



به زراعی کشاورزی

دوره ۱۷ ■ شماره ۲ ■ تابستان ۱۳۹۴
صفحه‌های ۴۰۳-۴۱۴

اثر تنش خشکی و اسید هیومیک بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک چای ترش (*Hibiscus sabdarifa*)

مژگان سنجری میجانی^{۱*}، علی‌رضا سیروس‌مهر^۲ و براتعلی فاخری^۳

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد گیاهان دارویی، گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران
۲. استادیار گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران
۳. دانشیار گروه بیوتکنولوژی و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۳/۱۱/۰۴

تاریخ وصول مقاله: ۱۳۹۳/۰۴/۱۸

چکیده

به منظور بررسی اثر تنش خشکی و اسید هیومیک بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک گیاه دارویی چای ترش، آزمایشی به صورت طرح کرت‌های خردشده در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مرکز آموزش کشاورزی شهید دهقان‌پور جیرفت، در سال ۱۳۹۲ اجرا شد. تیمارهای مورد بررسی شامل تنش خشکی در سه سطح به صورت آبیاری پس از ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر کلاس A به عنوان عامل اصلی؛ و مصرف اسید هیومیک به صورت شاهد (عدم مصرف)، با آبیاری، با آبیاری و یک بار محلول‌پاشی، و با آبیاری و دو بار محلول‌پاشی به عنوان عامل فرعی بودند. اسید هیومیک برای آبیاری و محلول‌پاشی به ترتیب با غلظت ۱۰ کیلوگرم در هکتار و ۲۵۰ سی‌سی در ۱۰۰ لیتر آب استفاده شد. تنش خشکی اثر معناداری بر محتوای کلروفیل a ، کلروفیل b ، کاروتنوئید، محتوای رطوبت نسبی برگ و پرولین برگ چای ترش داشت. اثر متقابل اسید هیومیک و تنش خشکی تنها بر شاخص کلروفیل کل و مقدار کل کربوهیدرات‌های محلول معنادار بود. با افزایش تنش خشکی از مقدار کلروفیل a (۴۸/۲۲ درصد)، کلروفیل b (۳۲/۷۷ درصد)، کاروتنوئید (۷۹/۶۴ درصد) و محتوای رطوبت نسبی (۱۲/۵۹ درصد) کاسته شد؛ در حالی که بر غلظت پرولین (۲۶/۸ درصد) افزود. اسید هیومیک سبب افزایش محتوای کلروفیل‌های a و b و کاروتنوئید شد و مقدار پرولین را ۱۵/۰۴ درصد کاهش داد.

کلیدواژه‌ها: پرولین، تشتک تبخیر، تنظیم اسمزی، رطوبت نسبی، کلروفیل متر.

۱. مقدمه

خشکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده رشد گیاهان در سرتاسر جهان و شایع‌ترین تنش محیطی است [۱۴]. صرفه‌جویی در مصرف آب با کشت گیاهان مقاوم به خشکی به‌عنوان راهکاری برای مقابله با خشکی مطرح شده است. چای ترش^۱ یکی از گیاهان کم‌نیاز و مقاوم به خشکی است [۲]. چای ترش از خانواده ختمی^۲ و بومی آفریقا است و در تمام مناطق استوایی و گرم کشت می‌شود. در بسیاری از کشورها، کاسبرگ این گیاه به‌دلیل خواص دارویی (درمان فشار خون و خواص آنتی‌اسکوربیک)، همچنین در صنایع غذایی استفاده می‌شود و الیاف و چوب آن در تولید خمیر کاغذ کاربرد دارد [۲۱].

یکی از سازوکارهای کارآمدی که گیاه در شرایط کمبود آب از آن بهره می‌گیرد، تنظیم اسمزی است. از مهم‌ترین اسمولیت‌های سهیم در تنظیم اسمزی برای غالب شدن بر آثار سوء تنش خشکی، تجمع اسمولیت‌های سازگار نظیر پرولین و قندهای محلول است. مقدار پرولین آزاد در گیاهانی که در حد مطلوب آبیاری می‌شوند، بسیار کم و در حدود ۰/۲-۰/۶ میلی‌گرم در گرم ماده خشک است. مقدار این ماده پس از کاهش آب بافت‌ها تا ۵۰-۴۰ میلی‌گرم در هر گرم ماده خشک افزایش می‌یابد [۳۰]. تجمع قندهای محلول در پاسخ به تنش خشکی نیز به‌صورت قوی مستند شده است. بروز تنش خشکی بر مقدار دو تنظیم‌کننده اسمزی کربوهیدرات و پرولین در برگ آفتابگردان افزود [۴]. در گیاه کلزا در شرایط تنش خشکی، مقدار هیدرات‌های کربن افزایش یافت [۶].

مقدار کلروفیل در گیاهان زنده یکی از عامل‌های مهم حفظ ظرفیت فتوسنتزی است. مقدار کلروفیل برگ می‌تواند برای مطالعه در شرایط تنش به‌کار رود. برای ارزیابی مقدار

کلروفیل برگ به‌روش غیرتخریبی می‌توان از دستگاه کلروفیل‌متر استفاده کرد [۲۴]. از صدمات اکسیداتیو مهمی که در شرایط خشکی ایجاد می‌شود، تخریب مولکول کلروفیل است. تحت تأثیر خشکی کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی مانند کلروفیل *a* ممکن است ناشی از کاهش سنتز کمپلکس اصلی رنگدانه کلروفیل، تخریب نوری کمپلکس پروتئینی رنگدانه‌های *a* و *b* که محافظت‌کننده دستگاه فتوسنتزی هستند، صدمه اکسیداتیو لپیدهای کلروپلاست، رنگدانه‌ها و پروتئین‌ها یا افزایش فعالیت آنزیم کلروفیل‌لاز باشد [۳۱]. کمبود آب سبب کاهش محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی و کاهش فعالیت آنزیم‌های فتوسنتزی به‌ویژه آنزیم رویسکو می‌شود [۱۶].

