مجله پژوهش‌های به زراعی
جلد۱۴ ، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۱

مجله پژوهش‌های به زراعی

اثر محلول‌پاشی اسید هیومیک بر عملکرد و برخی صفات فیزیولوژیکی کاهو لولاروزا (*Lactuca sativa* L.) تحت تنش شوری

روما کلهر منفرد [1*]

۱-دانشجوی دکتری، گروه زراعت، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۲/۲۹ **تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۵/۱۳**

چکیده

تنش شوری از جمله تنش‌های مهم در کاهش عملکرد گیاهان، به‌ویژه گیاهان برگی است و ارائه راهکارهایی جهت مقابله با آن بسیار حائز اهمیت است. بدین منظور آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در چهار تکرار در گلخانه‌ای واقع در نظر آباد کرج بر کاهو لولاروزا به صورت هیدروپونیک و در شرایط تنش شوری انجام شد. عامل‌های این پژوهش شامل اسید هیومیک در چهار غلظت صفر (شاهد)، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر و تنش شوری در دو سطح بدون تنش (شاهد) و ۳۰ میلی‌مولار بود. نتایج نشان داد که اعمال تنش شوری موجب کاهش عملکرد کاهو لولاروزا شد. کاربرد اسید هیومیک و افزایش غلظت آن موجب افزایش عملکرد کمی و کیفی این گیاه شد و اثرات منفی حاصل از تنش شوری را کاهش داد. بیشترین عملکرد وزن تر کاهو (۶۸۲/۲۷ گرم بر متر مربع)، مربوط به اثرات متقابل تیمارهای اسید هیومیک ۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر و شاهد تنش شوری بود که با برهمکنش اسید هیومیک ۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر و تنش شوری در یک گروه آماری قرار گرفتند. کاربرد اسید هیومیک وافزایش غلظت آن سبب کاهش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز شد. تنش شوری فعالیت آنزیم کاتالاز و آنزیم آسکوربات پراکسیداز را افزایش داد. کمترین فعالیت آنزیم کاتالاز با ۰/۰۰۴ µmole FW/min و آنزیم آسکوربات پراکسیداز با $\mu mol\ H_2O_2\ min^{-1}.mg^{-1}$ protein ۰/۴۱، مربوط به اثرات متقابل تیمارهای اسید هیومیک ۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیترو شاهد تنش شوری بود. بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز µmole ۰/۰۲۴ FW/min و آنزیم آسکوربات پراکسیداز $\mu mol\ H_2O_2\ min^{-1}.mg^{-1}$ protein ۰/۸۱ در شاهد اسید هیومیک در شرایط تنش شوری مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: آسکوربات پراکسیداز، پرولین، رنگیزه‌های فتوسنتزی، کاتالاز، کشت هیدروپونیک

* نگارنده مسئول (roma.kalhor@gmail.com)

مقدمه

تغذیه برگی، روشی جهت کاهش مصرف کودهای شیمیایی و در نتیجه کاهش خطرات زیست محیطی است. این روش تغذیه عناصر را در سریع‌ترین زمان ممکن در اختیار گیاهان قرار داده و به راحتی می‌تواند اثرات مطلوبی بر شاخص‌های کمی و کیفی گیاه داشته باشد (Alshaal & El-Ramady, 2017). اسید هیومیک، یک ترکیب پلیمری آلی طبیعی است که از مواد آلی خاک، ذغال سنگ نارس و واپاشی لیگنین تولید می‌شود و باعث بهبود تحمل گیاهان به تنش، پتانسیل رشد، سرعت و سرعت جوانه‌زنی بذر، کیفیت محصول و عملکرد محصولات می‌شود (Pang *et al.*, 2021). در همین راستا، محققان اعلام کردند که اسید هیومیک باعث افزایش عملکرد و کیفیت گیاهان دارویی آویشن (Sorkhi, 2020)، ریحان تایلندی (Boveiri Dehsheikh *et al.*, 2020) شده است. نظام آبکشت (هیدروپونیک) از روش های نـوین در کشاورزی است که دارای مزایای فراوانی از جمله عدم استفاده از خاک، صرفه‌جویی در هزینه‌های مصرفی به دلیل مکانیزه شدن بیشتر کارها، کمتر بودن بیماری‌های خاکزی به علت ضدعفونی بودن بسترهای کشت و صرفه‌جویی در مصرف آب و مواد غذایی می‌باشد (Ahmad *et al.*, 2012). تنش شوری از جمله تنش‌های غیرزیستی مهم است که به طور متفاوت می‌تواند بر تغذیه گیاهی مؤثر باشد. شوری ممکن است موجب کمبود مواد مغذی و یا عدم تعادل در جذب عناصر غذایی شود. در شرایط شوری، رشد گیاه کاهش یافته، چرا که سمیت یون‌های خاص (سدیم و کلر) و عدم تعادل یونی بر سوخت و ساز گیاه اثرگذار است. تنش شوری می‌تواند فتوسنتز گیاه را دچار اختلال کند و سبب کاهش عملکرد گیاهان شود (Gong *et al.*, 2018; Kumar, 2020). شوری ممکن است بر فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاهی تأثیر منفی بگذارد که یکی از این اثرات افزایش تنش اکسیداتیو است که منجر به تشکیل گونه‌های اکسیژن

