Archive of SID

Iranian Journal of Horticultural Science
Vol 51, No 2, Summer 2020 (415-425)
DOI: 10.22059/ijhs.2018.249383.1375

علوم باغبانی ایران
دورهٔ ۵۱، شمارهٔ ۲، تابستان ۱۳۹۹ (ص ۴۲۵-۴۱۵)

اثر اسید هیومیک بر رشد و برخی پاسخ‌های فیزیولوژیکی چمن آفریقایی (*Cynodon dactylon* L.) تحت تنش شوری

رضا شریفی اصل[۱]، محسن کافی[۲*]، مهدی صیدی[۳] و سپیده کلاته جاری[٤]

۱ و ٤. دانشجوی دکتری و استادیار، دانشکده کشاورزی و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲. استاد، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

۳. دانشیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹٦/۱۰/۲۳ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۲/۲)

چکیده

به منظور بررسی تأثیر اسید هیومیک بر رشد و برخی پاسخ‌های فیزیولوژیکی چمن آفریقایی تحت تنش شوری، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. عامل اول اسید هیومیک در چهار سطح (صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر به‌صورت کاربرد خاکی) و عامل دوم تنش شوری در چهار سطح (صفر، ۵، ۷ و ۹ دسی‌زیمنس بر متر) بود. نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر شوری و اسید هیومیک بر پارامترهای رشدی، رنگیزه‌های فتوسنتزی، مالون دی‌آلدهید، پرولین و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان معنی‌دار بود. در شرایط تنش شوری، وزن تر و خشک شاخساره و ریشه، سطح برگ و کلروفیل کاهش، اما پرولین و فعالیت مالون دی آلدیید کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز افزایش یافت. کاربرد اسید هیومیک سبب افزایش پارامترهای رشدی، محتوای کلروفیل، کاتالاز و پراکسیداز شد و تحمل شوری در گیاه را افزایش داد. با افزایش غلظت اسید هیومیک اثربخشی آن افزایش یافت، به‌طوری‌که بالاترین تأثیر در غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسید هیومیک مشاهده شد. به‌طورکلی، نتایج نشان داد کاربرد اسید هیومیک با بهبود فرآیندهای فیزیولوژیک گیاه می‌تواند به‌طور مؤثری برای حفاظت چمن از اثرهای شوری بالا استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: پرولین، تنش اکسیداتیو، سوپراکسید دیسمیوتاز، کلروفیل، مالون دی‌آلدییید.

The effect of humic acid on growth and some physiological responses in bermuda grass subjected to salinity stress

Reza Sharifiasl[1], Mohsen Kafi[2*], Mehdi Saidi[3] and Sepideh Kalateh Jari[4]

1, 4. Ph.D. Candidate and Assistant Professor, Faculty of Agriculture and Food Industries, Science and Research Branch, Islamic Azad University Tehran, Iran

2. Professor, College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

3. Associate Professor, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran

(Received: Jan. 13, 2018- Accepted: Apr. 22, 2018)

ABSTRACT

In order to investigate effect of humic acid (HA) on growth and some physiological parameters of bermuda grass under salinity stress, a factorial experiment was cinducted. The first factor was humic acid at four levels (0, 50, 100 and 150 mg/l) and the second factor was salinity at four levels (0, 5, 7 and 9 ds/m). Results of variance analysis showed significant effects of the salinity and HA on plant growth parameters, photosynthetic pigments, malondialdehyde (MDA), proline and antioxidant enzyme activity. Results showed that salinity stress imposed negative effects on plant growth and productivity. In salinity conditions, fresh and dry weight, leaf area and photosynthetic pigments reduced, but proline, malondialdehyde, catalase and superoxide dismutase activities increased. HA application improved growth parameters and increased chlorophyll content, catalase and superoxide dismutase activities of bermuda grass subjected to salinity and provided significant protection against salinity stress compared to non-HA-treated plants. The highest salinity tolerance was obtained with 150 mg/l HA application. In general, the results indicated that HA application, by altering in some tolerant responses, could be effectively used to protect plants from the adverse effects of high salt concentration.

Keywords: Chlorophyll, malondialdehyde, oxidative stress, proline, superoxide dismutase.

* Corresponding author E-mail: Dr.mkafi@gmail.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

چمن آفریقایی (*Cynodon dactylon* L.) که به آن برموداگراس نیز گفته می‌شود چمن فصل گرم، چند ساله و با عادت رشد ریزومی-استولونی است. این چمن دارای برگ‌های باریک و کشیده به رنگ سبز روشن و گل آذین پنجه‌ای می‌باشد. تحمل این چمن به گرما و خشکی بالا است، ولی در سرمای زمستان تغییر رنگ می‌دهد و به رنگ قهوه‌ای می‌گراید (Asadi Vafa *et al*., 2015). شوری یکی از تنش‌های اصلی غیرزنده محدودکننده رشد گیاه و تولید محصول می‌باشد. بیش از ۲۰ درصد اراضی آبیاری شده در دنیا که یک‌سوم غذای جهان را تولید می‌کنند تحت تأثیر شوری قرار دارند (Yadav *et al*., 2011). تجمع نمک به‌طور منفی و مداوم بر روی انتقال آب و یون‌ها در سرتاسر خاک و گیاه تأثیر دارد و سبب پژمرده شدن گیاه شده و رشد و نمو طبیعی آن را دچار اختلال می‌کند (Cavalcanti *et al*., 2007). به‌طورکلی تنش شوری در خاک شامل تنش اسمزی و صدمه ایجادشده به‌وسیله یون‌های سدیم و کلر می‌باشد (Munns, 2002). واکنش گیاه به شوری پیچیده بوده و به‌مدت‌زمان تنش، نوع شوری، مرحله رشد گیاه، زمانی که گیاه در معرض تنش شوری قرار دارد و نیز بسیاری از عوامل دیگر وابسته است (Miller *et al*., 2010; Yadov *et al*., 2011). تنش شوری باعث تولید گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive oxygen species (ROS)) و افزایش نشت‌پذیری غشای سلول‌ها شده، که علاوه بر آسیب اکسیداتیو واردشده توسط ترکیبات ROS، باعث افزایش برخی پروتئین‌ها، مانند پروتئین‌های شوک گرمایی، چپرون‌ها (Chaperone) و سایر پروتئین‌های سم‌زدا می‌شود (Parida & Das, 2005). گیاه برای حفظ تورژسانس در تنش شوری موادی می‌سازد که باعث منفی‌ترشدن پتانسیل آب درون سلول‌ها شده، به گیاه اجازه حفظ فشار آماس را می‌دهد. این مواد، که اسمولیت (مانند پرولین) نام دارند، ترکیباتی هستند که قابلیت انحلال زیادی دارند، با این‌حال، وزن مولکولی آن‌ها کم می‌باشد (Irigoyen *et al*., 1992; Dar *et al*., 2016).

