

ارزیابی تأثیر عصاره جلبک‌های دریایی قرمز بر شاخص‌های رشدی و فیزیولوژیکی سه ژنوتیپ خیار آب‌پران (*Ecballium elaterium* L.)

فریبا ساعدی^۱، طاهر برزگر*^۱، زهرا قهرمانی^۱، جعفر نیکبخت^۲

^۱ گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان

^۲ گروه مهندسی آب، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۸/۱۴، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۰/۱۱/۰۲)

چکیده

امروزه جهت افزایش رشد و عملکرد گیاهان از کودهای زیستی جلبکی استفاده می‌شود. به منظور مطالعه تأثیر جلبک‌های قرمز دریایی بر صفات رشدی و فیزیولوژیکی خیار آب‌پران، این پژوهش به صورت کرت‌های خردشده بر پایه طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۹۸ انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل سه ژنوتیپ خیار آب‌پران (I) ایرانی، (S) اسپانیایی و (B) بریتانیایی) به عنوان عامل اصلی و تیمار محلول‌پاشی عصاره جلبک قرمز دریایی در سه سطح شامل عصاره جلبکی اکتانوفورا (A: غلظت ۲ لیتر در هکتار)، عصاره جلبکی گراسیلاریا (G: غلظت ۲ لیتر در هکتار) و عصاره جلبکی ترکیبی ۵۰:۵۰ از هر دو جلبک (AG: غلظت ۲ لیتر در هکتار) و محلول-پاشی با آب مقطر به عنوان شاهد بود. نتایج نشان داد که هر سه سطح عصاره جلبکی سبب افزایش شاخص‌های رشدی و فیزیولوژیکی هر سه ژنوتیپ خیار آب‌پران شدند. بیشترین طول بوته (۵۵/۸۸ سانتی‌متر)، تعداد شاخه جانبی (۱۲/۹۴) و سطح برگ (۳۱۲/۲۲ سانتی‌متر مربع) با کاربرد عصاره جلبک ترکیبی در ژنوتیپ ایرانی حاصل شد. حداکثر مقدار کلروفیل کل به ترتیب در ژنوتیپ اسپانیایی (۲۶/۱۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و ایرانی (۲۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) با کاربرد عصاره جلبک ترکیبی بدست آمد. همچنین بیشترین مقدار آلکالوئید کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در میوه‌های ژنوتیپ بریتانیایی مشاهده شد. در کل محلول‌پاشی عصاره ترکیبی دو جلبک بیشترین تأثیر را بر رشد، تعداد میوه و شاخص‌های بیوشیمیایی میوه داشت، بنابراین، کاربرد ترکیبی عصاره جلبک‌های دریایی قرمز برای بهبود شاخص‌های رشدی و فیزیولوژیکی میوه خیار آب‌پران می‌تواند پیشنهاد شود.

کلمات کلیدی: آلکالوئید، رنگیزه فتوستتزی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، فنل کل

مقدمه

علفی چند ساله با ریشه گوشتی سفید و زرد رنگ و ساقه‌ای سخت و گوشتی با انشعابات کوچک و سبز روشن به طول ۶۰ سانتیمتر است (صفوی، ۱۳۹۰). این گیاه حاوی انواع کوکوروبیتاسین‌ها است که به عنوان تصفیه‌کننده، ملین و درمان سینوزیت استفاده می‌شود (Aronson, 2016)؛ که این

خیار آب‌پران (*Ecballium elaterium* (L.) A. Rich) گیاهی چند ساله از خانواده Cucurbitaceae و مدیترانه‌ای است که از زمان‌های قدیم در طب سنتی کشورهای تونس و ترکیه استفاده فراوانی داشته است (Bourebaba et al., 2020). گیاهی خزنه،

گراسیلاریا و هیپنا در گوجه‌فرنگی، فلفل و بادنجان سبب افزایش رشد و عملکرد این سبزی‌ها شد (Narasimha and Chatterjee, 2014). مطالعه اثر غلظت‌های مختلف (۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ درصد) عصاره جلبک قهوه‌ای (*Saragassum wightii*) در گیاه بامیه نشان داد که غلظت ۲۰ درصد عصاره جلبک موجب افزایش معنی‌داری در جوانه‌زنی بذر، محتوای کربوهیدرات محلول و عملکرد گیاه نسبت به تیمار شاهد شد و با افزایش غلظت عصاره میزان شاخص‌های رشد کاهش یافت (Jothinayagi and Anbazhagan, 2009). میزان ویتامین ث در میوه گوجه‌فرنگی با کاربرد عصاره جلبک دریایی افزایش یافت (Zodape et al., 2011). گروهی از محققان با بررسی جلبک آزولا بر بادرشبو در شرایط کم‌آبی اعلام کردند که عصاره جلبکی اثرات تنش خشکی را تا حد زیادی کاهش داد و سبب افزایش میزان متابولیت‌های ثانویه، حفظ ساختار سلولی، افزایش ارتفاع و دیگر صفات مورفولوژیک گیاه شد (Ghasemi Maham et al., 2018). Mohammed و همکاران (۲۰۱۳) تأثیر عصاره جلبک آسکوفیلیوم را بر توت‌فرنگی بررسی کردند و اعلام کردند بزرگ‌ترین بوته و اندازه حبه از تیمار ۱ و ۲ گرم در لیتر جلبک آسکوفیلیوم بدست آمد. کاربرد کود مایع جلبک دریایی (*Ascophyllum nodosum*) با غلظت ۱ میلی‌لیتر در لیتر باعث افزایش معنی‌دار رشد رویشی و درصد و عملکرد اسانس گیاه دارویی مرزه شد (رضایی و همکاران، ۱۳۹۸).

جلبک‌های مورد استفاده در این تحقیق دو گونه جلبک دریایی به نام‌های گراسیلاریا (*Gracilaria corticata*) و اکانتوفورا (*Acanthophora spicifera*) از خانواده جلبک‌های دریایی (ماکروجلبک‌ها) قرمز (Rhodophyta) (Ali et al., 2021) که بومی مناطق ساحلی خلیج فارس هستند. با اینکه تحقیقات فراوانی در بررسی تأثیر کودهای آلی بر محصولات کشاورزی انجام شده است، ولی در مورد اثرات این جلبک‌ها بر عملکرد و کیفیت مواد مؤثره گیاهان دارویی اطلاعات اندکی موجود است. بنابراین، با در نظر گرفتن اهمیت کشاورزی پایدار و همچنین کاهش مصرف کودهای شیمیایی و ترویج استفاده‌های

مولکول‌های شناخته‌شده دارای طیف گسترده‌ای از فعالیت‌های دارویی مانند فعالیت ضدالتهابی، ضدسرطانی و آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی (Abbassi et al., 2014) هستند. عصاره میوه‌های تازه برای درمان سینوزیت، زردی مزمن و روماتیسم استفاده می‌شود (Salhab, 2013). پراکنش این گیاه در ایران به گونه‌ای است که در شمال و شمال غرب از جمله دشت مغان به وفور یافت می‌شود (صفوی، ۱۳۹۰).

امروزه کشاورزی پایدار یکی از دغدغه‌های اصلی بشر است، یکی از راه‌های رسیدن به کشاورزی پایدار، استفاده از کودهای زیستی است (رحمانی، ۱۳۸۹). انواعی از کودهای زیستی با منشأ باکتری، قارچ، جلبک و یا دیگر موجودات خاکزی در جهان قابل تولید است که مکانیسم عمل تمامی آنها قابل جذب نمودن عناصر غذایی توسط گیاه است (Bindhu, 2013). یکی از نهاده‌های مورد استفاده در کشاورزی ارگانیک، استفاده از عصاره جلبک دریایی است که می‌تواند مکمل تغذیه‌ای مناسبی در کنار دیگر کودها باشد (جوانمردی و آزادی، ۱۳۹۱). برخلاف کودهای شیمیایی، عصاره بدست آمده از جلبک دریایی از تخریب محیط‌زیست جلوگیری نموده، غیر سمی بوده و آلودگی خطرناک برای انسان، حیوانات و پرندگان ایجاد نمی‌کند (Del Poso et al., 2007).

جلبک‌های دریایی یکی از مهم‌ترین منابع پایدار با پتانسیل صنعتی به حساب می‌آیند. عصاره‌های بدست آمده از جلبک‌ها شامل ترکیبات پلی‌ساکاریدی، پروتئین‌ها، اسیدهای چرب غیراشباع، رنگدانه‌ها، پلی‌فنل‌ها، ویتامین‌ها، مواد معدنی (به‌عنوان مثال K، Mg، Ca و Na) و هورمون‌های رشد گیاه هستند که با افزودن به خاک یا محلول‌پاشی سبب جبران عناصری همچون N، P و K در خاک و گیاه می‌شود (Trivedi, 2018). تحقیقات نشان داده است که استفاده از جلبک‌های دریایی سبب تحریک رشد و عملکرد گیاهان شده و باعث افزایش مقاومت آنها به انواع تنش‌های محیطی می‌گردد (Pramanick et al., 2013). کاربرد عصاره جلبک دریایی قرمز و سبز در خیار، رشد رویشی و عملکرد میوه را بهبود بخشید (Ahmad and Shalaby, 2012). تیمار عصاره جلبک قرمز

بوته‌ها و ۵۰ سانتی‌متر بین ردیف‌ها، در عمق کمتر از یک سانتی‌متری کشت شدند و بلافاصله آبیاری صورت گرفت. پس از آن هر سه روز یکبار به‌صورت سیستم قطره‌ای-نواری انجام شد.

