

## اثر برهمکنش کلسیم و جاسمونیک اسید، بر برخی صفات فیزیولوژیک و عملکرد غده سه رقم

### سیب‌زمینی

محمد عظیمی‌گندمانی<sup>۱</sup>، هوشنگ فرجی<sup>۲\*</sup>، محسن موحدی‌دهنوی<sup>۳</sup> و امین میرشکاری<sup>۴</sup>

(۱) دانشجوی دکتری گروه زراعت، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران.

(۲ و ۳) دانشیار گروه زراعت، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران.

(۴) استادیار گروه زراعت، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران.

\* نویسنده مسئول: hfaraji.yu@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۸/۱۶

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۵/۲۵

### چکیده

در مناطق سردسیر، سیب‌زمینی به‌صورت بهاره کشت می‌شود. از چالش‌های پیش‌روی زراعت سیب‌زمینی در این مناطق، سرمای دیررس بهاره، سرمای زودرس پاییزه و گرمای تابستان می‌باشد. این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در سال‌های زراعی ۹۴-۱۳۹۳ در منطقه گندمان، استان چهارمحال و بختیاری، ایران اجرا شد. عامل اول شامل سه رقم جلی، فونتین و بورن و عامل دوم، ترکیبی از تیمارهای مختلف کلسیم و جاسمونیک اسید (با غلظت پنج میکرومولار) شامل: ۱- کلسیم + جاسمونیک اسید در مرحله قبل از تشکیل ریزوم‌ها (T1)، ۲- کلسیم + جاسمونیک اسید در مرحله بعد از تشکیل ریزوم‌ها (T2)، ۳- جاسمونیک اسید در مرحله قبل از تشکیل ریزوم‌ها (T3)، ۴- جاسمونیک اسید در مرحله بعد از تشکیل ریزوم‌ها (T4)، ۵- کلسیم از منبع نترات کلسیم (T5)، ۶- شاهد (عدم کاربرد هر دو فاکتور (T6)) بود. با توجه به نتایج، چنین می‌توان استنباط نمود که جاسمونیک اسید و کلسیم، در هر دو مرحله قبل و بعد از ریزوم‌دهی، باعث کاهش اثر نامطلوب تنش دمایی شدند، به‌علاوه این اثرات مثبت، زمانیکه جاسمونیک اسید و کلسیم به‌صورت ترکیبی و در زمان قبل از ریزوم‌دهی اعمال شد، بیش‌تر بود. بر اساس نتایج به‌دست آمده هر دو فاکتور جاسمونیک اسید و کلسیم دارای اثر معنی‌دار بر ارقام مورد بررسی بودند، به‌طوری‌که رقم جلی نسبت به سایر ارقام واکنش بهتری داشت. در بین تیمارهای مورد بررسی نیز تیمار T1 در کلیه صفات مورد بررسی به‌جز مالون‌دی‌آلدهید، در هر سه رقم مورد آزمایش بیش‌ترین میانگین را نشان داد. در مجموع با توجه به نتایج حاصل، کاربرد تیمار ترکیبی جاسمونیک اسید و کلسیم در مرحله قبل از ریزوم‌دهی، با کاهش اثر سوء دما و تحریک غده‌زایی، باعث حصول عملکرد بیش‌تر شد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، پروتئین و محتوای کلروفیل.

## مقدمه

سیب زمینی (*Solanum tuberosum* L.) از محصولات غده‌ای است که نقش مهمی در تغذیه انسان و دام دارد، در شرایط مختلف آب و هوایی کشت می‌شود و بعد از گندم، برنج و ذرت مقام چهارم تولید را به خود اختصاص داده است. سیب زمینی به لحاظ دارا بودن پتانسیل بالای تولید و داشتن مواد کربوهیدراتی، پروتئینی و ویتامین‌های زیاد و همچنین سازگاری به اقلیم‌های متفاوت، مورد توجه قرار گرفته است و یکی از مهم‌ترین گیاهان صنعتی جهان محسوب می‌شود (Trehan and , 2013). آسیب ناشی از دما و خشکی، موجب تولید و انباشت گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) (Reactive Species oxygen) مانند پراکسید هیدروژن ( $H_2O_2$ )، سوپر اکسید ( $O_2^-$ ) و رادیکال‌های آزاد هیدروکسیل ( $^{\bullet}OH$ ) در گیاه می‌شود. انواع اکسیژن فعال که طی تنش تولید می‌شوند، می‌توانند به برخی از ترکیبات سلولی نظیر لیپیدها، پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها، اسیدهای نوکلئیک و بخش‌های مختلف گیاه، به خصوص کلروپلاست سلول‌های روزنه آسیب برسانند. خسارت به کلروپلاست سلول‌های روزنه موجب افزایش فلورسانس کلروفیل و کاهش کارایی سیستم فتوسنتزی می‌شود (Shan and Liang, 2010). گیاهان برای کاهش اثر مخرب گونه‌های اکسیژن فعال، مکانیسم‌های متفاوتی دارند. از جمله این مکانیسم‌ها می‌توان به سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی اشاره کرد (Li et al., 2013; Shan and Liang, 2010). سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی شامل سیستم‌های غیر آنزیمی مانند گلوتاتیون (GSH)، آسکوربیک اسید (AsA)، آلفا توکوفرول، پرولین و کارتنوئیدها و سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی شامل سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، پروکسیداز (POX) و آسکوربات پراکسیداز (APX) هستند (Qiu et al., 2013; Shan and Liang, 2010). در ایران، با توجه به تنوع اقلیمی، سیب زمینی به صورت زمستانه، پاییزه، بهاره و تابستانه در مناطق مختلف کشت می‌شود و نقش مهمی در سبد غذایی جامعه دارد. یکی از مشکلات قابل ذکر در چنین مناطقی برخورد دوره رشد سریع گیاه و شروع غده‌زایی با تنش دمایی ناشی از گرمای طبیعی تابستان و تولید گونه‌های اکسیژن فعال در گیاه می‌باشد. علاوه بر موارد ذکر شده در چنین شرایطی دمای بالای محیط موجب افزایش تعرق، کاهش رشد و کاهش جذب عناصر غذایی می‌شود (Karlsson Bjorn et al., 2006). در این میان، برخورد دوره رشد سریع گیاه و شروع غده‌زایی مقدار بالایی از کلسیم را می‌طلبد، در چنین شرایطی سودمندی کلسیم زمانی دو چندان می‌شود که گیاه در شرایط تنش (ناشی از دمای بالای محیط در نتیجه گرمای طبیعی تابستان) قرار دارد، در چنین شرایطی تبخیر و تعرق گیاه شدید است و نیاز بیش‌تری به کلسیم پیدا می‌کند که این مقدار نیاز، به شدت تبخیر و تعرق ناشی از تنش و شرایط محیطی و زیستی گیاه بستگی دارد (Guimaraes, 2011). در سال‌های اخیر کاربرد تنظیم کننده‌های طبیعی رشد گیاهی برای افزایش تحمل گیاهان به تنش‌های طبیعی، کاهش اثرات تخریبی تنش‌ها و بهبود کمیت و کیفیت گیاهان زراعی مورد استفاده قرار گرفته‌اند (Anjum et al., )

(2011; Mahmood *et al.*, 2012). جاسمونیک اسید و متیل استر آن از مهم ترین تنظیم کننده های طبیعی رشد گیاهی هستند که بسیاری از فرایندهای مرفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی را در گیاهان تنظیم می کند (Mahmood *et al.*, 2005; Seo *et al.*, 2012). مشخص شده است که اعمال خارجی جاسمونیک اسید و متیل استر آن نقش ویژه ای در پاسخ گیاهان به تنش های محیطی بازی می کنند، از آن جمله می توان افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی گیاه را نام برد (Shan and Liang, 2010). بیان شده است که کاربرد جاسمونیک اسید و متیل استر آن در شرایط تنش های محیطی از طریق القاء و بیان ژن ها و تحریک برخی فرایندها، موجب افزایش سیستم های دفاعی آنتی اکسیدانی گیاه شامل سیستم های غیر آنزیمی مانند گلووتاتیون (GSH)، آسکوربیک اسید (AsA)، آلفا توکوفرول، پرولین و کارتنوئیدها و همچنین سیستم های آنتی اکسیدانی آنزیمی، شامل سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و پرکسیداز (POD) می شود (Qiu *et al.*, 2014). در شرایط تنش های محیطی، استفاده از عناصر معدنی نقش مثبتی در کاهش اثرات نامطلوب تنش دارد، به عنوان مثال کلسیم نقش معنی دار در کنترل ساختار و کارکرد غشاء دارد (Akula *et al.*, 2012). کاربرد کلسیم به عنوان یک عنصر غذایی مکمل، باعث کاهش اثرات سوء تنش کوتاه مدت و بلند مدت دما بر رشد برگ ها، مقدار غده زایی، مقدار کل ماده خشک غده ها، هدایت روزنه ای و عملکرد در سیب زمینی شده است (Kleinhenz and Palta, 2002). کلسیم از طریق افزایش آنزیم های آنتی اکسیدان و از بین بردن گونه های اکسیژن فعال، موجب بهبود فتوسنتز گیاه در شرایط تنش های محیطی می شود (Tan *et al.*, 2011). در شرایط تنش محیطی گسترش و تولید گونه های اکسیژن فعال از طریق سرکوب پروتئین های درگیر در فتوسیستم دو از جمله پروتئین D<sub>1</sub>، موجب بروز اختلال در کارکرد فتوسیستم دو می شود (Nishiyama *et al.*, 2004). گزارش شده است که کاربرد کلسیم در گیاهان تحت شرایط تنش محیطی موجب کاهش گونه های اکسیژن فعال و به دنبال آن حفظ زیر واحدها، پروتئین ها و تحریک و افزایش نرخ انتقال الکترون در گیرنده های فتوسیستم دو می شود (Yang *et al.*, 2015). در مجموع با توجه به محدودیت های فصلی ذکر شده (نظیر سرمای دیررس بهاره، سرمای زودرس پاییزه، افزایش دمای هوا در تابستان (شکل های ۱ تا ۳) و همچنین کمبود کلسیم) در کاهش کمیت و کیفیت سیب زمینی، لزوم بررسی اثر برخی محرک های هورمونی و تغذیه ای جهت کاهش اثرات سوء دما در تولید سیب زمینی را مشخص می کند.

## مواد و روش ها

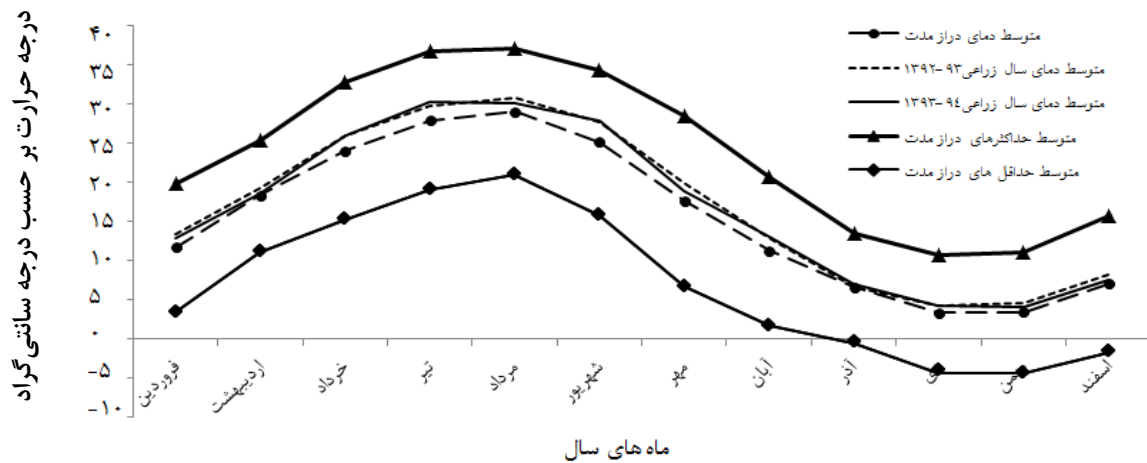
این پژوهش به منظور بررسی اثر برهمکنش کلسیم و جاسمونیک اسید، بر برخی صفات فیزیولوژیکی و عملکرد غده سه رقم سیب زمینی، در سال های زراعی ۹۴-۱۳۹۳ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه پیام نور گندمان، استان چهارمحال و بختیاری (ایران) اجرا شد. مکان آزمایش دارای طول جغرافیایی ۵۱ درجه و ۹ دقیقه شرقی، عرض جغرافیایی ۳۱ درجه و ۵۲