امروزه استفاده از مواد آلی از جمله ترکیبات هوموسی در مدیریت چمن بسیار مرسوم و معمول شده است (Rahi *et al*., 2013). ازجمله اهداف استفاده از این ترکیبات افزایش سرعت استقرار و تحریک تحمل چمن به تنش‌هاست که یکی از این محرک‌های آلی، اسید هیومیک می‌باشد (Verlinden *et al*., 2010). اسید هیومیک با دارا بودن ساختار پلیمری طبیعی بخشی از مواد آلی است که عموماً در خاک‌ها و آب‌های روان در اثر تجزیه گیاهان و بقایای جانوری به‌دست‌آمده و جهت افزایش محصول به کار گرفته می‌شود (Fan *et al*., 2014; Nardi *et al*., 2002). مواد هیومیکی با توجه به حلالیت در اسید و باز به اسید هیومیک ((Humic acid (HA)، فولویک اسید (Folic acid) و هومین‌ها (Humins) تقسیم‌بندی می‌شوند و دارای تأثیر هورمونی بر رشد و متابولیسم گیاه و فعالیت‌های شبه اکسینی (Nardi *et al*., 2002) و شبه سیتوکینینی هستند (Tan *et al*., 1979). اسید هیومیک می‌تواند به‌طور مستقیم اثرهای مثبتی بر رشد گیاه بگذارد. رشد قسمت هوایی و ریشه گیاه توسط اسید هیومیک تحریک می‌شود، ولی اثر آن روی ریشه برجسته‌تر می‌باشد. این ترکیب حجم ریشه را افزایش داده و باعث اثربخشی بهتر سیستم ریشه می‌گردد (Zhang & Ervin, 2004; Santiago *et al*., 2008). اثرهای تحریک‌کننده مواد هیومیکی به دلیل افزایش در جذب عناصر پرمصرف نظیر نیتروژن، فسفر، پتاسیم و گوگرد می‌باشد (Cacco *et al*., 2000). Santiago *et al*. (2008) بیان کرد استفاده از اسید هیومیک در محیط کشت سبب افزایش رشد ریشه، شاخه و میزان نیتروژن در شاخساره در خاک‌های آهکی شد. اثرهای مفید اسید هیومیک به‌طور مستقیم و غیرمستقیم با نفوذ در غشاء سلولی سبب بهبود سنتز پروتئین، تغییر فعالیت آنزیم‌ها، حلالیت ریزمغذی‌ها، بهبود ساختار خاک، افزایش ظرفیت تبادل کاتیونی و جمعیت میکروبی در خاک می‌شود (Meganid *et al*., 2015). همچنین گزارش‌شده است که اسید هیومیک با افزایش فعالیت آنزیم روبیسکو سبب افزایش فعالیت فتوسنتزی گیاه می‌شود و از این طریق رشد گیاه را افزایش می‌دهد (Delfine *et al*., 2005). با توجه به موارد مطرح‌شده، در تحقیق حاضر

www.SID.ir

Archive of SID

اثر کاربرد اسید هیومیک بر تحمل به تنش شوری و برخی پاسخ‌های فیزیولوژیکی در چمن گرمسیری بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۶ تیمار در ۳ تکرار در سال ۱۳۹۵ در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام انجام شد. خاک مورد استفاده این تحقیق از خاک مزرعه تهیه شد و برخی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی آن در جدول ۱ آورده شده است. در تاریخ اول آبان ۱۳۹۵ در هر گلدان، حدود ۰/۵ گرم بذر چمن آفریقایی رقم Tifway که از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شده بود به‌صورت سطحی کاشته شد. پس از کاشت بذرها حدود یک سانتی‌متر روی آنها با کود دامی پوسیده پوشانیده شد. بذرها دارای خلوص ۹۶ درصد و قوه نامیه ۸۰ درصد بود. کود کامل ۲۰-۲۰-۲۰ به‌صورت ماهیانه و دستی طی دوره‌ی رویشی به گلدان‌ها اضافه شد. آبیاری به‌طور مداوم و به‌تدریج تا خیس شدن کامل گلدان انجام شد. پس از سبز شدن بذرها در هر گلدان ۵۰ گیاه حفظ و بقیه گیاهان تنک شدند. پس از استقرار کامل گیاهان (۴۵ روز پس از کاشت) تیمار اسید هیومیک و شوری شروع شد و تا پایان آزمایش ادامه پیدا کرد. اسید هیومیک (شرکت Sigma-Aldrich) با خلوص ۹۹/۵ درصد از شرکت شیمیایی پاسارگاد نوین تهیه شد. به‌منظور اضافه کردن اسید هیومیک به خاک سوسپانسیون آن در غلظت‌های صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر تهیه شده و با مقدار مشخصی آب که بر اساس ظرفیت زراعی خاک تعیین‌شده بود، مخلوط گردید. تیمار اسید هیومیک به روش ذکرشده به‌صورت ماهیانه و به‌مدت ۶ ماه ادامه پیدا کرد. دو روز پس از اعمال اسید هیومیک تیمار شوری از طریق آب آبیاری در غلظت‌های صفر، ۵، ۷ و ۹ دسی‌زیمنس بر متر به‌صورت سه بار در هفته اعمال گردید. لازم به ذکر است که برای جلوگیری از تجمع نمک، آبیاری گیاهان با آب شور به میزان بیشتر از نیاز گیاه انجام گرفت تا همیشه مقداری از زه‌آب از ته گلدان خارج شده و سطح تیمار شوری در محیط خاک حفظ شود (Ghanbari *et al.*, 2016). سرزنی چمن به صورت دستی و یکسان برای هر گلدان در پایان هر ماه انجام گرفت. در پایان آزمایش صفات مختلف شامل وزن تر و خشک شاخساره، وزن تر و خشک ریشه (پس از خشک شدن در آون ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۸ ساعت) و سطح برگ با استفاده از دستگاه سطح‌برگ‌سنج اندازه‌گیری شد.

برای اندازه‌گیری کلروفیل از روش Strain & Svec (1966) با استفاده از روابط زیر استفاده شد. نهایتاً غلظت رنگیزه‌ها در نمونه‌های برگ بر حسب میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ محاسبه شد.

$$Chl\ a = 12.7(A663) - 2.69(A645) \quad (۱)$$

$$Chl\ b = 25.8(A645) - 4.68(A663) \quad (۲)$$

$$Chl\ total = 20.21(A645) + 8.02(A663) \quad (۳)$$

برای استخراج آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان ابتدا ۰/۲ گرم بافت تازه گیاهی در هاون چینی سرد با استفاده از ۲ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار با pH=۷/۵ که دارای پلی وینیل پیرولیدون ۱ درصد، EDTA ۱ میلی‌مولار و PMSF ۱ میلی‌مولار بود، ساییده شد. تمام مراحل استخراج در یخ انجام گرفت و قبل از اینکه حالت فریز بافت گیاهی از بین رود عمل استخراج انجام گرفت. سپس عصاره‌ها به لوله‌ها منتقل‌شد و به‌مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شدند. روشناور به ویال‌های ۰/۵ میلی‌لیتری تقسیم شد و تا زمان سنجش فعالیت آنزیم‌ها در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند.

