نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی، سال پانزدهم، شماره ۵۷، بهار ۱۳۹۹ / صفحات: ۲۲-۱۰

اثر هیومیک اسید بر رشد، عملکرد و برخی پارامترهای فیزیولوژیک گندم (*Triticum aestivum* L.) تحت تنش شوری

مهناز جاسمی‌منش[۱]، رضا شریفی‌اصل[۲*]، محمد میرزایی حیدری[۱]

[۱]گروه زراعت، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ایلام، ایلام، ایران

[۲]گروه علوم باغبانی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم تحقیقات، تهران، ایران

تاریخ دریافت:۹۷/۱۰/۱۹ تاریخ پذیرش:۹۸/۲/۳۰

چکیده

تنش شوری یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی است که سبب کاهش رشد و عملکرد گیاهان در سراسر دنیا می‌شود. در این آزمایش اثر اسید هیومیک بر رشد و برخی پاسخ‌های فیزیولوژیکی گیاه گندم تحت تنش شوری در یک آزمایش گلدانی مورد ارزیابی قرارگرفت. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سطوح شوری و اسید هیومیک به‌عنوان فاکتورهای اصلی در سال ۱۳۹۵-۱۳۹۶ در دانشگاه ایلام انجام گرفت. تیمارها شامل چهار سطح تنش شوری شامل بدون تنش شوری (آبیاری با آب مقطر) و ۴، ۸ و ۱۲ دسی زیمنس بر متر NaCl و چهار غلظت اسید هیومیک شامل صفر (به‌عنوان شاهد)، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر بودند. نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اسید هیومیک تأثیر معنی‌داری بر صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گندم تحت تنش شوری داشت. تنش شوری تأثیر منفی بر رشد و عملکرد گیاه گذاشت. در شرایط تنش شوری، پارامترهای رشد و اجزای عملکرد، محتوای کلروفیل و رطوبت نسبی کاهش ولی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز، پر اکسیداز و همچنین نشت یونی افزایش یافت. کاربرد اسید هیومیک سبب افزایش معنی‌دار پارامترهای رشد، عملکرد، کلروفیل، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و کاهش معنی‌دار نشت یونی شد. با افزایش غلظت اسید هیومیک، اثربخشی آن افزایش یافت به‌طوری که بالاترین تأثیر در غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد. به‌طور کلی نتایج نشان داد که کاربرد هیومیک اسید با تأثیر بر فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه تا حدی می‌تواند آثار شوری بر گندم را کاهش دهد.

واژه‌های کلیدی: پر اکسیداز، فولیک اسید، کاتالاز، کلروفیل، کلرید سدیم.

مقدمه

شوری یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی است که رشد و نمو گیاهان به‌خصوص در مناطق خشک و نیمه‌خشک را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Ashraf and Harris, 2004). حدود ۸۰۰ میلیون هکتار از زمین‌های کشاورزی دنیا در معرض تنش شوری قرار دارند (Peleg et al., 2012). گیاهان در شرایط شوری خاک، تنش خشکی را به‌دلیل پتانسیل اسمزی پایین محلول خاک و سمیت یونی را به‌دلیل عدم تعادل یون ناشی از وجود یون‌ها کلر و سدیم تجربه خواهند کرد (Ashraf and Ali, 2008). غلظت بالای نمک‌ها در خاک همچنین ممکن است بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهی مانند فتوسنتز و جذب مواد غذایی را تحت تأثیر قرار دهد (Carillo et al., 2011). مقدار و نوع نمک اعمال‌شده و طول مدت مواجهه با تنش بر چگونگی واکنش گیاهان به

*نویسنده مسئول: reza_sharifiasl@yahoo.com

شوری نمک تأثیر می‌گذارد (Çulha and Çakirlar, 2011). تفاوت قابل ملاحظه‌ای از لحاظ تحمل/حساسیت ژنوتیپ‌های مختلف به تنش شوری وجود دارد؛ با این حال، مبنای ژنتیکی پاسخ گیاهان به تنش شوری و چگونگی مکانیسم تحمل در شرایط محیطی واقعی هنوز کاملاً شناخته نشده است (Carillo et al., 2011).

گیاهان مکانیسم‌های مختلفی را برای مقابله با تنش شوری توسعه داده‌اند. این مکانیسم‌ها عبارت‌اند از: تعادل یونی از جمله تجمع سدیم و کلر در واکوئل‌ها برای کاهش اثرات سمی آن در سیتوپلاسم، کمک به جذب آب با ایجاد پتانسیل اسمزی منفی، تولید اسمولیت‌هایی مانند گلایسین، پرولین و قندهای محلول برای حفظ جذب آب در شرایط شور و همچنین حفظ نسبت K^+/Na^+ برای جلوگیری از آسیب رساندن به غشاء (Ashraf and Ali, 2008; Iqbal et al., 2014). تحت شرایط شور، مولکول‌های ROS تولید می‌شوند که بسیار سمی هستند و با قدرت بالای اکسیداسیون در پروتئین‌ها و چربی‌ها باعث آسیب جدی به سلول می‌شوند (Ashraf and Harris, 2004). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند کاتالاز و پراکسیداز اولین موانع در راه خنثی کردن رادیکال‌های آزاد هستند (Abdel Latef, 2010).

امروزه استفاده از انواع تحریک‌کننده‌های زیستی مانند ترکیبات هوموسی یکی از راهکارهای بهبود حاصلخیزی خاک می‌باشد. هیومیک اسید با دارا بودن ساختار پلیمری، بخشی از مواد آلی است که عموماً در خاک‌ها و آب‌های روان در اثر تجزیه گیاهان و بقایای جانوری به‌دست‌آمده و جهت افزایش محصول به کار گرفته می‌شود (Fan et al., 2014). اسید هیومیک با وزن مولکولی ۳۰۰۰ تا ۳۰۰۰۰ دالتون و اسید فولیک با وزن مولکولی کمتر از ۳۰۰۰۰ دالتون به‌ترتیب سبب تشکیل کمپلکس های پایدار و نامحلول و کمپلکس های محلول با عناصر میکرو می‌گردند (Michael, 2001). نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که مقادیر بسیار کم از اسیدهای آلی اثرات زیادی در خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی خاک داشته و به‌علت وجود ترکیبات هورمونی اثرات مفیدی در افزایش عملکرد و تولید محصولات کشاورزی خواهند داشت (Fan et al., 2014). همچنین هیومیک اسید دارای تأثیر هورمونی بر رشد و متابولیسم گیاه و فعالیت‌های شبه اکسینی (Nardi et al., 2002) و شبه سیتوکنینی می‌باشد (Tan et al., 1979). کاربرد هیومیک اسید در گیاهان مختلف سبب کاهش آثار شوری و خشکی در گیاه شده است (Jarošová et al., 2016; Bacilio et al., 2016). با توجه به موارد شرح داده شده و لزوم استفاده از مواد طبیعی و دوست‌دار طبیعت در تولید محصولات کشاورزی، در این تحقیق نقش هیومیک اسید بر تحمل به تنش شوری و برخی پاسخ‌های فیزیولوژیک وابسته به آن در گیاه گندم مورد ارزیابی قرارگرفته شد.