اندازه‌گیری وضعیت آب گیاه، شاخصی مهم در شناسایی پاسخ گیاهان به تنش خشکی است، به‌طوری که زیاد بودن مقدار آب نسبی برگ و کم بودن سرعت از دست رفتن آب، نشان‌دهنده سازگاری به خشکی است. در گیاهان رزماری و بادرنجبویه، تنش خشکی، آب نسبی (RWC) رزماری را تا ۴۰ و بادرنجبویه را تا ۳۰ درصد کاهش داد [۲۸].

تغذیه مطلوب گیاهی یکی از روش‌های مؤثر بر تواناسازی گیاهان در مقابله با شرایط خشکی معرفی شده است. اسید هیومیک یکی از کودهای پراهمیت در بخش مصرف در گیاهان است [۵]. اسید هیومیک با اصلاح فیزیکی و بهبود دانه‌بندی خاک فضای بیشتری برای نفوذ آب ایجاد می‌کند. به‌علاوه، مولکول‌های اسید هیومیک با مولکول‌های آب پیوندی تشکیل می‌دهند که تا حدود زیادی مانع تبخیر آب می‌شود [۱۰]. همچنین اسید هیومیک با افزایش فعالیت آنزیم رویسکو، سبب افزایش فعالیت فتوسنتزی گیاه می‌شود [۱۷]. در انگور، تیمار محلول‌پاشی اسید هیومیک سبب بهبود تحرک و کارایی عناصر غذایی و افزایش مقدار روی و آهن برگ و در نتیجه افزایش فتوسنتز و افزایش تولید کربوهیدرات و پروتئین شد [۸].

1. *Hibiscus sabdarifa*
2. Malvaceae

به‌زرای کشاورزی

به صورت طرح کرت‌های خردشده در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مرکز آموزش کشاورزی شهید دهقان پور جیرفت، در سال ۱۳۹۲ اجرا شد. موقعیت، طول جغرافیایی ۵۷ درجه و ۲۵ دقیقه شرقی و عرض ۲۷ درجه و ۳۰ دقیقه شمالی با ارتفاع ۶۲۷ متر از سطح دریا و متوسط بارندگی سالیانه ۱۴۰ میلی‌متر بود. نتایج تجزیه شیمیایی خاک محل آزمایش قبل از کاشت در جدول ۱ آورده شده است.

مصرف اسید هیومیک موجب افزایش مقدار کلروفیل *a* و کلروفیل کل در صنوبر شد [۲۲] و نیز افزایش مقدار کربوهیدرات در برنج را در پی داشت [۲۹]. هدف پژوهش حاضر، بررسی اثر تنش خشکی و اسید هیومیک بر مقدار تجمع پرولین، قندهای محلول، محتوای رطوبت نسبی و کلروفیل گیاه دارویی چای ترش است.

۲. مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر تنش خشکی و اسید هیومیک بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک گیاه دارویی چای ترش، آزمایشی

جدول ۱. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک قبل از اجرای آزمایش

عمق نمونه برداری (cm)	بافت خاک	هدایت الکتریکی (ds/m)	اسیدیته (pH)	کربن آلی (%)	نیتروژن (%)	فسفر قابل جذب (ppm)	پتاسیم قابل جذب (ppm)
۰-۳۰	شنی - لومی	۱/۳۸	۷	۰/۰۳۱	۰/۰۱۴	۶/۷	۱۳۸
۳۰-۶۰	شنی - لومی	۱/۹۵	۷/۱	۰/۲۱	۰/۰۱۴	۱۰/۲	۱۳۵

زده شد. سپس کرت‌های مورد آزمایش (با ابعاد ۳ × ۴ متر) مشخص شد. بذور گیاه چای ترش در اوایل فروردین در جعبه نشا حاوی ماسه و خاک برگ کشت شدند و در مرحله چهاربرگی در اواخر فروردین به زمین اصلی انتقال یافتند و با فاصله بین و روی ردیف ۶۰ سانتی‌متر کشت شدند. در همین زمان، اسید هیومیک همراه با آب آبیاری در یک نوبت به گیاهان داده شد. همه کرت‌های مورد آزمایش تا رسیدن گیاه به ارتفاع ۴۰ سانتی‌متری به صورت یکسان آبیاری شد. سپس تیمارهای تنش خشکی اعمال شد. اسید هیومیک به صورت محلول‌پاشی در دو نوبت، یک مرحله قبل از تغییر رنگ ساقه گیاه از سبز به قرمز (قبل از بلوغ)، در اوایل شهریور و بار دیگر قبل از گلدهی (در اواخر شهریور) به گیاه داده شد. در اواخر مهر که

