

بهبود برخی شاخص‌های ریختی، بیوشیمیایی و فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز تحت تأثیر کاریکین، اسید سالیسیلیک و اسید هیومیک در گل لیزیانتوس (*Eustoma grandiflorum* cv. "Mariachi")

آذین هراتیان^۱، فروغ مرتضایی نژاد^{۲*}، سپیده کلاته جاری^۱ و فواد فاتحی^۳

^۱ گروه علوم باغبانی و زراعی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

^۲ گروه علوم باغبانی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

^۳ گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۰/۲۵، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۱/۰۳/۱۷)

چکیده

در سال‌های اخیر، در دنیا و ایران استقبال و توجه به گل لیزیانتوس به نحوی بوده که تولید آن نیز افزایش چشمگیری یافته است. با افزایش تولید گل شاخه بریدنی لیزیانتوس، توجه به تغذیه و کاربرد تیمارهایی جهت بهبود رشد و ماندگاری گل آن نیز بیش از پیش احساس می‌شود. به همین منظور اثر کاریکین، اسید سالیسیلیک و اسید هیومیک بر خصوصیات ریختی و بیوشیمیایی گیاه لیزیانتوس، طی آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار بررسی شد. تیمارهای مورد بررسی شامل کاربرد کاریکین (صفر، ۱ و ۲ میلی گرم بر لیتر) به صورت آبیاری، اسید سالیسیلیک (صفر، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر) و اسید هیومیک (صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر) به صورت محلول پاشی بودند. نتایج نشان داد که کاربرد اسید سالیسیلیک با غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر بیشترین اثر را بر شاخص‌های ریختی و بیوشیمیایی مورد ارزیابی داشت، با این حال در برخی صفات نظیر وزن خشک اندام هوایی و سطح برگ، غلظت ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر مؤثرتر واقع شد. کاربرد اسید هیومیک نیز با افزایش گسترش ریشه، موجب افزایش وزن تر و خشک برگ و ریشه شد. تیمار کاریکین با غلظت ۱ میلی گرم بر لیتر موجب افزایش تعداد برگ، طول و قطر ساقه و تعداد ساقه گل‌دهنده، وزن تر و خشک ریشه، تعداد کپسول بذری و تعداد غنچه در شاخه شد. کاریکین در ترکیب با اسید هیومیک و به خصوص اسید سالیسیلیک با اثر هم‌افزایی سبب بهبود شاخص‌هایی نظیر تعداد ریشه، تعداد برگ و ساقه گل‌دهنده و فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز (PAL) گردید. کاربرد توأم اسید سالیسیلیک ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر به همراه اسید هیومیک ۵۰ میلی گرم بر لیتر به صورت محلول پاشی و کاربرد کاریکین ۱ میلی گرم بر لیتر به صورت محلول‌دهی پای بوته جهت بهبود شاخص‌های رشد و نمو و بهبود کیفیت گل‌های لیزیانتوس توصیه می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم آنتی‌اکسیدانی، دودآب، شاخص بیوشیمیایی، گل شاخه بریدنی، وزن تر و خشک

مقدمه

تولید و پرورش گل‌های شاخه بریدنی در صنعت گلکاری و عرضه آنها در بازارهای داخلی و خارجی در حال توسعه است.

تولید اتیلن و کنترل پیری در محصولات مختلف شده است (اعلامی و همکاران، ۱۳۹۰).

اسید هیومیک نیز به عنوان یک ترکیب طبیعی آلی شناخته شده که حاوی ۵۰ تا ۹۰ درصد مواد ارگانیک است (Clapp et al., 1993). مهم ترین آثار بیولوژیک اسید هیومیک بر موجودات زنده تحریک جوانه زنی بذر و رشد، تحریک تجمع بیوماس در گیاهان، تحریک تجمع نیتروژن و تحریک جذب عناصر غذایی معدنی است (شاهسون مارکده و چمنی، ۱۳۹۳). از دیگر ترکیباتی که اخیراً در گیاهان به خصوص در بحث رفع موانع جوانه زنی بذور مورد بررسی قرار گرفته، استفاده از دود و کاریکین است. سازوکار فیزیولوژیکی دود ناشناخته است. ترکیبی در دود پیدا شده که به عنوان محرک قوی جوانه زنی با نام کاریکین (one2-c[pyran-2, 3H-furo] 2methyl-3) شناخته می شود. این ترکیب می تواند در بذور نیازمند نور برای جوانه زنی، جایگزین نور شود. مواد شیمیایی موجود در دود علاوه بر شکستن خواب بذر، فواید دیگری نیز در کشاورزی و تولید محصولات دارد (حسین زاده و امامیان، ۱۳۹۴). کاریکین ها به آتش سوزی های مستعد محیط زیستی محدود نمی شوند و باعث افزایش زایایی و تحمل استرس دانه ها در چندین گونه زراعی شده اند (Morffy et al., 2016).

محققین به بررسی اثر اسید سالیسیلیک روی رشد، گلدهی و تولید فلاونوئید در گیاه همیشه بهار پرداختند. نتایج نشان داد استفاده از اسید سالیسیلیک افزایش خطی محتویات زیست توده، تعداد گل آذین و محتویات فلاونوئید را سبب شد (Pacheco et al., 2013). همچنین چمنی و همکاران (۱۳۹۴) تأثیر اسید سالیسیلیک و اسید هیومیک را بر گیاه زیتنی- دارویی پراونش (*Catharanthus roseus* L.) بررسی کردند و نتایج ایشان نشان داد تیمار ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر اسید سالیسیلیک و اسید هیومیک بیشترین ارتفاع را داشت. تیمار ۵۰۰ میلی گرم بر لیتر اسید سالیسیلیک و تیمار ۱۰ میلی گرم بر لیتر اسید هیومیک بیشترین تعداد برگ را داشت. تیمار ۱۰ میلی گرم بر لیتر اسید سالیسیلیک و ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر

ارزش بالای این گل ها منجر به افزایش تولید این محصولات در کشورهای در حال توسعه از جمله ایران شده است. شرایط آب و هوایی و اقلیم متنوع کشور ایران، امکان تولید گل ها و گیاهان زینتی را که از قابلیت ارزآوری بالایی برخوردار هستند فراهم کرده و می تواند به عنوان یک منبع بالقوه اقتصادی مورد توجه قرار گیرد (قاسمی قهساره و کافی، ۱۳۹۱).

گل لیزیانتوس با نام علمی (*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn، بومی آمریکا بوده و در بخش شمالی مکزیک، تگزاس، اوکلاهاما، کانزاس، نبراسکا، کلرادو، ویومینگ و جنوب داکوتا دیده شده است. لیزیانتوس به صورت گل شاخه بریدنی، گیاه گلدانی و گیاه بستری استفاده می شود، اما عمدتاً به صورت گل بریدنی کاربرد دارد (Dole and Wilkins, 2004). گل های آن با رنگ های سفید، آبی، یاسی و بنفش به صورت منفرد یا چندتایی در روی ساقه های برگ دار تشکیل می شوند (قاسمی قهساره و کافی، ۱۳۹۱). این گل در سال های اخیر در دنیا و ایران مورد استقبال و توجه قرار گرفته که تولید آن نیز بیش از پیش افزایش یافته است. با افزایش تولید گل شاخه بریدنی لیزیانتوس، توجه به تغذیه و کاربرد تیمارهایی جهت بهبود رشد و ماندگاری گل آن بیش از پیش احساس می شود.

اعمال مدیریت صحیح و انجام برخی از تیمارها در مراحل قبل از برداشت نقش بسیار مهمی در بهبود رشد و نمو و افزایش ماندگاری گل های شاخه بریدنی دارد. برخی از این تیمارها دارای اثرات منفی زیست محیطی بوده و برخی از انواع دیگر آنها توجیه اقتصادی ندارند. به همین دلیل، استفاده از ترکیبات سازگار با گیاه و محیط زیست به منظور افزایش رشد و سلامت گیاه و نیز توسعه عمر گلجایی قابل توصیه است. استفاده از اسید سالیسیلیک و اسید هیومیک به عنوان دو ترکیب طبیعی به منظور افزایش ماندگاری پس از برداشت محصولات باغبانی، بیشتر در میوه ها استفاده شده و گزارش های اندکی در مورد استفاده از آنها در گیاهان زینتی وجود دارد. اسید سالیسیلیک به عنوان یک تنظیم کننده رشد گیاهی به طور وسیعی در مراحل قبل و پس از برداشت به کار می رود (Supapvanich and Promyou, 2013). این ماده باعث کاهش تنفس، بازدارندگی از

هیومیک اسید بیشترین میزان کلروفیل و بیشترین هدایت روزنه‌ای را داشت.

در طی پژوهشی اثرات کاربرد خاکی و محلول‌پاشی هیومیک اسید بر گل رز مینیاتور رقم هفت رنگ بررسی شد و نتایج آزمایش بیانگر تأثیر معنی‌دار هیومیک اسید بر صفات رویشی (مانند وزن تر و خشک برگ و قطر ساقه)، زایشی (مانند تعداد و قطر غنچه، قطر گل) و جذب عناصر غذایی گل رز مینیاتور رقم هفت رنگ بود (طالبی و همکاران، ۱۳۹۵). امیری و همکاران (۱۳۹۲) نیز تأثیر اسید هیومیک بر اجزا عملکرد و دوام عمر گل شاخه بریدنی ژربرا بررسی کردند که نتایج نشان داد میانگین وزن تر ریشه، میزان نیتروژن و فسفر برگ، تعداد گل و ماندگاری گل روی بوته در سطوح مختلف اسید هیومیک، در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار است. اسید هیومیک، بیشترین تغییرات را بر اجزا عملکرد و ماندگاری گل شاخه بریدنی ژربرا در دو رقم Dune و Double Dutch داشته است. پژوهش‌گران با بررسی اثر اسید هیومیک بر گل جعفری (*Tagetes sp.*) گزارش کردند تأثیر اسید هیومیک روی پارامترهای ارتفاع، عملکرد گل تازه در هر گیاه، تعداد دانه، وزن دانه، مقدار کاروتنوئید، فنل کل و درصد موسیلاژ چشمگیر بوده و غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بیشترین تأثیر را داشته است (Abedini et al., 2015).

در طول دهه اخیر گزارش‌هایی در مورد اثر مثبت دود حاصل از سوختن گیاه بر روی جوانه‌زنی بذور و بنیه گیاهچه در بسیاری از گونه‌های گیاهی از جمله چندین گیاه زراعی ارائه شده است. در طی پژوهشی نتایج کاربرد عصاره آبی دود روی صفات جوانه‌زنی، رشد و عملکرد پیاز خوراکی (*Allium cepa L.*) نشان داد غلظت‌های مختلف عصاره آبی دود گیاهی به‌طور معنی‌داری بیشتر صفات مورد مطالعه در این آزمایش را بهبود بخشیدند. بعد از ۱۲۰ روز از کشت بذورهای پیاز در شرایط گلخانه‌ای، وزن تر و خشک ریشه و ساقه در گیاهان پیاز به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر غلظت‌های ۱ در ۵۰۰ و یک درصد عصاره آبی دود افزایش یافت. تمام غلظت‌های عصاره آبی دود به‌طور معنی‌داری تعداد برگ را در گیاهان پیاز نسبت

به شاهد افزایش دادند. به‌علاوه، گیاهان پیاز تیمار شده با عصاره‌های آبی دود، پیازهایی بزرگ تر با وزن تر و خشک بیشتر نسبت به شاهد تولید کردند (عبداللهی و همکاران، ۱۳۹۲). در تحقیقی تأثیر عصاره دودی گیاهان بر گیاه دارویی توت روباهی (*Sanguisorba officinalis*) ارزیابی شد و نتایج نشان داد که اثر عصاره دودی به غیر از میزان کلروفیل، بر تمامی شاخص‌های مورد مطالعه، معنی‌دار بود. در حالت کلی، غلظت‌های ۰/۳ و ۰/۳ عصاره دودی، بیشتر شاخص‌های رشدی گیاه توت روباهی را به‌طور معنی‌داری، افزایش دادند (مهرشاد و همکاران، ۱۳۸۹).

مطالعه‌ای با فرضیه بهبود ویژگی‌های ریختی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در گیاه گندم (*Triticum aestivum L.*) تحت تأثیر دود حاصل از سوختن گیاه انجام شد. نتایج نشان داد در مقایسه با شاهد، تیمار دود آئروسول بذرها باعث بهبود طول ریشه، طول شاخه، وزن تر ریشه، وزن تر شاخه، وزن خشک شاخه و سطح برگ شد. تمام تیمارهای مربوط به دود باعث افزایش قابل توجه محتوای آب نسبی برگ، پتانسیل آب، پتانسیل اسمزی و شاخص نفوذپذیری غشا شدند درحالی‌که افزایش محسوس کلروفیل a، کلروفیل b و مقدار کلروفیل کل در پاسخ به تیمارهای دود آئروسول ثبت شد. قرارگرفتن در معرض دود گیاه برای مدت کوتاه (یک تا دو ساعت) نتایج خوبی در مقایسه با قرارگرفتن طولانی‌مدت در معرض دود (سه و چهار ساعت) ایجاد کرد (Iqbal et al., 2018).

از آنجایی که بیش از ۸۰ درصد از زمین‌های کشاورزی در ایران را خاک‌های مناطق خشک و نیمه‌خشک تشکیل می‌دهد که از نظر مواد آلی فقیر هستند، مقدار ماده آلی این خاک‌ها کمتر از یک درصد است. هم‌چنین کشورهای درحال توسعه که دارای منابع بسیار محدود هستند و به تکنولوژی گران دسترسی ندارند، از تکنولوژی کم هزینه و سودمند تأثیرات اسید سالیسیلیک، اسید هیومیک و کاریکین موجود در دود می‌توانند استفاده کنند. در این پژوهش، سعی شده با بررسی اثر ترکیبات ذکرشده، بهبود رشد و گلدهی و نیز افزایش شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه لیزیانوس مورد ارزیابی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار و هر تکرار شامل پنج گیاه در گلخانه دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان از اسفندماه سال ۱۳۹۶ تا خرداد سال ۱۳۹۸ انجام شد. شرایط گلخانه در دمای ۲۵-۲۰ درجه سانتی‌گراد در طی ۱۰ ساعت روشنایی روز و ۱۸-۱۶ درجه سانتی‌گراد در شب و رطوبت ۷۰-۶۰ درصد تنظیم شد.

