

## بررسی اثر اسید هیومیک بر خصوصیات فیزیولوژیکی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و عملکرد میوه فیسالیس (*Physalis peruviana* L.) تحت شرایط کم‌آبایی

سید امیرحسین موسوی، طاهر برزگر\*، فاطمه نکونام، زهرا قهرمانی و آرزو خانی

گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۸/۲۱، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۱/۰۹/۲۹)

### چکیده

به منظور بررسی اثر اسید هیومیک بر خصوصیات فیزیولوژیکی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و عملکرد فیسالیس (*Physalis peruviana* L.) تحت شرایط کم‌آبایی، آزمایشی به صورت کرت‌های خردشده در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی در سه تکرار در سال ۱۴۰۰ اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل سه سطح آبیاری (۱۰۰، ۸۰ و ۶۰ درصد نیاز آبی گیاه) و سه سطح اسید هیومیک (صفر، ۱/۵ و ۳ کیلوگرم در هکتار) بود. نتایج نشان داد که تنش کم‌آبایی به‌طور معنی‌داری عملکرد میوه را کاهش داد. کاربرد خاکی اسید هیومیک به‌طور معنی‌داری محتوای نسبی آب برگ، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و عملکرد گیاه را تحت شرایط آبیاری نرمال و کم‌آبایی افزایش و میزان نشت یونی برگ را کاهش داد. بیشترین مقدار فنل کل ( $1.8/1 \text{ mg gFW}^{-1}$ )، فلاونوئید کل ( $0.47 \text{ mg gFW}^{-1}$ )، فعالیت آنتی‌اکسیدانی ( $90/06$  درصد)، پرولین ( $5/91 \text{ mg gFW}^{-1}$ ) و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز ( $0.81 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ g}^{-1} \text{ FW min}^{-1}$ ) و پراکسیداز ( $1/92 \text{ units g}^{-1} \text{ FW min}^{-1}$ ) با کاربرد خاکی ۳ کیلوگرم در هکتار اسید هیومیک تحت شرایط کم‌آبایی ۶۰ درصد نیاز آبی گیاه فیسالیس به‌دست آمد. حداکثر عملکرد میوه ( $3 \text{ kg } 4793/3 \text{ ha}^{-1}$ ) در گیاهان تیمار شده با هیومیک اسید ۳ کیلوگرم در هکتار در شرایط آبیاری ۱۰۰ درصد مشاهده شد. با توجه به نتایج، کاربرد اسید هیومیک ۳ کیلوگرم در هکتار جهت بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و عملکرد میوه فیسالیس تحت شرایط آبیاری نرمال و کم‌آبایی پیشنهاد می‌شود.

کلمات کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، تنش کم‌آبی، پرولین، ترکیبات فنلی، نشت یونی

### مقدمه

(et al., 2018). این میوه در چند سال اخیر به دلیل مقادیر بالای ویتامین A، B و C و مواد معدنی فسفر و آهن و آنتی‌اکسیدان‌ها مورد توجه قرار گرفته است (Rabie et al., 2015). کم‌آبی یک تنش غیرزیستی عمده است که رشد و بهره‌وری گیاهان را به‌ویژه در مناطق خشک و نیمه‌خشک محدود می‌کند. کم‌آبی به‌طور کلی منجر به تغییر در صفات فیزیولوژیکی، موفولوژیکی، اکولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی

عروسک پشت‌پرده یا فیسالیس (*Physalis peruviana* L.) متعلق به خانواده Solanaceae، دارای بیش از ۱۲۰ گونه در دنیا است. گیاهی علفی، یکساله یا چندساله که منشأ آن مناطق معتدله و گرمسیری آمریکا، شرق آسیا و استرالیا است. از بین گونه‌های این جنس، گونه پروویانا دارای ارزش غذایی فراوان بوده و به علت طعم بی‌نظیر و عملکرد بالا مطرح است (Alam

\*نویسنده مسئول، نشانی پست الکترونیکی: tbarzegar@znu.ac.ir

نشان داده که اسید هیومیک از یک سو با توان بالای کلات‌کنندگی می‌تواند در بهبود فراهمی عناصر غذایی مانند نیتروژن، فسفر، آهن و روی به‌ویژه در خاک‌های قلیایی و آهکی مؤثر باشد (Ozfidan-Konakci *et al.*, 2018) و از سوی دیگر همانند یک مخزن عمل کرده و عناصر غذایی خاک را جذب نموده و آنها را به‌موقع در اختیار ریشه گیاهان قرار دهد که بدین‌ترتیب می‌تواند شرایط مناسبی را برای رشد گیاهان فراهم سازد (Turan *et al.*, 2011). اسید هیومیک می‌تواند با بهبود ساختمان خاک و کاهش تبخیر از سطح خاک به نگهداری آب در خاک کمک نموده و سبب بهبود جذب آب توسط گیاهان شود. این ویژگی سبب شده تا کاربرد اسید هیومیک در شرایط تنش کم‌آبی مورد توجه قرار بگیرد (Ozfidan-Konakci *et al.*, 2018). نتایج مطالعات نشان داده است که کاربرد اسید هیومیک اثرات نامطلوب تنش کم‌آبی در گیاه ذرت را کاسته و مقاومت آن را در شرایط تنش کم‌آبی با بهبود فعالیت آنتی‌اکسیدانی و سیستم دفاعی گیاه افزایش داد (Canellas *et al.*, 2015). همچنین گزارش کردند که کاربرد ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید هیومیک باعث افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان فنل کل در گوجه‌فرنگی شد و در نتیجه از میزان کاهش کلروفیل در طی تنش کم‌آبی کاسته شد (اصلانی و همکاران، ۱۳۹۸). گزارش شد کاربرد حاکی اسید هیومیک در گیاه تربچه رقم هندونه‌ای، رشد رویشی، عملکرد غده، محتوای ویتامین ث، آنتوسانین و مواد جامد محلول کل غده را بهبود بخشید (Barzegar *et al.*, 2021).

با توجه به اهمیت روزافزون این محصول در سال‌های اخیر تولید آن در ایران افزایش یافته است. از آنجایی‌که فیسالیس محصول با نیاز آبی بالا است و کمبود آب یک مشکل جدی در ایران است. بررسی‌های ما نشان داد که مطالعات آنچنانی در مورد اثر تنش کم‌آبی بر شاخص‌های فیزیولوژیکی گیاه فیسالیس و تعدیل اثرات منفی تنش با کاربرد اسید هیومیک انجام نشده اگرچه در مورد اثر ترکیبات هیومیک بر گیاهان مطالعات زیادی انجام شده، لذا این پژوهش با هدف بررسی اثر

گیاهان شده و می‌تواند بر کمیت و کیفیت رشد و عملکرد گیاهان تأثیر منفی داشته باشد (Salehi-Lisar and Bakhshayeshan-Agdam, 2020). کاهش در شدت فتوسنتز خالص، کاهش هدایت روزنه‌ها، کم شدن کارایی مصرف آب و کاهش مقدار کلروفیل گیاهان از جمله پیامدهای تنش کم‌آبی هستند (Pizzeghello *et al.*, 2013). اصلانی و همکاران (۱۳۹۸) گزارش کردند که با کاهش آبیاری از ۱۰۰ به ۸۰ درصد نیاز آبی در گوجه‌فرنگی، ارتفاع بوته، سطح برگ، کلروفیل، محتوای نسبی آب برگ و رشد و عملکرد بوته کاهش یافت و بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی و کارایی مصرف آب افزوده شد. به خوبی شناخته شده است که تنش کمبود آب با افزایش تولید گونه‌های اکسیژن فعال در اندامک‌های مختلف سلولی باعث تنش اکسیداتیو می‌شود که بر پایداری غشا و پراکسیداسیون لپیدی تأثیر می‌گذارد و در نتیجه باعث افزایش نفوذپذیری غشا و نشت یونی می‌شود. همچنین بر فرآیندهای مختلف بیولوژیکی و فیزیولوژیکی مانند سنتز کلروفیل، فتوسنتز و متابولیسم کربن تأثیر منفی می‌گذارد (Sachdev *et al.*, 2021). محتوای آب نسبی برگ یک شاخص مناسب برای ارزیابی وضعیت آب فیزیولوژیکی در برگ‌های گیاه است که تنش خشکی با کاهش پتانسیل آب برگ و کاهش جذب آب توسط ریشه، منجر به کاهش محتوای آب نسبی برگ می‌شود (Ashraf and Foolad, 2007). کم‌آبیاری یک راهبرد برای تولید پایدار محصولات کشاورزی در شرایط کمبود آب است (Kirmak *et al.*, 2002). تحت شرایط کم‌آبیاری، برخی از فرآیندهای فیزیولوژیکی مانند فتوسنتز، سنتز پروتئین و تولید انرژی تحت تأثیر قرار می‌گیرند (Chaves *et al.*, 2009).

