دنیا می‌باشد (1). این محصول با شرایط نامطلوب محیطی مانند؛ شوری آب و خاک و خشکی سازگار است. بیش از 500000 هکتار باغ پسته در ایران وجود دارد که بالغ بر 550 هزار تن محصول از این باغات برداشت می‌شود (2). رقم احمد آقایی یکی از ارقام مهم تجاری است که علی‌رغم قدمت نه چندان طولانی آن، به طور چشمگیری در استان کرمان در حال گسترش می‌باشد. از نظر زمان گلدهی این رقم متوسط گل و از نظر زمان رسیدگی جزء ارقام دیررس می‌باشد. میوه‌های آن بادامی شکل هستند. با وجود این خصوصیات بسیار مطلوب دارای سال آوری نسبتاً شدیدی است (3). با توجه به ارزش غذایی پسته، اهمیت تجاری آن و افزایش تقاضای جهانی، انجام تحقیقات جامع در زمینه تولید و افزایش عملکرد پسته و هم‌چنین بهینه‌سازی مصرف کودهای شیمیایی لازم است. برای رسیدن به یک رشد سریع و مطلوب و هم‌چنین افزایش باروری درختان، بررسی مدیریت غذایی پسته یک امر ضروری است. آرژینین یکی از پرکاربردترین اسیدهای آمینه در سلول‌های زنده و از اجزای اصلی پروتئین‌ها و پیش‌ساز بیوسنتز پلی‌آمین‌ها، آگماتین، پرولین و مولکول‌های سیگنالینگ از قبیل؛ نیتریک اکسید و گلوتامین می‌باشد (4). علاوه بر نقش‌های فیزیولوژیکی، در رشد و نمو گیاه از جوانه‌زنی تا گلدهی و رسیدگی میوه نقش دارد و طیف قابل توجهی از مکانیسم‌های سلولی را تنظیم می‌کند (5). در مورد اثر آرژینین بر رشد و نمو گیاهان مطالعات محدودی انجام گرفته است. در گیاه لوبیا کاربرد آرژینین منجر به بهبود رشد، افزایش وزن تر و خشک، افزایش تنظیم‌کننده‌های داخلی رشد گیاه، کلروفیل a، b و کارتنوئید شد (6). در این پژوهش هدف بررسی تأثیر تیمار آرژینین بر روی کاهش درصد پوکی و افزایش درصد خندانی و وزن میوه بوده است.

## مواد و روش‌ها

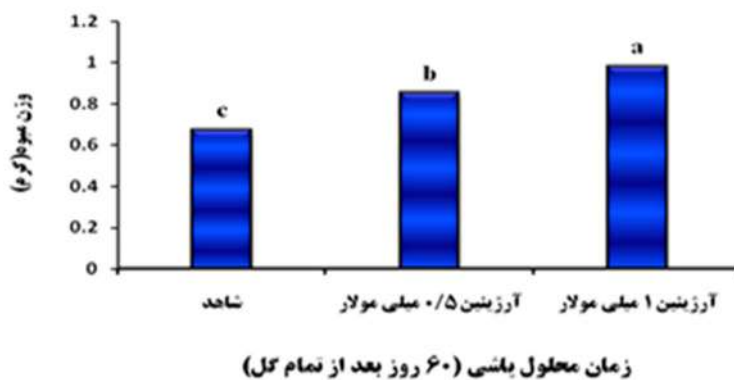
این پژوهش در یک باغ تجاری در منطقه‌ی زرد کرمان روی درختان پسته 15 ساله (رقم احمد آقایی) که در سال ON قرار داشتند، انجام گرفته است. به منظور دقت بیشتر و به حداقل رساندن خطا، درختانی که از نظر قدرت رشد و اندازه یکنواخت بودند، انتخاب شدند. بعد از انتخاب، محلول‌پاشی با اسید آمینه آرژینین در غلظت‌های: صفر (شاهد)، 0/5 و 1 میلی‌مولار در مرحله 60 روز بعد از

تمام گل انجام گردید. آزمایش به صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی با 3 تیمار و 4 تکرار صورت پذیرفت. ویژگی‌هایی مانند؛ درصد خندانی، درصد پوکی و وزن میوه اندازه‌گیری و ارزیابی شدند. آنالیز آماری داده‌ها توسط نرم‌افزار SAS و بررسی مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال 5 درصد، انجام و رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel صورت گرفت.

## نتایج و بحث

### وزن میوه

بررسی نتایج حاکی از آن بود که کاربرد اسید آمینه آرژینین، سبب بهبود وزن میوه در پسته رقم احمد آقایی شد که ابتدا غلظت یک میلی‌مولار و سپس نیم میلی‌مولار آرژینین نسبت به شاهد اثرگذار بود (شکل 1). رشد مغز میوه با خندانی رابطه مستقیم و با پوکی رابطه عکس دارد. تقسیم سلولی بعد از گرده افشانی سبب بزرگ شدن مغز پسته می‌شود که این عامل باعث پر شدن مغز و افزایش وزن آن می‌گردد (7). بنابراین با توجه به نتایج، کاربرد آرژینین سبب بهبود ویژگی‌های کیفی میوه پسته شد. آرژینین با تحریک سنتز پروتئین‌ها، افزایش جذب کلسیم، تحریک سنتز پلی‌آمین‌ها و تنظیم فعالیت‌های متابولیکی و فیزیولوژیکی، باعث افزایش رشد جنین و تقسیم سلولی می‌گردد (8).

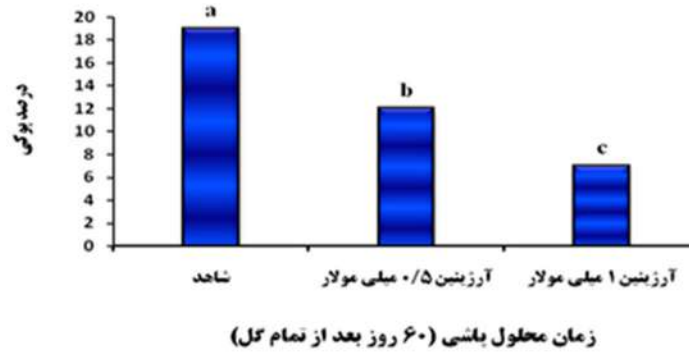


شکل 1. اثر تیمار آرژینین روی وزن میوه در پسته رقم احمد آقایی.

ستون‌های دارای حروف متفاوت در سطح 5 درصد آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری دارند.

### درصد خندانی

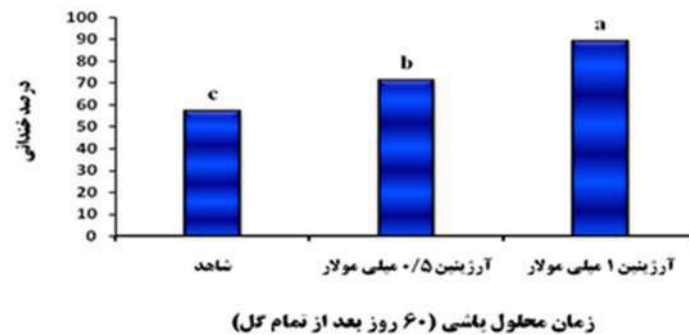
طبق نتایج تحقیق حاضر، کاربرد آرژینین با غلظت یک میلی‌مولار بهترین اثر را در بهبود و افزایش درصد خندانی پسته رقم احمد آقایی داشت که در قیاس با نمونه شاهد این افزایش قابل ملاحظه بود (شکل 2). طبق تحقیقات پیشین در این زمینه، هر عاملی که بتواند سبب افزایش میزان رشد و نمو مغز پسته شود، درصد خندانی را نیز افزایش داده و در مقابل درصد پوکی را کاهش می‌دهد.



شکل 2. اثر تیمار آرژینین روی درصد خندانی در پسته رقم احمد آقایی. ستون‌های دارای حروف متفاوت در سطح 5 درصد آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری دارند.

### درصد پوکی

نتایج بیانگر آن بود که استفاده از اسید آمینه آرژینین در غلظت یک میلی‌مولار به طور چشمگیری توانسته است که درصد پوکی در پسته رقم احمد آقایی را در مقایسه با تیمار شاهد، به میزان بیش از دو برابر کاهش دهد (شکل 3).



شکل 3. اثر تیمار آرژینین روی درصد پوکی در پسته رقم احمد آقایی. ستون‌های دارای حروف متفاوت در سطح 5 درصد آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری دارند.

### نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که در سال پر محصول، تأثیر محلول‌پاشی اسید آمینه آرژینین به میزان زیادی بستگی به غلظت مورد استفاده آن دارد. بنابراین هر دو غلظت کاربردی آرژینین (نیم و یک میلی‌مولار) توانستند سبب کاهش درصد پوکی و افزایش درصد خندانی و وزن میوه شوند. با توجه به این که ایران در رده نخست صادرات پسته قرار دارد، رفع مشکلات فیزیولوژی و به دنبال آن افزایش میزان محصول در پسته، یکی از اهداف اساسی و پیش روی کارشناسان کشاورزی و باغداران محسوب می‌شود.

### منابع و مراجع مورد استفاده

1. Bagheri, V., Shamschiri, M.H., Shirani, H. and Roosta, H.R. 2022. Nutrient uptake and distribution in mycorrhizal pistachio seedlings under drought stress. Journal of Agricultural Science and Technology, 14, 1591-1604.
2. FAO. 2021. Food and Agriculture Organization of the United Nations Website. in: <http://www.faosat.org>.

3. Mohammadi, H., Davary Nejad, G.H. and Khezri, M. 2017. Effect of spray application of calcium compounds combined with free polyamines at different growth stages on physiological problems and yield of Ahmad-Aghai pistachio (*Pistacia vera* L.). Horticulture Science, 30(4), 733-742.
4. Liu, J.H., Kazuyoshi, N., Chikako, H., Hiroyasu, K. and Xiao-Peng, W. 2006. Polyamine biosynthesis of apple callus under salt stress: importance of the arginine decarboxylase pathway in stress response. Journal of Experimental Botany, 57(11), 2589-2599.
5. Besson-Bard, A., Pugin, A. and Wendehenne, D. 2008. New insights into nitric oxide signaling in plants. Journal of Plant Biology, 59(1), 21-39.
6. Nassar, A.H., El-Tarabily, K.A. and Sivasithamparam, K. 2003. Growth promotion of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by a polyamine producing isolate of *Streptomyces griseoluteus*. Journal of Plant Growth, 4(2), 35-43.
7. Ferguson, L., Sanden, B., Grattan, S., Epstein, L. and Krueger, B. 2005. The orchard Pistachio Rootstocks. In Pistachio Production Manual. UC Fruit and Nut Research Publications, California, USA.
8. Amira, M.S. and Qados, A. 2010. Effect of arginine on growth, nutrient composition, yield and nutritional value of mung bean plants grown under salinity stress. Journal of Nature and Science, 8(1), 30-42.

## The role of arginine on some quality characteristics of pistachio fruit (*Pistacia vera* L.) cultivar Ahmad Aghaei

Amin Kordi \*<sup>1</sup>, Zahra Pakkish <sup>2</sup>, Fatemeh Nasibi <sup>2</sup> and Esmaeil Dareh Zerscki <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Master Science (MSc.) Student, Department of Horticultural Sciences, Agricultural College, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

Email : [aminkordi2573@gmail.com](mailto:aminkordi2573@gmail.com)

<sup>2</sup> Associate professors and Assistant professor respectively, Department of Horticultural Sciences, Biology and Metallurgy Shahid Bahonar University of Kerman, Iran.

### Abstract

Today, hormones and nutrients are used to improve vegetative and reproductive growth in many agricultural products. Pistachio is also one of the important and strategic nut products, and increasing its quantitative and qualitative characteristics is important. For this purpose, an experiment was conducted in the form of a completely randomized design with four replications to evaluate the percentage of sweetness, the percentage of porosity and the weight of the fruit. In this research, the amino acid arginine was used at three levels (0, 0.5 and 1 mM) on Ahmad Aghaei pistachio as a foliar spray on the target trees 60 days after all flowering. Examining the results of comparing the averages showed that the treatment of arginine with a concentration of 1 mM had a significant effect on increasing the percentage of fruitiness and fruit weight and caused a significant decrease in the percentage of pokiness compared to the control. Based on this, 1 mM arginine treatment had the best effect on improving the quality characteristics of Ahmad Aghaei pistachio variety in this study.

**Keywords:** Arginine, Growth, Pistachio, Yield.

تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی برگ طی مرحله سازگاری به سرما در دو گونه انگور

روح الله کریمی \*<sup>1</sup>

\* نویسنده مسئول: دانشیار، دکتری رشته علوم باغبانی، گروه علوم باغبانی و فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ملایر

[r.karimi@malayeru.ac.ir](mailto:r.karimi@malayeru.ac.ir)

## را حله ناصر پور<sup>2</sup>

1- دانشجوی کارشناسی ارشد، رشته علوم باغبانی، گروه علوم باغبانی و فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ملایر

### چکیده

این مطالعه با هدف بررسی تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی برگ طی مرحله سازگاری به سرما در دو گونه انگور به صورت فاکتوریل انجام شد. فاکتور اول شامل دو گونه انگور (*Vitis vinifera* و *V. riparia*) و فاکتور دوم شامل 7 مرحله نمونه برداری در مرحله سازگاری به سرما در پاییز (10 مهر تا 10 آذر ماه) بود. فاکتورهای ارزیابی شده در این مطالعه کلروفیل، نشت یونی، پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء و پراکسید هیدروژن و نیز فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز برگ طی هفت مرحله در هر دو گونه اندازه‌گیری شد. هم زمان با کاهش دما و پیشرفت در مراحل نمونه برداری از 10 مهرماه تا 10 آذر ماه محتوای کلروفیل برگ در هر دو رقم روند کاهشی نشان دادند با این تفاوت که در گونه متحمل به سرمای رپاریا روند کاهش این ترکیبات به مراتب کمتر از گونه وینیفرا بود. همچنین در گونه رپاریا درصد نشت الکترولیتی، تولید مالون‌دی‌آلدهید و پراکسید هیدروژن در تمامی مراحل اندازه‌گیری کمتر از گونه وینیفرا بود که حاکی از سازگاری بیشتر گونه رپاریا به دماهای پایین آخر فصل و تداوم رشد در مقایسه با گونه وینیفرا می‌باشد. به همین ترتیب اختلاف معنی‌داری بین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز دو گونه انگور در تمامی مراحل نمونه برداری مشاهده شد. در مجموع در گونه انگور ویتیس رپاریا محتوای کلروفیل و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بیشتر از گونه ویتیس وینیفرا بود که حاکی از سازگاری بیشتر گونه رپاریا به دماهای پایین آخر فصل و تداوم رشد در مقایسه با گونه ویتیس وینیفرا می‌باشد.

کلمات کلیدی: انگور، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، تحمل به سرما، نشت یونی

### مقدمه

انگور به دلیل سازگاری به انواع اقلیم ها و خاک ها و همچنین موارد گوناگون در بیش از 90 کشور جهان کاشته می‌شود. در ایران ارقام مختلفی برای مصارف تازه خوری، تولید کشمش، تولید شیر، تولید سرکه و دیگر موارد پرورش می‌یابد که رقم بیدانه سفید (*Vitis vinifera* L.) از مهم ترین ارقام تجاری انگور مربوط به گونه وینیفرا یا انگور اروپایی در ایران می‌باشد (1). یکی از گونه های دیگر انگور گونه آمریکایی *Vitis riparia* است که بیشتر به عنوان پایه برای گونه وینیفرا استفاده می‌شود این گونه مقاوم به سفید سطحی بوده و متحمل به سرماست ولی به آهک و خشکی حساس است (1). دمای کم از عوامل محیطی مهمی است که رشد، تولید و پراکنش محصولات کشاورزی را محدود می‌کند. گیاهان در پاسخ به شرایط تنش دمای پایین دستخوش یک سری تغییرات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و شوند که گیاه را قادر به بقا و تولید مثل می‌کند. در واقع همزمان با کاهش دما و کوتاه شدن طول روز در اواخر فصل رشد سیگنال های مرتبط با القاء خواب در خلال فرایند سازگاری به سرما در جوانه ها دریافت می‌شود و به لحاظ مورفولوژیکی توقف رشد، شکست کلروفیل و ریزش برگ در تاک ها اتفاق می‌افتد (2). فرایند سازگاری به سرما با کاهش محتوای آب بافت ها، تجمع تنظیم‌کننده‌های اسمزی از قبیل کربوهیدرات‌های محلول، اسیدهای آمینه، تغییر در میزان تنظیم‌کننده‌های رشد شامل افزایش اسید ابسیزیک و کاهش جیبرلین و رسوب بیشتر ترکیبات فنولی از قبیل

سوبرین و لیگنین در اپیدرم و فلس‌های جوانه همراه است. (3). آزمون نشت یونی نسبی به خصوص برای تعیین آسیب به غشاهای سلولی به کار می‌رود. اندازه‌گیری میزان نشت نسبی یونی که بطور عمده شامل یون پتاسیم است، تخمین خسارت بافت‌ها را امکان پذیر می‌کند (4). قند‌ها از غشای سلول و پروتئین‌ها در برابر دمای پایین محافظت کرده و این کار را با کاهش نشت الکترولیت‌ها و ترکیبات سمی که طی فرایند انجماد تولید می‌شوند انجام می‌دهند (3). این مطالعه با هدف بررسی تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی برگ طی مرحله سازگاری به سرما در دو گونه انگور *Vitis vinifera* و *Vitis riparia* بامیزان تحمل به سرمای متفاوت انجام شد.

### مواد روش‌ها

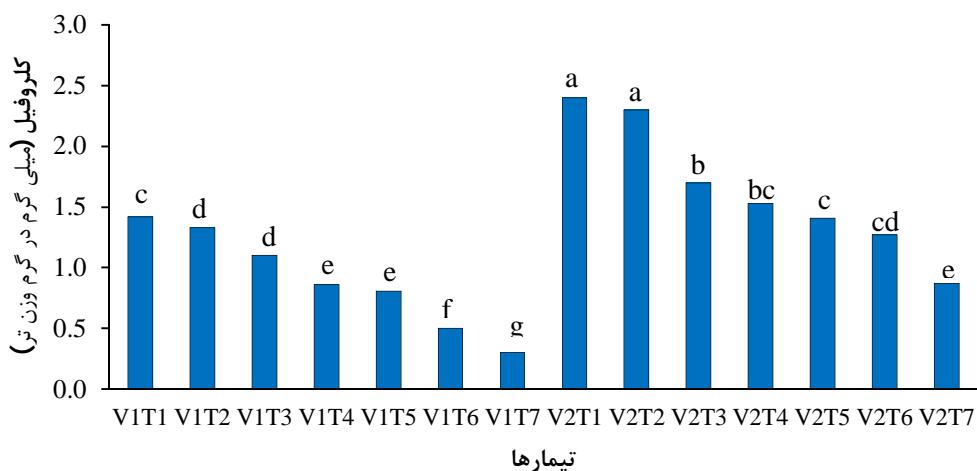
این مطالعه در سال 1399 روی دو گونه انگور *Vitis vinifera* و *Vitis riparia* با تحمل به سرمای متفاوت (به ترتیب 17- و 30- درجه سانتی‌گراد؛ 3) واقع در تاکستان تحقیقاتی شماره 3 دانشگاه ملایر انجام شد. تاک‌ها شش ساله تحت سیستم داربستی کوردون (I شکل) و شبکه آبیاری تحت فشار به صورت ردیف‌های شرقی-غربی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با 5 تکرار (هر تکرار سه بوته) پرورش یافته‌اند و تمام عملیات‌های مرسوم تاکداری شامل تربیت، هرس، آبیاری، کنترل آفات و بیماری‌ها مطابق با عرف منطقه در این تاکستان اعمال شد.

این آزمایش به صورت فاکتوریل (2×7) در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتور اول شامل دو گونه انگور (ویتیس وینیفرا و ویتیس ریپاریا) و فاکتور دوم شامل 7 مرحله نمونه برداری در مرحله سازگاری به سرما (10 مهر، 20 مهر، 30 مهر، 10 آبان، 20 آبان، 30 آبان و 10 آذر) بود. نمونه برداری در این تحقیق طی هفت مرحله با فواصل زمانی منظم 10 روز یکبار از دهم مهرماه تا دهم آذر سال 1399 از برگ‌های میانی شاخه‌های یکساله انجام و محتوای کلروفیل (4)، نشت یونی (1)، پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء (5)، پراکسید هیدروژن (5) و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز، گاپاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز برگ (6) اندازه‌گیری شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS و با آزمون چند دامنه‌ای دانکن تجزیه و تحلیل شد.

### نتایج و بحث

**محتوای کلروفیل:** اثر گونه، زمان و اثر متقابل آنها بر محتوای کلروفیل برگ انگور ویتیس وینیفرا و ویتیس ریپاریا به ترتیب در سطح 1%، 5% و 5% معنی‌دار شد. با پیشرفت در مراحل نمونه برداری به دلیل کاهش دما و تجزیه کلروفیل محتوای این رنگیزه گیاهی در هر دو گونه روند کاهشی نشان داد با این تفاوت که در گونه ویتیس ریپاریا در مقایسه با گونه ویتیس وینیفرا در سطح بالاتری حفظ شده بود که حاکی از پایداری بیشتر کلروفیل در این گونه در مواجهه با دمای پایین می‌باشد (نمودار 1). کاهش محتوای کلروفیل تحت تنش سرما ممکن است با صدمات اکسایشی وارده به غشاء‌های کلروپلاست، القاء پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء و سپس تخریب کلروفیل با افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز مرتبط باشد (7).





نمودار 1- برگ مقایسه میانگین اثر گونه و زمان نمونه برداری بر محتوای کلروفیل برگ انگور در مرحله سازگاری به سرما. V1: گونه ویتیس وینیفر؛ V2: ویتیس ریپاریا؛ T1 تا T7 به ترتیب نمونه برداری در 10، 20 و 30 مهر، 10، 20 و 30 آبان و 10 آذر

شاخص‌های پایداری غشاء: اثر گونه، زمان نمونه برداری و اثر متقابل آنها بر میزان نشت یونی، محتوای مالون دی آلدئید پراکسید هیدروژن برگ انگور ویتیس وینیفر و ویتیس ریپاریا به ترتیب در سطح احتمال 1% معنی دار شد.

جدول 1- مقایسه میانگین اثر گونه و زمان نمونه برداری بر شاخص‌های پایداری غشاء و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان برگ انگور در

مرحله سازگاری به سرما

گونه انگور	تاریخ نمونه برداری	نشت الکترولیتی (%)	مالون دی آلدئید (μmol/g)	پراکسید هیدروژن (μmol/g)	کاتالاز (U/g)	گاباکول پراکسیداز (U/g)	آسکوربات پراکسیداز (U/g)
<i>V. vinifera</i>	10 مهر	25/7g	6/21h	3/12g	4/10h	3/69g	3/80f
	20 مهر	27/8f	6/92ef	4/42e	4/90fg	4/14de	4/09e
	30 مهر	29/5e	7/47de	5/35cd	5/30de	4/31d	4/41cd
	10 آبان	35/5d	8/54d	5/71c	5/11ef	4/10ef	4/95b
	20 آبان	39/1c	9/35bc	6/31b	4/88fg	3/85fg	4/40cd
	30 آبان	47/5b	9/92b	6/56ab	4/15h	3/60gh	3/73f
	10 آذر	57/9a	11/13a	6/79a	3/53i	3/41h	2/66g
<i>V. riparia</i>	10 مهر	15/3i	6/29h	1/68i	5/80c	5/24c	4/86bc
	20 مهر	16/7i	6/60g	2/06hi	6/16bc	5/86b	4/88bc
	30 مهر	20/4h	6/72fg	2/76h	6/24ab	5/94ab	5/15ab
	10 آبان	27/7ef	7/12ef	3/29fg	6/82a	6/22a	5/27a
	20 آبان	29/4e	7/82cd	3/86f	5/41d	5/51bc	4/50c
	30 آبان	33/7d	8/52d	5/17d	5/19de	4/43d	4/32de

4/20de

3/89fg

5/02ef

5/76c

9/11c

39/5c

10 آذر

میزان نشت یونی، محتوای مالون دی آلدئید پراکسید هیدروژن به عنوان شاخص های بیوفیزیکی و بیوشیمیایی نشان دهنده پایداری غشاء، با پیشرفت در مراحل نمونه برداری به دلیل کاهش دما در هر دو گونه، روند افزایشی نشان داد با این تفاوت که در گونه ویتیس ریپاریا در مقایسه با گونه ویتیس وینفرا مقدار این شاخص ها کمتر بود. این نتیجه نشان دهنده پایداری بیشتر غشای پلاسمایی سلول های برگ گونه ریپاریا در مواجهه با دمای پایین می باشد (جدول 1). پس از تنش یخ زدگی، اندازه گیری درصد نشت یونی بافت ها به عنوان یک شاخص مناسب جهت تخمین سلامت و تراوایی غشاء می باشد که توسط محققین مختلف جهت محاسبه مقاومت به سرمای گیاهان استفاده شده است (1). در انگور و انار تنش سرما منجر به افزایش نشت یونی برگ و شاخه شده است که حاکی از صدمات وارده به غشاء سلول ها در این شرایط است. تنش اکسایشی یکی از دلایل ایجاد صدمات غشایی است که در نتیجه افزایش تولید گونه های فعال اکسیژن ایجاد می شود. تنش سرما با کاهش سیالیت فسفولیپیدهای غشاء های زیستی یا غیر فعال کردن آنها و یا دست کم کاهش سرعت پمپ های یونی متصل به غشاء، ضمن کاهش یا اختلال در عملکرد غشاء، نشت یونی را افزایش می دهد. این نتیجه نشان دهنده آسیب کمتر غشای پلاسمایی سلول های برگ گونه ریپاریا در مواجهه با دمای پایین می باشد (جدول 4-2) که با فعالیت بیشتر آنزیم های آنتی اکسیدانی در برگ این گونه در مقایسه با گونه وینفرا می تواند مرتبط باشد. در گیاهان، غشاء سلولی یکی از اولین مکان هایی است که در مواجهه با دمای پایین آسیب می بیند. افزایش سطح مالون دی آلدئید یکی از شاخص هایی است که میزان آسیب وارده به غشاء را نشان می دهد (4) و به عبارتی منعکس کننده آسیب های اکسایشی وارده به لیپید های غشاء است. تجمع بیشتر گونه های فعال اکسیژن در برگ ها همزمان با نزدیک شدن به زمان خزان می تواند با کاهش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان از قبیل کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز اندازه گیری شده در این مطالعه همخوانی دارد.

**آنزیم های آنتی اکسیدان:** اثر گونه، زمان نمونه برداری و اثر متقابل آنها بر فعالیت کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات-پراکسیداز برگ انگور ویتیس وینفرا و ویتیس ریپاریا به ترتیب در سطح احتمال 1% معنی دار شد. در گونه وینفرا میزان فعالیت آنزیم کاتالاز و گایاکول پراکسیداز از 10 مهرماه تا 30 مهرماه روند افزایشی داشت ولی تا تاریخ 10 آذر ماه میزان فعالیت این آنزیم ها کاهش یافت که حاکی از کاهش فعالیت متابولیکی در برگ در جهت فرایند خزان و ریزش برگ می باشد. در مورد گونه ریپاریا میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان تا 10 آبان ماه روند افزایشی و بعد از آن تا آخرین مرحله روند کاهش نشان داد (جدول 2) که با تداوم رشد، حفظ کلروفیل و خزان دیرتر در این گونه در ارتباط می باشد. فعالیت کمتر آنزیم کاتالاز در انتهای مراحل نمونه برداری می تواند با کاهش کارایی فتوسنتز به دلیل کاهش دما و غلظت کلروفیل کمتر نیز در ارتباط باشد (4). در مورد آنزیم آسکوربات پراکسیداز هر دو گونه انگور تا مرحله چهارم نمونه برداری در 10 آبان ماه روند افزایشی و سپس تا انتهای مرحله نمونه برداری روند کاهش نشان داد که می تواند با فعالیت تجزیه کننده آنزیم پراکسیداز در ارتباط باشد. تحت تنش دمای پایین فعالیت بیشتر آنزیم های کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز نقش مهمی در بهبود کارایی فعالیت خنثی کننده گونه های فعال

اکسیژن دارد (1). افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان یک مکانیسم حفاظت کننده دستگاه فتوسنتز در مواجهه با تنش اکسایشی است (1).

### نتیجه گیری

طی مرحله سازگاری به سرما در گونه انگور ویتیس ریپاریا درصد نشت الکترولیتی، تولید مالون‌دی‌آلدهید و پراکسید هیدروژن به عنوان بیومارکرهای پایداری غشا کمتر ولی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بیشتر از گونه ویتیس وینیفرا بود که حاکی از سازگاری بیشتر گونه ریپاریا به دماهای پایین آخر فصل و تداوم رشد در مقایسه با گونه وینیفرا می‌باشد.

### منابع

1. کریمی، ر. (1393). ارزیابی اثر تغذیه و اسید اسیزیک روی مقاومت به سرمای انگور. رساله دکتری، دانشگاه بوعلی سینا همدان، ایران.
2. Karimi R. 2020. Cold Hardiness Evaluation of 20 Commercial Table Grape (*Vitis vinifera* L.) Cultivars, International Journal of Fruit Science, 20:3, 433-450,
3. Karimi, R. 2017. Potassium-induced freezing tolerance is associated with endogenous abscisic acid, polyamines and soluble sugars changes in grapevine. Sci. Hortic. 215, 184–194.
4. Lichtenthaler, H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. Methods Enzymol, 148:350-382.
5. Heath, R. L. and Packer, L. 1968. Photo-peroxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry and Biophysics, 125, 189–198.
6. Bergmeyer, N. (1970) Methoden der enzymatischen Analyse". Vol. 1. AkademieVerlag, Berlin, pp. 636-647.

## Physiological and biochemical changes of leaves during cold acclimation stage in two grape species

Rouhollah Karimi<sup>1,\*</sup>, Raheleh Naserpour<sup>1</sup>

Department of Horticulture and Landscape Engineering, Faculty of Agriculture, Malayer University, Iran

Corresponding authors: [r.karimi@malayeru.ac.ir](mailto:r.karimi@malayeru.ac.ir)

### Abstract

This study aimed to investigate the physiological and biochemical changes of leaves during the stage of adaptation to cold in two grape species in a factorial manner. The first factor included two types of grapes (*Vitis vinifera* and *V. riparia*) and the second factor included 7 stages of sampling in the cold acclimation phase in autumn. The evaluated factors in this study were chlorophyll, ion leakage, peroxidation of membrane lipids and hydrogen peroxide, as well as activity of antioxidant enzymes catalase, guaiacol peroxidase and ascorbate peroxidase in leaves were measured during seven stages in both species. At the same time with the decrease in temperature and progress in the sampling stages from October 10 to November 10, the leaf chlorophyll content in both cultivars showed a decreasing trend, with the difference that in the cold-tolerant species of *V. riparia*, the decreasing trend of these compounds was far less than in the *V. vinifera* species. Also, in *V. riparia* species, the percentage of electrolyte leakage, malondialdehyde and hydrogen peroxide production in all stages of measurement was lower than *V. vinifera* species, which indicates that *V. riparia* species is more adaptable to low temperatures at the end of the season and continues to grow compared to *V. vinifera* species. In the same way, a significant difference between the activities of the antioxidant enzymes catalase, guaiacol peroxidase and ascorbate peroxidase of two grape varieties was observed in all stages of sampling. In general, the chlorophyll content and activity of antioxidant enzymes were higher in *V. riparia* than *V. vinifera*, which indicates that *Riparia* is more adaptable to low temperatures at the end of the season and continues to grow compared to *V. vinifera*.

**Keywords:** Grapes, antioxidant enzymes, cold tolerance, ion leakage

## بررسی دینامیک نیتروژن و پتاسیم برگ در مرحله سازگاری به سرما و ارتباط آن با تغییرات پلی آمین ها، قندهای محلول و اسید ابسیزیک دو گونه انگور

روح الله کریمی<sup>1\*</sup>

1 و\* نویسنده مسئول: دانشیار، رشته علوم باغبانی، گروه علوم باغبانی و فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ملایر

[r.karimi@malayeru.ac.ir](mailto:r.karimi@malayeru.ac.ir)

راحله ناصرپور<sup>2</sup>

2- دانشجوی کارشناسی ارشد، رشته علوم باغبانی، گروه علوم باغبانی و فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ملایر

### چکیده

این مطالعه با هدف بررسی دینامیک نیتروژن و پتاسیم برگ در مرحله سازگاری به سرما و ارتباط آن با تغییرات ترکیبات نیتروژنی، قندهای محلول و اسید ابسیزیک دو گونه انگور *Vitis riparia* و *Vitis vinifera* انجام شد. این آزمایش به صورت فاکتوریل (7×2) انجام شد. فاکتور اول شامل دو گونه انگور و فاکتور دوم شامل مراحل نمونه برداری طی مرحله سازگاری به سرما در پاییز بود که از دهم مهرماه تا دهم آذر سال 1399 از برگ‌های میانی شاخه‌های یکساله هر دو گونه نمونه برداری شد. هم زمان با کاهش دما و پیشرفت در مراحل نمونه برداری از 10 مهرماه تا 10 آذر ماه محتوای نیتروژن و پتاسیم در هر دو رقم روند کاهشی نشان داد با این تفاوت که در گونه متحمل به سرمای ویتیس‌ریپاریا روند کاهش این عناصر به مراتب کمتر از گونه ویتیس‌وینیفرا بود. پلی آمین‌های پوتریسین، اسپرمین و اسپرمیدین به عنوان ترکیبات نیتروژن‌دار و قندهای محلول گلوکز، فروکتوز و ساکاروز به عنوان ترکیبات تنظیم‌کننده اسمزی در برگ هر دو گونه انگور همزمان با پیشرفت در سازگاری به سرما روند کاهشی نشان داد که این کاهش در گونه ویتیس‌وینیفرا چشم‌گیرتر از گونه ویتیس‌ریپاریا بود. اسید ابسیزیک برگ در هر دو رقم از 10 مهر تا 10 آذر روند کاهشی نشان داد با این حال در گونه متحمل به سرمای ویتیس‌ریپاریا تا آخرین مرحله نمونه برداری در سطح بالاتری قرار گرفت. تغییرات پتاسیم با تغییرات قندهای محلول و اسید ابسیزیک طی فرایند سازگاری به سرما در برگ مشاهده شد که حاکی از دینامیک این عناصر در سازگاری به سرما در گونه‌های انگور می‌باشد.

کلمات کلیدی: انگور، اسید ابسیزیک، پلی آمین‌ها، تحمل به سرما، تغییرات عناصر

### مقدمه

انگور یک محصول چند ساله است که در آن غلظت عناصر معدنی در طول فصل رشد تغییر می‌کند. بخشی از مواد مغذی معدنی تا یک سال از خاک گرفته می‌شود، بخش دیگر در نتیجه توزیع مجدد عناصر ذخیره شده در بافت‌های چوبی و ریشه‌ای که به عنوان اندام‌های ذخیره‌ای در فصل خواب عمل می‌کنند تامین می‌شود. در انگور بیشترین نیاز به نیتروژن در مرحله بین گلدهی و وریسن اتفاق می‌افتد. با این حال بخش عمده‌ای از جذب نیتروژن در مرحله پس از برداشت اتفاق می‌افتد (27-37)

درصد جذب سالانه) که این مقدار 60% نیتروژن ذخیره شده برای سال بعد را تشکیل می دهد. در انگور بیشترین جذب پتاسیم، کلسیم و منیزیم بین گلدهی و اولین مراحل رسیدن رخ داده است (1). در انگور توزیع متحرک سازی نیتروژن از برگ و انباشت آن در سازه های دائمی از زمان رسیدن میوه تا برداشت رخ می دهد به طوری که بین برداشت و خزان برگ میزان نیتروژن افت شدیدی نشان می دهد. با این حال نتیجه ای بر خلاف نتایج فوق گزارش شده که حاکی از جذب قابل توجهی از P و N و K بعد از برداشت در انگور می باشد (2). نمونه برداری از برگ تاک بالغ برای دیدن پارتیشن بندی عناصر غذایی و توزیع مجدد در بافت های دائمی مورد استفاده قرار می گیرد تا تصویر کاملی از دینامیک مواد مغذی ارائه شود این کار با هدف بررسی الگوی فصلی جذب و توزیع مجدد مواد مغذی در انگورهای بالغ انجام می شود (3).

فرایند سازگاری به سرما با کاهش محتوای آب بافت ها، تجمع تنظیم کننده های اسمزی از قبیل کربوهیدرات های محلول، اسیدهای آمینه، تغییر در میزان تنظیم کننده های رشد شامل افزایش اسید ابسیزیک و کاهش جیبرلین همراه است (4). بررسی دینامیک عناصر غذایی و ارتباط دقیق آن با تحمل به سرما در ارقام و گونه های انگور یکی از مطالعات بنیادی فیزیولوژیکی است که بین ما را در زمینه مدیریت تغذیه تاکستان به منظور بهبود تحمل به سرمای جوانه های تاک و تولید پایدار افزایش می دهد که در این مطالعه به آن پرداخته شده است.

## مواد و روش ها

این مطالعه در سال 1399 روی دو گونه انگور *Vitis vinifera* و *Vitis riparia* با تحمل به سرمای متفاوت (به ترتیب 17- و 30- درجه سانتی گراد؛ 3) واقع در تاکستان تحقیقاتی شماره 3 دانشگاه ملایر انجام شد. تاکها شش ساله تحت سیستم داربستی کوردون دوطرفه و شبکه آبیاری تحت فشار به صورت ردیف های شرقی - غربی در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با 5 تکرار (هر تکرار سه بوته) پرورش یافته اند و تمام عملیات های مرسوم تاکداری شامل تربیت، هرس، آبیاری، کنترل آفات و بیماری ها مطابق با عرف منطقه در این تاکستان اعمال شد.

این آزمایش به صورت فاکتوریل (2×7) در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتور اول شامل دو گونه انگور (ویتیس وینیفر و ویتیس ریپاریا) و فاکتور دوم شامل 7 مرحله نمونه برداری در مرحله سازگاری به سرما (10 مهر، 20 مهر، 30 مهر، 10 آبان، 20 آبان، 30 آبان و 10 آذر) بود. نمونه برداری در این تحقیق طی هفت مرحله با فواصل زمانی منظم 10 روز یکبار از دهم مهرماه تا دهم آذر سال 1399 از برگ های میانی شاخه های یکساله انجام و محتوای هورمون اسید ابسیزیک (4)، پلی آمین ها شامل پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین (5)، قندهای محلول شامل ساکاروز، گلوکز و فروکتوز (4) و عناصر پتاسیم و نیتروژن سنجیده شد. داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SAS و با آزمون چند دامنه ای دانکن تجزیه و تحلیل شد.

## نتایج و بحث

**قندهای محلول:** در هردو گونه ویتیس ریپاریا و ویتیس وینیفر محتوای ساکاروز، گلوکز و فروکتوز از تاریخ 10 مهرماه تا 10 آذرماه به تدریج روند کاهشی نشان داد. اگرچه در هر مرحله از نمونه برداری مقدار قندهای محلول برگ در گونه ریپاریا در سطح بالاتری نسبت به گونه وینیفر قرار داشت (جدول 1). در انتهای فصل به دلیل انتقال بیشتر مواد فتوسنتزی از قبیل قندهای محلول به بافت های دائمی میزان تجمع این ترکیبات همزمان با نزدیک شدن به مرحله خزان برگ کاهش می یابد. انتقال قندها و حتی

تجزیه پلی ساکاریدها به قندهای محلول از برگ ها به جوانه ها و بافت های دائمی علاوه بر عوامل محیطی از فیل کاهش طول روز و کاهش دما تحت کنترل هورمون اسید ابسیزیک می باشد (4) که فرایندهای القاء خواب و سازگاری به سرما در تاک را فراهم می کند (2). در مطالعه کریمی (4) تغییرات فصلی در غلظت ساکاروز، گلوکز، فروکتوز و رافینوز جوانه انگور بیدانه سفید طی فصل خواب اندازه گیری شد. غلظت قندهای محلول در پاییز شروع به افزایش نموده و در دی و بهمن به حداکثر رسید و پس از آن تا بهار شروع به کاهش کرد. بیشترین غلظت قندهای محلول در بهمن ماه همزمان با اوج مقاومت به سرمای ارقام مشاهده شد. این نتایج حاکی از دخالت مستقیم قندهای محلول در تنظیم اسمزی و سطح تحمل به سرمای بافت های مختلف تاک می باشد که تاییدی بر یافته های مطالعه حاضر است.

**پلی آمین ها:** روند تغییرات پلی آمین های پوترسین، اسپریمین و اسپرمیدین برگ به عنوان یکی از مهمترین ترکیبات نیتروژن دار تاثیرگذار در فرایند سازگاری به سرما از اولین مرحله نمونه برداری در 10 مهر تا پایان مرحله نمونه برداری با پیشرفت در مراحل نمونه برداری افزایش یافت (جدول 1). ارتباط بین پلی آمین ها و تحمل به سرما در انگور تحت تنش سرما (4) و نیز ارتباط آنها با اسید ابسیزیک در راستای حفظ پایداری غشا در مطالعات دیگران به اثبات رسیده است که تاییدی بر نتایج مطالعه حاضر است. دخالت پلی آمین ها به عنوان یک جز موثر در سازگاری بهینه به سرما در گزارشات قبلی به اثبات رسیده است (4). این گزارشات و نتایج مطالعه حاضر حاکی از نقش پلی آمین ها در فرایند سازگاری به سرما در تاک ها می باشد.

**اسید ابسیزیک:** غلظت اسید ابسیزیک از 10 تا 20 مهرماه تغییر معنی داری نداشت با این حال از اول آبان ماه تا پایان آخرین مرحله نمونه برداری محتوای این فیتوهورمون در هر دو گونه با شیب تندی افزایش یافت (جدول 1). طی مرحله سازگاری به سرما افزایش اسید ابسیزیک ضمن حفظ پایداری غشاء باعث راه اندازی مکانیسم های لازم برای ایجاد لایه های جداکننده در دمبرگ و خران برگ می شود با توجه به طولانی بودن مرحله رشد در گونه ریپاریا افزایش بیشتر اسید ابسیزیک می تواند با پایداری بیشتر برگ ها تحت دمای پایین مرتبط باشد. با این حال در گونه وینیفرا با توجه به خزان زودتر اسید ابسیزیک منجر به راه اندازی مکانیسم های ریزش برگ به عنوان یک هورمون درگیر در ریزش برگ و القاء کننده خواب می شود.

جدول 1- مقایسه میانگین اثر گونه و زمان نمونه برداری بر غلظت قندهای محلول، پلی آمین های، اسید ابسیزیک، پتاسیم و نیتروژن برگ انگور در مرحله سازگاری به سرما

گونه انگور	تاریخ نمونه برداری	ساکاروز (μmol/g)	گلوکز (μmol/g)	فروکتوز (μmol/g)	پوترسین (μmol/g)	اسپرمیدین (μmol/g)	اسپریمین (μmol/g)	ABA (nmol/g)	پتاسیم (%)	نترات (ppm)
V. vinifera	10 مهر	5/90ab	48/10bc	40/40b	9/1g	12/5h	14/0h	181/20ef	1/32de	22/10h
	20 مهر	5/84ab	46/80cd	39/50b	11/4f	13/1h	14/7h	269/60cd	1/48cd	22/20h
	30 مهر	5/30cd	44/00def	38/00cd	14/2d	15/7fg	16/6fg	274/00bcd	1/58b	24/60g
	10 آبان	5/04d	41/63f	36/63de	15/7c	16/83e	19/43de	190/10e	1/37cd	28/03f
	20 آبان	4/66e	37/80g	35/00def	17/6b	18/4cd	20/8cd	159/10g	1/32de	29/40ef
	30 آبان	4/40e	35/20gh	33/40g	18/1ab	19cd	22/6bc	154/70h	1/25de	30/71ef
	10 آذر	4/23e	34/40h	33/70g	18/9a	19/7c	23/4b	163/50fg	0/98f	31/50ef
	10 مهر	6/82a	52/20a	41/60a	11/5f	15/4g	16gh	287/30cd	1/51bc	30/50ef

29/40ef	1/64ab	322/70b	15/1h	16/1ef	12/6e	41/10a	51/00ab	6/27a	20 مهر	V. <i>riparia</i>
33/60d	1/64ab	359/70ab	18/2e	17/9d	13/9d	38/80bc	48/30bc	5/96ab	30 مهر	
38/10c	1/74a	377/40a	19/7cde	19/5c	15/3c	37/00de	45/60cde	5/62b	10 آبان	
40/50bc	1/55bc	238/70d	21/4c	22/6b	17/4b	36/20ef	43/80ef	5/27cd	20 آبان	
42/40ab	1/36cd	168/00f	23/7b	24/2a	18/2ab	35/10efg	42/90ef	5/16d	30 آبان	
43/60a	1/15e	153/00h	24/8a	25/0a	19a	34/40fg	41/20f	5/07d	10 آذر	

در مطالعه کریمی (4) تغییرات فصلی در غلظت اسید ابسیزیک جوانه در رقم بیدانه سفید طی فصل خواب اندازه گیری شد. غلظت اسید ابسیزیک در پاییز شروع به افزایش نموده و در دی و بهمن به حداکثر رسید و پس از آن تا بهار شروع به کاهش کرد. بیشترین غلظت اسید ابسیزیک در بهمن ماه همزمان با اوج تحمل به سرمای ارقام مشاهده شد. همچنین غلظت این فیتوهورمون در رقم متحمل به سرمای خلیلی بیشتر از رقم نیمه متحمل عسگری و رقم حساس به سرمای پرلت بود (1). این نتایج حاکی نقش اسید ابسیزیک در راه اندازی فرایندهای متابولیکی مرتبط با سازگاری به سرما در بافت های مختلف تاک می باشد که تاییدی بر یافته های مطالعه حاضر است.

نیترژن و پتاسیم: مقدار نیترات برگ در گونه وینفرا در اولین زمان نمونه برداری 181/2 پی پی ام بود. با این حال در دومین و سومین مرحله نمونه برداری مقدار نیترات به تدریج افزایش پیدا کرد و به 274 پی پی ام رسید و بعد از این مرحله مقدار نیترات تا زمان خزان برگ روند کاهشی نشان داد به طوری که در آخرین مرحله نمونه برداری میزان یون به 163/5 پی پی ام رسید. در مورد محتوای نیترات در برگ گونه رپاریا نیز همین الگوی تغییرات حاکم بود با این تفاوت که مقدار افزایش نیترات برگ تا چهارمین مرحله یعنی 10 آبان ماه ادامه داشت و همچنین در تمامی مراحل نمونه برداری محتوای نیترات برگ این گونه در مقایسه با گونه وینفرا در سطح بالاتری مشاهده شد (جدول 1). در توجیه این تغییرات می توان گفت که مقادیر کمتر نیترات در اولین مرحله (بلافاصله بعد برداشت) به دلیل انتقال نیترژن از برگ به میوه ها به عنوان سینک بوده است (1) و پس از برداشت با توجه به مساعد بودن شرایط رشد و تداوم فتوسنتز تا 30 مهرماه مقدار تجمع نیترات در برگ ها افزایش یافته است و بعد از آن به دلیل متحرک سازی مجدد و تخلیه این عنصر از برگ جهت ذخیره در بافت های دائمی مقدار آن کاهش یافت (4). مقادیر بالاتر نیترات در برگ گونه رپاریا در مقایسه با گونه وینفرا می تواند با تاخیر در خزان و تداوم رشد بیشتر این گونه در انتهای فصل در ارتباط باشد. این نتیجه حاکی از انتقال نیترژن بعد از برداشت از برگ ها تا زمان خزان ادامه داشته و در بافت های دائمی ذخیره می شود (1).

در مورد پتاسیم برگ نیز الگویی شبیه به نیترات در ابتدای مراحل نمونه برداری تا زمان خزان حکم فرما بود به عبارت دیگر مقدار پتاسیم برگ در گونه وینفرا در سومین مرحله نمونه برداری در 30 مهر در مقایسه با مراحل قبل و بعد بیشترین مقدار بود. در مورد محتوای پتاسیم در برگ گونه رپاریا نیز همین الگوی تغییرات حاکم بود با این تفاوت که مقدار افزایش پتاسیم برگ تا چهارمین مرحله یعنی 10 آبان ماه ادامه داشت و همچنین در تمامی مراحل نمونه برداری محتوای پتاسیم برگ این گونه در مقایسه با گونه وینفرا در سطح بالاتری وجود داشت (جدول 1). بهبود وضعیت پتاسیم در گیاه به دلیل سنتز آنزیم های خنثی کننده پراکسید هیدروژن

و اکسیژن فعال، باعث محافظت از غشاء در برابر تنش اکسایشی ناشی از یخزدگی می شود و از این طریق باعث افزایش پایداری غشاء در برابر نشت یونی می شود (4).

## منابع

1. Pradubsuk, S. and Davenport, J. R. 2010. Seasonal uptake and partitioning of macronutrients in mature 'Concord' grape. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 135(5), 474-483.
2. Conradie, W.J. 1992. Partitioning of nitrogen by the grapevine during autumn and the utilization of nitrogen reserves during the following growing season. *South African J. Enol. Viticult.* 13:45-51.
3. Strik, B. C. 2015. Seasonal variation in mineral nutrient content of primocane-fruiting blackberry leaves. *HortScience*, 50(4), 540-545. 1453-1466.
4. Karimi, R. 2017. Potassium-induced freezing tolerance is associated with endogenous abscisic acid, polyamines and soluble sugars changes in grapevine. *Sci. Hortic.* 215, 184-194.
5. Walter, H., Geuns, J., 1987. High speed HPLC analysis of polyamines in plant tissues. *Plant Physiol.* 83 (23), 2-234.

## **Investigation of leaf nitrogen and potassium dynamic in cold acclimation period and their association with nitrogenous compound, soluble sugars and abscisic acid content in two grape species**

**Rouhollah Karimi<sup>1,\*</sup>, Raheleh Naserpour<sup>1</sup>**

Department of Horticulture and Landscape Engineering, Faculty of Agriculture, Malayer University, Iran

**Corresponding authors:** [r.karimi@malayeru.ac.ir](mailto:r.karimi@malayeru.ac.ir)

### **Abstract**

This study was conducted with the aim of investigating the dynamics of leaf nitrogen and potassium in cold acclimation stage and its relationship with changes in nitrogen compounds, soluble sugars and abscisic acid of two grape species, *Vitis riparia* and *Vitis vinifera*. This experiment was done as a factorial (2 x 7). The first factor included two grapes species and the second factor included the sampling stages during the cold acclimation phase in autumn, which was sampled from the middle leaves of the cane of both species from October 10th to December 10th 2019. Simultaneously with the decrease in temperature and progress in the sampling stages from October 10 to December 10, the content of nitrogen and potassium in both cultivars showed a decreasing trend, with the difference that in the cold-tolerant *Vitis riparia*, the decreasing trend of these elements is much lower than *Vitis vinifera* species. Polyamines putrescin, spermine and spermidine as nitrogenous compounds and soluble sugars glucose, fructose and sucrose as osmotic regulating compounds in the leaves of both grape species showed a decreasing trend along with progress in acclimation to cold. The decrease in *Vitis vinifera* species was more impressive than *Vitis riparia* species. The abscisic acid of leaves showed a decreasing trend in both cultivars from October 10 to December 10, however, it was at a higher level in the cold-tolerant species *Vitis riparia* until the last stage of sampling. Changes in potassium with changes in soluble sugars and abscisic acid were observed during the cold acclimation process in leaves, which indicates the dynamics of these elements in cold acclimation in grape species.

**Key words:** grapes, abscisic acid, polyamines, cold tolerance, changes of elements



## پرولین و تأثیر آن در بهبود برخی ویژگی‌های پسته رقم احمد آقایی

مریم محمدی جرجافکی<sup>1\*</sup> و زهرا پاک‌کیش<sup>2</sup>

1- \* نویسنده مسئول: دانشجوی کارشناسی ارشد، بخش مهندسی علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان.

Email : [maryam.mohammadi1775@gmail.com](mailto:maryam.mohammadi1775@gmail.com)

2- دانشیار، بخش مهندسی علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان.

### چکیده

پسته از محصولات مهم در کشور ایران است که بهبود رشد و نمو و میزان عملکرد آن بسیار مورد توجه می‌باشد. کاربرد ترکیبات آلی در جهت افزایش ویژگی‌های کمی و کیفی پسته در سال‌های اخیر مورد بررسی قرار گرفته است. در پژوهش حاضر به بررسی تیمار اسید آمینه پرولین روی برخی ویژگی‌های پسته رقم احمد آقایی پرداخته شده است. درختان پسته رقم احمد آقایی با پرولین در غلظت‌های؛ صفر (شاهد)، 0/5 و 1 میلی‌مولار در اوایل مرحله رشد مغز تیمار شدند. صفاتی نظیر؛ درصد پوکی، درصد خندانی و وزن میوه اندازه‌گیری گردیدند. کاربرد پرولین 0/5 و 1 میلی‌مولار در اوایل مرحله رشد مغز، در مقایسه با شاهد روی پوکی، خندانی و وزن میوه تأثیر معنی‌داری داشت. نتایج نشان دادند، کاربرد پرولین 1 میلی‌مولار مؤثرترین تیمار در این پژوهش بوده است. **واژگان کلیدی:** پرولین، پسته، رشد، عملکرد.

### مقدمه

پسته با نام علمی (*Pistacia vera* L.) یک محصول باغی، با اهمیت اقتصادی بالا در مناطق با آب و هوای خشک و نیمه خشک بوده و از نظر صادرات و ارزآوری به کشور جزء محصولات مهم کشاورزی محسوب می‌شود. گل آذین نر در پسته به شکل خوشه بوده و هر خوشه توده‌ای متشکل از 250-50 گل می‌باشد. گل آذین ماده، همانند گل آذین نر در پسته به شکل خوشه است، با این تفاوت که قرار گرفتن گل‌ها روی خوشه به شکل منفرد و با فاصله از یکدیگر می‌باشد (1). در ارتباط با عملکرد، کیفیت و تداوم باردهی منظم پسته مسائل زیادی وجود دارد. افزایش عملکرد پسته در واحد سطح در صورتی ممکن خواهد بود که عوامل مؤثر بر تولید در حد بهینه و مطلوب برای گیاه فراهم باشند. از این رو نوع و میزان کودهای آلی و شیمیایی و نیز زمان و روش مصرف آن‌ها تأثیر زیادی بر میزان عملکرد این گیاه خواهد داشت (2). با توجه به ارزش غذایی و اقتصادی محصول پسته و نیز با در نظر داشتن مشکلات کم آبی و خشکسالی در بیشتر مناطق ایران، استفاده از اسیدهای آمینه می‌تواند در کاهش اثرات زیان‌بار حاصل از تنش‌های محیطی بر محصولات مختلف مانند کاهش رشد و عملکرد محصول مؤثر باشد. زیرا اسیدهای آمینه مانند پرولین منجر به تنظیم اسمزی بهتر در سلول شده و به ادامه فعالیت سلول در شرایط نامساعد حاصل از تنش کمک می‌کند. از این رو آزمایشی با بررسی اثرات پرولین بر عملکرد و سایر ویژگی‌های پسته رقم احمد آقایی انجام گردید. پرولین یک اسید آمینه با وزن مولکولی کم بوده که در زمینه‌های متفاوتی در فعالیت‌های گیاهان نقش دارد. پرولین به عنوان یک اسموتیک علاوه بر تنظیم اسمزی، ساختمان سه بعدی پروتئین‌ها را در مقابل تنش حفظ نموده و منبعی از نیتروژن و کربن برای رشد و ترمیم گیاهان بوده و یک خورنده رادیکال‌های آزاد است که باعث پایداری غشاها و حفاظت آنزیم‌ها از اثرات مخرب تنش

می شود و از این رو تداوم رشد را ممکن می سازد. پرولین قادر است تا سمیت رادیکال های آزاد را با تشکیل ترکیبات اضافی با عمر طولانی از بین ببرد (3 و 4). بنابراین در سلول های گیاهان مقاوم، برای مقابله با تنش ایجاد شده، سیستم دفاعی آنزیمی شامل؛ سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز و سیستم غیر آنزیمی شامل؛ آسکوربیک اسید، گلوتاتیون، آلفا توکوفرول و پرولین فعال می شوند (5). هدف این تحقیق کاربرد تیمار خارجی پرولین جهت افزایش درصد خندانی و وزن میوه و کاهش درصد پوکی در پسته رقم احمد آقایی بوده است.

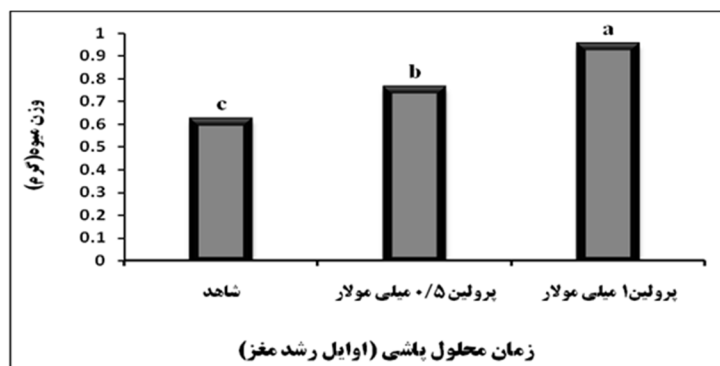
### مواد و روش ها

این پژوهش در یک باغ تجاری در منطقه ی زرنند کرمان روی درختان پسته 15 ساله (رقم احمد آقایی) که در سال ON قرار داشتند، انجام گرفته است. به منظور دقت بیشتر و به حداقل رساندن خطا، درختانی که از نظر قدرت رشد و اندازه یکنواخت بودند، انتخاب شدند. بعد از انتخاب، محلول پاشی با اسید آمینه پرولین در غلظت های: صفر (شاهد)، 0/5 و 1 میلی مولار در اوایل مرحله رشد مغز انجام گردید. آزمایش به صورت طرح بلوک های کامل تصادفی با 3 تیمار و 4 تکرار صورت پذیرفت. ویژگی هایی مانند؛ درصد خندانی، درصد پوکی و وزن میوه اندازه گیری و ارزیابی شدند. آنالیز آماری داده ها توسط نرم افزار SAS و بررسی مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال 5 درصد، انجام و رسم نمودارها توسط نرم افزار Excel صورت گرفت.

### نتایج و بحث

#### وزن میوه

بررسی نتایج این پژوهش حاکی از آن بود که کاربرد اسید آمینه پرولین، سبب بهبود وزن میوه در پسته رقم احمد آقایی در مقایسه با شاهد گردید که غلظت یک میلی مولار پرولین اثرگذاری بهتری داشت (شکل 1). ترکیبات آلی مثل پرولین در سیتوپلاسم تجمع یافته و در سلول های حساس به تنش، مقدار پرولین بیشتری تجمع پیدا می کند. پرولین باعث پایداری پروتئین ها شده و از نشت یون ها و پراکسیداسیون لیپیدها جلوگیری می کند (6). در حال حاضر آب و زمین های کشاورزی، داری EC بالایی بوده و گیاهان تحت شرایط تنش هستند و تیمارهایی مانند پرولین می تواند شرایط تنش را تعدیل نمایند و روی رشد و نمو و کیفیت میوه اثرگذار باشند (7).

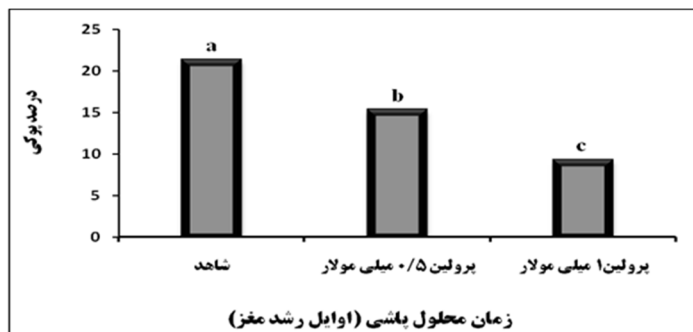


شکل 1. اثر تیمار پرولین روی وزن میوه در پسته رقم احمد آقایی.

ستون های دارای حروف متفاوت در سطح 5 درصد آزمون چند دامنه ای دانکن تفاوت معنی داری دارند.

#### درصد خندانی

طبق نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر، کاربرد تیمار پرولین با غلظت یک میلی مولار سبب بهبود و افزایش درصد خندانی در پسته رقم احمد آقایی شد که در مقابل با نمونه شاهد این افزایش چشمگیر بود (شکل 2).

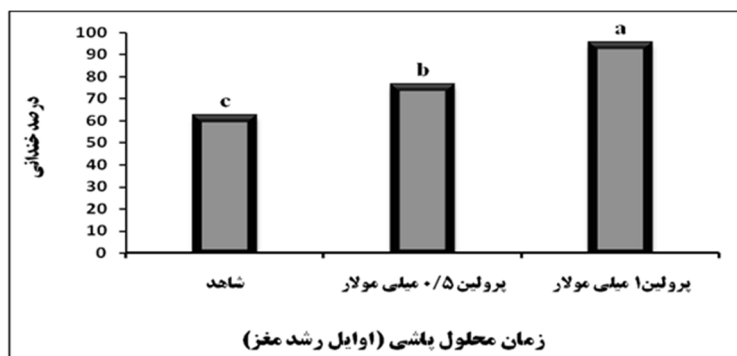


شکل 2. اثر تیمار پرولین روی درصد خندانی در پسته رقم احمد آقایی.

ستون‌های دارای حروف متفاوت در سطح 5 درصد آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری دارند.

### درصد پوکی

نتایج حاصل بیانگر آن بود که استفاده از اسید آمینه پرولین در غلظت یک میلی مولار توانسته است که درصد پوکی در پسته رقم احمد آقایی را در مقایسه با تیمار شاهد، به میزان بیش از دو برابر کاهش دهد (شکل 3). پرولین به عنوان یک اسمولیت مهم در تعدیل فشار اسمزی سلول، تحت تنش‌های مختلف نقش اساسی دارد. پرولین باعث پاکسازی رادیکال‌های آزاد، حفاظت از آنزیم‌های سیتوپلاسم، تثبیت کنندگی غشاء به وسیله برهمکنش با فسفولیپیدها و کاهش نشت یون پتاسیم، شرکت در سنتز و تثبیت پروتئین‌ها و حفظ سلول در مقابل شرایط تنش می‌شود (8).



شکل 3. اثر تیمار پرولین روی درصد پوکی در پسته رقم احمد آقایی.

ستون‌های دارای حروف متفاوت در سطح 5 درصد آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری دارند.

### نتیجه‌گیری

پسته ارزش زیادی برای کشور ما دارد و کشاورزان و محققین درصدد هستند که با کاربرد ترکیبات سالم، رشد و نمو رویشی و زایشی آن را تقویت نمایند. پرولین یک اسید آمینه مهم است که در بسیاری از فرایندهای سلولی نقش دارد. کاربرد خارجی آن می‌تواند اثرات مثبت این اسید آمینه را بهبود بخشد. طبق نتایج این پژوهش تیمار پرولین سبب بهبود رشد مغز و افزایش درصد خندانی و وزن میوه و کاهش درصد پوکی به ویژه در غلظت 1 میلی مولار گردید.

## منابع و مراجع مورد استفاده

1. Bagheri, V., Shamshiri, M.H., Shirani, H. and Roosta, H.R. 2022. Nutrient uptake and distribution in mycorrhizal pistachio seedlings under drought stress. Journal of Agricultural Science and Technology, 14(1), 1591-1604.
2. Mohammadi, H., Davary Nejad, G.H. and Khezri, M. 2017. Effect of spray application of calcium compounds combined with free polyamines at different growth stages on physiological problems and yield of Ahmad-Aghaei pistachio (*Pistacia vera* L.). Horticulture Science, 30(4): 733-742.
3. Shahid, M.A., Balal, R.M., Pervez, M.A., Abbas, T., Aqeel, M.A., Javaid, M.M. and Garcia-Sanchez, F. 2014. Exogenous proline and proline-enriched *Lolium perenne* leaf extract protects against phytotoxic effects of nickel and salinity in *Pisum sativum* by altering polyaminemetabolism in leaves. Turkish Journal of Botany, 38, 914-926.
4. Tuteja, N. and Sarvajeet, S.G. 2013. Plant acclimation to environmental stress: (Eds) In: Hakur, P., Nayyar, H., Facing the cold stress by plants in the changing environment: Sensing, Signaling, and Defending Mechanisms, 29-69.
5. میرزایی، م. معینی، ا. قناتی، ف. (1392). اثر تنش خشکی بر میزان پرولین و قندهای محلول گیاهچه‌های کلزا (*Brassica napus*). مجله زیست شناسی ایران، 26(1)، صص 98-90.
6. Abd El-Samad, H.M., Shaddad, M.A.K. and Barakat, N. 2010. The role of amino acids in improvement in salt tolerance of crop plants. Journal of Stress Physiology and Biochemistry, 6(3), 25-37.
7. Mahmoudi, M., Samavat, S., Mostafavi, M., Khalighi, A. and Cherati, A. 2013. The effects of proline and humic acid on quantitative properties of kiwifruit. International Research Journal of Applied Basic Sciences, 6(8), 1117-1119.
8. Ahmad, P., Azoon, M.M. and Prasad, M.V. 2013. Ecophysiology and responses of plants under salt stress. (Eds) In: Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Fujita, M. Plant response to salt stress and role of exogenous protectants to mitigate salt-induced damages, 25-87.

## Proline and its effect in improving some characteristics of Ahmed Aghaei pistachio variety

Maryam Mohammadi Jorjafki <sup>\*1</sup> and Zahra Pakkish <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Master Science (MSc.) Student, Department of Horticultural Sciences, Agricultural College, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

Email : [maryam.mohammadi1775@gmail.com](mailto:maryam.mohammadi1775@gmail.com)

<sup>2</sup> Associate professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Iran.

### Abstract

Pistachio is one of the important products in Iran, which is very important to improve its growth and yield. The use of organic compounds to increase the quantitative and qualitative characteristics of pistachio has been investigated in recent years. In the present research, the treatment of proline amino acid on some characteristics of Ahmad Aghaei pistachio variety has been investigated. Ahmad Aghaei variety pistachio trees with proline in concentrations; 0 (control), 0.5 and 1 mM were treated at the early stage of brain development. Attributes such as; Porosity percentage, smiling percentage and fruit weight were measured. The use of 0.5 and 1 mM proline in the early stage of brain development had a significant effect on the pokiness, smiling and fruit weight compared to the control. The results showed that the use of 1 mM proline was the most effective treatment in this study.

**Keywords:** Growth, Pistachio, Proline, Yield.

## بررسی اثرات غلظت، نوع هورمون و قطر قلمه بر ریشه‌زایی و تکثیر قلمه‌های چوب سخت درختچه توری (*Lagerstroemia indica*)

ابوالفضل قدرتی بقمچ<sup>1\*</sup>، سید حسین نعمتی<sup>2</sup>، علی تهرانی فر<sup>3</sup>

\* نویسنده مسئول: دانشجوی کارشناسی ارشد، علوم باغبانی گرایش زینتی، علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز، دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد.

[Aghodrat97@gmail.com](mailto:Aghodrat97@gmail.com)

2- استادیار، علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز، دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد

3- استاد، علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز، دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد

### چکیده

درختچه توری (*Lagerstroemia indica*)، از مهم‌ترین گونه‌های زینتی و پرکاربرد در فضای سبز است. در این گونه ریشه‌زایی از طریق قلمه مشکل بوده و اکثر قلمه‌های چوب سخت آن ریشه‌دار نمی‌شوند. به همین منظور آزمایشی در گلخانه‌های موسسه بذر و نهال رضوی در مشهد در سال 1401 انجام شد که در قالب فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه فاکتور شامل دو نوع هورمون در سه سطح غلظتی از IBA (0، 1500 و 3500 ppm) و نیز سه سطح غلظتی از NAA (0، 1500 و 3500 ppm) و سه قطر مختلف از قلمه‌های توری (4-6/5، 6/5-10 و 10-15 میلی متر) در سه تکرار و مجموعاً شامل 54 گلدان شد. نتایج نشان داد که کاربرد غلظت‌های مختلف اکسین، اثرات متفاوتی را به جا می‌گذارد؛ اما کاربرد IBA 3500 و NAA 1500 در اکثر صفات نسبت به شاهد دارای عملکرد بهتری بودند. همچنین باتوجه به نتایج به دست آمده چنین به نظر می‌رسد که قطر قلمه 10-15 میلی‌متر دارای عملکرد بهتری در صفات قطر، طول، حجم و تعداد ریشه نسبت به شاهد و دیگر قطر قلمه‌ها می‌باشد. به‌طور کلی چنین نتیجه‌گیری می‌شود که ریشه‌دار کردن و تکثیر درختچه توری از طریق قلمه چوب سخت می‌تواند از طریق کاربرد IBA 3500 و NAA 1500 همراه با قلمه‌هایی با قطر 10-15 میلی‌متر نسبت به سابق میسر شود.

واژگان کلیدی: اکسین، قلمه توری، صفات مورفولوژیک، درختچه زینتی، فضای سبز شهری

### مقدمه

یکی از موارد پر اهمیت در فضای سبز شهری استفاده از درختچه‌های زینتی می‌باشد. گزینش مناسب گیاهان باتوجه به استانداردهای اکولوژیکی و زیباشناختی می‌تواند در بهینه‌سازی عملکرد فضای سبز شهری مؤثر باشد (شعبان زاده و همکاران، 1401). توری به دلیل اینکه در محیط‌های شهری با آلودگی هوا، زهکشی و خاک ضعیف و خشکسالی رشد می‌کند برای محوطه‌سازی‌های شهری رایج شده است (Royo et al., 2014). قلمه ساقه یکی از پرکاربردترین و موفق‌ترین روش‌های تکثیر رویشی گیاهان است. قبل از شروع ریشه، جذب آب محدود است و قلمه‌های برگ‌ی بیشتر در معرض پژمردگی هستند. یکی از چالش‌های تولید گیاهان از قلمه‌های ساقه، پژمردگی و مرگ قلمه‌ها به‌ویژه قبل از رشد ریشه بوده است. تکثیر رویشی گیاهان برای مدت طولانی مورد استفاده قرار گرفته است و هنوز هم توسط کشاورزان، باغبانان، گیاه‌شناسان و جنگل‌داران برای تکثیر ژنوتیپ‌های فردی با ویژگی‌های ترجیحی مانند رنگ، فشردگی و بلوغ سریع استفاده می‌شود (عالم، 2010). درصد موفقیت قلمه‌ها و توانایی ریشه‌زایی به عوامل

زیادی بستگی دارد. در این میان، تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه نقش مهمی در تشکیل ریشه و رشد ساقه در قلمه‌ها دارند. شروع ریشه با کاربرد برون‌زا از تنظیم‌کننده‌های رشد نقش مهمی در زمینه تکثیر گیاه دارد (Ashok & Ravivarman, 2021). هدف از انجام این پژوهش بررسی رشد ریشه‌های قلمه‌های توری با استفاده از تیمارهای دو نوع هورمون اکسین و غلظت‌های مختلف و استفاده از قطرهای مختلف قلمه می‌باشد. در یک آزمایش باهدف تعیین بهترین شرایط تکثیر (دز ایندول بوتیریک اسید، بستر و فصل) برای گونه *Juniperus sabina* با استفاده از قلمه ساقه، عملکرد ریشه‌زایی قلمه‌ها بر اساس درصد ریشه‌زایی (درصد)، زیست‌توده ریشه و طول ریشه خاص (SRL) ارزیابی شد. قلمه‌ها با پنج دوز ایندول بوتیریک اسید (IBA: 0 (شاهد)، 1000، 2000، 4000 و 8000 ppm) پیش تیمار شدند و در چهار بستر (پرلیت، پرلیت - کوکوپیت، پومیس و بستر مخلوط) و در فصول زمستان، بهار، تابستان و پاییز ریشه زدند. نتایج حاصل بیان داشت بهترین تیمارها با بیش از 60 درصد ریشه‌زایی در فصل بهار اعمال شده‌اند و IBA با غلظت 1000 پی‌پی‌ام در بستر پرلیت - کوکوپیت 62 درصد ریشه‌زایی را به دست آورده است و نیز بیشترین درصد ریشه‌زایی با بیشترین تولید زیست‌توده ریشه و کمترین SRL ارتباط داشته است. پیش تیمار IBA باعث کاهش غلظت پراکسیداز در بهار (هم‌زمان با حداکثر ریشه‌زایی) شد که نشان‌دهنده عملکرد ریشه‌زایی است (آب شاهی و همکاران، 2022).

### مواد و روش‌ها

این آزمایش در قالب فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه فاکتور شامل دو نوع هورمون در سه سطح غلظتی از IBA (0، 1500 و 3500 ppm) و نیز سه سطح غلظتی از NAA (0، 1500 و 3500 ppm) و سه قطر مختلف از قلمه‌های توری (4-6/5، 10-6/5 و 10-15 میلی متر) در سه تکرار و در گلخانه‌های تحقیقاتی مجموعه بذر و نهال رضوی در شهر مشهد در سال 1401 انجام شد. قلمه‌ها در اسفند ماه جمع‌آوری و محل برش قلمه از 2 سانتی‌متر زیر جوانه و در اندازه‌های مساوی بود (آشوک و راویورمن، 2021). سپس قلمه‌ها با طول  $\pm 20$  سانتی‌متر که با کولیس ورنیه اندازه‌گیری شدند، دسته‌بندی و آماده کاشت شد. محلول‌های آماده شده در غلظت‌های 1500 و 3500 پی‌پی‌ام NAA و IBA درون ظروف پلاستیکی با روکش فویل آلومینیوم قرار گرفتند و به محل کاشت منتقل شدند. سپس به روش غوطه‌وری سریع تیمار شده و کاشته شدند.

### نتایج و بحث

با توجه به جدول آنالیز واریانس (جدول 1) معنی داری و عدم معنی داری صفات در اثرات متقابل فاکتورهای مورد ارزیابی مشخص شد که در حجم ریشه اثر متقابل قطر قلمه و هورمون در سطح یک درصد معنی دار شد. در صفت طول ریشه، اثر متقابل قطر قلمه و غلظت هورمون در سطح احتمال 5 درصد معنی دار شد. سطح معنی داری در تعداد ریشه در اثر متقابل قطر قلمه و هورمون، قطر و غلظت و هورمون و غلظت به ترتیب در سطح احتمال 5 درصد، 1 درصد و 5 درصد معنی دار شده است. در صفت قطر ریشه نیز تنها در اثر متقابل قطر و غلظت در سطح 1 درصد معنی دار شد.

جدول 1- تجزیه واریانس اثر تیمارهای مورد بررسی بر صفات اندازه‌گیری شده در قلمه‌های درختچه توری

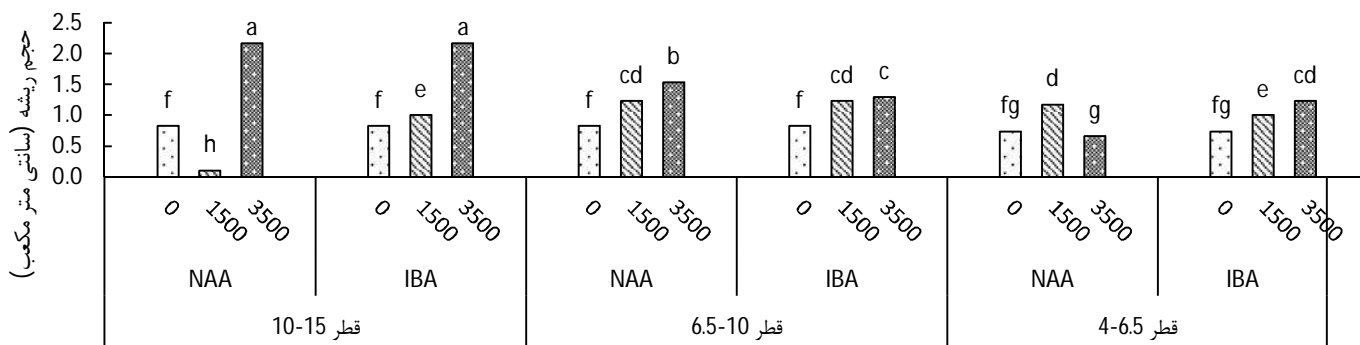
منابع تغییرات	درجه آزادی	حجم ریشه (cm <sup>3</sup> )	طول ریشه (cm)	تعداد ریشه	قطر ریشه (mm)
قطر	2	0.377**	144.461**	174.019**	1.360**
هورمون	1	0.190 <sup>ns</sup>	19.560 <sup>ns</sup>	150.000**	0.051 <sup>ns</sup>
غلظت	2	2.516**	85.872**	99.685**	0.834*
قطر×هورمون	2	0.161 <sup>ns</sup>	19.609 <sup>ns</sup>	70.389*	0.520 <sup>ns</sup>

1.021**	124.713**	38.605*	1.339**	4	قطر×غلظت
0.023 ns	81.056*	4.914 ns	0.067 ns	2	هورمون×غلظت
0.460 ns	39.694 ns	36.588*	0.293 ns	4	قطر×هورمون×غلظت
0.238	17.148	9.957	0.176	36	E
35.433	42.675	20.192	38.520		%CV

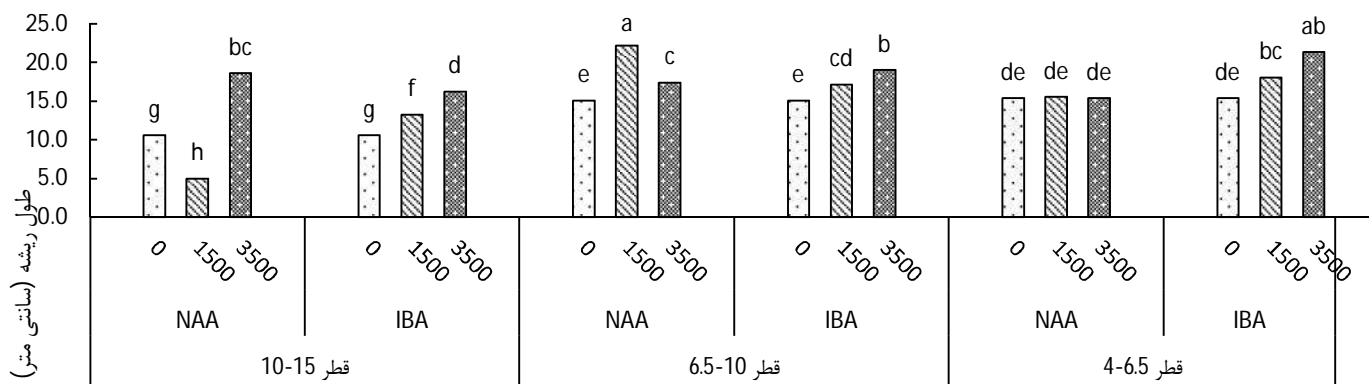
### حجم و طول ریشه:

باتوجه به جدول تجزیه واریانس، اثر متقابل قطر قلمه و غلظت هورمون بر حجم ریشه در سطح احتمال 1% اثر معنی‌دار داشت (جدول 1). نتایج نشان داد که با کاهش قطر قلمه، از میزان حجم ریشه‌ها کاسته شد؛ اما کاربرد اکسین اثرات منفی قطر قلمه را خنثی نمود، به نحوی که در تیمار 3500 NAA و 3500 IBA در قلمه‌های 10-15 میلی‌متر، میزان حجم ریشه به ترتیب 161/45 و 162 درصد افزایش یافت (شکل 1).

باتوجه به جدول تجزیه واریانس، اثر متقابل قطر قلمه و غلظت هورمون بر طول ریشه در سطح احتمال 5% اثر معنی‌دار داشت (جدول 1). در طول ریشه نیز، افزایش قطر قلمه و اعمال تیمار 3500 NAA و 3500 IBA در تیمار قطر قلمه 10-15 میلی‌متر، سبب افزایش طول ریشه‌های تیمار شده به ترتیب به مقدار 75/5 و 53/11 درصد نسبت به قلمه‌های شاهد شد (شکل 2).



شکل 1- اثر متقابل هورمون اکسین و قطر قلمه بر حجم ریشه درختچه توری



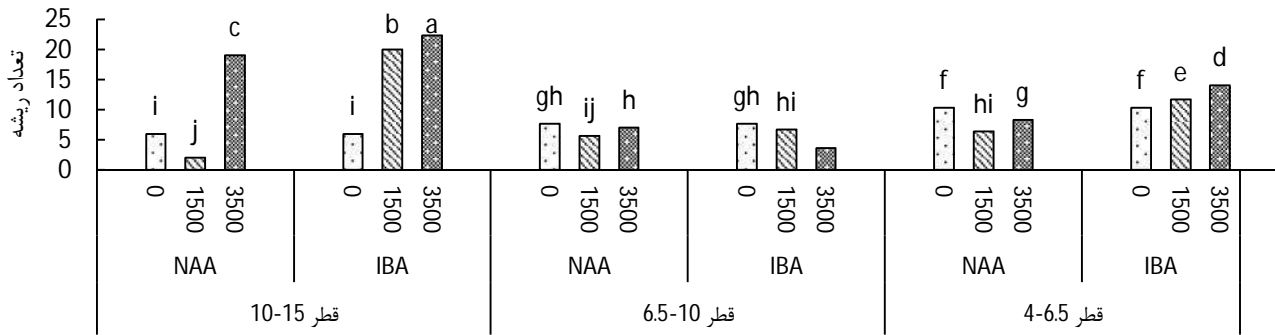
شکل 2- اثر متقابل هورمون اکسین و قطر قلمه بر طول ریشه توری

طبق مطالعه انجام شده توسط Chen و همکاران (2020)، کاربرد آگزوژن اکسین می‌تواند حجم ریشه گیاهان را به میزان قابل توجهی افزایش دهد. این مطالعه نشان داد که تیمار با اکسین آگزوژن منجر به افزایش طول و قطر ریشه‌ها و در نتیجه افزایش قابل توجهی در حجم ریشه می‌شود. محققان پیشنهاد کردند که این اثر به دلیل توانایی اکسین در تحریک تقسیم سلولی و افزایش طول سلول‌های ریشه است.

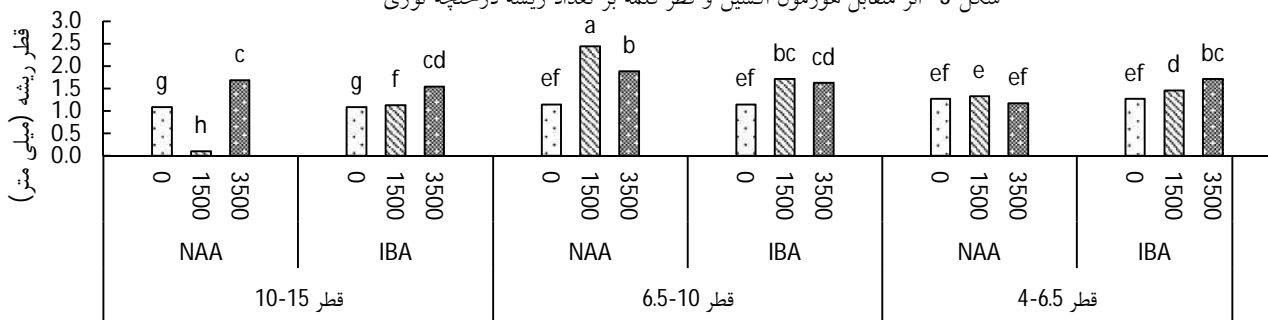
### تعداد و قطر ریشه:

باتوجه به جدول تجزیه واریانس، اثر متقابل قطر قلمه و نوع هورمون، قطر قلمه و غلظت هورمون و همچنین نوع هورمون و غلظت بر تعداد ریشه به ترتیب در سطح 5%، 1% و 5% اثر معنی‌دار داشت (جدول 1). نتایج نشان داد که با کاهش قطر قلمه، به تعداد ریشه افزوده شد؛ اما کاربرد اکسین اثرات منفی قطر قلمه را خنثی نمود، به نحوی که در تیمار 10-15 میلی‌متر، 3500 NAA و IBA 3500، باعث افزایش تعداد ریشه به ترتیب به مقدار 2/17 و 2/72 برابر نسبت به شاهد در این تیمار گشت (شکل 3).

باتوجه به جدول تجزیه واریانس، اثر متقابل، قطر قلمه و غلظت هورمون بر قطر ریشه در سطح احتمال 1% اثر معنی‌دار داشت (جدول 1). به‌طور کلی غلظت هورمون در تیمارها نسبت به شاهد اثر معنی‌داری داشت. به طور مثال در تیمار قطر قلمه 6/5-10 میلی‌متر، 1500 IBA و 1500 NAA به ترتیب به مقدار 114 و 50 درصد نسبت به شاهد افزایش داشتند (شکل 4).



شکل 3- اثر متقابل هورمون اکسین و قطر قلمه بر تعداد ریشه درختچه توری



شکل 4- اثر متقابل هورمون اکسین و قطر قلمه بر قطر ریشه درختچه توری

تأثیر اکسین بر تشکیل ریشه در قلمه‌ها بسته به غلظت و نوع اکسین مورد استفاده متفاوت است. به‌طور کلی، غلظت‌های بالاتر اکسین باعث رشد بیشتر ریشه می‌شود، در حالی که غلظت‌های کمتر باعث رشد ساقه می‌شود. با این حال، یک محدوده غلظت بهینه برای هر



نوع برش وجود دارد و فراتر از این محدوده، اثربخشی اکسین کاهش می‌یابد یا حتی بازدارنده می‌شود (Gao et al., 2020). آن با سایر هورمون‌ها مانند سیتوکینین‌ها و جیبرلین‌ها انجام می‌شود. به‌عنوان مثال، مطالعات نشان داده است که نسبت اکسین به سیتوکینین می‌تواند بر تعادل بین رشد اندام هوایی و ریشه تأثیر بگذارد (Ljung et al., 2001). قطر قلمه نیز در موفقیت ریشه‌زایی نقش دارد. به‌طور کلی، قطرهای بزرگ‌تر، ریشه‌های بیشتری نسبت به قطرهای کوچک‌تر تولید می‌کنند، به‌ویژه هنگامی که با تیمار اکسین ترکیب می‌شوند. این به این دلیل است که قطرهای قلمه بزرگ‌تر دارای سطح بیشتری برای جذب آب و جذب مواد مغذی هستند که از رشد ریشه پشتیبانی می‌کند (Sotiropoulou et al., 2019).

#### نتیجه‌گیری:

با توجه به نتایج به دست آمده و بررسی اثرات نوع هورمون اکسین، غلظت هورمون به کار رفته و قطر قلمه چنین به نظر می‌رسد که دو هورمون IBA3500 و NAA1500 و همچنین قطر بیشتر قلمه بهترین اثر را روی ریشه دهی این قلمه‌ها داشته. لذا به تولید کنندگان این درختچه زینتی با ارزش توصیه می‌گردد که از تیمار IBA3500 یا NAA1500 توام با قطر قلمه 10-15 میلی‌متر، برای رشد بهتر ریشه‌ها بهره ببرند.

#### منابع:

شعبان زاده خساد، م.، حسن پور اصیل، م. و شادپور، و. 1401. ارزیابی ویژگی‌های زیباشناختی درختچه‌های زینتی گل‌دار در فضای سبز شهری (بررسی موردی: منطقه یک شهر رشت). مجله گل و گیاهان زینتی، سال هفتم شماره 1.

Abshahi, M., García-Morote, F. A., Zarei, H., Zahedi, B., & Nejad, A. R. (2022). Improvement of Rooting Performance in Stem Cuttings of Savin Juniper (*Juniperus sabina* L.) as a Function of IBA Pretreatment, Substrate, and Season. *Forests* 2022, Vol. 13, Page 1705, 13(10), 1705. <https://doi.org/10.3390/F13101705>

Alem, P. (2010). UNROOTED STEM CUTTING PHYSIOLOGY; WATER USE AND LEAF GAS EXCHANGE OF SEVERED STEM CUTTINGS. All Theses. [https://tigerprints.clemson.edu/all\\_theses/918](https://tigerprints.clemson.edu/all_theses/918)

Ashok, D. A., & Ravivarman, J. (2021). Influence of IBA on propagating hardwood cuttings of *Lagerstroemia indica* (L.) PERS. *International Journal of Chemical Studies*, 9(1), 3327–3329.

Chen, B., Zhang, Y., Shi, W., Peng, Y., Wang, Y., & Sun, X. (2020). Exogenous auxin promotes root growth by inducing cell division and elongation in roots of cucumbers (*Cucumis sativus* L.). *International Journal of Molecular Sciences*, 21(6), 2084.

Gao, Y., Zhang, X., Zhang, H., Chen, G., Cao, Y., & Liu, X. (2020). Effects of stem diameter on rooting ability, biomass accumulation, and carbon-nitrogen metabolism in *Eucommia ulmoides* Oliv. cuttings. *Trees*, 34(6), 1457–1468.

Ljung, K., Bhalerao, R. P., & Sandberg, G. (2001). Sites and homeostatic control of auxin biosynthesis in *Arabidopsis* during vegetative growth. *The Plant Journal*, 28(4), 465–474.

Royo, J., Gil-Pelegrín, E., & Aranda, I. (2014). The effect of cutting diameter on the early vegetative response and root architecture of holm oak (*Quercus ilex* L.) cuttings. *Trees*, 28(6), 1721–1731.

Sotiropoulou, I., Therios, I., & Dimassi-Theriou, K. (2019). Rooting ability and early growth of apricot (*Prunus armeniaca* L.) treated with different concentrations IBA and cutting diameter. *Acta Horticulturae*, 1235, 415-420.

## Investigating the effects of concentration, hormone type and cutting diameter on rooting and propagation of *Lagerstroemia indica*

### Abstract

*Lagerstroemia indica* is one of the most important and widely used ornamental species in the green space. In this species, rooting through cuttings is difficult and most hardwood cuttings do not root. For this purpose, an experiment was conducted in the greenhouses of the Razavi Seed and Seedling Institute in Mashhad in 1401, in a factorial format based on a completely random design with three factors including two types of hormones at three concentration levels of IBA (0, 1500 and 3500 ppm) and Three concentration levels of NAA (0, 1500 and 3500 ppm) and three different diameters of net cuttings (6-5.4, 10-6.5 and 15-10 mm) in three repetitions and a total of 54 pots were included. The results showed that the application of different concentrations of auxin leaves different effects; But the application of IBA 3500 and NAA 1500 had better performance in most traits than the control. Also, according to the obtained results, it seems that the cutting diameter of 10-15 mm has better performance in the attributes of diameter, length, volume and number of roots compared to the control and other cutting diameters. In general, it is concluded that the rooting and propagation of Tori shrub through hardwood cuttings can be achieved through the application of IBA 3500 and NAA 1500 along with cuttings with a diameter of 10-15 mm compared to the former.

**Key words:** auxin, lace cutting, morphological traits, ornamental shrub, urban green space

## بررسی برخی از پاسخ‌های رشدی و هورمون‌های محرک رشد در سرشاخه‌های گال‌دار دو

### گونه از درختان بید آلوده به عامل گال‌زای *Candidatus Phytoplasma trifolii*

بهروز صالحی اسکندری<sup>1\*</sup>، شهلا کاظمی رهنائی

<sup>1\*</sup> گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

#### چکیده

گال جارویی سرشاخه‌های برخی از درختان بید که توسط فتوپلازما ایجاد می‌شود که با تغییر شکل قابل آن سرشاخه نمایان می‌گردد. پژوهش حاضر به منظور بررسی برخی تغییرات رشد و میزان هورمون‌های رشد دهنده سرشاخه‌های گال‌دار دو گونه از درختان بید انجام شد. در این پژوهش برگ‌های سرشاخه‌های گال‌دار و سالم درختان بید معمولی و مجنون پارک نازوان، شهر اصفهان بصورت تصادفی نمونه برداری شد. نتایج نشان داد، صفات رویشی، سرشاخه‌های گال‌دار هر دو درخت بید، نسبت به سرشاخه‌های سالم مجاور کاهش معنی‌دار داشت. میزان هورمون اکسین در سرشاخه‌های گال‌دار نسبت به سرشاخه‌های سالم بید مجنون تغییر معنی‌داری نداشت اما میزان آن در سرشاخه‌های گال‌دار بید معمولی کاهش داشت اما میزان هورمون سیتوکینین فقط در سرشاخه‌های گال‌دار بید معمولی افزایش معنی‌دار نشان داد و هورمون جیبرلین فقط در سرشاخه‌های گال‌دار بید مجنون کاهش معنی‌دار داشت. کاهش رشد سرشاخه‌های نشان از تغییر الگوی بیان ژن‌های سرشاخه‌های گال‌دار با تغییرات هورمونی خاص هر گونه دارد که ساختار منحصر بفرد گال آن گونه را ایجاد کرده تا شرایط بهینه تغذیه‌ای و اقلیمی حاصل از فشردگی برگ‌ها و محافظت از تهدیدات دشمنان طبیعی عوامل گال‌زا را فراهم سازد.

واژه‌های کلیدی: سرشاخه‌های گال‌دار، بید، اکسین، جیبرلین، سیتوکینین

#### مقدمه

بیش از 500 گونه از جنس درخت بید (*Salix spp.*) به شکل درختچه و درخت معمولاً در آسیا، اروپا، آمریکای شمالی و آفریقا پراکنده است (Tawfeek *et al.* 2021). چوب درختان بید جهت ساخت مبلمان، الوار، خمیر کاغذ، کفش‌های برفی سنتی و پناهگاه استفاده می‌شود (Kuzovkina & Vietto 2014). بید سفید (*Salix alba*) یکی از مهمترین درختان بید بومی آسیا، اروپا و آفریقای شمالی است که اسم آن از تنه سفید یا رنگ سفید پشت برگ‌ها مشتق شده است (Meikle 1984). گال جارویی جادوگر<sup>72</sup> سرشاخه‌های درختان بید بوسیله عامل فیتوپلازما (*Candidatus phytoplasma trifolii*) ایجاد می‌شود (Khadhair & Hiruki 1995) که در بید مجنون (*Salix Babylonica*) (Shahryari & Allahverdipour 2018) و بید سفید یا معمولی (*S. alba*) (Ghayeb Zamharir 2018) شناسایی شده است.

سه فرضیه تغذیه‌ای، دشمنی<sup>73</sup> و ریزاقلمی<sup>74</sup> جهت ایجاد گال توسط حشرات ارائه شده است. طبق فرضیه تغذیه‌ای، گال بافت غذایی و روش‌های متنوع تغذیه‌ای را مهیا کرده و گیاه با تولید ترکیبات دفاعی از حشرات محافظت می‌نماید (Stone &

<sup>72</sup> - Willow witches'-broom

<sup>73</sup> - enemy

<sup>74</sup> - microenvironment

(Schönrogge 2003). گال با افزایش نفوذپذیری دیواره‌های سلولی، بزرگ کردن پلاسمودسماتا، افزایش فشار تورژسانس یاخته-های مغذی به آسانی مواد غذایی را برای آن‌ها مهیا سازد (Favery et al. 2020). طبق نظریه‌ی ریز اقلیمی، ساختار گال، عوامل گال‌زا را از تنش‌های غیرزیستی نامطلوب بخصوص تنش آبی محافظت می‌نمایند (Guiget et al. 2021). حفاظت گال، عوامل گال‌زا را از حمله دشمنان طبیعی و پاتوژن‌ها محافظت می‌نماید که همان نظریه دشمنی است (Stone & Schönrogge 2003). عوامل گال‌زا در سلول‌های میزبان تغییرات فراوانی را القاء کرده که در نهایت، باعث ایجاد گال می‌شود. ظهور گال با تغییر در بیان گسترده‌ای از ژن‌های گیاهی وابسته است (Cambier et al. 2019). عملکرد این ژن‌ها با تغییر در مسیرهای متابولیکی (Schultz et al. 2019)، فرایندهای رشد (Takeda et al. 2019) و مسیرهای هورمونی (Gheysen & Mitchum 2019) می‌شود. هدف از این مطالعه بررسی مقایسه‌ای اثر فیتوپلازما گال‌زا بر رشد و هورمونی دو گونه از درختان بید (*S. alba*, *S. babylonica*) بود تا فهم بهتری از سازگاری این درختان به عوامل گال‌زا آشکار شود.

#### مواد و روش‌ها

**مواد گیاهی:** سرشاخه‌های گال‌دار و سالم درختان بید معمولی (*S. alba*) و مجنون (*S. babylonica*) در اواخر اردیبهشت ماه از پارک نازوان اصفهان جمع‌آوری شد (تصویر 1).

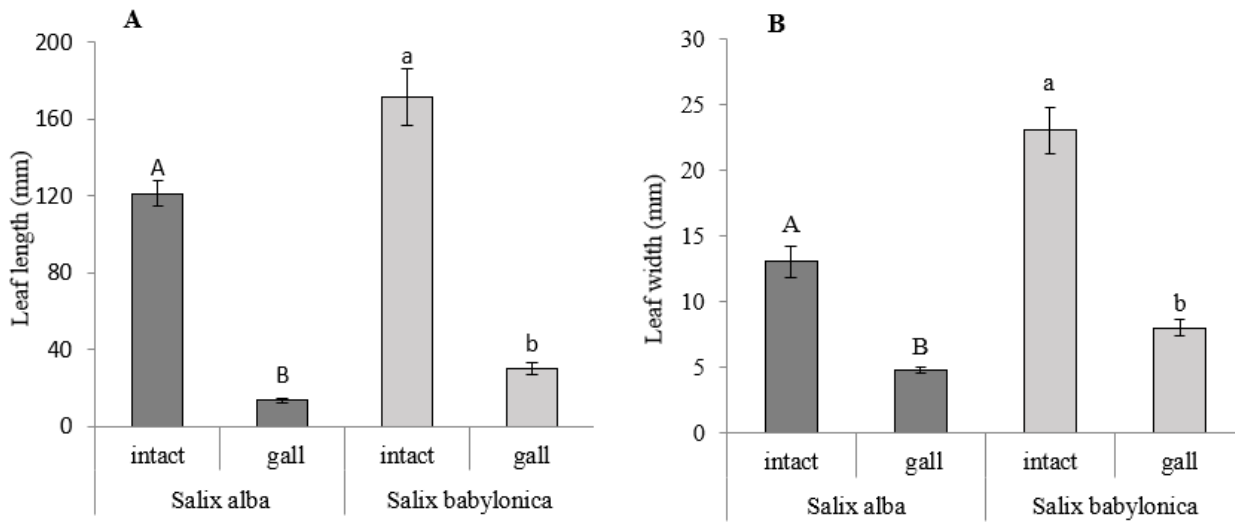
**سنجش میزان رشد، محتوای نسبی آب:** برگ‌های سرشاخه‌های گال‌دار و سالم هر دو درخت از ساقه آنها جدا کرده و باخط کش میزان طول و عرض اندازه‌گیری و ثبت شد.

سنجش هورمون‌های اکسین، جیبرلین و سیتوکینین با استفاده از دستگاه HPLC (کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا) صورت پذیرفت.

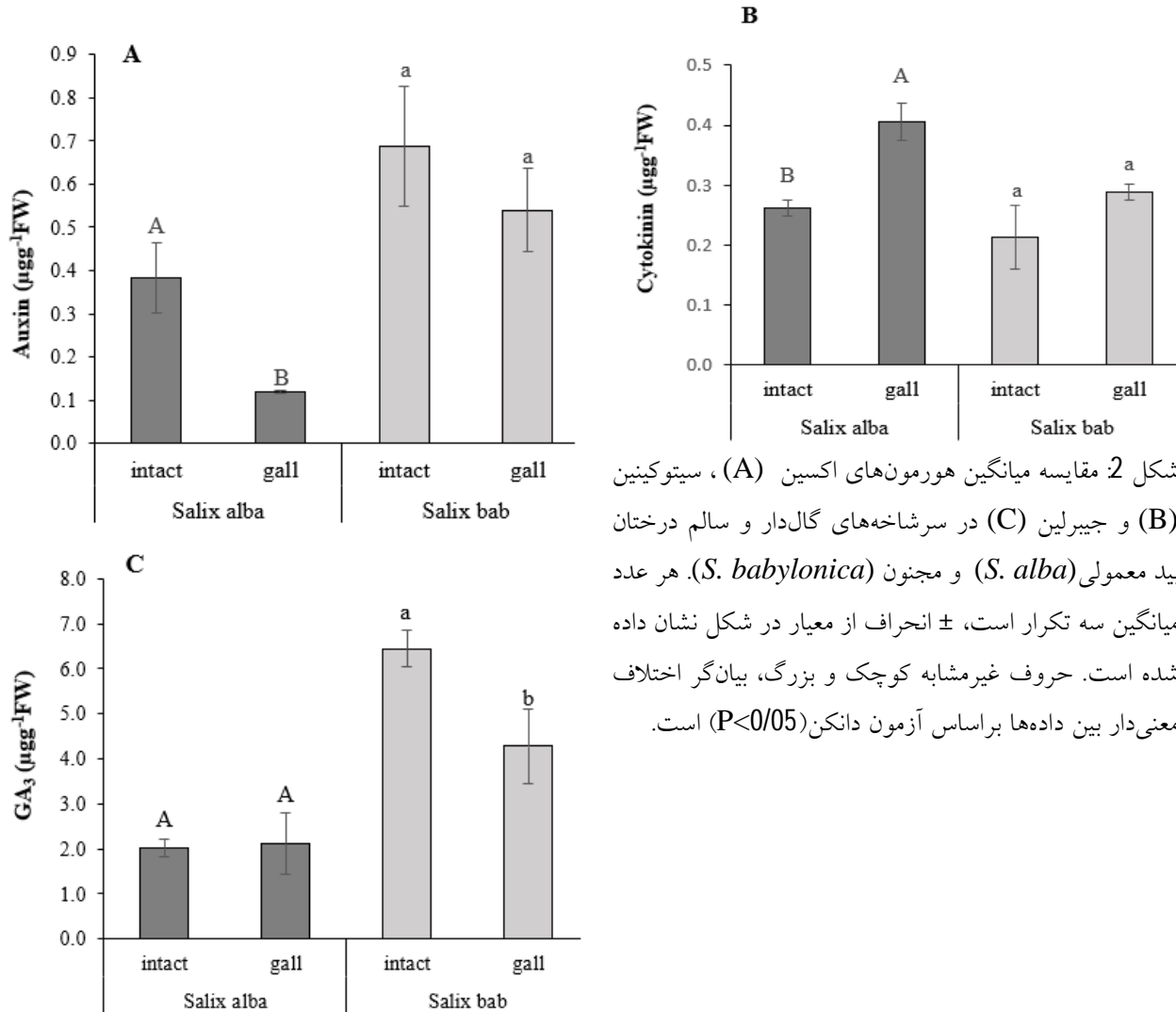
**تجزیه و تحلیل داده‌ها:** نرم افزار SPSS، جهت تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها استفاده شد. برای ترسیم نمودارها از نرم افزار Excel بهره بردیم. در اشکال، ستون‌ها نماینده میانگین 3 تکرار و میله‌های عمودی روی آنها نمایانگر خطای معیار ( $\pm SE$ ) می‌باشد. مقایسه میانگین‌ها با بکارگیری آزمون t-test با ضریب اطمینان 95 درصد انجام شد.

#### نتایج و بحث

فیتوپلازما (*Candidatus phytoplasma trifolii*) عامل تشکیل ساختار نوظهوری مشابه جارو در شاخه‌های جانبی درختان بید معمولی و مجنون (*S. alba*, *S. babylonica*) است (Ghayeb Zamharir 2018, Shahryari & Allahverdipour 2018). عامل گال‌زا منجر به کاهش رشد برگ‌ها و اندام‌های هوایی شده که با کاهش طول و عرض برگ‌های گال‌دار شده نمایان می‌گردد (شکل 1). گال جارویی از کنه‌ها و لاروهایشان (حامل فیتوپلازما) حمایت می‌نماید. آن بوسیله برگ‌های متراکم شاخه‌های گال‌دار حاصل از کاهش رشد، عوامل گال‌زا را از دید دشمنان طبیعی پنهان کرده بنابراین موافق فرضیه دشمنی است (Giron et al. 2016).



شکل 1: مقایسه میانگین طول (A)، عرض (B)، سرشاخه‌های گال‌دار و سالم در درختان بید معمولی (*S. alba*) و مجنون (*S. babylonica*). هر عدد میانگین سه تکرار است،  $\pm$  انحراف از معیار در شکل نشان داده شده است. حروف غیرمشابه کوچک و بزرگ، بیان‌گر اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها براساس آزمون t-test ( $P < 0/05$ ) است.



شکل 2: مقایسه میانگین هورمون‌های اکسین (A)، سیتوکینین (B) و جبریلین (C) در سرشاخه‌های گال‌دار و سالم درختان بید معمولی (*S. alba*) و مجنون (*S. babylonica*). هر عدد میانگین سه تکرار است،  $\pm$  انحراف از معیار در شکل نشان داده شده است. حروف غیرمشابه کوچک و بزرگ، بیان‌گر اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها براساس آزمون دانکن ( $P < 0/05$ ) است.

گال جارویی برخلاف شاخه‌های معمولی با بالای تراکم برگ‌ها شرایط اقلیمی خاصی را ایجاد کرده که عوامل گال‌زا را از تنش‌های غیرزیستی چون نور مستقیم و کاهش رطوبت محافظت کرده، در نتیجه از فرضیه ریز اقلیمی پشتیبانی می‌نماید (Stone *et al.* 2002). کاهش طول و عرض سرشاخه‌های گال‌دار (شکل 1) مربوط به تغییر در الگوی رشد که با تغییر بیان ژن‌ها ایجاد شده است که در نهایت با تغییر شکل ظاهری برگ‌ها و ساقه ظاهر می‌شود (Cambier *et al.* 2019). گال تاجی شکل<sup>75</sup> حاصل باکتری *Agrobacterium tumefaciens* با ورود قطعه‌ای از DNA باکتری حاصل شده دارای رشد غیر قابل کنترل می‌شود (Kmieć *et al.* 2022).

<sup>75</sup> - Crown gall

هورمون‌های گیاهی، چون اسید سالیسیلیک و اتیلن پاسخ‌های متنوع دفاعی گیاه به حشرات و نماتدهای را کنترل می‌نمایند، در حالی که این انگل‌ها از سیتوکینین‌ها و اکسین‌ها نیز برای کنترل رشد و نمو گیاه میزبان به نفع خود بهره می‌برند (Favery *et al.* 2020). معمولا افزایش سطح اکسین و سیتوکینین‌ها پیام‌های<sup>76</sup> حاصل از اسید سالیسیلیک را سرکوب و پاسخ‌های دفاعی گیاهان را در برابر مهاجمان (حشرات، نماتودها و...) مهار می‌نماید (Ji *et al.* 2013). میزان هورمون اکسین در سرشاخه‌های گال‌دار (شکل A-2) بید معمولی (*S. alba*)، برخلاف بید مجنون (*S. babylonica*) به‌طور معنی‌داری کاهش داشت، اما میزان سیتوکینین مشابه اکسین در سرشاخه‌های گال‌دار با برگ‌های سالم بید مجنون (*S. babylonica*) در یک سطح قرار داشت اما میزان آن در بید معمولی (*S. alba*) افزایش معنی‌دار داشت (شکل B-2). میزان هورمون جیبرلین در سرشاخه‌های گال‌دار *S. babylonica* برخلاف بید معمولی کاهش داشت (شکل C-2). این تغییرات بوضوح نشان داد تغییرات هورمون‌های رشد دهنده در گال‌گونه‌ها متفاوت وابسته به جنس است.

### نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که ایجاد گال در سرشاخه‌های درختان بید منجر به کاهش رشد آنها شده، به طوری که طول و عرض برگ‌ها آنها نسبت به سرشاخه‌های مجاور کاهش داشت. عامل اصلی تغییر شکل آنها، تغییر الگوی بیان ژن‌های سرشاخه‌ای گال‌دار که با تغییرات هورمونی خاص هر گونه همراه شده تا سرشاخه‌های گال‌دار مختص هر گونه را نمایان سازد. این تغییر ساختار احتمالا به نفع عوامل گال‌زا است تا شرایط بهینه تغذیه‌ای و اقلیمی برای آنها مهیا سازد و آنها را از تهدیدات دشمنان طبیعی محافظت نماید از طرفی گیاه با تشکیل ساختار گال عوامل گال‌زا را محدود و از دیگر قسمت‌ها مجزا می‌کند.

### منابع

- Cambier S., Ginis O., Moreau S. J., Gayral P., Hearn J., Stone G. N., et al. 2019. Gall wasp transcriptomes unravel potential effectors involved in molecular dialogues with oak and rose. *Frontiers in physiology*, 10: 926.
- Favery B., Dubreuil G., Chen M.-S., Giron D. and Abad P. 2020. Gall-inducing parasites: convergent and conserved strategies of plant manipulation by insects and nematodes. *Annual Review of Phytopathology*, 58: 1-22.
- Ghayeb Zamharir M. 2018. Association of 'Candidatus Phytoplasma trifolii'-related strain with white willow proliferation in Iran. *Australasian plant disease notes*, 13: 1-4.
- Gheysen G. and Mitchum M. G. 2019. Phytoparasitic nematode control of plant hormone pathways. *Plant Physiology*, 179: 1212-1226.
- Giron D., Huguët E., Stone G. N. and Body M. 2016. Insect-induced effects on plants and possible effectors used by galling and leaf-mining insects to manipulate their host-plant. *Journal of Insect Physiology*, 84: 70-89.
- Guiget A., Takeda S., Hirano T., Issei O. and Sato M. H. 2021. Recent Progress Regarding the Evolution and Molecular Aspect of Insect Gall Formation.
- Ji H., Gheysen G., Denil S., Lindsey K., Topping J. F., Nahar K., et al. 2013. Transcriptional analysis through RNA sequencing of giant cells induced by *Meloidogyne gramimicola* in rice roots. *Journal of experimental botany*, 64: 3885-3898.
- Khadhair A.-H. and Hiruki C. 1995. The molecular genetic relatedness of willow witches'-broom phytoplasma to the clover proliferation group. *Proceedings of the Japan Academy, Series B*, 71: 145-147.
- Kmieć K., Kot I., Rubinowska K., Górska-Drabik E., Golan K. and Sytykiewicz H. 2022. The variation of selected physiological parameters in elm leaves (*Ulmus glabra* Huds.) infested by gall inducing aphids. *Plants*, 11: 244.
- Kuzovkina Y. A. and Vietto L. 2014. An update on the cultivar registration of *Populus* and *Salix* (Salicaceae). *Skvortsovia*, 1: 133-148.
- Meikle R. D. 1984. Willows and poplars of Great Britain and Ireland. *Botanical Society of the British Isles*.

<sup>76</sup> - signaling

- Schultz J. C., Edger P. P., Body M. J. and Appel H. M. 2019. A galling insect activates plant reproductive programs during gall development. *Scientific reports*, 9: 1-17.
- Shahryari F. and Allahverdipour T. 2018. "Candidatus Phytoplasma trifolii" related strain affecting *Salix babylonica* in Iran. *Australasian Plant Disease Notes*, 13: 1-3.
- Stone G. N. and Schönrogge K. 2003. The adaptive significance of insect gall morphology. *Trends in Ecology and Evolution*, 18: 512-522.
- Stone G. N., Schönrogge K., Atkinson R. J., Bellido D. and Pujade-Villar J. 2002. The population biology of oak gall wasps (Hymenoptera: Cynipidae). *Annual review of entomology*, 47: 633-668.
- Takeda S., Yoza M., Amano T., Ohshima I., Hirano T., Sato M. H., et al. 2019. Comparative transcriptome analysis of galls from four different host plants suggests the molecular mechanism of gall development. *PLoS One*, 14: e0223686.
- Tawfeek N., Mahmoud M. F., Hamdan D. I., Sobeh M., Farrag N., Wink M., et al. 2021. Phytochemistry, pharmacology and medicinal uses of plants of the genus *Salix*: an updated review. *Frontiers in pharmacology*, 12: 593856.

## Study of some growth responses and plant growth promoting hormones of galled branches of two species of willow trees infected with *Candidatus Phytoplasma trifolii*.

Behrooz Salehi-Eskandari<sup>1</sup>, Shahla Kazemi Rehnani<sup>1</sup>,

<sup>1</sup> Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran

### Abstract

The broom (witches) gall in the branches of the willow trees (*S. alba* and *S. Babylonica*) is induced by photoplasm which caused conspicuous changes in their form branches. In this research was done in order to study of some growth factors, total chlorophyll and the level of plant growth promoting hormones. In order to carry out this study, a random sample from the leaves of branches with symptoms and adjacent branches without symptoms of gall diseases in two willow trees of Najvan Park, Isfahan city was done. Results showed that growth parameters, were decreased in diseased two species of *Salix* branches as compared with those of healthy control leaves. The auxin hormone did not show a significant difference between in the leaves of witches' broom *S. babylonica* with those of healthy symptomless branches, its concentration was decreased in diseased *S. alba*. The level of cytokinin was increased in only the leaves of witches' broom of *S. alba*, but the concentration of the GA<sub>3</sub> was significantly decreased in only the leaves of witches' broom of *S. alba*. Decreased growth galled branches both species of *Salix* which confirmed a change in the genes expression pattern of galled branches with special hormonal changes, in each species. The exclusive structure of the gall has created for special each the species to provide optimal nutrients and microenvironment resulting from the compression leaves in rosette form which protects from the threats of natural enemies of the galler.

**Keywords:** Willow, galled branches, auxin, cytokinin, GA<sub>3</sub>



## پاسخ مولفه‌های جوانه‌زنی کلزا (*Brassica napus L.*) به تنش آلومینیوم

هاجر قربان نژادنی ریزی<sup>2\*</sup> بهروز صالحی اسکندری<sup>1</sup>

گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران- ایران\*

2- آموزش و پرورش استان اصفهان (ناحیه 3)

### چکیده

سمیت آلومینیوم از مشکلات اصلی خاک‌های اسیدی که جوانه‌زنی و رشد گیاهان را تحت تاثیر قرار می‌دهد. از آنجایی که اولین فرایند فیزیولوژیک در خاک‌ها اسیدی جوانه‌زنی و رشد گیاهچه است و کشت دانه‌های روغنی کلزا در اولویت الگوی کشاورزی است. افزایش غلظت آلومینیوم بیش از 100 میلی‌گرم در لیتر منجر به کاهش درصد جوانه‌زنی، افزایش زمان جوانه‌زنی و کاهش سرعت جوانه‌زنی شد. البته غلظت‌های پایین آلومینیوم محرک رشد و باعث افزایش سرعت جوانه‌زنی و کاهش زمان جوانه‌زنی است که این تغییرات ناشی از افزایش فعالیت مرستیم انتهایی در غلظت‌های پایین است. طول ریشه‌چه نسبت به ساقچه حساسیت بیشتری نسبت به غلظت بالای آلومینیوم داشت چون ریشه در تماس مستقیم با آلومینیوم و میزان انباشت آن در ریشه بیشتر است.

کلمات کلیدی: کلزا، فلز سنگین، سرعت جوانه‌زنی، رشد، میانگین زمان جوانه‌زنی

### مقدمه

کلزا (*Brassica napus L.*)، گیاهی علفی یک‌ساله از تیره شب‌بو (*Brassicaceae*) است که جز معدود دانه‌های روغنی زمستانه است که دارای توانایی جوانه‌زدن و رشد بذرها در در دماهای پایین است بهمین دلیل در نواحی معتدله و ارتفاعات کشت می‌شود (Batool et al., 2022). روغن کلزا آن با داشتن کمترین میزان اسیدهای چرب اشباع در بین روغن‌های گیاهی بالاترین میزان اسیدهای چرب غیر اشباع را دارد (Cartea et al., 2019).

یکی از عوامل اصلی محدود کننده کشاورزی در خاک‌های اسیدی سمیت آلومینیوم (Al) است. آلومینیوم سومین عنصر فراوان در پوسته زمین است که به اشکال مختلف در محیط‌های خاکی پراکنده است و تقریباً 7 تا 8 درصد از جرم زمین را تشکیل می‌دهد (Bojórquez-Quintal et al., 2017). سمیت اشکال مختلف آلومینیوم در گیاهان به pH خاک وابسته است. بنابراین، اشکال متعدد آلومینیوم، غلظت‌شان، و سمیت آنها در محیط خاک به سطح pH و شیمی محلول خاک بستگی دارد (Rahman et al., 2018). فراوان‌ترین شکل آلومینیوم سه ظرفیتی ( $Al^{3+}$ ) که خیلی سمی است و بیشترین تأثیر را بر رشد گیاه دارد و در pH کمتر از 5 یافت می‌شود (Kouki et al., 2021; Rahman et al., 2018). افزایش اسیدیته بیشتر از 5 یا 6 فرم غالب آلومینیوم، هیدروکسید آلومینیوم ( $Al(OH)_2^+$ ) که برای گیاهان سمیت آلومینیوم سه ظرفیتی را ندارد (Fan et al., 2020). سمیت آلومینیوم در خاک‌های اسیدی یکی از عوامل اصلی محدود کننده تولیدات کشاورزی است که با ایجاد عدم تعادل هورمونی جوانه‌زنی دانه

برخی از گونه‌های گیاهی را کاهش می‌دهد (Roshani et al., 2014). در حقیقت جوانه زنی و رشد دانه‌ها، حساس‌ترین مرحله فیزیولوژیک گیاهان به فلزات سنگین است بنابراین می‌توان آن را بعنوان شاخصی برای ارزیابی مقاومت به فلزات سنگین در نظر گرفت (Talebi et al., 2014). سطح آستانه سمیت آن برای گیاه ذرت 9 میلی گرم در لیتر است که در غلظت بالاتر از آن رشد طولی ریشه کاهش می‌یابد (Lidon and Barreiro, 2002). اثرات سمیت آلومینوم بر گیاهان بر اثر ممانعت از رشد ریشه، کاهش تغذیه و دسترسی به آب، پراکسیداسیون لیپیدی، تغییر در اسکلت سلولی و ممانعت از تقسیم سلولی ایجاد می‌شود (Fan et al., 2020). با توجه به معرفی کلزا بعنوان اولویت الگوی کشت دانه روغنی در کشور، هدف از این پژوهش ارزیابی فاکتورهای مختلف جوانه‌زنی، طول ساقه‌چه و ریشه‌چه گیاه کلزا در غلظت‌های مختلف آلومینوم است.

### مواد و روش‌ها

در این آزمایش، بذره‌های رقم زرقام با محلول هیپوکلریت سدیم 5 درصد به مدت 15 دقیقه ضد عفونی شده، سپس چندین بار با آب معمولی شستشو داده شدند (Salehi-Eskandari et al., 2017). برای انجام آزمایش‌های درون پتری‌دیش 10 سانتی‌متری پلاستیکی، بذره‌های ضد عفونی شده روی 2 لایه کاغذ صافی در داخل پتری‌دیش‌های پلاستیکی قرار داده شدند و سپس 6 میلی‌لیتر از غلظت‌های آلومینوم کلراید ( $AlCl_3$ ) به حجم با غلظت‌های 50، 100، 150، 200 و 500 میلی‌گرم در لیتر (ppm) به آنها اضافه شد. ظروف پتری حاوی بذر به‌طور تصادفی در انکوباتور با دمای حدود  $21 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد در تاریکی قرار گرفت. پس از 7 روز بذره‌های جوانه زده شمارش و درصد جوانه‌زنی و طول ریشه‌چه و ساقه‌چه بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری و نسبت به گروه شاهد سنجیده شد. برای بذره‌های گروه شاهد از آب مقطر استفاده گردید.

### اندازه‌گیری شاخص‌های جوانه‌زنی

بعد از 12 روز تمام گیاهچه‌ها برداشت شدند و شاخص‌های زیر بررسی شد.

درصد جوانه‌زنی<sup>77</sup> (GP) از طریق رابطه 1 محاسبه شد (Salehi-Eskandari et al., 2017) که در آن n تعداد بذر جوانه زده و

$$N \text{ تعداد کل بذرها است. رابطه 1: } GP = \frac{\text{تعداد بذر جوانه زده در 12 روز}}{\text{تعداد کل بذر}} \times 100 \text{ درصد جوانه‌زنی (GP)}$$

میانگین زمان جوانه‌زنی از طریق رابطه 2 محاسبه شد (Salehi-Eskandari et al., 2017)

$$\text{رابطه 2: میانگین زمان جوانه‌زنی } 78 \text{ (MGT) } = \frac{\sum Dn}{\sum n}$$

n: تعداد بذور جوانه‌زده در روز D، D: تعداد روزهای شمرده شده از روز شروع

$$\text{سرعت جوانه‌زنی نیز از رابطه 3 به دست آمد. رابطه 3: سرعت جوانه‌زنی } = \frac{\sum ni}{\sum Di}$$

در این رابطه ni، تعداد بذر جوانه زده در هر روز و Di شماره روز پس از شروع آزمایش است.

<sup>77</sup> - Germination Percentage

<sup>78</sup>-Mean germination time

بعد از محاسبه شاخص‌های جوانی زنی، بعد از یک هفته، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه گیاهچه‌ها برحسب میلی‌متر با خط کش اندازه‌گیری شد.

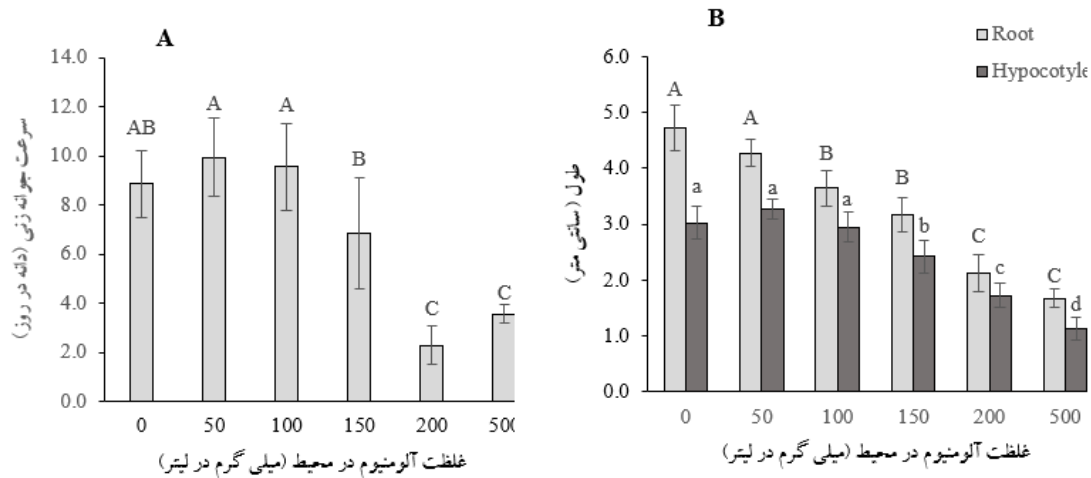
**تحلیل آماری:** جهت تجزیه داده‌ها از نرم افزار SPSS و میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال کمتر از پنج درصد مقایسه شدند و برای رسم نمودارها از برنامه Excel 2007 استفاده گردید.

### نتایج و بحث

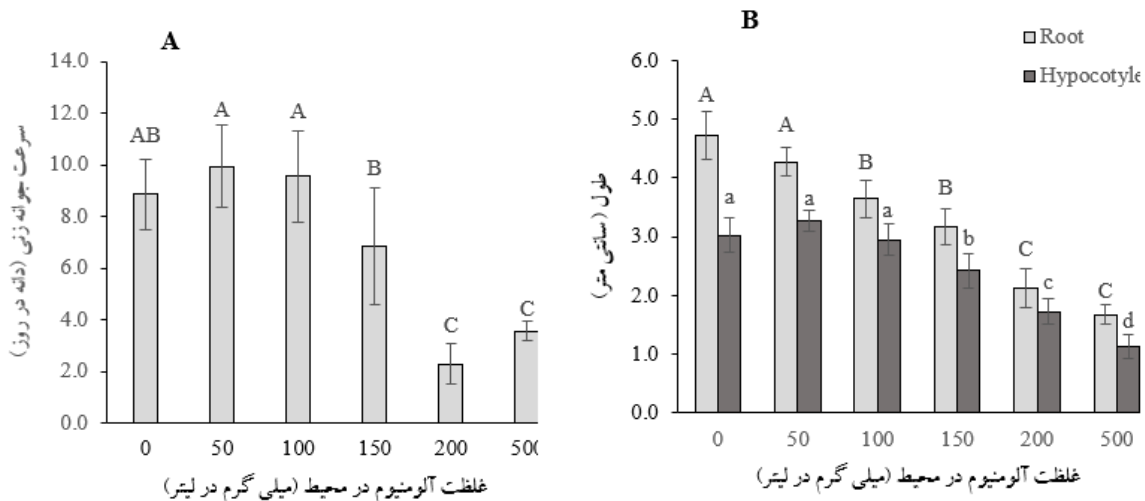
همانطور که در شکل 1-A مشاهده می‌شود، میزان درصد جوانه زنی با افزایش غلظت سرب در محیط تا غلظت 100 میلی‌گرم در لیتر نسبت به گروه شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت ( $P>0.05$ )، اما غلظت‌های بالاتر باعث کاهش معنی‌دار درصد جوانه‌زنی نسبت به گروه شاهد شد ( $P<0.05$ ). بطوری‌که در بالاترین سطح تنش (500 میلی‌گرم در لیتر سرب) نسبت به گروه شاهد کاهش 61/8 درصدی داشت اما با تیمار قبلی از لحاظ آماری اختلافی نداشت ( $P>0.05$ ). فرایند جوانه‌زنی بوسیله چندین مکانسیم ضروری برای رشد و نمو جنین جهت ایجاد گیاه جدید کنترل می‌شود که به شرایط ژنتیکی و محیطی وابسته است (Sleimi et al., 2013). کاهش جوانی زنی بذور در غلظت‌های بالای سرب می‌تواند ناشی از نفوذپذیری پوشش دانه نسبت به آلومنیوم باشد که افزایش غلظت آن باعث کاهش تنفس و برهمکنش آن با آنزیم‌هایی درگیر در تراکم پلی‌ساکاریدها در دیواره است. غلظت‌های سمی آلومنیوم با کاهش سنتز و انتقال سیتوکینین و همچنین تغییر ساختار غشاء پلاسمایی همراه است که منجر به کاهش جذب و انتقال عناصر غذایی و آب ریشه می‌شود (Bojórquez-Quintal et al., 2017). سرعت جوانه‌زنی (شکل 2-A) و میانگین زمان جوانه زنی (شکل 1-B) در غلظت‌های پایین نسبت به گروه شاهد به ترتیب افزایش و کاهش داشت البته این تغییرات از لحاظ آماری معنی‌دار نبود ( $P>0.05$ ). نتایج مشابه در مورد بذرهای خیار مشاهده شد (Kouki et al., 2021). احتمالاً غلظت‌های پایین آلومنیوم محرک رشد ریشه در ژنوتیپ‌های مقاوم که ناشی از افزایش فعالیت مرستیم انتهایی آنهاست (Lidon and Barreiro, 2002). اما غلظت‌های بالاتر موجب کاهش معنی‌دار سرعت جوانه‌زنی و افزایش میانگین زمان جوانه‌زنی شد (شکل 2 و 3). افزایش غلظت آلومنیوم در محیط موجب کاهش رشد طول ساقچه و ریشه‌چه گیاهچه‌های کلزا شد بطوریکه در غلظت‌های بالا 500، 1500 و 500 میلی‌گرم در لیتر سرب به ترتیب طول ساقچه 19/8، 42/9 و 62/4 درصد و طول ریشه‌چه به ترتیب 32/8، 55 و 64/5 درصد کاهش داشت که نشان می‌دهد شیب کاهش رشد در ریشه بیشتر و حساسیت آن بیشتر از ساقه است. نتایج مشابه در مورد اثر سمیت نیکل در رشد ساقه و ریشه گزارش شده است (Salehi-Eskandari et al., 2017). احتمالاً اثر سمیت عناصر سنگین بر ساقه اثر ثانویه است و ریشه اولین قسمت گیاه که در تماس مستقیم با آن است (Gajewska et al., 2013).

### نتیجه‌گیری

پوشش دانه نسبت به غلظت کم آلومنیوم نفوذپذیری پایین دارد اما افزایش غلظت آن در محیط، بازدارنده رشد مرستیم‌های انتهایی است که منجر به کاهش درصد جوانه‌زنی کاهش می‌شود. افزایش غلظت آلومنیوم منجر به افزایش میانگین زمان جوانی و به دنبال کاهش سرعت جوانه‌زنی است. طول ریشه‌چه نسبت به ساقچه حساسیت بیشتری نسبت به غلظت بالای آلومنیوم داشت.



شکل 1- اثر غلظت‌های مختلف آلومینیوم بر درصد جوانه زنی (A) و میانگین زمان جوانه زنی (B) بذرهای کلزا. میانگین سه تکرار  $\pm$  انحراف از معیار). حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن ( $P < 0/05$ ) است.



شکل 2- اثر غلظت‌های مختلف آلومینیوم بر سرعت جوانه زنی بذرهای کلزا. میانگین سه تکرار  $\pm$  انحراف از معیار). حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن ( $P < 0/05$ ) است.

منابع

Sleimi, N., Bankaji, I., Touchan, H., & Corbineau, F. (2013). Effects of temperature and water stresses on germination of some varieties of chickpea (*Cicer arietinum*). *African Journal of Biotechnology*, 12(17), 2201–2206.

Batool, M., El-Badri, A.M., Hassan, M.U., Haiyun, Y., Chunyun, W., Zhenkun, Y., Jie, K., Wang, B., Zhou, G., 2022. Drought stress in *Brassica napus*: effects, tolerance mechanisms, and management strategies. *Journal of Plant Growth Regulation*, 1-25.

- Bojórquez-Quintal, E., Escalante-Magaña, C., Echevarría-Machado, I., Martínez-Estévez, M., 2017. Aluminum, a friend or foe of higher plants in acid soils. *Frontiers in plant science* 8, 1767.
- Cartea, E., De Haro-Bailón, A., Padilla, G., Obregón-Cano, S., del Rio-Celestino, M., Ordás, A., 2019. Seed oil quality of *Brassica napus* and *Brassica rapa* germplasm from Northwestern Spain. *Foods* 8, 292.
- Fan, Y., Ouyang, Y., Pan, Y., Hong, T., Wu, C., Lin, H., 2020. Effect of aluminum stress on the absorption and transportation of aluminum and macronutrients in roots and leaves of *Aleurites montana*. *Forest Ecology and Management* 458, 117813.
- Gajewska, E., Niewiadomska, E., Tokarz, K., Słaba, M., Skłodowska, M., 2013. Nickel-induced changes in carbon metabolism in wheat shoots. *Journal of plant physiology* 170, 369-377.
- Kouki, R., Ayachi, R., Ferreira, R., Sleimi, N., 2021. Behavior of *Cucumis sativus* L. in presence of aluminum stress: Germination, plant growth, and antioxidant enzymes. *Food Science & Nutrition* 9, 3280-3288.
- Lidon, F.C., Barreiro, M., 2002. An overview into aluminum toxicity in maize. *Bulg. J. Plant Physiol* 28, 96-112.
- Rahman, M.A., Lee, S.-H., Ji, H.C., Kabir, A.H., Jones, C.S., Lee, K.-W., 2018. Importance of mineral nutrition for mitigating aluminum toxicity in plants on acidic soils: current status and opportunities. *International journal of molecular sciences* 19, 3073.
- Roshani, M., Abbaspour, H., Saeidi-sar, S., 2014. Effect of aluminium stress on germination and mineral nutrition of kidney bean cultivars with different sensitivity to aluminium. *Biosci Biotechnol Res Asia* 11, 545-553.
- Salehi-Eskandari, B., Ghaderian, S.M., Ghasemi, R., Schat, H., 2017. Optimization of seed germination in an Iranian serpentine endemic, *Fortuynia garcinii*. *Flora* 231, 38-4.
- Sleimi, N., Bankaji, I., Touchan, H., Corbineau, F., 2013. Effects of temperature and water stresses on germination of some varieties of chickpea (*Cicer arietinum*). *African Journal of Biotechnology* 12.
- Talebi, S., Kalat, S.N., Darban, A.S., 2014. The study effects of heavy metals on germination characteristics and proline content of Triticale (*Triticoseale Wittmack*). *International Journal of Farming and Allied Sciences* 3, 1080-1087.

## The response of rapeseed (*Brassica napus* L.) germination parameters to aluminum stress

Behrooz Salehi-Eskandar<sup>1</sup>, Hajar Ghorbannejad nirizi

<sup>1</sup>Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran

<sup>2</sup>Education of Khuzestan province

### Abstract

Aluminum toxicity is one of the main problems of acid soils that restricts the germination and growth of plants. The first physiological process in acidic soils is germination and seedling growth, and the cultivation of rapeseed (*Brassica napus*) as well as oil seeds is the priority of the agricultural model. Then investigate aluminum stress on rapeseed germination parameters. Increasing the concentration of aluminum more than 100 mg/liter led to a decrease in the percentage of seed germination, an increase in the mean germination time and a decrease in the germination index. However, low concentrations of aluminum promote growth and enhance the germination index and decrease the time of germination that related of increasing the activity of the embryo terminal meristems. The length of the root compared to the hypocotyl was more sensitive to the high treatment of aluminum because the root is in direct contact with aluminum and the amount of its accumulation in the root is higher.

Keywords: Rapeseed, Heavy metal, Mean germination time, growth, Germination index ·

## تأثیر غلظت‌های مختلف سالیسیلیک اسید بر محتوی ترکیبات اسانسی گیاه نعناع فلفلی

اکرم شنوایی زارع<sup>1</sup>، علی گنجعلی<sup>2</sup>، داود درقدمی<sup>3</sup>

\* 1- نویسنده مسئول: دکتری فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه فردوسی مشهد

[ashenavaie@yahoo.com](mailto:ashenavaie@yahoo.com)

2- دانشیار، عضو هیئت علمی گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه فردوسی مشهد

3 - مهندس الکترونیک، آموزش و پرورش سبزوار

### چکیده

نعناع فلفلی به دلیل داشتن ترکیبات اسانسی فرار، یکی از مهم‌ترین و باارزش‌ترین گیاهان دارویی می‌باشد. مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف سالیسیلیک اسید (0، 1، 10 و 1 میلی‌مولار) بر روی ترکیبات اسانسی گیاه نعناع فلفلی انجام شد. نتایج نشان داد که کاربرد سالیسیلیک اسید باعث افزایش میزان ترکیبات اسانس نعناع فلفلی مانند منتول و 1، 8 سینئول شده است. براساس نتایج حاصل، بیشترین درصد منتول (32,37 درصد) در تیمار 0,1 میلی‌مولار سالیسیلیک اسید مشاهده شد که در مقایسه با تیمار شاهد (24 درصد)، افزایش معنی‌داری داشت. علاوه بر این، کاربرد سالیسیلیک اسید، میزان ترکیبات اسانس نعناع فلفلی مانند منتوفوران و پولگون را کاهش داد. به‌طورکلی، کاربرد سالیسیلیک اسید محرک مناسبی برای افزایش کیفیت و کمیت ترکیبات اسانسی در گیاهان دارویی می‌باشد.

واژگان کلیدی: ترکیبات ترپنوئیدی، منتول، GC-MASS

### 1- مقدمه

گیاهان دارویی منابع ارزشمندی هستند که از هزاران سال پیش مورد استفاده بوده و امروزه به‌عنوان مواد اولیه در تولید داروهای گیاهی مورد توجه می‌باشند. نعناع فلفلی به‌عنوان یک گیاه دارویی مهم و به دلیل داشتن محتوای بالای اسانس‌های فرار، به عنوان یک گیاه راهبردی مورد توجه بسیاری از محققان قرار گرفته است. در طب سنتی از نعناع فلفلی برای کاهش اشتها، سرماخوردگی، سرفه، تب، تهوع، سردرد، آماس روده بزرگ، ضد گرفتگی عضله، ضد نفخ و سوءهاضمه استفاده می‌شود. (Shah and Mello, 2004). اسانس گیاه نعناع فلفلی عمدتاً از منتول<sup>79</sup> (29-48 درصد)، منتون<sup>80</sup> (20-31 درصد)، منتوفوران<sup>81</sup> (6/8 درصد) و منتیل استات<sup>82</sup> (3-10 درصد) تشکیل شده است (Singh and Misra, 2001). الیسیتورها ترکیباتی هستند که از طریق القای پاسخ‌های دفاعی باعث بیوستت و انباشت متابولیت‌های ثانویه می‌شوند. بررسی‌ها نشان می‌دهد که سالیسیلیک اسید به‌عنوان تنظیم‌کننده رشد گیاهی بر روی کیفیت و کمیت روغن‌های اسانسی گیاهان دارویی تأثیرگذار است (Nasiri et

<sup>79</sup>- Menthol

<sup>80</sup>- Menthone

<sup>81</sup>-Menthoforan

<sup>82</sup>- Menthyl acetate

(al., 2018). افزایش محتوای اسانس‌های فرار با کاربرد SA در گیاهان ریحان، مرزنجوش، نعناع فلفلی و رازیانه مشاهده شده است (Gharib, 2006, Haydari et al., 2019, Gorni et al., 2017). با توجه به اهمیت دارویی گیاه نعناع فلفلی و تأثیر مثبت الیسیتورها در افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه، مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف سالیسیلیک اسید بر الگوی تغییرات ترکیبات اسانسی گیاه نعناع فلفلی انجام شده است.

## 2- مواد و روش‌ها

### 2-1- کشت گیاه نعناع فلفلی، اعمال تیمارها و برداشت گیاه

ریزوم‌های گیاه نعناع فلفلی از دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد تهیه شدند. سپس ریزوم‌ها در گلدان‌های حاوی کوکوپیت، ورمی کمپوست، خاک برگ و پرلیت به نسبت‌های مساوی، کشت شدند. پس از تکثیر و یکدست‌سازی، در هر گلدان دو تا سه نشاء سالم کاشته شد و آبیاری گلدان‌ها به صورت روزانه در شرایط یکسان انجام شد. محلول سالیسیلیک اسید در غلظت‌های مختلف 0, 1, 0 و 1 میلی‌مولار تهیه شد. در این مطالعه، یک ماه پس از کاشت نشاءها، اسپری برگی سالیسیلیک اسید، سه مرتبه (هر هفته روز یک‌بار) در طی پنجاه روز انجام شد. برداشت نمونه‌های گیاهی نعناع فلفلی، 24 ساعت بعد از آخرین مرحله محلول‌پاشی صورت گرفت.

### 2-2- شناسایی ترکیبات ترپنوئیدی در اسانس گیاه

جهت استخراج اسانس گیاه نعناع فلفلی از روش تقطیر با آب و دستگاه اسانس‌گیر طرح کلونجر استفاده شد. بدین منظور 50 گرم از اندام هوایی نعناع فلفلی به همراه 500 میلی‌لیتر آب مقطر درون بالن مخصوص دستگاه ریخته شد و عمل اسانس‌گیری به مدت 3 ساعت ادامه یافت. اسانس‌های به‌دست‌آمده در ظرف‌های تیره‌رنگ تا هنگام آنالیز GC-MASS در یخچال و دمای 4 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. نمونه‌های اسانس برای آنالیز GC-MASS به پژوهشگاه علوم و صنایع غذایی مشهد فرستاده شدند.

### 3- نتایج و بحث

براساس نتایج، 26 نوع ترکیب با استفاده از GC-MASS شناسایی شدند (جدول 1). نتایج آزمایش‌های ما نشان داد که سالیسیلیک اسید تأثیر مثبتی بر افزایش ترکیبات اسانسی گیاه نعناع فلفلی دارد. سالیسیلیک اسید با تأثیر مثبت بر روی متابولیسم و فعالیت‌های آنزیمی مسیر بیوستزی مونوترپن‌ها و سزکوئی ترپن‌ها باعث افزایش ترکیبات شیمیایی اسانس‌های فرار در گیاهان شده است (Pirbalouti et al., 2019). گزارش‌های متعددی نشان داده است که سالیسیلیک اسید به صورت معنی‌داری عملکرد و درصد اسانس‌های فرار را در گیاهان بهبود داده است. کاربرد سالیسیلیک اسید باعث افزایش میزان تیمول و سایر ترکیبات اسانس گیاه دارویی مریم گلی (Rowshan et al., 2010) و افزایش میزان تیمول، گاما ترپنین و کاهش میزان پاراسیمین گیاه مرزه (Ghasemi Pirbalouti et al., 2017) شده است. کاربرد سالیسیلیک اسید، افزایش درصد ترکیبات اسانسی گیاه نعناع فلفلی مانند منتول، لینالول، لیمونن و منتون را سبب شده است، که با نتایج این تحقیق همخوانی دارد (del Rosario Cappellari et al., 2019).

جدول (1) تاثیر غلظت‌های مختلف سالیسیلیک اسید بر محتوی ترکیبات ترپنوئیدی گیاه نعناع فلفلی

Concentration (%)					
No	Compounds	RT	SA Concentration (mM)		
			0	0.1mM SA	1mM SA
1	$\alpha$ -Pinene	4.044	1.4	1.42	1.73
2	Comphene	4.35	ND	0.39	0.4
3	Sabinen	4.757	0.88	1.3	1.49
4	Nopinen	4.866	2.91	2.56	2.94
5	1,8-Cineole	6.006	10.61	19.21	23.31
6	Isomenthone	9.027	4.01	15.11	12.03
7	Menthofuran	9.224	16.73	7.85	5.57
8	Isomenthol	9.394	ND	0.86	ND
9	Linderol	9.448	7.09	0.76	0.81
10	(-)-Menthol	9.611	24.21	32.37	31.89
11					
12	Pulegone	11.172	8	7.6	9.51
13	Bornyl acetate	12.367	1.07	0.42	0.47
14	Menthol, acetate	12.564	0.86	0.48	0.36



15	Dihydrojasmone	14.56	1.18	ND	ND
16	4-(2-Methyl-3-oxocyclohexyl)butanal	15.565	1.91	ND	ND
17	Caryophyllene	15.843	7.22	6.16	5.55
18	Humulene	16.739	ND	0.38	0.33
19	5Caranol,(1S,3R,5S,6R)	16.746	3.5	ND	ND
20	Germacrene D	17.37	2.07	2.2	2.06
21	Bicyclogermacrene	17.717	ND	0.34	0.34
22	Phenol, 3,5-bismethyl]-2,4,6-trimethyl	18.056	0.87	ND	ND
23	Caryophyllene oxide	19.76	2.34	ND	ND
24	Cyclobarbitol	20.928	0.5	ND	ND
25	(+)-T-Cadinol	21.179	1.31	0.58	0.66
26	Di-n-decylsulfone	21.831	0.8	ND	ND
RT= Retention time					
ND= not detected					

#### 4- نتیجه گیری

با توجه به اهمیت گیاهان دارویی در صنایع کشاورزی و داروسازی، افزایش کمی و کیفی متابولیت‌های ثانویه، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. در این رابطه، کاربرد تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی مانند سالیسیلیک اسید، به دلیل نقش مثبت آن‌ها در فرایندهای رشد و نمو گیاه و نیز اثرات القایی آن در سنتز ترکیبات ثانویه و اسانس گیاهان دارویی، امیدبخش به نظر می‌رسد. نتایج مطالعه حاضر نشان دهنده تاثیر مثبت غلظت‌های بهینه در بهبود عملکرد کمی و کیفی گیاه نعناع فلفلی می‌باشد.

#### منابع

DEL ROSARIO CAPPELLARI, L., SANTORO, M. V., SCHMIDT, A., GERSHENZON, J. & BANCHIO, E. 2019. Induction of essential oil production in *Mentha x piperita* by plant growth promoting bacteria was correlated

- with an increase in jasmonate and salicylate levels and a higher density of glandular trichomes. *Plant Physiology and Biochemistry*, 141, 142-153.
- GHARIB, F. A. 2006. Effect of salicylic acid on the growth, metabolic activities and oil content of basil and marjoram. *International journal of agriculture and biology*, 4, 485-492.
- GHASEMI PIRBALOUTI, A., NOURAFKAN, H. & SOLYAMANI-BABADI, E. 2017. Variation in chemical composition and antibacterial activity of essential oils from Bakhtiari Savory (*Satureja bachtiarica* Bunge.). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 20, 474-484.
- GORNI, P. H., BROZULATO, M. D. O., LOURENÇÃO, R. D. S. & KONRAD, E. C. G. 2017. Increased biomass and salicylic acid elicitor activity in fennel (*Foeniculum vulgare* Miller). *Brazilian Journal of Food Technology*, 20.
- HAYDARI, M., MARESCA, V., RIGANO, D., TALEEI, A., SHAHNEJAT-BUSHEHRI, A. A., HADIAN, J., SORBO, S., GUIDA, M., MANNA, C. & PISCOPO, M. 2019. Salicylic acid and melatonin alleviate the effects of heat stress on essential oil composition and antioxidant enzyme activity in *Mentha* × *piperita* and *Mentha arvensis* L. *Antioxidants*, 8, 547.
- NASIRI, Y., ZANDI, H. & MORSHEDLOO, M. R. 2018. Effect of Salicylic Acid and Ascorbic Acid on Essential oil Content and Composition of Dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.) under Organic Farming. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 21, 362-373.
- PIRBALOUTI, A. G., NEKOEI, M., RAHIMMALEK, M. & MALEKPOOR, F. 2019. Chemical composition and yield of essential oil from lemon balm (*Melissa officinalis* L.) under foliar applications of jasmonic and salicylic acids. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 19, 101144.
- ROWSHAN, V., KHOI, M. K. & JAVIDNIA, K. 2010. Effects of salicylic acid on quality and quantity of essential oil components in *Salvia macrosiphon*. *J Biol Environ Sci*, 4, 77-82.
- SHAH, P. P. & MELLO, P. 2004. A review of medicinal uses and pharmacological effects of *Mentha piperita*.
- SINGH, P. & MISRA, A. 2001. Influence of gibberellin and etrel on growth chlorophyll content and enzyme activities and essential monoterpene oil in an efficient genotype of *Mentha spicata* var. MSS-5. *J Med Arom Plant Sci*, 22, 283-286.

## The effect of different concentrations of salicylic acid on the essential compounds of peppermint (*Mentha piperita* L.)

Akram Shenavaie Zare\*<sup>1</sup>, Ali Ganjeali<sup>2</sup>, Davood Darghadami<sup>3</sup>

Department of Biology, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran,  
2 Department of Biology, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran,  
3 Electronic Engineering, Ministry of Education, Sabzevar, Iran

\*Corresponding Author: [ashenavaie@yahoo.com](mailto:ashenavaie@yahoo.com)

### Abstract

Peppermint is one of the most important and valuable medicinal plants due to its essential compounds. The present study was conducted with the aim of investigating the effect of different concentrations of salicylic acid (0, 0.1 and 1 mM) on the essential compounds of peppermint. The results showed that the salicylic acid increased the amount of peppermint essential oil compounds such as menthol and 1,8-Cineole. Based on the results, the highest percentage of menthol (32.37%) was observed in the 0.1 mM salicylic acid treatment, which had a significant increase compared to the control treatment (24%). In addition, the application of salicylic acid reduced the amount of essential compounds of peppermint such as menthofuran and pulegone. In general, the use of salicylic acid is a suitable stimulus to increase the quality and quantity of essential compounds in medicinal plants.

**Keywords:** GC-MASS, Menthol, Terpenoid compounds.

## واکنش‌های فیزیولوژیک نخود علوفه‌ای به سطوح تنش خشکی و کاربرد توام

### کیتوزان و هیومیک اسید

الهام بحرآبادی<sup>1</sup>، یحیی امام<sup>2</sup>

<sup>1</sup> دانشجوی دکتری بخش تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز

[Elhambahrabadi.7074@yahoo.com](mailto:Elhambahrabadi.7074@yahoo.com)

<sup>2</sup>\* نویسنده مسئول: استاد بخش تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز

[Yaemam@shirazu.ac.ir](mailto:Yaemam@shirazu.ac.ir)

#### چکیده

پوشش‌دار کردن بذرها با ترکیبات تحریک‌کننده رشد می‌تواند به رشد سریعتر گیاهچه در مراحل حساس اولیه رشد منجر شود. پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر پوشش‌دار کردن بذر نخود علوفه‌ای با کیتوزان و هیومیک اسید، به صورت توام، بر کاهش اثرات نامطلوب تنش خشکی در سطوح مختلف در مرحله گیاهچه‌ای در سال 1402 در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه شیراز انجام شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و تیمارهای: با پوشش و بدون پوشش و سطوح خشکی 100%FC، 75%FC، 50%FC و 25%FC انجام شد. نتایج نشان داد که تنش خشکی بر رشد گیاهچه‌ها تاثیر منفی داشت، به طوری که میانگین وزن خشک ساقه از 0/088 گرم در شرایط FC کامل به 0/023 گرم در شرایط 25%FC کاهش یافت. بررسی محتوای کلروفیل نیز تفاوت معنی‌داری میان تیمارهای خشکی نشان داد به طوری که بیشترین غلظت کلروفیل در تیمار 25%FC مشاهده شد و بین سایر سطوح تنش خشکی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. بعلاوه، بررسی درصد نهایی ظهور گیاهچه نشان داد که کمترین ظهور در سطح 25%FC مشاهده شد، همچنین کمترین سرعت ظهور گیاهچه‌ها و میانگین ظهور روزانه آنها مربوط به تیمار خشکی 25%FC بود و بین سایر سطوح تیمار خشکی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. این پژوهش نشان داد که پوشش‌دار کردن بذر نخود علوفه‌ای با کیتوزان و هیومیک اسید بر هیچ یک از ویژگی‌های اندازه‌گیری شده اثر معنی‌داری نداشت.

**واژگان کلیدی:** نخود علوفه‌ای، تنش خشکی، پوشش‌دار کردن بذر، کیتوزان، هیومیک اسید.

#### مقدمه

یکی از مراحل حساس دوره رشد گیاه، فاصله زمانی کاشت بذر تا مرحله استقرار گیاهچه است که در این مدت بذر در معرض دامنه وسیعی از تنش‌های زنده و غیر زنده قرار می‌گیرد. هدف فناوری پوشش‌دار کردن بذر<sup>83</sup> یا لایه پوشانی، مدرن این است که

<sup>83</sup> Seed-coatingtechnolog

طیف وسیعی از ترکیبات فعال از جمله تحریک کننده‌های زیستی<sup>84</sup>، عناصر غذایی و سایر مواد با مقادیر دلخواه را به منظور بهبود عملکرد گیاه و بهبود بذر برای مقابله با تنش‌های زیستی و غیر زیستی، حین و پس از کاشت روی بذر اعمال شود. روند رو به رشد استفاده از مواد آلی در راستای کشاورزی پایدار<sup>85</sup> در بحث پوشش‌دار کردن بذرها هم یکی از محورهای اصلی این فناوری نوآورانه محسوب می‌شود. تحریک کننده‌های زیستی، ترکیبات طبیعی هستند که با تحریک فرآیندهای فیزیولوژیک و مولکولی در گیاه عملکرد و کیفیت گیاهان را بهبود می‌بخشند. این ترکیبات صرفاً منبع نیتروژن محسوب نمی‌شوند بلکه سبب بهبود جذب عناصر غذایی هم می‌شوند، همچنین استفاده از تحریک کننده‌های زیستی به عنوان تیمار بذر در بخش کشاورزی مقرون به صرفه خواهد بود. کیتوزان و هیومیک اسید از جمله تحریک کننده‌های زیستی طبقه‌بندی می‌شوند (Afzal et al., 2020). کیتوزان پلیمر طبیعی است که دارای مزایایی چون زیست تجزیه پذیر، زیست سازگار و غیرسمی است. بعلاوه، یکی از بهترین ترکیبات، در ایجاد پوشش فیلم یکنواخت در سطح بذر است (He et al., 2009). نتایج بسیاری از پژوهش‌ها به اثرات مثبت پوشش‌دار کردن بذر با عامل کیتوزان بر بهبود جوانه‌زنی و کیفیت بذر اشاره دارد. نخود (*Pisum sativum* L.) گیاهی چندمنظوره، خودگشن و دیپلوئید  $2n=14$  از خانواده Fabaceae است که از لحاظ تاریخی شواهدی مینی بر کشت آن حتی قبل‌تر از گندم و جو وجود دارد (Maxted et al., 2001). سطح زیر کشت جهانی نخود در سال 2020-21 بیش از هفت میلیون هکتار بوده است (FAO., 2021). نخود علوفه‌ای (*Pisum sativum* var. *arvense* L. pionir.) گیاهی یکساله است که نخستین بار در ایران، در سال 1398 معرفی شد و منشأ این گیاه کشور صربستان است. این گیاه علوفه‌ای دارای پروتئین علوفه 16% است که میزان پروتئین بالایی محسوب می‌شود و عملکرد علوفه خشک آن بیش از چهار تن در هکتار است (سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، 1400) اگرچه در برخی از منابع عملکرد علوفه خشک نخود علوفه‌ای را بیشتر هم گزارش کرده‌اند (Sayar et al., 2016). نخود علوفه‌ای گیاهی با طول فصل رشد کم (Sayar et al., 2019, Demirkol et al., 2016)، پتانسیل عملکرد و میزان پروتئین خام علوفه بالایی دارد. بعلاوه، این لگیوم به دلیل توانایی تثبیت نیتروژن قادر به تولید عملکرد با ثبات، با مصرف کمتر کودهای نیتروژن‌دار است و یکی از بهترین انتخاب‌ها در تناوب (Fraser et al., 2021) و کشت مخلوط به خصوص با غلاتی همچون جو و تریتی‌کاله است (Bacchi et al., 2021) توسعه کشت نخود به نظر می‌رسد استفاده از کودهایی شیمیایی را کاهش می‌دهد زیرا منبع اصلی نیتروژن مورد نیاز واریته‌های نخود در مراحل اولیه رشد، نیتروژن موجود در خاک است (BBCH<sup>86</sup> 14, and 33) اما از مرحله (BBCH 55 to 90) منبع اصلی نیتروژن مصرفی گیاه نیتروژن اتمسفر است (Wysokinski et al., 2021., Janusauskaite et al., 2023). اگرچه علوفه تولیدی گیاهان علوفه‌ای، نسبت به غلات کمیت کمتری دارد (به علت ظرفیت پنجه‌زنی غلات) اما از کیفیت بالاتری برخوردار است (Bacchi et al., 2021). از لحاظ عملکرد و پتانسیل سیلویی، بهترین مرحله رشدی برای برداشت آن 12 هفته پس از کاشت است (Fraser et al., 2021). خشکی یکی از مهمترین عوامل محدود کننده رشد نخود است (AL-Quraan et al., 2021., Magyar et al., 2011). حساسترین مرحله رشدی نخود به خشکی، مرحله جوانه‌زنی و گلدهی است (Magyar et al., 2011; Gusmao et al., 2012). اصولاً در سیستم تولید علوفه،

<sup>84</sup> Biostimulants

<sup>85</sup> Sustainable agriculture

<sup>86</sup> Bundesanstalt, Bundessortenamt und Chemische Industrie Biologische

فقدان تنوع گیاه مشاهده می‌شود و عمده علوفه تولیدی محدود به چند گیاه علوفه‌ای با مصرف نهاده بالا<sup>87</sup> می‌شود که در بحث کشاورزی پایدار الزام ورود گیاهان علوفه‌ای با کیفیت بالا و در عین حال با مصرف نهاده کم<sup>88</sup> (آب و نیتروژن) مطرح است. نخود علوفه‌ای علاوه بر پتانسیل تولید علوفه با عملکرد و کیفیت بالا در سیستم تناوب هم عملکرد بالایی دارد (begna et al., 2021). در پژوهش حاضر هدف استفاده از لایه پوشانی ترکیبی زیست‌تجزیه‌پذیر کیتوزان - هیومیک اسید برای بهبود رشد گیاهچه نخود علوفه‌ای در سطوح مختلف تنش خشکی است.

## مواد و روش‌ها

این پژوهش در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز در اردیبهشت 1402 اجرا شد. بذره‌های نخود علوفه‌ای (*Pisum sativum* var. *arvense* (L.) pionir) از موسسه بذر و نهال رضوی تامین شد. هفت بذر درون هر گلدان در عمق سه سانتیمتر کاشته شد، گلدان‌هایی با ارتفاع 14 سانتی‌متر و قطر دهانه 17 سانتی‌متر که درون هر کدام 2/5 کیلوگرم خاک مزرعه با بافت لومی ریخته شد. برخی از ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاک آزمایش در (جدول 1) آورده شده است. تیمارهای آزمایش شامل پوشش بذر با دو سطح بذره‌های بدون لایه پوشانی و بذره‌های لایه پوشانی شده با ترکیب توام کیتوزان و هیومیک اسید و تیمار تنش خشکی با چهار سطح تنش معادل 100%FC، 75%FC، 50%FC و 25%FC بود. لایه پوشانی بذرها به کمک دستگاه فیلم کوتینگ در موسسه بذر و نهال رضوی انجام شد (با غلظت 0/2g/ml کیتوزان و 6g/1 هیومیک اسید). آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. بذرها از همان ابتدای کاشت به مدت 14 روز در معرض تنش خشکی قرار گرفتند.

جدول 1- برخی از ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاک آزمایش

Table 1- Some physicochemical characteristics of the soil

عمق خاک (cm)	هدایت الکتریکی EC*10 <sup>3</sup>	واکنش گل اشیاع pH	کربن آلی (%)	نیتروژن (%)	فسفر قابل جذب (ppm)
0-30	0/64	7/20	1/2	0/12	5
بافت خاک	پتاسیم قابل جذب (ppm)	درصد رس (%)	درصد سیلت (%)	درصد شن (%)	بافت خاک لومی
لوم	198	26/4	44	29/6	لومی

به منظور اعمال تنش خشکی در گلدان به روش درصد رطوبت حجمی روزانه گلدان‌ها وزن شدند و تا رسیدن به سطح هر تیمار خشکی آبیاری روزانه انجام شد. سپس شمارش روزانه ظهور گیاهچه‌ها در سطح خاک به مدت 14 روز انجام شد و شاخص‌های مربوط به ظهور و استقرار گیاهچه محاسبه شد. برای کمی کردن ظهور گیاهچه پارامترهای زیر محاسبه شد.

درصد نهایی ظهور گیاهچه (FEP<sup>89</sup>) که از تقسیم تعداد گیاهچه‌های ظاهر شده در هر گلدان بخش بر تعداد بذره‌های کاشت شده در هر گلدان ضرب در 100 محاسبه می‌شود (Hosseini et al., 2009).

<sup>87</sup> High-input

<sup>88</sup> Low-input

<sup>89</sup> Final emergence percentage

سرعت ظاهر شدن گیاهیچه (ER<sup>90</sup>) بر اساس فرمول زیر محاسبه شد (Murillo-Amador et al., 2021).

$$M = n_1/t_1 + n_2/t_2 + \dots + n_{14}/t_{14} \quad (1)$$

. که  $n_1, n_2, \dots, n_{14}$  تعداد بذرهاى ظهور یافته در سطح خاک در زمان  $t_1, t_2, \dots, t_{14}$  (بر حسب روز) است.

میانگین سبز شدن روزانه (Mean daily emergence) شاخصی از سرعت سبز شدن و تعداد گیاهیچه‌های سبز شده است که از تقسیم درصد سبز شدن نهایی (FEP) بر طول دوره آزمایش (D) به دست می‌آید (بیات، 1395).

$$MDE = FEP/D \quad (2)$$

سپس غلظت کلروفیل برگ سوم از پایین در بوته‌های 14 روزه به کمک دستگاه کلروفیل متر (SPAD-KONICA MINOLTA) اندازه‌گیری شد. ارتفاع بوته 14 روزه با کمک خط‌کش اندازه‌گیری شد و بخش‌های هوایی گیاه به مدت 24 ساعت درون آون آزمایشگاهی 70 درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و وزن خشک آنها به کمک ترازو آزمایشگاهی با دقت 0/01 گرم اندازه‌گیری شد.

## نتایج و بحث

تنش خشکی عملکرد بسیاری از گیاهان از جمله نخود علوفه‌ای که از مهمترین لگیوم‌ها است را تحت تاثیر قرار داده است (Gusmao et al., 2012; Demirkol et al., 2023). در پژوهش حاضر، نتایج آنالیز واریانس تنش خشکی بر ویژگی‌های مورفولوژیکی، محتوای کلروفیل و شاخص‌های رشد و استقرار بوته نخود علوفه‌ای در سطح احتمال 0/05 تفاوت معنی‌داری را نشان داد (جدول 2). اگرچه عامل لایه پوشانی بذر با ترکیب توام کیتوزان-هیومیک اسید، بر ویژگی‌های مذکور تفاوت معنی‌داری را نشان نداد.

<sup>90</sup> Emergence rate

جدول 2- جدول تجزیه واریانس (میانگین مربعات) پارامترهای مختلف رشد و استقرار گیاهچه نخود

علوفه‌ای در سطوح مختلف تنش خشکی و کاربرد تیمار لایه پوشانی بذر

مقایسه	Table 2-analysis of variance (mean square) of different parameters of forage pea seedling growth and establishment at different levels of water stress and application of seed coat treatment							نتایج
	منابع تغییرات (SOV)	درجه آزادی	وزن خشک ساقچه	درصد نهایی ظهور گیاهچه	میانگین ظهور روزانه گیاهچه	سرعت جوانه‌زنی	SPAD	
پژوهش نشان داد خشکی در علوفه‌ای 25% بر	لایه پوشانی بذر C	۱	0/00000028 <sup>ns</sup>	136/05 <sup>ns</sup>	0/69 <sup>ns</sup>	0/0013 <sup>ns</sup>	0/84 <sup>ns</sup>	حاضر
	تنش خشکی D	۳	0/0038*	1247/16*	0/36*	0/32*	223/34*	که تنش
	اثر متقابل C* D	۳	0/00016 <sup>ns</sup>	22/68*	0/12 <sup>ns</sup>	0/066 <sup>ns</sup>	3/25 <sup>ns</sup>	گیاه نخود
	خطا Error	۱۶	0/000061	85/03	0/44	0/016	14/42	در سطح
	ضریب تغییرات CV(%)		11/36	10/76	10/76	17/15	8/67	روی

ns. \* به ترتیب غیر معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال 5 درصد می‌باشد.

ns: Not significant, \* significant at 5% level of probability.

ویژگی‌های وزن تر بخش‌های هوایی، غلظت کلروفیل و پارامترهای مربوط به رشد و استقرار گیاهچه تاثیر معنی‌داری داشت (جدول 3)، همانگونه که نتایج برخی از پژوهش‌ها نشان داد که در نخود در سطح 20% ظرفیت نگهداری آب خاک، تا حد زیادی فرآیندهای مربوط به جوانه‌زنی کاهش دارد و همبستگی مثبتی بین کاهش وزن خشک گیاهچه، ارتفاع آن (AL-Quraan et al., 2021) و محتوای کلروفیل a و b گزارش شده است (Magyar-Tabori et al., 2011). . . بعلاوه، میزان پروتئین کل، کربوهیدرات و MDA<sup>91</sup> گیاهچه افزایش می‌یابد و برخی از پژوهش‌ها افزایش چشمگیر ترکیبات فنولی در برگ در شرایط تنش خشکی را نشان داد (Magyar-Tabori et al., 2011). در گیاه خنجر (*Lathyrus sativus* L.) میزان تولید ماده خشک، عملکرد دانه و شاخص برداشت با افزایش سطوح تنش خشکی کاهش داشت و در پتانسیل آب برگ 0/1 MPa- رشد گیاه متوقف می‌شود (Gusmao et al., 2012). در واقع در این شرایط گیاهچه با حفظ تنظیم اسمز سلولی<sup>92</sup> از آن در برابر تنش اکسیداتیو محافظت می‌کند و به حفظ تعادل متابولیسم کربن به نیتروژن (C:N)، آماس سلولی<sup>93</sup> و هم‌ایستایی یا هومئوستازی سلولی<sup>94</sup> کمک می‌کند (AL-Quraan et al., 2021). نخود علوفه‌ای طول فصل رشد کم، پتانسیل عملکرد بالا و میزان پروتئین خام بالا علوفه را دارد و از لحاظ عملکرد و پتانسیل سیلویی، بهترین مرحله رشدی برای برداشت آن 12 هفته پس از کاشت است (Fraser et al., 2021). یکی از ویژگی‌های مطلوب در گیاهان علوفه‌ای سرعت بالا استقرار گیاهچه است (Machado et al., 2019). نتایج پژوهش (Demirkol et al., 2023) نشان داد که با افزایش تنش خشکی میزان آنتی‌اکسیدان‌ها (کاتالاز<sup>95</sup>، گلوکاتایون<sup>96</sup> و سوپراکسید دیسموتاز<sup>97</sup>) افزایش می‌یابد. اثر مقایسه‌ای تنش خشکی با شوری نشان داده که در یک تنش اسمزی مساوی اثر تنش خشکی شدیدتر از تنش شوری بوده است (Okcu et al., 2005). استفاده از کیتوزان در لایه پوشانی بذر در برخی از پژوهش‌ها گزارش شده است (Ziani et al., 2010; Zeng et al., 2012; Hassan et al., 2021). نتایج بسیاری از پژوهش‌ها نشان داد که لایه پوشانی بذر با کیتوزان می‌تواند سبب بهبود جوانه‌زنی و افزایش کیفیت بذر (Zeng et al., 2012)، فعال کردن سیستم آنتی‌اکسیدانی،

<sup>91</sup> Malondialdehyde

<sup>92</sup> Cellular osmotic adjustment

<sup>93</sup> Cell turgor

<sup>94</sup> Cell homeostasis

<sup>95</sup> Catalase (CAT)

<sup>96</sup> Glutathione reductase (GR)

<sup>97</sup> Superoxide dismutase (SOD)

کاهش سطح مالون دی‌آلدهید و  $H_2O_2$  شود (Hassan et al., 2021). از طرف دیگر کیتوزان یکی از بهترین ترکیبات در بحث لایه پوشانی بذرها به خصوص لایه پوشانی به صورت فیلم است (Zeng et al., 2012). استفاده از این بایوپلیمر یک لایه نیمه تراوا در سطح بذر ایجاد می‌کند که این عامل سبب بهبود جذب آب از خاک توسط بذر می‌شود (Zeng et al., 2012). در پژوهش حاضر لایه پوشانی بذر تفاوت معنی دار را نشان نداد به نظر می‌رسد غلظت مورد استفاده مناسب نبوده است (جدول 1). یکی از مهمترین عوامل موثر در کارایی کیتوزان غلظت استفاده شده است (Ziani et al., 2010; Zeng et al., 2012). در پژوهشی که اثر لایه پوشانی بذر با عامل کیتوزان با غلظت‌های متفاوت در گیاه سویا را مورد بررسی قرار داده بود، نتایج نشان داد با افزایش غلظت کیتوزان جوانه‌زنی بذر، رشد گیاه و عملکرد افزایش یافت. در این پژوهش بهترین غلظت کیتوزان 5% بود (Ziani et al., 2010)، همچنین در پژوهشی دیگر بهترین غلظت برای کیتوزان 1%

گزارش شد و استفاده از کیتوزان سبب افزایش آنتی اکسیدان‌های کاتالاز، گلوکاتایون ردوکتاز و آسکوربیک پراکسیداز شد (Hassan et al., 2021).

جدول 3. مقایسه میانگین سطوح مختلف تنش خشکی برای ویژگی‌های مورد بررسی

Table 3. mean comparison of levels of water stress for the studied characteristics

سطوح تنش خشکی	وزن خشک ساقه‌چه	درصد نهایی ظهور گیاهچه	میانگین ظهور روزانه گیاهچه	سرعت جوانه‌زنی	SPAD
100%FC	0/093 <sup>a</sup>	95/23 <sup>a</sup>	6/80 <sup>a</sup>	0/91 <sup>a</sup>	39/92 <sup>b</sup>
75%FC	0/083 <sup>b</sup>	90/47 <sup>a</sup>	6/46 <sup>a</sup>	0/84 <sup>a</sup>	41/85 <sup>b</sup>
50%FC	0/063 <sup>c</sup>	92/85 <sup>a</sup>	6/63 <sup>a</sup>	0/83 <sup>a</sup>	40/5 <sup>b</sup>
25%FC	0/036 <sup>d</sup>	64/28 <sup>b</sup>	4/5 <sup>b</sup>	0/40 <sup>b</sup>	52/85 <sup>a</sup>

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند، فاقد تفاوت معنی‌دار بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال 5 درصد می‌باشد.

### نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد نخود علوفه‌ای تا 50% FC پارامترهای مربوط به رشد و ظهور گیاهچه تحت تاثیر قرار نگرقت و با توجه به نتایج این پژوهش به نظر می‌رسد این گیاه علوفه‌ای در مناطق با خشکی متوسط در مراحل اولیه رشد قادر به رشد باشد اگرچه که تیمار لایه پوشانی با ترکیب توام کیتوزان - هیومیک اسید اثر چندانی بر پارامترهای فوق نداشت.

### منابع

پروین بیات، مختار قبادی، محمد اقبال قبادی و غلامرضا محمدی. (1395). ارزیابی قابلیت آزمون جوانه‌زنی استاندارد بذر در شرایط آزمایشگاهی برای پیش‌بینی ظاهر شدن و استقرار گیاهچه نخود (*Cicer arietinum* L.)، نشریه علوم و فناوری بذر ایران، 5(1)، صص. 27-38.



سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی. (1400). موسسه تحقیقات کشاورزی دیم کشور. نخود علوفه‌ای رقم پایونیر برگرفته از نخود علوفه‌ای رقم/ <https://dari.areeo.ac.ir/fa-IR/dari.areeo.ac/33956/news/view/61435/155002/Staging/> پایونیر.

Afzal, I., Javed, T., Amirkhani, M. and Taylor, A.G., 2020. Modern seed technology: Seed coating delivery systems for enhancing seed and crop performance. *Agriculture*, 10(11), p.526.

AL-Quraan, N.A., Al-Ajlouni, Z.I. and Qawasma, N.F., 2021. Physiological and biochemical characterization of the GABA shunt pathway in pea (*Pisum sativum* L.) seedlings under drought stress. *Horticulturae*, 7(6), p.125.

Bacchi, M., Monti, M., Calvi, A., Lo Presti, E., Pellicanò, A. and Preiti, G., 2021. Forage potential of cereal/legume intercrops: Agronomic performances, yield, quality forage and LER in two harvesting times in a Mediterranean environment. *Agronomy*, 11(1), p.121.

Demirkol, G. and Yilmaz, N., 2019. Forage pea (*Pisum sativum* var. *arvense* L.) landraces reveal morphological and genetic diversities. *Turkish Journal of Botany*, 43(3), pp.331-342.

Fraser, M.D., Fychan, R. and Jones, R., 2001. The effect of harvest date and inoculation on the yield, fermentation characteristics and feeding value of forage pea and field bean silages. *Grass and Forage Science*, 56(3), pp.218-230.

Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2021. FAOSTAT: Crops and livestock products. Retrieved from <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>.

Gusmao, M., Siddique, K.H.M., Flower, K., Nesbitt, H. and Veneklaas, E.J., 2012. Water deficit during the reproductive period of grass pea (*Lathyrus sativus* L.) reduced grain yield but maintained seed size. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 198(6), pp.430-441.

Hosseini, N.M., Palta, J.A., Berger, J.D. and Siddique, K.H.M., 2009. Sowing soil water content effects on chickpea (*Cicer arietinum* L.): Seedling emergence and early growth interaction with genotype and seed size. *Agricultural Water Management*, 96(12), pp.1732-1736.

Hassan, F.A.S., Ali, E., Gaber, A., Fetouh, M.I. and Mazrou, R., 2021. Chitosan nanoparticles effectively combat salinity stress by enhancing antioxidant activity and alkaloid biosynthesis in *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. *Plant Physiology and Biochemistry*, 162, pp.291-300.

Janusauskaite, D., 2023. Productivity of Three Pea (*Pisum sativum* L.) Varieties as Influenced by Nutrient Supply and Meteorological Conditions in Boreal Environmental Zone. *Plants*, 12(10), p.1938.

Murillo-Amador, B., López-Aguilar, R., Kaya, C., Larrinaga-Mayoral, J. and Flores-Hernández, A., 2002. Comparative effects of NaCl and polyethylene glycol on germination, emergence and seedling growth of cowpea. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 188(4), pp.235-247.

Magyar-Tábori, K., Mendler-Drienyovszki, N. and Dobránszki, J., 2011. Models and tools for studying drought stress responses in peas. *OMICS: A Journal of Integrative Biology*, 15(12), pp.829-838.

Maxted, N. and Ambrose, M., 2001. Peas (*Pisum* L.). In *Plant genetic resources of legumes in the Mediterranean* (pp. 181-190). Dordrecht: Springer Netherlands.

Okcu, G., Kaya, M.D. and Atak, M., 2005. Effects of salt and drought stresses on germination and seedling growth of pea (*Pisum sativum* L.). *Turkish journal of agriculture and forestry*, 29(4), pp.237-242.

Sayar, M.S. and Han, Y., 2016. Forage yield performance of forage pea (*Pisum sativum* spp. *arvense* L.) genotypes and assessments using GGE biplot analysis. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 18(6), pp.1621-1634.

Wysokinski, Andrzej, and Izabela Lozak. "The dynamic of nitrogen uptake from different sources by pea (*Pisum sativum* L.)." *Agriculture* 11, no. 1 (2021): 81.

Ziani, K., Ursúa, B. and Maté, J.I., 2010. Application of bioactive coatings based on chitosan for artichoke seed protection. *Crop Protection*, 29(8), pp.853-859.

Zeng, D., Luo, X. and Tu, R., 2012. Application of bioactive coatings based on chitosan for soybean seed protection. *International Journal of Carbohydrate Chemistry*, 2012.

## Physiological responses of forage pea to water stress levels and combination application of chitosan and humic acid.

Elham Bahrabadi<sup>1</sup>, Yahya Emam<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Ph.D. student of plant production and genetics department, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran.

<sup>2\*</sup>Corresponding author: Professor of Plant Production and Genetics Department, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran .

[elhambahrabadi.7074@yahoo.com](mailto:elhambahrabadi.7074@yahoo.com)

### Abstract

Seed coating with growth biostimulant compounds can lead to a faster early growth of the seedling. This research was carried out at the research greenhouse of Shiraz University during 1402 to investigate the effect of coating forage pea seeds with a combination of chitosan and humic acid on reducing the adverse effects of water stress on seedlings. A factorial experiment was arranged based on the completely randomized design with treatments including: seed coating treatment at two levels of coated and non-coated seeds and water stress treatment at four levels including 100% FC, 75% FC, 50% FC and 25% FC. The results of this study showed that water stress had a negative effect on the growth of seedlings, so that the mean dry weight of the shoot decreased from 0.088 g in 100%FC to 0.023 g in 25% FC. The looking at chlorophyll content also showed a significant difference between the water treatments, so that the highest chlorophyll concentration was observed in the 25% FC water treatment, and no significant difference was observed between other levels of water stress .furthermore, the results of the final emergence percentage of seedling indicated that the lowest emergence was observed at 25 %FC level, also the lowest emergence rate and their mean daily emergence was related to 25% FC water treatment and no significant difference was observed between other water stress levels. This research showed that coating forage pea seeds with chitosan and humic acid had no significant effect on any of the measured characteristics.

**Key words:** forage pea, drought stress, seed coating, chitosan, humic acid.

بررسی تاثیر کاربرد ملاتونین و آب فعال شده با پلاسما بر پاسخ‌های آنتی اکسیدان

نهال پسته تحت تنش سرما

مهلا باغبانی<sup>1</sup>، حکیمه علوم<sup>1\*</sup>، حسین مظفری<sup>1</sup>، فاطمه نصیبی<sup>2</sup>

<sup>1</sup> گروه اکولوژی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته

<sup>2</sup> بخش زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر کرمان

\* نویسنده مسئول: دانشیار فیزیولوژی گیاهی، پست الکترونیک: h.oloumi@kgut.ac.it

## چکیده

تنش سرما خسارات شدیدی به گیاهان و محصولات آن‌ها وارد می‌کند. سالانه میلیون‌ها خسارت ناشی از سرمازدگی گریبان‌گیر کشاورزان و باغداران می‌شود. گیاه پسته در مناطق گرم و خشک کاشته و بهره برداری می‌شود. دمای سرمازدگی برای گیاهان مختلف متفاوت است و این دما برای گیاه پسته در حدود 4 درجه و کمتر از آن می‌باشد. این پژوهش در باهدف بررسی اثر ملاتونین و آب فعال شده با پلاسما (PAW) بر پسته تحت تنش سرما و در قالب طرح کاملاً تصادفی به صورت آزمایش فاکتوریل و 4 تکرار در شرایط گلخانه ای انجام شد. در این پژوهش از ملاتونین با غلظت 0/1 میکرومولار و PAW 3 دقیقه استفاده شد. نتایج برآمده از این پژوهش نشان داد تنش سرما به طور معنی داری بر خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی پسته اثر منفی می‌گذارد. مشخص شد اثر ملاتونین پاششی و برهم‌کنش تیمار ملاتونین و آب پلاسما بر شرایط سرما اثر مثبت دارد. این اثر با بهبود پاسخ های رشدی و بیوشیمیایی از جمله محتوای کلروفیل، پرولین، ترکیبات فنولی و پاسخ فیزیولوژیکی شامل محتوای آب برگ و پاسخ های آنتی اکسیدانی شامل آنزیم های آنتی اکسیدان و کاهش پراکسید هیدروژن و پراکسیداسیون لیپیدها می‌باشد. بنابر نتایج این پژوهش، بررسی اثر تیمارهای ملاتونین و PAW برای مقاومت به تنش سرما درختان پسته در شرایط باغی توصیه می‌گردد.

**واژگان کلیدی:** پسته، ملاتونین، آب فعال شده با پلاسما، تنش سرما

## مقدمه

پسته *Pistacia vera L.* مغزی است از تیره *Pistacio genus* و از خانواده *Anacardiaceae* است. ایران بزرگترین تولید کننده پسته است و حدود 40 درصد از کل پسته جهان را تامین می‌کند. پسته درختی خزاندار است و ظهور برگ در آن تقریباً همزمان با گلدهی است که در این مرحله گیاه در برابر سرمای بهاره حساس است. هم‌چنین این محصول در مرحله گلدهی که معمولاً اواخر اسفند تا اوایل اردیبهشت رخ می‌دهد دچار سرمازدگی شده و خسارت فراوانی از سرمای بهاره می‌بیند. پدیده سرمازدگی زمانی اتفاق می‌افتد که دمای هوا بسته به نوع محصول به دمای آستانه پایین آن گیاه برسد که این دما برای پسته 4 درجه سلسیوس و کمتر از آن می‌باشد دمای پایین (سرمازدگی) که به دمای بین 0 تا 15 درجه سانتی‌گراد اطلاق می‌شود، یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی است که باعث کاهش رشد و تولید محصول در بسیاری از گیاهان مهم از نظر اقتصادی می‌شود.

روش های زیادی برای جلوگیری از سرمازدگی ارائه شده است. استفاده از فناوری پلاسما یکی از روش‌های نوینی است که در سال‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته است. پلاسماهای سرد با استفاده از یک میدان الکتریکی یا الکترومغناطیسی در یک محیط گازی ایجاد می‌شوند. انرژی این میدان‌ها باعث می‌شود تا الکترون‌های آزاد موجود در محیط شتاب گرفته و باعث یونش سایر اتم‌ها و مولکولهای گاز گردیده و الکترون‌ها، یون‌ها و گونه‌های فعال و غیرفعال دیگری تولید می‌شوند. از اثرات استفاده از آب فعال شده

با پلاسما بر گیاهان می‌توان به افزایش میزان و سرعت جوانه زنی بذر گیاهان و ویژگی‌های گیاه از جمله گسترش بیشتر و بهتر ریشه و نیز افزایش تحمل و مقاومت گیاه نسبت به تنش‌های محیطی شوری آب و خاک، کمبود آب اشاره کرد.

در مطالعات ایجاد مقاومت به تنش‌ها در گیاهان، در سال‌های اخیر ملاتونین توجه پژوهشگران را به خود جلب کرده است. ملاتونین یک محرک زیستی حیاتی است که می‌تواند عملکرد گیاه را تحت تنش سرما افزایش دهد کاربرد ملاتونین با حفظ پایداری غشا، محتوای آب برگ، باز شدن روزنه‌ها، کارایی فتوسنتزی، جذب مواد مغذی آب، و... رشد گیاه و تحمل به تنش سرما را بهبود می‌بخشد و باعث حذف گونه‌های فعال اکسیژن و بهبود فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی می‌شود.

هدف از این پژوهش بررسی نقش ملاتونین و PAW در شرایط سرمزدگی بود. برای رسیدن به این هدف موارد ذیل مورد بررسی و سنجش قرار گرفت: ویژگی‌های رشدی نهال پسته شامل: وزن تر و وزن خشک اندام هوایی، فیزیولوژیکی نهال بسته شامل: میزان کلروفیل - شاخص پایداری غشا، ترکیبات فنلی پراکسید هیدروژن، محتوای نسبی آب برگ، هدایت الکتریکی، مالون دی‌آلدئید و پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی شامل: آنزیم‌های کاتالاز - گایاکول پراکسید - اسکوربات پراکسیداز.

#### مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال 1401-1400 در دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته کرمان و بر روی نهال پسته یک ساله به تعداد 48 عدد انجام شد نهال‌ها بعد از استقرار در شرایط گلخانه‌ای به مدت 2 هفته فارغ از دوره تیمار دهی به منظور مرتفع شدن تنش حاصل از جابه‌جایی فقط آبیاری شدند. طرح آزمایشی مورد استفاده در این پژوهش طرح فاکتوریل، کاملاً تصادفی و با 4 تکرار انجام گرفت. بعد از گذشت دوره استراحت نهال‌ها تیماردهی به صورت 3 مرتبه در هفته آغاز شد. در این آزمایش از تیمارهای ملاتونین (با غلظت بهینه سازی شده 0/1 میکرومولار و آب فعال شده با پلاسما به مدت 3 دقیقه به مدت سه هفته استفاده شد. پس از تیماردهی نهال‌ها برای در معرض قرار گرفتن تیمار سرما به دو گروه تقسیم شده گروهی به مدت صفر و 2 ساعت به فریزر دمای 4- درجه منتقل شدند گروه تیمار سرما پس از آن مجدداً به گلخانه منتقل شدند. پس از مرحله تنش و با گذشت یک هفته نمونه برداری انجام شد. نمونه برداری از برگ، ریشه، ساقه صورت گرفت و نمونه‌ها بلافاصله در ازلت مایع قرار گرفت. پارامترهای رشدی گیاه شامل: وزن تر و خشک برگ، محتوای آب برگ و برای سنجش پارامترهای فیزیولوژیکی شامل مقدار کلروفیل، ترکیبات فنولی، پرولین، شاخص پایداری غشا، پراکسید هیدروژن، محتوای MDA و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بررسی شد. بررسی آماری داده‌های حاصل از آزمایش، با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه 26، انجام شد. مقایسه میانگین پارامترهای رشد، بیوشیمیایی، آنزیمی و شیمیایی عناصر با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح 5% صورت گرفت.

#### نتایج و بحث

براساس نتایج آنالیز واریانس اثر فاکتورهای مورد بررسی بر پارامترهای وزن خشک، محتوای نسبی آب برگ، نشت یونی، ترکیبات فنولی، محتوای MDA و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در سطح 5% معنی دار بود، بنابراین نتایج داده‌های معنی دار در شکل 1 آورده شده است. تحت تنش سرما وزن خشک 30 درصد کاهش یافت. ملاتونین باعث افزایش 21 درصدی وزن خشک برگ گیاه شد. PAW و برهم‌کنش ملاتونین و PAW هر دو به میزان 10 درصد باعث افزایش وزن خشک گیاه در شرایط سرما شدند.

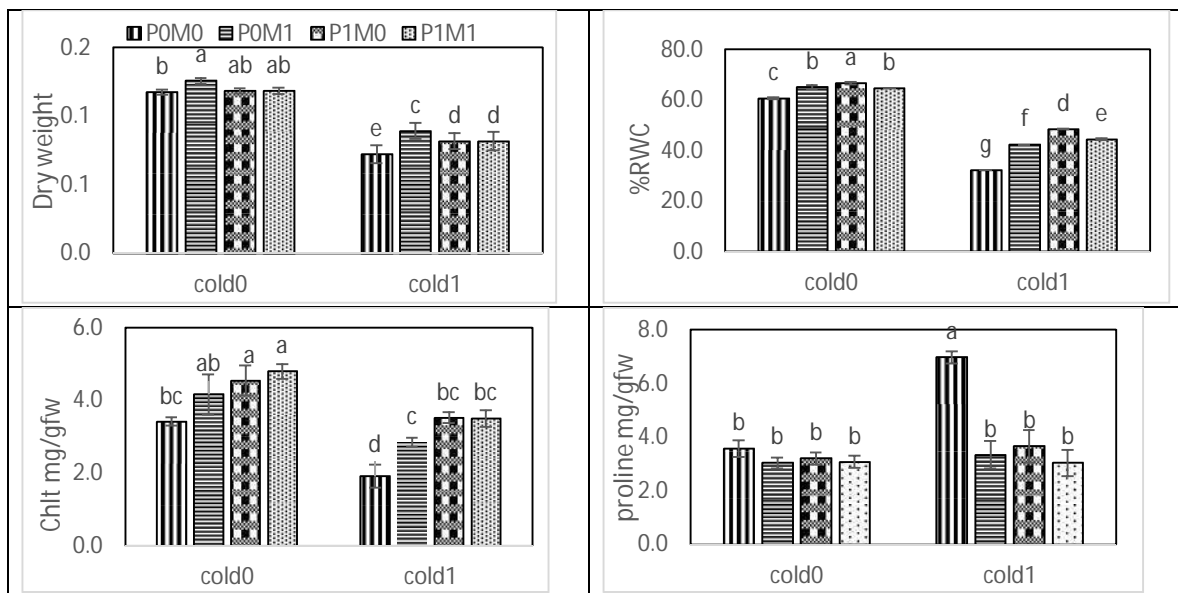
بیشترین درصد محتوای آب نسبی برگ با مقدار 33 درصد مربوط به اثر PAW بود و هم‌چنین در برهم‌کنش ملاتونین و PAW 28 درصد افزایش یافت. مقدار افزایش با اثر تیمار ملاتونین ساده 24 درصد بود. سرما باعث افزایش 14 درصدی نشت یونی در گیاه

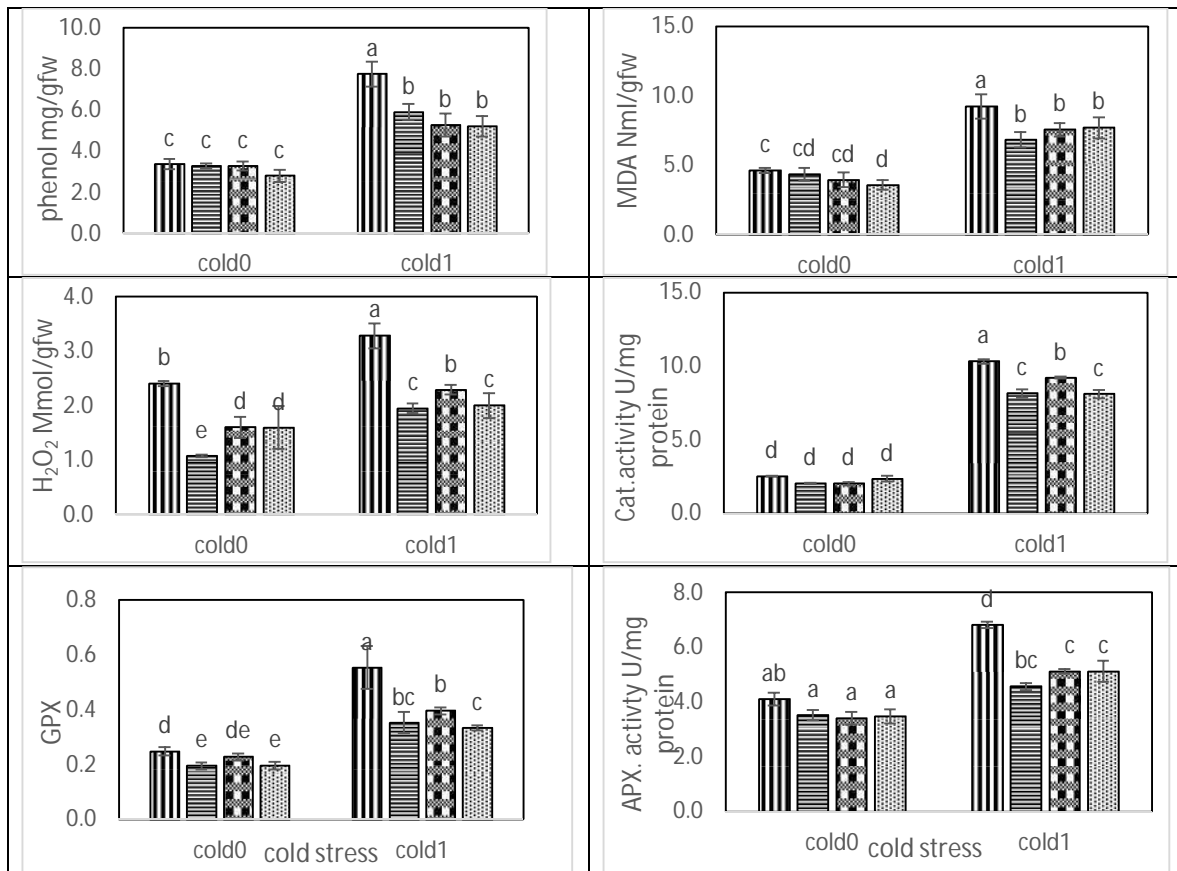
پسته شد. کمترین میزان نشت یونی مربوط به تیمار ملاتونین، PAW و برهم کنش تیمار ملاتونین و PAW بود. سرما باعث کاهش 44 درصدی میزان کلروفیل کل شد بیشترین میزان کلروفیل کل مربوط به اثر PAW با 46 درصد افزایش بود. سرما باعث افزایش 57 درصدی میزان ترکیبات فنلی و افزایش 51 درصدی میزان پرولین شد. کمترین میزان ترکیبات فنلی مربوط به اثر ساده با 23 درصد کاهش نسبت به شاهد ملاتونین بود و اثر ساده PAW و برهم کنش ملاتونین و PAW بود. کمترین میزان پرولین در اثر برهم کنش ملاتونین و PAW (56 درصد) بود.

تنش سرما باعث افزایش 27 درصدی میزان تجمع هیدروژن پراکسید و افزایش 67 درصدی محتوای مالون دی آلدئید نسبت به شاهد شد. کمترین تجمع هیدروژن پراکسید در اثر ساده ملاتونین و اثر برهم کنش ملاتونین و آب پلاسما دیده (40 درصد) بود. تنش حاصل از سرما باعث افزایش 75 درصدی 53 درصدی فعالیت کاتالاز گایاکول پراکسیداز و 40 درصدی فعالیت آسکوربات پراکسیداز شد. کمترین میزان فعالیت کاتالاز در برهم کنش تیمار ملاتونین و آب پلاسما (22 درصد کاهش) بود. در اثر برهم کنش ملاتونین و آب پلاسما فعالیت گایاکول پراکسیداز 40 درصد کاهش یافت. اثر برهم کنش تیمار ملاتونین و آب پلاسما دیده باعث کاهش 24 درصدی میزان فعالیت این آنزیم شد.

### نتیجه گیری

بر اساس نتایج سرما با اثر بر رنگیزه های فتوسنتزی، محتوای پرولین، و افزایش تولید مالون دآلدئید و پراکسید هیدروژن باعث تغییرات در پاسخ رشدی و سیستم آنتی اکسیدان نهال پسته می شود. نتایج نشان داد که تیمار ملاتونین به تنهایی و زمانی که با آب فعال شده با پلاسما تیمار می شود باعث بهبود پایداری غشا و محتوای نسبی آب برگ و کلروفیل کل میشود. همچنین وزن خشک، مالون دی آلدئید و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز را بهبود می بخشد. بنابراین می توان استفاده از فناوری ارزان و راحت آب پلاسما دیده و نیز تیمار ملاتونین را برای مقاومت به سرما درختان پسته در باغات توصیه نمود.





شکل 1: اثر تنش سرما، آب فعال شده با پلاسما و ملاتونین بر وزن خشک، محتوای اب برگ، کلروفیل، پرولین، فنول، مالون دآلدئید،

پراکسید هیدروژن، و فعالیت کاتالاز، گایاکل پراکسیداز، و آسکوربات پراکسیداز پسته تحت تنش 2 ساعت سرما (cold1)

12(1): 51. 5.

Ferguson, L., et al. (2005). "The pistachio tree; botany and physiology and factors that affect yield." Pistachio production manual, 4th ed. Davis, CA, USA, University of California Fruit & Nut Research Information Center: 31- 39.

Xin Li, Ji-Peng Wei, et al. (January 2018) Exogenous Melatonin Alleviates Cold Stress by Promoting Antioxidant Defense and Redox Homeostasis in *Camellia sinensis* L.

Sudesh Kumar Yadav, et al. (2010) Cold stress tolerance mechanisms in plants. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 30 (2010) 515–527

Barand, A., et al. (2020). The effects of foliar application of melatonin on some physiological and biochemical characteristics and expression of fatty acid desaturase gene in pistachio seedlings (*Pistacia vera* L.) under freezing stress. *J Plant Interact* 15: 257–265

Zhang, N., et al. (2015). "Roles of melatonin in abiotic stress resistance in plants." *Journal of experimental botany* 66(3): 647-656.

Mansour Gholami, et al. (2022) Study of the melatonin pre-treatment effect on some physiological traits of strawberry (*Fragaria × ananassa*) cultivar 'Paros' under freezing stress

## Investigating the effect of using melatonin and plasma activated water on the antioxidant responses of pistachio seedlings under cold stress

Mehla Baghbani<sup>1</sup>, Hakime Olomi<sup>1\*</sup>, Hossein Mozafari<sup>1</sup>, Fatemeh Nasibi<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Ecology, Graduate University of Advanced Technology

<sup>2</sup>Department of Biology, Faculty of Science, Shahid Bahonar University, Kerman

\*Corresponding author: Associate Professor of Plant Physiology, Email: h.oloumi@kgut.ac.it

### Abstract

Cold stress causes severe damage to plants and their products. Every year, millions of plant product losses due to frosts plague. The pistachio plant is often planted in hot and dry areas. The frost temperature differs in various plants; this temperature plant is around 4°C for pistachio and less than that. This research was conducted with the aim of investigating the effect of melatonin and plasma activated water (PAW) on pistachios under cold stress and in a factorial experiment in the form of a completely randomized with 4 replications under greenhouse conditions. Concentrations of 0.1 μM melatonin and 3 minutes PAW were used. The results of this research showed that cold stress has a significant negative effect on the morphological and physiological characteristics of pistachios. It was found that the effect of melatonin and the interaction of melatonin and PAW have a positive effect on cold stress. This effect is by improving growth and biochemical responses including chlorophyll content, proline, phenolic compounds and physiological response including leaf water content and antioxidant responses including reduction of hydrogen peroxide and lipid peroxidation and regulation of antioxidant enzymes activity. According to the results of this research, it is recommended to investigate the effect of melatonin and PAW treatments for resistance to cold stress of pistachio trees under garden conditions.

**Key words:** pistachio, melatonin, plasma activated water, cold stress

تأثیر اسید جبرلیک و گرمادهی مرطوب بر شکست خواب بذر پیچک ایرانی،

*Convolvulus persicus* L.