آزمایش به صورت کرت‌های خردشده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. تیمارهای مورد بررسی شامل تنش خشکی به صورت آبیاری پس از $A_1 = 50$ میلی‌متر، $A_2 = 100$ میلی‌متر و $A_3 = 150$ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر کلاس A به عنوان عامل اصلی؛ و مصرف اسید هیومیک شامل $B_1 =$ شاهد، $B_2 =$ با آبیاری، $B_3 =$ با آبیاری و یک بار محلول‌پاشی، $B_4 =$ با آبیاری و دو بار محلول‌پاشی به عنوان عامل فرعی بودند. اسید هیومیک به صورت آبیاری و محلول‌پاشی به ترتیب با غلظت ۱۰ کیلوگرم در هکتار و ۲۵۰ سی‌سی در ۱۰۰ لیتر آب براساس دستورالعمل تولیدکننده^۱ به کرت‌های مربوط داده شد. زمین مورد نظر در پاییز شخم و در بهار دیسک

1 . Green Hum- Made in Germany

تازه تعیین شد و سپس برگ‌ها در آب مقطر به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق و در تاریکی قرار گرفتند و متعاقب آن وزن آماس تعیین شد. در مرحله بعد، برگ‌ها ۷۲ ساعت در ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و خشک شدند. مقدار RWC برگ از فرمول زیر به دست آمد:

$$RWC = (FW - DW)/(TW - DW) \times 100 \quad (۴)$$

FW وزن بافت تر، TW وزن آماس یافته گیاه و DW

وزن خشک بافت گیاه است [۲۶].

برای اندازه‌گیری کربوهیدرات در پایان مرحله گلدھی، پس از افزودن ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد به ۰/۲ گرم بافت تازه نمونه و قرار دادن آن در حمام بن‌ماری به مدت یک ساعت، با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد، ۱ میلی‌لیتر فنول ۰/۵ درصد و ۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۹۸ درصد به ۱ میلی‌لیتر از این محلول اضافه شد و جذب آن در طول موج ۴۸۳ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. مقدار کربوهیدرات استخراجی بر اساس میلی‌گرم گلوکز بر گرم وزن تر نمونه و مطابق منحنی استاندارد گلوکز به دست آمد [۲۳].

برای اندازه‌گیری غلظت پرولین ۰/۵ گرم از نمونه برگ که در پایان مرحله گلدھی جمع‌آوری شده بود، توزین شد و ضمن ساییدن داخل هاون چینی به تدریج ۱۰ سی‌سی اسید سولفوسالیسیلیک ۳ درصد به آن افزوده شد. محلول حاصل به لوله آزمایش دردار منتقل شد و به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد (۳۰۰۰ دور در دقیقه) از عصاره حاصل ۱ سی‌سی برداشته و در لوله آزمایش ریخته شد و سپس ۱ سی‌سی معرف نین‌هیدرین و ۱ سی‌سی اسید استیک گلاسیال به آن افزوده شد و یک ساعت در بن‌ماری ۱۰۰ درجه قرار گرفت تا رنگ آجری تولید شد؛ سپس برای توقف واکنش‌ها در آب یخ قرار داده شد و بعد از سرد شدن، به هر لوله آزمایش ۴ میلی‌لیتر محلول تولوئن اضافه شد. در هر لوله، دو فاز تشکیل شد. فاز بالایی که حاوی کمپلکس رنگی بود، برای اندازه‌گیری مقدار پرولین استفاده

مصادف با پایان گلدھی بود، مقدار کلروفیل کل برگ با استفاده از دستگاه کلروفیل‌متر دستی^۱ سنجیده شد.

برای اندازه‌گیری محتوای کلروفیل برگ‌ها در پایان گلدھی (اواخر مهر)، نمونه‌برداری از برگ‌ها انجام گرفت و بعد از انتقال از مزرعه، در آزمایشگاه، ۰/۱ گرم بافت تازه گیاهی در هاون چینی با نیتروژن مایع ساییده شد. پس از افزودن ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد به آن، به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شده و جذب محلول بالایی در طول موج‌های ۶۶۳ نانومتر برای کلروفیل *a*، ۶۴۵ نانومتر برای کلروفیل *b* و ۴۷۰ نانومتر برای کاروتنوئیدها توسط اسپکتروفتومتر^۲ معین شد. سپس با استفاده از فرمول‌های زیر، مقدار کلروفیل‌های *a* و *b* و کاروتنوئیدهای (میلی‌گرم بر گرم وزن تر) نمونه به دست آمد:

(۱)

$$\text{Chlorophyll } a = (19.3 \times A_{663} - 0.86 \times A_{645}) V/100W \quad (۲)$$

$$\text{Chlorophyll } b = (19.3 \times A_{645} - 3.6 \times A_{663}) V/100W \quad (۳)$$

$$\text{Carotenoides} = 100(A_{470}) - 3.27(\text{mg chl. } a) - 104(\text{mg chl. } b)/227$$

در این رابطه‌ها، *V* حجم محلول سانتریفیوژ شده، *A* جذب نور در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر و *W* وزن تر نمونه بر حسب گرم) است [۱۳].

در پایان مرحله گلدھی، مقدار نسبی آب (RWC)^۳ با انتخاب جوان‌ترین برگ توسعه یافته در هر کرت اندازه‌گیری شد، برگ‌ها پس از قطع شدن از انتهای پهنک در یک پلاستیک قرار داده شدند و تا زمان رسیدن به آزمایشگاه در فلاسک یخ قرار گرفتند. در آزمایشگاه وزن

1. Soil and Plant Analysis Division - SPAD. 502

2. Unico UV- 2100 Spectrophotometr –Made in Amrican

3. Relative Water Content

که بیشترین مقدار کلروفیل a از تیمار مصرف اسید هیومیک به صورت مصرف با آبیاری و یک بار محلول‌پاشی به دست آمد. همچنین بیشترین مقدار کلروفیل b مربوط به تیمار مصرف با آبیاری و یک بار محلول‌پاشی بود و بیشترین مقدار کاروتنوئید به تیمار مصرف اسید هیومیک با آبیاری و دو بار محلول‌پاشی تعلق داشت (جدول ۳).