برای شناسایی صحیح و جلوگیری از خطا در تهیه جلبک آزاد در دریا، از بانک جلبک ایران (شرکت توسعه ذخایر زیستی جلبک‌های فارس) واقع در شیراز تهیه شدند. جلبک‌ها توسط شرکت برداشت شد و پس از شستشو با آب شیرین و حذف شن و ماسه در سایه خشک و برای ما ارسال شد. نمونه‌های خشک‌شده در آسیاب الکتریکی (Lion Steel Industrial Electric Mill 2Kg) پودر شدند. برای تهیه عصاره جلبکی از روش جوشاندن (Boiling) استفاده شد (Ramarajan et al., 2012). در این روش ابتدا ۱۰۰ گرم پودر جلبک موردنظر با آب مقطر مخلوط شد و به حجم یک لیتر رسانده شد. سپس به مدت ۳۰ دقیقه روی شیکر قرار گرفت و بعد درون بالن ریخته شد. محلول حاصل به مدت ۳۰ دقیقه روی هیتر تحت دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. عصاره جوشانده شده پس از ۲۰-۳۰ دقیقه در دمای اتاق (۲۵-۲۸ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفت و سرد شد. سپس با کاغذ صافی واتمن شماره یک فیلتر شد و پس از سانتریفیوژ (دور ۳۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه) و جداکردن فاز بالایی محلول، در یخچال نگهداری شد. عصاره بدست آمده با این روش به‌عنوان غلظت ۱۰۰ درصد (استوک اصلی) در نظر گرفته شد. رنگ و pH در لحظه برداشت توسط شرکت و طبق روش‌های استاندارد ثبت شد.

عناصر ماکرو و میکرو: این عناصر برحسب میلی‌گرم در صد گرم ماده خشک به روش Atomic absorption spectroscopy با بکارگیری دستگاه جذب اتمی (ساخت شرکت آمریکایی Varian مدل Spectr AA-200) با هضم نمونه‌ها توسط اسید نیتریک و آب اکسیژنه در دستگاه میکروویو (ساخت شرکت ایتالیایی، MILESTONE مدل ETHOS) و تزریق نمونه‌ها به دستگاه جذب اتمی، تهیه محلول‌های استاندارد، رسم منحنی کالیبراسیون و بدست

کودهای زیستی، این پژوهش با هدف استخراج و تأثیر عصاره جلبک‌های قرمز بر شاخص‌های فیزیولوژیکی و عملکرد میوه و مواد مؤثره ژنوتیپ‌های ایرانی و اروپایی گیاه خیار آب‌پران انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به‌صورت کرت‌های خردشده برپایه طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی با سه تکرار در بهار و تابستان ۱۳۹۸ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان انجام شد. زنجان دارای اقلیم نیمه‌خشک فراسرد (براساس روش دومارتن) و ارتفاع ۱۶۵۹ متر از سطح دریا و متوسط بارندگی سالیانه ۲۰۰ تا ۴۰۰ میلی‌متر و متوسط دمای سالیانه ۹ تا ۱۷ درجه سانتی‌گراد است. تیمارهای آزمایشی شامل سه ژنوتیپ خیار آب‌پران (I) ایرانی، (S) اسپانیایی و (B) بریتانیایی) به‌عنوان عامل اصلی و محلول‌پاشی عصاره جلبک قرمز دریایی در سه سطح شامل عصاره جلبکی اکانتوفورا (A: غلظت ۲ لیتر در هکتار)، عصاره جلبکی گراسیلاریا (G: غلظت ۲ لیتر در هکتار) و عصاره جلبکی ترکیبی ۵۰:۵۰ از هر دو جلبک (AG: غلظت ۲ لیتر در هکتار) به‌عنوان عامل فرعی بود. بذره‌های خیار آب‌پران ایرانی (*Ecballim elaterium* L.) مورد استفاده در این آزمایش از دشت مغان، شهر پارس‌آباد استان اردبیل تهیه شد. ژنوتیپ اسپانیایی از دشت‌های اطراف دانشگاه والنسیا در اسپانیا جمع‌آوری شد. ژنوتیپ بریتانیایی از شرکت تجاری بین‌المللی 'Plant World Seeds' خریداری شد. جلبک‌های دریایی قرمز گراسیلاریا (*Gracilaria corticata*) و اکانتوفورا (*Acanthophora spicifera*) از بانک جلبک ایران (شرکت توسعه ذخایر زیستی جلبک‌های فارس) در شیراز تهیه شد. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه در جدول ۱ آورده شده است.

قطعه زمین مورد نظر در اوایل فصل پاییز ۹۷ توسط گاو آهن برگردان‌دار شخم و سپس در اواخر اسفندماه برای نرم‌کردن خاک و کلوخه‌ها دو بار دیسک زده شد. بذرها در اوایل خرداد ۱۳۹۸ به‌صورت ردیفی با فاصله ۵۰ سانتی‌متر بین

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش

هدایت الکتریکی (dS m ⁻¹)	pH	کاتیون (meq L ⁻¹)			آنیون (meq L ⁻¹)			ترکیبات ارگانیک بافت خاک (%)	
		کلسیم	منیزیم	پتاسیم	کلر	بی‌کربنات	سولفات		
۱/۳۸	۷/۸	۳/۴	۲/۱	۲/۵	۱/۳	۲/۱	۸/۲	۵/۲	لومی رسی

میزان جیبرلین، منحنی استاندارد با استفاده از غلظت‌های معلوم جیبرلین تهیه شد و در نهایت برحسب درصد بیان شد (Graham and Henderson, 1961).

هورمون سائوکینین: نیم گرم جلبک تر را با ۱۵ میلی‌لیتر محلول استخراج (متانول: کلروفرم: آمونیوم هیدروکسید با نسبت حجمی ۱۲:۳:۵) مخلوط و در هاون ساییده شد. به محلول همگن حاصل، شش میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد و در ادامه فاز کلروفرم دور ریخته شد و فاز آبی برای تبخیر متانول روی هیتر قرار گرفت. در ادامه فاز آبی روی pH ۷ تنظیم شد سپس مقدار ۴ میلی‌لیتر اتیلن استات به فاز آبی اضافه شد. فاز اتیلن استات به یک پتری‌دیش با قطر ۱۵ سانتی‌متر منتقل و روی هیتر قرار داده شد تا بطور کامل تبخیر گردد. این کار سه مرتبه تکرار شد. محتوای باقیمانده روی پتری را با یک میلی‌لیتر لیتر NaOH یک نرمال شستشو و به اپندورف انتقال داده شد. برای سنجش از اسپکتروفتومتر با طول‌موج ۲۶۰ نانومتر استفاده شد. از روی منحنی استاندارد میزان هورمون‌ها محاسبه و در نهایت برحسب درصد بیان شد (Syono and Torrey, 1976).

چربی خام کل با روش وزن سنجی: یک گرم پودر جلبک درون کاغذ صافی و سپس فنجان دستگاه سوکسله اتوماتیک Foss soxtec 2050 سوئیس قرار گرفتند. به‌وسیله حلال هگزان نرمال و اعمال حرارت، چربی استخراج و محاسبه شد (Bligh and Dyer, 1959).

پروتئین با روش کج‌دال: ۰/۳ گرم پودر جلبک با یک قرص کاتالیست هضم و ۷ میلی‌لیتر اسید سولفوریک مخلوط گردید. سپس به بلوک هضم انتقال یافته و به مدت دو ساعت، دما به تدریج تا ۴۰۰ درجه سانتی‌گراد افزایش یافت. سپس نمونه هضم‌شده در دستگاه میکروکج‌دال اتوماتیک مدل Tecator Kjeltec Auto 1030 Analyzer سوئد، قرار گرفت و درصد

آوردن میزان جذب نور عناصر نمونه‌ها تعیین شد (Manivannan et al., 2009).

اکسین: به‌منظور اندازه‌گیری میزان هورمون اکسین، نیم گرم جلبک در ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد جوشانده و پس‌از ساییده‌شدن، از کاغذ صافی عبور داده شد. مقدار ۲ میلی‌لیتر معرف سالکوفسکی به ۱ میلی‌لیتر از عصاره‌های حاصل اضافه شد. به‌منظور تهیه معرف سالکوفسکی، ۱ میلی‌لیتر محلول کلریدفری ۰/۵ مولار با ۵۰ میلی‌لیتر پرکلریک اسید ۳۵ درصد مخلوط و هم‌زده شد؛ سپس لوله‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در حمام آبی ۴۰ تا ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند تا واکنش کامل و حضور اکسین در عصاره با رنگ صورتی آشکار شود. در پایان، میزان جذب نمونه‌ها در طول‌موج ۵۳۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (UV/Vis مدل WPA S2100, UK) خوانده شد. مقدار اکسین موجود در نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد و برحسب درصد بیان شد (Gordon and Paleg, 1957).