راضیه بهادرزاد و لاشدی<sup>1</sup>

1- کارشناسی ارشد، سیستماتیک و اکولوژی گیاهی، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران

صدیقه کلیج<sup>2\*</sup>، ناصر جعفری<sup>3</sup>

- 2- استادیار، زیست شناسی- سلولی و تکوینی گیاهی، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران
- 3- دانشیار، زیست شناسی- سیستماتیک و اکولوژی گیاهی، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران
- \* آدرس پست الکترونیکی نویسنده مسئول: [s.kelij@umz.ac.ir](mailto:s.kelij@umz.ac.ir)

### چکیده

تحت تاثیر تغییرات اقلیمی و فعالیتهای انسانی بسیاری از گونه‌های گیاهی، به ویژه گونه‌هایی با پراکنش جغرافیای محدود، در خطر انقراض قرار دارند. پیچک ایرانی *Convolvulus persicus* L. از گونه‌های بومی تهدید شده در سواحل دریای خزر و دریای سیاه می‌باشد. هدف از این پژوهش یافتن عامل موثر برای شکستن خواب بذرهای این گونه است. بدین منظور آزمایشی بصورت فاکتوریل در دو سطح گرمادهی مرطوب (4 و 8 هفته) و تیمار ترکیبی جبرلیک اسید در دو سطح (300 و 600 میلی گرم بر لیتر) به همراه گرمادهی مرطوب در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. نتایج نشان داد که تیمار گرمادهی مرطوب در هر دو سطح 4 و 8 هفته تاثیر معنی داری در افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی بذرهای پیچک ایرانی داشتند اما در مجموع تیمار گرمادهی مرطوب به مدت 4 هفته مطلوب‌تر از مدت زمان 8 هفته برای افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی بذرهای این گونه بود. همچنین اثر تیمار ترکیبی اسید جبرلیک به همراه گرمادهی مرطوب و تیمار انفرادی گرمادهی مرطوب به مدت 4 هفته بر شکست خواب بذرهای *C. persicus* تقریباً در یک سطح بود.

واژگان کلیدی: پیچک ایرانی، جوانه‌زنی، گرمادهی مرطوب، جبرلیک اسید

### مقدمه

گونه پیچک ایرانی یا پیچک خزری با نام علمی *Convolvulus persicus* L. متعلق به تیره پیچک *Convolvulaceae* از گونه‌های اندمیک نواحی ساحلی دریای خزر و دریای سیاه می‌باشد به دلیل نادر بودن و جمعیت‌های کوچک و آسیب‌پذیری بالا در برابر تاثیرات انسانی این گونه هم در کتاب لیست گیاهان آوندی قرمز رومانی و هم در کتاب داده‌های قرمز جمهوری بلغارستان یک گونه در معرض خطر انقراض محسوب می‌شود با توجه به گزارشات متعدد در مورد در خطر انقراض بودن این گونه در ایران هنوز در لیست قرمز گیاهان قرار نگرفته است (عاشقیان و همکاران 1400).

خواب بذر یکی از مراحل طبیعی چرخه زندگی گیاهان و یک مزیت اکولوژیک است چراکه مانع از حذف کل جمعیت در شرایط نامطلوب محیطی می‌شود اما در عین حال درصد جوانه‌زنی پائین ناشی از خواب بذر از مشکلات عمده حفاظت منابع طبیعی می‌باشد (Hilhorst et al, 2006). مناطق ساحلی زیستگاهی با تنوع زیستی گونه‌ای بالا هستند اما به دلیل شرایط سخت ساحلی تعداد زیادی از آنان نادر و یا در معرض خطر هستند (Strat and Irina, 2018). پیچک ایرانی از گیاهان بومی سواحل دریای خزر متأسفانه در معرض تهدید انقراض قرار دارد و تاکنون هیچ گونه برنامه‌های حفاظتی در جهت حفظ این گونه با ارزش در ایران انجام نشده است. در این راستا این مطالعه به تاثیر تیمار گرمادهی مرطوب به همراه اسید جبرلیک برای شکست خواب و جوانه‌زنی بذر گونه پیچک ایرانی می‌پردازد.



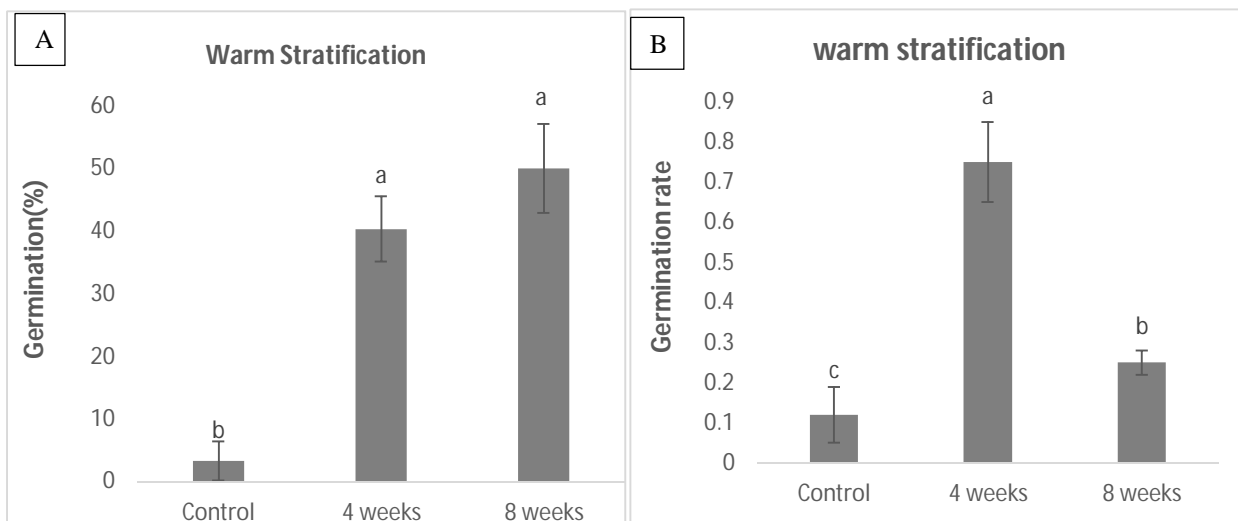
## مواد و روش ها

بذرهای مورد استفاده در این آزمایش از نوار ساحلی نفت چال بابلسر جمع آوری شده و در ظروف شیشه ای تیره رنگ در یخچال نگهداری شدند. 8 تکرار 8 بذری از بذرهای ضدعفونی شده درون پتری دیش های حاوی کاغذ صافی مرطوب با 3 میلی لیتر آب مقطر قرار داده و 4 تکرار را به مدت 4 هفته و 4 تکرار دیگر را به مدت 8 هفته در انکوباتور با دمای 28 درجه سانتی گراد منتقل شدند. به منظور اعمال تیمار ترکیبی اسید جبرلیک و گرمادهی مرطوب بذرهای ضدعفونی شده هر جمعیت در محلول های 300 و 600 میلی گرم در لیتر اسید جبرلیک به مدت 48 ساعت در دمای آزمایشگاه و مکان تاریک قرار داده شدند. پس از 48 ساعت بذرهای از محلول های اسید جبرلیک خارج شده و با آب مقطر شست و شو داده شدند. برای هر غلظت اسید جبرلیک 4 تکرار 8 بذری از بذرهای حاوی کاغذ صافی مرطوب با محلول اسید جبرلیک قرار داده و به انکوباتور با دمای 28 درجه سانتی گراد به مدت 4 هفته منتقل شدند. پس از اتمام دوره گرمادهی پتری دیش ها به اتاقک رشد با دمای 22-24 درجه سانتی گراد و رطوبت 70٪ و تناوب نوری 14 ساعت روشنایی و 10 ساعت تاریکی منتقل شدند.

برای انجام تجزیه تحلیل آماری داده ها از نرم افزار آماری SPSS نسخه 21 استفاده شد و آنالیز واریانس یک طرفه با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن سطح 5 درصد مقایسه گردید.

## نتایج و بحث

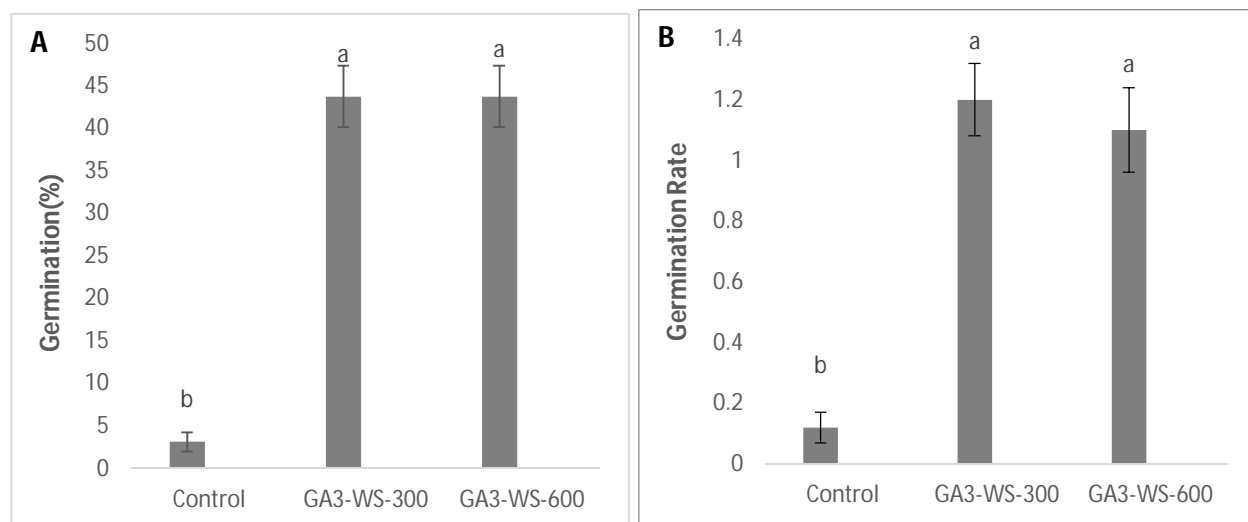
طبق نتایج آنالیز واریانس تیمار گرمادهی مرطوب چه به مدت 4 هفته و چه به مدت 8 هفته اثر معنا داری بر افزایش درصد جوانه زنی بذرهای پیچک ایرانی داشت و اما اختلاف معنی داری بین مدت زمان گرمادهی مرطوب 4 و 8 هفته مشاهده نشد. سرعت جوانه زنی در بذرهای تیمار شده با گرمادهی مرطوب به مدت 4 هفته از افزایش معنی داری نسبت به تیمار شاهد و گرمادهی مرطوب به مدت 8 هفته برخوردار بود (نمودار 1- A, B).



نمودار 1: اثر تیمار گرمادهی مرطوب بر درصد جوانه زنی (A) و سرعت جوانه زنی (B) بذرهای پیچک ایرانی.

بذرهایی که دارای پوشش سخت می باشند گرمادهی مرطوب می تواند به شکستن پوشش بذر کمک کند البته دمای خیلی زیاد نیز ممکن است موجب ایجاد خواب ثانویه در بذر شود و به عدم جوانه زنی منجر شود. از طرفی گرمادهی مرطوب نیز مانند سرمادهی مرطوب بر شکست خواب فیزیولوژیکی بذر تاثیرگذار است. به این صورت که با افزایش رشد جنین به آن اجازه می دهد تا بر مقاومت مکانیکی خود غلبه کند ( Baskin & Baskin, 2015).

نتایج آنالیز واریانس در سطح 5 درصد نشان داد که پیش تیمار اسید جیبرلیک همراه با گرمادهی مرطوب سبب افزایش معنی دار درصد جوانه زنی در مقایسه با کنترل شد. اما اختلاف معنی داری بین غلظت های 300 و 600 میلی گرم بر لیتر اسید جیبرلیک مشاهده نشد. از طرفی سرعت جوانه زنی تحت تاثیر تیمارهای ترکیبی اسید جیبرلیک با غلظت های 300 و 600 میلی گرم بر لیتر دارای افزایش معنی داری نسبت به کنترل بود (نمودار 2- A, B). نتایج مطالعات مختلفی نشان می دهد که تیمار ترکیبی اسید جیبرلیک به همراه گرمادهی مرطوب نیز می تواند سبب افزایش درصد و سرعت جوانه زنی در بسیاری از گونه ها شود. به عنوان مثال تیمار توام جیبرلیک اسید و گرمادهی مرطوب بطور موثری در شکست خواب بذرهای *Cinnamomum migao* و افزایش سرعت جوانه زنی



آن نقش داشت (Chen et al, 2022). در همین راستا نتایج

ما نیز حاکی از نقش اسید جیبرلیک در شکست خواب و جوانه زنی بذرهای *C. persicus* است.

نمودار 2: اثر تیمار ترکیبی اسید جیبرلیک و گرمادهی مرطوب بر سرعت جوانه زنی (A) و درصد جوانه زنی (B) بذرهای پیچک ایرانی؛ (گرمادهی مرطوب: WS)، (اسید جیبرلیک 300 و 600 میلی گرم بر لیتر: GA3-300 و GA3-600).

### نتیجه گیری

بطور کلی تیمار گرمادهی مرطوب به مدت 4 هفته مطلوب تر از مدت زمان 8 هفته برای افزایش درصد و سرعت جوانه زنی بذرهای *C. persicus* بود. از طرفی تیمار ترکیبی اسید جیبرلیک به همراه گرمادهی مرطوب با تیمار انفرادی گرمادهی مرطوب به مدت 4 هفته تقریباً اثر مشابهی بر شکست خواب بذرهای این گونه داشت.

## منابع و مراجع مورد استفاده

- فائزه عاشقیان، صدیقه کلیچ، ناصر جعفری (1400). برخی ویژگی های بوم شناختی و زیست شناسی پیچک ایرانی *Convolvulus persicus L.*، گیاه در معرض خطر سواحل شمالی ایران. نشریه حفاظت زیست بوم گیاهان، 9(18). 343-361.

**Hilhorst, H.W.M., Bentsink, L., and Koornneef, M.** 2006. Dormancy and germination in Handbook of Seed Science and Technology (ed. A. Basra). The Haworth press, Inghamton, New York. 271-299.

**Strat, D., and Irina, H. M.** 2018. "The occurrence and conservation status of *Convolvulus persicus L.* (Solanales: Convolvulaceae) on the western Black Sea coast–Romania." *Acta Zoologica bulgarica*, 11.

**Baskin, J.M., Baskin, C.C.** 2015. Methods of Breaking Seed Dormancy in the Endangered Species *Iliamna corei* (Sherff) Sherff (Malvaceae), with Special Attention to Heating. School of Biological Sciences University of Kentucky.

**Chen, J.Zh., Huang, X.L., Xiao, X.F., Liu, J.M., Liao, X.F., Sun, Q.W., Peng, L., Zhang, L.** 2022. Seed Dormancy Release and Germination Requirements of *Cinnamomum migao*, an Endangered and Rare Woody Plant in Southwest China. *Journal Frontiers in plant science*.

## Gibberellic acid and warm stratification effects on seed dormancy breaking of *Convolvulus persicus L.*

Razieh Bahadornejad<sup>1</sup>, Sedigheh Kelij<sup>1\*</sup>, Naser Jafari<sup>1</sup>

### Abstract

Under the influence of climate changes and human activities, many plant species, especially species with limited geographic distribution, are in danger of extinction. *Convolvulus persicus L.* is one of the threatened native species on the shores of the Caspian Sea and the Black Sea. The purpose of this research is to find an effective factor to break its seed dormancy. A factorial experiment was conducted in two levels of warm stratification (4 and 8 weeks) and a combined treatment of gibberellic acid (300 and 600 mg/liter) associated with warm stratification in a completely randomized design with 4 replications. The results showed that the warm stratification at both levels of 4 and 8 weeks had a significant effect on increasing the germination percentage, but in general, the warm stratification for 4 weeks was more favorable than the period of 8 weeks for increasing the germination percentage and rate of the seeds. Also, the effect of combination treatment of gibberellic acid associated with warm stratification and individual treatment of warm stratification (4 weeks) on dormancy breaking of *C. persicus* seeds was almost at the same level.

**Keywords:** *C. persicus*; Germination; Warm stratification; Gibberellic acid.

## اثرات متقابل نانوذره دی اکسید تیتانیوم و طیف نور بر برخی متابولیت های ثانویه زنیان

مهدیه بهارمقدم: دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم دانشگاه شهید باهنر کرمان\*<sup>1</sup>

[m.baharmoghadam114@yahoo.com](mailto:m.baharmoghadam114@yahoo.com)

2- بتول کرامت، دکتری فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم دانشگاه شهید باهنر کرمان

2- نازی نادرنژاد، دکتری فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم دانشگاه شهید باهنر کرمان

2- حسین مظفری، دکتری فیزیولوژی گیاهی، گروه اکولوژی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته محیطی دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته

2- شهرام پورسیدی، دکتری ژنتیک و اصلاح نباتات، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کرمان

### چکیده

زنیان با نام علمی *Carum copticom* (L.) یکی از گیاهان دارویی خانواده چتریان (Apiaceae) است که خواص دارویی قابل توجهی دارد. این گیاه دارای اثرات ضد میکروبی، ضد عفونی کننده، ضد فشارخون، ضد چربی خون، ضد ویروسی، ضد سرفه و محافظ کبد می باشد. با توجه به اهمیت زنیان، اثرات متقابل نانوذره دی اکسید تیتانیوم (TiO<sub>2</sub>) و طیف نور مانند نورهای سفید، سفید-آبی و آبی را بر برخی متابولیت های ثانویه مورد مطالعه قرار دادیم. بدین منظور، گیاهچه های مورد نظر در شرایط هیدروپونیک کنترل شده رشد کرده و پس از 21 روز، ابتدا غلظت های مختلف نانوذره دی اکسید تیتانیوم (400 mg/L، 300، 200، 100، 0) بر روی اندام هوایی اسپری گردیده و بعد از آن، تحت تیمار نور قرار گرفتند. سپس برخی از متابولیت های ثانویه مانند آنتوسیانین، محتوای فنول کل و فلاونوئیدها بررسی شدند. نتایج این مطالعه نشان داد نانوذره دی اکسید تیتانیوم در غلظت 300 mg/L به همراه نور سفید-آبی به طور قابل توجهی موثرترین تیمار برای بهبود پارامترهای ذکر شده در گیاه مورد نظر می باشد. علاوه بر این، مشخص شد که نانوذره دی اکسید تیتانیوم و نور سفید-آبی به عنوان الیستور نقش مهمی در افزایش متابولیت های ثانویه گیاه

دارویی زنیان ایفا می‌کنند. از سوی دیگر، بررسی محتویات اسانس این گیاه دارویی نشان داد تیمول، آلفا پینن و گاما ترپینن مهم ترین مواد موثره زنیان را تشکیل می‌دهند که در تیمارهای توام  $300 \text{ mg/L}$  نانوذره دی اکسید تیتانیوم و نور سفید-آبی به طور معنی داری افزایش می‌یابند.

**واژگان کلیدی:** اسانس، تیمول، زنیان، نانوذره دی اکسید تیتانیوم، طیف نور

#### مقدمه

زنیان (*Carum copticum L.*) گیاه دارویی شناخته شده ای از تیره چتریان می باشد که به طور گسترده در نواحی مدیترانه، جنوب غربی آسیا به ویژه در شرق هند، ایران، پاکستان و مصر پراکنده شده است (1). بر طبق آخرین مطالعات انجام گرفته بر روی زنیان گزارش شده است که این گیاه دارای خواص دارویی متعددی مانند اثرات آنتی اکسیدانی، ضد اسپاسم، ضد التهاب، ضد میکروبی، ضد فشارخون، ضد چربی خون، ضد ویروسی، ضد سرفه، ضد سرطان و... می باشد. چنین خواصی به دلیل میزان بالای ترکیبات فنولی است که دارای اثرات قابل توجهی از قبیل ویژگی های آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی هستند (2). به طور کلی، پلیستورهای مانند نانوذرات دی اکسیدتیتانیوم باعث افزایش تولید و تجمع متابولیت های ثانویه به ویژه ترکیبات فنولی می گردند. از سوی دیگر، نور الیسیتور فیزیکی است که می تواند تولید متابولیت های ثانویه را مخصوصا در گیاهان دارویی افزایش دهد (3). با توجه به موارد ذکر شده، در این پژوهش اثرات متقابل غلظت های مختلف نانوذره دی اکسید تیتانیوم و طیف نور بر افزایش تولید متابولیت های ثانویه و مواد موثره گیاه دارویی زنیان (*Carum copticum L.*) مورد مطالعه قرار گرفت.

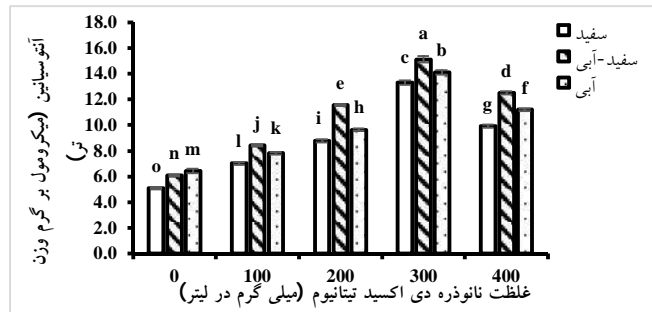
#### مواد و روش ها

ابتدا بذره های زنیان با اتانول 70% به مدت 20 ثانیه و آب ژاول 20% استریل و سپس چند مرتبه با آب مقطر شستشو داده شد و در پلیت های حاوی پرلیت کاشته و پس از رسیدن گیاهچه ها به مرحله دو برگگی، به محیط کشت هیدروپونیک محتوی محلول  $1/2$  هوگلند انتقال یافتند. گیاهچه های مورد نظر در شرایط کنترل شده آزمایشگاهی با دوره نوری  $16/8$  (16 ساعت روشنایی و 8 ساعت تاریکی)، دمای  $22^\circ \text{C}$  و رطوبت 40% نگهداری شده و پس از سه هفته ابتدا با غلظت های مختلف نانوذره دی اکسید تیتانیوم ( $0, 100, 200, 300, 400 \text{ mg/L}$ ) بر روی اندام هوایی اسپری (سه مرتبه در طول یک هفته) و سپس توسط طیف های نور سفید، سفید-آبی و آبی (به مدت یک هفته) به صورت جداگانه تحت تیمار قرار گرفتند. پس از پایان دوره تیمار، پارامترهایی مانند برخی از متابولیت های ثانویه از قبیل آنتوسیانین، محتوای فنول کل، فلاونوئیدها و همچنین مواد موثره گیاه دارویی زنیان مورد بررسی قرار گرفت. در این تحقیق، آنتوسیانین با استفاده از روش (4) Wagner، محتوای فنول کل با روش (5) Ronald and Laima، فلاونوئیدها برطبق روش Meda و همکاران (6) و مواد موثره گیاه مورد نظر با استفاده از دستگاه GC/MS مورد سنجش قرار گرفتند.

محاسبات آماری: آزمایش های این پژوهش در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار انجام و تجزیه و تحلیل داده ها با نرم فزار SPSS و Excel صورت گرفت. آنالیز واریانس دوطرفه با آزمون های دانکن برای تشخیص تفاوت معنی دار بین گروه های مختلف تیمارها در سطح 5% استفاده شد.

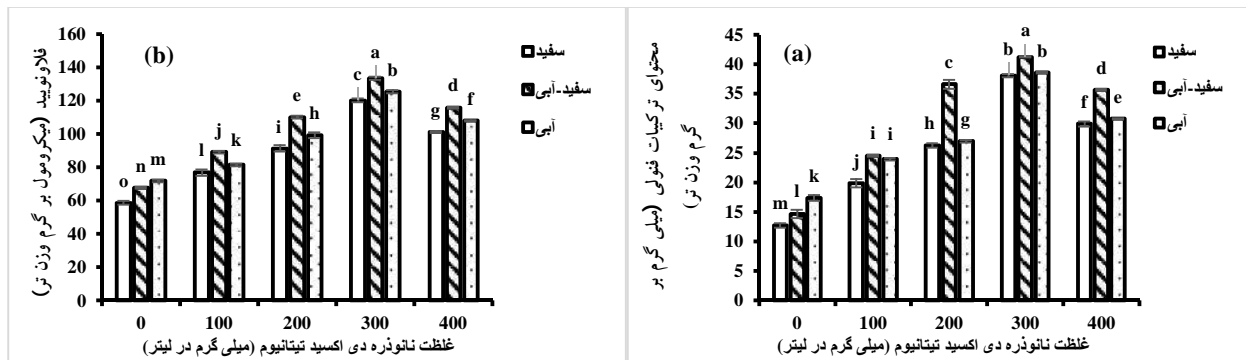
## نتایج و بحث

نتایج به دست آمده از این پژوهش نشان داد به کار بردن غلظت های مشخص نانوذره  $TiO_2$  و طیف های نور می توانند باعث بهبود و افزایش آنتوسیانین، محتوای فنول کل، فلاونوئیدها و همچنین مواد موثره گیاه دارویی زینان شوند. به طور کلی، ترکیبات فنولی عملکردهای فیزیولوژیکی حیاتی گیاهان را برای ایجاد مقاومت در برابر تنش های مختلف زیستی و غیرزیستی تنظیم می کنند. ثابت شده است که سنتز محتویات فنولی و فلاونوئیدی گونه های فعال اکسیژن (ROS) را از بین می برند. با توجه به نتایج تحقیق حاضر می توان نتیجه گرفت که در بین تمامی تیمارهای اعمال شده، غلظت  $300 \text{ mg/L}$  نانوذره دی اکسید تیتانیوم به همراه طیف نوری سفید-آبی بیشترین تاثیر را در افزایش آنتوسیانین، محتوای ترکیبات فنولی و فلاونوئیدها نسبت به نمونه های شاهد دارد (شکل 1).



شکل 1. اثرات متقابل نانوذره دی اکسید تیتانیوم و طیف نور بر آنتوسیانین اندام هوایی زینان

مقادیر میانگین سه تکرار و حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی دار بر اساس آزمون Duncan می باشد ( $p \leq 0.05$ )



شکل 2. اثرات متقابل نانوذره دی اکسید تیتانیوم و طیف نور بر محتوای ترکیبات فنولی (a) و فلاونوئیدها (b) در اندام

هوایی زینان

مقادیر میانگین سه تکرار و حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی دار بر اساس آزمون Duncan می باشد ( $p \leq 0.05$ )

این نتایج با پژوهشی که توسط رضایی زاد و همکاران انجام گرفته بود مطابقت دارد که گزارش کردند نانوذره  $TiO_2$  در افزایش محتوای فنولی و فلاونوئیدی گیاه نقش دارد. همچنین در پژوهشی که توسط محققان دیگری انجام گرفت، افزایش محتوای ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و آنتوسیانین ها مشاهده شد (7). با توجه به موارد ذکر شده به نظر می رسد نانوذرات دی اکسید تیتانیوم و نور ممکن است مسیرهای بیوستز ترکیبات فنولی را فعال کرده و به طور غیرمستقیم سیستم های دفاعی آنتی اکسیدانی در گیاه زنیان را تنظیم کنند. از سوی دیگر، در این مطالعه مشخص شد نانوذره  $TiO_2$  و انواع طیف نور، الیسیتورهای مناسبی برای القای مواد موثره گیاه هستند. احتمالاً الیسیتور هایی مانند نانوذرات دی اکسید تیتانیوم و نور می توانند موجب تحریک بیان ژن های مربوط به مسیر بیوستز اسانس ها در گیاه زنیان گردند. طبق بررسی های به عمل آمده در این پژوهش، مونوترپن ها ترکیبات اصلی اسانس گیاه مورد بررسی هستند و مهم ترین ماده موثره زنیان تیمول می باشد که دارای خواص آنتی اکسیدانی، ضدقارچی و ضد میکروبی، ضد التهابی و... است. پس از تیمول، آلفا پینن و گاما ترپینن اجزای اصلی اسانس این گیاه هستند. گیاهچه های تیمار شده تحت غلظت  $300 \text{ mg/L}$  نانوذره دی اکسید تیتانیوم در ترکیب با طیف نوری سفید-آبی افزایش معنی داری در میزان مواد موثره ذکر شده نشان دادند (جدول 1). افزایش تولید اسانس در پاسخ به الیسیتورهایی مانند نانوذره  $TiO_2$  در برخی دیگر از تحقیقات نیز گزارش شده است (8).

جدول 1. ترکیبات اسانس اندام هوایی *Carum copticum* L. تیمار شده با نانوذرات  $TiO_2$  و طیف نور با استفاده از

#### GC/MS

Essential oil components	RI	0w	0B	0w B	100 W	100 B	100 WB	200 W	200 B	200 WB
$\alpha$ -Pinene	947	4.0	4.1	3.8	4.4	4.2	4.7	4.6	4.4	5.0
$\gamma$ -Terpinene	1066	5.8	6.3	6.9	6.5	7.2	8.0	7.3	7.9	8.7
Thymol	1297	11.8	12.3	12.1	12.7	13.3	14.0	14.2	15.4	16.5

#### نتیجه گیری

بر اساس نتایج پژوهش حاضر، اثرات متقابل نانوذرات دی اکسید تیتانیوم و طیف نور می توانند تولید متابولیت های ثانویه مانند آنتوسیانین ها، محتوای ترکیبات فنولی، فلاونوئیدها و همچنین مواد موثره گیاه دارویی زنیان را به میزان قابل توجهی افزایش دهند.

#### منابع

1. Jafarinia, S., Fallah, A., Habibian Dehkordi, S., 2022. Effect of virgin olive oil nanoemulsion combined with ajowan (*Carum copticum*) essential oil on the quality of lamb loins stored under chilled condition. *Food Science and Human Wellness*. 11:904-913.

2. Shafiezzadeh, R., Alavian, S.M., Namdar, H., Gholami-Fesharaki, M., Esmaili, S.S., 2021. Evaluating the Efficacy of *Carum Copticum* Seeds on the Treatment of Patients with Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Hepat Mon.* 20:110488.
3. Manivannan, A., Soundararajan, P., Gyeong Park, Y., Ryong Jeong, B., 2021. Physiological and Proteomic Insights into Red and Blue Light-Mediated Enhancement of in vitro Growth in *Scrophularia kakudensis*—A Potential Medicinal Plant. *Frontiers in Plant Science.* 11:607007.
4. Wagner, G.J., 1979. Content and vacuole/extra vacuole distribution of neutral sugars, free amino acids and anthocyanins in protoplast. *Plant Physiol.* 64:88–93.
5. Ronald, S.F., Laima, S.K., 1999. Phenolics and cold tolerance of *Brassica napus*. Department of Plant Agriculture, Ontario.
6. Meda, A., Lamien, C.E., Romito, M., Millogo, J., Nacoulma, O.G., 2005. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in *Burkina Fasan* honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chem.* 91:571–577.
7. Xing, Y., Yang, Sh., Xu, Q., Xu, L., Zhu, D., Li, X., Shui, Y., Liu, X., Bi, X., 2021. Effect of Chitosan/Nano-TiO<sub>2</sub> Composite Coating on the Postharvest Quality of Blueberry Fruit. *Coatings.* 11:512.
8. Shenavaie Zare, A., Ganjeali, A., Vaezi Kakhki, M.R., Mashreghi, M., Cheniany, M., 2023. Additive effects of arbuscular mycorrhizae and TiO<sub>2</sub> nanoparticles on growth and essential oils enhancement of peppermint. *Rhizosphere.* 25:100659.

## Interaction effects of Titanium dioxide nanoparticle and light on secondary metabolites of *Carum copticum* (L.)

<sup>1\*</sup> Mahdiah Baharmoghadam, PhD student in plant physiology, Department of Biology, Shahid Bahonar University of Kerman 7616914111, Iran.  
[m.baharmoghadam114@yahoo.com](mailto:m.baharmoghadam114@yahoo.com)

2. Batool Keramat, PhD in plant physiology, Department of Biology, Shahid Bahonar University of Kerman 7616914111, Iran.
۲. Nazi Nadernejad, PhD in plant physiology, Department of Biology, Shahid Bahonar University of Kerman 7616914111, Iran.
2. Hossein Mozafari, PhD in plant physiology, Department of Ecology, Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran.
- 2 Shahram Pourseyedi, PhD in Genetics and plant breeding, Department of agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Iran.

### Abstract

*Carum copticum* (L.) is one of the medicinal plants belonging to the Apiaceae family that has significant pharmaceutical properties. This plant possesses antimicrobial, antiseptic, antihypertensive, antihyperlipidemic, antiviral, bronchodilatory and hepatoprotective effects. Considering the importance of *C. copticum* (L.), we studied the interaction effects of Titanium dioxide nanoparticles (TiO<sub>2</sub> NPs) and light spectrum such as white, white-blue and blue on some of secondary metabolites. For this purpose, the seedlings were grown under controlled hydroponic conditions and after 21 days treated by spraying of different TiO<sub>2</sub> NPs concentrations (0, 100, 200, 300 and 400 mg/L) on their leaves and then treated by the light. Afterwards, some of the secondary metabolites such as anthocyanin, total phenolics and flavonoids were analyzed. The results showed that 300 mg/L TiO<sub>2</sub> NPs combined with white-blue light is significantly the most effective treatments for improving of mentioned parameters in *C. copticum* (L.). Furthermore, TiO<sub>2</sub> NPs and light play the role of elicitor that can induce remarkable enhanced changes in the secondary metabolites. On the other hand, studying of the essential oil contents of *C. copticum* (L.) using Gas chromatography–mass spectrometry demonstrated that Thymol, Alpha-Pinene and Gama Terpinene are the main essential oil components of this plant and the treated seedlings under 300 mg/L TiO<sub>2</sub> NPs and white-blue light together showed a significant increase in their contents.

**Keywords** Essential oil, Thymol, *Carum copticum* (L.), Titanium dioxide nanoparticle, Light spectrum



## افزایش تولید ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی تحت تاثیر سالیسیلیک اسید در کشت سلولی گیاه باباآدم (*Arctium lappa* L.)

مرضیه تقی زاده<sup>1</sup>، خدیجه کیارستمی<sup>2</sup>، منا صراحی نوبر<sup>3</sup>

1- دکتری، زیست شناسی-فیزیولوژی گیاهی، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهرا،

2- نویسنده مسئول: دکتری، دانشیار، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهرا/su\_kiarostami@yahoo.com

3- نویسنده مسئول: دکتری، استادیار، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهرا

### چکیده

باباآدم یک گیاه چند ساله از خانواده کاسنی می باشد که به طور معمول برای بهبود سلامتی مصرف می شود و دارای ترکیبات فراوانی می باشد. ترکیبات شناسایی شده در باباآدم (*Arctium lappa*) به لیگنان ها، فلاونوئیدها و اسیدهای فنلی طبقه بندی می شوند که این متابولیت های ثانویه اهمیت دارویی زیادی پیدا کردند. دست ورزی محیط های کشت سلولی با الیستورها یکی از راهکارهای مهم جهت القای تولید متابولیت های ارزشمند می باشد. با تغییر غلظت سالیسیلیک اسید در محیط کشت بافت گیاهی می توان تولید متابولیت های ثانویه را از نظر کیفی و کمی تغییر داد. در این پژوهش غلظت های 100 و 200 میلی گرم بر لیتر به کشت سوسپانسیون سلولی باباآدم اضافه گردید. 48 ساعت بعد از تیمار، توده های سلولی برداشت شدند و محتوای ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی سنجش شد. بر اساس نتایج میزان این ترکیبات در مدت زمان 48 ساعت پس از الیسیتیشن نسبت به شاهد افزایش معنی داری داشته است و بیشترین مقدار این ترکیبات در غلظت 200 میلیگرم بر لیتر مشاهده شد.

**کلمات کلیدی:** باباآدم، کشت سلولی، سالیسیلیک اسید، ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی

### مقدمه

گیاه باباآدم با نام علمی *Arctium lappa* L. یکی از بزرگترین خانواده گیاهان گلدار است و به عنوان یک گیاه دارویی سنتی محبوب در دنیا استفاده می شود (1). عمدتاً ریشه، و به میزان کمتر برگ ها و دانه ها حاوی مقادیر زیادی از ترکیبات دارویی هستند (2). این

متابولیت‌های ثانویه در طب سنتی به عنوان یک عامل ضدسرطان، ضدالتهاب، ضدسمیت کبدی، ضدویروس، ضد میکروبی، ضد دیابت و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی استفاده می‌شود (3).

بابا آدم یک گیاه دوسالانه و بومی اروپا و آسیا است (1). در ایران محل رویش گیاه در مناطق مرطوب و نیمه خشک است. بیش از سه هزار سال است که این گیاه به عنوان دارو در طب سنتی چین کاربرد دارد (4). آنتی‌اکسیدانهای نوع فلاونید و برخی دیگر از آنتی‌اکسیدانهای پلی‌فنول فعال موجود در ریشه بابا آدم ممکن است اثرات سرکوب کننده بر متابولیت‌ها داشته باشند (5). علاوه بر این، فلاونوئیدهایی مانند لوتئولین و کوئرستین دارای فعالیت ضدالتهابی هستند (۶،۷). اسیدهای فنولیک در ریشه های بابا آدم فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی نشان می‌دهد (8). ریشه ها سرشار از پلی ساکاریدهایی هستند که مسئول اثرات آنتی‌اکسیدانی هستند (9). یک راهبرد برای افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه گیاهان استفاده از کشت سلول و بافت است. همچنین عواملی مانند تنوع ژنتیکی، تاثیر شرایط محیطی، آلودگی با عوامل بیماریزا و دسترسی به زمینهای قابل کشت، کشت گیاهان دارویی را با محدودیت مواجه کرده است (10). روشهای جایگزین زمین‌های زراعی، مانند انواع کشت سلول و بافت برای غلبه بر این کاستی‌ها می‌تواند راهگشا باشند. (11). از آنجاکه مقدار متابولیت تولیدی توسط کالوس اندک است، به طور معمول از محرک‌ها جهت افزایش تولید این مواد استفاده می‌شود. با توجه به اهمیت گیاه دارویی بابا آدم و پایین بودن میزان ترکیبات دارویی موجود در گیاه طبیعی، استفاده از روش کشت درون شیشه (in vitro) با استفاده از ایستتورها برای افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه مهم در این گیاه، ضروری به نظر می‌رسد. ایستتورها از طریق القای سیستم دفاعی باعث بیوستز و انباشت متابولیت‌های ثانوی می‌شوند. سالیسیلیک اسید (C7H6O3) یا اورتو هیدروکسی بنزوئیک یک ترکیب فنلی طبیعی می‌باشد. اسید سالیسیلیک به عنوان یک مولکول واسطه ای مهم جهت واکنش گیاهان در برابر تنشهای محیطی می‌باشد. سالیسیلیک اسید به عنوان یک جزء پیام‌رسان کلیدی در فعالسازی پاسخهای اختصاصی دفاعی گیاه شناخته می‌شود. پاسخ های دفاعی گیاه منجر به کاهش تولید مواد اولیه و بیوستز و تجمع انواع ترکیبات ثانویه گیاهی می‌شود (12). بررسیها حاکی از اثر سالیسیلیک اسید بر بهبود و افزایش سنتز متابولیت‌های ثانوی مختلف است؛ برای مثال، افزایش تجمع acteoside در کشت ریشه موئین رهمانیا (*Rehmannia glutinosa*) (13) افزایش مقدار ایزوفلاونوئیدها در کشت سلولی گیاه تیریشه (*Pueraria tuberosa*) (14) افزایش محتوای ترکیبات فنولی در نعنای فلفلی (15) (*Mentha piperita*) و کاساوا (*Manihot (esculenta)*) (16) و افزایش تولید رزمارینیک اسید در کشت ریشه موئین گیاه ریحان (*Ocimum basilium*) (17) گزارش شده است. با توجه به نقش و اهمیت سالیسیلیک اسید بر تولید ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، در تحقیق حاضر اثر سالیسیلیک اسید در افزایش رشد و تولید آنتی‌اکسیدانها در گیاه بابا آدم بررسی شده است.

## مواد و روش

بذرهای گیاه بابا آدم جمع آوری شد و سپس در پشم سنگ کشت داده شدند. بعد از حدود سه ماه به منظور القای کالوس قطعات برگ گیاهچه‌های حاصل به محیط کشت MS پایه حاوی غلظت های 5/ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آمینو پورین (BAP) و 1 میلی‌گرم دی و تتراکلرو فنوکسی استیک اسید (2,4 D) منتقل شدند. کالوسهای حاصل پس از یک ماه به محیط کشت MS مایع با همان تیمار

انتقال یافتند. پس از رسیدن به فاز سکون (14 روز پس از کشت) سالیسیلیک اسید در غلظتهای 100 و 200 میلی گرم در لیتر به محیطهای کشت اضافه شد. محیطهای کشت روی شیکر افقی با سرعت 70 دور در دقیقه و دمای  $23 \pm 2$  درجه سانتی گراد و شدت نور 4000 لوکس و فتوپریود 16 ساعت قرار گرفتند و پس از 48 ساعت، توده های سلولی برداشت شدند و پس از خشک شدن در دمای 60 درجه جهت عصاره گیری و سنجشهای بعدی مورد استفاده قرار گرفتند.

### سنجش و اندازه گیری ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی

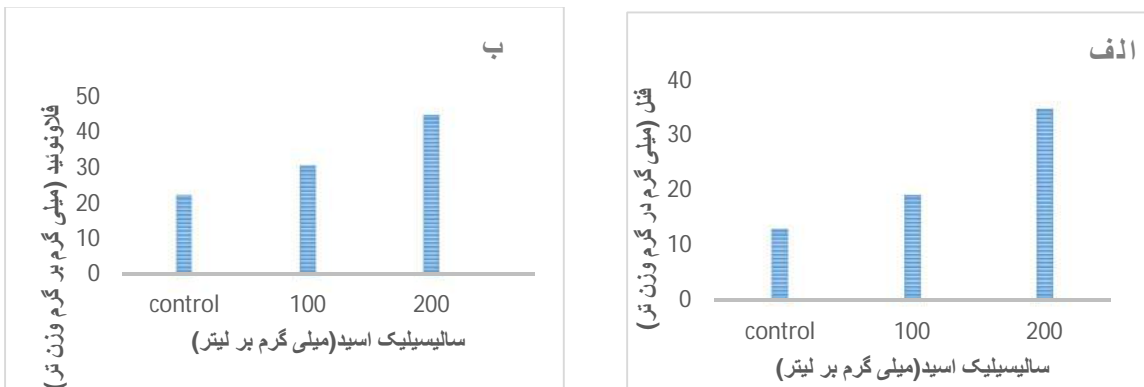
برای این مرحله از سنجشها، ابتدا 0/5 g بافت تر در 5 ml متانول 80% ساییده شد سپس به مدت 15 دقیقه با دور 10000 rpm سانتریفوژ شد (18). جهت اندازه گیری و سنجش فنل کل به 0/1 ml از عصاره متانولی 2/5 ml معرف فولین دنیس 10% اضافه و به مخلوط حاصل بعد از 5 دقیقه، 2 ml محلول سدیم کربنات 7% اضافه گردید. برای شاهد نیز بجای عصاره، از آب مقطر استفاده شد و بعد فولین سیوکالتو و کربنات سدیم اضافه گردید. 1/5 ساعت بعد جذب نمونه ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر Shimadzu در طول موج 765 nm خوانده شد و در نهایت مقدار فنول کل بر اساس منحنی استاندارد گالیگ اسید بر حسب  $FW^{-1} \cdot mg \cdot g$  محاسبه شد.

برای سنجش فلاونوئید کل به 0/5 ml از عصاره متانولی 100  $\mu l$  از محلول آلومینیوم کلرید 10%، 100  $\mu l$  پتاسیم استات 1M، 1 ml 1/5 متانول 80% و 2/8 ml آب دو بار تقطیر اضافه شد و سپس مخلوط 30 دقیقه در تاریکی قرار داده شد و سپس جذب نمونه ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج 415nm خوانده شد. برای شاهد به جای عصاره از متانول 80 درصد استفاده شد. محتوای فلاونوئیدها در نمونه ها بر اساس منحنی استاندارد Rutin بر حسب  $FW^{-1} \cdot mg \cdot g$  محاسبه گردید (19). تمام آزمایش ها در سه تکرار و در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی انجام خواهند شد. جهت آنالیز داده ها از نرم افزار SPSS ورژن 26 و برای رسم نمودارها از برنامه Excel استفاده گردید.

### نتایج و بحث

در نتایج حاصل از این پژوهش که در شکل 1 نشان داده شده است، مشاهده شده است که پس از 48 ساعت ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در تیمار 200 میلی گرم در لیتر سالیسیلیک اسید نسبت به شاهد افزایش معنی داری داشتند. مطالعات قبلی نیز افزایش فنل کل را در تیمار سالیسیلیک اسید گزارش کرده اند (20). گیاهان برای مقابله با تنش ها از سازکارهای مختلفی مانند افزایش فلاونوئیدها استفاده می کنند این ترکیبات نقش آنتی اکسیدانتهی دارند و جاروب کننده گونه های فعال اکسیژن هستند (21). در انگور، غلظت 250 میکرومول سالیسیلیک اسید باعث افزایش میزان ترکیبات فنلی بعد از هشت ساعت شده است و بعد از 48 ساعت کاهش می یابد. افزایش محتوای ترکیبات فنولی در گیاه اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia* Mill) نعنای فلفلی (*Mentha piperita*)، کاساوا (*Manihot esculenta*) و زردآلو (*Prunus armeniaca*) در اثر تیمار سالیسیلیک اسید گزارش شده است (22, 15, 16, 23). در کشت تعلیقی ریحان مقدس سالیسیلیک اسید فعالیت آنتی اکسیدانتهی را افزایش داد (24). مطالعات متعددی نشان داده است که سالیسیلیک اسید باعث افزایش میزان برخی از متابولیت های ثانوی به ویژه آنهایی که در ساز و کارهای دفاعی گیاه نقش

دارد، می شود (25). گیاهان ترکیبات فنلی را در پاسخ به یکسری از ترکیبات پیام رسان آزاد می سازد، که نقش دفاعی مهمی دارند (26). در شرایط طبیعی به دنبال حمله پاتوژنها گروهی از ژنهای دفاعی فعال می شوند و سنتز متابولیتهای گیاهی را فعال می کنند (15، 27). کاربرد برون زای سالیسیلیک اسید در غیاب پاتوژن می تواند این ژنها را فعال کند (28). بر اساس بررسیهای انجام شده، سالیسیلیک اسید با ورود به سیستم علامت دهی، تشکیل  $H_2O_2$ ، تأثیر بر مسیر فنیل پروپانویید و القای سنتز ترکیبات فنولی در پاسخهای دفاعی گیاه شرکت کرده و میزان ترکیبات آنتی اکسیدانی را افزایش می دهد (27، 28، 29).



شکل 1- اثر سالیسیلیک اسید بر میزان ترکیبات فنلی (الف) و فلاونوئیدی (ب)

## نتیجه گیری

بر اساس نتایج به دست آمده غلظت 200 میلی گرم بر لیتر سالیسیلیک اسید در زمان 48 ساعت بعد از تیمار دهی باعث افزایش مقدار ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی شد و می توان بیان کرد کشت تعلیقی گیاه بابا آدم می تواند منبع خوبی برای تولید ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی باشد.

## منابع

- 1- Brasileiro, B.G., Pizziolo, V.R., Raslan, D.S., Jamal, C.M. and Silveira, D., 2006. Antimicrobial and cytotoxic activities screening of some Brazilian medicinal plants used in Governador Valadares district. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 42, pp.195-202.
- 2- Zhao, J., Evangelopoulos, D., Bhakta, S., Gray, A.I. and Seidel, V., 2014. Antitubercular activity of *Arctium lappa* and *Tussilago farfara* extracts and constituents. *Journal of Ethnopharmacology*, 155(1), pp.796-800.
- 3- Don, R.A.S.G. and Yap, M.K.K., 2019. *Arctium lappa* L. root extract induces cell death via mitochondrial-mediated caspase-dependent apoptosis in Jurkat human leukemic T cells. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 110, pp.918-929.
- 4- Maruta, Y., Kawabata, J. and Niki, R., 1995. Antioxidative caffeoylquinic acid derivatives in the roots of burdock (*Arctium lappa* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(10), pp.2592-2595.
- 5- Tamayo, C., Richardson, M.A., Diamond, S. and Skoda, I., 2000. The chemistry and biological activity of herbs used in Flor Essence™ herbal tonic and Essiac. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 14(1), pp.1-14.

- 6- Lin, C.C., Lin, J.M., Yang, J.J., Chuang, S.C. and Ujiie, T., 1996. Anti-inflammatory and radical scavenge effects of *Arctium lappa*. *The American journal of Chinese medicine*, 24(02), pp.127-137.
- 7- Conea, S., Mogosan, C., Vostinaru, O., Toma, C.C., HEPCAL, I.C., Cazacu, I., Cristina, P.O.P. and Vlase, L., 2017. Polyphenolic profile, anti-inflammatory and antinociceptive activity of an extract from *Arctium lappa* L. roots. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 45(1), pp.59-64.
- 8- Jiang, X.W., Bai, J.P., Zhang, Q., Hu, X.L., Tian, X., Zhu, J., Liu, J., Meng, W.H. and Zhao, Q.C., 2016. Caffeoylquinic acid derivatives from the roots of *Arctium lappa* L. (burdock) and their structure-activity relationships (SARs) of free radical scavenging activities. *Phytochemistry Letters*, 15, pp.159-163.
- 9- Azizov, U.M., Khadzhieva, U.A., Rakhimov, D.A., Mezhlumyan, L.G. and Salikhov, S.A., 2012. Chemical composition of dry extract of *Arctium lappa* roots. *Chemistry of Natural Compounds*, 47, pp.1038-1039.
- 10- Pan, S.Y., Zhou, S.F., Gao, S.H., Yu, Z.L., Zhang, S.F., Tang, M.K., Sun, J.N., Ma, D.L., Han, Y.F., Fong, W.F. and Ko, K.M., 2013. New perspectives on how to discover drugs from herbal medicines: CAM's outstanding contribution to modern therapeutics. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013.
- 11- Guerriero, G., Berni, R., Muñoz-Sanchez, J.A., Apone, F., Abdel-Salam, E.M., Qahtan, A.A., Alatar, A.A., Cantini, C., Cai, G., Hausman, J.F. and Siddiqui, K.S., 2018. Production of plant secondary metabolites: Examples, tips and suggestions for biotechnologists. *Genes*, 9(6), p.309.
- 12- Neumann, K.H., Kumar, A. and Imani, J., 2009. *Plant cell and tissue culture: a tool in biotechnology* (Vol. 12). Berlin: Springer.
- 13- Dörnenburg, H. and Knorr, D., 1995. Strategies for the improvement of secondary metabolite production in plant cell cultures. *Enzyme and microbial technology*, 17(8), pp.674-684.
- 14- Goyal, S. and Ramawat, K.G., 2008. Increased isoflavonoids accumulation in cell suspension cultures of *Pueraria tuberosa* by elicitors.
- 15- Shabrangi, A. and Jazi, E.A.B., 2014. Effect of Salicylic Acid on The Amount of Essential Oil, Phenolic Compounds, Flavonoids And Antioxidant Activity of *Mentha piperita* L. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, 7(8), p.499.
- 16- Dogbo, D.O., Gogbeu, S.J., N'zue, B., Ya, K.A., Zohouri, G.P., Mamyrbekova-Bekro, J.A. and Bekro, Y.A., 2012. Comparative activities of phenylalanine ammonia-lyase and tyrosine ammonia-lyase and phenolic compounds accumulated in cassava elicited cell. *African Crop Science Journal*, 20(2), pp.85-94.
- 17- Matkowski, A., 2008. Plant in vitro culture for the production of antioxidants—a review. *Biotechnology advances*, 26(6), pp.548-560.
- 18- Ribarova, F., Atanassova, M., Marinova, D., Ribarova, F. and Atanassova, M., 2005. Total phenolics and flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. *JU Chem. Metal*, 40(3), pp.255-260.
- 19- Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M. and Chern, J.C., 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of food and drug analysis*, 10(3).
- 20- Guleria, S., Sohal, B.S. and Mann, A.P.S., 2005. Salicylic acid treatment and/or *Erysiphe polygoni* inoculation on phenylalanine ammonia-lyase and peroxidase content and accumulation of phenolics in pea leaves. *Journal of vegetable science*, 11(2), pp.71-79.
- 21- Ali, M.B., Khatun, S., Hahn, E.J. and Paek, K.Y., 2006. Enhancement of phenylpropanoid enzymes and lignin in *Phalaenopsis* orchid and their influence on plant acclimatisation at different levels of photosynthetic photon flux. *Plant Growth Regulation*, 49, pp.137-146.

22- علیرضایی and کیارستمی, 2020. بررسی اثر سالیسیلیک اسید بر فعالیت آنزیم اکسیدانی در کشت سلولی گیاه اسطوخودوس ( *Mill Lavandula angustifolia* ) پژوهش های سلولی و مولکولی (مجله زیست شناسی ایران) (علمی), 33(3), pp.302-311.

- 23- Wen, P.F., Chen, J.Y., Wan, S.B., Kong, W.F., Zhang, P., Wang, W., Zhan, J.C., Pan, Q.H. and Huang, W.D., 2008. Salicylic acid activates phenylalanine ammonia-lyase in grape berry in response to high temperature stress. *Plant Growth Regulation*, 55, pp.1-10.
- 24- Giraldo, L., Castro, V., Gregory, F. and Dias, A.C., 2014. Potential of *Ocimum sanctum* L. cell suspensions for rosmarinic acid production. *Drug Research*, 26(02), p.2015.
- 25- Kang, S.M., Jung, H.Y., Kang, Y.M., Yun, D.J., Bahk, J.D., Yang, J.K. and Choi, M.S., 2004. Effects of methyl jasmonate and salicylic acid on the production of tropane alkaloids and the expression of PMT and H6H in adventitious root cultures of *Scopolia parviflora*. *Plant Science*, 166(3), pp.745-751.
- 26- Bais, H.P., Park, S.W., Weir, T.L., Callaway, R.M. and Vivanco, J.M., 2004. How plants communicate using the underground information superhighway. *Trends in plant science*, 9(1), pp.26-32.
- 27- Van Loon, L.C., 1997. Induced resistance in plants and the role of pathogenesis-related proteins. *European journal of plant pathology*, 103, pp.753-765.
- 28- Okada, A., Shimizu, T., Okada, K., Kuzuyama, T., Koga, J., Shibuya, N., Nojiri, H. and Yamane, H., 2007. Elicitor induced activation of the methylerythritol phosphate pathway toward phytoalexins biosynthesis in rice. *Plant molecular biology*, 65, pp.177-187.
- 29- Aposto, I., Heinstein, P.F. and Low, P.S., 1989. Rapid stimulation of an oxidative burst during elicitation of cultured plant cells. *Plant Physiol*, 90, pp.109-116.

## **Increasing the production of phenolic and flavonoid compounds under the influence of salicylic acid in the cell culture of *Arctium lappa* L.**

Marzieh Taghizadeh<sup>1</sup>, Khadijah Kiarostami<sup>2</sup>

1- Ph.D., Plant Biology-Physiology, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Al-Zahra University, [m.taghizadehhh1368@gmail.com](mailto:m.taghizadehhh1368@gmail.com)

2- Ph.D., Associate Professor, Plant Sciences, Faculty of Biological Sciences, Al-Zahra University

### **Abstract**

*Arctium lappa* plant is a perennial plant from the Asteraceae family that is traditionally used to improve health and has many compounds. The compounds identified in *Arctium lappa* are classified as lignans, flavonoids, and phenolic acids, and these secondary metabolites have gained great medicinal importance due to their anti-cancer, anti-inflammatory, antioxidant, and antimicrobial properties. Manipulation of cell culture media with elicitors is one of the important ways to induce the production of valuable metabolites. By changing the concentration of salicylic acid in the plant tissue culture medium, the production of secondary metabolites can be qualitatively and quantitatively changed. In this study, concentrations of 100 and 200 mg/liter were added to the cell suspension culture of *Arctium lappa*. 48 hours after the treatment, cell masses were harvested and the content of phenolic and flavonoid compounds was measured. According to the results, the amount of these compounds increased significantly in the period of 48 hours after the elicitation compared to the control, and the highest amount of these compounds was observed at a concentration of 200 mg/liter.

Keywords: *Arctium lappa*, cell culture, salicylic acid, phenolic and flavonoid compounds

## اثر متیل جاسمونات بر محتوای ترکیبات فنلی و فعالیت آنزیم‌های PAL و TAL در کشت

### سلولی *Dracocephalum polycheatum* Bornm.

زینب خسروی خوزانی<sup>1</sup>، مرضیه تقی زاده\*

1- دانشجوی کارشناسی ارشد، زیست شناسی گیاهی، گروه زیست شناسی گیاهی و جانوری، دانشکده علوم و فناوری‌های زیستی، دانشگاه اصفهان،

اصفهان، ایران

\*استادیار، گروه زیست شناسی گیاهی و جانوری، دانشکده علوم و فناوری‌های زیستی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

نویسنده مسئول: Taghizadeh. [m66@yahoo.com](mailto:m66@yahoo.com)

#### چکیده

گیاه دارویی *Dracocephalum polycheatum* Bornm. یکی از اعضای خانواده نعنائیان و بومی ایران است. هدف از انجام این پژوهش، بررسی اثر غلظت‌های مختلف متیل جاسمونات بر سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی غیر آنزیمی گیاه با بررسی فعالیت آنزیم‌های فنیل‌آلانیل و تایروزین آمونیلایز و تولید و تجمع ترکیبات فنلی به عنوان ترکیبات آنتی‌اکسیدان قوی در سلول‌های گیاهی است. برای این هدف، پس از القاء کالوس از هیپوکوتیل، کالوس‌های مناسب جهت استقرار کشت سوسپانسیون سلولی، به محیط کشت MS مایع حاوی BAP (0/2 mg/l) + NAA (2 mg/l) منتقل و هر 14 روز یکبار واکشت شدند. سپس سلول‌های این گیاه در فاز رشد خود (روز 7 تا 12 پس از واکشت)، تحت تیمار با غلظت‌های 0، 10، 25، 50 و 100 میکرومولار متیل جاسمونات قرار گرفتند. نتایج نشان داد فعالیت آنزیم‌های فنیل‌آلانیل و تایروزین آمونیلایز و محتوای فنل کل، فلاونوئید کل، فلاونول و آنتوسیانین در سلول‌های تحت تیمار با غلظت 25 میکرومولار متیل جاسمونات دستخوش تغییرات معنادار نسبت به سلول‌های شاهد شد. روی هم رفته، نتایج نشان می‌دهد که غلظت‌های مختلف متیل جاسمونات باعث تغییرات مختلفی در ساختار و متابولیسم سلول از طریق استرس اکسیداتیو می‌شود و با تاثیر بر سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی غیر آنزیمی سلول‌ها سبب القای مسیر بیوستنز فنلی و تجمع آن‌ها در سلول‌ها شود.

واژه‌های کلیدی: کشت سوسپانسیون سلولی، متیل جاسمونات، مفرو، ترکیبات فنلی و متابولیت‌های ثانویه.

#### مقدمه

گیاه *Dracocephalum polychaetum* Bornm. یا مفرو یکی از گیاهان دارویی بومی ایران و استان کرمان بوده و این گیاه ارزشمند سرشار از ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی از جمله رزمارینیک‌اسید، تیمول، کاروکرول، نارینجین، روتین، آپیزین، لوتئولین و کوئرستین است (Taghizadeh et al., 2019). ترکیبات فنلی بزرگترین گروه متابولیت‌های ثانویه و یکی از مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های گیاهی جهت مقابله با انواع تنش‌های زیستی و غیرزیستی می‌باشند (Vergara-Martínez et al., 2021)، که طی مسیر بیوستنزی فنیل پروپانویید و با فعالیت دامیناسیون غیراکسیداتیو دو آنزیم کلیدی فنیل‌آلانیل آمونیلایز (PAL) و تایروزین آمونیلایز (TAL) بر پیش ماده‌های خود فنیل‌آلانیل و تایروزین سنتز می‌شوند. سنتز این ترکیبات در سلول‌های گیاهی به کندی انجام می‌شود و کمتر از 1% از وزن خشک گیاه را به خود اختصاص می‌دهند. برداشت بی‌رویه گیاهان دارویی سبب کاهش جمعیت‌های طبیعی و تخریب زیستگاه‌ها شده است (Iannicelli et al., 2020). یکی از روش‌های مؤثر در تولید متابولیت‌های ثانویه بدون تخریب زیستگاه و با حفظ تنوع زیستی استفاده از روش‌های بیوتکنولوژی و کشت بافت گیاهی است (Madani et al., 2021). رشد و تکثیر گیاهان در

شرایط کشت بافت گیاهی در شرایط استریل و کنترل شده آزمایشگاهی و مستقل از تغییرات محیطی و اقلیمی انجام می‌شود. همچنین گیاهان رشد یافته در این شرایط نرخ متابولیسم بالاتری نسبت به گیاهان رشد یافته در شرایط طبیعی دارد (Chandran et al., 2020). محرک‌ها مولکول‌های سیگنال با منبع زیستی و غیرزیستی هستند که به فعال سازی سیستم دفاعی سلول پرداخته و سبب افزایش تولید و تجمع متابولیت‌های ثانویه در سلول می‌شوند (Thakur et al., 2019). جاسمونیک اسید و مشتقات آن مانند متیل جاسمونات، گروهی از هورمون‌های رشد گیاهی هستند که یکی از مهم‌ترین نقش‌های آن‌ها القا پاسخ‌های دفاعی در برابر انواعی از تنش‌های زیستی و غیرزیستی است (Yu et al., 2018). همین ویژگی، جاسمونات‌ها خصوصاً متیل جاسمونات را به یکی از مهم‌ترین محرک‌ها جهت افزایش تولید و تجمع متابولیت‌های ثانویه تبدیل کرده است. از آنجایی که کشت کالوس، سوسپانسیون سلولی و ریشه‌های موئین پتانسیل بالاتری در تولید متابولیت‌های ثانویه دارد (Madani et al., 2021)، در این پژوهش به بررسی اثر غلظت‌های مختلف متیل جاسمونات بر فعالیت آنزیم‌های فنیل‌آلانیل و تایروزین آمونیاپاز، تولید و تجمع ترکیبات فنلی و بررسی اثر غلظت بهینه از این تیمار برای افزایش تولید ترکیبات فنلی در کشت سوسپانسیون سلولی گیاه *D. polychaetum* پرداخته شد.

#### مواد و روش‌ها

بذرهای گیاه مغرو پس از استریل سازی به مدت 28 روز در تاریکی و دمای اتاق در محیط کشت  $\frac{1}{2}$  MS+GA قرار داده شد و از هیپوکوتیل به دست آمد به عنوان ریزنمونه جهت القای کالوس (MS+4mg/L BAP+1.5mg/L NAA) استفاده شد و پس از انتقال کالوس به محیط کشت مایع MS+0.2mg/L BAP+ 2mg/L NAA سوسپانسیون سلولی به دست آمده و سلول‌ها هر 14 روز یکبار واگشت شدند (Taghizadeh et al., 2020). بر اساس منحنی رشد سلول‌ها، در روز 7م و در فاز رشد لگاریتمی، سلول‌ها به مدت 5 روز (Taghizadeh et al., 2019) تحت تیمار با غلظت‌های 10، 25، 50 و 100 میکرومولار متیل جاسمونات قرار گرفتند و جهت تیمار دهی سلول‌های شاهد از 100 میکرولیتر آب استفاده شد. پس از برداشت سلول‌های تیمار شده در روز 12م از منحنی رشد سلول‌ها، محتوای فنل کل با روش Folin-ciocalteu (Singleton et al., 1999)، محتوای فلاونوئید کل با روش آلومینیوم کلراید (Chang et al., 2002)، مقدار فلاونول‌ها با روش آلومینیوم کلراید (Akkol et al., 2008) و محتوای آنتوسیانین با روش Laby (Laby et al., 2000) اندازه گیری شد. همچنین فعالیت آنزیم‌های PAL و TAL با روش Beaudoin و همکاران (Beaudoin-Eagan and Thorpe, 1985) اندازه گیری شد. آنالیز آماری نتایج حاصل با نرم افزار SPSS، در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد.

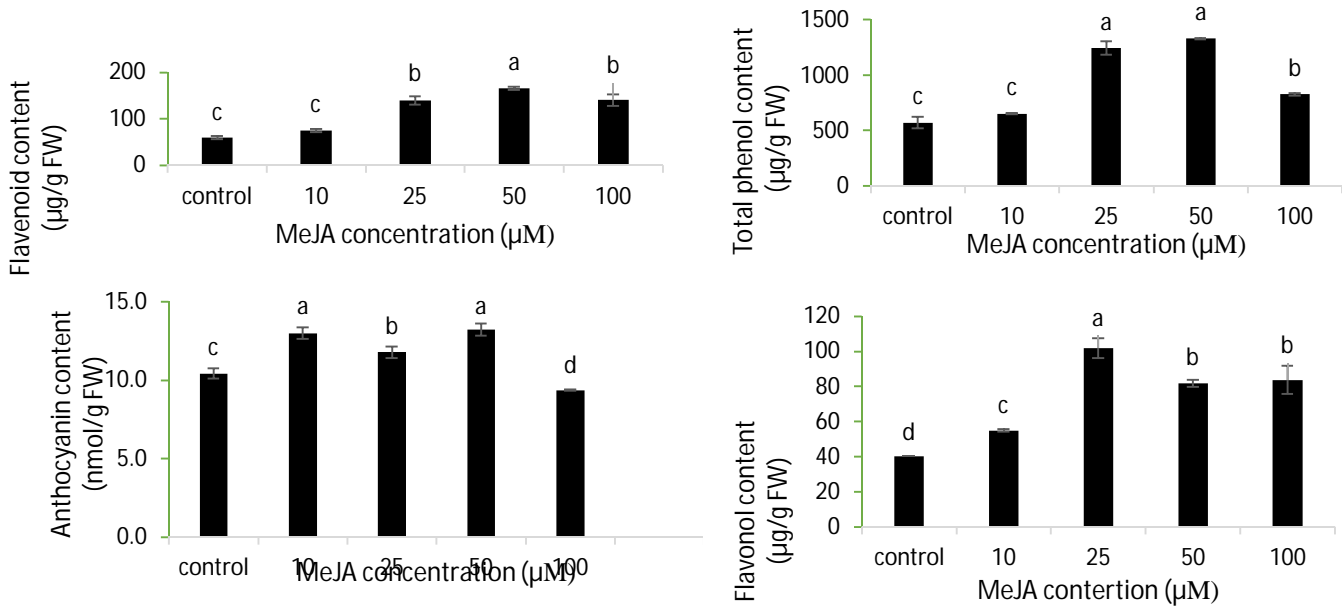
#### نتایج و بحث

نتایج به دست آمده نشان داد (شکل 1)، غلظت‌های 25، 50 و 100 میکرومولار متیل جاسمونات سبب افزایش معناداری در محتوای فنل و فلاونوئید کل نسبت به سلول‌های شاهد شد و در سلول‌های تحت تیمار با غلظت 10 میکرومولار متیل جاسمونات، افزایش معناداری در محتوای فنل و فلاونوئید کل نسبت به سلول‌های شاهد دیده نشد. تیمار با غلظت‌های 25 و 50 میکرومولار متیل-جاسمونات بیشترین افزایش در محتوای فنل کل (2,17 و 2,3 برابر) را در سلول‌های تحت تیمار نشان داد و بیشترین افزایش (2,8 برابر) در محتوای فلاونوئید کل در سلول‌های تحت تیمار با غلظت 50 میکرومولار مشاهده شد. تمامی غلظت‌های متیل جاسمونات سبب افزایش معنادار در مقدار فلاونول‌ها نسبت به سلول‌های شاهد شد و بیشترین افزایش آن در سلول‌های تیمار شده با غلظت 25 میکرومولار مشاهده شد. غلظت‌های 10، 25 و 50 میکرومولار متیل جاسمونات سبب افزایش معنادار در محتوای آنتوسیانین‌ها شد و در بالاترین غلظت از تیمار متیل جاسمونات کاهش معناداری در مقدار آنتوسیانین‌ها نسبت به سلول‌های شاهد دیده شد. در



این پژوهش تیمار متیل‌جاسمونات نقش مثبت و موثری در افزایش محتوای فنل کل، فلاونوئید، فلاونول و آنتوسیانین‌ها داشت. متابولیت‌های ثانویه بخشی از سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی هستند و متیل‌جاسمونات به عنوان مولکول سیگنال، با اثر بر بیان ژن‌های پاسخ‌های دفاعی، بیان عوامل تنظیمی (فعال‌کننده و یا مهارکننده‌ها) ژن‌های کدکننده‌ی آنزیم‌های مسیر بیوستنز متابولیت‌های ثانویه، به تنظیم مسیرهای بیوستنزکننده آن‌ها و تجمع این ترکیبات در سلول و خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد می‌پردازد (Li et al., 2022). ترکیبات فنلی به واسطه حضور گروه‌های متعدد هیدروکسیل و متوکسی در ساختمان خود، می‌توانند به عنوان هیدروژن و الکترون دهنده‌گان قوی عمل کرده و به عنوان بخشی از سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی غیر آنزیمی به خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد تولید شده طی تنش اکسیداتیو بپردازند (Dumanović et al., 2021). بر اساس نتایج به دست آمده می‌توان نتیجه گرفت متیل-جاسمونات با فعالیت سیگنالینگ خود با فعال‌سازی سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی سلول و جهت مقابله با اثرات مخرب رادیکال‌های آزاد تولید شده، تولید و تجمع ترکیبات فنلی، فلاونوئیدها، فلاونول و آنتوسیانین‌ها را در سلول افزایش داده است. متیل‌جاسمونات در کالوس گیاه *Allium jesdianum* (Yazdanian et al., 2021) و کالوس گیاه *Teucrium polium* (Hashemyan et al., 2020) سبب افزایش در محتوای فنلی و فلاونوئیدی این گیاهان شده‌است. نتایج به دست آمده در این پژوهش و دیگر پژوهش‌ها تأیید‌کننده نقش مثبت متیل‌جاسمونات بر تولید و تجمع ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در غلظت متناسب است. در این پژوهش بیش‌ترین مقدار فنل کل، فلاونوئید و فلاونول‌ها در سلول‌های تحت تیمار 25 و 50 میکرومولار متیل‌جاسمونات مشاهده شد و برخلاف انتظار بالاترین غلظت از تیمار سبب بیشترین افزایش در ترکیبات فنیل پروپانوئیدی نشده است. ممکن است غلظت بالای متیل‌جاسمونات با تولید بیش از حد رادیکال‌های آزاد (مانند گونه‌های فعال اکسیژن) سبب آسیب به غشاءهای زیستی، آسیب به پروتئین‌ها، آنزیم‌ها و فاکتورهای رونویسی کلیدی در مسیر بیوستنز ترکیبات فنلی و یا مرگ سلولی شده باشد. همچنین ممکن است آسیب به غشاءهای زیستی سبب قرارگیری فنل‌ها در معرض آنزیم‌های فنل اکسیداز شده باشد (Hashemyan et al., 2020).

همانطور که در شکل 2 قابل مشاهده است، تیمار با غلظت‌های 10 و 25 میکرومولار متیل جاسمونات سبب افزایش در فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلیاز (PAL) شد و این افزایش تنها در غلظت 10 میکرومولار متیل جاسمونات نسبت به شاهد معنادار بود و در سایر غلظت‌های تیمار تفاوت معناداری در فعالیت این آنزیم نسبت به سلول‌های شاهد مشاهده نشد. فعالیت آنزیم تایروزین آمونیلیاز



شکل 1 اثر غلظت‌های مختلف متیل جاسمونات (0, 10, 25, 50 و 100 میکرومولار) بر محتوای فنل کل، فلاونوئید کل، فلاونول و آنتوسیانین سلول‌های *Dracocephalum polychaetum*. مقادیر براساس میانگین سه تکرار  $\pm$  SE نشان داده شده و حروف نامشابه معرف معنی دار بودن براساس آزمون LSD ( $P \leq 0.05$ ) است.

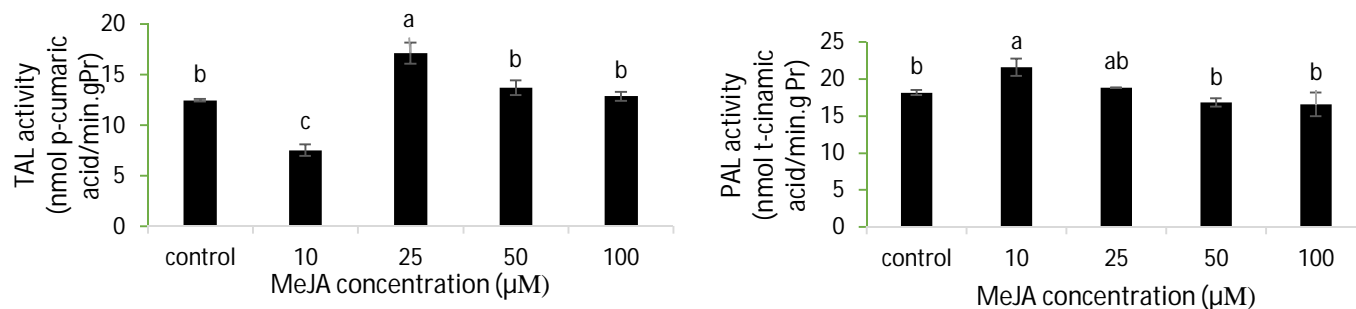
(TAL) در سلول‌های تیمار شده با غلظت 25 میکرومولار متیل جاسمونات افزایش معناداری (1,37 برابر) نسبت به سلول‌های شاهد نشان داد. تیمار با غلظت 10 میکرومولار متیل جاسمونات سبب کاهش معنادار و 40 درصدی در فعالیت این آنزیم شد و سایر غلظت‌های تیمار تفاوت معناداری نسبت به سلول‌های شاهد نداد.

فرایند تیماردهی با محرک‌ها، با اتصال محرک به رسپتورهای غشایی آغاز شده و با فعال‌سازی مسیرهای آبخاری پیام‌رسانی و اثر بر بیان ژن‌های مرتبط با مسیرهای بیوسنتزی، در نهایت مسیرهای بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه تحت تأثیر قرار می‌گیرند (Al-Khayri, 2016). تحریک فعالیت آنزیم‌های کلیدی مسیرهای بیوسنتزی در حضور جاسمونات‌ها، منجر به افزایش تولید و تجمع محصولات مسیر بیوسنتزی مورد نظر می‌شود. آنزیم‌های PAL و TAL دو آنزیم کلیدی و آغازگر مسیر بیوسنتز ترکیبات فنلی هستند (Ferrer et al., 2008). مطالعات قبلی اثر القایی متیل جاسمونات بر سنتز و فعالیت آنزیم PAL را گزارش کرده اند (Jacob-Velázquez et al., 2011). از طرفی القاء تنش اکسیداتیو ناشی از تیمار با محرک‌ها، سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های PAL و TAL و سنتز ترکیبات آنتی‌اکسیدان فنلی در سلول می‌شود (Ehsanpour and Maleki, 2018). در پژوهش انجام شده توسط Ben Romdhane و همکارانش (2022) موازی با افزایش فعالیت آنزیم PAL و TAL در اثر تیمار با متیل جاسمونات محتوای فنل و فلاونوئید کل در گیاه *Phoenix*

*dactylifera* افزایش یافت. در این پژوهش سلول‌های تیمار شده با غلظت 25 میکرومولار متیل جاسمونات، بیشترین افزایش در فعالیت آنزیم‌های PAL و TAL را نشان دادند و علی‌رغم افزایش محتوای فنل کل، فلاونوئید، فلاونول و آنتوسیانین‌ها خصوصاً در سلول‌های تحت تیمار با غلظت 50 میکرومولار متیل جاسمونات شاهد افزایش در فعالیت این دو آنزیم نسبت به سلول‌های شاهد نشد. این پدیده ممکن است به دلیل عدم در نظر گرفتن بازه‌های زمانی مختلف جهت تیماردهی سلول‌ها باشد. ممکن است پیش از زمان برداشت سلول‌ها فعالیت آنزیم‌های PAL و TAL افزایش یافته و سبب تجمع ترکیبات فنیل‌پروپانویدی شده است و در زمان برداشت حضور محصولات این دو آنزیم فعالیت آن‌ها را مهار کرده است. از این رو ما شاهد افزایش در فعالیت این دو آنزیم در سلول‌های تحت تیمار نبودیم.

### نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد فعالیت القایی متیل جاسمونات با اثر بر فعالیت آنزیم‌های کلیدی مسیر بیوستتزی فنیل‌پروپانوید، از جمله PAL و TAL سلول را به سمت سنتز آنتی‌اکسیدان‌های فنلی سوق داده و سبب افزایش در محتوای فنل کل، فلاونوئید کل، فلاونول و آنتوسیانین‌ها شده است.



شکل 2 اثر غلظت‌های مختلف متیل جاسمونات (0، 10، 25، 50 و 100 میکرومولار) بر فعالیت آنزیم TAL در سلول‌های *Dracocephalum polychaetum*. مقادیر براساس میانگین سه تکرار  $\pm$  SE نشان داده شده و حروف نامشابه معرف معنی دار بودن براساس آزمون LSD ( $P \leq 0.05$ ) است.

### منابع

- AKKOL, E. K., GÖGER, F., KOŞAR, M. & BAŞER, K. H. 2008. Phenolic composition and biological activities of *Salvia halophila* and *Salvia virgata* from Turkey. *Food Chem*, 108, 942-9.
- BEAUDOIN-EAGAN, L. D. & THORPE, T. A. 1985. Tyrosine and Phenylalanine Ammonia Lyase Activities during Shoot Initiation in Tobacco Callus Cultures. *Plant Physiol*, 78, 438-41.
- BEN ROMDHANE, A., CHTOUROU, Y., SEBII, H., BAKLOUTI, E., NASRI, A., DRIRA, R., MAALEJ, M., DRIRA, N., RIVAL, A. & FKI, L. 2022. Methyl jasmonate induces oxidative/nitrosative stress and the accumulation of antioxidant metabolites in *Phoenix dactylifera* L. *Biotechnology Letters*, 44, 1323-1336.
- CHANDRAN, H., MEENA, M., BARUPAL, T. & SHARMA, K. 2020. Plant tissue culture as a perpetual source for production of industrially important bioactive compounds. *Biotechnology Reports*, 26, e00450.
- CHANG, C.-C., YANG, M.-H., WEN, H.-M. & CHERN, J.-C. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of food and drug analysis*, 10.
- EHSANPOUR, A. A. & MALEKI, M. S. 2018. Effect of salicylic acid on total phenol, flavonoid, anthocyanin and PAL and TAL enzymes in tomato (*Solanum lycopersicum* Mill) plants. *Iranian Journal of Plant Biology*, 9, 55-68.
- FERRER, J. L., AUSTIN, M. B., STEWART, C., JR. & NOEL, J. P. 2008. Structure and function of enzymes involved in the biosynthesis of phenylpropanoids. *Plant Physiol Biochem*, 46, 356-70.

- HASHEMYAN, M., GANJEALI, A. & CHENIANY, M. 2020. Effect of Methyl Jasmonate and Salicylic Acid Elicitors on the Production of Secondary Metabolites and Antioxidant Capacity of *Teucrium polium* L. in-vitro. *Iranian Journal of Plant Biology*, 12, 61-76.
- JACOBO-VELÁZQUEZ, D. A., MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ, G. B., DEL, C. R. S., CAO, C. M. & CISNEROS-ZEVALLOS, L. 2011. Plants as biofactories: physiological role of reactive oxygen species on the accumulation of phenolic antioxidants in carrot tissue under wounding and hyperoxia stress. *J Agric Food Chem*, 59, 6583-93.
- LABY, R. J., KINCAID, M. S., KIM, D. & GIBSON, S. I. 2000. The Arabidopsis sugar-insensitive mutants *sis4* and *sis5* are defective in abscisic acid synthesis and response. *The Plant Journal*, 23, 587-596.
- LI, C., XU, M., CAI, X., HAN, Z., SI, J. & CHEN, D. 2022. Jasmonate Signaling Pathway Modulates Plant Defense, Growth, and Their Trade-Offs. *International Journal of Molecular Sciences*, 23, 3945.
- MADANI, H., ESCRICH, A., HOSSEINI, B., SANCHEZ-MUÑOZ, R., KHOJASTEH, A. & PALAZON, J. 2021. Effect of Polyploidy Induction on Natural Metabolite Production in Medicinal Plants. *Biomolecules*, 11, 899.
- SINGLETON, V. L., ORTHOFER, R. & LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. 1999. [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*. Academic Press.
- TAGHIZADEH, M., NASIBI, F., KALANTARI, K. M. & BENAKASHANI, F. 2020. Callusgenesis optimization and cell suspension culture establishment of *Dracocephalum polychaetum* Bornm. and *Dracocephalum kotschy* Boiss.: An in vitro approach for secondary metabolite production. *South African Journal of Botany*, 132, 79-86.
- TAGHIZADEH, M., NASIBI, F., KALANTARI, K. M. & GHANATI, F. 2019. Evaluation of secondary metabolites and antioxidant activity in *Dracocephalum polychaetum* Bornm. cell suspension culture under magnetite nanoparticles and static magnetic field elicitation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 136, 489-498.
- THAKUR, M., BHATTACHARYA, S., KHOSLA, P. K. & PURI, S. 2019. Improving production of plant secondary metabolites through biotic and abiotic elicitation. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 12, 1-12.
- VERGARA-MARTÍNEZ, V. M., ESTRADA-SOTO, S. E., VALENCIA-DÍAZ, S., GARCIA-SOSA, K., PEÑA-RODRÍGUEZ, L. M., DE JESÚS ARELLANO-GARCÍA, J. & PEREA-ARANGO, I. 2021. Methyl jasmonate enhances ursolic, oleanolic and rosmarinic acid production and sucrose induced biomass accumulation, in hairy roots of *Lepechinia caulescens*. *PeerJ*, 9.
- YAZDANIAN, E., GOLKAR, P., VAHABI, M. R. & TAGHIZADEH, M. 2021. Elicitation Effects on Some Secondary Metabolites and Antioxidant Activity in Callus Cultures of *Allium jesdianum* Boiss. & Buhse.: Methyl Jasmonate and Putrescine. *Applied Biochemistry and Biotechnology*.
- YU, X., ZHANG, W., ZHANG, Y., ZHANG, X., LANG, D. & ZHANG, X. 2018. The roles of methyl jasmonate to stress in plants. *Functional Plant Biology*, 46, 197-212.
- ZHAO, J., DAVIS, L. C. & VERPOORTE, R. 2005. Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. *Biotechnol Adv*, 23, 283-333.

### **Effect of Methyl jasmonate elicitation on production of phenolic compounds and PAL and TAL enzymes activity in cell suspension culture of *Dracocephalum polychaetum* Bornm.**

Zeinab Khosravi khuzani<sup>1</sup> and Marzieh Taghizadeh<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Plant and Animal Biology, Faculty Biological Science and Technologies, University of Isfahan, Isfahan, Iran

Corresponding author: Taghizadeh. [m66@yahoo.com](mailto:m66@yahoo.com)

#### **Abstract**

*Dracocephalum polychaetum* Bornm. is a medicinal herb belonging to the family Lamiaceae and native to Iran. The plant originates from the specific geographical regions in south of Kerman province. The present work aimed to investigate the effects of different concentrations of methyl jasmonate on phenolic compounds production in the cell suspension of *D. polychaetum*. For this purpose, after callus induction, suitable callus transferred to liquid MS medium supplemented by 0.264mg/L (BAP)+2mg/L (NAA) and 20g/L sucrose, and incubated on a gyratory shaker at 120 rpm in the darkness. Then, suspension-cultured of this plant was treated with 0, 10, 25, 50 and 100µM concentrations of MeJA when the cells were in their exponential growth phase (from day 7 to 12 after sub-cultures). The results showed that, the activity of phenylalanine ammonialyase, tyrosine ammonialyase, as well as the content of total phenolics, flavonoid, flavonol, anthocyanins in all treated cells, had a significant difference with control. Taken all together, it suggests that different concentrations of methyl jasmonate caused various changes in the cell structure and metabolism through oxidative stress and, could be effective for non-enzymatic antioxidant defense systems of cells which inducing phenolic biosynthesis pathways and accumulation in these cells. According to obtained results, the 25µM of MeJA had a positive effect on cell growth and total phenol, flavonoids and flavonol, in treated cells.

## تأثیر نانوذرات سلنیوم بر میزان ترکیبات فنلی در گیاه دارویی باباآدم (*Arctium lappa* L.)

مرضیه تقی زاده<sup>1</sup>، خدیجه کیارستمی<sup>2</sup>، منا صراحی نوبر<sup>3</sup>

1- دکتری، زیست شناسی-فیزیولوژی گیاهی، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهراء،

2- نویسنده مسئول: دکتری، دانشیار، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهراء [su\\_kiarostami@yahoo.com](mailto:su_kiarostami@yahoo.com)

3- نویسنده مسئول: دکتری، استادیار، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهراء

### چکیده

باباآدم (*Arctium lappa* L.) گیاهی چند ساله از خانواده کاسنی می باشد که دارای ترکیبات فراوانی با خاصیت آنتی اکسیدانتی می باشد. به منظور بررسی اثر نانوذرات سلنیوم بر میزان ترکیبات آنتی اکسیدانتی فنلی تیمارها شامل نانوذرات سلنیوم در 5 سطح (صفر، 5، 10، 15 و 20 پی پی ام) در محیط مزرعه به صورت محلول پاشی برگی اعمال شد. نتایج نشان داد که در سطح احتمال 5% اثر نانوذرات بر میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی معنی دار است و بیشترین میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی نسبت به شاهد در غلظت 20 پی پی ام مشاهده شده است. به طور کلی نتایج نشان داد که تیمار سلنیوم در مقادیر مناسب می تواند باعث افزایش میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی شود.

واژگان کلیدی: باباآدم، نانوذرات سلنیوم، گیاهان دارویی، آنتی اکسیدانت

### مقدمه

گیاهان دارویی در طول تاریخ همیشه مورد مصرف انسانها قرار داشته است، اگر چه در نیم قرن گذشته استفاده از داروهای شیمیایی و سنتزی به شدت رواج یافت ولی به سرعت آثار زیان بار آنها بر زندگی آنها سبب گرایش مجدد به گیاهان دارویی گردید. گیاه باباآدم با نام علمی *Arctium lappa* L.، یک گیاه چند ساله از خانواده کاسنی می باشد که به طور معمول برای بهبود سلامتی مصرف می شود و دارای فعالیتهای بیولوژیکی متنوعی از جمله ضد سرطان، ضد التهاب، آنتی اکسیدان و اثرات ضد میکروبی می باشند (1). در مجموع 101 ماده شیمیایی فرار و بیش از دویست ترکیب غیر فرار از جنس *Arctium* جدا شده است. ترکیبات شناسایی شده در ریشه *A. lappa* به لیگنان ها، فلاونوئیدها و اسیدهای فنلی طبقه بندی می شوند. فلاونوئیدهایی مانند لوتولین و کوئرستین دارای فعالیت مهارکننده رادیکال های آزاد و فعالیت ضد التهابی هستند. اسیدهای فنولیک در ریشه های *A. lappa*، به عنوان مثال مشتقات اسید کلروژنیک فعالیت آنتی اکسیدانی قوی نشان می دهد (2). فعالیت ضد میکروبی بخشهای غنی از فنل از عصاره برگهای باباآدم نیز تأیید شده است. بیشتر تحقیقات بر روی *A. lappa* بر روی آنتی اکسیدان با فعالیت پاک کننده رادیکال های آزاد و محتوای فنلی متمرکز شده است (3، 4). آنتی اکسیدانهای نوع فلاونید و برخی دیگر از آنتی اکسیدانهای پلی فنول فعال موجود در ریشه باباآدم ممکن است اثرات سرکوب کننده بر متاستاز سرطان داشته باشند و در نتیجه تکثیر سلول های

سرطانی را سرکوب می‌کند (5). تانن، یک ترکیب فنلی موجود در ریشه بابا آدم رشد تومور را مهار می‌کند و دارای ویژگی‌های تعدیل‌کننده ایمنی است، با این حال، تانن به طور بالقوه سمی است (6).

سلنیوم یکی از مواد مغذی میکرو و ضروری برای موجودات زنده است. سلنیوم در اشکال مختلف مانند سلنید، سلنیوم عنصری، سلنیت، سلنات، دی متیل سلنید، سلنوآمینو اسیدها و سلنو پروتئین‌ها یافت می‌شود (7). نانوذرات سلنیوم نسبت به سلنیوم عنصری دارای یک مزیت بزرگتر است. نانوذرات سلنیوم از نظر زیستی فعال تر است و انحلال پذیری نسبت به سلنیوم افزایش یافته است و به عنوان یک فرم نانو پایدار از سلنیوم برای کاربرد به عنوان تعدیل‌کننده تنش و کود در محصولات کشاورزی معرفی شده است (8). مهم ترین ویژگی نانوذرات این است که می‌تواند در مقایسه با سلنیوم انبوه نتایج بیشتری را تولید کند. کاربرد نانوذرات سلنیوم پیش بینی می‌شود که به رشد پایدار، سودآور و سازگار با محیط زیست منجر شود. همچنین نیاز به سلنیوم برای بسیاری از زندگی موجودات از جمله انسانها اثبات شده است، اما نقش آن در چرخه زندگی گیاهان هنوز بحث برانگیز است (۹، ۱۰). در علوم گیاهی، شواهدی در مورد ظرفیت سلنیوم به عنوان یک کود جدید برای بهبود بهره‌وری، حفاظت از گیاهان و غنی سازی سلنیوم محصولات زراعی وجود دارد (13، 11، 12، 10). با این حال، غلظت بهینه سلنیوم متغییر است و تا حد زیادی به عوامل مختلفی، از جمله گونه گیاهی، مرحله رشد، زمان و روش مورد استفاده و سایر عوامل محیطی وابسته است. نانو ذره سلنیوم در مقایسه با سایر فرمهای طبیعی سلنیوم مانند سلنات و سلنیت به طور قابل توجهی کارآمدتر است. از طرف دیگر شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد استفاده از نانوذرات می‌تواند به طور بالقوه رشد گیاه را به خطر بیندازد (15، 14، 10). با توجه به اهمیت ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در گیاه دارویی بابا آدم این تحقیق با هدف بررسی اثر مقادیر مختلف نانوذره سلنیوم بر میزان این ترکیبات انجام شد.

## مواد و روش‌ها

بذر های گیاه بابا آدم بعد از تهیه در بستری از خاک مناسب کشت داده شدند. بعد از سه ماه، زمانی که گیاهان وارد مرحله سه تا چهار برگگی شدند تیمارهای سلنیوم در غلظت های 5، 10، 15 و 20 پی پی ام سلنیوم از طریق محلول پاشی برگگی اعمال شد و دو هفته بعد گیاهان برای سنجش میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی برداشت شدند.

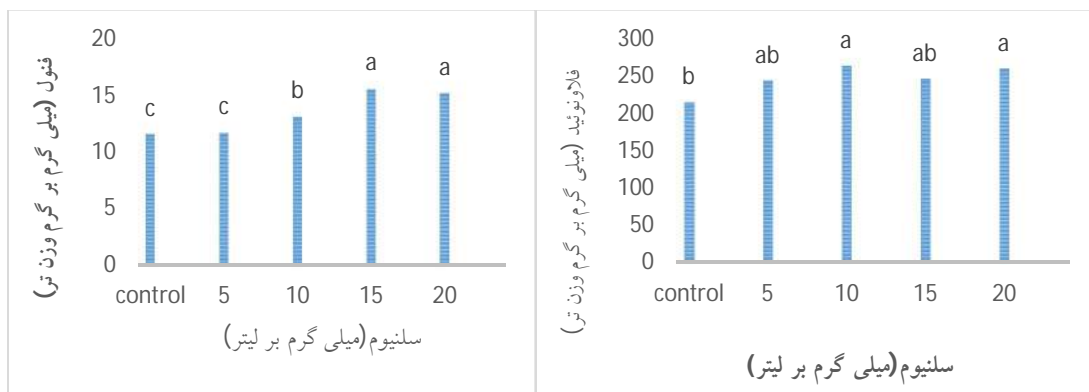
## سنجش و اندازه گیری ترکیبات فنلی و فلاونوئید

برای این مرحله از سنجش‌ها، ابتدا 0/5 g بافت تر در 5 ml متانول 80% ساییده شد سپس به مدت 15 دقیقه با دور 10000 rpm سانتریفوژ شد (16). جهت اندازه‌گیری و سنجش فنل کل به 0/1 ml از عصاره متانولی 2/5 ml معرف فولین دنیس 10% اضافه و به مخلوط حاصل بعد از 5 دقیقه، 2 ml محلول سدیم کربنات 7% اضافه گردید. برای شاهد نیز بجای عصاره، از آب مقطر استفاده شد و بعد فولین سیوکالتو و کربنات سدیم اضافه گردید. 1/5 ساعت بعد جذب نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج 765 nm خوانده شد و در نهایت مقدار فنول کل بر اساس منحنی استاندارد گالیگ اسید بر حسب  $FW^{-1} \text{mg.g}$  محاسبه شد. برای سنجش فلاونوئید کل به 0/5 ml از عصاره متانولی  $100 \mu\text{l}$  از محلول آلومینیوم کلرید 10%،  $100 \mu\text{l}$  پتاسیم استات 1M،  $1/5 \text{ ml}$  متانول 80% و 2/8 ml آب دو بار تقطیر اضافه شد و سپس مخلوط 30 دقیقه در تاریکی قرار داده شد و سپس جذب نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج 415nm خوانده شد. برای شاهد به جای عصاره از متانول 80 درصد استفاده

شد. محتوای فلاونوئیدها در نمونه‌ها بر اساس منحنی استاندارد Rutin بر حسب  $FW^{-1} mg.g$  محاسبه گردید (17). تمام آزمایش‌ها در سه تکرار و در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی انجام خواهند شد. جهت آنالیز داده‌ها از نرم افزار SPSS ورژن 26 استفاده شد. ابتدا آنالیز واریانس یک طرفه برای تعیین معنی‌دار بودن اختلاف میانگین‌ها انجام شده سپس جهت رتبه‌بندی و مقایسه میانگین‌ها، آزمون چند دامنه‌ای دانکن اجرا شد. برای رسم نمودارها از برنامه Excel استفاده شد.

## نتایج و بحث

با توجه به نمودار 1 میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی با افزایش غلظت نانوذرات سلنیوم افزایش معنی داری پیدا کرده است. همچنان که در مطالعات جلالی و همکاران (18) مشاهده شده که تیمار گیاه به لیمو با سلنیوم به طور کلی باعث افزایش میزان فنل کل در برگها نسبت به شاهد شد (19). همچنین کاربرد سلنیوم (سلنات سدیم) در محلول غذایی میزان فلاونوئید کل برگ پیاز را افزایش داد (20). که مطابق نتایج گزارش شده در گیاه کاهو بود (21). در یافته دیگری مشاهده شده که محلولپاشی سلنیوم کاربرد برگی 10 میلی‌گرم بر لیتر در مزرعه با افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز، مقدار فنل کل باد رنجبویه را افزایش داد (19). سلنیوم ممکن است با تأثیر بر فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز میزان فنل کل را افزایش دهد. (21). همچنین زو و همکاران افزایش بیان ژنهای کنترل کننده بیوستز فلاونوئید در اثر کاربرد سلنیوم را گزارش کردند. اگرچه باید ذکر شود که مکانیسم تأثیر سلنیوم بر متابولیسم متابولیت‌های ثانویه هنوز مشخص نیست. از یک طرف، افزایش میزان برخی ترکیبات فنلی مثل آنتوسیانین در برگهای تیمار شده با سلنیوم ممکن است نشان دهنده وجود تنش در اثر حضور سلنیوم باشد و افزایش در بیوستز این ترکیبات به عنوان پاسخ دفاعی گیاه قلمداد شود. از طرف دیگر برخی مطالعات نشان داده است که کاربرد غلظتهای کم سلنیوم باعث افزایش برخی متابولیت‌های ثانویه مثل آنتوسیانین و فلاونوئیدها شده است بدون اینکه هیچ گونه اثر سمیتی در گیاه مشاهده شود. اخیراً تأثیر اعمال سلنیوم بر متابولیسم فنلی توسط Elguera و همکاران (2013) (22) مورد مطالعه قرار گرفته است. در بررسی این گروه مشخص شده است که اعمال سلنیوم میتواند باعث تحریک انباشت ترکیبهای فنلی گردد.



نمودار 1- اثر سلنیوم بر میزان فنول و فلاونوئید

## نتیجه گیری

بر اساس نتایج آزمایش می توان نتیجه گرفت که غلظت های کم سلینیوم می تواند موجب افزایش میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی شود. در انطباق با یافته بالا، نتایج این تحقیق نشان داد که اعمال سلینیوم خارجی در شرایط مزرعه باعث افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز و در نتیجه مقدار فنلها شد

## منابع

- 1- Don, R.A.S.G. and Yap, M.K.K., 2019. Arctium lappa L. root extract induces cell death via mitochondrial-mediated caspase-dependent apoptosis in Jurkat human leukemic T cells. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 110, pp.918-929.
- 2-Jiang, X.W., Bai, J.P., Zhang, Q., Hu, X.L., Tian, X., Zhu, J., Liu, J., Meng, W.H. and Zhao, Q.C., 2016. Caffeoylquinic acid derivatives from the roots of Arctium lappa L.(burdock) and their structure-activity relationships (SARs) of free radical scavenging activities. *Phytochemistry Letters*, 15, pp.159-163.
- 3- Ghafari, F., Rajabi, M.R., Mazoochi, T., Taghizadeh, M., Nikzad, H., Atlasi, M.A. and Taherian, A., 2017. Comparing apoptosis and necrosis effects of Arctium lappa root extract and doxorubicin on MCF7 and MDA-MB-231 cell lines. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention: APJCP*, 18(3), p.795.
- 4- Predes, F.S., Ruiz, A.L., Carvalho, J.E., Foglio, M.A. and Dolder, H., 2011. Antioxidative and in vitro antiproliferative activity of Arctium lappa root extracts. *BMC complementary and alternative medicine*, 11, pp.1-
- 5- Tamayo, C., Richardson, M.A., Diamond, S. and Skoda, I., 2000. The chemistry and biological activity of herbs used in Flor□Essence™ herbal tonic and Essiac. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 14(1), pp.1-14.
- 6- Miyamoto, K.I., Nomura, M., Sasakura, M., Matsui, E., Koshiura, R., Murayama, T., Furukawa, T., Hatano, T., Yoshida, T. and Okuda, T., 1993. Antitumor activity of oenothien B, a unique macrocyclic ellagitannin. *Japanese Journal of Cancer Research*, 84(1), pp.99-103.
- 7- Surai, P.F., Kochish, I.I., Fisinin, V.I. and Velichko, O.A., 2018. Selenium in poultry nutrition: From sodium selenite to organic selenium sources. *The journal of poultry science*, 55(2), pp.79-93.
- 8- Djanaguiraman, M., Belliraj, N., Bossmann, S.H. and Prasad, P.V., 2018. High-temperature stress alleviation by selenium nanoparticle treatment in grain sorghum. *ACS omega*, 3(3), pp.2479-2491.
- 9- Kolbert, Z., Molnár, Á., Feigl, G. and Van Hoewyk, D., 2019. Plant selenium toxicity: Proteome in the crosshairs. *Journal of plant physiology*, 232, pp.291-300.
- 10- Babajani, A., Iranbakhsh, A., Oraghi Ardebili, Z. and Eslami, B., 2019. Differential growth, nutrition, physiology, and gene expression in *Melissa officinalis* mediated by zinc oxide and elemental selenium nanoparticles. *Environmental Science and Pollution Research*, a, 26(24), pp.24430-24444.
- 11- NAZERIEH, H., ARDEBILI, Z.O. and IRANBAKHS, A., 2018. Potential benefits and toxicity of nanoselenium and nitric oxide in peppermint. *Acta Agriculturae Slovenica*, 111(2), pp.357-368.
- 12- Babajani, A., Iranbakhsh, A., Oraghi Ardebili, Z. and Eslami, B., 2019. Seed priming with non-thermal plasma modified plant reactions to selenium or zinc oxide nanoparticles: cold plasma as a novel emerging tool for plant science. *Plasma Chemistry and Plasma Processing*, b, 39, pp.21-34.
- 13- Djanaguiraman, M., Belliraj, N., Bossmann, S.H. and Prasad, P.V., 2018. High-temperature stress alleviation by selenium nanoparticle treatment in grain sorghum. *ACS omega*, 3(3), pp.2479-2491.
- 14- Rajae Behbahani, S., Iranbakhsh, A., Ebadi, M., Majd, A. and Ardebili, Z.O., 2020. Red elemental selenium nanoparticles mediated substantial variations in growth, tissue differentiation, metabolism, gene



transcription, epigenetic cytosine DNA methylation, and callogenesis in bittermelon (*Momordica charantia*); an in vitro experiment. *PloS one*, 15(7), p.e0235556.

15- Sotoodehnia-Korani, S., Iranbakhsh, A., Ebadi, M., Majd, A. and Ardebili, Z.O., 2020. Selenium nanoparticles induced variations in growth, morphology, anatomy, biochemistry, gene expression, and epigenetic DNA methylation in *Capsicum annuum*; an in vitro study. *Environmental Pollution*, 265, p.114727.

16- Ribarova, F., Atanassova, M., Marinova, D., Ribarova, F. and Atanassova, M., 2005. Total phenolics and flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. *JU Chem. Metal*, 40(3), pp.255-260.

17-- Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M. and Chern, J.C., 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of food and drug analysis*, 10(3).

18- جلالی، عبداللهی مقدم، حسن and سهرابی، 2022. تاثیر غلظت و نوع کاربرد سلنیوم بر کمیت و کیفیت اسانس به لیمو (*Lippia citriodora* L.) پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران) (علمی)، 35(3)، pp.496-510.

19- حبیبی، قادر، قربانزاده، پروین and عابدینی، 2016. تاثیر سلنیوم بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک گیاه دارویی بادنجنویه (*Melissa officinalis* L.) تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، 32(4)، pp.698-715.

20- عامریان، دشتی، فرشاد and دلشاد، 2018. تاثیر سطوح مختلف سلنیوم و نیتروژن بر برخی ویژگی‌های رشدی و بیوشیمیایی دانهال پیاز (*Allium cepa* L.) پژوهش‌های تولید گیاهی، 25(1)، pp.119-135.

21- D'Abrosca, B., Pacifico, S., Cefarelli, G., Mastellone, C. and Fiorentino, A., 2007. 'Limoncella' apple, an Italian apple cultivar: Phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity. *Food chemistry*, 104(4), pp.1333-1337.

22- Elguera, J.C.T., Barrientos, E.Y., Wrobel, K. and Wrobel, K., 2013. Effect of cadmium (Cd (II)), selenium (Se (IV)) and their mixtures on phenolic compounds and antioxidant capacity in *Lepidium sativum*. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35, pp.431-441.

## The effect of selenium nanoparticles on the amount of phenolic compounds in the medicinal plant *Arctium lappa* L.

Marzieh Taghizadeh<sup>1</sup>, Khadijeh Kiarostami<sup>2</sup>

1- Ph.D., Plant Biology-Physiology, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Al-Zahra University, [m.taghizadehhh@1368 gmail.com](mailto:m.taghizadehhh@1368 gmail.com)

2- Ph.D., Associate Professor, Plant Sciences, Department of Biological Sciences, Faculty of Basic Sciences, Al-Zahra University

### Abstract

*Arctium lappa* L. is a perennial plant from the Asteraceae family that has many compounds with antioxidant properties. In order to investigate the effect of selenium nanoparticles on the amount of phenolic antioxidant compounds, treatments including selenium nanoparticles at 5 levels (0 as a control, 5, 10, 15 and 20 ppm) were applied in the field as foliar spraying. The results showed that in The probability level of 5% of the effect of nanoparticles on the amount of phenolic and flavonoid compounds is significant, and the highest amount of phenolic and flavonoid compounds compared to the control was observed at a concentration of 20 ppm. In general, the results showed that selenium treatment in appropriate amounts can increase the amount of phenolic and flavonoid compounds.

Key words: *Arctium lappa* L., selenium nanoparticles, medicinal plants, antioxidant

## اثرات غلظت های مختلف عصاره گیاه *Ecballium elaterium* بر پارامترهای رشدی و

### بیوشیمیایی گیاهچه های گندم

پریسا رسول پور جمالیان<sup>1\*</sup>، شیوا سیفی<sup>2</sup>، لیلا زرنندی میاندوآب<sup>3</sup>، نادر چارپارزاده<sup>4</sup>

1. نویسنده مسئول، دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان

Email: [rasoulpourp@gmail.com](mailto:rasoulpourp@gmail.com)

2. دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان

3. استادیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان

4. استاد گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان

### چکیده

گیاهان دارای ترکیبات متنوعی هستند که می توانند از آنها علیه گیاهان دیگر بهره مند شوند و بر رشد آنها تاثیر بگذارند که این تاثیر می تواند منفی یا مثبت باشد و بررسی این موضوع به ویژه در مورد گیاهانی که در زندگی بشر نقش مهمی دارند حائز اهمیت است. با توجه به اینکه گندم یک گیاه زراعی مهم است، در این تحقیق اثر غلظت های مختلف عصاره میوه خیار وحشی *Ecballium elaterium* بر گیاهچه های گندم بررسی شد. برای این منظور ابتدا عصاره میوه خیار وحشی در غلظت های 200 و 400 میکرو لیتر تهیه شد و به پتری دیش های که حاوی بذر های ضد عفونی شده گندم بودند افزوده گردید و بعد از جوانه زنی برخی از شاخص های رشدی و محتوای قند محلول و نشاسته گیاهچه ها بررسی شد. طبق نتایج حاصل از این مطالعه مشاهده گردید عصاره میوه خیار وحشی تاثیر معنی داری بر وزن تر ساقه چه این گیاه در غلظت 200 میکرو لیتر دارد و باعث افزایش وزن تر شده است اگرچه وزن خشک و وزن تر و نشاسته ریشه چه گندم در 400 میکرومولار به طور معنی داری کاهش داده است، بنابراین به نظر می رسد در سطوح بالاتر اثر منفی بر ریشه چه این گیاه دارد.

کلمات کلیدی: *Ecballium elaterium*، گندم، جوانه زنی، قند محلول، نشاسته، رشد

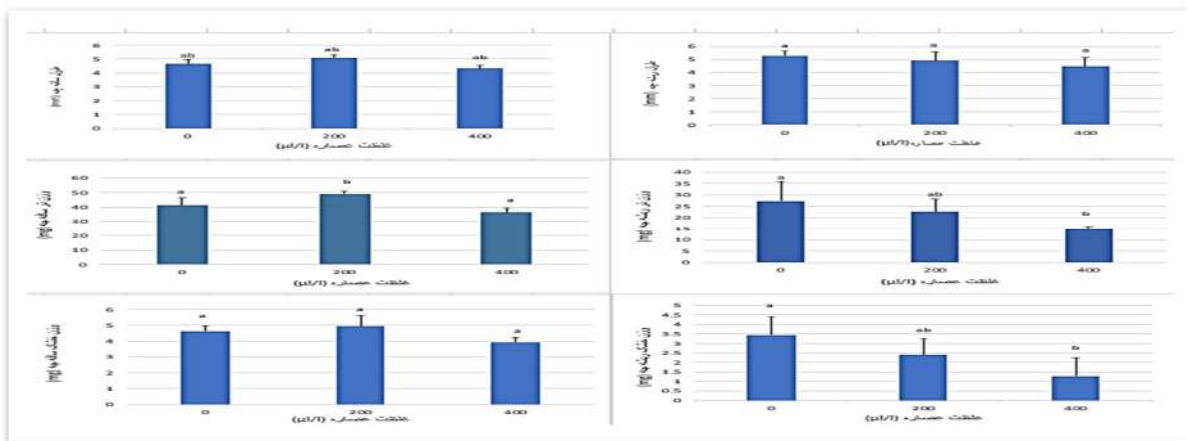
### مقدمه

گیاهان به عنوان موجودات غیر متحرک با تغییر در رشد و نمو خود و همچنین ترکیبات بیوشیمیایی به تغییرات که در محیط اطراف آنها اتفاق می افتد پاسخ می دهند و در این راستا طیف وسیعی از ترکیباتی را تولید می کنند که می توانند بر گیاهان دیگر تاثیر بگذارد و در نهایت باعث بقا گونه شود. با توجه به نقش حیاتی گیاهان در زندگی انسانها بررسی چنین برهم کنش های بسیار حیاتی است. گیاه *Ecballium elaterium* از جمله یک گیاه دارویی است و آبی که همراه با دانه های این گیاه به بیرون تراوش می کند، می تواند بر روی گیاهان محیطی که در آنجا قرار دارند تاثیر بگذارد. این گیاه زمانی که بالغ می شود مایع موسیلاژی همراه دانه های خود را به بیرون پرتاب می کند (6). تاثیر آب میوه حاصل از آن باعث افزایش جوانه زنی در کلزا شده است (4). با توجه به اینکه گیاه گندم یک محصول زراعی مهم است در این بررسی اثر عصاره این گیاه بر روی گندم مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

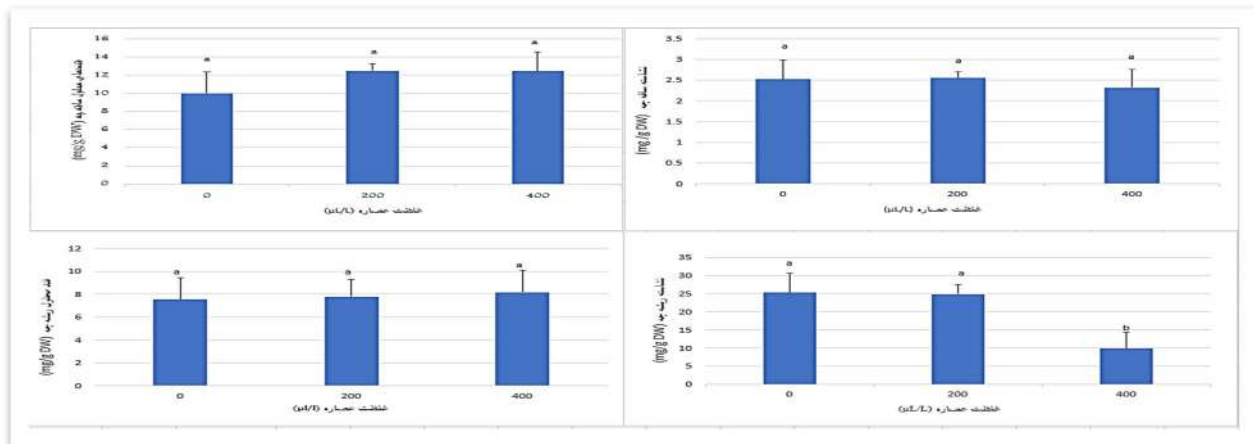
ابتدا عصاره صاف شده حاصل از میوه‌های این گیاه تهیه شد و 200 و 400 میکرو لیتر از آن هر کدام در 50 میلی لیتر حل شد (4). بذر های گندم به مدت 5 دقیقه با هیپوکلرید سدیم ضد عفونی شده و سه بار با آب شستشو شد. در ادامه به پتری دیش‌های حاوی بذر های گندم ضد عفونی شده 5 میلی لیتر از هر کدام از غلظت‌ها اضافه شد و پتری دیش‌های حاوی بذر ها شاهد فقط دارای آب مقطر بودند. هر پتری دیش حاوی 30 بذر بود و شاهد و هر کدام از غلظت‌ها دارای 3 تکرار بودند. بعد از جوانه زنی پارامترهای رشدی بررسی شد. برای بررسی تغییرات محتوای قندهای محلول و نشاسته از روش فنل - اسیدسولفوریک استفاده شد (5). آنالیز آماری با استفاده از نرم افزار 27 Spss و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال 0,05 درصد انجام شد.

## نتایج و بحث



شکل 1- تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره گیاه *Ecballium elaterium* بر پارامترهای های رشدی گیاه گندم. داده های میانگین سه تکرار  $\pm$  خطای استاندارد هستند.

غلظت‌های مختلف عصاره خیار وحشی بر طول ساقه چه و ریشه چه تاثیر معنی داری نداشت. وزن خشک ساقه چه تغییر معنی داری نشان نداد و وزن تر ساقه چه تا 200 میکرو لیتر به طور معنی داری افزایش یافت، بنابراین به نظر می رسد تعادل آبی ساقه چه دچار تغییر شده است و بیومس تغییر معنی داری نداشته است و در ریشه چه وزن خشک و وزن تر ریشه چه هر دو در سطح 400 میکرو لیتر کاهش معنی داری داشته است که تاثیر عصاره بر هر دو تعادل آبی و بیومس را نشان می دهد (1). با توجه به اینکه ریشه چه اولین اندامی است که تحت تاثیر وجود ترکیبات بازدارنده عصاره قرار می گیرد به نظر می رسد بیشتر از ساقه چه تاثیر می گیرد (3).



شکل 2- تاثیر غلظت های مختلف عصاره میوه *Ecballium elaterium* بر محتوای قند محلول و نشاسته گیاه گندم. داده های میانگین سه تکرار "±" خطای استاندارد هستند.

غلظت های مختلف عصاره تاثیر معنی داری بر محتوای قندهای محلول ساقه چه و ریشه چه و نشاسته ساقه چه نداشت. نشاسته ریشه چه گندم در سطح 400 میکرو لیتر کاهش معنی داری داشت. در طی تنش های مختلف گیاهان مکانیسم های مختلفی را برای بقای خود و گونه اعمال می کنند و بسیاری از آنها نشاسته به قند تبدیل می کنند و قندهای محلول را انباشته می نمایند و محتوای نشاسته کاهش میابد (2). محتوای نشاسته در گیاهان تحت تاثیر ترکیبات بیوشیمیایی گیاهان دیگر علیه آنها تغییر میابد و چنین تغییراتی بر محتوای نشاسته آمیلوپلاست های آنها تاثیر می گذارد چنانچه نشاسته کاهش میابد به نظر می رسد به دلیل تاثیر اتیلن بر سنتز نشاسته، در چنین شرایطی که گیاه به نوعی تحت تنش است تولید اتیلن افزایش یافته بر سنتز نشاسته در استاتوسیت های ریشه تاثیر می گذارد (7).

### نتیجه گیری

با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق عصاره این گیاه خیار وحشی در سطوح پایین تاثیری بر گیاه گندم نداشته، ولی در سطوح بالاتر تاثیر منفی بر پارامترهای رشدی ریشه چه این گیاه دارد.

### منابع

- 1- زهرا سبحانی ماسوله، سید مهدی رضوی، غلامحسین ایمانزاده . (1395). 'ارزیابی جنبه های دگرآسیبی گیاه *Papaver lasiothrix* بر روی گیاه کاهو' ، پایان نامه کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه محقق اردبیلی.
- 2- شکوهیان، علی اکبر، داوری نژاد، غلامحسین، تهرانی فر، علی، رسول زاده، علی، ایمانی، علی. (1394). 'ارزیابی اثرات تنش آبی و ریز موجودات مفید بر خصوصیات بیوشیمیایی پایه های رویشی بادام'، مجله پژوهش های گیاهی (مجله زیست شناسی ایران) (علمی)، 28(3)، صص. 549-560.
- 3- علی رضا صفاهانی لنگرودی و فرشاد قوشچی (1393). 'تأثیر عصاره آبی و بقای ای چند گونه علف هرز بر جوانه زنی و رشد گیاهچه گندم'، مجله پژوهش های گیاهی (مجله زیست شناسی ایران) (علمی)، 27(1)، صص. 109-100.

- 4- Beyaz, R., Ozgen, Y., Poyraz, I., Cavdar., A, Yildiz ,M., 2021. Effects of squirting cucumber fruit juice on seed germination and seedling growth in rapeseed. *Fresenius Environmental Bulletin.*, 30, pp. 48-53.
- 5- Kochert, G., Helebust J.A., Craig, J.S. 1978. Physiological methods: Carbohydrate determination by the phenol sulfuric acid method. Physiological methods, Kochert, G., Eds., and Cambridge University: Press Cambridge, University: Press Cambridge, United Kingdom, PP: 13-16.
- 6- Liu, L., Wang, W., Ju, X.J., Xie, R., Chu, L.Y., 2010. Smart thermo-triggered squirting capsules for nanoparticle delivery, *Soft Matter*, 6, pp. 3759-3763.
- 7- Pereira, L.A.R., Pina, G.O., Silveira, C.E.S., Gomes, S.M., Toledo, J.L. and Borghetti, F., 2017. Effects of *Eugenia dysenterica* L. extracts on roots and gravitropism of *Sesamum indicum* L. and *Raphanus sativus* L. *Allelopathy Journal*, 42, pp.3-20.

## effects of different concentrations of *Ecballium elaterium* plant extract on growth and biochemical parameters of wheat seedlings.

Parisa Rasoulpour Jamalian<sup>1\*</sup>, Shiva Seiff<sup>2</sup>, Leila Zarandi Miandoab<sup>3</sup>, Nader Chaparzadeh<sup>4</sup>

1. Corresponding author, Ph.D. student of Plant Physiology, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Shahid Madani University of Azerbaijan,

Email: [rasoulpourp@gmail.com](mailto:rasoulpourp@gmail.com)

2. Master's student in Biochemistry, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Shahid Madani University of Azerbaijan
3. Assistant professor of Biology Department, Faculty of Basic Sciences, Shahid Madani University of Azerbaijan
4. Professor of Biology Department, Faculty of Basic Sciences, Shahid Madani University of Azerbaijan

### Abstract:

Plants have various compounds that can be used against other plants and affect their growth, which can be negative or positive, and it is important to examine this issue, especially in the case of plants that play an important role in human life. Considering that wheat is an important agricultural plant, in this research, the effect of different concentrations of wild cucumber fruit extract *Ecballium elaterium* on wheat seedlings was investigated. For this purpose, first, wild cucumber fruit extract was prepared in concentrations of 200 and 400 microliters and added to petri dishes containing sterilized wheat seeds, and after germination, some growth indicators and content of soluble sugar and starch of seedlings were checked. According to the results of this study, it was observed that wild cucumber fruit extract has a significant effect on the fresh weight of the stem of this plant at a concentration of 200 microliters and increased the fresh weight, although the dry weight and fresh weight and wheat root starch at 400 micromolar decreased significantly. have given; Therefore, it seems to have a negative effect on the roots of this plant at higher levels.

Keywords: *Ecballium elaterium*, wheat, germination, soluble sugar, starch, growth.

## بررسی سازگاری ارقام گردوی (*Juglans regia* L.) منطقه بافت استان کرمان

جواد فرخی تولیر<sup>1\*</sup>

1- نویسنده مسئول\*: استادیار پژوهشی، دکتری تخصصی فیزیولوژی و اصلاح میوه، بخش زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی

و منابع طبیعی استان کرمان، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO)

آدرس پست الکترونیکی: J.farrokhi@areeo.ac.ir

### چکیده

جایگاه سرشاخه کاری و تعویض ارقام گردو در استان کرمان به خوبی تبیین نشده است. از این رو، پروژه حاضر به صورت طرح بلوک های کامل تصادفی و با پیوند تاجی (پوستی) پنج رقم داخلی و دو رقم تجاری (شاهد) بر روی نهال های بذری کاشته شده در دو باغ واقع در شهرستان بافت استان کرمان اجرا گردید. صفاتی مانند تعداد پیوند موفق به کل پیوند (درصد گيرائی پیوند)، تعداد برگ، رشد طولی شاخه، طول میانگره و قطر شاخه در طی سال های 1400 و 1401 مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشان دادند که رقم پرشیا درصد گيرائی پیوند بهتری نسبت به سایر ارقام داشت. ارقام کاسپین، چالدران و پرشیا در سال دوم این پژوهش بیشترین تعداد برگ و رقم جمال در سال اول، کمترین تعداد برگ را داشت. رقم پرشیا در هر دو سال متمادی و رقم کاسپین در سال دوم بیشترین رشد طولی شاخه را نشان داد. کمترین رشد طولی شاخه متعلق به رقم جمال بود. ارقام پرشیا، کاسپین و چالدران بیشترین طول میانگره، ارقام چنادر، لوند و فرانکت طول میانگره کمتر و رقم جمال کمترین طول میانگره را داشت. بیشترین و کمترین رشد قطری به ترتیب متعلق به ارقام پرشیا و جمال بود. نتایج این پروژه به عنوان گام اولیه علمی در جهت اهمیت سرشاخه کاری گردو در منطقه قابل استفاده می باشد.

واژگان کلیدی: باغ، پیوند تاجی، رقم، سال، گردو

### مقدمه

سطح زیر کشت گردوی استان کرمان 16340 هکتار است که از این میزان، 15375 هکتار باغ های بارور و 965 هکتار را باغ های غیربارور تشکیل می دهد (احمدی و همکاران، 1400). گردو از نظر ژنتیکی به میزان زیادی هتروزیگوت می باشد. از این رو، درختان بذری آن میزان تولید کمی و کیفی متفاوتی دارند (قمری حسابی و همکاران، 1394؛ گانداف و دزیوف، 2006<sup>98</sup>). لذا دستیابی به شیوه نامه (پروتکل) تجاری تکثیر ارقام میوه با توجه به موقعیت اقلیمی هر منطقه از کشور و ضرورت استفاده بهینه از منابع آبی و خاکی و اصلاح الگوی کشت اهمیت می یابد. علی رغم سابقه طولانی استفاده از روش تکثیر بذری (جنسی) در کشور، باید گفت که مدیریت باغ های گردوی بذری به دلیل وجود مواردی مانند ایجاد تفرق صفات، عدم یکنواختی در اندازه درختان، تفاوت در میزان مقاومت به سرمای زمستانه، زمان گل دهی، رسیدن و برداشت میوه، عملاً بسیار دشوار است. درختان بذری (دانهال ها) با تولید محصول عمدتاً بی کیفیت با عملکرد پایین، حتی هزینه اعمال شده توسط باغ دار را هم جبران نمی کنند. به علاوه، این درختان شبیه به اصل نیستند و دوره نونهالی طولانی 7 تا 10 ساله دارند. تنها روش سریع و به صرفه اصلاح درختان قدیمی و مسن، اجرای عملیات

<sup>98</sup> Gandev and Dzhuviov

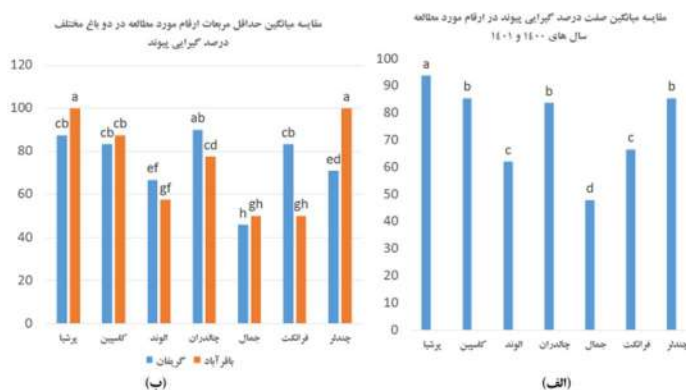
پیوند از طریق تعویض تاج یا سرشاخه کاری با ارقام اصلاح شده و ژنوتیپ‌های امیدبخش می‌باشد. بررسی‌های متعدد نشان می‌دهد که دلایل اصلی دشواری پیوند گردو، ضخامت پوست ساقه و فشار ریشه‌ای بالای آن است (وحدتی، 1382). مطالعات متعددی در زمینه روش‌های مختلف پیوند در ایران انجام شده که با نتایج متفاوتی همراه بوده است (خواججه‌علی و محمدخانی، 1394؛ صادق‌پور و همکاران، 1395؛ ابراهیمی و همکاران 1387؛ سلیمانی و همکاران، 2010). با توجه به اقلیم غالب گردوکاری کشور، پیوند تاجی (زیرپوستی) به‌عنوان یکی از بهترین روش‌های پیوندی معرفی گردیده است. (رضائی و همکاران، 1386). مطالعه حاضر در صدد بررسی علمی این نوع پیوند در منطقه گردوخیز استان کرمان است تا در صورت جواب‌دهی مناسب، بتوان نتایج این پژوهش کاربردی را بین بهره‌برداران و گردوکاران این منطقه گسترش داد.

### مواد و روش‌ها

آزمایش در دو باغ (مکان) انجام گردید. در کل از 336 ماده گیاهی شامل: (تعداد باغ 2 × تعداد ژنوتیپ 7 × تعداد درخت 3 [به دلیل محدودیت تعداد درختان در دو باغ، سه درخت در هر باغ در نظر گرفت] × تعداد بازوی سربرداری شده 2 × تعداد پیوندک در هر بازو 2 × تعداد جوانه بر روی هر پیوندک 2) استفاده گردید. نتایج براساس تجزیه مرکب سال و مکان و توسط نرم‌افزار آماری SAS9.2 تهیه و نمودارهای مربوطه توسط نرم‌افزار Excell ترسیم گردید. علاوه بر این، اثر متقابل رقم با هریک از منابع تغییر فوق نیز محاسبه گردید. تجزیه آماری این پروژه یک آزمایش سه عاملی است که در آن ترکیب سطوح سال و منطقه به‌عنوان عامل اصلی و رقم به‌عنوان عامل فرعی در نظر گرفته شد (یزدی‌صمدی و همکاران، 1387). به منظور مقایسه میانگین سطوح مختلف هر اثر و میانگین ترکیبات مختلف سطوح از روش حداقل تفاوت (LSD) استفاده گردید.

### نتایج و بحث

براساس نتایج مقایسه میانگین‌ها، رقم پرشیا درصد گيرائی بیشتری نسبت به سایر ارقام نشان داد (شکل 12- الف). مقایسه درصد گيرائی پیوند در دو باغ مختلف و طی دو سال ارزیابی نشان داد که ارقام چنڈلر و پرشیا در باغ باقراآباد گيرائی بهتری از سایر ارقام داشتند (شکل 1). رقم جمال نسبت به سرمای زمستانه حساسیت کمی دارد و در زمستان‌هایی با شدت سرمای متوسط خسارتی نمی‌بیند اما در زمستان‌های خیلی سرد که دمای هوا به 20 - درجه‌سانتی‌گراد می‌رسد، سرمازدگی در جوانه‌های یک‌ساله و شاخه‌های جوان ایجاد می‌گردد (حسنی و همکاران، 1391). به نظر برخی از خزانه‌کاران و تولیدکنندگان گردو در کشور نیز رقم جمال، تنها در مناطقی که آب و هوای نسبتاً گرمی دارند، رشد بهتری دارد و ثمر زیادی می‌دهد ولی چندان مناسب مناطق کوهستانی نمی‌باشد.



شکل 1- مقایسه میانگین صفت درصد گیرائی پیوند در ارقام مورد مطالعه در دو سال (الف)، مقایسه میانگین حداقل مربعات (LSD) برای صفت درصد گیرائی پیوند ارقام مورد مطالعه در دو باغ مختلف (ب). میانگین‌های با حروف مشابه، در سطح احتمالی یک‌درصد اختلاف معنی داری ندارند.

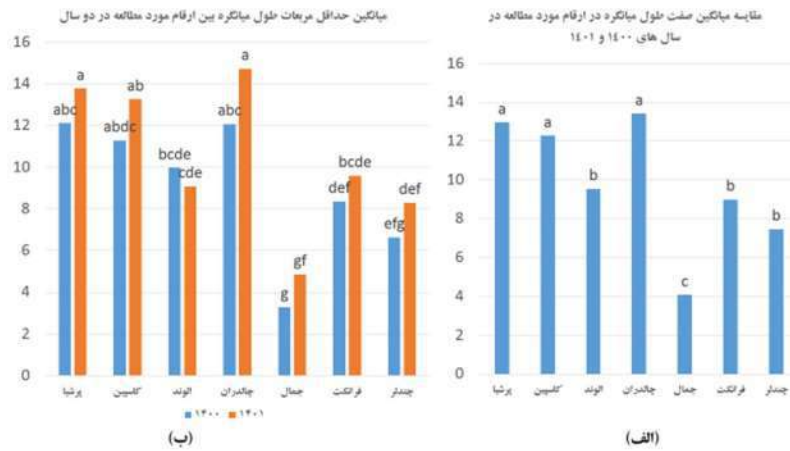
نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که رقم پرشیا و کاسپین بیشترین و رقم جمال کمترین تعداد برگ در طول شاخه را نسبت به سایر ارقام نشان دادند (شکل 2- الف). مقایسه تعداد برگ در سال‌های 1400 و 1401 نشان داد که ارقام کاسپین، چالدران و پرشیا در سال دوم این پژوهش بیشترین تعداد برگ و رقم جمال در سال اول کمترین تعداد برگ را نشان دادند (شکل 2- ب).



شکل 2- مقایسه میانگین صفت تعداد گره (برگ) ارقام مورد مطالعه در دو سال (الف)، مقایسه میانگین حداقل مربعات (LSD) برای صفت تعداد گره (برگ) در دو سال متمادی (ب). میانگین‌های با حروف مشابه، در سطح احتمالی یک‌درصد اختلاف معنی داری ندارند.

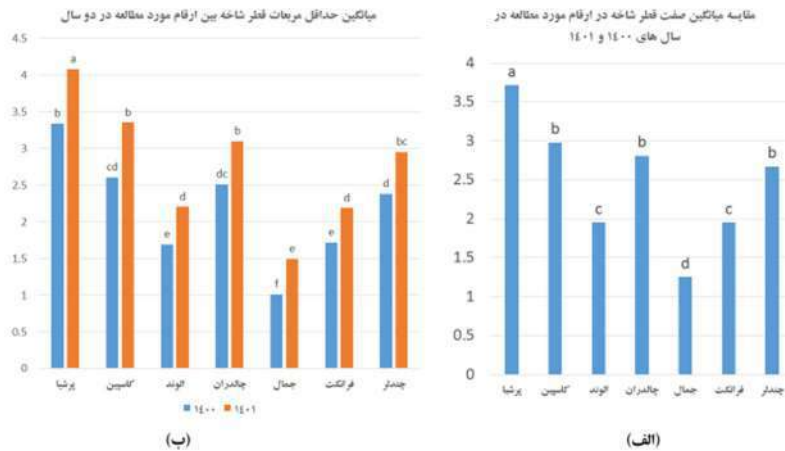
مقایسه میانگین‌ها نشان داد که ارقام پرشیا، کاسپین و چالدران، بیشترین طول میانگروه و رقم جمال کمترین طول میانگروه را نسبت به سایر ارقام نشان دادند (شکل 3- الف). مقایسه میانگین حداقل مربعات برای این صفت در سال‌های 1400 و 1401 نشان داد که ارقام پرشیا، کاسپین و چالدران در هر دو سال متمادی بیشترین طول میانگروه و ارقام ونود، چندلر و فرانکت طول میانگروه متوسطی داشتند. کمترین طول میانگروه متعلق به رقم جمال بود (شکل 3- ب).





شکل 3- مقایسه میانگین صفت طول میانگه در ارقام مورد مطالعه در دو سال متمادی (الف)، مقایسه میانگین حداقل مربعات (LSD) برای صفت طول میانگه در دو سال متمادی (ب). میانگین‌های با حروف مشابه، در سطح احتمالی یک درصد اختلاف معنی داری ندارند

نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که رقم پرشیا بیشترین قطر شاخه را نسبت به سایر ارقام داشت (شکل 16- الف). ارقام کاسپین، چالدران و چندر قطر متوسط و ارقام الوند و فرانکت قطر نسبتاً کمتری را نشان دادند. رقم پرشیا در سال دوم پژوهش (1401) بیشترین قطر شاخه (4/1 سانتی‌متر) را داشت ولی رقم جمال در سال اول یعنی سال 1400 کمترین قطر شاخه (1/1 سانتی‌متر) نشان داد (شکل 4- ب).



شکل 4- مقایسه میانگین صفت قطر شاخه در ارقام مورد مطالعه در دو سال متمادی (الف)، مقایسه میانگین حداقل مربعات (LSD) برای صفت قطر شاخه در دو سال متمادی (ب). میانگین‌های با حروف مشابه، در سطح احتمالی یک درصد اختلاف معنی داری ندارند.

## نتیجه گیری

ارتفاع متوسط از سطح دریای هر دو باغ مورد مطالعه، بیشتر از 2200 متر بود و در کل باغ روستای باقراآباد در حین پیوند و بعد از آن از برنامه آبیاری منظم تری برخوردار بود. در این ارتفاع و در هر دو باغ، رقم پرشیا بیشترین طول شاخه، قطر شاخه، طول میانگره و درصدگیری پیوند را نشان داد. رقم جمال در هر دو باغ، پائین ترین درصدگیری پیوند را داشت؛ به طوری که حتی تعدادی از پیوندهای آن در باغ گریفان خشک گردید. علت آن، حادث شدن دماهای فروانجماد تا 24- درجه سانتیگراد در طول زمستان سال اول بود که به جوانه ها و شاخه های یکساله این رقم آسیب وارد نمود. به نظر می رسد که جهت افزایش گیری پیوند ارقامی که در مطالعه ما کمترین گیری را نشان دادند، استفاده از تیمار هورمونی سایتوکینینی و آکسینی و استفاده از نهال ها یا درختان کم سن تر مؤثر باشد. در این بررسی، ارقام جمال و الوند ساقه های جانبی زیادتری ایجاد نمودند که باعث کاهش طول شاخه پیوندک و ایجاد میانگره های کوتاه گردید. استفاده از چنین ارقام کم رشدی می تواند در اولویت برنامه های به نژادی به منظور ایجاد و احداث باغ های گردوی متراکم با عملکرد بالا، دوره نونهالی کوتاه و کاهش در هزینه های تولید و برداشت محصول قرار گیرد.

## منابع

- احمدی، ک.، عبادزاده، ح.، حاتمی، ف.، حسین پور، ر.، عبدشاه، ه. (1400). 'آمارنامه کشاورزی، جلد سوم محصولات باغبانی. وزارت جهادکشاورزی، معاونت برنامه ریزی و اقتصادی، مرکز فناوری اطلاعات و ارتباطات. تهران، ایران. ص 163.
- بهمن یزدی صمدی، عبدالمجید رضائی، مصطفی ولیزاده (1387). 'طرح های آماری در پژوهش های کشاورزی، تهران: موسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران، ص 534.
- داراب حسنی، جمال عاطفی، روح اله حق جویان، رعنا دستجردی، منصوره کشاورزی، محمدرضا مظفری، اصغر سلیمانی، علیرضا رحمانیان، فرامرز نعمت زاده، علی مال میر. (1391). 'معرفی جمال، رقم جدید گردوی ایرانی برای کاشت در مناطق معتدل سرد ایران، مجله به نژادی نهال و بذر، 1-28 (3)، ص 525-527.
- رضا رضائی، رسول جلیلی مرندی، قاسم حسنی. (1386). 'تعیین مناسب ترین روش و زمان پیوند گردو در شرایط آب و هوایی استان آذربایجان غربی، فصلنامه دانش کشاورزی، 16 (4)، ص 29-37.
- صابر صادق پور، لطفعلی ناصری، مرتضی نوبهار، رضا رضائی، رقیه نجف زاده. (1395). 'مقایسه انواع و زمان پیوند سرشاخه کاری درختان گردوی ایرانی در شرایط آب و هوایی استان آذربایجان غربی، مجله به زراعی دانشگاه تهران، 13 (1)، ص 91-101.
- عزیز ابراهیمی، محمدرضا فتاحی مقدم، کوروش وحدتی. (1387). 'بررسی تأثیر شرایط محیطی، روش و زمان انجام پیوند بر گیری پیوند جوانه گردو (*Juglans regia* L.)، مجله پژوهش های کشاورزی، 39 (1)، ص 9-18.
- فائزه قمری حسابی، یاور شرفی، وازگین گریگوریان. (1394). 'اثر سن پایه و روش های مختلف پیوند بر گیری و تشکیل کالوس گردوی ایرانی، نهمین کنگره علوم باغبانی، اهواز، ص 1-5.
- کوروش وحدتی. (1382). 'احداث خزانه و پیوند گردو، تهران: انتشارات خائیران. ص 124.
- مرضیه خواجه علی، عبدالرحمان محمدخانی. (1394). 'اثر زمان و روش پیوند بر گیرایی و رشد پیوندک در گردوی ایرانی، نشریه تولید و فرآوری محصولات زراعی و باغی، 5 (15)، ص 47-55.

**Gandev, S. and Dzhuviov, V., 2006.** Performance of hypocotyle grafting of walnut under uncontrolled temperature conditions. *Acta Horticulturae*, 705, pp. 351-354.

**Soleimani, A., V. Rabiei and D. Hassani. 2010.** Effect of different techniques on walnut (*Juglans regia* L.) grafting. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 8 (2), pp. 544-546.

## Studying compatibility of commercial and introduced walnut cultivars (*Juglans regia* L.) in the Baft of Kerman province

Javad Farrokhi Toolir<sup>1\*</sup>

1-Department of Horticultural and Agronomic sciences, Kerman Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Kerman, Iran

\*Correspondence: j.farrokhi@areeo.ac.ir

### Abstract

The role of top working and replacing walnut cultivars in Kerman province has not been well explained. Therefore, the current project is a random complete block design with the bark grafting of five domestic and two commercial cultivars (control) on seed seedlings planted in two gardens in Grifan and Baqerabad villages, Baft City of Kerman province was implemented. Traits such as the percentage of grafts taken, the number of leaves, the shoot length growth, the length of the internode, and the diameter growth of the branch were evaluated in 2021 and 2022. The results showed that Persia had a better grafting percentage than other cultivars. Caspian, Chaldoran, and Persia cultivars had the highest number of leaves in the second year of this research, and the Jamal cultivar had the lowest number of leaves in the first year. The Persia showed the highest branch length growth in both years and the Caspian variety in the second year. The lowest branch length growth belonged to the Jamal cultivar. Persia, Caspian, and Chaldoran had the highest internode length, Chandler, Alvand, and Franquette cultivars had the most petite internode length, and Jamal had the lowest. The highest and the lowest growth rate belonged to Persia and Jamal, respectively. The results of this project can be used as an initial scientific step in the direction of the importance of walnut top working in the region.

**Keywords:** Orchard, Bark grafting, Cultivar, Year, Walnut

## تولید برگ تازه روئیده در نهال‌های پسته رقم بادامی تلقیح شده توسط قارچ‌های میکوریزا و

### تریکودرما تحت تنش زیستی تغذیه پسپیل معمولی پسته

راضیه طاهری<sup>1</sup>، آزاده حبیبی<sup>2</sup> □، سید مظفر منصوری<sup>3</sup>، محمدرضا لشکری<sup>3</sup> و امیرحسین محمدی<sup>4</sup>

1، 2 و 3- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد حشره شناسی کشاورزی، استادیار بیماری‌شناسی گیاهی و دانشیاران حشره شناسی کشاورزی،

گروه تنوع زیستی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان

a.habibi@kgut.ac.ir

4- استادیار بیماری‌شناسی گیاهی، پژوهشکده پسته، مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO).

رفسنجان

### چکیده

میکروارگانسیم‌های مفید خاک‌زی از جمله قارچ‌های همزیست ریشه (میکوریزا) و غیرهمزیست ریشه (اندوفیت) نه تنها سبب بهبود تغذیه گیاهان و بالارفتن تحمل آنها در برابر استرس‌های محیطی می‌شوند، بلکه باعث القاء مقاومت سیستمیک در بافت‌های گیاهی علیه بیمارگرها و حشرات گیاه‌خوار نیز می‌شوند. در این تحقیق تأثیر مخلوطی از سه گونه قارچ میکوریزا و یک گونه از تریکودرما روی گیاهان تیمار در مقایسه با گیاهان شاهد، تحت تغذیه آفت پسپیل معمولی پسته بررسی شد. نتایج نشان داد که بیشترین مقادیر تعداد کل برگچه، وزن تر و خشک، حجم ریشه و نیز میزان اسیدآمینو کل برگ در نهال‌های پسته تلقیح شده با مایکوریزا به طور معنی‌داری بیشتری از تیمار تریکودرما و شاهد بود. در نهال‌های پسته تلقیح شده با قارچ‌های میکوریزا و تحت تنش پسپیل پسته  $38 \pm 5$  درصد و تریکودرما  $22 \pm 3$  درصد برگچه‌های تازه روئیده مشاهده شد در حالی که در گیاهان شاهد تحت تنش تنها  $3 \pm 0/5$  درصد برگچه جدید ثبت شد. این نتیجه بیانگر تأثیر این قارچ‌ها بر مکانیسم مقاومت از نوع تحمل شده است و گیاه با تحریک رشد سبزینه خود در جهت ایجاد برگ‌های جدید درصدد جبران بخشی از خسارت آفت پسپیل معمولی پسته شده است.

واژگان کلیدی: تحمل، پسته، قارچ‌های همزیست و غیرهمزیست ریشه

### مقدمه

همزیستی بین گیاهان، قارچ‌های میکوریزا و قارچ‌های اندوفیت بسیار گسترده است و روی سایر گونه‌هایی که با گیاه میزبان برهمکنش دارند (از جمله حشرات آفت) تأثیر دارد. قارچ‌های میکوریزا با ایجاد همزیستی با ریشه گیاهان علاوه بر بهبود وضعیت تغذیه‌ای و رشدی گیاه می‌توانند موجب تحمل گیاه نسبت به عوامل بیمارگر و حشرات آفت شوند (1). گونه‌های قارچ تریکودرما پراکنش وسیعی در خاک دارند و قادر به بهبود ویژگی‌های رشدی گیاه و نیز تحریک سازوکارهای دفاعی گیاهان هستند (2).

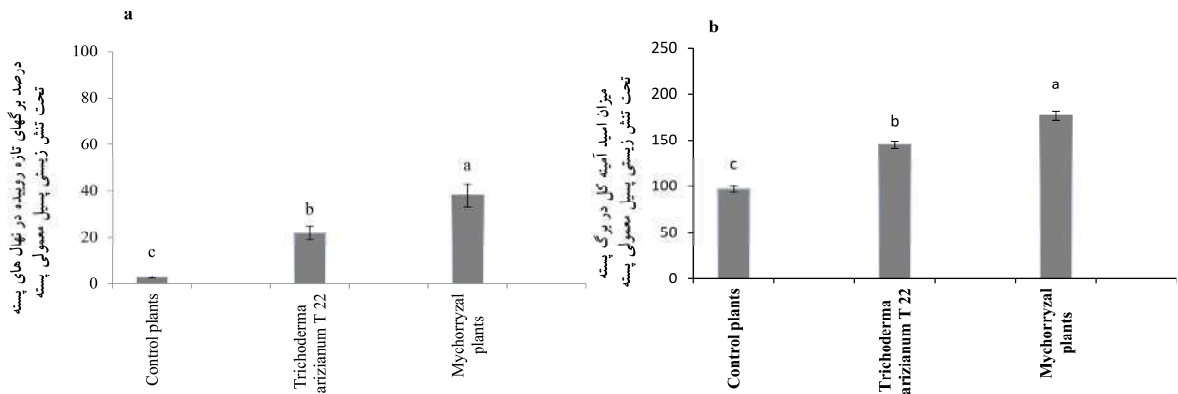
پسپیل معمولی پسته *Agonoscyta pistaciae* مهمترین آفت باغات پسته در ایران محسوب می‌شود. علاوه بر خسارت‌های جبران ناپذیر اقتصادی این آفت، سم پاشی‌های بی‌رویه با سموم، خطرات زیست محیطی و مشکلاتی برای مصرف‌کنندگان و صادرات این محصول در پی خواهد داشت. در این پژوهش به منظور مدیریت خسارت ناشی از فعالیت این آفت در باغ‌های پسته تأثیر مخلوطی از سه گونه قارچ میکوریزا و یک جدایه از قارچ تریکودرما روی گیاهان تیمار در مقایسه با گیاهان شاهد تحت تغذیه آفت پسپیل معمولی پسته بررسی شد.

مواد و روش‌ها

کاشت و پرورش گیاه و همچنین انجام آزمایش‌ها در شرایط گلخانه‌ای با دمای 25 درجه سلسیوس در روز و 20 درجه سلسیوس در شب و رطوبت نسبی  $50 \pm 5$  درصد و دوره نوری 16 ساعت روشنایی و 8 ساعت تاریکی انجام شد. به منظور تهیه بستر کشت گیاه از مخلوط 70 گرم خاکبرگ و یک کیلوگرم ماسه استفاده شد. از بذر پسته رقم بادامی استفاده شد. بذرهای 180 گلدان یک لیتری کاشته و به سه تیمار شاهد، تیمار قارچ میکوریزا و تیمار قارچ تریکودرما اختصاص داده شدند. برای تیمار میکوریزا، مقدار 30 گرم از زادمایه قارچ میکوریزا به صورت مخلوطی از اسپورهای سه گونه‌ی *Rhizophagus Funneliformis mosseae* و *Glomus fasciculatum* و *irregularis* که از شرکت زیست فناوری پیشتاز واریان تهیه شد به صورت مخلوط با خاک گلدان استفاده شد. همچنین برای تیمار قارچ تریکودرما در هنگام کاشت بذر مقدار 15 میلی‌لیتر سوسپانسیون اسپورهای قارچ *Trichoderma harizianum* جدایه‌ی T 22 به کار برده شد. نهال‌های پسته به مدت دو سال پرورش داده شد. برای بررسی کلونیزه شدن ریشه‌ها توسط قارچ‌های میکوریزا از روش فیلپس و هیمن (3) 1970 استفاده شد. برای آلوده‌سازی نهال‌های دوسال پسته با پسیل معمولی پسته، از حشرات کامل برای پرورش آفت در گلخانه استفاده شد. پوره‌های سن اول یک‌روزه پسیل به تعداد 10 عدد روی برگ‌های پسته در همه تیمارهای آزمایشی قرار داده شدند. گلدان‌های مورد استفاده با طلق‌های شفاف استوانه‌ای با قطر 12/5 و ارتفاع 34 سانتی‌متر که در انتهای آن توری ظرفی جهت تبادل هوا قرار داده شده بود، پوشیده شدند. اندازه‌گیری میزان اسید آمینه کل برگ پسته به روش هاردینگ و مکین (4) 1916 انجام شد. با رسم منحنی استاندارد با استفاده از گلیسین، مقدار اسیدهای آزاد بر اساس میکروگرم بر گرم وزن تر گزارش شد. تعداد برگچه‌ها، وزن تر و خشک و حجم ریشه، تعداد برگچه-ها در هر یک از نهال‌های آزمایشی تیمار و شاهد مورد شمارش قرار گرفت. ، پس از پایان آزمایشات و جمع‌آوری حشرات پسیل پسته، تعیین درصد برگچه‌های تازه روئیده هر یک از نهال‌های پسته تیمار و شاهد شمارش شدند. داده‌های آزمایشی با کمک نرم افزار SPSS نسخه 25 مورد تجزیه و تحلیل آماری تجزیه واریانس یک طرفه بر اساس طرح کاملاً تصادفی قرار گرفتند. میانگین‌ها با آزمون توکی در سطح پنج درصد مقایسه شدند.

### نتایج و بحث

در تحقیق حاضر مشاهده شد که نهال‌های آلوده پسته رقم بادامی تلقیح شده با قارچ‌های میکوریزا و تریکودرما تحت تنش زیستی تغذیه پسیل معمولی پسته به طور معنی‌داری نسبت به گیاهان شاهد تولید برگچه‌های تازه روئیده کردند (شکل 1 a). نتایج نشان داد که همزیستی گیاه پسته با قارچ‌های مفید استفاده شده روی واکنش گیاه به برگریزی تأثیر داشت و توانست واکنش از نوع جبران رشد را افزایش دهد. در حالی که تغذیه آفت پسیل در گیاهان غیر تیمار شده با قارچ‌های مذکور موجب کاهش معنی‌دار در زیست توده نهایی گیاه شد. این مسئله بیانگر تأثیر این قارچ‌ها بر مکانیسم مقاومت از نوع تحمل شده است و گیاه با تحریک رشد سبزینه خود در جهت ایجاد برگ‌های جدید در صدد جبران بخشی از خسارت آفت پسیل معمولی پسته شده است. مکانیسم مقاومت از نوع تحمل (tolerance) عبارت از ظرفیت یک گیاه برای حفظ بقای خود از طریق رشد و تولید مثل و در عین حال پایداری در برابر خسارت آفت گیاهخوار است (5).



شکل 1. (a) درصد برگچه‌های تولید شده در نهال‌های پسته دوساله رقم بادامی تلقیح شده با قارچ‌های میکوریزا و تریکودرما تحت تنش زیستی تغذیه پسپیل معمولی پسته. (b) میزان اسید آمینه کل در برگ پسته نهال‌های دوساله رقم بادامی تلقیح شده به وسیله قارچ‌های میکوریزا و تریکودرما تحت تنش تغذیه پسپیل معمولی پسته.

محققین گزارش داده‌اند که قارچ‌های میکوریزا و قارچ‌های اندوفیت می‌تواند تحمل گیاه نسبت به آفات را در شرایط گلخانه افزایش دهند. این قارچ‌ها ظرفیت رشد مجدد در گیاهان پس از برگریزی در اثر آفت را افزایش می‌دهند که این کار از طریق افزایش دسترسی به مواد غذایی انجام می‌شود (6). نتایج این تحقیق مشاهده که میزان اسید آمینه کل در تیمار گیاهان تلقیح شده با میکوریزا به طور معنی‌داری بیشتر از تریکودرما و گیاهان شاهد بود (شکل 1b). نتایج مشابهی توسط سایر پژوهشگران گزارش شده است. در گیاهان گوجه فرنگی آلوده به کرم برگخوار *Spodoptera exigua* مشاهده شد که میزان اسید آمینه کل در گیاهان همزیست با میکوریزا افزایش بیشتری نسبت به گیاهان شاهد غیر میکوریزایی داشت (7). در پژوهش حاضر مشخص شد که در اثر تلقیح گیاهان پسته با قارچ‌های میکوریزا و در نتیجه جذب بیشتر عناصر غذایی سبب افزایش تعداد کل برگ در بوته، وزن تر و خشک و حجم ریشه شده بود (جدول 1). در پژوهشی مشابه نشان داده شد که توانایی گیاه گوجه‌فرنگی از هر دو جنبه جذب بیشتر عناصر غذایی و افزایش رشد رویشی و زایشی آن و نیز افزایش عملکرد سیستم دفاعی گیاه در عکس‌العمل به تغذیه کرم میوه گوجه فرنگی، به طور مثبت تحت تاثیر تیمار با قارچ تریکودرما جدایه *T. harizianum* T22 بود (8).

جدول 1- تعداد کل برگ، وزن تر، وزن خشک و حجم ریشه نهال‌های دو ساله پسته رقم بادامی تلقیح شده به وسیله قارچ‌های میکوریزا و تریکودرما تحت تنش تغذیه پسپیل معمولی پسته

تیمار آزمایشی	تعداد کل برگچه	وزن تر ریشه (میلی‌گرم)	وزن خشک ریشه (میلی‌گرم)	حجم ریشه (سانتی‌متر مکعب)
میکوریزا	84/6±5/0a	61/3±4/3 a	23/1±1/7 a	2±28 a
تریکودرما	66/5±2/3b	48/2±3/5 b	17/1±2/4 b	3±18 b
شاهد	50/4±4/1 c	36/2±2/2 c	12/1±1/1 c	2±12 c

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک تفاوت معنی‌داری در سطح پنج درصد با آزمون توکی ندارند. اعداد میانگین ± خطای استاندارد هستند.

## نتیجه گیری

در مجموع نتایج این تحقیق نشان داد که به کار بردن مخلوط سه گونه میکوریزا و جدایه T22 از *T. harizianum* روی واکنش گیاه به برگریزی تأثیر دارد و می تواند از طریق فعالسازی مکانیسم مقاومت از نوع تحمل بخشی از خسارت آفت پسیل معمولی پسته را جبران کرده و خسارت را کاهش دهد.

1. Zhou, J., Chai, X., Zhang, L., George, T. S., Wang, F., and Feng, G. 2020. Different arbuscular mycorrhizal fungi colonizing on a single plant root system recruit distinct microbiomes. *MSystems*, 5(6), e00929-00920.
2. Harman, G.E., Doni, F. Khadka, R.B. and Uphoff, N., 2019. Endophytic strains of *Trichoderma* increase plants photosynthetic capability. *Journal of Applied Microbiology*, 130, pp. 529-546.
3. Phillips, J.M. and Hayman, D.A., 1970. Improved Procedures for Clearing Roots and Staining Parasitic and Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungi for Rapid Assessment of Infection. *Transactions of the British Mycological Society*, 55, pp. 158-161.
4. Harding, V. J. and MacLean, R. M. 1916. A colorimetric method for the estimation of amino acid alpha nitrogen. *Journal of Biological Chemistry*, 24, pp.503-515.
5. Rosenthal, J.P. and Kotanen, P.M., 1994. Terrestrial plant tolerance to herbivory. *Trends in Ecology and Evolution*, 9, pp. 145-148.
6. Walling, S.Z. and Zabinski, C.A., 2006. Defoliation effects on arbuscular mycorrhizae and plant growth of two native bunchgrasses and an invasive forb. *Applied Soil Ecology*, 32; pp.111-117.
7. Rivero, J., Lidoy, J., Iopis-Giménez, A., Herrero, S., Flors, V., Pozo, M.J. 2021. Mycorrhizal symbiosis primes the accumulation of antiherbivore compounds and enhances herbivore mortality in tomato. *Journal of Experimental Botany*, 72, pp. 5038–5050.
8. Badakhshan, N., Mansouri, S.M., Habibi, A., Naseri, B. and Shakeri S.H., 2022. Effect of *Trichoderma harizianum* Strain T22 on Induced Resistance of Tomato to *Helicoverpa armigera* Hübner. *Journal of Iranian Plant Protection Research*, 36, pp.313-325.

## Regrowth in pistachio seedlings inoculated with mycorrhizae, and *Trichoderma harizianum* T22 under *Agonoscena pistaciae* infestation

R. Taherisarvtamin<sup>1</sup>, A. Habibi<sup>2\*</sup>, S.M. Mansouri<sup>3</sup>, M.R. Lashkari<sup>3</sup>, A. H. Mohammadi<sup>4</sup>

1, 2, 3 - MSc student, Assistant Professor, Associate Professors, Department of Biodiversity, Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran

\*a.habibi@kgut.ac.ir

4- Pistachio Research Center, Horticultural Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rafsanjan, Iran

### Abstract

Beneficial soil microorganisms such as mycorrhizal fungi and endophytic fungi can increase plant growth and induce defense pathways against some plant diseases and insect pests. In the present study, the effect of arbuscular mycorrhizal fungi (mixture of three species, *Funneliformis mosseae*, *Rhizophagus irregularis* and *Glomus fasciculatum*) and *Trichoderma harizianum* T22 were evaluated on pistachio seedlings cv. Badami under *Agonoscena pistaciae* infestation. The results showed that the inoculation of mycorrhizae significantly increased leaflets, root dry and wet weight, root volume, and total amino acids in seedlings compared to the control and *T. harizianum* treatments. Leaflet regrowth was 38±5% and 22±3% in mycorrhizae and *T. harizianum* treatments respectively (under *A. Pistaciae* infestation) while 3±0.5% in control plants. It is concluded that inoculation of mycorrhizae and *T. harizianum* can increase resistance of pistachio seedlings (tolerance) to *A. Pistaciae* infestation via regrowth induction.

**Keywords:** Tolerance, Pistachio, Symbiotic and non-symbiotic fungi

## تأثیر رژیم‌های مختلف آبیاری بر تجمع ماده خشک و روند پرشدن دانه سه رقم لوبیا چیتی

حسین خوشوقتی

گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

*h.khoshvaghti@pnu.ac.ir*

### چکیده

به منظور بررسی اثر رژیم‌های مختلف آبیاری بر تجمع ماده خشک، سرعت پرشدن و دوره مؤثر پرشدن دانه سه رقم لوبیا چیتی، آزمایشی در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز بصورت کرت‌های یک‌بار خرد شده (اسپلیت پلات) در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. کرت‌های اصلی به چهار تیمار آبیاری شامل آبیاری پس از 60 (I<sub>1</sub>)، 80 (I<sub>2</sub>)، 100 (I<sub>3</sub>) و 120 (I<sub>4</sub>) میلی‌متر تبخیر از تشت تبخیر کلاس A و کرت‌های فرعی به سه رقم لوبیا چیتی شامل تلاش (V<sub>1</sub>)، C.O.S-16 (V<sub>2</sub>) و امیدبخش (V<sub>3</sub>) اختصاص یافت. در این تحقیق، میزان تولید ماده خشک (DMA) و دوره مؤثر پرشدن دانه به طور معنی‌داری با افزایش فواصل آبیاری، کاهش یافت. هر چند سرعت پرشدن دانه نیز، با افزایش فواصل آبیاری افزایش یافت، ولی این اختلاف‌ها در بین تیمارهای آبیاری از لحاظ آماری معنی‌دار نبود. تجمع ماده خشک در تیمارهای آبی I<sub>1</sub> و I<sub>2</sub> نسبت به تیمار آبی I<sub>3</sub> و آن هم نسبت به I<sub>4</sub>، بیشتر بود. بالاترین مقدار ماده خشک با متوسط 745 گرم در مترمربع در تیمار I<sub>2</sub> در 1161 درجه - روز رشد و کمترین مقدار ماده خشک در تیمار آبیاری I<sub>4</sub> با متوسط 300 گرم در مترمربع در 1051 درجه - روز رشد حاصل گردید.

**واژه گان کلیدی:** تجمع ماده خشک، دوره مؤثر پرشدن دانه، سرعت پرشدن دانه و لوبیا چیتی

### مقدمه

نمو دانه که برای عملکرد اقتصادی در یک محصول دانه‌ای برداشت می‌شود، از سرعت پرشدن (GFR) و دوره پرشدن دانه (GFD) متأثر می‌شود (امجدی و همکاران، 1402؛ لی و همکاران، 2000؛ ساماراج، 2005). GFR، بیانگر تجمع ماده خشک در زمان و طی مرحله خطی نمو دانه است. GFR معمولاً با رگرسیون خطی از مقادیر وزن خشک دانه که در زمان‌های مختلف طی نمو دانه بدست آمده‌اند و پس از حذف داده‌های غیرخطی که معرف مراحل تأخیری می‌باشند، برآورد می‌شود. تعیین دوره پرشدن دانه (GFD) بسیار دشوار است، زیرا برآورد دقیق زمان آغاز و پایان تجمع ماده خشک در دانه مشکل می‌باشد. می‌توان از مرحله شکفتگی تا رسیدگی فیزیولوژیک برای برآورد دوره نمو دانه استفاده کرد (کافی و همکاران، 1380).

راینسون (1983) گزارش کرد تجمع ماده خشک در لوبیا با افزایش تنش رطوبتی، کاهش می‌یابد و تحت چنین شرایطی، بین ماده خشک تولیدی در گیاه و تبخیر و تعرق رابطه خطی وجود دارد.



تنش کم آبی در مرحله پرشدن دانه سویا، عملکرد دانه را به علت افت وزن دانه کاهش داد (ویرا و همکاران، 1992)، که با زودرسی (راحمی کاریزی و همکاران، 1401) و کوتاه تر شدن دوره پرشدن دانه (مایکل و همکاران، 1984) همراه بود. تصور می شود کوتاه تر شدن دوره پرشدن دانه در اثر پیری سریع برگ ها باشد (کرافتس براندر و اگلی، 1987؛ لاری و مکلیچ، 2004).

### مواد و روش ها

برای تعیین میزان تجمع ماده خشک (DMA) در واحد سطح، اولین نمونه برداری در 35 روز پس از کاشت صورت گرفت و هر هفته یک بار تا زمان برداشت نهایی ادامه یافت. به منظور ارزیابی روند افزایش وزن خشک دانه در طول دوره پرشدن آن، پس از پایان گلدهی و تشکیل دانه ها نمونه برداری در 10 نوبت و به فاصله 5 روز صورت گرفت. سرعت پرشدن دانه با در نظر گرفتن روند افزایش وزن خشک و به طور متوسط بر اساس افزایش وزن هر دانه بر حسب میلی گرم در هر روز محاسبه شد. روند تغییرات وزن خشک دانه ها با استفاده از معادله (1) محاسبه و برازش گردید.

$$(1) \quad W = \begin{cases} a + bt & t < t_{\max} \\ a + bt_{\max} & t \geq t_{\max} \end{cases}$$

که در آن  $W$  وزن دانه،  $a$  عرض از مبدأ خط،  $b$  شیب خط تا مرحله رسیدگی وزنی که نشان دهنده سرعت پرشدن دانه است،  $t$  درجه - روزهای رشد پس از تشکیل نیام و  $t_{\max}$  زمان رسیدگی وزنی است. برای تعیین دوره موثر پرشدن دانه از معادله (2) استفاده شد.

$$(2) \quad EFP = \frac{MGW}{GFR}$$

سرعت پرشدن دانه می باشد (داینارد و همکاران، 1971).  $GFR$  حداکثر وزن دانه و  $MGW$  دوره موثر پرشدن دانه،  $EFP$  که در آن،

### نتایج و بحث

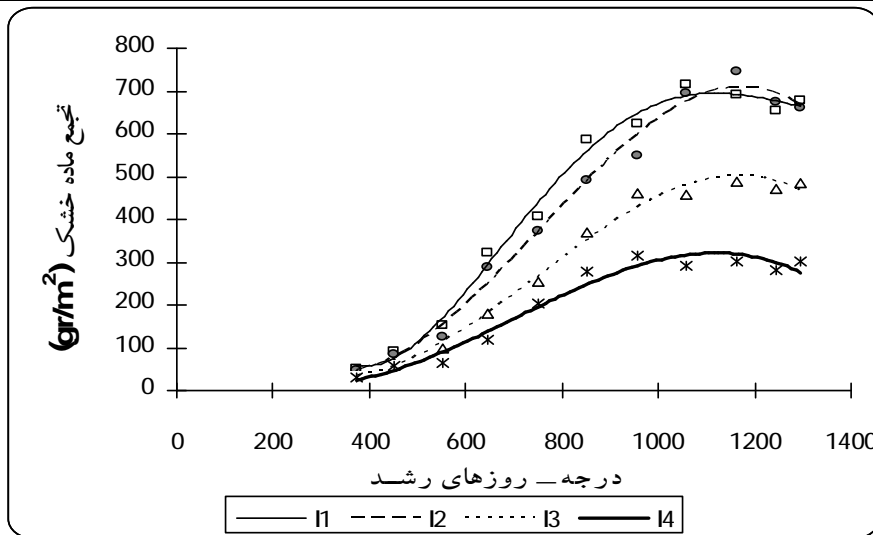
تجمع ماده خشک ارقام لوبیا در رژیم های مختلف آبیاری، با استفاده از معادله  $DM = \exp(a + bH + cH^2 + dH^3)$  پیش بینی گردید. طبق معادلات به دست آمده، وزن خشک اندام های هوایی در فاصله زمانی مذکور به صورت یک تابع نمایی نسبت به درجه - روزهای رشد در حال افزایش است (جدول 1). وجود رابطه نمایی بین وزن خشک و درجه - روزهای رشد در گیاهان زراعی دیگر از جمله نخود (شبیبری، 1383) و گندم (کریمی و صدیقی، 1991) نیز گزارش شده است.

همان طوری که در شکل (1) مشاهده می شود ماده خشک بیشتری در تیمارهای 1 و 2 نسبت به تیمار آبی 3 و آن هم نسبت به 4، تجمع یافته است. بیشترین مقدار ماده خشک با متوسط 745 گرم در مترمربع در تیمار 2 در 1161 درجه - روز رشد و کمترین مقدار ماده خشک در تیمار آبیاری 4 با متوسط 300 گرم در مترمربع در 1051 درجه - روز رشد حاصل گردید. سرعت تجمع ماده خشک در تیمارهای آبیاری تقریباً تا آغاز مرحله رسیدگی به طور خطی ادامه یافت و کل ماده خشک با آغاز ریزش برگ ها رو به

نقصان نهاد. کاهش ماده خشک تولیدی در اثر نقصان آب مصرفی، توسط پژوهشگران متعددی از جمله امجدی، 1402؛ زعفرانی معطر، 1390؛ رابینسون، 1983 نیز گزارش شده است.

( در تیمارها (GDDs) نسبت به درجه - روزهای رشد (DM) جدول 1- ضرایب معادله چندجمله‌ای تغییرات وزن خشک اندامهای هوایی )

تیمار آبیاری	عرض از مبدأ (a)	ضریب رگرسیون درجه 1 (b)	ضریب رگرسیون درجه 2 (c)	ضریب رگرسیون درجه 3 (d)	ضریب همبستگی (r)	R <sup>2</sup> ضریب تبیین <sup>2</sup>
آبیاری 1	-1/85159	2/03203 * 10 <sup>-2</sup>	-1/63615 * 10 <sup>-5</sup>	4/38808 * 10 <sup>-9</sup>	0/997	0/994
آبیاری 2	-1/42759	1/80641 * 10 <sup>-2</sup>	-1/35896 * 10 <sup>-5</sup>	3/37631 * 10 <sup>-9</sup>	0/999	0/998
آبیاری 3	-1/47143	1/70006 * 10 <sup>-2</sup>	-1/23139 * 10 <sup>-5</sup>	2/86535 * 10 <sup>-9</sup>	0/998	0/996
آبیاری 4	-1/61672	1/6963 * 10 <sup>-2</sup>	-1/28618 * 10 <sup>-5</sup>	3/17299 * 10 <sup>-9</sup>	0/995	0/991



1 و 2، 3، 4، 1- تغییرات تجمع ماده خشک لوبیا در رژیم‌های آبیاری 1

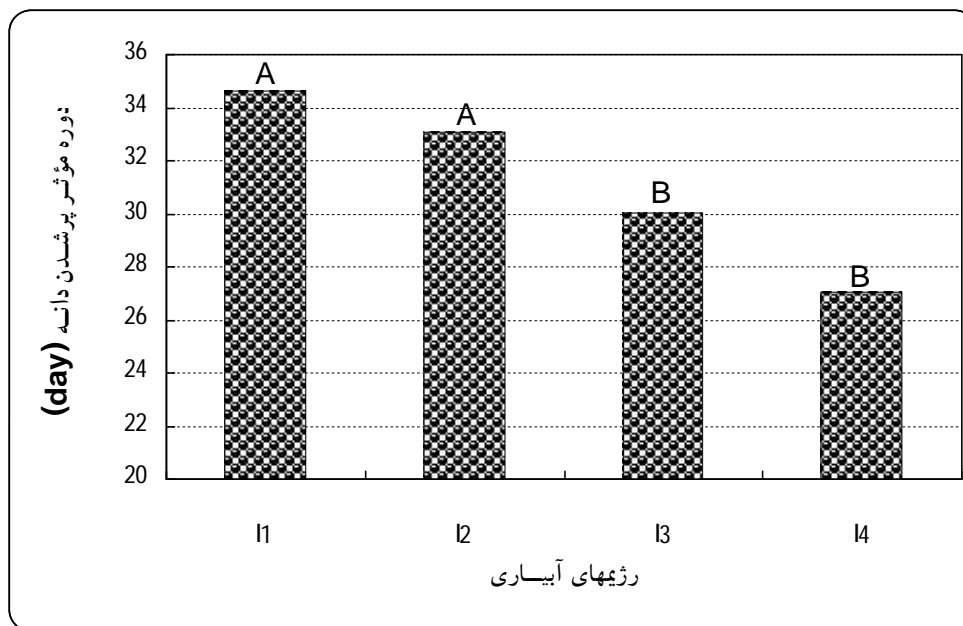
با مقایسه شیب خطوط رگرسیون که نشان‌دهنده سرعت پرشدن دانه است، مشخص گردید تیمارهای آبیاری از نظر سرعت پرشدن دانه، اختلاف معنی داری با همدیگر ندارند. با وجود این، با کاهش دوره‌های آبیاری (افزایش فواصل آبیاری)، سرعت پرشدن دانه اندکی افزایش یافت. دوره موثر پرشدن دانه به طور معنی داری تحت تأثیر تیمارهای مختلف آبیاری، قرار گرفت (جدول 2). به طوری که با افزایش فواصل آبیاری، دوره موثر پرشدن دانه کاهش یافت. دوره موثر پرشدن دانه در تیمار I4 بطور معنی داری کمتر از I1 و I2 بود، اما بین تیمارهای I1 و I2 از یک طرف و تیمارهای I3 و I4 از طرف دیگر از نظر این صفت اختلاف معنی داری مشاهده نگردید (شکل 2). کاهش طول دوره پرشدن دانه در اثر محدودیت آب توسط سایر پژوهشگران از جمله ساماراح (2005) و فنائی و همکاران (2017) نیز گزارش شده است. به طور کلی، در همه تیمارهای آبیاری و ارقام، وزن دانه تابعی از سرعت و دوره موثر پرشدن دانه بود. پایین بودن وزن دانه در زمان رسیدگی وزنی برای تیمار I4 را می‌توان به افت معنی دار دوره موثر پرشدن دانه در این تیمار

(شکل 2) نسبت داد. با توجه به اهمیت سرعت و دوره پر شدن دانه در تعیین عملکرد نهایی گیاهان زراعی پیش بینی می شود اختلافات گزارش شده بین تیمارهای مختلف آبیاری و ارقام لوبیا، تفاوتی را در عملکرد نهایی آنها ایجاد می کند.

جدول 2- تجزیه واریانس اثر آبیاری بر روند پر شدن دانه در سه رقم لوبیا چیتی

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		سرعت پر شدن دانه	دوره مؤثر پر شدن دانه
تکرار	2	0/41	4/7
آبیاری	3	2/071 <sup>n.s</sup>	100/99*
اشتباه اصلی	6	1/902	25/083
رقم	2	65/377**	4/083 <sup>n.s</sup>
آبیاری * رقم	6	<sup>n.s</sup> 0/081	<sup>n.s</sup> 626/117
اشتباه فرعی	16	1/952	11/65
ضریب تغییرات (%)	-	12/65	10/94

<sup>n.s</sup>، \* و \*\* به ترتیب غیر معنی دار، معنی دار در سطح احتمال 5% و 1%



1 و 4، 3، 2، شکل 2- میانگین دوره مؤثر پر شدن دانه لوبیا در رژیمهای آبیاری 1

نتیجه گیری

فرآیند پرشدن دانه تحت تأثیر دو عامل مهم سرعت و طول دوره‌ی پرشدن دانه قرار دارد (امجدی، 1402). با افزایش فواصل آبیاری، هر چند سرعت پرشدن دانه افزایش یافت، اما دوره مؤثر پرشدن دانه و حداکثر وزن دانه کاهش پیدا کرد و موجب افت عملکرد دانه در واحد سطح گردید.

( در واحد سطح گردید، همچنین سرعت و دوام DMA محدودیت آب باعث تسریع نمو و کاهش تولید و تجمع ماده خشک ) پرشدن دانه گیاهان نیز در شرایط کمبود آب کاهش یافت. در نتیجه، این عوامل باعث کاهش عملکرد دانه در واحد سطح گردید.

## منابع

پریسا زعفرانی معطر، یعقوب راعی، کاظم قاسمی گلعدانی و سید ابوالقاسم محمدی. (1391). اثر کم آبی بر رشد و عملکرد ارقام لوبیا، دانش کشاورزی و تولید پایدار، 21 (4)، صص. 85-94.

شیری، س. (1383). ارزیابی اثرات کم آبی بر سرعت و دوام پرشدن دانه و عملکرد سه رقم نخود. پایان نامه کارشناسی ارشد زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی.

علی راحمی کاریزکی، کوروش ثنائی و نبی خلیلی اقدم. (1401). شبیه سازی اثر تغییر اقلیم بر تولید نخود در شهرستان گنبد، زراعت دیم ایران، 11 (2)، صص. 255-271.

کافی، م. ب. کامکار و ع. م. مهدوی دامغانی. (1380). زیست شناخت بذر و عملکرد محصولات دانه‌ای (ترجمه). انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد. 232 صفحه.

هوشمند امجدی، فرزاد حسین پناهی و عادل سی و سه مرده. (1402). ارزیابی سرعت و مدت پرشدن دانه در ارقام گندم تحت رژیم‌های مختلف آبیاری تکمیلی، دو فصلنامه تولید و ژنتیک گیاهی، آماده انتشار.

**Crafts-brander, S.J. and Egli, D.B. 1987.** Sink removal and leaf senescence in soybean cultivar effects. *Plant Physiol.*, 85:662-666.

**Daynard, T.B., J.W. Tanner and W.G. Duncan. 1971.** Duration of the grain filling period and its relation to grain yield in corn. *Crop Science.*, 11:45-48.

**Fanaei, H.R., Azmal, A., Piri, I., 2017.** Effect of biological and chemical fertilizers on oil, seed yield and some agronomic traits of safflower under different irrigation regimes. *Journal of Agroecology* 8(4), 551-566. [In Persian with English summary]

**karimi, M.M. and Siddique. H.M. 1991.** Crop growth and relative growth rates of old and modern wheat cultivars. *Aust. J. Agric. Res.*, 42:13-20.

**Larbi, A. and A. Mekliche. 2004.** Relative water content (RWC) and leaf senescence as screening tools for drought tolerance in wheat. *Options Méditerranéennes Series A, Seminaires Méditerranéennes.* 60, 193-196.

**Li, A.G., Hou, V.S., Wall, G.W., Trent, A., Kimball, B.A. and Printer, P.J. 2000.** Free-air CO<sub>2</sub> enrichment and drought stress effect on grain filling rate and duration in spring wheat. *Crop Science*, 40:1263-1270.

**Meckle, L., Egli, D.B., Phillips, R.E., Radcliffe, D. and Leggett, J.E. 1984.** Effect of moisture stress on seed growth in soybean. *Agron. J.*, 79:647-650.

**Robinson, R.G. 1983.** Yield and composition of field bean and adzuki bean in response to irrigation, compost, and nitrogen. *Agron. J.*, 75:31-35.

Samarah, N.H. 2005. Effects of drought stress on growth and yield of barley. *Agron. Sustain. Dev.*, 25:145-149.

Vieira, R.D., Tekrony, D.M. and Egli, D.B. 1992. Effect of drought and defoliation stress in the field on soybean seed germination and vigor. *Crop Science*, 32:471-475.

## Effect of different irrigation regimes on the accumulation of dry matter and the process of seed filling of three cultivars of Chiti bean

Hossein Khoshvaghti

Department of Agriculture, Payame Noor University (PNU), Tehran, Iran

[h.khoshvaghti@pnu.ac.ir](mailto:h.khoshvaghti@pnu.ac.ir)

### Abstract

In order to investigate the effects of different irrigation regimes on the accumulation of dry matter, the speed and the effective seed filling period of three pinto bean (*Phaseolus vulgaris L.*) cultivars, a split plot experiment with randomized complete block design in three replications was conducted at the Research Farm of the Faculty of Agriculture, University of Tabriz, in 2004. Irrigation regimes including irrigation after 60 (I<sub>1</sub>), 80 (I<sub>2</sub>), 100 (I<sub>3</sub>) and 120 (I<sub>4</sub>) mm evaporation of water from class A pan, were located in main plots and pinto bean cultivars (Talash, V<sub>1</sub>; C.o.s-16, V<sub>2</sub>; and Omidbakhsh, V<sub>3</sub>) were allocated to subplots. In this research, the amount of dry matter production (DMA) and the effective period of seed filling decreased significantly with increasing irrigation intervals. Although the seed filling speed also increased with increasing irrigation intervals, these differences among irrigation treatments were not statistically significant. The accumulation of dry matter in water treatments 1I and 2I was more compared to water treatment 3I and also compared to water treatment 4I. The highest amount of dry matter with an average of 745 grams per square meter was obtained in treatment 2I at 1161 degree-days of growth and the lowest amount of dry matter was obtained in irrigation treatment 4I with an average of 300 grams per square meter at 1051 degrees-days of growth. Therefore, it can be concluded that treatment 2I is the best irrigation regime for Chiti bean cultivars under the conditions of this experiment.

**Keywords:** Dry Matter Accumulation; Effective Seed Filling Period; Seed filling Speed and Pinto Beans

## اثر تنش شوری بر عناصر ریزمغذی در آرد گندم

فاطمه رجیبی خرزوقی<sup>1</sup>، محمد مهدی مجیدی<sup>2</sup>، احمد ارزانی<sup>2</sup>، مهران شیروانی<sup>3</sup> و علی ربانی خوراسگانی<sup>4</sup>

1-دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک و به‌نژادی گیاهی، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، آدرس پست

الکترونیک: [fa.rajabi2018@gmail.com](mailto:fa.rajabi2018@gmail.com)

2-اساتید ژنتیک و به‌نژادی، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان.

3-استاد خاکشناسی، گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

4-دانشجوی دکتری ژنتیک و به‌نژادی، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان.

### چکیده

گندم منبع اصلی غذای بیش از یک چهارم جمعیت جهان است که از بیماری‌های ناشی از کمبود عناصری چون آهن و روی رنج می‌برند. این در حالی است که لاین‌های مدرن ساختگی گندم به عنوان منبع مهمی از عناصر غذایی کم مصرف شناخته شده‌اند. ارتقا عملکرد و بهبود کیفیت غذایی در گندم با چالش‌های متعددی از جمله تنش شوری مواجه است که سبب کاهش عملکرد می‌شود. این پژوهش با هدف بررسی میزان عناصر ریزمغذی آرد در لاین‌های جدید گندم ساختگی و تعدادی از ارقام رایج شامل 100 لاین گندم ساختگی و 9 رقم گندم نان معمولی به همراه 2 رقم گندم تتراپلوئید به منظور شناسایی ژنوتیپ‌های برتر در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در شرایط تنش شوری و عدم تنش انجام شد. جهت اندازه‌گیری عناصر آهن و روی از دستگاه طیف سنج جذب اتمی استفاده شد. تجزیه واریانس بر اساس طرح تجزیه‌ی مرکب نشان داد که اثر تنش شوری در همه صفات معنی دار بود و تفاوت معنی داری بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه برای عملکرد دانه و میزان آهن وجود داشت. نتایج نشان داد ژنوتیپ 170 در شرایط نرمال و ژنوتیپ 30 در شرایط تنش دارای بیشترین میزان روی و ژنوتیپ 43 در شرایط نرمال و 183 در شرایط تنش دارای بیشترین میزان آهن می‌باشند که به عنوان لاین‌های برتر این پژوهش معرفی می‌شوند. نتایج این آزمایش نشان داد که شناسایی ژنوتیپ‌های برتر برای کمک به درمان بیماران دارای سوء تغذیه ناشی از کمبود ریزمغذی‌ها در برنامه‌های به‌نژادی از طریق گندم‌های ساختگی امکان پذیر است.

واژگان کلیدی: تنش شوری، سوء تغذیه، آهن، روی، عناصر غذایی کم مصرف

### مقدمه

گندم نان با نام علمی *Triticum aestivum L.* یک آلوپلوئید است. گندم یکی از مهم‌ترین گیاهان زراعی با تولیدی بیش از 700 میلیون تن، 20% کالری روزانه، مواد معدنی و پروتئین مورد نیاز 4/5 میلیارد انسان را تأمین می‌کند. آهن و روی دو عنصر غذایی

کم‌نیاز هستند که کمبود آن توسط سازمان بهداشت جهان (WHO<sup>99</sup>) به عنوان محدود کننده برای سلامت انسان شناخته شده‌اند. بنابراین، ضروری است که ارقام گندم غنی از آهن و روی برای کاهش سوء‌تغذیه در میان افراد، توسعه یابد (1). غنی سازی آرد گندم با آهن و سایر ریزمغذی‌ها از حدود 40 سال پیش و در چند کشور خاص شروع و هم اکنون 49 کشور جهان با حدود 17% آرد مصرفی را در بر گرفته است. این شیوه در ایران نیز در سال 1375 اجرا شد (2). مطالعات پیشین در مورد غلظت روی و آهن در دانه گندم نشان دهنده آن بود که غلظت این دو فلز با یکدیگر هم‌بستگی مثبت دارند. همچنین در گزارشات تنوع ریزمغذی‌ها در گندم به شدت به اثرات ژنتیکی نسبت داده می‌شود (3). شوری اثرات مخربی بر گیاه دارد و این در حالی است که بخش قابل توجهی از محصولات در اراضی شور تولید می‌شود. در حدود 20 درصد از خاک‌های کره زمین تحت اثر شوری قرار داشته و فعالیت‌های مخرب انسان و همچنین تغییر اقلیم، هر ساله به این میزان می‌افزاید. خویشاوندان وحشی گندم نسبت به ارقام جدید گندم دارای تنوع ژنتیکی گسترده‌تر و دارای غلظت‌های بیشتری از مواد مغذی دانه هستند و همچنین پتانسیل بالایی برای تحمل به شوری را دارا می‌باشند که نشان می‌دهد بهبود در این صفات در ارقام جدید گندم امکان پذیر است (4). اساس این پژوهش به منظور بررسی میزان آهن و روی در لاین‌های گندم ساختمانی در شرایط تنش شوری و عدم تنش می‌باشد که سعی بر آن است که ارقام برتر گندم از نظر مقدار آهن و روی بالا شناسایی شوند.

#### مواد و روش‌ها

در این پژوهش از 100 لاین ساختمانی گندم (تهیه شده از بانک ژن سیمیت) و 9 رقم گندم نان معمولی که شامل 4 رقم خارجی (Sable و Norwell، Carberry، AAC Scotia) و 5 رقم گندم نان ایرانی (روشن، پیشناز، قدس، کویر و بهاران) به همراه 2 رقم گندم دوروم تتراپلوئید شامل گندم ماکارانی (*T. turgidum ssp. durum*) و لاین Tura (*T. turgidum ssp. turgidum*) به صورت آزمایش تجزیه مرکب در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در دو سال 1400 و 1401 در شرایط تنش شوری و عدم تنش (نرمال) با دو تکرار در مزرعه‌ی تحقیقاتی دانشگاه صنعتی اصفهان ارزیابی شدند. جهت اندازه‌گیری آهن و روی از دستگاه طیف سنج جذب اتمی (Atomic Absorption Spectrometer) AAS استفاده شد. در نهایت غلظت آهن و روی نمونه‌ها با دستگاه طیف سنج جذب اتمی اندازه‌گیری گردید (5). در ادامه، برای آنالیز داده‌ها از نرم افزارهای Excel، SAS 9.04 و Statgraphics استفاده شد.

#### نتایج و بحث

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس نشان دهنده آن بود که تاثیر محیط شوری بر عناصر ریزمغذی و همچنین عملکرد دانه معنی دار بود. همچنین تفاوت معنی داری از نظر عملکرد دانه و میزان آهن در بین ژنوتیپ‌ها دیده شد که نشان دهنده تنوع ژنتیکی بالا در ژرم پلاسما مورد مطالعه می‌باشد (نتایج آورده نشده است). نتایج مقایسه میانگین تیمارها نشان داد که صفات عملکرد دانه، آهن و روی در شرایط تنش شوری و عدم تنش تفاوت معنی داری با یکدیگر دارند و شوری باعث کاهش صفات عملکرد دانه و آهن نسبت به شرایط نرمال شده است (جدول 1) نتیجه کاهش عملکرد دانه با اعمال تنش شوری همراستا با مطالعات پیشین انجام شده

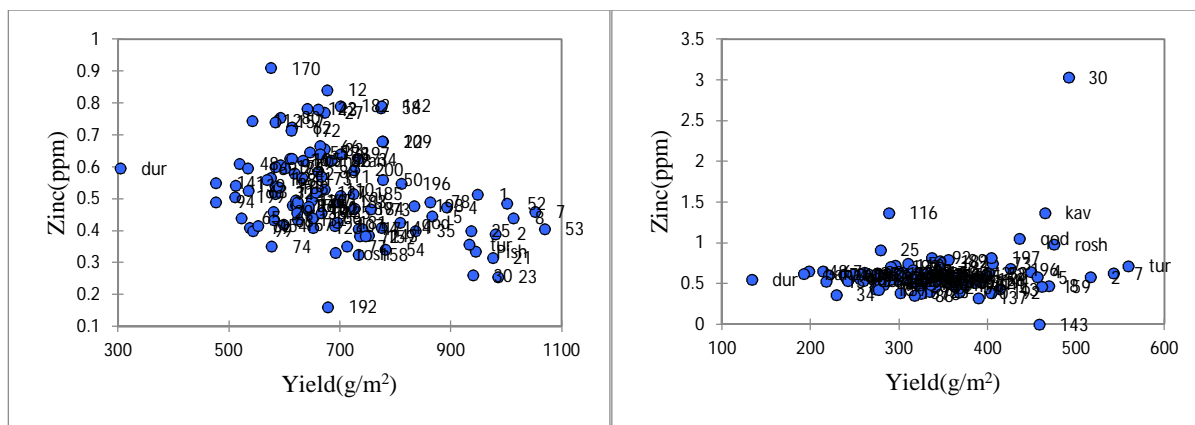
<sup>99</sup>. World Health Organization

بود. نتایج همبستگی نشان دهنده آن است که میزان آهن در شرایط نرمال و تنش همبستگی منفی با عملکرد دارد. همبستگی روی با عملکرد در شرایط نرمال منفی و در شرایط تنش مثبت می باشد که این نتایج همانند گزارشات قبلی می باشد (نتایج آورده نشده است). با توجه به شکل های بای پلات برای میزان روی در شرایط نرمال ژنوتیپ 170 دارای بیشترین میزان روی و در شرایط تنش شوری ژنوتیپ 30 دارای بیشترین میزان روی می باشد (شکل 1). برای میزان آهن در شرایط نرمال ژنوتیپ 43 دارای بیشترین میزان آهن بوده و در شرایط تنش ژنوتیپ 183 دارای بیشترین میزان آهن می باشد (شکل 2). با توجه به این نتایج می توان این ژنوتیپ ها را برای ارتقای ارزش غذایی گندم معرفی نمود و باعث کاهش اثرات منفی سوء تغذیه شد

جدول (1) مقایسه میانگین صفات ارزیابی شده در سال 1400-1401 در شرایط عدم تنش و تنش شوری

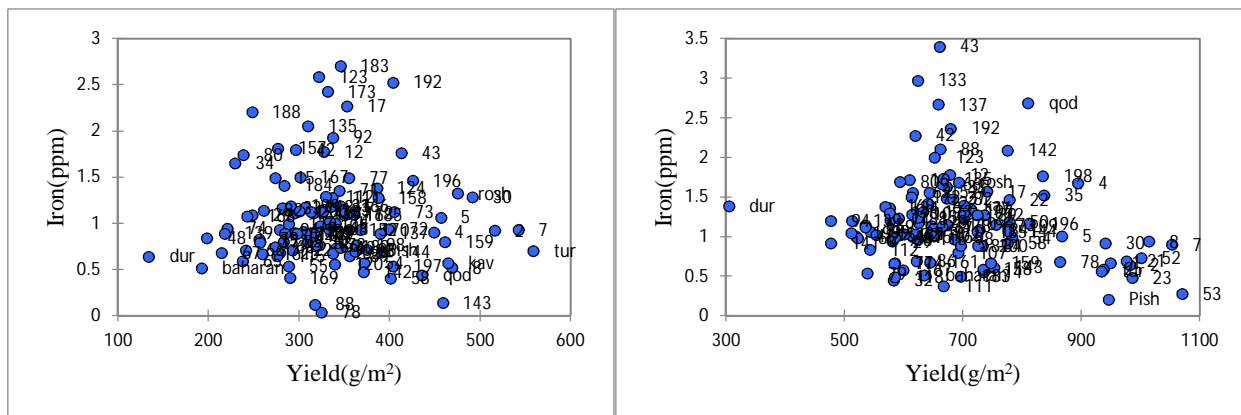
صفات	عدم تنش (N)	تنش (S)	درصد تغییرات
عملکرد دانه (g/m <sup>2</sup> )	700/39 <sup>a</sup>	351/80 <sup>b</sup>	-49/77*
روی (ppm)	0/49 <sup>a</sup>	0/576 <sup>b</sup>	16/83*
آهن (ppm)	1/089 <sup>a</sup>	0/927 <sup>b</sup>	-14/87*

در هر صفت (ردیف) میانگین هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون LSD در سطح 5 درصد تفاوت معناداری با یکدیگر ندارند. \* معنی داری در سطح 5 و ns عدم معنی داری را نشان می دهد.



شکل (1) پراکندگی ژنوتیپ ها برای عنصر روی و عملکرد دانه در محیط نرمال (سمت راست) و محیط دارای تنش (سمت چپ)





شکل (2) پراکندگی ژنوتیپ‌ها برای عنصر آهن و عملکرد دانه در محیط نرمال (سمت راست) و محیط دارای تنش (سمت چپ)

## نتیجه‌گیری

در این پژوهش، معنی دار بودن ژنوتیپ برای میزان آهن، تنوع بالا در ژرم پلاسما حاضر را نشان داد که به دنبال آن پتانسیل بالایی این لاین‌ها را در پروسه‌های اصلاحی گندم نشان می‌دهد. لاین‌های گندم ساختگی منبع مناسبی برای انتقال صفات مفید از منابع وحشی گندم به گندم‌های معمولی هستند و حاوی صفات مهم جهت بهبود عملکرد، تحمل به تنش‌های زیستی و غیر زیستی می‌باشند. در نهایت می‌توان گفت گزینه‌ی مناسبی برای انتخاب جهت بهبود کیفیت ریزمغذی‌های آرد گندم هستند.

## منابع

1. **Ortiz-Monasterio, J.I., Palacios-Rojas, N., Meng, E., Pixley, K., Trethowan, R. and Pena, R.J., 2007.** Enhancing the mineral and vitamin content of wheat and maize through plant breeding. *Journal of cereal science*, 46: 293-307.
2. **Cakmak, I. 2008.** Enrichment of cereal grains with zinc: Agronomic or genetic biofortification. *Plant and Soil*. 302: 1-17.
3. **Karami, M., Afyuni, M., Khoshgoftarmanesh, A.H., Papritz, A. and Schulin, R., 2009.** Grain zinc, iron, and copper concentrations of wheat grown in central Iran and their relationships with soil and climate variable. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57: 10876-10882.
4. **Ding, Z., Kheir, A. S., Ali, O. A., Hafez, E., Elshamey, E. A. 2021.** A vermicompost and deep tillage system to improve saline-sodic soil quality and wheat productivity. *Journal of Environmental Management*, 277: 111-388.

5. **خان‌محمدی، ز.، خوشگفتارمنش، ا. ح. و مللی، ا. ر. 1389.** روش‌های تجزیه گیاه. جهاد دانشگاهی واحد صنعتی

اصفهان.

## Effect of Salinity Stress on Nutrient Elements in Wheat Flour

Fatemeh Rajabi Kharzooqi<sup>1</sup>, Mohammad Mahdi Majidi<sup>2</sup>, Ahmad Arzani<sup>2</sup>, Mehran Shirvani<sup>3</sup> and Ali Rabbani<sup>4</sup>

1-MSc Student, Department of Agronomy and Plant breeding, college of agriculture, Isfahan University of Technology (Email: [fa.rajabi2018@gmail.com](mailto:fa.rajabi2018@gmail.com))

2-Professors of Genetic and Plant Breeding, Department of Agronomy and Plant breeding, college of agriculture, Isfahan University of Technology

3-Professor of soil science, Department of soil science, college of agriculture, Isfahan University of Technology

4-PhD student at Isfahan University of Technology

### Abstract

Wheat is the main source of food for over a quarter of the world's population, who suffer from diseases caused by mineral deficiencies such as iron and zinc. Meanwhile, synthetic wheat lines are recognized as an important source of low-consumption nutrients. Improving grain yield and nutritional quality in wheat faces various challenges, including salinity stress, which reduces yield. This research was conducted to examine the level of two micronutrients (Zn and Fe) in flour in new synthetic wheat and some common varieties, including 100 lines of genetically modified wheat and 9 varieties of common bread wheat, along with 2 varieties of tetraploid wheat, in order to identify superior genotypes according to a randomized complete block design under salinity stress and non-stress conditions at the research farm of Isfahan University of Technology. Atomic absorption spectrophotometry was used to measure iron and zinc. Analysis of variance based on a composite analysis design showed that salinity stress had a significant effect on all traits and there was a significant difference between the studied genotypes for grain yield and micronutrient content. The results showed that genotype 170 had the highest zinc content under normal conditions, genotype 30 had the highest zinc content under stress conditions, genotype 43 had the highest iron content under normal conditions, and genotype 183 had the highest iron content under stress conditions, which were introduced as superior lines in this study. The results showed that this germplasm had good potential in micronutrients which can help breeders to develop new varieties.

**Keywords:** Salinity stress, Malnutrition, Iron, Zinc, low-consumption nutrients

## ارزیابی برخی صفات کیفیتی آرد گندم در شرایط تنش شوری

فاطمه رجبی خرزوقی<sup>1</sup>، محمد مهدی مجیدی<sup>2</sup>، احمد ارزانی<sup>2</sup> و علی ربانی خوراسگانی<sup>3</sup>

1-دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک و به‌نژادی گیاهی، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، آدرس پست

الکترونیک: [fa.rajabi2018@gmail.com](mailto:fa.rajabi2018@gmail.com)

2-اساتید ژنتیک و به‌نژادی، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

3-دانشجوی دکتری ژنتیک و به‌نژادی گیاهی، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

### چکیده

گندم به عنوان یکی از اصلی‌ترین منابع تامین کننده انرژی و غذای بشر همواره برای بهبود تولید و ارزش غذایی مورد توجه هست اما ارتقاء عملکرد و کیفیت غذایی در آن با چالش‌های مختلفی مواجه بوده است. تنش شوری از تنش‌های غیر زیستی مهم بوده که اثرات زیان‌باری بر عملکرد گیاهان و کیفیت محصول دارد. این پژوهش با هدف مقایسه برخی ویژگی‌های کیفیت آرد در لاین‌های جدید گندم ساختگی و تعدادی از ارقام رایج به منظور شناسایی ژنوتیپ‌های برتر در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در شرایط تنش شوری و عدم تنش در مزرعه‌ی تحقیقاتی دانشگاه صنعتی اصفهان انجام شد. در این پژوهش از 100 لاین گندم ساختگی و 9 رقم گندم نان معمولی به همراه 2 رقم گندم تتراپلوئید جهت بررسی صفات کیفیتی آرد گندم شامل میزان پروتئین، عدد زلنی، شاخص حجم نان و مقدار گلوتن استفاده شد. تجزیه واریانس بر اساس طرح تجزیه‌ی مرکب انجام شد که حاکی از وجود تفاوت معنی‌دار بین ژنوتیپ‌ها برای کلیه صفات مورد مطالعه بود که نشان دهنده تنوع ژنتیکی بالا در ژرم پلاسما مورد مطالعه از نظر صفات کیفیتی و به دنبال آن پتانسیل بالای لاین‌های مدرن در پروسه‌های اصلاحی گندم را نشان می‌دهد. نتایج این آزمایش نشان داد که شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل با صفات کیفیتی مطلوب در برنامه‌های به‌نژادی در راستای بهبود کیفیت نانویی امکان‌پذیر است.

واژگان کلیدی: گندم، تنش شوری، عدد زلنی، پروتئین، ارزش غذایی

### مقدمه

گندم یکی از مهم‌ترین گیاهان زراعی و سومین محصول غذایی پرمصرف دنیا است که با تولید بیش از 700 میلیون تن در سال، مقادیر زیادی از انرژی و پروتئین مورد نیاز بشر را تأمین می‌کند (1). گندم نان با نام علمی *Triticum aestivum* L. یک آلوهورگزاپلوئید است که حاصل تلاقی گونه آلوتراپلوئید اهلی (*T. turgidum*) با گونه دیپلوئید وحشی (*Aegilops tauschii*) و دو برابر شدن تعداد کروموزوم‌های آن‌ها می‌باشد. گندم معمولی در طی روند تکامل و اهلی سازی، دچار تنگنای تکاملی<sup>100</sup> و ژنتیکی شده است. بنابراین در مقایسه با گونه‌های والد خود، بخش قابل توجهی از تنوع ژنتیکی خود را از دست داده است و لذا گندم‌های ساختگی از طریق تلاقی گندم دروم یا ایمر با جد حاوی ژنوم DD منشاء تحول در اصلاح گندم شدند. لاین‌های گندم مدرن با گندم ساختگی عملکرد بهتری در شرایط تنش خشکی و شوری دارند (2). در پاسخ به تنش شوری ممکن است پروتئین‌های جدید سنتز شوند یا میزان

<sup>100</sup>.Bottleneck effect

پروتئین‌هایی که از قبل در غلظت‌های کم وجود داشته‌اند همزمان با تنش افزایش یابد (3). روش ظرفیت نگهداری حلال ( $^{101}$ SRC) یکی از روش‌ها جهت اندازه‌گیری عملکرد آرد براساس تورم حاصل از شبکه‌های پلیمری اجزا تشکیل دهنده آرد است و به منظور ارزیابی جنبه‌های مهمی از کیفیت گندم استفاده می‌شود. در آزمایشی نتایج نشان دهنده آن بود که تاثیر ژنوتیپ بر تمامی صفات مرتبط با کیفیت معنی دار بوده است و تاثیر تنش شوری بر عملکرد پروتئین دانه بیشتر از تنش خشکی می‌باشد (4). همچنین مطالعات بیانگر کاهش عملکرد دانه در شرایط شوری است (5). با توجه به آن که ارزیابی کیفیتی آرد یک امر ضروری برای اصلاحگران در انتخاب ارقام مختلف گندم با کیفیت مناسب و عملکرد بهینه است، سعی شد تا لاین‌های گندم مدرن با گندم ساخستگی و گندم معمولی را تحت شرایط اقلیمی اصفهان از نظر پتانسیل تولید، تحمل به شوری و شاخص‌های کیفیتی آرد مورد ارزیابی قرار دهیم تا لاین‌های برتر از نظر میزان پروتئین و گلوتن در شرایط تنش شوری و عدم تنش را برای بهبود کیفیت نان و استفاده مستقیم (معرفی) یا استفاده در تلافی جهت بهبود ارقام شناسایی شوند.

