

بررسی نقش کودهای آلی مایع در افزایش مقاومت به تنش خشکی گیاه اسفناج رقم ویروفلی در شرایط گلخانه

Investigating the Role of Organic Fertilizers in Increasing *Spinacea oleracea* L. Variety Virofly Resistance to Drought Stress in Greenhouse Conditions

ادریس گویلی کیلانه^{۱*}، محمد بابا اکبری ساری^۱، اکبر حسنی^۱، میلاد پرو^۲، ستاره امانی فر^۱

۱. گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران.

۲. گروه صنعتی پژوهشی فرهیختگان زرنام، استان البرز، شهر هشتگرد، ایران.

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: (Edris_Gavili@Yahoo.com)

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۲/۲۵، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۶/۳۱

چکیده

تنش خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیرزنده است که با ایجاد اختلال در جذب آب و مواد غذایی و فرآیندهای فیزیولوژیکی، رشد و عملکرد گیاهان را به‌ویژه در مناطق خشک و نیمه‌خشک محدود می‌سازد. به منظور بررسی نقش کودهای آلی در بهبود عملکرد اسفناج در شرایط تنش خشکی، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی، در سه تکرار در شرایط گلخانه‌ای انجام شد. تیمارها شامل ۱۳ سطح منفرد و مخلوط کودهای مایع زرگرین، ملاس و ویناس با نسبت‌های ۱۰۰-۰-۰ (Z1)، ۷۵-۲۵-۰ (Z2)، ۲۵-۵۰-۰ (Z3)، ۲۵-۲۵-۵۰ (Z4)، ۱۰۰-۰-۰ (M5)، ۷۵-۲۵-۰ (M6)، ۲۵-۷۵-۰ (M7)، ۵۰-۲۵-۰ (M8)، ۱۰۰-۰-۰ (V9)، ۷۵-۰-۲۵ (V10)، ۷۵-۲۵-۰ (V11)، ۵۰-۲۵-۲۵ (V12) و ۰-۰-۰ (C13) در گلدان‌های سه کیلوگرمی به میزان ۰/۱۴ میلی‌لیتر و دو سطح رطوبتی ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه و ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه بود. نتایج حاصل از آزمایش نشان دادند که تنش خشکی سبب کاهش وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه، ارتفاع، کلروفیل a و کلروفیل b و همچنین افزایش میزان کربوهیدرات‌های محلول گردید، در حالی که استفاده از کودهای آلی سبب بهبود شرایط در مقایسه با شاهد شدند. بهترین تیمار (Z1) سبب افزایش ۳۴٪ ارتفاع، ۵۳٪ وزن تر، ۳۰٪ کلروفیل a و ۳۵٪ کلروفیل b و کاهش ۳۵٪ کربوهیدرات‌های محلول و ۵٪ میزان آب مصرفی گردید. به‌طور کلی، استفاده از کودهای آلی توانست بخشی از اثرات منفی تنش خشکی را کاهش داده و عملکرد اسفناج را بهبود بخشد.

واژه‌های کلیدی: اسید آمینه، زرگرین، کلروفیل، ملاس، ویناس.

مقدمه

اسفناج^۱ گیاهی یک‌ساله از خانواده تاج‌خروسیان^۲ و بومی جنوب غربی آسیا و آسیای مرکزی است که به‌دلیل ارزش غذایی بالا، در بسیاری از کشورها به‌ویژه در مناطق با آب‌وهوای خنک کشت می‌شود. اسفناج از سبزی‌های برگ‌سبز باارزش و از نظر اقتصادی مهم است که به‌دلیل دارا بودن میزان بالایی از ویتامین‌های ضروری، فیبرهای غذایی، عناصر معدنی و ترکیبات شیمیایی گیاهی، نقش مهمی در تغذیه انسان دارد (Belic et al., 2020). این گیاه هم به‌صورت تازه و هم فرآوری شده در رژیم غذایی انسان مصرف می‌شود و به‌عنوان یک مکمل غذایی مؤثر برای ارتقاء سلامت عمومی توصیه می‌گردد. اسفناج سرشار از ترکیبات

فنی نظیر اسپیناستین، پاتولتین و مشتقات گلوکوکرونیید است که این ترکیبات نقش مهمی در عملکردهای زیستی و خواص درمانی آن دارند (Singh et al., 2018). افزون بر ویژگی‌های تغذیه‌ای، این گیاه به دلیل اثرات بیولوژیکی قابل توجه خود نظیر کاهش چربی و قند خون، خاصیت ضد چاقی و ضدسرطان در رابطه با سلامت عمومی انسان مورد توجه قرار گرفته است (Roberts & Moreau., 2016). براساس آخرین آمار سازمان غذا و کشاورزی ملل متحد (FAO, 2023) سطح زیر کشت اسفناج در ایران معادل ۵۰۶۸ هکتار و با توجه به عملکرد ۲۰۳۷۳ کیلوگرم در هکتار، میزان تولید معادل ۱۰۳۲۵۳ تن می‌باشد. اسفناج گیاهی با محتوای آب بالا است و بنابراین به شدت نسبت به تنش خشکی حساس می‌باشد. تنش خشکی رشد گیاه، تجمع ماده خشک در شاخساره، بهره‌وری مصرف آب، جذب عناصر غذایی، محتوای نسبی آب، میزان پروتئین، هدایت روزنه‌ای، پارامترهای بیوشیمیایی و هدایت هیدرولیکی اشباع را تحت تأثیر منفی قرار می‌دهد (Seymen, 2021). تنش‌های غیرزیستی^۱ از جمله مهم‌ترین عوامل محدودکننده رشد و تولید محصولات کشاورزی در جهان محسوب می‌شوند. این تنش‌ها شامل خشکی، شوری، دماهای بالا و پایین، یخبندان، اشعه فرابنفش، فلزات سنگین و کمبود یا بیش‌بود عناصر غذایی هستند که می‌توانند به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم بر عملکرد گیاه تأثیر بگذارند (Pandey et al., 2023). در میان این تنش‌ها، تنش خشکی یکی از مهم‌ترین و شایع‌ترین عوامل محدودکننده رشد گیاهان است که با تغییرات اقلیمی جهانی شدت و فراوانی آن افزایش یافته است (Farooq et al., 2009). تنش خشکی باعث کاهش پتانسیل آب خاک و ایجاد تنش آبی در گیاه می‌شود که در نهایت فرآیندهایی مانند جذب آب، انتقال عناصر غذایی، تقسیم سلولی، توسعه اندام‌ها و فتوسنتز را مختل می‌کند (Wang et al., 2024). از طرفی در مناطق خشک و نیمه خشک، بحران کمبود آب یکی از مشکلات اساسی است و سبب ایجاد تنش‌های خشکی و شوری به گیاهان و اثر منفی بر فتوسنتز و در نتیجه کاهش رشد گیاهان و تولید محصول می‌شود (Bielach et al., 2017). کودهای آلی که به‌عنوان محرک‌های زیستی^۲ استفاده می‌شوند شامل ترکیبات یا میکروارگانیسم‌هایی هستند که به‌منظور بهبود رشد، نمو، عملکرد و کیفیت محصولات کشاورزی، بر روی گیاه، بذر یا خاک اعمال می‌شوند. نقش اصلی این ترکیبات، افزایش مقاومت گیاهان در برابر تنش‌های زیستی (عوامل بیماری‌زا) و غیرزیستی (مانند شوری، خشکی، گرما و سرما) است. محرک‌های زیستی از منابع گوناگونی تهیه می‌شوند که از جمله آن‌ها می‌توان به مواد هیومیکی، مواد آلی پیچیده (مانند عصاره لجن فاضلاب، کمپوست‌ها)، عناصر شیمیایی خاص (نظیر آلومینیوم، کبالت، سدیم، سلنیوم و سیلیسیم)، نمک‌های معدنی مانند فسفیت‌ها، عصاره‌های جلبک دریایی (قهوه‌ای، قرمز و سبز)، و پروتئین هیدرولیزات‌های گیاهی و حیوانی اشاره کرد (Yakhin et al., 2017). در سال‌های اخیر، خیساب ذرت تخمیری که محصول جانبی فرآیند آسیاب مرطوب ذرت است، به‌عنوان یک منبع بالقوه برای فرمولاسیون محرک‌های زیستی مورد توجه قرار گرفته است. خیساب ذرت تخمیری حاوی مجموعه‌ای از ترکیبات زیست‌فعال (بیولوژیکی) است که می‌توانند مستقیماً یا به‌صورت غیرمستقیم، بر مسیرهای فیزیولوژیکی و متابولیکی گیاه تأثیرگذار باشند. ترکیبات موجود در این ترکیب ممکن است در تنظیم مسیرهای سازگاری گیاه با تنش‌ها شرکت کرده یا به‌عنوان ترکیبات سیگنال‌دهنده و محرک رشد عمل کنند (Navarro-Morillo et al., 2023). در مطالعه‌ای دیگر (Kausar et al., 2023) دو رقم اسفناج تحت تأثیر تیمارهای مختلف اسید آمینه مانند متیونین، تیروزین، فنیل آلانین، پرولین و ترکیب آن‌ها، هرکدام با غلظت ۲۵۰ میلی گرم در لیتر، در دو سطح آبیاری ۱۰۰ درصد (شاهد) و ۵۰ درصد (تنش خشکی) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آن‌ها نشان داد که تنش خشکی به‌طور قابل توجهی سبب کاهش ویژگی‌های رشد و عملکرد اسفناج و نیز کاهش جذب عناصر غذایی ضروری شد. با این حال، استفاده از اسیدهای آمینه منجر به بهبود معنی‌دار در ترکیب کمی و کیفی متابولیت‌های ثانویه (مانند فلاونوئیدها و ترکیبات فنولی)، ارتقاء شاخص‌های رشد شامل طول ریشه، وزن تر و خشک ریشه و ساقه، بهبود ویژگی‌های عملکردی مانند تعداد و وزن برگ، سطح برگ و عملکرد کل، افزایش جذب عناصر غذایی نظیر کلسیم و پتاسیم، و تقویت فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز و پراکسیداز شد. انواع مختلف محرک‌های زیستی، از جمله عصاره‌های جلبک دریایی، ترکیبات میکروبی، هیدرولیزات‌های پروتئینی و متابولیت‌های گیاهی، به دلیل نقش مؤثرشان در کاهش اثرات تنش‌های محیطی مانند گرما و خشکی، به‌طور گسترده مورد توجه قرار گرفته‌اند. اگرچه این محرک‌ها از نظر ترکیب و نحوه عملکرد متفاوت‌اند، اما مکانیسم‌های فیزیولوژیکی و مولکولی مشابهی را به اشتراک می‌گذارند که موجب افزایش تحمل گیاه به شرایط نامساعد محیطی

می‌شود. یکی از مکانیسم‌های کلیدی، تنظیم تعادل اسمزی از طریق تجمع اسمولیت‌های سازگار مانند پرولین، گلیسین بتائین و قندهای محلول است. این ترکیبات به حفظ آماس سلولی و حفاظت از ماکرومولکول‌ها در شرایط کم‌آبی کمک می‌کنند (Carillo *et al.*, 2025). مطالعات نشان داده‌اند که استفاده از خیساب ذرت تخمیری می‌تواند تحمل گیاهان را در برابر تنش‌هایی نظیر دمای بالا، نور شدید، محدودیت‌های تغذیه‌ای، شوری، خشکی و عوامل بیماری‌زا افزایش دهد. ترکیبات موجود در خیساب می‌توانند به‌عنوان محرک‌های زیستی عمل کرده و سبب ارتقای مقاومت گیاه، بهبود جذب عناصر غذایی و تحریک رشد شوند. همچنین، استفاده از آن در سیستم‌های کشت بدون خاک (هیدروپونیک) به بهبود کارایی مصرف آب و عناصر غذایی کمک کرده و در خاک نیز با افزایش فعالیت میکروبی، موجب بهبود ساختار و حاصلخیزی خاک می‌شود. از این‌رو فراوری و هیدرولیز خیساب نه‌تنها راهکاری برای مدیریت پایدار ضایعات صنعتی به شمار می‌رود، بلکه به‌عنوان ورودی کم‌هزینه و زیست‌سازگار، در تولید کشاورزی پایدار نقشی مهم ایفا می‌کند (Garcia-Sanchez *et al.*, 2024). در سال‌های اخیر، با افزایش آگاهی عمومی نسبت به مسائل زیست‌محیطی، پایداری منابع و تغییرات اقلیمی، توجه ویژه‌ای به استفاده مجدد از ضایعات و محصولات جانبی صنایع کشاورزی و غذایی معطوف شده است. این تغییر رویکرد نه‌تنها امکان کاهش چشمگیر آلودگی‌های زیست‌محیطی را فراهم می‌آورد، بلکه زمینه‌ساز ایجاد ارزش اقتصادی افزوده و بهره‌وری بیشتر از منابع موجود نیز می‌باشد (Orozco *et al.*, 2023). با توجه به حجم عظیم این ضایعات و فعالیت آبی بالای بسیاری از آن‌ها که شرایط مناسبی برای رشد و تکثیر میکروارگانیسم‌ها فراهم می‌کند دفع غیراصولی این مواد می‌تواند منجر به مشکلات زیست‌محیطی جدی نظیر انتشار بوی نامطبوع، آلودگی منابع آب و خاک و افزایش تولید گازهای گلخانه‌ای شود (Colovic *et al.*, 2019). با این حال، این پسماندها در صورت جمع‌آوری، فراوری و بهره‌برداری صحیح، می‌توانند به منابع باارزشی در حوزه‌های مختلف تبدیل شوند. کاربردهایی مانند تولید کودهای آلی، بیوگاز، بیوجار، خوراک دام، استخراج ترکیبات زیست‌فعال، تولید لوازم آرایشی و دارویی، سرکه و پوشش‌های خوراکی تنها بخشی از ظرفیت‌های بالقوه این ضایعات را نمایان می‌سازد (Peng *et al.*, 2023). توسعه این رویکردها، ضمن کاهش هزینه‌های دفع ضایعات و تولید آلودگی، موجب ارتقای بهره‌وری صنایع غذایی، حمایت از کشاورزی پایدار، تحقق مفاهیم اقتصاد چرخشی و زیست‌اقتصاد و کاهش فشار بر منابع طبیعی می‌شود. همچنین، این راهکارها با ایجاد جریان‌های درآمدی نوین، می‌توانند نقش مؤثری در تقویت اقتصاد محلی و منطقه‌ای ایفا کنند (Gomez-García *et al.*, 2021). در پالایشگاه غلات زر در طی فرایند آسیاب مرطوب ذرت و تولید محصولاتی مانند گلوکز، فرکتوز، نشاسته، جوانه ذرت، فیبر و ... مایعی با درصد بالای ماده آلی تولید می‌گردد که بعد از انجام فرآیندهای هیدرولیز تخمیری و آنزیمی، این ماده به ترکیبی ارزشمند تحت عنوان پروتئین هیدرولیزات گیاهی (با برند تجاری زرگرین) مبدل می‌گردد که دارای pH اسیدی بخاطر حضور اسیدهای آلی، اسیدآمین‌های مختلف به فرم آزاد، ماده آلی، پلی ساکاریدها و عناصر غذایی مورد نیاز گیاهان شامل نیتروژن، فسفر، پتاسیم می‌باشد (Zahedifar *et al.*, 2025). همچنین طی فرآیند تولید قند، مقدار زیادی ملاس چغندر قند تولید می‌شود. ملاس ترکیبی آلی با درصد بالای کربوهیدرات‌ها است که علاوه بر قند، حاوی مواد دیگری چون اسیدهای آمینه، پروتئین‌ها، اسیدهای آلی و عناصر معدنی است (Li *et al.*, 2020). در کارخانه‌های الکل‌سازی پس از تخمیر ملاس چغندر قند توسط مخمرها، قند تبدیل به الکل می‌شود و پسماند ملاس که حاوی اسیدهای آمینه متنوع است تحت عنوان ویناس به فاضلاب تصفیه‌خانه هدایت می‌گردد (Dias *et al.*, 2024).

