دانشکده کشاورزی
گروه زراعت و اصلاح نباتات

پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته‌ی کشاورزی گرایش زراعت

عنوان پایان‌نامه:
اثر آسکوربیک اسید و سالیسیلیک اسید بر جوانه‌زنی و خصوصیات فیزیولوژیک گلرنگ رقم صفه در شرایط تنش شوری

استاد راهنما:
دکتر علیرضا یدوی

استاد مشاور:
دکتر محسن موحدی دهنوی
دکتر حمیدرضا بلوچی

پژوهشگر:
لیلا جعفری

خردادماه ۱۳۹۳

رساله‌ی حاضر، حاصل پژوهش‌های نگارنده در دوره‌ی کارشناسی ارشد رشته‌ی کشاورزی گرایش زراعت است که در خرداد ماه ۱۳۹۳ در دانشکده‌ی کشاورزی دانشگاه یاسوج به راهنمایی جناب آقای دکتر علیرضا یدوی و مشاوران جناب آقای دکتر محسن موحدی دهنوی و جناب آقای دکتر حمیدرضا بلوچی از آن دفاع شده است و کلیه‌ی حقوق مادی و معنوی آن متعلق به دانشگاه یاسوج است.

نام: لیلا **نام خانوادگی: جعفری**

مقطع تحصیلی: کارشناسی ارشد **رشته و گرایش: زراعت**

استاد راهنما: دکتر علیرضا یدوی **تاریخ دفاع: ۱۳۹۳/۳/۳۱**

اثر آسکوربیک اسید و سالیسیلیک اسید برجوانه‌زنی و خصوصیات فیزیولوژیک گلرنگ رقم صفه در شرایط تنش شوری

چکیده

به منظور بررسی اثر آسکوربیک اسید و سالیسیلیک اسید برجوانه‌زنی بذر و خصوصیات فیزیولوژیک گلرنگ رقم صفه تحت تنش شوری، دو آزمایش جداگانه در آزمایشگاه زراعت و گلخانه تحقیقاتی دانشگاه یاسوج در تابستان سال ۱۳۹۱ انجام گرفت. آزمایش اول به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با چهار تکرار انجام گرفت که فاکتورهای آزمایشی شامل تیمارهای شوری با سه سطح (۰، ۹۰ و ۱۸۰ میلی مولار نمک طعام) و پرایمینگ بذر در شش سطح (پرایمینگ با سالیسیلیک اسید ۰/۵ و۱ میلی‌مولار، پرایمینگ با آسکوربیک اسید ۲۰۰ و ۴۰۰ پی‌پی‌ام و پرایمینگ با آب مقطر و شاهد بدون پرایمینگ) بود. در این آزمایش خصوصیات جوانه زنی بذور گلرنگ مورد ارزیابی قرار گرفت. آزمایش دوم به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملا تصادفی در چهار تکرار به صورت آزمایش گلدانی انجام گرفت. فاکتورهای آزمایشی شامل تیمارهای شوری با سه سطح (۰، ۹۰ و ۱۸۰ میلی مولار نمک طعام) و تیمارهای محلول‌پاشی در پنج سطح (سالیسیلیک اسید (۱و ۰/۵ میلی مولار) و آسکوربیک اسید (۲۰۰ و ۴۰۰ پی‌پی‌ام) و شاهدبدون محلول‌پاشی) بود.

نتایج آزمایش اول نشان داد که افزایش غلظت نمک طعام باعث کاهش معنی دار درصد و سرعت جوانه‌زنی، طول و وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه و شاخص بنیه بذر گلرنگ شد ولی تیمارهای پرایمینگ بذر نسبت به شاهد بدون پرایمینگ افزایش معنی‌داری در این صفات ایجاد نمودند. پرایمینگ با اسید سالیسیلیک ۰/۵ میلی‌مولار و آسکوربیک اسید ۴۰۰ پی‌پی‌ام بیشترین میزان سرعت جوانه‌زنی و شاخص بنیه بذر را نشان داد. نتایج حاصل از آزمایش دوم نشان داد که افزایش غلظت نمک طعام باعث افزایش معنی‌دار پرولین، قندهای محلول ، نشت الکترولیت، مالون‌دی‌آلدهید و محتوای سدیم برگ و کاهش معنی‌دار رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل و کارتنوئید)، محتوای آب نسبی و پتاسیم برگ شد. همچنین با افزایش شوری ارتفاع ساقه، تعداد طبق در بوته و سطح برگ هر بوته کاهش و تراکم روزنه‌ها افزایش یافت. محلول پاشی با آسکوربیک ۴۰۰پی‌پی‌ام و سالیسیلیک اسید ۱ و ۰/۵ میلی‌مولار رنگیزه‌های فتوسنتزی، قندهای محلول، پرولین و پتاسیم برگ را افزایش و سدیم، نشت الکترولیت و مالون‌دی‌آلدهید برگ را کاهش داد ولی تاثیر معنی داری محتوی نسبی آب برگ نداشت.

کلید واژگان: پتاسیم، پرایمینگ، پرولین، سدیم، کلروفیل، محلول‌پاشی

دانشگاه ارومیه

عنوان پایان‌نامه:

اثر آسکوربیک اسید و سالیسیلیک اسید بر جوانه‌زنی و خصوصیات فیزیولوژیک گلرنگ رقم صفه در شرایط تنش شوری

به وسیله‌ی:

لیلا جعفری

پایان‌نامه

ارائه شده به تحصیلات تکمیلی دانشگاه به عنوان بخشی از فعالیت‌های تحصیلی لازم برای اخذ درجه کارشناسی ارشد

در رشته‌ی:

زراعت

در تاریخ ۱۳۹۳/۳/۳۱ توسط هیات داوران زیر بررسی و با درجه بسیارخوب به تصویب نهایی رسید.

