

بهبود شاخص‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گل رز رقم (*Glomus* با کاربرد اسید هیومیک و قارچ میکوریزا سویه (Bordeaux) (*Piriformospora indica*) و (*etunicatum*)

موسی رسولی^{۱*}، سحر میرزایی^۲، کورش فرهادی^۳، مهدی قبولی^۴

- ۱- نویسنده مسئول و دانشیار گروه علوم باگبانی و مهندسی فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ملایر، ملایر، ایران.
mousarasouli@gmail.com
- ۲- استادیار پژوهشکده گل و گیاهان زیستی، موسسه تحقیقات علوم باگبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، محلات، ایران.
sahar_mirzaei81@yahoo.com
- ۳- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم باگبانی و مهندسی فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ملایر، ملایر، ایران.
kourosh.farhadi2020@gmail.com
- ۴- استادیار گروه تولید و زنگنه گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ملایر، ملایر، ایران.
mehdi.ghabooli@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۹/۰۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۵/۲۴

چکیده

امروزه تولید گل شاخه بریده و گیاهان زیستی از اهمیت بالایی در جهان برخوردار است. گل رز با اختصاصات بیش از یک سوم از تولید گل‌های شاخه بریده، مهمترین گل شاخه بریده جهان محسوب می‌شود. تغذیه متعادل یکی از مهمترین عواملی است که کمیت و کیفیت گل رز را تحت تاثیر قرار می‌دهد. پژوهش حاضر به منظور بررسی تاثیر اسید هیومیک، قارچ میکوریزا (*Glomus etunicatum*) و قارچ اندووفیت (*Piriformospora indica*) روی برخی از صفات گل رز رقم مشکی ('Bordeaux') در شرایط کشت بدون خاک گلخانه‌ای انجام شد. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۲ تیمار مستقل و سه تکرار طراحی گردید. به طور کلی، تیمار اول شامل محلول پاشی اسید هیومیک در غلظت ۳۰۰، ۶۰۰ و ۹۰۰ mg/L، تیمار دوم شامل محلول پاشی اسید هیومیک در غلظت ۳۰۰، ۶۰۰ و ۹۰۰ +mg/L ۵۰ گرم قارچ میکوریزا (*Glomus etunicatum*) به صورت تلقیح با محیط ریشه، تیمار سوم شامل قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا (*Piriformospora indica*) به صورت تلقیح با محیط ریشه، در پنج سطح شامل: عصاره اسپور (PD)، میسیلیوم (MP)، میسیلیوم (MP)، عصاره (Multiple: MP)، عصاره محیط کشت (MP)، عصاره محیط کشت (PD) و تیمار شاهد، در ۳ تکرار بودند. صفات ارتفاع شاخه، طول و قطر جام گل، عمر گلچایی، سطح برگ، عملکرد، محتوای نسبی آب، فعالیت آنزیم کاتالاز و پروکسیداز، میزان کلروفیل (a، b) و آنتوسبیانین اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که بیشترین میزان صفات ارتفاع شاخه (۶۴/۷۰ cm)، قطر جام گل (۶/۱۷ cm)، عمر گلچایی (۲۲/۱۱ روز)، کلروفیل (b) mg/gFW و آنتوسبیانین (۰/۹۳ µg/gFW) و نیز کمترین میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (۰/۰۵ µmol/mg) و آنتوسبیانین (۰/۰۵ µg/gFW) در اثر تیمار اسید هیومیک (۰/۳۰۰ mg/L + قارچ میکوریزا ۰/۱۶ mg/min) و پروکسیداز (۰/۷۲ min) به دست آمد. همچنین در اثر تیمار اسید هیومیک (۰/۳۰۰ mg/L) بیشترین میزان کلروفیل (a) (۰/۰۷۶٪) FW (۳/۸۵) به دست آمد. بیشترین میزان طول جام گل (۶/۶۸ cm)، محتوای نسبی آب (۰/۶۷٪)، سطح برگ (۲۹/۱۱ mm²) و عملکرد (۱۷/۰۲ تعداد گل) نیز در اثر تیمار قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا (عصاره اسپور) به دست آمد.

کلمات کلیدی: اسید هیومیک، تغذیه، قارچ میکوریزا، قارچ اندووفیت، گل رز

مقدمه

میکوریزها شامل انواع مختلف آربوسکولار، اکتندومیکوریزا، اکتندومیکوریزا، اریکوئید، آربوتوئید، مونوتروپوئید و ارکید میکوریزا می‌باشند (Wang and Qiu, 2006). قارچ‌های میکوریزا آربوسکولار به دلیل اینکه می‌توانند ۴ تا ۲۰ درصد کربن ثبت شده توسط گیاهان را مصرف کنند، به عنوان مهمترین تنظیم‌کننده‌ای جریان کربن از گیاهان به خاک، به شمار می‌آیند (Zhu and Miller, 2003). زیست توده حاصل از هیف‌های این قارچ‌ها، ۵۴ تا ۹۰۰ کیلوگرم در هکتار است (Lovelock et al., 2004). نقش قارچ‌های میکوریزا آربوسکولار در افزایش توانایی گیاهان میزبان در جذب عناصر غذایی از مهمترین اثرات آنها می‌باشد (Cardoso and Kuyper, 2006). قارچ اندوفیت پیریفورموسپورا ایندیکا^۱ در سال ۱۹۹۸ از خاکریزوسفری گیاهان خشکی پسند جداسازی شد (Varma et al., 1998). اهمیت برقراری ارتباط همزیستی قارچ *P. indica* با گیاهان مختلف در تحریک رشد گیاه و در نتیجه افزایش عملکرد آن و نیز افزایش توان تحمل گیاه به تنش‌های شوری، خشکی و عوامل بیماریزای ریشه و برگ نیز گزارش شده است (Rai and Varma, 2005; Qiang et al., 2011). همچنین *P. indica* سبب بهبود رشد و تولید بیومس در انواع مختلف گیاهان علفی، درختان و گونه‌های بوته‌ای می‌شود. اثر این قارچ در افزایش رشد گیاه برنج و گیاهان لگومینوز شامل نخود، عدس و سویا نیز به اثبات رسیده است (Varma et al., 2004).

