اثر اسید هیومیک و آسکوربات برصفات رویشی و بیوشیمیایی گیاه دارویی بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.) در شرایط تنش شوری

رسول نریمانی[۱]، محمد مقدم *[۱]، عبدالله قاسمی پیربلوطی[۲] و سیدحسین نعمتی[۱]

[۱] گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، [۲] گروه گیاهان دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد.

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۸/۲۸، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۶/۱۰/۱۵)

چکیده:

شوری یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیر زنده‌ای است که باعث کاهش قابلیت تولید محصول در خاک‌های مناطق خشک و نیمه‌خشک می‌شود. اسید هیومیک به عنوان یک اسید آلی و آسکوربات به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی می‌توانند در جهت بهبود عملکرد گیاهان در شرایط تنش شوری موثر واقع شوند. به منظور بررسی اثرات تنش شوری و برهمکنش آن با اسید هیومیک و اسید آسکوربیک بر رشد رویشی، رنگیزه‌های فتوسنتزی و تغییرات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گیاه دارویی بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.)، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی در سه تکرار اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل شوری در چهار سطح (۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار)، اسید هیومیک و اسید آسکوربیک در سه سطح (۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بود. صفات رویشی گیاه از قبیل ارتفاع بوته و وزن تر و خشک ساقه و برگ با افزایش میزان تنش شوری کاهش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد نشان دادند و کاربرد اسید هیومیک بویژه سطح ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر در سطوح بالای تنش سبب بهبود این صفات نسبت به گیاهان شاهد گردید. رنگیزه‌های فتوسنتزی نیز تحت تأثیر تنش شوری به شدت کاهش یافتند و کاربرد ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید هیومیک و اسید آسکوربیک (تاحدودی) توانست سبب جبران این خسارت شود. بیشترین میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در تنش ۵۰ میلی‌مولار شوری مشاهده شد و کاربرد اسید هیومیک (بویژه ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر) برای آنزیم کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید آسکوربیک برای آنزیم گایاکول پراکسیداز سبب افزایش فعالیت آنها نسبت به تیمار شاهد گردید.

واژه‌های کلیدی: اسید آسکوربیک، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، اسید هیومیک، بادرشبو، شوری

مقدمه

در تیره نعناعیان ٤٠٠٠ گونه گیاهی وجود دارد که در ۲۰۰ جنس جای گرفته‌اند (امیدبیگی، ١٣٨٦). از جمله گیاهان این خانواده گیاه بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.) می‌باشد. این گیاه بومی آسیای مرکزی و اهلی‌شده در مرکز و شرق اروپا است (Abd El-Baky *et al.*, 2008؛ Dasmalchi *et al.*, 2007). گیاه دارویی بادرشبو از اهمیت زیادی در ایران و جهان برخوردار بوده و در مناطق شمال و شمال غرب ایران می‌روید. اثراتی تا حدودی شبیه بادرنجبویه ولی خفیف‌تر دارد در بعضی نقاط آن را اشتباهاً بجای بادرنجبویه مصرف می‌کنند (امیدبیگی، ١٣٨٦). اسانس بادرشبو بدلیل وجود سیترال (ژرانیل+نرال) در آن دارای اثرات ضدعفونی کننده، ضدباکتری، ضدویروس و ضدقارچ است و در صنایع مختلف داروسازی، غذایی و آرایشی و بهداشتی استفاده می‌شود (برنا

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: m.moghadam@um.ac.ir

نصرآبادی،۱۳۸٤؛ امیدبیگی، ۱۳۸٦؛ Abd El-Baky *et al.*, 2008). همچنین عرق بادرشبو به عنوان نیرودهنده و ضدتشنج، تقویت کننده معده، تسهیل کننده عمل هضم، ضددل پیچه و برطرف کننده طپش قلب، کاربرد دارد (بریمانی، ۱۳۷٦؛ Abd El-Baky *et al.*, 2008).

امروزه شوری خاک و آب یکی از موانع و محدودیت‌های استفاده از این منابع در تولید بهینه محصولات کشاورزی است (همایی، ۱۳۸۱). مهمترین واکنش گیاه به شوری، کاهش رشد است. شوری خاک از چند راه بر فعالیت‌های فیزیولوژیکی گیاه تأثیر می‌گذارد، ولی نشانه‌های آسیب دیدگی ناشی از وجود شوری معمولا هنگامی در گیاه آشکار می‌شود که غلظت املاح محلول در خاک بسیار بالا باشد (حیدری شریف‌آباد، ۱۳۸۰؛ همایی، ۱۳۸۱). یکی از مکانیسم‌های مقاومت در برابر تنش‌های محیطی همانند شوری و تنش کم آبی وابسته به دو لایه لیپیدی و اسیدهای چرب غیراشباع آن است که در طی تنش، پایداری غشاء را تضمین می‌کنند. در طی تنش شوری میزان H_2O_2 گیاه افزایش می‌یابد که موجب پراکسیداسیون لیپیدها و آسیب غشایی می‌شود (Erdal *et al.*, 2011). گیاهان زراعی، باغی و دارویی از لحاظ تحمل نسبت به املاح تجمع یافته در محیط ریشه (شوری) تا حد زیادی باهم تفاوت دارند و این تحمل به عواملی همچون میزان تجمع یون‌ها در بافت، ممانعت از ورود برخی یون‌ها به درون بافت و قابلیت تولید ترکیبات سازگارکننده (تنظیم‌کننده‌های اسمزی) بستگی دارد (Greenwey and Munns, 1980). تنش شوری موجب تغییرات شیمیایی، فیزیولوژیک و مورفولوژیک متعددی در گیاهان می‌شود. این تنش رشد، فتوسنتز، سنتز پروتئین، متابولیسم لیپیدها، تنفس و تولید انرژی را تحت تأثیر قرار می دهد (Parida and Das, 2005).

استفاده از انواع کودهای طبیعی بدون اثرات مخرب زیست محیطی می‌تواند در جهت بالا بردن عملکرد گیاه بخصوص در شرایط متغیر محیطی مثمرثمر واقع شود، از جمله کودهای طبیعی دوستدار طبیعت می‌توان به مواد هیومیکی اشاره کرد که از سه دسته اسید هیومیک، اسید فولیک و هیومین تشکیل شده است (حسن‌زاده دلوئی، ۱۳۷۳؛ سماوات و ملکوتی، ۱۳۸٤). اسید فولیک دارای رنگ زرد مایل به قهوه‌ای، اسید هیومیک دارای رنگ قهوه‌ای تیره تا خاکستری مایل به سیاه و هیومین دارای رنگ سیاه می‌باشد. اسید هیومیک از جمله اثراتی که در کشاورزی دارد، شامل بهبود وضعیت فیزیکی خاک، افزایش نگهداری آب در خاک، افزایش مقاومت گیاه به خشکی، افزایش ظرفیت تبادل کاتیونی، کاهش قلیاییت و درجه شوری خاک، کلات‌کنندگی عناصر ریزمغذی، سم‌زدایی مواد آلاینده خاک، تحریک فعالیت میکروارگانیسم‌ها و توسعه ریشه، تقلیل هزینه در کشاورزی و سازگاری با محیط زیست است (جیحونی، ۱۳۸۹). گروه‌های هیدروکسیل و کربوکسیل موجود در اسید هیومیک باعث فعالیت بیوشیمیایی آن می‌شود که به شیوه هورمون‌های گیاهی بر گیاهان تأثیر می‌گذارند (Ertani *et al.*, 2013). اسید آسکوربیک (AsA) یک ترکیب آنتی‌اکسیدانی قوی با وزن مولکولی کم و محلول در آب بوده که می‌تواند نقش عمده‌ای را در خنثی کردن فعالیت رادیکال‌های آزاد و غیرسمی کردن پراکسید هیدروژن داشته باشد (Smirnoff, 2005). آسکوربات به طور مستقیم رادیکال‌های هیدروکسیل و سوپراکسید را حذف و H_2O_2 را به کمک آسکوربات پراکسیداز به آب احیا می‌کند (Sairam and Tyagi, 2004). مطالعات انجام شده توسط سلاح‌ورزی و همکاران (۱۳۹۰) بر روی گیاه مرزنجوش (*Origanum majorana* L.) نشان داد که اسید آسکوربیک می‌تواند ضمن افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه به بیش از ۵ برابر شاهد، به نحو موثرتری از فعالیت رادیکال‌های آزاد تحت شرایط تنش شدید شوری جلوگیری کرده و به این ترتیب بقای بیشتر گیاه را تضمین نماید. همچنین در مطالعه‌ای غلامی و همکاران (۱۳۹۱) نشان دادند که اسیدهای هیومیک و فولیک، به خصوص اسید هیومیک (۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر)، سبب کاهش استرس شوری در گیاه اسفرزه می‌شوند. اسیدهای هیومیک و فولیک سبب افزایش وزن هزاردانه، درصد پروتئین بذر و عدد کلروفیل‌متر شده و تأثیر معنی‌داری بر غلظت عناصر پتاسیم، کلسیم و سدیم در گیاه اسفرزه دارند.