اسید هیومیک از طریق قدرت کلات‌کنندگی عناصر غذایی و با کاهش تبخیر و تعرق [۱۱] و در نتیجه قرار دادن آب و مواد غذایی بیشتر و مناسب‌تر در اختیار گیاه می‌تواند ساخت رنگیزه‌ها را افزایش دهد و انتقال مواد فتوسنتزی را در گیاه راحت‌تر کند. به همین دلیل کلروفیل a و b مقادیر بیشتری در تیمار با هیومیک نشان دادند. محلول‌پاشی اسید هیومیک در لوبیا سبب افزایش پروتئین و کلروفیل در گیاه از طریق افزایش سرعت و میزان جذب مواد غذایی شد [۱۸].

شد و میزان جذب نور آن در طول موج ۵۲۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد [۱۵].

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد صورت گرفت.

۳. نتایج و بحث

در این آزمایش، اثر تنش خشکی و اسید هیومیک بر مقدار کلروفیل a و کلروفیل b و کاروتنوئید معنادار بود (جدول ۲)، به طوری که در اثر تنش خشکی، مقدار کلروفیل‌های a و b و کاروتنوئید به شدت کاهش یافت (جدول ۳). به نظر می‌رسد کاهش کلروفیل در اثر تنش خشکی، به علت افزایش تولید رادیکال‌های اکسیژن باشد که این رادیکال‌های آزاد سبب پراکسیداسیون و در نتیجه تجزیه رنگیزه می‌شوند. بر اثر تنش آبی، محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی (کلروفیل‌های a و b) در برگ‌ها کاهش می‌یابد [۱۶].

مقایسه میانگین سطوح مختلف اسید هیومیک نشان داد

جدول ۲. تجزیه واریانس شاخص کلروفیل کل، کلروفیل a ، کلروفیل b ، کاروتنوئید، پرولین، رطوبت نسبی و کربوهیدرات چای ترش

میانگین مربعات								منابع تغییرات
کربوهیدرات	رطوبت نسبی	پرولین	کاروتنوئید	کلروفیل b	کلروفیل a	شاخص کلروفیل کل (SPAD)	درجه آزادی	
۰/۱۶	۹/۶۱	۱/۷۸	۰/۷۱*	۰/۰۰۳	۰/۶۹	۱/۸۰	۲	تکرار
۴/۰۳۷**	۳۲۷/۲۸**	**۱۱/۷۳	۵۸۳/۱۸**	۰/۱۷**	۳۴/۲۵**	۲۴۲/۳۵**	۲	تنش خشکی
۰/۰۷۲	۱۷/۱۸	۰/۸۱	۲/۲۰**	۰/۱۱**	۰/۵۴	۱۷/۰۱	۴	خطای اصلی
۰/۴۷**	۲/۳۳ ^{NS}	**۱/۸۶	۱/۳۸**	۰/۰۸*	۱/۴۱**	۸۶/۲۳**	۳	اسید هیومیک
۰/۰۴۵*	۱/۰۶ ^{NS}	^{NS} ۰/۱۲	۰/۲۶ ^{NS}	۰/۰۱ ^{NS}	۰/۳۶ ^{NS}	۱۲/۴۳*	۶	تنش خشکی × اسید هیومیک
۰/۰۱۲	۱/۶۹	۰/۱۱	۰/۱۹	۰/۰۲۲	۰/۲۷	۳/۴۶	۱۸	خطای فرعی
۳/۲۴	۱/۷۳	۵/۲۱	۳/۸۸	۹/۷۰	۹/۸۷	۷/۰۴	-	ضریب تغییرات (/.)

***, **, NS: به ترتیب معنی دار در سطح ۱ و ۵ درصد و عدم معنی داری

جدول ۳. مقایسه میانگین اثر تنش خشکی و اسید هیومیک بر شاخص کلروفیل کل، کلروفیل های *a* و *b* و کاروتنوئید

تیمارهای آزمایش	کلروفیل <i>a</i> (mg/g)	کلروفیل <i>b</i> (mg/g)	کاروتنوئید (mg/g)
سطوح خشکی			
A1	۷/۰۱a	ا۱/۷۷	۱۵/۸۱a
A2	۵/۲۶b	۱/۶۹a	۱۴/۷۰b
A3	۳/۶۳c	۱/۱۹b	۳/۲۲c
سطوح هیومیک			
B1	۴/۹۵b	۱/۴۶c	۱۰/۸۲c
B2	۴/۹۶b	۱/۴۸bc	۱۱/۰۳bc
B3	۵/۶۶a	۱/۶۱a	۱۱/۴۵ab
B4	۵/۶۲a	۱/۵۷ab	۱۱/۶۸a

- میانگین های دارای حروف مشابه در هر ستون براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد دارای تفاوت آماری معنادار نیستند.
- A1, A2, A3 به ترتیب معادل ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی متر تبخیر از تشت تبخیر کلاس A و B1, B2, B3, B4 به ترتیب معادل عدم مصرف اسید هیومیک، مصرف اسید هیومیک با آبیاری، مصرف اسید هیومیک با آبیاری و یک بار محلول پاشی، مصرف اسید هیومیک با آبیاری و دو بار محلول پاشی.