امروزه استفاده از ترکیبات آلی مانند اسید هیومیک می‌تواند بسیاری از فرآیندهای مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در گیاهان را تحت تأثیر قرار داده و منجر به بهبود رشد گیاهان شود. همچنین کاربرد اسید هیومیک برای افزایش مقاومت گیاهان در برابر تنش‌های محیطی مورد توجه قرار گرفته است (Ozfidan-Konakci *et al.*, 2018). نتایج مطالعات

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه

بافت خاک	ماده آلی (%)	پتاسیم	سدیم (گرم بر کیلوگرم)	کلسیم	نیتروژن (%)	EC (دسی‌زیمنس بر متر)	pH
لوم رسی	۰/۹۴	۰/۲۰	۰/۱۳	۰/۱۲	۰/۰۷	۱/۴۹	۷/۴

اسید هیومیک بر خصوصیات فیزیولوژیکی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی فیسالیس تحت شرایط کم‌آبیاری انجام شد.

### مواد و روش‌ها

این پژوهش به صورت کرت‌های خردشده در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی در سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان در سال ۱۴۰۰ اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل سه سطح آبیاری (۱۰۰، ۸۰ و ۶۰ درصد نیاز آبی گیاه) و سه سطح اسید هیومیک (صفر، ۱/۵ و ۳ کیلوگرم در هکتار) که تیمار آبیاری به‌عنوان عامل اصلی و اسید هیومیک به‌عنوان عامل فرعی بود. اسید هیومیک مورد استفاده با نام تجاری هیومکس از شرکت Biotak Gh آمریکا محتوی ۷۹ درصد اسید هیومیک، ۱۲ درصد اکسید پتاسیم و ۱۲ درصد اسید فولویک بود. نتایج حاصل از تجزیه خاک در جدول ۱ آورده شده است.

بذرهای فیسالیس (*Physalis peruviana* L.) مورد نیاز از شرکت پاکان بذر اصفهان خریداری شد. بذرها در سینی‌های کاشت حاوی پیت‌ماس و پرلیت در گلخانه (دمای  $25 \pm 1$  روز و  $18 \pm 1$  شب با رطوبت نسبی ۶۰-۷۰ درصد) کشت شدند. پس از آماده شدن زمین، نشاها در مرحله چهارم- پنج برگی به زمین اصلی منتقل شدند. فاصله ردیف‌ها ۱۰۰ سانتی‌متر و فاصله بوته‌ها ۵۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. به مدت یک هفته به‌طور منظم آبیاری کامل برای همه گیاهان انجام گرفت و پس از استقرار اولیه گیاهان، کاربرد خاکی اسید هیومیک در دو مرحله قبل از گلدهی و بعد از گلدهی به فاصله ۲۰ روز صورت گرفت. تیمارهای آبیاری یک هفته پس از اولین کاربرد خاکی اسید هیومیک اعمال شد. نیاز آبی گیاه برای تیمار شاهد با استفاده از میانگین بلندمدت داده‌های روزانه و داده‌های سال

جاری شاخص‌های هواشناسی ثبت شده در ایستگاه هواشناسی زنجان و رابطه استاندارد فائو- پنمن- مانتیس برآورد گردید (وزیری و همکاران، ۱۳۸۷).

$$\text{ETc} = \text{ET}_0 \times \text{Kc} \quad (1)$$

ETc: نیاز آبی فیسالیس (میلی‌متر در روز)،  $\text{ET}_0$ : تبخیر- تعرق گیاه مرجع چمن (میلی‌متر در روز) و Kc: ضریب گیاهی فیسالیس (بدون واحد). لازم به توضیح است مقادیر  $\text{ET}_0$  بر اساس روش استاندارد فائو- پنمن- مانتیس برآورد شد. پس از محاسبه مقادیر ETc، مقادیر نیاز خالص و نیاز ناخالص آب آبیاری گیاه فیسالیس براساس فواصل کشت، نوع سیستم آبیاری (قطره‌ای- نواری) و دور آبیاری (سه روز) برآورد شد و سپس در هر نوبت آبیاری به گیاه داده می‌شد. نیاز آبی سایر تیمارها (تیمارهای تنش آبی) براساس نیاز آبی تیمار شاهد و درصد تنش آبی، برآورد و توزیع شد. در پایان دوره رشد، از هر واحد آزمایشی با حذف اثر حاشیه‌ای از پنج بوته نمونه‌برداری و برای اندازه‌گیری صفات مورد نظر به آزمایشگاه دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان منتقل شد.

**صفات مورد ارزیابی:** به منظور ارزیابی عملکرد، میوه‌ها پس از برداشت با ترازوی دیجیتال گرمی وزن شدند. عملکرد کل به صورت کیلوگرم در هکتار برآورد شد.

درصد نشت یونی برگ از طریق رابطه ۴ با تقسیم هدایت الکتریکی اولیه ( $\text{EC}_1$ ) بر هدایت الکتریکی سلول‌های مرده ( $\text{EC}_2$ ) محاسبه شد (Chartzoulakis and Klapaki, 2000).

$$\text{EL} = (\text{EC}_1 / \text{EC}_2) \times 100 \quad (2)$$

برای اندازه‌گیری درصد محتوای نسبی آب برگ (RWC)، ابتدا یک گرم از برگ‌های تازه (FW) توزین گردید. سپس برگ‌ها را به مدت ۲۴ ساعت درون آب مقطر غوطه‌ور شد. دوباره وزن گردید و وزن اشباع برگ‌ها (TW) اندازه‌گیری شد.

طول موج ۲۴۰ نانومتر تعیین و به ازای هر گرم پروتئین در عصاره آنزیمی بیان شد (Cakmak and Horst, 1991).

اندازه‌گیری پرولین برگ به روش نین‌هیدرین (Bates et al., 1973) با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد و در نهایت با توجه به منحنی استاندارد حاصل از غلظت‌های مختلف پرولین خالص که به صورت یک معادله رگرسیونی است، برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه شد.

برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه از رادیکال آزاد DPPH (2,2-Diphenyl- Picryl- Hydrazyl) استفاده شد. ابتدا عصاره‌های گیاهی در غلظت دو گرم در ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد تهیه شد. سپس مخلوطی به نسبت ۱:۱ از محلول DPPH (۸ mg/100) و عصاره‌های گیاهی با غلظت‌های متفاوت تهیه شد. جذب نمونه‌ها بعد از ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه در طول موج ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد. درصد مهار رادیکال آزاد DPPH نمونه‌ها از رابطه ۶ به دست آمد (Sun et al., 2007).

رابطه (۴)

$$\frac{(\text{جذب نمونه} - \text{جذب کنترل})}{\text{جذب کنترل}} \times 100 = \text{فعالیت آنتی‌اکسیدانی}$$
  
آنالیز داده‌های حاصل با استفاده از نرم‌افزار SAS V9 و مقایسه میانگین داده‌ها از طریق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح یک و پنج درصد مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

### نتایج و بحث

**نشت یونی برگ:** اعمال تنش کم‌آبایی به‌طور معنی‌داری میزان نشت یونی برگ را افزایش داد و کاربرد اسید هیومیک باعث کاهش نشت یونی و افزایش پایداری غشا در برگ فیسالیس گردید (جدول ۲). نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین مقدار نشت یونی در برگ گیاهان شاهد، تحت شرایط آبیاری ۶۰ درصد نیاز آبی حاصل شد و با کاربرد اسید هیومیک در سطح ۳ کیلوگرم در هکتار تحت شرایط آبیاری

در نهایت برگ‌ها را به مدت ۲۴ ساعت درون آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و وزن خشک برگ‌ها (DW) تعیین گردید. در نهایت محتوای نسبی آب برگ با استفاده از رابطه سه محاسبه گردید (Hanson and Hitz, 1982).  
رابطه (۳)

$$RWC (\%) = (FW - DW) / (TW - DW) \times 100$$

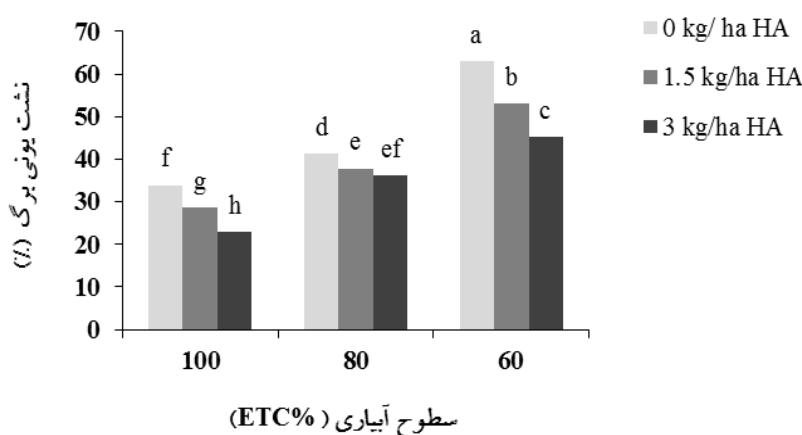
محتوای فنل کل میوه به روش فولین سیکالچو ارزیابی شد. محتوای فنل کل برحسب میلی‌گرم معادل اسید گالیک بر گرم وزن تر میوه گزارش شد (Meda et al., 2005). محتوای فلاونوئید میوه عصاره با استفاده از روش رنگ‌سنجی ارزیابی شد (Chang et al., 2002). میزان فلاونوئید با استفاده از منحنی استاندارد براساس میلی‌گرم کوئرستین در گرم وزن تر گزارش شد.