دقیقه شمالی و با ارتفاع ۲۲۷۰ متر از سطح دریا بود. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار اجرا شد. عامل اول شامل سه رقم جلی (رقمی نسبتا دیررس)، فونتین (رقمی میان‌رس) و بورن (رقمی میان‌رس)، و عامل دوم، ترکیبی از تیمارهای مختلف کلسیم و جاسمونیک اسید (با غلظت ۵ میکرومولار) بود. عامل ترکیبی تیمارهای مختلف کلسیم و جاسمونیک اسید به شکل زیر اعمال شد: ۱- کلسیم + جاسمونیک اسید در مرحله قبل از تشکیل ریزوم‌ها (T1)، ۲- کلسیم + جاسمونیک اسید در مرحله بعد از تشکیل ریزوم‌ها (T2)، ۳- جاسمونیک اسید در مرحله قبل از تشکیل ریزوم‌ها (T3)، ۴- جاسمونیک اسید در مرحله بعد از تشکیل ریزوم‌ها (T4)، ۵- کلسیم از منبع نیترات کلسیم (T5) و ۶- شاهد (عدم کاربرد هر دو فاکتور) (T6). جهت تهیه محلول‌های هورمونی مورد نظر ابتدا تنظیم‌کننده رشد، در نیم میلی‌لیتر محلول سود یک نرمال حل شد و با آب مقطر به حجم مورد نظر رسانده شد. از تیپول (Fluka, Riedel-de Haen) با نسبت حجم در حجم (v/v) نیم درصد به‌عنوان موید استفاده شد. گیاهان شاهد نیز با آب مقطر همراه با تیپول با نسبت حجم در حجم (v/v) نیم درصد تیمار شدند. در هر مرحله جهت اطمینان از جذب شدن جاسمونیک اسید توسط گیاه، عمل محلول‌پاشی چهار روز متوالی به طول انجامید. جهت جلوگیری از تجزیه سریع هورمون به وسیله نور خورشید، پاشش هورمون بعد از غروب آفتاب انجام شد. در هر مرحله تمامی بوته‌های موجود در کرت مورد نظر به نحوی محلول‌پاشی شدند که کاملا خیس شوند. تیمار کلسیم نیز از منبع نیترات کلسیم (حاوی ۱۵/۵ درصد نیتروژن و ۱۹ درصد کلسیم) تأمین شد، به نحوی که مجموع کلسیم خالص مورد استفاده در تیمارهای مربوطه ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار شد. کلسیم در کلیه تیمارهای حاوی کلسیم در مرحله قبل از کاشت، به خاک اضافه شدند (Ozgen and Palta, 2004; Ozgen *et al.*, 2006). زمین مورد آزمایش در پاییز سال قبل شخم عمیق زده شد. عملیات دیسک و تسطیح زمین در بهار سال بعد صورت گرفت، همراه با تهیه زمین کودهای فسفات و پتاسیم بر اساس نتایج آزمون خاک (جدول ۱) به ترتیب از منابع فسفات آمونیوم و سولفات پتاسیم به نحوی که مجموع خالص عناصر فسفر و پتاسیم در کلیه تیمارها به ترتیب برابر ۲۰۰ و ۱۸۰ کیلوگرم در هکتار شود اعمال شد. کود نیتروژنه نیز از منبع اوره بود که یک سوم آن موقع کاشت و دو سوم بقیه در دو مرحله در زمان خاک‌دهی اول و ۱۵ روز پس از آن به صورت محلول‌پاشی و همراه با سیستم آبیاری اعمال شد. مجموع نیتروژن خالص مورد استفاده نیز در کلیه تیمارها ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار لحاظ شد (مقدار نیتروژن موجود در کود نیترات کلسیم در این مقدار لحاظ شد). هر واحد آزمایشی دارای ۶ متر طول و ۳ متر عرض و دارای ۴ ردیف کاشت بود. غده‌های بذری از ۳ رقم مورد نظر جلی، فونتین و بورن با کلاس بذری یکسان، از مرکز تحقیقات کشاورزی همدان تهیه شدند. غده‌های مورد نیاز از هر رقم یک هفته قبل از کاشت از سردخانه خارج و در دمای معمولی نگهداری شدند. سپس غده‌ها در ردیف‌های کاشت با فاصله ۷۵ سانتی‌متر و با فاصله ۲۵ سانتی‌متر از یک‌دیگر در ۱۵ خرداد کشت شدند. آبیاری کرت‌ها نیز

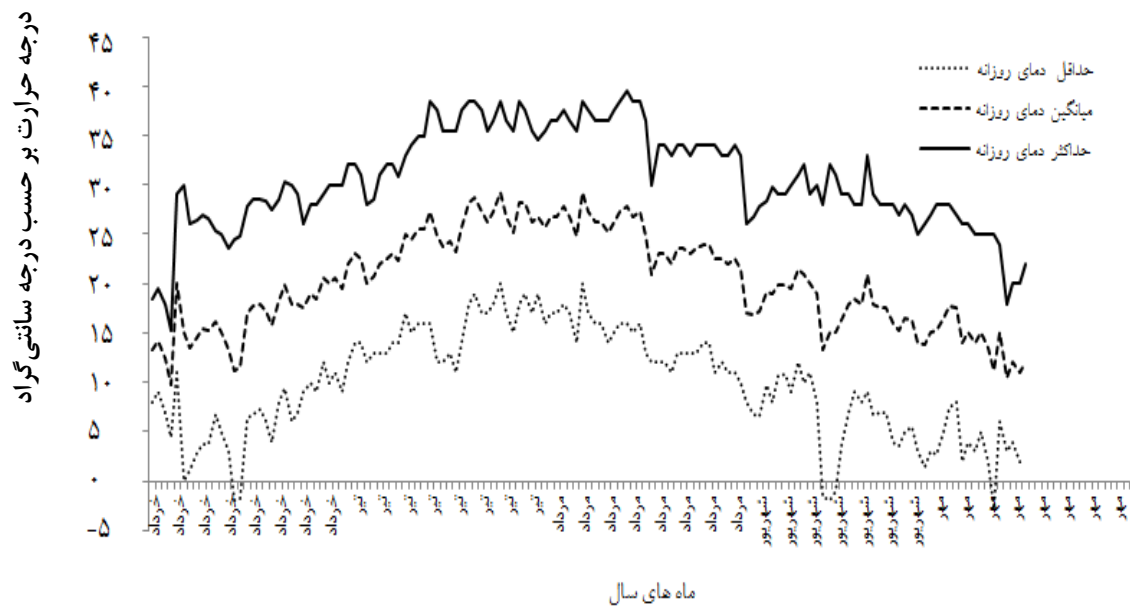
به صورت سیستم آبیاری بارانی و از نوع کلاسیک ثابت بود.

جدول ۱: مشخصات خاک مزرعه

هدایت الکتریکی ( $dc\ m^{-1}$ )	pH	ماده آلی (%)	فسفر قابل دسترس ( $mg\ kg^{-1}$ )	پتاسیم قابل دسترس ( $mg\ kg^{-1}$ )	نیتروژن (%)	کلسیم ( $mg\ kg^{-1}$ )
۰/۵۳۹	۸/۲۸	۱/۰۷۲	۱۵/۴	۳۰۶	۰/۰۹۶	۱۷۸



شکل ۱: میانگین دمای ماهانه محل اجرای آزمایش طی فصل رشد سیب زمینی



شکل ۲: رژیم دمایی روزانه برای فصل زراعی ۱۳۹۲-۹۳



شکل ۳: رژیم دمایی روزانه برای فصل زراعی ۱۳۹۳-۹۴

### اندازه گیری مالون دی آلدئید و آنزیم های آنتی اکسیدان

جهت اندازه گیری مالون دی آلدئید و آنزیم های آنتی اکسیدان، نمونه گیری در دو مرحله قبل و بعد از استولون دهی و یک هفته پس از کاربرد اسید جاسمونیک، در ساعت ۱۰ صبح انجام شد. در هر کرت پنج بوته و از هر بوته دو برگ کاملاً باز شده جوان انتخاب شد. نمونه های برگ تهیه شده بلافاصله در مخزن نیتروژن قرار گرفتند و پس از انتقال به آزمایشگاه، در دمای ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

### اندازه گیری مالون دی آلدئید

نمونه های منجمد به مقدار ۰/۲ گرم در سه میلی لیتر، تری کلرو استیک اسید (TCA) ۱۰ درصد، عصاره گیری شدند. سپس به یک میلی لیتر از سوسپانسیون صاف شده یک میلی لیتر تیوباری توریکی اسید (TBA) نیم درصد، اضافه شد و سپس در حمام آب گرم با دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفت. سپس مقدار مالون دی آلدئید به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر با اندازه گیری جذب در طول موج های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر و با استفاده از ضریب خاموشی ( $155 \mu\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ ) محاسبه شد (Heath and Pacher, 1969). به منظور سنجش فعالیت آنزیم های کاتالاز (CAT)، سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، پراکسیداز (POX) و آسکوربات پراکسیداز (APX) و همچنین مقدار پروتئین محلول برگ، از نمونه های منجمد، عصاره آنزیمی تهیه شد، سپس جذب کلیه واکنش ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد. برای تهیه عصاره آنزیمی مقدار نیم گرم از بافت تازه برگ در هاون چینی که در ظرف یخ قرار داشت، با دو میلی لیتر از بافر فسفات ۰/۱ مولار با اسیدیته ۶/۸، هموژن شد (Dean, 1986). سپس به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۳۰۰۰ دور

در دقیقه و در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. فاز بالایی عصاره (سوپرناتانت) برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌ها و همچنین مقدار پروتئین محلول مورد استفاده قرار گرفت.

### سنجش فعالیت کاتالاز (CAT)

طبق تعریف یک واحد کاتالاز مقدار آنزیمی است که موجب تجزیه یک میکرومول  $H_2O_2$  در مدت یک دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد شود. بنابراین محلول واکنش حاوی نیم میلی‌لیتر  $H_2O_2$  ۱۰ میلی‌مولار، ۲ میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم ۲۵ میلی‌مولار با اسیدیته ۶/۸ و ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی می‌باشد. با شروع تجزیه  $H_2O_2$  در محیط، واکنش آغاز شد و مقدار کاهش جذب در طول زمان در طول موج ۲۴۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر قرائت شد (Cakmak and Horst, 1991).

### سنجش فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)

مخلوط واکنش شامل دو میلی‌لیتر بافر هپس کو (HEPES-KOH) ۵۰ میلی‌مولار با اسیدیته ۷/۸، حاوی اتیلن‌دی‌آمین‌تتراستیک‌اسید ۰/۱ میلی‌مولار، کربنات سدیم ۵۰ میلی‌مولار با اسیدیته ۱۰/۲، ال-متیونین (L-methionine) ۱۲ میلی‌مولار، نیتروبلوتترازولیوم (NBT) ۷۵ میکرومولار، ریپوفلاوین یک میلی‌مولار و ۲۰۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی می‌باشد. نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در شدت نور تقریباً ۸۰۰۰ لوکس قرار گرفت و پس از این مدت جذب آنها در طول موج ۵۶۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر قرائت شد (Giannopolitis and Ries, 1997).

### سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز (POX)

بدین منظور به ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی، دو میلی‌لیتر فسفات پتاسیم ۶۰ میلی‌مولار با اسیدیته ۶/۱، نیم میلی‌لیتر گایاکول (Guaiacol) ۲۸ میلی‌مولار و نیم میلی‌لیتر  $H_2O_2$  پنج میلی‌مولار اضافه شد و جذب محلول در طول موج ۴۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر قرائت شد. واکنش در کووت آغاز و جذب بلافاصله در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و به مدت یک دقیقه (با فواصل ۲۰ ثانیه) انجام شد (Hegar et al., 1996).

### سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX)

طبق تعریف یک واحد آنزیم آسکوربات پراکسیداز مقدار آنزیمی است که یک میلی‌مولار آسکوربات را در یک دقیقه اکسید می‌کند. بدین منظور دو میلی‌لیتر بافر فسفات نیم مولار با اسیدیته ۶/۵، ۰/۲ میلی‌لیتر آب اکسیژنه (۷/۷ سه درصد) و ۰/۲ میلی‌لیتر آسکوربات ۵۰ میکرومولار را در حمام یخ با هم مخلوط کرده و بلافاصله ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی به آن اضافه می‌کنیم. منحنی تغییرات جذب در طول موج ۲۶۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده شد و فعالیت

آنزیمی بر حسب تغییرات جذب به میلی گرم پروتئین در دقیقه محاسبه شد (Nakano and Asada, 1981). جهت اندازه گیری پروتئین محلول برگ و تعیین مقدار کمی پروتئین از عصاره آنزیمی استفاده شد. بدین منظور با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۹۵ نانومتر قرائت شد و سپس منحنی رگرسیون رسم شد (Bradford, 1976; Kar and Mishra, 1976). برای اندازه گیری فلورسانس کلروفیل از دستگاه فلورمتر (مدل OS1-FL) که توانایی اندازه گیری فلورسانس را در دو حالت روشنایی و تاریکی دارد، استفاده شد. اندازه گیری‌ها در دو مرحله قبل و بعد از ریزوم دهی در ساعت ۱۰ صبح تا ۱۴ بعد از ظهر انجام شد. در هر کرت پنج بوته و از هر بوته دو برگ کاملاً باز شده جوان انتخاب شد و پارامترهای فلورسانس کلروفیل شامل:  $F_m$  (فلورسانس حداکثر در شرایط سازگار شده با تاریکی)،  $F_o$  (فلورسانس حداقل در شرایط سازگار شده با تاریکی) و نهایتاً مقدار  $F_v/F_m$  (حداکثر عملکرد کوآنزومی در شرایط سازگار شده با تاریکی) به کمک رابطه مربوطه ( $F_v/F_m = (F_m - F_o)/F_m$ ) برای آن‌ها ثبت شد. مقدار کلروفیل برگ نیز در دو مرحله قبل و بعد از ریزوم دهی مورد ارزیابی قرار گرفت. بدین صورت که پس از تهیه عصاره الکلی از نمونه‌ها، جذب نور توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر قرائت شد و سپس با استفاده از روابط موجود، مقدار کلروفیل محاسبه شد (Arnon, 1940). در مرحله رسیدگی (مصادف با سرمازدگی پاییزه در منطقه)، عملکرد برآورد شد، بدین منظور جهت حذف اثر حاشیه‌ای در هر کرت، برداشت از ردیف‌های وسطی با مساحتی معادل دو و نیم متر مربعی صورت گرفت. در نهایت تجزیه مرکب داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS و رسم نمودارها با نرم افزار Excel صورت گرفت. با توجه به معنی دار شدن برهمکنش رقم و تیمارهای آزمایش، مقایسه میانگین‌های این اثر به صورت برش‌دهی و به روش LS means انجام شد.

## نتایج و بحث

### فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

اثرات اصلی و اثر متقابل رقم و تیمار، برای کلیه آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان معنی‌دار شد (جدول ۲). فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) بین تیمارهای مختلف در ارقام مورد بررسی متفاوت بود (جدول ۳). با توجه به نتایج، تیمار  $T_1$  در رقم جلی در مرحله قبل از ریزوم دهی، دارای بالاترین میانگین (۱/۱۰) با واحد تغییرات جذب به میلی گرم پروتئین و تیمار  $T_6$  (شاهد) در رقم بورن، در مرحله بعد از ریزوم دهی، دارای پایین‌ترین میانگین (۰/۳۳) با واحد تغییرات جذب به میلی گرم پروتئین) فعالیت کاتالاز بودند (جدول ۳). کاربرد جاسمونیک اسید بر مقدار فعالیت کاتالاز اثر معنی‌دار داشت؛ به طوری که در تیمارهای  $T_2$  و  $T_4$ ، که زمان محلول پاشی در آن‌ها بعد از مرحله ریزوم دهی بود، به ترتیب موجب افزایش ۲۱/۴۳ و ۲۰/۷۵ درصدی در رقم جلی، ۴۷/۳۶ و ۷۲ درصدی در رقم فونتین و ۳۶/۵۴ و ۲۵ درصدی در رقم بورن نسبت به مرحله قبل از



ریزومدهی، برای میزان فعالیت کاتالاز شد (جدول ۳). نتایج فوق با نتایج Qiu و همکاران (۲۰۱۴) مبنی بر اثر جاسمونیک اسید بر فعالیت آنٹی‌اکسیدانی گیاه مطابقت دارد. هم‌چنین بیان شده است که کاربرد جاسمونیک‌اسید و متیل‌استر آن در شرایط تنش‌های محیطی از طریق القاء و بیان ژن‌ها و تحریک برخی فرایندها موجب افزایش فعالیت سیستم‌های دفاعی آنزیمی آنٹی‌اکسیدانی شامل سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، پرکسیداز (POD) و آسکوربات پراکسیداز (APX) می‌شود و به‌دنبال آن باعث کاهش تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) در گیاه تحت تنش‌های محیطی می‌شود (Qiu et al., 2014). یکی دیگر از سیستم‌های دفاعی گیاه در برابر تنش‌های محیطی، استفاده از آنزیم آسکوربات-پراکسیداز (APX) است. اعمال جاسمونیک‌اسید و کلسیم، موجب افزایش معنی‌داری در مقدار فعالیت آنزیم آسکوربات-پراکسیداز در کلیه ارقام مورد بررسی در هر دو مرحله قبل و بعد از ریزومدهی شد (جدول ۳). مشخص شده است که کاربرد خارجی جاسمونیک‌اسید و متیل‌استر آن نقش ویژه‌ای در پاسخ گیاهان به تنش‌های محیطی بازی می‌کنند از آن جمله می‌توان به شرکت جاسمونیک‌اسید در تنظیم متابولیسم آسکوربات و گلوکاتایون (Sasaki-Sekimoto et al., 2005) و هم‌چنین افزایش توانایی آنٹی‌اکسیدانی گیاه را نام برد (Bandurska et al., 2003). زمان کاربرد جاسمونیک‌اسید نیز در مقدار افزایش فعالیت این آنزیم در مقایسه با شاهد متفاوت بود، به‌طوری‌که مقدار افزایش میانگین فعالیت آسکوربات‌پراکسیداز، برای ارقام جلی، فونتین و بورن در تیمار T<sub>3</sub> که زمان محلول‌پاشی جاسمونیک‌اسید در آن قبل از ریزومدهی بود به‌ترتیب ۹۴، ۱۲۴ و ۱۰۶/۲۵ درصد، بیش‌تر از تیمار T<sub>4</sub> (زمان محلول‌پاشی جاسمونیک‌اسید بعد از ریزومدهی) بود (جدول ۳). نتایج Shan و Liang (۲۰۱۰) نیز مطابق نتایج تحقیق حاضر می‌باشد و در این خصوص بیان نمودند که جاسمونیک‌اسید متابولیسم آسکوربات را از روش‌های مختلفی از جمله افزایش مقدار رونوشت آسکوربات، افزایش فعالیت آسکوربات پراکسیداز (APX)، دهیدرو آسکوربات ردوکتاز (DHAR)، مونو دهیدرو آسکوربات ردوکتاز (MDHAR)، آسکوربیک اسید (ASA) و محتوای آسکوربات کل، افزایش می‌دهد (Shan and Liang, 2010).

با توجه به جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) مشاهده می‌شود که برهمکنش رقم و تیمار برای فعالیت آنزیم پراکسیداز (POX) در سطح پنج درصد معنی‌دار بود. با توجه به نتایج بدست آمده مشاهده می‌شود که تیمار T<sub>1</sub> در رقم جلی، با میانگین ۸/۴۱ در واحد تغییرات جذب به میلی‌گرم پروتئین، در مرحله بعد از ریزومدهی دارای بیش‌ترین میانگین فعالیت آنزیم پراکسیداز و تیمار T<sub>6</sub> در رقم فونتین، با میانگین ۳/۴۹ در واحد تغییرات جذب به میلی‌گرم پروتئین، در مرحله قبل از ریزومدهی پایین‌ترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز را داشتند (جدول ۳). علاوه بر جاسمونیک‌اسید، کلسیم نیز در افزایش مقدار فعالیت آنزیم پراکسیداز، اثر معنی‌دار داشت. به‌طوری‌که با مقایسه دو تیمار T<sub>1</sub> و T<sub>3</sub>، که تنها تفاوت آنها در وجود کلسیم در تیمار T<sub>1</sub> و عدم استفاده از کلسیم در تیمار T<sub>3</sub> می‌باشد، مشاهده شد که میانگین فعالیت آنزیم POX در

تیمار T<sub>1</sub> در هر سه رقم جلی، فونتین و بورن در مرحله قبل از ریزومدهی به ترتیب ۱۳/۷۳، ۱۳/۷۶ و ۴۱/۳۰ درصد، افزایش بیش‌تری نسبت به شاهد داشت (جدول ۳). نتایج بررسی Erinle و همکاران (۲۰۱۶) نیز نشان دهنده اثر مثبت کلسیم بر افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بود، آن‌ها بیان کردند که حضور کلسیم و کلسیم-کالمودولین، در گیاه تحت تنش محیطی باعث تحریک، تنظیم و افزایش بیان ژن‌های سیستم‌های آنتی‌اکسیدان و کاهش گونه‌های اکسیژن فعال می‌شود (Erinle et al., 2016; Yang et al., 2015).

با توجه به نتایج به دست آمده مشاهده می‌شود که فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، که به عنوان اولین خط دفاعی گیاه، در زمان مواجهه با تنش محیطی قلمداد می‌شود (Blasco et al., 2015)، بین ارقام و تیمارهای مختلف متفاوت بود. به‌طوری‌که تیمار T<sub>1</sub> در هر سه رقم جلی، فونتین و بورن، در هر دو مرحله قبل و بعد از ریزومدهی، بالاترین میانگین‌ها را (به ترتیب با میانگین‌های ۶/۷۰-۷/۱۶، ۳۰/۶۶-۵/۴ و ۵/۵۱-۵/۸۸ در واحد تغییرات جذب به میلی‌گرم پروتئین) داشت که با سایر تیمارها دارای تفاوت معنی‌داری بود (جدول ۳). در مقابل تیمار شاهد (T<sub>6</sub>)، در هر دو مرحله قبل و بعد از ریزومدهی در خصوص فعالیت سوپراکسید دیسموتاز، کم‌ترین رتبه را داشت (جدول ۳). تیمار آزمایشی T<sub>4</sub> که زمان اعمال آن بعد از مرحله ریزومدهی بود، در نمونه‌گیری مرحله قبل از ریزومدهی، در کلیه ارقام مورد بررسی در خصوص فعالیت سوپراکسید دیسموتاز، تفاوت معنی‌داری با شاهد (T<sub>6</sub>) نداشت، اما کاربرد جاسمونیک اسید در مرحله بعد از ریزومدهی، در ارقام جلی، فونتین و بورن موجب افزایش ۱۳/۹۱، ۲۹/۲۴ و ۳/۴۵ درصدی فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، نسبت به مرحله قبل شد (جدول ۳). تفاوت معنی‌دار تیمار آزمایشی T<sub>5</sub> با شاهد (T<sub>6</sub>)، در کلیه ارقام مورد بررسی در هر دو مرحله قبل و بعد از ریزومدهی، مشاهده شد، که این نشان از اثر مثبت و معنی‌دار کاربرد کلسیم در گیاه، بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز می‌باشد (جدول ۳).

سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) یکی از آنزیم‌های کلیدی جهت مهار گونه‌های اکسیژن فعال در سلول به‌شمار می‌رود، به‌طوری‌که افزایش فعالیت این آنزیم در سلول، نشانه ایجاد حفاظت گیاه در برابر تنش‌های محیطی است (Anjum et al., 2011; Shan and Liang, 2010). گزارش شده است که سوپر اکسید آنیون‌ها از مسیر متابولیسم اکسیداتیو، توسط سوپر اکسید دیسموتاز به پراکسید هیدروژن (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) و اکسیژن (O<sub>2</sub>) تبدیل می‌شود (Anjum et al., 2011; Shan and Liang, 2010). هم‌چنین مشخص شده است که سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) یک نقش محوری در مهار گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) دارد و شروع فعالیت SOD هماهنگ کننده فعالیت APX، POD و CAT در گیاه می‌باشد (Li et al., 2013; Qiu et al., 2013).