مواد و روش‌ها

طرح آزمایشی و تیمارها: این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۱۶ تیمار در ۳ تکرار در سال ۱۳۹۵-۱۳۹۶ در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام انجام شد. برای اجرای آزمایش ابتدا خاک مزرعه به‌صورت تصادفی از عمق ۳۰-۰ سانتی‌متر تهیه شد و به گلدان‌هایی با دهانه ۲۲ سانتی‌متر اضافه شد. مشخصات فیزیکوشیمیایی خاک آزمایش در جدول یک آورده شده است. اسید هیومیک (شرکت Sigma-Aldrich) با خلوص ۹۹/۵ درصد از شرکت شیمیایی پاسارگاد نوین تهیه شد. در تاریخ ۲۰ آبان ۱۳۹۵ در هر گلدان ۱۰ عدد بذر گندم رقم بهار که از مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی ایلام تهیه شده بود در عمق ۴ سانتی‌متری

در خاک کاشته شد. بذرها دارای خلوص ۹۶ درصد و قدرت نامیه ۸۰ درصد بود. گلدان‌ها در گلخانه‌ای با پوشش پلاستیک و دمای تقریبا ۲۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. آبیاری به‌طور مداوم و به‌تدریج تا خیس شدن کامل گلدان انجام شد.

جدول ۱: مشخصات فیزیکوشیمیایی خاک آزمایش

بافت	اسیدیته	هدایت الکتریکی (میکرو زیمنس بر سانتی متر)	کربن آلی (درصد)	نیتروژن کل (درصد)	پتاسیم (پی پی ام)	فسفر (پی پی ام)
لومی رسی	۷/۲۵	۲۵۶	۱/۱	۰/۱	۵۹۳	۱۰

پس از استقرار کامل گیاهان تیمار اسید هیومیک و شوری شروع شد و تا پایان آزمایش ادامه پیدا کرد. به‌منظور اضافه کردن اسید هیومیک به خاک سوسپانسیون آن در غلظت‌های صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر تهیه‌شده و با مقدار مشخصی آب که بر اساس ظرفیت زراعی خاک تعیین‌شده بود، مخلوط گردید. دو روز پس از اعمال اسید هیومیک تیمار شوری از طریق آب آبیاری در غلظت‌های صفر، ۴، ۸ و ۱۲ دسی زیمنس بر متر به‌صورت سه بار در هفته اعمال گردید. لازم به ذکر است که برای جلوگیری از تجمع نمک، آبیاری گیاهان با آب‌شور به میزان بیشتر از نیاز گیاه انجام گرفت تا همیشه مقداری از زه آب از ته گلدان خارج‌شده و سطح تیمار شوری در محیط خاک حفظ شود. در پایان آزمایش (تاریخ ۵ خرداد ۱۳۹۶) صفات مختلف شامل عملکرد دانه، وزن صد دانه، تعداد پنجه، طول خوشه و وزن خشک ریشه و شاخساره اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در مرحله پر شدن دانه انجام شد.

اندازه‌گیری محتوای آب نسبی: برای تعیین محتوای آب نسبی (RWC) ابتدا پنج دیسک برگی از برگ‌های جوان و کاملاً توسعه‌یافته از هر نمونه انتخاب و جدا گردید و بلافاصله نمونه‌ها در محیط آزمایشگاهی به‌وسیله ترازو (با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم) توزین شدند (FW). سپس به مدت ۴ ساعت در آب مقطر (جهت آب‌گیری کامل) قرارگرفته و پس از خشک شدن آب سطحی مجدداً توزین شدند (TW). پس‌ازآن دیسک‌ها به مدت ۴۸ ساعت و در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد در داخل آون الکتریکی قرار داده شدند. پس‌ازاین مدت نمونه‌ها توزین تا وزن خشک (DW) به دست آید. سپس از رابطه زیر محتوای نسبی آب برگ محاسبه گردید.

$$RWC= (FW–DW)/(TW– DW) \times 100$$

اندازه‌گیری کلروفیل: برای اندازه‌گیری کلروفیل از روش Strain and Svec (۱۹۹۶) با استفاده از روابط زیر استفاده شد. در نهایت غلظت رنگیزه‌ها در نمونه‌های برگ بر حسب میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ محاسبه شد.

$$Chl\ total = 20.21(A645) + 8.02(A663)$$

اندازه‌گیری نشت یونی: جهت اندازه‌گیری نشت یونی از روش Ashraf and Ali (۲۰۰۸) استفاده شد. از قسمت میانی برگ‌های ۰/۳ گرم برداشته شد. نمونه‌ها در داخل لوله‌های آزمایش حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر قرار گرفتند. پس از ۲۴ ساعت قرار دادن بر روی شیکر با سرعت ۱۵۰ دور در دقیقه، هدایت الکتریکی اولیه محلول توسط دستگاه سنجش هدایت الکتریکی اندازه‌گیری شد. سپس محلول حاوی نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در داخل حمام آب جوش قرار داده شدند و پس از قرارگیری از سرد شدن آن، هدایت الکتریکی ثانویه محلول اندازه‌گیری

گردید. درصد نشت یونی با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد.

$$\text{نشت الکترولیت‌ها} = \frac{EC1}{EC2} \times 100$$

اندازه‌گیری آنزیم‌های آنتی اکسیدان: برای استخراج آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان ابتدا ۰/۲ گرم بافت تازه گیاهی در هاون چینی سرد با استفاده از ۲ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار با pH= ۷/۵ که دارای پلی وینیل پیرولیدون ۱ درصد، EDTA ۱ میلی‌مولار و PMSF ۱ میلی‌مولار بود، ساییده شد. تمام مراحل استخراج در یخ انجام گرفت و قبل از اینکه حالت فریز بافت گیاهی از بین رود عمل استخراج انجام گرفت. سپس عصاره‌ها به تیوب‌ها منتقل‌شده و به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شدند. روشناور به ویال‌های ۰/۵ میلی‌لیتری تقسیم شد و تا زمان سنجش فعالیت آنزیم‌ها در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز بر اساس روش Abdel Latef (۲۰۱۰) اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۱)، رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار اکسل و جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد.

