

## بررسی پتانسیل استفاده از تفاله موم زنبور عسل به عنوان بستر کاشت گاوزبان اروپایی (*Borago officinalis*) در رژیم های مختلف آبیاری

### نسیبه پورقاسمیان و روح اله مرادی\*

گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی بردسیر، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۶/۱۵، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۶/۱۰/۰۵)

#### چکیده

جهت بررسی تاثیر استفاده از موم زنبور عسل در تلفیق با دیگر مواد آلی بعنوان بستر کاشت بر برخی شاخص های رشد، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گاوزبان اروپایی در مقادیر مختلف آبیاری، آزمایشی بصورت فاکتوریل در پایه طرح کاملا تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی بردسیر، دانشگاه شهید باهنر کرمان، در سال ۱۳۹۶ اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل دور آبیاری در سه سطح (دو، چهار و شش روز) و بسترهای مختلف کاشت در هشت سطح (خاک+موم به نسبت ۱-۳، خاک+موم ۱-۴، خاک+خاکبرگ ۱-۳، خاک+خاکبرگ ۱-۴، خاک+کود گاوی ۱-۳، خاک+کود گاوی+موم ۳-۰/۵-۰/۵، خاک+خاکبرگ+موم ۳-۰/۵-۰/۵ و خاک) بود. نتایج نشان داد که وزن خشک و ارتفاع بوته، محتوای کاروتنوئید و پرولین، غلظت کاتالاز (CAT)، اسکوربات پراکسیداز (APX) و پراکسیداسیون لیپدها (MDA) تحت تاثیر اثرات ساده و متقابل دور آبیاری و بستر کاشت قرار گرفتند ( $P \leq 0.01$ ). نفوذپذیری غشا و کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II تحت تاثیر اثرات ساده هر دو تیمار آزمایش قرار گرفتند. محتوای کلروفیل a فقط از دور آبیاری اثر پذیرفت و هیچ یک از تیمارهای مورد بررسی بر محتوای کلروفیل b اثر معنی داری نداشتند. کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II، محتوای کلروفیل a و کاروتنوئیدها با افزایش دور آبیاری به طور معنی داری کاهش یافتند. کلیه بسترهای کشت حاوی مواد آلی توانستند تنش مربوط به افزایش دور آبیاری از ۲ به ۴ روز را تعدیل کنند. بستر موم با نسبت ۱-۳ بیشترین وزن خشک، ارتفاع، محتوای کاروتنوئید و کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II و کمترین میزان پرولین و MDA را در هر دو شرایط تنش و عدم تنش نشان داد. دیگر بسترهای حاوی موم نیز در دورهای آبیاری ۴ و ۶ روز از نظر شاخص های رشد گیاه و همچنین مقاومت به تنش شرایط خوبی نشان دادند. میزان فعالیت آنزیم های CAT و APX در بسترهای حاوی خاک+موم با نسبت ۱-۳، ۱-۴، موم+خاک+خاکبرگ، خاک+خاکبرگ ۱-۳ و ۱-۴ با افزایش دور آبیاری افزایش یافتند، به عبارتی این دو آنزیم نقش موثری در افزایش مقاومت به شرایط تنش خشکی در بسترهای فوق داشته اند. بنابراین، به نظر می رسد بسترهای حاوی موم در شرایط تنش خشکی قابل توصیه بوده که البته هر چه نسبت موم در ترکیب بستر کاشت بیشتر باشد، کارایی بیشتری دارد.

واژه های کلیدی: اسکوربات پراکسیداز، بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی، کاتالاز، فلورسانس کلروفیل

#### مقدمه

دارویی است که در طب سنتی از جایگاه ویژه ای برخوردار است. این گیاه علفی، یکساله و متعلق به تیره گاوزبانیان است.

گیاه گاوزبان اروپایی (*Borago officinalis*) یکی از گیاهان

گل، برگ و سرشاخه‌های گلدار آن به مصرف دارویی می‌رسد. از این گیاه به عنوان یک ماده معرق، آرام کننده و تصفیه کننده خون استفاده می‌شود (زرگری، ۱۳۷۲).

یکی از شایع‌ترین تنش‌های محیطی و عوامل محدود کننده رشد گیاهان در بسیاری از نقاط جهان خشکی است. این تنش محیطی حدود ۲۵ درصد از تولید محصولات زراعی را محدود ساخته است (McDowell *et al.*, 2008). ایران نیز به لحاظ موقعیت جغرافیایی از مناطق خشک و نیمه خشک جهان محسوب می‌شود. متوسط بارندگی کشور حدود ۲۵۰ میلی‌متر است که این مقدار حدود ۳۰ درصد متوسط بارندگی جهانی است. بنابراین، تنش کمبود آب یکی از محدود کننده‌ترین تنش‌های محیطی است (هاشمی دزفولی و کوچکی ۱۳۷۴).

در شرایط تنش‌های محیطی از جمله کمبود آب گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) تولید می‌شوند. و به اجزاء مختلف سلولی آسیب می‌رسانند که این آسیب تحت عنوان تنش اکسیداتیو شناخته شده است. سلول‌های گیاهی برای محافظت از تنش اکسیداتیو سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی خود را فعال می‌کنند. آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی در سازگاری به تنش خشکی و اجتناب از خسارت اکسیداسیون نوری نقش مهمی دارند (Alscher *et al.*, 2002). در بسیاری از مطالعات به منظور ارزیابی اثر تنش خشکی بر سیستم فتوسنتزی گیاه از پارامترهای کلیدی مانند فلورسانس کلروفیل، میزان پراکسیداسیون لیپیدها و مقدار آسیب به رنگیزه‌های کلروفیل استفاده می‌شود (Falexas *et al.*, 2000).

بستر کشت یکی دیگر از عوامل محیطی تاثیر گذار بر رشد و نمو گیاهان است. بستر کاشت مناسب محیطی است که بتواند علاوه بر تامین مکان فیزیکی برای گیاه، مواد غذایی و آب مورد نیاز آن را نیز به بهترین شکل در اختیارش قرار دهد (Salvador and Minami, 2004). امروزه بستر کشت گیاهان در بسیاری از کشت‌های گلخانه‌ای و مزرعه‌ای از ترکیب حداقل دو جزء آلی و معدنی تشکیل شده است (Nagase and Dunnett, 2011). یکی دیگر از ویژگی‌های بسترهای حاوی مواد آلی بهبود ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک است.

بطوری که، مواد آلی قدرت نگهداری آب توسط خاک را چندین برابر افزایش می‌دهند. برخی مطالعات به افزایش عملکرد دانه به دلیل مصرف کودهای آلی در شرایط تنش آبی اشاره کرده اند (رضایی، ۱۳۹۲ و مجیدیان و همکاران ۱۳۷۸). اگر چه در سالیان دور عملاً استفاده از مواد آلی حاصل از ضایعات کشاورزی، دامی و شهری در بسترهای کشت به عنوان مدیریت‌های رایج و جاری محسوب می‌شده اما با ورود کودهای شیمیایی به دست فراموشی سپرده شده بود که مجدداً با بروز مسائل زیست محیطی و جایگاه ویژه پایداری تولید، مدیریت تلفیقی امروزه مورد توجه قرار گرفته است (رضایی ۱۳۹۲).

تفاله موم زنبور عسل ماده‌ای است که طی فرایندهای بازیابی و آماده سازی موم برای زنبور عسل تولید می‌شود. طبق آمارهای به دست آمده تولید این زباله تنها در استان اصفهان بالغ بر ۵۰۰۰۰۰ کیلوگرم در سال می‌باشد که به عنوان زباله دور ریخته می‌شود (پورقاسمیان و نوربخش ۱۳۹۴). در مقایسه‌ای که بین پتانسیل معدنی شدن کربن در تفاله موم زنبور عسل و یونجه در سطح نیم و یک درصد وزنی بقایا انجام شد مشخص گردید که تفاوتی بین بقایای موم و یونجه به لحاظ این صفت در سطح نیم درصد بقایا وجود ندارد (پورقاسمیان و نوربخش ۱۳۹۴). تاکنون در هیچ تحقیق علمی از این ماده به عنوان بستر کاشت استفاده نشده و مطالعات علمی دیگری روی این ماده صورت نگرفته است. با توجه به مقدار قابل توجه تفاله موم به نظر می‌رسد بررسی بیشتر و دقیق‌تر روی آن بتواند افق‌های بیشتری جهت کاربردی کردن ماده مذکور در بخش کشاورزی باز کند. لذا این مطالعه حاضر با هدف بررسی امکان استفاده از تفاله موم زنبور عسل به عنوان بستر کشت در شرایط تنش آبی و مقایسه آن با برخی مواد آلی رایج و مرسوم اجرا شد.

#### مواد و روش‌ها

به منظور بررسی تأثیر تلفیق موم با برخی بسترهای مختلف کشت در مقادیر مختلف آبیاری بر برخی ویژگی‌های رشد، فیزیولوژی و بیوشیمیایی گیاه گاوزبان اروپایی آزمایشی

بصورت فاکتوریل در پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی بردسیر، دانشگاه باهنر کرمان در سال ۱۳۹۶ اجرا شد. متوسط دمای گلخانه ۲۷ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی بین ۴۰ تا ۶۰ درصد بود. منبع نوری مورد استفاده نیز نور طبیعی خورشید بود. تیمارهای آزمایش شامل دور آبیاری در سه سطح (دو، چهار و شش روز) و بسترهای مختلف کاشت در هشت سطح (خاک+موم به نسبت ۳-۱، خاک+موم ۴-۱، خاک+کود دامی+موم ۳-۰/۵-۰/۵، خاک+خاکبرگ+موم ۳-۰/۵-۰/۵-۰/۵، خاک+کود دامی ۳-۱، خاک+خاکبرگ ۳-۱، خاک+خاکبرگ ۴-۱ و خاک) بود. خصوصیات مواد مورد استفاده در بسترهای مورد بررسی در جدول ۱ نشان داده شده است.

به منظور انتخاب دور آبیاری مناسب، ابتدا میزان رطوبت در حد ظرفیت زراعی اندازه گیری شد. جهت تعیین ظرفیت زراعی از روش وزنی استفاده شد. به این ترتیب که از هر یک از بسترهای کاشت یک گلدان تهیه و در آن در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس گلدان‌ها از آب اشباع گردید، و برای جلوگیری از تبخیر، سطح گلدان توسط یک پلاستیک پوشیده شد. با خروج آب ثقلی وزن گلدان به طور مرتب کم شد تا زمانیکه وزن آن ثابت ماند. با تفاضل وزن اخیر و وزن خاک خشک مقدار آب لازم برای رسیدن خاک به حد ظرفیت زراعی مشخص گردید (خزاعی و همکاران، ۱۳۹۷). از طرفی در گلدان‌های حاوی بسترهای مورد نظر زمان رسیدن خاک به ظرفیت زراعی بر اساس روش وزنی تعیین بر اساس نتایج حاصله بطور میانگین دو روز برآورد شد. سپس فواصل ۴ و ۶ روز بعنوان شرایط تنش انتخاب گردید. در هر بار آبیاری گلدان‌ها غرقاب می شدند (اقحوانی شجری و همکاران، ۱۳۹۱).