جدول ۲: نتایج تجزیه واریانس برای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و مالیک‌دی‌آلدهید، در هم‌کنش کلسیم و جاسمونیک اسید در سه رقم سیب‌زمینی

مرحله قبل از ریزوم‌دهی				مرحله بعد از ریزوم‌دهی				منابع تغییرات	
مالون‌دی‌آلدهید	سوپر اکسید دپسموتاز	آسکوربات پراکسیداز	کاتالاز	مالون‌دی‌آلدهید	سوپر اکسید دپسموتاز	آسکوربات پراکسیداز	کاتالاز	df	
۳۴/۱۲۷ <sup>ns</sup>	۳/۳۴۶۱ <sup>ns</sup>	۰/۰۶۵۱ <sup>ns</sup>	۰/۲۹۹۷ <sup>ns</sup>	۱۸/۳۰۲۷ <sup>ns</sup>	۰/۳۸۱۶ <sup>ns</sup>	۲/۳۳۳۳ <sup>ns</sup>	۰/۰۸۸۹۸ <sup>ns</sup>	۱	سال
۳۱/۳۴۳ <sup>ns</sup>	۱/۴۸۴۷۴ <sup>ns</sup>	۰/۲۶۸۱۴ <sup>ns</sup>	۰/۰۶۰۶۰ <sup>ns</sup>	۳۶/۲۸۶۹ <sup>ns</sup>	۳/۱۱۴۲۹ <sup>ns</sup>	۱/۰۴۴۷۵ <sup>ns</sup>	۰/۰۸۱۶۰ <sup>ns</sup>	۴	بلوک (سال)
۵۳۳/۶۹۳ <sup>**</sup>	۲۴/۲۴۸۳۳ <sup>**</sup>	۳۴/۰۶۷۲۵ <sup>**</sup>	۰/۸۶۰۸۳۳ <sup>**</sup>	۴۹۳/۲۶۶۰ <sup>**</sup>	۲۷/۳۳۹۹۱ <sup>ns</sup>	۱۹/۰۴۶۶۶ <sup>**</sup>	۱/۱۹۳۱۵ <sup>**</sup>	۲	رقم
۱۹۶/۳۲۰ <sup>**</sup>	۱۲/۳۶۶۰۰ <sup>**</sup>	۲۱/۹۳۴۵۱ <sup>**</sup>	۰/۹۷۶۵۹ <sup>**</sup>	۱۲۷/۹۰۵۶ <sup>**</sup>	۸/۷۵۴۳۷ <sup>**</sup>	۱۳/۹۲۰۲۴ <sup>**</sup>	۰/۶۳۳۷۰ <sup>**</sup>	۵	تیمار
۰/۷۳۸ <sup>**</sup>	۰/۰۷۳۶۴ <sup>*</sup>	۰/۱۵۱۹۵ <sup>**</sup>	۰/۰۱۸۷۹ <sup>**</sup>	۰/۷۴۷۴ <sup>*</sup>	۰/۱۶۶۰۷ <sup>*</sup>	۰/۰۶۱۷۹ <sup>*</sup>	۰/۰۰۸۰۴ <sup>**</sup>	۱۰	رقم × تیمار
۱۴/۵۸۰ <sup>ns</sup>	۰/۴۶۵۰۴ <sup>ns</sup>	۰/۰۸۲۴۰ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۶۸۳ <sup>ns</sup>	۱۰/۹۲۹۱ <sup>ns</sup>	۱/۹۷۸۶۳ <sup>ns</sup>	۱/۴۳۵۵۸ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۵۲۶ <sup>ns</sup>	۲	سال × رقم
۰/۴۲۱ <sup>ns</sup>	۰/۰۵۰۶۳ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۱۳۳ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۴۴۰ <sup>ns</sup>	۲/۰۸۱۵ <sup>ns</sup>	۰/۰۱۹۹۵ <sup>ns</sup>	۰/۲۵۲۴۱ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰۳۱ <sup>ns</sup>	۵	سال × تیمار
۰/۲۰۶ <sup>ns</sup>	۰/۱۳۶۴۰ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۴۸۸ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۷۷۵ <sup>ns</sup>	۰/۶۳۸۱ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۸۶۵۸ <sup>ns</sup>	۰/۰۴۷۷۰ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰۳۷ <sup>ns</sup>	۱۰	سال × رقم × تیمار
۱/۷۳۹۸	۰/۱۹۴۲۲	۰/۰۶۷۲۷	۰/۰۰۸۳۴	۲/۳۶۸۹	۰/۱۷۴۳۲	۰/۰۹۱۴۳	۰/۰۰۵۵۳	۶۸	خطا
۷/۴۹	۸/۸۶	۳/۹۹	۱۳/۸۸	۸/۳۰	۹/۱۱	۵/۹۲	۱۳/۳۰		ضرب‌در تغییرات

\* و \*\* به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و <sup>ns</sup> غیر معنی‌دار

### مالون دی آلدئید (MDA)

تیمارهای جاسمونیک اسید و کلسیم اثر معنی داری بر مقدار مالون دی آلدئید در ارقام مورد بررسی داشت، به طوری که در کلیه تیمارهایی که زمان اعمال آنها قبل از مرحله ریزوم دهی بود ( تیمارهای  $T_1$ ،  $T_2$ ،  $T_3$  و  $T_5$ ) مقدار مالون دی آلدئید کاهش معنی داری نسبت به شاهد داشت، ولی در تیمارهایی که زمان اعمال آنها هنوز فرا نرسیده بود (تیمار  $T_4$ ) مقدار مالون دی آلدئید، با شاهد تفاوت معنی داری نداشت (جدول ۳). با توجه به نتایج مشاهده شد که در مرحله بعد از ریزوم دهی، در کلیه ارقام مورد بررسی، تیمارهای  $T_1$  و  $T_6$  به ترتیب دارای کمترین و بالاترین میانگین، در خصوص مقدار مالون دی آلدئید بودند (جدول ۳). مشاهده شد که میانگین مالون دی آلدئید، برای کلیه ارقام و تیمارها در مرحله قبل از ریزوم دهی کم تر از میانگین آنها در مرحله پس از ریزوم دهی می باشد (جدول ۳). که علت آن را می توان در دمای بیشتر محیط و وجود گرمای تابستان (تنش دمایی تابستان) در مرحله پس از ریزوم دهی (شکل های ۱، ۲ و ۳) و به دنبال آن تخریب ساختار غشاء در اثر تنش دما و نشت الکترولیت ها از غشاء ارقام مورد بررسی جستجو نمود (Guimaraes, 2011). با گذشت زمان و گرم تر شدن هوا در تابستان (شکل های ۱، ۲ و ۳)، تنش دمایی بر ارقام مورد بررسی بیش تر شد اما کاربرد خارجی کلسیم و جاسمونیک اسید موفق عمل نمود و سطح مالون دی آلدئید را در زمان بعد از ریزوم دهی نیز به طور معنی داری نسبت به شاهد پایین آورد (جدول ۳). که این امر بیانگر اثر کلسیم و جاسمونیک اسید بر کاهش خسارت رادیکال های آزاد به غشاء سلولی است. جاسمونیک اسید و کلسیم از طریق تحریک بیان ژن های خاص، موجب افزایش فعالیت سیستم های آنتی اکسیدانی گیاه می شود و به دنبال آن پراکسیداسون چربی ها و خسارت به غشاء کاهش پیدا می کند (Guimaraes, 2011; Shan and Liang, 2010). هم چنین گزارش شده است که کلسیم با ایجاد تعامل با فسفولیپیدها و پروتئین ها باعث حفظ ثبات غشاء، یکپارچگی غشاء و حفظ کارکرد آن در گیاه می شود (Guimaraes, 2011).

### پروتئین محلول برگ

اثر متقابل رقم و تیمار برای صفت پروتئین محلول برگ، در سطح یک درصد معنی دار بود (جدول ۴). با توجه به نتایج مشاهده می شود که در هر دو مرحله قبل و بعد از ریزوم دهی، بیشترین مقدار پروتئین محلول برگ، در تیمار  $T_1$  در رقم جلی و کمترین مقدار آن در تیمار  $T_6$  در رقم بورن مشاهده شد (جدول ۵). کاربرد جاسمونیک اسید و کلسیم به هر دو صورت تکی ( $T_3$ ،  $T_4$  و  $T_5$ ) و ترکیبی ( $T_1$  و  $T_2$ ) موجب افزایش معنی دار میانگین پروتئین محلول برگ در هر دو مرحله قبل و بعد از ریزوم دهی نسبت به شاهد شد (جدول ۵).

**جدول ۳: مقایسه میانگین برخی صفات فیزیولوژیک ارقام سیب زمینی تحت اثر کلسیم و اسید جاسمونیک به صورت برش دهی و به روش LS mean**