نتایج

عملکرد و اجزای عملکرد: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر اصلی شوری بر عملکرد دانه، وزن صد دانه، طول خوشه، تعداد پنجه و وزن خشک شاخساره و ریشه در سطح یک درصد معنی‌دار شد. اثر اصلی هیومیک اسید بر وزن صد دانه در سطح پنج درصد و بر طول خوشه، تعداد پنجه و وزن خشک شاخساره و ریشه در سطح یک درصد آماری معنی‌دار شد. همچنین اثر متقابل شوری× هیومیک اسید تنها بر صفت عملکرد دانه معنی‌دار شد و بر بقیه صفات رشدی و اجزای عملکرد معنی‌دار نشد (جدول ۲). مقایسه میانگین اثرات اصلی شوری بر این صفات نشان داد که با افزایش تنش شوری تمامی پارامترهای رشدی و عملکردی به‌طور معنی‌داری کاهش یافت و به کمترین میزان خود در شوری ۱۲ دسی زیمنس بر متر رسید. در این سطح شوری (۱۲ دسی زیمنس بر متر) وزن صد دانه، طول خوشه، وزن خشک شاخساره و ریشه به ترتیب ۱۵، ۱۰، ۱۶ و ۵۸ درصد نسبت به شاهد (صفر دسی زیمنس بر متر) کاهش یافت (جدول ۳). کاربرد اسید هیومیک سبب افزایش معنی‌دار اجزای عملکرد و پارامترهای رشدی گندم شد. با افزایش غلظت اسید هیومیک به‌کاررفته تمامی صفات رشدی و عملکردی افزایش یافت و به بالاترین مقادیر خود در کاربرد ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسید هیومیک رسیدند. استفاده از هیومیک اسید در غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر به ترتیب سبب افزایش ۷، ۱۵، ۵۹، ۲۷و ۵۷ درصدی پارامترهای وزن صد دانه، طول خوشه، تعداد پنجه، وزن خشک شاخساره و ریشه نسبت به شاهد شد (جدول ۳). تنش شوری در غلظت‌های مختلف اسید هیومیک سبب کاهش معنی‌دار عملکرد دانه شد. از طرف دیگر نتایج نشان داد که کاربرد هیومیک اسید در تمام سطوح شوری سبب افزایش معنی‌دار عملکرد دانه شد. بیشترین عملکرد دانه (۱/۱۱ گرم در بوته) در تیمار ترکیبی چهار دسی زیمنس بر متر شوری و کاربرد ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر هیومیک اسید و کمترین عملکرد دانه (۰/۶۲ گرم در بوته) در شوری ۱۲ دسی زیمنس بر متر و عدم کاربرد هیومیک اسید (شاهد) به دست آمد (شکل ۱).

جدول ۲: نتایج تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه در گیاه گندم تحت تأثیر شوری و اسید هیومیک

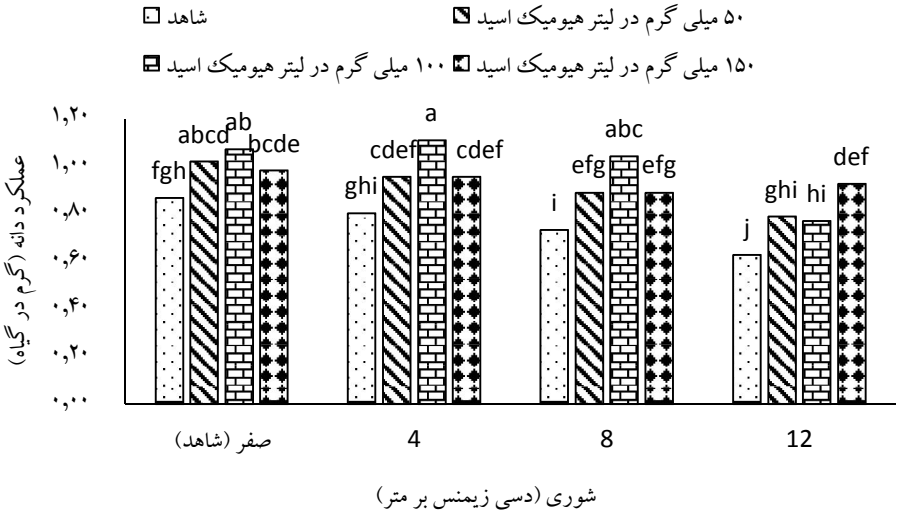
منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات									
		عملکرد دانه	وزن صد دانه	طول خوشه	تعداد پنجه	وزن خشک شاخساره	وزن خشک ریشه	محتوای رطوبت نسبی	کلروفیل کل	نشت یونی	فعالیت آنزیم کاتالاز	فعالیت آنزیم پراکسیداز
بلوک	۲	۰/۱۰۱**	۰/۲۹۳*	۰/۲۴ ns	۰/۴۳ ns	۰/۰۳۱**	۰/۰۰۲ ns	۱۲/۱۳ ns	۲/۱۰**	۰/۱۷ ns	۰/۰۰۰۵ ns	۰/۰۰۱ ns
شوری	۳	۰/۱۲۷**	۰/۶۸۶**	۱/۷۸**	۰/۷۲ ns	۰/۰۳۲**	۰/۲۱۲**	۱۰۰۲/۹۴**	۵۱/۳۱**	۶۷۵/۲۳**	۰/۰۵۸۹**	۰/۶۴۵**
هیومیک اسید	۳	۰/۰۰۷ ns	۰/۱۹۱*	۲/۶۵**	۲/۹۴**	۰/۰۵۶**	۰/۱۶۱**	۱۲۰/۳۶**	۲۸/۸۹**	۱۶۰/۴۹**	۰/۰۱۱۵**	۰/۲۰۲**
شوری ×هیومیک اسید	۹	۰/۰۱۱*	۰/۰۳۳ ns	۰/۲۱ ns	۰/۳۳ ns	۰/۰۰۷ ns	۰/۰۵۷ ns	۳۶/۱۷*	۷/۳۵**	۱۹/۲۷**	۰/۰۰۲۲**	۰/۰۲۰*
خطای آزمایشی	۳۰	۰/۰۰۳	۰/۰۴۴	۰/۲۶	۰/۳۰	۰/۰۰۴	۰/۰۰۳	۱۴/۴۹	۰/۵۷	۲/۹۸	۰/۰۰۰۸	۰/۰۰۸
ضریب تغییرات	-	۶/۷۰	۶/۰۸	۶/۷۲	۲۲/۰۶	۹/۳۶	۱۸/۲۸	۴/۵۰	۱۰/۰۲	۹/۰۱	۱۲/۹۵	۱۶/۲۷