جدول ۱. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک

Table 1. Physical and chemical properties of soil

Soil texture	pH (ds/m)	EC (ds/m)	O.C (%)	Total nitrogen (%)	Potassium (ppm)	Phosphorus (ppm)	$CaCO_3$ (%)
Sandy loam	7.10	2.76	1.97	2.6	507	36	3.5

www.SID.ir

Archive of SID

فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT, EC 1.11.1.6) بر اساس روش Dhindsa *et al.* (1981) اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش شامل ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار pH=۷، ۳۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۱۵ میلی‌مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. از مخلوط واکنش بدون عصاره آنزیمی به‌عنوان شاهد اسپکتروفتومتر استفاده شد. فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسمیوتاز (SOD, EC 1.15.1.1) از طریق اندازه‌گیری توانایی آن در جلوگیری از احیای نوری ماده شیمیایی نیتروبلوتترازولیوم به روش Dhindsa *et al.* (1981) اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش شامل ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار pH=۷، ۱۰۰ میکرولیتر متیونین ۱۳ میلی‌مولار، ۱۰۰ میکرولیتر نیترو بلوتترازولیوم (Nitroblue tetrazolium) ۷۵ میکرومولار، ۱۰۰ میکرولیتر ریبوفلاوین ۲ میکرومولار و ۲۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. نمونه‌ها به‌مدت ۱۵ دقیقه در معرض نور قرار داده شدند. پس از این مدت جذب آن‌ها بلافاصله در طول‌موج ۵۶۰ نانومتر قرائت شد. در این روش دو نمونه شاهد مورد استفاده قرار گرفت که هر دو بدون عصاره آنزیمی بود. نمونه اول بدون دریافت نور، به‌عنوان شاهد برای صفر کردن دستگاه اسپکتروفتومتر استفاده شد. شاهد دوم (کنترل) همراه با نمونه‌های اصلی به‌مدت ۱۵ دقیقه در معرض نور قرار گرفت، زیرا به دلیل عدم وجود آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز، احیای نوری نیتروبلوتترازولیوم به‌طور ۱۰۰ درصد انجام نمی‌گیرد. برای اندازه‌گیری محتوای مالون دی آلدیید از روش Stewart & Bewley (1980) استفاده شد. در این روش ابتدا مقدار ۰/۲ گرم از نمونه تازه گیاهی (برگ) را با نیتروژن مایع در هاون خردکرده تا به‌صورت پودر درآید. پودر تهیه شده را به تیوب ۱۵ میلی‌لیتری منتقل کرده و مقدار ۵ میلی‌لیتر اسید تری کلرو استیک ۰/۱ درصد که در حمام یخ قرار داشت، به تیوب اضافه شد. سپس تیوب‌ها در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. یک میلی‌لیتر از روشناور را به یک تیوب جدید منتقل کرده و به آن یک میلی‌لیتر محلول ۰/۵ درصد وزنی به حجم (w/v) اسید تیو باربیتیوریک حاوی اسید تری کلرواستیک ۲۰ درصد وزنی به حجمی اضافه شد. سپس تیوب‌ها در بن ماری با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفتند. بلافاصله پس از خارج نمودن تیوب از حمام آب داغ به‌منظور توقف واکنش، تیوب‌ها در آب یخ به‌مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفتند. سپس اقدام به قرائت میزان جذب نمونه با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (کری ۱۰۰، واریان، آمریکا) در دو طول‌موج ۵۳۲ نانومتر و ۶۰۰ نانومتر شد. در نهایت محاسبه مقدار مالون دی آلدیید با در نظر گرفتن فاکتور رقت، قطر کووت و ضریب خاموشی انجام شد. همچنین برای استخراج و اندازه‌گیری پرولین از روش Bates *et al.* (1973) استفاده شد. داده‌های حاصل از آزمایش با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۹,۱) مورد تجزیه آماری قرار گرفت. مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد و رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel 2013 انجام شد.

نتایج و بحث

پارامترهای رشدی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرهای اصلی تنش شوری و اسید هیومیک بر تمام پارامترهای رشدی شامل وزن تر و خشک شاخساره، وزن تر و خشک ریشه و سطح برگ در سطح یک درصد معنی‌دار شد. اثر متقابل شوری و اسید هیومیک بر وزن خشک شاخساره در سطح پنج درصد و بر وزن تر ریشه در سطح یک درصد معنی‌دار شد و بر بقیه صفات رشدی معنی‌دار نشد (جدول ۲). مقایسه میانگین اثرهای اصلی نشان داد که با افزایش شوری از صفر تا ۹ دسی زیمنس بر متر تمام پارامترهای رشدی روند کاهشی داشت، به‌طوری‌که کمترین وزن تر شاخساره، وزن خشک ریشه و سطح برگ در تیمار ۹ دسی زیمنس بر متر شوری مشاهده شد که نسبت به شاهد (صفر دسی زیمنس بر متر) به‌ترتیب ۳۳، ۲۹ و ۱۶ درصد کاهش نشان داد (جدول ۴). مقایسه میانگین اثر اسید هیومیک نشان داد هر سه غلظت به کار رفته (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر) سبب افزایش معنی‌دار پارامترهای رشدی نسبت به شاهد شدند. در مورد وزن تر شاخساره سه غلظت به‌کاررفته تفاوت آماری معنی‌داری باهم نداشتند، ولی در مورد وزن خشک ریشه و سطح برگ با افزایش غلظت اسید هیومیک میزان آن‌ها به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (جدول ۴).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس اثر اسید هیومیک و شوری بر برخی صفات چمن آفریقایی

Table 2. Results of variance analysis effect of humic acid and salinity on some parameters of bermudagrass

Source of variation	f	Means of Squares							
		Shoot fresh weight	Shoot dry weight	Root fresh weight	Root dry weight	Leaf area	Chlorophyll a	Chlorophyll b	Total chlorophyll
Salinity	3	15.91**	1.780**	40.85**	8.97**	0.153**	0.224**	0.089**	0.512**
Humic acid (HA)	3	6.94**	0.421**	37.67**	2.13**	0.581**	0.082**	0.012**	0.157**
Salinity × HA	9	0.48ns	0.014*	1.11**	0.06ns	0.011ns	0.003ns	0.002ns	0.003ns
Error	32	0.38	0.005	0.33	0.07	0.006	0.005	0.001	0.005
C.V.	-	6.55	3.17	3.56	4.88	5.60	8.95	9.03	5.99