فعال (ROS)، می‌شود (Nxele *et al.*, 2017; Sharifi *et al.*, 2020). نتایج گزارشات متعددی نشان داده است که تنش شوری موجب کاهش عملکرد گیاهان مختلفی از جمله ریحان (Caliskan *et al.*, 2017)، اکوتیپ‌های مختلف نعناع (Hosseini *et al.*, 2021) شده است. تنش شوری یکی از مهم‌ترین عوامل کاهنده عملکرد محصولات کشاورزی در بسیاری از مناطق دنیا به ویژه ایران است و ارائه راهکارهایی جهت مبارزه با آن بسیار حائز اهمیت است. بدین ترتیب، نظر به اهمیت اسید هیومیک در بهبود عملکرد محصولات و کاهش اثرات منفی ناشی از تنش شوری، این پژوهش به منظور بررسی اثر محلول‌پاشی اسید هیومیک، بر رشد و عملکرد کاهو لولاروزا در شرایط تنش شوری در کشت هیدروپونیک اجرا شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در چهار تکرار در گلخانه‌ای واقع در نظر آباد کرج در گیاه کاهو لولاروزا (*Lactuca sativa* L.) انجام شد. عامل‌های این پژوهش شامل اسید هیومیک در چهار غلظت صفر (شاهد)، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر و تنش شوری در دو سطح بدون تنش (شاهد) و ۳۰ میلی‌مولار اعمال شد. برای اعمال تنش شوری از سدیم کلرید آزمایشگاهی استفاده شد. هر واحد آزمایشی شامل ۵ گلدان که بستر کشت شامل ۶۰ درصد حجمی کوکوپیت و ۴۰ درصد حجمی پرلیت بود. ابتدا نشاها داخل سینی نشا کشت شدند و پس از سه هفته، گیاهچه‌های سه برگی در گلدان‌هایی (با ارتفاع ۱۲ سانتی‌متر و قطر ۱۵ سانتی‌متر) با بستر ذکر شده کاشته شد. گیاهان با محلول ۱/۲ هوگلند به طور مرتب هر روز (روزی یکبار) آبیاری می‌شوند. زه‌آب گلدان‌ها به‌منظور تعیین هدایت الکتریکی جمع‌آوری و در صورت نیاز، آبشویی با آب انجام گرفت. نمونه‌برداری و برداشت بوته‌های کاهو پس از دو ماه انجام شد. اعمال تنش شوری همراه با محلول غذایی هوگلند، انجام شد. مدت زمان

اعمال تنش شوری، یک ماه بود. گیاهان شاهد، فقط محلول غذایی ۱/۲ هوگلند (بدون نمک) دریافت کردند. برای جلوگیری از ایجاد شوک حاصل از تنش شوری به گیاهان، در اولین آبیاری بعد از شروع تنش شوری، از نمک ۲۰ میلی‌مولار همراه با محلول غذایی هوگلند استفاده شد. هفته‌ای یک بار، شستشوی کامل محیط ریشه گیاهان با آب مقطر انجام گرفت تا تغییرات EC و pH حاصل از تجمع نمک‌ها در بستر کاشت در اثر انجام عمل آبشویی به کمترین حد ممکن برسد و صفاتی نظیر ارتفاع گیاه، وزن‌تر گیاه، رنگیزه‌های فتوسنتزی، رطوبت نسبی برگ، شاخص پایداری غشاء، محتوای پرولین، فعالیت آنزیم کاتالاز و آنزیم آسکوربات پراکسیداز اندازه‌گیری شد.

ارتفاع گیاه به وسیله خط‌کش مدرج و وزن تر به وسیله ترازوی دیجیتال اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی برگ، از روش Arnon و همکاران (۱۹۶۷)، استفاده شد و در نهایت مقدار جذب در اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر به ترتیب برای کلروفیل a و b و کارتنوئید قرائت گردید و با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه شد.

$$\text{Chl.}a\ (\text{mg.L}^{-1}) = (12.25 \times A663)-(2.79\times A647)\times D$$

$$\text{Chl.}b\ (\text{mg.L}^{-1}) = (21.5\times A647)-(5.1\times A663)\times D$$

$$\text{Carotenoids} = 100\ (A470) - 3.27\ (\text{mg chl. a}) - 104\ (\text{mg chl. b})/227$$

میزان محتوای رطوبت نسبی از طریق رابطه زیر محاسبه گردید (Ferrat & Loval, 1999).

رطوبت نسبی برگ: $RWC=\frac{FW-DW}{SW-DW}\times 100$

که در رابطه فوق FW = وزن‌تر برگ، = DWوزن خشک برگ، SW = وزن اشباع برگ می‌باشد.

شاخص پایداری غشاء از طریق اندازه‌گیری میزان نشت الکترولیت‌های برگ ارزیابی شد. برای این منظور نمونه‌ها هرکدام درون آب مقطر با حجم ۲۰ میلی‌لیتر منتقل و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق نگهداری شدند. هدایت الکتریکی آب مقطر همراه نمونه به عنوان نشت اولیه اندازه‌گیری شد. نشت ثانویه نیز از طریق اندازه‌گیری میزان هدایت الکتریکی نمونه‌ها پس از حرارت‌دادن آن‌ها به

مدت ۲ دقیقه و در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد. شاخص پایداری غشاء از طریق رابطه ۲ محاسبه گردید (Bertin *et al.*, 1996).