کاشت گیاه گاوزبان اروپایی در گلدان‌های ۷ لیتری انجام شد. در هر گلدان ۱۰ بذر کاشته شد و پس از اطمینان از سبز شدن و استقرار کامل گیاهچه (در مرحله دو برگگی) اقدام به تنک کردن گیاهان شد. بطوریکه، در هر گلدان ۴ گیاهچه باقی ماند. تا مرحله ۴ برگگی گلدان‌ها به حالت عادی آبیاری شدند.

از مرحله ۴ برگگی تیمارهای تنش خشکی اعمال گردید. تیمارهای مذکور تا آخرین مرحله آبیاری و قبل از برداشت اعمال شد. هیچ گونه کودی به گلدان‌ها اضافه نشد و در طول دوره رشد گیاه با بیماری و آفت خاصی مواجه نشد. برداشت و نمونه گیری ها همزمان با گلدهی ۵۰ درصد از گلدان ها حدود دو ماه پس از کاشت انجام شد. دو بوته از میان چهار بوته جهت اندازه‌گیری صفات فیزولوژیکی و بیوشیمیایی و دو بوته باقیمانده جهت تعیین شاخص های رشد اختصاص یافتند. صفات مورد مطالعه شامل ارتفاع بوته، وزن خشک بوته، نفوذپذیری غشاء، میزان رنگیزه های فنوستیزی، محتوی پرولین، میزان آنزیم کاتالاز، غلظت کاتالاز (CAT) و اسکوربات پراکسیداز (APX)، پراکسیداسیون لیپدها (MDA) و کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II بود. اندازه گیری ها به روش‌های زیر صورت گرفت.

**ارتفاع گیاه:** جهت اندازه گیری ارتفاع گیاه، از خط کش میلیمتری استفاده شد. ارتفاع گیاه از سطح خاک تا محل آخرین برگ در بوته ثبت گردید.

**وزن خشک بوته:** برای اندازه گیری وزن خشک، بوته‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون مدل Fater Riparadaz با دمای ۱۰۸ درجه سانتیگراد قرار داده شدند سپس با استفاده از ترازوی مدل FH 300 با دقت ۰/۰۰۱ گرم وزن گردیدند.

**محتوای رنگیزه‌های کلرفیل و کارتنوئید برگ:** با روش Lichtenthaler (۱۹۹۴) انجام شد. ابتدا یک گرم از برگ تازه که برداشت شده بود را به قطعات کوچکی خرد نموده و در داخل هاون چینی به همراه ۱۰ میلی لیتر استون ۸۰ درصد به مدت چند دقیقه به خوبی له کرده، ماده حاصله را درون قیف بوختر متصل به پمپ خلاء ریخته و پس از جدا سازی محلول، مواد را به هاون منتقل کرده و ۱۰ میلی لیتر استون اضافه کرده و این عمل تا زمانیکه مواد باقیمانده در قیف بوختر به طور کامل فاقد کلروفیل و سفید شد، ادامه یافت. محلول به دست آمده با استون ۸۰ درصد به حجم ۳۰ میلی لیتر رسانده و درون لوله آزمایش دربدار ریخته، سپس عصاره حاصل به مدت ۲۰ دقیقه در دستگاه سانتریفوژ با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه

بلافاصله در آب صفر درجه گذاشته و پس از هم دما شدن محلول با محیط، ۴ میلی لیتر تولوئن به محلول اضافه می‌شود. به منظور تهیه محلول کالیبره کننده (Blank) از ۲ میلی لیتر اسید سولفوسالسیلیک ۳٪ به همراه ۲ میلی لیتر محلول ناین هیدرین و ۲ میلی لیتر اسیداستیک استفاده می‌شود. پس از کالیبره کردن دستگاه، قرائت نمونه‌ها در طول موج ۵۲۰ نانومتر صورت می‌گیرد (کالیبره کردن دستگاه اسپکتروفتومتر در ۵۲۰ نانومتر توسط یک میلی لیتر از محلول کالیبره صورت می‌گیرد). میزان پرولین بدست آمده طی این روش پس از تبدیل واحد، غلظت پرولین بر اساس وزن تر طبق رابطه ۴ محاسبه شد.

رابطه (۴)

میلی (- / پرولین میکروگرم) = [وزن تر (گرم) / میکرومول پرولین [میلی مول / ۱۵/۵ میکروگرم / (تولوئن مصرفی (میلی لیتر) × لیتر / ۵ (نمونه (گرم))] /

برای اندازه‌گیری نفوذپذیری غشای سلولی از روش نشت الکترولیت استفاده شد (Lutts *et al.*, 1995). در این روش با اندازه‌گیری قابلیت هدایت الکتریکی محلول خارج شده از برگ، مقدار نفوذپذیری غشای سلولی اندازه‌گیری شد. دو نمونه از برگ گیاه در هر تکرار برداشت و به قطعات یک سانتیمتری بریده شد. نمونه‌ها پس از شستشو با آب مقطر به لوله‌های آزمایش حاوی ۱۰ میلی لیتر آب مقطر انتقال داده شده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق با سرعت دور ۱۰۰ g تکان داده شدند، سپس قابلیت هدایت الکتریکی عصاره نمونه (EC1) اندازه‌گیری شد. نمونه مشابهی نیز در دمای ۱۲۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲۰ دقیقه در اتوکلاو قرار داده شد و بعد از سرد شدن قابلیت هدایت الکتریکی عصاره آن (EC2) تعیین شد. مقدار نفوذپذیری غشای سلولی از تقسیم EC1 بر EC2 به دست آمد.

اندازه‌گیری غلظت MDA به روش Heath and Packer (۱۹۸۶) انجام شد. طبق این روش ۰/۲ گرم از بافت تازه گیاهی با ۵ میلی لیتر اسید تری کلرواستیک (TCA) ۰/۱ درصد توسط دستگاه اولترامیکسر مخلوط شد. عصاره حاصل با استفاده از

سانتریفیوژ گردید. میزان جذب نوری عصاره توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل PD-303S APEL) در طول موجهای ۶۶۳، ۶۴۶ نانومتر برای کلروفیل و ۴۷۰ نانومتر برای کاروتنوئیدها قرائت شد. به منظور حذف استون از محلول شاهد، استون ۸۰ درصد استفاده کرده و پس از کالیبره کردن دستگاه عصاره حاصل را درون دستگاه قرار داده و اعداد به دست آمده قرائت شدند. در نهایت اعداد به دست آمده جهت محاسبه غلظت کلروفیل (میلی گرم در گرم وزن تازه برگ) به ترتیب در روابط ۱، ۲ و ۳ به کار رفت.

(۱)

$$C_{chl a} \text{ (mg/g leaf)} = ((0.0122 \times \text{Abs}663) - (0.00269 \times \text{Abs}646)) \times \text{ml acetone} / \text{mg leaf} \quad (2)$$

$$C_{chl b} \text{ (mg/g leaf)} = ((0.0229 \times \text{Abs}646) - (0.00460 \times \text{Abs}663)) \times \text{ml acetone} / \text{mg leaf} \quad (3)$$

$C_{\text{Carotenoid}} \text{ (mg/g leaf)} = ((1000 \times \text{Abs}470 - 1.82 \times C_{chl a} - 85.02 \times C_{chl b}) / 198) \times \text{ml acetone} / \text{mg leaf}$   
در این معادلات C نشان دهنده غلظت و chl a، chl b و Carotenoid به ترتیب کلروفیل a، b و کاروتنوئیدها شامل کاروتن و گزانتوفیل می‌باشد. همچنین ۶۶۳ Abs، ۶۴۶ Abs و ۴۷۰ Abs عبارت از جذب در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۶ و ۴۷۰ نانومتر می‌باشد.

**پرولین:** مقدار پرولین در برگ با روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) انجام شد. در این روش ۲۰۰ میلی گرم برگ تازه از گیاه را بصورت پودر درآورده و سپس در ۱۰ میلی لیتر سولفوسالسیلیک اسید ۳٪ حل می‌گردد. سپس محلول حاصل را با استفاده از کاغذ صافی صاف کرده و ۲ میلی لیتر از محلول صاف شده به همراه ۲ میلی لیتر از محلول اسید ناین هیدرین و ۲ میلی لیتر اسید استیک در یک لوله آزمایش ریخته می‌شود، (محلول ناین هیدرین اسید از ترکیب ۱/۲۵ گرم اسید ناین هیدرین با ۳۰ میلی لیتر استیک اسید بدست می‌آید که پس از حرارت دادن محلول و خنک شدن در دمای محیط، ۲۰ میلی لیتر اسید اورتوفسفریک به آن اضافه می‌شود). محلول حاصله را به خوبی تکان داده و بمدت یک ساعت در ۱۰۰ درجه سانتیگراد قرار می‌گیرد. در پایان، لوله‌های حاوی محلول را

A = مقدار عصاره آنزیمی موجود در محلول واکنش.

B = مقدار بافر استخراج به کار رفته.

C = وزن نمونه تازه.

$\Delta OD$  = اختلاف جذب طول موج خاص هر آنزیم در طول مدت یک دقیقه.

EC = ضریب خاموشی آنزیم.

لازم به ذکر است که EC کاتالاز برابر  $1\text{cm}^{-1}\text{mM}^{-1}$   $39/4$  در

نظر گرفته شد. واحد فعالیت آنزیم برحسب  $\text{mol}/\text{min}/\text{g F.w}$   $\mu = \text{unit g.Fw}^{-1}$  محاسبه شد.

فعالیت آنزیم APX بر اساس روش Pandy *et al* (۱۹۸۴)

در یک میلی لیتر بافر واکنش به صورت ۵۰ میلی مولار بافر فسفات پتاسیم با  $\text{pH}=7$ ، ۰/۵ میلی مولار اسکوربیک اسید، ۰/۱ میلی مولار EDTA، ۱/۲۵ میلی مولار آب اکسیژنه و ۶۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی اندازه گیری شد. کاهش جذب اسکوربات پراکسیداز در اثر فعالیت APX با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۲۹۰ نانومتر در مدت یک دقیقه اندازه گیری شد. لازم به ذکر است که EC اسکوربات پراکسیداز برابر  $1\text{cm}^{-1}\text{mM}^{-1}$   $2/8$  در نظر گرفته شد.

کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II با استفاده از دستگاه فلورسانس متر مدل (Hansatech) اندازه گیری شد.

داده های حاصل از آزمایش بر اساس طرح آماری مورد استفاده، توسط نرم افزار SAS نسخه ۹/۲ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد برای مقایسه میانگین ها استفاده شد. رسم نمودارها نیز توسط نرم افزار Excel انجام شد.

### نتایج و بحث

وزن خشک بوته تحت تاثیر دور آبیاری، بستر و اثر متقابل آنها در سطح احتمال یک درصد قرار گرفت (جدول ۱). بیشترین وزن خشک بوته در هر سه دور آبیاری مربوط به بستر موم با نسبت یک به سه بود (شکل ۱). کمترین وزن خشک بوته در دور آبیاری ۲ روز به بستر کاشت خاک+ کود دامی (۱/۱۵ گرم) بدون تفاوت معنی دار با خاک (۱/۴۴ گرم) تعلق گرفت.

دستگاه سانتریفیوژ (Biofuse A1230) به مدت ۵ دقیقه در  $10000\text{g}$  سانتریفیوژ شد. به ۱ میلی لیتر از محلول رویی حاصل از سانتریفیوژ، ۴ میلی لیتر محلول TCA ۴۰ درصد که حاوی ۰/۵ درصد تیوباربتوریک اسید (TBA) میباشد اضافه شده و مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد حمام آبگرم حرارت داده شد. سپس بلافاصله در یخ سرد وارد شده و دوباره مخلوط به مدت ۱۰ دقیقه در  $10000\text{g}$  سانتریفیوژ گردید. شدت جذب این محلول با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. ماده مورد نظر برای جذب در این طول موج کمپلکس قرمز (MDA-TBA) است، جذب بقیه رنگیزه های غیراختصاصی در ۶۰۰ نانومتر تعیین و از این مقدار کسر گردید. برای محاسبه غلظت MDA از ضریب خاموشی معادل  $1\text{cm}^{-1}\text{mM}^{-1}$   $155$  استفاده گردید و نتایج حاصل از اندازه گیری بر حسب وزن تر طبق معادله ۵ محاسبه و ارائه شد.

$$A = \varepsilon bc \quad (5)$$

در رابطه ۵:

A = مقدار جذب در یک طول موج مشخص

$\varepsilon$  = ضریب خاموشی،  $1\text{cm}^{-1}\text{mM}^{-1}$   $155$

c = غلظت

b = ۱

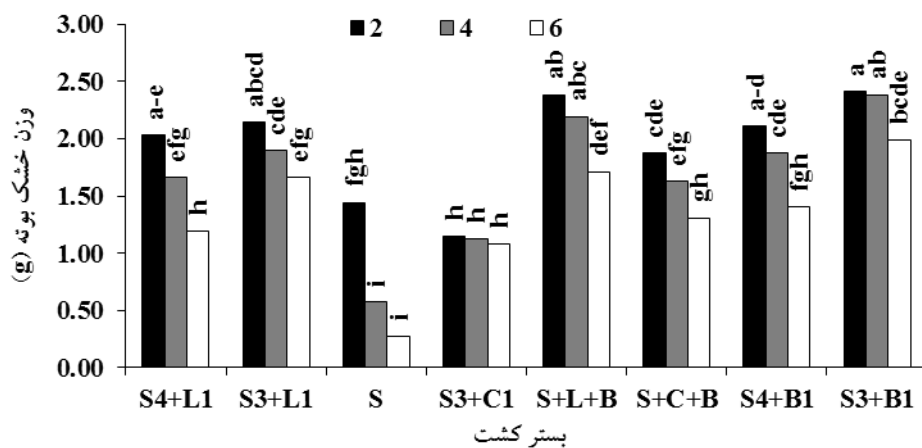
جهت اندازه گیری فعالیت آنزیم CAT از روش Aebi (۱۹۸۴) استفاده شد. مخلوط واکنش برای اندازه گیری فعالیت CAT شامل ۳ میلی لیتر بافر واکنش به صورت ۵۰ میلی مولار بافر فسفات سدیمی با  $\text{pH}=7$ ، ۱۰ میلی مولار آب اکسیژنه و ۴۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی بود. واکنش با اضافه کردن آب اکسیژنه آغاز می شود. پس از اضافه کردن آب اکسیژنه فعالیت CAT موجود در عصاره آنزیمی، در طول موج ۲۴۰ نانومتر در مدت یک دقیقه با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل SPEKOL 2000) اندازه گیری شد. میزان فعالیت آنزیم طبق رابطه ۶ تعیین گردید.

$$\text{Enzyme activity (EA)} = \Delta OD \times 1000 \times A - 1 / EC \times B / C - 1 \quad (6)$$

در رابطه فوق:

جدول ۱- ویژگی های فیزیکوشیمیایی مواد استفاده شده در تهیه بسترهای کشت

ماده	درصد نیتروژن	فسفر (ppm)	پتاسیم (ppm)	EC (dS.m <sup>-1</sup> )	pH
خاک	۰/۰۸	۳۳	۴۹۹	۲/۱۱	۷/۹
موم	۰/۷۱	۶۵	۳۲۱	۲/۱۱	۶/۹
ورمی کمپوست	۱/۲۴	۳۵۸۰	۵۹۰۰	۲/۸۹	۷/۱
کود گاوی	۰/۸۹	۲۳۵۶	۴۱۵۸	۳/۹۶	۹/۸
خاکبرگ	۰/۷۷	۱۲۵۸	۱۸۵۵	۲/۸۷	۷/۲



شکل ۱- تاثیر برهمکنش دور آبیاری و بستر کاشت بر وزن خشک بوته گیاه گاوزبان اروپایی. حروف مشترک برای هر تیمار در هر ستون دارای اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن نمی باشد.

نشان داد. کمترین و بیشترین این کاهش به ترتیب مربوط به موم با نسبت یک به سه (۲۱ درصد) و خاک تنها (۴۰ درصد) بود (شکل ۱). نتایج فوق گویای قدرت نگهداری بالای آب توسط بستر حاوی موم مخصوصا با نسبت یک به سه می باشد. همچنین این بستر در شرایط عدم تنش نیز وزن خشک بالایی را نشان داد که این نتیجه برتری این بستر را نسبت به بقیه بسترها نشان می دهد. مطالعه ای که توسط پورقاسمیان و نوربخش (۱۳۹۴) بر پتانسیل معدنی شدن کربن موم زنبور عسل انجام گرفت نشان داد که این ماده به لحاظ این صفت قدرت رقابت و برابری با کود سبز حاصل از یونجه را دارد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که ارتفاع گیاه تحت تاثیر دور آبیاری، بستر کاشت و برهمکنش بستر و دور آبیاری در سطح احتمال یک درصد قرار گرفت (جدول ۲).

با افزایش دور آبیاری از دو روز به ۴ و ۶ روز ارتفاع گیاه

درحالی که در دورهای آبیاری ۴ (۰/۵۷ گرم) و ۶ (۰/۲۷ گرم) روز بستر کاشت خاک، کمترین میزان وزن خشک را نشان داد (شکل ۱). با افزایش دور آبیاری از دو روز به ۴ و ۶ روز بسترهای کشت مختلف اثرات متفاوتی بر وزن خشک بوته گذاشتند. گیاهانی که در بستر خاک تنها کاشته شده بودند با افزایش دور آبیاری از ۲ به ۴ و ۶ روز در این صفت کاهش معنی داری نشان دادند. درحالی که، گیاهان کاشته شده در بقیه بسترهای کاشت با افزایش دور آبیاری از ۲ به ۴ روز به لحاظ وزن خشک تفاوت معنی داری را نشان ندادند (شکل ۱). به نظر می رسد کلیه بسترهای کشت مورد مطالعه به جز خاک، به دلیل داشتن مواد آلی از طریق نگهداری آب توانسته اند تا حدود زیادی کمبود آب حاصل از تنش را جبران کنند.

وزن خشک با افزایش دور آبیاری از ۲ به ۶ روز در همه بسترهای کاشت به جز خاک + کود دامی کاهش معنی داری

جدول ۲- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثرات آبیاری و بستر کاشت بر صفات مورد مطالعه گاوزبان اروپایی

Fv/Fm	MDA	APX	CAT	پرولین	کارتونوئید	کلروفیل b	کلروفیل a	نفوذپذیری غشاء	ارتفاع	وزن خشک گیاه	درجه آزادی	منابع تغییر
۰/۰۵۲**	۰/۹۶۴**	۲/۶۱**	۰/۳۷۸**	۵۹۷۱/۱**	۳/۴۳**	۰/۰۴۸ <sup>ns</sup>	۰/۸۵۷*	۱۰۰۴/۵**	۱۵۱/۰**	۲/۲۸**	۲	آبیاری (A)
۰/۰۱۳**	۰/۴۷۵**	۰/۵۸۳**	۰/۱۰۱**	۸۵۰/۷**	۲/۶۴**	۰/۰۱۷ <sup>ns</sup>	۰/۲۵۱ <sup>ns</sup>	۱۴۲/۸**	۱۱۹/۳**	۲/۲۲**	۷	بستر کاشت (B)
۰/۰۰۲ <sup>ns</sup>	۰/۰۳۶**	۰/۱۰۶**	۰/۰۸۶**	۱۹۵/۴**	۰/۱۴۱**	۰/۰۳۸ <sup>ns</sup>	۰/۱۵۸ <sup>ns</sup>	۱۹/۹۵ <sup>ns</sup>	۳/۸۶**	۰/۰۹۸**	۱۴	A×B
۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۸	۸/۳۶	۰/۰۵۱	۰/۰۵۰	۰/۲۸۳	۱۶/۱۳	۱/۰۹	۰/۰۱۶	۴۸	خطا

\*, \*\* و ns: به ترتیب نشان دهنده معنی داری در سطح پنج و یک درصد و عدم معنی داری

جدول ۳- مقایسه میانگین اثرات ساده دور آبیاری و بستر کاشت بر صفات مورد مطالعه گاوزبان اروپایی