نتایج تجزیه واریانس نشان داد تنش خشکی اثر معناداری بر محتوای رطوبت نسبی داشت (جدول ۲). در این آزمایش، تیمارهای مختلف اسید هیومیک تأثیر معناداری بر محتوای رطوبت نسبی برگ نداشت (جدول ۲). بیشترین محتوای رطوبت نسبی (۸۰/۸۱) مربوط به شاهد، و کمترین آن مربوط به تنش شدید (۷۰/۶۵) بود (جدول ۴). تنش خشکی، سبب کاهش محتوای نسبی آب (RWC)، پتانسیل کل آب و کاهش رشد گیاهان می شود. سازوکار تنظیم اسمزی در گیاهان متحمل به خشکی، سبب حفظ و بالا نگه داشتن RWC در گیاه می شود. در یک بررسی، تنش خشکی موجب کاهش محتوای نسبی آب (RWC) گیاه بادرنجبویه شد [۷]. اگر مقدار نسبی آب برگ در محدوده ۷۰-۳۵ درصد باشد، ظرفیت فتوسنتزی کاهش می یابد که علت اصلی ممکن است ممانعت نوری باشد [۹].

تأثیرات مثبت اسید هیومیک بر متابولیسم سلول های گیاهی و افزایش مقدار رنگیزه های کلروفیل تأیید شده است. اثر اسید هیومیک سبب کاهش تنش خشکی شد. اسید هیومیک با قرار دادن آب و مواد غذایی بیشتر و مناسب تر در اختیار گیاه می تواند ساخت کلروفیل های *a* و *b* و کاروتنوئیدها را افزایش دهد و انتقال مواد فتوسنتزی را راحت تر کند [۱۷]. مصرف اسید هیومیک در خاک فعالیت آنزیمی و فتوسنتز را تحریک می کند و تحریک زردی یا کلروز در گیاه را با بهبود بخشیدن به جذب منیزیم و آهن توسط گیاهان به تأخیر می اندازد. افزایش ۳۳-۳۸/۶ درصدی کلروفیل *a* و ۲۷/۸-۱۰/۵۳ درصدی کلروفیل *b* در اثر کاربرد اسید هیومیک در گیاه گندم گزارش شده است [۱۲]. در این پژوهش تأثیرپذیری کلروفیل های *a* و *b* و کاروتنوئید از اسید هیومیک نیز مبین مؤثر بودن این کود است.

جدول ۴. مقایسه میانگین تأثیرات ساده تنش خشکی و اسید هیومیک بر پرولین، رطوبت نسبی و کربوهیدرات چای ترش

تیمارهای آزمایش	پرولین ($\mu\text{g/g}$)	رطوبت نسبی (%)
سطوح خشکی		
A1	۵/۴۱ ^c	۸۰/۸۱ ^a
A2	۶/۵۱ ^a	۷۳/۶۶ ^b
A3	۷/۳۹ ^a	۷۰/۶۴ ^b
سطوح هیومیک		
B1	۷/۰۵ ^a	۷۴/۴۲ ^a
B2	۶/۵۰ ^b	۷۴/۸۳ ^a
B3	۶/۲۱ ^{bc}	۷۵/۳۸ ^a
B4	۵/۹۹ ^c	۷۵/۵۲ ^a

- میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت آماری معنادار ندارند.
- A3, A2, A1 به ترتیب معادل ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌متر تبخیر از تحت تبخیر کلاس A و B4, B3, B2, B1 به ترتیب معادل عدم مصرف اسید هیومیک، مصرف اسید هیومیک با آبیاری، مصرف اسید هیومیک با آبیاری و یک بار محلول‌پاشی، مصرف اسید هیومیک با آبیاری و دو بار محلول‌پاشی.

[۲۵]. احتمالاً گیاه به دلایل یادشده پرولین خود را افزایش داده است. افزایش پرولین طی تنش خشکی در گیاهان دارویی آویشن [۳] و بابونه [۱] نیز گزارش شده است. نتایج آزمایشی در آفتابگردان^۱ نشان داد که تنش خشکی سبب افزایش تجمع پرولین می‌شود [۴].

مقایسه میانگین‌های سطوح مختلف اسید هیومیک نشان داد که تیمار مصرف اسید هیومیک با آبیاری و دو بار محلول‌پاشی، با میانگین ۵/۹۹ میکروگرم در گرم وزن تر دارای کمترین مقدار پرولین بود که نسبت به شاهد کاهش ۱۷ درصدی داشت (جدول ۴). تجمع ترکیباتی مانند پرولین تا حدی شرایط را برای جذب آب از محیط ریشه فراهم می‌آورد، اما اتکای گیاهان به این ترکیب هزینه‌بر است و سبب کاهش عملکرد می‌شود [۲۰]. بنابراین می‌توان انتظار داشت که در سطح بالای تنش خشکی، به‌کارگیری اسید هیومیک سبب کاهش تولید پرولین،

بنابراین به نظر می‌رسد گیاه مقاوم چای ترش با حفظ مقادیر زیاد RWC به‌نحوی از عوامل محدودکننده غیرروزنه‌ای در شرایط تنش فرار می‌کند. با اینکه تأثیر محسوسی در اثر کاربرد اسید هیومیک در این آزمایش دیده نشد، از آنجا که اسید هیومیک در گسترش ریشه و در نتیجه قابلیت جذب آب و عناصر غذایی کاراست [۱۱]، می‌توان تأثیر مثبت آن را انتظار داشت.

