

## تأثیر کاربرد توأم اسید هیومیک و سلنیوم بر برخی ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیکی همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.) تحت تنش شوری

هوشمند عسگریان<sup>۱</sup>، وحید عبدوسی<sup>۲\*</sup>، الهام دانائی<sup>۳</sup> و علیرضا لادن‌مقدم<sup>۴</sup>

۱- دانشجوی دکترا، گروه علوم باغبانی، واحد علی‌آباد کتول، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران

۲\* - نویسنده مسئول، استادیار، گروه علوم باغی و زراعی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران، پست الکترونیک: abdossi@yahoo.com

۳- استادیار، گروه علوم باغبانی، واحد گرمسار، دانشگاه آزاد اسلامی، گرمسار، ایران

۴- دانشیار، گروه علوم باغبانی، واحد گرمسار، دانشگاه آزاد اسلامی، گرمسار، ایران

تاریخ پذیرش: تیر ۱۴۰۰

تاریخ اصلاح نهایی: تیر ۱۴۰۰

تاریخ دریافت: بهمن ۱۳۹۹

### چکیده

تنش شوری یکی از مهم‌ترین فاکتورهای کاهش عملکرد گیاهان در جهان به‌شمار می‌رود. کاربرد اسیدهیومیک به‌همراه سلنیوم می‌تواند با افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، عملکرد گیاهان در شرایط تنش شوری را بهبود بخشد. به‌منظور ارزیابی اثرات کاربرد اسیدهیومیک و سلنیوم در شرایط تنش شوری در گیاه همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.)، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۹۷، در شرایط گلخانه در شهرستان اسلامشهر اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل کلرید سدیم (صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر)، اسیدهیومیک (صفر، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و سلنیوم (صفر، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر) و اثر توأم آنها بود. نتایج نشان داد که افزایش میزان شوری به‌طور معنی‌داری سبب کاهش وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه و تعداد گل در بوته شد. محلول‌پاشی با ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدهیومیک و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر سلنیوم سبب بهبود محتوای کاروتنوئید کلبرگ و کلروفیل کل برگ در تمامی سطوح شوری شد. همچنین با افزایش سطح کلرید سدیم تا ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر میزان پرولین به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. در این بین، تیمارهای اثر متقابل اسیدهیومیک و سلنیوم تأثیر معنی‌داری در سطح ۱٪ بر بهبود فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز در سطوح مختلف شوری داشتند. بیشترین میزان اسانس (۱/۳۷٪) در تیمار اثر متقابل ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدهیومیک و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر سلنیوم تحت تنش شوری ۵۰ میلی‌گرم در لیتر کلرید سدیم بدست آمد. به‌طور کلی نتایج این پژوهش نشان داد که محلول‌پاشی با ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدهیومیک و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر می‌تواند در کاهش اثرات منفی تنش شوری بر گیاه دارویی همیشه‌بهار مؤثر باشد.

واژه‌های کلیدی: اسانس، پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز، کلرید سدیم.

### مقدمه

پرورش می‌یابد و اهمیت اقتصادی بالایی دارد (Soroori et al., 2021). اثرهای ضدویروسی، ضدتوموری، آنتی‌موتازنی و آنتی‌اکسیدانی گل‌های همیشه‌بهار مشخص شده است، به‌طوری که در حال حاضر یکی از مهمترین کاربردهای آن درمان التهاب‌های پوستی است (Hormozinejad et al., 2018).

همیشه‌بهار با نام علمی *Calendula officinalis* L. گیاهی بوته‌ای و یک‌ساله از خانواده کاسنی (Asteraceae) و بومی مناطق مدیترانه‌ای است (Rahemi Kahrizaki et al., 2018) که در بیشتر مناطق دنیا به‌عنوان گیاه زینتی، دارویی و صنعتی

اسانس و شاخص‌های رشدی گیاه گردید ( Amiri & Khademalhosseini, 2018). همکاران (۲۰۱۸) دریافتند که در گیاه بادرنجوبه (*Melissa officinallis* L. با افزایش شوری میزان سدیم افزایش یافت، ولی مقدار پتاسیم و نسبت پتاسیم به سدیم کاهش پیدا کرد. در مورد ترکیب‌های موجود در اسانس گیاه نیز با افزایش تنش شوری برخی از این ترکیب‌ها افزایش و برخی کاهش پیدا کردند. همچنین Ghassemi-Gholezani و همکاران (۲۰۲۰) تجمع پرولین در گیاه آویشن (*Thymus vulgaris* L.) در شرایط شوری را به فعالیت بیشتر مسیر سنتز پرولین بجای ساخت کلروفیل از پیش ماده مشترک گلوتامات نسبت دادند. Emami Bistgani و همکاران (۲۰۱۹) نیز دریافتند که در گیاه خردل (*Brassica nigra*) مقادیر کلروفیل‌های *a* و *b* کل با افزایش شدت تنش شوری کاهش یافت و در نهایت منجر به کاهش رشد و ماده خشک گیاه گردید.

پژوهش‌های متعددی در مورد ترکیب‌های مؤثر در کاهش اثرهای منفی تنش شوری در گیاهان انجام شده است که از این ترکیب‌ها می‌توان به اسیدهیومیک و سلنیوم اشاره نمود. اسیدهیومیک یکی از ترکیب‌های آلی هوموسی و سازگار با طبیعت است که در اثر تجزیه مواد آلی به‌ویژه با منشأ گیاهی بوجود می‌آید (Ahmadi & Aminifard, 2018) و از منابع مختلف مانند خاک، هوموس، پیت، لیگنیت اکسید شده و زغال سنگ استخراج می‌شود که در اندازه مولکولی و ساختار شیمیایی متفاوت‌اند (Narimani et al., 2019). مهمترین اثرهای کاربرد اسیدهیومیک شامل تحریک تجمع بیوماس در گیاهان، تحریک جذب و تجمع عناصر غذایی معدنی، بهبود خصوصیات فیزیکی، بیوشیمیایی، بیولوژیک و حاصلخیزی خاک است. اسیدهیومیک بر میزان قند و اسید آمینه، پایداری غشای سلول، جذب اکسیژن و فرایند تنفس و فتوسنتز مؤثر است (Shahsavari et al., 2019). همچنین مواد هیومیکی ممکن است در شرایط تنش‌های غیرزنده، اثرهای ضدتنشی نیز داشته باشند (Khosravi et al., 2011). در گیاه یونجه (*Medicago sativa* L.) کاربرد اسیدهیومیک در شرایط تنش شوری اثر معنی‌داری در مهار عوارض ناشی از تنش شوری در

همچنین گل‌های همیشه‌بهار دارای روغن‌های فرّار (اسانس‌ها)، ترکیب‌های فنلی، فلاونوئیدها، اسیدهای چرب، ویتامین E، سزکویی‌ترین‌ها، گلیکوزیدها، ساپونین‌ها، زانتوفیل‌ها، تربول‌ترین‌ها و ماده‌ای به نام کاندولین می‌باشد (*Gazim et al.*, 2008). به‌طورکلی ترکیب‌های موجود در همیشه‌بهار آن را به یک منبع غنی از ترکیب‌های آنتی‌اکسیدان تبدیل کرده است (Khalid & Teixeira da Silva, 2012).

تنش نتیجه روند غیرعادی فرایندهای فیزیولوژیک بوده و از تأثیر یک یا چند عامل محیطی حاصل می‌شود (*Mirzaie et al.*, 2020). به‌عبارت دیگر تنش عبارت است از قرارگرفتن موجود تحت تأثیر شدتی از یک عامل محیطی که موجب اُفت ظاهری، بازده و یا ارزش آن می‌شود (*Helali Soltanahmadi et al.*, 2018). افزایش نمک‌ها به میزان چهار دسی‌زیمنس بر متر یا بیشتر در خاک موجب بروز اثرهای منفی تنش شوری بر ویژگی‌های مورفولوژیک، فیزیولوژیک و آنزیمی در بیشتر گیاهان می‌گردد (*Shahid et al.*, 2018). اسیدیته خاک‌های شور کمتر از ۸/۵ و مقدار سدیم قابل تبادل آنها کمتر از ۱۵٪ است و املاح موجود در خاک‌های شور بیشتر شامل کلرورها، سولفات‌ها و نیترات‌ها می‌باشند (*Barghi & Gholipouri*, 2020). شوری سبب بروز تنش اسمزی و یونی و بدنبال آن تخریب غشاء سلول، تغییر سطوح تنظیم‌کننده‌های رشد، عدم توازن تغذیه‌ای، اختلال در فعالیت آنزیم‌ها، کاهش بازده فتوسنتز و در نهایت از بین رفتن گیاه می‌شود (*Hasanuzzaman et al.*, 2013). اثرهای تنش شوری و پاسخ گیاهان به آن به عواملی مانند میزان سمّیت یونی، تغییرات قابلیت اسمزی، مدت زمان تنش و نوع گونه گیاهی بستگی دارد (*Parida & Das*, 2005). به‌عنوان مثال تنش شوری سبب کاهش تولید زیست‌توده در گیاه ریحان (*Ocimum basilicum* L.) گردید که این کاهش معمولاً در دو مرحله رخ می‌دهد، مرحله اسمزی به‌دلیل کم شدن سطح برگ و مرحله تجمع یون‌های سمّی در برگ‌ها که به پیری زودرس منجر می‌شود (*Mancarella et al.*, 2016). در گیاه مرزه رشینگری (*Satureja rechingeri* Jamzad) نیز غلظت‌های مختلف شوری کلرید سدیم موجب ایجاد تغییراتی در ترکیب‌های اصلی

