



علوم و تحقیقات بذر ایران
سال سوم / شماره سوم / ۱۳۹۵ (۴۶ - ۳۵)



بررسی اثر اسید هیومیک بر جوانه‌زنی، رشد گیاهچه و رنگیزه‌های فتوسننتزی گیاه دارویی اسفرزه (*Plantago ovata* Forssk)

مهندیه ابراهیمی^{۱*}، الهام میری کرباسک^۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۸/۱۱

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۶/۹

چکیده

به منظور بررسی اثر اسیده‌هیومیک بر شاخص‌های جوانه‌زنی و رنگیزه‌های فتوسننتزی گیاه دارویی اسفرزه آزمایشی در قالب طرح کامل تصادفی انجام شد. تیمارها شامل غلظت‌های ۰، ۱۵ و ۳۰ گرم در لیتر بود. نتایج نشان داد اسیده‌هیومیک بر سرعت جوانه‌زنی و شاخص بنیه بذر تأثیر معنی‌دار داشت. بیشترین و کمترین سرعت جوانه‌زنی، بیشترین و کمترین شاخص بنیه بذر به ترتیب در تیمار ۳۰ گرم در لیتر و شاهد محاسبه گردید. درحالی‌که اسید هیومیک بر درصد جوانه‌زنی و میانگین زمان جوانه‌زنی اثر معنی‌دار نداشت. اسیده‌هیومیک بر طول و وزن خشک ریشه‌چه (سطح ۱ درصد)، طول و وزن خشک ساقه‌چه و ضریب آلومتری (سطح ۵ درصد) معنی‌دار بود، ولی بر وزن تر ریشه‌چه و ساقه‌چه اثر معنی‌داری نداشت. بیشترین و کمترین طول ریشه‌چه، بیشترین و کمترین وزن خشک ریشه‌چه، بیشترین و کمترین وزن خشک ساقه‌چه به ترتیب در تیمار ۳۰ گرم در لیتر اسید هیومیک و شاهد به دست آمد. بیشترین طول ساقه‌چه مربوط به غلظت ۱۵ گرم در لیتر و کمترین آن مربوط به تیمار شاهد بود. بیشترین ضریب آلومتری در تیمار ۳۰ گرم لیتر حاصل شد. بهترین تأثیر بر رنگیزه‌های کلروفیلی در تیمار ۳۰ گرم بر لیتر مشاهده شد به‌طوری‌که بیشترین و کمترین کلروفیل a, b، کلروفیل کل و کاروتونوئید به ترتیب در غلظت ۰ و ۳۰ گرم بر لیتر اسید هیومیک مشاهده گردید. به‌طور کلی نتایج نشان داد اسیده‌هیومیک در غلظت ۳۰ گرم بر لیتر بر بهود کیفیت اسفرزه موثر می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: اسید هیومیک، سرعت جوانه‌زنی، شاخص بنیه بذر، گیاهان دارویی

۱- استادیار، گروه مرتع و آبخیزداری، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل

۲- کارشناس ارشد مرتعداری، گروه مرتع و آبخیزداری، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل

* نویسنده مسئول: maebrahim2007@yahoo.com

مقدمه

معنی داری در غلظت نیتروژن خاک و نیتروژن ذخیره شده گیاه نسبت به تیمار شاهد شد (Sharif, 2002). با وجود بررسی های فراوانی که در زمینه تاثیر اسید-هیومیک بر گیاهان زراعی و باعی انجام شده است، تحقیقات اندکی در زمینه تاثیر اسیدهیومیک بر گیاهان دارویی صورت گرفته است، لذا هدف تحقیق حاضر مطالعه اثر غلظت های مختلف اسیدهیومیک بر پارامترهای جوانه-زنی، خصوصیات مورفولوژیک بذر و رنگیزه های کلروفیلی گیاه دارویی اسفرزه (*P. ovata* Forssk)، جهت تعیین بهترین پاسخ این گونه به غلظت های به کار رفته اسیدهیومیک است.

مواد و روش ها

تحقیق حاضر در آزمایشگاه (شرایط دمایی 20 ± 2 درجه سلسیوس) مرکز تحقیقاتی دانشگاه زابل در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تکرار اجرا شد. بذر گیاه از شهرستان اربیل تهیه شد. ابتدا بذور با محلول هیپوکلریت سدیم ۵ درصد به مدت ۳ دقیقه ضد عفنونی و پس از آن با آب مقطر آبکشی شدند. سپس مجموعه پتری دیش ها و بستر بذر (کاغذ صافی و اتمن شماره ۱) در دستگاه اتوکلاو (مدل RT-2 شرکت ریحان طب، ایران) استریل گردید. تعداد بذور در هر پتری دیش ۲۵ عدد در نظر گرفته شد. اسیدهیومیک (پودر هیومکس ۶۰ درصد (حاوی ۶۰ درصد اسیدهیومیک و ۱۵ درصد اسید فولویک) در سه سطح (۰، ۱۵، ۳۰ گرم در لیتر) به بذور موجود در پتری دیش ها اعمال گردید. به منظور رفع اثرات منفی تبخیر به هر ظرف در طی دوره آزمایش (به مدت ۶ روز) محلول اسیدهیومیک (در هر تیمار غلظت مورد نظر استفاده گردید تا تغییری در غلظت ها ایجاد نگردد) به صورت یک روز در میان اضافه غلظت ها ایجاد نگردد) به صورت یک روز در میان اضافه گردید، به طوری که بذور در تماس با محلول بوده ولی حالت غرقاب نداشتند. اولین شمارش تعداد بذور جوانه زده ۲۴ ساعت پس از انتقال آن ها به پتری دیش صورت گرفت و بذوری را که ریشه چه آن ها قابل رویت بود به عنوان جوانه زده شمارش (Wiese and Binning, 1978) و از پتری (Piccolo et al., 1993) اسیدهیومیک افزایش یافت. همچنین در پژوهشی شریف نشان داد که کاربرد ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم اسیدهیومیک بر کیلوگرم خاک در گیاه ذرت، به ترتیب باعث افزایش ۲۰ و ۲۳ درصدی وزن خشک ساقه و ۳۹ و ۳۲ درصدی وزن خشک ریشه و افزایش