برای تهیه عصاره آنزیمی یک گرم نمونه گیاهی در پنج میلی‌لیتر بافر استخراج پتاسیم فسفات ۲۰۰ میلی‌مولار (pH=۷) در هاون، ساییده شد. تمام مراحل استخراج در یخ انجام گرفت. سپس عصاره‌ها به مدت ۳۰ دقیقه با ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. قسمت بالایی محلول به عنوان عصاره آنزیمی جدا و در فریزر با دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. فعالیت آنزیم پراکسیداز (POX) با استفاده از پیش‌ماده گایاکول اندازه‌گیری شد. افزایش جذب براساس میزان اکسیدشدن گایاکول در طول موج ۴۷۰ نانومتر به مدت ۳ دقیقه برحسب  $(\text{units. g}^{-1} \text{FW.min}^{-1})$  به روش اسپکتروفتومتری (اسپکتروفتومتر JENWAY مدل UV-6505) در دمای آزمایشگاه اندازه‌گیری شد (Chance and Maehly, 1955). برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) ابتدا دستگاه اسپکتروفتومتر روی طول موج ۲۴۰ نانومتر و مدت زمان یک دقیقه و با فاصله زمانی پنج ثانیه تنظیم شد. برای خواندن نمونه‌ها از مخلوط واکنش با حجم نهایی ۲۹۳۰ میکرولیتر حاوی ۲۹۰۰ میکرولیتر بافر سدیم پتاسیم فسفات، ۱۵ میکرولیتر پراکسید هیدروژن و ۱۵ میکرولیتر عصاره آنزیمی برگ استفاده شد. تجزیه آب اکسیژنه با کاهش جذب در

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر اسید هیومیک بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی فیسالیس تحت شرایط کم آبیاری

میانگین مربعات				درجه آزادی	منابع تغییرات
آنزیم پراکسیداز	آنزیم کاتالاز	محتوای نسبی آب برگ	نشت یونی برگ		
۰/۰۰۳۸	۰/۰۰۰۰۵	۰/۰۸۳	۲/۹۳۲	۲	تکرار
۰/۶۰۹۸**	۰/۱۹۷۵**	۶۹۴/۷۷۸**	۱۴۶۶/۵۲**	۲	آبیاری
۰/۰۰۳۵	۰/۰۰۰۰۵	۴/۱۹۳	۶/۱۹۱	۴	خطای کرت اصلی
۰/۳۰۶۹**	۰/۲۷۶۴**	۲۶۳/۲۴۱**	۲۹۰/۲۲**	۲	اسید هیومیک
۰/۲۳۱۵**	۰/۰۰۸۹**	۲۴۱/۴۴۴**	۳۰/۱۸۲**	۴	آبیاری × اسید هیومیک
۰/۰۰۸۱	۰/۰۰۰۰۵	۱/۶۲۳	۳/۲۱۵	۱۲	خطای کرت فرعی
۵/۷۷۸	۴/۷۵۶	۱/۸	۴/۴	-	ضریب تغییرات

ns، \* و \*\*: به ترتیب غیرمعنی دار، معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد است.



شکل ۱- اثر اسید هیومیک (HA) بر میزان نشت یونی برگ فیسالیس تحت شرایط کم آبیاری. حروف مشابه نشان دهنده عدم معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن هستند.

پایداری غشا در شرایط کم آبی بیان شده است. زمانی که محتوای آب در اندام‌های گیاه تحت تنش کم آبی کاهش می‌یابد موجب اختلال در فعالیت‌های غشای سلول و در نهایت افزایش تراوایی و نشت یونی از سلول و مرگ آن می‌شود (Apel and Hirt, 2004). تنش کم آبی با القای تنش اکسیداتیو و تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن، سبب پراکسیداسیون اسیدهای چرب غشاهای سلولی شده و نفوذپذیری غشا و نشت یونی را افزایش می‌دهد و سبب کاهش پایداری غشای سلول می‌شود (Hassani Moghadam et al., 2016). نتایج به دست آمده با

۱۰۰ درصد نیاز آبی نشت یونی به کمترین مقدار کاهش یافت (شکل ۱).

پراکسیداسیون لیپیدی مالون دی‌آلدئید محصول پراکسیداسیون لیپیدی غشای سلولی است که به همراه نشت یونی شاخصی برای اندازه‌گیری نفوذپذیری غشای سلول است (Lotfi et al., 2015). غشاهای سلولی از اولین بخش‌های سلول است که توسط تنش‌های محیطی آسیب می‌بیند. حفظ یکپارچگی و ثبات غشای سلولی تحت شرایط تنش کم آبی یکی از اجزای مهم تحمل به کم آبی در گیاهان است (Ahmadizadeh et al., 2011). دلایل زیادی برای کاهش

نتایج پژوهش‌های پیشین در هندوانه ابوجهل (Mohammadzade and Soltani, 2015) همخوانی دارد.

به نظر می‌رسد افزایش پراکسیداسیون لیپید یا نشت یونی در این گیاه در شرایط تنش کم‌آبیری ناشی از افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن در شرایط تنش اکسیداتیو است که حذف یا جاروب کردن آنها خارج از توان گیاه بوده است و نشان می‌دهد که مکانیسم‌های دفاعی گیاه در مقابل تنش کافی نبوده است. در صورتی که استفاده از اسید هیومیک به‌خصوص ۳ کیلوگرم در هکتار با افزایش سطح ترکیبات فنلی، پرولین و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، به‌طور قابل توجهی میزان نشت یونی را کاهش داد و به‌طور مؤثری سبب افزایش در پایداری غشا و کاهش اثرات سو این تنش گردید (Ashraf and Foolad, 2007). نتایج حاصل با نتایج مربوط به لوبیا سبز، که در آن کاربرد اسید هیومیک تحت تنش مانع از افزایش نشت یونی گردید، مطابقت دارد (Aydin et al., 2012). همچنین حقیقی و نجفی (۱۳۹۸)، گزارش کردند با کاربرد اسید هیومیک در شرایط تنش کم‌آبی از درصد نشت یونی گوجه‌فرنگی کاسته می‌شود.

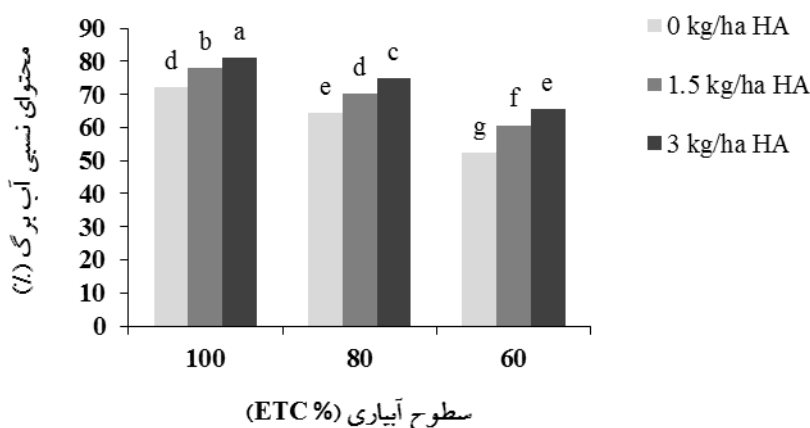
**محتوای نسبی آب برگ:** نتایج نشان داد که اعمال کم-آبیری محتوای نسبی آب برگ را به‌طور معنی‌داری کاهش داد، به‌طوری‌که بیشترین مقدار آنها در تیمار ۱۰۰ درصد نیاز آبی گیاه و کمترین مقدارشان در شرایط کم‌آبیری ۶۰ درصد نیاز آبی به دست آمد. تیمار اسید هیومیک به‌طور معنی‌داری مانع از کاهش محتوای نسبی آب برگ شد (جدول ۲). طبق نتایج اثرات متقابل مشخص شد که بیشترین محتوای نسبی آب برگ (۸۰/۸ درصد) با کاربرد تیمار اسید هیومیک ۳ کیلوگرم در هکتار تحت شرایط آبیاری ۱۰۰ درصد حاصل شد و کمترین درصد محتوای نسبی آب برگ (۵۲/۴ درصد) در شرایط کم‌آبیری ۶۰ درصد نیاز آبی بدون تیمار اسید هیومیک به‌دست آمد (شکل ۲).