جیبرلین: به‌منظور اندازه‌گیری میزان هورمون جیبرلین، ۰/۵ گرم بافت تر جلبک در ۲/۵ میلی‌لیتر اتانول مطلق ساییده شد. عصاره حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه ساتریفیوژ و سپس یک قطره کلریدریک اسید (۰/۱ مولار) به محلول اضافه شد. محلول حاصل به قیف جداکننده (دکانتور) منتقل، ۱۰ میلی‌لیتر اتیل استات به آن اضافه و به مدت دو دقیقه به‌خوبی تکان داده شد؛ سپس ۱۰ میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم با اسیدیته ۷/۴ به آن اضافه شد. پس‌از تکان دوباره و تشکیل دو فاز، فاز رنگی دور ریخته شد و ۳ میلی‌لیتر کلریدریک اسید (۳/۷ مولار) و ۳ میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم (اسیدیته ۷/۴) به ۳ میلی‌لیتر از فاز آبی اضافه و جذب نمونه‌ها در طول‌موج ۲۵۴ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. به‌منظور تعیین

جدول ۲- غلظت ترکیبات مغذی، عناصر و هورمون‌های رشد موجود در عصاره حاصل از مخلوط با نسبت ۱:۱ جلبک‌های دریایی قرمز استخراج شده به روش جوشاندن

۱۱۲۴/۷	N	عناصر پر مصرف	۶/۲	لیپید	
۲۵۱/۳	P	(mg 100g ⁻¹ DW)	۱۰/۳	کربوهیدرات	ترکیبات ارگانیک
۱۲۰۸/۶	K		۲۲/۱	پروتئین	(g 100g ⁻¹ DW)
۱۰۳۲/۹	Mg		۹۵/۲	آمینو اسید کل	
۲۱۳۴	Na	هورمون‌های رشد	۲۲/۹	Cu	
۱۳/۱	اکسین	(mg L ⁻¹)	۱۸/۸	Mn	عناصر کم مصرف
۲۴/۶	سایتوکینین		۱۲۳/۱	Zn	(mg 100g ⁻¹ DW)
۱۱/۸	جیبرلین		۲۳۴	Fe	

هکتار)، ۲) عصاره جلبکی گراسیلاریا (G): غلظت ۲ لیتر در هکتار) و ۳) عصاره جلبکی ترکیبی ۱:۱ از هر دو جلبک (AG): غلظت ۲ لیتر در هکتار) استفاده شد. محلول‌های جلبکی در چهار مرحله روی گیاه استعمال شدند: (۱) مرحله چهارم- پنج برگی (۲) همزمان با رشد اولین شاخه‌های جانبی (۳) آغاز دوره زایشی (۴) تشکیل ۱۰ درصد میوه‌ها.

صفات مورد ارزیابی: در طول دوره رشد تعداد میوه در بوته شمارش شد و در پایان دوره رشد تعداد شاخه جانبی و طول بوته برحسب سانتی‌متر اندازه‌گیری شد. برای ارزیابی میانگین شاخص سطح برگ از هر بوته ۹ برگ از گره‌های مشخص انتخاب شد و بعد از اسکن با دستگاه اسکنر با نرم‌افزار Image J سطح برگ برحسب سانتی‌متر مربع محاسبه شد. برای اندازه‌گیری سفتی میوه از دستگاه سفتی‌سنج دستی مدل (Mc cormic-FT 327) ساخت کشور ایتالیا، با سطح مقطع ۸ میلی‌متر استفاده شد و برحسب کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع ثبت شد. برای سنجش کلروفیل کل و کارتنوئید، ۵۰۰ میلی‌گرم از برگ در ۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد هموژن شد و بعد از سانتریفیوژ با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه، مایع رویی برداشته و حجم آن با استون ۸۰ درصد به ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس با دستگاه اسپکتروفتومتر (UV/Vis مدل WPA S2100, UK) میزان جذب نور در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۶/۶، ۶۶۳/۶ و ۴۷۰ نانومتر خوانده شد و با استفاده از روابط زیر رنگدانه‌های

نیترژن خوانده شد. برای محاسبه درصد پروتئین، مقدار نیترژن کل هر نمونه در عدد ۶/۲۵ ضرب شد (Horwitz, 1995؛ پروانه، ۱۳۷۴).

درصد آمینواسید آزاد کل: یک لوله آزمایش حاوی یک میلی-لیتر نمونه خنثی‌شده با ۰/۱ NAOH نرمال و با استفاده از نشانگر متیل قرمز و یک میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین به مدت ۲۰ دقیقه جوشانده شد. سپس به لوله آزمایش یک میلی‌لیتر محلول رقیق‌سازی حاوی پروپانول و آب مقطر با نسبت ۱:۱ اضافه شد. جذب در ۵۷۰ نانومتر انجام شد و غلظت اسیدهای آمینه از نمودار استاندارد لوسین برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه شد (Rosen, 1956)

کربوهیدرات کل: با روش فنل- سولفوریک اسید تعیین شد. مخلوط واکنش شامل یک میلی‌لیتر نمونه، یک میلی‌لیتر فنل پنج درصد، پنج میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ بود که در دمای اتاق به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه شدند. عدد جذب در ۴۹۰ نانومتر خوانده شد و از گلوکز به‌عنوان استاندارد استفاده شد (AOAC, 2005). نتایج آنالیز ترکیبات جلبک‌ها در جدول ۲ ارائه شده است.

عصاره بدست آمده با این روش به‌عنوان غلظت ۱۰۰ درصد (استوک اصلی) در نظر گرفته شد. اولین آبیاری بلافاصله بعد از کاشت اعمال گردید. از استوک اصلی جلبک دریایی و آب مقطر برای تهیه محلول جلبکی مخصوص محلول‌پاشی در سه غلظت: (۱) عصاره جلبکی اکانتوفورا (A): غلظت ۲ لیتر در

برای سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی ابتدا محلول ۰/۱ میلی‌مولار از DPPH در متانول مطلق تهیه شد. سپس حجم مشخصی از عصاره (۵۰ میکرولیتر) به محلول DPPH (۱۹۵۰ میکرولیتر) اضافه شد، بطوریکه حجم نهایی ۲ میلی‌لیتر شد. جذب آن بعد از ۱۰ دقیقه در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل UV/Vis مدل WPA S2100، UK خوانده شد. فعالیت جمع‌آوری رادیکال براساس درصد رادیکال جمع‌آوری شده DPPH (RSA) با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید (Dehghan and Khoshkam, 2012).

$$\text{RSA}\% = 100 (\text{As} / \text{Ac}) \quad \text{رابطه (۲)}$$

As: جذب نمونه حاوی عصاره، Ac: جذب کنترل

داده‌های این تحقیق جهت نرمال‌بودن توسط نرم‌افزار SPSS 26 با رسم نمودار هیستوگرام مورد بررسی قرار گرفت و بعد از حصول اطمینان از نرمال‌بودن آنالیز شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل، از نرم‌افزار آماری SAS V9 استفاده گردید و مقایسه میانگین‌ها از طریق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال یک و پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

ارتفاع بوته، تعداد شاخه جانبی و سطح برگ: طبق نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، اثر ژنوتیپ و محلول‌پاشی عصاره جلبک بر ارتفاع بوته، تعداد شاخه جانبی و سطح برگ در سطح یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۳). از طرف دیگر برهمکنش بین ژنوتیپ و محلول‌پاشی نیز بر ارتفاع بوته و تعداد شاخه جانبی در سطح پنج درصد و بر سطح برگ در سطح یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۳). نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد بیشترین ارتفاع بوته (۵۵/۸۸ سانتی‌متر) (شکل ۱)، تعداد شاخه جانبی (۱۲/۹۴) (شکل ۲) و سطح برگ (۳۱۲/۲۲ سانتی‌متر مربع) (شکل ۳) با کاربرد عصاره جلبک ترکیبی در ژنوتیپ ایرانی حاصل شد که هر کدام نسبت به شاهد (بدون محلول‌پاشی) به ترتیب ۸۸/۴۰، ۱۰۴/۴۲ و ۲۴۸/۸۲ درصد افزایش نشان دادند.

همانطور که در نتایج مشاهده شد محلول‌پاشی جلبک‌های

فتوستتزی برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه شد (Porra, 2002).