در کشور ما، تا چند سال گذشته تنها به استفاده از عناصری چون ازت، فسفر، پتاسیم، آهن، منیزیم توجه می‌شد و با استفاده بی‌رویه از این عناصر و غفلت کردن از دیگر عناصر نتوانستیم به عملکرد بالا در گیاهان دست یابی

گل رز (*Rosa hybrida* L.) گیاهی از خانواده (Rosaceae) و بومی مناطق گوناگون نیمکره شمالی می‌باشد (Anderson, 2006). امروزه کشت گل رز، به عنوان یک گل شاخه‌بریده، در بسترها بدون خاک (شامل پرلیت، پوکه معدنی، کوکوپیت و مخلوطی از آنها)، انجام می‌شود (تلائی، ۱۳۸۰).

تغذیه مناسب در کشت و کار تمامی گیاهان از اهمیت فوق العاده ای برخوردار است. گل رز به مواد غذایی زیادی نیاز دارد تا به کیفیت و گلدهی مطلوب برسد (خوشخوی و همکاران، ۱۳۹۱). مشکل اصلی بعضی عناصر، جذب آنها توسط گیاه نبوده، بلکه مهم انتقال آنها در داخل گیاه می‌باشد (Marschner, 2005). لذا دستیابی به عملکرد بالاتر همراه با کیفیت و کمیت محصول با کودهای بیولوژیک و استفاده از قارچ‌های همزیست میسر می‌شود (Burchi et al., 2010). برای مثال تغذیه برگی در مرحله قبل از برداشت، ماندگاری در گل رز را افزایش می‌دهد (Michalczuk et al., 2010). با تجزیه هوموس، ماده سیاه رنگ مایل به قهوه‌ای به نام هیومیک اسید تشکیل می‌شود (Nikbakht et al., 2008). مواد هیومیکی دارای طیف وسیعی از ترکیبات آلی و معدنی گوناگون نظری اسیدهای آمینه، بیتیدها، فنول‌ها، آلدیدها، اسیدهای نوکلوبیک و پیوند با انواع کاتیون‌ها می‌باشد که قابل قیاس با ترکیبات دیگر نیست (Soleimani et al., 2012). اسید هیومیک به‌طور مستقیم و غیرمستقیم به رهاسازی و برداشت بهتر عناصر کمک می‌کند (Eyheraguibel et al., 2008) و علاوه بر اینکه خود ذخیره مناسبی از میکروالمنت‌ها را در بر دارد، به آزادسازی و جذب بهتر عناصر ثبت شده نیز کمک می‌کند (Karakurt et al., 2009).

^۱-*Piriformospora indica*

کشت PD، عصاره محیط کشت Mp، میسیلیوم میسیلیوم Mp و شاهد، در ۳ تکرار با محیط کشت بدون خاک (بستر کشت مشکل از کوکوپیت و پرلیت) و استفاده از محلول غذایی هوگلن²، در گلخانه به اجرا درآمد.

شاخص‌های مورفولوژیکی

صفات مورفولوژیکی مورد ارزیابی شامل ارتفاع شاخه، طول جام گل، قطر جام گل، سطح برگ، عملکرد و عمر گلچای شاخه‌های بریده، طبق جدول (۱) اندازه‌گیری شدند

داشته باشیم. عناصری که زیاد مصرف می‌شوند به خصوص عناصر کم تحرک، سریع‌تر از دسترس گیاه خارج شده و تثبیت می‌شوند و در مناطقی که گیاه بیشتر دچار تنفس خشکی و یا شوری می‌شود با وجود استفاده از عناصر موردنیاز، گیاه قادر به جذب عناصر به مقدار مورد نیاز خود نیست. استفاده از مواد هیومیکی مانند اسید هیومیک و اسید فولیک که شامل طیف وسیعی از ترکیبات آلی و معدنی گوناگون نظیر اسیدهای آمینه، پپتیدها، فنول‌ها، آلدیدها و اسیدهای نوکلئیک پیوند شده با انواع کاتیون‌ها می‌باشند، در بسترها کشت و محلول‌های غذایی، نقش مؤثری در بهبود رشد و نمو و افزایش عملکرد، عمر پس از برداشت و همچنین بالا بردن کیفیت در گل‌های شاخه‌بریده می‌شود. لذا این تحقیق در راستای بررسی تأثیر اسید هیومیک، قارچ میکوریزا و قارچ اندوفیت پریفورموسپورا ایندیکا بر روی بهبود شاخص‌های فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی در گل رز رقم مشکی (Bordeaux) صورت گرفت.