**، * و ns: به ترتیب تفاوت معنی‌دار در سطح ۱ و ۵ درصد و نبود تفاوت معنی‌دار.

**, *, ns: Significant at the 0.01 and 0.05 levels, and non-significant, respectively.

جدول ۳. نتایج تجزیه واریانس اثر اسید هیومیک و شوری بر برخی آنزیم های چمن آفریقایی

Table 3. Results of variance analysis effect of humic acid and salinity on some enzymes of bermudagrass

Source of variation	df	Means of Squares			
		CAT activity	SOD activity	Malondialdehyde	Proline
Salinity	3	0.0503**	1.373**	4.41**	1.87**
Humic acid (HA)	3	0.0184**	0.287**	1.50**	0.23**
Salinity × HA	9	0.0007ns	0.019ns	0.13ns	0.02ns
Error	32	0.0005	0.028	0.11	0.02
C.V.	-	7.66	10.16	10.66	11.70

**، * و ns: به ترتیب تفاوت معنی‌دار در سطح ۱ و ۵ درصد و نبود تفاوت معنی‌دار.

**, *, ns: Significant at the 0.01 and 0.05 levels, and non-significant, respectively.

جدول ۴. مقایسه میانگین اثر اسید هیومیک و شوری بر برخی صفات چمن آفریقایی

Table 4. Mean comparison effect of humic acid and salinity on some traits of bermudagrass

Treatment	levels	Shoot fresh weight (g)	Root dry weight (g)	Leaf area (Cm^2)	Chlorophyll a (mg/g FW)	Chlorophyll b (mg/g FW)	Total chlorophyll (mg/g FW)	CAT activity (U mg/protein)	SOD activity (U mg/protein)	MDA (nm/g FW)	Proline (µm/g FW)
Salinity (ds/m)	0	11.27^{a}	6.92^{a}	1.51^{a}	0.92^{a}	0.53^{a}	1.45^{a}	0.22^{c}	1.28^{c}	2.89^{bc}	0.79^{d}
	5	9.64^{b}	5.49^{b}	1.50^{a}	0.90^{a}	0.48^{b}	1.38^{a}	0.32^{b}	1.60^{b}	2.74^{c}	1.15^{c}
	7	8.78^{c}	5.31^{b}	1.48^{a}	0.71^{b}	0.44^{c}	1.10^{c}	0.35^{a}	1.70^{b}	3.07^{b}	1.43^{b}
	9	8.40^{c}	4.95^{c}	1.27^{b}	0.65^{b}	0.32^{d}	1.004^{d}	0.36^{a}	2.10^{a}	4.08^{a}	1.71^{a}
Humic acid (mg/L)	0	8.42^{b}	5.22^{d}	1.16^{d}	0.68^{b}	0.40^{b}	1.08^{c}	0.27^{b}	1.50^{b}	3.56^{a}	1.43^{a}
	50	9.64^{a}	5.47^{c}	1.38^{c}	0.81^{a}	0.45^{a}	1.26^{b}	0.28^{b}	1.58^{b}	3.35^{ab}	1.33^{a}
	100	10.08^{a}	5.79^{b}	1.54^{b}	0.84^{a}	0.45^{a}	1.30^{ab}	0.34^{a}	1.75^{a}	3.13^{b}	1.19^{b}
	150	9.96^{a}	6.19^{a}	1.67^{a}	0.86^{a}	0.47^{a}	1.34^{a}	0.35^{a}	1.84^{a}	2.73^{c}	1.12^{b}

میانگین‌ها با حروف غیر یکسان دارای تفاوت معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد می‌باشند.

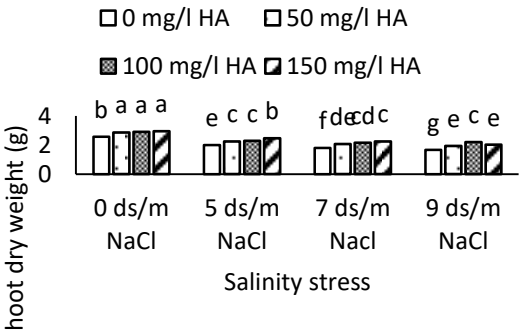
Values followed by different letters were significant difference according to Duncan's Multiple Range Test at $P<0.05$.

مقایسه میانگین اثرهای متقابل نشان داد کاربرد اسید هیومیک در تمام سطوح شوری سبب افزایش معنی‌دار وزن خشک شاخساره نسبت به شاهد شد. با افزایش تنش شوری وزن خشک شاخساره به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. بیشترین وزن خشک شاخساره (۲/۹ گرم) در کاربرد صفر دسی زیمنس بر متر شوری و کاربرد اسید هیومیک (سطوح به‌کاررفته اختلاف آماری معنی‌داری باهم نداشتند) و کمترین آن (۱/۶۷ گرم) در کاربرد ۹ دسی زیمنس بر متر شوری و عدم کاربرد اسید هیومیک (شاهد) مشاهده شد (شکل ۱).

نتایج نشان داد که افزایش تنش شوری سبب کاهش معنی‌دار وزن تر ریشه در سطوح مختلف اسید هیومیک شد. همچنین کاربرد اسید هیومیک در تمام سطوح شوری (صفر، ۵، ۷ و ۹ دسی زیمنس بر متر) سبب افزایش معنی‌دار وزن تر ریشه نسبت به عدم کاربرد آن شد. غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسید هیومیک بیشترین تأثیر را در افزایش وزن تر ریشه نسبت به غلظت‌های دیگر داشت. بیشترین وزن تر ریشه (۲۷/۷۵ گرم) در صفر دسی زیمنس بر متر شوری و کاربرد ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسید هیومیک و کمترین آن (۱۸/۱۹ گرم) در کاربرد ۹ دسی زیمنس بر متر شوری و عدم کاربرد اسید هیومیک به دست آمد (شکل ۲).

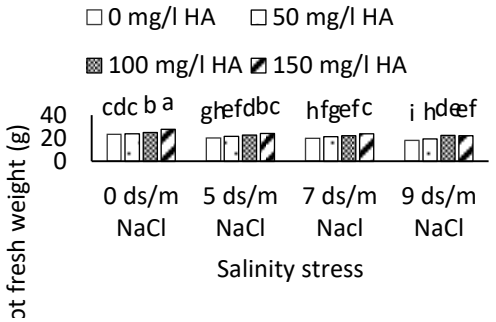
www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱. مقایسه میانگین اثر متقابل اسید هیومیک و شوری بر وزن خشک شاخساره چمن آفریقایی

Figure 1. Mean comparison interaction effect of humic acid under and salinity on shoot dry weight of bermuda grass



شکل ۲. مقایسه میانگین اثر متقابل اسید هیومیک و شوری بر وزن تر ریشه چمن آفریقایی

Figure 2. Mean comparison interaction effect of humic acid under and salinity on root fresh weight of bermuda grass