۱- استاد راهنما: دکتر علیرضا یدوی با مرتبه‌ی علمی استادیار ..... امضاء

۲- استاد مشاور: دکترمحسن موحدی دهنوی با مرتبه ی علمی دانشیار ..... امضاء

۳- استاد مساور: دکتر حمیدرضا بلوچی با مرتبه‌ی علمی استادیار ..... امضاء

۴- استاد داور داخل گروه: دکتر علی مرادی با مرتبه‌ی علمی استادیار ..... امضاء

۵- نام و نام خانوادگی نماینده تحصیلات تکمیلی دانشگاه: دکتر علی نقی کستکاران با مرتبه‌ی علمی استادیار ..... امضاء

خرداد ماه ۱۳۹۳

تقدیم به آنان که آموختند تا بیاموزم

تقدیم به آنان که وجودم جز هدیه وجودشان نیست

پدر و مادر بهتر از جانم

و

تقدیم به همسر مهربانم که همواره با صبرش در تمامی لحظات رفیق راهم بود

سپاس‌گزاری

سپاس خداوندی را که دهنده‌ی بی منت است. او بنده‌اش را به زیور علم آراست و چراغ معرفتش را در دل عالمیان روشن ساخت. خدای بزرگ را شاکرم که به من فرشتگانی مهربان و صبور بنام پدر و مادر عطا کرد که سپید رویی من از سپید مویی آنهاست. از خواهران دلسوز و برادران عزیزم که همواره مشوق بنده بودند، صمیمانه تشکر می‌نمایم.

وظیفه خود می دانم که ارادت قلبی خود را نسبت به استاد علم و اخلاقم جناب آقای دکتر علیرضا یدوی بیان نمایم. تواضع، سعه صدر و مشکل گشایی ایشان همیشه برایم الگو خواهد بود همین طور از اساتید مشاور پایان نامه جناب آقای دکتر محسن موحدی دهنوی و جناب آقای دکتر حمیدرضا بلوچی که همواره از تجارب ارزنده‌شان استفاده نموده‌ام کمال تشکر را دارم. از داور داخلی پایان نامه جناب آقای دکتر علی مرادی که افتخار شاگردی ایشان را داشتم، کمال تشکر و سپاسگزاری را دارم.

از زحمات مدیر گروه محترم گروه زراعت جناب آقای دکتر رضا امیری‌فهلیانی تشکر و قدردانی می‌کنم. از زحمات اساتید دوران تحصیلم آقایان دکتر فرجی، دکترجهان‌بین، دکتر صالحی به خاطر تمام مساعدتهایشان تشکر و سپاسگزاری می‌کنم.

همچنین از تمامی دوستان عزیزم و آقای مهندس سبزی که صمیمانه با من همکاری نموده‌اند و مایه دل‌گرمی من در به اتمام رسانیدن این پایان‌نامه بوده‌اند تشکر و قدردانی می‌کنم و برایشان از صمیم قلب آرزوی موفقیت وسلامتی دارم. در پایان از تمامی همکلاسی‌های دوران تحصیلم که یاد و خاطره آنها را هرگز از یاد نمی‌برم و کارکنان بالاخص خانم مهندس کرمی و خانم مهندس حاجی‌زاده و خانم مهندس آقایی که به نحوی در رشد و تعالی بنده نقش داشته‌اند تشکر می‌نمایم.

فهرست مطالب

عنوان ..... صفحه

فصل اول: مقدمه و هدف ۱
۱-۱ اهمیت تحقیق ۱
۱-۲ اهداف تحقیق ۳
۱-۳ فرضیات تحقیق ۳
فصل دوم: کلیات و مرور منابع ۴
۲-۱ گیاهشناسی گلرنگ ۴
۲-۲ .تنش شوری ۴
۲-۳ مکانیسم‌های تحمل به شوری در گیاهان ۵
۲-۳-۱ فرار از شوری ۵
۲-۳-۲ اجتناب از شوری ۶
۲-۳-۳ تحمل شوری ۶
۲-۴ راهکارهای تحمل به شوری ۶
۲-۵ اثر تنش شوری بر مولفه‌های جوانه‌زنی ۷
۲-۶ اثر تنش شوری بر خصوصیات فیزیولوژیکی ۹
۲-۶-۱ اثر تنش شوری بر تنظیم اسمزی (پرولین، قندهای محلول) ۹
۲-۶-۱-۱ اثر تنش شوری بر پرولین ۹
۲-۶-۱-۲ اثر تنش شوری بر قندهای محلول کل ۱۰
۲-۶-۲ اثر تنش شوری برمیزان رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل، کارتنوئید) ۱۱
۲-۶-۲-۱کلروفیل برگ ۱۱
۲-۶-۲ -۲کارتنوئید برگ ۱۲
۲-۶-۳ اثر تنش شوری بر محتوی نسبی آب برگ ۱۲
۲-۶-۴ اثر تنش شوری بر نشت الکترولیت برگ ۱۳
۲-۶-۵ اثر تنش شوری بر میزان مواد معدنی (سدیم و پتاسیم) در ریشه، ساقه، برگ ۱۴
۲-۶-۶ اثر تنش شوری بر فعالیت مالون‌دی‌آلدهید ۱۵
۲-۶-۷ اثر تنش شوری بر مقدار پروتئین برگ ۱۵
۲-۷ اثر تنش شوری بر خصوصیات مورفولوژیک ۱۶
۲-۷-۱ اثر تنش شوری بر تعداد روزنه ۱۶
۲-۷-۲ اثر تنش شوری بر مساحت سطح برگ ۱۷
۲-۷-۳ اثر تنش شوری بر ارتفاع بوته ۱۸

فصل سوم: مواد و روش‌ها..... ۱۹
۳-۱- نحوه‌ی اجرای آزمایش ۱۹
۳-۲- مشخصات تیمارهای آزمایشی ۱۹
۳-۲-۱- بخش آزمایشگاهی ۱۹
۳-۲-۲- بخش گلخانه‌ای ۲۰
۳-۲-۳- فرمول غذایی هوگلند ۲۱
۳-۲-۴- روش‌های نمونه‌برداری و صفات مورد اندازه‌گیری ۲۲
۳-۳- صفات مورد اندازه‌گیری ۲۲
۳-۳-۱- تعیین محتوای نسبی آب (RWC) ۲۲
۳-۳-۲- تعداد روزنه ۲۳
۳-۳-۳- تعیین مقدار کلروفیل و کاروتنوئید ۲۳
۳-۳-۴- اندازه‌گیری میزان پایداری غشاء (نشت الکترولیت) ۲۴
۳-۳-۵- اندازه‌گیری پرولین و قندهای محلول کل ۲۴
۳-۳-۶- اندازه‌گیری سدیم و پتاسیم ۲۶
۳-۳-۷- پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء (MDA) ۲۷
۳-۳-۸- پروتئین محلول ۲۸
۳-۳-۸-۱- طرز تهیه بافر فسفات پتاسیم با pH= ۶/۸ ..... ۲۸
۳-۳-۸-۲- تهیه محلول برادفورد ۲۸
۳-۳-۸-۳- تهیه پروتئین استاندارد آلبومین سرم گاوی ۲۹
۳-۴- محاسبات آماری ۲۹