محتوای نسبی آب برگ به عنوان یک شاخص قابل اطمینان و گسترده برای ارزیابی حساسیت گیاه به کم‌آبی استفاده می‌شود (Sanchez-Rodriguez et al., 2010). اولین پاسخ همه

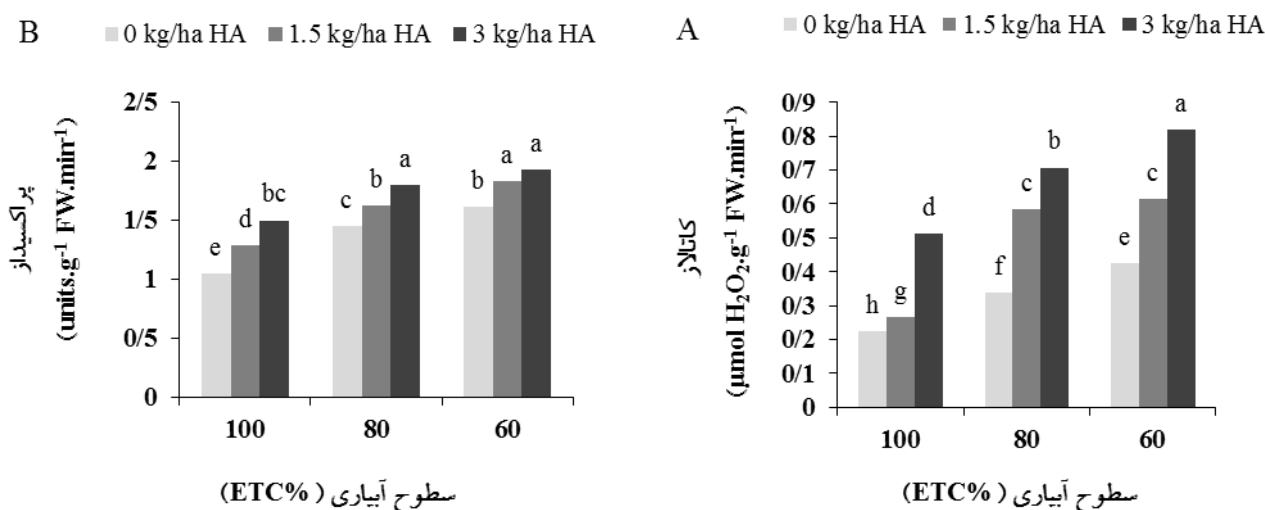
گیاهان به کمبود آب، بستن روزنه‌ها جهت کاهش اتلاف آب از طریق تعرق است. گیاهان می‌توانند به سرعت به تنش آبی به عنوان دفاعی در برابر از دست دادن آب، با تغییر در هدایت روزنه‌ای و کاهش تعرق پاسخ دهند. روابط آب نیز عمدتاً توسط محتوای نسبی آب و پتانسیل آب در برگ‌ها تغییر می‌کند و ارزیابی می‌شود که در برخی از مطالعات قبلی برای فیسالیس گزارش شده است (Segura-Monroy et al., 2015).

در تأیید نتایج پژوهش حاضر، گزارش شده که محتوای نسبی آب گیاه هندوانه در شرایط تنش خشکی به میزان ۲۰ تا ۲۵٪ کاهش یافت (Ferus et al., 2011). مواد هیومیکی با افزایش نفوذپذیری غشای سلولی ریشه، توانایی جذب آب و مواد غذایی را در ریشه افزایش داده و در نتیجه، محتوای نسبی آب برگ را در شرایط تنش کم‌آبی افزایش می‌دهند و اثرات سو تنش را تعدیل می‌بخشند (Aggag et al., 2015). همچنین اسید هیومیک با گسترش سیستم ریشه، شرایط بهینه برای افزایش جذب آب توسط گیاه را فراهم می‌کند و با پیوند شدن با مولکول‌های آب تا حدود زیادی تبخیر آب را کاهش می‌دهد و سبب حفظ محتوای رطوبت نسبی گیاه می‌شود (Bronick and Lai, 2005). با توجه به نتایج، بالا رفتن میزان پرولین در بافت‌های گیاهی با کاربرد اسید هیومیک، به‌نوعی بیانگر فعال شدن مکانیسم تنظیم اسمزی است که شرایط را برای جذب بیشتر آب از محیط ریشه فراهم می‌آورد (Ashraf and Foolad, 2007). حقیقی و نجفی (۱۳۹۸)، گزارش کردند که محتوای نسبی آب برگ در گوجه‌فرنگی با کاربرد خاکی اسید هیومیک در شرایط تنش کم‌آبیری افزایش یافت.

**فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز برگ:** نتایج نشان داد با افزایش شدت تنش کم‌آبی میزان فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز در برگ به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. کاربرد خاکی اسید هیومیک نیز فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز را افزایش داد (جدول ۲). بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز با کاربرد ۳ کیلوگرم در هکتار اسید هیومیک در شرایط کم-آبیری ۶۰ درصد نیاز آبی گیاه حاصل شد و بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز به ترتیب با کاربرد ۳ و ۱/۵ کیلوگرم در هکتار



شکل ۲- اثر اسید هیومیک (HA) بر محتوای نسبی آب برگ فیسالیس تحت شرایط کم آبیاری. حروف مشابه نشان دهنده عدم معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن هستند.



شکل ۳- اثر اسید هیومیک (HA) بر میزان آنزیم‌های کاتالاز (A) و پراکسیداز (B) فیسالیس تحت شرایط کم آبیاری. حروف مشابه نشان دهنده عدم معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن هستند.

پاکسازی و جاروب کردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شوند (Ahmadizadeh *et al.*, 2011). افزایش فعالیت کاتالاز در گیاهان یک ویژگی سازشی بوده و با کاهش میزان پراکسید هیدروژن از متابولیسم سلولی و آسیب رسیدن به بافت جلوگیری می‌کند (Gill and Tuteja, 2010). در پژوهشی با بررسی اثر تنش کم‌آبی بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی دریافتند که تنش کم‌آبیاری سبب افزایش فعالیت در چندین آنزیم آنتی‌اکسیدان از جمله گایاکول پراکسیداز می‌شود (Abedi *et al.*, 2012). همچنین افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در پونه

اسید هیومیک در شرایط کم آبیاری ۶۰ و ۳ کیلوگرم در هکتار اسید هیومیک در تیمار آبیاری ۸۰ درصد نیاز آبی گیاه به دست آمد (شکل ۳).

تحقیقات مختلف نشان داده است که یک ارتباط قوی بین تحمل به تنش‌های اکسیداتیو که به دلیل تنش‌های محیطی ایجاد می‌شود و افزایش در غلظت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و پراکسیداز در گیاهان وجود دارد (Shen *et al.*, 2010). آنزیم‌های پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز با شکستن هیدروژن پراکسید (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) به آب و اکسیژن، سبب

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر اسید هیومیک بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی و عملکرد میوه فیسالیس تحت شرایط کم آبیاری

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		پرولین	فنل کل	فلاونوئید	فعالیت آنتی اکسیدانی
تکرار	۲	۰/۰۲۰۱	۲/۰۴	۰/۰۰۰۴	۰/۴۹۴
آبیاری	۲	۶/۱۱۷**	۱۴۲/۴۳۳**	۰/۰۴۱**	۳۵۸/۷۰۴**
خطای کرت اصلی	۴	۰/۰۱۹	۰/۸۰۱	۰/۰۰۰۳	۶/۷۷۸
اسید هیومک	۲	۳/۳۱۸**	۲۸/۴۲۸**	۰/۰۱۳**	۳۱۹/۵۴۴**
آبیاری × اسید هیومیک	۴	۱/۷۴۹**	۴۲/۹۸۶**	۰/۰۱۳**	۱۷۳/۵۴۷**
خطای کرت فرعی	۱۲	۰/۰۱۷	۰/۵۵۴	۰/۰۰۰۱	۴/۱۸۷
ضریب تغییرات	-	۳/۹۱۲	۶/۱۳۴	۳/۳۴۴	۲/۶۶۶
عملکرد کل					۲۶۹۲۰/۱۷۳
					۳۱۶۰۳۰۶/۰۸۴**
					۷۸۶۳۲/۹۹۱
					۱۱۳۹۵۸۴/۲۱۸**
					۱۵۵۹۹۱/۱۰۲*
					۳۵۳۹۶/۱۹
					۵/۳

ns، \* و \*\*: به ترتیب غیرمعنی دار، معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد است.