بذر لیزیانتوس (*Eustoma grandiflorum* cv. "Mariachi") رقم Mariachi از شرکت بذر شکوفه خریداری شده و در سینی نشا با بستری حاوی کوکوپیت، پیت‌ماس و پرلیت (۵۰:۴۰:۱۰) کشت و در دمای بیشتر از ۱۶ تا ۱۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد که این مرحله تا اردیبهشت سال ۹۷ به طول انجامید. در زمانی که گیاهان ریشه پر کرده و به مرحله ۴ تا ۶ برگی رسیدند، گیاهان به بستر حاوی خاک معمولی و کود دامی پوسیده منتقل شدند. زمانی که گیاهچه‌ها ۲۰ درصد سیکل رشدی خود را طی کردند (۴ تا ۶ هفته پس از کاشت) محلول‌های از پیش تهیه‌شده اسید سالیسیلیک شرکت Honeywell Specialty Chemicals Seelze GmbH و اسید هیومیک هیومیلوکس شرکت Aspire کشور کانادا با نسبت‌های از پیش تهیه‌شده به صورت محلول‌پاشی (سه مرتبه با فواصل ۱۵ روزه) و کاریکین به صورت محلول‌دهی پای بوته مورد استفاده قرار گرفتند. ترکیب کاریکین از شرکت دانش بنیان گل‌انگیز سبز مستقر در واحد فناور دانشگاه آزاد خوراسگان خریداری شده و با نسبت‌های مشخص (صفر، ۱ و ۲ میلی‌گرم بر لیتر) به صورت محلول‌دهی پای هر بوته به میزان ۲۰۰ میلی‌لیتر داده شد.

پس از اینکه ارتفاع گیاهان به حداکثر رسید و گل‌ها نمایان شدند، شاخص‌های ریختی شامل تعداد برگ، سطح برگ (با استفاده از دستگاه Leaf area meter مدل AM200)، تعداد ساقه گلدهنده، طول ساقه، تعداد ریشه، تعداد گل، وزن تر ریشه و اندام هوایی، وزن خشک ریشه و اندام هوایی، وزن تر و خشک گل و صفات بیوشیمیایی شامل کلروفیل a، b و کل، محتوای فلاونوئیدها و میزان آنتوسیانین گلبرگ و آنزیم فنیل

آلانین آمونیلایز بدست آمده از هر تکرار در هر تیمار اندازه‌گیری شدند.

وزن تر اندام هوایی و ریشه (He et al, 2006): ابتدا نمونه‌ها از ریشه و اندام‌های هوایی گیاهان تهیه شد و پس از شستشو با آب توسط ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم، طبق روش استاندارد اندازه‌گیری و برحسب گرم بیان شد.

وزن خشک اندام هوایی و ریشه (Celickel, 2002): در این آزمایش وزن خشک اندام هوایی و ریشه پس از ۷۲ ساعت قرارگیری در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد، توسط ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ توزین گردید.

سنجش کلروفیل برگ: میزان کلروفیل برگ‌ها به روش آرنون (۱۹۴۹) و با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول‌موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر محاسبه گردید. بدین جهت ۰/۵ گرم از بافت تازه برگ در هاون چینی ساییده شده و به آن ۵ میلی‌لیتر محلول استون ۸۰٪ اضافه گردید. عصاره به دست آمده از نمونه‌ها داخل فالكون‌ها ریخته و به مدت ۱۲ ساعت در رک‌های آزمایشگاه قرار گرفت. بعد از سپری شدن این مدت زمان، نمونه‌ها برای همگن‌سازی بهتر به مدت ۵ دقیقه در سانتریفیوژ قرار گرفت. سپس یک سی‌سی از عصاره همگن شده نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول‌موج‌های ۶۶۳ برای کلروفیل a و ۶۴۵ برای کلروفیل b، خوانده شد. در صورت خواندن اعداد بالاتر از ۱، به تمام نمونه‌ها به میزان یکسان استون اضافه کرده تا از غلظت آن‌ها کاسته شود و در نهایت به منظور تعیین مقدار کلروفیل از فرمول‌های زیر استفاده شد:

رابطه (۱):

$$\text{Chla (mg/g)} = (12.7 A_{663} - 2.69 A_{645}) \times \{V / (1000 \times W)\}$$

رابطه (۲):

$$\text{Chlb (mg/g)} = (22.9 A_{645} - 4.68 A_{663}) \times \{V / (1000 \times W)\}$$

رابطه (۳):

$$\text{Chla+b (mg/g)} = (20.2 A_{645} + 8.02 A_{663}) \times \{V / (1000 \times W)\}$$

در این رابطه، A = عدد خوانده شده، V = حجم نهایی محلول و W = وزن بافت است. واحد اندازه‌گیری کلروفیل میلی‌گرم در هر گرم بافت می‌باشد.

میکرولیتر آب دیونیزه است. پس از گذشت دو دقیقه از تشکیل کمپلکس فوق، معرف بردفورد حداکثر ترکیب را با اسیدهای آمینه آروماتیک نظیر آرژنین از خود نشان می‌دهد. حداکثر زمان پایداری ترکیب حاصل، تا یک ساعت پس از تشکیل بوده و سپس شروع به تجزیه و جداسازی می‌نماید. لذا در این فاصله زمانی نمونه‌ها حداکثر جذب را داشته و جذب آن‌ها در طول-موج ۵۳۵ نانومتر یادداشت شد. میزان پروتئین نمونه‌ها، از روی منحنی استاندارد حاصل از آلبومین سرم گاوی بدست آمد.

برای

به‌دست آوردن میزان فعالیت ویژه آنزیم‌ها، پس از محاسبه تعداد واحدهای آنزیمی، هر یک از آنزیم‌های مورد مطالعه بر میزان پروتئین حاصل تقسیم شد. برای سنجش آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز از عصاره‌هایی که توسط بافر فسفات (با فر فسفات ۵۰ میلی‌مولار حاوی EDTA ۱ میلی‌مولار در محدوده pH=6.8-7.2) استخراج شدند، استفاده شده و سنجش این آنزیم طبق روش Saunders و همکاران (۱۹۷۴) انجام گردید.

در این تحقیق، تجزیه واریانس داده‌ها توسط نرم‌افزار SAS 9.1 و مقایسه میانگین توسط نرم‌افزار MSTAT-C به روش آزمون دانکن در سطح احتمال یک و پنج درصد انجام شد. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel 2016 استفاده گردید.

نتایج

تعداد ریشه: کاربرد کاریکین، اسید سالیسیلیک و اسید هیومیک به‌تنهایی و اثر متقابل آنها در سطح احتمال یک درصد بر تعداد ریشه گیاه لیزیانتوس تأثیر معنی‌دار داشت. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد کاربرد کاریکین یک میلی‌گرم بر لیتر به‌همراه اسید سالیسیلیک ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و اسید هیومیک ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر موجب تولید بیشترین تعداد ریشه با میانگین ۱۳/۳۶ در گل لیزیانتوس شد. کاربرد اسید سالیسیلیک با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به‌تنهایی و در ترکیب با کاریکین یک میلی‌گرم بر لیتر به‌ترتیب با مقادیر ۱۱/۸۶ و ۱۱/۱۹، کاربرد کاریکین دو میلی‌گرم بر لیتر+ اسید سالیسیلیک

سنجش فلاونوئیدهای کل: مقدار ترکیبات فلاونوئیدی با

استفاده از روش نورسنجی کلرید آلومینیوم تعیین شد. به ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره گیاهی، ۱/۵ میلی‌لیتر متانول، ۰/۱ میلی‌لیتر محلول یک درصد کلرید آلومینیوم، ۰/۱ میلی‌لیتر محلول استات پتاسیم ۱ مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد و پس از ۳۰ دقیقه نگهداری در دمای محیط، جذب نمونه‌ها در طول‌موج ۴۱۵ نانومتر خوانده گردید. منحنی کالیبراسیون محلول‌های کوئرستین در دامنه صفر تا ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در متانول تهیه شد و نتایج به‌صورت میلی‌گرم هم ارز کوئرستین بر گرم وزن خشک گزارش گردید (Chang et al., 2002) (رابطه ۴).

رابطه (۴):

$$\text{Total Flavenoids} = 0.06632 \text{ quercetin } (\mu\text{g}) - 0.01448, \\ R2: 0.9931$$

سنجش آنتوسیانین‌ها: محتوای آنتوسیانین کل از روش

Wagner (۱۹۳۹) اندازه‌گیری شد. در این روش ۰/۰۵ گرم از بافت تازه برگ گیاه در ۱۰ میلی‌لیتر متانول اسیدی (متانول: هیدروکلریک اسید، ۱:۹۹؛ حجمی - حجمی) درون هاون چینی ساییده شد. مخلوط حاصل درون فالدکون ریخته و به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق در محیط تاریک قرار داده شد؛ سپس عصاره حاصل با سرعت ۱۰۰۰۰ دور بر دقیقه به‌مدت ۱۳ دقیقه سانتریفیوژ و جذب محلول رویی در طول‌موج ۵۵۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر خوانده شد. آنتوسیانین کل با ضریب خاموشی (ε) معادل ۳۳۰۰۰ بر میلی‌مولار بر سانتی‌متر با رابطه ۵ محاسبه شد.

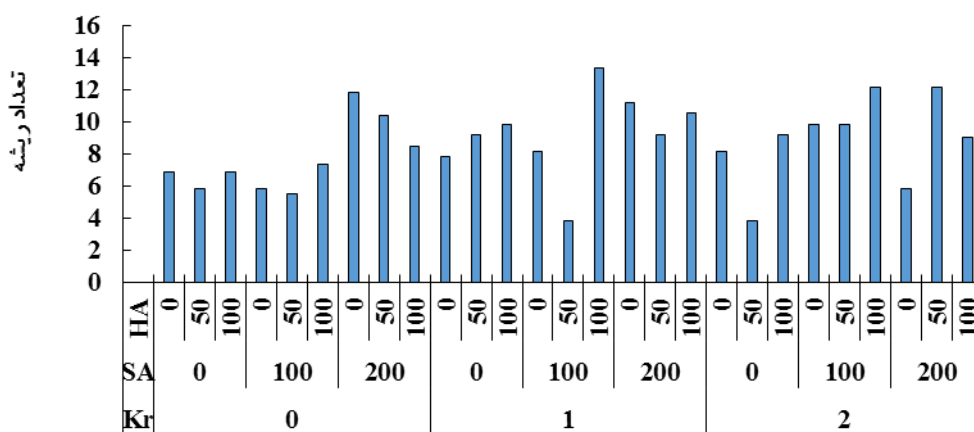
رابطه (۵):

$$A = \epsilon bc$$

A، b و c به‌ترتیب نشان‌دهنده جذب نوری محلول، عرض کووت (سانتی‌متر) و غلظت محلول مدنظر (میلی‌گرم بر گرم) هستند.

اندازه‌گیری پروتئین محلول و فعالیت آنزیم فنیل آلانین

آمونیا لیاز: میزان پروتئین موجود در نمونه‌های آنزیمی استخراج شده به روش Bradford (۱۹۷۶) اندازه‌گیری گردید. کمپلکس واکنش شامل ۱۰۰ میکرولیتر محلول آنزیمی استخراج‌شده، ۲۰۰ میکرولیتر معرف برادفورد و ۷۰۰



تیمارها (میلی گرم بر لیتر)

شکل ۱- اثر متقابل کاربکین (Kr)، اسید سالیسیلیک (SA) و اسید هیومیک (HA) بر تعداد ریشه لیزیانوس. میانگین‌های با حروف یکسان براساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد تفاوت معنی داری ندارند.

نسبت به شاهد بر طول و قطر ساقه گیاه لیزیانوس نداشت (شکل ۲).

وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی: با توجه به جدول تجزیه واریانس، کاربرد اسید هیومیک بر وزن تر و خشک ریشه و وزن تر اندام هوایی مؤثر بوده و کاربرد اسید سالیسیلیک تأثیری بر وزن خشک ریشه گیاه لیزیانوس نداشت، اما سایر تیمارها و اثر متقابل آنها بر شاخص‌های فوق، اثر معنی داری داشتند (جدول ۱). کمترین وزن تر ریشه تحت تأثیر کاربرد کاربکین یک میلی گرم بر لیتر با میانگین ۴/۱۵ گرم به دست آمد که با تیمار اسید هیومیک ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر با میانگین ۴/۴۶ گرم و کاربرد کاربکین یک میلی گرم بر لیتر+ اسید هیومیک ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر با میانگین ۶/۷۸ گرم تفاوت معنی داری ندارد. کاربرد کاربکین یک میلی گرم بر لیتر به همراه اسید سالیسیلیک ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر و اسید هیومیک ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر موجب افزایش ۳۳/۳ درصدی نسبت به شاهد و افزایش بیش از هفت برابری وزن تر ریشه نسبت به کاربرد کاربکین یک میلی گرم بر لیتر شد (شکل ۳).

با توجه به شکل ۴، کاربرد کاربکین یک میلی گرم بر لیتر+ اسید سالیسیلیک ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر+ اسید هیومیک ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر موجب بالاترین میزان وزن خشک ریشه گل

۱۰۰ میلی گرم بر لیتر+ اسید هیومیک ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر و همچنین کاربکین دو میلی گرم بر لیتر+ اسید سالیسیلیک ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر+ اسید هیومیک ۵۰ میلی گرم بر لیتر به طور مشترک با تعداد ۱۲/۱۹ ریشه تفاوت معنی داری ندارند (شکل ۱). کمترین تعداد ریشه به طور مشترک در تیمارهای کاربکین یک میلی گرم بر لیتر+ اسید سالیسیلیک ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر+ اسید هیومیک ۵۰ میلی گرم بر لیتر و نیز کاربکین دو میلی گرم بر لیتر+ اسید هیومیک ۵۰ میلی گرم بر لیتر با تعداد ۳/۸۶ ریشه در بوته مشاهده شد (شکل ۱).