بخش هوایی، ارتفاع گیاه، سطح برگ و طول و عرض برگ به طور معنی داری نسبت به غلظت پایین (۲ میلی گرم بر لیتر) کاهش یافت (Nazerieh et al., 2018). Skrypnik و همکاران (۲۰۱۹) نیز دریافتند که کاربرد سدیم سلنات به صورت محلول پاشی و مصرف خاکی موجب بهبود محتوای سلنیوم ریحان (*Ocimum basilicum* L.) گردید. همچنین تحریک رشد ناشی از کاربرد سلنیوم تحت تنش های محیطی در گیاه دارویی استویا (*Stevia rebaudiana* Bertoni) با افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان مرتبط می باشد (Aghighi Shahverdi et al., 2018). بررسی اثر کاربرد سلنیوم بر ویژگی ها، ارزش غذایی و عملکرد چهار گیاه ترب، چغندر، یونجه و آفتابگردان نیز بیانگر اثر معنی دار غلظت ۱۰ میلی گرم در لیتر سلنیوم بر عملکرد محصولات و افزایش میزان عناصر مس، منگنز، مولیبدن، کلسیم و پتاسیم نسبت به شاهد بود (Guevara Moreno et al., 2018). در گیاه بادرشبویه (*Dracocephalum moldavica* L.) کاربرد سلنیوم در شرایط تنش شوری موجب کاهش اثرهای منفی شوری بر ارتفاع بوته و تعداد برگ فعال شد و عملکرد اسانس نیز افزایش یافت (Daneshvar Rad et al., 2019). Keling و همکاران (۲۰۱۳) دریافتند که کاربرد سلنیوم در شرایط تنش شوری موجب افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان، عملکرد ماده خشک گیاهچه و عملکرد کل گیاه خریزه (*Cucumis melo* L.) شد.

بنابراین با توجه به تحقیقات انجام شده در مورد نقش اسید هیومیک و سلنیوم بر کاهش اثرهای تنش های زیستی و غیرزیستی در گیاهان، هدف از انجام این پژوهش بررسی نقش محلول پاشی اسید هیومیک و سلنیوم در کاهش اثرهای منفی تنش شوری بر شاخص های رشد و فعالیت آنزیمی در گیاه همیشه بهار و تعیین مناسب ترین تیمار و غلظت می باشد.

### مواد و روش ها

این پژوهش در سال ۱۳۹۷ در گلخانه ای خصوصی در شهرستان اسلامشهر با میانگین دمای حدود ۲۱ تا ۲۳ درجه سانتی گراد، رطوبت نسبی حدود ۵۰٪ تا ۶۰٪ و شدت نور

دو غلظت ۲ و ۱۲ دسی زیمنس بر متر داشت (Sofi et al., 2018). در گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) نیز اسید هیومیک با قراردادن آب و مواد غذایی بیشتر و مناسب تر در اختیار گیاه موجب افزایش میزان ساخت رنگیزه ها، انتقال راحت تر مواد فتوسنتزی در گیاه و در نتیجه موجب افزایش عملکرد دانه شد (Khoram Ghahfarokhi et al., 2015). بررسی اثرهای اسید هیومیک بر عملکرد گل و شاخص های رشدی زعفران (*Crocus sativus* L.) نشان دهنده اثر اسید هیومیک ۱۰ کیلوگرم در هکتار بر افزایش عملکرد و رشد آن بود (Ahmadi et al., 2017). در گیاه دارویی بادرشبویه (*Dracocephalum moldavica* L.) کاربرد اسید هیومیک در شرایط تنش شوری موجب تعدیل اثرهای منفی شوری بر صفات رویشی گیاه از جمله طول شاخه فرعی و طول سنبله، صفات مربوط به ریشه و محتوای نسبی آب برگ شد. نشأت الکترولیت و میزان پرولین به شدت تحت تنش شوری افزایش یافت، اما کاربرد اسید هیومیک سبب بهبود این صفات گردید (Narimani et al., 2019). همچنین Molahoseini و همکاران (۲۰۱۸) بیان کردند که وزن خشک اندام هوایی، ریشه، ارتفاع بوته، تعداد شاخه فرعی اولیه، رطوبت نسبی برگ و پتاسیم برگ با افزایش شوری کاهش یافت، ولی با افزایش غلظت اسید هیومیک مورد استفاده در گیاه سیاهدانه (*Nigella sativa* L.) در شرایط تنش شوری میزان جذب کربن افزایش نشان داد.

سلنیوم به عنوان یک عنصر غیر ضروری برای گیاهان، اما ضروری برای جانوران و انسان شناخته شده است و از نظر خواص شیمیایی مشابه گوگرد می باشد، این تشابه ممکن است در فرایندهای جایگزینی سلول تأثیرگذار بوده و این عنصر جایگزین گوگرد در پروتئین ها و دیگر ترکیب های گوگردی گردد (Bybordi, 2016). استفاده از سلنیوم از طریق افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان، افزایش غلظت رنگدانه های گیاهی، افزایش فتوسنتز خالص، افزایش جذب پتاسیم و کاهش جذب سدیم، تحمل شوری را در گیاهان افزایش می دهد (Hasanuzzaman et al., 2013). با افزایش غلظت سلنیوم در گیاه دارویی نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) وزن تر

دستگاه طیف‌سنج نوری (UV Visible مدل Spectro Flex 6600) در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت و برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر بیان گردید. برای سنجش فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز، ابتدا عصاره آنزیم براساس روش Ezhilmathi و همکاران (۲۰۰۷) از یک گلبرگ تهیه و بعد فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز به ترتیب براساس روش Putter (۱۹۷۴) و Fridovich (۱۹۸۷) اندازه‌گیری شد. در نهایت فعالیت آنزیم‌ها برحسب واحد آنزیم بر گرم وزن تر بیان گردید. استخراج اسانس از گلبرگ‌ها با استفاده از دستگاه کلونجر ساخت شرکت آزمیران مطابق با روش Danaee و Abdossi (۲۰۱۹) انجام شد و میزان اسانس برحسب درصد بیان گردید.

این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح آماری کامل تصادفی با دو عامل شوری ناشی از نمک کلرید سدیم و محلول‌پاشی با اسید هیومیک و سلنیوم و اثر متقابل آنها اجرا شد. در نهایت تجزیه داده‌ها توسط نرم‌افزار آماری SPSS23 و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵٪ و ۱٪ انجام گردید.

## نتایج

تجزیه واریانس صفات مورد ارزیابی نشان داد که اثر شوری بر وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه، تعداد گل، کلروفیل کل برگ، میزان پرولین و فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز و درصد اسانس در سطح ۱٪ و بر کاروتنوئید گلبرگ در سطح ۵٪ معنی‌دار است. اثر محلول‌پاشی بر وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه، کاروتنوئید گلبرگ، میزان پرولین و درصد اسانس در سطح ۱٪ و بر تعداد گل، کلروفیل کل برگ، فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز در سطح ۵٪ معنی‌دار است. همچنین اثر متقابل شوری × محلول‌پاشی بر وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه، کاروتنوئید گلبرگ، کلروفیل کل برگ، میزان پرولین و فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز و درصد اسانس در سطح ۱٪ و بر تعداد گل در سطح ۵٪ معنی‌دار است (جدول ۱).

حدود ۶۰ تا ۷۰ میکرومول بر مترمربع در ثانیه انجام شد. بذرها همیشه‌بهار از شرکت پاکان بذر اصفهان خریداری و با هیپوکلریت سدیم ۱۰٪ به مدت ۳ دقیقه ضدعفونی و بعد با آب مقطر شستشو داده شد (Valdiani et al., 2005). سپس در هر چاهک سینی کشت حاوی کوکویت و پرلیت (به نسبت ۱-۱) ۳ عدد بذر کشت شد. پس از حدود دو هفته گیاهچه‌ها به گلدان‌هایی به ابعاد قطر دهانه ۱۵ سانتی‌متر و ارتفاع ۱۲ سانتی‌متر حاوی بستر کشت مناسب شامل خاک لومی، شن و کمپوست به نسبت ۱-۱-۱ انتقال داده شدند. اعمال تیمارهای مورد نظر ۲۰ روز پس از انتقال به گلدان اصلی (مرحله ابتدای ظهور ساقه) انجام شد.

محلول‌پاشی با اسیدهیومیک و سلنیوم (از منبع سلنات سدیم) سه مرتبه و با فاصله یک هفته انجام شد و تیمار شوری همزمان با آخرین محلول‌پاشی، حدود ۶۰ روز پس از کشت بذر یعنی در زمان مشاهده اولین غنچه گل قابل تشخیص روی بوته اعمال گردید. آبیاری گلدان‌های دارای تیمار شوری، هر سه روز یک‌بار با میزان ۱۵۰ میلی‌لیتر کلرید سدیم انجام شد. کوددهی با عناصر مورد نیاز به‌طور معمول برای گیاهان انجام و گلدان بدون اعمال تیمار نیز به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. نمونه‌برداری و ارزیابی صفات مورد نظر در مرحله گلدهی کامل (حدود ۷۰ روز پس از کشت بذرها) انجام گردید.