۱۰۰× ((نشت ثانویه/نشت اولیه)-۱) = شاخص پایداری غشاء

اندازه‌گیری پرولین

پس از خشک شدن و آسیاب شدن گیاهان، به مقدار ۰/۳ گرم ماده خشک گیاهی را درون هاون ریخته و پنج میلی‌لیتر اسید سولفوسالسیلیک سه درصد به آن اضافه، سپس همگن شد. نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس در ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. به ۲ میلی‌لیتر از روشناور حاصل، ۲ میلی‌لیتر اسید نین هیدرین افزوده و سپس به خوبی مخلوط شدند که از محلول‌های استانداردهای صفر، ۴، ۸، ۱۲، ۱۶ و۲۰ میلی‌گرم در لیتر پرولین استفاده شد. سپس ۲ میلی لیتر اسید ناین هایدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال به آن‌ها افزوده و به خوبی مخلوط گردید. نمونه‌ها به مدت ۹۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس درون حمام آب گرم (بن ماری) گذاشته، سپس درون یخ قرار گرفت. ۴ میلی‌لیتر تولوئن به محلول‌ها اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه درون دستگاه شیکر قرار داده شد و میزان جذب با استفاده از اسپکتروفتومتر (مدل PG Instruments Itd VIS/UV+T) در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت شده و با نمونه شاهد مقایسه شد (Bates *et al.*, 1973).

فعالیت آنزیم کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز

برای سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز به ۳۵۰ میلی‌گرم از بافت گیاهان، ۱۵۰۰ میکرولیتر از بافر فسفات سدیم ۱۰۰ میلی‌مولار، حاوی دو درصد PVPP و ۱/۳ میلی مولار EDTA افزوده شد و پس از ورتکس نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریوفوژ شدند و روشناور برای سنجش عصاره آنزیم بکار برده شد. مخلوط واکنش دارای ۳۰ میلی‌مولار پراکسید هیدروژن در بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=7) و ۱۰۰ ماکرولیتر

عصاره آنزیم در حجم نهایی ۱۰۰۰ میکرولیتر بود. میزان فعالیت آنزیم بر حسب هر میکرو مول H_2O_2 تجزیه شده در دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین محاسبه گردید. تغییرات جذب در ۲۴۰ نانومتر به مدت سه دقیقه با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل PG Instruments Itd VIS/UV+T) ثبت شد (Aebi, 1984). سنجش آنزیم آسکوربات پراکسیداز از بافت گیاه به روش اسپکتروفتومتری (مدل PG Instruments Itd VIS/UV+T) در دمای ۲۵ درجه سلسیوس صورت گرفت و در نهایت میزان فعالیت آنزیم بر حسب میکرومول آسکوربات اکسید شده به ازای یک گرم پروتئین در دقیقه محاسبه شد (Sairam *et al.*, 1998). داده‌های حاصل از این پژوهش با استفاده از نرم‌افزار SAS تجزیه و تحلیل شد و مقایسه میانگین نیز با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن با احتمال خطای یک درصد صورت گرفت.

نتایج و بحث

ارتفاع گیاه

نتایج حاصل از تجزیه واریانس بیانگر آن است که اثر اسید هیومیک، تنش شوری و اثرات متقابل تیمارها دارای اثر معنی‌داری بر ارتفاع گیاه کاهو با احتمال خطای یک درصد بود (جدول ۱). تنش شوری ارتفاع کاهو را کاهش داد و کاربرد اسید هیومیک و افزایش غلظت آن موجب افزایش ارتفاع گیاه کاهو شد. بیشترین ارتفاع گیاه ۴۴/۸۳ سانتی‌متر، مربوط به برهمکنش تیمارهای اسید هیومیک ۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر در شرایط بدون تنش بود که با تیمارهای اسید هیومیک ۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر و تنش شوری اختلاف آماری نداشتند. کمترین مقدار این شاخص۲۰/۵۴ سانتی‌متر، مربوط به شاهد اسید هیومیک در شرایط تنش شوری بود (جدول ۲). تنش شوری سبب کاهش ارتفاع گیاه کاهو شد و استفاده از اسید هیومیک موجب افزایش ارتفاع گیاه شد و اثرات منفی ناشی از تنش شوری را کاهش داد. به طوری که کاربرد اسید هیومیک ۱۵۰۰ میلی‌گرم در

لیتر باعث از بین رفتن اثرات تنش شوری شد. اسید هیومیک با افزایش جذب عناصر مغذی به‌ویژه نیتروژن توسط گیاه موجب افزایش رشد رویشی کاهو شد. در همین راستا گزارش شده است که اسید هیومیک ارتفاع گیاه ریحان را افزایش داد و موجب افزایش مقاومت این گیاه نسبت به تنش شوری شد (El Gohari *et al.*, 2023).