مواد و روشها

این تحقیق در شرایط گلخانه‌ای روی گل رز (*Rosa hybrida* L.) از خانواده Rosaceae رقم مشکی (Bordeaux) انجام شد. نشاء‌های گل از کشور هلند تهیه و پس از گذشت شش ماه از کشت نشاء‌ها در گلخانه، تیمارها روی این رقم اعمال شد. این آزمایش به صورت طرح کاملاً تصادفی، با تیمارهای مستقل از هم، اجرا شد. تیمار اول شامل اسید هیومیک ۹۰۰، ۶۰۰، ۳۰۰ mg/L، تیمار دوم شامل ۵۰ گرم قارچ میکوریزا (*Glomus etunicatum*) + اسید هیومیک ۹۰۰، ۶۰۰، ۳۰۰ mg/L و تیمار سوم شامل قارچ اندوفیت (*Piriformospora indica*) در پنج سطح شامل عصاره اسپور PD، عصاره محیط

²-Hoagland Nutrient Solution

جدول ۱. اندازه‌گیری شاخص‌های مورفولوژیکی رز شاخه بریده رقم مشکی (Bordeaux)

Table 1. Measuring the morphological parameters of black rose cut flower (Bordeaux)

| No. | Measured parameters | Unit | Measuring tool | Measuring method |
|-----|---------------------|-----------------|----------------------------|--|
| 1 | Stem height | cm | Ruler | Mean height of some stems |
| 2 | Length of corolla | cm | Digital caliper | Mean length of some corollas |
| 3 | Diameter of corolla | cm | Digital caliper | Mean diameter of some corollas |
| 4 | Vase life | Days | Counting number of days | Days after harvest until the flowers quality is not lost |
| 5 | Leaf area | mm ² | Leaf area meter | Mean area of some leaves |
| 6 | Yield | Flower No. | Counting number of flowers | Mean number of flowers in a special time |

سنجه میزان آنتوسیانین

یک گرم بافت تر برگ در ۱۰ میلی‌لیتر متانول اسیدی (شامل الكل متیلیک ۹۹٪ و هیدروکلریک اسید خالص به نسبت ۹۹ به ۱) با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره دو صاف کرده و سپس به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۰۰ دور سانتریفیوز (مدل ROTOLAVIT)، ساخت کشور ایران، قرار گرفت. جذب عصاره رویی در ۵۳۰ نانومتر و با استفاده از شاهد متانول اسیدی با دستگاه اسپکتروفوتومتر سری ۲۱۰۰ مدل Visible (Unico) ساخت کشور چین تعیین شد (Bakker *et al.*, 1994).

سنجه آنژیم کاتالاز

فعالیت آنژیم کاتالاز با استفاده از روش Dhindsa *et al.*, 1981 (اندازه‌گیری شد. ابتدا در هر دو کوئت شاهد و کوئت نمونه مقدار سه میلی لیتر بافر فسفات سدیم ریخته و به آن‌ها مقدار ۴/۵۱ میکرو لیتر H₂O₂ ۳۰ درصد اضافه شد این دو کوئت در دستگاه اسپکتروفوتومتر قرار داده شد سپس عدد قرائت شده صفر شد. سپس به کوئت نمونه مقدار ۵۰ میکرولیتر از عصاره گیاهی اضافه شد و بالفاصله تغییرات جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر به مدت یک دقیقه قرائت شد.

اندازه‌گیری شاخص‌های فیزیولوژیکی

صفات فیزیولوژیکی مورد ارزیابی شامل محتوی نسبی آب، میزان آنتوسیانین، آنژیم کاتالاز، آنژیم پراکسیداز و کلروفیل (a, b) به شرح زیر اندازه‌گیری شدند.

روش اندازه‌گیری محتوای نسبی آب (RWC^۳)

چهار تا پنج قطعه از برگ تازه به قطر ۱ سانتی‌متر برش داده و وزن شد (FW^۴); سپس نمونه‌ها در پتری‌دیش همراه مقداری آب به مدت ۴ ساعت در ژرمیناتور (مدل PIDPT100، ساخت ایران) در دمای چهار درجه سانتیگراد قرار داده شدند. پس از آن مجدداً نمونه‌ها وزن شاند (TW^۵). در انتهای نمونه‌ها به مدت ۷۲ ساعت در آون در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد قرار داده شده و مجدداً وزن گردیدند (DW^۶). در پایان با استفاده از فرمول ذیل محتوای نسبی آب برگ محاسبه گردید (Yamasaki and Dillenburg, 1999).

$$RWC = \frac{FW - DW}{TW - DW} \times 100$$

³ Relative Water Content

⁴ Fresh Weight

⁵ Turgur Weight

⁶ Dry Weight

جذب نوری در طول موج ۴۳۶ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر در فواصل زمانی ۲۰ ثانیه به مدت ۲ دقیقه ثبت گردید. بعد از اضافه کردن آب اکسیژنه و ترکیب گایاکول محلول به رنگ قرمز مایل به قهوه ای در آمد. برای محاسبه آنژیم پراکسیداز، آخرین عدد جذبی را از اولین عدد جذبی خوانده شده کم کرده و بر عدد دو تقسیم می گردد (Chance and Maehly, 1995).

اندازه گیری میزان کلروفیل

برای این آزمایش ۰/۲۵ گرم از نمونه برگی تهیه و به همراه ۵ سی سی آب مقطر به طور کامل در هاون کوبیده شد. عصاره به دست آمده را از صافی رد شده و سپس به حجم ۲۵ سی سی رسانده شد.

۰/۵ سی سی از عصاره به حجم رسیده را برداشته شد، در لوله آزمایش ریخته و ۴/۵ سی سی استون ۸۰٪ به آن اضافه شد.

