

بهبود شاخص‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گل رز رقم (Bordeaux) با کاربرد اسید هیومیک و قارچ میکوریزا سویه (*Glomus* *etunicatum*) و (*Piriformospora indica*)

موسی رسولی^{۱*}، سحر میرزایی^۲، کورش فرهادی^۳، مهدی قبولی^۴

۱- نویسنده مسئول و دانشیار گروه علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ملایر، ملایر، ایران.

mousarasouli@gmail.com

۲- استادیار پژوهشگاه گل و گیاهان زینتی، موسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، محلات، ایران.

sahar_mirzaei81@yahoo.com

۳- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ملایر، ملایر، ایران.

kouros.farhadi2020@gmail.com

۴- استادیار گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ملایر، ملایر، ایران. mehdi.ghabooli@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۹/۰۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۵/۲۴

چکیده

امروزه تولید گل شاخه بریده و گیاهان زینتی از اهمیت بالایی در جهان برخوردار است. گل رز با اختصاص بیش از یک سوم از تولید گل‌های شاخه بریده، مهم‌ترین گل شاخه بریده جهان محسوب می‌شود. تغذیه متعادل یکی از مهم‌ترین عواملی است که کمیت و کیفیت گل رز را تحت تاثیر قرار می‌دهد. پژوهش حاضر به منظور بررسی تاثیر اسید هیومیک، قارچ میکوریزا (*Glomus etunicatum*) و قارچ اندوفیت (*Piriformospora indica*) روی برخی از صفات گل رز رقم مشکی (*hybrida cv. 'Bordeaux'*) در شرایط کشت بدون خاک گلخانه‌ای انجام شد. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۲ تیمار مستقل و سه تکرار طراحی گردید. به طور کلی، تیمار اول شامل محلول پاشی اسید هیومیک در غلظت ۳۰۰، ۶۰۰ و ۹۰۰ mg/L، تیمار دوم شامل محلول پاشی اسید هیومیک در غلظت ۳۰۰، ۶۰۰ و ۹۰۰ mg/L + ۵۰ گرم قارچ میکوریزا (*Glomus etunicatum*) به صورت تلقیح با محیط ریشه، تیمار سوم شامل قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا (*Piriformospora indica*) به صورت تلقیح با محیط ریشه، در پنج سطح شامل: عصاره اسپور (Potato Dextrose: PD)، میسیلیوم (PD)، میسیلیوم (Multiple: Mp)، عصاره محیط کشت (Mp)، عصاره محیط کشت (PD) و تیمار شاهد، در ۳ تکرار بودند. صفات ارتفاع شاخه، طول و قطر جام گل، عمر گلجای، سطح برگ، عملکرد، محتوای نسبی آب، فعالیت آنزیم کاتالاز و پروکسیداز، میزان کلروفیل (a, b) و آنتوسیانین اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که بیشترین میزان صفات ارتفاع شاخه (۶۴/۷۰ cm)، قطر جام گل (۶/۱۷ cm)، عمر گلجایی (۲۲/۱۱ روز)، کلروفیل (۳/۰۵) و آنتوسیانین (۰/۹۳ μg/ gFW) و نیز کمترین میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (۱۶/۷۲ μmol/ mg) و پروکسیداز (۶ μmol/ mg min) در اثر تیمار اسید هیومیک ۳۰۰ mg/L + قارچ میکوریزا ۵۰ میلی گرم حاصل شد. همچنین در اثر تیمار اسید هیومیک ۳۰۰ mg/L بیشترین میزان کلروفیل (۳/۸۵ FW) به دست آمد. بیشترین میزان طول جام گل (۶/۶۸ cm)، محتوای نسبی آب (۰/۶۷٪)، سطح برگ (۲۹۱۱/۵ mm²) و عملکرد (۱۷/۰۲ تعداد گل) نیز در اثر تیمار قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا (عصاره اسپور) به دست آمد.

کلمات کلیدی: اسید هیومیک، تغذیه، قارچ میکوریزا، قارچ اندوفیت، گل رز

مقدمه

میکوریزها شامل انواع مختلف آربوسکولار، اکتومیکوریزا، اکتندومیکوریزا، اریکوئید، آربوتوئید، مونوتروپوئید و ارکید میکوریزا می‌باشند (Wang and Qiu, 2006). قارچ‌های میکوریزا آربوسکولار به دلیل اینکه می‌توانند ۴ تا ۲۰ درصد کربن تثبیت شده توسط گیاهان را مصرف کنند، به عنوان مهمترین تنظیم‌کننده‌های جریان کربن از گیاهان به خاک، به شمار می‌آیند (Zhu and Miller, 2003). زیست توده حاصل از هیف‌های این قارچ‌ها، ۵۴ تا ۹۰۰ کیلوگرم در هکتار است (Lovelock et al., 2004). نقش قارچ‌های میکوریزا آربوسکولار در افزایش توانایی گیاهان میزبان در جذب عناصر غذایی از مهمترین اثرات آنها می‌باشد (Cardoso and Kuyper, 2006). قارچ اندوفیت پیریفورموسپورا ایندیکا^۱ در سال ۱۹۹۸ از خاک ریزوسفری گیاهان خشکی پسند جداسازی شد (Varma et al., 1998). اهمیت برقراری ارتباط همزیستی قارچ *P. indica* با گیاهان مختلف در تحریک رشد گیاه در نتیجه افزایش عملکرد آن و نیز افزایش توان تحمل گیاه به تنش‌های شوری، خشکی و عوامل بیماری‌زای ریشه و برگ نیز گزارش شده است (Rai and Varma, 2005; Qiang et al., 2011). همچنین *P. indica* سبب بهبود رشد و تولید بیومس در انواع مختلف گیاهان علفی، درختان و گونه‌های بوته‌ای می‌شود. اثر این قارچ در افزایش رشد گیاه برنج و گیاهان لگومینوز شامل نخود، عدس و سویا نیز به اثبات رسیده است (Varma et al., 2004). در کشور ما، تا چند سال گذشته تنها به استفاده از عناصری چون ازت، فسفر، پتاسیم، آهن، منیزیم توجه می‌شد و با استفاده بی‌رویه از این عناصر و غفلت کردن از دیگر عناصر نتوانستیم به عملکرد بالا در گیاهان دستیابی

گل رز (*Rosa hybrida* L.) گیاهی از خانواده (Rosaceae) و بومی مناطق گوناگون نیمکره شمالی می‌باشد (Anderson, 2006). امروزه کشت گل رز، به عنوان یک گل شاخه‌بریده، در بسترهای بدون خاک (شامل پرلیت، پوکه معدنی، کوکوپیت و مخلوطی از آنها)، انجام می‌شود (تولائی، ۱۳۸۰).

تغذیه مناسب در کشت و کار تمامی گیاهان از اهمیت فوق العاده‌ای برخوردار است. گل رز به مواد غذایی زیادی نیاز دارد تا به کیفیت و گلدهی مطلوب برسد (خوشخوی و همکاران، ۱۳۹۱). مشکل اصلی بعضی عناصر، جذب آن‌ها توسط گیاه نبوده، بلکه مهم انتقال آن‌ها در داخل گیاه می‌باشد (Marschner, 2005). لذا دستیابی به عملکرد بالاتر همراه با کیفیت و کمیت محصول با کودهای بیولوژیک و استفاده از قارچ‌های همزیست میسر می‌شود (Burchi et al., 2010). برای مثال تغذیه برگ‌گی در مرحله قبل از برداشت، ماندگاری در گل رز را افزایش می‌دهد (Michalczuk et al., 2010). با تجزیه هوموس، ماده سیاه رنگ مایل به قهوه‌ای به نام هیومیک اسید تشکیل می‌شود (Nikbakht et al., 2008). مواد هیومیکی دارای طیف وسیعی از ترکیبات آلی و معدنی گوناگون نظیر اسیدهای آمینه، پپتیدها، فنول‌ها، آلدیدها، اسیدهای نوکلئیک و پیوند با انواع کاتیون‌ها می‌باشد که قابل قیاس با ترکیبات دیگر نیست (Soleimani et al., 2012). اسید هیومیک به طور مستقیم و غیرمستقیم به رهاسازی و برداشت بهتر عناصر کمک می‌کند (Eyheraguibel et al., 2008) و علاوه بر اینکه خود ذخیره مناسبی از میکروالمنت‌ها را در بر دارد، به آزادسازی و جذب بهتر عناصر تثبیت‌شده نیز کمک می‌کند (Karakurt et al., 2009).

¹-*Piriformospora indica*

کشت PD، عصاره محیط کشت Mp، میسلیوم PD، میسلیوم Mp و شاهد، در ۳ تکرار با محیط کشت بدون خاک (بستر کشت متشکل از کوکوپیت و پرلیت) و استفاده از محلول غذایی هوگلند^۲، در گلخانه به اجرا درآمد.

شاخص های مورفولوژیکی

صفات مورفولوژیکی مورد ارزیابی شامل ارتفاع شاخه، طول جام گل، قطر جام گل، سطح برگ، عملکرد و عمر گلجای شاخه های بریده، طبق جدول (۱) اندازه گیری شدند

داشته باشیم. عناصری که زیاد مصرف می شوند به خصوص عناصر کم تحرک، سریع تر از دسترس گیاه خارج شده و تثبیت می شوند و در مناطقی که گیاه بیشتر دچار تنش خشکی و یا شوری می شود با وجود استفاده از عناصر مورد نیاز، گیاه قادر به جذب عناصر به مقدار مورد نیاز خود نیست. استفاده از مواد هیومیکی مانند اسید هیومیک و اسید فولیک که شامل طیف وسیعی از ترکیبات آلی و معدنی گوناگون نظیر اسیدهای آمینه، پپتیدها، فنولها، آلدئیدها و اسیدهای نوکلئیک پیوند شده با انواع کاتیون ها می باشند، در بسترهای کشت و محلول های غذایی، نقش مؤثری در بهبود رشد و نمو و افزایش عملکرد، عمر پس از برداشت و همچنین بالا بردن کیفیت در گل های شاخه بریده می شود. لذا این تحقیق در راستای بررسی تأثیر اسید هیومیک، قارچ میکوریزا و قارچ اندوفیت پریفورموسپورا ایندیکا بر روی بهبود شاخص های فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی در گل رز رقم مشکی (Bordeaux) صورت گرفت.