وزن تر کل بوته

اثر اسید هیومیک، تنش شوری و برهمکنش این تیمارها بر وزن تر کل کاهو با احتمال خطای یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). استفاده از اسید هیومیک و افزایش غلظت آن موجب افزایش وزن تر کاهو شد و تنش شوری سبب کاهش وزن تر کاهو شد. بیشترین مقدار وزن تر کاهو ۶۸۲/۲۷ گرم بر متر مربع، مربوط به اثرات متقابل تیمارهای اسید هیومیک ۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر و شاهد تنش شوری بود که با برهمکنش اسید هیومیک ۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر و تنش شوری در یک گروه آماری قرار گرفتند. کمترین مقدار این شاخص ۳۱۰/۸۵ گرم بر متر مربع، در تیمار شاهد اسید هیومیک در شرایط تنش شوری مشاهده شد (جدول ۲). کاربرد اسید هیومیک سبب افزایش وزن تر کل بوته کاهو شد که می‌توان گفت به علت وجود هورمون‌ها در اسید هیومیک و ایجاد شرایط مناسب رشدی و همچنین به علت نقش اصلی عناصر پرمصرف در افزایش فتوسنتز این امر رخ داده است. در تحقیق حاضر نیز با اعمال تنش شوری وزن‌تر کل بوته کاهش یافت که می‌تواند به دلیل آن باشد که در اثر تنش شوری جذب آب توسط گیاه محدود شده و در نتیجه مقدار آب در یاخته‌های برگ و به دنبال آن سطح برگ کاهش می‌یابد که این عوامل منجر به کاهش فعالیت فتوسنتزی و در نهایت کاهش وزن تر گیاه می‌شود (Sorkhi, 2020; Boveiri Dehsheikh *et al.*, 2020).

رنگیزه‌های فتوسنتزی

اثر اسید هیومیک، تنش شوری و برهمکنش این تیمارها بر رنگیزه‌های فتوسنتزی

(کلروفیل *a*، کلروفیل *b*، کلروفیل کل، کاروتنوئید) با احتمال خطای یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). استفاده از اسید هیومیک و افزایش غلظت آن موجب افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی کاهو شد و تنش شوری کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی را به همراه داشت. بیشترین مقدار کلروفیل *a* ۱۷/۵۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر، کلروفیل *b* ۱۱/۴۲ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر، کلروفیل کل ۲۹/۳۵ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر، کاروتنوئید ۷/۷۰ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر، مربوط به اثرات متقابل تیمارهای اسید هیومیک ۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر و شاهد تنش شوری بود. کمترین مقدار مقدار کلروفیل *a* ۷/۲۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر، کلروفیل *b* ۳/۰۱ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر، کلروفیل کل ۱۰/۷۲ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر، کاروتنوئید ۳/۹۱ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر، مربوط به شاهد اسید هیومیک در شرایط تنش شوری بود (جدول ۲). گیاهان واکنش متفاوتی نسبت به تنش شوری دارند که به درجه سمیت یونی، تغییرات پتانسیل اسمزی، مدت تنش و نوع گونه گیاهی بستگی دارد. فتوسنتز یکی از فرآیندهای مهم فیزیولوژیکی گیاه است که تحت تأثیر انواع تنش‌های محیطی قرار می‌گیرد. رنگدانه‌های فتوسنتزی نقش مهمی در فتوسنتز دارند. محتوای کلروفیل و کاروتنوئید به عنوان یک شاخص مؤثر برای نظارت بر فعالیت فتوسنتز در گیاهان در نظر گرفته می‌شوند. بنابراین، با ارزیابی محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی در شرایط شوری، تأثیر تنش شوری بر فعالیت فتوسنتزی را می‌توان تا حدی درک کرد (Arora *et al.*, 2020; Taïbi *et al.*, 2016). در مطالعه حاضر، اعمال تنش شوری با اختلال در فتوسنتز سبب کاهش محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی شد و کاربرد اسید هیومیک با کاهش اثرات منفی حاصل از تنش شوری و افزایش فتوسنتز باعث افزایش محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی شد. پیرو این امر، محققان بیان داشتند که کاربرد اسید هیومیک افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی و همچنین عملکرد ریحان تایلندی را در پی داشت (Boveiri Dehsheikh *et al.*, 2020).

جدول ۱-تجزیه واریانس وزن تر کل، ارتفاع گیاه و رنگیزه‌های فتوسنتزی

منابع تغییرات	درجه آزادی	ارتفاع گیاه	وزن تر کل	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کاروتنوئید
اسید هیومیک (H)	۳	۲۱۶/۷۳**	۲۸۹/۵۵**	۸۹/۲۶**	۴۲/۱۶**	۴۳/۲۱**	۷۴/۴۹**
تنش شوری (S)	۱	۱۸۳/۲۴**	۳۱۰/۳۶**	۹۱/۸۳**	۷۶/۲۹**	۷۳/۱۸**	۸۳/۲۸**
H×S	۳	۲۴۵/۱۱**	۲۵۶/۱۸**	۸۷/۱۱**	۸۵/۹۳**	۱۰۵/۳۴**	۹۲/۷۳**
خطا	۲۴	۱۸/۴۸	۲۵/۸۳	۷/۳۵	۱۰/۶۹	۶/۵۱	۸/۴۴
ضریب تغییرات (درصد)		۱۰/۵۳	۱۲/۹۴	۱۰/۲۱	۷/۸۳	۸/۲۱	۶/۵۵