کودهای زرگرین (حاصل فرآیند آسیاب مرطوب ذرت)، ملاس (محصول جانبی کارخانه‌های قند) و ویناس (پسماند تولید الکل از ملاس) منابعی غنی از ترکیبات آلی و عناصر غذایی هستند که به‌صورت گسترده و با قیمت مناسب در دسترس هستند. با وجود پتانسیل بالای این منابع آلی در بهبود کشاورزی پایدار و کاهش وابستگی به کودهای شیمیایی، تاکنون مطالعه جامع و مستقلی که اثرات منفرد و ترکیبی آن‌ها بر رشد و عملکرد اسفناج را بررسی کند انجام نشده است. با توجه به قابلیت مکمل‌سازی و هم‌افزایی این ترکیبات، پژوهش حاضر با هدف ارزیابی اثر کودهای مایع آلی منفرد و ترکیبی بر ویژگی‌های رشد و عملکرد اسفناج در شرایط تنش خشکی اجرا شد.

مواد و روش‌ها

تهیه، آماده‌سازی و تعیین ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی اولیه خاک

مقدار مورد نیاز خاک از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری (از زمین کشاورزی شرکت گروه صنعتی پژوهشی فرهیختگان زرنام واقع در استان البرز، شهر هشتگرد با مشخصات جغرافیایی با طول و عرض جغرافیایی به ترتیب ۵۰°۴۲' شرقی و ۳۵°۵۵' شمالی) برداشت شده و پس از جمع‌آوری، هوا خشک شد. نمونه‌ها را از الک دو میلی‌متری عبور داده و برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک با استفاده از روش‌های معمول استاندارد به شرح زیر اندازه‌گیری شدند: بافت خاک (فراوانی نسبی ذرات شن، رس و سیلت) به روش هیدرومتری، pH در عصاره اشباع با دستگاه pH متر، ماده آلی به روش اکسایش با بی‌کرومات پتاسیم و سپس تیتراژ کردن با آمونیوم فروسولفات معروف به روش ترسوزانی، کربنات کلسیم معادل با روش تیتراسیون با اسید کلریدریک، قابلیت هدایت الکتریکی در عصاره اشباع به وسیله هدایت‌سنج الکتریکی، فسفر قابل‌استفاده به روش اولسن و با عصاره‌گیری با بی‌کربنات سدیم، نیتروژن کل به روش کج‌لدال، غلظت عناصر کم‌مصرف کاتیونی (منگنز، روی و آهن) به روش عصاره‌گیری با دی.تی.پی.۱. اندازه‌گیری شد (جدول ۱). ویژگی‌های شیمیایی کودهای آلی مورد استفاده در جدول ۲ ارائه شده است (Zahedifar et al., 2025).

جدول ۱ - برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده برای کشت.

Table 1. Some physical and chemical properties of soil used for cultivation.

قابلیت هدایت الکتریکی EC (dS/m)	اسیدیته pH	ماده آلی Organic Matter (%)	کربنات کلسیم معادل CCE* (%)	کلاس بافت Soil Texture	نیتروژن Nitrogen (mg/kg)	فسفر phosphorus (mg/kg)	آهن Iron (mg/kg)	روی Zinc (mg/kg)	منگنز Manganese (mg/kg)
0.395	7.84	0.98	5.83	Loam	810	13.55	10.54	2.15	1.82

* Carbonate calcium equivalent

جدول ۲- خصوصیات شیمیایی کودهای آلی مورد استفاده

Table 2. Chemical properties of organic fertilizers used

اسیدیته pH	ماده آلی (OM) (%)	نیتروژن Nitrogen (%)	فسفر phosphorus (%)	پتاسیم potassium (%)	اسید آمینه آزاد Free Amino Acide (%)	آهن Iron (mg/kg)	روی Zinc (mg/kg)	منگنز Manganese (mg/kg)	منیزیم Magnesium (mg/kg)
3.5-4.5	30	3	2.5	2	6	1000	500	600	5000
6.5-7	52.67	0.75	0.15	1.54	0.24	345	245	75	3500
6-6.5	14.03	1.17	1.79	3.03	0.16	128	102	35	2200

آزمایش گلخانه‌ای

آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار، در شرایط گلخانه گروه صنعتی پژوهشی فرهیختگان زرنام و در پاییز و زمستان ۱۴۰۳ انجام شد. کاشت بذر اسفناج در تاریخ سیزدهم آبان و برداشت محصول در تاریخ هشتم دی، همزمان با رسیدن گیاه به مرحله بلوغ رویشی کامل و بیشترین تراکم برگ‌ها، صورت گرفت (شکل ۱). سه کیلوگرم خاک به گلدان‌های با ارتفاع ۱۷ سانتی‌متر و قطر دهانه ۱۸/۵ سانتی‌متری منتقل شده و تعداد پنج بذر اسفناج رقم ویروفلای (viroflay) کاشته شد

که پس از استقرار گیاهچه‌ها به سه عدد کاهش یافت. فاکتور اول یعنی تیمارهای کودی شامل ۱۳ سطح منفرد و مخلوط کودهای مایع زرگرین، ملاس و ویناس با نسبت‌های ۰-۱۰۰-۰ (Z1)، ۰-۲۵-۷۵ (Z2)، ۰-۷۵-۲۵ (Z3)، ۲۵-۲۵-۵۰ (Z4)، ۰-۱۰۰-۰ (M5)، ۰-۷۵-۲۵ (M6)، ۲۵-۷۵-۰ (M7)، ۲۵-۵۰-۲۵ (M8)، ۱۰۰-۰-۰ (V9)، ۷۵-۰-۲۵ (V10)، ۷۵-۲۵-۰ (V11)، ۵۰-۲۵-۲۵ (V12) و ۰-۰-۰ (C13) در سه کیلوگرم خاک به میزان ۰/۱۴ میلی‌لیتر (به‌منظور کاهش خطای حجم‌سنجی و تسهیل کاربرد، محلول ذخیره‌ای با رقت ۱۰۰ تهیه شد؛ به‌طوری که هر ۰/۱۴ میلی‌لیتر ماده‌ی مؤثر در ۱۴ میلی‌لیتر محلول نهایی توزیع شد) و فاکتور دوم یعنی تنش خشکی شامل دو سطح رطوبتی ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه (بدون تنش) و ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه (تنش ملایم) بود. میزان رطوبت ظرفیت مزرعه به روش وزنی و تجربی محاسبه و معادل ۲۴ درصد بود که در یک گلدان ۳ کیلوگرمی رطوبت ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه معادل ۷۲۰ گرم و و رطوبت ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه معادل ۵۴۰ گرم آب بود. پس از استقرار گیاهچه‌ها، سطوح کودی معرفی شده طی دو مرحله (مرحله اول کاربرد کود (۲۰ روز پس از کاشت) در زمان استقرار گیاهچه و حدود چهار تا شش برگی، و مرحله دوم (۴۰ روز پس از کاشت) در زمان رشد رویشی سریع و حدود هشت تا دوازده برگی) بصورت کود آبیاری اعمال و سطوح رطوبتی ذکر شده در طول فصل رشد با توزین و جبران کمبود آب خاک در زمان آبیاری (هر دو روز یکبار) با افزودن مقدار آب لازم به آن‌ها اعمال شد.



شکل ۱- مراحل مختلف کشت اسفناج

Fig. 1. Different stages of spinach cultivation.

اندازه‌گیری ویژگی‌های رشد و برداشت

در اواخر فصل رشد، ابتدا ارتفاع گیاهان با استفاده از خط‌کش اندازه‌گیری شد و سپس گیاهان از طوقه (سطح خاک) برداشت شدند. شاخساره‌های برداشت شده پس از توزین (وزن تر) با آب معمولی شسته و سپس با آب مقطر شستشو داده شدند. نمونه‌های گیاهی در دمای ۶۵ درجه سلسیوس تا رسیدن به وزن ثابت در آون خشک شدند و پس از آن با ترازوی حساس (با دقت ۰/۰۰۱ گرم) وزن خشک آن‌ها اندازه‌گیری شد. همچنین وزن تر و خشک ریشه‌ها نیز با ترازوی مشابه تعیین گردید. میزان آب مصرفی طی فصل یادداشت شد و با استفاده از نسبت وزن خشک به میزان آب مصرفی، کارایی مصرف آب محاسبه شد. صفات فیزیولوژیکی گیاهان نیز با استفاده از روش‌های زیر اندازه‌گیری شدند:

اندازه‌گیری کلروفیل (a، b و کل) و کارتنوئید

جهت اندازه‌گیری کلروفیل ۰/۲ گرم بافت تازه برگی با ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد داخل هاون چینی به خوبی سابیده شد و پس از آن محلول به دست آمده توسط کاغذ صافی، صاف گردید. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در سانتریفیوژ ۳۶۰۰ rpm قرار داده شدند و شدت جذب آن در طول موج‌های ۶۶۳/۲، ۶۴۶/۸ و ۴۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر (UV – 1800 Shimadzu, Japan) قرائت گردید (Lichtenthalar., 1987)، غلظت رنگرزه‌های کلروفیل a، کلروفیل b و کارتنوئید برحسب میلی‌گرم بر گرم با استفاده از روابط زیر محاسبه گردید:

$$\text{Chl}_a = (12.5A_{663.2} - 2.79A_{646.8}) \times (V / m \times 1000) \quad (1)$$

$$\text{Chl}_b = (21.5A_{646.8} - 5.1A_{663.2}) \times (V / m \times 1000) \quad (2)$$

$$\text{Total chlorophyll} = \text{Chl}_a + \text{Chl}_b \quad (3)$$

$$\text{Carotenoid content} = ([(1000 A_{470} - 1.82 \text{ Chl}_a - 85.02 \text{ Chl}_b) / 198] \times (V / m \times 1000)) \quad (4)$$

m میزان وزن بافت تازه برگ، V میزان حلال استون ۸۰ درصد و A در روابط مختلف مقدار عدد قرائت شده توسط دستگاه اسپکتوفتومتر برای کلروفیل a، کلروفیل b و کارتنوئید می‌باشد.

اندازه‌گیری پرولین

برای محاسبه غلظت پرولین بر حسب میکروگرم بر گرم وزن تر به روش (Bates et al., 1973) ابتدا مقدار ۰/۵ گرم از برگ تازه گیاه را توزین و در ۱۰ میلی‌لیتر محلول سه درصد اسید سولفوسالسیلیک سابیده و سپس نمونه‌ها صاف گردید. در مرحله بعد دو میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین و دو میلی‌لیتر اسید استیک خالص به نمونه‌ها افزوده شد و لوله‌ها در بن‌ماری با دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس به مدت یک ساعت قرار داده شد، سپس لوله‌ها در حمام یخ به مدت نیم ساعت قرار گرفتند. آن گاه به هر لوله آزمایش چهار میلی‌لیتر تولوئن افزوده و آن‌ها را خوب تکان داده تا یک لایه از محلول جدا شود. میزان جذب لایه رنگی فوقانی (حاوی تولوئن و پرولین) با دستگاه اسپکتوفتومتر (UV – 1800 Shimadzu, Japan) در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت گردید.

اندازه‌گیری کربوهیدرات محلول

برای اندازه‌گیری میزان کربوهیدرات محلول، ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد به ۰/۱ گرم ماده خشک گیاهی اضافه و به مدت یک هفته در یخچال نگهداری شد. بعد از گذشت یک هفته، یک میلی‌لیتر از محلول رویی نمونه برداشته و بر روی آن یک میلی‌لیتر آب مقطر و یک میلی‌لیتر فنل پنج درصد افزوده و خوب هم زده شد. سپس پنج میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ (۹۸٪) اضافه شد. ابتدا محلول زرد رنگی به دست آمد که به مرور زمان تغییر رنگ داده و به قهوه‌ای روشن تمایل پیدا کرد. پس از سی دقیقه نگهداری در دمای آزمایشگاه با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج ۴۸۵ نانومتر، میزان جذب تعیین شده و با استفاده از منحنی گلوکز، میزان تغییرات کربوهیدرات‌ها بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک ارزیابی گردید. سپس مقدار کربوهیدرات محلول از رابطه زیر محاسبه شد (Kochert., 1978).

$$Y = ((X \times 0.007) / 0.1) \times 1000 \quad (5)$$

Y: جذب خوانده شده در طول موج ۴۸۵

X: غلظت کربوهیدرات محلول بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک

روش تجزیه و تحلیل اطلاعات

تجزیه و تحلیل آماری داده‌های حاصل از آزمایش فاکتوریل به صورت کاملاً تصادفی با سه تکرار، با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.0 انجام شد. اثرات تیمارهای کودهای آلی و سطوح رطوبتی و همچنین اثرات متقابل آن‌ها بر صفات مورد مطالعه با آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد مقایسه گردید. همچنین نمودارهای لازم برای نمایش نتایج با استفاده از نرم‌افزار Excel 2013 ترسیم شدند.

