



علوم و تحقیقات بذر ایران
سال هفتم/ شماره اول/ ۱۳۹۹ (۴۰ - ۲۷)

DOI: 10.22124/jms.2020.4269

تأثیر اسیدهای آلی و تنش شوری بر جوانه‌زنی بذر و خصوصیات فیزیولوژیک گیاهچه سرخارگل (*Echinacea purpurea* L.)

فرشته آزاد بخت^۱، مجید امینی دهقی^{۲*}، خدیجه احمدی^۳، سمیرا علیپور گراوند^۱

تاریخ دریافت: ۹۶/۸/۱۹

تاریخ پذیرش: ۹۷/۷/۳۰

چکیده

به منظور بررسی تأثیر هیومیک اسید و فولویک اسید بر خصوصیات فیزیولوژیک گیاهچه سرخارگل تحت شوری، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه تکنولوژی بذر دانشگاه شاهد در سال ۱۳۹۵ اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل تنش شوری در چهار سطح (۰، ۴، ۸ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر)، هیومیک اسید در سه سطح (۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) و فولویک اسید در سه سطح (۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) بود. صفات مورد بررسی شامل درصد جوانه‌زنی، محتوای نسبی آب، محتوای کلروفیل a، b، کل و محتوای کارتنوئید، پرولین و پروتئین بود. با توجه به نتایج تجزیه واریانس، اثر متقابل هیومیک اسید، فولویک اسید و تنش شوری بر صفات مورد بررسی به استثنای محتوای نسبی آب گیاهچه معنی‌دار بود. کاربرد هیومیک اسید ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و فولویک اسید ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر با میانگین ۷۵/۵۵ درصد بالاترین درصد جوانه‌زنی را در تنش شوری ۱۲ dS/m داشت. بر اساس نتایج تحقیق حاضر، هیومیک اسید بیش‌ترین تأثیر را بر محتوای ترکیبات محلول مورد مطالعه داشت، به گونه‌ای که تا زمانی غلظت فولویک اسید ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر یا صفر بود می‌توان افزایش ترکیبات محلول را در سطوح هیومیک اسید مشاهده کرد. غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر هیومیک اسید در عدم حضور فولویک اسید و تنش ۱۲ dS/m دارای بیش‌ترین محتوای کلروفیل کل بود. تنش شوری باعث کاهش جوانه‌زنی بذر سرخارگل شد، کاربرد هیومیک اسید و فولویک اسید اثرات ناشی از تنش شوری را، هر چند اندک بهبود بخشیدند.

واژه‌های کلیدی: اسید فولویک، پرولین، سرخارگل، کلروفیل، هیومیک اسید

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و تکنولوژی بذر، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

۲- دانشیار، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

۳- دانش‌آموخته زراعت، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

*نویسنده مسئول: amini@shahed.ac.ir

مقدمه

با توجه به اهمیت و نقش گیاهان دارویی در صنایع مختلف، افزایش تولید زیست‌توده و ماده مؤثره آن‌ها بدون کاربرد نهاده‌های مضر، یکی از ضرورت‌های تولید پایدار محسوب می‌شود. سرخارگل (*Echinacea purpurea* L.) از جمله گیاهان دارویی مهمی است که کاربرد وسیعی در صنایع دارویی، آرایشی و بهداشتی دارد (Ceeh, 2006). فرآورده‌های این گیاه دارویی از ریشه و اندام هوایی آن به دست می‌آیند (Blumenthal et al., 2011). در حال حاضر از سرخارگل به‌منظور پیشگیری و درمان سرماخوردگی معمولی و سرفه، برونشیت و عفونت‌های ریوی و بیماری‌های مزمن ناشی از نقص پاسخ ایمنی استفاده می‌شود. هم‌چنین این گیاه فعالیت آنتی‌اکسیدانت یا ظرفیت خنثی‌سازی رادیکال آزاد را دارد که این ویژگی به اجزای پلی‌فنلی آن نسبت داده می‌شود (Ezadi et al., 2014). جوانه‌زنی به‌عنوان اولین مرحله نمو گیاه، یکی از مراحل مهم و حساس در چرخه زندگی گیاهان و یک فرایند کلیدی در سبز شدن گیاهچه‌ها است (Azarnia and Eisavand, 2013). این مرحله از رشد به‌شدت تحت تاثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرد. جوانه‌زنی غیر همزمان و کند، یکی از صفات نامطلوب بذر گیاهان می‌باشد (Ghasemi Lemraski., 2013). مطالعات انجام شده نشان داده است که شوری، سرعت جوانه‌زنی را کاهش می‌دهد و افزایش سطوح شوری، از درصد جوانه‌زنی می‌کاهد (Miri and Mirjalili, 2013). نتایج بررسی اثر شوری بر شاخص‌های جوانه‌زنی دو گیاه دارویی سرخارگل و آرتیشو، نشان داد که در شوری ۸- بار کلرید سدیم درصد جوانه‌زنی این دو گیاه به‌ترتیب ۸ و ۲۵ درصد نسبت به شاهد به‌ترتیب ۷۹ و ۹۵/۵ درصد بود و در ۱۴- بار درصد جوانه‌زنی در هر دو گیاه به صفر رسید (Amiri et al., 2009). تنش شوری باعث افزایش بیوسنتز پرولین، کاهش بیوسنتز کلروفیل (Nazarbeygi et al., 2011) و کاهش کارایی فتوسنتز شده که در نهایت منجر به کاهش تولید اقتصادی می‌گردد (Paravar et al., 2015). تنش شوری با خسارت اکسیداتیو القاشده توسط گونه‌های اکسیژن فعال می‌تواند با اختلال در متابولیسم سلول از طریق پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء، اکسیداسیون پروتئین‌ها، بازدارندگی فعالیت آنزیم‌ها و خسارت به نوکلئیک اسیدها را به‌دنبال داشته باشد

(Turkan and Demiral, 2009). کاربرد مقادیر بسیار کم از اسیدهای آلی به‌دلیل وجود ترکیبات هورمونی اثرات مفیدی در افزایش تولید و بهبود کیفیت محصولات کشاورزی دارند (Samavat and Malakuti, 2005). ترکیبات هوموسی مواد آلی، دارای دو نوع اسید آلی مهم به نام‌های هیومیک اسید و اسید فولیک جزء هیومین هستند که از منابع مختلف نظیر خاک، هوموس، پیت، لیگنیت اکسید شده و زغال سنگ استخراج می‌شوند و در اندازه مولکولی و ساختار شیمیایی متفاوت هستند (Sebahattin and Necdet, 2005). اسید هیومیک سبب تشکیل کمپلکس پایدار و نامحلول با عناصر میکرو می‌گردد. اسید فولیک نیز سبب تشکیل کمپلکس‌های محلول با عناصر میکرو می‌شود (Samavat and Malakoti, 2005). کاربرد هیومیک اسید منجر به بهبود جوانه‌زنی و رشد دو گونه کاسنی (*Cichorium intybus*) و گاوبان (*Borago officinalis*) شد (Ebrahimi and Miri, 2016). کاربرد مواد هیومیکی در مطالعه‌ای سبب بهبود رشد گیاهچه فلفل در شرایط تنش شوری شد (Turkman et al., 2005). هدف از این پژوهش بررسی اثر هیومیک اسید و فولویک اسید بر درصد جوانه‌زنی، رنگیزه‌های فتوسنتزی، محتوای پرولین و پروتئین گیاه دارویی سرخارگل تحت تنش شوری بود.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در آزمایشگاه علوم و تکنولوژی بذر دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهد در سال ۱۳۹۵ صورت گرفت. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با تیمارهایی شامل هیومیک اسید در سه سطح (۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر)، فولویک اسید در سه سطح (۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) و تنش شوری در چهار سطح (۰، ۴، ۸ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر) با سه تکرار اجرا شد. بذر سرخارگل (*Echinacea purpurea* L.) از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد. هیومیک اسید و فولویک اسید نیز به‌صورت پودر خالص از شرکت آریاشیمی ایران تهیه شدند و جهت تهیه محیط شوری نیز از نمک طبیعی دریاچه قم استفاده گردید. این نمک شامل ۹۰ درصد کلرید سدیم و مواد دیگری مانند اکسیدها، سولفات‌ها، رسوبات و خاک آهک‌دار است و میزان منیزیم آن ۱۲ گرم در لیتر می‌باشد. در آغاز

Car = 100 (A470) - 3.27 (mg chl. a) - 104 (mg chl. b) / 227

C میزان غلظت، V حجم محلول عصاره، W وزن تر نمونه استفاده شده و A جذب نوری در طول موجهای مختلف

سنجش میزان پرولین محلول: برای اندازه گیری پرولین، ابتدا ۰/۵ گرم از هر بافت (اندام هوایی)، برداشت گردید. سپس بافت گیاهی در هاون چینی کاملاً سائیده شد. بعد از این مرحله ۱۰ میلی لیتر اسید سولفوریک آبدار سه درصد به آن اضافه و محتوای هاون هم زده شد و در نهایت با کاغذ صافی صاف گردید. دو میلی لیتر از محلول حاصل، به دو میلی لیتر معرف ناین هیدرین (۱۲۵ میلی-گرم ناین هیدرین + ۲۰ میلی لیتر اسید فسفریک ۶ مولار + ۳۰ میلی لیتر اسید استیک گلاسیال) اضافه شد و به مدت یک ساعت در حمام آب جوش در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس قرار داده شد. سپس لوله های محتوای محلول حاصل در یخ قرار گرفت تا سرد شدند. پس از ایجاد تعادل با دمای محیط به هر کدام از لوله ها چهار میلی لیتر تولوئن اضافه گردید و به مدت ۳۰ ثانیه با دستگاه ورتکس مدل Vortex Genius 3 ساخت شرکت IKA به شدت هم زده شد. استانداردهای پرولین در مقادیر ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ میکروگرم در میلی لیتر تهیه گردید و نمونه های حاصل و استانداردها در طول موج ۵۲۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. مقدار پرولین بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر محاسبه شد (Bates, 1973).