مواد و روشها

این تحقیق در شرایط گلخانه ای روی گل رز (*Rosa hybrida* L.) از خانواده (Rosaceae) رقم مشکی (Bordeaux) انجام شد. نشاءهای گل از کشور هلند تهیه و پس از گذشت شش ماه از کشت نشاءها در گلخانه، تیمارها روی این رقم اعمال شد. این آزمایش به صورت طرح کاملا تصادفی، با تیمارهای مستقل از هم، اجرا شد. تیمار اول شامل اسید هیومیک ۳۰۰mg/L، ۶۰۰، ۹۰۰، تیمار دوم شامل ۵۰ گرم قارچ میکوریزا (*Glomus etunicatum*) + اسید هیومیک ۳۰۰mg/L، ۶۰۰، ۹۰۰ و تیمار سوم شامل قارچ اندوفیت *Piriformospora indica* در پنج سطح شامل عصاره اسپور PD، عصاره محیط

²-Hoagland Nutrient Solution

جدول ۱. اندازه‌گیری شاخص‌های مورفولوژیکی رز شاخه بریده رقم مشکی (Bordeaux)

Table 1. Measuring the morphological parameters of black rose cut flower (Bordeaux)

No.	Measured parameters	Unit	Measuring tool	Measuring method
1	Stem height	cm	Ruler	Mean height of some stems
2	Length of corolla	cm	Digital caliper	Mean length of some corollas
3	Diameter of corolla	cm	Digital caliper	Mean diameter of some corollas
4	Vase life	Days	Counting number of days	Days after harvest until the flowers quality is not lost
5	Leaf area	mm ²	Leaf area meter	Mean area of some leaves
6	Yield	Flower No.	Counting number of flowers	Mean number of flowers in a special time

اندازه‌گیری شاخص‌های فیزیولوژیکی

سنجش میزان آنتوسیانین

صفات فیزیولوژیکی مورد ارزیابی شامل محتوی نسبی آب، میزان آنتوسیانین، آنزیم کاتالاز، آنزیم پراکسیداز و کلروفیل (a, b) به شرح زیر اندازه‌گیری شدند.

یک گرم بافت تر برگ در ۱۰ میلی‌لیتر متانول اسیدی (شامل الکل متیلیک ۹۹/۵٪ و هیدروکلریک اسید خالص به نسبت ۹۹ به ۱) با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره دو صاف کرده و سپس به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور سانتیفریژ (مدل ROTOLAVIT)، ساخت کشور ایران، قرار گرفت. جذب عصاره رویی در ۵۳۰ نانومتر و با استفاده از شاهد متانول اسیدی با دستگاه اسپکتروفتومتر (Unico سری ۲۱۰۰ مدل Visible) ساخت کشور چین تعیین شد (Bakker *et al.*, 1994).

روش اندازه‌گیری محتوای نسبی آب (RWC^۳)

چهار تا پنج قطعه از برگ تازه به قطر ۱ سانتی متر برش داده و وزن شد (FW^۴)؛ سپس نمونه‌ها در پتری-دیش همراه مقداری آب به مدت ۴ ساعت در ژرمیناتور (مدل PIDPT۱۰۰، ساخت ایران) در دمای چهار درجه سانتیگراد قرار داده شدند. پس از آن مجدداً نمونه‌ها وزن شدند (TW^۵). در انتها نمونه‌ها به مدت ۷۲ ساعت در آون در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد قرار داده شده و مجدداً وزن گردیدند (DW^۶). در پایان با استفاده از فرمول ذیل محتوای نسبی آب برگ محاسبه گردید (Yamasaki and Dillenburg, 1999).

سنجش آنزیم کاتالاز

فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از روش (Dhindsa *et al.*, 1981) اندازه‌گیری شد. ابتدا در هر دو کوئت شاهد و کوئت نمونه مقدار سه میلی لیتر بافر فسفات سدیم ریخته و به آن‌ها مقدار ۴/۵۱ میکرو لیتر H₂O₂ ۳۰ درصد اضافه شد این دو کوئت در دستگاه اسپکتروفتومتر قرار داده شد سپس عدد قرائت شده صفر شد. سپس به کوئت نمونه مقدار ۵۰ میکرو لیتر از عصاره گیاهی اضافه شد و بلافاصله تغییرات جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر به مدت یک دقیقه قرائت شد.

$$RWC = \frac{FW - DW}{TW - DW} \times 100 \quad RWC = \frac{FW - DW}{SW - DW} \times 100$$

³ Relative Water Content

⁴ Fresh Weight

⁵ Turgor Weight

⁶ Dry Weight

سنجش آنزیم پروکسیداز

استخراج عصاره آنزیم پروکسیداز

برای تهیه عصاره آنزیمی ابتدا لازم است که محلول های ۸٪ مولار کلرید پتاسیم (KCl) بافر فسفات سدیم ۱٪ مولار (pH=۷) به طور جداگانه تهیه شود. سپس از هر کدام از این محلول ها یک حجم معین برداشته و با هم مخلوط می شوند (۵۰ میلی لیتر از محلول ۸٪ مولار کلرید پتاسیم به اضافه ۵۰ میلی لیتر محلول بافر فسفات ۱٪ مولار). از محلول تهیه شده برای استخراج عصاره آنزیمی استفاده شد. سپس ۰/۱ گرم بافت برگ تازه را با ۱۰ میلی لیتر مذکور در هاون چینی خوب سائیده و مخلوط حاصل را با سرعت ۴۰۰۰ دور دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ کرده در دمای ۴ درجه سانتی گراد و مایع فوقانی به عنوان عصاره آنزیمی مورد استفاده قرار گرفت. به منظور حفظ فعالیت آنزیم کلیه مراحل استخراج آنزیم در ظرف یخ انجام گرفت (Chance and Maehly, 1995).

اندازه گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز

ابتدا به عصاره آنزیمی، سه میلی لیتر بافر فسفات سدیم ۰/۱ مولار و ۵۰ میکرو لیتر مایع گایاکو خالص با فرمول شیمیایی $(C_7H_8O_2)$ و سپس ۵۰ میکرو لیتر هیدروژن پراکسید ۳۰٪ اضافه شد و بلافاصله تغییرات

که در روابط فوق OD_{663} و OD_{645} به ترتیب میزان جذب در طول موج های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر می باشند. این آزمایش بر پایه طرح کاملاً تصادفی با ۱۲ تیمار و ۳ تکرار طراحی و اجرا گردید. تجزیه داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SAS نسخه (۹/۳)، انجام و مقایسه

جذب نوری در طول موج ۴۳۶ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر در فواصل زمانی ۲۰ ثانیه به مدت ۲ دقیقه ثبت گردید. بعد از اضافه کردن آب اکسیژنه و ترکیب گایاکول محلول به رنگ قرمز مایل به قهوه ای در آمد. برای محاسبه آنزیم پراکسیداز، آخرین عدد جذبی را از اولین عدد جذبی خوانده شده کم کرده و بر عدد دو تقسیم می گردد (Chance and Maehly, 1995).

اندازه گیری میزان کلروفیل

برای این آزمایش ۰/۲۵ گرم از نمونه برگی تهیه و به همراه ۵ سی سی آب مقطر به طور کامل در هاون کوبیده شد. عصاره به دست آمده را از صافی رد شده و سپس به حجم ۲۵ سی سی رسانده شد.

۰/۵ سی سی از عصاره به حجم رسیده را برداشته شد، در لوله آزمایش ریخته و ۴/۵ سی سی استون ۸۰٪ به آن اضافه شد.

بعد از این مرحله نمونه های آماده شده در دستگاه سانتریفیوژ با دور ۳۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد. در مرحله بعد نمونه ها با دستگاه اسپکتروفوتومتر در سه طول موج ۴۷۰، ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر خوانده شد و نهایتاً غلظت کلروفیل های a، b و کارتوتنید با استفاده از روابط زیر محاسبه شد (Maxwell and Johnson, 2000).

$$1) \text{ a کلروفیل (گرم در لیتر)} = (0.0127 \times OD_{663}) - (0.00269 \times OD_{645})$$

$$2) \text{ b کلروفیل (گرم در لیتر)} = (0.0229 \times OD_{645}) - (0.00468 \times OD_{663})$$

$$3) \text{ کلروفیل کل (گرم در لیتر)} = (0.00802 \times OD_{663}) + (0.0202 \times OD_{645})$$

میانگین داده ها با آزمون چند دامنه ای دانکن و در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد صورت گرفت. همچنین رسم نمودار با استفاده از نرم افزار اکسل نسخه (۲۰۱۰) انجام پذیرفت

نتایج و بحث

ارتفاع شاخه گل

بر اساس جدول تجزیه واریانس (۲) تفاوت معنی داری بین تیمارها در سطح احتمال ۱٪ روی ارتفاع شاخه وجود داشت.

جدول ۲. تجزیه واریانس اثر اسید هیومیک و قارچ میکوریزا و قارچ ایندیکا بر خصوصیات مورفولوژیکی رز شاخه بریده رقم مشکی

(Bordeaux)

Table 2. Analysis of variance of effect of humic acid, mycorrhiza fungi and endophytic *Piriformospora indica* fungi on morphological parameters of black rose cut flower (Bordeaux)

Source of variance	df	Stem height (cm)	Length of corolla (cm)	Diameter of corolla (cm)	Yield (Flower No.)	Leaf area (mm ²)	Vase life (Days)
Humic acid	1	62.99**	6.49**	5.97*	4.95*	2033.8*	21.73**
Humic acid+Mycorrhiza	3	64.70**	6.52**	6.17**	8.86**	2562.7**	22.11**
<i>P. indica</i> Fungi	3	63.01**	6.68**	5.25*	17.02**	2911.5**	21.64**
Error	4	6.42	19.05	0.16	0.26	6.03	0.98
%C.V	-	4.46	8.44	7.48	12.68	28.15	5.18

*, **, ns = Significance at 5 and 1 percent levels and non-significance, respectively

هیومیک به عنوان یک کود بیولوژیک علاوه بر تأمین اکثر عناصر ضروری، نقش کاتالیزگر در انتقال عناصر در گیاه و مقاومت سازی گیاه در برابر عوامل بیماری زا و آفات بیشترین بازدهی را دارا می باشد. در تحقیقی نشان داده شد که تلقیح قارچ میکوریزا حل کننده فسفات در مقادیر مختلف فسفر در گل ژبررا باعث افزایش ارتفاع شاخه می شود (Chutichudet *et al.*, 2010). محققان در تحقیقات خود نشان دادند که در اثر همزیستی قارچ ایندیکا با گیاهان، بیوماس ساقه و ریشه گیاهان در اثر افزایش جذب مواد غذایی بیشتر می شود (Rai *et al.*, 2001).