با توجه به توسعه اراضی و منابع آبی شور و اثرات منفی آن بر روی گیاهان، و به‌دلیل این که کنترل شوری یکی از کلیدهای مدیریت منابع طبیعی است که پایداری و ثبات تولید و استفاده بهینه از زمین را تضمین می‌نماید و در اثر شوری، محصول تولیدی تغییر می‌کند و هزینه تولید افزایش می‌یابد، لذا تحقیقات پیرامون افزایش مقاومت گیاهان در برابر شوری از اهمیت خاصی برخوردار می‌باشد. هدف از این تحقیق بررسی اثر متقابل شوری با آسکوربات و اسید هیومیک بر رشد، میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی و خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه بادرشبو به منظور تخفیف اثر تنش شوری می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق به منظور بررسی تأثیر اسید آسکوربیک و اسید هیومیک بر صفات رویشی و فیزیولوژیکی گیاه بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.) تحت تنش شوری در طی بهار و تابستان ۱۳۹٤ در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد واقع در عرض جغرافیایی ۳٦ درجه و ۱۸ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۵۹ درجه و ۳۱ دقیقه شرقی و ارتفاع ۹۸۵ متری از سطح دریا اجرا گردید. آزمایش به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کامل تصادفی انجام شد. تنش شوری با سه تکرار و هر تکرار شامل دو گلدان در چهار غلظت (۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار) و اسید آسکوربیک در سه غلظت به‌صورت محلول‌پاشی (۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و اسید هیومیک نیز در سه غلظت (۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر) همراه با آب آبیاری اعمال شد. ابتدا بذور سالم در گلدان‌هایی از جنس پلاستیک، قطر دهانه‌ی ۳۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر و دارای زهکشی مناسب به صورت کپه‌ای و در چهار نقطه گلدان در اواسط فروردین ماه کاشته شد. پس از سبز شدن بذرها و در مرحله دو برگی تنک کردن صورت گرفت به طوری که در هر نقطه یک گیاهچه سالم (چهار بوته در هر گلدان) از بین آنها انتخاب شد. خاک گلدان‌ها از ترکیب یکسان خاک زراعی، ماسه و خاک برگ تشکیل شده بود (جدول ۱). با استقرار کامل گیاه در مرحله شش برگی آبیاری با آب شور هر دو روز یکبار به گونه‌ای انجام گرفت که محتوای آب گلدان به حد ظرفیت زراعی برسد و آبشویی گلدان به منظور جلوگیری از تجمع نمک هر دو هفته یکبار انجام گرفت. تیمار با اسید آسکوربیک و اسید هیومیک یک هفته قبل از اعمال تنش آغاز و با فاصله زمانی هر هفت روز یکبار تا پایان دوره آزمایش حدودا ٦ بار تکرار شد و هنگامی که گیاه به ۸۰ درصد گلدهی رسید؛ صفات مورد نظر اندازه‌گیری شدند.

ارزیابی صفات رویشی: جهت تعیین ارتفاع بوته، تعداد گره و فاصله میانگره، ٤ بوته به‌طور تصادفی از هر تکرار انتخاب و صفات موردنظر اندازه‌گیری شدند و میانگین ٤ بوته برای هر تکرار ثبت شد. وزن خشک و تر برگ و ساقه در واحد گلدان محاسبه و گزارش شدند. جهت تعیین وزن خشک برگ و ساقه، هر یک از اندام‌ها به‌طور جداگانه در داخل آون به مدت ٤٨ ساعت در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد.

ارزیابی صفات بیوشیمیایی: برای اندازه‌گیری کلروفیل a، b و کل و کاروتنوئید، ۰/۲ گرم (۲۰۰ میلی‌گرم) برگ تازه از برگ-های جوان کاملاً توسعه یافته را جدا کرده و آن را در هاون چینی با ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۹۹ درصد برای استخراج رنگ‌دانه‌ها ساییده، سپس به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه انجام گرفت (Lutts *et al.*, 1996). سپس عصاره استخراج‌شده را برداشته و با استفاده از اسپکتروفتومتر میزان جذب نور در طول‌موج‌های ٤٧٠،٦٥٣ و ٦٦٦ نانومتر قرائت گردید. در نهایت مقدار کلروفیل با استفاده از روابط زیر به دست آمد.

$$CHLa=15.65\ A666 - 7.34\ A653$$
$$CHLb=27.05\ A653 - 11/21\ A666$$
$$Cx+c= 1000\ A470 - 2.860\ CHLa - 129.2\ CHLb$$
$$CHLt = CHLa + CHLb + Cx+c$$

CHLa: میزان کلروفیل a، CHLb: میزان کلروفیل b، Cx+c: کاروتنوئید کل، CHLt: کلروفیل کل

همچنین شاخص سبزینگی با دستگاه SPAD اندازه‌گیری شد.

تهیه عصاره پروتئینی: ۵۰۰ میلی‌گرم از بافت تازه برگ گیاه در ۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (PH ۷/۵) که حاوی پلی وینیل پیرولیدین (PVP) ۱ درصد و EDTA ۱

جدول ۱- خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک محل آزمایش

هدایت الکتریکی EC (dS/m)	اسیدیته کل اشباع (pH)	شن (%)	لای (%)	رس (%)	بافت خاک
۱/۲	۷/۹	۲۹	۳۰	٤۱	لومی رسی

میلی‌مولار بود، ساییده شد. تمام مرحله‌های استخراج در یخ انجام گرفت. سپس عصاره‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در ۵۰۰۰ دور در دقیقه و در دمای ٤ درجه سلسیوس سانتریفیوژ شدند. از محلول شفاف رویی برای سنجش فعالیت آنزیم‌ها استفاده گردید (Gapinska *et al.*, 2008).

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT): سنجش فعالیت CAT بر اساس کاهش جذب آب اکسیژنه در طول موج ۲٤۰ نانومتر صورت گرفت (Dhindsa *et al.*, 1981). مخلوط واکنش (۳ میلی‌لیتر) شامل بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (PH=۷)، آب اکسیژنه ۱۵ میلی‌مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. با افزودن آب اکسیژنه به مخلوط واکنش، واکنش شروع و کاهش در جذب آب اکسیژنه در مدت ۳۰ ثانیه در طول موج ۲٤۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. برای محاسبه واحد آنزیمی از ضریب خاموشی معادل $mM^{-1}\ cm^{-1}$ ٤۰ استفاده شد.

سنجش فعالیت آسکوربات پراکسیداز (APX): مخلوط واکنش سنجش فعالیت APX حاوی بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار (PH=۷)، آسکوربات ۰/۵ میلی‌مولار، آب اکسیژنه ۰/۱ میلی‌مولار و ۱۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. فعالیت APX براساس اکسیداسیون آسکوربیک اسید و کاهش در جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر به مدت ۲ دقیقه اندازه‌گیری شد. برای محاسبه واحد آنزیمی از ضریب خاموشی معادل $۲/۸mM^{-1}\ cm^{-1}$ استفاده شد (Nakano and Asada, 1981).

سنجش فعالیت گایاکول پراکسیداز (GPX): فعالیت آنزیم GPX با استفاده از پیش ماده گایاگول اندازه‌گیری شد. در این روش ۳ میلی‌لیتر مخلوط واکنش حاوی ۲/۷۷ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار (PH=۷)، ۱۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنه ۱ درصد، ۱۰۰ میکرولیتر گایاکول ۲ درصد و ۳۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. افزایش جذب به دلیل اکسیداسیون گایاکول در طول موج ٤۷۰ نانومتر به‌مدت ۳ دقیقه اندازه‌گیری شد (Plewa *et al.*, 1991). مقدار تتراگایاکول تولید شده با استفاده از ضریب خاموشی $۲۵/۵\ mM^{-1}\ cm^{-1}$ محاسبه گردید.

سنجش مقدار پروتئین کل: برای سنجش غلظت پروتئین، به لوله‌های آزمایش دارای ۵ میلی‌لیتر معرف بیوره، ۱۰۰ میکرولیتر عصاره پروتئینی افزوده و به سرعت هم زده شد. پس از ۵ دقیقه جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد. غلظت پروتئین با استفاده از منحنی استاندارد آلبومین محاسبه گردید (Bradford, 1976).

تجزیه آماری: آزمایش به‌صورت فاکتوریل و بر پایه طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. داده‌های به‌دست‌آمده با استفاده از نرم‌افزار JMP8 مورد تجزیه آماری قرار گرفتند. مقایسه میانگین‌ها نیز بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

طبق جدول تجزیه واریانس اثر متقابل تنش شوری و کاربرد تخفیف‌دهنده بر طول میانگره، ارتفاع بوته، وزن خشک ساقه، وزن تر ساقه، شاخص کلروفیل، کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کارتنوئید، آنزیم آسکوربات پراکسیداز، گایاکول پراکسیداز و پروتئین محلول در سطح ۱ درصد و برای وزن خشک برگ، وزن تر برگ و آنزیم کاتالاز در سطح ۵ درصد معنی‌دار شد؛ ولی برای صفت تعداد گره معنی‌دار نشد. همچنین اثر ساده تنش شوری بر همه صفات در سطح ۱ درصد و اثر ساده تخفیف‌دهنده به غیر از وزن خشک برگ، برای تعداد گره در سطح ۵ درصد و برای بقیه صفات در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ۲).

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در گیاه بادرشبو تحت شرایط تنش شوری و کاربرد اسید هیومیک و آسکوربات

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات							
		طول میانگره	ارتفاع بوته	وزن خشک ساقه	وزن خشک برگ	وزن تر ساقه	وزن تر برگ	تعداد گره	شاخص کلروفیل
تخفیف‌دهنده	٤	۰/۸٤۷٦**	۳۷۱/۱۳**	۵/۰۱**	۱/٦۷^{ns}	٤۳/۵۵**	۱۱۸/٤٦**	۲/٤٤*	۵۲/۰٤**
تنش	۳	۱/۵٦**	۱۱۳۷/٦۳**	۱٦/٤٤**	۹/۱٤**	۲٦٦/۱۸**	۲٦۳/٤۱**	٦/۹۹**	۲۵/۷٦**
تیمار*تنش	۱۲	۰/۳۸۲٦**	۱۹/۰۱**	۱/۳۸**	۲/۰٤*	۲۱/۵۵**	۲۹/۸۳*	۰/۸۹۷۲^{ns}	۱۰/۲٦**
خطا	٤۰	۰/۰۵۱۵	۱/۹۱	۰/۳٤۹۲	۰/۹۳۲۳	۷/٤۳	۱۲/٦۰	۰/۷۸۳۳	۱/۲٤
CV%		۹/۹۹	۱۵/۵۳	۱۲/۲۳	۱۰/۱۹	۸/٤۳	۱۱/۱٦	۱۳/۳۷	۷/۵۹

ns، ** و * به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح ۱ و ۵ درصد

ادامه جدول ۲- تجزیه واریانس صفات موردبررسی در گیاه بادرشبو تحت شرایط تنش شوری و کاربرد اسید هیومیک و آسکوربات