سنجش میزان پروتئین محلول: مقدار ۰/۵ گرم اندام هوایی سرخارگل را با ۵ میلی لیتر بافر استخراج سدیم فسفات با pH=۷ به مدت ۱۰ دقیقه کوبیده تا عمل همگن سازی انجام شود. بعد از انتقال محلول پودر شده به فالكون های ۱۵ میلی لیتری، به مدت ۱۰ دقیقه داخل دستگاه هموژنایزر اولتراسونیک ساخت شرکت توسعه فناوری مافوق صوت قرار داده شد. سپس فالكون ها در دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۵۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفت. سپس محلول رویی جدا شده، جهت سنجش غلظت پروتئین کل عصاره های گیاهی استفاده شد.

روش تهیه معرف برادفورد برای استخراج پروتئین کل: مقدار ۱۰۰ میلی گرم کوماسی بلو G250 در

۵۰

آزمایش برای هر یک از پتری دیش ها ۳۰ عدد بذر سالم که قبلاً با هیپوکلریت سدیم پنج درصد ضد عفونی و با آب مقطر به خوبی شسته شده بودند، استفاده شد. بذر ها درون پتری دیش های استریل شده حاوی کاغذ صافی واتمن شماره یک قرار گرفتند و پس از اضافه کردن پنج میلی لیتر از محلول اسیدهای آلی (Amiri et al., 2009) و به منظور کاهش میزان تبخیر آب، دور پتری دیش ها با استفاده از نوار پارافیلیم عایق شده و به درون ژرمیناتور با دمای 25 ± 1 درجه سلسیوس و ۱۶ ساعت روشنایی انتقال داده شدند (Amiri et al., 2009). شمارش جوانه زنی تا ۱۴ روز به صورت روزانه و بر اساس خروج ریشه چه دو میلی متری ادامه یافت (ISTA, 2010). درصد جوانه زنی (GP) طبق رابطه یک تعیین گردید (Bajji et al., 2002).

رابطه (۱) $GP = S/T \times 100$

S: تعداد بذرهای جوانه زده، T: تعداد کل بذر ها

محتوای نسبی آب (RWC) با استفاده از رابطه دو به دست آمد:

رابطه (۲) $RWC = \frac{FW - DW}{TW - DW} \times 100$

در این رابطه، FW وزن تر برگ ها، DW وزن خشک برگ ها و TW وزن آماس برگ ها می باشد.

محاسبه مقدار رنگدانه ها: جهت اندازه گیری کلروفیل a، b، کل و کارتنوئید بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر اندام هوایی، در مرحله دو برگچه ای ۰/۲ گرم از اندام هوایی به همراه ۱۰ میلی لیتر استن ۸۰ درصد ساییده شد. پس از ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ در دور ۱۳۰۰۰ در دقیقه آن را به حجم ۲۰ میلی لیتر رسانده و پس از کالیبره کردن دستگاه اسپکتروفتومتر UV-Vis مدل Perkin Elmer ساخت شرکت Lambda 25 با استن ۸۰ درصد (شاهد) جذب عصاره حاصل در طول موج های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر قرائت گردید (Gu et al., 2008). با استفاده از اعداد به دست آمده از هر نمونه و مقدار کلروفیل a، b، کل و کارتنوئید به ترتیب با استفاده از رابطه های (۳)، (۴)، (۵) و (۶) محاسبه شدند.

رابطه (۳) $Chla = 12.7 (A663) - 2.69 (A645) \times V / 1000W$

رابطه (۴) $Chlb = 22.9 (A645) - 2.69 (A663) \times V / 1000W$

رابطه (۵) $ChIT = 20.2 (A645) + 8.02 (A663) \times V / 1000W$

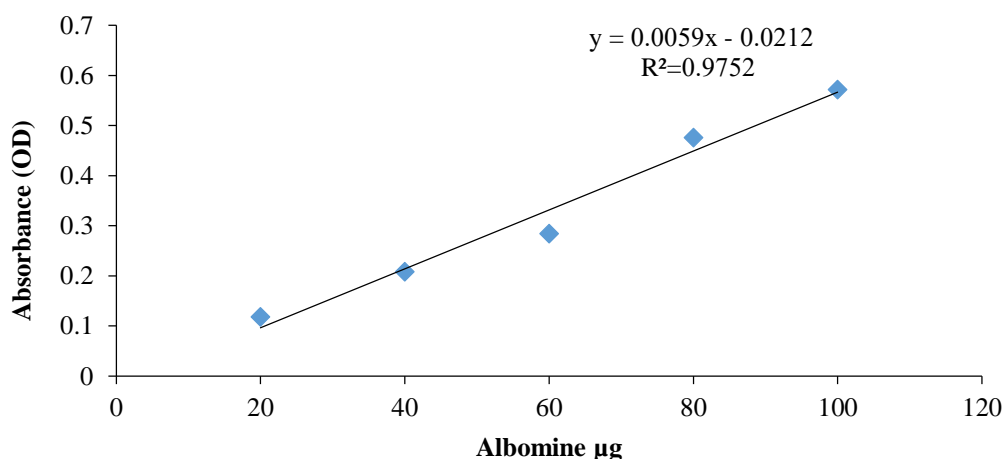
¹ Germination percentage

² Relative Water Content

گذشت ۵ دقیقه، جذب آن‌ها در طول موج ۵۹۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر UV-Vis مدل Perkin Elmer ساخت شرکت Lambda25 خوانده شد. نمودار استاندارد بر اساس جذب نمونه‌ها تهیه شد و مقدار پروتئین نمونه‌ها با استفاده از معادله منحنی استاندارد (نمودار ۱) و به ازای میلی‌گرم بر گرم وزن تر ماده گیاهی محاسبه گردید. برای تهیه استانداردهای غلظت پروتئین، برای تهیه استوک (۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ میکرولیتر) یک میلی‌گرم از آلبومین را به حجم یک سی‌سی آب مقطر رسید. محور Yها شاخص میزان جذب نور استانداردهای پروتئین در طول موج ۶۵۰ نانومتر و محور Xها شاخص غلظت استانداردها پروتئین است. فرمول معادله خط با استفاده از رابطه (۷) که a شیب خط و b عرض از مبدا می‌باشد.

$$y=ax+b$$

(رابطه ۷)



شکل ۱- منحنی غلظت استانداردهای پروتئین

Figure 1. The concentration of protein standard curve

× تنش شوری، اسید فولویک × تنش شوری و اثر سه‌گانه آن‌ها بر صفت درصد جوانه‌زنی تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد داشتند (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل هیومیک اسید، فولویک اسید و شوری نشان می‌دهد که در تمام سطوح هیومیک اسید و فولویک اسید با افزایش سطوح شوری درصد جوانه‌زنی کاهش پیدا کرد. کاربرد توأم هیومیک و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر فولویک اسید در عدم تنش شوری بالاترین درصد جوانه‌زنی با میانگین ۱۰۰ درصد را داشت. در کاربرد

میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درصد حل شد، سپس ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید فسفریک ۸۵ درصد به آن اضافه شد. در نهایت حجم کل با آب مقطر به ۱۰۰۰ میلی‌لیتر رسانده و بعد از کاغذ صافی عبور داده شد. غلظت پروتئین (جذب ۵۹۵ نانومتر) بر حسب میکروگرم بر گرم بافت تازه برگ محاسبه گردید (Bradford, 1976).