هیومیک در شرایط کم آبیاری ۶۰ درصد نیاز آبی گیاه به طور قابل توجهی محتوای پرولین را افزایش داد (شکل ۴).

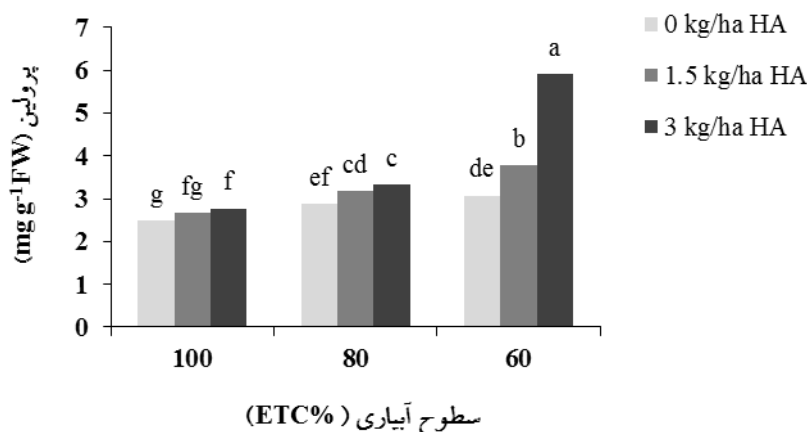
گیاهان در شرایط تنش های محیطی از قبیل تنش کم آبی با تجمع ترکیبات اسمزی مانند پرولین و تغییرات در هورمون های گیاهی با این تنش ها مقابله می کنند. پرولین اسید آمینه ای است که افزایش غلظت آن فراوان ترین و عمومی ترین پاسخی است که به محض ایجاد تنش مشاهده می شود (Suriyan and Chalermpol, 2009). افزایش پرولین در طول دوره تنش کم آبی ممکن است نتیجه تجزیه پروتئین ها و نیز کاهش استفاده از آن ها به دلیل کاهش رشد گیاه باشد (Movahhedi Dehnavi et al., 2011). گزارش شده است که تنش خشکی باعث کاهش فعالیت آنزیم های تجزیه کننده پرولین (پرولین اکسیداز) در گوجه فرنگی گردید که نتیجه آن تجمع پرولین در شرایط تنش است (Khan et al., 2013). اسید هیومیک با افزایش در میزان جذب و انتقال نیتروژن و همچنین افزایش میزان سنتز ترکیبات آلی نیتروژن دار مانند پروتئین و اسیدهای آمینه، با تجمع بیشتر پرولین در گیاه سبب حذف رادیکال های آزاد اکسیژن و افزایش تحمل به کم آبی می گردد (Sharifa et al., 2002).

**محتوای فنل کل، فلاونوئید و فعالیت آنتی اکسیدانی میوه:** نتایج به دست آمده نشان داد با افزایش شدت تنش کم آبیاری به طور معنی داری بر میزان فنل، فلاونوئید و فعالیت آنتی اکسیدانی میوه افزوده شد (جدول ۳ و شکل ۵). همچنین

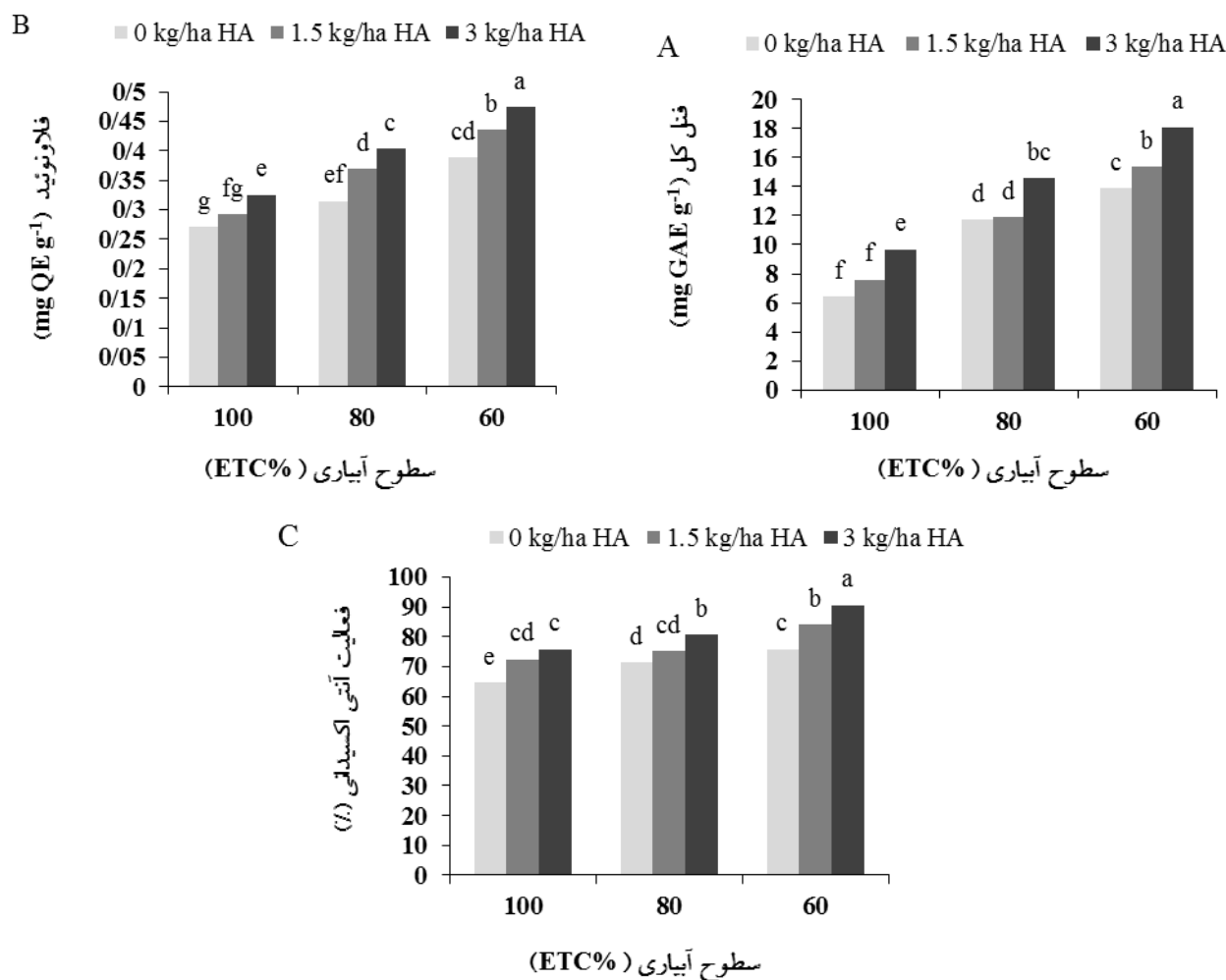
(Hassanpour and Niknam, 2014)، فعالیت آنزیم کاتالاز در خربزه (Kavas et al., 2013) و گوجه فرنگی (Sanchez-Rodriguez et al., 2010) تحت تنش کم آبیاری گزارش شده است.

در پژوهش حاضر، کاربرد اسید هیومیک و تنش کم آبیاری تأثیر معنی داری بر افزایش میزان فعالیت آنزیم های آنتی-اکسیدانی داشت که این افزایش بیانگر فعال شدن سیستم آنتی-اکسیدانی برای از بین بردن رادیکال های آزاد اکسیژن در مقابله با تنش کم آبیاری است. از اثرات بیوشیمیایی اسید هیومیک، می توان به نقش مهم آن در افزایش سنتز پروتئین هایی مانند آنزیم های آنتی اکسیدانی اشاره کرد (Cimrin et al., 2010). همچنین کاربرد اسید هیومیک در محیط کشت بافت باعث افزایش فعالیت آنزیم های کاتالاز گردید (Elmongy et al., 2018). همچنین مشاهده شده که در شرایط تنش کم آبیاری کاربرد اسید هیومیک سبب بهبود فعالیت آنتی اکسیدانی و افزایش آنزیم های آنتی اکسیدان گیاه کلزا در برابر تنش شده است (Lotfi et al., 2015).