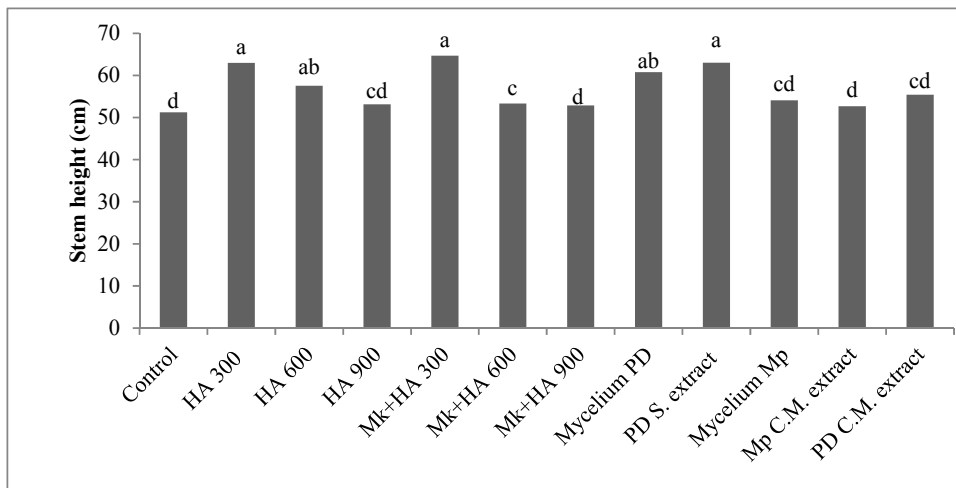
اسید هیومیک باعث مقاومت سازی گیاهان در برابر تنش ها بویژه تنش های محیطی و نیز افزایش جذب عناصر میکروالمنت و ماکروالمنت شده که این امر منجر به افزایش طول میانگره در گیاهان می شود (Lorence *et al.*, 2006). همچنین با تحقیقات روی گل های شاخه بریده لاله، این استنباط نیز وجود دارد که اسید هیومیک و قارچ میکوریزا سبب افزایش بازدهی عناصر غذایی و همچنین باعث افزایش رشد رویشی در این گیاه گردیده است (Chutichudet *et al.*, 2010) که با نتایج این پژوهش

مطابقت دارد.

بیشترین اثر روی ارتفاع شاخه گل به ترتیب (۶۴/۷) سانتی متر) مربوط به تیمار اسید هیومیک ۳۰۰ mg/L + قارچ میکوریزا^۷، اسید هیومیک ۳۰۰ mg/L با (۶۳/۰۱) سانتی متر) و در نهایت، قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا^۸ با (۶۲/۹۹) سانتی متر) تیمار عصاره اسپور بوده است (جدول ۲). از طرفی کمترین ارتفاع شاخه با (۵۱/۰۸) سانتی متر)، مربوط به شاهد و تیمار اسید هیومیک ۹۰۰ mg/L با (۴۹/۳۵) سانتی متر) و قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا تیمار عصاره محیط کشت Mp (۴۸/۱۴) سانتی متر) بدست آمد (شکل ۱). لذا قابل ذکر است که ترکیب اسید هیومیک و قارچ میکوریزا باعث بیشترین عملکرد در جذب عناصر شده است. با شرایطی که قارچ میکوریزا در محیط ریزوسفر ریشه ایجاد می کند، منجر به تولید اسید سیتریک شده و برخی عناصر مانند عنصر آهن که بیشترین جذب را در محیط اسیدی دارد به حداکثر میزان جذب می رسد و محلول پاشی اسید هیومیک نیز روی شاخه و برگ گل رز باعث شد به میزان قابل توجهی از وقوع تنش های محیطی و تغذیه ای جلوگیری شود. با توجه به نقش اسید

⁷-*Glomus etunicatum*

⁸-*Piriformospora indica*



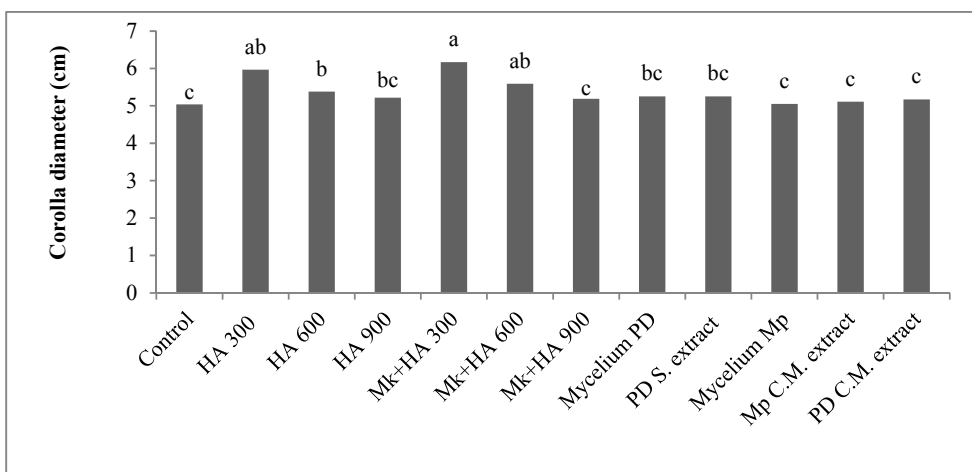
شکل ۱. مقایسه میانگین اثر اسید هیومیک، قارچ میکوریزا و قارچ ایندیکا روی ارتفاع شاخه در گل شاخه بریده رز، رقم مشکی (Bordeaux)

Figure 1. Mean comparison of effect of Humic acid, Mycorrhiza fungi and indica fungi on height of stem in black rose flower, varity (Bordeaux)

+ قارچ میکوریزا با (۶/۵۲ سانتی متر) و اسید هیومیک ۳۰۰mg/L با (۶/۴۹ سانتی متر) بوده است. از طرفی کمترین طول جام گل با (۴/۴۳ سانتی متر) مربوط به شاهد و تیمار اسید هیومیک ۶۰۰mg/L با (۴/۹۱ سانتی متر) و قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا با (۵/۰۲ سانتی متر) بدست آمده است.

طول جام گل

بر اساس جدول تجزیه واریانس (۲) تفاوت بسیار معنی داری بین تیمارها در سطح احتمال ۱٪ روی طول جام گل وجود داشت. بطوری که بیشترین طول جام گل به ترتیب با (۶/۶۸ سانتی متر)، مربوط به تیمارهای قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا و تیمار اسید هیومیک ۳۰۰mg/L



شکل ۳. مقایسه میانگین اثر اسید هیومیک و قارچ میکوریزا و قارچ ایندیکا روی قطر جام در گل شاخه بریده رز، رقم مشکی (Bordeaux)

Figure 3. Mean comparison of effect of Humic acid, Mycorrhiza fungi and indica fungi on diameter of corolla in rose cut flower, black varity (Bordeaux)

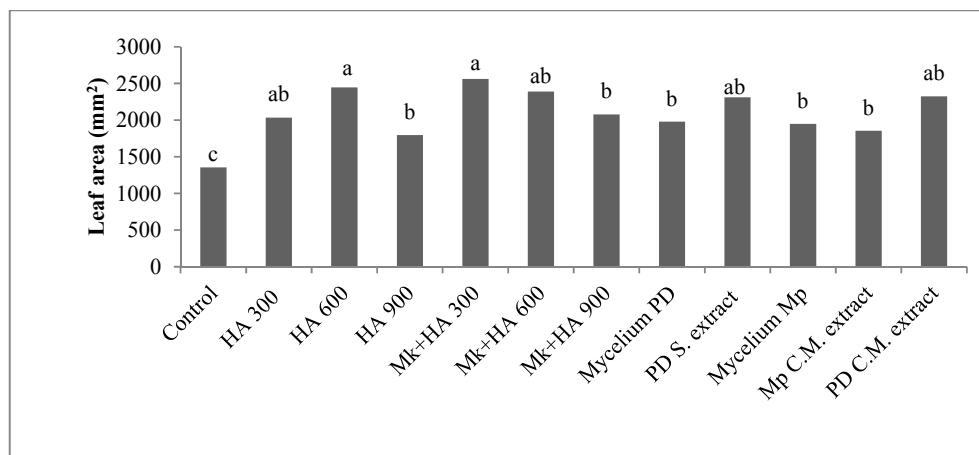
سطح برگ

جیبریک اسید و ویتامین‌های مختلف باعث افزایش سطح برگ، رشد و نمو گیاه می‌شوند با افزایش میزان مصرف کود زیستی حاوی باکتریهای حل کننده فسفات از صفر تا ۱۰ کیلوگرم در هکتار سطح برگ به طور معنی داری افزایش یافت. بیشترین سطح برگ در بوته گل مریم به مقدار ۲۱۲۷/۸۳ میلی‌متر مربع مربوط به تیمار ۱۰ کیلوگرم کود زیستی حاوی باکتریهای حل کننده فسفات و کمترین سطح برگ در بوته گل مریم به مقدار ۱۶۳۱/۷۷ میلی‌متر مربع مربوط به تیمار شاهد بود (Abusuwar and Omer, 2011).

محققان در تحقیقات خود نشان دادند که تأثیر قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا بر توسعه و افزایش رشد و سطح برگ گیاهان شبیه قارچ‌های میکوریزا آریسکولار می‌باشد. Varma و همکاران (۱۳۹۹) در تحقیقی نشان داده شد که تلقیح قارچ میکوریزا با باکتری حل کننده فسفات در مقادیر مختلف فسفر در گل ژربرا باعث افزایش سطح برگ می‌شود (Autio, ۲۰۰۶) که با نتایج بدست آمده در این تحقیق مطابقت دارد.

بر اساس جدول تجزیه واریانس (۲) تفاوت معنی داری بین تیمارها روی سطح برگ در سطح احتمال ۰.۵٪ وجود داشت، بطوریکه بیشترین سطح برگ مربوط به تیمارهای قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا (عصاره اسپور Pd) با (۲۹۱۱/۵ میلی‌متر مربع) و اسید هیومیک ۳۰۰mg/L + قارچ میکوریزا با (۲۵۶۲/۷ میلی‌متر مربع) بدست آمده است. تیمار اسید هیومیک ۳۰۰mg/L با (۲۰۳۳/۸ میلی‌متر مربع) در سطح احتمال ۰.۵٪ معنی دار شده است و از طرفی کمترین میانگین سطح برگ با (۱۴۸۵/۲ میلی‌متر مربع) مربوط به شاهد بدست آمده است (شکل ۴).