Fv/Fm	MDA (میکرومول ل مالون آلدهید بر گرم وزن تر)	پرولین (میکرومول ل بر گرم وزن تر)	APX (واحد بر گرم وزن تر)	CAT (واحد بر گرم وزن تر)	کارتونوئید (میلی گرم بر گرم وزن تر)	کلروفیل b (میلی گرم بر گرم وزن تر)	کلروفیل a (میلی گرم بر گرم وزن تر)	نفوذپذیری غشاء (%)	ارتفاع (cm)	وزن خشک گیاه (g)	تیمار
۰/۸۰۸ <sup>a</sup>	۰/۲۱۲ <sup>c</sup>	۱۳/۵۶ <sup>c</sup>	۰/۵۱۷ <sup>c</sup>	۰/۰۳۰ <sup>c</sup>	۲/۸۲ <sup>a</sup>	۲/۳۹ <sup>a</sup>	۵/۰۲ <sup>b</sup>	۵۷/۸۱ <sup>c</sup>	۱۹/۴۰ <sup>a</sup>	۱/۹۴ <sup>a</sup>	۲
۰/۷۵۵ <sup>b</sup>	۰/۲۶۵ <sup>b</sup>	۲۸/۸۴ <sup>b</sup>	۰/۸۲۶ <sup>b</sup>	۰/۰۳۹ <sup>b</sup>	۲/۵۰ <sup>b</sup>	۲/۴۵ <sup>a</sup>	۵/۳۸ <sup>a</sup>	۶۳/۳۰ <sup>b</sup>	۱۶/۸۲ <sup>b</sup>	۱/۶۷ <sup>b</sup>	۴
۰/۷۱۶ <sup>c</sup>	۰/۳۳۹ <sup>a</sup>	۴۵/۱۰ <sup>a</sup>	۱/۱۸ <sup>a</sup>	۰/۰۵۵ <sup>a</sup>	۲/۰۶ <sup>c</sup>	۲/۴۸ <sup>a</sup>	۵/۱۱ <sup>b</sup>	۷۰/۷۰ <sup>a</sup>	۱۴/۳۸ <sup>c</sup>	۱/۳۳ <sup>c</sup>	۶
۰/۷۴۳ <sup>c</sup>	۰/۲۸۰ <sup>c</sup>	۳۱/۵۵ <sup>c</sup>	۰/۸۱۲ <sup>c</sup>	۰/۰۳۲ <sup>f</sup>	۲/۵۰ <sup>c</sup>	۲/۴۹ <sup>a</sup>	۵/۱۵ <sup>a</sup>	۶۵/۱۳ <sup>bc</sup>	۱۵/۸۳ <sup>d</sup>	۱/۶۳ <sup>d</sup>	S4+L1
۰/۷۸۰ <sup>ab</sup>	۰/۲۴۷ <sup>d</sup>	۲۵/۵۷ <sup>d</sup>	۰/۷۰۲ <sup>d</sup>	۰/۰۳۵ <sup>d</sup>	۲/۸۶ <sup>b</sup>	۲/۳۹ <sup>a</sup>	۵/۰۶ <sup>a</sup>	۶۳/۴۷ <sup>bc</sup>	۱۸/۴۰ <sup>c</sup>	۱/۹۰ <sup>c</sup>	S3+L1
۰/۷۰۰ <sup>d</sup>	۰/۳۳۷ <sup>b</sup>	۴۵/۸۲ <sup>a</sup>	۱/۱۸ <sup>a</sup>	۰/۰۵۳ <sup>b</sup>	۱/۴۱ <sup>e</sup>	۲/۴۸ <sup>a</sup>	۵/۲۸ <sup>a</sup>	۷۱/۸۱ <sup>a</sup>	۱۱/۲۶ <sup>f</sup>	۰/۷۶ <sup>f</sup>	S
۰/۷۳۰ <sup>cd</sup>	۰/۴۰۷ <sup>a</sup>	۳۶/۰۷ <sup>b</sup>	۱/۰۲ <sup>b</sup>	۰/۰۳۵ <sup>d</sup>	۲/۰۷ <sup>d</sup>	۲/۴۷ <sup>a</sup>	۵/۴۱ <sup>a</sup>	۶۵/۶۴ <sup>b</sup>	۱۳/۲۲ <sup>e</sup>	۱/۱۲ <sup>e</sup>	S3+C1
۰/۸۰۰ <sup>a</sup>	۰/۲۲۰ <sup>e</sup>	۲۱/۰۵ <sup>e</sup>	۰/۶۱۴ <sup>e</sup>	۰/۰۴۶ <sup>c</sup>	۲/۸۸ <sup>b</sup>	۲/۴۸ <sup>a</sup>	۵/۰۱ <sup>a</sup>	۶۲/۲۵ <sup>bc</sup>	۲۰/۳۹ <sup>b</sup>	۲/۰۹ <sup>b</sup>	S+L+B
۰/۷۴۳ <sup>c</sup>	۰/۲۸۳ <sup>c</sup>	۳۳/۵۹ <sup>bc</sup>	۱/۱۷ <sup>a</sup>	۰/۰۶۱ <sup>a</sup>	۲/۲۷ <sup>d</sup>	۲/۳۹ <sup>a</sup>	۵/۳۸ <sup>a</sup>	۶۱/۵۶ <sup>cd</sup>	۱۵/۷۰ <sup>d</sup>	۱/۶۰ <sup>d</sup>	S+C+B
۰/۷۶۳ <sup>bc</sup>	۰/۲۲۷ <sup>e</sup>	۲۵/۲۷ <sup>d</sup>	۰/۷۱۹ <sup>d</sup>	۰/۰۳۴ <sup>e</sup>	۲/۵۹ <sup>c</sup>	۲/۳۹ <sup>a</sup>	۵/۰۸ <sup>a</sup>	۶۳/۷۰ <sup>bc</sup>	۱۷/۷۹ <sup>c</sup>	۱/۸۰ <sup>c</sup>	S4+B1
۰/۸۱۳ <sup>a</sup>	۰/۱۷۷ <sup>f</sup>	۱۴/۴۲ <sup>f</sup>	۰/۵۰۵ <sup>f</sup>	۰/۰۳۷ <sup>d</sup>	۳/۱۰ <sup>a</sup>	۲/۴۶ <sup>a</sup>	۴/۹۸ <sup>a</sup>	۵۷/۹۳ <sup>d</sup>	۲۲/۳۴ <sup>a</sup>	۲/۲۶ <sup>a</sup>	S3+B1

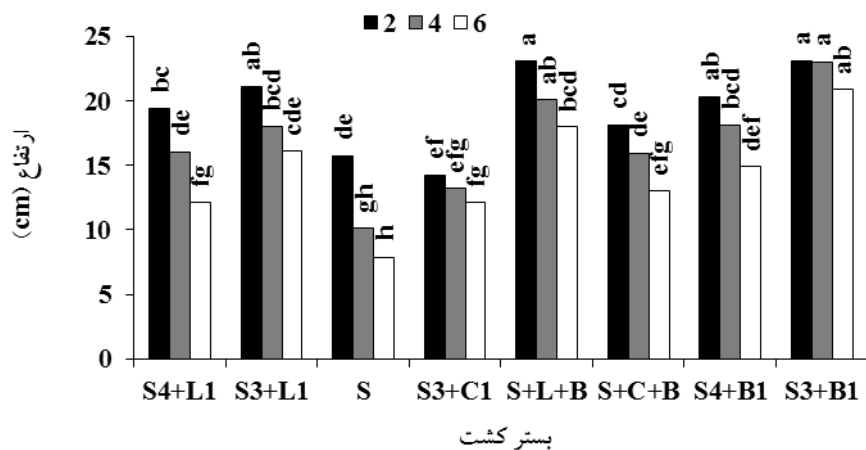
حروف مشترک برای هر تیمار در هر ستون دارای اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن نمی باشد. حروف S, L, C و B در بخش بستر کاشت به ترتیب معرف خاک، خاکبرگ، کود گاوی و موم می باشند.

رشد گیاه، تقسیم سلولی و طول شدن آن را تحت تاثیر قرار داده و سبب کاهش ارتفاع گیاه هم به لحاظ طول میانگروه و هم تعداد گره خواهد شد (کوچکی و همکاران ۱۳۸۴).  
بشترین و کمترین ارتفاع گیاه در دور آبیاری دو روز (شرایط عدم تنش) به ترتیب مربوط به موم با نسبت ۱ به ۳

در کلیه بسترهای کاشت بطور میانگین به ترتیب ۱۴ و ۳۲ درصد کاهش معنی دار نشان داد (جدول ۳). کاهش ارتفاع گیاه با کاهش میزان رطوبت در دسترس در مطالعات مختلف مشاهده شده است (اقحوانی شجری و همکاران ۱۳۹۱ و ده احمدی و همکاران، ۱۳۸۹). کمبود آب در مراحل مختلف

بستر کاشت

دور آبیاری (روز)



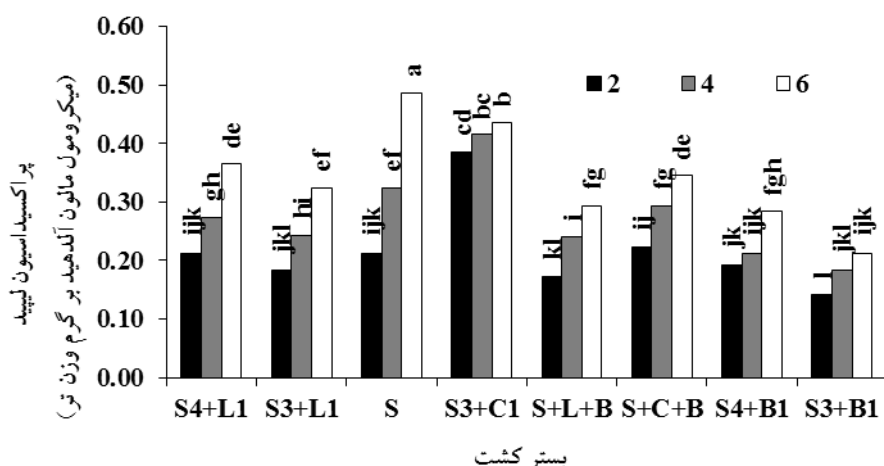
شکل ۲- تاثیر برهمکنش دور آبیاری و بستر کاشت بر ارتفاع بوته گاو زبان اروپایی. حروف مشترک برای هر تیمار در هر ستون دارای اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن نمی باشد.

با افزایش دور آبیاری از دو به چهار و شش روز همچنان موم با نسبت یک به سه بیشترین و خاک تنها کمترین میزان ارتفاع گیاه را نشان دادند (شکل ۳). بقیه بسترهای کشت مورد مطالعه نیز در مقایسه با خاک تنها توانستند شرایط تنش را به میزان زیادی تعدیل کنند. ماده آلی می تواند تا ۲۰ برابر وزن خود آب جذب کرده و مانع خشک شدن، انقباض و ترک خوردن خاک شده و سبب بهبود ساختمان خاک و افزایش میزان آب در دسترس برای گیاه شود (McDonagh *et al.*, 1993).