تعداد برگ و ساقه گل دهنده، طول و قطر ساقه: براساس

جدول ۱، تنها کاربرد کاربکین منجر به تأثیر معنی دار بر شاخص‌های تعداد برگ، تعداد ساقه گل دهنده، طول و قطر ساقه شد. کاربرد کاربکین با غلظت یک میلی گرم بر لیتر موجب افزایش تعداد برگ و ساقه گل دهنده به ترتیب به میزان ۲۵/۲ و ۴۲/۳ درصد شد. غلظت دو میلی گرم بر لیتر تأثیر معنی داری نسبت به شاهد بر تعداد برگ و ساقه گل دهنده گیاه لیزیانوس نداشت. همچنین مشابه با روند تعداد برگ و ساقه گل دهنده، کاربرد کاربکین با غلظت یک میلی گرم بر لیتر موجب افزایش طول و قطر ساقه به ترتیب به میزان ۱۹/۹ و ۲۸/۳ درصد شد. غلظت دو میلی گرم بر لیتر تأثیر معنی داری

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس اثر کاریکین، اسید سالیسیلیک، اسید هیومیک و اثر متقابل آنها بر شاخص های کمی گل لیزیانتوس

میانگین مربعات							درجه آزادی	منابع تغییر
وزن خشک ریشه	وزن تر ریشه	قطر ساقه	طول ساقه	تعداد ساقه گلدهنده	تعداد برگ	تعداد ریشه		
۳۸/۶۸**	۷۵/۳۷**	۱۶/۱**	۸۸۸/۶**	۲۴/۵۳**	۳۴۶۸**	۱۸/۷**	۲	کاریکین (K)
۱/۰۲ ^{ns}	۱۸۴/۴**	۱/۱۳ ^{ns}	۸۲/۱۴ ^{ns}	۳/۵۳ ^{ns}	۱۹۶/۹ ^{ns}	۳۷/۰۸**	۲	اسید سالیسیلیک (SA)
۰/۳۳ ^{ns}	۴/۸۱ ^{ns}	۰/۱۳ ^{ns}	۱۱۷/۸ ^{ns}	۰/۹۳ ^{ns}	۲۲۶/۳ ^{ns}	۲۴/۵۵**	۲	اسید هیومیک (HA)
۵/۵۵**	۳۱/۸۱**	۰/۸۲ ^{ns}	۵۲/۴۴ ^{ns}	۰/۹۸ ^{ns}	۱۴۶/۵ ^{ns}	۲۲/۰۵**	۴	SA×K
۹/۹۶**	۹۷/۱۶**	۰/۱۲ ^{ns}	۲۱/۴ ^{ns}	۰/۶۲ ^{ns}	۱۰۶/۴ ^{ns}	۱۰/۸۶**	۴	HA×K
۱۲/۵**	۸۱/۴۶**	۰/۳۱ ^{ns}	۵۵/۶۵ ^{ns}	۰/۳۳ ^{ns}	۱۰/۴ ^{ns}	۱۹/۸۷**	۴	HA×SA
۸/۸۸**	۱۳۰/۴**	۰/۲۶ ^{ns}	۵۳/۹۲ ^{ns}	۰/۳۶ ^{ns}	۵۱/۸۵ ^{ns}	۱۵/۰۰**	۸	HA×SA×K
۰/۹۱	۳/۶۱	۰/۶۲	۸۴/۸۶	۱/۲۵	۱۹۱/۷	۲/۷۳	۵۴	خطا
۱۹/۴۵	۱۳/۹۳	۲۰/۱۱	۱۹/۴۵	۱۸/۹۹	۲۴/۷۳	۱۹/۲		CV.

ns عدم تفاوت معنی دار، * و ** به ترتیب نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح ۵ و ۱ درصد

ادامه جدول ۱-

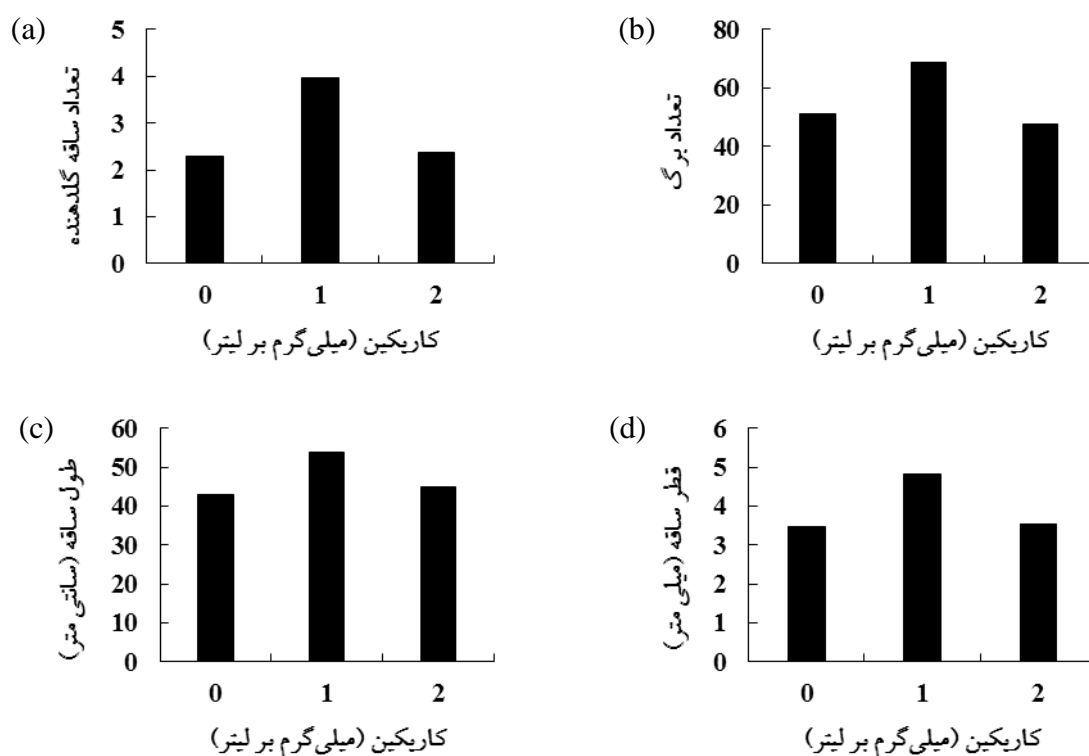
میانگین مربعات							درجه آزادی	منابع تغییر
سطح برگ	درجه آزادی	وزن خشک گل	وزن تر گل	درجه آزادی	وزن خشک اندام هوایی	وزن تر اندام هوایی		
۵۷۵۰۸۶۹**	۲	۰/۰۰۳۷ ^{ns}	۰/۳۸ ^{ns}	۲	۲۰۸۵۰**	۳۰۶۹۴۱**	۲	کاریکین (K)
۱۲۳۹ ^{ns}	۲	۰/۰۴۶۴**	۱/۶۲*	۲	۱۹۱۱**	۹۸۵۷**	۲	اسید سالیسیلیک (SA)
۳۲۳۵۶ ^{ns}	۲	۰/۰۰۶۶ ^{ns}	۰/۳۳ ^{ns}	۲	۳۰۹/۵**	۱۷۴۳ ^{ns}	۲	اسید هیومیک (HA)
۱۴۱۷۳۸**	۴	۰/۰۰۷ ^{ns}	۰/۶۱ ^{ns}	۴	۱۹۵۲**	۱۰۶۹۶۲**	۴	SA×K
۶۹۰۵۲ ^{ns}	۴	۰/۰۰۱۴ ^{ns}	۰/۲۱ ^{ns}	۴	۵۲۴/۳**	۶۴۲۵**	۴	HA×K
۲۹۱۱۴۹ ^{ns}	۴	۰/۰۰۷۵ ^{ns}	۰/۲۴ ^{ns}	۴	۶۸۲/۶**	۲۵۱۴۷**	۴	HA×SA
۱۸۹۷۵۹ ^{ns}	۸	۰/۰۰۵۶ ^{ns}	۰/۵۱ ^{ns}	۷	۶۶۷/۹**	۱۴۵۵۱**	۸	HA×SA×K
۲۹۶۸۵۶	۳۳	۰/۰۰۷۱	۰/۳۴	۳۵	۴۴/۳۱	۱۵۲۵	۵۴	خطا
۲۷/۰۵		۱۸/۸۶	۲۰/۴۵		۱۱/۴۸	۱۳/۹۵		CV.

ns عدم تفاوت معنی دار، * و ** به ترتیب نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح ۵ و ۱ درصد

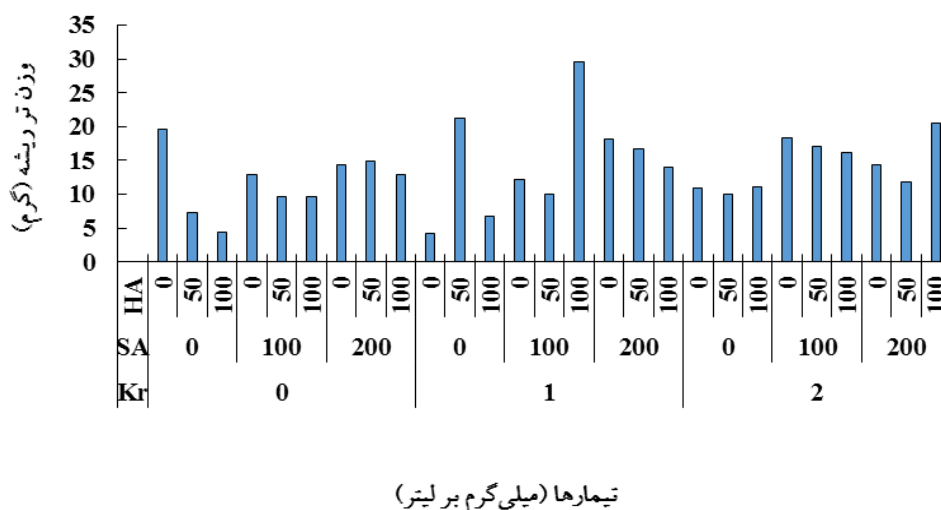
لیتر + اسید سالیسیلیک ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر + اسید هیومیک ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر است. کاربرد کاریکین یک میلی گرم بر لیتر + اسید سالیسیلیک ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر + اسید هیومیک ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر موجب افزایش ۳۰/۷ درصدی وزن خشک ریشه نسبت به تیمار شاهد شد (شکل ۴).

لیزیانتوس با میانگین ۱۰/۸۸ گرم شد که با سایر تیمارها تفاوت معنی داری ایجاد کرده است.

کمترین وزن خشک ریشه در تیمار اسید سالیسیلیک ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر با میانگین ۲/۵۷ گرم حاصل شد که ۴/۲۳ برابر کمتر از وزن خشک ریشه در تیمار کاریکین یک میلی گرم بر



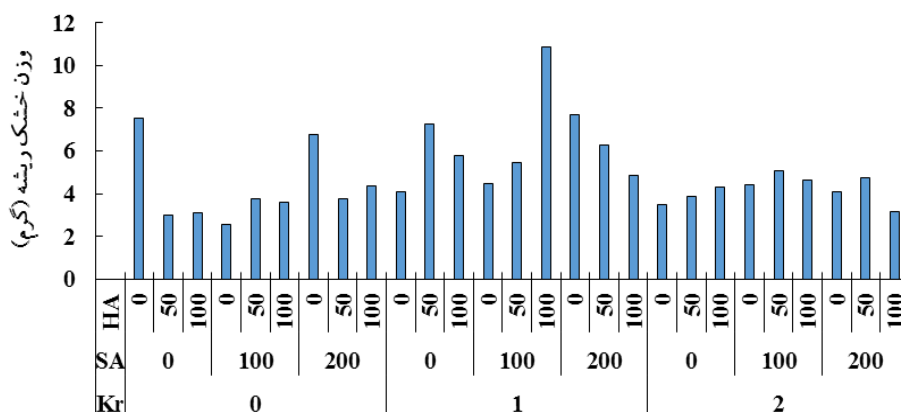
شکل ۲- تأثیر کاریکین بر تعداد ساقه گل‌دهنده (a)، تعداد برگ (b) و طول (c) و قطر ساقه (d) گل لیزیان‌توس. میانگین‌های با حروف یکسان براساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.



شکل ۳- اثر متقابل کاریکین (Kr)، اسید سالیسیلیک (SA) و اسید هیومیک (HA) بر وزن تر ریشه لیزیان‌توس. میانگین‌های با حروف یکسان براساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

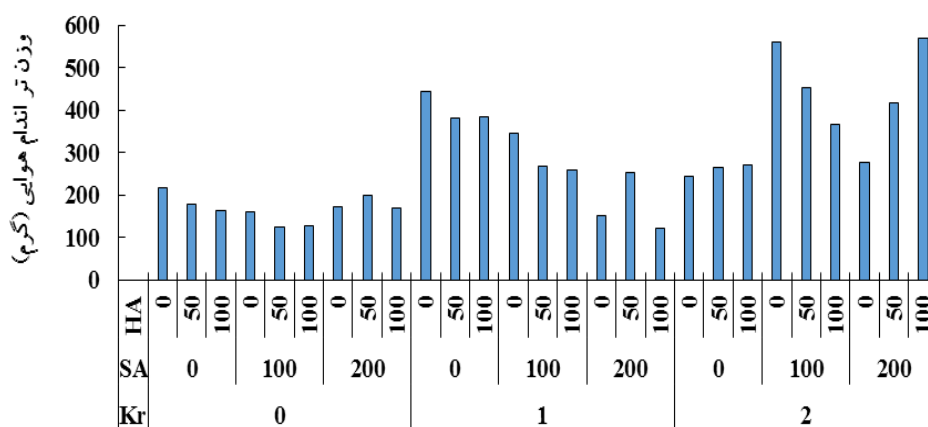
هوایی در تیمار کاریکین دو میلی‌گرم بر لیتر + اسید سالیسیلیک ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر با میانگین ۵۶۰/۹ گرم و تیمار کاریکین دو میلی‌گرم بر لیتر + اسید هیومیک ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر با

در مجموع کاربرد کاریکین موجب افزایش در وزن تر اندام هوایی شده که با افزایش غلظت کاریکین این سیر صعودی ادامه پیدا کرد. بر این اساس، بیشترین میزان وزن تر اندام



تیمارها (میلی گرم بر لیتر)

شکل ۴- اثر متقابل کاریکین (Kr)، اسید سالیسیلیک (SA) و اسید هیومیک (HA) بر وزن خشک ریشه لیزیانوس. میانگین های با حروف یکسان براساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد تفاوت معنی داری ندارند.