برای اندازه‌گیری وزن تر اندام هوایی و ریشه از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ استفاده شد. وزن خشک اندام هوایی و ریشه نیز پس از ۷۲ ساعت قرارگیری در آون با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ مطابق روش Celikel و Reid (۲۰۰۲) توزین گردید. تعداد گل‌ها و غنچه‌های موجود در هر نمونه شمارش شد. محتوای کاروتنوئید گلبرگ‌ها با استفاده از ۰/۵ گرم نمونه در طول موج‌های ۴۸۰ و ۵۱۰ نانومتر به روش Najafi و Mostofi (۲۰۰۵) و محتوای کلروفیل کل برگ‌ها با استفاده از قطعات ۰/۵ گرمی از برگ و حلال استون ۸۰٪ به روش Arnon (۱۹۴۹) در طول موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر قرائت و برحسب میلی‌گرم در گرم وزن تر نمونه محاسبه شد. میزان پرولین با روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) اندازه‌گیری شد و میزان جذب نمونه‌ها با استفاده از

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر اسید هیومیک و سلنیوم در شرایط تنش شوری در گیاه همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.)

| میانگین مربعات |           |                    |         |                |                  |          |              |             |                     |                    | درجه آزادی | منبع تغییرات      |
|----------------|-----------|--------------------|---------|----------------|------------------|----------|--------------|-------------|---------------------|--------------------|------------|-------------------|
| اسانس          | پراکسیداز | سوپراکسید دیسموتاز | پرولین  | کلروفیل کل برگ | کاروتنوئید گلبرگ | تعداد گل | وزن خشک ریشه | وزن تر ریشه | وزن خشک اندام هوایی | وزن تر اندام هوایی |            |                   |
| ۰/۴۹۸**        | ۱۶۷/۱۴۱** | ۲۹۸/۶۷۴**          | ۰/۱۸۵** | ۰/۲۷۵**        | ۰/۱۶۹*           | ۴۷/۸۹۱** | ۷۶/۱۸۴**     | ۱۱۲/۳۲۵**   | ۹۸/۱۲۳**            | ۱۴۸/۲۶۳**          | ۲          | شوری              |
| ۰/۰۷۶**        | ۴۱/۹۸۱*   | ۱۷/۶۵۳*            | ۰/۱۶۲** | ۰/۱۶۷*         | ۰/۱۵۲**          | ۵/۳۱۵*   | ۶/۲۸۶**      | ۱۰/۱۷۲**    | ۸/۲۵۶**             | ۱۲/۵۹۲**           | ۸          | محلول پاشی        |
| ۰/۰۱۱**        | ۳۵/۴۶۷**  | ۴۸/۳۹۶**           | ۰/۰۵۸** | ۰/۰۶۴**        | ۰/۰۳۶**          | ۹/۸۷۲*   | ۱۵/۲۷۵**     | ۲۳/۴۱۱**    | ۱۷/۵۶۱**            | ۲۶/۱۸۷**           | ۱۶         | شوری × محلول پاشی |
| ۰/۰۰۴          | ۵/۲۳۸     | ۴/۰۵۳              | ۰/۰۰۶   | ۰/۰۰۸          | ۰/۰۰۷            | ۳/۱۲۱    | ۲/۱۱۸        | ۵/۷۳۴       | ۴/۷۸۲               | ۶/۳۱۲              | ۵۴         | اشتباه آزمایشی    |
| ۹/۴۵           | ۱۰/۳۱     | ۱۰/۷۶              | ۱۱/۴۳   | ۱۰/۲۵          | ۸/۳۹             | ۱۲/۵۸    | ۱۱/۷۶        | ۱۰/۵۲       | ۹/۲۴                | ۱۱/۳۵              | ---        | ضریب تغییرات (%)  |

\*\*،\*،ns: به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۱٪ و ۵٪ و غیرمعنی دار

## وزن تر و خشک اندام هوایی، ریشه و تعداد گل

نتایج نشان داد که در شرایط تنش شوری وزن تر و خشک اندام هوایی، ریشه و تعداد گل به طور معنی داری کاهش یافت. محلول پاشی با غلظت‌های مختلف اسید هیومیک و سلنیوم موجب کاهش اثرهای منفی تنش شوری شد. بیشترین وزن تر اندام هوایی (۲۸/۶۴ گرم) و ریشه (۵/۵۵ گرم) در تیمار شاهد و به ترتیب کمترین مقدار ۲۱/۴۱ گرم و ۳/۴۷ گرم در تیمار کلرید سدیم

۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر بدست آمد. بیشترین و کمترین وزن خشک اندام هوایی به ترتیب با ۷/۰۳ و ۴/۴۱ گرم در تیمار شاهد و کلرید سدیم ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر و بیشترین و کمترین وزن خشک ریشه به ترتیب با ۲/۳۷ و ۱/۱۲ گرم در تیمار شاهد و کلرید سدیم ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر بود. بیشترین تعداد گل در بوته (۸/۴) در تیمار شاهد و کمترین (۴/۶) در تیمار کلرید سدیم ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد (جدول ۲).

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر کاربرد توأم اسید هیومیک و سلنیوم بر وزن تر و خشک اندام هوایی، ریشه و تعداد گل در گیاه

همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.) در سطوح مختلف تنش شوری

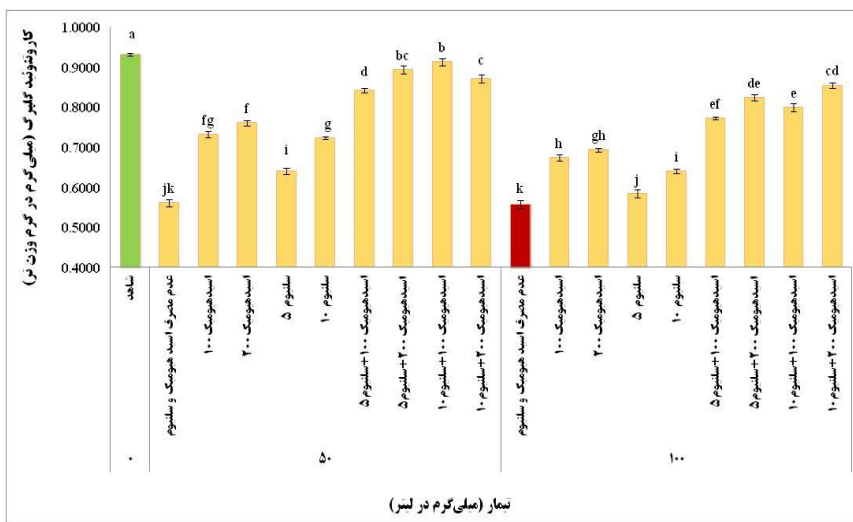
| تعداد گل | وزن خشک<br>ریشه (گرم) | وزن تر<br>ریشه (گرم) | وزن خشک<br>اندام هوایی (گرم) | وزن تر<br>اندام هوایی (گرم) | اسید هیومیک و سلنیوم<br>(میلی‌گرم در لیتر) | کلرید سدیم<br>(میلی‌گرم در لیتر) |
|----------|-----------------------|----------------------|------------------------------|-----------------------------|--|----------------------------------|
| ۸/۴a     | ۲/۳۷a                 | ۵/۵۵a                | ۷/۰۳a                        | ۲۸/۶۴a                      | شاهد (عدم مصرف<br>اسید هیومیک و سلنیوم)    | ۰                                |
| ۵/۱j     | ۱/۲۹k                 | ۳/۶۱m                | ۴/۶۸i                        | ۲۳/۱۵l                      | عدم مصرف اسید هیومیک و سلنیوم              |                                  |
| ۶/۳g     | ۱/۴۸hi                | ۴/۱۱ij               | ۴/۸۷gh                       | ۲۴/۸۲h                      | اسید هیومیک ۱۰۰                            |                                  |
| ۶/۶f     | ۱/۵۳gh                | ۴/۳۷h                | ۴/۹۵fg                       | ۲۴/۹۷gh                     | اسید هیومیک ۲۰۰                            |                                  |
| ۶/۳g     | ۱/۵۱h                 | ۴/۰۵j                | ۴/۹۴fg                       | ۲۴/۵۸ij                     | سلنیوم ۵                                   |                                  |
| ۶/۴fg    | ۱/۵۶g                 | ۴/۲۸i                | ۵/۱۴f                        | ۲۵/۱۹g                      | سلنیوم ۱۰                                  | ۵۰                               |
| ۶/۹de    | ۱/۸۳d                 | ۴/۸۶d                | ۵/۷۰d                        | ۲۶/۵۱d                      | اسید هیومیک ۱۰۰ + سلنیوم ۵                 |                                  |
| ۷/۴c     | ۲/۱۵b                 | ۴/۹۵cd               | ۶/۵۸b                        | ۲۷/۳۵b                      | اسید هیومیک ۱۰۰ + سلنیوم ۱۰                |                                  |
| ۷/۱d     | ۱/۸۹cd                | ۵/۰۲cd               | ۵/۹۷cd                       | ۲۶/۷۴cd                     | اسید هیومیک ۲۰۰ + سلنیوم ۵                 |                                  |
| ۷/۹b     | ۱/۹۴c                 | ۵/۲۳b                | ۶/۲۱c                        | ۲۷/۱۲c                      | اسید هیومیک ۲۰۰ + سلنیوم ۱۰                |                                  |
| ۴/۶k     | ۱/۱۲l                 | ۳/۴۷n                | ۴/۴۱j                        | ۲۱/۴۱m                      | عدم مصرف اسید هیومیک و سلنیوم              |                                  |
| ۵/۶i     | ۱/۴۲ij                | ۳/۸۵k                | ۴/۷۲hi                       | ۲۳/۹۷k                      | اسید هیومیک ۱۰۰                            |                                  |
| ۶/۱gh    | ۱/۴۵i                 | ۳/۹۴jk               | ۴/۷۹h                        | ۲۴/۶۱ij                     | اسید هیومیک ۲۰۰                            |                                  |
| ۵/۹h     | ۱/۳۸j                 | ۳/۷۸l                | ۴/۷۱hi                       | ۲۴/۱۳j                      | سلنیوم ۵                                   |                                  |
| ۶/۱gh    | ۱/۴۷hi                | ۳/۸۹k                | ۴/۸۵gh                       | ۲۴/۳۶ij                     | سلنیوم ۱۰                                  | ۱۰۰                              |
| ۶/۷ef    | ۱/۶۹ef                | ۴/۴۶g                | ۵/۲۲ef                       | ۲۵/۸۵ef                     | اسید هیومیک ۱۰۰ + سلنیوم ۵                 |                                  |
| ۶/۸e     | ۱/۸۱de                | ۴/۷۲f                | ۵/۶۷d                        | ۲۵/۷۶f                      | اسید هیومیک ۱۰۰ + سلنیوم ۱۰                |                                  |
| ۶/۶f     | ۱/۶۴f                 | ۴/۷۹ef               | ۵/۳۸e                        | ۲۶/۰۳e                      | اسید هیومیک ۲۰۰ + سلنیوم ۵                 |                                  |
| ۶/۹de    | ۱/۷۵e                 | ۴/۸۵e                | ۵/۴۴de                       | ۲۶/۲۸de                     | اسید هیومیک ۲۰۰ + سلنیوم ۱۰                |                                  |