روش تهیه سرم آلبومین گاوی (ASB) با غلظت

یک میلی‌گرم بر میکرولیتر ($\text{mg}\cdot\mu\text{l}^{-1}$): برای تهیه منحنی استاندارد و محاسبه غلظت پروتئین کل نمونه‌ها از محلول ذخیره ۱ میلی‌گرم / میکرولیتر سرم آلبومین گاوی کد A4503 ساخت شرکت سیگما استفاده شد. سپس رقت‌های ۰/۱، ۰/۲، ۰/۳ و ۰/۴ میلی‌لیتر از آن‌ها تهیه شد. در نهایت حجم کل برای هر رقت با آب مقطر به ۱ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس برای هر رقت ۳ تکرار ۱۰۰ میکرولیتری جدا کرده به هر یک ۵ میلی‌لیتر محلول برادفورد اضافه شد. سپس با دستگاه سانتریفیوژ مدل ۱۴ ساخت شرکت Sigma آن‌ها را دستگاه ورتکس مدل

تجزیه آماری داده‌ها شامل تجزیه واریانس با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 و مقایسه میانگین صفات مورد ارزیابی با آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد و رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel انجام گرفت.

نتایج

درصد جوانه‌زنی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر هیومیک اسید، فولویک اسید، تنش شوری، ترکیب تیماری هیومیک اسید

افزایش را به دلیل جذب بیش‌تر عناصر غذایی مانند نیتروژن و فسفر نسبت به شاهد می‌باشد. کم‌ترین درصد جوانه‌زنی مربوط به حضور ۲۰۰ میلی-گرم بر لیتر هیومیک اسید بدون اعمال فولویک اسید و با شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر بود. با توجه به نتایج می‌توان به اثر بهبود بخشی فولویک اسید در کاربرد توأم با هیومیک اسید پی برد (شکل ۲).

هیومیک اسید و فولویک اسید با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر در تمام سطوح تنش شوری نسبت به عدم کاربرد اسیدهای آلی افزایش درصد جوانه‌زنی مشهود است. با این حال در بالاترین سطح تنش شوری اعمال‌شده غلظت ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به ترتیب هیومیک اسید و فولویک اسید باعث درصد جوانه‌زنی ۷۵/۵۵ درصد شد، بر خلاف دیگر سطوح اعمال اسیدهای آلی این سطح تیماری باعث افزایش درصد جوانه‌زنی نسبت به عدم تنش شد. که این

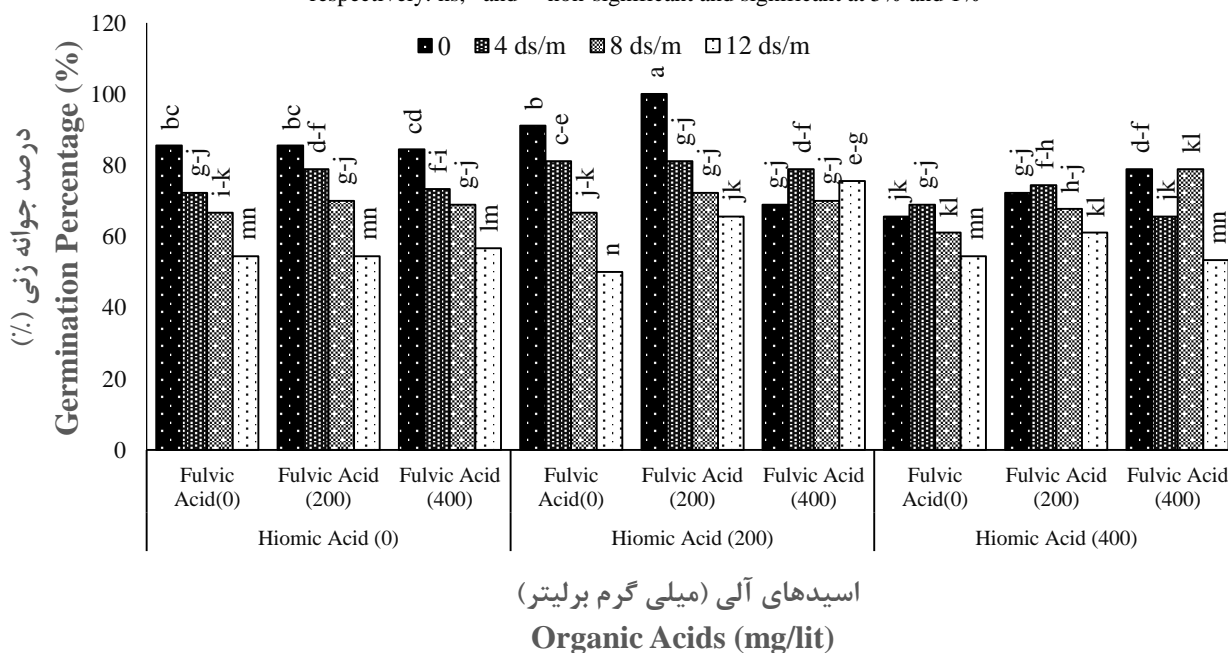
جدول ۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات مختلف گیاه دارویی سرخارگل تحت تأثیر اسیدهای آلی و تنش

شوری

Table 1. Analysis of variance (mean square) the different characteristics of different traits of Succury grass are affected by organic acids and salt stress

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	درصد جوانه‌زنی Germination percentage	محتوای نسبی آب (RWC)	محتوای کلروفیل a Chl a	محتوای کلروفیل b Chl b	محتوای کلروفیل کل Chl T	محتوای کارتونوئید Car	محتوای پروترین Prolin content	محتوای پروتئین Protein content
هیومیک اسید (Hiomic Acid(H)	2	856.50**	21.76ns	0.029 ^{ns}	0.77 ^{ns}	1.006*	6.70 ^{ns}	1263.77**	125.03**
فولویک اسید (Fulvic Acid(F)	2	287.35**	75.25ns	0.32 ^{ns}	2.63**	2.45**	7.67 ^{ns}	351.79**	116.16**
شوری (Salinity (S)	3	2657.40**	658.21**	5.80**	7.56**	7.62**	125.91**	411.29**	182.35**
H × F	4	27.15 ^{ns}	65.39 ^{ns}	0.81**	1.40**	0.34 ^{ns}	38.62**	1433.71**	9.79**
H × S	6	88.72**	45.24 ^{ns}	1.60**	0.70 ^{ns}	2.62**	35.48**	900.90**	28.20**
F × S	6	73.07**	54.83 ^{ns}	0.66**	2.37**	2.37**	24.91**	1575.38**	59.13**
H × F × S	12	179.97**	85.74 ^{ns}	1.05**	7.75**	3.86**	34.18**	760.49**	52.48**
خطا (Error)	72	12.03	47.40	0.15	0.35	0.32	5.76	28.47	2.18
ضریب تغییرات (CV (%))		4.92	8.68	25.64	25.05	22.95	21	10.70	20.31

ns, * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد
respectively. ns, *and** non-significant and significant at 5% and 1%



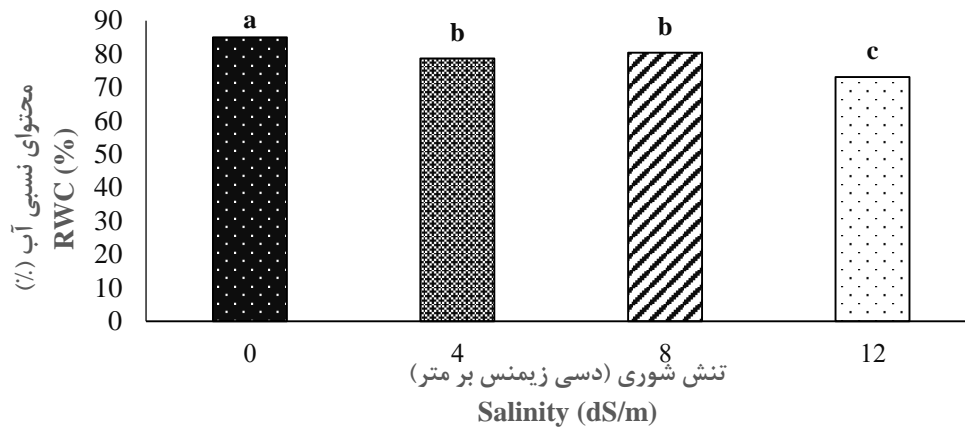
شکل ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل هیومیک اسید × فولویک اسید × تنش شوری بر درصد جوانه‌زنی

Figure 2. Mean comparison of Germination Percentage in Hiomic Acid × Fulvic Acid × Salinity interaction

شاهد به دست آمد. در دیگر سطوح تنش شوری کاهش محتوای نسبی آب مشاهده شد، به گونه‌ای که در سطح تنش ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر با میانگین ۷۳/۰۹ درصد دارای کم‌ترین مقدار بود (شکل ۳).

