مجله علوم و فنون باغبانی ایران جلد ۲۳ شماره ۲ صفحه‌های ۱۹۱ تا ۲۰۴ (۱۴۰۱)
مقاله پژوهشی

تاثیر هیومیک اسید و قارچ مایکوریز بر برخی ویژگی‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک ژربرا [۱]

Effects of Humic Acid and Mycorrhizal Fungus on Some Morphological and Physiological Characteristics of *Gerbera Jamesonii* 'Dune'

هاجر آفرین، زهره جبارزاده* و محسن برین[۳]

چکیده

به‌منظور بررسی اثر هیومیک اسید و قارچ مایکوریز بر رشد ژربرا رقم دانی، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح به طور کامل تصادفی با دو فاکتور و سه تکرار در شرایط کشت هیدروپونیک اجرا شد. فاکتور اول، شامل هیومیک اسید در ۴ غلظت صفر (شاهد)، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر به‌صورت کاربرد در محیط‌کشت و فاکتور دوم، دو سطح قارچ مایکوریز (بدون مایکوریز و مایکوریزدار) به‌صورت مایه‌زنی ریشه بود. ویژگی‌هایی مانند تعداد برگ، قطر وردمان، وزن تر و خشک ریشه، قطر گل، قطر و تعداد ساقه گلدهنده، زمان از ظاهرشدن غنچه تا شکوفایی گل، میزان فنول کل، درصد آلودگی ریشه با قارچ و همین طور فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز و پراکسید هیدروژن اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان دادند که تیمارهای هیومیک اسید و قارچ مایکوریز باعث افزایش در تعداد برگ، قطر وردمان و وزن تر و خشک ریشه و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش زمان از ظهور غنچه تا شکوفایی نسبت به گیاهان تیمار نشده شدند. میزان فنول در اثر کاربرد غلظت‌های ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر هیومیک اسید و مایکوریز افزایش معنی‌داری نسبت به گیاهان شاهد داشت. کاربرد همزمان هیومیک اسید و مایکوریز در بهبود برخی ویژگی‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک ژربرا کارا بودند و کاراترین تیمار، کاربرد هیومیک اسید ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر به همراه مایکوریز بود.

واژه‌های کلیدی: آسکوربات پراکسیداز، آلودگی ریشه، پراکسیدهیدروژن، ژربرا، فنول کل.

مقدمه

ژربرا گیاهی علفی، چند ساله و از تیره کلاهپرک‌سانان[۳] می‌باشد که در بیشتر نقاط دنیا به‌عنوان گیاه زینتی پرورش داده می‌شود. البته در مناطق سردسیر، این گیاه در گلخانه نگهداری می‌شود این گیاه، ساقه بسیار کوتاهی دارد و برگ‌ها به حالت وردمان (Rosette) هستند و در نزدیکی سطح خاک رشد می‌کنند (۲۸).

قارچ‌های مایکوریز آربسکولار توانایی هم‌زیستی با گیاهان را دارند و باعث بهبود جذب آب و مواد مغذی در گیاهان میزبان می‌شوند. مایه‌زنی ریشه گیاهان با قارچ مایکوریز کمک می‌کند تا آن‌ها بتوانند به طور مستقیم یا غیرمستقیم در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی مقاومت کنند. تلقیح ریشه گیاهان با مایکوریز، سبب چندین تغییر مثبت فیزیولوژیکی و بیوشیمایی در گیاه میزبان می‌شود. اثرهای مثبت تلقیح مایکوریزی از جمله، مقاومت در برابر آفت‌ها، بیماری‌زاها و یا انگل‌های ساقه و ریشه در بسیاری از گونه‌های مهم کشاورزی توصیف شده است (۱۸). افزون بر این، مایکوریزهای خاک باعث تقویت تنظیم کننده‌های

۱- تاریخ دریافت: ۹۹/۱۰/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۶/۲۶

۲- به‌ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گیاهان زینتی، دانشیار گروه علوم باغبانی و دانشیار گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

*نویسنده مسئول، پست الکترونیک: (z.jabbarzadeh@urmia.ac.ir)

۳- Asteraceae

رشد گیاهی می‌شوند و سازوکارهای دفاعی برای گیاهان فراهم می‌کنند، فعالیت‌های آنزیمی را تنظیم می‌کنند و سرعت فتوسنتز را افزایش می‌دهند. افزایش رشد در رابطه همزیستی مایکوریز و گیاه، توسط تعداد زیادی از مکانیسم‌ها در شرایط مختلف قابل توصیف است. این مکانیسم‌ها شامل رهاسازی متابولیت‌ها، هورمون‌های گیاهی، اسیدهای آمینه، ویتامین‌ها، فرایندهای معدنی شدن و حل شدن می‌باشند. تلقیح مایکوریزی، افزون بر فراهم نمودن مواد مغذی، رشد و نمو گیاهان را نیز بهبود می‌بخشد و منجر به انباشت متابولیت‌های ثانویه می‌شود (۶).

هیومیک اسید مهمترین جزء اصلی مواد آلی تجزیه شده است. لئوناردیت[۱] بهترین منبع برای هیومیک اسید است و با استفاده از محلول قلیایی استخراج می‌شود. این ترکیب آلی باعث انگیزش سیستم آنتی اکسیدانی (پلی‌فنول، کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز و گلوتاتیون S ترانسفراز) و همچنین افزایش محتوای آنزیم‌ها در گیاهانی که در معرض هیومیک اسید قرار دارند می‌شود (۹). در آزمایشی که به منظور بررسی اثر ورمی کمپوست در پنج سطح صفر، ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ درصد و هیومیک اسید در سه سطح ۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر روی رز رقم پلار استار[۲] انجام شد، مشاهده گردید که با افزایش غلظت هیومیک اسید از صفر به ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر ویژگی‌های کیفی گل، طول و قطر ساقه، وزن تر و خشک ساقه، وزن تر و خشک برگ و نیز قطر گل بهبود یافت، اما ماندگاری گل زیر تاثیر قرار نگرفت (۱۲). وجود هیومیک اسید در خاک، رشد ریشه را تحریک می‌کند. افزون بر این، تحریک ریشه‌زایی و انشعاب‌های ریشه را تا حدودی می‌توان به افزایش جذب عناصر غذایی نسبت داد. تحریک رشد ریشه توسط مواد هیومیکی، بیشتر از رشد شاخساره می‌باشد (۱۳). در مطالعه‌ای جهت بررسی رشد و تولید گیاه چای ترش[۳] به وسیله مخمر در پنج سطح ۰، ۲، ۴، ۶ و ۸ گرم در لیتر و کاربرد هیومیک اسید به صورت محلول‌پاشی در سه سطح ۰، ۱ و ۲ گرم در لیتر، نتایج نشان داد که ترکیب مخمر و هیومیک اسید بر افزایش تولید تأثیر مثبت داشت و باعث افزایش ارتفاع گیاه، قطر ساقه، تعداد شاخه، تعداد میوه و عملکرد گیاه در مقایسه با گیاهان شاهد شد. همچنین در این پژوهش، کلروفیل کل، کربوهیدرات‌ها و محتوای آنتوسیانین با استفاده از مخمر و هیومیک اسید افزایش یافت (۱۱). همچنین، براساس نتایج حاصل از پژوهش Elmongy و همکاران (۱۰) با عنوان اثر هیومیک اسید بر سطوح هورمون‌های درون‌زا و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در آزاله همیشه سبز[۴] در شرایط کشت درون شیشه‌ای، نشان داد که هیومیک اسید منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز شد. آن‌ها چنین گزارش کردند که تاثیر هیومیک اسید بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به دلیل نقش هیومیک اسید به عنوان آنتی اکسیدان، فعالیت شبه هورمونی و توانایی هیومیک اسید در حذف رادیکال‌های آزاد می‌باشد. در مطالعه‌ای روی همیشه بهار[۵]، کاربرد هم‌زمان قارچ مایکوریز و تفاله شیرین‌بیان (به‌عنوان کود آلی) ویژگی‌های مورفولوژیک، میزان کلروفیل، آلودگی ریشه با قارچ، مقدار جذب عناصر نیتروژن، فسفر و پتاسیم گیاهان مایکوریزی در مقایسه با گیاهان غیر مایکوریزی به‌طور معنی‌داری بیشتر بود (۳۶). در پژوهشی روی دو رقم ژربرای بریدنی رقم‌های مالیبو[۶] و اورنج اوینو[۷] نتایج نشان داد تلقیح مایکوریز در چهار سطح ۰، ۳، ۵ و ۷ درصد در بستر کوکوپیت باعث افزایش وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه شد و مقدار کلروفیل افزایش پیدا کرد (۲۰). با توجه به موارد بالا، هدف از پژوهش حاضر، بررسی تاثیر تلقیح قارچ مایکوریز و کاربرد هیومیک اسید در بستر کشت بدون خاک بر ویژگی‌های کمی و کیفی گل ژربرا بود.