### مواد و روش‌ها

در این مطالعه از 100 لاین گندم (تهیه شده از بانک ژن سیمیت) و 9 رقم گندم نان معمولی که شامل 4 رقم خارجی (AAC Scotia، Carberry، Norwell و Sable) و 5 رقم گندم نان ایرانی (روشن، پیشتاز، قدس، کویر و بهاران) به همراه 2 رقم گندم دوروم تتراپلوئید شامل گندم ماکارانی (*T. turgidum ssp. durum*) و لاین Tura (*T. turgidum ssp. Turanicum*) به صورت آزمایش تجزیه مرکب در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در دو سال 1400 و 1401 در شرایط تنش شوری و عدم تنش با دو تکرار در مزرعه‌ی تحقیقاتی دانشگاه صنعتی اصفهان واقع در شهرستان نجف آباد ارزیابی شدند. جهت اندازه‌گیری صفات کیفیتی از جمله پروتئین، عدد زلنی و شاخص حجم نان از دستگاه کالیبره NIR (Near Infrared Reflectance) استفاده شد. روش SRC جهت اندازه‌گیری عملکرد آرد براساس تورم حاصل از شبکه‌های پلیمری اجزا تشکیل دهنده آرد انجام شد. چهار حلال به طور مستقل برای بدست آوردن SRC مورد استفاده قرار گرفت که شامل، SRC آب مقطر با همه ویژگی‌های آرد گندم، SRC لاکتیک اسید 5 درصد با ویژگی‌های گلوتنین آرد گندم، SRC ساکاروز 50 درصد با ویژگی‌های پنتوزان‌ها و SRC سدیم کربنات 5 درصد با میزان نشاسته آسیب دیده می‌باشد. در ادامه برای آنالیز داده‌ها از نرم افزارهای Excel، SAS 9.04 و Statgraphics استفاده شد.

### نتایج و بحث

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس بیان کننده آن بود که تاثیر ژنوتیپ بر تمامی صفات مورد مطالعه معنی دار بوده و تاثیر محیط برای صفت عملکرد دانه و عدد زلنی معنی دار بوده است که نشان دهنده تنوع ژنتیکی بالا در ژرم پلاسما مورد مطالعه می‌باشد (نتایج آورده نشده است). نتایج جدول مقایسه میانگین تیمارها نشان داد که عملکرد دانه و عدد زلنی در حالت تنش شوری و عدم تنش تفاوت معنی داری دارند بطوری که تنش شوری باعث کاهش عملکرد دانه و عدد زلنی شده ولی تنش شوری بر دیگر صفات اثر معنی داری نداشته است (جدول 1). اگرچه براساس مطالعات انتظار می‌رفت میزان پروتئین کاهش یابد اما باتوجه به فرضیه‌ی تحقیق حاضر می‌توان عدم معناداری را به تحمل بالای ارقام ساخستگی در شرایط تنش نسبت داد. طبق نتایج حاصل از جدول هم‌بستگی

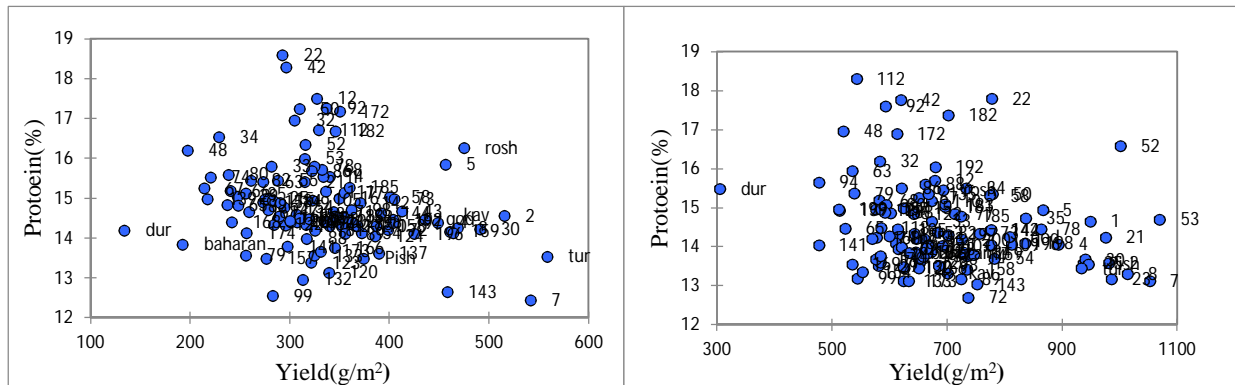
<sup>101</sup>. Solvent Retention Capacity

صفات پروتئین، عدد زنی و شاخص حجم نان در هر دو محیط تنش و عدم تنش همبستگی مثبت و بالایی با یکدیگر داشتند و عملکرد دانه با تمامی صفات همبستگی منفی داشت (نتایج آورده نشده است) که می‌توان انتخاب توامان کیفیت و کمیت را مشکل سازد و لازمه آن بررسی تعداد زیاد رقم و انتخاب روی تک ژنوتیپ‌های خاص است که در این مطالعه انجام گردید. در محیط نرمال، ژنوتیپ 112 دارای بیشترین میزان پروتئین و در تنش، ژنوتیپ 22 دارای بیشترین میزان پروتئین می‌باشند که نشان دهنده کیفیت بالا و مطلوب برای نان می‌باشند (شکل 1).

جدول (1) مقایسه میانگین صفات ارزیابی شده در سال‌های 1401 و 1400 در شرایط عدم تنش و تنش شوری

صفات	عدم تنش (N)	تنش (S)	درصد تغییرات
عملکرد دانه (g/m <sup>2</sup> )	700/39 <sup>a</sup>	351/80 <sup>b</sup>	-49/77 <sup>*</sup>
پروتئین (%)	14/31 <sup>a</sup>	14/63 <sup>a</sup>	2/18 <sup>ns</sup>
زنی	30/81 <sup>a</sup>	30/28 <sup>b</sup>	-1/74 <sup>*</sup>
حجم نان	713/85 <sup>a</sup>	737/64 <sup>a</sup>	3/33 <sup>ns</sup>
گلوتن (g)	0/470 <sup>a</sup>	0/471 <sup>a</sup>	0/21 <sup>ns</sup>

در هر صفت (ردیف) میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون LSD در سطح 5 درصد تفاوت معناداری با یکدیگر ندارند. \* معنی داری در سطح 5 درصد و ns عدم معنی داری را نشان می‌دهد.



شکل (1) پراکندگی ژنوتیپ‌ها برای دو صفت پروتئین و عملکرد دانه در محیط نرمال (سمت چپ) و محیط دارای تنش شوری (سمت راست)

### نتیجه‌گیری

این اولین پژوهش از معدود پژوهش‌های صورت گرفته بر روی لاین‌های ساختگی گندم و بررسی واکنش آن‌ها از نظر عملکردی و صفات کیفیتی در ایران است. در این پژوهش، معنی دار بودن ژنوتیپ برای صفات مورد مطالعه، تنوع بالا در ژنوتیپ‌ها را نشان داد که به دنبال آن پتانسیل بالای لاین‌های مدرن را در پروسه‌های اصلاحی گندم نشان می‌دهد. نتایج نشان داد که تاثیر تنش شوری

بر میزان پروتئین ناچیز و بر میزان عملکرد دانه معنی داری بوده است که می تواند حاکی از داشتن ژنهای مقاومت در ارقام ساختگی باشد. این لاینهای حاوی قطعات کروموزومی از خویشاوند وحشی آزیلوپس تاوشی هستند و حاوی صفات مهم جهت بهبود تحمل به تنشهای زیستی و غیر زیستی از جمله تنش شوری، خشکی، زودرسی و مقاومت به آفات و بیماریهای مختلف می باشند.

## منابع

1. **United Nations. 2018.** FAO Statistical Pocketbook. FAO. Retrieved from <http://www.fao.org/3/CA1796EN/ca1796en.pdf>
2. **Cavanagh, C. R., Chao, S., Wang, S., Huang, B. E., Stephen, S., Kiani, S., ... & Akhunov, E. (2013).** Genome-wide comparative diversity uncovers multiple targets of selection for improvement in hexaploid wheat landraces and cultivars. *Proceedings of the national academy of sciences*, 110(20), 8057-8062
3. **Parrek, A., Singla, S. L. and Grover, A. 1997.** Salt responsive proteins/genes in crop plant. In strategies for improving salt tolerance in higher plants. Oxford and International Book House Publication, New Delhi.
4. **Houshmand, S., Arzani, A., & Mirmohammadi-Maibody, S. A. M. (2014).** Effects of salinity and drought stress on grain quality of durum wheat. *Communications in soil science and plant analysis*, 45(3), 297-308.
5. **Omrani, S., Arzani, A., Esmaeilzadeh Moghaddam, M., & Mahlooji, M. (2022).** Genetic analysis of salinity tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Public Library of Science one*, 17(3), e0265520

## Evaluation of Some Quality Traits of Wheat Flour under Salinity Stress

Fatemeh Rajabi Kharzooqi<sup>1</sup>, Mohammad Mehdi Majidi<sup>2</sup>, Ahmad Arzani<sup>2</sup> and Ali Rabani Khorasgani<sup>3</sup>

1-Master Student at Isfahan University Of Technology (Email: [fa.rajabi2018@gmail.com](mailto:fa.rajabi2018@gmail.com))

2-Professors of Genetic and Plant Breeding, Department of Agronomy and Plant breeding, college of agriculture, Isfahan University of Technology

3- PhD student at Isfahan University of Technology.

## Abstract

Wheat, as one of the main sources of energy and food for humans, has always been a focus for increasing plant yield and nutritional value. However, improving grain yield and quality in wheat has faced various challenges. Salinity stress is one of the important non-biological stresses that has detrimental effects on grain yield and product quality. This research is conducted to compare some flour quality traits in new genetically modified wheat lines and some common varieties in order to identify superior genotypes in a randomized complete block design under salinity stress and non-stress conditions at the research farm of Isfahan University of Technology. In this study, 100 synthetic wheat lines and 9 common bread wheat varieties, along with 2 tetraploid wheat varieties, were used to investigate wheat flour quality traits, including protein content, sedimentation value, loaf volume index, and gluten content. Analysis of variance was performed based on a composite analysis design, which indicated significant differences between genotypes for all studied traits, demonstrating high genetic diversity in the germplasm studied in terms of quality traits, indicating the high potential of modern lines in wheat breeding processes. The results of this experiment showed that identifying genotypes with desirable quality traits is possible in breeding programs aimed to improve wheat bakery quality.

**Keywords:** Wheat, Salinity stress, Sedimentation value, Protein, Nutritional value

## بررسی تاثیر سطوح مختلف تنش اسمزی بر ترکیبات فنولی در کشت سلولی

### گیاه کتان سفید

زهرا رحیم پور کلخوران<sup>1</sup>

<sup>1</sup> کارشناسی ارشد، زیست شناسی فیزیولوژی گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس

محسن شریفی<sup>2\*</sup>

<sup>2\*</sup> استاد، زیست شناسی فیزیولوژی گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس

آدرس ایمیل:

zahra.rahimpour@modares.ac.ir

### چکیده

در سالهای اخیر، کاهش بارندگی در ایران جمعیت بسیاری از گیاهان دارویی را دستخوش تغییراتی قرار داده است. گیاه کتان سفید (*Linum album* Kotschy ex Boiss) یک گیاه ارزشمند دارویی و بومی ایران است. این گیاه حاوی ترکیبات فنولی مختلفی از جمله پودوفیلوتوکسین بوده که امروزه به طور گسترده‌ای در درمان بسیاری از بیماری‌ها مانند سرطان کاربرد دارند. کاهش بارندگی منجر به القای تنش اسمزی در گیاهان شده که می‌تواند بر عملکرد و تحمل‌پذیری گیاهان اثر داشته باشد. از آنجایی که ارزیابی مقاومت یا حساسیت کتان سفید به افزایش خشکی به منظور حفاظت آن ضروری به نظر می‌رسد، در این مطالعه، تأثیر سطوح مختلف تنش اسمزی بر وضعیت پاداکسایندگی لیگنان‌ها و ترکیبات فنولی در کشت سلول گیاه کتان سفید مورد بررسی قرار گرفت. به منظور بررسی تنش اسمزی بر سلول‌ها، غلظت‌های مختلفی از پلی اتیلن گلیکول (PEG 6000) (0، 0.5، 1، 2 و 5 درصد) در کشت سلول گیاه کتان سفید استفاده شد. در این مطالعه، اثر تنش اسمزی بر رشد سلول‌های کتان سفید، محتوای ترکیبات لیگنانی و اسیدهای فنولی مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که مقدار ترکیبات فنولی مانند اسیدهای فنولی و پودوفیلوتوکسین به طور معناداری در پاسخ به افزایش غلظت PEG افزایش یافت که می‌تواند بیانگر نقش محافظتی این ترکیبات در برابر تنش اسمزی در گیاه کتان سفید باشد.

**کلمات کلیدی:** پلی اتیلن گلیکول، ترکیبات فنولی، تنش اسمزی، کتان سفید، کشت سلولی

### مقدمه

گیاه کتان سفید با نام علمی *Linum album* یک گونه بومی در ایران است و به دلیل داشتن ترکیبات فنولی، لیگنان‌ها، سینامیک اسید، ساپونین و آلکالوئیدهای پیرولیزیدین دارای اهمیت دارویی می‌باشند<sup>(1)</sup>. لیگنان‌ها از جمله متابولیت‌های ثانوی در گیاهان هستند و نقشی دفاعی در گیاه ایفا کرده و در برابر عوامل بیماری‌زا کاربرد دارند<sup>(2)</sup>. این ترکیبات در درمان بسیاری از بیماری‌ها از جمله سرطان مورد استفاده قرار می‌گیرد. از جمله مهم‌ترین لیگنان‌ها، که در گیاه کتان سفید وجود دارد پودوفیلوتوکسین و 6-متوکسی پودوفیلوتوکسین است.

تنش خشکی یکی از عوامل اصلی محدود کننده عملکرد گیاهان در اکثر مناطق جهان است. گیاهان می‌توانند از طریق بروز انواع پاسخ‌های فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی در برابر چنین شرایطی سازگار شوند<sup>(3)</sup>. مطالعات زیادی نشان داده‌اند تنش خشکی می‌تواند تولید متابولیت‌های ثانوی از جمله فنول‌ها، ترپن‌ها و... به مقدار زیادی در گیاهان تحریک کند<sup>(4)</sup>. این ترکیبات در شرایط

تنش اسمزی حاصل از خشکی نقش پاداکساینده دارند. این گروه از ترکیبات از سلول‌ها در برابر اثرات مخرب گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، پراکسیداسیون غشاهای لیپیدی، آسیب پروتئین‌ها و ماده‌ی ژنتیکی محافظت می‌کنند.<sup>(5)</sup> در ایران بیش از 75 درصد از مناطق خشک و نیمه خشک بوده و به عنوان مناطق کم آب طبقه بندی می‌شوند. این مناطق شامل بیشتر نقاطی است که گیاه کتان سفید در آن رشد می‌کند.<sup>(6)</sup> بنابراین، در این مطالعه پاسخ‌های گیاه کتان سفید در برابر پلی اتیلن گلیکول (PEG) به عنوان شبیه ساز تنش خشکی در گیاهان، مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور، تغییرات ترکیبات فنولی از جمله لیگنان‌ها و اسیدهای فنولی تحت تاثیر غلظت‌های مختلف PEG در کشت سلولی این گیاه بررسی شد.

### مواد و روش

#### کشت سلولی و تیماردهی

در این مطالعه سلول‌های کتان سفید در محیط کشت MS حاوی 2 میلی‌گرم بر لیتر هورمون NAA و 0/4 میلی‌گرم بر لیتر هورمون KIN کشت داده شد.<sup>(7)</sup> به منظور انتخاب غلظت‌های مناسب تیمار، سلول‌ها در روز هفتم واکشت با غلظت‌های مختلف 0، 0/5، 1، 2، 5 درصد پلی اتیلن گلیکول PEG 6000 تیماردهی شدند. سلول‌ها پس از گذشت 5 روز از تیماردهی جمع‌آوری و وزن تر آن‌ها اندازه گیری شد.

#### استخراج و اندازه گیری مقدار لیگنان‌ها به کمک HPLC

در این روش ابتدا 0/2 گرم از بافت خشک سلول را در 2 میلی‌لیتر متانول 80 درصد ساییده شد. محلول حاصل به مدت نیم ساعت در حمام آب سرد اولتراسونیک قرار گرفت. پس از سانتریفیوژ محلول رویی به ویال جدیدی منتقل شد تا فاز متانولی آن تبخیر شود. سپس 1 میلی‌لیتر آب دیونیزه به نمونه‌های خشک شده اضافه و ورتکس شدند. محلول آبی با 2 میلی‌لیتر اتیل استات شست و شو شد. فاز اتیل استات به ویال جدید منتقل شد تا تبخیر شود. در نهایت رسوب خشک شده برای تزریق به دستگاه HPLC در 500 میکرولیتر متانول حل شد.<sup>(8)</sup>

#### استخراج و اندازه گیری مقدار اسیدهای فنولی به کمک HPLC

برای استخراج ترکیبات فنولی 0/2 گرم بافت تر سلولی در 2 میلی‌لیتر متانول ساییده شد. محلول به دست آمده پس از 3 ساعت شیک شدن سانتریفیوژ شد. روشناور به فالكون دیگری منتقل گردید تا خشک شود. به رسوب خشک شده 4 میلی‌لیتر استونیتریل افزوده شد. سپس 3 میلی‌لیتر ان-هگزان به آن اضافه شد تا محلول به دو فاز تقسیم شود. فاز استونیتریل نگه داشته شد تا خشک شود. در نهایت رسوب خشک شده در 500 میکرولیتر متانول حل شد و به دستگاه HPLC تزریق شد.<sup>(9)</sup>

#### تجزیه و تحلیل آماری

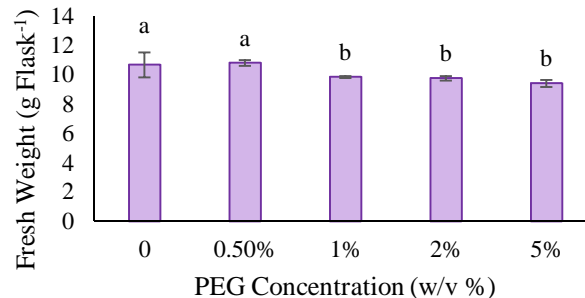
آنالیزهای آماری در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار مستقل انجام گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام شد. آزمون دانکن نیز جهت معنی‌دار بودن تفاوت‌ها در سطح  $p \leq 0/05$  انجام شد.

#### نتایج

تاثیر غلظت‌های مختلف PEG بر رشد سلول‌های کتان سفید



نتایج نشان دهنده کاهش معنی دار وزن تر سلول‌ها در تمامی غلظت‌های اعمال شده PEG 6000 به جز غلظت 0/5 درصد نسبت به شرایط شاهد بود (شکل 3-1).



شکل 3-1 اثر غلظت‌های مختلف PEG بر وزن تر سلول‌های کتان سفید. مقادیر نشان داده شده میانگین 3 تکرار  $\pm$  انحراف معیار می‌باشد. حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی دار در سطح  $p \leq 0/05$  می‌باشد.

#### تأثیر غلظت‌های مختلف PEG بر تولید لیگنان‌ها

اثر غلظت‌های مختلف PEG 6000 بر تولید لیگنان‌ها در سلول‌های کتان سفید مطالعه شد. نتایج بررسی نشان داد که مقدار پینورزینول در غلظت‌های 1 و 5 درصد در سطح  $p \leq 0/05$  به طور معنی داری افزایش داشت. مقدار لاریسی رزینول در غلظت‌های 1 و 2 درصد نسبت به شاهد افزایش معنی دار نشان داد. مقدار پودوفیلوتوکسین در تمامی غلظت‌ها افزایش یافت و به طوری که در غلظت 5 درصد به بیشترین مقدار خود حدود 2 برابر نمونه شاهد رسید (جدول 3-1).

#### تأثیر غلظت‌های مختلف PEG بر تولید اسیدهای فنولی

نتایج نشان داد که مقدار کوماریک اسید در غلظت 5 درصد حدود 9 برابر نسبت به نمونه شاهد افزایش یافت. اسید فنولی سالیسیلیک اسید در غلظت‌های 0/5 و 1 درصد افزایش معنی داری نشان داد. مقدار سینامیک اسید نیز در غلظت 5 درصد به طور معنی دار نسبت به شاهد افزایش داشت و مقدار آن حدود 5 برابر بیشتر از شاهد بود (جدول 3-1).

جدول 3-1 اثر غلظت‌های مختلف PEG بر مقدار لیگنان‌ها و اسیدهای فنولی در سلول‌های کتان سفید. مقادیر نشان داده شده

میانگین 3 تکرار  $\pm$  انحراف معیار است. حروف متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح  $p \leq 0/05$  می‌باشد.

اسیدهای فنولی			لیگنان‌ها			PEG (%)
کوماریک اسید ( $\mu\text{g g}^{-1}$ FW)	سالیسیلیک اسید ( $\mu\text{g g}^{-1}$ FW)	سینامیک اسید ( $\mu\text{g g}^{-1}$ FW)	پودوفیلوتوکسین ( $\mu\text{g g}^{-1}$ DW)	لاریسی رزینول ( $\mu\text{g g}^{-1}$ DW)	پینورزینول ( $\mu\text{g g}^{-1}$ DW)	
0/13 $\pm$ 0/03 <sup>e</sup>	N.F <sup>b</sup>	0/51 $\pm$ 0/07 <sup>c</sup>	32/29 $\pm$ 0/30 <sup>c</sup>	60/26 $\pm$ 4/81 <sup>bc</sup>	0/1773 $\pm$ 0/007 <sup>c</sup>	0
0/40 $\pm$ 0/03 <sup>c</sup>	1/66 $\pm$ 1/05 <sup>a</sup>	0/59 $\pm$ 0/14 <sup>c</sup>	36/05 $\pm$ 7/06 <sup>c</sup>	58/48 $\pm$ 5/36 <sup>c</sup>	0/2175 $\pm$ 0/01 <sup>b</sup>	0/5

0/50±0/13 <sup>c</sup>	1/68±0/22 <sup>a</sup>	0/29±0/01 <sup>d</sup>	42/13±7/43 <sup>bc</sup>	70/70±0/7 <sup>a</sup>	0/2411±0/01 <sup>a</sup>	1
1/52±0/08 <sup>b</sup>	0/45 <sup>b</sup>	0/64±0/07 <sup>b</sup>	49/64±3/68 <sup>ab</sup>	68/39±2/06 <sup>a</sup>	0/2340±0/007 <sup>ab</sup>	2
2/38±0/27 <sup>a</sup>	0/54 <sup>b</sup>	1/16±0/09 <sup>a</sup>	58/96±7/73 <sup>a</sup>	65/38±2/56 <sup>ab</sup>	0/2553±0/01 <sup>a</sup>	5

#### بحث

نتایج نشان داد که غلظت‌های مختلف PEG پس از گذشت 120 ساعت از اعمال تیمار منجر به کاهش معنی‌دار وزن تر سلول‌های کتان سفید شدند. کاهش رشد می‌تواند به دلیل افزایش مقدار ROS در گیاه و صرف انرژی برای مقابله با اثرات مخرب این ترکیبات باشد<sup>(10)</sup>.

لیگنان‌ها ترکیبات فنولی دارای خواص دفاعی از جمله پاداکسایدنگی در برابر تنش‌های محیطی می‌باشند<sup>(11)</sup>. در مطالعه حاضر نیز مقدار پینورزینول، لاریسی رزینول و پودوفیلوتوکسین افزایش یافت. این افزایش با شدت گرفتن تنش بیشتر شد که می‌تواند نشان دهنده اثر محافظت کنندگی لیگنان‌ها در پاسخ به تنش خشکی در گیاه کتان سفید باشد<sup>(10)</sup>.

در این مطالعه نتایج هم‌چنین نشان داد که تنش خشکی منجر به افزایش مقدار اسیدهای فنولی سینامیک اسید و کوماریک اسید در سلول‌های گیاه کتان سفید می‌شود. مقدار ترکیبات در غلظت 5 درصد به بیشترین مقدار خود رسید. این اسیدهای فنولی پیش ساز سایر اسیدهای فنولی بوده و افزایش آن‌ها می‌تواند در جهت افزایش ترکیبات فنولی بیشتری باشد. هم‌چنین مقدار سالسیلیک اسید نیز در سلول‌های تیمار شده با PEG در مقایسه با نمونه شاهد افزایش یافت. به طور کلی می‌توان بیان کرد که اسیدهای فنولی مختلف در سلول‌های گیاه کتان سفید نقش محافظتی در شرایط تنش خشکی ایفا می‌کنند<sup>(12)</sup>.

#### نتیجه گیری

به طور کلی می‌توان نتیجه گیری کرد که رشد گیاه کتان سفید به عنوان یک گیاه ارزشمند دارویی بومی ایران تحت تنش خشکی کاهش می‌یابد. به نظر می‌رسد که در این شرایط تولید و تجمع ترکیبات فنولی از جمله لیگنان‌ها و اسیدهای فنولی پاسخی مقاومتی بوده که از آسیب بیش از حد به گیاه جلوگیری می‌کند.

#### منابع

- Hemmati, S. Biosynthesis of lignans in plant species of the section *Linum*: pinoresinol-lariciresinol reductase and justicidin B 7-hydroxylase. (2007).
- Suzuki, S. & Umezawa, T. Biosynthesis of lignans and norlignans. **9**, 273–284 (2007).
- Shehab, G. G., AHMED, K. O. & EL-BELTAGI, H. S. Effects of Various Chemical Agents for Alleviation of Drought Stress in Rice Plants (*Oryza sativa L.*). Hort. Agrobot. Cluj **38**, 139–148 (2010).
- Moinuddin, Khan, M. M. A. & Naeem, M. Drought stress effects on medicinal and aromatic plants and the possible stress amelioration by mineral nutrition – a review. Med. Aromat. Plant Sci. Biotechnol. **6**, 69–83 (2012).
- Krol, A., Amarowicz, R. & Weidner, S. Changes in the composition of phenolic compounds and antioxidant properties of grapevine roots and leaves (*Vitis vinifera L.*) under continuous of long-term drought stress. 1491–1499 (2014) doi:10.1007/s11738-014-1526-8.
- Kiani, R., Nazeri, V., Shokrpour, M. & Hano, C. Morphological, Physiological, and Biochemical Impacts of Different Levels of Long-Term Water Deficit Stress on *Linum album* Ky. ex Boiss. Accessions. (2020).

7. فخاری ص. (1389). بررسی تغییرات میزان پودوفیلوتوکسین در پاسخ به تنظیم کننده های رشد گیاهی و متیل جاسمونات در کشت کالوس و گیاهچه *Linum album*. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم زیستی.
8. Zhang, Z. *et al.* Optimization of ethanol – water extraction of lignans from flaxseed. **57**, 17–24 (2007).
9. Owen, R. W. *et al.* Isolation , structure elucidation and antioxidant potential of the major phenolic and flavonoid compounds in brined olive drupes. **41**, 703–717 (2003).
10. Mechri, B., Tekaya, M., Hammami, M. & Chehab, H. Effects of drought stress on phenolic accumulation in greenhouse-grown olive trees ( *Olea europaea* ). *Biochem. Syst. Ecol.* **92**, 104112 (2020).
11. Hamade, K. *et al.* NMR and LC-MS-Based Metabolomics to Study Osmotic Stress in Lignan-Deficient Flax. 1–23 (2021).
12. Falahi, H., Sharifi, M., Maiyan, H. Z. & Chashmi, N. A. Phenylethanoid glycosides accumulation in roots of *Scrophularia striata* as a response to water stress Authors: *Environ. Exp. Bot.* (2017) doi:10.1016/j.envexpbot.2017.11.003.

## Investigating the effect of different levels of osmotic stress on phenolic compounds in *Linum album* cell culture

Zahra Rahimpour Kalkhoran<sup>1</sup>

Mohsen Sharifi<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Department of Plant Biology, Faculty of Biological Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

Email address: zahra.rahimpour@modares.ac.ir

### Abstract

In recent years, the decrease in rainfall in Iran has changed the population of many medicinal plants. *Linum album* (Kotschy ex Boiss) is a valuable medicinal plant native to Iran. This plant contains various phenolic compounds, including podophyllotoxin, widely used to treat many diseases such as cancer. The decrease in rainfall has led to the induction of osmotic stress in plants, which can affect the performance and tolerance of plants. Since it seems necessary to evaluate the resistance or sensitivity of *L. album* to increased drought to protect it, in this study, the effect of different levels of osmotic stress on the antioxidant status lignans and phenolic compounds in *L. album* cell culture was investigated. Different concentrations of polyethylene glycol (PEG 6000) (0, 0.5, 1, 2, and 5%) were used in *L. album* cell culture to investigate the osmotic pressure on cells. In this study, the effect of osmotic stress on the growth of *L. album* cells, the content of lignan compounds, phenolic acids and flavonoids were investigated. The results showed that the content of phenolic compounds such as phenolic acids, flavonoids, and podophyllotoxin increased significantly in response to the increase in PEG concentration, which can indicate the protective role of these compounds against osmotic stress in *the L. album* plant.

**Keywords:** Cell culture, *Linum album*, Osmotic stress, Phenolic compounds, Polyethylene glycol.

## مطالعه ارتباط تبادلات گازی و محتوی نسبی آب برگ در دو رقم گندم در شرایط تنش خشکی

\*افشین توکلی زانیانی<sup>1</sup> و مریم شوکی مقرب<sup>2</sup>

1. دانشیار فیزیولوژی گیاهان زراعی دانشگاه زنجان

2. دانشجوی دوره دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی، دانشگاه زنجان (نویسنده مسئول) ایمیل: mogharabi.2012@yahoo.com

### چکیده

تنش خشکی از جمله عوامل بسیار مهم در کاهش فتوسنتز و تولید گیاهان زراعی است در مطالعه حاضر رابطه بین تبادلات گازی دو رقم گندم با میزان محتوی نسبی آب برگ مورد بررسی قرار گرفته است. این تحقیق به صورت یک آزمایش فاکتوریل دو عاملی در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان انجام شده است. عامل های مورد بررسی تنش خشکی در دو سطح شاهد و تنش خشکی و عامل دوم دو رقم گندم شیراز و بک کراس روشن بهاره بود. تنش خشکی با قطع آبیاری در مرحله شروع گرده افشانی دانه اعمال شد و قطع آبیاری تا رسیدن پتانسیل آب خاک به حدود 2- مگاپاسکال ادامه یافت. از زمان شروع قطع آبیاری به صورت یک روز در میان محتوی نسبی آب برگ پرچم و میزان تبادلات گازی اندازه گیری شد. بررسی نتایج به دست آمده نشان دهنده این است که با کاهش میزان محتوی نسبی آب برگ میزان هدایت روزنه ای کاهش یافته و به دنبال آن میزان فتوسنتز برگ نیز کاهش یافته است. نتایج نشان دهنده این است که رقم بک کراس روشن بهاره نسبت به تنش خشکی سریعتر عکس العمل نشان داده و در یک محتوی نسبی آب برابر با رقم شیراز میزان هدایت روزنه ای و فتوسنتز کمتری داشته است. ضریب تبیین بالای خطوط رگرسیون بین میزان فتوسنتز و هدایت روزنه ای نشان دهنده این بود که در این تحقیق عامل اصلی کاهش فتوسنتز در هر دو رقم عامل روزنه ای و کاهش ورود دی اکسید کربن به گیاه است.

واژگان کلیدی: هدایت روزنه ای، فتوسنتز، رگرسیون خطی، تنش خشکی، گندم

### مقدمه

تنش خشکی بیش از هر عامل محیطی دیگر باعث محدود شدن رشد گیاهان و کاهش محصولات زراعی می شود (1). تنش خشکی مفاهیم مختلفی دارد و از دید فیزیولوژیست های گیاهی تنش خشکی زمانی اتفاق می افتد که خروج آب از گیاه در فرایند تعرق بیش از آب جذب شده توسط ریشه گیاه باشد (6). میزان و تعادل آب سلول و گیاه به وسیله از بین رفتن آب در فرایند تعرق و جذب آب از خاک تعیین می شود (3). برای اندازه گیری و کمی کردن وضعیت آب گیاه می توان از پارامترهای پتانسیل آب گیاه ( $w\psi$ ) و محتوی آب نسبی (RWC) استفاده کرد. پتانسیل آب گیاه از حاصل جمع دو جزء پتانسیل فشاری (P) و پتانسیل اسمزی ( $\pi$ ) به دست می آید. بنابراین پتانسیل آب سلول بستگی به غلظت مواد محلول و ارتجاع پذیری دیواره سلولی دارد و به طور مستقیم با اندازه سلول ارتباط ندارد (2). محتوی آب نسبی نشان دهنده نسبت میزان آب موجود در گیاه یا بافت به کل آب موجود در حالت اشباع است. محتوی آب نسبی برآوردی از تغییرات نسبی حجم سلول است و توازن بین آب برگ و مقدار تعرق را بهتر نشان می دهد.

بنابراین محتوی آب نسبی در مقایسه با پتانسیل آب شاخص بهتری برای نشان دادن وضعیت آبی گیاه است. محتوی آب نسبی همچنین به علت استاندارد شدن آن نسبت به شرایط اشباع و تورژرسانس کامل می‌تواند به عنوان یک شاخص مناسب برای مقایسه وضعیت آب بافت‌ها و گونه‌های مختلف گیاهی مورد استفاده قرار گیرد (3). علاوه بر مسائل عنوان شده سادگی و ارزان بودن اندازه‌گیری محتوی آب نسبی نیز استفاده از این شاخص را افزایش داده است.

مواد فتوسنتزی ذخیره شده در دانه از دو منبع فتوسنتز جاری و مواد فتوسنتزی ذخیره شده در اندام‌های رویشی تأمین می‌شود. در شرایط مطلوب، فتوسنتز جاری در طی پر شدن دانه تقریباً 70 تا 90 درصد عملکرد نهایی دانه را تأمین می‌کند و برگ پرچم معمولاً بیشترین سهم را در تولید مواد فتوسنتزی دانه دارد به طوری که حدود 60 درصد قندهای دانه از فتوسنتز برگ پرچم تأمین می‌شود (4). همبستگی مثبت بین میزان هدایت روزنه‌ای برگ پرچم و میزان عملکرد دانه در شرایط آبیاری کامل در بسیاری تحقیقات انجام شده به دست آمده است. هدف از انجام این تحقیق بررسی ارتباط بین محتوی نسبی آب برگ و تبادلات گازی در دو رقم گندم و مطالعه عکس‌العمل تبادلات گازی این دو رقم به شرایط تنش خشکی و کمبود آب بود.

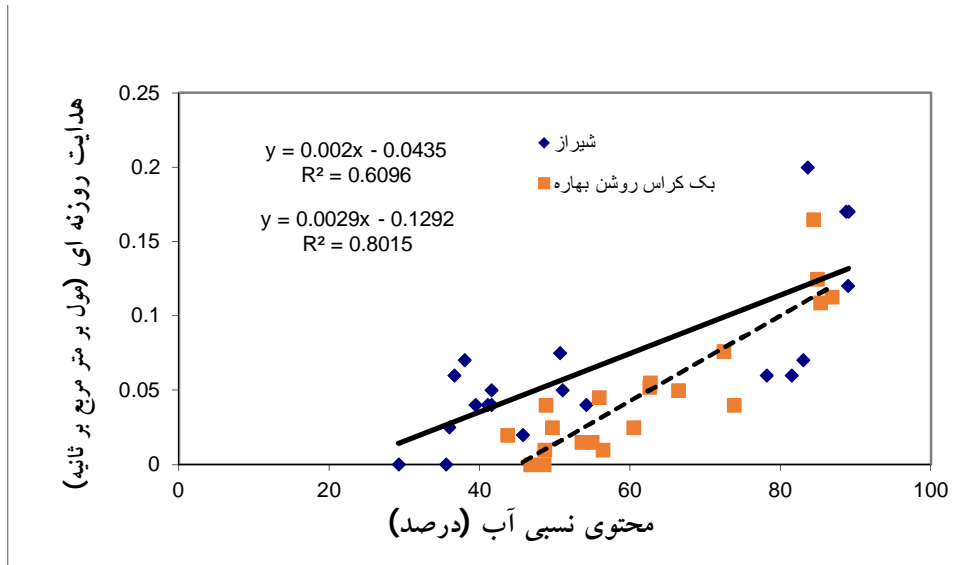
#### مواد و روشها

این تحقیق به صورت یک آزمایش فاکتوریل دو عاملی در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان انجام شد. عاملهای مورد بررسی تنش خشکی در دو سطح شاهد و تنش خشکی و عامل دوم دو رقم گندم شیراز و بک کراس روشن بهاره بود. گیاهان در گلدانهای با قطر 25 و ارتفاع 30 سانتی متر کشت شد و در هر گلدان پس از تنک کردن 10 بوته حفظ شد. پس از 4 برگی شدن بوته‌ها گلدانها جهت انجام بهاره سازی به مدت 45 روز در فضای بیرون گلخانه نگهداری شدند و سپس مجدد به فضای گلخانه منتقل شدند. دمای گلخانه به تدریج در طی 10 روز جهت سازگاری گلدانها افزایش یافت سپس دما تا پایان رشد بوته به صورت 25 درجه سانتی گراد روز و 15 درجه سانتی گراد شب تنظیم شد. گلدانها تا مرحله شروع گرده افشانی (کد 61 زادوکس) به صورت یکسان آبیاری شدند. تنش خشکی با قطع آبیاری در مرحله شروع گرده افشانی اعمال شد و قطع آبیاری تا رسیدن پتانسیل آب خاک به حدود -2 مگاپاسکال ادامه یافت. از زمان شروع قطع آبیاری به صورت یک روز در میان جهت تعیین پتانسیل آب خاک، محتوی نسبی آب برگ پرچم از گلدانها و برگ پرچم بوته‌ها نمونه برداری شد. میزان تبادلات گازی در برگ پرچم نیز توسط دستگاه IRGA (مدل 4LCA شرکت ADC) اندازه گیری شد. اندازه گیری تبادلات گازی از همان برگی انجام شد که جهت اندازه گیری محتوی نسبی آب نمونه برداری می‌شد. پس از انجام اندازه گیری‌ها و محاسبات لازم با استفاده از نرم افزار SAS نسخه 9,2 بین داده‌ها رگرسیون خطی ساده برازش داده شد و نمودارها نیز با استفاده از نرم افزار Excel ترسیم شد.

#### نتایج و بحث

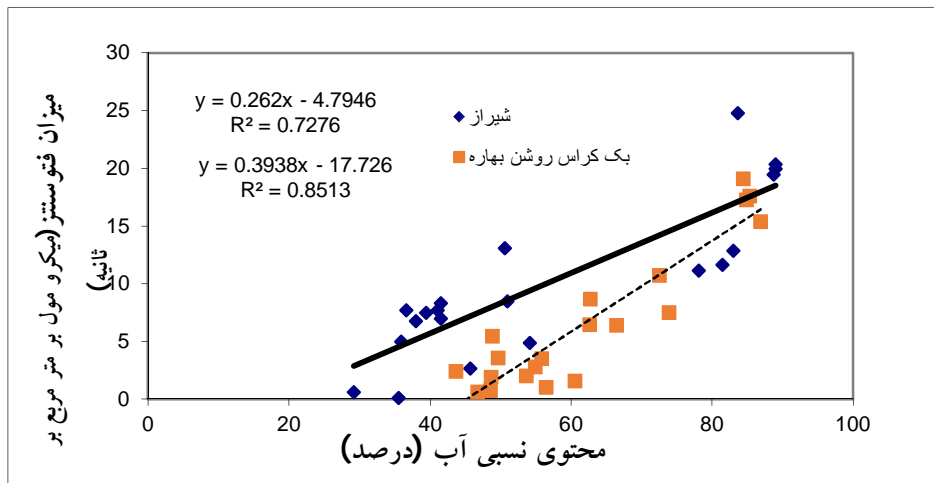
بررسی ارتباط محتوی نسبی آب در شکل یک نشان دهنده این است با کاهش محتوی نسبی آب برگ میزان هدایت روزنه‌ای نیز در هر دو رقم کاهش یافته است ولی میزان کاهش در دو رقم یکسان نبوده و به طور کلی میزان هدایت روزنه‌ای در میزان محتوی نسبی آب مشابه در رقم بک کراس روشن بهاره پایین تر از رقم شیراز است (شکل 1). کاهش هدایت روزنه‌ای ناشی از بسته شدن

روزنه ها در شرایط تنش است. در شرایط تنش خشکی میزان محتوی نسبی آب برگ به علت کاهش میزان آب در دسترس گیاه کاهش می یابد که موجب پلاسمولیز سلولهای محافظ روزنه و بسته شدن روزنه می شود. عامل دیگر بسته شدن روزنه ها در شرایط تنش خشکی افزایش میزان هورمون ABA در اطراف سلولهای محافظ روزنه است. افزایش میزان هورمون ABA در شرایط تنش خشکی در اطراف سلولهای محافظ روزنه در مطالعات مختلفی گزارش شده است (5). نتایج نشان دهنده این است که در رقم بک کراس روشن بهاره پاسخ به کمبود آب و تنش خشکی زودتر اتفاق افتاده و روزنه ها سریعتر بسته شده است (شکل 1).



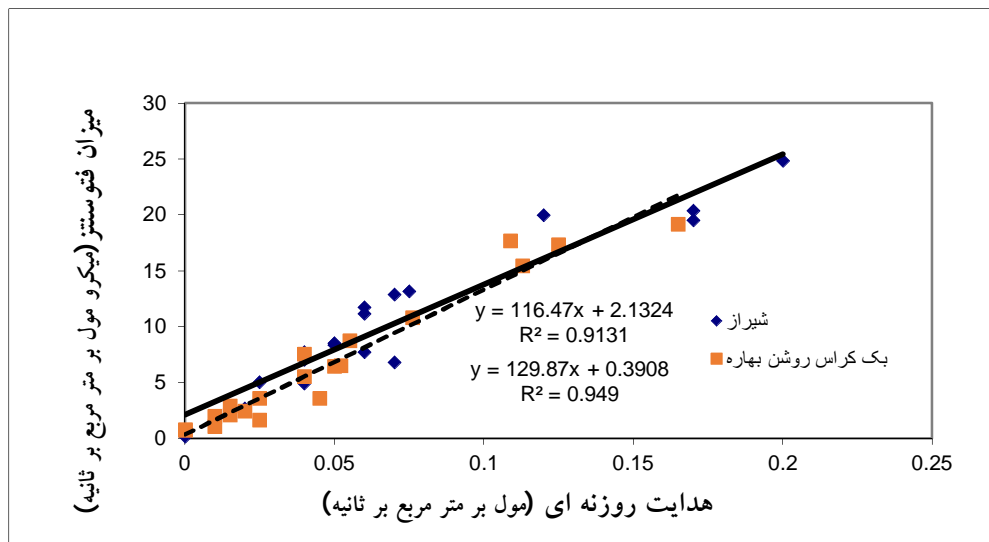
شکل 1- رابطه بین هدایت روزنه ای و محتوی آب نسبی در شرایط تنش خشکی در دو رقم گندم

رابطه بین میزان فتوسنتز و محتوی نسبی آب نشان دهنده این است که با افزایش میزان محتوی نسبی آب برگ میزان فتوسنتز گیاه نیز در هر دو رقم مورد مطالعه افزایش یافته است اما در مقادیر محتوی نسبی آب کمتر رقم بک کراس روشن بهاره مقادیر کمتر فتوسنتز را داشته است (شکل 2). کمتر بودن میزان فتوسنتز در این رقم همان طور که در شکل یک نیز دیده می شود ناشی از کمتر بودن هدایت روزنه ای بوده که موجب ورود کمتر 2CO به گیاه و در نهایت فتوسنتز کمتر می شود. کاهش با شیب زیادتر فتوسنتز در رقم بک کراس روشن بهاره نسبت به رقم شیراز نشان دهنده این است که این رقم عکس العمل سریعتری نسبت به افزایش شدت تنش داشته است این مسئله از یک جهت باعث حفظ بهتر آب گیاه و از طرف دیگر کاهش فتوسنتز و تولید گیاه می شود.



شکل 2- رابطه بین فتوستتزر و محتوی آب نسبی در شرایط تنش در دو رقم گندم

در شکل 3 ارتباط بین میزان فتوستتزر و هدایت روزنه ای در دو رقم مورد مطالعه نشان داده شده است همان گونه که در شکل مشخص است ارتباط بین فتوستتزر و هدایت روزنه ای در دو رقم بسیار مشابه است و در هر دو رقم با کاهش هدایت روزنه ای و بسته شدن روزنه ها که باعث کاهش ورود  $2CO$  به گیاه می شود میزان فتوستتزر کاهش می یابد (شکل 3). ارتباط قوی بین میزان هدایت روزنه ای و فتوستتزر نشان دهنده این است که در این آزمایش عامل اصلی کاهش فتوستتزر در شرایط تنش خشکی عامل روزنه ای است و عوامل غیر روزنه ای نقش خیلی کمتری در کاهش فتوستتزر دارند.



شکل 3- رابطه بین فتوستتزر و هدایت روزنه ای در شرایط تنش

به طور کلی می‌توان نتیجه‌گیری کرد که در شرایط تنش با کاهش میزان آب در دسترس گیاه میزان محتوی نسبی آب برگ کاهش یافته که منجر به کاهش هدایت روزنه‌ای و در نهایت فتوسنتز گیاه می‌شود. در رقم بک کراس روشن بهاره پاسخ به تنش خشکی سریعتر انجام شده که منجر به این مسئله شده که در محتوی نسبی آب بالاتر میزان هدایت روزنه‌ای و فتوسنتز کمتری داشته باشد.

منابع

- 1- Huang, B. 2000. Role of morphological and physiological characteristic in drought resistance of plants. In: Willkinson., (Eds.) Plant Environmental interaction. Marcel dekker inc. New York, pp:39-64.
- 2- Lawlor D.W. 1995. The effects of water deficit on photosynthesis. In Environment and Plant Metabolism (ed. N. Smirnoff), pp.129-160. Bios Scientific Publishers, Oxford
- 3- Lawlor, D. W. and G. Cornic, 2002. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant, Cell and Environ.* 25:275-294
- 4- Martinez, D. E., V. M. Luquez, C. G. Bartoli and J. J. Guiamet. 2003. Persistence of photosynthetic components and photochemical efficiency in ears of water stressed wheat (*Triticum aestivum*). *Physiologia Plantarum* 119:519-525.
- 5- Saradadevi R, Palta JA and Siddique KHM 2017. ABA-Mediated Stomatal Response in Regulating Water Use during the Development of Terminal Drought in Wheat. *Front. Plant Sci.* 8:1251.
- 6- Shepherd, A., S. m. McGinn, G. C. L. Wyseure. 2002. Simulation of the effect of water shortage on the yield of winter wheat in North-East England. *Ecological Modeling.* 147:41-52.

## Study of the relationship between gas exchanges and relative water content in two cultivars of wheat under drought stress conditions.

Afshin Tavakoli Zaniani<sup>1</sup>, Maryam Shokati Mogharab<sup>2</sup>

1. Associate Professor of Plant Physiology, Zanjan University

2. Ph.D. student of Crop Physiology, Zanjan University (corresponding author) email: mogharabi.2012@yahoo.com

### Abstract

Drought stress is one of the most important factors in reducing photosynthesis and production of crop plants. In the present study, the relationship between the gas exchange of two wheat cultivars and the relative water content of leaves has been investigated. This research was conducted as a factorial two-factor experiment in the research greenhouse of the Faculty of Agriculture of University of Zanjan. The investigated factors were drought stress in two levels (control and drought stress) and the second factor was Shiraz and Backcross Roshan Bahareh wheat cultivars. Drought stress was applied by interrupting irrigation at the anthesis, and the interruption of irrigation continued until the soil water potential reached about -2 MPa. Since the beginning of the interruption of irrigation, the relative water content of the flag leaf and the rate of gas exchange were measured every other day. The results show that with the decrease in the relative water content of the leaf, the stomatal conductance decreased and then the rate of leaf photosynthesis also decreased. The results show that Backcross cultivar Roshan Bahareh reacted faster to drought stress and had lower stomatal conductance and photosynthesis at a relative water content equal to Shiraz cultivar. The high explanatory coefficient of the regression lines between the amount of photosynthesis and stomatal conductance indicated that in this research the main factor of reducing photosynthesis in both cultivars is the stomatal factor and reducing the entry of carbon dioxide into the plant.

**Keywords:** stomatal conductance, photosynthesis, linear regression, drought stress, wheat



## کاربرد نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در بهبود جذب عناصر گیاهچه‌های بادرنجبویه تحت

### تنش خشکی این ویترو

رویا رضوی زاده<sup>1\*</sup>

1- دانشیار، دکتری فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، 193953697 تهران، ایران

razavi.roya@pnu.ac.ir

فاطمه ادب آوازه<sup>2</sup>

2- دکتری فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر کرمان

### چکیده

خشکی، به‌عنوان یک عامل اجتناب‌ناپذیر در محیط‌های مختلف، تأثیر نامطلوبی بر رشد، بهره‌وری و ظرفیت فتوسنتزی گیاهان دارد. از اینرو، توسعه روش‌های جدید برای کاهش اثرات منفی تنش خشکی، بویژه در اکوسیستم‌های تحت تنش آبی بسیار مهم است. اخیراً نشان داده شده‌است که نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم نقش مهمی در افزایش جذب مواد مغذی، مقاومت در برابر تنش‌های محیطی و رشد بهتر گیاه دارند. با توجه به اهمیت متابولیت‌های دارویی بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.)، هدف از این آزمایش بررسی نقش نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در بهبود جذب عناصر بادرنجبویه تحت تنش خشکی در کشت درون شیشه بود. برای این منظور، گیاهچه‌های دوهفته‌ای در محیط کشت MS حاوی 0، 50 و 100 میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم و پلی‌اتیلن گلیکول (0، 3 و 6 درصد) کشت داده شدند. دو هفته پس از تیمارها، کاهش عناصر ضروری در اثر تنش خشکی حاصل شد. در مقابل، کاربرد نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم محتوای عناصر را در شرایط خشکی افزایش داد. به‌طور کلی، استفاده از نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم در دوزهای نسبتاً پایین را می‌توان به‌عنوان یک استراتژی پایدار برای بهبود جذب عناصر غذایی در شرایط تنش خشکی توصیه کرد.

**واژگان کلیدی:** *Melissa officinalis* L.، تنش خشکی، عناصر ضروری، نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم

### مقدمه

تنش خشکی به‌عنوان یکی از نامطلوب‌ترین تنش‌های محیطی شناخته می‌شود که بر جذب مواد مغذی، ظرفیت فتوسنتزی و راندمان مصرف آب گیاهان تأثیر منفی می‌گذارد. بنابراین، بهره‌وری و کیفیت گیاه را کاهش می‌دهد. کاهش بهره‌وری گیاهان در شرایط خشکسالی به چالشی مهم برای تولیدکنندگان محصولات کشاورزی به‌ویژه، در مناطق خشک و نیمه‌خشک تبدیل شده است. از اینرو، در سال‌های اخیر، تعداد زیادی از تحقیقات به توسعه و به‌کارگیری استراتژی‌های کارآمد برای کاهش اثرات مخرب خشکی اختصاص یافته است. در حال حاضر، گزارش‌های مختلف ثابت کرده‌اند که تیتانیوم، بیشتر به شکل نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم، در افزایش جذب مواد مغذی و بهبود سرعت انتقال الکترون و کارایی فتوسنتزی در کلروپلاست مؤثر است که مستقیماً بر تنظیم فعالیت آنزیم‌های مهم و سایر فعالیت‌های فیزیولوژیکی تأثیر می‌گذارد و در نهایت به مقاومت گیاهان در برابر شرایط استرس‌زا کمک می‌کند (1). از اینرو، در این مطالعه نیز اثربخشی تیمار نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر جذب عناصر بادرنجبویه در شرایط خشکی تحت کشت درون شیشه مورد بررسی قرار گرفت. بادرنجبویه با نام

عملی *Mellissa officinalis L.* یک گیاه دارویی مهم متعلق به تیره نعنائیان است که از دیرباز در صنایع غذایی، دارویی و همچنین در رایحه درمانی استفاده می‌شده است. این گیاه دارویی منبع عالی از رزمارینیک، اولئانولیک، اسید اورسولیک، کوئرسیتین، سیترونال و تیمول است که با خواص درمانی آن مرتبط می‌باشد (2). فراوانی ترکیبات مؤثر با خواص آنتی-اکسیدانی شناخته شده در بادرنجبویه، ما را بر آن داشت که به منظور حفاظت از گیاه یک پروتکل آزمایشگاهی برای تکثیر گیاه و تولید سریع ترکیبات ارزشمند آن در مقادیر بالا ایجاد کنیم.

### مواد و روش ها

برای ارزیابی اینکه آیا نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم ( $TiO_2$  NPs) و پلی‌اتیلن گلیکول (PEG) بر تجمع عناصر ضروری گیاه تأثیر می‌گذارند از دستگاه طیف‌سنج نشراتی پلاسمایی جفت شده القایی (ICP-OES) استفاده شد (3). نتایج بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک ثبت گردید.

این آزمایش به صورت فاکتوریل  $3 \times 3$  در یک طرح کاملاً تصادفی شامل سه سطح خشکی و سه سطح نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم انجام شد. داده‌ها با سه تکرار بیولوژیکی با استفاده از ANOVA و نرم افزار آماری SAS مورد تجزیه آماری قرار گرفتند. تفاوت معنی‌داری بین میانگین داده‌ها توسط LSD در سطح  $p \leq 0/05$  تعیین و نتایج به صورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد بیان شد.

### نتایج و بحث

تجمع عناصر ضروری از جمله کلسیم (Ca)، منیزیم (Mg)، فسفر (P)، پتاسیم (K)، منگنز (Mn)، روی (Zn)، مس (Cu)، مولیبدن (Mo) و آهن (Fe) تحت تیمار  $TiO_2$  NPs یکی از دستاوردهای مهم در این تحقیق بود (جدول 1). نتایج نشان داد که محتوای اکثر این عناصر در گیاهچه‌هایی که در معرض تنش خشکی قرار داشتند کم بوده و کاربرد نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم باعث افزایش جذب آن‌ها شد. با این حال، میزان Mo و Cu در 6% PEG با  $TiO_2$  NPs کاهش یافت. همچنین نتایج نشان داد کاربرد  $TiO_2$  NPs به‌تنهایی محتوای این عناصر را بهبود می‌بخشد. همان‌طور که در جدول 1 نشان داده شده است، در مقایسه با شاهد، هر دو غلظت  $TiO_2$  NPs باعث افزایش کلسیم (7/2 و 15/7%)، منیزیم (9/8 و 0/02%)، مس (184/8 و 292/4%)، منگنز (17/9 و 17/5%)، فسفر (14/5 و 6/6%) و روی (4/5 و 13/4%) شد؛ در حالی‌که، میزان مولیبدن (20%/5) و آهن (9%) در گیاهچه‌های تیمار شده با غلظت بالای  $TiO_2$  NPs کاهش یافت.

جدول 1: اثر غلظت‌های مختلف نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم و پلی‌اتیلن گلیکول بر عناصر غذایی مهم در گیاهچه‌های بادرنجبویه رشد

یافته در شرایط کشت درون شیشه

PEG (%)	$TiO_2$ NPs ( $mg L^{-1}$ )	Ca ( $mg g^{-1} DW$ )	P ( $mg g^{-1} DW$ )	K ( $mg g^{-1} DW$ )	Mg ( $mg g^{-1} DW$ )	Fe ( $mg g^{-1} DW$ )	Mn ( $mg g^{-1} DW$ )	Cu ( $mg g^{-1} DW$ )	Zn ( $mg g^{-1} DW$ )	Mo ( $mg g^{-1} DW$ )
0	0	9305.36 <sup>a</sup> ± 30.28	3833.46 <sup>b</sup> ± 19.78	561082 <sup>a</sup> ± 4627.34	5221.44 <sup>b</sup> ± 29.58	329.46 <sup>b</sup> ± 5.26	680.21 <sup>b</sup> ± 1.35	2.317 <sup>d</sup> ± 0.37	423.80 <sup>c</sup> ± 2.58	5.54 <sup>b</sup> ± 0.25
	50	9975.02 <sup>b</sup> ± 52.0	4390.31 <sup>a</sup> ± 51.59	489420 <sup>c</sup> ± 3991.71	5735.25 <sup>a</sup> ± 11.90	335.1 <sup>a</sup> ± 1.68	801.86 <sup>a</sup> ± 5.81	6.599 <sup>b</sup> ± 0.33	442.69 <sup>b</sup> ± 0.89	6.44 <sup>a</sup> ± 0.03
	100	10762.1 <sup>a</sup> ± 40.75	4086.89 <sup>b</sup> ± 18.75	509051 <sup>b</sup> ± 4998.59	5670.76 <sup>a</sup> ± 13.91	299.76 <sup>b</sup> ± 0.51	799.44 <sup>a</sup> ± 2.98	9.092 <sup>a</sup> ± 0.13	480.51 <sup>a</sup> ± 1.57	4.40 <sup>c</sup> ± 0.08
3	0	4038.80 <sup>a</sup> ± 14.55	2744.98 <sup>f</sup> ± 8.49	177415 <sup>a</sup> ± 3583.22	2972.34 <sup>f</sup> ± 11.40	186.28 <sup>f</sup> ± 0.92	452.21 <sup>d</sup> ± 4.58	1.134 <sup>e</sup> ± 0.10	358.12 <sup>d</sup> ± 5.37	2.57 <sup>e</sup> ± 0.12
	50	4981.71 <sup>c</sup> ± 23.65	3698.97 <sup>e</sup> ± 15.66	289778 <sup>d</sup> ± 5740.47	3537.41 <sup>e</sup> ± 50.96	302.84 <sup>b</sup> ± 1.31	530.31 <sup>c</sup> ± 2.37	4.896 <sup>b</sup> ± 0.11	349.96 <sup>e</sup> ± 1.49	4.16 <sup>cd</sup> ± 0.02
	100	5971.50 <sup>d</sup> ± 46.15	2962.16 <sup>e</sup> ± 6.33	263263 <sup>f</sup> ± 2779.78	3056.61 <sup>e</sup> ± 5.39	238.19 <sup>c</sup> ± 3.35	367.62 <sup>f</sup> ± 0.75	9.357 <sup>a</sup> ± 0.22	308.79 <sup>f</sup> ± 0.24	2.27 <sup>g</sup> ± 0.04
6	0	3104.75 <sup>b</sup> ± 17.24	2528.94 <sup>f</sup> ± 1.00	145548 <sup>b</sup> ± 764.53	1968.46 <sup>b</sup> ± 4.44	163.16 <sup>e</sup> ± 0.63	298.96 <sup>b</sup> ± 1.82	0.344 <sup>e</sup> ± 0.04	241.85 <sup>b</sup> ± 0.63	3.87 <sup>d</sup> ± 0.08

50	4212.68 <sup>f</sup> ± 35.75	3465.21 <sup>d</sup> ± 169.2	268637 <sup>ef</sup> ± 4258.25	2656.77 <sup>g</sup> ± 16.66	207.55 <sup>e</sup> ± 1.72	349.10 <sup>g</sup> ± 3.02	2.395 <sup>d</sup> ± 0.49	298.62 <sup>g</sup> ± 2.12	2.78 <sup>e</sup> ± 0.18
100	5006.65 <sup>e</sup> ± 14.65	3490.55 <sup>d</sup> ± 33.99	279523 <sup>de</sup> ± 1181.89	3201.4 <sup>d</sup> ± 3.60	218.16 <sup>d</sup> ± 0.5	427.77 <sup>e</sup> ± 1.10	0.386 <sup>e</sup> ± 0.06	295.47 <sup>g</sup> ± 0.60	2.20 <sup>g</sup> ± 0.02

مقادیر، میانگین سه تکرار  $\pm$  SE و حروف غیرمتشابه در هر ستون بیانگر اختلاف معنی دار براساس آزمون LSD در  $p \leq 0/05$  می باشد.

PEG: پلی اتیلن گلیکول، TiO<sub>2</sub> NPs: نانوذرات دی اکسید تیتانیوم، DW: وزن خشک

فسفر یکی از مواد مغذی ضروری برای ذخیره انرژی در گیاهان است که بر فتوسنتز تأثیر می گذارد. به خوبی ثابت شده است که ترشح اسید آلی جذب فسفر را افزایش می دهد و TiO<sub>2</sub> NPs به طور بالقوه می توانند بیان ژن های کد کننده ناقلین آن را افزایش دهند (4). آهن و منیزیم از دیگر عناصر کاربردی در فتوسنتز و سنتز کلروفیل هستند که در نهایت باعث بهبود زیست توده گیاهی می شوند. علاوه بر این، سایر عناصر غذایی ضروری مانند پتاسیم، کلسیم، روی، مس، منگنز و مولیبدن نقش های متفاوتی در متابولیسم گیاهان دارند، بنابراین کمبود آنها بر رشد و نمو گیاه تأثیر منفی خواهد گذاشت (5). نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که TiO<sub>2</sub> NPs محتوای این عناصر را حتی در شرایط خشکی افزایش می دهد که با گزارش های اخیر مبنی بر افزایش جذب مواد مغذی ضروری در شرایط نامطلوب مطابقت دارد (6-7). بنابراین، استفاده از TiO<sub>2</sub> NPs به عنوان یک استراتژی مؤثر برای کاهش اثرات نامطلوب خشکی بر رشد و جذب عناصر غذایی می تواند ارزش زیادی داشته باشد.

### نتیجه گیری

در این مطالعه، استفاده از TiO<sub>2</sub> NPs، که باعث بهبود محتوای عناصر ضروری مورد نیاز برای رشد گیاه، از جمله فسفر، آهن، منیزیم، پتاسیم، کلسیم، روی و منگنز تحت تنش خشکی شد، به عنوان یک راه کار مؤثر برای کاهش اثرات مخرب خشکی بر رشد و جذب عناصر غذایی، می تواند ارزش زیادی داشته باشد.

### تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از یک طرح تحقیقاتی است که توسط دانشگاه پیام نور انجام شده است.

### منابع

1. Silva, S., Dias, M.C., Silva, A.M.S., 2022. Titanium and zinc based nanomaterials in agriculture: A promising approach to deal with (A)biotic stresses? *Toxics*, 10(4), pp.172.
2. Ibarra, A., Feuillere, N., Roller, M., Lesburgere, E., Beracochea, D., 2010. Effects of chronic administration of *Melissa officinalis* L. extract on anxiety-like reactivity and on circadian and exploratory activities in mice. *Phytotherapy*, 17, pp.397-403.
3. Sagner, S., Kneer, R., Wanner, G., Cosson, J.P., Deus-Neumann, B., Zenk, M.H. 1998. Hyperaccumulation, complexation and distribution of nickel in *Sebertia acuminata*. *Phytochemistry*, 47, pp.339-347.
4. Pérez-Zavala, F.G., Atriztán-Hernández, K., Martínez-Iratorza, P., Oropeza-Aburto, A., López-Arredondo, D., Herrera-Estrella, L., 2022. Titanium nanoparticles activate a transcriptional response in *Arabidopsis* that enhances tolerance to low phosphate, osmotic stress and pathogen infection. *Frontiers in Plant Science*, 13, pp.994523.
5. Emamverdian, A., Ghorbani, A., Li, Y., Pehlivan, N., Barker, J., Ding, Y., Liu, G., Zargar, M., 2023. Responsible mechanisms for the restriction of heavy metal toxicity in plants via the co-foliar spraying of nanoparticles. *Agronomy*, 13, pp.1748.

- Ghazi, D.A., EL-Ghamry, A.M., EL-Sherpiny, M.A., Alla, A.E.N., 2021. Response of sugar beet plants to nitrogen and titanium under salinity conditions. *Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology*, 22(51-52), pp.82-94.
- Mustafa, H., Ilyas, N., Akhtar, N., Raja, N.I., Zainab, T., Shah, T., Ahmad, A., Ahmad, P., 2021. Biosynthesis and characterization of titanium dioxide nanoparticles and its effects along with calcium phosphate on physicochemical attributes of wheat under drought stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 223, pp.112519.

## Application of titanium dioxide nanoparticles in improving elements uptake of *Melissa officinalis* L. seedlings under *in vitro* drought stress

Roya Razavizadeh<sup>1\*</sup>

1- Associate Professor, Doctor of Philosophy in Plant Physiology, Department of Biology, Payame Noor University, Tehran 19395-3697, Iran

razavi.roya@pnu.ac.ir

Fatemeh Adabavazeh<sup>2</sup>

2- Doctor of Philosophy in Plant Physiology, Faculty of Science, Department of Biology, Shahid Bahonar University of Kerman

### Abstract

Drought, as an inevitable factor in various environments, has an adverse impact on plant growth, productivity and photosynthetic capacity. Therefore, developing new methods to mitigate the destructive effects of drought stress is crucial, especially in water-stressed ecosystems. Titanium dioxide nanoparticles (TiO<sub>2</sub> NPs) have recently been shown to play an important role in increasing nutrient uptake, resistance to various environmental stresses, and better plant growth. Regarding the importance of pharmaceutical metabolites of *Melissa officinalis* L., this experiment aimed to assess the role of TiO<sub>2</sub> NPs in improving nutrient uptake in *M. officinalis* under *in vitro* drought stress. For this, two-week-old seedlings were cultured on Murashige and Skoog (MS) medium supplemented with **0, 50, and 100 mg L<sup>-1</sup> TiO<sub>2</sub> NPs and 0, 3, and 6% (w/v) polyethylene glycol (PEG)**. **Two weeks after treatments, a reduction in** essential elements was seen as a result of drought stress. **In contrast, application of** TiO<sub>2</sub> NPs increased the content of the essential elements under drought stress. Overall, applying TiO<sub>2</sub> NPs at relatively low doses be recommended as a sustainable strategy for improving nutrient uptake in drought stress conditions.

**Keywords:** *Melissa officinalis* L., Drought stress, Essential elements, TiO<sub>2</sub> nanoparticle

## بررسی تاثیر سلنیوم بر برخی خصوصیات مورفوفیزیولوژیک و محتوای یونی گونه بیابانی

### جفنه (*Salsola arbuscula* Pall.) تحت تنش عنصر سرب

مهدی رضانی<sup>1\*</sup>، اصغر مصلح آرانی<sup>2</sup>، حمید سودایی زاده<sup>3</sup> و مهدی خیاط<sup>4</sup>

1- دانشجوی دکتری مدیریت و کنترل بیابان، دانشکده منابع طبیعی و کویرشناسی، دانشگاه یزد، یزد، ایران

2- استاد گروه محیط ریست، دانشکده منابع طبیعی و کویرشناسی، دانشگاه یزد، یزد، ایران

3- دانشیار گروه مدیریت و کنترل بیابان، دانشکده منابع طبیعی و کویرشناسی، دانشگاه یزد، یزد، ایران

4- دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران

ایمیل نویسنده مسئول: ramazani.phd@gmail.com

### چکیده

در سال‌های اخیر به علت توسعه عملیات معدن‌کاوی انواع عناصر سنگین به عرصه‌های طبیعی وارد شده‌اند. آلودگی خاک به عناصر سنگین به دلیل پایداری طولانی مدت آنها در خاک و ورود به زنجیره غذایی، تبدیل به بحران زیست محیطی شده است. این پژوهش با هدف ارزیابی سلنیوم بر توان گیاه‌پالایی گونه جفنه در خاک آلوده به سرب انجام شد. به این منظور آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی در سه تکرار انجام گرفت که فاکتورهای مورد بررسی شامل غلظت سرب با سه سطح (شاهد، 100 و 200 میلی گرم بر کیلوگرم خاک) و سلنیوم با دو سطح در نظر گرفته شد. نتایج نشان داد که افزایش سرب باعث کاهش جذب عناصر، مقدار کلروفیل و وزن خشک گیاه و افزایش معنی‌دار پرولین و آنتوسیانین و انباشت سرب در ریشه جفنه شد. با توجه به انباشت سرب در ریشه گیاه جفنه، نتیجه‌گیری شد که این گیاه مناسب برای فرآیند تثبیت گیاهی در خاکهای آلوده به سرب بوده و سلنیوم با بهبود شرایط بیوشیمیایی توانایی گیاه‌پالایی آنرا را به سرب افزایش داد.

کلمات کلیدی: گیاه پالایی، سلنیوم، جفنه، بیابان

### مقدمه

خاک بعنوان جزئی از زیست‌کره نقش مهمی در محیط زیست دارد. آلودگی خاک به عناصر سنگین به دلیل پایداری طولانی مدت آنها در خاک و ورود به زنجیره غذایی، تبدیل به بحران زیست محیطی شده است (14). براساس داده‌های آژانس حفاظت محیط زیست، سرب مهمترین فلز آلاینده در محیط‌زیست است که در اثر فعالیت‌های مدرن انسانی تولید می‌شوند. سرب یکی از فلزات سمی برای انسان و همچنین جزو فلزات غیرضروری برای گیاهان است که عملکرد بیولوژیک شناخته شده‌ای ندارد؛ ولی به علت انحلال‌پذیری این عنصر در آب، به راحتی توسط ریشه گیاه جذب گیاه می‌گردد و از این طریق، رشد و متابولیسم گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد. یکی از آثار سمیت سرب به علت تشابه ساختار یونی کلسیم و سرب بوده و به همین علت یون سرب بسیاری از جنبه‌های رفتاری  $Ca^{+2}$  را تقلید کرده و از فعالیت بسیاری از آنزیم‌ها جلوگیری می‌کند (6). در مقابل، گیاهان ساز و کارهای موثری برای مقاومت در برابر غلظت‌های بالای این فلز در خاک دارند. راهبردهای گیاه در مواجهه با تنش فلزات سنگین شامل جلوگیری از ورود به اندام هوایی و تجمع در ریشه و سمیت زدایی این فلز است. در راهبرد اول گیاه از فلز گریزان است و در نهایت آن را در ریشه انباشت می‌کند. سمیت زدایی نیز بیشتر در گیاهان بیش اندوز مشاهده می‌شود که از ورود فلز به ریشه جلوگیری نمی‌کند.

بیش اندوزها با دارا بودن سازگارهای اختصاصی سمیت‌زدایی فلزات، قادر به تجمع این فلزات در غلظت‌های بالایی در اندام‌های خود هستند (7).

نتایج پژوهش‌های متعدد حاکی از کارایی بالای گیاهان در پالایش خاکهای آلوده به فلزات سنگین است. فناوری گیاه‌پالایی نسبت به روش‌های فیزیکی و شیمیایی پالایش عناصر سنگین، روشی ارزان با کارکرد موثر و دوستدار محیط‌زیست است که در آن ساختمان و بافت طبیعی خاک حفظ می‌شود (21). در این روش احتمال تخریب زیست بوم به حداقل می‌رسد و از لحاظ زیباشناختی برای عموم خوشایندتر است. با وجود مزایایی که برای این فناوری شمرده شده است، برخی محدودیت‌ها هم در کاربرد این روش ذکر شده است. برای مثال وقتی غلظت آلاینده‌ها در خاک خیلی بالاست، برخی گیاهان قدرت رویش و تولید زیست توده کافی ندارند (15). در برخی موارد هم خاکهای آلوده از نظر مواد غذایی فقیر هستند و به تامین این عناصر نیاز است. همچنین فرآیند گیاه‌پالایی در عمل کند و زمانبر است و برای پالایش کامل خاک زمان طولانی نیاز است (5). در این زمینه شناسایی گیاهان سریع‌الرشد با بیوماس بالا، متحمل و با ظرفیت بالای تجمع عناصر سنگین می‌تواند عملکرد گیاه‌پالایی را افزایش دهد. اما تحقیقات انجام شده نشان می‌دهد که گیاهان معدودی دارای این ویژگی‌ها هستند (12) و همچنین عملکرد و بیوماس این گونه‌ها محدود است. علاوه بر این، عواملی مانند اسیدیته خاک، ترشحات ریشه و بویژه میکروارگانیزم‌ها نیز می‌توانند بر روی دسترسی عناصر سنگین در گیاه اثر گذاشته و تجمع این عناصر را در گیاه افزایش دهند (22).

استفاده از مواد مغذی معدنی مانند سلنیوم در پیشگیری از تنش عناصر سنگین اخیراً توسط محققان مورد بررسی قرار گرفته است. سلنیوم یک ریز مغذی مهم است که به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی آن در گیاهان و حیوانات شناخته شده است. کاربرد سلنیوم جذب فلزات سنگین را مهار می‌کند و با بهبود سیستم آنتی‌اکسیدانی، مقاومت در برابر سمیت عناصر سنگین در گیاهان را افزایش می‌دهد (6). کاربرد سلنیوم باعث افزایش رشد در گیاه *Vicia faba* و کاهش آنزیمهای آنتی‌اکسیدانی تحت تنش سرب شد (13). هدف از این تحقیق بررسی تاثیر سلنیوم بر افزایش توان گیاه‌پالایی گیاه جفنه در برابر تنش آلودگی خاک با عنصر سنگین سرب بود. نتایج این تحقیق می‌تواند در جنگل کاری بهینه جفنه در مناطق خشک و بیابانی که در اثر فعالیت‌های معدنی، دارای خاک‌های آلوده به سرب می‌باشند، کمک کند.

### مواد و روش‌ها

در این پژوهش تاثیر سلنیوم بر خصوصیات رویشی و فیزیولوژیکی گونه جفنه تحت تنش آلودگی سرب بررسی شد. به این منظور آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی در سه تکرار به مدت 6 ماه طراحی و اجرا شد. تیمارهای این تحقیق شامل فاکتور اول ماده سلنیوم ( بصورت سلنیت سدیم در دو سطح شامل بدون سلنیوم و سلنیوم با غلظت 6 میکرومول) و فاکتور دوم سرب (در سه سطح شاهد، 100 و 200 میلی‌گرم بر لیتر آب آبیاری) بود.

بذرهای جفنه از عرصه‌های طبیعی جمع‌آوری شد. این پژوهش در بهار 1400 و در ایستگاه تولید نهال بیابانی اداره کل منابع طبیعی و آبخیزداری خراسان جنوبی شروع شد. برای انجام آزمایش تعداد 36 گلدان زهکش دار به ارتفاع 18 و دهانه 20 سانتی متر محتوی 2 کیلوگرم خاک با سه واحد خاک زراعی بدون هوموس و یک واحد ماسه بادی تهیه شد (جدول 1). در هر گلدان تعداد 5 عدد بذر کاشته شد. گلدانها تا رویش بذور و استقرار کامل با آب شهری آبیاری شدند. یک ماه پس از کاشت، نهالها وجین شدند، بطوریکه در هر گلدان یک نهال هم‌اندازه (10 سانتیمتر) بود. اعمال تیمار سرب و سلنیوم از هفته پنجم آغاز شد. آبیاری برای

تیمارهای بدون سرب با آب شهری و برای تیمارهای سرب با غلظت تعیین شده (100 و 200 میلی گرم بر لیتر) اعمال شد. مهپاشی سلنیوم برای تیمارهای مربوطه با غلظت 6 میکرومول اعمال شد و برای تیمارهای بدون سلنیوم از آب بدون سلنیوم استفاده شد.

جدول 1- برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی نمونه خاک استفاده شده در این آزمایش

نیتروژن (درصد)	فسفر (قسمت در میلیون)	پتاسیم (قسمت در میلیون)	سدیم (میلی اکی والان بر لیتر)	کلسیم (میلی اکی والان بر لیتر)	سولفات (میلی اکی والان بر لیتر)	بافت خاک
0/03	17	897/2	2/27	1/6	42	رس سیلت ماسه (درصد) (درصد) (درصد)
هدایت الکتریکی (دسی زیمنس بر متر)	اسیدیته	کربن آلی (درصد)	مواد آلی (درصد)	نسبت کربن به نیتروژن (درصد)	کربنات کلسیم (درصد)	بافت خاک
2/1	7/55	0/17	0/26	5/4	31/4	لوم رسی شنی

اندازه گیری صفات فیزیولوژیکی و رویشی : شش ماه پس از شروع آزمایش نهالهای مورد نظر برای انجام آزمایشات فیزیولوژیکی و رویشی نمونه برداری شد. مقدار کلروفیل کل برگ به روش (13) و پرولین به روش (10) اندازه گیری شد. در این مرحله خصوصیات مورفولوژیکی (وزن خشک اندام هوایی و وزن خشک ریشه، ارتفاع ساقه، قطر یقه) نیز اندازه گیری شد و در نهایت پارامتر بیوماس خشک کل (مجموع وزن خشک ریشه و اندام هوایی) در این پژوهش محاسبه و بررسی شدند. برای اندازه گیری کلروفیل کل، 0/2 گرم بافت تازه برگ با 10 میلی لیتر استون 80 درصد داخل هاون چینی به خوبی ساییده شد و پس از آن محلول بدست آمده توسط کاغذ صافی، صاف گردید. سپس نمونه ها به مدت 20 دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ 4000 rpm قرار داده شدند و شدت جذب آن در طول موج های 663/2، 664/8 و 470 نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتوفوتومتر قرائت گردید. غلظت رنگیزه های کلروفیل a و b بر حسب میلی گرم بر گرم با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید.

$$\text{Chla} = 12.5A_{663.2} - 2.79A_{646.8}$$

$$\text{Chlb} = 21.5A_{646.8} - 5.1A_{663.2}$$

$$\text{Total chlorophyll} = \text{Chla} + \text{Chlb}$$

که در این فرمول Chla و Chlb به ترتیب غلظت کلروفیل a و کلروفیل b می باشد. A در روابط مختلف مقدار عدد قرائت شده توسط دستگاه اسپکتوفوتومتر برای کلروفیل a و کلروفیل b می باشد.

اندازه گیری پرولین : میزان پرولین موجود در برگ با استفاده از 0/5 گرم ماده تر برگ تازه بر اساس واکنش با معرف نین هیدرین و با دستگاه اسپکتوفوتومتر در طول موج 520 نانومتر بر حسب میکروگرم بر گرم وزن تر قرائت گردید.

اندازه گیری آنتوسیانین : برای سنجش آنتوسیانین از روش (16) استفاده شد. 0/1 گرم از بافت مورد نظر را در هاون چینی با 10 میلی لیتر متانول اسیدی ( متانول خالص و اسید کلریدریک خالص به نسبت حجمی 99 : 1) کاملاً سائیده و عصاره در لوله های آزمایش سربینج دار ریخته شد و به مدت 24 ساعت در تاریکی و دمای 25 درجه سانتی گراد قرار گرفت. سپس به مدت 10 دقیقه در 4000 g سانتریفیوژ و جذب محلول بالایی در طول موج 550 نانومتر اندازه گیری شد. محاسبه غلظت با استفاده از ضریب خاموشی  $33000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  انجام و نتایج بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر ارائه گردید.



اندازه‌گیری عنصر سرب: ابتدا ریشه و ساقه گیاه در هاون چینی به طور کامل پودر کرده و مقدار 0/5 گرم از هر نمونه وزن و در لوله آزمایش ریخته شد. پس از آن حجم محتوی لوله‌ها با آب مقطر به 10 میلی‌لیتر رسانده و محلول حاصل با استفاده از کاغذ واتمن شماره 1 صاف شد. غلظت سرب هر نمونه با دستگاه جذب اتمی و با استفاده از محلول استاندارد برحسب میکروگرم بر گرم وزن خشک محاسبه شد (15).

آنالیز آماری: به منظور تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از پارامترهای مختلف اندازه‌گیری شده از نرم افزار SPSS16 استفاده شد و نمودارها نیز در نرم افزار Excel رسم گردید. پس از اطمینان از نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کلموگروف - اسمیرنوف، اختلاف بین سطوح مختلف تیمارها به صورت آنالیز داده‌ها با آزمون تجزیه واریانس و در نهایت مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن ( $\alpha=0/05$ ) بررسی گردید.

### نتایج و بحث

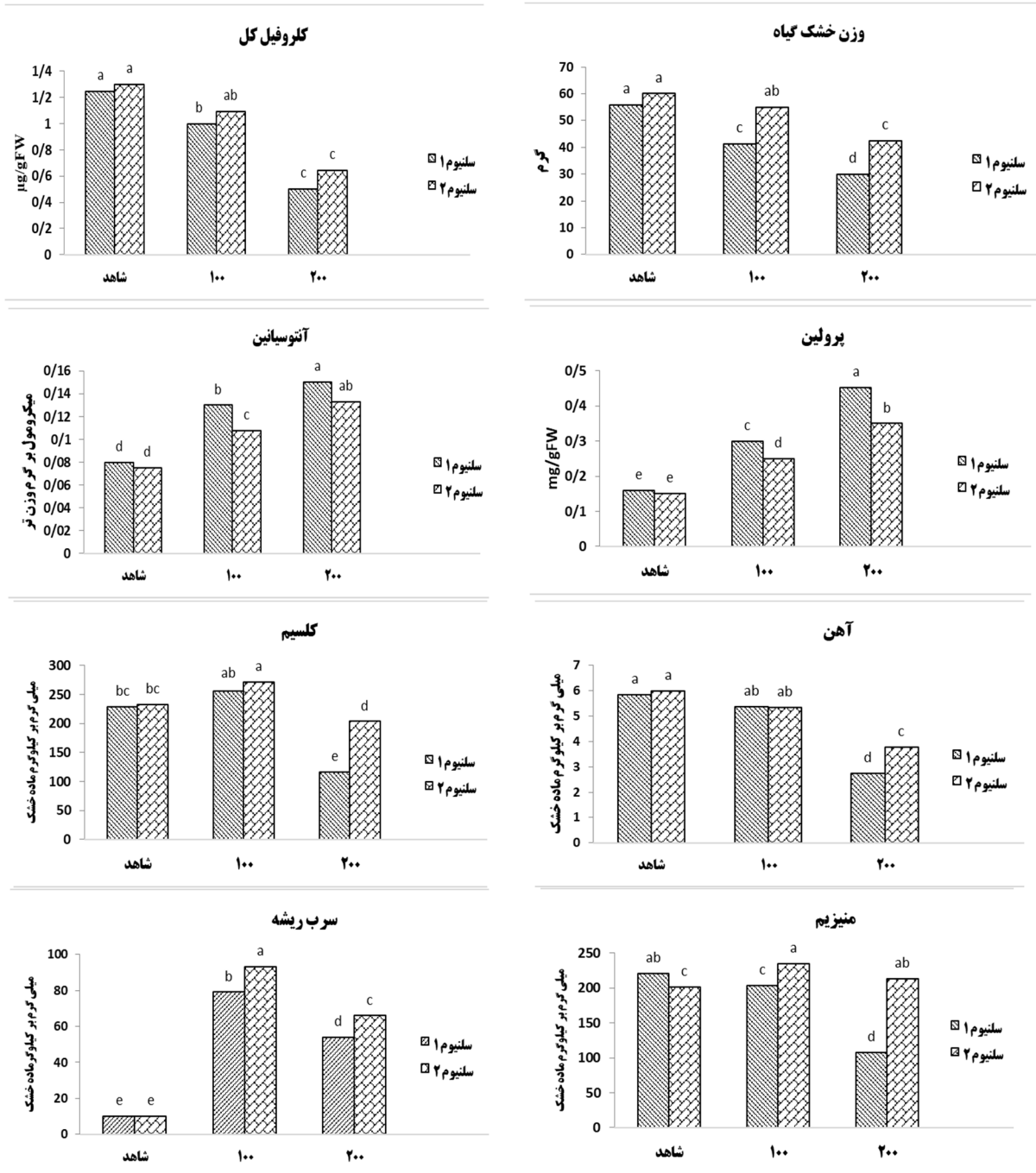
نتایج این پژوهش نشان داد که با افزایش غلظت سرب تجمع آن در ریشه گیاه جفنه افزایش یافت. اعمال تیمار باکتری توانست مقدار جذب سرب در گیاه را بطور معنی‌داری افزایش دهد. نتایج همچنین نشان داد که انتقال سرب از ریشه به اندام هوایی ناچیز می‌باشد بطوریکه که مقدار آن قابل ردیابی با دستگاه مورد استفاده در این پژوهش نبود. تجمع سرب در ریشه جفنه نشان می‌دهد که این گیاه مناسب فرآیند تثبیت گیاهی<sup>102</sup> می‌باشد. مطالعات مشابه در بررسی اثر سلنیوم در بهبود گیاه‌پالایی گزارش شده است. کاربرد سلنیوم باعث افزایش رشد در گیاه *Vicia faba* و کاهش آنزیمهای آنتی‌اکسیدانی تحت تنش سرب شد (13). سلنیوم یکی از عناصر مهم در افزایش تحمل گیاه به تنش اکسیداتیو می‌باشد و بنابراین باعث افزایش ایمنی گیاه در برابر تنش عناصر سنگین می‌شود (10).

نتایج نشان داد که افزایش سرب مقدار کلروفیل کل را کاهش داد. سلنیوم باعث افزایش مقدار کلروفیل در جفنه شد که مطابق با مطالعه Sun و همکاران (2020) است که نشان دادند که کاربرد سلنیوم باعث بهبود کلروپلاست گیاه خیار تحت شرایط عناصر سنگین شد.

نتایج این تحقیق نشان داد که با اعمال سرب، مقدار پرولین افزایش یافت. پرولین، نقش اساسی در تنظیم اسمزی در گیاهان دارد (16). تجمع اسید آمینه پرولین رابطه‌ای مثبت با افزایش مقاومت گیاه دارد و در صورت نیاز تجزیه و به‌عنوان منبع نیتروژن و انرژی مورد استفاده گیاه قرار می‌گیرد (3). در شرایط تنش، پرولین نقش آنتی‌اکسیدانی داشته و در محافظت از ساختارهای سلولی، ساختمان ماکرومولکول‌ها و از بین بردن رادیکال‌های آزاد کاربرد دارند (1). پرولین نقش بسیار مهمی در گیاهان داشته و آنها را از تنش‌های مختلف محافظت می‌کند (20). افزایش غلظت سرب در خاک بر روی وزن خشک گیاه تاثیر معنی‌داری داشت و عموماً تولید ماده خشک در کلیه اندام‌های گیاهی را کاهش می‌دهد (8). کاهش مقدار بیومس خشک کل گیاه ناشی از تنش‌های محیطی در مطالعات دیگر نیز گزارش شده است (20). نتایج نشان داد که با افزایش غلظت سرب، مقدار کلسیم در جفنه کاهش یافت. کاربرد سلنیوم فقط در 200 mg/kg باعث افزایش جذب سرب شد. نتایج مشابه برای پتاسیم و منیزیم نیز حاصل شد. یکی از آثار سمیت سرب به علت تشابه ساختار یونی کلسیم و عناصر یاد شده بویژه سرب بوده و به همین علت یون سرب بسیاری از جنبه‌های رفتاری  $Ca^{+2}$  را تقلید کرده و از فعالیت بسیاری از آنزیم‌ها جلوگیری می‌کند. به همین دلیل سرب باعث کاهش مقدار جذب کلسیم و سایر عناصر



غذایی می‌شود. مطالعات بر روی گیاه ترب تحت تنش عناصر سنگین نشان داد که سلینیوم می‌تواند جذب عناصر غذایی را تسهیل کند (4). نتایج اندازه‌گیری سرب در اندام هوایی گیاه جفته نشان داد که این عنصر سنگین در هیچکدام از تیمارهای مورد مطالعه قابل ردیابی نبود.



شکل 1- اثر متقابل تیمار سلینیوم و سرب. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن و با سه تکرار انجام شد. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح  $P \leq 0/05$  است.

## نتیجه گیری

با توجه به قابلیت بالای ذخائر معدنی در کشور و افزایش بهره برداری از آنها و گسترش صنایع ذوب فلزات، کنترل آلودگی های زیست محیطی ناشی از آنها ضروری می باشد. نتایج این تحقیق بوضوح توانایی گیاه جفنه را برای فرآیند تثبیت گیاهی در خاکهای آلوده به سرب نشان داد. سلنیوم توانایی گیاه پالایی جفنه را افزایش داد. بنابراین نتیجه گیری شد که گیاه جفنه با استفاده از سلنیوم راهکار مناسب جهت پالایش خاکهای آلوده به سرب در مناطق بیابانی می باشد.

## منابع

1. **Abdelaal, K., AlKahtani, M., Attia, K., Hafez, Y., Király, L. and Künstler, A. 2021.** The Role of Plant Growth-Promoting Bacteria in Alleviating the Adverse Effects of Drought on Plants. *Biology* 10: 520.
2. **Amirabad, A.S.; Behtash, F.; Vafae, Y. 2020.** Selenium mitigates cadmium toxicity by preventing oxidative stress and enhancing photosynthesis and micronutrient availability on radish (*Raphanus sativus* L.) cv. Cherry Belle. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 27, 12476–12490
3. **Amini Hajiabadi, A., Mosleh Arani, A., Etesami, H. 2022.** Salt-tolerant genotypes and halotolerant rhizobacteria: A potential synergistic alliance to endure high salinity conditions in wheat. *Environmental and Experimental Botany*, Volume 202, <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2022.105033>.
4. **Amini Hajiabadi, A., Mosleh Arani, A., Ghasemi, S., Rad, M. H., Etesami, H., Shabazi Manshadi, S. and Dolati, A. 2021.** Mining the rhizosphere of halophytic rangeland plants for halotolerant bacteria to improve growth and yield of salinity-stressed wheat. *Plant Physiology and Biochemistry* 163: 139-153.
5. **Arany, A.M., Khosravi, m., Azimzadeh, H., Zadeh, H.S., Sepahvand . , A., 2018.** The comparison between *Thuja orientalis* and *Olea europaea* in Pb accumulation and their applications for phytoremediation. *Journal of Natural Environment*, 71: 109-123.
6. **Asgher, M.; Khan, M.I.R.; Anjum, N.A.; Verma, S.; Vyas, D.; Per, T.S.; Khan, N.A. 2019.** Ethylene and polyamines in counteracting heavy metal phytotoxicity: A crosstalk perspective. *J. Plant Growth Regul.*, 37, 1050–1065.
7. **Baker, A.J.M. 1981.** Accumulation and excluders –strategies in the response of plant to heavy metals. *J. Plant. Nutr.* 3(1-4). 643-654.
8. **Bates, L.S., Waldren, R.P. and Teare, I.D. 1973.** Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* 39: 205–207.
9. **Bauerle, W. L., Wang, G. G., Bowden, J. D. and Hong, C. M. 2006.** An analysis of ecophysiological responses to drought in American chestnut. *Annals of Forest Science* 63: 833-842.
10. **Copat, C.; Grasso, A.; Fiore, M.; Cristaldi, A.; Zuccarello, P.; Signorelli, S.S.; Ferrante, M. 2018.** Trace elements in seafood from the Mediterranean sea: An exposure risk assessment. *Food Chem. Toxicol.*, 115, 13–19.
11. **Lichtenthaler, H. K. 1987.** Chlorophyll and carotenoids: pigments of photosynthetic bio-membranes. *Methods in Enzymology* 148: 350-382.
12. **Mahar, A., Wang, P., Ali, A., Awasthi, M.K., Lahori, A.H., Wang, Q., Li, R., Zhang, Z., 2016.** Challenges and opportunities in the phytoremediation of heavy metals contaminated soils: a review. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 126, 111–121.
13. **Mroczek-Zdyrska, M.; Strubińska, J.; Hanaka, A. 2017.** Selenium improves physiological parameters and alleviates oxidative stress in shoots of lead-exposed *Vicia faba* L. minor plants grown under phosphorus-deficient conditions. *J. Plant Growth Regul.*, 36, 186–199.
14. **Okerefor, U., Makhatha, M., Mekuto, L., Uche-Okerefor, N., Sebola, T., Mavumengwana, V., 2020.** Toxic metal implications on agricultural soils, plants, animals, aquatic life and human health. *Int. J. Environ. Res. Publ. Health* 17, 2204.
15. **Ryan, J.A., Zhang, P., Hesterberg, D., Chou, J. and Sayers, D. 2001.** Formation of Chloropyromorphite in a Lead-Contaminated Soil Amended with Hydroxyapatite. *Environ. Sci. Technol.* 35, 18, 3798–3803.
16. **Saddiq, M. S., Afzal, I., Basra, S. M. A., Iqbal, S. and Ashraf, M. 2020.** Sodium exclusion affects seed yield and physiological traits of wheat genotypes grown under salt stress. *Soil Science and Plant Nutrition* 20: 1442–1456.
17. **Shen, X., Dai, M., Yang, J., Sun, L., Tan, X., Peng, C., Ali, I., Naz, I., 2021.** A critical review on the phytoremediation of heavy metals from environment: performance and challenges. *Chemosphere* 132979.
18. **Sun, H.; Wang, X.; Li, H.; Bi, J.; Yu, J.; Liu, X.; Rong, Z. 2020.** Selenium modulates cadmium-induced ultrastructural and metabolic changes in cucumber seedlings. *RSC Adv.* 10: 17892–17905.

19. Wanger, G.J. 1979. Content and vacuole/extra vacuole distribution of neutral sugars free amino acids, and anthocyanins in protoplast. *Plant physiology*, 64:88-93.
20. Yaghmaei, L., Jafari, R., Soltani, S., Eshghizadeh, H. R. and Jahanbazy, H. 2020. Interaction Effects of Dust and Water Deficit Stresses on Growth and Physiology of Persian Oak (*Quercus Brantii* Lindl.). *Sustainable Forestry* 41: 134-158.
21. Yan, A., Wang, Y., Tan, S.N., Yusof, M.L.M., Ghosh, S., Chen, Z., 2020. Phytoremediation: a promising approach for revegetation of heavy metal-polluted land. *Front. Plant Sci.* 11, 359.
22. Yuan, C., Gao, B., Peng, Y., Gao, X., Fan, B., Chen, Q., 2021. A meta-analysis of heavy metal bioavailability response to biochar aging: importance of soil and biochar properties. *Sci. Total Environ.* 756, 144058.

## Effect of selenium on some morpho-physiological characteristics and ion content of *Salsola arbuscula* under lead stress

Mehdi Ramazani<sup>\*1</sup>, Asghar Mosleh Arani<sup>2</sup>, Hamid Sodaeizadeh<sup>3</sup>, Mehdi khayat<sup>4</sup>

\*1- PhD student in Desert Management, Faculty of Natural Resources and Desert Studies, Yazd University, Yazd, Iran

2- Department of Environmental Sciences, Faculty of Natural Resources and Desert Studies, Yazd University, Yazd, Iran

3- Department of Desert Management, Faculty of Natural Resources and Desert Studies, Yazd University, Yazd, Iran

4- Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Birjand University, Birjand, Iran

### Abstract

In recent years, due to the development of mining operations, all kinds of heavy metals have entered the natural fields. Soil contamination with heavy metals has become an environmental crisis due to their long-term stability in the soil and entering the food chain. This research was conducted with the aim of evaluating the effect of selenium on the phytoremediation ability of *Salsola arbuscula* in lead-contaminated soil. For this purpose, a factorial experiment was conducted in the form of a completely randomized design in three replications, where the investigated factors included lead concentration with three levels (control, 100 and 200 mg/kg soil) and selenium was considered with two levels. The results showed that the increase in lead decreased the absorption of elements, the amount of chlorophyll, and the dry weight of the plant, and caused a significant increase in proline and anthocyanin and the accumulation of lead in the roots. Considering the accumulation of lead in the roots of *Salsola arbuscula*, it was concluded that this plant is suitable for the process of phytostabilization in lead-contaminated soils, and selenium increased its phytoremediation ability by improving the biochemical conditions.

Key words: phytoremediation, selenium, *Salsola arbuscula*, desert

## بررسی توان گیاه‌پالایی جفنه (*Salsola arbuscula* Pall.) در خاکهای آلوده به سرب با تلقیح

### باکتری محرک رشد (*Bacillus cereus*)

مهدی رضانی<sup>1\*</sup>، اصغر مصلح آرانی<sup>2</sup>، حمید سودایی‌زاده<sup>3</sup> و مهدی خیاط<sup>4</sup>

1- دانشجوی دکتری مدیریت و کنترل بیابان، دانشکده منابع طبیعی و کویرشناسی، دانشگاه یزد، یزد، ایران

2- استاد گروه محیط ریست، دانشکده منابع طبیعی و کویرشناسی، دانشگاه یزد، یزد، ایران

3- دانشیار گروه مدیریت و کنترل بیابان، دانشکده منابع طبیعی و کویرشناسی، دانشگاه یزد، یزد، ایران

4- دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران

ایمیل نویسنده مسئول: ramazani.phd@gmail.com

### چکیده :

در سال‌های اخیر به علت توسعه عملیات معدن‌کاوی انواع عناصر سنگین به عرصه‌های طبیعی وارد شده‌اند. آلودگی خاک به عناصر سنگین به دلیل پایداری طولانی مدت آنها در خاک و ورود به زنجیره غذایی، تبدیل به بحران زیست محیطی شده است. این پژوهش با هدف ارزیابی تاثیر باکتری محرک رشد گیاه (*Bacillus cereus*) بر توان گیاه‌پالایی گونه جفنه در خاک آلوده به سرب انجام شد. به این منظور آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی در سه تکرار انجام گرفت که فاکتورهای مورد بررسی شامل غلظت سرب با سه سطح (شاهد، 100 و 200 میلی گرم بر کیلوگرم خاک)، باکتری محرک رشد گیاه با دو سطح در نظر گرفته شد. نتایج نشان داد که افزایش سرب باعث کاهش جذب عناصر، مقدار کلروفیل و وزن خشک گیاه و افزایش معنی‌دار انباشت سرب در ریشه جفنه شد. با توجه به انباشت سرب در ریشه گیاه جفنه، نتیجه‌گیری شد که این گیاه مناسب برای فرآیند تثبیت گیاهی در خاکهای آلوده به سرب بوده و باکتری *Bacillus cereus* با بهبود شرایط بیوشیمیایی توانایی گیاه‌پالایی آنرا را به سرب افزایش دادند.

کلمات کلیدی: گیاه‌پالایی، جفنه، باکتری محرک رشد، بیابان

### مقدمه

آلودگی خاک به عناصر سنگین به دلیل پایداری طولانی مدت آنها در خاک و ورود به زنجیره غذایی، تبدیل به بحران زیست محیطی شده است (18). براساس داده‌های آژانس حفاظت محیط زیست، سرب مهمترین فلز آلاینده در محیط‌زیست است که در اثر فعالیت‌های مدرن انسانی تولید می‌شوند. یکی از آثار سمیت سرب به‌علت تشابه ساختار یونی کلسیم و سرب بوده و به همین علت یون سرب بسیاری از جنبه‌های رفتاری  $Ca^{+2}$  را تقلید کرده و از فعالیت بسیاری از آنزیم‌ها جلوگیری می‌کند (6). در مقابل، گیاهان ساز و کارهای موثری برای مقاومت در برابر غلظت‌های بالای این فلز در خاک دارند. راهبردهای گیاه در مواجهه با تنش فلزات سنگین شامل جلوگیری از ورود به اندام هوایی و تجمع در ریشه و سمیت زدایی این فلز است. در راهبرد اول گیاه از فلز گریزان است و در نهایت آن را در ریشه انباشت می‌کند. سمیت زدایی نیز بیشتر در گیاهان بیش اندوز مشاهده می‌شود که از ورود فلز به ریشه جلوگیری نمی‌کند. بیش اندوزها با دارا بودن سازگارهای اختصاصی سمیت‌زدایی فلزات، قادر به تجمع این فلزات در غلظت‌های بالایی در اندام‌های خود هستند (7).

فناوری گیاه‌پالایی نسبت به روش‌های فیزیکی و شیمیایی پالایش عناصر سنگین، روشی ارزان با کارکرد موثر و دوستدار محیط‌زیست است که در آن ساختمان و بافت طبیعی خاک حفظ می‌شود (28). در این روش احتمال تخریب زیست بوم به حداقل می‌رسد و از لحاظ زیباشناختی برای عموم خوشایندتر است. شناسایی گیاهان سریع‌الرشد با بیوماس بالا، متحمل و با ظرفیت بالای تجمع عناصر سنگین می‌تواند عملکرد گیاه‌پالایی را افزایش دهد. اما تحقیقات انجام شده نشان می‌دهد که گیاهان معدودی دارای این ویژگی‌ها هستند و همچنین عملکرد و بیوماس این گونه‌ها محدود است (15). باکتریهای ریزوسفری محرک رشد گیاه با استفاده از سازوکارهای مختلفی به‌طور مستقیم در افزایش رشد و عملکرد گیاه نقش ایفا می‌کنند (4). در حالت غیر مستقیم نیز باکتریهای محرک رشد گیاه با استفاده از سازوکارهای مختلف آنتاگونیستی اثرات مضر بیمارگرهای گیاهی را خنثی یا تعدیل می‌کنند و به این ترتیب موجب رشد گیاه می‌شوند (11).

در اکوسیستم‌های خاکی، اثربخشی گیاه‌پالایی به رابطه متقابل سویه باکتریایی، گیاه و خاک بستگی دارد. در این میان، باکتری‌هایی که از زیستگاه‌های تحت شرایط تنش محیطی انتخاب گردند بدلیل سازگاری با این شرایط از کارایی بیشتری در افزایش مقاومت گیاه برخوردار خواهد بود (12). مطالعات نشان می‌دهد جداسازی سویه‌های مقاوم به سرب از گیاهان بومی می‌تواند گیاه‌پالایی را افزایش دهند (19). هدف از این تحقیق بررسی تاثیر باکتری محرک رشد گیاه بر افزایش توان گیاه پالایی گیاه بیابانی جفنه در برابر تنش آلودگی خاک با عنصر سنگین سرب بود. نتایج این تحقیق می‌تواند در جنگل کاری بهینه جفنه در مناطق خشک و بیابانی که در اثر فعالیت‌های معدنی، دارای خاک‌های آلوده به سرب می‌باشند، کمک کند.

#### مواد و روش‌ها

طرح آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی در سه تکرار به مدت 6 ماه طراحی و اجرا شد. تیمارهای این تحقیق شامل فاکتور باکتری محرک رشد گیاه (در دو سطح شامل بدون تلقیح باکتری و تلقیح با باکتری (*Bacillus cereus*))، فاکتور دوم سرب (در سه سطح شاهد، 100 و 200 میلی‌گرم بر لیتر آب آبیاری) بود. این پژوهش در بهار 1400 و در ایستگاه تولید نهال بیابانی اداره کل منابع طبیعی و آبخیزداری خراسان جنوبی شروع شد. برای انجام آزمایش تعداد 36 گلدان زهکش دار به ارتفاع 18 دهانه و 20 سانتی متر محتوی 2 کیلوگرم خاک با سه واحد خاک زراعی بدون هوموس و یک واحد ماسه بادی تهیه شد (جدول 1). در هر گلدان تعداد 5 عدد بذر کاشته شد. بذور بر حسب نوع تیمار، بدون تلقیح (شاهد) یا تلقیح شده کشت گردید. این سویه باکتری از ریزوسفر گیاه کک کش (*Pulicaria gnaphaloides*) که قبلاً توسط آذری و همکاران (1399) از باطله‌های معدن سرب و روی کوشک بافق خالص‌سازی و صفات محرک رشد آنها تعیین و اثر مثبت آن بر روی گندم ارزیابی شده بود، استفاده شد. گلدانها تا رویش بذور و استقرار کامل با آب شهری آبیاری شدند. یک ماه پس از کاشت، نهالها وجین شدند، بطوریکه در هر گلدان یک نهال هم‌اندازه (10 سانتیمتر) بود. اعمال تیمار سرب از هفته پنجم آغاز شد. آبیاری برای تیمارهای بدون سرب با آب شهری و برای تیمارهای سرب با غلظت تعیین شده (100 و 200 میلی‌گرم بر لیتر) اعمال شد.

جدول 1- برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی نمونه خاک استفاده شده در این آزمایش

نیتروژن (درصد)	فسفر (قسمت در میلیون)	پتاسیم (قسمت در میلیون)	سدیم (میلی اکی والان بر لیتر)	کلسیم (میلی اکی والان بر لیتر)	سولفات (میلی اکی والان بر لیتر)			
					رس	سیلت	ماسه	
0/03	17	897/2	2/27	1/6	42	رس (درصد)	سیلت (درصد)	ماسه (درصد)

هدایت	الکتريکی (دسی)	اسیدیته	کربن آلی (درصد)	مواد آلی (درصد)	نسبت کربن به نیتروژن (درصد)	کربنات (درصد)	کلسیم
2/1	7/55	0/17	0/26	5/4	31/4	لوم رسی شنی	58/3 13 28/7

تهیه و تلقیح باکتری محرک رشد گیاه: برای تهیه مایه تلقیح، یک کلنی خالص از باکتری برداشته و تحت شرایط استریل به یک ارلن حاوی محیط کشت نوترینت براث اضافه گردید. ارلن باکتری روی شیکر با سرعت 120 دور بر دقیقه و دمای 28 درجه سلسیوس قرار داده شدند پس از 48 ساعت مایع تلقیح باکتری با جمعیت تقریبی  $3 \times 10^8$  سلول بر میلی لیتر آماده مصرف شدند. سوسپانسیون باکتری قبل از کاشت به بذور جفنه به مدت 4 ساعت تلقیح شد.

اندازه گیری صفات فیزیولوژیکی و رویشی: شش ماه پس از شروع آزمایش نهالهای مورد نظر برای انجام آزمایشات فیزیولوژیک و رویشی نمونه برداری شد. مقدار کلروفیل کل برگ به روش (14) و پرولین به روش (8) اندازه گیری شد.

برای اندازه گیری کلروفیل کل، 0/2 گرم بافت تازه برگ با 10 میلی لیتر استون 80 درصد داخل هاون چینی به خوبی ساییده شد و پس از آن محلول بدست آمده توسط کاغذ صافی، صاف گردید. سپس نمونه ها به مدت 20 دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ 4000 rpm قرار داده شدند و شدت جذب آن در طول موج های 663/2، 664/8 و 470 نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتوفوتومتر قرائت گردید. غلظت رنگیزه های کلروفیل a و b بر حسب میلی گرم بر گرم با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید.

$$\text{Chla} = 12.5A_{663.2} - 2.79A_{646.8}$$

$$\text{Chlb} = 21.5A_{646.8} - 5.1A_{663.2}$$

$$\text{Total chlorophyll} = \text{Chla} + \text{Chlb}$$

که در این فرمول Chlb و Chla به ترتیب غلظت کلروفیل a و کلروفیل b می باشد. A در روابط مختلف مقدار عدد قرائت شده توسط دستگاه اسپکتوفوتومتر برای کلروفیل a و کلروفیل b می باشد.

اندازه گیری عنصر سرب: ابتدا ریشه و ساقه گیاه در هاون چینی به طور کامل پودر کرده و مقدار 0/5 گرم از هر نمونه وزن و در لوله آزمایش ریخته شد. پس از آن حجم محتوی لوله ها با آب مقطر به 10 میلی لیتر رسانده و محلول حاصل با استفاده از کاغذ واتمن شماره 1 صاف شد. غلظت سرب هر نمونه با دستگاه جذب اتمی و با استفاده از محلول استاندارد بر حسب میکروگرم بر گرم وزن خشک محاسبه شد (20).

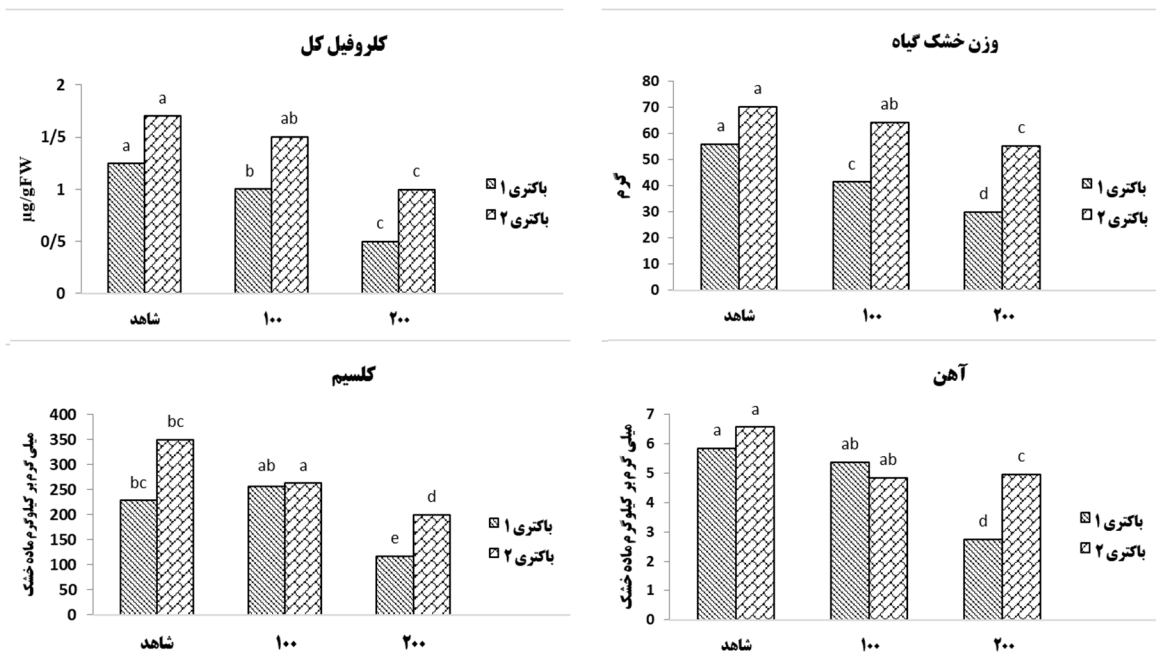
آنالیز آماری: به منظور تجزیه و تحلیل داده های حاصل از پارامترهای مختلف اندازه گیری شده از نرم افزار SPSS16 استفاده شد و نمودارها نیز در نرم افزار Excel رسم گردید. پس از اطمینان از نرمال بودن داده ها با استفاده از آزمون کلموگروف - اسمیرنوف، اختلاف بین سطوح مختلف تیمارها به صورت آنالیز داده ها با آزمون تجزیه واریانس و در نهایت مقایسه میانگین ها با آزمون دانکن ( $\alpha=0/05$ ) بررسی گردید.

### نتایج و بحث

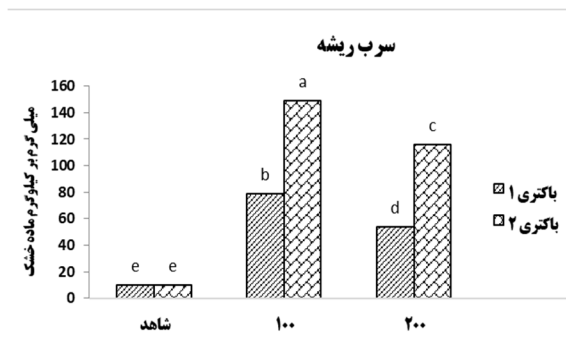
نتایج این پژوهش نشان داد که با افزایش غلظت سرب تجمع آن در ریشه گیاه جفنه افزایش یافت. اعمال تیمار باکتری توانست مقدار جذب سرب در گیاه را بطور معنی داری افزایش دهد. نتایج همچنین نشان داد که انتقال سرب از ریشه به اندام هوایی ناچیز می باشد بطوریکه که مقدار آن قابل ردیابی با دستگاه مورد استفاده در این پژوهش نبود. تجمع سرب در ریشه جفنه نشان می دهد

که این گیاه مناسب فرآیند تثبیت گیاهی<sup>103</sup> می باشد. از طرف دیگر سویه *Bacillus cereus* باعث افزایش تثبیت گیاهی جفنه شد. مطالعات زیادی در خصوص کاربرد باکتری های محرک رشد گیاه در افزایش جذب سرب در گیاهان گزارش شده است (19 و 26). *Bacillus cereus* از طریق افزایش انحلال عناصر مانند فسفر، پتاسیم، منیزیم، کلسیم و تولید سیدروفور (از دیدگاه افزایش قابلیت جذب آهن) و افزایش بیوماس گیاه باعث جذب بیشتر سرب گردید. نتایج نشان داد که افزایش سرب مقدار کلروفیل کل را کاهش داد. اما کاربرد باکتری باعث افزایش مقدار کلروفیل شد. در پژوهش حاضر، باکتری محرک رشد باعث افزایش میزان کلروفیل کل و آهن شده که با نتایج مطالعات دیگر در این زمینه مطابقت دارد (16 و 17). باکتری های محرک رشد گیاه با افزایش جذب عناصر مغذی از طریق اسیدی کردن محیط ریزوسفر، افزایش جذب آب از طریق تولید اکسین و افزایش حجم ریشه، در کاهش تنش مشارکت می کنند، که این خود کاهش تولید آنتی اکسیدان ها را توجیه می کند (2). افزایش غلظت سرب در خاک بر روی وزن خشک گیاه تاثیر معنی داری داشت و عموماً تولید ماده خشک در کلیه اندام های گیاهی را کاهش می دهد (9). کاهش مقدار بیومس خشک کل گیاه ناشی از تنش های محیطی در مطالعات دیگر نیز گزارش شده است (27). در پژوهش حاضر، تلقیح باکتری های محرک رشد گیاه در تولید ماده خشک گونه ی گیاهی مذکور تاثیر معنی داری نداشت.

نتایج نشان داد که با افزایش غلظت سرب، مقدار کلسیم در جفنه کاهش یافت. کاربرد باکتری باعث افزایش معنی دار جذب کلسیم در 200 mg/kg سرب و شاهد شد. از آثار سمیت سرب به علت تشابه ساختار یونی کلسیم و عناصر یاد شده بویژه سرب بوده و به همین علت یون سرب بسیاری از جنبه های رفتاری  $Ca^{+2}$  را تقلید کرده و از فعالیت بسیاری از آنزیم ها جلوگیری می کند. به همین دلیل سرب باعث کاهش مقدار جذب کلسیم و سایر عناصر غذایی می شود. افزایش کلسیم در اثر باکتری محرک رشد گیاه می تواند به تولید اسیدهای آلی مانند اسید گلوئیک و اسید سیتریک توسط باکتریها مربوط باشد که جذب کلسیم را تسهیل می کند. نتایج این تحقیق بوضوح توانایی گیاه جفنه را برای فرآیند تثبیت گیاهی در خاکهای آلوده به سرب نشان داد. باکتری *Bacillus cereus* توانایی گیاه پالایی جفنه را افزایش دادند.



## 1. Phytostabilization



شکل 1- اثر تیمار باکتری و سرب. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن و با سه تکرار انجام شد. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح  $P \leq 0/05$  است.

### نتیجه گیری

با توجه به قابلیت بالای ذخائر معدنی در کشور و افزایش بهره برداری از آنها و گسترش صنایع ذوب فلزات، کنترل آلودگی‌های زیست محیطی ناشی از آنها ضروری می‌باشد. نتایج این تحقیق بوضوح توانایی گیاه جفنه را برای فرآیند تثبیت گیاهی در خاکهای آلوده به سرب نشان داد. باکتری *Bacillus cereus* توانایی گیاه‌پالایی جفنه را افزایش داد. بنابراین نتیجه‌گیری شد که گیاه جفنه همراه با باکتریهای محرک رشد متحمل به عناصر سنگین راهکار مناسب جهت پالایش خاکهای آلوده به سرب در مناطق بیابانی می‌باشد.

### منابع

- آذری، س.، مصلح آرنی، ا.، قاسمی، س. و عظیم‌زاده، ح. ر. (1399). مقاومت به غلظت‌های مختلف سرب در باکتری‌های ریزوسفری گیاه کک‌کش و علف‌شور مستقر بر روی باطله‌های معدن سرب و روی کوشک. پایان‌نامه کارشناسی ارشد محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه یزد.
- Abd-Allah, E. F., Alqarawi, A. A., Hashem, A., Radhakrishnan, R., Al-Huqail, A. A., Al-Otibi, F. O. N., Malik, J. A., Alharbi, R. I. and Egamberdieva, D. 2018. Endophytic bacterium *Bacillus subtilis* (BERA 71) improves salt tolerance in chickpea plants by regulating the plant defense mechanisms. *Journal of Plant Interactions* 13: 37-44.
- Abdelaal, K., AlKahtani, M., Attia, K., Hafez, Y., Király, L. and Künstler, A. 2021. The Role of Plant Growth-Promoting Bacteria in Alleviating the Adverse Effects of Drought on Plants. *Biology* 10: 520.
- Amini Hajiabadi, A., Mosleh Arani, A., Etesami, H. 2022. Salt-tolerant genotypes and halotolerant rhizobacteria: A potential synergistic alliance to endure high salinity conditions in wheat. *Environmental and Experimental Botany*, Volume 202, <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2022.105033>.
- Amini Hajiabadi, A., Mosleh Arani, A., Ghasemi, S., Rad, M. H., Etesami, H., Shabazi Manshadi, S. and Dolati, A. 2021. Mining the rhizosphere of halophytic rangeland plants for halotolerant bacteria to improve growth and yield of salinity-stressed wheat. *Plant Physiology and Biochemistry* 163: 139-153.
- Arany, A.M., Khosravi, m., Azimzadeh, H., Zadeh, H.S., Sepahvand . , A., 2018. The comparison between *Thuja orientalis* and *Olea europaea* in Pb accumulation and their applications for phytoremediation. *Journal of Natural Environment*, 71: 109-123.
- Baker, A.J.M. 1981. Accumulation and excluders –strategies in the response of plant to heavy metals. *J. Plant. Nutr.* 3(1-4). 643-654.
- Bates, L.S., Waldren, R.P. and Teare, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* 39: 205–207.



9. **Bauerle, W. L., Wang, G. G., Bowden, J. D. and Hong, C. M. 2006.** An analysis of ecophysiological responses to drought in American chestnut. *Annals of Forest Science* 63: 833-842.
10. **Ejazul Islam, Xiaoe Yang, Tingqiang Li, Dan Liu, Xiaofen Jin, Fanhua Meng, 2007.** Effect of Pb toxicity on root morphology, physiology and ultrastructure in the two ecotypes of *Elsholtzia argyi*, *Journal of Hazardous Materials*, Volume 147, Issue 3, Pages 806-816.
11. **Goswami, M., & Deka, S. 2020.** Plant growth-promoting rhizobacteria|alleviators of abiotic stresses in soil: A review. *Pedosphere* 30 (1): 40-61.
12. **Hajiabadi, A. A., Arani, A. M., Ghasemi, S., Rad, M. H., Etesami, H., Manshadi, S. S., & Dolati, A. 2021.** Mining the rhizosphere of halophytic rangeland plants for halotolerant bacteria to improve growth and yield of salinity-stressed wheat. *Plant Physiology and Biochemistry*, 163, 139-153.
13. **Hajiabadi, A. A., Mosleh Arani, A., and Etesami, H. 2022.** Salt-tolerant genotypes and halotolerant rhizobacteria: A potential synergistic alliance to endure high salinity conditions in wheat. *Environmental and Experimental Botany* 202: 105033.
14. **Lichtenthaler, H. K. 1987.** Chlorophyll and carotenoids: pigments of photosynthetic bio-membranes. *Methods in Enzymology* 148: 350-382.
15. **Mahar, A., Wang, P., Ali, A., Awasthi, M.K., Lahori, A.H., Wang, Q., Li, R., Zhang, Z., 2016.** Challenges and opportunities in the phytoremediation of heavy metals contaminated soils: a review. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 126, 111–121.
16. **Najafi Zilaie, M., Mosleh Arani, A., Etesami, H., and Dinarvand, M. 2022a.** Improved salinity and dust stress tolerance in the desert halophyte *Haloxylon aphyllum* by halotolerant plant growth-promoting rhizobacteria. *Frontiers in Plant Science* 13: 948260.
17. **Najafi Zilaie, M., Mosleh Arani, A., Etesami, H., and Dinarvand, M. 2022b.** Halotolerant rhizobacteria enhance the tolerance of the desert halophyte *Nitraria schoberi* to salinity and dust pollution by improving its physiological and nutritional status. *Applied Soil Ecology* 179: 1-16.
18. **Okerefor, U., Makhatha, M., Mekuto, L., Uche-Okerefor, N., Sebola, T., Mavumengwana, V., 2020.** Toxic metal implications on agricultural soils, plants, animals, aquatic life and human health. *Int. J. Environ. Res. Publ. Health* 17, 2204.
19. **Pietrini, I.; Grifoni, M.; Franchi, E.; Cardaci, A.; Pedron, F.; Barbafieri, M.; Petruzzelli, G.; Vocciante, M. 2021.** Enhanced Lead Phytoextraction by Endophytes from Indigenous Plants. *Soil Syst.* 5-55.
20. **Ryan, J.A., Zhang, P., Hesterberg, D., Chou, J. and Sayers, D. 2001.** Formation of Chloropyromorphite in a Lead-Contaminated Soil Amended with Hydroxyapatite. *Environ. Sci. Technol.* 35, 18, 3798–3803.
21. **Saddiq, M. S., Afzal, I., Basra, S. M. A., Iqbal, S. and Ashraf, M. 2020.** Sodium exclusion affects seed yield and physiological traits of wheat genotypes grown under salt stress. *Soil Science and Plant Nutrition* 20: 1442–1456.
22. **Santoyo, G., Sánchez-Yáñez, J. M. and Santos-Villalobos, S. D. L. 2019.** Methods for Detecting Biocontrol and Plant Growth-Promoting Traits in Rhizobacteria. In *Microbes and Signaling Biomolecules against Plant Stress*. Pp. 133–149. Springer: Singapore.
23. **Shen, X., Dai, M., Yang, J., Sun, L., Tan, X., Peng, C., Ali, I., Naz, I., 2021.** A critical review on the phytoremediation of heavy metals from environment: performance and challenges. *Chemosphere* 132979.
24. **Sun, H.; Wang, X.; Li, H.; Bi, J.; Yu, J.; Liu, X.; Rong, Z. 2020.** Selenium modulates cadmium-induced ultrastructural and metabolic changes in cucumber seedlings. *RSC Adv.* 10: 17892–17905.
25. **Wanger, G.J. 1979.** Content and vacuole/extra vacuole distribution of neutral sugars free amino acids, and anthocyanins in protoplast. *Plant physiology*, 64:88-93.
26. **Xiaoman He, Mingjing Xu, Qingpeng Wei, Mingyu Tang, Likang Guan, Laiqing Lou, Xiaoming Xu, Zhubing Hu, Yahua Chen, Zhenguo Shen, Yan Xia, 2020.** Promotion of growth and phytoextraction of cadmium and lead in *Solanum nigrum* L. mediated by plant-growth-promoting rhizobacteria, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 205, <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111333>.
27. **Yaghmaei, L., Jafari, R., Soltani, S., Eshghizadeh, H. R. and Jahanbazy, H. 2020.** Interaction Effects of Dust and Water Deficit Stresses on Growth and Physiology of Persian Oak (*Quercus Brantii* Lindl.). *Sustainable Forestry* 41: 134-158.
28. **Yan, A., Wang, Y., Tan, S.N., Yusof, M.L.M., Ghosh, S., Chen, Z., 2020.** Phytoremediation: a promising approach for revegetation of heavy metal-polluted land. *Front. Plant Sci.* 11, 359.
29. **Yuan, C., Gao, B., Peng, Y., Gao, X., Fan, B., Chen, Q., 2021.** A meta-analysis of heavy metal bioavailability response to biochar aging: importance of soil and biochar properties. *Sci. Total Environ.* 756, 144058.

30. Zilaie, M. N., Arani, A. M., Etesami, H., Dinarvand, M. and Dolati, A. 2022. Halotolerant plant growth-promoting rhizobacteria-mediated alleviation of salinity and dust stress and improvement of forage yield in the desert halophyte *seidlitzia rosmarinus*. Environmental and Experimental Botany 201: 104952.

## Investigating ability Phytoremediation of *Salsola arbuscula* in lead-contaminated soils by inoculating growth-promoting bacteria (*Bacillus cereus*)

Mehdi Ramazani<sup>\*1</sup>, Asghar Mosleh Arani<sup>2</sup>, Hamid Sodaeezadeh<sup>3</sup>, Mehdi khayat<sup>4</sup>

\*1- PhD student in Desert Management, Faculty of Natural Resources and Desert Studies, Yazd University, Yazd, Iran

2- Department of Environmental Sciences, Faculty of Natural Resources and Desert Studies, Yazd University, Yazd, Iran

3- Department of Desert Management, Faculty of Natural Resources and Desert Studies, Yazd University, Yazd, Iran

4- Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Birjand University, Birjand, Iran

### Abstract

In recent years, due to the development of mining operations, all kinds of heavy metals have entered the natural fields. Soil contamination with heavy metals has become an environmental crisis due to their long-term stability in the soil and entering the food chain. This research was conducted with the aim of evaluating the effect of plant growth promoting bacteria (*Bacillus cereus*) on the phytoremediation ability of *Salsola arbuscula* in lead-contaminated soil. For this purpose, a factorial experiment was conducted in the form of a completely randomized design in three replications, where the investigated factors included lead concentration with three levels (control, 100 and 200 mg/kg soil) and plant growth promoting bacteria each was considered with two levels. The results showed that the increase in lead decreased the absorption of elements, the amount of chlorophyll, and the dry weight of the plant and the accumulation of lead in the roots. Considering the accumulation of lead in the roots of *Salsola arbuscula*, it was concluded that this plant is suitable for the process of phytostabilization in lead-contaminated soils, and *Bacillus cereus* increased its phytoremediation ability by improving the biochemical conditions.

Key words: phytoremediation, *Salsola arbuscula*, bacteria, desert

## بررسی نوع خاکورزی و استفاده از کود آلی و زیستی در زراعت گیاه مادری بر جوانه زنی

### بذر ماش تحت تنش شوری

1- رویا رضائی نژاد 2- حمیدرضا عیسوند\* 3- محمود غلامی 4- داریوش گودرزی

1royarezaie76@gmail.com - دانشجوی کارشناسی ارشد گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشگاه لرستان

2eisvand.hr@lu.ac.ir - استاد گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی دانشگاه لرستان

3gholami.ma@lu.ac.ir - استادیار گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی دانشگاه لرستان

4goodarzi.d@lu.ac.ir - مربی گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی دانشگاه لرستان

#### چکیده

به منظور بررسی تاثیر شرایط رشد گیاه مادری بر جوانه زنی بذور تولیدی ماش در تنش شوری، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در آزمایشگاه زراعت دانشگاه لرستان در سال 1402 انجام شد. نوع خاکورزی و تغذیه گیاه مادری به عنوان فاکتور اول در 16 سطح (خاکورزی مرسوم و حداقل و هشت سطح کوددهی شامل بدون کود، دامی، ورمی کمپوست، زیستی، تلفیق دامی + ورمی کمپوست، دامی + زیستی، ورمی کمپوست + زیستی و تلفیق دامی + ورمی کمپوست + زیستی) و چهار سطح تیمار شوری (0، 30، 90 و 150 میلی مولار NaCl) به عنوان فاکتور دوم با سه تکرار انجام شد. نتایج نشان داد که با افزایش تنش شوری، سرعت جوانه زنی و وزن خشک کاهش یافت اما بر درصد جوانه زنی معنی دار نبود. همچنین نتایج نشان داد که بیشترین درصد جوانه زنی و سرعت جوانه زنی در تیمار خاکورزی مرسوم + کود ورمی کمپوست + زیستی و کمترین درصد و سرعت جوانه زنی در تیمار خاکورزی مرسوم + کود زیستی مشاهده گردید. بیشترین وزن خشک در تیمار حداقل + ورمی کمپوست و زیستی و کمترین آن در مرسوم بدون کود وجود داشت. همچنین نتایج تحقیق حاضر نشان داد که اثر تیمار مزرعه بر میزان پرولین و سدیم معنی دار نبود. به طور کلی نتایج حاکی از آن بود که تیمار مرسوم + ورمی کمپوست و زیستی به عنوان تیمار برتر شناخته شد.

**کلمات کلیدی:** سیستم شخم، خاکورزی مرسوم، تنش های محیطی، کیفیت بذر

#### 1. مقدمه

ماش سبز (*Vigna radiata* L.) بعنوان یک لگوم، از حبوبات مهم در ایران و جهان است (20) که به عنوان منبع غنی پروتئین، فیبر، مواد معدنی، ویتامین ها و ترکیبات فعال زیستی شناخته شده است (14). سطح زیر کشت آن در ایران 16167 هکتار با میزان تولید 11661 تن می باشد (5). شوری آب و خاک یک مشکل محیطی فراگیر در جهان است (13). شوری خاک یکی از مهمترین عوامل محدود کننده رشد گیاهان در مناطق خشک و نیمه خشک محسوب می شود (9). جوانه زنی بذر از اساسی ترین و حیاتی ترین مراحل در چرخه رشد گیاه است که عملکرد را تعیین می کند. مشخص شده است که شوری بر روند جوانه زنی در گیاهان

مختلف تاثیر می‌گذارد. در تحقیقی بیان شد که افزایش شوری در خاک باعث می‌شود که میزان وزن خشک بوته، ارتفاع بوته، میزان فتوستتزر برگ، غلظت کلروفیل a و b برگ و پتاسیم برگ ماش کاهش یافت (7). نتایج تحقیق دیگری نشان داد که تنش شوری در ماش باعث کاهش درصد جوانه زنی، طول ریشه، وزن تر ریشه و ساقه شد (4). نتایج تحقیقی نشان داد که بذرهایی که گیاه مادری آرتیشو در مزرعه کود شیمیایی و کود زیستی قرار دریافت کرده بود، حداکثر وزن هزار دانه، درصد جوانه زنی، سرعت جوانه زنی، شاخص بنیه بذر، وزن خشک گیاهچه، طول ریشه چه و ساقه چه را داشتند (3). در آزمایشی که گیاه مادری سویا تحت تیمارهای تغذیه (نیترژن، فسفر، آهن و مولیبدن) قرار گرفتند، نشان داد حداکثر درصد جوانه زنی، سرعت جوانه زنی، طول ساقه چه، طول ریشه چه و سرعت 50 درصد جوانه زنی در تیمار کودی ذکر شده بود (8). نتایج تحقیقی نشان داد که تیمار کمپوست و ورمی کمپوست در رازیانه باعث افزایش درصد جوانه زنی، سرعت جوانه زنی، شاخص و میانگین زمان جوانه زنی شد (2). آزمایشی با هدف مقایسه بنیه بذرهایی گیاه مادری همیشه بهار حاصل از کودهای آلی، زیستی و نانوشیمیایی انجام شد. در این آزمایش گزارش شد که حداقل درصد جوانه زنی در تیمار شاهد و حداکثر جوانه زنی در تیمار کمپوست مشاهده شد. حداقل سرعت جوانه زنی در شاهد و حداکثر سرعت جوانه زنی در کمپوست بدون سودوموناس مشاهده شد (1). با توجه به اینکه تحقیقی روی تاثیر شرایط رشد گیاه مادری بر جوانه زنی بذر ماش تحت تنش شوری انجام نشده، در این تحقیق به بررسی این مورد پرداخته شده است.

## 2. مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال 1402 در آزمایشگاه زراعت دانشگاه لرستان، به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. بذور ماش که گیاه مادری آنها تحت تیمارهای خاکورزی و کوددهی در مزرعه قرار داده شده بود، در آزمایشگاه به وسیله NaCl تحت تنش شوری قرار گرفتند. تیمارهای خاکورزی و تغذیه گیاه مادری در مزرعه به عنوان فاکتور اول و 4 سطح شوری به عنوان فاکتور دوم بودند. سطوح شوری شامل صفر، 30، 90 و 150 میلی مولار بودند. تیمارهای اعمال شده روی گیاه مادری شامل خاکورزی مرسوم بدون کود، خاکورزی مرسوم + کود دامی، خاکورزی مرسوم + کود ورمی کمپوست، خاکورزی مرسوم + کود زیستی، خاکورزی مرسوم + کود دامی و ورمی کمپوست، خاکورزی مرسوم + کود دامی و زیستی، خاکورزی مرسوم + کود ورمی کمپوست و زیستی، خاکورزی حداقل + کود دامی، خاکورزی حداقل + کود ورمی کمپوست، خاکورزی حداقل + کود زیستی، خاکورزی حداقل + کود دامی و ورمی کمپوست، خاکورزی حداقل + کود دامی و زیستی، خاکورزی حداقل + کود ورمی کمپوست و زیستی، خاکورزی حداقل + کود دامی و ورمی کمپوست، خاکورزی حداقل + کود دامی و زیستی، خاکورزی حداقل + کود ورمی کمپوست و زیستی، خاکورزی حداقل + کود دامی و ورمی کمپوست، خاکورزی حداقل + کود دامی و زیستی، خاکورزی حداقل + کود ورمی کمپوست و زیستی، خاکورزی حداقل + کود دامی و ورمی کمپوست و زیستی بود. از کود دامی به میزان 30 تن در هکتار، ورمی کمپوست به میزان 2 تن در هکتار، کودهای زیستی (از توبرور 1، فسفات بارور 2 و پتایور 2) هر کدام به مقدار 100 گرم در هکتار طبق توصیه شرکت سازنده (شرکت زیست فناوری سبز) استفاده شد. بذور قبل از شروع آزمایش با هیپوکلریت سدیم یک درصد به مدت 4 دقیقه استریل شدند و 3 بار با آب

مقتر شسته شدند. تعداد 28 بذر بر روی کاغذ صافی در پتری دیش های 10 سانتی متری قرار داده شد. برای اعمال تیمارهای شوری میزان 6 میلی لیتر به هر پتری دیش اضافه شد و در دمای 20 درجه سانتی گراد و دوره نوری 12 ساعت روشنایی، 12 ساعت تاریکی و رطوبت نسبی 75 درصد در ژرminatور قرار گرفت و بعد از آن بذور با معیار خروج ریشه چه 2 میلی متری، هر 24 ساعت یکبار شمارش شدند. این آزمایش به مدت 8 روز انجام گرفت. بعد از آن طول ریشه چه با خط کش گرفته شد. بعد از اندازه گیری این صفات، گیاهچه ها به مدت 24 ساعت در دمای 75 درجه سانتی گراد در داخل آون قرار گرفتند و پس از آن با ترازوی دقیقی توزین شدند. درصد جوانه زنی و سرعت جوانه زنی به ترتیب از فرمول 1 و 2 محاسبه گردید.

$$GP = (n/N) * 100 \quad (1)$$

$$GR = \sum_i^1 ni/Di \quad (2)$$

در رابطه یک، GP برابر است با درصد جوانه زنی، n برابر است با بذورهای جوانه زده تا روز i ام و N برابر با تعداد کل بذرها در در پتری دیش است (18). در رابطه دو، GR برابر است با سرعت جوانه زنی، ni برابر است با تعداد بذورهای جوانه زده در روز i ام و Di تعداد روزها بعد از آزمایش است (10). برای اندازه گیری میزان پرولین از روش بیتس (12) و دستگاه اسپکتوفتومتر و برای اندازه گیری میزان سدیم از روش هامادا و ال انانی (15) و دستگاه فیلم فتومتر استفاده شد. با توجه به تعدد تیمارها و نمونه ها، صرفا برخی از تیمارها بعنوان تیمار منتخب که تحت شرایط تنش جوانه زنی بهتری داشتند همراه با شاهد برای سنجش پرولین و سدیم استفاده شدند. تجزیه و تحلیل واریانس داده ها (ANOVA) با استفاده از نرم افزار SPSS و مقایسه میانگین با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن و در سطح احتمال 5 درصد انجام شد.

### 3. نتایج و بحث

#### درصد جوانه زنی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر تیمار مزرعه (در سطح احتمال یک و پنج درصد) معنی دار بود. اثر تنش شوری معنی دار نبود. همچنین اثر متقابل آنها بر درصد جوانه زنی معنی دار نبود (جدول 1). نتایج مقایسات میانگین تیمارهای مزرعه نشان داد که بیشترین درصد جوانه زنی در تیمار خاکورزی حداقل + کود دامی + کود ورمی کمپوست + کود زیستی (79/17 درصد) مشاهده شد که با تیمارهای خاکورزی مرسوم + کود ورمی کمپوست و زیستی، خاکورزی مرسوم + کود دامی و خاکورزی حداقل + کود ورمی کمپوست و زیستی اختلاف معنی داری نداشت و کمترین درصد جوانه زنی در تیمار خاکورزی مرسوم + کود زیستی (47/62 درصد) وجود داشت که با تیمارهای خاکورزی حداقل + بدون کود، خاکورزی حداقل + کود ورمی کمپوست و خاکورزی مرسوم + کود دامی و زیستی اختلاف معنی داری نداشت (جدول 2). کود ورمی کمپوست به دلیل داشتن عنصر نیتروژن، باعث تاثیر بر فعل و انفعالات بیوشیمیایی و فتوسنتز می شود و همچنین فراهمی این عنصر باعث تولید بذورهای قوی تر بر روی گیاه مادری، بر خصوصیات جوانه زنی دانه موثر است (17). کود دامی باعث افزایش ظرفیت نگهداری رطوبت موجود در خاک شده که باعث ایجاد شرایط مناسب رشد گیاه شد (22) و در تولید بذور با درصد جوانه زنی بهتر نقش دارند.

### سرعت جوانه زنی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تیمار مزرعه و تیمار تنش شوری (در سطح 1 و 5 درصد) معنی دار بود (جدول 1). اثر متقابل آنها (در سطح 5 درصد) بر سرعت جوانه زنی معنی دار بود. نتایج مقایسات میانگین تیمارهای مزرعه نشان داد که بیشترین سرعت جوانه زنی در تیمارهای خاکورزی مرسوم + کود دامی (11/84) وجود داشت که با تیمارهای خاکورزی مرسوم + کود ورمی کمپوست و زیستی و همچنین خاکورزی حداقل کود دامی، زیستی و ورمی کمپوست اختلاف معنی داری نداشت و کمترین سرعت جوانه زنی در تیمارهای خاکورزی مرسوم + کود دامی و زیستی (6/75) وجود داشت که با تیمارهای خاکورزی مرسوم + کود زیستی، خاکورزی مرسوم + کود دامی، ورمی کمپوست و زیستی، خاکورزی حداقل بدون کود و خاکورزی حداقل + کود ورمی کمپوست اختلاف معنی داری نداشت (جدول 2).

جدول 1- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر نوع خاکورزی و تغذیه گیاه مادری بر برخی صفات جوانه زنی ماش تحت تنش

#### شوری

منابع تغییرات	درجه آزادی	درصد جوانه زنی	سرعت جوانه زنی	وزن خشک گیاهچه
تیمار مزرعه (نوع خاکورزی و تغذیه گیاه مادری)	15	1243/07**	31/97**	8/88**
تنش شوری	3	146/24 <sup>ns</sup>	21/69**	0/12**
تیمار مزرعه* شوری	45	80/16 <sup>ns</sup>	3/69*	1/76 <sup>ns</sup>
خطا	128	84/59	2/48	1/77

: به ترتیب معرف معنی داری در سطح یک درصد، پنج درصد و عدم معنی داری. NS، \*\*، \* و

جدول 2- مقایسات میانگین اثر تیمار مزرعه (خاکورزی و کوددهی) بر صفات جوانه زنی تحت تنش شوری

تیمارهای مزرعه اعمال شده بر گیاه مادری	درصد جوانه زنی	سرعت جوانه زنی (بذر در روز)	وزن خشک گیاهچه (گرم)
1. خاکورزی مرسوم بدون کود	67/26 <sup>cde</sup>	bc10	0/02 <sup>f</sup>
2. خاکورزی مرسوم کود دامی	75/30 <sup>abc</sup>	11/84 <sup>a</sup>	0/02 <sup>ef</sup>
3. خاکورزی مرسوم ورمی کمپوست	66/07 <sup>de</sup>	9/39 <sup>bcde</sup>	0/02 <sup>def</sup>
4. خاکورزی مرسوم کود زیستی	47/62 <sup>g</sup>	7/03 <sup>g</sup>	0/02 <sup>bcde</sup>
5. خاکورزی مرسوم کود دامی و ورمی کمپوست	61/90 <sup>ef</sup>	8/78 <sup>cdef</sup>	0/02 <sup>def</sup>
6. خاکورزی مرسوم کود دامی و زیستی	53/57 <sup>g</sup>	6/75 <sup>g</sup>	0/02 <sup>cdef</sup>
7. خاکورزی مرسوم کود ورمی کمپوست و زیستی	77/17 <sup>abc</sup>	11/68 <sup>a</sup>	0/02 <sup>def</sup>
8. خاکورزی مرسوم کود دامی و ورمی و زیستی	55/39 <sup>fg</sup>	7/80 <sup>fg</sup>	0/03 <sup>abcd</sup>
9. خاکورزی حداقل بدون کود	51/79 <sup>g</sup>	7/53 <sup>fg</sup>	0/02 <sup>ef</sup>
10. خاکورزی حداقل کود دامی	54/76 <sup>fg</sup>	8/45 <sup>def</sup>	0/02 <sup>ef</sup>
11. خاکورزی حداقل کود ورمی کمپوست	52/68 <sup>g</sup>	8/13 <sup>efg</sup>	0/02 <sup>ef</sup>

0/03 <sup>ab</sup>	9/64 <sup>bcd</sup>	67/56 <sup>cde</sup>	12. خاکورزی حداقل کود زیستی
0/03 <sup>bcde</sup>	9/95 <sup>bc</sup>	66/96 <sup>cde</sup>	13. خاکورزی حداقل کود دامی و ورمی کمپوست
0/03 <sup>ab</sup>	9/86 <sup>bcd</sup>	70/83 <sup>bcd</sup>	14. خاکورزی حداقل کود دامی و زیستی
0/03 <sup>a</sup>	10/55 <sup>ab</sup>	75 <sup>abc</sup>	15. خاکورزی حداقل کود ورمی کمپوست و زیستی
0/03 <sup>abc</sup>	11/65 <sup>a</sup>	<sup>a</sup> 79/17	16. خاکورزی حداقل کود دامی + ورمی + زیستی

، در هر ستون، میانگینهای دارای حداقل یک حرف مشترک، تفاوت معنی داری براساس آزمون دانکن در سطح پنج درصد ندارند.\*

همچنین نتایج مقایسات میانگین تنش شوری نشان داد که بیشترین سرعت جوانه زنی در شاهد و کمترین آن در تیمار 150 میلی مولار مشاهده گردید (جدول 3). به طور کلی نتایج تحقیق حاضر نشان داد که با افزایش میزان تنش شوری، سرعت جوانه زنی کاهش داشت. این نتایج با نتایج آزمایشی که بیانگر این بود که تنش شوری در عدس منجر به کاهش سرعت جوانه زنی شده بود، مطابقت دارد (6). گزارش شد که تنش شوری باعث تغییر در فعالیت اکثر آنزیمها و کاهش هیدراتاسیون پروتئین در زمان جوانه زنی بذر می شود (19). از طرفی وقتی جذب آب توسط بذر مختل شود، فعالیت های متابولیکی درون بذر در زمان جوانه زنی به آهستگی انجام می شود و باعث افزایش مدت خروج ریشه چه و کاهش سرعت جوانه زنی می شود (11).

### وزن خشک گیاهچه

نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر تیمار مزرعه و تنش شوری (در سطح 1 و 5 درصد) معنی دار بود اما اثر متقابل آنها بر میزان وزن خشک معنی دار نبود (جدول 1). نتایج مقایسات میانگین تیمار مزرعه نشان داد که بیشترین میزان وزن خشک در تیمار خاکورزی مرسوم + کود ورمی کمپوست و زیستی (0/03 گرم) وجود داشت که با خاکورزی حداقل + کود دامی و زیستی، خاکورزی حداقل + کود زیستی، خاکورزی حداقل + کود دامی، ورمی کمپوست و زیستی و خاکورزی مرسوم + کود دامی، ورمی کمپوست و زیستی و خاکورزی مرسوم + کود دامی، ورمی کمپوست و زیستی اختلاف معنی داری نداشت و کمترین میزان وزن خشک در تیمار خاکورزی مرسوم بدون کود (0/02 گرم) وجود داشت و با سایر تیمارها اختلاف معنی داری نداشت (جدول 2). نتایج مقایسات میانگین تنش شوری نشان داد که بیشترین میزان وزن خشک در تیمار 30 میلی مولار و کمترین آن در تیمار 150 میلی مولار مشاهده شد (جدول 3). کاهش وزن خشک گیاهچه به علت کاهش رشد ریشه و در نتیجه کاهش هورمون سیتوکینین است (21).

جدول 3- مقایسات میانگین سطوح مختلف شوری بر برخی صفات جوانه زنی

وزن خشک (گرم)	سرعت جوانه زنی (بذر در روز)	درصد جوانه زنی	تیمار های تنش شوری (میلی مولار)
0/028 <sup>a</sup>	9/99 <sup>a</sup>	65/7 <sup>a*</sup>	شاهد
0/024 <sup>b</sup>	9/60 <sup>ab</sup>	63/54 <sup>a</sup>	30
0/021 <sup>c</sup>	9/22 <sup>b</sup>	64/83 <sup>a</sup>	90
0/02 <sup>c</sup>	8/44 <sup>c</sup>	61/68 <sup>a</sup>	150

، در هر ستون، میانگینهای دارای حداقل یک حرف مشترک، تفاوت معنی داری براساس آزمون دانکن در سطح پنج درصد ندارند.\*

### میزان پرولین

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تیمار مزرعه معنی دار نشد. اثر تنش شوری بر میزان پرولین در (سطح 5 درصد) معنی دار شد. اثر متقابل آنها معنی دار نشد (جدول 4). نتایج مقایسات میانگین نشان داد که با افزایش تنش، میزان پرولین افزایش می یابد (جدول 5). نتایج تحقیق مشابهی بر روی ماش نشان داد که با افزایش میزان سطوح شوری ناشی از سدیم کلرید، میزان پرولین افزایش یافت (4).

### میزان سدیم

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تیمار مزرعه، تنش شوری و اثرات متقابل آنها بر میزان سدیم گیاهچه معنی دار نشد (جدول 6).

جدول 4. تجزیه واریانس اثر تیمار مزرعه (خاکورزی و کوددهی) و تنش شوری بر میزان پرولین گیاهچه

P	F	میانگین مربعات	مجموع مربعات	درجه آزادی	منابع تغییرات
ns	0/07	0/16	0/16	1	تیمار مزرعه
*	0/01	0/26	0/53	2	تنش شوری
ns	0/08	0/13	0/25	2	تیمار مزرعه*شوری
		0/042	0/50	12	خطا

: به ترتیب معرف معنی داری در سطح یک درصد، پنج درصد و عدم معنی داری. ns\*\*\*, \* و

جدول 5. مقایسات میانگین اثر تیمار تنش شوری بر میزان پرولین گیاهچه

میزان پرولین (میکرو مول. گرم وزن تر)	تیمار شوری (میلی مولار)
bc*0/58	شاهد
ab0/71	30
ab0/99	150

، در هر ستون، میانگینهای دارای حداقل یک حرف مشترک، تفاوت معنی داری براساس آزمون دانکن در سطح پنج درصد ندارند.\*

جدول 6. تجزیه واریانس اثر تیمار مزرعه (خاکورزی و کوددهی) و تنش شوری بر میزان سدیم گیاهچه

P	F	میانگین مربعات	مجموع مربعات	درجه آزادی	منابع تغییرات
ns	0/23	39452/12	39452/12	1	تیمار مزرعه
ns	0/23	46401/59	92803/18	2	تنش شوری
ns	0/38	29211/68	58423/35	2	تیمار مزرعه*شوری
		27565/25	330782/98	12	خطا

: به ترتیب معرف معنی داری در سطح یک درصد، پنج درصد و عدم معنی داری. ns\*\*\*, \* و

منابع



1. آویشی، ع.، فیضی، ح.، دشتی، م. 1397. ارزیابی خصوصیات جوانه زنی و بنیه بذرهاى بوته های مادری گیاه همیشه بهار (*Cahendula officinalis*) تحت تاثیر کاربرد کودهای آلی، زیستی، نانو شیمیایی. نشریه علوم و فناوری بذر ایران. (2): 7: 16-29.
2. امیری، م.، قربانی، ر.، جهانی، م.، احیایی، ح. 1391. ارزیابی برخی خصوصیات جوانه زنی و سبز شدن بذور رازیانه (*Foeniculum vulgare Mill.*) تولید شده تحت شرایط استفاده از کودهای بیولوژیک و آلی مزرعه. پژوهش های زراعی ایران. (4): 10: 649-658.
3. اله دادی، م. 1398. تاثیر تغذیه گیاه مادری بر برخی شاخص های جوانه زنی بذر و رشد گیاهچه آرتیشو (*Cynara scolymus L.*). نشریه علوم و فناوری بذر ایران. (2): 59-72.
4. خمندی، ف.، بخشنده، ع.، خمندی، ن. 1393. بررسی اثر تنش شوری بر محتوای یون ها، پرولین و میزان رشد اولیه ارقام ماش. دوفصلنامه علوم به زراعی گیاهی. 4(1): 1-4.
5. سخاوت، ر.، قنبری، د.، میرزاشاهی، ک. 1397. دستورالعمل کاشت، داشت و برداشت ماش در خوزستان. سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی.
6. صادقی آذر، ل.، مداح حسینی، ش.، رحیمی، ا.، محمدی میریک، ع.ا. 1392. اثر تنش شوری بر برخی شاخص های جوانه زنی و رشد رویشی ژنوتیپ های عدس (*Lens culinaris Medik.*). به زراعی کشاورزی. 15(4): 107-117.
7. فرهودی، ر.، معتمدی، م. 1396. بررسی ویژگی های مورفولوژیک و ماده خشک دو رقم ماش تحت تاثیر تنش شوری. دانش کشاورزی و تولید پایدار. (3): 73-86.
8. لطیفی نیا، ا.، عیسوند، ح.ر. 1401. ارزیابی اثر تغذیه گیاه مادری سویا (*Glycine max*) بر صفات کیفی بذر تحت آزمون پیری تسریع شده. پژوهش های بذر ایران. (1): 9: 147-161.
9. Ashraf, M. 1994. Breeding for salinity tolerance in plants. CRC Critical. Rev. Plant Science, 13: 7-42.
10. Agrawal, R.L., 2004. Seed technology. Oxford and IBH publishing company (pvt) Limited, New Delhi.
11. Abanous, M. 2001. Evaluation of physiological stress on germination and seedling start lentil cultivars. M.Sc. thesis, plant physiologist. Faculty of science, Ferdowsi University of Mashhad, 147 p. (In Persian).
12. Bates, L.S., Waldern, R.P. and Tear, L.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and soil, 39: 205-207.
13. Debez, A., Hamed, C., Grignon, C and Abdelly, C. 2004. Salinity effects on germination growth, and seed production of the halophyte cakile maritime. Journal of Plant and Soil, 262: 179-189.
14. Hou, D., Yousaf, L., Xue, Y., Hu, J., Wu, j., Hu, X., Feng, N., Shen, Q. 2019. Bioactive Polyphenols, polysaccharides, peptides and health benefits (*Vigna radiata L.*).
15. Hamda, A.M. and El-enany, A.E. 1994. Effect of NaCl salinity on growth, pigment and mineral element contents, and gas exchange of broad bean and pea plants. Biologia Plantarum.
16. Khan, H.I., Ghosh, T.K., Bash Mia, M.A. 2022. Altered anatomical appraisal of mung bean (*Vigna radiata (L.) Wilczek*) under salinity stress. Bangladesh journal of scientific and industrial research. 57 (3): 139-148.
17. Lioyd, A., Webb, J., Archer, J.R. and Bradly, R.S. 1997. Urea as a nitrogen fertilizer for cereals. Journal of Agronomy Science. 128: 263-271.
18. Mazaheri, D. and Majnon Hosseini, N. 2002. An introduction to general agronomy. Tehran: Tehran university press. (In Persian).
19. Marschner, H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. Academic press, London.
20. Mogotsi, K.K. 2006. *Vigna radiata L.* R. wilczek. In: Brink, M., Belay, G. (Editors). PROT 1: cereals and pluses.
21. Noor, E., Azhar, F. M. and Khan, A. L. 2001. Differences in responses of *Gossypium hirsutum L.* varieties to NaCl salinity at seedling stage. International Journal of Agriculture and Biology. 3(4): 345-347.

22. Singer, W.J., Sally, S.D. and Meek, D.W. 2007. Tillage and compost effects on corn growth, nutrient accumulation, and grain yield. *Agronomy Journal*, 199: 80-87.

## Effects of tillage type and use of organic and biological fertilizers in mother plant cultivation on mung bean seed germination under salinity stress

1. Roya Rezaie nejad 2. Hamid Reza Eisvand\* 3. Mahmoud Gholami 4. Dariush Goodarzi

1. MSc student, Department of Plant Production and Genetic Engineering, Lorestan University

[royarezaie76@gmail.com](mailto:royarezaie76@gmail.com)

2. \*Professor, Department of Plant Production and Genetic Engineering, Lorestan University [eisvand.hr@lu.ac.ir](mailto:eisvand.hr@lu.ac.ir)

3. Assistant Professor, Department of Plant Production and Genetic Engineering, Lorestan University

[gholami.ma@lu.ac.ir](mailto:gholami.ma@lu.ac.ir)

4. Assistant Professor, Department of Plant Production and Genetic Engineering, Lorestan University

[goodarzi.d@lu.ac.ir](mailto:goodarzi.d@lu.ac.ir)

### Abstract

In order to investigate the effect of the growth conditions of the mother plant on the germination of mung bean produced seeds, a factorial experiment was conducted in the form of a completely randomized design in the agriculture laboratory of Lorestan University in 2023. Nutrition and tillage systems of the mother plant cultivation as the first factor (including conventional tillage and minimum tillage, and 8 levels of fertilization i.e. no fertilizer, manure, vermicompost, biological, manure + vermicompost, manure + biological, vermicompost + biological, and manure + vermicompost + biological) and 4 levels of salinity were done as the second factor with 3 replications. Salinity stress in the germination medium included 0, 30, 90 and 150 mM. Results showed that the highest germination percentage and germination speed were observed in the treatment of conventional tillage + vermicompost + biological fertilizer, and the lowest ones were observed in the conventional tillage + biological fertilizer. The highest dry weight was in the minimum tillage + vermicompost and biological treatment and the lowest in the conventional without fertilizer. Also, the results of this research showed that the effect of field treatment on proline and sodium levels was not significant. In general, the results indicated that conventional tillage + vermicompost + biological fertilizer treatment was recognized as the best treatment.

Keywords: Conventional tillage, environmental stresses, fertilizers, seed quality, tillage system

## بررسی اثر نوع حلال بر محتوای فنل کل و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره گیاه دارویی

### افسنطین (*Artemisia absinthium*) با سنجش آزمایشگاهی و روش HPLC

الهه زمانی<sup>1</sup>، کاظم کمالی علی‌آباد<sup>2\*</sup>، سیدمهدی کلاتر<sup>3</sup>، حمید سودایی زاده<sup>4</sup>، بی بی فاطمه حقیرالسادات<sup>5</sup>، اسرا کاپان اوغلو<sup>6</sup>  
<sup>1</sup> دانشجوی دکتری، گروه مدیریت مناطق خشک و بیابانی، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه یزد، ایران و پژوهشگر، گروه مهندسی مواد غذایی، دانشکده مهندسی شیمی و متالورژی، دانشگاه فنی استانبول، استانبول، ترکیه.

<sup>2</sup> دانشیار، گروه مدیریت مناطق خشک و بیابانی، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه یزد، یزد، ایران. ایمیل: [kkamali@yazd.ac.ir](mailto:kkamali@yazd.ac.ir)

<sup>3</sup> استاد، گروه ژنتیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران.

<sup>4</sup> دانشیار، گروه مدیریت مناطق خشک و بیابانی، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه یزد، یزد، ایران.

<sup>5</sup> استادیار، گروه علوم و فنون نوین، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران.

<sup>6</sup> استاد، گروه مهندسی مواد غذایی، دانشکده مهندسی شیمی و متالورژی، دانشگاه فنی استانبول، استانبول، ترکیه.

#### چکیده

افسنطین یکی از گیاهان دارویی مهم در خانواده آستراسه بوده که در مناطق خشک و نیمه خشک رشد می‌نماید. این پژوهش باهدف بررسی اثر نوع حلال بر میزان فنل کل و فعالیت آنتی اکسیدانی این گیاه انجام شد. برای انجام آزمایش، در ابتدا پس از آماده سازی، گیاهان به روش پرکولاسیون با حلال‌های مختلف آبی، هیدرواتانولی 60% و هیدرواتانولی 80% عصاره‌گیری شدند و سپس با روش‌های فولین سیوکالتو و DPPH، فنل کل و آنتی اکسیدان اندازه‌گیری و در پایان، عصاره رقیق شده جهت سنجش مواد مؤثره با دستگاه HPLC مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که بیشترین میزان فنل کل در عصاره تهیه شده با حلال هیدرواتانولی 60% و بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی در عصاره تهیه شده با حلال‌های هیدرواتانولی 60% و 80% بود. نمودارهای HPLC حاصل از عصاره‌ها، نتایج حاصل از تست‌های آزمایشگاهی را تأیید کردند. براساس نتایج به‌دست آمده، در این آزمایش بهترین حلال برای عصاره‌گیری گیاه افسنطین، حلال هیدرواتانولی 60% تعیین شد.

**واژگان کلیدی:** متغیر عصاره‌گیری، عملکرد، کروماتوگرافی، فیزیکوشیمیایی، تجزیه عصاره.

#### مقدمه

ایران دارای سطح وسیع بوده و به دلیل شرایط جغرافیایی خاص، دارای اقلیم متفاوت است و این موضوع تنوع در رشد گیاهان به‌خصوص رشد گیاهان دارویی را باعث می‌شود (Barati et al., 2022).  
 درمنه (*Artemisia*) گیاهی از خانواده Asteraceae، حدود 500 گونه دارد. یکی از گونه‌های این گیاه، افسنطین با نام علمی *Artemisia absinthium* است. بسیاری از گیاهان خانواده درمنه دارای متابولیت‌های ثانویه‌ای مانند فلاونوئیدها، ابسیتین، کومارین، استروئید و سزکویی‌ترین هستند که خواص درمانی متفاوتی دارند (زمانی و کمالی علی‌آباد، 1402). برخی پژوهش‌ها خواص آنتی اکسیدانی و وجود ترکیبات فنل و فلاونوئید را در گیاه افسنطین بیان کرده‌اند. (Mohammed (2022) بیان نمود که گیاه افسنطین دارای ترکیباتی از جمله داوانون، آلفا-گورجونن و کامازولن است که اثر مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد را داشته و قدرت احیاکنندگی آهن را داراست (Mohammed, 2022).

هدف از انجام این پژوهش، تعیین محتوای فنل کل و فعالیت آنتی اکسیدان عصاره گیاه دارویی افسنتین رشد یافته در منطقه بهاباد استان یزد است. در نهایت به صورت کیفی، تأیید یا عدم تأیید نتایج حاصل از تست‌های آزمایشگاهی رایج برای سنجش محتوای فنل کل و فعالیت آنتی اکسیدان با نمودارهای حاصل از HPLC در طول موج 280 نانومتر انجام می‌شود.

### مواد و روش‌ها

گیاه افسنتین از منطقه بهاباد واقع در 200 کیلومتری جنوب شرقی استان یزد تهیه گردید. جنس و گونه گیاه به تأیید کارشناس گیاهشناسی رسید. گیاهان با آب شسته و سپس خشک شدند و در نهایت به وسیله آسیاب پودر گردیدند. عصاره‌گیری از گیاه به روش پرکولاسیون (با نسبت 1:10 گیاه به حلال) انجام شد. برای این آزمایش سه حلال آبی، هیدروآتانولی 60% و هیدروآتانولی 80% در نظر گرفته شد.

برای بررسی میزان فنل کل گیاه، از روش فولین سیوکالتو استفاده شد. معرف فولین سیوکالتو به غلظت 10% و کربنات سدیم به غلظت 7/5% تهیه گردید. عصاره به غلظت 1:1 وزنی/حجمی تهیه شد. 100 میکرولیتر عصاره و 100 میکرولیتر محلول معرف با هم ترکیب شدند. پس از گذشت 5 دقیقه، 2 میلی‌لیتر محلول کربنات سدیم به آن اضافه شد و پس از 30 دقیقه جذب در طول موج 765 نانومتر خوانش شد. استاندارد برای این آزمایش، ماده گالیک اسید بود. در نهایت مقدار فنل کل بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک عصاره محاسبه شد. جهت بررسی میزان فعالیت آنتی اکسیدانی از روش DPPH استفاده شد. از ماده DPPH محلولی با غلظت 0/1 میلی‌مولار تهیه شد. سپس میزان 100 میکرولیتر عصاره و 2 میلی‌لیتر محلول باهم ترکیب شده و پس از گذشت 30 دقیقه جذب آن‌ها در طول موج 517 نانومتر خوانش شد. استاندارد برای این آزمایش، ماده ترولوکس بود. همچنین عصاره‌ها به وسیله متانول خالص رقیق شدند. نسبت رقت آن‌ها 1 به 2000 بود. در نهایت خروجی دستگاه در 280 نانومتر به صورت نمودار برداشت شد.

در نهایت، داده‌های به دست آمده توسط نرم افزار IBM SPSS Statistics 26 تجزیه و تحلیل شده و رسم نمودار آن‌ها با استفاده از Excel 2020 انجام شد.

### نتایج و بحث

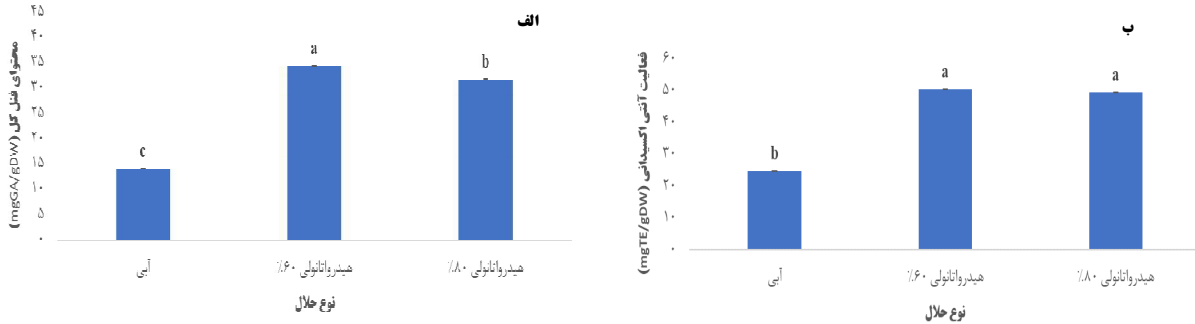
بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس، اثر نوع حلال بر محتوای فنل کل و فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه دارویی افسنتین، اثری معنی‌دار در سطح 1% است (جدول 1).

**جدول (1) تجزیه واریانس اثر نوع حلال عصاره‌گیری بر محتوای فنل کل و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره گیاه دارویی**

#### افسنتین

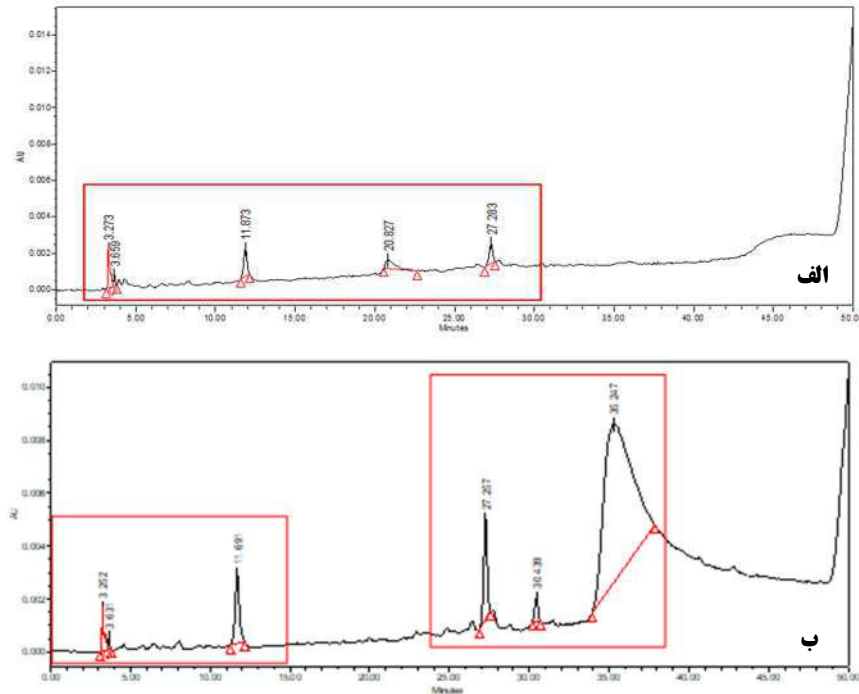
منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	محتوای فنل کل	فعالیت آنتی اکسیدانی
حلال	2		366/085**	641/462**
خطا	6		0/623	0/416

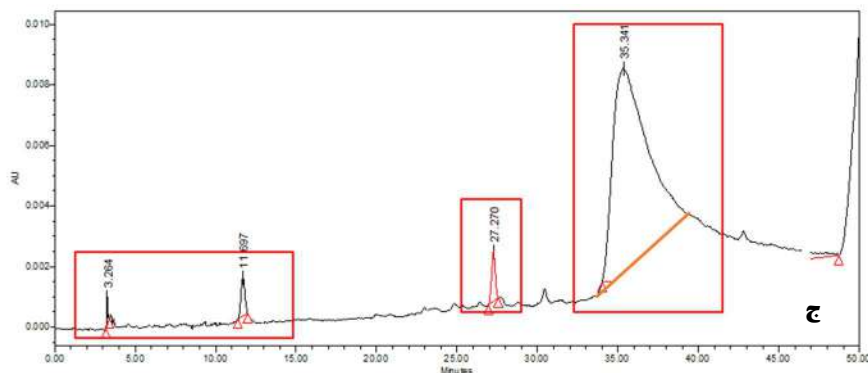
در این تحقیق، نمودار مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بین حلال‌های مختلف آزمایش شده، عصاره تهیه شده با حلال هیدروآنانولی 60% دارای بالاترین میزان فنل کل بوده که دارای اختلاف معنی‌داری با حلال‌های هیدروآنانولی 60% و حلال آبی است (شکل 1-الف). همچنین بیشترین محتوای آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گیاه افسنطین مربوط به حلال هیدروآنانولی 60% بوده که با حلال هیدروآنانولی 80% اختلاف معنی‌دار ندارد ولی با حلال آبی دارای اختلاف معنی‌دار است (شکل 1-ب).



شکل (1) مقایسه میانگین اثر نوع حلال عصاره‌گیری بر الف) محتوای فنل کل و ب) فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه دارویی افسنطین

نمودارهای به‌دست آمده از روش HPLC عصاره‌های تهیه شده در طول موج 280 نانومتر، نتایج فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی را به صورت کیفی تأیید می‌کنند. مقایسه شکل‌های 2-الف، 2-ب و 2-ج نشان می‌دهند که میزان ترکیبات و مواد مؤثره عصاره گیاه استخراج شده با حلال هیدروآنانولی 60% نسبت به دو حلال دیگر بیشتر است (شکل 2).





شکل (2) نمودارهای HPLC عصاره‌های تهیه شده با الف) حلال آبی، ب) حلال هیدروآتانولی 60% و ج) حلال هیدروآتانولی 80% در طول موج 280 نانومتر

به‌طور کلی نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که نوع حلال مورد استفاده در فرآیند عصاره‌گیری بر ماهیت و میزان متابولیت‌های ثانویه استخراج شده گیاهان اثر می‌گذارد بنابراین انتخاب حلال مناسب برای فعالیت‌های دارویی مطلوب عصاره‌ها، فرآیندی ضروری است (Dirar et al., 2019).

Amzad Hossain و همکاران پژوهشی روی گیاه پیچک آلامو سفید (*Merremia borneensis*) انجام دادند و بیان نمودند که اثر نوع حلال بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجه است به صورتی که عصاره‌های هیدروآلکی نسبت به سایر عصاره‌ها از جمله عصاره‌های آبی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری را نشان دادند (Amzad Hossain and Shah, 2015). همچنین Dirar و همکاران به بررسی اثر حلال‌های مختلف آبی، اتانولی 50%، 70%، 95%، استون و دی‌کلرومتان بر محتوای فنل و فلاونوئید کل شش گیاه دارویی در سودان پرداختند. نتایج آنها نشان داد که اتانول 50% و 70% بالاترین محتوای فنل و فلاونوئید عصاره‌ای را دارا بود (Dirar et al., 2019). این نتایج با نتایج به‌دست آمده از این تحقیق مطابقت دارد.

### نتیجه‌گیری

به‌طور کلی، نتایج این پژوهش نشان داد که در عصاره‌گیری گیاه افسنتین، نوع حلال و درصد حلال آبی و آلی می‌تواند بر کمیت و کیفیت مواد مؤثره عصاره تهیه شده تأثیر زیادی داشته باشد؛ به‌طوری که در ارتباط با گیاه دارویی افسنتین برداشت شده از منطقه بهاباد استان یزد، حلال هیدروآتانولی 60% بهترین پاسخ برای محتوای فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی را نشان داد. با بررسی و درک درست از این اصل مهم، می‌توان عصاره‌هایی با حداکثر میزان مواد مؤثره (کمی و کیفی) از گیاهان تهیه نمود.

### تشکر و قدردانی

نویسندگان از حمایت مالی وزارت علوم، تحقیقات و فناوری و پارک علم و فناوری یزد از رساله دکتری در قالب کد 32-000646-02-00، از دانشگاه یزد-ایران و دانشگاه فنی استانبول-ترکیه بابت در اختیار گذاشتن مواد و وسایل آزمایشگاهی قدردانی می‌نمایند.

### منابع

- Amzad Hossain, M., Shah, M.D., 2015. A study on the total phenols content and antioxidant activity of essential oil and different solvent extracts of endemic plant *Merremia borneensis*. *Arabian Journal of Chemistry* 8, 66–71. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2011.01.007>
- Barati, M., Sharifi-Rad, M., Saeedi, S., 2022. Effects of different phenological stages on chemical profile, antioxidant, antibacterial, and anti-inflammatory activities of *Artemisia absinthium* L. root and aerial parts extracts. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research* 38, 390–408.
- Dirar, A.I., Alsaadi, D.H.M., Wada, M., Mohamed, M.A., Watanabe, T., Devkota, H.P., 2019. Effects of extraction solvents on total phenolic and flavonoid contents and biological activities of extracts from Sudanese medicinal plants. *South African Journal of Botany* 120, 261–267. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.07.003>
- Mohammed, H.A., 2022. Phytochemical Analysis, Antioxidant Potential, and Cytotoxicity Evaluation of Traditionally Used *Artemisia absinthium* L. (Wormwood) Growing in the Central Region of Saudi Arabia. *Plants* 11, 1028. <https://doi.org/10.3390/plants11081028>

## **Study of the Effect of Solvent Type on the Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of *Artemisia absinthium* Extract via Laboratory Testing and HPLC Analysis**

**Elaheh Zamani<sup>1</sup>, Kazem Kamali Aliabad<sup>2\*</sup>, Seyed Mahdi Kalantar<sup>3</sup>, Hamid Sodaeizadeh<sup>4</sup>, Bibi Fatemeh Haghirsadat<sup>5</sup>, Esra Capanoglu<sup>6</sup>**

<sup>1</sup> PhD Student, Department of Arid Land and Desert Management, Faculty of Natural Resources, Yazd University, Yazd, Iran and Research Associate, Department of Food Engineering, Faculty of Chemical and Metallurgical Engineering, Istanbul Technical University, Istanbul, Turkey.

<sup>2</sup> Associate Professor, Department of Arid Land and Desert Management, Faculty of Natural Resources, Yazd University, Yazd, Iran. [kkamali@yazd.ac.ir](mailto:kkamali@yazd.ac.ir)

<sup>3</sup> Professor, Department of Genetics, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.

<sup>4</sup> Associate Professor, Department of Arid Land and Desert Management, Faculty of Natural Resources, Yazd University, Yazd, Iran.

<sup>5</sup> Assistant professor, Department of Advanced Medical Sciences and Technologies, School of Paramedicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.

<sup>6</sup> Professor, Department of Food Engineering, Faculty of Chemical and Metallurgical Engineering, Istanbul Technical University, Istanbul, Turkey.

### **Abstract**

*Artemisia absinthium* is one of the important medicinal plants in the Asteraceae family that grows in arid and semi-arid regions. This research carried out to study of the effect of the type of solvent on the total phenolic content and antioxidant activity of this plant. To do this research, at the first, after preparation, plant extraction was done by using different solvents, including water, 60% hydroethanol, and 80% hydroethanol, through percolation, and were subsequently evaluated for total phenolic content and antioxidant activity using the Folin-Ciocalteu and DPPH methods. Finally, the samples were diluted and analyzed for the active compounds using an HPLC instrument. The results indicated that the highest total phenolic content was found in the extract prepared with 60% hydroethanol, and the highest antioxidant activity was observed in extracts prepared with 60% and 80% hydroethanol solvents. The HPLC chromatograms of the extracts confirmed the results obtained from laboratory tests. According to the obtained results, in this experiment, 60% hydroethanol was determined as the best solvent for extracting *Artemisia absinthium*.

**Keywords:** Extraction variables, Performance, Chromatography, Physicochemical, Extract analysis.

## اثر منابع مختلف روی در محلول غذایی بر برخی ویژگی های رشدی و بیوشیمیایی میکروگرین شاهی

زهرا میچقانی<sup>1\*</sup>، پرژک ذوفن<sup>1</sup> و مختار حیدری<sup>2</sup>

<sup>1\*</sup> دانشجوی کارشناسی ارشد زیست شناسی گیاهی (فیزیولوژی)، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز

<sup>1</sup> دانشیار، دکترای زیست شناسی گیاهی (فیزیولوژی)، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز

<sup>2</sup> دانشیار، دکترای باغبانی، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان

E-mail: zahra.micheghani72@gmail.com

### چکیده

میکروگرین ها (ریز سبزی ها) نوعی از سبزی های خوراکی هستند که کوچک تر از سبزیجات بالغ اما حاوی مواد مغذی بیشتری می باشند. یک راهکار برای ایجاد تعادل عناصر غذایی در منابع آبی و خاکی و در نتیجه جبران کمبود این عناصر در تغذیه انسان غنی سازی سبزیجات با مواد مغذی می باشد. بنابراین، در این پژوهش تصمیم گرفته شد تا تاثیر غنی سازی با منابع مختلف روی در سه نوع محلول غذایی بر برخی ویژگی های رشدی و بیوشیمیایی میکروگرین شاهی به عنوان یک سبزی پرمصرف مورد بررسی قرار گیرد. پس از کشت بذرها در شرایط کنترل شده اتافک رشد، از محلول های غذایی نوولا، اپستین و تانک AB حاوی عنصر روی در سه سطح شاهد، 25 درصد کمتر و بیشتر حاوی روی نسبت به شاهد برای آبیاری استفاده شد. در روز دهم پس از کشت، میکروگرین ها برداشت و برخی شاخص ها اندازه گیری شدند. براساس نتایج، حداکثر میزان وزن تر و خشک، محتوای کلروفیلی، آسکوربیک اسید و ترکیبات فنلی در میکروگرین های آبیاری شده با محلول غذایی اپستین حاوی سطوح کمتر و بیشتر روی، حداکثر میزان کاروتنوئیدها با محلول غذایی تانک AB و نوولا حاوی سطوح کمتر و بیشتر روی و حداکثر میزان اسیدآمینو در محلول غذایی اپستین در گروه شاهد اندازه گیری شد. به نظر می رسد که حداقل در شرایط آزمایشی این تحقیق، محلول غذایی اپستین با هر دو سطح عنصر روی توانسته است بصورت موثرتری شاخص های مورد نظر که ارزش غذایی یا دارویی دارند را بهبود بخشد.

**واژگان کلیدی:** میکروگرین، عنصر روی، محلول غذایی، غنی سازی

**مقدمه:** تمایل به مصرف سبزیجات در حال افزایش است که این امر به دلیل علاقه روز افزون مصرف کنندگان به رژیم غذایی می باشد که از سلامت و طول عمر حمایت می کنند. به همین دلیل استفاده از میکروگرین ها (Microgreens) به علت داشتن طعم ها و مواد مغذی بیشتر از سبزی های بالغ می تواند در تأمین سلامت غذایی نقش مهمی ایفا کند. میکروگرین ها کوچک تر از سبزی های بالغ و بزرگ تر از جوانه ها هستند و طی 7 تا 14 روز در حدود 7 سانتی متر رشد می کنند [1]. عنصر روی (Zn) یک ریز مغذی ضروری برای شد و نمو گیاهان است. جذب روی عمدتاً توسط ناقلان روی و شلاتورهای فلزی سیستم گیاهی کنترل می شود. این فلز در گیاهان در سنتز برخی پروتئین ها و ممانعت از تجزیه ی آنها و همچنین به عنوان کوفاکتور در ساختار و عملکرد برخی آنزیم ها مشارکت دارد. کمبود روی در گیاهان منجر به انباشتگی رادیکال های سوپراکسید و نیز کاهش تثبیت دی اکسید



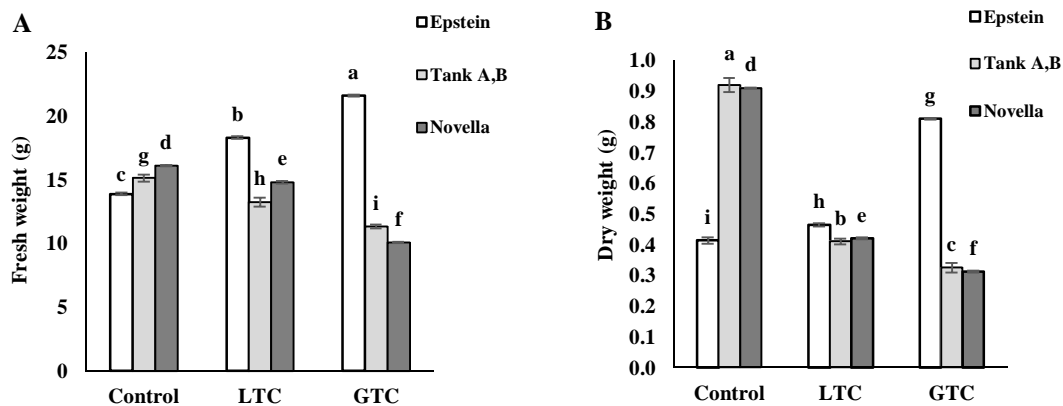
کربن می شود. علاوه بر این، کمبود روی در گیاهان کاهش رشد طولی و ایجاد لکه های قرمز در برگ ها را به دنبال خواهد داشت [2]. بر اساس تخمین یک سوم جمعیت جهان با کمبود عنصر روی مواجه هستند که این باعث منجر به اختلالات جسمی و بروز برخی بیماری ها در بزرگسالان می شود. کمبود روی در جمعیت های انسانی به علت ظرفیت محدود تجمع عناصر معدنی در محصولات کشاورزی کشت شده در خاک هایی با محتوای پایین عناصر غذایی می باشد. یکی از گام های موثر برای رفع این مشکل غنی سازی (Biofortification) سبزی ها با عناصر ریزمغذی است. غنی سازی بعنوان فرآیندی تعریف می شود که در طی آن محصولات زراعی با عناصر معدنی و ویتامین ها غنی می شوند تا نیاز های غذایی انسان را تامین کنند [3]. غنی سازی با عنصر روی موجب افزایش قابل توجهی در پارامترهای مورفولوژیکی و عملکردی گیاهان شد [4,5]. شاهی با نام علمی *Lepidium sativum* L. از خانواده Brassicaceae و دارای مصارف غذایی، دارویی و درمانی فراوان می باشد. بنابراین، در این تحقیق تلاش می شود تاثیر منابع و غلظت های مختلف روی در سه نوع محلول غذایی بر برخی ویژگی های رشدی و بیوشیمیایی میکروگرین شاهی با هدف غنی سازی آن مورد بررسی قرار گیرد.

**مواد و روش ها:** بذرهای ضدغفونی شده با اتانول 70 درصد در بستر کشت شامل کوکوپیت و پرلیت (2:1) به صورت یکنواخت در شرایط استریل کشت و با اسپری آبپاش آبیاری شدند و تا زمان جوانه زنی در اتاقک رشد با شرایط تاریکی قرار گرفتند. پس از جوانه زنی شرایط بصورت دمای شبانه روزی  $19^{\circ}\text{C}$ ، رطوبت 78 درصد و 15 ساعت روشنایی و 9 ساعت تاریکی با شدت نور 400 میکرومول بر متر مربع بر ثانیه تنظیم شد. در مدت 2 روز نخست آبیاری با آب مقطر استریل و در 8 روز بعدی، 4 بار محلول پاشی با محلول غذایی نوولا (Novella)، اپستین (Epstein) و تانک AB (Tank AB) به صورت یک روز در میان هر بار با 50 میلی لیتر محلول انجام شد. محلول های غذایی نوولا، اپستین و تانک AB در سه سطح کنترل، 25 درصد کمتر و بیشتر از سطح کنترل حاوی عنصر روی و هر کدام با 3 تکرار استفاده شدند. در محلول غذایی نوولا، روی به صورت  $\text{ZnSO}_4$  با غلظت 1/07 میلی گرم در لیتر در سطح شاهد [6]، در محلول غذایی اپستین، روی به صورت  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  با غلظت 0/228 میلی گرم در لیتر در سطح شاهد [7] و در محلول غذایی تانک AB روی به صورت Zn-EDTA با غلظت 0/645 میلی گرم در لیتر در سطح شاهد [8] استفاده شد. روز دهم میکروگرین ها آماده ی برداشت شدند. پس از اندازه گیری وزن تر و میزان رطوبت نسبی [9] برخی نمونه ها به آون 70 درجه سانتی گراد برای 48 ساعت و باقی مانده به فریزر 20- درجه سانتی گراد منتقل شدند. با استفاده از وزن تر سنجش میزان رنگدانه های فتوسنتزی [10]، میزان آسکوربات کل [11]، میزان فنل [12]، میزان فلاونوئید کل [13] و محتوای اسید آمینه کل [14] انجام شد. نتایج هر تیمار آزمایشی با سه تکرار مستقل با استفاده از نرم افزار SAS نسخه 9/4، آنالیز واریانس ANOVA شدند و مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح اطمینان  $P < 0/05$  انجام گردید.

## نتایج و بحث

بررسی اثر سه محلول غذایی با غلظت های مختلف روی نشان داد غلظت های کمتر و بالاتر روی در محلول غذایی اپستین موجب افزایش وزن تر و خشک میکروگرین شاهی در مقایسه با محلول غذایی شاهد شد. حداکثر افزایش در این شاخص ها در غلظت بالاتر روی در محلول اپستین سنجش شد (شکل 1- A,B). غنی سازی میکروگرین نخود و آفتابگردان با محلول های غذایی حاوی غلظت های مختلف روی نتایج متفاوتی را به دلیل تفاوت در ترکیب و غلظت روی و نوع گونه میکروگرین نشان داد. به نظر می رسد که روی با کنترل تقسیمات سلولی بتواند میزان رشد را در گیاهان کنترل نماید [15]. براساس مطالعه کنونی تغییر غلظت روی

موجب تفاوت معنی داری در میزان رطوبت نسبی در مقایسه با محلول غذایی شاهد نشد (جدول 1) که دلیل آن می تواند آبیاری منظم با محلول غذایی، دما و رطوبت نسبی کنترل شده باشد.



شکل 1- اثر سه نوع محلول غذایی با غلظت های مختلف روی بر وزن تر (A) و وزن خشک (B). مقادیر میانگین سه تکرار  $\pm$ SD است. Control: شاهد، LTC (Lower than control): 25 درصد حاوی روی کمتر از سطح کنترل و GTC (Greater than control): 25 درصد حاوی روی بیشتر از سطح کنترل. میانگین های دارای حرف مشترک بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن فاقد تفاوت معنی داری در سطح  $P < 0/05$  هستند.

براساس جدول 1، محلول غذایی اپستین حاوی غلظت کمتر و بالاتر روی سبب افزایش معنی داری در میزان کلروفیل *a*، کلروفیل *b* و کلروفیل کل میکروگرین ها در مقایسه با گروه شاهد شد. همچنین محلول های غذایی تانک AB و نوولا با غلظت کمتر و بالاتر روی موجب افزایش میزان کاروتنوئیدها در مقایسه با گروه شاهد شدند. غنی سازی با روی در میکروگرین های نخود و آفتابگردان [15] و ماش [16] موجب افزایش کلروفیل کل به علت سنتز آمینولولینیک اسید به عنوان پیشساز کلروفیل و افزایش کاروتنوئید شد. مطابق با جدول 2، تغییر غلظت روی در سه محلول غذایی موجب کاهش معنی داری در میزان آمینواسیدها گردید. به نظر می رسد که محتوای اسید آمینه ای در میکروگرین ها می تواند بسته به سرعت هیدرولیز و سنتز مجدد پروتئین ها جهت ذخیره سازی در لپه ها تغییر نماید [16]. نتایج نشان داد که غلظت کمتر و بالاتر و روی در محلول غذایی اپستین و غلظت کمتر روی در محلول نوولا موجب افزایش معنی دار ترکیبات فنلی در مقایسه با گروه شاهد شد (جدول 2). غنی سازی میکروگرین گشنیز [17] و نخود و آفتابگردان [15] با روی منجر به افزایش محتوای ترکیبات فنلی شد. روی یک کوفاکتور مورد نیاز برای مسیرهای متابولیکی مختلف است که منجر به بیوسنتز ترکیبات فنلی و آنتی اکسیدانی می شود [17]. بر اساس نتایج این مطالعه، محلول غذایی اپستین حاوی غلظت کمتر و بالاتر روی میزان آسکوربیک اسید میکروگرین شاهی را افزایش داد (جدول 2). افزایش میزان آسکوربات در غنی سازی میکروگرین گشنیز [17] و نخود و آفتابگردان [15] با روی نیز گزارش شده است که به عنوان یک منبع طبیعی حاوی آسکوربات می تواند در تغذیه بشر قابل توجه باشد.

جدول 1- اثر سه محلول غذایی با غلظت های مختلف روی بر محتوای کلروفیلی و کاروتنوئیدی و درصد رطوبت نسبی

Zn resource	Treatment	Total amino acid (mg g <sup>-1</sup> FW)	Total phenolics (mg g <sup>-1</sup> FW)	Total flavonoids (mg g <sup>-1</sup> FW)	Total ascorbic acid (mg g <sup>-1</sup> FW)
Epstein	Control	2.31±0.02 <sup>a</sup>	0.03±0.00 <sup>c</sup>	0.56±0.003 <sup>c</sup>	2.47±0.05 <sup>c</sup>
	LTC	1.60±0.05 <sup>c</sup>	0.05±0.001 <sup>b</sup>	0.74±0.003 <sup>b</sup>	3.31±0.07 <sup>b</sup>
	GTC	2.20±0.02 <sup>b</sup>	0.09±0.001 <sup>a</sup>	1.02±0.007 <sup>a</sup>	3.60±0.04 <sup>a</sup>
Tank AB	Control	2.15±0.04 <sup>g</sup>	0.03±0.00 <sup>d</sup>	0.63±0.003 <sup>g</sup>	2.70±0.03 <sup>g</sup>
	LTC	1.70±0.03 <sup>h</sup>	0.03±0.00 <sup>e</sup>	0.58±0.002 <sup>h</sup>	2.48±0.02 <sup>h</sup>
	GTC	1.55±0.01 <sup>i</sup>	0.02±0.001 <sup>f</sup>	0.40±0.003 <sup>i</sup>	2.32±0.02 <sup>i</sup>
Novella	Control	2.26±0.01 <sup>d</sup>	0.03±0.00 <sup>h</sup>	0.58±0.005 <sup>e</sup>	2.80±0.02 <sup>d</sup>
	LTC	1.60±0.02 <sup>e</sup>	0.03±0.001 <sup>g</sup>	0.65±0.003 <sup>d</sup>	2.58±0.04 <sup>e</sup>
	GTC	1.20±0.03 <sup>f</sup>	0.02±0.001 <sup>i</sup>	0.36±0.005 <sup>f</sup>	1.98±0.04 <sup>f</sup>

مقادیر میانگین سه تکرار ± SD است. Control: شاهد، LTC (Lower than control): 25 درصد حاوی روی کمتر از سطح کنترل، GTC (Greater than control): 25 درصد حاوی روی بیشتر از سطح کنترل و RWC: میزان رطوبت نسبی. میانگین های دارای حرف مشترک بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن فاقد تفاوت معنی داری در سطح P<0/05 هست

جدول 2- اثر سه محلول غذایی با غلظت های مختلف روی بر محتوای آمینو اسید کل، فنل کل، فلاونوئید کل و آسکوربات کل

Zn resource	Treatment	Chl a (mg g <sup>-1</sup> FW)	Chl b (mg g <sup>-1</sup> FW)	Total chl (mg g <sup>-1</sup> FW)	Carotenoids (mg g <sup>-1</sup> FW)	RWC (%)
Epstein	Control	0.14±0.00 <sup>e</sup>	0.09±0.001 <sup>c</sup>	0.23±0.001 <sup>c</sup>	12.7±0.41 <sup>g</sup>	73.2±1.38 <sup>b</sup>
	LTC	0.15±0.002 <sup>d</sup>	0.12±0.001 <sup>b</sup>	0.3±0.002 <sup>b</sup>	5.6±1.07 <sup>h</sup>	72.2±0.50 <sup>b</sup>
	GTC	0.15±0.00 <sup>d</sup>	0.13±0.001 <sup>a</sup>	0.3±0.001 <sup>a</sup>	2.4±0.66 <sup>i</sup>	72.9±0.22 <sup>b</sup>
Tank AB	Control	0.15±0.002 <sup>f</sup>	0.13±0.001 <sup>g</sup>	0.3±0.001 <sup>g</sup>	2.7±0.33 <sup>c</sup>	73.3±1.71 <sup>a</sup>
	LTC	0.14±0.002 <sup>g</sup>	0.09±0.00 <sup>h</sup>	0.23±0.001 <sup>h</sup>	11.2±0.60 <sup>b</sup>	70.8±0.69 <sup>a</sup>
	GTC	0.14±0.00 <sup>g</sup>	0.07±0.00 <sup>i</sup>	0.21±0.00 <sup>i</sup>	18.7±0.62 <sup>a</sup>	71.4±2.61 <sup>a</sup>
Novella	Control	0.15±0.002 <sup>a</sup>	0.13±0.003 <sup>d</sup>	0.3±0.003 <sup>d</sup>	4.4±1.78 <sup>f</sup>	71.4±0.85 <sup>c</sup>
	LTC	0.14±0.00 <sup>b</sup>	0.1±0.00 <sup>e</sup>	0.24±0.00 <sup>e</sup>	9.9±0.30 <sup>e</sup>	71.2±1.22 <sup>c</sup>
	GTC	0.13±0.002 <sup>c</sup>	0.07±0.003 <sup>f</sup>	0.2±0.00 <sup>f</sup>	18.01±0.76 <sup>d</sup>	71.5±0.81 <sup>c</sup>

مقادیر میانگین سه تکرار ± SD است. Control: شاهد، LTC (Lower than control): 25 درصد حاوی روی کمتر از سطح کنترل، GTC (Greater than control): 25 درصد حاوی روی بیشتر از سطح کنترل و RWC: میزان رطوبت نسبی. میانگین های دارای حرف مشترک بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن فاقد تفاوت معنی داری در سطح P<0/05 هست.

نتیجه گیری: حداقل بر اساس نتایج این مطالعه به نظر می رسد که بسته به هدف و شاخص مورد نظر اثر هر یک از سه محلول غذایی بکار رفته حاوی غلظت کمتر و بالاتر روی می تواند متفاوت باشد. بنابراین با توجه به شاخص های رشدی و عملکردی و

در نظر گرفتن هزینه های اقتصادی می توان نوع محلول غذایی با مقدار روی مورد نظر را با کارایی بالاتر پیشنهاد داد. بر این اساس تصور می شود که برای افزایش محتوای کلروفیلی، آسکوربیک اسید و ترکیبات فنلی، همچنین افزایش رشد استفاده از محلول غذایی اپستین حاوی غلظت های کمتر و بالاتر روی عملکرد بهینه تری در کشت میکروگرین شاهی داشته باشد که میتواند یک راهکار موثر برای افزایش ارزش غذایی آن و بهبود سلامت غذایی انسان باشد.

#### منابع

- [1]-Mir, S. A., Shah, M. A., & Mir, M. M. (2017). Microgreens: Production, shelf life, and bioactive components. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(12), pp.2730-2736.
- [2]-Jamshidinaeini Y, Esmaili S, Akbari MA, Davoodi SH. (2016). The link between iron deficiency and overload and cancer in humans. *Koomesh*. 16, pp.289-300.
- [3]-Szerement, J., Szatanik-Kloc, A., Mokrzycki, J., & Mierzwa-Hersztek, M. (2022). Agronomic biofortification with Se, Zn, and Fe: An effective strategy to enhance crop nutritional quality and stress defense—A review. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 22(1), pp.1129-1159.
- [4]-Motamednezhad, M., Eslami, S. V., & Sayyari, M. H. (2016). The effect of enrichment with biofertilizers and three nutrients of iron, zinc and manganese on germination characteristics of ajowan (*Carum copticum* L.). *Journal of Horticultural Science*, 29(4), pp.564-571.
- [5]- Patel, P. S., Singh, S. K., Patra, A., & Jatav, S. S. (2022). Root dipping, foliar and soil application of zinc increase growth, yields, and grain zinc in rice (*Oryza sativa* L.) grown in moderate zinc soil of inceptisol order. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 53(15), pp.1917-1929.
- [6]-Novella, M. B., Andriolo, J. L., Bisognin, D. A., Cogo, C. M., & Bandinelli, M. G. (2008). Concentration of nutrient solution in the hydroponic production of potato minitubers. *Ciencia Rural*, 38(6), pp.1529-1533.
- [7]-Epstein, E. 1972. Mineral nutrition of plants: principles and perspectives. John Wiley and Sons, Incorporation, New York, pp.1- 412.
- [8]-van der Lugt, G., Holwerda, H. T., Hora, K., Durant, G., Uribe, M., Miranda, C., & de Vries, P. (2016). Nutrient solution for greenhouse crops. *Consultant Plant Nutrition in Horticulture*, 4, pp.277-312.
- [9]- 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. *Journal of Crop Science*, 30(1), pp.105-111.
- [10]-Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *In Methods in Enzymology* (Vol. 148, pp. 350-382).
- [11]-De Pinto, M. C., Francis, D., & De Gara, L. (1999). The redox state of the ascorbate-dehydroascorbate pair as a specific sensor of cell division in tobacco BY-2 cells. *Protoplasma*, 209, pp.90-100.
- [12]-Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *In Methods in Enzymology* (Vol. 299, pp. 152-178).
- [13]-Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, pp.1-55
- [14]-Xiong, Z. T., Liu, C., & Geng, B. (2006). Phytotoxic effects of copper on nitrogen metabolism and plant growth in *Brassica pekinensis* Rupr. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 64(3), pp.273-280.
- [15]-Poudel, P., Di Gioia, F., Lambert, J. D., & Connolly, E. L. (2023). Zinc biofortification through seed nutri-priming using alternative zinc sources and concentration levels in pea and sunflower microgreens. *Frontiers in Plant Science*, 14, pp.1177844.
- [16]-Zafar, M., Ahmed, S., Munir, M. K., Zafar, N., Saqib, M., Sarwar, M. A., & Gulnaz, A. (2023). Application of zinc, iron and boron enhances productivity and grain biofortification of Mungbean. *Phyton-International Journal of Experimental Botany*, 92(4), pp.983-999.
- [17]-Kyriacou, M. C., El-Nakhel, C., Pannico, A., Graziani, G., Soteriou, G. A., Giordano, M., & Roupheal, Y. (2020). Phenolic constitution, phytochemical and macronutrient content in three species of microgreens as modulated by natural fiber and synthetic substrates. *Antioxidants*, 9(3), pp.1-252.