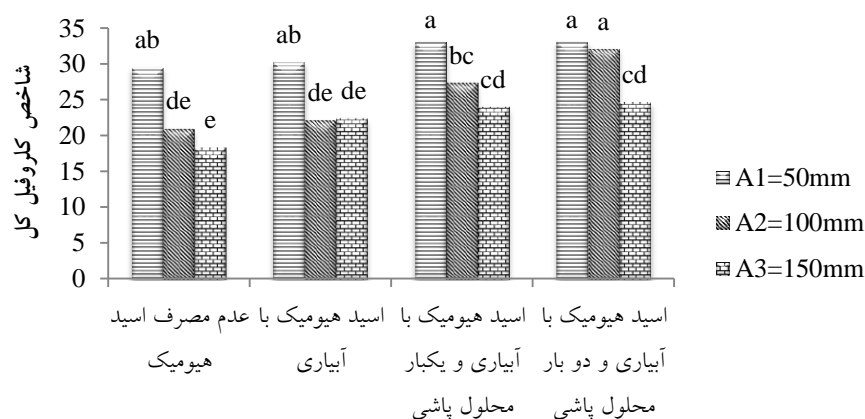
اثر تنش خشکی و اسید هیومیک بر مقدار پرولین برگ چای ترش معنادار بود (جدول ۲). اعمال تنش خشکی سبب افزایش مقدار پرولین شد، به طوری که بیشترین مقدار پرولین مربوط به تیمار تنش شدید (۷/۳۹ میکرومول در گرم وزن تر) بود (جدول ۴). هنگامی که گیاهان تحت تأثیر تنش‌ها قرار می‌گیرند، غلظت اسمولیت‌هایشان را افزایش می‌دهند تا جذب آب تحت شرایط تنش ادامه یابد. در بین اسمولیت‌های آلی، پرولین احتمالاً فراوان‌ترین و عمومی‌ترین ماده حل‌شده سازگار است که تجمع می‌یابد

1. *Helianthus annuus* L.

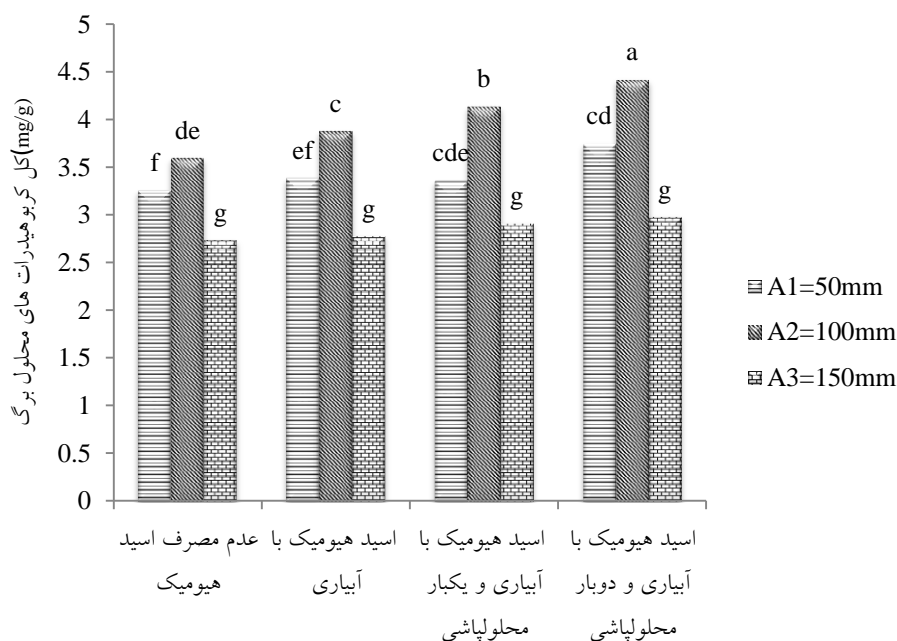
کاربرد برگی اسید هیومیک می‌تواند فتوستتزی را تقویت کند و تحمل به تنش‌های زنده و غیرزنده را افزایش دهد. در بررسی سطوح مختلف آبیاری و اسید هیومیک بر صنوبر مشخص شد که با افزایش آب و استفاده از اسید هیومیک مقدار کلروفیل افزایش یافت [۲۲]. همچنین در شرایط خشکی اسید هیومیک با افزایش فعالیت آنزیم روبیسکو سبب افزایش فعالیت فتوستتزی گیاه می‌شود [۱۷].

کاهش اثر تنش خشکی و افزایش عملکرد چای ترش شود.

اثر متقابل اسید هیومیک و تنش خشکی بر شاخص کلروفیل کل معنادار بود (جدول ۲)، به طوری که بیشترین آن از آبیاری پس از ۵۰ میلی‌متر تبخیر و تیمار مصرف اسید هیومیک با آبیاری و یک بار محلول‌پاشی و مصرف با آبیاری و دو بار محلول‌پاشی به‌دست آمد (شکل ۱).



شکل ۱. اثر متقابل تنش خشکی و اسید هیومیک بر شاخص کلروفیل کل چای ترش



شکل ۲. اثر متقابل تنش خشکی و اسید هیومیک بر کل کربوهیدرات‌های محلول برگ چای ترش

۴. همبستگی بین صفات بررسی شده

ضرایب همبستگی صفات بررسی شده نشان داد که بین کلروفیل‌های a و b و کاروتنوئیدها با پرولین رابطه منفی حاکم است، زیرا در شرایط بدون تنش که مقدار کلروفیل در حداکثر خود قرار دارد، پرولین بسیار اندک تولید می‌شود (جدول ۵). همچنین رابطه منفی بین پرولین و مقدار رطوبت نسبی نشان می‌دهد که هرچه محتوای آب نسبی زیاد باشد، امکان تولید پرولین کاهش پیدا می‌کند [۱۵]. همبستگی منفی بین پرولین و مقدار کربوهیدرات نشان‌دهنده اختصاص قندها در گیاه دارویی چای ترش در حالت تنش شدید به سمت تولید پرولین است.