مواد و روش‌ها

به‌منظور انجام پژوهش حاضر، نشاء کشت بافتی ژربرا رقم دانی، در گلدان‌هایی با حجم ۷ لیتر، ارتفاع و قطر گلدان به‌ترتیب ۱۹ و ۲۴ سانتی‌متر در شرایط هیدروپونیک در بستری آمیخته از پیت‌ماس (۶۵ درصد)، پرلایت (۳۰ درصد) و کوکوپیت (۵ درصد) در گلخانه‌های پژوهشی و تولیدی دانشگاه ارومیه در سال ۱۳۹۸کشت شدند. دمای روزانه گلخانه ۲۵-۲۰ و دمای شب ۱۳-۱۶ درجه سلسیوس و شدت نور $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$ ۴۰۰-۵۰۰ بود. تغذیه نیز سه بار در هفته و بر اساس ترکیب محلول غذایی که در جدول ۱ آورده شده است، انجام شد. لازم به ذکر است که عناصر میکرو نیز با غلظت مشخص به محلول غذایی اضافه می‌شدند. این پژوهش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح به طور کامل تصادفی با سه تکرار، هر تکرار شامل سه گلدان و هر گلدان حاوی یک گیاه به‌صورت گلدانی و در گلخانه اجرا شد. فاکتور اول دربرگیرنده چهار سطح مختلف هیومیک اسید از منبع

۱- Leonardite ۲- Plar Star ۳- *Hibiscus sabdariffa* ۴- *Rhododendron indicum*
۵- *Calendula officinalis* ۶- Malibu ۷- Orenge Oino

لئوناردیت ۸۵ درصد (صفر، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) به‌صورت کاربرد در محیط کشت بود. فاکتور دوم، در دو سطح قارچ مایکوریز (بدون مایکوریز و مایکوریزدار) به‌صورت تلقیح ریشه به کار رفت. تیمار هیومیک اسید، دو هفته بعد از استقرار نشاها، هر ۱۵ روز یکبار و به مدت ۳ ماه اعمال شد.

جدول ۱- برنامه غذایی مورد استفاده برای گیاهان ژربرا (*Gerbera Jamesonii* 'Dune') جهت تهیه ۱۰۰۰ لیتر محلول.

Table 1. Nutritional program used for gerbera (Used for making 1000 liters of solution).

آمونیوم کلسیم نیترات $5Ca(NO_3)_2$-NH_4NO_3. $10H_2O$	کلات آهن ۶ درصد Fe chelate 6%	سولفات پتاسیم K_2SO_4	مونوآمونیم فسفات MAP	نیترات آمونیم NH_4NO_3	نیترات پتاسیم KNO_3	نیترات منیزیم $Mg(NO_3)_2$
75 g	20 g	87 g	38.33 g	120 g	493 g	210 g

دو هفته بعد از پایان مدت زمان اعمال تیمارها، شاخص‌های تفاوت تعداد برگ و ساقه گلدهنده با شمارش، قطر وردمان و گل با خط‌کش، قطر ساقه گلدهنده با کولیس دیجیتالی، وزن تر و خشک ریشه با ترازوی دیجیتالی (با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم) و فاصله زمانی غنچه تا باز شدن کامل گل‌ها با شمارش روزها اندازه‌گیری شد. برای تعیین میزان فنول کل، ۰/۵ گرم از بافت تر برگ با کمک متانول ۸۰ درصد سابیده شد. عصاره حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ شد. سپس ۱ میلی‌لیتر از عصاره استخراجی با ۹ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱ میلی‌لیتر معرف فولین سیوکالتئو مخلوط شد و بعد از ۵ دقیقه، ۱۰ میلی‌لیتر کربنات سدیم به آمیخته فوق اضافه شد و سپس با دستگاه اسپکتروفتومتر و در طول موج ۷۵۰ نانومتر سنجیده شد (۱۹). برای تعیین میزان آلودگی ریشه، از ریشه‌های ریز و تثبیت شده در محلول اتانول ۵۰ درصد استفاده شد. ریشه‌ها با آب مقطر شسته شده و در لوله‌های حاوی ۱۰درصد هیدروکسید پتاسیم به مدت ۱ ساعت در حمام آب گرم با دمای ۹۰ درجه سلسیوس قرار گرفتند، سپس به مدت ۳ تا ۵ دقیقه در محلول اسید کلریدریک ۱ درصد قرار گرفته و بعد محلول رنگی تریپان بلو به آن‌ها اضافه شد. مجدد نمونه‌ها در حمام آب گرم قرار گرفتند و بعد محلول بی‌رنگ‌کننده لاکتوگلیسرین روی ریشه‌ها اضافه شد. ریشه‌ها روی لام حاوی چند قطره اسیدلاکتیک با استفاده از میکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفتند (۱۵). در این روش محلول بی‌رنگ کننده، تمام مواد رنگی را به‌جز اندام‌های قارچی از بافت ریشه خارج می‌کند و در نتیجه اندام‌های قارچی به رنگ آبی در داخل ریسه‌های خارج ریشه به طور مشخص قابل مشاهده هستند. برای تعیین درصد آلودگی مایکوریزی ریشه‌ها از روش تلاقی خطوط شبکه استفاده شد (۲۲).

در پژوهش حاضر، پس از برداشت گل‌ها و نگهداری آن‌ها در گلجای، میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی اندازه‌گیری شدند. بدین منظور، گل‌ها بعد از بازشدن کامل و پیش از به گرده نشستن برداشت شده، به طول ۳۵ سانتی‌متر کوتاه شده و در ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر، دمای ۲۰ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۷۰ درصد، شدت نور ۱۵ میکرومول بر متر مربع در ثانیه و دوره نوری ۱۰ الی ۱۴ ساعت نگه‌داری شدند. نمونه‌برداری در روز صفر (زمان برداشت)، ۶ و ۱۲ انجام شد. جهت تهیه عصاره گیاهی برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز گلبرگ از روش Kang و Saltveit (۱۷) استفاده شد. به این منظور، ۰/۵ گرم گلبرگ با ۵ میلی‌لیتر بافر استخراج با پی‌اچ ۷/۵ (شامل بافر تریس ۵۰ میلی‌مولار، ۳ میلی‌مولار کلرید منیزیم و ۱ میلی‌مولار EDTA و ۰/۲ میلی‌مولار آسکوربات) مخلوط شد. آمیخته حاصل به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. بخش رونشین حاصل به‌عنوان عصاره خام برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی آسکوربات پراکسیداز مورد استفاده قرار گرفت. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز از روش Nakano و Asada (۲۴) استفاده شد. فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به‌صورت کاهش در جذب، طی یک دقیقه در طول موج ۲۹۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر سنجیده شد. جهت تعیین پراکسیدهیدروژن، ۰/۵ گرم گلبرگ فریز شده با محلول TCA ۰/۱ درصد ساییده و سپس داخل لوله فالکون ۱۵ میلی‌لیتری ریخته شد، عصاره گیاهی به‌مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. مخلوط واکنش که شامل ۰/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰ میلی‌مولار (pH = 7)، ۱ میلی‌لیتر یدید پتاسیم ۱ مولار و ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره گیاهی بود، به مدت ۱ ساعت در تاریکی و در دمای ۲۵ درجه‌سلسیوس نگهداری شد و سپس جذب نمونه‌ها در ۳۹۰ نانومتر خوانده شد و برای محاسبه غلظت پراکسید هیدروژن از منحنی استاندارد استفاده گردید و نتایج بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر ارائه شد (۳۳).

تجزیه آماری داده‌ها توسط نرم افزار SAS نسخه ۹/۲ و مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون توکی در سطح یک درصد انجام گرفت.

نتایج

تعداد برگ و قطر وردمان

با توجه به نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها، مشخص شد که اثر برهمکنش هیومیک اسید و مایکوریز بر تعداد برگ‌ها در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین تعداد برگ (۱۸/۳۳) در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر هیومیک اسید و کاربرد قارچ مایکوریز به دست آمد، اگرچه بین غلظت ۵۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر هیومیک اسید و کاربرد مایکوریز تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. کمترین تعداد برگ ظاهر شده (۴/۳۳) در گیاه شاهد مشاهده شد (شکل ۱). همچنین، اثر اصلی هیومیک اسید و قارچ مایکوریز بر قطر وردمان در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود، اما اثر برهمکنش هیومیک اسید و قارچ مایکوریز بر قطر وردمان از نظر آماری معنی‌دار نگردید. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که در کاربرد هیومیک اسید، بیشترین قطر وردمان (۴۸/۳۳ سانتی‌متر) در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر هیومیک اسید مشاهده شد؛ هر چند که با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر هیومیک اسید تفاوت معنی‌داری از نظر آماری وجود نداشت. کمترین قطر وردمان (۳۱/۳۳ سانتی‌متر) نیز در تیمار شاهد به دست آمد (شکل ۲ الف). در گیاهان تیمار شده با قارچ مایکوریز، قطر وردمان نسبت به تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری داشت، به طوری‌که قطر وردمان در گیاهان تیمار شده با مایکوریز ۴۶/۰۸ سانتی‌متر بود (شکل ۲ ب).

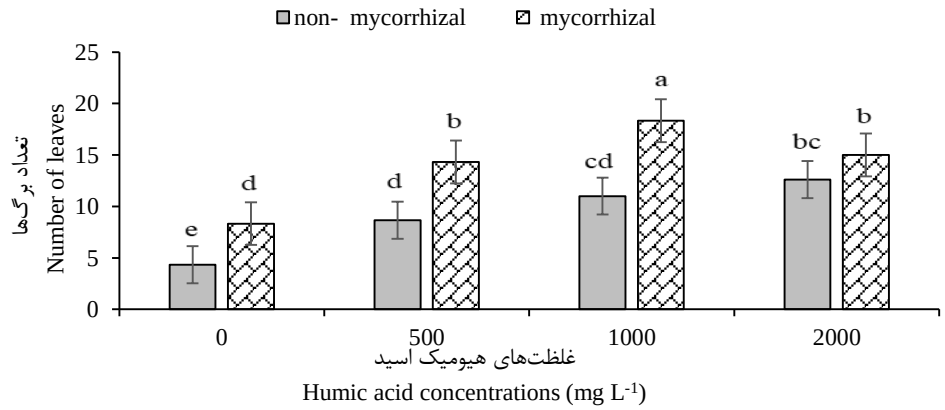

Fig. 1. Effects of mycorrhiza and different concentrations of humic acid (HA) on the number of gerbera ‘Dune’ leaves. Dissimilar letters indicate a significant difference based on Tukey's test at $P \leq 1\%$.