کاهش بیوماس تولیدی، کم شدن کارایی فتوسنتز، و تغییر در میزان فشار آماس برگ از اثرهای اولیه تنش شوری در گیاهان هستند (Munns, 2002). در شرایط تنش شوری رشد گیاهان به دلیل تنش اسمزی ایجاد شده، پایین رفتن پتانسیل آب در محیط ریشه و یا به دلیل تأثیر ویژه یون‌ها در فرآیندهای متابولیسمی گیاه کاهش می‌یابد (Parida & Das, 2005; Yadav *et al.*, 2011). کاهش رشد قسمت‌های مختلف گیاه در اثر تنش شوری پدیده عمومی بوده و در مطالعات زیادی گزارش‌شده است (Puyang *et al.*, 2015; Ghanbari *et al.*, 2016; Esringo *et al.*, 2016). در تحقیق حاضر نیز پارامترهای رشدی چمن آفریقایی در اثر تنش شوری کاهش یافت که نشان‌دهنده حساس بودن این‌گونه چمن به تنش شوری در سطوح بالا می‌باشد.

گزارش شده است که اسید هیومیک به‌طور مستقیم تأثیر مثبتی بر رشد گیاه دارد. رشد قسمت هوایی و ریشه گیاه توسط اسید هیومیک تحریک می‌شود، حجم ریشه را افزایش داده و باعث اثربخشی بهتر سیستم ریشه‌ای می‌شود (Rahi *et al.*, 2010). در تحقیق حاضر نیز استفاده از اسید هیومیک در گیاه چمن آفریقایی تحت تنش شوری سبب افزایش پارامترهای رشدی گیاه شد. به‌طور مشابه، Jarošová *et al.* (2016) نشان دادند که استفاده از اسید هیومیک در گیاه جو تحت تنش شوری با تأثیر بر فرآیندهای متابولیسمی گیاه و همچنین کاهش جذب سدیم سبب کاهش آثار تنش بر این گیاه می‌شود. کاربرد اسید هیومیک سبب افزایش شاخساره گراس‌ها می‌شود (Verlinden *et al.*, 2010). بر طبق گزارش Balakumbahan & Rajamani (2010) اسید هیومیک رشد گیاهان را از طریق تغییر فیزیولوژی گیاه و با بهبود خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و بیولوژی خاک بهبود می‌دهد و نقش مهمی در پاسخ گیاهان به تنش‌های محیطی دارد. به نظر می‌رسد که استفاده از اسید هیومیک به‌صورت مستقیم با تأثیر بر متابولیسم گیاهی و به‌صورت غیرمستقیم با تأثیر بر شرایط فیزیکوشیمیایی خاک سبب افزایش رشد گیاهان در شرایط تنش و بدون تنش می‌شود.

کلروفیل

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرهای اصلی تنش شوری و اسید هیومیک بر کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل در سطح یک درصد معنی‌دار شد. اثر متقابل شوری و اسید هیومیک بر کلروفیل معنی‌دار نشد (جدول ۲). مقایسه میانگین اثر شوری نشان داد تنش شوری سبب کاهش معنی‌دار کلروفیل شد و با افزایش شوری میزان این رنگیزه‌ها به‌طور معنی‌داری کاهش یافت و به کمترین میزان خود در سطح ۹ دسی زیمنس بر متر شوری رسید. در کاربرد شوری ۹ دسی زیمنس بر متر کلروفیل a، b و کل نسبت به شاهد به‌ترتیب ۳۲، ۴۰ و ۲۸ درصد کاهش نشان داد (جدول ۴). همچنین نتایج نشان داد که کاربرد اسید هیومیک سبب افزایش معنی‌دار انواع کلروفیل شد.

www.SID.ir

Archive of SID

همه غلظت‌های اسید هیومیک نسبت به شاهد سبب افزایش کلروفیل شدند و برای کلروفیل a و کلروفیل b بین غلظت‌های به‌کاررفته تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نشد، ولی در مورد کلروفیل کل غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر تأثیر بیشتری در افزایش این صفت داشت (جدول ۴).

میزان کلروفیل در گیاهان یکی از فاکتورهای مهم تأثیرگذار بر فتوسنتز می‌باشد. گزارش شده است که با توجه به شدت تنش، طول دوره تنش و مرحله رشدی گیاه، تأثیر تنش بر هرکدام از مقادیر کلروفیل a، b و کل ممکن است متفاوت باشد (Megainid *et al*., 2015). تنش شوری همانند سایر شرایط تنش‌زا درنهایت تنش اکسیداتیو ایجاد می‌کنند و موجب افزایش تولید ROS می‌شوند و کاهش محتوای کلروفیل در این گیاهان، نشان‌دهنده میزان آسیب‌های اکسیداتیو به گیاهان در این شرایط است (Miller *et al*., 2010; Anjum *et al*., 2015). با توجه به مطالب گفته شده، ممکن است کاهش رنگیزه کلروفیل در اثر تنش شوری در چمن آفریقایی به دلیل اختلال در جذب عناصر غذایی، افزایش تخریب کلروفیل و یا افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز تحت شرایط تنش باشد. نتایج تحقیق نشان داد که استفاده از اسید هیومیک میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی را افزایش داد. همه غلظت‌های اسید هیومیک سبب افزایش کلروفیل a و b شدند و با افزایش غلظت میزان کلروفیل کل روند افزایشی داشت. به‌طور مشابه Baccilo *et al*. (2016) نشان دادند که کاربرد اسید هیومیک در گیاه فلفل تحت تنش شوری سبب افزایش معنی‌دار کلروفیل شد که با نتایج این تحقیق همخوانی دارد. همچنین، Rahi *et al*. (2010) نشان دادند که کاربرد اسید هیومیک سبب افزایش معنی‌دار کلروفیل a و کل در چمن فستوکا شد. گزارش‌شده است که ممکن است اثر اسید هیومیک در رابطه با حفظ رطوبت خاک و بهبود فراهمی مواد غذایی در خاک باشد (Mohd *et al*., 2009). اسید هیومیک ممکن است افزایش سنتز کلروفیل و یا تأخیر در تخریب کلروفیل در شرایط تنش را فراهم آورد (Nardi *et al*., 2002) و از این طریق سبب افزایش محتوای کلروفیل گیاهان تحت تنش شوری شود.

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرهای اصلی تنش شوری و اسید هیومیک در سطح یک درصد بر محتوای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز معنی‌دار شد. اثر متقابل شوری و اسید هیومیک بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان معنی‌دار نشد (جدول ۳). مقایسه میانگین اثر تنش شوری نشان داد که با افزایش تنش شوری فعالیت آنزیم کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. همه سطوح شوری به کار رفته فعالیت آنزیم‌ها را نسبت به شاهد افزایش دادند و بیشترین فعالیت آنزیم در شدیدترین سطح شوری (۹ دسی زیمنس بر متر) مشاهده شد (جدول ۴). نتایج نشان داد کاربرد اسید هیومیک در غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر تأثیر معنی‌داری در افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان داشت. کاربرد این تیمارها فعالیت آنزیم کاتالاز را به‌ترتیب ۲۵ و ۲۹ درصد و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را به‌ترتیب ۱۶ و ۲۲ درصد نسبت به شاهد افزایش داد (جدول ۴).