** بیانگر معنی‌داری با احتمال خطای یک درصد است.

جدول ۲- مقایسه میانگین وزن تر کل، ارتفاع گیاه و رنگیزه‌های فتوسنتزی

اسید هیومیک (mg/l)	تنش شوری	ارتفاع گیاه (cm)	وزن تر اندام هوایی (g/m^2)	کلروفیل a (mg/gFW)	کلروفیل b (mg/gFW)	کلروفیل کل (mg/gFW)	کاروتنوئید (mg/gFW)
۱۵۰۰	شاهد	۴۴/۸۳^{a}	۶۸۲/۲۷^{a}	۱۷/۵۳^{a}	۱۱/۴۲^{a}	۲۹/۳۵^{a}	۷/۷۰^{a}
	اعمال تنش	۴۴/۲۴^{a}	۶۵۹/۱۳^{a}	۱۵/۴۵^{b}	۹/۳۲^{b}	۲۴/۸۹^{b}	۶/۲۳^{b}
۱۰۰۰	شاهد	۳۹/۷۶^{b}	۵۰۷/۴۸^{b}	۱۴/۹۲^{b}	۹/۴۳^{b}	۲۴/۹۷^{b}	۶/۱۵^{b}
	اعمال تنش	۳۵/۲۲^{c}	۴۵۱/۷۳^{c}	۱۲/۳۳^{c}	۶/۲۷^{c}	۱۸/۸۶^{c}	۵/۰۲^{c}
۵۰۰	شاهد	۳۱/۵۹^{d}	۴۴۹/۵۲^{c}	۱۱/۹۲^{c}	۶/۱۹^{c}	۱۷/۷۸^{c}	۵/۰۶^{c}
	اعمال تنش	۳۱/۳۳^{d}	۴۱۱/۴۶^{d}	۱۰/۰۷^{d}	۴/۵۲^{d}	۱۴/۶۳^{d}	۴/۸۱^{cd}
شاهد	شاهد	۲۶/۱۲^{e}	۳۹۸/۷۹^{d}	۹/۸۶^{d}	۳/۷۹^{e}	۱۳/۲۴^{e}	۴/۶۴^{d}
	اعمال تنش	۲۰/۵۴^{f}	۳۱۰/۸۵^{e}	۷/۲۹^{e}	۳/۰۱^{f}	۱۰/۷۲^{f}	۳/۹۱^{e}

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک فاقد تفاوت معنی‌دار هستند (آزمون دانکن با احتمال خطای پنج درصد)

رطوبت نسبی برگ و شاخص پایداری غشاء

اثر اسید هیومیک، تنش شوری و اثرات متقابل آنان بر رطوبت نسبی برگ و شاخص پایداری غشاء با احتمال خطای یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۳). کاربرد اسید هیومیک و افزایش غلظت آن موجب افزایش رطوبت نسبی برگ و کاهش شاخص پایداری غشاءشد. تنش شوری نیز سبب کاهش رطوبت نسبی برگ و افزایش شاخص پایداری غشاء شد. بیشترین مقدار رطوبت نسبی برگ ۷۳/۵۴ درصد و کمترین شاخص پایداری غشاء ۶/۳۲ درصد مربوط به اثرات متقابل

تیمارهای اسید هیومیک ۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر و شاهد تنش شوری بود. کمترین مقدار رطوبت نسبی برگ ۴۶/۸۹ درصد و بیشترین شاخص پایداری غشاء ۳۱/۸۲ درصد مربوط به شاهد اسید هیومیک در شرایط تنش شوری بود (جدول ۴). افزایش رطوبت نسبی برگ، موجب کاهش شاخص پایداری غشاء شد. محتوای نسبی آب برگ به عنوان صفتی جهت اندازه‌گیری سطح آب گیاهان عنوان شده و نشان‌دهنده فعالیت‌های متابولیکی در بافت‌ها می‌باشد. می‌توان اظهار داشت که کاهش مقدار نسبی آب برگ و افزایش شاخص پایداری غشای گیاهان تحت شرایط تنش شوری، ناشی از کاهش مقدار جذب آب توسط گیاه باشد که در اثر افزایش پتانسیل اسمزی ناشی از وجود نمک در بستر گیاه ایجاد می‌شود که این امر باعث به هم خوردن تعادل بین دو فرآیند جذب آب و تعرق می‌شود و در نتیجه محتوای آب نسبی گیاه کاهش می‌یابد و یا ممکن است به دلیل این باشد که سیستم‌های ریشه‌ای به دلیل کاهش سطح جذب، قادر به جبران آب ازدست رفته توسط تعرق نباشند و موجب کاهش رطوبت نسبی برگ شوند (Negrão *et al*., 2017).

