

## تأثیر کاربرد اسیدهیومیک بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی گل رز مینیاتور رقم هفت رنگ

پروین طالبی و زهره جبارزاده\*

گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۷/۲۰، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۴/۱۲/۱۹)

### چکیده

این پژوهش به منظور بررسی اثرات کاربرد خاکی و محلول‌پاشی برگ‌های اسیدهیومیک بر میزان کلروفیل، ماندگاری گل روی گیاه، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، میزان پرولین، مالون‌دی‌آلدئید و پروتئین کل در رزمینیاتور رقم هفت رنگ در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو فاکتور اسیدهیومیک در ۴ غلظت (صفر، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و نحوه کاربرد اسیدهیومیک به ۲ شیوه (کاربرد خاکی و محلول‌پاشی برگ‌ها) با ۳ تکرار و ۲ مشاهده انجام شد. نتایج نشان داد که کاربردهای خاکی و محلول‌پاشی اسیدهیومیک باعث افزایش در محتوای کلروفیل، پروتئین کل، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و ماندگاری گل روی گیاه به ترتیب به میزان حدود ۲، ۵، ۳ و ۱/۷۵ برابر نسبت به شاهد شدند. میزان مالون‌دی‌آلدئید در تیمارهای خاکی با افزایش غلظت اسیدهیومیک افزایش و برعکس در تیمارهای محلول‌پاشی کاهش یافت. این روند در فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نیز تکرار شد. فعالیت آنزیم کاتالاز نیز ابتدا در غلظت کم اسید هیومیک افزایش، اما با افزایش غلظت، میزان فعالیت آن کاهش یافت. میزان پروتئین کل در تمامی غلظت‌های اسیدهیومیک (به‌جز کاربرد خاکی ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر) نسبت به شاهد افزایش یافت. نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که هر دو روش محلول‌پاشی برگ‌ها و کاربرد خاکی اسیدهیومیک با افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و محتوای کلروفیل و پروتئین کل در گیاه، باعث افزایش ماندگاری گل روی گیاه شدند.

کلمات کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، رز مینیاتور، کلروفیل، مالون‌دی‌آلدئید، ماندگاری گل

### مقدمه

طبیعت وجود دارند. مواد هیومیک دارای اثرات مثبت فیزیولوژیکی گیاهی از طریق بهبود ساختار، حاصلخیزی خاک، تأثیر بر جذب مواد غذایی و رشد ریشه می‌باشند که مکانیسم‌های بیوشیمیایی مولکولی این وقایع تا حدی شناخته شده‌اند. بررسی‌ها نشان داده‌اند که مواد هیومیکی شامل اکسین و فعالیت‌های اکسین مانند می‌باشند (Passioura, 2007). مطالعات متعدد نشان داده‌اند که مواد هیومیکی، رشد ریشه، برگ، ساقه و همچنین جوانه‌زنی بذر گونه‌های مختلف محصولات کشاورزی را

گل رز یکی از زیباترین گل‌های شاخه بریده در جهان است به طوری که آن را ملکه گل‌ها لقب داده‌اند (Bhattacharjee and Banerji, 2010). رزهای مینیاتوری در واقع دوره‌هایی از رزهای چینی (*Rosa chinensis*) و دیگر انواع مختلف رز هستند که به دلیل داشتن گل‌های کوچک، اما فراوان و گلدهی طولانی مورد توجه قرار گرفته‌اند. مواد هیومیک نشان‌دهنده مواد آلی خاک می‌باشند که به‌طور عمده در

\* نویسنده مسؤول، نشانی پست الکترونیکی: mrtadayon@yahoo.com

در این گلدان‌ها شامل خاک، ماسه بادی و خاکبرگ به ترتیب با نسبت ۲:۲:۱ بود. بستر مورد نظر از نوع شنی لومی بود که در جدول ۱ آورده شده است. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو فاکتور اسیدهیومیک در چهار غلظت (صفر، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و نحوه کاربرد به دو صورت (کاربرد خاکی و محلول‌پاشی برگ) با سه تکرار و دو مشاهده تحت شرایط کنترل شده انجام شد که تیمارها یک ماه بعد از انتقال قلمه‌های ریشه دار شده و استقرار کامل آنها اعمال شد. اعمال تیمارها هر دو هفته یکبار به میزان ۵۰ میلی‌لیتر و در ساعت‌های ۱۰-۸/۵ صبح به مدت ۳ ماه انجام شد.

در پایان آزمایش، جهت اندازه‌گیری ویژگی‌های فیزیولوژیکی، برگ‌های تازه (برگ‌های کاملاً توسعه یافته انتهایی) برداشت شدند و بلافاصله در فویل آلومینیومی پیچیده شدند و در ازلت مایع فریز شدند و سپس در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد برای انجام اندازه‌گیری شاخص‌های فیزیولوژیکی نگهداری شدند.

**اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی:** برای تهیه عصاره گیاهی جهت تعیین میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز از روش Kang و Saltiveit (۲۰۰۲) با اندکی تغییرات استفاده شد. بدین صورت که ۰/۵ گرم وزن تر برگ توسط ۳ میلی‌لیتر محلول بافر تریس با pH ۷/۵ (شامل اسیدکلریدریک ۰/۰۵ مولار، ۳ میلی‌مولار کلریدمنیزیم و ۱ میلی‌مولار EDTA) ساییده شد. بافر استخراجی برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز شامل ۰/۲ میلی‌مولار آسکوربات نیز بود. هموژنات حاصل به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول حاصله به عنوان عصاره خام برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز مورد استفاده قرار گرفت.

فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از روش Aebi (۱۹۸۴) در طول موج ۲۴۰ نانومتر، فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز با استفاده از روش Upadhyaya و همکاران (۱۹۸۵) در طول موج ۴۲۰ نانومتر و فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز با استفاده از

تحریک می‌کنند (Piccolo et al., 1992). علاوه بر این، مواد هیومیکی در تنظیم مکانیسم‌های درگیر در رشد گیاه دخالت دارند (Dobbss et al., 2007). در پژوهشی، اسیدهیومیک با افزایش میزان ترکیبات آلی نیتروژن‌دار مانند پروتئین و اسیدهای آمینه، سرعت رشد و تولید زیست‌توده در گیاه بنت‌گراس را افزایش داد (Sharif, 2002). اسیدهیومیک از طریق اثرات مثبت فیزیولوژیکی از جمله اثر بر متابولیسم سلول‌های گیاهی و افزایش غلظت کلروفیل برگ باعث افزایش عملکرد در گیاهان می‌شود (Nardi et al., 2002). Astarai و Ivani (۲۰۰۸) افزایش سطح برگ و تولید کلروفیل بیشتر در برگ‌های گیاه لوبیا را با استفاده از تیمار اسیدهیومیک گزارش کردند. مواد هیومیکی ممکن است نقش مهمی در تنظیم متابولیسم ریشه گیاه از طریق القاء و یا سرکوب مکانیسم سنتز پروتئین، فعالیت آنزیم و در نتیجه ممانعت از تغییرات مورفولوژیکی در بافت ریشه گیاه داشته باشند (Cacco et al., 2000). در پژوهشی Fan و همکاران (۲۰۱۵) بیان کردند که محلول‌پاشی اسید هیومیک در گل داوودی با افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، پروتئین و قندهای محلول باعث افزایش عمر گل و ماندگاری بیشتر آن شده است.