شکل ۱- تاثیر قارچ مایکوریز و غلظت‌های مختلف هیومیک اسید بر تعداد برگ ژربرا رقم Dune. حرف‌های غیرمشابه نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد بین میانگین‌ها با آزمون توکی می‌باشند.

وزن تر و خشک ریشه

نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر برهمکنش هیومیک اسید و قارچ مایکوریز بر وزن تر و خشک ریشه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین وزن تر و خشک ریشه (به ترتیب، ۷۵/۶۷ و ۱۹/۲۵ گرم) در غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر هیومیک اسید و تلقیح با مایکوریز مشاهده شد؛ هر چند که با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر هیومیک اسید و تلقیح مایکوریز اختلاف معنی‌داری نداشت و کمترین وزن تر و خشک ریشه (۳۲/۹۱ و ۱۱/۰۹ گرم به ترتیب) در تیمار شاهد (بدون کاربرد هیومیک اسید و مایکوریز) مشاهده شد (شکل‌های ۳ و ۴).

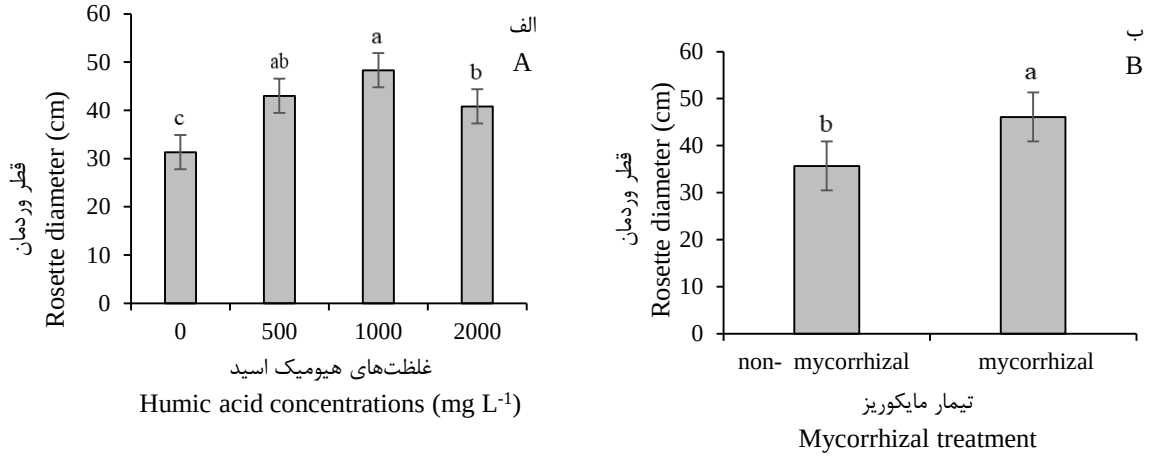

Fig. 2. Effect of different concentrations of humic acid (A) and mycorrhiza (B) on rosette diameter of gerbera 'Dune'. Dissimilar letters indicate a significant difference with Tukey's test at P≤ 1%.

شکل ۲- تاثیر غلظت‌های مختلف هیومیک اسید (الف) و قارچ مایکوریز (ب) بر قطر وردمان ژربرا رقم Dune. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد بین میانگین‌ها با آزمون توکی می‌باشد.

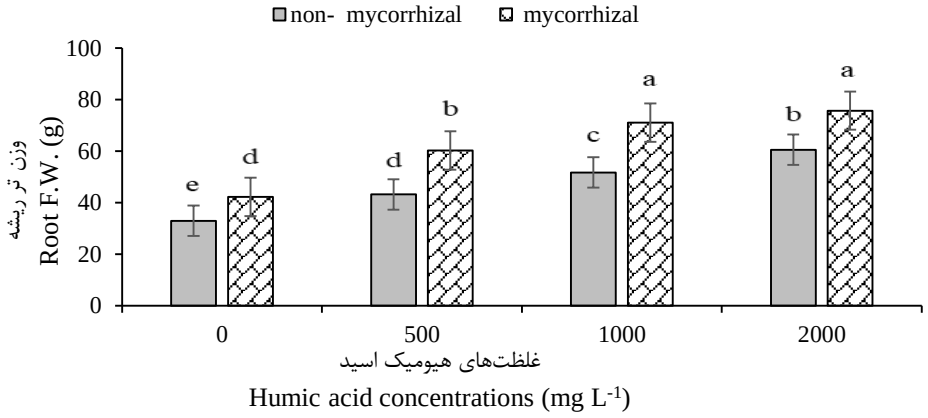

Fig. 3. Effects of mycorrhiza and different concentrations of humic acid (HA) on root fresh weight of gerbera 'Dune'. Dissimilar letters indicate a significant difference with Tukey's test at *P*≤1%.

شکل ۳- تاثیر قارچ مایکوریز و غلظت‌های مختلف هیومیک اسید بر وزن تر ریشه ژربرا رقم Dune. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد بین میانگین‌ها با آزمون توکی می‌باشد.

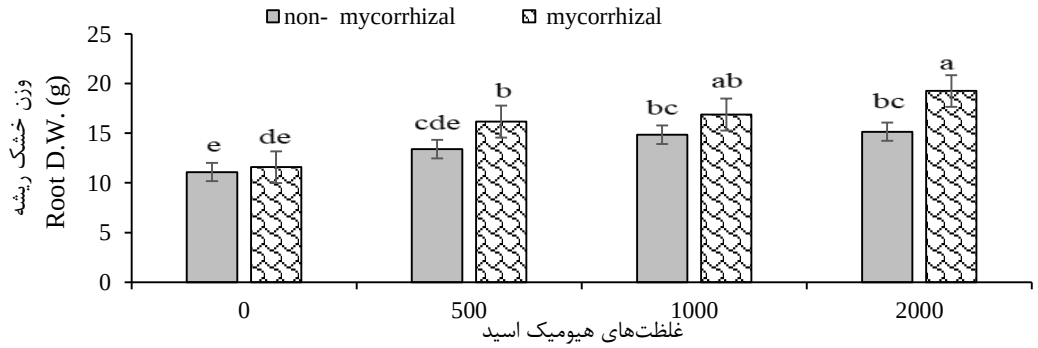

Fig. 4. Effects of mycorrhiza and different concentrations of humic acid (HA) on root dry weight of gerbera 'Dune'. Dissimilar letters indicate a significant difference with Tukey's test at *P*≤1%.

شکل ۴- تاثیر قارچ مایکوریز و غلظت‌های مختلف هیومیک اسید بر وزن خشک ریشه ژربرا رقم Dune. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد بین میانگین‌ها با آزمون توکی می‌باشد.

قطر گل

نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر برهمکنش هیومیک اسید و قارچ مایکوریز بر قطر گل در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین قطر گل (۱۳/۹۱ سانتی‌متر) در غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر هیومیک اسید و کاربرد قارچ مایکوریز مشاهده شد؛ هر چند که با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر هیومیک اسید و تیمار تلقیح قارچ مایکوریز اختلاف معنی‌داری نداشت. کمترین میزان آن (۶/۱۶ سانتی‌متر) در تیمار شاهد (بدون کاربرد هیومیک اسید و قارچ مایکوریز) مشاهده شد (شکل ۵). همانطور که شکل ۵ نشان می‌دهد، افزایش غلظت هیومیک اسید و کاربرد قارچ مایکوریز روند افزایشی در افزایش قطر گل در ژربرا داشت.

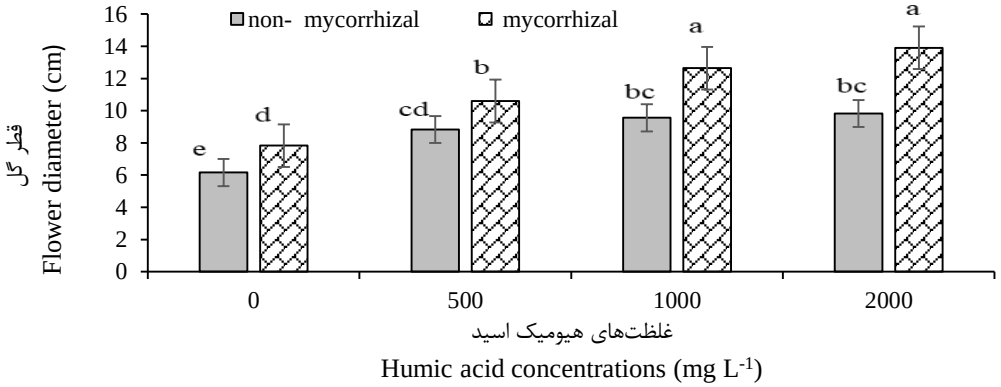

Fig. 5. Effects of mycorrhiza and different concentrations of humic acid (HA) on flower diameter of gerbera ‘Dune’. Dissimilar letters indicate a significant difference with Tukey's test at $P \leq 1\%$.