میانگین با حروف یکسان در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح  $P \leq 0.05$  است.

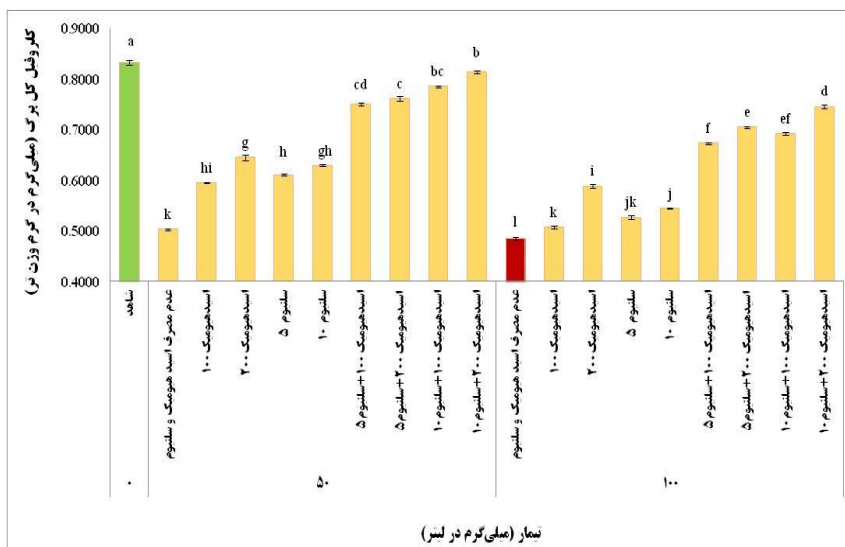
کاروتنوئید گلبرگ و کلروفیل کل برگ

بررسی داده‌های پژوهش نشان داد که محتوای کاروتنوئید گلبرگ و کلروفیل کل برگ در شرایط تنش شوری به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد کاهش یافت. محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسید هیومیک و سلنیوم

موجب بهبود محتوای کاروتنوئید گلبرگ و کلروفیل کل برگ در سطوح مختلف شوری گردید که این تأثیر در تیمارهای اثر متقابل اسید هیومیک و سلنیوم تحت تنش شوری کلرید سدیم ۵۰ میلی‌گرم در لیتر مشهودتر بود.



شکل ۱- اثر کاربرد توأم اسید هیومیک و سلنیوم بر محتوای کاروتنوئید گلبرگ گیاه همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.) در سطوح مختلف تنش شوری حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف آماری معنی‌دار در سطح  $P \leq 0.05$  است.

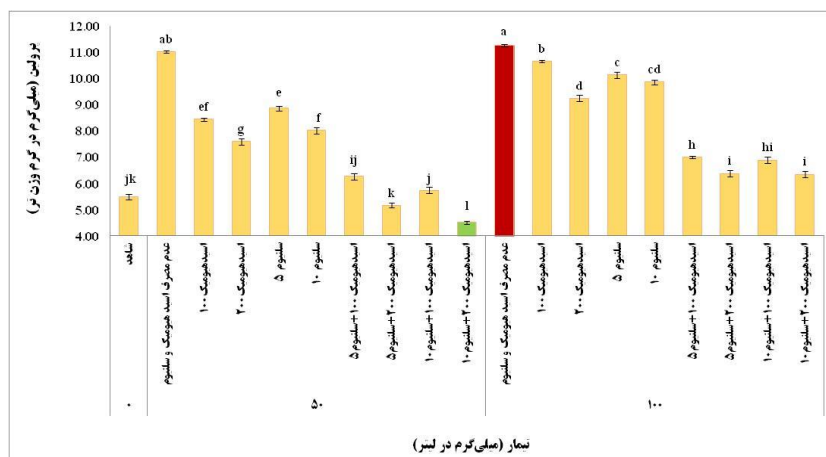


شکل ۲- اثر کاربرد توأم اسید هیومیک و سلنیوم بر محتوای کلروفیل کل برگ گیاه همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.) در سطوح مختلف تنش شوری حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف آماری معنی‌دار در سطح  $P \leq 0.05$  است.

## پرولین

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که میزان پرولین در شرایط تنش شوری نسبت به شاهد به طور معنی داری افزایش یافت. محلول پاشی گیاهان تحت تنش شوری با غلظت‌های مختلف اسید هیومیک و سلنیوم موجب کاهش میزان پرولین گردید و این تأثیر مثبت در تیمارهای اثر متقابل اسید هیومیک و سلنیوم نمایان تر است. بیشترین میزان پرولین با ۱۱/۲۶ میلی‌گرم در گرم تر در تیمار کلرید سدیم ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر و کمترین میزان پرولین با ۴/۵۲ میلی‌گرم در گرم در تیمار اثر متقابل اسید هیومیک ۲۰۰+سلنیوم ۱۰ میلی‌گرم در لیتر تحت تنش شوری کلرید سدیم ۵۰ میلی‌گرم در لیتر بود (شکل ۳).

همچنین در تیمارهای اثر متقابل اسید هیومیک و سلنیوم، تیمار اسید هیومیک ۱۰۰+سلنیوم ۱۰ میلی‌گرم در لیتر تحت تنش شوری کلرید سدیم ۵۰ میلی‌گرم در لیتر با ۰/۹۱۴۲ میلی‌گرم در گرم وزن تر بیشترین محتوای کاروتنوئید گلبرگ و تیمار اسید هیومیک ۲۰۰+سلنیوم ۱۰ میلی‌گرم در لیتر تحت تنش شوری کلرید سدیم ۵۰ میلی‌گرم در لیتر با ۰/۸۱۳۷ میلی‌گرم در گرم وزن تر بیشترین محتوای کلروفیل کل برگ را داشتند. بیشترین و کمترین محتوای کاروتنوئید گلبرگ و کلروفیل کل برگ به ترتیب با ۰/۹۳۲۶ و ۰/۸۳۲۹ میلی‌گرم در گرم وزن تر در تیمار شاهد و ۰/۵۵۷۶ و ۰/۴۸۴۳ میلی‌گرم در گرم وزن تر در تیمار کلرید سدیم ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر بود (شکل‌های ۱ و ۲).



شکل ۳- اثر کاربرد توأم اسید هیومیک و سلنیوم بر میزان پرولین گیاه همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.) در سطوح مختلف تنش شوری حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف آماری معنی‌دار در سطح  $P \leq 0.05$  است.