از آنجا که برخی گزارش‌ها مبنی بر افزایش ویژگی‌های بیوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی با کاربرد اسیدهیومیک در گیاهان مختلف وجود دارد، آزمایشی روی گل رز مینیاتور انجام گرفت. در این آزمایش اثر کاربرد خاکی و محلول‌پاشی برگ اسید هیومیک بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، کلروفیل، پروتئین کل و ماندگاری گل روی گیاه مورد مطالعه قرار گرفت.

#### مواد و روش‌ها

به منظور بررسی تاثیرات مواد هیومیک بر برخی ویژگی‌های گل رز مینیاتور رقم هفت رنگ، پژوهشی در گلخانه تحقیقاتی و آزمایشگاه گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه انجام شد. این پژوهش به صورت گلدانی با استفاده از قلمه‌های ریشه‌دار شده گل رز مینیاتور انجام شد. محیط کشت

جدول ۱- نتایج آزمایش تجزیه خاک مورد استفاده برای کاشت

خصوصیات خاک مورد آزمایش	شن (درصد)	رس (درصد)	سیلت (درصد)	بافت خاک	pH	EC (ds/m)
مقدار موجود در خاک	۷۹/۱۷	۱۲/۷۵	۸/۰۷	شنی لومی	۷/۵	۱/۸

روش Nakano و Asada (۱۹۹۲) در طول موج ۲۹۰

نانومتر و با فرمول‌های زیر به ترتیب برای کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز اندازه‌گیری شد.

$$\text{Units} \left( \frac{\text{mM}}{\text{min}} \right) = \frac{\Delta\text{OD}}{\text{min(slope)} \times \text{Vol. of assay (0.0003)}} \times \text{Extinction Coefficient (43.6)}$$

$$\text{Units} \left( \frac{\text{mM}}{\text{min}} \right) = \frac{\Delta\text{OD}}{\text{min(slope)} \times \text{Vol. of assay (0.0001)}} \times \text{Extinction Coefficient (26.6)}$$

$$\text{Units} \left( \frac{\text{mM}}{\text{min}} \right) = \frac{\Delta\text{OD} / \text{min(slope)} \times \text{Vol. of assay (0.0001)}}{\text{Extinction Coefficient (2.8)}}$$

اختلاف بین دو قرائت در دقیقه: doD/min (slop)

حجم محلول داخل سل: Vol. of assay:

ضریب خاموشی: Extinction Coefficient:

اندازه‌گیری رنگی‌ها: برای اندازه‌گیری رنگی‌های کلروفیل از روش Lichtenthaler و Wellburn (۱۹۸۵) استفاده شد. ۰/۱ گرم از وزن تر برگ به همراه ۵ میلی‌لیتر استون ۱۰۰ درصد در هاون چینی ساییده شد. عصاره حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در ۲۵۰۰ دور، سانتریفیوژ شده و سپس توسط اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۶۶۲ و ۶۴۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای محاسبه کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل از فرمول‌های زیر استفاده شد:

$$\text{Chla} = 11.75 A_{662} - 2.350 A_{645}$$

$$\text{Chlb} = 18.61 A_{645} - 3.960 A_{662}$$

$$\text{Chlt} = \text{Chla} + \text{Chlb}$$

در این رابطه Chla، Chlb و Chlt به ترتیب غلظت کلروفیل a، b و کل می‌باشد. (A میزان جذب خوانده شده در هر طول موج توسط اسپکتروفتومتر می‌باشد).

اندازه‌گیری محتوای مالون‌دی‌آلدئید (MDA): برای اندازه‌گیری محتوای مالون‌دی‌آلدئید از روش Novacky و Popham (۱۹۹۱) استفاده شد و میزان جذب در طول موج‌های ۶۰۰ و ۵۳۲ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. میزان مالون‌دی‌آلدئید با استفاده از فرمول زیر و ضریب خاموشی

$$\text{MDA} (\mu\text{mol/gfw}) = [(A_{532} - A_{600}) / 155] \times 100$$

اندازه‌گیری پرولین: برای اندازه‌گیری پرولین، از روش

Irigoyen و همکاران (۱۹۹۲) استفاده شد. استانداردهایی از پرولین از غلظت صفر تا ۰/۱ میکرومول بر میلی‌لیتر تهیه گردید و نهایتاً میزان جذب محلول‌های استاندارد و نمونه‌ها در طول موج ۵۱۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد.

اندازه‌گیری پروتئین کل: برای اندازه‌گیری میزان پروتئین

کل، از روش Bradford (۱۹۷۹) استفاده شد و نهایتاً میزان جذب نمونه‌ها و محلول‌های استاندارد با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر قرائت شد و میزان پروتئین خام پس از رسم منحنی استاندارد به دست آمده و به صورت میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر بیان گردید.

طرح آزمایشی و تجزیه داده‌ها: این پژوهش به صورت

فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با دو فاکتور اسیدهیومیک در ۴ غلظت (صفر، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و نحوه کاربرد اسیدهیومیک به ۲ شیوه (کاربرد خاکی و محلول‌پاشی برگ) با ۳ تکرار و ۲ مشاهده انجام شد. تجزیه داده‌ها با آزمون SAS و مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون Duncan انجام گردید. سطوح معنی‌دار بودن تیمارها در سطح ۱ و ۵ درصد محاسبه شد و شکل‌ها توسط نرم‌افزار آماری Excel رسم گردید.