رابطه (۱)

$$\text{Chl a} = 12/25 (\text{A663.6}) - 2/55 (\text{A646.6})$$

$$\text{Chl b} = 20/31 (\text{A646.6}) - 4/91 (\text{A663.6})$$

$$\text{Chl T} = 17/76 (\text{A646.6}) + 7/34 (\text{A663.6})$$

$$\text{Car} = [(1000(\text{A470}) - 3.27 (\text{Chl a}) - 104 (\text{Chl b})) / 227$$

برای سنجش فنل کل، یک گرم بافت گیاه تر با ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد کاملاً ساییده شد و این ترکیب به مدت یک ساعت در شرایط تاریکی نگه داشته شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۵۰۰ سانتریفیوژ شد. ۵۰ میکرولیتر از عصاره بالایی و محلول‌های استاندارد (غلظت‌های صفر، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر گالیک اسید در آب مقطر) با ۴۵۰ میکرولیتر آب مقطر، دو میلی‌لیتر کربنات سدیم ۷/۵ درصد و ۲/۵ میلی‌لیتر معرف فولین (۰/۱ درصد) مخلوط شدند. ۱۵ دقیقه در بن‌ماری در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد، سپس در دمای اتاق سرد شد و در طول موج ۷۶۵ نانومتر با اسپکتروفتومتر (UV/Vis WPA S2100, UK مدل) خوانده شد. برای رسم منحنی استاندارد از گالیک اسید استفاده شد و میزان فنل کل برحسب میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر بیان شد (Malek Ziarati et al., 2007). برای سنجش محتوای آلکالوئید کل از روش وزنی استفاده شد. ۵ گرم از گیاه پودر شده در ۵۰ میلی‌لیتر اسید استیک ۱۰ درصد در متانول مخلوط شد. سوسپانسیون حاصل در شیکر انکوباتور ۳۰ درجه سانتی‌گراد و سرعت ۱۲۰ rpm قرار داده شد و پس از چهار ساعت سکون با استفاده از کاغذ ۳۸۹ سارتوریوس) فیلتر شد. سپس به آن قطره قطره محلول هیدروکسید آمونیوم ۳۰ درصد تا زمان رسوب آلکالوئیدها، اضافه شد. سپس مخلوط با یک کاغذ صافی توزین‌شده، فیلتر شد. برای اطمینان کاغذ با هیدروکسید آمونیوم یک درصد شستشو داده شد. کاغذ صافی در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت نیم ساعت خشک شد و بلافاصله به دسیکاتور منتقل شد تا رطوبت جذب نکند و سپس توزین انجام شد. اختلاف وزن اولیه و ثانویه بیانگر میزان آلکالوئید است که به صورت درصد بیان گردید (Onwuka, 2006).

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر محلول‌پاشی عصاره جلبک‌های قرمز گراسیلاریا و اکتانوفورا بر صفات رشدی و فیزیولوژیک سه ژنوتیپ خیار آب‌پران (I: ایرانی، S: اسپانیایی و B: بریتانیایی)

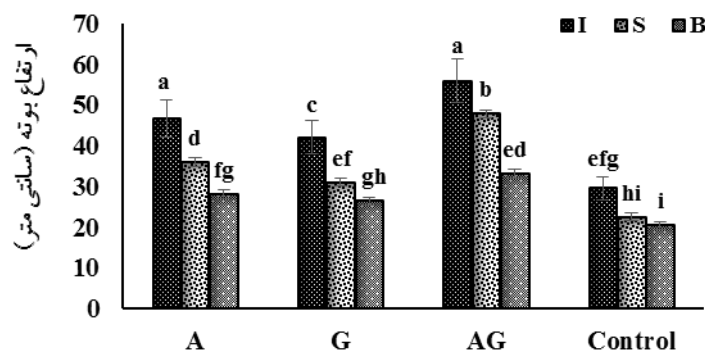
منابع تغییرات	درجه آزادی	ارتفاع بوته	شاخه‌های جانبی	سطح برگ	تعداد میوه در بوته	سفتی میوه	کلروفیل کل
تکرار	۲	۴۴/۴۸ ^{ns}	۵/۳۲*	۹۵۷۱/۲۱ ^{ns}	۳۸۰۰/۰۸**	۰/۰۱ ^{ns}	۶/۰۷ ^{ns}
خطای اصلی	۴	۵/۳۹	۰/۶۴	۱۳۲۱۸/۱۸	۳۴۳۴/۵۶	۱/۱۰	۰/۵۵
ژنوتیپ	۲	۲۴۸۵/۴۵**	۱۵۰/۱۰**	۱۹۰۵۴۸۴/۰۲**	۴۲/۱۱ ^{ns}	۰/۶۸*	۴۶/۲۸**
جلبک	۳	۲۱۲۵/۴۶**	۱۵۳/۸۰**	۱۲۸۷۰۷۷۱/۹۳**	۱۶۳۱۳۱/۷۳**	۲۴/۰۸**	۱۲۵۳/۵۷**
ژنوتیپ × جلبک	۶	۹۹/۶۸**	۶/۰۵*	۵۴۲۹۸۴/۲۰**	۱۹۸۹/۶۵ ^{ns}	۰/۲۲ ^{ns}	۳۷/۲۷**
خطای فرعی	۴۸	۱۷/۵۰	۰/۷۷	۳۶۸۲۳/۶۸	۱۳۸۵/۹۸	۰/۱۲	۲/۴۸
ضرب تغییرات	-	۱۱/۹۵	۱۱/۰۴	۱۵/۶۴	۱۷/۰۴	۱۰/۵۳	۱۱/۸۳

ns, *, **: به ترتیب عدم تفاوت معنی‌دار، تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد و ۱ درصد

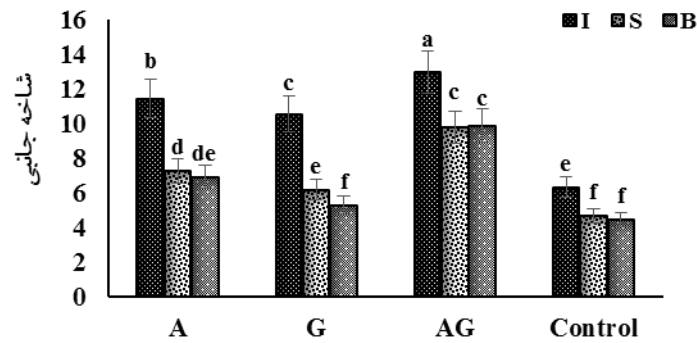
ادامه جدول ۳-

منابع تغییرات	درجه آزادی	کارتنوئید برگ	فنل کل برگ	فنل کل میوه	DPPH برگ	DPPH میوه	آلکالوئید کل میوه
تکرار	۲	۲/۶۲ ^{ns}	۲۵۲۶/۴۳**	۴۹/۴۱**	۶۳/۱۶**	۵۵۹/۶۱**	۹/۰۰۷**
خطای اصلی	۴	۰/۲۰	۱۸۳/۷۴	۱/۱۴	۱/۲۳	۳/۲۰ ^{ns}	۰/۹۲
ژنوتیپ	۲	۶/۶۴**	۹۷۶/۸۱**	۱۴/۳۸**	۱/۲۱ ^{ns}	۲۱۸/۳۲**	۰/۹۴*
جلبک	۳	۲۶۹/۴۶**	۸۴۵۸/۱۰**	۱۲۲/۳۵۴۶**	۶۳/۰۸۰**	۹۹۹/۶۴**	۲۹/۸۲**
ژنوتیپ × جلبک	۶	۱/۵۸ ^{ns}	۶۰/۹۰ ^{ns}	۲/۰۰۲ ^{ns}	۶/۹۱ ^{ns}	۱۴/۱۶ ^{ns}	۰/۰۴ ^{ns}
خطای فرعی	۴۸	۰/۹۲	۶۵/۳۶	۱/۴۷	۴/۲۱	۵/۶۶	۰/۲۵
ضرب تغییرات	-	۱۲/۵۲	۹/۷۲	۱۲/۰۳	۱۲/۴۸	۹/۶۷	۱۴/۱۹

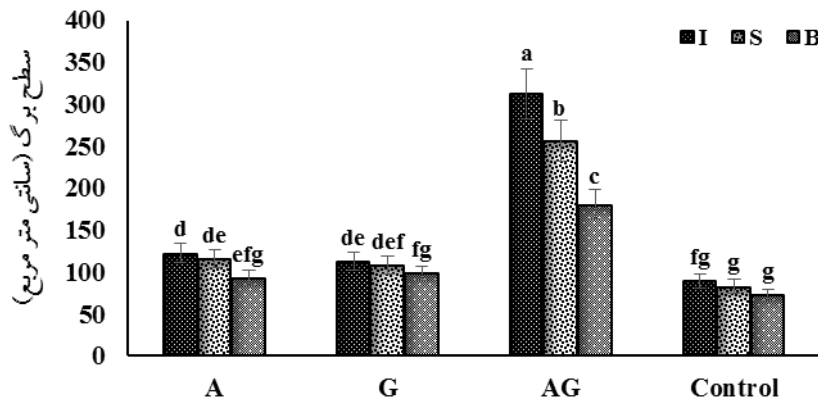
ns, *, **: به ترتیب عدم تفاوت معنی‌دار، تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد و ۱ درصد



شکل ۱- اثر محلول‌پاشی عصاره جلبک‌های دریایی قرمز گراسیلاریا (G) و اکتانوفورا (A) بر ارتفاع بوته سه ژنوتیپ خیار آب‌پران (I: ایرانی، S: اسپانیایی و B: بریتانیایی)



شکل ۲- اثر محلول‌پاشی عصاره جلبک‌های دریایی قرمز گراسیلاریا (G) و اکتوفورا (A) بر تعداد شاخه جانبی سه ژنوتیپ خیار آب‌پران (I: ایرانی، S: اسپانیایی و B: بریتانیایی)