نتایج و بحث

مقدار کل آب مصرفی در طول دوره رشد گیاه

نتایج مربوط به مقایسه میانگین اثرات اصلی و متقابل تیمارها بر مقدار کل آب مصرفی گیاه در جدول ۳ ارائه شده است. نتایج نشان داد مقدار کل آب مصرفی در تیمارهای سطح رطوبتی ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه به طور معنی داری به میزان ۲۱ درصد کمتر از شاهد (سطح رطوبتی ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه) است که با توجه به مصرف کمتر آب در تیمارهای تحت تنش خشکی قابل توجیه است. همچنین نتایج نشان داد کاربرد همه‌ی تیمارهای کودی سبب کاهش مصرف آب شدند. تیمارهای (Z1)، (M5) و (V9) به عنوان بالاترین درصد از هر کدام از کودهای آلی مورد استفاده سبب کاهش معنی دار مقدار کل آب مصرفی به ترتیب به میزان ۴/۹۸، ۱۴/۶۸ و ۱ درصد در مقایسه با شاهد (سطح رطوبتی ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه) شدند. در تیمارهای (Z1) و (M5) این کاهش مصرف آب عمدتاً ناشی از حضور ماده آلی است. ماده آلی با بهبود ساختار فیزیکی خاک (از طریق تجمع ذرات خاک و تشکیل خاکدانه‌ها)، تخلخل خاک را افزایش داده و در نتیجه ظرفیت نگهداری آب را به طور قابل توجهی بهبود می بخشد. این امر باعث می شود آب کمتری از طریق نفوذ عمقی از دسترس ریشه گیاه خارج شود و در عین حال، رطوبت برای مدت طولانی تری در منطقه ریشه در دسترس باقی بماند. در نتیجه، فواصل آبیاری طولانی تر شده و حجم کل آب مصرفی در طول دوره رشد کاهش می یابد. در مقابل، مکانیسم کاهش مصرف آب در تیمار (V9) کاملاً متفاوت و عمدتاً ناشی از اثرات تنش شوری است. ویناس به دلیل دارا بودن املاح و نمک های زیاد، پتانسیل اسمزی خاک را افزایش می دهد. این امر باعث می شود گیاه برای جذب آب با مشکل مواجه شود (تنش آبی فیزیولوژیک)، که به طور مستقیم منجر به کاهش رشد گیاه (کاهش تولید زیست توده) و بسته شدن روزنه ها می گردد. کاهش سطح برگ و تعرق، به نوبه خود، نیاز آبی گیاه را کاهش می دهد. بنابراین اگرچه در این تیمار مصرف آب کمتر شده است، اما این کاهش بر خلاف تیمارهای آلی، یک مکانیسم منفی و حاصل از ایجاد تنش است که در نهایت به قیمت کاهش عملکرد محصول تمام می شود. در پژوهشی Gil-Ortiz و همکاران (۲۰۲۳)، محرک های زیستی شامل ترابیون آمینوویت، پتاسیم فولوات، اسیدهای هیومیک و عصاره جلبک دریایی را از طریق کودآبیاری و در دو غلظت اعمال کردند. اعمال تیمارهای کودی ۱۰ روز پیش از اعمال تنش خشکی انجام شد و نتایج نشان داد که به جز اسید هیومیک، سایر محرک ها خصوصاً ترابیون آمینوویت، حفاظت قابل توجهی در برابر اثرات منفی خشکی، به ویژه در برگ ها و ریشه ها ایجاد کردند، که بیانگر توان بالقوه ترکیبات حاوی اسیدهای آمینه در تقویت تحمل گیاهان به تنش خشکی است. بیشترین و کمترین میزان کل آب مصرفی به ترتیب با مقادیر ۷۴۰۵ و ۵۰۷۲ میلی لیتر در تیمارهای بدون کاربرد کود (ش ۱۳) و کاربرد کودهای آلی در تیمار (م ۶) و به ترتیب در سطوح ۱۰۰ و ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه مشاهده شد، که با توجه به میزان بالای ماده آلی در این تیمار کودی قابل قبول می باشد.

کارایی مصرف آب

نتایج مربوط به مقایسه میانگین اثرات اصلی و متقابل تیمارها بر کارایی مصرف آب در جدول ۴ ارائه شده است. همانگونه که نتایج نشان می دهد با اعمال سطح رطوبتی ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه در مقایسه با شاهد (۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه) کارایی مصرف آب به طور معنی داری به میزان ۲۲ درصد کاهش یافت. بیشترین و کمترین مقدار کارایی مصرف آب به ترتیب با مقادیر ۱/۹۷ و ۰/۷۵ گرم در لیتر در تیمارهای (M6) و (C13) و به ترتیب در سطوح ۱۰۰ و ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه مشاهده شد. همان گونه که مشاهده می شود در این تحقیق کاربرد تیمارهای کود آلی کارایی مصرف آب را افزایش داده درحالی که افزایش تنش رطوبتی سبب کاهش کارایی مصرف آب شده است. این اثر می تواند ناشی از بهبود ساختار خاک، افزایش ظرفیت نگهداری آب و تهویه ریشه، تقویت فعالیت میکروبی مفید و فراهمی تدریجی عناصر مغذی باشد. علاوه بر این، استفاده از کودهای آلی باعث افزایش توسعه ریشه و جذب عناصر غذایی و رشد بیشتر گیاه شد که منجر به افزایش وزن خشک گردید؛ با توجه به فرمول محاسبه کارایی مصرف آب این افزایش وزن خشک موجب افزایش شاخص کارایی مصرف آب می گردد. در پژوهشی Choi و همکاران (۲۰۲۲)، اثر پروتئین هیدرولیزات گیاهی بر عملکرد و کارایی مصرف آب در کاهو رومانیایی و گوجه فرنگی گیلاسی

گلخانه‌ای بررسی کردند. در این پژوهش گیاهان با چهار سطح نیتروژن و محلول پروتئین هیدرولیزات به صورت برگ‌ی یا ریشه‌ای تیمار شدند. نتایج آن‌ها نشان داد که پروتئین هیدرولیزات استفاده شده به صورت ریشه‌ای در مقایسه با تیمار برگ‌ی، به طور مؤثر عملکرد، فتوسنتز، کلروفیل، فعالیت آن‌تی‌اکسیدانی و کارایی مصرف آب را افزایش داد و این اثر مستقل از سطح نیتروژن و گونه گیاهی بود. این نتایج نشان‌دهنده توان بالقوه پروتئین هیدرولیزات گیاهی به ویژه در کاربرد ریشه‌ای برای افزایش بهره‌وری آب و عملکرد گیاهان در شرایط گلخانه‌ای است. همچنین توسعه ریشه نقش کلیدی در بهینه‌سازی مصرف آب و جذب مواد مغذی ایفا می‌کند و بهبود رشد ریشه‌ها می‌تواند به طور مستقیم بهره‌وری گیاه را افزایش داده و اثرات منفی شرایط استرس‌زا، مانند کم‌آبی یا محدودیت عناصر غذایی را کاهش دهد. در همین راستا در پژوهشی دیگر Polo و همکاران (۲۰۱۸) بیان کردند هیدرولیزات‌های پروتئینی با تحریک رشد و توسعه سیستم ریشه‌ای گوجه فرنگی گیلانی، توانسته‌اند ظرفیت جذب آب و عناصر غذایی را بهبود بخشند و در نتیجه عملکرد، وزن خشک گیاه و کارایی مصرف آب را افزایش دهند.

ارتفاع گیاه

نتایج مربوط به مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارها بر ارتفاع گیاه اسفناج در شکل ۲ نشان می‌دهد که سطح رطوبتی ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه ارتفاع گیاه را در مقایسه با شاهد به طور معنی‌داری به میزان ۱۱ درصد کاهش داد. تنش خشکی با مختل کردن وضعیت آب‌درون سلولی، یکی از ملموس‌ترین تأثیرات خود را بر فشار تورژانس اعمال می‌کند. کاهش این فشار محرک اولیه برای انبساط سلولی، به طور مستقیم سبب مهار رشد سلول‌ها و جلوگیری از بزرگ‌شدن آن‌ها می‌شود. این پدیده در مقیاس کل گیاه، به صورت کاهش ارتفاع و توقف توسعه برگ‌ها مشاهده می‌گردد. علاوه بر این، تنش خشکی با ایجاد بی‌تعادلی در سیستم هورمونی گیاه و تولید گونه‌های فعال اکسیژن، فرآیند پیری زودرس برگ‌ها را تسریع می‌کند. در نتیجه، مساحت سبز مؤثر برای فتوسنتز کاهش یافته و عملکرد نهایی گیاه به شدت تحت تأثیر قرار می‌گیرد. به طور کلی، مکانیسم‌های فیزیولوژیکی ناشی از کم‌آبی، چرخه عمر گیاه را کوتاه و بازدهی آن را محدود می‌سازد (Yang et al., 2021). در شرایط رطوبتی ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه بیشترین مقادیر ارتفاع گیاه مربوط به تیمارهای (Z1)، (Z2) و (M7) بودند که به ترتیب ۲۹، ۲۶ و ۲۰ درصد نسبت به شاهد بیشتر بودند. همچنین در شرایط رطوبتی ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه بیشترین مقادیر ارتفاع گیاه مربوط به تیمارهای (Z1)، (Z2) و (M7) بودند که به ترتیب ۲۱، ۲۴ و ۲۲ درصد نسبت به شاهد بیشتر بودند. به طور کلی از شکل ۲ می‌توان استنباط کرد که استفاده از تیمارهای کودهای آلی سبب بهبود وضع رشدی و افزایش ارتفاع گیاه نسبت به شاهد شدند. این بهبود رشد عمدتاً ناشی از نقش کودهای آلی در تأمین تدریجی مواد مغذی، بهبود ساختار خاک و تسهیل توسعه سیستم ریشه است که به گیاه اجازه می‌دهد تا به حداکثر پتانسیل ژنتیکی خود دست یابد. این نتایج حاکی از آن است که کاربرد توأم مواد آلی نه تنها در شرایط بهینه، بلکه در شرایط تنش نیز با ارتقای کارایی مصرف آب و تقویت تحمل گیاه، می‌تواند به عنوان یک راهکار مدیریتی مؤثر جهت بهبود رشد و عملکرد مورد استفاده قرار گیرد. همچنین بر پایه‌ی مطالعه‌ی Liatile و همکاران (۲۰۲۲)، تنش خشکی تأثیر منفی معنی‌داری بر رشد رویشی اسفناج داشت و به طور مشخص سبب کاهش ارتفاع گیاه در مقایسه با شرایط آبیاری مطلوب گردید. با این حال، کاربرد محرک زیستی متشکل از هیدرولیزات پروتئین ماهی و عصاره جلبک دریایی به طور چشمگیری اثرات مخرب تنش خشکی را تعدیل نمود. به طوری که در تمام سطوح آبیاری (اعم از تنش ملایم، شدید و شرایط نرمال)، گیاهان تیمار شده با این محرک‌های طبیعی، ارتفاع بیشتری را در مقایسه با گیاهان شاهد نشان دادند. این بهبود ارتفاع ناشی از توانایی ترکیبات فعال محرک (نظیر اسیدهای آمینه، پپتیدها و فیتوهورمون‌های طبیعی) در ارتقای کارایی جذب آب، افزایش محتوای کلروفیل، تقویت فعالیت آن‌تی‌اکسیدانی و تحریک رشد سلولی بود.

جدول ۳- مقایسه میانگین اثرات سطوح رطوبتی خاک و کودهای آلی بر مقدار کل آب مصرفی (میلی لیتر) گیاه اسفناج.

Table 3. Comparison of the mean effects of soil moisture levels and organic fertilizers on total water consumption (mL) by spinach plant.

تیمارهای کودی Fertilizer treatments														سطوح رطوبتی (درصد ظرفیت مزرعه) Moisture levels (Field capacity%)
میانگین Mean	C13	V12	V11	V10	V9	M8	M7	M6	M5	Z4	Z3	Z2	Z1	
7055 A	7405 ^a	7242 ^f	7300 ^d	7329 ^c	7338 ^b	7177 ^h	6432 ^k	6374 ^l	6341 ^m	7201 ^g	7267 ^e	7164 ⁱ	^j 7139	
5600 B	6058 ⁿ	5674 ^s	5737 ^q	5972 ^p	6004 ^o	5685 ^r	5099 ^y	5072 ^z	5146 ^x	5528 ^w	5607 ^u	557 ^v	^t 5655	
	6732 A	6458 E	6519 D	6651 C	6671 B	6431 G	5766 K	5723 M	5744 L	6365 I	6437 F	6361 J	H 6397	میانگین Mean

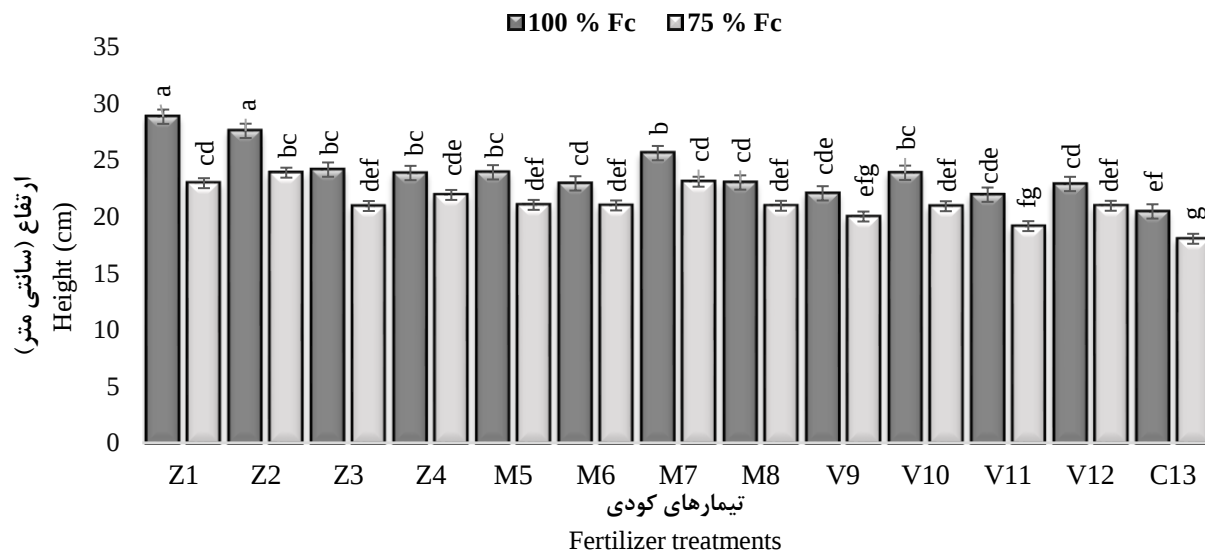
جدول ۴- مقایسه میانگین اثرات سطوح رطوبتی خاک و کودهای آلی بر کارایی مصرف آب (گرم بر لیتر) گیاه اسفناج.