گیاهان دارویی، از گیاهان مهم اقتصادی هستند که به صورت خام یا فرآوری شده، در طب سنتی و نوین صنعتی مورد استفاده و بهره وری قرار می گیرند (Safarnejad et al., 2007). یکی از این گیاهان دارویی، اسفرزه (*Plantago ovate* Forssk) می باشد که به علت وجود خواص موسيلازی در بذرها آن، از آن در داروهای ضد التهاب، ضد عوارض پوستی، مسهله، معده و Blumenthal et al., (2000) محرک ایمنی استفاده می شود. امروزه زراعت گیاهان دارویی با کودهای آلی و بیولوژیک اثرات منفی روی کیفیت دارویی و عملکرد آن ها را کاهش می دهد، لذا بسیاری از شرکت های تولید کننده داروهای گیاهی، ترکیبات گیاهی را که از طریق کشت آلی et al., (Griffe 2003) یا بیودینامیک تولید شده باشند ترجیح می دهند. در این زمینه استفاده از انواع اسیدهای آلی برای بهبود کمی و کیفی محصولات زراعی و باعی رواج فراوان یافته است که به دلیل وجود ترکیبات هورمونی اثرات مفیدی در افزایش تولید و بهبود کیفیت محصولات کشاورزی دارند. از جمله این اسیدهای اسیدهیومیک است که سبب تشکیل کمپلکس پایدار نامحلول با عناصر کم-صرف می گردد (Michael, 2001) و اثرات سودمندی روی خاک و گیاه دارد و با کلات کردن عناصر ضروری سبب افزایش جذب آن ها شده و باروری خاک و عملکرد گیاهان را افزایش می دهد (Liu and Cooper, 2000).

در ارتباط با اثرات مفید ترکیبات هیومیکی بر بهبود رشد گیاهان زوئینان و همکاران گزارش کردند که غلظت های کم اسیدهیومیک رشد گندم را به صورت معنی داری افزایش داد (Xuanyuan et al., 2001). در لیندن و همکاران در پژوهشی اثر اسیدهیومیک بر روی چند گونه مرجعی را مورد مطالعه قرار دادند. آن ها در یافتن کاربرد اسیدهیومیک موجب افزایش شاخ و برگ گیاهان مرتضی می شود (Verlinden et al., 2010). پیکولو و همکاران گزارش کردند که سرعت و درصد جوانه زنی بذور کاهو و گوجه فرنگی تیمار شده در پتری دیش های حاوی اسیدهیومیک افزایش یافت. همچنین در پژوهشی شریف نشان داد که کاربرد ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم اسیدهیومیک بر کیلوگرم خاک در گیاه ذرت، به ترتیب باعث افزایش ۲۰ و ۲۳ درصدی وزن خشک ساقه و ۳۹ و ۳۲ درصدی وزن خشک ریشه و افزایش

پس از حد نصاب جوانه‌زنی، اعمال تیمارها هر پنج روز یک- ۲۵ بار انجام گرفت. پس از رسیدن گیاه به حد نصاب رشد (روز)، از هر پتری سه گیاه و از هر گیاه سه برگ انتخاب شد. (Shahsavani, Markade and Chamani, 2014) برای اندازه‌گیری میزان کلروفیل‌های a (رابطه ۶)، b (رابطه ۷) و همچنین کاروتوئین‌ها (رابطه ۸) از طریق ساییدن ۰/۵ گرم نمونه برگی در استون ۸۰ درصد و قرائت جذب نوری در طول موج‌های (به ترتیب ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر) انجام گرفت (Arnon, 1949). کلروفیل کل از مجموع کلروفیل‌های a و b محاسبه گردید.

$$Cla = \frac{11.3A_{663} - 0.96A_{645}}{a \times 1000 \times w} \quad (6)$$

$$Clb = \frac{18.3A_{645} - 3.9A_{663}}{a \times 1000 \times w} \quad (7)$$

$$Ecar_{470} = [E_{470} + (0.114E_{663})] - (0.638E_{645}) \quad (8)$$

بعد از بررسی نرمال بودن توزیع داده‌ها (آزمون لون-Leven و همگنی واریانس‌ها (آزمون کلوموگرف اسمیرنوف Kolmogorov-Smirnov) داده‌ها مورد تجزیه واریانس یک‌طرفه در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تکرار قرار گرفتند و جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن استفاده شد. تجزیه آماری داده‌ها با نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۸ انجام شد.

نتایج

تأثیر اسید هیومیک بر شاخص‌های جوانه‌زنی

نتایج تجزیه واریانس شاخص‌های جوانه‌زنی بذر گیاه (جدول ۱) نشان داد که اسید هیومیک بر سرعت جوانه‌زنی (سطح ۱ درصد) تأثیر معنی‌دار داشت، در حالی‌که بر درصد جوانه‌زنی گیاه اثر معنی‌دار نداشت. بیشترین و کمترین مقدار سرعت جوانه‌زنی در تیمارهای ۳۰ گرم در لیتر اسید-هیومیک و شاهد محاسبه گردید (جدول ۲). همچنین سرعت جوانه‌زنی در تیمارهای صفر و ۱۵ گرم در لیتر اسید هیومیک تفاوت معنی‌داری نشان نداد. سرعت جوانه-زنی در تیمار ۳۰ گرم در لیتر در مقایسه با تیمار شاهد ۸۷/۹۳ درصد افزایش نشان داد.