**،*: معنی‌دار در سطح ۱ درصد، *: معنی‌دار در سطح ۵ درصد، ns: عدم معنی‌داری.

جدول ۳: مقایسه میانگین اثرات اصلی شوری و هیومیک اسید بر برخی صفات مورد ارزیابی در گیاه گندم

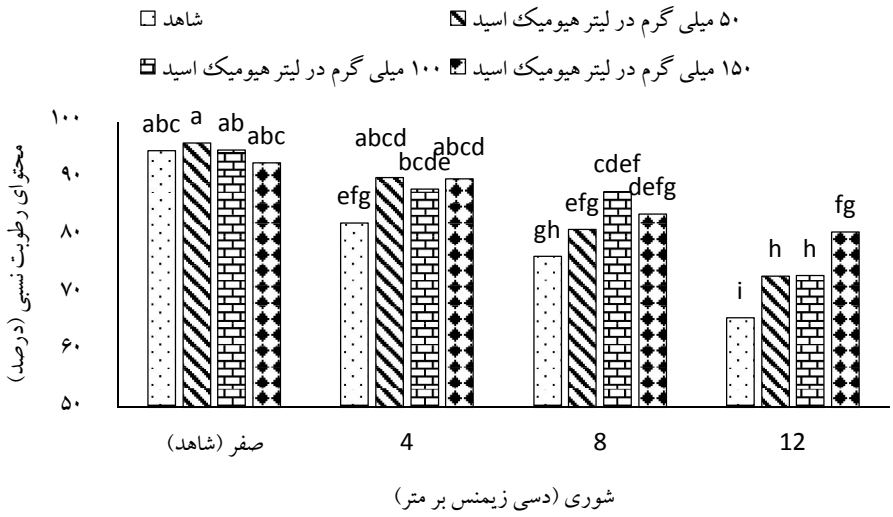
تیمار	سطوح تیمار	وزن صد دانه (گرم)	طول خوشه (سانتی متر)	تعداد پنجه (عدد)	وزن خشک شاخساره(گرم)	وزن خشک‌ریشه (گرم)
شوری (دسی زیمنس بر متر)	صفر (شاهد)	۳/۶۸^{a}	۷/۹۶^{a}	۲/۲۱^{a}	۰/۷۶^{a}	۰/۴۶^{a}
	۴	۳/۵۲^{ab}	۷/۹۳^{a}	۲/۱۱^{a}	۰/۷۱^{ab}	۰/۴۱^{b}
	۸	۳/۴۸^{b}	۷/۵۴^{ab}	۲/۴۳^{a}	۰/۶۷^{bc}	۰/۲۲^{c}
	۱۲	۳/۱۲^{c}	۷/۱۴^{b}	۲/۳۶^{a}	۰/۶۴^{c}	۰/۱۹^{c}
هیومیک اسید (میلی گرم در لیتر)	صفر (شاهد)	۳/۳۳^{c}	۷/۰۴^{c}	۱/۸۳^{c}	۰/۶۲^{c}	۰/۲۰^{d}
	۵۰	۳/۳۶^{bc}	۷/۵۱^{b}	۲/۴۲^{b}	۰/۶۷^{bc}	۰/۲۶^{c}
	۱۰۰	۳/۵۳^{ab}	۷/۹۲^{ab}	۲/۸۳^{ab}	۰/۷۱^{b}	۰/۳۵^{b}
	۱۵۰	۳/۵۸^{a}	۸/۱۱^{a}	۲/۹۲^{a}	۰/۷۹^{a}	۰/۴۷^{a}

میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حرف مشترک هستند، فاقد اختلاف معنی‌داری بر اساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد می‌باشند.



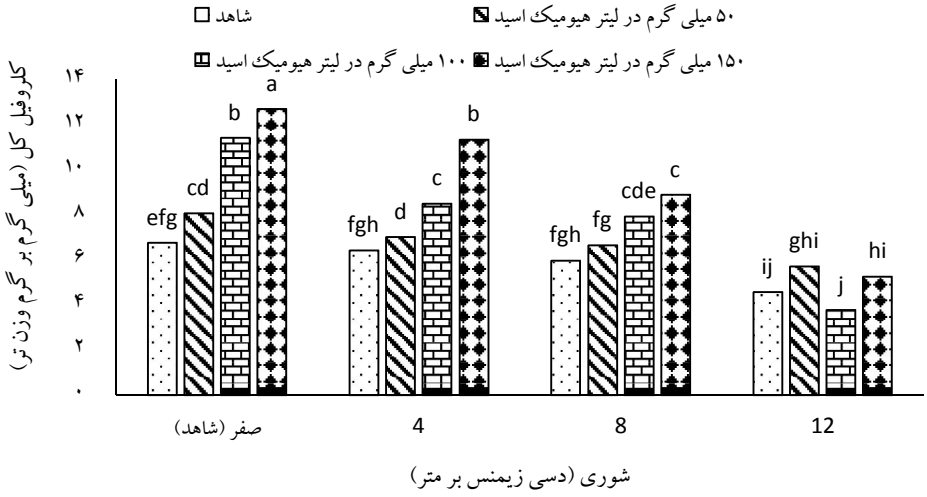
شکل ۱: اثر هیومیک اسید بر عملکرد دانه گندم تحت تنش شوری