بعد از این مرحله نمونه های آمده شده در دستگاه سانتریفیوز با دور ۳۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد. در مرحله بعد نمونه ها با دستگاه اسپکتروفوتومتر در سه طول موج ۶۴۵، ۶۷۰ و ۶۶۳ نانومتر خوانده شد و نهایتاً غلظت کلروفیل های a، b و کارتوئنوتکلوفیل با استفاده از روابط زیر محاسبه شد (Maxwell and Johnson, 2000).

$$1) \text{ (گرم در لیتر)}_{\text{کلروفیل a}} = (+/0.127 \times \text{OD}_{663}) - (+/0.0269 \times \text{OD}_{645})$$

$$2) \text{ (گرم در لیتر)}_{\text{کلروفیل b}} = (+/0.0229 \times \text{OD}_{645}) - (+/0.0468 \times \text{OD}_{663})$$

$$3) \text{ (گرم در لیتر)}_{\text{کلروفیل کل}} = (+/0.202 \times \text{OD}_{645}) + (+/0.0842 \times \text{OD}_{663})$$

میانگین داده ها با آزمون چند دامنه ای دانکن و در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد صورت گرفت. همچنین رسم نمودار با استفاده از نرم افزار اکسل نسخه (۲۰۱۰) انجام پذیرفت

سنجه آنژیم پروکسیداز

استخراج عصاره آنژیم پروکسیداز

برای تهیه عصاره آنژیمی ابتدا لازم است که محلول های ۰/۸ مولار کلرید پتاسیم (KCl) بافر فسفات سدیم ۰/۱ مولار (pH=۷) به طور جداگانه تهیه شود. سپس از هر کدام از این محلول ها یک حجم معین برداشته و با هم مخلوط می شوند (۵۰ میلی لیتر از محلول ۰/۸ مولار کلرید پتاسیم به اضافه ۵۰ میلی لیتر محلول بافر فسفات ۰/۱ مولار). از محلول تهیه شده برای استخراج عصاره آنژیمی استفاده شد. سپس ۰/۱ گرم بافت برگ تازه را با ۱۰ میلی لیتر مذکور در هاون چینی خوب سائیده و مخلوط حاصل را با سرعت ۴۰۰۰ دور دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوز کرده در دمای ۴ درجه سانتی گراد و مایع فوقانی به عنوان عصاره آنژیمی مورد استفاده قرار گرفت. به منظور حفظ فعالیت آنژیم کلیه مراحل استخراج آنژیم در ظرف یخ انجام گرفت (Chance and Maehly, 1995).

اندازه گیری فعالیت آنژیم پراکسیداز

ابتدا به عصاره آنژیمی، سه میلی لیتر بافر فسفات سدیم ۰/۱ مولار و ۵۰ میکرو لیتر مایع گایاکو خالص با فرمول شیمیایی ($C_7H_8O_2$) و سپس ۵۰ میکرو لیتر هیدروژن پراکسید ۳٪ اضافه شد و بلافاصله تغییرات

که در روابط فوق OD_{663} و OD_{645} به ترتیب میزان جذب در طول موج های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر می باشند. این آزمایش بر پایه طرح کاملاً تصادفی با ۱۲ تیمار و ۳ تکرار طراحی و اجرا گردید. تجزیه داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SAS نسخه (۹/۳)، انجام و مقایسه

نتایج و بحث

ارتفاع شاخه گل

بر اساس جدول تجزیه واریانس (2) تفاوت معنی‌داری بین تیمارها در سطح احتمال ۱٪ روی ارتفاع شاخه وجود داشت.

جدول ۲. تجزیه واریانس اثر اسید هیومیک و قارچ میکوریزا و قارچ ایندیکا بر خصوصیات مورفولوژیکی رز شاخه بریده رقم مشکی (Bordeaux)

Table 2. Analysis of variance of effect of humic acid, mycorrhiza fungi and endophytic *Piriformospora indica* fungi on morphological parameters of black rose cut flower (Bordeaux)

| Source of variance | df | Stem height (cm) | Length of corolla (cm) | Diameter of corolla (cm) | Yield (Flower No.) | Leaf area (mm ²) | Vase life (Days) |
|------------------------|----|------------------|------------------------|--------------------------|--------------------|------------------------------|------------------|
| Humic acid | 1 | 62.99** | 6.49** | 5.97* | 4.95* | 2033.8* | 21.73** |
| Humic acid+Mycorrhiza | 3 | 64.70** | 6.52** | 6.17** | 8.86** | 2562.7** | 22.11** |
| <i>P. indica</i> Fungi | 3 | 63.01** | 6.68** | 5.25* | 17.02** | 2911.5** | 21.64** |
| Error | 2 | 6.42 | 19.05 | 0.16 | 0.26 | 6.03 | 0.98 |
| %C.V | 4 | 4.46 | 8.44 | 7.48 | 12.68 | 28.15 | 5.18 |

*, **, ns = Significance at 5 and 1 percent levels and non-significance, respectively

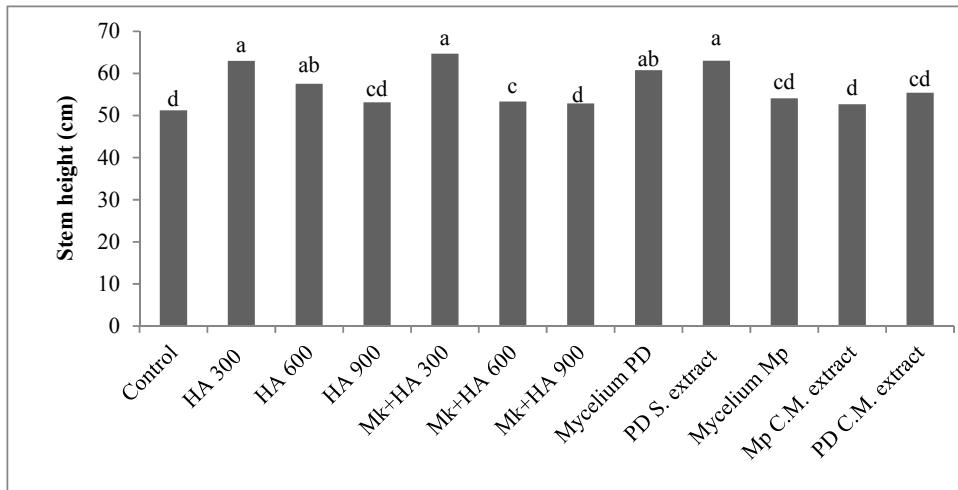
هیومیک به عنوان یک کود بیولوژیک علاوه بر تأمین اکثر عناصر ضروری، نقش کاتالیزگر در انتقال عناصر در گیاه و مقاومسازی گیاه در برابر عوامل بیماری‌زا و آفات بیشترین بازدهی را دارا می‌باشد. در تحقیقی نشان داده شد که تلقیح قارچ میکوریزا حل کننده فسفات در مقادیر مختلف فسفر در گل ژربرا باعث افزایش ارتفاع شاخه می‌شود (Chutichudet *et al.*, 2010). محققان در تحقیقات خود نشان دادند که در اثر همزیستی قارچ ایندیکا با گیاهان، بیوماس ساقه و ریشه گیاهان در اثر افزایش جذب مواد غذایی بیشتر می‌شود (Rai *et al.*, 2001).