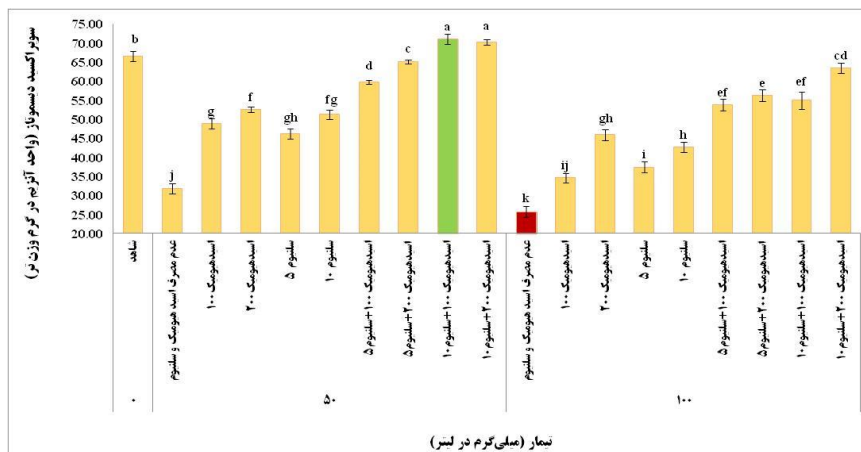
اسید هیومیک و سلنیوم تحت تنش شوری کلرید سدیم ۵۰ میلی‌گرم در لیتر نمایان تر و بیشتر از اثر ساده تیمارها می‌باشد. بیشترین و کمترین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به ترتیب با ۷۱/۰۶ و ۲۵/۶۳ واحد آنزیم در گرم وزن تر در تیمار اثر متقابل اسید هیومیک ۱۰۰+ سلنیوم ۱۰ میلی‌گرم در لیتر تحت تنش شوری کلرید سدیم ۵۰ میلی‌گرم در لیتر و تیمار کلرید سدیم ۱۰۰ میلی‌گرم در

فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز بررسی داده‌های پژوهش نشان داد که فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز در شرایط تنش شوری به طور معنی داری نسبت به شاهد کاهش یافت. محلول پاشی با غلظت‌های مختلف اسید هیومیک و سلنیوم موجب بهبود آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز در سطوح مختلف شوری گردید که این تأثیر در تیمارهای اثر متقابل



شوری کلرید سدیم ۵۰ میلی‌گرم در لیتر و کمترین با ۲۲/۱۵ واحد آنزیم در گرم وزن تر تیمار کلرید سدیم ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر بود (شکل‌های ۴ و ۵).

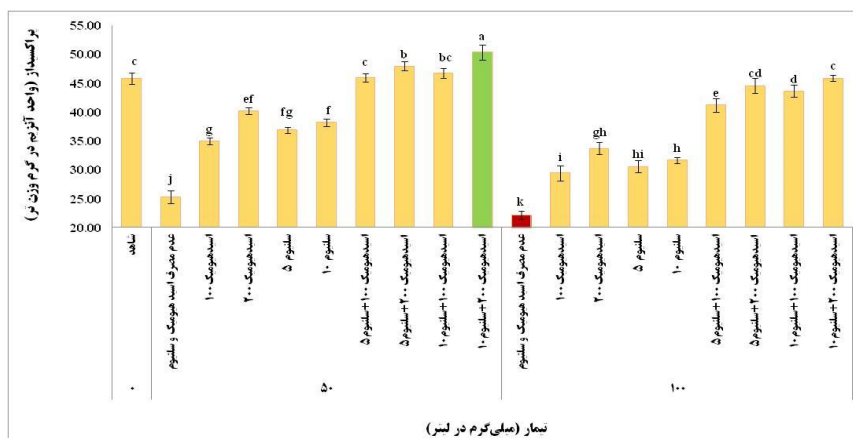
لیتر بدست آمد. بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز ۵۰/۳۳ واحد آنزیم در گرم وزن تر در تیمار اثر متقابل اسید هیومیک ۲۰۰+سلنیوم ۱۰ میلی‌گرم در لیتر تحت تنش



شکل ۴- اثر کاربرد توأم اسید هیومیک و سلنیوم بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز

گیاه همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.) در سطوح مختلف تنش شوری

حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف آماری معنی‌دار در سطح  $P \leq 0.05$  است.



شکل ۵- اثر کاربرد توأم اسید هیومیک و سلنیوم بر فعالیت آنزیم پراکسیداز

گیاه همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.)

حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف آماری معنی‌دار در سطح  $P \leq 0.05$  است.

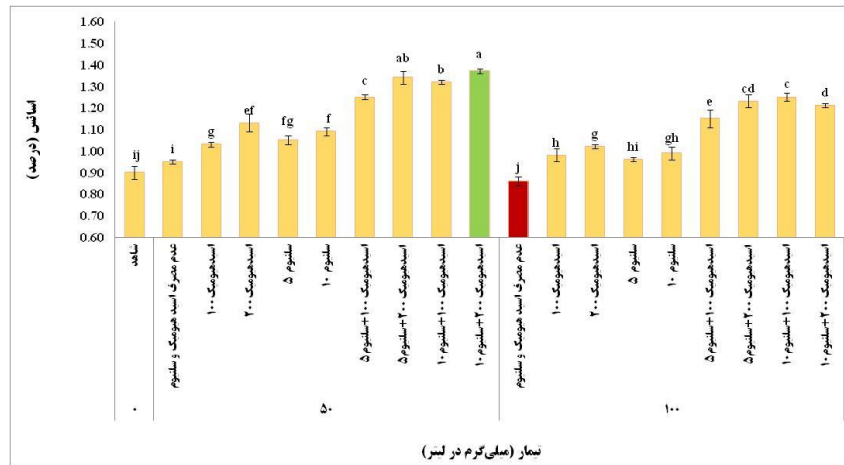
غلظت‌های مختلف اسید هیومیک و سلنیوم موجب بهبود درصد اسانس در سطوح مختلف شوری شد و این تأثیر مثبت در تیمارهای اثر متقابل اسید هیومیک و سلنیوم بیشتر بود. بیشترین درصد اسانس با ۱/۳۷٪ در تیمار اثر متقابل

درصد اسانس

نتایج نشان داد درصد اسانس در تیمار کلرید سدیم ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر تفاوت معنی‌داری نسبت به شاهد نداشت. محلول‌پاشی گیاهان تحت تنش شوری با

درصد اسانس با ۸۶٪/۰ در تیمار کلرید سدیم ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر بود (شکل ۶).

اسید هیومیک ۲۰۰+ سلنیوم ۱۰ میلی‌گرم در لیتر تحت تنش شوری کلرید سدیم ۵۰ میلی‌گرم در لیتر و کمترین



شکل ۶- اثر کاربرد توأم اسید هیومیک و سلنیوم بر درصد اسانس گیاه همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.) در سطوح مختلف تنش شوری

حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف آماری معنی‌دار در سطح  $P \leq 0.05$  است.

2019). در این پژوهش نیز تنش شوری موجب کاهش معنی‌دار وزن تر و خشک اندام هوایی، ریشه و تعداد گل در بوته در سطح آماری ۱٪ نسبت به شاهد شد. محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف اسید هیومیک و سلنیوم اثر معنی‌داری بر بهبود وزن تر و خشک اندام هوایی و وزن خشک ریشه و تعداد گل داشت که این تأثیر در تیمارهای اثر متقابل اسید هیومیک و سلنیوم بیشتر بود. سلنیوم از طریق افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در برخی گیاهان و افزایش مقاومت به تنش‌ها از جمله شوری و تنظیم آنزیم‌های شرکت‌کننده در سنتز و هیدرولیز ساکارز و نشاسته، میزان تولید این دو ماده را افزایش داده و موجب تأمین پیش‌ماده لازم برای رشد گیاه و بهبود شاخص‌های رشد وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه می‌گردد (Jahid et al., 2011). همچنین به نظر می‌رسد سلنیوم از طریق افزایش فتوسنتز موجب تشکیل ترکیب‌های آلی و انتقال آنها به مخازن زایشی و ریشه‌ها شده و ضمن ایجاد تعادل اسمزی در گیاه و تحمل تنش موجب افزایش رشد رویشی و تعداد گل در گیاهان می‌شود

## بحث

تنش شوری یکی از شایع‌ترین تنش‌های غیرزنده است که منجر به کاهش زیادی در رشد و عملکرد گیاهان زراعی به‌ویژه در نواحی خشک و نیمه‌خشک می‌گردد (Acosta- Motos et al., 2017). تحقیقات متعددی نشان داده که کاربرد اسید هیومیک و سلنیوم به دلیل نقش مؤثر در مقاومت گیاهان به تنش‌های زیستی و غیرزیستی و تأثیر مثبت در تغذیه گیاهان موجب کاهش اثرهای منفی تنش‌ها از جمله شوری در رشد و نمو گیاهان می‌شود. به‌عنوان مثال Daneshvar Rad و همکاران (۲۰۱۹) اثرهای مثبت استفاده از سلنیوم در کاهش اثرهای منفی تنش شوری بر شاخص‌های رشد گیاه دارویی بادرشبو و Narimani و همکاران (۲۰۱۹) تأثیر بهبوددهندگی اسید هیومیک بر وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه بادرشبو را گزارش نمودند. در گیاه *Plectranthus amboinicus* نیز محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف اسید هیومیک و سلنیوم موجب افزایش درصد اسانس و عملکرد محصول شد (El-Gohary et al.,

حفظ و سنتز پروتئین، جلوگیری از تخریب آنزیم‌ها و قابلیت حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن، مقاومت گیاهان را در برابر تنش‌ها افزایش می‌دهد (Soshinkova et al., 2013). در این پژوهش نیز میزان پرولین در شرایط تنش شوری نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش یافت و محلول‌پاشی گیاهان تحت تنش شوری با غلظت‌های مختلف اسید هیومیک و سلنیوم موجب کاهش میزان پرولین گردید. میزان پرولین در تمام تیمارهای اثر متقابل اسید هیومیک و سلنیوم به‌طور مشخصی نسبت به سایر تیمارها کاهش نشان داد. Zrig و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند که تجمع اسید آمینه‌هایی مانند پرولین در گیاه آویشن در شرایط تنش شوری افزایش یافت. اسید هیومیک از طریق افزایش جذب آب توسط گیاه موجب تنظیم اسمزی در سلول‌ها شده و در نتیجه می‌تواند پیامدهای تنش را به حداقل برساند (Azarmi et al., 2016). نتایج تحقیقات Zaji و همکاران (۲۰۱۹) نشان داد که محلول‌پاشی سلنیوم نیز نقش بسزایی در کاهش اثرهای مضر شوری با تنظیم میزان پرولین به‌عنوان یک اسمولیت، سازگاری مناسب با آنزیم‌ها و ماکرومولکول‌های سلول دارد.