جدول ۳- تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیکی

منابع تغییرات	درجه آزادی	رطوبت نسبی برگ	شاخص پایداری غشاء	محتوای پرولین	فعالیت آنزیم کاتالاز	آنزیم آسکوربات پراکسیداز
اسید هیومیک (H)	۳	۴۶۵/۱۳**	۴۰/۶۷**	۸/۶۷**	۳/۲۲**	۴/۸۹**
تنش شوری (S)	۱	۵۱۰/۲۵**	۵۱/۲۳**	۶/۷۲**	۲/۰۵**	۳/۱۱**
H×S	۳	۷۲۱/۱۸**	۳۸/۵۱**	۷/۲۴**	۱/۹۸**	۲/۷۲**
خطا	۲۴	۳۴/۶۷	۱/۷۹	۱/۸۶	۰/۷۳	۱/۰۵
ضریب تغییرات (درصد)		۱۱/۸۳	۷/۵۶	۵/۴۹	۴/۹۵	۷/۰۴

** بیانگر معنی‌داری با احتمال خطای یک درصد است.

جدول ۴- مقایسه میانگین صفات فیزیولوژیکی

اسید هیومیک (mg/l)	تنش شوری	رطوبت نسبی برگ (%)	شاخص پایداری غشاء (%)	محتوای پرولین (mg.g FW^{-1})	فعالیت آنزیم کاتالاز (µmole FW/min)	آنزیم آسکوربات پراکسیداز (µmol H_2O_2 min^{-1}.mg^{-1} protein)
۱۵۰۰	شاهد	۷۳/۵۴^{a}	۶/۳۲^{g}	۰/۱۰۲^{g}	۰/۰۰۴^{d}	۰/۴۱^{f}
	اعمال تنش	۷۰/۸۶^{b}	۱۵/۸۴^{e}	۰/۱۱۵^{f}	۰/۰۰۹^{cd}	۰/۴۸^{e}
۱۰۰۰	شاهد	۶۹/۲۵^{b}	۱۰/۶۱^{f}	۰/۱۳۳^{e}	۰/۰۱۱^{c}	۰/۵۵^{d}
	اعمال تنش	۶۸/۳۷^{b}	۱۹/۰۱^{d}	۰/۱۵۱^{d}	۰/۰۱۱^{c}	۰/۶۴^{c}
۵۰۰	شاهد	۶۲/۵۴^{c}	۲۳/۲۱^{c}	۰/۱۵۹^{c}	۰/۰۱۵^{bc}	۰/۶۷^{c}
	اعمال تنش	۵۹/۴۱^{d}	۲۷/۱۵^{b}	۰/۱۶۲^{c}	۰/۰۱۸^{b}	۰/۷۲^{b}
شاهد	شاهد	۵۵/۳۲^{e}	۲۳/۲۴^{c}	۰/۱۸۱^{b}	۰/۰۱۹^{b}	۰/۷۳^{b}
	اعمال تنش	۴۶/۸۹^{f}	۳۱/۸۲^{a}	۰/۲۱۳^{a}	۰/۰۲۴^{a}	۰/۸۱^{a}

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک فاقد تفاوت معنی‌دار هستند (آزمون دانکن با احتمال خطای پنج درصد)

محتوای پرولین

اثر اسید هیومیک، تنش شوری و برهمکنش آنان بر محتوای پرولین با احتمال خطای یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۳). اسید هیومیک و افزایش غلظت آن سبب کاهش محتوای پرولین شد. تنش شوری محتوای پرولین را افزایش داد. کمترین محتوای پرولین ۰/۱۰۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر، مربوط به اثرات متقابل تیمارهای اسید هیومیک ۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر و شاهد تنش شوری بود. بیشترین محتوای پرولین

۰/۲۱۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر، در شاهد اسید هیومیک در شرایط تنش شوری مشاهده شد (جدول ۴). افزایش میزان پرولین در گیاهان تحت تنش شوری در واقع نوعی واکنش از طرف گیاه به کاهش آب در محیط ریشه است. پرولین به تنظیم اسمزی در طول تنش و حفظ ساختمان اولیه ماکرومولکول‌ها و غشاها در طول افزایش دهیدراسیون کمک می‌نماید. افزایش پرولین در تنش شوری را می‌توان به حفظ تعادل اسمزی در سطح سلولی در بسیاری از گیاهان رشد یافته تحت تنش شوری نسبت داد. سلول با سنتز و تجمع ترکیب‌های محافظ اسمزی مانند پرولین به تنش شوری پاسخ می‌دهد. این ترکیب‌ها مولکول‌های کوچک و سمی هستند که پتانسیل اسمزی سلول را افزایش می‌دهند. افزایش پرولین ناشی از مقدار کلرید سدیم را می‌توان چنین توجیه کرد که آنزیم‌های مسیر گلوتامات تحت تنش شوری کلرید سدیم، فعال شده و سنتز پرولین افزایش می‌یابد، زیرا کلرید سدیم موجب تحریک ژن‌های سنتزکننده این آنزیم‌ها می‌شود (Dehghan *et al.*, 2018). اسید هیومیک از طریق افزایش جذب آب توسط گیاه باعث تنظیم اسمزی در سلول-های گیاه شده در نتیجه می‌تواند اثرات منفی تنش را به حداقل برساند. گزارش شد که اعمال تنش شوری و افزایش آن سبب افزایش محتوای پرولین در سرخارگل شد (Azadbakht *et al.*, 2020).