مرحله قبل از ریزوم دهی						مرحله بعد از ریزوم دهی									
ماتون دی آدهید	سوپر آکسید دیسموتاز	پراکسیداز	آسکوربات	کاتالاز	ماتون دی آدهید	سوپر آکسید دیسموتاز	پراکسیداز	آسکوربات	کاتالاز	ماتون دی آدهید	سوپر آکسید دیسموتاز	پراکسیداز	آسکوربات	کاتالاز	
نانومول بر گرم وزن تر (برگ)	نانومول بر گرم وزن تر (برگ)	نانومول بر گرم وزن تر (تغییرات جذب به میلی گرم پروتئین)	نانومول بر گرم وزن تر (تغییرات جذب به میلی گرم پروتئین)	نانومول بر گرم وزن تر (برگ)	نانومول بر گرم وزن تر (برگ)	نانومول بر گرم وزن تر (تغییرات جذب به میلی گرم پروتئین)	نانومول بر گرم وزن تر (تغییرات جذب به میلی گرم پروتئین)	نانومول بر گرم وزن تر (تغییرات جذب به میلی گرم پروتئین)	نانومول بر گرم وزن تر (تغییرات جذب به میلی گرم پروتئین)	نانومول بر گرم وزن تر (برگ)	نانومول بر گرم وزن تر (تغییرات جذب به میلی گرم پروتئین)	نانومول بر گرم وزن تر (تغییرات جذب به میلی گرم پروتئین)	نانومول بر گرم وزن تر (تغییرات جذب به میلی گرم پروتئین)	نانومول بر گرم وزن تر (تغییرات جذب به میلی گرم پروتئین)	
۹/۸۳ <sup>f</sup>	۷/۱۶۲ <sup>a</sup>	۸/۴۱۳ <sup>a</sup>	۱/۰۴۸ <sup>a</sup>	۱/۳۳ <sup>a</sup>	۱۱/۰۶ <sup>d</sup>	۶/۷۰۸ <sup>a</sup>	۷/۳۶۸ <sup>a</sup>	۰/۸۴۷ <sup>a</sup>	۱/۱۰ <sup>a</sup>	T1	۱۶/۷۵ <sup>f</sup>	۵/۳۰۰ <sup>a</sup>	۶/۱۳۲ <sup>b</sup>	۰/۷۱۳ <sup>a</sup>	۰/۶۱ <sup>a</sup>
۱۲/۶۹ <sup>d</sup>	۶/۰۲۷ <sup>c</sup>	۷/۳۳ <sup>b</sup> c	۰/۶۵۲ <sup>c</sup>	۰/۸۵ <sup>c</sup>	۱۵/۰۳ <sup>b</sup>	۵/۴۴۷ <sup>c</sup>	۵/۶۷۰ <sup>c</sup>	۰/۴۹۵ <sup>c</sup>	۰/۷۰ <sup>c</sup>	T2	۲۰/۱۱ <sup>d</sup>	۴/۳۹۵ <sup>b</sup>	۵/۸۵۸ <sup>b</sup>	۰/۵۲۰ <sup>c</sup>	۰/۳۴ <sup>c</sup>
۱۱/۱۱۵ <sup>e</sup>	۶/۵۱۲ <sup>b</sup>	۸/۱۱۳ <sup>ab</sup>	۰/۷۹۷ <sup>b</sup>	۰/۹۸ <sup>b</sup>	۱۲/۹۴ <sup>c</sup>	۶/۱۵۶ <sup>b</sup>	۶/۶۰۲ <sup>b</sup>	۰/۶۷۲ <sup>b</sup>	۰/۸۹ <sup>b</sup>	T3	۱۸/۳ <sup>c</sup>	۴/۸۵۷ <sup>a</sup>	۶/۰۷۵ <sup>b</sup>	۰/۶۵۵ <sup>b</sup>	۰/۵۳ <sup>b</sup>
۱۵/۳۹ <sup>b</sup>	۵/۲۴۵ <sup>de</sup>	۷/۶۸۰ <sup>c</sup>	۰/۴۶۵ <sup>d</sup>	۰/۶۴ <sup>c</sup>	۱۷/۱۵ <sup>a</sup>	۴/۵۹۷ <sup>d</sup>	۴/۸۹۷ <sup>d</sup>	۰/۳۴۰ <sup>d</sup>	۰/۵۳ <sup>d</sup>	T4	۲۳/۷۸ <sup>b</sup>	۳/۸۸۸ <sup>bc</sup>	۷/۶۸۰ <sup>a</sup>	۰/۳۲۸ <sup>e</sup>	۰/۲۵ <sup>d</sup>
۱۴/۳۶ <sup>c</sup>	۵/۷۳۰ <sup>cd</sup>	۷/۷۹۰ <sup>bc</sup>	۰/۵۵۸ <sup>d</sup>	۰/۷۳ <sup>d</sup>	۱۵/۲۹ <sup>b</sup>	۵/۳۱۵ <sup>c</sup>	۵/۶۸۷ <sup>c</sup>	۰/۴۸۰ <sup>c</sup>	۰/۷۲ <sup>c</sup>	T5	۲۱/۸۸ <sup>c</sup>	۴/۱۹۸ <sup>b</sup>	۶/۸۴۵ <sup>ab</sup>	۰/۴۲۳ <sup>d</sup>	۰/۳۷ <sup>c</sup>
۱۷/۹۴ <sup>a</sup>	۴/۵۸۳ <sup>e</sup>	۵/۰۷۳ <sup>d</sup>	۰/۳۵۷ <sup>f</sup>	۰/۴۹ <sup>f</sup>	۱۶/۷۶ <sup>a</sup>	۴/۶۳۳ <sup>d</sup>	۴/۸۷۷ <sup>d</sup>	۰/۳۶۸ <sup>d</sup>	۰/۵۶ <sup>d</sup>	T6	۲۶/۳۹ <sup>a</sup>	۳/۰۰۰ <sup>c</sup>	۳/۶۷۳ <sup>c</sup>	۰/۴۵۲ <sup>f</sup>	۰/۲۰ <sup>de</sup>
۱۴/۵۴ <sup>f</sup>	۵/۸۱ <sup>a</sup>	۷/۲۰۸ <sup>d</sup>	۰/۸۸۰ <sup>a</sup>	۱/۰۰ <sup>a</sup>	۱۴/۳۲ <sup>d</sup>	۵/۵۱۳ <sup>d</sup>	۶/۴۳۳ <sup>d</sup>	۰/۶۲۰ <sup>a</sup>	۰/۶۱ <sup>a</sup>	T1	۱۴/۵۴ <sup>f</sup>	۵/۸۱ <sup>a</sup>	۷/۲۰۸ <sup>d</sup>	۰/۸۵۱ <sup>a</sup>	۰/۱۸ <sup>a</sup>
۱۶/۹۷ <sup>d</sup>	۴/۸۶ <sup>b</sup>	۶/۹۳۵ <sup>a</sup>	۰/۶۰۷ <sup>c</sup>	۰/۷۳ <sup>c</sup>	۱۹/۱ <sup>ab</sup>	۴/۳۳۰ <sup>c</sup>	۵/۰۹۷ <sup>b</sup>	۰/۴۵۲ <sup>c</sup>	۰/۵۳ <sup>c</sup>	T2	۱۶/۹۷ <sup>d</sup>	۴/۸۶ <sup>b</sup>	۶/۹۳۵ <sup>a</sup>	۰/۶۰۷ <sup>c</sup>	۰/۵۳ <sup>c</sup>
۱۵/۵۸ <sup>e</sup>	۵/۳۹۳ <sup>ab</sup>	۷/۰۹۵ <sup>a</sup>	۰/۷۶۷ <sup>b</sup>	۰/۸۶ <sup>b</sup>	۱۶/۹۹ <sup>c</sup>	۵/۰۲۷ <sup>b</sup>	۵/۸۴۵ <sup>a</sup>	۰/۵۷۷ <sup>b</sup>	۰/۶۷ <sup>b</sup>	T3	۱۵/۵۸ <sup>e</sup>	۵/۳۹۳ <sup>ab</sup>	۷/۰۹۵ <sup>a</sup>	۰/۷۶۷ <sup>b</sup>	۰/۶۷ <sup>b</sup>
۲۰/۴۹ <sup>b</sup>	۴/۲۰۳ <sup>c</sup>	۶/۷۵۸ <sup>a</sup>	۰/۴۲۸ <sup>e</sup>	۰/۴۵ <sup>e</sup>	۳۱/۵۶ <sup>a</sup>	۴/۰۵۸ <sup>d</sup>	۴/۱۴۷ <sup>c</sup>	۰/۳۶ <sup>e</sup>	۰/۳۶ <sup>e</sup>	T4	۲۰/۴۹ <sup>b</sup>	۴/۲۰۳ <sup>c</sup>	۶/۷۵۸ <sup>a</sup>	۰/۴۲۸ <sup>e</sup>	۰/۳۶ <sup>e</sup>
۱۸/۸۹ <sup>c</sup>	۴/۵۴۷ <sup>bc</sup>	۶/۳۵ <sup>a</sup>	۰/۵۱۷ <sup>d</sup>	۰/۵۱ <sup>d</sup>	۱۹/۴۷ <sup>b</sup>	۴/۳۵۲ <sup>c</sup>	۵/۱۵۳ <sup>b</sup>	۰/۴۳۰ <sup>c</sup>	۰/۴۸ <sup>d</sup>	T5	۱۸/۸۹ <sup>c</sup>	۴/۵۴۷ <sup>bc</sup>	۶/۳۵ <sup>a</sup>	۰/۵۱۷ <sup>d</sup>	۰/۴۸ <sup>d</sup>
۲۳/۰۹ <sup>a</sup>	۳/۷۳۵ <sup>c</sup>	۴/۱۴۲ <sup>b</sup>	۰/۳۲ <sup>f</sup>	۰/۳۳ <sup>f</sup>	۳۱/۵۱ <sup>a</sup>	۴/۰۰۸ <sup>d</sup>	۴/۱۴۲ <sup>c</sup>	۰/۲۷۷ <sup>d</sup>	۰/۳۶ <sup>e</sup>	T6	۲۳/۰۹ <sup>a</sup>	۳/۷۳۵ <sup>c</sup>	۴/۱۴۲ <sup>b</sup>	۰/۳۲ <sup>f</sup>	۰/۳۶ <sup>e</sup>

\*در هر مقایسه وجود حداقل یک حرف مشترک نشان دهنده عدم وجود تفاوت آماری در سطح احتمال پنج درصد می باشد.

همان طور که بیان شد در نتایج ما تیمارهای حاوی کلسیم و جاسمونیک اسید مقدار بالاتری از پروتئین را نسبت به تیمار شاهد نشان دادند، این مطلب بیانگر اثر کلسیم و جاسمونیک اسید بر فعال کردن سیستم‌های دفاعی گیاه در برابر تنش و کاهش انباشت و تولید گونه‌های اکسیژن فعال می‌باشد (Kumar *et al.*, 2007). به بیانی دیگر چنین می‌توان بیان نمود که کلسیم و جاسمونیک اسید باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از یک سو و از سوی دیگر مانع از تجزیه پروتئین‌های گیاهی تحت تنش دمایی می‌شوند، که نتیجه آن افزایش مقدار پروتئین محلول است (Zhou *et al.*, 2009). کلیه تیمارهای آزمایش، به تنش دمایی ناشی از گرمای تابستان (شکل‌های ۱، ۲ و ۳) واکنش نشان دادند، به طوری که در نمونه‌گیری مرحله بعد از ریزوم‌دهی میانگین بالاتری را نسبت به مرحله قبل از ریزوم‌دهی داشتند، اما این مقدار افزایش، در تیمارهای مختلف و هم‌چنین ارقام مختلف متفاوت بود، به طوری که تیمار T1 برای ارقام جلی، فونتین و بورن به ترتیب با ۳۳/۳۰، ۲۹/۵۰ و ۲۲/۷۰ درصد افزایش، در میزان پروتئین محلول برگ، نسبت به شاهد بیش‌ترین اثر را در ایجاد تحمل گیاه در برابر تنش دمایی ناشی از گرمای تابستان داشت (جدول ۵). محتوای پروتئین به مقدار اختلاف بین سنتز و تجزیه آن بستگی دارد. پژوهشگران متعددی کاهش مقدار پروتئین و افزایش نیترات، آمونیوم و اسیدهای آمینه آزاد را تحت شرایط تنش گزارش کرده‌اند (Kumar *et al.*, 2007; Rezai *et al.*, 2013). کاهش مقدار پروتئین در شرایط تنش، در اثر تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) و اثر آن‌ها بر تخریب پروتئین‌ها است (Rezai *et al.*, 2013). در پژوهش حاضر مقدار پروتئین در اندازه‌گیری مرحله بعد از ریزوم‌دهی، نسبت به مرحله قبل از ریزوم‌دهی، افزایش پیدا کرد، که این مطلب نشان از شروع فعالیت آنتی‌اکسیدانی و حفاظتی گیاه ناشی از تیمارهای جاسمونیک اسید و کلسیم در برابر تنش دمایی ناشی از دمای بالای تابستان می‌باشد (Kumar *et al.*, 2007). یکی از بهترین مشخصه پاسخ به تنش‌های محیطی، القاء پروتئین‌های شوک حرارتی (HSPs)<sup>۱</sup> است. در شرایط تنش، سنتز چارپرونین‌های مولکولی به بازسازی و سنتز پروتئین‌های تخریب شده ناشی از تنش کمک می‌کند. در برخی منابع (Hetherington *et al.*, 2005) گزارش شده است که سنتز پروتئین‌های شوک حرارتی همراه با تجمع  $Ca^{+2}$  در محیط درون سلولی است، که این مطلب نقش ویژه کلسیم را به‌عنوان یک پیام‌رسان در شرایط تنش اثبات می‌کند.

### فلورسانس کلروفیل

اثر متقابل رقم و تیمار بر عملکرد کوآنتومی فتوسیستم دو، در مرحله قبل از ریزوم‌دهی در سطح یک درصد و در مرحله بعد از ریزوم‌دهی در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۴). با توجه به نتایج به دست آمده مشاهده شد که تیمارهای مختلف آزمایش در خصوص صفت حداکثر عملکرد کوآنتومی فتوسیستم دو در شرایط سازگار با تاریکی (Fv/Fm)

<sup>1</sup> Heat Shock Proteins

در هر دو مرحله قبل و بعد از ریزومدهی واکنش متفاوتی به ارقام مورد بررسی نشان دادند (جدول ۵). به طوری که در مرحله قبل از ریزومدهی، تیمار T<sub>1</sub> در هر سه رقم جلی، فونتین و بورن بیشترین مقدار را به خود اختصاص داد، که با سایر تیمارها دارای تفاوت معنی دار بود (جدول ۵). در مرحله بعد از ریزومدهی نیز تیمار T<sub>1</sub> بطور معنی داری، در هر سه رقم مورد بررسی دارای بیشترین مقدار عملکرد کوانتومی فتوسیستم دو بود. همچنین کمترین مقدار آن در تیمار T<sub>5</sub> در رقم جلی و در تیمارهای T<sub>5</sub> و T<sub>6</sub> به ترتیب، در ارقام فونتین و بورن مشاهده شد (جدول ۵). گزارش شده است که نسبت Fv/Fm در حد ۰/۸۵ در گیاهان با سلامت کامل و بدون وجود تنش به دست می آید و مقادیر کم تر از ۰/۸۵، حاکی از وجود انواع تنش های زنده و غیر زنده روی گیاهان می باشد (Kalaji and Guo, 2008). از آن جا که داده های به دست آمده از Fv/Fm حتی در گیاهان شاهد که در وضعیت آبی مناسبی بودند نیز کم تر از ۰/۸۵ بود، می توان بیان کرد که برخی از تنش ها از جمله تنش دمایی بالا (شکل های ۱، ۲ و ۳)، این نسبت را کاهش داده است. در این پژوهش، کاربرد خارجی جاسمونیک اسید با افزایش گسترش سیستم ریشه ای، افزایش فعالیت سیستم های آنتی اکسیدانی، افزایش رشد گیاه و افزایش کلروفیل (Martin-closes *et al.*, 1998; Qiu *et al.*, 2014) باعث بهبود مؤلفه های فلئورسانس کلروفیل در گیاهان تحت تیمار شد. از سوی دیگر، کلسیم نیز به واسطه القاء پروتئین های شوک حرارتی، تحریک سنتز چارپرون های مولکولی، بازسازی و سنتز پروتئین های تخریب شده ناشی از تنش (Zhou *et al.*, 2009)، موجب کاهش اثرات سوء تنش دمایی و بهبود مؤلفه های فلورسانس کلروفیل شد.