کود زیستی حاوی باکتری‌های حل کننده فسفات (سودوموناس و باسیلوس) دارای میکروارگانیسم‌های مفید خاک می‌باشند. میکروارگانیسم‌های ساپروفیت هستند که می‌تواند در منطقه ریشه (ریزوسفر) فعالیت نموده و با مصرف ترشحات ریشه ترکیبات نامحلول فسفات را بصورت محلول و قابل جذب گیاه در آورند. این باکتری‌ها همچنین با تولید مواد بیولوژیک مثل هورمون‌های اکسین،



شکل ۴. مقایسه میانگین اثر اسید هیومیک و قارچ میکوریزا و قارچ ایندیکا روی سطح برگ در گل شاخه بریده رز، رقم مشکی

(Bordeaux)

Figure 4. Mean comparison of effect of Humic acid, Mycorrhiza fungi and indica fungi on leaf area in rose cut flower, black variety (Bordeaux)

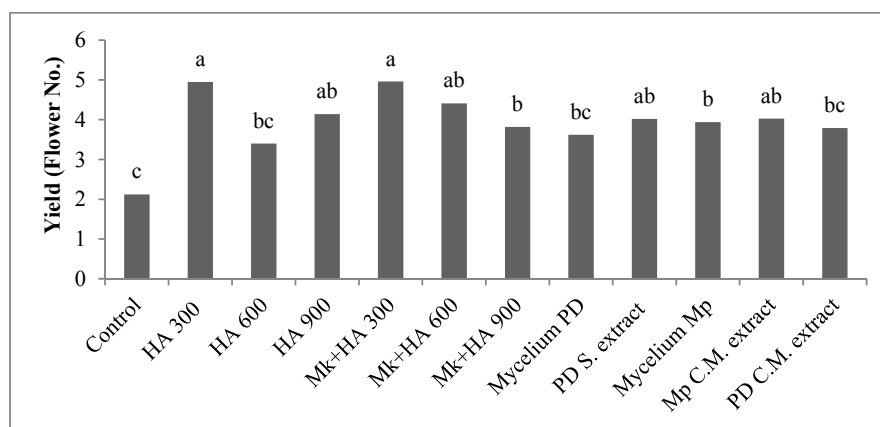
عملکرد

عناصر غذایی و خواص شبه هورمونی گردید که با نتایج این پژوهش هم خوانی دارد (Autio, ۲۰۰۶). طی تحقیقی نشان داد که قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا باعث ترشح برخی اسیدها نظیر اسید مالیک می شود که جذب فسفر توسط گیاه را افزایش می دهند و باعث افزایش عملکرد گیاهان می شود، که با نتایج این پژوهش هم خوانی دارد (ریزی، ۱۳۸۹).

Rai در سال 2005 در تحقیقات خود نشان داد که قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا باعث افزایش در رشد و عملکرد گیاه دارویی کنگر (*Adhatoda vasica*) شد. محققان در تحقیقات خود نشان دادند که قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا از طریق همزیستی با ریشه گیاهان باعث افزایش معنی داری در رشد و عملکرد آنها می شود (Singh et al., 2000)، در تحقیقی اثر همزیستی قارچ میکوریزا روی گل شاخه بریده لیلیوم نشان داد که باعث افزایش عملکرد با ۴/۱۵ (تعداد) نسبت به شاهد شده است (سبحانی و همکاران، ۱۳۹۵) که با نتایج بدست آمده همسو با نتایج این تحقیق می باشد.

بر اساس جدول تجزیه واریانس (۲) تفاوت معنی داری بین تیمارها روی عملکرد گل در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪ وجود داشت. بطوریکه بیشترین میانگین روی عملکرد گل با (۱۷/۲ عدد) مربوط به تیمارهای قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا (عصاره اسپور) و اسید هیومیک ۳۰۰mg/L + قارچ میکوریزا (۸/۸۶ عدد) بدست آمد و تیمار اسید هیومیک ۳۰۰mg/L با (۴/۹۵ عدد) در سطح احتمال ۵٪ معنی دار شد. از طرفی کمترین میانگینها با (۴/۲۵ عدد) مربوط به تیمار اسید هیومیک ۶۰۰mg/L و شاهد با (۴/۱ عدد) بدست آمد (شکل ۵).

اسید هیومیک با افزایش جذب عناصر غذایی، خواص شبه هورمونی و اثر مثبت بر غشاء سلولی و بهبود نقل و انتقال عناصر غذایی در داخل گیاه، می تواند باعث کاهش عوامل تنش زا شده، عمر گل های شاخه بریده، گلدانی و عملکرد آنها را بهبود بخشد (چمنی و همکاران، ۱۳۹۱). در پژوهشی اسید هیومیک، باعث تشکیل ریشه های جانبی و افزایش عملکرد گل ژربرا، به دلیل افزایش جذب



شکل ۵. مقایسه میانگین اثر اسید هیومیک و قارچ میکوریزا و قارچ ایندیکا روی عملکرد در گل شاخه بریده رز، رقم مشکی

(Bordeaux)

Figure 5. Mean comparison of effect of Humic acid, Mycorrhiza fungi and indica fungi on flower yield in rose cut flower, black variety (Bordeaux)

عمر گلجایی

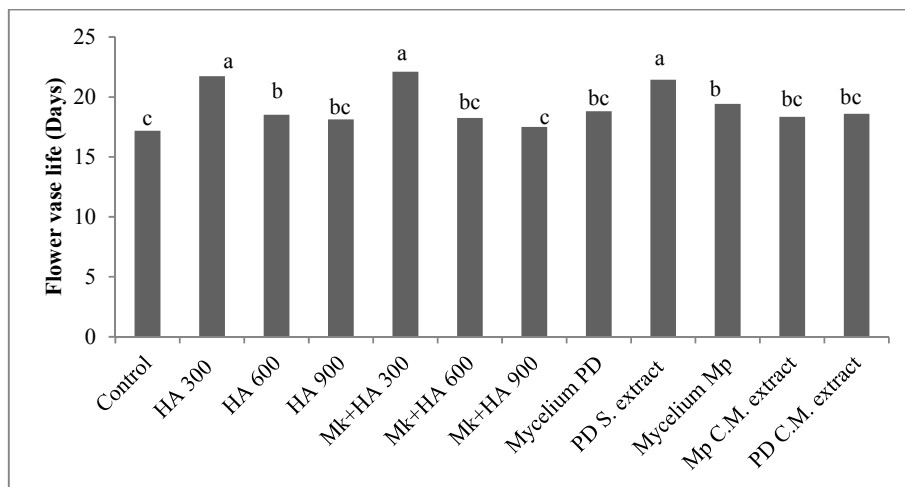
بر اساس جدول تجزیه واریانس (۲) تفاوت بسیار معنی داری بین تیمارها روی عمر پس از برداشت در سطح احتمال ۱٪ وجود داشت، بطوریکه بیشترین عمر گلجایی طبق شکل ۶ با (۲۲/۱۱ روز) مربوط به میانگین تیمارهای اسید هیومیک ۳۰۰mg/L + قارچ میکوریزا و تیمار اسید هیومیک ۳۰۰mg/L با (۲۱/۷۳ روز) و تیمار قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا (عصاره اسپور) با (۲۱/۶۴ روز) بوده است و از طرفی کمترین عمر گلجایی با (۱۶/۱۸ روز) اسید هیومیک تیمار ۹۰۰mg/L + قارچ میکوریزا و با (۱۵/۰۸ روز) مربوط به شاهد بدست آمده است.

در تحقیقی نشان داد که قارچ میکوریزا باعث افزایش عمر گلجایی لیلیوم شده است. بیشترین افزایش عمر گلجایی (۸/۵ روز) در قارچ دهی ۵۰ میلی گرم بدون غلظت فسفر که نسبت به شاهد دوام عمر بیشتری (۳ روز) حاصل شد (سبحانی و همکاران؛ ۱۳۹۵).

به حداقل رساندن ضایعات پس از برداشت در گلهای شاخه بریده و افزایش عمر گلجایی آنها، با در نظر گرفتن

هزینه های بالای تولید و حساسیت زیاد محصول به شرایط انبارداری و فروش گلها و گیاهان زینتی امری بسیار ضروری و مهم است (ادریسی و همکاران؛ ۱۳۸۶). گزارش شده که اسید هیومیک ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر باعث افزایش ماندگاری گل ها بین (۵-۴ روز)، در سطح احتمال ۵٪ گردید (نیکبخت و همکاران؛ ۱۳۸۶).

از مشکلات عمده پس از برداشت گل ها، رشد میکروبا در ظرف نگهداری و مسدود شدن سیستم آوندی ساقه است که این امر سبب کاهش جذب آب توسط ساقه می شود. در پی رشد میکرو ارگانیسم ها در ساقه تنش آبی در گیاه ایجاد می شود بطوریکه برگ ها و گلها شادابی خود را از دست می دهند و در نهایت عمر گلجایی گل های بریده کاهش می یابد و فرایند پیری تسریع می شود (Ebrahimzadeh and Seyfi, 1999) اسید هیومیک، عمر گلجایی آلسترومریا را ۲-۳/۶۶ روز بیشتر کرد (چمنی و همکاران؛ ۱۳۹۱). میزان تأثیر اسید هیومیک، بیشترین تغییرات را بر اجزاء عملکرد و عمر گلجایی گل شاخه بریده ژربرا داشته است (امیری، ۱۳۹۱؛ راحمی، ۱۳۸۲) که مطابق با نتایج این پژوهش بوده است.