دقت ۱ (۰/۰۰۰ گرم) اندازه‌گیری گردید. برای تعیین وزن خشک، ابتدا نمونه‌ها را با آب مقطر شسته و پس از جدا کردن ریشه‌چه و ساقه‌چه، در دمای ۷۰ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت، درون دستگاه آون (مدل ۷۱۱۳۶) شرکت شیماز) قرار داده شدند. آن‌گاه وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه اندازه‌گیری شد. بعد از گذشت ۶ روز، با ثابت شدن تعداد بذور جوانه‌زده و اتمام دوره رشد شاخص‌های جوانه‌زنی شامل سرعت جوانه‌زنی، درصد جوانه‌زنی، میانگین زمان جوانه‌زنی و شاخص بنیه بذر براساس روابط ۱ تا ۴ به دست آمد.

$$SG = \sum Ni / Di \quad (1)$$

: سرعت جوانه‌زنی، Ni: بذور جوانه‌زده در هر روز، Di: روز شمارش (Mereddy *et al.*, 2000)

$$PG = (n / N) \times 100 \quad (2)$$

: درصد جوانه‌زنی، n: تعداد کل بذرهاي جوانه‌زده در طی دوره شمارش، N: تعداد کل بذرهاي کشت شده در هر پتری دیش (Behbodian *et al.*, 2005)

$$MGT = \frac{\sum nd}{\sum n} \quad (3)$$

: متوسط زمان لازم برای جوانه‌زنی، n: تعداد بذور جوانه‌زده در طی روز، d: تعداد روزها از ابتدا جوانه‌زنی، Ellis and Roberts, (1981). لازم به ذکر است که متوسط زمان لازم برای جوانه‌زنی شاخصی از سرعت و شتاب جوانه‌زنی محسوب می‌گردد (Ellis and Roberts, 1981).

$$SVI = (MLS + MLR) \quad (4)$$

MLS = میانگین طول ساقه اولیه و MLR = میانگین طول ریشه اولیه

شاخص بنیه گیاه‌چه (SVI) در انتهای دوره آزمایش بعد از محاسبه طول گیاه‌چه و ریشه‌چه تعیین شد (Saravanakumar *et al.*, 2007) در این رابطه قوه نامیه، درصد جوانه‌زنی نهایی است. ضریب آلمتری هم از محاسبه نسبت طول ریشه‌چه به ساقه‌چه براساس رابطه ۵ به دست آمد.

رابطه (۵) طول ساقه‌چه / طول ریشه‌چه = ضریب آلمتری به منظور بررسی تأثیر اسید هیومیک بر پارامترهای فتوسنتزی، کشت گیاه ۲۵ عدد بذر، در پتری دیش) در تیمارهای قبلی در (آزمایش جدگانه) انجام گرفت. اعمال تیمارها در هفته اول به صورت روز در میان انجام گرفت و

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس صفات جوانانزی و موثرهای پذیر اسپر زه تحت غلظت‌های مختلف اسیدهای یوکس

Table 1. Results of analysis variance of germination and morphologic properties of *P. ovata* Forssk seeds under different humic acid application

منابع تغییرات Source of variation	درجه آزادی Degree of freedom	سرعت جوانانزی Germination rate	درصد جوانانزی Germination percentage	میانگین زمان جوانانزی Germination time	میانگین زمان جوانانزی Allometric coefficient	شاخص بیهه بذر Seed vigor index	طول رسنجه Radical length	وزن خشک رسنجه Pedicel dry weight	وزن خشک رسنجه Radical dry weight	وزن تر رسنجه Fresh weight	means square	
											میانگین مردلت Mean square	
اسید یوکس Humic acid	2	142.75**	76.44 ^{ns}	0.043 ^{ns}	192.91*	0.049*	14.31*	81.78***	0.006**	0.006**	0.005 ^{ns}	** and * significant at the 0.01 and 0.05 probability level respectively and ns means non-significant.
خطا Error	6	10.68	62.22	0.044	300.97	0.006	1.94	7.73	4.93	6.03	0.001	0.002

** and * significant at the 0.01 and 0.05 probability level respectively and ns means non-significant.

جدول ۲- مقایسه سرعت جوانانزی، درصد جوانانزی، میانگین زمان جوانانزی و شاخص بیهه گل‌چهه تحت غلظت‌های مختلف اسیدهای یوکس

Table 2. Comparison of germination rate, germination percentage, mean of germination time and seed vigor index under different humic acid application

اسید یوکس Humic acid (g/li)	شاخص بیهه Seed vigor index	میانگین زمان جوانانزی Germination time	درصد جوانانزی Germination percentage	سرعت جوانانزی Germination rate
0	4.05±1.49b	1.26±0.12a	84.00±0.58a	15.66±2.30b
1.5	7.93±1.32a	1.14±0.16a	85.33±6.11a	23.33±3.70b
30	11.30±0.90a	1.38±0.30a	93.33±6.11a	29.43±3.50a
Sig	0.032*	0.43n.s	0.35n.s	0.00**
F	6.42	0.976	1.22	13.30

n. s means non-significant.

در هر ستون نشاوت دو میانگین که دارای حروف مشترک نیستند از لحاظ اماری معنی دار است ($p<0.05$ میانگینها مترافق می‌باشند).

* و ** بهترتب وجود اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد و ۵ درصد. ns عدم اختلاف معنی دار

Values within a column followed by the same letters are not significantly different ($p>0.05$, means±SE). ** and * significant at the 0.01 and 0.05 probability level respectively and ns means non-significant.

جدول ۳- مقایسه میانگین شاخص‌های مورفولوژیک تحت غلظت‌های مختلف اسیدهای هیومیک

Table 3. Comparison of morphological indexes under different humic acid application

اسید هیومیک Humic acid (g/l)	اسیدهای هیومیک Humic acid (g/l)	وزن خشک ساقچه (گرم) Radical dry weight (g)	وزن خشک رشته‌چه (گرم) Radical fresh weight (g)	وزن ساقچه (گرم) Pedical dry weight (g)	وزن تر رشته‌چه (گرم) Pedical fresh weight (g)	وزن خشک رشته‌چه (گرم) Allometric weight (g)	ضریب الومتری Allometric coefficient	وزن تر رشته‌چه (گرم) Pedical length (mm)	طول رشته‌چه (میلی‌متر) Radical length (mm)
0	0.007±0.00b	0.012±0.00b	0.03a±0.137	0.25a±0.047	0.04b±0.33	1.89±3.19	2.10b±0.60		
15	0.021±0.00a	0.011b±0.016	0.03a±0.133	0.48a±0.098	0.09a±0.54	0.02a±3.60	3.58a±19.50		
30	0.026±0.00a	0.00a±0.091	0.03a±0.156	0.48a±0.13	0.07a±0.56	1.50±3.52	2.44a±19.70		
sig	0.035*	0.00**	0.67n.s	0.12n.s	0.02*	0.02*	0.01**		
F	6.184	98.47	0.414	3.01	8.10	7.35	10.56		

در متنوں ثابت دو میانگین که دارای حروف مشترک نیستند از لحاظ آماری معنی‌دار است (دسته میانگین‌ها با تحریف ممکن، *** و ** بهترین وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۰.۰۵ و ۰.۰۱، n.s عدم اختلاف معنی‌دار means non-significant).