شکل ۳- اثر محلول‌پاشی عصاره جلبک‌های دریایی قرمز گراسیلاریا (G) و اکتوفورا (A) بر سطح برگ سه ژنوتیپ خیار آب‌پران (I: ایرانی، S: اسپانیایی و B: بریتانیایی)

قرمز سبب افزایش رشد رویشی هر سه ژنوتیپ خیار آب‌پران شدند. اثر جلبک دریایی در افزایش شاخص‌های رشدی مانند ارتفاع بوته و شاخساره، تعداد شاخه جانبی و سطح برگ را به محرک‌های رشد موجود در جلبک دریایی مانند سایتوکینین‌ها و مواد اکسینی (Crouch and Staden, 1993)، افزایش کلروفیل توسط بتائین و مواد شبه‌بتائین (Blunden *et al.*, 1996) و یا ممانعت از تخریب کلروفیل (Xu and Leskovar, 2015) نسبت داده‌اند. پس با استحصال این ترکیبات از جلبک دریایی و در اختیار گیاه قرارگرفتن سبب افزایش تقسیم و طویل‌شدن سلولی و توسعه برگ و رشد رویشی آن خواهد شد. در تحقیقاتی مشابه، محلول‌پاشی عصاره جلبکی سبب افزایش رشد رویشی، تعداد شاخه جانبی و سطح برگ در توت‌فرنگی (El-miniawy *et al.*, 2014) و افزایش ارتفاع بوته و تعداد شاخه جانبی در گلرنگ در گلرنگ (Sibi *et al.*, 2016) شد. در پژوهشی دیگر با کاربرد عصاره جلبک سبز (*Ulva fasciata*) (L. روی کنجد مشاهده کردند که با استعمال این عصاره، صفات مرفولوژیک از قبیل طول ساقه‌چه، طول ریشه‌چه، طول و قطر ساقه و سطح برگ به میزان قابل‌توجهی نسبت به شاهد افزایش یافت (مرادی و همکاران، ۱۳۹۸).

تعداد میوه در بوته و سفتی میوه: براساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها، اثر عصاره جلبک‌دریایی بر تعداد میوه در بوته، در سطح یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۳)، این در حالی است که اثر ژنوتیپ و برهمکنش بین ژنوتیپ و محلول‌پاشی معنی‌دار نشد. بیشترین تعداد میوه در محلول‌پاشی

تعداد میوه در بوته و سفتی میوه: براساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها، اثر عصاره جلبک‌دریایی بر تعداد میوه در بوته، در سطح یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۳)، این در حالی است که اثر ژنوتیپ و برهمکنش بین ژنوتیپ و محلول‌پاشی معنی‌دار نشد. بیشترین تعداد میوه در محلول‌پاشی

براساس نمودار برهمکنش بین ژنوتیپ و محلول‌پاشی، بیشترین میزان کلروفیل کل با کاربرد عصاره جلبک ترکیبی به‌ترتیب روی ژنوتیپ اسپانیایی (۲۶/۱۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و ایرانی (۲۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) بدست آمد که هر کدام ۱۹۰/۸۸ و ۱۷۴/۴۲ درصد نسبت به شاهد (بدون محلول‌پاشی) افزایش نشان دادند (شکل ۴). مقایسه میانگین‌های اثرات ساده نشان داد بیشترین میزان کارتنوئید برگ در ژنوتیپ ایرانی (۹/۰۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و کود جلبک ترکیبی (۱۲/۲۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) با رشد ۱۴۳/۰۶ درصدی نسبت به شاهد (بدون محلول‌پاشی) دیده شد (جدول ۴). جلبک‌ها درصد بالایی از سایتوکنین در خود دارند که این هورمون، فعالیت آنزیم‌های مؤثر در تخریب کلروفیل و زنجیره‌های فتوسنتزی را به تأخیر می‌اندازد (Crouch and Staden, 1993). تأثیر محلول‌پاشی جلبک قهوه‌ای بر بادنجان (Sivasangari Ramya et al., 2015) و جلبک قهوه‌ای و سبز بر لوبیا (Sivasangari Ramya et al., 2010) نشان داد که میزان کلروفیل و کارتنوئید، پروتئین و آنزیم نیترات ردوکتاز نسبت به شاهد افزایش یافت. Khan و همکاران (۲۰۰۹) نیز اعلام کردند محلول‌پاشی جلبک سبب افزایش کلروفیل در اثر افزایش سطح فتوسنتز شد.

فنل کل برگ و میوه: براساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها، اثر ژنوتیپ و محلول‌پاشی عصاره جلبک‌دریایی بر فنل کل برگ و میوه در سطح یک درصد معنی‌دار شد اما اثر متقابل بین آن‌ها معنی‌دار نشد (جدول ۳). مقایسه میانگین اثرات ساده نشان داد بیشترین میزان فنل کل برگ با کاربرد کود جلبک ترکیبی (۱۰۱/۷۳ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم وزن تر) حاصل شد که نسبت به گیاهان شاهد ۷۲/۸۶ درصد افزایش نشان دادند و همچنین در بین ژنوتیپ‌ها به‌ترتیب در ژنوتیپ بریتانیایی (۹۱/۵۳ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم وزن تر) و ایرانی (۸۸/۸۵ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم وزن تر) مشاهده شد (جدول ۴). بیشترین میزان فنل کل میوه در ژنوتیپ ایرانی (۱۱/۷۲ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم وزن تر) مشاهده شد و در بین تیمارهای عصاره جلبک، کاربرد کود جلبک

جلبک ترکیبی (۳۲۰/۴۴) مشاهده شد که نسبت به شاهد (بدون محلول‌پاشی) ۱۴۳/۱۶ درصد افزایش نشان داد (جدول ۴). طبق نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، هر سه ژنوتیپ از لحاظ آماری در یک گروه قرار گرفتند و تعداد میوه یکسانی داشتند (جدول ۴).

براساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها، اثر ژنوتیپ بر سفتی میوه در سطح پنج درصد، و اثر محلول‌پاشی بر سفتی میوه در سطح یک درصد معنی‌دار شد، برهمکنش بین ژنوتیپ و محلول‌پاشی معنی‌دار نشد (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد بیشترین میزان سفتی میوه در ژنوتیپ ایرانی (۳/۷۲ کیلوگرم بر متر مربع) و همچنین در تیمار عصاره جلبک ترکیبی (۴/۶۵ کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع) حاصل شد که نسبت به شاهد ۸۹/۸ درصد افزایش نشان داد (جدول ۴).

عصاره جلبک دریایی سبب تسریع گلدهی، افزایش تشکیل میوه و تولید میوه زودرس در برخی گیاهان می‌شود. افزایش عملکرد در اثر استفاده از عصاره جلبک دریایی احتمالاً به‌دلیل حضور هورمون‌های رشد مانند سایتوکنین در آنهاست. سایتوکنین در مرحله رشد رویشی سبب توزیع بهتر عناصر غذایی و در مرحله زایشی سبب تحرک عناصر غذایی می‌شود (Khan et al., 2009). تحقیقات ثابت کرده‌اند جلبک‌های دریایی حاوی ۱۸-۱۹ آمینواسید هستند که اثرات ترکیبی آنها سبب بهبود عملکرد و جذب عناصر غذایی می‌شود. این اثرات در گوجه‌فرنگی به‌صورت افزایش تعداد گل، تعداد میوه در بوته، افزایش عملکرد میوه (Parrado et al., 2008)، در پاپایا سبب افزایش تعداد میوه (Morales-Payan and Stall, 2003) و افزایش تعداد میوه و وزن تر و خشک میوه در کارلا (Amini Fard and Khandan, 2019) شد.

محتوای کلروفیل کل و کارتنوئید: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر ژنوتیپ و محلول‌پاشی عصاره جلبک دریایی بر محتوای کلروفیل کل و کارتنوئید در سطح یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۳). برهمکنش بین ژنوتیپ و محلول‌پاشی بر کلروفیل کل در سطح یک درصد معنی‌دار شد اما برهمکنش آنها در کارتنوئید بی‌تأثیر بود (جدول ۳).