شکل ۶. مقایسه میانگین اثر اسید هیومیک و قارچ میکوریزا و قارچ ایندیکا روی عمر گلجایی در گل شاخه بریده رز، رقم مشکی (Bordeaux)

Figure 6. Mean comparison of effect of Humic acid, Mycorrhiza fungi and indica fungi on vase life of flower in rose cut flower, black variety (Bordeaux)

محتوای نسبی آب

بر اساس جدول تجزیه واریانس (3) تفاوت معنی داری بین تیمارها روی محتوای نسبی آب در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪ وجود داشت

وجود داشت

جدول ۳. تجزیه واریانس اثر اسید هیومیک و قارچ میکوریزا و قارچ ایندیکا بر خصوصیات فیزیولوژیکی رز شاخه بریده رقم مشکلی

(Bordeaux)

Table 3. Analysis of variance of effect of humic acid, mycorrhiza fungi and endophytic *Piriformospora indica* fungi on physiological parameters of black rose cut flower (Bordeaux)

Source of variance	df	RWC (%)	Catalase (μmol/mg min)	Peroxidase (μmol/mg min)	chlorophyll a (mg/g FW)	chlorophyll b (mg/g FW)	Anthocyanin (μg/g FW)
Humic acid	1	0.24 ^o	19.80 ^o	9.97 ^o	3.85 ^{**}	2.21 ^o	0.38 ^{ns}
Humic acid+Mycorrhiza	3	0.15 ^o	16.72 ^o	6.35 ^{ns}	2.25 ^{**}	3.05 ^{**}	0.93 ^o
<i>P. indica</i> Fungi	3	0.67 ^{**}	23.19 ^o	15.76 ^o	1.22 ^o	2.02 ^o	0.34 ^{ns}
Error	24	0.81	0.9	1.24	0.002	0.18	0.50
%C.V	-	12.09	18.22	6.70	2.9	11.51	13.41

*, **, ns = Significance at 5 and 1 percent levels and non-significance, respectively

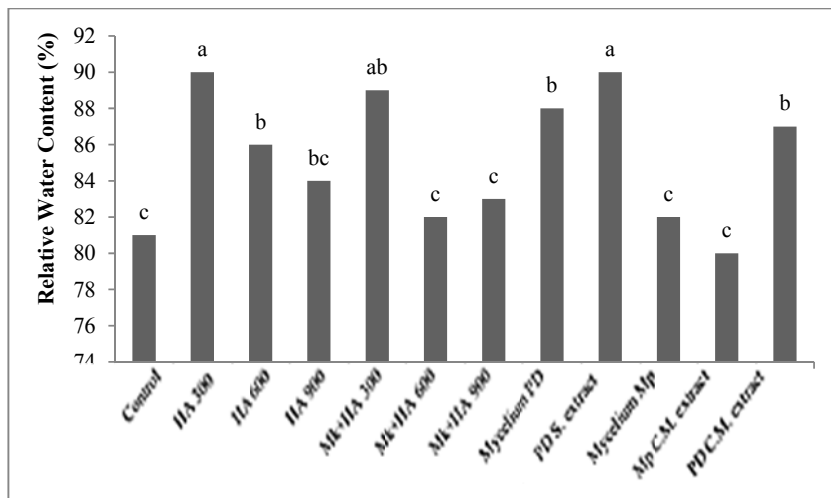
RWC: Relative Water Content

ذخیره سازی آب بیشتری دارد، همچنین قارچ های همزیست با جذب بیشتر عناصری مثل فسفر و ازت در ساختمان پروتئین ها نقش دارند و پروتئین ها نیز جاذب آب هستند در نتیجه هر چه غلظت عناصر بیشتر شود محتوی نسبی آب گیاه هم بیشتر می شود (Farzaneh et al., 2011)

پژوهشگران در آزمایشات خود بر روی گیاه ذرت به این نتیجه رسیدند که با افزایش سطوح اسید هیومیک مصرفی، محتوی نسبی آب نیز افزایش می یابد که با نتایج این آزمایش همسو می باشد. اثر باکتری های حل کننده فسفات بر محتوی نسبی آب در سطح احتمال پنج درصد معنی دار بود و با افزایش سطح کود میکروبی حاوی باکتری های حل کننده فسفات محتوی نسبی آب بیشتر شد. بیشترین محتوی نسبی آب با (۸۶/۱۶) درصد از مصرف ۱۰ کیلوگرم کود میکروبی حاوی باکتری و کمترین مقدار

بطوریکه بیشترین میانگین با توجه به شکل 7 با (۰/۶۷) درصد) مربوط به میانگین تیمارهای قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا بوده و تیمارهای اسید هیومیک ۹۰۰، ۹۰۰ mg/L با (۰/۲۴) درصد) و تیمارهای اسید هیومیک + قارچ میکوریزا با (۹۰ درصد) بوده است و از طرفی کمترین میانگین با (۸۵ درصد) مربوط به تیمار اسید هیومیک + قارچ میکوریزا و شاهد با (۸۱ درصد) بدست آمد. کلنی سازی در ریشه گوجه فرنگی بوسیله قارچ میکوریزا (*Glomus intraradices*) در شرایط گلخانه ای مورد ارزیابی قرار دادند و نتیجه گرفتند که ماده خشک اندام هوایی، محتوای نسبی آب برگ بطور معنی داری در گیاهان میکوریزایی شده بیشتر بود (Subramanian et al., 2006) افزایش اسید هیومیک و قارچ های همزیست باعث افزایش میزان کلروفیل و سطح برگ می شود و هر چه میزان کلروفیل و سطح برگ در گیاه بیشتر باشد گیاه توانایی

آن (۷۹/۲۹) درصد از تیمار شاهد به دست آمد (Emam and Ziaei, 2010) که با نتایج این آزمایش مطابقت دارد.



شکل ۷. مقایسه میانگین اثر اسید هیومیک و قارچ میکوریزا و قارچ ایندیکا روی محتوای نسبی آب برگ، گل در گل شاخه بریده رز، رقم مشکی (Bordeaux)

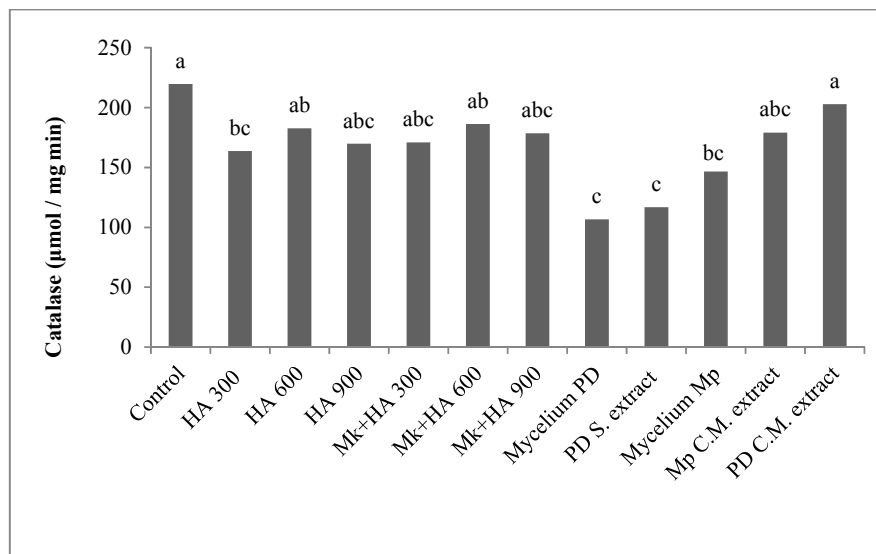
Figure 7. Mean comparison of effect of Humic acid, Mycorrhiza fungi and indica fungi on relative water content in rose cut flower, black variety (Bordeaux)

بوده و منحنی بدست آمده سیر نزولی داشت چون آنزیم کاتالاز باعث تجزیه پراکسید هیدروژن می شود و میزان جذب کمتر می شود.

بر اساس نتایج حاصله اسید هیومیک و قارچ میکوریزا به عنوان یک عامل بیولوژیکی مهم که عملکرد اصلی آن بر فرآیند متابولیسم آنزیم کاتالاز است، نقش مهمی در جلوگیری از آزاد سازی رادیکال های آزاد اکسیژن و پراکسید هیدروژن توسط آنزیم کاتالاز دارند و همچنین جلوگیری از تشکیل رادیکال های هیدروکسیل توسط این آنزیم دارند (Spanou *et al.*, 2012) در واقع آنزیم کاتالاز در نگهداری تعادل متابولیسم اکسیژن در بافت گیاهی نقش دارد (Xie *et al.*, 2003). اکسیژن فعال باعث افزایش فعالیت آنزیم های عامل پیری مثل کاتالاز، پروکسیداز و پراکسیداسیون لیپید و خسارت به غشای سلول و در نهایت پیری می شود (Li *et al.*, 2007).

فعالیت آنزیم کاتالاز

بر اساس جدول تجزیه واریانس (۳) تفاوت معنی داری بین تیمارها در سطح احتمال ۵٪ وجود داشت. بطوریکه بیشترین میانگین تیمارها روی فعالیت آنزیم کاتالاز طبق شکل ۸ با (۲۳/۱۹) میکرومول بر میلی گرم در دقیقه) مربوط به تیمارهای قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا (عصاره محیط کشت Pd) و اسید هیومیک (۶۰۰mg/L) (۱۹/۸۰) میکرومول بر میلی گرم در دقیقه) و اسید هیومیک (۶۰۰mg/L + قارچ میکوریزا با (۱۶/۷۲) میکرومول بر میلی گرم در دقیقه) بوده، از طرفی کمترین میانگین تیمارها با (۱۱/۱۶) میکرومول بر گرم در دقیقه) مربوط به تیمار اسید هیومیک (۳۰۰mg/L + قارچ میکوریزا و قارچ ایندیکا (عصاره محیط کشت Pd) با (۹/۱۸) میکرومول بر میلی گرم در دقیقه) بدست آمده است. عموماً فعالیت آنزیم کاتالاز در گل های سالم در طول نمو جوانه گل با کاهش مواجه



شکل ۸. مقایسه میانگین اثر اسید هیومیک و قارچ میکوریزا و قارچ ایندیکا روی فعالیت آنزیم کاتالاز در گل شاخه بریده رز، رقم مشکی (Bordeaux)

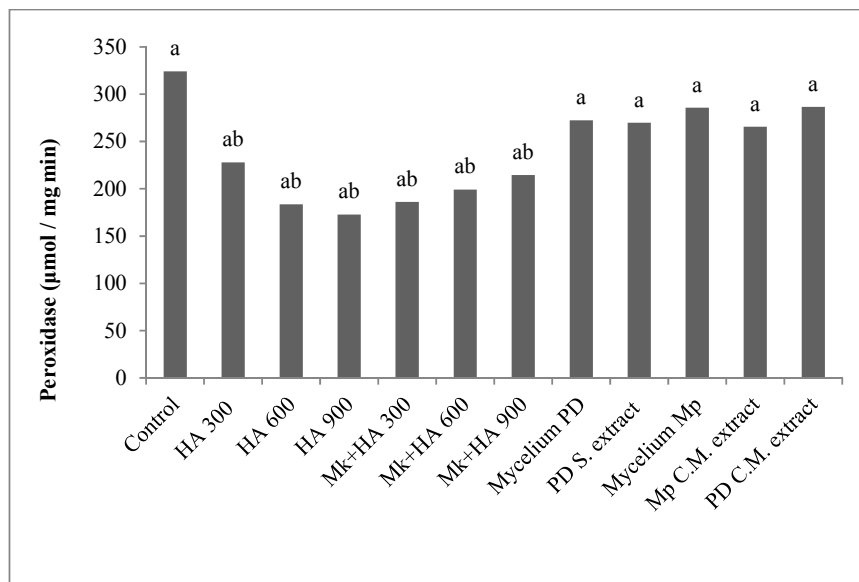
Figure 8. Mean comparison of effect of Humic acid, Mycorrhiza fungi and indica fungi on amount of catalase enzyme in rose cut flower, black variety (Bordeaux)

فعالیت آنزیم پروکسیداز

بر اساس جدول تجزیه واریانس (۳) تفاوت معنی داری بین تیمارها در سطح احتمال ۰.۵٪ وجود داشت. بطوریکه بیشترین میانگین روی فعالیت آنزیم پروکسیداز بر اساس شکل ۹ با (۱۵/۷۶ میکرومول بر میلی گرم در دقیقه) مربوط به تیمار قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا بوده و از طرفی کمترین میانگین با (۱۲/۸۴ میکرومول بر میلی گرم در دقیقه) مربوط به تیمار اسید هیومیک نسبت به شاهد بدست آمده است و تیمار قارچ میکوریزا + اسید هیومیک معنی دار نشد.