جدول ۴- نتایج تجزیه واریانس رنگیزه‌های فتوسنتزی اسپرزا تحت غلظت‌های مختلف اسیدهای هیومیک

Table 4. Results of analysis variance of photosynthesis pigments of *P. ovata* Forsk under different humic acid application.

میانگین	مربعات	درجه آزادی	میانگین تغییرات	میانگین			
				Degree of freedom	a کلروفلن	b کلروفلین	کلروفیل کل
اسید هیومیک Humic acid		2	0.43**	Chlorophyll a	Chlorophyll b	Carotenoid	Total Chlorophyll
خواه Error		6	0.10	0.11**	0.11**	4406.03**	4406.03**
				0.04	0.04	300.53	300.53
						0.97	0.97

*** significant at the 0.01 probability level

** وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۰.۰۵

ضریب آلومتری نیز افزایش یافت. به طوری که بیشترین میانگین ضریب آلومتری در تیمار ۳۰ گرم در لیتر اندازه-گیری شد. ضریب آلومتری در تیمار ۳۰ گرم در لیتر در مقایسه با تیمار شاهد ۶۹/۶۹ درصد افزایش نشان داد.

تأثیر اسیدهیومیک بر رنگیزه‌های فتوسنتزی و کاروتوئینید

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۴) نشان داد که سطوح اسید هیومیک اعمال شده از لحاظ میزان رنگیزه‌های کلروفیلی تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد نشان دادند (سطح ۱ درصد). بر اساس نتایج حاصل از آزمایش و مقایسه میانگین‌های مربوط به اثر تیمارهای اسیدهیومیک (جدول ۵)، بیشترین و کمترین مقدار کلروفیل a، b و کلروفیل کل به ترتیب در سطوح ۳۰ گرم بر لیتر اسید-هیومیک و تیمار شاهد مشاهده گردید، به طوری که افزایش غلظت اسید هیومیک از صفر گرم در لیتر به ۳۰ گرم در لیتر به ترتیب سبب افزایش ۳۲/۹۷، ۵۷/۱۴ و ۳۸/۵۲ درصدی کلروفیل a و کلروفیل کل گردید.

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۴) نشان داد که میزان کاروتوئین بدین طور بسیار معنی‌داری تحت تأثیر تیمار اسیدهیومیک قرار گرفت (سطح ۱ درصد). بررسی مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در بین تیمارهای مذکور بیشترین میزان کاروتوئین در تیمار ۳۰ گرم بر لیتر اسید هیومیک و کمترین آن نیز در تیمار عدم کاربرد اسیدهیومیک مشاهده شد (جدول ۵). افزایش غلظت اسیدهیومیک به ۳۰ گرم در لیتر در مقایسه با تیمار شاهد منجر به افزایش ۵۹/۰۲ درصدی کاروتوئینید گردید.

نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که هرچند اسیدهیومیک بر میانگین زمان جوانه‌زنی اثر معنی-دار نداشت، اما بر شاخص بنیه بذر (سطح ۵ درصد) معنی-دار بود. بیشترین میانگین شاخص بنیه بذر مربوط به غلظت ۳۰ گرم بر لیتر اسیدهیومیک بود. در حالی که کمترین شاخص بنیه بذر مربوط به تیمار شاهد بود (جدول ۲)، با وجود عدم تفاوت معنی‌دار در میانگین زمان جوانه‌زنی بین تیمارهای مورد بررسی، کمترین میانگین زمان جوانه‌زنی در تیمار ۱۵ گرم در لیتر مشاهده گردید.

تأثیر اسیدهیومیک بر شاخص‌های مورفولوژی گیاه

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد (جدول ۱) که اسید هیومیک بر وزن خشک ریشه‌چه و طول ریشه‌چه (سطح ۱ درصد) و بر وزن خشک ساقه‌چه، طول ساقه‌چه و ضریب آلومتری (سطح ۵ درصد) معنی‌دار بود، ولی بر وزن تر ریشه‌چه و ساقه‌چه اثر معنی‌داری نداشت. بیشترین مقدار طول ریشه‌چه مربوط به غلظت ۳۰ گرم در لیتر بود که در مقایسه با تیمار شاهد ۸۵/۸۴ درصد افزایش نشان داد (جدول ۳).

در مورد وزن خشک و طول ساقه‌چه هم بیشترین و کمترین مقدار در غلظت‌های ۳۰ گرم در لیتر و شاهد محاسبه گردید (جدول ۳). بیشترین مقدار وزن خشک ریشه‌چه در غلظت ۳۰ گرم در لیتر و کمترین میزان در تیمار شاهد به دست آمد. همچنین بیشترین مقدار طول ساقه‌چه مربوط به غلظت ۱۵ گرم در لیتر و کمترین آن مربوط به تیمار شاهد بود. بیشترین مقدار وزن خشک ساقه‌چه مربوط به غلظت ۳۰ گرم در لیتر و کمترین آن مربوط تیمار شاهد بود. با افزایش غلظت اسیدهیومیک

جدول ۵- مقایسه رنگیزه‌های فتوسنتزی تحت غلظت‌های مختلف اسیدهیومیک

Table 5. Comparison of photosynthesis pigments under different humic acid application

اسید هیومیک Humic acid (g/li)	کاروتوئینید Carotenoid	کل کلروفیل Total Chlorophyll	b کلروفیل Chlorophyll b	a کلروفیل Chlorophyll a
0	52.55±3.20c	1.22±0.90c	0.28±0.01c	0.94±0.20c
15	66.45±4.12b	1.45±1.49b	0.36±0.01b	1.08±0.30b
30	83.78±5.26a	1.69±1.32a	0.44±0.01a	1.25±0.30a
Sig	**0.00	0.01**	**0.01	0.01**
F	0.76	4.40	1.24	11.00