### نتایج و بحث

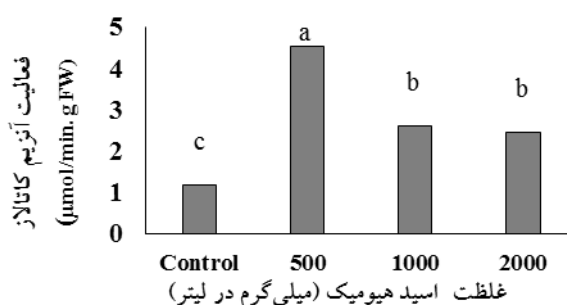
فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی: با توجه به نتایج تجزیه

واریانس (جدول ۲) اثرات متقابل اسیدهیومیک و نحوه کاربرد آن بر میزان فعالیت آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در سطح ۱ درصد معنی‌دار ولی در مورد فعالیت آنزیم کاتالاز فقط اثرات ساده اسیدهیومیک در سطح یک درصد معنی‌دار شد. نتایج مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۱)

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس مربوط به اثرات اسیدهیومیک و نحوه کاربرد آن بر شاخص‌های فیزیولوژیکی گل رز مینیاتور رقم هفت رنگ

میانگین مربعات										
منابع تغییرات	درجه آزادی	کاتالاز	گایاکول پراکسیداز	آسکوربات پراکسیداز	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	مالون دی‌آلدئید	پرولین	پروتئین کل
اسیدهیومیک	۳	۸۳۴ <sup>ns</sup>	۱۸۱۵ <sup>ns</sup>	۲۲/۲۴ <sup>ns</sup>	۲۹/۲۵ <sup>ns</sup>	۶/۴۴ <sup>ns</sup>	۶۰/۳۳ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۴ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۷ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۶۴ <sup>ns</sup>
نحوه کاربرد	۱	۰/۱۰۴ <sup>ns</sup>	۲/۲۸ <sup>ns</sup>	۷/۱۲ <sup>ns</sup>	۶/۷۹ <sup>ns</sup>	۳/۰۹ <sup>ns</sup>	۰/۷۱ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۲ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۱ <sup>ns</sup>	۰/۲۰۸ <sup>ns</sup>
اسیدهیومیک * نحوه کاربرد	۲	۰/۲۸۱ <sup>ns</sup>	۷/۸۳ <sup>ns</sup>	۲۶/۷۷ <sup>ns</sup>	۲۸/۸۱ <sup>ns</sup>	۴/۶۷ <sup>ns</sup>	۵۶/۶۸ <sup>ns</sup>	۰/۰۱۷ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۳ <sup>ns</sup>	۰/۲۰۴ <sup>ns</sup>
اشتباه آزمایشی	۱۴	۰/۲۸۶	۰/۱۰۸	۰/۷۰۲	۰/۴۷۰	۰/۴۲	۱/۲۲۵	۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۱	۰/۰۱۸
ضریب تغییرات (%)		۱۸/۳۹	۴/۵۷	۱۴/۴۱	۴/۴۷۰	۱۴/۲۶	۵/۵۵	۷/۶۲	۱۴/۷۱	۷/۸۴

\*: معنی دار در سطح ۱ درصد، \*: معنی دار در سطح ۵ درصد و ns: غیر معنی دار



شکل ۱- تاثیر غلظت‌های مختلف اسیدهیومیک بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز گل رز مینیاتور رقم هفت رنگ (حروف غیرمشابه نشان دهنده وجود تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد با آزمون دانکن می‌باشد).

پاشی، با افزایش غلظت اسیدهیومیک، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز افزایش یافت، اما در تیمارهای خاکی، افزایش غلظت اسیدهیومیک میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز را کاهش داد (جدول ۳). بیشترین فعالیت آنزیم مربوط به تیمار خاکی ۵۰۰ میلی گرم در لیتر اسیدهیومیک (۹/۲۱ میکرومول بر دقیقه بر گرم وزن تر) و کمترین میزان فعالیت آن نیز مربوط به تیمار شاهد می‌باشد.

گیاهان از طریق دو سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی (پراکسیدازها و کاتالاز) و غیرآنزیمی (کاروتنوئیدها، آلفا-توکوفرول و اسید-آسکوربیک) سلول‌ها و سیستم‌های زیر سلولی را در برابر اثرات سمی رادیکال‌های فعال اکسیژن محافظت می‌کنند که مجموع این دو سیستم فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل را در برمی‌گیرد (EL- Tayeb and El-Enany, 2006) در نتایج پژوهش حاضر مشاهده گردید که با کاربرد اسیدهیومیک میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی افزایش می‌یابد که این افزایش به نوعی بیانگر فعال شدن سیستم آنتی‌اکسیدانی برای از بین بردن رادیکال‌های آزاد

نشان داد که تیمار اسیدهیومیک تاثیر معنی داری بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز داشت. فعالیت آنزیم کاتالاز در غلظت کم اسیدهیومیک افزایش یافت اما با افزایش غلظت اسیدهیومیک میزان فعالیت کاتالاز کاهش یافت به طوری که بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (۴/۵۵ میکرومول در دقیقه بر گرم وزن تر) در تیمار ۵۰۰ میلی گرم در لیتر اسیدهیومیک و کمترین مقدار آن نیز (۱/۶۷ میکرومول در دقیقه بر گرم وزن تر) در تیمار شاهد به دست آمد. در این پژوهش، نحوه کاربرد اسیدهیومیک تاثیر معنی داری بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز نداشت.

مقایسه میانگین‌ها نشان داد که گیاهان تیمار شده با ۵۰۰ میلی گرم در لیتر اسیدهیومیک به صورت محلول پاشی بیشترین فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز با میزان (۹/۲۵ میکرومول در دقیقه در گرم وزن تر) را نشان دادند، کمترین میزان فعالیت آنزیم نیز در تیمار شاهد دیده شد (جدول ۳).

مقایسه میانگین داده‌ها بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱ درصد نشان داد که در تیمارهای محلول

جدول ۳- تاثیر غلظت‌های مختلف اسیدهیومیک و نحوه کاربرد آن بر فعالیت آنزیم‌ها، رنگیزه‌های فتوستتزی، محتوای پروتئین کل و مالون دی‌آلدئید گل رز میناتور رقم هفت رنگ