**محتوای پرولین برگ:** نتایج به دست آمده از اندازه گیری پرولین نشان داد که با افزایش شدت تنش کم آبیاری محتوای پرولین برگ افزایش یافت. تیمار اسید هیومیک تأثیر معنی داری بر محتوای پرولین داشت (جدول ۳). طبق نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل داده ها، کاربرد ۳ کیلوگرم در هکتار اسید



شکل ۴- اثر اسید هیومیک (HA) بر محتوای پرولین فیسالیس تحت شرایط کم آبیاری. حروف مشابه نشان دهنده عدم معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن هستند.



شکل ۵- اثر اسید هیومیک (HA) بر محتوای فنل کل (A)، فلاونوئید (B) و فعالیت آنتی اکسیدانی (C) میوه فیسالیس تحت شرایط کم آبیاری. حروف مشابه نشان دهنده عدم معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن هستند.

نشان می‌دهد اسید هیومیک به خصوص در سطح ۳ کیلوگرم در هکتار با افزایش معنی‌دار مقدار فنل کل و فلاونوئید، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و پراکسیداز، سبب افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و در نهایت تحمل بهتر شرایط تنش برای گیاهان گردید.

**عملکرد میوه:** اعمال تنش کم‌آب‌یاری به‌طور معنی‌داری عملکرد میوه را کاهش داد و کاربرد اسید هیومیک باعث افزایش مقدار عملکرد میوه گردید (جدول ۳). نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین مقدار عملکرد میوه (۴۷۹۳/۳ کیلوگرم در هکتار) در گیاهان تیمار شده با ۳ کیلوگرم در هکتار اسید هیومیک تحت شرایط آبیاری ۱۰۰ درصد نیاز آبی مشاهده شد و کمترین مقدار آن‌ها در تیمار شاهد اسید هیومیک تحت شرایط تنش کم‌آب‌یاری ۶۰ درصد نیاز آبی حاصل شد (شکل ۶).

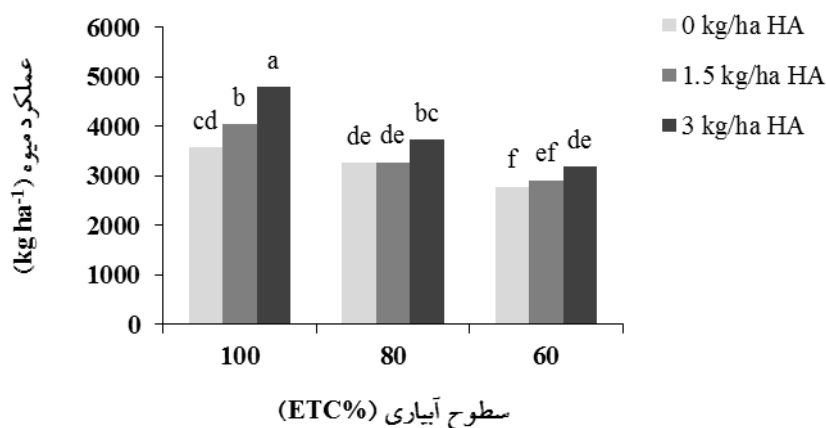
هر گیاهی جهت تولید میوه بیشتر و رشد مناسب آن‌ها و به عبارتی دستیابی به عملکرد بالا، نیازمند رشد رویشی مناسب و داشتن ذخایر غذایی کافی است. این رشد مناسب در صورت جذب بهینه و کافی آب و عناصر غذایی توسط ریشه‌ها میسر خواهد شد (Turhan and Eris, 2005). برای انجام فتوسنتز، توسعه سطح برگ و تبادلات گازی، باز بودن روزنه‌ها ضروری است. بنابراین در اثر کمبود آب و بسته شدن روزنه‌ها تبادلات گازی کاهش یافته، دی‌اکسید کربن کمتری در دسترس گیاهان قرار می‌گیرد و شدت فتوسنتز کاهش می‌یابد، همچنین تنش کم‌آبی عمدتاً رشد برگ و در نتیجه سطح برگ را در بسیاری از گونه‌ها کاهش می‌دهد که این امر موجب کاهش تولید مواد فتوسنتزی می‌گردد. کاهش فتوسنتز منجر به کاهش رشد و عملکرد تولیدی در گیاهان خواهد شد (Farooq et al., 2009). در مطالعه انجام‌شده در کاهو با کاهش میزان آبیاری از ۱۰۰ درصد نیاز آبی به ۷۰ درصد نیاز آبی، تعداد برگ و عملکرد بوته کاهش یافت (Khani et al., 2020).

نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از اسید هیومیک توانست آثار منفی تنش کم‌آبی بر عملکرد میوه فیسالیس را بکاهد و با افزایش غلظت اسید هیومیک اثر بخشی آن نیز

کاربرد خاکی اسید هیومیک سبب افزایش در میزان آنها شد. نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین مقدار فنل (۱۸/۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر)، فلاونوئید (۰/۴۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۹۰/۶ درصد) در گیاهان تیمار شده با اسید هیومیک ۳ کیلوگرم در هکتار تحت شرایط آبیاری ۶۰ درصد نیاز آبی حاصل گردید (شکل ۵). در شرایط آبیاری ۱۰۰ و ۸۰ درصد نیاز آبی گیاه، تفاوت معنی‌داری بین میزان فنل در تیمارهای صفر و ۱/۵ اسید هیومیک مشاهده نشد ولی تیمار ۳ کیلوگرم در هکتار اسید هیومیک بیشترین مقدار را داشت (شکل ۵).

زمانی که گیاه در معرض تنش کم‌آبی قرار می‌گیرد مقدار زیادی از گونه‌های فعال اکسیژن مانند آنیون‌ها، سوپر اکسیدها، رادیکال‌های هیدروکسید و پراکسید هیدروژن تولید می‌شود (Jubany-Mari et al., 2010). برای کاهش گونه‌های فعال اکسیژن، گیاهان سیستم‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی که شامل اجزای آنزیمی و غیر آنزیمی شامل ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها است را توسعه داده‌اند (Bernstein et al., 2010). در گیاهان افزایش سنتز فنل و فلاونوئید یک واکنش مشترک به تنش است. این ترکیبات به عنوان گیرنده رادیکال‌های آزاد عمل می‌کنند و گیاهان را در برابر تنش‌های اکسیداتیو محافظت می‌کنند، همچنین فلاونوئیدها به دلیل داشتن نقش آنتی‌اکسیدانی به‌طور مستقیم با وارد شدن در واکنش‌های احیایی و یا به‌طور غیرمستقیم به‌وسیله کلات کردن آهن مانع تنش اکسیداتیو می‌شوند (Seyoum et al., 2006). همبستگی بالایی بین محتوای فنل کل و فلاونوئید با فعالیت آنتی‌اکسیدانی وجود دارد (Barbagallo et al., 2012). همچنین محتوای فنل و فلاونوئید کل در کاهو تحت شرایط کم‌آب‌یاری که با افزایش در فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه همراه است، گزارش شده است (Khani et al., 2020).

اسید هیومیک سبب سنتز ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها شده و در نتیجه باعث افزایش در فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه می‌شود (Theunissen et al., 2010) که با نتایج اصلانی و همکاران (۱۳۹۸) در گیاه گوجه‌فرنگی مطابقت دارد. همان‌طور که نتایج



شکل ۶- اثر اسید هیومیک (HA) بر عملکرد میوه بوته فیسالیس تحت شرایط کم آبیاری. حروف مشابه نشان‌دهنده عدم معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن هستند.

با توجه به نتایج حاصل از آزمایش می‌توان بیان نمود که کم آبیاری تأثیر معنی‌داری بر گیاه فیسالیس دارد. با اعمال کم آبیاری محتوای نسبی آب و عملکرد بوته کاهش و نشت یونی برگ، تجمع پرولین و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی برای مقابله با اثرات زیان‌بار تنش اکسیداتیو ناشی از کم آبیاری افزایش یافت. استفاده از اسید هیومیک اثرات مثبت و معنی‌داری بر گیاه فیسالیس در شرایط کم آبیاری داشت، به طوری که سبب بهبود خصوصیات فیزیولوژیکی، ترکیبات فنلی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی برگ‌ها و عملکرد میوه شد. استفاده از اسید هیومیک ۳ کیلوگرم در هکتار منجر به حفظ محتوای آب برگ و کاهش نشت یونی برگ شد که می‌توان استنباط نمود با کاهش میزان آب مصرفی و کاربرد اسید هیومیک می‌توان پایداری غشا را افزایش داد و با افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی و تجمع پرولین برای مقابله با تنش اعمال شده، عملکرد بوته را به طور معنی‌داری افزایش داد. لذا براساس نتایج حاصل و با توجه به بحران کم‌آبی کنونی، استفاده از اسید هیومیک ۳ کیلوگرم در هکتار در شرایط آبیاری نرمال و کم آبیاری در جهت تعدیل اثرات مضر تنش کم‌آبی و بهبود عملکرد فیسالیس می‌تواند مفید واقع شود.