Table 4. Comparison of the mean effects of soil moisture levels and organic fertilizers on water use efficiency (g L⁻¹) in spinach plant.

تیمارهای کودی Fertilizer treatments														سطوح رطوبتی (درصد ظرفیت مزرعه) Moisture levels (Field capacity%)
میانگین Mean	C13	V12	V11	V10	V9	M8	M7	M6	M5	Z4	Z3	Z2	Z1	
1.58 A	1.22 ^{gh}	1.50 ^{def}	1.10 ^h	1.66 ^{cde}	1.48 ^{ef}	1.57 ^{cde}	1.61 ^{cde}	1.97 ^a	1.70 ^c	1.61 ^{cde}	1.49 ^{ef}	1.75 ^{bc}	1.88 ^{ab}	
1.23 B	0.75 ⁱ	1.11 ^h	0.83 ⁱ	1.08 ^h	1.11 ^h	1.10 ^h	1.16 ^{gh}	1.65 ^{cde}	1.20 ^{gh}	1.32 ^{fg}	1.23 ^{gh}	1.69 ^{cd}	1.72 ^{bc}	
	0.98 E	1.31 D	E 0.97	BCD 1.37	D 1.29	CD 1.33	BCD 1.39	1.81 A	BC 1.45	1.47 B	BCD 1.36	1.72 A	A 1.80	میانگین Mean

*. اعدادی که در بدنه جدول در یک حرف کوچک و میانگین‌هایی که در هر ردیف یا ستون در یک حرف بزرگ مشترک هستند بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌دار آماری ندارند.

*, For each attribute, means in each row or column followed by the same capital letter and the values in table body followed by the same lowercase letters are not significantly different based on Duncan's Multiple Range Test at P < 0.05.



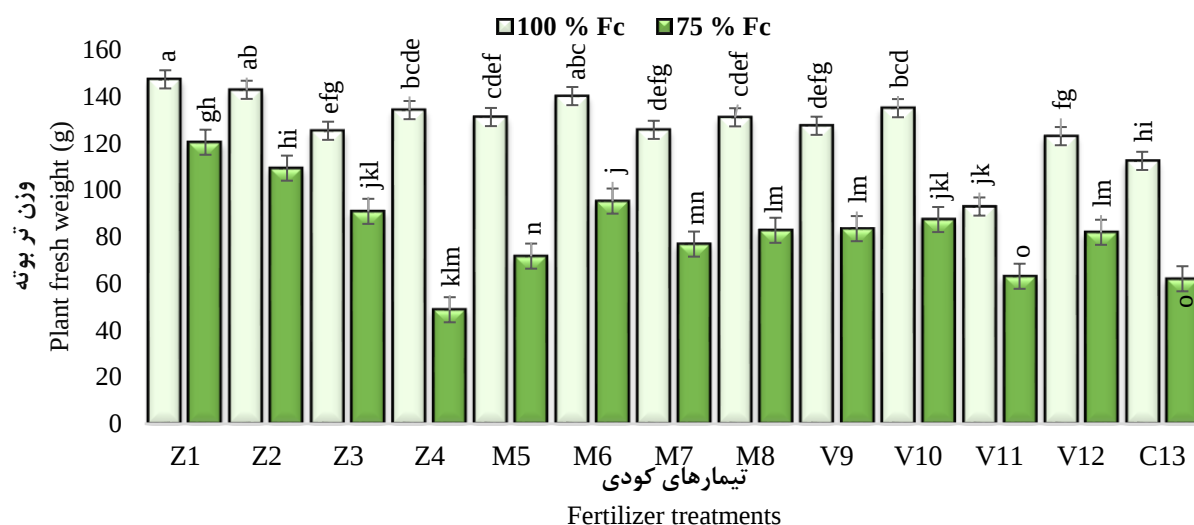
شکل ۲- مقایسه میانگین اثرات سطوح رطوبتی خاک و کودهای آلی بر ارتفاع (سانتی متر) گیاه اسفناج.

Fig. 2. Comparison of the mean effects of soil moisture levels and organic fertilizers on plant height (cm) in spinach.

وزن تر اندام هوایی

نتایج مربوط به مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارها بر وزن تر گیاه اسفناج در شکل ۳ ارائه شده است. سطح رطوبتی ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه نسبت به سطح رطوبتی ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه سبب کاهش ۳۳ درصدی وزن تر اندام هوایی شد. این کاهش محسوس را می توان به یک زنجیره به هم پیوسته از پاسخ های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی نسبت داد. مکانیسم اولیه این کاهش، افت فشار تورژسانس سلولی و محدودیت انبساط سلول ها بود که مستقیماً رشد را مهار کرد. به موازات آن، بسته شدن روزنه ها به منظور کاهش اتلاف آب، جذب دی اکسید کربن را محدود ساخته و با کاهش نرخ فتوسنتز، تولید ماده خشک را تحت تأثیر قرار داد. از سوی دیگر، تنش خشکی توسعه سیستم ریشه را نیز مختل خواهد کرد. در نهایت، این شرایط به اختلال در متابولیسم گیاه (مانند سنتز پروتئین و فعالیت آنزیم ها) منجر شد که در مجموع این واکنش های زنجیره ای کاهش قابل ملاحظه زیست توده را توجیه می نماید (Kausar *et al.*, 2023). بالاترین میزان وزن تر اندام هوایی مربوط به سطح رطوبتی ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه و تیمارهای (Z1)، (Z2) و (M6) بود که با مقادیر ۱۴۷، ۱۴۳ و ۱۴۰ نسبت به شاهد (۱۱۲) موجب افزایش ۲۳/۸، ۲۱/۶ و ۲۰ درصدی وزن تر اندام هوایی گیاه اسفناج شدند. این نتایج را می توان به ویژگی های منحصر به فرد این کودهای آلی نسبت داد، زرگرین با دارا بودن اسیدهای آمینه آزاد، پپتیدها و نیتروژن آلی به صورت مستقیم سنتز پروتئین و متابولیسم گیاه را تحریک کرده و pH پایین آن حل شدن و جذب عناصر کم مصرف را تسهیل می کند. از سوی دیگر، ملاس با تأمین کربوهیدرات های محلول و ماده آلی، هم به عنوان منبع انرژی برای میکروارگانیسم های خاک عمل کرده و هم با بهبود ساختار خاک، شرایط بهینه ای برای توسعه ریشه و جذب عناصر غذایی فراهم می آورد. ترکیب این دو ماده اثر هم افزایی ایجاد می کند که منجر به تأمین تدریجی و متعادل عناصر غذایی، بهبود فعالیت میکروبی و در نهایت دستیابی به حداکثر پتانسیل رشد گیاه می شود. این یافته ها به وضوح نشان می دهد که کاربرد ترکیبی این محرک های زیستی نه تنها در شرایط بدون تنش، بلکه با ایجاد بستر تغذیه ای پایدار، توانایی افزایش تحمل گیاه به تنش خشکی را نیز دارا می باشد. همچنین در پژوهشی مشابه پژوهشگران بیان کردند افزایش وزن تر و خشک اسفناج در تیمار محرک زیستی نشان می دهد که این ترکیبات با فعال سازی همزمان چندین سازوکار فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی، از جمله بهبود ظرفیت فتوسنتزی، ارتقای توسعه

و کارایی سیستم ریشه و همچنین تأمین ترکیبات پیش ساز متابولیکی، توانسته اند اثرات منفی تنش کم آبی را تا حد زیادی خنثی کنند (Liatile et al., 2022). Nijabat و همکاران (۲۰۲۴) گزارش کردند که استفاده از ملاس رقیق شده به عنوان منبع آبیاری، به طور معنی داری رشد و عملکرد هویج را در مقایسه با آبیاری با آب معمولی افزایش داد، بدون آن که اثر نامطلوبی بر کیفیت تغذیه ای محصول داشته باشد. این بهبود در رشد و عملکرد می تواند ناشی از وجود عناصر غذایی معدنی و ترکیبات آلی در ملاس باشد که با تأمین تدریجی مواد مغذی و بهبود خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک، کارایی مصرف آب و عناصر را افزایش داده و توانایی گیاه را در بهره برداری بهینه از منابع موجود ارتقا می دهد.

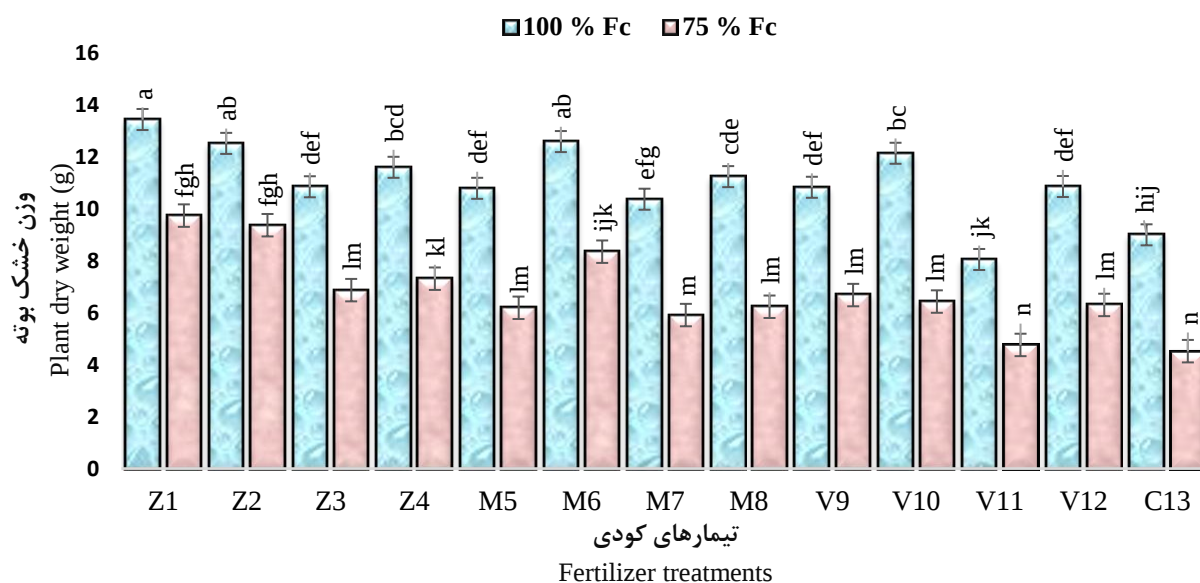


شکل ۳- مقایسه میانگین اثرات سطوح رطوبتی خاک و کودهای آلی بر وزن تر بوته (گرم) گیاه اسفناج.
Fig. 3. Comparison of the mean effects of soil moisture levels and organic fertilizers on fresh weight (g) in spinach plant.

وزن خشک اندام هوایی

نتایج مربوط به مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارها بر وزن خشک گیاه اسفناج در شکل ۴ نشان می دهد که سطح رطوبتی ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه وزن خشک گیاه را در مقایسه با ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه کاهش داد. در شرایط رطوبتی ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه بیشترین مقادیر وزن خشک گیاه مربوط به تیمارهای (Z1)، (Z2) و (M6) بودند که به ترتیب ۳۳، ۲۸ و ۲۸/۵ درصد نسبت به شاهد بیشتر بودند. همچنین در شرایط رطوبتی ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه هم (Z1)، (Z2) و (M6) سبب افزایش ۵۴، ۵۲ و ۴۶ درصدی وزن خشک نسبت به شاهد شدند. ملاس، با دارا بودن مقادیر فراوان کربوهیدرات های محلول و انرژی، سوخت لازم برای جمعیت میکروبی خاک را فراهم می کند و این میکروارگانیسم ها، به نوبه خود، روند معدنی شدن و آزادسازی نیتروژن و مواد مغذی موجود در زرگرین را که سرشار از نیتروژن آلی و اسیدهای آمینه است، تسریع و تسهیل می نمایند. این همکاری متقابل نه تنها منجر به تأمین پیوسته و بهینه نیتروژن برای سنتز پروتئین و کلروفیل و در نتیجه افزایش ظرفیت فتوسنتزی می شود، بلکه با تحریک همزمان توسعه ریشه و بهبود کارایی جذب عناصر غذایی، بستری ایده آل برای حداکثرسازی رشد رویشی و تجمع بیشتر ماده خشک در گیاه ایجاد می کند. در پژوهش García-Cano و همکاران (۲۰۲۴) تأثیر تیمارهای مختلف شامل اسیدهای آمینه، عصاره جلبک دریایی و ترکیب هر دو بر روی خیار مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آن ها نشان داد که تمامی تیمارهای حاوی محرک های طبیعی به طور معنی داری منجر به افزایش وزن خشک زیست توده در مقایسه با شاهد شدند که بیشترین اثر مربوط به تیمار ترکیبی (اسیدهای

آمیننه + عصاره جلبک) بود. آن‌ها بیان کردند که این بهبود عمدتاً ناشی از تقویت سنتز پروتئین توسط اسیدهای آمینه، تأمین فیتوهورمون‌های طبیعی (مانند اکسین و سیتوکینین) از عصاره جلبک، و افزایش کارایی فتوسنتز به دلیل محتوای کلروفیل بالاتر بود. همچنین، ترکیب این محرک‌ها با تقویت سیستم ریشه و بهبود جذب مواد مغذی، زمینه را برای تولید ماده خشک بیشتر فراهم کرد. در پژوهش Harakotr و همکاران (۲۰۲۵)، اثر هیدرولیزات پروتئین استخراج شده از فرآورده‌های جانبی شادانه بر کاهوی برگ بلوطی در شرایط گلخانه‌ای مورد بررسی قرار گرفت. تیمارهای آن‌ها شامل غلظت (۰، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌لیتر در لیتر) به صورت کاربرد خاکی و محلول‌پاشی بود. نتایج حاصل نشان داد که تیمار با غلظت ۱ میلی‌لیتر در لیتر به طور معنی‌داری وزن خشک و تر گیاه را در مقایسه با شاهد افزایش داد. آن‌ها بیان کردند این بهبود عمدتاً ناشی از بهبود جذب عناصر غذایی، خاصیت کلاته‌کنندگی اسیدهای آمینه و پپتیدهای موجود در هیدرولیزات پروتئین، تقویت فعالیت فتوسنتزی از طریق افزایش محتوای کلروفیل و تحریک سنتز پروتئین‌ها به عنوان پیش‌سازهای متابولیکی بود.