فصل چهارم: نتایج و بحث..... ۳۰
۴-۱ تجزیه و تحلیل صفات در آزمایش جوانه‌زنی ۳۰
۴-۱-۱ درصد جوانه‌زنی بذر گلرنگ ۳۰
۴- ۱- ۲ سرعت جوانه‌زنی ۳۲
۴- ۱- ۳ طول ریشه‌چه ۳۳
۴- ۱- ۴ طول ساقه‌چه ۳۴
۴- ۱- ۵ وزن خشک ریشه‌چه ۳۵
۴- ۱- ۶ وزن خشک ساقه‌چه ۳۵
۴-۱-۷ شاخص بنیه بذر ۳۶
.۴-۱-۸ نتیجه‌گیری آزمایش اول ۳۷
۴-۲ تجزیه و تحلیل نتایج مربوط به آزمایش گلخانه ۳۸
۴-۲-۱ تغییرات مربوط به خصوصیات فیزیولوژیکی ۳۸
۴-۲-۱- ۱ محتوای کلروفیل a برگ ۳۸
۴-۲-۱-۲ محتوی کلروفیل b برگ ۳۹
۴-۲-۱-۳ محتوی کلروفیل کل برگ ۴۰
۴-۲-۱-۴ محتوای کاروتنوئید برگ ۴۱
۴- ۲-۱-۵ پرولین برگ ۴۲
۴-۲-۱-۶ پروتئین محلول برگ ۴۳
۴-۲-۱-۷ قندهای محلول کل برگ ۴۴
۴-۲-۱-۸ محتوای نسبی آب برگ ۴۵

۴-۲-۱-۹ نشت الکترولیت (پایداری غشاء) برگ ۴۷
۴- ۲-۱-۱۰ مالون‌دی‌آلدهید برگ ۴۹
۴- ۲-۱-۱۱ میزان سدیم ریشه ۴۹
۴-۲-۱-۱۲ میزان سدیم ساقه ۵۰
۴-۲-۱-۱۳ میزان سدیم برگ ۵۰
۴-۲-۱-۱۴ میزان پتاسیم ریشه ۵۲
۴-۲-۱-۱۵ میزان پتاسیم ساقه ۵۳
۴-۲-۱-۱۶ میزان پتاسیم در برگ ۵۴
۴- ۳ خصوصیات مورفولوژیک ۵۵
۴- ۳-۱ تعداد روزنه برگ ۵۵
۴- ۳- ۲ ارتفاع گلرنگ ۵۵
۴- ۳- ۳ تعداد طبق در بوته ۵۶
۴- ۳- ۴ مساحت سطح برگ ۵۷
۴- ۴-نتیجه‌گیری آزمایش دوم ۵۹
۴-۵ پیشنهادات ۵۹
منابع **۶۰**

فهرست جداول

عنوان..... صفحه
جدول ۳-۱ طرز تهیه محلول غذایی هوگلند ۲۱
جدول۳-۲ طرز تهیه نمونه‌های استاندارد جهت اندازه‌گیری پرولین ۲۶
جدول ۴-۱- نتایج حاصل از تجزیه واریانس اثر شوری و پرایمینگ برای صفات جوانه‌زنی بذور گلرنگ ۳۱
جدول ۴-۲- نتایج حاصل از تجزیه واریانس برش‌دهی اثرپرایمینگ در سطوح مختلف شوری برای صفات جوانه‌زنی بذور گلرنگ ۳۱
جدول ۴-۳- مقایسه میانگین برهمکنش شوری و پرایمینگ برای صفات جوانه‌زنی در بذور گلرنگ ۳۲
جدول ۴-۴- مقایسه میانگین اثر شوری برای برخی صفات جوانه‌زنی در بذور گلرنگ ۳۷
جدول ۴-۵ – مقایسه میانگین اثر پرایمینگ برای برخی صفات جوانه‌زنی در بذور گلرنگ ۳۷
جدول ۴-۶- نتایج حاصل از تجزیه واریانس صفات محتوای کلروفیل و کاروتنوئید در گلرنگ تحت تأثیر تنش شوری و محلول‌پاشی ۳۷
جدول ۴-۷- نتایج حاصل از تجزیه واریانس برش دهی اثر محلول‌پاشی در سطوح مختلف شوری برای صفات محتوای کلروفیل، کاروتنوئید در گلرنگ ۴۰
جدول ۴-۸- مقایسه میانگین برهم‌کنش‌شوری و محلول‌پاشی برای محتوای کلروفیل و کاروتنوئید اندازه‌گیری شده در گلرنگ ۴۲
جدول ۴-۹- نتایج حاصل از تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیکی اندازه گیری شده در برگ گلرنگ تحت تاثیر شوری و محلول‌پاشی ۴۶
جدول ۴-۱۰- نتایج حاصل از تجزیه واریانس برش دهی اثر محلول‌پاشی در سطوح مختلف شوری برخصوصیات فیزیولوژیک اندازه‌گیری شده در گلرنگ ۴۶
جدول ۴-۱۱- مقایسه میانگین برهم‌کنش شوری و محلول پاشی برای برخی صفات فیزیولوژیک گلرنگ ۴۸
جدول ۴-۱۲- مقایسه میانگین اثر شوری برای برخی صفات فیزیولوژیک گلرنگ ۴۸
جدول ۴-۱۳ مقایسه میانگین اثر محلول‌پاشی برای برخی صفات فیزیولوژیک گلرنگ ۴۸
جدول ۴-۱۴- نتایج حاصل از تجزیه واریانس سدیم و پتاسیم اندازه گیری شده در گلرنگ ۵۱
جدول ۴-۱۵- نتایج حاصل از تجزیه واریانس برش دهی اثر محلول‌پاشی در سطوح مختلف شوری برای عناصر سدیم وپتاسیم در گلرنگ ۵۱
جدول ۴-۱۶- نتایج برهم‌کنش شوری و محلول پاشی برای عناصر اندازه گیری شده در گلرنگ ۵۲
جدول ۴-۱۷-مقایسه میانگین اثر شوری برای میزان پتاسیم در ریشه گلرنگ ۵۳
جدول ۴-۱۸- مقایسه میانگین اثر محلول‌پاشی برای میزان پتاسیم در ریشه گلرنگ ۵۳
جدول ۴-۱۹- نتایج حاصل از تجزیه واریانس برخی از صفات مورفولوژیک اندازه گیری شده در گلرنگ ۵۶
جدول ۴-۲۰- مقایسه میانگین اثر شوری برای تعداد روزنه و ارتفاع گلرنگ ۵۶
جدول ۴-۲۱- مقایسه میانگین اثر محلول‌پاشی برای تعداد روزنه و ارتفاع گلرنگ ۵۶
جدول ۴-۲۲- نتایج حاصل از تجزیه واریانس برش‌دهی اثر محلول‌پاشی در سطوح مختلف شوری برای تعداد طبق و سطح برگ اندازه‌گیری شده در گلرنگ ۵۷
جدول ۴-۲۳- مقایسه میانگین برهم‌کنش شوری و محلول پاشی برای تعدا د طبق و سطح برگ گلرنگ ۵۸