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر محلول‌پاشی عصاره جلبک‌های قرمز گراسیلاریا و اکتوفورا بر صفات رشدی و فیزیولوژیک سه ژنوتیپ خیار آب‌پران (I: ایرانی، S: اسپانیایی و B: بریتانیایی)

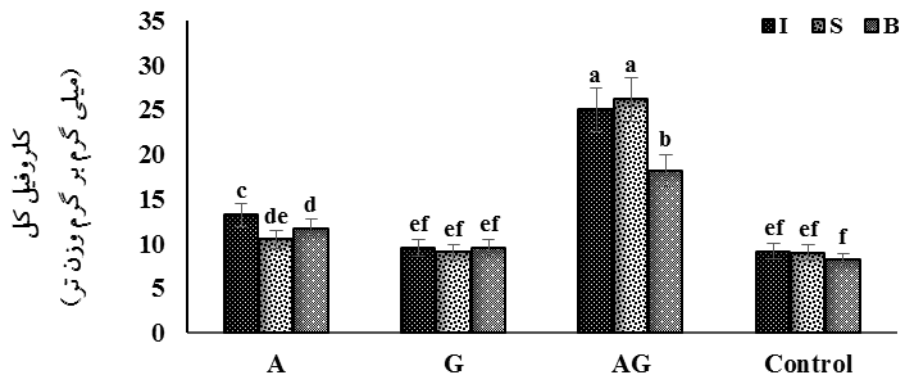
ارتفاع بوته	شاخه جانبی	سطح برگ	تعداد میوه در بوته	سفتی میوه (Kg.cm ⁻²)	کلروفیل کل (mg.g ⁻¹ FW)		
						(cm ²)	
۴۸/۲۵ ^a	۱۱/۶۴ ^a	۱۶۴۱/۲۸ ^a	۲۴۷/۸۵ ^a	۳/۷۲ ^a	۱۵/۹۵ ^a	ایرانی	
۳۸/۷۴ ^b	۷/۷۲ ^b	۱۴۴۳/۱۶ ^b	۲۴۹/۵۵ ^a	۳/۴۸ ^b	۱۵/۲۰ ^a	اسپانیایی	ژنوتیپ
۲۹/۲۲ ^c	۷/۳۵ ^b	۱۰۸۷/۰۳ ^c	۲۴۴/۲۹ ^a	۳/۶۷ ^{ab}	۱۳/۳۵ ^b	بریتانیایی	
۳۳/۶۳ ^c	۷/۳۳ ^c	۹۳۰/۳۰ ^b	۲۰۳/۹۶ ^b	۲/۹۱ ^c	۹/۴۰ ^c	گراسیلاریا	
۳۶/۹۶ ^b	۸/۵۲ ^b	۹۹۲/۴۵ ^b	۲۱۷/۲۹ ^b	۳/۲۸ ^b	۱۱/۷۶ ^b	اکتوفورا	جلبک
۴۵/۶۳ ^a	۱۰/۸۷ ^a	۲۲۴۸/۷۴ ^a	۳۲۰/۴۴ ^a	۴/۶۵ ^a	۲۳/۳۵ ^a	ترکیب گراسیلا و اکتوفورا	
۲۴/۲۲ ^d	۵/۱۴ ^d	۹۶/۷۳۳ ^c	۱۳۱/۷۸ ^c	۲/۴۵ ^d	۸/۷۵ ^c	شاهد	

در هر ستون، میانگین‌هایی با حداقل یک حرف مشترک، تفاوت معنی‌داری ندارند.

ادامه جدول ۴-

کارتونوئید (mg.g ⁻¹ FW)	فنل کل برگ (mg.100g ⁻¹ FW)	فنل کل میوه (mg.100g ⁻¹ FW)	DPPH برگ (%)	DPPH میوه (%)	آکالونوئید کل میوه (%)		
۹/۰۴ ^a	۸۸/۸۵ ^a	۱۱/۷۲ ^a	۱۷/۶۹ ^a	۲۵/۶۱ ^b	۳/۶۴ ^b	ایرانی	
۸/۵۷ ^{ab}	۸۱/۷۲ ^b	۱۰/۶۷ ^b	۱۸/۴۶ ^a	۲۵/۱۵ ^b	۳/۷۴ ^{ab}	اسپانیایی	ژنوتیپ
۸/۰۹ ^b	۹۱/۵۳ ^a	۱۰/۱۸ ^b	۱۸/۵۱ ^a	۳۰/۶۳ ^a	۳/۹۷ ^a	بریتانیایی	
۶/۳۶ ^c	۷۷/۰۱ ^d	۹/۵۲ ^c	۱۵/۷۶ ^b	۲۴/۰۹ ^b	۳/۰۴ ^b	گراسیلاریا	
۷/۰۹ ^b	۸۳/۳۶ ^b	۱۰/۱۳ ^b	۱۶/۰۵ ^b	۲۵/۵۴ ^b	۳/۱۸ ^b	اکتوفورا	جلبک
۱۲/۲۵ ^a	۱۰۱/۷۳ ^a	۱۲/۹۳ ^a	۲۲/۸۶ ^a	۳۱/۷۵ ^a	۵/۱۳ ^a	ترکیب گراسیلا و اکتوفورا	
۵/۰۴ ^d	۵۸/۸۵ ^c	۷/۸۰ ^c	۱۱/۱۳ ^c	۱۶/۹۳ ^d	۲/۹۰ ^b	شاهد	

در هر ستون، میانگین‌هایی با حداقل یک حرف مشترک، تفاوت معنی‌داری ندارند.



شکل ۴- اثر محلول‌پاشی عصاره جلبک‌های دریایی قرمز گراسیلاریا (G) و اکتوفورا (A) بر محتوای کلروفیل کل سه ژنوتیپ خیار آب-پران (I: ایرانی، S: اسپانیایی و B: بریتانیایی)

ترکیبی (۱۲/۹۳ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم وزن تر) با افزایش ۶۵/۷۷ درصدی نسبت به میوه گیاهان شاهد بیشترین مقدار فنل کل میوه را نشان داد (جدول ۴). نیتروژن چهارمین عنصر اصلی تشکیل‌دهنده وزن خشک گیاهان و یکی از اجزاء اصلی تشکیل‌دهنده بسیاری از مولکول‌های مهم از قبیل پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک، برخی هورمون‌ها، کلروفیل‌ها و انواعی از مواد اولیه و ثانویه سازنده گیاهان است (Hopkins and Huner, 2009)؛ که در عصاره‌های جلبک دریایی استفاده شده در این پژوهش درصد زیادی نیتروژن به اشکال ارگانیک در اختیار گیاه قرار گرفت. محققین دیگری بیان کردند که ماکروجلبک‌های دریایی (جلبک‌های قرمز، قهوه‌ای و قرمز) نیز به‌عنوان منابع غنی از آنتی‌اکسیدان‌های مختلف مثل پلی‌فنول هستند که می‌توانند نقش مهمی در پیشگیری از اکسیداسیون به عمل آورند (Cho et al., 2011). کود جلبک دریایی تأثیر مثبت بر بیوسنتز پلی‌ساکاریدها، پروتئین‌ها، رنگدانه‌ها و پلی‌فنول‌ها گیاهان دارد (Chojnacka et al., 2012). افزایش میزان فنل‌ها و فلاونوئیدها در اثر کاربرد عصاره جلبک قهوه‌ای توسط Fan و همکاران (۲۰۱۳) اعلام شد. این تأثیرات با افزایش بیان آنزیم‌های کلیدی مؤثر در افزایش متابولیسم نیتروژن، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و ساخت گلیاسین بتائین همراه بود. امینی‌فرد و خندان (۱۳۹۷) نشان دادند محلول‌پاشی عصاره جلبکی سبب افزایش فنل کل در خیار تلخ (کارلا) شد.

۳۱/۷۵ درصد) با کاربرد کود جلبک ترکیبی با افزایش ۸۷/۵۴ درصد نسبت به گیاهان شاهد (بدون محلول‌پاشی)، و در بین ژنوتیپ‌ها در ژنوتیپ بریتانیایی (۳۶/۶۳ درصد) مشاهده شد (جدول ۴). براساس گفته‌های Zhang و همکاران (۲۰۱۱)، DPPH یک رادیکال آزاد پایدار است که به‌عنوان ابزار تخمین مهار رادیکال آزاد توسط ضداکسیدان‌ها بکار برده می‌شود. گروهی از پژوهشگران طی تحقیقی بیان کردند عصاره گل و میوه خیار آب‌پران نسبت به عصاره برگ آن ظرفیت آنتی-اکسیدانی بالاتری دارد (Bourebaba et al., 2020). محققین اعلام کردند ماکروجلبک‌ها (قرمز، قهوه‌ای و سبز) منابعی غنی از آنتی‌اکسیدان‌های مختلف مانند پلی‌فنول هستند که می‌توانند نقش مهمی در پیشگیری از اکسیداسیون داشته باشند (Cho et al., 2011). نتایج این پژوهش با نتایج تحقیقات Amini Fard و Khandan (۲۰۱۹) و سلیمانی و همکاران (۱۳۹۴) بر درصد مهار رادیکال آزاد DPPH هم‌خوانی داشت.