شکل ۵- تاثیر قارچ مایکوریز و غلظت‌های مختلف هیومیک اسید بر قطر گل ژربرا رقم Dune. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد بین میانگین‌ها با آزمون توکی می‌باشد.

قطر ساقه گلدهنده

نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که برهمکنش هیومیک اسید و قارچ مایکوریز بر قطر ساقه گلدهنده در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین قطر ساقه گلدهنده (۵/۵۶ میلی‌متر) در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر هیومیک اسید و کاربرد قارچ مایکوریز مشاهده شد، هر چند که با غلظت‌های ۵۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر هیومیک اسید و گیاهان تیمار شده با مایکوریز، اختلاف معنی‌داری نداشت. کمترین قطر ساقه گلدهنده (۲/۶۵ میلی‌متر) با کاربرد قارچ مایکوریز به تنهایی مشاهده شد؛ هرچند که با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری از لحاظ آماری نداشت (شکل ۶). شکل ۶ نشان می‌دهد که در گیاهان تیمار شده با قارچ مایکوریز، افزایش غلظت هیومیک اسید منجر به افزایش قطر ساقه گلدهنده شده است.

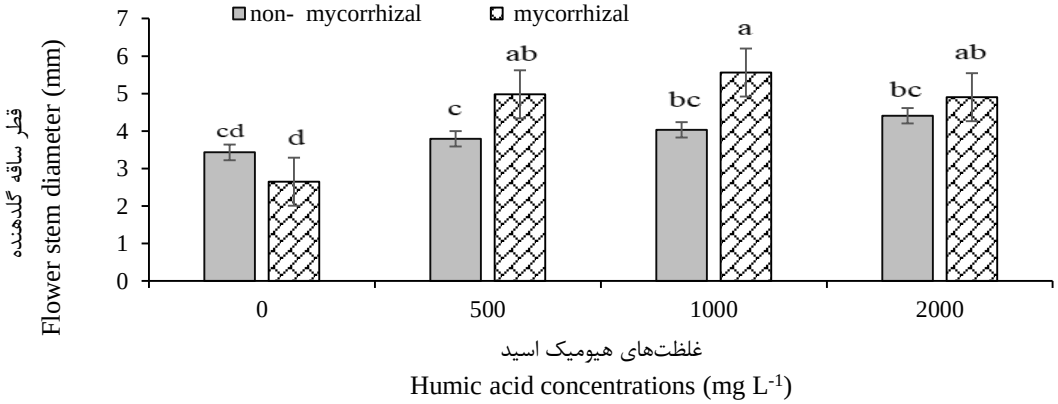

Fig. 6. Effects of mycorrhiza and different concentrations of humic acid (HA) on flower stem diameter of gerbera ‘Dune’. Dissimilar letters indicate a significant difference with Tukey's test at $P \leq 5\%$.

شکل ۶- تاثیر قارچ مایکوریز و غلظت‌های مختلف هیومیک اسید بر قطر ساقه گلدهنده در گل ژربرا رقم Dune. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد بین میانگین‌ها با آزمون توکی می‌باشد.

تعداد ساقه گلدهنده

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر اصلی هیومیک اسید و قارچ مایکوریز بر تعداد ساقه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود، اما اثرهای متقابل هیومیک اسید و قارچ مایکوریز بر تعداد ساقه از نظر آماری معنی‌دار نگردید. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که افزایش غلظت هیومیک اسید، روند مشخصی را در افزایش تعداد ساقه گلدهنده نشان نداد و بیشترین و کمترین تعداد ساقه (۱۱/۵ و ۳/۵ عدد) به ترتیب در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر هیومیک اسید و تیمار شاهد (بدون کاربرد هیومیک اسید و قارچ مایکوریز) دیده شد (شکل ۷ الف). در کاربرد قارچ مایکوریز تعداد ساقه نسبت به شاهد افزایش قابل توجهی نشان داد و گیاهان تیمار شده با مایکوریز ۹/۹۱ ساقه را داشتند و نسبت به شاهد (۷/۴۱) افزایش قابل ملاحظه‌ای داشت (شکل ۷ ب).

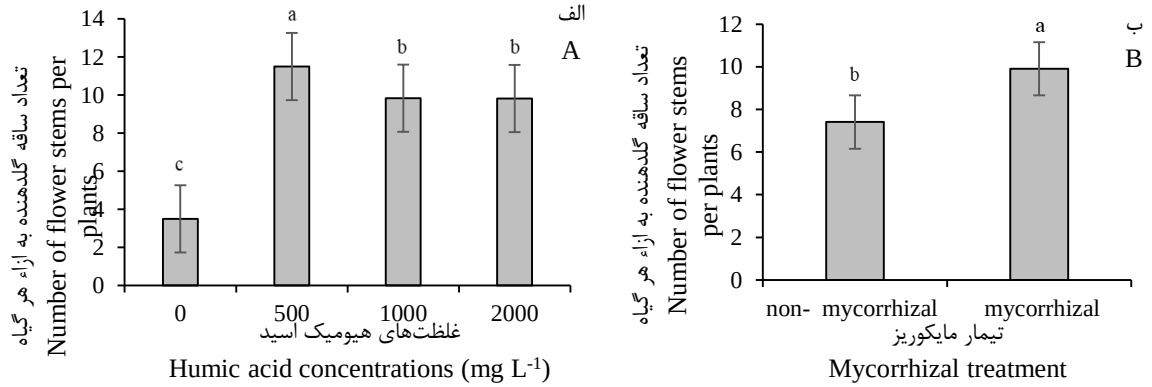

Fig. 7. Effect of different concentrations of humic acid (A) and mycorrhiza (B) on number of flower stems (per plant) of gerbera 'Dune'. Dissimilar letters indicate a significant difference with Tukey's test at $P \leq 1\%$.

شکل ۷- تاثیر غلظت‌های مختلف هیومیک اسید (الف) و قارچ مایکوریز (ب) بر تعداد ساقه گلدهنده (به ازاء هر گیاه) ژربرا رقم Dune. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد بین میانگین‌ها با آزمون توکی می‌باشد.

زمان از ظاهر شدن غنچه تا باز شدن کامل گل

نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که برهمکنش هیومیک اسید و قارچ مایکوریز بر زمان ظاهر شدن غنچه تا باز شدن کامل گل در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که با افزایش غلظت هیومیک اسید، تعداد روز تا شکوفایی گل کاهش یافت؛ به‌طوری که بیشترین و کمترین تعداد روز تا شکوفایی کامل گل (۲۴/۳۳ و ۶ روز) به ترتیب در شاهد و غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر هیومیک اسید و تیمار مایکوریز دیده شد؛ هر چند که با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر هیومیک اسید و تیمار مایکوریز اختلاف معنی‌داری نداشت (شکل ۸).

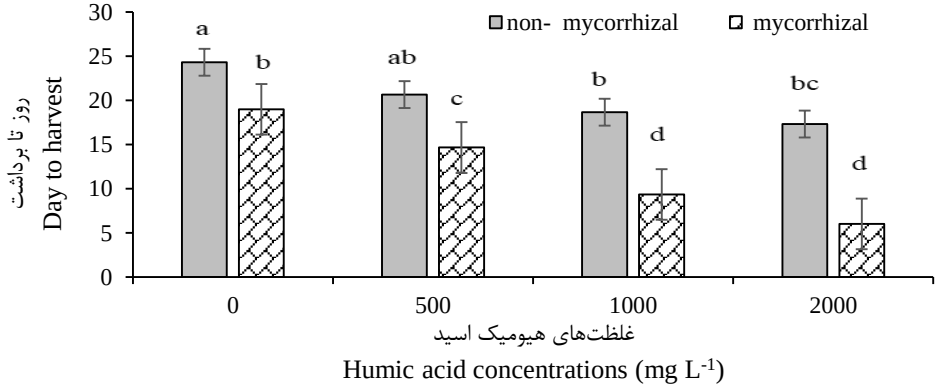

Fig. 8. Effects of mycorrhiza and different concentrations of humic acid (HA) on time from bud emergence to anthesis of gerbera 'Dune'. Dissimilar letters indicate a significant difference with Tukey's test at $P \leq 1\%$.

شکل ۸- تاثیر قارچ مایکوریز و غلظت‌های مختلف هیومیک اسید بر زمان ظاهر شدن غنچه تا باز شدن کامل گل در ژربرا رقم Dune. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد بین میانگین‌ها با آزمون توکی می‌باشد.

میزان فنول کل

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر اصلی هیومیک اسید و قارچ مایکوریز بر میزان فنول در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود، اما اثرهای متقابل هیومیک اسید و قارچ مایکوریز بر میزان فنول از نظر آماری معنی‌دار نگردید. مقایسه میانگین داده‌ها نشان می‌دهد که کاربرد هیومیک اسید در میزان فنول کل موثر بوده، به‌طوری‌که بیشترین میزان فنول کل (۲/۵۱ میلی‌گرم اسید گالیک در گرم وزن تر) در تیمار ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر هیومیک اسید مشاهده گردید و کمترین میزان فنول (۱/۴۴ میلی گرم اسید گالیک در گرم وزن تر) در تیمار شاهد به دست آمد (شکل ۹ الف). با توجه به شکل ۹ الف، افزایش غلظت هیومیک اسید روندی افزایشی در میزان فنول کل ایجاد کرد.