بیشتر شد به طوری که مقدار عملکرد میوه در سطح تنش ۶۰ درصد با کاربرد ۳ کیلوگرم در هکتار اسید هیومیک تفاوت معنی‌داری با عملکرد گیاهان شاهد (تیمار سطح صفر اسید هیومیک) تحت آبیاری ۱۰۰ درصد نیاز آبی گیاه نشان نداد. اسید هیومیک با افزایش ظرفیت تبادل کاتیونی، ظرفیت نگهداری آب در خاک و همچنین ایفای نقش بر روی نفوذپذیری غشا به عنوان ناقل پروتئین، فعال کردن تنفس، چرخه کربس، فتوسنتز و تولید آمینواسید و آدنوزین تری فسفات باعث افزایش رشد و عملکرد گیاهان شود (Muscolo *et al.*, 2013). علاوه بر این اسید هیومیک حاصلخیزی خاک را بهبود بخشیده، قابلیت دسترسی و جذب عناصری نظیر نیتروژن، کلسیم، فسفر، پتاسیم، منگنز، آهن، روی و مس را افزایش داده و در نتیجه موجب افزایش رشد گیاه و عملکرد می‌شود (Chowdhury *et al.*, 2017). نتایج این پژوهش با نتایج کاربرد اسید هیومیک در گیاه خیار (El-Nemr *et al.*, 2012)، فلفل (Karakurt *et al.*, 2009) و بامیه (برزگر و همکاران، ۱۳۹۶) همخوانی دارد.

نتیجه‌گیری

## منابع

- اصلانی، ش.، برزگر، ط. و نیکبخت، ج. (۱۳۹۸) تأثیر محلول پاشی برگ‌گی اسید هیومیک بر رشد، عملکرد و کیفیت میوه گوجه‌فرنگی گیلاسی (*Lycopersicon pimpinellifolium* L.) تحت تنش کم‌آبیاری. فرآیند و کارکرد گیاهی ۸: ۸۳-۶۹.
- برزگر، ط.، اصفهانی، ز.، قهرمانی، ز. و نیکبخت، ج. (۱۳۹۶) بررسی برخی پاسخ‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گوجه‌فرنگی رقم ریوگرند (*Lycopersicon esculentum* cv. Rio Grande) به محلول پاشی ماده زیست‌محرك تحت تنش کم‌آبی. فرآیند و کارکرد گیاهی ۸: ۲۳۹-۲۲۹.
- حقیقی، م. و نجفی، ح. (۱۳۹۸) اثر هیومیک اسید بر کاهش اثرات تنش خشکی در گیاه گوجه‌فرنگی (*Lycopersicon esculentum* Mil.). دو فصلنامه علمی پژوهشی علوم سبزی‌ها ۳: ۱۵۸-۱۴۷.
- وزیری، ژ.، سلامت، ع.، انصاری، م.، مسچی، م.، حیدری، ن. و دهقانی‌سانچ، ح. (۱۳۸۷) تبخیر- تعرق گیاهان (دستورالعمل محاسبه آب مورد نیاز گیاهان). ترجمه انتشارات کمیته ملی آبیاری و زهکشی ایران، تهران.
- Abedi, T. and Pakniyat, H. (2012) Antioxidant enzyme changes in response to drought stress in ten cultivar of oilseed rape (*Brassica napus* L.). Czech Journal of Genetics and Plant Breeding 46: 27-34.
- Aggag, A. M., Alzoheiry, A. M. and Abdallah, A. E. (2015) Effect of kaolin and fulvic acid anti-transpirants on tomato plants grown under different water regimes. Alexandria Scienc Exchange Journal 36: 2-15.
- Ahmadizadeh, M., Valizadeh, M., Zaefizadeh, M. and Shahbazi, H. (2011) Antioxidative protection and electrolyte leakage in durum wheat under drought stress condition. Journal of Applied Sciences Research 7: 236-246.
- Alam, I., Kumar, A., Mohan Kumar, B. and Kumar Ravi, A. (2018) Effect of different chemicals in enhancing yield of cape- gooseberry. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences 7: 3239-3245.
- Apel, K. and Hirt, H. (2004) Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stress, and signal transduction. Plant Biology 55: 373-399.
- Ashraf, M. and Foolad, M. R. (2007) Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environmental Experimental Botany 59: 206-216.
- Aydin, A., Kant, C. and Turan, M. (2012) Humic acid application alleviate salinity stress of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants decreasing membrane leakage. African Journal of Agricultural Research 7: 1073-1086.
- Barbagallo, R. N., Chisari, M. and Patane, C. (2012) Polyphenol oxidase total phenolics and ascorbic acid changes during storage of minimally processed 'California Wonder' and 'Quadrato d'Asti' sweet peppers. Food Science and Technology 49: 192-196.
- Barzegar, T., Mahmoodi, S., Nekounam, F., Ghahremani, Z. and Khademi, O. (2021) Effects of humic acid and cytokinin on yield, biochemical attributes and nutrient elements of radish (*Raphanus sativus* L.) cv. Watermelon. Journal of Plant Nutrition 45: 1582-1598.
- Bates, L. S., Waldren, R. P. and Tevre I. V. (1973) Rapid determination of free proline for water- stress studies. Plant and Soil 39: 205-207.
- Bernstein, N., Shores, M., Xu, Y. and Huang, B. (2010) Involvement of the plant antioxidative response in the differential growth sensitivity to salinity of leaves vs roots during cell development. Free Radical Biology and Medicine 49: 1161-1171.
- Bronick, E. J. and Lai, R. (2005) Soil structure and management. A review. Geoderma 124: 3-22.
- Cakmak, I. and Horst, W. (1991) Effect of aluminum on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities in root tip of soybean (*Glysin max*). Plant Physiology 83: 463-468.
- Canellas, L. P., Silva, S. F., Olk, D. C. and Olivares, F. L. (2015) Foliar application of plant growth-promoting bacteria and humic acid increase maize yields. Journal of Food, Agriculture and Environment 13: 131-138.
- Chance, B. and Maehly, A. C. (1955) Assay of catalases and peroxidases. Methods in Enzymology 2: 764-775.
- Chang, Y. L., Kim, D. O., Lee, K. W., Lee, H. J. and Lee, C. Y. (2002) Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. Journal of Agricultural and Food Chemistry 50: 3713-3717.
- Chartzoulakis, K. and Klapaki, G. (2000) Response of two greenhouse pepper hybrids to NaCl salinity during different growth stages. Scientia Horticulturae 86: 247-260.
- Chaves, M. M., Flexas, J. and Pinheiro, C. (2009) Photosynthesis under drought and salt stress: Regulation mechanisms from whole plant to cell. Annals of Botany 103: 551-560.
- Chowdhury, J. A., Karim, M. A., Khaliq, Q. A., Ahmed, A. U. and Mondol, A. M. (2017) Effect of drought stress on water relation traits of four soybean genotypes. SAARC Journal of Agriculture 15: 163-175.