در تحقیقی ثابت شده است که در تمام فرایندهای فیزیولوژیکی و تغییرات فنولوژیکی گیاه ماده سمی آب

اکسیژنه دریافتی گیاهی تولید می شود که دو آنزیم پراکسیداز و کاتالاز به دو شکل متفاوت این ماده سمی را از محیط دور می کنند و همچنین ثابت شده است که آنزیم پراکسیداز از عوامل های مهم لیگنین سازی در گیاهان به خصوص در مرحله آخر پلیمریزاسیون سه الکل اصلی (کونیفریل، سیناپین و P-کوماریل) است. در این امر نقش ایزوآنزیم های کاتدی در اوایل دوره سرما به عنوان شاخص مقاومت به سرما و نقش ایزوآنزیم های آندی به عنوان شاخص لیگنین سازی شناخته شده است (فهیمی، ۱۳۷۶).



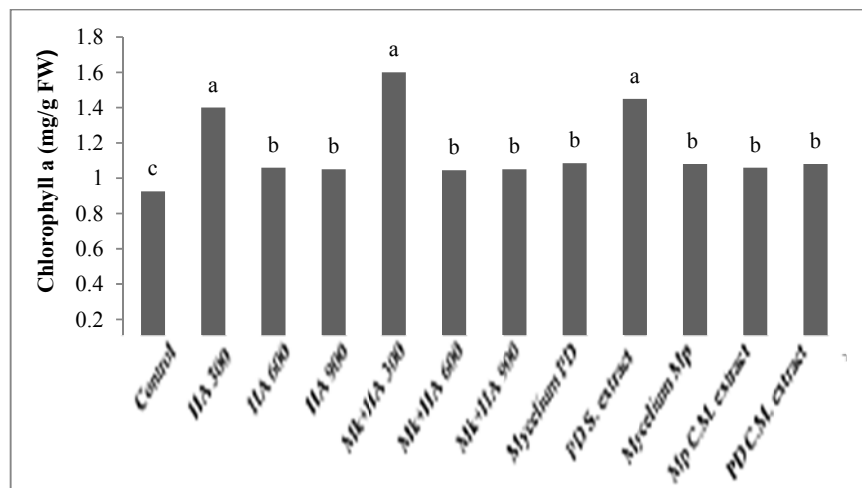
شکل ۹. مقایسه میانگین اثر اسید هیومیک و قارچ میکوریزا و قارچ ایندیکا روی فعالیت آنزیم پراکسیداز در گل شاخه بریده رز، رقم مشکی (Bordeaux)

Figure 9. Mean comparison of effect of Humic acid, Mycorrhiza fungi and indica fungi on amount of peroxidase enzyme in rose cut flower, black variety (Bordeaux)

کشاورزی نقش به سزایی دارند قارچ های میکوریزا آریوسکولار می باشند. قارچ های میکوریزا از طریق کاهش تلفات نیتروژن خاک و افزایش جذب عناصر غذایی می شود (Chen and Zhao, 2007). با ترشح ترکیبات سیدروفوری و یا فیتوسیدروفوری ایجاد مقاومت به خشکی، مقاومت به عوامل بیماری زای خاکی و افزایش مقاومت به شوری و فلزات سنگین و افزایش مقدار کلروفیل افزایش رشد گیاهان همزیست با این قارچ ها شده و در مقابل با مصرف ۲۰-۱۰ درصد محصولات فتوسنتزی گیاه، انرژی مورد نیاز خود را تأمین می کنند (Bhosale and Shinde, 2011). در پژوهشی با مصرف اسید هیومیک ۴۰۰ (میلی گرم در لیتر) میزان، کلروفیل افزایش معنی داری یافته است (Neilsen et al., 2004).

مقدار کلروفیل a

بر اساس جدول تجزیه واریانس (۳) تفاوت معنی داری بین تیمارها روی کلروفیل a در سطح احتمال ۵٪ وجود داشت. بطوریکه بیشترین میانگین بر اساس شکل ۱۰ با (۳/۸۵ میلی گرم بر گرم وزن تازه بافت) مربوط به میانگین تیمارهای اسید هیومیک و اسید هیومیک + قارچ میکوریزا با (۲/۲۵ میلی گرم بر گرم وزن تازه بافت) بوده است و تیمار قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا با (۱/۲۲ میلی گرم بر گرم وزن تازه بافت) بدست آمد. از طرفی کمترین میانگین ها با (۱/۰۶ میلی گرم بر گرم وزن تازه بافت) مربوط به تیمار قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا و شاهد با (۰/۹۴ میلی گرم بر گرم وزن تازه بافت) بدست آمد. مهم ترین قارچ های اندومیکوریزی که در



شکل ۱۰. مقایسه میانگین اثر اسید هیومیک و قارچ میکوریزا و قارچ ایندیکا روی کلروفیل a در گل شاخه بریده رز، رقم مشکی (Bordeaux)

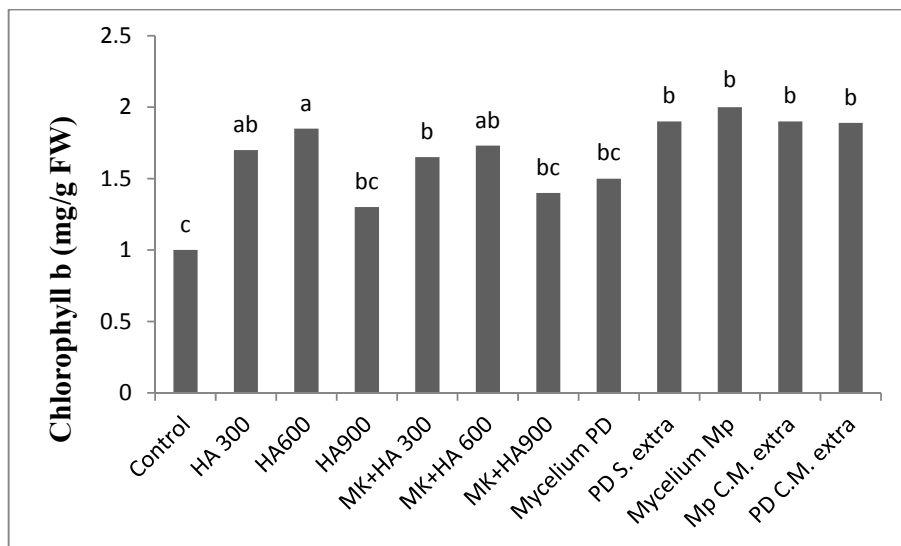
Figure 10. Mean comparison of effect of Humic acid, Mycorrhiza fungi and indica fungi on amount of chlorophyll a in rose cut flower, black variety (Bordeaux)

کلروفیل b

میکوریزا و شاهد با (۱/۵۵ میلی گرم بر گرم وزن تازه بافت) بدست آمد.

کاهش کلروفیل که به عنوان عامل محدود کننده غیر روزنه ای فتوسنتز محسوب می شود به دلیل افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز و پراکسیداز اتفاق می افتد که به دلیل تنش می باشد. گیاهان تلقیحی میکوریزایی جلوی تنش را می گیرند و از کاهش کلروفیل جلوگیری می کنند همچنین نشان داد که محتوای کلروفیل گیاهان لفلل همزیست با قارچ میکوریزا در مقایسه با گیاهان کنترل غیر میکوریزا بالاتر بود (Bhosale and Shinde, 2011). که با نتایج این تحقیق همسو می باشد.

بر اساس جدول تجزیه واریانس (۳) تفاوت معنی داری بین تیمارها روی کلروفیل b در سطح احتمال ۰.۵٪ وجود داشت. بطوریکه بیشترین میانگین طبق شکل ۱۱ با (۳/۰۵ میلی گرم بر گرم وزن تازه بافت) مربوط به میانگین تیمارهای اسید هیومیک بوده و تیمارهای قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا با (۲/۲۱ میلی گرم بر گرم وزن تازه بافت) و اسید هیومیک + قارچ میکوریزا با (۲/۰۲ میلی گرم بر گرم وزن تازه بافت) بوده است. از طرفی کمترین میانگین ها با (۱/۸۴ میلی گرم بر گرم وزن تازه بافت) مربوط به تیمار اسید هیومیک ۹۰۰ mg/L + قارچ



شکل ۱۱. مقایسه میانگین اثر اسید هیومیک و قارچ میکوریزا و قارچ ایندیکا روی کلروفیل b در گل شاخه بریده رز، رقم مشکی

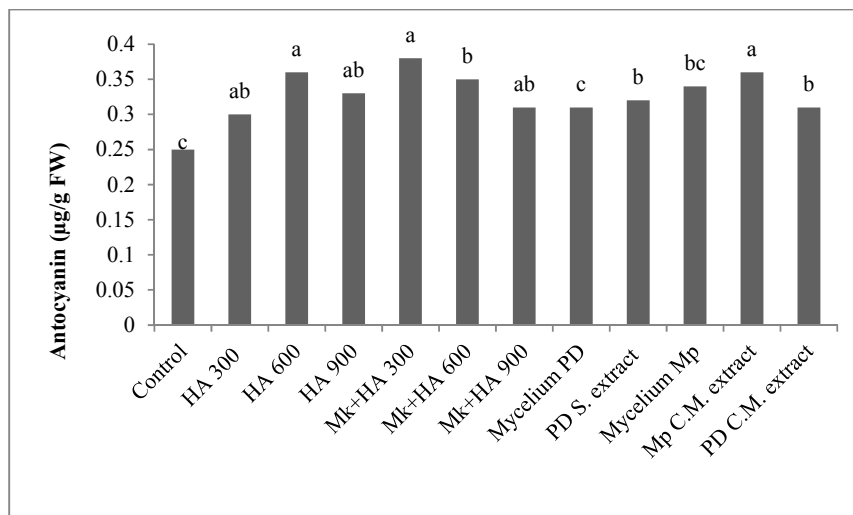
(Bordeaux)

Figure 11. Mean comparison of effect of Humic acid, Mycorrhiza fungi and indica fungi on amount of chlorophyll b in rose cut flower, black variety (Bordeaux)

آنتوسیانین

خشک شدن و چروک شدن است. این ضایعات آب از گلبرگ‌های در حال بالغ شدن همچنین در گل‌هایی که در آب نگهداری می‌شوند (راحی، ۱۳۸۲). در بررسی محتوای آنتوسیانین برگ ریحان‌های سبز و بنفش برای تعیین تأثیر همزیستی قارچ با گیاه بر میزان این متابولیت ثانویه مشخص شد که مقدار آنتوسیانین برگ ریحان در گیاهان تیمار نسبت به شاهد به طور معنی داری افزایش یافته است (Chen and Zhao, 2007) بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق مشخص شد که قارچ *Glomus etunicatum* بر رشد و پارامترهای فیزیولوژیک بررسی شده گیاه زینتی رز دارای اثر مثبتی است که می‌توان این تأثیر مثبت را به بهبود جذب عناصر معدنی مفید در گیاهان میکوریزایی نسبت داد.