کاربرد قارچ مایکوریز نیز منجر به افزایش میزان فنول کل شد؛ به طوری‌که با کاربرد قارچ مایکوریز ، میزان فنول افزایش یافت و بیشترین میزان آن ۲/۱۲ میلی‌گرم اسید گالیک در گرم وزن تر بود که نسبت به تیمار شاهد (۱/۵۸ میلی‌گرم اسید گالیک در گرم وزن تر) افزایش چشمگیری داشت (شکل ۹ ب).

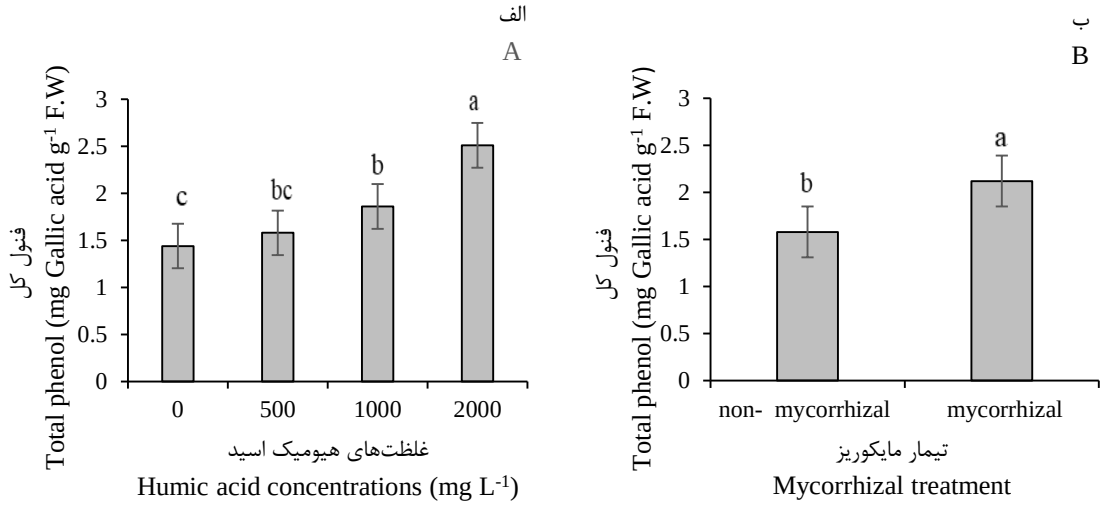

Fig. 9. Effect of different concentrations of humic acid (A) and mycorrhiza (B) on total phenol contents of gerbera 'Dune'. Dissimilar letters indicate a significant difference with Tukey's test at $P \leq 1\%$.

شکل ۹- تاثیر غلظت‌های مختلف هیومیک اسید (الف) و قارچ مایکوریز (ب) بر میزان فنول کل در ژربرا رقم Dune. حرف‌های غیرمشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد بین میانگین‌ها با آزمون توکی می‌باشد.

درصد آلودگی ریشه

نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر برهمکنش هیومیک اسید و قارچ مایکوریز بر درصد آلودگی ریشه در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود. مقایسه میانگین داده‌ها نشان می‌دهد که بیشترین میزان آلودگی (۷۶/۶۶ درصد) در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر هیومیک اسید و تیمار مایکوریز مشاهده شد، هر چند که با غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر هیومیک اسید و تیمار کاربرد مایکوریز اختلاف معنی‌داری نداشت. کمترین میزان آلودگی ریشه (۳/۳۳ درصد) در تیمار شاهد (بدون کاربرد هیومیک اسید و بدون تلقیح مایکوریز) مشاهده شد (شکل ۱۰). شکل ۱۰ نشان می‌دهد که در گیاهان بدون مایکوریز، افزایش غلظت هیومیک اسید تاثیر معنی‌داری بر میزان آلودگی ریشه نداشت. این در حالی است که در گیاهان تیمار شده با مایکوریز، افزایش غلظت هیومیک اسید روندی افزایشی در میزان آلودگی ریشه نشان داد.

میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز

با توجه به نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها، مشخص شد که اثرهای اصلی هیومیک اسید و زمان بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود، این در حالی است که هیچ یک از اثرهای متقابل هیومیک اسید × مایکوریز × زمان، هیومیک اسید × مایکوریز، هیومیک اسید × زمان و مایکوریز × زمان و همچنین اثر اصلی مایکوریز بر میزان

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز از لحاظ آماری معنی‌دار نگردید. مقایسه میانگین داده‌ها نشان می‌دهد که افزایش غلظت هیومیک اسید، منجر به افزایش میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز شد، به طوری‌که بیشترین میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (۴ میکرومول در دقیقه بر گرم وزن تر) در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر هیومیک اسید مشاهده شد؛ هر چند که با غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر هیومیک اسید تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. کمترین میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (۳/۱۹ میکرومول در دقیقه بر گرم وزن تر) در گیاهان شاهد (بدون کاربرد هیومیک اسید) به دست آمد (شکل ۱۱ الف).

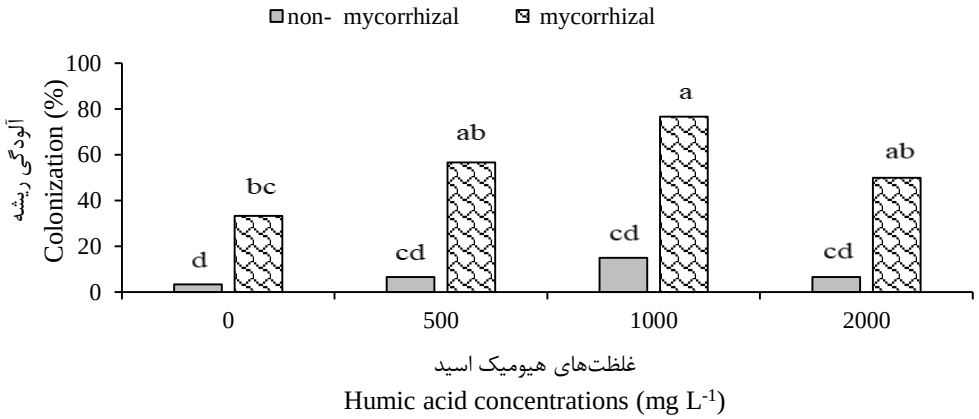

Fig. 10. Effects of mycorrhiza and different concentrations of humic acid (HA) on colonization of gerbera 'Dune'. Dissimilar letters indicate a significant difference with Tukey's test at $P \leq 5\%$.

شکل ۱۰-تاثیر قارچ مایکوریز و غلظت‌های مختلف هیومیک اسید بر میزان آلودگی ریشه ژربرا رقم Dune. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد بین میانگین‌ها با آزمون توکی می‌باشد.

همانطور که شکل ۱۱ب نشان می‌دهد با گذر زمان، میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز افزایش یافت. بیشترین میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (۴/۶۶ میکرومول در دقیقه بر گرم وزن تر) در روز ۱۲ نمونه‌برداری مشاهده شد و کمترین میزان آن (۲/۶۸ میکرومول در دقیقه بر گرم وزن تر) در روز صفر نمونه‌برداری مشاهده شد.

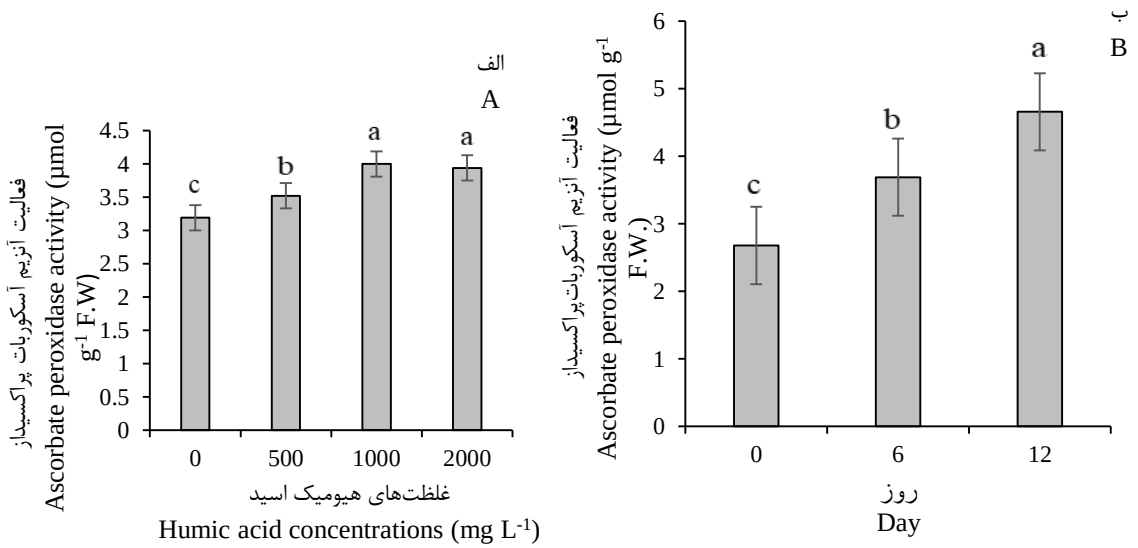

Fig. 11. Effect of different concentrations of humic acid (A) and time (B) on Ascorbate peroxidase activity in postharvest stage of gerbera 'Dune'. Dissimilar letters indicate a significant difference with Tukey's test at $P \leq 1\%$.