فصل اول

مقدمه

۱-۱ اهمیت تحقیق

دانه‌های روغنی در مقام چهارم بعد از گندم، ذرت و حبوبات که به عنوان غذاهای اصلی مورد بحث قرار می‌گیرند؛ بخش مهمی از محصولات کشاورزی را تشکیل می‌دهند. امروزه مصرف روغن‌های گیاهی با توجه به سلامت تغذیه، افزایش جمعیت و تغییر الگوی غذایی مردم در حال افزایش است. بنابراین به منظور کاهش واردات مواد اولیه‌ی روغن که تغییر قیمت آن در بازار جهانی مشکلات و خسارت‌های اقتصادی را به همراه دارد، توجه به افزایش تولید از جنبه‌ی کمی و کیفی در دانه‌های روغنی، ضروری به نظر می‌رسد. بسیاری از گیاهان دانه روغنی دارای سازگاری خوبی با شرایط اقلیمی کشور می‌باشند و امکان تولید دانه‌های روغنی در داخل فراهم است. بنابراین در راستای بهره‌برداری از پتانسیل موجود، انجام تحقیقات منسجم و کافی در زمینه به‌زراعی و به‌نژادی گیاهان دانه روغنی الزامی است.

در ایران کشت گلرنگ (*Carthamus tinctorius*) به عنوان یک گیاه روغنی از سال ۱۳۳۶ آغاز شد که یکی از امتیازات این گیاه بومی بودن و سازگاری آن با شرایط اقلیمی ایران است. به‌طوری‌که این گیاه با شرایط محیطی خشک و نیمه‌خشک و رطوبت کم سازگاری داشته و امکان کشت پاییزه آن در بسیاری از مناطق کشور وجود دارد (احمدزاده و همکاران، ۱۳۸۹).گل‌های قرمز و زرد این گیاه نیز جهت تولید رنگ طبیعی، مصارف دارویی، صنایع غذایی و در صنعت رنگ‌سازی مورد استفاده قرار می‌گیرد. این گیاه نسبت به شرایط نامساعد محیطی از جمله تنش‌های شوری و خشکی متحمل می‌باشد. روغن گلرنگ به دلیل بالا بودن نسبت اسیدهای چرب غیراشباع، مشابه روغن زیتون بوده و ضمن بالا بودن اسید لینولئیک قیمت کمتری نیز دارد (داجو و مندل[1]، ۱۹۹۶). در حال حاضر بیش از ۶۰ کشور، گلرنگ پرورش می‌دهند، اما بیش از نیمی از تولید آن در هند است. با توجه به سازگار بودن گلرنگ با شرایط آب و هوایی کشور ایران، این گیاه می‌تواند اهمیت زیادی در تأمین نیاز روغن کشور داشته باشد. وجود توده‌های محلی و انواع تیپ‌های وحشی این گیاه که در سراسر ایران پراکنده است، نشان از سازگاری بالای گلرنگ با شرایط آب و هوایی مناطق وسیعی از کشور ما دارد (زینلی، ۱۳۷۸).

[1] *Dajue and mandel*

همچنین این گیاه سازگاری بالایی با مناطق نیمه خشک دارد. خصوصیات زراعی و بخصوص مقاومت به خشکی و شوری گیاه گلرنگ باعث شده است که بتوان آن را در دیم‌زارها و یا اراضی شور کشت نمود. تنش شوری عاملی است که به‌طور جدی تولید محصولات زراعی را در مناطق مختلف از جمله مناطق خشک و نیمه‌خشک محدود می‌کند. آبیاری با آب‌های نامناسب و شور مهم‌ترین عامل افزایش نمک و شور شدن خاک و در نتیجه ایجاد تنش شوری است. پاسخ گیاهان به تنش شوری متفاوت بوده و به میزان سمیت و پتانسیل اسمزی نمک و مدت زمان تنش بستگی دارد (کومبا[1] و همکاران، ۱۹۹۸). تأثیر شوری بر گیاهان از یک طرف به غلظت کل نمک و نوع یون ویژه ارتباط داشته و از طرف دیگر به گونه و رقم گیاه، مربوط می‌شود. نمک از طریق افزایش فشار اسمزی محلول خاک، سمیت یون‌ها و به هم‌زدن تعادل یون‌ها یا کمبود تغذیه‌ای موجب آسیب رسیدن به گیاه می‌شود (دولت آبادیان، ۱۳۸۸). گیاهان ممکن است از طریق اجتناب از شوری به وسیله تنظیم نمک و یا تحمل نمک و فائق آمدن سلول‌های گیاه بر غلظت بالای یونی نسبت به محیط شور مقاومت نشان دهند. هم‌چنین گیاهان مقاوم با تولید ترکیبات اسمزی سازگار مانند مانیتول، گلایسین بتائین، پرولین و قندها، قادرند تورژسانس سلولی خود را در شرایط تنش شوری حفظ کنند (اشرف و هریس[2]، ۲۰۰۴). معمولا در گیاهانی که در معرض تنش خشکی و شوری قرار گرفته‌اند، پرولین تجمع نموده و افزایش غلظت آن در گیاه می‌تواند در تنظیم پتانسیل اسمزی و حفظ فعالیت آنزیم‌ها موثر باشد. تنش شوری باعث تولید انواع اکسیژن فعال در سلول و آسیب رساندن به لیپیدهای غشا پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌شود (نوکتور و فویر[3]، ۱۹۹۸). مواد آنتی اکسیدان موجود در گیاهان سبب خنثی سازی این رادیکال‌های آزاد می‌گردند که از مهم‌ترین آن‌ها می‌توان آسکوربیک اسید، توکوفرول و گلوتاتیون را نام برد. سالیسیلیک اسید نقش مهمی، در ایجاد مقاومت به تنش‌های محیطی از جمله تنش خشکی، شوری،... برعهده دارد (ژانگ و کایرخام[4]،۱۹۹۶). از جمله راهکارهای مقابله با شوری می‌توان به اصلاح گیاهان زراعی برای تحمل به شوری، کاربرد ارقام متحمل به شوری، پرایمینگ و محلول‌پاشی با ترکیباتی نظیر سالیسیلیک اسید و آسکوربیک اسید اشاره کرد. مطالعات زیادی که روی گیاهان زراعی انجام گرفته است، نشان داده است که سالیسیلیک اسید و آسکوربیک اسید مقاومت به تنش شوری را افزایش می‌دهند (عرفان [5]و همکاران ، ۲۰۰۷). با توجه به این‌که در بسیاری از مناطق کشور به دلیل کمبود آب و خشکی، مساله شوری خاک و آب از مهم‌ترین مشکلات تولیدات کشاورزی محسوب شده و با توجه به اهمیت گلرنگ به عنوان یک گیاه روغنی بومی کشور این تحقیق با هدف بررسی پرایمینگ و محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید و آسکوربیک اسید بر گلرنگ و نقش آنها در واکنش این گیاه به تنش شوری انجام گرفت.