بر اساس جدول تجزیه واریانس (۳) تفاوت بسیار معنی داری بین تیمارها روی آنتوسیانین در سطح احتمال ۰/۰۵ وجود داشت، بطوریکه بیشترین میانگین با توجه به شکل 12 با (۰/۹۰ میکروگرم بر گرم بافت تازه) مربوط به میانگین تیمار اسید هیومیک ۳۰۰mg/L + قارچ میکوریزا بوده است و تیمارهای اسید هیومیک با (۰/۳۵ میکروگرم بر گرم وزن بافت تازه) و قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا با (۰/۳۱ میکروگرم بر وزن بافت تازه) بدست آمده است، و از طرفی کمترین میانگین با (۰/۲۴ میکروگرم بر وزن بافت تازه)، مربوط به تیمار اسید هیومیک ۳۰۰mg/L و شاهد با (۰/۲۳ میکروگرم بر وزن تازه بافت) بدست آمده است. آنتوسیانین گلبرگ یکی از نشانه‌های اصلی بروز پیری در گلبرگ‌ها، افت وزن تر،



شکل ۱۲. مقایسه میانگین اثر اسید هیومیک و قارچ میکوریزا و قارچ ایندیکا روی آنتوسیانین گلبرگ در گل شاخه بریده رز، رقم مشکی (Bordeaux)

Figure 12. Mean comparison of effect of Humic acid, Mycorrhiza fungi and indica fungi on amount of antocyanin in rose cut flower, black variety (Bordeaux)

خواهد بود. تقویت ریشه زایی با مکانیسم های متعددی مرتبط است. اسید هیومیک با افزایش نفوذ پذیری سلول های ریشه به جذب بهتر مواد غذایی و توسعه بیشتر گیاه کمک می نماید ثابت شده است که اسید هیومیک با تولید بیشتر اسیدهای نوکلئیک و اسیدهای آمینه تکثیر سلولی را در کل گیاه و بخصوص در ریشه ها افزایش می دهد. حفظ رطوبت خاک برای همه کشاورزان مهم است، بخصوص برای مناطق خشک و کویری و بالاخص برای زمین های شنی ماسه ای که بر بسترهای شیب دار قرار گرفته اند بی نهایت اهمیت دارد.

در این تحقیق تیمار اسید هیومیک ۳۰۰ mg/L با ۵۰ گرم قارچ میکوریزا، به ترتیب باعث افزایش صفات ارتفاع شاخه (۶۴/۷۰ cm)، قطر جام گل (۶/۱۷ cm)، عمر گلجایی (۲۲/۱۱ روز)، کلرفیل (۳/۰۵ mg/gFW) و آنتوسیانین (۰/۹۳ µg/gFW) شد و همچنین میزان فعالیت آنزیم های کاتالاز (۱۶/۷۲ µmol/mg min) و

نتیجه گیری کلی

با توجه نتایج بدست آمده مشخص شد که اسید هیومیک، قارچ میکوریزا و قارچ اندوفیت پیریفورموسپورا ایندیکا، هرکدام با تاثیری بدیهی روی گل شاخه بریده رز رقم مشکی (Bordeaux)، باعث شدند که بیش از پیش در امر تغذیه گیاهان زینتی مورد توجه قرار گیرند، استفاده از کودهای بیولوژیک و باکتریهای همزیست، موجب افزایش جذب عناصر غذایی کم تحرک و حجم ریشه و در نتیجه جلوگیری از مصرف بیش از حد کودهای شیمیایی می شوند. همچنین ویژگی های منحصر بفرد این قارچ ها و کود بیولوژیک اسید هیومیک که در افزایش عملکرد و عمر پس از برداشت نقش بسزایی دارد، تحقیقی در این زمینه انجام گرفت. تاثیر اسید هیومیک بر رشد ریشه چنان واضح و شگرف است که در مواردی حجم ریشه را تا چند برابر افزایش می دهد. چنانکه همه می دانیم گیاهی که ریشه های وسیع تر و قویتر دارد سالم تر و مقاوم تر نیز

پروکسیداز ($6 \mu\text{mol}/\text{mg min}$) نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت که با کاهش فعالیت این دو آنزیم موجب افزایش کیفیت و عمر پس از برداشت این رقم گل شد. با توجه به تاثیری که اسید هیومیک در جلوگیری از بروز تنشهای زنده و غیر زنده دارد و قارچ میکوریزا در ترکیب با این فاکتور که باعث حل کردن برخی عناصر غیر قابل جذب می شود، نتایج فوق بدست آمد.

همچنین در اثر تیمار اسید هیومیک 300mg/L بیشترین میزان کلرفیل a ($3/85 \text{ mg}/\text{gFW}$) به دست آمد. بیشترین میزان طول جام گل ($6/68 \text{ cm}$)، محتوای نسبی آب ($0/67$)، سطح برگ ($2911/5 \text{ mm}^2$) و عملکرد

ایندیکا (عصاره اسپور) به دست آمد. قارچ اندوفیت پیریفورموسپورا ایندیکا با تاثیرات شبه میکوریزای، نقش قابل توجهی در عملکرد و کیفیت گل دارد. این قارچ تنها تفاوتی که با میکوریزا دارد، بلکه در نحوه همزیستی و ایجاد هیف های بدون ظاهر مشخص، بر خلاف میکوریزا ایجاد گره در ریشه نمی کند و مکانیسم عمل این قارچها به این صورت است که با تولید اسید سیتریک منجر به اسیدی شدن محیط ریشه شده و عناصری مثل آهن و فسفر که در شرایط اسیدی قابل جذب هستند را افزایش می دهند.

بررسی تأثیر اسید هیومیک بر اجزاء عملکرد و دوام عمر گل دو رقم گل شاخه بریده ژبره، پاپان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار.

راهنمای کاشت گیاهان گلخانه ای به روش هیدروپونیک در سطح تجاری. نشر آموزش کشاورزی، کرج. ایران. ۴۳۶ صفحه.

چمنی، ا. اسماعیل پور، ا. پور بیرامی، ی. ملکل لجایر، ح. و سعادت، ا.، ۱۳۹۱. بررسی اثرات تیدیازون و اسید هیومیک روی عمر پس از برداشت گل آلسترومیا رقم کنیامبه. مجله علوم و فنون باغبانی، علوم و صنایع کشاورزی (جلد، ۲۶) شماره ۲، صفحات ۱۵۲-۱۴۷.

خوشخوی، م. شیبانی، ب. روحانی، ا. و تفضلی، ع.، ۱۳۹۱. اصول باغبانی. چاپ بیستم. انتشارات دانشگاه شیراز. ۵۵۶ صفحه.

راحی، م.، ۱۳۸۲. فیزیولوژی پس از برداشت (مقدمه ای بر فیزیولوژی و جابجایی میوه سبزی ها و گیاهان زینتی)، انتشارات دانشگاه شیراز. چاپ سوم. ۲۵۰ صفحه.

ریزی، س.، ۱۳۸۹. اثر تغذیه سیلیسیم و کاربرد سالیسیلیک اسید در شرایط آبکشت بر کیفیت رز شاخه بریدنی و بیماری سفیدک پودری. رساله دکتری گروه باغبانی دانشگاه پردیس کشاورزی و منابع طبیعی.

سبحانی، ی. رسولی، م. و موحدی، ز.، ۱۳۹۵. تاثیر عنصر فسفر و قارچ میکوریزا روی برخی از صفات مورفولوژی و فیزیولوژی گل شاخه بریده لیلیوم رقم رویال ترینیتی در شرایط گلخانه ای. اولین کنگره بین المللی و دومین کنگره ملی گل و گیاهان زینتی ایران.

فهیمی، ه.، ۱۳۷۶. تنظیم کننده های رشد گیاهی. انتشارات دانشگاه تهران، ۲۷۱ صفحه.

منابع

- ۸۶

نیکبخت، ع. کافی، م. بابالار، ن. اعتمادی، ح. ابراهیم زاده، ع. و ییپینگ، ش. ۱۳۸۶. اثر اسید هیومیک بر جذب کلسیم و رفتار فیزیولوژیکی پس از برداشت گل ژربرا. مجله علوم و فنون باغبانی ایران. ۸ (۴): ۲۳۷-۲۴۸.

Abusuwar, A.O. and Omer, E.A. 2011. Effect of intercropping, phosphorus solubilizing bacteria rhizobium inoculation on the growth and nodulation of some leguminous. *Agriculture and Biology Journal of North America*. 2 (1): 109-124.

Anderson, N.O. 2006. Flower breeding and genetics, Issues, challenges and opportunities for the 21 century. *Netherlands*. 700 pp.

Autio, J. 2006. Supplementary lighting regimes strongly affect the quantity of gerbera flower yield. *Acta Horticulturae*. 515: 91-98.

Bakker, J. Bridle, P. and Bellworthy, S.J. 1994. Strawberry juice color; A study of the quantitative and qualitative pigment composition of juices from 39 genotypes. *Journal of Science and Food Agriculture*. 64(1): 7-31.

Bhosale, K.S. and Shinde, B.P. 2011. Influence of arbuscular mycorrhizal fungi on proline and chlorophyll content in *Zingiber officinale* Rosc grown under water stress. *Indian Journal of Fundamental and Applied Sciences*. 1(3): 172-176.

Burchi, G. Prisa, D. Ballarin, A. and Menesatti, P. 2010. Improvement of flower color by means of leaf treatments in lily. *Horticultural Science*. 125: 456_460.

Cardoso, I.M. and Kuyper, T.W. 2006. Mycorrhizas and tropical soil fertility. *Agriculture Ecosystems and Environment*. 116(1): 72-84

Chance, B. and Maehly, A.C. 1995. Assay of catalase and peroxidase. In: S.P. Culowic and N.O. Kaplan (Eds.). *Methods in Enzymology*. Vol. 2. Academic Press. Inc. New York. 814 p.