محتوای رطوبت نسبی: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات اصلی شوری و هیومیک اسید در سطح یک درصد آماری بر محتوای رطوبت نسبی معنی‌دار شد. همچنین اثر متقابل شوری×هیومیک اسید در سطح ۵ درصد بر محتوای رطوبت نسبی برگ معنی‌دار شد (جدول ۲). با افزایش تنش شوری، محتوای رطوبت نسبی در برگ‌های گندم به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. استفاده از هیومیک اسید در شرایط بدون شوری (صفر دسی زیمنس بر متر) تأثیر معنی‌داری بر محتوای رطوبت نسبی نداشت ولی در سطوح مختلف شوری (۴، ۸ و ۱۲ دسی زیمنس بر متر) سبب افزایش معنی‌دار محتوای رطوبت نسبی برگ شد. بیشترین تأثیر هیومیک اسید در شدیدترین حالت تنش (۱۲ دسی زیمنس بر متر) مشاهده شد و در این سطح شوری هر سه غلظت هیومیک اسید به‌طور معنی‌داری محتوای رطوبت نسبی را نسبت به شاهد افزایش دادند (شکل ۲).



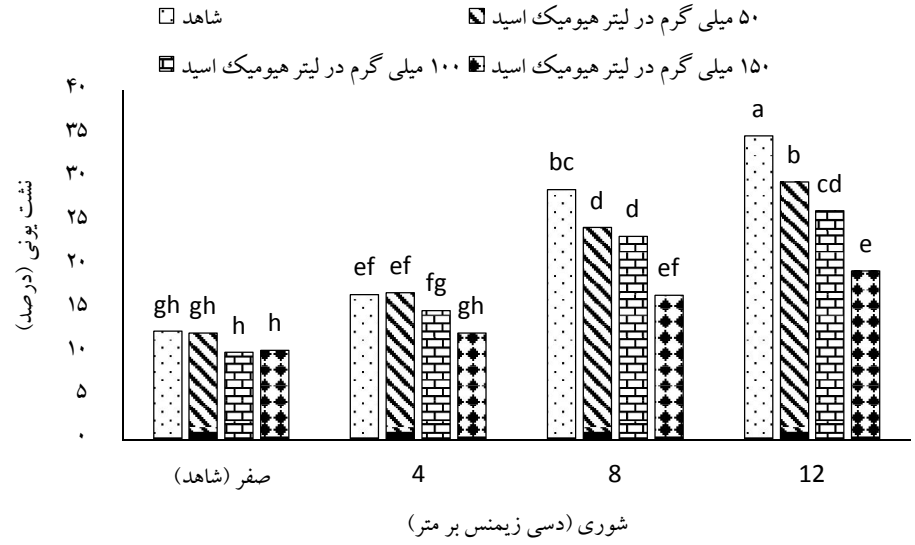
شکل ۲: اثر هیومیک اسید بر محتوای رطوبت نسبی برگ در گندم تحت تنش شوری

محتوای کلروفیل: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات اصلی شوری و هیومیک اسید و همچنین اثر متقابل آن‌ها در سطح یک درصد آماری بر محتوای کلروفیل معنی‌دار شد (جدول ۲). مقایسه میانگین اثرات متقابل نشان داد که با افزایش تنش شوری، محتوای کلروفیل به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. کاربرد اسید هیومیک در سطوح شوری صفر، ۴ و ۸ دسی زیمنس بر متر، سبب افزایش معنی‌دار کلروفیل نسبت به عدم کاربرد آن شد. در شوری ۱۲ دسی زیمنس بر متر، محتوای کلروفیل تحت تأثیر کاربرد هیومیک اسید قرار نگرفت (شکل ۳).



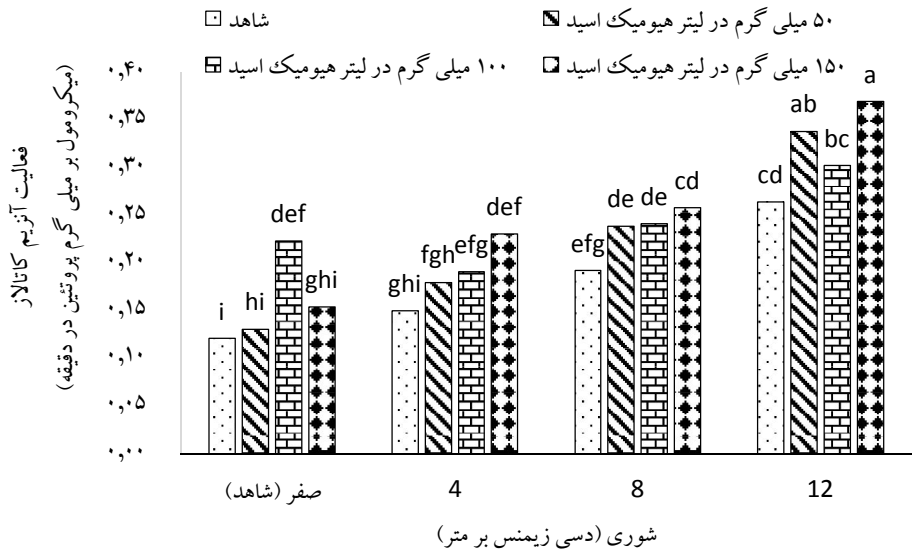
شکل ۳: اثر هیومیک اسید بر کلروفیل کل در گندم تحت تنش شوری

نشت یونی برگ: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات اصلی شوری و هیومیک اسید در سطح یک درصد آماری بر نشت یونی برگ معنی‌دار شد. همچنین اثر متقابل شوری×هیومیک اسید در سطح یک درصد بر این صفت معنی‌دار شد (جدول ۲). در تمام غلظت‌های بکار رفته هیومیک اسید، با افزایش تنش شوری نشت یونی برگ به‌طور معنی‌داری افزایش یافت و به بالاترین میزان خود در شوری ۱۲ دسی زیمنس بر متر رسید. از طرف دیگر کاربرد هیومیک اسید در تمام سطوح شوری سبب کاهش نشت یونی شد و بیشترین تأثیر آن در شدیدترین حالت تنش (۱۲ دسی زیمنس بر متر) مشاهده شد (شکل ۴).