آلکالوئید کل میوه: براساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، اثر ژنوتیپ بر آلکالوئید میوه در سطح پنج درصد و اثر محلول‌پاشی بر آلکالوئید کل میوه در سطح یک درصد معنی‌دار شد اما برهمکنش بین آنها معنی‌دار نشد (جدول ۳). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد بیشترین میزان آلکالوئید کل میوه (۵/۱۳ و ۳/۹۷ درصد) به ترتیب با کاربرد کود جلبک ترکیبی با افزایش ۷۶/۹ درصد نسبت به میوه گیاهان شاهد و در ژنوتیپ بریتانیایی مشاهده شد (جدول ۴). براساس نتایج بدست آمده جلبک‌های دریایی درصد قابل توجه‌ای تولید آلکالوئید را در خیار آب‌پران افزایش دادند. در تحقیقاتی اعلام شده است که براساس نوع جلبک‌دریایی و زمان برداشت آن، ترکیبات بیوزیستی آن متفاوت و تأثیر آن بر تولید ترکیبات مؤثره گیاهان متفاوت است (Papenfus et al., 2012; Khairy and El-Shafay, 2013; Fletcher et al., 2017). آلکالوئیدها ترکیباتی نیتروژنی‌اند پس انتظار می‌رود دسترسی به نیتروژن نقش مهمی در بیوسنتز و تجمع آلکالوئیدها داشته باشد چنانچه در بعضی گیاهان دارویی و غیردارویی مثل تنباکو، جو، داتوره، شاهبیزک و خشخاش این موضوع گزارش شده است (Waller and

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (DPPH) برگ و میوه: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر ژنوتیپ بر ظرفیت آنتی-اکسیدانی میوه در سطح یک درصد معنی‌دار شد، درحالی‌که اثر کاربرد تیمارهای مختلف عصاره جلبک تأثیر معنی‌داری بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی برگ و میوه نداشت (جدول ۳). حداکثر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی برگ (۲۲/۸۶ درصد) با کاربرد کود جلبک ترکیبی حاصل شد که نسبت به گیاهان شاهد ۱۰۵/۳۹ درصد افزایش نشان داد (جدول ۴). میزان ظرفیت آنتی-اکسیدانی برگ در بین همه ژنوتیپ‌ها تقریباً یکسان بود و در یک گروه آماری قرار گرفتند (جدول ۲). براساس نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، بیشترین میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه

دریایی قرمز گراسیلاریا و اکتوفورا بر شاخص‌های رشدی و فیزیولوژیکی هر سه ژنوتیپ خیار آب‌پران تأثیر مثبت داشتند و موجب افزایش رشد رویشی، عملکرد میوه و ترکیبات فنولیکی و آلکالوئید میوه شد. ژنوتیپ ایرانی نسبت به دیگر ژنوتیپ‌ها عملکرد بهتری در شاخص‌های رشدی داشت، اما در شاخص‌های فیزیولوژیک تفاوت چشمگیری بین ژنوتیپ‌ها دیده نشد. از آنجایی که کشور ما به‌ویژه در ناحیه خلیج فارس و دریای عمان غنی از این جلبک‌های قرمز دریایی است، می‌توان از این جلبک‌ها به‌عنوان کودهای ارگانیک سازگار با طبیعت استفاده کرد.

(Nowacki, 1978). از طرف دیگر، هر چند تولید آلکالوئید در گیاه تحت کنترل ژنتیک است، اما با توجه به میزان آلکالوئید تولیدشده در محیط‌کشت‌های متفاوت، نتیجه گرفته شد که میزان و اجزای آلکالوئید تحت تأثیر عامل‌های محیطی و تغییر آنها قرار می‌گیرد (دیلمقانی و همکاران، ۱۳۸۶). Zarezadeh و همکاران (۲۰۰۰) اعلام کردند با استفاده از کود ازته تولید آلکالوئید در عروسک پشت‌پرده افزایش یافت.

نتیجه‌گیری

طبق نتایج بدست آمده از این پژوهش، عصاره جلبک‌های

منابع

- امینی‌فرد، م. ح. و خندان، س. (۱۳۹۷) بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره جلبک دریایی (*Ascophyllum nodosum*) بر رشد، عملکرد و صفات بیوشیمیایی کدوی تلخ (*Momordica charantia*). نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی ۱۳: ۶۶-۵۶. پروانه، و. (۱۳۷۴) کنترل کیفی و آزمایش‌های شیمیایی غذایی. چاپ دوم، انتشارات دانشگاه تهران.
- جوانمردی، ج. و آزادی، ح. (۱۳۹۱) اثر محلول‌پاشی با عصاره دریایی بر رشد، عملکرد و ویژگی‌های کیفی میوه گوجه‌فرنگی (*Lycopersicon esculentum* var. *cerasiforme*). مجله علوم و فنون باغبانی ایران ۱۳: ۲۹۰-۲۸۳.
- رحمانی، ح. ر. (۱۳۸۹) کودهای زیستی و نقش آن در کشاورزی پایدار و تولید محصول سالم. اولین کنگره چالش‌های کود در ایران. دیلمقانی، ک. الف.، فهیمی، ح.، خاوری‌نژاد، ر. ع. و حکمت‌شعار، ح. (۱۳۸۶) مقایسه میزان آلکالوئید تروپان گونه‌های *Hyouscyamos arachnoideus* Pojark و *Hyouscyamos reticulatus* L. در مراحل مختلف رشد. مجله علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی ۶۶: ۶۱-۵۱.
- سلیمانی، س.، یوسف‌زادی، م.، سهیلا، م.، امراله بیوکی، ن.، کشاورز، م. و اصلیان، ح. (۱۳۹۴) ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و تعیین محتوای پلی‌فنلی توتیای دریایی (*Echinometra mathaei*) خلیج فارس. زیست‌فناوری ۲: ۸۲-۷۱.
- رضایی، ع.، عبادی، م. ت. و پیرانی، ح. (۱۳۹۸) بررسی تأثیر سطوح مختلف کود آلی جلبک دریایی بر شاخص‌های رشد، عملکرد و میزان اسانس گیاه دارویی مرزه (*Satureja hortensis* L.). نشریه علوم باغبانی ۳۳: ۶۸۵-۶۹۶.
- صفوی، س. ر. (۱۳۹۰) فلور ایران، شماره ۷۰: تیره کدو (Cucurbitaceae). انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور.
- مرادی، ف.، نجفی، ش. و اسمعیل‌زاده بهابادی، ص. (۱۳۹۸) تأثیر عصاره جلبک سبز (*Ulva fasciata* L.) بر شاخص‌های رشد و فیزیولوژیکی گیاه کنجد (*Sesamum indicum* L.). فرآیند و کارکرد گیاهی ۳۳: ۱۴-۱.
- Abbassi, F., Ayari, B., Mhamdi, B. and Toumi, L. (2014) Phenolic contents and antimicrobial activity of squirting cucumber (*Ecballium elaterium*) extracts against food-borne pathogens. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences* 27: 475-479.
- Ahmad, Y. M. and Shalaby, E. A. (2012) Effect of different seaweed extracts and compost on vegetative growth, yield and fruit quality of cucumber. *Journal of Horticultural Science and Ornamental Plants* 4: 235-240.
- Ali, O., Ramsubhag, A. and Jayaraman, J. (2021) Biostimulant properties of seaweed extracts in plants: Implications towards sustainable crop production. *Plants* 10: 531-558.
- Amini Fard, M. H. and Khandan, S. (2019) Investigation of the effect of different concentrations of seaweed extract (*Ascophyllum nodosum*) on growth, yield and biochemical traits of bitter melon (*Momordica charantia* L.). *Journal of Plant Environmental Physiology* 13: 56-66.