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات							
		کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کارتنوئید	آسکوربات پراکسیداز	گایاکول پراکسیداز	کاتالاز	پروتئین محلول
تخفیف‌دهنده	٤	۱/۹۳**	۱/۱۵**	٦/۰٦**	۰/۲۳۰٤**	۰/۸۹٦٦**	۰/۰۹٤۸**	۰/۰۰۳۱**	۰/۰۰۰۱**
تنش	۳	۱٤/٤۸**	٤/۷۸**	۳۵/۸۱**	۱/۰٤**	۰/٤۰۸٤**	۰/۰٦٦٤**	۰/۰۰۲۱**	۰/۰۰۰۰٦**
تیمار*تنش	۱۲	۳/۱۳**	۱/۳۵**	۸/۱۹**	۰/۰۸٤۲**	۰/٦۷۳۵**	۰/۰۲۹۹**	۰/۰۰۲٦*	۰/۰۰۰۰٦**
خطا	٤۰	۰/۲۰٤٤	۰/۰۸۵۸	۰/۳۷۹٦	۰/۰۱٦۲	۰/۰٤۲۹	۰/۰۰۰٦	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۰۰۷
CV%		۱۵/۱۱	۱٤/٦۵	۱٤/۵۵	۱۸/۵	۱٤/۸۸	۱۷/۳۷	۱۸/۱٤	۱۵/۱۳

ns، ** و * به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح ۱ و ۵ درصد

بررسی صفات رویشی: صفات طول میانگره و ارتفاع گیاه بادرشبی در تنش شوری به‌شدت کاهش یافتند. همچنین کاربرد اسید هیومیک در هر دو سطح به‌کار برده شده به‌طور قابل توجهی باعث تعدیل اثرات سوء شوری بر این صفات گردید. البته اسید آسکوربیک نیز تا حدودی توانست باعث بهبود این صفات در سطوح مختلف تنش شوری گردد. همانطور که در جدول ۳ مشاهده می‌گردد بیشترین میزان طول میانگره مربوط به تیمار شاهد (بدون تنش شوری) با کاربرد به ترتیب ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید هیومیک و اسید آسکوربیک و بیشترین ارتفاع بوته در شرایط عدم تنش شوری با کاربرد ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید هیومیک بدست آمد که به ترتیب شامل ۵/۹۳، ۵/٦۹، ۷٦/۱۳ و ۷٤/٤٤ سانتی‌متر بوده و به ترتیب ۲۰/۵۷، ۱۷/۲۲، ۱۵/۷۷ و ۱۳/۸٦ درصد نسبت به شاهد (بدون تنش شوری) افزایش نشان دادند (جدول ۳).

وزن خشک و تر ساقه (در واحد گلدان) نیز با افزایش تنش شوری تا ۱۵۰ میلی‌مولار به ترتیب به میزان ٤۲/۸۵ و ٤۱/٦۰ درصد نسبت به تیمار شاهد (بدون تنش و عدم کاربرد تخفیف‌دهنده) کاهش یافتند. به طوری که کمترین مقدار این صفات در تنش ۱۵۰ میلی‌مولار مشاهده شد که تنها کاربرد اسید هیومیک به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر توانست تاحدودی اثرات سوء تنش را در این سطح شوری کنترل کند. اسید هیومیک (۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر) در سطوح شوری ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار به خوبی توانست باعث افزایش میزان وزن خشک و تر ساقه گردد. به طوری که بیشترین مقدار آن‌ها مربوط به شرایط عدم تنش شوری و کاربرد اسید هیومیک به مقدار ۵/۷۲ و ۲۲/٦۳ گرم بود و به ترتیب افزایش ۳٦/۳٦ و

جدول ۳- مقایسه میانگین صفات موردبررسی در گیاه بادرشبو تحت شرایط تنش شوری و کاربرد اسید هیومیک و آسکوربات

تنش شوری (mM)	تخفیف دهنده (mg/l)	طول میانگره (cm)	ارتفاع (cm)	وزن خشک ساقه (gr)	وزن خشک برگ (gr)	وزن تر ساقه (gr)	وزن تر برگ (gr)
	H۱۰۰	۵/۹۳^{a}	۷۶/۱۳^{a}	۵/۷۱^{a}	۶/۳۴^{a}	۲۲/۶۳^{a}	۲۷/۷۳$^{b-d}$
	H۲۰۰	۵/۳۳$^{b-d}$	۷۴/۴۴^{a}	۵/۷۲^{a}	۵/۵۵^{ab}	۱۹/۰۹^{ab}	۲۸/۸۸^{ab}
۰	AS۱۰۰	۵/۰۳$^{d-f}$	۶۷/۰۵^{c}	۳/۹۶^{bc}	۵/۰۷$^{a-c}$	۱۹/۷۹^{a}	۲۸/۲۰^{bc}
	AS۲۰۰	۵/۶۹^{ab}	۷۱/۳۵^{b}	۳/۹۴^{bc}	۴/۳۴$^{b-f}$	۱۵/۲۷^{bc}	۳۴/۶۵^{a}
	۰	۴/۷۱$^{f-h}$	۶۴/۱۲^{d}	۳/۴۶$^{b-e}$	۴/۲۱$^{b-g}$	۱۴/۴۲^{cd}	۲۱/۳۱$^{e-g}$
	H۱۰۰	۵/۴۹^{bc}	۷۱/۳۳^{b}	۳/۶۰$^{b-d}$	۲/۷۲^{gh}	۱۲/۷۳$^{c-f}$	۲۱/۹۳$^{d-g}$
۵۰	H۲۰۰	۵/۶۱^{ab}	۶۷/۸۳^{c}	۴/۳۶^{b}	۴/۴۱$^{b-e}$	۲۰/۴۱^{a}	۲۸/۴۸^{bc}
	AS۱۰۰	۴/۵۹$^{g-j}$	۵۵/۵۸^{hi}	۴/۱۳^{bc}	۴/۸۶$^{a-d}$	۱۲/۲۷$^{c-g}$	۲۹/۶۱^{ab}
	AS۲۰۰	۴/۹۱$^{e-h}$	۶۱/۴۱^{e}	۳/۳۰$^{c-e}$	۳/۶۸$^{c-h}$	۱۳/۸۶$^{c-e}$	۲۲/۸۶$^{c-f}$
	۰	۴/۵۹$^{g-j}$	۵۸/۴۹^{fg}	۱/۷۳^{g}	۲/۷۸$^{f-h}$	۱۰/۵۴$^{d-h}$	۲۲/۲۹$^{d-f}$
	H۱۰۰	۵/۱۹$^{c-e}$	۶۵/۹۹^{cd}	۱/۸۵^{fg}	۲/۶۱^{h}	۷/۲۲^{h}	۱۵/۲۲^{hi}
	H۲۰۰	۴/۹۴$^{e-g}$	۶۰/۹۱^{e}	۳/۱۶$^{c-e}$	۴/۳۲$^{b-f}$	۱۲/۴۳$^{c-g}$	۲۵/۷۷$^{b-e}$
۱۰۰	AS۱۰۰	۵/۳۸$^{b-d}$	۵۶/۸۳^{gh}	۱/۸۶^{fg}	۳/۱۰^{fg}	۹/۴۵$^{e-h}$	۲۱/۸۲$^{e-g}$
	AS۲۰۰	۴/۷۱$^{f-h}$	۵۹/۴۹^{ef}	۲/۸۳$^{d-f}$	۳/۴۹$^{e-h}$	۱۰/۴۳$^{d-h}$	۲۰/۸۲$^{e-h}$
	۰	۵/۰۳$^{d-f}$	۴۹/۶۰^{j}	۱/۹۵^{fg}	۳/۴۷$^{d-h}$	۸/۱۵^{gh}	۱۶/۳۵^{gh}
	H۱۰۰	۵/۱۱^{de}	۵۸/۳۸^{fg}	۳/۴۸$^{b-e}$	۴/۷۷$^{a-d}$	۱۳/۷۲$^{c-e}$	۲۱/۳۵$^{e-g}$
	H۲۰۰	۴/۲۳^{j}	۵۳/۶۶^{i}	۲/۵۶$^{e-g}$	۳/۱۲$^{e-h}$	۸/۹۸$^{f-h}$	۱۸/۹۸$^{f-h}$
۱۵۰	AS۱۰۰	۴/۶۲$^{g-i}$	۴۸/۳۳^{j}	۱/۹۵^{fg}	۳/۳۰$^{d-h}$	۸/۲۰^{gh}	۲۴/۲۴$^{b-f}$
	AS۲۰۰	۴/۲۸^{ig}	۴۳/۵۸^{k}	۱/۹۲^{fg}	۳/۷۸$^{c-h}$	۷/۶۳^{h}	۱۸/۵۸$^{f-i}$
	۰	۴/۵۶$^{h-j}$	۴۴/۷۲^{k}	۲/۰۸^{fg}	۳/۰۰$^{e-h}$	۸/۴۲$^{f-h}$	۱۳/۸۰^{i}

در هر ستون میانگین‌های با حروف مشابه در سطح احتمال آماری ۵ درصد بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌دار ندارند. H و AS در جدول به ترتیب معرف اسید هیومیک و آسکوربیک می‌باشند.

۳۶/۲۷ درصد را نسبت به تیمار شاهد (عدم کاربرد تخفیف دهنده) نشان داد. البته بین سطوح اسید هیومیک (۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر) تفاوت معنی‌داری از این نظر مشاهده نشد (جدول ۳).

وزن خشک برگ (در واحد گلدان) در شرایط عدم تنش شوری و کاربرد اسید هیومیک (۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید آسکوربیک دارای بیشترین مقدار بود که بین این تیمارها در شرایط بدون شوری تفاوت معنی داری وجود نداشت. همچنین کاربرد ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید هیومیک توانست شرایط بهتری را برای وزن تر برگ گیاه (در واحد گلدان) در سطوح ۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار شوری فراهم کند؛ ولی در شوری ۱۵۰ میلی‌مولار، کاربرد ۱۰۰ میلی-مولار اسید هیومیک و آسکوربیک باعث بهبود این صفت و کاهش اثرات مخرب شوری شد. بیشترین مقدار این صفت در شرایط عدم شوری و کاربرد ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید آسکوربیک و هیومیک به ترتیب ۳۴/۶۵ و ۲۸/۸۸ گرم بدست آمد که به ترتیب ۳۸/۴۹ و ۲۶/۲۱ درصد نسبت به تیمار شاهد (بدون تنش) افزایش یافت در حالی که بین این تیمارها تفاوت

معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۳).