در هر ستون تفاوت دو میانگین که دارای حروف مشترک نیستند از لحاظ آماری معنی‌دار است (p<0.05، میانگین‌ها ± انحراف میانگین)، ** و * به ترتیب وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد و ۵ درصد

Values within a column followed by the same letters are not significantly different ($p < 0.05$, means \pm SE). ** and * significant at the 0.01 and 0.05 probability level respectively

بحث

کاربرد اسید هیومیک در غلظت‌های به کار رفته در این آزمایش سبب تحریک شاخص‌های جوانه‌زنی اسفرزه شد. استفاده از اسید هیومیک سبب شد تا سرعت جوانه‌زنی بذور گیاه افزایش معنی‌داری نشان دهد. در این خصوص لی و بارلت نشان دادند که مواد هیومیکی توانایی افزایش سرعت جوانه‌زنی را در گونه‌های گندم و بولاف دارد (Lee and Bartlett, 1976). همچنان پیکولو و همکاران گزارش کردند که سرعت جوانه‌زنی بذور کاهو و گوجه فرنگی تیمارشده با اسید هیومیک استخراج شده از لیگنیت اکسید-شده افزایش یافت (Piccolo et al., 1993). سبزواری و همکاران (۱۳۸۸) بیان کردند غلظت ۵۴ میلی‌گرم بر لیتر اسید هیومیک منجر به افزایش سرعت جوانه‌زنی گردید (Sabzevari et al., 2009). اسید هیومیک بهدلیل دارا بودن وزن مولکولی کم، سریع جذب بذر شده و باعث افزایش جذب عناصر غذایی مانند نیتروژن و فسفر نسبت به تیمار شاهد می‌شود (Asenjo et al., 2000) و در نتیجه Piccolo et al., 1993).

درصد جوانه‌زنی بذور گیاه مورد مطالعه تحت تأثیر غلظت‌های مختلف اسید هیومیک قرار نگرفت. شاید بتوان دلیل این که اسید هیومیک بر درصد جوانه‌زنی بذر گیاه مورد مطالعه اثر معنی‌دار نداشت را در این دانست که بذر گیاه نداشت، بهطوری که در تیمار شاهد درصد جوانه‌زنی برابر ۱۰۰ درصد بود. در این خصوص پیکلو و همکاران گزارش کردند که در غلظت‌های ۴۰ تا ۵۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید هیومیک، افزایش معنی‌داری در درصد جوانه‌زنی بذور گوجه فرنگی و کاهو ایجاد نشد (Piccolo et al., 1993).

نتایج مقایسه میانگین در سطوح مختلف استفاده از اسید هیومیک حاکی از تاثیر معنی‌دار آن بر میانگین زمان جوانه‌زنی بود. دلایل عدم پاسخ‌گویی مشبت اسید هیومیک بر میانگین زمان لازم بر جوانه‌زنی بذور گیاه اسفرزه می‌تواند بهدلیل نوع ماده هیومیک مورد استفاده و یا بهدلیل عدم واکنش‌پذیری بذور این گیاه نسبت به اسید هیومیک باشد (Shahsavani Markade and Chamani, 2014).

در تحقیق حاضر نیز شاخص بنیه بذور تحت تأثیر غلظت ۳۰ گرم بر لیتر اسید هیومیک افزایش یافت. سبزواری

و همکاران (Sabzevari et al., 2009) ثابت کردند غلظت ۵۴ میلی‌گرم بر لیتر اسید هیومیک باعث افزایش معنی‌دار شاخص بنیه بذور گندم شد. همچنان تورکمن و همکاران در آزمایشی اثر اسید هیومیک و کلسیم روی جوانه‌زنی بذور گوجه‌فرنگی را مورد بررسی قرار دادند نتایج آزمایش نشان داد که اسید هیومیک رشد و محتوی نیتروژن و کلسیم گیاه‌چه و میزان نیتروژن و پتانسیم ریشه‌چه را افزایش داد (Türkmen et al., 2004). مکانسیم عمل مواد هیومیکی بر تحریک جوانه‌زنی گیاهان مختلف به طور دقیق مشخص نیست، ولی در برخی منابع بر دو اثر مستقیم (تولید و عمل Nardi et al., 2002) و غیرمستقیم (جذب بهتر عناصر غذایی) اسید هیومیک بر جوانه‌زنی (Chen and Aviad, 1990) برخی دیگر و رشد گیاه اشاره شده است.

کاربرد اسید هیومیک توانست طول ریشه، وزن تر و خشک ریشه را افزایش دهد. در این زمینه کوردیرو و همکاران تاثیر اسید هیومیک را بر روی رشد ریشه ذرت مورد بررسی قرار دادند و دریافتند اسید هیومیک با غلظت ۳ میلی‌مolar در حضور غلظت‌های کم و زیاد نیترات می‌تواند باعث توسعه ریشه ذرت شود و نسبت وزن تر و خشک ریشه را افزایش دهد (Cordeiro et al., 2011). Tan و Tantiwigaramond تاثیر اسید هیومیک و اسید فولویک را در کشت بر روی بستر شن بر روی رشد سویا، بادام زمینی و شبدیر بررسی کردند، آن‌ها دریافتند که وزن ریشه و گره‌ها در پاسخ به مقادیر ۴۰۰ تا ۸۰۰ میلی‌گرم اسید هیومیک افزایش یافت (Tan and Tantiwigaramond, 1983). دلیل افزایش وزن خشک اندام زیرزمینی را با کاربرد اسید-هیومیک به این دلیل می‌توان دانست که اسید هیومیک موجب افزایش کلروفیل و در پی آن افزایش فتوسنتر و ماده خشک تولیدی در گیاه می‌شود و یا به عبارتی می‌توان گفت که اسید هیومیک با اثرات شبه هورمونی که دارد موجب افزایش رشد ریشه و بالطبع افزایش وزن خشک ریشه می‌شود (Ghasemi et al., 2012). مصرف اسید هیومیک موجب افزایش طول ساقه‌چه، وزن تر و خشک آن گردید. بهطوری که در مقایسه با تیمار شاهد صفات مذکور از وضعیت بهتری برخوردار بودند. ایهراگیوبیل و همکاران اثر اسید هیومیک را بر جوانه‌زنی بذر ذرت مورد بررسی قرار دادند (Eyheraguibel et al., 2008). آن‌ها دریافتند که اسید هیومیک می‌تواند موجب رشد ساقه اصلی گیاه گردد.