## Effect of different resources of Zn in nutrient solution on some growth and biochemical parameters of *Lepidium sativum* microgreen

Zahra Micheghani<sup>1\*</sup>, Parzhak Zoufan<sup>1</sup>, Mokhtar Heydari<sup>2</sup>

<sup>1\*</sup> MS student in plant physiology, Dep. of Biology, Faculty of Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz

<sup>1</sup> Associate Professor, Ph.D. in plant physiology, Dep. of Biology, Faculty of Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz

<sup>2</sup> Associate Professor, Ph.D. in Horticulture, Dep. of Horticultural Science and Engineering, Faculty of Horticulture, Khuzestan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

E-mail: [zahra.micheghani72@gmail.com](mailto:zahra.micheghani72@gmail.com)

### Abstract

Microgreens are a type of edible vegetables that are smaller in size than mature vegetables, but contain higher nutrients. A strategy to balance nutrients in water and soil resources and thus compensate for the lack of these elements in human nutrition is vegetables biofortification with nutrients. Therefore, in this research, it was decided to investigate the effect of biofortification with different resources of Zn in 3 types of nutrient solutions on some growth and biochemical characteristics of *Lepidium sativum* as a widely consumed vegetable. After cultivating the seeds under controlled conditions, nutrient solutions of Novella, Epstein and tank AB containing different levels of Zn (control, 25% less and more than the control level) were used for irrigation. On the tenth day after cultivation, microgreens were harvested and some indicators were measured. Based on the results, the maximum of fresh and dry weight, chlorophyll, ascorbic acid, and phenolic compounds contents were assayed in microgreens irrigated with Epstein solution containing lower and higher levels of Zn. Microgreens irrigated with Tank AB and Novella solutions containing lower and higher Zn levels showed the maximum carotenoid content. The maximum amino acid content was measured in the control group irrigated with Epstein solution. It seems that at least in our experiment conditions, Epstein's solution with both levels of Zn has been able to more effectively improve the desired indicators that have nutritional or medicinal value.

**Keywords:** Microgreen, Zinc, Nutrient solution, Biofortification

## بررسی پاسخ های کوتاه مدت فیزیولوژی و بیوشیمیایی گیاه جو تحت تأثیر تنش مس

سارا سادات عباسی راد<sup>1</sup>، علی اکبر قطبی راوندی<sup>2\*</sup>

1- دانش آموخته‌ی مقطع کارشناسی ارشد، زیست شناسی - فیزیولوژی گیاهی، دانشکده علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید

بهشتی

2\* - استادیار، دکتری تخصصی، زیست شناسی - فیزیولوژی گیاهی، دانشکده علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی

([a\\_ghotbi@sbu.ac.ir](mailto:a_ghotbi@sbu.ac.ir))

### چکیده

با توجه به استفاده گسترده از آفت کش ها و کودهای شیمیایی مبتنی بر فلز مس و انتشار آنها در محیط، محصولات کشاورزی از جمله گیاه جو، به عنوان یکی از مهم ترین غلات، در معرض آلودگی ناشی از این فلز سنگین قرار دارد. بنابراین در این مطالعه، اثرات احتمالی یون فلزی مس بر برخی پارامترهای فیزیولوژیکی و هورمونی گیاه جو مورد ارزیابی قرار گرفته است. در ابتدا، محلول 30 میلی مولار یون مس با حل شدن 2 گرم سولفات مس ( $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ ) در 250 میلی لیتر آب دیونیزه تهیه شد و بر روی گیاهان جو 21 روزه، اسپری شد و 72 ساعت بعد، اثرات یون مس بر فعالیت آنتی اکسیدانی و تغییرات هورمونی گیاه جو مورد بررسی قرار گرفت. این آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی با 3 تکرار انجام شد. محتوی هورمون های اسید آسبیزیک، اسید جاسمونیک و اتیلن و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی نظیر سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در پاسخ به تنش فلز مس افزایش معنی داری از خود نشان دادند. نتایج این پژوهش بر نقش موثر فیتوهورمون ها و آنزیم های آنتی اکسیدانی در پاسخ های اولیه تنش سمیت یون مس دلالت دارد.

**واژگان کلیدی:** فلزات سنگین، تنش غیر زیستی، هورمون های گیاهی، تنش اکسیداتیو، آنزیم های آنتی اکسیدان

### مقدمه

مس یکی از عناصر ریز مغذی ضروری است که به طور فعال در فرآیندهای حیاتی سلولی مانند انتقال الکترون در فتوسنتز، واکنش های اکسیداسیون احیا در آنزیم ها، تنفس میتوکندریایی، متابولیسم دیواره سلولی و سیگنالینگ هورمون ها شرکت می کند<sup>1</sup>. میزان بیش از حد مس می تواند تا حد زیادی رشد و نمو گیاه، جذب مواد مغذی ضروری، فتوسنتز، کاهش محتویات رنگدانه، رشد ریشه و توسعه برگ مختل می کند، تجمع مس در سلول همچنین عملکرد اجزای کلیدی سلول را مانند پروتئین ها، لیپیدها، DNA، RNA را مختل می کند. سمیت سلولی می تواند به طور غیرمستقیم، از طریق افزایش تولید گونه های فعال اکسیژن فعال ( $ROS^{104}$ ) باشد<sup>2</sup>. بنابراین تلاش برای شناسایی سازوکارهای مقاومت به تنش فلزات سنگین از جمله مس در گیاهان، از اهمیت ویژه ای برخوردار است. فیتوهورمون ها مهم ترین مولکول های درون زا هستند که برای بهبود واکنش های فیزیولوژیکی، مولکولی و برای بقای گیاه تحت تنش فلزات سنگین به شدت مورد نیاز هستند<sup>3</sup>. تحت تأثیر فلزات سنگین سطوح فیتوهورمون های درونی تغییر می کند که طیف وسیعی از ویژگی های سازگاز با تنش گیاهی را تعدیل میکنند<sup>4</sup>. گیاه جو (*Hordeum vulgare* L.) به عنوان یکی از قدیمی

<sup>104</sup> Reactive oxygen species

ترین غلات، به عنوان ماده اولیه برای تهیه محصولات مختلف در صنعت غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد. یافته‌ها نشان می‌دهد که استفاده از کودهای مبتنی بر مس ممکن است بر سلامت ترکیبات زیست فعال در رژیم غذایی مبتنی بر جو تأثیر بگذارد<sup>5</sup>. بنابراین هدف از پژوهش حاضر، بررسی اثر تنش یون فلزی مس بر تغییرات هورمونی و آنزیمی ناشی از تنش اکسیداتیو در گیاه جو می‌باشد.

### مواد و روش‌ها

بذر جو زراعی از موسسه‌ی "تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر" تهیه شد و به مدت 21 روز در شرایط استاندارد، در گلدان‌های پلاستیکی حاوی 300 گرم خاک رشد داده شدند. محلول 30 میلی مولار سولفات مس با حل 2 گرم سولفات مس ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) در 250 میلی لیتر آب دیونیزه تهیه شد. محلول مربوطه با اسپری روی سطح برگ گیاهان اعمال شد و گروه شاهد آب دیونیزه دریافت کردند. نمونه‌ها با دقت 72 ساعت پس از محلول پاشی از موقعیت فیلوتاکسی یکسان برداشت شدند. اندازه‌گیری هورمون اسید آبسزیک، و اسید جاسمونیک بر اساس روش Liu و همکاران<sup>6</sup> با استفاده از دستگاه HPLC<sup>105</sup> و اتیلن بر اساس روش Lutts و همکاران<sup>7</sup>، با دستگاه GC<sup>106</sup> انجام شد. تعیین فعالیت اختصاصی کاتالاز (CAT) بر اساس روش Aebi و همکاران<sup>8</sup>، آسکوربات پراکسیداز (APX) طبق پروتکل Nakano و Asada<sup>9</sup> و فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (SOD) با تعیین مهار احیای فتوشیمیایی تترازولیوم نیترویلو (NBT) با روش Giannopolitis و Ries<sup>10</sup> ارزیابی شد. میزان هیدروژن پراکسید با استفاده از از منحنی استاندارد منطبق بر روش Alexieva و همکاران<sup>11</sup> در طول موج 390 نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر (Shimadzu UV-1601PC، ژاپن) اندازه‌گیری شد. نتایج بر حسب میکرومول بر گرم بیان شد. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با 3 تکرار زیستی انجام شد. برای مقایسه‌ی میانگین‌ها از Student's t-test ( $p \leq 0.05$ ) استفاده شد.

### نتایج و بحث

در این پژوهش، استفاده از یون مس منجر به افزایش معنی دار ( $p \leq 0.05$ ) میزان پراکسید هیدروژن ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) نسبت به شاهد شد (جدول 1). سمیت فلزات باعث تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن، آسیب به غشای گیاهی و تخریب اندامک‌های سلولی می‌شود<sup>12</sup>. یون مس به طور معنی داری ( $p \leq 0.05$ ) منجر به افزایش فعالیت اختصاصی آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و آسکوربات پراکسیداز (APX) در برگ جو شد (جدول 1). در این راستا، Kumar و همکاران<sup>13</sup> گزارش دادند که فعالیت SOD توسط جیوه، سرب و مس تغییر می‌کند. از آنجایی که این آنزیم‌ها نقش مهمی در حفظ تعادل ROS در گیاهان دارند، پیامدهای مضر ناشی از آن را، می‌توان با فعال سازی آنزیم‌های آنتی اکسیدانی نظیر SOD که مسئول تغییر شکل سوپراکسیدها و متابولیسم  $\text{H}_2\text{O}_2$  توسط APX و CAT، تعدیل کرد<sup>14</sup>. فرآیند تبدیل  $\text{H}_2\text{O}_2$  به آب و اکسیژن توسط آنزیم‌های APX و CAT در اندامک‌های سلولی مختلف از جمله کلروپلاست‌ها، سیتوزول، میتوکندری و پراکسی زوم‌ها صورت می‌گیرد<sup>15</sup> افزایش فعالیت APX و CAT، گیاهان را قادر می‌سازد تا به طور موثر با اثرات نامطلوب  $\text{H}_2\text{O}_2$  بیش از حد در گیاه گوجه فرنگی مقابله کنند<sup>16</sup>. تجمع یون مس در گیاه جو با افزایش معنی دار ( $p \leq 0.05$ ) فیتوهورمون‌های اسید آبسزیک (ABA)، اسید جاسمونیک (JA) و اتیلن (ET) در برگ همراه بود (جدول 2). یافته‌ها نشان می‌دهد که ABA ممکن است در مسیرهای سیگنال در طول تنش فلزی مشارکت داشته باشد<sup>17</sup>. Song و همکاران<sup>18</sup> نشان دادند که ABA با افزایش بیان ژن‌هایی که با سم زدایی فلزات سنگین در گیاهان

<sup>105</sup> High Performance Liquid Chromatography

<sup>106</sup> Gas Chromatography

انگور مرتبط هستند، نقش کلیدی در کاهش سمیت روی ایفا می کند. Rather و همکاران<sup>19</sup> سطوح بالایی از ET را در برگ های خردل سیاه (*Brassica nigra*) در مقابل با تنش اکسیداتیو ناشی از مس مشاهده کردند. فرض بر این است که سمیت فلزی بیان ژن های کدکننده دو آنزیم<sup>107</sup> ACO و<sup>108</sup> ACS در گیاهان را تقویت می کند که منجر به افزایش تولید ET می شود<sup>20</sup>. یافته های این پژوهش نشان داد که محلول پاشی یون مس به طور قابل توجهی غلظت درون زای JA در جو را افزایش داده است. مشخص شده است که جاسمونات ها به گیاهان در مقابله با تنش های ناشی از فلزات ناشی از کادمیوم، آرسنیک، سرب، مس و نیکل کمک می کنند.

21

جدول 1. محتوی پراکسید هیدروژن و فعالیت اختصاصی آنزیم های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در برگ گیاه جو تحت تنش یون مس

تیمارها	پراکسید هیدروژن ( $\mu\text{mol. g}^{-1}$ )	سوپراکسید دیسموتاز ( $\text{U.mgprotein}^{-1}$ )	کاتالاز ( $\text{U.mgprotein}^{-1}$ )	آسکوربات پراکسیداز ( $\text{U.mgprotein}^{-1}$ )
شاهد	26/3 $\pm$ 0/4	17/6 $\pm$ 0/1	71/1 $\pm$ 0/9	50/5 $\pm$ 0/9
تیمار یون مس	* 45/06 $\pm$ 0/2	* 27/1 $\pm$ 0/7	* 84/3 $\pm$ 1/39	* 112/5 $\pm$ 1/1

جدول 2. محتوی اسید آبسزیک، اسید جاسمونیک، و اتیلن در برگ گیاه جو تحت تنش یون مس

تیمارها	اسید آبسزیک ( $\text{ng. g}^{-1}$ )	اسید جاسمونیک ( $\text{ng. g}^{-1}$ )	اتیلن ( $\text{ng. g}^{-1}$ )
شاهد	15/6 $\pm$ 1/67	0/68 $\pm$ 0/35	44/02 $\pm$ 1/01
تیمار یون مس	* 44/69 $\pm$ 4/06	* 2/03 $\pm$ 0/47	* 70/85 $\pm$ 1/15

### نتیجه گیری

ترکیب یونی مس به دلیل تجمع و اثرات سمی بالا بر سلول های گیاهی، باعث افزایش فعالیت هیدروژن پراکسید و آنزیم های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز، به منظور کاهش تنش اکسیداتیو ناشی از آن شد. همچنین، محتوای فیتوهورمون های دخیل در مکانیسم دفاعی، از جمله اسید آبسزیک، اسید جاسمونیک و اتیلن در مقایسه با شاهد افزایش یافت.

### منابع

- Chandra S, Kumar A, Tomar PK. Synthesis and characterization of copper nanoparticles by reducing agent. *J Saudi Chem Soc*. Published online 2014. doi:10.1016/j.jscs.2011.06.009
- Jaime-Pérez N, Kaftan D, Bína D, Bokhari SNH, Shreedhar S, Küpper H. Mechanisms of sublethal copper toxicity damage to the photosynthetic apparatus of *Rhodospirillum rubrum*. *Biochim Biophys Acta - Bioenerg*. Published online 2019. doi:10.1016/j.bbabi.2019.06.004
- Fahad S, Hussain S, Bano A, et al. Potential role of phytohormones and plant growth-promoting rhizobacteria in abiotic stresses: consequences for changing environment. *Environ Sci Pollut Res*. Published

<sup>107</sup> 1-Aminocyclopropane-1-Carboxylic Acid Oxidase

<sup>108</sup> 1-Aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase



- online 2015. doi:10.1007/s11356-014-3754-2
4. Sytar O, Kumari P, Yadav S, Brestic M, Rastogi A. Phytohormone priming: regulator for heavy metal stress in plants. *J Plant Growth Regul.* 2019;38:739-752.
  5. Karmous I, Kadri O, Rahmani R, et al. Variation in polyphenolics, bioactive compounds and nutrients of barley (*Hordeum vulgare L.*) after exposure to copper and copper oxide nanoparticles: Health risk implications of nanofertilizers in agriculture. Published online 2022.
  6. Liu WX, Zhang FC, Zhang WZ, Song LF, Wu WH, Chen YF. Arabidopsis Di19 functions as a transcription factor and modulates PR1, PR2, and PR5 expression in response to drought stress. *Mol Plant.* Published online 2013. doi:10.1093/mp/sst031
  7. Lutts S, Kinet JM, Bouharmont J. Ethylene production by leaves of rice (*Oryza sativa L.*) in relation to salinity tolerance and exogenous putrescine application. *Plant Sci.* Published online 1996. doi:10.1016/0168-9452(96)04379-8
  8. Aebi H. Catalase in Bergmeyer, HU ed Methods of enzymatic analyses Verlag nodulation of neuronal excitability by NO. *Trends Neurosci.* 1983;25:510-517.
  9. Nakano Y, Asada K. Purification of ascorbate peroxidase in spinach chloroplasts; its inactivation in ascorbate-depleted medium and reactivation by monodehydroascorbate radical. *Plant Cell Physiol.* Published online 1987. doi:10.1093/oxfordjournals.pcp.a077268
  10. CN G, SK R. Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiol.* Published online 1977.
  11. Alexieva V, Sergiev I, Mapelli S, Karanov E. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. *Plant, Cell Environ.* Published online 2001. doi:10.1046/j.1365-3040.2001.00778.x
  12. Birsin MA, Adak MS, Inal A, Aksu A, Gunes A. Mineral element distribution and accumulation patterns within two barley cultivars. *J Plant Nutr.* 2010;33(2):267-284. doi:10.1080/01904160903435391
  13. Kumar A, Khushboo, Pandey R, Sharma B. Modulation of Superoxide Dismutase Activity by Mercury, Lead, and Arsenic. *Biol Trace Elem Res.* Published online 2020. doi:10.1007/s12011-019-01957-3
  14. Mir IR, Rather BA, Masood A, et al. Soil sulfur sources differentially enhance cadmium tolerance in Indian mustard (*Brassica juncea L.*). *Soil Syst.* 2021;5(2):29.
  15. Anjum NA, Rodrigo MAM, Moulick A, et al. Transport phenomena of nanoparticles in plants and animals/humans. *Environ Res.* 2016;151:233-243. doi:10.1016/j.envres.2016.07.018
  16. Faizan M, Faraz A, Yusuf M, Khan ST, Hayat S. Zinc oxide nanoparticle-mediated changes in photosynthetic efficiency and antioxidant system of tomato plants. *Photosynthetica.* 2018;56(2):678-686. doi:10.1007/s11099-017-0717-0
  17. Zulfiqar U, Jiang W, Xiukang W, et al. Cadmium phytotoxicity, tolerance, and advanced remediation approaches in agricultural soils; a comprehensive review. *Front Plant Sci.* 2022;13:773815.
  18. Song C, Yan Y, Rosado A, Zhang Z, Castellarin SD. ABA alleviates uptake and accumulation of zinc in grapevine (*Vitis vinifera l.*) by inducing expression of ZIP and detoxification-related genes. *Front Plant Sci.* Published online 2019. doi:10.3389/fpls.2019.00872
  19. Rather BA, Mir IR, Masood A, Anjum NA, Khan NA. Ethylene-nitrogen synergism induces tolerance to copper stress by modulating antioxidant system and nitrogen metabolism and improves photosynthetic capacity in mustard. *Environ Sci Pollut Res.* Published online 2022. doi:10.1007/s11356-022-19380-y
  20. Khan AR, Wakeel A, Muhammad N, et al. Involvement of ethylene signaling in zinc oxide nanoparticle-mediated biochemical changes in Arabidopsis thaliana leaves. *Environ Sci Nano.* Published online 2019.

doi:10.1039/C8EN00971F

21. Dai Z, Yuan Y, Huang H, et al. Methyl jasmonate mitigates high selenium damage of rice via altering antioxidant capacity, selenium transportation and gene expression. *Sci Total Environ*. Published online 2021. doi:10.1016/j.scitotenv.2020.143848

## Evaluating short-term physiological and biochemical responses of barley under the copper stress

Sarasadat Abbasirad<sup>1</sup>, Ali Akbar Ghotbi-Ravandi<sup>\*2</sup>

1- Graduate Master Degree, Biology-Plant Physiology, Life Science and Biotechnology, Shahid Beheshti University

\* 2-Assistant Professor, PhD, Biology-Plant Physiology, Faculty of Life Science and Biotechnology, Shahid Beheshti University

(a\_ghotbi@sbu.ac.ir)

### Abstract

Due to the widespread use of pesticides and chemical fertilizers on copper metal and their release in the environment, agricultural products, including barley, as one of the most important grains, are at risk of being exposed to these heavy metals. Therefore, in this study, the possible effects of copper metal ion interaction on some physiological and hormonal properties of barley plant have been evaluated. At first, copper ion solution 30mM was prepared by dissolving two grams of copper sulfate ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) in 250 ml of deionized water and sprayed on 21-day-old barley plants, and 72 hours after the treatments, the effect of copper ions on. The antioxidant enzymes activity and phytohormones content was evaluated. Experiment was conducted in the form of a completely randomized design with three replications. The content of abscisic acid, jasmonic acid and ethylene hormones significantly increased compared to control. Meanwhile, salicylic acid hormone significantly decreased. Also, the specific activity of antioxidant enzymes such as superoxide dismutase, catalase and ascorbate peroxidase showed a significant increase in response to copper metal stress. Finding of the present study indicates the effective role of phytohormones and enzymes in response to the copper ions toxicity.

**Keywords:** Heavy metals, Abiotic stress, Phytohormones, Oxidative stress, Antioxidant enzymes

## بررسی اثر غلظت‌های مختلف هورمون جیبرلین در گندم تحت تنش غرقابی

زهرا سراجی<sup>1\*</sup>، احمد عبدالزاده<sup>2</sup>، حمیدرضا صادقی‌پور<sup>2</sup>، محمد باقر باقریه نجار<sup>2</sup>، سراله گالشی<sup>3</sup>

\* دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه گلستان

[seraji.zahra@gmail.com](mailto:seraji.zahra@gmail.com)

2. احمد عبدالزاده، استاد گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه گلستان

2. حمیدرضا صادقی‌پور، دانشیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه گلستان

2. محمد باقر باقریه نجار، دانشیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه گلستان

3. سراله گالشی، استاد گروه زراعت، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

### چکیده

گندم از غلات اصلی و مهم در جهان است که تولید آن تحت شرایط نامساعد محیطی از جمله تنش غرقابی قرار می‌گیرد. در تنش غرقابی فتوسنتز و رشد گیاهان کاهش می‌یابد. کاربرد خارجی جیبرلین ممکن است موجب کاهش اثرات تنش غرقابی شود به همین جهت هدف از این پژوهش بررسی تأثیر اعمال برون‌زای (اگزوژن) هورمون جیبرلین بر کاهش اثرات تنش غرقابی در گیاه گندم رقم تیرگان است. عوامل مورد آزمایش شامل تنش غرقابی به مدت دو هفته و هورمون جیبرلین با غلظت‌های 0، 60، 90، 120 و 150 میلی‌گرم در لیتر است. در این آزمایش از طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی در چهار تکرار استفاده شد. نتایج نشان داد که تنش غرقابی میزان کلروفیل و رشد گیاه گندم را به طور معنی‌داری کاهش داد در حالی که کاربرد جیبرلین همراه با افزایش میزان کلروفیل  $a$  و  $b$  موجب افزایش وزن تر و خشک در گیاه گندم تحت تنش غرقابی شد.

واژگان کلیدی: تنش غرقابی، گندم، جیبرلین اگزوژن

### مقدمه

گندم یکی از مهم‌ترین گیاهان زراعی است که نقش بسزایی در بهبود امنیت غذایی مردم جهان دارد (1). گندم به دلیل سازگاری بالا، تقریباً در هر منطقه‌ای کشت می‌شود. با این حال، تولید آن تحت تأثیر عوامل نامطلوب محیطی قرار می‌گیرد (2). تنش غرقابی یکی از انواع تنش‌های محیطی غیرزیستی است که موجب هیپوکسی (کاهش اکسیژن) و آنوکسی (بدون اکسیژن) در گیاهان می‌شود (3). هیپوکسی سبب کاهش فتوسنتز و رشد رویشی در گندم می‌شود (4). جیبرلین‌ها از جمله تنظیم‌کننده‌های رشد هستند که در رشد طولی ساقه، برگ و گل‌ها نقش دارند (5). بر اساس گزارش‌های موجود درباره کاربرد خارجی جیبرلین مشخص شده است که در گیاهان سویا تحت شرایط هیپوکسی خاک، SNO (S- نیتروسوتیول) تولید و میزان گلوکوتایون افزایش می‌یابد، در حالی که کاربرد خارجی جیبرلین با سرکوب تولید SNO مقدار گلوکوتایون را کاهش می‌دهد که نشانه بهبود مکانیسم دفاعی است (6). به همین جهت هدف از این پژوهش بررسی اثرات کاربرد برون‌زای (اگزوژن) هورمون جیبرلین بر کاهش اثرات تنش غرقابی در گیاه گندم رقم تیرگان است که کشت آن در استان گلستان متداول است لذا سوالات زیر را می‌توان مطرح کرد: الف) آیا کاربرد هورمون جیبرلین می‌تواند سبب رشد بهتر گیاهچه گندم تحت تنش غرقابی شود؟

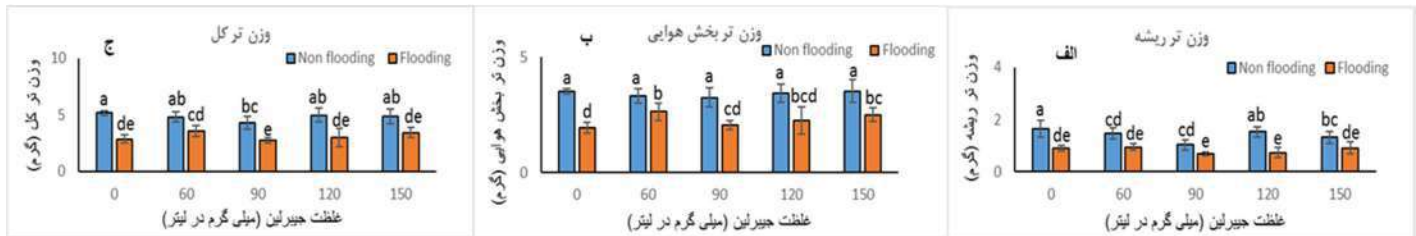
ب) اثر این هورمون‌ها بر رشد، رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاه گندم تحت تنش غرقابی چگونه است؟

### مواد و روش‌ها

در این آزمایش گلدان‌ها در اتاقک رشد با میانگین دمای 25 درجه سانتیگراد و دوره نوری 16 ساعت روشنایی و 8 ساعت تاریکی قرار داده شدند. آزمایشات به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی با حداقل 4 تکرار انجام شد. فاکتور اول تنش غرقابی بود که به صورت بدون تنش غرقابی و دو هفته غرقابی اعمال شد. فاکتور دوم هورمون گیاهی GA<sub>3</sub> با غلظت‌های (0، 60، 90، 120 و 150 میلی‌گرم در لیتر) بود. بذره‌های گندم رقم تیرگان پس از یک روز آبنوشی در داخل گلدان‌های پلاستیکی با قطر دهانه 12 سانتی‌متر کاشته شد. در هر گلدان 10 بذر کاشته شد که پس از جوانه‌زنی و تولید گیاهچه، تنک شده و به سه گیاهچه تقلیل پیدا کرد. طول دوره آزمایش در حدود 30 روز بود. آبیاری گلدان‌ها با آب شهری از روز اول تا روز دوازدهم انجام شد. آبیاری گلدان‌های شاهد (غرقاب نشده) تا زمان برداشت همچنان یک روز در میان ادامه داشت. از روز دوازدهم تیمار هورمونی هم‌زمان با تیمار غرقابی آغاز شد. برای ایجاد شرایط غرقابی گلدان‌ها به داخل تشت منتقل شده سپس با آب شهر غرقاب شدند، به طوری که سطح آب در گلدان‌های غرقاب شده دو سانتی‌متر بالای سطح خاک تنظیم شد. هورمون GA<sub>3</sub> به مدت یک هفته هر سه روز یک بار قبل از غروب آفتاب به میزان 2 میلی‌لیتر بر روی کل بخش‌های هر گیاهچه اسپری شد. پس از دو هفته غرقاب شدن وزن تر، خشک و میزان کلروفیل گیاهان اندازه‌گیری شد. آنالیز آماری، تجزیه و تحلیل داده‌ها با کمک نرم افزار SAS و EXCEL انجام شد.

### نتایج و بحث

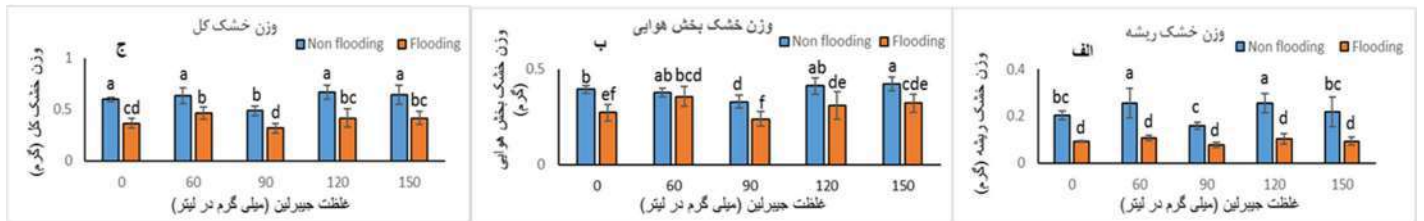
آزمایشات صورت گرفته نشان داد که تنش غرقابی به طور معنی‌داری وزن تر ریشه را به میزان 45 درصد و بخش هوایی را به میزان 44 درصد کاهش داد. با کاربرد هورمون جیبرلین در گیاهان تحت تنش وزن تر ریشه افزایش یافت که این افزایش در غلظت 60 و 150 میلی‌گرم در لیتر بیشتر بود (شکل 1). وزن تر بخش‌های هوایی نیز با کاربرد جیبرلین در غلظت 60 میلی‌گرم در لیتر 26 درصد و در غلظت 150 میلی‌گرم در لیتر 22 درصد در گیاهان تحت تنش افزایش پیدا کرد. وزن تر کل تحت تنش



غرقابی 45 درصد کاهش یافت در حالی که کاربرد جیبرلین در غلظت 60 میلی‌گرم در لیتر در این گیاهان وزن تر کل را به میزان 20 درصد و در غلظت 150 میلی‌گرم در لیتر 16 درصد افزایش داد (شکل 1).

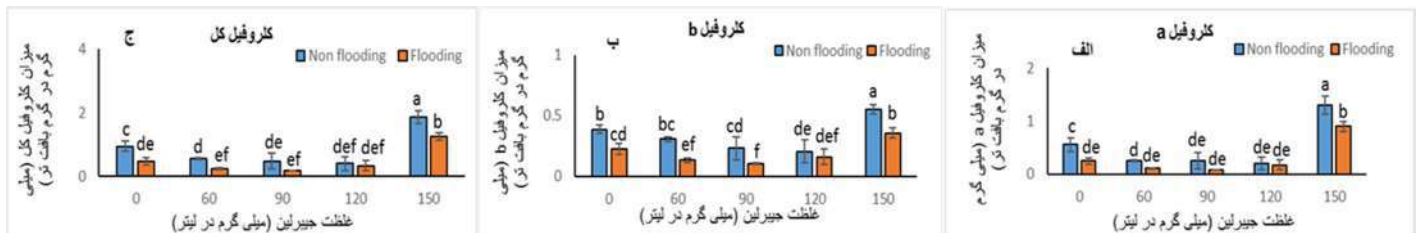
شکل 1. مقایسه تاثیر تیمارهای غرقابی و جیبرلین بر روی وزن تر ریشه (الف) و وزن تر بخش‌های هوایی (ب) و وزن تر کل (ج)

تنش غرقابی وزن خشک ریشه، بخش هوایی و وزن خشک کل را به ترتیب 55، 31 و 39 درصد کاهش داد. با کاربرد جیبرلین در گیاهان تحت تنش بیشترین افزایش در وزن خشک ریشه در غلظت 60 میلی گرم در لیتر به میزان 15 درصد رخ داد. در گیاهان تحت تنش با کاربرد جیبرلین وزن خشک بخش هوایی در غلظت‌های 60، 120 و 150 میلی گرم در لیتر افزایش پیدا کرد که این افزایش در غلظت 60 میلی گرم در لیتر نسبت به مابقی تیمارها بیشتر و در حدود 23 درصد بود. وزن خشک کل هم تحت تنش غرقابی با کاربرد جیبرلین در غلظت‌های 60، 120 و 150 میلی گرم در لیتر افزایش یافت که این افزایش در وزن خشک کل در غلظت 60 میلی گرم در لیتر بیشتر و در حدود 21 درصد بود (شکل 2).



شکل 2. مقایسه تاثیر تیمارهای غرقابی و جیبرلین بر روی وزن خشک ریشه (الف) وزن خشک بخش هوایی (ب) و وزن خشک کل (ج)

بر اساس آزمایشات ما (شکل 3) تنش غرقابی میزان کلروفیل a را 56، کلروفیل b را 41 و میزان کلروفیل کل را 50 درصد در گیاه غرقاب شده نسبت به گیاه شاهد (بدون تیمار غرقابی) به طور معنی دار کاهش داد. با کاربرد جیبرلین در گیاهان غرقاب شده تنها در غلظت 150 میلی گرم در لیتر میزان کلروفیل a، b و کلروفیل کل به ترتیب 72، 37 و 62 درصد به طور معنی داری افزایش یافت (شکل 3). همچنین کاربرد جیبرلین در گیاهان گندم که تحت تنش غرقابی قرار نداشتند هم در غلظت 150 میلی گرم در لیتر توانست میزان کلروفیل a، b و کلروفیل کل را به ترتیب 57، 30 و 49 درصد به طور معنی داری افزایش دهد در حالی که در سایر غلظت‌های استفاده شده از هورمون جیبرلین اثر افزایشی بر میزان کلروفیل نسبت به گیاه شاهد مشاهده نشد (شکل 3).



شکل 3. مقایسه تاثیر تیمارهای غرقابی و جیبرلین بر روی میزان کلروفیل a (الف) کلروفیل b (ب) و کلروفیل کل (ج)

### نتیجه گیری

تنش غرقابی با مهار رشد و افزایش طول ریشه اصلی و جانبی در گیاه گندم همراه است (7). همچنین میزان کلروفیل برگ‌ها در تنش غرقابی کاهش می‌یابد (8). بر اساس نتایج آزمایشات ما هم تنش غرقابی وزن تر، خشک و میزان کلروفیل a و b گیاه را نسبت به شاهد کاهش داد (شکل 1 و 2). در حالی که با کاربرد جیبرلین تحت تنش غرقابی میزان وزن تر، خشک و میزان کلروفیل a، b و

کل گیاه به طور معنی‌دار افزایش پیدا کرد (شکل 3). بر اساس این مشاهدات می‌توان نتیجه گرفت که احتمالاً هورمون جیبرلین با افزایش مقدار کلروفیل منجر به افزایش میزان فتوسنتز و به دنبال آن افزایش رشد گردید. بر اساس نتایج بدست آمده می‌توان پیشنهاد داد که از هورمون جیبرلین می‌توان جهت بهبود اثرات تنش غرقابی در گیاهان گندم استفاده کرد تا خسارات ناشی از تنش را در آن‌ها کاهش داد.

### منابع

1. Chaves, M.S., Martinelli, J.A., Wesp-Guterres, C., Graichen, F.A.S., Brammer, S.P., Scagliusi, S.M., da Silva, P.R., Wiethölter, P., Torres, G.A.M., Lau, E.Y. and Consoli, L., 2013. The importance for food security of maintaining rust resistance in wheat. *Food security*, 5, pp.157-176.
2. Rahaie, M., Xue, G.P. and Schenk, P.M., 2013. The role of transcription factors in wheat under different abiotic stresses. *Abiotic stress-plant responses and applications in agriculture*, 2, pp.367-385.
3. Komatsu, S., Kobayashi, Y., Nishizawa, K., Nanjo, Y. and Furukawa, K., 2010. Comparative proteomics analysis of differentially expressed proteins in soybean cell wall during flooding stress. *Amino acids*, 39, pp.1435-1449.
4. Iqbal, Z., Sarkhosh, A., Balal, R.M., Rauf, S., Khan, N., Altaf, M.A., Camara-Zapata, J.M., Garcia-Sanchez, F.S. and MA, S.N.M.H.I., 2021. Oxidative Damage by Improving Antioxidants Activities and Concentration of Osmolytes in Southern Highbush Blueberry Plants. *Agronomy*, 11, p.2143.
5. Sponsel, V.M. and Hedden, P., 2010. Gibberellin biosynthesis and inactivation. *Plant hormones: biosynthesis, signal transduction, action!*, pp.63-94.
6. Khan, M.A., Hamayun, M., Iqbal, A., Khan, S.A., Hussain, A., Asaf, S., Khan, A.L., Yun, B.W. and Lee, I.J., 2018. Gibberellin application ameliorates the adverse impact of short-term flooding on Glycine max L. *Biochemical Journal*, 475(18), pp.2893-2905.
7. Yamauchi, T., Watanabe, K., Fukazawa, A., Mori, H., Abe, F., Kawaguchi, K., Oyanagi, A. and Nakazono, M., 2014. Ethylene and reactive oxygen species are involved in root aerenchyma formation and adaptation of wheat seedlings to oxygen-deficient conditions. *Journal of experimental botany*, 65(1), pp.261-273.
8. Tian, G., Qi, D., Zhu, J. and Xu, Y., 2021. Effects of nitrogen fertilizer rates and waterlogging on leaf physiological characteristics and grain yield of maize. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 67(7), pp.863-875.

## Title of the article: Investigating the effects of different gibberellin concentrations in wheat under flooding stress

### Abstract

Wheat is one of the most important grain crops in the world, whose cultivation frequently faces with adverse environmental conditions, including flooding stress. In flooding stress, photosynthesis and growth of plants are compromised. Application of exogenous gibberellin in plants may reduce harmful effects of flooding. Therefore, this study aimed at investigating the effects of exogenous gibberellin on reducing the deleterious effects of flooding stress in wheat plants cv. Tirgan. The experiment carried out in a completely randomized block design with four replications. The tested factors included flooding stress for two weeks and gibberellin with concentrations of 0, 60, 90, 120 and 150 mg/liter. The results showed that flooding stress significantly reduced the chlorophyll a and b content and the growth of wheat plants, while gibberellin application increased the content chlorophyll a and b and fresh and dry weight of wheat plants under flooding stress.

**Keywords:** flooding, Wheat, Gibberellin.

## بررسی اثر هیدروپرایمینگ بذر و محلول پاشی اسید هیومیک بر مهمترین شاخص های رشد چغندر قند در تاریخ های مختلف کشت

علی سرخوش<sup>1\*</sup>

1. نویسنده مسئول، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بو علی سینا، همدان، ایران، رایانامه:

ali.sarkhosh7@gmail.com

محمد علی ابوطالبیان<sup>2</sup>

2. گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بو علی سینا، همدان، ایران، رایانامه: m.aboutalebian@basu.ac.ir

حامد منصوریان<sup>3</sup>

3. مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی، همدان، ایران، رایانامه: 3h.mansory@gmail.com

چکیده

این پژوهش در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار به صورت اسپلیت پلات فاکتوریل اجرا شد. عامل اصلی چهار تاریخ کشت 5 و 19 فروردین، 2 و 16 اردیبهشت 1401 و عوامل هیدروپرایمینگ (در دو سطح بذور هیدروپرایم شده و پرایم نشده) و محلول پاشی اسید هیومیک (در دو سطح اسپری آب و محلول پاشی 6 در هزار اسید هیومیک) بصورت فاکتوریل در کرت های فرعی قرار داده شدند. نتایج نشان داد که اگر هر دو تیمار هیدروپرایمینگ بذر و محلول پاشی اسید هیومیک همراه با هم و در کنار تاریخ مناسب کاشت قرار گیرد، می تواند سبب افزایش بیشینه شاخص سطح برگ و بیشینه تجمع ماده خشک چغندر قند گردد. بیشینه سرعت رشد محصول نیز تحت تاثیر اثرات اصلی تیمارهای تاریخ کاشت، پرایمینگ بذر و محلول پاشی اسید هیومیک قرار گرفت. بر اساس نتایج، کاربرد همراه با هم پرایمینگ بذر و اسید هیومیک در شرایط تاخیر در کاشت شاخص سطح برگ را 29/22 درصد و بیشینه تجمع ماده خشک را با 35/14 درصد نسبت به تیمار بدون پرایمینگ بذر و بدون محلول پاشی در همان تاریخ کاشت بهبود بخشید. همچنین تاخیر 14 روزه در کاشت چغندر قند (نسبت به تاریخ کاشت 5 فروردین) با کاربرد پرایمینگ بذر و محلول پاشی اسید هیومیک جبران گردید. بطور کلی کاربرد همراه با هم هر دو تیمار (پرایمینگ بذر و محلول پاشی اسید هیومیک) در تمام تاریخ های کشت سودمند بود.

کلمات کلیدی: تاریخ کاشت، شاخص سطح برگ، سرعت رشد محصول، حداکثر تجمع ماده خشک

مقدمه

چغندر قند (*Beta vulgaris L.*) یک محصول ریشه ای تجاری مهم است که تقریباً 20 درصد از تولید جهانی شکر را تأمین می کند (پوگلیسی و همکاران 2020). سطح کشت چغندر قند در ایران در سال زراعی 1399-1400 بالغ بر 120 هزار هکتار بوده و

استان همدان با سطح زیر کشت 8317 هکتار ششمین استان از نظر سطح زیر کشت و تولید این محصول بوده است (وزارت جهاد کشاورزی 2020). در شرایط محیطی خشک، تاریخ کاشت مناسب چغندر قند نقش حیاتی در رشد، تولید، صفات فیزیولوژیکی و عملکرد دارد و کاشت زودهنگام چغندر قند باعث تولید بالاترین عملکرد ریشه می شود (گوباره و همکاران 2019). بهره‌وری بذر چغندر قند اغلب به دلیل جوانه‌زنی ناهمگن در مزرعه، احتمالاً به دلیل وجود مواد بازدارنده در پریکارپ بذر و همچنین حملات عوامل بیماری‌زا، محدود می‌شود (دوتو و سیلویا 2017). پرایمینگ بذر به عنوان یک تکنیک پیش از کاشت می‌تواند خروج ریشه چه، درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، شاخص ویگور گیاهچه، استقرار و عملکرد گیاه را با تغییر در فعالیت‌های متابولیکی در بذر بسیاری از محصولات کشاورزی بهبود بخشد (موسوی کیا و همکاران 2020). هنگامی که بذر پرایم شده در محیط مناسب جوانه زنی قرار می‌گیرد، سریعتر از بذرهای پرایم نشده جوانه می‌زند (لی مایر و همکاران 2008). پرایمینگ بذر از طریق افزایش فعالیت آنزیمها باعث افزایش شاخص های جوانه زنی و رشد گیاهچه و عملکرد ریشه چغندر قند در شرایط شوری میشود. پرایمینگ بذر چغندر قند باعث بهبود در سرعت و درصد جوانه زنی، شاخص سطح برگ و افزایش مقدار جیبرلین و در نتیجه بهبود فعالیت آلفا آمیلاز شده و از مهمترین دلایل افزایش رشد و عملکرد چغندر قند می باشد (فرج زاده معماری تبریزی و قطبی، 2017). از سوی دیگر، مواد هیومیکی (HS) ترکیبات طبیعی، پیچیده و ناهمگنی از ترکیبات آلی چند گانه هستند که تاثیر مثبت و معنی داری بر رشد گیاهان دارد که می‌تواند از طریق کاربرد خاکی یا محلول پاشی مورد استفاده قرار گیرد. سودمندی کاربرد اسید هیومیک در محصولات مختلف توسط محققین زیادی تایید شده است بطور مثال افزایش محصول پیاز و قندهای محلول (کنديل و همکاران 2013) و بهبود تجمع ساکارز، قند قابل استحصال، خلوص، درصد استخراج قند و عملکرد چغندر قند (الحسین و همکاران 2016) گزارش شده است.

به نظر می‌رسد استفاده از تکنیک های ساده و کم هزینه ای همچون هیدروپرایمینگ بذر، انتخاب بهترین زمان کاشت و محلول پاشی اسید هیومیک باعث بهبود شاخص های رشد چغندر قند و در نهایت تولید عملکرد ریشه بیشتر با کاربرد نهاده های زراعی مناسب باشد که در این تحقیق مورد ارزیابی قرار گرفته است.

#### مواد و روشها

به منظور مطالعه پرایمینگ بذر و محلول پاشی اسید هیومیک بر برخی شاخص های رشد چغندر قند در تاریخ های مختلف کاشت، آزمایشی در قالب بلوک های کامل تصادفی با سه تکرار به صورت اسپلیت پلات فاکتوریل در شهرستان اسدآباد در سال 1401 اجرا شد. عامل اصلی چهار تاریخ کشت 5 و 19 فروردین، 2 و 16 اردیبهشت 1401 بود و عوامل هیدروپرایمینگ (در دو سطح بذور هیدرو پرایم شده و پرایم نشده) و محلول پاشی اسید هیومیک (در دو سطح محلول پاشی 6 در هزار اسید هیومیک و اسپری آب معمولی) بصورت فاکتوریل در کرت های فرعی منظور شدند. محلول پاشی طی دو مرحله 4-6 برگی و زمانی که کانوبی 20-30 درصد سطح زمین را پوشانده بود، بر اساس مقیاس BBCH<sup>109</sup> انجام شد (سینار و اونای 2021). رقم مورد استفاده در این طرح دوروتی بود. هر کرت از 6 خط کاشت با فواصل 50 سانتی متر به طول 5 متر با تراکم 10 بوته در متر مربع تنظیم شد و فاصله بین کرت ها یک خط نکاشت و فاصله بین بلوک ها 2 متر در نظر گرفته شد. کودهای فسفاته و پتاسه و یک سوم کود مورد نیاز نیتروژنی بر اساس نتایج آزمون خاک در هنگام کاشت مصرف گردید. آبیاری به روش بارانی کلاسیک ثابت صورت گرفت. پس از استقرار بوته ها در سطح خاک و انجام مراحل محلولپاشی اسید هیومیک از 40 روز پس از کاشت به فاصله هر 15 روز

<sup>109</sup> - Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt and Chemical industry



8 مرحله نمونه برداری به منظور ارزیابی شاخص های رشد انجام گرفت. کل برگ های تازه نمونه های چغندر قند از ریشه ها جدا شد تا طول و عرض (در پهن ترین قسمت) برگ تعیین شود که برای محاسبه سطح برگ (LA) از رابطه (1) استفاده شد (وارگا و همکاران 2021).

$$(1) \quad \text{سطح برگ} = \text{طول برگ (سانتی متر)} \times \text{عرض برگ (سانتی متر)} \times 0/75$$

برای برآورد مقادیر شاخص سطح برگ روزانه از برازش معادله (2) استفاده شد (دولت پرست و همکاران 2022):

$$(2) \quad LAI = a + b \times 4 \times (\exp(-(x-c)/d)) / (1 + \exp(-(x-c)/d))^2$$

که در آن  $a$  عرض از مبدا  $b$  زمان رسیدن به حداکثر LAI و  $c$  حداکثر LAI و  $d$  نقطه عطف منحنی مطابق با زمانی است که در آن رشد برگ وارد مرحله خطی می شود و  $x$  زمان بر حسب روز پس از کاشت است. مقادیر تجمع ماده خشک نیز از برازش معادله (3) بدست آمد (دولت پرست و همکاران 2022):

$$(3) \quad TDM = a / (1 + b \times \exp(-c \times x))$$

که در آن TDM تجمع ماده خشک بر حسب گرم بر متر مربع  $a$  حداکثر تجمع ماده خشک  $b$  ثابت معادله  $c$  سرعت رشد نسبی و  $x$  زمان بر حسب روزهای پس از کاشت است. برای محاسبه سرعت رشد محصول چغندر قند (CGR) از روش مشتق گیری از معادله تجمع ماده خشک (صدرآبادی حقیقی و همکاران 2011) استفاده شد. در این پژوهش داده های مربوط به بیشینه منحنی های شاخص سطح برگ، وزن خشک کل و سرعت رشد محصول که با استفاده از روابط بالا بدست آمدند، تجزیه واریانس شدند. داده ها با استفاده از نرم افزار SAS بعد از اطمینان از نرمال بودن باقیمانده ها آنالیز واریانس شد و برای مقایسه میانگین از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح پنج درصد استفاده شد.

### نتایج و بحث

بیشینه شاخص سطح برگ، بیشینه تجمع ماده خشک و بیشینه سرعت رشد محصول تحت تاثیر تمام اثرات ساده در سطح یک درصد و بیشینه شاخص سطح برگ، بیشینه تجمع ماده خشک تحت تاثیر برهمکنش سه گانه عوامل مورد آزمایش قرار گرفتند (جدول 1).

جدول 1- تجزیه واریانس صفات اندازه گیری شده تحت تاثیر پرایمینگ بذر و محلول پاشی در تاریخ های مختلف کاشت.

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		حداکثر شاخص سطح برگ	سرعت رشد محصول
تکرار	2	**9/18	**5/39
تاریخ کاشت	3	**20/92	<sup>n</sup> 15/89
خطای الف	6	1/99	3/17
پرایم بذر	1	**40/78	**15/18
محلول پاشی	1	**43/7	**13/14
			**14/6
			**23/89
			0/95
			**49/65
			**48/67

ns2/04	ns1/07	ns1/29	3	تاریخ کاشت × پرایمینگ
*3/33	ns0/68	ns0/79	3	تاریخ کاشت × محلول پاشی
ns0/95	ns0/32	ns0/09	1	پرایمینگ × محلول پاشی
**5/1	ns0/68	*3/88	3	تاریخ کاشت × پرایمینگ × محلول پاشی
111/69	3/06	0/33	24	خطای ب
7/62	16/74	7/05	—	ضریب تغییرات (%)

ns, \* و \*\* و \* \* ترتیب غیر معنی دار، معنی دار در سطح 5% و 1% می باشد.

ns, \* and \*\* are non-significant, significant at the 5% and 1% levels, respectively.

به طور کلی اهمیت سطح برگ در رابطه با رشد ریشه چغندر قند و عملکرد یک عامل شناخته شده است. بر اساس نتایج مقایسه میانگین برهمکنش تاریخ کاشت در پرایمینگ در اسید هیومیک، شاخص سطح برگ بیشینه در ترکیب تیماری تاریخ کاشت چهارم در بدون پرایمینگ و عدم مصرف اسید هیومیک کمترین میزان را به خود اختصاص داد در صورتی که تاریخ کاشت اول در کاربرد همراه با هم هیدروپرایمینگ بذر و محلول پاشی اسید هیومیک شاخص سطح برگ بیشینه را 45/59 درصد نسبت به تیمار قبل افزایش داد (جدول 2). کشت به هنگام با بهره گیری بیشتر از منابع رشد می تواند منجر به افزایش دوره فتوسنتزی گیاه و بیوماس آن شود (گوباره و همکاران 2019). رینالدی و وونلا (2006) گزارش دادند که تاریخ کاشت با تاثیر بر تعداد و اندازه برگ های سبز روی میزان تشعشع دریافت شده گیاه اثر می گذارد. همچنین بنظر می رسد پرایمینگ بذر با افزایش سرعت سبز شدن (بزهین و همکاران 2018) توانسته است سودمندی اسید هیومیک را تقویت کند. جوکار و همکاران (2019) گزارش کردند هیدروپرایمینگ بذر چغندر قند باعث افزایش 17 درصدی سطح برگ نسبت به تیمار بدون پرایمینگ شد و این افزایش را به جوانه زنی زودتر و رشد سریعتر برگها نسبت دادند. کمتر بودن زمان به حداکثر رسیدن شاخص سطح برگ، با تاخیر در کاشت، می تواند به دلیل مواجهه گیاه با شرایط نامطلوب اقلیمی (جدول 2) و در نتیجه کاهش دوره رشد (نصرت و همکاران 2020) باشد که خود عامل اصلی در کاهش شاخص سطح برگ خواهد بود. بالاترین میزان بیشینه سرعت رشد محصول در تاریخ کاشت اول (5 فروردین) با 21/76 گرم در متر مربع در روز) با 35/7 درصد افزایش نسبت به تیمار تاریخ کاشت شانزدهم اردیبهشت با کمترین میزان بدست آمد (جدول 3). همچنین در تیمار پرایمینگ بذر و محلول پاشی نیز تیمارهای تیمار هیدروپرایمینگ بذر و محلول پاشی اسید هیومیک نسبت به تیمارهای بدون پرایم و بدون محلول پاشی بترتیب 16/57 و 16/1 درصد برتری داشتند. دلیل احتمالی این سودمندی تاثیر اسید هیومیک بر توسعه ریشه (آگویار و همکاران 2018) و بهبود جذب آب و املاح (موسوی کیا و همکاران 2020) است اتفاقی که در تاریخ کشت سوم (2 اردیبهشت) مشاهده نشد. بیشترین میزان حداکثر تجمع ماده خشک در تیمار تاریخ کاشت اول به همراه پرایمینگ بذر و محلول پاشی اسید هیومیک با 53/3 درصد افزایش نسبت به تیمار تاریخ کاشت چهارم بدون پرایمینگ بذر و اسپری آب بدست آمد (جدول 2). نکته قابل تامل اینکه در تاریخ های مختلف کاشت کاربرد اسید هیومیک باعث افزایش حداکثر تجمع ماده خشک شده است که در صورت همراه بودن با عامل پرایمینگ بذر، کمیت تجمع ماده خشک افزایش چشمگیری را نشان می دهد. (جدول 2). همچنین در تاریخ کاشت تاخیری همراه بودن پرایمینگ بذر با محلول پاشی اسید هیومیک باعث افزایش 35/14 درصدی تجمع ماده خشک شده است (جدول 2). به دلیل ارتباط مستقیم و نزدیک بین میزان شاخص سطح برگ

و میزان تجمع ماده خشک، در تیمارهای با شاخص سطح برگ بالا میزان تجمع ماده خشک نیز بالاتر بود که با یافته های دیگر محققین نصرت و همکاران (2020) و گوباره و همکاران 2019 مطابقت دارد.

**جدول 2- جدول اثرات متقابل سه گانه تاریخ کاشت، پرایم بذر و محلول پاشی بر شاخص های رشد چغندر قند.**

تاریخ کاشت	پرایم بذر	محلول پاشی	بیشینه شاخص سطح برگ	بیشینه تجمع ماده خشک (g.m <sup>2</sup> )
تاریخ کاشت اول	بدون پرایم	اسپری آب	defg4/62	defg1394/74
	پرایم با آب	محلول پاشی اسید هیومیک	cde4/8	cdef1478/97
	پرایم با آب	اسپری آب	cde4/78	cdef1496/5
تاریخ کاشت دوم	بدون پرایم	محلول پاشی اسید هیومیک	a5/93	a2080/43
	پرایم با آب	اسپری آب	ef4/25	defg1356/69
	پرایم با آب	محلول پاشی اسید هیومیک	cd4/89	bcd1539/66
تاریخ کاشت سوم	بدون پرایم	اسپری آب	bc5/2	bc1614/56
	پرایم با آب	محلول پاشی اسید هیومیک	ab5/73	b1718/43
	پرایم با آب	اسپری آب	f4/16	fg1301/15
تاریخ کاشت چهارم	بدون پرایم	محلول پاشی اسید هیومیک	cdef4/7	cdef1447/39
	پرایم با آب	اسپری آب	cdef4/67	cdef1472/09
	پرایم با آب	محلول پاشی اسید هیومیک	cd4/99	bcd1535/74
تاریخ کاشت چهارم	بدون پرایم	اسپری آب	g3/22	h971/61
	پرایم با آب	محلول پاشی اسید هیومیک	def4/49	efg1332/04
	پرایم با آب	اسپری آب	f4/14	g1223/93
		محلول پاشی اسید هیومیک	def4/55	cde1498/1

**جدول 3- جدول اثرات اصلی تاریخ کاشت، پرایم بذر و محلول پاشی بر سرعت رشد نسبی چغندر قند**

تاریخ کاشت	بیشینه سرعت رشد محصول (g.m <sup>2</sup> .d)	پرایمینگ بذر	بیشینه سرعت رشد محصول (g.m <sup>2</sup> .d)	محلول پاشی	بیشینه سرعت رشد محصول (g.m <sup>2</sup> .d)
پنجم فروردین	a21/76	بدون پرایمینگ	b16/57	بدون محلول پاشی اسید هیومیک	b16/69
نوزدهم فروردین	a20/49				
دوم اردیبهشت	b16/91	هیدروپرایمینگ	a20/01	محلول پاشی اسید هیومیک	a19/89
شانزدهم اردیبهشت	c13/99				

## نتیجه گیری کلی

چغندر قند یک محصول با دوره رشد طولانی می باشد که در مناطقی با اقلیم سرد و کوهستانی مانند شهرستان اسدآباد با وجود روزهای یخبندان بهاره می بایست جهت بهره مندی از محدودیت های زراعی از جمله نور، آب و دمای مناسب در اولین فرصت در اواخر زمستان یا اوایل بهار کشت گردد. تاخیر در کاشت با هدف گریز از سرمای دیررس بهاره باعث هدر رفت منابع پایه تولید از جمله آب و خاک و کارایی پایین در تولید و عملکرد این محصول می گردد. لذا با اتخاذ شیوه های مدیریت صحیح زراعی و بکارگیری تکنیک های کاربردی و کم هزینه ای مانند هیدروپرایمینگ بذر و محلول پاشی اسید هیومیک در کنار تاریخ مناسب کاشت می توان سبب افزایش شاخص های فیزیولوژیکی رشد و تجمع ماده خشک چغندر قند شد. بر اساس نتایج، کاربرد همراه با هم پرایمینگ بذر و اسید هیومیک در شرایط تاخیر در کاشت بیشینه شاخص سطح برگ را 29/22 درصد، سرعت رشد نسبی 29/92 درصد و بیشینه تجمع ماده خشک را با 35/14 درصد بهبود بخشید. همچنین تاخیر 14 روزه در کاشت چغندر قند با کاربرد پرایمینگ بذر و محلول پاشی اسید هیومیک جبران گردید. بطور کلی کاربرد همراه با هم هر دو تیمار (پرایمینگ بذر و محلول پاشی اسید هیومیک) در تمام تاریخ های کشت سودمند بود.

## منابع

- دولت پرست، بهروز، حسین پناهی، فرزاد، سی و سه مرده، عادل و منصور، حامد. (1401). ارزیابی تاثیر سطوح مختلف آبیاری و کود نیتروژن بر شاخص های رشدی و عملکرد دانه کلزای پاییزه (*Brassica napus L.*) در روش آبیاری قطره ای. به زراعی کشاورزی. doi: 10.22059/jci.2022.335869.2658
- جوکار، محمد، آرمین، محمد، جامی معینی، متین. (1398). اثر پرایمینگ بر کاهش اثرات بقایای علف کش اپیروس در چغندر قند، تحقیقات بذر، 9(31), pp. 1-12.
- نصرت، نصرت الله، گلدانی، مرتضی، رضایی، جواد. (1399). 'تأثیر کود نیتروژن و باکتری محرک رشد بر شاخص های رشد چغندر قند (Beta vulgaris L) در کشت تأخیری، اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی (55) 3(14), پاییز 2020. doi: 10.30495/jcep.2020.679069.381-400.
- Aguiar NO, Olivares FL, Novotny EH, and Canellas LP. 2018. Changes in metabolic profiling of sugarcane leaves induced by endophytic diazotrophic bacteria and humic acids. *PeerJ*, 6, e5445. <https://doi.org/10.7717/peerj.5445>
- Çınar VM. and Ünay A. 2021. The effects of some biofertilizers on yield, chlorophyll index and sugar content in sugar beet (*Beta vulgaris var. saccharifera L.*), *Ege Univ. Ziraat Fak. Derg.*, 58 (2):163-170, <https://doi.org/10.20289/zfdergi.714633>
- Dolatparast, B., Hosseinpanahi, F., Siosemardeh, A., & Mansory, H. (2022). Evaluation of the effect of different irrigation and nitrogen fertilizer levels on growth indices and grain yield of winter oilseed rape (*Brassica napus L.*) in drip irrigation method. *Journal of Crops Improvement*. doi: 10.22059/jci.2022.335869.2658
- Dotto L, and Silva VN. 2017. Beet seed priming with growth regulators. *Semina: Ciências Agrárias*, 38(4), 1785-1798.
- El-Hassanin AS, Samak MR, Moustafa N, Shafika AM, Khalifa N, and Ibrahim-Inas M. 2016. Effect of foliar application with humic acid substances under nitrogen fertilization levels on quality and yields of sugar beet plant. *Int. J. Current Microb and Appl Sci.*, 5(11):668-680. DOI: <http://dx.doi.org/10.20546/ijcmas.2016.511.078>
- Gobarah ME, Hussein MM, Tawfik MM, Ahmed AG and Mohamed MF. 2019. Effect of different sowing dates on quantity and quality of some promising sugar beet (*Beta vulgaris L.*) varieties under North Delta, condition. *Egyptian Journal of Agronomy*, 41, 343–354. DOI: [10.21608/agro.2019.20126.1197](https://doi.org/10.21608/agro.2019.20126.1197)
- Jákli B, Hauer-Jákli M, Böttcher F, Meyer-zur-Müdehorst J, Senbayram M, and Dittert K. 2018. Leaf, canopy and agronomic water use efficiency of field grown sugar beet in response to potassium fertilization. *Journal Agronomy & Crop Science*. 204, 99–110. <https://doi.org/10.1111/jac.12239>

Kandil, A., Sharief, A., Fathalla, F. (2013). Onion yield as affected by foliar application with amino and humic acids under nitrogen fertilizer levels. *ESci Journal of Crop Production*, 2, 62-72.

Mosavikia AA, Mosavi SG, Seghatoleslami M, and Baradaran R. 2020. Chitosan nanoparticle and pyridoxine seed priming improves tolerance to salinity in milk thistle seedling. *Noculae Botanicae Horti Agrobotanicae Cluj-Napoca* 48:221-233. <https://doi.org/10.15835/nbha48111777>

Puglisi I, Barone V, Fragalà F, Stevanato P, Baglieri A, and Vitale A. 2020. Effect of microalgal extracts from *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus quadricauda* on germination of *Beta vulgaris* seeds. *Plants*, 9(6), 675.

Varga I, Loncaric Z, Kristek S, Markulj-Kulundzic A, Rebekic A, and Antunovic M. 2021. Sugar Beet Root Yield and Quality with Leaf Seasonal Dynamics in Relation to Planting Densities and Nitrogen Fertilization. 11, 407. [doi.org/10.3390/agriculture11050407](https://doi.org/10.3390/agriculture11050407)

## Investigating the effect of seed hydropriming and humic acid foliar application on the most important growth indicators of sugar beet in different planting dates

B. Sarkhosh<sup>1,10</sup>

Corresponding author, Department of Plant production and genetics, Faculty of Agriculture, Bu Ali Sina University, Hamedan, Iran, email: [ali.sarkhosh7@gmail.com](mailto:ali.sarkhosh7@gmail.com)

M. A. Aboutalebian<sup>2</sup>

Department of Agriculture, Faculty of Plant production and genetics, Bu Ali Sina University, Hamadan, Iran, e-mail: [m.aboutalebian@basu.ac.ir](mailto:m.aboutalebian@basu.ac.ir)

H. Mansoori<sup>3</sup>

Agricultural and Natural Resources Research Center, Hamedan, Iran, e-mail: [h.mansory@gmail.com](mailto:h.mansory@gmail.com)

### Abstract

This research was carried out in the based on randomized complete block design with three replications in the form of a factorial split plot. The main factors of four planting dates, 5 and 19 April, 2 and 16 May 2022, and hydropriming factors (in two levels of hydroprimed and unprimed seeds) and humic acid spraying (in two levels of water spray and foliar spraying of 6 per thousand humic acid) as factorials were placed in subplots. The results showed that if both treatments of seed hydropriming and humic acid foliar spraying are applied together and next to the appropriate planting date, it can cause the maximum increase in the maximum leaf area index and the maximum accumulation of sugar beet dry matter. The maximum crop growth rate was also affected by the main effects of planting date, seed priming and humic acid foliar application. Based on the results, the application of seed priming and humic acid in the conditions of delay in planting increased the leaf surface index by 29.22% and the maximum accumulation of dry matter by 35.14% compared to the treatment without seed priming and without foliar spraying on the same date. Improve planting. Also, the 14-day delay in planting sugar beet (compared to the planting date of April 5) was compensated by the use of seed priming and humic acid spraying. In general, the simultaneous application of both treatments (seed priming and humic acid foliar spraying) was beneficial in all cultivation dates.

**Keywords:** Planting date, maximum leaf area index, maximum crop growth rate, maximum dry matter accumulation

<sup>1,10</sup>, <sup>2</sup> and <sup>3</sup> PhD student and associate professors in the Department of Agriculture and Plant Breeding, Bu Ali Sina University and member of the academic staff of Hamedan Agricultural and Natural Resources Research Center, respectively

## القاء تحمل به سرما در نهالهای لیمو مکزیکن لایم با محلول پاشی ملاتونین

سمیه رستگار\*<sup>1</sup> و علیرضا صنیع خاتم<sup>2</sup> و حامد حسن زاده خانکهدانی

\*1- نویسنده مسئول: دانشیار، گروه علوم باغبانی دانشگاه هرمزگان

2- دانش آموخته دکتری، گروه علوم باغبانی دانشگاه هرمزگان

3- کارشناس مدیریت باغبانی، سازمان جهاد کشاورزی فارس

### چکیده

مکزیکن لایم، یکی از حساس ترین ارقام مرکبات در برابر تنش سرما است. این تحقیق با هدف مطالعه اثر ملاتونین (صفر و 500 میکرومولار) بر کنترل سرمازدگی دانهال های مکزیکن لایم اجرا شد. بر اساس نتایج به دست آمده، کاربرد ملاتونین برون زا، تحمل دانهال های مکزیکن لایم در هر دو سطح تنش سرمایی (0 و 6- درجه سانتی گراد) را افزایش داد. گیاهان تیمار شده نشت الکترولیت، مالون دی آلدئید و درصد ریزش برگ کمتری داشتند. این گیاهان در مقایسه با شاهد خود، سطح بالاتری از کلروفیل، کاروتنوئید،  $Fv/Fm$ ، محتویات فنولی و درصد ریکواری را نشان دادند. با این حال، ملاتونین در دو سطح تنش 0 و 6- درجه سانتی گراد، اثرات متفاوتی بر برخی از صفات اندازه گیری شده نظیر آنزیم های آنتی اکسیدان، ظرفیت آنتی اکسیدانی، پرولین و فلاونوئید داشت. کاربرد ملاتونین در دمای 6- درجه سانتی گراد، به طور معنی داری میزان پرولین، آنزیم های آنتی اکسیدان و فلاونوئید را در سطح پایین تری نسبت به گیاهان شاهد قرار داد. در حالی که در دمای 6- درجه سانتی گراد، این استراتژی تغییر کرد و ملاتونین، آسیب های اکسیداتیو ناشی از سرما را با نقش مستقیم خود در مهار ROS، حفظ سیالیت غشا و تقویت آنتی اکسیدان های غیر آنزیمی نظیر ترکیبات فنولی و کاروتنوئیدها، تعدیل نمود.

واژگان کلیدی: ملاتونین، مکزیکن لایم، سرمازدگی، یخزدگی، مرکبات

### مقدمه

مکزیکن لایم (*Citrus aurantifolia* Swingle cv. Mexican lime)، یکی از ارقام تجاری مرکبات در جهان محسوب می شود (Romero-romero et al. 2019). مکزیکن لایم، یکی از حساس ترین ارقام مرکبات در برابر تنش سرمایی است به طوری که در بسیاری از پژوهش ها، به عنوان گیاه محک (شاهد) حساس به سرما در قیاس با سایر ارقام و گونه های مرکبات، استفاده می شود (Abouzari et al. 2020). از آنجا که خوگیری و پاسخ به سرما توسط تعداد زیادی ژن کنترل می شود (وراثت پلی ژنتیکی)، تاکنون ارقام مرکبات مقاوم به سرما و یا پایه هایی با ویژگی های قابل قبول به دست نیامده است (Çahin-Çevik 2013). ملاتونین، نه تنها مستقیماً رادیکال های آزاد را از بین می برد بلکه به عنوان یک مولکول سیگنال دهنده، آنزیم های آنتی اکسیدانی و آنتی اکسیدان های غیر آنزیمی را افزایش می دهد (Li et al. 2019a). استفاده از ملاتونین به عنوان یک محرک زیستی غیر سمی و طبیعی، بدون هیچ گونه اثر سوء بر محیط زیست اهمیت زیادی دارد (Bose and Howlader 2020). ملاتونین برون زا به دلیل ساختار ویژه خود با نفوذ در غشای پلاسمایی، سطوح ملاتونین درون زا را افزایش می دهد (Zhang et al. 2013). ملاتونین، تخریب پروتئین را به تأخیر می اندازد و نقش مهمی در حفظ محتوای کلروفیل و ظرفیت فتوسنتزی گیاهان در تنش های مختلف دارد (Bose and Howlader 2020). اگر چه در سالیان اخیر،

استفاده از ملاتونین در پاسخ گیاهان به تنش غیرزنده، رشد فزاینده‌ای داشته است ولی اطلاعاتی در رابطه با تأثیر این ترکیب بر پاسخ دانه‌های مرکبات به تنش سرما وجود ندارد. بنابراین هدف اصلی مطالعه حاضر، بررسی تأثیر محلول‌پاشی ملاتونین بر پارامترهای مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی دانه‌های مکزیکن‌لایم در شرایط تنش سرمایی می‌باشد.

#### مواد و روش‌ها

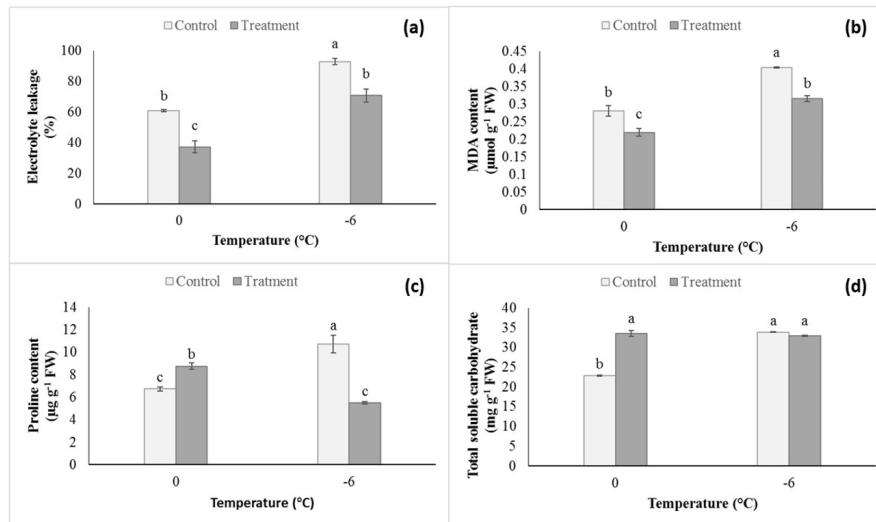
دانه‌های دو ساله مکزیکن‌لایم بر اساس یکنواختی قطر طوقه، ارتفاع و تعداد شاخه‌های جانبی، از یک نهالستان تجاری و استاندارد واقع در شهرستان جهرم انتخاب شدند. سه ماه پس از استقرار کامل دانه‌ها، عملیات محلول‌پاشی ملاتونین با غلظت‌های صفر و 500 میکرومولار مورد استفاده قرار گرفت. اولین محلول‌پاشی، یک هفته قبل از اعمال تنش سرما، و محلول‌پاشی دوم، یک روز قبل از اعمال تنش سرما، انجام شد. به منظور محاسبه درصد ریزش برگ‌های دانه‌ها، قبل از اعمال تنش سرما همه برگ‌های دانه‌ها شمارش شد. مقدار مالون دی‌آلدئید (MDA)، محصول پراکسیداسیون لیپید، با روش واکنش تیوباربیتوریک اسید (TBA) برآورد شد. برای تخمین میزان پرولین، از روش بیتس و همکاران (1973) استفاده شد. محتویات کلروفیل و کاروتنوئید بر اساس روش توصیف شده توسط آرنون (1949) اندازه‌گیری شد. حداکثر کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II (Fv/Fm) با استفاده از دستگاه فلوریمتر قابل حمل (Pocket PEA)، اندازه‌گیری شد. این پژوهش به صورت آزمایش اسپیلیت-فاکتوریل در 4 تکرار انجام شد. عامل اصلی به دما شامل صفر و 6- درجه سانتی‌گراد و عامل فرعی به غلظت ملاتونین اختصاص یافت. داده‌های حاصل از آزمایش با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 تجزیه و تحلیل شد. مقایسه میانگین‌ها با آزمون کمترین اختلاف معنی‌دار (LSD) انجام شد و نمودارهای حاصل، با استفاده از نرم‌افزار Excel 2016 رسم شدند.

#### نتایج و بحث

تیمار با ملاتونین، میزان نشت الکترولیت و محتویات مالون دی‌آلدئید در هر دو دمای 0 و 6- درجه سانتی‌گراد را به طور معنی‌داری کاهش داد. کمترین میزان نشت الکترولیت و مالون دی‌آلدئید به تیمار ملاتونین در دمای صفر درجه سانتی‌گراد اختصاص داشت که به ترتیب 39 و 22 درصد کمتر از شاهد بود. در دمای 6- درجه تیمار ملاتونین، میزان نشت الکترولیت (24%) و مالون دی‌آلدئید (22%) را نسبت به شاهد به طور معنی‌داری کاهش داد. تیمار با ملاتونین، محتویات پرولین در دمای صفر درجه سانتی‌گراد (30%) را در مقایسه با شاهد به طور معنی‌داری افزایش داد در حالی که در تنش 6- درجه سانتی‌گراد، پرولین (49%) کاهش یافت. ملاتونین، کربوهیدرات محلول در دمای صفر درجه سانتی‌گراد (39%) را در مقایسه با شاهد به طور معنی‌داری افزایش داد در صورتی که در تنش 6- درجه سانتی‌گراد، کربوهیدرات محلول (42%) کاهش یافت. ملاتونین در دمای 0 درجه سانتی‌گراد، کلروفیل a (48%)، کلروفیل b (54%)، کلروفیل کل (49%)، کاروتنوئید (39%) و Fv/Fm (8%) را به میزان قابل توجهی در مقایسه با شاهد افزایش داد. صفات مذکور در دمای 6- درجه سانتی‌گراد به ترتیب 46، 77، 54، 71 و 17 درصد افزایش در مقایسه با شاهد نشان دادند.

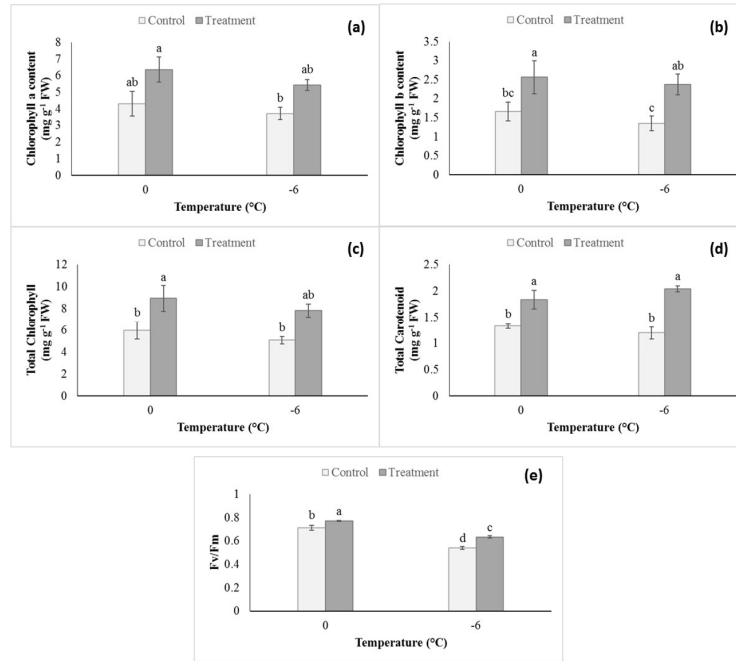
رادیکال‌های آزاد با تأثیر بر اسیدهای چرب اشباع نشده باعث پراکسیداسیون لیپید و کاهش سیالیته غشای سلول می‌شوند (NDong et al. 1997). در این شرایط، محتوای مالون دی‌آلدئید (MDA) به طرز چشمگیری افزایش می‌یابد. در واقع مالون دی‌آلدئید، محصول نهایی پراکسیداسیون لیپید است و به عنوان شاخص آسیب غشا، در نظر گرفته می‌شود (Hou et al. 2010). پیشنهاد شده است که ملاتونین با قرار گرفتن در بین دو لایه غشای سلولی موجب حفظ سیالیته و در نتیجه

کاهش نشت الکترولیت و پراکسیداسیون لیپید می شود (Huang et al. 2015). ملاتونین با کاهش آنزیم های کاتابولیک کلروفیل و افزایش آنزیم های بیوسنتز کلروفیل، محتویات کلروفیل را افزایش می دهد (Jahan et al. 2021). کاروتنوئیدها، رنگدانه هایی هستند که در کاهش آسیب فتواکسیداتیو و محافظت از مولکول های کلروفیل نقش مهمی دارند (Liang et al. 2019). کاروتنوئیدها مولکول های سیگنال دهنده (Franzoni et al. 2019) و آنتی اکسیدان های غیر آنزیمی هستند که به عنوان عوامل کاهش دهنده رادیکال آزاد عمل می کنند (Oustric et al. 2018). در شرایط تنش، سیستم های آنتی اکسیدانی غیر آنزیمی نظیر کاروتنوئیدها به طور مستقیم یا غیر مستقیم ROS را حذف می کنند (Bałabusta et al. 2016). پیش تیمار ملاتونین، محتوای کلروفیل و کاروتنوئیدها را در هر دو دمای 0 و -6 درجه سانتی گراد، در سطح بالاتری نگه داشت (Kostopoulou et al. 2015). در مطالعه حاضر، ملاتونین Fv/Fm را در گیاهان تیمار شده در هر دو سطح تنش، نسبت به شاهد افزایش داد (Li et al. 2019a). ملاتونین به عنوان یک آنتی اکسیدان عمل کرده و با حذف ROS ناشی از تنش، از واسطه های الکترون در برابر آسیب محافظت می کند و انتقال الکترون را افزایش می دهد. بنابراین افزایش کارایی فتوشیمیایی (Fv/Fm) را باعث می شود (Liang et al. 2019). در واقع ملاتونین با افزایش میزان انتقال الکترون، فلورسانس اولیه کلروفیل (F0) را کاهش داده در نتیجه  $Fv=(Fm-F0)$  و  $Fv/Fm$  افزایش می یابد.

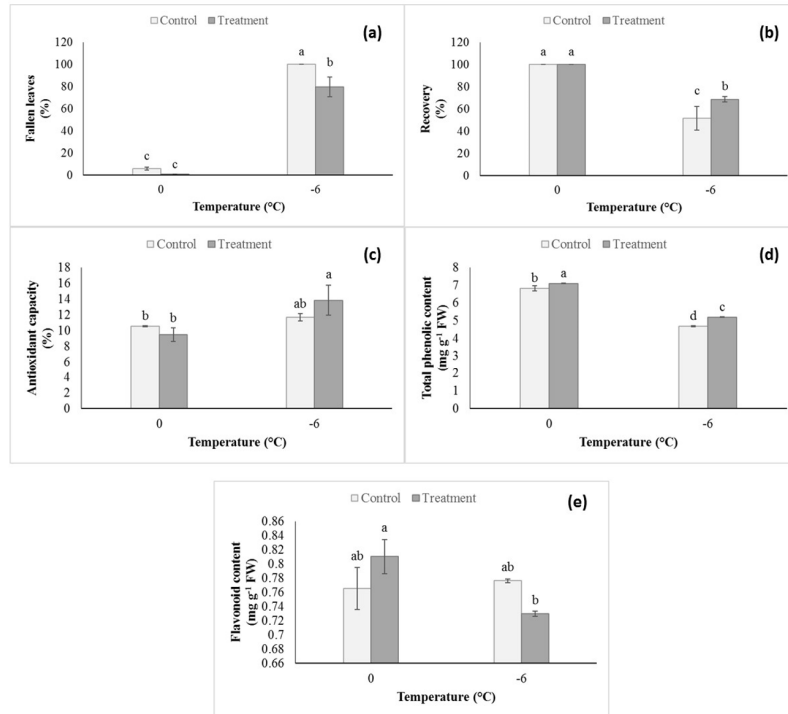


شکل 1- مقایسه اثر متقابل دما (0 و -6 درجه سانتی گراد) و ملاتونین (0 و 500 میکرومولار) بر صفات نشت الکترولیت (الف)، پراکسیداسیون لیپید (ب)، محتویات پرولین (پ) و محتویات کربوهیدرات محلول کل؛ ستون های دارای حروف مشترک، در سطح 5% آزمون LSD اختلاف معنی داری با هم ندارند.

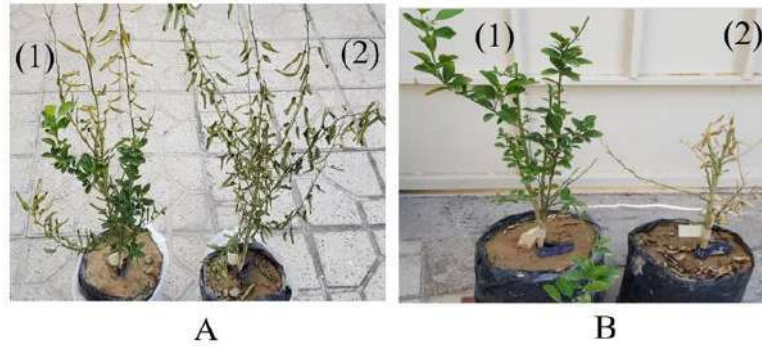




شکل 2- مقایسه اثر متقابل دما (0 و -6 درجه سانتی گراد) و ملاتونین (0 و 500 میکرومولار) بر محتویات کلروفیل a (الف)، کلروفیل b (ب)، کلروفیل کل (پ) و کاروتنوئید کل (ت) و پارامتر Fv/Fm (ث)؛ ستون‌های دارای حروف مشترک، در سطح 5% آزمون LSD اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.



شکل 3- مقایسه اثر متقابل دما (0 و -6 درجه سانتی گراد) و ملاتونین (0 و 500 میکرومولار) بر درصد برگ‌های ریزش یافته (الف)، درصد ریکاوری (ب)، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (پ)، محتویات فنول کل (ت) و محتویات فلاونوئید (ث)؛ ستون‌های دارای حروف مشترک، در سطح 5% اختلاف معنی‌داری با هم ندارند. LSD آزمون



شکل 4- گیاهان تحت تنش سرمایی -6 درجه سانتیگراد. 1- تیمار ملاتونین-2 شاهد (A). گیاهان ریکاوری شده 1- تیمار ملاتونین-2 شاهد (B)

#### نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر نشان داد که استفاده برون‌زا از ترکیبات طبیعی و غیر سمی نظیر ملاتونین می‌تواند تحمل دانه‌های مکزیکن لایم که یکی از حساس‌ترین ارقام مرکبات به سرما است را بدون آثار مخرب بر محیط زیست، افزایش دهد. ملاتونین در هر دو سطح دمایی 0 و -6 درجه سانتی گراد، باعث افزایش مقاومت دانه‌ها به سرما شد. با این حال ملاتونین، عملکردهای متفاوتی در این دو سطح دمایی داشت

#### منابع

- Chen ZY, Wang YT, Pan XB, Xi ZM (2019) Amelioration of cold-induced oxidative stress by exogenous 24-epibrassinolide treatment in grapevine seedlings: Toward regulating the ascorbate–glutathione cycle. *Sci Hortic (Amsterdam)* 244:379–387. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.09.062>
- Ghanbari F, Sayyari M (2018) Controlled drought stress affects the chilling-hardening capacity of tomato seedlings as indicated by changes in phenol metabolisms, antioxidant enzymes activity, osmolytes concentration and abscisic acid accumulation. *Sci Hortic (Amsterdam)* 229:167–174. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.10.009>
- Hassanzadeh Khankahdani H, Rastegar S, Golein B, et al (2019) Effect of rootstock on vegetative growth and mineral elements in scion of different Persian lime (*Citrus latifolia* Tanaka) genotypes. *Sci Hortic (Amsterdam)* 246:136–145. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.10.066>
- Abouzari A, Solouki M, Golein B, et al (2020) Screening of molecular markers associated to cold tolerance- related traits in *Citrus*. *Sci Hortic (Amsterdam)* 263:109145. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.109145>
- Bose SK, Howlader P (2020) Melatonin plays multifunctional role in horticultural crops against environmental stresses: A review. *Environ Exp Bot* 176:.

## Induction of cold tolerance in Mexican lime plants by melatonin foliar application

Somayeh Rastegar<sup>1\*</sup> Alireza Sanie khatam<sup>2</sup> and Hamed Hassanzadeh Khankahdani<sup>3</sup>

### Abstract

Mexican lime is one of the most sensitive citrus cultivars against cold stress. This research was conducted with the aim of studying the effect of melatonin (zero and 500  $\mu\text{M}$ ) on the control of frostbite of Mexican lime plants. Based on the obtained results, the application of exogenous melatonin increased the tolerance of Mexican lime seedlings in both levels of cold stress (0 and  $-6^\circ\text{C}$ ). Treated plants had less electrolyte leakage, malondialdehyde and leaf drop percentage. These plants showed a higher level of chlorophyll, carotenoid, Fv/Fm, phenolic content and recovery percentage compared to their control. However, melatonin had different effects on some measured traits such as antioxidant enzymes, antioxidant capacity, proline, and flavonoid at two stress levels of 0 and  $-6^\circ\text{C}$ . Application of melatonin at  $-6^\circ\text{C}$  temperature significantly reduced proline, antioxidant enzymes and flavonoid to a lower level than the control plants. While at  $-6^\circ\text{C}$ , this strategy changed and melatonin moderated the oxidative damage caused by cold with its direct role in inhibiting ROS, maintaining membrane fluidity, and strengthening non-enzymatic antioxidants such as phenolic compounds and carotenoids.

**Keywords :** Melatonin, Mexican lime, Spray, Freezing, Citrus

## ارزیابی تنوع صفات مورفولوژیکی و درصد اسانس گیاه دارویی پونه در مناطق مختلف استان کرمان

سهیلا افکار<sup>1\*</sup>، بتول مهدوی<sup>2</sup>

<sup>1</sup> گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

<sup>2</sup> گروه ژنتیک و تولید گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان، ایران

\*Email: Dr.afkar@pnu.ac.ir

### چکیده

گیاه دارویی پونه (*Mentha longifolia* L.) در مناطق وسیعی از ایران بعنوان یک گیاه دارویی بسیار ارزشمند شناخته شده است. این تحقیق با هدف ارزیابی ویژگی‌های مورفولوژیکی و درصد اسانس گیاه دارویی پونه در مناطق مختلف جنوب استان کرمان در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با چهار تکرار انجام شد. مناطق نمونه برداری شامل دهبکری، مرغک، ساردویی، اسفندقه، دلفارد و جیرفت در جنوب کرمان بودند. نتایج این مطالعه مشخص کرد که بیشترین میزان وزن تر و خشک بوته در گیاهان در منطقه جیرفت مشاهده گردید در حالیکه بالاترین تعداد شاخه فرعی، تعداد برگ و درصد اسانس مربوط به رویشگاه دلفارد بود. بطور کلی مشخص گردید با افزایش ارتفاع، ویژگی‌های رشدی و درصد اسانس گیاه دارویی پونه در مناطق مورد مطالعه کاهش می‌یابد. افزایش ارتفاع از سطح دریا با کاهش دما همراه بوده که این تغییرات می‌تواند منجر به کاهش ویژگی‌های رشدی گیاه و بازده اسانس در ارتفاعات بالا شود.

**کلمات کلیدی:** پونه، ویژگی‌های رشدی، میزان اسانس، خصوصیات جغرافیایی

### مقدمه

گیاه پونه با نام علمی *Mentha longifolia* L. چند ساله و متعلق به خانواده نعنائیان بوده که ترکیب متول مهمترین ماده موثره آن می‌باشد (Castells et al., 2013). پونه بعنوان چاشنی در برخی از غذاهای ایرانی بکاررفته همچنین دارای خواص بهداشتی، دارویی و غذایی فراوانی است (Zinodini et al., 2003). اسانس این گیاه برای درمان بیماری‌های میکروبی (Arrieta et al., 2001) و غیرمیکروبی (Ngo et al., 2001) استفاده می‌شود و دارای اثرات بازدارندگی و کشندگی علیه باکتری‌ها و مخمرهاست (Kazemi and Hajizadeh, 2012). 75-90 درصد اسانس را ترکیبات مونوترپنی تشکیل می‌دهد و ترکیبات مانند هسپریدین یا دیوسمین که مشابه ماده موجود در مرکبات هستند در برگ این گیاه مشاهده شده است (Mkaddem et al., 2009). رشد گیاهان متعلق به یک گونه که در شرایط اکولوژیکی و جغرافیایی متفاوت باعث تفاوت در خصوصیات مورفولوژیکی آنها شده و منجر به ایجاد اکوتیپ‌های متفاوت در آن گونه می‌شود. با ارزیابی این اکوتیپ‌ها می‌توان به تفاوت‌های مورفولوژیکی درون یک گونه پی برد (Bert et al., 2003; Ottay and Abdel-Moniem, 2006). ارتفاع از سطح دریا باعث بالاترین میزان تغییرات در خصوصیات عملکردی گیاهان می‌شود بنابراین ارتفاع از سطح دریا بعنوان یک فاکتور فیزیولوژیکی مهم بوده که تاثیرات معنی‌داری بر رشد و نمو گیاهان دارد (Rangwala and Miller, 2012). تغییرات معنی‌داری در کمیت و کیفیت مواد موثره و اسانس در گیاهان

اسطوخودوس که در مناطق مختلف اکولوژیکی رشد یافته‌اند مشاهده شد (Bertome *et al.*, 2007). این مطالعه با هدف بررسی ویژگی‌های مورفولوژیکی و درصد اسانس گیاه پونه در مناطق مختلف استان کرمان انجام شد.

## مواد و روش‌ها

شش منطقه مختلف در جنوب استان کرمان شامل منطقه دهبکری، مرغک، ساردوئیه، اسفندقه، دلفارد و جیرفت برای نمونه‌برداری اکوتیپ‌های مختلف پونه در اردیبهشت ماه تا مرداد ماه انتخاب شدند که مشخصات جغرافیایی آنها در جدول 1 آورده شده است.

جدول 1- مشخصات جغرافیایی مناطق جمع‌آوری نمونه‌های پونه در جنوب استان کرمان

رویشگاه	طول جغرافیایی (درجه-دقیقه)	عرض جغرافیایی (درجه-دقیقه)	ارتفاع از سطح دریا (متر)
جیرفت	57° 51'	28° 32'	637
دلفارد	57° 38'	28° 57'	1642
اسفندقه	57° 9'	28° 39'	1737
دهبکری	57° 55'	29° 2'	2067
مرغک	57° 53'	29° 7'	2156
ساردوئیه	57° 33'	29° 5'	3000

از فرمول زیر برای محاسبه درصد اسانس استفاده شد:

$$100 \times (\text{وزن نمونه گیاه خشک اولیه} / \text{وزن اسانس به دست آمده}) = \text{درصد اسانس} (\%)$$

از طرح بلوک کامل تصادفی با چهار تکرار استفاده شد که تجزیه داده‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS (Version 9.1) و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال 1% صورت گرفت.

## نتایج و بحث

نتایج جدول تجزیه واریانس حاکی از معنی‌دار بودن اثر منطقه نمونه‌برداری بر صفات ارتفاع بوته، تعداد شاخه جانبی و تعداد برگ در بوته، وزن تر، وزن خشک اندام هوایی و درصد اسانس بود درحالی‌که بر تعداد گل در بوته تاثیری نداشت (جدول 2). با توجه به نتایج مقایسه میانگین مشخص می‌شود که مناطق دهبکری و ساردوئیه به ترتیب بیشترین و کمترین ارتفاع بوته را داشتند. بیشترین تعداد برگ در مناطق جیرفت و دلفارد مشاهده شد درحالی‌که گیاهان رشدیافته در دو منطقه دهبکری و ساردوئیه کمترین تعداد برگ را نشان دادند. پونه‌های جمع‌آوری شده از مناطق دلفارد و دهبکری به ترتیب دارای بیشترین و کمترین تعداد شاخه جانبی در هر بوته بودند. در مناطق نمونه‌برداری جیرفت و ساردوئیه به ترتیب بیشترین و کمترین مقدار وزن تر و خشک اندام هوایی مشاهده شد. بیشترین درصد اسانس گیاهان نمونه‌برداری شده در منطقه دلفارد دیده شد و کمترین درصد اسانس در مناطق دهبکری و مرغک مشاهده گردید (شکل 1).

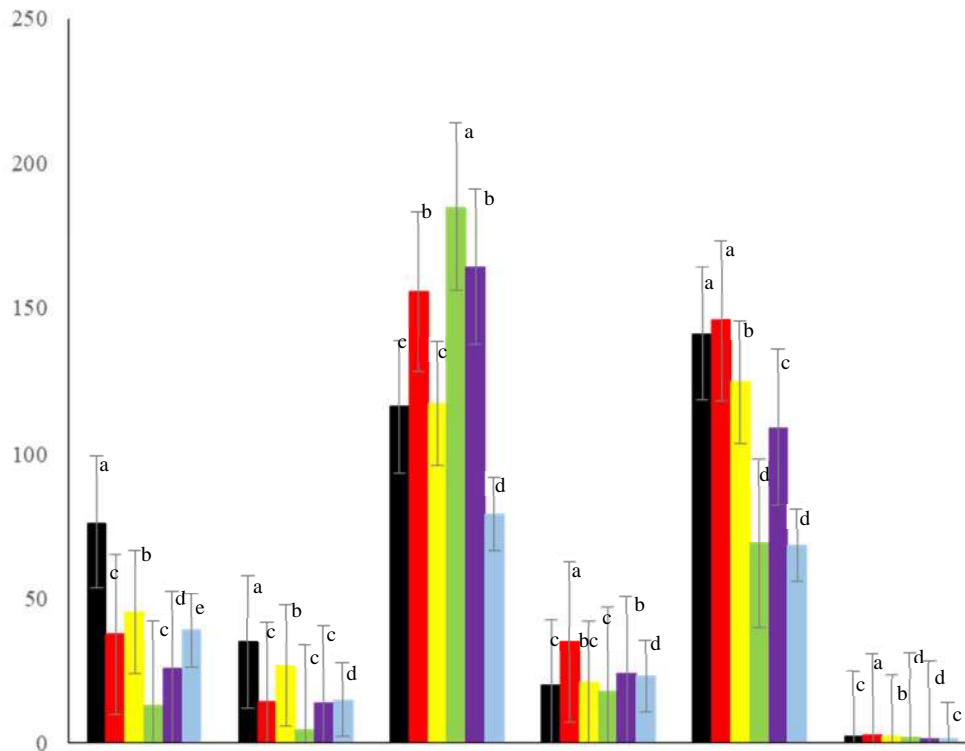
در این تحقیق مناطق نمونه برداری گیاه دارویی پونه شامل جیرفت با ارتفاع 637 متر از سطح دریا تا منطقه ساردوئیه با ارتفاع 3000 متر از سطح دریا باعث تغییرات قابل توجهی در صفات مورفولوژیکی اندازه گیری شده شامل ارتفاع بوته، تعداد شاخه جانبی، تعداد برگ، وزن تر و خشک اندام هوایی داشتند که نشان می دهد این گیاه با ایجاد تغییراتی در صفات مورفولوژیکی خود توانسته با شرایط مناطق مختلف سازگار شده و تنش های زیستی و غیرزیستی این مناطق را تحمل کند.

جدول 2- تاثیر رویشگاه های مورد بررسی بر خصوصیات مورفولوژیکی گیاه دارویی پونه

میانگین مربعات								منابع تغییر
درصد اسانس	وزن خشک اندام هوایی	وزن تر اندام هوایی	تعداد گل در بوته	تعداد برگ در بوته	تعداد شاخه جانبی در بوته	ارتفاع بوته	درجه آزادی	
0/98**	476/16**	1823/87**	153/74 <sup>ns</sup>	4662/26**	145/04**	6055/94**	5	رویشگاه
0/036 <sup>ns</sup>	7/16 <sup>ns</sup>	1/37 <sup>ns</sup>	26/81 <sup>ns</sup>	32/72 <sup>ns</sup>	3/48 <sup>ns</sup>	94/37 <sup>ns</sup>	3	بلوک
0/018	7/23	4/40	96/31	37/08	3/68	37/74	15	خطای آزمایشی
6/88	14/87	5/33	9/81	5/58	8/24	4/50	-	ضریب تغییرات

<sup>ns</sup>، \* و \*\* به ترتیب بی معنی و معنی دار در سطح احتمال 1 و 5 درصد آزمون دانکن است.

■ جیرفت ■ دلفاراد ■ اسفندقه ■ ساردوئیه ■ مرعک ■ دهبکری



شکل 1- تاثیر مناطق نمونه برداری بر خصوصیات مورفولوژیکی و درصد اسانس گیاه دارویی پونه

انعطاف‌پذیری ژنتیکی جمعیت‌های گونه‌های دارویی تا حد زیادی به شرایط اقلیمی منطقه رشد و نمو آنها بستگی دارد. این انعطاف‌پذیری ژنتیکی به سازگارشدهن گونه‌های گیاهی به شرایط محیطی پیرامون آنها کمک می‌کند (Tatian, 2001). در این تحقیق با افزایش ارتفاع بخصوص ارتفاع 3000 متری منطقه ساردوئیه صفات ارتفاع بوته، تعداد برگ، وزن تر و خشک اندام هوایی کاهش پیدا کرد ارتفاع از سطح دریا، به طور غیرمستقیم رشد گیاه را تحت تأثیر قرار داده که ناشی از اثر آن بر میزان بارندگی، درصد رطوبت نسبی و همچنین درجه حرارت می‌باشد. در مرحله رشد رویشی گیاهان بیشتر تحت تأثیر درجه حرارت قرار می‌گیرند و دمای زیر صفر باعث کاهش شدید ویژگی‌های رشدی می‌شود (Humphreys and Eagles, 1988). گزارشاتی مبنی بر تأثیر ارتفاع از سطح دریا بالا بر روی ویژگی‌های رشدی گیاهان وجود دارد که گیاهان با ایجاد تغییرات در صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی خود را به این شرایط سازگار می‌کنند (Royer *et al.*, 2005). در این مطالعه مشاهده شد که با افزایش ارتفاع از سطح دریا درصد اسانس گیاه پونه کاهش می‌یابد. با توجه به گزارشات قبلی تفاوت در مقدار اسانس و مواد موثره در گیاهان را می‌توان به تفاوت در شرایط اقلیمی و جغرافیایی رویشگاه گیاهان نسبت داد (Momeni and Shahrokhi, 1998). افزایش ارتفاع از سطح دریا که با کاهش دما، افزایش شدت نور و افزایش شدت وزش باد همراه است که این تغییرات همراه با کاهش درجه حرارت بر مقدار رطوبت هوا و خاک تأثیر گذاشته و منجر به کاهش بازده اسانس در ارتفاعات بالا می‌شود (آریانفر و همکاران، 1397). مشخص شده که درصد اسانس گیاه نعنای فلفلی در 6 منطقه رویشی تحت تأثیر فاکتورهای محیطی متفاوتی شامل ارتفاع از سطح دریا و طول مدت روشنایی قرار می‌گیرد و میزان آن بین 1/45 تا 3/2 درصد متغیر است (Yazdani *et al.*, 2002).

### نتیجه گیری کلی

بطور کلی می‌توان نتیجه گرفت که در این مطالعه ارتفاعات بالاتر تا 3000 متر کاهش رشد رویشی در گیاهان را باعث شده است. با توجه به اینکه در این ارتفاع شدت تابش نور خورشید بیشتر بوده که احتمالاً به علت تابش اشعه ماوراء بنفش، مقدار رادیکال‌های آزاد در گیاهان رشد یافته در این ارتفاعات را افزایش می‌دهد. رادیکال‌های آزاد باعث تخریب آنزیم‌ها، لیپیدها و کربوهیدرات‌های موجود در گیاه شده و رشد گیاه را کاهش دهد. همچنین نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که رشد گیاه دارویی پونه تا نزدیک ارتفاع 2000 متر در مناطق مورد مطالعه به صورت نرمال است و از این ارتفاع به بعد خصوصیات رشدی این گیاه روندی کاهش خواهد داشت.

### منابع

- آریانفر، م.، اکبری نودهی، د.، همتی، خ. و رستم پور، م. 1397. اثر ارتفاع و جهت بر بازده اسانس و برخی خصوصیات فیتوشیمیایی گونه‌های دارویی *Artemisia aucheri* Boiss و *Artemisia sieberi* Besser در مراتع خراسان جنوبی. نشریه علمی پژوهشی مرتع، 12(3): 281-294.
- Aghaabbasi, K. and Bibak, H. 2015. The effect of elevation on essence of medicinal plant, *Descurainia sophia* (L.) in natural growth places of Kerman's Province. *Journal of Biology and Today's World*, 4(4):90-94.
- Arrieta, J., Reyes, B., Calzada, F., Cedillio-Rivera, R. and Navarrete, A. 2001. Amoebicidal and giaricidal mints: On the quantitative traits of essential oil of in vitro derived colons of Japanese mint (*Mentha arvensis* var *piperaascens* Holmes). *Journal of Essential Oil Research*, 4, 2001, 623-629.
- Bert, P.F., Jouan, I., De Labrouhe, D.T., Serre, F., Philippon, J., Nicolas, P. and Vear, F. 2003. Comparative genetic analysis of quantitative traits in sunflower (*Helianthus annuus* L.). 2. Characterisation of QTL involved in developmental and agronomic traits. *Theoretical and Applied Genetics*, 107(1): 181-189.
- Bertome J., Isabel Arrillage M., and Segura, J. 2007. Essential oil variation whit in and among natural population of *Lavandula latifolia* and its relation to their ecological areas. *Biochemical systematics and Ecology*. 35:479-488.

- Castells, L. I., Bach, A., Aris, A., & Terré, M. (2013). Effects of forage provision to young calves on rumen fermentation and development of the gastrointestinal tract. *Journal of Dairy Science*, 8, 5226-5236.
- Humphreys, M.O. and Eagles, C.F., 1988. Assessment of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) for breeding. I. Freezing tolerance, *Euphytica*, 38: 75-84.
- Kazemi M. and SeyedHajizadeh H. 2012. Assessment of genetic diversity of mints Iranian wild "Menthaaquatic" populations using RAPD marker. 2012. *Journal of Agricultural Technology* Vol. 8(1): 327-336
- Mkaddem M, Bouajila J, Ennajar M, Lebrihi A, Mathieu F, Romdhane M. Chemical composition and antimicrobial and antioxidant activities of *Mentha (longifolia* L. and *viridis*) essential oils. *J Food Sci.* 2009; 74:M358–63.
- Momeni, T. and Shahrokhi, N. 1998. Essential oils and their therapeutic effects. 2nd ed. – Tehran University Press. pp: 1-8.
- Ngo, B.E., Schmutz, M., Meyer, C., Rakotonirina, A., Bopelet, M., Portet, C., Jeker, A., Rakotonirina, S.V., Olpe, H.R. and Herrling, P. 2001. Anticonvulsant properties of the methanolic extract of *Cyperus articulatus* (Cyperaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 76(2): 145-150.
- Ottai, M.E.S. and Abdel-Moniem, A.S.H. 2006. Genetic parameter variations among milk thistle, *Silybum marianum* varieties and varietal sensitivity to infestation with seed-head weevil, *Larinus latus* Herbst. *International Journal of Agriculture and Biology*, 6: 862-866.
- Rangwala, I.; Miller, J.R. Climate change in mountains: a review of elevation-dependent warming and its possible causes. *Climatic Change*, v.114, p.527–547, 2012.
- Royer D. L., P. Wilf, D. A. Janesko, E. A. Kowalski, and D. L. Dilcher, (2005). "Correlations of climate and plant ecology to leaf size and shape: potential proxies for the fossil record," *American Journal of Botany*, 92, (7): 1141–1151
- Tatian, M.R. 2001. Sociological studies of plant (Phytosociology) summer pastures Hezarjarib-Behshahr. Master's thesis. 128 p.
- Yazdani, D., Jamshidi, A.M. and Mojab, F. 2002. Comparison of essential oil and menthol in peppermint grown in different regions of the country. – *J. of Med. Plants* 1: 73-78.

**Evaluation of the diversity of morphological traits and the essential oil content of *Mentha longifolia* in different regions of Kerman province**

Soheila afkar<sup>1\*</sup>, Batool Mahdavi<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Agriculture Department, Payame Noor University, Tehran, Iran

<sup>2</sup> Department of Genetic and Crop Production, Faculty of Agriculture, Vali-e-Asr University of Rafsanjan, Rafsanjan, Iran

\*Email: Dr.afkar@pnu.ac.ir

**Abstract**

Horsemint medicinal plant (*Mentha longifolia* L.) is known as a very valuable medicinal plant in large areas of Iran. This research was conducted with the aim of evaluating the morphological characteristics and the percentage of essential oil of the medicinal plant of Horsemint in different regions of southern Kerman province in the form of a randomized complete block design with four replications. The sampling areas included Dehbakari, Marghak, Sarduiyeh, Esfandagheh, Delfard and Jiroft in the south of Kerman. The results of this study determined that the highest amount of wet and dry plant weight was observed in the plants in Jiroft area, while the highest number of sub-branches, number of leaves and percentage of essential oil were related to Delfard habitat. In general, it was found that with the increase in height, the growth characteristics and the percentage of essential oil of the oregano medicinal plant decrease in the studied areas. The increase in altitude from the sea level is accompanied by a decrease in temperature, and these changes can lead to a decrease in plant growth characteristics and essential oil yield at high altitudes.

**Key words:** Horsemint, Growth characteristics, essential oil content, geographical characteristics



## کاربرد GIS و RS در علوم گیاهی و کشاورزی دقیق

رضا حسن زاده<sup>1\*</sup>، محدثه حسینی نیا<sup>2</sup>

1- گروه اکولوژی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان.

Hassanzadeh22@yahoo.com

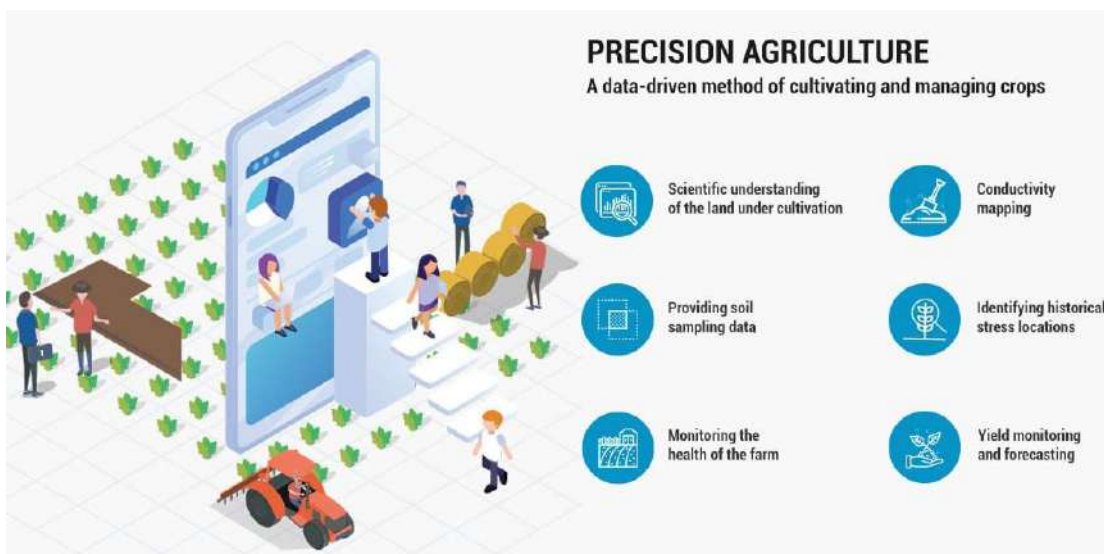
2- گروه مهندسی آب، دانشکده آب و خاک، دانشگاه زابل. m.hosseinyaniya@yahoo.com.

### چکیده

توسعه کشاورزی بدلیل نقش آن در امنیت غذایی یک کشور همیشه از الویت اصلی برخوردار بوده است. اما، وجود چالش های انسانزاد و طبیعی در مسیر توسعه پایدار کشاورزی مباحث امنیت غذایی را با مسائل عدیده ای همراه نموده است. امروزه، محققین سعی نموده اند تا از ابزارها و روش های متعددی جهت رفع این چالش استفاده نمایند. استفاده از سنجش از دور و سیستم اطلاعات جغرافیایی در علوم گیاهی و کشاورزی دقیق یکی از راهکارهای مهم در حل این چالش ها می باشد. داده های سنجش از دوری در زمان های خاص و از همه مکان ها از سطح زمین در دسترس می باشند و روش های پردازش تصویر متعددی مانند شاخص های گیاهی و روش های طبقه بندی جهت تحلیل این داده ها برای تحلیل تنش های گیاهی توسعه یافته اند. از طرف دیگر سیستم اطلاعات جغرافیایی بعنوان ابزار مدیریت و تحلیل داده های مکانی توانسته در همه علوم نقش آفرینی کند. روش های آماری مکانی متعددی توسعه یافته است که می تواند در تحلیل و تعیین نقش متغیرهای موثر در کشاورزی دقیق و امنیت غذایی استفاده گردد. در این مقاله سعی بر این است تا کاربرد تکنولوژی های مکانی در کشاورزی دقیق تشریح و سپس چالش های پیش رو در این زمینه مد نظر قرار گیرند.

### 1- مقدمه - کشاورزی دقیق

کشاورزی دقیق (Precision agriculture (PA)) علم بهبود عملکرد محصول و کمک به تصمیمات مدیریتی با استفاده از سنسورها و روش های تجزیه و تحلیل مدرن در مدیریت عملیات کشاورزی جهت افزایش تولید محصولات کشاورزی همزمان با کاهش زمان کار و اطمینان از مدیریت موثر در فرآیندهای کوددهی، آبیاری و مبارزه با آفات در مزرعه و کمک به پایداری زیست محیطی می باشد (Nowak, 2021). از جمله فناوری های مورد استفاده در چنین سیستمی می توان به GPS، GIS، پهپادها و تصاویر ماهواره ای در ترکیب با روش های پردازش تصویر و روش های آمار مکانی در سیستم اطلاعات جغرافیایی اشاره نمود. بر اساس این داده ها و روش های تحلیلی، کشاورزان اطلاعاتی در مورد تمام مسائل کلیدی مزرعه در منطقه دریافت می کنند، مانند وضعیت محصول، پیش بینی آب و هوا، تغییرات محیطی و غیره. همچنین، تفاوت مهم بین کشاورزی دقیق و کشاورزی سنتی، توانایی مدیریت مزارع نه به صورت یک بلوک جداگانه، بلکه در تقسیم آنها به مناطق جداگانه بزرگ در منطقه می باشد. چنین منطقه بندی اجازه می دهد تا تصمیمات مدیریتی برای بخش های مختلف مزرعه بصورت بهینه اجرایی شود. مانند، تنظیم مقدار کوددهی به مزرعه، بهینه سازی حرکت ماشین آلات جهت مصرف بهینه تر از سوخت. بنابراین، در کشاورزی دقیق تمامی متغیرهای موثر در مدیریت مزرعه مد نظر قرار می گیرند (Pierpaoli et al., 2013) (شکل 1).



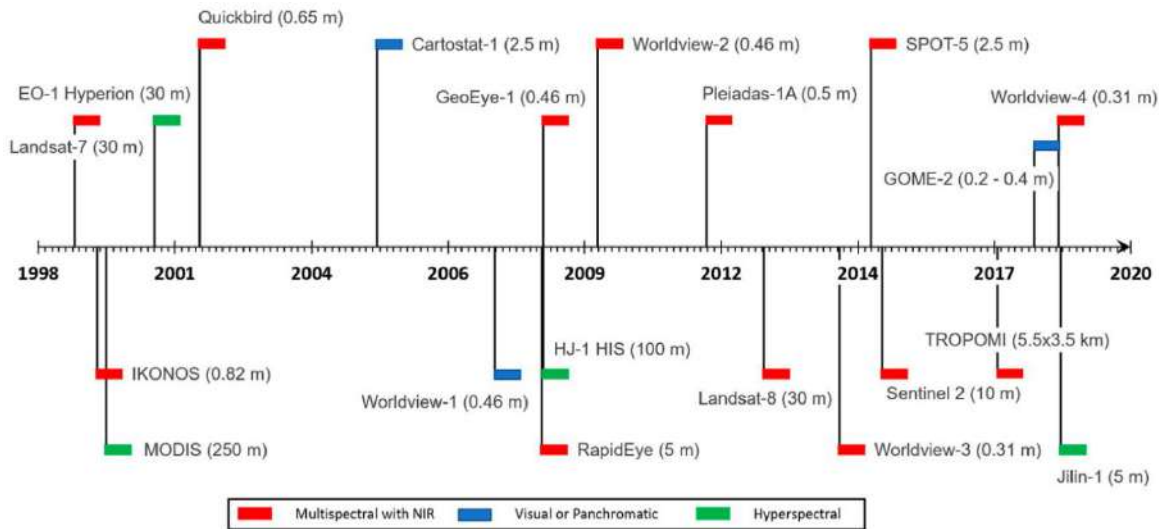
شکل 1. نمایی از کشاورزی دقیق (Cropin, 2023 (<https://www.cropin.com/precision-agriculture>))

## 2- کاربرد سنجش از دور (RS)

نظارت بر کشاورزی از طریق RS یک موضوع گسترده می باشد و چندین مطالعه روش ها و کاربردهای RS در کشاورزی را از زوایای مختلف بررسی نموده اند. این تحقیقات کاربردهای سنجش از دور را در برآورد ویژگی های خاک، رطوبت خاک، پیش بینی عملکرد محصول، مدیریت بیماری و آفات، تشخیص علف های هرز بررسی نموده اند. همچنین روش های پردازش داده و استفاده داده های اخذ شده از سنجنده ها دورسنجی در محدوده های طیفی مانند مرئی (Visible)، چند طیفی (Multi spectral)، حرارتی (Thermal)، مایکروویو (Macrowave)، فراطیفی (Hyperspectral) با استفاده از پلت فرم های دورسنجی مانند ماهواره ها، هواپیماها، پهپادها (UAV)، و ابزارهای دستی زمینی مورد بحث قرار گرفته است (Khanal et al., 2020) (شکل 2).

داده های سنجش از دوری چند طیفی (Mutispectral) می توانند در تحلیل تنش های محیطی به گونه های گیاهی و ارزیابی سلامت گیاهان نقش آفرینی کنند و شاخص های گیاهی متعددی مانند RVI، NDVI، TVI، SAVI و ... توسعه یافته است (Hatfield et al., 2019). جدول 1 فهرستی از شاخص های گیاهی را که برای تخمین ویژگی هایی مانند وضعیت کلروفیل برگ، فتوستتاز تاج پوشش، شاخص سطح برگ، پوشش زمین، زیست توده بالای زمین، وضعیت آب گیاه و محصول، تنش گیاهی را نشان می دهد. داده های دورسنجی چند طیفی در شرایط آب و هوایی با ابرناکی شدید قابل استفاده نمی باشند.

همچنین داده های راداری (Macrowave) در تحلیل و ارزیابی سلامت محصولات کشاورزی مورد استفاده قرار گرفته اند و شاخص SAR-VI با استفاده از داده های راداری توسعه یافته است (Kim & Zyl, 2009). این داده ها با تفکیک مکانی متفاوت در هر محدوده مکانی و در هر شرایط آب و هوایی قابل استفاده می باشند.



شکل 2. فهرست ماهواره های و تفکیک مکانی آن‌ها از سال 1999. (ماهواره‌های دارای سنجنده چندطیفی (Multispectral) معمولاً محدوده طیفی ( مرئی Visible پانکروماتیک Pan و مادون قرمز نزدیک NIR را برداشت می کنند) (Khanal et al., 2020)

جدول 1. شاخص های گیاهی جهت ارزیابی سلامت گیاهان (Hatfield et al., 2019)

VI Family	Index	Wavebands
Plant biophysical indices	Difference Indices	R <sub>800</sub> - R <sub>680</sub> R <sub>800</sub> - R <sub>550</sub> R <sub>550</sub> R <sub>700</sub> <sup>-1</sup> log(1/R <sub>737</sub> )
	Simple Ratio	R = R <sub>NIR</sub> /R <sub>red</sub>
	Ratio Vegetation Index	RVI = R <sub>red</sub> /R <sub>NIR</sub>
	Difference Vegetation Index	DVI = m × R <sub>NIR</sub> - R <sub>red</sub>
	Weighted Difference Vegetation Index	WDVI = R <sub>NIR</sub> - m × R <sub>red</sub>
	Photochemical Reflectance Index	PRI = (R <sub>531</sub> - R <sub>570</sub> )/(R <sub>531</sub> + R <sub>570</sub> )
	Pigment-specific normalized difference	PSNDc = (R <sub>800</sub> - R <sub>470</sub> )/(R <sub>800</sub> + R <sub>470</sub> )
	Normalised Ratio Vegetation Index	NRVI = (RVI - 1)/(RVI + 1)
	Normalized Difference Vegetation Index	NDVI = (R <sub>NIR</sub> - R <sub>red</sub> )/(R <sub>NIR</sub> + R <sub>red</sub> )
	Green NDVI	GNDVI = (R <sub>NIR</sub> - R <sub>green</sub> )/(R <sub>NIR</sub> + R <sub>green</sub> )
	Red Edge NDVI	NDRE = (R <sub>NIR</sub> - R <sub>red edge</sub> )/(R <sub>NIR</sub> + R <sub>red edge</sub> )
	Corrected NDVI	NDVIC = NDVI × (1 - ((R <sub>MIR</sub> - R <sub>MIR_min</sub> )/(R <sub>MIR_max</sub> - R <sub>MIR_min</sub> )))
	Transformed Vegetation Index	TVI = (NDVI + 0.5) <sup>1/2</sup>
	Corrected Transformed Vegetation Index	CTVI = [(NDVI + 0.5)/(INDVI + 0.5)] * (INDVI + 0.5) <sup>1/2</sup>
	Perpendicular Vegetative Index	PVI = (R <sub>NIR</sub> - aR <sub>red</sub> - b)/(1 + a <sup>2</sup> ) <sup>1/2</sup>
	Wide Dynamic Range Vegetation Index	WDRVI = (0.1R <sub>NIR</sub> - R <sub>red</sub> )/(0.1R <sub>NIR</sub> + R <sub>red</sub> )
	Soil Adjusted Vegetation Index	SAVI = (R <sub>NIR</sub> - R <sub>red</sub> )(1 + L)/(R <sub>NIR</sub> + R <sub>red</sub> + L)
	Modified Soil Adjusted Vegetation Index	MSAVI = (2 × (R <sub>NIR</sub> + 1) - ((2 × R <sub>NIR</sub> + 1) <sup>2</sup> - 8 × (R <sub>NIR</sub> - R <sub>red</sub> )) <sup>1/2</sup> )/2
Transformed Soil Adjusted Vegetative Index	TSAVI = a(R <sub>NIR</sub> - aR <sub>red</sub> - b)/(R <sub>red</sub> + aR <sub>NIR</sub> - ab)	
Enhanced Vegetation Index	EVI = 2.5(R <sub>NIR</sub> - R <sub>red</sub> )/(R <sub>NIR</sub> + 6R <sub>red</sub> - 7.5R <sub>blue</sub> + 1)	

VI Family	Index	Wavebands
Plant biophysical indices	Two-band Enhanced Vegetation Index	$EVI2 = 2.5(R_{NIR} - R_{red}) / (R_{NIR} + 2.4 \times R_{red} + 1)$
	Triangular Vegetative Index	$TVI = 0.5[120(R_{750} - T_{550}) - 200(R_{670} - R_{550})]$
	Specific Leaf Area Vegetation Index	$SLAVI = R_{NIR} / (R_{red} + R_{MIR})$
	Global Environmental Monitoring Index	$GEMI = \eta \times (1 - \eta \times 0.25) - [(R_{red} - 0.125) / (1 - R_{red})]$ $\eta = (2 \times (R_{NIR}^2 - R_{red}^2) + 1.5 \times R_{NIR} + 0.5 \times R_{red}) / (R_{NIR} + R_{red} + 0.5)$
	Canopy Structure Index	$CSI = 2sSR - sSR^2 + sWI^2$ $sSR = (R_{800} / R_{680} - 1) / (R_{800} / R_{680} - 1)_{max}$ $sWI = (R_{900} / R_{1180} - 1) / (R_{900} / R_{1180} - 1)$
	Visible Atmospherically Resistant Indices	$VAR_{green} = (R_{green} - R_{red}) / (R_{green} + R_{red})$ $VAR_{red\ edge} = (R_{red\ edge} - R_{red}) / (R_{red\ edge} + R_{red})$
	Plant Senescence Reflectance Index	$PSRI = (R_{680} - R_{500}) / R_{750}$
Leaf or canopy chlorophyll indices	Chlorophyll Indices	$CI_{green} = (R_{NIR} / R_{green}) - 1$ $CI_{red\ edge} = (R_{NIR} / R_{red\ edge}) - 1$
	Normalized Pigment Chlorophyll Ratio Index	$NPCI = (R_{660} - R_{460}) / (R_{660} + R_{460})$ $NPCI = (R_{680} - R_{430}) / (R_{680} + R_{430})$
	Modified Chlorophyll and Reflectance Index	$MCARI = [(R_{700} - R_{670}) - 0.2 \times (R_{700} - R_{550})] \times (R_{700} / R_{670})$
	Water Balance Index	$WBI = R_{970} / R_{900} \text{ or } R_{905} / R_{980}$
Water Content Indices	Normalized Difference Water Content	$NDWI = (R_{800} - R_{680}) / (R_{800} + R_{680})$
	Shortwave Infrared Water Stress Index	$SIWSI = (R_{1628\ to\ R_{1652}} - (R_{841\ to\ R_{876}}) / (R_{1628\ to\ R_{1652}} + (R_{841\ to\ R_{876}})$
	Relative Water Content	$RWC = R_{1483} / R_{1650}$ $RWC = R_{1100} / R_{1430}$

### 3- کاربرد سیستم اطلاعات جغرافیایی (GIS)

استفاده از فناوری های مکان محور در کشاورزی بصورت فزاینده ای در حال گسترش است. این فناوری های مکان محور مانند GPS و GIS نقش کلیدی در مدیریت مزرعه پیدا کرده اند. سیستم اطلاعات جغرافیایی، علم تحلیل اطلاعات مکانی با استفاده از روش های آماری-مکانی می باشد (Longley, 2005) که می تواند در ترکیب و تلفیق اطلاعات و لایه های مختلف در مدیریت مزرعه کارشناسان را یاری رساند (Zhang & Cao, 2019). کشاورزان می توانند اندازه گیری تغییرات مکانی - زمانی یک متغیر را در خاک، پوشش گیاهی، میزان محصول، پراکنش آفات، کوددهی، آبیاری و ... ارزیابی نمایند. روشهای متعددی جهت استفاده از داده های مکانی در حوزه کشاورزی در GIS مانند روشهای درونیابی مثل IDW، Kriging یا روش های آمار مکانی مانند تحلیل خوشه بندی مانند تحلیل لکه داغ (Hotspot analysis) (Ord & Getis, 1995) یا روشهای تحلیل روابط فضایی مانند روش رگرسیون جغرافیایی وزندار (Geographically weighted regression (GWR) (Smith et al., 2007) توسعه یافته اند. همچنین روش های تصمیم گیری چند متغیره کارشناس مبنای فرآیند تحلیل شبکه ای (ANP) و داده مبنای مانند شواهد وزندار Weight of Evidence (WofE) می توانند در ترکیب با GIS به مدل سازی داده های حاصل از متغیرهای مختلف در مزرعه پرداخته و به مدیریت عملیات کشاورزی در مزرعه کمک کنند (Bandyopadhyay et al., 2009). به عنوان مثال در کشور چین از اواسط دهه 1980، GIS در زمینه کشاورزی از جمله مدیریت زمین و منابع، مدیریت اطلاعات منابع کشاورزی، برنامه ریزی کشاورزی منطقه ای، مدیریت توزیع غلات و تصمیم گیری جهت تولید مواد غذایی و تولید محصولات کشاورزی، ارزیابی تناسب اراضی، پایش محیط زراعی به کار گرفته شده است (Zhang & Cao, 2019).

## 5- نتیجه گیری

فناوری سنجش از دور (RS) و سیستم اطلاعات جغرافیایی (GIS) و فناوری های ICT و مدیریت داده ها می تواند راه های جدیدی را جهت مدیریت عملیات کشاورزی برای افزایش تولید محصول و کاهش هزینه های عملیات کشاورزی ارائه نمایند. همزمان این تکنولوژی ها می توانند راهکارهایی جهت حفظ محیط زیست، خاک، آب، هوا، حفظ تنوع گونه های گیاهی به کشاورزان توصیه نمایند. اما، جهت نیل به این اهداف می بایست مسائل زیر مد نظر قرار گیرد:

الف) توسعه کشاورزی دقیق و هوشمند تنها با توسعه سیاست ها، قوانین و بازار لازم برای کشاورزی هوشمند در هر کشور به خصوص کشورهای در حال توسعه امکانپذیر می باشد (Walter et al., 2017).

ب) مالکیت اطلاعات تولید شده در این فرآیند بصورت مشخص و طبق شرایط ویژه لحاظ شود.

ج) کشاورزی سنتی و خرده مالکی با سیستم کشاورزی دقیق همگام شود.

د) مسایل زیست محیطی همگام با رشد کشاورزی دقیق جهت توسعه پایدار در کشاورزی مد نظر قرار گیرد.

و) تسهیلات لازم در گردآوری داده ها و خرید تجهیزات مدرن جهت تحلیل اطلاعات جهت پوشش هزینه های سنگین توسط دولت تامین گردد.

ه) تفکیک مکانی بسیار بالا داده ها: ضرورت استفاده از داده های با تفکیک مکانی بسیار بالا جهت ترائه راهکارهای دقیق در مدیریت مزرعه.

ز) تفکیک زمانی داده های سنجش از دوری در ترکیب با سایر سنجنده ها و داده ها تکمیل گردد. زیرا، این داده ها در هر زمانی برای هر منطقه موجود نمی باشند.

ر) کاربرد پهپادها و سنسورها در مزرعه جهت تلفیق با سایر داده ها و اعتبارسنجی نتایج مد نظر قرار گیرد.

ل) کاربرد هوش مصنوعی و الگوریتم های توسعه یافته فرا ابتکاری در حل مسائل مزرعه در ترکیب با RS و GIS مد نظر قرار گیرد.

## منابع

- Bandyopadhyay, S., Jaiswal, R. K., Hegde, V. S., & Jayaraman, V. (2009). Assessment of land suitability potentials for agriculture using a remote sensing and GIS based approach. *International Journal of Remote Sensing*, 30(4), 879-895. <https://doi.org/10.1014/31160802390235080>
- Cropin, 2023, Precision agriculture, (<https://www.cropin.com/precision-agriculture>)
- Hatfield, J. L., Prueger, J. H., Sauer, T. J., Dold, C., O'Brien, P., & Wacha, K. (2019). Applications of Vegetative Indices from Remote Sensing to Agriculture: Past and Future. *Inventions*, 4(4), 71. <https://www.mdpi.com/2411-5134/4/4/71>
- Khanal, S., KC, K., Fulton, J. P., Shearer, S., & Ozkan, E. (2020). Remote Sensing in Agriculture—Accomplishments, Limitations, and Opportunities. *Remote Sensing*, 12(22), 3783. <https://www.mdpi.com/2072-4292/12/22/3783>

- Kim, Y., & Zyl, J. J. v. (2009). A Time-Series Approach to Estimate Soil Moisture Using Polarimetric Radar Data. *IEEE transactions on geoscience and remote sensing*, 47(8), 2519-2527. <https://doi.org/10.1109/TGRS.2009.2014944>
- Longley, P. (2005). *Geographic information systems and science*. John Wiley & Sons .
- Nowak, B. (2021). Precision Agriculture: Where do We Stand? A Review of the Adoption of Precision Agriculture Technologies on Field Crops Farms in Developed Countries. *Agricultural Research*, 10(4), 515-522. <https://doi.org/10.1016/j.agr.2021.04.003>
- Ord, J. K., & Getis, A. (1995). Local Spatial Autocorrelation Statistics: Distributional Issues and an Application. *Geographical Analysis*, 27, 286-306 .
- Pierpaoli, E., Carli, G., Pignatti, E., & Canavari, M. (2013). Drivers of Precision Agriculture Technologies Adoption: A Literature Review. *Procedia Technology*, 8, 61-69. <https://doi.org/10.1016/j.protcy.2013.11.010>
- Smith, M. J. d., Goodchild, M. F., & Longley, P. A. (2007). *Geospatial Analysis; A Comprehensive Guide to Principles, Techniques and Software Tools*. b. M. a. i. o. T. P. L. o. b. o. T. W. Press .
- Walter, A., Finger, R., Huber, R., & Buchmann, N. (2017). Smart farming is key to developing sustainable agriculture. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(24), 6148-6150. <https://doi.org/10.1073/pnas.1707462114>
- Zhang, F., & Cao, N. (2019). Application and Research Progress of Geographic Information System (GIS) in Agriculture. 2019 8th International Conference on Agro-Geoinformatics (Agro-Geoinformatics) ,

## Application of GIS and RS in plant sciences and precision agriculture

Reza Hassanzadeh, Mohadeseh Hossininia

Department of Ecology, Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman-Iran.

Email: Hassanzadeh22@yahoo.com

Department of Water Engineering, Faculty of water and soil, Zabol University, Zabol- Iran, Email: m.hosseinyiya@yahoo.com.

### Abstract

Agricultural development has always been a top priority due to its role in the food security of a country. However, the existence of man-made and natural challenges in the path of sustainable agricultural development has brought food security issues together with many issues. Today, researchers have tried to use several tools and methods to solve these challenges. The use of remote sensing (RS) and geographic information system (GIS) in plant sciences and precision agriculture is one of the important solutions in solving these challenges. Remote sensing data are available at certain times and from all places on the earth's surface, and many image processing methods such as plant indices and classification methods have been developed to analyze these data for plant stress analysis. On the other hand, geographic information system as a tool for spatial data management and analysis has been able to play a role in plant sciences. Several spatial statistical methods have been developed that can be used to analyze and determine the role of effective variables in precision agriculture and food security. In this article, an attempt is made to describe the application of geospatial technologies in precision agriculture and then consider the upcoming challenges in this field.

**Keywords:** Kakuti Kohi plant extract, antibacterial activity, growth inhibition percentage, Escherichia coli T7 Shuffle

## پاسخ های فیزیولوژیک سه گونه بلوط در اثر آلودگی با گال حاصل از زنبور *Aphelonyx persica*

علی کثیری بهنمیری<sup>1</sup>، فائزه قناتی<sup>1\*</sup>، محبوبه جلالی<sup>2</sup>، مجید توکلی<sup>3</sup>

<sup>1</sup> کارشناس ارشد فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست شناسی علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس تهران

<sup>1\*</sup> استاد گروه زیست شناسی علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس تهران

ghangia@modares.ac.ir

a\_kasiri@modares.ac.ir

<sup>2</sup> استادیار گروه آموزشی علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان

<sup>3</sup> مربی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان لرستان

### چکیده

درختان بلوط به دلیل آنکه بیشتر فلور رشته کوه های زاگرس را شامل می شوند اهمیت به سزایی دارند. متأسفانه به دلایل متفاوتی این جنگل ها در حال نابودی هستند. جدای از دخالت انسانی، رشد انفجاری جمعیت زنبور های گالزا نیز تبدیل به یک عامل نگران کننده شده است که راهکار های متفاوتی مانند محلول پاشی یا سم پاشی پیشنهاد می شود همچنین برخی نیز معتقدند که این بیماری های گیاهی موجب تحریک تولید متابولیت های ثانوی می شود که گیاه را مقاوم تر می کند. هدف از این تحقیق بررسی ترکیبات فیتوشیمیایی در گال ها، برگ های مجاور گال ( برگ گالدار یا بیمار) و برگ هایی که در نزدیکی گالی نبودند (برگ شاهد یا سالم) است که میزان اثر گال ها را بر روی برگ های درخت بلوط به عنوان یک اندام مهم و تولیدکننده بررسی گردد. در این تحقیق اثر گال حاصل از یک زنبور *Aphelonyx persica* بر روی سه گونه بلوط *Q.libanii* و *Q.brantii*، *Q.castaneifolia* از مناطق مختلف بررسی شد. در نتیجه مشخص شد که وابسته به گونه و موقعیت جغرافیایی، گیاه پاسخ های متفاوتی می دهد و قطعا وجود گال موجب افزایش متابولیت های ثانویه در برگ مجاور نمی شود زیرا گال ها در مراحل مختلف نمودی اثرات متفاوتی روی اندام ها مجاور و خود گیاه می گذارد. می توان گفت اگر بتوان عوامل تشدید کننده خصوصا عوامل انسانی ( تغییرات اقلیمی و گرمایش جهانی، کاشت گونه های غیر بومی، تغییر کاربری، بهره برداری غیر اصولی از جنگل ها و غیره) را مهار کرد، گیاه خود می تواند خسارات حاصل از این حشرات را جبران کند و نیازی به دخالت بیشتر انسان در اکوسیستم نیست زیرا در نهایت شاهد از دست رفتن بخشی از این اکوسیستم خواهیم بود.

واژگان کلیدی: اکوسیستم، بلوط، زاگرس، زنبور، متابولیت ثانوی.

### مقدمه

زنبورهای قبیله *Cynipini* گال های متنوعی را روی گونه های بلوط ایجاد می کنند که یکی از آنها زنبور *Aphelonyx persica* می باشد. گال های این زنبور بر سه گونه بلوط بلندمازو (*Q.castaneifolia*)، برودار یا بلوط ایرانی (*Q.brantii*) و یوول

*Q. libanii*) در ایران یافت می شود (صادقی، 1393). بنا به آنکه پدیده زوال درختان بلوط یک پدیده ی جهانی است و در کشورهای مختلف نیز گزارش شده است و علت اصلی آن را خشکی و افزایش دما اعلام کرده اند (Gentilesca et al., 2017). همچنین در سالهای اخیر زوال درختان بلوط در ایران نیز بسیار رشد یافته است و عوامل متعددی را علل آن می دانند. از دلایل مهم اعلام شده میتوان به ریزگردها (جهانبازی گوجانی و همکاران، 1397)، تغییر اقلیم و خشکسالی (عطارد و همکاران، 1394)، آفات و بیماری ها (کرمیان و میرزایی، 1399)، کاهش مواد مغذی در خاک و کمبود جذب مواد غذایی در درختان (جهانبازی گوجانی و همکاران، 1399)، جهت جغرافیایی و موقعیت زمین (گودرزی و همکاران، 1395) و عمق کم خاک و شیب زیاد زمین (مهدوی و همکاران، 1394) اشاره کرد. در این ارتباط گزارش شد، زوال در اثر در معرض قرار گرفتن درختان تحت شرایط خاص طولانی نظیر رقابت زیاد، قرارگیری روی خاکهای کم عمق، استقرار در مناطق با شیب زیاد، عوامل تشدیدکننده اقلیمی در طولانی مدت و عوامل ثانویه نظیر حشرات و بیماریها، اتفاق میافتد (Manion, 1991). باینحال، یافته های اخیر نشان میدهد، تنش خشکسالی طولانی مدت و حاد بیشتر به عنوان عامل اصلی زوال بلوط اعلام شده است (جهانبازی و همکاران، 1401). در سال های اخیر با تشدید شرایط محیطی نامناسب و زوال درختان بلوط، آسیب حاصل از حشرات به درختان بلوط نیز افزایش یافته است و نظرات متفاوتی نسبت به مقابله با آن وجود دارد. نتایج حاصل از تحقیقات مهدی کرمی و همکاران (1395) نشان داد که حضور حشرات گالزا بر روی درختان بلوط ایرانی نوعی آفت محسوب می شوند لذا حضور چشمگیر حشرات گالزا و در نتیجه بروز این تغییرات در درختان، نیاز به کنترل حشرات گالزا و جلوگیری دارد. همچنین نتایج صالحی اسکندی و کاویانی (1392)، که به مقایسه برخی از تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی سرشاخه های گالدار و سالم درختان بید معجون (*Salix babylonica*) پرداختند نتیجه گرفتند که از آنجایی که بقاء میزبان منجر به بقای انگل میشود، بنابراین تجمع آنتوسیانین ها و ترکیبات فنلی در گیاهان سبب افزایش مقاومت گیاه در برابر تنش های اکسیداتیو میگردد لذا حتی می توانند نقش مفیدی برای گیاهان برای مقاومت مقابل پاتوژن ها داشته باشد.

حال با توجه به رویکرد های متفاوتی که وجود دارد، در این تحقیق قرار است تغییرات بیوشیمیایی در یک نوع گال که حاصل گزش زنبور *Aphelonyx persica* است را به همراه برگ های گالدار که در مجاورت این گال رشد کرده اند را با برگ های شاهدهی که در نزدیکی گالی نبوده اند بررسی شود. از طرفی هرگونه ی بلوط (به جز *Q. libanii*) در بیش از یک منطقه بررسی گردید تا مضاف بر پاسخ هرگونه، شرایط جغرافیایی نیز بررسی گردد تا در انتها بتوان به این پرسش پاسخ داد که آیا گال ها یک خطر جدی برای درختان بلوط محسوب میشوند؟ و یا برعکس نقش مفیدی دارند و حتی می توانند سبب افزایش مقاومت گیاه در برابر تنش های اکسیداتیو گردند.

مواد و روش ها



جمع آوری گال ها در نیمه دوم شهریور 1401 از مناطق موجود در جدول 1 صورت پذیرفت و گال های حاصل از زنبور مورد نظر به همراه برگ های مجاور با گال (برگ گالدار) و برگ هایی که گالی در اطرافشان نبود (برگ شاهد) جمع آوری گردید و به آزمایشگاه منتقل شد و در فضای آزمایشگاه و در تاریکی به مدت دو هفته کاملا خشک شدند. سپس بافت های گیاهی خشک شده با آسیاب به طور کامل پودر شدند و تا زمان آزمایش ها در جای خنک و تاریک نگه داری شدند.

جدول 1: مشخصات جغرافیایی جنگل های بلوط و داده های هواشناسی از مرکز هواشناسی کشور

استان	منطقه نمونه برداری	گونه بلوط	عرض جغرافیایی	طول جغرافیایی	ارتفاع از سطح دریا (متر)	بارش سال شمسی 1401 (میلی متر)	تفاوت بارش امسال به بلند مدت (درصد)	تفاوت میانگین دمایی نسبت به بلند مدت
مازندران	ساری - پارک جنگلی زارع	بلند مازو	36,55435	53,131	60	388	-40,5	1,7
	ساری - پناهگاه حیات وحش سمسکنده	بلند مازو	36,5665	53,1539	170			
	کلاردشت - ابتدای جاده روستای مازیچال	بلند مازو	36,5371	51,1531	1100			
لرستان	سفیدکوه	بلوط ایرانی	33,5577	48,287	1300	407,1	-27	1,5
	مخمل کوه	بلوط ایرانی	33,5799	48,3011	1400			
	قلایی	بلوط ایرانی	33,7691	47,9395	1360			
کردستان	مریوان	بلوط ایرانی	35,5432	46,1733	1600	334,2	-26,5	1,4
	سدگاران	بلوط ایرانی و یوول	35,6074	46,3071	1500			

### سنجش محتوای قند محلول کل

به منظور اندازه گیری گلوکز به عنوان پارامتر قند محلول کل سلول، 50 میلی گرم از بافت گیاهی پودر شده با 3 میلی لیتر آب مقطر سائیده شد. بعد از سانترفیوژ، از روشناور 500 میکرولیتر عصاره برداشته شد و به آن 500 میکرولیتر فنل 5 درصد افزوده شد. در مرحله آخر با افزودن 2,5 میلی لیتر اسید سولفوریک غلیظ رنگ آجری تا قرمز ایجاد می شود که بعد از سرد شدن در دمای آزمایشگاه در طول موج 485 نانومتر جذب نمونه ها قرائت شد. و در اخر برای بدست آوردن غلظت گلوکز در نمونه ها، جذب هر نمونه در منحنی استاندارد گلوکز قرار داده شد (Dubois et al., 1956).

### اندازه گیری محتوای پروتئین کل

برای اندازه گیری پروتئین از روش برادفورد استفاده شد. 50 میلی گرم از بافت گیاهی پودر شده با 3 میلی لیتر آب مقطر سائیده شد. بعد از سانترفیوژ، از روشناور 100 میکرولیتر عصاره برداشته شد و به آن یک میلی لیتر معرف برادفورد افزوده شد. نمونه ها ورتکس شدند و سپس با دستگاه اسپکتروفتومتر جذب نمونه ها در طول موج 595 نانومتر قرائت شد. و در آخر برای بدست آوردن غلظت پروتئین در نمونه ها، جذب هر نمونه در منحنی استاندارد آلبومین سرم گاوی قرار داده شد (Bradford., 1976).

### سنجش محتوای رنگیزه های فتوسنتزی

برای اندازه گیری رنگیزه های فتوسنتزی شامل کلروفیل a و b، کلروفیل کل و کاروتنوئید، 50 میلی گرم از بافت گیاهی پودر شده با 3 میلی لیتر استون 80 درصد سائیده شد و پس از صاف کردن، جذب نمونه ها با اسپکتروفتومتر در طول موجهای 663,2، 646,8 و 470 نانومتر خوانده شد و غلظت رنگیزه ها با استفاده از فرمول های زیر محاسبه شد و بر اساس میکروگرم بر گرم وزن خشک محاسبه شد (Lichtenthaler., 1987).

$$\text{chl}a = 12.25 A_{663.2} - 2.79 A_{646.8} \quad (\text{کلروفیل } a)$$

$$\text{chl}b = 21.21 A_{646.8} - 5.1 A_{663.2} \quad (\text{کلروفیل } b)$$

$$\text{chl}T = 7.15 A_{663.2} - 18.71 A_{646.8} \quad (\text{کلروفیل کل})$$

$$\text{car} = (1000A_{470} - 1.82 \text{chl}a - 85.02\text{chl}b)/198 \quad (\text{کارتنوئید})$$

### سنجش نشاشته کل

10 میلی گرم از بافت پودر شده گیاهی با 3 میلی لیتر استون مطلق ترکیب شد و برای یک شب بر بروی شیکر گذاشته شد. سپس نمونه ها سانترفیوژ شد و روشناور حذف گردید و به رسوب ته ظرف 3 میلی لیتر اتانول 80 درصد افزوده شد. نمونه ها به مدت 30 دقیقه در حمام آب جوش قرار گرفت و سپس فاز اتانولی نیز دور ریخته شد (دوبار تکرار شود). به رسوب گیاهی این بار 2 میلی لیتر پرکلریک اسید 35 درصد افزوده شد و سپس 30 دقیقه روی شیکر و در تاریکی قرار گرفت. نمونه ها مجدداً سانترفیوژ شدند و از روشناور 200 میکرولیتر برداشته شد و روی یخ گزارده شد و به آنها 2 میلی لیتر معرف آنترون (2 گرم آنترون در یک لیتر اسیدسولفوریک 72 درصد) افزوده شد. نمونه ها ورتکس شد و سپس 10 دقیقه در حمام آب جوش قرار گرفتند و در آخر بر روی یخ خنک شدند. پس از سرد شدن، جذب نمونه ها در طول موج 625 نانومتر خوانده شد. برای ساخت استاندارد نیز از نشاشته استفاده شد (Fernandes., 2011).

### سنجش محتوای فنلی کل

به منظور بررسی محتوای فنل کل، 50 میلی گرم از بافت گیاهی با 3 میلی لیتر متانول اسیدی 1 درصد (استیک اسید) سائیده و سپس سانترفیوژ شد. به 500 میکرو لیتر از عصاره متانولی اسیدی 500 میکرو لیتر معرف فولین-سیکالتو 0,1 نرمال و سپس

1 میلی لیتر سدیم کربنات 10 درصد اضافه شد. سپس نمونه ها به مدت 10 دقیقه در دمای اتاق قرار داده شدند. در نهایت جذب نمونه ها در طول موج 730 نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. برای اندازه گیری فنل کل از منحنی استاندارد گالیک اسید استفاده شد (Chang et al., 2001).

### سنجش محتوای آنتوسیانین کل

50 میلی گرم بافت گیاهی با 3 میلی لیتر متانول اسیدی 1 درصد (هیدروکلریک اسید) سائیده و سپس سانتریفیوژ شد. محلول روشن‌آور به لوله های آزمایش جدید انتقال داده و به مدت یک شب در تاریکی قرار داده شد. در نهایت، جذب نمونه ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج 550 نانومتر خوانده شد. برای محاسبه غلظت آنتوسیانین کل از رابطه ی ضریب خاموشی استفاده گردید (Krizek et al., 1998).

### سنجش آلکالوئید کل

100 میلی گرم بافت گیاهی با 3 میلی لیتر متانول مطلق سائیده شد و به مدت 24 ساعت بر روی شیکر قرار داده شد. بعد از سانتریفیوژ محلول رویی جدا شد و در دمای 45 درجه سانتیگراد خشک شد. به عصاره خشک شده 2 میلی لیتر هیدروکلریک اسید 2 نرمال اضافه و مجدداً سانتریفیوژ شد. 1 میلی لیتر از این محلول با 1 میلی لیتر کلروفرم سه مرتبه شسته شد. pH محلول توسط سدیم هیدروکسید به 12 رسانده شد و سپس 2 میلی لیتر معرف بروموکروزول سبز و 2 میلی لیتر بافر پتاسیم فسفات (pH=4/7) به آن اضافه شد. سپس به مخلوط واکنش، 2 میلی لیتر کلروفرم اضافه شد و با تکان دادن شدید استخراج صورت گرفت. در نهایت فاز کلروفرمی (محلول زرد رنگ زیرین) جمع آوری و جذب نمونه ها در طول موج 470 نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. برای اندازه گیری آلکالوئید کل از منحنی استاندارد شیکونین استفاده شد (Shamsa et al., 2008).

### سنجش محتوای کل لیپیدی

100 میلی گرم بافت گیاهی با 3 میلی لیتر حلال متانول-کلرفرم (1:1) سائیده شد و به مدت 3 ساعت روی شیکر قرار گرفت. پس از سانتریفیوژ، روشن‌آور با یک میلی لیتر آب مقطر ترکیب گردید تا محلول دو فاز شود. فاز رویی که متانول-آب بود دور ریخته شد و فاز زیرین در دمای 90 درجه سلسیوس خشک شد. به عصاره خشک شده 200 میکرو لیتر اسیدسولفوریک غلیظ افزوده شد و سپس ورتکس شد. محلول 20 دقیقه در دمای 90 درجه گذاشته شد و سپس 400 میکرو لیتر معرف اسیدفسفریک-وانیلین افزوده شد. در آخر بعد از ورتکس، 10 دقیقه در دمای اتاق گذاشته شد و جذب نمونه ها در طول موج 530 نانومتر خوانده شد. از روغن گیاهی (روغن آفتابگردان) برای رسم منحنی استاندارد استفاده شد (Men et al., 2019).

### سنجش فلاونوئید کل

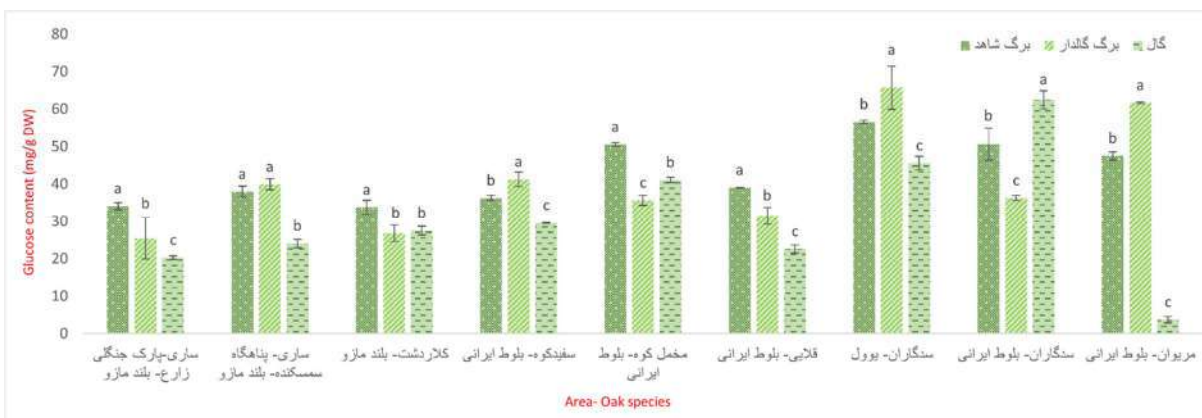
برای سنجش فلاونوئیدها 50 میلی گرم بافت گیاهی را در 3 میلی لیتر اتانول اسیدی (اتانول و اسید استیک به نسبت 99 به 1) خوب سائیده و سپس سانتریفوژ شد. سپس محلول روشن‌آور به مدت 10 دقیقه در حمام آب گرم با دمای 80 درجه قرار داده شد. جذب نمونه‌ها پس از سرد شدن، توسط اسپکتروفتومتر در سه طول موج 300، 270، و 330 نانومتر خوانده شد. برای محاسبه غلظت فلاونوئیدها از ضریب خاموشی  $33000 \text{ Cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$  استفاده گردید (Krizek et al. 1998).

## تجزیه و تحلیل آماری

آنالیزهای آماری در قالب سه تکرار مستقل و کاملاً تصادفی انجام گرفت. مقایسه میانگین‌ها به وسیله آزمون one way ANOVA توسط نرم افزار SPSS انجام شد. آزمون دانکن جهت معنی دار بودن تفاوت‌ها در سطح  $p \geq 0/05$  انجام شد.

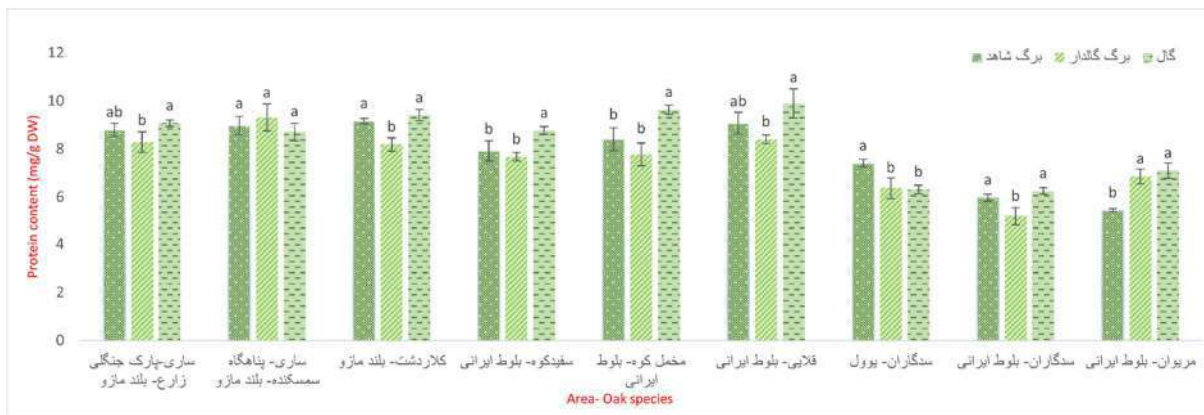
## نتایج و بحث

محتوای گلوکز؛ مطابق شکل 1 به طور کلی می‌توان گفت مقدار گلوکز در گونه‌های بلوط ایرانی و یوول نسبت به بلند مازو بیشتر است. در گونه‌های بلند مازو مقدار گلوکز در برگ‌های گالدار حدوداً برابر و یا کمتر از برگ شاهد بود و همچنین مشاهده می‌شود در اکثر نمونه‌هایی که برگ‌های گالدار گلوکز بالاتری دارند، برعکس مقدارش در گال کمتر است که نشان دهنده‌ی یک ارتباط بین برگ‌های گالدار و گال‌ها است. همانطور که صادقی و همکاران (1393) بیان کردند، قند از بافت برگ به گال منتقل می‌گردد در نمونه‌هایی که مقدار قند در برگ گالدار بیشتر است، برعکس در گال کم است ولی در نمونه‌های دیگر که به مقدار قند گال افزوده می‌شود، از قند موجود در بافت گالدار کاسته می‌شود که می‌توان اینطور توجیه کرد که با توجه به مراحل نمو گال و زمانی که بافت مغذی گال در حال رشد است، انتقال قند به گال از طریق بافت‌های مجاور صورت می‌گیرد و با توجه به مناطق جغرافیایی مختلف (تفاوت در رطوبت، ارتفاع از سطح دریا، میانگین دمای فصل و غیره)، بلوغ آن لایه مغذی با هم تفاوت دارد لذا فقط در یکسری نمونه‌ها انتقال صورت گرفته است در نتیجه قند در گال مقدار بیشتری دارد. از طرفی در هر سه گونه می‌توان این نتایج را مشاهده نمود، پس در انتقال قند هر سه گونه مشابه عمل می‌کنند ولی با توجه به گونه‌ها، مقادیر قند در بافت‌ها تفاوت دارد که عوامل مختلفی بخصوص خود گونه بلوط مرتبط است.



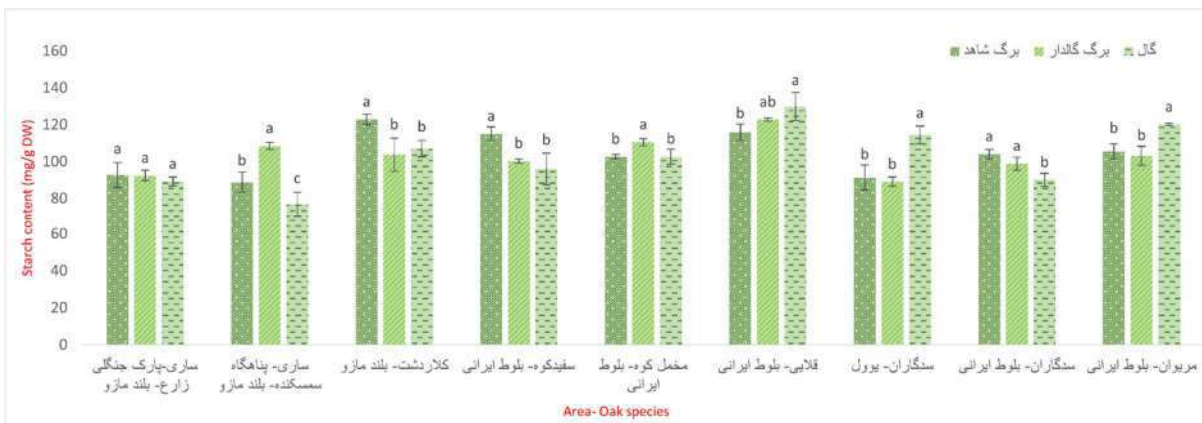
شکل 1: محتوای گلوکز در برگ شاهد، گالدار و گال. مقادیر نشان داده شده میانگین سه تکرار  $\pm$  انحراف معیار است. حروف متفاوت نشان دهنده معنی دار بودن تفاوتها در سطح  $P \geq 0/05$  بر اساس آزمون دانکن می باشد و معنی داری هر نمونه با برگ ها و گال همان نمونه بررسی شد.

محتوای پروتئین، مطابق شکل 2 تقریباً می توان گفت در هر گونه، تفاوت چندانی در محتوای پروتئینی بین گال، برگ گالدار و برگ شاهد وجود ندارد (گرچه در اکثر گونه ها و مناطق، مقدار پروتئین اندکی در گال بیشتر است) ولی همان تفاوت اندک را می توان مانند الگویی که در قند ها بود مشاهده کرد. در محتوای پروتئینی نیز با کاهش مقدار پروتئین در برگ گالدار نسبت به برگ شاهد، مقدار پروتئین در گال افزایش می یابد که یعنی با توجه به شرایط جغرافیایی انتقال پروتئین نیز تفاوت دارد. نکته قابل توجه دیگر این است که مقدار پروتئین در بافت های گیاهی، بیشتر از نوع گونه بلوط به منطقه وابسته است زیرا محتوای پروتئینی در گونه های بلوط ایرانی لرستان بیشتر از کردستان بود و همچنین در گونه یوول که از کردستان جمع آوری شد نیز پروتئین کمتر از دو گونه دیگر از منطقه دیگر است.



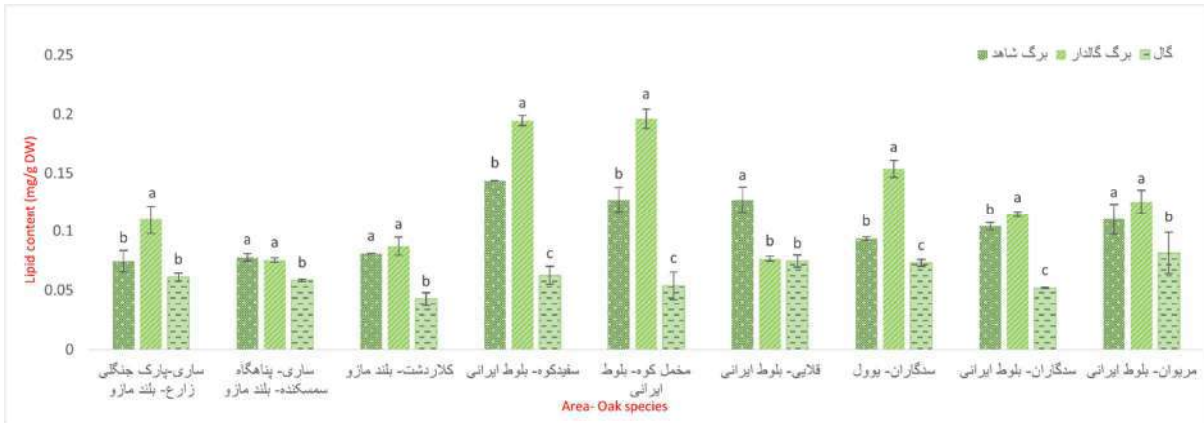
شکل 2: محتوای پروتئین در برگ شاهد، گالدار و گال. مقادیر نشان داده شده میانگین سه تکرار  $\pm$  انحراف معیار است. حروف متفاوت نشان دهنده معنی دار بودن تفاوتها در سطح  $P \geq 0/05$  بر اساس آزمون دانکن می باشد و معنی داری هر نمونه با برگ ها و گال همان نمونه بررسی شد.

محتوای نشاسته، مطابق شکل 3 با توجه به وجود گرانول های نشاسته در بافت مغذی گال ها، تاثیر گال بر محتوای نشاسته بافت گیاهی نیز مورد بررسی قرار گرفت (koncz et al., 2011). هر سه گونه بلوط از لحاظ محتوای قند ذخیره ای خود تقریباً در یک اندازه هستند ولی تفاوت اندکی را می توان به سبب موقعیت جغرافیایی مشاهده کرد. مقدار نشاسته در برگ ها و گال گونه بلند مازو کلاردشت بیشتر از نمونه های ساری بود که علتش تفاوت در ارتفاع و نوع اقلیم منطقه است. از نظر تاثیر گال بر روی بافت برگ مجاور نمی توان گفت که موثر است زیرا تفاوت معناداری در اکثر نمونه ها بین برگ شاهد و گالدار دیده نشد لذا می توان نتیجه گرفت که گال با محتوای ذخیره ای بافت مجاور کار ندارد و فقط قند های محلول انتقال می یابند.



شکل 3: محتوای نشاسته در برگ شاهد، گالدار و گال. مقادیر نشان داده شده میانگین سه تکرار  $\pm$  انحراف معیار است. حروف متفاوت نشان دهنده معنی دار بودن تفاوتها در سطح  $P \geq 0/05$  بر اساس آزمون دانکن می باشد و معنی داری هر نمونه با برگ ها و گال همان نمونه بررسی شد.

محتوای لیپیدی، مطابق شکل 4 به طور کلی می توان گفت که مقدار لیپیدها در گال ها کمتر از برگ ها است و همچنین در بیشتر نمونه ها محتوای لیپیدی در برگ گالدار بیشتر از برگ شاهد است پس حضور گال بی تاثیر نیست. از طرفی مقدار وجود این لیپیدها وابسته به موقعیت جغرافیایی است همانطور که در گونه های بلوط ایرانی لرستان، محتوای لیپیدی بیشتری از بلوط های ایرانی کردستان شاهد هستیم. مقدار لیپیدها و الگوی لیپیدی در نمونه های هر سه گونه بلوط مشابه است زیرا همراه با قندها و پروتئین ها، لیپیدها نیز به گال ها منتقل می شوند و کاملاً گرانول های چربی در بافت مغزی گالها مشخص است (koncz et al., 2011)، ولی همانطور که از نمونه ها مشخص است در اکثر نمونه ها مقدار لیپید در برگ گالدار بیشتر از برگ شاهد است که میتوان دو احتمال را مطرح کرد اولین احتمال این است که در اثر تنش و نقشی که لیپیدها در دفاع گیاه در مقابل پاتوژن ها دارند (Lim et al., 2017) موجب افزایش لیپیدها در بافت های مجاور شده است. دومین احتمال این است که بنا به نیازی که گال دارد، و تاثیری که روی بیان ژن سلول های گیاهی دارند (Hearen et al., 2019) از قبل انتقال مواد از بافتهای کناری به خودش، ژن های تولید کننده مسیر سنتز آن مواد را فعال می کند که در نتیجه شاید این مرحله دقیقاً زمانی است هنوز انتقال صورت نگرفته است و برگ گالدار تحت تاثیر گال در حال افزایش لیپیدهای خود است، به طور مثال در نمونه قلابی، مقدار لیپید در برگ گالدار افت شدیدی داشته است و برعکس در گال بیشتر از دو منطقه دیگر لرستان است.



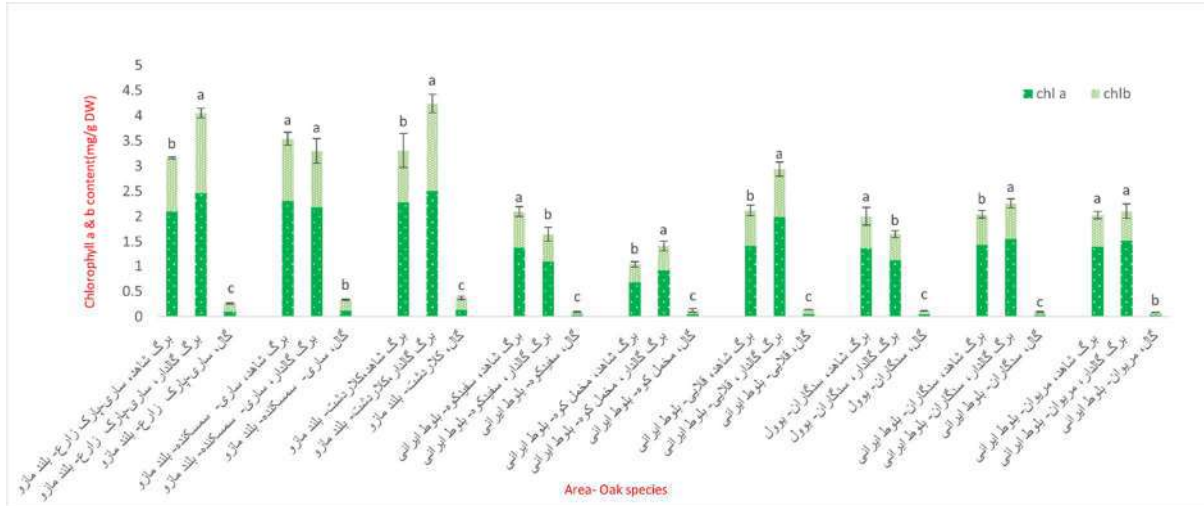
شکل 4: محتوای لیپیدی در برگ شاهد، گالدار و گال. مقادیر نشان داده شده میانگین سه تکرار  $\pm$  انحراف معیار است. حروف متفاوت نشان دهنده معنی دار بودن تفاوتها در سطح  $P \geq 0/05$  بر اساس آزمون دانکن می باشد و معنی داری هر نمونه با برگ ها و گال همان نمونه بررسی شد.

محتوای رنگیزه های فتوسنتزی، مطابق شکل های 5 و 6 همانطور که انتظار می رود گال به عنوان یک بخش غیرعادی از گیاه، دارای رنگیزه های فتوسنتزی کمتری از برگ ها است. نکته جالب این است که در گال ها برعکس برگ ها، در همه ی نمونه ها نسبت کلروفیل b از a بیشتر است. مقدار کلروفیل و کارتنوئید در برگ های گونه بلندمازو بیشتر است که این در مورد گال هم صدق می کند پس بیشتر بودن رنگیزه های فتوسنتزی در برگ های بلندمازو پاسخ به گال نیست و از ویژگی های این گونه است و در دو گونه بلوط ایرانی و بوول هم با توجه به ارتفاع از سطح دریا و شرایط اکولوژیکی تفاوتی را در محتوای این رنگیزه ها شاهد هستیم.

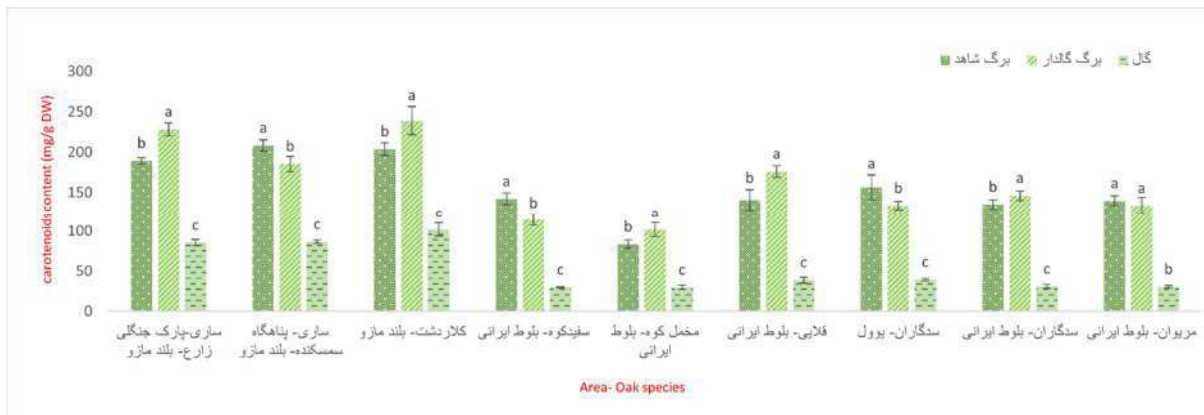
در حالت عادی در اکثر گیاهان مقدار کلروفیل a به b بیشتر است (3:1) ولی در شرایطی که گیاه در سایه قرار گیرد و یا تنش صورت گیرد که نیاز به فتوسنتز بیشتر باشد در نتیجه به مقدار کلروفیل b افزوده میشود تا بتواند طیف وسیعتری از نور را دریافت کنند (Kurniawan et al., 2021) و با توجه به بیشتر بودن کلروفیل b از a در گال ها این احتمال وجود دارد که خود گال تلاش دارد با توجه به اینکه بر زیر کانوپی درخت و سایه برگ ها وجود دارد با افزایش کلوفیل b میزان فتوسنتز را افزایش دهد. از طرفی کارتنوئید ها هم از یک طرف به عنوان دیگر رنگیزه های فعال در جذب نور در آرایش آنتن فتوسیستم ها ایفای نقش می کنند و از طرف دیگر در جاروبگری اکسیدان ها نقش دارند که تفاوت یکپارچه ای را در تمام نمونه ها شاهد نیستیم و تفاوت های موجود هم می تواند به عوامل دیگری به خصوص محیط مربوط باشد.

میزان کلروفیل و کارتنوئید در بین گونه های متفاوت بلوط و حتی یک گونه در مناطق مختلف دارای تناقض است پس نمی توان نتیجه گرفت که گال همواره موجب افزایش رنگیزه های فتوسنتزی در برگ های گالدار می شود همانطور که نتایج متفاوتی تا به حال گزارش شده است به طور مثال صادقی و همکاران (1393) اشاره داشتند که وجود گال موجب افزایش میزان فتوسنتز در قسمتهایی از گیاه که گال در آن تشکیل شده است، می شود ولی مهدی کرمی و همکاران (1395) اظهار داشتند که در بافتهای

دارای گال، تولید رادیکالهای آزاد صورت میگیرد که کلروفیل ها را در کلروپلاست تجزیه می کنند و ساختارهای تیلوکوئیدی ناپدید می شوند و لذا موجب کاهش مقدار کلروفیل در گیاهان دارای گال می شود.



شکل 5: محتوای کلروفیل کل در برگ شاهد، گالدار و گال. مقادیر نشان داده شده میانگین سه تکرار  $\pm$  انحراف معیار است. حروف متفاوت نشان دهنده معنی دار بودن تفاوتها در سطح  $P \geq 0/05$  بر اساس آزمون دانکن می باشد و معنی داری هر نمونه با برگ ها و گال همان نمونه بررسی شد.



شکل 6: محتوای کاروتنوئید در برگ شاهد، گالدار و گال. مقادیر نشان داده شده میانگین سه تکرار  $\pm$  انحراف معیار است. حروف متفاوت نشان دهنده معنی دار بودن تفاوتها در سطح  $P \geq 0/05$  بر اساس آزمون دانکن می باشد و معنی داری هر نمونه با برگ ها و گال همان نمونه بررسی شد.

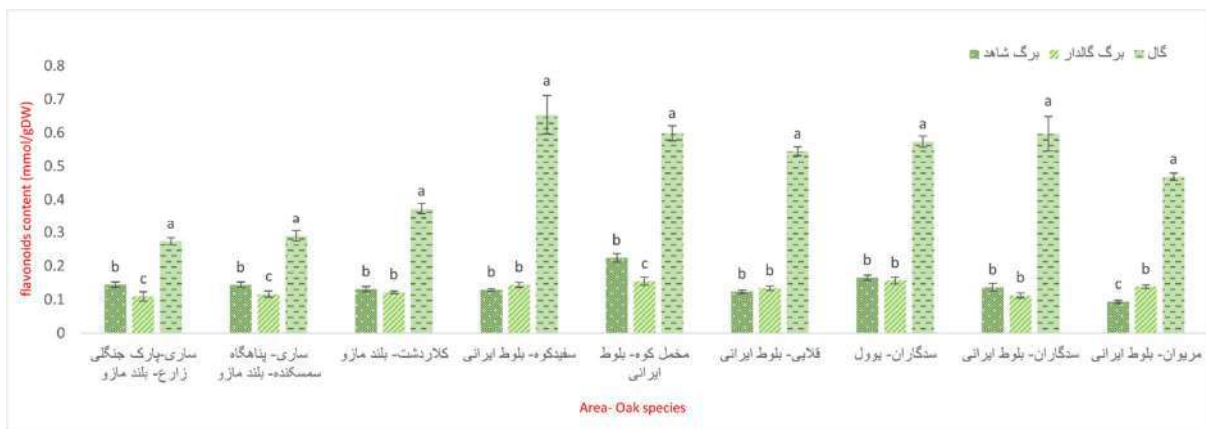
محتوای فنلی و فلاونوئیدی، همانطور که در شکل های 7 و 8 پیداست در برگ ها و گال گونه های بلوط ایرانی و یوول اندکی از بلندمازو بیشتر است که البته در بلوط ایرانی منطقه مریوان کاهش یافته است همچنین محتوای فنل و فلاونوئیدها در گال های همه ی نمونه ها بیشتر از برگ ها است و همچنین تفاوت معنی داری بین برگ های گالدار و شاهد در کل وجود ندارد و فقط در نمونه مریوان مقدار فلاونوئید در برگ گالدار بیشتر است که آن هم تفاوت چشمگیری نیست. پس وجود گال اثری بر روی محتوای فنلی و فلاونوئیدی بافت مجاورش نداشته است و پاسخ هر سه گونه یکسان بوده است که این نتایج برخلاف نتایج مهدی



کرمی و همکاران (1397) می باشد. میتوان نتیجه گرفت که وجود گال الزاما باعث ایجاد مقاومت در بافت های کناری نمی شود و بیشتر در خود گال این ترکیبات افزایش یافته اند که این می تواند دو دلیل احتمالی داشته باشد، اول اینکه با توجه به دخالتی که زنبور در بیان ژن های گیاهی دارد (Hearen et al., 2019) با افزایش بیان این ترکیبات سعی دارد تا گال را از حمله ی دیگر حشرات پارازیتوئید و همسفره حفظ کند، دوم اینکه به دلیل اینکه گال از سلول های گیاهی است در واقع پاسخی است که خود گیاه در مقابل حضور حشرات در خودگال می دهد.



شکل 7: محتوای فنل کل در برگ شاهد، گالدار و گال. مقادیر نشان داده شده میانگین سه تکرار  $\pm$  انحراف معیار است. حروف متفاوت نشان دهنده معنی دار بودن تفاوتها در سطح  $P \geq 0/05$  بر اساس آزمون دانکن می باشد و معنی داری هر نمونه با برگ ها و گال همان نمونه بررسی شد.



شکل 8: محتوای فلاونوئید کل در برگ شاهد، گالدار و گال. مقادیر نشان داده شده میانگین سه تکرار  $\pm$  انحراف معیار است. حروف متفاوت نشان دهنده معنی دار بودن تفاوتها در سطح  $P \geq 0/05$  بر اساس آزمون دانکن می باشد و معنی داری هر نمونه با برگ ها و گال همان نمونه بررسی شد.

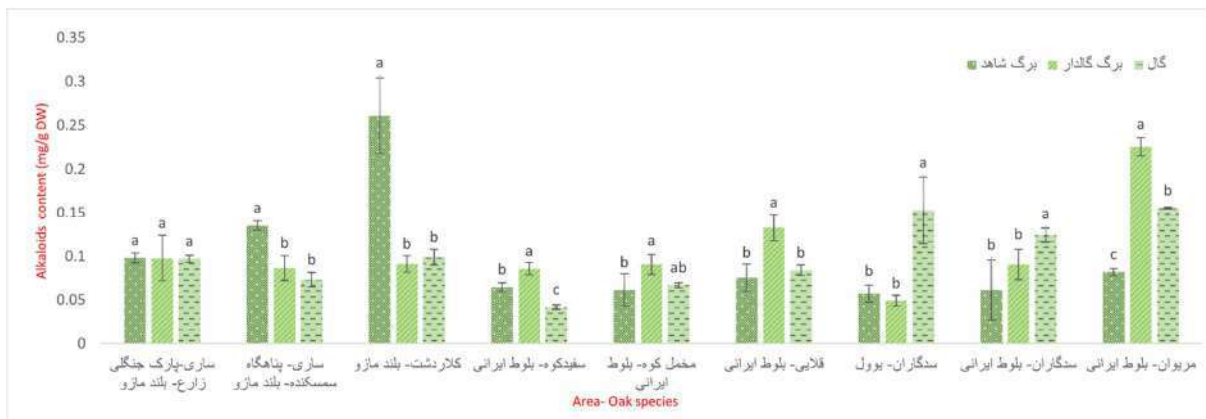
محتوای آنتوسیانین، مطابق شکل 9 مقدار آنتوسیانین در گونه بلندمازو بیشتر از بلوط ایرانی و یوول است و همچنین از بین گونه های بلوط ایرانی آنانی که از لرستان جمع آوری شدند دارای محتوای آنتوسیانینی بیشتری بودند و همچنین در گونه یوول نیز مشابه نمونه بلوط ایرانی در سدگاران حدودا باهم برابر بودند. همانطور که از نمودار خطی که در شکل موجود است می توان یک روند کاهش آنتوسیانین را در بین گونه ها از مناطق مختلف مشاهده نمود پس می توان نتیجه گرفت علاوه بر نوع گونه، تاثیر

بیشتر بر روی مقدار آنتوسیانین را عوامل محیطی مانند نوع اقلیم، ارتفاع و غیره دارد. از بین همه ی نمونه ها تقریباً می توان گفت وجود گال اثری بر روی محتوای آنتوسیانینی برگ گالدار نداشت و خود گال نیز کمترین مقدار آنتوسیانین را نسبت به برگ ها داراست که برخلاف نتایج مهدی کرمی و همکاران (1397) می باشد.



شکل 9: محتوای آنتوسیانین کل در برگ شاهد، گالدار و گال. مقادیر نشان داده شده میانگین سه تکرار  $\pm$  انحراف معیار است. حروف متفاوت نشان دهنده معنی دار بودن تفاوتها در سطح  $P \geq 0/05$  بر اساس آزمون دانکن می باشد و معنی داری هر نمونه با برگ ها و گال همان نمونه بررسی شد. همچنین نمودار خط نمونه ها نیز رسم شد که حاکی از کاهش آنتوسیانین در نمونه ها وابسته به موقعیت جغرافیایی آن ها است.

محتوای آلکالوئیدی، مطابق شکل 10 در سه نمونه مازندران که گونه بلندمازو می باشد با افزایش ارتفاع مقدار آلکالوئید ها در برگ شاخه بیشتر شد ولی تفاوتی در برگ گالدار و شاهد دیده نشد و تقریباً برابر هستند که این تصور را ایجاد می کند که با افزایش ارتفاع و تغییر منطقه، مقدار آلکالوئید در برگ شاهد بیشتر شد ولی برگ گالدار احتمالاً به دلیل رقابتی که با گال دارد تفاوتی نکرد. و گونه یوول در منطقه سدگاران استان کردستان، تفاوتی بین برگ شاهد و برگ گالدار مشاهده نشد ولی برعکس دو گونه قبلی، برگ گالدار گونه بلوط ایرانی در لرستان و مریوان دارای مقادیر بیشتری آلکالوئید نسبت به برگ شاهد بود که نشان دهنده ی حساسیت بیشتر این گونه نسبت به دو گونه دیگر بلوط می باشد. همچنین تاثیر منطقه را می توان در میزان آلکالوئید گال ها مشاهده کرد زیرا مقدار آلکالوئید در گال های کردستان بیشتر از لرستان می باشد.



شکل 10: محتوای آلکالوئیدکل در برگ شاهد، گالدار و گال. مقادیر نشان داده شده میانگین سه تکرار  $\pm$  انحراف معیار است. حروف متفاوت نشان دهنده معنی دار بودن تفاوتها در سطح  $P \geq 0/05$  بر اساس آزمون دانکن می باشد و معنی داری هر نمونه با برگ ها و گال همان نمونه بررسی شد.

## نتیجه گیری

درختان بلوط یکی از سرمایه های ایران هستند که پهنای البرز و زاگرس را دربرگرفته اند. یکی از دغدغه ها در مورد در این جنگل ها آفاتی است گریبان گیر جنگل ها شده اند که قابل چشم پوشی نیستند و نیاز است از آنها مراقبت گردد. از طرفی گاهی دخالت انسان موجب برهم خوردن چرخه اکوسیستم ها و خسارات بیشتر می شود لذا نیاز است یک به یک هریک از این بیماری ها بررسی گردند تا عملی درست صورت گیرد. یکی از عوامل احتمالی خطرساز برای درختان بلوط، گال های حاصل از زنبور های خانواده سینپیده می باشد که تا به حال 74 گونه و 11 جنس از آنها در ایران کشف شده اند (Tavakoli et al., 2021). این زنبور ها با ایجاد گال بر روی بخش های مختلف درخت، از آن به عنوان خانه و منبع غذایی استفاده می کنند و حتی ممکن است یک درخت توسط چند نوع حشره مورد حمله قرار گیرد و چندین گال با اشکال مختلف روی درخت ایجاد شود. هدف از این تحقیق این است که دریابیم آیا واقعا این گال ها آفت محسوب می شوند و همچنین آیا آنقدر واقعا شرایط وخیم است تا انسان دخالت کند و از طرفی آیا باید دخالت انسانی برای همه ی جنگل ها و گونه های بلوط یکسان باشد؟ برای پاسخ به این سوالات یک نوع گال که بر روی سه گونه بلوط بلندمازو، بلوط ایرانی و یوول ایجاد می گردد در چند منطقه مختلف مورد بررسی قرار داده شد تا پاسخ ها فیزیولوژیک هر گونه و همچنین تاثیر محیط را بر روی وخامت شرایط ایجاد شده بررسی شود. نتایج حاصل نشان داده است که در تمام طول عمر گال، مواد غذایی از برگ ها به گال ها منتقل نمی گردد زیرا براساس نتایج بدست آمده مقادیر قندها در برگ های گالدار حتی بیشتر از برگ های شاهد بود. در مورد محتوای پروتئینی نیز روابط مشابه با قندها دیده شد و ظاهرا این متابولیت ها در زمان خاصی و با تحریک از قبل بافت های اطراف توسط گال رخ می دهد و نه اینطور که دائما گال ها در حال استخراج مواد غذایی از بافت و اندام های کناری باشند و موجب افت متابولیت ها در آنها و حتی مرگ بافت های مجاور گردند چون خود گال نیز دارای تمایز بافتی است و حتی در مراحل رشد و نمو دارای توان فتوسنتزی است. محتوای نشاسته نیز به عنوان قند ذخیره ی سلولی تفاوتی در برگ شاهد و گالدار نداشت پس گال بر محتوای قند ذخیره ای بافت مجاور خود تاثیری نمی گذارد و حتی اگر این احتمال وجود داشته باشد که بافت گالدار دچار افت گلوکز گردد، هنوز منابع ذخیره ای خود را بدون کمبود داراست. وجود گال بر روی محتوای لیپیدی بافت کناری اثرگذار است و همانطور که در نتایج اشاره شد موجب افزایش لیپیدها در برگ گالدار شد که این نیز خطری برای افت محتوای لیپیدی برگ گالدار نیست و حتی شاید یک پاسخ مقاومتی باشد. رنگیزه های فتوسنتزی نیز با توجه به گونه و منطقه جغرافیایی دارای مقادیر متفاوتی در برگ گالدار و شاهد بودند که در برخی نمونه ها بی اثر بود و در برخی موجب افزایش کلروفیل و کارتنوئید در برگ های گالدار شد پس لزوما وجود گال موجب آسیب به گیاه نمی شود و یک خطر بالقوه برای فتوسنتز نیست و حتی اگر خطری هم باشد، بافت گالدار با افزایش فتوسنتز کمبود منابع را جبران می کند. نکته جالب در مورد محتوای فنلی و فلاونوئیدی است که در خود گال بیشتر از برگ شاهد و گالدار است و حتی در اکثر نمونه ها افزایشی در برگ گالدار مشاهده نشد. وجود گال بر محتوای آنتوسیانین های بافت مجاور اثری خاصی نداشت ولی محتوای آلکالوئیدی بسیار وابسته به منطقه و

گونه بلوط بود که مشاهده شد بیشترین حساسیت را بلوط ایرانی به وجود گال دارد و موجب افزایش الکاوئیدها در برگ های گالدار این گونه شد. در این تحقیق مشاهده شد که الزاما وجود گال موجب افزایش متابولیت ها در بافت های مجاور نمی شود چون ممکن است برخی از ژن‌هایی که در گال ها بیان می‌شوند سیگنال‌های دفاعی اولیه گیاه را سرکوب کنند (Cambier et al., 2019). با تمام نتایج به دست آمده می توان نتیجه گرفت با اینکه گال یک بافت ناخواسته برای گیاه است ولی بدلیل تمایز بافتی که دارد و بیان ژن‌هایی که توسط زنبور در آن کنترل می شود، هیچگاه نمی تواند خطر جدی برای گیاه باشد چون زندگی حشره وابسته به بقای گیاه است. اگرچه در طی سالیان گذشته شاهد حمله انفجاری این گونه حشرات به جنگل های بلوط بوده ایم ولی نباید شرایط اقلیمی و دخالت های انسانی را نادیده گرفت. باتوجه به جدول 1 عواملی مانند خشکی و کمبود بارش ها، گرمایش محیط، کاهش رطوبت و از طرفی دیگر عوامل انسانی مانند جنگل زدایی، تغییر کاربری اراضی، ریزگردها غیره را نیز نباید از یاد برد. به عنوان کلام آخر با توجه به اینکه تداخل زندگی این حشرات با درختان بلوط یک مسیر تکامل طولانی را طی کرده است و هردو تا به امروز دوام آورده اند پس تنها دخالت انسان باید برای کاهش عوامل تشدید کننده خسارت مانند جنگل زدایی ها، گرمایی شرکت ها و نقلیه و غیره باشد.

## منابع

- سیدابراهیم صادقی، جورج ملیکا، گراهام نیکلاس استون، مجید توکلی، حسن بریمانی، ستار زینالی. (1393). 'مروری بر زنبورهای گالزای بلوط در ایران، دامنه میزبانی و برنامه مدیریتی برای حفاظت آنها'، مجله پژوهشهای گیاهی (مجله زیست شناسی ایران)(علمی)، (3)27، صص 450-464.
- حسن جهانبازی، یعقوب ایرانمنش، محمود طالبی، حمزه علی شیرمردی، عبدالمحمد محنت کش، مهدی پورهایشمی، محسن حبیبی. (1397). 'سنجش عناصر سنگین در برگ درختان سالم و خشکیده بلوط ایرانی (*Quercus brantii* Lindl) در منطقه جنگلی هلن استان چهارمحال و بختیاری'، نشریه جنگل و فرآورده های چوب، (1)71، صص 71-81.
- پدرام عطارد، سید محمد معین صادقی، فریدون طاهری سرتشنیزی، سعید ساروئی، پریسا عباسیان، مهرانوش مسیح پور، فرشته کردرستمی، آرش دریکوندی. (1394). 'اثرگذاری عوامل اقلیمی و تبخیرتعرق بر زوال جنگل های زاگرس مرکزی در استان لرستان'، تحقیقات حمایت و حفاظت جنگلها و مراتع ایران، (2)13، صص 97-102.
- مهناز کرمیان، و جواد میرزایی (1399). 'مهم ترین عوامل مؤثر بر خشکیدگی بلوط ایرانی (*Quercus brantii*) در استان ایلام' بوم شناسی جنگل های ایران، (8)15، صص 93-103.
- حسن جهانبازی، یعقوب ایرانمنش، محمود طالبی، حمزه علی شیرمردی، عبدالمحمد محنت کش، مهدی پورهایشمی، محسن حبیبی. (1399). 'تأثیر عامل های فیزیوگرافی بر جذب عناصر غذایی ضروری برگ در جنگل های بلوط ایرانی (*Quercus brantii* Lindl) دچار زوال بلوط (مطالعه موردی: منطقه هلن، استان چهارمحال و بختیاری)'، مجله پژوهشهای گیاهی (مجله زیست شناسی ایران)(علمی)، (3)33، صص 544-553.
- نسیم گودرزی، محمدرضا زرگران، عباس بانج شفیعی، و مجید توکلی. (1395). 'تأثیر جهت های جغرافیایی و موقعیت مکانی بر پراکنش زوال بلوط در جنگل های منطقه شورآب استان لرستان'، پژوهش و توسعه جنگل، (3)2، صص 273-287.

علی مهدوی، وحید میرزایی زاده، مریم نیک نژاد، امید کرمی، (1394). 'بررسی و پیش بینی زوال درختان بلوط با استفاده از مدل رگرسیون لجستیک (مطالعه موردی: جنگل های بیوره ملکشاهی - ایلام)', مجله تحقیقات حمایت و حفاظت جنگلها و مراتع ایران، 13(1)، صص 20-33.

حسن جهانبازی، مهدی پورهاشمی، یعقوب ایرانمنش، معصومه خان حسنی، مازیار حیدری، حبیب الله رحیمی، مهرداد زرافشار، یوسف عسگری، رضا کریمان، محمدرضا نگهدار صابری، داریوش مهدی فر، جلال هناره، فرحناز رشیدی، احمد حسینی، منوچهر طهماسبی. (1401). 'روند زوال بلوط در رویشگاه های جنگلی زاگرس'. طبیعت ایران، 7(5)، صص 7-11.

شهرام مهدی کرمی، اکرم احمدی، ضیاءالدین باده یان، زینب بارانی بیرانوند، (1395). 'تغییرات برخی از پارامترهای بیوشیمیایی و شاخص های فتوسنتزی در اثر گال در درختان بلوط ایرانی (مطالعه موردی: جنگل های زاگرس میانی)', نشریه بوم شناسی جنگل های ایران، 4(8)، صص 60-67.

بهروز صالحی اسکندری، محسن کاویان. (1393). 'مقایسه برخی از تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی سرشاخه های گال دار و سالم درختان بید مجنون (Salix babylonica)', مجله پژوهشهای گیاهی (مجله زیست شناسی ایران) (علمی)، 27(5)، صص 885-892.

شهرام مهدی کرمی، اکرم احمدی، فاطمه جعفری اصل. (1397). 'بررسی تأثیر گال روی ترکیبات بیوشیمیایی برگ درختان بلوط ایرانی (Quercus persica) (مطالعه موردی: منطقه بلوران استان لرستان)', مجله پژوهشهای گیاهی (مجله زیست شناسی ایران) (علمی)، 31(4)، صص 947-954.

Manion, P.D., 1991. Tree disease concepts (2nd ed). Prentice Hall, Upper Saddle River, J, USA, pp. 416.

**DuBois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. and Smith, F., 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Analytical Chemistry, 28, pp. 350–356.**

**Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical biochemistry. 72(1-2), pp.248-254.**

Lichtenthaler, H.K. and Buschmann, C., 2001. Chlorophylls and carotenoids: Measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. *Current protocols in food analytical chemistry*, 1(1), pp.F4-3.

Fernandes, B., Dragone, G., Abreu, A.P., Geada, P., Teixeira, J. and Vicente, A., 2012. Starch determination in *Chlorella vulgaris*—a comparison between acid and enzymatic methods. *Journal of applied phycology*, 24, pp.1203-1208.

Chang, S.T., Wu, J.H., Wang, S.Y., Kang, P.L., Yang, N.S. and Shyur, L.F., 2001. Antioxidant activity of extracts from *Acacia confusa* bark and heartwood. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 49(7), pp.3420-3424.

Krizek, D.T., Britz, S.J. and Mirecki, R.M., 1998. Inhibitory effects of ambient levels of solar UV-A and UV-B radiation on growth of cv. New Red Fire lettuce. *Physiologia Plantarum*. 103(1), pp.1-7.

Shamsa, F., Monsef, H., Ghamooshi, R., Verdian-Rizi, M. 2008. spectrophotometric determination of total alkaloids in some Iranian medicinal plants. *Thai Journal of Pharmaceutical Sciences*. 32, pp.17-20.

Tran, T.M., Dai, T.X.T., Tran, D.B., Nguyen, Q.C.T. and Nguyen, D.H.Y., 2019. A simple spectrophotometric method for quantifying total lipids in plants and animals. *Can Tho University Journal of Science*, 11(2), pp.106-110.

Koncz, N.K., 2011. Histological study of quercus galls of *Neuroterus quercusbaccarum* (Linnaeus, 1758)(Hymenoptera: Cynipidae). *Acta Biologica Szegediensis*, 55(2), pp.247-253.

Lim, G.H., Singhal, R., Kachroo, A. and Kachroo, P., 2017. Fatty acid–and lipid-mediated signaling in plant defense. *Annual review of Phytopathology*, 55, pp.505-536.

Hearn, J., Blaxter, M., Schönrogge, K., Nieves-Aldrey, J.L., Pujade-Villar, J., Huguet, E., Drezen, J.M., Shorthouse, J.D. and Stone, G.N., 2019. Genomic dissection of an extended phenotype: Oak galling by a cynipid gall wasp. *PLoS genetics*, 15(11), p.e1008398.

Tavakoli, M., Hosseini-Chegeni, A., Stone, G.N., Sadeghi, S.E., Atkinson, R.J. and Melika, G., 2021. The gall wasp fauna of Iran (Hymenoptera: Cynipidae: Cynipinae): species checklist and biogeographical assessment. *Zootaxa*, 4948(3), pp.301-335.

Cambier, S., Ginis, O., Moreau, S.J., Gayral, P., Hearn, J., Stone, G.N., Giron, D., Huguet, E. and Drezen, J.M., 2019. Gall wasp transcriptomes unravel potential effectors involved in molecular dialogues with oak and rose. *Frontiers in physiology*, 10, p.926.

## Physiological responses of three infected oak species to gall induced by *Aphelonyx persica*

Ali Kasiri Bahnamiri<sup>1</sup>, Faezeh Ghanati<sup>1\*</sup>, Mahboubeh Jalali<sup>2</sup>, Majid Tavakoli<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Department of Plant Science, Faculty of Science, Tarbiat Modarres University, Tehran, Iran

<sup>2</sup> Soil Science Department, Faculty of Agriculture, University of Lorestan, Khorram Abad, Iran

<sup>3</sup> Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Lorestan Agricultural & Natural Resources Research Centre, Khorramabad, Iran

ghangia@modares.ac.ir

a\_kasiri@modares.ac.ir

### Abstract

Oak trees are important because they comprise most of the flora of Zagros. Unfortunately, oak forests are being destroyed for various reasons. Apart from human interference, the explosive growth of the Gall wasp's population has also become a concern. Different solutions such as pesticide spraying are suggested. But some researchers believe that these plant diseases stimulate the production of secondary metabolites in the plant, which makes the plant more resistant. The purpose of this research is to investigate the phytochemical compounds in galls, leaves adjacent to galls (diseased leaves) and leaves that were not adjacent to galls (control or healthy leaves), which show the effect of galls on leaves as a vital and productive organ. In this research, the effect of gall produced by a wasp with the scientific name *Aphelonyx persica* on three oak species *Q. castaneifolia*, *Q. brantii* and *Q. libanii* from different regions was investigated. As a result, it was found that plant responses are dependent on oak species and geographical location, and galls definitely do not increase secondary metabolites in adjacent leaves because galls have different effects on the plant in different stages of development. As a result, if the aggravating factors, especially human factors (climate changes and global warming, planting of non-native species, unprincipled exploitation of forests, etc.) can be controlled, the plant itself can recover from the damage caused by these insects. and there is no need for more human intervention in the ecosystem because it will eventually cause the destruction of a part of this ecosystem.

**Keywords:** Ecosystem, Oak, Secondary Metabolite, Wasp, Zagros.

## تأثیر کود آلی بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک نعنای فلفلی

مرضیه صالحی<sup>1</sup>، علی اکبر کریمیان<sup>2</sup>، حمید سودایی زاده<sup>2</sup>

1- نویسنده مسئول: دانشجو، کارشناسی ارشد گیاهان دارویی و صنعتی، گروه مرتع و آبخیزداری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه یزد

Salehi2904@gmail.com

2 - دانشیار، گروه مرتع و آبخیزداری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه یزد

### چکیده

نعناع فلفلی از خانواده نعنائیان، یکی از گیاهان پر مصرف است که علاوه بر آثار درمانی به عنوان طعم دهنده در تولید محصولات غذایی و دارویی مختلف بکار می‌رود. پژوهش حاضر به منظور بررسی تأثیر کود آلی (کود مرغی) بر خصوصیات فیزیولوژیکی نعنای فلفلی انجام شد. پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی با 4 تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه یزد به انجام رسید. تیمارهای آزمایش شامل شاهد، کود مرغی 10 گرم، کود مرغی 20 گرم، کود مرغی 30 گرم در هر گلدان بودند. نتایج نشان داد که بیشترین مقدار کلروفیل a (21/91 میلی گرم بر گرم)، کلروفیل کل (27/53 میلی گرم بر گرم) و کارتنوئید (11/22 میلی گرم بر گرم) در تیمار 20 گرمی حاصل شده است. به طور کلی نتایج آزمایش نشان داد که کود مرغی تأثیرات مثبت و معناداری بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی نعنای فلفلی داشته و در کشاورزی پایدار این گونه می‌توان از آنها به عنوان جایگزین کودهای شیمیایی بهره برد.

واژگان کلیدی: نعنای فلفلی، کود مرغی، فیزیولوژی

### مقدمه

در قرن حاضر تحقیقات گسترده‌ای روی گیاهان دارویی انجام پذیرفته و داروهایی با ماده مؤثره طبیعی، افق‌های جدیدی را برای جامعه پزشکان و داروسازان پژوهشگر گشوده است؛ بطوریکه در حال حاضر حدود یک سوم داروهای مورد استفاده در جوامع انسانی را داروهایی با منشأ طبیعی و گیاهی تشکیل می‌دهد (1).

نعناع فلفلی با نام علمی *Mentha piperita* گیاهی علفی، چند ساله و ریزوم دار با ساقه‌های چهارگوش به طول 40 تا 80 سانتیمتر و برگ‌هایی متقابل به رنگ سبز بسیار معطر بیضی شکل، کمی پوشیده از کرک، که حاشیه آن دندانه دار است (2). این گیاه به دلیل خواص دارویی متعدد از جمله اثر ضد تشنج، محرک، نیروبخش، کاهنده تراوش‌های معده، مسکن درد و زخم معده و نیز مصارف بهداشتی و خوراکی همواره مورد توجه قرار گرفته است (3).