اسید هیومیک باعث مقاومسازی گیاهان در برابر تنش‌ها بویژه تنش‌های محیطی و نیز افزایش جذب عناصر میکروالمنت و ماکروالمنت شده که این امر منجر به افزایش طول میانگره در گیاهان می‌شود (Lorence *et al.*, 2006). همچنین با تحقیقات روی گل‌های شاخه بریده لاله، این استنباط نیز وجود دارد که اسید هیومیک و قارچ میکوریزا سبب افزایش بازدهی عناصر غذایی و همچنین باعث افزایش رشد رویشی در این گیاه گردیده است (Chutichudet *et al.*, 2010) که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد.

بیشترین اثر روی ارتفاع شاخه گل به ترتیب (۶۴/۷ سانتی‌متر) مربوط به تیمار اسید هیومیک L/ ۳۰۰mg + قارچ میکوریزا^۷، اسید هیومیک L/ ۳۰۰mg با (۶۳/۰۱ سانتی‌متر) و در نهایت، قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا^۸ با (۶۲/۹۹ سانتی‌متر) تیمار عصاره اسپور بوده است (جدول ۲). از طرفی کمترین ارتفاع شاخه با (۵۱/۰۸ سانتی‌متر)، مربوط به شاهد و تیمار اسید هیومیک L/ ۹۰۰mg با (۴۹/۳۵ سانتی‌متر) و قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا تیمار عصاره محیط کشت Mp (۴۸/۱۴ سانتی‌متر) بدست آمد (شکل ۱). لذا قابل ذکر است که ترکیب اسید هیومیک و قارچ میکوریزا باعث بیشترین عملکرد در جذب عناصر شده است. با شرایطی که قارچ میکوریزا در محیط ریزوسفر ریشه ایجاد می‌کند، منجر به تولید اسید سیتریک شده و برخی عناصر مانند عنصر آهن که بیشترین جذب را در محیط اسیدی دارد به حداقل میزان جذب می‌رسد و محلول‌پاشی اسید هیومیک نیز روی شاخه و برگ گل رز باعث شد به میزان قابل توجهی از وقوع تنشهای محیطی و تغذیه‌ای جلو گیری شود. با توجه به نقش اسید

⁷-Glomus etunicatum

⁸-Piriformospora indica



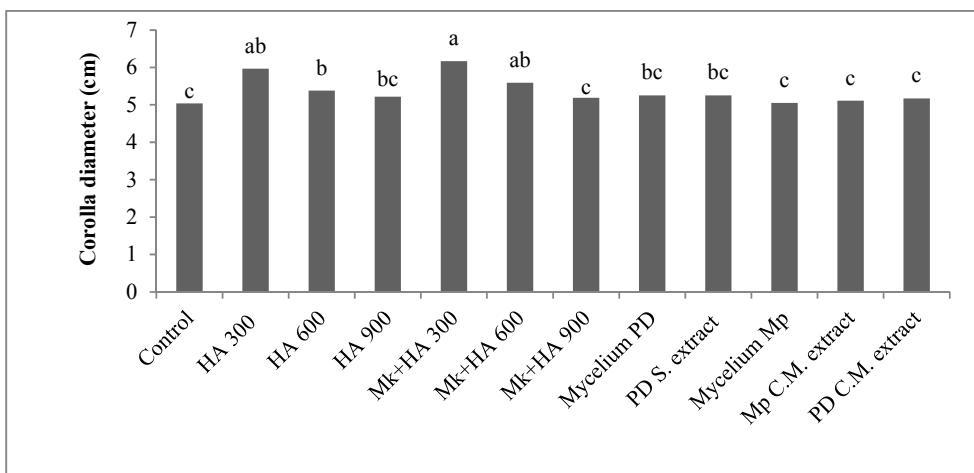
شکل ۱. مقایسه میانگین اثر اسید هیومیک، قارچ میکوریزا و قارچ ایندیکا روی ارتفاع شاخه در گل شاخه بریده رز، رقم مشکی (Bordeaux)

Figure 1. Mean comparison of effect of Humic acid, Mycorrhiza fungi and indica fungi on height of stem in black rose flower, variety (Bordeaux)

+ قارچ میکوریزا با (۶/۵۲ سانتی‌متر) و اسید هیومیک با (۶/۴۹ سانتی‌متر) بوده است. از طرفی کمترین طول جام گل با (۴/۴۳ سانتی‌متر) مربوط به شاهد و تیمار اسید هیومیک L ۶۰۰mg/L با (۴/۹۱ سانتی‌متر) و قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا با (۵/۰۲ سانتی‌متر) بدست آمده است.