### محتوای کلروفیل برگ

در این خصوص تیمار T<sub>1</sub>، بیشترین مقدار کلروفیل (Chla) a و کلروفیل (Chlb) b و کلروفیل (Chla+b) a+b را در هر دو مرحله قبل و بعد از ریزومدهی داشت، که با سایر تیمارها دارای تفاوت معنی داری بود (جدول ۵). کمترین مقدار هر سه صفت یاد شده در مرحله قبل از ریزومدهی برای رقم جلی و فونتین در تیمار T<sub>6</sub> و برای رقم بورن در تیمار T<sub>5</sub> بود (جدول ۵). با شروع اعمال تیمارهای فاز دوم (بعد از ریزومدهی)، رتبه بندی تیمارها برای صفات فوق الذکر در مرحله بعد از ریزومدهی تغییر کرد و موجب افزایش معنی دار آنها نسبت به مقدار آن ها در مرحله قبل از ریزومدهی شد. به عنوان مثال، برای صفت مجموع کلروفیل (Chla+b) a+b دو تیمار T<sub>2</sub> و T<sub>4</sub> به ترتیب در رقم جلی با ۱۰/۱۲ و ۱۱/۹۶ درصد، در رقم فونتین با ۱۱/۱۱ و ۱۰/۷۶ درصد و در رقم بورن با ۱۳/۳۹ و ۱۱/۲۹ درصد افزایش، نسبت به مرحله قبل از ریزومدهی رتبه بهتری را کسب کردند (جدول ۵). تیمار شاهد (T<sub>0</sub>) نیز برای هر سه جزء محتوای کلروفیل برگ، در مرحله بعد از ریزومدهی در هر سه رقم مورد آزمایش، کمترین رتبه را داشت (جدول ۵). با توجه به نتایج به دست آمده مشهود است که هر دو گروه تیمارهای قبل و بعد از ریزومدهی باعث افزایش فاکتورهای محتوای کلروفیل برگ شدند. کلروپلاست های بیش تر گیاهان در

غشاهای تیلاکوئیدی دارای دو نوع کلروفیل a و b هستند. کلروفیل b به گیاه این امکان را می‌دهد تا از طیف نوری وسیع-تری نسبت به حالتی که کلروفیل a تنها وجود دارد، استفاده و فتوسنتز کند. هنگامی که ملکول کلروفیل b نور را جذب می‌کند، انرژی را به ملکول کلروفیل a انتقال می‌دهد (Wu *et al.*, 2008). مقدار کلروفیل a در مراکز واکنش، یکی از عوامل تعیین کننده کارایی عملی یا ظرفیت برانگیختگی فتوسیستم دو است (Oxborough, 2004). مشاهده شده است که کاربرد خارجی جاسمونیک اسید در شرایط تنش محیطی، باعث افزایش معنی دار محتوای کلروفیل برگ از طریق افزایش مقدار کلروفیل b می‌شود و از این طریق به حفظ کارکرد دستگاه فتوسنتزی کمک می‌کند (Anjum *et al.*, 2011; Kleinhenz and Palta, 2002; Qiu *et al.*, 2014). کاهش محتوای کلروفیل گیاه در شرایط تنش‌های محیطی می‌تواند نتیجه سرعت بیش‌تر شکستن کلروفیل‌ها نسبت به سرعت ساخته شدن آن‌ها باشد (Erinle *et al.*, 2016). ژن psbA، یکی از ژن‌های مرتبط با کلروپلاست است که به تولید پروتئین D1 منجر می‌شود، این ژن در شرایط تنش‌های محیطی به‌صورت باند شده و غیر فعال در می‌آید و در روند انتقال الکترون، تولید ATP، NADPH و نهایتاً کارکرد فتوسیستم دو اختلال ایجاد می‌کند (Bai *et al.*, 2015). به اثبات رسیده است که کاربرد کلسیم در شرایط تنش محیطی باعث کاهش بازداری نوری فتوسیستم دو، ترمیم بافت‌های کلروفیل و نگه داشتن بیان پروتئین D1، در بالاترین سطح می‌شود (Erinle *et al.*, 2016; Bai *et al.*, 2015).

### عملکرد غده

اثر متقابل رقم و تیمار بر عملکرد غده در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۴). با توجه به نتایج، کلیه تیمارهای مورد آزمایش باعث اثر مثبت و معنی‌دار بر عملکرد غده بودند. افزایش عملکرد یاد شده در تیمارهای مختلف متفاوت بود، به‌طوری‌که در ارقام جلی، فونتین و بورن، تیمار T<sub>1</sub> با داشتن تفاوت معنی‌دار با سایر تیمارها به‌ترتیب، با ۲۷/۴۰، ۲۹/۸۶ و ۲۳/۱۱ درصد عملکرد غده بیش‌تر، در مقایسه با شاهد (T<sub>6</sub>)، جایگاه بهتری را نسبت به سایرین کسب کرد (جدول ۵). تیمار شاهد (T<sub>6</sub>) نیز در ارقام جلی، فونتین و بورن به ترتیب با میانگین عملکرد غده ۴۰/۸۹، ۴۰/۳۲ و ۳۰/۹۸ تن در هکتار، کم-ترین عملکرد غده را داشت (جدول ۵). در این خصوص رتبه تیمارهای مورد آزمایش در هر سه رقم سیبزمینی به‌ترتیب (از عملکرد زیاد به کم) T<sub>1</sub>، T<sub>3</sub>، T<sub>2</sub>، T<sub>5</sub>، T<sub>4</sub> و T<sub>6</sub> بودند، لذا با توجه به ماهیت تیمارها چنین می‌توان استنباط نمود که هم تنظیم‌کننده رشد جاسمونیک اسید و هم ماده غذایی کلسیم توانستند باعث افزایش عملکرد غده شوند، اما این مقدار افزایش، در تیمارهای T<sub>1</sub> و T<sub>2</sub>، که ترکیبی از هر دو آن‌ها بود بیش‌تر از زمانی است که به‌صورت تکی (تیمارهای T<sub>3</sub>، به‌صورت تکی (تیمارهای T<sub>3</sub>، T<sub>4</sub> و T<sub>5</sub>) اعمال شدند (جدول ۵).



**جدول ۴: نتایج تجزیه واریانس برای محتوای پروتئین، کلروفیل، فلورسانس کلروفیل و عملکرد، در برهمکنش کلسیم و جاسمونیک اسید در سه رقم سیب زمینی**

منبع تغییرات	df	مرحله قبل از ریزودمی										منبع تغییرات
		Chl a+b	Chl b	Chla	Fv/Fm	پروتئین	Chl a+b	Chl b	Chla	Fv/Fm	پروتئین	
سال	۱	۰/۰۰۰۰۳۹ <sup>ns</sup>	۲/۶۰۱ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰۰۳۱۱ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰۰۲۴ <sup>ns</sup>	۲۰۴/۴۶۳ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰۰۰۶ <sup>ns</sup>	۱/۵۶۸ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰۰۵۳ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰۰۴۹ <sup>ns</sup>	۱۱۲/۰۷۷ <sup>ns</sup>	سال
بلوک (سال)	۴	۰/۰۰۰۰۰۶ <sup>ns</sup>	۱/۲۶۹ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰۰۰۶۰۵ <sup>**</sup>	۰/۰۰۰۰۳۷ <sup>ns</sup>	۳۹/۷۵ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰۰۰۵ <sup>ns</sup>	۷/۸۷۰۳ <sup>**</sup>	۰/۰۰۰۰۵۴ <sup>**</sup>	۰/۰۰۰۰۱۲۷ <sup>ns</sup>	۵۱/۹۹۱ <sup>ns</sup>	بلوک (سال)
رقم	۲	۰/۰۰۰۰۵۹ <sup>**</sup>	۵/۲۷۸ <sup>*</sup>	۰/۰۰۰۰۵۵۰۸ <sup>*</sup>	۰/۰۰۰۰۱۸ <sup>*</sup>	۶۱۸/۹۶۷ <sup>**</sup>	۰/۰۰۰۰۰۶ <sup>**</sup>	۱/۸۷۸۷ <sup>*</sup>	۰/۰۰۰۰۵۷ <sup>**</sup>	۰/۰۰۰۰۶۳ <sup>*</sup>	۷۰۱/۵۱۶ <sup>**</sup>	رقم
تیمار	۵	۰/۰۰۰۰۶۸۰ <sup>**</sup>	۱/۱۳۵ <sup>**</sup>	۰/۰۰۰۰۶۳۳۳۳ <sup>**</sup>	۰/۰۰۰۰۲۱۲ <sup>**</sup>	۷۶۸/۹۳۸ <sup>**</sup>	۰/۰۰۰۰۰۶ <sup>**</sup>	۳/۱۶۵۳ <sup>**</sup>	۰/۰۰۰۰۵۹ <sup>**</sup>	۰/۰۰۰۰۶۷۴ <sup>**</sup>	۱۱۲۳/۰۴۸ <sup>**</sup>	تیمار
رقم × تیمار	۱۰	۰/۰۰۰۰۰۴ <sup>**</sup>	۲/۵۰۶ <sup>**</sup>	۰/۰۰۰۰۶۳۳۳۳ <sup>**</sup>	۰/۰۰۰۰۰۶ <sup>*</sup>	۱۰/۴۸۸ <sup>**</sup>	۰/۰۰۰۰۰۱ <sup>**</sup>	۲/۰۳۱۴ <sup>**</sup>	۰/۰۰۰۰۰۳ <sup>**</sup>	۰/۰۰۰۰۳۸ <sup>**</sup>	۱۸/۲۷۶ <sup>**</sup>	رقم × تیمار
سال × رقم	۲	۰/۰۰۰۰۰۵ <sup>ns</sup>	۲/۵۶۵ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰۰۰۴۴۰ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰۰۰۱ <sup>ns</sup>	۱۰/۴۵۵ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰۰۰۱ <sup>ns</sup>	۱/۵۰۹۳ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰۰۰۱ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰۰۱۵۳ <sup>ns</sup>	۳/۹۹۷ <sup>ns</sup>	سال × رقم
سال × تیمار	۵	۰/۰۰۰۰۰۱ <sup>ns</sup>	۱/۲۳۱ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰۰۰۱۳۳ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰۰۰۸ <sup>ns</sup>	۵۰/۳۴۱ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰۰۰۱ <sup>ns</sup>	۲/۳۱۴۸ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰۰۰۱ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰۰۰۸ <sup>ns</sup>	۲۶/۶۵۳ <sup>ns</sup>	سال × تیمار
خطا	۶۸	۰/۰۰۰۰۰۱	۱/۲۲۰	۰/۰۰۰۰۰۰۶۸	۰/۰۰۰۰۰۴	۳/۵۸۲	۰/۰۰۰۰۰۰۱	۷/۵۲۲۷	۰/۰۰۰۰۰۰۱	۰/۰۰۰۰۰۹۸	۶/۱۸۰	خطا
ضریب تغییرات	۶/۸۳	۱/۱۰	۵/۱۰	۳/۱۹	۳/۷۱	۲/۶۴	۴/۴۶	۴/۳۷	۳/۳۵	۴/۱۱	۳/۸۱	ضریب تغییرات

\* و \*\* به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و <sup>ns</sup> غیر معنی‌دار.