شکل ۴- مقایسه میانگین اثرات سطوح رطوبتی خاک و کودهای آلی بر وزن خشک بوته (گرم) گیاه اسفناج.

Fig. 4. Comparison of the mean effects of soil moisture levels and organic fertilizers on dry weight (g) in spinach plant.

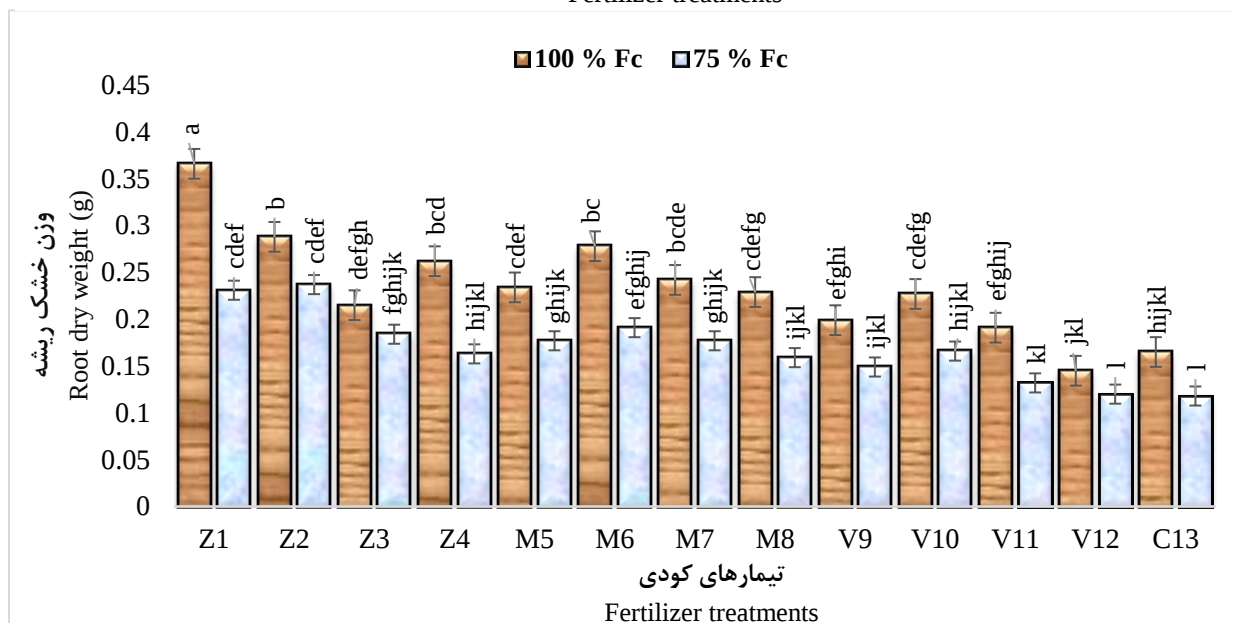
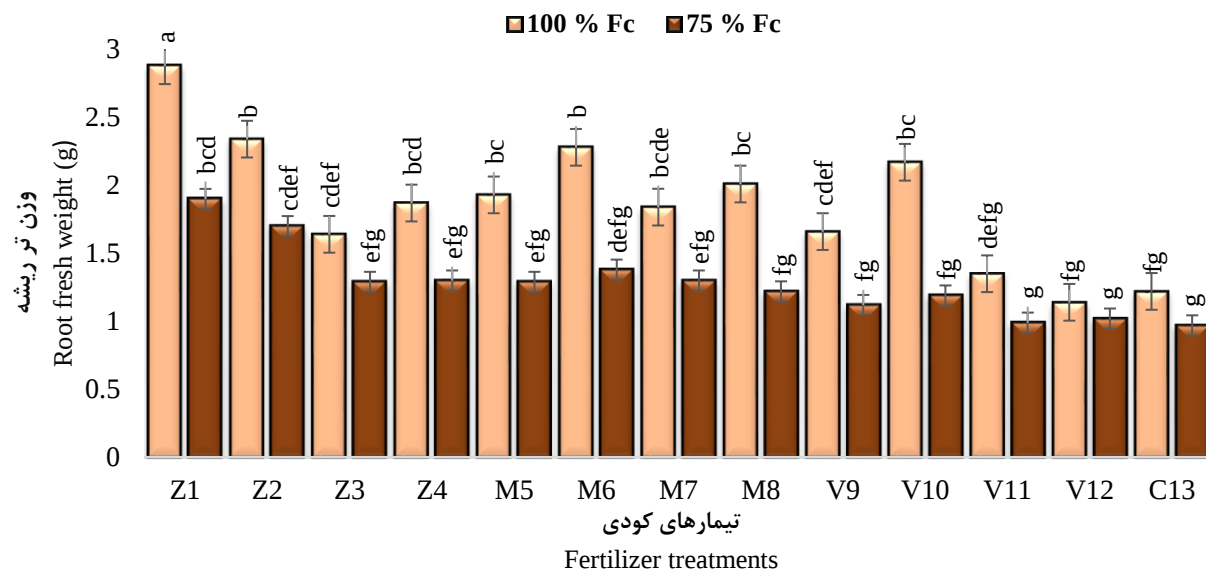
وزن تر و خشک ریشه

نتایج مربوط به مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارها بر وزن تر و خشک ریشه اسفناج در شکل ۵ نشان می‌دهد که سطح رطوبتی ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه وزن تر و خشک ریشه را در مقایسه با سطح رطوبتی ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه به طور معنی‌داری به ترتیب به میزان ۳۱/۶ و ۲۷/۷ درصد کاهش داد. این کاهش را می‌توان به مکانیسم‌های فیزیولوژیک مختلفی نسبت داد که مهم‌ترین آن‌ها شامل محدودیت در توسعه و گسترش سیستم ریشه‌ای ناشی از تخصیص مجدد انرژی گیاه به سمت مکانیسم‌های بقا به دلیل کاهش فشار تورژسانس و تغییر در تخصیص کربوهیدرات‌ها به سمت سنتز متابولیت‌های محافظت‌کننده می‌باشد. همچنین، ایجاد تغییرات آناتومیکی در ساختار ریشه نظیر افزایش بافت‌های چوبی و کاهش جذب عناصر غذایی ضروری از دیگر عوامل مؤثر در این کاهش مشاهده شده است (Wasaya et al., 2018). در شرایط رطوبتی ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه بیشترین مقادیر وزن تر ریشه مربوط به تیمارهای (Z1)، (Z2) و (M6) بودند که به ترتیب ۵۷/۶، ۴۷/۹ و ۴۶/۵ درصد نسبت به شاهد بیشتر بودند. همچنین در شرایط رطوبتی ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه بیشترین مقادیر وزن تر ریشه مربوط به تیمارهای (Z1)، (Z2) و (M6) بودند که به ترتیب ۴۸/۹،

۴۲/۹ و ۲۹/۷ درصد نسبت به شاهد بیشتر بودند. این روند در رابطه با وزن خشک ریشه نیز صادق می باشد و تیمارهای (Z1)، (Z2) و (M6) دارای بالاترین اختلاف نسبت به شاهد هستند. نتایج این مطالعه به وضوح نشان داد که تیمارهای آلی در هر دو شرایط آبیاری مطلوب و تنش خشکی، موجب بهبود معنی دار رشد ریشه اسفناج شدند. افزایش حاصل از تیمار (Z1) را می توان به حضور ترکیبات ارزشمندی مانند اسیدهای آمینه آزاد، پیش سازهای هورمونی و نیتروژن آلی در زرگرین نسبت داد. این ترکیبات به طور مستقیم تقسیم سلولی و طول شدن سلول های ریشه را تحریک می کنند. همچنین تیمارهای (Z2) و (M6) سبب افزایش وزن تر و خشک ریشه شدند که نشان دهنده اثر سینرژیک ترکیب زرگرین و ملاس در ایجاد محیط بهینه برای فعالیت میکروارگانیسم های مفید خاک و تولید متابولیت های محرک رشد است. در یک آزمایش گلخانه ای، Carillo و همکاران (۲۰۲۲) تأثیر یک محرک زیستی مشتق شده از حبوبات را بر رشد و عملکرد کاهو، ویژگی های تغذیه ای، آناتومی برگ، تبادلات گازی و فتوسنتز بررسی کردند. نتایج آن ها نشان داد که هر دو غلظت (۲/۵ و ۵ میلی لیتر در لیتر) محرک زیستی به طور معنی داری وزن خشک ریشه و کارایی جذب مواد مغذی را افزایش دادند. این مطالعه نشان می دهد که محرک زیستی مورد استفاده با تأثیر مستقیم بر توسعه سیستم ریشه و بهبود کارایی آن، نقش کلیدی در افزایش بهره وری گیاه ایفا می کند.