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که نفوذ پذیری غشا در سطح احتمال یک درصد تحت تاثیر دور آبیاری و بستر کاشت قرار گرفت. برهمکنش بستر کاشت و دور آبیاری تاثیری بر نفوذپذیری غشا نداشت (جدول ۲). بیشترین (۷۰/۷۰ درصد) و کمترین (۵۷/۸۱ درصد) میزان نفوذ پذیری غشا به ترتیب در دور آبیاری ۶ و ۲ روز مشاهده شد (جدول ۳). تراوایی غشا سلولی در اثر تغییرات سطح تورژسانس به واسطه نوسانات رطوبتی دچار اختلال خواهد شد، به طوریکه قابلیت کنترل سلول برای خروج الکترولیت ها کاهش یافته و یا به طور کامل از بین می رود. در نتیجه این اختلال در فرایند کنترل سلولی، نشست و برون رفت الکترولیت سلول به فضای خارج آن اتفاق خواهد افتاد. بنابراین با افزایش شدت تنش کمبود آب، میزان تخریب، نفوذپذیری غشا و خروج الکترولیت ها به

(۲۳/۱۴ سانتی متر) و خاک+کود دامی (۱۴/۲۵ سانتی متر) بود (شکل ۲). بستر کشت خاک+کود دامی در بیشتر صفات مورد بررسی در این مطالعه حتی در شرایط عدم تنش نیز وضعیت مناسبی را نشان نمی دهد. مطالعات و بررسی ها نشان داده اند که افزایش مواد آلی مانند کود دامی باعث افزایش جمعیت میکروبی (قارچ ها و باکتری ها) و فعالیت میکروبی می گردند و این تنوع میکروبی موجود با تخریب مواد آلی و تبدیل آنها به شکل قابل استفاده گیاه، نقش کلیدی در چرخش عناصر غذایی ایفا می کنند (رضایی ۱۳۹۲). به نظر می رسد در مطالعه حاضر عامل دیگری نتیجه قابل انتظار را دچار اشکال کرده باشد به گونه ای که این بستر خود به تنهایی عاملی برای اعمال فشار و تنش بر گیاه بوده است. و همین مسئله اجازه بروز پتانسیل واقعی را به گیاه نداده و سبب شده که گیاه هم در شرایط تنش و هم در شرایط عدم تنش عملکردی کم و با تغییر جزئی را نشان دهد. هوشیافرد و قرنجیکی (۱۳۸۴) نشان دادند که گاهی آماده سازی نامناسب کودهای دامی سبب شیوع بیماری ها و آفات می شود. ایشان مشاهده نمودند که کودهای حیوانی تاثیر معنی داری بر شیوع بیماری های پنبه داشتند. بنابراین شاید بتوان اینگونه استنباط کرد که در مطالعه حاضر نیز گیاه از وجود عوامل بیماری خاصی آسیب دیده، هر چند میزان این آسیب به شکل کاملاً واضح قابل مشاهده نبوده است.





شکل ۳- تاثیر برهمکنش دور آبیاری و بستر کاشت بر میزان پراکسیداسیون لیپیدهای گاوزبان اروپایی. حروف مشترک برای هر تیمار در هر ستون دارای اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن نمی‌باشد.

(Nayer, 2004). افزایش پراکسیداسیون لیپیدها در اثر تنش- های محیطی در گیاهان گلرنگ (پورقاسمیان و احسان زاده، ۱۳۹۲) کلزا (Abedi et al, 2010) گزارش شده است.

میزان مالون دآلدئید ایجاد شده گویای میزان خسارت حاصل از تنش بر گیاه مورد بررسی است. در مطالعه حاضر موم با نسبت ۱ به ۳ در هر سه دور آبیاری کمترین میزان پراکسیداسیون لیپیدها را نشان داد. در دوره‌های آبیاری دو و چهار روز، خاک + کود دامی بیشترین میزان پراکسیداسیون لیپیدها را نشان داد. همان طور که قبلاً نیز ذکر شد به نظر می- رسد آسیب وارده به گیاهان کشت شده در بستر کاشت خاک + کود دامی قبل از اینکه حاصل تنش خشکی باشد از شرایط بستر کاشت بوده است.

با افزایش دور آبیاری از دو روز به چهار روز میزان پراکسیداسیون لیپیدها در بسترهای کشت خاک+ موم ۱/۳، موم ۱/۴، خاک + خاکبرگ+موم، خاک+خاکبرگ ۱/۴، خاک+خاکبرگ ۱/۳، خاک+ کود دامی+موم و خاک به ترتیب حدود ۲۸، ۱۱، ۱۸، ۲۸، ۳۳ و ۵۳ درصد افزایش یافت که البته این افزایش برای بسترهای موم ۱/۳، موم ۱/۴ و خاک+خاکبرگ+موم معنی دار نبود (شکل ۳). با افزایش دور آبیاری از چهار به شش روز بیشترین میزان افزایش در پراکسیداسیون لیپیدها در بستر خاک تنها (۵۰٪) و کمترین آن

فضای بین سلولی افزایش می‌یابد (سیبی و همکاران ۱۳۹۱). محققین دیگر نیز به افزایش نفوذپذیری غشا سلولی با افزایش تنش رطوبتی اشاره کردند (عابدی و همکاران، ۲۰۱۰؛ رمضان نژاد و همکاران ۱۳۹۲).

بیشترین (۷۱/۸۱ درصد) و کمترین (۵۷/۹۳ درصد) میزان نفوذپذیری غشا به ترتیب به بستر خاک تنها و موم با نسبت یک به سه تعلق گرفت (جدول ۳). سیبی و همکاران (۱۳۹۱) نشان دادند که مصرف زئولیت به عنوان ماده نگهدارنده آب در خاک‌های کشاورزی هم در شرایط تنش خشکی و هم در شرایط عدم تنش توانست سبب کاهش نفوذپذیری غشا شود.

میزان پراکسیداسیون لیپیدها تحت تاثیر دور آبیاری، بستر کاشت و برهمکنش دور آبیاری و بستر کاشت در سطح احتمال یک درصد قرار گرفت (جدول ۲). با افزایش دور آبیاری از دو روز به چهار و شش روز میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشا در کلیه بسترهای کاشت افزایش یافت (شکل ۳). تنش خشکی موجب ایجاد گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) و منجر به افزایش پراکسیداسیون چربی و در نتیجه خسارت به غشا سلولی می‌گردد. غشاهای پلاسمایی غنی از پیوندهای غیر اشباع هستند، رادیکالهای آزاد ایجاد شده در اثر تنش‌های محیطی سبب اکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع، کاهش سیالیت غشا و از بین رفتن ساختمان و عملکرد آن‌ها می‌شوند

به عدم تغییر (Kulshreshtha *et al.*, 1996) این صفت در مواجهه با تنش خشکی اشاره شده است. به نظر می‌رسد تفاوت موجود در مطالعات مختلف به شدت تنش، مدت تنش و همچنین گیاه مورد مطالعه برمی‌گردد. در مطالعه حاضر نیز کلروفیل a در سطح تنش متوسط افزایش و با اعمال تنش بیشتر کاهش یافته است (جدول ۳). افزایش و یا عدم تغییر کلروفیل در تنش می‌تواند به دلیل افزایش در وزن مخصوص برگ باشد. وقوع تنش میزان سطح برگ را کاهش می‌دهد و این مسئله ناشی از کاهش اندازه سلول است. بنابراین وجود سلول‌های بیشتر در واحد وزن برگ، سبب افزایش و یا عدم تغییر محتوای کلروفیل می‌شود (دلخوش و همکاران ۱۳۸۵).

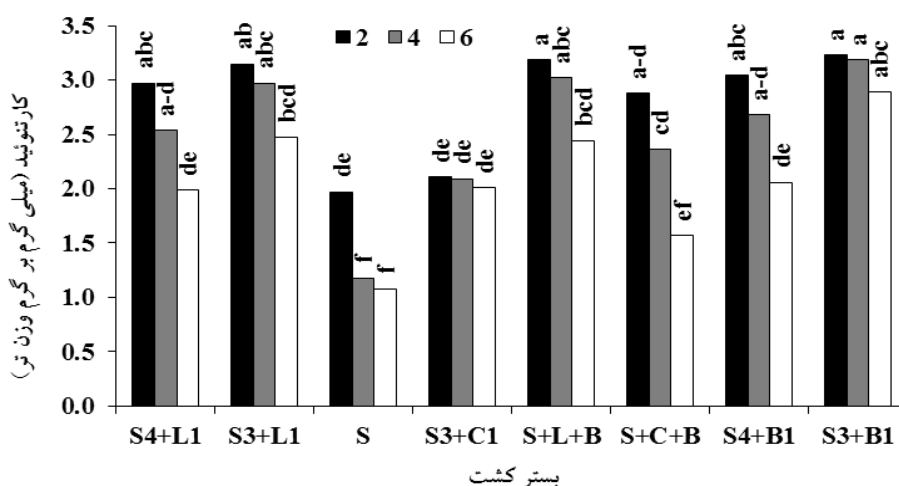
نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس نشان داد که میزان کاروتنوئید از دور آبیاری، بستر کاشت و برهمکنش این دو فاکتور در سطح احتمال یک درصد تاثیر می‌پذیرد (جدول ۲). در کلیه بسترهای کشت با افزایش دور آبیاری از دو به چهار و شش به طور میانگین میزان کاروتنوئید به ترتیب ۱۳ و ۳۷ درصد کاهش معنی‌دار یافت (جدول ۳ و شکل ۴). نقش اصلی کاروتنوئیدها جلوگیری از آسیب اکسیداتیو ناشی از تنش است، در واقع کاروتنوئیدها از طریق فروکش کردن سریع وضعیت برانگیخته کلروفیل، حفاظت نوری را انجام می‌دهد (Candan and Tarha, 2003). با اینحال، در مطالعه حاضر در شرایط تنش مقدار کاروتنوئید کاهش یافته و به طور خیلی موثری نتوانسته است نقش حفاظتی خود را ایفا نماید. برخی مطالعات دیگر نیز به نتایج مشابه دست یافتند (رمضان نژاد و همکاران، ۱۳۹۲).

همچنین مقایسه میانگی‌ها نشان داد که در دور آبیاری دو روز کمترین میزان کاروتنوئید به خاک و خاک+کود دامی بدون تفاوت معنی‌دار با یکدیگر اختصاص یافت. بقیه بسترهای کاشت بدون تفاوت معنی‌دار با یکدیگر بیشترین میزان کاروتنوئید را نشان دادند (شکل ۴). با افزایش دور آبیاری از دو به چهار روز بیشترین میزان کاهش در کاروتنوئید به خاک و کمترین آن به موم ۱/۳ اختصاص یافت. البته بقیه بسترهای کاشت نیز با افزایش دور آبیاری مخصوصاً از دو به چهار روز

در موم ۱/۳ (۱۶ درصد) مشاهده شد (شکل ۳). نکته قابل تأمل در دیگر در این نتایج این است که بستر کشت خاک+کود دامی +موم با وجود اینکه کود دامی به عنوان یک عامل بیماریزا در آن وجود داشته، توانسته است نتیجه‌ای تقریباً شبیه به بقیه بسترها نشان دهد این مسئله وجود این فرضیه را تقویت می‌کند که موم موجود در این بستر عوامل مخرب بیماریزا را تا حدودی کنترل کرده است.