**جدول ۵: مقایسه میانگین برخی صفات فیزیولوژیک ارقام سیبزمینی تحت اثر کلسیم و اسید جاسمونیک به صورت نرش دهی و به روش LS means**

عنوان	مرحله بعد از ریزوم دهی						مرحله قبل از ریزوم دهی					
	عملکرد غده	Chl a+b	Chlb	Chla	Fv/Fm	بروتئین محلول برگ	Chl a+b	Chlb	Chla	Fv/Fm	بروتئین محلول برگ	
تین در هکتار	(mg ml <sup>-1</sup> )											
	میلی گرم بر گرم وزن تر برگ						میلی گرم بر گرم وزن تر برگ					
T <sub>1</sub>	۶۲/۳۰ <sup>a</sup>	۰/۰۸۰ <sup>a</sup>	۰/۰۲۵ <sup>a</sup>	۰/۰۷۷ <sup>a</sup>	۰/۸۳ <sup>a</sup>	۸۷/۱۹ <sup>a</sup>	۰/۰۶۹۷ <sup>a</sup>	۰/۰۰۲۳ <sup>a</sup>	۰/۰۶۷۷ <sup>a</sup>	۰/۸۳۳ <sup>a</sup>	۸۳/۹۰ <sup>a</sup>	
T <sub>2</sub>	۵۷/۱۱ <sup>c</sup>	۰/۰۷۴ <sup>c</sup>	۰/۰۰۲۳ <sup>c</sup>	۰/۰۰۷۲ <sup>c</sup>	۰/۸۲۷ <sup>b</sup>	۷۶/۶۳ <sup>c</sup>	۰/۰۶۷۲ <sup>cd</sup>	۰/۰۰۲۱ <sup>c</sup>	۰/۰۶۵۳ <sup>cd</sup>	۰/۷۹۳ <sup>c</sup>	۷۱/۴۱ <sup>c</sup>	
T <sub>3</sub>	۵۹/۲۳ <sup>b</sup>	۰/۰۷۸ <sup>b</sup>	۰/۰۰۲۳ <sup>b</sup>	۰/۰۰۷۵ <sup>b</sup>	۰/۸۱۳ <sup>cd</sup>	۸۱/۴۳ <sup>b</sup>	۰/۰۶۸۷ <sup>b</sup>	۰/۰۰۲۳ <sup>ab</sup>	۰/۰۶۶۷ <sup>b</sup>	۰/۸۱۸ <sup>b</sup>	۷۷/۴۳ <sup>b</sup>	
T <sub>4</sub>	۵۳/۵۵ <sup>e</sup>	۰/۰۷۳ <sup>d</sup>	۰/۰۰۲۳ <sup>d</sup>	۰/۰۰۷۱ <sup>d</sup>	۰/۸۱۰ <sup>cd</sup>	۷۲/۰۴ <sup>d</sup>	۰/۰۶۵۳ <sup>e</sup>	۰/۰۰۱۹ <sup>d</sup>	۰/۰۶۳۳ <sup>c</sup>	۰/۷۷۰ <sup>e</sup>	۵۹/۸۱ <sup>d</sup>	
T <sub>5</sub>	۵۴/۱۲ <sup>d</sup>	۰/۰۶۷ <sup>e</sup>	۰/۰۰۲۱ <sup>e</sup>	۰/۰۰۵۵ <sup>e</sup>	۰/۸۰۰ <sup>e</sup>	۷۲/۹۶ <sup>d</sup>	۰/۰۶۶۸ <sup>d</sup>	۰/۰۰۲۱ <sup>c</sup>	۰/۰۶۴۸ <sup>d</sup>	۰/۷۹۳ <sup>c</sup>	۶۸/۶۱ <sup>cd</sup>	
T <sub>6</sub>	۴۸/۹۴ <sup>f</sup>	۰/۰۶۴ <sup>f</sup>	۰/۰۰۱۷ <sup>f</sup>	۰/۰۰۶۴ <sup>f</sup>	۰/۸۰۰ <sup>d</sup>	۶۵/۴۱ <sup>e</sup>	۰/۰۶۲۵ <sup>ef</sup>	۰/۰۰۱۹ <sup>de</sup>	۰/۰۶۲۵ <sup>ef</sup>	۰/۷۸۷ <sup>d</sup>	۵۹/۰۴ <sup>d</sup>	
T <sub>1</sub>	۵۶/۱۱ <sup>a</sup>	۰/۰۸۰ <sup>a</sup>	۰/۰۰۲۵ <sup>a</sup>	۰/۰۰۷۷ <sup>a</sup>	۰/۸۲۳ <sup>a</sup>	۸۱/۱۶ <sup>a</sup>	۰/۰۶۷۰ <sup>a</sup>	۰/۰۰۲۳ <sup>a</sup>	۰/۰۶۵۳ <sup>a</sup>	۰/۸۱۳ <sup>a</sup>	۷۵/۸۲ <sup>a</sup>	
T <sub>2</sub>	۴۸/۳۳ <sup>c</sup>	۰/۰۷۲ <sup>c</sup>	۰/۰۰۲۴ <sup>b</sup>	۰/۰۰۷۰ <sup>c</sup>	۰/۸۲۰ <sup>b</sup>	۷۰/۳۳ <sup>c</sup>	۰/۰۶۳۸ <sup>c</sup>	۰/۰۰۲۰ <sup>d</sup>	۰/۰۶۲۸ <sup>c</sup>	۰/۷۶۸ <sup>d</sup>	۶۳/۳۳ <sup>b</sup>	
T <sub>3</sub>	۵۱/۹۴ <sup>b</sup>	۰/۰۷۵ <sup>b</sup>	۰/۰۰۲۳ <sup>c</sup>	۰/۰۰۷۳ <sup>b</sup>	۰/۸۱۳ <sup>c</sup>	۷۶/۹۳ <sup>b</sup>	۰/۰۶۶۵ <sup>b</sup>	۰/۰۰۲۱ <sup>b</sup>	۰/۰۶۴۵ <sup>b</sup>	۰/۷۸۷ <sup>b</sup>	۷۰/۶۸ <sup>ab</sup>	
T <sub>4</sub>	۴۷/۱۰ <sup>e</sup>	۰/۰۷۰ <sup>d</sup>	۰/۰۰۲۰ <sup>e</sup>	۰/۰۰۶۸ <sup>d</sup>	۰/۸۰۳ <sup>de</sup>	۶۹/۰۴ <sup>c</sup>	۰/۰۶۳۳ <sup>e</sup>	۰/۰۰۱۹ <sup>d</sup>	۰/۰۶۱۳ <sup>d</sup>	۰/۷۶۰ <sup>e</sup>	۵۸/۰۶ <sup>bc</sup>	
T <sub>5</sub>	۴۵/۳۳ <sup>d</sup>	۰/۰۶۷ <sup>e</sup>	۰/۰۰۲۱ <sup>d</sup>	۰/۰۰۶۵ <sup>e</sup>	۰/۸۰۷ <sup>e</sup>	۶۷/۶۶ <sup>c</sup>	۰/۰۶۴۳ <sup>cd</sup>	۰/۰۰۲۰ <sup>c</sup>	۰/۰۶۲۵ <sup>e</sup>	۰/۷۸۳ <sup>c</sup>	۶۲/۵۷ <sup>b</sup>	
T <sub>6</sub>	۴۳/۲ <sup>f</sup>	۰/۰۶۱ <sup>f</sup>	۰/۰۰۱۸ <sup>f</sup>	۰/۰۰۵۹ <sup>f</sup>	۰/۸۰۷ <sup>e</sup>	۶۲/۶۸ <sup>d</sup>	۰/۰۶۲۸ <sup>c</sup>	۰/۰۰۱۸ <sup>c</sup>	۰/۰۶۰۸ <sup>d</sup>	۰/۷۶۳ <sup>de</sup>	۵۷/۷۷ <sup>c</sup>	
T <sub>1</sub>	۴۹/۱۰ <sup>a</sup>	۰/۰۷۹ <sup>a</sup>	۰/۰۰۲۵ <sup>a</sup>	۰/۰۰۶۶ <sup>a</sup>	۰/۸۲۸ <sup>a</sup>	۷۵/۶۳ <sup>a</sup>	۰/۰۶۷۷ <sup>a</sup>	۰/۰۰۲۱ <sup>a</sup>	۰/۰۶۵۷ <sup>a</sup>	۰/۷۹۷ <sup>a</sup>	۷۱/۱۴ <sup>a</sup>	
T <sub>2</sub>	۴۴/۸۳ <sup>c</sup>	۰/۰۷۳ <sup>c</sup>	۰/۰۰۲۳ <sup>b</sup>	۰/۰۰۷۰ <sup>d</sup>	۰/۸۲۲ <sup>b</sup>	۶۶/۶۴ <sup>c</sup>	۰/۰۶۳۵ <sup>d</sup>	۰/۰۰۱۹ <sup>cd</sup>	۰/۰۶۱۵ <sup>c</sup>	۰/۷۶۳ <sup>cd</sup>	۶۰/۹۷ <sup>b</sup>	
T <sub>3</sub>	۴۷/۷۰ <sup>b</sup>	۰/۰۷۴ <sup>b</sup>	۰/۰۰۲۳ <sup>c</sup>	۰/۰۰۷۲ <sup>c</sup>	۰/۸۱۰ <sup>c</sup>	۷۲/۱۳ <sup>a</sup>	۰/۰۶۶۵ <sup>b</sup>	۰/۰۰۲۰ <sup>b</sup>	۰/۰۶۴۵ <sup>b</sup>	۰/۷۹۳ <sup>ab</sup>	۶۷/۱۵ <sup>a</sup>	
T <sub>4</sub>	۴۴/۱۱ <sup>d</sup>	۰/۰۶۹ <sup>d</sup>	۰/۰۰۲۱ <sup>d</sup>	۰/۰۰۶۷ <sup>b</sup>	۰/۸۱۳ <sup>c</sup>	۶۵/۹۹ <sup>c</sup>	۰/۰۶۲۰ <sup>e</sup>	۰/۰۰۱۷ <sup>f</sup>	۰/۰۶۰۰ <sup>f</sup>	۰/۷۵۸ <sup>c</sup>	۵۴/۰۵ <sup>bc</sup>	
T <sub>5</sub>	۴۲/۳۳ <sup>c</sup>	۰/۰۶۵ <sup>c</sup>	۰/۰۰۲۱ <sup>d</sup>	۰/۰۰۶۳ <sup>c</sup>	۰/۷۹۹ <sup>d</sup>	۶۴/۹۴ <sup>c</sup>	۰/۰۶۴۵ <sup>c</sup>	۰/۰۰۱۸ <sup>c</sup>	۰/۰۶۲۳ <sup>d</sup>	۰/۷۵۵ <sup>c</sup>	۶۰/۰۱ <sup>b</sup>	
T <sub>6</sub>	۳۹/۸۶ <sup>f</sup>	۰/۰۶۲ <sup>f</sup>	۰/۰۰۱۷ <sup>e</sup>	۰/۰۰۶۰ <sup>f</sup>	۰/۷۹۸ <sup>d</sup>	۶۱/۶۴ <sup>d</sup>	۰/۰۶۴۷ <sup>c</sup>	۰/۰۰۱۹ <sup>de</sup>	۰/۰۶۲۷ <sup>d</sup>	۰/۷۶۸ <sup>c</sup>	۵۴/۲۳ <sup>bc</sup>	

\*در هر مقایسه وجود حداقل یک حرف مشترک نشان دهنده عدم وجود تفاوت آماری در سطح احتمال پنج درصد می باشد.