---

[1] *Comba*
[2] *Ashraf and Harris*
[3] *Noctor and Foyer*
[4] *Zhang and Kirkham*
[5] *Arfan*

۱-۲ اهداف تحقیق

۱- تعیین واکنش جوانه‌زنی بذور گلرنگ به تنش شوری

۲- تعیین اثر پرایمینگ آسکوربیک اسید و سالیسیلیک اسید بر پارامترهای جوانه‌زنی گلرنگ در شرایط تنش شوری

۳- بررسی تغییرات خصوصیات فیزیولوژیک گلرنگ (کلروفیل، پرولین، قندهای محلول، مالون دی‌آلدهید) تحت تنش شوری و محلول‌پاشی آسکوربیک اسید و سالیسیلیک اسید

۱-۳ فرضیات تحقیق

۱ - تنش شوری باعث کاهش پارامترهای جوانه‌زنی گلرنگ می‌شود.

۲- پرایمینگ بذر با سالیسیلیک اسید و آسکوربیک اسید باعث کاهش اثرات شوری بر پارامترهای جوانه‌زنی گلرنگ می‌شود.

۳-محلول‌پاشی با سالیسیلیک اسید و آسکوربیک اسید در گلرنگ در شرایط تنش شوری باعث بهبود صفات فیزیولوژیک گلرنگ می‌شود.

فصل دوم
کلیات و مرور منابع

۲-۱ گیاهشناسی گلرنگ

گلرنگ با نام علمی *Carthamus tinctorius* L. از خانواده کاسنی می‌باشد. این گیاه بومی قسمت‌هایی از آسیا، خاورمیانه و آفریقا است که در گذشته برای استفاده از گل‌های آن که برای تهیه رنگ در مواد غذایی و البسه به کار می‌رفت، کشت می‌شده است. امروزه این گیاه بیشتر برای استخراج روغن از دانه آن کشت می‌شود. گونه زراعی این گیاه یکساله است ولی گونه‌های وحشی چندساله نیز دارد. این گیاه دارای ریشه‌های قوی و گسترده می‌باشد. این ویژگی به گیاه امکان می‌دهد تا رطوبت و مواد غذایی را از عمق نسبتا زیاد جذب نماید. به همین جهت گلرنگ را گیاهی کم‌توقع و مقاوم به شمار می‌آورند. این گیاه بدلیل داشتن ریشه عمیق، برگ‌های مومی و بذر با پوسته ضخیم، خاص مناطق خشک و بیابانی است و قابلیت سازگاری با مناطق خشک، سردسیر و با بارندگی کم، چون ایران را دارد. به طور کلی ترکیبات بذر شامل پوست (۳۰٪ تا ۵۰٪)، آب (۳٪ تا ۱۰٪)، روغن (۲۵٪ تا ۴۰٪) و پروتئین (۱۲٪ تا ۲۰٪) است. روغن حاصل از دانه گلرنگ از نظر کیفیت بخاطر مقاومت بالا در مقابل اکسیداسیون در رده بهترین روغن‌های خوراکی است (خواجه‌پور، ۱۳۸۵).

۲-۲ تنش شوری

رشد گیاه یکی از پیچیده‌ترین و حساس‌ترین پدیده‌های حیاتی نسبت به پارامترهای محیطی است که در واقع بازتاب پاسخ گیاه نسبت به متغیرهای محیطی می‌باشد (علیزاده، ۱۳۸۱). رشد گیاه به وسیله تنش‌های متعددی مثل شوری و خشکی و... تحت تاثیر قرار می‌گیرد (اشرف و فولاد[1]، ۲۰۰۷). یکی از مشکلات بزرگ در دنیای امروز، شوری و کمبود منابع آبی است که باعث محدودیت کشاورزی شده است. شوری خاک به دلیل جلوگیری از جذب آب و عناصر غذایی به درون گیاه یکی از محدودیت‌های رشد گیاهان زراعی محسوب شده و به عنوان مشکل بزرگ کشاورزی، به‌ویژه در کشاورزی فاریاب گزارش شده است (میرمحمدی میبدی و قره یاضی،۱۳۸۱). بخش قابل توجهی از بوم‌نظام‌های طبیعی