نحوه کاربرد	غلظت اسیدهیومیک (mg/l)	فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (μmol/min. g FW)	فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (μmol/min. g FW)	کلروفیل a (μmol/gFW)	کلروفیل b (μmol/gFW)	کلروفیل کل (μmol/gFW)	مالون دی‌آلدئید (μg/gFW)	پروتئین کل (μg/gFW)
تیمار	۰	۲/۶۸ <sup>d</sup>	۲/۰۰ <sup>d</sup>	۱۰/۱۲ <sup>e</sup>	۲/۵۶ <sup>c</sup>	۱۲/۶۹ <sup>e</sup>	۰/۱۸ <sup>cd</sup>	۰/۳۱ <sup>d</sup>
خاکی	۵۰۰	۶/۳۸ <sup>c</sup>	۹/۲۱ <sup>a</sup>	۱۳/۶۴ <sup>d</sup>	۴/۲۹ <sup>b</sup>	۱۷/۹۳ <sup>d</sup>	۰/۱۲ <sup>e</sup>	۰/۱۶ <sup>e</sup>
	۱۰۰۰	۸/۸۴ <sup>a</sup>	۳/۳۱ <sup>c</sup>	۱۹/۵۶ <sup>a</sup>	۶/۶۶ <sup>a</sup>	۲۶/۲۲ <sup>a</sup>	۰/۱۶ <sup>d</sup>	۰/۶۵ <sup>b</sup>
	۲۰۰۰	۷/۵۸ <sup>b</sup>	۵/۴۵ <sup>b</sup>	۱۳/۵۳ <sup>d</sup>	۵/۰۵ <sup>a</sup>	۱۸/۵۹ <sup>d</sup>	۰/۲۹ <sup>a</sup>	۰/۶۰ <sup>bc</sup>
تیمار	۰	۲/۶۸ <sup>d</sup>	۲/۰۱ <sup>d</sup>	۱۰/۱۲ <sup>e</sup>	۲/۵۶ <sup>c</sup>	۱۲/۶۹ <sup>e</sup>	۰/۱۸ <sup>cd</sup>	۰/۳۱ <sup>d</sup>
محلول	۵۰۰	۹/۲۵ <sup>a</sup>	۵/۷۱ <sup>b</sup>	۱۷/۹۲ <sup>ab</sup>	۴/۶۱ <sup>b</sup>	۲۲/۵۴ <sup>b</sup>	۰/۲۴ <sup>b</sup>	۰/۷۷ <sup>a</sup>
پاشی	۱۰۰۰	۷/۱۶ <sup>bc</sup>	۷/۸۶ <sup>a</sup>	۱۵/۷۷ <sup>e</sup>	۳/۸۰ <sup>bc</sup>	۱۹/۵۷ <sup>cd</sup>	۰/۲۲ <sup>bc</sup>	۰/۵۳ <sup>c</sup>
	۲۰۰۰	۸/۵۲ <sup>a</sup>	۸/۱۸ <sup>a</sup>	۱۶/۷۲ <sup>bc</sup>	۵/۱۰ <sup>ab</sup>	۲۱/۸۱ <sup>bc</sup>	۰/۱۹ <sup>cd</sup>	۰/۷۶ <sup>a</sup>

در هر ستون حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال  $p \leq 0.01$  می‌باشد.

محتوای کلروفیل به صورت منظم روند افزایشی داشت، اما در غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر میزان کلروفیل کمی کاهش یافت. افزایش میزان کلروفیل را می‌توان به دلیل افزایش جذب عناصر غذایی توسط گیاه نسبت داد. در بین عناصر غذایی، نیتروژن سهم مهمی در افزایش کلروفیل گیاه دارد که نیتروژن نیز در حضور اسیدهیومیک، جذب قابل توجهی پیدا می‌کند (Khayyat *et al.*, 2007). با توجه به نتایج مبنی بر افزایش قابل توجه جذب نیتروژن در حضور اسیدهیومیک، می‌توان چنین نتیجه گرفت که ماده هیومیکی مورد استفاده در این پژوهش توانست باعث جذب عناصر و به دنبال آن افزایش کلروفیل گیاه شود. افزایش محتوای کلروفیل برگ ممکن است به دلیل تسریع جذب نیتروژن، بهبود متابولیسم نیتروژن و تولید پروتئین‌های محافظت‌کننده در اثر مصرف اسیدهیومیک باشد (Haghighi *et al.*, 2012) یا به دلیل عملکردهای دیگر اسیدهیومیک مانند افزایش نفوذپذیری غشای سلولی، جذب اکسیژن، تنفس، فتوستتزی، جذب فسفات و افزایش طول ریشه باشد (Russo and Berlyn, 1990). اسیدهیومیک سبب تداوم بافت‌های فتوستتزی‌کننده می‌شود و عملکرد گیاهان را افزایش می‌دهد و نیز از طریق تأثیرات مثبت فیزیولوژیکی از جمله اثر بر متابولیسم سلول‌های گیاهی و افزایش غلظت کلروفیل برگ، افزایش عملکرد گیاهان را در پی دارد (Nardi *et al.*, 2002). نتایج پژوهش حاضر با

اکسیژن (ROS) در مواجهه احتمالی گیاه با تنش‌ها می‌باشد. طبق گزارش Tabatabaie و Nazari (۲۰۰۷) اسیدهیومیک علاوه بر بهبود وضعیت تغذیه‌ای گیاه و افزایش جذب عناصر غذایی، منجر به افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه نیز می‌گردد. در پژوهش دیگری Cordeiro و همکاران (۲۰۱۱) بیان کردند که اسید هیومیک با تحریک تولید کاتالاز و کاهش ROS باعث ایجاد اثرات آنتی‌اکسیدانی در مکانیسم‌های دفاعی گیاه می‌شود. در پژوهشی Garcíaa و همکاران (۲۰۱۲) اعلام کردند که اسید هیومیک می‌تواند نقش عمده‌ای در مقاومت به تنش‌های اکسیداتیو با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و بهبود پایداری غشاء ایفا نماید.

**محتوای کلروفیل a، b و کلروفیل کل:** با توجه به نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) اثرات متقابل اسیدهیومیک و نحوه کاربرد آن بر میزان کلروفیل a و b و کل در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد. با توجه به نتایج حاصل از جدول ۳ استفاده از اسیدهیومیک اثر معنی‌داری بر افزایش میزان کلروفیل a، b و کل داشت هر سه غلظت اسیدهیومیک در افزایش میزان کلروفیل a، b و کلروفیل کل تاثیر مثبت داشتند، بیشترین میزان کلروفیل a و b مربوط به تیمار خاکی ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدهیومیک و کمترین میزان آن نیز مربوط به تیمار شاهد بود. همچنین در تیمارهای خاکی تا غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدهیومیک،

آزیمی باعث کاهش میزان مالون‌دی‌آلدئید و افزایش کیفیت فیزیولوژیکی گل‌ها می‌شود.