کودهای شیمیایی اگرچه باعث بهبود رشد و افزایش عملکرد محصولات باغبانی و زراعی میشوند اما کاربرد بیش از اندازه آنها اثرات منفی بر خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک و کیفیت محصولات کشاورزی می‌گذارند (4). استفاده از کودهای آلی جهت افزایش ماده آلی خاک و فعالیت میکروارگانیسم‌ها می‌باشد، کاربرد کود دامی در خاک باعث پوک شدن خاک، افزایش ظرفیت نگهداری رطوبت خاک و دانه‌بندی خاک شده و ویژگی‌های فیزیکی آنرا بهبود می‌بخشد (5). کود حاصل از طیور دارای مقدار زیادی ازت، فسفر و پتاسیم و همچنین مقدار کمی آهن، کلسیم، مس و سایر فلزات کمیاب می‌باشد. این کودها در مقایسه با سایر حیوانات اهلی در عناصر غذایی جهت تغذیه گیاهان غنی تر می‌باشند. مواد آلی موجود در کود مرغی با ذرات خاک ترکیب شده و از فرسایش خاک جلوگیری می‌کنند (6).

نتایج تحقیق حیدرزاده و همکاران (7) حاکی از این است که کاربرد کودهای آلی (کود مرغی) در گیاه بابونه باعث افزایش عملکرد اسانس و بهبود خصوصیات فیزیولوژیکی و تحمل تنش خشکی در گیاه بابونه می‌شود. نتایج آزمایشی دیگر از حسن زاده و همکاران (8) حاکی از آن است که کاربرد کودهای دامی بر گیاه کاسنی با وجود تنش کم آبیاری باعث افزایش و بهبود صفات فیزیولوژیک این گیاه شده است. یکی از نیازهای مهم در برنامه ریزی زراعی برای حصول عملکرد کمی و کیفی مطلوب برای گیاهان دارویی، ارزیابی انواع کودهای آلی است. بدین دلیل این پژوهش با هدف بررسی تأثیر کود مرغی بر روی خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه نعنای فلفلی طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در قالب طرح کامل تصادفی با 4 تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه یزد انجام شده است. در ابتدا نشاءهای نعنای فلفلی تهیه و در گلخانه دانشگاه به گلدان‌های 5 کیلویی منتقل شد. آبیاری گلدان‌ها دو روز در میان به صورت یکسان برای هر کدام انجام شد. بعد از گذشت یک بازه 20 روزه برای استقرار کامل نشاءها محلولی از هرتیمار (10 گرم کود مرغی، 20 گرم کود مرغی، 30 گرم کود مرغی) تهیه و در دو نوبت در فاصله زمانی 25 روز به گلدان‌ها اضافه شد. پس از گذشت 60 روز از زمان کاشت، گیاهان برداشت شده و به آزمایشگاه منتقل شدند، در آزمایشگاه برخی ویژگی‌های گیاه شامل کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کارتنوئید و قند اندازه‌گیری شد. برای انجام محاسبات آماری از نرم افزار spss و برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس به دست آمده نشان می‌دهد که بین تیمار کود مرغی که در کشت نعنای فلفلی مورد استفاده قرار گرفته و تیمار شاهد، از نظر کلروفیل a، کلروفیل کل در سطح یک درصد و کارتنوئید در سطح پنج درصد اختلاف معنی دار وجود دارد و از نظر کلروفیل b و قند اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. (جدول 1).

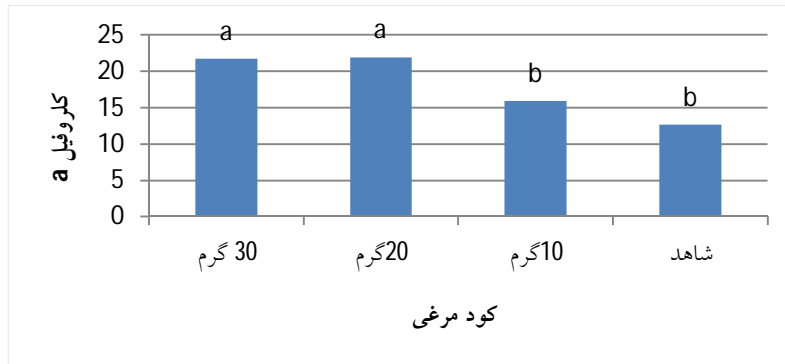
جدول (1) نتایج تجزیه واریانس تیمارهای کود مرغی و بدون کود نعنای فلفلی

میانگین مربعات					درجه آزادی	منابع تغییر
قند	کارتونوئید	کلروفیل کل	کلروفیل b	کلروفیل a		
0/000 <sup>ns</sup>	4/166 <sup>*</sup>	106/929 <sup>**</sup>	2/493 <sup>ns</sup>	83/181 <sup>**</sup>	3	نوع کود
0/000	0/801	13/774	0/786	7/595	12	خطا

ns و \*\* و \* به ترتیب غیرمعنی دار و معنی دار در سطح احتمال 1 درصد و 5 درصد می‌باشد.

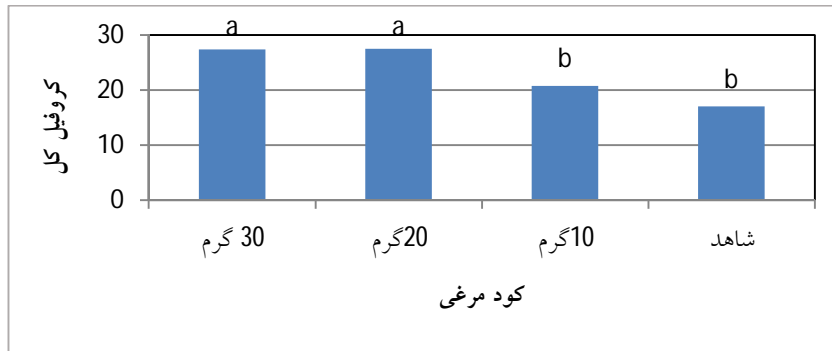
مقایسه میانگین داده‌ها در مورد مقدار کلروفیل a گیاه نشان می‌دهد که اعمال کود مرغی نسبت به شاهد باعث افزایش 50 درصدی کلروفیل a گیاه شده است، تیمار کود 20 گرمی نسبت به شاهد بیشترین تغییر در مقدار کلروفیل a را داشته است (شکل 1).





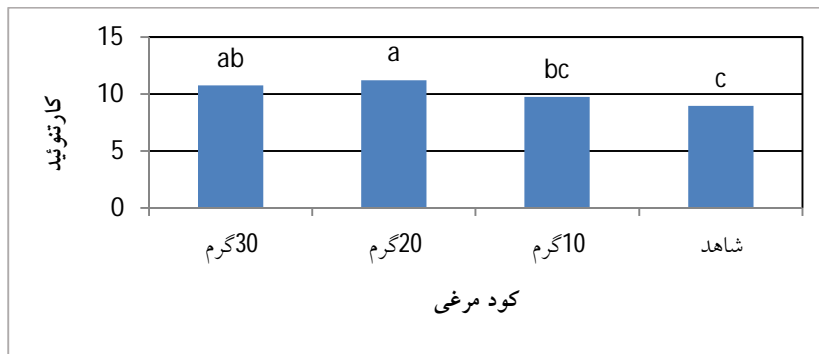
شکل (1) مقایسه میانگین مقدار کلروفیل a (mg/g) گیاه در شاهد عدم استفاده از کود مرغی و استفاده از آن

مقایسه میانگین داده‌ها در مورد مقدار کلروفیل کل گیاه نشان می‌دهد که اعمال کود مرغی نسبت به شاهد باعث افزایش 60 درصدی کلروفیل کل گیاه شده است، تیمار کود 20 گرمی نسبت به شاهد بیشترین تغییر در مقدار کلروفیل کل را داشته است (شکل 2).



شکل (2) مقایسه میانگین مقدار کلروفیل کل (mg/g) گیاه در شاهد عدم استفاده از کود مرغی و استفاده از آن

مقایسه میانگین داده‌ها در مورد مقدار کارتنوئید گیاه نشان می‌دهد که اعمال کود مرغی نسبت به شاهد باعث افزایش 25 درصدی کارتنوئید گیاه شده است، تیمار کود 20 گرمی نسبت به شاهد بیشترین تغییر در مقدار کارتنوئید را داشته است (شکل 3).



شکل (3) مقایسه میانگین مقدار کارتنوئید (mg/g) گیاه در شاهد عدم استفاده از کود مرغی و استفاده از آن

### نتیجه گیری

نتایج این پژوهش نشان دهنده تاثیر مثبت کود مرغی بر مقدار کلروفیل a، کلروفیل کل و کارتنوئید در گیاه نعنای فلفلی می باشد بدین معنی که مقدار متناسب کود مرغی باعث افزایش سبزینگی برگ گیاه نعنای فلفلی شده که این افزایش سبزینگی خود باعث رشد و نمو بهتر گیاه و افزایش عملکرد آن نسبت به شاهد خواهد شد. بیشترین مقدار کلروفیل a (21/91 میلی گرم بر گرم)، کلروفیل کل (27/53 میلی گرم بر گرم) و کارتنوئید (11/22 میلی گرم بر گرم) در تیمار 20 گرمی حاصل شده است. بنابراین با توجه به نتایج می توان اینطور استنباط کرد که استفاده از کود آلی می تواند جایگزین مناسبی جهت اجتناب از کاربرد نهاده های شیمیایی در سیستم های کشاورزی ارگانیک، پایدار و یا کم نهاده باشد.

### تشکر و قدردانی

بر خود لازم می دانیم از مسئولین وقت دانشگاه یزد که موجبات اجرای این تحقیق را فراهم نمودند تشکر و قدردانی نمایم.

### منابع

- (1) علیرضا کوچکی، شهرام امیرمرادی، جواد شباهنگ و سلما کلاتری خاندانی، 1392، اثر کودهای آلی بر خصوصیات کمی و کیفی گیاهان دارویی اسفزه، قدومه شیرازی، قدومه شهری و تخم شربتی، نشریه بوم شناسی کشاورزی، جلد 5، ص 26-16.
- (2) میثم پورهادی، 1390، بررسی اثر کودهای زیستی روی عملکرد و اسانس نعنای فلفلی، فصل نامه داروهای گیاهی، سال دوم، شماره 2، ص 137-148.
- (3) فریبا ساعدی، علیرضا سیروس مهر و تیمور جوادی، 1399، اثر کود نانوپتاسیم بر برخی صفات مورفوفیزیولوژیکی نعنای فلفلی در شرایط تنش خشکی، مجله پژوهشهای گیاهی (مجله زیست شناسی ایران)، جلد 33، شماره 1.
- (4) مهدی چزگی، ویدا چالوی و وحید اکبرپور، 1397، اثر کودهای آلی و کودهای شیمیایی نیتروژنه بر عملکرد و ویژگیهای کیفی دو رقم ریحان، نشریه تولید و فرآوری محصولات زراعی و باغی، سال هشتم، شماره 1.
- (5) سید محمد کاظم تهامی، پرویز رضوانی مقدم و محسن جهان، 1393، ارزیابی تاثیر کودهای آلی، بیولوژیکی و شیمیایی بر صفات مورفولوژیکی، عملکرد و اجزاء عملکرد بذر گیاه دارویی ریحان، نشریه پژوهشهای زراعی ایران، جلد 12، ص 543-553.
- (6) سلیله گلستانه، حمیدرضا گنجعلی، احمد مهربان، عیسی خمیری، 1392، بررسی اثر کودهای آلی بر خصوصیات کمی گیاه دارویی همیشه بهار در سیستان، اولین همایش سراسری کشاورزی و منابع طبیعی پایدار.
- (7) سعید حیدرزاده، فاطمه احمدی، امیر رحیمی و بهنام دولتی، 1400، بررسی برخی ویژگیهای فیزیولوژیک بابونه آلمانی در شرایط تنش رطوبتی و منابع مختلف کودی، نشریه تولید گیاهان زراعی، جلد 14، ص 109-126.
- (8) عبدالله حسن زاده قورته، رضا امیرنیا و سعید حیدرزاده، 1399، تاثیر کاربرد کود دامی بر صفات فیزیولوژیک گیاه دارویی کاسنی در واکنش به تنش خشکی نشریه علمی پژوهشی دانش کشاورزی و تولید پایدار، جلد 30، ص 133-146.

## The effect of organic fertilizer on some morphological characteristics of *Mentha piperita* medicinal plant

Marzieh Salehi<sup>1\*</sup>, Ali Akbar Karimian<sup>2</sup>, Hamid Sodaie Zadeh<sup>2</sup>

1- Msc.Student in Medicinal and Industrial Plants, Department of Natural Resources, Yazd University, Yazd, Iran.

2- Associate Professor, Department of Natural Resources, Yazd University, Yazd, Iran.

\* Corresponding author email: Salehi2904@gmail.com

### Abstract

*Mentha piperita* is one of the widely used plants in the mint family, which is used as a flavoring agent in the production of various food and medicinal products in addition to its therapeutic effects. The present study was conducted to investigate the effect of organic fertilizer (chicken manure) on the physiological characteristics of *Mentha piperita*. The research was conducted in the form of a completely randomized design with 4 replications in the research greenhouse of Yazd University, and the experimental treatments included control, 10 grams of chicken manure, 20 grams of chicken manure, and 30 grams of chicken manure. The results showed that the highest amount of chlorophyll a (21.91 mg/g), total chlorophyll (27.53 mg/g) and carotenoid (11.22 mg/g) was obtained in the 20 g treatment. In general, the results of the experiment showed that chicken manure had positive and significant effects on the physiological characteristics of *Mentha piperita*, and in sustainable agriculture, they can be used as an alternative to chemical fertilizers.

**Keywords:** *Mentha piperita*, chicken manure, physiologic

## تأثیر عصاره جلبک دریایی *Sargassum boveanum* بر روی رشد رویشی ذرت در شرایط

### تنش کم آبی

فرناز علاسوندیاری<sup>1\*</sup>، بتول مهدوی<sup>2</sup>، اصغر رحیمی<sup>2</sup>

<sup>1\*</sup> - دانشجوی دکتری اگروتکنولوژی گرایش اکولوژی گیاهان زراعی، گروه ژنتیک و تولید گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی عصر (عج)

رفسنجان

farnaz\_alasvandyari@yahoo.com

<sup>2</sup> - گروه ژنتیک و تولید گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان

چکیده

این مطالعه به منظور ارزیابی اثر محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف عصاره جلبک دریایی (*Sargassum boveanum* (LE<sub>sb</sub>)) بر رشد گیاه ذرت در شرایط تنش کم آبی انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل غلظت‌های مختلف عصاره جلبک دریایی در چهار سطح (0، 1، 1.5، 2 و 2.5 درصد) و تنش کم آبی در سه سطح 80، 60 و 40 درصد ظرفیت مزرعه (FC) بود. نتایج نشان داد که شاخص سبزیگی گیاه (SPAD) و وزن تر ریشه و اندام هوایی تحت تاثیر تنش کم آبی کاهش یافتند درحالی‌که کمبود اشباع آب (WSD) افزایش یافت. محلول‌پاشی با غلظت (LE<sub>sb</sub>) 1.5% سبب افزایش عدد SPAD و وزن تر ریشه و اندام هوایی تحت تنش کم آبی شد درحالی‌که WSD را کاهش داد.

واژگان کلیدی: ذرت، تنش کم آبی، مایکروویو دایجشن، *Sargassum boveanum*

مقدمه

طبق استانداردهای منطقه‌ای، سرانه آب موجود در ایران کمی بالاتر از متوسط (1300 مترمکعب) است اما به طور قابل توجهی زیر میانگین جهانی (7000 متر مکعب) است (1). تنش خشکی باعث تجمع بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) در سلول‌های گیاهی می‌شود. این تجمع می‌تواند برای گیاهان مضر باشد زیرا می‌تواند باعث آسیب جبران ناپذیری به ساختار و عملکرد سلول‌ها شود و نهایتاً رشد و نمو گیاه را مهار کند (2). ذرت (*Zea mays* L.) در رتبه سوم بعد از گندم و برنج در تولید محصولات غلات در جهان قرار دارد (3). اگرچه نیاز آبی ذرت در مرحله گیاهیچه کمتر از مراحل بعدی رشد است اما تنش خشکی، می‌تواند بر سازگاری گیاهیچه در مراحل اولیه استقرار محصول تأثیر بگذارد و عملکرد و رشد بالقوه گیاه را محدود کند (4). کاهش عملکرد سالانه ذرت به دلیل تنش خشکی حدود 15 درصد از عملکرد بالقوه در سطح جهانی برآورد شده است (5). در شرایط تغییرات آب و هوایی و با وجود کمبود منابع و نیز رشد سریع جمعیت جهان، سیستم‌های تولید مبتنی بر منابع تجدیدناپذیر در درازمدت پایدار نخواهند بود (6). بنابراین، جستجو برای استراتژی‌های پایدار جدید و ورودی‌های سبز برای تضمین امنیت غذایی جهان در آینده ضروری خواهد بود.

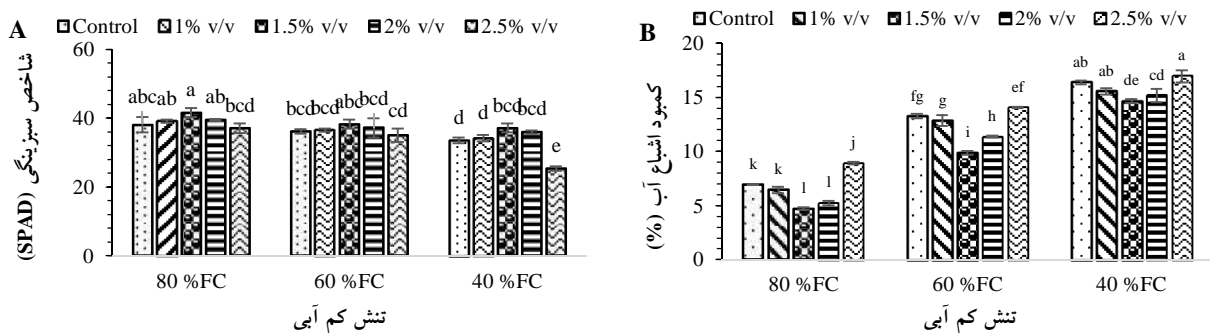
عصاره جلبک دریایی حاوی انواع مواد مغذی مانند فسفر، کلسیم، منیزیم، آهن، متابولیت‌های ثانویه و سایر مواد بیوشیمیایی است که اثرات مفیدی روی گیاهان از جمله افزایش عملکرد دارند (7). گونه‌های سارگاسوم حاوی مخلوط پیچیده‌ای از اجزای بالقوه زیست فعال مانند استروئیدها، ترپنوئیدها، فلاونوئیدها، فیتوهورمون‌ها و پلی‌ساکاریدها به عنوان آلترینات یا فوکوئیدان (8)، با نسبت‌های متغیر بسته به گونه و فصل برداشت می‌باشند (9). هدف این مطالعه بررسی اثر جلبک *Sargassum boveanum* بر رشد رویشی ذرت تحت شرایط کم آبی می‌باشد.

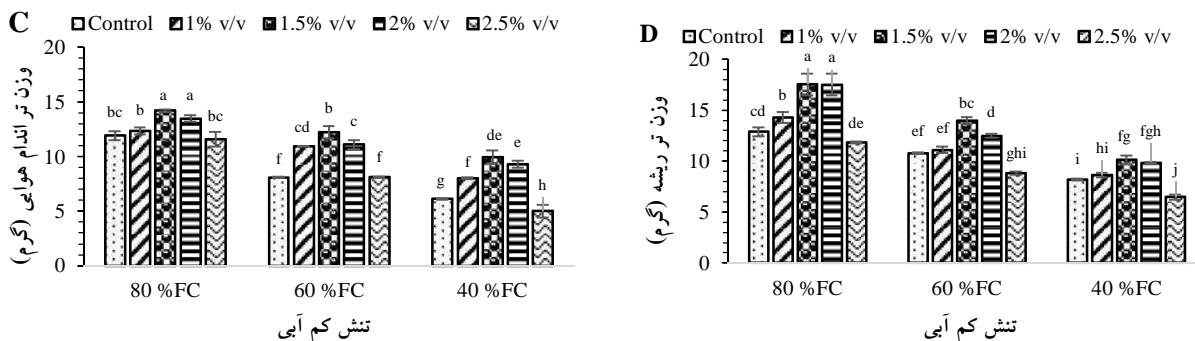
### مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری از جلبک دریایی *Sargassum boveanum* در نواحی جزر و مدی سواحل خلیج فارس در استان بوشهر انجام شد و پس از شستشو با آب مقطر برای از بین بردن محتوای نمک و سایر آلودگی‌ها به مدت 7 روز در سایه خشک شد و سپس عصاره‌گیری با آب دیونیزه با استفاده از مایکروویو دایجسشن انجام گرفت و تا قبل از استفاده در دمای 4°C نگهداری شد. آزمایش بصورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در گلخانه دانشکده کشاورزی ولی عصر (عج) رفسنجان انجام شد. فاکتورهای آزمایشی شامل غلظت‌های مختلف عصاره جلبک دریایی در چهار سطح (0، 1، 1.5، 2 و 2.5 درصد) و تنش کم آبی در سه سطح 80، 60 و 40 درصد ظرفیت مزرعه (FC) بود. گلدان‌هایی با قطر دهانه 25 و عمق 20 سانتی‌متر با خاک لوم شنی پر شدند و تعداد 4 بذر ذرت رقم سینگل کراس 704 (SC 704) در آن کشت شد که پس از جوانه زدن موفق، تعداد گیاهان به 2 عدد کاهش پیدا کرد. تنش کم‌آبی از مرحله‌ی 4 تا 6 برگی اعمال و پس از آن غلظت‌های مختلف  $LE_{sb}$  بر روی گیاهان محلول‌پاشی شد و حدوداً هر 10 روز یکبار تکرار شد. گیاهان 1 هفته پس از آخرین دوره محلول‌پاشی برداشت شدند و سپس محتوای سبزینگی گیاه (SPAD) با استفاده از کلروفیل‌متر (SPAD-502) و کمبود اشباع آب (WSD) براساس روش سجانفلد و همکاران (10) برآورد شد. اندازه‌گیری وزن تر ریشه و اندام هوایی با ترازوی دیجیتال با دقت یک هزارم بر اساس واحد گرم محاسبه شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها نیز با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد انجام شدند.

### نتایج و بحث

نتایج نشان داد که شاخص SPAD نیز تحت تأثیر کم آبی کاهش پیدا کرد. در شرایط 80% ظرفیت زراعی با وجود اینکه بالاترین میزان SPAD برای غلظت 1.5% گزارش شد ولی نتوانست اختلاف معنی‌داری با سایر سطوح بجز غلظت 2.5% که کمترین عدد SPAD را داشت ایجاد کند. در تنش (FC) 60% و 40% نیز غلظت 1.5% با 5.46% و 9.81% بهبود در عدد SPAD نسبت به شاهد اثر خود را بجا گذاشت (شکل 1). گزارش شده است که کاربرد عصاره جلبک دریایی با افزایش بیوسنتز کلروفیل (شاخص SPAD بالاتر) به دلیل بهبود عنصرمنیزیم که برای سنتز کلروفیل در گیاهان ضروری است، مرتبط است (11).





شکل 1- تأثیر سطوح مختلف عصاره مایع *sargassum boveanum* بر عدد SPAD (A)، WSD (B) و وزن تر اندام هوایی و ریشه (C, D) ذرت تحت تنش کم آبی

نشانهگر میله‌ای خطای استاندارد می‌باشد. میانگین‌ها با حروف مشابه بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری با هم ندارند

WSD نیز تحت سطوح تنش کم آبی افزایش پیدا کرد. بیشترین مقدار WSD در سطح 40% ظرفیت زراعی و غلظت 2.5%  $LE_{sb}$  مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با شاهد و غلظت 1% نداشت. کمترین میزان نیز برای غلظت‌های 1.5% و 2%  $LE_{sb}$  ثبت شد که نشان می‌دهد محلول‌پاشی گیاهان با  $LE_{sb}$  می‌تواند کمبود اشباع آب را کاهش دهد

و چه در شرایط آبیاری مناسب و چه در تنش به بهبود وضعیت آبی گیاهان کمک کند (شکل 1). نتایج حاصل از مطالعات نشان داده که WSD در گیاهان ذرت در اثر کمبود آب افزایش پیدا کرد (13) و کاهش در WSD در گندم نیز با استفاده از جلبک *Ascophyllum nodosum* گزارش شده است (14).

وزن تر اندام هوایی و ریشه تحت تأثیر کم آبی کاهش پیدا کرد (شکل 1) در شرایط 80% ظرفیت زراعی غلظت 1.5% و 2%  $LE_{sb}$  بالاترین وزن تر اندام هوایی و ریشه مشاهده شد. در شرایط 60% ظرفیت زراعی بالاترین وزن تر اندام هوایی و ریشه برای غلظت 1.5% و کمترین وزن تر نیز در تیمار شاهد و غلظت 2.5% عصاره جلبک مشاهده شد. گزارش شده است که رشد رویشی و پارامترهای تولیدمثلی گیاه گوجه‌فرنگی با عصاره *sargassum* بهبود یافت (15).

#### نتیجه‌گیری

نتایج ما نشان داد که غلظت 1.5% عصاره جلبک *Sargassum boveanum* می‌تواند رشد رویشی ذرت را در شرایط تنش کم آبی

بهبود بخشد.

#### منابع

- Hajizadeh, Y., Mokhtari, M., Faraji, M., Mohammadi, A., Nemati, S., Ghanbari, R., Abdollahnejad, A., Fard, R.F., Nikoonahad, A., Jafari, N. and Miri, M., 2018. Trends of BTEX in the central urban area of Iran: A preliminary study of photochemical ozone pollution and health risk assessment. *Atmospheric Pollution Research*, 9(2), pp.220-229.
- Bai, M., Zeng, W., Chen, F., Ji, X., Zhuang, Z., Jin, B., Wang, J., Jia, L. and Peng, Y., 2022. Transcriptome expression profiles reveal response mechanisms to drought and drought-stress mitigation mechanisms by exogenous glycine betaine in maize. *Biotechnology Letters*, 44(3), pp.367-386.
- Cooper, M., Gho, C., Leafgren, R., Tang, T. and Messina, C., 2014. Breeding drought-tolerant maize hybrids for the US corn-belt: discovery to product. *Journal of Experimental Botany*, 65(21), pp.6191-6204.

- Zenda, T., Liu, S., Wang, X., Jin, H., Liu, G. and Duan, H., 2018. Comparative proteomic and physiological analyses of two divergent maize inbred lines provide more insights into drought-stress tolerance mechanisms. *International journal of molecular sciences*, 19(10), p.3225.
- Adeyemi, S.A., Akinwale, R.O., Fakorede, M.A.B. and Badu-Apraku, B., 2018. Genetic analysis of drought-adaptive traits at seedling stage in early-maturing maize inbred lines and field performance under stress conditions. *Euphytica*, 214, pp.1-18.
- Pretty, J., Benton, T.G., Bharucha, Z.P., Dicks, L.V., Flora, C.B., Godfray, H.C.J., Goulson, D., Hartley, S., Lampkin, N., Morris, C. and Pierzynski, G., 2018. Global assessment of agricultural system redesign for sustainable intensification. *Nature Sustainability*, 1(8), pp.441-446.
- Kokabi, M. and Yousefzadi, M., 2015. Checklist of the marine macroalgae of Iran. *Botanica Marina*, 58(4), pp.307-320.
- Yende, S.R., Harle, U.N. and Chaugule, B.B., 2014. Therapeutic potential and health benefits of *Sargassum* species. *Pharmacognosy reviews*, 8(15), p.1.
- Balboa, E.M., Gallego-Fábrega, C., Moure, A. and Domínguez, H., 2016. Study of the seasonal variation on proximate composition of oven-dried *Sargassum uticum* biomass collected in Vigo Ria, Spain. *Journal of Applied Phycology*, 28, pp.1943-1953.
- Schonfeld, Manette A., R.C. Johnson, B.F. Carver and D.W. Mornhinweg, 1988. "Water relations in winter wheat as drought resistance indicators." *Crop Science* 28.3: 526-531.
- Youssef MK, Varsha S, Kirshenbaum GS, Atsak P, Lass TJ, Lieberman SR, Leonardo ED, Dranovsky A. 2018. Ablation of proliferating neural stem cells during early life is sufficient to reduce adult hippocampal neurogenesis. *Hippocampus* 28(8):586–601.
- Mannan, M.A., Yasmin, A., Sarker, U., Bari, N., Dola, D.B., Higuchi, H., Ercisli, S., Ali, D. and Alarifi, S., 2023. Biostimulant red seaweed (*Gracilaria tenuistipitata* var. *liui*) extracts spray improves yield and drought tolerance in soybean. *PeerJ*, 11, p.e15588.
- Najafi Vafa, Z., Sohrabi, Y., Mirzaghaderi, G. and Heidari, G., 2022. Soil microorganisms and seaweed application with supplementary irrigation improved physiological traits and yield of two dryland wheat cultivars. *Frontiers in Plant Science*, 13, p.855090.
- Kumari, R., Kaur, I. and Bhatnagar, A.K., 2011. Effect of aqueous extract of *Sargassum johnstonii* Setchell & Gardner on growth, yield and quality of *Lycopersicon esculentum* Mill. *Journal of Applied Phycology*, 23, pp.623-633.

## Effect of *Sargassum boveanum* Liquid Extracts on growth in *Zea mays* under drought stress

Farnaz Alasvandyari<sup>1\*</sup>, Batool Mahdavi<sup>2</sup>, Asghar rahimi<sup>2</sup>

1-PhD student of *Agrotechnology– CropEcology*, Department of Genetics and Plant Production, Agriculture College, Vali-e-Asr University of Rafsanjan, Rafsanjan, Iran

2-Department of Genetics and Plant Production, Agriculture College, Vali-e-Asr University of Rafsanjan, Rafsanjan, Iran

\*farnaz\_alasvandyari@yahoo.com

### Abstract

This study was conducted in order to evaluating the effect of foliar application of *Sargassum boveanum* liquid extract on growth in *Zea mays* L. under water deficit stress. Experimental factors included level of liquid extract (0, 1, 1.5, 2 and 2.5 %) and drought levels (80, 60 and 40 % FC). Results showed that leaf greenness index (SPAD) index, fresh weight of root and shoot decreased under water deficit stress whereas, water saturation deficit (WSD) increased. Application of *Sargassum boveanum* liquid extract increased SPAD index, fresh weight of root and shoot under drought stress whereas, WSD decreased.

**Keywords:** Corn, Microwave Digestion, *Sargassum boveanum*, Water deficit stress.

## بررسی اثر نیتریک اکسید بر رشد، محتوای پروتئین و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی کشت سلولی گیاه بابونه آلمانی (*Matricaria chamomilla*):

فاطمه علوی<sup>1</sup>، وحید نیکنام<sup>1</sup>، حلیمه حسن پور<sup>2</sup>

<sup>1</sup> گروه علوم گیاهی، دانشکده زیست شناسی، دانشکدهگان علوم، دانشگاه تهران، تهران، ایران

<sup>2</sup> پژوهشگاه هوافضا، وزارت علوم، تحقیقات و فناوری، تهران، ایران

### چکیده

نیتریک اکسید (NO)، یک مولکول علامت دهی کوچک و بسیار قابل نفوذ در غشا است که می تواند روی رشد و نمو تاثیر داشته باشد. در این تحقیق بررسی اثر نیتریک اکسید بر رشد سلولی، محتوای پروتئین و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی کشت سلولی گیاه بابونه آلمانی مورد ارزیابی قرار گرفت. بذر های گیاه بابونه آلمانی تهیه و پس از سترون سازی در محیط موراشیگ و اسکوک کشت شدند. از محور زیر لپه های گیاهچه ها، قطعات جدا کشت تهیه شده و در محیط MS با ترکیب هورمونی ۲،۴-D و Kin قرار گرفته تا کالوس ها القا شوند. سپس از کالوس های حاصل کشت سوسپانسیون سلولی و لاین سلولی تهیه شد. لاین های سلولی در محیط جامد MS واگشت شده و تحت تیمار های مختلف نیتریک اکسید ۰،۰۰۵، ۰،۰۱، ۰،۰۵، ۱ میلی مولار قرار گرفت. بعد از 3 هفته، برداشت نمونه ها برای سنجش های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی انجام شد. نتایج نشان داد که تیمار NO سبب افزایش محتوای وزن تر، پروتئین و کاهش فعالیت آنزیم آنتی اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز شد. بنظر می رسد کاهش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی در ارتباط با تاثیر NO بر جاروب نمودن رادیکال های آزاد و تجمع متابولیت های ثانوی باشد.

### کلمات کلیدی:

نیتریک اکسید، بابونه آلمانی، سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز، کشت سوسپانسیون سلولی

### مقدمه:

بابونه آلمانی (*Matricaria chamomilla*) یکی از گیاهان داروئی ارزشمند و از تیره کاسنیان است (1). این گیاه دارویی و معطر در اروپای جنوب شرقی و کشورهای آسیایی پراکنش دارد. این گیاه سازگاری زیادی در محدوده ای از خاک های قلیایی دارد. گل و اسانس آن دارای خواص ضد التهابی، ضد میکروبی، ضد عفونی کننده، ضد اسپاسم و آرام بخش بوده و همچنین در صنایع داروسازی، شوینده، غذایی، عطر سازی و خوراک طیور کاربرد دارد (2). همچنین دارای فعالیت ضد باکتری بر علیه باکتری های مقاوم به آنتی بیوتیک از جمله استافیلوکوک و فعالیت ضد قارچی در برابر چندین گونه قارچی، به ویژه در برابر برخی سوبه های آسپرژیلوس و کاندیدا دارد. بیش از 120 ترکیب متابولیت های ثانویه در بابونه آلمانی گزارش شده است که از جمله این ترکیبات ترپنوئیدها 28 نوع و فلاونوئیدها 36 نوع هستند. فلاونوئید آپی ژنین از مواد موثره گیاه بوده که دارای خواص ضد باکتریایی، ضد التهابی و ضد سرطانی است (3).



تکنیک کشت بافت از روش های بیوتکنولوژی کارآمد برای افزایش متابولیت های دارویی و توسعه علوم زیستی است (4). کشت سلول تکنیکی کارآمد برای تولید در مقیاس بزرگ است. همچنین برای درک بهتر مسیرهای متابولیسی از این تکنیک استفاده می شود. کشت سوسپانسیون سلولی با تجمع همگن سلول های در حال تکثیر وضعیت مناسبی برای مطالعه پاسخ های سلولی تحت تنش فراهم می کند. از طرفی، جداسازی رده های سلولی با سرعت رشد بالا جهت افزایش بازده زیست توده و تولید متابولیت های ثانویه بسیار ارزشمند است (6).

نیتریک اکسید (NO) یک مولکول علامت دهی کوچک، بی رنگ، بسیار قابل نفوذ در غشاها و با نقشهای مختلف فیزیولوژیکی می باشد. این مولکول ماهیت چربی دوست داشته و با اجزای زیستی مانند قند، اسید چرب، DNA, RNA وارد واکنش میشود. این ترکیب به طور طبیعی در کلروپلاست، پراکسی زوم، میتوکندری و واکوئل سنتز می شود (8). مسیر اصلی سنتز NO وابسته به ال آرژنین و نیتريت میباشد (7). نقش آن در گیاه از جوانه زنی بذر شروع شده و تا بلوغ گیاه ادامه خواهد داشت. مطالعات نشان داده است که این مولکول در طیف وسیعی از فرایندهای سلولی از جمله هموستازی یونی، فعال سازی آنتی اکسیدان ها، هدایت روزنه ای، تجمع ترکیبات سازگار، رشد هیپوکوتیل، افزایش غلظت پروتئین حفاظتی در برابر تنش ها نقش دارد (7). نیتریک اکسید با تبدیل نشاسته به قند و افزایش عملکرد آلفا و بتا آمیلاز، به جوانه زنی کمک میکند. این ترکیب همچنین سبب افزایش جذب عناصر، حفاظت غشایی، کاهش سطح مالون دی آلدهید، القای فعالیت پمپ هیدروژنی در غشا پلاسمایی و افزایش بیان ژن های تحمل و پاسخ به تنش شوری می شود (8). در ارتباط با تاثیر NO بر پاسخ های سلولی گیاهان دارویی کمتر مطالعه شده است. در این پژوهش تاثیر NO بر مکانیسم رشد سلو ها از طریق محتوای پروتئین و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی مورد بررسی قرار گرفت.

### مواد و روش ها :

تهیه بذر، القای کالوس و دست یابی به لاین سلولی: بذر های گیاه بابونه آلمانی از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد، بذرها در محلول هیپوکلریت سدیم 10 درصد برای 10 دقیقه، الکل 70 درصد برای 2 دقیقه و سپس 3 بار شستشو با آب مقطر استریل شدند و در محیط موراشیگ و اسکوک کشت شدند. از هیپوکوتیل گیاهچه ها، قطعات جدا کشت تهیه شده و در محیط MS با ترکیب هورمونی 2,4-D و Kin قرار گرفت تا کالوس ها القا شوند. سپس کالوس های در محیط کشت مایع منتقل شدند و با سرعت 100 دور بر دقیقه روی شیکر قرار گرفته تا سلول ها جدا شوند. پس از دو ماه در کشت مایع، طبق روش Niknam & Hassanpour لاین سلولی تهیه شد که رشد بالایی داشتند. لاین سلولی به محیط جامد MS با غلظت های مختلف نیتریک اکسید 1,0,0,0,0 میلی مولار منتقل شد. بعد از 3 هفته از کشت، سلول ها برای سنجش های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی برداشت شدند.

### بررسی کمی محتوای پروتئین :

استخراج پروتئین: به منظور استخراج محتوای پروتئین نمونه های گیاه، از بافر استخراج Tris-HCl با pH= 6.8 استفاده شد. پس از تهیه بافر استخراج، مقدار یک گرم از وزن تر بافت سلولی را بوسیله 2 میلی لیتر از بافر استخراج در یک هاون چینی ریخته و ساییده شد.

**سنجش محتوای پروتئین:** برای سنجش میزان غلظت پروتئین موجود در عصاره پروتئینی استخراج شده از روش برادفورد استفاده شد (Bradford, 1976). به منظور سنجش غلظت پروتئین در نمونه های اصلی، ابتدا 100 میکرولیتر از عصاره-ای پروتئینی را در تیوپ اپندروف ریخته و 1 میلی لیتر محلول برادفورد به آن می-افزاییم و بعد از 5 دقیقه جذب نوری را در طول موج 595 نانومتر قرائت شده و در نهایت توسط منحنی استاندارد غلظت نمونه-ها محاسبه شد.

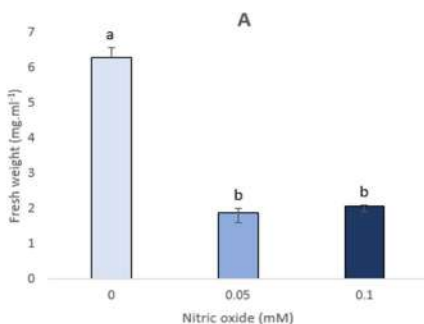
**پراکسیداز (POX):** فعالیت این زیمایه به روش (Abeles و Biles (1991) اندازه گیری شد. ابتدا 2 میلی لیتر بافر استات سدیم 200 میلی مولار با pH=5 را همراه با 200 میکرولیتر پراکسید هیدروژن 3 درصد و 100 میکرولیتر بنزیدین 20 میلی مولار در متانول 50 درصد و 50 میکرولیتر بافر Tris-HCl را به یک کووت شیشه ای اضافه شد و به وسیله آن، دستگاه اسپکتروفتومتر در مد Kinitic در طول موج 530 نانومتر صفر شد و فعالیت آنزیمی بر حسب واحد زیمایه ای در میلی گرم پروتئین (Unit mg<sup>-1</sup> protein) محاسبه گردید.

**سوپر اکسید دیسموتاز (SOD):** فعالیت این زیمایه با قابلیت آن در بازدارندگی واکنش احیایی فتوشیمیایی نیتروبلوترازولیوم (NBT) تعیین شد. محلول واکنش برای سنجش فعالیت زیمایه شامل بافر فسفات پتاسیم 50 میلی مولار با pH 7/5، متینین 13 میلی مولار و EDTA 1/0 میلی مولار، نیتروبلوترازولیوم 75 میلی مولار و ریوفلاوین 75 میلی مولار بود. جذب نمونه ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در مد Photometric و طول موج 560 نانومتر قرائت شد و فعالیت این زیمایه بر حسب واحد زیمایه-ای در میلی گرم پروتئین گزارش شد (Giannoplitis and Ries, 1997).

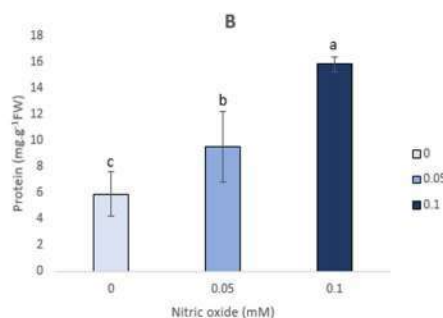
### نتایج و بحث :

**نتایج حاصل از بررسی تیمار NO بر محتوای Fw:** طبق نمودار، در نمونه شاهد، وزن تر بیشتری نسبت به نمونه های تحت تیمار NO مشاهده میکنیم. همچنین در بین تیمار های NO 0.05, 0.1 میلی مولار، تیمار 0.1 میلی مولار NO شاهد وزن تر بیشتری نسبت به 0.05 نشان داد (شکل A1).

**نتایج حاصل از بررسی تیمار NO بر محتوای Pr:** طبق نمودار، تیمار NO سبب افزایش میزان پروتئین در نمونه ها نسبت به شاهد شد که این افزایش مقدار پروتئین در تیمار 0/1 میلی مولار NO بیشتر از تیمار 0/05 میلی مولار NO میباشد (شکل B1). نحوه نوشتن غلظت ها و اعداد به فارسی اصلاح شود. در ذیل نمودار ها هم غلظت بصورت NO (mM) نوشته شود.



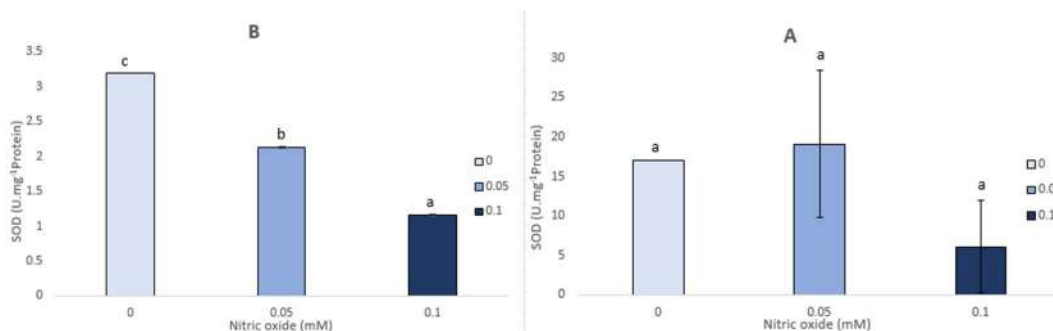
778



شکل 1. تاثیر تیمارهای مختلف NO بر رشد (A) و محتوای پروتئین (B) کشت سوسپانسیون سلولی گیاه بابونه آلمانی

### نتایج حاصل از بررسی تیمار NO بر محتوای POX :

طبق نمودار تیمار NO 0.05 سبب افزایش و تیمار NO 0.1 سبب کاهش مقدار POX نسبت به نمونه شاهد شد (شکل A2).



شکل 2 تاثیر تیمارهای مختلف NO بر فعالیت آنزیم پراکسیداز (A, POX) و سوپراکسید دیسموتاز (B, SOD) کشت سوسپانسیون سلولی گیاه بابونه آلمانی

نتایج حاصل از بررسی تیمار NO بر محتوای SOD : طبق نمودار 2 B، تیمار NO در مجموع سبب کاهش محتوای SOD نسبت به نمونه شاهد شد؛ که این کاهش محتوا در تیمار NO 0.1 مشهود تر میباشد.

بررسی اثر نیتریک اکسید بر میزان وزن تر، پروتئین، سوپر اکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز در کشت سلولی گیاه بابونه آلمانی نشان داد که نیتریک اکسید سبب افزایش محتوای پروتئین، کاهش محتوای آنزیم های آنتی اکسیدانی شد. غلظت بالاتر نیتریک اکسید سبب افزایش وزن تر شد. نیتریک اکسید در راستای هم ایستایی یونی، فعال سازی آنتی اکسیدان ها، هدایت روزنه ای، تجمع املاح سازگار، رشد محور زیر لپه. در گیاه تحت تنش عمل کرده و به بهبود عملکرد گیاه کمک میکند (8). در این پژوهش، کاهش محتوای آنزیم های آنتی اکسیدانی تحت تیمار NO، میتواند در ارتباط با تاثیر آن بر جاروب نمودن رادیکال های آزاد باشد که با کاهش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز همراه بود. از طرفی نیتریک اکسید می تواند سبب القای متابولیسم ثانویه در گیاه شود، بطوریکه در این پژوهش محتوای ترکیبات فنلی در سلول های گیاه بابونه افزایش یافت (داده ها منتشر نشده است). ترکیبات پلی فنلی از ترکیبات آنتی اکسیدانی بوده و در سیستم دفاع آنتی اکسیدانی برای سمیت زدایی ترکیبات ROS نقش دارند (10).

**نتیجه گیری :** بررسی اثر نیتریک اکسید بر میزان وزن تر، پروتئین، سوپر اکسید دیسموتاز و پراکسیداز در کشت سلولی گیاه بابونه آلمانی نشان داد که تیمار NO سبب افزایش محتوای پروتئین و وزن تر و کاهش محتوای و آنزیم های آنتی اکسیدانی شد. در نتیجه محتمل است NO با اثر گذاری بر روی سیستم آنتی اکسیدانی غیر آنزیمی (فنل، فلاونوئید و آنتوسیانین) و جاروب نمودن رادیکال های آزاد سبب بهبود عملکرد گیاه شده باشد.

1) Simpson, M. G. (2010). Plant systematics. Academic press.

2) Chauhan, R., Singh, S., Kumar, V., Kumar, A., Kumari, A., Rathore, S., Kumar, R., Singh, S (۲۰۲۱) .A Comprehensive Review on Biology, Genetic Improvement, Agro and Process

Technology of German Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). Plants, 11(1):29. DOI :10.3390/plants11010029

3) Mihaoui, A., da Silva, E., Charfi, S., Emilia, M., Castillo, C., Lamarti, A., B.Arnau, M. (2022) .

Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.): A Review of Ethnomedicinal Use, Phytochemistry and Pharmacological Uses. Life (Basel) 12(4):479. DOI: 10.3390/life12040479

4) Tarik, A.M., Sherin K.A., Elshamy, A., Saleh, A., Ibrahim, M., A.M. Atia,M., Alshammari, S., Abou El-Hamd, M., Taha, H., Ahmed, H., Hesham, S., Nahla, A., Khaled, S., Efferth, T., Saker, M., Par´e, P., Hegazy, M. (2022). Plant cell cultures: An enzymatic tool for polyphenolic and Flavonoid transformations. Phytomedicine

5) Rastegaran, Z., Hassanpour, H., Ziyadi, H. (2021). Synthesized Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles induce antioxidant activity and total phenolic and Flavonoid contents in *Matricaria chamomilla* seedlings. Iranian Journal of Plant Physiology ,12 (1),4003-4012

6) Nasiria,M., Hassanpourb, H., Sorahinobarc, M., Niknama, V. (2022). Impact of Static Magnetic Field on the Callogenesis, Phytochemical Production and Antioxidant enzymes in *Anthemis gilanica*. Russian Journal of Plant Physiology, 69:7 1021-4437

7) Singhal, R., Jatav, H., Aftab, T., Pandey, S., Mishra, U., Chauhan, J., Chand, S., Saha, I., Dadarwa, B., Chandra, K., Ahmed Khan, M., Rajput, V., Minkina, T., Narayana, E., Sharma, M., Ahmed, S. (2021). Roles of Nitric Oxide in Conferring Multiple Abiotic Stress Tolerance in Plants and Crosstalk with Other Plant Growth Regulators. Journal of Plant Growth Regulation .

8) Fatima, A., Husain, T., Suhel, M., Prasad, S., Singh, V. (2021). Implication of Nitric Oxide Under Salinity Stress: The Possible Interaction with Other Signaling Molecules. Journal of Plant Growth Regulation, DOI 10.1007/s00344-020-10255-5

9) Choudhar, S., Iqbal Wani, K., M. Naeem., M. A. Khan., Aftab, T. (2022). Cellular Responses, Osmotic Adjustments, and Role of Osmolytes in Providing Salt Stress Resilience in Higher Plants: Polyamines and Nitric Oxide Crosstalk. Journal of Plant Growth Regulation.

10) Latef AAHA, Dawood MFA, Hassanpour H, Rezayian M, Younes NA, Impact of the static magnetic field on growth, pigments, osmolytes, nitric oxide, hydrogen sulfide, phenylalanine ammonia-lyase activity, antioxidant defense system, and yield in lettuce, VOL. 3, PP. 223-231,

## **Investigating the effect of nitric oxide on the growth, protein content and activity of antioxidant enzymes in cell culture of German chamomile plant (*matricaria chamomilla*) :**

**Halimeh Hassanpour , Vahid Niknam , Fateme Alavi**

<sup>1</sup> Department of Plant Sciences, Faculty of Biology, Faculty of Science, University of Tehran, Iran

<sup>2</sup> Aerospace Research Institute, Ministry of Science Research and Technology, Tehran, Iran

### **Abstract**

Nitric oxide (NO) is a small and highly permeable signaling molecule that can affect growth and development. In this research, the effect of nitric oxide on cell growth, protein content and activity of antioxidant enzymes of German chamomile plant cell culture was evaluated. The seeds of German chamomile plant were prepared and after sterilization, they were cultivated in Morashig and Skok environment. From the hypocotyl of the seedlings, isolated pieces of culture were prepared and placed in ms medium with the hormonal combination of 4,2-d and kin to induce callus. Then, cell suspension and cell line were prepared from the cultured calli. Cell lines were cultured in ms solid medium and subjected to different treatments of 1.0, 0.05, 0.0 mM nitric oxide. After 3 weeks, samples were collected for physiological and biochemical tests. The results showed that NO treatment increased the protein content and fresh weight and decreased the activity of antioxidant enzymes superoxide dismutase and peroxidase. It seems that the decrease in the activity of antioxidant enzymes is related to the effect of NO on scavenging free radicals and the accumulation of secondary metabolites.

**key words:** Nitric oxide, *Matricaria chamomilla*, protein, antioxidant enzymes, cell culture

## اثر سلنات سدیم بر جوانه زنی بذر و رشد گیاهک گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.)

### تحت تنش شوری

فاطمه فاتحیان<sup>1\*</sup>: دانشجوی، کارشناسی ارشد زیست‌شناسی فیزیولوژی گیاهی، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی

fatahiyan.fatemeh@gmail.com

فرزانه نجفی<sup>1</sup>: دانشیار، دکتری فیزیولوژی گیاهی، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی

f.najafi@khu.ac.ir

زهره شیرخانی<sup>1</sup>: استادیار، دکتری زیست‌شناسی سلولی تکوینی گیاهی، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی

z.shirkhani@khu.ac.ir

### چکیده

شوری خاک و آب از مشکلات اساسی محیطی می‌باشد که جوانه‌زنی و رشد گیاهان و در نهایت کشاورزی و تغذیه انسان‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد. سلنیوم با اینکه عنصر ضروری برای گیاهان به‌شمار نمی‌رود ولی در مطالعات مختلف نشان داده شده است که می‌تواند گیاه را در برابر تنش‌های گوناگون محافظت کند. سلنیوم به عنوان یک آنتی‌اکسیدان عمل کرده و اثرات نامطلوب تنش شوری را کاهش می‌دهد. در این مطالعه اثر سلنات سدیم (0، 0/01، 0/02 گرم در لیتر) بر جوانه‌زنی گیاه گلرنگ تحت تنش شوری (0، 0/5، 2/5، 5 گرم در لیتر) مورد بررسی قرار گرفت. پس از آماده کردن بذرها و استریل کردن؛ آن‌ها را در پتری قرارداده و پس از گذشت 7 روز و با استفاده از فرمول‌های مربوطه درصد، شاخص و سرعت جوانه زنی، شاخص بینه بذر و شاخص وزنی قدرت به دست آمد. با توجه به نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها مشاهده گردید که رشد گیاهچه‌ها تحت تأثیر شوری و سلنات سدیم قرار گرفت و تغییرات در طول ساقچه‌چه (کمترین مقدار 3/23 سانتیمتر بود که در غلظت 5 گرم در لیتر کلرور سدیم مشاهده شد)، طول ریشه‌چه (بیشترین مقدار 10/02 بود که در غلظت 2/5 گرم در لیتر کلرور سدیم مشاهده شد)، وزن تر (بیشترین مقدار 0/163 گرم در غلظت 2/5 گرم در لیتر کلرور سدیم مشاهده شد)، شاخص بینه‌بذر معنی‌دار بود.

واژگان کلیدی: NaCl، تنش غیرزیستی، تیره آفتابگردان، جوانه‌زنی

### مقدمه

تنش شوری عبارت است از حضور بیش از اندازه نمک‌های قابل حل و عناصر معدنی در محیط رشد ریشه که منجر به کاهش توانایی گیاه در جذب آب کافی از محلول خاک می‌شود (1). از دست دادن محصول به دلیل شور شدن خاک یک تهدید فزاینده برای کشاورزی در سراسر جهان است. زیرا نمک مانع رشد و نمو گیاهان می‌شود و عملکرد محصول را کاهش می‌دهد (2). سلنیوم (Se) یک عنصر کمیاب ضروری برای بسیاری از موجودات زنده از جمله انسان است (3). سلنیوم با تحریک ظرفیت آنتی-اکسیدانی سلول‌های گیاهی از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به گیاهان کمک می‌کند تا با تنش مقابله کنند (4). پژوهش‌ها نشان داده است سلنیوم در دوز پایین گیاهان را در برابر انواع تنش‌های غیرزیستی از جمله تنش فلزات سنگین، تنش خشکی و شوری محافظت می‌کند (4، 5).

Tonguç و همکاران (2021) بعد از بررسی جوانه زنی گونه‌های زراعی گلرنگ در شرایط شور بیان کردند که شوری بر جوانه‌زنی تأثیر منفی دارد (6). Du و همکاران (2019) اثر سلنات سدیم بر برنج را بررسی کردند و اثر مثبت آن بر رشد گیاهچه را گزارش کردند (7).

یکی از مشکلات اساسی بر سر راه کشاورزی کمبود منابع آب شیرین و با کیفیت جهت آبیاری است. کشور ما از نظر اقلیمی در منطقه خشک و نیمه خشک دنیا قرار دارد، از این رو شوری خاک و آب آبیاری یکی از مشکلات عمده پیش روی زراعت کشور است. گلرنگ (*Carthamus tinctorius L.*) گیاهی روغنی از خانواده *Asteraceae* (Compositae) می باشد (8). گلرنگ گیاهی بومی ایران می باشد که سازگاری بالایی با شرایط خشکی، شوری و گرما دارد. شناسایی روش هایی که موجب تخفیف اثر تنش شوری در گیاه شده و تا حد ممکن از افت عملکرد گیاه جلوگیری نمایند، می تواند یکی از راه های مقابله با این معضل باشد بنابراین در این تحقیق اثر سلنات سدیم بر جوانه زنی گیاه گلرنگ تحت تنش شوری مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

بذر گلرنگ از مجموعه پاکان بذر اصفهان تهیه گردید؛ و در هیپوکلیت سدیم 1% به مدت 2 دقیقه ضدعفونی شد. سپس به مدت 2 ساعت در محلول های تیمار نمکی (0، 0/5، 2/5، 5 گرم در لیتر) و سلنات سدیم (0، 0/01، 0/02 گرم در لیتر) خیسانده شده و سپس در پتری های استریل شده در محیط تاریک قرار داده شد و هر روز در یک ساعت مشخص شمارش بذرها و تیماردهی صورت گرفت. پس از گذشت 7 روز طول و وزن تر و خشک گیاهچه ها به منظور محاسبه پارامترهای مورد نظر؛ اندازه گیری شد. به منظور محاسبه درصد جوانه زنی از رابطه 1 استفاده شد.

$$(1) \quad \text{تعداد بذرها} \times 100 = \left( \frac{\text{تعداد کل بذرها}}{\text{تعداد بذرها زده در روز آخر}} \right) \times 100$$

جهت مقایسه سرعت جوانه زنی تیمارهای مورد بررسی از معادله (2) استفاده شد.

$$(2) \quad \bar{R} = \frac{\sum n}{\sum D.n}$$

D: تعداد روزهای سپری شده / n: تعداد بذور جوانه زده در روز مورد نظر

شاخص جوانه زنی بر اساس معادله (3) محاسبه شد:

$$(3) \sum N_t \times \frac{t}{N}$$

$N_t$ : تعداد بذر جوانه زده در روز t / N: تعداد کل بذور / t: زمان یا روز جوانه زنی

شاخص بنیه بذر حاصل ضرب درصد جوانه زنی و طول گیاهچه است (معادله 4).

$$(4) \quad \text{درصد جوانه زنی} \times \text{طول گیاهچه}$$

$$(5) \quad \text{طول گیاهچه} : \text{طول ریشه چه} + \text{طول ساقه چه}$$

پارامترهای دیگر بررسی شده شاخص وزنی قدرت که از رابطه (6) به دست آمد:

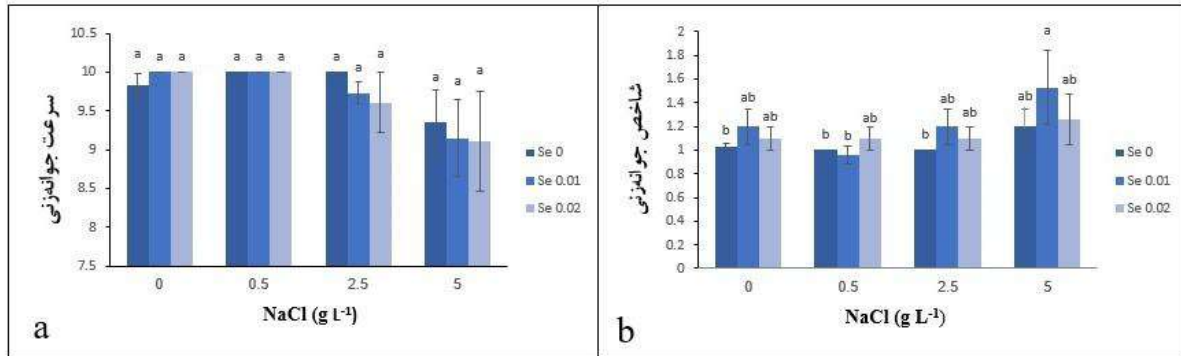
$$(6) \quad \text{شاخص وزنی قدرت} : \text{جوانه زنی استاندارد} \times \text{میانگین وزنی خشک (mg)}$$

### آنالیز آماری

در این پژوهش، کلیه محاسبات آماری با حداقل 3 تکرار با استفاده از نرم افزار SPSS (version 27) توسط آزمون مقایسه ای دانکن بر پایه طرح فاکتوریل مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

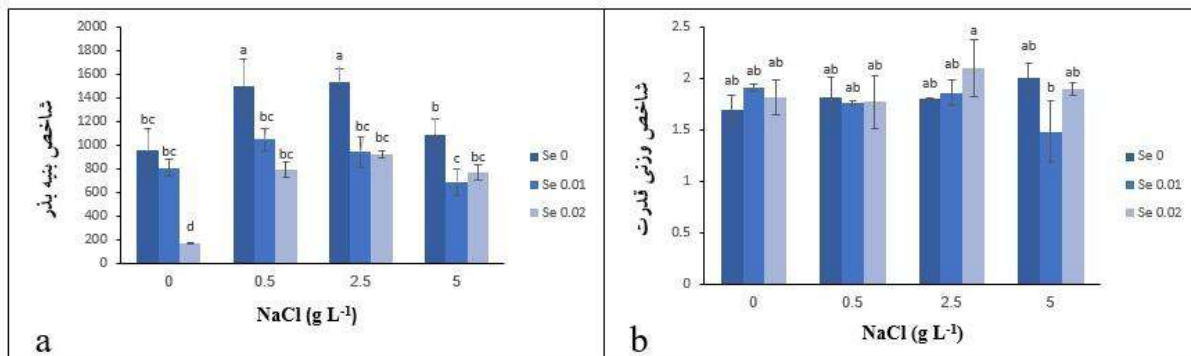
نتایج

از آنجایی که تمامی بذرها در روز اول و دوم جوانه زدند، بنابراین درصد جوانه زنی برای تمامی نمونه‌ها 100% شد. لذا اختلاف معنی‌داری در درصد و سرعت و شاخص جوانه‌زنی مشاهده نشد (شکل 1 (a) و (b)).



شکل 1: اثر شوری و سلنات سدیم بر سرعت و شاخص جوانه‌زنی گیاه گلرنگ. (a) سرعت جوانه‌زنی؛ (b) شاخص جوانه‌زنی. حروف متفاوت نمایانگر گروه‌های با تفاوت آماری معنی‌دار است.

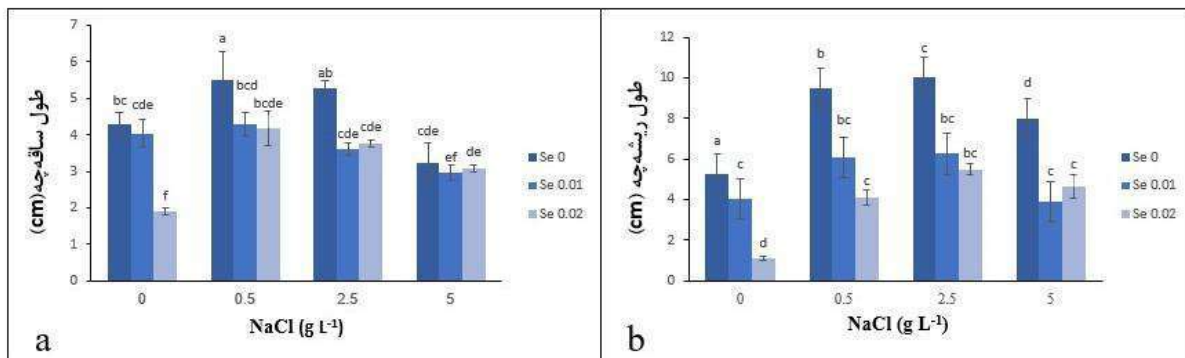
در مورد شاخص بنیه بذر و شاخص وزنی قدرت؛ شوری سبب تغییر معنی‌دار ( $P < 0.001$ ) در شاخص بنیه بذر شد ولی در برهمکنش آن‌ها تغییر معنی‌داری مشاهده نشد (شکل 2 (a))؛ در نهایت تغییرات در شاخص وزنی قدرت معنی‌دار نبود (شکل 2 (b)).



شکل 2: اثر شوری و سلنات سدیم بر شاخص بنیه بذر گلرنگ. (a) شاخص بنیه بذر؛ (b) شاخص وزنی قدرت. حروف متفاوت نمایانگر گروه‌های با تفاوت آماری معنی‌دار است.

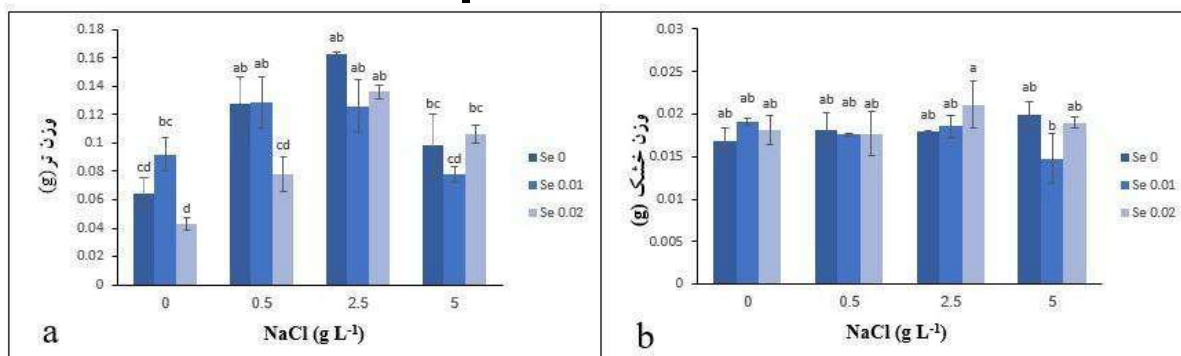
نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر متقابل شوری و سلنات سدیم بر طول ساقچه معنی‌دار ( $P < 0.001$ ) بود (شکل 3 (a)). از طرفی غلظت‌های مختلف شوری باعث افزایش طول ریشه‌چه شد که این افزایش از نظر آماری معنی‌دار ( $P < 0.001$ ) بود، کم‌ترین مقدار مربوط به شوری با غلظت 5 گرم در لیتر بود (8 سانتیمتر)؛ که اعمال برهمکنش سلنات سدیم سبب

کاهش طول ریشه‌چه نسبت به شوری و نمونه شاهد گردید که این نتایج از نظر آماری معنی‌دار نبود (شکل 3(b)).



شکل 3: اثر شوری و سلنات سدیم بر طول ساقه‌چه و ریشه‌چه در گلرنگ. (a) طول ریشه‌چه؛ (b) طول ساقه‌چه. حروف متفاوت نمایانگر گروه‌های با تفاوت آماری معنی‌دار است.

سلنات سدیم سبب تغییر وزن تر و خشک گیاهچه‌های تحت تنش شوری شد که این تغییر در وزن تر معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) (شکل 4(a)) و در وزن خشک معنی‌دار نبود (شکل 4(b)). بیشترین مقدار وزن تر مربوط شوری با غلظت 2/5 گرم در لیتر (0/163 گرم) و کمترین مقدار در شاهد مشاهده شد (0/064 گرم). در مورد وزن خشک بیشترین مقدار مربوط به اثر متقابل شوری با غلظت 2/5 گرم در لیتر و سلنات سدیم با غلظت 0/01 گرم در لیتر (0/0028 گرم) بود. (شکل 4(b)).



شکل 4: اثر شوری و سلنات سدیم بر وزن تر و خشک گلرنگ. (a) وزن تر؛ (b) وزن خشک. حروف متفاوت نمایانگر گروه‌های با تفاوت آماری معنی‌دار است.

#### بحث

هدف اصلی این مطالعه، بررسی اثر تیمارهای سلنات سدیم و شوری بر شاخص‌های جوانه‌زنی گیاه گلرنگ بود. با توجه به نتایج به دست آمده به طور کلی شوری سبب کاهش رشد گیاهچه‌ها شد که با نتایج حاصل از پژوهش چن و همکاران (1996) بر گیاه سویا مطابقت دارد (9)؛ درصد جوانه‌زنی در حدود 100% بود، از این رو بر سرعت جوانه‌زنی و شاخص جوانه‌زنی تأثیر معناداری نداشت؛ که با نتایج مطالعات قبلی تناقض دارد؛ فرض بر این است که غلظت‌های به کار برده شده در این پژوهش تأثیر چندانی بر میزان جوانه‌زنی نداشته است. با به کار بردن سلنات سدیم در این بررسی، تأثیر معنی‌داری بر وزن تر، طول ساقه‌چه، طول ریشه‌چه، شاخص بنیه‌بذر مشاهده گردید که مطابق با نتایج Ei و همکاران (2020) در گیاه برنج بود (10)؛ در واقع سلنات سدیم به عنوان آنتی‌اکسیدان در دو غلظت به کار برده شده باعث تعدیل اثرات منفی شوری شده و رشد و جوانه‌زنی را تحریک می‌کند. کاهش طول ساقه‌چه



احتمالاً به دلیل اثرات سمی نمک و ناکافی بودن جذب مواد مغذی توسط ریشه است (11) و دلیل کاهش رشد گیاه مربوط به انتقال کمتر یون‌های ضروری مانند  $\text{NO}_3^-$  (باعث کاهش نیتروژن می‌شود) می‌شود (12, 13). همچنین شرایط شور می‌تواند رشد گیاه را با کند کردن جذب آب کاهش دهد، که منجر به کاهش تورگر و انبساط سلولی می‌شود (14, 15). Akram و همکاران (2007) گزارش کردند که کمبود اکسیژن مانع دسترسی گیاهان به منابع انرژی شده و در نتیجه غلظت اتیلن را افزایش می‌دهد که رشد گیاه را محدود می‌کند (16).

### نتیجه گیری

با توجه به نتایج به دست آمده بنظر می‌سد، استفاده از سلنات سدیم در غلظت‌های مختلف می‌تواند اثرات مخرب تنش شوری بر پارامترهای جوانه‌زنی را تخفیف دهد. به اینصورت که غلظت‌های مختلف شوری و سلنات سدیم تأثیری بر درصد جوانه‌زنی نداشت؛ ولیکن، رشد اولیه گیاهچه‌ها با افزایش غلظت نمک و سلنات سدیم تحت تأثیر قرار گرفت و روند کاهشی داشت؛ بدین ترتیب پارامترهای مختلف جوانه‌زنی دستخوش تغییراتی شدند که فرضیات مطالعات را تأیید کرد.

### منابع

1. Shannon M, Grieve C. Tolerance of vegetable crops to salinity. *Scientia Horticulturae*. 1998; 78(1-4): 5-38.
2. Van Zelm E, Zhang Y, Testerink C. Salt tolerance mechanisms of plants. *Annual Review of Plant Biology*. 2020; 71: 403-33.
3. Schiavon M, Lima LW, Jiang Y, Hawkesford MJ. Effects of selenium on plant metabolism and implications for crops and consumers. *Selenium in plants: Molecular, Physiological, Ecological and Evolutionary Aspects*. 2017; 257-75.
4. Feng R, Wei C, Tu S. The roles of selenium in protecting plants against abiotic stresses. *Environmental and Experimental Botany*. 2013; 87: 58-68.
5. Kaur S, Kaur N, Siddique KH, Nayyar H. Beneficial elements for agricultural crops and their functional relevance in defence against stresses. *Archives of Agronomy and Soil Science*. 2016; 62(7): 905-20.
6. TONGUÇ M, ÖNDER S, MUTLUCAN M. Determination of germination parameters of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) cultivars under salt stress. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*. 2021; 25(2): 155-61.
7. Du B, Luo H, He L, Zhang L, Liu Y, Mo Z, et al. Rice seed priming with sodium selenate: Effects on germination, seedling growth, and biochemical attributes. *Scientific Reports*. 2019; 9(1): 4311.
8. Singh V, Nimbkar N. Safflower (*Carthamus tinctorius* L.). Chapter. 2006; 6: 167-94.
9. Deming C, Renpei Y. Studies on relative salt tolerance of crops. □. Salt tolerance of some main crop species. *Acta Pedologica Sinica*. 1996; 33(2): 121-8.
10. Ei HH, Zheng T, Farooq MU, Zeng R, Su Y, Zhang Y, et al. Impact of selenium, zinc and their interaction on key enzymes, grain yield, selenium, zinc concentrations, and seedling vigor of biofortified rice. *Environmental Science and Pollution Research*. 2020; 27: 16940-9.
11. Hajibagheri M, Yeo A, Flowers T, Collins J. Salinity resistance in *Zea mays*: fluxes of potassium, sodium and chloride, cytoplasmic concentrations and microsomal membrane lipids. *Plant, Cell & Environment*. 1989; 12(7): 753-7.
12. Hamid M, Ashraf MY, Arashad M. Influence of salicylic acid seed priming on growth and some biochemical attributes in wheat grown under saline conditions. *Pakistan Journal of Botany*. 2008.
13. Chien S-WC, Liao J-H, Wang M-C, Mannepalli MR. Effect of  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ , and fulvate anions on  $\text{Cd}^{2+}$  free ion concentrations in simulated rhizosphere soil solutions. *Journal of Hazardous Materials*. 2009; 172(2-3): 809-17.
14. Bewley JD, Black M. *Seeds: physiology of development and germination*: Springer Science & Business Media; 1994.
15. Werner JE, Finkelstein RR. *Arabidopsis* mutants with reduced response to NaCl and osmotic stress. *Physiologia Plantarum*. 1995; 93(4): 659-66.
16. Akram M, Malik MA, Ashraf MY, Saleem MF, Hussain M. Competitive seedling growth and  $\text{K}^+/\text{Na}^+$  ratio in different maize (*Zea mays* L.) Hybrids under salinity stress. *Pakistan Journal of Botany*. 2007; 39(7): 2553-63.

## The effect of sodium selenate on seed germination and seedlings growth of *Carthamus tinctorius* L. under salt stress

Fatemeh Fatahiyan<sup>1\*</sup>, Farzaneh Najafi<sup>1</sup>, Zohreh Shirkhani<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Plant Sciences, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, P. O. Box, 17719-14911, Tehran, Iran  
fatahiyan.fatemeh@gmail.com

### Abstract:

Soil and irrigation water salinity is a significant environmental issue that detrimentally affects plant germination, growth, agriculture, and human nutrition. Although selenium is not considered an essential element for plants, various studies have demonstrated its ability to alleviate plant stress. Selenium functions as an antioxidant and mitigates the adverse effects of salinity stress. In this study, the impact of sodium selenate (0, 0.01 and 0.02 g L<sup>-1</sup> Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub>) on *Carthamus tinctorius* L. germination under salt stress (0, 0.5, 2.5, and 5 g L<sup>-1</sup> NaCl) was investigated. The seeds were prepared and sterilized, then placed in Petri dishes. After seven days germination percentage, germination rate and index, seed vigour index and vigour weight index were calculated using appropriate formulas. The results of variance analysis indicated that both salinity and sodium selenate influenced the growth of seedlings. Significant effects were observed in shoot and radicle length, fresh weight, seed vigour index.

**Keywords:** NaCl, Abiotic stress, Asteraceae, Germination

## بررسی فنوتیپی ارقام سیب در مقاومت به بیماری شانکر اروپایی

مرجان قاسم خانی

استادیار، پژوهشگاه علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی و فناوری پیشرفته، کرمان، ایران.

[M.ghasemkhani@kgut.ac.ir](mailto:M.ghasemkhani@kgut.ac.ir)

### چکیده

شانکر اروپایی توسط قارچ *Neonectria ditissima* ایجاد می شود. این بیماری در بسیاری از کشورها در مناطقی با آب و هوای معتدل مرطوب ضررهای قابل توجهی به تولید سیب وارد می کند. استفاده از قارچ کش ها و اقدامات باغبانی از آسیب شانکر به درختان در نهالستان ها و باغ ها جلوگیری نمی کند. تا به امروز رقم با مقاومت کامل به *N. ditissima* در سیب شناخته نشده است. از آنجایی که مقاومت در برابر شانکر یک صفت کمی است و تحت تأثیر عوامل متعددی قرار میگیرد، در این میان وضعیت فیزیولوژیکی درختان و از جمله شرایط محیطی تأثیر به سزایی دارد. دسترسی به روشی کارآمد که بتوان در مدت زمان نسبتاً کوتاه ارقام سیب را با حذف شرایط محیطی بررسی نمود می تواند کمک بزرگی در اصلاح نژاد برای مقاومت در برابر این بیماری باشد. هدف از انجام این مطالعه ارزیابی تنوع فنوتیپی هشت رقم سیب با استفاده از تلقیح مصنوعی بود. بدین منظور شاخه های بریده شده از درختان بالغ جمع آوری و با استفاده از سوسپانسیون اسپور غیرجنسی قارچ تلقیح مصنوعی شدند و در شرایط کنترل شده گلخانه نگهداری شدند. گسترش و توسعه بیماری در فواصل زمانی معین برای شاخه ها اندازه گیری شد. برای ارزیابی سطح مقاومت نسبی سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری (AUDPC) استفاده شد. تفاوت معنی داری براساس AUDPC در بین ارقام مشاهده گردید که نشان می دهد AUDPC ابزار مفیدی برای ارزیابی مقاومت به شانکر درختان میوه می تواند باشد. همچنین، برخی منابع بالقوه جدید مقاومت شناسایی شدند که می توانند در برنامه های آتی اصلاحی مورد استفاده قرار گیرند.

**واژگان کلیدی:** شانکر، عامل بیماری زایی نکتریایی، *Malus domestica*، مقاومت نسبی، *Neonectria ditissima*

### مقدمه

بیماری شانکر نکتریایی نوعی عفونت قارچی در درختان می باشد. عامل این بیماری پاتوژنی به نام *Neonectria ditissima* است که به زخم های تازه و مناطق آسیب دیده پوست و چوب حمله می کند و قادر است طیف وسیعی از میزبان ها از جمله گیاهان چوبی، زینتی و درختان جنگلی را آلوده کند. این پاتوژن فرصت طلب بوده و نقاط ضعف درختان را مورد هدف قرار می دهد. این نقاط ضعف می تواند زخم های طبیعی یا مصنوعی مانند آسیب فیزیکی، هرس، یخ زدگی، زخم های ناشی از هجوم آفات و بیماری ها باشند. هر درخت آسیب دیده ای مستعد ابتلا به این پاتوژن و بیماری ناشی از آن خواهد بود. علامت مشخصه ای این بیماری ایجاد شانکرها، زخم های روی شاخه، ساقه و تنه درخت است. قارچ *N. ditissima* به صورت هوایی و با پاشیدن باران در همان درخت و درختان مجاور پخش می شود (5). پس از یک دوره نهفته 3-5 ساله، عفونت های سیستمیک به طور ناگهانی روی درختان ظاهر می شود که در نهایت منجر به از بین رفتن کامل درخت می شود. درختان جوان تر، به ویژه درخت هایی که به تازگی پیوند شده اند، در صورت آلودگی با این قارچ ممکن است از بین بروند. به طور کلی بیماری شانکر نکتریایی موجب خشک شدن درختان جوان و مسن می شود. در صورت اپیدمی فراگیر حذف کل درختان ضروری است. علاوه بر این، قارچ می تواند باعث پوسیدگی میوه ها در طول دوره نگهداری شود (8 و 9). راه های کنترل مکانیکی مانند بریدن شاخه های آلوده و معدوم کردن آنها، جلوگیری از ایجاد

زخم های بی رویه می توانند تا حدی از پیشرفت بیماری جلوگیری کند (4). کنترل شیمیایی شامل سمپاشی محل افتادن برگ های درختان با استفاده از قارچ کش های محافظتی و نیز استفاده از مخلوط بردو هنگام شروع ریزش برگ ها می باشد اما هیچ کدام از این اقدامات به طور کامل موثر نمی باشند. علاوه بر این، افزایش نگرانی ها در مورد سلامت انسان و محیط زیست، از جمله افزایش علاقه به تولید ارگانیک، استفاده از قارچ کش ها را در بسیاری از مناطق پرورش سیب کاهش داده است. ارقام مختلف سیب تفاوت های قابل ملاحظه ای در حساسیت به شانکر نشان می دهند و شرایط محیطی بر روی میزان مقاومت و حساسیت درختان سیب تاثیرگذار است. اصلاح ارقام جدید با سطح بالایی از مقاومت در برابر عفونت *N. ditissima* کمک بزرگی برای تولید سیب خواهد بود. بنابراین در مطالعه حاضر، شاخه های بریده برای ارزیابی سطح مقاومت هشت رقم سیب با استفاده از تلقیح مصنوعی در شرایط کنترل شده مورد بررسی قرار گرفتند.

### مواد و روش ها

شاخه های یکساله سیب از درختان بالغ در باغات سیب در جنوب سوید در بهمن ماه جمع آوری شدند و در دمای 4 درجه نگهداری شدند. در مجموع هشت رقم گلدن دلشیز، آستراکان قرمز، دلبار استوال، گالا، موتسو، جونگلد، ستارگینک قرمز و سندرا مورد آزمایش قرار گرفتند.

جهت تهیه سوسپانسیون شانکرهای طبیعی روی شاخه های درختان سیب با علایم بیماری شانکر حاوی اسپرو دوخیوم در پاییز جمع آوری شدند. سپس سوسپانسیون قارچ به غلظت  $1 \times 10^5$  کنیدی در میلی لیتر با استفاده از هموسیتومتر تهیه شد (3). آزمایش در قالب طرح بلوک های کاملاً تصادفی انجام شد. سه جوانه از هر شاخه انتخاب شد. جوانه ها با اسکالپر بریده شدند. یک شاخه از هر رقم به عنوان شاهد با آب استریل تلقیح شد. گسترش بیماری در فواصل زمانی معین برای شاخه ها اندازه گیری شد. سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری (AUDPC) جهت ارزیابی ارقام محاسبه گردید (6). تجزیه و تحلیل در برنامه SAS و اکسل انجام شد.

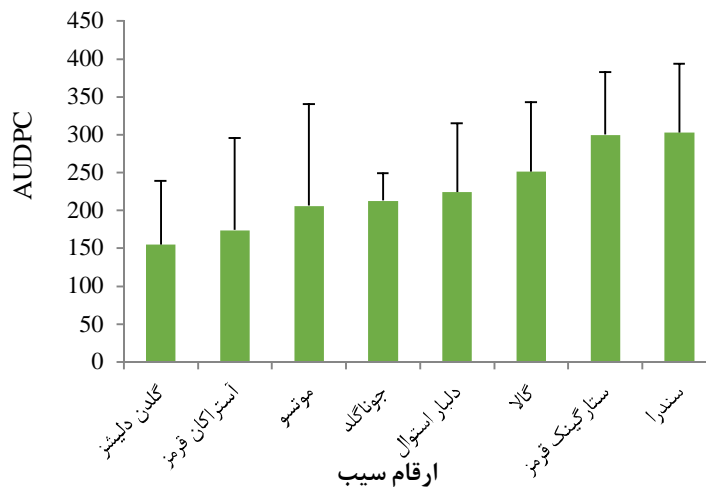
### نتایج

تفاوت معنی داری در سطح آلودگی براساس AUDPC در بین هشت رقم مشاهده شد ( $P < 0,001$ ,  $F = 3,48$ ,  $df = 7$ ). رقم گلدن دلشیز بیشترین مقاومت نسبی به بیماری شانکر و رقم سندرا بیشترین حساسیت را از خود نشان داد. همچنین رقم آستراکان قرمز نیز در رده ارقام نسبتاً مقاوم قرار گرفت (نمودار 1).

ارقام مختلف سیب از نظر حساسیت به *N. ditissima* متفاوت گزارش شده اند و بین مطالعات مختلف نتایج چندان مشابهی نباشد (1 و 7). دلیل این امر شرایط آزمایشگاهی متفاوت مانند ارزیابی در شرایط طبیعی در باغات، استفاده از سوسپانسیون قارچی متفاوت باشد. در این آزمایش، ارقام تفاوت در شدت بیماری نشان دادند و هیچ علامتی روی شاخه های شاهد یافت نشد که نشان دهنده عدم آلودگی نهفته در شاخه ها و همچنین شرایط محیطی مناسب گلخانه باشد. بر روی شاخه های بریده شده، ضایعات برای اولین بار ده روز پس از تلقیح مشاهده شد. پس از آن علائم بسیار سریع توسعه یافت.

طبق مطالعات پیشین پیشرفت بیماری روی درختان تلقیح شده آهسته تر است و امکان مشاهده مراحل مختلف بیماری را فراهم می کند و مدلی است که از آن می توان تعمیماتی به شرایط طبیعی در باغ میوه داد. با این حال، راه اندازی این مدل بسیار زمان بر است و یک سال برای تولید درختان طول می کشد (2). تلقیح بر روی شاخه های بریده شده می تواند برای غربالگری های اولیه مناسب باشد که در یک بازه زمانی محدود 4-6 هفته انجام می شود. برای کسب دانش در مورد توسعه عفونت بیماری نیز می تواند مورد

استفاده قرار گیرد. از آنجایی که شرایط محیطی در شناسایی ارقام مقاوم و حساس در مناطق مختلف تاثیرگذار است، در این مطالعه با حذف این فاکتور و استفاده از گلخانه با شرایط دمایی و رطوبت کنترل شده نتایج قابل اعتمادتری حاصل گردید. نمودار 1- ارزیابی فنوتیپی داده های میانگین سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری (AUDPC) در 8 رقم سیب تلقیح شده با قارچ *N. ditissima*



### نتیجه گیری

از آنجایی که ارزیابی مقاومت به بیماری ها در درختان میوه از جمله سیب فرآیندی بسیار زمان بر و پرهزینه می باشد، استفاده از شاخه های بریده یکساله که در مطالعه فوق مورد بررسی قرار گرفت می تواند به عنوان روشی مفید و کاربردی مورد استفاده قرار گیرد و در صورتی که در شرایط محیطی کنترل شده از نظر دمایی و رطوبت ارزیابی صورت گیرد نتایجی قابل اعتمادی حاصل خواهد شد.

### منابع

- 1- Børve, J., Dalen, M. and Stensvand, A., 2019. Development of *Neonectria ditissima* infections initiated at grafting of apple trees. *European Journal of Plant Pathology*, 155, pp.1225–1239.
- 2- Garkava-Gustavsson, L., Zborowska, A., Sehic, J., Rur, M., Nybom, H., Englund, J.E., Lateur, M., Van de Weg, W.E. and Holefors, A., 2013. Screening of apple cultivars for resistance to european canker, *Neonectria ditissima*, *Acta Horticulturae*, 976, pp.529-536.
- 3- Ghasemkhani, M., Liljeroth, E., Sehic, J., Zborowska, A. and Nybom, H, 2015. Cut-off shoots method for estimation of partial resistance in apple cultivars to fruit tree canker caused by *Neonectria ditissima*, *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B — Soil & Plant Science*, 65(5), pp.412-421.
- 4- Harteveld, D.O.C., Goedhart, P.W., Houwers, I., Köhl, J., de Jong, P.F. and Wencker, M, 2023. Detecting the asymptomatic colonization of apple branches by *Neonectria ditissima*, causing European canker of apple, *European Journal of Plant Pathology*, pp:1-11.

- 5- McCracken, A.R., Berrie, A., Barbara, D.J., Locke, T., Cooke, L.R., Phelps, K., Swinburne, T.R., Brown, A.E., Ellerker, B. and Langrell, S.R.H, 2003. Relative significance of nursery infections and orchard inoculum in the development and spread of apple canker (*Nectria galligena*) in young orchards. *Plant Pathology Journal*, 52, pp.553-566.
- 6- Shaner, G. and Finney, R.E, 1977. Effect of nitrogen-fertilization on expression of slow-mildewing resistance in Knox wheat. *Phytopathology*, 67, pp.1051-1056.
- 7- Scheper, R.W., Fisher, B.M., Taylor, T. and Hedderley, D.I, 2018. Detached shoot treatments cannot replace whole-tree assays when phenotyping for apple resistance to *Neonectria ditissima*. *New Zealand Plant Protection Society*, 71, pp.151-157.
- 8- Weber, R.W.S, 2014. Biology and control of the apple canker fungus *Neonectria ditissima* (syn. *N. galligena*) from a Northwestern European perspective. *Erwerbs-Obstbau*, 56, pp.95-107.
- 9- Xu, X., Passey, T., Robinson-Boyer, L., Mclean, H., Saville, R. and Papp-Rupar, M, 2022. Development of European apple canker on different cultivars in relation to planting time at three sites in the UK. *Frontiers in Plant Science*, 1, 995776.

## Phenotypic evolution of apple cultivars against European canker disease

Marjan Ghasemkhani

Assistant Prof., Department of Biodiversity, Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, 7631885356, Iran  
Corresponding author: m.ghasemkhani@kgut.ac.ir

### Abstract

European canker is caused by *Neonectria ditissima*, which causes a significant loss in apple production specially in humid temperate regions. Fungicides are not effective for control of this canker in gardens and nurseries. To date, no apple cultivar has been identified with complete resistance to *N. ditissima*. Resistance to canker which is a quantitative trait, is multifactorial and influenced by several polymorphic genes and environmental conditions. Phenotypic variation can also be caused by environmental factors that are independent of genotype, therefore finding an effective method for screening apple cultivars against *N. ditissima* by eliminating environmental conditions can be a great help in breeding. The purpose of this study was to evaluate the phenotypic diversity of eight apple cultivars using artificial inoculation. For this purpose, the detached shoots were collected from mature apple trees and inoculated using asexual spore suspension, and then kept under controlled greenhouse conditions. The spread of the disease was measured at certain time intervals. The area under the disease progression curve (AUDPC) was used to evaluate the partially resistance level. A significant difference was observed based on AUDPC among cultivars, which shows that AUDPC can be a useful tool for evaluating resistance against fruit tree canker. Additionally, some cultivars were identified as potential sources of disease resistance that can be used in future breeding programs.

**Key words:** Canker, Nectria canker, *Malus domestica*, partially resistance, *Neonectria ditissima*

## بررسی قابلیت جذب سرب توسط گیاه نوک لک لکی *Erodium cicutarium*

کبری مهدویان<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

k.mahdavian@pnu.ac.ir

### چکیده

فعالیت‌های معدن‌کاوی و استخراج فلزات از عوامل عمده در آلودگی خاک‌ها هستند و عموماً خاک‌های سطحی در اطراف معادن حاوی مقادیر بالایی از این فلزات هستند. هدف از انجام این تحقیق بررسی قابلیت جذب سرب توسط گیاه نوک لک لکی از خاک‌های آلوده به سرب می‌باشد. پس از شناسایی نمونه‌های گیاهی جمع‌آوری شده، نمونه‌ها جهت انجام آنالیزهای مربوطه آماده گردید. سپس مقدار عنصر سرب و pH اندازه‌گیری شد و توانایی نمونه‌های گیاهی برای جذب و تجمع سرب به وسیله محاسبه فاکتور تغلیظ زیستی (BCF) و فاکتور جابجایی (TF) بررسی گردید. بر اساس نتایج حاصله مقدار کل سرب در خاک محدوده‌ای از 377 تا 1250 میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک می‌باشد. همچنین مشاهده می‌شود مقدار قابل تبادل عناصر سرب در خاک محدوده‌ای از 4 تا 15 میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک می‌باشد. میانگین pH نمونه‌های خاک محدوده‌ای از 6/8 تا 7/1 تعیین شد. همچنین نتایج نشان داد که بیشترین میانگین مقدار سرب در گیاه نوک لک لکی 1516 میلی‌گرم بر کیلوگرم در ریشه‌ها، 110 میلی‌گرم بر کیلوگرم در اندام‌های هوایی و 637 میلی‌گرم بر کیلوگرم در خاک وجود دارد. گیاهانی با فاکتور تغلیظ زیستی (BCF) بیشتر از یک و فاکتور جابجایی (TF) کمتر از یک برای تثبیت گیاهی مناسب هستند. بررسی‌ها نشان داد که فاکتور تغلیظ زیستی در گیاه نوک لک لکی 2/3 و فاکتور انتقال 0/2 می‌باشد. بنابراین بر طبق نتایج گیاه BCF بیشتر از یک و TF کمتر از یک را نشان می‌دهد. لذا گیاه نوک لک لکی، گونه‌ای مناسب برای گیاه پالایی به صورت تثبیت گیاهی سرب می‌باشد.

واژگان کلیدی: سرب، گیاه پالایی، نوک لک لکی

### مقدمه

فلز سنگین به فلزاتی گفته می‌شود که دارای چگالی بیشتر از 5 گرم بر سانتی‌متر مکعب باشند. از دیدگاه علم زیست شناسی و به ویژه فیزیولوژی گیاهی، فلزات سنگین، عناصری فلزی و یا شبه فلزی می‌باشند که اثرات سمی بر رشد گیاهان دارند و شامل عناصری مانند مس، روی، آرسنیک، نیکل، منگنز، آهن، کبالت، کادمیوم، سرب و... می‌باشند (1). فلز سنگین سرب، فلزی آبی - خاکستری رنگ با نماد Pb و دارای عدد اتمی 82، چگالی 11/35 گرم بر سانتی‌متر مکعب و جرم اتمی 207/2 بوده و متعلق به گروه 14 جدول تناوبی و دوره ششم جدول تناوبی می‌باشد (2). سرب یکی از فلزات سنگین و آلاینده محیط زیست می‌باشد که برای گیاهان و دیگر موجودات زنده از جمله انسان به شدت سمی است (3، 4). مقدار سرب در خاک‌های غیرآلوده به طور متوسط 20 میکروگرم بر گرم گزارش شده است (5). فلزات سنگین در اثر آلودگی‌های صنعتی نظیر معدن‌کاوی و فرایندهای ذوب فلزی، آلودگی‌های کشاورزی شامل استفاده از حشره‌کش‌ها و فاضلاب‌های شهری و آلودگی‌های شهری حاصل استفاده از فلز سنگین در مواد سوختی، رنگ‌ها و دیگر مواد در خاک افزایش می‌یابند (6). گیاهانی که بتوانند بیش از 1000 میلی‌گرم بر کیلوگرم سرب در وزن خشک را در اندام‌های هوایی خود تجمع دهند به عنوان بیش تجمع دهنده سرب محسوب می‌شوند (7). در حالیکه این

غلظت‌ها برای گیاهان معمولی کشنده می‌باشد. میانگین غلظت سرب در برگ اکثر گیاهان روئیده بر خاک‌های معمولی کمتر از 10 میلی گرم بر کیلوگرم است (8). گونه‌های گیاهی بیش تجمع دهنده سرب شامل *Polycarpea synandra* *Armeria maritima* و *Thlaspi caerulescens* هستند (9). هدف از انجام این تحقیق بررسی قابلیت جذب سرب توسط گیاه نوک لک لکی از خاک‌های آلوده به سرب می‌باشد.

### مواد و روش‌ها

نمونه‌های گیاهی پس از جمع آوری خشک گردید و مورد شناسایی قرار گرفت. پس از شناسایی نمونه‌های گیاهی جمع آوری شده، نمونه‌ها جهت انجام آنالیزهای مربوطه آماده گردید. برای اندازه‌گیری مقدار عناصر در خاک از روش Reeves و همکاران (1999) استفاده شد (10). مقدار عنصر سرب توسط دستگاه طیف سنج جذب اتمی آنالیز گردید. روش مورد استفاده برای تعیین مقادیر قابل تبادل عناصر بر گرفته از روش Faucon و همکاران (2007) می‌باشد (11). مقادیر عنصر سرب در این محلول‌ها توسط طیف سنج جذب اتمی آنالیز گردید. pH خاک توسط pH متر اندازه‌گیری شد (10). مقدار عنصر سرب موجود در نمونه‌ها توسط دستگاه طیف سنج جذب اتمی مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. توانایی نمونه‌های گیاهی برای جذب و تجمع سرب به وسیله محاسبه فاکتور تغلیظ زیستی و فاکتور جابجایی بررسی می‌گردد. گیاهانی با فاکتور تغلیظ زیستی (BCF) بیشتر از یک و فاکتور جابجایی (TF) کمتر از یک برای تثبیت گیاهی مناسب هستند.

### نتایج و بحث

مقدار عنصر سرب در حالت کل و قابل تبادل (بر حسب میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک) خاک‌های جمع آوری شده در جدول 1 نشان داده شده است. بر اساس نتایج حاصله مقدار کل سرب در منطقه معدنی بافق به ترتیب از 377 تا 1250 میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک می‌باشد. مقدار قابل تبادل عناصر سرب در خاک به ترتیب 4 تا 15 میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک می‌باشد. میانگین pH نمونه‌های خاک محدوده‌ای از 6/8 تا 7/1 تعیین شد. همچنین در این تحقیق بیشترین میانگین مقدار سرب در گیاه 1516 میلی‌گرم بر کیلوگرم در ریشه‌ها، 110 میلی‌گرم بر کیلوگرم در اندام‌های هوایی و 637 میلی‌گرم بر کیلوگرم در خاک وجود دارد. گیاهانی با فاکتور تغلیظ زیستی (BCF) بیشتر از یک و فاکتور جابجایی (TF) کمتر از یک برای تثبیت گیاهی مناسب هستند. بررسی‌ها نشان داد که فاکتور تغلیظ زیستی در گیاه نوک لک لکی 2/3 و فاکتور انتقال 0/2 می‌باشد. بنابراین بر طبق نتایج گیاه BCF بیشتر از یک و TF کمتر از یک را نشان می‌دهد. لذا گیاه نوک لک لکی، گونه‌ای مناسب برای گیاه پالایی به صورت تثبیت گیاهی سرب می‌باشد.

فلزات سنگین از مهمترین ترکیبات غیرآلی آلوده کننده محیط زیست محسوب می‌شوند. فعالیت‌های معدن‌کاوی و استخراج فلزات از عوامل عمده در آلودگی خاک‌ها هستند و عموماً خاک‌های سطحی در اطراف معادن حاوی مقادیر بالایی از این فلزات هستند. گزارش‌های بسیاری از کشورهای مختلف وجود دارد که حاکی از آلودگی خاک‌های اطراف معادن با فلزاتی نظیر مس، کبالت، سرب، روی و نقره می‌باشد. به عنوان مثال طی مطالعاتی در ترکیه مقدار سرب در معادن سرب و روی Balya در حدود 25000 تا 67000 میکروگرم بر گرم اندازه‌گیری شد (12). گزارش‌های مختلفی دلالت بر آلودگی خاک‌های سطحی در اطراف معادن دارند (13، 14). غلظت‌های فلزی در گیاهان مابین گونه‌های گیاهی تغییر می‌کند (15). چندین گزارش از غلظت‌های سرب در گیاهان رشد کرده بر روی خاک‌های معدنی وجود دارد. برای مثال، Yoon و همکاران (2006) گزارش کردند که غلظت‌های سرب در



محدوده‌ای از غیر قابل شناسایی تا 491 میلی‌گرم بر کیلوگرم، با بیشترین مقدار در اندام هوایی *Gentiana pennelliana* Fern وجود دارد (16). گیاهانی که فاکتور جابجایی (TF) و فاکتور تغلیظ زیستی (BCF) بیشتر از یک را نشان دادند مناسب برای استخراج گیاهی هستند در حالیکه گیاهانی با فاکتور تغلیظ زیستی (BCF) بیشتر از یک و فاکتور انتقال (TF) کمتر از یک برای تثبیت گیاهی مناسب هستند (16). برای گیاه پالایی معادن سرب اهمیت دارند به دلیل اینکه این گیاهان توانایی جذب مقادیر بالای سرب را در ریشه یا بخش هوایی خود دارا هستند. بنابراین در این روش گیاهان با جذب مقادیر بالایی از فلزات سنگین موجب کاهش غلظت فلز در خاک می‌گردند (17). بنابراین بر طبق نتایج به دست آمده گیاه نوک لک لکی مناسب جهت گیاه پالایی سرب می‌باشد.

### نتیجه‌گیری

بنابراین بر طبق نتایج گیاه BCF بیشتر از یک و TF کمتر از یک را نشان می‌دهد. لذا گیاه نوک لک لکی، گونه‌ای مناسب برای گیاه پالایی به صورت تثبیت گیاهی سرب می‌باشد.

### تشکر و قدردانی

نگارنده از حوزه معاونت محترم پژوهشی دانشگاه پیام نور به دلیل حمایت مالی از پژوهش حاضر، صمیمانه سپاسگزاری می‌نماید.

### منابع و مراجع مورد استفاده

- 1- Auburn, A., 2000. Heavy metal soil contamination.: Urban Technical Note 3, pp.1-7.
- 2- WHO., 1989. Lead-environmental aspects. Environmental health criteria 85, Geneva.
- 3- Shahid, M., Ferrand, E., Schreck, E. and Dumat, C., 2013. Behavior and impact of zirconium in the soil–plant system: plant uptake and phytotoxicity. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 221, pp.107–127.
- 4- Soriano, A., Pallarés, S., Pardo, F., Vicente, A. B., Sanfeliu, T., Bech, J., 2012. Deposition of heavy metals from particulate settleable matter in soils of an industrialised area. *Journal of Geochemical Exploration*, 113, pp.36–44.
- 5- Kabata-Pendias, A., 2011. Trace Elements in Soils and Plants. fourth ed. CRC Press, Boca Raton, FL.
- 6- Shen, Z.G., Li, X.D., Wang, C.C., Chen, H.M., Chua, H., 2002. Lead phytoextraction from contaminated soil with high-biomass plant species. *Journal of Environmental Quality*, 31, pp.1893–1900.
- 7- Van der Ent, A., Baker, A.J.M., Reeves, R.D., Pollard, A.J., Schat, H., 2013. Hyperaccumulators of metal and metalloid elements: facts and fiction. *Plant and Soil*, 362, pp.319-334.
- 8- Reeves, R.D., 2006. Hyperaccumulation of trace elements by plants, In: Phytoremediation of metal-contaminated soils (eds. Morel, J. L. et al.). *Springer, Printed in the Netherlands*, pp.25-52.
- 9- Krämer, U., 2010. Metal hyperaccumulation in plants. *Annual Review of Plant Biology*, 61, pp.517-534.
- 10- Reeves, R.D., Baker, A. J. M., Borhidi, A., and Berzain, R., 1999. Nickel hyperaccumulation in the serpentine flora of Cuba. *Annals of Botany*, 83, pp.29-38.
- 11- Faucon, M.P., Shutsha, M.N., Meerts, P., 2007. Revisiting copper and cobalt concentrations in supposed hyperaccumulators from SC Africa: influence of washing and metal concentrations in soil. *Plant and Soil*, 301, pp.29-36.
- 12- Reeves, R.D., Kruckeberg, A.R., Adiguzel, N., Kramer, U., 2001. Studies on the flora of serpentine and other metalliferous areas of western Turkey. *South African Journal of Science*, 97, pp.513-517.
- 13- Malaisse, F., Baker, A.J.M., Ruelle, S., 1999. Diversity of plant communities and leaf heavy content at Luiswishi copper/cobalt mineralization, upper Katanga, Dem. Rep. Congo, *Biotechnologie Agronomie. Societe et Environnement*, 3, pp.104-114.

- 14- Wenzel, W.W., Jockwer, F., 1999. Accumulation of heavy metals in plants grown on mineralized soils of the Austrian Alps. *Environmental pollution*, 104, pp.145-155.
- 15- Quezada-Hinojosa, R., Föllmi, K.B., Gillet, F., Matera, V., 2015. Cadmium accumulation in six common plant species associated with soils containing high geogenic cadmium concentrations at Le Gurnigel, Swiss Jura Mountains. *Catena*, 124, pp.85-96.
- 16- Yoon, J., Cao, X., Zhou, O., Ma, L.Q., 2006. Accumulation of Pb, Cu, and Zn in native plants growing on a contaminated Florida site. *Science of the Total Environment*, 368, pp.456-464.
- 17- Wong, M.H., 2003. Ecological restoration of mine degraded soils, with emphasis on metal contaminated soils. *Chemosphere*, 50, pp.775-780.

## Investigation of lead absorption capacity by *Erodium cicutarium*

Kobra Mahdavian\*

Department of Biology, Faculty of Science, Payame Noor University, Tehran, Iran

*k.mahdavian@pnu.ac.ir*

### Abstract

Mining activities and metal extraction are major factors in soil pollution, and generally surface soils around mines contain high amounts of these metals. The purpose of this research is to investigate the ability of lead absorption by *Erodium cicutarium* plant from lead contaminated soils. After identifying the collected plant samples, the samples were prepared for relevant analysis. Then, the amount of lead element, electrical conductivity, pH was measured and the ability of plant samples to absorb and accumulate lead was investigated by calculating the bioconcentration factor (BCF) and displacement factor (TF). According to the results, the total amount of lead in the soil ranges from 377 to 1250 mg<sup>-1</sup>kg of dry weight. Also, it can be seen that the exchangeable amount of lead elements in the soil ranges from 4 to 15 mg<sup>-1</sup>kg of dry weight. The average pH of the soil samples ranged from 6.8 to 7.1. Also, the results showed that the highest average amount of lead in *Erodium cicutarium* plant is 1516 mg<sup>-1</sup>kg in the roots, 110 mg<sup>-1</sup>kg in the aerial parts and 637 mg<sup>-1</sup>kg in the soil. Plants with bioconcentration factor (BCF) greater than one and displacement factor (TF) less than one are suitable for plant stabilization. Investigations showed that the bioconcentration factor in *Erodium cicutarium* plant is 2.3 and the transfer factor is 0.2. Therefore, according to the results, the plant shows BCF more than one and TF less than one. Therefore, *Erodium cicutarium* plant is a suitable species for phytoremediation in the form of plant stabilization of lead.

**Keywords:** Lead, phytoremediation, *Erodium cicutarium*

## تأثیر اسید سیتریک در تعدیل اثرات تنش کروم بر روی پارامترهای رشد و رنگیزه‌های

### فتوستتزی در گیاه لوبیا

کبری مهدویان<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

k.mahdavian@pnu.ac.ir

#### چکیده

کروم اثرات مضر بر صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاهان می‌گذارد. این تحقیق با هدف تأثیر اسید سیتریک بر پارامترهای رشد و رنگیزه‌های فتوستتزی لوبیا در معرض تنش کروم انجام شد. نتایج نشان داد که وزن تر و خشک، طول اندام هوایی و ریشه، مقدار کلروفیل و کاروتنوئید در گیاهان تحت تنش کروم کاهش یافت. اضافه کردن اسید سیتریک به طور معنی داری باعث افزایش وزن تر و خشک، طول اندام هوایی و ریشه، مقدار کلروفیل و کاروتنوئید در گیاه لوبیا شد. بنابراین اسید سیتریک این نقش را از طریق تنظیم سیستم آنتی اکسیدانی برای کاهش سمیت کروم ایفا می‌کند.

**واژگان کلیدی:** کروم، اسید سیتریک، رنگیزه‌های فتوستتزی، پارامترهای رشد

#### مقدمه

تجمع فلزات سنگین در قسمت های خوراکی گیاهان یک تهدید جدی برای انسان و حیوانات است. گیاهان می‌توانند به راحتی فلزات سنگین را به همراه مواد مغذی لازم از خاک جذب کرده و آنها را به اندام هوایی انتقال دهند و از این طریق وارد زنجیره غذایی شوند. مطالعات اخیر اثرات سمی فلزات سنگین را بر فتوستتزر، رشد و زیست توده گیاهی نشان داده است (1، 2). کروم یکی از مهمترین فلزات غیر ضروری و خطرناک برای موجودات زنده است. کروم به طور گسترده در فرآیندهای صنعتی استفاده می‌شود. مهمترین توضیح برای انتشار آن در محیط‌های خشکی و آبی این است که می‌تواند اثرات زیست محیطی مضر داشته باشد (3). به طور کلی کروم موجود در پوسته در محدوده 0/1 تا 0/3 میکروگرم بر گرم قرار دارد. با این وجود، خاک‌های مجزا غلظت متفاوتی از کروم را نشان دادند که دامنه آن بین 15 تا 100 میکروگرم بر گرم است، تجمع بیشتر کروم می‌تواند باعث کاهش رشد گیاه و تاخیر در جوانه زنی بذر شود (4). بسیاری از مطالعات همچنین اثرات بازدارندگی کروم را بر محتوای کلروفیل و کاروتنوئید نشان داده‌اند، به طوری که کروم می‌تواند تغییرات فراساختاری در کلروپلاست را ایجاد کند و در نتیجه فتوستتزر را مهار کند. تنش اکسیداتیو ناشی از کروم عملکرد بیوشیمیایی و مورفولوژی گیاهان را مختل می‌کند (5). احیای خاک آلوده به فلز از طریق گیاهان بیش انباشته کننده یک استراتژی زیست محیطی است. بنابراین گیاهان بیش تجمع کننده برای پاکسازی آلاینده های خاک موثر هستند. گیاه پالایی می‌تواند یک روش مقرون به صرفه و طولانی ارائه دهد. با این وجود، استفاده از گیاهان بیش تجمع دهنده برای استخراج کروم از خاک و آب پذیرفته شده است (6). بسیاری از مطالعات، چندین گونه بیش تجمع دهنده مانند کلزا، خردل و آفتابگردان را برای گیاه پالایی خاک آلوده به کروم نشان دادند (7). با این وجود، غلظت و تجمع بالای کروم ممکن است باعث تغییراتی در خواص بیوشیمیایی و مورفوفیزیولوژیکی شود که در نهایت منجر به بهره‌وری و کارایی پایین شود. پتانسیل فرآیند استخراج گیاهی اغلب با افزودن برخی کلاتورهای آلی و معدنی که تحرک و در دسترس بودن کروم را افزایش می‌دهند، بهینه می‌شود (8). مطالعات متعددی استفاده از اسیدهای آلی را گزارش کرده اند به طوری که اسید سیتریک نقش مهمی در افزایش رشد

تحت شرایط کروم دارد. این تحقیق با هدف تاثیر اسید سیتریک بر پارامترهای رشد و رنگیزه‌های فتوسنتزی لوبیا در معرض تنش کروم انجام شد.

### مواد و روش ها

بذر لوبیا با هیپوکلریت سدیم به مدت 5 دقیقه استریل شد و چند بار با آب مقطر شسته شد. غلظت کروم (0، 1 و 10 میلی‌مولار) و اسید سیتریک (0، 2/5 و 5 میلی‌مولار) به مدت 10 روز در طول رشد رویشی گیاهان اعمال شد. برداشت نهایی پس از 25 روز تیمار انجام شد و برگ ها جمع آوری شدند. در پایان تیماردهی، طول ساقه و ریشه با استفاده از خط کش اندازه‌گیری شد. طول ساقه از یقه تا قسمت انتهایی ساقه و طول ریشه از یقه تا انتهای ریشه در نظر گرفته شد. برای هر تیمار 3 تکرار در نظر گرفته شد و مقادیر بر اساس سانتیمتر گزارش شد. برای اندازه‌گیری وزن خشک، اندام هوایی و ریشه گیاه به طور جداگانه به مدت 48 ساعت در آون با دمای 70 درجه سانتیگراد قرار داده شد و پس از خشک شدن کامل نمونه‌ها، وزن خشک آنها اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی شامل کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها با استفاده از روش Lichtenthaler (1987) انجام پذیرفت (9).

تجزیه آماری در این پژوهش بر اساس طرح کاملاً تصادفی انجام و برای هر تیمار 3 تکرار در نظر گرفته شد. میانگین‌ها به روش دانکن در سطح احتمال 5 درصد و تجزیه واریانس دوطرفه با استفاده از نرم افزار SPSS انجام شد.

### نتایج و بحث

رشد گیاه لوبیا تحت تیمار کروم به طور معنی‌داری در مقایسه با گیاهان شاهد تحت تاثیر قرار گرفت. طول ریشه وابسته به دوز کروم بود، در حالی که کاهش مشابهی در طول ساقه در هر دو دوز کروم نسبت به گروه شاهد مشاهده شد. به طور مشابه، داده‌های ارائه شده در شکل نشان داد که تنش کروم به طور قابل توجهی وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه را کاهش داد. افزودن اسید سیتریک به تنهایی و با کروم به طور قابل توجهی پارامترهای رشد را افزایش داد (شکل 1، 2).

حداکثر افزایش طول اندام هوایی و ریشه، تحت کروم و اسید سیتریک در مقایسه با کروم به تنهایی ثبت شد. به طور مشابه، وزن تر اندام هوایی و ریشه به ترتیب 9 و 20 درصد تحت کروم و اسید سیتریک نسبت به گروه شاهد بهبود یافت. همچنین کاربرد 5 میلی‌مولار اسید سیتریک به تنهایی و با کروم 1 و 10 میلی‌مولار باعث افزایش معنی‌دار وزن خشک اندام هوایی و ریشه شد (شکل 1، 2). سمیت کروم به میزان زیادی از رشد و زیست توده گیاهان در مقایسه با شاهد جلوگیری کرد. مطالعه حاضر نشان داد که پارامترهای رشد لوبیا تحت افزایش غلظت کروم کاهش می‌یابد در حالی که سیتریک اسید اثرات ناشی از فلز را کاهش می‌دهد. ثابت شده است که تنش کروم رشد و تولید زیست توده را در آفتابگردان، گندم، نخود، برنج، کرچک و گل کلم کاهش می‌دهد. مطالعات نشان داده اند که کروم باعث کاهش زیست توده می‌شود، در حالی که استفاده از اسید سیتریک باعث بهبود اثر کاهش کروم بر زیست توده گیاه می‌شود (7، 8).

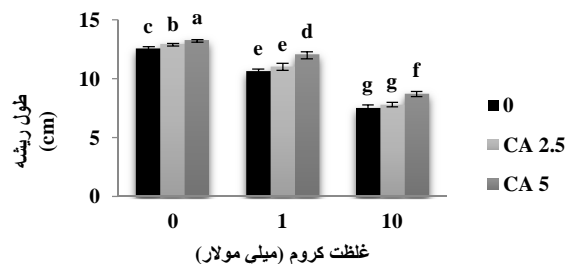
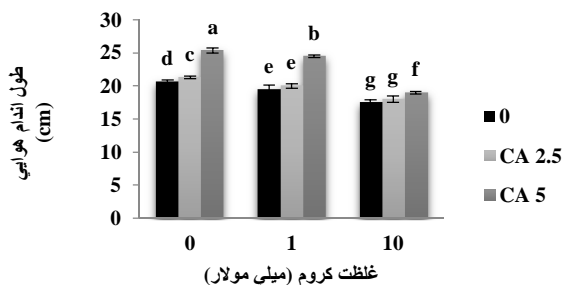
اثر اسید سیتریک بر پارامترهای رشد گیاهان لوبیا در مقایسه با شاهد به طور قابل توجهی افزایش یافت. اثر مثبت اسید سیتریک علاوه بر این به عنوان یک تنظیم کننده رشد گیاه به دلیل توانایی آن در افزایش جذب مواد مغذی و محافظت در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی نسبت داده می‌شود. مطالعات نشان داده است که کاربرد سیتریک اسید اثرات منفی کادمیوم و فلزات سنگین سرب را کاهش می‌دهد. مطالعات قبلی یافته‌های مشابهی را گزارش کردند که در آن سیتریک اسید به طور قابل توجهی اثرات مضر ناشی از فلزات سنگین را کاهش می‌دهد (10).

محتوای کلروفیل و کاروتنوئید در گیاهان رشد یافته در شرایط تنش کروم نسبت به شاهد کاهش معنی داری داشت. میزان کاروتنوئیدها و کلروفیل کل در 10 میلی مولار به ترتیب 21 و 40 درصد نسبت به شاهد کاهش یافت. با این حال، محلول پاشی اسید سیتریک به طور قابل توجهی محتوای کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید را بهبود بخشید. حداکثر غلظت کل کلروفیل و کاروتنوئیدها در گیاهانی که فقط با اسید سیتریک تیمار شده بودند و کمترین غلظت با تیمار 10 میلی مولار کروم به دست آمد (جدول 1). محتویات کلروفیل به عنوان معیاری برای ارزیابی پتانسیل تحمل فلزات سنگین گیاهان می باشد. در این مطالعه، سمیت کروم باعث کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی در لوبیا شد. نتایج حاضر موازی با یافته هایی است که کروم به طور قابل توجهی بر رنگدانه‌های فتوسنتزی و محتوای کاروتنوئیدهای آفتابگردان، ماش و جو تأثیر می گذارد (11,8).

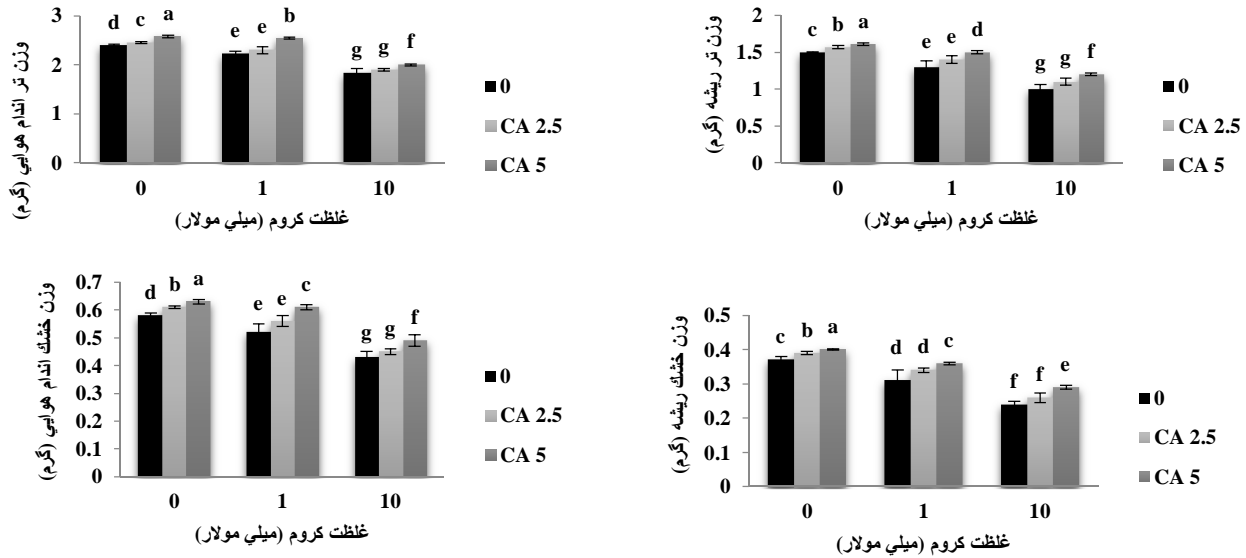
مشخص شد که کاربرد سیتریک اسید به طور قابل ملاحظه‌ای محتوای کلروفیل را در لوبیا بهبود بخشید که ممکن است به دلیل کاربرد سیتریک اسید باشد که باعث افزایش جذب مواد مغذی ضروری و همچنین تشکیل رنگدانه های فتوسنتزی می شود. بنابراین می توان پیشنهاد کرد که اسید سیتریک ممکن است یک کمپلکس کلات با کروم تشکیل داده باشد و در نتیجه سمیت آن را کاهش دهد (8).

جدول 1- اثر کروم و سترات بر مقدار رنگیزه های فتوسنتزی در گیاه لوبیا

تیمار	کلروفیل a (mg/gFW)	کلروفیل b (mg/gFW)	کاروتنوئید (mg/gFW)	کلروفیل کل (mg/gFW)
شاهد	0/96 ± 0/01 b	1/83 ± 0/05 a	2/79 ± 0/06 b	1/07 ± 0/02 b
1 میلی مولار کروم	0/95 ± 0/02 c	1/76 ± 0/09 b	2/71 ± 0/11 cb	0/95 ± 0/02 e
10 میلی مولار کروم	0/85 ± 0/05 e	0/81 ± 0/03 e	1/66 ± 0/88 f	0/85 ± 0/05 f
0 میلی مولار کروم + 2/5 میلی مولار اسید سیتریک	0/98 ± 0/02 ab	1/93 ± 0/07 a	2/91 ± 0/09 a	1/1 ± 0/02 ab
0 میلی مولار کروم + 5 میلی مولار اسید سیتریک	0/99 ± 0/02 a	1/86 ± 0/02 a	2/85 ± 0/04 a	1/15 ± 0/04 a
1 میلی مولار کروم + 2/5 میلی مولار اسید سیتریک	0/96 ± 0/02 c	1/84 ± 0/03 b	2/8 ± 0/04 c	0/97 ± 0/04 de
1 میلی مولار کروم + 5 میلی مولار اسید سیتریک	0/97 ± 0/03 bc	1/8 ± 0/03 b	2/77 ± 0/06 c	1/04 ± 0/04 cd
10 میلی مولار کروم + 2/5 میلی مولار اسید سیتریک	0/90 ± 0/01 e	1/41 ± 0/02 d	2/31 ± 0/03 e	0/88 ± 0/05 f
10 میلی مولار کروم + 5 میلی مولار اسید سیتریک	0/94 ± 0/01 d	1/73 ± 0/02 c	2/67 ± 0/03 d	1/02 ± 0/02 c



شکل 1- تاثیر سترات و کروم بر طول اندام هوایی و ریشه لوبیا



شکل 2- تاثیر سیترات و کروم بر وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه لوبیا

## نتیجه گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که کروم اثرات سمی قابل ملاحظه ای بر پارامترهای مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی لوبیا داشت در حالی که کاربرد سیترات اثرات منفی کروم را تعدیل کرد.

## تشکر و قدردانی

نگارنده از حوزه معاونت محترم پژوهشی دانشگاه پیام نور به دلیل حمایت مالی از پژوهش حاضر، صمیمانه سپاسگزاری می نماید.

## منابع

- 1- Rizwan, M., Ali, S., Abbas, F., Adrees, M., Zia-ur-Rehman, M., Farid, M., Gill, R.A., Ali, B., 2017. Role of organic and inorganic amendments in alleviating heavy metal stress in oil seed crops, First edition Oil Seed Crops: Yield and Adaptations under Environmental Stress, 12. John Wiley & Sons, Ltd., pp. 224–235.
- 2- Jabeen, N., Abbas, Z., Iqbal, M., Rizwan, M., Jabbar, A., Farid, M., Ali, S., Ibrahim, M., Abbas, F., 2016. Glycinebetaine mediates chromium tolerance in mung bean through lowering of Cr uptake and improved antioxidant system. *Arch. Agron. Soil Sci.* 62, pp.648–662.
- 3- Riaz, M., Yasmeen, T., Arif, M.S., Ashraf, M.A., Hussain, Q., Shahzad, S.M., et al., 2019. Variations in morphological and physiological traits of wheat regulated by chromium species in long-term tannery effluent irrigated soils. *Chemosphere* 222, pp.891–903.
- 4- Shahid, M., Shamshad, S., Rafiq, M., Khalid, S., Bibi, I., Niazi, N.K., Dumat, C., Rashid, M.I., 2017. Chromium speciation, bioavailability, uptake, toxicity and detoxification in soil-plant system: a review. *Chemosphere* 178, pp.513–533.
- 5- Tripathi, D.K., Singh, V.P., Prasad, S.M., Chauhan, D.K., Dubey, N.K., 2015. Silicon nanoparticles (SiNp) alleviate chromium (VI) phytotoxicity in *Pisum sativum* (L.) seedlings. *Plant Physiol. Biochem.* 96, pp.189–198.

- 9- Shakoob, M.B., Ali, S., Farid, M., Farooq, M.A., Tauqeer, H.M., Iftikhar, U., Hannan, F., Bharwana, S.A., 2013. Heavy metal pollution, a global problem and its remediation by chemically enhanced phytoremediation: a review. *J. Biodivers. Environ. Sci.* 3, pp.12–20.
- 6- Handa, N., Kohli, S.K., Thukral, A.K., Arora, S., Bhardwaj, R., 2017. Role of Se (VI) in counteracting oxidative damage in *Brassica juncea* L. under Cr (VI) stress. *Acta Physiologiae Plantarum* 39, pp.51.
- 7- Qureshi, F.F., Ashraf, M.A., Rasheed, R., Ali, S., Hussain, I., Ahmed, A., Iqbal, M., 2020. Organic chelates decrease phytotoxic effects and enhance chromium uptake by regulating chromium-speciation in castor bean (*Ricinus communis* L.). *Sci. Total Environ* 716, pp.137061.
- 8- Farid, M., Farid, S., Zubair, M., Rizwan, M., Ishaq, H.K., Ashraf, U., Alhaithloul, H.A.S., Gowayed, S., Soliman, M.H., 2020. Efficacy of *Zea mays* L. for the management of marble effluent contaminated soil under citric acid amendment; morpho-physiological and biochemical response. *Chemosphere* 240, pp.124930.
- 9- Lichtenthaler, H.K. و 1987. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. In: Methods in Enzymology, eds. L. Packer, and R. Douce. New York: Academic Press 350–382.
- 10- Kim, D.J., Park, B.C., Ahn, B.K., Lee, J.H., 2016. Thallium uptake and translocation in barley and sunflower grown in hydroponic conditions. *Int. J. Environ. Res.* 10, pp.575–582.
- 11- Amir, W., Farid, M., Ishaq, H.K., Farid, S., Zubair, M., Alharby, H.F., Bamagoos, A.A., Rizwan, M., Raza, N., Hakeem, K.R., Ali, S., 2020. Accumulation potential and tolerance response of *Typha latifolia* L. under citric acid assisted phytoextraction of lead and mercury. *Chemosphere* 257, pp.127247.

## The effect of citric acid in modifying the effects of chromium stress on growth parameters and photosynthetic pigments in bean plant

Kobra Mahdavian\*

Department of Biology, Faculty of Science, Payame Noor University, Tehran, Iran

[k.mahdavian@pnu.ac.ir](mailto:k.mahdavian@pnu.ac.ir)

### Abstract

Chromium has harmful effects on morphological and physiological traits of plants. This research was carried out with the aim of the effect of citric acid on growth parameters and photosynthetic pigments of beans under chromium stress. The results showed that dry weight, length of shoot and root, amount of chlorophyll and carotenoid decreased in plants under chromium stress. Addition of citric acid significantly increased fresh and dry weight, shoot and root length, chlorophyll and carotenoid content in bean plant. Therefore, citric acid plays this role by regulating the antioxidant system to reduce chromium toxicity.

**Keywords:** Chromium, citric acid, photosynthetic pigments, growth parameters

## نقش نیتریک اکساید در اثر نانوذرات دی اکسید سیلیکون بر تحریک جوانه زنی دانه کینوا

### تحت تنش سرب

عبدالعظیم کریمی برام<sup>1\*</sup>، ریحانه عموآقایی<sup>2</sup>، علی محمد احدی<sup>3</sup>

۱- دانشجوی دکتری، فیزیولوژی گیاهی دانشگاه شهرکرد، پست الکترونیک [karimi.abdolazim@gmail.com](mailto:karimi.abdolazim@gmail.com)

۲- دانشیار گروه علوم گیاهی دانشکده علوم، دانشگاه شهرکرد

۳- دانشیار گروه ژنتیک دانشکده علوم، دانشگاه شهرکرد

### چکیده

فلزات سنگین بر جوانه زنی بذر و رشد دانه رست‌ها تاثیر منفی دارد. پرایمینگ بذر با برخی از نانوذرات می‌تواند این اثرات بازدارندگی را کاهش دهد. بنابراین، در این تحقیق اثر سیلیکون و نانوذرات دی اکسید سیلیکون ( $nSiO_2$ ) بر شاخص‌های جوانه زنی کینوا (*Chenopodium quinoa*) در شرایط نرمال و تحت تنش سرب بررسی شد. ابتدا تأثیر غلظت‌های مختلف نیترات سرب (0، 125، 250، 500 و 1000 میکرومولار) بر جوانه زنی بذر بررسی شد. نتایج نشان داد که غلظت 250 میکرومولار سرب اثرات نامطلوبی بر جوانه زنی نسبی بذر و تحمل ازدیاد طول ریشه داشت و تقریباً به اندازه 50 درصد شاخص تحمل جوانه زنی بذر را کاهش داد. در دو آزمایش فاکتوریل بعدی، تأثیر پرایمینگ بذر با غلظت‌های مختلف سیلیکون و نانوذرات دی اکسید سیلیکون (1، 2، 4، 8 میلی مولار) بر جوانه زنی بذر و رشد دانه رست‌ها در شرایط نرمال و تحت تنش 250 میکرومولار سرب مورد ارزیابی قرار گرفت. سیلیکون و نانوذرات دی اکسید سیلیکون جوانه زنی بذر، طول دانه رست‌ها و شاخص بنیه تحت تنش سرب را به صورت وابسته به دوز بهبود بخشید و حداکثر پاسخ‌های بیولوژیکی را با غلظت 4 میلی مولار سیلیکون و نانوذره سیلیس به دست آمد. آزمایش نهایی نشان داد که تاثیر مثبت پرایمینگ بذر با نانوذرات دی اکسید سیلیکون بر جوانه زنی بذر، طول دانه رست‌ها و شاخص بنیه، با افزودن ماده پاکروبی کننده NO (cPTIO)، بازدارنده نیتریک اکسید سنتتاز (L-NAME) و مهار کننده نیترات ردوکتاز (تنگستات) معکوس شد. این مطلب نشان دهنده آن است که NO تولید شده توسط NOS یا NR نقش مهمی در پاسخ‌های جوانه زنی تنظیم شده بوسیله نانوذرات دی اکسید سیلیکون به ویژه تحت تنش سرب ایفا می‌کند.

**کلمات کلیدی:** کینوا، سرب، رشد، سیلیکون، نانوذرات دی اکسید سیلیکون

### مقدمه

مرحله جوانه زنی بذر و استقرار دانه رست، به عنوان مرحله بحرانی و مهمترین بخش از چرخه زندگی گیاه در نظر گرفته می‌شود که به شدت از تنش سرب متاثر می‌شود. آنزیم‌هایی مانند اسید فسفاتاز، پروتئازها و آمیلازها در تسهیل جوانه زنی بذر و رشد دانه رست از طریق به تحرک در آوردن مواد مغذی در آندوسپرم نقش دارند. مطالعات نشان دادند که در حضور سرب، با مهار این آنزیمها، نشاسته تجزیه نشده و این امر دسترسی به منابع غذایی و انرژی برای جوانه زنی را محدود می‌کند (Zhou et al., 2018). اخیراً مطالعات متعدد نشان داده است که نانوذرات در غلظت مناسب در بهبود جوانه زنی و رشد گیاه و همچنین در تحمل تنش‌ها



نقش دارند (Amooaghaie *et al.*, 2017)، عموآقایی و همکاران (1401). یکی از نانوذرات مفید برای بهبود تحمل به تنش‌ها خصوصاً تنش فلزات سنگین، نانوذرات حاوی سیلیکون است. بسیاری از محققان گزارش کرده‌اند که سیلیکون می‌تواند تنش فلزات سنگین را در مراحل مختلف رشد گیاه مانند جوانه‌زنی کاهش دهد (Muhammad *et al.*, 2015). اگرچه اثرات مفید نانوذرات حاوی سیلیکون روی جوانه‌زنی و تحمل تنش‌ها در گیاهان بخوبی ثابت شده است اما مکانیسم اثر و سیگنال‌های درگیر در این اثرات هنوز کاملاً شناخته نشده است. مطالعات نشان می‌دهد که نیتریک اکسید (NO) یکی از مولکول‌های سیگنالی مهم در گیاهان است که می‌تواند بطور آنزیمی به وسیله فعالیت آنزیم نیتریک اکسید سنتتاز (NOS) در طی تبدیل آرژنین به سیترولین سنتز شود. یا از طریق فعالیت نیتريت یا نیترات ردوکتاز تولید شود (Domingos *et al.*, 2015). نیتریک اکسید به عنوان یک مولکول سیگنالی نقشی مهمی در جوانه‌زنی دانه مخصوصاً در شرایط تنش‌زا دارد. برای مثال کاربرد سدیم نیتروپروساید به عنوان یک دهنده نیتریک اکساید در کنجد (*Sesamum indicum* L.) درصد جوانه‌زنی بذر، شاخص بنیه طولی و رشد گیاهچه را تحت تنش سرب افزایش داد (Pires *et al.*, 2016). Phang و همکاران (2011) گزارش کردند که تیمار نیترات سرب با غلظت 100 میکرومولار رشد نهال‌های 7 روزه آراییدوپسیس را کاهش داد و باعث تنش اکسیداتیو در نهال‌ها شد. پیش‌تیمار دانه‌ها با SNP باعث کاهش  $H_2O_2$  و پراکسیداسیون لیپیدی شد و رشد دانه‌رست را بهبود داد و همه این اثرات مطلوب SNP با کاربرد cPTIO مهار شد. بنابراین، آن‌ها نتیجه گرفتند که اثرات القاء شده با SNP وابسته به آزاد شدن نیتریک‌اکساید بوده است. با توجه به مطالب فوق، این فرضیه که نانوذرات دی اکسید سیلیکون ممکن است با رهاسازی سیلیکون و از طریق تحریک تولید نیتریک‌اکساید جوانه‌زنی دانه کینوا در شرایط تنش سرب را تنظیم کند مورد بررسی قرار گرفت.

#### مواد و روش‌ها

بذرهای کینوا از شرکت پاکان بذرافصهان خریداری گردید. در آزمایش اول، تأثیر غلظت‌های مختلف نیترات سرب بر جوانه‌زنی بذر و طول ریشه دانه‌رست‌ها در قالب طرح کامل تصادفی با 3 تکرار بررسی شد. پس از 10 روز، جوانه‌زنی نهایی بذر و طول ریشه اندازه‌گیری و شاخص تحمل ریشه، جوانه‌زنی نسبی بذر و شاخص تحمل جوانه‌زنی بر اساس فرمول‌های زیر برای تمامی تیمارها محاسبه شد (Mardani *et al.*, 2022).

$$\text{رابطه 1} \quad 100 \times \text{طول ریشه در شاهد} / \text{طول ریشه در تیمار} = \text{شاخص تحمل ریشه}$$

$$\text{رابطه 2} \quad 100 \times \text{تعداد بذرهای جوانه زده شاهد} / \text{تعداد بذرهای جوانه زده تیمار} = \text{جوانه‌زنی نسبی بذر}$$

$$\text{رابطه 3} \quad 100 / \text{جوانه‌زنی نسبی بذر} \times \text{درصد شاخص مقاومت ریشه} = \text{شاخص جوانه‌زنی}$$

در آزمایش دوم و سوم، برای بررسی بهترین غلظت سیلیکون و نانو دی‌اکسید سیلیکون، بذرهای استریل شده به مدت 6 ساعت در غلظت‌های مختلف سیلیکون و نانو دی‌اکسید سیلیکون (1، 2 و 8 میلی‌مولار) در تاریکی خیس‌انده شده و سپس بطور کامل با آب مقطر شستشو داده شدند و آنگاه به ظروف پتری حاوی آب مقطر (کنترل) یا 250 میکرومولار از محلول نیترات سرب انتقال داده شدند. جوانه‌زنی بذر روزانه به مدت 10 روز ثبت شد. همچنین درصد جوانه‌زنی نهایی بذر، طول دانه‌رست و شاخص بنیه بذر در تمام تیمارها ارزیابی شد (Nabaei *et al.*, 2019).

$$\text{رابطه 4} \quad \text{جوانه‌زنی نهایی} \times \text{طول دانه‌رست} = \text{شاخص بنیه}$$

در آزمایش چهارم برای بررسی بیشتر این که آیا نیتریک اکساید در اثر نانوذرات دی‌اکسید سیلیکون رفع مهار جوانه‌زنی بذرهای ناشی از نیترات سرب نقش دارد، با پیش‌تیمار با 2- (4-کربوکسی فنیل) - ۵،۴،۴،۵ - تترامتیل‌ایمیدازولین-1-اکسی 1-3-اکسید (cPTIO) به عنوان یک پاک‌روبی کننده نیتریک اکساید، Nx- نیترو L-آرژنین متیل استر هیدروکلراید (L-NAME) به عنوان یک مهارکننده نیتریک اکساید سنتتاز، و تنگستات به عنوان یک مهار کننده نیترات ردوکتاز، در ترکیب با نانوذرات دی‌اکسید سیلیکون بر جوانه‌زنی بذر و رشد دانه‌رست مورد مطالعه قرار گرفت. بر اساس آزمایش‌های اولیه غلظت 250 میکرومولار نیترات سرب، غلظت 4 میلی‌مولار نانوذرات دی‌اکسید سیلیکون در این آزمایش استفاده شد. بذرهای اول با نانوذرات بعد با بازدارنده تیمار شدند جوانه‌زنی بذر روزانه بررسی و طول دانه‌رست پس از 10 روز ثبت شد. همچنین درصد جوانه‌زنی نهایی بذر، طول دانه‌رست و شاخص بینه بذر در تمام تیمارها ارزیابی شد.

### نتایج و بحث

نتایج آزمایش اول نشان داد که جوانه‌زنی نسبی بذر و شاخص تحمل ریشه در 125 میکرومولار نیترات سرب تحت تأثیر قرار نگرفت، اما با افزایش غلظت سرب، این پارامترها کاهش یافتند (جدول 1). غلظت مؤثری که جوانه‌زنی نسبی بذرهای و شاخص تحمل ریشه را تا 50٪ (EC<sub>50</sub>) کاهش داد، غلظت 500 و 250 میکرومولار نیترات سرب بود که نشان داد که طولیل شدن ریشه نسبت به تنش سرب حساسیت بیشتری نسبت به جوانه‌زنی بذر دارد. نتایج ما با گزارش‌های نبئی و همکاران (2019) که اعلام کردند EC<sub>50</sub> برای مهارکنندگی کادمیوم بر جوانه‌زنی بذر و طولیل شدن ریشه گیاه پروانش در غلظت‌های 400 و 200 میکرومولار کادمیوم است، مشابهت داشت. بذرهای به وسیله پوشش دانه در مقابل بسیاری از تنش‌های خارجی محافظت می‌شوند که ممکن است دلیل حساسیت کمتر آن‌ها به تنش فلزات سنگین نسبت به ریشه‌ها باشد.

اثر سمیت سرب بر شاخص تحمل جوانه‌زنی بیشتر بود، بطوری که در 250 میکرومولار سرب، شاخص تحمل جوانه‌زنی به 39٪ رسید (جدول 1). در نتیجه، این غلظت برای آزمایش‌های بعدی انتخاب شد. شایان توجه است که شاخص تحمل جوانه‌زنی، هر دو مولفه جوانه‌زنی و رشد ریشه را در برمی‌گیرد، در نتیجه سمیت را بطور واقعی‌تری نشان می‌دهد. کاهش درصد جوانه‌زنی بذرهای ممکن است مربوط به اثرات منفی سرب در جذب آب و انتقال یا تغییر ویژگی‌های نفوذپذیری غشاء سلولی باشد. اثر مهاری سرب اضافی در طولیل شدن ریشه نیز ممکن است به دلیل کاهش تقسیم سلولی باشد (Vesna et al., 2020).

جدول 1- مقایسه میانگین اثرات تنش سرب بر شاخص‌های جوانه‌زنی

غلظت‌های سرب (میکرومولار)	درصد جوانه‌زنی بذر	طول ریشه (سانتی‌متر)	جوانه‌زنی نسبی بذر (%)	شاخص تحمل ریشه (%)	شاخص تحمل جوانه‌زنی (%)
0	a84/757	a1/48667	a100	a100	a100
125	a82/853	b1/07333	a97/3	b72/3	b70/0
250	b68/570	c0/71667	b80/6	c48/3	c39/0
500	c56/173	d0/52667	c66/3	d35/3	d23/3
100	d43/803	e0/28667	d51/0	e19/3	e14/6

اعداد میانگین سه تکرار ± خطا و حروف غیر یکسان مبین وجود تفاوت معنی‌دار در سطح 5 درصد آزمون دانکن است.

در نتایج آزمایش دوم و سوم نشان داد که سیلیکون و نانوذره دی‌اکسید سیلیس جوانه‌زنی بذر، طول دانه‌رست‌ها و شاخص بینه تحت تنش سرب را به صورت وابسته به دوز بهبود بخشید (جدول 2). ماکزیمم پاسخ بیولوژیکی سیلیکون و نانوذره دی‌اکسید سیلیکون

برای مهار اثرات نیترات سرب بر شاخص‌های جوانه‌زنی در غلظت 4 میلی مولار، به دست آمد. به همین دلیل این غلظت برای آزمایش‌های بعدی انتخاب گردید.

جدول 2- مقایسه میانگین اثرات سطوح مختلف غلظت‌های سیلیکون و نانوذرات دی‌اکسید سیلیکون بر جوانه‌زنی بذر و رشد

دانه‌رست‌ها در شرایط نرمال و تحت تنش 250 میکرومولار سرب

Si			nSiO <sub>2</sub>			غلظت‌های Si یا SiO <sub>2</sub> غلظت‌های	غلظت‌های سرب (میکرومولار)
ویگور(شاخص بذر)	طول دانه‌رست	درصد جوانه‌زنی	ویگور(شاخص بذر)	طول دانه‌رست	درصد جوانه‌زنی		
c249/96	c3/01	bc82/85	c251/29	bc3/03	cd82/85	0	0
c254/37	c3/07	bc82/85	bc274/33	b3/16	b86/66	1	0
b288/30	b3/32	ab86/66	a358/46	a3/88	a92/37	2	0
a319/94	a3/57	a89/52	a342/20	a3/74	a91/42	4	0
c254/52	bc3/21	cd79/04	b283/24	b3/34	bc84/76	8	0
ef118/79	e1/74	g67/62	f109/88	e1/62	g67/62	0	250
ef123/30	e1/75	fg69/52	f111/84	e1/55	f72/38	1	250
e139/60	e1/93	ef72/38	e172/14	d2/26	e76/19	2	250
d190/92	d2/53	de75/23	d222/43	c2/75	d80/95	4	250
f103/84	e1/73	h59/99	e156/22	ef2/08	ef75/24	8	250

اعداد میانگین سه تکرار  $\pm$  خطا و حروف غیر یکسان مبین وجود تفاوت معنی‌دار در سطح 5 درصد آزمون دانکن است.

غلظت‌های 1 و 8 میلی مولار سلیکون و 8 میلی مولار نانوذرات دی‌اکسید سیلیکون بطور معنی‌داری جوانه‌زنی بذر را تحت تأثیر قرار نداد، اما غلظت 2 و 4 میلی مولار بیشترین تأثیر را در جوانه‌زنی بذر، طول دانه رست و بنیه بذر در شرایط عادی داشتند (جدول 2). مطابق با نتایج این آزمایشات Amiri و همکاران (2014) در گزارش خود بیان کردند که سیلیسیم اثرات نامطلوب فلزات سنگین را بر شاخص‌هایی مانند طول دانه‌رست و شاخص بنیه بذر ترمیم می‌کنند. فاطمی و همکاران (1396) گزارش دادند که محلول پاشی با نانوذرات سیلیسیم با غلظت‌های 1/5 و 3 میلی مولار صفات مورفولوژی گیاه گشنیز تحت تنش سرب مانند طول دانه‌رست، وزن و طول ریشه و درصد ماده خشک برگ را افزایش می‌دهد.

نتایج آزمایش چهارم هم نشان داد که سمیت سرب باعث کاهش جوانه‌زنی بذر، طول دانه‌رست و بنیه بذر شده است (جدول 1). پیش تیمار با سیلیکون و نانوذرات دی‌اکسید سیلیکون به طور معنی‌داری اثرات زیانبار سمیت سرب بر این صفات را کاهش داد. تحت تنش سرب جوانه‌زنی بذر، طول دانه‌رست و بنیه بذر، با تیمار سیلیکون و نانوذرات دی‌اکسید سیلیکون افزایش یافت (جدول 2). پیش تیمار با cPTIO به عنوان یک پاکروبی کننده نیتریک اکساید، L-NAME به عنوان یک مهارکننده نیتریک اکساید سنتاز، و تنگستات به عنوان یک مهار کننده نیترات ردوکتاز، به طور معنی‌داری جوانه‌زنی بذر، طول دانه‌رست و بنیه بذر را در مقایسه با تیمار نانوذرات دی‌اکسید سیلیکون در هر دو شرایط نرمال و تنش سرب کاهش داد (جدول 3). این نتایج جدید پیشنهاد می‌کند که نانوذرات دی‌اکسید سیلیکون احتمالا جوانه‌زنی را از طریق تحریک تولید نیتریک اکساید در داخل بذر بوسیله آنزیم‌های نیتریک اکساید سنتاز و نیترات ردوکتاز القاء می‌کند.

جدول 3- مقایسه میانگین تأثیر پرایمینگ بذر با نانوذره سیلیس و بازدارنده های نیتریک اکساید بر جوانه‌زنی بذر، طول دانه‌رست‌ها و شاخص بنیه تحت تنش

سرب

تیمارها	درصد جوانه‌زنی	طول دانه‌رست	ویگور(شاخص بنیه بذر)
Control	b82/85	c3/05	c252/62

b307/08	b3/43	a89/52	Si
a353/45	a3/78	a93/32	nSiO <sub>2</sub>
f159/79	f2/33	d68/56	CPTIO
f164/29	Cd2/88	f57/14	TU
ef165/48	ef2/56	de64/75	LNAM
g119/40	g1/74	d68/56	Pb
e183/20	f2/78	c75/23	Pb+Si
d225/46	de2/78	b80/95	Pb+n
h80/50	h 1/34	f59/99	Pb+n+CPTIO
h75/51	h1/23	ef60/95	Pb+n+TU
h68/69	h1/39	g49/52	Pb+n+LNAM

اعداد میانگین سه تکرار  $\pm$  خطا و حروف غیر یکسان مبین وجود تفاوت معنی‌دار در سطح 5 درصد آزمون دانکن است.

مشخص شده است NO درونی در تحریک تجزیه ذخایر بذر و انتقال آنها به رویان بذر نقش دارد و در نتیجه جوانه‌زنی بذر در شرایط طبیعی را افزایش می‌دهد. بیشتر فلزات سنگین فعالیت آمیلاز را سرکوب کرده و تبدیل ذخایر دانه به قندهای محلول را کاهش می‌دهند که موجب کاهش جوانه‌زنی بذر میشود. NO، سبب افزایش فعالیت آنزیم آمیلاز و محتوای قندهای محلول و در نتیجه تحریک جوانه‌زنی بذر تحت تنش می شود (Domingos *et al.*, 2015). نبئی و همکاران (2019) نیز دریافتند کاربرد سدیم نیتروپروساید (SNP) به عنوان دهنده NO، با افزایش فعالیت آنزیم آمیلاز و محتوای قندهای محلول، اثرات مهای ناشی از تنش کادمیوم بر جوانه‌زنی بذر، سرعت جوانه‌زنی، طول گیاهچه و بنه طولی را کاهش داد. کاربرد cPTIO به عنوان یک پاکروبی کننده NO اثرات مطلوب SNP بر جوانه‌زنی بذر پروانش تحت تنش کادمیوم را تا حدود زیادی کاهش داد. مشابه با نتایج ما پیروز و همکاران (2021) هم دریافتند تحت سمیت مس، تیمار سیلیکون، وزن تر و خشک ریشه‌ها و بخش هوایی گیاهچه مریم گلی را افزایش داد و پیش تیمار با cPTIO، L-NAME و تنگستات به طور معنی‌داری وزن تر و خشک ریشه‌ها و بخش هوایی را در مقایسه با تیمار سیلیکون به تنهایی کاهش داد.

#### نتیجه‌گیری

در مجموع می‌توان نتیجه‌گیری کرد که احتمالاً نانوذرات دی‌اکسید سیلیکون با رهایی سیلیکون تولید نیتریک اکساید درونی بذر بوسیله آنزیم‌های نیتریک اکساید سنتاز و نیترات ردوکتاز القاء می‌کند و نیتریک اکساید با تحریک تبدیل ذخایر دانه به قندهای محلول جوانه‌زنی و رشد دانه رست کینوا را افزایش می‌دهد.

#### منابع

فاطمی، ح، اسماعیلی‌پور، ب، سلطانی طولارود، ع، نعمت الله زاده، ع. (1396) تاثیر محلول پاشی نانوذرات سیلیسیم بر برخی شاخص‌های مورفولوژیک و بیوشیمیایی گیاه گشنیز (*Coriandrum sativum L*) در شرایط تنش فلز سنگین سرب. دو ماهنامه علمی- پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. جلد 33، شماره 5، صفحه 853-870.

عموآقایی، ر، مجیدی، م، فرهادیان. ص. (1401) اثر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم بر تحمل تنش شوری در گیاه زنیان (*Carum copticum*). مجله فرآیند و کارکرد گیاهی، جلد 19 شماره 48 ص 33-19.

Amiri A., Bagheri, A., Khajeh, M., Najafabadi pour, F. and Yadollahi, P., 2014. Effect of silicon foliar application on yield and antioxidant enzymes activity of safflower under limited irrigation conditions. *Journal of Crop Production Research*, 5(4): 372-361.

Amooaghaie, R., Norouzi, M., Saeri, M. 2017. Impact of zinc and zinc oxide nanoparticles on the physiological and biochemical processes in tomato and wheat. *Botany*. 95(5): 441-445. DOI: 10.1139/cjb-2016-0194.

- Amooaghaie, R., zangene-madar, F., Enteshari, S., 2017. Role of two-sided crosstalk between NO and H<sub>2</sub>S on improvement of mineral homeostasis and antioxidative defense in *Sesamum indicum* under lead stress. Environ. Saf. 139, 210–218. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.01.037>.
- Mardani Korrani F, Amooaghaie R, Ahadi, A. 2022. He–Ne laser enhances seed germination and salt acclimation in *Salvia officinalis* seedlings in a manner dependent on phytochrome and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Protoplasma 260(1):103-116.
- Maryam, S. D., Izhar, A., Sidra, R. 2021. Effect of silicon and silicon nanoparticles on lead-treated wheat seedlings in hydroponic condition. <http://dx.doi.org/10.12692/ijb/19.4.173-178>. International Journal of Biosciences 194: 173-178, 2021.
- Muhammad, A., Shafaqat, A., Muhammad, R., Muhammad, Z., Muhammad, I., Farhat, A., Mujahid, F., Muhammad, F., Muhammad. 2015. Mechanisms of silicon-mediated alleviation of heavy metal toxicity in plants. Environmental Safety. 119: 186–197.
- Nabaei, M., Amooaghaie, R., 2019. Interactive effect of melatonin and sodium nitroprusside on seed germination and seedling growth of *Catharanthus roseus* under cadmium stress. Russ. J. Plant Physiol. 66, 128–139. <https://doi.org/10.1134/S1021443719010126>.
- Pirooz, P., Amooaghaie, R., Ahadi, A., Sharififar, F., 2021. Silicon- induced nitric oxide burst modulates systemic defensive responses of *Salvia officinalis* under copper toxicity. Plant Physiology and Biochemistry 162: 752–761.
- Pires, R.M.D.O., Souza, G.A.D., Cardoso, A.Á. and Dias, D.C.F.D.S., 2016. Action of nitric oxide in sesame seeds (*Sesamum indicum* L.) submitted to stress by cadmium. journal of Seed Science, 38, 22-29.
- Vesna, R., Ilija, D., Branka Z. 2020. Characteristics of cadmium and lead accumulation and transfer by *Chenopodium Quinoa* Will. ). Sustain. 12: 3789. doi:10.3390/su12093789.
- Vidueiros, S.M., Curti, R.N., Dyer, L.M., Binaghi, M.J., Peterson, G., Bertero, H.D., Pallaro, A.N. 2015. Diversity and interrelationships in nutritional traits in cultivated quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) from Northwest Argentina. J. Cereal Sci. 62: 87–93.
- Zhou, J., Zhang, Z., Zhang, Y., Wei, Y., Jiang, Z. 2018. Effects of lead stress on the growth, physiology, and cellular structure of privet seedlings. PLoS ONE. 13(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0191139>.

## The role of NO in impact silicon dioxide nanoparticles on promoting germination of quinoa seeds under lead stress

### Abstract

Heavy metals have negative effect on seed germination and seedling growth. Seed priming with some nanoparticles can alleviate these inhibitory effects. Therefore, in this study the effect of Si and nSiO<sub>2</sub> was investigated on the germination indices of quinoa (*Chenopodium quinoa*) at normal condition and under Pb stress. In first, impact of various concentrations of lead nitrate (0, 125, 250, 500 and 1000 ppm) was assessed on seed germination. Results showed that 250 μM pb had adverse impacts on the relative seed germination, root elongation tolerance and reduced seed germination tolerance index approximately 50%. In next two factorial experiments, impact of seed priming with various concentrations of Si and nSiO<sub>2</sub> (1, 2, 4 and 8 mM) was evaluated on seed germination and seedling growth under both normal and 250 μM pb conditions. The Si and nSiO<sub>2</sub> improved the seed germination, seedling length, and vigor index under Pb stress in a dose-dependent manner and the maximum biological responses obtained by concentration of 4 mM Si and nSiO<sub>2</sub>. Final experiment showed that positive effect of seed priming with nSiO<sub>2</sub> on the seed germination, germination rate, seedling length, and vigor index was reversed by the addition of the specific scavenger of NO (cPTIO), inhibitor of nitric oxide synthesis (L-NAME) and inhibitor of Nitrate reductase (tungstate). This suggests that NO generated by NOS or NR plays an important role in nSiO<sub>2</sub>-mediated germination responses especially under Pb stress.

**Key words:** quinoa , Lead, Growth, Silicon, Nanoparticles.

## اثر تاریخ کاشت و کاربرد سولفات روی بر بیوماس و خصوصیات مورفوفیزیولوژیک گوار در منطقه رومشگان

امید امرایی<sup>1</sup>، محمدرضا مرادی تلاوت<sup>2\*</sup>، سیدعطاءالله سیادت<sup>3</sup>، علی مشتقی<sup>3</sup> و بهروز میردریگوند<sup>4</sup>

1، 3 و 4. به ترتیب دانشجوی سابق، عضو هیات علمی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان و کارشناس سازمان جهاد کشاورزی

استان لرستان

\*2 نویسنده مسؤول و دانشیار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان

moraditelvat@asnrukh.ac.ir & moraditelvat@yahoo.com

### چکیده

تحقیق حاضر جهت بررسی اثر تاریخ کاشت و سطوح مختلف سولفات روی بر عملکرد گوار در مزرعه جهاد کشاورزی مرکز رومشگان واقع در 40 کیلومتری شهرستان پلدختر در سال 1400 به صورت اسپلیت پلات در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. تاریخ کاشت در سه سطح (1 و 20 اردیبهشت و 10 خرداد) و تیمارهای سولفات روی در چهار سطح صفر، 20، 40 و 60 کیلوگرم در هکتار سولفات روی به صورت خاک-کاربرد بررسی شدند. نتایج نشان داد که اثر تاریخ کاشت و سولفات روی بر وزن خشک برگ، سطح ویژه برگ، عملکرد بیولوژیک، تعداد برگ در بوته و شاخص سطح برگ معنی دار شد. بالاترین عملکرد ماده خشک (بیوماس) تاریخ کاشت 10 خرداد به میزان 3889/7 کیلوگرم در هکتار حاصل گردید. کاربرد سولفات روی نیز سبب تولید بیشترین بیوماس (13644 کیلوگرم در هکتار) در تیمار 60 کیلوگرم در هکتار سولفات روی گردید. بیشترین تعداد برگ در بوته (846/75 برگ) و شاخص سطح برگ (6/02) در تاریخ کاشت 10 خرداد و به کاربرد 60 کیلوگرم در هکتار سولفات روی (به ترتیب 689/44 برگ و 5/43) به دست آمد. بیشترین وزن خشک برگ در بوته در تیمار کاربرد 20 کیلوگرم در هکتار سولفات روی به میزان 21/08 گرم و بیشترین سطح ویژه برگ در تاریخ کاشت 20 اردیبهشت و در تیمار عدم کاربرد سولفات روی (0/47) به دست آمد.

واژگان کلیدی: بقولات، ریزمغذی، سطح ویژه برگ، عملکرد ماده خشک، لویبای خوشه‌ای

### مقدمه

گوار با نام علمی *Cyamopsis tetragonoloba* گیاهی یک ساله از خانواده بقولات و متحمل به خشکی و شوری است. گوار گیاهی است روزکوتاه و نورپسند که طالب آب و هوای گرم بوده و دارای رشد نامحدود و همچنین متحمل به خشکسالی و شوری است. از غلاف‌های سبز و گوشتی گوار به عنوان منبع غذایی استفاده شده که حاوی مقادیر بالایی از مواد معدنی، فیبر و پروتئین است. دانه گوار از نظر اندازه نصف دانه سویا و آندوسپرم دانه این گیاه محتوی شیره گالاکتومانان است. گیاه گوار علاوه بر استفاده از علوفه و دانه، مصارف صنعتی و داروئی دارد و با توجه به تثبیت زیستی نیتروژن در خاک به عنوان کود سبز نیز استفاده شود (احمدی نورالدین‌وند و همکاران، 1398).

تاریخ کاشت، رسیدگی گوار را تحت تاثیر قرار می‌دهد. بالا بودن دمای هوا در طول فصل رشد، طول روزهای بلند و آب و هوای خشک، باعث افزایش سرعت فتوسنتز، افزایش بیوماس و عملکرد دانه می‌شود. ترکیب اثر منفی دماهای پایین، رطوبت بالا و طول روز کوتاه باعث کاهش عملکرد گوار خواهد شد (سودهیر و همکاران، 2015).

تاریخ کاشت عامل مهمی است که بر طول دوره رشد رویشی و زایشی و توازن بین آنها و نهایتاً عملکرد و کیفیت محصول اثر می‌گذارد. تغذیه معدنی گیاهان زراعی از مهم‌ترین جنبه‌های تولید است و در بین عناصر ریزمغذی عنصر روی نقش اساسی در فعالیت‌های کاتالیک پروتئین و آنزیم‌های دخیل در پروسه‌های بیولوژیک در گیاهان در حال رشد و نمو دارد تسهیل فعالیت بسیاری از آنزیم‌ها در گیاه وابسته به وجود مقادیر مناسبی از عنصر روی است. به علاوه عنصر روی در جهت رشد نرمال گیاه، بیوستنز تنظیم‌کننده‌های رشد از قبیل اکسین در جهت افزایش تولید سلول‌های گیاهی و بیوماس گیاهی و در نهایت عملکرد نهایی دانه مورد نیاز گیاه است (سونیل و همکاران، 2017)..

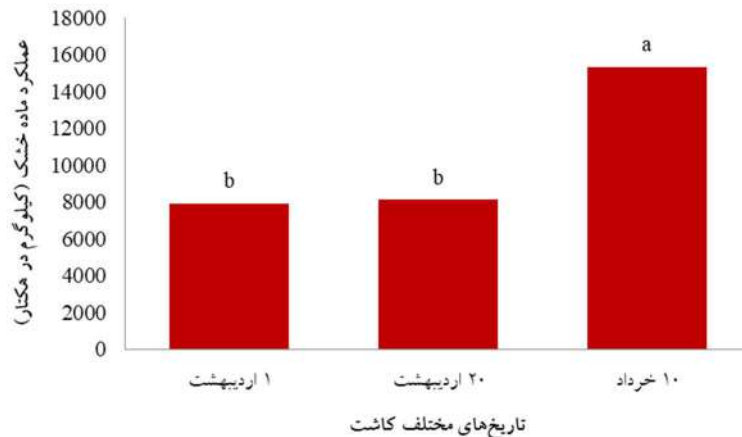
#### مواد و روش‌ها

جهت بررسی اثر تاریخ کاشت و سطوح سولفات روی بر عملکرد گوار در مزرعه جهاد کشاورزی مرکز رومشکان واقع در 40 کیلومتری شهرستان پلدختر در سال 1400 به صورت اسپلیت پلات در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. تاریخ کاشت در سه سطح (1 و 20 اردیبهشت و 10 خرداد) و تیمارهای سولفات روی در چهار سطح صفر، 20، 40 و 60 کیلوگرم در هکتار سولفات روی به صورت خاک-کاربرد بررسی شدند. صفات مورد بررسی شامل ماده خشک (بیوماس) در واحد سطح مزرعه، شاخص سطح برگ، وزن خشک و تعداد برگ در بوته و همچنین سطح ویژه برگ (SLA) بود. آنالیز آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS و رسم نمودارها و جداول مربوطه به ترتیب به وسیله‌ی برنامه‌ی Excel و WORD صورت گرفت.

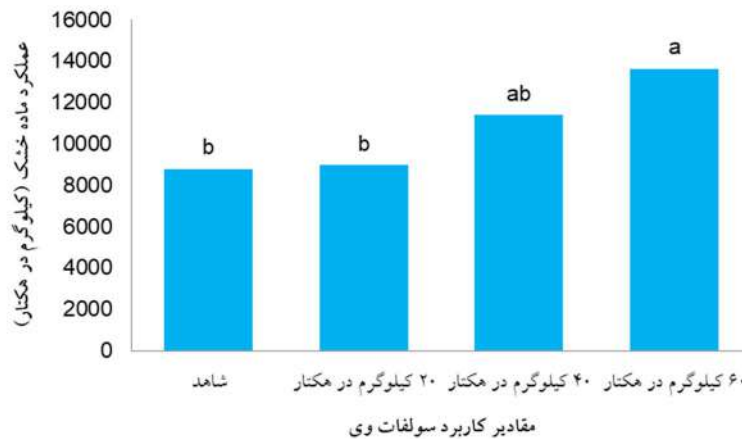
#### نتایج و بحث

در تاریخ کاشت 10 خرداد بالاترین عملکرد ماده خشک (بیوماس) (15357 کیلوگرم در هکتار) حاصل شد و این تاریخ کاشت با دو تاریخ کاشت دیگر اختلاف معنی‌دار داشت. همچنین کمترین عملکرد ماده خشک (7932 کیلوگرم در هکتار) در تاریخ کاشت 1 اردیبهشت به دست آمد (شکل 1). عملکرد ماده خشک وابسته به مدت و شرایط رشد در تاریخ‌های مختلف کاشت است. در تاریخ‌های کاشت بسیار دیر شرایط نامساعد محیطی از قبیل دما و فتوپریود منجر به کاهش طول دوره رشد و ماده‌سازی در گیاه گوار شده و عملکرد ماده خشک نیز کاهش می‌یابد. در حالی که در تاریخ‌های مطلوب، تولید بالاتر ماده خشک به دلیل منابع بیشتر از مواد غذایی و تحرک بیشتر آنها برای انتقال به اندام‌های مختلف است.

افزایش کاربرد سولفات روی منجر به افزایش بیوماس شد به طوری که بالاترین عملکرد ماده خشک (13644 کیلوگرم در هکتار) با 60 کیلوگرم در هکتار سولفات روی به دست آمد و این تیمار با کاربرد 40 کیلوگرم در هکتار سولفات روی اختلاف معنی‌دار نداشت. کمترین عملکرد ماده خشک به میزان 8795 کیلوگرم در تیمار شاهد حاصل شد (شکل 2). افزایش میزان عملکرد ماده خشک در اثر کاربرد کود سولفات روی به دلیل افزایش میزان سنتز اکسین، تشکیل گره در بوته و در نتیجه افزایش تثبیت نیتروژن در گیاه بوده که به افزایش رشد بوته و اجزای عملکرد و در نتیجه افزایش بیوماس منجر شده است (مینا و همکاران، 2010).



شکل 1. اثر تاریخ کاشت بر عملکرد ماده خشک در واحد سطح مزرعه



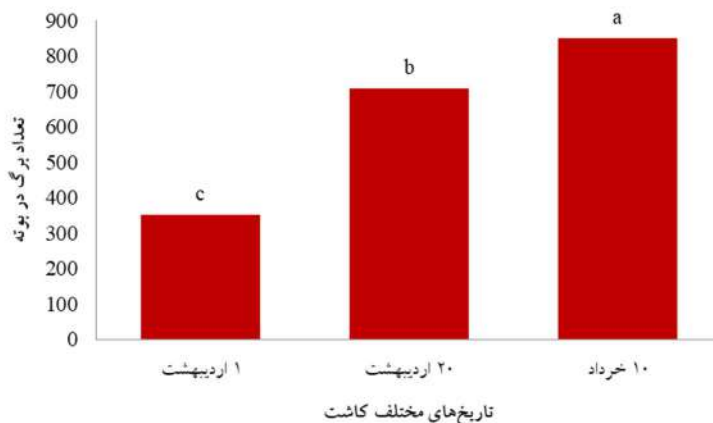
شکل 2. واکنش عملکرد ماده خشک به سطوح مختلف سولفات روی

بیشترین تعداد برگ در بوته در تاریخ کاشت 10 خرداد (849/75 برگ) حاصل گردید و این تیمار با دو تاریخ کاشت دیگر دارای اختلاف معنی‌دار بود. همچنین تعداد برگ در بوته در تاریخ کاشت 1 و 20 اردیبهشت به ترتیب برابر با 352/5 و 708/33 برگ در بوته بود (شکل 3). تأخیر در کاشت گوار تا 10 خرداد سبب شد که تعداد برگ در بوته افزایش یابد. کاشت در زمان 10 خرداد با دماهای بالاتر و مطلوب جهت رشد بیشتر گوار همگام بوده و در نتیجه منجر به افزایش تعداد برگ در بوته به عنوان واحدهای فتوسنتز کننده گیاه شده و میزان فتوسنتز نیز افزایش یافت. کاربرد سولفات روی در سطوح 20، 40 و 60 کیلوگرم در هکتار نسبت به تیمار عدم کاربرد سولفات روی، تعداد برگ در بوته را افزایش داد. بر طبق نتایج مشخص شد که کمترین تعداد برگ در بوته در تیمار عدم کاربرد سولفات روی به تعداد 596/22 برگ در بوته به دست آمد. همچنین بیشترین تعداد برگ در بوته در تیمار کاربرد 60 کیلوگرم در هکتار سولفات روی به تعداد 689/44 برگ در بوته به دست آمد (شکل 4).

بیشترین وزن خشک برگ در بوته (21/08) در تیمار کاربرد 20 کیلوگرم در هکتار سولفات روی گرم به دست آمد و این تیمار در همین تاریخ کاشت با سایر تیمارهای کاربرد سولفات روی اختلاف اماری معنی‌داری نداشت. همچنین کمترین وزن خشک برگ



در بوته در تیمار عدم کاربرد سولفات روی در دو تاریخ کاشت 1 و 20 اردیبهشت و به ترتیب با 8/35 و 8/20 گرم حاصل گردید و این دو تیمار با هم اختلاف معنی داری نداشتند (جدول 1).



شکل 3. اثر تاریخ کاشت بر تعداد برگ در بوته



شکل 4. اثر سطوح مختلف سولفات روی بر تعداد برگ در بوته

جدول 1- میانگین وزن خشک برگ گوار (گرم) تحت تاثیر متقابل تیمارهای تاریخ کاشت و سولفات روی

تاریخ کاشت	مقدار کاربرد سولفات روی		
	شاهد	20 کیلوگرم در هکتار	40 کیلوگرم در هکتار
1 اردیبهشت	8/35 <sup>b</sup>	10/86 <sup>c</sup>	11/22 <sup>b</sup>
20 اردیبهشت	8/20 <sup>b</sup>	11/69 <sup>b</sup>	19/83 <sup>a</sup>
10 خرداد	20/88 <sup>a</sup>	21/08 <sup>a</sup>	20/35 <sup>a</sup>

میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشابه هستند فاقد اختلاف معنی دار براساس آزمون آماری دانکن هستند

جدول 2- میانگین سطح ویژه برگ گوار تحت تاثیر متقابل تیمارهای تاریخ کاشت و سولفات روی

تاریخ کاشت	مقدار کاربرد سولفات روی		
	شاهد	20 کیلوگرم در هکتار	40 کیلوگرم در هکتار
1 اردیبهشت	0/32 <sup>cd</sup>	0/26 <sup>e</sup>	0/35 <sup>c</sup>

0/28 <sup>d</sup>	0/4 <sup>b</sup>	0/36 <sup>c</sup>	0/47 <sup>a</sup>	20 اردیبهشت
0/33 <sup>cd</sup>	0/29 <sup>d</sup>	0/26 <sup>e</sup>	0/26 <sup>e</sup>	10 خرداد

- میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشابه هستند فاقد اختلاف معنی‌دار براساس آزمون آماری دانکن می‌باشند.

در سطوح صفر، 20 و 40 کیلوگرم سولفات روی در هکتار بیشترین سطح ویژه برگ در تاریخ کاشت 20 اردیبهشت به دست آمد. در حالی که در سطح 60 کیلوگرم سولفات روی در هکتار، کمترین سطح ویژه برگ در تاریخ کاشت 20 اردیبهشت مشاهده شد. در مجموع بیشترین سطح ویژه برگ در تاریخ کاشت 20 اردیبهشت و در تیمار عدم کاربرد سولفات روی (0/47) به دست آمد. همچنین کمترین سطح ویژه برگ (0/26) در تاریخ کاشت 1 اردیبهشت با کاربرد 20 کیلوگرم در هکتار سولفات روی و در تاریخ کاشت 10 خرداد با کاربرد 20 کیلوگرم در هکتار و عدم کاربرد سولفات روی به دست آمد (جدول 2).

### نتیجه گیری

با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان در نظر گرفت در صورت تکرار نتایج آزمایش حاضر می‌توان بیان نمود که تاریخ کاشت دهم تیرماه و 40 کیلوگرم سولفات روی در هکتار می‌تواند مورد توصیه قرار گیرد.

### منابع

احمدی نورالدین وند، فرناز، مرادی تلاوت، محمدرضا، سیادت، سید عطاءاله و مشتقی، علی. 1398. واکنش رشد رویشی و زایشی گوار (*Cyamopsis tetragonoloba* L) به کاربرد هیومیکاسید در آب آبیاری تحت تأثیر تراکمهای مختلف کاشت.

Meena, L.R. and H.S. Jat. 2016. Role of zinc on productivity, quality traits and economic performance of cluster bean under semi-arid condition of Rajasthan, India. *Legume Research*, 39 (5): 762-767.

Sunil, S D, Bhattoo, M.S. and Rajbir S K. 2017. Effect of Zinc and Sulphur on Growth, Yield and Economics of Clusterbean [*Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub.]. *International Journal of Current Microbiology and Applied Science*. 6(11): 3744-3751.

## Effect of planting date and application of zinc sulfate on biomass and morpho-physiological characteristics of guar in Rumeshgan region

### Abstract

The current research was conducted to investigate the effect of planting date and levels of zinc sulfate on guar yield in Jihad Agricultural Farm, Rumeshkan center, located 40 km from Poldakhter city in 1400, in the form of a randomized complete block design with three replications. Planting date in three levels (May 1, 20 and June 10) and zinc sulfate treatments in four levels of 0, 20, 40 and 60 kg per hectare of zinc sulfate were investigated. The effect of planting date and zinc sulfate on plant characteristics were significant. The highest dry matter yield was obtained on the date of planting on June 10 at the rate of 3889.7 kg per hectare. The application of zinc sulfate also caused the production of the highest biomass (13644 kg/ha) in the treatment of 60 kg/ha of zinc sulfate. The highest number of leaves per plant (846.75 leaves) and leaf area index (6.02) were obtained on the planting date of June 10 and with the application of 60 kg per hectare of zinc sulfate (689.44 leaves and 5.43, respectively). The highest dry weight of leaves per plant was obtained in the treatment of application of 20 kg/ha of zinc sulfate at the rate of 21.08 grams, and the highest specific leaf area was obtained in the planting date of 20 May and in the treatment of no application of zinc sulfate (0.47).

**Keywords:** Legumes, yield, physiological efficiency, cluster bean

## واکنش ویژگی های حیات سلول های برگ نیشکر به تیمار آبیاری و اسیدآسکوربیک در

### شرایط تنش سرما

فیصل حمید<sup>1</sup>، محمدرضا مرادی تلاوت<sup>2\*</sup>، علی مشتقی<sup>3</sup>، عزیز کرملاجعب<sup>4</sup> و علی حمدی سنگری<sup>4</sup>

1، 3 و 4. به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، عضو هیات علمی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان و

کارشناس شرکت توسعه نیشکر و فرآورده های جانبی

2\* نویسنده مسئول و دانشیار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان

moraditelvat@asnrukh.ac.ir & moraditelvat@yahoo.com

### چکیده

این پژوهش با هدف بررسی اثر آبیاری و اسید اسکوربیک بر خصوصیات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک نیشکر در شرایط تنش سرما در محل کشت و صنعت میرزا کوچک خان به صورت کرت های خرد شده در قالب طرح پایه بلوک های کامل تصادفی در سه تکرار در سال 1400 انجام شد. در کرت های اصلی دو سطح آبیاری و عدم آبیاری، و در کرت های فرعی 4 سطح محلول پاشی اسید اسکوربیک (صفر، 5، 10، 15 میلی مولار) بر روی گیاهچه نیشکر با توجه به پیش بینی های هواشناسی 48 ساعت قبل از رخ دادن پدیده سرمازدگی بررسی شد. بعد از وقوع پدیده سرمازدگی به میزان 0/8- درجه سلسیوس به مدت نیم ساعت با بررسی صفات مورد آزمایش نتایج نشان داد که آبیاری اثر معنی داری بر عدد کلروفیل برگ گیاهچه نیشکر داشته است. بیشترین عدد کلروفیل (35/73) در تیمار اعمال آبیاری بود. همچنین محتوای نسبی آب سلول، درصد نشت الکترولیت ها از سلول های برگ و عملکرد ساقه نیشکر تحت تأثیر معنی دار آبیاری قرار گرفتند. محلول پاشی اسید اسکوربیک در غلظت 15 میلی مولار، بهترین اثر را روی صفات کمی و کیفی از جمله عدد کلروفیل، درصد نشت الکترولیت ها و عملکرد ساقه نیشکر داشت. علاوه بر این، اثر متقابل اعمال آبیاری و اسید اسکوربیک اثر معنی داری بر درصد رطوبت نسبی برگ در سطح یک درصد داشت. به طور کلی می توان گفت اعمال آبیاری و کاربرد اسید اسکوربیک جهت کاهش تنش سرمازدگی نیشکر تاثیر بسزایی بر حفظ و افزایش تحمل صفات کمی و کیفی داشتند که این امر در نهایت موجب بهبود رشد و افزایش تولید شکر شد.

واژگان کلیدی: الکترولیت، پایداری غشا، رطوبت نسبی، ساقه، کلروفیل، *Saccharum officinarum*

### مقدمه

کاشت نیشکر در خوزستان از اواسط مرداد تا اواخر شهریور ماه شروع میشود. گیاه جوان نیشکر پس از جوانه زنی شروع به رشد می کند، و دماهای پایین در زمستان گیاه جوان نیشکر را با تنش سرما مواجه می کند. امروزه با کاربرد روش های به زراعی مانند آبیاری حفاظتی به شکل غرقابی، می توان از خسارت ناشی از سرمازدگی جلوگیری کرد. همچنین، محلول پاشی اسید اسکوربیک به عنوان یکی از مهمترین آنتی اکسیدانهای گیاهی در کاهش آثار تنش سرما می تواند مؤثر باشد.

مهم ترین عوامل محدودکننده رشد نیشکر، سرما و خشکی هستند. اگر دمای هوا به صفر یا زیر صفر برسد، در مدت 24 ساعت جوانه های انتهایی آسیب می بیند و در صورت تداوم، اندام های هوایی از بین می رود. نیشکر در ماه های زمستان با تنش سرما مواجه می شود و رشد رویشی آن متوقف می گردد. تشدید سرما و افزایش تعداد روزهای سرد با آسیب جدی بوته ها سبب اثر منفی بر رشد مجدد در بهار می گردد. برای مقابله با این مشکل، می توان از راه های به زراعی مانند آبیاری حفاظتی به شکل غرقابی استفاده کرد که

یک راه کوتاه مدت در جهت کاهش خسارت سرمازدگی است. وقتی آب در محدوده دماهای بالای یخزدگی سرد شود، گرمای نهان آن آزاد می‌شود و باعث جلوگیری از کاهش سریع دما در مزرعه می‌شود. دمای آب مصرفی معمولاً بیشتر از دمای سطح سرد زمین است و بنابراین آبیاری باید قبل از رسیدن دمای مزرعه به حد بحرانی خسارت انجام شود (دهقانی و همکاران، 1384). همچنین گیاهان برای کاهش اثر مخرب گونه‌های اکسیژن فعال، مکانیسم‌های متفاوتی دارند که از آن جمله مکانیسم آنتی‌اکسیدانی است. اسید اسکوربیک از مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های گیاهی است (شیگنوکا و همکاران، 2002) که کاربرد خارجی آن به صورت محلول‌پاشی می‌تواند آثار ناشی از تنش سرمازدگی را کاهش دهد.

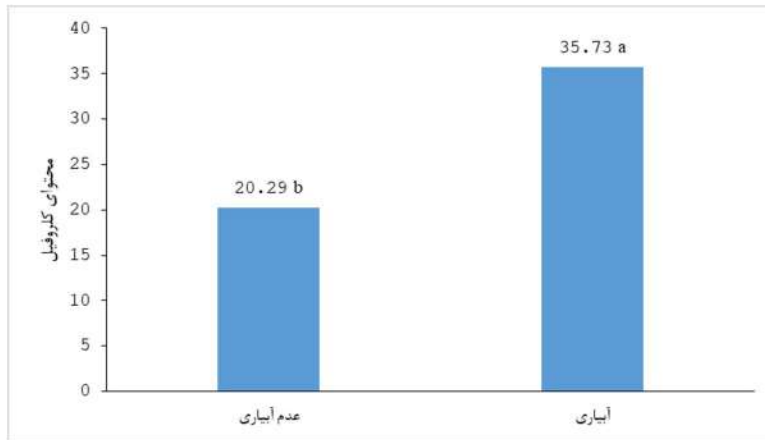
#### مواد و روش‌ها

جهت بررسی اثر آبیاری و سطوح اسید اسکوربیک بر تحمل به سرما در نیشکر از طریق بررسی ویژگی‌های حیات سلول‌های برگ، آزمایشی به صورت اسپلیت پلات در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. در کرت‌های اصلی دو سطح آبیاری و عدم آبیاری، و در کرت‌های فرعی 4 سطح محلول پاشی اسید اسکوربیک (صفر، 5، 10، 15 میلی‌مولار) بر روی گیاهچه نیشکر با توجه به پیش‌بینی‌های هواشناسی 48 ساعت قبل از رخ دادن پدیده سرمازدگی بررسی شد. صفات مورد بررسی شامل عدد کلروفیل، رطوبت نسبی برگ، نشت الکترولیت‌ها و عملکرد ساقه نیشکر در واحد سطح مزرعه بود. آنالیز آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS و رسم نمودارها و جداول به ترتیب به وسیله برنامه‌های Excel و WORD صورت گرفت.

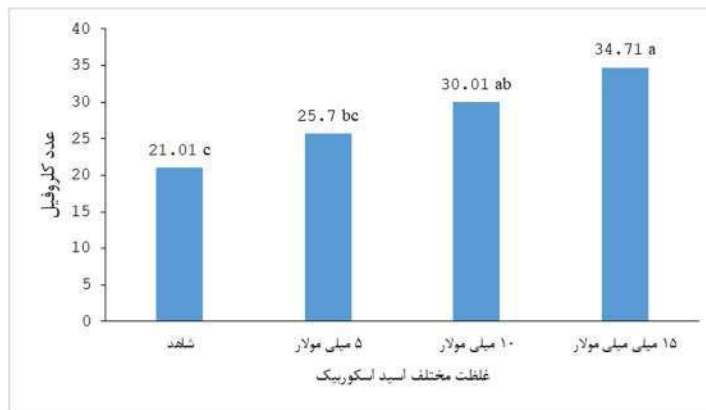
#### نتایج و بحث

بیشترین عدد کلروفیل در سطح آبیاری نرمال 35,73 بود. در حالی که این عدد در هنگام عدم آبیاری به طور معنی‌داری تا 20,29 کاهش یافت (شکل 1). این امر می‌تواند بدلیل اثر گرمای نهان آب در جذب حرارت محیط اطراف و افزایش رطوبت محیط بوته نیشکر و در نهایت دمای مناسب باشد. همچنین مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین عدد کلروفیل (32,71) در تیمار اسید اسکوربیک 15 میلی‌مولار و کمترین آن (21,01) در سطح شاهد (بدون کاربرد اسید اسکوربیک) مشاهده شد (شکل 2). اسید اسکوربیک به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی توانسته است از فعالیت‌های رادیکال‌های آزاد اکسیژن ناشی از تنش سرمازدگی و به‌دنبال آن تخریب غشای کلروپلاست جلوگیری نموده و محتوای کلروفیل گیاه را حفظ نماید.

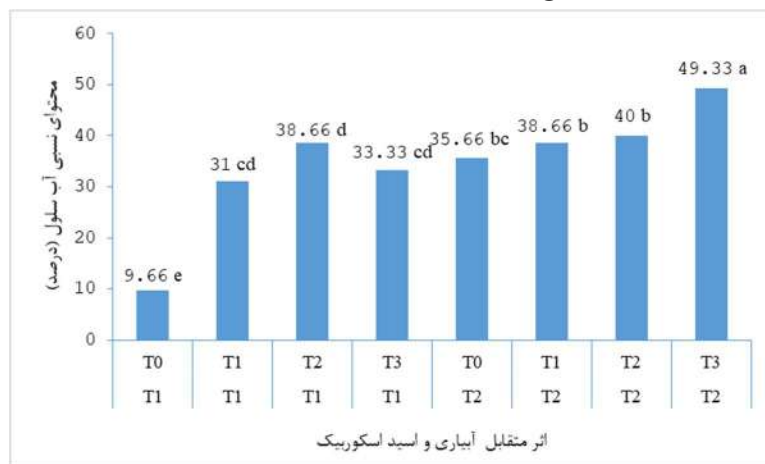
بیشترین درصد محتوای نسبی آب در تیمار اعمال آبیاری و محلول پاشی با غلظت 15 میلی‌مولار و کمترین آن به میزان 31 درصد در عدم آبیاری و محلول پاشی با غلظت 5 میلی‌مولار بدست آمد، این مقدار در تیمار شاهد (عدم اعمال آبیاری و عدم محلول پاشی اسید اسکوربیک) به مقدار 9,66 درصد رسید (شکل 3). افزایش غلظت محلول پاشی اسید اسکوربیک تا میزان 1000 ppm موجب افزایش محتوای نسبی آب می‌شود. محتوای نسبی آب برگ به این دلیل که با حجم سلول مرتبط است، می‌تواند بعنوان شاخص سنجش میزان تنش استفاده شود و معیار بهتری برای بیان وضعیت آب گیاه در مقایسه با پتانسیل آب باشد (خزاعی، 1381).



شکل 1. اثر تیمار آبیاری بر عدد کلروفیل برگ گیاهچه نیشکر



شکل 2. اثر سطوح اسید اسکوریک بر عدد کلروفیل برگ گیاهچه نیشکر



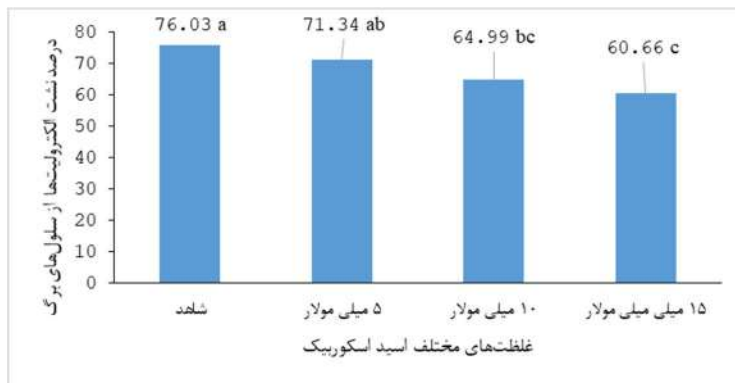
شکل 3. محتوای نسبی آب سلولهای برگ گیاهچه نیشکر تحت سطوح آبیاری و اسیداسکوریک

مقدار نشت الکترولیت‌ها از سلول‌های برگ در تیمار اعمال آبیاری 61,9 درصد بود، در صورتی‌که این مقدار در شرایط عدم آبیاری به 81,02 درصد رسید (شکل 4). کمترین مقدار نشت سلول در کاربرد خارجی اسید اسکوریک با غلظت 15 میلی مولار به مقدار 60,66 درصد و بیشترین آن در تیمار بدون محلول‌پاشی به مقدار 76,03 درصد بود (شکل 5). پارساجو و دشتی (1399)، در

بررسی اثر محلول پاشی اسید اسکوربیک روی نشاء فلفل به این نتیجه رسیدند که محلول پاشی با غلظت 5 میلی مولار اسید اسکوربیک موجب شد تا کمترین میزان نشت الکترولیت حاصل شود. گونه‌های فعال اکسیژن عامل اصلی پراکسیداسیون لیپیدها و آسیب به غشاهای زیستی هستند. اسیدهای چرب و لیپیدها حساسیت زیادی به اکسیژن فعال دارند و به سرعت اکسید می‌شوند. با توجه به این که غشای سلول، غشایی فسفولیپیدی است، واکنش آن با اکسیژن فعال باعث تخریب غشای سلولی و نشت یون‌ها به بیرون می‌شود.



شکل 4. اثر تیمار آبیاری بر نشت الکترولیت‌ها از سلول‌های برگ گیاهچه نیشکر



شکل 5. اثر سطوح اسید اسکوربیک بر نشت الکترولیت‌ها از سلول‌های برگ گیاهچه نیشکر

در تیمار آبیاری از لحاظ عملکرد ساقه نیشکر 67/2 تن در هکتار بدست آمد که این مقدار در تیمار عدم آبیاری 47/45 تن بود (شکل 6). همچنین از محلول پاشی با غلظت 15 میلی مولار عملکرد بهتری نسبت به تیمار با غلظت 5 میلی مولار و شاهد (عدم کاربرد اسید اسکوربیک) بدست آمد (شکل 7).



شکل 6. اثر سطوح آبیاری بر عملکرد ساقه نیشکر



شکل 6. اثر سطوح اسید اسکوربیک بر عملکرد ساقه نیشکر

### نتیجه گیری

به طور کلی می‌توان گفت اعمال آبیاری و کاربرد اسید اسکوربیک جهت کاهش تنش سرمازدگی نیشکر تاثیر بسزایی بر حفظ و افزایش تحمل صفات کمی و کیفی داشتند که این امر در نهایت موجب بهبود رشد و افزایش تولید شکر سفید شد.

### منابع

دهقانی، محمد مهدی و غفاریان، محمدرضا و قادری، عباس. 1384. نقش سیستم‌های آبیاری غرقابی، بارانی و سیستم های آب فشان در افزایش گرمای کلیمای گیاهی، همایش علمی کاربردی راههای مقابله با سرمازدگی، یزد، ایران.  
خزاعی، حمیدرضا. 1381. اثر تنش خشکی بر خصوصیات فیزیولوژیکی ارقام مقاوم و حساس گندم و معرفی مناسبترین شاخصهای مقاومت به خشکی. رساله دکتری زراعت. دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد. 225 صفحه.

Shigeoka, S., Ishikawa, T., Tami, M. and Miyagawa, Y. 2002. Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes. *J. of Exp. Bot.* 53(372): 1305- 1319.

## The response of life characteristics of sugarcane leaf cells to irrigation and ascorbic acid under cold stress conditions

### Abstract

This study aimed to investigate the effect of irrigation and ascorbic acid on the characteristics of sugarcane under cold stress conditions in MirzaKochak-Khan Cultivation and Industry in the form of split plots in 1400. In the main plots, two levels of irrigation and non-irrigation, and in the sub-plots, four levels of ascorbic acid (0, 5, 10, 15 mM) were investigated according to meteorological forecasts 48 hours before the occurrence of frost. The results showed that irrigation had a significant effect on the chlorophyll of seedling leaves. The highest chlorophyll (35.73) was in the irrigation treatment. Also, the relative content of cell water, percentage of leakage of electrolytes from leaf cells and sugarcane stem performance were significantly affected by irrigation. Application of ascorbic acid at a concentration of 15 mM had the best effect on chlorophyll, electrolyte leakage and sugarcane stem yield. In addition, the interaction effect of irrigation and ascorbic acid was significant on the leaf relative humidity. In general, it can be said that the application of irrigation and the use of ascorbic acid to reduce sugarcane frost stress had a significant effect on maintaining and increasing the tolerance of quantitative and qualitative traits, which ultimately improved growth and increased sugar production.

**Keywords:** Legumes, yield, physiological efficiency, cluster bean

## اثر مدیریت نیتروژن و فسفر بر رشد و کارایی جذب و مصرف نیتروژن گیاه گوار

محمدرضا مرادی تلاوت<sup>1\*</sup>، آیدین خدایی جوقان<sup>2</sup> و حسین منجری<sup>3</sup>

\* نویسنده مسؤل: دانشیار گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان

moraditelvat@asnrukh.ac.ir & moraditelvat@yahoo.com

2 و 3. به ترتیب استادیار و دانشجوی دکتری گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان

### چکیده

به منظور بررسی واکنش رشد و عملکرد گوار، یک آزمایش فاکتوریل در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایشی شامل سطوح نیتروژن (N0: شاهد (بدون مصرف نیتروژن)، N1: 30 کیلوگرم نیتروژن به صورت پایه، N2: 30 کیلوگرم نیتروژن به صورت پایه + 30 کیلوگرم نیتروژن در آغاز مرحله طویل شدن ساقه، N3: 30 کیلوگرم نیتروژن به صورت پایه + 60 کیلوگرم نیتروژن در آغاز مرحله طویل شدن ساقه)، و سطوح فسفر (صفر، 50، 100 و 150 کیلوگرم فسفات در هکتار) بود. نتایج نشان‌دهنده اثر معنی‌دار سطوح مدیریت نیتروژن و فسفر بر اغلب صفات رشد و عملکرد گیاه گوار بود. بر این اساس بیشترین عملکرد دانه گوار با تقسیم نیتروژن شامل 30 کیلوگرم نیتروژن به صورت پایه هنگام کاشت و 30 کیلوگرم نیتروژن در آغاز مرحله طویل شدن ساقه همراه با مصرف 150 کیلوگرم فسفر در هکتار بدست آمد. واکنش افزایش عملکرد گوار به سطوح فسفر تا بالاترین سطح مصرفی به صورت خطی بود. بیشترین محتوی نیتروژن بوته و همچنین بیشترین میزان جذب نیتروژن در واحد سطح مزرعه در بالاترین سطح فسفر مصرفی و همچنین بیشترین سطح مصرف نیتروژن (N3) مشاهده شد. بیشترین کارایی مصرف نیتروژن به طور مشابه در سطوح N1 و N2 بدست آمد. در حالی که کمترین مقدار این شاخص در سطح N3 مشاهده شد. همچنین مصرف فسفر تا سطح 140 کیلوگرم در هکتار نیز کارایی مصرف نیتروژن را افزایش داد.

**واژگان کلیدی:** بقولات، عملکرد، کارایی فیزیولوژیکی، لوبیای خوشه‌ای

### مقدمه

گوار یا لوبیای خوشه‌ای با نام انگلیسی Cluster bean و نام علمی *Cyamopsis tetragonoloba* L. از خانواده بقولات (Leguminose) گیاهی یکساله و تابستانه است که تحمل بالایی به گرما و خشکی دارد و در چند منطقه گرمسیری و نیمه‌گرمسیری جهان مانند شمال غرب هند، پاکستان، سودان و جنوب آمریکا (تگزاس و اوکلاهما) کشت می‌شود (اشرف و همکاران، 2005 و غلام نبی، 2013). در ابتدا گوار به عنوان یک گیاه صنعتی کشت می‌شد، اما بعدها به دلیل داشتن پروتئین بالا به عنوان علوفه برای دام نیز استفاده شد. صمغ گوار یک پلی‌ساکارید به دست آمده از آندوسپرم لوبیای خوشه‌ای است. دانه این گیاه یک آندوسپرم بزرگ شامل صمغ گالاتومانان دارد که در آب به شکل ژل در می‌آید. این ماده معمولا به عنوان صمغ گوار شناخته شده است و در محصولاتی مانند بستنی و یا به عنوان تثبیت کننده در پنیر و فرآوری سرد گوشت استفاده می‌شود. از پودر صمغ گوار در تولید نان استفاده می‌شود (غلام نبی، 2013).

گوار می‌تواند از طریق همزیستی با باکترهای ریزوبیوم و تثبیت زیستی نیتروژن در خاک، نیتروژن مورد نیاز خود را به دست می‌آورد. در اغلب موارد در هفته‌های ابتدایی رشد و استقرار این گیاهان در مزرعه به دلیل عدم برقراری رابطه‌ی همزیستی بین گیاه و باکتری، لازم است تا مقداری کود نیتروژن به عنوان آغازگر (استارتر) به خاک افزوده شود. در مناطقی مانند خوزستان که دمای هوا و خاک طی تابستان بسیار فراتر از حد مطلوب باکتری‌های ریزوبیوم است، این موضوع اهمیت بیشتری می‌یابد و در نتیجه



ممکن است نیاز به کاربرد کود نیتروژن همچنان در طی فصل رشد ضروری باشد. فسفر عنصری ضروری در رشد و عملکرد محصولات زراعی است. این عنصر غذایی در بسیاری مواقع اهمیت بیشتری نسبت به نیتروژن در تولید گیاهان خانواده‌ی بقولات دارد. از جمله‌ی آثار مفید این عنصر می‌توان به بهبود رشد و استقرار اولیه‌ی ریشه و گیاهچه در مزرعه، تأمین انرژی مورد نیاز گیاه در فتوسنتز و همچنین در شرایط نامساعد محیطی، بهبود شرایط گل‌دهی و گرده‌افشانی و همچنین مشارکت در ساخت ترکیب‌های آلی مهم مانند اسیدهای نوکلئیک در سلول‌های گیاهی اشاره نمود. این عنصر تحرک بسیار پایینی در خاک دارد و در نتیجه معمولاً همه‌ی کود فسفر مورد نیاز در هنگام خاک‌ورزی و قبل از کاشت گیاه زراعی به خاک افزوده می‌شود. بر این اساس مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی تغذیه‌ی نیتروژن، فسفر طراحی و اجرا گردید.

### مواد و روش‌ها

به منظور بررسی واکنش رشد و عملکرد گوار به مصرف نیتروژن و فسفر، یک آزمایش فاکتوریل با چهار تکرار در مزرعه‌ی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان در تابستان 1398 اجرا شد. چهار سطح نیتروژن (N0: صفر (شاهد)، N1: 30 کیلوگرم نیتروژن به صورت پایه (استارتر)، N2: 30 کیلوگرم نیتروژن در هکتار (استارتر) + 30 کیلوگرم نیتروژن در مرحله‌ی آغاز رشد طولی ساقه و N3: 30 کیلوگرم نیتروژن در هکتار (استارتر) + 60 کیلوگرم نیتروژن در هکتار در مرحله‌ی آغاز رشد طولی ساقه) و چهار سطح کود فسفر (صفر، 50، 100 و 150 کیلوگرم فسفات در هکتار) مورد بررسی قرار گرفت. علاوه بر صفات رشد و عملکرد، شاخص‌های جذب و کارایی مصرف نیتروژن شامل درصد نیتروژن کل بوته، برداشت نیتروژن در واحد سطح، کارایی مصرف نیتروژن و کارایی فیزیولوژیکی نیتروژن مورد اندازه‌گیری و محاسبه قرار گرفتند. شاخص‌های مربوط به جذب و کارایی مصرف نیتروژن و فسفر نیز بر اساس فرمول‌های مربوطه اندازه‌گیری شد.

$$100 / \text{عملکرد ماده‌ی خشک} * \text{درصد نیتروژن بوته} = N_{ab} \quad (1)$$

$$\text{مقدار نیتروژن} / (\text{عملکرد دانه بدون مصرف نیتروژن} - \text{عملکرد دانه با مصرف نیتروژن}) = NUE_a$$

در این فرمول‌ها،  $N_{ab}$  برداشت نیتروژن در واحد سطح (کیلوگرم در هکتار)،  $NUE_a$  کارایی زراعی نیتروژن بود. آنالیز آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS و رسم نمودارها و جداول مربوطه به ترتیب به وسیله‌ی برنامه‌ی Excel و WORD صورت گرفت.

### نتایج و بحث

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که در سطوح N2 و N3 بیشترین عملکرد دانه بدست آمد (جدول 4-4) و با توجه به مصرف نیتروژن کمتر و در نتیجه صرفه اقتصادی بیشتر می‌توان گفت که سطح N2 (مصرف 30 کیلوگرم نیتروژن پایه + 30 کیلوگرم نیتروژن در آغاز رشد طولی ساقه) سطح مطلوب مصرف نیتروژن در آزمایش حاضر بود که سبب تولید 3409 کیلوگرم دانه گوار در هکتار گردید. عملکرد دانه گوار با افزایش مصرف فسفر به طور خطی رو به افزایش گذاشت. به نحوی که با افزایش هر کیلوگرم فسفات در هکتار، عملکرد دانه گوار حدود 12 کیلوگرم در هکتار افزایش یافت. این موضوع تا بالاترین سطح مصرف فسفر قابل مشاهده بود (شکل 1).