محتوای نسبی آب

با توجه به نتایج جدول تجزیه واریانس اثر ساده تنش شوری بر صفت محتوای نسبی آب در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). مقایسه میانگین اثر تنش شوری نشان داد که بیش‌ترین محتوای نسبی آب در سطح



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر تنش شوری بر محتوای نسبی آب

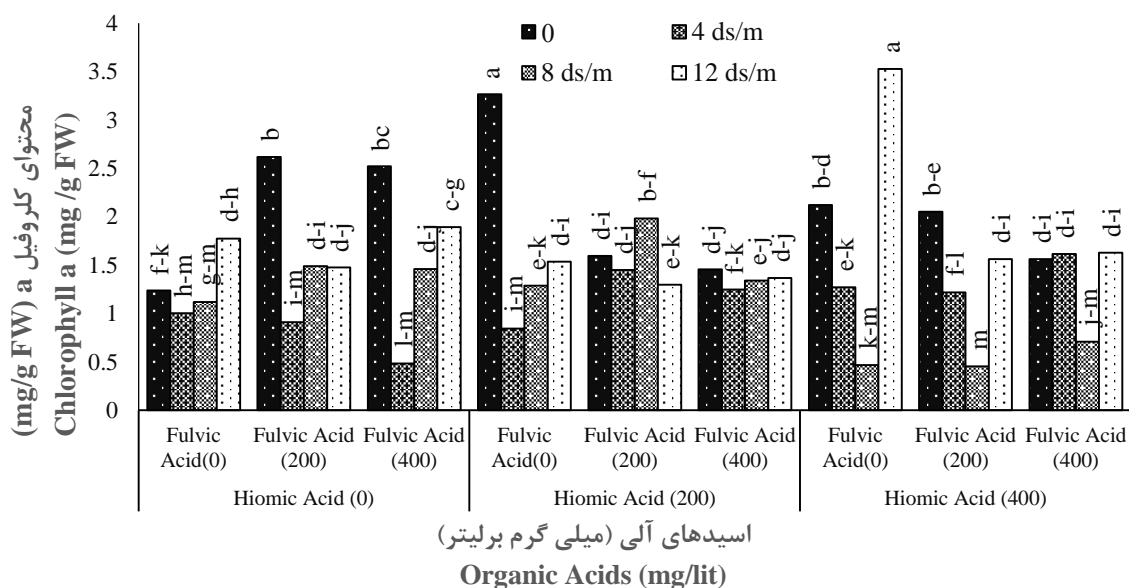
Figure 3. Mean comparison of RWC in Salinity

حضور هیومیک اسید با افزایش تنش شوری، گیاهچه سرخارگل با افزایش محتوای کلروفیل a روبرو شد، اما کاربرد سطوح فولویک اسید باعث شد میزان کلروفیل a با افزایش سطوح تنش کاهش پیدا کند. هیومیک اسید ۲۰۰ میلی‌گرم در عدم کاربرد فولویک اسید و تنش شوری افزایش محتوای کلروفیل a با ۳/۲۶ میلی‌گرم بر گرم را داشت. این نتایج نشان داد که غلظت‌های هیومیک اسید اثر افزایشی بر محتوای کلروفیل a، به‌خصوص در شرایط عدم حضور فولویک اسید داشتند (شکل ۴).

محتوای کلروفیل a

نتایج حاکی از تأثیر معنی‌دار تنش شوری، اثرات دوگانه و اثر سه‌گانه هیومیک اسید × اسید فولویک × تنش شوری در سطح احتمال یک درصد بر صفت محتوای کلروفیل a بود (جدول ۱).

غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر هیومیک اسید و عدم کاربرد فولویک اسید در تنش شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر، بیش‌ترین مقدار کلروفیل a را با میانگین ۳/۵۲ میلی‌گرم بر گرم داشت. همچنین مشاهده شد که، در عدم



شکل ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل هیومیک اسید × فولویک اسید × تنش شوری بر محتوای کلروفیل a

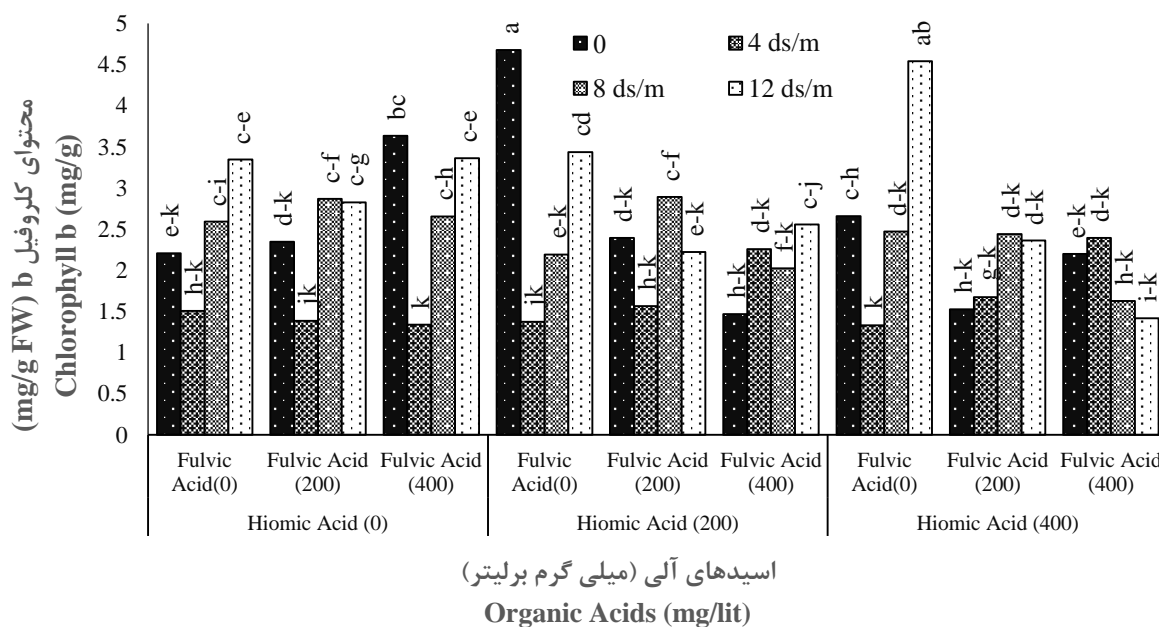
Figure 4. Mean comparison of Chlorophyll a in Hiomic Acid × Folic Acid × Salinity interaction

محتوای کلروفیل b

طبق نتایج به‌دست آمده، اثرات اصلی فولویک اسید و تنش شوری و اثرات دوگانه هیومیک اسید × فولویک اسید، فولویک اسید × تنش شوری و اثر سه‌گانه هیومیک اسید × فولویک اسید × تنش شوری بر محتوای کلروفیل b در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). نتایج اثرات متقابل هیومیک اسید، فولویک اسید و تنش شوری حاکی از آن است که در بعضی از سطوح به‌علت آن که هیومیک و فولویک اسید اثرات منفی تنش شوری را کاهش دهند، با افزایش سطوح شوری میزان کلروفیل b افزایش پیدا کرد به گونه‌ای که در تیمار فولویک اسید صفر (شاهد) و هیومیک اسید ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر با افزایش سطوح شوری کلروفیل b از (۱/۳۷) میلی‌گرم بر

گرم) به (۳/۴۳) میلی‌گرم بر گرم) افزایش یافت، همچنین در تیمار فولویک اسید ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر با هیومیک اسید ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر با افزایش تنش شوری میزان کلروفیل b افزایش یافت.

بیش‌ترین مقدار کلروفیل b، در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر هیومیک اسید (با میانگین ۴/۶۷ میلی‌گرم بر گرم) در عدم فولویک اسید و تنش شوری مشاهده شد. هم‌چنین در عدم حضور فولویک اسید و غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر هیومیک اسید (۴/۵۳ میلی‌گرم بر گرم) در تنش ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر بیش‌ترین مقدار کلروفیل b به‌دست آمد، این سطح از هیومیک اسید اثر افزایشی و بهبود بخشی نسبت به دیگر سطوح در بالاترین سطح تنش داشت (شکل ۵).