کاهش رشد رویشی در اثر تیمار شوری احتمالاً به‌دلیل کاهش سطح فتوسنتز و همچنین کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی نظیر کلروفیل a و b، جذب خالص CO_2 و هدایت روزنه‌ای و بسته شدن روزنه‌ها در اثر تنش شوری می‌باشد (Netondo *et al.*, 2004). عامل محتمل دیگری که سبب کاهش فتوسنتز می‌گردد اثر بازدارنده تنش شوری بر روی فرایند جذب و انتقال مواد فتوسنتزی می‌باشد (Demiral *et al.*, 2005). به‌طور کلی کاهش وزن خشک در اثر تنش شوری به‌دلیل کاهش جذب آب و بازدارندگی محصولات فتوسنتزی و سنتز کربوهیدرات‌ها است (Nemat Alla *et al.*, 2002). کاهش رشد، عمده‌ترین اثر شوری بر گیاهان است. وزن تر و خشک از شاخص‌هایی هستند که به‌منظور بررسی میزان رشد گیاه استفاده می‌گردند. از آن‌جا که آب بافت‌ها در وزن خشک دخالتی ندارد و وزن موادی که در اثر فعالیت‌های متابولیسمی گیاه ساخته شده است اندازه‌گیری می‌شود، شاخص بسیار مناسبی برای اندازه‌گیری رشد است. با توجه به جدول ۳ شوری موجب کاهش وزن خشک اندام هوایی شد. جلوگیری از رشد گیاه تحت تنش شوری می‌تواند به‌علت کاهش تقسیم سلولی، عدم تعادل یونی، کاهش جذب آب، اختلال در جذب عناصر، تاثیر یون‌های سمی به‌ویژه سدیم، اختلال در جذب، احیا و متابولیسم نیتروژن و پروتئین، بسته شدن روزنه‌ها و کاهش کارآیی فتوسنتز باشد (Parida and Das, 2005). تیمار اسید آسکوربیک همزمان با شوری موجب افزایش برخی صفات رویشی گیاه بادرشبو شد. اثر مثبت آسکوربیک اسید بر رشد گیاه را شاید بتوان به نقش آن به عنوان فاکتور مهم در بیوسنتز برخی از هورمون‌های گیاهی دخیل در رشد و تقسیم سلولی از جمله جیبرلین و پایداری رنگدانه‌ها و دستگاه فتوسنتزی نسبت داد (Taqi *et al.*, 2011).

نتایج این آزمایش بیانگر آن است که غلظت کم اسید هیومیک (۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) بیشترین تأثیر را روی برخی صفات گیاه ازجمله طول میانگره، وزن خشک برگ و وزن تر ساقه داشت که با نتایج آزمایشی که چمنی و همکاران (۱۳۹٤) روی گیاه پروانش داشتند مطابقت دارد. یکی از مکانیسم‌هایی که مواد هیومیکی منجر به افزایش رشد طولی می‌شوند مربوط به ترکیبات شبه جیبرلینی آن می‌شود (Nardi *et al.*, 2002). تعداد بی‌شماری از گزارشات در مورد توانایی مواد هیومیکی روی افزایش رشد ساقه در ارقام مختلف گونه‌های گیاهی تحت شرایط گوناگون ارائه شده است که اثر تسریع‌کنندگی مواد هیومیکی روی رشد ساقه در درجه اول به خاطر تأثیر روی فعالیت H+-ATPase ریشه و توزیع نیترات ریشه در ساقه بوده که به نوبه خود منجر به تغییرات در توزیع مشخص سایتوکنین‌ها، پلی‌آمینها و ATP می‌شود، بنابراین روی رشد ساقه تأثیر می‌گذارد (Rubio *et al.*, 2009). در یک تحقیق کاربرد اسید هیومیک خالص باعث افزایش معنی‌داری در رشد شاخه خیار شد که با افزایش فعالیت در H+-ATPase ریشه همراه بوده است، همچنین افزایش در غلظت نیترات ساقه و کاهش آن در ریشه رخ داده است. این تغییرات با افزایش در غلظت سایتوکنین‌ها و پلی‌آمین‌ها در شاخه خیار و کاهش آن در ریشه همراه بوده است (Mora *et al.*, 2010). در مطالعه‌ای کاربرد اسید هیومیک در غلظت‌های مختلف موجب افزایش طول هیپوکوتیل، قطر ساقه، طول ساقه، وزن خشک و عملکرد گیاه گوجه فرنگی شد (Türkmen *et al.*, 2004). Sabzevari و Khazaei (2009) گزارش کردند که اسید هیومیک منجر به بهبود شرایط رشدی گندم (برگ، ارتفاع و کلروفیل) شد. همچنین تعداد برگ، سطح برگ، ارتفاع گیاه و وزن خشک قسمت هوایی به طور قابل ملاحظه‌ای در گیاهان رشد کرده در گلدان‌های حاوی اسید هیومیک در غلظت‌های مختلف حتی در غلظت‌های کم افزایش یافت (Arancon *et al.*, 2003). همچنین پادم و همکاران (Padem *et al.*, 1999) گزارش کردند که قطر ساقه، تعداد برگ و وزن تر و خشک ساقه و ریشه با کاربرد اسید هیومیک در گیاهچه فلفل و بادنجان افزایش یافت که این نتایج با نتایج ما مطابقت داشت. چمنی و همکاران (۱۳۹٤) در آزمایشی که روی گیاه پروانش انجام دادند بیان داشتند که سطح پایین اسید هیومیک (۱۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) باعث افزایش صفات رشدی گیاه از قبیل تعداد برگ و میزان کلروفیل گردید. همچنین با توجه به نظرات ایشان می-

توان علت تأثیر بهتر سطوح پایین اسید هیومیک در این گیاه یا عدم تأثیر آن بر روی برخی صفات را چنین بیان کرد ۱: در سطوح ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید هیومیک (سطوح پایین) جذب نیتروژن و فسفر در گیاه پروانش افزایش می‌یابد ۲: اسید هیومیک تنها در شرایط نامساعد محیطی بر روی برخی صفات تأثیر مثبتی دارد. بنابراین تاثیر بهتر سطح ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید هیومیک نسبت به سطوح بالای آن بر روی برخی صفات در این آزمایش احتمالا به علت افزایش جذب عناصر غذایی در سطح ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر هیومیک و مساعد بودن شرایط محیطی است.

بررسی رنگیزه‌های فتوسنتزی: میزان کلروفیل a در سطوح مختلف تنش شوری به کاربرد اسید هیومیک و اسید آسکوربیک پاسخ متفاوتی نشان داد؛ ولی در مجموع کاهش مقدار این صفت با افزایش تنش شوری مشهود بود. به‌طوری که بیشترین مقدار آن در تیمار شاهد ۱۰/٤۲ میلی‌گرم در گرم وزن تر مشاهده شد که با کاربرد ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید آسکوربیک تفاوت معنی‌داری نداشت. در سطوح پایین تنش شوری (۵۰ میلی‌مولار) کاربرد اسید هیومیک و اسید آسکوربیک ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر باعث افزایش میزان کلروفیل a نسبت به تیمار شاهد گردید در حالی که بین تخفیف دهنده‌ها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد؛ ولی با افزایش میزان تنش شوری تا ۱۵۰ میلی‌مولار سطوح ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر تخفیف‌دهنده‌ها توانست به خوبی موجب کاهش اثرات سوء تنش گردد (جدول ٤).

بیشترین میزان کلروفیل b با کاربرد ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید آسکوربیک در شرایط بدون تنش حاصل شد. همچنین افزایش میزان تنش شوری موجب کاهش این صفت گردید. همان‌طور که در جدول ٤ مشاهده می‌شود با افزایش تنش شوری تا ۱۵۰ میلی‌مولار کاربرد اسید هیومیک بویژه سطح ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر آن اثر بسزایی در افزایش میزان کلروفیل b داشته است.

کلروفیل کل نیز تحت تنش شوری سیر نزولی از خود نشان داد که بیشترین مقدار آن ۱٦/۹۷ میلی‌گرم در گرم وزن تر همراه با کاربرد ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید آسکوربیک در شرایط بدون تنش همانند کلروفیل a و b حاصل شد. در تنش ۵۰ میلی‌مولار کاربرد تخفیف‌دهنده‌ها باعث افزایش میزان کلروفیل کل نسبت به شاهد گردید به‌طوری که بین اسید هیومیک و اسید آسکوربیک و سطوح مختلف آن‌ها در این سطح تنش تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. کاربرد ۲۰۰ میلی-گرم در لیتر اسید هیومیک در سطوح تنشی ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی-مولار شوری نتیجه بهتری را از خود نشان داد (جدول ٤).

بیشترین میزان کارتنوئید در شرایط عدم تنش شوری حاصل شد و تفاوت معنی‌داری در تیمارهای تخفیف‌دهنده و شاهد مشاهده نشد. در تنش شوری ۵۰ میلی‌مولار، کاربرد سطح پایین تخفیف‌دهنده‌ها (۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) نتیجه مطلوبی در بهبود میزان کارتنوئید داشت، در صورتی‌که کاربرد ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید هیومیک و اسید آسکوربیک بهترین نتیجه را در سطوح بالای تنش شوری (۱۰۰و۱۵۰ میلی‌مولار) به‌همراه داشت (جدول ٤).

افزایش در میزان کلروفیل را می‌توان به‌دلیل افزایش جذب عناصرغذایی توسط گیاه نسبت داد که باعث افزایش سبزینگی گیاه می‌شود. در مطالعه‌ای گلخانه‌ای اثر اسید هیومیک را روی قابلیت جذب عناصر غذایی خاک و عملکرد پیاز مورد بررسی قرار دادند و دریافتند که کاربرد ۲۰ کیلوگرم در هکتار اسید هیومیک به همراه NPK، بیشترین عملکرد پیاز با ۱۲ درصد در افزایش در جذب NPK را به همراه داشت (Sangeetha *et al.*, 2006). در بین عناصر غذایی نیتروژن سهم مهمی در افزایش سبزینگی گیاه دارد و با جذب نیتروژن در حضور اسید هیومیک، می‌توان چنین نتیجه گرفت که ماده هیومیکی مورد استفاده در این پژوهش به خصوص در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر برای سطوح بالای تنش باعث افزایش جذب عناصر غذایی به خصوص نیتروژن شده که باعث افزایش سبزینگی گیاه و افزایش میزان کلروفیل گردید. بر طبق نظر چمنی و همکاران (۱۳۹٤) اسید هیومیک در شرایط نامساعد محیطی تأثیر مثبتی دارد و نقش خود را به عنوان یک تخفیف‌دهنده تنش انجام می‌دهد. در این پژوهش احتمالا به دلیل نامساعد

جدول ٤- مقایسه میانگین صفات موردبررسی در گیاه بادرشبو تحت شرایط تنش شوری و کاربرد اسید هیومیک و آسکوربات