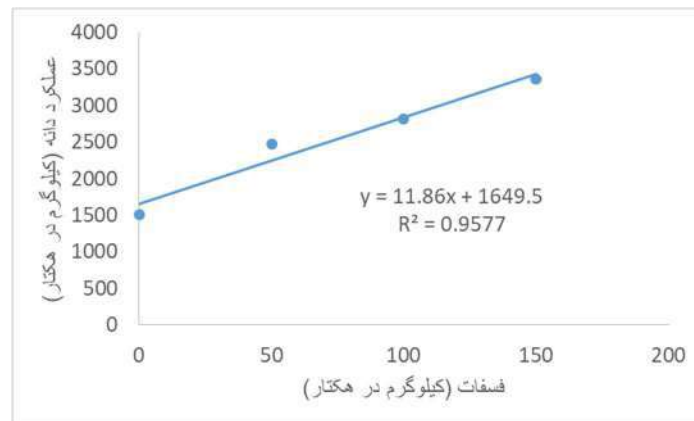
جدول 1- مقایسه میانگین عملکرد، محتوی نیتروژن بوته، جذب نیتروژن، کارایی زراعی و کارایی فیزیولوژیکی نیتروژن در سطوح

#### مختلف نیتروژن

نیتروژن	عملکرد دانه در هکتار	نیتروژن بوته	جذب نیتروژن	کارایی زراعی نیتروژن
N0	1213 <sup>c</sup>	0/01 <sup>c</sup>	34 <sup>d</sup>	-

34/1 <sup>a</sup>	150 <sup>c</sup>	0/021 <sup>b</sup>	2237 <sup>b</sup>	N1
36/6 <sup>a</sup>	274 <sup>b</sup>	0/023 <sup>b</sup>	3409 <sup>a</sup>	N2
23/2 <sup>b</sup>	303 <sup>a</sup>	0/026 <sup>a</sup>	3299 <sup>a</sup>	N3

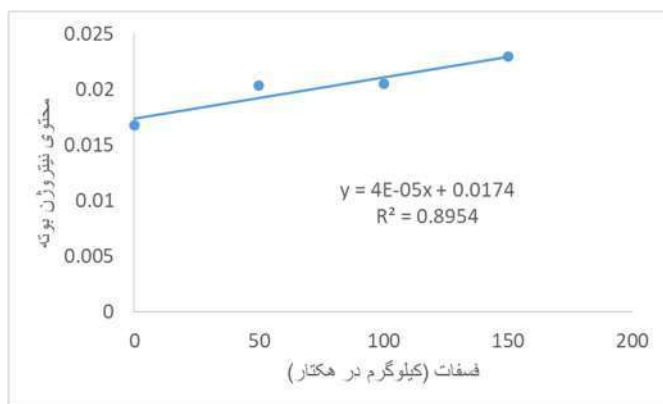
میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون اختلاف معنی‌دار با همدیگر ندارند



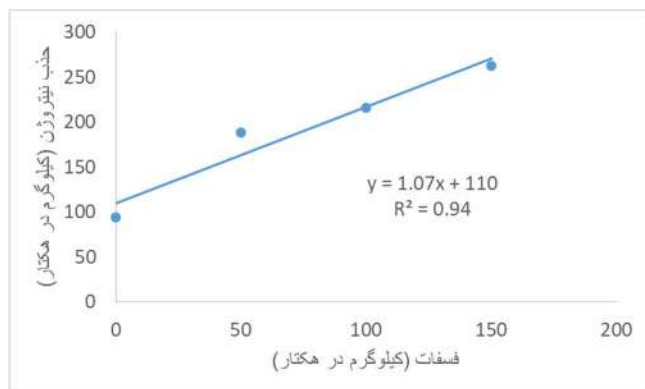
شکل 1. واکنش عملکرد دانه به سطوح فسفر

با افزایش مصرف نیتروژن تا بالاترین سطح، محتوی نیتروژن بوته به طور معنی‌داری افزایش یافت (جدول 1). بر این اساس کمترین و بیشترین محتوی نیتروژن دانه با 0/01 و 0/026 به ترتیب در سطح شاهد (عدم مصرف نیتروژن) و سطح N3 (30 کیلوگرم در هکتار نیتروژن پایه + 60 کیلوگرم نیتروژن در مرحله آغاز رشد طولی ساقه) مشاهده شد. این موضوع نشان‌دهنده توانایی جذب نیتروژن توسط بوته‌های گوار در مزرعه تا سطح بالایی از مصرف نیتروژن بود و از طرفی کارایی گیاه را در این زمینه نشان می‌دهد. با افزایش مصرف فسفر، محتوی نیتروژن بوته به صورت خطی افزایش یافت (شکل 2).

با افزایش مصرف نیتروژن، جذب این عنصر در واحد سطح مزرعه به طور معنی‌داری افزایش یافت. به نحوی که کمترین و بیشترین جذب نیتروژن در واحد سطح (34 و 303 کیلوگرم نیتروژن در هکتار) به ترتیب از تیمار N1 و N3 به دست آمد. جذب نیتروژن در واحد سطح حاصل ضرب عملکرد ماده خشک کل در هکتار و محتوی نیتروژن بوته است. بنابراین افزایش مصرف نیتروژن با افزایش هر دو سبب افزایش معنی‌دار برداشت نیتروژن در واحد سطح توسط بوته‌های گوار گردید (جدول 1). جذب نیتروژن در واحد سطح مزرعه در واکنش به افزایش مصرف فسفر تا بالاترین سطح به طور خطی افزایش یافت (شکل 3). به نحوی که با افزایش هر کیلوگرم فسفات در هکتار، حدود 1 کیلوگرم نیتروژن بیشتر از زمین در واحد سطح مزرعه توسط بوته‌های گوار جذب گردید. افزایش برداشت نیتروژن در واحد سطح در اثر افزایش مصرف فسفر می‌تواند به دلایل متعدد از جمله بهبود رشد و استقرار سیستم ریشه‌ای و در نتیجه بهبود جذب عناصر غذایی از جمله نیتروژن صورت گرفته باشد.

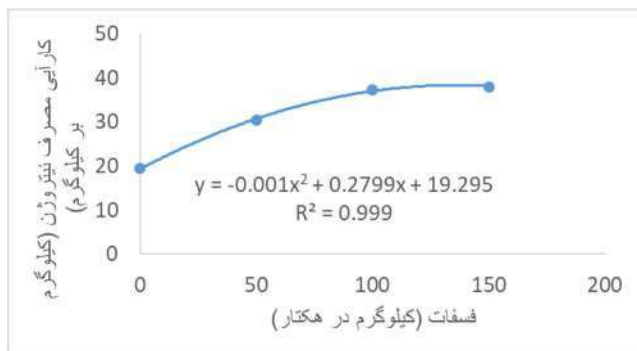


شکل 2. واکنش محتوی نیتروژن بوته به سطوح فسفر



شکل 3. واکنش جذب نیتروژن در واحد سطح مزرعه به سطوح فسفر

بیشترین و کمترین کارایی مصرف نیتروژن به ترتیب از سطوح N1 و N3 بدست آمد. البته سطح N2 هم از لحاظ آماری با سطح N1 اختلاف معنی داری با همدیگر نداشتند (جدول 4-6). بر این اساس با مصرف نیتروژن به صورت 30 کیلوگرم پایه و 60 کیلوگرم در مرحله رشد طولی ساقه کارایی مصرف نیتروژن به طور معنی داری کاهش یافت. عملکرد دانه در این سطح نسبت به سطح N2 نه تنها افزایش نیافت بلکه یک کاهش جزئی را نشان داد.



شکل 4. واکنش کارایی مصرف نیتروژن به سطوح فسفر



با افزایش مصرف فسفر، کارایی مصرف نیتروژن به طور معنی داری افزایش یافت. به نحوی که با افزایش مصرف فسفر، کارایی مصرف نیتروژن طبق یک معادله‌ی درجه 2 افزایش یافت (شکل 4). با استفاده از محاسبه نقطه اوج منحنی از طریق مساوی با صفر قرار دادن مشتق معادله و حل معادله جدید (b/2c-) مشخص شد که بیشترین کارایی مصرف نیتروژن در آزمایش حاضر با مصرف حدود 140 کیلوگرم فسفر در هکتار بدست آمده است.

### نتیجه گیری

با توجه به نتایج به دست آمده می توان در نظر گرفت که رشد مطلوب و کارآمد گوار در منطقه خوزستان نیازمند بهبود شرایط مدیریت تغذیه این گیاه از طریق افزایش کارایی مصرف عناصر غذایی از جمله نیتروژن و فسفر است. در مطالعه حاضر، مصرف 140 کیلوگرم فسفر در هکتار به صورت پایه و همچنین 30 کیلوگرم نیتروژن پایه همراه با 30 کیلوگرم نیتروژن در مرحله آغاز رشد طولی ساقه بیشترین عملکرد و همچنین کارایی مصرف نیتروژن را به همراه داشت که می تواند در صورت تکرار در آزمایش های بعدی مورد توجه و توصیه قرار گیرد.

### منابع

مرادی تلاوت، محمدرضا، و سیادت، سید عطاءاله. 1391. معرفی و تولید گیاهان دانه روغنی. انتشارات آموزش و ترویج کشاورزی. تهران.

Ashraf, M. Y., Akhtar, K., Sarwar, G. and Ashraf, M. 2005. Roll of the rooting system in salt tolerance potential of different guar accessions. *Agronomy for sustainable development*. 25: 243-249.

Ghulam Nabi, A. 2013. Cluster bean (guar) in Pakistan. *Agronomy center pivot irrigation system valley irrigation Pakistan (private) limited*.

## The effect of nitrogen and phosphorus management on the growth and efficiency of guar plant nitrogen uptake and consumption

### Abstract

To evaluate the growth response and yield of guar, a factorial experiment was conducted in with three replications. Experimental factors include nitrogen levels (N0: control, N1: 30 kg of nitrogen as a base, N2: 30 kg of nitrogen as a base + 30 kg of nitrogen at the beginning of the stem elongation stage, N3: 30 kg of nitrogen as a base + 60 kg of nitrogen at the beginning of the stem elongation stage), and phosphorus levels (zero, 50, 100 and 150 kg of phosphate per hectare). The results showed a significant effect of nitrogen and phosphorus levels on yield of guar plant. Based on this, the highest yield of guar was obtained by dividing nitrogen, including 30 kg of nitrogen as a base and 30 kg of nitrogen at the beginning of the stem elongation stage, along with the consumption of 150 kg of phosphorus per hectare. The highest plant nitrogen content and also the highest amount of nitrogen absorption per unit area of the field were observed at the highest level of phosphorus consumption and also the highest level of nitrogen consumption (N3). The highest efficiency of nitrogen consumption was obtained similarly at N1 and N2 levels. While the lowest value of this index was observed at N3 level. Also, the use of phosphorus up to the level of 140 kg per hectare also increased the efficiency of nitrogen use.

**Keywords:** Legumes, yield, physiological efficiency, cluster bean

## تأثیر کودهای بیولوژیکی و آلی بر خصوصیات جوانه زنی بذر لوبیا قرمز رقم گلی در شرایط تنش خشکی

مرضیه حسینی<sup>1</sup>، محمودرضا تادین<sup>2\*</sup>، مجید علیا<sup>3</sup>

1 Ph.D. دانشجوی فیزیولوژی نباتات، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، ایران

\*2 استاد گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، ایران [mrtadayon@gmail.com](mailto:mrtadayon@gmail.com)

3 مجید علیا، دانشیار، گروه حفظ نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، ایران

### چکیده

بررسی تأثیر کودهای بیولوژیکی و آلی بر جوانه زنی و ویژگی های گیاهیچه ای بذر لوبیا قرمز رقم گل تحت تنش خشکی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در چهار سطح تنش خشکی شامل: صفر، 6، 9، و 12 بار و چهار سطح کود شامل: تیمارهای شاهد (بدون کود)، کود بیولوژیکی (EM بهینه)، کود آلی ویناس (بهینه) و ترکیب کودهای بیولوژیکی و آلی (بهینه) در دانشگاه شهرکرد در سال 1401 انجام شد. نتایج نشان داد که اثر متقابل تیمارهای کودی و تنش خشکی بر صفات طول ساقه، وزن تر ریشه و وزن تر ساقه و تأثیر ساده تیمارهای کودی بر طول ریشه، طول ساقه و ریشه. وزن تر، وزن تر ساقه و تنش خشکی بر تمامی صفات در سطح احتمال 1 درصد معنی دار بود. مقایسه میانگین ها نشان داد که بیشترین میانگین درصد جوانه زنی (99,67 درصد)، طول ساقه (5,367 سانتی متر)، وزن تر ریشه (0,699 گرم)، وزن تر ساقه (0,622 گرم)، وزن خشک ریشه (0,078 گرم)، وزن خشک ساقه (0/090 گرم) در تیمار شاهد، طول ریشه در تیمار ترکیبی و تنش 9- (2/575 و 4 سانتی متر) و کمترین میانگین این صفات به ترتیب درصد جوانه زنی (2/333 درصد)، طول ریشه (2,033 و 0,783 سانتی متر)، طول ساقه (0,366 سانتی متر)، وزن تر ریشه (0,150 گرم)، وزن تر ساقه (0,073 گرم)، وزن خشک ریشه (0,010 گرم)، وزن خشک ساقه (0,023 گرم) در تیمار شاهد 12- بود. در مطالعه حاضر، کاهش پتانسیل آب منجر به کاهش صفات مورد بررسی در لوبیا شد.

واژگان کلیدی: حبوبات، کود EM، جذب آب، مقاومت

## The effect of biological and organic fertilizers on the germination characteristics of red bean seeds of Goli cultivar under drought stress

Marzieh Hassani<sup>1</sup>, Mahmoud Reza Tadayon<sup>2\*</sup>, Majid Olia<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Ph.D. Student in Crop Physiology, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Iran

\*<sup>2</sup> Professor of the Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Iran.

[mrtadayon@gmail.com](mailto:mrtadayon@gmail.com)

<sup>3</sup> Majid Olia, Associate Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Iran

### Abstract

To investigate the effect of biological and organic fertilizers on the germination and seedling characteristics of red bean seeds of the flower variety under drought stress in a factorial manner in the form of a completely randomized design with three replications, in four drought stress levels including: zero, 6-, 9-, and 12-bar and four fertilizer levels including: control treatments (no fertilizer), EM biological fertilizer (optimally), Vinas organic fertilizer (optimally) and the combination of biological and organic fertilizers (optimally) in University Shahrkord was done in 1401. The results showed that the interaction effect of fertilizer treatments and drought stress on the traits of stem length, root wet weight, and stem wet weight, and the simple effect of fertilizer treatments on root length, stem length, root wet weight, stem wet weight, and drought stress on all traits were significant at the 1% probability level. The comparison of the means showed that the highest average percentage of germination (99.67%), stem length (5.367 cm), fresh weight of root (0.699 g), fresh weight of stem (0.622 g), dry weight of root (0.078 g), dry weight of stem (0.090 g) in the control treatment, root length in the combined treatment and stress -9 (2.575 and 4 cm) and the lowest average of these traits The order of germination percentage (2.333%), root length (2.033 and 0.783 cm), stem length (0.366 cm), fresh weight of root (0.150 g), fresh weight of stem (0.073 g), dry weight of root (0.010 g), dry weight of stem (0.023 g) in control treatment was -12. In the current study, reducing water potential led to reducing the investigated traits in beans.

**Keyword:** legumes, EM fertilizer, water absorption, resistance

## Introduction

Red bean with the scientific name *Phaseolus calcaratus* L and the English name kidney beans, common bean, bean and dry bean is an annual heat-loving plant, native to South America and one of the most important species of the Fabaceae family. As one of the most important food sources rich in protein and as the second source of human food supply, beans have a special position among crops (3). In addition to the nutritional value and nitrogen fixation, they play an important role in the sustainability of agriculture due to the improvement of the physical, chemical and biological characteristics of the soil, hence legumes are used as plants to diversify the grain-based cultivation systems. In Iran, the research and production of legumes (including types of beans) in proportion to the increase in the area under cultivation and the production of these plants and their importance in maintaining the stability of grain production as well as the food basket of families, have special attention and privilege (1). Plants are constantly exposed to stress under natural and agricultural conditions. The effect of environmental factors may last for days to weeks (such as soil moisture) or even months (such as mineral substances). In general, any environmental factor that causes a plant to deviate from its optimal growth state is called stress (2). The resistance of plants to environmental stresses is different in different stages of the life cycle, and in most plants, the initial stage of growth is considered the most sensitive stage of growth; Therefore, tolerance to stress during this stage is important for the establishment of plants because poor germination and reduced seedling growth lead to poor establishment and sometimes the destruction of the plant. Tensions may be mild, moderate or severe. Usually, inhibition caused by mild stress is reversible and inhibition caused by severe stress is irreversible. Therefore, the environmental conditions are considered favorable for the plant only when they do not cause stress (4). Knowing the effect of various environmental stresses on the physiology of agricultural plants is necessary to know the mechanisms of resistance and survival of plants against stress. EM stands for Effective Microorganism and the Persian word for effective microorganisms is a special combination of 120 different types of aerobic and anaerobic microorganisms, which includes dominant populations of lactic acid bacteria and yeasts and a few number of photosynthesizing bacteria and economists. All these microorganisms are compatible with each other and can coexist in liquid culture. The use of biofertilizers and growth-promoting bacteria may make the seeds and finally, the plants and bushes created strong tolerance to environmental stresses, including drought stress. Biofertilizers in dry environments moderate the effects of osmotic stress caused by lack of water on the germination rate of plant seeds by increasing the absorption of nutrients required by plants, the synthesis and secretion of growth-stimulating substances, and the secretion of various acids (5). Proportionate fertilization is known as an important agricultural operation in the production of agricultural plants in different

agricultural conditions, which causes an increase of approximately 12% in agricultural production. The most important nutrients required for plant growth are nitrogen, potassium and phosphorus, on the other hand, environmental stress causes the balance of nutrients in plants to be disturbed. In this situation, providing nutrients needed by plants through fertilizers can improve plant growth to some extent, therefore, to increase the production and quality of agricultural plants, the necessary conditions for plant growth should be provided about the elements it needs and with the basic consumption of fertilizers (13). Vinas is a raw material that is the waste product of alcohol production, and on average, 12 liters of vinas are produced for every liter of alcohol. Effluent from distilleries is called Dunder in Australia and Vinase in Brazil. Vinase is a substance with a dark brown color and the smell of burnt sugar, which is considered an important source of nutrients, especially for organic agriculture, due to its abundant organic matter and high concentration of nitrogen and potassium, calcium, magnesium, and amounts of nitrogen and phosphorus (9). One of the biological possibilities to increase production in agriculture is the use of useful soil microorganisms that can increase plant growth and yield in different ways. Biofertilizers contain useful micro-organisms for plant nutrition, which can include different groups such as bacteria, fungi, actinomycetes and the like. Today, the use of these fertilizers is increasing to take a step towards sustainable agriculture and use their beneficial effects (11). This study aimed to investigate the effect of biological and organic fertilizers on the germination and seedling characteristics of red bean seeds of the Goli cultivar under drought stress in laboratory conditions.

## Material and method

The experiment was devoted to investigating the effect of biological and organic fertilizers on the germination and seedling characteristics of red bean seeds of the Goli variety under drought stress in 1401 in the form of a factorial design in the form of a completely randomized design with three replications in the physiology laboratory of the Faculty of Agriculture of Shahrekord University. For this purpose, red bean seeds of the Goli cultivar were evaluated in four levels of drought stress including: zero, -6, -9, and -12 times and four levels of fertilizer including: control treatments (no fertilizer), EM biofertilizer (optimally), Vinas organic fertilizer (optimally) and the combination of biological and organic fertilizers (optimally). The optimum level of fertilizer for germination in petri dish conditions has been determined by fertilizer manufacturers, which is a ratio of 1 to 10 mixed with water. The EM biofertilizer used in this research was obtained from Pars Possible Company, the exclusive representative of Japan's EMRO, and Vinas organic fertilizer was obtained from Khorramshahr Alcohol Company and ordered by Tehzissanat Baran and Bean Seed Company of Goli variety from the center of agricultural research and natural resources of the central province. For each petri dish, 50 healthy and pure seeds of each plant were counted in three replicates and placed inside the petri-stern in the germinator at 25 °C and in the dark. Dry stress was applied using polyethylene glycol PEG 6000 and 5 ml of relevant solutions were added to each petri dish. The first count of germinated seeds was done 24 hours after transferring them to the germinator, and the seeds whose roots could be seen were counted as germinated. Germination traits, stem length, root length, wet and dry weight of stem and root were measured. To measure the length of roots and stems and compare them with the control treatment, 4 germinated seeds were randomly selected from each treatment and measured with a ruler. The stems and roots were dried by placing them in an oven (70 °C for 48 hours), and their weight and dry weight were determined with a scale with an accuracy of 0.001 grams, and equation 1 was used to calculate the germination percentage, where Gp is the germination percentage, NG is the number of germinated seeds, and NT is the total number of seeds.

$$(1) \quad Gp = 100 * NG/N$$

## Discussion and results

The results of the analysis of variance showed that the interaction effect of fertilizer treatments and drought stress on the traits of stem length, root wet weight, and stem wet weight, and the simple effect of fertilizer treatment on the traits of root length, stem length, root wet weight, and stem wet weight, and the simple effect of drought stress on all traits were significant at the 1% probability level (Table 1). Comparison of average data showed that the highest average percentage of germination (99.67%), stem length (5.367 cm), fresh weight of root (0.699 g), fresh weight of stem (0.622 g), dry weight of root (0.078 g), dry weight of stem (0.090 g) in the control treatment, root length in the

combined treatment of fertilizers and stress -9 (2.575 and 4 cm), and the lowest average of these traits, respectively, germination percentage (2.333%), root length (2.033 and 0.783 cm), stem length (0.366 cm), root fresh weight (0.150 g), stem fresh weight (0.073 g), root dry weight (0.010 g), stem dry weight (0.023 g) in the control stress treatment was -12 (Figures 1 and 2). Abiotic stresses affect various aspects of plant growth, including reduction and delay in germination, reduction in growth rate, reduction in growth of plant organs, reduction in the duration of plant growth, and finally reduction in dry matter production. The first responses to treatments include an increase in seed germination and plant greening, which causes better establishment of the plant and an increase in yield and product quality. A decrease in the relative amount of plant water as a result of drought stress can cause the accumulation of various active oxygen species in the cell and damage membrane lipids, proteins, and nucleic acids, which in this way can affect characteristics such as germination percentage, dry weight, and length of stem and root (6). Increasing the levels of drought treatment has caused a disturbance in the growth of the root and stem of the plant, which leads to a decrease in the dry weight of the plant. On the other hand, drought stress decreased the germination percentage of beans (Figure 1). Germination percentage is one of the indicators of tolerance to drought stress, in such a way that cultivars with a higher germination rate and percentage in stress conditions have more chances to grow (12). In the current study, the decrease in water potential led to a decrease in the germination percentage of beans. The researchers have attributed the decrease in the final percentage of plant germination under drought stress conditions to the decrease in the physiological and metabolic processes of the seed under the influence of the decrease in water absorption by the seed. The decrease in stem growth under low water stress is due to the decrease in water absorption by the seed and the subsequent decrease in the transfer of nutrients needed for growth to the axis under the cotyledon (10). In addition, it has been determined that the reduction of water absorption by the seed in stressful conditions causes a decrease in the secretion of hormones and the activity of enzymes and, as a result, disrupts the growth of the plant, including both the root and the stem. It seems that the root length reduction at different treatment levels compared to the control level can be attributed to several factors, such as the reduction of mitotic divisions in the root meristem, the reduction of the activity of catalyzing enzymes in the process of plant germination, and the disruption of water absorption at high levels of drought stress (8). One of the most important reasons for the decrease in shoot dry weight in drought stress conditions is the low movement of nutrients and their less transfer from the cotyledon to the embryonic axis (12). The decrease in stem and root length at low levels of drought stress is related to the reduction of nutrient transfer and, at high levels, to the lack of transfer of substances needed for growth. In addition, the lack of water available for seeds causes a decrease in the secretion of hormones and enzyme activity, resulting in a decrease in root and stem length growth (7).

Table 1- The results of the analysis of variance for the examined traits in red bean seeds

Source of changes	Degrees of freedom	Germination percentage	The length of the stem	the root length	The fresh weight of the root	The fresh weight of the stem	The dry weight of roots	The dry weight of the stem
Fertilizer treatment	3	118/07**	0/532**	0/610**	0/016**	0/016**	0/0003 <sup>ns</sup>	0/0003 <sup>ns</sup>
drought stress	3	18827/24**	37/041**	23/619**	0/203**	0/203**	0/009**	0/009**
fertilizer * Stress	9	64/81**	0/564**	0/002 <sup>ns</sup>	0/014**	0/014**	0/0002 <sup>ns</sup>	0/0002 <sup>ns</sup>
error	32	3/45	0/012	0/030	0/0008	0/0009	0/0001	0/0002
Coefficient of variation (%)	-	4/05	4/36	7/54	5/79	7/22	30/25	24/10

ns, \*, \*\* non-significant and significant order at 5 and 1 percent probability level



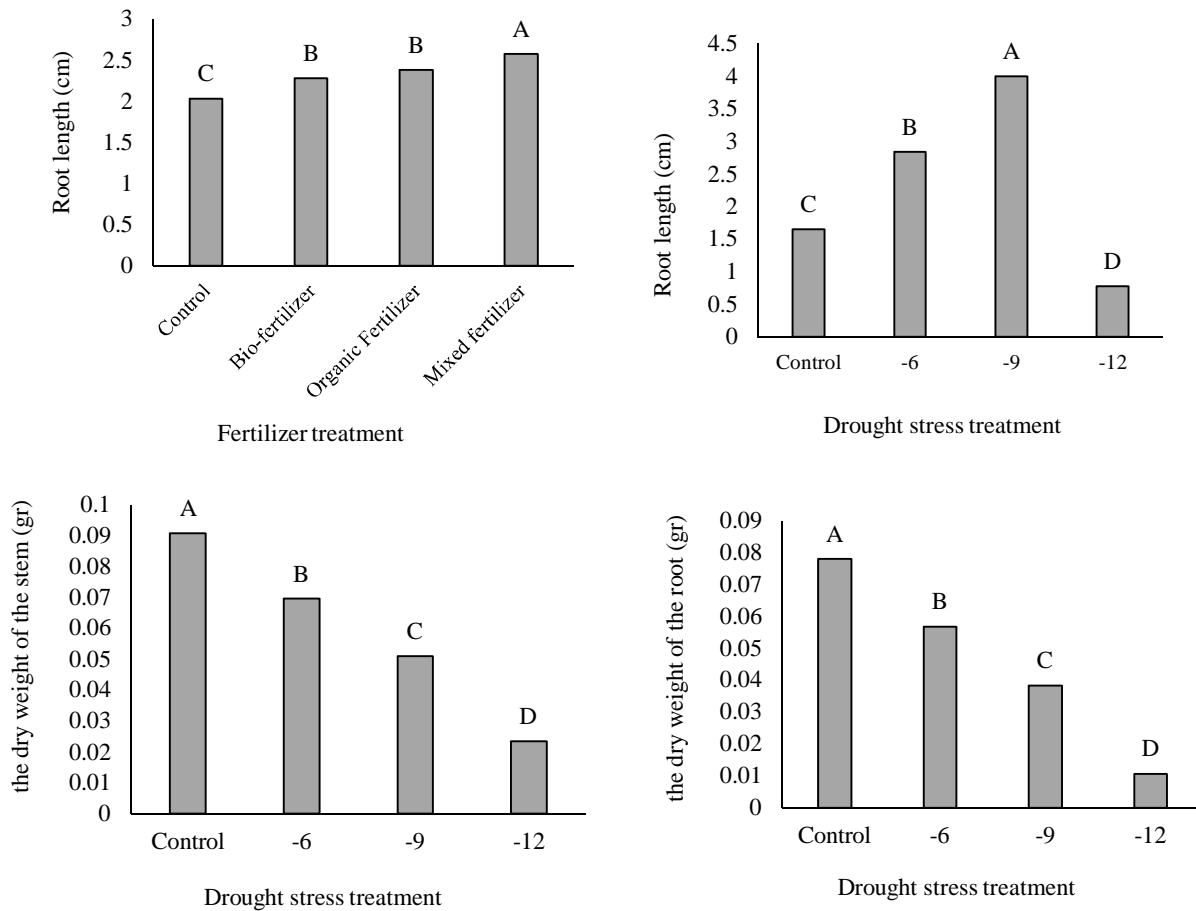
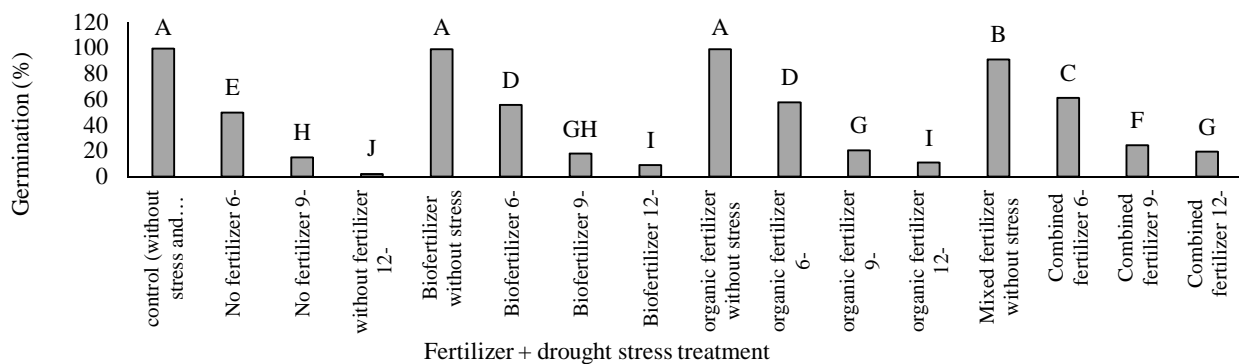


Figure 1- The simple effect of fertilizer treatments and drought stress on the characteristics of root length, dry weight of root and stem of red bean seeds.

Columns with common letters are not significantly different from each other based on the LSD test at the 5% probability level.



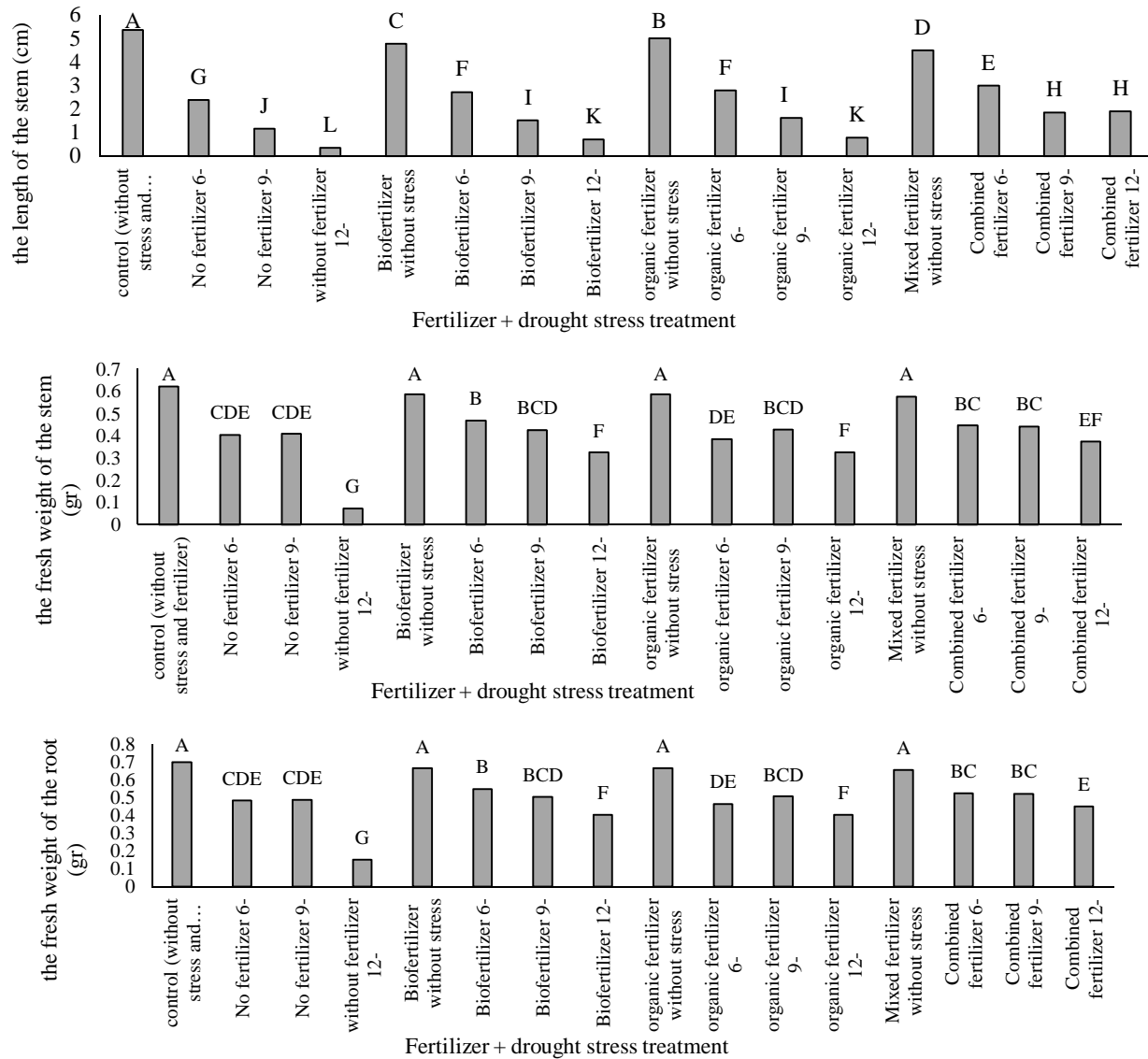


Figure 2- The interaction effect of fertilizer treatments and drought stress on the characteristics of germination, stem length, fresh weight of stem and root of red bean seeds.

Columns with common letters are not significantly different from each other based on the LSD test at the 5% probability level.

## Conclusion

The results of this research showed that germination indices decreased with an increase in drought stress treatment levels. Fertilizer treatments were able to improve seed germination indices under drought stress treatment in beans, so it was suggested as a strategy to increase seed vigor.

## Thanks and appreciation

We hereby express our gratitude to Shahrekord University for their support in conducting this research.

## References

1. **Bagheri, Ali Reza, (1390)**, Legumes: Challenges and Opportunities. The 4th Iranian Legumes National Conference, February 19-20, Central Province Agriculture and Natural Resources Research Center, pages 1-12.
2. **Tedin, Mahmoodreza, (2008)**. Physiological reactions of plants to environmental stress, Shahrekord University Press, 214 p.
3. **Majnoon Hosseini, Nasser, (2007)**, Cultivation and Production of Legumes (legumes in Iran), Jihad University Press, Tehran Branch, 283 pages.
4. **Du, Y., Zhao, Q., Chen, L., Yao, X., Zhang, W., Zhang, B. and Xie, F., 2020**. Effect of drought stress on sugar metabolism in leaves and roots of soybean seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry*. 146: 1-12.
5. **Da Silva, A., Junqueira, J. B., Reis, R. A. and Ruggieri, A. C., 2020**. How do greenhouse gas emissions vary with biofertilizer type and soil temperature and moisture in a tropical grassland? *Pedosphere*. 30(5): 607–617.
6. **Ghanbari, M., and Karamnia, S. 2016**. Evaluation of the effect of seed aging on some characteristics of bean germination (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces of Guilan province under salinity stress conditions. *The 6th Iranian Pulse Crops Symposium*, 4 May, Khoram-Abad.
7. **Gopal, M., Gupta, A., Palaniswami, C., Dhanapal, R., and Thomas, G. 2010**. Coconut leaf vermiwash: a bio-liquid from coconut leaf vermicompost for improving the crop production capacities of soil. *Current Science* 98:1202-1210.
8. **Liga, M.V., Eraso I., Sturte, G.W. 2003**. Effect of ethanol on the growth and development. *Seed Science and Technology*. 21, 427-435.
9. **Madejon, E., Lopez, R., Murillo, J.M. and Cabrera, F. 2001**. Agricultural use of three (sugar-beet) vinasse composts: "Effect on crops and chemical properties of a cambisol in the Guadalquivir river valley (SW Spain)". *Agriculture, Ecosystems and Environment Journal*, 84: 53–65.
10. **Masoumi, A., Kafi, M., Khazaei, H.R. 2008**. Chickpea (*Cicer arietinum* L.) germination responses to water stress induced by polyethyleneglycol 6000. *Iranian Journal of Field Crops Research*. 1(2), 453-462.
11. **Rasooli, Z., Maleki Farahani, S. and Besharati, H. 2013**. The response of some growth characteristics of saffron to different fertilizer sources. *Soil research* 27 (1): 35-46.
12. **Rahbarian, R., Khavari-nejad, R., Ganjeali, A., Bagheri, A.R., Najafi, F. 2012**. Drought stress effect on germination and seedling for drought tolerance in chickpea genotypes (*Cicer arietinum* L.) under control condition. *Iranian Journal of Field Crops Research*. 10(3), 522-531.
13. **Singh, S.K. and Lal, S.S. 2012**. Effect of potassium nutrition on potato yield, quality and nutrient use efficiency under varied levels of nitrogen application. *Potato Journal*. 39(2): 155-165.

## ارزیابی تأثیر متقابل اندازه و نوع نانوذرات اکسید آهن و اکسید روی بر تغییر پارامترهای

### فیزیولوژیک و آنتی اکسیدانی در گیاه گوجه فرنگی تحت تنش شوری

حسین مظفری<sup>1\*</sup>، معصومه حجایی<sup>2</sup>، حکیمه علومی<sup>3</sup> و حسن سالاری<sup>1</sup>

- 1- استادیار گروه اکولوژی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، ماهان، کرمان
  - 2- کارشناس ارشد گروه اکولوژی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، ماهان، کرمان
  - 3- دانشیار گروه اکولوژی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، ماهان، کرمان
- \*نویسنده مسئول: mozafari.hossein@gmail.com

#### چکیده

بیش از 50 درصد از زمین‌های جهان شور هستند، این روند با تغییرات آب‌وهوایی همچنان در حال افزایش است. تنش شوری، موجب تغییر رنگ برگ، تنش اسمزی، سمیت یونی، کاهش رشد، فتوستتوز شده و از عملکرد گیاهان جلوگیری به عمل می‌آورد. نانوذرات فلزی به دلیل داشتن اندازه‌های کمتر از میکرون، به سرعت جذب ریشه گیاهان شده و انتقال آسان‌تری در گیاهان دارند. با توجه به اینکه کاشت گوجه‌فرنگی در مناطق گرم و خشک به طور گسترده صورت می‌گیرد شوری زمین‌ها در این مناطق مشکل اساسی کشت گوجه‌فرنگی می‌باشد، به همین منظور در همین تحقیق، اثرات متقابل اندازه و نوع نانوذرات اکسید روی و اکسید آهن بر بهبود و تغییر پارامترهای فیزیولوژیک و افزایش مقاومت آنتی اکسیدانی به تنش شوری در گیاه گوجه‌فرنگی رقم ارلی اوریانا در قالب طرح کاملاً تصادفی و به‌صورت فاکتوریل با 4 تکرار، در سطح معنی‌دار 5% انجام گرفت. در این پژوهش، نانوذره اکسید روی در دو اندازه 25 و 50 نانومتر و اکسید آهن در اندازه 25 نانومتر و کلرید سدیم در سطوح 0 و 75 میلی‌مولار مورد استفاده قرار گرفتند. تیمار نانوذرات و شوری هر دو به صورت ریشه‌ای به گیاهان اعمال شدند. نتایج نشان داد که؛ تنش شوری منجر به کاهش پارامترهای رشدی گیاهان مانند طول اندام هوایی و ریشه، سطح برگ، درصد نسبی آب و نشت یونی شد و کلرید سدیم نیز منجر به افزایش تجمع مالون د آلدئید و سایر آلدئیدها، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و یون‌های سدیم، آهن و روی شد. کاربرد نانوذرات در شرایط بدون تنش تأثیر جزئی بر بهبود رشد و عملکرد گیاه داشت، اما در شرایط تنش شوری کاربرد این 3 نانوذره در ترکیب با هم اثر شوری را خنثی کردند و خسارت‌های ناشی از تنش شوری را کاهش دادند؛ پیشنهاد می‌گردد، اثر نانوذرات اکسید روی و آهن در فاز زایشی گیاه در شرایط مزرعه مورد مطالعه قرار گیرد. **واژگان کلیدی:** تنش شوری، گوجه‌فرنگی، نانوذره اکسید آهن، نانوذره اکسید روی، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی.

#### مقدمه

امروزه به علت مواجه بودن با مشکل کمبود آب و همچنین به علت افزایش بی‌رویه آب‌های شور، تولید محصولات کشاورزی در زمین‌های شور بسیار موردتوجه همگان قرار گرفته است. با افزایش مقدار نمک به ویژه کلرید سدیم در خاک، نمک در اطراف ریشه گیاهان جمع می‌شود. این نمک‌ها در اطراف ریشه، به حدی زیاد شده که از تحمل گیاه خارج شده و موجب اختلال در فعالیت‌های حیاتی گیاه، فتوستتوز، جذب و انتقال مواد غذایی و همچنین فرایندهای فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و تولید متابولیت‌های اولیه و ثانویه شده است [1]. تنش شوری یکی از تنش‌های غیرزنده است که اثرات منفی زیادی بر عملکرد گیاه دارد [15]. از این رو، شوری را می‌توان به عنوان شوری خاک یا شوری آب بیان کرد. مهم‌ترین عامل ایجادکننده خاک‌های شور سازندهای زمین شناسی و گنبد‌های نمکی موجود در مناطق شور می‌باشد. که نمک‌های حاصل از آن‌ها به وسیله باد و آب به

مناطق دیگر برده می‌شوند، و این باعث گسترش زمین‌های شور می‌گردد [14]. از طرفی نزولات جوی باعث ورود نمک و املاح به آب‌های آبیاری می‌شود [2]. تبخیر بیش از حد آب نیز، باعث بالارفتن سطح املاح محلول در آب‌های زیرزمینی می‌شود [3].

زیادی نمک به ویژه سدیم کلرید در خاک‌ها و تجمع آن در اطراف ریشه‌ها بیشتر از تحمل گیاه شده و فعالیت‌های حیاتی گیاه را با مشکل مواجه می‌کند. تنش شوری، بر فعالیت‌های حیاتی گیاه نظیر فتوسنتز، تعرق، جذب و انتقال مواد غذایی، فرایندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی و تولید متابولیت‌های اولیه و ثانویه اثر می‌گذارد [7]. تجمع نمک در گیاهان جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ها را مهار می‌کند. با افزایش غلظت نمک در گیاهان تجمع آنتی‌اکسیدان‌های گیاهی که یکی از علامت‌های تحمل شوری است زیاد می‌شود [2]. تغییر فناوری نانو در زمینه کشاورزی از عوامل ایجاد کشاورزی مدرن است [7]. نانو تکنولوژی به عنوان یک انقلاب در حال وقوع است که موقعیت کشورها را از نظر اقتصادی تحت تأثیر قرار داده است [7]. نانوذرات به دلیل اندازه بسیار کوچک ذراتشان نسبت به ذرات بزرگ‌تر برتری دارند [6]. امروزه تولید و مصرف نانوذرات در زمینه‌های مختلف روبه افزایش است. در کشاورزی کاربرد نانوذرات در تکنولوژی تولید، دفع آفات و بیماری‌های گیاهان می‌باشد [5]. نانوذرات به خاطر داشتن ابعاد کوچک دارای بیشترین سطح مؤثر جهت فعالیت و تسهیل ویژگی‌های جذبی کودها و حشره‌کش‌ها هستند [8]. استفاده از فناوری نانوذرات در علوم گیاهی در سطح جهان جدید است. اولین استفاده از فناوری نانو توسط وزارت کشاورزی آمریکا در سال 2003 انتشار یافت [2]. عوامل مختلفی نظیر: سن گیاه، نوع نانوذره و اندازه نانوذره بر میزان اثرگذاری نانوذره بر گیاهان نقش دارند [3]. کاربرد نانوذرات در کشاورزی جدید است و نیاز به اکتشافات بیشتری دارد، همچنین عملکرد نانوذرات در سطح مولکولی در سیستم‌های بیولوژیکی و نقش نانوذرات در فیزیولوژی گیاهی به طور کامل درک نشده است [9]. استفاده از بسیاری از نانوذرات، به افزایش مقاومت گیاه در برابر آفات و بیماری‌ها منجر می‌شود [60]. نانوذرات در غلظت‌های کم در افزایش طول ساقه، طول ریشه، قطر یقه و افزایش ریشه‌های اصلی در هنگام تنش غرقابی نقش مهمی دارند [12]. درحالی‌که کمبود آهن موجب ایجاد حالت کلروزیس در گیاه شده، اعتقاد بر این است که مقادیر اضافی آهن باعث ایجاد استرس اکسیداتیو می‌شود. سمیت رادیکال‌های سوپراکسید غیرفعال شده و همچنین هیدروژن و اکسیژن، ناشی از تبدیل گونه‌های وابسته به آهن به رادیکال‌های هیدروکسیل سبب آسیب جدی به غشای پروتئین و DNA می‌شود [2]. آهن با تأثیر در فتوسنتز باعث افزایش کربوهیدرات‌ها می‌شود و از آنجاکه در پایان ذخیره این مواد در دانه صورت می‌گیرد می‌توان گفت که محلول‌پاشی آهن سبب افزایش عملکرد دانه می‌گردد [3]. یکی از وظایف مهم روی در گیاهان ساخت پروتئین است، بنابراین کمبود روی موجب کاهش مقدار پروتئین و افزایش مقدار آمینواسیدهای آزاد و آمیدها می‌شود، و همچنین روی در تولید هورمون اکسین، آنزیم‌های مسئول تولید نشاسته، فتوسنتز، سوخت‌وساز نیتروژن (فعال‌سازی آنزیم روداکتاز)، آنزیم‌های انتقال‌دهنده فسفات (هگزوکیناز) و نیز در تولید تریپتوفان و هورمون رشد (اسید ایندول استیک) نقش مؤثری دارد. در حضور اسید ایندول استیک، کلروفیل بیشتری ساخته می‌شود، پیری به تأخیر افتاده و میزان فتوسنتز در نهایت افزایش می‌یابد [11]. باتوجه‌به پژوهش‌های اخیر و گزارش‌های اعلام شده از خواص منحصربه‌فرد نانوذرات روی و آهن و همچنین میزان حساسیت بالای گیاه گوجه‌فرنگی نسبت به شرایط تنش شوری، احتمال می‌رود که کاربرد توأم نانوذرات اکسید آهن و اکسید روی در این پژوهش، مقاومت این گیاه را در شرایط تنش شوری افزایش دهد.

مواد و روش‌ها:

**طرح پژوهش و گروه‌های تیماری:** این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی به صورت فاکتوریل و 4 تکرار در محل گلخانه دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته کرمان در سال 1400-1401 انجام گرفت. گیاه موردنظر برای این پژوهش گوجه‌فرنگی رقم ارلی اوربانا بود که بذر آن از شرکت بذر فلات ایران - تهران تهیه شد. گروه‌های تیماری این پژوهش شامل نانوذره اکسید آهن و اکسید روی بودند. لازم به ذکر است که نانوذرات مورد استفاده از شرکت پیشگامان نانو ایرانیان تهیه شدند. همچنین تنش شوری در دو غلظت (0 و 75 میلی‌مولار) مورد استفاده قرار گرفت.

در این مرحله، بذره‌های گوجه‌فرنگی (رقم ارلی اوربانا) در گلدان‌های پلاستیکی با دهانه 15 سانتی‌متر به تعداد 3 عدد در هر گلدان کاشته و سپس گلدان‌ها به گلخانه دارای شرایط یکسان استاندارد دمایی، نوری و رطوبتی منتقل شد. دمای گلخانه به صورت 23 درجه سانتیگراد در تاریکی و 25 درجه در روشنایی، دوره نوری به صورت تاریکی / روشنایی 16/8 ساعت، رطوبت 45% و شدت نور گلخانه هم 12 کیلو لوکس بود.

**کشت بذرها:** در این مرحله تعداد 60 گلدان انتخاب شد که در هر گلدان 3 عدد بذر در عمق 1 سانتی‌متری بستر کشت قرار داده شد (شکل 2-2). لازم به ذکر هست که بستر کشت هر گلدان، مخلوط پرلیت و پیتماس با نسبت 4 به 1 بود که از شرکت‌های کشاورزی کرمان تهیه شد. سپس با آب مقطر شسته و مرطوب شده تا آماده کشت بذر شدند (شکل 2-1). در طی مدتی که بذرها کاشته شد هر روز 2 نوبت صبح و عصر آبیاری گلدان‌ها با آب مقطر انجام شد و پس از ظهور جوانه‌ها علاوه بر آبیاری محلول هوگلند نیز به گیاهان داده شد.

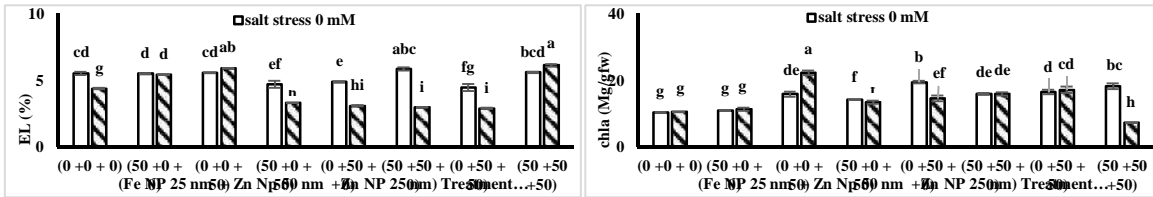
شروع تیماردهی به گیاهان بعد از اینکه گیاهان به مرحله 3 برگی رسیدند شروع شد و هر روز به مدت 2 بار در روز ساعت 10 صبح و 4 عصر تیمار نانوذرات آهن و روی به گیاه داده شد به مدت 10 روز تیمار موردنظر داده شد. و از 60 گلدان 30 عدد گلدان تنش شوری و نانوذرات داده شد که گیاه تیماری ما بودند و 30 عدد گلدان تنش شوری داده نشد فقط تیمار نانوذرات داده شد که گیاهان شاهد ما بودند و نحوه تیمار ریشه‌ای بود (شکل 2-3). بعد از انجام تیمار 10 روزه گیاهان جمع‌آوری شدند و بعد از برداشت شاخص‌های مورفولوژیکی اندازه‌گیری شد سپس نمونه‌ها را پس از قراردادن در ازلت مایع برای اندازه‌گیری سایر پارامترهای موردنظر به فریزر 80- منتقل شدند.

**سنجش پارامترها:** سنجش پارامترهای فیزیولوژیک و اکسیدانی شامل نشت یونی، رنگیزه‌ها، پرولینپر اکسیداسیون غشا، فعالیت آنزیمهایی مانند کاتالاز، پراکسید هیدروژن پس از کشت صورت گرفت.

**تجزیه و تحلیل آماری:** داده‌های حاصل، در قالب طرح کاملاً تصادفی و به صورت آزمایش فاکتوریل و 4 تکرار با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه 24 مورد تحلیل آماری قرار گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح 5% صورت گرفت. نمودارهای پارامترهای مذکور با استفاده از نرم‌افزار Excel 2019 رسم گردید.

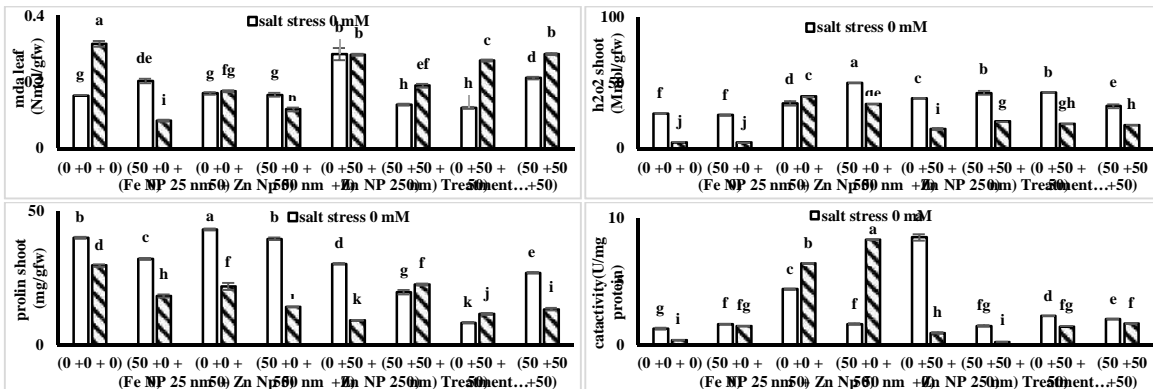
## نتایج و بحث

در شرایط تنش شوری بدون نانوذرات نشت یونی کاهش پیدا کرده استفاده از نانوذرات در همه‌ی موارد نشت یونی را کاهش داده فقط در کاربرد هر سه نانوذره، و نانوذره روی 25 نانومتری باعث افزایش نشت یونی نسبت به شاهد شده است.



جدول آنالیز واریانس در قسمت ضمائیم نشان می‌دهد که تیمارهای آزمایش به طور کلی در میزان کلروفیل a تأثیر معنی‌دار داشته است حتی تنش شوری به تنهایی موجب کاهش کلروفیل a نشده است.

شیب میله‌ها نشان می‌دهد که کاربرد نانوذرات به مرور زمان افزایش نشان داده در میزان کلروفیل در بیشتر تیمارها به جز تیمار آهن تنها، افزایش دیده می‌شود. شکل (3-8) در شرایط تنش شوری بدون نانوذرات میزان مالون دآلدئید نسبت به شاهد شوری افزایش 2 برابری داشته است. کاربرد نانوذرات میزان مالون دآلدئید را در همه موارد نسبت به شاهد افزایش داده به جز کاربرد نانوذره آهن به تنهایی، میزان مالون دآلدئید را 2 برابر کاهش داده، استفاده از نانوذره آهن و روی 25 نانومتری میزان مالون دآلدئید را کاهش داده؛ ولی با نسبت کمتری و در استفاده از نانوذره روی 50 نانومتری تفاوت میزان مالون دآلدئید نسبت به شاهد بسیار کم و ناچیز بوده است.



**بحث:** تنش شوری، یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده رشد و تولید محصولات زراعی در مناطق خشک کشور است. همسو با نتایج به دست آمده، تحقیقات پیشین نشان داد که تنش شوری از رشد گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی جلوگیری می‌کند [۱۵، ۱۲]. بر اساس مطالعات کاظم‌زاده تنش شوری، در گیاه سورگوم علوفه‌ای جوانه‌زنی بذری و همچنین رشد گیاهچه‌ها را کاهش می‌دهد [13]. تنش شوری رشد ریشه‌ها را با محدودیت مواجه می‌کند. برطبق پژوهش بهبودیان و همکارانش، افزایش در غلظت نمک در اطراف ریشه‌ها سبب کاهش پتانسیل اسمزی گیاه و در نتیجه رشد ریشه را کاهش داده، دلیل کاهش رشد ریشه، به علت این است که ریشه برای جذب عناصر مفید از خاک مقدار زیادی انرژی مصرف می‌کند که نتیجه آن کاهش انرژی موردنیاز ریشه است [8].

**نتیجه‌گیری کلی:** در این پژوهش اثر متقابل نانوذرات اکسید روی 25 و 50 نانومتر و نانوذره آهن 25 نانومتری در شرایط تنش شوری بر گیاه گوجه‌فرنگی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از بررسی صفات مورفولوژیکی و صفات فیزیولوژیکی و

همچنین بررسی برخی شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی و فعالیت آنزیم‌ها نشان داد که کاربرد کلرید سدیم 75 میلی‌مولار منجر به کاهش صفات مورفولوژیکی گیاهان مانند طول اندام هوایی و ریشه، سطح برگ شد، و همچنین این تنش درصد نسبی آب، رنگیزه‌های کلروفیل b و کلروفیل کل، میزان تجمع عنصر پتاسیم، را در مقایسه با شاهد به طور قابل ملاحظه‌ای کاهش داد. همچنین تنش شوری محتوی اسیدآمینو آزاد، پروتئین کل، پروکسید هیدروژن اندام هوایی، پرولین اندام هوایی، فنل ریشه، فعالیت آنزیم کاتالاز را کاهش داد. تنش شوری وزن تر اندام هوایی و ریشه، کلروفیل a، کاروتنوئید، محتوی مالون د آلدئید و سایر آلدئیدها، پروکسید هیدروژن ریشه، پرولین ریشه، فنل اندام هوایی، آنزیم گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز میزان سدیم اندام هوایی و ریشه، پتاسیم اندام هوایی، آهن و روی را در اندام هوایی و ریشه افزایش داد. کاربرد نانوذرات اکسید روی و آهن به صورت جداگانه و به‌ویژه در حالت ترکیب با هم خسارت‌های ناشی از تنش شوری را کاهش دادند.

**پیشنهادات:** اثر نانوذرات اکسیدروی و اکسیدآهن در فاز زایشی گیاه گوجه فرنگی مورد بررسی قرار گیرد.

### منابع

- 1 El-Sherif, A.F., et al., "Response of tomato seedlings to zinc application under different salinity levels". Egypt. J. Hort, 1990. 1(7): p. 131-142.
- 2 Kerista, B.T., "Salinization processes in irrigatin lands of Turkmenistan". Journal of problems of desert development, 1993. 1: p. 12-15.
- 3 Fatma, M., et al., "Interplay between nitricoxide and sulfur assimilatin in salttolerance in plants". The Crop Journal, 2016. 4(3): p. 153-161.
- 4 Jian-Kang Zhu., University of California, Riverside, California, 2002. USA.doi:10.1002. 97870470015902. a0001300. pub2.
- 5 Hasegawa, P., et al., "Plant cellular and molecular responses to high salinity". Annual Review of plant physiology and plant molecular biology, 2000. 5(1): p. 463-499.
- 6 Munns, R., et al., "Mechanisms of salinity tolerance". Annual Review of Plant Biology, 2008. p. 59, 651-681.
- 7 Sreenivasulu, N., et al., "Diffrentl response of antioxidant compounds to salinity stress in salt-tolerant and salt-sensetive seedling of foxtail millet". Physiology Plantarum, 2000. 10(9): p. 435-442.
- 8 Medina, D., et al., "Se-methylseleno cysteine a new compound for chemo prevention of breast cancer". Nutrition and Cancer, 2001. 4(0): p. 12-17.
- 9 Stedute, P., et al., "Gas-exchange response and stomatal and non-stomatal limitations to carbon assimilation of sunflower under salinity". Environmental and Experimental Botany, 2000. 4(4): p. 243-255.
- 10 FAO, 2000. Available on URL:<http://www.fao.org>
- 11 Ashraf, M. and T. McNeilly., "Salinity tolerance in Brassica oilseeds." Critical Reviews in Plant Sciences, 2004. 23(2): p. 157-174.
- 12 Bhattacharjee, S. and A. Mukherjee., "Salt stress-induced cytosolute accumulation, antioxidant response and membrane deterioration in three rice cultivars during early germination." Seed science and technology, 2002. 30(2): p. 279-287.
- 13 Shi, Q., et al., "Exogenous nitric oxide protects cucumber roots against oxidative stress induced by salt stress". Plant physiology & bio chemistry, 2007. 4(5): p. 542-550.
- 14 Müller, Bhumii Nath Tripathi-Maria (2018-09-18), English: A book about stress responses in plants. (PDF), retrieved 2018-09-18
- 15 Mosa, Kareem A.; Ismail, Ahmed; Helmy, Mohamed (2017). Introduction to Plant Stresses . Cham: Springer International Publishing. pp. 15.



## Evaluation of the interaction effect of the size and type of iron oxide and zinc oxide nanoparticles on the change of physiological and antioxidant parameters in tomato plants under salt stress

Hossein Mozafari <sup>1\*</sup>, Masoumeh Hejabi <sup>2</sup>, Hakimeh Oloumi<sup>1</sup> and Hassan Salari<sup>1</sup>

1- Department of Ecology, Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran.

2- M.Sc student, Department of Ecology, Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology Kerman, Iran.

\*Corresponding author: mozafari.hossein@gmail.com

### Abstract

More than 50% of the world's land is saline, a trend that continues to increase with climate change. Salinity stress causes leaf color change, osmotic stress, and ionic toxicity, reduced growth, photosynthesis and inhibits plant performance. Due to their size less than micron, metal nanoparticles are quickly absorbed by the roots of plants and are easier to transport in plants. Considering that tomato planting is widely done in hot and dry areas, soil salinity is the main problem of tomato cultivation in these areas. For this purpose, in this research, the mutual effects of the size and type of nanoparticles of zinc oxide and iron oxide on the improvement and change of physiological parameters and the increase of antioxidant resistance to salt stress in tomato plants of the Early Urbana cultivar in the form of a completely randomized and factorial design with 4 replications. It was done at a significant level of 5%. In this research, zinc oxide nanoparticles in 25 and 50 nm sizes, iron oxide in 25 nm sizes and sodium chloride in 0 and 75 mM levels were used. Nanoparticles and salinity treatments were both applied to the plants. The results showed that; Salt stress led to a decrease in plant growth parameters such as the length of shoots and roots, leaf area, relative percentage of water and ion leakage, and sodium chloride led to an increase in the accumulation of malonaldehyde and other aldehydes, the activity of antioxidant enzymes and sodium, iron and zinc ions. became. The use of nanoparticles in non-stress conditions had a slight effect on improving plant growth and performance, but in salt stress conditions, the use of these 3 nanoparticles in combination neutralized the effect of salinity and reduced the damage caused by salt stress; Therefore, it is suggested to study the effect of zinc oxide and iron oxide nanoparticles in the reproductive phase of tomato plant and in field conditions.

**Key words:** salt stress, tomato, iron oxide nanoparticle, zinc oxide nanoparticle, antioxidant enzymes.

## بررسی ترکیبات فیتوشیمیایی اسانس گیاه سنبل بیابانی (*Phlomis molucelloides*)

### جمع‌آوری شده از دره همار نهاوند

مهتاب صالحی<sup>\*1</sup>

<sup>\*1</sup> استادیار، دکترای تخصصی اکولوژی گیاهان زراعتی، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشگاه بوعلی سینا، مجتمع آموزش عالی نهاوند

Email: [mahtab.salehi@basu.ac.ir](mailto:mahtab.salehi@basu.ac.ir)

#### چکیده

سنبل بیابانی با نام علمی قدیم *Eremostachys molucelloides* و نام علمی جدید *Phlomis molucelloides*، گیاه دارویی متعلق به تیره نعنائیان است که در طب سنتی و بومی کاربرد گسترده‌ای دارد. به منظور بررسی ترکیبات موجود در اسانس اندام هوایی، این گیاه از منطقه دره همار نهاوند جمع‌آوری شد. سپس نمونه جمع‌آوری شده، به مدت دو هفته در سایه خشک گردید. نمونه‌های خشک‌شده با دستگاه کلونجر، اسانس‌گیری و برای تعیین اجزای تشکیل‌دهنده اسانس، به دستگاه GC-MS تزریق گردید. نتایج نشان داد که مهم‌ترین اجزای تشکیل‌دهنده اسانس، ژرماکرن دی، ای - کاریوفیلن و بی‌سیکلوژرماکرن بودند.

**واژگان کلیدی:** سنبل بیابانی، ژرماکرن دی، ای - کاریوفیلن، بی‌سیکلوژرماکرن.

#### مقدمه

سنبل بیابانی یک گونه گیاهی متعلق به خانواده نعنائیان (Lamiaceae)، گیاهی چندساله و علفی است. تپه‌های آهکی، دامنه‌های شیست و آتشفشانی، زیستگاه‌های طبیعی این گیاه محسوب می‌شوند (1). گونه‌های *Eremostachys* دارای اثرات درمانی در طب سنتی و دارای اسانس و متابولیت‌های ثانویه مانند فلاونوئیدها، مونوترپن‌ها، ایریدوئیدها و گلیکوزیدها هستند (2). مطالعات قبلی نشان داده است گیاهان جنس *Eremostachys* دارای انواع مختلف اثرات بیولوژیکی هستند؛ به عنوان مثال، گزارش شده است که گلیکوزیدهای ایریدوئید *Eremostachys laciniata* (L) Bunge دارای اثرات ضد باکتریایی هستند (3). در مطالعه دیگری نشان داده شد که اسانس به دست آمده از قسمت‌های ریشه، ساقه و گل *E. laevigata* دارای اثرات ضد باکتریایی بالایی است (4). اسانس‌ها به دلیل داشتن خواص دارویی مانند فعالیت‌های ضدسرطانی، ضدویروسی و ضدباکتریایی، منابع منحصر به فرد و ارزشمندی از متابولیت‌های ثانویه هستند (5). نکته حائز اهمیت این است که با وجود اینکه سنتز متابولیت‌های ثانویه گیاهی، تحت کنترل ژنتیکی گیاهان انجام می‌شود، تولید آنها به لحاظ کمی و کیفی ثابت نبوده و به طور قابل توجهی تحت تأثیر فاکتورهای محیطی تغییر می‌کند (6). تحقیقات پیشین نشان داده است که موقعیت جغرافیایی و عوامل مرتبط با آن مانند شرایط آب و هوایی، ارتفاع از سطح دریا، توپوگرافی منطقه و نوع خاک و همین‌طور مرحله فنولوژیکی گیاه، درصد اسانس و ترکیب مواد مؤثره آنها را به طور قابل توجهی تحت تأثیر قرار می‌دهد (7). نوری شرق و همکاران (2007) با بررسی اسانس *Eremostachys macrophylla* جمع‌آوری شده از منطقه خمین در استان مرکزی، ژرماکرن دی، ژرماکرن بی، گاما - المن، میرسن، بتا - المن و بتا - فلاندرن را به عنوان ترکیبات غالب در اسانس این گونه شناسایی کردند (8). در بررسی دیگری که روی همین گونه در کاشمر انجام شد، ترکیب اصلی اسانس آلفا - پینن بود (9).

با توجه به وجود تنوع در درصد و نوع اجزای تشکیل دهنده اسانس *Eremostachys macrophylla*، این مطالعه با هدف بررسی ترکیبات موجود در اسانس این گیاه که از منطقه دره همار نهاوند واقع در استان همدان جمع‌آوری شد، صورت گرفت.

### مواد و روش‌ها

اندام هوایی گیاه سنبل بیابانی در مرحله گلدهی کامل در اردیبهشت ماه سال 1402 از منطقه دره همار نهاوند در ارتفاع 1845 متر از سطح دریا و مختصات جغرافیایی  $34^{\circ} 10'$  طول جغرافیایی و  $48^{\circ} 25'$  عرض جغرافیایی جمع‌آوری گردید. پس از برداشت، گیاهان به آزمایشگاه منتقل و به مدت دو هفته در سایه خشک شدند. سپس اسانس‌گیری به روش تقطیر با آب به مدت 3 ساعت انجام شد. جهت تجزیه نمونه‌های اسانس و اندازه‌گیری ترکیبات موجود در آن، از دستگاه کروماتوگراف گازی GC و کروماتوگراف گازی متصل به طیف‌سنج جرمی استفاده شد. دمای ابتدایی آون، 50 درجه سانتی‌گراد و توقف در این دما، به مدت 5 دقیقه، گرادیان حرارتی 3 درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه، افزایش دما تا 240 درجه سانتی‌گراد و سپس با سرعت 15 درجه در هر دقیقه، افزایش دما تا 300 درجه سانتی‌گراد و 3 دقیقه توقف در این دما و زمان پاسخ 75 دقیقه بود. دمای اتاقک تزریق، 290 درجه سانتی‌گراد به صورت Split 1 به 35 بود و از گاز هلیوم به عنوان حامل با سرعت جریان 0/5 میلی‌متر در دقیقه استفاده گردید. ورودی دستگاه به مدت 3 دقیقه در 30 درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و سپس طی دو مرحله، با سرعت‌های 8 و 40 درجه سانتی‌گراد بر دقیقه، به 200 و 290 درجه سانتی‌گراد رسانده و به مدت 3 دقیقه در این دما نگهداری شد. طیف‌نگار جرمی مورد استفاده، مدل Agilent 5973 با ولتاژ یونیزاسیون 70 الکترون‌ولت، روش یونیزاسیون EI و دمای منبع یونیزاسیون، 220 درجه سانتی‌گراد بود. گاز کروماتوگرافی استفاده‌شده از نوع Agilent 6890 با ستون به طول 30 متر، قطر داخلی 0/25 میلی‌متر و ضخامت لایه 0/25 میکرومتر از نوع HP-5MS بود. شناسایی طیف‌ها به کمک شاخص بازدارندگی آنها و مقایسه آن با شاخص‌های موجود در کتب مرجع و با استفاده از طیف‌های جرمی و ترکیبات استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه دیجیتال دستگاهی صورت گرفت (10 و 11).

### نتایج و بحث

در این مطالعه، براساس نتایج GC و GC-MS، 45 ترکیب در اسانس سنبل بیابانی شناسایی شد. مهم‌ترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس عبارت بودند از: ژرماکرن دی (15/10%)، ای - کاریوفیلین (10/57%) و بی‌سیکلوزرماکرن (7/26%) (جدول 1).

جدول 1 - ترکیبات تشکیل دهنده اسانس سنبل بیابانی جمع‌آوری شده از دره همار نهاوند

No	RT	KI	Components	%
1	6.06	801	Hexanal	1.56
2	8.22	855	2E-Hexenal	2.51
3	11.21	930	$\alpha$ -Thujene	0.26
4	11.60	939	$\alpha$ -Pinene	2.63
5	13.67	975	Sabinene	1.31
6	13.94	979	$\beta$ -Pinene	0.70
7	14.14	977	1-Octen-3-one	0.34
8	14.23	979	1-Octen-3-ol	0.65
9	14.63	997	1-Propanone, 1-(1-cyclohexen-1-yl)-	3.83
10	15.99	1017	$\alpha$ -Terpinene	0.35
11	16.65	1029	Limonene	0.60
12	16.84	1031	Eucalyptol	2.02
13	19.57	1089	Terpinolene	0.27
14	20.03	1101	$\gamma$ -Terpinene	1.43
15	20.40	1097	Linalool	0.73
16	20.74	1100	n-Nonanal	1.50
17	23.05	1146	Camphor	0.30
18	24.26	1169	Borneol	0.62

19	24.60	1177	Terpinen-4-ol	0.86
20	25.39	1188	$\alpha$ -Terpineol	0.35
21	25.77	1201	n-Decanal	0.64
22	29.39	1285	Bornyl acetate	3.04
23	29.82	1284	E-Anethole	1.10
24	33.74	1388	$\beta$ -Bourbonene	0.70
25	34.52	1393	(Z)-Jasmone	0.27
26	35.34	1418	(E)-Caryophyllene	10.57
27	35.79	1433	$\beta$ -Gurjunene	0.34
28	36.56	1436	Neryl acetone	1.28
29	36.90	1454	$\alpha$ -Humulene	1.57
30	37.98	1481	Germacrene D	15.10
31	38.58	1500	Bicyclogermacrene	7.26
32	39.31	1512	$\alpha$ -Amorphene	0.73
33	39.44	1513	$\delta$ -Cadinene	1.48
34	41.99	1578	spathulenol	2.61
35	42.19	1583	Caryophyllene oxide	2.54
36	42.68	1592	Viridiflorol	0.63
37	44.49	1644	t-Cadinol	4.01
38	45.03	1654	$\alpha$ -Cadinol	3.43
39	48.34	1749	2-hexyl-E-Cinnamaldehyde	0.43
40	49.41	1760	Benzyl benzoate	0.66
41	51.24	1846	2-Pentadecanone,6,10,14-trimethyl	1.57
42	52.17	1873	1,2-Benzenedicarboxylic acid	2.88
43	54.10	1964	Hexadecanoic acid	0.53
44	55.37	1972	Dibutyl phthalate	2.61
45	59.39	2100	n-Heneicosane	0.96
<b>Total Identified</b>				<b>89.76</b>

مطالعات صورت گرفته بیانگر وجود تنوع در نوع ترکیبات اسانس سنبل بیابانی و درصد هر یک از این ترکیبات است. جاویدنیا و همکاران (2008) با مطالعه ترکیبات اسانس سنبل بیابانی جمع‌آوری شده از کوه‌های دراک واقع در جنوب غربی شیراز گزارش کردند که اسپاتولنول، هگزادکانوئیک اسید و کاریوفیلن اکساید بیشترین اجزای اسانس را تشکیل دادند (12). نتایج مطالعه دیگری که بر روی اسانس گل، ساقه و برگ این گیاه انجام شد، بیانگر وجود 1 و 8 - سینئول و ژرماکرن دی-4-ال در گل، آلفا - پینن، 1 و 10- دی‌اپی‌کوبنول، المول و بورنیل‌استات در برگ، و همچنین 1 و 10- دی‌اپی‌کوبنول در ساقه بود (13). نتایج مطالعه حاضر نیز مؤید وجود تنوع در ترکیبات اسانس و درصد هریک از اجزای تشکیل‌دهنده اسانس این گیاه است.

نتیجه‌گیری

ترکیبات اصلی موجود در اسانس گیاه سنبل بیابانی که از منطقه دره همار نهاوند جمع‌آوری شد، بیانگر وجود تنوع در ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس این گیاه در مناطق مختلف ایران است.

#### منابع

- Babaç, M.T. 2004. Possibility of an information system on plants of south-west Asia with particular reference to the Turkish Plants Data Service (TUBIVES). *Turkish Journal of Botany*, 28(1-2): 119-127.
- Mohammadhosseini, M., Frezza, C., Venditti, A. and Akbarzadeh, A. 2019. Ethnobotany and phytochemistry of the genus *Eremostachys* Bunge. *Current Organic Chemistry*, 23(17): 1828-1842.
- Modaressi, M., Delazar, A., Nazemiyeh, H., Fathi-Azad, F., Smith, E., Rahman, M.M., Gibbons, S., Nahar, L. and Sarker, S.D. 2009. Antibacterial iridoid glucosides from *Eremostachys laciniata*. *Phytotherapy Research*, 23(1): 99-103.
- Esmaili, A. 2012. Biological activities of *Eremostachys laevigata* Bunge. grown in Iran. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 25(4): 803-808.
- Golkar, P. and Moattar, F. 2019. Essential oil composition, bioactive compounds, and antioxidant activities in *Iberis amara* L. *Natural Product Communications*, 14(5): 1-8.

6. Verma, N. and Shukla, S. 2015. Impact of various factors responsible for fluctuation in plant secondary metabolites. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 2(4): 105-113.
7. Yavari, A., Nazeri, V., Sefidkon, F. and Hassani, M.E. 2010. Influence of some environmental factors on the essential oil variability of *Thymus migricus*. *Natural Product Communications*, 5(6): 943-948.
8. Nori-Shargh, D., Kiaei, S.M. and Deyhimi, F. 2007. The volatile constituents analysis of *Eremostachys macrophylla* Montbr. & Auch. from Iran. *Natural Products Research*, 21(8):733-735.
- 9 - اعظم منفرد. (1392). 'بررسی ترکیب‌های فرار سه گیاه دارویی خودرو (تیره نعناعیان) در شهرستان کاشمر'. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، 29(4)، صص. 818-827.
10. Adams, R.P. 2001. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, Australia.
11. McLafferty, F.W. and Stauffer, D.B. 1989. Wiley / NBS Registry of Mass Spectral Data. 7 Volume Set. Wiley, New York.
12. Javidnia, K., Miri, R., Soltani, M. and Khosravi, A.R. 2008. Essential oil composition of two species of *Eremostachys* from Iran (*E. adenantha* Jaub. et Spach and *E. macrophylla* Montbr. et Auch.). *Journal of Essential Oil Research*, 20(3): 226-228.
13. Rustaiyan, A., Masoudi, Sh., Ezzatzadeh, E., Akhlaghi, H. and Aboli, J. 2011. Composition of the aerial part, flower, leaf and stem oils of *Eremostachys macrophylla* Montbr. & Auch. and *Eremostachys labiosa* Bunge. from Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 14(1): 84-88.

## The study of phytochemical compositions of *Phlomoides molucelloides* collected from Homar valley in Nahavand

Mahtab Salehi\*<sup>1</sup>

\*<sup>1</sup> Assistant professor of Horticultural Sciences and Engineering Department, Nahavand Higher Education Complex, Bu-Ali Sina University  
Email: mahtab.salehi@basu.ac.ir

### Abstract

The *Phlomoides molucelloides* with the previous scientific name *Eremostachys molucelloides* is a medicinal plant belonging to the Lamiaceae family, which is widely used in traditional and local medicine. In order to investigate the compounds in the essential oil of the aerial parts, this plant was collected from Homar Nahavand region. Then the collected sample was dried in the shade for two weeks. The dried samples were extracted with a Clevenger and injected into the GC-MS to determine the constituents of the essential oil. The results showed that the most important constituents of the essential oil were germacrene D, (*E*)-caryophyllene and bicyclogermacrene.

**Keywords:** *Phlomoides molucelloides*, Germacrene D, (*E*)-Caryophyllene, Bicyclogermacrene

## بررسی ترکیبات فیتوشیمیایی اسانس گیاه مریم‌گلی پرساقه (*Salvia multicaulis* Vahl.)

### جمع‌آوری شده از دره همار نهاوند

مهتاب صالحی<sup>\*1</sup>

<sup>\*1</sup> استادیار، دکترای تخصصی اکولوژی گیاهان زراعتی، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشگاه بوعلی سینا، مجتمع آموزش عالی نهاوند

Email: mahtab.salehi@basu.ac.ir

#### چکیده

گیاه مریم‌گلی پرساقه با نام علمی *Salvia multicaulis* Vahl. گیاه دارویی متعلق به نعنایان می‌باشد که در طب سنتی و بومی کاربرد گسترده‌ای دارد. به منظور بررسی ترکیبات موجود در اسانس گیاه مریم‌گلی پرساقه، این گیاه از منطقه دره همار نهاوند جمع‌آوری گردید. سپس نمونه جمع‌آوری شده به مدت دو هفته در سایه خشک گردید. نمونه‌های خشک‌شده با دستگاه کلونجر اسانس‌گیری شد و برای تعیین اجزای تشکیل‌دهنده اسانس به دستگاه GC-MS تزریق گردید. نتایج نشان داد که میزان اسانس این گیاه 1/18 درصد است. مهم‌ترین اجزای تشکیل‌دهنده اسانس، آلفا - پینن، 1و8 - سینئول و ای - کاریوفیلن بودند. این ترکیبات دارای اثرات درمانی بالایی هستند.

**واژگان کلیدی:** مریم‌گلی پرساقه، آلفا - پینن، 1و8 - سینئول، کاریوفیلن.

#### مقدمه

جنس *Salvia* یکی از جنس‌های مهم تیره نعنایان است که دارای حدود 900 گونه در جهان و بیش از 70 گونه در ایران می‌باشد که از بین آنها 17 گونه آن، اندمیک و انحصاری ایران است (1و2). گیاهان این جنس دارای اسانس هستند و خاصیت مدر، ضد تعرق، آرام‌بخش، ضد نفخ و کاهش‌دهنده قند خون، نیرودهنده و مقوی معده دارند (3). گونه *Salvia multicaulis* Vahl. از پراکندگی فراوانی در سراسر جهان و به طور خاص در منطقه مدیترانه برخوردار است و از جمله رویشگاه‌های طبیعی این گونه، کشور ایران می‌باشد. گیاهان این تیره معمولاً یکساله، پایا و ایستاده‌اند. ساقه‌ها عموماً چهارگوش هستند و برگ‌ها متقابل و دارای پهنکی ضخیم، پوشیده از کرک‌های بسیارند. گل‌ها به صورت منفرد، ارغوانی و در کنار برگ‌ها یافت می‌شوند (4). اسانس‌ها یکی از فرآورده‌های تجاری متشکل از متابولیت‌های ثانویه عمدتاً فرار گیاهی هستند که مونو و سسکوئیدی‌ترین‌ها اجزای سازنده اصلی این فرآورده‌ها محسوب می‌شوند (5). نکته حائز اهمیت این است که با وجود اینکه سنتز متابولیت‌های ثانویه گیاهی تحت کنترل ژنتیکی گیاهان انجام می‌شود، تولید آنها به لحاظ کمی و کیفی ثابت نبوده و به طور قابل توجهی تحت تأثیر فاکتورهای محیطی تغییر می‌کند (6). تحقیقات پیشین نشان داده است که موقعیت جغرافیایی و عوامل مرتبط با آن مانند شرایط آب و هوایی، ارتفاع از سطح دریا، توپوگرافی منطقه و نوع خاک و همین‌طور مرحله فنولوژیکی گیاه، درصد اسانس و ترکیب مواد مؤثره آنها را به طور قابل توجهی تحت تأثیر قرار می‌دهد (7). در تحقیقات انجام شده، هرچند ترکیبات در این گونه تا حد زیادی متفاوت بوده، با این حال در بیشتر این تحقیقات، مونوترپن‌هایی مانند آلفا - پینن، 1و8 - سینئول، بورنئول، کامفور و بورنیل‌استات و سسکوئیدی‌ترین بتا - کاریوفیلن به عنوان ترکیبات غالب در اسانس این گونه شناسایی شده‌اند (8). با توجه به وجود تنوع در درصد و نوع اجزای تشکیل‌دهنده اسانس مریم‌گلی پرساقه، در مناطق مختلف ایران، هدف از این مطالعه، بررسی ترکیبات موجود در اسانس این گیاه در منطقه دره همار نهاوند است.

## مواد و روش‌ها

پیکره رویشی گلدار گیاه مریم‌گلی پرساقه در مرحله گلدهی کامل در اردیبهشت ماه سال 1402 از منطقه دره همار نهند در ارتفاع 1845 متر از سطح دریا و مختصات جغرافیایی  $34^{\circ} 10'$  و  $48^{\circ} 25'$  جمع‌آوری گردید. پس از برداشت، گیاهان به آزمایشگاه منتقل و به مدت دو هفته در سایه خشک شدند. سپس اسانس‌گیری به روش تقطیر با آب به مدت 3 ساعت انجام شد. جهت تجزیه نمونه‌های اسانس و اندازه‌گیری ترکیبات موجود در آن، از دستگاه کروماتوگراف گازی GC و کروماتوگراف گازی متصل به طیف‌سنج جرمی استفاده شد. دمای ابتدایی آن، 50 درجه سانتی‌گراد و توقف در این دما، به مدت 5 دقیقه، گرادیان حرارتی 3 درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه، افزایش دما تا 240 درجه سانتی‌گراد و سپس با سرعت 15 درجه در هر دقیقه، افزایش دما تا 300 درجه سانتی‌گراد و 3 دقیقه توقف در این دما و زمان پاسخ 75 دقیقه بود. دمای اتاقتک تزریق، 290 درجه سانتی‌گراد به صورت Split 1 به 35 بود و از گاز هلیوم به عنوان حامل با سرعت جریان 0/5 میلی‌متر در دقیقه استفاده گردید. ورودی دستگاه به مدت 3 دقیقه در 30 درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و سپس طی دو مرحله، با سرعت‌های 8 و 40 درجه سانتی‌گراد بر دقیقه، به 200 و 290 درجه سانتی‌گراد رسانده و به مدت 3 دقیقه در این دما نگهداری شد. طیف‌نگار جرمی مورد استفاده، مدل Agilent 5973 با ولتاژ یونیزاسیون 70 الکترون‌ولت، روش یونیزاسیون EI و دمای منبع یونیزاسیون، 220 درجه سانتی‌گراد بود. گاز کروماتوگرافی استفاده‌شده از نوع Agilent 6890 با ستون به طول 30 متر، قطر داخلی 0/25 میلی‌متر و ضخامت لایه 0/25 میکرومتر از نوع HP-5MS بود. شناسایی طیف‌ها به کمک شاخص بازدارداری آنها و مقایسه آن با شاخص‌های موجود در کتب مرجع و با استفاده از طیف‌های جرمی و ترکیبات استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه دیجیتال دستگاهی صورت گرفت (9 و 10).

## نتایج و بحث

در این مطالعه، براساس نتایج GC و GC-MS، 28 ترکیب در اسانس مریم‌گلی پرساقه شناسایی شد. مهم‌ترین ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس عبارت بودند از: آلفا - پینن (26/99%)، 1 و 8 - سینئول (25/30%) و ای - کاریوفیلن (13/62%) (جدول 1).

جدول 1 - ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس مریم‌گلی پرساقه جمع‌آوری‌شده از دره همار نهند

No	RT	KI	Components	%
1	11.06	926	Tricyclene	0.25
2	11.22	930	$\alpha$ -Thujene	0.45
3	11.62	939	$\alpha$ -Pinene	26.99
4	12.50	954	Camphene	4.28
5	13.68	975	Sabinene	0.21
6	13.95	979	$\beta$ -Pinene	3.80
7	14.52	991	$\beta$ -Myrcene	1.14
8	15.47	1002	Phellandrene	0.12
9	16.00	1017	Terpinene	0.39
10	16.51	1026	Cymene	0.43
11	16.67	1029	Limonene	4.66
12	16.87	1031	1,8- Cineole	25.30
13	18.20	1060	$\gamma$ -Terpinene	0.67
14	19.58	1089	Terpinolene	0.15
15	23.05	1146	Camphor	1.62
16	24.27	1169	Borneol	4.30
17	24.60	1177	Terpinen-4-ol	0.85
18	29.40	1284	Bornyl acetate	4.99
19	33.38	1375	$\alpha$ -Ylangene	0.31
20	35.37	1419	(E)-Caryophyllene	13.62
21	35.80	1433	$\beta$ -Gurjunene	0.19
22	36.16	1441	Aromadendrene	0.34
23	36.91	1454	$\alpha$ -Humulene	0.58

24	38.36	1496	Viridiflorene	0.11
25	39.32	1513	$\gamma$ -Cadinene	0.19
26	41.19	1561	Germacrene B	0.11
27	42.20	1583	Caryophyllene oxide	1.35
28	45.06	1653	$\alpha$ -Eudesmol	0.77
<b>Total Identified</b>				<b>98.17</b>

مطالعات صورت گرفته بیانگر وجود تنوع در نوع ترکیبات اسانس مریم‌گلی پرساقه و درصد هر یک از این ترکیبات است. توکلی و همکاران (1401) با مطالعه ترکیبات اسانس مریم‌گلی پرساقه جمع‌آوری شده از استان همدان، گزارش کردند که آلفا - پینن، 1 و 8 - سینئول، آلفا - فلاندرن، بورنیل استات و بتا - کاریوفیلن اجزای اصلی اسانس بودند (11). نتایج مطالعه دیگری که بر روی اسانس این گیاه انجام شد نشان داد که بورنیل استات، بتا - کاریوفیلن، آلفا - پینن، 1 و 8 - سینئول و لیمونن اجزای اصلی اسانس را تشکیل می‌دهند (12). نتایج مطالعه حاضر نیز، موضوع وجود تنوع در ترکیبات اسانس و درصد هر یک از اجزای تشکیل‌دهنده اسانس را تأیید می‌کند. آلفا - پینن به عنوان یکی از ترکیب‌های غالب مهم در اسانس مریم‌گلی پرساقه، اثرات ضد میکروبی، ضد قارچی، ضد التهابی و ضد سرطانی از خود نشان داده است (13). 1 و 8 - سینئول نیز از ترکیب‌های غالب اسانس این گونه است که به دلیل داشتن اثرهای بیولوژیک متعدد، اهمیت درمانی بالایی دارد. این ترکیب نیز دارای اثرات ضد میکروبی، ضد قارچی، ضد التهابی و ضد درد است که بیانگر اهمیت آن در صنایع دارویی است (14). بتا - کاریوفیلن در درمان دیابت (15)، اضطراب و افسردگی (16)، آلزایمر (17) و ایسکمی مغزی (18) دارد.

#### نتیجه‌گیری

ترکیبات اصلی موجود در اسانس گیاه مریم‌گلی پرساقه که از منطقه دره همار نهانند جمع‌آوری شد، شامل آلفا - پینن، 1 و 8 - سینئول و کاریوفیلن بودند. با توجه به اثرات ضد میکروبی، ضد قارچی، ضد التهابی و سایر اثرات درمانی این ترکیبات، کشت تجاری این گیاه با هدف استخراج ترکیب‌های ثانویه مورد نظر موجود در اسانس این گیاه می‌تواند حائز اهمیت باشد.

#### منابع

- Hedge, I.C. 1960. Notes on some cultivated species of *Salvia*. *The Journal of the Royal Horticultural Society*, 85: 451-454.
- Mozaffarian, V. 2007. A Dictionary of Iranian Plant Names. Tehran, Farhang-e Moaser, Pp. 671.
- Mohammadhosseini, M., Pazoki, A. and Akhlaghi, H. 2008. Chemical composition of the essential oils from flowers, stems, and roots of *Salvia multicaulis* growing wild in Iran. *Chemistry of natural compounds*, 44: 127-128.
- قهرمان، ا. (1383). کورموفیت‌های ایران (سیستماتیک گیاهی) (جلد 1). تهران، مرکز نشر دانشگاهی، 752 ص.
- Busatta, C., Mossi, A., Rodrigues, M.R., Cansian, R. and Oliveira, J. 2007. Evaluation of *Origanum vulgare* essential oil as antimicrobial agent in sausage. *Brazilian Journal of Microbiology*, 38(4): 610-616.
- Verma, N. and Shukla, S. 2015. Impact of various factors responsible for fluctuation in plant secondary metabolites. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 2(4): 105-113.
- Yavari, A., Nazeri, V., Sefidkon, F. and Hassani, M.E. 2010. Influence of some environmental factors on the essential oil variability of *Thymus migricus*. *Natural Product Communications*, 5(6): 943-948.
- Shahriari, S., Barekatin, M., Shahtalebi, M.A. and Farhad, S.Z. 2019. Evaluation of preventive antibacterial properties of a glass-ionomer cement containing purified powder of *Salvia officinalis*: an *in vitro* study. *International Journal of Preventive Medicine*, 10(1): 110.
- Adams, R.P. 2001. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, Australia.
- McLafferty, F.W. and Stauffer, D.B. 1989. Wiley / NBS Registry of Mass Spectral Data. 7 Volume Set. Wiley, New York.



- 11 - مهدیه توکلی، سعید سلطانی، مصطفی ترکش اصفهانی و رؤیا کرمان. (1401). 'بررسی اثر برخی از عوامل محیطی بر ترکیب اسانس *Salvia multicaulis* Vahl. در استان همدان'. نشریه علمی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، 38(4)، صص. 563-545.
12. Ahmadi, L. and Mirza, M. 2011. Essential oil of *Salvia multicaulis* Vahl. from Iran. *Journal of essential oil research*, 11(3): 289-290.
13. Kim, M.K., Park, G.H., Eo, H.J., Song, H.M., Lee, J.W., Kwon, M.J., Koo, J.S. and Jeong, J.B. 2015. Tanshinone I induces cyclin D1 proteasomal degradation in an ERK1/2 dependent way in human colorectal cancer cells. *Fitoterapia*, 101: 162-168.
14. Miladinović, D.L., Ilić, B.S. and Kocić, B.D. 2015. Chemoinformatics approach to antibacterial studies of essential oils. *Natural Product Communications*, 10(6): 1063-1066.
15. Basha, R.H. and Sankaranarayanan, C. 2014.  $\beta$ -Caryophyllene, a natural sesquiterpene, modulates carbohydrate metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. *Acta Histochemica*, 116(8): 1469-1479.
16. Bahi, A., Al Mansouri, S., Al Memari, E., Al Ameri, M., Nurulain, S.M. and Ojha, S. 2014.  $\beta$ -Caryophyllene, a CB2 receptor agonist produces multiple behavioral changes relevant to anxiety and depression in mice. *Physiology & Behavior*, 135: 119-124.
17. Cheng, Y., Dong, Z. and Liu, S. 2014.  $\beta$ -Caryophyllene ameliorates the Alzheimer-like phenotype in APP/PS1 Mice through CB2 receptor activation and the PPAR $\gamma$  pathway. *Pharmacology*, 94(1-2): 1-12.
18. Chang, H.J., Kim, J.M., Lee, J.C., Kim, W.K. and Chun, H.S. 2013. Protective effect of  $\beta$ -caryophyllene, a natural bicyclic sesquiterpene, against cerebral ischemic injury. *Journal of Medicinal Food*, 16(6): 471-480.

## The study of phytochemical compositions of *Salvia multicaulis* Vahl. collected from Homar valley in Nahavand

Mahtab Salehi\*<sup>1</sup>

\*<sup>1</sup> Assistant professor of Horticultural Sciences and Engineering Department, Nahavand Higher Education Complex, Bu-Ali Sina University

### Abstract

*Salvia multicaulis* Vahl. medicinal plant belongs to Lamiaceae, which is widely used in traditional and local medicine. In order to investigate the compounds in the essential oil of *Salvia multicaulis*, this plant was collected from Homar valley in Nahavand region. Then the collected sample was dried in the shade for two weeks. The dried samples were extracted with a Clevenger and injected into the GC-MS to determine the constituents of the essential oil. The results showed that the amount of essential oil of this plant was 1.18%. The most important constituents of essential oil were  $\alpha$ -pinene, 1-8-cineole and (*E*)-caryophyllene.

**Keywords:** *Salvia multicaulis* Vahl.,  $\alpha$ -pinene, 1-8-cineole, (*E*)-Caryophyllene.

## تأثیر سیلیکون بر میزان منگنز گیاه کتان روغنی (*Linum usitatissimum* L.) تحت تنش منگنز

احمد مهتدی<sup>1\*</sup>، اسکندر محمدی دوست<sup>2</sup>

\* دانشیار فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه یاسوج a.mohtadi@yu.ac.ir  
<sup>2</sup> کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه یاسوج

### چکیده

یکی از عوامل ایجاد تنش محیطی در گیاهان حضور فلزات سنگین از جمله منگنز در محیط رویش آنهاست. منگنز عنصر ضروری کم مصرفی است اما انباشت آن در خاک و گیاه اثرات منفی بر فعالیت‌های گیاه می‌گذارد. به منظور ارزیابی تأثیر سیلیکون بر گیاه کتان روغنی تحت تنش منگنز آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با 4 تکرار انجام شد. عامل اول شامل سطوح مختلف منگنز در 4 سطح (2، 250، 500 و 1000 میکرومولار) و عامل دوم سیلیکون در 5 سطح (صفر، 0/5، 1، 1/5 و 2 میلی‌مولار) بود. صفات مورد بررسی شامل محتوای عنصر منگنز در ریشه و اندام هوایی و صفات مورفولوژیکی بود. نتایج نشان داد که با افزایش سطوح تنش منگنز محتوای منگنز ریشه و اندام هوایی افزایش و سایر صفات مورد مطالعه کاهش یافت. کاربرد سیلیکون سبب افزایش وزن خشک ریشه و اندام هوایی گیاه تحت تیمار با سطوح مختلف سیلیکون نسبت به سطح عدم کاربرد سیلیکون شد. براساس دست‌آوردهای این پژوهش در شرایط تنش منگنز استفاده از سیلیکون تأثیر به‌سزایی در بهبود اثرات مضر منگنز در گیاه کتان روغنی داشت، به‌طوری‌که موجب کاهش جذب منگنز در ریشه و اندام هوایی گردید. به همین دلیل استفاده از سیلیکون به‌عنوان راهکاری مدیریتی در مناطق آلوده به این فلز سنگین توصیه می‌شود.

واژگان کلیدی: کتان روغنی، سیلیکون، منگنز، وزن خشک.

### مقدمه

یکی از گیاهان روغنی و دارویی که در سطح جهان از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است، کتان روغنی می‌باشد. کتان روغنی با نام علمی *Linum usitatissimum* L. گیاهی علفی و یکساله است که به تیره کتان (Linaceae) تعلق دارد. کشت و تولید کتان تحت تأثیر تنش‌های زیستی و غیر زیستی متعددی قرار می‌گیرد که از جمله این تنش‌ها می‌توان به تنش فلز سنگین اشاره نمود. آلودگی‌های زیست‌محیطی، از جمله فلزات سنگین یکی از معیارهای کنترل کیفیت گیاهان دارویی و محصولات فرآوری شده آنها می‌باشند و ممکن است با تحت تأثیر قرار دادن مسیر زیست‌ساختی متابولیت‌های ثانویه، موجب تغییرات چشمگیری در کمیت و کیفیت این محصولات شوند (1).

در عصر حاضر آلودگی فلزات سنگین به طور سریع در حال افزایش می‌باشد که معرف بسیاری از مشکلات زیست‌محیطی است. بعضی از فلزات مانند کادمیوم، سرب و کروم هیچ نقش بیولوژیکی شناخته شده‌ای ندارند، در حالیکه مس، روی و منگنز در غلظت‌های پایین برای رشد معمولی گیاه مورد نیاز می‌باشند، اما در غلظت‌های بالا سمی هستند (2). منگنز یک عنصر ریزمغذی

ضروری برای گیاهان است. سمیت منگنز باعث کاهش تولید زیست توده، کاهش تولیدات فتوسنتزی و افزایش تنش اکسیداتیو می شود (3).

یکی از راهکارهای کاهش اثرات زیانبار غلظت های بالای فلزات سنگین از جمله منگنز، استفاده از روش های صحیح تغذیه معدنی گیاهان است که نقش قابل ملاحظه ای در افزایش عملکرد دارند. در همین ارتباط نقش برخی از عناصر مانند سیلیکون مورد توجه برخی متخصصان تغذیه گیاهی قرار گرفته است. سیلیکون به عنوان یک عنصر سودمند قادر است رشد گیاه را تحریک نماید و تنش های محیطی غیرزنده از قبیل تنش فلزات سنگین، تنش شوری، تنش خشکی، تنش رادیو اکتیو و تنش سرما را کاهش دهد (4). تاکنون مطالعات مختلفی در دنیا با تأثیر سیلیکون در کاهش جذب فلزات سنگین در گیاهان مختلف بررسی شده است. اما در زمینه تأثیر سیلیکون در ویژگی های فیزیولوژیکی گیاهان به ویژه گیاهان دارویی-روغنی نظیر گیاه کتان روغنی، در خاک های آلوده به منگنز مطالعات چندانی انجام نشده است. لذا هدف از این بررسی کاربرد خارجی سیلیکون بر کتان روغنی به سمیت منگنز بود.

### مواد و روش ها

پژوهش حاضر به صورت گلدانی در سال 1397 در آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی دانشکده علوم پایه دانشگاه یاسوج انجام گرفت. بذره های کتان روغنی از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با 4 تکرار انجام شد. عامل اول شامل سطوح مختلف منگنز (به صورت سولفات منگنز  $MnSO_4$ ) در 4 سطح (2، 500، 250 و 1000 میکرومولار) و عامل دوم سیلیکون (به صورت سدیم متاسیلیکات  $Na_2SiO_3$ ) در 5 سطح (صفر، 0/5، 1، 1/5 و 2 میلی مولار) بود. سیستم کشت بدون خاک با پرلیت، به عنوان بستر بی اثر، برای مطالعه اثر سطوح مختلف تنش منگنز بر روی گیاه کتان روغنی با محلول سیلیکون بود. جهت زهکشی مناسب 4 سوراخ به قطر یک سانتی متر در ته هر کدام از گلدان ها تعبیه شده و گلدان ها توسط پرلیت شسته شده پر شدند. بذر کتان روغنی ضد عفونی شده با محلول هیپوکلریت سدیم 5% کاشت شدند. از مرحله کاشت تا جوانه زنی آبیاری با آب مقطر صورت گرفت. زمانیکه 50 درصد بذرها سبز شدن، گلدان ها با یک چهارم غلظت محلول هوگلند آبیاری شدند. پس از آنکه گیاهچه ها بیشتر رشد نمودند، با نصف غلظت محلول غذایی محلول هوگلند آبیاری شدند. از مرحله شش برگگی گیاهان به مدت چهار هفته تحت تیمار سطوح مختلف منگنز و سیلیکون قرار گرفتند. پس از پایان اعمال تیمارها، گیاهان برداشت شدند و صفات مورد نظر اندازه گیری شد.

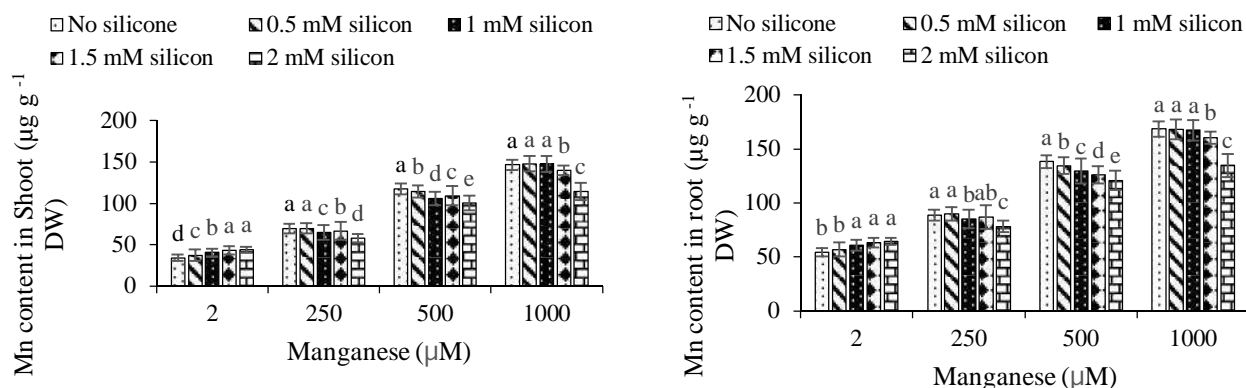
تجزیه آماری طرح با استفاده از نرم افزار SAS انجام شد و مقایسه میانگین ها برای اثرهای اصلی که معنی دار شدند، با استفاده از آزمون LSD در سطح 5 درصد مقایسه گردید. نمودارها نیز با کمک نرم افزار Microsoft Excel رسم گردیدند.

### نتایج و بحث

طبق اطلاعات حاصل از مقایسه میانگین ها اثر سطوح مختلف سیلیکون در هر سطح تنش منگنز بر محتوای منگنز ریشه در کتان روغنی نشان داد با افزایش شدت تنش از 2 به 1000 میکرومولار منگنز، بر محتوای منگنز ریشه افزوده شد و در سطح 2 میکرومولار منگنز، کاربرد سطوح مختلف سیلیکون موجب افزایش این صفت گردید اما در سطوح بالاتر منگنز، کاربرد سطوح مختلف سیلیکون از محتوای منگنز در ریشه کاسته شد (شکل 1).

مقایسه میانگین سیلیکون در هر سطح تنش منگنز نشان داد با افزایش در سطوح تنش منگنز میزان منگنز اندام هوایی افزایش یافت. در سطح کاربرد 2 میکرومولار منگنز بیشترین محتوای منگنز اندام از کاربرد 2 میلی مولار سیلیکون و کمترین آن از تیمار عدم کاربرد سیلیکون حاصل گردید. در سطوح 250، 500 و 1000 میلی مولار منگنز بیشترین محتوای منگنز اندام هوایی از تیمار عدم کاربرد سیلیکون و کمترین آن از تیمار کاربرد 2 میلی مولار سیلیکون حاصل گردید (شکل 2).

پتانسیل سمیت فلزات سنگین در محیط، بستگی به غلظت آن‌ها در محلول خاک دارد. تجمع منگنز به میزان زیاد در ریشه‌ها می‌تواند یک نکته مثبت تلقی شود چون این امر احتمالاً مانعی برای انتقال بیشتر آن به اندام‌های هوایی و بخش‌هایی از گیاه است که استفاده غذایی دارد. یکی از مهم‌ترین دلایل تجمع بیشتر منگنز در ریشه در مقایسه با اندام هوایی کتان روغنی، ورود این عنصر در فضای آپوپلاستی ریشه است که به راحتی به همراه محلول غذایی و بدون مواجه شدن با سد حلقه کاسپاری تا نزدیکی لایه آندودرم در عمق بافت ریشه نفوذ می‌کند و با شستشوی سطحی نیز برطرف نمی‌شود.



شکل 1- مقایسه میانگین سطوح سیلیکون در هر سطح تنش منگنز بر محتوای منگنز ریشه در کتان روغنی  
شکل 2- مقایسه میانگین سطوح سیلیکون در هر سطح تنش منگنز بر محتوای منگنز اندام هوایی در کتان روغنی

در هر سطح تنش منگنز میانگین‌ها با حداقل یک حرف مشترک نشان‌دهنده عدم تفاوت آماری در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد.

ریشه گیاه کتان روغنی مورد استفاده قرار نمی‌گیرد و توانایی این گیاه در کنترل ورود مقادیر زیادی از منگنز از طریق ریشه به اندام هوایی می‌تواند به عنوان نکته مثبت عملکرد این گیاه در شرایط آلوده تلقی شود. یکی دیگر از دلایل افزایش میزان منگنز در ریشه گیاه مورد تحقیق ممکن است تجمع آن‌ها در واکوئول‌ها باشد. در پژوهش حاضر به نظر می‌رسد در سطح 2 میکرومولار منگنز که اثر سمی بر گیاه نداشته و احتمالاً گیاه به منگنز نیاز داشته است، سیلیکون موجب افزایش آن گردیده است اما با افزایش غلظت منگنز و اثرات سمی که بر گیاه داشته است، سیلیکون موجب کاهش آن در گیاه شده است.

نتایج حاصل از مقایسه میانگین سطوح سیلیکون در هر سطح تنش منگنز نشان داد با افزایش سطوح تنش از وزن خشک ریشه کتان روغنی کاسته شد اما کاربرد سیلیکون موجب افزایش وزن خشک ریشه نسبت به سطح عدم کاربرد سیلیکون شد. در سطح 2 میکرومولار منگنز، کاربرد 2 میلی مولار سیلیکون موجب افزایش 13/04 درصدی وزن خشک ریشه کتان روغنی شد. در سطوح 250، 500 و 1000 میکرومولار تنش منگنز، بیشترین وزن خشک ریشه در شرایط کاربرد 2 میلی مولار سیلیکون و کمترین آن در شرایط عدم کاربرد سیلیکون حاصل شد.

مقایسه میانگین سطوح سیلیکون در هر سطح تنش منگنز نشان از کاهش وزن خشک اندام هوایی در کتان روغنی با افزایش در سطوح تنش وارد شده بر گیاه دارد و در هر چهار سطح منگنز بیشترین وزن خشک اندام هوایی از تیمار 2 میلی مولار سیلیکون و کمترین آن نیز در تیمار عدم کاربرد سیلیکون حاصل شد.

گزارش شده که به علت وجود فلزات سنگین در اندام هوایی گیاه، در سوخت و ساز سلول‌های این بخش اختلال ایجاد شده و به همین علت، ارتفاع گیاه کاهش می‌یابد (5). کاهش در وزن ممکن است در ارتباط با سمیت فلزات سنگین باشد. بدین صورت که این ماده سمی می‌تواند مکانیسم‌های فیزیولوژیکی نرمال را مختل کرده و در نهایت از این طریق اثرات منفی بر زیست توده داشته باشد (6). نتایج تحقیقات نشان داده که سیلیکون نقش مهمی در رشد ریشه‌ها و حرکت آب به طرف ریشه‌ها از ریزوسفر خاک دارد در نتیجه، میزان وزن تر و خشک ریشه‌ها افزایش پیدا می‌کند (7)

### نتیجه گیری

فلزات سنگین را می‌توان یکی از آلاینده‌های محیط زیست نام برد که به دلیل اثرات فیزیولوژیکی خاص خود بر روی موجودات زنده حتی در غلظت‌های پایین هم از اهمیت بالایی برخوردار هستند. اثر منفی تیمار منگنز بر روی صفات مورد بررسی کاملاً مشهود بود، به طوری که در بالاترین سطح منگنز آثار مخرب آن مشاهده گردید. براساس نتایج این آزمایش مشخص گردید که با افزایش سطوح منگنز، صفات مورد بررسی به استثنای محتوای منگنز ریشه و اندام هوایی کاهش یافتند و کاربرد سیلیکون شرایط را برای گیاه کتان روغنی مساعدتر کرد. وجود سیلیکون سبب کاهش جذب این عنصر در سطوح بالای تنش توسط گیاه و انباشتگی آن‌ها در اندام هوایی گردیده است. اگر چه تنش منگنز موجب کاهش ارتفاع بوته و وزن خشک شد اما اعمال سیلیکون سبب بهبود صفات بررسی شده گردید. به طور کلی تیمار کاربرد 2 میلی مولار سیلیکون نسبت به تیمارهای دیگر بیشترین تأثیر را بر بهبود صفات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی داشت. لذا کاربرد سیلیکون در محیط کشت به عنوان راه‌حلی مفید و اقتصادی در جهت بهبود کیفیت خاک و در نتیجه تولید بیشتر محصول در شرایط آلودگی به تنش منگنز می‌باشد. سیلیکون تأثیر به‌سزایی در بهبود اثرات مضر منگنز در گیاه کتان روغنی داشت، به طوری که باعث کاهش جذب منگنز و اصلاح شاخص خطر و سلامت برای مصرف‌کنندگان شد.

### منابع

1. Ali, B., Gill, R.A., Yang, S., Gill, M.B., Ali, S. and Rafiq, M.T. (2018). Hydrogen sulfide alleviates cadmium-induced morpho-physiological and ultrastructural changes in Brassica napus. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 151, pp. 50-60.
2. Jan, M., Shah, G., Masood, S., Shinwari, K.I., Hameed, R., Rha, E.S. and Jamil, M. (2019). Bacillus cereus enhanced phytoremediation ability of rice seedlings under cadmium toxicity. *BioMed Research International*, pp.1-12.
3. Abou Taleb, M. F., Hassan, N. M. and El-Bassiouny, H. M. (2019). Manganese toxicity in plants: A review. *Journal of Plant Nutrition*, 42(13), pp.1540-1553.

4. Imtiaz, M., Rizwan, M. S., Mushtaq, M. A., Ashraf, M., Shahzad, M., Yousaf, B., Saeed, D. A., Rizwan, M., Nawaz, M. A., Mahmood, S. and Tu, S. (2016). Silicon occurrence, uptake transport and mechanism of heavy metals, minerals and salinity enhanced tolerance in plants with future prospects. *Journal of Environmental Management*, 183, pp.521-529.
5. Shanker, A., Cervantes, C., Loza-Tavera, H. and Avudainayagam, S. (2005). Chromium toxicity in plants. *International Environmental Science and Development*, 31, pp. 63-68.
6. Shah, F.R., Ahmad, N., Masood, K.R. and Zahid, D.M. (2008). The influence of cadmium and chromium on the biomass production of shisham (*Dalbergia sissoo* ROXB.) seedlings. *Pakistan Journal of Botany*, 40, pp. 1341-1348.
7. Hattori, T., Inanaga, S. Araki, H. An, P. Morita, S. Luxova, M. M. and Lux, A. (2005). Application of silicon enhanced drought tolerance in sorghum bicolor. *Physiology Plant*, 23, pp. 459-466.

## The effect of silicon on the manganese content of *Linum usitatissimum* L. under manganese stress

Ahmad Mohtadi<sup>1\*</sup>, Sna Mohammadidust<sup>2</sup>

<sup>1,2</sup>Department of Biology, Faculty of Science, Yasouj University

\*Corresponding Author: a.mohtadi@yu.ac.ir

### Abstract

One of the factors causing environmental stress in plants is the presence of heavy metals such as manganese in their growing environment. Manganese is a low consumption essential element, but its accumulation in soil and plants has negative effects on plant activities. In order to evaluate the effect of silicon on *Linum usitatissimum* under manganese stress, a factorial experiment was conducted in the form of a completely randomized design with four replications. The first factor included different levels of manganese in 4 levels (2, 250, 500 and 1000  $\mu\text{M}$ ) and the second factor of silicon in 5 levels (0, 0.5, 1, 1.5 and 2 mM). The examined traits included the content of manganese element in roots and shoots and morphological traits. The results showed that with increasing levels of manganese stress, the manganese content of roots and shoots increased and other studied traits decreased. The application of silicon caused an increase in the dry weight of the roots and shoots of plants treated with different levels of silicon compared to the level of no application of silicon. Based on the results of this research, in conditions of manganese stress, the use of silicon had a significant effect in improving the harmful effects of manganese in *Linum usitatissimum*, so that it reduced the absorption of manganese in the roots and shoots.

**Keywords:** Dry weight, *Linum usitatissimum*, Manganese, Silicon

## تأثیر محلول پاشی برگي تنظيم کننده های رشد گیاه متیل جاسمونات و سالیسیلیک اسید بر فرآیندهای

### مورفوفیزیولوژیک گیاهچه ذرت در شرایط تنش آبی

فاطمه نصر<sup>1</sup>، یحیی امام<sup>2\*</sup>

1: دانشجوی کارشناسی ارشد بخش تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

nsrfatemeh252@gmail.com

2\* نویسنده مسئول: استاد بخش تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

Yaemam@shirazu.ac.ir

#### چکیده

کاربرد تنظیم کننده های رشد در شرایط تنش آبی می تواند به رشد و نمو گیاهچه ذرت در مرحله حساس استقرار کمک کند. به منظور بررسی پاسخ های مورفوفیزیولوژیک گیاهچه ذرت به تنظیم کننده های رشد در شرایط تنش آبی آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی بخش تولید و ژنتیک گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز انجام شد. تیمارها شامل آبیاری در سه سطح و محلول پاشی برگي شامل عدم محلول پاشی، متیل جاسمونات در دو سطح، سالیسیلیک اسید در دو سطح و کاربرد تلفیقی متیل جاسمونات و سالیسیلیک اسید در چهار سطح بودند. نتایج نشان داد؛ تنش آبی سبب کاهش صفات مورفوفیزیولوژیک در گیاهچه ذرت شد. از بین صفات اندازه گیری شده، وزن تر و خشک اندام هوایی به ترتیب بیشترین میزان کاهش را به مقدار 89/28 و 85/13 درصد در شرایط تنش شدید آبی نشان دادند؛ از میان تنظیم کننده های رشد کاربرد تلفیقی با غلظت های 20 میکرومولار متیل جاسمونات و یک میلی مولار سالیسیلیک اسید بیشترین کاهش اثرات منفی تنش آبی را از راه افزایش شاخص سبزینگی، وزن تر و خشک اندام هوایی داشت.

**واژگان کلیدی:** ذرت، تنش آبی، تنظیم کننده های رشد گیاه، متیل جاسمونات، سالیسیلیک اسید.

#### مقدمه

تنظیم کننده های رشد نظیر سالیسیلیک اسید و جاسمونیک اسید نقش مهمی در مقابله گیاهان با تنش های غیر زیستی دارند (Ilyas et al., 2017). شواهد ژنتیکی برای وجود خاصیت آنتاگونیستی بین جاسمونیک اسید و مسیرهای سیگنالینگ سالیسیلیک اسید ثابت شده؛ اما داده های جدید نشان می دهد که شبکه سیگنالینگ پیچیده تری وجود دارد که هم تعاملات تنظیمی مثبت و هم منفی را در برمی گیرد (Loake and Grant, 2007). کاربرد همزمان سالیسیلیک اسید و متیل جاسمونات در غلظت کم سبب اثر هم افزایی می شود؛ در مقابل، غلظت های بالاتر تنظیم کننده های رشد با اثر آنتاگونیستی منجر به تولید گونه های فعال اکسیژن شده و در نهایت به مرگ سلول می انجامد (Loake and Grant, 2007). سالیسیلیک اسید متعلق به گروه فنول های گیاهی است (Koche et al., 2021). و با افزایش فعالیت سامانه دفاع آنتی اکسیدان و افزایش رنگیزه های فتوسنتزی سبب کاهش خسارت تنش آبی می شود (Diyant et al., 2014; Pirasteh-Anosheh and Emam, 2012). گروه دیگر از تنظیم کننده های رشد جاسمونات ها هستند که محصول پایانی اسیدهای چرب غیر اشباع نظیر لینولئیک اسید هستند که به شکل مولکول سیگنال دهنده در شرایط تنش های محیطی سبب فعال شدن سامانه دفاعی گیاهان می شوند (Meyer et al., 1984). از آنجایی که بیشتر پیشرفت های ژنتیکی در طول انقلاب سبز در جهت ازدیاد پتانسیل عملکرد بوده تا تحمل تنش های غیرزیستی، بسیاری از

گونه‌های جدید زراعی مانند غلات به تنش‌های محیطی حساس هستند (Toulotte et al., 2022). این وضعیت تحقیقات کشاورزی را به سمت انعطاف‌پذیری در برابر تنش‌های غیرزیستی، حفظ عملکرد و در عین حال کاهش وابستگی به نهاده‌ها سوق می‌دهد. در میان تنش‌های غیرزیستی کمبود آب ناشی از گرمایش جهانی یکی از نگرانی‌های اصلی کشاورزی است (Zampieri et al., 2023). تنش آبی به معنای کاهش پتانسیل آب خاک است که در نهایت بر فرآیندهای مورفوفیزیولوژیک اثر می‌گذارد (Aref, 2013; Moharramnejad et al., 2019). تنش آبی سبب خسارت به گیاه ذرت در مرحله بحرانی رشد به‌ویژه مرحله گیاهچه‌ای می‌شود (Bhusal et al., 2021). ذرت گیاهی چهار کربنه و تک لپه از خانواده گندمیان با تنوع فنوتیپی بسیار زیاد و مهم‌ترین ماده غذایی پس از گندم و برنج می‌باشد. در بین غلات ذرت مصارف مختلفی دارد و به عنوان غذا برای انسان، علوفه برای دام و ماده‌ی اولیه در صنایع تخمیری استفاده می‌شود (امام، 1382). پیشینه تحقیق در ارتباط با اثر کاربرد محلول‌پاشی انفرادی و تلفیقی در غلظت‌های متفاوت تنظیم‌کننده‌های رشد بر گیاهچه ذرت در شرایط تنش آبی نشان می‌دهد؛ کاربرد انفرادی غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد معنی‌دار نبود اما کاربرد تلفیقی تنظیم‌کننده‌های رشد معنی‌دار بود و منجر به بهبود صفات مورفوفیزیولوژیک در شرایط تنش آبی شد. به‌طور کلی در این آزمایش جهت اعمال تنش آبی از قطع آبیاری در دوره کوتاه پنج روزه استفاده شد (Tayyab et al., 2023)؛ جهت افزایش دقت آزمایش بهتر بود تنش آبی به روش وزنی حجمی و مدت طولانی‌تری اعمال شود. در پیشینه‌ی تحقیق آزمایشاتی نیز بر گیاهان گندم، جو، سورگوم و کاربرد تنظیم‌کننده‌های مختلف نظیر کلرمکوات کلراید، سالیسیلیک‌اسید انجام گردید (وهبی، 1396؛ Pirasteh-Anosheh et al., 2014; Diyanat et al., 2017). از آنجا که تنظیم‌کننده‌های رشد نقش بسزایی در تعدیل تنش‌های محیطی دارند، با تاثیر بر ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاهان زراعی از طریق بهبود کارایی فتوسنتز و افزایش فعالیت سامانه دفاعی آنتی‌اکسیدانی، موجب بهبود رشد و عملکرد گیاهان زراعی می‌شوند. با توجه به اهمیت این موضوع در شرایط خشک‌سالی حاکم بر کشور هنوز پژوهش‌های چندانی در زمینه کاربرد انواع تنظیم‌کننده‌های رشد به صورت استفاده انفرادی یا تلفیقی در غلظت‌های متفاوت برای گیاه ذرت هیبرید سینگل کراس 704 انجام نشده است؛ عدم بکارگیری راه‌حل‌های موثر در این رابطه سبب کاهش رشد و عملکرد گیاهان و در نهایت سبب به خطر افتادن امنیت غذایی می‌گردد. به این ترتیب هدف پژوهش حاضر تعیین غلظت مناسب تنظیم‌کننده‌های رشد (متیل‌جاسمونات و سالیسیلیک‌اسید) و بررسی اثر آن‌ها بر ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک گیاهچه ذرت رقم سینگل کراس 704 در شرایط تنش آبی می‌باشد. گیاهان در طول دوره رشد خود، در معرض تنش‌های مختلفی قرار می‌گیرند؛ و کمبود آب بزرگترین چالش در تولید گیاهان زراعی به‌ویژه در مناطق خشک و نیمه خشک از جمله ایران است (Talebnejad et al., 2021). بر طبق آمار سازمان خواربار و کشاورزی جهانی در سال 2021 تولید و سطح زیر کشت ذرت دانه‌ای در جهان به ترتیب 1210235135 تن، 205870016 هکتار و در کشور ایران 320169/71 تن و 50217 هکتار بوده است (FAO, 2023). با توجه به نیاز بالای آبی گیاه ذرت و محدودیت تولید این گیاه در شرایط تنش آبی (چوکان، 1391)، به کارگیری راهبردهایی در جهت تعدیل تنش آبی این گیاه با استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد دارای اهمیت شایانی است.

#### مواد و روش‌ها

آزمایش حاضر در گلخانه تحقیقاتی بخش تولید و ژنتیک گیاهی دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز واقع در منطقه باجگاه (طول جغرافیایی 52 درجه و 58 دقیقه، عرض جغرافیایی 29 درجه و 72 دقیقه، ارتفاع 1810 متری از سطح دریا)، در سال 1401 انجام شد. به منظور بررسی پاسخ‌های مورفوفیزیولوژیک گیاهچه ذرت به تنظیم‌کننده‌های رشد متیل‌جاسمونات و سالیسیلیک‌اسید در



شرایط تنش آبی، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. تنش آبی در سه سطح 100، 75 و 50 درصد آبیاری کامل و تیمارهای محلول‌پاشی برگ‌گی در نه سطح شامل، کنترل (عدم استفاده تنظیم‌کننده‌های رشد)، سالیسیلیک‌اسید در دو سطح (0/5 و یک میلی‌مولار)، متیل‌جاسمونات در دو سطح (10 و 20 میکرومولار) و استفاده تلفیقی سالیسیلیک‌اسید و متیل‌جاسمونات در چهار سطح (سالیسیلیک‌اسید با غلظت 0/5 میلی‌مولار و متیل‌جاسمونات با غلظت 10 میکرومولار)، (سالیسیلیک‌اسید با غلظت 0/5 میلی‌مولار و متیل‌جاسمونات با غلظت 20 میکرومولار)، (سالیسیلیک‌اسید با غلظت یک میلی‌مولار و متیل‌جاسمونات با غلظت 10 میکرومولار) و (سالیسیلیک‌اسید با غلظت یک میلی‌مولار و متیل‌جاسمونات با غلظت 20 میکرومولار) بود. در این آزمایش از خاک سری دانشکده کشاورزی با بافت لوم جهت پر کردن گلدان‌ها استفاده شد. کوددهی در مرحله قبل از کشت و در مرحله داشت طی دو مرحله بر اساس آزمون خاک جهت جبران کمبود فسفر و نیتروژن اعمال و شست و شو و سمپاشی جایگاه گلدان‌ها، جهت دفع آفات جونده با استفاده از سم سایپرمترین انجام شد. در هر گلدان چهار عدد بذر ذرت هیبرید سینگل کراس 704 با 98 درصد جوانه‌زنی، در عمق یکسان کشت و آبیاری با دور روزانه برای تمامی گلدان‌ها انجام شد. نه روز پس از کشت در مرحله  $V_2$  یا دوبرگی با حذف یک گیاهچه تمامی گلدان‌ها تنک شدند. و 17 روز پس از کشت در مرحله  $V_3$  یا سه برگی محلول‌پاشی تنظیم‌کننده‌های رشد با استفاده از محلول‌پاش دقیق دستی با فشار ثابت چهار بار انجام شد. تنش آبی 26 روز پس از کشت در مرحله  $V_5$  یا پنج برگی اعمال شد؛ مقدار آب آبیاری در تیمار آبیاری کامل با رساندن وزن گلدان‌ها به وزن گلدان در رطوبت ظرفیت زراعی تعیین و برای تیمارهای تنش متوسط و شدید با ضرب کردن عدد 75 و 50 درصد ظرفیت زراعی گلدان محاسبه و آبیاری انجام گردید. شروع اندازه‌گیری نهایی در مرحله  $V_7$  یا هفت برگی گیاهچه ذرت انجام شد.

وزن تر اندام‌هوایی گیاهچه‌ها از محل طوقه قطع شده و اندام‌هوایی گیاهچه‌ها توزین و میانگین‌گیری شد.

وزن خشک اندام‌هوایی اندام‌هوایی در پاکت‌های کاغذی در آون با دمای 75 درجه سانتی‌گراد به مدت 48 ساعت قرار داده و سپس وزن خشک بوته‌ها با استفاده از ترازوی دقیق تعیین شد.

شاخص سبزینگی با استفاده از دستگاه کلروفیل سنج (SPAD-KONICA MINOLTA) (بر حسب واحد اسپد) اندازه‌گیری شد.

### نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس صفات وزن تر اندام‌هوایی، وزن خشک اندام‌هوایی و شاخص سبزینگی نشان داد؛ اثر تنش آبی، تنظیم‌کننده‌های رشد و هم‌چنین اثرات متقابل تنش آبی × تنظیم‌کننده‌های رشد در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (1).

جدول (1) تجزیه واریانس صفات مورفوفیزیولوژیک گیاهچه ذرت در پاسخ به تنظیم‌کننده‌های رشد تحت تنش آبی

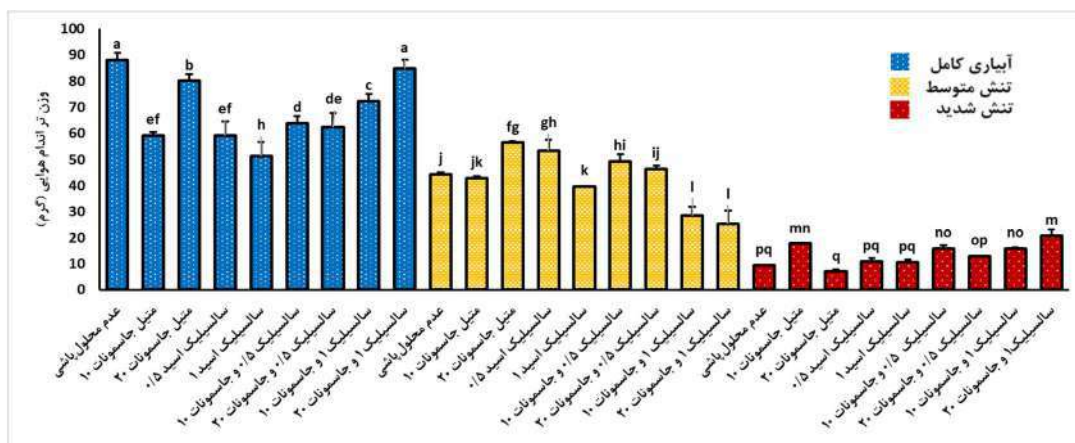
(\*\* : معنی‌دار در سطح احتمال 1 درصد).

منابع تغییر	وزن تر اندام‌هوایی	وزن خشک اندام‌هوایی	شاخص سبزینگی
تنش آبی	20887/18**	144/99**	538/64**
تنظیم‌کننده‌های رشد	167/03**	3/17**	7/68**
تنظیم‌کننده‌های رشد × تنش آبی	357/57**	2/43**	4/57**

0/37	0/31	7/73	خطای آزمایشی
1/44	12/61	6/65	ضریب تغییرات

### وزن تر اندام هوایی

مقایسه میانگین‌ها نشان داد، وزن تر اندام هوایی ذرت با تشدید تنش آبی کاهش یافت؛ و بطور کلی، بیشترین میانگین وزن تر در شرایط آبیاری کامل (کنترل)، در تیمار محلول‌پاشی برگی با غلظت‌های تلفیقی یک میلی‌مولار سالیسیلیک‌اسید و 20 میکرومولار متیل‌جاسمونات بدست آمد که با شرایط عدم محلول‌پاشی در همین سطح از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری نداشت. در تنش متوسط بیشترین میانگین وزن تر مربوط به تیمار محلول‌پاشی شده با غلظت 20 میکرومولار متیل‌جاسمونات و در تنش شدید بیشترین میانگین در غلظت‌های تلفیقی 20 میکرومولار متیل‌جاسمونات و یک میلی‌مولار سالیسیلیک‌اسید مشاهده شد (نمودار 1). در شرایط تنش آبی با تجمع آب‌سبزیک‌اسید در گیاه و افزایش نسبت ریشه به اندام هوایی، کاهش رشد گیاه و تقسیم سلولی و با بسته شدن روزنه، کاهش فتوسنتز و کاهش جذب مواد پرورده حاصل از فتوسنتز منجر به کاهش زیست‌توده گیاه می‌شود (Boomsma & Vyn, 2008). پژوهش حاضر نشان داد، کاربرد انفرادی و تلفیقی سالیسیلیک‌اسید و متیل‌جاسمونات، سبب تعدیل تنش آبی شد و خسارت وارده به گیاه را با افزایش وزن تر اندام هوایی گیاه بهبود بخشید.

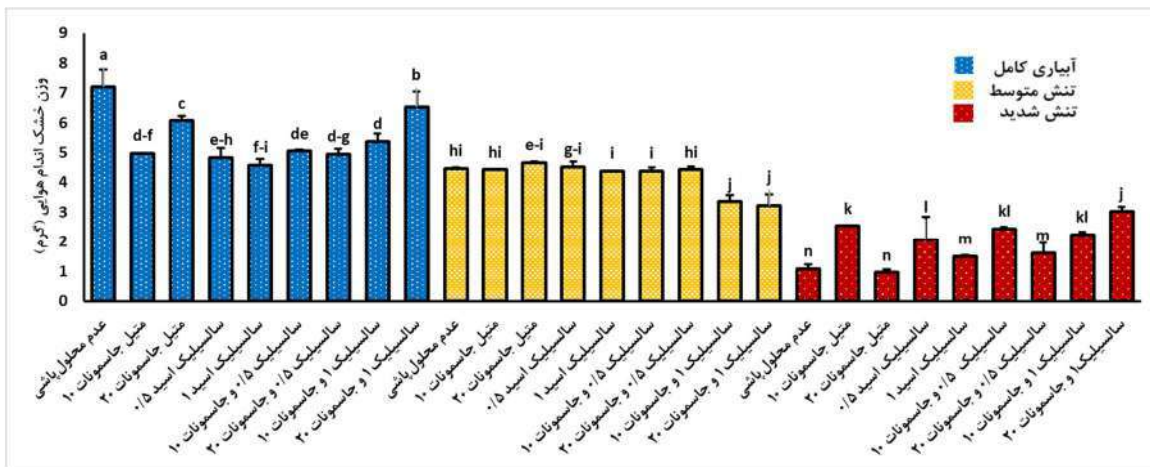


نمودار (1) مقایسه میانگین وزن تر گیاهچه ذرت در پاسخ به تنظیم‌کننده‌های رشد تحت تنش آبی. (ستون‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند، مطابق آزمون حداقل تفاوت معنی دار (LSD) تفاوت معنی‌داری ندارند ( $p \leq 0/05$ )). خط‌های عمودی روی هر ستون نشان‌دهنده انحراف معیار می‌باشد.

### وزن خشک اندام هوایی

مقایسه میانگین‌ها نشان داد، وزن خشک اندام هوایی ذرت با تشدید تنش آبی کاهش یافت؛ و تاثیر تنظیم‌کننده‌های رشد بر وزن خشک اندام هوایی ذرت در شرایط کنترل، تنش متوسط و تنش شدید تقریباً روند مشابهی را نشان داد (نمودار 2). بیشترین میانگین وزن خشک اندام هوایی در شرایط آبیاری کامل (کنترل)، در تیمار محلول‌پاشی برگی با غلظت‌های تلفیقی یک میلی‌مولار سالیسیلیک‌اسید و 10 میکرومولار متیل‌جاسمونات بدست آمد که با تیمار محلول‌پاشی شده با غلظت تلفیقی 0/5

میلی مولار سالیسیلیک اسید و 10 میکرومولار متیل جاسمونات از لحاظ آماری تفاوت معنی داری نداشت. در تنش متوسط، کاربرد سالیسیلیک اسید 0/5 میلی مولار با تولید بیشترین وزن خشک همراه بود که با تیمار محلول پاشی شده با غلظت تلفیقی یک میلی مولار سالیسیلیک اسید و 20 میکرومولار متیل جاسمونات و غلظت انفرادی 20 میکرومولار متیل جاسمونات تفاوت معنی داری نداشت. در تنش شدید بیشترین میانگین وزن خشک اندام هوایی مربوط به غلظت های تلفیقی 20 میکرومولار متیل جاسمونات و یک میلی مولار سالیسیلیک اسید مشاهده شد که از لحاظ آماری با تیمار محلول پاشی شده با غلظت تلفیقی 10 میکرومولار متیل جاسمونات و یک میلی مولار سالیسیلیک اسید تفاوت معنی داری نداشت (نمودار 2). نتایج پژوهش ها نشان داده که وزن خشک اندام هوایی گیاه یا عملکرد بیولوژیک در شرایط تنش آبی در گلخانه و مزرعه تحت تاثیر منفی قرار می گیرد (وهبی، 1396) که با یافته های پژوهش حاضر مطابقت دارد. تنش آبی سبب بسته شدن روزنه ها، کاهش فتوسنتز و کاهش تورژانس سلولی می شود؛ در نهایت با کاهش تجمع ماده خشک، وزن خشک اندام هوایی گیاه کاهش می یابد (وهبی، 1396). تنظیم کننده های رشد سالیسیلیک اسید و جاسمونیک اسید با افزایش ظرفیت فتوسنتزی سبب افزایش وزن خشک اندام هوایی شدند (وهبی، 1396). که این نتایج با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد.

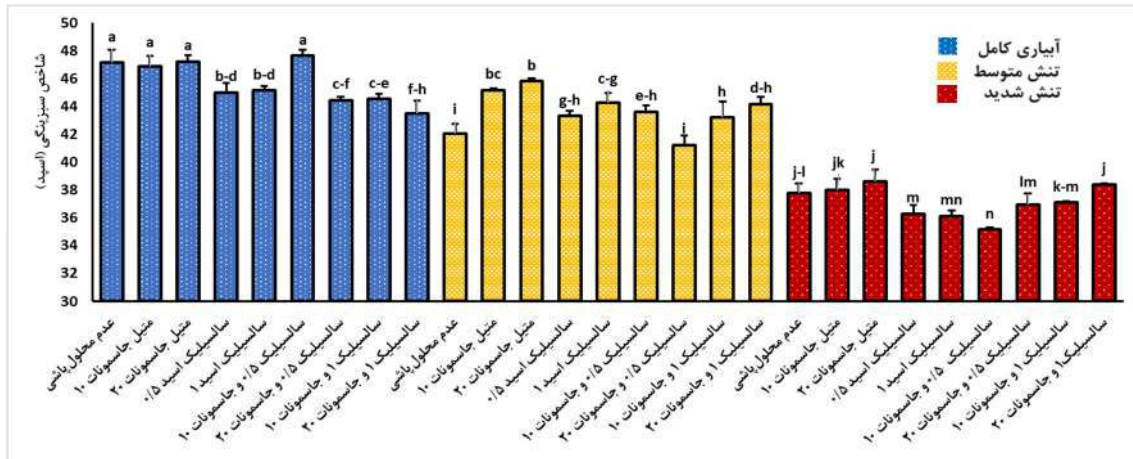


نمودار (2) مقایسه میانگین وزن خشک گیاهچه ذرت در پاسخ به تنظیم کننده های رشد تحت تنش آبی. (ستون هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند، مطابق آزمون حداقل تفاوت معنی دار (LSD) تفاوت معنی داری ندارند ( $p \leq 0/05$ ). خط های عمودی روی هر ستون نشان دهنده انحراف معیار می باشد.

### شاخص سبزیگی

بیشترین میانگین شاخص سبزیگی در شرایط آبیاری کامل (کنترل)، در تیمار محلول پاشی برگی با غلظت های 0/5 میلی مولار سالیسیلیک اسید و 10 میکرومولار متیل جاسمونات، که با تیمار عدم محلول پاشی و محلول پاشی با غلظت 20 میکرومولار متیل جاسمونات تفاوت معنی داری نداشت. در تنش متوسط و شدید آبی بیشترین شاخص سبزیگی در تیمار محلول پاشی شده با 20 میکرومولار متیل جاسمونات مشاهده شد (نمودار 3). نتایج پژوهشی بر گیاه گندم نشان داد؛ تنش آبی سبب کاهش شاخص سبزیگی گندم شد (جهانی دوقزلو، 1396). در پژوهش دیگری بر گیاه گندم نشان داده شد که تنظیم کننده های رشد

بر سبزیانی و کلروفیل برگ و در نهایت بر شاخص سبزیگی اثر مثبتی دارند (Pirasteh-Anosheh & Emam, 2010). در پژوهش حاضر نیز محلول پاشی تنظیم کننده های رشد سبب تعدیل اثر تنش آبی بر شاخص سبزیگی گردید.



نمودار (3) مقایسه میانگین شاخص سبزیگی گیاهچه ذرت در پاسخ به تنظیم کننده های رشد تحت تنش آبی. (ستون هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند، مطابق آزمون حداقل تفاوت معنی دار (LSD) تفاوت معنی داری ندارند ( $p \leq 0/05$ )). خط های عمودی روی هر ستون نشان دهنده انحراف معیار می باشد.

### نتیجه گیری

پژوهش حاضر نشان می دهد؛ تنش شدید آبی منجر به کاهش معنی دار صفات وزن تر اندام هوایی، خشک اندام هوایی و شاخص سبزیگی در مقایسه با شرایط تنش متوسط و آبیاری کامل شد. کاربرد تلفیقی و انفرادی تنظیم کننده های رشد میتیل جاسمونات و سالیسیلیک اسید از طریق بهبود فرآیندهای مورفوفیزیولوژیک منجر به کاهش اثرات منفی تنش آبی گردید. از میان تنظیم کننده های رشد کاربرد تلفیقی یک میلی مولار سالیسیلیک اسید و 20 میکرومولار میتیل جاسمونات، بیشترین کاهش اثرات منفی تنش را از راه افزایش وزن تر اندام هوایی، وزن خشک اندام هوایی و شاخص سبزیگی داشت. پس از آن کاربرد انفرادی میتیل جاسمونات با غلظت 10 میکرومولار و سپس کاربرد انفرادی سالیسیلیک اسید با غلظت 0/5 میلی مولار، به عنوان تنظیم کننده های رشد موثر در کاهش اثرات منفی تنش شدید آبی مشاهده شدند.

### منابع

- امام ی، ۱۳۸۲، زراعت غلات، جلد ۱، دانشگاه شیراز، مرکز نشر دانشگاه شیراز، ۱۷۳.
- مریم جهانی دوقزلو و یحیی امام. (۱۳۹۶). تاثیر سالیسیلیک اسید و براسینواستروئید در تعدیل اثرات تنش آبی در دو رقم گندم (Triticum aestivum)، نشریه تولید و فرآوری محصولات زراعی و باغی، ۱۷(۱)، صص. ۱۲۷-۱۳۹.
- چوکان ر، ۱۳۹۱، ذرت و ویژگی های آن، جلد اول، نشر آموزش کشاورزی، کرج: سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورز، معاونت ترویج کشاورزی، ۴۴۶.
- ندا وهی، یحیی امام و هادی پیرسته انوشه. (۱۳۹۶). بهبود رشد و عملکرد گندم با استفاده از کلرمکوات کلراید، سالیسیلیک اسید و جاسمونیک اسید در شرایط تنش رطوبتی، نشریه پژوهش های زراعی ایران، ۱۵(۱)، صص. ۱۳۵-۱۲۴.

- Aref, I., El Atta, H., El Obeid, M., Ahmed, A., Khan, P., and Iqbal, M., 2013. Effect of water stress on relative water and chlorophyll contents of *Juniperus procera* Hochst. ex Endlicher in Saudi Arabia. *Life Science Journal*, 10, pp. 681-685.
- Bhusal, B., Poudel, M. R., Rishav, P., Regmi, R., Neupane, P., Bhattarai, K., Maharjan, B. Kc, B. and Acharya, S., 2021. A review on abiotic stress resistance in maize (*Zea mays* L.): effects, resistance mechanisms and management. *Journal of Biology and Today's World*, 10, pp. 1-3.
- Boomsma, C. R., and Vyn, T. J., 2008. Maize drought tolerance: potential improvements through arbuscular mycorrhizal symbiosis?. *Field Crops Research*, 108, pp. 14-31.
- Diyanat, Z., Maghsoudi, K., Diyanat, Z., and Emam, Y., 2014. The effects of salinity and salicylic acid on morphological and physiological traits of sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) at earlier growth stages. *Journal of Plant Process and Function*, 3, pp. 57-66.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations., 2021. FAOSTAT: Crops and livestock products. Retrieved January 07, 2023, from <https://www.fao.org/faostat/en/#home>
- Ilyas, N., Gull, R., Mazhar, R., Saeed, M., Kanwal, S., Shabir, S., and Bibi, F., 2017. Influence of salicylic acid and jasmonic acid on wheat under drought stress. *Communications in soil science and plant analysis*, 48, pp. 2715-2723.
- Koche, D., Ruchita, G., Rathod, S., and Shirsat, R., 2021. An update on role of salicylic acid (SA) in abiotic stress tolerance in crop plants: A review. *Agricultural and Biological Research*, 37, pp. 219-225.
- Loake, G., and Grant, M., 2007. Salicylic acid in plant defence—the players and protagonists. *Current opinion in plant biology*, 10, pp. 466-472.
- Meyer, A., Miersch, O., Büttner, C., Dathe, W., and Sembdner, G., 1984. Occurrence of the plant growth regulator jasmonic acid in plants. *Journal of Plant Growth Regulation*, 3, pp. 1-8.
- Moharramejad, S., Sofalian, O., Valizadeh, M., Asghari, A., Shiri, M., and Ashraf, M., 2019. Response of maize to field drought stress: oxidative defense system, osmolytes' accumulation and photosynthetic pigments. *Pakistan Journal of Botany*, 51, pp. 799-807.
- Pirasteh-Anosheh, H., and Emam, Y., 2010, October. Effect of plant growth regulators on total protein, proline content and antioxidant enzymes in two wheat cultivars under drought stress conditions. *In The 1st Proteomics Congress, Shiraz, Iran*, p. 78.
- Pirasteh-Anosheh, H., and Emam, Y., 2012. Manipulation of morpho-physiological traits in bread and durum wheat by using growth regulators at different irrigation regimes. *Isfahan University of Technology-Journal of Crop Production and Processing*, 2, pp. 29-46.
- Pirasteh-Anosheh, H., Emam, Y., Roustaei, M. J., and Hashemi, S. E. 2017. Effect of salicylic acid on biochemical attributes and grain yield of barley (*Hordeum vulgare* L. cv. Nosrat) under saline conditions. *Iranian Journal of Crop Sciences*, 18, pp. 232-244.
- Talebnejad, R., Lor-mohammad-Hasani, M., and Sepaskhah, A. R., 2021. Winter Cultivation of *Camelina* Under Different Irrigation Regimes in Bajgah Region of Fars Province. *Iranian Journal of Irrigation & Drainage*, 15, pp. 1081-1091.
- Tayyab, N., Naz, R., Yasmin, H., Nosheen, A., Keyani, R., Sajjad, M., Nadeemhassan, M., and Roberts, T. H., 2020. Combined seed and foliar pre-treatments with exogenous methyl jasmonate and salicylic acid mitigate drought-induced stress in maize, *Plos One*, 15, pp. 1-18.
- Toulotte, J. M., Pantazopoulou, C. K., Sanclemente, M. A., Voeselek, L. A., and Sasidharan, R., 2022. Water stress resilient cereal crops: Lessons from wild relatives. *Journal of Integrative Plant Biology*, 64, pp. 412-430.

Zampieri, E., Pesenti, M., Nocito, F. F., Sacchi, G. A., and Valè, G., 2023. Rice Responses to Water Limiting Conditions: Improving Stress Management by Exploiting Genetics and Physiological Processes. *Agriculture*, 13, pp. 464.

## Effect of foliar application of plant growth regulators Methyl Jasmonate and Salicylic Acid on morphophysiological processes of maize seedling under water stress conditions

Fatemeh Nasr<sup>1</sup>, Yahya Emam<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>MSc. student of plant production and genetics department, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran.

nrsfatemeh252@gmail.com

<sup>2\*</sup>Corresponding author: Professor of Plant Production and Genetics Department, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran.

Yaemam@shirazu.ac.ir

### Abstract

Application of growth regulators under water stress conditions can help to grow and develop maize seedlings in the critical stage of establishment, a. In order to investigate morphophysiological responses of maize seedlings to growth regulators under water stress conditions, a factorial experiment was conducted in a completely randomized design with three replications in the research greenhouse of Plant Production and Genetics Department, College of Agriculture, Shiraz University, Iran. Treatments included three levels of irrigation and foliar application including no spraying, methyl jasmonate at two levels, salicylic acid at two levels, and combined application of methyl jasmonate and salicylic acid in four levels. The results showed that water stress reduced morphophysiological traits in maize plants. Among the measured traits, fresh and dry weight of shoots showed the highest reduction rate of 89.28% and 85.13% in severe water stress conditions, respectively. Among the growth regulators, combined application with concentrations of 20  $\mu$ M methyl jasmonate and 1 mM salicylic acid had the highest reduction in the negative effects of water stress by increasing the green index, fresh and dry weight of shoots.

**Keywords:** Maize, Water stress, Plant growth regulators, Methyl Jasmonate, Salicylic Acid

## بررسی همپوشانی مسیرهای پاسخ به تنش‌های زیستی و شوری در گیاه جو

فاطمه الزهرا نیشابوری<sup>1</sup>، سید محمد فرح آبادی<sup>2</sup>، علی اکبر قطبی راوندی<sup>3</sup>، مسعود توحیدفر<sup>4</sup>

1- دانشجوی مقطع دکتری، آگروتکنولوژی - فیزیولوژی گیاهان زراعی، دانشگاه صنعتی شاهرود

2- دانش آموخته‌ی مقطع کارشناسی ارشد، زیست‌شناسی - فیزیولوژی گیاهی، دانشکده علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی

3- استادیار، دکتری تخصصی، زیست‌شناسی - فیزیولوژی گیاهی، دانشکده علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی

([a\\_ghotbi@sbu.ac.ir](mailto:a_ghotbi@sbu.ac.ir))

4- استاد، دکتری تخصصی، بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی

### چکیده

با توجه به اهمیت شناسایی سازوکارهای مقاومت به شوری در گیاهان، این پژوهش به منظور شناسایی مسیرهای ژنی-هورمونی درگیر در درک، پاسخ، و تحمل گیاهان به شوری با الهام از مسیرهای پاسخ به تنش‌های زیستی انجام شده است. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با 3 تکرار انجام شد و در طی آن، گیاه جو به مدت 3 روز در معرض نمک NaCl (3 گرم بر کیلوگرم خاک) قرار گرفت. با افزایش محتوی نمک، محتوی هورمون‌های اسید آبسزیک، اسید جاسمونیک، اتیلن، و اسید سالیسیک در مقایسه با شاهد افزایش معنی داری یافت. همچنین بیان ژن‌هایی مانند ژن کیتیناز (*PR3*)، تیونین (*PR13*)، پروتئین *NPRI*، و لیپوکسیژناز (*LOX*) که تاکنون نقش آن‌ها بیشتر در پاسخ به عوامل بیماری‌زا بررسی شده بود، تحت تنش شوری افزایش یافت. مطابق با مطالعات پیشین، نقش دوگانه‌ی هورمون‌ها در پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی علت این پدیده است. یافتن نقش ژن‌های پاسخگو به عوامل بیماری‌زا در تنش‌های محیطی مانند شوری، راه را برای تولید گیاهانی مقاوم به هر دو تنش زیستی و محیطی باز می‌کند.

**واژگان کلیدی:** اتیلن، اسید سالیسیلیک، شوری، مقاومت سیستمیک اکتسابی، مقاومت سیستمیک القایی

### مقدمه

امروزه تنش‌های غیرزیستی، به یکی از عوامل اصلی کاهش تولید غلات تبدیل شده‌اند. در این بین یکی از شدیدترین عوامل محدودکننده‌ی محصولات کشاورزی، تنش شوری است (1). کشت واریته‌های مقاوم به شوری، و یا تحریک گیاهان از طریق سازوکارهای مقاومت به شوری برای تحمل نمک، از جمله راهکارهای توسعه پایدار و حفظ امنیت غذایی است (2). بنابراین تلاش برای شناسایی سازوکارهای مقاومت به شوری در گیاهان، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. در پاسخ به تنش شوری، هورمون‌هایی مانند اسیدسالیسیلیک، اسید آبسزیک، اتیلن، اسید جاسمونیک، و بیان ژن‌هایی مانند *SOS1*<sup>111</sup>ها افزایش می‌یابد (3). پیشنهاد شده است که اسید سالیسیلیک، در پاسخ به هر دو تنش زیستی و غیرزیستی نقش دارد و ممکن است تنش غیرزیستی مانند شوری بیان ژنی را در گیاه القا کند که فعالسازی آن وابسته به افزایش اسیدسالیسیلیک درون‌زا باشد (2). نقش این هورمون در طول تنش شوری،

<sup>111</sup> Salt overly sensitive

افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و مبارزه با تنش اکسیداتیو است (2). به طور مشابه، در پاسخ به عوامل بیماری‌زای گیاهی، اسید سالیسیک درونزا افزایش می‌یابد. افزایش میزان اسید سالیسیلیک موجب بیان ژن‌های دفاعی متعلق به مسیر مقاومت سیستمیک اکتسابی<sup>112</sup> می‌شود (4، 5). مقاومت سیستمیک اکتسابی یا SAR، یک مسیر سیگنال دهی طولانی در برابر عوامل بیماری‌زا در سراسر گیاه فراهم می‌کند و از طریق فعالسازی بیان ژن‌های وابسته به بیماری‌زا<sup>113</sup> (PR) مانند ژن آنزیم کیتیناز و برخی از گلوکانازها، از گیاهان در برابر بیمارگران بیوتروف محافظت می‌کند (4، 5). علیرغم بسیاری از مطالعات انجام شده در مورد نقش اسیدسالیسیلیک در تنش شوری، تاکنون اطلاعات محدودی در مورد ساز و کار اساسی آن در کاهش اثرات منفی این تنش وجود دارد (2). در این پژوهش فرض شده است که با توجه به نقش دوگانه اسیدسالیسیلیک در مقابله با تنش زیستی و شوری ممکن است این هورمون در القای بیان ژن‌های PR تحت تنش شوری نقش داشته باشد که ممکن است محصولات این ژن‌ها در کاهش اثرات سمیت شوری نیز موثر باشند. به طور مشابه می‌توان این فرض را به دیگر هورمون‌های درگیر در تنش شوری یعنی هورمون اسید آبسزیک، اسید جاسمونیک، و اتیلن نیز تعمیم داد. به عنوان مثال، فاکتور رونویسی MYB96 القا شده تحت تنش خشکی توسط اسید آبسزیک، در پاسخ به تنش‌های زیستی از طریق تنظیم بیان ژن‌های مرتبط با بیماری‌زایی نیز نقش داشت (6). در مطالعات قبلی همچنین مشخص شده است که اتیلن و اسید جاسمونیک در پاسخ به تنش کمبود آهن به عنوان یک تنش محیطی و همچنین القای مسیر مقاومت سیستمیک القایی<sup>114</sup> نیز می‌توانند نقش دوگانه‌ای داشته باشند (7). در مسیر مقاومت سیستمیک القایی یا ISR، ایمنی گیاه با باکتری‌های محرک رشد و یا الگوهای مولکولی میکروبی مانند فلاژل شرطی می‌شود و مانند واکسن، گیاه را در مقابل حمله‌ی بیمارگران با بیان ژن‌هایی مانند لیپوکسیژناز مقاوم می‌کند (4). جو (*Hordeum vulgare* L.) یکی از قدیمی‌ترین غلات است که بر اساس میزان تولید ماده خشک در جهان در رتبه چهارم قرار دارد. جو یکی از گیاهان زراعی متحمل به شوری است، بنابراین یک مدل عالی برای مطالعات در مورد ساز و کارهای تحمل به شوری برای توسعه و بهبود تحمل به نمک در غلات است (8). به طور کلی هدف از مطالعه حاضر، (1) تعیین اثر تنش شوری بر وضعیت هورمونی جو و (2) بررسی بیان ژن‌های پاسخگو به عوامل بیماری‌زا توسط تغییرات هورمونی ناشی از تنش شوری در گیاه جو بود.

#### مواد و روش‌ها

بذر جو از موسسه‌ی "تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر" تهیه شد. بذور به مدت 2 هفته (مرحله 3 برگی) در شرایط کنترل شده (دما: 28 درجه سانتیگراد، دوره‌ی نوری: 16 ساعت روشنایی و 8 ساعت تاریکی، شدت روشنایی: 700 لوکس، رطوبت نسبی: 65 درصد)، در گلدان‌های پلاستیکی حاوی 300 گرم خاک (225 گرم پیت ماس، 75 گرم پرلیت) رشد داده شدند. تنش شوری با اضافه کردن نمک NaCl (3 گرم بر کیلوگرم خاک) به صورت محلول در حجم آب معادل ظرفیت نگهداری آب خاک گلدان اعمال شد. نمونه برداری از هر دو گروه کنترل و تیمار شوری، 3 روز بعد از تنش انجام شد. اندازه‌گیری هورمون اسید سالیسیلیک، اسید آبسزیک، و اسید جاسمونیک بر اساس روش Liu و همکاران (9) با استفاده از دستگاه HPLC انجام شد. اندازه‌گیری اتیلن بر اساس روش Lutts و همکاران (10)، با دستگاه GC انجام شد. محتوی عناصر برگ بر اساس روش Guo و همکاران (11) توسط دستگاه

<sup>112</sup> Systemic acquired resistance

<sup>113</sup> Pathogenesis-related proteins

<sup>114</sup> Induced systemic resistance



ICP اندازه گیری شد. استخراج کامل RNA با استفاده از کیت Ribospin™ Plant (ساخت کشور کره جنوبی) و طبق دستورالعمل کیت انجام شد. با استفاده از RNA استخراج شده، سنتز cDNA با استفاده از کیت Solis Biodyne (ساخت کشور استونی) انجام شد. ژنهای مورد بررسی در این پژوهش شامل ژن لیپوکسیژناز (LOX)، کیتیناز (PR3)، تیونین (PRI3)، و ژن پروتئین عدم بیان کننده مرتبط با بیماری<sup>115</sup> (NPR1) بود. ژن GAPDH<sup>116</sup> به عنوان ژن کنترل داخلی در نظر گرفته شد. واکنش real-time PCR با استفاده از دستگاه Corbett Rotor gene-6000 (ساخت کشور استرالیا) انجام شد. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با 3 تکرار زیستی انجام شد. برای مقایسه‌ی میانگین‌ها از Student's t-test ( $p \leq 0.05$ ) و برای تحلیل آماری داده‌های مولکولی از نرم افزار REST 2009 استفاده شد.

### نتایج و بحث

در این پژوهش، تیمار شوری موجب افزایش معنی دار ( $p \leq 0.05$ ) محتوی سدیم و کلر در برگ جو شد (جدول 1). تجمع نمک در گیاه با افزایش معنی دار ( $p \leq 0.05$ ) فیتوهورمون‌های اسید آبسزیک، اسید سالیسیلیک، اسید جاسمونیک، و اتیلن در برگ همراه بود (جدول 2). اسید آبسزیک که به هورمون تنش معروف است، خروج آب از گیاه را از طریق بستن روزنه‌ها در پاسخ به تنش شوری کاهش می‌دهد (12). افزایش اسید سالیسیلیک در تنش شوری موجب افزایش ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و کاهش گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود (2). اسید جاسمونیک و اتیلن از جمله مولکول‌های سیگنال هستند که در پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی مختلف مانند حمله‌ی عوامل بیماری‌زا، زخمی شدن، و تنش شوری موثر هستند (4). همچنین در پژوهش حاضر، تنش شوری موجب القای معنی دار ( $p \leq 0.05$ ) بیان ژن‌های LOX، PR3، PRI3، و NPR1 شد (شکل 1). به نظر می‌رسد افزایش هورمون‌ها تحت تنش شوری، موجب القای بیان ژن‌ها شده است. زیرا در پژوهشی افزایش محتوی اسید جاسمونیک موجب افزایش بیان ژن PR3 در آرآبیدوپسیس شد (5). همچنین طبق مطالعات پیشین مشخص شده است که اسید سالیسیلیک با فعال کردن فاکتور رونویسی NPR1 منجر به فعالسازی ژن‌های بتا-1 و 3-گلوکاناز (PR2) و تاوماتین (PR5) می‌شود (5). PR13 جزو خانواده‌ی تیونین‌های گیاهی است. تیونین‌ها پپتیدهای ضد میکروب غنی از سیستمین هستند که دارای پتانسیل گسترده‌ای از فعالیت ضد میکروبی نیز هستند (5). در تحقیقات گذشته نشان داده شده که ژن‌های خانواده تیونین توسط متیل جاسمونات و اتیلن در فلفل، القا شدند. اما توسط اسید سالیسیلیک به مقدار بسیار کم و یا اصلاً القا نمی‌شوند (13). همچنین در آزمایشی دیگر در گیاه آرآبیدوپسیس، ژن LOX توسط اسید آبسزیک و اسید جاسمونیک القا شد (14). در آزمایش دیگری، بیان ژن لیپوکسیژناز (SiLOX7) در گیاه ارزن و دم روباهی تحت تنش خشکی و شوری، با افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز همبستگی مثبت داشت و محتوی مالون دی‌آلدهید در ارقام با بیان ژن بالای لیپوکسیژناز پایین بود (15).

جدول 1. محتوی سدیم و کلر در برگ گیاه جو تحت تنش شوری در مقایسه با شاهد

<sup>115</sup> Nonexpressor of pathogenesis-related genes 1

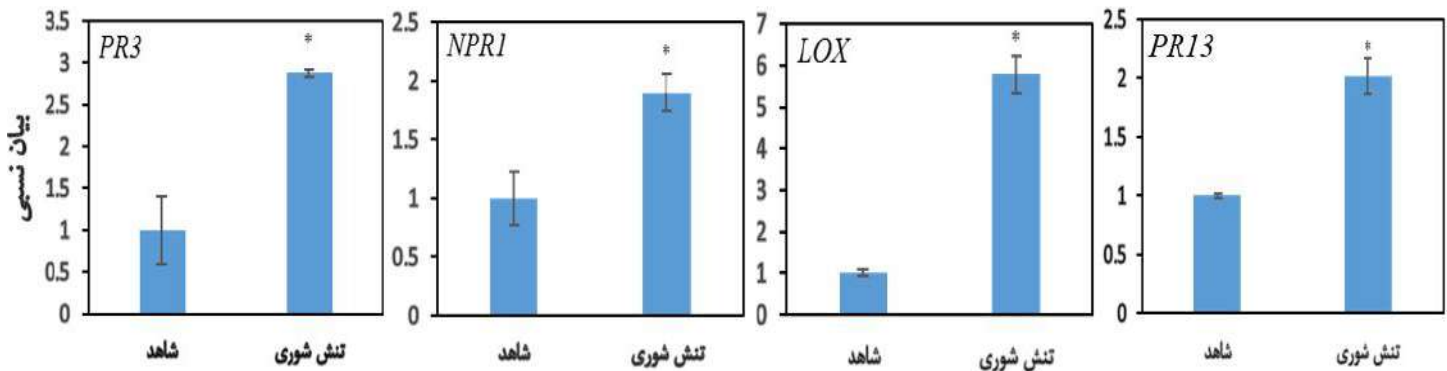
<sup>116</sup> Gyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase

	محتوی کلر ( $\text{mg. kg}^{-1}$ )	محتوی سدیم ( $\text{mg. kg}^{-1}$ )
شاهد	$1/0.3 \pm 0/13$	$216 \pm 1/0.8$
تیمار شوری	$* 1/33 \pm 0/07$	$* 221/6 \pm 1/35$

جدول 2. محتوی اسید سالیسیلیک، اسید آبسزیک، اسید جاسمونیک، و اتیلن در برگ گیاه جو تحت تنش شوری

	اتیلن ( $\text{ng. g}^{-1}$ )	اسید سالیسیلیک ( $\text{ng. g}^{-1}$ )	اسید جاسمونیک ( $\text{ng. g}^{-1}$ )	اسید آبسزیک ( $\text{ng. g}^{-1}$ )
شاهد	$50/5 \pm 0/9$	$71/1 \pm 0/9$	$17/6 \pm 0/1$	$26/3 \pm 0/4$
تیمار شوری	$* 112/5 \pm 1/1$	$* 84/3 \pm 1/39$	$* 27/1 \pm 0/7$	$* 45/0.6 \pm 0/2$

شکل 1. تغییر بیان نسبی ژنهای پاسخگو به عوامل بیماریزا (*NPRI PRI3 PR3 LOX*) در برگ گیاه جو تحت تنش شوری



بیان این ژن‌ها به دلیل افزایش سطوح هورمون‌های اسید آبسزیک، اسید سالیسیلیک، اسید جاسمونیک، و اتیلن است.

#### منابع

- Sinha, R., Fritschi, F.B., Zandalinas, S.I., Mittler, R., 2021. The impact of stress combination on reproductive processes in crops. *Plant Science.*, 311, 111007.
- Yang, W., Zhou, Z., Chu, Z., 2023. Emerging roles of salicylic acid in plant saline stress tolerance. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(4), 3388.
- Rolly, N.K., Imran, Q.M., Lee, I.J., Yun, B.W., 2020. Salinity stress-mediated suppression of expression of salt overly sensitive signaling pathway genes suggests negative regulation by AtbZIP62 transcription factor in *Arabidopsis thaliana*. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(5), 1726.
- Choudhary, D.K., Prakash, A., Johri, B. N., 2007. Induced systemic resistance (ISR) in plants: mechanism of action. *Indian Journal of Microbiology*, 47, 289-297.
- Ali, S., Ganai, B.A., Kamili, A.N., Bhat, A.A., Mir, Z.A., Bhat, J.A., Tyagi, A., Islam, S.T., Mushtaq, M., Yadav, P., Rawat, S., 2018. Pathogenesis-related proteins and peptides as promising tools for engineering plants with multiple stress tolerance. *Microbiological research*, 212, pp.29-37.
- Seo, P.J., Park, C.M., 2010. MYB96-mediated abscisic acid signals induce pathogen resistance response by promoting salicylic acid biosynthesis in *Arabidopsis*. *New Phytologist*, 186(2), 471-483.
- Romera, F.J., García, M.J., Lucena, C., Martínez-Medina, A., Aparicio, M.A., Ramos, J., Alcántara, E., Angulo, M. and Pérez-Vicente, R., 2019. Induced systemic resistance (ISR) and Fe deficiency responses in dicot plants. *Frontiers in Plant Science*, 10, p.287.
- Zhu, J., Fan, Y., Shabala, S., Li, C., Lv, C., Guo, B., et al., 2020. Understanding mechanisms of salinity tolerance in barley by proteomic and biochemical analysis of near-isogenic lines. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(4), 1516.

9. Liu, W.X., Zhang, F.C., Zhang, W.Z., Song, L.F., Wu, W.H., Chen, Y.F., 2013. *Arabidopsis* Di19 functions as a transcription factor and modulates *PR1*, *PR2*, and *PR5* expression in response to drought stress. *Molecular plant*, 6, 1487-1502.
10. Lutts, S., Kinet, J.M., Bouharmont, J., 1996. Ethylene production by leaves of rice (*Oryza sativa* L.) in relation to salinity tolerance and exogenous putrescine application. *Plant Science*, 116, 15-25.
11. Guo, T.R., Zhang, G.P., Zhang, Y., 2007. Physiological changes in barley plants under combined toxicity of aluminum, copper and cadmium. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 57, 182-188.
12. Bharath, P., Gahir, S., Raghavendra, A.S., 2021. Abscisic acid-induced stomatal closure: An important component of plant defense against abiotic and biotic stress. *Frontiers in Plant Science*, 12, 615114.
13. Lee, S.C., Hong, J.K., Kim, Y.J., Hwang, B.K., 2000. Pepper gene encoding thionin is differentially induced by pathogens, ethylene and methyl jasmonate. *Physiological and molecular plant pathology*, 56(5), 207-216.
14. Liu, F., Li, H., Wu, J., Wang, B., Tian, N., Liu, J., Sun, X., Wu, H., Huang, Y., Lü, P., et al., 2021. Genome-wide identification and expression pattern analysis of lipoxygenase gene family in banana. *Scientific Reports*, 11, 9948.
15. Zhang, Q., Zhao, Y., Zhang, J., Li, X., Ma, F., Duan, M., et al., 2021. The responses of the lipoxygenase gene family to salt and drought stress in foxtail millet (*Setaria italica*). *Life*, 11(11), 1169.

## Investigating the overlap between responses to biotic and salinity stresses in barley plant

Fatemeh Al-Zahra Neyshabouri<sup>1</sup>, Seyed Mohammad Farahabadi<sup>2</sup>, Ali Akbar Ghotbi-Ravandi<sup>\*3</sup>, Masoud Tohidfar<sup>4</sup>

1- PhD student, Agrotechnology-Crop physiology, Shahrood University of Technology

2- [Graduate Master Degree](#), Biology-Plant Physiology, Life Science and Biotechnology, Shahid Beheshti University

\* 3-Assistant Professor, PhD, Biology-Plant Physiology, Faculty of Life Science and Biotechnology, Shahid Beheshti University

(a\_ghotbi@sbu.ac.ir)

4- Professor, PhD, Agricultural Biotechnology, Life Science and Biotechnology, Shahid Beheshti University

### Abstract

The present study was conducted to identify the genetic and hormonal pathways involved in salt stress. This research was conducted in the form of a completely randomized design with 3 replications and the barley plant was exposed to NaCl (3 g. Kg<sup>-1</sup>) for 3 days. The increased expression of pathogen-responsive genes (*PR3*, *PR13*, *LOX*, *NPRI*) has been attributed to the increase in the content of hormones including salicylic acid, jasmonic acid, abscisic acid, and ethylene under salt stress. Our results suggest that the products of these genes may play a role in response to salt stress in barley.

**Keywords:** Acquired systemic resistance, ethylene, induced systemic resistance, salicylic acid, salinity

## تأثیر خراش دهی و نیترات پتاسیم بر شکست خواب بذر پیچک ایرانی، *Convolvulus persicus* L.

صبا یساقی<sup>1</sup>

1- دانشجوی کارشناسی ارشد، زیست شناسی - فیزیولوژی گیاهی، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران

صدیقه کلج<sup>2\*</sup>

2 - استادیار، زیست شناسی - سلولی و تکوینی گیاهی، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران

\* آدرس پست الکترونیکی نویسنده مسئول: s.kelij@umz.ac.ir

چکیده

پیچک ایرانی *Convolvulus persicus* L. از گونه‌های بومی در معرض خطر سواحل دریای خزر و دریای سیاه می‌باشد. هدف این پژوهش یافتن عاملی موثر برای بهبود ویژگی‌های جوانه زنی گونه پیچک ایرانی است. بدین منظور آزمایشی بصورت فاکتوریل در دو سطح خراش دهی مکانیکی (3 و 5 دقیقه) با کاغذ سمباده و دو غلظت نیترات پتاسیم (1 و 2 درصد) و تیمار توام خراش دهی و نیترات پتاسیم در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. نتایج نشان داد که تیمارهای انفرادی خراش دهی و نیترات پتاسیم در مقایسه با تیمارهای ترکیبی تأثیر چندانی در افزایش درصد و سرعت جوانه زنی بذرهای پیچک ایرانی نداشتند. تیمار توام خراش دهی مکانیکی به مدت 5 دقیقه به همراه نیترات پتاسیم 1 درصد دارای بیشترین تأثیر در افزایش درصد و سرعت جوانه زنی بذرهای پیچک ایرانی بود.

واژگان کلیدی: پیچک ایرانی، جوانه زنی، خراش دهی، نیترات پتاسیم

مقدمه

پیچک ایرانی یا پیچک خزری *C. persicus* از تیره *Convolvulaceae*، گیاهی بوته‌ای با کرک‌های ابریشمی فشرده، ساقه کوتاه، برگ‌های تخم‌مرغی تا بیضوی، گل‌های منفرد و سفید رنگ و بزرگ و میوه‌هایی از نوع کپسول و به رنگ قهوه‌ای تیره است که در سواحل و ماسه‌های خشک و مناطق آفتابی رشد می‌کند. این گونه در سواحل شنی دریای خزر و دریای سیاه یافت می‌شود که بر مبنای گزارشات متعدد جمعیت‌های این گونه به شدت در ایران و سایر کشورها در حال کاهش است (عاشقیان و همکاران، 1398).

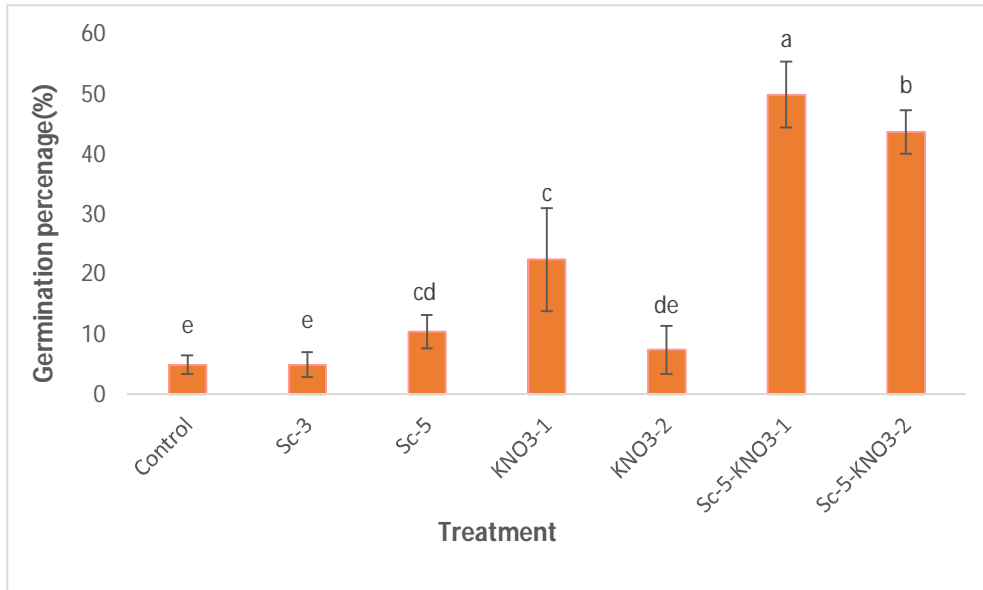
وقتی بقای یک گونه تهدید می‌شود یکی از مواردی که به منظور درک عوامل موثر در کاهش جمعیت و ارزیابی موفقیت تولید مثلی آن گونه باید مطالعه شود جوانه زنی بذر است (Woolhouse, 2012). درصد پایین جوانه زنی گیاهان زیستگاه‌های ساحلی نوعی سازگاری با این اکوسیستم غیرقابل پیش‌بینی است، زیرا جوانه زنی در مدت زمان طولانی خطر انقراض گیاه را در مرحله دانه‌رست افزایش می‌دهد (Guja, et al, 2010). خواب بذر نمونه‌ای از این مکانیسم‌های سازگاری است. خواب بذر می‌تواند ناشی از عواملی چون، پوسته سخت و غیرقابل نفوذ، جنین نابالغ و همچنین بازدارنده‌ها شیمیایی درون بذر باشد یافتن اطلاعات در زمینه خواب بذر و عوامل موثر در شکستن خواب بذر و شرایط بهینه جوانه زنی به منظور بازسازی عرصه‌های رویشی طبیعی گونه‌های گیاهی ضروری است (کاپور و همکاران، 1386).

## مواد و روش ها

بذرهای مورد استفاده در این آزمایش از نوار ساحلی گهرباران ساری جمع آوری شده و در ظروف شیشه ای تیره رنگ در یخچال نگهداری شدند. برای اعمال تیمار خراش دهی بذرها با استفاده از سمباده نرم 100 p به مدت 3 و 5 دقیقه خراش داده شدند و برای تیمار نیترات پتاسیم بذرها را در محلول های 1 و 2 درصد نیترات پتاسیم به مدت 48 ساعت دردمای آزمایشگاه قرار داده شدند. پس از 48 ساعت بذرها از محلول های نیترات پتاسیم خارج شده و با آب مقطر شست و شو داده شدند. در تیمار ترکیبی ابتدا بذرها خراش دهی شده و سپس در محلول نیترات پتاسیم قرار داده شدند. 4 تکرار 8 بذری از هر سطح تیمار درون پتری دیش های حاوی کاغذ صافی مرطوب در اتاقک رشد با دمای 22-24 درجه سانتیگراد و رطوبت 70٪ و تناوب نوری 14 ساعت روشنایی و 10 ساعت تاریکی قرار داده شدند. برای انجام تجزیه تحلیل آماری داده ها از نرم افزار آماری SPSS نسخه 21 استفاده شد و آنالیز واریانس یک طرفه با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن سطح 5 درصد مقایسه گردید.

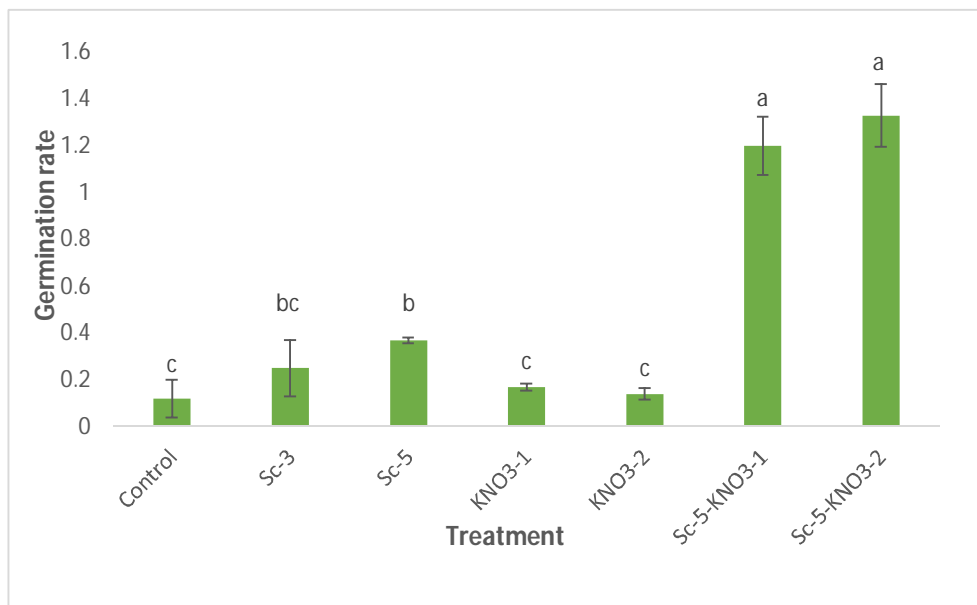
## نتایج و بحث

طبق نتایج آنالیز واریانس تیمار خراش دهی مکانیکی با کاغذ سمباده به مدت 3 دقیقه تاثیر معنی داری بر درصد جوانه زنی و سرعت جوانه زنی در مقایسه با تیمار کنترل نداشت. خراش دهی به مدت 5 دقیقه سبب افزایش معنی دار بر درصد و سرعت جوانه زنی نسبت به کنترل شد اما تاثیر آن ناچیز بود (نمودار 1 و 2). در درجه اول به نظر می رسد که پوسته سخت بذرهای *C. persicus* مهمترین عامل ممانعت و به تاخیر انداختن جوانه زنی می باشد که از مهمترین تیمارهایی که برای غلبه بر این مانع به کار گرفته می شود تیمار اسکاریفیکاسیون یا همان خراش دهی است. تیمار خراش دهی مکانیکی پوسته بذر، به واسطه تسریع در جذب آب و تسهیل در تبادل گازها سبب افزایش تعداد بذرهای جوانه زده در واحد زمان می شوند و در نهایت افزایش سرعت جوانه زنی را سبب می شوند. بعد از خراش دهی شاهد جذب آب و تورم سریعتر دانه نسبت به نمونه های شاهد بودیم اما در نهایت تاثیر چندانی بر میزان جوانه زنی بذرهای پیچک ایرانی مشاهده نشد. همسو با نتایج ما مطالعه خراش دهی مکانیکی پوسته بذر با کاغذ سمباده در جوانه زنی و برطرف کردن خواب بذرهای دو اکوتیپ گونه پونه سای بر گه دار تاثیری نداشت (نوخندان، 1392).



نمودار 1: اثر خراش دهی و نیترات پتاسیم بر درصد جوانه‌زنی بذرهای پیچک ایرانی؛ (خراش دهی 3 و 5 دقیقه: Sc-3 و Sc-5)، (نیترات پتاسیم 1 و 2 درصد: KNO3-1 و KNO3-2)، خراش دهی 5 دقیقه با نیترات پتاسیم 1 و 2 (Sc-5-KNO3-1 و Sc-5-KNO3-2).

تیمار با نیترات پتاسیم 1 درصد اثر معنی‌داری بر درصد جوانه‌زنی در مقایسه با کنترل داشت و درصد جوانه‌زنی را به میزان 22% افزایش داد اما بر سرعت جوانه‌زنی فاقد اثر معنی‌داری بود درحالی‌که نیترات پتاسیم 2 درصد در مقایسه با کنترل تاثیر معنی‌داری بر درصد و سرعت جوانه‌زنی نداشت (نمودار 1 و 2). تیمارهای ترکیبی خراش دهی به مدت 5 دقیقه به همراه نیترات پتاسیم در هر دو سطح 1 و 2 درصد تاثیر کاملاً معنی‌داری بر درصد و سرعت جوانه‌زنی داشتند و درصد جوانه‌زنی را به میزان 40 تا 50 درصد افزایش دادند. تاثیر تیمار نیترات پتاسیم 1 درصد بر درصد جوانه‌زنی بیشتر از تیمار نیترات پتاسیم 2 درصد بود این درحالی است که سرعت جوانه‌زنی بین دو سطح نیترات پتاسیم 1 و 2 درصد تفاوت معنی‌داری نداشت (نمودار 1 و 2).



نمودار 2: اثر خراش دهی و نیترات پتاسیم بر سرعت جوانه زنی بذرهای پیچک ایرانی؛ (خراش دهی 3 و 5 دقیقه: Sc-3 و Sc-5)، (نیترات پتاسیم 1 و 2 درصد: KNO3-1 و KNO3-2)، خراش دهی 5 دقیقه با نیترات پتاسیم 1 و 2 (Sc-5-KNO3-1 و Sc-5-KNO3-2).

حضور یونهای نمک نیترات پتاسیم در غلظت‌های پایین‌تر احتمالاً منجر به شکست خواب بذر و نمو بهتر جنین می‌شود اما افزایش غلظت این یونها سبب ایجاد سمیت برای بذر می‌شود. غلظت‌های بالای یونهای نیترات پتاسیم بر جابجایی و پویایی اندوخته‌های غذایی محلول در اندوسپرم تاثیرات نامطلوبی را به دنبال دارد و این کاهش پویایی اندوخته‌های غذایی منجر به تاخیر در رشد جنین در طی جوانه زنی می‌شود. به نظر می‌رسد که یون نیترات نیتروژن بیشتری برای افزایش عمل آنزیم‌ها و ساخت بیشتر پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها فراهم می‌کند و بدین صورت سبب رشد هرچه بیشتر جنین و افزایش بنیه گیاهچه می‌شود (Farooq et al, 2007).

### نتیجه گیری

با توجه به اینکه بذرهای *C. persicus* به دلیل داشتن پوسته سخت دارای خواب فیزیکی و به دلیل وجود مواد بازدارنده احتمالی در بذر دارای خواب فیزیولوژیکی می‌باشند تیمار توام خراش دهی مکانیکی به همراه نیترات پتاسیم می‌تواند در شکست خواب بذرهای این گونه موثر باشد.

### منابع

- فائزه عاشقیان، صدیقه کلیج، ناصرجعفری (1398). سازگاری‌های ساخناری پیچک ایرانی، گونه در معرض خطر سواحل شمالی ایران. مجله یافته‌های نوین در علوم زیستی 6(4):495-504.
- کاپور، پراتیما، رانی‌گاوایل، سودها. ترجمه‌ی محمدرضا اردکانی، محمد رضوانی، فائزه زعفریان. 1386. تهران: دانشگاه تهران، موسسه انتشارات و چاپ.
- نوخندان، ه (1392). مطالعه روش‌های شکست خواب و اندازه گیری شاخص‌های جوانه زنی بذر پونه سای برگه دار (*Nepeta bracteate Benth*). پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه فردوسی مشهد.

Woolhouse, S. (2012). *The biology and ecology of six rare plants from Plumas National Forest, Northern California, USA*. San Jose State University.

Guja, L. K., Merritt, D. J., and Dixon, K. W. (2010). Buoyancy, salt tolerance and germination of coastal seeds: implications for oceanic hydrochorous dispersal. *Functional Plant Biology* 37(12): 1175-1186.

Farooq, M., Barsa, S. M. A., Rehman, H., Ahmad, N., and Salem, B. A., (2007). Osmopriming improves the germination and early seedling growth of melons (*Cucumis melo* L.). *Pakistan Journal of Agricultural Science*. 44(3): 529-536.

## Scarification and Potassium nitrat effects on seed dormancy breaking of *Convolvulus persicus* L.

Saba yasaghi , Sedigheh Kelij

### Abstract

The research aimed to improve the germination characteristics of the threatened native species, *Convolvulus persicus* L., found on the Caspian and Black Sea coasts. A factorial experiment was conducted using mechanical scarification (3 and 5 minutes) with sandpaper, two concentrations of potassium nitrate (1 and 2%), and a combination of scarification and potassium nitrate. The results showed that individual treatments did not significantly increase seed germination compared to the combined treatments. The combination of mechanical scarification for 5 minutes with 1% potassium nitrate had the greatest effect on increasing germination percentage and rate of *C. persicus* seeds.

**Keywords:** *Convolvulus persicus* L.; Germination; Scarification; Potassium nitrate.



## بررسی اثر فلز سنگین کروم و اثر تعدیل کنندگی نانوذرات سیلیکون در مرحله جوانه زنی

### *Allium cepa*

فائزه یعقوبی کهنه‌ده<sup>1\*</sup>: دانشجو، کارشناسی ارشد زیست‌شناسی سلولی تکوینی گیاهی، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی

Faezeh.yaghobi@khu.ac.ir

زهره شیرخانی<sup>1</sup>: استادیار، دکتری زیست‌شناسی سلولی تکوینی گیاهی، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی

z.shirkhani@khu.ac.ir

مهرشید ریاحی<sup>1</sup>: استادیار، دکتری زیست‌شناسی سیستماتیک گیاهی، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی

mehrshidriahi@gmail.com

چکیده

تنش فلزات سنگین یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیرزیستی است که جوانه‌زنی و رشد گیاهان و در نهایت کشاورزی و تغذیه انسان را تحت تاثیر قرار می‌دهد. این فلزات برخلاف آلاینده‌های آلی دیگر از طریق فرآیندهای بیولوژیک به ترکیبات بی‌ضرر تجزیه نمی‌شوند. سیلیکون به عنوان دومین عنصر فراوان در خاک بر جوانه‌زنی و رشد گیاهان تاثیر می‌گذارد و تنش‌های مختلف از جمله تنش فلزات سنگین را کاهش می‌دهد. در این مطالعه اثر سیلیکات سدیم و نانوذرات سیلیکون (25 میلی‌گرم در لیتر) بر جوانه‌زنی گیاه پیاز تحت تنش فلز سنگین کروم (7/5، 15، 22/5 میلی‌گرم در لیتر) مورد بررسی قرار گرفت. بذرها را بعد از استریل‌سازی در پتری قرار داده و پس از گذشت 7 روز و با استفاده از فرمول‌های مربوطه درصد، شاخص و سرعت جوانه زنی، سرعت جوانه‌زنی روزانه، متوسط زمان جوانه‌زنی و متوسط زمان جوانه‌زنی روزانه به دست آمد. با توجه به نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها مشاهده گردید که بیشترین درصد جوانه‌زنی مربوط به غلظت 15 میلی‌گرم در لیتر کروم و نانوسیلیکون (81/66٪) بود، کمترین شاخص جوانه‌زنی در تیمار نانوسیلیکون (0/45) مشاهده شد. کمترین و بیشترین مقدار سرعت جوانه‌زنی به ترتیب مربوط به تیمار نانوسیلیکون (2/55) و تیمار 7/5 میلی‌گرم در لیتر کروم با سیلیکات سدیم (8/08) بود. سرعت جوانه‌زنی روزانه در تیمار نانوسیلیکون بیشترین مقدار (0/35) را نشان داد. بیشترین مقدار متوسط زمان جوانه‌زنی مربوط به غلظت 25 میلی‌گرم در لیتر نانوسیلیکون (2/25) بود. کمترین مقدار متوسط زمان جوانه‌زنی روزانه در غلظت 25 میلی‌گرم در لیتر نانوسیلیکون مشاهده شد. به نظر می‌رسد نانوذره سیلیکون می‌تواند اثرات مخرب تنش کروم بر پارامترهای جوانه‌زنی را تعدیل کند.

واژگان کلیدی: نانوسیلیکون، تنش غیرزیستی، تیره سوسنیان، جوانه‌زنی، پتاسیم دی کرومات

مقدمه

فلزات سنگین با چگالی بیشتر از 5 گرم بر سانتی‌متر مکعب از طریق پساب‌های شهری و فاضلاب‌های صنعتی و کشاورزی وارد محیط زیست می‌شوند و می‌توانند بر آنزیم‌ها در گیاه تاثیر گذاشته و جذب آب و مواد مغذی را از طریق ریشه محدود کنند [1] و روند فتوسنتز گیاهی را مختل کرده و رشد گیاه را کاهش دهند [2]. یکی از فلزات سنگین غیرضروری که استفاده گسترده‌ای در صنایع دارد، کروم است [3، 4]. غلظت بالای کروم می‌تواند منجر به مهار جوانه‌زنی بذر یا رشد اولیه گیاهچه، کاهش رشد ریشه، کلروز برگ و کاهش بیوماس شود [5]. سیلیکون به‌عنوان دومین عنصر فراوان در خاک، می‌تواند رشد گیاه را تحریک کرده و تنش‌های مختلف زیستی و غیرزیستی از جمله تنش فلزات سنگین را کاهش دهد. همچنین سیلیکون به عنوان یکی از نانوذرات موثر در زمینه محیط‌زیستی شناخته می‌شود که مطالعات مرتبط با اثرات این نانوذره بر شرایط جوانه‌زنی گیاه و کنترل آسیب‌های محیط‌زیستی

بر رشد آن به صورت گسترده ای انجام نشده است [6]. پژوهش‌های پیشین نشان داده‌اند که سیلیکون از جذب و جابه‌جایی کروم در گیاهان جلوگیری می‌کند و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را افزایش می‌دهد [7].

پیاز (*Allium cepa* L.) یکی از مهم‌ترین گیاهان تک‌لپه‌ای از تیره Liliaceae است [8]. پیاز به دلیل هزینه پایین، ریشه زیاد، زمان کوتاه آزمایش، سهولت نگهداری و پاسخ واضح و سریع به مواد ژنوتوکسیک برای مطالعات آزمایشگاهی مناسب است [9]. بر اساس مطالعات انجام شده، افزایش غلظت کروم می‌تواند بر شرایط جوانه‌زنی پیاز تاثیر منفی داشته باشد [4]. با توجه به مزایای شناخته شده پیاز در مطالعات پیشین، استفاده از این گیاه در زمینه نانو مواد هنوز در دست تحقیق است. ازین رو، پیاز جهت بررسی اثرات فلزات سنگین و همچنین بررسی اثر برهمکنش نانوذرات سیلیکون و فلزات سنگین بر جوانه‌زنی انتخاب گردید. از سوی دیگر اگرچه اثر بهبود یافته پرایمینگ بذرها در رویش گیاهچه و رشد اولیه گزارش شده است، اطلاعات کمی در مورد نقش بذره‌ای پرایم شده با نانوذرات سیلیکون بر جوانه‌زنی گیاه وجود دارد. بدین منظور در این پژوهش اثر نانوذرات سیلیکون بر خصوصیات جوانه‌زنی بذره‌ای *A. cepa* تحت تنش فلز سنگین کروم مورد مطالعه قرار خواهد گرفت.

#### مواد و روش‌ها

بذره‌های مورد بررسی از مجموعه پاکان بذر اصفهان تهیه گردید و به مدت 2 تا 3 دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم به منظور استریل کردن قرار داده و بعد از آن برای از بین بردن اثر هیپوکلریت سدیم، بذرها به مدت 1 تا 2 دقیقه با آب مقطر 2 تا 3 بار شستشو داده شد. به منظور اعمال تیمار، بذره‌های پیاز به روش خیساندن به مدت 48 ساعت داخل محلول‌های کروم، محلول کروم و سیلیکات سدیم، محلول کروم و نانوسیلیکون قرار داده شدند. سپس بذرها را به پتری دیش استریل شده در محیط تاریک منتقل کرده و هر روز در ساعت مشخص به مدت 7 روز شمارش بذرها و تیماردهی به منظور محاسبه پارامترهایی که در زیر به آن‌ها اشاره شده است صورت گرفت.

به منظور محاسبه درصد جوانه‌زنی از نسبت تعداد بذره‌های جوانه زده در روز آخر بر تعداد کل بذرها در 100 استفاده شد.

$$GP = (N'/N) * 100 \quad (1)$$

N = تعداد کل بذره‌های کشت شده

N' = تعداد کل بذور جوانه‌زده

جهت مقایسه سرعت جوانه زنی تیمارهای مورد بررسی از فرمول زیر استفاده شد:

$$VG = \sum (Nt/t) \quad (2)$$

Nt = تعداد بذر جوانه زده در روز tام

t = زمان جوانه‌زنی

شاخص جوانه‌زنی از دیگر پارامترهای مورد بررسی در این پژوهش می‌باشد که از رابطه زیر به دست آمد:

$$GI = \sum Nt * t / N \quad (3)$$

N = تعداد کل بذره‌های کشت شده

Nt = تعداد بذر جوانه زده در روز tام

t = زمان جوانه‌زنی

پارامتر دیگری که مورد بررسی قرار داده شد متوسط زمان جوانه‌زنی می‌باشد که از رابطه زیر بدست می‌آید:

$$MTG = \frac{\sum(t * Nt)}{\sum Nt} \quad (4)$$

t= تعداد کل روزهای کشت بذور

به منظور بررسی پارامتر متوسط جوانه‌زنی روزانه از نسبت درصد جوانه‌زنی بر زمان جوانه‌زنی (روز) استفاده شد.

$$MGD = GP/t \quad (5)$$

t= زمان جوانه‌زنی (روز)

پارامتر مورد بررسی بعدی سرعت جوانه‌زنی روزانه بود که توسط فرمول زیر محاسبه گردید:

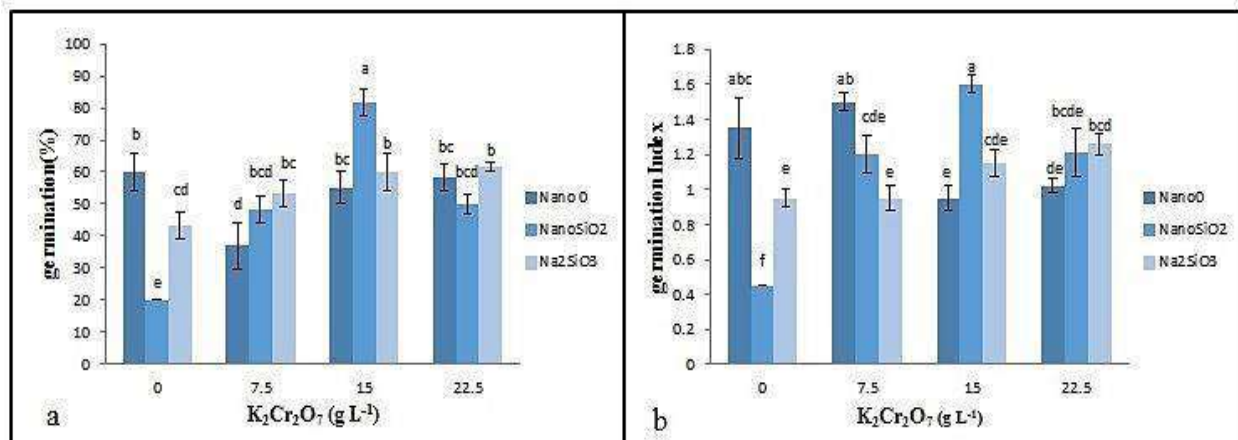
$$MDG' = 1/MGD \quad (6)$$

### آنالیز آماری

در این پژوهش، کلیه محاسبات آماری با حداقل 3 تکرار با استفاده از نرم افزار spss (version 27) توسط آزمون مقایسه‌ای دانکن بر پایه طرح فاکتوریل مورد تجزیه تحلیل قرار گرفت.

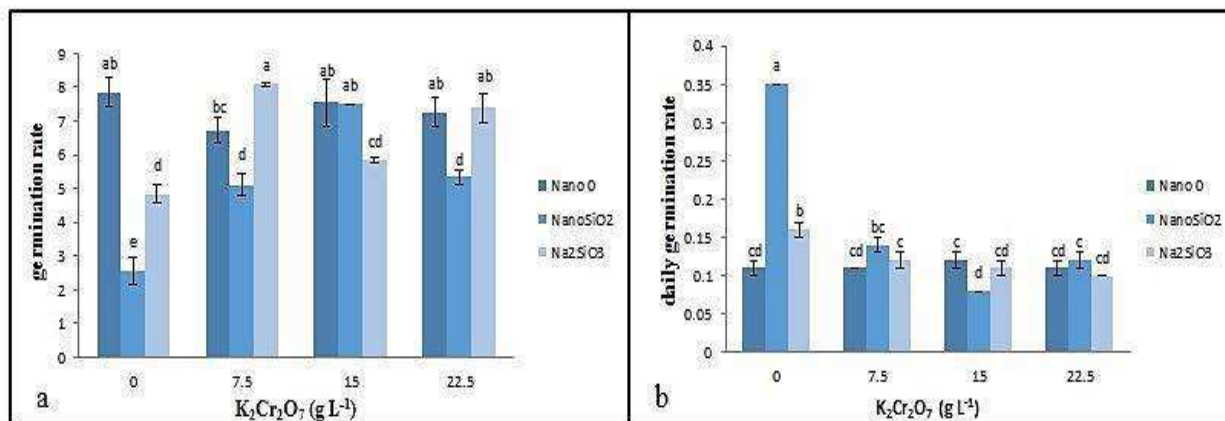
### نتایج

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر متقابل کروم و نانوسیلیکون و سیلیکات سدیم بر درصد جوانه‌زنی معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ ). بیشترین مقدار در غلظت 15 میلی‌گرم در لیتر کروم با 25 میلی‌گرم در لیتر نانوسیلیکون (81/66%) مشاهده شد (شکل 1(a)). در مورد شاخص جوانه‌زنی میزان تغییرات معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ ). کمترین مقدار مربوط به غلظت 25 میلی‌گرم در لیتر نانوسیلیکون (0/45) بود (شکل 1(b)).



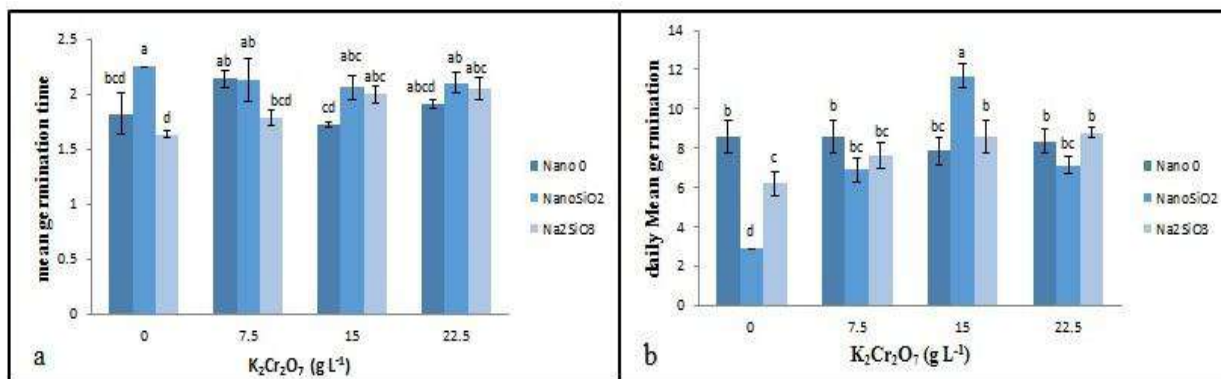
شکل 1: اثر کروم، نانوسیلیکون و سیلیکات سدیم بر درصد و شاخص جوانه‌زنی در پیاز. (a) درصد جوانه‌زنی؛ (b) شاخص جوانه‌زنی. حروف متفاوت نمایانگر گروه‌های با تفاوت آماری معنی‌دار است.

کروم، نانوسیلیکون و سیلیکات سدیم سبب تغییرات در سرعت جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی روزانه شد که این تغییرات از نظر آماری معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ ). کمترین مقدار در سرعت جوانه‌زنی مربوط به غلظت 25 میلی‌گرم در لیتر نانوسیلیکون (2/55) و بیشترین مقدار مربوط به 7/5 میلی‌گرم در لیتر کروم با 25 میلی‌گرم در لیتر سیلیکات سدیم (8/08) بود. کمترین مقدار مشاهده شده نسبت به نمونه شاهد تقریباً سه برابر کاهش یافته‌است (شکل 2(a)). در سرعت جوانه‌زنی روزانه در تیمار نانوسیلیکون بیشترین مقدار (0/35) مشاهده شد که نسبت به نمونه شاهد 68% افزایش یافته‌است (شکل 2(b)).