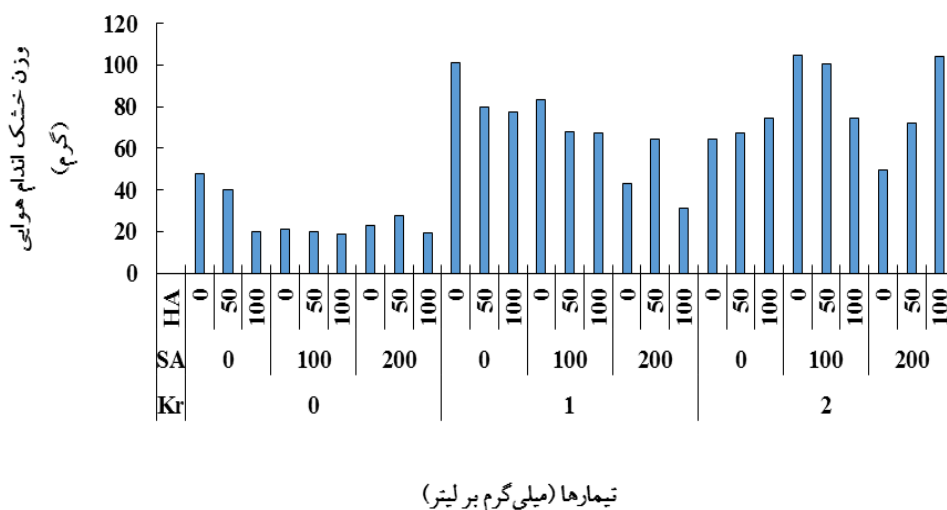
تیمارها (میلی گرم بر لیتر)

شکل ۵- اثر متقابل کاریکین (Kr)، اسید سالیسیلیک (SA) و اسید هیومیک (HA) بر وزن تر اندام هوایی گل لیزیانوس. میانگین های با حروف یکسان براساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد تفاوت معنی داری ندارند.

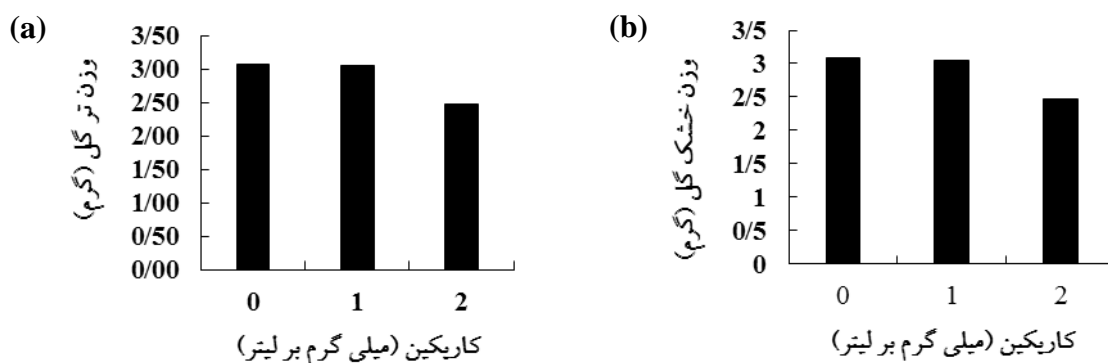
بر لیتر و نیز افزایش بیش از ۲/۵ برابری نسبت به تیمار شاهد شد (شکل ۵). کاربرد کاریکین دو میلی گرم بر لیتر+ اسید سالیسیلیک ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر موجب بالاترین میزان وزن خشک اندام هوایی گل لیزیانوس با میانگین ۱۰۴/۴ گرم شد که با تیمار کاریکین یک میلی گرم بر لیتر با میانگین ۱۰۱/۱ گرم، کاریکین دو میلی گرم بر لیتر+ اسید سالیسیلیک ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر+ اسید هیومیک ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر با میانگین ۱۰۳/۸ گرم و کاریکین دو میلی گرم بر لیتر+ اسید

میانگین ۵۷۰/۷ گرم مشاهده شد که با سایر سطوح تیماری تفاوت معنی داری دارد (شکل ۵).

کمترین وزن تر اندام هوایی در تیمار اسید سالیسیلیک ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر+ اسید هیومیک ۵۰ میلی گرم بر لیتر با میانگین ۱۲۵/۵ گرم حاصل شد. کاربرد کاریکین دو میلی گرم بر لیتر+ اسید سالیسیلیک ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر موجب افزایش حدود ۴/۵ برابری وزن تر اندام هوایی نسبت به تیمار اسید سالیسیلیک ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر+ اسید هیومیک ۵۰ میلی گرم



شکل ۶- اثر متقابل کاریکین (Kr)، اسید سالیسیلیک (SA) و اسید هیومیک (HA) بر وزن خشک اندام هوایی گل لیزیانتوس. میانگین‌های با حروف یکسان براساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.



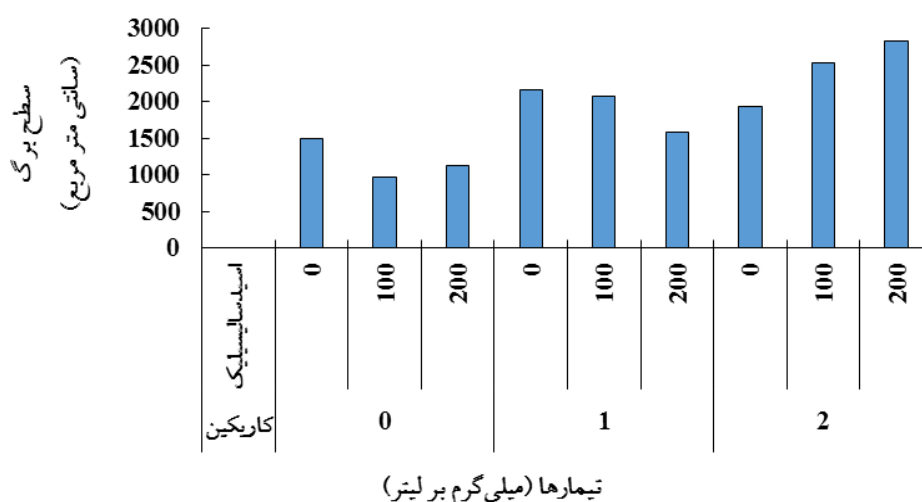
شکل ۷- تأثیر اسید سالیسیلیک بر وزن تر (a) و خشک (b) گل لیزیانتوس. میانگین‌های با حروف یکسان براساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

وزن تر و خشک گل: با توجه به جدول ۱، تنها اسید سالیسیلیک بر وزن تر و خشک گل لیزیانتوس تأثیر معنی‌دار داشت. بر این اساس، طبق شکل ۷، کاربرد اسید سالیسیلیک با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر موجب کاهش وزن تر و خشک گل نسبت به تیمار شاهد و غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر اسید سالیسیلیک شد. به طوری‌که کاربرد اسید سالیسیلیک با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر موجب کاهش ۱۹/۸ درصدی در وزن تر و کاهش ۲۱/۹ درصدی در وزن خشک گل لیزیانتوس شد.

سطح برگ: کاربرد کاریکین به تنهایی و اثر متقابل کاریکین + اسید سالیسیلیک بر سطح برگ گیاه لیزیانتوس تأثیر

سالیسیلیک ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر + اسید هیومیک ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر با میانگین ۱۰۰/۶۵ گرم تفاوت معنی‌داری ندارد (شکل ۶).

در مجموع کمترین وزن خشک اندام هوایی در گیاهانی که با کاریکین تیمار نشدند مشاهده گردید. بر این اساس، کمترین میزان وزن خشک اندام هوایی در تیمار اسید سالیسیلیک ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر + اسید هیومیک ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر با میانگین ۱۸/۹۳ گرم به دست آمد که ۵/۵ برابر کمتر از وزن خشک اندام هوایی در تیمار کاربرد کاریکین دو میلی‌گرم بر لیتر + اسید سالیسیلیک ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر است (شکل ۶).



شکل ۸- اثر متقابل کاریکین و اسید سالیسیلیک بر سطح برگ لیزیانتوس. میانگین های با حروف یکسان بر اساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد تفاوت معنی داری ندارند.

معنی دار داشت (جدول ۱). با توجه به شکل ۸، با افزایش میزان کاریکین، سطح برگ نیز افزایش یافته است، به طوری که در غلظت دو میلی گرم بر لیتر بیشترین میزان سطح برگ مشاهده گردید. بر این اساس، کاربرد کاریکین دو میلی گرم بر لیتر + اسید سالیسیلیک ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر منجر به بروز بالاترین میزان سطح برگ با میانگین ۲۸۲۷/۷ سانتی متر مربع در گیاه لیزیانتوس شد که با تیمارهای کاریکین دو میلی گرم بر لیتر + اسید سالیسیلیک ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر (۲۵۳۳/۸ سانتی متر مربع)، کاریکین یک میلی گرم بر لیتر + اسید سالیسیلیک ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر (۲۰۷۸/۷ سانتی متر مربع) و کاریکین دو میلی گرم بر لیتر به تنهایی (۲۱۵۳/۹ سانتی متر مربع) تفاوت معنی داری ندارد اما با دیگر سطوح تیماری اختلاف معنی دار ایجاد کرده است.

معنی دار داشت (جدول ۱). با توجه به شکل ۸، با افزایش میزان کاریکین، سطح برگ نیز افزایش یافته است، به طوری که در غلظت دو میلی گرم بر لیتر بیشترین میزان سطح برگ مشاهده گردید. بر این اساس، کاربرد کاریکین دو میلی گرم بر لیتر + اسید سالیسیلیک ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر منجر به بروز بالاترین میزان سطح برگ با میانگین ۲۸۲۷/۷ سانتی متر مربع در گیاه لیزیانتوس شد که با تیمارهای کاریکین دو میلی گرم بر لیتر + اسید سالیسیلیک ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر (۲۵۳۳/۸ سانتی متر مربع)، کاریکین یک میلی گرم بر لیتر + اسید سالیسیلیک ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر (۲۰۷۸/۷ سانتی متر مربع) و کاریکین دو میلی گرم بر لیتر به تنهایی (۲۱۵۳/۹ سانتی متر مربع) تفاوت معنی داری ندارد اما با دیگر سطوح تیماری اختلاف معنی دار ایجاد کرده است.

سطح برگ در تیمار کاریکین دو میلی گرم بر لیتر + اسید سالیسیلیک ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر و کاریکین دو میلی گرم بر لیتر + اسید سالیسیلیک ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر موجب افزایش معنی دار سطح برگ نسبت به تیمار شاهد شده است (شکل ۸).

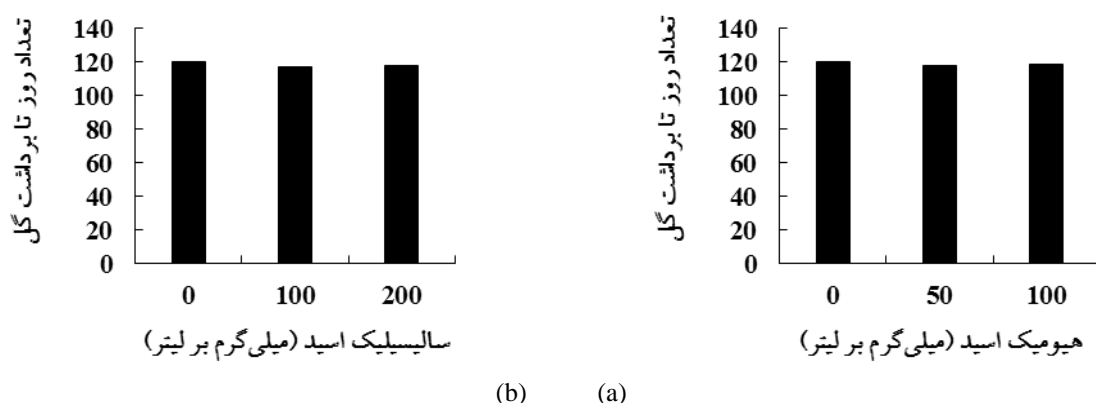
تعداد روز تا برداشت گل: با توجه به جدول ۲، اثر اصلی کاریکین، اسید سالیسیلیک و اسید هیومیک بر تعداد روز تا برداشت گل لیزیانتوس معنی دار شد. کاربرد کاریکین با غلظت ۱ و ۲ میلی گرم بر لیتر به ترتیب با کاهشی ۴/۸ و ۵/۷ درصدی نیز مؤثر واقع شد اما با افزایش میزان کاریکین، کاربرد اسید

تعداد روز تا برداشت گل را از ۱۲۳/۶ روز به ۱۱۷/۵ و ۱۱۶/۵ روز رساند. همچنین، تعداد روز تا برداشت گل تحت تأثیر اسید سالیسیلیک با غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر و اسید هیومیک با غلظت ۵۰ میلی گرم بر لیتر کاهش معنی داری نسبت به شاهد داشت که البته نسبت به غلظت بالاتر اختلاف معنی داری ایجاد نکرد. تعداد روز تا برداشت گل تحت تأثیر اسید سالیسیلیک ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر نسبت به شاهد کاهش معنی دار ۲/۱ درصدی و تحت تأثیر اسید هیومیک ۵۰ میلی گرم بر لیتر کاهش معنی دار ۱/۹ درصدی نشان داد.