#### میزان پروتئین کل: نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۲)

نشان داد که اثرات متقابل اسیدهیومیک و نحوه کاربرد آن بر میزان پروتئین کل در سطح ۱ درصد معنی دار شد. جدول ۳ نشان می‌دهد که اسیدهیومیک تاثیر معنی‌داری بر میزان تجمع پروتئین کل در برگ گیاه داشته است. تیمارهای محلول‌پاشی در افزایش میزان پروتئین کل موثرتر از تیمارهای خاکی عمل کردند. همچنین بین تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر محلول‌پاشی با ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر آن تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. بیشترین میزان پروتئین کل نیز مربوط به تیمار ۵۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدهیومیک بود. در رابطه با افزایش پروتئین کل با کاربرد اسیدهیومیک می‌توان گفت، چون عملکرد پروتئین تابعی از نیتروژن گیاه است، اسیدهیومیک با افزایش نفوذپذیری غشای سلول‌های ریشه، جذب و انتقال نیتروژن را بهبود بخشیده و باعث افزایش میزان پروتئین موجود در گیاه می‌شود (Ayman *et al.*, 2009). همچنین اثر مثبت اسیدهیومیک بر افزایش پروتئین کل می‌تواند به دلیل ویژگی‌های شبه هورمونی سابتوکینین مانند آن و جلوگیری از ایجاد وقفه در فعالیت آنزیم‌ها باشد (Nikbakht *et al.*, 2008). مشابه نتایج پژوهش حاضر، Kaya و همکاران (۲۰۰۵) گزارش کردند، محلول‌پاشی اسید هیومیک، مقدار پروتئین را در مرحله ۶-۳ برگی لوبیا سبز افزایش داد. همچنین Dordas و Sioulas (۲۰۰۸) بیان کردند که اسید هیومیک می‌تواند با بهبود جذب نیتروژن سبب افزایش میزان آنزیم‌ها و پروتئین‌های شرکت‌کننده در چرخه فتوسنتزی گردد.

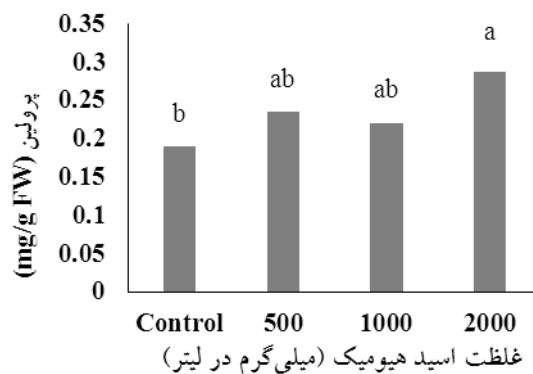
#### میزان پرولین: نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۲)

نشان داد که فقط اثرات ساده اسیدهیومیک بر میزان پرولین در سطح یک درصد معنی دار شد. مقایسه میانگین اثر ساده اسید هیومیک بر میزان پرولین در برگ گیاه، نشان داد که میزان تجمع پرولین تحت تاثیر اسیدهیومیک افزایش یافت. بیشترین میزان پرولین در تیمار ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدهیومیک (۰/۲۸ میلی‌گرم در گرم وزن تر) و کمترین میزان آن مربوط به تیمار شاهد (۰/۱۹ میلی‌گرم در گرم وزن تر) می‌باشد (شکل ۲).

نتایج Nardi و همکاران (۲۰۰۰) مطابقت دارد که بیان کردند استفاده از اسیدهیومیک و اسید فولیک، چه به صورت کاربرد در محلول غذایی و چه به صورت محلول‌پاشی، می‌تواند موجب افزایش فتوسنتز و تنفس شود. شاید دلیل دیگر افزایش میزان کلروفیل، ویژگی‌های شبه سابتوکینینی این مواد باشد که موجب تاخیر در پیری و کاهش میزان تخریب کلروپلاست‌ها می‌شود.

#### میزان مالون‌دی‌آلدئید: نتایج جدول تجزیه واریانس

(جدول ۲) نشان داد که اثرات متقابل اسیدهیومیک و نحوه کاربرد آن بر میزان مالون‌دی‌آلدئید در سطح ۱ درصد معنی دار شد. مقایسه میانگین اثر متقابل اسیدهیومیک و نحوه کاربرد آن بر میزان مالون‌دی‌آلدئید (جدول ۳) نشان داد که بیشترین تجمع مالون‌دی‌آلدئید (۰/۲۹ میکرومول بر گرم وزن تر) در تیمار محلول‌پاشی ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر و کمترین میزان آن (۰/۱۲ میکرومول بر گرم وزن تر) مربوط به تیمار خاکی ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدهیومیک بود. قابل ذکر است که هم در تیمارهای خاکی و هم در تیمارهای محلول‌پاشی، روند افزایشی مشخصی در بین تیمارها وجود داشت که در تیمارهای خاکی با افزایش غلظت اسیدهیومیک، میزان تجمع مالون‌دی‌آلدئید نیز افزایش یافت اما برعکس در تیمارهای محلول‌پاشی با افزایش غلظت، میزان تجمع مالون‌دی‌آلدئید کاهش یافت. در رابطه با تأثیر اسید-هیومیک بر میزان مالون‌دی‌آلدئید نتایج نشان داد که برخی از غلظت‌های اسیدهیومیک توانست تا حدی میزان مالون‌دی‌آلدئید را کاهش دهد که به نظر می‌رسد احتمالاً اسیدهیومیک از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، میزان مالون‌دی‌آلدئید را کاهش داده است که افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز در این پژوهش تأییدی بر این مطلب می‌باشد. با افزایش غلظت اسیدهیومیک در هر دو کاربرد خاکی و محلول‌پاشی، میزان مالون‌دی‌آلدئید نیز افزایش یافت. طبق گزارش Atiyeh و همکاران (۲۰۰۰) اسیدهیومیک در غلظت‌های زیاد، به دلیل افزایش شوری محلول تأثیر منفی از خود می‌گذارد. مشابه نتایج پژوهش حاضر، Nikbakht و همکاران (۲۰۰۸) بیان کردند اسیدهیومیک از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و دخالت در سایر فعالیت‌های



شکل ۲- تاثیر غلظت‌های مختلف اسیدهیومیک بر میزان پرولین گل رز میناتور (حروف غیرمشابه نشان دهنده وجود تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد با آزمون دانکن می‌باشد).