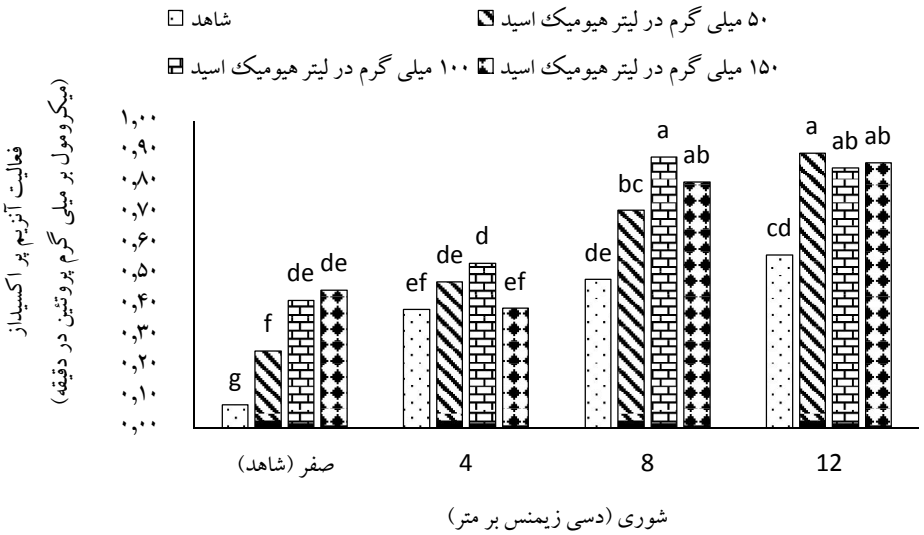


شکل ٤: اثر هیومیک اسید بر نشت یونی برگ در گندم تحت تنش شوری

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات اصلی شوری و هیومیک اسید در سطح یک درصد آماری بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز معنی‌دار شد. همچنین اثر متقابل شوری×هیومیک اسید بر فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح یک درصد و بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در سطح ۵ درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل نشان داد که با افزایش تنش شوری در گیاه گندم فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پر اکسیداز به‌طور معنی‌دار افزایش یافت. همچنین استفاده از هیومیک اسید در سطوح مختلف شوری باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پر اکسیداز شد (شکل ۵ و ۶). در شرایط عدم شوری (صفر دسی زیمنس بر متر) تنها کاربرد ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر هیومیک اسید و در شرایط ۴ و ۸ دسی زیمنس بر متر تنها کاربرد ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر سبب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به شاهد شد. همچنین در شوری ۱۲ دسی زیمنس بر متر، غلظت‌های ۵۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر فعالیت آنزیم کاتالاز را نسبت شاهد افزایش دادند (شکل ۵). در سطوح صفر، ۸ و ۱۲ دسی زیمنس بر متر فعالیت آنزیم پر اکسیداز به‌طور معنی‌داری در کاربرد تمام غلظت‌های هیومیک اسید (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر) نسبت به شاهد افزایش یافت (شکل ۶).



شکل ۵: اثر هیومیک اسید بر فعالیت آنزیم کاتالاز در گندم تحت تنش شوری



شکل ٦: اثر هیومیک اسید بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در گندم تحت تنش شوری

بحث

تنش‌های غیرزنده مختلف به‌عنوان یک عامل ایجادکننده اختلال در فیزیولوژی و بیوشیمی گیاهان بر روی پارامترهای رشدی و عملکرد گیاه نیز تأثیر مضر می‌گذارد. نتایج این تحقیق نشان داد که تنش شوری آثار منفی بر رشد و اجزای عملکرد گیاه گندم داشت. با افزایش شوری در این گیاه عملکرد دانه، وزن صد دانه، طول خوشه، تعداد پنجه و وزن خشک‌ریشه و شاخساره به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. در مطالعات گذشته نیز حساسیت ارقام مختلف گندم به تنش شوری گزارش‌شده است. به‌عنوان‌مثال؛ Akbari و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند که در ژنوتیپ های مختلف گندم تعداد و سطح برگ، وزن خشک ساقه، حجم ریشه، وزن زیست توده در اثر تنش شوری کاهش می‌یابد و بیشترین کاهش در بالاترین سطح شوری (غلظت ۱۵ دسی زیمنس بر متر) مشاهده شد. Nia و همکاران (۲۰۱۲) با بررسی اثرات تنش شوری بر عملکرد و اجزای عملکرد گندم

گزارش دادند که در شرایط شوری در این گیاه عملکرد و پارامترهای وابسته به آن کاهش می‌یابد. در این راستا گزارش‌شده است که رشد و عملکرد گیاهان در شرایط شور، به دلایل پایین رفتن پتانسیل آب در خاک در نتیجه تنش اسمزی و تأثیر مضر یون‌های سدیم و کلر در فرآیندهای متابولیکی، کاهش می‌یابد (Carillo et al., 2011).

نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از هیومیک اسید توانست آثار منفی شوری بر رشد و عملکرد گندم را بکاهد. تمامی اثرات اصلی تحت تأثیر اسید هیومیک قرار گرفت و کاربرد این ماده توانست صفات عملکرد دانه، وزن صد دانه، طول خوشه، تعداد پنجه و وزن خشک‌ریشه و شاخساره را بهبود دهد. در بیشتر صفات مورداستفاده با افزایش غلظت هیومیک اسید اثربخشی آن نیز بیشتر شد به‌طوری‌که کاربرد آن در غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر اثر بهتری از غلظت‌های دیگر داشت. Davodi Fard و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که استفاده از اسید هیومیک در گیاه گندم تحت تنش شوری با تأثیر بر برخی فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه مانند محتوای کلروفیل سبب افزایش معنی‌دار عملکرد و اجزای عملکرد گیاه می‌شود. Jarosova و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند که استفاده از اسید هیومیک در گیاه جو تحت تنش شوری با تأثیر بر فرآیندهای متابولیسمی گیاه و همچنین کاهش جذب سدیم سبب کاهش آثار تنش بر این گیاه می‌شود. بر طبق گزارش Balakumbahan and Rajamani (۲۰۱۰) اسید هیومیک رشد گیاهان را از طریق تغییر فیزیولوژی گیاه و با بهبود خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و بیولوژی خاک بهبود می‌دهد و نقش مهمی در پاسخ گیاهان به تنش‌های محیطی دارد. نتایج این تحقیق نیز نشان داد که استفاده از این ماده تأثیر مثبتی بر برخی پاسخ‌های فیزیولوژیکی گیاه دارد که ممکن است با تأثیر قرار دادن این پارامترها رشد و عملکرد گندم در شرایط شور را بهبود دهد.