شکل ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل هیومیک اسید × فولویک اسید × تنش شوری بر محتوای کلروفیل b

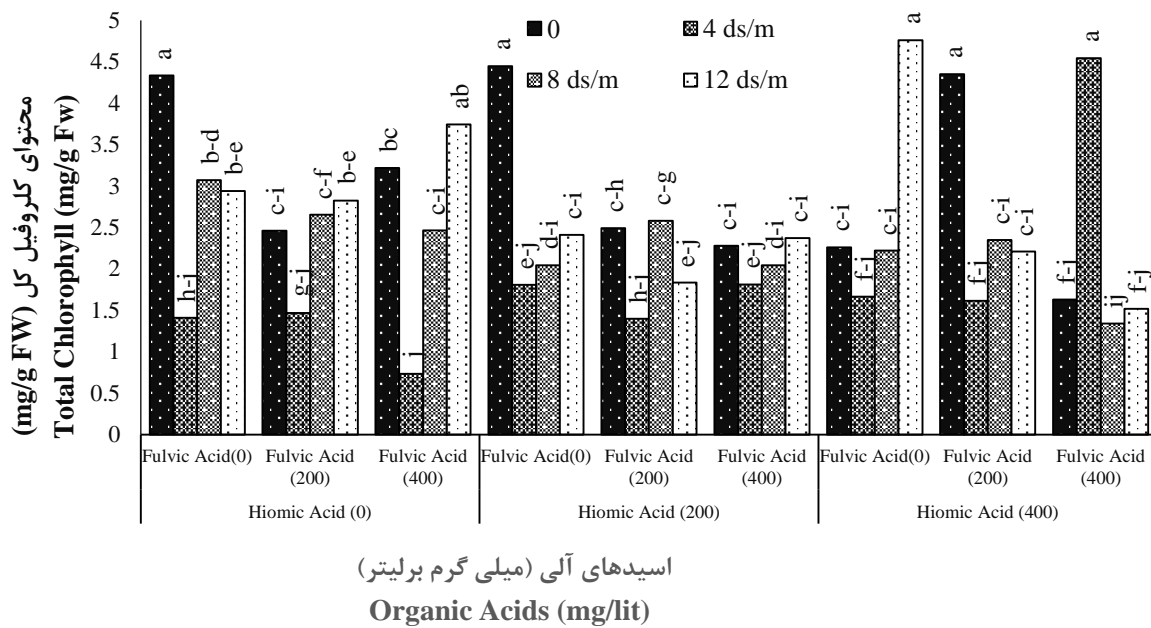
Figure 5. Mean comparison of Chlorophyll b in Hiomic Acid × Folic Acid × Salinity interaction

هیومیک اسید با افزایش تنش شوری، افزایش محتوای کلروفیل کل را نیز به دنبال داشتند.

در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر هیومیک اسید در سطوح مختلف فولویک و تنش شوری افزایشی در میزان کلروفیل کل مشاهده نشد. اما در غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر در تنش ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر افزایش دو برابری محتوای کلروفیل کل نسبت به عدم تنش شوری حاصل شد. این افزایش را نیز در غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم هیومیک اسید و فولویک اسید در تنش ۴ دسی‌زیمنس مشاهده شد (شکل ۶).

محتوای کلروفیل کل

طی بررسی نتایج جدول تجزیه واریانس، اثر اصلی هیومیک اسید، فولویک اسید و تنش شوری و همچنین اثر دوگانه هیومیک اسید × تنش شوری، فولویک اسید × تنش شوری و ترکیب تیماری هیومیک اسید × فولویک اسید × تنش شوری تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بر محتوای کلروفیل کل داشتند (جدول ۱). طبق نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل سه‌گانه، میزان کلروفیل کل با افزایش تنش شوری در عدم کاربرد اسیدهای آلی کاهش نشان داد. غلظت‌های فولویک اسید بدون کاربرد

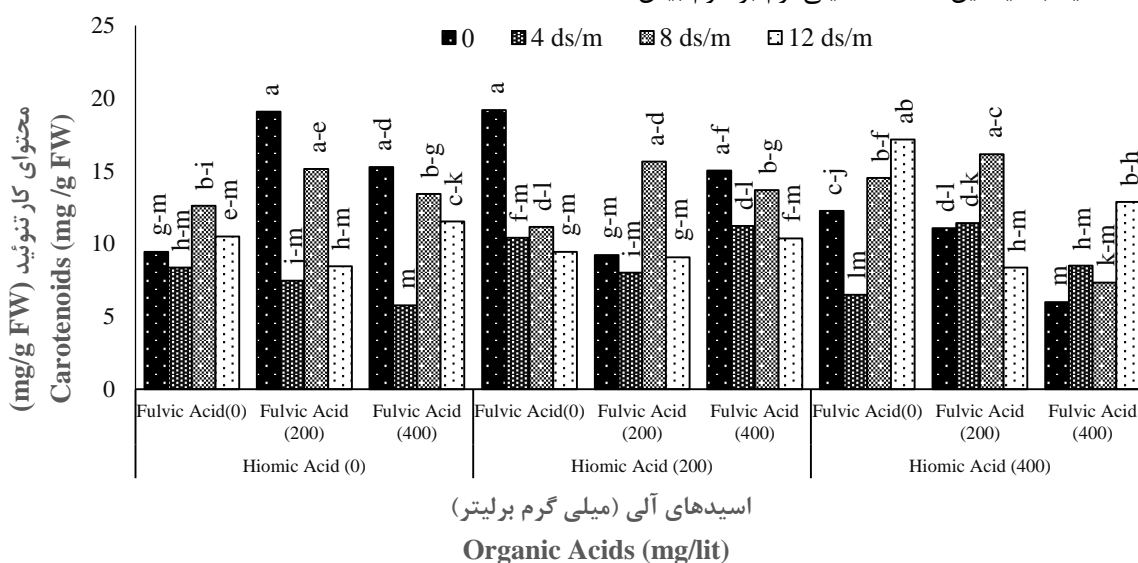


شکل ۶- مقایسه میانگین اثر متقابل هیومیک اسید × فولویک اسید × تنش شوری بر محتوای کلروفیل کل

Figure 6. Mean comparison of Total Chlorophyll in Hiomic Acid x Folic Acid x Salinity interaction

محتوای کلروفیل (mg/g FW) در این آزمایش به روش استاندارد تعیین شد. طبق مشاهدات استفاده از فولویک اسید در عدم کاربرد هیومیک اسید با افزایش سطوح تنش شوری محتوای کلروفیل کاهش یافت.

بیشترین میزان کارتنوئید در استفاده از هیومیک اسید ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر در عدم کاربرد فولویک اسید و تنش شوری (شاهد) با میانگین ۱۹/۱۹۵ میلی گرم بر گرم به دست آمد. هیومیک اسید ۴۰۰ میلی گرم بر لیتر در این صفت نسبت به دیگر سطوح اثر مثبتی از خود نشان داد (شکل ۷).



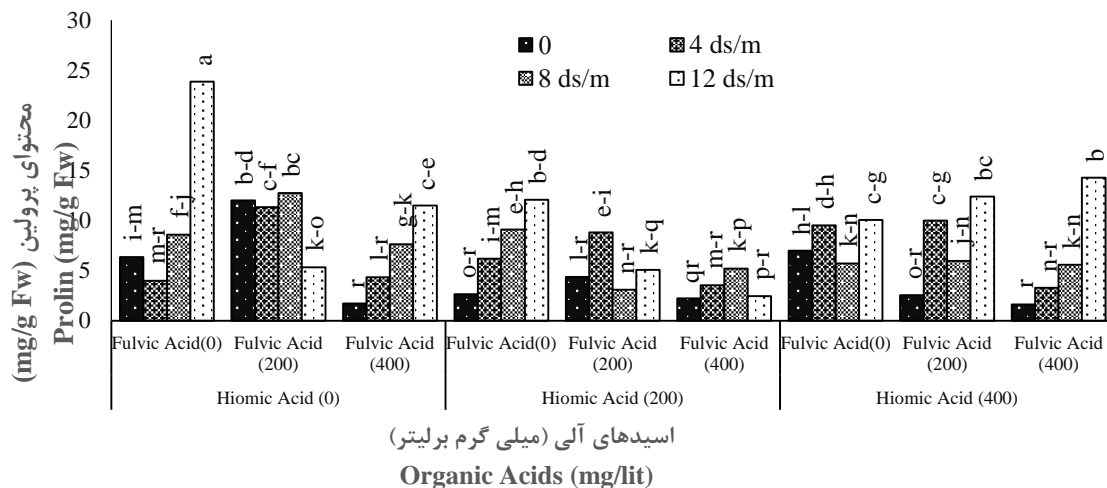
شکل ۷- مقایسه میانگین اثر متقابل هیومیک اسید × فولویک اسید × تنش شوری بر محتوای کارتنوئید

Figure 7. Mean comparison of Carotenoids in Hiomic Acid x Folic Acid x Salinity interaction

محتوای پرولین

با توجه به نتایج تجزیه واریانس اثر ساده هیومیک اسید، فولویک اسید، تنش شوری و ترکیب تیماری فولویک اسید × تنش شوری و اثر سه گانه هیومیک اسید × فولویک اسید × تنش شوری بر صفت محتوای پرولین در سطح احتمال یک درصد تأثیر معنی داری داشتند (جدول ۱). طبق نتایج افزایش محتوای پرولین با افزایش تنش شوری حاصل شد. محتوای پرولین در عدم کاربرد

هیومیک اسید و فولویک اسید در تنش ۱۲ دسی‌زیمنس تنش شوری دارای بیشترین میزان بود. میزان پرولین در تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر فولویک اسید در تنش شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر با میانگین ۵/۳۳ میلی‌گرم بر گرم نسبت به شاهد (میانگین ۱۲ میلی‌گرم بر گرم) کاهش یافت. محتوای پرولین گیاهچه سرخارگل در سطوح مختلف اسیدهای آلی نسبت به شاهد نه تنها افزایشی نداشت، میزان آن نیز کاهش یافت (شکل ۸).