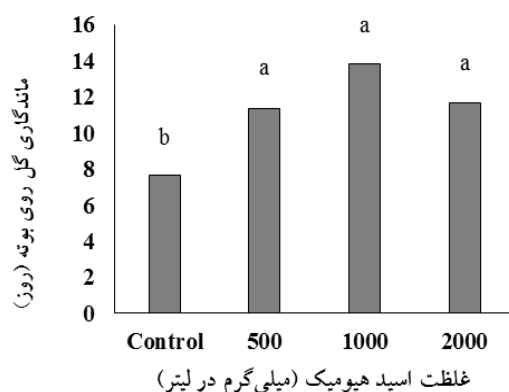
در جذب عناصر غذایی و بالابردن سنتز ترکیبات آلی پروتئینی باشد، در نتیجه احتمال می‌رود با کاربرد اسیدهیومیک و افزایش سنتز ترکیبات آلی میزان پرولین در گیاه نیز افزایش یابد. همچنین با توجه به نتایج این پژوهش می‌توان احتمال داد که در تیمارهای خاکی و محلول‌پاشی اسیدهیومیک با افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی باعث افزایش تجمع پرولین در گیاه شدند.

#### ماندگاری گل روی گیاه: شکل ۳ نشان می‌دهد که

ماندگاری گل روی گیاه تحت تاثیر غلظت‌های مختلف اسید هیومیک قرار گرفت که مطابق آن با افزایش غلظت اسید هیومیک، ماندگاری گل روی گیاه نیز بیشتر شده است. بین غلظت ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدهیومیک از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری وجود نداشت اما بین این سه غلظت با تیمار شاهد تفاوت معنی‌دار بود.

تاثیر اسیدهیومیک بر طول عمر گل را می‌توان به وجود متابولیت‌های فعال بیولوژیکی موجود در آن نسبت داد که این متابولیت‌ها به عنوان تنظیم‌کننده‌های رشدی ایفای نقش می‌کنند (Edwards and Fletcher, 1998). همچنین، با توجه به رابطه نزدیک بین نشت یونی و دوام عمر گل (Nazari Deljou et al., 2012)، تیمار اسیدهیومیک احتمالاً منجر به کاهش درصد نشت یونی و در نتیجه افزایش و دوام عمر گل می‌شود. به علاوه، تیمار اسید هیومیک با بهبود جذب تجمع‌ی آب توسط ساقه گل دهنده سبب بهبود دوام عمر گل می‌شود. مشابه این پژوهش Nikbakht

گزارش شده است که پرولین نقش مهمی در تنظیم اسمزی ایفا می‌کند و همچنین از طریق جاروب کردن رادیکال‌های آزاد، از سلول‌ها حفاظت می‌کند (Reddy et al., 2004). بالا رفتن میزان پرولین در بافت‌های گیاهان به نوعی بیانگر فعال شدن مکانیسم تنظیم اسمزی است که شرایط را برای جذب بیشتر آب و املاح از محیط ریشه فراهم می‌آورد (Munns, 2002). در پژوهشی Mazhar و همکاران (۲۰۱۲) بیان کردند که تنظیم اسمزی در سیتوپلاسم توسط سنتز مواد محلول سازگار مانند پرولین می‌باشد که اثرات تنش در غلظت‌های بالا در گیاهان را در مقایسه با شاهد حفظ می‌کند. برخی از پژوهشگران گزارش کردند که پرولین نقش تنظیمی در فعالیت و عملکرد آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز در سلول‌های گیاهی داشته و با مشارکت آنها در پاسخ‌های متابولیک به عوامل محیطی نقش مهمی را ایفاء می‌کند (Ozturk and Demir, 2002). براساس نظر Ayas و Gulser (۲۰۰۵) اسیدهیومیک از طریق ایجاد شرایط مناسب برای افزایش در محتوای نیتروژن گیاهان سبب افزایش رشد و عملکرد می‌شود. همچنین اسیدهیومیک با بالا بردن میزان تولید ترکیبات آلی نیتروژن‌دار همانند پروتئین و اسیدهای آمینه، سرعت رشد و تولید بیوماس در گیاه بنت گراس را افزایش داد (Sharif, 2002). نتایج پژوهشگران نشان داد که اسیدهیومیک جذب نیترات و فعالیت ATPase و نیز سنتز ترکیبات آلی نیتروژن‌دار را در گیاهان افزایش می‌دهد. به نظر می‌رسد فعال شدن پروتون غشاء پاسخ اولیه اسیدهیومیک



شکل ۳- تاثیر غلظت‌های مختلف اسیدهیومیک بر ماندگاری گل روی بوته گل رز مینیاتور (حروف غیرمشابه نشان دهنده وجود تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد با آزمون دانکن می‌باشد).

این ترکیب باعث افزایش جذب عناصر ماکرو و میکرو (Kaya *et al.*, 2005) و قابلیت تحرک شده و کارایی استفاده ریز مغذی‌ها را افزایش می‌دهد (Khattab *et al.*, 2012). کافی و همکاران (۱۳۸۸) اثر محلول‌پاشی هفتگی اسیدهیومیک را جهت بهبود کمیت و کیفیت گل ژبررا رقم مالیبو مورد بررسی قرار دادند و نتایج نشان داد محلول‌پاشی اسیدهیومیک به صورت معنی‌داری باعث بهبود ثبات غشای سلولی قطعات گلبرگ شد و پیر شدن ساقه گل را کاهش داد. ظاهراً مواد هیومیکی با وزن مولکولی پایین با قرار گرفتن در غشای سلولی نه تنها جذب یکسری از عناصر را بهبود می‌بخشند، بلکه به حفظ و پایداری غشاهای سلولی نیز کمک می‌کنند (Nardi *et al.*, 2002). این توانایی برای کلسیم نیز وجود دارد کلسیم جذب شده در تیمار با اسیدهیومیک می‌تواند در دیواره‌های سلولی نشست کرده و به استحکام آن‌ها کمک نماید (Zhang *et al.*, 2003). بنابراین مواد هیومیکی ممکن است اثر متقابلی با ساختار فسفولیپیدهای غشاءهای سلولی داشته و به عنوان حاملی برای عناصر غذایی عمل نمایند (Khaled and Fawy, 2011). با توجه به موارد فوق، این احتمال می‌رود که اسیدهیومیک با بهبود کارایی جذب عناصر غذایی نیز بتواند ماندگاری گل روی بوته را افزایش دهد.