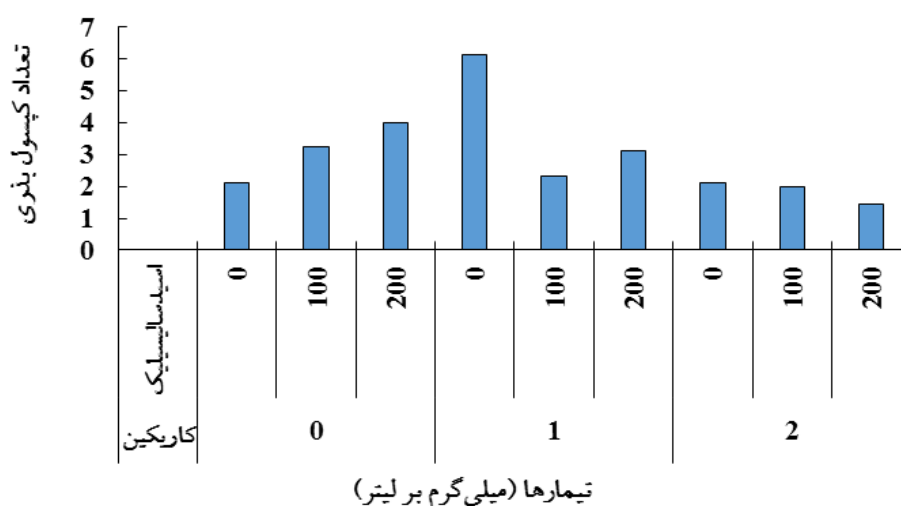
تعداد کپسول بذری: کاربرد کاریکین به تنهایی و اثر متقابل کاریکین + اسید سالیسیلیک بر تعداد کپسول بذری گیاه لیزیانتوس تأثیر معنی دار داشت (جدول ۲). تعداد کپسول بذری تحت تأثیر کاریکین یک میلی گرم بر لیتر بدون کاربرد اسید سالیسیلیک با میانگین ۶/۱۱ کپسول افزایش معنی داری پیدا کرد که با تیمار سالیسیلیک ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر به تنهایی با میانگین ۳/۲۲ و چهار میلی گرم بر لیتر و تیمار کاریکین یک میلی گرم بر لیتر + اسید سالیسیلیک ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر با میانگین ۳/۱۱ کپسول در بوته تفاوت معنی داری ندارد. نتایج در مورد تأثیر توأم کاریکین و اسید سالیسیلیک نشان داد که با کاربرد میزان یک میلی گرم بر لیتر کاریکین، اسید سالیسیلیک نیز مؤثر واقع شد اما با افزایش میزان کاریکین، کاربرد اسید

سطح برگ در تیمار کاریکین دو میلی گرم بر لیتر + اسید سالیسیلیک ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر و کاریکین دو میلی گرم بر لیتر + اسید سالیسیلیک ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر موجب افزایش معنی دار سطح برگ نسبت به تیمار شاهد شده است (شکل ۸).

تعداد روز تا برداشت گل: با توجه به جدول ۲، اثر اصلی کاریکین، اسید سالیسیلیک و اسید هیومیک بر تعداد روز تا برداشت گل لیزیانتوس معنی دار شد. کاربرد کاریکین با غلظت ۱ و ۲ میلی گرم بر لیتر به ترتیب با کاهشی ۴/۸ و ۵/۷ درصدی



شکل ۹- اثر اصلی اسید هیومیک (a) و اسید سالیسیلیک (b) بر تعداد روز تا برداشت گل در لیزیانتوس. میانگین‌های با حروف یکسان براساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد تفاوت معنی داری ندارند.



شکل ۱۰- اثر متقابل کاریکین و اسید سالیسیلیک بر تعداد کپسول بذری در لیزیانتوس. میانگین‌های با حروف یکسان براساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد تفاوت معنی داری ندارند.

غنچه در شاخه را با میانگین $3/26$ غنچه موجب شد که تفاوت معنی داری با تیمار شاهد و غلظت دو میلی گرم بر لیتر کاریکین ایجاد کرده است.

کلروفیل a، b و کل: کاربرد کاریکین به‌تنهایی و اثر متقابل کاریکین به‌همراه اسید سالیسیلیک بر محتوای کلروفیل a و کل در برگ گیاه لیزیانتوس تأثیر معنی دار داشت اما کلروفیل b تحت تأثیر هیچ یک از تیمارهای مورد مطالعه قرار نگرفت (جدول ۲). با توجه به شکل ۱۲، مقدار کلروفیل a در تیمار شاهد در حد بالایی قرار داشت که با کاربرد اسید سالیسیلیک و کاریکین کاهش معنی داری پیدا کرد اما با افزایش غلظت این

سالیسیلیک تأثیر منفی بر تعداد کپسول بذری لیزیانتوس داشت (شکل ۱۰).

تعداد غنچه در شاخه: کاربرد کاریکین و اسید سالیسیلیک

به‌تنهایی بر تعداد غنچه در شاخه گیاه لیزیانتوس تأثیر معنی دار داشت (جدول ۲). با توجه به شکل ۱۱، بیشترین تعداد غنچه در شاخه در تیمار شاهد با میانگین $3/51$ عدد و کمترین تعداد در تیمار اسید سالیسیلیک دو میلی گرم بر لیتر با میانگین $1/83$ غنچه در شاخه به‌دست آمد. در مقابل، کاربرد کاریکین به‌صورت جداگانه سبب افزایش تعداد غنچه در شاخه شد. کاربرد کاریکین با غلظت یک میلی گرم بر لیتر بیشترین تعداد

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس اثر کاریکین، اسید سالیسیلیک، اسید هیومیک و اثر متقابل آنها بر صفات زایشی و بیوشیمیایی گل لیزیاتوس

میانگین مربعات						درجه آزادی	منابع تغییر
درجه آزادی	تعداد غنچه در شاخه	درجه آزادی	وزن تجمعی بذر	تعداد کپسول بذری	تعداد روز تا برداشت گل		
۲	۱۱/۴۹**	۲	۰/۵۳ ^{ns}	۲۲/۷۶*	۲۸۱/۶۱**	۲	کاریکین (K)
۲	۱۹/۲۷**	۲	۰/۲۷ ^{ns}	۵/۲۲ ^{ns}	۲۱/۶*	۲	سالیسیلیک اسید (SA)
۲	۰/۶۵ ^{ns}	۲	۰/۰۰۴ ^{ns}	۲/۹۶ ^{ns}	۳۱/۷**	۲	اسید هیومیک (HA)
۴	۱/۲۸ ^{ns}	۴	۰/۴۸ ^{ns}	۱۷/۱*	۱۱/۱۲ ^{ns}	۴	SA×K
۴	۲/۶۴ ^{ns}	۴	۰/۰۷ ^{ns}	۱۲/۵ ^{ns}	۱۱/۸۴ ^{ns}	۴	HA×K
۴	۱/۳۲ ^{ns}	۴	۰/۲۵ ^{ns}	۵/۴۸ ^{ns}	۷/۹۲ ^{ns}	۴	HA×SA
۸	۰/۶۵ ^{ns}	۸	۰/۱۳ ^{ns}	۰/۷۹ ^{ns}	۸/۰۸ ^{ns}	۸	HA×SA×K
۵۴	۱/۶	۴۹	۰/۱۶۹	۴/۸۲	۵/۹۹	۴۲	خطا
۱۹/۶۸						۲/۰۶	CV.

ns عدم تفاوت معنی دار، * و ** به ترتیب نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح ۵ و ۱ درصد

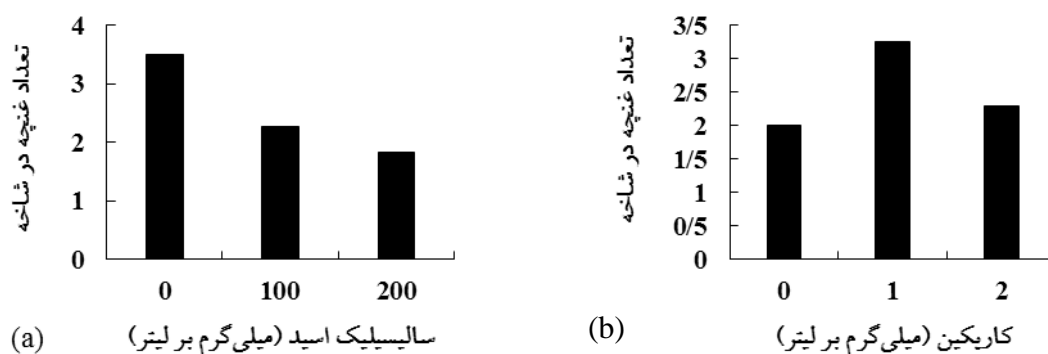
ادامه جدول ۲-

میانگین مربعات						درجه آزادی	منابع تغییر				
فلاونوئیدها	آنتوسیانین ها	درجه آزادی	PAL	کلروفیل کل	کلروفیل a b						
۹۱/۶۴**	۰/۰۳۲ ^{ns}	۲	۰/۶۵۶۹*	۱۸۶/۸**	۱۳/۳۵ ^{ns}	۱۲۲/۷**	۲	کاریکین (K)			
۷۳/۹۳*	۰/۰۰۴۳ ^{ns}	۲	۰/۲۹۲۹ ^{ns}	۲/۱۴ ^{ns}	۱۳/۵۶ ^{ns}	۱۲/۲۷ ^{ns}	۲	سالیسیلیک اسید (SA)			
۳۱/۴۷ ^{ns}	۰/۰۱۲۱ ^{ns}	۲	۰/۵۸۳۲*	۳/۷۹ ^{ns}	۰/۱۲۹ ^{ns}	۴/۰۲ ^{ns}	۲	اسید هیومیک (HA)			
۵۷/۰۷*	۰/۰۵۷ ^{ns}	۴	۰/۴۳۰۵*	۶۴/۲۳*	۴/۵۶ ^{ns}	۶۳/۵*	۴	SA×K			
۱۳/۷۷ ^{ns}	۰/۰۸۲ ^{ns}	۴	۰/۴۲۵۸*	۸/۴۱ ^{ns}	۳/۷۸ ^{ns}	۵/۰۴ ^{ns}	۴	HA×K			
۳۳/۴۵ ^{ns}	۰/۰۲۲ ^{ns}	۴	۰/۷۶۷۲**	۱۹/۵۷ ^{ns}	۱۱/۱۹ ^{ns}	۴۰/۷۱ ^{ns}	۴	HA×SA			
۲۰/۲۱ ^{ns}	۰/۰۴۱ ^{ns}	۸	۰/۵۹۰۷**	۱۵/۹۳ ^{ns}	۳/۹۴ ^{ns}	۱۱/۵۵ ^{ns}	۸	HA×SA×K			
۱۶/۸۷	۰/۰۲۵	۵۳	۰/۱۳۴۴	۲۴/۲۷	۱۰/۲۹	۱۹/۰۲	۴۲	خطا			
۲۰/۰۸						۳۱/۴۷	۲۱/۲۷	۲۴/۴۷	۲۲/۵۳	۲۵/۵۳	CV.

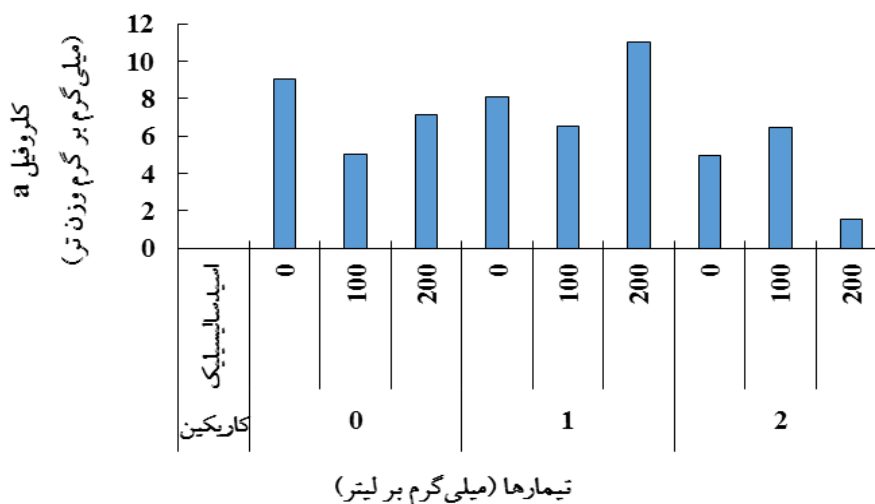
ns عدم تفاوت معنی دار، * و ** به ترتیب نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح ۵ و ۱ درصد

که با تیمار اسید سالیسیلیک ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر + کاریکین دو میلی گرم بر لیتر با میانگین ۱/۵۷ میلی گرم بر گرم وزن تر تفاوتی ندارد اما با سایر سطوح تیماری اختلاف معنی داری ندارد.

دو تیمار، بار دیگر بر مقدار آن افزوده شد. بر این اساس، مشاهده می شود که کاربرد کاریکین یک میلی گرم بر لیتر به همراه اسید سالیسیلیک ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر موجب بالاترین میزان کلروفیل a با میانگین ۱۱ میلی گرم بر گرم وزن تر شده



شکل ۱۱- اثر اصلی اسید سالیسیلیک (a) و کاریکین (b) بر تعداد غنچه در شاخه گیاه لیزیانتوس. میانگین‌های با حروف یکسان براساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.