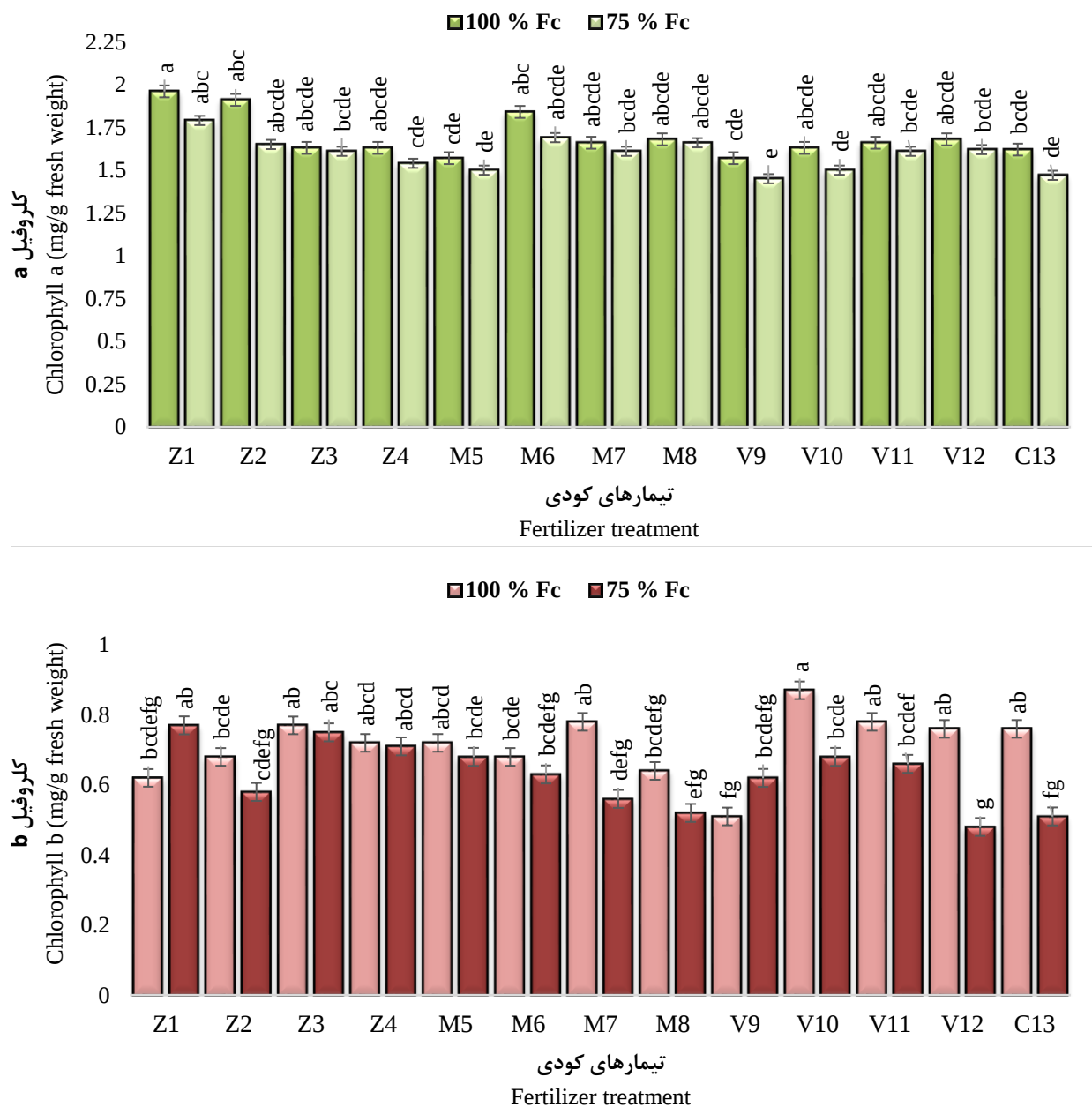
کلروفیل a

نتایج نشان می دهد سطح رطوبتی ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه در مقایسه با شاهد (۱۰۰ درصد ظرفیت رطوبت مزرعه) کلروفیل a برگ گیاه را به طور معنی داری به میزان ۶/۰۸ درصد کاهش داد، که نشان دهنده تأثیر منفی تنش خشکی بر فرآیندهای فیزیولوژیکی از جمله فتوسنتز است (شکل ۶). تنش آبی با ایجاد استرس اکسیداتیو، موجب تخریب ساختار کلروپلاست ها و کاهش سنتز کلروفیل می شود که در نهایت توان فتوسنتزی گیاه را کاهش می دهد. فتوسنتز، یک فرآیند فیزیولوژیکی حیاتی در گیاهان، می تواند تحت تأثیر منفی تنش قرار گیرد و مانع رشد و نمو گیاه شود. دلایل اصلی این پدیده، مهار سنتز کلروفیل و فعال شدن آنزیم های تجزیه کننده کلروفیل است (Hnilickova et al., 2021). در شرایط بهینه رطوبتی (۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه)، کاربرد تیمارهای کودی (Z1)، (Z2) و (M6) به ترتیب با مقادیر ۱/۹۶، ۱/۹۱ و ۱/۸۴ میلی گرم بر گرم وزن تر، موجب افزایش غلظت کلروفیل a در مقایسه با تیمار شاهد (۱/۶۲ میلی گرم بر گرم وزن تر) شدند. اگرچه از نظر آماری تنها افزایش ناشی از تیمار (Z1) معنی دار بود، این روند بهبود عموماً می تواند ناشی از بهینه سازی وضعیت تغذیه ای (به ویژه نیتروژن)، تحریک جمعیت میکروارگانیسم های مفید خاک، تسهیل فرآیندهای جذب عناصر غذایی و در نتیجه، ارتقای کارایی دستگاه فتوسنتزی و ظرفیت نورگیری برگ ها باشد. این الگوی بهبود در شرایط تنش رطوبتی (۷۵ درصد ظرفیت مزرعه) نیز مشاهده شد، اگرچه در این شرایط، به دلیل محدودیت های ناشی از تنش، بخشی از این افزایش ها از نظر آماری معنی دار نبود. در مطالعه Sun و همکاران (۲۰۲۳)، تنش خشکی تأثیر منفی قابل توجهی بر محتوای کلروفیل a، b و کل در اسفناج نشان داد. آن ها بیان کردند با کاهش رطوبت خاک به سطح ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه یا کمتر، محتوای تمامی اشکال کلروفیل به طور معنی داری کاهش یافت که علت اصلی آن مهار سنتز کلروفیل ناشی از اختلال در جذب آب و مواد مغذی (به ویژه منیزیم و نیتروژن)، افزایش تولید گونه های فعال اکسیژن و تخریب ساختار کلروپلاست بیان شد.



شکل ۵- مقایسه میانگین اثرات سطوح رطوبتی خاک و کودهای آلی بر وزن تر و خشک ریشه (گرم) گیاه اسفناج.

Fig. 5. Comparison of the mean effects of soil moisture levels and organic fertilizers on root fresh and dry weights (g) in spinach plant.



شکل ۶- مقایسه میانگین اثرات سطوح رطوبتی خاک و کودهای آلی بر کلروفیل a و b (میلی گرم / گرم) گیاه اسفناج.
Fig. 6. Comparison of the mean effects of soil moisture levels and organic fertilizers on chlorophyll a and b (mg g⁻¹) in spinach plant.

کلروفیل b

نتایج مربوط به مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارها بر مقدار کلروفیل b گیاه در شکل ۶ ارائه شده است. نتایج نشان داد مقدار کلروفیل b در تیمار سطح رطوبتی ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه به طور معنی داری به میزان ۱۲/۳۲ درصد کمتر از شاهد (سطح رطوبتی ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه) است. کلروفیل رنگدانه اصلی دخیل در فتوسنتز است که برای جذب، انتقال و تبدیل انرژی نور مورد استفاده قرار می گیرد و ارتباط نزدیکی با فتوسنتز و عملکرد گیاهان دارد؛ به عبارت دیگر، کلروفیل می تواند منعکس کننده وضعیت رشد

گیاهان و میزان تنش باشد. میزان کلروفیل در تنش‌های محیطی با کاهش مواجه می‌شود و نسبت کلروفیل a ، b ، کل و کاروتنوئید تغییر می‌کند و باعث تغییر در فتوسنتز می‌شود (Farooq et al., 2009). در شرایط سطح رطوبتی ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه، استفاده از اکثر تیمارهای کودی موجب افزایش میزان کلروفیل b شد، هرچند برخی از این افزایش‌ها از نظر آماری معنی‌دار نبودند. این افزایش نشان می‌دهد که کودهای آلی مایع، با تأمین عناصر غذایی ضروری و ترکیبات محرک زیستی، توانسته‌اند تا حدی اثرات منفی کم‌آبی بر سنتز رنگدانه‌ها را تعدیل کنند. به‌ویژه نقش کودها در تأمین نیتروژن، اسیدهای آمینه و انرژی متابولیکی می‌تواند سنتز کلروفیل b را حفظ کرده و ظرفیت جذب نور و انتقال انرژی فتوسنتزی گیاه را در شرایط تنش بهبود دهد. در مطالعه Liatile و همکاران (۲۰۲۲)، تیمار کودی متشکل از ترکیب هیدرولیزات پروتئین ماهی و عصاره جلبک به طور معنی‌داری محتوای کلروفیل a ، b و کلروفیل کل را در اسفناج تحت تمام سطوح آبیاری (شامل شرایط بهینه، تنش ملایم و شدید خشکی) افزایش داد. این بهبود به ویژه در شرایط تنش شدید خشکی چشمگیر بود، به طوری که محتوای کلروفیل کل در گیاهان تیمار شده تا ۳۴ درصد نسبت به شاهد افزایش یافت. مکانیسم این اثر ناشی از تأمین پیش‌سازهای سنتز کلروفیل (اسیدهای آمینه و پپتیدها)، کاهش استرس اکسیداتیو از طریق ترکیبات آنتی‌اکسیدان موجود در عصاره جلبک و بهبود جذب عناصر کلیدی مانند منیزیم و نیتروژن بود.

کلروفیل کل

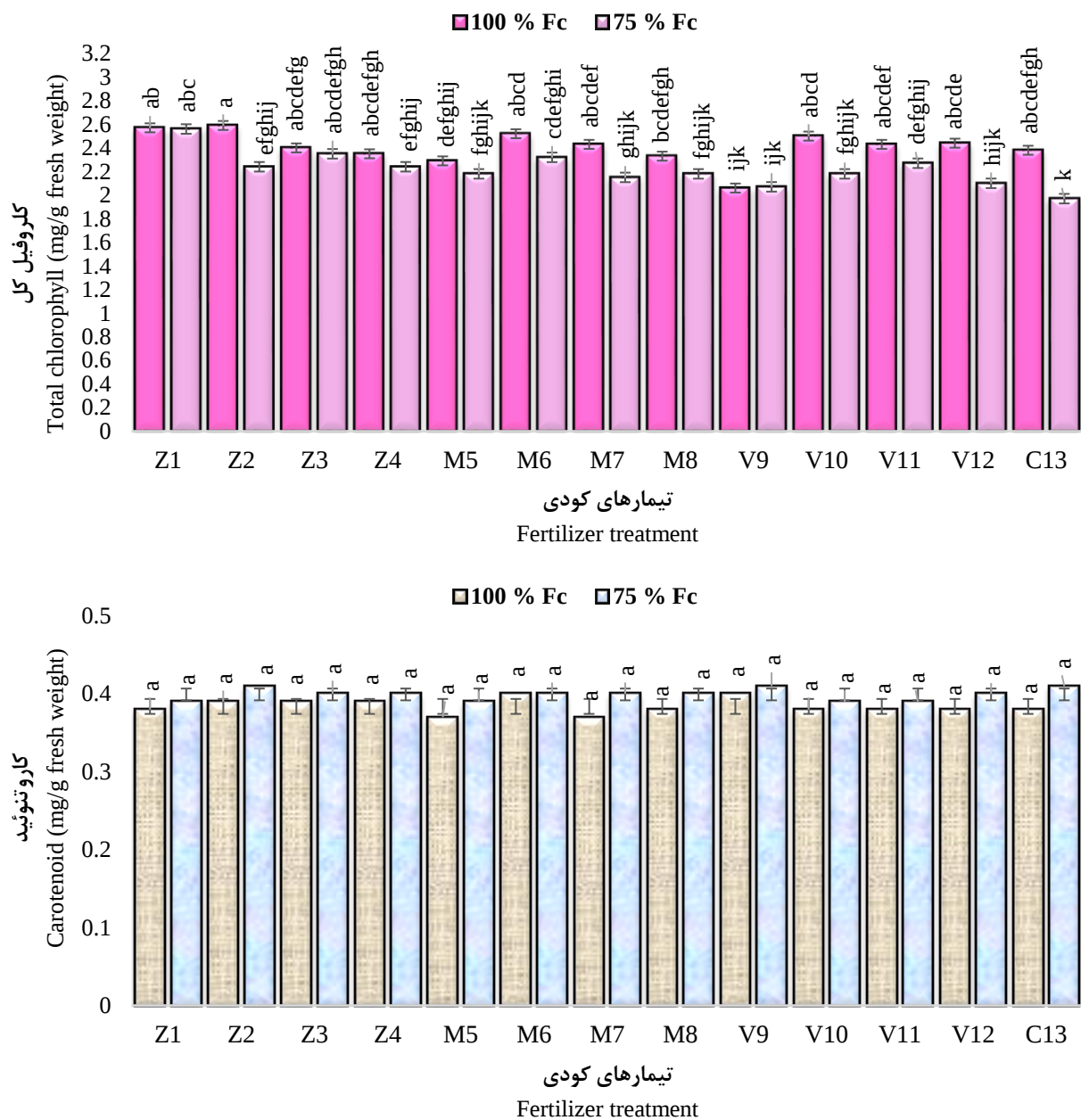
نتایج مربوط به مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارها بر کلروفیل کل اسفناج در شکل ۷ نشان می‌دهد که سطح رطوبتی ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه کلروفیل کل گیاه را در مقایسه با شاهد (۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه) به‌طور معنی‌داری به میزان ۷/۹۳ درصد کاهش داد. کاهش معنی‌دار کلروفیل کل اسفناج در سطح رطوبتی ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه نسبت به شاهد، به‌درستی نشان‌دهنده حساسیت بالای رنگدانه‌های فتوسنتزی به کمبود آب است. مکانیسم این کاهش ناشی از برهم‌خوردن تعادل میان سنتز و تخریب کلروفیل تحت تأثیر عوامل ثانویه تنش خشکی، از جمله کاهش جذب آب و عناصر غذایی و افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن است که به تخریب غشاهای کلروپلاستی و اختلال در فعالیت آنزیم‌های کلیدی می‌انجامد. در شرایط رطوبتی ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه بیشترین مقادیر کلروفیل کل گیاه مربوط به تیمارهای $(Z1)$ ، $(Z2)$ و $(M6)$ بودند که به ترتیب با مقادیر ۲/۵۷، ۲/۵۹ و ۲/۵۲ نسبت به شاهد به میزان ۲/۳۸ سبب افزایش ۸، ۹ و ۶ درصدی شدند. در این شرایط تیمار $(Z2)$ با بیشترین مقدار کلروفیل عملکرد بهتری نشان داد. این برتری را می‌توان ناشی از تأمین ترکیب متعادل عناصر غذایی و ترکیبات آلی دانست، به‌گونه‌ای که زرگرین به‌عنوان منبع غنی از نیتروژن آلی و اسیدهای آمینه، نقش کلیدی در سنتز پروتئین‌ها و رنگدانه‌های فتوسنتزی ایفا می‌کند، در حالی که ملاس با فراهم‌سازی کربوهیدرات‌ها و ترکیبات انرژی‌زا، شرایط بهینه‌ای را برای فعالیت‌های متابولیکی و به‌ویژه سنتز کلروفیل فراهم می‌سازد. ترکیب این دو منبع غذایی سبب ارتقاء کارایی فتوسنتز و در نهایت افزایش پایداری و محتوای کلروفیل کل در گیاه گردید. در پژوهشی دیگر نتایج حاصل از کاربرد محرک زیستی مبتنی بر هیدرولیزات پروتئین ماهی بر روی کاهو نشان‌دهنده بهبود شاخص‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه بود. به‌طور مشخص، محتوای کلروفیل از ۹/۶ به ۱۲/۲ میلی‌گرم در گرم وزن خشک افزایش یافت که نشان‌دهنده تقویت ظرفیت فتوسنتزی گیاه است. این تغییرات به‌طور کلی حاکی از آن است که محرک زیستی با افزایش کارایی فتوسنتز و بهینه‌سازی عملکرد روزه‌ها، شرایط را برای تولید بیشتر ماده خشک و رشد بهینه کاهو فراهم کرده است (Xu & Mou., 2017). همچنین در پژوهشی دیگر توسط Malecange و همکاران (۲۰۲۰)، اثر تیمار لیفامین به عنوان یک کود محرک زیستی بر محتوای نسبی کلروفیل برگ کاهو مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آن‌ها نشان داد که ۳۶ روز پس از کاشت، کاربرد این محرک زیستی منجر به افزایش معنی‌دار محتوای کلروفیل در مقایسه با گیاهان شاهد گردید. به طور مشخص، این تیمار در شرایط آبیاری نرمال (غیر تنش) افزایش ۴۳ درصدی و تحت شرایط تنش خشکی افزایش ۱۹ درصدی در محتوای کلروفیل را موجب شد. این یافته‌ها نشان‌دهنده نقش مؤثر لیفامین در بهبود وضعیت فتوسنتزی گیاه از طریق افزایش محتوای رنگدانه‌های کلروفیلی است، به ویژه که این اثر هم در شرایط بهینه و هم در شرایط تنش خشکی مشاهده گردید. مکانیسم این اثر احتمالاً از طریق تأمین پیش‌سازهای سنتز کلروفیل، بهبود جذب عناصر غذایی و تعدیل پاسخ‌های فیزیولوژیکی گیاه به تنش صورت می‌پذیرد.