طول جام گل

بر اساس جدول تجزیه واریانس (۲) تفاوت بسیار معنی‌داری بین تیمارها در سطح احتمال ۱٪ روی طول جام گل وجود داشت. بطوری‌که بیشترین طول جام گل به ترتیب با (۶/۸ سانتی‌متر)، مربوط به تیمارهای قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا و تیمار اسید هیومیک L ۳۰۰mg/L



شکل ۳. مقایسه میانگین اثر اسید هیومیک و قارچ میکوریزا و قارچ ایندیکا روی قطر جام در گل شاخه بریده رز، رقم مشکی (Bordeaux)

Figure 3. Mean comparison of effect of Humic acid, Mycorrhiza fungi and indica fungi on diameter of corolla in rose cut flower, black variety (Bordeaux)

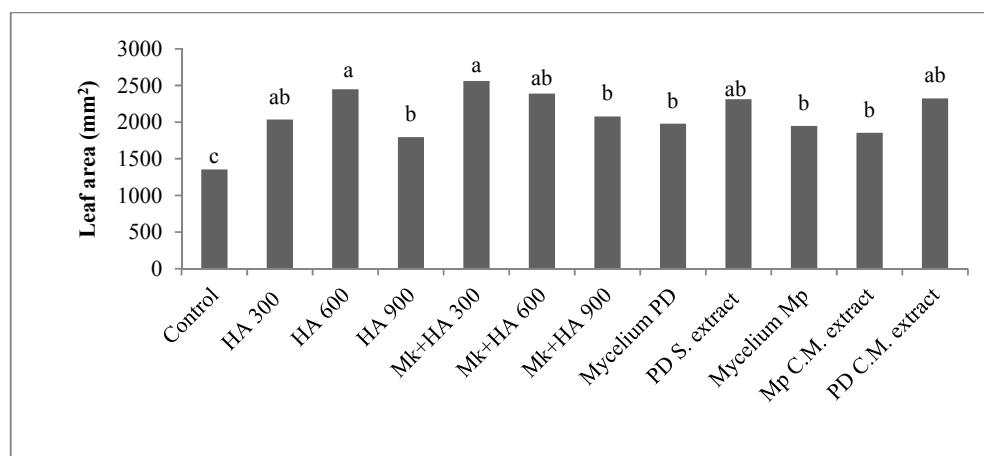
سطح برگ

جیریک اسید و ویتامین‌های مختلف باعث افزایش سطح برگ، رشد و نمو گیاه می‌شوند با افزایش میزان مصرف کود زیستی حاوی باکتریهای حل کننده فسفات از صفر تا ۱۰ کیلوگرم در هکتار سطح برگ به طور معنی داری افزایش یافت. بیشترین سطح برگ در بوته گل مریم به مقدار $2127/83$ میلیمتر مربع مربوط به تیمار ۱۰ کیلوگرم کود زیستی حاوی باکتریهای حل کننده فسفات و کمترین سطح برگ در بوته گل مریم به مقدار $1631/77$ میلیمتر مربع مربوط به تیمار شاهد بود (Abusuwar and Omer, 2011).

حقوقان در تحقیقات خود نشان دادند که تأثیر قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا بر توسعه و افزایش رشد و سطح برگ گیاهان شبیه قارچ‌های میکوریزا آرسکولار می‌باشد. Varma و همکاران (۱۳۹۹) در تحقیقی نشان داده شد که تلقیح قارچ میکوریزا با باکتری حل کننده فسفات در مقادیر مختلف فسفر در گل زربرا باعث افزایش سطح برگ می‌شود (Autio, ۲۰۰۶) که با نتایج بدست آمده در این تحقیق مطابقت دارد.

بر اساس جدول تجزیه واریانس (۲) تفاوت معنی داری بین تیمارها روی سطح برگ در سطح احتمال 5% و 1% وجود داشت، بطوریکه بیشترین سطح برگ مربوط به تیمارهای قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا (عصاره اسپور (Pd) با $2911/5$ میلیمتر مربع) و اسید هیومیک (300mg/L) + قارچ میکوریزا با $2562/7$ میلیمتر مربع بدست آمده است. تیمار اسید هیومیک 300mg/L با $2023/8$ میلیمتر مربع در سطح احتمال 5% معنی دار شده است و از طرفی کمترین میانگین سطح برگ با $1485/2$ میلیمتر مربع) مربوط به شاهد بدست آمده است (شکل ۴).

کود زیستی حاوی باکتریهای حل کننده فسفات (سودوموناس و باسیلوس) دارای میکرووارگانیسم‌های مفید خاک می‌باشند. میکروارگانیسم‌های ساپروفیت هستند که می‌توانند در منطقه ریشه (ریزوسفر) فعالیت نموده و با مصرف ترشحات ریشه ترکیبات نامحلول فسفات را بصورت محلول و قابل جذب گیاه در آورند. این باکتری‌ها همچنین با تولید مواد بیولوژیک مثل هورمون‌های اکسین،



شکل ۴. مقایسه میانگین اثر اسید هیومیک و قارچ میکوریزا و قارچ ایندیکا روی سطح برگ در گل شاخه بریده رز، رقم مشکی (Bordeaux)

Figure 4. Mean comparison of effect of Humic acid, Mycorrhiza fungi and indica fungi on leaf area in rose cut flower, black variety (Bordeaux)