شکل ۱۲- اثر متقابل کاریکین و اسید سالیسیلیک بر میزان کلروفیل a لیزیانتوس. میانگین‌های با حروف یکسان براساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

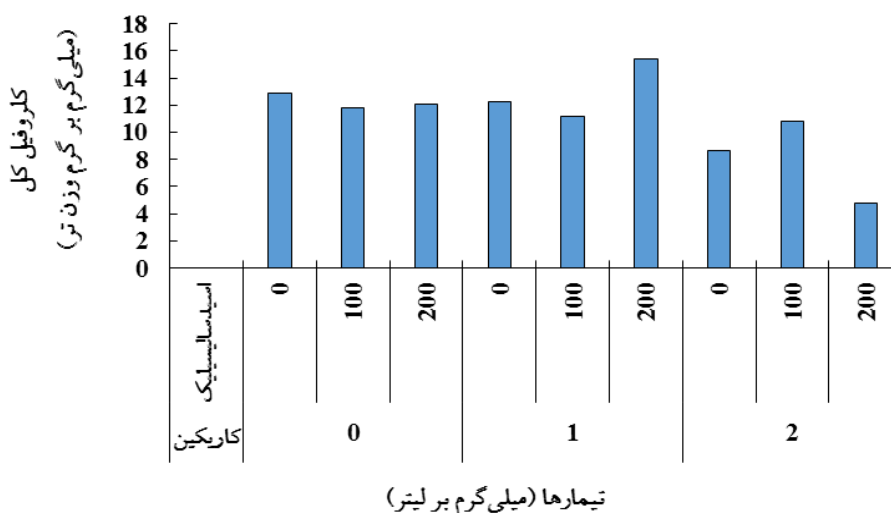
وزن تر، با سایر سطوح تیماری اختلاف معنی‌داری ندارد (شکل ۱۳).

فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز (PAL): براساس

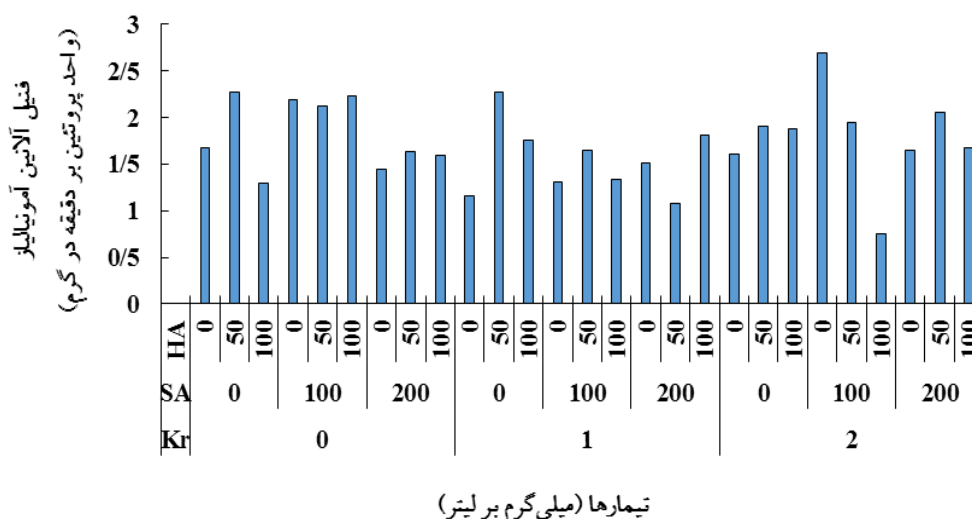
جدول ۲، تمامی تیمارها و اثر متقابل آنها بر فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز تأثیر معنی‌دار داشتند اما کاربرد اسید سالیسیلیک به‌تنهایی نتوانست تأثیری بر فعالیت این آنزیم داشته باشد. با توجه به شکل ۱۴، فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز تحت تأثیر سطوح تیماری مختلف، پاسخ‌های متفاوتی نیز داده و از الگوی خاصی پیروی نکرده است. بر این اساس، به‌نظر می‌رسد فعالیت آنزیم تحت تأثیر اسید

با توجه به شکل ۱۲، کاربرد کاریکین ۱ میلی‌گرم بر لیتر+ اسید سالیسیلیک ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر موجب افزایش حدود ۷ برابری کلروفیل a نسبت به تیمار کاریکین ۲ میلی‌گرم بر لیتر+ اسید سالیسیلیک ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر شد.

روند تغییرات کلروفیل کل، مشابه با الگوی تغییرات کلروفیل a است. مقدار کلروفیل کل با کاربرد کاریکین یک میلی‌گرم بر لیتر به‌همراه اسید سالیسیلیک ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بالاترین میزان با میانگین ۱۵/۴۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر رسید که البته جز با تیمار اسید سالیسیلیک ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر+ کاریکین دو میلی‌گرم بر لیتر با میانگین ۴/۷۹ میلی‌گرم بر گرم



شکل ۱۳- اثر متقابل کاریکین و اسید سالیسیلیک بر محتوای کلروفیل کل لیزیانتوس. میانگین های با حروف یکسان براساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد تفاوت معنی داری ندارند.

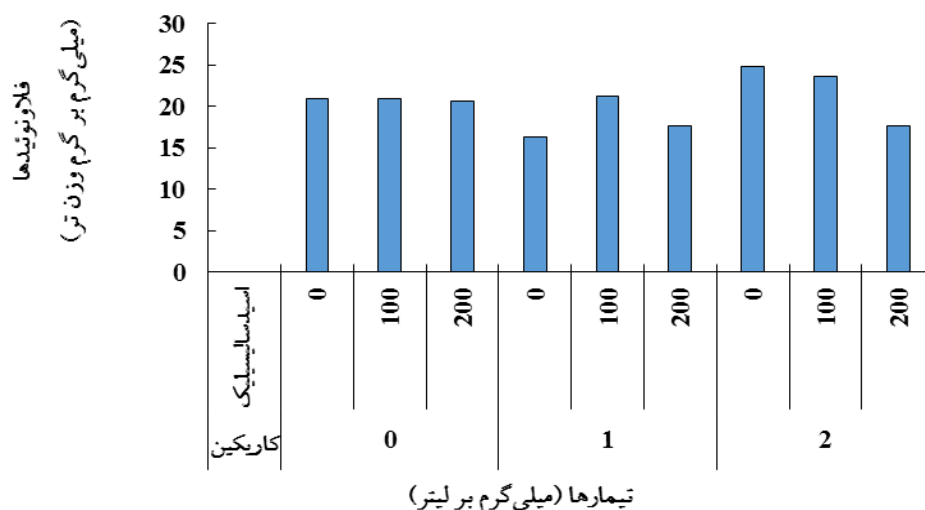


شکل ۱۴- اثر متقابل کاریکین (Kr)، اسید سالیسیلیک (SA) و اسید هیومیک (HA) بر فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیاژ در گیاه لیزیانتوس. میانگین های با حروف یکسان براساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد تفاوت معنی داری ندارند.

میلی گرم بر لیتر + اسید هیومیک ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر با میانگین ۰/۷۵۷ واحد بر دقیقه در گرم پروتئین مشاهده شد که احتمالاً علت این نوسان شدید، تأثیر منفی اسید هیومیک بر فعالیت این آنزیم بوده است.

محتوای فلاونوئیدها: براساس جدول تجزیه واریانس، کاربرد کاریکین و اسید سالیسیلیک به تنهایی و اثر متقابل کاریکین + اسید سالیسیلیک بر محتوای فلاونوئیدهای گلبرگ

سالیسیلیک ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر و اسید هیومیک ۵۰ میلی گرم بر لیتر در حضور کاریکین دو میلی گرم بر لیتر و همچنین بدون کاربرد آن، افزایش پیدا کرده است، به طوری که بیشترین فعالیت آنزیم PAL تحت تأثیر کاربرد کاریکین دو میلی گرم بر لیتر + اسید سالیسیلیک ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر و بدون کاربرد اسید هیومیک با میانگین ۲/۶۹۵ واحد بر دقیقه در گرم پروتئین حاصل شد. کمترین میزان فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیاژ در تیمار کاریکین دو میلی گرم بر لیتر + اسید سالیسیلیک ۱۰۰



شکل ۱۵- اثر متقابل کاربکین و اسید سالیسیلیک بر میزان فلاونوئیدهای گل لیزیانتوس. میانگین‌های با حروف یکسان براساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

کاربرد کاربکین بهبود پیدا کردند. به این صورت که تعداد و قطر ریشه تحت تأثیر اسید سالیسیلیک و اسید هیومیک ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و کاربکین ۲ میلی‌گرم بر لیتر و وزن تر و خشک ریشه تحت تأثیر اسید سالیسیلیک و اسید هیومیک ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر افزایش معنی‌داری نشان دادند. بر این اساس، گزارش شده که کاربرد اسید سالیسیلیک با افزایش تقسیم سلولی در ناحیه مریستم ریشه (Singh and Usha, 2003)، افزایش هورمون اکسین و جبرلین و کاهش هورمون آبسزیک اسید و کاهش رادیکال‌های آزاد و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (Gunes *et al.*, 2007) موجب بهبود رشد و توسعه ریشه و اندام‌های هوایی گیاه می‌شود. دلیل افزایش طول، حجم و سایر صفات ریشه و به‌طور کلی افزایش رشد گیاه تحت تأثیر کاربرد اسید سالیسیلیک به تأثیر مثبت آن بر فتوسنتز خالص و افزایش فعالیت آنزیم‌های نترات ردوکتاز و کربنیک آنیدراز نیز ارتباط دارد (El-Tayeb, 2005). در پژوهش حاضر نیز به‌نظر می‌رسد با تأثیر مثبت اسید سالیسیلیک بر افزایش فعالیت سیستم فتوسنتزی و افزایش میزان کلروفیل، سبب بهبود غذاسازی و در نتیجه افزایش کلی رشد سیستم ریشه‌ای و اندام هوایی در گیاه لیزیانتوس شده است که با نتایج تحقیق قنبری و همکاران (۱۴۰۰) مبنی بر

گل لیزیانتوس تأثیر معنی‌دار داشت (جدول ۲). با توجه به شکل ۱۵، محتوای فلاونوئیدها تحت تأثیر کاربکین ۲ میلی‌گرم بر لیتر و بدون کاربرد اسید سالیسیلیک در بالاترین حد با میانگین ۲۴/۸۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر قرار داشت که جز با تیمارهای کاربکین ۱ میلی‌گرم بر لیتر بدون اسید سالیسیلیک و کاربکین ۱ میلی‌گرم بر لیتر + اسید سالیسیلیک ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به‌ترتیب با مقادیر ۱۶/۲۶ و ۱۷/۶۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر و نیز تیمار کاربکین ۲ میلی‌گرم بر لیتر + اسید سالیسیلیک ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر با میانگین ۱۷/۶۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر با سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری ندارد. بر این اساس، مشاهده می‌شود که کاربرد کاربکین ۱ میلی‌گرم بر لیتر بدون کاربرد اسید سالیسیلیک منجر به پایین‌ترین میزان فلاونوئیدها به مقدار ۱۶/۲۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر شد که نسبت به میزان فلاونوئیدها تحت تأثیر کاربکین ۲ میلی‌گرم بر لیتر بدون کاربرد اسید سالیسیلیک حدود ۳۰ درصد کاهش نشان داده است.

بحث

در این پژوهش، صفات رویشی و زایشی گل لیزیانتوس تحت تأثیر محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک و اسید هیومیک و همچنین

دود حاصل از گیاه به عنوان یک عامل برآورده کننده قوی در جوانه زنی بذر و رشد اندام در گیاهان مختلف اثبات شده است. کاربرد کاربکین به خصوص با غلظت ۱ میلی گرم بر لیتر در این تحقیق نیز، تأثیر مثبتی بر شاخص های رشدی ریشه و اندام هوایی گیاه لیزیانوس داشته که کاربرد آن با اسید سالیسیلیک منجر به هم افزایی اثرات آن شده و بهبود رشد را در پی داشته است. در همین رابطه گزارش شده که کاربرد کاربکین به صورت برگی و محلول دهی پای بوته در گیاه گوجه فرنگی و بامیه موجب افزایش رشد طولی ساقه و ریشه و افزایش تعداد برگ و سطح برگ می شود (Kulkarni et al., 2007). نتایج پژوهش حاضر با گزارشی مبنی بر تأثیر عصاره آب اشباع از دود در تسریع گسترش ریشه ماش نیز همخوانی دارد (Taylor and Van Staden, 1996). در طی پژوهشی، محققین تأثیر دود بر رشد رویشی گیاه سویا را به سنتز و تخریب پروتئین های مختلف مربوط می دانند. بر این اساس گزارش شده که آنزیم های دخیل در سنتز اسیدهای آمینه نظیر آسپاراژین سنتاز، آرژیناز، آرژینوسوسانات سنتاز، سرین کربوکسی پپتیداز و گلوتامین سنتاز تغییرات زیادی نشان داده اند و آنالیز این اسیدهای آمینه نشان داد که تیروزین، اورنیتین و سرین در سویای تیمار شده با محلول های دود به طور قابل توجهی افزایش می یابد. علاوه بر این، متابولیت های مختلف مانند اوره، گاما آمینوبوتریک اسید (GABA) و اسید سوکسینیک نیز افزایش یافت که در نهایت موجب فعال شدن متابولیسم آرژنین با تیمار کاربکین می شود. آرژنین دارای بالاترین نسبت نیتروژن به کربن است و به عنوان یک متابولیت اساسی برای بسیاری از فرایندهای سلولی و رشد در نظر گرفته می شود. آرژنین علاوه بر دارا بودن عملکردی به عنوان اسید آمینه برای سنتز پروتئین، پیش ماده تولید پلی آمین ها و نیتریک اکسید نیز است. نیتریک اکسید نه تنها به عنوان تنظیم کننده رشد در القای جوانه زنی، گسترش برگ، رشد ریشه و بلوغ میوه نقش دارد، بلکه یک تعدیل کننده مقاومت در برابر بیماری است که بیان چندین ژن دفاعی را فعال می کند (Zhong et al., 2020). با توجه به مطالب ذکر شده، به نظر می رسد، کاربکین با تأثیر بر متابولیسم

تأثیر مثبت اسید سالیسیلیک بر محتوای کلروفیل کل برگ گیاه گوجه فرنگی مطابقت دارد. در این پژوهش اسید سالیسیلیک باعث افزایش شاخص های رشد و نمو گیاه لیزیانوس شده که می تواند به عواملی مانند افزایش میزان تقسیم در مناطق مرستمی و رشد سلولی مرتبط باشد که موجب افزایش رشد کلی گیاه می گردد. از دلایل دیگر بهبود رشد تحت تأثیر اسید سالیسیلیک می توان به تأثیر اسید سالیسیلیک بر سایر تنظیم کننده های رشد گیاهی مانند اکسین و سایتوکینین اشاره کرد (Sakhabutdinova et al., 2003).