همچنین به نظر می‌رسد بسترهای کشتی که با موم همراه بوده‌اند به طور کلی در کلیه دوره‌های آبیاری میزان پراکسیداسیون لیپید کمتری را نشان داده‌اند (جدول ۳) و به عبارتی شرایط بهتری را برای رشد گیاه فراهم کرده‌اند. به نظر می‌رسد این مواد علاوه بر قدرت نگهداری بالای آب، در سیستم تغذیه‌ای گیاه نیز نقش موثری داشته‌اند. مطالعات نشان داده‌اند که مواد آلی با کلاته کردن عناصر غذایی آنها را به شکل قابل جذب در خاک نگهداری می‌کنند. در این صورت می‌توان حاصلخیزی خاک را با افزودن مواد آلی حفظ و تجدید نمود. همچنین با مصرف کودهای آلی فراهمی فسفر، نیتروژن و اغلب عناصر کم مصرف را افزایش داد (McDonagh *et al.*, 1993; Ning *et al.*, 2017).

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که کلروفیل a تنها تحت تاثیر دور آبیاری در سطح احتمال ۵ درصد قرار گرفت قرار گرفت (جدول ۲). درحالی‌که کلروفیل b تحت تاثیر هیچ یک از تیمارهای مورد بررسی در این مطالعه قرار نگرفت (جدول ۲). بیشترین میزان کلروفیل a در دور آبیاری چهار روز، ۵/۳۸ میلی‌گرم در گرم برگ مشاهده شد. میزان کلروفیل a در دور آبیاری دو و شش روز به ترتیب ۵/۰۲ و ۵/۱۱ (میلی‌گرم در گرم برگ) بود (جدول ۳). کلروپلاست‌ها در اعمال بیوشیمیایی و فیزیولوژیک گیاه نقش‌های اصلی را ایفا می‌کنند. علاوه بر فتوسنتز، آنها در سنتز آمینواسیدها، اسیدهای چرب، نشاسته و بسیاری از ترکیبات متابولیکی ثانویه، موثرند (احمدی و همکاران، ۱۳۸۶). در برخی مطالعات به کاهش کلروفیل برگ تحت تنش خشکی (Kirmak *et al.*, 2001)، برخی به افزایش (پورقاسمیان و مرادی، ۱۳۹۶) و در برخی



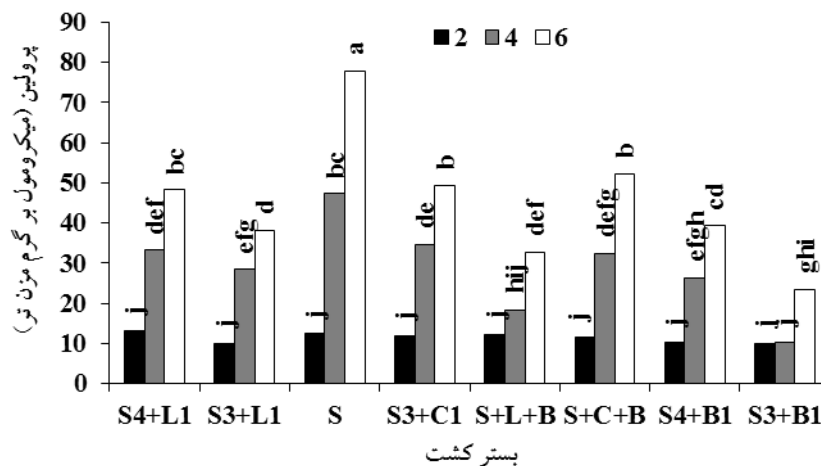
شکل ۴- تاثیر برهمکنش دور آبیاری و بستر کاشت بر محتوی رنگیزه کارتنوئید گاوزبان اروپایی. حروف مشترک برای هر تیمار در هر ستون دارای اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن نمی‌باشد.

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که میزان پرولین تحت تاثیر دور آبیاری، بستر کاشت و برهمکنش دور آبیاری و بستر کاشت قرار گرفت (جدول ۲). کمترین میزان پرولین در دور آبیاری ۲ روز در همه بسترها و بدون تفاوت معنی‌دار با یکدیگر مشاهده شد (جدول ۳ و شکل ۵). این مقدار حدود ۱۳/۵ میکرومول بر گرم وزن تر برگ گزارش شد (جدول ۳). با افزایش دور آبیاری از دو به چهار و شش روز این مقدار به ترتیب حدود ۱۱۰ و ۲۳۰ درصد افزایش یافت (جدول ۳). عباس زاده و همکاران (۱۳۸۶) بیان داشتند مقدار پرولین آزاد که در بافت‌های گیاهانی که به شکل مطلوب آبیاری می‌شوند معمولا کم است و با کاهش آب بافت‌ها این مقدار به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش می‌یابد. نامبردگان اظهار داشتند که در برخی از گیاهان در مراحل اولیه تنش کم آبی چندین اسید آمینه افزایش می‌یابد که با ادامه کم آبی فقط اسید آمینه پرولین بیشتر تجمع یافته و ذخیره می‌شود. نقش و اهمیت تجمع این ماده در تنظیم فشار اسمزی جهت کاهش از دست دادن آب سلول و نگهداری آماس آن می‌باشد.

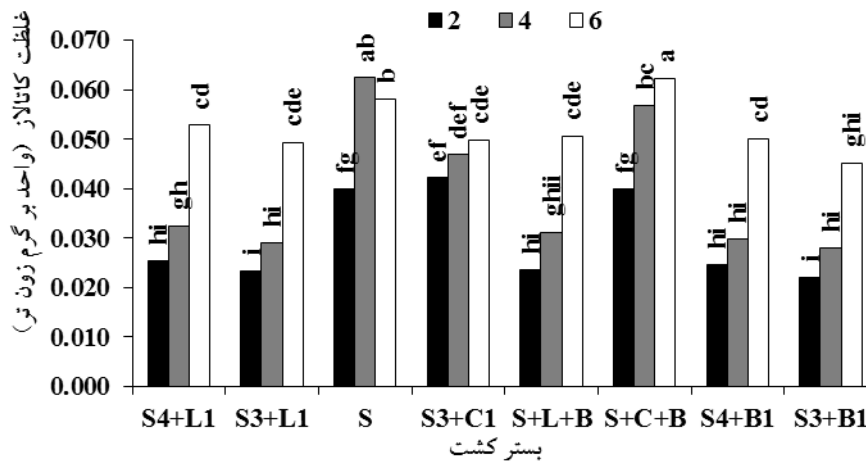
با افزایش دور آبیاری از دو به چهار و شش روز کمترین میزان تغییر پرولین در بستر کشت خاک+ موم ۱/۳ و بیشترین آن در خاک تنها مشاهده شد. بقیه بسترها با نسبت‌های متفاوتی این تغییر را نشان دادند. افزایش کمتر پرولین با

تغییر زیادی را نشان ندادند (شکل ۴). بنابراین به نظر می‌رسد بستر تا حدودی در تقویت خاصیت آنتی‌اکسیدانی کارتنوئید نقش داشته است. کاهش محتوای کارتنوئید می‌تواند به دلیل اکسید شدن آنها توسط اکسیژن فعال و تخریب ساختمان آن‌ها باشد. که بستری مختلف تا حدودی توانسته اند کارتنوئیدها را از این آسیب مصون دارند. این عمل یا از طریق حفظ رطوبت بیشتر توسط بستری مذکور و کاهش اثر تنش رطوبتی صورت گرفته است و یا از طریق تغذیه بهتر گیاه در بستری مختلف مخصوصا بستری حاوی موم انجام شده است.

رمضان نژاد و همکاران (۱۳۹۲) بیان کردند که افزایش محتوای کارتنوئیدها به ازای مصرف برخی مواد خارجی کمکی مانند سالیسیلیک اسید می‌تواند به القای پاسخ آنتی-اکسیدانی که سلول را از آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از تنش، محافظت می‌کند مربوط باشد. در چنین شرایطی گیاه به منظور ادامه جذب آب از طریق تجمع ترکیبات اسمزی از جمله کربوهیدرات‌های محلول و پرولین، پتانسیل اسمزی خود را کاهش می‌دهد و به عبارت دیگر تنظیم اسمزی صورت می‌گیرد. در مطالعه حاضر نیز ممکن است تاثیر بستر بر القای خاصیت آنتی‌اکسیدانی کارتنوئیدها با تنظیم اسمزی ارتباط مستقیم داشته باشد.



شکل ۵- تاثیر برهمکنش دور آبیاری و بستر کاشت بر محتوی پرولین گاوزبان اروپایی. حروف مشترک برای هر تیمار در هر ستون دارای اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن نمی‌باشد.

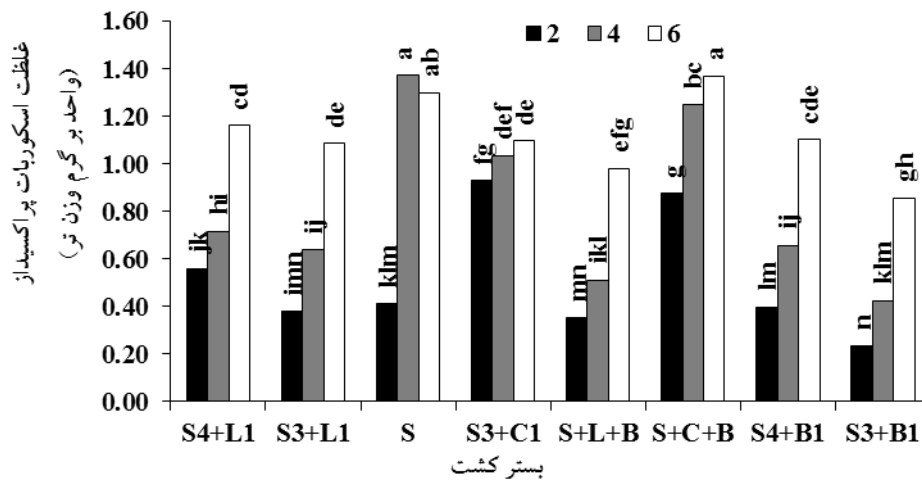


شکل ۶- تاثیر برهمکنش دور آبیاری و بستر کاشت بر غلظت آنزیم کاتالاز گاوزبان اروپایی. حروف مشترک برای هر تیمار در هر ستون دارای اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن نمی‌باشد.