(1997)، تحریک تجمع زیستتوده در گیاهان (Zachariakis *et al.*, 2001)؛ تحریک تجمع نیتروژن و تحریک جذب عناصر غذایی معدنی (Zachariakis *et al.*, 2001؛ Rauthan and Schnitzer., 1981؛ 2001) می‌باشد. در بین عناصر غذایی، نیتروژن سهم مهمی در افزایش سبزینه گیاه دارد. احتمالاً با فعال شدن فرآیندهای فیزیولوژیکی، کلروفیل‌سازی افزایش یافته که در پی آن بهبود فرایند فتوسنترز در مقایسه با شاهد اتفاق می‌افتد. با توجه به نتایج کاسر و آزم مبنی بر افزایش قابل توجه جذب نیتروژن در حضور اسیدهیومیک، می‌توان چنین استنباط کرد که اسیدهیومیک مورد استفاده در این پژوهش، توانسته است باعث افزایش جذب عناصر مغذی، بهخصوص نیتروژن، و بهدلیل آن افزایش سبزینگی گیاه شود (Azam and Kausar, 1985). تجاد و گنزالز با محلول‌پاشی اسیدهای آمینه و مقایسه آن با محلول‌پاشی اسیدهیومیک، مشاهده کردند که میزان غلظت کلروفیل و کاروتونئید ساقه‌های خوراکی مارچوبه، اغلب عناصر ماکرو و میکرو و نیز عملکرد مارچوبه‌ها افزایش یافت (Tejada and Gonzalez, 2003). سبزواری و خزاعی نشان دادند که اسیدهیومیک باعث افزایش معنی‌دار کلروفیل در گیاه گندم شد (Sabzevaria and Khazaie, 2009).

آزمایشات نشان داد که با کاربرد ترکیبات هیومیکی رشد ریشه بیشتر از ساقه تحت تأثیر قرار می‌گیرد (Malik *et al.*, 1979). افزایش وزن ریشه نقش مهمی در حفظ محتوی مواد آلی در خاک‌های با حاصل‌خیزی کم ایفا می‌کند و بنابراین هرگونه افزایش در پروفیل ریشه و بهبود سرعت در جوانه‌زنی در دسترسی بهتر به عناصر خاک و در نتیجه افزایش میزان کلروفیل گیاه و در نهایت Liu and Cooper, 2000 بهبود استقرار اسفرزه نتیجه خواهد داد (Cooper, 2000). کلروفیل‌ها نسبت به اکسیداسیون و بازدارندگی نوری حساس می‌باشند. کارتوئیدها نیز به عنوان آنتی‌اکسیدان و حفاظت‌کننده از کلروفیل‌ها در گیاهان عمل می‌کنند (Ramandant *et al.*, 2005). فرارا و همکاران اعلام کردند که اسیدهیومیک سبب افزایش رشد ریشه و میزان کلروفیل و رنگیزه‌های فتوسنترزی مانند کارتوئیدها در برگ‌ها می‌شود (Ferrara *et al.*, 2008).

گالسر و همکاران تاثیر اسیدهیومیک را بر روی فلفل بررسی نمودند نتایج تحقیق آن‌ها نشان داد که وزن تر و خشک برگ و ساقه تحت تأثیر هیومیک اسید باعث افزایش آن‌ها می‌شود (Gulser *et al.*, 2010). یولکان گزارش کرد که ارتفاع ساقه از صفاتی است که بیشترین پاسخ را به اسیدهیومیک نشان می‌دهد (Ulukan, 2008). در آزمایشی شریف گزارش کردند که وزن خشک گیاه ذرت به طور معنی‌داری در ۱۵۰ میلی‌گرم اسیدهیومیک در کیلوگرم خاک افزایش یافت (Sharif, 2002). ممکن است که اثر تسریع‌کنندگی مواد هیومیک روی رشد ساقه در درجه اول به‌خاطر تأثیر بر فعالیت H^+ -ATPase ریشه و توزیع نیترات ریشه و ساقه بوده که به نوبه خود منجر به تغییرات در توزیع مشخص سیتوکنین‌ها، پلی‌آمین‌ها و ABA می‌شود. بنابراین، روی رشد ساقه تأثیر می‌گذارد (Rubio *et al.*, 2009).

نتایج تجزیه واریانس نشان از تاثیر معنی‌دار اسیدهیومیک بر ضریب آلمتری بذر گیاه داشت. کواسر و آزم طی آزمایشی روی گندم دریافتند که محلول‌پاشی اسیدهیومیک به میزان ۵۴ میلی‌گرم در لیتر، ۵۰٪ افزایش در طول ریشه و ۲۲ درصد افزایش در ماده خشک را به همراه داشت (Kausar and Azam, 1985). در آزمایش بر روی یک زیرگونه زیتون با کاربرد ۰، ۲۰۰ تا ۱۰۰۰ میلی‌گرم اسیدهیومیک در گلدان به همراه ترکیبات کودی نشان دادند که اسیدهیومیک نسبت ریشه به اندام هوایی را بیشتر از وزن ریشه افزایش می‌دهد (Tattini *et al.*, 1990). جوتز و همکاران اظهار داشتند اسیدهیومیک خاصیت شبیه هورمونی دارد و سبب افزایش حجم ریشه و در نتیجه جذب بیشتر عناصر غذایی می‌شود، از طرفی می‌توان گفت اسیدهیومیک به سبب زیاد بودن ظرفیت تبادل کاتیونی، سبب در اختیار قرار دادن عناصر مفید و دفع عناصر سمی و فلزات سنگین در ریشه گیاهان می‌شود (Jones *et al.*, 2004).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که سطوح اسیدهیومیک اعمال شده از لحاظ میزان رنگیزه‌های کلروفیلی تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد نشان دادند. بیشترین و کمترین مقدار کلروفیل رنگیزه‌های کلروفیلی به ترتیب در سطوح ۰ و ۳۰ گرم بر لیتر اسیدهیومیک مشاهده گردید.