اسید هیومیک مورد استفاده در این پژوهش نیز توانسته است بر شاخص های رشدی به خصوص رشد و نمو ریشه مؤثر واقع شود. نتایج پژوهش فوق با نتایج Veronica و همکاران (۲۰۱۰) روی خیار همخوانی دارد. ممکن است اثر تسریع کنندگی مواد هیومیکی بر رشد ساقه در درجه اول به خاطر تأثیر روی فعالیت $ATPase^+-H$ ریشه و توزیع نترات جذب شده توسط ریشه در ساقه بوده که به نوبه خود منجر به تغییرات در توزیع مشخص سایتوکینین ها، پلی آمین ها و اسید آبسزیک می شود، بنابراین بر رشد ساقه تأثیر می گذارد (Rubio et al., 2009). مواد هیومیکی با مکانیسم های دیگری نیز منجر به افزایش رشد طولی می شوند که به ترکیبات شبه جیبرلین آن ارتباط دارد (Nardi et al., 2002). محققان دریافتند که سطوح مختلف اسید هیومیک باعث افزایش ارتفاع بوته و میزان جذب ازت در گیاه گندم می شود (Tahir et al., 2011). همچنین پژوهش های متعدد اخیر نشان داده که اسید هیومیک می تواند به عنوان یک هورمون تنظیم کننده رشد عمل کرده و از این طریق سبب افزایش اکسین، سایتوکینین و جیبرلین می گردد که با افزایش این هورمون ها طول ساقه نیز افزایش یافته و رشد گیاه بهبود می یابد (Muscolo et al., 2013). همچنین گزارش شده که استفاده از اسید هیومیک با دوز متعادل موجب بهبود فاکتورهای رشدی و زایشی نظیر وزن تر و خشک گل آذین و ریشه و نیز افزایش حجم ریشه می شود (میرزایی اسگندیان و همکاران، ۱۳۹۹).

گزارش شده تیمار آب دود به طور قابل توجهی بر متابولیسم گالاکتوز، گلیکولیز/گلوکونئوز، متابولیسم نشاسته/ ساکارز و بیوستز اسیدهای آمینه زنجیره‌ای تأثیر می‌گذارد. همچنین متابولیسم پیروات، متابولیسم گلیوکسیلات/ دی کربوکسیلات، متابولیسم گلیسرولیپید و چرخه TCA ممکن است به طور قابل توجهی تحت تأثیر آب دود قرار گیرند که به این ترتیب تولید کربوهیدرات‌ها و در نتیجه انرژی در ریشه افزایش یافته و به این ترتیب موجب افزایش وزن تر و خشک ریشه و نیز اندام هوایی می‌گردد. همچنین گزارش شده سطح گلوکز و فروکتوز در پاسخ به تیمار آب دود روند افزایشی را نشان می‌دهد، در حالی که میزان ساکارز روند صعودی نسبی را نشان می‌دهد. این یافته‌ها نشان می‌دهد که تبدیل ساکارز به هگزوز ممکن است توسط دود در اوایل دوره رشد ریشه افزایش یابد و به این ترتیب با ذخیره کربوهیدرات‌ها، رشد ریشه و اندام هوایی را افزایش داده و به این ترتیب وزن تر و خشک نیز افزایش پیدا می‌کند (Catav *et al.*, 2018).

در این تحقیق، کاربرد کاربکین ۲ میلی‌گرم بر لیتر به همراه اسید سالیسیلیک ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر موجب افزایش معنی‌دار سطح برگ در گل لیزیانئوس شد. اسید هیومیک نیز تأثیر بسزایی بر افزایش سطح برگ این گیاه داشت اما در مقایسه با ترکیب کاربکین و اسید سالیسیلیک این تأثیر کمتر بود. به نظر می‌رسد که اسید سالیسیلیک با افزایش فعالیت آنزیم روبیسکو و در نتیجه بهبود فتوسنتز باعث افزایش سطح برگ می‌شود (مردانی و همکاران، ۱۳۹۰). از جمله موارد بسیار مهم در ارتباط با اسید سالیسیلیک نقش این ماده در افزایش فعالیت فتوسنتزی و افزایش مواد معدنی در گیاهان است (بیات و همکاران، ۱۳۹۱). این فرآیندها با تحت تأثیر قراردادن تقسیم و رشد سلول‌های گیاهی، بهبود ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه را به دنبال خواهند داشت که منجر به افزایش اندام‌های رویشی نظیر تعداد برگ و سطح برگ می‌گردد (مرادی و همکاران، ۱۳۹۰).

در پژوهش حاضر، تنها کاربرد کاربکین موجب تغییر در تعداد روز تا برداشت گل شده که این تأثیر منفی نیز بوده

آرژنین و افزایش نسبت نیتروژن بر تقسیم سلولی و نیز افزایش طول سلول نقش دارد و از این طریق موجب بهبود رشد ریشه و اندام هوایی در گیاه لیزیانئوس شده است که گزارش Kulkarni و همکاران (۲۰۰۷) نیز تأییدکننده این مطلب است.

در این پژوهش، وزن تر و خشک ریشه تحت تأثیر اسید هیومیک و اسید سالیسیلیک ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و وزن تر و خشک اندام هوایی تحت تأثیر اسید سالیسیلیک ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و کاربکین ۲ میلی‌گرم بر لیتر افزایش معنی‌داری نشان دادند. مکانیسمی که اسید سالیسیلیک، رشد ریشه و بخش‌های هوایی را در برخی از گیاهان افزایش می‌دهد، به خوبی شناخته نشده است اما احتمال داده می‌شود که اسید سالیسیلیک طول‌شدن و تقسیم سلولی را به کمک اکسین تنظیم می‌کند. همچنین اسید سالیسیلیک در بیوستز پروتئین‌های خاص به نام پروتئین کیناز نقش دارد که این پروتئین‌ها نیز نقش مهمی در تنظیم تقسیم، تمایز و ریخت‌زایی سلول ایفاء می‌کنند (Zhang and Klessing, 1997). البته افزایش مشاهده شده در وزن خشک ساقه، ریشه و زیست‌توده را می‌توان به بهبود فتوسنتز در اثر کاربرد اسید سالیسیلیک نیز نسبت داد. این ماده از طریق افزایش کلروفیل و فعالیت آنزیم روبیسکو میزان فتوسنتز کل را افزایش می‌دهد (Singh and Usha, 2003).

نتایج این پژوهش با نتایج Delfine و همکاران (۲۰۰۵) که بیان نمودند کاربرد اسید هیومیک باعث افزایش وزن خشک در گیاه می‌شود، همخوانی دارد. همچنین اثر اسید هیومیک در رشد ریشه‌ها بیشتر از اندام‌های هوایی است. این تأثیر در وزن تر ریشه مشهودتر از وزن خشک است (Khaleda *et al.*, 2017). این اثر اسید هیومیک در افزایش رشد ریشه به غیر از اثر شبه هورمونی، می‌تواند به دلیل افزایش جذب مواد غذایی به ویژه فسفر در ریشه باشد. به طور کلی، می‌توان گفت رشد ریشه با افزایش غلظت اسید هیومیک افزایش معنی‌داری می‌یابد که این تأثیر در کاربرد به صورت خاکی بیشتر از محلول‌پاشی است.

افزایش میزان آنزیم های آنتی اکسیدانی نشان دهنده فعالیت این آنزیم ها است. بسته به غلظت های مختلف اسید سالیسیلیک و نحوه استفاده آن و نوع گیاه مورد استفاده و مرحله رشدی گیاه، عکس العمل های متفاوتی مشاهده می شود. برخی گزارشات حاکی از آن هستند که اسید سالیسیلیک باعث کاهش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی از جمله کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز شده و در نتیجه موجب افزایش میزان H_2O_2 در بافت های گیاهی شده که H_2O_2 به عنوان یک پیغام رسان ثانویه عمل کرده و موجب فعال شدن سیستم آنتی اکسیدانی گیاه و پاسخ های دفاعی گیاه می گردد (Shi *et al.*, 2006). همچنین، اسید هیومیک می تواند سبب تحریک القای آنزیم های آنتی اکسیدانی گردد و مقدار رادیکال های فعال اکسیژن را در سلول های گیاهی کاهش دهد (El-Beltagi *et al.*, 2020).

نتیجه گیری

کاربرد اسید سالیسیلیک با غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر بیشترین اثر را بر صفات رویشی و زایشی و بیوشیمیایی مورد ارزیابی داشت، با این حال در برخی صفات نظیر وزن خشک اندام هوایی، سطح برگ کلروفیل a و کلروفیل کل، غلظت ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر مؤثرتر واقع شد. کاربرد اسید هیومیک نیز با افزایش گسترش ریشه، موجب افزایش وزن تر و خشک برگ و ریشه شد. سومین تیماری که مورد بررسی قرار گرفته و با وجود کارایی جدید، در این پژوهش به خوبی شاخص های مورفوفیزیولوژیک را افزایش داده، تیمار کاریکین بوده که با غلظت ۱ میلی گرم بر لیتر بهترین پاسخ را داده و در ترکیب با اسید هیومیک و به خصوص اسید سالیسیلیک با اثر هم افزایی سبب بهبود شاخص هایی نظیر تعداد ریشه، تعداد برگ و ساقه گل دهنده و نیز آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز گردید. در مجموع، کاربرد توأم اسید سالیسیلیک ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر به همراه اسید هیومیک ۵۰ میلی گرم بر لیتر به صورت محلول پاشی و کاربرد کاریکین یک میلی گرم بر لیتر به صورت محلول دهی پای بوته جهت بهبود شاخص های رشد و نمو و بهبود کیفیت گل های لیزیانتوس توصیه می گردد.

است. بر این اساس گزارش شده که کاربرد کاریکین با تأثیر بر تولید کربوهیدرات ها موجب افزایش ذخیره کربوهیدراتی گیاه شده و از این طریق موجب زودرسی گیاه می گردد (Catav *et al.*, 2018). تیمار کاریکین یک میلی گرم بر لیتر به همراه اسید سالیسیلیک ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر در این تحقیق بیشترین تعداد کپسول بذری را در پی داشت. گزارش شده که اسید سالیسیلیک با افزایش تقسیم سلولی و بهبود تمایز آنها موجب افزایش تعداد بذر و کپسول بذری در گیاه خرفه می گردد (صارم و همکاران، ۱۳۹۶).

کاربرد کاریکین ۱ میلی گرم بر لیتر و اسید سالیسیلیک ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر موجب افزایش محتوای کلروفیل کل و میزان فلاونوئیدها می شود. علت اصلی افزایش میزان رنگیزه های فتوسنتزی در گیاه عدسک آبی، تحریک سنتز کلروفیل توسط اسید سالیسیلیک گزارش شده است. در پژوهش دیگری Sabzi و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که ۱ میلی مولار اسید سالیسیلیک بیشترین مقدار شاخص کلروفیل برگ را در پی داشته است. یکی از دلایل اثر تیمار اسید سالیسیلیک، احتمالاً مربوط به فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی است که تحت تأثیر اسید سالیسیلیک فعال شده اند. به نظر می رسد اسید سالیسیلیک سنتز این آنزیم ها را تحریک کرده و این آنزیم ها از تخریب و یا تجزیه رنگیزه های فتوسنتزی جلوگیری کرده اند. اعلامی و همکاران (۱۳۹۰) گزارش کرد که غلظت کلروفیل برگ ها در گیاهانی که با غلظت های مختلف اسید سالیسیلیک محلول پاشی شده بودند بیشتر از تیمار شاهد بود. گزارش شده که اسید سالیسیلیک ویژگی هایی مانند وزن خشک ساقه، کلروفیل، کاروتنوئید و فلاونوئیدها را در گل اطلسی (Bayat *et al.*, 2012) و همیشه بهار (قاسمی جوبشهر و خرمی وفا، ۱۳۹۱) بهبود می بخشد. گزارش شده که کاربرد آب دود سبب افزایش محتوای کلروفیل a، b و کل در گیاه موز (Aremu *et al.*, 2012) و گندم (Iqbal *et al.*, 2018) شده و از این طریق سبب افزایش رشد و سبزی گیاه می گردد که با نتایج به دست آمده از این پژوهش مطابقت دارد.