نتایج ما با نتایج محققان دیگر که گزارش کردند در اثر تنش شوری رطوبت نسبی در گندم کاهش می‌یابد مطابقت دارد (Sairam et al., 2002). گیاهان در پاسخ به شرایط تنش‌زا رطوبت نسبی خود را به‌سرعت کاهش داد تا تنظیم اسمزی در آن‌ها برای مقابله با تنش‌ها انجام گیرد (Lissner et al., 1999). کاهش محتوای رطوبت نسبی در گیاهان وابسته به کاهش رطوبت خاک است، در این شرایط گیاهان با بستن روزنه‌ها، محتوای آب خود را حفظ می‌کنند (Çulha and Çakirlar, 2011). بنابراین حفظ رطوبت نسبی در شرایط تنش یکی از ویژگی‌های کلید گیاهان برای سازگاری به شرایط تنش می‌باشد. هیومیک اسید رشد قسمت هوایی و ریشه را تحریک می‌کند، ولی اثر آن بر روی ریشه برجسته‌تر است، حجم ریشه را افزایش داده و باعث گسترش سیستم ریشه‌ای می‌شود (Sabzevari et al., 2009). با گسترش سیستم ریشه شرایط بهینه برای افزایش جذب آب توسط گیاه فراهم می‌شود. نتایج ما نیز نشان داد که استفاده از هیومیک اسید سبب افزایش بیشتر وزن خشک‌ریشه نسبت به شاخساره شد. همچنین در سطوح مختلف تنش، هیومیک اسید محتوای رطوبت نسبی را افزایش داد. گزارش‌شده است که هیومیک اسید با پیوند با مولکول‌های آب تا حدود زیادی تبخیر آب را کاهش می‌دهد. همچنین فولیک اسید (بخشی ریز هیومیک اسید) بانفوذ به بافت‌های گیاهی و پیوند شدن با مولکول‌های آب تبخیر و تعرق گیاه را به‌شدت کاهش داده و سبب حفظ محتوای رطوبت نسبی گیاه می‌شود (Bronick and Lai, 2005).

نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از اسید هیومیک در شرایط بدون تنش و تنش شوری میزان کلروفیل را افزایش داد. به‌طور مشابه Bacilio و

همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند که کاربرد اسید هیومیک در گیاه فلفل تحت تنش شوری سبب افزایش معنی‌دار کلروفیل شد که با نتایج این تحقیق همخوانی دارد. گزارش‌شده است که افزایش کلروفیل در اثر کاربرد هیومیک اسید ممکن است در رابطه با حفظ رطوبت خاک و بهبود فراهمی مواد غذایی در خاک باشد (Mohd et al., 2009). همچنین اسید هیومیک ممکن است افزایش سنتز کلروفیل و یا تأخیر در تخریب کلروفیل در شرایط تنش را فراهم آورد (Nardi et al., 2002) و از این طریق سبب حفظ محتوای کلروفیل گیاهان تحت تنش شوری شود.

انواع رادیکال‌های تولیدشده در شرایط تنش می‌توانند به ترکیبات سلول مانند لیپیدهای غشا، پروتئین‌ها و نوکلئیک اسیدها حمله کنند. این فرآیند ویژگی‌هایی چون سیالیت غشاء، انتقال یونی، فعالیت آنزیمی و سنتز پروتئین‌ها را کاهش داده و باعث مرگ سلولی می‌شوند. اندازه‌گیری میزان نشت یونی تحت شرایط تنش‌زا میزان آسیب به غشاهای سلولی در شرایط تنش را نشان می‌دهد. Abdel Latef (۲۰۱۰) گزارش کرد که تنش شوری در ارقام گندم سبب افزایش نشت یونی می‌شود که با نتایج این تحقیق همخوانی دارد. این نتایج نشان می‌دهد که گیاه گندم نسبت به شوری حساس است و افزایش شوری سبب خسارت به این گیاه می‌شود. اسید هیومیک به دلیل اثری که بر سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی دارد می‌تواند باعث کاهش آسیب به غشاءهای سلولی و درنتیجه کاهش نشت یونی در گیاهان تحت تنش‌های محیطی شود (Garica et al., 2016). نتایج تحقیق حاضر این نظریه را تائید کرد به‌طوری‌که کاربرد اسید هیومیک سبب کاهش معنی‌دار نشت یونی در گیاه گندم تحت تنش شوری شد و با افزایش غلظت تا ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر اثربخشی آن بیشتر شد. به‌طور مشابه، Esringu و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند که استفاده از اسید هیومیک در گیاه تحت تنش شوری با تأثیر بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سبب کاهش آسیب به غشا سلولی در شرایط تنش می‌شود. این نتایج نشان می‌دهد که اسید هیومیک تأثیر مفیدی بر کاهش آثار تنش شوری بر گیاهان دارد.

در پاسخ به آسیب اکسیداتیو ایجاد شده به‌وسیله تنش شوری گیاهان از سیستم‌های آنتی‌اکسیدان آنزیمی و غیر آنزیمی مختلف استفاده می‌کنند. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند کاتالاز و پراکسیداز باعث زدودن رادیکال‌های آزاد می‌شوند (Çulha and Çakirlar, 2011). نتایج این تحقیق نشان داد که تنش شوری سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و پراکسیداز شد. این نتایج با نتایج Ashraf and Ali (۲۰۰۸) مطابقت دارد. تحقیقات مختلف نشان داده است که در شرایط بروز تنش افزایش در سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سبب تحمل بهتر شرایط تنش برای گیاهان می‌شود (Adel Latif, 2010). هیومیک اسید به دلیل اثرات مفیدی که بر گیاهان دارد می‌تواند آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را نیز تحت تأثیر قرار دهد (Garcia et al., 2016). نتایج تحقیق حاضر نیز نشان داد که کاربرد هیومیک اسید در گیاه گندم تحت تنش شوری سبب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پر اکسیداز شد. به‌طور مشابه، Garcia و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که کاربرد اسید هیومیک در غلظت‌های ۲۰ تا ۸۰ میلی‌گرم در لیتر سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاه برنج می‌شود. همچنین، Esringu و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند که کاربرد هیومیک اسید سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پر اکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز گیاه ماشک تحت تنش شوری می‌شود. با توجه به این نتایج می‌توان یکی از اثرات مثبت کاربرد هیومیک اسید را افزایش فعالیت

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان ذکر کرد و از این طریق تحمل تنش‌های محیطی را در گیاهان افزایش می‌دهد.