تنش‌های محیطی حالت هموستازی سلولی در گیاهان را تخریب می‌کنند که این امر منجر به تنش اکسیداتیو در گیاهان می‌شود. تجمع ROSها در طی تنش به تعادل بین تشکیل ROS و تخریب آن وابسته است که این امر به‌نوبه خود به تغییرات در شرایط رشد، شدت و دوره تنش و همچنین توانایی بافت در پاسخ سریع به عدم تعادل انرژی بستگی دارد (Miller *et al*., 2010). در پاسخ به آسیب اکسیداتیو در شرایط تنش گیاهان از سیستم‌های آنتی‌اکسیدان آنزیمی و غیر آنزیمی مختلف استفاده می‌کنند. آنزیم‌ها شامل کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز باعث زدودن ROSها شده و آسیب اکسیداتیو به سلول‌های گیاهی را خنثی می‌کنند (Anjum, 2015). نتایج این تحقیق نشان داد در شرایط تنش شوری در چمن آفریقایی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز افزایش یافت که با نتایج Garcia *et al*. (2012) همخوانی

www.SID.ir

Archive of SID

دارد. با توجه به این نتایج، ممکن است افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در چمن آفریقایی تحت تنش شوری پاسخ دفاعی گیاه باشد که سبب زدودن رادیکال‌های آزاد تولیدشده در شرایط تنش و کاهش آثار شوری بر گیاه نیز شود.

مطالعات متعدد با استفاده از گیاهان متحمل به تنش‌های محیطی نشان داده است که کنترل دقیق سطح ROSها شرط لازم برای دستیابی به تحمل تنش محیطی در گیاهان است (Anjum, 2015). در تحقیق حاضر استفاده از اسید هیومیک سبب افزایش معنی‌دار آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز شد. به‌طور مشابه، Garcia *et al.* (2012) گزارش کردند که کاربرد اسید هیومیک در غلظت‌های ۲۰ تا ۸۰ میلی‌گرم در لیتر سبب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه برنج تحت تنش اکسیداتیو می‌شود. Jarošová *et al.* (2016) افزایش فعالیت کاتالاز و گلوتاتیون ردوکتاز در شاخساره و کاهش فعالیت آسکوربیک پراکسیداز، کاتالاز و سوپر اکسید دیسمیوتاز در ریشه گیاه جو تحت تنش شوری در اثر کاربرد اسید هیومیک را گزارش کردند. با توجه به این نتایج می‌توان تغییر در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را یکی از اثرهای مثبت کاربر اسید هیومیک قلمداد کرد که از این طریق تحمل تنش اکسیداتیو را در گیاهان افزایش می‌دهد (Garcia *et al.*, 2012).

مالون دی آلدیید

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر تنش شوری و اسید هیومیک در سطح یک درصد بر محتوای مالون دی آلدیید معنی‌دار شد (جدول ۳). مقایسه میانگین اثرهای اصلی نشان داد که افزایش شوری سبب افزایش میزان مالون دی آلدیید شد و بیشترین میزان مالون دی آلدیید در شدیدترین سطح تنش (۹ دسی زیمنس بر متر) به دست آمد که نسبت به شاهد ۴۱ درصد افزایش نشان داد (جدول ۴). همچنین نتایج نشان داد که تیمار اسید هیومیک در غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر سبب کاهش معنی‌دار و به‌ترتیب ۱۲ و ۲۳ درصدی مالون دی آلدیید نسبت به شاهد شد (جدول ۴).

تنش شوری همانند سایر تنش‌های محیطی سبب تولید ROS می‌شود که این رادیکال‌های آزاد سبب آسیب به ماکرومولکول‌های درون گیاه می‌شوند (Jini & Joseph, 2017). یکی از واکنش‌هایی که در حضور انواع ROS سرعت بیشتری پیدا می‌کند، پراکسیده شدن لیپیدهای غشا است که باعث تولید مالون دی آلدیید و ترکیباتی دیگر می‌شود. اثر رادیکال‌های آزاد بر پراکسیداسیون ناشی از اثر بر پیوندهای دوگانه اسیدهای چرب غیر اشباع در غشاهای سلولی است که واکنش‌های زنجیره‌ای پراکسیده‌شدن را تحریک کرده و منجر به تخریب اسیدهای چرب می‌شوند(Sharma *et al.*, 2012). در واقع اندازه‌گیری محتوای مالون دی آلدیید گیاهان تحت شرایط تنش‌زا میزان آسیب به غشاهای سلولی در شرایط تنش را نشان می‌دهد. در تحقیق حاضر تنش شوری میزان مالون دی آلدیید را در چمن به‌طور معنی‌داری افزایش داد. به‌طور مشابه Poyang *et al.* (2015) گزارش کردند که تنش شوری در چمن پوآ سبب افزایش معنی‌دار مالون دی آلدیید می‌شود که نشان‌دهنده آسیب اکسیداتیو در شرایط تنش شوری می‌باشد.

سازگاری به شرایط تنش به این بستگی دارد که مقادیر ROS تولیدشده در شرایط تنش توسط سیستم آنتی‌اکسیدانی، در سطح پایینی نگه‌داشته شود. اسید هیومیک به دلیل اثری که بر سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی دارد می‌تواند باعث کاهش آسیب به غشاءهای سلولی و درنتیجه کاهش تجمع مالون دی آلدیید در گیاهان شود (Garcia *et al.*, 2016). نتایج تحقیق حاضر این نظریه را تأیید کرد، به‌طوری‌که کاربرد اسید هیومیک سبب کاهش معنی‌دار مالون دی آلدیید در چمن آفریقایی تحت تنش شوری شد و با افزایش غلظت تا ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر اثربخشی آن بیشتر مشاهده شد. Esringü *et al.* (2016) گزارش کردند استفاده از اسید هیومیک در گیاه تحت تنش شوری سبب کاهش آسیب به غشا و درنتیجه کاهش میزان مالون دی آلدیید در این شرایط می‌شود. همچنین Zhang *et al.* (2014) گزارش کردند کاربرد اسید هیومیک در گیاه ذرت تحت شرایط تنش مواد غذایی با تغییر سیستم

www.SID.ir

Archive of SID

آنتی‌اکسیدانی گیاه سبب کاهش تجمع مالون دی آلدیید در این گیاه می‌شود. نتایج تحقیقات نشان داده است که کاهش در میزان مالون دی آلدیید موجب پایداری بیشتر اسیدهای چرب غیراشباع و تحمل بیشتر به تنش‌های محیطی می‌شود (Maali-Amiri & Goldenkova, 2007). به نظر می‌رسد حفظ ساختار غشا و جلوگیری از افزایش میزان مالون دی آلدیید در چمن آفریقایی تحت تنش شوری با کاربرد اسید هیومیک، بیانگر فعال‌شدن مکانیسم‌های دفاعی گیاه باشد.