تنش شوری (mM)	تخفیف دهنده (mg/l)	شاخص سبزینگی	کلروفیل a ($mg.g^{-1}FW$)	کلروفیل b ($mg.g^{-1}FW$)	کلروفیل کل ($mg.g^{-1}FW$)	کارتنوئید ($mg.g^{-1}FW$)
	H۱۰۰	۳٦/۹۰^{cd}	۸/٦۹^{de}	۵/٦۰$^{d-f}$	۱٤/۲۹$^{e-g}$	۱/٦۳^{ab}
	H۲۰۰	٤۰/۷۰^{a}	۸/۵٤^{de}	۵/۹۵$^{b-d}$	۱٤/٤۹$^{d-g}$	۱/٦۲$^{a-c}$
۰	AS۱۰۰	۳۵/٤٦^{de}	۱۰/۰۸^{ab}	٦/۸۹^{a}	۱٦/۹۷^{a}	۱/٦۵^{ab}
	AS۲۰۰	۳٦/۱۳^{cd}	۷/۵۱^{f}	٤/۷۰^{gh}	۱۲/۲۲^{hi}	۱/۷۲^{a}
	۰	۳۹/٦۰^{a}	۱۰/٤۲^{a}	٦/۳۰^{b}	۱٦/۷۳^{ab}	۱/٦۱$^{a-c}$
	H۱۰۰	۳۸/۹۵^{ab}	۹/۵۷^{bc}	٦/۳۰^{b}	۱۵/۸۷^{bc}	۱/۳۱^{de}
۵۰	H۲۰۰	٤۰/۵۵^{a}	۹/۲٤^{cd}	۵/۹۸$^{b-d}$	۱۵/۲۳$^{c-e}$	۱/۲۵^{ef}
	AS۱۰۰	۳٦/۷۰^{cd}	۹/۵۵^{bc}	۵/۵۹$^{d-f}$	۱۵/۱٤$^{c-e}$	۱/٤۹$^{b-d}$
	AS۲۰۰	۳٦/٦۵^{cd}	۹/۲۷^{cd}	٦/۰٦$^{b-d}$	۱۵/۳۳^{cd}	۱/۲٦^{ef}
	۰	۳٦/۰۰^{cd}	۸/٤۷^{e}	۵/۳٤^{ef}	۱۳/۸۱^{g}	۱/۲۵^{ef}
۱۰۰	H۱۰۰	۳۵/٤۰^{de}	۸/۹۱$^{c-e}$	۵/۸۰$^{c-e}$	۱٤/۷۱$^{d-g}$	۱/۰٦$^{f-h}$
	H۲۰۰	۳۹/٤۵^{ab}	۹/٦۲^{bc}	٦/۱۳^{bc}	۱۵/۷۵^{bc}	۱/۲۷^{e}
	AS۱۰۰	۳۷/۷۵^{bc}	۸/۷۳^{de}	۵/٤۸$^{b-d}$	۱٤/۵۷$^{d-g}$	۱/۳۳^{de}
	AS۲۰۰	۳۵/٤۰^{de}	۹/۰٦$^{c-e}$	۵/۹۷$^{b-d}$	۱۵/۰۳$^{c-f}$	۱/٤۱$^{c-e}$
	۰	۳۳/۰۰^{f}	٦/٦۱^{h}	٤/۵۰^{h}	۱۱/۱۲^{j}	۰/۷۹^{ij}
۱۵۰	H۱۰۰	۳۳/۸۰^{ef}	٦/٦۹^{gh}	٤/٤٤^{h}	۱۱/۱۳^{j}	۱/۰۲^{gh}
	H۲۰۰	٤۰/۳۵^{a}	۸/٤۵^{e}	۵/۵۹$^{d-f}$	۱٤/۰٤^{fg}	۱/۳۸^{de}
	AS۱۰۰	۳۵/۱۳^{de}	٦/۷۳^{gh}	٤/۵۰^{h}	۱۱/۲٤^{ij}	۰/۹۳^{hi}
	AS۲۰۰	۳۵/٦۰^{de}	٦/۰٦^{h}	۳/۷٦^{i}	۹/۸۲^{k}	۱/۲۱$^{e-g}$
	۰	۳۰/۵۰^{g}	۷/۳٦^{fg}	۵/۱۵^{fg}	۱۲/۵۱^{h}	۰/٦۱^{j}

در هر ستون میانگین‌های با حروف مشابه در سطح احتمال آماری ۵ درصد بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌دار ندارند. H و AS در جدول به ترتیب معرف اسید هیومیک و آسکوربیک می‌باشند.

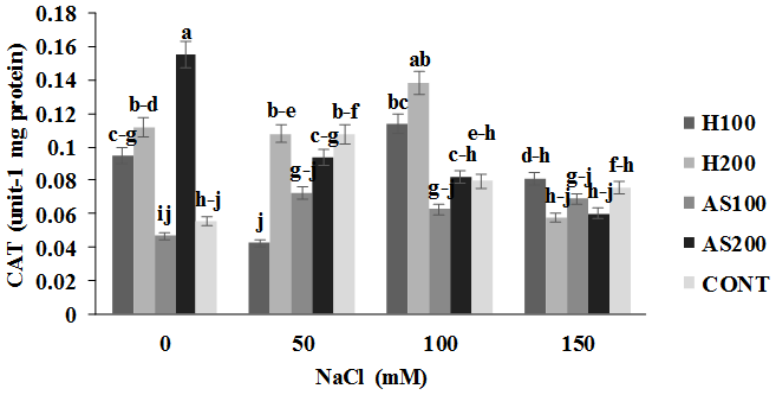
شدن شرایط برای گیاه بادرشبو در تنش ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی-مولار، اسید هیومیک ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر توانسته نقش موثری را ایفا کند. اسید هیومیک به طور معنی‌داری در محتوی کلروفیل برگها موثر بوده و اثر خود را به طور اساسی بر محتوی کلروفیل b در برگ داشت. مقادیر ۲۰ میلی‌لیتر در لیتر اسید هیومیک چه به صورت محلول‌پاشی و چه اعمال خاکی بیشترین محتوی کلروفیل برگ‌ها را سبب شد (Karakurt *et al.*, 2008). در بررسی اثر مواد هیومیکی روی محتوی کلروفیل برگ‌ها گیاه گوجه فرنگی کشت یافته در محلول غذایی دریافتند که اسید هیومیک به میزان ٦۳ درصد و اسید فولیک به میزان ٦۹ درصد غلظت کلروفیل برگ را افزایش داد (Sladky and Ticht, 1959). همچنین در مطالعه Tejada و Gonzalez (2003) مشاهده کردند که میزان کلروفیل و کارتنوئید ساقه خوراکی مارچوبه به همراه عناصر ماکرو و میکرو عملکرد مارچوبه در پاشش اسیدهای آمینه و مقایسه آن با اسید هیومیک افزایش یافت.

با توجه به مشاهدات Drazkiewicz (1994)، در شرایط تنش شوری میزان آنزیم کلروفیلاز افزایش یافته و بدین‌صورت

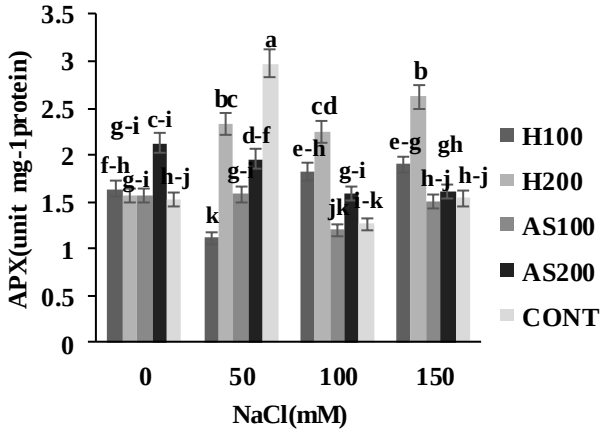
میزان کلروفیل کاهش می‌یابد. Saeid Nejad و Rezvani (2011) گزارش کردند محلول‌پاشی اسید هیومیک باعث افزایش میزان کلروفیل برگ ذرت گردید. چنانکه مشاهده می‌شود، در این مطالعه حفظ محتوای کلروفیل در غلظت شوری ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار که از طریق تیمار اسید آسکوربیک و اسید هیومیک حاصل شده است، به ثبات فتوسنتز در این وضعیت کمک می‌کند. تیمار اسید آسکوربیک و اسید هیومیک از پیامدهای مخرب تنش بر رشد و محتوای کلروفیل می‌کاهد که ممکن است به‌دلیل نقش کلیدی این تخفیف‌دهنده‌ها در کاهش آنتی‌اکسیدان‌ها باشد. تنش شوری باعث افزایش رادیکال‌های آزاد در کلروپلاست‌ها می‌شود و تخریب کلروفیل و غشای کلروپلاست را درپی دارد. کاهش مقدار کلروفیل درپی تنش‌ها می‌تواند به‌علت تخریب کلروفیل ناشی از جدا شدن فیتولی از حلقهٔ پورفیرینی در اثر گونه‌های فعال اکسیژن یا آنزیم کلروفیلاز باشد. بررسی‌ها بیان بالای ژن کلروفیلاز در اثر تنش شوری و خشکی را نشان داده است (Inze and van Montagu, 1995). کاهش مقدار کاروتنوئیدها در وضعیت تنش به‌دلیل تجزیهٔ بتاکاروتن و تولید زآگزانتین در چرخهٔ گزانتوفیل و یا اکسیده شدن مستقیم آن توسط اکسیژن یکتایی است (Sultana *et al.*, 1999). نتایج این پژوهش نشان از اهمیت اسید آسکوربیک در سطوح پایین تنش شوری دارد. بنابراین می‌توان چنین بیان داشت که اسید آسکوربیک نقش تعیین کننده‌ای در جاروب کردن گونه‌های فعال اکسیژن و همچنین، پراکندگی تشعشات بیش ازحد خورشید ایفا می‌کند، زیرا اسید آسکوربیک برای فعالیت آنزیم‌های چرخهٔ گزانتوفیل ضروری است (Loggini *et al.*, 1999). اسید هیومیک سبب تداوم بافت‌های فتوسنتز کننده شده و عملکرد گیاهان را افزایش می‌دهد. همچنین اسید هیومیک از طریق اثرات مثبت فیزیولوژیکی از جمله اثر بر متابولیسم سلول‌های گیاهی و افزایش غلظت کلروفیل برگ باعث افزایش عملکرد در گیاهان می‌شود (Nardi *et al.*, 2002).

بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی: نتایج نشان می‌دهد که در گیاه بادرشبو با افزایش تنش شوری تا ۵۰ میلی‌مولار میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز به ترتیب به میزان ۴۸/۳۷، ۴۹/۰۷ و ۵۲/۷۵ درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش یافته و سپس با افزایش غلظت نمک تا میزان ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار فعالیت آنزیم‌ها به ترتیب ۲۹/۳۰، ۴۸/۴۰ و ۴۵/۳۰ درصد (در تنش ۱۵۰ میلی‌مولار) نسبت به شوری ۵۰ میلی‌مولار کاهش می‌یابند. غلظت پایین نمک (۵۰ میلی‌مولار) در برگ سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نسبت به شاهد گردیده و این در حالی است که با افزایش شوری از ۵۰ میلی‌مولار به بالا آسیب ناشی از نمک شدید شده و سبب کاهش چشم‌گیر میزان فعالیت آنزیم‌ها نسبت به تیمار ۵۰ میلی‌مولار شوری می‌گردد (شکل ۱، ۲ و۳). دهقانی و مستاجران (۱۳۸۹) در آزمایشی که بر روی گیاه زنجبیل انجام دادند به این نتیجه رسیدند که فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در شوری ٤ dsm^{-1} نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت؛ ولی در تنش شوری ٦ و ٨ dsm^{-1} دوباره سیر نزولی از خود نشان دادند. به طوری که فعالیت آنزیم کاتالاز از ۱۲/٤ و ۱۰/۳ میلی‌گرم در تنش ٤ دسی‌زیمنس به ۲/۹ و ۲/۷ میلی‌گرم در شوری ۸ دسی‌زیمنی به ترتیب در ساقه و برگ رسید که با نتایج این آزمایش کاملا مطابقت دارد (دهقانی و مستاجران، ۱۳۸۹).

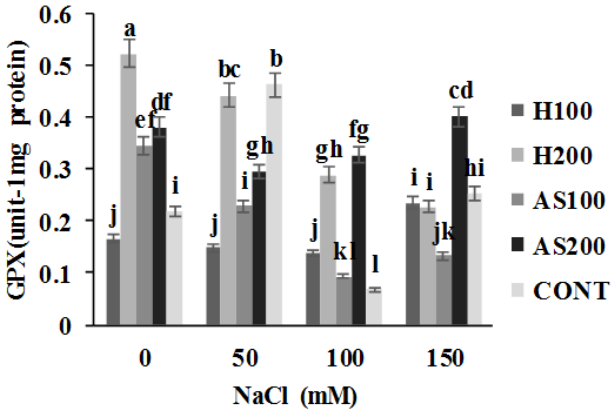
میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در شرایط بدون تنش (شاهد) با کاربرد ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید آسکوربیک با ۰/۱۵۵ (unit-1 mg protein) بیشترین مقدار را دارا بود که افزایش ٦٤/۱۹ درصدی نسبت به شاهد نشان داد. در تنش ۵۰ میلی‌مولار و تیمار شاهد (عدم کاربرد تخفیف‌دهنده) گیاه با افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز سعی در کنترل اثرات سوء شوری دارد که با کاربرد ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید هیومیک تفاوت معنی‌داری نداشت. در سطح شوری ۱۰۰ میلی‌مولار کاربرد اسید هیومیک بویژه سطح بالای آن باعث افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز شد در صورتی‌که تیمارهای تخفیف‌دهنده در سطح شوری ۱۵۰ میلی مولار تفاوت معنی‌داری با شاهد نشان ندادند (شکل ۱). کاتالاز یکی از مهم‌ترین جاروب کننده‌های H_2O_2 محسوب می شود که این عمل را با تبدیل H_2O_2 را به آب و O_2 انجام می



شکل ۱- اثر متقابل تنش شوری و کاربرد اسید هیومیک (H) و اسید آسکوربیک (AS) ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر بر فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه بادرشبو. در هر ستون میانگین‌های با حروف مشابه در سطح احتمال آماری ۵ درصد بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌دار ندارند.



شکل ۲- اثر متقابل تنش شوری و کاربرد اسید هیومیک (H) و اسید آسکوربیک (AS) ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در گیاه بادرشبو. در هر ستون میانگین‌های با حروف مشابه در سطح احتمال آماری ۵ درصد بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌دار ندارند.



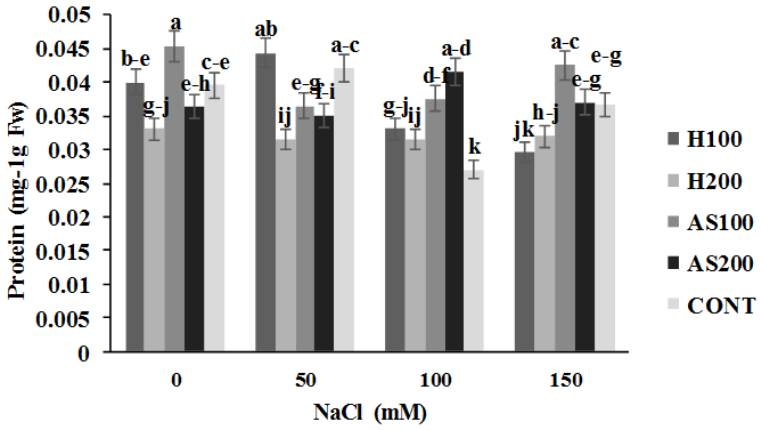
شکل ۳- اثر متقابل تنش شوری و کاربرد اسید هیومیک (H) و اسید آسکوربیک (AS) ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر بر فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در گیاه بادرشبو. در هر ستون میانگین‌های با حروف مشابه در سطح احتمال آماری ۵ درصد بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌دار ندارند.

دهد، کاتالاز به همراه آسکوربات پراکسیداز جاروب کننده مهم، H_2O_2 و در نتیجه تنظیم کننده سطح H_2O_2 در سلول می-

باشد (Dixit *et al.*, 2001). Borsani و همکاران (2003) بیان کردند ارتباط خوبی بین کاهش آسیب اکسیداتیو و افزایش تحمل به نمک و سایر تنش‌های محیطی و کارایی سیستم آنتی اکسیداتیو وجود دارد. اسید هیومیک می‌تواند با بهبود جذب نیتروژن سبب افزایش میزان آنزیم‌ها، انواع پروتئین‌ها بخصوص آنزیم‌ها و پروتئین‌های شرکت کننده در چرخه فتوسنتزی نظیر سیتوکروم‌ها، فردوکسینها، پلاستوسیانین و آنزیم رابیسکو شده و از این طریق رشد را افزایش دهد (Dordas and Sioulas, 2008). اسید هیومیک به واسطه خاصیت کلات‌کنندگی قوی که دارد، یونهای سدیم را بر روی خود نگه‌داشته و مانع جذب آنها توسط گیاه می‌شود. این‌که چگونه مواد هیومیکی بر جذب یون‌ها توسط گیاه اثر دارند به غلظت مواد هیومیکی، pH محیط کشت و گونه‌های گیاهی بستگی دارد. توانایی مواد هیومیکی برای کلات کردن یون‌ها باعث شده که یکی از متداولترین فواید گزارش شده اسید هیومیک روی گیاهان، افزایش جذب مواد غذایی توسط گیاه باشد (Nardi *et al*, 2009). بنابراین به نظر می‌رسد با توجه به اینکه اسید هیومیک باعث جذب مواد غذایی و کلات کردن یون سدیم می‌شود شرایط را برای رشد گیاه مناسب می‌کند و موجب بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی می‌گردد.

بیشترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) مربوط به تنش شوری ۵۰ میلی‌مولار و تیمار شاهد (عدم کاربرد تخفیف‌دهنده) به میزان ۲/۹۷۵ unit^{-1} mg protein می باشد. David و همکاران (۱۹۹٤) نشان دادند که برجسته‌ترین اثرات اسید هیومیک روی گیاهان در شرایط نامساعد رشد می باشد. از جمله دلایل عدم تأثیر مثبت اسید هیومیک بر برخی از شاخص‌های مورد اندازه‌گیری به‌دلیل شرایط مناسب محیطی می‌باشد. در پژوهش حاضر نیز در شرایط بدون شوری کاربرد تخفیف‌دهنده تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد نداشت که احتمالا به‌دلیل مساعد بودن شرایط برای رشد گیاه در شرایط عدم وجود تنش می‌باشد. در صورتی‌که با افزایش تنش به میزان ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار کاربرد ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید هیومیک افزایش معنی‌داری را در میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نشان داد. زیرا در سطوح بالای تنش به علت نامساعد شدن شرایط محیطی نقش اسید هیومیک به عنوان یک تخفیف‌دهنده کاملا واضح و مشهود می‌شود (شکل ۲).

فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPX) نیز همانند سایر آنزیم‌ها در تنش ۵۰ میلی‌مولار نسبت به سطوح دیگر تنش و شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داد. همانطوری که در شکل ۳ مشاهده می‌شود در تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مولار کاربرد ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید هیومیک و آسکوربیک باعث افزایش میزان فعالیت آنزیم GPX (Gayacol Proxidaz) نسبت به تیمار شاهد گردید. همچنین تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید آسکوربیک سبب افزایش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار نسبت به تیمار شاهد شد. همانطور که در این آزمایش مشاهده می‌شود سطوح بالای تنش شوری موجب کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در شرایط عدم استفاده از تخفیف‌دهنده می‌شود. تنش‌های غیرزنده نظیر شوری و خشکی تولید و تجمع گونه‌های فعال اکسیژن را القاء می‌کنند که در غلظت‌های بالا برای سلول زیان‌آور هستند. تولید این ترکیبات نظیر رادیکال سوپر اکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال هیدروکسیل (OH^-) باعث پراکسیداسیون کردن چربی‌ها، غیرفعال شدن آنزیم‌ها، خسارت به اسیدهای نوکلئیک و تخریب غشاء سلول می‌شوند (Bially, 2004). در این بین تولید آنزیم‌های آنتی اکسیدانت نظیر کاتالاز (CAT)، آسکوربات پراکسیداز (APX) ، پراکسیداز (POD)، گلوتاتیون ریدکتاز (GR) و سوپراکسید دسموتاز (SOD) باعث حذف و غیرفعال کردن گونه‌های فعال اکسیژن می‌شوند (McDonald, 1999). گایاکول پراکسیداز از اکسیداسیون ترکیبات فنلی نظیر گایاکول برای سم‌زدایی و تجزیه آب اکسیژنه در شرایط نامساعد محیطی استفاده می‌کند و در سیتوزول، دیواره سلولی و واکوئل نیز دیده می‌شود. ترکیبات فنلی مثل گایاکول به عنوان دهنده الکترون به پراکسید هیدروژن عمل می‌کنند (Petrov and Breusegem, 2012). مقاومت گیاه به تنش‌های مختلف محیطی ممکن است با سطح فعالیت آنزیم‌های مسئول به دام انداختن رادیکال‌های آزاد اکسیژن مرتبط باشد. گونه‌های