شکل ۱۱- تاثیر غلظت‌های مختلف هیومیک اسید (الف) و زمان (ب) بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در مرحله پس از برداشت ژربرا رقم Dune. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد بین میانگین‌ها با آزمون توکی می‌باشد.

میزان پراکسیدهیدروژن

نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرهای اصلی هیومیک اسید و زمان و همچنین، اثرهای متقابل هیومیک اسید × مایکوریز و هیومیک اسید × زمان در سطح احتمال ۱ درصد و برهمکنش هیومیک اسید × مایکوریز × زمان بر میزان پراکسید هیدروژن در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود، اما اثر ساده قارچ مایکوریز و همچنین برهمکنش مایکوریز × زمان بر میزان پراکسید هیدروژن از لحاظ آماری معنی‌دار نگردید. مقایسه میانگین داده‌ها نشان می‌دهد که با کاربرد همزمان هیومیک اسید و تلقیح قارچ مایکوریز میزان پراکسیدهیدروژن در گیاهان زیر تیمار کاهش یافت، به‌طوری که بیشترین میزان فعالیت پراکسیدهیدروژن (۲/۱ میکرومول بر گرم وزن تر) در غلظت صفر میلی‌گرم در لیتر هیومیک اسید و عدم کاربرد قارچ مایکوریز و روز ۱۲ نمونه‌برداری مشاهده شد. کمترین میزان فعالیت پراکسید هیدروژن (۰/۷۷ میکرومول بر گرم وزن تر) در تیمار ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر هیومیک اسید و گیاهان تلقیح شده با قارچ مایکوریز و روز ۱۲ نمونه‌برداری مشاهده شد که این میزان با مقدار پراکسیدهیدروژن در گیاهان تیمارشده با ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر هیومیک اسید در روز ۱۲ تفاوت معنی‌داری نداشت (شکل ۱۲).

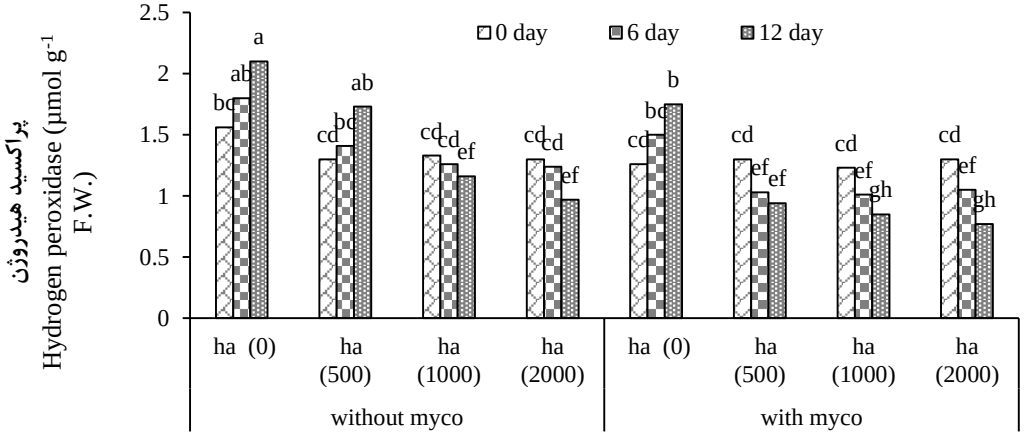

Fig. 12. Effect of different concentrations of humic acid (HA), mycorrhiza and time on Hydrogen Peroxide content of gerbera ‘Dune’. Dissimilar letters indicate a significant difference with Tukey's test at $P\leq5\%$.

شکل ۱۲- تاثیر قارچ مایکوریز، غلظت‌های مختلف هیومیک اسید و زمان بر میزان پراکسید هیدروژن در مرحله پس از برداشت ژربرا رقم Dune. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد بین میانگین‌ها با آزمون توکی می‌باشد.

بحث

نتایج حاصل از تاثیر غلظت‌های مختلف هیومیک اسید و قارچ مایکوریز، بیانگر این موضوع است که کاربرد توام هیومیک اسید و قارچ مایکوریز در ژربرا تاثیر به‌سزایی نسبت به شاهد بر تفاوت در تعداد برگ و قطر وردمان دارد. تشکیل کمپلکس بین هیومیک اسید و یون‌های معدنی، موثر بودن هیومیک اسید بر فتوسنتز از راه افزایش جذب دی اکسید کربن، سرعت بخشیدن به تنفس میتوکندری و افزایش عمر بافت‌های فتوسنتز کننده (۱)، تحریک متابولیسم اسیدنوکلئیک و همچنین فعالیت شبه‌هورمونی هیومیک اسید از جمله دلایل موثر بودن آن بر پارامترهای رشدی از جمله رشد اندام هوایی گیاهان می‌باشد (۳۵). با وجود این، هنوز مکانیسم تاثیر مواد هیومیکی بر رشد اندام‌های هوایی به خوبی درک نشده است. احتمال دارد اثر تسریع کنندگی مواد هیومیکی بر رشد اندام‌های هوایی در مرحله اول به دلیل تاثیر بر فعالیت پمپ H^+-ATPase در ریشه و در نتیجه افزایش توزیع نیترات در اندام‌های هوایی باشد. توزیع بیشتر نیترات در اندام‌های هوایی منجر به تغییرهایی در میزان هورمون سایتوکینین و پلی‌آمین‌ها می‌شود. در نتیجه، می‌توان احتمال داد که هیومیک اسید می‌تواند از این راه بر رشد و بهبود اندام‌های هوایی در گیاهان موثر باشد (۱ ، ۲۹).

قارچ‌های مایکوریز از راه ایجاد رابطه همزیستی با گیاهان می‌توانند در جنبه‌های مختلف رشد و نموی آن‌ها مفید واقع شوند. آثار سودمند قارچ مایکوریز می‌تواند یک یا چند مکانیسم از جمله افزایش سطح جذب، بیشتر شدن منطقه نفوذ ریشه، طول عمر

بیشتر ریشه، جذب و استفاده بهتر از مواد مغذی باشد. افزایش سطح هورمون‌های رشدی درهمزیستی قارچ‌های مایکوریز گزارش شده است. با افزایش این هورمون‌ها، به ویژه سایتوکینین، فتوسنتز از راه عواملی همچون باز شدن روزنه‌ها، تاثیر بر انتقال یون‌ها و تنظیم میزان کلروفیل بیشتر می‌شود (۱۴). زیاد شدن نرخ فتوسنتز می‌تواند با تحریک رشد، سبب افزایش زیست توده در گیاهان مایکوریزی شود، بنابراین احتمال دارد دلیلی بر افزایش وزن خشک برگ در پژوهش انجام شده باشد.

نتایج به‌دست آمده از پژوهش حاضر نشان دادند که در شاخص‌های مربوط به ریشه، هیومیک اسید و قارچ مایکوریز تاثیر قابل ملاحظه‌ای داشتند. به‌طور کلی، در بسیاری از مطالعه‌ها مشخص شده است که هیومیک اسید باعث افزایش جذب عناصر معدنی، تحریک طول ریشه و افزایش وزن تر و خشک ریشه می‌شود (۷). افزایش وزن تر و خشک در اثر کاربرد هیومیک اسید، ممکن است به دلیل فعالیت شبه هورمونی مواد هیومیکی از جمله ترکیب‌های اکسینی این مواد باشد (۳۵). اکسین منجر به افزایش تقسیم یاخته‌ای و آغازش ریشه‌ها می‌شود که به احتمال، علت افزایش وزن تر و خشک ریشه در پژوهش حاضر نیز باشد. بهاءلو و همکاران (۴) در لیزیانتوس[۱] و Zhang و همکاران (۳۷) در کالاته‌آ[۲] تاثیر هیومیک اسید را بر بهبود انشعاب‌های ریشه، وزن تر و خشک و طول ریشه گزارش کردند. قارچ مایکوریز، به دلیل کنترل زیستی بیماری‌زاهای ریشه، تولید هورمون‌های گیاهی، توانایی بیشتر در برابر تنش کم آبی و تاثیر هم‌افزایی با تثبیت کننده‌های نیتروژن و حلالیت فسفر، باعث بهبود رشد گیاهان می‌شود (۳). همانطور که مقایسه میانگین‌های مربوط به ریشه نشان می‌دهد، کاربرد قارچ مایکوریز، وزن خشک ریشه را نیز افزایش داد. می‌توان احتمال داد که قارچ‌های مایکوریز با ایجاد شبکه میسلیومی گسترده، منجر به افزایش جذب عناصر و در نتیجه افزایش وزن تر و خشک ریشه شده باشند.

همانطور که در شکل‌ها مشاهده می‌شود کاربرد همزمان هیومیک اسید و قارچ مایکوریز باعث بهبود ویژگی‌های گلدهی از جمله قطر گل و ساقه گلدهنده و تعداد ساقه گلدهنده در گیاه ژربرا نسبت به شاهد شد. اثر مثبت هیومیک اسید بر ویژگی‌های رشدی به ویژه افزایش شاخص‌های مربوط به گلدهی در گیاهان می‌تواند به‌دلیل اثر مستقیم شبه هورمونی آن یا اثر غیرمستقیم آن در افزایش جذب عناصر غذایی باشد (۲۶). افزایش شاخص‌های مربوط به گلدهی با تاثیر هیومیک اسید توسط سایر پژوهشگران نیز گزارش شده است. بالازاده و حسن‌پور اصیل (۵) در گل داوودی[۳] و بهاءلو و همکاران (۴) در لیزیانتوس گزارش کردند که کاربرد هیومیک اسید می‌تواند شاخص‌های گلدهی از جمله قطر گل، وزن تر و خشک گل و تعداد گل را نسبت به گیاهان شاهد افزایش دهد.