در این آزمایش، اثر متقابل تنش خشکی و اسید هیومیک بر مقدار کربوهیدرات برگ معنادار بود (جدول ۲). بیشترین مقدار کربوهیدرات از تیمار آبیاری پس از ۱۰۰ میلی‌متر تبخیر و مصرف اسید هیومیک به صورت مصرف با آبیاری و دو بار محلول‌پاشی حاصل شد (شکل ۲). در حالت تنش متوسط مقدار کربوهیدرات افزایش نشان داد. توزیع مواد هیدروکربنی به طور مستقیم تحت تأثیر تنش‌ها نظیر کمبود آب و به طور غیرمستقیم تحت تأثیر هورمون‌های گیاهی قرار می‌گیرد. کاربرد اسید هیومیک به دلیل افزایش فتوسنتز و تولید هیدرات‌های کربن تحمل گیاه را به شرایط تنش افزایش می‌دهد [۲۷]. اسید هیومیک در تیمار کامل آبیاری گیاه آکاسیا (*Acacia saligna*) بیشترین مقدار کربوهیدرات برگ را تولید کرد [۱۹].

جدول ۵. ضرایب همبستگی بین صفات بررسی شده

صفات	شاخص کلروفیل کل (SPAD)	کلروفیل a	کلروفیل b	کاروتنوئید	پرولین	رطوبت نسبی	کربوهیدرات
شاخص کلروفیل کل (SPAD) ۱							
کلروفیل a	۰/۶۹**						
کلروفیل b	۰/۶۷**	۰/۷۶**					
کاروتنوئید	۰/۶۱**	۰/۸۱**	۰/۹۱**				
پرولین	-۰/۷۶**	-۰/۷۰**	-۰/۶۲**	-۰/۶۹**	۱		
رطوبت نسبی	۰/۶۸**	۰/۸۴**	۰/۷۳**	۰/۶۱**	-۰/۶۳**	۱	
کربوهیدرات	۰/۴۹**	۰/۴۸**	۰/۷۰**	۰/۷۷**	-۰/۵۴**	۰/۲۴ ^{ns}	۱

** : معنادار در سطح ۱ درصد براساس آزمون دانکن

۵. نتیجه گیری

تنش، محتوای پرولین و در تنش متوسط غلظت کربوهیدرات افزایش می‌یابد که نوعی سازگاری گیاه با شرایط تنش محسوب می‌شود، اما وابستگی گیاهان در این شرایط به ترکیباتی مانند پرولین برای گیاهان هزینه‌بر است [۹]. مصرف اسید هیومیک در شرایط تنش رطوبتی به

چای ترش مانند بیشتر گیاهان، واکنش فیزیولوژیک به تنش نشان می‌دهد، به طوری که با افزایش تنش از مقدار کلروفیل و رطوبت نسبی کاسته می‌شود. رطوبت نسبی برگ حتی در تنش شدید بیش از ۷۰ درصد بود. همچنین با بیشتر شدن

تنش خشکی. علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان. ۱۲(۴۶): ۱۲۸-۱۱۹.

۵. سردشتی ع و علیدوست م (۱۳۸۶) تعیین و شناسایی ترکیبات اسید هیومیک خاک‌های جنگلی شمال ایران، پانزدهمین همایش بلورشناسی و کانی‌شناسی ایران. دانشگاه فردوسی مشهد، ۳۶۱ ص.

۶. سینکی ج (۱۳۸۶) بررسی جنبه‌های اکوفیزیولوژیک تحمل به تنش‌های خشکی و سرما در ارقام پیشرفته کلزای پاییزه. پایان‌نامه دکتری. دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران.

۷. عباس‌زاده ب، شریفی عاشورآبادی ا، لباسچی م ح، نادری حاجی باقر کندی م و مقدمی ف (۱۳۸۶) اثر تنش خشکی بر میزان پرولین، قندهای محلول، کلروفیل و آب‌نسی بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.). تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. ۲۳(۴): ۵۱۳-۵۰۴.

۸. غیبی م ن و درستکار م (۱۳۷۹) تأثیر بهینه عناصر غذایی بر افزایش عملکرد رقم انگور سیاه. خلاصه مقالات دومین همایش ملی استفاده بهینه از کود و سم در کشاورزی، کرج، ایران.

۹. کافی م و دامغانی ع (۱۳۷۹) مکانیسم‌های مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد. ۴۷۲ ص.

۱۰. میر حاجیان ع (۱۳۹۱) اسید هیومیک چیست؟ ماهنامه تحلیلی خبری، آموزشی مهندسی کشاورزی. ۳۳: ۱۶-۷.

۱۱. ناسوتی میاندوآب ر، سماوات س و تهرانی م م (۱۳۸۹) خواص کود اسید هیومیک بر گیاه و خاک. کشاورزی و غذا. ۱۰۱: ۵۵-۵۳.

کاهش غلظت پرولین و افزایش غلظت هیدرات‌های کربن محلول در برگ منجر شد. این امر نشان می‌دهد که اسید هیومیک هم به صورت محلول در آب آبیاری و هم به صورت محلول پاشی می‌تواند به عنوان کود آلی در تنظیم اسمزی تحت شرایط تنش خشکی مؤثر باشد و مهم‌تر آنکه کاربرد کود آلی اسید هیومیک به جای کودهای شیمیایی، نویدبخش کشاورزی پایدار و کاهش آلودگی‌های زیست‌محیطی در آینده است.