[1] *Ashraf and Foolad*

و زراعی دنیا تحت تنش شوری قرار دارند، که در ایران معادل ۲۵ درصد مساحت زمین‌های کشور دارای شوری است (داداشی و همکاران، ۱۳۸۶). با استفاده مناسب و مدیریت شده از آب‌های شور می‌توان فراهمی آب برای آبیاری را افزایش داد. به ویژه که مقادیر قابل توجهی از چنین آب‌هایی در مکان‌های مختلف جهان در دسترس می‌باشند. اثرات زیان‌آور شوری بر رشد گیاه به کاهش پتانسیل اسمزی محلول خاک، عدم تعادل تغذیه‌ای، سمیت یون‌های خاص یا ترکیبی از این فاکتورها مربوط می‌شود. همه این دلایل بر رشد، توسعه فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در سطح مولکولی اثر می‌گذارند (اشرف و هریس، ۲۰۰۴). از مهم‌ترین آثار شوری می‌توان به کاهش آب قابل استفاده‌ی گیاه، ایجاد مسمومیت توسط برخی یون‌های سمی، فعالیت کم عناصر غذایی ضروری، نسبت زیاد سدیم به پتاسیم، سدیم به کلسیم و منیزیم به کلسیم و کلر به نیترات در گیاه، ناهنجاری تغذیه‌ای، کاهش رشد و کاهش کیفیت محصول اشاره نمود (پریدا و داس[1]، ۲۰۰۵). تنش شوری باعث تولید انواع اکسیژن فعال در سلول و آسیب رساندن به لیپیدهای غشا، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌شود (نوکتور و فویر، ۱۹۹۸). سازوکارهای تحمل به شوری را می‌توان به حفظ ثبات و پایداری سلول (شامل ثبات یونی و تنظیم اسمزی)، کنترل صدمات ناشی از تنش (جبران صدمات و سم‌زدایی) و تنظیم رشد دسته‌بندی کرد. تلاش‌های زیادی برای درک سازوکارهای تحمل شوری صورت گرفته است. موفقیت برنامه‌های اصلاحی با هدف نهایی بهبود عملکرد محصول، به دلیل فقدان درک روشنی از اساس مولکولی تنش شوری تاکنون چندان چشم‌گیر نبوده است (پریدا و داس، ۲۰۰۵).

۲-۳ سازو کارهای مقاومت به شوری در گیاهان

توانایی گیاهان در مقاومت به تنش‌های مختلف متفاوت است. مقاومت به شوری مجموعه‌ای از سازوکارهای پیچیده می‌باشد که گیاهان برای حفظ خود به کار می‌برد. گیاهان سازوکارهای متعدد بیوشیمیایی و ملکولی برای مقابله با شوری دارند. بعضی مسیرهای بیوشیمیایی منجر به بهبود تحمل به شوری می‌شود و به صورت افزایشی و همزمان عمل می‌کنند. راهبردهای مدیریتی شامل تجمع و خروج انتخابی یون‌ها، کنترل جذب یون‌ها از ریشه و انتقال آن به برگ‌ها، جایگزینی ویژه یون‌ها در سلول و در کل گیاه، سنتز مواد سازگار، تغییر در مسیر فتوسنتزی، تغییر در ساختار غشایی، تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و تولید هورمون‌های گیاهی می‌باشند (کافی و همکاران، ۱۳۸۸).

۲-۳-۱ فرار از شوری

گاهی اوقات برای فرار و اجتناب از تنش، گیاه طول عمر خود را کم می‌کند. فرار از تنش هنگامی صورت می‌گیرد که گیاه از لحاظ ترمودینامیکی با تنش به حالت تعادل می‌رسد بدون اینکه آسیب ببیند. ادامه حیات در بقیه فصل رشد با تشکیل دانه یا به حالت خواب، نیمه خواب نیاز چندانی به وجود آب نخواهند داشت (پریدا و داس، ۲۰۰۵).

---

[1] *Parida and Das*

۲-۳-۲ اجتناب از شوری

مقاومت گیاهان از طریق تنظیم نمک افزایش می‌یابد.

تنظیم نمک شامل سه دسته:

۱-ذخیره و نگهداری نمک در پروتوپلاسم، انتقال و تجمع یون در واکوئل‌ها

۲-حذف و ترشح نمک از طریق سطح ریشه و ساقه، دفع نمک از غدد، آزادسازی و ریزش قسمت‌های حاوی نمک از گیاه

۳- از بین رفتن نمک در ساقه و ریشه (کافی و همکاران، ۱۳۸۸).

۲-۳-۳ تحمل شوری

تحمل در برابر شوری به معنای ادامه رشد گیاه در یک محیط شور (حاوی کلرید سدیم و یا ترکیبی از نمک‌های مختلف) یا عدم بروز اثرات منفی آن بر روی گیاهانی که نمک را در داخل بافت‌های خود انباشته کرده‌اند، می‌باشد. راهکارهای اصلی ویژه تحمل به شوری دو نوع هستند:

۱-آنهایی که حداقل نمک را به داخل گیاه راه می‌دهند.

۲-آنهایی که حداقل نمک را در سیتوپلاسم دارند که به بافت متحمل معروفند.

شورزیست‌ها هر دو نوع راهکار را دارند و از ورود نمک به خوبی جلوگیری می‌کنند، اما سلول‌ها می‌توانند جایگذاری در واکوئل‌ها نیز انجام دهند. این راهکارها به همراه غده‌های نمکی یا کیسه‌ها که نمک را به بیرون می‌کشند، به این گیاهان اجازه رشد در یک دوره طولانی در خاک‌های شور را می‌دهند (پریدا و داس، ۲۰۰۵).

۲-۴ راهکارهای تحمل به شوری

از جمله راهکارهای مختلفی که برای غلبه بر تنش حاصل از شوری در گیاهان وجود دارد، راهکارهای بیوشیمیایی می‌باشند که شامل موارد زیر است:

- کنترل جذب یون توسط ریشه‌ها و انتقال آن به داخل برگ‌ها
- تقسیم شدن یون‌ها در سلول‌ها و برگ‌های کل گیاه
- سنتز مواد محلول سازگار
- تغییر در مسیر فتوسنتز
- تغییر در ساختار غشاء
- القای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان
- القای هورمون‌های گیاهی (پریدا و داس، ۲۰۰۵)

سازگاری سلول‌های گیاهی با سطوح بالای شوری، از دو راه تنظیم اسمزی و زدودن یون‌های سمی امکان پذیر است. اما شواهد جدید حکایت از آن دارد که سطوح بالای شوری موجب ایجاد تنش اکسیداتیو نیز می‌گردد (نوکتور و فویر، ۱۹۹۸).