مهم‌ترین آثار بیولوژیک اسیدهیومیک بر موجودات زنده شامل تحریک جوانه‌زنی بذر و رشد (Young and Chen,

نتیجه‌گیری

بهبود کمی و کیفی محصولات زراعی و باگی و همچنین کاهش مصرف کودهای شیمیایی و کاهش آلودگی محیط زیست شود. لذا پیشنهاد می‌گردد غلظت‌های بالاتر اسید-هیومیک در سایر گیاهان مورد مطالعه قرار گیرد. همچنین با توجه به بررسی‌های اندک صورت گرفته در زمینه تأثیر اسیدهیومیک بر گیاهان دارویی و تأثیر مثبت این ماده بر رشد گیاهان دارویی مورد مطالعه، پیشنهاد می‌گردد تأثیر این ماده را بر رشد سایر گیاهان دارویی، مورد بررسی قرار داد.

بهطورکلی نتایج این مطالعه نشان داد که پیش‌تیمار بذر با اسیدهیومیک تأثیر مناسبی بر خصوصیات جوانه‌زنی اسپرژه داشت. نتایج نشان دادند در بین غلظت‌های مختلف پیش‌تیمار ۳۰ گرم بر لیتر اسیدهیومیک بیشترین تأثیر را بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذور گیاه و افزایش رنگیزه‌های فتوسنترزی آن داشت. از آن‌جا که زراعت گیاهان دارویی با کودهای آلی و شیمیایی تاثیرات مضری بر ماده موثره گیاهان دارویی دارد، کاربرد اسیدهیومیک می‌تواند سبب

منابع

- Arnon, D.I. 1949. Copper enzyme polyphenoloxides in isolated chloroplast in *Beta vulgaris*. Plant Physiology, 24: 1-15. (**Journal**)
- Asenjo, M.C.G., Gonzalez, J.L. and Maldonado, J.M. 2000. Influence of Humic extracts on germination and growth of ryegrass. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 31(2): 101-114. (**Journal**)
- Azam, F. and Kauser, K.A. 1983. Effect of humic acid soaking on seedling growth of wheat (*Triticum aestivum L.*) under different conditions. Pakistan Journal of Botany, 15(1): 31-38. (**Journal**)
- Behbodian, B., Lahouti, M. and Nezami, A. 2005. Effects evaluation of salt stress on germination of chickpea varieties. Agriculture, 28(2): 127-137. (**In Persian**) (**Journal**)
- Blumenthal, M., Goldberg, A. and Brinckmann, J. 2000. Herbal Medicine: Expanded commission E monographs. Integrative Medicine Communication. USA. (**Book**)
- Chen, Y. and Aviad, T. 1990. Effects of humic substances on plant growth. Soil Science Society of American Journal, 161-186. (**Journal**)
- Cordeiro, F.C., Catarina, C.S., Silveira, V. and De Souza, S.R. 2011. Humic acid effect on catalase activity and the generation of reactive oxygen species in corn (*Zea mays*). Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 75(1): 70-74. (**Journal**)
- Ellis, R.H. and Roberts, E.H. 1981. The quantification of ageing and survival in orthodox seeds. Seed Science and Technology, 9(2): 377-409. (**Journal**)
- 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(5): 10-25. (**Journal**)
- Ferrara, G., Pacifico, A., Simeone, P. and Ferrara, E. 2008. Preliminary study on the effects of foliar applications of humic acids on 'Italia' table grape. Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin, 42: 79-87. (**Journal**)
- Ghasemi, A., Tavakalo, M.R. and Zabihi, H.R. 2012. Effect of nitrogen, potassium and humic acid on vegetative growth, nitrogen and potassium uptake of potato minituber in greenhouse condition. Journal of Agriculture and Plants Breeding, 8(1): 39-56. (**In Persian**) (**Journal**)
- Griffe, P., Metha, S. and Shankar, D. 2003. Organic production of medicinal, aromatic and dye-yielding Plants (MADPs): Forward, Preface an Introduction. FAO, 32-43. (**Handbook**)
- Gulser, F., Sonmez, F. and Boysan, S. 2010. Effects of calcium nitrate and humic acid on pepper seedling growth under saline condition. Journal of Environmental Biology, 31(5): 873-876. (**Journal**)
- Jones, C.A., Jacobsen, J.S. and Mugaas, A. 2004. Effects of humic acid on phosphorus availability and spring wheat yield. Facts Fertilizer, 32-41. (**Journal**)
- Kauser, A. and Azam, F. 1985. Effect of humic acid on wheat seedling growth. Journal Environmental and Experimental Botany, 25: 245-252. (**Journal**)
- Lee, Y.S. and Bartlett, R.J. 1976. Stimulation of plant growth by Humic substances. Soil Science, 40: 876-879. (**Journal**)