شکل 2: اثر کروم ، نانوسیلیکون و سیلیکات سدیم بر سرعت جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی روزانه در پیاز. (a) سرعت جوانه‌زنی؛ (b) سرعت جوانه‌زنی روزانه. حروف متفاوت نمایانگر گروه‌های با تفاوت آماری معنی‌دار است.

اثر سیلیکون و نانوذرات بر متوسط زمان جوانه‌زنی دانه‌رست‌های تحت تنش کروم معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ ) اما در غلظت‌های مختلف کروم اختلافات معنی‌دار نبود به این صورت که بیشترین مقدار مربوط به تیمار نانوسیلیکون (2/25) بود (شکل 3(a)). در متوسط جوانه‌زنی روزانه اثر کروم ، نانوسیلیکون و سیلیکات سدیم روند افزایشی در پیش داشت اما در غلظت 22/5 میلی‌گرم در لیتر کروم این روند افزایشی مشاهده‌نشده همچنین کمترین مقدار در تیمار نانوسیلیکون مشاهده‌شد که در مجموع این تغییرات معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) بود (شکل 3(b)).



شکل 3: اثر کروم ، نانوسیلیکون و سیلیکات سدیم بر متوسط زمان جوانه‌زنی و متوسط زمان جوانه‌زنی روزانه در پیاز. (a) متوسط زمان جوانه‌زنی؛ (b) متوسط جوانه‌زنی روزانه. حروف متفاوت نمایانگر گروه‌های با تفاوت آماری معنی‌دار است.

### بحث

سمیت فلزات سنگین عامل مهمی در جوانه‌زنی و رشد گیاهان است. اثرات مواد سمی بر گیاهان به مقدار ماده سمی جذب شده از محیط بستگی دارد. جوانه‌زنی و استقرار گیاهیچه مراحل آسیب پذیری در چرخه زندگی گیاه هستند [10]. رشد گیاهیچه به‌عنوان شاخصی از تنش فلزی بر توانایی گیاه برای بقا در نظر گرفته می‌شود [11]. در این پژوهش اثر تیمار نانوسیلیکون و کروم بر جوانه‌زنی و مراحل اولیه رشد گیاه پیازمورد مطالعه قرار گرفت. با توجه به نتایج به‌دست آمده به طور کلی کروم سبب کاهش

جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ها شد که با نتایج حاصل از (Hushmandfar and Moraghebi 2011) در مورد گیاه گلرنگ مطابقت دارد [12]. کاهش جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه پیاز شواهدی را ارائه داد که عناصر فلزی مانند کروم در صورت وجود بیش از حد، مسئول تولید اثرات سمی هستند که باعث کاهش رشد گیاه می‌شوند. کاهش جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه به دلیل تیمار فلزات سنگین با یافته‌های سایر محققین مطابقت دارد [13-16]. به‌کار بردن کروم در این بررسی موجب کاهش درصد جوانه‌زنی شد با این حال، آزمایش جوانه‌زنی اثر معنی‌داری بر درصد جوانه‌زنی داشت که مطابق با نتایج (Darm & et al (2007) بر گیاه گندم و (Mahmood & et al (2005) بر گیاه ذرت بود [17, 18]. نتایج نشان داد کروم بر سرعت جوانه‌زنی اثر معنی‌داری دارد که با نتایج حاصل از تحقیق موسوی و همکاران (2012) بر گیاهان کلزا، گندم و گلرنگ مطابقت دارد [19]. در این تحقیق به منظور تعدیل اثر منفی کروم از سیلیکات سدیم و نانوسیلیکون استفاده شد. اثر مفید نانوذرات در بهبود کیفیت بذر را می‌توان به این دلیل نسبت داد که نانوذرات واکنش‌های کاهش اکسیداسیون را از طریق رادیکال یون سوپراکسید در طول جوانه‌زنی القا می‌کنند و در نتیجه رادیکال‌های آزاد را در دانه‌های جوانه‌زن خاموش می‌کنند. به نوبه خود، اکسیژن تولید شده در چنین فرآیندی نیز می‌تواند برای تنفس مورد استفاده قرار گیرد، که باعث افزایش بیشتر جوانه‌زنی می‌شود. استفاده از تیمارهای سیلیکات سدیم و نانوسیلیکون موجب افزایش جوانه‌زنی شد که این نتایج مطابق با تحقیقات Acharya و همکارانش (2020) بر روی هندوانه بود [20]. همچنین استفاده از نانوذرات موجب بهبود جوانه‌زنی در پیاز شد [21]. Das & et al (2018) گزارش کردند که نانوذرات موجب افزایش درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی در پیاز می‌شوند که با نتایج بدست‌آمده از این تحقیق مطابقت دارد [22].

### نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به دست آمده بنظر می‌سد، استفاده از نانوذره سیلیکون و سیلیکات سدیم می‌تواند اثرات مخرب تنش کروم بر پارامترهای جوانه‌زنی را تخفیف دهد. به این صورت که نانوسیلیکون و سیلیکات سدیم بر پارامترهای جوانه‌زنی اثرات معنی‌داری داشتند و رشد اولیه گیاهچه‌های تحت تنش را تحت تأثیر قرار دادند. بدین ترتیب پارامترهای مختلف جوانه‌زنی دستخوش تغییراتی شدند که فرضیات مطالعات را تأیید کرد.

### منابع

1. Duruibe, Ogwuegbu, and Egwurugwu, *Heavy metal pollution and human biotoxic effects*. International Journal of Physical Sciences, 2007. 2(5): p. 112-118.
2. Singh, J. and A.S. Kalamdhad, *Effects of heavy metals on soil, plants, human health and aquatic life*. Int J Res Chem Environ, 2011. 1(2): p. 15-21.
3. Panda, S. and S. Choudhury, *Chromium stress in plants*. Brazilian Journal of Plant physiology, 2005. 17: p. 95-102.
4. Nematshahi, N., M. Lahouti, and A. Ganjeali, *Accumulation of chromium and its effect on growth of (Allium cepa cv. Hybrid)*. European Journal of Experimental Biology, 2012. 2(4): p. 969-974.
5. Emamverdian, A., et al., *Heavy metal stress and some mechanisms of plant defense response*. The Scientific World Journal, 2015. 2015.
6. Pisani, C., et al., *High-throughput, quantitative assessment of the effects of low-dose silica nanoparticles on lung cells: grasping complex toxicity with a great depth of field*. BMC Genomics, 2015. 16(1): p. 1-14.
7. Liu, D., et al., *Cytogenetical and ultrastructural effects of copper on root meristem cells of Allium sativum L*. Biocell, 2009. 33(1): p. 25-32.

- 8 Jorjandi, M., et al., *Biocontrol of Botrytis allii Munn the causal agent of neck rot, the post harvest disease in onion, by use of a new Iranian isolate of Streptomyces*. American Journal of Agricultural and Biological Sciences, 2009. 4(1): p. 72-78.
- 9 Firbas, P. and T. Amon, *Chromosome damage studies in the onion plant Allium cepa L*. Caryologia, 2014. 67(1): p. 25-35.
- 10 Vange, V., I. Heuch, and V. Vandvik, *Do seed mass and family affect germination and juvenile performance in Knautia arvensis? A study using failure-time methods*. Acta Oecologica, 2004. 25(3): p. 169-178.
- 11 Haghiri, F., *Cadmium uptake by plants*. 1973, Wiley Online Library.
- 12 Houshmandfar, A. and F. Moraghebi, *Effect of mixed cadmium, copper, nickel and zinc on seed germination and seedling growth of safflower*. African Journal of Agricultural Research, 2011. 6(5): p. 1182-1187.
- 13 AYZ, F.A. and A. KADIOĞLU, *Effects of heavy metals (Zn, Cd, Cu, Hg) on the soluble protein bands of germinating Lens esculenta L. seeds*. Turkish Journal of Botany, 1997. 21(2): p. 85-88.
- 14 Mrozek Jr, E. and N.A. Funicelli, *Effect of zinc and lead on germination of Spartina alterniflora Loisel seeds at various salinities*. Environmental and Experimental Botany, 1982. 22(1): p. 23-32.
- 15 Iqbal, M., M.T. Mahmood, and F. Ahmed, *Influence of cadmium toxicity on germination and growth of some common trees*. Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research (Pakistan), 1991.
- 16 Jamal, S.N., M. Iqbal, and M. Athar, *Effect of aluminum and chromium on the growth and germination of mesquite (Prosopis juliflora swartz.) DC*. International Journal of Environmental Science & Technology, 2006. 3: p. 173-176.
- 17 Singh, D., K. Nath, and Y.K. Sharma, *Response of wheat seed germination and seedling growth under copper stress*. Journal of Environmental Biology, 2007. 28(2): p. 409.
- 18 Mahmood, S., et al., *Germination and seedling growth of corn (Zea mays L.) under varying levels of copper and zinc*. International Journal of Environmental Science & Technology, 2005. 2: p. 269-274.
- 19 Moosavi, S.A., et al., *Effects of some heavy metals on seed germination characteristics of canola (Barassica napus), wheat (Triticum aestivum) and safflower (Carthamus tinctorious) to evaluate phytoremediation potential of these crops*. Journal of Agricultural Science, 2012. 4(9): p. 11.
- 20 Acharya, P., et al., *Nanoparticle-mediated seed priming improves germination, growth, yield, and quality of watermelons (Citrullus lanatus) at multi-locations in Texas*. Scientific Reports, 2020. 10(1): p. 5037.
- 21 Anandaraj, K. and N. Natarajan, *Effect of nanoparticles for seed quality enhancement in onion [Allium cepa (Linn) cv. CO (On)] 5*. Int J Curr Microbiol App Sci, 2017. 6: p. 3714-3724.
- 22 Das, R. and P. Deb, *Nanotechnological approaches to study the effect of silver nanoparticles on yield, quality and shelf life of onion*. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 2018. 7(6): p. 1756-1760.

## Investigating the effect of chromium heavy metal and the moderating effect of silicon nanoparticles on the germination stage of *Allium cepa*

Faezeh Yaghobi<sup>1\*</sup>, Zohreh Shirkhani<sup>1</sup>, Mehrshid Riahi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Plant Sciences, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, P. O. Box, 17719-14911, Tehran, Iran, Faezeh.yaghobi@khu.ac.ir

### Abstract:

The stress of heavy metals is one of the most important abiotic stresses that affects the germination and growth of plants and ultimately agriculture and human nutrition. Unlike other organic pollutants, these metals cannot be broken down into harmless compounds through biological processes. Silicon, as the second most abundant element in soil, affects the germination and growth of plants and can help alleviate various stresses, including heavy metal stress. In this study, the effect of sodium silicate and silicon

nanoparticles (0 and 25 mg L<sup>-1</sup>) on the germination of *Allium cepa* L. under the stress of chromium heavy metal (0; 7.5, 15, 22.5 mg L<sup>-1</sup>) was investigated. After sterilizing, the seeds were placed in a Petri dish. after a period of 7 days, various parameters were calculated using relevant formulas to assess the germination process. These parameters include the percentage of germination, germination index, germination rate, daily germination rate, average germination time, and average daily germination time. Based on the analysis of variance, the results indicated that the highest germination percentage was observed in the concentration of 15 mg L<sup>-1</sup> of chromium combined with nanosilicon, with a value of 81.66%. On the other hand, the lowest germination index was associated with nanosilicon, with a value of 0.45. The lowest value of germination speed was observed at nanosilicon treatment (2.55), while the highest value was associated with a concentration of 7.5 mg L<sup>-1</sup> of chromium with sodium silicate (8.08). The daily germination rate reached its highest value (0.35) at the nanosilicon treatment. The concentration of 25 mg L<sup>-1</sup> of nanosilicon also exhibited the highest average germination time (2.25). Additionally, the lowest average daily germination time was observed at the concentration of 25 mg L<sup>-1</sup> of nanosilicon. These findings suggest that silicon nanoparticles may have a moderating effect on the harmful impacts of chromium stress on germination parameters.

**Key words:** nanosilicon, abiotic stress, Liliaceae, germination, potassium dichromate

## بررسی تاثیر همزمان تنش کم آبیاری و افزایش دی اکسید کربن بر صفات فیزیولوژیکی گیاه

### کاملینا (*Camelina sativa* (L.) Crantz.)

محسن زارعی<sup>1\*</sup>، اصغر مصلح آرانی<sup>2</sup>، حمیدرضا عظیمزاده<sup>3</sup>، حسن اعتصامی<sup>4</sup>، مریم السادات میرباقری فیروزآباد<sup>5</sup>

<sup>1\*</sup> دانشجو کارشناسی ارشد محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی و کورشناسی، دانشگاه یزد Mohsenzareie@stu.yazd.ac.ir

<sup>2</sup> استاد دانشکده منابع طبیعی و کورشناسی - گروه محیط زیست، دانشگاه یزد amosleh@yazd.ac.ir

<sup>3</sup> دانشیار دانشکده منابع طبیعی و کورشناسی - گروه محیط زیست، دانشگاه یزد hazimzadeh@yazd.ac.ir

<sup>4</sup> دانشیار دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی - گروه علوم و مهندسی خاک، دانشگاه تهران hassanetesami@ut.ac.ir

<sup>5</sup> استادیار گروه زیست شناسی - دانشکده علوم، دانشگاه یزد m.mirbagheri@yazd.ac.ir

#### چکیده

به منظور ارزیابی اثرات افزایش غلظت دی اکسید کربن بر صفات فیزیولوژیک گیاه کاملینا (*Camelina sativa*) تحت تنش کم آبیاری و CO<sub>2</sub> افزای یک آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کامل تصادفی در 2 سطح دی اکسید کربن 650 پی پی ام و شاهد و سطح آبیاری 3 و 5 و 7 روزه در گلخانه تحقیقاتی دانشکده منابع طبیعی دانشگاه یزد طراحی شد. نتایج نشان داد که افزایش دوره آبیاری به 5 و 7 روز باعث کاهش معنی دار کلروفیل کل، فسفر، پتاسیم، منیزیم و افزایش مقدار کارتنوئیدها و قندهای محلول شد. افزایش دی اکسید کربن به 650 ppm سبب افزایش معنی دار مقدار پتاسیم، منیزیم، فسفر، قندهای محلول و کلروفیل b نسبت به شاهد شد. بنابراین نتیجه گیری شد که افزایش CO<sub>2</sub> باعث بهبود صفات فیزیولوژیک گیاه کاملینا تحت تنش کم آبیاری شد و نتایج این تحقیق می تواند در شرایط کشت گلخانه ای که امکان افزایش دی اکسید کربن فراهم است مفید باشد.

واژگان کلیدی: تغییر اقلیم، خشکی، دی اکسید کربن، کاملینا

#### مقدمه

خشکی به عنوان یک تنش محیطی موثرترین عامل بر رشد و پراکنش گیاهان شناخته می شود (مصلح آرانی و احقانی، 1391). در بخش های زیادی از جهان، کمبود آب عامل محدودکننده در تولید محصولات کشاورزی می باشد و از سویی دیگر تخمین زده می شود جمعیت جهان تا سال 2050 به 9 میلیارد نفر خواهد رسید و امنیت غذایی مهمترین چالش پیش رو خواهد بود (Askarnejad, Sodaeizadeh et al. 2019, Lamichaney, Tewari et al. 2021). از طرفی ما شاهد تغییر اقلیم در آب و هوای زمین هستیم. عامل اصلی در تغییر اقلیم انتشار گازهای گلخانه ای انسان ساخت در بیوسفر است (IPCC, 2000). در بین این گازها، دی اکسید کربن با در بر گرفتن 78% از گازهای موثر در پدیده گرم شدن کره زمین، نقش موثری دارد. افزایش دی اکسید کربن در هواکره یک رخداد اقلیمی تثبیت شده است که از زمان شروع انقلاب صنعتی به وقوع پیوسته و انتظار می رود تا اواسط قرن فعلی غلظت آن به 2 برابر غلظت آن در زمان قبل از انقلاب صنعتی برگردد (یوسفوند و مصلح آرانی، 1394). دی اکسید کربن یکی از 4 نیاز اصلی گیاهان برای فتوسنتز در کنار نور، آب و مواد مغذی می باشد و خروجی این فرایند که اکسیژن و کربوهیدرات می باشد، تحت تاثیر این عوامل قرار دارد. در این بین افزایش دی اکسید کربن اثر مثبتی بر کارایی فتوسنتز داشته است و از اثرات اولیه آن می توان به کاهش هدایت



روزنه‌ای و تعرق، افزایش راندمان مصرف آب و راندمان مصرف نور اشاره کرد (یوسفوند و مصلح آرانی 1394). هدف از این پژوهش بررسی تاثیر دی‌اکسیدکربن بر صفات فیزیولوژیک گیاه کاملینا تحت تنش خشکی می باشد.

### مواد و روش ها

گیاه کاملینا (*Camelina sativa*) یک گیاه یکساله و دانه روغنی از خانواده Brassicaceae است. این گیاه بومی شمال اروپا و آسیای مرکزی است و حداقل 3000 سال در اروپا کشت می شده است (GÖRE AKYÜZ, Zeinalzadeh-Tabrizi et al. 2023). این گیاه به عنوان دانه روغنی، کنجاله بذر و سوخت زیستی (بیودیزل یا گازوئیل تجدیدپذیر) سازگار با اقلیم مورد استفاده قرار می گیرد (Neupane, Lohaus et al. 2022). حدود 790٪ از اسیدهای چرب موجود در روغن کاملینا اسیدهای چرب غیراشباع شامل اسید لینولنیک و لینولئیک اسید و نیز اسیدهای چرب تک غیراشباع شامل اسید اولئیک و اسید ایکوزنوئیک هستند (GÖRE AKYÜZ, Zeinalzadeh-Tabrizi et al. 2023).

این پژوهش در بهار 1402 در گلخانه تحقیقاتی دانشکده منابع طبیعی دانشگاه یزد با کشت بذور کاملینا آغاز شد. آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب یک طرح کامل تصادفی در دو اتاقک مجزا انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل دی‌اکسیدکربن افزایش یافته (650ppm) و شاهد و سه سطح آبیاری شامل آبیاری 3 روزه (شاهد)، 5 روزه (متوسط) و 7 روزه (شدید) در 3 تکرار بود. برای کشت کاملینا، خاکی با نسبت 1:2 به ترتیب با ماسه بادی، خاک زراعی و کود گاوی برای هر گلدان آماده شد. سه هفته پس از رشد نهالها تحت تیمار خشکی و دی‌اکسید کربن قرار گرفتند. تیمارهای تحت دی‌اکسیدکربن هر روز به مدت 3 ساعت با کپسول حاوی CO<sub>2</sub> در غلظت 650 پی پی ام مورد تیمار قرار گرفتند. غلظت دی‌اکسید کربن با دستگاه Photoacoustic Multi-gas 1312 Monitor تنظیم شد. تیمارها تا رسیدن کاملینا به گل و میوه ادامه یافت. صفات فیزیولوژیک کلروفیل a، b و کل، کارتنوئید، قندهای محلول، منیزیم، کلسیم، فسفر و پتاسیم اندازه‌گیری شد. برای آنالیز داده‌ها از روش تجزیه واریانس یک طرفه، در نرم‌افزار SPSS استفاده شد.

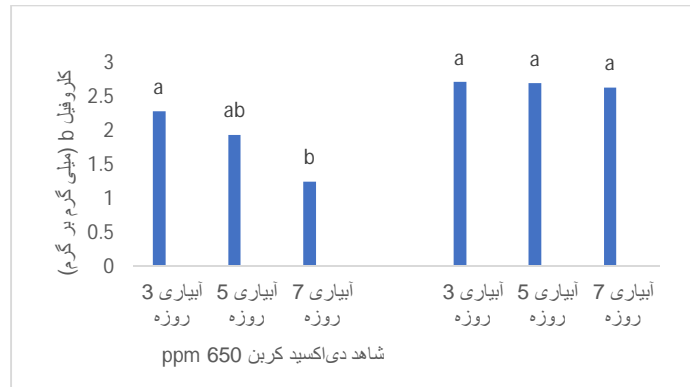
### نتایج و بحث

**کلروفیل:** نتایج نشان داد که افزایش دوره آبیاری تا 7 روز تاثیر معنی‌داری بر مقدار کلروفیل a نداشت. افزایش CO<sub>2</sub> نیز تاثیر معنی‌داری بر میزان کلروفیل a در گیاه کاملینا نداشت (شکل 1).



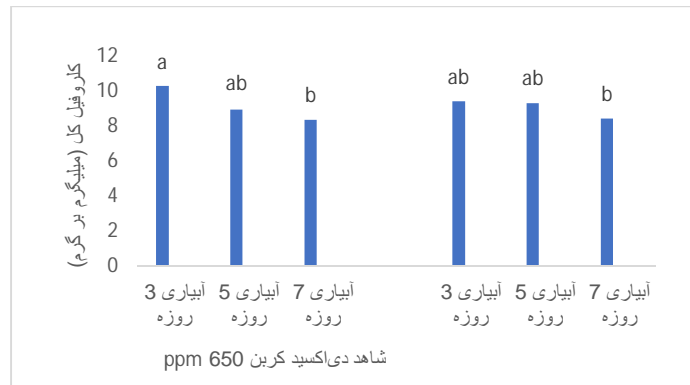
شکل 8: تاثیر دی‌اکسید کربن 650 ppm بر کلروفیل a گیاه کاملینا تحت تنش کم آبیاری 5 و 7 روزه. میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال 5 درصد معنی‌دار نیستند.

کلروفیل b: نتایج نشان داد که تنش کم‌آبیاری سبب کاهش غلظت کلروفیل b در گیاهان تحت شرایط طبیعی شد. در تیمارهای تحت CO<sub>2</sub> افزایش یافته، تیمار کم آبیاری تاثیر معنی‌داری بر مقدار کلروفیل b نداشت. افزایش CO<sub>2</sub> فقط کلروفیل b در تیمار آبیاری 7 روزه را بطور معنی‌داری افزایش داد.



شکل 9: تاثیر دی‌اکسید کربن 650 ppm بر کلروفیل b گیاه کاملینا تحت تنش کم آبیاری 5 و 7 روزه. میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال 5 درصد معنی‌دار نیستند.

کلروفیل کل: نتایج نشان داد که با افزایش دوره آبیاری مقدار کلروفیل کل در تیمار 7 روزه را در شرایط طبیعی CO<sub>2</sub> کاهش داد. با این حال اختلاف معنی‌داری در مقدار کلروفیل کل بین تیمارها در شاهد و تحت CO<sub>2</sub> افزایش یافته مشاهده نشد (شکل 3).



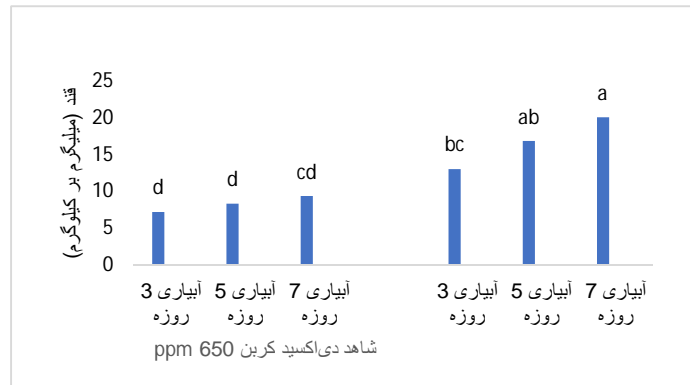
شکل 10: تاثیر دی‌اکسید کربن 650 ppm بر کلروفیل کل گیاه کاملینا تحت تنش کم آبیاری 5 و 7 روزه. میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال 5 درصد معنی‌دار نیستند.

کارتنوئید: نتایج نشان داد که مقدار کارتنوئید با افزایش دوره آبیاری به 7 روز، بطور معنی دار در شرایط طبیعی CO<sub>2</sub> افزایش یافت. افزایش CO<sub>2</sub> تاثر معنی داری بر مقدار کارتنوئید در گیاه کاملینا نداشت (شکل 4).



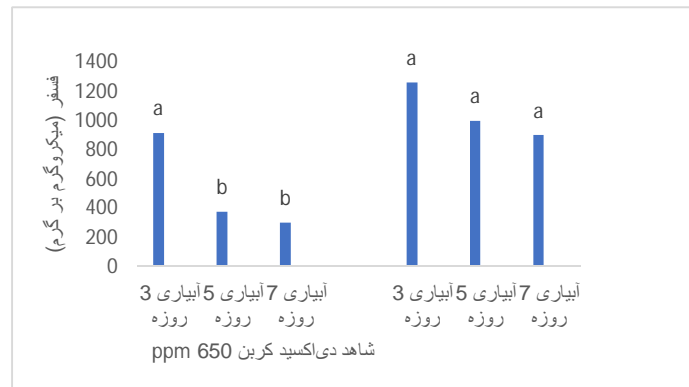
شکل 4: تاثر دی اکسید کربن 650 ppm بر کارتنوئید گیاه کاملینا تحت تنش کم آبیاری 5 و 7 روزه. میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال 5 درصد معنی دار نیستند.

قندهای محلول: نتایج نشان داد افزایش دوره آبیاری بطور معنی داری مقدار قندهای محلول را افزایش داد. افزایش CO<sub>2</sub> نیز مقدار قندهای محلول را در تمام دوره‌های آبیاری افزایش معنی داری داد (شکل 5).



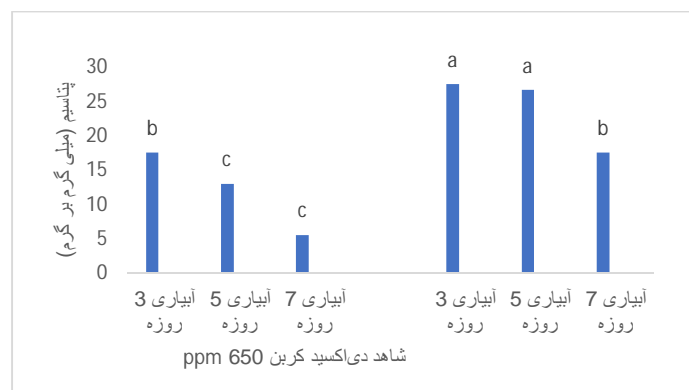
شکل 11: تاثر دی اکسید کربن 650 ppm بر قند گیاه کاملینا تحت تنش کم آبیاری 5 و 7 روزه. میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال 5 درصد معنی دار نیستند.

فسفر: نتایج نشان داد که افزایش دوره آبیاری مقدار فسفر را بطور معنی داری در شرایط طبیعی CO<sub>2</sub> کاهش داد. افزایش CO<sub>2</sub> موجب افزایش معنی دار فسفر در دو دوره آبیاری 5 و 7 روزه در گیاه کاملینا شد (شکل 6).



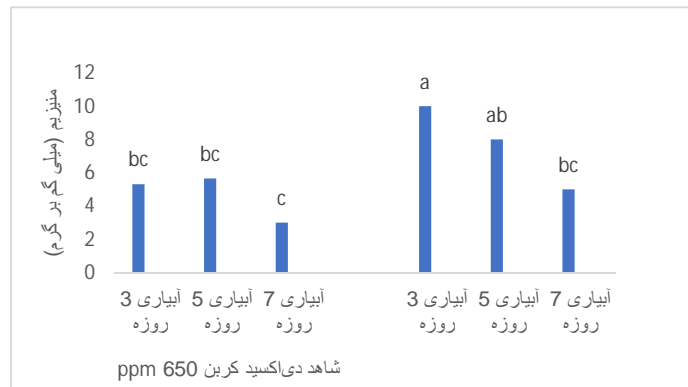
شکل 12: تاثیر دی اکسید کربن 650 ppm بر فسفر گیاه کاملینا تحت تنش کم آبیاری 5 و 7 روزه. میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال 5 درصد معنی‌دار نیستند.

پتاسیم: نتایج نشان داد که افزایش دوره آبیاری به 5 و 7 روز مقدار پتاسیم را بطور معنی‌داری کاهش داد. افزایش CO<sub>2</sub> در محیط کشت برعکس تنش دوره آبیاری مقدار پتاسیم را در تمام دوره های آبیاری افزایش داد (شکل 7).



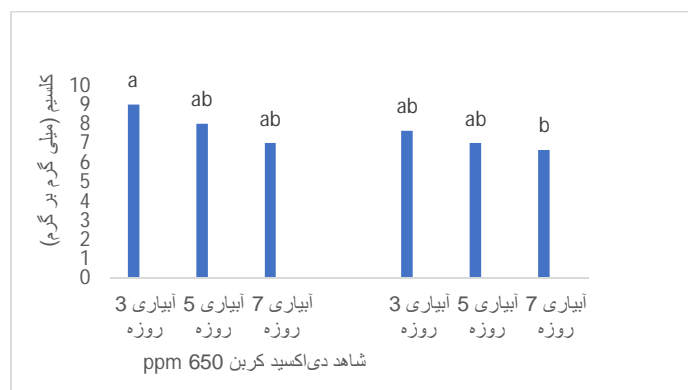
شکل 13: تاثیر دی اکسید کربن 650 ppm بر پتاسیم گیاه کاملینا تحت تنش کم آبیاری 5 و 7 روزه. میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال 5 درصد معنی‌دار نیستند.

منیزیم: نتایج نشان داد افزایش دوره آبیاری سبب کاهش غلظت منیزیم در دوره آبیاری 7 روزه در شرایط CO<sub>2</sub> افزایش یافته شد. افزایش CO<sub>2</sub> مقدار فسفر را در دوره آبیاری 3 روزه نسبت به شرایط طبیعی CO<sub>2</sub> افزایش داد (شکل 8).



شکل 14: تاثیر دی اکسید کربن 650 ppm بر میزبیم گیاه کاملینا تحت تنش کم آبیاری 5 و 7 روزه. میانگین هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال 5 درصد معنی دار نیستند.

کلسیم: نتایج نشان داد که افزایش دوره آبیاری باعث کاهش مقدار کلسیم شد ولی این کاهش معنی دار نبود. افزایش CO<sub>2</sub> نیز تاثیر معنی داری بر مقدار کلسیم در گیاه کاملینا نداشت (شکل 9).



شکل 15: تاثیر دی اکسید کربن 650 ppm بر کلسیم گیاه کاملینا تحت تنش کم آبیاری 5 و 7 روزه. میانگین هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال 5 درصد معنی دار نیستند.

### بحث و نتیجه گیری

حدود 80 تا 95٪ از زیست توده تازه بدن گیاه از آب تشکیل شده است که نقشی اساسی در فرآیندهای فیزیولوژیکی مختلف از جمله بسیاری از جنبه های رشد، نمو و متابولیسم گیاه دارد، یکی از این فعالیت های متابولیکی فتوسنتز است که دو ورودی اصلی آن آب و کربن است و انجام بدون مشکل فتوسنتز، نقش مهمی در چرخه کربن در گیاه و کل اکوسیستم دارد. به این دلیل خشکی به عنوان تنش محیطی اصلی برای گیاهان، که عامل ایجاد اختلال در صفات و فرآیندهای مختلف مولکولی، بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی، مورفولوژیکی و اکولوژیکی در گیاهان است؛ می تواند با مختل کردن چرخه های بیوژنوشیمیایی نیز اثر تغییر اقلیم را تشدید کند (Seleiman, Al-Suhaibani et al. 2021). نتایج نشان داد، افزایش دوره آبیاری اثر منفی بر محتوای کلروفیل و محتوای یونی گیاه کاملینا داشت. یکی از علل کاهش کلروفیل و یون ها را می توان بسته شدن روزنه ها برای پیشگیری از کاهش رطوبت در زمان تنش

دانست (Ge, Zhou et al. 2011). همچنین نتایج نشان داد افزایش دی‌اکسیدکربن سبب افزایش کلروفیل b و عناصر در گیاه کاملینا شد. به طور کلی CO<sub>2</sub> بالا، هدایت روزنه‌ای را کاهش می‌دهد که باعث افزایش این گاز در کلروپلاست‌ها می‌شود که به نوبه خود اثربخشی مصرف آب و مقاومت به خشکی را افزایش می‌دهد و با تسهیل فتوسنتز به سنتز متابولیت‌ها و فیتوهورمون‌ها در جهت افزایش تحمل به تنش کمک می‌کند (Yang, Li et al. 2023). تحریک چرخه فتوسنتزی گیاهان سه کربنه با افزایش غیرطبیعی دی‌اکسیدکربن یکی از موارد مورد توجه در منابع است. به عنوان مثال آزمایش غنی سازی غلظت هوای آزاد در پکن چین و آریزونا ایالات متحده نشان داد افزایش CO<sub>2</sub> باعث بهبود مقاومت گندم زمستانه به خشکی متوسط شد است (Shuai and Hui 2013, Ainsworth and Long 2021). در نتیجه افزایش CO<sub>2</sub> گیاه قادر به افزایش صفات فیزیولوژیک در 100٪ رطوبت ظرفیت زراعی و افزایش مقاومت به خشکی در شرایط آبیاری محدود بود که با نتایج این تحقیق مطابقت داشت.

### منابع

- مصلح آرانی، ا.، ر. احقاقی و ح. ر. عظیم زاده (1391). "بررسی برخی از شاخص‌های مقاومت به خشکی گونه اسکنیبل هفت‌بندی (Calligonum polygonoides) در شرایط طبیعی". مهندسی اکوسیستم بیابان 1(1): 1-10
- یوسفوند، پ.، ا. مصلح آرانی و آ. تابنده ساروی (1394). "بررسی اثر دی‌اکسیدکربن بر روی صفات مورفوفیزیولوژیکی زیتون تلخ (Melia azedarach Linn) در شرایط گلخانه". علوم باغبانی 30(2): 232-241
- یوسفوند، پ.، ا. مصلح آرانی و آ. تابنده ساروی (1395). "پاسخ مورفولوژیک و فیزیولوژیک نهال‌های یکساله سروناز (Cupressus sempervirens L) به افزایش غلظت دی‌اکسیدکربن". مجله جنگل ایران 8(2): 251-262
- Ainsworth, E. A. and S. P. Long (2021). "30 years of free-air carbon dioxide enrichment (FACE): What have we learned about future crop productivity and its potential for adaptation?" *Glob Chang Biol* 27(1): 27-49
- Askarnejad, M., H. Sodaeeizadeh, A. M. Arani and R. Y. Biouki (2019). "Effect of Silicon on Some Characteristics of Purple Basil (*Ocimum basilicum*) Under Drought Stress." *Journal of Horticultural Science and Technology* 20(1): 21-30.[persian]
- Ge, Z.-M., X. Zhou, S. Kellomäki, K.-Y. Wang, H. Peltola and P. Martikainen (2011). "Responses of leaf photosynthesis, pigments and chlorophyll fluorescence within canopy position in a boreal grass (*Phalaris arundinacea* L.) to elevated temperature and CO<sub>2</sub> under varying water regimes." *Photosynthetica* 49: 172-184
- Göre, M., H. Zeinalzadeh-Tabrizi and O. Kurt (2023). "Correlation and sequential path analysis of oil yield and related characteristics in camelina under seasonal variations" *Ocl-Oilseeds & fats Crops and Lipids* 30(2)
- Lamichaney, A., K. Tewari, P. S. Basu, P. K. Katiyar and N. P. Singh (2021). "Effect of elevated carbon-dioxide on plant growth, physiology, yield and seed quality of chickpea (*Cicer arietinum* L.) in Indo-Gangetic plains." *Physiology and Molecular Biology of Plants* 27: 251-263
- Li, D., H. Liu, Y. Qiao, Y. Wang, Z. Cai, B. Dong, C. Shi, Y. Liu, X. Li and M. Liu (2013). "Effects of elevated CO<sub>2</sub> on the growth, seed yield, and water use efficiency of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) under drought stress ." *Agricultural Water Management* 129: 105-112
- Neupane, D., R. H. Lohaus, J. K. Q. Solomon and J. C. Cushman (2022). "Realizing the Potential of Camelina sativa as a Bioenergy Crop for a Changing Global Climate ." *Plants* 11(6): 772
- Perry, L. G., P. B. Shafroth, D. M. Blumenthal, J. A. Morgan and D. R. LeCain (2013). "Elevated CO<sub>2</sub> does not offset greater water stress predicted under climate change for native and exotic riparian plants." *New Phytologist* 197(2): 532-543
- Seleiman, M. F., N. Al-Suhaibani, N. Ali, M. Akmal, M. Alotaibi, Y. Refay, T. Dindaroglu, H. H. Abdul-Wajid , and M. L. Battaglia (2021). "Drought Stress Impacts on Plants and Different Approaches to Alleviate Its Adverse Effects ." *Plants (Basel)* 10(2)
- Shuai, J. and J. Hui (2013). "Interactive effects of elevated carbon dioxide and water on the growth and development of winter wheat." *Chinese Journal of Agrometeorology* 34(04): 403

Yang, Q., P. Li, D. Zhang, W. Lin, X. Hao and Y. Zong (2023). "Effects of Elevated CO<sub>2</sub> on Photosynthesis, Chlorophyll Fluorescence and Yield of Two the Wheat Cultivars (*Triticum aestivum* L.) under Persistent Drought Stress." *Sustainability* 15(2): 15-93

## The simultaneous effect of reduced irrigation stress and increased carbon dioxide on the physiological traits of *Camelina sativa* (L.) Crantz.)

Mohsen Zareie<sup>1\*</sup>, Asghar Mosleh Arani<sup>2</sup>, Hamid Azimzadeh<sup>3</sup>, Hassan Etesami<sup>4</sup>, Maryam Mirbagheri<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Ms Student, Environmental Sciences, Faculty of Natural Resources, Yazd University, Yazd, Iran, Mohsenzareie@stu.yazd.ac.ir

<sup>2,3</sup> Department of Environmental Sciences, Faculty of Natural Resources, Yazd University, Yazd, Iran; amosleh@yazd.ac.ir , hazimzadeh@yazd.ac.ir

<sup>4</sup>Department of Soil Sciences, Faculty of Agricultural Engineering and Technology, University of Tehran, Tehran , hassanetesami@ut.ac.ir

<sup>5</sup> Department of Biology, Faculty of Science, Yazd University, Yazd, Iran, m.mirbagheri@yazd.ac.ir

### Abstract

In order to evaluate the effects of increasing carbon dioxide concentration on the physiological traits of *Camelina sativa* under the stress of low irrigation and increased CO<sub>2</sub>, a factorial experiment based on a completely randomized design was carried out in 2 levels of carbon dioxide 650 ppm and the control and irrigation levels of 3, 5 and 7 days. The experiment was performed in the research greenhouse of the Faculty of Natural Resources of Yazd University. The results showed that increasing the irrigation period to 5 and 7 days caused a significant decrease in total chlorophyll, phosphorus, potassium, magnesium and increased the amount of carotenoids and soluble sugars. The increase of carbon dioxide to 650 ppm caused a significant increase in the amount of potassium, magnesium, phosphorus, soluble sugars and chlorophyll b compared to the control. Therefore, it was concluded that the increase in CO<sub>2</sub> improved the physiological characteristics of *Camelina sativa* under water stress and the results of this research can be useful in the conditions of greenhouse cultivation where it is possible to increase carbon dioxide.

**Keywords:** *Camelina sativa*, Carbon dioxide, Climate change, Drought

## بررسی تاثیر همزمان تنش کم آبیاری و افزایش دی اکسید کربن بر صفات مورفولوژیکی گیاه کاملینا (*Camelina sativa* (L.) Crantz.)

محسن زارعی<sup>1\*</sup>، اصغر مصلح آرائی<sup>2</sup>، حمیدرضا عظیم زاده<sup>3</sup>، حسن اعتصامی<sup>4</sup>، مریم السادات میرباقری فیروزآباد<sup>5</sup>

<sup>1\*</sup> دانشجوی کارشناسی ارشد محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی و کورشناسی، دانشگاه یزد [Mohsenzareie@stu.yazd.ac.ir](mailto:Mohsenzareie@stu.yazd.ac.ir)

<sup>2</sup> استاد دانشکده منابع طبیعی و کورشناسی - گروه محیط زیست، دانشگاه یزد [amosleh@yazd.ac.ir](mailto:amosleh@yazd.ac.ir)

<sup>3</sup> دانشیار دانشکده منابع طبیعی و کورشناسی - گروه محیط زیست، دانشگاه یزد [hazimzadeh@yazd.ac.ir](mailto:hazimzadeh@yazd.ac.ir)

<sup>4</sup> دانشیار دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی - گروه علوم و مهندسی خاک، دانشگاه تهران [hassanetesami@ut.ac.ir](mailto:hassanetesami@ut.ac.ir)

<sup>5</sup> استادیار گروه زیست شناسی - دانشکده علوم، دانشگاه یزد [m.mirbagheri@yazd.ac.ir](mailto:m.mirbagheri@yazd.ac.ir)

### چکیده

به منظور ارزیابی اثر افزایش غلظت دی اکسید کربن بر صفات مورفولوژیک گیاه کاملینا تحت تنش کم آبیاری، یک آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کامل تصادفی در 2 سطح دی اکسید کربن 650 ppm و شاهد و سه سطح آبیاری 3 روز (شاهد) و 5 و 7 روزه در گلخانه تحقیقاتی دانشکده منابع طبیعی دانشگاه یزد طراحی شد. نتایج نشان داد کم آبیاری 5 و 7 روزه باعث کاهش معنی دار تمام صفات بویژه عملکرد گیاه (تعداد میوه) شد. افزایش دی اکسید کربن سبب افزایش معنی داری تعداد برگ در آبیاری 3 روزه و افزایش عملکرد گیاه کاملینا در آبیاری 5 روزه شد. بنابراین نتیجه گیری شد که افزایش دی اکسید کربن می تواند اثرات مثبت نسبی بر افزایش عملکرد گیاه کاملینا در شرایط بدون تنش و کم آبیاری متوسط (5 روزه) داشته باشد.

واژگان کلیدی: تغییر اقلیم، خشکی، دی اکسید کربن، کاملینا

### مقدمه

صنعتی شدن منجر به افزایش غلظت دی اکسید کربن از 280 به 380  $\mu\text{L/L}$  و آلودگی محیط زیست شده است (IPCC, 2007)؛ این افزایش در نتیجه مستقیم فعالیتهای بشر و افزایش مصرف سوخت های فسیلی می باشد (توحیدی مقدم و همکاران، 1395). امروزه مشخص شده است سطوح بالاتر دی اکسید کربن سبب افزایش فتوسنتز می شود؛ این متغیر عاملی تاثیرگذار در تغییرات صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاهان می باشد، به عنوان مثال ازدیاد دی اکسید کربن باعث افزایش انشعابات ریشه و ظرفیت سیستم ریشه ای شده که سبب بهره برداری بهتر گیاه از ظرفیت خاک می شود (Jia et al. 2011). افزایش میزان دی اکسید کربن سبب افزایش رشد و کیفیت گیاهان زراعی می شود، همچنین سبب افزایش نرخ فتوسنتز گیاهان و کارایی مصرف آب از طرق کاهش اندازه روزه ها شده است (Del Amor et al., 2015). این افزایش در گیاهان سه کربنه، پتانسیل جذب دی اکسید کربن فتوسنتزی خالص برگ را به میزان زیادی افزایش می دهد و رشد گیاهی را نیز تحت تاثیر قرار میدهد که در آزمایش ها و بررسی های مدل سازی شده متعددی



اثبات شده است. به هر حال، پاسخ‌های گیاهی به افزایش دی‌اکسید کربن در نتیجه روابطی که به خوبی درک نشده و پاسخ‌های پیچیده و اساسی رشد و نمو به تغییرات دی‌اکسید کربن و دیگر شرایط محیطی، متفاوت است.

از طرف دیگر در بین تمامی تنش‌های غیرزیستی که گیاهان را تحت تاثیر قرار می‌دهند، تنش خشکی موثرترین عامل در پراکنش و رشد گیاهان در نظر گرفته می‌شود. خشکی که به دلیل عدم تعادل بین تبخیر، تعرق و بارندگی به وجود می‌آید، یکی از مهم‌ترین متغیرها در رشد و عملکرد بسیاری از گیاهان زراعی، باغی و دارویی به ویژه در اقلیم خشک و نیمه‌خشک است (کدخدایی و همکاران، 1393). بنابراین برای حفظ امنیت غذایی دانش ما برای عکس‌العمل میان کربن دی‌اکسید و کمبود آب از اهمیت خاصی برخوردار است (Vandegheer et al., 2013 ; Aljazairi et al., 2015). غلظت دی‌اکسید کربن اتمسفری از آغاز انقلاب صنعتی افزایش یافته است و انتظار می‌رود افزایش آن با کمبود آب قابل استفاده همراه باشد (IPCC, 2014). بنابراین در این تحقیق اثر افزایش دی‌اکسید کربن در شرایط تنش کم‌آبیاری در گیاه کاملینا بررسی شد.

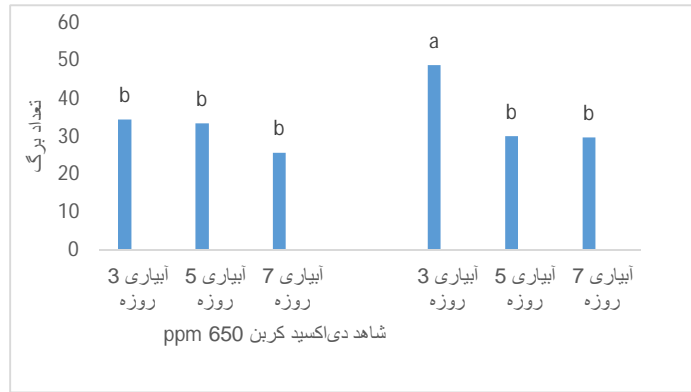
### مواد و روش‌ها

گیاه کاملینا (*Camelina sativa*) یک گیاه یکساله و دانه روغنی از خانواده Brassicaceae است. این گیاه بومی شمال اروپا و آسیای مرکزی است و حداقل 3000 سال در اروپا کشت می‌شده است (GÖRE AKYÜZ, Zeinalzadeh-Tabrizi et al., 2023). این گیاه به عنوان دانه روغنی، کنجاله بذر و سوخت زیستی (بیودیزل یا گازوئیل تجدیدپذیر) سازگار با اقلیم مورد استفاده قرار می‌گیرد (Neupane, Lohaus et al. 2022). حدود 90٪ از اسیدهای چرب موجود در روغن کاملینا اسیدهای چرب غیراشباع شامل اسید لینولنیک و لینولئیک اسید و نیز اسیدهای چرب تک غیراشباع شامل اسید اولئیک و اسید ایکوزنوئیک هستند (GÖRE AKYÜZ, Zeinalzadeh-Tabrizi et al. 2023).

این پژوهش در بهار 1402 در گلخانه تحقیقاتی دانشکده منابع طبیعی دانشگاه یزد با کشت بذور کاملینا آغاز شد. آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب یک طرح کامل تصادفی در دو اتاقک مجزا انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل دی‌اکسید کربن افزایش یافته (650ppm) و شاهد و سه سطح آبیاری شامل آبیاری 3 روزه (شاهد)، 5 روزه (متوسط) و 7 روزه (شدید) در 3 تکرار بود. برای کشت کاملینا، خاکی با نسبت 1:1:2 به ترتیب با ماسه بادی، خاک زراعی و کود گاوی برای هر گلدان آماده شد. سه هفته پس از رشد نهالها تحت تیمار خشکی و دی‌اکسید کربن قرار گرفتند. تیمارهای تحت دی‌اکسید کربن هر روز به مدت 3 ساعت با کپسول حاوی CO<sub>2</sub> در غلظت 650 پی‌پی‌ام مورد تیمار قرار گرفتند. غلظت دی‌اکسید کربن با دستگاه Photoacoustic Multi-gas 1312 Monitor تنظیم شد. پس از پایان 20 روز صفات مورفولوژیک، شامل تعداد برگ، ارتفاع ساقه، تعداد میوه و وزن تر ساقه و ریشه اندازه‌گیری گردید. برای آنالیز داده‌ها از روش تجزیه واریانس یک طرفه، در نرم‌افزار SPSS استفاده شد.

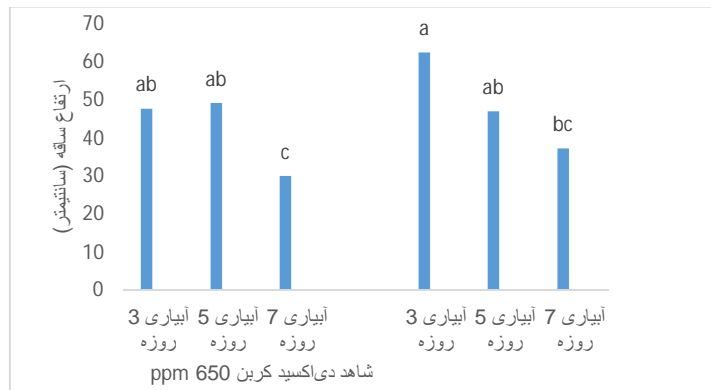
### نتایج و بحث

**تعداد برگ:** نتایج نشان داد که افزایش تنش کم‌آبیاری سبب کاهش تعداد برگ در تیمار دی‌اکسید کربن افزایش یافته در مقایسه با شاهد شد. این کاهش در بین تیمارهای بدون دی‌اکسید کربن معنی‌دار نبود. افزایش دی‌اکسید کربن فقط در آبیاری 3 روزه باعث افزایش معنی‌دار تعداد برگ شد (شکل 1).



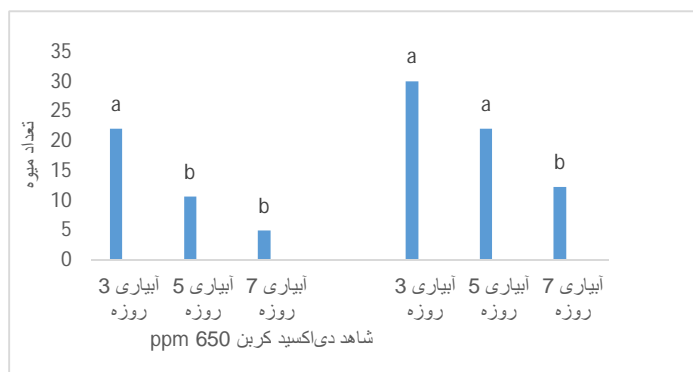
شکل 1: تاثیر دی‌اکسید کربن 650 ppm بر تعداد برگ گیاه کاملینا تحت تنش کم آبیاری 5 و 7 روزه. میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال 5 درصد معنی‌دار نیستند.

ارتفاع ساقه: نتایج نشان داد که ارتفاع ساقه تحت تاثیر کم آبیاری نسبت به شاهد کاهش یافت. افزایش دی‌اکسید کربن تاثیر معنی‌داری در افزایش ارتفاع ساقه در گیاه کاملینا نداشت (شکل 2).



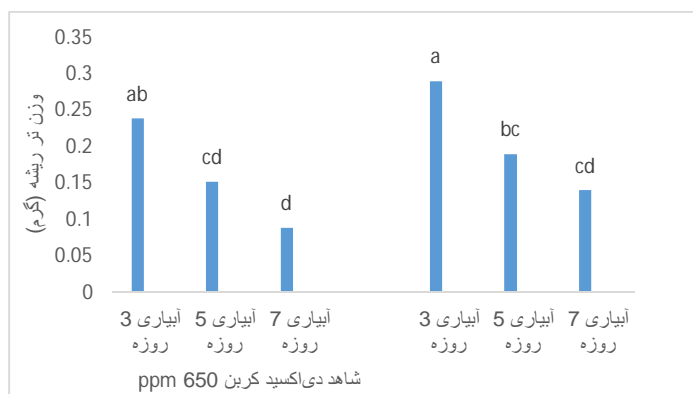
شکل 2: تاثیر دی‌اکسید کربن 650 ppm بر ارتفاع ساقه گیاه کاملینا تحت تنش کم آبیاری 5 و 7 روزه. میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال 5 درصد معنی‌دار نیستند.

تعداد میوه: نتایج نشان داد که افزایش دوره آبیاری سبب کاهش معنی‌دار تعداد میوه شد. افزایش دی‌اکسید کربن فقط در تیمار 5 روزه تعداد میوه گیاه کاملینا را افزایش معنی‌دار داد (شکل 3).



شکل 3: تاثیر دی اکسید کربن 650 ppm بر تعداد میوه گیاه کاملینا تحت تنش کم آبیاری 5 و 7 روزه. میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال 5 درصد معنی دار نیستند.

وزن تر ریشه: نتایج نشان داد که افزایش دوره آبیاری باعث کاهش معنی دار وزن تر ریشه شد. افزایش دی اکسید کربن به 650 ppm تاثیر معنی داری بر وزن تر ریشه گیاه کاملینا نداشت (شکل 5).



شکل 5: تاثیر دی اکسید کربن 650 ppm بر وزن تر ریشه گیاه کاملینا تحت تنش کم آبیاری 5 و 7 روزه. میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال 5 درصد معنی دار نیستند.

### بحث و نتیجه گیری

در متابولیسم کربن، دی اکسید کربن و آب نقش اساسی را ایفا می کنند. محصول عمل فتوسنتز قند و اکسیژن می باشد. بنابراین انتظار می رود با افزایش دی اکسید کربن و آب رشد گیاه افزایش یابد. از طرفی رشد گیاه تابعی از پیچیده ترین فعل و انفعالات بین منابع و محدودیت های دو اندام اصلی گیاه یعنی سیستم ریشه و ساقه است که تعادل عملکردی ایجاد می کند (Anjum, Xie et al. 2011, Seleiman, Al-Suhaibani et al. 2021). این عوامل با توجه به افزایش تنش خشکی، زندگی را بر گیاهان در عرصه های طبیعی و کشاورزی با مشکل مواجه می کند و در کنار مسائل تغییر اقلیم چالشی جدی برای تولیدات کشاورزی می باشد (Lamichaney, Tewari et al. 2021). نتایج نشان داد که افزایش دوره آبیاری اثر منفی بر ارتفاع گیاه، تعداد برگ، تعداد میوه، وزن تر ریشه و ساقه داشت. گیاهان در زمان تنش خشکی با محدود کردن رشد در اندام های هوایی نظیر شاخه و برگ و کاهش ارتفاع ساقه و در مقابل افزایش انشعابات و طول ریشه به دنبال جذب آب بیشتر در کنار کاهش فعالیت متابولیکی خود برای بقا هستند (Shahzad, Jan et al. 2021).

al. 2016) خشکی و به دنبال آن کاهش جذب آب در گیاه باعث کاهش تورژسانس سلولهای گیاهی و تقسیم سلولی شده و کاهش رشد گیاه را دنبال دارد (مصلح آرانی و همکاران، 1391). نتایج همچنین نشان داد که افزایش دی اکسید کربن باعث افزایش وزن تر ریشه و تعداد برگها شد. وقتی میزان دی اکسید کربن موجود در جو افزایش یابد، گیاهان دستخوش دگرگونی خواهد شد. علت این امر آن است که دی اکسید کربن به عنوان تنها منبع کربن مورد نیاز برای فتوسنتز گیاهان مطرح است. افزایش غلظت دی اکسید کربن سبب ارتقای سطح فتوسنتز خالص در گیاهان سه کربنی می شود که این افزایش ابتدا به جهت افزایش شیب غلظت دی اکسید کربن هوا به سمت برگ و دوم به دلیل کاهش تنفس نوری می باشد. تحریک چرخه فتوسنتزی گیاهان سه کربنی با افزایش غیرطبیعی اکسید کربن موجود در جو یکی از نمونه هایی است که در منابع مختلف به آن اشاره شده است. اگر رویسکو اکسیژن را به جای دی اکسید کربن تثبیت کند فرایند اکسایش کربن فتوسنتزی آغاز می شود، نتیجه این فرایند آزاد شدن دی اکسید کربن است که تحت عنوان تنفس نوری یا اکسایش کربن فتوسنتزی نامیده می شود. طی این فرایند سطح خالص دی اکسید کربن تثبیت شده کاهش می یابد. دی اکسید کربن و اکسیژن عواملی هستند که در ترکیب شدن با رویسکو با یکدیگر رقابت می کنند. افزایش دی اکسید کربن در محل رویسکو می تواند به کاهش سطح اکسیژن دهی و تنفس نوری منجر شود. نتیجه ترکیب اکسیژن با رویسکو نهایتاً اسید آمینه های گلیسین، سرین و نیتروژن برگ می باشد. بنابراین با افزایش دی اکسید کربن محیط میزان گلیسین، سرین، نیتروژن و پروتئین در برگهای نمو یافته کاهش می یابد. کاهش تنفس نوری می تواند به کاهش نیترات نیز منجر شود و نهایتاً می توان نتیجه گیری کرد که با افزایش غلظت دی اکسید کربن نسبت کربن به نیتروژن در داخل برگ افزایش می یابد. این تغییرات در نسبت کربن به نیتروژن می تواند با افزایش کربوهیدرات، لیگنین و محتوای سلول همراه باشد. این تغییرات می تواند به دگرگونی در سطح تجزیه با کاهش چرخه نیتروژن و تغییرات اساسی در مقاومت برگ در برابر یخبندان همراه باشد (بنایان اول و همکاران، 1391).

## منابع

- بنایان اول، م.، نعمت الهی، ا.، مقدم، ح. (1391) رشد و نمو گیاهان و تغییر اقلیم. مرکز نشر دانشگاهی.
- توحیدی مقدم، ح.ر.، ب. ثانی، ح. شیبانی و س.ع.م. مدرس ثانوی. 1335. اثر افزایش دی اکسید کربن، تنش خشکی و اشعه فرا بنفش بر برخی از صفات کمی و کیفی دو رقم کلزای پاییزه. فصلنامه علوم محیطی 14 (13): 57-72.
- کدخدایی، ه. ح. سودایی زاده و ا. مصلح آرانی (1393). "اثر محلول پاشی گلابسین بتائین بر روی رشد و برخی خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه کلزا تحت تنش خشکی در مزرعه." مهندسی اکوسیستم بیابان 3(4): 79-90
- Calligonum* مصلح آرانی، ا.، ر. احقانی و ح. ر. عظیم زاده (1391). "بررسی برخی از شاخص های مقاومت به خشکی گونه اسکنیل هفت بندی (در شرایط طبیعی." مهندسی اکوسیستم بیابان 1(1): 10-11
- Cupressus sempervirens* یوسفوند، پ.، ا. مصلح آرانی و آ. تابنده ساروی (1395). "پاسخ مورفولوژیک و فیزیولوژیک نهال های یکساله سروناز ( به افزایش غلظت دی اکسید کربن." مجله جنگل ایران 8(2): 251-262
- Anjum, S. A., X. Xie, L. C. Wang, M. F. Saleem, C. Man and W. Lei (2011). "Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress." African journal of agricultural research 6 (9): 2026-2032.
- Aljazairi, S., Arias, C. and Nogués, S., 2015. Carbon and nitrogen allocation and partitioning in traditional and modern wheat genotypes under pre-industrial and future CO2 conditions. Plant Biology.17, 647-659.
- Del Amor, F.M., Pinero, M.C., Otalora-Alcon, G., Perez-Jimenez, M. and Marin-Minano, M., 2015. Effect of different nitrogen forms and CO2 enrichment on the nutrient uptake and water relations of pepper plants (*Capsicum annuum* L.). Procedia Environmental Sciences. 29, 203-204.
- IPCC., 2014. Working Group III Technical Support Unit. Climate Change 2014: Mitigation of Climate Change. Summary for Policymakers.

- GÖRE AKYÜZ, M., H. Zeinalzadeh-Tabrizi and O. Kurt (2023). "Correlation and sequential path analysis of oil yield and related characteristics in camelina under seasonal variations." *Oilseeds and Fats Crops and Lipids* 30
- Jia, Y., S.-r. Tang, X.-h. Ju, L.-n. Shu, S.-x. Tu, R.-w. Feng and L. Giusti (2011). "Effects of elevated CO<sub>2</sub> levels on root morphological traits and Cd uptakes of two *Lolium* species under Cd stress." *Journal of Zhejiang University Science B* 12: 313-325
- Lamichaney, A., K. Tewari, P. S. Basu, P. K. Katiyar and N. P. Singh (2021). "Effect of elevated carbon-dioxide on plant growth, physiology, yield and seed quality of chickpea (*Cicer arietinum* L.) in Indo-Gangetic plains." *Physiology and Molecular Biology of Plants* 27: 251-263
- Neupane, D., R. H. Lohaus, J. K. Solomon and J C. Cushman (2022). "Realizing the potential of *Camelina sativa* as a bioenergy crop for a changing global climate." *Plants* 11 (6): 772
- Seleiman, M. F., N. Al-Suhaibani, N. Ali, M. Akmal, M. Alotaibi, Y. Refay, T. Dindaroglu, H. H. Abdul-Wajid and M. L. Battaglia (2021). "Drought stress impacts on plants and different approaches to alleviate its adverse effects." *Plants* 10 (2): 259
- Shahzad, M. A., S. U. Jan, F. Afzal, M. Khalid, A. Gul, I. Sharma, A. Sofo and P. Ahmad (2016). "Drought stress and morphophysiological responses in plants." *Water stress and crop plants: A sustainable approach* 2: 452-467

## **The simultaneous effect of reduced irrigation and increased carbon dioxide on the morphological traits of *Camelina sativa* (L.) Crantz.**

Mohsen Zareie<sup>1\*</sup>, Asghar Mosleh Arani<sup>2</sup>, Hamid Azimzadeh<sup>3</sup>, Hassan Etesami<sup>4</sup>, Maryam Mirbagheri<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Ms Student, Environmental Sciences, Faculty of Natural Resources, Yazd University, Yazd, Iran, [Mohsenzareie@stu.yazd.ac.ir](mailto:Mohsenzareie@stu.yazd.ac.ir)

<sup>2,3</sup> Department of Environmental Sciences, Faculty of Natural Resources, Yazd University, Yazd, Iran; [amosleh@yazd.ac.ir](mailto:amosleh@yazd.ac.ir) , [hazimzadeh@yazd.ac.ir](mailto:hazimzadeh@yazd.ac.ir)

<sup>4</sup>Department of Soil Sciences, Faculty of Agricultural Engineering and Technology, University of Tehran, Tehran و [hassanetesami@ut.ac.ir](mailto:hassanetesami@ut.ac.ir)

<sup>5</sup> Department of Biology, Faculty of Science, Yazd University, Yazd, Iran, [m.mirbagheri@yazd.ac.ir](mailto:m.mirbagheri@yazd.ac.ir)

### **Abstract**

In order to evaluate the effect of increasing carbon dioxide on the morphological traits of *Camelina sativa* under water deficit, a factorial experiment was conducted based on a completely randomized design in two levels of carbon dioxide 650 ppm and control and three irrigation levels of 3 days (control), 5 and 7 days. Experiment was performed in a research greenhouse in the Faculty of Natural Resources of Yazd University. The results showed that 5 and 7 days of irrigation caused a significant decrease in all traits, especially the yield of the plant (number of fruits). The increase in carbon dioxide caused a significant increase in the number of leaves in 3-day irrigation and an increase in the yield of *Camelina sativa* in 5-day irrigation. Therefore, it was concluded that the increase of carbon dioxide can have relatively positive effects on increasing the yield of *Camelina sativa* in the conditions of no stress and moderate water deficit (5 days).

**Keywords:** *Camelina sativa*, Carbon dioxide, Climate change, Drought

## بررسی تاثیر عوامل اقلیمی بر عملکرد و اجزا عملکرد گیاه دارویی چای ترش (*Hibiscus sabdariffa* L.)

محسن مهرنیا، یوسف فیلی زاده، امیرمحمد ناجی

گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهد، تهران، ایران

### چکیده

تاثیر عوامل اقلیمی از طریق تغییر در رطوبت خاک، نور، درجه حرارت و اسیدیته خاک بر صفات عملکردی گیاه دارویی چای ترش در آزمایشی به صورت کرت دوبر خرد شده در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با 3 تکرار اجرا گردید. عامل سایه اندازی در دوسطح در کرت های اصلی، آبیاری در کرت های فرعی و اسید هیومیک در کرت های فرعی قرار گرفت. سطح اول، دوم و سوم آبیاری به ترتیب شامل 6، 4 و 2 ساعت در هر مرحله بصورت هفتگی انجام شد. بدین ترتیب کرت های مربوط به سطح اول 528 لیتر، سطح دوم 352 لیتر و سطح سوم 176 لیتر آب در هر مرحله دریافت کردند. به منظور ایجاد تغییر درجه حرارت و میزان نور از دو سطح بدون سایه انداز و سایه انداز استفاده شد. به منظور کاهش اسیدیته خاک از تیمار اسید هیومیک در مقادیر 0، 3، 6 و 12 کیلوگرم در هکتار بر مبنای کاربرد توصیه شده در دو نوبت ابتدای ساقه دهی و ابتدای گل دهی استفاده شد. اعمال سایه زنی منجر به کاهش عملکرد کاسبرگ (56%)، وزن بوته (37%)، قطر ساقه (33%)، طول گل (8%) و وزن بذر (8%) شد، همچنین تنش شدید خشکی باعث کاهش 43 درصد عملکرد کاسبرگ، 52 درصد وزن بوته، 36 درصد قطر ساقه، 9 درصد ارتفاع بوته، 17 درصد طول گل نسبت به شاهد شد. افزایش میزان مصرف اسید هیومیک منجر به افزایش صفات فوق شد، بنابراین بیشترین میانگین عملکرد کاسبرگ (483 گرم)، وزن بوته (212 گرم)، قطر ساقه (220,3 میلی متر)، ارتفاع بوته (143,8 سانتی متر)، طول گل (73,13 میلی متر) و وزن هزار دانه (22/3 گرم) با تیمارهای 12 کیلوگرم در هکتار اسید هیومیک به دست آمد. بطور کلی، درجه حرارت بالاتر و رطوبت کم منجر به افزایش متابولیت ثانویه گردید، اگرچه این عوامل منجر به کاهش عملکرد چای ترش شد. نتایج نشان داد که اسید هیومیک عاملی مهم برای تعدیل اثر منفی تغییرات آب و هوایی انتخاب کرد.

**کلمات کلیدی:** چای ترش، تنش محیطی، سایه اندازی، اسید هیومیک

مقدمه

چای ترش (*Hibiscus sabdariffa* L.) گیاهی است یکساله از خانواده پنیرک، که کاسبرگ قرمز آن در صنایع دارویی از اهمیت بالایی برخوردار است (صنایعی و همکاران، 1399). کاسبرگ های چای ترش دارای اسیدهای آلی اگزالیک، مالتیک، سیتریک و تاتاریک و همچنین ویتامین ث، پروتئین و مواد معدنی و آنتوسیانین می باشد (Izquierdo-Vega et al., 2020). کاسبرگ های چای ترش دارای اسیدهای آلی اگزالیک، مالتیک، سیتریک و تاتاریک و همچنین ویتامین ث، پروتئین و مواد معدنی و آنتوسیانین می باشد (Riaz and Chopra., 2018). خواص درمانی چای ترش به ترکیبات فعال زیستی نظیر اسید فنولیک، فلاونوئیدها، آنتوسیانین ها، اسیدهای آلی و برخی ترکیبات پلی ساکارید نسبت داده شده است (صنایعی و همکاران، 1399). برگ های چای

ترش خاصیت ضد اسکوربیک (کمبود ویتامین C) و مصارف تغذیه ای داشته و در درمان سرماخوردگی، سرفه و در بعضی موارد به عنوان ضمائم روی آبسه استفاده می شود. میوه ها ضد اسکوربیک بوده و گل ها حاوی گوسی پتین، آنتوسیانین، گلیکوساید، هیپسین می باشد. کاسبرگ جوشانده شده در آب نوشیدنی پرخاصیتی برای افراد در خطر حمله قلبی می باشد. اجتناب از تنش های محیطی زنده و غیرزنده برای بهبود رشد و تولید ماده خشک چای ترش از اهمیت بالایی برخوردار است. تنش خشکی عامل مهمی در کاهش عملکرد گیاهان در شرایط آب و هوایی خشک و نیمه خشک ایران است (Chavoushi et al., 2019; Aghdam et al., 2019). آب مهم ترین عامل رشد و توسعه گیاهان است و تنش خشکی با کاهش محتوای نسبی آب برگ و به دنبال آن بسته شدن روزنه ها باعث کاهش فعالیت فتوسنتزی، رشد و عملکرد می شود (Bahador and Tadayan., 2020; Chavoushi et al., 2019). اسید هیومیک با اصلاح فیزیکی و بهبود ساختمان خاک، باعث نفوذ بهتر آب در خاک و در اثر پیوند با مولکول های آب مانع از تبخیر رطوبت (میجانی و همکاران، 1394). همچنین، اسید هیومیک فعالیت آنزیم رابیسکو در چرخه فتوسنتزی کالوین را افزایش داده و بر فعالیت فتوسنتزی گیاه اثر دارد (Jindo et al., 2020). از طرف دیگر، اگرچه نور نقش مهمی در فتوسنتز گیاهان دارد، شدت بالای آن در فصل تابستان باعث ایجاد اختلال در این فرآیندها می گردد. سطوح بالای نور در گونه های مقاوم به خشکی نیز باعث توقف رشد، زردی و قهوه ای شدن برگ و در نهایت ریزش آن ها می شود. گیاهان برای رشد و نمو و عملکرد مناسب به سطوح مختلف نوری (شدت نور) برای تکمیل فرایندهای حیاتی نیاز دارند (جلیلی مرندی، 1389). هدف از این تحقیق مطالعه اثر تغییر در عوامل اقلیمی بر برخی صفات عملکردی گیاه دارویی چای ترش می باشد.

مواد و روش ها

این آزمایش در دو مزرعه شامل زمین های تحقیقاتی گیاهان دارویی دانشگاه شاهد تهران واقع در جنوب استان تهران (51 درجه و 6 دقیقه طول شرقی و 35 درجه و 34 دقیقه عرض شمالی) با ارتفاع 1050 متر از سطح آب های آزاد انجام گرفت. متوسط بارش و درجه حرارت سالانه شهر تهران به ترتیب 245.8 میلی متر و 16 درجه سانتی گراد اندازه گیری گردید. مزرعه تحقیقاتی اداره جهاد کشاورزی شهرستان آبیگ واقع در روستای یعقوب آباد استان قزوین (موقعیت جغرافیایی 35 درجه و 24 دقیقه تا 36 درجه و 48 دقیقه شمالی و طول جغرافیایی 48 درجه و 44 دقیقه تا 50 دقیقه شرقی با ارتفاع از سطح دریا 1008 متر و متوسط بارندگی 239 میلی متر و متوسط درجه حرارت 14/4 درجه سانتی گراد می باشد. به منظور ایجاد تغییر در رطوبت خاک از سه سطح مختلف آبیاری با نوار تیپ (Tape) با فاصله قطره چکان های 30 سانتی متری و خروجی آب 2/2 لیتر بر ساعت استفاده شد. سطح اول، دوم و سوم آبیاری به ترتیب شامل 6، 4 و 2 ساعت در هر مرحله بصورت هفتگی انجام شد. بدین ترتیب کرت های مربوط به سطح اول 528 لیتر، سطح دوم 352 لیتر و سطح سوم 176 لیتر آب در هر مرحله دریافت کردند. به منظور ایجاد تغییر در دما و میزان نور از دو سطح بدون سایه اندازه و سایه اندازه استفاده شد. به منظور کاهش pH خاک از تیمار اسید هیومیک در مقادیر 0، 3، 6 و 12 کیلوگرم در هکتار بر مبنای کاربرد توصیه شده در دو نوبت ابتدایی ساقه دهی و ابتدای گل دهی استفاده شد. آزمایش به صورت کرت دوبرار خرد شده در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با 3 تکرار اجرا می گردد. عامل سایه اندازه در دو سطح در کرت های اصلی، آبیاری در کرت های فرعی و اسید هیومیک در کرت های فرعی قرار گرفت. عامل سایه اندازه در دو سطح بدون سایه اندازه و استفاده از سایه اندازه که تا 50 درصد شدت نور را کاهش می دهد اعمال شد. صفات کمی قابل اندازه گیری در این تحقیق شامل ارتفاع بوته، عملکرد کاسبرگ، شاخص برداشت، عملکرد بیولوژیک و عملکرد دانه بودند. بر همین اساس 3 بوته در یک متر

مربع با حذف اثر حاشیه ای از وسط کرت ها به صورت تصادفی انتخاب شد. اندازه گیری ارتفاع بوته از ناحیه طوقه تا انتهای ترین بخش ساقه بود. عملکرد کاسبرگ های جدا شده و وزن خشک ابتدا در دمای 74 درجه سانتی گراد به مدت 48 ساعت خشک شده و سپس توزین گردید.

#### نتایج و بحث

نتایج نشان داد که عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیکی در تیمار سایه نسبت به شاهد به ترتیب حدود 35 و 34 درصد کاهش یافت. همچنین تنش خشکی در سطوح خفیف و شدید منجر به کاهش عملکرد دانه (44 و 49 درصد) و عملکرد بیولوژیکی (به ترتیب 45 و 48 درصد) شد. در تیمار اسید هیومیک، بیشترین میانگین عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیکی به ترتیب با تیمار 12 کیلوگرم در هکتار هیومیک اسید با مقادیر 1190 و 16817 کیلوگرم در هکتار به دست آمد. اثر متقابل بین تیمارها نشان داد که بیشترین میانگین عملکرد دانه با 1817 کیلوگرم در هکتار و عملکرد بیولوژیکی با 25710 کیلوگرم در هکتار در تیمارهای بدون سایه، بدون تنش و تیمار 12 کیلوگرم در هکتار اسید هیومیک به دست آمد. اعمال سایه زنی منجر به کاهش عملکرد کاسبرگ (56%)، وزن بوته (37%)، قطر ساقه (33%)، طول گل (8%) و وزن بذر (8%) شد اما ارتفاع بوته 8 درصد با تیمار سایه زنی افزایش یافت. تنش شدید خشکی باعث کاهش حدود 43 درصد عملکرد کاسبرگ، 52 درصد وزن بوته، 36 درصد قطر ساقه، 9 درصد ارتفاع بوته، 17 درصد از طول گل نسبت به شاهد شد. اما وزن بذر با اعمال تیمار تنش خشکی شدید حدود 8 درصد افزایش یافت. افزایش میزان مصرف اسید هیومیک منجر به افزایش صفات فوق شد، بنابراین بیشترین میانگین عملکرد کاسبرگ (483)، وزن بوته (212 گرم)، قطر ساقه (220,3 میلی متر)، ارتفاع بوته (143,8 سانتی متر)، طول گل (73,13 میلی متر) و وزن دانه (22/3) با تیمارهای 12 کیلوگرم در هکتار به دست آمد. احمد و همکاران (2011) مشاهده کردند که استفاده از اسید هیومیک بر روی بوته رز باعث افزایش ارتفاع بوته، تعداد شاخه، قطر ساقه، وزن تر و خشک برگ و شاخه، تعداد میوه، وزن تر و خشک کاسبرگ و عملکرد دانه شد. در مطالعه دیگری در روزل، بیشترین عملکرد کاسه گل از تیمار کم آبی با تامین 75 درصد ظرفیت زراعی به دست آمد (Riaz and Chopra., 2018).

جدول 1: مقایسه میانگین عملکرد در پاسخ به تیمارهای آزمایش

Table 1: Mean comparisons for yield in response to studied treatments interaction

سایه اندازی Shading	آبیاری Irrigation	هیومیک اسید Humic acid (kg/ha)	عملکرد دانه Seed Yield	عملکرد	شاخص	عملکرد	ارتفاع بوته Plant Height (cm)
				بیولوژیک Biological Yield	برداشت Harvest Index%	کاسبرگ Sepal Yield	
I1		0	1181cde	17040cd	6.933ab	542cd	138.5ef
		3	1452b	20370b	7.133ab	680.1b	144cd
		6	1774a	24700a	7.22ab	836.5a	143.1d
		12	1817a	25710a	7.083ab	813.7a	144.4cd
کنترل control	I2	0	649.5jkl	9917hij	6.568ab	321.7fg	127.9i
		3	879gh	12320g	7.153ab	460e	134.5fgh
		6	1048ef	14640ef	7.185ab	500de	136.6fg
		12	1203cd	16690cde	7.238ab	578.2c	136.1fg
I3		0	543.9l	8100jk	6.752ab	246.2hi	123.3j
		3	810.5hi	11390ghi	7.133ab	373.8f	130.7hi



		6	984.5fg	13500fg	7.4ab	455.7e	131hi
		12	1170cde	16540cde	7.017ab	536cd	131.1hi
I1		0	795hij	11360ghi	7.017ab	218.3i	147.7bc
		3	1055def	14930def	7.083ab	302.3gh	149.7b
		6	1260c	17350c	7.283ab	349.8fg	156.2a
		12	1438b	20490b	7.067ab	462.5e	157a
	سایه اندازی		0	328.1mn	4927lm	6.735ab	134.4j
Shading I2		3	384.6m	5444lm	7.133ab	84.92j	141.5de
		6	687.1ijkl	9934hij	6.97ab	224.6i	147.5bc
		12	805.5hi	11800gh	6.82ab	257.2hi	149.5b
		0	230.9n	3603m	6.47b	140.8j	133.8gh
I3		3	400.7m	5988kl	6.7ab	146.8j	136.1fg
		6	627kl	9165ij	6.767ab	225.1i	143.1d
		12	711.5ijk	9657hij	7.6a	254.7hi	144.9cd

منابع

صنایعی، س.، برمکی، م.، عبادی خزینه قدیم، ع. و ترابی گیگلو، م. 1399. اثر تنش خشکی و تلقیح قارچ های میکوریزا و باکتری سودوموناس بر برخی ویژگی های مورفو-فیزیولوژیک چای ترش (*Hibiscus sabdariffa* L.). دانش کشاورزی و تولید پایدار (دانش کشاورزی). 30(2): 71-89. جلیلی مرندی، ر. 1389. فیزیولوژی تنش های محیطی و مکانیسم های مقاومت در گیاهان باغی. انتشارات جهاد دانشگاهی، واحد ارومیه. جلد اول، 636 ص.

Aghdam, A.M., Sayfzadeh, S., Rad, A.S., Valadabadi, S.A. and Zakerin, H.R., 2019. The assessment of water stress and delay cropping on quantitative and qualitative traits of rapeseed genotypes. *Industrial Crops and Products*, 131, pp.160-165.

Bahador, M. and Tadayon, M.R., 2020. Investigating of zeolite role in modifying the effect of drought stress in hemp: Antioxidant enzymes and oil content. *Industrial Crops and Products*, 144, p.112042

Chavoushi, M., Najafi, F., Salimi, A. and Angaji, S.A., 2019. Improvement in drought stress tolerance of safflower during vegetative growth by exogenous application of salicylic acid and sodium nitroprusside. *Industrial crops and products*, 134, pp.168-176

Izquierdo-Vega, J.A., Arteaga-Badillo, D.A., Sánchez-Gutiérrez, M., Morales-González, J.A., Vargas-Mendoza, N., Gómez-Aldapa, C.A., Castro-Rosas, J., Delgado-Olivares, L., Madrigal-Bujaidar, E. and Madrigal-Santillán, E., 2020. Organic acids from roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.)—A brief review of its pharmacological effects. *Biomedicines*, 8(5), p.100.

Jindo, K., Canellas, L.P., Albacete, A., Figueiredo dos Santos, L., Frinhani Rocha, R.L., Carvalho Baia, D., Oliveira Aguiar Canellas, N., Goron, T.L. and Olivares, F.L., 2020. Interaction between humic substances and plant hormones for phosphorous acquisition. *Agronomy*, 10(5), p.640.

Riaz, G. and Chopra, R., 2018. A review on phytochemistry and therapeutic uses of *Hibiscus sabdariffa* L. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 102, pp.575-586.

## بررسی تاثیر عوامل اقلیمی و اسیدیته خاک بر خصوصیات فیزیولوژیکی - بیوشیمیایی گیاه دارویی چای ترش (*Hibiscus sabdariffa* L.)

محسن مهرنیا، یوسف فیلی زاده، امیرمحمد ناجی

گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهد، تهران، ایران

### چکیده

تاثیر عوامل اقلیمی از طریق تغییر در رطوبت خاک، نور، درجه حرارت و اسیدیته خاک بر صفات فیزیولوژیکی - بیوشیمیایی گیاه دارویی چای ترش در آزمایشی به صورت کرت دوبر خرد شده در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با 3 تکرار مورد بررسی قرار گرفت. سایه اندازی در دو سطح در کرت اصلی، آبیاری در کرت های فرعی و اسید هیومیک در کرت های فرعی قرار گرفت. سطح اول، دوم و سوم آبیاری به ترتیب شامل 2، 4 و 6 ساعت در هر مرحله بصورت هفتگی انجام شد. کرت های سطوح اول، دوم و سوم به ترتیب 528، 352 و 176 لیتر آب در هر مرحله دریافت کردند. تغییر درجه حرارت و میزان نور از دو سطح بدون سایه انداز و سایه انداز استفاده شد. به منظور کاهش اسیدیته خاک از تیمار اسید هیومیک در مقادیر 0، 3، 6 و 12 کیلوگرم در هکتار بر مبنای کاربرد توصیه شده در دو نوبت ابتدای ساقه دهی و ابتدای گل دهی استفاده شد. نتایج نشان داد که سایه دهی باعث کاهش معنی دار اسانس (18%)، آنتوسیانین (28%)، پروتئین (7%) و میزان روغن (6%) نسبت به تیمار شاهد گردید. سطوح اول و دوم آبیاری منجر به افزایش اسانس (5 و 23 درصد) و آنتوسیانین (55 و 73 درصد) نسبت به شاهد شد، اگرچه این تیمارها به ترتیب کاهش محتوی نسبی آب (9 و 11 درصد) و میزان روغن (4 و 7 درصد) را نسبت به شاهد نشان دادند. نتایج نشان داد که اسید هیومیک در مقادیر 3، 6 و 12 کیلوگرم در هکتار نسبت به شاهد منجر به تولید 5، 5 و 11 درصد اسانس شد. همچنین، بالاترین مقادیر آنتوسیانین (0/28 میلی گرم در گرم وزن تر)، پروتئین (22/94 میلی گرم در گرم وزن تر)، محتوی نسبی آب (85 درصد) و محتوی روغن (17/7 درصد) در تیمار سطح اول آبیاری بدست آمد. نتایج این تحقیق نشان داد که افزایش درجه حرارت و کاهش رطوبت با وجود کاهش عملکرد مورفولوژیکی و بیولوژیکی، باعث افزایش متابولیت های ثانویه چای ترش گردید. از طرف دیگر، اسید هیومیک نقش مهمی در تعدیل اثر منفی تغییرات آب و هوایی ایجاد کرد.

**کلمات کلیدی:** چای ترش، تغییرات اقلیمی، اسید هیومیک، درصد اسانس

### مقدمه

گیاهان دارویی به دلیل فقدان یا پایین بودن عوارض ناشی از مصرف داروهای شیمیایی، دارای اهمیت اقتصادی بالایی بوده که به صورت خام یا فرآوری شده در طب سنتی و علوم پزشکی نوین مورد استفاده قرار می گیرند. استفاده از گیاهان دارویی در کشورهای توسعه یافته و در حال توسعه به دلیل شناخت از عوارض داروهای شیمیایی، ایمنی نسبی و تهیه ارزان در دامنه گسترده ای از فعالیت های زیستی - شیمیایی افزایش یافته است. از طرف دیگر، در حال حاضر حدود 80-70 درصد مواد تشکیل دهنده داروهای شیمیایی را عصاره و ترکیبات طبیعی گیاهی تشکیل می دهند (روشنکار و همکاران، 1397؛ فرجادیان و همکاران، 1388). چای ترش (*Hibiscus sabdariffa* L.) گیاهی است یکساله از خانواده پنیرک، که کاسبرگ قرمز آن در صنایع دارویی از اهمیت بالایی

برخوردار است (صنایعی و همکاران، 1399). کاسبرگ‌های چای ترش دارای اسیدهای آلی اگزالیک، مالتیک، سیتریک و تاناریک و همچنین ویتامین ث، پروتئین و مواد معدنی و آنتوسیانین می‌باشد (Izquierdo-Vega et al., 2020). خواص درمانی چای ترش به ترکیبات فعال زیستی نظیر اسید فنولیک، فلاونوئیدها، آنتوسیانین ها، اسیدهای آلی و برخی ترکیبات پلی ساکارید نسبت داده شده است (Izquierdo-Vega et al., 2020). دو چالش اصلی امنیت غذایی آیندگان افزایش تقاضا غذا بدلیل افزایش ثابت جمعیت و افزایش پیامدهای جوی بدلیل تغییر اقلیم می باشد که بر عملکرد محصولات تاثیر مستقیم دارند. بر همین اساس، تعیین تاثیر عوامل اقلیمی آسیب زا بر فرایندهای تولید محصولات کشاورزی ضروری است. تولید متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی و عملکرد کمی آنها تحت تاثیر عوامل محیطی مختلفی نظیر نور، درجه حرارت و تنش خشکی قرار داشته و در بیشتر موارد حداکثر ماده مؤثره در چنین شرایطی تولید می‌گردد. تغذیه گیاهان دارویی باعث بهبودکمیت وکیفیت مواد مؤثره شده و اسید هیومیک به عنوان کودی آلی، رشد را با تاثیر بر فعالیت های هورمونی و جذب عناصر غذایی بهبود می‌بخشد. به همین دلیل برای حصول عملکردی قابل قبول در تنش‌های مختلف محیطی، استعمال آن مؤثر است. در این پژوهش خصوصیات مورفوفیزیولوژیک چای ترش در برابر تنش خشکی با تغییر در سطوح رژیم‌های مختلف آبیاری و استفاده از اسید هیومیک در دامنه نوری آزاد و سایه مورد بررسی قرار خواهد گرفت (Bernstein et al., 2009). هدف از این مطالعه بررسی تاثیر عوامل اقلیمی و اسیدیته خاک بر صفات فیزیولوژیکی-بیوشیمیایی گیاه دارویی چای ترش بود.

#### مواد و روش‌ها

این آزمایش در دو مزرعه شامل زمین های تحقیقاتی گیاهان دارویی دانشگاه شاهد تهران واقع در جنوب استان تهران (51 درجه و 6 دقیقه طول شرقی و 35 درجه و 34 دقیقه عرض شمالی) با ارتفاع 1050 متر از سطح آب‌های آزاد انجام گرفت. متوسط بارش و درجه حرارت سالانه شهر تهران به ترتیب 245,8 میلی متر و 16 درجه سانتی گراد اندازه گیری گردید. مزرعه تحقیقاتی اداره جهاد کشاورزی شهرستان آبیگ واقع در روستای یعقوب آباد استان قزوین (موقعیت جغرافیایی 35 درجه و 24 دقیقه تا 36 درجه و 48 دقیقه شمالی و طول جغرافیایی 48 درجه و 44 دقیقه تا 50 دقیقه شرقی با ارتفاع از سطح دریا 1008 متر و متوسط بارندگی 239 میلی متر و متوسط درجه حرارت 14/4 درجه سانتی گراد می‌باشد. به منظور ایجاد تغییر در رطوبت خاک از سه سطح مختلف آبیاری با نوار تیپ (Tape) با فاصله قطره چکان های 30 سانتی متری و خروجی آب 2/2 لیتر بر ساعت استفاده شد. سطح اول، دوم و سوم آبیاری به ترتیب شامل 6، 4 و 2 ساعت در هر مرحله بصورت هفتگی انجام شد. بدین ترتیب کرت های مربوط به سطح اول 528 لیتر، سطح دوم 352 لیتر و سطح سوم 176 لیتر آب در هر مرحله دریافت کردند. به منظور ایجاد تغییر در دما و میزان نور از دو سطح بدون سایه اندازه و سایه اندازه استفاده شد. به منظور کاهش pH خاک از تیمار اسید هیومیک در مقادیر 0، 3، 6 و 12 کیلوگرم در هکتاربر مبنای کاربرد توصیه شده در دو نوبت ابتدایی ساقه دهی و ابتدای گل‌دهی استفاده شد. آزمایش به صورت کرت دوبار خرد شده در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با 3 تکرار اجرا می گردد. عامل سایه اندازی در دو سطح در کرت های اصلی، آبیاری در کرت های فرعی و اسیدهیومیک در کرت های فرعی فرعی قرار گرفت. عامل سایه اندازی در دو سطح بدون سایه اندازه و استفاده از سایه اندازی که تا 50 درصد شدت نور را کاهش میدهد اعمال شد. درصد پروتئین گل، درصد اسانس، درصد آنتوسیانین، درصد روغن دانه و درصد رطوبت نسبی برگ مورد اندازه گیری قرار گرفت. اندازه گیری غلظت پروتئین برگ به روش برادفورد انجام گرفت (Bradford, 1976). برای اندازه گیری مقدار آنتوسیانین از روش واگنر (Wagner, 1979) استفاده شد.

## نتایج و بحث

در رابطه با خواص فیزیو شیمیایی، سایه دهی منجر به کاهش معنی دار اسانس (18%)، آنتوسیانین (28%)، پروتئین (7%) و میزان روغن (6%) نسبت به شاهد شد. در رابطه با آبیاری نیز مشخص شد که کاربرد 12 و 13 به ترتیب منجر به افزایش اسانس (5 و 23 درصد) و آنتوسیانین (55 و 73 درصد) نسبت به شاهد شد. اما این تیمارها به ترتیب کاهش محتوی نسبی آب (9 و 11 درصد) و میزان روغن (4 و 7 درصد) را نسبت به شاهد نشان دادند. استفاده از اسید هیومیک می تواند در افزایش صفات فوق موثر باشد، بنابراین کاربرد 3، 6 و 12 کیلوگرم در هکتار نسبت به شاهد منجر به تولید 5، 5 و 11 درصد اسانس شد. همچنین تیمار 12 کیلوگرم در هکتار بالاترین مقادیر آنتوسیانین (0/28 میلی گرم در گرم وزن تر)، پروتئین (22/94 میلی گرم در گرم وزن تر)، محتوی نسبی آب (85 درصد) و محتوی روغن (17/7 درصد) را نشان داد. مقایسه میانگین های اثر متقابل تیمارها نشان داد که اسید هیومیک 12 کیلوگرم در هکتار تحت تنش شدید و تیمار بدون سایه بیشترین میانگین اسانس، آنتوسیانین و پروتئین را به ترتیب با 12/98 درصد، 0/428 میلی گرم در گرم وزن تر و 23/9728 میلی گرم در گرم وزن تر نشان داد. بیشترین میانگین RWC با تیمارهای بدون سایه، بدون تنش و برهمکنش اسید هیومیک 6 کیلوگرم در هکتار با مقادیر 90، 15 درصد به دست آمد (جدول 1). در رابطه با محتوی روغن، کاربرد تیمارهای بدون سایه، تنش خفیف و برهمکنش اسید هیومیک 6 کیلوگرم در هکتار با 18/99 درصد بالاترین میانگین را نشان داد. سنجرى و همکاران (2015) ذکر کردند که تنش خشکی منجر به افزایش متابولیت ثانویه گل سرخ شده اما باعث کاهش رنگدانه های فتوسنتز می شود. فلاحی و همکاران (1396) گزارش کردند که آنتوسیانین های قرمز موجود در کاسبرگ گل سرخ رنگ قرمز درخشان آن است و تجزیه و تحلیل کیفی آنها نشان داد که میزان آنتوسیانین در شرایط تنش خشکی 12 درصد کمتر از تیمار بدون تنش است. بطور کلی مشخص شد که تغییرات آب و هوایی می تواند بر پارامترهای چای ترش موثر باشد، نتایج ما نشان می دهد که دمای بالاتر و رطوبت کم منجر به افزایش متابولیت ثانویه شده است، اما این عوامل منجر به کاهش عملکرد مورفولوژیکی و بیولوژیکی چای ترش شده است، و همچنین مشخص شد که اسید هیومیک را می توان به عنوان عامل مهم برای تعدیل اثر منفی تغییرات آب و هوایی انتخاب کرد.

جدول 1: مقایسه میانگین صفات فیزیولوژی و بیوشیمیایی در پاسخ به تیمارهای آزمایش

Table 1: Mean comparisons for physio-chemical traits in response to studied treatments interaction

سایه اندازی	آبیاری	هیومیک	اسانس	پروتئین	رطوبت نسبی	درصد اسانس	
		اسید	Essential	Anthocyanin			Protein
Shading	Irrigation	Humic acid (kg/ha)	Oil (mg/gr fresh weight)	Anthocyanin (mg/gr fresh weight)	RWC%	Oil content%	
		0	2.503cde	0.1617lm	20.73bcd	86.76abc	17.9abcd
	I1	3	2.413def	0.205ijk	22.32ab	89.4ab	18.39abcd
		6	2.497cde	0.215hij	23.15ab	90.15a	17.51abcd
		12	2.522cde	0.2467fgh	22.95ab	89.11ab	18.84ab
کنترل		0	2.385def	0.2667efg	20.73bcd	76.32fg	14.97fg
control	I2	3	2.42def	0.3017cde	23.09ab	81.07def	16.91bcde
		6	2.557bcde	0.3333bc	23.05ab	78.98efg	18.99a

		12	2.663bcd	0.3583b	22.53ab	84.29bcd	18.54abc
		0	2.76abc	0.2817def	24.18a	76.92efg	14.54g
	I3	3	3.023a	0.3167cd	21.88abc	77.07efg	17.13abcde
		6	2.82ab	0.355b	23.25ab	81.93cde	17.4abcde
		12	2.982a	0.4a	23.97a	84.18bcd	17.63abcd
		0	1.93gh	0.1233n	16.8e	87.49ab	16.49def
	I1	3	1.687h	0.1167n	21.49abc	87.07abc	16.98bcde
		6	1.803h	0.1433mn	21.5abc	87.21ab	17.51abcd
		12	2.178fg	0.1733klm	22.51ab	88.58ab	16.94bcde
سایه اندازی		0	1.787h	0.1867jkl	19.38cd	77.67efg	14.33g
Shading	I2	3	1.97gh	0.2133hij	21.47abc	78.06efg	16.77cdef
		6	2.257ef	0.2333ghi	22.54ab	79.31defg	16.84bcdef
		12	2.4def	0.2583fg	23.07ab	84.5bcd	17.41abcde
		0	2.34ef	0.2167hij	18.15de	74.6g	14.6g
	I3	3	2.833ab	0.2583fg	20.55bcd	75.5g	15.47efg
		6	2.35def	0.2817def	21.88abc	78.96efg	16.45def
		12	2.422def	0.2833def	22.63ab	81.36def	16.83bcdef

The means with common alphabet at each column show no significant differences

#### منابع

- روشنگار، ط، پیدایی، ف. و رشنو، الف. 1397. بررسی تأثیر کودهای بیولوژیک بر برخی پارمتر های مورفولوژیک گیاه دارویی سرخارگل در مزرعه (*Echinacea purpurea* L.). چهارمین کنفرانس بین المللی یافته های نوین در علوم کشاورزی، منابع طبیعی و محیط زیست.
- صنایعی، س، برمکی، م، عبادی خزینه قدیم، ع. و ترابی گینگلو، م. 1399. اثر تنش خشکی و تلقیح قارچ های میکوریزا و باکتری سودوموناس بر برخی ویژگی های مورفو-فیزیولوژیک چای ترش (*Hibiscus sabdariffa* L.). دانش کشاورزی و تولید پایدار (دانش کشاورزی). 30(2): 71-89.
- فرجادیان، ع، دهقان، ف، جاهدپور، س. و یوسفی، م. 1388. لیست 504 قلم محصولات غیر چوبی جنگلها و مراتع (همراه با نام علمی، بخش مورد مصرف و کاربرد). اداره کل منابع طبیعی و آبخیزداری استان خراسان رضوی، 82 ص.
- Boraie, F.O.M., A.M. Gaber., AbdelRahman, G., 2009. Optimizing irrigation schedule to maximize water use efficiency of *Hibiscus sabdariffa* under Shalati conditions. Word Journal of Agricultural science. 4, 505- 514.
- Fallahi HR, Ghorbani M, Aghhavan-Shajari M, Samadzadeh A, Khayyat M, Maraki Z, Asadian AH: Effects of irrigation management, mycorrhizal inoculation and humic acid application on color characteristics of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) dried sepals. Environmental Stresses in Crop Sciences 2017, 10(4):571-582.
- Izquierdo-Vega, J.A., Arteaga-Badillo, D.A., Sánchez-Gutiérrez, M., Morales-González, J.A., Vargas-Mendoza, N., Gómez-Aldapa, C.A., Castro-Rosas, J., Delgado-Olivares, L., Madrigal-Bujaidar, E. and Madrigal-Santillán, E., 2020. Organic acids from roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.)—A brief review of its pharmacological effects. Biomedicines, 8(5), p.100.
- Sanjari M, Siroosmehr A, Fakheri B: The effects of drought stress and humic acid on some physiological characteristics of roselle (*Hibiscus sabdariffa*). Journal of Crops Improvement 2015, 17(2).

## بررسی تاثیر باکتری محرک رشد گیاه *Bacillus halotolerans* بر روی خصوصیات رویشی

### گیاه ذرت تحت تنش خشکی

نعمت صمیمی<sup>1\*</sup>، اصغر مصلح آرانی<sup>2</sup>، حسن اعتصامی<sup>3</sup>، مریم السادات میرباقری فیروزآباد<sup>4</sup>، محسن صادقیان<sup>5</sup>

<sup>1\*</sup> دانشجوی کارشناسی ارشد آلودگی محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی و کویرشناسی، دانشگاه یزد samimi.nimat@gmail.com

<sup>2</sup> استاد دانشکده منابع طبیعی و کویرشناسی - گروه محیط زیست، دانشگاه یزد amosleh@yazd.ac.ir

<sup>3</sup> دانشیار دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی - گروه علوم و مهندسی خاک، دانشگاه تهران hassanetesami@ut.ac.ir

<sup>4</sup> استادیار گروه زیست‌شناسی - دانشکده علوم، دانشگاه یزد m.mirbagheri@yazd.ac.ir

<sup>5</sup> کارشناس ارشد مدیریت بیابان، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه یزد m.sadeghian@staff.yazd.ac.ir

#### چکیده

تنش خشکی یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده تولید محصولات زراعی در سراسر جهان است. گیاهان برای مقابله با تنش خشکی، سازوکارهای فیزیولوژیکی مختلفی را به کار می‌گیرند. باکتری‌های محرک رشد گیاه با تولید ترکیبات مختلف، می‌توانند به گیاهان در مقابله با تنش‌های محیطی کمک کنند. در این پژوهش، تاثیر باکتری محرک رشد بر خصوصیات رویشی گیاه ذرت تحت تنش کم‌آبیاری بررسی شد. تیمارها شامل باکتری در دو سطح شاهد و تلقیح با باکتری محرک رشد *Bacillus halotolerans* و سه سطح دوره آبیاری 3، 6 و 9 روزه بود. نتایج نشان داد که دوره آبیاری طولانی‌تر باعث کاهش معنی‌دار خصوصیات رویشی گیاه ذرت شد. این کاهش در ارتفاع گیاه 29 درصد و در تعداد برگ در گیاه ذرت 37 درصد بود. تنش کم‌آبیاری همچنین باعث کاهش 80 و 81 درصدی وزن تر و وزن خشک اندام هوایی و کاهش 88 و 85 درصدی وزن تر و خشک ریشه شد. تلقیح با باکتری *Bacillus halotolerans* باعث افزایش وزن خشک ریشه و وزن تر اندام هوایی در هر دو دوره آبیاری 6 و 9 روز شد. این باکتری همچنین وزن خشک اندام هوایی را در دوره آبیاری 6 روزه افزایش معنی‌دار داد. بنابراین نتیجه‌گیری شد که باکتری محرک رشد گیاه *Bacillus halotolerans* می‌تواند به عنوان یک ابزار موثر برای بهبود تحمل گیاه ذرت به تنش خشکی مورد استفاده قرار گیرد.

واژگان کلیدی: تنش خشکی، *Bacillus halotolerans*، ذرت

#### مقدمه

تنش خشکی بر روابط آبی گیاه در سطح سلولی و گل گیاه تأثیر می‌گذارد و باعث زیان اقتصادی در کشاورزی می‌شود. تلقیح گیاهان با میکروارگانیسم‌های مفید باعث رشد گیاه و افزایش تحمل به خشکی در مناطق خشک یا نیمه‌خشک می‌شود. از آنجایی که جمعیت جهان به‌طور مداوم در حال افزایش است، چشم‌انداز گرمایش جهانی به دلیل تغییرات آب و هوایی وجود دارد (Borjas et al., 2020). علاوه بر این، انتظار می‌رود فعالیت‌های کشاورزی فعلی مانند استفاده بیش‌ازحد از کودهای فسفاته حاوی فلزات سنگین، آفت‌کش‌ها، علف‌کش‌ها، لجن فاضلاب تصفیه نشده، پساب‌های صنعتی و غیره باعث آلودگی و تخریب خاک شود (Barrow, 2012). بنابراین، تولید مواد غذایی باید مبتنی بر پایداری محیطی باشد و درعین حال منابع زیست‌محیطی را به‌گونه‌ای مدیریت می‌کند که از تخریب بیشتر آن‌ها جلوگیری کند (Godfray et al., 2010).

ریزوباکتری‌ها در ریزوسفر گیاهان یافت می‌شوند و آن‌هایی که به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم بر رشد و بهره‌وری گیاه از طریق مکانیسم‌های مختلف اثرات مفیدی دارند، به‌عنوان ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه (*PGPR*) نامیده می‌شوند (Danish et al., 2020). استفاده از *PGPR* یک استراتژی جذاب و پایدار برای افزایش تولید محصول تحت تنش خشکی با جایگزینی کودهای شیمیایی و آفت‌کش‌ها بوده است (Kaushal & Wani, 2016). تحت تنش‌های غیر زیستی مانند خشکی، تولید اتیلن افزایش می‌یابد که تأثیر مخربی بر رشد ریشه گیاهان دارد (Arshad & Frankenberger, 2002). اتیلن در غلظت کم (>25 میکروگرم در لیتر) اثر محرکی بر رشد محصول دارد درحالی‌که غلظت بالاتر آن از جوانه‌زنی بذر و رشد ریشه جلوگیری می‌کند (Abeles & Saltveit Jr, 2012). تلقیح گونه‌های باسیلوس در سورگوم (*Sorghum bicolor*) تحت تنش خشکی منجر به رطوبت بهتر خاک، افزایش طول ساقه و بیوماس خشک ریشه شد و در نتیجه رشد نهال سورگوم را بهبود بخشید (Grover et al., 2014).

قاسم و همکاران (2013) سویه‌های *Bacillus* و *Azospirillum* را بر روی گندم (*Triticum aestivum*) تحت شرایط خشک‌سالی پیش‌رونده (با توقف آب به مدت 4، 5 یا 7 روز) تلقیح کردند و دریافتند که *PGPR* بقای گیاهچه را افزایش می‌دهد، وزن زیست‌توده تازه و خشک و آب بافت گیاه را بهبود می‌بخشد. نتایج مشابهی نیز در نهال‌های ذرت با سویه‌های مختلف *PGPR* مشاهده شد (Naseem & Bano, 2014; Reddy & Bandi, 2011). در مجموع این مطالعات نشان داد که *PGPR* می‌تواند پارامترهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی نهال ذرت مانند محتوای نسبی آب، افزایش سطح پرولین، قندها و اسیدهای آمینه آزاد و کاهش نشت الکترولیت و فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی را بهبود بخشد و در نتیجه رشد گیاه را بهبود بخشد و خشک‌سالی را کاهش دهد. در این تحقیق تأثیر باکتری محرک رشد گیاه بر روی خصوصیات رویشی گیاه ذرت تحت تنش کم‌آبیاری بررسی شد.

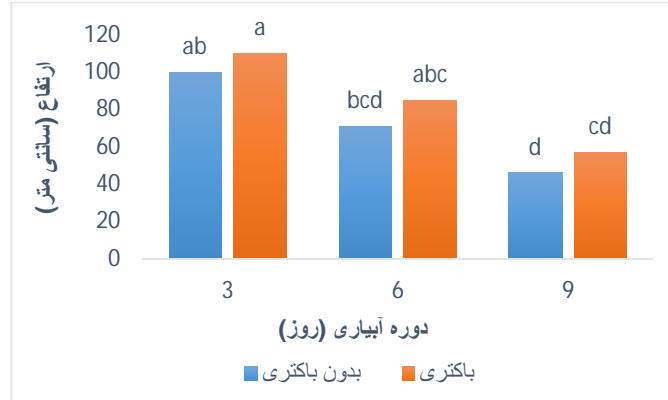
## مواد و روش‌ها

این پژوهش در بهار 1402 در گلخانه تحقیقاتی دانشکده منابع طبیعی دانشگاه یزد با کشت بذور ذرت آغاز شد. آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب یک طرح کامل تصادفی انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل باکتری *Bacillus halotolerans* و شاهد و سه سطح آبیاری شامل آبیاری 3 روزه (شاهد)، 6 روزه (متوسط) و 9 روزه (شدید) در 3 تکرار بود. برای کشت ذرت، خاکی با نسبت 1:1:2 به ترتیب با ماسه بادی، خاک زراعی و کود گاوی برای هر گلدان آماده شد. بذور ذرت با باکتری محرک رشد گیاه *Bacillus halotolerans* تلقیح و کشت شد. سه هفته پس از رشد نهال‌ها تحت تیمار خشکی قرار گرفتند. تیمارهای خشکی تا دو ماه پس از رشد ذرت ادامه یافت. سپس خصوصیات رویشی گیاه شامل ارتفاع گیاه، تعداد برگ، وزن تر و خشک اندام هوایی و وزن تر و خشک ریشه اندازه‌گیری شد. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه 27 انجام شد و رسم نمودارها در نرم‌افزار Excel صورت گرفت.

## نتایج و بحث

ارتفاع گیاه

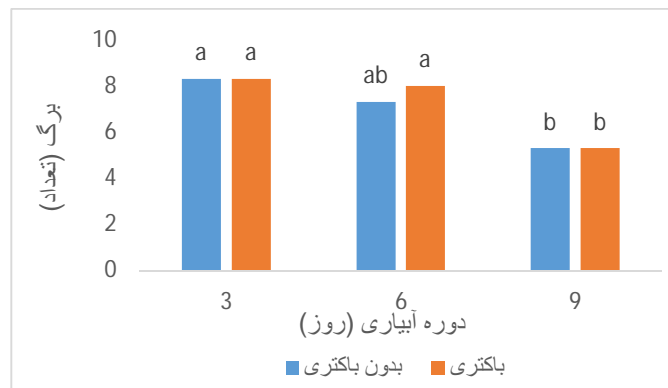
نتایج نشان داد که کم آبیاری باعث کاهش ارتفاع در گیاه ذرت شد. به طوریکه در کم آبیاری 9 روزه نسبت به شاهد کاهش 29 داشت. تلقیح گیاهان با باکتری *Bacillus halotolerans* تاثیر معنی داری نسبت به شاهد برافزایش ارتفاع نداشت (شکل 1).



شکل 16: اثر متقابل دوره آبیاری و باکتری محرک رشد *B. halotolerans* بر ارتفاع گیاه ذرت. میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال 5 درصد معنی دار نیستند.

#### تعداد برگ

نتایج نشان داد که کم آبیاری باعث کاهش تعداد برگ در گیاه ذرت شد به طوریکه در کم آبیاری 9 روزه تعداد برگ 37 درصد کاهش یافت. تلقیح گیاهان با باکتری تاثیر معنی داری نسبت به شاهد برافزایش تعداد برگ نداشت (شکل 2).

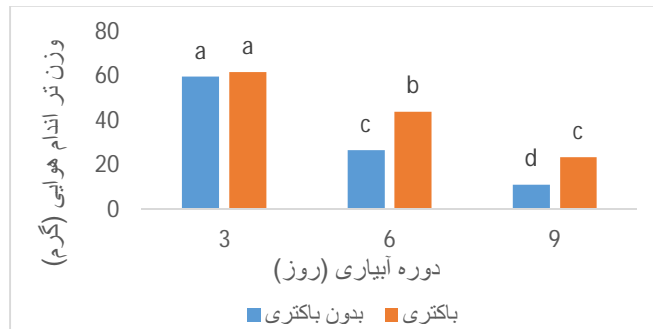


شکل 17: اثر متقابل دوره آبیاری و باکتری محرک رشد *B. halotolerans* بر تعداد برگ گیاه ذرت. میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال 5 درصد معنی دار نیستند.

#### وزن تر اندام هوایی گیاه ذرت



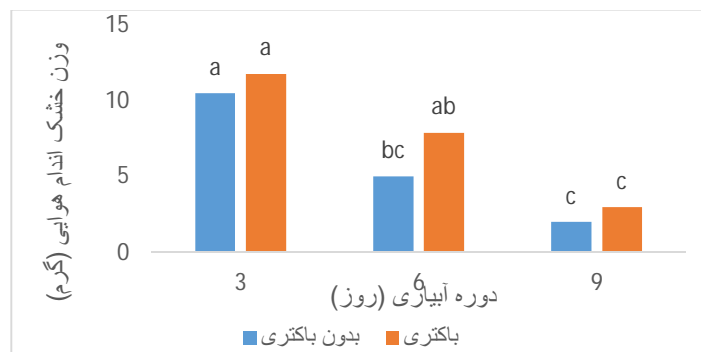
نتایج نشان داد که با افزایش دوره آبیاری به 6 و 9 روز وزن تر اندام هوایی کاهش معنی‌دار یافت. به طوریکه این کاهش در دوره آبیاری 9 روزه 80 درصد بود. تلقیح با باکتری محرک رشد باعث افزایش وزن تر اندام هوایی در دو تیمار آبیاری 6 و 9 روزه شد (شکل 3).



شکل 18: اثر متقابل دوره آبیاری و باکتری محرک رشد *B. halotolerans* بر وزن تر اندام هوایی گیاه ذرت. میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال 5 درصد معنی‌دار نیستند.

#### وزن خشک اندام هوایی

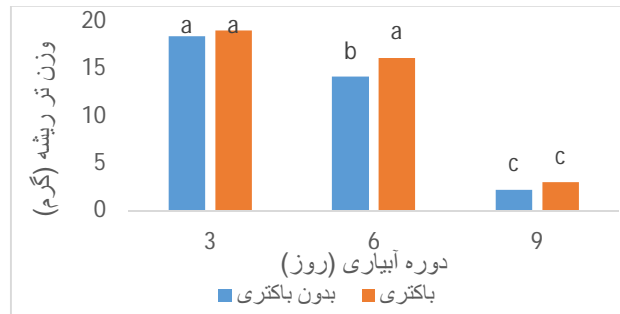
نتایج نشان داد که با افزایش دوره آبیاری به 6 و 9 روزه وزن خشک اندام هوایی کاهش یافته است به طوریکه این کاهش در دوره آبیاری 9 روزه نسبت به شاهد 81 درصد بود. تلقیح با باکتری محرک رشد باعث افزایش معنی‌دار وزن خشک اندام هوایی در تیمارهای آبیاری شد ولی این تفاوت معنی‌دار نبود (شکل 4).



شکل 19: اثر متقابل دوره آبیاری و باکتری محرک رشد *B. halotolerans* بر وزن خشک اندام هوایی گیاه ذرت. میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال 5 درصد معنی‌دار نیستند.

#### وزن تر ریشه

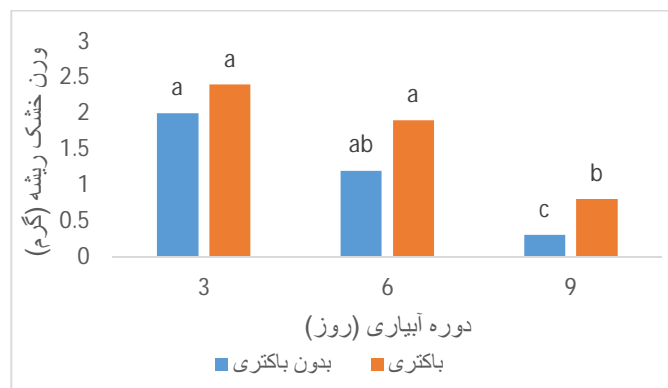
نتایج نشان داد که با افزایش دوره آبیاری به 9 روز وزن تر ریشه گیاه ذرت به طور معنی داری نسبت به شاهد کاهش دارد. به طوریکه این مقدار کاهش 88 درصد بود. تلقیح با باکتری محرک رشد گیاه باعث افزایش معنی دار در وزن تر ریشه گیاه ذرت در دوره آبیاری 6 روزه شد این افزایش 27 درصد اندازه گیری شد (شکل 5).



شکل 20: اثر متقابل دوره آبیاری و باکتری محرک رشد *B. halotolerans* بر وزن تر ریشه گیاه ذرت. میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال 5 درصد معنی دار نیستند.

#### وزن خشک ریشه

نتایج نشان داد که با افزایش دوره آبیاری به 9 روزه وزن تر ریشه گیاه ذرت به طور معنی داری نسبت به شاهد کاهش دارد. به طوریکه مقدار آن 85 درصد کاهش یافت. تلقیح با باکتری محرک رشد گیاه باعث افزایش معنی دار در وزن تر ریشه گیاه ذرت در دوره آبیاری 9 روزه نسبت به شاهد شد و این افزایش 48 درصد اندازه گیری شد (شکل 6).



شکل 21: اثر متقابل دوره آبیاری و باکتری محرک رشد *B. halotolerans* بر وزن خشک ریشه گیاه ذرت. میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال 5 درصد معنی دار نیستند.

در این پژوهش، با اعمال تنش کم آبیاری، مقدار بیومس خشک کل کاهش یافت. خشکی منجر به بسته شدن روزنه برگ‌ها و در نتیجه کاهش هدایت روزنه‌ای آنها می‌شود، کاهش هدایت روزنه‌ای در گیاهان نهایتاً موجب کاهش فتوسنتز و بر تشکیل زیست توده

و عملکرد گیاه اثر منفی می‌گذارد. خشکی با کاهش میزان موجودی آب برگ و کاهش تورژسانس سبب کاهش تقسیم سلولی و کاهش وزن خشک ریشه و اندام هوایی شده و عموماً تولید ماده خشک در کلیه اندام‌های گیاهی را کاهش می‌دهد. در پژوهش حاضر، تلقیح باکتری‌های محرک رشد گیاه در تولید ماده خشک گونه‌ی گیاهی مذکور تاثیر معنی داری داشت. باکتری‌های محرک رشد گیاه علاوه بر تامین فسفر مورد نیاز گیاه، از طریق سازوکارهای دیگری مانند تولید آنزیم ACC - دی‌آمیناز، تولید و افزایش ترکیبات سازگار محلول (اسمولیت) و کمک به تعادل یونی، تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، القاء مقاومت سیستمیک در گیاه، مقاومت گیاهان را در مقابل تنش‌های محیطی افزایش داد (Etesami and Maheshwari, 2018) و در نتیجه رشد و نمو نهال بهبود می‌یابد. بررسی‌های مختلف تأثیر مثبت کاربرد باکتری‌های محرک رشد گیاه بر ساختار ترکیبی شاخص کیفیت نهال گیاهان مختلف را نشان داده‌اند (Najafi Zilaie et al., 2022).

### نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق بیانگر این است که با تنش شدید خشکی تمام صفات مورفولوژیکی گیاه ذرت کاهش یافته است. نتایج همچنین نشان داد که باکتری محرک رشد گیاه، ویژگی‌های رویشی گیاه ذرت را تحت تنش کم‌آبایی نسبت به تیمار شاهد بهبود بخشید. اجرای پژوهش‌های تکمیلی در مزرعه ضروری است تا عملکرد و کارایی این سویه باکتری به‌عنوان زاد مایه کود زیستی مناسب برای مقابله با شرایط تنش خشکی اثبات شود.

### فهرست منابع

- Abeles, F. B., Morgan, P. W., & Saltveit Jr, M. E. (2012). *Ethylene in plant biology*: Academic press.
- Arshad, M., & Frankenberger, W. T. (2002). *Ethylene: agricultural resources and applications*: Springer science & Business media.
- Barrow, C. (2012). Biochar: potential for countering land degradation and for improving agriculture. *Applied Geography*, 34, 21-28.
- Borjas-Ventura, R., Ferraudo, A. S., Martínez, C. A., & Gratao, P. L. (2020). Global warming: Antioxidant responses to deal with drought and elevated temperature in *Stylosanthes capitata*, a forage legume. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 206(1), 13-27.
- Danish, S., Zafar-ul-Hye, M., Mohsin, F., & Hussain, M. (2020). ACC-deaminase producing plant growth promoting rhizobacteria and biochar mitigate adverse effects of drought stress on maize growth. *PloS one*, 15(4), e0230615.
- Etesami, H. and Maheshwari, D. K. (2018) Use of plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) with multiple plant growth promoting traits in stress agriculture: action mechanisms and future prospects. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 156: 225-246.
- Godfray, H. C. J., Beddington, J. R., Crute, I. R., Haddad, L., Lawrence, D., Muir, J. F., . . . Toulmin, C. (2010). Food security: the challenge of feeding 9 billion people. *science*, 327(5967), 812-818.
- Grover, M., Madhubala, R., Ali, S. Z., Yadav, S., & Venkateswarlu, B. (2014). Influence of *Bacillus* spp. strains on seedling growth and physiological parameters of sorghum under moisture stress conditions. *Journal of Basic Microbiology*, 54(9), 951-961.
- Kaushal, M., & Wani, S. P. (2016). Plant-growth-promoting rhizobacteria: drought stress alleviators to ameliorate crop production in drylands. *Annals of Microbiology*, 66, 35-42.
- Naseem, H., & Bano, A. (2014). Role of plant growth-promoting rhizobacteria and their exopolysaccharide in drought tolerance of maize. *Journal of Plant Interactions*, 9(1), 689-701.
- Najafi Zilaie, M., Mosleh Arani, A., Etesami, H., and Dinarvand, M. (2022) Improved salinity and dust stress tolerance in the desert halophyte *Haloxylon aphyllum* by halotolerant plant growth-promoting rhizobacteria. *Frontiers in Plant Science* 13: 948260.

Sandhya, V., Ali, S. Z., Grover, M., Reddy, G., & Venkateswarlu, B. (2010). Effect of plant growth promoting *Pseudomonas* spp. on compatible solutes, antioxidant status and plant growth of maize under drought stress. *Plant growth regulation*, 62, 21-30.

Vardharajula, S., Zulfikar Ali, S., Grover, M., Reddy, G., & Bandi, V. (2011). Drought-tolerant plant growth promoting *Bacillus* spp.: effect on growth, osmolytes, and antioxidant status of maize under drought stress. *Journal of Plant Interactions*, 6(1), 1-14.

## The effect of plant growth promoting rhizobacteria, *Bacillus halotolerans* on the vegetative characteristics of *Zea mays* under drought stress

Nimat Samimi<sup>1\*</sup>, Asghar Mosleh Arani<sup>2</sup>, Hassan Etesami<sup>3</sup>, Maryam Mirbagheri<sup>4</sup>, Mohsen Sadeghian<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Mr. Student, Environmental pollution, Faculty of Natural Resources, Yazd University, Yazd, Iran,

samimi.nimat@gmail.com

<sup>2</sup> Department of Environmental Sciences, Faculty of Natural Resources, Yazd University, Yazd, Iran;

amosleh@yazd.ac.ir

<sup>3</sup>Department of Soil Sciences, Faculty of Agricultural Engineering and Technology, University of Tehran, Tehran ,

hassanetesami@ut.ac.ir

<sup>4</sup>Department of Biology, Faculty of Science, Yazd University, Yazd, Iran, m.mirbagheri@yazd.ac.ir

<sup>5</sup> Department of Desert management, Faculty of Natural Resources, Yazd University, Yazd, Iran,

m.sadeghian@staff.yazd.ac.ir

### Abstract

Drought is one of the most important factors limiting crop production worldwide. Plants use different physiological mechanisms to deal with drought stress. Plant growth promoting rhizobacteria can help plants to deal with environmental stress by producing different compounds. In this research, the effect of plant growth promoting rhizobacteria on the vegetative characteristics of *Zea mays* under water deficit stress was investigated. The treatments included bacteria in two levels of control and inoculation with *Bacillus halotolerans* and three levels of irrigation periods of 3, 6 and 9 days. The results showed that the longer irrigation period caused a significant decrease in the vegetative characteristics of the *Zea mays*. This decrease in the height of the plant was 29% and in the number of leaves was 37%. Low-irrigation also caused a decrease of 80 and 81% in fresh weight and dry weight of shoot and 88 and 85% decrease in fresh and dry weight of roots. Inoculation with *Bacillus halotolerans* increased root dry weight and shoot wet weight in both 6 and 9 days irrigation periods. This bacterium also significantly increased the dry weight of aerial parts during the 6-day irrigation period. Therefore, it was concluded that *Bacillus halotolerans* can be used as an effective tool to improve *Zea mays* tolerance to drought stress.

**Keywords:** drought stress, *Bacillus halotolerans*, *Zea mays*

## تأثیر کود شیمیایی اوره و محلول پاشی عصاره جلبک دریایی بر محتوای رنگیزه های فتوسنتزی و کربوهیدرات های محلول در گیاه یونجه

آزاده نیرومند<sup>1</sup>، سیدمنصور سیدنژاد<sup>2</sup>، عبدالعلی گیلانی<sup>3</sup> مهدی رضوانی مهر<sup>2</sup> و گلپهار کریمی<sup>1</sup>

1- گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران.

2- گروه زیست شناسی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

3- استادیار پژوهش مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خوزستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اهواز، ایران.

### چکیده

جامعه جهانی به منظور کاهش میزان خطرات و آسیب های ناشی از مصرف کودهای شیمیایی و در عین حال حفظ میزان عملکرد محصول، به سمت استفاده از کودها و محرک های زیستی در قالب کشاورزی ارگانیک گام بر می دارد. در این راستا به منظور بررسی تأثیر کود شیمیایی اوره و محلول پاشی عصاره جلبک دریایی *Ulva fasciata Delile* بر فاکتورهای رشدی یونجه (*Medicago sativa L.*)، این پژوهش انجام شد. تیمارهای مورد نظر جهت انجام این آزمایش شامل غلظت های مختلف کود شیمیایی اوره (0، 40، 70 و 100 درصد مقدار متداول مصرف کود شیمیایی اوره) و غلظت های مختلف عصاره جلبکی اولوا (0، 5، 10 و 15 درصد) بود. نتایج حاصله توسط نرم افزار MSTAT-C مورد تجزیه آماری قرار گرفت. مقایسه میانگین ها نیز توسط آزمون چند دامنه ای دانکن انجام شد. بررسی مقایسه میانگین اثر متقابل کود اوره و عصاره جلبکی نشان داد که کاربرد 15 درصد عصاره جلبکی اولوا به همراه 70 درصد مقدار متداول مصرف کود شیمیایی اوره منجر به افزایش فاکتورهای مورد بررسی نسبت به سایر تیمارها می شود.

واژگان کلیدی: کلروفیل، قند محلول، محصولات ارگانیک

### مقدمه

کشاورزی ارگانیک شیوه نوین است که در آن از نهاده های شیمیایی استفاده نمی شود و نتیجه این کار افزایش کیفیت محصولات کشاورزی خواهد بود (کریمی، 1396). در مقایسه با کاربرد کودهای شیمیایی، استفاده طولانی مدت از کودهای آلی در خاک، به بهبود چندین پارامتر خاک مانند: کربن آلی، پایداری کلی و همچنین بهبود عملکرد محصول کمک می کند (Brtnicky et al. 2019). از جمله کودهای با منشا زیستی می توان به عصاره های جلبک دریایی اشاره کرد. کودهای حاصل از جلبک های دریایی برخلاف کود شیمیایی، زیست تخریب پذیر، غیر سمی و غیر آلاینده بوده و برای انسان ها، حیوانات و پرندگان خطرناک نیستند. محلول پاشی عصاره جلبکی روی گیاه باعث افزایش بازده جذب مواد مغذی در گیاه می شود. اثرات مفید استفاده از عصاره جلبک دریایی برای گیاهان نتیجه ی ترکیبی از چندین فاکتور است که به صورت هم افزایی عمل می کنند (Caronge et al. 2020). با توجه به اینکه تأمین غذای جمعیت رو به رشد انسان را بخش کشاورزی عهده دار است، لذا بهبود خصوصیات کمی و کیفی محصولات

کشاورزی امری لازم و حیاتی است که یکی از گام‌های مهم در این زمینه، تولید گیاهان علوفه‌ای است. از جمله مهم‌ترین گیاهان علوفه‌ای که در سرتاسر دنیا کشت آن‌ها بسیار رایج است، گیاهان خانواده‌ی بقولات هستند یونجه و دیگر گیاهان خانواده‌ی بقولات توانایی این را دارند که مقداری از نیتروژن مورد نیاز خود را جهت رشد، از طریق برقراری رابطه همزیستی با باکتری‌های ریزوبیوم تأمین کنند. به علت اهمیت یونجه در تغذیه دام و نقش دام در تغذیه و رژیم غذایی انسان از طریق فرآورده‌های گوشتی و لبنی، لذا کاهش استفاده از کودهای شیمیایی و استفاده از منابع کودهای زیستی می‌تواند علاوه بر کاهش خطرات زیست محیطی، کمیت و کیفیت محصول را ارتقا بخشد و به دنبال آن سلامت و امنیت غذایی انسان‌ها را تأمین کند. نتایج پژوهشی که با هدف تأثیر عصاره جلبک دریایی *Ulva fasciata* بر روی گیاه گندم رقم به‌رنگ تحت تنش فلز سنگین سرب در دانشگاه شهید چمران اهواز انجام شد، نشانگر این بود عصاره جلبکی منجر به افزایش و سرب منجر به کاهش میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی نسبت به شاهد می‌گردد (آزادی، 1397). در مطالعه دیگری، اثر عصاره جلبک *Ulva fasciata* بر روی برخی از پارامترهای فیزیولوژیکی کنگد *Sesamum indicum L.* بررسی شده است. طبق داده‌های به‌دست آمده، پارامترهای بیوشیمیایی از جمله رنگیزه‌های فتوسنتزی، قندهای محلول به‌طور معنی‌داری در تیمارهای مختلف عصاره جلبک در مقایسه با شاهد افزایش یافت. بیشترین میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی و قند محلول در غلظت 20 درصد عصاره‌ی جلبکی حاصل شد. (مرادی و همکاران، 1396). بنابر آنچه که ذکر شد مطالعه حاضر با هدف اثر محلول پاشی جلبک دریایی *Ulva fasciata Delile* و کود اوره بر برخی فاکتورهای رشدی یونجه طراحی و اجرا شد.

#### مواد و روش‌ها

رقم یونجه کشت شده در این پژوهش، رقم اصلاح شده امید بود که این رقم مناسب مناطق گرمسیری می‌باشد. تراکم بوته‌ها در هر متر مربع 15 بوته در نظر گرفته شد. آزمایش با دو نوع تیمار کود شیمیایی اوره و عصاره جلبک دریایی *Ulva fasciata* و هر کدام در 4 غلظت مختلف و به صورت اسپلینت پلات در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی و با 3 تکرار انجام شد.

#### اندازه‌گیری وزن خشک اندام هوایی

برای تعیین وزن خشک اندام هوایی به مدت 48 ساعت در آون با دمای 80 درجه سانتیگراد نگهداری و سپس وزن خشک آن‌ها با ترازوی آزمایشگاهی با دقت  $10^{-3}$  اندازه‌گیری و ثبت گردید و در نهایت بر حسب کیلوگرم بر هکتار محاسبه و گزارش شد.

#### اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی

جهت اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی از جمله کلروفیل a، b و کاروتنوئیدها از روش لیختن تالر استفاده شد

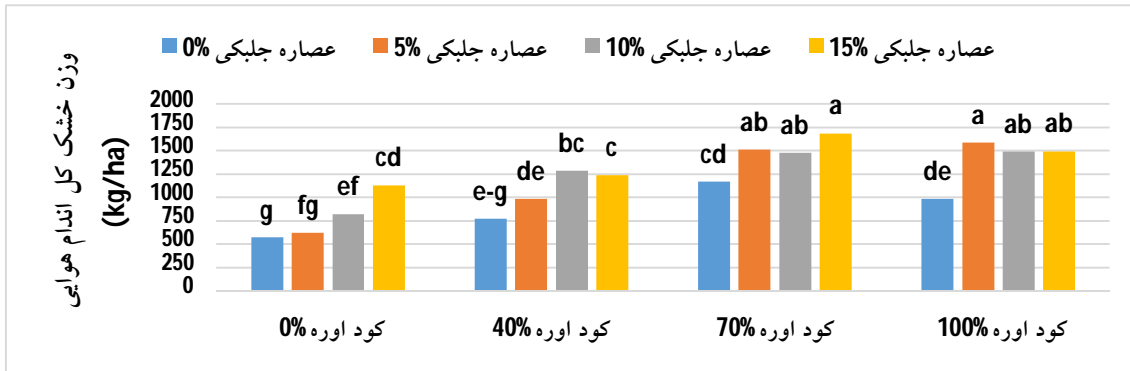
(Lichtenthaler, 1987).

#### اندازه‌گیری کربوهیدرات‌های محلول

جهت اندازه‌گیری کربوهیدرات‌های محلول از روش فنل - اسید سولفوریک استفاده شد. (Dubois et al. 1956)

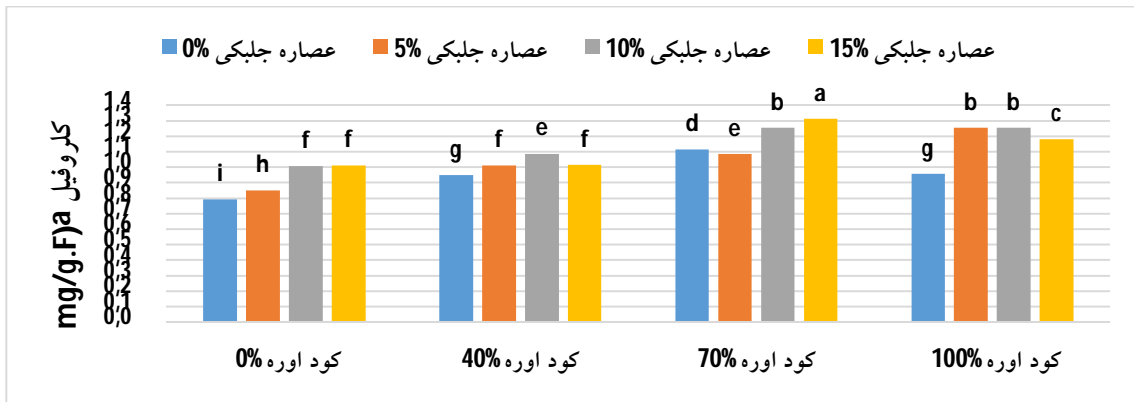
#### نتایج

#### وزن خشک کل اندام هوایی



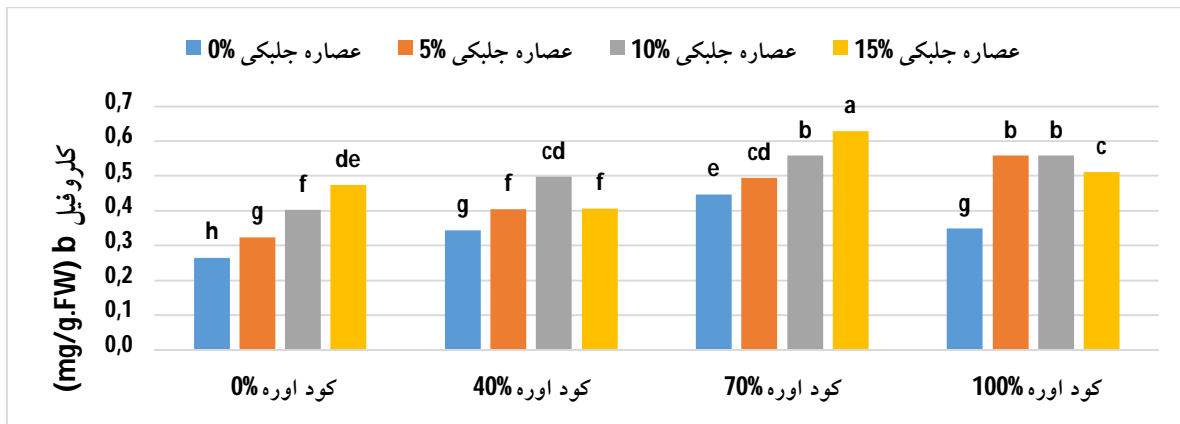
نمودار 10- تغییرات وزن خشک کل اندام هوایی تحت اثر غلظت‌های مختلف کود شیمیایی اوره و عصاره جلبک *Ulva fasciata*. وجود حروف متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال 5% می‌باشد.

### کلروفیل a



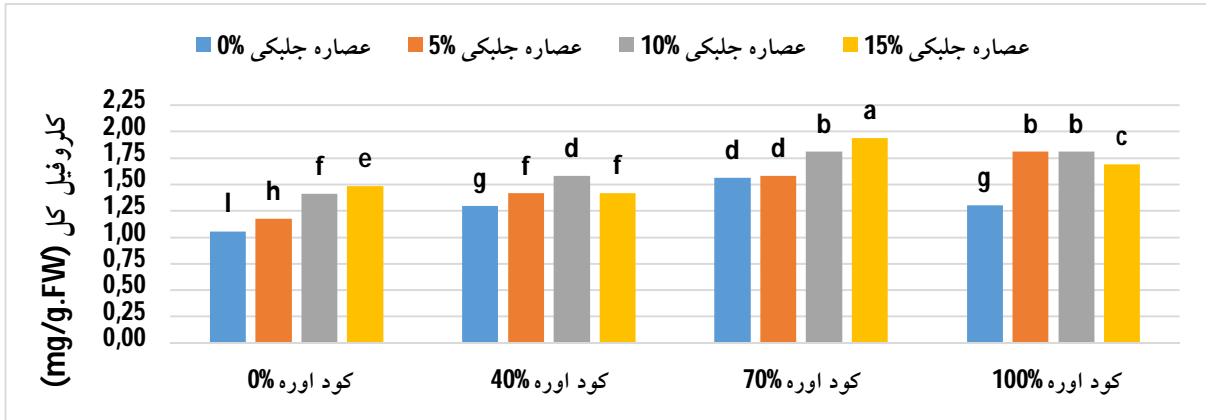
نمودار 2- تغییرات میزان کلروفیل a تحت اثر غلظت‌های مختلف کود شیمیایی اوره و عصاره جلبک *Ulva fasciata*. وجود حروف متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال 5% می‌باشد.

### کلروفیل b



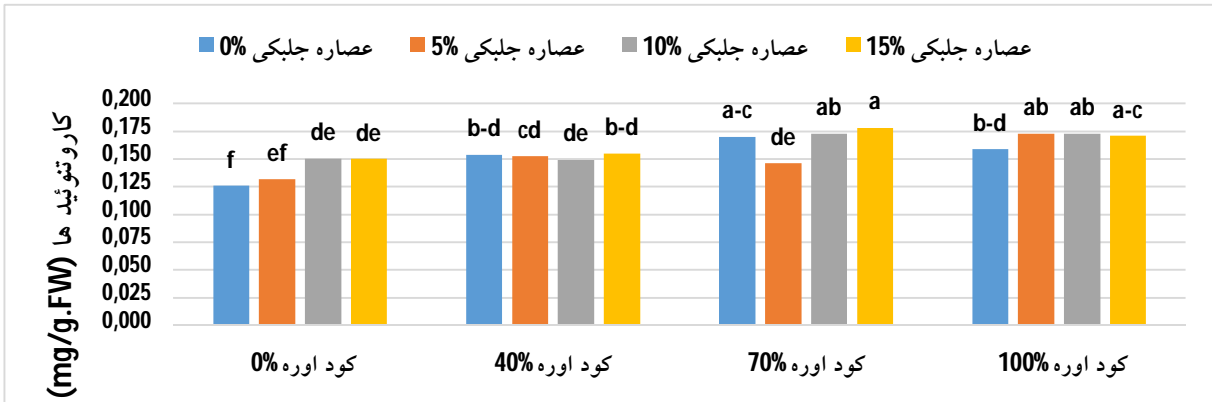
نمودار 3- تغییرات میزان کلروفیل b تحت اثر غلظت‌های مختلف کود شیمیایی اوره و عصاره جلبک *Ulva fasciata*. وجود حروف متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال 5% می‌باشد.

### کلروفیل کل



نمودار 4- تغییرات میزان کلروفیل کل تحت اثر غلظت‌های مختلف کود شیمیایی اوره و عصاره جلبک *Ulva fasciata*. وجود حروف متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال 5% می‌باشد.

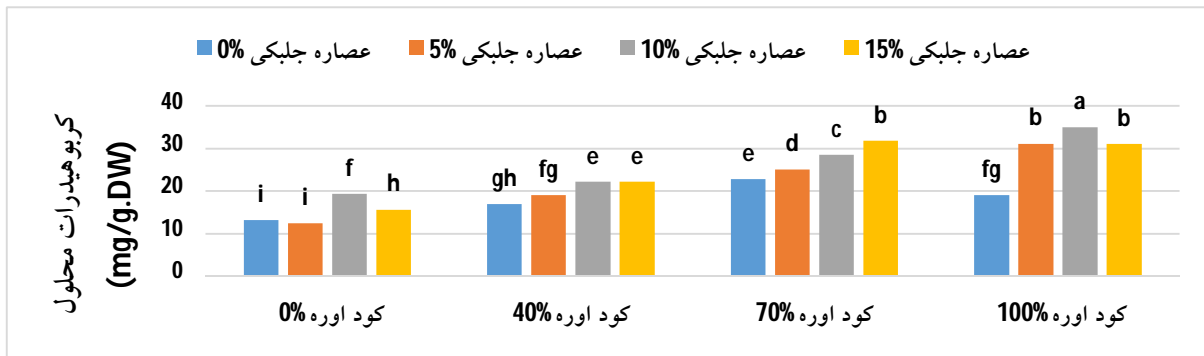
### کاروتنوئیدها



نمودار 5- تغییرات میزان کاروتنوئیدها تحت اثر غلظت‌های مختلف کود شیمیایی اوره و عصاره جلبک *Ulva fasciata*. وجود حروف متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال 5% می‌باشد.

### کربوهیدرات محلول





نمودار 6- تغییرات میزان کربوهیدرات محلول تحت اثر غلظت‌های مختلف کود شیمیایی اوره و عصاره جلبک *Ulva fasciata*. وجود حروف متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال 5% می‌باشد.

### بحث

بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش، فاکتورهای مورد بررسی گیاه یونجه شامل وزن خشک اندام هوایی رنگیزه‌های فتوسنتزی، کربوهیدرات‌ها در اثر کاربرد غلظت‌های مختلف عصاره جلبک دریایی *Ulva fasciata* نسبت به تیمار شاهد از خود افزایش نشان داد و با افزایش غلظت، میزان فاکتورهای مورد نظر روند صعودی به خود گرفت (نمودارهای 1 الی 6). بیشترین میزان فاکتورهای موردنظر مربوط به کاربرد تیمار 15 درصد عصاره جلبکی بود. همچنین کاربرد 15 و 10 درصد عصاره جلبکی به همراه 70 درصد میزان توصیه شده کود اوره سبب افزایش قابل توجه فاکتورهای رشدی مورد نظر گردید که نشانگر تاثیر هم‌افزای عوامل موردنظر است. نتایج حاصل از این پژوهش نشان می‌دهد که محلول پاشی غلظت 15 درصد عصاره جلبکی، اثری تقریباً مشابه با نصف میزان مصرف متداول کود شیمیایی اوره در پی دارد. پس می‌شود بیان کرد که در صورت کاربرد عصاره جلبکی، می‌توان مقدار کود شیمیایی اوره را کاهش داده است. جلبک‌های دریایی از جمله منابع آلی قابل استفاده در زمینه کشاورزی به حساب می‌آیند که فواید بسیاری را به همراه دارند. در روش‌های مدرن، عصاره‌های جلبک‌های دریایی به شیوه‌های مختلف و متنوعی از انواع جلبک‌ها استخراج شده و به صورت محلول پاشی مورد استفاده قرار می‌گیرند. طبق پژوهش‌های انجام شده عصاره‌های جلبکی بسته به نوع جلبک می‌توانند حاوی عناصر پرمصرف و کم‌مصرف، تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی، پلی‌ساکاریدها، لیپیدها، ویتامین‌ها، آنتی‌بیوتیک‌ها و اسیدهای آمینه ضروری باشند (Ghaderiardakani et al. 2019). بنابراین در موارد متعددی سبب افزایش رشد و بهبود خصوصیات کمی و کیفی گیاهان مختلف می‌شوند. به‌علاوه عصاره‌های جلبکی به علت دارا بودن ترکیبات ویژه می‌توانند در افزایش مقاومت گیاهان نسبت به تنش‌های محیطی نیز موثر واقع شوند. جلبک‌های دریایی همچنین می‌توانند سبب بهبود خصوصیات خاک از جمله؛ افزایش محتوای آلی، افزایش تخلخل، افزایش ظرفیت نگهداری آب و افزایش جامعه میکروبی و جانوری خاک گردند (Saffellah et al. 2020). به همین علت استفاده از جلبک‌های دریایی می‌تواند به عنوان جایگزین مناسبی برای کودهای شیمیایی و محرک‌های مصنوعی رشد گیاهی در نظر گرفته شود که علاوه بر بهبود خصوصیات کمی و کیفی محصولات کشاورزی، معایب و مشکلات حاصل از کودهای شیمیایی از جمله آلودگی آب، هوا، خاک، تهدید سلامت انسان را نیز به همراه نخواهد داشت. در مجموع می‌توان گفت که کاربرد عصاره جلبکی احتمالاً به دلیل داشتن عناصر کم مصرف و پرمصرف، پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها، ویتامین‌ها و

هورمون‌های محرک رشد نظیر اکسین و سیتوکینین، سبب افزایش فاکتورهای مورد مطالعه گردید، پس می‌توان بیان کرد که در صورت کاربرد عصاره جلبکی، مصرف مقدار کود شیمیایی اوره کاهش یابد.

#### منابع

- 1) آزادی، س. (1397). بررسی تأثیر عصاره جلبک *Ulva fasciata* بر گیاه گندم رقم بهرنگ تحت تنش فلز سنگین سرب. پایان نامه کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی. دانشگاه شهید چمران. اهواز. ایران.
- 2) کریمی، س. (1396). کشاورزی ارگانیک، فرصتی برای کارآفرینی کشاورزی. کارآفرینی در کشاورزی، 4: 13-23.
- 3) مرادی، ف (1396). تأثیر عصاره جلبک سبز (*Ulva fasciata*) روی شاخص‌های رشد و فیزیولوژیکی گیاه کنجد (*Sesamum indicum* L.) پایان نامه کارشناسی ارشد رشته فیزیولوژی گیاهی. دانشگاه زابل. ایران.
- 4) Brtnicky, M., Dokulilova, T., Holatko, J., Pecina, V., Kintl, A., Latal, O., . . . Datta, R. (2019). Long-term effects of biochar-based organic amendments on soil microbial parameters. *Agronomy*, 9(11), 747.
- 5) Caronge, M., Djawad, Y., Bourgougnon, N., Makkulawu, A., & Jumadi, O. (2020). Effect of application of algae sargassum sp. extract to corn plants (*Zea mays* L.) and microbial response. Paper presented at the IOP Conference Series: Earth and Environmental Science
- 6) Dubois, M. Gilles, A. Hamilton, J.K. Rebers, P.A. and Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical chemistry*, 28(3): 350-356.
- 7) Ghaderiardakani, F., Collas, E., Damiano, D. K., Tagg, K., Graham, N. S., & Coates, J. C. (2019). Effects of green seaweed extract on *Arabidopsis* early development suggest roles for hormone signalling in plant responses to algal fertilisers. *Scientific reports*, 9(1), 1-13
- 8) Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in enzymology*, 148, 350-382 .
- 9) Saffellah, P., Nabi, N., Liaqat, S., Anjum, N. A., Siddiqi, T. O., & Umar, S. (2020). Organic Agriculture: Principles, Current Status, and Significance. In *Microbiota and Biofertilizers* (pp. 17-37). Springer, Cham.

## Effect of urea chemical fertilizer and seaweed extract spraying solution on On the content of photosynthetic pigments and soluble carbohydrates in *Medicago sativa* L.

### Abstract

The international community is moving towards the use of fertilizers and bio-stimulants in the form of organic agriculture in order to reduce the risks and harms caused by the consumption of chemical fertilizers while maintaining the yield of the crop. In this regard, in order to investigate the effect of urea chemical fertilizer and spraying solution of seaweed extract *ulva fasciata* Delile on the growth factors of alfalfa (*Medicago sativa* L). The studies were conducted to include different concentrations of urea chemical fertilizer (0, 40, 70 and 100 percent of the usual amount of urea chemical fertilizer consumption) and different concentrations of *Ulva* algal extract (0, 5, 10 and 15 percent). The results were statistically analyzed by MSTAT-C software. The comparison of averages was also done by the Duncan multidomain test. Comparative study of the average interaction effect of urea fertilizer and algal extract showed that the application of 15% of *Ulva* algal extract along with 70% of the common amount of urea chemical fertilizer consumption leads to an increase in the factors studied compared to other treatments.

**Key words:** Chlorophyll, soluble sugar, organic products

## ارزیابی برخی شاخص‌های مورفولوژیک و فیتوشیمیایی میکروگرین‌های شنبلیله تحت اثر

### سالیسیلیک اسید

مهدی صمدی پور<sup>1</sup>، آیت اله رضایی<sup>2\*</sup>

فارغ التحصیل کارشناسی ارشد، گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

<sup>2\*</sup> دکتری فیزیولوژی گیاهی، گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

arezaei@shahed.ac.ir

### چکیده

با روش‌های مختلف از جمله اعمال الیستور در گیاهان، امکان القای پاسخ‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک و در نهایت تجمع فیتوالکسین‌ها و متابولیت‌های ثانویه وجود دارد. در این تحقیق برخی خصوصیات مورفولوژیک و فیتوشیمیایی در میکروگرین‌های گیاه دارویی شنبلیله تحت اثر غلظت‌های مختلف سالیسیلیک اسید (0، 50، 100، 150 و 200 میلی‌گرم در لیتر) در دو زمان متفاوت (6 و 12 ساعت) مد نظر قرار گرفت. نتایج نشان داد که تیمار سالیسیلیک اسید توانست در طی زمان 12 ساعت روی وزن خشک میکروگرینها اثر معنی‌داری ایجاد کند. تیمار 100 mg/L طی 12 ساعت توانست اثرات معنی‌داری روی میزان کلروفیل a و کلروفیل b به ترتیب با حدود 43/0 و 0/76 mg/g وزن خشک ایجاد نماید. بهترین تیمار در طی پرایمینگ 6 ساعته بذر در خصوص خاصیت آنتی‌اکسیدانی: 50 mg/L به میزان حدود 279 میکرومول آهن دو ظرفیتی بر گرم وزن خشک و در نهایت تریگونلین در 100 mg/L به میزان 28 mg/g وزن خشک بود. در مجموع اثر زمان و سالیسیلیک اسید توانست بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی، فیتوشیمیایی میکروگرینهای شنبلیله اثر معنی‌داری و فزاینده ایجاد کند.

**واژگان کلیدی:** میکروگرین، الیستور، شنبلیله، متابولیت ثانویه، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی.

### مقدمه

گیاه شنبلیله با نام علمی *Trigonella foenum graecum* خواص دارویی از جمله آنتی‌اکسیدانی، باکتریایی، ضد سرطانی، ضد تب، درمان ناباروری و موارد دیگر دارد. از متابولیت‌های ثانویه شنبلیله با هدف تولید داروهای هورمونی جنسی، ویتامین D و استروئیدها استفاده می‌شود. گیاه شنبلیله واجد دو ترکیب شیمیایی مهم دیوسجنین و تریگونلین میباشد که تریگونلین دارای اثرات درمانی بویژه در خصوص دیابت است (Yadav and Baquer, 2014).

میکروگرین مرحله ای از رشد گیاه است که قسمت‌های مورد استفاده آن شامل ساقه، لپه‌ها، دو برگ حقیقی می‌باشد. میکروگرین‌ها اشکال کوچکی از انواع گیاهان خوراکی میباشد که می‌توانند در تقویت طعم غذا، تامین برخی از مواد معدنی، ویتامین‌ها و یا برخی از مواد دارویی مورد استفاده قرار گیرند (Mir et al., 2017). اسید سالیسیلیک یک ترکیب فنلی محصول متابولیسم ثانویه در بافت‌های گیاهی است. این ترکیب رشد گیاه را تنظیم کرده و عملکرد محصول را زمانی که در غلظت‌های پایین به صورت برون‌زا تامین شود افزایش میدهد. طول، وزن و مساحت ریشه را افزایش داده و مورفولوژی آن را تغییر میدهد. همچنین زیست توده تر و خشک ساقه را افزایش داده، ضمن اینکه وضعیت مواد مغذی گیاه را بهبود می‌بخشد (Khan et al., 2010). علاوه بر این، تولید متابولیت‌های ثانویه را تحریک می‌کند (Sandoval-Rangel et al., 2011).

در این تحقیق برخی خصوصیات مورفولوژیک، فیزیولوژیک و فیتوشیمیایی در میکروگرین‌های گیاه دارویی شنبلیله تحت اثر غلظت‌های مختلف سالیسیلیک اسید مورد بررسی قرار می‌گیرد.

### مواد و روشها

#### اعمال تیمار و ارزیابی صفات

بذرهای شنبلیله توسط اسید سالیسیلیک با غلظت‌های 0، 50، 100، 150 و 200 میلی‌گرم در لیتر و دو زمان 6 و 12 ساعت تیمار گردیدند. بعد از گذشت زمان اعمال تیمارها، بذور تیمار شده در سینی کشت که قبلاً با استفاده از ترکیب پیت ماس و پرلیت پر شده بودند کشت شده و به اتاقک رشد منتقل شدند. آبیاری بذور کشت شده به صورت هر دو روز یکبار با آب مقطر تا رسیدن میکروگرین‌ها به مرحله مرحله رشد مورد نظر ادامه پیدا کرد. بعد از گذشت یک ماه و نیم از کشت بذور، میکروگرین‌های سبز شده به مرحله چهار برگی (دو برگ لپه ای و دو برگ حقیقی) رسیدند که در این مرحله نسبت به برداشت آنها اقدام گردید.

پس از برداشت میکروگرینها طول ریشه، طول ساقه، طول و عرض برگ لپه ای اندازه گیری شد، سپس ریشه‌ها جدا شده و وزن اندام هوایی یک به یک نمونه‌ها به وسیله ترازو اندازه گیری و ثبت گردید. برای تعیین مقدار رنگیزه های فتوسنتزی برگ گیاه شنبلیله از روش (Lichtenthaler and Buschmann, 2001) استفاده گردید. توان آنتی اکسیدانی احیا آهن طبق روش (Benzie and Strain, 1996) تعیین شد. استخراج و اندازه گیری مقدار تریگونلین توسط HPLC و به روش (Caprioli et al., 2014) انجام شد. آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام و با سه تکرار انجام شد. داده‌ها توسط آنالیز واریانس و میانگینها با استفاده از روش دانکن مورد بررسی و مقایسه قرار گرفتند.

#### نتایج و بحث

جدول 1 مقایسه میانگین وزن تر و وزن خشک میکروگرینهای شنبلیله تحت اثر متقابل اسید سالیسیلیک و زمان مقادیر نشان می‌دهد. وزن تر در غلظت 100 میلی‌گرم در لیتر در زمان 6 ساعت،  $0/16 \pm 0/04$  میلی‌گرم و در زمان 12 ساعت در غلظت 200 میلی‌گرم در لیتر برابر با  $0/19 \pm 0/1$  میلی‌گرم بود که اختلاف معنی‌دار نسبت به دیگر تیمارها را نشان داد. وزن خشک نیز در غلظت 200 میلی‌گرم در لیتر در زمان 6 ساعت با  $0/015 \pm 0/003$  میلی‌گرم اختلاف معنی‌دار نسبت به باقی تیمارها و شاهد مشاهده گردید همچنین در طی 12 ساعت در تیمار 50 میلی‌گرم در لیتر معادل  $0/032 \pm 0/003$  میلی‌گرم مشاهده گردید که اختلاف معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها داشت.

جدول 1. مقایسه میانگین صفات اندازه گیری شده میکروگرینهای شنبلیله تحت اثر غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک در 6 و 12 ساعت. مقادیر نشان داده شده میانگین 3 تکرار می‌باشد. اختلاف بین میانگین‌هایی که حروف مشترک ندارند معنی‌دار است.

زمان (ساعت)	اسید سالیسیلیک (mg/l)	وزن تر (g/p)	وزن خشک (g/p)	کلروفیل a (mg/g FW)	کلروفیل b (mg/g FW)	توان آنتی اکسیدانی (μM/g DW)	تریگونلین (mg/g DW)
6	0	0/12b	0/012b	0/419a	0/724a	237/13b	24/35b
	50	0/13b	0/012b	0/434a	0/763a	279/16a	22/49c
	100	0/16a	0/014b	0/418a	0/734a	271/04b	28/02a
	150	0/13b	0/012b	0/417a	0/741a	233/07b	19/02d

12	200	0/15a b	0/015b	0/429a	0/736a	236/73b	26/17e
	0	0/098 b	0/014b	0/409b	0/710b	166/29d	30/17a
	50	0/12b	0/032a	0/413b	0/743a	189/73c	21/03c
	100	0/14a b	0/014b	0/434a	0/761a	236/16b	21/60c
	150	0/11b	0/013b	0/417ab	0/741a	233/07b	22/38c
	200	0/19a	0/014b	0/408b	0/725b	222/32b	20/41d

براساس جدول 1 مقادیر کلروفیل a و کلروفیل b در میکروگرنیهای شنبلیله تحت اثر متقابل اسید سالیسیلیک و زمان قرار گرفت. در زمان 12 ساعت میزان کلروفیل a در غلظت 100 میلی گرم در لیتر برابر با  $0/4342 \pm 0/0096$  میلی گرم برگرم وزن تر و میزان کلروفیل b نیز در همین غلظت با  $0/7616 \pm 0/0205$  میلی گرم برگرم وزن تر بود که اختلافی معنی دار با دیگر تیمارها را مشاهده گردید.

توان آنتی اکسیدانی احیا آهن در میکروگرنیهای شنبلیله تحت اثر اسید سالیسیلیک و زمان قرار گرفت. در زمان 6 ساعت بیشترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی احیا آهن سه ظرفیتی به آهن دو ظرفیتی در غلظت 50 میلی گرم در لیتر به میزان 279/16 میکرومول آهن دو ظرفیتی بر گرم وزن خشک عصاره میکروگرن شنبلیله مشاهده گردید که اختلاف معنی داری با دیگر غلظت‌ها نشان داد. در زمان 12 ساعت نیز توان آنتی اکسیدانی در غلظت‌های 100 و 150 میلی گرم در لیتر به ترتیب 236/16 و 233/07 میکرومول آهن دو ظرفیتی بر گرم وزن خشک بود که اختلاف معنی داری با دیگر غلظت‌ها داشت (جدول 1). میزان تریگونلین نیز تحت اثر اسید سالیسیلیک و زمان قرار گرفت. در تیمار 6 ساعت و در غلظت 100 میلی گرم در لیتر میزان تریگونلین  $0/715 \pm 28/0210$  میلی گرم بر گرم وزن خشک محاسبه گردید که اختلاف معنی داری با دیگر تیمارها و شاهد مشاهده داشت. در تیمار 12 ساعت و در غلظت 150 میلی گرم در لیتر میزان تریگونلین  $22/3898 \pm 0/161$  میلی گرم بر گرم وزن خشک محاسبه گردید که این تیمار نیز اختلاف معنی داری با دیگر تیمارها و شاهد نشان داد (جدول 1).

نتایج این آزمایش نشان داد که صفات مورفولوژیک و فیتوشیمیایی مورد بررسی در میکروگرنیهای شنبلیله تحت تاثیر اسید سالیسیلیک و زمان قرار گرفت. هماهنگ با این یافته ها تیمار سالیسیلیک اسید با غلظت 450 میلی گرم بر لیتر بر گیاه به لیمو باعث افزایش میزان کلروفیل a و کلروفیل b گردید (فرسرای و همکاران (1398)). مشخص گردید که اسید سالیسیلیک با تغییر در فعالیت سیستم آنتی اکسیدانی و افزایش آن مانع از خسارت‌های اکسیداتیو می‌گردد که نتایج به دست آمده در این تحقیق را تایید می‌نماید (He et al., 2005). همراستا با این تحقیق، ایستورهای متیل جاسمونات، اسید سالیسیلیک و عصاره مخمر تولید تریگونلین را در کشت سوسپانسیون سلولی به دست آمده از کالوس شنبلیله افزایش دادند (عقیلی و همکاران، 2021).

### نتیجه گیری

محتوای متابولیتها و رشد میکروگرنیهای شنبلیله تحت اثر اسید سالیسیلیک تغییر یافت. در مجموع میتوان نتیجه گرفت که با بکارگیری اسید سالیسیلیک به عنوان ایستور امکان تولید میکروگرنیهای با محتوای متابولیت بیشتر وجود داشته که برای تولیدکنندگان و مصرف کنندگان چنین محصولی جالب توجه است.

## منابع

- سارا فرسرای، محمد مقدم و لیلا مهدی زاده. (2019). 'تأثیر اسید سالیسیلیک بر ویژگی‌های رشدی و بیوشیمیایی و درصد اسانس به لیمو در سطوح مختلف شوری آب آبیاری'، پژوهش آب در کشاورزی، 33(1)، صص. 95-107.
- Aghili, B. A., Abdollahi, P., & Omid, M. (2021). Trigonelline production in cell culture of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) treated by biotic and abiotic elicitors. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 52(2), 515-523.
- Benzie, I.F. and Strain, J.J., 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical biochemistry*, 239(1), pp.70-76.
- Caprioli, G., Cortese, M., Maggi, F., Minnetti, C., Odello, L., Sagratini, G. and Vittori, S., 2014. Quantification of caffeine, trigonelline and nicotinic acid in espresso coffee: the influence of espresso machines and coffee cultivars. *International journal of food sciences and nutrition*, 65(4), pp.465-469.
- He, Y., Liu, Y., Cao, W., Huai, M., Xu, B. and Huang, B., 2005. Effects of salicylic acid on heat tolerance associated with antioxidant metabolism in Kentucky bluegrass. *Crop science*, 45(3), pp.988-995.
- Khan, N.A., Syeed, S., Masood, A., Nazar, R. and Iqbal, N., 2010. Application of salicylic acid increases contents of nutrients and antioxidative metabolism in mung bean and alleviates adverse effects of salinity stress. *International Journal of Plant Biology*, 1(1), p.e1.
- Lichtenthaler, H.K. and Buschmann, C., 2001. Chlorophylls and carotenoids: Measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. *Current protocols in food analytical chemistry*, 1(1), pp.F4-3.
- Mir, S.A., Shah, M.A. and Mir, M.M., 2017. Microgreens: Production, shelf life, and bioactive components. *Critical reviews in food science and nutrition*, 57(12), pp.2730-2736.
- Sandoval-Rangel, A., Benavides-Mendoza, A., Alvarado-Vázquez, M.A., Foroughbakhch-Pournavab, R., Núñez-González, M.A. and Robledo-Torres, V., 2011. Organic acids influence on the growth, dietetic profile and secondary metabolites in Piquin Pepper. *Terra Latinoamericana*, 29(4), pp.395-401.
- Yadav, U.C. and Baquer, N.Z., 2014. Pharmacological effects of *Trigonella foenum-graecum* L. in health and disease. *Pharmaceutical biology*, 52(2), pp.243-254.

## Evaluation of the effect of salicylic acid on growth and some phytochemical characteristics of fenugreek microgreens

Mahdi Samadipour<sup>1</sup>, Ayatollah Rezaei<sup>\*2</sup>

<sup>1</sup>Graduated MSc, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Shahed University, Tehran, Iran

<sup>\*</sup><sup>2</sup>Ph.D. in Plant Physiology, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Shahed University, Tehran, Iran  
arezaei@shahed.ac.ir

### Abstract

With different methods, including applying elicitors in plants, it is possible to induce morphological and physiological responses and, finally, the accumulation of phytoalexins and secondary metabolites. In this research, some morphological and phytochemical characteristics of fenugreek medicinal plant microgreens were considered under different concentrations of salicylic acid (0, 50, 100, 150, and 200 mg/l) at two different times (6 and 12 hours). The results showed that salicylic acid treatment significantly affected the dry weight of microgreens within 12 hours. The treatment of 100 mg/L within 12 hours significantly affected the amount of chlorophyll a and chlorophyll b with about 0.43 and 0.76 mg/g of dry weight, respectively. The best treatment during the 6-hour seed priming regarding antioxidant properties was 50 mg/L at about 279  $\mu$ M of divalent iron per gram of dry weight and finally trigonelline at 100 mg/L at the rate of 28 mg/g of dry weight. In total, the effect of time and salicylic acid created a significant and increasing impact on some physiological and phytochemical properties of the fenugreek microgreens.

**Keywords:** Microgreen; Elicitor; Fenugreek; Secondary metabolite; Antioxidant capacity

## اثر کیتوزان برخی شاخصهای بیوشیمیایی گیاه به لیمو (*Aloysia citrodora*) تحت تنش

### سرب

مهشید رحیمی<sup>1</sup>، زهرا رضایتمند<sup>2\*</sup>، کهن شاهانی پور<sup>1</sup>

- ۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه بیوشیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد فلاورجان، اصفهان، ایران  
 ۲- استادیار، فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد فلاورجان، اصفهان، ایران  
 ۳- استادیار، بیوشیمی، گروه بیوشیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد فلاورجان، اصفهان، ایران

\*Email address: zrezayatmand12@yahoo.com

### چکیده:

تنش فلزات سنگین یکی از مهمترین عوامل محدود کننده رشد و نمو گیاهان بخصوص در جوامع صنعتی است. به لیمو یک گیاه ارزشمند با خواص دارویی متعدد می باشد. کیتوزان نیز به عنوان یک الایستور زیستی در کشاورزی کاربرد دارد. هدف از این تحقیق بررسی اثرات تنش سرب و کیتوزان روی شاخصهای بیوشیمیایی گیاه به لیمو می باشد. در این پژوهش آزمایشاتی به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با 3 تکرار انجام گرفت. تیمارهای این آزمایش شامل شوری در 3 سطح (0، 100 و 200 میلی گرم در لیتر) و کیتوزان در سه سطح (0، 5 و 10 میلی گرم در لیتر) بود. گیاهان پس از اعمال تیمار دهی برداشت شده و شاخصهای بیوشیمیایی آنها مورد بررسی قرار گرفت. با افزایش غلظت نیترات سرب افزایش میزان ترکیبات فنل کل در ساقه و میزان مالون دی آلدئید ساقه و ریشه و همچنین افزایش فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدانی کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در گیاه مشاهده گردید. کاربرد توام سرب و کیتوزان نیز باعث افزایش میزان ترکیبات فنلی و آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز و کاهش پراکسیداسیون لیپیدها و فعالیت آنزیمهای کاتالاز و پراکسیداز گردید. نتایج این پژوهش گویای اثرات تعدیل کننده کیتوزان روی گیاه به لیمو تحت تنش فلز سنگین سرب می باشد و قابلیت مصرف این الایستور زیستی را در شرایط تنش فلزات سنگین تایید می نماید.

**کلمات کلیدی:** آنتی اکسیدان، کیتوزان، به لیمو

### مقدمه:

فعالیت های انسان از جمله استخراج معادن، شیوه های کشاورزی مدرن، و صنعتی شدن اثرات مضر بر محیط زیست ما دارند. همه این عوامل منجر به افزایش غلظت فلزات سنگین در خاک، آب و هوا و ایجاد مشکلات زیست محیطی متعددی می شود. سرب یکی از گسترده ترین و پراکنده ترین فلزات کمیاب است که به اشکال مختلف در منابع طبیعی وجود دارد. سرب بسیاری از فرآیندهای بیولوژیکی مختلف در گیاهان را مختل می کند (13). پاسخ گیاه به آلودگی سرب یک مشکل کلیدی است و تلاش ویژه

ای برای مشخص کردن عوامل موثر بر کاهش جذب یا سمیت سرب در گیاهان و استفاده از محرکها به منظور مقابله با تنش فلزات سنگین می تواند یک راهکار جهت مقابله با این مشکل زیست محیطی باشد.

گیاه به لیمو با نام علمی (*Aloysia citrodora*) گونه‌ای از گیاهان گلدار از خانواده شاه‌پسندیان (*Verbenaceae*)، بومی آمریکای جنوبی بوده و از آن‌جا به سایر نقاط جهان از جمله ایران رفته است. به لیمو یک گیاه دارویی ارزشمند با چندین فعالیت بیولوژیکی است. این گیاه برای درمان تب، بی خوابی و اضطراب و همچنین اختلالات گوارشی و به عنوان یک عامل آرام بخش و ضد اسپاسم استفاده می شود. اثرات بیولوژیکی آن را احتمالاً می توان به اسانس آن نسبت داد که عمدتاً از مونوترپن ها (ژرانیال و لیمونن) و سسکوی ترپن ها تشکیل شده است همچنین فلاونوئیدها و فنیل پروپانوئیدها به مقدار زیاد در گیاه وجود دارند

کیتوزان به عنوان یک آمینو پلی ساکارید طبیعی با توجه به اهمیت آن برای مقابله با انواع تنش‌ها کاربردهای وسیعی را در مرحله کاشت، داشت، برداشت و پس از برداشت برای محصولات کشاورزی پیدا کرده است. مشخص شده است که کیتوزان در گیاهان تحت تنش فلزات سنگین اثر مثبت دارد و این به کاهش اثرات سمی فلزات سنگین توسط کیلاسیون، جداسازی و تشدید سیستم های آنزیمی کمک می کند (12). کیتوزان به دلیل وجود گروه آمینو و هیدروکسیل عملکردی، توانایی تشکیل کمپلکس با یون‌های عنصری غیر مغذی از جمله تعدادی از فلزات سنگین را دارد (17).

سمیت فلزات سنگین با تولید گونه‌های فعال اکسیژن، برهم زدن تعادل اکسیداسیون و کاهش و ایجاد استرس اکسیداتیو، بهره‌وری محصول را کاهش می‌دهد. افزایش فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدانی در گیاهانی نظیر برنج و گندم گزارش شده است (5 و 10).

افزایش میزان ترکیبات فنولی نیز در اندام هوایی گیاه یونجه و کلزا تحت تنش سرب گزارش شده است (1 و 2). افزایش پراکسیداسیون لیپیدهای غشا نیز به دلیل تجمع  $H_2O_2$  و افزایش سایر گونه های فعال اکسیژن تحت تنش سرب در برخی گیاهان همانند ذرت گزارش شده است باشد (16).

**مواد و روشها:** در این پژوهش بذر گیاه به لیمو (*A. citrodora*) از شرکت پاکان بذر تهیه و در گلدان‌هایی با محتوای ترکیب خاکی یک سوم خاک باغچه، یک سوم کوکوپیت و یک سوم پیت ماس در شرایط گلخانه ای کاشته شد. پس از رسیدن گیاهان به مرحله 4 تا 5 برگگی تیمار تنش فلز سنگین با محلول نیترات سرب در چهار سطح (0، 100، 200، 400 میلی گرم در لیتر) و محلول پاشی با کیتوزان نیز در سه سطح (0، 5 و 10 میلی گرم در لیتر) در سه تکرار به مدت دو هفته به صورت یک روز در میان انجام شد. پس از یک هفته از آخرین تیمار گیاهان ریشه و ساقه گیاهان برای اندازه‌گیری ترکیبات فنلی، مالون دی آلدئید و آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز برداشت شدند. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم های کاتالاز و پراکسیداز از روش (شانس و میلی 1995)<sup>117</sup>(7) استفاده شد و برای سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز روش (ژیانوپولیتیس و ریس، 1997)<sup>118</sup>(8)

<sup>117</sup> Chance and Maely

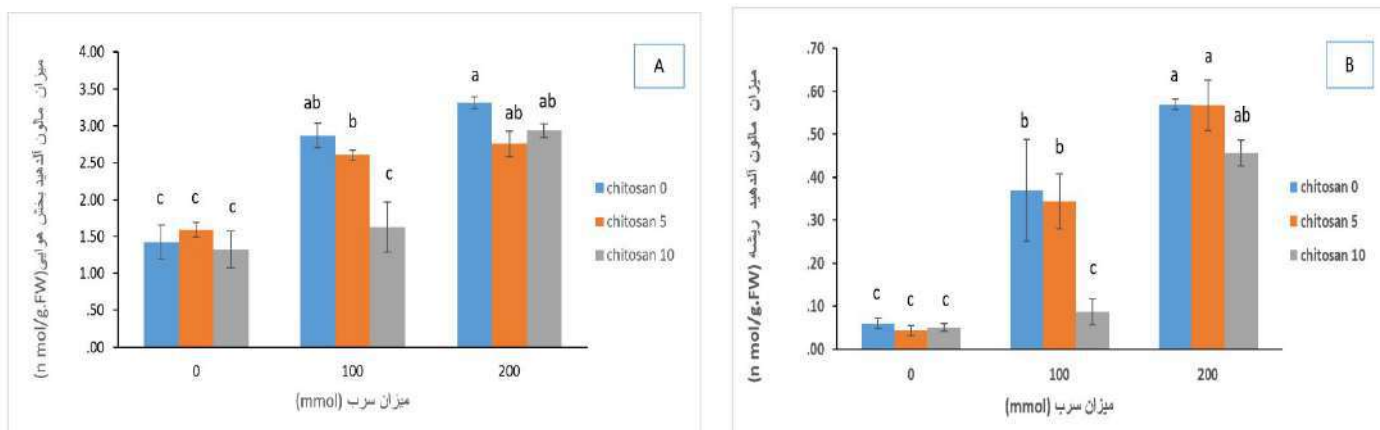
<sup>118</sup> Giannopolitis and Ries



مورد استفاده قرار گرفت. محتوای ترکیبات فنلی کل نیز با استفاده از روش سونالد و لایما<sup>119</sup> (1999) (15) تعیین گردید و از روش هیت و پاکر، (1968)<sup>120</sup> (9) غلظت مالون دی آلدئید اندازه گیری شد.

### بحث و نتایج:

میزان مالون دی آلدئید: با توجه به نتایج کار برد غلظتهای 100 و 200 میلی گرم در لیتر سرب، میزان آنزیم مالون دی آلدئید بخش هوایی و ریشه گیاه به طور معنی داری نسبت به شاهد افزایش یافته است و بیشترین میزان آن در غلظت 200 میلی گرم در لیتر سرب در بخش هوایی و ریشه به ترتیب با مقادیر 2/93 و 0/56 می باشد. همچنین کاربرد کیتوزان در شرایط تنش 100 میلی گرم در لیتر سرب باعث کاهش میزان آنزیم مالون دی آلدئید شده است که از نظر آماری در سطح 5 درصد معنی دار می باشد و این کاهش در غلظت 10 میلی گرم در لیتر کیتوزان در ساقه و ریشه به ترتیب 1/62 و 0/086 می باشد (شکل 1).



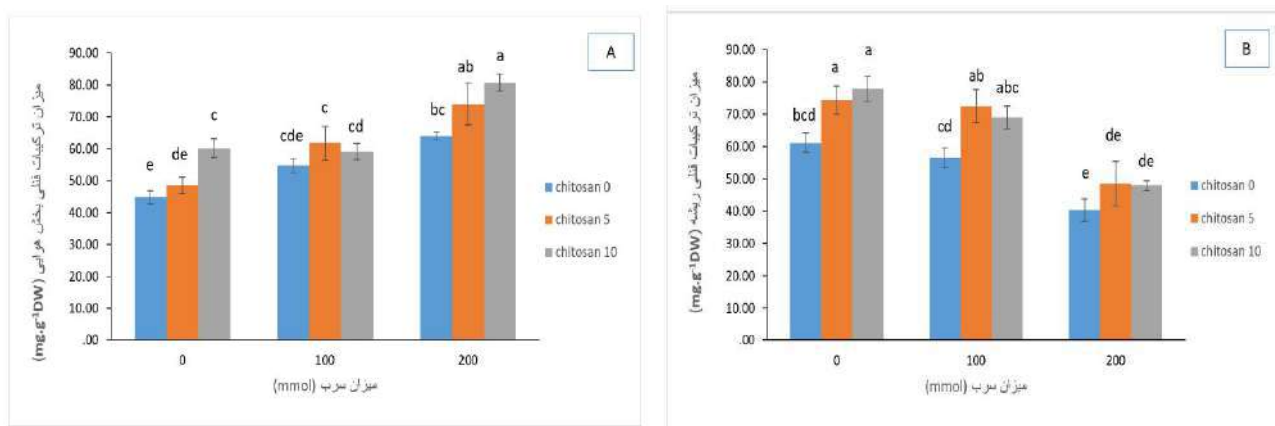
شکل 1- اثر تنش سرب و کیتوزان بر میزان آنزیم مالون دی آلدئید بخش هوایی (A) و ریشه (B) گیاه به لیمو. داده ها میانگین 3 تکرار  $\pm$  خطای معیار (SE) می باشد و حروف نامشابه نشان دهند اختلاف معنی دار براساس آزمون دانکن ( $P \leq 0/05$ ) می باشد.

<sup>119</sup> Sonald and Laima

<sup>120</sup> Heat and Packer

محلول پاشی گیاهان گلرنگ قرار گرفته تحت تنش کم آبی با کیتوزان باعث کاهش میزان محتوی مالون دی آلدئید در این گیاهان شد (5). کاهش اکسیداسیون لیپیدها در گیاهان تحت تنش فلزات سنگین، توسط کیتوزان می تواند بواسطه توانایی کیتوزان در کلاته کردن یونهای فلزی و ترکیب شدن آن با لیپیدها باشد. کیتوزان می تواند با از بین بردن رادیکالهای آزاد باعث جلوگیری از اکسیداسیون چربیها شده و از افزایش میزان مالون آلدئید جلوگیری نماید (6). کاهش پراکسیداسیون لیپیدها در گیاه زنیان گزارش شده که مطابق با نتایج این تحقیق می باشد (4).

شکل 2- اثر تنش سرب و کیتوزان بر میزان ترکیبات فنلی بخش هوایی (A) و ریشه (B) گیاه به لیمو. داده ها میانگین 3 تکرار



±خطای معیار (SE) می باشد و حروف نامشابه نشان دهند اختلاف معنی دار براساس آزمون دانکن ( $P \leq 0/05$ ) می باشد.

**محتوای فنل کل:** نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده های حاصل از تنش سرب و کیتوزان بر میزان ترکیبات فنولیک نشان می دهد که تیمار گیاه با غلظت های مختلف سرب در بخش هوایی گیاه باعث افزایش میزان ترکیبات فنولیک کل گیاه نسبت به شاهد شده است که این افزایش در غلظت 200 میلی گرم در لیتر سرب بیشترین مقدار و از نظر آماری معنی دار می باشد. همچنین افزایش میزان سرب در بخش ریشه گیاه باعث کاهش میزان ترکیبات فنلی کل گیاه شده و از نظر آماری نسبت به شاهد معنی دار است. تیمار گیاه درمنه کوهی با غلظت های مختلف کیتوزان در عدم حضور تنش سرب در بخش هوایی و ریشه گیاه به لیمو باعث افزایش میزان ترکیبات فنلی کل گیاه شده که از نظر آماری در هر دو غلظت 5 و 10 میلی گرم در لیتر کیتوزان در ریشه و غلظت 10 میلی گرم در لیتر کیتوزان در بخش هوایی نسبت به شاهد در سطح 5 درصد معنی دار می باشد. در تیمار گیاه با غلظت ها توام کیتوزان و سرب نیز مشاهده می شود که در حضور غلظت 10 میلی گرم در لیتر کیتوزان و غلظت 200 میلی گرم در لیتر سرب، افزایش میزان ترکیبات فنولیک کل را در بخش هوایی گیاه با مقدار 88/83 می توان مشاهده نمود که این افزایش از نظر آماری نسبت به شاهد معنی دار است.

یکی از سازوکارهای مؤثر در افزایش میزان تحمل فلزات سنگین تولید و انباشتگی ترکیبات فنولی است. مطالعات نشان داده است که کاهش میزان ترکیبات فنلی محلول می تواند به علت سنتز سایر ترکیبات فنولی از جمله لیگنین باشد. تیمار با غلظت های پایین فلز سرب سبب افزایش غلظت فلزاتی مانند آهن، مس و روی نسبت به کنترل می شود و در نتیجه افزایش غلظت این قبیل فلزات فعالیت

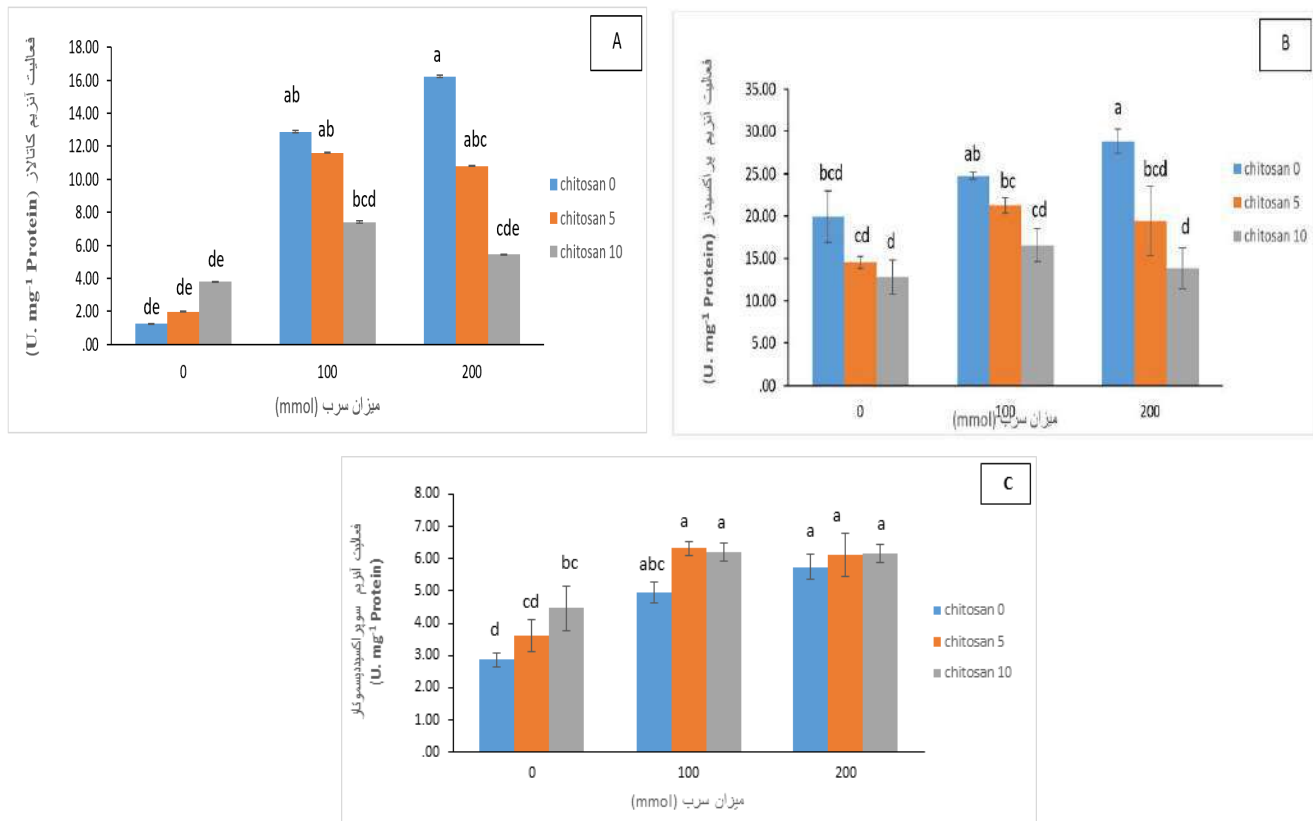
آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز PAL و بیان بسیاری از ژن‌هایی را که مرتبط با بیوسنتز ترکیبات فنولیک هستند افزایش می‌دهد. همچنین مشخص شده است که در استرس فلزات سنگین فنول‌های متصل به دیواره بیشتر از فنل‌های محلول تحت تأثیر قرار می‌گیرند (12).

تیمار با کیتوزان باعث افزایش ترکیبات فنلی و فلاونوئید گیاهان در شرایط تنش و غیر تنش می‌گردد (3). در این تحقیق کاربرد کیتوزان نیز به صورت مستقل و همراه با تنش سرب نیز باعث افزایش میزان ترکیبات فنلی در گیاه به لیمو شده است، مشابه با نتایج این تحقیق برومند و همکاران در گیاه کلزا و قلیچ و همکاران روی گیاه یونجه نیز اثر تنش سرب را بر افزایش ترکیبات فنلی عنوان نموده‌اند. (1 و 2).

**فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز:** نتایج مقایسه میانگین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز نشان می‌دهد که تیمار گیاه با غلظت‌های مختلف سرب در عدم حضور کیتوزان باعث افزایش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز در بخش هوایی شده است که این افزایش در غلظت 200 میلی گرم در لیتر سرب بیشترین مقدار می‌باشد و از نظر آماری نسبت به شاهد معنی‌دار می‌باشد. بررسی تیمار گیاه به لیمو با غلظت‌های مختلف کیتوزان در حضور غلظت‌های مختلف سرب نشان داد که میزان فعالیت آنزیم کاتالاز بخش هوایی در غلظت‌های 200 میلی گرم در لیتر سرب و 10 میلی گرم در لیتر کیتوزان با مقدار 5/45 واحد فعالیت آنزیم در گرم پروتئین کاهش معنی‌داری را از نظر آماری در سطح 5 درصد نشان می‌دهد. در تیمار گیاه با غلظت‌های توام کیتوزان و سرب مشاهده می‌شود که میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در غلظت 5 و 10 میلی گرم در لیتر کیتوزان و غلظت‌های 100 و 200 میلی مولار سربدر بخش هوایی گیاه کاهش یافته است که از نظر آماری معنی‌دار می‌باشد (شکل 3).

**فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز:** در تیمار گیاه با غلظت‌های مختلف سرب در عدم حضور کیتوزان با افزایش میزان سرب باعث افزایش میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در بخش هوایی گیاه درمنه کوهی شده است که این افزایش در غلظت 100 و 200 میلی‌گرم در لیتر سرب به ترتیب مقادیر 4/95 و 5/47 واحد فعالیت آنزیم می‌باشد که نسبت به شاهد در سطح 5 درصد اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهد. نتایج نشان می‌دهد که تیمار گیاه با غلظت‌های مختلف کیتوزان در عدم حضور تنش سرب باعث افزایش میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز شده است و این افزایش در غلظت 10 میلی‌گرم در لیتر کیتوزان نسبت به شاهد از نظر آماری معنی‌دار می‌باشد (شکل 3).

فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان پراکسیداز (POD) و گایاکول پراکسیداز (GPX) و پلی فنل اکسیداز (PPO)، در گیاه ریحان تحت تنش افزایش معنی‌داری نشان داد. بنابراین به نظر می‌رسد که در بسیاری از گونه‌های گیاهی تنش فلزات سنگین منجر به ایجاد تنش اکسیداتیو و تولید انواع فعال اکسیژن می‌گردد که باعث آسیب‌های متعددی بر سلولهای گیاهی می‌گردد (14).



شکل 3- اثر تنش سرب و کیتوزان بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (A) و پراکسیداز (B) و سوپر اکسید دیسموتاز (C) بخش هوایی گیاه به لیمو. داده‌ها میانگین 3 تکرار  $\pm$  خطای معیار (SE) می‌باشد و حروف نامشابه نشان دهند اختلاف معنی دار بر اساس آزمون دانکن ( $P \leq 0/05$ ) می‌باشد.

در گیاهچه‌های یونجه نیز میزان تولید پراکسید هیدروژن و هم میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز با افزایش میزان غلظت سرب افزایش یافته است (18). در این تحقیق نیز میزان آنزیمهای آنتی اکسیدان سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)، پراکسیداز (POX) و آنزیم کاتالاز (CAT) تحت تنش سرب افزایش یافت که با مطالعت انجام شده در این زمینه مطابقت دارد (11). کیتوزان به عنوان الیستور زیستی باعث افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان و افزایش تولید متابولیت های ثانویه می شود (18)

**نتیجه گیری:** نتایج این تحقیق نشان می دهد که تنش سرب باعث ایجاد آسیب به گیاه به لیمو شده است و این آسیب در سطح غشاء سلولی و غلظت 200 میلی مولار نترات سرب با افزایش میزان مالون دی آلدئید همراه می باشد. گیاه برای مقابله با این تنش میزان آنتی اکسیدانهای آنزیمی و غیر آنزیمی خود را افزایش داده است. کاربرد کیتوزان نیز با افزایش میزان ترکیبات فنلی و برخی آنزیمهای آنتی اکسیدانی میزان این تنش را تعدیل نموده است. لذا می توان نتیجه گرفت که گیاه به لیمو به عنوان یک گیاه دارویی با ارزش می تواند در مناطق آلوده به سرب نیز کاشته شود و همچنین از کیتوزان می توان به عنوان یک الیستور در افزایش مقاومت به تنش سرب در این گیاه استفاده نمود

## منابع:

- 1- شیدا برومندجزی، منیره رنجبر، حسین لاری یزدی. (1391). بررسی اثرات مخرب فلز سرب بر روی پارامترهای رشد گیاه کلزا و اثر اسید سالیسیلیک بر کاهش تعدیل اثرات مخرب فلز سرب. یافته های زیست شناسی، 8(1)، صص 75-90.
- 2- سیما قلیچ، فاطمه زرین کمر، وحید نیکنام. (1394) بررسی میزان انباشتگی سرب و تاثیر آن بر فعالیت آنزیم پراکسیداز، محتوای ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در مرحله جوانه زنی در گیاه یونجه (*Medicago sativa L.*). پژوهش های گیاهی (مجله زیست شناسی ایران) (علمی) 28(1)، صص 164-174.
- 3- فاطمه ملک پور، اعظم سلیمی، عبدالله قاسمی پیربلوطی. (1395). 'تأثیر محرک زیستی کیتوزان بر صفات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی ریحان بنفش (*Ocimum basilicum L.*) تحت تنش کم آبی، 'مجله علمی - پژوهشی اکوفیزیولوژی گیاهی 8(27)، صص 56-71.
- 4- صالحه نادری، برتعلی فاخری، مجتبی سراجی. (1396). اثرگذاری کیتوزان بر برخی شاخص های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه زنیان (*Carum copticum L.*) تحقیقات علوم زراعی. 1(1)، صص 51-64.
- 5- بتول مهدوی، سید علی محمد مدرس ثانوی، مجید آقاعلیخانی، مظفر شریفی، سید علی. (1393). 'اثر محلول پاشی کیتوزان بر رشد و خصوصیات بیوشیمیایی گلرنگ (*Carthamus tinctorius L.*) در شرایط تنش کم آبی، 'پژوهشهای زراعی ایران. 12(2)، صص 299-236.
- 6- Dey, S.K., Dye, J., Petra, S., Pothole, D. 2007. Chang in the antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in wheat seedling exposed to Cadmium and Lead stress. *Brazilian Journal Plant physiology*, 19(1), pp. 53-60.
- 7- Chance, B., Maehly, A.C. 1955. Assay of catalase and peroxidase. *Method Enzymology*, 2, pp. 764-775.
- 8- Giannopolitis Munzuroglu, O., and Geckil, O. 2002. Effects of metals on seed germination, root elongation, and coleoptile and hypocotyl growth in *Triticum aestivum* and *Cucumis sativus*, " *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 43(2), pp. 203-213.
- 9- Heath R.L., Packer, L. 1969. Photoperoxidation in isolated chloroplast. I. kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125, pp. 189-198.
- 10- Hidangmayum, A., Dwivedi, P., Katiyar, D., Hemantaranjan, A. 2019. • Application of chitosan on plant responses with special reference to abiotic stress. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 25(2) 2, pp. 313-326.
- 11- Jiang, N., Luo, X., Zeng, J., Yang, Z. 2010. Lead toxicity induced growth and antioxidant responses in *Luffa cylindrica* seedlings. *International Journal of Agriculture biology*. 12(2), pp. 205-10.
- 12- Kováčik, J., Dresler, S., Babula, P. 2020. Uptake and phytotoxicity of lead are affected by nitrate nutrition and phenolic metabolism. *Environmental and Experimental Botany*, 168, pp. 145-161.
- 13- Kumar, S.P, Arman, A.M, Kumari, B.D.R. 2011. Identification of differentially expressed proteins in response to Pb stress in *Catharanthus roseus*. *African Journal Environmental Science Technology*, 5(9), pp. 689-99.
- 14- Michalak, A. 2006. Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing. *Polish Journal Environmental*, 15(4), pp. 523-530.
- 15- Ronald, S.F. and Laima, S.K. 1999. Phenolic and cold tolerance of *Brassica napus*. *Plant Agriculture*. 1: 1-5.
- 16- Zacchini, M., Rea, E., Tullio, M., Agazio, M. 2002. Increased antioxidative capacity in maize calli during and after oxidative stress induced by a long lead treatment. *Plant Physiol. Biochem*, 41, pp. 49-54.

17- Zong, H., Liu, S., Xing, R., Chen, X., Li, P. 2017. Protective effect of chitosan on photosynthesis and antioxidative defense system in edible rape (*Brassica rapa* L.) in the presence of cadmium. *Ecotoxicol Environ Saf*, 138, pp.271–278.

18- Verma, S., Dubey, R.S. 2003. Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant in growing rice plants. *Plant Science*, 164, pp.1489– 1498.

## **Effect of chitosan on some biochemical iparameters of (*Aloysia citrodora*) under lead stress**

**Mahshid Rahimi<sup>1</sup>, Zahra Rezayatmand<sup>2\*</sup>, Kahin Shahanipour<sup>1</sup>**

1-Master's student, Department of Biochemistry, Islamic Azad University, Falavarjan Branch, Isfahan, Iran

2- Assistant Professor, Plant Physiology, Department of Biology, Islamic Azad University, Falavarjan Branch, Isfahan, Iran

3- Assistant Professor, Biochemistry, Department of Biochemistry, Islamic Azad University, Flowerjan Branch, Isfahan, Iran

\* corresponding Author: zrezayatmand12@yahoo.com

### **Abstract:**

Heavy metal stress is one of the most important factors limiting the growth and development of plants, especially in industrial societies. Lemon is a valuable plant with many medicinal properties. Chitosan is also used as a biological elicitor in agriculture. The purpose of this research is to investigate the effects of lead stress and chitosan on the biochemical indicators of lemon plants. In this research, factorial experiments were conducted based on a completely randomized design with 3 replications. The treatments of this experiment included salt in 3 levels (0, 100 and 200 mg/liter) and chitosan in three levels (0, 5 and 10 mg/liter). Plants were harvested after treatment and their biochemical indicators were analyzed. With the increase in lead nitrate concentration, the amount of total phenolic compounds in the stem and the amount of malondialdehyde in the stem and root increased, as well as the activity of the antioxidant enzymes catalase, peroxidase and superoxide dismutase was observed in the plant. The combined use of lead and chitosan also increased the amount of phenolic compounds and superoxide dismutase enzyme and decreased lipid peroxidation and activity of catalar and peroxidase enzymes. The results of this research show the modulating effects of chitosan on lemon plants under heavy metal lead stress and confirm the ability to use this biological elicitor under heavy metal stress conditions.

**Key words:** Anti oxidan, chitosan, lemon

## **تأثیر محلول پاشی برگ‌آسید آمینه پلورامین بر بهبود رشد و عملکرد گیاه دارویی سیر**

الهه شوهانی<sup>1</sup>، سعید حضرتی<sup>2\*</sup>، فرهاد حبیب‌زاده<sup>3</sup>

1- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گیاهان دارویی، گروه زراعت و گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید مدنی

آذربایجان، تبریز، ایران

2\* - نویسنده مسئول: دانشیار، دکتری تخصصی زراعت، گروه زراعت و گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز،

ایران

Saeid.hazrati@azaruniv.ac.ir

3- استادیار، دکتری تخصصی زراعت، گروه ژنتیک و به‌نژادی گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین، ایران

### چکیده

گیاه سیر (*Allium sativum* L.) به علت دارا بودن مواد مؤثره، یکی از مهم‌ترین گیاهان دارویی از خانواده Alliaceae در سطح جهان می‌باشد. به منظور ارزیابی تأثیر محلول‌پاشی پلورامین بر رشد و عملکرد گیاه سیر، آزمایشی در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با 3 تکرار در مزرعه پژوهشی دانشگاه شهید مدنی آذربایجان در سال زراعی 1401-1400 اجرا شد. تیمارها شامل محلول‌پاشی اسید آمینه پلورامین در غلظت‌های صفر (شاهد)، 1/5 و 3 گرم در لیتر بود. نتایج نشان داد که محلول‌پاشی پلورامین در غلظت‌های 1/5 و 3 گرم در لیتر نسبت به شاهد باعث افزایش معنی‌دار صفات اندازه‌گیری شده شامل طول و عرض برگ، طول و قطر سوخ، قطر و طول سیرچه، تعداد سیرچه و نهایتاً عملکرد محصول گردید. محلول‌پاشی 3 گرم در لیتر، در مقایسه با محلول‌پاشی 1/5 گرم در لیتر، از لحاظ آماری عملکرد متفاوتی نداشت. پیشنهاد می‌شود که در راستای دست‌یابی به حداکثر رشد و عملکرد گیاه سیر و همچنین کاهش مخاطرات زیست‌محیطی و در راستای پایداری سیستم‌های کشاورزی، از محلول‌پاشی اسید آمینه پلورامین به میزان 1/5 یا 3 گرم در لیتر به عنوان پیش‌ساز سنتز پروتئین‌ها در گیاه استفاده شود.

**واژگان کلیدی:** اسید آمینه، برگ، تنظیم‌کننده رشد، عملکرد، محلول‌پاشی

### مقدمه

سیر با نام علمی *Allium sativum* L. از خانواده Alliaceae، در میان گیاهان دارویی از اهمیت بالایی برخوردار می‌باشد. گیاهی علفی است که ساقه‌ای به ارتفاع 20 تا 40 سانتی‌متر داشته و پیاز آن که قسمت متورم و زیرزمینی را تشکیل می‌دهد از 5 تا 10 سیرچه تشکیل شده است. برگ گیاه سیر از ناحیه غلاف حالت آویخته داشته و دارای پهنک طویل و منتهی به غلاف درازی است که قسمت زیادی از ساقه را دربر می‌گیرد. مجموعه گل‌های گیاه به رنگ صورتی و گاهی سفید همراه با برجستگی‌های کوچک، در رأس دم‌گل درازی با ظاهر گل آذین چتر مانند ظاهر می‌شود (1). سیر به دلیل ویژگی‌های دارویی و درمانی همچون کاهش کلسترول خون، کاهش فشار خون، کاهش تجمع آنتی‌پلاکت‌ها و فعالیت‌های ضد التهابی در سطح جهان به خوبی شناخته شده است (2).

استفاده بی‌رویه از کودهای شیمیایی به دلیل هزینه پایین و افزایش سریع رشد، باعث نگرانی در مورد سلامت انسان، مخاطرات زیست‌محیطی و نابودی نظام‌های کشاورزی شده است. این امر موجب تمایل به استفاده از ترکیبات طبیعی (اسیدهای آمینه) به عنوان تنظیم‌کننده رشد و بیوسنتز گیاه شده است. اسیدهای آمینه به عنوان ترکیبات آلی نیتروژن‌دار، بلوک‌های ساختمانی سنتز پروتئین‌ها می‌باشند. اهمیت اسیدهای آمینه به دلیل مصرف گسترده آن‌ها جهت بیوسنتز مواد نیتروژنی بدون پروتئین از قبیل رنگیزه‌ها، ویتامین‌ها و کوآنزیم‌ها می‌باشد (3 و 4). ثابت گردیده که اسیدهای آمینه می‌توانند به طور مستقیم و یا غیرمستقیم در فعالیت‌های فیزیولوژیکی رشد و نمو گیاه نقش داشته باشند. کاربرد برگی اسیدهای آمینه باعث افزایش رشد گیاه، عملکرد و ترکیبات آن در گیاه سیر و گشنیز می‌گردد (4 و 5). اسیدهای آمینه باعث تحریک متابولیسم و فرآیندهای متابولیکی در جهت

افزایش کارایی گیاهان می‌شوند (6)؛ بنابراین، کاربرد آن‌ها کشت موفق یک گیاه دارویی را موجب خواهد شد؛ زیرا جهت بهبود شاخص‌های کمی و کیفی گیاه دارویی نیز مؤثر می‌باشند.