فعالیت آنزیم کاتالاز و آنزیم آسکوربات پراکسیداز

اثر اسید هیومیک، تنش شوری و برهمکنش آنان بر فعالیت آنزیم کاتالاز و آنزیم آسکوربات پراکسیداز با احتمال خطای یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۳). کاربرد اسید هیومیک و افزایش غلظت آن سبب کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز و آنزیم آسکوربات پراکسیداز شد. تنش شوری فعالیت آنزیم کاتالاز و آنزیم آسکوربات پراکسیداز را افزایش داد. کمترین فعالیت آنزیم کاتالاز ۰/۰۰۴ µmole FW/min و آنزیم آسکوربات پراکسیداز µmol H_2O_2 $min^{-1}.mg^{-1}$ protein

۰/۴۱، مربوط به اثرات متقابل تیمارهای اسید هیومیک ۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر و شاهد تنش شوری بود. بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز ۰/۰۲۴ و آنزیم آسکوربات پراکسیداز ۰/۸۱ µmol H_2O_2 $min^{-1}.mg^{-1}$ protein در شاهد اسید هیومیک در شرایط تنش شوری مشاهده شد (جدول ۴). زمانی که گیاهان تحت تنش‌های محیطی قرار می‌گیرند، گونه-های فعال اکسیژنی در گیاهان افزایش پیدا می‌کند که سبب مهار بسیاری از عملکردهای گیاهی شده و از جهات مختلفی باعث خسارت زیادی به گیاه می‌شوند. آسکوربات که در غلظت‌های بالا در کلروپلاست‌ها و دیگر اجزای سلولی یافت می‌شوند، در سازوکارهای دفاعی گیاهان طی تنش‌های اکسیداتیو بسیار مهم می‌باشند. آسکوربات پراکسیداز آنزیم مهمی است که به کنترل ROS ها در گیاهان تحت تنش کمک می‌کند. این آنزیم با استفاده از آسکوربات به عنوان عامل احیاکننده، H_2O_2 را به H_2O تبدیل می-کند. اسید هیومیک از طریق گروه‌های عاملی مختلف نظیر فنول‌ها و کربوکسیلیک‌اسید باعث کلات شدن فلزات و ایجاد خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و حذف گونه‌های فعال اکسیژنی می‌شود و سبب کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز و آنزیم آسکوربات پراکسیداز در کاهو شده است (Zelm *et al.*, 2020).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تنش شوری با اختلال در فتوسنتز و جذب عناصر غذایی سبب کاهش عملکرد کمی و کیفی کاهو لولاروزا شد. کاربرد اسید هیومیک و افزایش غلظت آن با افزایش کمیت و کیفیت کاهو لولاروزا همراه بود. علاوه بر این، مقاومت گیاه را نسبت به تنش شوری افزایش داد که گمان می‌رود دلیل این امر افزایش دسترسی گیاه به عناصر غذایی و هورمون‌های رشد موجود در اسید هیومیک باشد که گیاه بهتر توانسته است شرایط تنش را تحمل کند. به طوری که کاربرد اسید هیومیک ۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر سبب از بین بردن اثرات منفی تنش شوری در عملکرد گیاه شد. بنابراین جهت افزایش مقاومت گیاه کاهو

نسبت به تنش شوری و افزایش عملکرد کمی و کیفی کاهو لولاروزا کاربرد کاربرد اسید هیومیک ۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر قابل توصیه است.

منابع

Aebi, H. 1984**.** Catalase in vitro. Methods in Enzymology. 105: 121-126.

Ahmad, I., T. Ahmad, A. Gulfam, and M. Saleem. 2012**.** Growth and flowering of gerbera as influenced by various horticultural substrates. Pakistan Journal of Botany. 44 (12): 291-299.

Alshaal, T., and H. El-Ramady. 2017**.** Foliar application: from plant nutrition to bio fortification. Environment, Biodiversity and Soil Security. 1(2): 71-83.

Arnon, A. N. 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. Journal of Agronomy. 23: 112-121.

Arora, D., P. Jain, N. Singh, H. Kaur, and S. Bhatla. C. 2016**.** Mechanisms of nitric oxide crosstalk with reactive oxygen species scavenging enzymes during abiotic stress tolerance in plants. Free Radical Research. 50 (3): 291– 303.

Azadbakht, F., M. Amini Dehaghi, K. Ahmadi, and S. Alipour Gravand. 2020**.** Effect of organic acids and salt stress on germination of seed and physiological properties of (*Echinacea Purpurea* L.). Iranian Journal of Seed Science and Research. 7(1): 27-40.

Bates, I.S., R.P. Waldern, and I.D. Tear. 1973**.** Rapid determination of free praline for water stress studies. Plant and Soil. 39: 205-207.

Bertin, P., J. Bouharmont, and J.M Kinet. 1996**.** Soma clonal variation and improvement in chilling tolerance in rice. Plant Breeding. 115: 268-273.

Boveiri Dehsheikh, A., M. Mahmoodi Sourestani, M. Zolfaghari, N. Enayatizamir. 2020**.** Changes in soil microbial activity, essential oil quantity, and quality of Thai basil as response to biofertilizers and humic acid. Journal of Cleaner Production. 194: 1-35.

Caliskan, O., D. Kurt, K.E. Temizel, and M.S. Odabas. 2017**.** Effect of salt stress and irrigation water on growth and development of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). Open Agriculture. 2. 589–594.

Investigation of yield, phytochemical composition, and photosynthetic pigments in different mint ecotypes under salinity stress. Food Science and Nutrition. 9(5): 2620–2643.

Kumar, S.B.P. 2020. Salinity stress, its physiological response and mitigating effects of microbial bio inoculants and organic compounds. Journal of Pharmacognosy and Photochemistry. 9, 1397-1303.