- AOAC. (2005) Official methods of analysis. Association of Official Agricultural Chemists. 15th Ed. Washengton, D.C., USA.
- Aronson, J. K. (2016) Meyler's Side Effects of Drugs. 6th Ed. The International Encyclopedia of Adverse Drug Reactions and Interactions.
- Bindhu, K. B. (2013) Effect of azolla extract on growth performance of *Pisum sativum*. Journal of Biological Sciences 2: 88-90.
- Bligh, E. G. and Dyer, W. J. (1959) A rapid method of total lipid extraction and purification. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology 37: 911-917.
- Blunden, G., Jenkins, T. and Liu, Y. (1996) Enhanced leaf chlorophyll levels in plants treated with seaweed extract. Journal of Applied Phycology 8: 535-543.
- Bourebaba, L., Bienvenida, G. L., Naima, O. and Fatiha, B. (2020) Phytochemical composition of *Ecballium elaterium* extracts with antioxidant and anti-inflammatory activities: Comparison among leaves, flowers and fruits extracts. Arabian Journal of Chemistry 13: 3286-3300.
- Cho, M., Lee, H. S., Kang, I. J., Won, M. H. and You, S. (2011) Antioxidant properties of extract and fractions from *Enteromorpha prolifera*, a type of green seaweed. Food Chemistry 127: 999-1006.
- Chojnacka, K., Saeid, A., Witkowska, Z. and Tuhy, L. (2012) Biologically active compounds in seaweed extracts the prospects for the application. In the Open Conference Proceedings Journal 3: 20-28.
- Crouch, I. and Van Staden, J. (1993) Evidence for the presence of plant growth regulators in commercial seaweed products. Plant Growth Regulation 13: 21-29.
- Dehghan, G. and Khoshkam, Z. (2012) Tin (II)-quercetin complex: Synthesis, spectral characterization and antioxidant activity. Food Chemistry 131: 422-427.
- Del Poso, A., Perez, P., Gutierrez, D., Alonso, A., Morcuende, R. and Martinez Carrasco, R. (2007) Gas exchange acclimation to elevated CO₂ in upper-sunlit and lower-shaded canopy leaves in relation to nitrogen acquisition and partitioning in wheat grown in field chambers. Environmental and Experimental Botany 53: 371-380.
- El-Miniawy, S. M., Ragab, M. E., Youssef, S. M. and Metwally, A. A. (2014) Influence of foliar spraying of seaweed extract on growth, yield and quality of strawberry plants. Journal of Applied Sciences Research 10: 88-94.
- Fletcher, H. R., Biller, P., Ross, A. B. and Adams, J. M. M. (2017) The seasonal variation of fucoidan within three species of brown macroalgae. Algal Research 22: 79-86.
- Parrado, J., Bautista, J., E Romero, E. F., Garcia-Martinez, A. M., Friaiza, V. and Tejada, M. (2008) Production of a carob enzymatic extract: Potential use as a biofertilizer. Bioresource Technology 99: 2312-2318.
- Fan, D., Hodges, D. M., Critchley, A. T. and Prithiviraj, B. (2013) A commercial extract of Brown Macroagla (*Ascophyllum nodosum*) affects yield and the nutritional quality of spinach in vitro. Communication in Soil Science Plant Analysis 44: 1873-1884.
- Ghasemi Maham, S., Rahimi, A. and L-Smith, D. (2018) Environmental assessment of the essential oils produced from dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.) in conventional and organic farms with different irrigation rates. Journal of Cleaner Production 20: 1070-1086.
- Gordon, S. A. and Paleg, L. G. (1957) Quantitative measurement of indole acetic acid. Physiology Plant 10: 37-48.
- Graham, H. D. and Henderson, J. H. M. (1961) Reaction of gibberellic acid and gibberellins with Folin-Wu Phosphomolybdic acid reagent and its use for quantitative assay. Plant of Physiology 36: 405-408.
- Hopkins, W. G. and Huner, N. P. A. (2009) Introduction to plant physiology. 4th Ed. John Wiley and Sons, Inc., New York, USA.
- Horwitz, W. (1995) Official methods of analysis. 17th Ed. A.O.A.C international. Washington, DC, USA.
- Jothinayagi, N. and Anbazhagan, C. (2009) Effect of seaweed liquid fertilizer of *Sargassum wightii* on the growth and biochemical characteristics of *Abelmoschus esculentus* (L.) Medikus. Recent Research in Science and Technology 1: 155-158.
- Khairy, H. M. and El-Shafay, S. M. (2013) Seasonal variations in the biochemical composition of some common seaweed species from the coast of Abu Qir Bay, Alexandria, Egypt', Oceanologia. Elsevier Masson SAS 55: 435-452.
- Khan, W., Rayirath, U. P., Subramanian, S., Jithesh, M. N., Rayorath, P., Hodges, D. M., Critchley, A. T., Craigie, J. S., Norrie, J. and Prithiviraj, B. (2009) Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. Journal of Plant Growth Regulations 28: 386-399.
- Manivannan, K., Thirumaran, G., Karthikai Devi, G., Anantharaman, P. and Balasubramanian, T. (2009) Proximate composition of different group of seaweeds from Vedalai coastal water (Gulf of Mannar): Southeast coast of India. Middle East Journal of Scientific Research 4: 72-77.
- Malek Ziarati, H., Sahebani, N. A., Rahnama, K. and Noori, N. (2007) Effect of fungus *Trichoderma harzianum* on induced systemic phenolic compounds against root knot nematode *Meloidogyne javanica* in tomato. Journal of Agriculture and Natural Resources 14: 161-168.

- Mohammed Zahidul, A., Gordon, B., Jeffrey, N. and D-Mark, H. (2013) Effect of Ascophyllum extract application on plant growth, fruit yield and soil microbial communities of strawberry. Canadian Journal of Plant Science 9: 23-36.
- Morales Payan, J. P. and Stall, W. M. (2003) Papaya (*Carica papaya*) response to foliar treatments with organic complexes of peptides and amino acids. Proceedings of the Florida State Horticultural Society 116: 30-32.
- Narasimha Rao, G. M. and Chatterjee, R. (2014) Effect of seaweed liquid fertilizer from *Gracilaria textorii* and *Hypnea musciformis* on seed germination and productivity of some vegetable crops. Universal Journal of Plant Science 2: 115-120.
- Onwuka, G. I. (2006) Soaking, boiling and antinutritional factors in pigeon peas (*Cajanus cajan*) and cowpeas (*Vigna unguiculata*). Journal of Food Processing and Preservation 30: 616-630.
- Pramanick, B., Brahmachari, K. and Ghosh, A. (2013) Effect of seaweed saps on growth and yield improvement of green gram. African Journal of Agricultural Research 8: 1180-1186.
- Papenfus, H. B., Wendy, A. S., Jeffrey, F. F. and Johnnes, V. S. (2012) Seasonal variation in the polyamines of *Ecklonia maxima*. Botanica Marina 55: 539-546.
- Porra, R. J. (2002) The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls a and b. Photosynthesis Research 73: 149-156.
- Ramarajan, S., Joseph, L. H. and Ganthi, A. S. (2012) Effect of seaweed liquid fertilizer on the germination and pigment concentration of soybean. Journal of Crop Science and Biotechnology 1: 1-5.
- Rosen, H. (1956) A modified ninhydrin colorimetric analysis for amino acids arch. Biochem Chemopharma 67: 10-15.
- Salhab A. S. (2013) Human exposure to *Ecballium elaterium* fruit juice: Fatal toxicity and possible remedy. Pharmacology and Pharmacy 4: 447-449.
- Sibi, M., Khazaei, H. R. and Nezami, A. (2016) Effect of concentration, time and method of consumption of seaweed extract on some morphological characteristics of safflower root and shoot. Journal of Plant Physiology 8: 5-21.
- Sivasangari Ramya, S., Nagaraj, S. and Vijayanand, N. (2010) Biofertilizing efficiency of brown and green algae on growth, biochemical and yield parameters of *Cyamopsis tetragonolaba* (L.) Taub. Recent Research in Science and Technology 2: 45-52.
- Sivasangari Ramya, S., Vijayanand, N. and Rathinavel, S. (2015) Foliar application of liquid biofertilizer of brown alga (*Stoechospermum marginatum*) on growth, biochemical and yield of *Solanum melongena*. International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture 5: 1-7.
- Syono, K. and Torrey, J. G. (1976) Identification of cytokinins of root nodules of the Garden Pea, *Pisum sativum* L. Plant Physiology 57: 602-606.
- Trivedi, K., Vijay Anand, K. G., Kubavat, D., Patidar, R. and Ghosh, A. (2018) Drought alleviatory potential of kappaphycus seaweed extract and the role of the quaternary ammonium compounds as its constituents towards imparting drought tolerance in *Zea mays* L. Journal of Applied Phycology 30: 2001-2015.
- Waller, G. R. and Nowacki, E. K. (1978) Alkaloid biology and metabolism in plants, Plenum Press, New York and London.
- Xu, C. and Leskovar, D. (2015) Effects of A nodosum seaweed extracts on spinach growth, physiology and nutrition valued under drought stress. Scientia Horticulturae 183: 39-47.
- Zarezadeh, A., Khold Barin, B., Moradshahi, A., Babakhanlou, P. and Rajaei, H. (2000) Changes in total alkaloid substances in *Physalis alkekengi* in response to nitrogenous fertilizer. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plant 5: 61-112.
- Zhang, Z. W., Zhang, B., Tong, H. and Fang, L. (2011) Photosynthetic LCP and LSP of different grapevine cultivars. Journal Northwest Forestry University 1: 24-29.
- Zodape, S. T., Gupta, A. and Bhandari, S. C. (2011) Foliar application of seaweed sap as biostimulant for enhancement of yield and quality of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Journal of Scientific and Industrial Research 70: 215-219.

Evaluation the effect of red seaweed extract on growth and physiological indices of three genotypes of squirting cucumber (*Ecballium elaterium* L.)

Fariba Saedi¹, Taher Barzegar^{*1}, Zahra Ghahremani², Jafar Nikbakht¹

¹ Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

² Department of Water Engineering, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

(Received: 05/11/2021, Accepted: 22/01/2022)

Abstract

Nowadays, seaweed biofertilizers are widely used in the world to increase plant growth and yield. In order to study the effect of red seaweed on growth and physiological traits of squirting cucumber, this research was conducted in split plot experiment based on randomized complete blocks design with three replications in 2019. Experimental treatments consisted of three squirting cucumber genotypes ((I) Iranian, (S) Spanish and (B) British) as the main plot and three levels of foliar application of red seaweed extract including *Acanthofora* (*A. spicifera*) seaweed extract (A, 2L ha⁻¹), *Gracilaria* (*G. corticata*) seaweed extract (G: 2 L ha⁻¹) and the combined seaweed extract from the 1:1 ratio mixture of both red seaweed (AG: 2 L ha) and spraying with distilled water (control) as a sub plot. The results showed that all three levels of seaweed extract increased the growth and physiological indices in all of three genotypes of squirting cucumber. The highest plant height (55.88 cm), number of lateral branches (12.94) and leaf area (312.22 cm²) was obtained in Iranian genotype with application of combined seaweed extract. The maximum total chlorophyll content was observed in Spanish (26.15 mg.g⁻¹FW) and Iranian (25 mg.g⁻¹FW) genotypes, respectively with application of combined seaweed extract. Also, the highest total alkaloids content and antioxidant capacity were obtained in British genotype. On the whole, foliar spray of combined two seaweeds extract had the highest effect on growth, fruit number and fruit biochemical indices. Therefore, the application of combined red seaweed extract can be proposed to improve growth and biochemical indices of squirting cucumber.

Keywords: Alkaloids, Antioxidant capacity, Photosynthetic pigment, Total phenols

Corresponding author, Email: Taher Barzegar, tbarzegar@znu.ac.ir