زمانی که گیاهان در معرض تنش شوری قرار می‌گیرند، تولید گونه‌های فعال اکسیژن به‌طور قابل توجهی افزایش می‌یابد که این مسئله می‌تواند موجب آسیب به سلول‌ها و اجزای سلولی گردد. گیاهان برای کاهش دادن اثر مخرب گونه‌های اکسیژن فعال سازوکارهای متفاوتی دارند (Oueslati et al., 2010). از جمله این سازوکارها می‌توان به سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی اشاره نمود. این سیستم شامل سیستم آنزیمی و غیرآنزیمی است که مهمترین ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی شامل گلوکاتایون، توکوفرول فلاونوئیدها و آسکوربات است که در پاکسازی گونه‌های فعال اکسیژن به‌طور مستقیم نقش دارند و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز نیز در پاکسازی رادیکال‌های آزاد اکسیژن در سلول نقش ایفاء می‌کنند (Kiani et al., 2014). داده‌های حاصل از این پژوهش نشان داد که محلول‌پاشی گیاهان با غلظت‌های مختلف اسید

(Daneshvar Rad et al., 2019). اسید هیومیک نیز با افزایش جذب عناصر معدنی پرمصرف و کم‌مصرف برای ریشه، بهبود ساختار خاک، افزایش نفوذپذیری بستر به آب و هوا، افزایش ظرفیت تبادل کاتیونی، خواص شبه‌هورمونی و اثر مثبت بر غشاء سلولی و بهبود نقل و انتقال عناصر غذایی در داخل گیاه، می‌تواند سبب کاهش عوامل تنش‌زا و در نتیجه بهبود شاخص‌های رشد و عملکرد گیاهان گردد (Chamani et al., 2012).

بررسی داده‌های پژوهش نشان داد که محتوای کاروتنوئید گلبرگ‌ها و کلروفیل کل برگ‌ها در شرایط تنش شوری با محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف اسید هیومیک و سلنیوم به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. تیمارهای اثر متقابل اسید هیومیک و سلنیوم بیشترین تأثیر را در بهبود محتوای کاروتنوئید گلبرگ‌ها و کلروفیل کل برگ‌ها داشتند. مطالعات Narimani و همکاران (۲۰۱۹) نشان داد که کاهش غلظت کلروفیل و کاروتنوئید به دلیل تأثیر تنش شوری بر عوامل روزنه‌ای و کاهش ورود دی‌اکسیدکربن به سلول‌ها، کاهش سطح برگ، کاهش جذب نیتروژن به‌عنوان ترکیب عمده رنگدانه‌های فتوسنتزی با ساختار نیتروژنی و کاهش برخی فعالیت‌های فیتوشیمیایی در گیاه می‌باشد. کاربرد توأم اسید هیومیک و سلنیوم با افزایش جذب عناصر غذایی به‌ویژه نیتروژن منجر به افزایش رنگدانه‌های گیاهی آلسترومیریا گردید (Chamani et al., 2012). همچنین مطابق با یافته‌های Nasooti Miandoab و همکاران (۲۰۱۰) اسید هیومیک از طریق قدرت کلات‌کنندگی عناصر غذایی و با کاهش تبخیر و تعرق و در نتیجه قرار دادن آب و مواد غذایی بیشتر و مناسب‌تر در اختیار گیاه، فعالیت رنگیزه‌ها را افزایش داده و انتقال مواد غذایی را در گیاه راحت‌تر می‌کند. سلنیوم نیز از راه افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی موجب بهبود سنتز کلروفیل و کاروتنوئیدها به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌های بیولوژیک در گیاهان می‌گردد (Shekari et al., 2016).

افزایش پرولین در گیاهان به هنگام تنش، نوعی سازوکار دفاعی است. پرولین با چندین سازوکار مانند تنظیم اسمزی،

گردید. کاربرد اسید هیومیک به عنوان یک ماده آلی از طریق قراردادن آب و مواد غذایی بیشتر و مناسب تر در اختیار گیاه می تواند ساخت کلروفیل را افزایش دهد و انتقال مواد فتوسنتزی را راحت تر نموده، در نتیجه ساخت متابولیت های ثانویه مختلف در گیاهان افزایش می یابد (Mohammadi *et al.*, 2018). در گیاه بادرشبو، کاربرد سلنیوم در شرایط تنش شوری موجب کاهش اثرهای منفی شوری افزایش عملکرد و درصد اسانس شد (Daneshvar Rad *et al.*, 2019). همچنین Bolandnazar و همکاران (۲۰۱۵) بیان کردند که کاربرد توأم سلنیوم ۳۰ میلی گرم در لیتر و اسید هیومیک ۲۰ کیلوگرم در هکتار موجب موجب میزان آلیسین در گیاه سیر شد.

به طور کلی نتایج پژوهش نشان داد که محلول پاشی گیاه همیشه بهار با غلظت های مختلف اسید هیومیک و سلنیوم به دلیل نقش حفاظتی و تعدیل کنندگی آنها موجب کاهش اثرهای منفی تنش شوری بر صفات مورفوفیزیولوژیک و درصد اسانس گردید و از گیاهان همیشه بهار در برابر تنش شوری محافظت نمود. در صفاتی مانند وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه، تعداد گل، محتوای کاروتنوئید گلبرگ و کلروفیل کل برگ، بهترین نتایج در تیمار شاهد بدست آمد. در صفات میزان پرولین، فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و درصد اسانس، اثر بهبوددهندگی تیمار اثر متقابل اسید هیومیک ۲۰۰+ سلنیوم ۱۰ میلی گرم در لیتر بهتر بود. بیشترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز نیز در تیمار اثر متقابل اسید هیومیک ۱۰۰+ سلنیوم ۱۰ میلی گرم در لیتر بدست آمد. به طور کلی در بین غلظت های مختلف اسید هیومیک و سلنیوم، تیمار اثر متقابل اسید هیومیک ۲۰۰+ سلنیوم ۱۰ میلی گرم در لیتر بیشترین تأثیر را در مهار اثرهای تنش شوری در بیشتر شاخص های رشد و درصد اسانس داشت. بنابراین با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش، می توان محلول پاشی اسید هیومیک و سلنیوم را برای کاهش اثرهای منفی تنش شوری در گیاه دارویی و زینتی همیشه بهار توصیه نمود.

هیومیک و سلنیوم موجب بهبود آنزیم های سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز در سطوح مختلف شوری گردید که این تأثیر در تیمارهای اثر متقابل اسید هیومیک و سلنیوم تحت تنش شوری کلرید سدیم ۵۰ میلی گرم در لیتر نمایان تر است. Hajiboland و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کردند که در شرایط تنش، سلنیوم موجب افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی در گیاهان مختلف می شود و در واقع سلنیوم از آسیب های ناشی از تنش جلوگیری می نماید. نتایج تحقیقات Gohari و همکاران (۲۰۱۶) نیز نشان داد که در گیاه ریحان با افزایش شوری عملکرد اسانس در واحد سطح به طور معنی داری کاهش پیدا کرد. البته کاربرد اسید هیومیک موجب بهبود میزان اسانس تحت تنش شوری گردید.