پرولین

نتایج نشان داد اثر شوری و اسید هیومیک در سطح یک درصد بر محتوای پرولین معنی‌دار شد. اثر متقابل شوری و اسید هیومیک بر محتوای پرولین معنی‌دار نشد (جدول ۳). با افزایش تنش شوری از صفر تا ۹ دسی زیمنس بر متر میزان پرولین به‌طور معنی‌داری افزایش یافت و هر چهار سطح شوری به‌کاررفته تفاوت آماری معنی‌داری باهم داشتند. شوری ۵، ۷ و ۹ دسی زیمنس بر متر به‌ترتیب ۴۵، ۸۱ و ۱۱۶ درصد محتوای پرولین را نسبت به شاهد افزایش دادند (جدول ۴). همچنین نتایج نشان داد که کاربرد اسید هیومیک در غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر سبب کاهش پرولین شد و بین غلظت‌های ذکرشده تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۴).

یکی از مکانیسم‌های مؤثر گیاهان در مقابله با تنش‌های محیطی تنظیم اسمزی می‌باشد. به این معنی که پتانسیل اسمزی بافت‌های تحت تنش درنتیجه تجمع مواد اسمولیت مانند پرولین کاهش می‌یابد. بنابراین فشار آماس گیاهان در سطح مطلوب حفظ می‌شود (Irigoyen *et al*., 1992). افزایش پرولین در گیاه در هنگام تنش، نوعی مکانیسم دفاعی است. پرولین از طریق تنظیم اسمزی، جلوگیری از تخریب آنزیم‌ها و پاک‌کردن رادیکال‌های هیدروکسیل، بردباری و تحمل گیاهان را در برابر تنش‌ها افزایش می‌دهد (Dar *et al*., 2016). افزایش تجمع پرولین درنتیجه تنش‌های محیطی یک پدیده شایع بوده و در مطالعات زیادی گزارش‌شده است (Jarošová *et al*., 2016) که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. نتایج نشان داد استفاده از اسید هیومیک در شرایط تنش سبب کاهش معنی‌دار پرولین در چمن آفریقایی شد. در مطالعات گذشته نیز تأثیر مثبت اسید هیومیک در کاهش پرولین در گیاهان مختلف تحت تنش شوری گزارش‌شده است. به‌عنوان‌مثال Narimani *et al*. (2017) گزارش کردند در گیاه بادرشبو تنش شوری سبب افزایش میزان پرولین شد و کاربرد اسید هیومیک در این گیاه میزان پرولین را کاهش داد که با نتایج این تحقیق همخوانی دارد. Jarošová *et al*. (2016) نشان داد در گیاه جو تحت تنش شوری کاربرد اسید هیومیک سبب کاهش میزان این اسیدآمینه می‌شود. پرولین، اسیدآمینه ذخیره‌شده در سیتوپلاسم بوده و در حفاظت از ساختمان ماکرومولکول‌های درون سلول در طی شرایط تنش نقش مؤثری دارد. به‌عبارت‌دیگر پرولین به‌عنوان یک شاخص در تعیین میزان حساسیت به تنش در گیاهان به‌شمار می‌رود (Irigoyen *et al*., 1992). بنابراین کاهش پرولین در شرایط تنش در چمن آفریقایی تحت تنش شوری نشان‌دهنده کاهش آثار تنش بر این گیاه است.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این تحقیق نشان داد تنش شوری به‌خصوص در غلظت‌های بالا (۷ و ۹ دسی زیمنس بر متر) تأثیر منفی بر رشد و فیزیولوژی چمن آفریقایی داشت. کاربرد اسید هیومیک در هر سه غلظت ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر سبب بهبود پارامترهای رشدی، رنگدانه‌های فتوسنتزی، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و کاهش مالون دی آلدیید و پرولین در چمن شد. کاربرد اسید هیومیک در شرایط تنش شوری (۵، ۷ و ۹ دسی زیمنس بر متر) و بدون شوری (صفر دسی زیمنس بر متر) سبب افزایش معنی‌دار وزن خشک شاخساره و وزن تر ریشه شد. با توجه به نتایج این تحقیق کاربرد اسید هیومیک در غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر برای کاهش آثار تنش شوری در چمن آفریقایی توصیه می‌شود.