کاروتنوئید

نتایج این پژوهش نشان داد که سطح رطوبتی ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه سبب افزایش میزان کاروتنوئید گردید، اگرچه این افزایش از نظر آماری معنی دار نبود. همچنین اگرچه برخی تیمارهای کودی میزان کاروتنوئید را افزایش دادند اما این تغییرات نیز از نظر آماری معنی دار نبودند (شکل ۷). این امر می تواند حاکی از پایداری و مقاومت بالای سیستم کاروتنوئیدی گیاه اسفناج در برابر تنش های اعمال شده باشد. به نظر می رسد گیاه با حفظ سطح این رنگدانه های حیاتی، که نقش کلیدی در حفاظت از دستگاه فتوسنتزی در برابر استرس اکسیداتیو ناشی از تنش خشکی و همچنین جذب نور را ایفا می کنند، توانسته است یک استراتژی دفاعی پایدار را در پیش گیرد. پایداری محتوای کاروتنوئیدها علیرغم تنش رطوبتی و تغییرات تغذیه ای می تواند نشان دهنده اولویت بالا و تنظیم دقیق متابولیک گیاه برای حفظ این ترکیبات محافظ، به منظور تضمین بقا و ادامه فتوسنتز در شرایط نامطلوب باشد. با اینحال بر اساس گزارش Roupheal و همکاران (۲۰۲۱)، کاربرد هیدرولیزات پروتئین گیاهی در قالب میکروگرانول موجب تحریک رشد سیستم ریشه ای گوجه فرنگی از طریق افزایش سطح و طول ریشه می شود. این بهبود مورفولوژیک مستقیماً کارایی جذب آب و عناصر غذایی به ویژه در شرایط تنش رطوبتی را افزایش داده و از این طریق متابولیسم فتوسنتزی گیاه را تقویت می نماید. مکانیسم عمل به صورت همزمان از طریق تأمین پیش سازهای نیتروژنی مورد نیاز برای بیوسنتز کلروفیل و کاروتنوئیدها و نیز بهبود جذب عناصر کم مصرف حیاتی مانند منیزیم و آهن صورت می پذیرد.

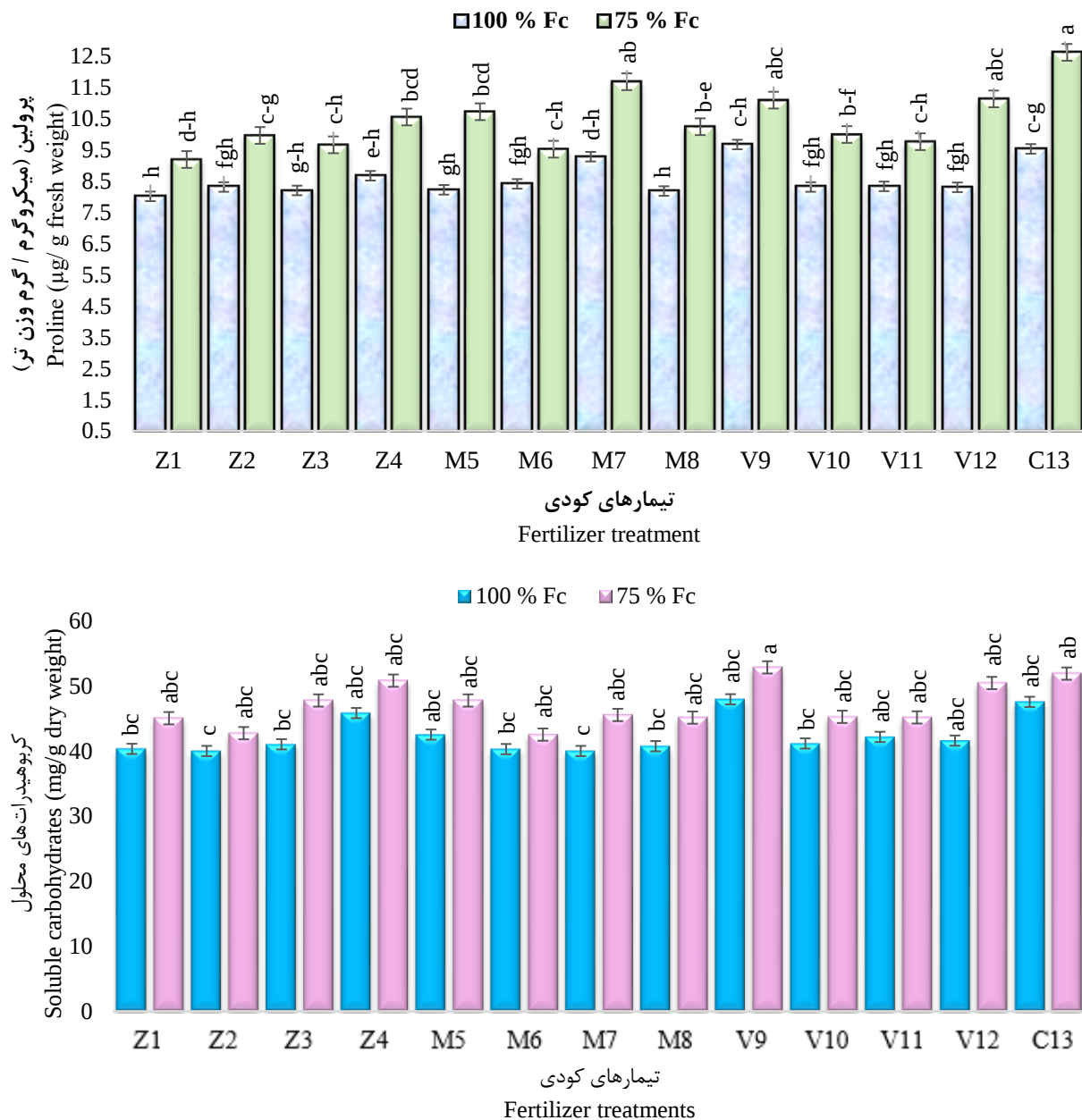
پرولین

نتایج این تحقیق نشان داد که اعمال تنش رطوبتی ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه موجب افزایش ۲۲/۰۵ درصدی میزان پرولین نسبت به شرایط ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه گردید (شکل ۸). این افزایش قابل توجه پرولین به عنوان یکی از مهم ترین شاخص های بیوشیمیایی پاسخ به تنش خشکی، نشان دهنده فعال سازی مکانیسم های دفاعی محافظت اسمزی در گیاه است. پرولین به عنوان یک اسمولیت محافظ در پاسخ به تنش های خشکی نقش چندوجهی ایفا می کند. تجمع این اسید آمینه نه تنها با حفظ تعادل اسمزی و پایداری ساختار ماکرومولکول های سلولی (مانند پروتئین ها و غشاها) موجب افزایش مقاومت گیاه به کم آبی می شود، بلکه در صورت تداوم تنش می تواند به عنوان منبع نیتروژن و انرژی مورد استفاده گیاه قرار گیرد. این ویژگی پرولین را به یک متابولیت کلیدی در سازگاری متابولیک گیاهان تحت شرایط تنش تبدیل می کند (Singh et al., 2022). برخی پژوهشگران بیان کرده اند تنظیم اسمزی که از طریق افزایش غلظت کل قندهای محلول و پرولین صورت می گیرد، یک سازگاری فیزیولوژیکی کلیدی در گیاهان است که با تحمل به تنش آبی ارتباط مستقیم دارد. این مکانیسم نه تنها به حفظ فعالیت و پایداری پروتئین ها کمک می کند، بلکه از سایر ماکرومولکول های سلولی حیاتی در برابر آسیب های ناشی از خشکسالی محافظت می نماید. تجمع این اسمولیت ها (پرولین و قندها) با تنظیم فشار اسمزی درون سلول، باعث حفظ آب درون بافتی شده و ثبات غشاها و ساختارهای سلولی را در شرایط کم آبی تضمین می کند (Agliassa et al., 2021). همچنین کاربرد تیمارهای کودی آلی در هر دو شرایط رطوبتی (۱۰۰ و ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه) منجر به کاهش غلظت پرولین در مقایسه با شاهد گردید. این کاهش احتمالاً ناشی از نقش تعدیل کنندگی کودهای آلی در کاهش اثرات منفی تنش از طریق بهبود وضعیت تغذیه ای، افزایش ظرفیت نگهداری آب و تقویت سیستم آنتی اکسیدانی گیاه بوده است. اگرچه بخشی از این کاهش ها از نظر آماری معنی دار نبودند، اما روند کلی کاهش پرولین در تیمارهای کودی نشان دهنده نقش محافظتی این کودها در شرایط تنش رطوبتی می باشد. در پژوهشی Francesca و همکاران (۲۰۲۲) با بررسی اثرات کاربرد کود محرک زیستی پروتئین هیدرولیزات بر روی دو ژنوتیپ گوجه فرنگی در شرایط تنش های حرارتی و سطوح رطوبتی بیان کردند که تجمع بالای پرولین و قندهای محلول در برگ های گوجه فرنگی تحت تنش خشکی ثبت گردید. آن ها همچنین گزارش کردند که در شرایط تنشی، محتوای پرولین در گیاهان تیمار شده با محرک زیستی کاهش معنی داری نشان داد که این امر حاکی از بهبود وضعیت فیزیولوژیک و افزایش تحمل به خشکی در پی کاربرد پروتئین هیدرولیزات است. به طور همسو، کاهش تجمع قندهای محلول نیز پس از اعمال تیمار محرک زیستی در هر دو ژنوتیپ مورد مطالعه تحت شرایط تنش مشاهده گردید.



شکل ۷- مقایسه میانگین اثرات سطوح رطوبتی خاک و کودهای آلی بر کلروفیل کل و کاروتنوئید (میلی گرم / گرم) گیاه اسفناج.

Fig. 7. Comparison of the mean effects of soil moisture levels and organic fertilizers on total chlorophyll and carotenoids (mg g⁻¹) in spinach plant.



شکل ۸- مقایسه میانگین اثرات سطوح رطوبتی خاک و کودهای آلی بر پرولین (میکروگرم/گرم وزن تر) و کربوهیدرات محلول (میلی گرم/گرم وزن خشک) گیاه اسفناج.

Fig. 8. Comparison of the mean effects of soil moisture levels and organic fertilizers on proline ($\mu\text{g g}^{-1}$ fresh weight) and soluble carbohydrates (mg g^{-1} dry weight) in spinach plant.

کربوهیدرات محلول

نتایج حاصل از بررسی اثر سطوح رطوبتی بر میزان کربوهیدراتهای محلول نشان داد که اعمال سطح رطوبتی سطح ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه موجب افزایش معنی دار غلظت کربوهیدراتهای محلول به میزان ۱۱/۵ درصد در مقایسه با تیمار ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه گردید (شکل ۸). این افزایش تجمع کربوهیدراتهای محلول به عنوان یکی از مهم ترین مکانیسم های تطابق فیزیولوژیکی گیاه

در پاسخ به تنش خشکی محسوب می‌شود که از طریق تنظیم فشار اسمزی، حفظ پتانسیل آب سلولی و محافظت از ماکرومولکول‌های حیاتی در شرایط کم‌آبی به بقای گیاه کمک می‌کند. گیاهان در پاسخ به تنش خشکی، مجموعه‌ای از سازگاری‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی پیچیده را برای بهینه‌سازی مصرف آب و حفظ عملکردهای متابولیک ضروری نشان می‌دهند. مهم‌ترین پاسخ‌های فیزیولوژیکی شامل بسته شدن روزنه‌ها به منظور کاهش اتلاف آب از طریق تعرق و تغییرات مورفولوژیکی در سیستم ریشه برای افزایش کارایی جذب آب می‌باشد. در سطح بیوشیمیایی، گیاهان با تجمع اسمولیت‌های سازگارکننده‌ای مانند قندهای محلول، پرولین و الکل‌های قندی واکنش نشان می‌دهند. این ترکیبات با تنظیم فشار اسمزی، تثبیت پروتئین‌ها و محافظت از یکپارچگی غشاهای سلولی، بقای گیاه را در شرایط کم‌آبی تضمین می‌کنند (Ghosh *et al.*, 2022). همچنین نتایج این مطالعه نشان داد که برخلاف اثر افزایشی تنش رطوبتی، کاهش قندهای محلول در برخی تیمارهای آلی نشان می‌دهد که این کودها احتمالاً از طریق بهبود وضعیت تغذیه‌ای و افزایش جذب آب توسط گیاه، میزان استرس را کاهش داده‌اند، به گونه‌ای که نیازی به تجمع بالای قندهای محلول برای مقابله با تنش نبوده است. این الگوی کاهشی نشان می‌دهد که کودهای آلی با بهبود وضعیت تغذیه‌ای و کاهش استرس اکسیداتیو، نیاز گیاه به تجمع اسمولیت‌های محافظ مانند کربوهیدرات‌های محلول را کاهش داده و از این طریق به تعدیل اثرات تنش کمک می‌کنند (شکل ۸). در پژوهشی Liatile و همکاران (۲۰۲۲) گزارش کردند که کاربرد تیمار ترکیبی متشکل از پروتئین هیدرولیزات ماهی و عصاره جلبک در اسفناج تحت تنش خشکی، منجر به فعال‌سازی سیستم دفاعی گیاه گردید. این بهبود با افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و تجمع ترکیبات محافظت‌کننده اسمزی شامل پرولین و کربوهیدرات‌های محلول همراه بود. این یافته‌ها حاکی از آن است که کاربرد این محرک زیستی ترکیبی می‌تواند با تقویت همزمان سیستم آنتی‌اکسیدانی و مکانیسم‌های تطابق اسمزی، تحمل به خشکی را در اسفناج به‌طور مؤثری افزایش دهد. با اینحال تجمع قندهای محلول در گیاهان تحت تیمارهای حاوی ویناس را می‌توان پاسخی فیزیولوژیک به تنش شوری ناشی از محتوای بالای سدیم در این کود دانست. تحت این شرایط، گیاه با سنتز و تجمع ترکیبات اسمولیتی مانند قندها، ضمن کاهش پتانسیل اسمزی درون سلولی، به حفظ تعادل آبی و محافظت از ساختارهای سلولی در برابر اثرات مخرب یون سدیم می‌پردازد.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که اعمال تنش خشکی ملایم (۷۵ درصد ظرفیت مزرعه) تأثیر منفی معنی‌داری بر رشد و ویژگی‌های فیزیولوژیکی اسفناج داشته است، به طوری که باعث کاهش وزن تر و خشک اندام هوایی، وزن ریشه، ارتفاع گیاه و محتوای کلروفیل شد. این کاهش‌ها عمدتاً ناشی از مکانیسم‌های فیزیولوژیکی شامل کاهش فشار تورژسانس، محدودیت در توسعه ریشه، بسته شدن روزنه‌ها، کاهش نرخ فتوسنتز و اختلال در جذب عناصر غذایی بود. در مقابل، کاربرد کودهای آلی به ویژه تیمارهای (Z1)، (Z2) و (M6) به طور قابل توجهی توانستند اثرات منفی تنش خشکی را تعدیل کنند. این کودها از طریق مکانیسم‌های متعددی از جمله بهبود ساختار خاک و ظرفیت نگهداری آب، تأمین تدریجی مواد مغذی، تحریک فعالیت میکروارگانیسم‌های مفید خاک، افزایش توسعه سیستم ریشه‌ای، تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی و کاهش نیاز به تجمع اسمولیت‌های محافظ (پرولین و کربوهیدرات‌های محلول) موجب بهبود شاخص‌های رشدی و فیزیولوژیکی گیاه در هر دو شرایط آبیاری شدند. به طور خاص، این تیمارها باعث افزایش کارایی مصرف آب، حفظ محتوای کلروفیل و کاهش تنش اکسیداتیو گردیدند. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از کودهای آلی به ویژه به صورت ترکیبی (مانند زرگرین و ملاس) نه تنها می‌تواند به عنوان یک راهکار مدیریتی مؤثر برای بهبود رشد و عملکرد اسفناج در شرایط بهینه آبیاری مورد استفاده قرار گیرد، بلکه با ایجاد تحمل به تنش خشکی از طریق مکانیسم‌های متعدد، پتانسیل بالایی برای کاهش مصرف آب و افزایش پایداری سیستم‌های کشاورزی دارد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل همکاری دانشگاه زنجان و گروه صنعتی پژوهشی فرهیختگان زرنام (پالایشگاه غلات زر) می‌باشد. لذا نویسندگان بر خود لازم می‌دانند مراتب تشکر و قدردانی صمیمانه خود را از تمامی زحمات و همکاری‌های ارزشمند همکاران این مراکز ابراز نمایند.