منابع

۱. احمدیان ا، قنبری ا، سیاه سر ب، حیدری م، رمرودی م و موسوی‌نیک س م (۱۳۸۹) اثر بقایای کود شیمیایی، دامی و کمپوست بر عملکرد، اجزای عملکرد، برخی خصوصیات فیزیولوژیک و میزان اسانس بابونه تحت شرایط تنش خشکی. پژوهش‌های زراعی ایران. ۸(۴): ۶۷۶-۶۶۸.

۲. اکبری نیا ا، قلاوند ا، سفیدکن ف، رضایی م ب و شریفی عاشورآبادی ا (۱۳۸۲) بررسی تأثیر کودهای شیمیایی، دامی و تلفیقی بر عملکرد و میزان ترکیبات اسانس دانه گیاه دارویی زنیان. پژوهش و سازندگی (ویژه زراعت و باغبانی). ۱۶(۴): ۴۱-۳۲.

۳. بابایی ک، امینی دهقی م، مدرس ثانوی س ع م و جباری ر (۱۳۸۹) اثر تنش خشکی بر صفات مورفولوژیک، میزان پرولین و درصد تیمول در آویشن (*Thymus vulgaris* L.). تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. ۲۶(۲): ۲۳۹-۲۵۱.

۴. بابائیان م، حیدری م و قنبری ا (۱۳۸۷) اثر محلول پاشی عناصر ریزمغذی بر تنظیم‌کننده‌های اسمزی، عملکرد و اجزای عملکرد دانه آفتابگردان رقم آلستر در سه مرحله

12. Abou-Aly HE and Mady MA (2009) Complemented effect of humic acid and biofertilizers on wheat (*Triticum aestivum* L.) productivity. *Annals of Agriculture Science Moshtohor*. 47(1): 1-12.
13. Arnon D I (1949) Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *American Society of Plant Physiologists*. 24: 1-10.
14. Bannayan M, Nadjafi F, Azizi M, Tabrizi L and Rastgoo M (2008) Yield and seed quality of *Plantago ovata* and *Nigella sativa* under different irrigation treatments. *Industrial Crops and Products*. 27: 11-16.
15. Bates IS, Waldern RP and Teare ID (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*. 39: 205-207.
16. Burce JA (1991) Comparative responses of leaf conductance to humidity in single attached leaves. *Experimental Botany*. 32: 629-634.
17. 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.
18. El-Bassiony AM, Fawzy ZF, Abd El-Baky MMH, Mahmoud Asmaa R (2010) Response of snap bean plants to mineral fertilizers and humic acid application. *Research Agricultural and Biological Science, INSInet Publication*. 6(2): 169-175.
19. El-khateeb MA, El-lethy AS and Alyemaa BA (2011) Effect of mycorrhizal fungi inoculation and humic acid on vegetative growth of acacia (*Saligna iabill*). *Horticultural Science*. 3(3): 283-289.
20. Good A and Zaplachinski S (1994) The effects of drought on free amino acid accumulation and protein synthesis in *Brassica napus*. *Physiologia Plantarum*. 90: 9-14.
21. Howard A and Howard GLC (1911) Studies in Indian fiber plants. No. 2. On some new varieties of *Hibiscus cannabinus* L. and *Hibiscus sabdariffa* L. *Genetics and Molecular Biology*. 4: 9-36.
22. Jing-min Z, Shang-jun X, Mao-peng S, Bing-yao M, Xiu-mei C and Chunsheng L (2010) Effect of Humic Acid on Poplar Physiology and Biochemistry Properties and Growth under Different Water Level. *Soil and Water Conservation*.
23. Keles V and Oncel I (2004) Growth and solute composition on two wheat species experiencing. *Crop Science society of America*. 40: 470-475.
24. Krugh B, Bickham L and Miles D (1994) The solid-state chlorophyll meter: a novel instrument for rapidly and accurately determining the chlorophyll concentrations in seedling leaves. *Maize Genetics Cooperation Newsletter*. 68: 25-27
25. Kuznetsov VI and Shevykova NI (1999) Proline under stress: Biological role, metabolism, and regulation, *American Society of Plant Physiologists*. 46: 274-287.
26. Levitt J (1980) Response of Plants to Environmental Stresses, Vol. 2, Water, Radiation, Salt and Other Stresses. Academic press. New York. 650 p.
27. Liu C, Cooper RJ and Bowman DC (1998) Humic acid application affects photosynthesis, root development and nutrient content of bentgrass. *Horticulture Science*. 33(6): 1023-1025.
28. Munne S, Schwarz K, Alegre L, Horvath G and Szigeti Z (1999) Alpha-tocopherol protection against drought, induced damage in *Rosmarinus officinalis* L. and *Melissa officinalis* L. *Proceedings of an International workshop at tata, Hungary*. 23-26 August.
29. Nardi S, Pizzeghello D, Muscolo A and Vianello A (2002) Physiological effects of

- humic substances on higher plants. *Soil Biology and Biochemistry*. 34(11): 1527-1536.
30. Rajinder SD (1987) Glutathione status and protein synthesis during drought and subsequent dehydration in *Torula rulis*. *American Society of Plant Physiologists*. 83: 816-819.
31. Tambussi EA, Bartoli CG, Bettran J, Guiamet JJ and Araus JC (2000) Oxidative damage to thylakoids proteins in water stressed leaves of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plantarum Physiologia*. 108: 398-404.