- Liu, C. and Cooper, R.J. 2000. Humic substances influence creeping bent grass growth. *Golf Course Management*, 49-53. (**Journal**)
- Malik, K.A., Bhattacharjee, A. and Kauser, F. 1979. Effect of soil salinity on the decomposition and humification of organic matter by cellulolytic fungi. *Mycologia*, 71(9): 811-820. (**Journal**)
- Mereddy, R., Hallgren, Y. and Conway, K.E. 2000. Solid matrix priming improves seedling vigor of Okra seeds. *Proceedings of the Oklahoma Academy of Science*, 80: 33-37. (**Conference**)
- Michael, K. 2001. Oxidized lignites and extracts from oxidized lignites in agriculture. *Soil Sciences*, 1-23. (**Handbook**)
- Nardi, S., Pizzeghello, D., Muscolo, A. and Vianello, A. 2002. Physiological effects of humic substances on higher plants. *Soil Biology and Biochemistry*, 34: 1527-1536. (**Journal**)
- Piccolo, A., Celanoand, G. and Pietramellara, G. 1993. Effects of fractions of coal-derived humic substances on seed germination and growth of seedlings (*Lactuca sativa* and *Lycopersicon esculentum*). *Biology and Fertility of Soils*, 16: 11-15. (**Journal**)
- Ramandant, M.F. 2005. Nutritional value, functional properties and nutraceuticals applications of black cumin (*Nigella sativa* L.): an overview. *International Journal of Food Science and Technology*, 42: 1208-1218. (**Journal**)
- Rauthan, B.S. and Schnitzer, M. 1981. Effects of a soil fulvic acid on the growth and nutrient content of cucumber (*Cucumis sativus*) plants. *Plant Soil*, 63: 491-495. (**Journal**)
- Rubio, V., Bustos, R., Irigoyen, M.L., Cardona-Lopez, X., Rojas-Triana, M. and Paz-Ares, J. 2009. Plant hormones and nutrient signaling. *Plant Molecular Biology*, 69(4): 361-73. (**Journal**)
- Sabzevari, S., Khazaie, H.R. and Kafi, M. 2009. Effect of humic acid on root and shoot growth of two wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Water and Soil*, 23 (2): 87-94. (In Persian) (**Journal**)
- Safarnejad, A., Salami, M.R. and Hamidi, H. 2007. Morphological characterization of medicinal plants (*Plantago ovata*, *Plantago psyllium*) in response to salt stress. *Pajouhesh and Sazandegi*, 75: 152-160. (In Persian) (**Journal**)
- Saravanakumar, D., Vijayakumar, C., Kumar, N. and Samiyappan, R. 2007. PGPR-induced defense responses in the tea plant against blight disease. *Crop Protection*, 26: 556-565. (**Journal**)
- Shahsavari Markadeh, M. and Chamani, E. 2014. Effects of variations concentrations and time of humic acid application on quantitative characteristics of cut stock flower (*Matthiola incana* Hanza). *Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture*, 19: 157-170. (In Persian) (**Journal**)
- Shariff, M. 2002. Effect of lignitic coal derived HA on growth and yield of wheat and maize in alkaline soil. Ph.D Dissertation, NWFP Agriculture University Peshawar, Pakistan. (**Thesis**)
- Tan, K.H. and Tantiwiramanond, F. 1983. Effect of Humic acids on nodulation and dry matter production of soybean, peanut and clover. *Soil Science Society of American Journal*, 47: 1121-1124. (**Journal**)
- Tattini, M., Chiarini, A., Tafani, R. and Castagneto, M. 1990. Effect of humic acids on growth and nitrogen uptake of container grown Olive. (*Olea europaea* L.) 'MAURINO'. *Acta Horticulturae*, 286: 125-128. (**Journal**)
- Türkmen, Ö., Dursun, A., Turan, M. and Erdinç, Ç. 2004. Calcium and humic acid affect seed germination, growth, and nutrient content of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) seedlings under saline soil conditions. *Acta Agriculturae Scandinavica*, 7: 168-174. (**Journal**)
- Ulukan, H. 2008. Effect of soil applied humic acid at different sowing times on some yield components in wheat hybrids. *International Journal of Botany*, 4(3): 164-175. (**Journal**)
- Verlinden, G.T., Coussens, A., Vliegher, D. and Baert, 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. (**Journal**)
- Wiese, A. and Larry Binning, K. 1987. Calculating the threshold temperature of development for weeds. *Weed Science*, 35: 177-179. (**Journal**)
- Xuanyuan, G., Xiaorong, W., Zhimany, G., Lemei, D. and Yijun, C. 2001. Effect of hemic acid speciation and bioavailability to wheat of rare earth elements in soil. *Chemical Speciation and Bioavailability*, 13(3): 83-88. (**Journal**)
- Young, C.C. and Chen, Y. 1997. Polyamines in humic acid and their effect on radical growth of lettuce seedlings. *Plant Soil*, 195: 143-149. (**Journal**)

Zachariakis, M., Tzorakakis, E., Kritsotakis, I., Siminis, C.I. and Manios, V. 2001. Humic substances stimulate plant growth and nutrient accumulation in grapevine rootstocks. *Acta Horticulturae*, 549: 131-13. (**Journal**)

Investigation effect of humic acid on germination, seedling growth and photosynthesis pigments of medicinal plant Isabgol (*Plantago ovata* Forssk)

Mahdieh Ebrahimi^{*1}, Elham Miri Karbasak²

Received: August 31, 2015

Accepted: November 2, 2015

Abstract

The study was conducted to investigate the effect of humic acid on germination indexes and photosynthesis pigments of medicinal plant *Plantago ovata* Forssk in a completely randomized design. Experimental treatments comprised the following dosage 0, 15, 30 g Li⁻¹. Results relieved that humic acid had significantly effect on germination rate and seed vigor index. The highest and the lowest germination rate, the highest and the lowest seed vigor index were measured in dose of 30 gLi⁻¹ and the control treatment respectively, while humic acid was not effective on germination percentage and mean of germination time. Humic acid showed significant effect on radical length and dry weight (p<1%), length and pedicel dry weight, and allometric coefficient (p<5%), however seedlings were not different significantly in radical and pedical fresh weight in response to humic acid. The highest and the lowest radical length, the highest and the lowest radical dry weight, the highest and the lowest pedicel dry weight were measured in dose of 30 gLi⁻¹ and the control treatment respectively. The highest pedicel length was related to dose of 15 gLi⁻¹ and the lowest was observed in the control treatment. The highest allometric coefficient was obtained in 30 gLi⁻¹ dosage. The best effect on chlorophyll pigments was obtained in dose of 30 gLi⁻¹. The highest and lowest chlorophyll a, chlorophyll b and total chlorophyll were observed in 30 and 0 gLi⁻¹ respectively. In general, results showed that humic acid in dose of 30 gLi⁻¹ was effective to enhancing quality of *P. ovata* Forssk.

Key words : Germination rate, Humic acid, Medicinal plants, Seed vigor index

1. Assistant Professor, Rangeland and Watershed Department, Faculty of Agricultural Sciences, Zabol University, Zabol, Iran

2. MSc. of Range Manaement, Rangeland and Watershed Department, Faculty of Agricultural Sciences, Zabol University, Zabol, Iran

*Corresponding author: maebrahim2007@yahoo.com