- Cimrin, K. M., Turkmen, O., Turan, M. and Tuncer, B. (2010) Phosphorus and humic acid application alleviate salinity stress of pepper seedling. *African Journal of Biotechnology* 9: 5845-5851.
- Elmongy, M. S., Zhou, H., Cao, Y., Liu, B. and Xia, Y. (2018) The effect of humic acid on endogenous hormone levels and antioxidant enzyme activity during in vitro rooting of evergreen azalea. *Scientia Horticulturae* 227: 234-243.
- El-Nemr, M. A., El-Desuki, M., El-Bassiony, A. M. and Fawzy, Z. F. (2012) Response of growth and yield of cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) to different foliar applications of humic acid and bio-stimulators. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences* 6: 630-637.
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D. and Basra, S. M. A. (2009) Plant drought stress: Effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development* 29: 185-212.
- Ferus, P., Ferusova, S. and Kona, J. (2011) Water dynamics and productivity in dehydrated watermelon plants as modified by red polyethylene mulch. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 35: 391-402.
- Gill, S. S. and Tuteja, N. (2010) Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry* 48: 909-930.
- Hanson, A. D. and Hitz, W. D. (1982) Metabolic responses of mesophytes to plant water deficits. *Annual Review of Plant Biology* 33: 163-203.
- Hassani Moghadam, E., Esna-Ashari, M. and Rezaiejad, A. (2016) Effect of drought stress on some physiological characteristics in six commercial Iranian pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars. *Plant Production Technology* 15: 1-11.
- Hassanpour, H. and Niknam, V. (2014) Effect of drought stress on growth and activity of antioxidant enzymes of *Mentha pulegium* L. in flowering stage. *Journal of Plant Physiology* 3: 25-34.
- Jubany-Mari, T., Prinsen, E., Munne-Bosch, S. and Alegre, L. (2010) The timing of methyl jasmonate, hydrogen peroxidase and ascorbate accumulation during water deficit and subsequent recovery in the Mediterranean shrub (*Cistus albidus* L.). *Journal Environmental and Experimental Botany* 69: 47-55.
- Karakurt, Y., Unlu, H., 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.
- Kavas, M., Baloglu, M. C., Akca, O., Kose, F. S. and Gokcay, D. (2013) Effect of drought stress on oxidative damage and antioxidant enzyme activity in melon seedlings. *Turkey Journal of Biology* 37: 491-498.
- Khan, A., Khan, M. Z., Hussain, F., Akhtar, M. E., Gurmani, A. R. and Khan, S. (2013) Effect of humic acid on the growth, yield, nutrient composition, photosynthetic pigment and total sugar contents of peas (*Pisum sativum* L.). *Journal of the Chemical Society of Pakistan* 35: 206-211.
- Khani, A., Barzegar, T., Nikbakht, J. and Ghahremani, Z. (2020) Effect of foliar spray of calcium lactate on the growth, yield and biochemical attribute of lettuce (*Lactuca sativa* L.) under water deficit stress. *Advances in Horticultural Science* 34: 11-24.
- Kirnak, H., Tas, I., Kaya, C. and Higgs, D. (2002) Effects of deficit irrigation on growth, yield, and fruit quality of eggplant under semi-arid conditions. *Australian Journal of Agriculture Research* 53: 1367-1373.
- Lotfi, R., Gharavi-Kouchebagh, P. and Khoshvaghti, H. (2015) Biochemical and physiological responses of *Brassica napus* plants to humic acid under water stress. *Russian Journal of Plant Physiology* 62: 480-486.
- Meda, A., Lamien, C. E., Romito, M., Millogo, J. and Nacoulma, O. G. (2005) Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry* 91: 571-577.
- Mohammadzade, Z. and Soltani, F. (2015) Morphological and physiological response of two accessions of *Citrullus colocynthis* to drought stress induced by polyethylene glycol. *Iranian Journal of Plant Physiology* 5: 1361-1371.
- Movahhedi Dehnavi, M., Ranjbar, M., Yadavi, A. R. and Kavusi, B. (2011) Effect of cycocel on proline, soluble sugars, protein, oil and fatty acids of flax (*Linum usitatissimum* M.) plants under drought stress in a pot trial. *Environ. Stresses in Crop Science* 3: 129-138.
- 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.
- Ozfidan-Konakci, C., Yildiztugay, E., Bahtiyar, M. and Kucukoduk, M. (2018) The humic acid-induced changes in the water status, chlorophyll fluorescence and antioxidant defense systems of wheat leaves with cadmium stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 155: 66-75.
- Pizzeghello, D., Francioso, O., Ertani, A., Muscolo, A. and Nardi, S. (2013) Isopentenyladenosine and cytokinin-like activity of different humic substances. *Journal of Geochemical Exploration* 129: 70-75.
- Rabie, M. A., Soliman, A. Z., Diaconeasa, Z. S. and Constantin, B. (2015) Effect of pasteurization and shelf life on the physicochemical properties of *Physalis peruviana* L. juice. *Journal of Food Processing and Preservation* 39: 1051-1060.
- Sachdev, S., Ansari, S. A., Ansari, M. I., Fujita, M. and Hasanuzzaman, M. (2021) Abiotic stress and reactive oxygen species: Generation, signaling, and defense mechanisms. *Antioxidants (Basel)* 10: 277.

- Salehi-Lisar, S. Y. and Bakhshayeshan-Agdam, H. (2020) Agronomic crop responses and tolerance to drought stress. *Agronomic Crops* 3: 63-91.
- Sanchez-Rodriguez, E. M., Rubio-Wilhelmi, L. M., Cervilla, B., Blasco, J. J., Rios, M. A., Rosales, L. and Ruiz, J. M. (2010) Genotypic differences in some physiological parameters symptomatic for oxidative stress under moderate drought in tomato plants. *Plant Sciences* 178: 30-40.
- Segura-Monroy, S., Uribe-Vallejo, A., Ramirez-Godoy, A. and Restrepo-Diaz, H. (2015) Effect of kaolin application on growth, water use efficiency, and leaf epidermis characteristics of *Physalis peruviana* L. seedlings under two irrigation regimes. *Journal of Agricultural Science and Technology* 17: 1585-1596.
- Seyoum, A., Asres, K. and El-Fiky, F. K. (2006) Structure radical scavenging activity relationships of flavonoid. *Phytochemistry* 67: 2058-2070.
- Sharifa, M., Khattaka, R. A. and Sarira, M. S. (2002) Effect of different levels of lignitic coal derived humic acid on growth of maize plants. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 33: 3567-3580.
- Shen, X., Zhou, Y., Duan, L., Li, Z., Enej, A. E. and Li, J. (2010) Silicon effects on photosynthesis and antioxidant parameters of soybean seedlings under drought and ultraviolet-B radiation. *Plant Physiology* 167: 1248-1252.
- Sun, T., Powers, J. R. and Tang, J. (2007) Evaluation of the antioxidant activity of *Asparagus broccoli* and their juices. *Food Chemistry* 105: 101-106.
- Suriyan, Ch. and Chalermopol, K. (2009) Proline accumulation, photosynthetic abilities and growth characters of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) plantlets in response to iso-osmotic salt and water-deficit stress. *Agricultural Sciences in China* 8: 51-58.
- Theunissen, J. P., Ndakidemi, A. and Laubscher, C. P. (2010) Potential of vermicompost produced from plant waste on the growth and nutrient status in vegetable production. *International Journal of the Physical Sciences* 5: 1964-1973.
- Turan, M. A., Asik, B. B., Katkat, A. V. and Celik, H. (2011) The effects of soil-applied humic substances to the dry weight and mineral nutrient uptake of maize plants under soil salinity conditions. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 39: 171-177.
- Turhan, E. and Eris, A. (2005) Effects of sodium chloride applications and different growth media on ionic composition in strawberry plant. *Journal of Plant Nutrition* 27: 1653-1665.

## The effect of humic acid on physiological characteristics, antioxidant activity and yield of Cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) under deficit irrigation

Seyed Amir Hosein Mousavi, Taher Barzegar\*, Fatemeh Nekounam, Zahra Ghahremani, Arezoo Khani

Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran  
(Received: 12/11/2022, Accepted: 20/12/2022)

### Abstract

In order to investigate the effect of humic acid on the physiological characteristics, antioxidant activity and yield of Cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) under deficit irrigation conditions, a split plot experiment based on randomized complete block design with three replications was conducted in 2021. Treatments consisted of the arrangement of three levels of irrigation (starting irrigation at 100, 80 and 60% ET<sub>c</sub> (crop evapotranspiration)) and three levels of humic acid (0, 1.5 and 3 kg ha<sup>-1</sup>). The results showed that deficit irrigation significantly reduced fruit yield. The soil application of humic acid significantly increased leaf relative water content, antioxidant capacity, fruit yield, and decreased leaf electrolyte leakage under normal and deficit irrigation. The highest value of total phenol (18.1 mg gFW<sup>-1</sup>), flavonoid (0.47 mg gFW<sup>-1</sup>), antioxidant activity (90.06 %), proline (5.91 mg gFW<sup>-1</sup>) and catalase (0.81 μmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> g<sup>-1</sup> FW min<sup>-1</sup>) and peroxidase (1.92 units g<sup>-1</sup> FW min<sup>-1</sup>) enzymes activity were obtained with 3 kg ha<sup>-1</sup> soil application of humic acid under deficit irrigation 60% ET<sub>c</sub>. The maximum fruit yield (4793.3 kg ha<sup>-1</sup>) was observed in plants treated with 3 kg ha<sup>-1</sup> humic acid under 100% ET<sub>c</sub> irrigation. According to these results, the application of 3 kg ha<sup>-1</sup> humic acid is suggested to improve the antioxidant capacity and fruit yield of Cape gooseberry under normal and deficit irrigation conditions.

**Key words:** Antioxidant enzymes, Electrolyte leakage, Proline, Phenolic compound, Water deficit

Corresponding author, Email: tbarzegar@znu.ac.ir