شکل ٤- **اثر متقابل تنش شوری و کاربرد اسید هیومیک (H) و اسید آسکوربیک (AS) ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر بر پروتئین محلول در گیاه بادرشبو. در هر ستون میانگین‌های با حروف مشابه در سطح احتمال آماری ۵ درصد بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌دار ندارند.**

گیاهی مقاوم، به‌طور معمول ظرفیت حفاظتی کارآمدتری در مقابل تنش اکسیداتیو دارند که می‌تواند از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان فزونی یابد (Boldaji *et al.*, 2012). چندین آنزیم سطوح پراکسید هیدروژن را درون سلول تنظیم می‌کنند که مهم‌ترین آن‌ها کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز (گایاکول پراکسیداز) هستند. پراکسیدازها گلیکوپروتئین‌های حاوی هِم هستند که توسط یک خانوادهٔ چندژنی رمزگذاری می‌شوند. این آنزیم‌ها اکسایش و کاهش بین هیدروژن و کاهنده‌های گوناگون را بر عهده دارند (امیری ده احمدی و همکاران، ۱۳۸۹).همان‌طور که نتایج نشان می‌دهد شوری اثر معنی‌داری بر پروتئین‌های محلول در سطح ۱ درصد داشت (جدول ۲). مقایسه میانگین داده‌ها نشان می‌دهد که کمترین میزان پروتئین محلول با ۰/۰۲۷ $mg^{-1}g$ Fw با افزایش غلظت کلرید سدیم در تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مولار در تیمار شاهد (عدم کاربرد تخفیف‌دهنده) حاصل گردید که کاهش ۳۱/٦٤ درصدی را نسبت به تیمار شاهد (بدون تنش) نشان داد و کاربرد تخفیف‌دهنده‌ها بویژه اسید آسکوربیک در سطح ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر برای تنش ۱۰۰ میلی‌مولار و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر برای سطح تنشی ۱۵۰ میلی‌مولار به ترتیب باعث افزایش ۳٤/۹۳ و ۱۳/۷۲ درصد نسبت به تیمار شاهد (عدم کاربرد تخفیف‌دهنده) شده و سبب جبران این خسارت گردید (شکل ٤). تنش شوری سبب تنش اکسیداتیو می‌شود. رادیکال‌های آزاد تولید شده طی تنش اکسیداتیو به‌دلیل میل ترکیبی با پروتئین‌ها سبب تخریب اسیدهای نوکلئیک و پروتئین‌های سلول و تخریب سلولی می‌شوند (Peltzer *et al.*, 2002). نتایج مشابهی از کاهش پروتئین‌های محلول در اثر شوری توسط قربانلی و همکاران (۱۳۸۹) بر روی سیاه‌دانه گزارش شده است. اسید آسکوربیک یک آنتی‌اکسیدان بسیار قوی است که با احیای رادیکال‌های آزاد موجب بازدارندگی آن‌ها می‌شود و با انواع مختلف اکسیژن‌های فعال ترکیب شده و از افزایش آن‌ها می‌کاهد. همچنین سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی و ثبات باندهای پروتئینی برعلیه تنش اکسیداتیو می-گردد (Farouk, 2011 ; Beltagi, 2008). افزایش محتوای پروتئین به وسیله تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی نظیر آسکوربات ممکن است به‌علت افزایش تشکیل شبکه آندوپلاسمی خشن باشد که محیط مناسبی را برای افزایش پلی‌ریبوزوم و mRNA فراهم می‌کند(Kim *et al.*, 2007).

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق دلالت بر آن دارد که شوری باعث القای اثرات منفی بر رشد و فیزیولوژی گیاه بادرشبی شد. مواد هیومیکی و اسید آسکوربیک با القای تغییرات فیزیولوژیکی و تأثیرگذاری بر جذب و انتقال عناصر غذایی گیاه باعث کاهش اثرات منفی تنش شوری در گیاه بادرشبی گردید. با توجه به مشاهدات تحقیق حاضر می‌توان چنین نتیجه‌گیری نمود که بادرشبو گیاهی است با تحمل متوسط نسبت به نمک NaCl، به

طوری که تا سطح شوری ۵۰ میلی‌مولار را تحمل می‌کند و سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی و دفاعی گیاه تا این سطح شوری تشدید شده و فعالیت آنزیم‌ها افزایش پیدا می‌کند؛ ولی افزایش شوری تا سطوح ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار سبب تخریب این سیستم‌ها و کاهش فعالیت آنزیمی می‌گردد که خود به‌دلیل آسیب ناشی از سمیت سدیم می‌باشد؛ ولی به هر حال تا حدودی افزایش آنتی‌اکسیدان‌ها در مقایسه با شاهد به‌خصوص در تنش ۵۰ میلی‌مولار شوری مشاهده می‌گردد. از طرفی ورود یون سدیم به داخل گیاه به‌دلیل عدم وجود فرایند ممانعت از ورود سدیم به ریشه برروی دستگاه فتوسنتزی تأثیر داشته و کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی و نیز عملکرد صحیح روزنه‌ها با افزایش سدیم در محیط، سبب کاهش فتوسنتز و در نتیجه کاهش رشد گیاه بادرشبو می‌گردد. بنابراین در سطوح بالای تنش شوری می‌توان با کاربرد اسید هیومیک به‌ویژه سطح ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر آن سبب جبران خسارت وارده به گیاه شد و فعالیت آنزیمی و در نهایت عملکرد گیاه را افزایش داد.

منابع

امیدبیگی، ر. (۱۳۸٦) تولید و فرآوری گیاهان دارویی.جلد اول و دوم، انتشارات آستان قدس رضوی، تهران، فصل ۷.

امیری ده احمدی، س. ر.، پارسا، م.، نظامی، ا. و گنجعلی، ع. (۱۳۸۹) تأثیر تنش خشکی در مراحل مختلف رشدی بر شاخص‌های رشد نخود (*Cicer arietinum* L.) در شرایط گلخانه. نشریه پژوهش های حبوبات ایران ۱: ۸٤-٦۹.

برنا نصرآبادی، ف. (۱۳۸٤) اثر زمان‌های مختلف کاشت بر رشد، عملکرد، مقدار و اجزا تشکیل دهنده اسانس گیاه بادرشبو. پایان نامه کارشناسی ارشد باغبانی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

بریمانی، م. (۱۳۷٦) مطالعه تاثیرکودهای ازته درمراحل مختلف زندگی گیاه بادرشبو ومیزان تولیداسانس آن. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی تربیت معلم، ایران.

جیحونی، م. (۱۳۸۹) بررسی جامع موادهیومیکی و کاربرد آنها در کشاورزی.نشریه فنی ۳.

چمنی، ا.، بنیادی، م. و قنبری، ع. (۱۳۹٤) تأثیر اسید سالیسیلیک و اسید هیومیک بر شاخص‌های رویشی گیاه زینتی دارویی پروانش (*Catharanthus roseus* L.). نشریه علوم باغبانی ٤: ٦٤۱-٦۳۱.

حسن‌زاده دلوئی، م. (۱۳۷۳) بررسی اثر زمان محلول پاشی اوره بر عملکرد، اجزای عملکرد، پروتئین و انتقال مجدد ازت و ماده خشک در دو رقم گندم. پایان نامه کارشناسی ارشد زراعت، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

حیدری شریف‌آباد، ح. (۱۳۸۰) گیاه و شوری. انتشارات موسسه تحقیقات جنگل ها ومراتع کشور، تهران.

دهقانی، ا. و مستاجران، ا. (۱۳۸۹) اثر تنش شوری بر رشد رویشی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و دفاعی در گیاه زنجبیل (*Zingiber officinale* Roscoe). فصلنامه داروهای گیاهی ۱: ۸-۱.

سلاح‌ورزی، ی.، گلدانی، م.، نباتی، ج. و علیرضایی، م. (۱۳۹۰) تاثیر کاربرد برون‌زای آسکوربیک اسید بر برخی از تغییرات فیزیوشیمیایی مرزنجوش(*Origanum majorana* L.) تحت تنش شوری.مجله علوم باغبانی ایران ۲: ۱٦۷-۱۵۹.

سماوات، س. و ملکوتی، م. ج. (۱۳۸٤) ضرورت استفاده از اسیدهای آلی (اسید هیومیک وفلویک) درافزایش کمی وکیفی محصولات کشاورزی. نشریه فنی ٤٦۳.

قربانلی، م.، ادیب‌هاشمی، ن. و پیوندی، م. (۱۳۸۹) بررسی اثر تنش شوری و آسکوربیک اسید بر روی برخی پاسخ‌های فیزیولوژیکی گیاه سیاه‌دانه (*Nigella sativa* L.). فصلنامه علمی- پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی ایران ۳: ۳۸۸-۳۷۰.

همایی، م.(۱۳۸۱). واکنش گیاهان به شوری. انتشارات کمیته ملی آبیاری وزهکشی ایران. تهران، صفحه۹۷.

Abd El-Baky, H. and El-Baroty, G.(2008)Chemical and biological evaluation of the essential oil of egyptien moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.). International Journal of Integrative Biology 3:202-208.

Arancon, N. Q., Lee, S., Edwards, C. A. and Atiyeh, R. (2003) Effects of humic acids derived from cattle, food and paper-waste vermicomposts on growth of greenhouse plants. Pedobiologia 47:741-744.

Beltagi, M. S. (2008) Exogenous ascorbic acid (Vitamin C) induced anabolic changes for salt tolerance in chick pea (*Cicer arietinum* L.) plants. African Journal of Plant Science 2(10): 118-123.

Boldaji, S. H., Khavari-Nejad, R. A., Sajedi, R. H., Fahimi, H. and Saadatmand, S. (2012) Water availability effects on antioxidant enzyme activities, lipid peroxidation, and reducing sugar contents of alfalfa (*Medicago sativa* L.). Acta Physiologiae Plantarum 34: 1177-1186.

Borsani, O., Valpuesta, V. and Botella, M. A. (2003) Developing salt tolerant plants in a new century: a molecular biology approach. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 73: 101-115.