شکل ۸- مقایسه میانگین اثر متقابل هیومیک اسید × فولویک اسید × تنش شوری بر محتوای پرولین
Figure 8. Mean comparison of Prolin in Hiomic Acid × Folic Acid × Salinity interaction

در تیمار ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر هیومیک اسید و تنش شوری سطح چهار دسی‌زیمنس بر متر (۱۰۵/۱۴ میلی‌گرم بر گرم) بود، به طوری که هیومیک اسید و فولویک اسید می‌توانند اثرات منفی تنش شوری را کاهش دهند (شکل ۹).

محتوای پروتئین

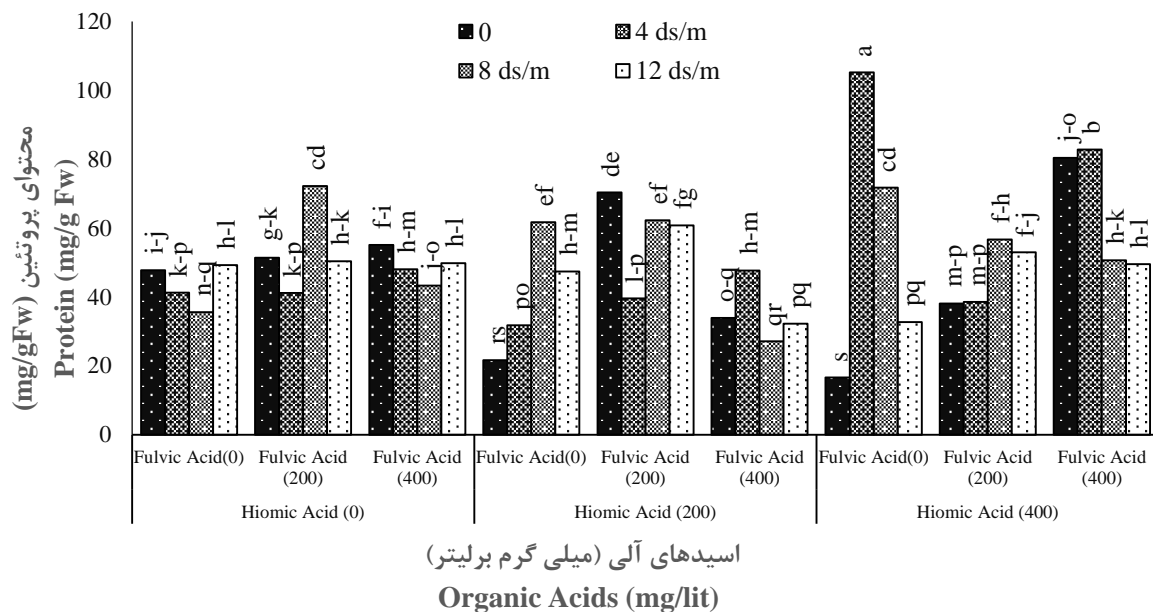
بررسی نتایج تجزیه واریانس حاصل از این پژوهش نشان داد که اثر ساده هیومیک اسید، فولویک اسید و تنش شوری و اثرات دوگانه اسید هیومیک × اسید فولویک، اسید هیومیک × تنش شوری، اسید فولویک × تنش شوری و اثر برهمکنش سه گانه آن‌ها در سطح احتمال یک درصد بر صفت محتوای پروتئین معنی دار شدند (جدول ۱). به طوری که در تیمار فولویک اسید ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر با افزایش شوری تا ۸ دسی‌زیمنس بر متر با میانگین (۷۲/۱۹ میلی‌گرم بر گرم) میزان پروتئین افزایش یافت و ادامه در تنش شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر با میانگین (۵۰/۳۱ میلی‌گرم بر گرم) میزان پروتئین کاهش یافت. همچنین هیومیک اسید ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر در تنش شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر دارای میزان پروتئین (۶۱/۷۲ میلی‌گرم بر گرم) بود و در تنش شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر میزان پروتئین آن به (۴۷/۳۷ میلی‌گرم بر گرم) کاهش یافت. به تدریج با افزایش سطوح هیومیک اسید در شرایط عدم مصرف تنش شوری، از میزان پروتئین کاسته شد. در مجموع بیشترین مقدار پروتئین

بحث

بسیاری از گونه‌های گیاهان عالی در معرض انواع تنش‌های محیطی نظیر تنش خشکی، شوری و ... هستند. نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که تیمار هیومیک اسید، فولویک اسید و تنش شوری بر صفات مورد مطالعه سرخارگل اثر معنی داری داشتند. این تحقیق نشان‌دهنده افزایش درصد جوانه‌زنی در اثر استفاده توأم از هیومیک اسید و فولویک اسید ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر در عدم تنش شوری است. هیومیک اسید و فولویک اسید سبب افزایش نفوذپذیری خاک نسبت به نیتروژن و جذب بیش‌تر پتاسیم، کلسیم، منیزیم و فسفر توسط گیاه شده در نتیجه سبب افزایش جوانه‌زنی می‌شود (Valentinuz and Tollenaar, 2006).

شود در تیمار شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر محتوای رطوبت نسبی افزایش یافت، افزایش محتوای رطوبت نسبی در اثر افزایش شوری یک راه کار کارآمد، جهت تنظیم اسمزی و حفظ فشار آماس سلولی در گیاهان است (Araujo *et al.*, 2006).

نتایج به دست آمده از تحقیق اثر تنش‌های اسمزی و شوری بر شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه دو گیاه دارویی آرتیشو و سرخارگل مبنی بر کاهش درصد جوانه‌زنی با افزایش سطوح شوری با نتایج این تحقیق مطابقت دارد (Amiri *et al.*, 2009). همان‌طور که مشاهده می‌-



شکل ۹- مقایسه میانگین اثر متقابل هیومیک اسید × فولویک اسید × تنش شوری بر محتوای پروتئین

Figure 9. Mean comparison of Protein in Hiomic Acid × Folic Acid × Salinity interaction

هیومیک اسید و باکتری محرک رشد عنوان کرد. شوری گرچه مقدار کلروفیل را کاهش می‌دهد اما گاهی اوقات نیز انتظار می‌رود باعث افزایش مقدار کلروفیل a یا b شود، یعنی با افزایش میزان شوری، مقدار کلروفیل b افزایش یابد. دلیل اصلی افزایش مقدار کلروفیل b تحت تنش شوری، در نتیجه افزایش کلروپلاست برگ است که برای حفظ فتوسنتز گیاه رخ می‌دهد و از نشانه‌های مقاومت گیاه به تنش‌های محیطی است. افزایش مقدار کلروفیل در شرایط تنش بیان‌کننده مقاومت گیاه در مقابل آسیب‌های نوری کلروپلاست است درحالی‌که رابطه مثبتی بین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و سرعت حفظ کلروفیل گزارش شده است. دیگر محققان در بررسی‌های خود، تأثیر معنی‌دار هیومیک اسید را بر محتوای کلروفیل b لوبیا سبز گزارش کردند (El-Bassiony *et al.*, 2010). گزارش شده که شوری باعث کاهش مقدار کلروفیل کل در برگ کلزا شد (Dehshiri *et al.*, 2012). در تیمار هیومیک اسید شاهد (صفر) و در حضور هر کدام از سطوح مختلف فولویک اسید و شوری ابتدا در عدم شوری میزان کلروفیل کل افزایش و در تنش شوری چهار

دلیل کاهش میزان کلروفیل در شرایط تنش شوری، افزایش تخریب این رنگیزه‌ها و یا کاهش ساخت آن‌ها و نیز اختلال در فعالیت آنزیم‌های مسئول سنتز رنگدانه‌های فتوسنتزی باشد (Davoudi Fard *et al.*, 2012). گزارش شده که شوری سبب کاهش مقدار کلروفیل a در دو جنس بابونه شد (Sarani *et al.*, 2013). نتایج اثرات متقابل هیومیک اسید، فولویک اسید و شوری حاکی از آن است که در بعضی از تیمارها به علت آن که هیومیک و فولویک اسید اثرات منفی تنش شوری را کاهش می‌دهند، با افزایش سطوح شوری میزان کلروفیل a افزایش یافت به گونه‌ای که در تیمار فولویک اسید شاهد (صفر) و هیومیک اسید ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر با افزایش سطوح شوری کلروفیل a افزایش یافت. نتایج مطالعه‌ای روی صنوبر، نشان داد که استفاده از هیومیک اسید میزان کلروفیل a را افزایش داد (Jing-min *et al.*, 2010). همچنین داودی فرد و همکاران (Davoudi Fard *et al.*, 2012) با مطالعه بر روی گندم گزارش کردند که مصرف هیومیک اسید سبب افزایش میزان کلروفیل a نسبت به شاهد شد که دلیل آن را افزایش توانایی گیاه در جذب بیش‌تر عنصر