### نتیجه‌گیری کلی

به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که تیمار اسیدهیومیک سبب

و همکاران (۲۰۰۸) تأثیر مثبت اسیدهیومیک را در افزایش دوام عمر گل بریدنی ژبررا گزارش کردند. برخی پژوهشگران بیان کردند که اسیدهیومیک با افزایش فتوسنتز، تنفس (Heil, 2005) و محتوای کلروفیل (Xu *et al.*, 2012) و در نتیجه محتوای کربوهیدرات در گیاه به طور مستقیم کیفیت و عمر گل را تحت تاثیر قرار می‌دهد. در پژوهشی گزارش شد که فعالیت میکروبی زیاد در مواد آلی هوموسی نیز باعث تولید تنظیم کننده‌های رشد اکسین، سایتوکینین‌ها و جبرلین در این مواد می‌گردد (Krishnamoorthy and Vajranabhiah, 1986) و سایتوکینین‌ها به دلیل به تاخیر انداختن تجزیه کلروفیل و پروتئین‌ها در برگ موجب به تاخیر انداختن پیری در گل‌ها می‌شوند و این ترکیبات نیز در متابولیسم کربوهیدرات و انتقال آن‌ها به جوانه‌های در حال رشد نقش اساسی دارند و از این طریق موجب افزایش میزان ماده خشک در گل‌ها و افزایش طول عمر آن‌ها می‌شوند (فتحی و اسماعیل‌پور، ۱۳۷۹). همچنین می‌توان گفت به دلیل افزایش فتوسنتز با کاربرد اسیدهیومیک، گیاه به تولید کربوهیدرات‌ها ادامه داده که این باعث افزایش ماده خشک گل‌های بریده شده و از این طریق طول عمر گل را افزایش می‌دهد، اما غلظت‌های بالاتر این ماده به دلیل افزایش شوری محلول روی رشد گیاه تأثیر منفی دارند (Atiyeh *et al.*, 2000). از طرف دیگر، استفاده از اسیدهیومیک، باعث افزایش جذب عناصر غذایی و قابلیت دسترسی به مواد غذایی خاک بویژه در خاک‌های قلیایی با مواد آلی کم (Fathy *et al.*, 2010) می‌شود.

ایجاد تغییرات بیوشیمیایی، مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی در گل رز مینیاتوری شده و با فعال کردن سیستم آنتی‌اکسیدانی و همچنین تجمع پرولین، قند محلول و پروتئین باعث بهبود ویژگی‌های رشدی و کیفی گیاه می‌شوند. در بین غلظت‌های مختلف اسیدهیومیک نیز غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر بیشترین تأثیر را در بهبود اکثر شاخص‌های اندازه‌گیری شده نسبت به سایر غلظت‌ها داشت.

## منابع

- فتحی، ق. و اسماعیل‌پور، ب. (۱۳۷۹) مواد تنظیم‌کننده رشد گیاهی اصول و کاربردها (ترجمه). انتشارات دانشگاه مشهد. ۲۸۸ ص.
- کافی، م.، بابالار، م.، نیکبخت، ع. و سماوات، س. (۱۳۸۸) اثر پاشش هیومیک اسید بر جذب عناصر، میزان پروتئین‌ها و خصوصیات پس از برداشت ژبررا رقم مالیبو، مجله علوم باغبانی ایران ۴۰(۱): ۶۹-۵۷.
- Aebi, H. (1984) Catalase *in vitro*. Methods in Enzymology 105: 121-126.
- Astaraei, A. R. and Ivani, R. (2008) Effect of organic sources as foliar spray and root media on nutrition in cowpea plant. American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences 3: 352-356.
- Atiyeh, R. M., Subler, S., Edwards, C. A., Bachman, G., Metzger, J. D. and Shuster, W. (2000) Effects of vermicomposts and composts on plant growth in horticultural container media and soil. Pedobiologia 44: 579-590.
- Ayas, H. and Gulser, F. (2005) The effect of sulfur and humic acid on yield components and macronutrient contents of spinach. Journal of Biological Sciences 5 (6): 801- 804.
- Ayman, M., Kamar, M. and Khalid, M. (2009) Amino and humic acids promote growth, yield and disease resistance of faba bean cultivated in clay soil. Australian Journal of Basic and Applied Sciences 3(2): 731-739.
- Bradford, M. M. (1979) 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.
- Bhattacharjee, S. K. and Baneji, B. K. (2010) The complete book of roses. Aavish Kar Publishers, Distributors Pp. 260-263.
- Cacco, G., Attina, E., Gelsomino, A. and Sidari, M. (2000) Effect of nitrate and humic substances of different molecular size on kinetic parameters of nitrate uptake in wheat seedlings. Journal of Plant Nutrition and Soil Science 163: 313-320.
- Cordeiro, F. C., Santa-Catarina, C., Silveira, V. and Souza, S. R. (2011) Humic acid effect on catalase activity and the generation of reactive oxygen species in corn (*Zea Mays* L.). Bioscience Biotechnology and Biochemistry 75: 70-74.
- Dobbss, L. B., Medici, L. O., Peres, L. E. P., Pino-Nunes, L. E., Rumjianek, V. M., Façanha, A. R. and Canellas, L. P. (2007) Changes in root development of Arabidopsis promoted by organic matter from oxisols. Annals of Applied Biology 151: 199-211.
- Dordas, C. and Sioulas, S. (2008) Sunflower yield, chlorophyll content, photosynthesis and water efficiency response to nitrogen fertilization under rainfed conditions. Crop Production 27: 78-85.
- Edwards, C. A. and Fletcher, K. E. (1998) Interaction between earthworms and microorganisms in organic matter breakdown. Agriculture, Ecosystems and Environment 20: 235-249.
- El-Tayeb, M. A. and El-Enany, N. L. (2006) Salicylic acid-induced adaptive response to copper stress in sunflower (*Helianthus annuus* L.). Plant Growth Regulation 50: 191-199.
- Fan, H-M., Li, T., Sun, X., Sun, X-Zh. and Zheng, C-Sh. (2015) Effects of humic acid derived from sediments on the postharvest vase life extension in cut chrysanthemum flowers. Postharvest Biology and Technology 101: 82-87.
- Fathy, M.A., Gabr, M.A. and El Shall, S.A. (2010) Effect of humic acid treatments on 'Canino' apricot growth, yield and fruit quality. New York Science Journal 3 (12): 109-115.
- Garcíaa, A. C., Santos, L. A., Izquierdo, F. G., Sperandio, M. V. L., Castro, R. N. and Berbara, R. L. L. (2012) Vermicompost humic acids as an ecological pathway to protect rice plant against oxidative stress. Ecological Engineering 47: 203-208.
- Haghighi, M., Kafi, M. and Fang, P. (2012) Photosynthetic activity and N metabolism of lettuce as affected by humic acid. International Journal of Vegetable Science 18: 182-189.
- Heil, C. A. (2005) Influence of humic, fulvic and hydrophilic acids on the growth, photosynthesis and respiration of the dinoflagellate *Prorocentrum minimum* (Pavillard) Schiller. Harmful Algae 4: 603-618.
- Irigoyen, J. J., Emerich, D. W. and Sanchez-Diaz, M. (1992) Water stress induced changes in concentration of prolin and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. Plant Physiology 84: 55-60.
- Kaya, M., Atak, M., Khawar, K. M., Ciftci, C. Y. and Ozcan, S. (2005) Effect of presowing seed treatment with Zinc and foliar spray of humic acids on yield of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). International Journal of Agriculture and Biology 6: 875-878.