Bradford, M.N. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 72:248-254.

Dasmalchi, K., Dorman, H. G., Laakso, I. and Hiltunen, R. (2007) Chemical composition and antioxidative activity of Moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.) extracts. Food Science and Technology 40:1655-1663.

David, P. P., Nelson, P. V. and Sanders, D. C. (1994) A humic acid improves growth of tomato seedling in solution culture. Journal of Plant Nutrition 17:173-184.

Demiral, M. A., Aydin, M. and Yorulmaz, A. (2005) Effect of salinity on growth chemical composition and antioxidative enzyme activity of two Malting Barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars. Turkish Journal of Botany 29: 117-123.

Dhindsa, R.S., Plumb-Dhinds D. and Thorpe, T.A. (1981) Leaf senescence correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. Journal of Experimental Botany 32:93-101.

Dixit, V., Pandey, V. and Shyam, R. (2001) Differential antioxidative responses to cadmium in roots and leaves of pea (*Pisum sativum*). Journal of Experimental Botany 52: 1101-1109.

Dordas, C. and Sioulas, S. (2008) Safflower yield, chlorophyll content, photosynthesis and water efficiency response to nitrogen fertilization under rainfed conditions. Industrial Crops and Products 27: 78-85.

Drazkiewicz, M. (1994) Chlorophyll-occurrence, functions, mechanism of action, effects of internal and external factors. Photosynthetica 30: 321-331.

Erdal, S., Aydın, M., Genisel, M., Taspınar, M.S., Dumlupinar, R., Kaya, O. and Gorcek, Z. (2011) Effects of salicylic acid on wheat salt sensitivity. African Journal of Biotechnology 10: 5713-5718.

Ertani, A., Pizzeghello, D., Baglieri, A., Cadili, V., Tambone, F., Gennari, M. and Nardi, S. (2013) Humic-like substances from agro-industrial residues affect growth and nitrogen assimilation in maize (*Zea mays* L.) plantlet. Journal of Geochemical Exploration 129:103-111.

Farouk, S. (2011) Ascorbic acid and α-tocopherol minimize salt-induced wheat leaf senescence. Journal of Stress Physiology and Biochemistry 7: 58-79.

Gapinska, M., Sklodowska, M. and Gabara, B. (2008) Effect of short- and long-term salinity on the activities of antioxidative enzymes and lipid peroxidation in tomato roots. Acta Physiologiae Plantarum 30:11-18.

Greenwey, H. and Munns, R. (1980) Mechanism of salt tolerance in non-halophytes. Annual Review of Plant Physiology 31:149-90.

Inze, D. and Montagu, M.V. (1995) Oxidative stress in plants. Current Opinion in Biotechnology 6: 153-158.

Karakurt, Y., Unlu, H. and Padem, H. (2009) The influence of foliar and soil fertilization of humic acid on yield and quality of pepper. Acta Agriculturae Scandinavica Section B–Soil and Plant Science 59: 233-237.

Kim, D. Y., Bovet, L., Maeshima, M., Martinoia, E. and Lee, Y. (2007) The ABC transporter AtPDR8 is a cadmium extrusion pump conferring heavy metal resistance. The Plant Journal 50: 207-218.

Loggini, B., Scartazza, A., Brugonli, E. and Navari-Izzo, F. (1999) Antioxidative defense system, pigment composition and photosynthetic efficiency in two wheat cultivars subjected to drought. Plant Physiology 119: 1091-1099.

Lutts, S., Kinet J. M. and Bouharmont, J. (1996) NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. Journal of Annals of Botany 78: 389-398.

Mora, V., Bacaicoa, E., Zamarreño, A. M., Aguirre, E., Garnica, M., Fuentes, M. and García-Mina, J. M. (2010) Action of humic acid on promotion of cucumber shoot growth involves nitrate-related changes associated with the root-to-shoot distribution of cytokinins, polyamines and mineral nutrients. Journal of Plant Physiology 167: 633-642.

Nakano, Y. and Asada. K. (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplast. Plant and Cell Physiology 22:867-880.

Nardi, S., Carletti, P., Pizzeghello, D. and Muscolo, A. (2009) Biological activities of humic substances. In: Biophysico-Chemical Processes Involving Natural Nonliving Organic Matter In Environmental Systems (eds. Senesi, N., Xing, B. and Huang, P.M.) Pp 102–119. Wiley, Hoboken.

Nardi, S., Pizzeghello, D., Muscolo, A. and Vianello, A. (2002) Physiological effects of humic substances on higher plants. Soil Biology and Biochemistry 34: 1527– 36.

Nemat Alla, M. M., Younis, M. E., El-Shihaby, O. A. and El- Bastawisy, Z. M. (2002). Kinetin regulation of growth and secondary metabolism in waterlogging and salinity treated Vigna sinensis and Zea mays. Acta Physiologia Plantarum 24: 19-27.

Netondo, G. W., Onyango, J. C. and Beck, E. (2004) Sorghum and salinity: I. Response of growth, water relations, and ion accumulation to NaCl salinity. Crop Science 44: 797-805.

Padem, H., Ocal, A. and Alan, R. (1997) Effect of humic acid added to foliar fertilizer on quality and nutrient content of eggplant and seedlings. International Symposium Greenhouse Management for Better Yield and Quality in Mild Winter Climates 491: 241-246).

Parida, A. K. and Das, A. B. (2005) Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. Ecotoxicology and Environmental Safety 60: 324-349.

Peltzer, D. E. and Dreyer, A. (2002) Differential temperature dependencies of oxidative enzymes in two contrasting species. Plant Physiological and Biochemistry 40: 141-150.

Petrov, V. D. and Van Breusegem, F. (2012) Hydrogen peroxide—a central hub for information flow in plant cells. AoB plants 2012:pls014. doi:10.1093/aobpla/pls014.

Plewa, M.J., Smith, S.R. and Wanger, E.D. (1991) Diethyldithiocarbamate suppresses the plant activation of aromatic amines into mutagens by inhibiting tobacco cell peroxidase. Mutation Research 247:57-64.

Rubio, V., Bustos, R., Irigoyen, M. L., Cardona-Lopez, X., Rojas-Triana, M. and Paz-Ares, J. (2009) Plant hormones and nutrient signaling. Plant Molecular Biology 69: 361–73.

Sabzevari S. and Khazaei H. R. (2009) Effect of foliar application of humic acid on growth and yiel properties of *Triticum aestivum* L. Cv. Pishtaz. Agroecology Journal 1: 53-63.

Saeid Nejad, A. H. and Rezvani, M. P. (2011) Evaluation of compost, vermicompost and cattle manure application on yield, yield components and essential oil percent in cumin (*Cuminum cyminum*). Journal Horticulture Science 24: 142-148.

Sairam, R. and Tyagi, A. (2004) Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. Current Science-Bangalore 86: 407-421.

Sangeetha, M., Singaram, P. and Devi, R. D. (2006) Effect of lignite humic acid and fertilizers on the yield of onion and nutrient availability. In Proceedings of 18th World Congress of Soil Science Pennsylvania, Philadelphia.

Sladký, Z. and Tichý, V. (1959) Application of humus substances to overground organs of plants. Biologia Plantarum 1: 9-15.

Smirnoff, N. (2000) Ascorbate biosynthesis and function in photoprotection. Philosphical Transcations of the Rayal Society of London, Series B, Biological Sciences 355: 1455-1464.

Smirnoff, N. (2005) Ascorbate, tocopherol and carotenoids: metabolism, pathway engineering and functions. In: Antioxidants and Reactive Oxygen Species in Plants (ed. Smirnoff, N.) Pp: 53-86. Blackwell Poblishing, Oxford, UK.

Sultana, N., Ikeda, T. and Itoh. R. (1999) Effect of NaCl salinity on photosynthesis and dry matter accumulation in developing rice grains. Environmental and Experimental Botany 42: 211-220.

Taqi, A. K., Mazid, M. and Firoz, M. (2011) A review of ascorbic acid potentialities against oxidative stress induced in plants. Journal of Agrobiology 28: 97-111.

Tejada, M. and Gonzalez, J. L. (2003) Influence of foliar fertilization with amino acids and humic acids on productivity and quality of asparagus. Biological Agriculture and Horticulture 21: 277-291.

Türkmen, Ö., Dursun, A., Turan, M. and Erdinç, Ç. (2004) Calcium and humic acid affect seed germination, growth, and nutrient content of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) seedlings under saline soil conditions. Acta Agriculturae Scandinavica, Section B-Soil and Plant Science 54:168-174.

Effect of humic acid and ascorbate on growth and biochemical traits of Moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.) under salinity stress

Rasoul Narimani[1], Mohammad Moghaddam[1*], Abdollah Ghasemi Pirbalouti[2], Seyyed Hossein Nemati[1]

[1] Dep. of Horticultural Science, Ferdowsi University of Mashhad. [2] Dep. of Medicinal Plants, Shahrekord Branch, Islamic Azad University.

(Received: 17/11/ 2016, Accepted: 04/01/2017)

Abstract

Salinity is one of the most important non- biological stresses which limits the production of agricultural yields in dry and semi arid regions. Humic acid, as an organic acid and ascorbate, as a powerful antioxidant can improve yield of plants under salt stress. In order to investigate effects of salinity and its interaction with ascorbate and humic acid on growth, photosynthetic pigments content, antioxidant enzymes activity and soluble protein in Moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.), a factorial experiment was conducted based on randomized complete design with three replications. Treatments included four levels of salinity (0, 50, 100 and 150 mM) and, three levels of ascorbate and humic acid (0, 100 and 200 mgL^{-1}). Vegetative traits such as plant height and fresh and dry weight of stems and leaves with increasing salinity concentration showed a significant decrease compared to the control. Humic acid application, especially 200 $mg.L^{-1}$ improved traits companed to the control plants in high levels of salinity stress. Photosynthetic pigments were strongly decreased by salinity and application of 200 mgL^{-1} humic acid and ascorbic acid (partly) could compensate effects of salinity. The highest activity of antioxidant enzymes was observed in 50 mM salinity stress. Application of humic acid (especially 200 mgL^{-1}) for catalase and ascorbate peroxidase and 200 mgL^{-1} ascorbic acid for guaiacol peroxidase increased enzymes activity compared to the control treatment.

Key words: Ascorbic acid, Antioxidant enzymes, Humic acid, *Dracocephalum moldavica* L., Salinity

*Corresponding author: m.moghadam@um.ac.ir