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که درصد اسانس در تیمار کلرید سدیم ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر تفاوت معنی داری نسبت به شاهد نداشت. محلول پاشی گیاهان تحت تنش شوری با غلظت های مختلف اسید هیومیک و سلنیوم موجب بهبود درصد اسانس در سطوح مختلف شوری گردید و این تأثیر مثبت در تیمارهای اثر متقابل اسید هیومیک و سلنیوم بیشتر بود. تنش شوری علاوه بر کاهش شاخص های رشد، تولید متابولیت های ثانویه و اسانس ها را هم در گیاهان دارویی تحت تأثیر قرار می دهد. تولید ترکیب های ثانویه که در گیاهان نقش محافظتی را در برابر تنش ها دارند به گیاهان کمک می نمایند تا شرایط نامساعد را تحمل نموده و به حیات خود ادامه دهند، البته همیشه به یک میزان نبوده و عوامل متعددی وجود دارند که می توانند تولید این ترکیب ها را تحت تأثیر قرار دهند (Ramakrishna & Ravishankar, 2011). نوع گونه یا جنس گیاهی، مرحله رشد و نمو، شرایط فصلی، میزان دسترسی به مواد غذایی و معدنی و شرایط تنش از جمله این عوامل هستند (Amiri & Ghasemi Ramadanabad, 2018). همکاران (۲۰۰۵) دریافتند که در گیاه دارویی آویشن باغی، تنش شوری کم موجب افزایش اسانس در گیاه شد، اما تیمار کلرید سدیم ۱۰۰ میلی گرم در لیتر به دلیل آسیب به گیاه موجب کاهش معنی دار درصد اسانس نسبت به شاهد

- Bates, L.S., Waldren, R.P. and Teare, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39: 205-207.
- Bayer, W.F. and Fridovich, I., 1987. Assaying for superoxide dismutase activity: some large consequences of minor changes in condition. *Analytical Biochemistry*, 161(2): 559-566.
- Bolandnazar, S.A., Pirdashti, H.A., Tabatabai, S.J. and Qasemi, K., 2015. The effect of selenium and humic acid on growth, yield, some physiological traits and antioxidant power of garlic. Doctoral Thesis, University of Tabriz.
- Bybordi, A., 2016. Effect of zeolite, selenium and silicon on yield, yield components and some physiological traits of canola under salt stress conditions. *Iranian Journal of Field Crop Research*, 14(1): 154-170.
- Celikel, F.G. and Reid, M.S., 2002. Postharvest handling of stock (*Matthiola incana*). *Journal of Horticultural Science*, 37(1): 144-147.
- Chamani, A., Esmailpour, B., Pourbeyrami, Y., Malekilajayer, H. and Saadati, A., 2012. Investigation the effects of thidiazuron and humic acid on postharvest life of cut *Alstroemeria aurantifolia* cv. "Konyambe". *Journal of Horticultural Science*, 26(2): 152-147.
- Danaee, E. and Abdossi, V., 2019. Phytochemical and morphophysiological responses in basil (*Ocimum basilicum* L.) plant to application of polyamines. *Journal of Medicinal Plants*, 18(69): 125-134.
- Daneshvar Rad, N., Sajedi, N.A. and Naieni, M.R., 2019. Effects of salicylic acid and selenium foliar application on salinity tolerance and essential oil yield of moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 34(6): 945-975.
- El-Gohary, A., Amer, H., Salem, S. and Hussine, M., 2019. Foliar application of selenium and humic acid changes yield, essential oil and chemical composition of *Plectranthus amboinicus* (Lour.) plant and its antimicrobial effects. *Egyptian Pharmaceutical Journal*, 18(4): 356-367.
- Emami Bistgani, Z., Hashemi, M., Dacosta, M., Craker, L., Maggi, F. and Morshedloo, M.R., 2019. Effect of salinity stress on physiological characteristics, phenolic compounds and antioxidant activity of *Thymus vulgaris* L. and *Thymus daenensis* Celak. *Industrial Crops and Products*, 135: 311-320.
- Ezhilmathi, K., Singh, V., Arora, P. and Sairam, R.K., 2007. Effect of 5-sulfocalycolic acid on antioxidant in relation to vase life of gladiolus cut flower. *Plant Growth Regulation*, 51: 99-108.
- Gazim, Z., Rezende, C., Fraga, S., Dias Filho, B., Nakamura, C. and Cortez, D., 2008. Analysis of the essential oils from *Calendula officinalis* growing in Brazil using three different extraction procedures.

## سیاسگزاری

نویسندگان مقاله از مسئولان محترم دانشگاه آزاد واحد علی آباد کتول به دلیل فراهم نمودن امکانات لازم برای انجام این پژوهش سپاسگزاری می نمایند.

## منابع مورد استفاده

- Acosta-Motos, J.R., Fernanda Ortuño, M., Bernal-Vicente, A., Diaz-Vivancos, P., Jesus Sanchez-Blanco, M. and Antonio Hernandez, J., 2017. Plant responses to salt stress: adaptive mechanisms. *Journal of Agronomy*, 7: 1-38.
- Aghighi Shahverdi, M., Omid, H. and Tabatabaei, S.J., 2018. Effect of foliar application of selenium, boron and iron on some physiological traits and glycosides of stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) under salinity stress. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 33 (6): 1017-1033.
- Ahmadi, F. and Aminifard, M.H., 2018. Effects of foliar spraying humic acid on some morphological characteristics and flower yield of saffron (*Crocus sativus* L.). *Journal of Saffron Research*, 6(1): 17-26.
- Ahmadi, F., Aminifard, M.H., Khayat, M. and Samadzade, A.R., 2017. Evaluation of humic acid and planting density on flower yield and vegetative characteristics of saffron (*Crocus sativus* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 33(2): 293-303.
- Al-Aghabary, K., Zhu, Z. and Shi, Q., 2005. Influence of silicon supply on chlorophyll content, chlorophyll fluorescence and anti-oxidative enzyme activities in tomato plants under salt stress. *Journal of Plant Nutrition*, 27: 2101-2115.
- Amiri, H. and Ghasemi Ramadanabad, Z., 2018. The effects of salinity on chemical composition of essential oil of *Satureja rechingeri*. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)*, 31(2): 248-257.
- Arnon, D.I., 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 24(1): 1-15.
- Azarmi, F., Mozafari, V., Abbaszadeh Dahaji, P. and Hamidpour, M., 2016. Biochemical, physiological and antioxidant enzymatic activity responses of pistachio seedlings treated with plant growth promoting rhizobacteria and Zn to salinity stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 38(1): 281-288.
- Barghi, A. and Gholipouri, A., 2020. Effects of jasmonic acid and 24-epi brassinolid on quantitative and qualitative yield of *Nigella sativa* L. under salinity stress condition. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 36(5): 839-850.

- Khademalhosseini, Z., Jafarian, Z., Roshan, V. and Ranjbar, G., 2018. Effect of water salinity on quantity and quality of biochemical characteristics of *Melissa officinalis* L. Journal of Rangeland, 12(3): 370-379.
- Khalid, K.A. and Teixeira da Silva, J., 2012. Biology of *calendula officinalis* Linn: focus on pharmacology, biological activities and agronomic practices. Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology, 6(1): 12-27.
- Khoram Ghahfarokhi, A., Rahimi, A., Torabi, B. and Maddah Hosseini, S., 2015. Effect of humic acid application and foliar spraying of compost tea and vermishash on nutrient absorption and chlorophyll content of safflower (*Carthamus tinctorius* L.). Journal of Oil Plants Production, 2(1): 71-84.
- Khosravi, S., Baghizadeh, A. and Nezami, M.T., 2011. The salicylic acid effect on the *Salvia officianlis* L. sugar, protein and proline contents under salinity (NaCl) stress. Journal of Stress Physiology and Biochemistry, 7(4): 80-87.
- Kiani, Z., Esmaeilpour, B., Hadian, J., Soltani Toolarood, A.A. and Fathololumi, S., 2014. Effect of organic fertilizers on growth properties nutrient absorption and essential oil yield of medicinal plant of spearmint (*Mentha spicata* L.). Journal of Plant Production, 21(4): 63-80.
- Mancarella, S., Orsini, F., Van Oosten, M.J., Sanoubar, R., Stanghellini, C., Kondo, S., Gianquinto, G. and Maggio, A., 2016. Leaf sodium accumulation facilitates salt stress adaptation and preserves photosystem functionality in salt stressed *Ocimum basilicum*. Environmental and Experimental Botany, 130: 162-173.
- Mirzaie, M., Ladanmoghadam, A.R., Hakimi, L. and Danaee, E., 2020. Water stress modifies essential oil yield and composition, glandular trichomes and stomatal features of lemongrass (*Cymbopogon citratus* L.) inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi. Journal of Agricultural Science and Technology, 22(6): 1575-1585.
- Mohammadi, A., Amini Dehaghi, M. and Fotokian, M.H., 2018. Effects of humic acid foliar application on the quantitative and qualitative characteristics of cumin (*Cuminum cyminum* L.) under different irrigation regimes. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 34 (1): 101-114.
- Molahoseini, H., Feizian, M., Davazdah Emami, S. and Mehdi Pour, E., 2018. Effects of silicone nano oxide coated with humic acid and salicylic acid on some morphological parameters and ionic composition of black cumin (*Nigella sativa* L.) under salinity stress. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 34(4): 629-644.
- Mostofi, Y. and Najafi, F., 2005. Laboratory Manual of Analytical Techniques in Horticulture. University of Tehran, 136p.
- Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, 44: 391-395.
- Ghassemi-Golezani, K., Hassanzadeh, N., Shakiba, M.R. and Esmaeilpour, B., 2020. Exogenous salicylic acid and 24-epi-brassinolide improve antioxidant capacity and secondary metabolites of *Brassica nigra*. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 26: 101636.
- Gohari, G., Farzad Rasouli, F. and Zahedi, S.M., 2016. Evaluation of some growth characteristics, essential oil content and yield of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) in salinity stress condition and humic acid application. Journal of Agricultural Science and Sustainable Production, 27(2): 159-168.
- Guevara Moreno, O.D., Acevedo Aguilar, F. and Eunice Yanez, B., 2018. Selenium uptake and biotransformation and effect of selenium exposure on the essential and trace elements status: comparative evaluation of four edible plants. Journal of the Mexican Chemical Society, 62(2): 247-258.
- Hajiboland, R., Keivanfar, N., Jodmand, A., Rezaei, H. and Nezhadmohammad, Y., 2014. Effect of selenium treatment on drought tolerance of canola plant. Journal of Plant Research, 27(4): 557-568.
- Hasanuzzaman, M., Nahar, K. and Fujita, M., 2013. Plant response to salt stress and role of exogenous protectants to mitigate salt-induced damages: 25-87. In: Ahmad, P., Azooz, M.M. and Prasad, M.N.V., (Eds.). Ecophysiology and Responses of Plants Under Salt Stress. Springer, Hyderabad, 510p.
- Helali Soltanahmadi, F., Amerian, M.R., Ghiyasi, M. and Abbasdookht, H., 2018. Effects of seed priming on yield, yield components, and concentration of mineral phosphorus under drought stress in *Calendula officinalis* L. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 34(4): 565-578.
- Hormozinejad, E., Zolfaghari, M., Mahmoodi Sourestani, M. and Enayati Zamir, N., 2018. Effects of plant growth promoting rhizobacteria and chemical fertilizer on growth, yield, flowering, physiological properties, and total phenolic content of *Calendula officinalis* L. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 34(4): 684-696.
- Jahid, A.M., Kumar, S., Thakur, P., Sharma, S., Kau Raman Preet, N., Kaur, D.P., Bhandhari, K., Kaushal, N., Singh, K., Srivastav, A. and Nayyar, H., 2011. Promotion of growth in mungbean (*Phaseolus aureus* Roxb.) by selenium is associated with stimulation of carbohydrate metabolism. Biological Trace Element Research, 143(1): 530-539.
- Keling, H., Ling, Z., JiTao, W. and Yang, Y., 2013. Influence of selenium on growth, lipid peroxidation and antioxidative enzyme activity in melon (*Cucumis melo* L.) seedlings under salt stress. Acta Societatis Botanicorum Poloniae, 82(3): 193-197.