سازوکارهای تحمل گیاهان سازوکارهایی با پیچیدگی کم و یا زیاد هستند. سازوکارهای با پیچیدگی کم برای وارد کردن تغییرات در مسیر بیوشیمیایی ظاهر می‌شوند و سازوکارهای با پیچیدگی زیاد برای فرایندهای مهم تولید، از قبیل فتوسنتز و تنفس مثل بازده مصرف آب، بوجود می‌آیند و اینها از ترکیبات مهم از قبیل اسکلت سلولی، دیواره سلول یا برهمکنش‌های غشای پلاسمایی و دیواره سلولی و تغییرات ساختار کروموزوم و کروماتین، محافظت می‌کنند.

دو خصوصیت اصلی محیط‌های شور، پتانسیل اسمزی پایین و غلظت‌های بالای املاحی است که بالقوه برای گیاهان سمی می‌باشند. املاح موجود در خاک باعث کاهش پتانسیل آب در محیط رشد ریشه شده و جذب آب توسط ریشه را محدود می‌کنند و گیاه دچار نوعی خشکی فیزیولوژیک می‌گردد. از طرفی غلظت‌های زیاد املاح در خاک و به دنبال آن جذب یون‌هایی مانند سدیم و کلر در گیاه ایجاد سمیت می‌کند (پریدا و داس، ۲۰۰۵).

روش‌هایی برای کنترل شوری، که شامل روش‌های مدیریتی و بهره‌برداری از اراضی شور و استفاده از گیاهانی که توانایی بقا و تولید در این محیط را دارند، می‌باشد. پرایمینگ با استفاده از ترکیبات آلی و غیر آلی یا دمای بالا و پایین می‌باشد. راهکار بعدی، مصرف خارجی ترکیبات شیمیایی مانند پرولین، گلایسین بتائین و هورمون‌های تنظیم‌کننده رشد مانند سالیسیلیک‌اسید و می‌باشد.

پرایمینگ بذر عملی است که به واسطه آن بذور پیش از قرار گرفتن در بستر کشت، از لحاظ فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی آمادگی جوانه‌زنی را به دست می‌آورند. این امر سبب تغییرات زیستی و فیزیولوژیکی زیادی در بذور و همچنین گیاه حاصل از آن می‌گردد به طوری که نتیجه این عمل در جوانه‌زنی، استقرار اولیه گیاهچه، زودرسی و افزایش کمی و کیفی محصول قابل مشاهده می‌باشد (اسمعیلی‌پور و مجدم، ۱۳۸۸).

سالیسیلیک‌اسید یا اورتوهیدروکسی بنزوئیک‌اسید یک تنظیم‌کننده‌ی رشد درونی از گروه ترکیبات فنلی طبیعی می‌باشد که تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه، القای گلدهی، رشد و نمو، سنتز اتیلن تاثیر در باز و بسته‌شدن روزنه‌ها و تنفس از نقش‌های مهم آن بشمار می‌رود (التایب، ۲۰۰۵). سالیسیلیک‌اسید مانند یک محافظ در برابر تنش عمل کرده و در تنظیم تعدادی از فرآیندهای گیاهی همانند فتوسنتز نقش‌هایی را ایفا می‌کند (عرفان و همکاران، ۲۰۰۷).

آسکوربیک‌اسید نیز یک آنتی‌اکسیدان کوچک قابل حل در آب است که در سمیت‌زدایی گونه‌های فعال اکسیژن به‌ویژه پراکسیدهیدروژن نقش دارد.

به علاوه این ترکیب به طور مستقیم در خنثی کردن رادیکال‌های سوپراکسید، اکسیژن منفرد یا سوپراکسید و به عنوان یک آنتی‌اکسیدان ثانویه در بازتولید آلفاتوکوفرول و دیگر آنتی‌اکسیدان‌های چربی‌دوست نقش ایفا می‌کند (نوکتور و فویر، ۱۹۹۸).

۲-۵ اثر تنش شوری بر مولفه‌های جوانه‌زنی

کاهش درصد جوانه‌زنی در شرایط افزایش شوری می‌تواند بدلیل سمیت یون سدیم باشد. پژوهش‌های صورت گرفته بر روی جوانه‌زنی گیاهان مختلف بیانگر این واقعیت است که با افزایش شوری جوانه‌زنی،

طول ریشه‌چه، ساقه‌چه و همچنین وزن خشک گیاهچه به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد (دولت‌آبادیان و همکاران، ۱۳۸۷). تنش شوری میزان سرعت و درصد جوانه‌زنی گیاه کلزا را نیز کاهش داده است (جمیل و چاناند[1]، ۲۰۰۵). بررسی جوانه‌زنی و رشد اولیه‌ی گیاهچه‌های ۴ گیاه (چغندرقند، کلم پیچ، تاج خروس، کلم صحرایی) تحت تاثیر شوری، کاهش معنی‌داری در درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، طول و وزن تر ریشه‌چه و ساقه‌چه را نشان داد (جمیل و همکاران[2]، ۲۰۰۶). میرمحمدی و قره‌یاضی (۱۳۸۱) گزارش نمودند که کاهش پتانسیل اسمزی در سطوح شوری منجر به کاهش سرعت و درصد جوانه‌زنی در ارقام مختلف گلرنگ می‌شود. افزایش غلظت کلریدسدیم طول ریشه‌چه و ساقه‌چه و وزن تر و خشک گیاهچه خلر را کاهش داد (مهدوی و همکاران، ۱۳۸۶). همچنین خدابخش و همکاران (۱۳۸۹) گزارش کرده‌اند در گیاه نخود با افزایش شوری درصد و سرعت جوانه‌زنی، طول و وزن تر و خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه کاهش می‌یابد. مطالعات زیادی نشان داده است که با تیمار بذور با آب و یا ترکیبات آلی قبل از کشت مقاومت به شوری گیاهان بهبود می‌یابد (کافی و همکاران، ۱۳۸۸). دولت‌آبادیان و همکاران (۱۳۸۷) گزارش کردند که تنش شوری باعث کاهش درصد جوانه‌زنی در بذرهای گندم شده به طوری که در غلظت ۲۰۰ میلی‌مولار نمک سبب کاهش ۱۷/۶۴٪ جوانه‌زنی نسبت به تیمار شاهد می‌شود. همچنین مشاهده شد که سالیسیلیک‌اسید تاثیر مثبتی بر جوانه‌زنی داشته و هم شاهد و هم در تیمارهای تنش‌دیده سبب افزایش جوانه‌زنی می‌شود. سالیسیلیک‌اسید در غلظت ۱/۵ میلی‌مول در افزایش درصد جوانه‌زنی بذر گوجه‌فرنگی نیز موثر بوده است (اسزپسی[3] و همکاران، ۲۰۰۵). پرایم بذور گندم با سالیسیلیک‌اسید باعث افزایش معنی‌دار در درصد و سرعت جوانه‌زنی در شرایط تنش شوری می‌شود (دولت‌آبادیان و همکاران، ۱۳۸۷).