- Khaled, H. and Fawy, H. (2011) Effect of different levels of humic acids on the nutrient content, plant growth and soil properties under conditions of salinity. *Soil and Water Research* 6 (1): 21–29.
- Khatab, M., Shaban, A., El-Shrief, H.A. and El-Deen Mohamed, A. (2012) Effect of humic acid and amino acids on pomegranate trees under deficit irrigation. I: growth, flowering and fruiting. *Journal of Horticultural Science and Ornamental Plants* 4: 253-259.
- Khayat, M., Tafazoli, E., Eshghi, S. and Rajae, S. (2007) Effect of nitrogen, boron, potassium and zinc spray on yield and fruit quality of date palm. *American- Eurasian Journal of Agriculture and Environment Science* 2(3): 289- 296.
- Krishnamoorthy, R. V. and Vajranabhiah, S. N. (1986) Biological activity of earthworm casts: An assessment of plant growth promotor levels in casts. *Proceedings of the Indian Academy of Science (Animal Science)* 95: 341–350.
- Lichtenthaler, H. K. and Wellburn, A. R. (1983) Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf in different solvents. *Biochemical Society Transactions* 11: 591- 592.
- Mazhar, A. M., Shedeed, S. I., Abdel-Aziz, N. G. and Mahgoub, M. H. (2012) Growth, flowering and chemical constituents of *Chrysanthemum indicum* L. plant in response to different levels of humic acid and salinity. *Journal of Applied Sciences Research* 8: 3697-3706.
- Munns, R. (2002). Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell and Environment* 25: 239-250.
- Nakano, Y. and Asada, K. (1992) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiology* 22: 867- 880.
- Nardi, S., Pizzeghello, D., Gessa, C., Ferrarese, L., Trainotti, L. and Casadoro, G. (2000) A low molecular weight humic fraction on nitrate uptake and protein synthesis in maize seedlings. *Soil Biology and Biochemistry* 32: 415-419.
- 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.
- Nazari Deljou, M., Pour Youssef, M., Karamian, R. and Jaberian Hamedani, H. (2012) Effect of cultivar on water relations and postharvest quality of gerbera (*Gerbera jamesonii* Bolus ex. Hook f.) cut flower. *World Applied Science Journal* 18: 698-703.
- Nikbakht, A., Kafi, M., Babalar, M., Xia Y. P., Luo, A. and Etemadi, N. (2008) Effect of humic acid on plant growth, nutrient uptake and postharvest life of Gerbera. *Journal of Plant Nutrition* 31: 2155-2167.
- Ozturk, L. and Demir, Y. (2002) *In vivo* and *in vitro* protective role of proline. *Plant Growth Regulation* 38: 259-264.
- Passioura, J. B. (2007) The drought environment: physical, biological and agricultural perspectives. *Journal of Experimental Botany* 58: 113-117.
- Piccolo, A., Celano, G. and Pietramellara, G. (1992) Effects of fractions of coal-derived humic substances on seed germination and growth of seedlings (*Lactuca sativa* and *Lycopersicon esculentum*). *Biology and Fertility of Soils* 16: 11-15.
- Popham, P. L. and Novacky, A. (1991) Use of dimethyl sulfoxide to detect hydroxyl radical during bacteria induced hypersensitive reaction. *Plant Physiology* 96: 1157-1160.
- Reddy, A. R., Chaitanya, K. V. and Vivekanandan, M. (2004). Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *Journal of Plant Physiology* 161: 1189-1202.
- Russo, R. O. and Berlyn, G. P. (1990). The use of organic biostimulants to help low input sustainable agriculture. *Journal of Sustainable Agriculture* 1: 19-42.
- Sharif, M. (2002). Effect of lignitic coal derived humic acid on growth and yield of wheat and maize in alkaline soil. PhD thesis, NWFP Agricultural University, Peshawar.
- Tabatabaie, J. and Nazari, J. (2007) Influence of nutrient concentrations and NaCl salinity on the growth, photosynthesis, and essential oil content of peppermint and lemon verbena. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 31: 245-253.
- Upadhyaya, A., Sankhla, D., Davis, T. D., Sankhla, N. and Smidh, B. N. (1985) Effect of paclobutrazol on the activities of some enzymes of activated oxygen metabolism and lipid peroxidation in senescing soybean leaves. *Journal of Plant Physiology* 121: 453- 461.
- Xu, D. B., Wang, Q. J., Wu, Y. C., Yu, G. H., Shen, Q. R. and Huang, Q. W. (2012) Humic-like sub-stances from different compost extracts could significantly promote cucumber growth. *Pedosphere* 22: 815–824.
- Zhang, Y., Chen, K., Zhang, S. and Ferguson, I. (2003) The role of salicylic acid in postharvest ripening of kiwifruit. *Postharvest Biology and Technology* 28: 67-74.

## Effect of humic acid application on some physiological characteristics of Miniature Rose (*Rosa chinensis* var. *minima* 'Baby Masquerade')

Parvin Talebi and Zohreh Jabbarzadeh\*

Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Orumieh, Iran.

(Received: 12/10/2015, Accepted: 09/03/2016)

### Abstract

This experiment was conducted to investigate the positive effects of foliar and soil application of humic acid on chlorophyll content, flower longevity, antioxidant enzymes activity, proline, malondialdehyde and protein content in a completely randomized design with two factors: humic acid at 4 concentrations (0, 500, 1000 and 2000 ppm) and 2 application methods of humic acid (foliar spray and drench) with 3 replications and 2 observations in *Rosa chinensis* 'Baby Masquerade'. The results showed that both soil and foliar applications of humic acid increased chlorophyll and protein content, antioxidant enzymes activities and flower longevity respectively about to 2, 5, 3 and 1.75 fold compared to the control. MDA levels were increased in soil treatments with increasing concentrations of humic acid but inversely were decreased in foliar treatments. This process was repeated in the activity of APX enzyme. Catalase activity was increased in low concentrations of humic acid but with increasing concentration, its activity was declined. The total protein was increased in all of the humic acid concentrations (except in 500mg/l HA as soil application) compared to the control. The results of this experiment showed that foliar and soil application of humic acid with increasing the activity of antioxidant enzymes and chlorophyll and protein content of plant increased the longevity of flowers.

**Keywords:** Antioxidant enzymes, Chlorophyll, Flower longevity, Malondialdehyde, Miniature rose

\*Corresponding Author's E-mail: z.jabbarzadeh@urmia.ac.ir