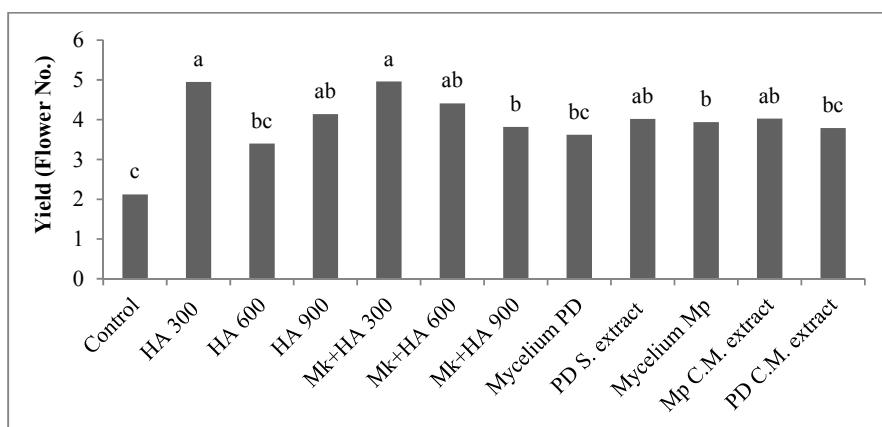
عناصر غذایی و خواص شبه هورمونی گردید که با نتایج این پژوهش هم خوانی دارد (Autio, ۲۰۰۶). طی تحقیقی نشان داد که قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا باعث ترشح برخی اسیدها نظیر اسید مالیک می‌شود که جذب فسفر توسط گیاه را افزایش می‌دهند و باعث افزایش عملکرد گیاهان می‌شود، که با نتایج این پژوهش هم خوانی دارد (ریزی، ۱۳۸۹).

Rai در سال ۲۰۰۵ در تحقیقات خود نشان داد که قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا باعث افزایش در رشد و عملکرد گیاه دارویی کنگر (*Adhatoda vasica*) شد. محققان در تحقیقات خود نشان دادند که قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا از طریق همزیستی با ریشه گیاهان باعث افزایش معنی داری در رشد و عملکرد آنها می‌شود (Singh *et al.*, 2000)، در تحقیقی اثر همزیستی قارچ میکوریزا روی گل شاخه بریده لیلیوم نشان داد که باعث افزایش عملکرد با ۴/۱۵ (تعداد) نسبت به شاهد شده است (سبحانی و همکاران، ۱۳۹۵) که با نتایج بدست آمده همسو با نتایج این تحقیق می‌باشد.

عملکرد

بر اساس جدول تجزیه واریانس (۲) تفاوت معنی داری بین تیمارها روی عملکرد گل در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪ وجود داشت. بطوریکه بیشترین میانگین روی عملکرد گل با (۱۷/۲ عدد) مربوط به تیمارهای قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا (عصاره اسپور) و اسید هیومیک ۳۰۰mg/L + قارچ میکوریزا (۸/۸۶ عدد) بدست آمد و تیمار اسید هیومیک ۳۰۰mg/L با (۴/۹۵ عدد) در سطح احتمال ۵٪ معنی دار شد. از طرفی کمترین میانگین‌ها با (۴/۴ عدد) مربوط به تیمار اسید هیومیک ۶۰۰mg/L و شاهد با (۴/۱ عدد) بدست آمد (شکل ۵).

اسید هیومیک با افزایش جذب عناصر غذایی، خواص شبه هورمونی و اثر مثبت بر غشاء سلولی و بهبود نقل و انتقال عناصر غذایی در داخل گیاه، می‌تواند باعث کاهش عوامل تنفس زا شده، عمر گل‌های شاخه بریده، گل‌دانی و عملکرد آنها را بهبود بخشد (چمنی و همکاران، ۱۳۹۱). در پژوهشی اسید هیومیک، باعث تشکیل ریشه‌های جانبی و افزایش عملکرد گل ژربرا، به دلیل افزایش جذب



شکل ۵. مقایسه میانگین اثر اسید هیومیک و قارچ میکوریزا و قارچ ایندیکا روی عملکرد در گل شاخه بریده رز، رقم مشکی (Bordeaux)

Figure 5. Mean comparison of effect of Humic acid, Mycorrhiza fungi and indica fungi on flower yield in rose cut flower, black variety (Bordeaux)

عمر گلچایی

هزینه های بالای تولید و حساسیت زیاد محصول به شرایط انبارداری و فروش گلها و گیاهان زیستی امری بسیار ضروری و مهم است (ادریسی و همکاران؛ ۱۳۸۶). گزارش شده که اسید هیومیک ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر باعث افزایش ماندگاری گل ها بین ۴-۵ (روز)، در سطح احتمال ۵٪ گردید (نیکبخت و همکاران؛ ۱۳۸۶).

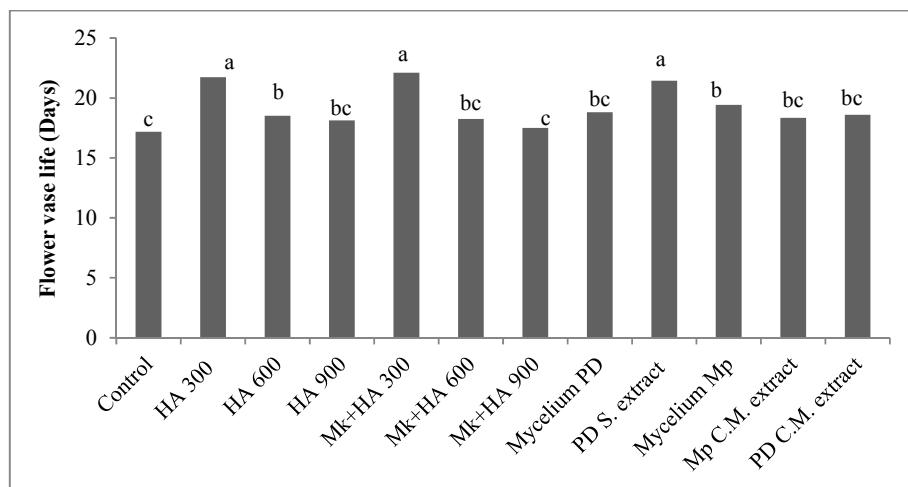
از مشکلات عمدی پس از برداشت گل ها، رشد میکروبها در ظرف نگهداری و مسدود شدن سیستم آوندی ساقه است که این امر سبب کاهش جذب آب توسط ساقه می شود. در پی رشد میکرو ارگانیسم ها در ساقه تنش آبی در گیاه ایجاد می شود بطوریکه برگ ها و گلها شادابی خود را از دست می دهند و در نهایت عمر گلچایی گل های بریده کاهش می یابد و فرایند پیری تسریع می شود (Ebrahimzadeh and Seyfi, 1999).