بر متر و کم‌ترین آن در تیمار شاهد مشاهده گردید (Nouri *et al.*, 2013). سطح پرولین در برگ‌های خرفه با افزایش سطح شوری به‌صورت معنی‌داری افزایش یافت. افزایش در مقدار پرولین تحت شرایط تنش در گیاهان دیگری از قبیل برنج، گندم، اسفناج، جو، سویا و ذرت نیز مشاهده شده است (Ozturk *et al.*, 2012). دیگر محققان با مطالعه بر روی اسفرزه دریافتند که مؤثرترین تیمار در افزایش میزان پرولین در برگ گیاهان رشدیافته در شرایط شوری، تیمار هیومیک اسید بود. اما فولویک اسید منجر به افزایش محتوای پرولین نگردید (Gholami, 2012). آستانه تحمل گیاه سرخارگل به شوری جهت افزایش پروتئین تا تیمار ۸ دسی‌زیمنس بر متر می‌باشد پس از آن با افزایش شوری یعنی در شوری سطح ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر میزان پروتئین کاسته شد (Gholami, 2012). کاهش پروتئین در غلظت‌های بالای شوری ممکن است به‌دلیل هیدرولیز پروتئین نیز باشد (Weisany *et al.*, 2012). با توجه به نتایج پژوهش‌های مختلف کاهش مقدار پروتئین در لاین‌های مختلف مورد آزمایش در گیاه AtrecQ14A در غلظت‌های بالای شوری نیز مشاهده شده است (Kiamoghadam *et al.*, 2009).

نتیجه‌گیری کلی

بر اساس نتایج به‌دست‌آمده درصد جوانه‌زنی بذر سرخارگل شرایط تنش شوری کاهش یافت، اما کاربرد هیومیک اسید ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و فولویک اسید ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر با افزایش تنش شوری درصد جوانه‌زنی بذر سرخارگل با افزایش روبرو شد. در این بین کاربرد هیومیک اسید ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر در تمامی صفات اثر مثبتی را نشان داد، با این حال هیومیک اسید و فولویک اسید اثرات ناشی از تنش شوری را، هر چند اندک بهبود بخشیدند.

تشکر و قدردانی

نگارندگان بر خود لازم می‌دانند از مسئولین دانشکده علوم کشاورزی، آزمایشگاه‌های زراعت و تکنولوژی بذر دانشگاه شاهد به خاطر فراهم کردن امکانات لازم برای انجام این تحقیق تشکر و قدردانی کنند.

دسی‌زیمنس بر متر کاهش و پس از آن با افزایش تنش شوری کلروفیل کل افزایش یافت. در پژوهش فولویک اسید به تنهایی نتوانست اثرات منفی شوری را کاهش دهد و در این میان هیومیک اسید نسبت به فولویک اسید در جهت کاهش اثرات منفی شوری بر میزان کلروفیل موفق‌تر عمل کرد. راهی و همکاران (Rahi *et al.*, 2012) در بررسی تأثیر مقادیر مختلف هیومیک اسید و مطالعه روند منحنی‌های پاسخ در گونه *Dactylis glomerata* نشان دادند که هیومیک اسید باعث افزایش معنی‌دار رنگیزه کلروفیل کل شد. تقریباً در تمام سطوح اثرات متقابل هیومیک و فولویک اسید با افزایش سطوح تنش شوری میزان رنگیزه کارتنوئید افزایش یافت. در حقیقت آستانه تأثیر مثبت هیومیک و فولویک اسید بر افزایش کارتنوئید در تیمار ۸ دسی‌زیمنس بر متر شوری می‌باشد و غلظت‌های بالاتر شوری باعث اختلال در فرآیند تولید رنگیزه کارتنوئید می‌گردند. محققان دیگر با مطالعه بر روی پنبه بیان داشتند که مقدار رنگیزه کارتنوئید تحت تأثیر شوری قرار می‌گیرد و با افزایش شوری مقدار کارتنوئیدها افزایش یافت به‌طوری‌که با افزایش شوری به ۱۵ دسی‌زیمنس بر متر مقدار کارتنوئید ۳۲ درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت. در ادامه نیز بیان داشتند که هیومیک اسید به‌طور معنی‌داری مقدار کارتنوئید را تحت تأثیر قرار داد. هم‌چنین تیمار هیومیک اسید بر روی گندم نیز موجب افزایش میزان غلظت کارتنوئید شد. با افزایش سطوح تنش شوری، میزان پرولین نیز افزایش یافت به گونه‌ای که در تنش ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر دارای بیش‌ترین میزان بود. افزایش غلظت پرولین در گیاهانی که تحت تنش قرار گرفته‌اند، نوعی سازگاری برای غلبه بر شرایط تنش می‌باشد (Manivannan *et al.*, 2007). تجمع پرولین را می‌توان به حفظ تعادل اسمزی در سطح سلولی در بسیاری از گیاهان رشدیافته در سطوح شوری بالا نسبت داد (Weisany *et al.*, 2012). سلول با سنتز و تجمع ترکیب‌های محافظ اسمزی مثل پرولین به تنش شوری بلند مدت و کوتاه مدت پاسخ می‌دهد. این ترکیب‌ها مولکول‌های کوچک و سمی هستند که پتانسیل اسمزی سلول را افزایش می‌دهند (Celik and Atak, 2012). با افزایش شوری میزان پرولین در بابونه شیرازی افزایش یافته و بیش‌ترین میزان پرولین در تیمار ۹/۵ دسی‌زیمنس

منابع

- Amiri, B.M., Rezvani Moghaddam, P., Ehyai, M.R., Fallahi, J. and Aqhhvany Shajari, M. 2009. Effect of osmotic stress on germination indices and seedling growth of two medicinal plants *Cynara scolymus* and *Echinacea purpurea*. *Environmental Stresses in Agricultural Sciences*, 3(2): 165-176. (In Persian)(**Journal**)
- Arnon, D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Poly phenol oxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 24: 1 -150. (**Journal**)
- Azarnia, M. and Eisvand, H.R. 2013. Effects of hydro and hormonal priming on yield and yield components of chickpea in irrigated and rain-fed conditions. *Journal of Crop Production*, 6(4): 1-18. (In Persian)(**Journal**)
- Bajji, M., Kinet, J.M. and Lutts, S. 2002. Osmotic and ionic effects of NaCl on germination, early seedling growth, and ion content of Saltbush (*Atriplex halimus* L.) (Chenopodiaceae). *Canadian Journal of Botany*, 80: 297-304. (**Journal**)
- Bates, L.S., Waldern, R.P. and Tear, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil*, 39: 205-207. (**Journal**)
- Blumenthal, M., Lindstrom, A., Lynch, M.E. and Rea, P. 2011. Herb sales continue growth up 3.3% In 2010. *Herbal Gram*, 90: 64-67. (**Journal**)
- Ceeh, R. 2006. Phytochemical variation within populations of *Echinacea purpurea* (Asteraceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 30: 837-54. (**Journal**)
- Celik, O. and Atak, C. 2012. The effect of salt stress on antioxidative enzymes and proline content of two Turkish tobacco varieties. *Turkish Journal of Biology*, 36(3): 339-356. (**Journal**)
- Davoudi Fard, M., Habibi, D. and Davoudifard, F. 2012. Effect of salinity stress on cytoplasmic membrane stability, chlorophyll content and yield components in wheat, inoculated with Growth Stimulating Bacteria and humic acid. *Journal of Agronomy and Plant Breeding*, 8(2): 86-71. (In Persian)(**Journal**)
- De Araujo, A.M., Silveira, A.G., Almeida, T.D., Rocha, M.A., Morais, D.L. and Viegas, R.A. 2006. Salinity tolerance of halophyte *Atriplex nummularia* L. grown under increasing NaCl levels. *Engenharia Agricola e Ambiental*, 10: 848- 854. (**Journal**)
- Dehshiri, A., Modarres Sanavi, M., Rezaie, H. and Shirani Rad, A. 2012. Effect of elevated concentration of atmospheric carbon dioxide on some traits of three rapeseed (*Brassica napus* L.) varieties under saline conditions. *Seed and Plant Production*, 28(2): 35-52. (In Persian)(**Journal**)
- Ebrahimi, M. and Miri, E. 2016. Effect of humic acid on seed germination and seedling growth of *Borago officinalis* and *Cichorium intybus*. *Ecopersia*, 4(1): 1239-1249. (In Persian)(**Journal**)
- Eizadi, Z., Soroshzadeh, A., Modares Sanavi, S.A.M., Asnaashari, M., Aghaalikhani, M. and Davodi, P. 2014. Effect of extraction of aerial part extract of *Echinacea Purpurea* L. on its antimicrobial property in a number of pathogens. *Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences*, 13: 267-280. (In Persian)(**Journal**)
- El-Bassiony, A.M., Fawzy, Z.F., Abd El-Baky, M.M.H. and Asmaa, R.M. 2010. Response of snap bean plants to mineral fertilizers and humic acid application. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 6(2): 169-175. (**Journal**)
- Ghasemi Lemraski, M. 2013. The effect of seed priming on the germination of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Sciences and Seed Technology*, 3(1): 1-9. (In Persian)(**Journal**)
- Gholami, H. 2012. Effects of humic acid and folic acid on plant resistance to salinity stress. Senior Researcher of Agriculture, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University, Garmsar Branch. (In Persian)(**Handbook**)
- Gu, Z., Chen, D., Han, Y., Chen, Z. and Gu, F. 2008. Optimization of carotenoids extraction from *Rhodobacter sphaeroides*. *Learning With Technologies*, 41: 1082-1088. (**Journal**)
- International Seed Testing Association (ISTA). 2010. *International Rules for Seed Testing*, Bassersdorf, Switzerland. (**Handbook**)
- 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. *Journal of Soil and Water Conservation*, 8(1): 9-20. (**Journal**)