پیش‌تیمار بذر گندم با سالیسیلیک اسید یک میلی‌مولار سبب کاهش جوانه‌زنی می‌شود. در حالی که غلظت ۰/۵ میلی‌مولار جوانه‌زنی را افزایش می‌دهد (دولت‌آبادیان و همکاران، ۱۳۸۷). چنین به نظر می‌رسد که سالیسیلیک اسید از طریق تاثیر در سیستم آنتی‌اکسیدانی سبب کاهش اثر سمی و مخرب تنش شوری شده و جوانه‌زنی را افزایش داده است.

مظاهری‌تیرانی و کلانتری (۱۳۸۵) گزارش کردند که استفاده از سالیسیلیک اسید در سطح بیش از یک میلی‌مولار اثر کاهنده بر درصد جوانه‌زنی گیاه کلزا دارد و میزان کمتر آن باعث افزایش درصد جوانه‌زنی می‌شود. گزارش شده است که اسید آسکوربیک بر روی درصد و سرعت جوانه‌زنی بذر کلزا توانسته است تا حدودی اثرات شوری را کاهش و آثار مثبت بیشتری را در سطوح بالای شوری نشان داده است (لاری یزدی و همکاران، ۱۳۸۸).

---

[1] *Jamil and Chaunad*
[2] *Jamil*
[3] *Szepesi*

۲-۶ اثر تنش شوری بر خصوصیات فیزیولوژیکی

۲-۶-۱ اثر تنش شوری بر تنظیم اسمزی (پرولین، قندهای محلول)

در بین راهکارهای تاثیرگذار در مقاومت به تنش، تنظیم اسمزی را می‌توان مهم‌ترین راهکار به حساب آورد. اولین مرحله پاسخ رشد گیاه در نتیجه تاثیر نمک تنظیم اسمزی است. تنظیم اسمزی پدیده‌ای فیزیولوژیک است که قادر است با حفظ پتانسیل تورژسانس از طریق انتقال و تجمع محلول‌های معدنی و آلی، گیاهان را برای رشد در شرایط شوری مقاوم سازد (کافی و همکاران، ۱۳۸۸).

۲-۶-۱ - ۱ اثر تنش شوری بر محتوای پرولین

پرولین به عنوان یک اسمولیت مهم در تنظیم اسمزی سلول تحت تنش‌هایی مانند خشکی، شوری، دمای پایین، کمبود مواد غذایی، قرار گرفتن در معرض فلزات سنگین و اسیدیته بالا نقش اساسی دارد (کافی و همکاران، ۱۳۸۸). افزایش جذب سدیم و سنتز اسمولیت‌های سازگار نظیر پرولین و کربوهیدرات‌های محلول از راه‌کارهای گیاهان جهت سازگاری و کاهش اثرات تنش شوری است (پریدا و داس، ۲۰۰۵). پرولین اسیدآمینه ذخیره شده در سیتوپلاسم می‌باشد و در آنجا انباشته می‌شود تا پتانسیل اسمزی واکوئل متعادل می‌شود (مستاجران و رحیمی[۱]، ۲۰۰۹). تحریک سنتز پرولین در شرایط تنش می‌تواند به عنوان یک نوع محل مصرف برای مواد احیاء شده در تنفس و فتوسنتز باشد (فرخی و همکاران، ۱۳۸۳). همبستگی مثبت و معنی‌داری بین غلظت پرولین و تنظیم اسمزی وجود دارد. بنابراین در شرایط تنش، غلظت پرولین سهم زیادی در تنظیم اسمزی گیاهان دارد (کافی و همکاران، ۱۳۸۸). مردانی‌نژاد و وزیرپور (۱۳۸۶) بر روی ژنوتیپ‌های بومی برنج آزمایشی تحت تنش شوری انجام داده و مشاهده کردند که با افزایش سطوح شوری، مقدار پرولین تمامی ژنوتیپ‌ها افزایش معنی‌داری نشان می‌دهد. گزارش شده که پرولین نقش مهمی در تنظیم اسمزی در گیاهان سورگوم، برنج و پنبه داشته است، همچنین تجمع پرولین به طور قابل توجهی تحت تأثیر تنش شوری است (سانچز[۲] و همکاران، ۲۰۰۷). افزایش پرولین در کشت جو تحت تنش شوری موجب کاهش در سدیم و کلر ساقه و موجب افزایش رشد می‌شود (داداشی و همکاران، ۱۳۸۶). افزایش پرولین در گیاه باقلای تحت تنش شوری منجر به تنظیم پتانسیل اسمزی در سیتوپلاسم سلول می‌گردد (زاید و الامری[۳]، ۲۰۰۶). شوری باعث افزایش محتوای پرولین در سویا (گوریر و همکاران[۴]، ۱۹۹۸)، توتون (کیشور[۵] و همکاران، ۱۹۹۵) و اکالیپتوس (مورابیتو[۶] و همکاران، ۱۹۹۶) می‌گردد.

سالیسیلیک اسید تنش‌های ایجاد شده توسط NaCl را از طریق کاهش سیستم آنتی‌اکسیدانت بهبود بخشیده است (یوسف[۷] و همکاران، ۲۰۰۸). کشاورز و همکاران (۱۳۹۰) گزارش کردند که

---

[1] *Mostajeran and Rahimi*
[2] *Sanchez*
[3] *Zayed and Elamry*
[4] *Gurrier*
[5] *Kishor*
[6] *Morabito*
[7] *Yusuf*