### مواد و روش‌ها

این پژوهش در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، منطقه‌ای با عرض جغرافیایی 37 درجه و 81 دقیقه شمالی و طول جغرافیایی 45 درجه و 93 دقیقه شرقی و ارتفاع 1318/8 متری از سطح دریای آزاد در سال زراعی 1400-1401 اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل محلول‌پاشی فعال‌کننده متابولیک اسید آمینه پلورامین (دارای 14 درصد نیتروژن کل، 13/8 درصد نیتروژن آلی، 0/2 درصد نیتروژن آمونیومی، 92 درصد ماده آلی و 90 درصد آمینو اسید کل) در غلظت‌های صفر (شاهد)، 1/5 و 3 گرم در لیتر بود. ابتدا در شهریور 1400 عملیات شخم و آماده‌سازی زمین (شخم، دیسک، لولر) انجام گردید و سیرچه‌های گیاه سیر (اکوتیپ مقان) در عمق 6 سانتی‌متری و با فاصله 12 سانتی‌متر با دست در اول مهر ماه کشت شدند. ابعاد کرت‌ها 1/5 × 1/5 متر بود. در هر کرت 7 ردیف، فاصله بین ردیف‌ها 20 سانتی‌متر و خاک مزرعه از نوع لومی شنی بود. محلول‌پاشی اسید آمینه پلورامین در دو مرحله (مرحله اول در اوایل آبان ماه و مرحله دوم در اوایل اردیبهشت ماه) صورت گرفت. ویژگی‌های رشدی مانند تعداد برگ در بوته، طول و عرض برگ بر حسب سانتی‌متر با استفاده از خط‌کش مدرج در مرحله سبزیگی کامل بوته‌ها اندازه‌گیری شدند. پس از رسیدگی کامل، برداشت محصول در اواسط خرداد ماه 1401 انجام شد. در پایان فصل رشد از مساحت 50 × 50 سانتی‌متر از هر کرت آزمایشی به‌طور میانگین تعداد 18 بوته به‌صورت تصادفی انتخاب شد. محصول برداشت‌شده در دمای 60 درجه سانتی‌گراد به مدت 48 ساعت در آن قرار داده شد و ویژگی‌های رشدی و عملکرد سیر شامل وزن خشک سوخ با استفاده از ترازوی دیجیتال، قطر و طول سوخ با استفاده از کولیس دیجیتال، وزن خشک سیرچه‌ها با استفاده از ترازوی دیجیتال، قطر و طول سیرچه‌ها با استفاده از کولیس دیجیتال، تعداد سیرچه‌ها در سوخ و نهایتاً عملکرد خشک محصول برداشت‌شده بر حسب کیلوگرم در متر مربع، در آزمایشگاه گروه زراعت و گیاهان دارویی دانشگاه شهید مدنی آذربایجان اندازه‌گیری شدند. تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام گردید.

### نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تاثیر محلول‌پاشی پلورامین بر قطر سیرچه، طول سیرچه و تعداد سیرچه در سوخ در سطح احتمال خطای یک درصد معنی‌دار بود (جدول 1). هم‌چنین اثر محلول‌پاشی بر صفات طول برگ، قطر سوخ، طول سوخ و وزن خشک سیرچه در سطح احتمال خطای پنج درصد معنی‌دار گردید (جدول 1). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که محلول‌پاشی 3 گرم در لیتر پلورامین بر صفات طول برگ، عرض برگ، وزن خشک سوخ و قطر سوخ در مقایسه با مقادیر 1/5 و صفر، بیشترین اثر را داشت. درخصوص طول سوخ، محلول‌پاشی 3 و 1/5 گرم در لیتر محلول پلورامین در آب مقطر نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار داشته ولی تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند (جدول 2). مقایسه میانگین‌ها در خصوص صفات قطر سیرچه، طول سیرچه و تعداد سیرچه در سوخ نشان داد که محلول‌پاشی 3 گرم محلول پلورامین در مقایسه با غلظت‌های 1/5 و صفر، صفات قطر سیرچه، طول سیرچه و تعداد سیرچه در سوخ را به‌طور



معنی داری افزایش داد. محلول پاشی 3 و 1/5 گرم در لیتر نسبت به تیمار شاهد، بیشترین عملکرد خشک محصول را ایجاد نمود (جدول 2).

جدول 1- تجزیه واریانس صفات مختلف اندازه گیری شده گیاه سیر تحت تاثیر محلول پاشی پلورامین

منابع تغییرات	درجه آزادی	طول برگ	عرض برگ	وزن سوخ	قطر سوخ	طول سوخ	وزن خشک سیرچه	قطر سیرچه	طول سیرچه	تعداد سیرچه در سوخ	عملکرد خشک محصول
پلورامین	2	4/11*	53/20 <sup>ns</sup>	0/06 <sup>ns</sup>	27/98*	29/06*	35/31*	3/45**	18/50**	35/88**	0/008**
تکرار (بلوک)	2	0/77 <sup>ns</sup>	20/57 <sup>ns</sup>	0/08 <sup>ns</sup>	1/01 <sup>ns</sup>	1/38 <sup>ns</sup>	1/56 <sup>ns</sup>	0/11 <sup>ns</sup>	0/28 <sup>ns</sup>	0/96 <sup>ns</sup>	0/001 <sup>ns</sup>
خطا	4	0/44	11/55	0/01	2/91	2/12	3/38	0/02	0/16	0/87	0/001
ضریب تغییرات (%)		10/71	6/16	6/75	15/88	5/04	7/60	5/75	3/10	4/43	3/46

ns, \* و \*\* به ترتیب عدم معنی دار، معنی دار در سطوح احتمال 5 و 1 درصد می باشد.

جدول 2- مقایسه میانگین صفات مختلف سیر در غلظت های مختلف محلول پاشی پلورامین

محلول پاشی پلورامین	طول برگ (cm)	عرض برگ (cm)	وزن خشک سوخ (g)	قطر سوخ (mm)	طول سوخ (mm)	وزن خشک سیرچه (g)	قطر سیرچه (mm)	طول سیرچه (mm)	تعداد سیرچه در سوخ	عملکرد خشک محصول (kg.m <sup>-2</sup> )
شاهد (غلظت صفر)	5/00b	50/50b	1/73b	7/93b	25/52b	2/12b 1	1/59c	10/51c	18/08c	0/55b
غلظت 1/5 گرم در لیتر	/33ab 6	56/26ab	/86ab 1	10/34ab	29/52a	2/55b 3	2/45b	1/76b 3	2/45b 0	0/62a
غلظت 3 گرم در لیتر	7/33a	58/70b	2/03a	13/99a	31/65a	27/89a	3/72a	15/39a	24/89a	0/65a

پلورامین شامل انواع اسیدهای آمینه می باشد که امکان جذب نیتروژن توسط گیاه را افزایش داده و با افزایش جذب نیتروژن، فاکتورهای مربوط به رشد گیاه افزایش می یابد. افزایش میزان عناصر غذایی در دسترس گیاه بخصوص نیتروژن، باعث تحریک رشد گیاه می شود. این تاثیر مثبت را می توان به تامین عناصر غذایی و در نتیجه، بهبود فتوسنتز و همچنین ارتباط نزدیک و مثبت میان فتوسنتز خالص و میزان مواد غذایی کافی برگها نسبت داد (7). به طور کلی می توان بیان نمود که فراهم بودن اسیدهای آمینه در مراحل آغازین رشد، طویل شدن بخش هوایی گیاه مانند طول برگ و هم چنین، طول و قطر سیرچه، طول و قطر سوخ را افزایش می دهد. نتایج مشابه در همین خصوص نشان داد که اثر محلول پاشی گیاهان با اسید آمینه باعث افزایش چشمگیر در ارتفاع گیاه کاهو شد (8). در یک پژوهش که کاربرد مقادیر متفاوت (27، 40 و 53 تن در هکتار کود دامی) و روش های متفاوت (زیر سطحی و

سطحی) کود دامی بر عملکرد و اجزای عملکرد سیر مورد بررسی قرار گرفت، نتایج نشان داد که بیشترین میزان عملکرد در تیمارهای کاربرد زیرسطحی 27 و 40 تن در هکتار و در تیمار کاربرد پخش سطحی 53 تن در هکتار ایجاد شد. هم‌چنین، بیشترین میانگین تعداد سیرچه و وزن سیرچه در تیمار پخش سطحی 53 تن در هکتار ایجاد گردید (9).

### نتیجه‌گیری

در تحقیق حاضر، محلول‌پاشی پلورامین از طریق تامین نیتروژن و اسیدهای آمینه مورد نیاز گیاه باعث افزایش طول برگ و عرض برگ گردید که افزایش فتوسنتز را به دنبال داشت. هم‌چنین، محلول‌پاشی برگ پلورامین از طریق افزایش تعداد و وزن خشک سیرچه باعث افزایش عملکرد گردید. به گونه‌ای که در محلول‌پاشی به میزان 3 گرم پلورامین در لیتر بیشترین میانگین عملکرد خشک سیر با میانگین 0/65 کیلوگرم در متر مربع ایجاد شد. بنابراین، محلول‌پاشی برگ پلورامین به میزان 1/5 یا 3 گرم در لیتر جهت بهبود و افزایش عملکرد محصول گیاه سیر در جهت توسعه پایدار پیشنهاد می‌شود.

### منابع

- 1- دارابی، عبدالستار، دهقانی، علی. (1389). 'اثر تاریخ کاشت و تراکم بوته بر عملکرد، اجزای عملکرد و شدت بیماری زنگ در سیر انتخاب شده رامهرمز در منطقه بهبهان، به زراعی نهال و بذر، 26(1) صص. 43-55.
- 2- Lawrence, R., and Lawrence, K. 2011. Antioxidant activity of garlic essential oil (*Allium sativum*) grown in north Indian plains. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 1, 51–54.
- 3- رضاخانی، امیر، حاج سید هادی، محمد رضا. (1396). 'تأثیر کود دامی و محلول‌پاشی اسیدهای آمینه بر ویژگی‌های رشدی، عملکرد دانه و میزان اسانس گیاه دارویی گشنیز (*Coriandrum sativum* L.)، علوم گیاهان زراعی ایران، 48(3) صص. 777-786.
- 4- Wafaa, H.A., Rania, M.R. and El-Shafay, R.M.M. 2021. Effect of spraying with extracts of plants and amino acids on growth and productivity on *Coriandrum sativum* L. plants under shalateen condition. *Plant Archives*, 21(1): 300-307.
- 5- El-Shabasi, M.S., Mohamed, S.M. and Mahfouz, S.A. 2005. Effect of foliar spray with amino acids on growth, yield and chemical composition of garlic plants. The 6th Arabian Conference for Horticulture.
- 6- Faten, S.A., Shaheen, A.M., Ahmad, A.A. and Mahmoud, A.R. 2010. Effect of foliar application of amino acids as antioxidants on growth, yield and characteristics of squash. *Research Journal of Agriculture and Biological Science*, 6(5): 583-588.
- 7- Noroozlo, Y.A., Souri, M.K., and Delshad, M. 2019. Stimulation effects of foliar applied glycine and glutamine amino acids on Lettuce Growth. *Open Agriculture*, 4(1): 164-172.
- 8- Khan, S., Yu, H., Li, Q., Gao, Y., Sallam, B.N., Wang, H. and Jiang, W. 2019. Exogenous application of amino acids improves the growth and yield of lettuce by enhancing photosynthetic assimilation and nutrient availability. *Agronomy*, 9(5): 266.
- 9- فلاح، سیف‌اله، امین، زهرا، عباسی سورکی، علی. (1396). 'تأثیر روش کاربرد و سطوح مختلف کود گاوی بر عملکرد و غلظت برخی عناصر غذایی گیاه سیر (*Allium sativum*)، مجله مدیریت خاک و تولید پایدار، 7(3) صص. 107-121.

## Effect of foliar spraying of the pluramine amino acid on improving the growth and performance of garlic medicinal plant

Elaheh Shohani<sup>1</sup>, Saeid Hazrati<sup>2\*</sup>, Farhad Habibzadeh<sup>3</sup>

1- MSc graduate in medicinal plants, Department of Agronomy and Medicinal Plants, Faculty of Agriculture, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran

2- Corresponding Author: Associate Professor, PhD in agronomy, Department of Agronomy and Medicinal Plants, Faculty of Agriculture, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran  
Saeid.hazrati@azaruniv.ac.ir

3- Assistant Professor, PhD in agronomy, Department of Genetics and Plant Breeding, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Imam Khomeini International University, Qazvin, Iran

### Abstract

Garlic (*Allium sativum* L.) is one of the most important medicinal plants of the Alliaceae family in the worldwide due to the presence of effective substances. In order to evaluate the effect of pluramine foliar spraying on the growth and yield of garlic plants, an experiment was conducted in the form of a randomized complete block design with 3 replications in the research farm of Shahid Madani University of Azerbaijan in 2021-2022. The experimental treatments included spraying the amino acid pluramine in concentrations of zero (control), 1.5 and 3 g/L. The results showed that the foliar spraying of pluramine at 1.5 and 3 g/L compared to the control, caused a significant increase in the measured traits including leaf length and width, length and diameter of bulb, number of bulbs and finally the harvested yield. Foliar application of 3 g/L compared to the foliar application of 1.5 g/L did not produce statistically different yield. It is suggested that in order to produce the maximum growth and yield of garlic plant as well as to reduce environmental risks and in order to maintain the sustainability of agricultural systems, foliar spraying of pluramine amino acid at the rate of 1.5 or 3 g/L is used as a precursor for the synthesis of proteins in the plant.

**Keywords:** Amino acid, foliar application, growth regulator, leaf, yield.

## تغییرات برخی خصوصیات میوه خرما مضافتی تحت تاثیر محلول پاشی ملاتونین

سمیه رستگار<sup>1\*</sup> محبوبه محمدی<sup>2</sup> و سکینه ملایی محمد آبادی

<sup>1\*</sup> - نویسنده مسئول: دانشیار، گروه علوم باغبانی دانشگاه هرمزگان

<sup>2</sup> - دانشجوی دکتری، گروه علوم باغبانی دانشگاه هرمزگان

3- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم باغبانی دانشگاه هرمزگان

### چکیده

خرما یکی از میوه های گرمسیری و نیمه گرمسیری است که با توجه به ارزش غذایی و اقتصادی بالایی که دارد بسیار مورد توجه میباشد. بهبود کیفیت میوه خرما همواره یکی از اهداف محققین میباشد. در این راستا پژوهشی بر روی میوه خرما رقم مضافتی، یکی از ارقام با ارزش اقتصادی بالا انجام شد. این پژوهش در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با 3 تکرار بر روی درختان خرما رقم مضافتی 11 ساله در یک باغ تجاری در شهرستان رودان انجام شد. محلول پاشی ملاتونین در سه سطح با غلظتهای صفر (به عنوان شاهد آب مقطر)، 100 و 200 میکرومولار انجام شد. بر اساس نتایج به دست آمده، میوه های محلول پاشی شده با غلظتهای مختلف ملاتونین بطور معنی داری وزن کل و وزن گوشت بالاتری نسبت به شاهد نشان دادند. همچنین ملاتونین تاثیر معنی داری در افزایش قطر و طول میوه خرما رقم مضافتی داشت. هسته میوه تحت تاثیر محلول پاشی قرار نگیرد.

**واژگان کلیدی:** خرما، تنظیم کننده رشد، خصوصیات کمی، نیمه گرمسیری

### مقدمه

نخل خرما (*Phoenix dactylifera* L) گیاهی تک لپه و متعلق به خانواده نخل ها (Arecaceae) با 200 جنس و 1500 گونه است. یکی از مهمترین جنس های این خانواده، Phoenix است که 12 گونه دارد و همه آنها بومی مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری هستند. گل های ماده خرما دارای سه برچه و هرکدام و هرکدام دارای یک کلاله هستند. اغلب پس از تلقیح، رشد یکی از برچه ها بر دوتای دیگر پیشی میگیرد و باعث سقط بقیه میشود. میوه های بذردار تشکیل شده دارای مراحل رشد مختلفی با نامهای حبابوک (حبه کوچک)، کیمری، خلال، رطب و تمر هستند. آخرین مرحله رسیدگی میوه خرما را تمر گویند. در این مرحله میوه مقادیر فراوانی از رطوبت خود را از دست میدهد تا آنجا که در اثر افزایش نسبت قند به آب در میوه، امکان تخمیر قندهای موجود در میوه به شدت کاهش مییابد یا کاملاً متوقف میشود. این مرحله با گذر میوه از مرحله رطب و کاهش رطوبت آن به حدود 10 - 25 درصد (بسته به رقم و شرایط اقلیمی) قابل مشاهده است. میوه در این وضعیت بسته به رقم، دارای رنگی کهربایی تا سیاه است. در این حالت بافت میوه نسبت به مرحله رطب سفتتر است و با توجه به رقم و شرایط اقلیمی در طیف وسیعی از نرم و خمیری تا بسیار خشک و سخت متغیر است. میوه خرما ارزش غذایی بالایی دارد و حاوی مقادیر قابل توجهی از کربوهیدرات، پروتئین ویتامین و اسیدهای آلی میباشد (El-Far et al., 2019). گزارشاتی در مورد استفاده از ملاتونین در افزایش برخی خصوصیات میوه هایی مانند خرما رقم برحی، توت فرنگی، گلابی و گیلاس وجود دارد. Fekry و همکاران 2022 در بررسی محلول پاشی ملاتونین بر میوه خرما رقم برحی در مصر اظهار داشتند که استفاده از ملاتونین در غلظت 50 ppm نقش موثری در برخی خصوصیات میوه مانند افزایش طول و قطر میوه، وزن خوشه و عملکرد داشته است. (Fekry et al., 2022). تاکنون تحقیقات اندکی در مورد استفاده از محلول پاشی ملاتونین بر خصوصیات میوه خرما مشاهده شده است. لذا این تحقیق به منظور ارزیابی تاثیر ملاتونین بر خصوصیات کمی میوه خرما رقم مضافتی انجام گرفته است.

### مواد و روش ها

این تحقیق در یک باغ تجاری در شهرستان رودان با مختصات جغرافیایی (57 درجه و 29 درجه شرقی و 27 درجه و 59 درجه شمالی) با 3 تیمار و 3 تکرار بر روی 9 اصله درخت خرما رقم مضافتی انجام شد. محلول پاشی در مرحله کیمری در سه نوبت با فاصله ده روز انجام شد. پس از برداشت میوه‌ها و انتقال به آزمایشگاه، برخی ویژگی‌های میوه شامل وزن میوه، وزن گوشت، وزن هسته، طول و قطر میوه اندازه‌گیری شد. این آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی انجام گرفت و تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها توسط نرم‌افزار SAS انجام شد.



شکل ۱- میوه و درخت خرما رقم مضافتی

### نتایج و بحث

بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس، تاثیر محلول پاشی ملاتونین بر وزن کلی میوه، وزن گوشت و طول و قطر میوه خرما معنی دار بوده است. همانطور که در جدول 1 نشان داده شده است. ملاتونین در غلظت 200 میکرومول در لیتر بطور معنی داری وزن میوه و وزن گوشت خرما را افزایش داد. که نسبت به شاهد و غلظت 100 ملاتونین تفاوت معنی داری نشان داد. از نظر وزن هسته تفاوت معنی داری بین تیمارها و شاهد مشاهده نشد. هر دو غلظت ملاتونین طول و قطر میوه را نسبت به شاهد بطور معنی داری افزایش دادند.

تیمار	وزن میوه	وزن گوشت	وزن هسته	قطر	طول	طول به قطر
شاهد	82c	73c	9a	19.13c	24.16b	1.28 b
ملاتونین 100	92.96b	89.66b	10.3a	23a	37a	1.6 a
ملاتونین 200	105.66a	95.5a	10.1a	23.5a	36a	1.53 a

در تحقیقات دیگر نیز گزارشات مشابهی از تاثیر مثبت ملاتونین در بهبود صفات کمی و کیفی میوه گزارش شده است. میوه گلابی اسپری شده با ملاتونین دو بار در روزهای 30 و 90 پس از شکوفه کامل دارای بیشترین وزن تک میوه و قطرهای عمودی و افقی و همچنین بالاترین مقادیر قرمز و سبز بود. گلابی‌های تیمار شده دارای مقادیر بیشتری از مواد جامد محلول،

قند محلول، ساکارز، سوربیتول، فروکتوز و گلوکز و محتوای کمتری از اسید قابل تیتراسیون، اسید مالیک و اسید سیتریک بودند (Zhao et al., 2023). تیمار ملاتونین منجر به کاهش درصد میوه های پوسیده و ترک خورده گیلاس شد و افزایش عملکرد محصول تجاری به ویژه با غلظت 0/3 میلی مولار مشاهده شد. تیمارهای ملاتونین صفات کیفیت میوه را در هنگام برداشت، از جمله وزن میوه، رنگ، سفتی، مواد جامد محلول کل، و اسیدیته قابل تیتر کردن، در تمام ارقام گیلاس مطالعه افزایش داد. میوه های درختان تیمار شده با ملاتونین نیز سطوح بالاتری از ترکیبات فعال زیستی مانند فنولیک کل و آنتوسیانین کل و منفرد را در مقایسه با گروه شاهد نشان دادند (Carrión-Antolí et al., 2022). گزارشات نشان داد که محلول پاشی خرما می برحی با ملاتونین و متیل جازمونات نقش موثری در برخی خصوصیات مانند طی نگهداری در انبار داشته است. میوه های خرما تیمار شده کمترین کاهش وزن و ارزش پوسیدگی میوه، بالاترین سفتی، محتوای کل مواد جامد محلول، محتوای قند کل و کمترین اسیدیته کل را نشان دادند. تیمار های استفاده شده همچنین بیشترین محتوای فنلی کل و فعالیت آنزیم های پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز را در میوه های ذخیره شده به ثبت رساند (Fekry et al., 2022)

### نتیجه گیری

بر اساس نتایج به دست آمده در این تحقیق، محلول پاشی ملاتونین در مرحله کیمری و تکرار آن به فاصله ده روز در سه نوبت، میتواند نقش موثری در افزایش اندازه و وزن میوه داشته باشد. ضمن اینکه اندازه بذر بطور معنی دار تحت تاثیر محلول پاشی قرار نمیگیرد. بنابراین استفاده از ملاتونین میتواند با افزایش اندازه و وزن میوه باعث افزایش ارزش اقتصادی میوه خرما شود.

### منابع

- Carrión-Antolí, A., Lorente-Mento, J.M., Valverde, J.M., Castillo, S., Valero, D., Serrano, M., 2022. Effects of Melatonin Treatment on Sweet Cherry Tree Yield and Fruit Quality. *Agronomy*. <https://doi.org/10.3390/agronomy12010003>
- El-Far, A.H., Oyinloye, B.E., Sepehrimanesh, M., Allah, M.A.G., Abu-Reidah, I., Shaheen, H.M., Razeghian-Jahromi, I., Noreldin, A.E., Al Jaouni, S.K., Mousa, S.A., 2019. Date palm (*Phoenix dactylifera*): novel findings and future directions for food and drug discovery. *Current drug discovery technologies* 16, 2–10.
- Fekry, W.M.E., Rashad, Y.M., Alaraidh, I.A., Mehany, T., 2022. Exogenous Application of Melatonin and Methyl Jasmonate as a Pre-Harvest Treatment Enhances Growth of Barhi Date Palm Trees, Prolongs Storability, and Maintains Quality of Their Fruits under Storage Conditions. *Plants*. <https://doi.org/10.3390/plants11010096>
- Zhao, L., Yan, S., Wang, Y., Xu, G., Zhao, D., 2023. Evaluation of the Effect of Preharvest Melatonin Spraying on Fruit Quality of ‘Yuluxiang’ Pear Based on Principal Component Analysis. *Foods*. <https://doi.org/10.3390/foods12183507>
- Carrión-Antolí, A., Lorente-Mento, J.M., Valverde, J.M., Castillo, S., Valero, D., Serrano, M., 2022. Effects of Melatonin Treatment on Sweet Cherry Tree Yield and Fruit Quality. *Agronomy*. <https://doi.org/10.3390/agronomy12010003>
- El-Far, A.H., Oyinloye, B.E., Sepehrimanesh, M., Allah, M.A.G., Abu-Reidah, I., Shaheen, H.M., Razeghian-Jahromi, I., Noreldin, A.E., Al Jaouni, S.K., Mousa, S.A., 2019. Date palm (*Phoenix dactylifera*): novel findings and future directions for food and drug discovery. *Current drug discovery technologies* 16, 2–10.

Fekry, W.M.E., Rashad, Y.M., Alaraidh, I.A., Mehany, T., 2022. Exogenous Application of Melatonin and Methyl Jasmonate as a Pre-Harvest Treatment Enhances Growth of Barhi Date Palm Trees, Prolongs Storability, and Maintains Quality of Their Fruits under Storage Conditions. *Plants*. <https://doi.org/10.3390/plants11010096>

Zhao, L., Yan, S., Wang, Y., Xu, G., Zhao, D., 2023. Evaluation of the Effect of Preharvest Melatonin Spraying on Fruit Quality of &lsquo;Yuluxiang&rsquo; Pear Based on Principal Component Analysis. *Foods*. <https://doi.org/10.3390/foods12183507>

## Changes of some characteristics of Mozafati date fruit under the effect of melatonin foliar spraying

Somayeh Rastegar <sup>1\*</sup> Mahbobeh Mohammadi <sup>2</sup> and Sakine mollaie <sup>3</sup>

### Abstract

Date palm is a type of tropical and sub-tropical fruit that are highly popular due to their nutritional and economic value. Researchers are constantly determined to improve the quality of date fruits. In this context, a study was conducted on Mozafati dates, a variety known for its high economic value. The research employed a randomized complete block design with three replications, and it was carried out on 11-year-old Mozafati date palm trees in a commercial orchard located in Rodan city. The study investigated the effects of foliar spraying of melatonin at three different levels: 0 (distilled water as control), 100  $\mu$ M, and 200  $\mu$ M. The results revealed that fruits treated with varying concentrations of melatonin exhibited significantly higher total weight and pulp compared to the control group. Furthermore, melatonin had a significant impact on increasing the diameter and length of the date fruit in the additional variety. However, the foliar application of melatonin did not affect the fruit seed.

**Keywords:** Melatonin, tropical, spray, palm, plant growth regulator

## بررسی اثر فرسودگی بذر (پیری تسریع شده) بر شاخص های جوانه زنی و رشد

### گیاهچه گندم

کامیار کاظمی<sup>1\*</sup>، بختیار شه گانی<sup>1</sup>، حمد اله اسکندری<sup>2</sup>

<sup>1</sup>\* نویسنده مسئول: استادیار گروه علمی کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران.

kamyar.kazemi@pnu.ac.ir

<sup>2</sup> -دانشیار گروه علمی کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

#### چکیده

به منظور بررسی اثر فرسودگی بذر بر شاخص های جوانه زنی و رشد گیاهچه ی ارقام گندم در شرایط آزمایشگاه، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در سه دمای 30، 40 و 50 درجه سانتی گراد و سه سطح 48، 72 و 96 ساعته در رطوبت 100 درصد بر روی 3 رقم برتر گندم منطقه ( کرخه، چمران و دز ) با 3 تکرار اجرا گردید. نتایج آزمایش نشان داد که تنش پیری بذر بر صفات طول و وزن خشک ریشه چه و ساقه چه تحت تاثیر رقم، دما و زمان و بر همکنش آنها اثر معنی داری را نشان داد. در کل با افزایش دما و زمان زوال بذر میزان صفات جوانه زنی و رشد گیاهچه از جمله طول و وزن خشک ساقه چه و ریشه چه ارقام گندم کاهش یافت. در بین ارقام مورد آزمایش رقم دز دارای صفات جوانه زنی و شاخص های رشد گیاهچه بالاتری نسبت به دو رقم دیگر بود که این برتری در تنش پیری بذر نیز تداوم یافت. در نتیجه بین ارقام مورد نظر در شرایط انبارداری طولانی و آب و هوای گرم و مرطوب رقم دز و کرخه به ترتیب بیشترین و کمترین کیفیت بذر و مقاومت به شرایط انبارداری را دارا بودند.

**واژگان کلیدی:** انبارداری، فرسودگی ، جوانه زنی، زوال بذر، گندم

#### مقدمه

آزمون تسریع فرسودگی یکی از مهمترین آزمون های استفاده شده برای ارزیابی پتانسیل فیزیولوژیکی گونه های مختلف بذرها و تهیه اطلاعاتی از درجه سازگاری آنها می باشد(8). اصل این روش براساس تسریع مصنوعی فرسودگی بذرها با قرار دادن آنها در سطوح دما و رطوبت نسبی بالا به عنوان برجسته ترین عوامل محیطی در رابطه با شدت و سرعت پیری می باشد(2). در این حالت بذرها کم کیفیت سریع تر از بذور با بنیه بالا زوال می یابند. عوامل بسیاری بر رفتار بذرها در آزمون فرسودگی تأثیر می گذارند. شرایط انباری متفاوت می تواند باعث ایجاد اختلاف معنی داری در جوانه زنی گیاه شود(4). برهم کنش بین دما و مدت زمان قرار گرفتن بذرها در آن شرایط یکی از جنبه هایی است که بسیار مطالعه شده است. اما جنبه دیگر که در این آزمایش ها باید بررسی شود اثر متقابل ارقام با دما و مدت زمان قرار گرفتن در شرایط زوال است. از بین عوامل متعددی که قدرت بذر را تحت تأثیر قرار می دهند فرسودگی بذر از مهمترین آنها می باشد از آنجایی که بذر مهمترین نهاده در کشاورزی بوده و بیشترین سهم را در جهت افزایش و یا کاهش عملکرد دارا می باشد و همچنین با توجه به اهمیت و جایگاه محصول گندم، جهت دستیابی آسان به حداکثر عملکرد دانه و بهره وری بیشتر لزوم استفاده از بذرها ی قوی با کیفیت عالی بیش از هر زمان احساس می گردد. لذا این آزمایش با هدف بررسی تأثیر فرسودگی بذر بر شاخص های جوانه زنی ارقام گندم طرح ریزی و اجرا گردید

#### مواد و روش ها



به منظور بررسی رابطه تنش زوال بذر (آزمون پیری تسریع شده) بر مؤلفه های جوانه زنی و رشد گیاهیچه در شرایط آزمایشگاهی، مطالعه ای روی سه رقم گندم در آزمایشگاه انجام شد. آزمون پیری بذر بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه دمای 30، 40 و 50 درجه سانتی گراد و سه دوره 48، 72 و 96 ساعته در رطوبت نسبی 100 درصد بر 3 رقم گندم (چمران، دز و کرخه) با 3 تکرار بررسی گردید (1). در هر روز تعداد بذور جوانه زده شمارش شدند. معیار بذرهاى جوانه زده خروج ریشه چه به اندازه 2 میلیمتر یا بیشتر بود (8). در آخرین روز پس از شمارش بذرهاى جوانه زده از هر پتری دیش 10 نمونه بطور تصادفی انتخاب و طول ساقه چه و ریشه چه آنها با خط کش مدرج میلی متری اندازه گیری شد. وزن خشک ساقه چه و ریشه چه پس از خشک شدن در آن بادمای 80 درجه سانتی گراد به مدت 24 ساعت با ترازوی 0/0001 گرم اندازه گیری شد. تجزیه آماری داده ها با استفاده از نرم افزار آماری MSTATC تجزیه و برای مقایسه از آزمون دانکن در سطح احتمال 5 درصد انجام گردید.

### نتایج و بحث

وزن خشک ریشه چه و ساقه چه به عنوان شاخص های مهمی جهت ارزیابی کیفیت بذر معرفی می شوند. نتایج حاصل از تجزیه واریانس این آزمون نشان داده که برهم کنش دما و مدت زمان اعمال آن در ارقام مختلف بر وزن خشک ریشه چه و ساقه چه اثر معنی داری در سطح یک درصد داشت (جدول 1). با افزایش دمای زوال، وزن خشک ساقه چه و ریشه چه کاهش معنی داری نشان داد. به طوری که بیشترین وزن خشک ساقه چه و ریشه چه در رقم دز در دمای 30 درجه سانتی گراد به مدت 48 ساعت بود (جدول 1). در این حالت وزن خشک ساقه چه بیشتر از ریشه چه، تحت تاثیر قرار گرفت، که بیانگر این است که در زمان زوال، با کاهش بینه بذر، گیاهیچه برای بقا خود ابتدا رشد ریشه چه را در اولویت قرار داده و سپس مواد را به سمت ساقه چه هدایت می کند در نتیجه اثر زوال بذر بر رشد و وزن ساقه چه زودتر و بیشتر می باشد. کمترین وزن خشک ریشه چه و ساقه چه در رقم کرخه در دمای 50 درجه سانتی گراد به مدت 96 ساعت مشاهده شد (جدول 1). کاهش وزن خشک گیاهیچه می تواند به دلیل کاهش میزان پویایی ذخایر بذرها یا کاهش کارایی تبدیل ذخایر پویا شده باشد (7).

جدول 1 - تجزیه واریانس صفات جوانه زنی ارقام گندم تحت آزمون فرسودگی بذر در دماها و زمان های مختلف

میانگین مربعات				درجه آزادی	منابع تغییرات
وزن خشک ساقه چه	وزن خشک ریشه چه	طول ساقه چه	طول ریشه چه		
18/56**	5/35**	8/48**	6/96**	2	رقم
120/13**	7/30**	46/61**	40/35**	2	دما
430/45**	21/53**	60/14**	75/46**	2	زمان
6/68**	0/080**	0/712**	0/344 <sup>ns</sup>	4	رقم × دما
9/10**	0/065**	1/07**	1/125**	4	رقم × زمان
42/12**	0/94**	6/21**	4/061**	4	دما × زمان
1/68**	0/35**	0/432**	1/78**	8	رقم × دما × زمان
0/87	0/11	0/172	0/377	54	خطا
5/88	12/1	5/88	9/191		ضریب تغییرات (درصد)

طول ریشه چه و ساقه چه از مهمترین صفات تعیین کننده کیفیت بذور می باشد که تحت تأثیر ژنوتیپ و شرایط محیطی قرار می گیرد. نتایج حاصل از تجزیه واریانس صفات نشان داد که اثرات اصلی رقم، دما و مدت زمان زوال بذرها همچنین برهمکنش اثرات متقابل و سه جانبه رقم، دما و مدت زمان زوال بذر بر طول ریشه چه و ساقه چه تفاوت معنی داری در سطح یک درصد داشتند، در حالی که بر همکنش رقم و دما بر طول ریشه چه معنی دار نشد (جدول 1).

مقایسه میانگین طول ریشه چه و ساقه چه گندم نشان داد که، با افزایش دما از 30 به 50 درجه سانتی گراد و مدت زمان زوال از 48 به 98 ساعت طول ریشه چه و ساقه چه کاهش معنی داری را نشان داد. رقم دز در بین ارقام گندم مورد بررسی بالاترین طول ریشه چه و ساقه چه رادار بود (جدول 4 و 5). کمترین طول ریشه چه و ساقه چه نیز در رقم دز مشاهده شد هرچند که با سایر ارقام تفاوت معنی داری نداشت (جدول 1).

مرتضوی و همکاران (2005) نشان دادند که با افزایش فرسودگی طول ریشه چه و ساقه چه کاهش یافت (5). ماکادو و همکاران (2001) کاهش طول ریشه چه و ساقه چه را در اثر فرسودگی گزارش نمودند و همچنین به نظر می رسد از علل کاهش طول ریشه چه و ساقه چه در اثر فرسودگی کاهش کیفیت مواد ذخیره ای در طی فرسودگی باشد (3).

### نتیجه گیری کلی

با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش، بذرها که دارای بنیه قوی بودند کمتر تحت تأثیر پیری تسریع شد قرار گرفتند. در نتیجه هر چه بنیه بذر ضعیف تر باشد، جوانه زنی بذرها نسبت به این تنش ها حساس تر می باشد. با انجام این آزمون مشخص شد که در بین ارقام مورد آزمایش رقم دز از لحاظ صفات آزمایشگاهی نسبت به سایر ارقام برتری از خود نشان داد که از کیفیت بالای بذر آن می باشد. در نتیجه یافته های این تحقیق در مناطق یا انبارهایی که فاقد امکانات مناسب انبارداری بذر با دمای بالاتر از 40 درجه برای مدت زمان های بیش از 72 ساعت و رطوبت اشباع محیط نشان داد که فرسودگی بذر باعث کاهش کیفیت بذر می شود و نتایج فوق نشان دهنده اهمیت نگهداری و انبارداری بذر در شرایط مناسب است.

### منابع

- 1- ربیعی، ب. و بیات، م. (1388). بررسی شاخ صهای جوانه زنی بذر و رشد گیاهیچه ارقام کلزا با استفاده از آزمون های بنیه بذر. مجله علوم گیاهان زراعی ایران، دوره 40(2): 93-104.
- 2- McDonald M.B. (1999). Seed deterioration: physiology, repair and assessment. *Seed Science and Technology* 27: 177 – 237.
- 3-Machado Neto, N. B., Custodio. C. C. and Takaki, M. 2001. Evaluation of naturally and artificially aged seeds of *Phaseolus vulgaris* L. *Seed Sci. Technol.* 29: 137- 149.
- 4- Marshal, A.H., and Lewis, D.N. (2004). Influence of seed storage conditions on seedling emergence, seedling growth and dry matter production of temperate forage grasses. *Seed Science and Technology* 32: 493-501.
- 5- Mortazavi, S. S. M., Pasban Eslam, B., Tajbaksh, M. and Zardashti, M. 2005. Effect of seed deterioration and salinity stress on seedling vigor of chickpea (*Cicer arietinum*) in laboratory and greenhouse conditions.
- 6- Soltani, A., Galeshi, S., Zeinali, E., and Latifi, N. (2001). Genetic variation for and interrelationships among seed vigor traits in wheat from the Caspian Sea coasts of Iran. *Seed Science and Technology* 29: 653-662.
- 7-Soltani, E., Kamkar, B., Galeshi, S. and Akram Ghaderi, F. 2008. The effect of seed deterioration on seed reserves depletion and heterotrophic seedling growth of wheat. *J. Agric. Sci. Natur. Resour.*, Vol. 15 . Apr- May.
- 8- Tekrony, D.M. (1995). Accelerated aging. In: Van de venter, H.A. (Ed.) *Seed vigor testing seminar*. Copenhagen: ISTA. pp. 53 – 72.

## Effect of seed deterioration (accelerated aging) on germination and seedling growth traits of three wheat cultivars

Kamyar Kazemi<sup>1</sup>, Bakhtiar Lalehgani<sup>1</sup>, Hamdollah Eskandari<sup>2</sup>

kamyar.kazemi@pnu.ac.ir

1. Assistant Professor, Department of Agriculture, Payame Noor University, Tehran, Iran.
2. Associate Professor, Department of Agriculture, Payame Noor University, Tehran, Iran.

### Abstract

In order to investigate the effect of seed wear on germination and seedling growth of wheat cultivars in laboratory conditions, a factorial experiment was conducted in the form of a completely randomized design at three temperatures of 30, 40 and 50 degrees Celsius and three levels of 48, 72 and 96 hours in 100% humidity was performed on the top 3 wheat varieties of the region (Karkheh, Chamran and Dez) with 3 repetitions. The test results showed that seed aging stress had a significant effect on length and dry weight traits of both root and stem under the influence of variety, temperature and time and on their interaction. In general, with increasing temperature and time of seed deterioration, the amount of germination and seedling growth traits, including the length and dry weight of both stem and root, of wheat cultivars decreased. Among the tested cultivars, Dez cultivar had higher germination traits and seedling growth indices than the other two cultivars, and this superiority continued in the seed aging stress. As a result, among the desired cultivars, in long storage conditions and hot and humid weather, Dez and Karkheh cultivars had the highest and lowest seed quality and resistance to storage conditions, respectively.

**Keywords:** storage, exhaustion, germination, seed deterioration, wheat

## بررسی بهبود بخشی تحمل سرما در گیاه پسته با استفاده از هورمون متیل جاسمونات

سید جلال پورباقری<sup>1</sup>

<sup>1</sup> دانشجوی دکتری، پژوهشکده امام محمد باقر (ع) رفسنجان

محمد زینلی پور<sup>2\*</sup>

<sup>2\*</sup> نویسنده مسئول: دکتری زیست شناسی، استادیار گروه آموزش زیست شناسی، دانشگاه فرهنگیان، کرمان

mazeinalipor@yahoo.com

### چکیده

سرمازدگی یکی از عوامل محدودکننده ی تولید پسته است که سالانه خسارات قابل توجهی را به این محصول استراتژیک وارد می سازد. متیل جاسمونات (MJ) یک تنظیم کننده مهم رشد گیاهی است که نقش کلیدی در تحمل تنش های زیستی و غیر زنده ایفا می کند. این پژوهش به هدف بررسی تاثیر هورمون متیل جاسمونات بر روی گیاه پسته جهت افزایش مقاومت آن در مقابل سرمازدگی طراحی و اجرا گردید. محلول پاشی هورمون متیل جاسمونات در غلظت های متفاوت بر حسب میلی مولار در دو مرحله روی دانهال های پسته انجام شد. پس از قرار دادن دانهال ها تحت تنش سرمایی، نمونه هایی از برگ و ساقه ی دانهال ها جدا و درصد نشت یونی آنها، اندازه گیری و محاسبه گردید. در هر یک از نمونه های برگ و ساقه، همه ی غلظت های استفاده شده متیل جاسمونات باعث کاهش تاثیرات سرمازدگی نسبت به نمونه شاهد شدند. بر اساس نتایج این تحقیق محلول پاشی با غلظت های پایین هورمون متیل جاسمونات می تواند با افزایش غلظت تنظیم کننده های اسمزی و سایر متابولیت های ثانویه نقش مهمی را در افزایش مقاومت درختان پسته در مقابل سرمازدگی ایفا کند. نتایج این تحقیق می تواند به صورت کاربردی با صرفه اقتصادی بالا در زمینه مقاومت در برابر سرمازدگی درختان پسته مورد استفاده قرار گیرد.

**واژگان کلیدی:** دانهال پسته، سرمازدگی، متیل جاسمونات، نشت یونی

### مقدمه

هر چند محصول پسته<sup>121</sup> با اختصاص بیش از 23% ارزش کل صادرات غیرنفتی به خود، به عنوان یکی از محصولات استراتژیک کشور ایران، از ارزش اقتصادی بالایی برخوردار است، اما هر ساله سرمازدگی بویژه در استان کرمان خساراتی قابل

<sup>121</sup> Pistacia vera

توجه را به آن وارد می کند (2). به عنوان نمونه خسارت های حاصل از سرمازدگی در سال 1384 معادل 523 میلیارد تومان تنها در بخش زراعت پسته بوده است (5). مطالعات کمیته ی علمی- فنی موسسه ی تحقیقات پسته ایران (9) نشان می دهد که نوسانات درآمدی پسته کاران ایران بالا و غیرقابل پیش بینی است. از مجموع کل نوسانات پسته کاران، 82% آن مربوط به تغییرات تولید است که می توان بخش اعظم آن را به علت وقوع حوادث غیرمترقبه ای همچون سرمازدگی دانست. این مهم ریسک درآمدی کشاورزان را به شدت افزایش می دهد. نیز بررسی آمار صندوق بیمه محصولات کشاورزی نشان می دهد که بخش عمده ای از خسارت پرداختی به پسته کاران، مرتبط با سرما زدگی است. بنابراین استفاده ی به موقع و مناسب از روش های پیشگیرانه بویژه در زمان کاهش دما در اوایل بهار و مخصوصا در حفاصل 18 تا 26 فروردین که گاهی خسارت های قابل توجهی را وارد می سازد، ضرورت دارد (1، 4).

یکی از مهم ترین اثرات سرما، تاثیر آن بر روی ساختار و نفوذپذیری غشای سلولی و افزایش خروج یون ها از سلول می باشد. بنابراین اندازه گیری درصد نشت یون ها می تواند شاخصی برای اندازه گیری میزان خسارت سرمازدگی وارده به گیاه پسته باشد (6). متیل جاسمونات (MJ) یک تنظیم کننده مهم رشد گیاهی است که نقش کلیدی در تحمل تنش های زیستی و غیر زنده ایفا می کند. هورمون متیل جاسمونات را به عنوان الیستور<sup>122</sup> غیرزیستی تحریک کننده ی سنتز ترکیبات فنولی و سایر متابولیت های ثانویه در گیاهان از طریق بیان ژن های PAL و CHS و سایر ژن های درگیر در ساخت ترکیبات فنولی معرفی می کنند (17). ترکیباتی مانند ترکیبات فنلی می توانند علاوه بر تنظیم اسمزی باعث افزایش قدرت دفاع آنتی اکسیدانی شده و در القای مقاومت به سرمازدگی درختان پسته موثر باشند. این ترکیبات که توسط آنزیم های مختلفی از جمله فنیل آلانین آمونیالیز (PAL<sup>123</sup>) و چالکون سنتاز (CHS<sup>124</sup>) در درختان پسته نیز سنتز می شوند، در مجموع می توانند نقش مثبتی را در مقاوم سازی گیاه در برابر اکثریت تنش ها از جمله تنش های سرمای داشته باشند (10، 15). بر اساس گزارش سایر محققان (17)، تغییرات سطح ترکیبات فنولی، موجب افزایش چسبندگی غشای سلولی به دیواره ی سلولی گیاه و نتیجتا بهبود بخشی مقاومت گیاه در برابر تنش ها می شود.

بر پایه این گزارشات، این تحقیق در جهت بررسی تاثیر احتمالی محلول پاشی غلظت های پایین متیل جاسمونات بر روی دانهال های پسته به هدف القاء مقاومت در برابر سرمازدگی، با طرح این فرضیه که متیل جاسمونات می تواند باعث کاهش درصد نشت یونها در گیاه پسته رقم UCB-1<sup>125</sup> شود، طرح ریزی و انجام گردید.

### مواد و روش ها

در این آزمایش از 12 عدد دانهال UCB-1 در 4 گروه غلظتی متفاوت متیل جاسمونات شامل (0، 0/1، 0/5 و 1 میلی مولار) همراه با دو بار و با فاصله ی زمانی 48 ساعت محلول پاشی بر روی آنها استفاده شد دانهال ها بعد از 72 ساعت، در اتاق انجماد تحت دمای -6 درجه و سپس خارج و در دمای 25 درجه سانتی گراد قرار گرفتند. 24 ساعت بعد نمونه های 0/3 گرمی از برگ و

<sup>122</sup> Elicitor

<sup>123</sup> Phenylalanine ammonia lyase

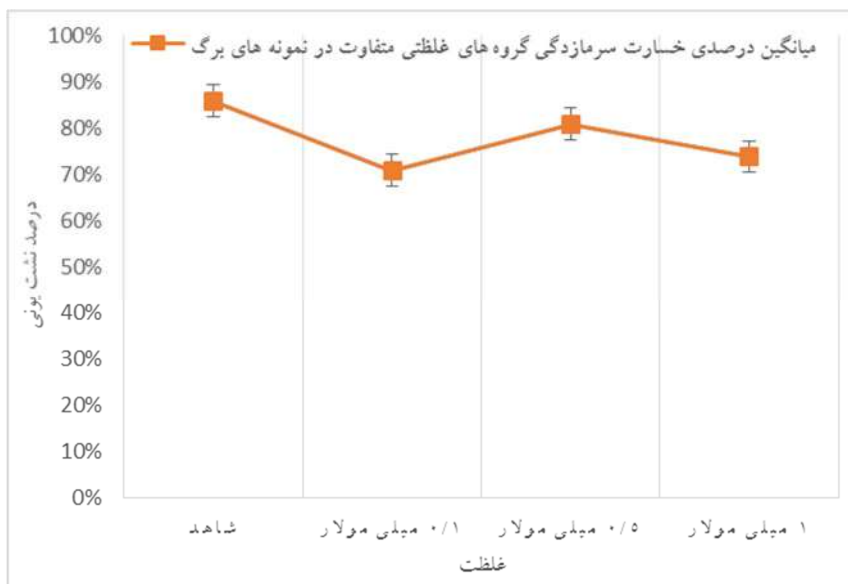
<sup>124</sup> Chalcone synthase

<sup>125</sup> Hybrid Pistachio-University of California Berkeley

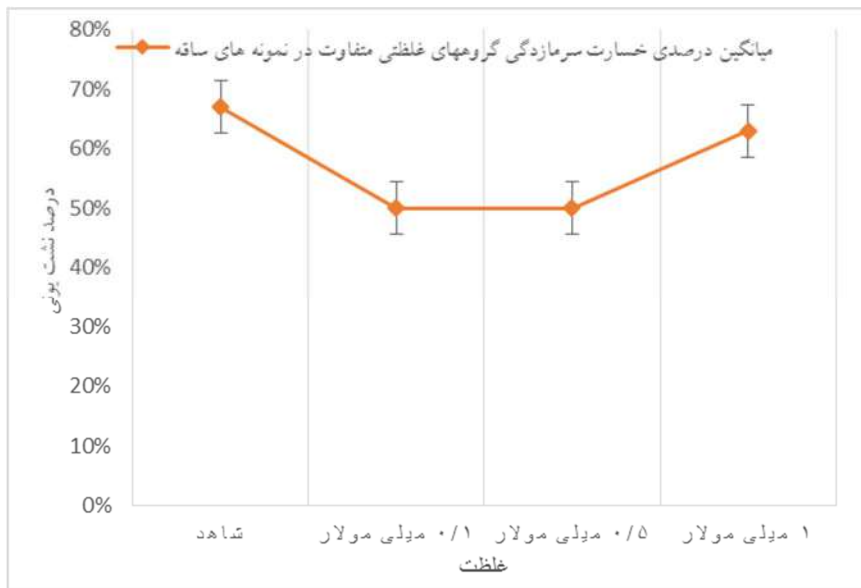
ساقه جدا و در لوله های آزمایش حاوی آب به مدت 10 دقیقه شیکر شدند. 24 ساعت بعد میزان EC اولیه محلول ها اندازه گیری (6) و سپس در دمای 121 درجه سانتی گراد به مدت 20 دقیقه اتوکلاو و مجدداً میزان EC ثبت شد. از فرمول  $EC = (EC_1 / EC_2) \times 100$  جهت محاسبه درصد نشت یونی استفاده گردید (14).

### نتایج

پس از اندازه گیری EC اولیه و نهایی نمونه های برگ و ساقه، و محاسبه درصد نشت یونی نمونه ها، میانگین درصدی نشت یونی (خسارت سرمازدگی) گروه های غلظتی های متفاوت متیل جاسمونات در نمونه های برگ و ساقه به صورت جداگانه محاسبه شد. درصد نشت یونی به عنوان معیار از تاثیر پذیری از خسارت سرمازدگی در ارتباط با غلظت های متفاوت بکار رفته از متیل جاسمونات بترتیب برای برگ ( نمودار 1) و ساقه ( نمودار 2) دانهال ها ترسیم شده اند.



نمودار 1. میانگین درصد خسارت سرمازدگی در گروه های غلظتی متفاوت متیل جاسمونات در نمونه های برگ



نمودار 2. میانگین درصد خسارت سرمازدگی در گروه های غلظتی متفاوت متیل جاسمونات در نمونه های ساقه

### بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه افزایش مقاومت گیاه پسته به سرمازدگی در غلظت های متفاوت متیل جاسمونات به مانند سایر مطالعات از جمله محلول پاشی غلظت 100 میکرومولار متیل جاسمونات بر روی برگ دانهال های خیارسبز (12)، محلول پاشی غلظت 1/5 میلی مولار متیل جاسمونات بر مقاومت گیاه موز در برابر قارچ فیوزاریوم<sup>126</sup> (11)، مقابله با سرمازدگی دانهال های پسته با استفاده از محلول پاشی غلظت های 0/5، 1 و 2 مولار اسید سالیسیلیک با نتیجه بهترین غلظت موثر 2 مولار (3) هم دیده می شود. مطالعه دیگر (8)، نشان می دهد محلول پاشی متیل جاسمونات در همه ی غلظت ها موجب افزایش سطح ترکیبات فنولی در گیاه سویا شده، اما در غلظت های بالای این هورمون افزایش تنش اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدها و کاهش رشد گیاه نتیجه می شود. در صورتی که غلظت های پایین مثل غلظت 10 میکرومول متیل جاسمونات باعث افزایش دفاع آنتی اکسیدانی و بهبود پارامترهای رشد می شوند. همچنین تاثیر مثبت غلظت های پایین متیل جاسمونات در القاء مقاومت به سرمازدگی پس از برداشت در میوه هایی مثل انار، هلو و فلفل نیز ثابت شده است (7، 13، 16). در این تحقیق همه ی گروه های غلظتی هورمون متیل جاسمونات باعث کاهش خسارت سرمازدگی (نشت یونی) در هردو نمونه برگ و ساقه شدند. اما غلظت 0/1 میلی مولار در مجموع توانست عملکرد بهتری نسبت به غلظت های بالاتر از خود داشته باشد که این نتیجه در هماهنگی با یافته محققین دیگر (8) نشان می دهد هورمون متیل جاسمونات در غلظت های پایین تاثیر بهتری بر فعالیت های متابولیکی و سیستم دفاع آنتی اکسیدانی دانهال های پسته می گذارد. نتیجتاً غلظت 0/1 میلی مولار به عنوان غلظت پیشنهادی معرفی می شود زیرا هم نسبت به بقیه ی غلظت ها صرفه ی اقتصادی دارد و هم عملکرد بهتری از خود نشان داده است. غلظت پیشنهاد شده ی متیل جاسمونات نسبت به سایر اقدامات پیشنهادی برای کاهش خسارت سرمازدگی به صرفه تر است و به راحتی قابلیت اجرای عملی در باغات پسته را دارد. بهتر

<sup>126</sup> *Fusarium oxysporum*

است که کار محلول پاشی متیل جاسمونات با هماهنگی سازمان هواشناسی قبل از آغاز محدوده ی زمانی سرمازدگی بر روی باغات انجام شود. این پژوهش می تواند باعث اثبات کارآمدی محلول پاشی یکی از انواع هورمون های گیاهی بر افزایش مقاومت گیاه در برابر تنش غیرزیستی سرما شود که به علت اجرای عملی آسان و سریع و نسبتا کم هزینه و همچنین کارآمدی لازم، می تواند جایگزین سایر روش های پرهزینه و دشوار و گاها نامعقول گردد.

## تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از مدیریت، اساتید و کارشناسان محترم موسسه تحقیقات پسته ایران و نیز پژوهشگرده امام محمد باقر رفسنجان که یاریگر انجام این پروژه بودند کمال سپاس و امتنان را دارند.

## منابع

- افشاری، ح.، حکم آبادی، ح.، عبادی، ع.، عرب، ح. و قربانیان، ع. (1386). بررسی مقاومت به سرمای بهاره ی برخی ارقام تجاری پسته ی منطقه ی دامغان. فصلنامه ی علمی پژوهشی گیاه و زیست بوم، زمستان، دامغان، ایران: 60-76.
1. امیدوار، ک.، دهقان بنادکی، ز. (1391). بررسی و تحلیل پدیده ی سرمازدگی شدید بهاره باغهای پسته در استان یزد. مجله ی جغرافیا و توسعه ی ناحیه ای، شماره ی نوزدهم، پاییز و زمستان 1391: 237-253.
  2. سجادیان، ح. (1390). بررسی اثرسالیسیلیک اسید بر مقاومت به سرما دانهال های پسته رقم بادامی ریز با استفاده از نشت یونی. مجموعه مقالات هفتمین کنگره ی علوم باغبانی ایران: 132-134.
  3. جوانشاه، ا.، ارزانی، ک.، دهقانی، ی. و کاپلینی، پ. (1379). تاخیراندازی گلدهی پسته به منظورمقابله با سرمازدگی بهاره. پژوهش و سازندگی 4: 18-21.
  4. جهانگیری، ز.، کمالی، غ.، نوحی، ک. و احمدی، م (1384). تاثیرات سرمازدگی بر محصول پسته و راهکارهای مقابله با آن (استان کرمان). مجموعه مقالات همایش علمی - کاربردی مقابله با سرمازدگی: 311-316.
  5. حکم آبادی، ح. و درگاهی، ر. (1390). بررسی مقاومت به سرما در سه رقم تجاری پسته ی ایران از طریق پارامترهای نشت یونی. هفتمین کنگره ی علوم باغبانی ایران. شهریور 1390. ایران: 2036-2040.
  6. رنجبر، ح.، ذوالفقاری نسب، ر.، و سرخوش، ع. (1386). تاثیرمتیل جاسمونات درالقاء مقاومت به سرمازدگی میوه ی انار رقم ملس ترش ساوه. فصلنامه ی زراعت و باغبانی شماره 75. تابستان، ایران: 43-49.
  7. کرامت، ب. و دانشمند، ف. (1391). نقش دوگانه ی متیل جاسمونات بر عملکرد های فیزیولوژیک در گیاه سویا. فرآیند و کارکرد گیاهی: 26-37.
  8. کمیته ی علمی - فنی موسسه ی تحقیقات پسته ی کشور. (1385). چکیده ی طرح بررسی اقتصادی امکان استفاده از ابزارهای مقابله با سرمازدگی در باغات پسته ایران. سایت موسسه ی تحقیقات پسته ی کشور: [WWW. Pri.ir](http://WWW.Pri.ir)
  9. نادرزاد، ن.، احمدی مقدم، ع.، حسینی فرد، س.، پورسیدی، ش. (1391). مطالعه ی اثر پایه و رقم در فعالیت آنزیم PAL، تولید ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در گل، برگ و میوه ی گیاه پسته (*Pistacia vera L*). زیست شناسی گیاهی، سال پنجم، شماره پانزدهم، بهار 1392، صفحه 95-110.
  10. Dequan Sun, c, Xinhua Lua, Yulin Hua, Weiming Li a, Keqian Honga, Yiwei Mob, David M. Cahill c, Jianghui Xiea,\* (2013). Methyl jasmonate induced defense responses increase resistance to Fusarium oxysporum f. sp. cubense race 4 in banana. Scientia Horticulturae 164 (2013) 484-491.



11. Dong-Mei Li, Yan-Kui Guo, Qian Li, Jing Zhang, Xiu-Juan Wang, Ji-Gang Bai\* (2012). The pretreatment of cucumber with methyl jasmonate regulates antioxidant enzyme activities and protects chloroplast and mitochondrial ultrastructure in chilling-stressed leaves *Scientia Horticulturae* 143 (2012) 135–143.
12. Jin ,P., Zheng ,Y.,Tang ,S., Rui,H., Wang ,CY.(2009).A combination of hot air and methyl jasmonate vapor treatment alleviates chilling injury of peach fruit. *Postharvest Biology and Technology*:24-29
13. Lutts, S., Kinet, J.M. and Bouharmont, J. (1996). NaCl-induced senescence in leaves of rice (*oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Journal of Annual Botany*. 78: 389-398.
14. Pocięcha , E., Pazek , A.,Janowiak, F. , Zwierzykowski, Z.(2009).ABA level, proline and phenolic concentration, and PAL activity induced during cold acclimation in androgenic *Festulolium* forms with contrasting resistance to frost and pink snow mould (*Microdochiumnivale*). *Physiological and Molecular Plant Pathology*:126-132
15. Raymond, W.M., Y. Wang., D.L. Smith., K.C. Gross and M.Tian. 2004; MeSA and MeJA increase steady-state transcript levels of alternative oxidase and resistance against chilling injury in sweetpeppers(*Capsicumannuum*L.)*Plant Science* 166: 711–719
16. Solecka, D.(1997). Role of phenylpropanoid compounds in plant responses to different stressfactors .*ACTA Physiologiae Plantarum*:257-268

## Study the improvement of cold tolerance in *Pistachio vera* using Methyl Jasmonate hormone

Seyed Jalal Pourbagheri<sup>1</sup>

Imam Muhammad Baqir Research Institute

Mohammad Zeinalipour<sup>2\*</sup>

\*Corresponding Author: Assistance professor, Department of Biological Education, Farhangian University, Kerman

Email: [mazeinalipor@yahoo.com](mailto:mazeinalipor@yahoo.com)

### Abstract

Frost is one of the limiting factors of pistachio production, which causes significant damage to this strategic product every year. Methyl jasmonate (MJ) is an important plant growth regulator that plays a key role in tolerance to biotic and abiotic stresses This research was designed and implemented to investigate the effect of Methyl jasmonate hormone on the pistachio plant to increase its resistance to frost. Foliar spraying of Methyl jasmonate hormone in different concentrations in terms of millimolar was done in two stages on pistachio seedlings. After placing the plants under cold stress, samples were separated from the leaves and stems of plants and their ion leakage percentage was measured and calculated. In each of the leaf and stem samples, all the concentrations of Methyl jasmonate used reduced the effects of freezing compared to the control sample. Based on the results of this research, foliar spraying with low concentrations of the hormone Methyl Jasmonate can play an important role in increasing the resistance of pistachio trees against frost by increasing the concentration of osmotic regulators and other secondary metabolites. The results of this research can be used in a practical way with high economic efficiency in the field of frost resistance of pistachio trees.

**Keywords:** Pistachio seedling, frostbite, Methyl Jasmonate, ion leakage

## تنوع مرفوفیزیولوژیک در جمعیت‌های $F_2$ حاصل از تلاقی گلرنگ‌های داخلی و خارجی در رژیم‌های مختلف آبیاری

مهسا حسینی فرد<sup>1</sup>، محمد مهدی مجیدی<sup>2</sup>، قدرت الله سعیدی<sup>2</sup> و مجید محمدی<sup>3</sup>

1- دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک و به‌نژادی گیاهی، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، آدرس پست

الکترونیک: hoseynifard\_ma@yahoo.com

2- اساتید ژنتیک و به‌نژادی، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

3- پژوهشگر موسسه تحقیقات کشاورزی دیم-کرمانشاه

### چکیده

گیاه دانه روغنی و دارویی گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L) یکی از گیاهان بومی کشور است که بدلیل کیفیت روغن و تحمل به تنش‌های غیرزیستی در شرایط تغییر اقلیم مورد توجه قرار گرفته است. اطلاع از تنوع و یا شباهت ژنتیکی جمعیت‌ها و افراد درون آنها، جهت استفاده مؤثر از منابع ژنتیکی در مطالعات اصلاحی حائز اهمیت می‌باشد. بر همین اساس گسترش منابع ژرم پلاسما از طریق تلاقی بین ژنوتیپ‌ها کمک زیادی به افزایش راندمان برنامه‌های به‌نژادی گلرنگ خواهدکرد. در این مطالعه 64 ژنوتیپ که

شامل 10 ژنوتیپ والدی و 45 ژنوتیپ به‌عنوان جمعیت  $F_2$  حاصل از تلاقی دای آل آن‌ها و 9 ژنوتیپ منتخب جهانی به‌عنوان شاهد در 2 محیط خشکی (90% تخلیه رطوبتی) و نرمال (50% تخلیه رطوبتی) بررسی شدند. نتایج این مطالعه نشان داد بین ژنوتیپ‌ها تنوع ژنتیکی خوبی وجود دارد. عملکرد دانه در هر دو محیط تنش و نرمال با محتوی نسبی آب برگ همبستگی مثبت و معنی‌داری داشت و این ارتباط در محیط نرمال بیشتر بود. ژنوتیپ G51 و تلاقی 67×71 دارای عملکرد دانه بالاتری بودند. ژنوتیپ G67 که ژنوتیپ والدی دیگر بود و محتوی نسبی آب برگ پایینی داشت در تلاقی با G71 و G86 ترکیب‌پذیری خوبی داشت و در نتیجه فامیل های 67×71 و 67×86 را می‌توان به‌عنوان جمعیت‌های مطلوب جهت انتخاب لاین‌های مناسب پیشنهاد نمود.

واژگان کلیدی: به‌نژادی، گلرنگ، تنش خشکی، جمعیت  $F_2$ ، محتوی نسبی آب برگ، عملکرد

#### مقدمه

گیاه دانه روغنی و دارویی گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L) یکی از گیاهان بومی کشور است که بدلیل کیفیت روغن و تحمل به تنش‌های غیرزیستی در شرایط تغییر اقلیم مورد توجه قرار گرفته است. انتخاب والدین، تلاقی و ایجاد ترکیبات ژنتیکی جدید از مهم‌ترین نکات در ایجاد ارقام اصلاح شده است که از نظر عملکرد و خصوصیات کیفی در به‌نژادی ترکیبی بسیار حایز اهمیت است. هدف اصلاح‌کنندگان تولید جمعیت‌های حاوی ژن‌ها و کمپلکس‌های ژنی مورد نظر برای انتخاب ژنوتیپ‌های مناسب است (2). همچنین تنش خشکی یکی از تنش‌های چند بُعدی است که منجر به تغییرات مورفولوژیک، فیزیولوژیک، بیوشیمیایی و مولکولی در گیاهان می‌شود و تأثیر منفی بر رشد و تولید آن‌ها دارد و در نهایت منجر به کاهش عملکرد نهایی می‌شود (3). مطالعه‌ای توسط ملکی‌نژاد و مجیدی (1394) به‌منظور ارزیابی تحمل خشکی در ژنوتیپ‌های گلرنگ زراعی (*Carthamus tinctorius* L)، در سال 1391 انجام گرفت و نتایج آن نشان داد که از لحاظ عملکرد دانه در هر دو رژیم رطوبتی بین ژنوتیپ‌ها تفاوت‌های معنی‌داری وجود داشت (1). هم‌چنین گلکار و همکاران (2017)، 36 ژنوتیپ که شامل 28 تا نتاج  $F_2$  از تلاقی نیمه دای آل و 8 والدی بودند را برای شناسایی تأثیر محیط بر توانایی ترکیب‌پذیری و عملکرد صفات مورد بررسی قرار دادند که نتایج آنها حاکی از معنی‌داری این دو پارامتر بود که نشان می‌دهد که برای بهبود عملکرد دانه نیاز به روش‌های اصلاحی مبتنی بر هیبریداسیون و انتخاب برای این صفت در گلرنگ دارد (4). اگر چه گلرنگ در ایران از پراکنش بالایی برخوردار است، ولی مراکز تنوع و پراکنش متعددی در دنیا نظیر هند، چین، آفریقا و اروپا برای آن گزارش شده است. مطالعات قبلی نشان داده است که در ژرم‌پلاسما داخلی کشور برای برخی صفات مانند پاکوتاهی، زودرسی و تحمل به خشکی تنوع ژنتیکی کافی وجود ندارد و لذا استفاده از هیبریداسیون بین ارقام داخلی با خارجی ممکن است بتواند در این زمینه راه‌گشا باشد.

#### مواد و روش‌ها

در این مطالعه 45 جمعیت  $F_2$  حاصل از تلاقی نیمه دای آل 10×10 به همراه 10 والد آنها و 9 رقم شاهد جمعاً تعداد 64 ژنوتیپ در قالب یک طرح لاتیس 8×8 ساده با دو تکرار و در دو محیط بدون تنش و دارای تنش در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان واقع در لورک نجف آباد ارزیابی شد. والدین تلاقی قبلاً از بین 100 ژنوتیپ داخلی و خارجی گلرنگ انتخاب شده اند که شامل ژنوتیپ‌های 86، 23، 71، 40، 96، 32، 54، 74، 9 و 67 هستند (5). والدین از کشورهای مختلف جهان و بر اساس شاخص انتخاب اسمیت و هیزل برای صفات مهم زراعی (عملکرد دانه، عملکرد روغن، تعداد غوزه در بوته، تعداد دانه

در غوزه، وزن هزار دانه، محتوای روغن دانه، زمان رسیدگی و ارتفاع) که در دو سال زراعی 1389 و 1390 مورد ارزیابی قرار گرفته بودند، انتخاب شدند. در ادامه تلاقی بین آنها انجام شد و نسل اول توسط ابراهیمی و همکاران (2016) ارزیابی و پس از خودگشن شدن نتاج نسل دوم حاصل شد که مواد ژنتیکی این مطالعه را تشکیل می دهد. زمان اعمال تنش خشکی قبل از تکمه دهی بود و تا قبل از آن آبیاری به طور یکسان برای همه تیمارها به صورت قطره ای انجام شد (5). آبیاری تیمار نرمال در زمان 50 درصد تخلیه رطوبتی از حد زراعی مزرعه (MAD=50%) و آبیاری تیمار تنش خشکی در زمان 90 درصد تخلیه رطوبتی از حد زراعی مزرعه (MAD=90%) انجام گرفت. در طول فصل زراعی و بعد از برداشت، صفات محتوی نسبی آب برگ، تعداد غوزه در هر بوته و عملکرد دانه اندازه گیری شدند. پس از اطمینان از نرمال بودن داده ها، تجزیه واریانس صفات مورد بررسی انجام شد و سپس تجزیه به مولفه های اصلی برای بررسی ارتباط بین صفات و گزینش ژنوتیپ های متحمل به خشکی انجام شد و برای آنالیز داده ها از نرم افزارهای SAS 9.04 و XLSTAT استفاده شد.

### نتایج و بحث

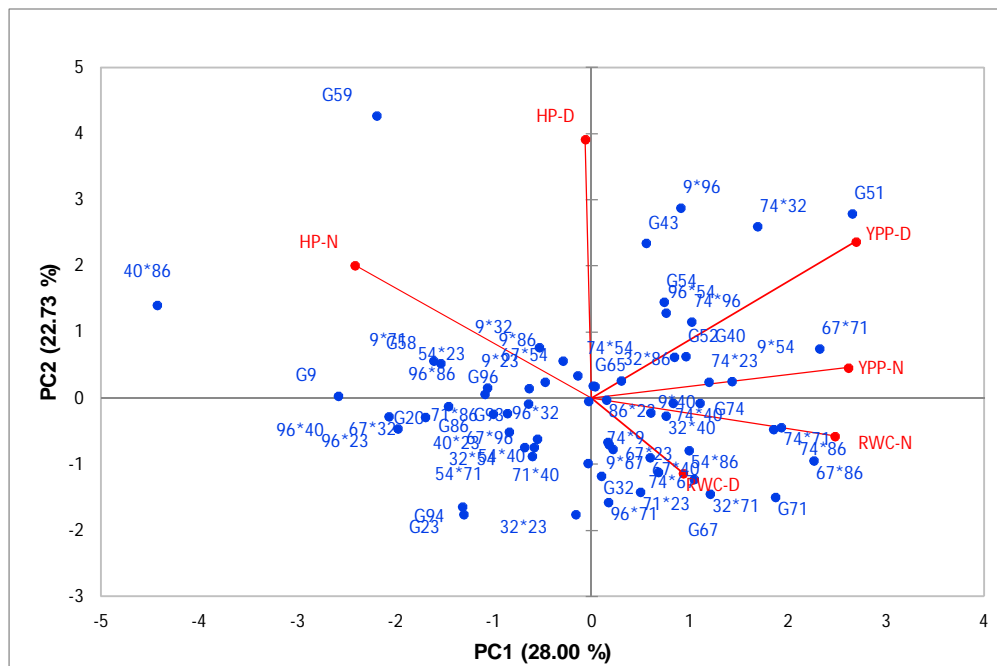
نتایج جدول تجزیه واریانس حاکی از معنی داری اثر ژنوتیپ برای هر سه صفت عملکرد، تعداد غوزه در بوته و محتوی نسبی آب برگ (RWC) بود که نشان دهنده وجود تنوع ژنتیکی بالا در بین ژنوتیپ ها و موثر بودن انتخاب در برنامه های اصلاحی می باشد. همچنین معنی دار بودن اثر متقابل ژنوتیپ و محیط برای صفت محتوی نسبی آب برگ نشان دهنده این است که واکنش ژنوتیپ ها از لحاظ صفات مورد مطالعه به شرایط محیطی و رطوبتی خاک متفاوت بوده است (نتایج آورده نشده است). ملکی نژاد و مجیدی (1394) با ارزیابی تحمل به خشکی در ژنوتیپ های گلرنگ زراعی، نشان دادند که از لحاظ عملکرد دانه در هر دو رژیم رطوبتی بین ژنوتیپ ها تفاوت هایی وجود داشت (1). تعیین همبستگی برای تعیین روابط بین عملکرد و اجزای عملکرد در انتخاب بین ارقام برتر از اهمیت زیادی برخوردار است (6). برآیند صفات با توجه به نمودار تجزیه به مولفه های اصلی نشان می دهد که عملکرد دانه در هر دو محیط تنش و نرمال با محتوی نسبی آب برگ همبستگی مثبت و معنی داری داشت و ضریب همبستگی در محیط نرمال بیشتر بود (شکل 1). همچنین عملکرد دانه با تعداد غوزه در بوته، در محیط تنش، همبستگی مثبت و پایینی داشت ولی در محیط نرمال دارای همبستگی منفی و بالایی داشت. ژنوتیپ G51 و تلاقی 67×71 دارای عملکرد بالاتری بودند و همین طور ژنوتیپ G71 به عنوان والد این تلاقی از نظر محتوی نسبی آب برگ برتری نشان داد. ژنوتیپ G67 ژنوتیپ والدی دیگر بود و به نسبت محتوی نسبی آب برگ پایینی داشت در تلاقی با G71 و G86 ترکیب پذیری خوبی داشت و در نتیجه ژنوتیپ های 67×71 و 67×86 را می توان به عنوان ژنوتیپ هایی مطلوب پیشنهاد نمود. از آنجایی که محتوی نسبی آب برگ یک شاخص مهم فیزیولوژیک می باشد، برای نشان دادن وجود تنش یا مقاومت گیاه و در نتیجه انتخاب ژنوتیپ مطلوب می توان از آن استفاده نمود.

جدول (1) دامنه تغییرات و میانگین صفات مختلف در ژنوتیپ های جمعیت F2 و والدینی و منتخب های جهانی گیاه گلرنگ در دو محیط عدم تنش و تنش خشکی

صفات	دامنه	میانگین	درصد تغییر در اثر تنش
نرمال	خشکی	نرمال	تنش خشکی
		LSD	

-18/66	4/66	14/42 <sup>a</sup>	<sup>a</sup>	27/8 – 9	28/7 – 10/40	تعداد غوزه در بوته
			17/73			
-27/68	2/40	12/17 <sup>b</sup>	16/83 <sup>a</sup>	- 6/78	- 10/58	عملکرد تک بوته (g)
				22/82	22/16	
-25/38	11/89	59/34 <sup>b</sup>	79/53 <sup>a</sup>	- 39/53	- 35/27	محتوای نسبی آب برگ
				80/21	96/97	(RWC)

(در هر صفت میانگین هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند براساس آزمون LSD در سطح 5% تفاوت معنی داری با یکدیگر ندارند.) (LSD) به معنای حداقل تفاوت معنی دار است.)



شکل (1) نمودار بای پلات تجزیه به مولفه های اصلی در ارزیابی 64 ژنوتیپ مورد مطالعه (HP-D، HP-N، YPP-D، YPP-N، RWC-N، RWC-D) بیانگر: تعداد غوزه در بوته، عملکرد تک بوته و محتوای نسبی آب برگ به ترتیب در محیط های نرمال، خشکی می باشند

### نتیجه گیری

به طور کلی این مطالعه نشان داد که اثر ژنوتیپ و محیط بر همه صفات مطالعه شده در نسل F<sub>2</sub> معنی دار بود که در نتیجه آن می توان از ژنوتیپ های متحمل پیشنهاد شده که شامل هم ژنوتیپ والدی و هم تلاقی بودند برای تولید جمعیت های در حال تفرق برای مطالعات ژنتیک و برنامه ای اصلاحی بهره گرفت.

### منابع

1. ملکی نژاد، ر.، و مجیدی، م. م. 1394. غربالگری برای تحمل خشکی آخر فصل در ژرم پلاسما داخلی و خارجی گلرنگ براساس شاخص های حساسیت و تحمل. نشریه تولید و فرآوری محصولات زراعی و باغی 15.

2. Oguz, B., Ezgi, Y., Alpay, B. and Ismet, B. 2022. Selection for high yield and quality in half-diallel bread wheat F2 populations (*Triticum aestivum* L.) through heterosis and combining ability analysis. Int. J. Agric. Environ. Food Sci. 6 (2): 285-293.

3. Ashraf, M. 2010. Inducing drought tolerance in plants: Recent advances. Biotechnology Advances, 169–183.

4. Golkar, P., Shahbazi, E. and Nouraein, M. 2017. Combining ability  $\times$  environment interaction and genetic analysis for agronomic traits in safflower (*Carthamus tinctorius* L.): biplot as a tool for diallel data. Acta Agriculturae Slovenica. 109(2): 229-240

5. Ebrahimi, F., Majidi, M. M., Arzani, A. and Mohammadi nejad, GH. 2016. Oil and seed yield stability in a worldwide collection of safflower under arid environments of Iran. Euphytica. 212: 131-144.

6. Reiahsamani, N., Esmaeili, M., Khoshkholgh Sima, N.A., Zaefarian, F. and Zeinalabedini, M. 2018. Assessment of the oil content of the seed produced by *Salicornia* L., along with its ability to produce forage in saline soils. Genet. Resour. Crop Evol. 65: 1879-1891.

## Variation in F2 populations resulting from crosses of different Iranian and exotic safflower genotypes under different irrigation regimes

Mahsa Hosseini Fard<sup>1</sup>, Mohammad Mahdi Majidi<sup>2</sup>, Ghodratollah Saeidi<sup>2</sup>, Majid Mohammadi<sup>3</sup>

1-Master Student of Genetic and Plant Breeding, Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

(Email: hoseynifard\_ma@yahoo.com)

2-Professors of Genetic and Plant Breeding, Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

3- Researcher of Dryland agriculture Research Institute, Kermanshah, Iran

### Abstract

Safflower (*Carthamus tinctorius* L), oil and medicinal plant, is one of the native plants of the country, which has received attention due to its oil quality and tolerance to abiotic stresses in climate change conditions. Knowing the diversity or genetic similarity of populations and individuals within them is important for the effective use of genetic resources in breeding studies. Based on this, the expansion of germplasm resources through crossing between distant genotypes will greatly help to increase the efficiency of safflower breeding programs. In this study, 64 genotypes, including 10 parental genotypes and 45 genotypes as the F2 populations resulting from di-allele crossing, and 9 worldwide selected genotypes as controls in two water stress conditions (90% water depletion) and normal (50% water depletion) were investigated. The results of this study showed that there was considerable genetic diversity between the genotypes. Seed yield in both stress and normal environments had a positive and significant correlation with relative leaf water content, and the correlation coefficient was higher in the normal environment. G51 genotype and 67 $\times$ 71 cross had higher yield. Genotype G67, which was another parental genotype and had low relative leaf water content, had good combinability in crossing with G71 and G86. Genotypes 67 $\times$ 71 and 67 $\times$ 86 can be suggested as desirable genotypes for developing new lines in future studies.

**Keywords:** Breeding, Drought stress, F2 population, Safflower, RWC

## بررسی راندمان مصرف آب در ارقام نیشکر خوزستان با استفاده از تکنیک ایزوتوپی کربن

حدیث پوررضایی<sup>1</sup>، مجید مهدیه<sup>2</sup>

<sup>1</sup>دانشجوی کارشناسی ارشد، فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اراک (hadispourrezaei2@gmail.com)

<sup>2</sup>دانشیار، دکتری فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اراک

### چکیده

تنش خشکی یکی از شدیدترین محدودیت های طبیعی بهره وری در اکوسیستم های کشاورزی نه تنها در مناطق خشک و نیمه خشک جهان، بلکه در سراسر جهان است. تنش خشکی نقش مهمی در رشد و نمو گیاه در تمام مراحل گیاهی دارد. بسیاری از مطالعات توضیح داده اند که تنش خشکی ناشی از بارندگی محدود در طول فصل رشد است که بر ویژگی های بیوشیمیایی، مولکولی و فیزیولوژیکی گیاهان تاثیر می گذارد. مشخصه کارایی مصرف آب به عنوان یک تکنیک غربالگری مهم می تواند به کشف تنوع قابل توجهی در بین ژنوتیپ ها کمک کند و به عنوان مقدار زیست توده یا عملکرد انباشته شده در واحد آب مصرف شده تعریف شود و یکی از مهم ترین فاکتورهای مشخص کننده ی ارقام مقاوم، کارایی مصرف آب است. کارایی مصرف آب به طور خلاصه نسبت تولیدات گیاهی به آب مصرف شده توسط گیاه را نشان می دهد که هرچه بالاتر باشد طبق مکانیسم اجتناب از دوری، گیاه به خشکی مقاوم تر است. تکنیک ایزوتوپی کربن یکی از بهترین تکنیک های محاسبه کارایی مصرف آب در گیاهان است. دو پارامتر نسبت ایزوتوپی کربن و کارایی مصرف آب هر دو تحت اثر روزنه ی برگ بوده و فواصل باز و بسته بودن روزنه ها نیز با عواملی چون رطوبت خاک در ارتباط است. به منظور بررسی راندمان مصرف آب در ارقام نیشکر خوزستان، سه رقم نیشکر گلدانی در قالب طرح کامل تصادفی با سه تکرار کشت شد و ظرفیت

زراعی در سطوح تنش خشکی (۲۵.۵، ۵۰ درصد) بودند و فاکتورهای فیزیولوژیکی بررسی شد. بیشترین میزان راندمان مصرف آب در سطح خشکی ۵٪ مربوط به رقم **cp69-1069** بوده و کمترین میزان راندمان مصرف آب در سطح خشکی ۳۸٪ مربوط به رقم **cp57-614** بوده که در سطح رطوبت ۳۸٪، رقم **cp57-614** میزان کارایی مصرف خود را تا ۱۳,۰۳ کاهش داده است. نتایج مویید این مطلب بوده که تغییرات در فاکتور دلتا خصوصا در بافت برگ با کارایی مصرف آب رابطه معکوس داشته است.

کلمات کلیدی: نیشکر، راندمان مصرف آب، ایزوتوپ کربن، تنش خشکی

#### مقدمه

گیاه نیشکر (*saccharum officinarum L*) از مهم ترین گیاهان قندی چند ساله است که به طور معمول از آن شکر استحصال می گردد (Ramezani, 2008). نیشکر گیاه زراعی مختص مناطق گرمسیری مرطوب می باشد که رشد آن در دامنه وسیعی از درجه حرارت، تشعشعات خورشیدی، بارندگی و شرایط خاک گزارش شده است (Fathi, 1989). تنش های محیطی اعم از زنده و غیرزنده (شوری، خشکی، دمای بالا، دمای پائین، و سایر عوامل) عامل کاهش ۷۱ درصدی عملکرد محصولات زراعی در جهان و از موانع اصلی رسیدن به پتانسیل عملکرد محصولات مختلف بوده اند (Chaghakaboodi et al., 2011). کافی و همکاران، (1388)، کمبود آب و به دنبال آن وقوع تنش های خشکی و شوری، یکی از بزرگ ترین محدودیت ها در رشد و تولید محصولات کشاورزی نواحی خشک و نیمه خشک در تمامی نقاط جهان است، زیرا آب نقش حیاتی در متابولیسم گیاه در همه مراحل رشد و نمو دارد (Tardieu et al., 2014, Peng et al., 2011, Golyal et al., 2010, Rabiei et al., 2011). بهره برداری از صفات فیزیولوژیک برای بهبود میزان عملکرد خصوصا در مناطق خشک که ضریب تغییرات بالای محیطی و اثرات متقابل ژنوتیپ و محیط سبب کند شدن پیشرفت ژنتیکی در برنامه های اصلاحی می گردد؛ اهمیت بیشتری دارد (IAEA, 2001b). از آن جا که نسبت کربن در اتمسفر می تواند تحت تاثیر پارامترهای فیزیوگرافیک مختلف نظیر طول و عرض جغرافیایی و دما تغییر کند (Lefroy et al., 1995) در این راستا استفاده از روش تبعیض ایزوتوپی، راهکار مناسبی را برای افزایش پیشرفت ژنتیکی در عملکرد محصول در اختیار اصلاح گران قرار می دهد (IAEA, 2001a, b). از مزایای استفاده از این روش می توان به منحصر به فرد بودن داده های تولید شده، ارتباط نزدیک آن با عملکرد، تنوع و قابلیت توارث بالای داده ها، و سهولت آماده سازی و تجزیه خودکار نمونه اشاره نمود (Hafsi et al., 2001). ارزیابی ارقام و لاین های پیشرفته گندم از نظر میزان تحمل به تنش های شوری و خشکی، به منظور انتخاب ژنوتیپ هایی با کارایی مصرف بالای آب مویید این مطلب بود که به کارگیری روش تبعیض ایزوتوپی کربن 13 در شناسایی و انتخاب ژنوتیپ های مختلف گندم با کارایی مصرف آب بالا موثر بوده و می تواند به تولید ارقام جدید گندم با پتانسیل عملکردی بالاتر در تنش رطوبتی منجر گردد (گلکاری و همکاران، 1395). در مکانیسم تحمل خشکی حفظ فشار آماس در حین کمبود پتانسیل آب خاک باعث افزایش مقاومت گیاه به تنش خشکی می گردد (Ndjondjop et al., 2012). براین اساس انتخاب گیاهانی که بهترین عملکرد را در شرایط تنش خشکی داشته اند تصمیمی مهم برای کشت در محیط های مستعد خشکی می باشد. یکی از مهم ترین شاخص ها در تعیین عملکرد گیاه نسبت به میزان آب مصرفی، کارایی مصرف آب<sup>1</sup> (WUE) می باشد (Heydari, 2013). کارایی مصرف آب نمایانگر مقدار ماده خشک تولید شده در ازاء یک واحد آب مصرفی در گیاه است. بهبود



این پارامتر می‌تواند باعث حفظ و افزایش عملکرد در گیاه گردد (Seibt et al., 2008) برای بهبود کارایی مصرف آب در گیاه می‌توان به موازات افزایش پارامتر تولیدات فتوسنتزی میزان آب مصرفی را کاهش داد تا در نهایت باعث افزایش این شاخص گردد (Heydari, 2013). روش‌های مرسوم اندازه‌گیری کارایی مصرف آب علاوه بر پر زحمت بودن از دقت کافی نیز برخوردار نبودند. برای مثال در تکنیک راندمان ذاتی آب<sup>2</sup> (iwue) میزان کارایی مصرف آب تنها در لحظه‌ی نمونه‌برداری محاسبه می‌گردد و امکان محاسبه‌ی آن در کل دوره‌ی آبیاری فراهم نیست. در روش راندمان تعرق<sup>3</sup> (TE) نیز لازم است تمام ماده خشک تولید شده گیاه اندازه‌گیری شده و بر تمام آب مصرفی تقسیم گردد که این فرایند نیز بسیار پر زحمت و زمان بر است و با توجه به تعداد دفعات اندازه‌گیری احتمال بروز خطا نیز بیشتر می‌شود (Cregg and zhang, 2001). بر همین اساس تکنیک ایزوتوپی کربن توسط فارکوهر<sup>4</sup> (1984) پیشنهاد گردید که با دارا بودن مزایای عملی و تئوریک جایگزین مناسبی برای آنها به شمار می‌آید (Farquhar and Richards, 1984). نسبت ایزوتوپی  $c^{13}$  به  $c^{12}$  در نمونه گیاهی معمولاً کمتر از مقادیر آن در اتمسفر است. علت این امر وجود تبعیض در جذب ایزوتوپ های کربن است. براین اساس در شرایط خشکی با تغییر قطر روزنه‌های گیاهی میزان تبعیض ایزوتوپی نسبت به شرایط عادی دچار تغییر می‌گردد (Golkari et al., 2016) نتایج موید این مطلب بود که تغییرات در فاکتور دلتا خصوصاً در بافت برگ با کارایی مصرف آب رابطه معکوس داشته که می‌تواند نشان دهد تنوع ژنتیکی ارقام برای سنجش مصرف آب را به طور غیرمستقیم با اندازه‌گیری ترکیب ایزوتوپی بافت‌های گیاهی خصوصاً برگ تعیین کرد (رجبی و همکاران، 1386). بسیاری از محققان پیشنهاد کرده اند که روش‌های ایزوتوپی می‌تواند پارامتر جایگزین دیگری برای انتخاب ژنوتیپ‌ها در بسیاری از گونه‌های گیاهی تحت تنش خشکی باشد. بر این اساس از این تکنیک در برآورد میزان کارایی مصرف آب در گیاهانی چون گندم (Golkari et al., 2016) چغندر (Rajabi et al., 2007) و بادام زمینی (Wright et al., 1988) استفاده گردیده است. اما پژوهشی به منظور برآورد کارایی مصرف آب با تکنیک ایزوتوپ کربن در ارقام نیشکر در خوزستان وجود نداشته است. لذا این پژوهش به منظور اندازه‌گیری دقیق کارایی مصرف آب در گیاه نیشکر و هم‌چنین معرفی ارقام مقاوم به تنش خشکی انجام پذیرفته است.<sup>127</sup>

#### مواد و روش‌ها

ارقام این پژوهش شامل سه رقم از گیاه نیشکر (*Saccharum officinarum L.*) از مرکز تحقیقاتی شرکت توسعه تعاون صنایع جانبی اهواز تهیه شد. این سه رقم قلمه تحت نام CP69-1069, CP57-614, CP43-103 بود. و به صورت طرح کاملاً تصادفی با 3 تکرار در گلخانه‌ی دانشگاه اراک انجام پذیرفت. که سطوح آبیاری ظرفیت زراعی مزرعه در سطح 38% درصد تعیین گردید. برای اعمال تیمارهای خشکی رطوبت خاک در سطح کنترل، 50% ظرفیت زراعی، 25% ظرفیت زراعی و 5% ظرفیت زراعی تنظیم گردید و پارامترهای مختلف فیزیولوژیکی در این سطح از تنش اندازه‌گیری شدند. در ابتدا به منظور خشک کردن خاک، خاک را در آزمایشگاه به مدت 48 ساعت در

<sup>127</sup> Water use efficiency

2 Intrinsic water use efficiency

3 Transpiration Efficiency

4 Graham Douglas Farquhar

آون در دمای 80 درجه سانتی گراد قرار داده شد. سپس میزان رطوبتی که پس از خروج آب ثقلی از یک خاک اشباع در خاک باقی می ماند، و ظرفیت زراعی (FC) براساس بافت خاک بین 24 تا 48 ساعت پس از اشباع اتفاق می افتد.

$$FC = \frac{MW - DW}{DW} \times 100$$

MW: وزن خاک

DW: وزن خاک خشک

گلدانها تا حد ظرفیت زراعی آبیاری شده سپس قلمه ها به صورت افقی و در عمق 1-2 سانتی متری خاک کاشته شدند و وزن کشتی به صورت روزانه انجام پذیرفت (Naeemi et al., 2018). برای بدست آوردن مقدار آب لازم هر گلدان، وزن روز گلدان از مجموع وزن خاک خشک و وزن خاک خشک و وزن گلدان خالی کسر و مقدار آب لازم برای رسیدن به وزن مدنظر به هر گلدان اضافه گردید. عملیات آبیاری تا مرحله گیاهیچه ای و چهار برگی ادامه پیدا کرد و پس از رسیدن هر گلدان به سطح رطوبتی 38% نمونه های گیاهی گروه تحت تنش برداشت شدند.

برای سنجش ایزوتوپ های کربن نمونه های خشک شده گیاه نیشکر به طور کامل به کمک ازت مایع سابیده شد و ترکیب ایزوتوپ کربن

$\delta^{13}C$  آن ها به وسیله دستگاه اسپکترومتر مدل Isoprime precision در آزمایشگاه تحقیقاتی ایزوتوپ پایدار دانشگاه اراک براساس رابطه زیر محاسبه گردید (Farquhar et al., 1989)

$$\Delta^{13}C = [C_{RP} - R_e] / R_e \times 1000$$

R<sub>P</sub>: نسبت  $C^{12}/C^{13}$  گیاه

R<sub>e</sub>: نسبت  $C^{12}/C^{13}$  استاندارد

هر دو به شکل قسمت در هزار 0/00 محاسبه می گردند.

$$\Delta = (\delta^{13}C_a - \delta^{13}C_p) / (1 + \delta^{13}C_p)$$

C<sub>a</sub> را معمولا منفی 8 در هزار در نظر می گیریم

برای سنجش ایزوتوپ کربن مصرف آب نیز از مقادیر ترکیب ایزوتوپ کربن گیاهی ( $\delta^{13}C$ ) از رابطه زیر استفاده شد (Li et al., 2019)

$$WUE = 50.12 + 1.4\delta^{13}C$$

داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS 26 و مقایسات میانگین از آزمون دانکن (Duncan) و برای رسم نمودار از برنامه اکسل Excel استفاده گردید. در هر اندازه گیری ارتباط بین گروهها بررسی و وجود تفاوت معنی دار در سطح  $P < 0.05$  در نظر گرفته شد.

## نتایج و بحث

### ترکیب ایزوتوپ کربن ( $\delta^{13}C$ )

ترکیب ایزوتوپ کربن در ارقام نیشکر خوزستان تحت تنش خشکی کاهش یافت که این کاهش برای ارقام cp57-614, cp43-103 و در سطح  $p < 0/05$  معنی دار بود. کربن به طور مداوم توسط برگ ثابت می شود. بنابراین،  $\Delta 13$  ایزوتوپ C میانگین یکپارچه ای را در طول عمر بافت فراهم می کند. این نشان می دهد که  $\Delta 13$  ایزوتوپ C می تواند ژنوتیپ ها را در مقایسه با اندازه گیری های تبادل گاز آبی متمایز کند تفکیک ایزوتوپی کربن اطلاعاتی را در مورد بازده تعرق ذاتی براساس داده های غلظت  $CO_2$  داخلی ادغام شده با زمان فراهم می کند. چندین مطالعه همبستگی منفی قوی قوی بین تفکیک ایزوتوپ کربن دلتا را نشان داده اند، ایزوتوپ C و Wue نیز گزارش کردند که  $\Delta 13$  ایزوتوپ کربن C در اوایل فصل اندازه گیری شد، نشان داده است که بالاترین تکرارپذیری و وراثت پذیری را ارائه می دهد به گفته کاندون و همکاران (2004) اگر  $\Delta$  کم باشد ایزوتوپ  $C^{13}$  نتیجه ظرفیت فتوسنتزی بالا است، انتظار می رود نرخ بالاتر فتوسنتز در واحد سطح برگ و بنابراین سرعت رشد محصول سریعتر است. ترکیب ایزوتوپ کربن در گیاه شاخصی از تبادلات روزنه ای برگ و یا شکل و ساختار برگ گیاه است (Saibt et al., 2008) برای محاسبه ای این فاکتور نسبت ایزوتوپ  $C^{13}/C^{12}$  در نمونه گیاهی به همین نسبت در نمونه ای استاندارد تقسیم می شود و حاصل از 1 کم می شود. به دلیل کمتر بودن نسبت ایزوتوپ کربن گیاه به استاندارد، اعداد گزارش شده معمولا اعدادی منفی می باشند (Farquhar et al., 1989) نسبت ایزوتوپ کربن در گیاه همچنین منعکس کننده ی نسبت غلظت  $CO_2$  ورودی به  $CO_2$  خروجی در گیاه است که تحت اثر تمایز قرار می گیرد (Ehleringer, 1991). مهم ترین علل تمایز یا تبعیض ایزوتوپ کربن در گیاه انتشار  $CO_2$  از روزنه ها و ایجاد تمایز توسط روزنه ها، ایجاد تمایز توسط آنزیم رویسکو به عنوان پذیرنده ی  $CO_2$  و ایجاد تمایز به واسطه ی تفاوت بین فشار محیطی  $CO_2$  و فشار داخلی  $CO_2$  در سطح برگ می باشد (Farquhar and sharkey, 1982).

میزان راندمان مصرف آب در این پژوهش تحت تنش خشکی در ارقام نیشکر نشان داده شد که بیشترین میزان راندمان مصرف آب در سطح خشکی 5% مربوط به رقم cp 69-1069 است و کمترین میزان راندمان مصرف آب در خشکی سطح 38% مربوط به رقم cp 57-614 می باشد. بنابراین می توان گفت، تغییرات در فاکتور دلتا خصوصا در بافت برگ با کارایی مصرف آب رابطه معکوس داشته که می تواند نشان دهد تنوع ژنتیکی ارقام برای سنجش مصرف آب را به طور غیر مستقیم با اندازه گیری ترکیب ایزوتوپی بافت های گیاهی خصوصا برگ تعیین کرد. بنابراین روش ایزوتوپی کربن این تکنیک می تواند به عنوان بهترین روش برای سنجش راندمان مصرف آب در نظر گرفته شود (Li et al., 2019) در مورد مکانیسم اثر خشکی در گیاه عنوان می گردد در شرایطی که منابع آب کافی در اختیار گیاه قرار داشته باشند، کربن به صورت آزادانه در گیاه مصرف شده و تمایز ایجاد شده بین ایزوتوپ ها عموما ناشی از کربوکسیلاسیون است اما در شرایط کمبود منابع آبی، هدایت روزنه ای در برگ ها کاهش می یابد. (Drake, 2014)

### نتیجه گیری

براساس نتایج بدست آمده در این پژوهش نیشکر رقم cp69-1069 با بیشترین راندمان به عنوان مقاوم ترین گیاه به تنش معرفی می گردد.

## منابع

- Cregg, B.M., & Zhang, J.W. (2001). Physiology and morphology of *Pinus sylvestris* seedlings from diverse sources under cyclic drought stress. *Forest Ecology and Management*, 154(1-2), 131-139.
- Chaghakaboodi, Z., Zebarjadi, A.R., Kahrizi, 2012. Evaluation of rapeseed genotypes response to drought stress via callus culture. *Agricultural Biotechnology*. 10(2), 49-57.
- Drake A and James R. prediction of race walking performance via laboratory and field tests. *New studies in Athletics* 23:4/35-41, 2014
- Ehleringer, J.R. (1991).  $^{13}C/^{12}C$  Fractionation and Its Utility in Terrestrial Plant Studies. In *Carbon Isotope Techniques*. Academic Press, Inc.
- Farquhar, G.D., Ehleringer, J.R., Hubick, K.T., 1989a. Carbon isotope discrimination and photosynthesis. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 40, 503-537.
- Farquhar GD, Hubick KT, Condon AG, Richards RA. Carbon isotope fractionation and plant water-use efficiency. *Stable Isotopes in Ecological Research*. Springer New York; 1989.
- Fathi, A. (1989). Expansiveness, hyperbolicity and Hausdorff dimension. *Communications in mathematical physics*, 126(2), 249-262.
- Golkari, S., Shalmani, M., and Feiziasl, V. (2016). Evaluation of wheat genotypes for yield, agronomic traits and  $^{13}C$  discrimination under dryland condition. *Iranian Dryland Agronomy Journal*, 5(1), 1-18.
- Galindo, A.; Collado-González, J.; Griñán, I.; Corell, M.; Centeno, A.; Martín-Palomo, M.J.; Girón, I.F.; Rodríguez, P.; Cruz, Z.N.; Memmi, H.; et al. Deficit irrigation and emerging fruit crops as a strategy to save water in Mediterranean semiarid agrosystems. *Agric. Water Manag.* 2020, 202, 311-324.
- Hafsi M, Monneveux P, Merah O, Djekoune A. 2001. Carbon isotope discrimination and durum wheat yields in the Setif high plains of Algeria. *Science et changements planétaires*. Vol. 12: 3743
- Heydari, N. (2013). Challenges and Approaches for Enhancing of Water Use Efficiency in Field Crops in Iran. *Research Achievements for Field and Horticulture Crops*, 2(1), 25-51
- IAEA. 2001b. Selection for greater agronomic water use efficiency in wheat and rice using carbon isotope discrimination. New FAO/IAEA co-ordinated research project. *Soil Newsletter* Vol. 24. No. 1, 23-27
- IAEA. 2001a. Use of isotope and radiation methods in soil and water management and crop nutrition. //training course series 14: 47-52.
- Li, W.; Chen, X.H.; Xie, L.S.; Liu, Z.; Xiong, X.Y. Bioelectrochemical systems for groundwater remediation: The development trend and research front revealed by bibliometric analysis. *Water* **2019**, 11, 1532.
- Ndjiondjop, M.N., Seek, P.A., Lorieux, M., Futakuchi, K., Yao, K., N., Djedatin, G., Sow, M.E., Bocco, R., Cisse, F., and Fatondji, B. (2012). Effect of Drought on *Oryza glaberrima* Rice Accessions and *Oryza glaberrima* Derived lines. *Asian Journal of Agricultural Research*, 6(3), 144-157.
- Naeemi, T., Fahmideh, L., and Fakheri, B. (2018). The Impact of Drought Stress on Antioxidant Enzyme Activities, containing of proline and carbohydrate in some Genotypes of Durum Wheat (*Triticum turgidum* L.) at seedling stage. *Journal of Crop Breeding*, 10, 22-31.
- Peng SB, Laza RC, Khush GS, Sanico AL, Visperas RM, Garcia FV (1998) Transpiration efficiencies of indica japonica rice grown under irrigated conditions. *Euphotique* 103, 103-108
- Ramazani, M.H., 1999. Deficit Irrigation and Drought Stress Effects on three Varieties of Sugarcane. MSc dissertation, Gilan, Faculty of Agriculture, University of Gilan, Iran. 160 p.
- Rabiei, K., Khodambashi, M., Omid, M., 2011. Advantage of Somaclonal Variation in Carrot (*Daucus carota* L.) in Order to Production Drought Resistant varieties. *Journal of Horticultural Science (Agricultural Science and Technology)*. 25(2), 156-169.

Rajabi, a, Griffiths, H., and Ober, E.S. (2007). Relationship of carbon stable isotopes with water use efficiency in sugar beet under well-watered and drought conditions. *Journal of sugar Beet*, 23(1), Pe1-en1.

Lefroy RDB, Blair GJ, Conteh A. 1995. Chemical fractionation of soil organic matter and measurement of the rates of residues. In "Soil Organic Matter Management for Sustainable Agriculture." (R.D.B. Lefroy, G. J. Blair, E. T. Craswell, Eds) ACIAR Proceedings, No. 56, ACIAR Canberra, ACT., Ubon, Thailand: 149-158

Seibt, U., Rajabi, A., Griffiths, H., and Berry, J.A. (2008). Carbon isotopes and water use efficiency: sense and sensitivity. *oecologia*, 155(3), 441-454.

Wright, G.C., Hubick, K.T., and Farquhar, G.D. (1988). Discrimination in carbon isotopes of leaves correlates with water-use efficiency of field-grown peanut cultivars. *Functional plant Biology*, 15(6), 815-825.

Zhang, C.Z., Zhang, J.B., Zhao, B.Z., Zhu, A.N., Zhang, H., Huang, P., Li, X.P., 2011. Coupling a two-tip linear mixing model with a  $\delta D$ - $\delta^{18}O$  plot to determine water sources consumed by maize during different growth stages. *Field Crop. Res.* 123, 196-205

## Investigation of water use efficiency using stable carbon isotopic ratio technique in Khuzestan sugarcane cultivars

Hadis Pourrezaei, Majid Mahdieh

### Abstract

Drought stress is one of the most severe natural limitations of productivity in agricultural ecosystems, not only in arid and semi-arid regions of the world, but all over the world. Drought stress plays an important role in plant growth and development in all plant stages. Many studies have explained that drought stress is caused by limited rainfall during the growing season, which affects the biochemical, molecular and physiological characteristics of plants. The characteristic of water use efficiency as an important screening technique can help to discover significant diversity among genotypes and is defined as the amount of biomass or yield accumulated per unit of water used and is one of the most important factors that characterize resistant cultivars. , the efficiency of water consumption. In short, water use efficiency shows the ratio of plant production to water consumed by the plant, the higher it is, according to the distance avoidance mechanism, the plant is more resistant to drought. The carbon isotope technique is one of the best techniques for calculating water use efficiency in plants. The two parameters of carbon isotope ratio and water use efficiency are both affected by leaf stomata and the open and closed distances of stomata are also related to factors such as soil moisture. The format of complete random design was cultivated with three replications and the crop capacity was at drought stress levels (50, 25, 5%) and physiological factors were investigated. The highest level of water consumption efficiency at the dry level is 5% for the variety cp69-1069 and the lowest level of water consumption efficiency at the dry level is 38% for the variety cp57-614. has reduced up to 13.03. The results confirmed that the changes in the delta factor, especially in the leaf texture, had an inverse relationship with the efficiency of water consumption.

Keywords: sugarcane, water use efficiency, carbon isotope, drought stress

## بررسی جوانه زنی در زرین گیاه (*Dracocephalum Kotschy L.*) تحت تاثیر تنظیم کننده های رشد اکسین و سیتوکینین در شرایط کشت درون شیشه ای

مهسا مسلم زاده<sup>1</sup>، بهمن حسینی<sup>1</sup>، سیامک فلاحی قراگوز<sup>2</sup>، بهرخ دایی حسینی<sup>3</sup>

<sup>1</sup> گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

<sup>1</sup> دانشگاه ارومیه، دانشکده کشاورزی، گروه علوم باغبانی

<sup>2</sup> گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

<sup>3</sup> گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

### چکیده

زرین گیاه (*Dracocephalum kotschy L.*) گیاهی است گلدار وحشی، چندساله، نیمه چوبی، به خانواده Labiatae تعلق دارد. این گیاه حاوی ترکیبات فلاونی و آنتی اکسیدانی می باشد که خاصیت ضد سرطانی داشته و در کاهش تب، درد مفاصل، تقویت حافظه، درمان بیماری ام اس موثر می باشد. با توجه به اهمیت زرین گیاه و لزوم شناخت روش های ریزازدیادی آن و انتخاب بهترین دستورالعمل کشت در شرایط درون شیشه، پژوهش حاضر به منظور شناسایی بهترین ریزنمونه، بهترین ترکیب هورمونی و شرایط مناسب محیطی جهت جوانه زنی و کشت درون شیشه ای و همچنین تدوین دانش فنی کشت درون شیشه ای در جهان انجام گردید. در این تحقیق از محیط کشت پایه MS تکمیل شده با بنزیل آدنین (BA) در غلظت های مختلف (0، 1، 2 و 3 میلی گرم در

لیتر) در ترکیب با ایندول 3- استیک اسید (IAA) (0/1 و 0/5 میلی گرم در لیتر) و WFP (کاغذ صافی استریل و آب استریل) با 3 تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد مطالعه قرار گرفت. مقایسه داده‌های حاصل از محیط‌های مختلف جوانه‌زنی تفاوت معنی‌داری را بین محیط‌های کشت MS و WFP (کاغذ صافی استریل و آب استریل) در سطح احتمال 1 درصد نشان داد. بیشترین درصد جوانه‌زنی (95 درصد) و سرعت جوانه‌زنی (6/78) در محیط کشت MS بدست آمد. کلمات کلیدی: زرین گیاه، جوانه زنی، ریزنمونه و تنظیم کننده‌های رشد گیاهی

#### مقدمه

استفاده از گیاهان دارویی و ادویه‌ای سابقه‌ای برابر با تاریخ زندگی بشر دارد. انسان از گذشته‌های بسیار دور به منظور درمان بیماری‌های خود از گیاهان بهره می‌برده است (WHO<sup>128</sup>, 2003).

گیاهان دارویی مخازن غنی از متابولیت‌های ثانویه<sup>129</sup> یعنی منبع مواد موثره اساسی بسیاری از داروها می‌باشند. مواد مذکور اگر چه اساساً با هدایت فرآیندهای ژنتیکی ساخته می‌شوند ولی ساخت آنها به طور بارزی تحت تاثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرد. به طور کلی نظر بر این است که تولید متابولیت‌های ثانویه برای تنظیم سازگاری گیاه نسبت به عوامل نامساعد و تنش‌های محیط زندگی صورت گرفته و همانند به کار افتادن یک نوع جریان دفاعی در جهت استمرار تعادل فعالیت‌های حیاتی به حساب می‌آید. بنابراین محصولات دارویی بر خلاف همه محصولات کشاورزی که در اوضاع تنشی از نظر مقدار تولید لطمه می‌بینند، ممکن است در این وضعیت تولید شیمیایی بیشتر شده و در نتیجه بازدهی اقتصادی افزایش می‌یابد (امید بیگی، 1386). با عنایت به این که در گیاهان دارویی حضور مواد موثره به لحاظ دارویی و بومی بودن می‌تواند به تولید محصولات دارویی جدید، بی‌رقیب و با ارزش برای بومیان آن منطقه باشد، در این راستا تداوم و پایداری تولید منوط به کشت گسترده آن گیاه به منظور رسیدن به چنین آرمانی به منظور جلوگیری از انقراض این گیاه در مناطق وحشی ضروری است. در این رابطه راهکار مناسب برای جلوگیری از خطر نابودی گیاهان مرتعی و این سرمایه‌های با ارزش به خصوص گیاه بادرنجبویه دناپی، کشت این گیاه می‌باشد (Denham, 1999).

بادرنجبویه دناپی گیاهی است چندساله که معمولاً با بذر و رشد جوانه‌ها از محل طوقه تکثیر می‌شود، با این حال درصد جوانه‌زنی در این گیاه بسیار پایین است. برداشت بیش از حد از گیاهان وحشی، پراکندگی بسیار محدود و فقدان کشت و اهلی‌سازی این گیاه دلایلی هستند که چرا این گیاه در لیست گیاهان در معرض خطر انقراض قرار گرفته است. اهلی‌سازی موفقیت‌آمیز در شرایط آب و هوایی غیر از شرایط سرد نیمه‌خشک در این گیاه نادر، نیازمند آگاهی از مکانیسم‌ها و فاکتورهای دخیل در جوانه‌زنی و بقای گیاهچه است (ایوبی، 1393). عواملی چون ارزش دارویی، برداشت فراوان و کاهش قدرت جوانه‌زنی بذرهای این گیاه به شدت مورد بهره برداری قرار گرفته و به گونه‌های کمیاب و در حال انقراض تبدیل شده است بر این اساس به عنوان یک گاه دارویی موثر مورد استفاده قرار می‌گیرد. لذا یافتن روشی مناسب بر اساس تکنیک‌های کشت بافت گیاهی که در آن تکثیر انبوه و آسان این گیاه (با کیفیت مطلوب و عاری از عوامل بیماری‌زا) صورت پذیرد، امری ضروری به نظر می‌رسد (اطرش و همکاران، 1391). تا به حال رکود بذور در بادرنجبویه دناپی کاملاً مشخص نشده است. بررسی‌های اولیه نشان داده است که یکی از اصلی‌ترین دلایل محدودکننده کشت این گیاه، جوانه‌زنی نامنظم و کم در این گیاه می‌باشد. که این پدیده می‌تواند نتیجه رکود ناشی از پوشش

128 - World Health Organization

129 -Secondary metabolites

سخت بذور و مواد موسیلاژی باشد. بذور در 20 درجه سانتی گراد جوانه می‌زنند و پس از 10 تا 15 روز حدود 90 درصد آنها سبز می‌شوند. البته قابل ذکر است که برای حداکثر جوانه‌زنی نیاز به تیمار اسید سولفوریک یا خراش‌دهی فیزیکی می‌باشد (Fattahi et al., 2011).

کشت درون شیشه‌ای یکی از تکنیک‌های نوین برای قرار گرفتن بافت‌های گیاه در محیط کنترل شده می‌باشد که فاقد هر گونه آلودگی هستند، به واسطه این که برای تولید تجاری و صادراتی زمان و یکنواختی تولید اهمیت ویژه‌ای دارد. استفاده از روش‌های سنتی، وقت‌گیر و کم بازده بوده، بنابراین کشت بافت گیاهی روش مناسبی است (George et al., 2008).

هورمون‌ها، ترکیبات آلی هستند که به صورت طبیعی در گیاهان عالی ساخته می‌شوند و روی رشد و نمو، اثر می‌گذارند. هورمون‌ها معمولاً در نقاط مختلف گیاه، فعال هستند. اساساً هورمون‌ها مسئول توزیع ترکیباتی هستند که گیاه بیوستز می‌کند. این مواد، رشد نسبی همه اندامها را در گیاه، تعیین می‌کنند. در کشت این‌ویترو گیاهان عالی، تنظیم کننده‌های رشد، مخصوصاً آکسین‌ها و سیتوکینین‌ها، خیلی بارز هستند. در واقع کشت این‌ویترو بدون وجود تنظیم کننده‌های رشد، غیر ممکن است (باقری و صفاری، 1390).

جوانه زنی دانه با جذب رطوبت و شروع واکنش‌های متابولیکی در بافت‌های جنین آغاز می‌گردد. در مراحل اولیه، انرژی از طریق فرایند گلیکولیز فراهم شده و متابولیت‌های لازم برای سنتز مواد جدید را از طریق گریز راه پنتوز فسفات تأمین می‌کند. بسیاری از هورمون‌ها با القاء سیگنال لازم برای سنتز آیزیم‌های جدید موجب سوختن مواد ذخیره‌ای در آندوسپرم دانه می‌شوند. هورمون‌های تحریک کننده مثل سیتوکینین و آکسین با تحریک تقسیم و طویل شدن سلول رشد را باعث شده، با افزایش تنفس در میتوکندری و سنتز پروتئین‌ها رشد ادامه یافته و ریشه چه ظاهر می‌شود (Larcher et al., 2001).

در بعضی از گونه‌ها بذرها هم زمان شروع به جوانه زنی می‌کنند، اما در برخی گونه‌های دیگر سرعت جوانه‌زنی تحت تاثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرد. عواملی مثل اندازه بذر، پوسته دانه، میزان کشت دانه در عمق خاک، رطوبت خاک، غلظت اکسیژن، دما و ژنتیک دانه بر جوانه زنی و توان گیاهچه‌ها در رشد موثر می‌باشند (Liusia et al., 2005). جوانه‌زنی دانه‌ها بخش حساسی از مراحل نمو گیاهی است. تنش اسمزی از سرعت جوانه‌زنی کاسته و در تنش‌هایی که شدت آنها زیاد است هم میزان جوانه‌زنی و هم سرعت جوانه‌زنی تحت تأثیر قرار می‌گیرد (Prasad et al., 1996).

برخی گیاهان دانه‌های دو یا چند شکلی دارند که هر کدام از دانه‌ها برای جوانه‌زنی به مقدار رطوبت خاصی نیاز دارند. در گیاهی مثل برنج هنگام جوانه زنی، تغییراتی در پروتئین دانه‌ها ایجاد می‌شود. پلی پپتیدهایی با وزن 70,23 KDa تحت استرس‌های محیطی القاء می‌شوند که این پلی پپتیدها نقش مهمی در پاسخ برنج به تنش‌های محیطی دارند (Prasad et al., 1996). همچنین Prasad گزارش کرده است که، بسیاری از گیاهان در شرایط کشت درون شیشه‌ای، جوانه‌زنی بهتری دارند (Prasad et al., 1996). گزارش شده است، زمانی که بذر گیاه آرابیدوپیس تحت تاثیر تنش محیطی قرار گیرد، جوانه زنی انواع جهش یافته این گیاه مشاهده می‌شود. همچنین اگر دانه‌های جهش یافته در معرض مانیتول قرار گیرند، پتانسیل اسمزی کمتر از محیط کشت شده و جوانه‌زنی بیشتری می‌شود (Borsani et al., 2001).

از روش کشت درون شیشه‌ای جهت تکثیر سریع، حفظ گیاهان کمیاب، گیاهان اندمیک و گیاهان در معرض خطر استفاده می‌شود (Deliu et al, 2002). این روش برای تکثیر گونه‌هایی که نیاز به یکنواختی زیاد در نتایج دارند، موثر است. بنابراین علاقه به استفاده از این تکنیک‌ها برای تکثیر سریع گیاهان دارویی و معطر در مقیاس بزرگ به طور قابل توجهی افزایش یافته است. عدم



استفاده یا استفاده کمتر از گونه‌های وحشی در معرض خطر انقراض، تولید متابولیت‌های ثانویه خارج از فصل، شرایط آب و هوایی مناسب و تولید سریع متابولیت‌های ثانویه به علت رشد سریع در شرایط درون شیشه‌ای از دیگر فواید کشت درون شیشه‌ای می‌باشد (Pierik, 1987). از طرف دیگر بهبود باززایی گیاهان دارویی از طریق اندام‌زایی<sup>130</sup> مستقیم با استفاده از ریزنمونه‌های مختلف، می‌تواند کشت و زراعت گیاهان دارویی را ترفیع دهد و نیز از نظر حفاظت درون شیشه‌ای، ناتوانی ذخیره بذر در بانک ژن به دلیل کاهش جوانه‌زنی بذر را جبران کند. همچنین چرخه اصلاحی گیاهانی را که رشد کند دارند، تسریع کرده و تولید ژرم پلاسماهای عاری از پاتوژن را افزایش داده است (Zhang et al., 2011).

#### مواد و روش‌ها

این پژوهش به منظور مطالعه تاثیر نوع ریزنمونه برای باززایی گیاه زرین‌گیا از فروردین ماه 1395 تا آذرماه 1395 در آزمایشگاه کشت‌بافت گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه و آزمایشگاه زیست‌شناسی دانشگاه پیام‌نور مرکز ارومیه انجام گردید. بذور مورد نیاز جهت کشت درون شیشه‌ای و به منظور تهیه ریزنمونه استریل از شرکت پاکان بذر اصفهان خریداری گردید.

#### ضد عفونی بذور

بدلیل بروز برخی آلودگی‌های قارچی در آزمایشات اولیه از مواد ضدعفونی کننده‌ای از قبیل هیپوکلریت سدیم، الکل، توئین و قارچ‌کش بنومیل با غلظت‌های مختلف و زمان‌های متفاوت استفاده می‌شود که در این پژوهش ابتدا بذور را پاک کرده و بعد از شکستن خواب بذر به وسیله اسید سولفوریک به مدت 1 دقیقه در اتانول 70% قرار داده و بعد از شست‌وشو با آب مقطر استریل در محلول هیپو کلریت سدیم یک درصد به مدت 5 دقیقه قرار داده و سپس اقدام به 3 بار شست‌وشو با آب مقطر استریل گردید. لازم به ذکر است که تمامی مراحل ضدعفونی بذور در زیر هود لامینار انجام گردید.

#### تعیین شرایط کشت در جوانه‌زنی گیاه زرین‌گیا

در این آزمایش از دو روش برای شکست خواب بذر استفاده گردید و همچنین بذور در 3 محیط مختلف به منظور بهینه‌سازی جوانه‌زنی زرین‌گیا مورد بررسی قرار گرفت. محیط‌ها شامل محیط کاغذ صافی استریل مرطوب شده با آب استریل در دمای معمولی اتاق، محیط کاغذ صافی استریل مرطوب شده با آب استریل در عوامل محیطی کنترل شده در دستگاه ژرمیناتور، محیط MS حاوی 3 درصد ساکارز و 0/7 آگار، که pH محیط MS با سود 1 نرمال در 5/8 تنظیم گردید.

#### آزمایش جوانه‌زنی

- درصد جوانه‌زنی بذور که با استفاده از فرمول زیر بدست آمد.

$$G_p = 100 \left( \frac{N_g}{N_t} \right)$$

$G_p$ : درصد جوانه‌زنی

$N_g$  : مقدار بذر جوانه زده

$N_t$  : تعداد کل بذر

• سرعت جوانه زنی بذور که با استفاده از فرمول زیر بدست آمد.

$$R_s = \sum_{i=0}^n \left( \frac{S_i}{D_i} \right)$$

$R_s$  : سرعت جوانه زنی

$S_i$  : تعداد بذر جوانه زده

$D_i$  : عدد روزهای شمارش

### طرح آزمایشی و تجزیه آمار داده‌ها

آزمایش بررسی اثر نوع هورمون بر القاء جوانه و باززایی شاخه به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با 3 تکرار انجام گردید. آزمایش ریشه‌زایی نیز به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی انجام پذیرفت. آزمایش باززایی با 3 تکرار و در هر تیمار 5 ریزنمونه و آزمایشات ریشه‌زایی با 3 تکرار و در هر تیمار 5 ریزنمونه در هر تکرار انجام گرفت. آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن<sup>131</sup> انجام و نمودارها توسط نرم افزار Excel رسم گردید. داده‌ها توسط نرم افزار SpSS نرمال‌سازی شدند.

### نتایج

#### اثر محیط‌های مختلف کشت بر درصد و سرعت جوانه‌زنی

مقایسه داده‌های حاصل از محیط‌های مختلف جوانه‌زنی تفاوت معنی‌داری را بین محیط‌های کشت MS و WFP (کاغذ صافی استریل و آب استریل) در سطح احتمال 1 درصد نشان داد. بیشترین درصد جوانه‌زنی (95 درصد) و سرعت جوانه‌زنی (6/78) در محیط کشت MS بدست آمد. (جدول 1)

شکل 1: جوانه‌زنی بذور زرین‌گیاه در محیط‌های مختلف MS، WFP (ژرمیناتور) را نشان می‌دهد.

سرعت جوانه‌زنی	درصد جوانه‌زنی	محیط کشت
6.78	95(a)	MS

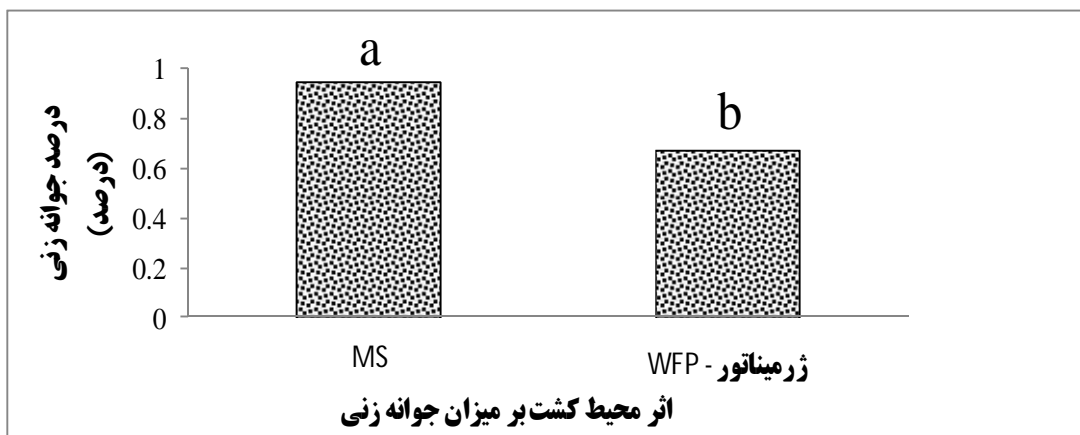
<sup>131</sup> -DMRT

ژرمیناتور - WFP

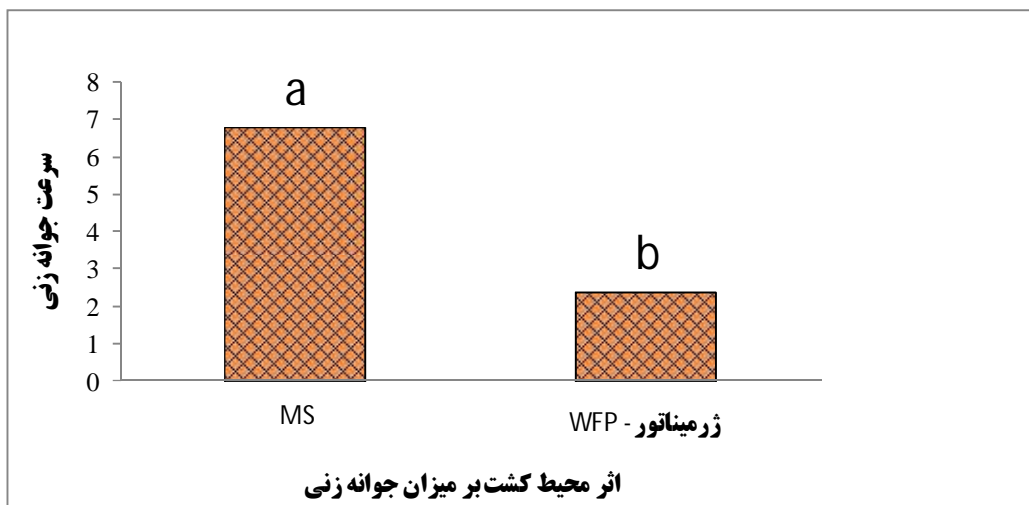
67(b)

2.392

(ژرمیناتور) WFP ، MS جدول 1: درصد و سرعت جوانه زنی بذور زرین گیاه در محیطهای مختلف



(ژرمیناتور) بر درصد جوانه زنی بذور زرین گیاه WFP ، MS نمودار 1: اثر محیطهای مختلف

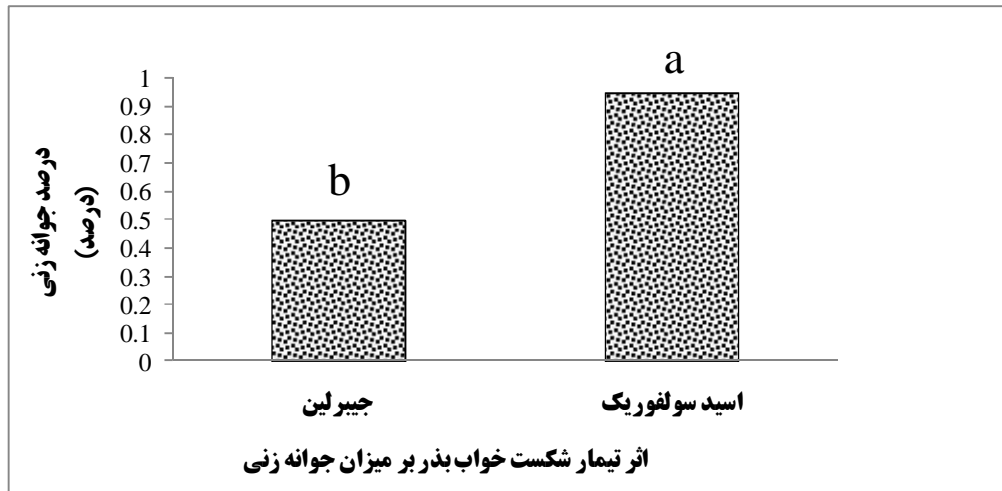


(ژرمیناتور) بر سرعت جوانه زنی بذور زرین گیاه WFP ، MS نمودار 2: مقایسه میانگین محیطهای مختلف

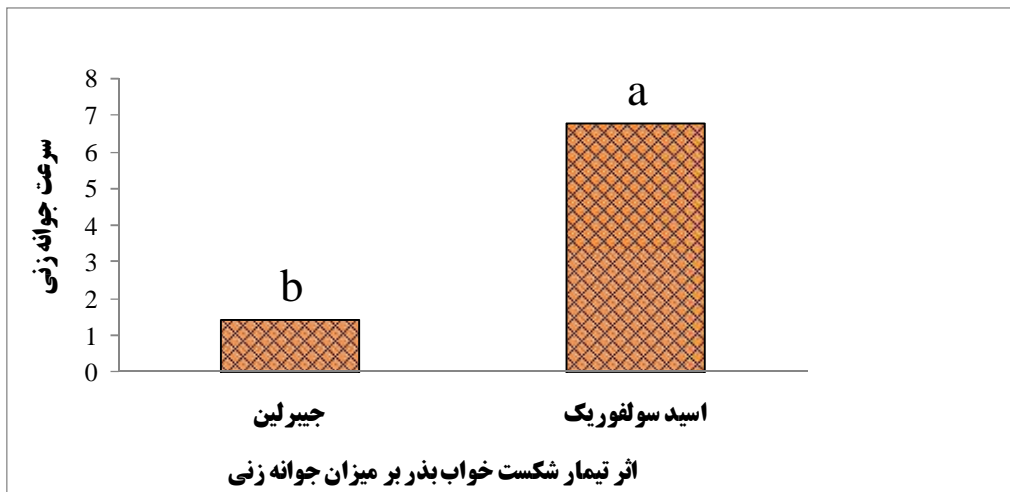
اثر تیمارهای مختلف بر شکست خواب بذر بر سرعت و درصد جوانه زنی بذر زرین گیاه  
در این تحقیق تیمارهای مختلف شکست خواب بذر زرین گیاه، اثرات معنی داری بر درصد و سرعت جوانه زنی بذرها نشان داد.  
نتایج نشان داد که تیمار اسید سولفوریک بیشترین درصد جوانه زنی (95 درصد) و سرعت جوانه زنی (6/78) را داشته است جدول  
(2)

سرعت جوانه زنی	درصد جوانه زنی	شکست خواب بذر
1.43	50(b) درصد	جیبرلین
6.78	95(a) درصد	سولفوریک اسید

جدول 2: درصد و سرعت جوانه زنی بذر زین گیاه در تیمارهای مختلف شکست خواب بذر



نمودار 3: مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف شکست خواب بذر زین گیاه بر درصد جوانه زنی



#### نمودار 4: مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف شکست خواب بذر زرین گیاه بر سرعت جوانه زنی



WFP (ژرمیناتور) جوانه زنی بذور زرین گیاه در محیط



MS جوانه زنی بذور زرین گیاه در محیط

(ژرمیناتور) WFP، MS شکل 1: جوانه زنی بذور زرین گیاه در محیطهای مختلف

#### بحث

در تحقیق حاضر درصد و سرعت جوانه زنی در محیط WFP مقایسه با محیط MS کمتر مشاهده گردیده است و از طرف دیگر گیاهچه های بدست آمده به خاطر فقدان مواد غذایی، قدرت رشد کافی را نداشته و ضعیف بودند. بذور زرین گیاه به دلیل داشتن رکود فیزیکی که رکود ناشی از پوسته سفت و سخت بذر می باشد و مانع نفوذ آب و اکسیژن به داخل بذر شده و همچنین جوانه زنی بذر دچار تاخیر می گردد (جلیلی مرندی، 1388). با توجه به اینکه خواب بذر زرین گیاه یکی از عوامل مهمی است که باعث شده است این گیاه دارویی ارزشمند در خطر انقراض قرار گیرد، در این مطالعه شکست خواب بذرهای گونه زرین گیاه مطالعه گردید. بررسی ها نشان داد که پوسته بذور زرین گیاه سخت بوده و عامل اصلی خواب پیچیده آن است و اعمال تیمار اسید سولفوریک موثرترین راه برای تسریع جوانه زنی بذرهای این گونه به شمار می آید. در تحقیق حاضر استفاده از تیمار جیبرلین برای شکست خواب بذر در درصد و سرعت جوانه زنی اثر مطلوبی نداشته احتمالاً به دلیل تحریک موسیلاژ پوشش بذر بوده است. Orphanos, (1983) اظهار داشت که موسیلاژ پوشش بذر، نفوذ اکسیژن به جنین را محدود می کند، بنابراین باعث ممانعت در جوانه زنی بذر می شود.

در مطالعه بر گیاهان دیگر ترکیب غلظت های مختلف BA بررسی و گزارش شد که تمام تنظیم کننده های رشد گیاهی حداکثر تاثیر را روی کالوس زایی جوانه داشتند. بیشترین وزن تر و خشک در تیمارهای 0/5 میلی گرم در لیتر BA به دست آمد (ابراهیمی و همکارانش، 1391). رضانژاد و طراح (1392) نیز در مطالعه جوانه زنی رز گالیکا (*Rosa gallica.L*) بیان کردند که نوع، غلظت و نسبت تنظیم کننده های رشد در جوانه زنی موثر هستند و نسبت 2 تا 3 میلی گرم در لیتر BAP برای تحریک جوانه زنی جداگشت- های مختلف موثر بودند. تحقیق حاضر نیز همانند نتایج مطالعات دیگر مانند گیسون و همکارانش و فرنس در کشت سلولی سرخدار و بستوسو و همکارانش نشان می دهد که ترکیب تنظیم کننده های رشد گیاهی گروه اکسین در تمایز دایی، تحریک تقسیم و تکثیر سلولی و جوانه زنی نقش مهمی دارند و همراه با سایتوکینین ها از جمله BAP در جوانه زنی موثرتر هستند (Gibson et al., 2006; Bestoso et al., 2007; Frense et al., 1993). دامیانو و همکارانش در مطالعه ای روی رقم های مختلف فندق در ایتالیا گزارش کردند دو میلی گرم در لیتر BAP و 0/01 میلی گرم در لیتر IBA برای مرحله شاخه زایی مناسب می باشد (Damiano et al., 2005). همچنین پیوندی و همکارانش در ریزازدیادی گیاه اسطوخودوس (*Lavandula vera*) بیان کردند که سرعت رشد ریزنمونه ها

در محیط کشت دارای BAP افزایش معنی داری را نشان داده است و موجب افزایش در تعداد نوساقه‌ها و جداگشت شده است (پیوندی و همکارانش، 1394). در مطالعه‌ای اندام‌زایی در گیاه مامیران از ریزنمونه‌های ساقه در محیط کشت MS تکمیل شده با 1 میلی گرم بر لیتر BAP به اضافه 0/5 میلی گرم بر لیتر 2،4-D و تولید 5 شاخساره به ازای هر ریز نمونه گزارش شده است (Vantu et al., 2011). نتایج تحقیقات قبلی نشان می‌دهد که BA با غلظت 1 تا 5 میلی گرم در لیتر برای شکستن خواب جوانه و تکثیر شاخه در گیاهان مختلف ضروری است (Hasegawa et al., 1980). بررسی‌های محققین نشان می‌دهد که BA نسبت به سایر سیتوکینین‌ها بیشتر بر روی رشد شاخساره‌های جانبی و افزایش تعداد شاخه تاثیر دارد. در تحقیقی دیگر مشخص شد محیط کشت MS تکمیل شده با سیتوکینین در جوانه زنی و باززایی ساقه‌ها تاثیر بسزایی دارد (Mishra et al., 2020). در گیاه دارویی (*L. maticus Benth*) اثر سیتوکینین بر سرعت جوانه زنی گیاه در شرایط کشت درون شیشه‌ای بررسی شد که نتایج به دست آمده با مطالعه حاضر همسو بود (Govindaraju et al., 2018). در مطالعه‌ای دیگر بر روی بادام، از چندین روش برای تسهیل تشکیل شاخساره و افزایش سرعت جوانه زنی استفاده شد. نتایج نشان داد که هورمون‌های اکسینی تأثیر بیشتری نسبت به بقیه دارد (Mohamed Addi et al., 2021). در گیاه مریم گلی کاربرد نیترژن در محیط کشت MS باعث افزایش سرعت جوانه زنی، زیست توده و تولید متابولیت ثانویه در گیاه می‌شود (Heydari et al., 2020). در گیاه بازل تنظیم کننده‌های رشد گیاه بر افزایش میزان جوانه زنی در گیاه تاثیر بسزایی دارند و موجب بهبود رشد دانه‌ها می‌شوند (Ashokhan Estaji et al., 2020). در گیاه لیلیوم بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف سیتوکینین‌ها و اکسین‌ها بر جوانه زنی این گیاه بررسی شد و مشخص شد این گیاه به اکسین بیشتری نسبت به سیتوکینین نیاز دارد تا جوانه زنی خوبی داشته باشد (Asghar Estaji et al., 2021). به طور کلی تنوع و فراوانی جوانه زنی در پاسخ به سطوح هورمونی می‌تواند به دلیل تمایز در بیان ژن‌های کنترل کننده تولید جوانه باشد. همچنین ممکن است در بعضی از سطوح مورد استفاده، برخی از ژن‌های مسئول جوانه زنی به طور کامل بیان نشوند (Arumugan and Gopinath, 2001; Kedra and Bach, 2005).

### نتیجه گیری کلی

نوع بستر کشت بذریه تاثیر زیادی بر بهبود جوانه زنی و استقرار گیاهچه به عنوان مهمترین مرحله بحرانی چرخه زندگی گیاهان دارد. با توجه به اینکه بذر گیاه زرین گیاه مشکل در جوانه زنی دارد و معمولا در خاک دارای رشد کند بوده و دچار بوته میری می‌شود، لذا این تحقیق به منظور بررسی امکان بهبود جوانه زنی و استقرار گیاه دارویی زرین گیاه در بخش آزمایشگاهی دانشگاه ارومیه طراحی و اجرا شد. نتایج حاصل نشان داد که بیشترین درصد رشد و جوانه زنی از گیاهانی که در محیط کشت MS تیمار شده بودند حاصل شد.

### منابع

1. ابراهیمی، چ، سلوکی، م، امید، م، فروتن، م، 1391. بررسی اثر تنظیم کننده‌های رشد گیاهی و نوع ریزنمونه بر کالزایی فندق (*Corylus avellana*). ویژه نامه دوازدهمین کنگره ژنتیک ایران، تهران، 5-1.
2. اطرش، م. مرادی، ک. (1391). اثر ریزنمونه‌ها و هورون‌های رشد در باززایی مستقیم زرین گیاه (*Dracocephalum kotschy Boiss*) با استفاده از تکنیک کشت بافت. فصل نامه داروهای گیاهی. سال سوم. شماره 3: 134-127.
3. امید بیگی، ر. (1386). تولید و فرآوری گیاهان دارویی. جلد اول. چاپ چهارم. انتشارات آستان قدس رضوی، 347 ص.
4. امید بیگی، ر. (1388). تولید و فرآوری گیاهان دارویی. جلد اول. چاپ پنجم، انتشارات آستان قدس رضوی، 347 ص.

5. ایوبی، ن. (1393). اثر ریزنمونه و محیط کشت بر القاء و رشد ریشه‌های موئین تولید شده در حضور آگروباکتریوم رایزوترنز در زرین-گیاه (*Dracocephalum Kotschy Boiss*) رساله کارشناسی ارشد گیاهان دارویی. دانشکده کشاورزی. دانشگاه ارومیه
6. باقری، ه. پ، آزادی. (1381). کشت بافت گیاهی. تکنیک‌ها و آزمایش‌ها. تالیف رابرت. اچ. اسمیت. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. چاپ اول. 154 صفحه.
7. باقری، ع. ر، صفاری. (1390). مبانی کشت بافت‌های گیاهی. تالیف آر. ال. ام. پیریک. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. چاپ ششم. 424 صفحه.
8. پیوندی، م، کاظمی، ل، مجد، ا، 1394. تاثیر سیتوکینین‌های مختلف بر ریزازدیادی گیاه اسطوخودوس (*Lavandula vera*)، مجله پژوهش‌های گیاهی (زیست‌شناسی ایران)، 28 (2): 257-263.
9. رضائزاد، ف، طراح، ر، 1392. اثر نور و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی بر کالوس‌زایی و تجمع آنتوسیانین در کالوس‌های حاصل از جداکشت‌های مختلف در رز گالیکا (*Rosa gallica. L*)، مجله پژوهش‌های گیاهی (زیست‌شناسی ایران)، 26 (2): 184-195.
10. جلیل مرندی، ر. (1386). ازدیاد نباتات. انتشارات جهاد دانشگاهی ارومیه. چاپ دوم، 469 ص.
11. Asghar Estaji, Esmaeil Chamani. Zahra Khazaei. J., (2021). Influence of Plant Growth Regulators on Callogenesis and on the Biomass of Cell Suspensions in Lily (*Lilium ledebourii* and *Lilium Regal*) Appl Biotechnol Rep. 8(1):63-70.
12. Ashokhan S, Othman R, Abd Rahim MH, Karsani SA, Yaacob JS(2020). Effect of plant growth regulators on coloured callus formation and accumulation of azadirachtin, an essential biopesticide in *Azadirachta indica*. Plants (Basel). 9(3):352. doi:10.3390.
13. Baroncelli, S., Buittiet, S., Bennici, M., Foroughi, W., Mix, G., Gaul, H., Tagliasacchi, A.M., Loiero, M. & Giorgi, B. (1978). Genetic control of in vitro and in vivo growth of hexaploid wheat. Z. Pflanzenzuecht, 80, 109-116.
14. Bestoso F, Ottaggio L, Armirotti A, Balbi A, Damonte G, Degan P, Mazzei M, Cavalli F, Ledda B, Miele M (2006). In vitro cell cultures obtained from different explants of *Corylus avellana* produce taxol and taxanes. BMC Biotechnology 6 (45): 1-11.
15. Damiano C, Catenaro E, Ginovinazzi A, Caboni E (2005). Micropropagation of hazelnut (*Corylus avellana*). Acta Horticulturae 686: 227-226.
16. Denham, A. (1999). Ex situ conservation: Cultivation of woodland medicinal plants. In: TRAFFIC EUROPE (Ed): Medicinal plant trade in Europe. Proceedings of the first symposium on the conservation of medicinal plants in trade in Europe. TRAFFIC Europe, 60: 85-89
17. Deliu, C. A, Keul, C, Munteanu-Deliu, A, Cost, C, ȘTEFĂNESCU and M, Tamas. (2002). Tropene alkaloid biosynthesis in tissue cultures of *Scopolia Carniolica* JACQ. Contribuții Botanice Journal. 155-164.
18. Fattahi, M., Nazeri, V., Torras-Claveria, L., efidkon, F., Cusido, R.M., Zamani, Z. and palazon, J. (2013). Identification and quantification of leaf surface flavonoids in wild growing populations of *Dracocephalum kotschy* by LC- DAD- ESI-MS. Food chemistry, 141: 139-146.
19. Fattahi, M., Nazeri, V., sefidkon, F., Zamani, Z. and palazon, J. (2011). The effect of pre-sowing treatments and light on seed germination of *Dracocephalum kotschy* Boiss: An endangered medicinal plant in Iran. Horticulture, Environment, and Biotechnology, 52: 559- 566.
20. Fatahi. Mohamad, Zazeri. Vahideh & etal. 2013. A new biotechnological source of rosmarinic acid and surface flavonoids hairy root cultures of *Dracocephalum kotschy* Boiss. Industrial crops and products. Vol : page 256-263.
21. Frense D (2007). Taxanes: perspectives for biotechnological production. Applied Microbiology and Biotechnology 73: 1233-1240.
22. Gibson DM, Ketchum REB, Vance NC, Christen AA (1993). Initiation and growth of cell lines of *Taxus brevifolia* (Pacific Yew). Plant Cell Reports 12: 479-482.
23. Govindaraju and P. Indra Arulselvi, (2018). Effect of cytokinin combined elicitors (l-phenylalanine, salicylic acid and chi-tosan) on in vitro propagation, secondary metabolites and molecular characterization of medicinal herb—*coleus aro-maticus* Benth (L),” Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences, vol. 17, no. 4, pp. 435-444.
24. George, E.F. M.A, Hall and J.D, Klerk. (2008). Plant propagation by tissue culture. The Background. Springer. 1: 65- 75.

25. Gomes F., Simões M., Lopes M.L. and Canhoto M. (2010). Effect of plant growth regulators and genotype on the micropropagation of adult trees of *Arbutus unedo* L. (strawberry tree). *New Biotechnology*, 45 (1): 72-82.
26. Heydari HR, Chamani E, Esmaeilpour B. (2020)., Effect of total nitrogen content and  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  ratio on biomass accumulation and secondary metabolite production in cell culture of *Salvia nemorosa*. *Iranian Journal of Genetics and Plant Breeding*.9(1):17-27. doi:10.30479/ijgpb.2020.12321.1258.
27. Hasegawa, P.M. (1980). Factors affecting shoot and root initiation from cultured rose shoot tips. *J. Am. Soc. Hortic. Sci*, 105: 216–220.
28. Karakas FP. (2020)., Efficient plant regeneration and callus induction from nodal and hypocotyl explants of goji berry (*Lycium barbarum* L.) and comparison of phenolic profiles in calli formed under different combinations of plant growth regulators. *Plant Physiol Biochem*.146:384-391. doi:10.1016/j.plaphy.2019.11.009.
29. Larkin, P.J. & Scowcroft, W.R. (1981). Somaclonal variation a novel source of variability from cell cultures for plant improvement. *Theoretical and Applied Genetics*, 60, 197-214.
30. Larcher W, (2001) *Physiological plant ecology* .Springer-verlag Berlin Heidelberg New York Germany : 505.
31. Liusia J, Penuelas J, Munne-Bosch S. (2005) Sustained accumulation of methyl salicylate alters antioxidant protection and reduces tolerance of holm oak to heat stress .*Physiol planta* 124 :353-361.
32. Mohamed Addi, Nargis Sahib, Ahmed Elamrani, Malika Abid, and Aatika Mihamou. (2021)., Effect of Culture Media and Plant Growth Regulators on Shoot Proliferation and Rooting of Internode Explants from Moroccan Native Almond (*Prunus dulcis* Mill.). *Braz Arch Bio Technol.*; 51: 229-236.
33. Mishra, K. N. Tiwari, P. Mishra, S. K. Tiwari, S. K. Mishra, and R. Saini, (2019)., Effect of cytokinin and MS medium composition on efficient shoot proliferation of *Nyctanthes arbor-tristis* L. through cotyledonary node explant and evaluation of genetic fidelity and antioxidant capacity of regenerants,” *South African Journal of Botany*, vol. 127, pp. 284–292.
34. Prasad M N V. (1996) *Plant ecophysiology* .John Wiley and Sons, Inc, New York 542 pages :173-206.
35. Pierik, R.L.M. (1987). *In vitro culture of higher plants*. Martinus Nijhoff, Dordrecht, The Netherlands. p. 335.
36. Vantu, S., 2011. Aspects of in vitro cultivation of *Chelidonium majus*. *Scientific Annals of Alexandru Cuza University of Iasi. New Series, Section 2, Vegetable Biology*, PP: 49 – 52.
37. WHO. (2003). WHO guidelines on good agriculture and collection practices (GACP) for medicinal plants. P. I. Geneva.
38. Zhang, Y. S, Gao. T, Du. H, Chen. H, Wang and T, Zhu. (2011). Direct multiple shoot induction and plant regeneration from dormant buds of *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf. *Biotechnology Journal*. 10509-10515.



## بررسی تیمار نانو مواد نقره بر روی برخی صفات رشدی و صفات فیزیولوژیکی گیاه دارویی نعناع (*Mentha spicata.l*)

بهرخ دایی حسنی<sup>1</sup>، لیلا خلیل بیگلر<sup>2</sup>، سیامک فلاحی فراگوز<sup>3</sup> و مهسا مسلم زاده<sup>4</sup>

<sup>1</sup> گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

<sup>2</sup> گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

<sup>3</sup> گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

<sup>4</sup> گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

### چکیده:

نعناع از مهم ترین گیاه دارویی بومی ایران است که علاوه بر دارا بودن اثرات درمانی خاص، به عنوان ادویه و طعم دهنده نیز کار برد دارد. نعناع حاوی مانتول و تانن است. مطالعات نشان داده است که تاثیر نانو ذرات روی گیاهان می تواند مفید و غیر مفید باشد. و به طور کلی نانو ذرات نقره بر طول ریشه و ساقه گیاه تاثیر بازدارنده دارد. این تحقیق به منظور بررسی اثرات نانو ذرات نقره در غلظت های (50-30-10-0- ppm) بر شاخص های مورفولوژیک (*Mentha spicata.l*) انجام شد. گیاه تحت تیمار غلظت های مختلف نانو ذرات نقره به صورت محلول پاشی به مدت 20 روز قرار گرفت. پس از پایان دوره تیماردهی گیاهان، اندام های هوایی و زیر زمینی به منظور اندازه گیری ها جمع آوری شد. برای تجزیه و تحلیل داده ها از ANOVA و برای مقایسه میانگین از آزمون دانکن در سطح احتمال آماری 0/05 استفاده گردید. گروه های تحت مطالعه به لحاظ میانگین طول ساقه اختلاف معنی داری را نشان دادند، بین میانگین طول ریشه در گروه های تحت مطالعه (سه گروه آزمایشی و گروه شاهد) اختلاف معنی داری وجود داشت. نتایج این تحقیق نشان داد که میزان قند محلول در برگ با افزایش غلظت نانو ذرات نقره افزایش می یابد. بیشترین میزان قند محلول در تیمار با غلظت 50 ppm و کمترین در تیمار با غلظت 10 ppm مشاهده شد. نتایج آنالیز داده های حاصل از محتوای نیترات برگ ها حاکی از کاهش پله کانی محتوی نیترات برگ در اثر افزایش غلظت نانو ذره نقره استفاده شده است. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که نانو ذرات نقره در اکثر غلظت های به کار گرفته شده به طور نامطلوبی بر روی گیاه نعناع اثر داشته و این اثر را از طریق ایجاد تنش اکسیداتیو اعمال می کند و فاکتورهای رشدی و آنزیمی گیاه را تحت تاثیر قرار می دهد.

واژگان کلیدی: نانو ذرات نقره، نعناع، صفات رشدی و فیزیولوژیکی

مقدمه:

یکی از بزرگترین خانواده های گیاهی، خانواده نعناعیان میباشند که تنوع زیستی زیادی در سراسر جهان و مخصوصاً نواحی مدیترانه ای و مرطوب دارند. گیاهان متعلق به این خانواده گیاهی اهمیت زیادی از لحاظ کاربرد در صنایع آرایشی، غذایی و دارویی دارند (Zargari, 2014). نعناع از جمله مهم ترین و فراوان ترین گیاهان دارویی بومی ایران هست که علاوه بر دارا بودن اثرات درمانی خاص، به عنوان ادویه و طعم دهنده نیز کاربرد دارد (Fournomiti et al., 2015). نعناع گیاهی است با نام علمی *spicata Mentha*، از رده دولپه ای های پیوسته گلبرگ که سردسته تیره نعناعیان و از سبزی های خوراکی است. این گیاه تمام اسانس ها و خواص پونه را دارد؛ ولی برگ هایش کرک کم تری دارند و بریدگی های کنار برگ های آن بیش تر از پونه و اسانس آن نیز ملایم تر است. نعناع گیاهی است با ریشه هوایی و ساقه های مستقیم و چهارگوش، و برگ های آن به طول 3 تا 5 سانتی متر، متقابل، نیزه ای یا دوکی است، حاشیه ی آن دارای بریدگی های عمیقی است، بریدگی های کناره آن نوک تیز است (Baser, 2001) کرک برگ های نعناع کم است. نعناع سبز معمولاً در سرتاسر جهان کشت می شود. این گیاه در نواحی شمال ایران و اطراف تهران به حالت وحشی و پرورشی می روید. گل های آن در ماه های مرداد و شهریور ظاهر می گردند. رنگ گلی یا ارغوانی مایل به بنفش دارند و به تعداد زیاد در مجاور یکدیگر به نحوی مجتمع می رویند (زرگری، 1376). وجود ویتامین C و بتاکاروتین موجود در آن، مانند آنتی اکسیدان عمل و رادیکال های آزاد را از بین برده، همچنین استحکام غشایی سلولی را حفظ می کند و در نتیجه خطر بیماری های قلبی و سرطان را کاهش می دهد. از هزاران سال قبل تاکنون از گونه های مختلف نعناع به عنوان ادویه و دارو استفاده می شود. نعناع حاوی مانتول و تانن است که ترکیباتی آنتی اکسیدان و بعضاً ضد میکروبی هستند (Mikaili et al., 2013). مهندسی هدفمند مواد در مقیاس کمتر از 100 نانومتر برای به دست آوردن ویژگی ها و عملکردهای وابسته به اندازه را نانو تکنولوژی گویند. نانو تکنولوژی یکی از فناوری های نوین است که اخیراً وارد عرصه کشاورزی شده است. نانو ذرات مجموعه های اتمی یا مولکولی با حداقل ابعاد بین 1-100 نانومتر هستند که خواص فیزیکی و شیمیایی متفاوتی در مقابله با توده مواد خود دارند (Monica et al, 2009). مطالعات نشان داده است که تأثیر نانو ذرات بر روی گیاهان می تواند مفید (برای رشد گیاهان و توسعه آن ها) و غیر مفید (جلوگیری از رشد ریشه) باشد (Bedi et al, 2018). نتایج زانگ و همکاران (2005) نشان داد که نانو ذرات نقره در غلظت های بالا بازدارندگی چشم گیری را بر طول ریشه داشته است. پس بنابراین نانو ذرات نقره بر طول ریشه و ساقه گیاه تأثیر بازدارنده دارد. علاوه بر نانو ذرات نقره، ذرات دیگری از جمله ZnO اثر سمیت بر روی طول ریشه برنج نشان داده است. (بین و همکاران 2008) نشان داده اند که سلول های کلاهک ریشه گیاه (*multiflorum. L*) تحت تیمار نانو ذرات نقره آسیب دیده و بر این باورند که سلول ها غیر طبیعی شده و موجب کاهش رشد ریشه می شود. مهار رشد ریشه تا حد زیادی میان نانو ذرات و گیاهان متفاوت است و تا حدی با غلظت نانو ذرات در ارتباط است. بی نظمی در مسیر انتقال آب و مواد معدنی یکی از راه های پیشنهادی برای این که نانو ذرات چگونه موجب آسیب زدن به گیاه می شود را بیان می کند (Asli, 2009). نانو ذرات مجموعه های اتمی یا مولکولی با حداقل ابعاد بین 1-100 نانومتر هستند که خواص فیزیکوشیمیایی متفاوتی در مقایسه با توده مواد خود دارند. نانو ذرات در سرعت جوانه زنی موثر بوده و رشد گیاه را افزایش می دهند. کلید افزایش سرعت جوانه زنی بذور توسط نانو ذرات در نفوذ این ذرات به داخل بذر هاست (Khot et al., 2012). در طبیعت گیاهان در برابر نوسانات محیطی مختلفی از جمله شوری و خشکی قرار می گیرند که رشد آن ها را محدود می کند. جوانه زنی بذر به عنوان اساسی ترین مرحله تعیین کننده رشد گیاه است که به شدت تحت تأثیر عوامل محیطی به خصوص رطوبت و مواد محلول قرار می گیرد. امروزه گزارشات کمی در رابطه

با اثرات نانوذرات نقره بر روی گیاهان آوندی منتشر شده است، این گزارشات حاکی از اثرات معین و مشخصی بر روی رشد گیاه هستند (Stampoulis et al, 2009 ; Jiang et al, 2012).

#### مواد و روش ها

گیاه نعناع سالم به صورت ریزوم در داخل هر گلدان پلاستیکی که حاوی دو قسمت خاک مزرعه، یک قسمت ماسه ( که به مدت 4 ساعت در دمای 121 درجه سانتی‌گراد و فشار 1 اتمسفر اتوکلاو شد (در یک قسمت خاک‌برگ کشت داده شد. هر تیمار در 6 تکرار در گلدان مجزا کشت گردید. رشد گیاه در اتاقک‌های کشت با شرایط نوری 14 ساعت روشنایی، 10 ساعت تاریکی و دمای بیشینه 25 درجه سانتی‌گراد و دمای کمینه 21 درجه سانتی‌گراد و شدت نور  $150 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  انجام گرفت.

#### اعمال تیمار:

در هر گلدان بعد از رشد گیاه نعناع 4 پایه که رشد همسان داشتند نگه‌داشته و بقیه پایه‌ها حذف شد. زمانی که گیاهچه‌های گیاه به 3 برگی رسیدند تحت تیمار با غلظت‌های مختلف نانو ذرات نقره ( 50-30-10-0 ppm ) به صورت محلول‌پاشی به مدت 20 روز قرار گرفت. پس از پایان دوره تیماردهی گیاهان گروه شاهد و تیمار به‌منظور اندازه‌گیری‌ها جمع‌آوری شد. سه تکرار از هر تیمار، بعد از جداسازی اندام هوایی از ریشه‌ها جهت اندازه‌گیری وزن خشک داخل آون در دمای 80 درجه سانتی‌گراد به مدت 48 ساعت قرار داده شد و سه تکرار دیگر جهت انجام آزمایش‌هایی که نیاز به اندام‌تر گیاه داشت، در فریزر با دمای -20 درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

#### اندازه‌گیری طول ریشه و ساقه:

پس از برداشت نمونه‌ها طول بلندترین ریشه از ناحیه یقه تا نوک ریشه و طول بلندترین ساقه از ناحیه یقه تا نوک مرستم انتهایی با استفاده از خط کش اندازه‌گیری شد.

#### اندازه‌گیری وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی:

پس از برداشت ریشه، ساقه و برگ گیاهان مربوط به یک گلدان، جداسازی و با آب شستشو داده شد و پس از خشک کردن نمونه‌ها با دستمال کاغذی وزن تر آن‌ها با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت 0,001 اندازه‌گیری شد. سپس نمونه‌ها در دمای 80 درجه سانتی‌گراد به مدت 48 ساعت قرار داده شد. پس از مدت‌زمان ذکرشده وزن خشک نمونه‌ها اندازه‌گیری شد.

#### اندازه‌گیری قندهای محلول:

میزان قندهای محلول به روش فنل سولفوریک بر اساس هیدرولیز اسیدی قندهای محلول و ایجاد ترکیب فورفورال که با فنل تولید یک کمپلکس رنگی می‌کند اندازه‌گیری شد. 0,5 گرم وزن تر گیاه از هر تیمار توزین شد و در داخل 5 میلی‌لیتر آب مقطر به‌وسیله هاون خوب له گردید سپس با تنظیم صاف شد و از عصاره گیاهی حاصله 2 میلی‌لیتر برداشته شد و به داخل یک لوله‌آزمایش منتقل گردید، روی آن 1 میلی‌لیتر فنل (v/w) 5٪ ریخته شد و درنهایت لوله‌ها به مدت 1 ساعت به حال خود رها شد تا رنگ ظاهر و تثبیت شود. برای شاهد به‌جای عصاره گیاهی از 2 میلی‌لیتر آب مقطر استفاده گردید و مراحل فوق در مورد آن نیز اجرا شد. بعد از ظهور رنگ میزان جذب در 485 نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری و با استفاده از منحنی استاندارد گلوکز میزان قندهای محلول برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه گردید.

سنجش محتوای نیترات:

برای سنجش محتوای نیترات از روش Xiong و همکاران (2006) استفاده گردید. برای سنجش محتوای نیترات 2 گرم از بافت تر برگ و 1 گرم بافت تر ریشه به طور جداگانه به قطعات ریز خرد شد و در داخل لوله‌های آزمایش قرار داده شد. سپس روی آن‌ها 10 میلی‌لیتر آب مقطر اضافه گردید. لوله‌های حاوی نمونه‌ها به مدت 30 دقیقه در حمام آب گرم جوشان گذاشته شد. بعد از سرد شدن لوله‌ها، نمونه‌ها با پارچه نظیف صاف و حجم عصاره‌ی صاف‌شده با آب مقطر به 25 میلی‌لیتر رسانده شد. سپس 0,1 میلی‌لیتر از آن برداشته شد و به آن 0,4 میلی‌لیتر اسید سالیسیلیک 5 درصد در اسیدسولفوریک 96 اضافه خواهد شد و بعد از سرد شدن آن 9,5 میلی‌لیتر سود 8 درصد اضافه گردید. در نهایت جذب محلول حاصل در 410 نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. جهت تعیین میزان نیترات، منحنی استاندارد با استفاده از غلظت‌های معلوم نیترات تهیه گردید.

### روش نمونه‌گیری:

روش نمونه‌گیری به صورت کاملاً تصادفی بود و هر تیمار به صورت تصادفی سطوح مختلف از نانو نقره را به خود اختصاص داد.

### نتایج

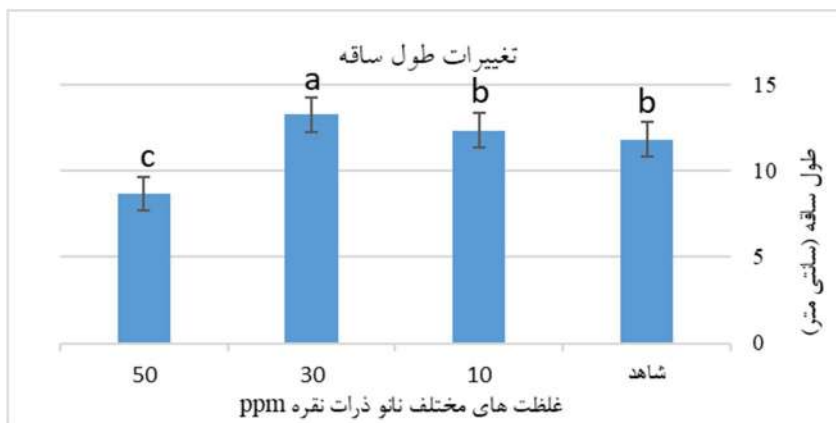
#### اثر تیمارهای مختلف بر طول ساقه گیاه نعنای

جدول (1) نتایج تحلیل واریانس برای مقایسه میانگین‌های طول ساقه در گروه‌های تحت مطالعه را نشان می‌دهد.

جدول (1) نتایج تحلیل واریانس برای مقایسه میانگین‌های طول ساقه در گروه‌های تحت مطالعه

منابع تغییرات	مجموع مجذورات	میانگین مجذورات	F	معناداری
بین گروهی	22/98	7/66	1	/041
درون گروهی	2254/00	40/26	0/9	
کل	2276/98			

همانگونه که در جدول (1) فوق مشخص است گروه‌های تحت مطالعه شاهد (50-30-10 ppm) به لحاظ میانگین طول ساقه اختلاف معنی‌دار دارند. بنا براین نانو ذرات تغییراتی در پارامترهای رشدی و فیزیولوژیکی گیاه ایجاد می‌کند. بررسی نتایج نشان داد که با اعمال نانو ذره در غلظت‌های (50-30-10 ppm) بر گیاه نعنای طول اندام ساقه در غلظت پایین نسبت به شاهد افزایش و در غلظت‌های بالاتر کاهش می‌یابد. بیشترین طول ساقه در تیمار 30 ppm و کم‌ترین آن در 50 ppm حاصل شد. نانو ذرات نقره در غلظت‌های بالا بازدارندگی را بر طول ساقه نشان دادند. نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به صفات طول ساقه و طول اندام هوایی اختلاف معنی‌دار در سطح 5 درصد را نشان داد.



نمودار (1). تغییرات طول ساقه گیاه نعنای در نمونه شاهد و تیمارهای مختلف نانو ذرات نقره

حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح ( $p < 0.05$ ) است.

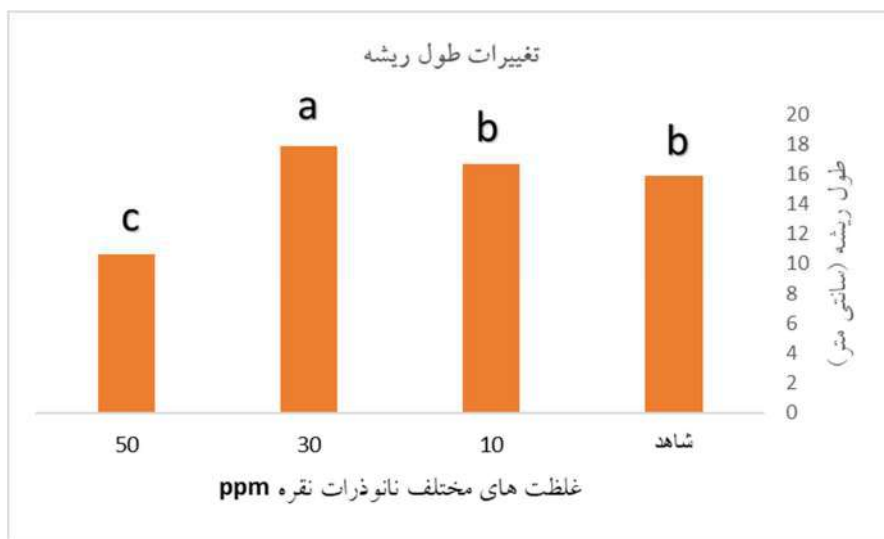
### اثر تیمارهای مختلف بر طول ریشه گیاه نعنای

جدول (2) نتایج تحلیل واریانس برای مقایسه میانگینهای طول ریشه در سه گروه آزمایشی و گروه شاهد را نشان می دهد.

جدول (2) نتایج تحلیل واریانس برای میانگینهای طول ریشه در سه گروه آزمایشی و گروه شاهد

معناداری	F	میانگین مجذورات	مجموع مجذورات	منابع تغییرات
/000	19/04	1730/711	5192/133	بین گروهی
		90/898	5090/267	درون گروهی
			10282/40	کل

با توجه به اطلاعات ارائه شده در جدول بالا، بین میانگین طول ریشه در گروه های تحت مطالعه (سه گروه آزمایشی و گروه شاهد) اختلاف معنی داری وجود دارد (نمودار 4-2)، زیرا F به دست آمده (19/04) در سطح  $P > 0.05$  از F جدول بیشتر است.



نمودار (2). تغییرات طول ریشه گیاه نعنای در نمونه شاهد و تیمارهای مختلف نانوذرات نقره حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح ( $p < 0.05$ ) است.

افزایش بیش از 30 ppm نانونقره در گیاه نعنای باعث کاهش شدید طول ریشه در این گیاه شده است. نتایج سایر تحقیقات نشان داده نانوذرات رشد ریشه تربچه، کاهو، ذرت و خیار را متوقف می کند (Bentham, Yang et al., 1848:2005).

#### اثر تیمارهای مختلف بر وزن خشک و تر ریشه گیاه نعنای

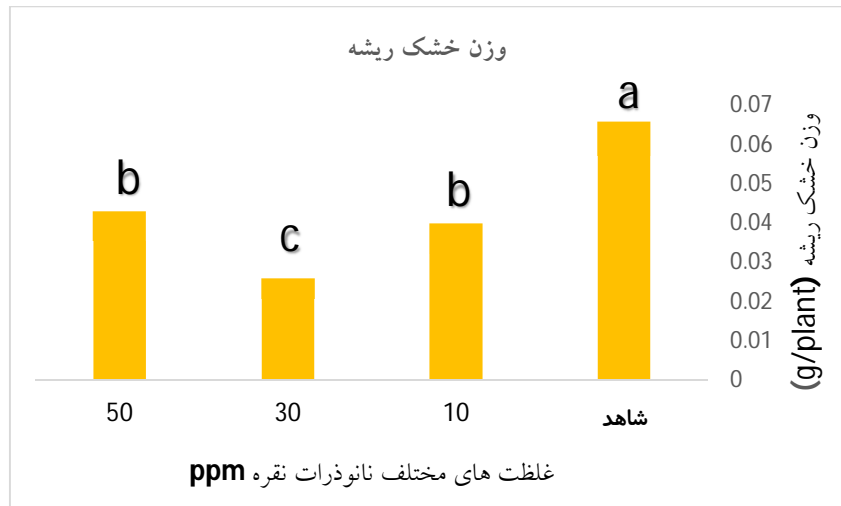
نتایج تحلیل واریانس در جدول (3) برای مقایسه میانگین های وزن خشک و تر گیاه نعنای نشان داد که نانوذرات نقره سبب کاهش وزن خشک و تر گیاه نعنای در سه گروه آزمایشی و گروه شاهد شده است.

جدول (3) نتایج تحلیل واریانس برای وزن خشک و تر ریشه گیاه نعنای

منابع تغییرات	مجموع مجذورات	میانگین مجذورات	F	معناداری
بین گروهی	197/039	65/680	4/394	/016
درون گروهی	1228/700	64/668		
کل	1425/739			

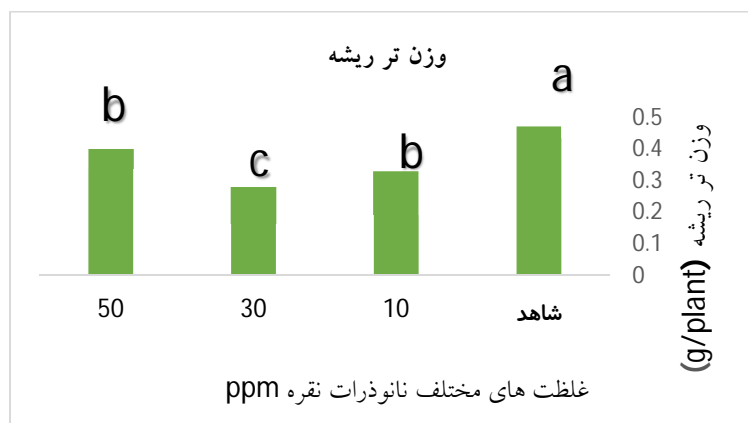
با توجه به اطلاعات ارائه شده در جدول بالا، بین میانگین وزن خشک و تر گیاه نعنای در گروه های تحت مطالعه (سه گروه آزمایشی و گروه شاهد) اختلاف معنی داری وجود دارد، زیرا F به دست آمده (4/394) در سطح  $P > 0.05$  از F جدول بیشتر است. غلظت

های مختلف نانو ذرات نقره بر وزن تر ریشه و ساقه نعنای در نمودارهای (4-3 و 4-4) نشان داده شده است. طبق این نمودارها، نتایج حاصل از بررسی ها، بر وزن تر ساقه در گیاه تیمار دیده با نانو نقره نشان می دهد که در غلظت های بالای نانو ذرات نقره وزن تر ساقه کاهش چشم گیری یافته است. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تأثیر نانو ذرات نقره در سطح 5 درصد معنی دار بود. نتایج حاصل از بررسی ها بر وزن خشک ریشه و ساقه در گیاه تیمار دیده نشانگر آن است که با افزایش غلظت نانو ذرات نقره وزن خشک کاهش چشمگیری می یابد. بیشترین وزن خشک ریشه در بین تیمار های نانو ذرات در گروه شاهد و کمترین مربوط به 30ppm بود. در آزمایش زینگ و همکاران (2005) نانو ذرات نقره در غلظت های بالا بازدارندگی چشمگیری را بر وزن و طول ریشه داشته است. نتایج حاصله این تحقیق با نتایج زینگ و همکاران (2005) مطابقت دارد.



نمودار (3). تغییرات وزن خشک ریشه گیاه نعنای در نمونه شاهد و تیمار های مختلف نانو ذرات نقره

حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح ( $p < 0.05$ ) است.



نمودار (4). تغییرات وزن تر ریشه گیاه نعنای در نمونه شاهد و تیمار های مختلف نانو ذرات نقره

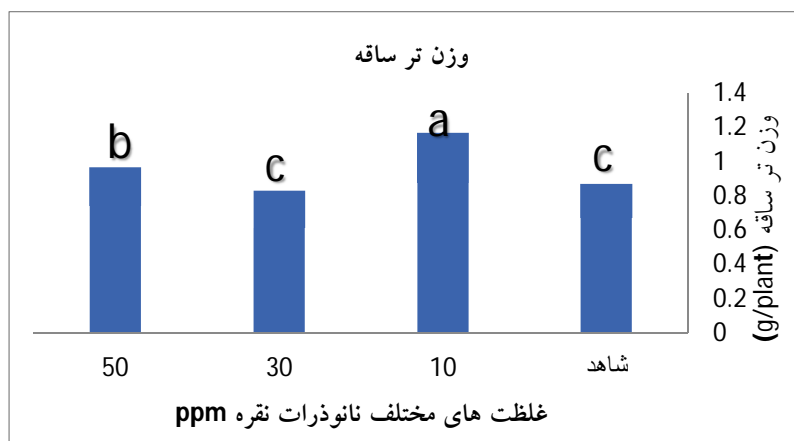
حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح ( $p < 0.05$ ) است.

نتایج سایر محققین نشان داد که سلول های کلاهک ریشه گیاه تحت تاثیر تیمار نانو ذرات نقره آسیب دیده و بر این باورند که سلول ها غیرطبیعی شده و موجب کاهش رشد ریشه می شود ( بین و همکاران 2008). تحقیقات نشان داده است که مهار رشد ریشه تا حد زیادی میان نانوذرات و گیاهان متفاوت است و تا حدی با غلظت نانوذرات در ارتباط است. بی نظمی در مسیر انتقال آب و مواد معدنی یکی از راه های پیشنهادی برای این که نانو ذرات چگونه موجب آسیب زدن به گیاه می شود را بیان می کند (Asli, 2009). بنابراین علت کاهش وزن تر و خشک گیاه نعناع در این تحقیق مشخص می گردد.

#### اثر تیمارهای مختلف بر وزن خشک و تر ساقه گیاه نعناع

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده های مربوط به جدول (4) وزن ساقه خشک و تر نشان داد که بین تیمارها اختلاف معنی داری وجود دارد. F محاسبه شده از F جدول ، بزرگتر بوده و P (احتمال) کوچکتر از 0/01 می باشد. جدول (4) نتایج تحلیل واریانس برای وزن خشک و تر ساقه گیاه نعناع

منابع تغییرات	مجموع مجذورات	میانگین مجذورات	F	معناداری
بین گروهی	178/186	70/600	4/341	/001
درون گروهی	1257/400	63/255		
کل	1453/878			

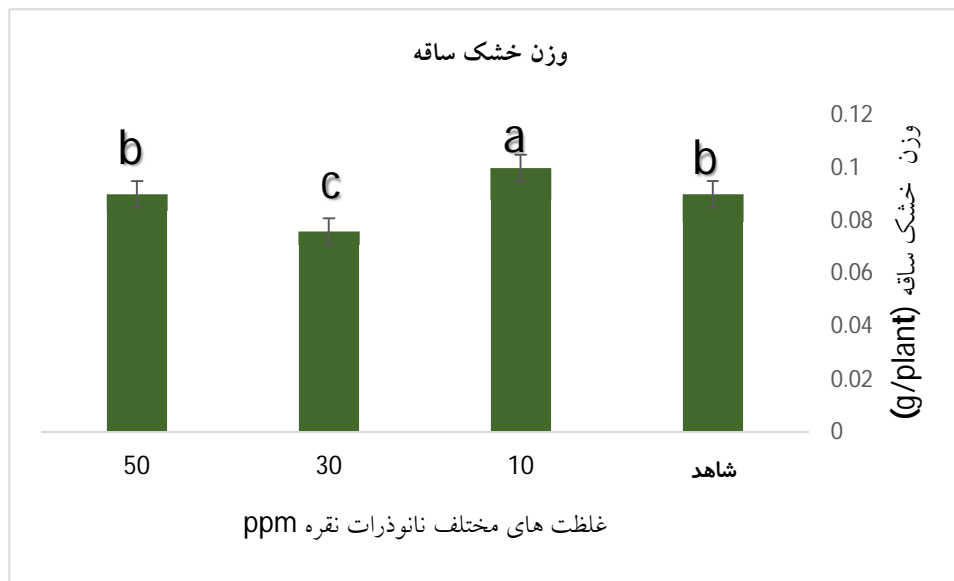


نمودار (5). تغییرات وزن تر ساقه گیاه نعناع در نمونه شاهد و تیمارهای مختلف نانو ذرات نقره

حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح ( $p < 0.05$ ) است.

اثر نانو ذرات نقره در غلظت 10 ppm سمیت کمتری بر وزن تر ساقه نشان داد و بیشترین سمیت در غلظت 30ppm مشاهده گردید.





نمودار (6) تغییرات وزن خشک ساقه گیاه نعنای در نمونه شاهد و تیمارهای مختلف نانو ذرات نقره.

حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح ( $p < 0.05$ ) است.

مطالعه علائم ظاهری در گیاه نعنای تحت تیمار غلظت های مختلف نانو ذرات نقره نشان داد که با افزایش غلظت نانوذره نقره رشد گیاه تضعیف می شود. با افزایش نانو ذرات نقره طول ریشه، طول اندام هوایی، وزن تر و خشک برگ و ریشه کاهش نشان داد؛ که این نتیجه با نتایج حاصل از تحقیقات انجام گرفته بر روی بذر گندم (قرینه و همکاران، 1390: زنگ و همکاران، 2005) هم سویی نشان می دهد. همچنین مطالعات زو و همکاران (2008) نشان داد که نانو ذرات نقره می تواند از رشد ریشه جلوگیری کند. همچنین بین و همکاران (2011) کاهش طول و وزن خشک ریشه با افزایش غلظت نانو ذرات نقره را در گیاه *Lolium multifroum* مشاهده نموده اند.

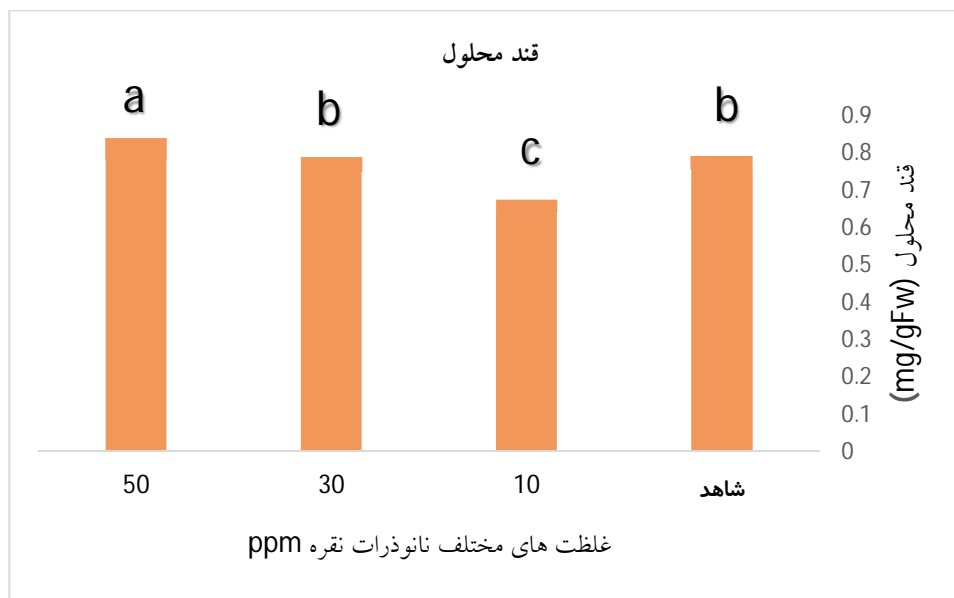
با توجه به نتایج این تحقیق دلایل کاهش وزن ریشه و ساقه در گیاهان تیمار دیده با نانو ذرات نقره، اتصال یون های نقره به DNA که سبب می شود DNA ساختار خود را از دست بدهد و از همانند سازی DNA جلوگیری می کند و همچنین سبب تولید گونه های فعال اکسیژن می شوند که باعث تخریب سلول ها می شوند (Jiang et al., 2012)

#### اثر تیمارهای مختلف بر قند محلول گیاه نعنای

نتایج حاصل از تحلیل واریانس داده های مربوط به جدول 5 قند محلول نشان داد که بین تیمارها اختلاف معنی داری وجود دارد. جدول 5 تحلیل واریانس برای قند محلول گیاه نعنای

منابع تغییرات	مجموع مجذورات	میانگین مجذورات	F	معناداری
بین گروهی	123/142	35/12	2/32	/001
درون گروهی	140/20	50/25		
کل	5480/85			

نتایج این تحقیق نشان داد که میزان قند محلول در برگ با افزایش غلظت نانو ذرات نقره افزایش یافت. بیشترین میزان قند محلول در تیمار با غلظت 50 ppm و کمترین در تیمار با غلظت 10 ppm مشاهده شد. همچنین بین تیمارهای با غلظت 30 و گروه شاهد از نظر آماری اختلاف مشاهده نگردید.



نمودار (7). تغییرات محتوای قند محلول گیاه نعنای در نمونه شاهد و تیمارهای مختلف نانو ذرات نقره  
حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح ( $p < 0.05$ ) است.

با افزایش غلظت فلزات سنگین هم چون نانو ذرات نقره، میزان تعادل آب درون سلولی دچار اختلال شده و سبب تغییرات فراساختاری در اندامکهای سلولی و آنزیم های مسیر متابولیسم قندها می شود و با افزایش غلظت فلزات سنگین میزان فعالیت آنزیم اینورناز کاهش می یابد (Prasad, 1995). به دنبال کاهش میزان انتقال آب به برگها و تجمع این عناصر سنگین در سلول، میزان کربوهیدرات ها در برگ ها افزایش می یابد. در واقع افزایش قندها یک نوع مکانیسم تطابقی و سازگار یافته برای حفظ و نگهداری پتانسیل اسمزی تحت تنش نقره است. تجمع کربوهیدراتها در حفظ غشای سلولی و تنظیم اسمزی موثر است (Sato, 2004).

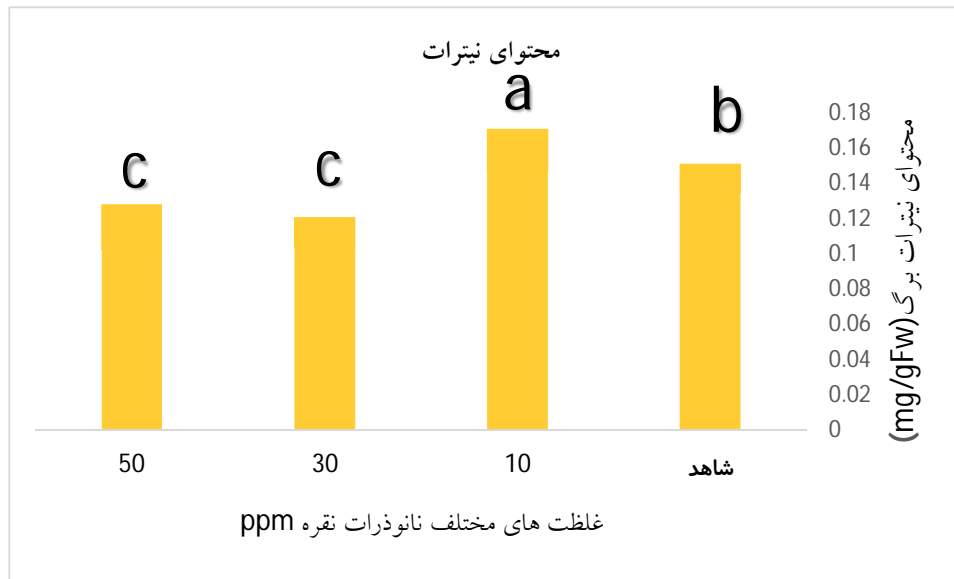
علت افزایش قند محلول در تیمارهای حاوی نانو نقره نسبت به تیمار شاهد به علت تغییرات در سطح فتوسنتز کننده و آنزیم ها جهت مطابقت با شرایط ایجاد شده است. نتایج تحقیقات نشان داده که ذرات نانو نقره بر قندهای محلول، گیاهان تأثیرگذار است (2009). نتایج این تحقیق با نتایج یوسف زایی و همکاران (1394) و هاورکمپ و همکاران (2009) مطابقت دارد.

### اثر تیمارهای مختلف بر محتوای نیترات برگ گیاه نعناع

جدول 6 نتایج تحلیل واریانس برای مقایسه میانگین های طول ریشه در سه گروه آزمایشی و گروه شاهد را نشان می دهد. جدول (6) تحلیل واریانس برای محتوای نیترات گیاه نعناع

منابع تغییرات	مجموع مجذورات	میانگین مجذورات	F	معناداری
بین گروهی	140/16	34/08	1/01	/001
درون گروهی	189/20	45/01		
کل	401/2			

نتایج آنالیز داده های حاصل از محتوای نیترات برگ ها حاکی از کاهش پله کانی محتوی نیترات برگ در اثر افزایش غلظت نانو ذره نقره استفاده شده است. که این کاهش در همه ی گروه های تیماری نسبت به گروه شاهد معنی دار بوده است (نمودار 4-8). آنالیز نتایج حاصل از داده ها نشان می دهد که نانو ذرات نقره سبب کاهش معنی داری در محتوی نیترات ریشه گیاهان تیمار در مقایسه با گروه شاهد می شود که این روند کاهش داری سیر نزولی بوده و با افزایش میزان غلظت نانو ذرات نقره استفاده شده میزان کاهش محتوای نیترات مشهودتر است کمترین محتوی نیترات را می توان در غلظت 30 ppm مشاهده کرد . شاید از دلایل کاهش شدید محتوی نیترات در گیاهان تحت تیمار به توان به اثر نانو ذرات نقره بر روی فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز اشاره کرد. شرایط محیطی نامطلوب مانند استرس فلزات سنگین، خشکی و شوری می تواند آسیمیلاسیون نیتروژن را تحت تأثیر قرار دهد. هنگامی که گیاه در معرض سطوح مختلف فلز قرار می گیرد در نتیجه ی اثر مهارى مستقیم فلز بر روی آنزیم نیترات ردوکتاز، آسیمیلاسیون نیترات کاهش می یابد، که این عمل به دلیل واکنش فلز با گروه های کربوکسیلی آنزیم است (petra, 2018). در مورد دیگر فلزات نیز در رابطه با کروم گزارش شده است که کروم از طریق آسیب رساندن به سوبسترای کاربردی در آنزیم نیترات ردوکتاز سبب کاهش فعالیت آنزیم می شود (Rai et al, 2004). بنابر گزارشات دیگر، کاهش در میزان فعالیت نیترات ردوکتاز احتمالاً به دلیل برهمکنش مستقیم بین فلز و گروه های SH موجود در جایگاه فعال آنزیم است (Sinha et al, 1988; Prasad, 1987). پس کاهش در فعالیت آنزیم در اثر برهمکنش جایگاه فعال آنزیم با فلز سنگین سبب کاهش فعالیت و کمبود در آسیمیلاسیون نیتروژن و کاهش محتوی نیتروژن در گیاه می شود.



نمودار (8) تغییرات محتوای نیترات گیاه نعنای در نمونه شاهد و تیمارهای مختلف نانو ذرات نقره نمودار (8) تغییرات محتوای نیترات گیاه نعنای در نمونه شاهد و تیمارهای مختلف نانو ذرات نقره  
حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح ( $p < 0.05$ ) است

### نتیجه گیری کلی

نتایج حاصل از این تحقیق نشان می دهد که نانوذرات نقره در اکثر غلظت های به کار گرفته شده ذرات به طور نامطلوبی بر روی گیاه نعنای اثر داشته و این اثر را از طریق ایجاد تنش اکسیداتیو اعمال می کند و فاکتورهای رشدی و آنزیمی گیاه را تحت تاثیر قرار می دهد. تحت تاثیر نانوذرات تغییراتی در پارامترهای رشدی و فیزیولوژیکی گیاه مشاهده شد به نحوی که گیاه روند مقاومتی را پیش می گیرد. علت افزایش قند محلول در تیمارهای حاوی نانوذرات نقره نسبت به تیمار شاهد به علت تغییرات در سطح فتوسنتز کننده و آنزیم ها جهت مطابقت با شرایط ایجاد شده است. همچنین این مطالعه نشان داد که گیاه نعنای در برابر غلظت های بالای نانو ذرات نقره حساس است. کاهش طول، وزن خشک و وزن تر ریشه و برگ می تواند ناشی از اثرات مخرب نانو ذرات در غلظت های بالا بر روی گیاه نعنای باشد.

منابع و ماخذ

1. حق پناه، م. و همکاران. 1392. سازه های نو در ساختمان های هوشمند با رویکرد معماری پایدار. همایش ملی معماری پایدار و توسعه شهری، بوکان.
2. رحمانی، ر. 1388. مقدمه ای بر نانو فناوری. نشر کتاب دانشگاهی.

Asli, S., and Neumann, P. M. (2009). Colloidal suspensions of clay or titanium dioxide nanoparticles can inhibit leaf growth and transpiration via physical effects on root water transport. *Plant, cell & environment*, 32(5), 577-584.  
 Bais, H.P., Sudha, G.S., and Ravishankar, G.A. 2001a. Influence of putrescine AgNO<sub>3</sub> and polyamine inhibitors on the morphogenetic response in untransformed and transformed tissues of *Chichorium intybus* and their regenerants. *Plant Cell Reports* 20(6): 547-555.  
 Baser, K. H. C., et al. "Essential oil of *Mentha asiatica* Boriss. from Uzbekistan." *Journal of Essential Oil Research* 9.4 (1997): 453-454.

- Bedi, Ankita, et al. "An *Aspergillus aculeatus* strain was capable of producing agriculturally useful nanoparticles via bioremediation of iron ore tailings." *Journal of environmental management* 215 (2018): 100-107.
- Burns J. Paul D. Fraser P. Bramley M. (2003) Identification and quantification of carotenoids, tocopherols and chlorophylls in commonly consumed fruits and vegetables. *Phytochemistry*. Vol. 62. 939-974.
- Khodakovskaya, M., Dervishi, E., Mahmood, M., Xu, Y., Li, Z., Watanabe, F., et al. (2009). Carbon nanotubes are able to penetrate plant seed coat and dramatically affect seed germination and plant growth. *ACS nano*, 3(10), 3221-3227
- Monica, R. C., and Cremonini, R. (2009). Nanoparticles and higher plants. *Caryologia*, 62(2), 161-165.
- Stampoulis D. Sinha S. K. White J. C. (2009) Assay-dependent phytotoxicity of nanoparticles to plants. *Environmental Science & Technology* Vol. 43. 9473-9479.
- Stampoulis, D., Sinha, S. K., and White, J. C. (2009). Assay-dependent phytotoxicity of nanoparticles to plants. *Environmental science & technology*, 43(24), 9473-9479.
- Upadhyaya, A., Sankhla, D., Davis, T. D., Sankhla, N., and Smith, B. (1985). Effect of paclobutrazol on the V. Sharina, R. Yagrad, "silver nanoparticle: green synthesis and their antimicrobial activities", *Advances in colloid and interface science*, 2009, 145, 83-96
- Xiong, Z.-T., Liu, C., and Geng, B. (2006). Phytotoxic effects of copper on nitrogen metabolism and plant growth in *Brassica pekinensis* Rupr. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 64(3), 273-28
- Yang, L., and Watts, D. J. (2005). Particle surface characteristics may play an important role in phytotoxicity of alumina nanoparticles. *Toxicology letters*, 158(2), 122-132.
- Yaqoob, Sonila, et al. "Effect of waste water treated with TiO<sub>2</sub> nanoparticles on early seedling growth of *Zea mays* L." *Journal of Water Reuse and Desalination* 8.3 (2018): 424-431.
- Yin, L., Cheng, Y., Espinasse, B., Colman, B. P., Auffan, M., Wiesner, M., et al. (2011). More than the ions: the effects of silver nanoparticles on *Lolium multiflorum*. *Environmental science & technology*, 45(6), 2360-2367
- Jiang H. Chang F. Li W. Yin L. (2012) Physiological analysis of silver nanoparticles and AgNO<sub>3</sub> toxicity to *Spirodela polyrrhiza*. *Environmental Toxicology and Chemistry*. Vol. 31.1880-1996
- Sinha S. K. Srivastava H. S. Mishra S. K. (1988) Effect of lead on nitrate reductase activity and nitrate assimilation in pea leaves. *Acta Soc.Bot. Pol* Vol. 57. 457-463
- Prasad M. Cadmium toxicity and tolerance in vascular plants. *Environmental and Experimental Botany*. 1995; 35(4): 525-45
- Rai V. Vajpayee P. Singh S.N. Mehrotra S. (2004) Effect of chromium accumulation on photosynthetic pigments, oxidative stress defense system, nitrate reduction, proline level and eugenol content of *Ocimum tenuiflorum* L. *Plant Sci*. Vol. 167.1159-1169.....

بنام خداوند جان و خرد

## بیانیه هشتمین کنفرانس فیزیولوژی گیاهی ایران

به یاری خداوند متعال، هشتمین کنفرانس ملی فیزیولوژی گیاهی ایران با همکاری و همیاری انجمن فیزیولوژی گیاهی ایران و دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته کرمان، در روزهای دهم و یازدهم بهمن ماه سال 1402 در کرمان برگزار شد. این رویداد علمی بستری برای مبادله و ارتقا دانش روز فیزیولوژی گیاهی بین پژوهشگران و متخصصان این حوزه را فراهم نمود. با توجه به وقوع تغییرات محیط زیستی متعدد ناشی از تغییرات اقلیمی و گرمایش جهانی، بلایای طبیعی و دخالت‌های بشر در سیستم طبیعی کره زمین، این کنفرانس با شعار «فیزیولوژی گیاهی و زندگی سبز» و با هدف ارائه دستاوردهای نوین علمی متخصصین برگزار شد. شرکت‌کنندگان در کنفرانس فیزیولوژی گیاهی، خواهان توجه بیش از پیش مسئولان اجرایی کشور به موارد زیر شدند:

- 1- با توجه به تغییرات اقلیمی و گرم شدن کره زمین و مشکلات ناشی از آن، استفاده از راهکارهای ارائه شده در این کنفرانس، به منظور مقابله با تنش‌های غیرزیستی، به ویژه تنش خشکی و شوری جهت حفظ پوشش گیاهی، جلوگیری از انقراض گونه‌های گیاهی، بهبود تولیدات گیاهی و افزایش تولید محصولات زراعی و باغی پیشنهاد می‌شود.
- 2- با توجه به مشکل کم‌آبی و خشکسالی، بر اهمیت توجه به توان اکولوژیکی مناطق مختلف کشور در طرح‌های توسعه کشاورزی تاکید و نیز در توسعه پایدار فضاها‌های سبز شهری در اقلیم‌های خشک بر اساس مدل‌های سازگار با کم‌آبی و الگوی کشت مناسب، ممنوعیت و محدودیت کشت محصولات پرآب‌خواه، استفاده از گونه‌های مناسب گیاهی کم‌آب‌خواه و سازگار با شرایط مختلف اقلیمی در مناطق مختلف کشور مورد توجه قرار گیرد.
- 3- با وجود ذخایر ژنتیکی و تنوع زیستی گسترده، اما ناشناخته در ایران، حمایت‌های بخش دولتی و خصوصی و تخصیص منابع مالی بیشتر برای انجام پژوهش‌های بنیادی و پژوهش‌هایی در زمینه شناسایی گیاهان دارویی بومی و بوم‌زاد کشور و تعیین پروفایل مواد موثره آنها به منظور معرفی پتانسیل و شناسنامه‌دار کردن این گونه‌ها در اولویت قرار گیرد.
- 4- با توجه به گسترش روزافزون آلودگی‌های محیط زیستی اعم از منابع آبی و خاکی، حمایت مادی و معنوی از پژوهش‌های پایه و کاربردی با رهیافت گیاه پالایی ضروری است. از سوی دیگر، استفاده از راهکارها یا روش‌هایی که بتواند منجر به کاهش تجمع فلزات سنگین و آلاینده‌ها در گیاهان زراعی و باغی و نیز گیاهان دارویی شود، در ارتقای سلامت جامعه و حفظ امنیت غذایی حائز اهمیت است.
- 5- دستاوردهای علمی سال‌های اخیر در زمینه فیزیولوژی پس از برداشت، سرمایه ارزشمندی است که توجه مسئولان را به استفاده هر چه بیشتر از آنها برای کاهش ضایعات محصولات کشاورزی جلب می‌نماید.
- 6- نظر به اهمیت دانش علوم پایه و بنیادی در ارتقای علمی و فناوری کشور، توجه بیش از پیش به علوم پایه در اسناد بالادستی و حمایت‌های ویژه از محققین و فارغ‌التحصیلان رشته‌های علوم پایه به ویژه در حوزه‌های علوم زیستی در قانون بودجه کشور، بسیار ضروری به نظر می‌رسد.
- 7- فعال‌سازی کمیسیون‌های تخصصی شورای عالی علوم، تحقیقات و فناوری (عتف) در جهت تدوین سیاست‌های کارآمد پژوهشی در حوزه فیزیولوژی گیاهی، تعیین اولویت‌های پژوهشی، تخصیص هدفمند اعتبارات پژوهشی به منظور نیل به نتایج کاربردی مورد نیاز در جامعه و صنعت و دیگر عرصه‌های اجرایی و دستیابی به هدف‌های مشخص در علوم پایه و همچنین تدوین سیاست‌های الزام در حوزه نظارت و ارزیابی پژوهشی باید مد نظر قرار گیرد.

- 8- از آنجایی که تولید علم باید در راستای افزایش ثروت در کشور و رفع مشکلات حاد کشور صورت پذیرد، ضرورت ایجاد زیرساخت‌های لازم با هدف کاربردی سازی علوم پایه به عنوان حلقه برقراری ارتباط علم و فناوری، بسیار احساس می‌شود. لذا پیشنهاد می‌شود همکاری بیش از پیش در تاسیس بنیادهای علمی یا موسسات پیشرو در حوزه‌ی علوم زیستی با تمام ملزومات حمایتی و زیرساختی ضروری است و پیشنهاد می‌شود در دستور کار مدیران اجرایی کشور قرار گیرد.
- 9- بر کاربرد علوم مکانی، یافته‌های طیفی، تکنولوژی‌های نو و فناوری‌های مبتنی بر هوش مصنوعی برای شناسایی و تفسیر الگوهای تنش گیاهی و در مدیریت عملیات کشاورزی به منظور اجرایی شدن «مفهوم کشاورزی دقیق» در کشور تاکید می‌شود.
- 10- حمایت‌های تشویقی ویژه برای دانشجویان دکترا و پسادکتري در قالب گزینش‌های پژوهشی در حوزه علوم پایه زیستی و تشکیل صندوق پژوهشی علوم پایه جهت افزایش جاذبه و دلگرمی پژوهشگران این حوزه ضروری به نظر می‌رسد.
- شرکت‌کنندگان در این کنفرانس از همکاری‌های همه‌جانبه و مجدانه ریاست محترم، معاونین و مدیران محترم، اعضای محترم هیات علمی، دانشجویان و کارکنان عزیز دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته کرمان و مسئولین و مدیران محترم اجرایی شهر بویژه شهرداری محترم در برگزاری شایسته هشتمین کنفرانس فیزیولوژی گیاهی که زمینه تبادل یافته‌های علمی و پژوهشی صاحب‌نظران این حوزه را فراهم آورد، صمیمانه قدردانی می‌نمایند.