- Kiamoghadam, M.R. and Bagheriya Najjar, M.B. 2009: Some physiological and biochemical parameters in Atrec Q14A mutated plants under salinity stress. *Journal of Plant Production Research*, 16(1): 132-115. (In Persian)(**Journal**)
- Manivannan, P., Jaleel, C.A., Sankar, B., Kishurekumar, A., Somasundaram, R., Lakshmanan, G.M. and Panneerselvam, R. 2007. Growth, biochemical modifications and proline metabolism in *Helianthus annuus* L. as induced by drought stress. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 59: 141-149. (**Journal**)
- Miri, Y. and Mirjalili, S.A. 2013. Effects of salinity stress on seed germination and some physiological traits in primary stages of growth in purple coneflower (*Echinacea Purpurea*). *International Journal of Agronomy and Plant Production*, 4(1): 142-146. (In Persian)(**Journal**)
- Nazarbeygi, E., Lari Yazdi, H., Naseri, R. and Soleimani, R. 2011. The effects of different levels of salinity on proline and chlorophylls a, b in canola. *American-Eurasian Journal of Agriculture and Environmental Science*, 10: 70-74. (In Persian)(**Journal**)
- Nouri, K., Omidi, H., Naghdi badi, H.A., Torabi, H. and Fotokian, M.H. 2013. Effects of soil and water salinity on flower yield, soluble compounds, content of saline elements and essential oil quality of German chamomile (*Shirazian Babooneh, Matricaria recutita* L.). *Journal of Water Research in Agriculture*, 26(4): 367-379. (In Persian)(**Journal**)
- Ozturk, L., Demir, Y., Unlukara, A., Karatas, I., Kurunc, A. and Duzdemir, O. 2012. Effects of long-term salt stress on antioxidant system, chlorophyll and proline contents in pea leaves. *Romanian Biotechnological Letters*, 17(3): 7227-7236. (**Journal**)
- Paravar, A., Omidi, H., Esanejad, S.N. and Amirzadeh, M. 2015. Seed hydroperimigation effect on germination and seedling growth of Sarkhrghol under salt stress. *Journal of Seed Ecophysiology*, 1(1): 57-69. (In Persian)(**Journal**)
- Rahi, A., Davoudi Fard, M., Azizi, M. and Habibi, D. 2012. Investigating the effects of different amounts of humic acid and study of the process of response curves in *Dactylis glomerata*. *Journal of Agronomy and Plant Breeding*, 8(3): 28-15. (In Persian)(**Journal**)
- Samavat, S. and Malakooti, M. 2005. Important use of organic acid (humic and fulvic) for increase quantity and quality agriculture productions. *Journal of Water and Soil Science*, 463: 1-13. (In Persian)(**Journal**)
- Sarani, S., Heidari, M., Glavi, M. and Siahars, B.A. 2013. Effects of salinity and iron on growth, photosynthetic pigments and electrophoresis bands in two genus chamomile (*Matricaria chamomilla* L. and *Anthemis nobilis* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 29(4): 732-746. (In Persian)(**Journal**)
- Sebahattin, A. and Necdet, C. 2005. Effects of different levels and application times of humic acid on root and leaf yield and yield components of forage Turnip (*Brassica rapa* L.). *Agronomy Journal*, 4: 130-133. (**Journal**)
- Turkan, I. and Demiral, T. 2009. Recent developments in understanding salinity tolerance. *Environmental and Experimental Botany*, 67: 2-9. (**Journal**)
- Turkman, O., Demir, S., Sensoy, S. and Dursun, A. 2005. Effect of Arbuscular Mycorrhizal fungus and Humic acid on the seedling development and nutrient content of pepper grown under saline soil conditions. *Biological Sciences*, 5: 565-574. (**Journal**)
- Valentinuz, O.R., and Tollenaar, M. 2006. Effect of genotype, nitrogen, plant density, and row spacing on the area-per-leaf profil in maize. *Agronomy Journal*, 98: 94-99. (**Journal**)
- Weisany, W., Sohrabi, Y., Heidari, G., Siosemardeh, A. and Ghassemi-Glezani, K. 2012. Changes in antioxidant enzymes activity and plant performance by salinity stress and zinc application in soybean *Glycine max* (L.). *Plant Omics Journal*, 5(2): 60-67. (**Journal**)



Effect of organic acids and salt stress on germination of seed and physiological properties of (*Echinacea Purpurea* L.)

Fersheteh Azadbakht¹, Majid Amini Dehaghi^{*2}, Khadijeh Ahmadi³, Samira Alipour Gravand¹

Received: November 10, 2017

Accepted: October 22, 2018

Abstract

In order to investigate the effect of humic and fulvic acid on physiological properties of seedling *Echinacea purpurea* under salinity, a factorial experiment was conducted in a completely randomized design with three replications at Seed Technology Laboratory Shahed University in year 2016. The treatments experiment included salinity at four levels (0, 4, 8 and 12 dS/m), humic acid in three levels (0, 200 and 400 mg/lit) and fulvic acid at three levels (0, 200 and 400 mg/lit). The studied traits included germination percentage, relative water content, chlorophyll a, b and total content, carotenoid, proline and protein content. According to the results of analysis of variance, interaction effect of humic acid, fulvic acid and salinity had a significant effect on traits except the relative water content. The highest germination percentage was obtained by application of humic acid 200 mg/lit and fulvic acid 400 mg/lit with an average of 75.55% in salinity. According to the results of this study, humic acid has the most effect on the of soluble compounds content, as long as the fulvic acid concentration is 200 mg/lit or zero, it is possible to see the increase of soluble compounds at the levels of humic acid. The concentration of 400 mg/lit humic acid in the absence of fulvic acid and lack of salt stress had the highest chlorophyll total content. Salinity stress reduced seed germination of Sarkhargol, Application of Humic Acid and fulvic Acid Effects Caused by Salt Stress, though slightly improved.

Keywords: Chlorophyll; *Echinacea purpurea*; Fulvic acid; Humic acid; Proline

How to cite this article

Azadbakht, F., Amini Dehaghi., Ahmadi, K. and Alipour Gravand, S. 2020. Effect of organic acids and salt stress on germination of seed and physiological properties of (*Echinacea Purpurea* L.). Iranian Journal of Seed Science and Research, 7(1): 27-40. (In Persian)(Journal)

DOI: [10.22124/jms.2020.4269](https://doi.org/10.22124/jms.2020.4269)

COPYRIGHTS

Copyrights for this article are retained by the author(s) with publishing rights granted to the Iranian Journal of Seed Science and Research

The content of this article is distributed under Iranian Journal of Seed Science and Research open access policy and the terms and conditions of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY4.0) License. For more information, please visit <http://jms.guilan.ac.ir/>

1. M.Sc. Student of Seed Science and Technology, Faculty of Agricultural Sciences, University of Shahed, Tehran, Iran

2. Associate Professor, Faculty of Agricultural Sciences, University of Shahed, Tehran, Iran

3. M.Sc. Graduated of Agronomy, Faculty of Agricultural Sciences, University of Shahed, Tehran, Iran

*Corresponding author: amini@shahed.ac.ir