آبیاری و بستر کاشت قرار گرفتند (جدول ۲). هر دو آنزیم در همه بسترهای مورد مطالعه با افزایش دور آبیاری افزایش معنی داری نشان دادند (شکل ۵ و ۶). کمترین و بیشترین میزان فعالیت آنزیم CAT در دور آبیاری دو روز به ترتیب مربوط به تیمار خاک+موم ۱/۳ (۰/۰۲۲) و خاک+کود دامی (۰/۰۴۲) بود (شکل ۶). فعالیت آنزیم APX در دور آبیاری دو روز روندی شبیه به آنزیم CAT نشان داد. به عبارتی کمترین و بیشترین میزان فعالیت این آنزیم به ترتیب مربوط به خاک+موم ۱/۳ (۰/۲۳) و خاک+کود دامی (۰/۹۲۸) بود (شکل ۷). میزان فعالیت CAT و APX در دور آبیاری مذکور در بستر موم ۱/۳

افزایش سطح آبیاری در بسترهای مورد مطالعه نسبت به خاک تنها، می‌تواند به نقش ترمیمی آنها در مقابل کم آبی اشاره داشته باشد. همچنین، Man et al., (2011) بیان کردند که افزایش پرولین در وارپته مقاوم به خشکی در فستوکا (*Festuca arundinacea* (Schreb.)) کمتر از وارپته حساس، بود. بنابراین، این ماده با وجود اینکه در شرایط تنش با اعمال تنظیم فشار اسمزی نقش سازنده دارد ولی خود نشانه‌ای از آسیب حاصل از تنش نیز هست.

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که فعالیت آنزیم‌های CAT و APX تحت تاثیر دور آبیاری، بستر کاشت و برهمکنش دور



شکل ۷- تاثیر برهمکنش دور آبیاری و بستر کاشت بر غلظت آنزیم آسکوربات پراکسیداز گاوزبان اروپایی. حروف مشترک برای هر تیمار در هر ستون دارای اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن نمی باشد.

CAT و APX در تنش متوسط خشکی افزایش می یابد اما با شدیدتر شدن شدت تنش فعالیت آنزیم های مذکور کاهش می یابد. افزایش فعالیت آنزیمی در خشکی با شدت کمتر نسبت به تنش شدیدتر نشان دهنده وجود یک مکانیزم جمع آوری کننده مؤثر برای از بین بردن ROS در تنش خشکی متوسط و تخریب این سیستم در تنش خشکی شدید به دلیل افزایش بیش از حد ROS می باشد که خود عاملی برای تخریب سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی می باشد (Alescher et al., 2002). در مطالعه حاضر نیز در بستر خاک تنها تنش متوسط سبب افزایش فعالیت آنزیمی و تنش با شدت بیشتر سبب کاهش فعالیت این آنزیم ها شد. همراه شدن تنش های بیماری با تنش خشکی در بسترهای حاوی کود دامی سبب افزایش غیر معنی دار آنزیم های مذکور شد. بقیه بسترها از طریق نگهداری آب و بهبود سیستم تغذیه ای گیاه، شدت تنش را کاهش دادند و همین مسئله باعث شد که سیستم دفاع آنتی اکسیدانی نیز بتواند تا حد زیادی افزایش یافته و گیاه را در شرایط سخت همراهی کند.

آسیب سیستم های آنتی اکسیدانی در شدت های بالای تنش های دیگر مانند آلودگی (پورقاسمیان و احسان زاده ۱۳۹۲) و شوری (Bendevides et al., 2002) نیز مشاهده شده است.

با بقیه بسترهای کشت به جز خاک + کود دامی و خاک + کود دامی + موم تفاوت معنی داری نداشت. آنزیم های CAT و APX مسئول حذف  $H_2O_2$  های ایجاد شده در شرایط تنش اکسیداتیو می باشند و در صورت عدم وجود این جمع کننده های طبیعی  $H_2O_2$  در بافت ها تجمع می یابد. از این رو انتظار می رود که در پی ایجاد و تشدید تنش، فعالیت این آنزیم ها افزایش یابد (Alescher et al., 2002). در مطالعه حاضر نیز بیشتر بودن میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در دو بستر حاوی کود دامی در شرایط عدم تنش آبی آسیب وارده به این دو بستر را ثابت می کند.

با افزایش دور آبیاری از دو روز به چهار روز بیشترین تغییر در میزان فعالیت آنزیم CAT در بستر کشت خاک (۱۵۰ درصد) و کمترین تغییر مربوط به خاک + کود دامی (۱۱ درصد) بود. با افزایش بیشتر تنش از دور آبیاری چهار به شش روز فعالیت CAT در بستر کشت خاک تنها کاهش و در بسترهای خاک + کود دامی و خاک + کود دامی + موم افزایش معنی دار نشان داد، درحالی که در بقیه بسترها این صفت افزایش معنی دار نشان داد (شکل ۶). میزان فعالیت آنزیم APX نیز روندی شبیه به CAT داشت (شکل ۷).

شیرانی ۱۳۸۸ گزارش کرد که اگر چه فعالیت آنزیم های

۱/۳ بیشترین وزن خشک، ارتفاع، کاروتنوئید و کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II و کمترین میزان پرولین، و پراکسیداسیون لیپیدها را در شرایط تنش و عدم تنش نشان داد، بنابراین می‌توان آن را به عنوان بهترین بستر در شرایط موجود معرفی کرد. بقیه بسترهای حاوی موم شامل موم با نسبت ۱/۴ و خاک+ خاکبرگ+موم در دوره‌های آبیاری ۴ و ۶ روز که برای بستر خاک تنها تنش محسوب شده بودند، کمترین میزان تنش را نشان دادند.

خاک+کود دامی با وجود داشتن قدرت نگهداری آب، باز نتایجی متناسب با انتظار نشان نداد، به عنوان یک بستر بسیار ضعیف عمل کرد و به گیاه اجازه بروز پتانسیل واقعی خود را در شرایط تنش و عدم تنش نداد. این مسئله را به عدم آماده سازی مناسب کود مصرفی و عوامل بیماریزا می‌توان نسبت داد. با اینحال نکته قابل تامل در این مطالعه اثری بود که موم بر بستر حاوی کود دامی گذاشت. این بستر با وجود داشتن کود دامی نامناسب و حضور عوامل بیماریزا باز توانست در بسیاری از صفات با بسترهای دیگر رقابت کند. این مسئله به قدرت احتمالی موم در کنترل عوامل بیماریزا اشاره داشته و جای مطالعه بیشتر را در این زمینه باز می‌کند. سیستم دفاع آنتی-اکسیدانی آنزیمی از جمله CAT و APX توانستند گیاهان کاشته شده در بسترهای حاوی موم با نسبت ۱/۳، ۱/۴، خاک+ خاکبرگ+ موم، خاک+خاکبرگ ۱/۳ و خاک+خاکبرگ ۱/۴ را در شرایط تنش یاری کنند. بنابراین، استفاده از موم برای بستر کشت گاوزبان اروپایی و همچنین دیگر گیاهان دارویی بخصوص در نسبت ۱ به ۳ با خاک توصیه می‌شود.

میزان کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II (Fv/Fm) تحت تاثیر دور آبیاری و بستر کاشت در سطح احتمال یک درصد قرار گرفت (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد Fv/Fm با افزایش دور آبیاری از دو به چهار روز ۱۱ درصد کاهش غیر معنی‌دار یافت (جدول ۳). با افزایش دور آبیاری از دو به شش روز میزان Fv/Fm ۳۰ درصد کاهش معنی‌دار یافت (جدول ۳). در اثر تنش خشکی گیاه معمولا با کاهش فتوستتزر رو به شده که یکی از دلایل این کاهش، اختلال در فعالیت فتوسیستم II می‌باشد که معمولا با طولانی شدن دوره تنش اتفاق می‌افتد (قاسمی و همکاران، ۱۳۹۲). بخشی از انرژی تابشی خورشید در طول موج بلند به شکل فلورسانس کلروفیل بازتاب می‌شود، در شرایط تنش این میزان بازتاب زیاد شده، و انرژی برای واکنش‌های فتوشیمیایی و نوری کمتری میشود و به دنبال آن عملکرد کوانتومی فتوسیستم II کاهش می‌یابد (سلطانی ۲۰۰۴). قاسمی و همکاران (۱۳۹۲) نشان دادند که سطوح متوسط تنش خشکی (۶۵ درصد ظرفیت زراعی) تاثیری بر میزان کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II نداشت ولی با افزایش شدت تنش به ۳۰ درصد ظرفیت زراعی این صفت به طور معنی‌داری کاهش یافت. این تحقیق با نتایج حاصل از مطالعه حاضر هماهنگ است.

### نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که تقریبا کلیه بسترهای کشت حاوی مواد آلی توانستند تنش حاصل از افزایش دور آبیاری از ۲ روز به ۴ روز را تعدیل کنند. بستر موم با نسبت

### منابع

- احمدی، ع.، احسان‌زاده، پ. و جباری، ف. (۱۳۸۶) مقدمه‌ای بر فیزیولوژی گیاهی (ترجمه). جلد دوم، انتشارات دانشگاه تهران.
- افحوانی شجری، م.، نعمتی، ح.، مهربخش، م.م.، فلاحی، ج. و حقیقی تاجور، ف. (۱۳۹۱) ارزیابی اثرات بستر کاشت و دور آبیاری بر شاخص‌های رشد گیاهچه‌ای ارقام گوجه فرنگی در شرایط گلخانه. نشریه علوم باغبانی. ۲۶: ۸۷-۹۵.
- پورقاسمیان، ن. و مرادی، ر. (۱۳۹۶) بررسی اثر تنش خشکی و اسکوربیک اسید بر برخی پارامترهای رشد و بیوشیمیایی در گیاه همیشه بهار. فرآیند و کارکرد گیاهی. ۶: ۷۷-۸۸.
- پورقاسمیان، ن. و نوربخش، ف. (۱۳۹۴) اثر تفاله موم زنبور عسل بر سیتیک معدنی شدن کربن. چهاردهمین کنگره علوم خاک ایران. دانشگاه ولی عصر رفسنجان.