نتیجه‌گیری کلی

به‌طورکلی نتایج این تحقیق نشان داد که تنش شوری داری آثار منفی بر رشد و عملکرد گندم می‌باشد و با افزایش سطح شوری رشد و عملکرد این گیاه بیشتر تحت تأثیر قرار می‌گیرد. کاربرد هیومیک اسید به دلیل تأثیر بر فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه مانند کلروفیل، محتوای رطوبت نسبی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تا حدی توانست آثار مضر شوری بر گیاه گندم را کاهش دهد. در بیشتر صفات مورد مطالعه بالاترین تأثیر هیومیک اسید در غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد.

References

Abdel Latef, A. (2010). Changes of antioxidative enzymes in salinity tolerance among different wheat cultivars. Cereal Research Communications. 38(1): 43-55.

Akbari, E., Izadi-Darbandi, A., Borzouei, A. and Majdabadi, A. (2011). Evaluation of morphological changes in some wheat genotypes under salt stress. Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture. 1 (4):71-83.

Ashraf, M. and Ali, Q. (2008). Relative membrane permeability and activities of some antioxidant enzymes as the key determinants of salt tolerance in canola (*Brassica napus* L.). Environmental and Experimental Botany. 63: 266–273.

Ashraf, M. and Harris, P.J.C. (2004). Potential biochemical indictors of salinity tolerance in plants. Plant Science. 166: 3–16.

Bacilio, M., Moreno, M. and Bashan, Y. (2016). Mitigation of negative effects of progressive soil salinity gradients by application of humic acids and inoculation with *Pseudomonas stutzeri* in a salt-tolerant and a salt-susceptible pepper. Applied Soil Ecology. 107: 394-404.

Balakumbahan, R. and Rajamani, K. (2010). Effect of biostimulants on growth and yield of Senna (*Cassia angustifoliavar* KKM.1). Journal of Horticultural Science & Ornamental Plants. 2(1): 16-8.

Bronick, E.J. and Lai, R. (2005). Soil structure and management. A review. Geoderma. 124: 3-22.

Carillo, P., Annunziata, M.G., Pontecorvo, G., Fuggi, A. and Woodrow, P. (2011). Salinity stress and salt tolerance. In: Abiotic stress in plants-mechanisms and adaptations, Shanker, A.K., Venkateswarlu, B.B. Croatia.

Çulha, Ş. and Çakirlar, H. (2011). The effect of salinity on plants and salt tolerance mechanisms. Afyon Kocatepe University Journal of Sciences and Engineering. 11: 11-34.

Davodi Fard, M., Habibi, D. and Davodi Fard, D. (2012). Effects of salinity stress on membrane stability, chlorophyll content and yield components of wheat inoculated with plant growth promoting bacteria and humic acid. Agronomy and Plant Breeding. 23: 1-16.

Esringü, A., Kaynar, D., Turan, M. and Ercisli, S. (2016). Ameliorative effect of humic acid and plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) on hungarian vetch plants under salinity stress. Communications in Soil Science and Plant Analysis. 47(5): 602-618.

Fan, H., Wang, X.W., Sun, X. and Li, Y. (2014). Effects of humic acid derived from sediments on growth, photosynthesis and chloroplast ultrastructure in chrysanthemum. Scientia Horticulturae. 177: 118-123.

García, A.C., Olaetxea, M., Santos, L.A., Mora, V., Baigorri, R., Fuentes, M. and Garcia-Mina, J.M. (2016). Involvement of hormone-and ROS-signaling pathways in the beneficial action of uumic substances on plants growing under normal and stressing conditions. BioMed Research International. 37: 1-13.

Iqbal, N., Umar, S., Khan, N.A. and Khan, M.R. (2014). A new perspective of phyto-hormones in salinity tolerance: Regulation of proline metabolism. Environmental and Experimental Botany. 100: 34–42.

Jarošová, M., Klejdus, B., Kováčik, J., Babula, P. and Hedbavny, J. (2016). Humic acid protects barley against salinity. Acta Physiologiae Plantarum. 38(6): 1-9.

Michael, K. (2001). Oxidized lignites and extracts from oxidized lignites in agriculture. Soil Science. 11: 1-23.

Mohd, T., Osumanu, H.A. and Nik, M. (2009). Effect of mixing urea with humic acid and acid sulphate soil on ammonia loss, exchangeable ammonium and available

nitrate. American Journal of Environmental Sciences. 5(5): 588-591.

Nardi, S., Pizzeghello, D., Muscolo, A. and Vianello, A. (2002). Physiological effects of humic substances on higher plants. Soil Biology and Biochemistry. 34(11): 1527-1536.

Nia, S. H., Zarea, M.J., Rejali, F. and Varma, A. (2012). Yield and yield components of wheat as affected by salinity and inoculation with *Azospirillum* strains from saline or non-saline soil. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences. 11(2): 113-121.

Peleg, Z., Walia, H. and Blumwald, E. (2012). Integrating genomics and genetics to accelerate development of drought and salinity tolerant crops. Plant biotechnology and agriculture: Prospects for the 21st Century, Altman, A., Hasegawa, P.M. (eds). Academic Press, Elsevier, Amsterdam.

Sabzevari, S., Khazaie, H. and Kafi, M. (2009). Effect of humic acid on root and shoot growth of two wheat cultivars (*Triticum aestivum*. L). Journal of Water and Soil. 23(2): 87-94.

Sairam, R.K., Rao, K.V. and Srivastava, G. C. (2002). Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. Plant Science. 163(5): 1037-1046.

Strain, H.H. and Svec, W.A. (1966). Extraction, separation and isolation of chlorophylls, In: Varnon LP, Seely GR (Eds.). Chlorophylls. Academic Press, New York.

Tan, K.H. and Nopamornbodi, V. (1979). Effect of different levels of humic acids on nutrient content andgrowth of corn. Journal of Plant and Soil. 51: 283-287.