Negrão, S., S.M. Schmöckel, and M. Tester. 2017**.** Evaluating physiological responses of plants to salinity stress. Annals of Botany. 119 (1): 1– 15.

Nxele, X., A. Klein, and B.K. Ndimba. 2017**.** Drought and salinity stress alter ROS accumulation, water retention, and osmolyte content in sorghum plants. South African Journal of Botany. 108, 261– 266.

Pang, L., F. Song, X. Song, X. Guo, Y. Lu, S.H. Chen, F. Zhu, N. Zhang, J. Zou, and P. Zhang. 2021**.** Effects of different types of humic acid isolated from coal on soil NH3 volatilization and CO2 emissions. Environmental Research. 194: 1-9.

Sairam, R.K., P.S. Deshmukh, and D.C. Saxena. 1998**.** Role of antioxidant systems in wheat genotypes tolerance to

Dehghan, Z., M. Movahhedi Dehnavi, H. Balouchi, and A. Salihi. 2018**.** Effect of salicylic acid on some physiological characteristics of common purslane (*Portulacaoleracea* L.) under NaCl stress. Journal Plant Process and Function. 7(23): 97-110.

El Gohari, A.E., S.F. Hendawy, M.S. Hussein, S.I.M. Elsayed, E.A. Omer, and A.G. El-Gendy. 2023**.** Application of humic acid and algal extract: an eco-friendly strategy for improving growth and essential oil composition of two basil varieties under salty soil stress conditions. Journal of Essential Oil Bearing Plants. 28: 1-17.

Ferrat I.L., and Loval C.J. 1999**.** Relation between relative water content, nitrogen pools, and growth of P. vulgaris and P. acutifolius during water deficit. Crop Science. 39: 467-474.

Gong, D.H., G.Z. Wang, W.T. Si, Y. Zhou, Z. Liu, and J. Jia. 2018**.** Effects of salt stress on photosynthetic pigments and activity of ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase in Kalidium foliatum. Russian Journal of Plant Physiology. 65: 98-103.

Hosseini, J.H., Z. Tahmasebi-Sarvestani, H. Pirdashti, S.A.M. Modarres-Sanavy, A. Mokhtassi-Bidgoli, A. Hazrati, and A. Nicola. 2021**.**

water stress. Biologia plantarum. 41(3): 387-394.

Sharifi, P. and S. Shirani Bidabadi. 2020**.** Protection against salinity stress in black cumin involves karrikin and calcium by improving gas exchange attributes, ascorbate–glutathione cycle and fatty acid compositions. SN Applied Science. 2 (1): 1-16.

Sorkhi, F. 2020**.** Effect of irrigation intervals and humic acid on physiological and biochemical characteristic on medicinal plant of *Thymus vulgaris*. Iranian journal of plant physiology. 10 (4): 3367-3378.

Taïbi, K., F. Taïbi, L.A. Abderrahim, A. Ennajah, M. Belkhodja, and J.M. Mulet. 2016**.** Effect of salt stress on growth, chlorophyll content, lipid peroxidation and antioxidant defence systems in Phaseolus vulgaris L. South African Journal of Botany. 105: 306–312.

Zelm, E.V., Y. Zhang, and C. Testerink. 2020**.** Salt tolerance mechanism of plants. Annual review of plant biology. 71 (1): 403-433.

The effect of humic acid foliar application on yield and some quality traits of Lolla rossa lettuce (*Lactuca sativa* L.) under salt stress

R. Kalhor Monfared[1*]

1- Ph.D Student, Department of Agronomy, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran.

Abstract

Salinity stress is one of the important stresses in reducing the yield of plants, especially leafy plants, and it is very important to provide solutions to deal with it. For this purpose, a factorial experiment was conducted in the form of a completely randomized design in four replications in a greenhouse located in Naziabad, Karaj on llolaroza lettuce hydroponically under salt stress conditions. The factors of this research included humic acid in four concentrations 0 (control), 500, 1000 and 1500 mg/l and salinity stress at two levels no stress (control) and 30 mM. The results showed that application of salinity stress decreased the yield of Lolla rossa lettuce. The application of humic acid and increasing its concentration increased the quantitative and qualitative performance of this plant and reduced the negative effects of salinity stress. The highest yield of fresh weight of lettuce was 682.27 g/m^2, related to the mutual effects of humic acid treatments of 1500 mg/l and salinity stress. The application of humic acid and increasing its concentration decreased the activity of catalase enzyme and ascorbate peroxidase enzyme. Salt stress increased the activity of catalase enzyme and ascorbate peroxidase enzyme. The lowest activity of catalase enzyme (0.004 µmole FW/min) and ascorbate peroxidase enzyme (0.41µmol H_2O_2 $min^{-1}.mg^{-1}$ protein), related to the interaction of humic acid 1500 mg/l and control of salinity stress. The highest activity of catalase enzyme (0.024 µmole FW/min) and ascorbate peroxidase enzyme (0.81 µmol H_2O_2 $min^{-1}.mg^{-1}$ protein) were observed in humic acid control under salt stress condition.

Keywords: Ascorbate peroxidase, Catalase, Hydroponic culture, Photosynthetic pigments, Proline

* Corresponding author (roma.kalhor@gmail.com)