نتایج این تحقیق با نتایج سایر محققان (Ozgen and Palta, 2004; Ozgen *et al.*, 2006) در زمینه اثر کلسیم بر سیب‌زمینی مطابقت دارد. با توجه به تحقیقات انجام شده (Kleinhenz and Palta, 2002)، اگر در زراعت سیب‌زمینی کلسیم موجود در خاک، کم باشد و در گیاه نیز به اندازه کافی وجود نداشته باشد (مخصوصاً در شرایط دمای بالا)، آنزیم پلی‌گالاکتوروناز فعال شده و باعث تجزیه و تخریب پلی‌ساکاریدهای دیواره سلولی می‌شود و به دنبال آن دیواره سلولی دچار از هم‌پاشیدگی می‌شود. علاوه بر آن کمبود کلسیم باعث کاهش فشار آماس و کاهش رشد در ریشه سیب‌زمینی و به دنبال آن کاهش جذب آب و مواد غذایی از خاک و نهایتاً کاهش عملکرد می‌شود (Kleinhenz and Palta, 2002). هم‌چنین گزارش شده است که وجود کلسیم در محیط ریشه، موجب افزایش محتوای  $Ca^{+2}$  برگ، افزایش مقاومت حرارتی غشاء، هدایت روزنه و افزایش تولید غده در سیب‌زمینی می‌شود (Kleinhenz and Palta, 2002). در خصوص اثر جاسمونیک-اسید نیز ثابت شده است که کاربرد توبرونیک اسید (یکی از مشتقات جاسمونیک اسید) با ایجاد اختلال در میکروتوبول‌های قشری سلول‌های ریزوم، از طریق تغییر فرآیندهای بیوشیمیایی مانند تغییر در تعادل هورمونی در نوک ریزوم، اجازه می‌دهد تا رشد شعاعی مرتبط با غده‌زایی صورت بگیرد و منجر به افزایش تعداد غده و نهایتاً افزایش عملکرد شود (Matsuki *et al.*, 1992). کاربرد جاسمونیک‌اسید در سیب‌زمینی موجب افزایش ضخامت مریستم و کاهش طول برگ اولیه در ناحیه قلاب مانند ریزوم می‌شود، و در ناحیه متورم شده ریزوم باعث تمایز بافت‌های اولیه آوندی و به‌خصوص عناصر آوندی چوبی و نهایتاً بزرگ شدن مریستم و غده‌زایی می‌شود (Cenzano *et al.*, 2007). در بررسی که در تولید گلخانه‌ای سیب‌زمینی صورت گرفت (Prauski *et al.*, 2003) مشاهده شد که بیش‌ترین تعداد ریزغده در ارقامی به‌دست آمد، که با اسیدجاسمونیک تیمار شدند که با نتایج این تحقیق منطبق می‌باشد.

### نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج این تحقیق مشخص شد که جاسمونیک‌اسید و کلسیم، در هر دو مرحله قبل و بعد از ریزوم‌دهی، از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان باعث کاهش اثرات نامطلوب تنش دمایی و به دنبال آن، افزایش معنی‌دار عملکرد در هر سه مورد آزمایش نسبت به شاهد شد. به‌علاوه این اثر مطلوب، زمانی که جاسمونیک‌اسید و کلسیم به‌صورت ترکیبی و قبل از ریزوم‌دهی اعمال شد بیش‌تر بود. پس چنین می‌توان استنباط نمود که کاربرد تیمار ترکیبی جاسمونیک‌اسید و کلسیم در مرحله قبل از ریزوم‌دهی، علاوه بر کاهش اثرات سوء تنش دما، از طریق تحریک و افزایش غده‌زایی باعث حصول عملکرد بیش‌تر نسبت به سایر تیمارهای مورد بررسی می‌شود.

## منابع

- Akula, N., Shashank, K., Pandey, C., Upadhyaya, P., Jeon, J. H., Hyun, S. K., Se, C. C., Kim, D.H. and Park, S. W. 2012.** Role of Ca<sup>2+</sup>-mediated signaling in potato tuberization, an overview. *Botanical Studies*, 53: 177-189.
- Anjum, S. A., Wang, L., Farooq, M., Khan, I. and Xue, L. 2011.** Methyljasmonate-induced alteration in lipid peroxidation, antioxidative defense system and yield in soybean under drought. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 197: 296–301.
- Arnon, D. I. 1940.** Copper enzymes in isolated chloroplasts polyphenol oxidase. *Journal of Plant Physiology*, 45: 100-114.
- Bandurska, H., Stroinski, A. and Jan, K. 2003.** The effect of Jasmonate on the accumulation of ABA, proline and its influence on membrane injury under water deficient in two barley genotypes. *Acta Physiologiae Plantarum*, 25: 279–285.
- Bai, X., Sun, C., Xie, J., Song, H., Zhu, Q., Su, Y., Qian, H. and Fu, Z. 2015.** Effects of atrazine on photosynthesis and defense response and the underlying mechanisms in *Phaeodactylum tricornutum*. *Environmental Science & Pollution Research*, 22:17499–17507.
- Blasco, B., Graham, N. S. and Broadley, M. R. 2015.** Antioxidant response and carboxylate metabolism in *Brassica rapa* exposed to different external Zn, Ca, and Mg supply. *Journal of Plant Physiology*, 176: 16–24.
- Bradford, M. 1976.** A rapid and sensitive method for the quantization of protein utilizing the principle of protein- day binding. *Annual Review of Biochemistry*, 72: 248- 254.
- Cakmak, I. and Horst, W. 1991.** Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities in root tip of soybean (*Glysin max*). *Plant Physiology*, 83: 463-468.
- Cenzano, A., Abdala, G. and Hause, B. 2007.** Cytochemical immuno-localization of oxide cyclase, a jasmonic acid biosynthetic enzyme, in developing potato stolons. *Journal of Plant Physiology*, 11: 1449-1456.
- Dean, J. A. 1986.** *Legends handbook of chemistry* CRC Press, pp 5: 96-101.
- Erinle, K. O., Jiang, Z., Ma, B., Li, J., Chen, Y., Ur-Rehman, K., Shahla, A. and Zhang, Y. 2016.** Exogenous calcium induces tolerance to atrazine stress in *Pennisetum* seedlings and promotes photosynthetic activity, antioxidant enzymes and psbA gene transcripts. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 132: 403–412.
- Giannopolitis, C. and Ries, S. 1997.** Super oxide dismutase occurrence in higher plant. *Plant Physiology*, 59: 304-314.
- Guimaraes, F. V. A., Lacerda, C. F., Marques, E. C., Miranda, M. R. A., Tarquinio Prisco, C. E. B. and Gomes-Filho, E. 2011.** Calcium can moderate changes on membrane

structure and lipid composition in cowpea plants under salt stress. *Plant Growth Regulation*, 65: 55–63.

**Heath, R. L. and Pacher, L. 1969.** Photo per oxidation in isolated chloroplast I Kinetics and stanchion metry of fatty acid per oxidation. *Arch Biochemical Biophysics*, 25: 89-98.

**Hegar, H., Ueda, N. and Shal, S. V. 1996.** Role of reactive oxygen metabolites in DNA damage and cell death in chemical hypoxic injury LLC-PK1 cells. *American Journal of Plant Physiology*, 271: 209-215.

**Hetherington, A. M. and Brownlee, C. 2005.** The generation of Ca<sup>2+</sup> signals in plants. *Annual Review of Plant Biology*, 55: 401–27.

**Kalaji, H. M. and Guo, P. 2008.** Chlorophyll fluorescence: a useful tool in barley plant breeding programs. In: *Photochemistry Research Progress*, 12: 447-471.

**Kar, M. and Mishra, D. 1976.** Cataloes, Peroxides and poly phenol oxides activities during rice leaf senescence. *Plant Physiology*, 57: 315-319.

**Karlsson-Bjorn, H., Palta, J. P. and Crump, P. M. 2006.** Enhancing tuber calcium concentration may reduce incidence of black spot bruise injury in potatoes. *Horticulture Science*, 41(5): 1213-1221.

**Kleinhenz, M. D. and Palta, J. P. 2002.** Root zone calcium modulates the response of potato plant to heat stress. *Physiologia Plantarum*, 115: 111-118.

**Kumar, D., Minhas, J.S. and, B. P. 2007.** Calcium as a supplementary nutrient for potatoes grown under heat stress in sub-tropics. *Potato Journal*, 34 (3 - 4): 159-163.

**Li, G., Peng, X. Q., Wei, L.T. and Kang, G. Z. 2013.** Salicylic acid increases the contents of glutathione and ascorbate and temporally regulates the related gene expression in salt-stressed wheat seedlings. *Gene*, 529: 321–325.

**Mahmood, M., Bidabadi, S. S., Ghobadi, C. and Gray, D. J. 2012.** Effect of methyl jasmonate treatments on alleviation of polyethylene glycol-mediated water stress in banana (*Musa acuminata* cv. 'Berangan', AAA) shoot tip cultures. *Plant Growth Regulation*, 68: 161–169.

**Martin- closes, L. I., Sol, S. and pelacho, A. M. 1998.** Potential application of Jasmonic acid for *Solanum tuberosum*. micropropagation ISHS Acta Horticulturae 520: XXV International Horticultural Congress, Part 10: Application of Biotechnology and Molecular Biology and Breeding - In Vitro Culture.

**Matsuki, T., Tazaki, H., Fujimori, T. and Hogetsu, T. 1992.** The influences of jasmonic acid methyl ester on microtubules in potato cells and formation of potato tubers. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 56: 1329-1330.

**Nakano, Y. and Asada, K. 1981.** Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in Spanish chloroplasts. *Plant and cell physiology*, 22(5): 867-880.

- Nishiyama, Y., Allakhverdiev, S. I., Yamamoto, H., Hayashi, H. and Murata, N. 2004.** Singlet oxygen inhibits the repair of photosystem II by suppressing the translation elongation of the D1 protein in *Synechocystis* sp. *Biochemistry*, 43: 11321–11330.
- Oxborough, K. 2004.** Imaging of chlorophyll a fluorescence: theoretical and practical aspects of an emerging technique for the monitoring of photosynthetic performance. *Journal of Experimental Botany*, 55: 1195-1205.
- Ozgen, S. and Palta, P. J. 2004.** Supplemental calcium application influences potato tuber number and size. *Horticulture Science*, 40 (1): 102-105.
- Ozgen, S., Karlsson, B. H. and Palta, P. J. 2006.** Response of potatoes to supplemental calcium application under field condition: tuber calcium, yield, and incidence of internal brown spot. *American Journal of Potato Resarche*, 83: 195-204.
- Pruski, K., Astatkie, T., Duplessis, P., Lewis, T., Nowak, J. and Struik, P. C. 2003.** Use of jasmonate for conditioning of potato plantlets and microtubers in greenhouse production of minitubers. *American Journal of Potato Research*, 80: 183-193.
- Qiu, Z. B., Guo, J. L., Zhu, A. J., Zhang, L. and Zhang, M. M. 2014.** Exogenous jasmonic acid can enhance tolerance of wheat seedlings to salt stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 104: 202–208.
- Qiu, Z. B., Li, J. T., Zhang, M.M., Bi, Z. Z. and Li, Z. L. 2013.** He–Ne laser pretreatment Protects wheat seedlings against cadmium-induced oxidative stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 88: 135–141.
- Rezai, S., Orojloo, M., Bidabadi, S. S. and Soleimanzadeh, M. 2013.** Possible role of methyl jasmonate in protection to NaCl-induced salt stress in pepper cv. “Green Hashemi”. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, 17: 1235–1238.
- Sasaki-Sekimoto, Y., Taki, N. and Obayashi, T. 2005.** Coordinated activation of metabolic pathways for antioxidants and defence compounds by jasmonates and their roles in stress tolerance in *Arabidopsis*. *The Plant Journal*, 44: 653–668.
- Seo, H. S., Kim, S. K., Jang, S. W., Choo, Y. S., Sohn, E.Y. and Lee, I. J. 2005.** Effect of jasmonic acid on endogenous gibberellins and abscisic acid in rice under NaCl stress. *Biologia Plantarum*, 49: 447–450.
- Shan, C. and Liang, Z. 2010.** Jasmonic acid regulates ascorbate and glutathione metabolism in *Agropyron cristatum* leaves under water stress. *Plant Science*, 178: 130–139.
- Tan, W., Meng, Q. W., Brestic, M., Olsovska, K. and Yang, X. H. 2011.** Photosynthesis is improved by exogenous calcium in heat-stressed tobacco plants. *Journal of Plant Physiology*, 168: 2063–2071

**Trehan, S. P. and, B. P. 2013.** Nutrient efficiency of different crop species and potato varieties – in retrospect and prospect. *Potato Journal*, 40 (1): 1-21.

**Wu, F., Bao, W., Li, F. and Wu, N. 2008.** Effect of drought stress and N supply on the growth, biomass partitioning and water use efficiency of *Sophora davidii* seedlings. *Environmental and Experimental Botany*, 63: 248-255.

**Yang, S., Wang, F., Guo, F., Meng, J. J., Li, X.G. and Wan, S. B. 2015.** Calcium contributes to photoprotection and repair of photosystemII in peanut leaves during heat and high irradiance. *Journal of Integrative Plant Biology*, 57: 486–495.

**Zhou, R., Li, B., Liu, H. and Sun, D. 2009.** Progress in the participation of Ca<sup>2+</sup>–calmodulin in heat shock signal transduction, *A Review. Progress in Natural Science*, 19: 1201–1208.