- Medicinal and Aromatic Plants Research, 35(1): 134-144.
- Shekari, L., Kamelmanesh M.M., Mozafariyane-Meymandi, M. and Sadeghi, F., 2016. Effect of selenium on some morphological and physiological traits of spicy pepper. Journal of Horticultural Science, 29(4): 594-600.
  - Skrypnik, L., Novikova, A. and Tokupova, E., 2019. Improvement of phenolic compounds, essential oil content and antioxidant properties of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) depending on type and concentration of selenium application. Plants, 8: 458.
  - Sofi, A., Ebrahimi, M. and Shirmohammadi, E., 2018. Effect of humic acid on germination, growth, and photosynthetic pigments of *Medicago sativa* L. under salt stress. Ecopersia, 6(1): 21-30.
  - Soroori, S., Danaee, E., Hwmmati, Kh. and Ladan Moghadam, A.R., 2021. The metabolic response and enzymatic activity of *Calendula officinalis* L. to foliar application of spermidine, citric acid and proline under drought stress and in a post harvest condition. Journal of Agricultural Science and Technology, 23(6).
  - Soshinkova, T.N., Radyukina, N.L., Korolkova, D.V. and Nosov, A.V., 2013. Proline and functioning of the antioxidant system in *Thellungiella salsuginea* plants and cultured cells subjected to oxidative stress. Russian Journal of Plant Physiology, 60: 41-54.
  - Valdiani, A.R., Hassanzadeh, A. and Tajbakhsh, M., 2005. Study on the effects of salt stress in germination and embryo growth stages of the four prolific and new cultivars of winter rapeseed (*Brassica napus* L.). Pajouhesh and Sazandegi, 66: 23-32.
  - Zaji, B., Khavarinejad, R.A., Saadatmand, S. and Iranbakhsh, A.R., 2019. Investigation of some morphological and physiological responses of Moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.) to selenium under salinity. Journal of plant Environmental Physiology, 14(56): 13-27.
  - Zrig, A., Tounectia, T., Abdelgawad, H., Hegab, M.M., Oueled Alia, S. and Khemir, H., 2016. Essential oils, amino acid and polyphenols changes in salt stressed *Thymus vulgaris* exposed to openfield and shade enclosure. Industrial Crop Production, 91: 223-230.
  - Narimani, R., Moghaddam M., Nemati, S.H. and Ghasemi Pirbaluti, A., 2019. Evaluation of salinity adjusted by using humic acid and ascorbic acid in medicinal plant of moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.). Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology), 31(4): 955-971.
  - Nasooti Miandoab, R., Samawat, S. and Tehrani, M.M., 2010. Properties of Humic Acid Fertilizer on Plant and Soil. Agriculture and Food, 101: 53-55.
  - Nazerieh, H., Oraghi Ardebili, Z. and Iran Bakhsh, A.R., 2018. Potential benefits and toxicity of nanoselenium and nitric oxide in peppermint. Acta Agriculturae Slovenica, 111(2): 357-368.
  - Oueslati, S., Karray-Bouraoui, N., Attia, H., Rabhi, M., Ksouri, R. and Lachaal, M., 2010. Physiological and antioxidant responses of *Mentha pulegium* (Pennyroyal) to salt stress. Acta Physiologiae Plantarum, 32(2): 289-296.
  - Parida, A.K. and Das, A.B., 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: A review. Ecotoxicology and Environmental Safety. 60: 324-349.
  - Putter, J., 1974. Peroxidase: 685-690. Bergmeyer, H.U., (Ed.). Methods in Enzymatic Analysis (Vol. 4). Academic press, New York, 800p.
  - Rahemi Kahrizaki, A., Rahimi, R., Gholizadeh, A., Gholamalipour Alamdari, E., Saboori, H. and Davoodi, S.H., 2018. The effect of plant growth promoting rhizobacteria and vermicompost on quality traits of druge marigold (*Calendula officinalis* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 34(5): 711-723.
  - Ramakrishna, A. and Ravishankar, G.A., 2011. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. Plant Signaling and Behavior, 6: 1720-1731.
  - Shahid, S.A., Zaman, M. and Heng, L., 2018. Soil salinity: historical perspectives and a world overview of the problem: 43-53. In Zaman, M., Shahid, S.A. and Heng, L., (Eds.). Guideline for Salinity Assessment, Mitigation and Adaptation Using Nuclear and Related Techniques. Springer International Publisher, 164p.
  - Shahsavari, M., Naderi, D. and Gheisari, M.M., 2019. Effects of organic nano-fertilizer and humic acid on biochemical characteristics and some essential oil of domask-rose (*Rosa damascena* Mill.). Iranian Journal of

## Effects of using humic acid and selenium on some morphophysiological characteristics of *Calendula officinalis* L. under salinity stress

H. Asgarian<sup>1</sup>, V. Abdossi<sup>2\*</sup>, E. Danaee<sup>3</sup> and A. Ladan Moghadam<sup>3</sup>

1- Ph.D. student, Department of Horticulture, Aliabad Katoul Branch, Islamic Azad University, Gorgan, Iran

2\*- Corresponding author, Department of Horticulture and Agronomy, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran, E-mail: abdossi@yahoo.com

3- Department of Horticulture, Garmsar Branch, Islamic Azad University, Garmsar, Iran

Received: February 2021

Revised: July 2021

Accepted: July 2021

### Abstract

Salinity stress is one of the most important factors in reducing the crop yield in the world. The application of humic acid along with selenium can improve the plant yield under salinity stress conditions by increasing the antioxidant capacity. To evaluate the effects of humic acid and selenium application under salinity stress conditions in *Calendula officinalis* L., a factorial greenhouse experiment was conducted in a completely randomized design with three replications in Islamshahr city in 2018. The experimental treatments included sodium chloride (0, 50, and 100 mg l<sup>-1</sup>), humic acid (0, 100, and 200 mg l<sup>-1</sup>), and selenium (0, 5, and 10 mg l<sup>-1</sup>) and their combined effects. The results showed that increasing the salinity significantly reduced the fresh and dry weight of shoots and roots and number of flowers per plant. The foliar application of 200 mg l<sup>-1</sup> humic acid and 10 mg l<sup>-1</sup> selenium improved carotenoids content of the petals and total chlorophyll of the leaves at all salinity levels. Also, with increasing the sodium chloride level up to 100 mg l<sup>-1</sup>, the amount of proline increased significantly. Meanwhile, the interaction treatments of humic acid and selenium had significant effects ( $P \leq 0.01$ ) on improving the activity of superoxide dismutase and peroxidase enzymes at different salinity levels. The highest amount of essential oil (1.37%) was obtained in the interaction treatment of 200 mg l<sup>-1</sup> humic acid and 10 mg l<sup>-1</sup> selenium under salinity stress of 50 mg l<sup>-1</sup> sodium chloride. In general, the results of this study showed that the foliar application of 200 mg l<sup>-1</sup> humic acid and 10 mg l<sup>-1</sup> selenium could be effective in reducing the negative effects of salinity stress on *C. officinalis*.

**Keywords:** Essential oil, peroxidase, superoxide dismutase, sodium chloride.