Chen, X.H. and Zhao, B. 2007. Arbuscular mycorrhizal fungi mediated uptake of lanthanum in Chinese milk vetch (*Astragalus sinicus* L.). *Chemosphere*. 68(8): 1548-1555.

Chutichudet, P. Chutichudet, B. and Boontiang, K. 2010. Effect of 1-MCP fumigation on vase life and other postharvest qualities of Siam tulip (*Curcuma aeruginosa* Roxb) cv. Laddawan. *International Journal of Agriculture Research*. 5:1-10.

Dhindsa, R.S. Dhindsa, P. and Thorpe, T.A. 1981. Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *Environtal and Experimental Botany*. 32:93-101.

Ebrahimzadeh, A. and Seyfi, Y. 1999. Storage and handling of cut flowers, ornamental green plants and pot plants. (Translation). *Akhtar Publications*. 233.

Emam, Y. and Ziaei, E. 2010. Evaluation of Water and Photosynthetic Nitrogen Use Efficiency in Two Maize Hybrids. *Iranian Journal of field Crop Science*. 41(3): 423-432.

Eyheraguibel, B. Silvestre, j. and Morard, P. 2008. Effects of humic substances derived from organic waste enhancement on the growth and mineral nutrition of maize. *Bioresource Technology*. 99(10): 4206-4212.

Farzaneh, M. Vierheilig, H. Lossll, A. and Kaull, HP. 2011. Arbuscular mycorrhiza enhances nutrient uptake in chickpea. *Plant Soil Environment*. 57:465-470.

Karakurt, Y. Unlu, H. and Padem, H. 2009. The influence of foliar and soli fertiizationn of humic acid on yeild and quality of pepper. *Plant and soil*. 59(3): 233-237.

- Li, Z. Wang, L. Wang, W. and Zhu, Y. 2007. Physiological effect and application of 1-MCP on delaying fruit senescence. *Plant Physiology Communications*. 43: 201-206.
- Lorence, R. Neil, O. Mattson, S. and Lieth, H. 2006. Predicting Stem Length of Cut Flower Roses at Harvest Using Stem Elongation Rates in Relationship to Developmental Events. *Acta Horticulturae*. 718.
- Marschner, H. 2005. Mineral Nutrition of Higher Plants. 2nd Ed., Academic Press, New York.
- Maxwell, K. and Johnson, G.N. 2000. Chlorophyll fluorescence, a practical guide. *Journal of Experimental Botany*. 51(345): 659-668.
- Michalczuk, B. Goszczynska, D.M. Rudnicki, R.M. and Halevy, A.H. 2010. Calcium promotes longevity and bud opening in cut rose flowers. *Isr. American Journal of Botany*. 38: 209-215.
- Nielsen, K.B. Kjoller, R. Olsson, P.A. Schweiger, P.F. Andersen, F.O. and Rosendahl, S. 2004. Colonization intensity and molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in the aquatic plants *Littorella uniflora* and *Lobelia dortmanna* in southern Sweden. *Mycological Research*. 108: 616-625.
- Nikbakht, A. Kafi, M. Babalar, M. Xia, Y.P. Luo, A. and Etemadi, N. 2008. Effect of commercial humic acid on plant growth, nutrients uptake and postharvest life of gerbera. *Journal Plant Nutrition*. 31: 2155-2167.
- Qiang, X. Weiss, M. Kogel, K.H. and Schafer, P. 2011. *Piriformospora indica* mutualistic basidiomycete with an exceptionally large plant host range. *Molecular Plant Pathology*. 13(5): 508-518.
- Rai, M. Acharya, D. Singh, A. and Varma, A. 2001. Positive growth responses of the medicinal plants *Spilanthes calva* and *Withania somnifera* to inoculation by *Piriformospora indica* in a field trial. *Mycorrhiza*. 11(3): 123-128.
- Rai, M. and Varma, A. 2005. Arbuscular mycorrhiza-like biotechnological potential of *Piriformospora indica*, which promotes the growth of *Adhatoda vasica* Nees. *Journal of Biotechnology*. 8(1): 1-6.
- Singh, A. Sharma, J. Rexer, K.H. and Varma, A. 2000. Plant productivity determinants beyond minerals, water and light: *Piriformospora indica*-A revolutionary plant growth promoting fungus. *Current Science-Bangalore*. 79(11): 1548-1554.
- Soleimani Aghdam, M. Hassanpour Aghdam, M. Paliyat, G. and Farmani, B. 2012. The language of calcium in postharvest life of fruits, vegetables and flowers. *Horticulturae Scientia*. 144: 102-115.
- Spanou, C.I. Veskoukis, A.S. Stagos, D. Liadaki, K. Aligiannis, N. Angelis, A. Skaltsounis, A.L. Anastasiadi, M. Haroutounian, S.A. and Kouretas, D. 2012. Effects of Greek legume plant of extracts on xanthine oxidase, catalase and superoxide dismutase activities. *Journal of Physiology and Biochemistry*. 68(1): 37-45.
- Subramanian, K. Santhanakrishnan, P. and Balasubramanian, P. 2006. Responses of field grown tomato plants to arbuscular mycorrhizal fungal colonization under varying intensities of drought stress. *Scientia Horticulturae*. 107: 245-253.
- Varma, A. Abbott, L. Werner, D. and Hampp, R. 2004. The state of art. Plant surface microbiology. *Plant surface microbiology*. Springer, Berlin Heidelberg New York: 1-11.
- Varma, A. Verma, S. Sahay, N. Butehorn, B. and Franken, P. 1999. *Piriformospora indica*, a cultivable plant-growth-promoting root endophyte. *Applied Environmental Microbiology*. 65(6): 2741-2744.
- Verma, S. Varma, A. Rexer, K.H. Hassel, A. Kost, G. Sarbhoy, A. Bisen, P. Butehorn, B. and Franken, P. 1998. *Piriformospora indica*, gen. et sp. nov., a new root-colonizing fungus. *Mycologia*. 896-903.

Wang, B. and Qiu, Y.L. 2006. Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants. *Mycorrhiza*. 16(5), 299-363.

Xie, M. Zhang, J. and Xie, J. 2003. Relationships between some physio-biochemical changes and senescence during storage in bitter gourd. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*. 24(4): 716-719.

Yamasaki, S. and Dillenburg, L.R. 1999. Measurements of leaf relative water content in *Araucaria angustifolia*. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*. 11(2):69-75.

Zhu, Y.G. and Miller, R. 2003. Carbon cycling by arbuscular mycorrhizal fungi in soil-plant systems. *Trends in Plant Science*. 8(9): 407-409

Improving Morphological and Physiological Parameters of Rose Flower (Cultivar Bordeaux) by Application of Humic Acid, (*Glomus Etunicatum*) and (*Piriformospora Indica*) Fungies

Mousa Rasouli^{*1}, Sahar Mirzaei², Kourosh Farhadi³, Mehdi Ghabooli⁴

- 1- Corresponding Author and Associate Professor, Department of Horticultural Science and Landscape Engineering, Faculty of Agriculture, Malayer University, Malayer, Iran. mousarasouli@gmail.com
- 2- Assistant Professor, Ornamental Plants Research Centre, Horticultural Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Mahallat, Iran. sahar_mirzaei81@yahoo.com
- 3- M.Sc. Graduate, Department of Horticultural Science and Landscape Engineering, Malayer University, Malayer, Iran. Kourosh.farhadi2020@gmail.com
- 4- Assistant Professor, Department of Plant Product and Genetic, Malayer University, Malayer, Iran. mehdi.ghabooli@gmail.com

Received Date: 2019/08/15

Accepted Date: 2019/11/26

ABSTRACT

Introduction: Rose (*Rosa hybrida* L.), it is from *Rosacea* family and native of Northern Hemisphere (Anderson, 2006). Today, production of ornamental plants has a great importance in the world. More than one third of their production belongs to rose, in the world and widely it is produced in Iran. Balanced nutrition is one of the most important factors that affect the quality and quantity of roses. This study aimed to investigate the effect of humic acid, endophytic fungus mycorrhiza (*Glomus etunicatum*) and (*Piriformospora indica*) fungi on some of the characteristics of black rose flower (*Rosa hybrida*, cv 'Bordeaux') in the hydroponic media at greenhouse conditions.

Material and methods: This experiment was designed in the frame of completely randomized design (CRD) with 12 treatments in three replications. Treatments were include: 1) foliar application of humic acid in three levels (300, 600, 900 mg/L), 2) humic acid in three levels (300, 600, 900 mg/L) + 50g mycorrhizal fungi (inoculation with root media), 3) *P. indica* fungi in five levels (spore extract Potato Dextrose (PD), Mycelium PD, Mycelium Multiple (Mp), extract of Mp culture media, extract of PD culture media) and control treatment. The traits such as length of flowering stem, length and diameter of corolla, vase life, leaf area, yield, relative water content, activities of peroxidase and catalase, chlorophyll (a, b) and anthocyanins were measured.

Result and discussion: Based on the results, the highest value of flower stem length (64.70 cm), corolla diameter (6.17 cm), vase life (22.11 days), chlorophyll b (3.05 mg/ g FW), anthocyanins (0.93 µg/ g FW) and also the lowest amount of catalase (16.72 µmol/mg min) and peroxidase (6.35 µmol/mg min) activity was obtained with the humic acid (300 mg/L) + (50 g) mycorrhizal fungi treatment. In addition, highest amount of chlorophyll a (3.85 mg/ g FW) was showed in the 300 mg/L humic acid treatment. On the other hand, the highest value of corolla length (6.68 cm), relative water content (0.67%), leaf area (2911.5 mm²) and yield (17.02 flowers) was observed in spore extract of *P. indica* fungi treatment. Chutichudet *et al.*, (2010) showed that mycorrhiza fungi treatment could increase stem height in the gerbera cut flower. Neilsen *et al.*, (2004) reported that the treatment of 400 mg/l humic acid increased amount of chlorophyll in the plants.

Conclusion: On the base of the results, we concluded that humic acid, Mycorrhiza fungi and endophytic *Piriformospora indica* fungi treatments caused obvious effects on the black rose cut flower. Application of biologic fertilizers and symbiotic bacteria increased nutrient absorption. Therefore, consumption of the chemical fertilizers was reduced. Also, treatments increased vaselife of flowers. Effect of humic acid on root growth was wonderful, as increased root volume. Humic acid increases plant tolerance to biotic and abiotis stresses and mycorrhiza fungi helps in absorbing non-soluble elements. Therefore, qualitative and quantitative parameters of black rose cut flower were increased.

Keywords: Endophytic fungi, Humic acid, Nutrition, Mycorrhiza fungi, Rose.