References

- Agliassa, C., Mannino, G., Molino, D., Cavalletto, S., Contartese, V., Berteà, C. M., & Secchi, F. (2021). A new protein hydrolysate-based biostimulant applied by fertigation promotes relief from drought stress in *Capsicum annuum* L. *Plant Physiology and Biochemistry*, 166, 1076-1086.
- Bates, L. S., Waldren, R. P., & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39(2), 205-207.
- Belic, M., Zdravković-Korac, S., Uzelac, B., Calic, D., Pavlovic, S., & Milojevic, J. (2020). Variability in somatic embryo-forming capacity of spinach. *Scientific Reports*, 10(1), 19290.
- Bielach, A., Hrtyan, M., & Tognetti, V. B. (2017). Plants under stress: involvement of auxin and cytokinin. *International Journal of Molecular Sciences*, 4, 18(7), 1427.
- Carillo, P. (2025). Can biostimulants enhance plant resilience to heat and water stress in the Mediterranean hotspot? *Plant Stress*, 100802.
- Carillo, P., De Micco, V., Ciriello, M., Formisano, L., El-Nakhel, C., Giordano, M., & Roupheal, Y. (2022). Morpho-anatomical, physiological, and mineral composition responses induced by a vegetal-based biostimulant at three rates of foliar application in greenhouse lettuce. *Plants*, 11(15), 2030.
- Choi, S., Colla, G., Cardarelli, M., & Kim, H. J. (2022). Effects of plant-derived protein hydrolysates on yield, quality, and nitrogen use efficiency of greenhouse grown lettuce and tomato. *Agronomy*, 12(5), 1018.
- Colovic, D., Rakita, S., Banjac, V., Duragic, O., & Cabarkapa, I. (2019). Plant food by-products as feed: Characteristics, possibilities, environmental benefits, and negative sides. *Food Reviews International*, 35(4), 363-389.
- Dias, A. S., Carneiro, P. A., Boloy, R. A. M., da Silva Cesar, A., & de Oliveira, U. R. (2024). Advancements in vinasse application: An integrated analysis of patents, literature and research profile. *Cleaner Engineering and Technology*, 22, 100795.
- FAO. (2023) Food and agriculture organization of the United Nations. *FAO*, Available online at: <http://www.faostat.fao.org/>.
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., & Basra, S. M. A. (2009). Plant drought stress: Effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development*, 29, 185-212.
- Francesca, S., Cirillo, V., Raimondi, G., Maggio, A., Barone, A., & Rigano, M. M. (2021). A novel protein hydrolysate-based biostimulant improves tomato performances under drought stress. *Plants*, 10(4), 783.
- Garcia-Cano, C., Ferrández-Gómez, B., Jorda, J. D., Pablo, O., Cerdan, M., & Sanchez-Sanchez, A. (2024). Enhanced growth of cucumber (*Cucumis sativus* L.) through amino acids and seaweed extracts for the use in organic agriculture. *Journal of Plant Growth Regulation*, 1-14.
- Garcia-Sanchez, F., Camara-Zapata, J. M., & Navarro-Morillo, I. (2024). Use of Corn Steep Liquor as a Biostimulant in Agriculture. *Horticulturae*, 10(4), 315.

- Ghosh, U. K., Islam, M. N., Siddiqui, M. N., & Khan, M. A. R. (2021). Understanding the roles of osmolytes for acclimatizing plants to changing environment: a review of potential mechanism. *Plant Signaling & Behavior*, 16(8), 1913306.
- Gil-Ortiz, R., Naranjo, M. A., Atares, S., & Vicente, O. (2023). Antioxidant Responses of Water-Stressed Cherry Tomato Plants to Natural Biostimulants. *Agronomy*, 13(9), 2314.
- Gomez-García, R., Campos, D. A., Aguilar, C. N., Madureira, A. R., & Pintado, M. (2021). Valorisation of food agro-industrial by-products: From the past to the present and perspectives. *Journal of Environmental Management*, 299, 113571.
- Harakotr, B., Trisiri, T., Charoensup, L., Thepsilvisut, O., Rithichai, P., Suwor, P., & Jirakiattikul, Y. (2025). Effects of Protein Hydrolysate Derived from Hempseed By-Products on Growth, Mineral Contents, and Quality of Greenhouse Grown Red Oak Lettuce. *Horticulturae*, 11(4), 357.
- Hnilickova, H., Kraus, K., Vachova, P., & Hnilicka, F. (2021). Salinity stress affects photosynthesis, malondialdehyde formation, and proline content in *Portulaca oleracea* L. *Plants (Basel)*, 22,10 (5), 845.
- Kausar, A., Zahra, N., Tahir, H., Hafeez, M. B., Abbas, W., & Raza, A. (2023). Modulation of growth and biochemical responses in spinach (*Spinacia oleracea* L.) through foliar application of some amino acids under drought conditions. *South African Journal of Botany*, 158, 243-253.
- Kochert, G. (1978). Carbohydrate determination by the phenol sulfuric acid method, In: Helebust, J. A. Craig, J. S (ed): Handbook of physiological method, pp. 56- 97. *Cambridge univ, press, Cambridge*.
- Li, S., Zhao, X., Ye, X., Zhang, L., Shi, L., Xu, F. & Ding, G. (2020). The effects of condensed molasses soluble on the growth and development of rapeseed through seed germination, hydroponics and field trials. *Agriculture*, 10(7), 260.
- Liatile, P. C., Potgieter, G., & Moloi, M. J. (2022). A natural bio-stimulant consisting of a mixture of fish protein hydrolysates and kelp extract enhances the physiological, biochemical and growth responses of spinach under different water levels. *Plants*, 11(23), 3374.
- Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophyll and carotenoids: pigments of photosynthetic bio-membranes. *Methods in Enzymology*, 148, 350-382.
- Malecange, M., Perez-Garcia, M. D., Citerne, S., Sergheraert, R., Lalande, J., Teulat, B., ... & Lothier, J. (2022). Leafamine, a free amino acid-rich biostimulant, promotes growth performance of deficit-irrigated lettuce. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(13), 7338.
- Navarro-Morillo, I., Navarro-Perez, V., Perez-Millan, R., Navarro-Leon, E., Blasco, B., Camara-Zapata, J. M., & Garcia-Sanchez, F. (2023). Effects of root and foliar application of corn steep liquor on pepper plants: a physiological, nutritional, and morphological study. *Horticulturae*, 9(2), 221.
- Nijabat, A., Mubashir, M., Mahmood, M., Siddiqui, M. H. Alamri, S., Nehal, J., Khan, R., Zaman, Q., Haider, S. Z., Akhlaq, M., & Ali, A. (2024). Molasses-based waste water irrigation: a friend or foe for carrot (*Daucus carota* L.) growth, yield and nutritional quality. *BMC Plant Biology*, 12, 24(1), 855.

- Orozco-Angelino, X., Espinosa-Ramírez, J., & Serna-Saldívar, S. O. (2023). Extrusion as a tool to enhance the nutritional and bioactive potential of cereal and legume by-products. *Food Research International*, 169, 112889.
- Pandey, S., Bajpai, P., Tiwari, M., & Singh, S. (2023). Effect of abiotic stresses on growth and metabolism of the plant and stress tolerance mechanism. *International Journal for Science and Advance Research in Technology*, 9 (3), 305-311.
- Peng, X., Jiang, Y., Chen, Z., Osman, A. I., Farghali, M., Rooney, D. W., & Yap, P. S. (2023). Recycling municipal, agricultural and industrial waste into energy, fertilizers, food and construction materials, and economic feasibility: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 21(2), 765-801.
- Polo, J., & Mata, P. (2018). Evaluation of a biostimulant (Pepton) based in enzymatic hydrolyzed animal protein in comparison to seaweed extracts on root development, vegetative growth, flowering, and yield of gold cherry tomatoes grown under low stress ambient field conditions. *Frontiers in Plant Science*, 8, 2261.
- Roberts, J. L., & Moreau, R. (2016). Functional properties of spinach (*Spinacia oleracea* L.) phytochemicals and bioactives. *Food & Function*, 7(8), 3337-3353.
- Rouphael, Y., Colla, G., Hoagland, L., Giordano, M., El-Nakhel, C., & Cardarelli, M. (2021). Vegetal-protein hydrolysates based microgranule enhances growth, mineral content, and quality traits of vegetable transplants. *Scientia Horticulturae*, 290, 110554.
- Seymen, M. (2021). Comparative analysis of the relationship between morphological, physiological, and biochemical properties in spinach (*Spinacea oleracea* L.) under deficit irrigation conditions. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 45(1), 55-67.
- Singh, J., Jayaprakasha, G. K., & Patil, B. S. (2018). Extraction, identification, and potential health benefits of spinach flavonoids: a review. *Advances in Plant Phenolics: From Chemistry to Human Health*, 107-136.
- Singh, S., Singh, P., Tomar, R. S., Sharma, R. A., & Singh, S. K. (2022). Proline: A key player to regulate biotic and abiotic stress in plants. In *Towards sustainable natural resources: monitoring and managing ecosystem biodiversity* (pp. 333-346). Cham: Springer International Publishing.
- Sun, Y., Wang, J., Wang, Q., & Wang, C. (2023). Responses of the growth characteristics of spinach to different moisture contents in soil under irrigation with magnetoelectric water. *Agronomy*, 13(3), 657.
- Wang, X., Li, X., & Dong, S. (2024). Biochemical characterization and metabolic reprogramming of amino acids in Soybean roots under drought stress. *Physiologia Plantarum*, 176(3), e14319.
- Wasaya, A., Zhang, X., Fang, Q., & Yan, Z. (2018). Root phenotyping for drought tolerance: a review. *Agronomy*, 8(11), 241.
- Xu, C., & Mou, B. (2017). Drench application of fish-derived protein hydrolysates affects lettuce growth, chlorophyll content, and gas exchange. *Horttechnology*, 27(4), 539-543.
- Yakhin, O. I., Lubyantov, A. A., Yakhin, I. A., & Brown, P. H. (2017). Biostimulants in plant science: a global perspective. *Frontiers in Plant Science*, 7, 2049.

Yang, X., Lu, M., Wang, Y., Wang, Y., Liu, Z., & Chen, S. (2021). Response mechanism of plants to drought stress. *Horticulturae*, 7(3), 50.

Zahedifar, M., Moosavi, A. A., Gavili, E., & Ershadi, A. (2025). Tomato fruit quality and nutrient dynamics under water deficit conditions: The influence of an organic fertilizer. *PLoS ONE*, 20(1), 0310916.

Investigating the Role of Organic Fertilizers in Increasing *Spinacea oleracea* L. Variety Virofly Resistance to Drought Stress in Greenhouse Conditions

Edris Gavili Kilaneh ^{1*}, Mohammad Babaakbarisari ¹, Akbar Hassani ¹, Milad Pero ², Setareh Amanifar ¹

1. Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan. Zanjan, Iran.
 2. Farhikhtegan Zarnam Industrial Research Group, Alborz Province, Hashtgerd City, Iran.
- * Corresponding Author, Email: (Edris_Gavili@yahoo.com)

Drought stress is one of the most important abiotic stresses that limits plant growth and yield, especially in arid and semi-arid regions, by disrupting water and nutrient uptake and physiological processes. In order to investigate the role of organic fertilizers in improving spinach yield under drought stress conditions, a factorial experiment was conducted in a completely randomized design (CRD) with three replications in greenhouse conditions. The treatments included 13 individual levels and mixtures of liquid fertilizers Zargreen, molasses and vinasse with ratios of 100-0-0 (Z1), 75-25-0 (Z2), 75-0-25 (Z3), 50-25-25 (Z4), 0-100-0 (M5), 25-75-0 (M6), 0-75-25 (M7), 25-50-25 (M8), 0-0-100 (V9), 25-0-75 (V10), 0-25-75 (V11), 25-25-50 (V12) and 0-0-0 (C13) in three-kilogram pots at a rate of 0.14 ml and two moisture levels of 100% field capacity and 75% field capacity. The results of the experiment showed that drought stress caused a decrease in the fresh and dry weight of shoots and roots, height, chlorophyll a and chlorophyll b, and an increase in the amount of soluble carbohydrates, while the use of organic fertilizers improved the conditions compared to the control. The best treatment (Z1) caused a 34% increase in height, 53% in fresh weight, 30% in chlorophyll a and 35% in chlorophyll b, and a 35% decrease in soluble carbohydrates and 5% in water consumption. In general, the use of organic fertilizers was able to reduce some of the negative effects of drought stress and improve spinach yield.

Keywords: Amino acids, chlorophyll, molasses, vinasse, zargreen.