- خزاعی، ح.، پارسا، م. و حسین پناهی، ف. (۱۳۸۷) اثرات تلقیح نژادهای بومی ریزوبیوم بر گره زایی ژنوتیپ های دسی و کابلی نخود تحت رژیمهای رطوبتی در مرحله رشد رویشی مختلف. مجله پژوهشهای زراعی ایران ۶:۹۷-۱۸۹.
- دلخوش، ب.، شیرانی راد، ا.ح.، نورمحمدی، ق. و درویش، ب. (۱۳۸۵) تاثیر تنش خشکی بر عملکرد. مقدار کلروفیل ارقام کلزا. مجله علمی پژوهشی علوم کشاورزی. ۱۲: ۳۵۹-۳۶۷.
- ده احمدی، ر.ا.، پارسا، م. و گنجعلی، ع. (۱۳۸۹) تاثیر تنش خشکی در مراحل مختلف فنولوژی بر خصوصیات مرفولوژیک و تجزای عملکرد نخود (*Cicer arietinum* L.) در شرایط گلخانه. نشریه پژوهشهای زراعی ایران. ۸: ۱۵۷-۱۶۶.
- رضایی، ح. (۱۳۹۲) مروری بر تحقیقات کاربرد کودهای دامی در اراضی کشاورزی ایران. نشریه مدیریت اراضی. ۱: ۵۵-۶۸.
- رمضان نژاد، ر.، لاهوتی، م. و گنجعلی، ع. (۱۳۹۲) اثر محلول پاشی اسید سالیسیلیک روی برخی از شاخص های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ارقام حساس نخود تحت تنش خشکی. مجله اکوفیزیولوژی گیاهی، ۵: ۲۴-۳۶.
- زرگری، ع. (۱۳۷۲) گیاهان دارویی. انتشارات دانشگاه تهران. جلد چهارم.
- سیبی، م.، میرزاخانی، م. و گماریان، م. (۱۳۹۱) بررسی ناپایداری غشاء سلولی گلرنگ تحت تنش آبی، مصرف ژنولیت و سالیسیلیک اسید. مجله زراعت و اصلاح نباتات. ۸: ۱۱۹-۱۳۶.
- عباس زاده، ب.، شریفی عاشور آبادی، ا.، لباسچی، م. و مقدمی، ف. (۱۳۸۶) اثر تنش خشکی بر میزان پرولین، قندهای محلول، کلروفیل و آب نسبی (RWC) بادرنجبویه. فصلنامه علمی- پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. ۲۳ (۴): ۵۰۴-۵۱۳.
- قاسمی، م.، ارزانی، ک.، یدالهی، ع. و حکم آبادی، ح. (۱۳۹۲) اثر تنش خشکی بر فلورسانس، مقدار و شاخص کلروفیل چهار پایه دانهالی پسته. نشریه پژوهش آب در کشاورزی. ۲۷: ۴۷۵-۴۸۴.
- کوچکی، ع.، زند، ا.، بنایان اول، م.، رضوانی مقدم، پ.، مهدوی دامغانی، ع.، جامی الاحمدی، م. و وصال، س.ر. (۱۳۸۴) اکوفیزیولوژی گیاهی. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد.
- مجیدیان، م.، قلاوند، ا.، کریمیان، ن. و گندمکار حقیقی، ع.ا. (۱۳۸۷) تاثیر تنش رطوبت، کودشیمیای ینتروژنه، کود دامی و تلفیقی از کو دنیتروژن و کود دامی بر عملکرد و اجزای عملکرد و راندمان استفاده از آب ذرت سینگل - کراس 704 علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی ۴۵: ۴۱۸-۴۳۲.
- هاشمی دزفولی، ا. و کوچکی، ع. (۱۳۷۴) افزایش عملکرد گیاهان زراعی. جهاد دانشگاهی دانشگاه مشهد. ۳۶۰ صفحه.
- هوشیارفرد، م. و قرنجیکی، ع.ا. (۱۳۸۴) بررسی تاثیر کودهای دامی بر بیماری های خاکزاد پنبه. موسسه تحقیقات پنبه کشور.
- Abedi, T. and Pakntyat, H. (2010) Antioxidant enzyme changes in response to drought stress in ten cultivars of oilseed rape (*Brassica napus* L.). Czech Journal of Genetics and Plant Breeding 16: 27-34.
- Aebi, H. (1984) Catalase in vitro. Methods in Enzymology 105:121-126.
- Alscher, R. G., Erturk, N. and Health, L. S. (2002) Role of superoxide dismutase in controlling oxidative stress in plants. Environmental and Experimental Botany 53: 1331-1341.
- Bates, L. S., Waldern, R. W. and Treare, L.D. (1973) Rapid determination of free proline for stress studies. Plant and Soil 39: 205-207.
- Bendevides, M. P., Marconi, P. L., Gullego, S. M., Comba, M. E. and Tomaro, M. L. (2002) Relationship between antioxidant defense system and salt tolerance in *Solanum tuberosum*. Australian Journal of Plant Physiology 27: 273-278.
- Candan, T. and Tarhan, L. (2003) Changes in chlorophyll-carotenoid contents, antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation level in Zn-stressed. *Pulegium*. Turkish Journal of Chemistry 27: 21-30.
- Flexas, J., Briantais, J.M. Cerovic, Z. Medrano, H. and Moya, I. (2000) Steady-state and maximum chlorophyll fluorescence response to water stress in grapevine leaves: a new remote sensing system. Remote Sensing of Environment 73: 283-297.
- Heath, R.L. and Packer, L. (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry and Biophysics 125: 189-198.

- Kirnak, H., Kaya, C., TAS, I. and Higgs, D. (2001) The influence of water deficit on vegetative growth, physiology, fruit yield and quality in egg plants. *Plant Physiology* 27: 34-46.
- Kulshreshtha, S., Mishra, D. P. and Gupta, R. K. (1987) Changes in content of chlorophyll, proteins and lipids in whole chloroplast and chloroplast membrane fractions at different leaf water potentials in drought resistant and sensitive genotypes of wheat. *Photosynthetica* 21(1): 65-70.
- Lichtenthaler, H. K. (1994) Chlorophylls and carotenoid pigments of photosynthetic Biology Membrane and Method in *Enzymology* 148: 350-382.
- Lutts, s., Kient, J. M. and Bouharmont, J. (1995) Changes in plant response to NaCl during development of rice (*Oriza sativa* L.) varieties differing in salinity resistance. *Journal of Environmental and Experimental Botany* 46: 1843-1852.
- Man, D., Boa, Y.X., Han, L.B., and Zhang. X. (2011) Drought Tolerance Associated with Proline and Hormone Metabolism in Two Tall Fescue Cultivars. *HortScience* 46:1027-1032.
- McDonagh, J. F., Toomsan, B., Limpinuntana, V. and Giller, K. E. (1993) Estimates of the residual nitrogen benefit of groundnut to maize in Northeast Thailand. *Plant and Soil* 154: 267-277.
- McDowell, N., Pockman, W. T., Allen, C. D., Breshears, D. D., Cobb, N., Kolb, T., Plaut, J., Sperry, J., West, A., Williams, D. G. and Yezpez, E. A. (2008) Mechanisms of plant survival and mortality during drought: why do some plants survive while others succumb to drought?. *New Phytologist* 178: 719-739.
- Munns, R. and James, R. A. (2003) Screening methods for salinity tolerance: a case study with tetraploid wheat. *Plant and Soil* 253: 201-218.
- Nagase, A. and Dunnett, N. (2011) The relationship between percentage of organic matter in substrate and plant growth in extensive green roofs. *Landscape and Urban Planning* 103: 230-236.
- Nayyer, H. (2004) Variation in osmoregulation in differentially drought-sensitive wheat genotype involves calcium. *Biologia Plantarum* 47: 541-547.
- Ning, C. C. Gao, P. D., Wang, B. Q., Lin, W. P., Jiang, N. H., Cai, K. Z. (2017) Impacts of chemical fertilizer reduction and organic amendments supplementation on soil nutrient, enzyme activity and heavy metal content. *Journal of Integrative Agriculture* 16: 1819-1831.
- Pandy, R. k., Herrera, W. A. T., Villegas, A. N. and Pendelton, J. W. (1984) Drought responses of grain legumes under irrigation gradient. *Agronomy Journal* 76: 557-560.
- Rajinder, S. D. (1987) Glutathione status and protein synthesis during drought and subsequent dehydration in *Torularulis*. *Plant Physiology* 83: 816-819.
- Salvador, E.D. and Minami, K. (2004) Evaluation of Different Substrates on *Lisianthus* (*Eustoma grandiflorum* Shinn) Growth. *Acta Horticulturae* 644: 217-223.
- Soltani, A. (2004) Chlorophyll florescence and its application. Internal Press. University of Agricultural Science and Natural Resource, Gorgan, Iran.



## Potential of using beeswax waste as the substrate for borage (*Borago officinalis*) planting in different irrigation regimes

Nasibeh Pourghasemian and, Rooholla Moradi\*

Department of Plant Productions, Agricultural Faculty of Bardsir, Shahid Bahonar University of Kerman, Iran

(Received: 06/09/2017, Accepted: 26/12/2017)

### Abstract:

In order to investigate the effect of using beeswax waste in combination with other organic matter as a substrate on some growth, physiological and biochemical parameters of borage in different irrigation regimes, an experiment was conducted in a factorial arrangement based on completely randomized design with three replications in 2017. The experimental treatments were irrigation interval in three levels (2, 4 and 6 day) and substrate in 8 levels (soil + wax in ratio of 3-1, soil + wax 4-1, soil + leaf-soil 3-1, soil + leaf-soil 4-1, soil + cow manure 3-1, soil + cow manure + wax 3-0.5-0.5, soil + leaf-soil + wax 3-0.5-0.5 and soil). The results showed that plant dry matter and height, carotenoid and proline contents, catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX) and lipids peroxidation (MDA) were affected by simple and interaction effects of irrigation regimes and planting substrates ( $P \leq 0.05$ ). The membrane permeability and photochemical efficiency of photosystem II were influenced by the simple effects of both treatments. The content of chlorophyll a was only affected by irrigation regime and all studied treatments had no significant effect on chlorophyll b contents. The photochemical efficiency of photosystem II, chlorophyll a and carotenoid contents were significantly decreased with increasing irrigation intervals. All of the organic substrates could mitigate the drought stress related to increasing the irrigation interval from 2 to 4 days. Under both stress and non stress conditions, wax substrate in ratio of 3-1 had the highest dry matter, height, carotenoid contents and photochemical efficiency of photosystem II, with the lowest proline and MDA contents. Other wax containing substrates also showed satisfactory conditions in terms of plant growth indices and stress resistance for irrigation intervals of 4 and 6 days. The activity rate of CAT and APX enzymes were elevated with increasing irrigation interval in the soil + wax substrate with the ratio of 3-1, 4-1, wax + soil + peat, soil + leaf-soil 3-1 and 1-4. In another words, the two Enzymes played an effective role for improving drought stress resistance in the mentioned substrates. Therefore, it seemed that the wax containing substrates are recommendable under drought stress conditions, and it is more efficient by enhancing the wax ratio in the planting substrate composition.

**Key words:** Ascorbate peroxidase, Biochemical, Catalase, Chlorophyll fluorescence, Physiological

\*Corresponding author: r.moradi@uk.ac.ir