قارچ‌های مایکوریز از راه ایجاد رابطه همزیستی با گیاهان می‌توانند در جنبه‌های مختلف رشد و نموی آن‌ها مفید واقع شوند. آثار سودمند قارچ مایکوریز می‌تواند یک یا چند مکانیسم از جمله افزایش سطح جذب، بیشتر شدن منطقه نفوذ ریشه، طول عمر بیشتر ریشه، جذب و استفاده بهتر از مواد مغذی باشد (۱۴). احتمال دارد قارچ‌های مایکوریز از طریق جذب عناصر غذایی منجر به افزایش گل و ساقه گلدهنده و همچنین تعداد ساقه گلدهنده در پژوهش حاضر شده باشند.

همانطور که در نتایج مشاهده می‌شود، هیومیک اسید به طور چشمگیری مدت زمان تشکیل غنچه تا باز شدن کامل گل را کاهش داد. تاثیر مثبت هیومیک اسید بر بهبود این شاخص رشدی را می‌توان به مواردی مانند تاثیر آن بر ویژگی‌های فیزیکی بستر کشت، افزایش جذب کارایی عناصر غذایی در گیاه، نفوذپذیری بافت گیاهی (۲۷) و فعالیت شبه هورمونی آن (۲۱) مربوط دانست. در ژربرا رقم دانی، کاربرد غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر هیومیک اسید منجر به افزایش چشمگیری در کاهش زمان غنچه تا شکوفایی کامل شد که تاثیر هیومیک اسید در بهبود این شاخص‌های رشدی را به بهبود تغذیه و ویژگی شبه هورمونی هیومیک اسید نسبت داده‌اند (۲۱).

براساس نتایج پژوهش حاضر، هیومیک اسید و قارچ مایکوریز منجر به افزایش میزان فنول کل نسبت به شاهد شدند. مسیر فنیل پروپانوئید یکی از مهم‌ترین مسیرهای متابولیت‌های ثانویه گیاهی است که در نتیجه آن، ترکیبات فنولی مختلف با ساختار و نقش‌های دفاعی مختلف مثل لیگنین، فنولیک اسیدها و فلاونوئیدها در گیاه ساخته می‌شوند (۲۵). مکانیسم احتمالی برای افزایش میزان ترکیب‌های فنولی، پتانسیل قارچ‌های مایکوریز در انگیزش زیست‌ساخت هورمون‌های گیاهی از جمله هورمون سیتوکینین و جیبرلین در گیاه میزبان می‌باشد (۳۲). انباشتگی فنول‌ها در گیاهان مایکوریزی نسبت به گیاهان شاهد (بدون

۱- *Eustoma grandiflorum* ۲- *Calathea* ۳- *Chrysanthemum morifolium*

کاربرد قارچ مایکوریز) در پژوهش‌های Yaseen و همکاران (۳۴) نیز گزارش شده است. افزایش محتوای فنول کل در برگ‌های ژربرای تلقیح شده با مایکوریز نسبت به گیاهان شاهد (بدون کاربرد قارچ مایکوریز) در پژوهش حاضر می‌تواند از یک سو ناشی از تاثیر این ترکیبات در ایجاد همزیستی و از سوی دیگر، نشان‌دهنده تولید آن‌ها توسط مایکوریز باشد.

واکاوی آماری داده‌ها نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین گیاهان تیمار شده با قارچ مایکوریز و بدون تیمار مایکوریز بر حسب درصد همزیستی وجود دارد. همزیستی گیاهان تلقیح شده با قارچ مایکوریز در حدود ۷۶/۶۶ درصد بود. در طول تکوین مراحل همزیستی، ساختارهای مجزایی توسط قارچ مایکوریز در ریشه گیاه میزبان شکل می‌گیرد که از جمله این ساختارها، هیف‌های درونی می‌باشند. ارتباط سلولی پیچیده‌ای بین ریشه گیاه میزبان و قارچ مایکوریز، نیازمند تبادل پیوسته پیام‌هایی است که منجر به رشد و تکامل مایکوریزها در ریشه گیاه میزبان می‌شود. تنظیم کننده‌های گیاهی در فرایندهای رشد و نموی مختلفی نقش دارند و بنابراین نامزد مناسبی برای این همزیستی می‌باشند. شواهدی وجود دارند که نشان می‌دهند این هورمون‌ها در رویدادهای پیام‌دهی بین قارچ‌های مایکوریز و گیاهان میزبان نقش دارند. در همزیستی مایکوریزی، موارد متعددی شناخته شده که بیان می‌کنند هورمون اکسین توسط شرکای قارچی تولیده شده و احتمال دارد منجر به افزایش ریشه‌های جانبی و تحریک رشد شود (۱۶).

کاربرد هیومیک اسید و قارچ مایکوریز در پژوهش حاضر باعث بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نسبت به شاهد شد. در پژوهش انجام شده، کاربرد هیومیک اسید تاثیر معنی‌داری بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در مرحله پس از برداشت گل‌های ژربرا داشت که این افزایش به نوعی بیانگر فعال شدن سیستم آنتی‌اکسیدانی برای از بین بردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن در گیاه است. نتایج پژوهش حاضر مشابه یافته های پیشین است. طالبی (۳۱) بیان کرد که کاربرد هیومیک اسید سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌شود. فعالیت این آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌تواند مربوط به نقش عملکردی هیومیک اسید به عنوان آنتی‌اکسیدان و فعالیت شبه هورمونی آن (۸) یا توانایی هیومیک اسید از راه غیرفعال‌سازی گونه‌های اکسیژن فعال باشد (۷). در پژوهشی، Elmongy و همکاران (۱۰) بیان کردند هیومیک اسید منجر به افزایش ترکیبات فنولی می‌شود و تجمع ترکیبات فنولی باعث تحریک فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌شود. در پژوهش حاضر، کاربرد هیومیک اسید منجر به افزایش میزان فنول شده است وبه نظر می‌رسد که هیومیک اسید از این راه توانسته باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شود.

پژوهش‌ها نشان داده است که پراکسیدهیدروژن به طور مستقیم در تنظیم بیان ژن‌های درگیر در فعالیت‌های دفاعی گیاه و مسیرهای مرتبط مانند آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، پروتئین‌های دفاعی و عمل نسخه برداری نقش دارد (۲). همانطور که اشاره شد کاربرد هیومیک اسید و قارچ مایکوریز منجر به افزایش قابل توجه فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نسبت به شاهد شد و با توجه به نقش پراکسیدهیدروژن در تاثیر بر میزان آنزیم‌های اکسیدانی، به احتمال از این طریق بر میزان شاخص‌های پس از برداشت موثر بوده است و چون پیری امری طبیعی و غیر قابل انکار می‌باشد، افزایش میزان رادیکال آزاد طی گذر زمان، قابل پیش‌بینی می‌باشد. همانطور که مقایسه میانگین‌ها نشان می‌دهد، با افزایش غلظت هیومیک اسید و کاربرد مایکوریز، میزان رادیکال آزاد تا حدودی روندی ثابت دارد، اما با گذر زمان، میزان آن افزایش می‌یابد که به نظر می‌رسد امری طبیعی و قابل انتظار باشد.

نتیجه‌گیری

در پژوهش حاضر، تاثیر هیومیک اسید و قارچ مایکوریز روی گل ژربرا رقم دانی آزمایش و بررسی گردید. از نتایج به دست آمده چنین می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از تیمارهای هیومیک اسید و قارچ مایکوریز سبب بهبود برخی فاکتورهای رشدی از جمله ویژگی‌های مورفولوژیک، فیزیولوژیک، بیوشیمیایی و آنزیمی گیاهان می‌شوند. در بین غلظت‌های مختلف هیومیک اسید و تیمار قارچ مایکوریز، غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر هیومیک اسید به همراه تلقیح با قارچ مایکوریز، بیشترین تاثیر را در بهبود صفات اندازه‌گیری شده داشتند.

منابع References

1. Abbas, N.A. and H.S. Hammad. 2017. The effect of vernalization and sprayed gibberellins and humic acid on the growth and production of cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*). J. Environ. Sci. Pollut. Res. 3:181-185.