www.SID.ir

Archive of SID

REFERENCES

1. Anjum, N. A. (2015). Book Review: Oxidative Damage to Plants-Antioxidant Networks and Signaling. *Frontiers in Plant Science*, 6. 452-453.
2. Asadi vafa, K., Seiedi, M., Chehrazi, M., Sayari, M. & Moallemi, N. (2015). Effect of potassium nitrate (KNO_3) on some morphological and physiological characteristics of two tropical lawn (*Cynodon dactylon* L. and *Paspalum vaginatum* L.) under salinity stress condition. *Journal of Plant Production*, 38(2), 121-133. (in Farsi)
3. Bacilio, M., Moreno, M. & Bashan, Y. (2016). Mitigation of negative effects of progressive soil salinity gradients by application of humic acids and inoculation with Pseudomonas stutzeri in a salt-tolerant and a salt-susceptible pepper. *Applied Soil Ecology*, 107, 394-404.
4. Balakumbahan, R. & Rajamani, K. (2010). Effect of bio stimulants on growth and yield of senna (*Cassia angustifolia* var. KKM. 1). *Journal of Horticultural Science & Ornamental Plants*, 2(1), 8-16.
5. Bates, L. S., Waldren, R. P. & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39(1), 205-207.
6. Cacco, G., Attinà, E., Gelsomino, A. & 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*(3), 313-320.
7. Cavalcanti, F. R., Lima, J. P. M. S., Ferreira-Silva, S. L., Viégas, R. A. & Silveira, J. A. G. (2007). Roots and leaves display contrasting oxidative response during salt stress and recovery in cowpea. *Journal of Plant Physiology*, *164*(5), 591-600.
8. Dar, M. I., Naikoo, M. I., Rehman, F., Naushin, F. & Khan, F. A. (2016). Proline accumulation in plants: roles in stress tolerance and plant development. In *Osmolytes and Plants Acclimation to Changing Environment: Emerging Omics Technologies*. Springer India.
9. Delfine, S., Tognetti, R., Desiderio, E. & Alvino, A. (2005). Effect of foliar application of N and humic acids on growth and yield of durum wheat. *Agronomy for Sustainable Development*, *25*(2), 183-191.
10. Dhindsa, R. S., Plumb-Dhindsa, P. & Thorpe, T. A. (1981). Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *Journal of Experimental Botany*, *32*(1), 93-101.
11. Esringü, A., Kaynar, D., Turan, M. & Ercisli, S. (2016). Ameliorative effect of humic acid and plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) on Hungarian vetch plants under salinity stress. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, *47*(5), 602-618.
12. Fan, H. M., Wang, X. W., Sun, X., Li, Y. Y., Sun, X. Z. & Zheng, C. S. (2014). Effects of humic acid derived from sediments on growth, photosynthesis and chloroplast ultrastructure in chrysanthemum. *Scientia Horticulturae*, 177, 118-123.
13. García, A. C., Olaetxea, M., Santos, L. A., Mora, V., Baigorri, R., Fuentes, M. & Garcia-Mina, J. M. (2016). Involvement of hormone-and ROS-signaling pathways in the beneficial action of humic substances on plants growing under normal and stressing conditions. *BioMed Research International*, 216, 1-13.
14. García, A. C., Santos, L. A., Izquierdo, F. G., Sperandio, M. V. L., Castro, R. N. & Berbara, R. L. L. (2012). Vermicompost humic acids as an ecological pathway to protect rice plant against oxidative stress. *Ecological Engineering*, 47, 203-208.
15. Ghanbari, F., Amirinejad, A., Sayyari, M. & Kordi, S. (2016). Effect of Salicylic acid on salinity and alkalinity resistance in sweet pepper plant. *Journal of Plant Researches*, 29(1), 130-141. (In Farsi)
16. Irigoyen, J. J., Einerich, D. W. & Sánchez-Díaz, M. (1992). Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Acta Physiologia Plantarum*, *84*(1), 55-60.
17. Jarošová, M., Klejdus, B., Kováčik, J., Babula, P. & Hedbavny, J. (2016). Humic acid protects barley against salinity. *Acta Physiologiae Plantarum*, *38*(6), 1-9.
18. Jini, D. & Joseph, B. (2017). Physiological mechanism of salicylic acid for alleviation of salt stress in rice. *Rice Science*, *24*(2), 97-108.
19. Maali-Amiri, R., Goldenkova-Pavlova, I. V., Yur'eva, N. O., Pchelkin, V. P., Tsydendambaev, V. D., Vereshchagin, A. G. & Nosov, A. M. (2007). Lipid fatty acid composition of potato plants transformed with the Δ12-desaturase gene from cyanobacterium. *Russian Journal of Plant Physiology*, *54*(5), 600-606.
20. Megainid. A.S., AL-Zahrani. H.S. & Selim, EL.M. M. (2015). Effect of humic acid application on growth and chlorophyll contents of common cean plants (*Phaseolusvulgaris* L.) under salinity stress conditions. *Iinternational Journal of Innovative Science Engineering and Technology*, (4), 2347-6710.

www.SID.ir

Archive of SID

21. Meganid, A. S., Al-Zahrani, H. S. & El-Metwally, M. S. (2015). Effect of humic acid application on growth and chlorophyll contents of common bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.) under salinity stress conditions. *International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology*, *4*(5), 2651-2660.
22. Miller, G. A. D., Suzuki, N., Cifici, S. & Mittler, R. O. N. (2010). Reactive oxygen species homeostasis and signaling during drought and salinity stresses. *Plant, Cell & Environment*, *33*(4), 453-467.
23. Mohd, T., Osumanu, H. A. & Nik, M. (2009). Effect of mixing urea with humic acid and acid sulphate soil on ammonia loss, exchangeable ammonium and available nitrate. *American Journal of Environmental Sciences*, *5*(5), 588-591.
24. Munns, R. (2002). Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell & Environment*, *25*(2), 239-250.
25. Nardi, S., Pizzeghello, D., Muscolo, A. & Vianello, A. (2002). Physiological effects of humic substances on higher plants. *Soil Biology and Biochemistry*, *34*(11), 1527-1536.
26. Nardi, S., Pizzeghell, O. D., Muscolo, A. & Vianello, A., (2002). Physiological effects of humic substances on higher plants. *Soil Biology and Biochemistry*, 34, 1527-1536.
27. Parida, A. K. & Das, A. B. (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *60*(3), 324-349.
28. Puyang, X., An, M., Han, L. & Zhang, X. (2015). Protective effect of spermidine on salt stress induced oxidative damage in two Kentucky bluegrass (*Poa pratensis* L.) cultivars. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *117*, 96-106.
29. Rahi, A., Mirzaie-Nodoushan, H., Danaee, M. & Azizi, F. (2013). Effects of humic acid on vegetative characteristics of *Festuca arundinacea*. *Iranian Journal of Rangeland and Desert Research*, 19(4), 722-736. (In Farsi)
30. Santiago, A., Quintero, J. M., Carmona, E. & Delgado, A. (2008). Humic substances increase the effectiveness of iron sulfate and Vivianite preventing iron chlorosis in white lupin. *Biology and Fertility of Soils*, *44*(6), 875-883.
31. Sefc, K. M., Guggenberger, S., Regner, F., Lexer, C., Glssl, J. & Steinkellner, H. (1998b). Genetic analysis of grape berries and raisins using microsatellite markers. *Viti*s, 37, 123-125.
32. Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S. & Pessarakli, M. (2012). Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *Journal of Botany*, 2012, 1-26.
33. Stewart, R. R. & Bewley, J. D. (1980). Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes. *Plant Physiology*, *65*(2), 245-248.
34. Strain, H. H. & Svec, W. A. (1966). Extraction, separation, estimation, and isolation of the chlorophylls. *The Chlorophylls*, 21-66.
35. Tan, K. H. & Nopamornbodi, V. (1979). Effect of different levels of humic acids on nutrient content andgrowth of corn. *Journal of Plant and Soil*, 51, 283-287.
36. Verlinden, G., Coussens, T., De Vliegher, A., Baert, G. & Haesaert, G. (2010). Effect of humic substances on nutrient uptake by herbage and on production and nutritive value of herbage from sown grass pastures. *Grass and Forage Science*, *65*(1), 133-144.
37. Yadav, S., Irfan, M., Ahmad, A. & Hayat, S. (2011). Causes of salinity and plant manifestations to salt stress: a review. *Journal of Environmental Biology*, *32*(5), 667-685.
38. Zhang, L., Lai, J., Gao, M. & Ashraf, M. (2014). Exogenous glycinebetaine and humic acid improve growth, nitrogen status, photosynthesis, and antioxidant defense system and confer tolerance to nitrogen stress in maize seedlings. *Journal of Plant Interactions*, *9*(1), 159-166.
39. Zhang, X. & Ervin, E. H. (2004). Cytokinin-containing seaweed and humic acid extracts associated with creeping bentgrass leaf cytokinins and drought resistance. *Crop Science*, *44*(5), 1737-1745.

www.SID.ir