منابع

- اعلایی، م.، بابالار، م.، نادری، ر. و کافی، م. (۱۳۹۰) بررسی اثر اسید سالیسیلیک در مرحله داشت و پس از برداشت بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی و عمر پس از برداشت رز رقم Black magic. رساله دکتری. پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران.
- امیری، م.، عرب، م.، آزادگان، ب. و مطلبی، ا. (۱۳۹۲) بررسی اثر اسید هیومیک بر اجزا عملکرد و دوام عمر گل شاخه بریدنی ژربرا. فصلنامه نظام مهندسی کشاورزی و منابع طبیعی، ۱۱: ۴۲.
- بیات، ح.، نعمتی، ح.، تهرانی فر، ع.، وحدتی، ن. و سلاح ورزی، ی. (۱۳۹۱) تأثیر سالیسیلیک اسید بر رشد و ویژگی های زینتی اطلسی ایرانی (*Petunia hybrida*) تحت شرایط تنش شوری. علوم و فنون کشت های گلخانه ای ۱۱: ۴۳-۵۰.
- چمنی، ا.، بنیادی، م. و قنبری، ع. (۱۳۹۴) تأثیر اسید سالیسیلیک و اسید هیومیک بر شاخص های رویشی گیاه زینتی دارویی پروانش (*Catharanthus roseus* L.) نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی) ۲۹: ۶۳۱-۶۴۱.
- حسین زاده، ح. و امامیان، ا. (۱۳۹۴) بررسی اثرات آتش سوزی و زغال ناشی از آن، دود حاصل از آتش و کاریکین موجود در دود در شکستن خواب بذر گیاهان. چهارمین همایش سراسری کشاورزی و منابع طبیعی پایدار، تهران. مؤسسه آموزش عالی مهر اروند-گروه ترویجی دستداران محیط زیست.
- شاهسون مارکده، م. و چمنی، ا. (۱۳۹۳) تأثیر غلظت و زمان های مختلف کاربرد اسید هیومیک بر ویژگی های کمی و کیفی گل بریده شب بو "رقم 'Hanza'". علوم و فنون کشت های گلخانه ای ۱۹: ۱۵۷-۱۷۰.
- صارم، ز.، مرادی، پ. و عمویی، ع. م. (۱۳۹۶) اثر محلول پاشی اسید سالیسیلیک و سولفات منگنز بر صفات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی خرفه (*Portulaca oleraca* L.). تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران ۳۳: ۴۱۰-۴۰۰.
- طالبی، پ.، جبارزاده، ز. و صدقیانی میرحسین، ر. (۱۳۹۵) تأثیر نحوه کاربرد و غلظت های مختلف هیومیک اسید بر عملکرد و میزان جذب عناصر معدنی گل رز مینیاتور رقم هفت رنگ. مجله به زراعی کشاورزی ۱۸: ۸۰۴-۷۸۹.
- عبدالهی، م.، موسوی، س.، و مهرشاد، ب. (۱۳۹۲) اثر عصاره آبی دود گیاهی بر روی جوانه زنی، صفات رشد فیزیولوژیکی و عملکرد پیاز (*Allium cepa* L.) در شرایط گلخانه ای (گزارش کوتاه علمی). پژوهش های تولید گیاهی (علوم کشاورزی و منابع طبیعی). ۲۰: ۲۰۱-۱۹۳.
- قاسمی جوشهر، ا. و خرمی وفا، م. (۱۳۹۱) اثر پیش تیمار اسید سالیسیلیک بر ویژگی های جوانه زنی همیشه بهار (*Callendulla officinalis*) در شرایط تنش شوری. فناوری تولیدات گیاهی ۱۲: ۵۷-۷۰.
- قاسمی قهساره، م. و کافی، م. (۱۳۹۱) گلکاری عمومی. انتشارات مؤلف.
- قنبری، ف.، صیدی، م.، اکبری، س. و گراوند، س. (۱۴۰۰) اثر اسید سالیسیلیک و کائولین بر رشد، عملکرد و برخی پاسخ های فیزیولوژیکی گوجه فرنگی تحت دوره های مختلف آبیاری. نشریه فرایند و کارکرد گیاهی ۱۰: ۲۳۴-۲۱۹.
- مرادی، ص.، عرب، م. و روزبان، م. (۱۳۹۰) تأثیر پلی آمین ها در افزایش عمر گلجایی و کیفیت گل های شاخه بریدنی میخک. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه تهران. مجتمع آموزشی ابوریحان.
- مردانی، ح.، بیات، ح. و عزیزی، م. (۱۳۹۰) تأثیر محلول پاشی سالیسیلیک اسید بر خصوصیات مورفولوژیک و فیزیولوژیک دانه های خیار (*Cucumis sativus* cv. Super Dominus) تحت شرایط تنش خشکی. نشریه علوم باغبانی ۲۵: ۳۲۶-۳۲۰.
- مهرشاد، ب.، حیدری، غ. ر.، سهرابی، ی.، عبدالهی، م. ر. و موسوی، س. س. (۱۳۸۹) اثر دود بر برخی از شاخص های رشدی گیاه توت روباهی (*Sanguisorba minor* L.). نشریه فناوری تولیدات گیاهی ۱۰: ۴۰-۳۱.

- میرزایی، ن.، جبارزاده، ز. و رسولی صدقیانی، م. ح. (۱۳۹۹) تأثیر کاربرد اسید هیومیک و نانوکلات کلسیم بر رنگیزه‌های فتوسنتزی و جذب عناصر غذایی در گل ژبررا (*Gerbera jamesonii*) رقم "دانی". نشریه فرایند و کارکرد گیاهی ۹: ۶۱-۷۶.
- Abedini, T., Moradi, P. and Hani, A. (2015) Effect of organic fertilizer and foliar application of humic acid on some quantitative and qualitative yield of pot marigold. *Journal of Novel Applied Sciences* 10: 1100-1103.
- Aremu, A. O., Bairu, M. W., Finnie, J. F. and Van Staden, J. (2012) Stimulatory role of smoke-water and karrikinolide on the photosynthetic pigment and phenolic contents of micropropagated 'Williams' bananas. *Plant Growth Regulation* 67: 271-279.
- Arnon, D. T. (1949) Copper enzymes in isolated chloroplasts polyphenol oxidase in beta vulgaris. *Plant Physiology* 24: 1-15.
- Bayat, H., Alirezaie, M. and Neamati, H. (2012) Impact of exogenous salicylic acid on growth and ornamental characteristics of calendula (*Calendula officinalis* L.) under salinity stress. *Journal of Stress Physiology and Biochemistry* 8: 258-267.
- Bradford, M. M. (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.
- Catav, S. S., Elgin, E. S., Dag, C., Stark, J. L. and Kucukakyuz, K. (2018) NMR-based metabolomics reveals that plant-derived smoke stimulates root growth via affecting carbohydrate and energy metabolism in maize. *Metabolomics* 14: 1-11.
- Celickel, F. G. and Reid, M. S. (2002) Postharvest handling of stock (*Matthiola incana*). *Journal of Horticultural Science* 37: 144-147.
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M. and Chern, J. C. (2002) Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis* 10.
- Clapp, C. E., Hayes, M. H. B. and Swift, R. S. (1993) Isolation, fractionation, functionalities, and concepts of structure of soil organic macromolecules. In: *Organic Substances in Soil and Water* (eds. Beck, A. J., Jones, K. C., Hayes, M. B. H. and Mingelgrin, U.) Royal Society of Chemistry, Cambridge.
- Delfine, S., Tognetti, R., Desiderio, E. and Alvino, A. (2005) Effect of foliar application of N and humic acids on growth and yield of durum wheat. *Agronomy for Sustainable Development* 25: 183-191.
- Dole, S. E. and Wilkins, H. F. (2004) *Floriculture Principles and Species*. Published by Pearson Education. 2nd Ed.
- El-Beltagi, H. S., Dhawi, F. and El-Ansary, A. E. (2020) Chemical compositions and biological activities of the essential oils from gamma irradiated celery (*Apium graveolens* L.) seeds. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 48: 2114-2133.
- El-Tayeb, M. A. (2005) Response of barley grains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. *Plant Growth Regulation* 45: 215-224.
- Gunes, A., Inal, A., Alpaslan, M., Eraslan, F., Bagci, E. G. and Cicek, N. (2007) Salicylic acid induced changes on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress and mineral nutrition in maize (*Zea mays* L.) grown under salinity. *Journal of Plant Physiology* 164: 728-736.
- He, P., Shan, L., Lin, N. C., Martin, G. B., Kemmerling, B., Nurenberg, T. and Sheen, J. (2006) Specific bacterial suppressors of MAMP signaling upstream of MAPKKK in Arabidopsis innate immunity. *Cell* 125: 563-575.
- Iqbal, M., Asif, S., Ilyas, N., Raja, N. I., Hussain, M., Ejaz, M. and Saira, H. (2018) Smoke produced from plants waste material elicits growth of wheat (*Triticum aestivum* L.) by improving morphological, physiological and biochemical activity. *Biotechnology Reports* 17: 35-44.
- Khaleda, L., Kim, M. G., Jeon, J. R., Cha, J. Y. and Kim, W. Y. (2017) Foliar application of humic acid or a mixture of catechol and vanillic acid enhanced growth and productivity of alfalfa. *Journal of the Korean Society of Grassland and Forage Science* 37: 248-253.
- Kulkarni, M. G., Ascough, G. D. and Van Staden, J. (2007) Effects of foliar applications of smoke-water and a smoke-isolated butenolide on seedling growth of okra and tomato. *HortScience* 42: 179-182.
- Morffy, N., Faure, L. and Nelson, D. C. (2016) Smoke and hormone mirrors: Action and evolution of karrikin and strigolactone signaling trends in genetics. 32: 176-188.
- Muscolo, A., Sidari, M. and Nardi, S. (2013) Humic substance: Relationship between structure and activity. Deeper information suggests univocal findings. *Journal of Geochemical Exploration* 129: 57-63.
- Nardi, S., Pizzeghello, D., Muscolo, A. and Vianello, A. (2002) Physiological effects of humic substances on higher plants. *Soil Biology and Biochemistry* 34: 1527-1536.
- Pacheco, A. C., Da Silva Carolina, C. Da Silva Fermino, E. S. and Aleman, C. (2013) Salicylic acid-induced changes to growth, flowering and flavonoids production in marigold plants. *Journal of Medicinal Plant Research* 7: 3158-3163.
- 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: 361-373.

- Sabzi, A., Hadavi, E. and Hekmati, J. (2012) Effect of different levels of malic acid and salicylic acid in preservative solution on the quality and vase life of cut rose flowers cultivars (Utopia). *International Journal of Agri Science* 2: 403-407.
- Sakhabutdinova, A. R., Fatkhutdinova, D. R., Bezrukova, M. V. and Shakirova, F. M. (2003) Salicylic acid prevents the damaging action of stress factors on wheat plants. *Bulgarian Journal of Plant Physiology* 21: 314-319.
- Saunders, J. A. and Mc Clure, J. W. (1974) The suitability of a quantitative spectrophotometric assay for phenylalanine ammonia-lyase activity in barley, buckwheat, and pea seedlings. *Plant Physiology* 54: 412-413.
- Shi, Q., Bao, Z., Zhu, Z., Ying, Q. and Qian, Q. (2006) Effects of different treatments of salicylic acid on heat tolerance, chlorophyll fluorescence, and antioxidant enzyme activity in seedlings of *Cucumis sativa* L. *Plant Growth Regulation* 48: 127-135.
- Singh, B. and Usha, K. (2003) Salicylic acid induced physiological and biochemical changes in wheat seedlings under water stress. *Plant Growth Regulation* 39: 137-141.
- Supapvanich, S. and Promyou, S. (2013) Efficiency of salicylic Acid Application on Postharvest Perishable Crops. Springer Netherlands 339-355.
- Tahir, M. M., Khurshid, M., Khan, M. Z., Abbasi, M. K. and Kazmi, M. H. (2011) Lignite-derived humic acid effect on growth of wheat plants in different soils. *Pedosphere* 21: 124-131.
- Taylor, J. L. S. and Van Staden, J. (1996) Root initiation in *Vigna radiata* (L.) Wilczek hypocotyl cuttings is stimulated by smoke-derived extracts. *Plant Growth Regulation* 18: 165-168.
- Veronica, M., Bacaicoa, E., Angel, M. Z., Elena, A., Maria, G., Marta, F. and Jose, M. G. 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.
- Wagner, G. J. (1979) Content and vacuole/extravacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanin in protoplasts. *Plant Physiology* 64: 88-93.
- Zhang, S. and Klessig, D. F. (1997) Salicylic acid activates a 48-kD MAP kinase in tobacco. *The Plant Cell* 9: 809-824.
- Zhong, Z., Kobayashi, T., Zhu, W., Imai, H., Zhao, R., Ohno, T., ... and Komatsu, S. (2020) Plant-derived smoke enhances plant growth through ornithine-synthesis pathway and ubiquitin-proteasome pathway in soybean. *Journal of Proteomics* 221: 103781.

Improvement of some morphological, biochemical and phenyl alanine ammonia lyase activity under effect of Karrikin, salicylic acid and humic acid in *Lisianthus (Eustoma grandiflorum cv. "Mariachi")*

Azin Haratian¹, Forogh mortazaeinezhad*², Sepideh Kalateh Jari ¹, Foad Fatehi ³

¹ Department of Horticultural Science and Agronomy, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

² Horticulture Department, Isfahan (khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

³ Department of Agriculture, Payame Noor University, Tehran, Iran

(Received: 15/01/2022, Accepted: 07/06/2022)

Abstract

In recent years, in the world and in Iran as well, attention to *Lisianthus* flowers has been such that its production has increased significantly. With the increase in the production of *Lisianthus* cut flowers, attention to nutrition and application of treatments to improve the growth and storability of this flower is felt more than ever. For this purpose, the effect of karrikin, salicylic acid and humic acid on the morphological and biochemical characteristics of *Lisianthus* was investigated in a factorial experiment in a completely randomized design with three replications. The studied treatments included application of karrikin (0, 1 and 2 mg.l⁻¹) as irrigation, salicylic acid (0, 100 and 200 mg.l⁻¹) and humic acid (0, 50 and 100 mg.l⁻¹) as foliar application. The results showed that the application of salicylic acid 100 mg.l⁻¹ had the greatest effect on morphological and biochemical parameters, meanwhile, in some traits such as shoot dry weight and leaf area, a concentration of 200 mg.l⁻¹ was more effective. Also, the use of humic acid increased the leaves and roots fresh and dry weight by increasing root expansion. karrikin treatment 1 mg.l⁻¹ increased the number of leaves, stem length and diameter and number of flowering stems, fresh and dry weight of roots, number of seed capsules and number of buds per branch. karrikin in combination with humic acid and especially salicylic acid with synergistic effect improved some parameters such as number of roots and leaves and flowering stems and the activity of phenylalanine ammonia lyase (PAL). Concomitant use of salicylic acid 100 mg.l⁻¹ with humic acid 50 mg.l⁻¹ as foliar application and application of Karrikin 1 mg.l⁻¹ as a plant solution is recommended to improve growth parameters and the quality of *lisianthus* flowers.

Keywords: Antioxidant enzyme, Smoke water, Biochemical index, Cut flowers, Wet and dry weight

Corresponding author, Email: mortazaeinezhad@khuisf.ac.ir