2. Agarwal, S., R.K. Sairam, G.C. Srivastava, A. Tyagi and R.C. Meena. 2005. Role of ABA, salicylic acid, calcium and hydrogen peroxide on antioxidant enzymes induction in wheat seedlings. Plant. Sci. 169:559-570.
3. Bagyaraj, D.J. 2014. Mycorrhizal fungi (Review Article*).* Proc. India. Natl. Sci. Acad. 80 (2):415-428.
4. Bahaloo, Z., S. Reezi, G. Rabiei and K. Saeedi. 2018. The positive effects of vermicompost and humic acid on quantitative and qualitative traits of lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) after transplanting. J. Soil. Plant. Inter. 8(4):17-25. (In Persian).
5. Balazadeh, S. and M. Hassanpour Asil. 2015. Effect of humic acid and calcium nano-chelate on growth and development of *Chrysanthemum morifolium*. International Conference of Sustainable Development, Strategies and Challenges with a Focus on Agriculture, Natural Resources, Environment and Tourism. Tabriz, Iran. (In Persian).
6. Bhat. R.A., M.A. Dervash, M.A. Mehmood, B.M. Skinder, A. Rashid, J.I.A. Bhat, D.V. Singh and R. Lone. 2017. Mycorrhizae: A Sustainable Industry for Plant and Soil Environment. Springer International Publishing, Chapter 25.
7. Canellas, L.P., F.L. Olivares, N.O. Aguiar, D.L. Jones, A. Nebbioso, P. Mazzei and A. Piccolo. 2015. Humic and fulvic acids as biostimulants in horticulture. Sci. Hort. 196:15–27.
8. Cordeiro, F.C., C. Santa-Catarina, V. Silveira and S.R. De Souza. 2011. Humic acid effect on catalase activity and the generation of reactive oxygen species in corn (*Zea mays*). Biosci. Biotechnol. Biochem. 75:70–74.
9. Dhanapal, S., D. Sathish Sekar and P. Manasa. 2014. Enhancement of antioxidant potential in *Musa accuminata* using humic acid. Intl. J. Agric. Innov. Res. 2(4):429-435.
10. Elmongy, M.S., H. Zhou, Y. Cao, B. Liu and Y. Xia. 2018. The effect of humic acid on endogenous hormone levels and antioxidant enzyme activity during *in vitro* rooting of evergreen azalea. Sci. Hort. 227:234-243.
11. El-Serafy, R.S. 2018. Growth and productivity of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) as affected by yeast and humic acid. Sci. J. Flower. Ornament. Plant. 5:195-203.
12. Eskandari, F., A. Nabigol and V. Abdusi. 2016. Increasing vase life and physiological characteristics of the cut flowers of *Rosa hybrida* cv. Polar Star using vermicompost and humic acid. Flower Ornament. Plant. 1(1):38-44. (In Persian).
13. Fahramand, M., H. Moradi, M. Noori and A. Sobhkhizi. 2014. Influence of humic acid on increasing yield of plants and soil properties. Intl. J. Food. Apl. Sci. 3:339-341.
14. Garg, N. and S. Chandel. 2010. Arbuscular mycorrhizal networks: Process and functions. A review. Agron. Sustain. Dev. 30:581-599.
15. Grace, C. and D. Stribley. 1991. A Safer procedure for routine staining of vesicular- arbuscular mycorrhiza fungi. Microl. Res. 95:1160-1162.
16. Kaldorf, M. and J. Ludwig- Muller. 2000. AM fungi might affect the root morphology of maize by increasing indole 3-butyric acid biosynthesis. Physiol. Plant. 109:58-67.
17. Kang, H.M. and M.E. Saltveit. 2002. Chilling tolerance of maize, cucumber and rice seedling leaves and roots and differentially affected by salicylic acid. Plant. Physiol. 115:571-576.
18. Maharshi, M., G. Kumar, A. Mukherjee, R. Raghuwanshi, H.B. Singh and B.K. Sarma. 2019. Arbuscular Mycorrhizal Colonization and Activation of Plant Defense Responses Against. Phytopathogens. Springer Nature Singapore. Pp. 219-240.
19. Marinova, D., F. Ribarova and M. Atanassova. 2005. Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. J. Chem. Technol. Metall. 40:255-260.
20. Maroufpour, A., A. Mamrash and S. Khanchehrose. 2016. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on some morphological indices of gerbera cut flower in hydroponic conditions. 9th Congress of Iranian Horticultural Science. Ahvaz. Iran. 3218 p. (In Persian).
21. Mirzaei Esgandian, N., Z. Jabbarzadeh and M.H. Rasouli Sadaghiani. 2019. Investigation of some morphological and biochemical characteristics and vase life of *Gerbera jamesonii* cv. Dune cut flower using humic acid and nano calcium chelate. Irn. J. Hort. Sci. Technol. 20(2):157-170. (In Persian).
22. Mosse, B., A. Warner and C.A. Clarke. 1982. Plant growth responses to vesicular arbuscular mycorrhiza. New phytol. 90:521-528.
23. Mullera, V., C. Lankesa, B.F. Zimmermannb, G. Nogaa and M. Hunschea. 2013. Centelloside accumulation in leaves of *Centella asiaticais* determined by resource partitioning between primary and secondary metabolism while influenced by supply levels of either nitrogen, phosphorus or potassium. J. Plant. Physiol. 170:1165-1175.
24. Nakano, Y. and K. Asada. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. J. Plant Cell Physiol. 22:867- 880.
25. Nazari Deljou, M.J. and M. Azizi. 2015. Postharvest assessment of lignifying enzymes activity, flower stem lignification and bending disorder of gerbera cut flower. Int. J. Hort. Sci. Technol. 2:87-95.
26. Nikbakht, A., M. Kafi, M. Babalar, Y.P. Xia, A. Luo and N. Etemadi. 2008. Effect of humic acid on plant growth, nutrient uptake and postharvest of gerbera. J. Plant Nutr. 31:2155–2167.

27. Ohta, K., S. Morishita, K. Suda, N. Kobayashi and T. Hosoki. 2004. Effects of chitosan soil mixture treatment in the seedling stage on the growth and flowering of several ornamental plants. J. Jpn. Soc. Hort. Sci. 73:66-68.
28. Rashidi, A. 2006. Growing and Production of Gerbera. Moalef Press. 208 p. (In Persian).
29. Rubio, V., R. Bustos, M.L. Irigoyen, X. Cardona-Lopez, M. Rojas-Triana and J. Paz-Ares. 2009. Plant hormones and nutrient signaling. Plant. Mol. Biol. 69:361–373.
30. Shamshiri, M.H., V. Mozafari, E. Sedaghati and V. Bagheri. 2011. Response of petunia plants (*Petunia hybrida* cv. Mix) inoculated with *Glomus mosseae* and *Glomus intraradices* to phosphorous and drought stress. J. Agric. Sci. Tech. 13:929-942.
31. Talebi, P. 2016. Effect of salicylic acid and humic acid on some qualitative and quantitative characteristics of *Rosa chinensis minima* var. *baby masquerade.* MSc thesis. Urmia University. 102 p. (In Persian).
32. Toussaint, J.P., M. St-Arnaud and C. Charest. 2004. Nitrogen transfer and assimilation between the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* Schenck & Smith and Ri TDNA roots of *Daucus carota* L. in an *in vitro* compartmented system. Can. J. Microbiol. 50:251-260.
33. Velikova, V., I. Yordanov and A. Edreva. 2000. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. Plant. Sci. 151:59-66.
34. Yaseen, T., A. Naseer and M. Shakeel. 2016. Investigating the association of arbuscular mycorrhizal fungi with selected ornamental plants collected from district charsadda, KPK, Pakistan. Sci. Tech. Dev. J. 35:141-147.
35. Youssef, A.A., M.H. Mahgoub and I.M. Talaat. 2004. Physiological and biochemical aspects of *Matthiola incana* L. plants under the effect of putrescine and kinetin treatments. Egypt. J. Appl. Sci. 19:492-510.
36. Zareie, M., M. Merikhi and M.J. Saharkhiz. 2014. Influence of arbuscular mycorrhizal fungus and licorice pulp on morphological and physiological characteristics of *Calendula officinalis* L. Irn. J. Medicin. Aromatic Plant. 30(3):391-401.
37. Zhang, L., X.Y. Sun, Y. Tian and X.Q. Gong. 2014. Biochar and humic acid amendments improve the quality composted green waste as a growth medium for the ornamental plant *Calathea insignis*. Sci. Hort. 176:70-78.

Iranian Journal of Horticultural Science and Technology 23 (2): 191-204 (2022)
Research article

Effects of Humic Acid and Mycorrhizal Fungus on Some Morphological and Physiological Characteristics of *Gerbera Jamesonii* 'Dune'

H. Afarin, Z. Jabbarzadeh and M. Barin[1]

In order to investigate the effects of humic acid and mycorrhiza on gerbera cv. Dune, an experiment was performed as a completely randomized design with two factors and three replications in hydroponic conditions. First factor included humic acid at 4 concentrations (0, 500, 1000, and 2000 mg L^{-1} as media drench). The second factor contained two levels of mycorrhizal fungi (with and without mycorrhiza at root zone). Attributes such as leaf number, rosette diameter, root fresh and dry weight, flower diameter, flower stalk diameter and number, time from bud emergence to anthesis, total phenol content, colonization percent and the activity of ascorbate peroxidase and hydrogen peroxide were measured. The results showed that humic acid and mycorrhizal fungi treatments led to increase in the leaf number, rosette diameter, fresh and dry weight of roots and antioxidant enzymes activity and decreased the time from bud emergence to anthesis comparing untreated plants. Phenol content was significantly increased compared to control plants by application of 1000 and 2000 mg L^{-1} of humic acid plus mycorrhizal fungi. The combined use of humic acid and mycorrhiza was effective to improve some morphological and physiological properties of gerbera and the concentration of 1000 mg L^{-1} humic acid plus mycorrhiza application were the most effective treatment.

Keywords: Ascorbate peroxidase, Gerbera, Hydrogen peroxide, Root colonization, Total phenol.

1. Former M.Sc. Student and Associate Professor of Horticultural Science, and Associate Professor of Soil Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran, respectively.
* Corresponding Author's Email: (Z.Jabbarzadeh@urmia.ac.ir)