گلچایی آلستروم ریا را ۳/۶۶-۲ روز بیشتر کرد (چمنی و همکاران؛ ۱۳۹۱). میزان تأثیر اسید هیومیک، بیشترین تغییرات را بر اجزاء عملکرد و عمر گلچایی گل شاخه بریده ژربرا داشته است (امیری؛ ۱۳۹۱؛ راحمی، ۱۳۸۲) که مطابق با نتایج این پژوهش بوده است.

بر اساس جدول تجزیه واریانس (۲) تفاوت بسیار معنی داری بین تیمارها روی عمر پس از برداشت در سطح احتمال ۱٪ وجود داشت، بطوریکه بیشترین عمر گلچایی طبق شکل ۶ با (۱۱-۲۲ روز) مربوط به میانگین تیمارهای اسید هیومیک L ۳۰۰mg/L + قارچ میکوریزا و تیمار اسید هیومیک L ۳۰۰mg/L با (۲۱/۷۳ روز) و تیمار قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا (عصاره اسپور) با (۲۱/۶۴ روز) بوده است و از طرفی کمترین عمر گلچایی با (۱۶/۱۸ روز) اسید هیومیک تیمار L ۹۰۰mg/L + قارچ میکوریزا و با (۱۵/۰۸ روز) مربوط به شاهد بدست آمده است.

در تحقیقی نشان داد که قارچ میکوریزا باعث افزایش عمر گلچایی لیلیوم شده است. بیشترین افزایش عمر گلچایی (۸/۵ روز) در قارچ دهی ۵۰ میلی گرم بدون غلظت فسفر که نسبت به شاهد دوام عمر بیشتری (۳ روز) حاصل شد (سبحانی و همکاران؛ ۱۳۹۵).

به حداقل رساندن ضایعات پس از برداشت در گلهای شاخه بریده و افزایش عمر گلچایی آنها، با در نظر گرفتن



شکل ۶. مقایسه میانگین اثر اسید هیومیک و قارچ ایندیکا روی عمر گلچایی در گل شاخه بریده رز، رقم مشکی (Bordeaux)

Figure 6. Mean comparison of effect of Humic acid, Mycorrhiza fungi and indica fungi on vase life of flower in rose cut flower, black variety (Bordeaux)

محتوای نسبی آب

بر اساس جدول تجزیه واریانس (3) تفاوت معنی داری بین تیمارها روی محتوای نسبی آب در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪

وجود داشت

جدول ۳. تجزیه واریانس اثر اسید هیومیک و قارچ میکوریزا و قارچ ایندیکا بر خصوصیات فیزیولوژیکی رز شاخه بریده رق مشکی (Bordeaux)

Table 3. Analysis of variance of effect of humic acid, mycorrhiza fungi and endophytic *Piriformospora indica* fungi on physiological parameters of black rose cut flower (Bordeaux)

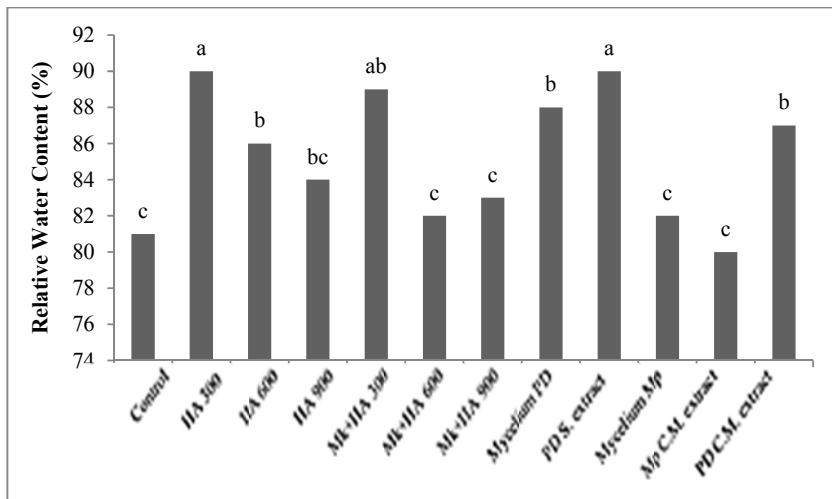
| Source of variance | df | RWC (%) | Catalase ($\mu\text{mol}/\text{mg min}$) | Peroxidase ($\mu\text{mol}/\text{mg min}$) | chlorophyll a (mg/g FW) | chlorophyll b (mg/g FW) | Anthocyanin ($\mu\text{g}/\text{g FW}$) |
|------------------------|----|---------|--|--|-------------------------|-------------------------|---|
| Humic acid | 1 | 0.24* | 19.80* | 9.97* | 3.85** | 2.21* | 0.38 ^{ns} |
| Humic acid+Mycorrhiza | 3 | 0.15* | 16.72* | 6.35 ^{ns} | 2.25** | 3.05** | 0.93* |
| <i>P. indica</i> Fungi | 3 | 0.67** | 23.19* | 15.76* | 1.22* | 2.02* | 0.34 ^{ns} |
| Error | 24 | 0.81 | 0.9 | 1.24 | 0.002 | 0.18 | 0.50 |
| %C.V | - | 12.09 | 18.22 | 6.70 | 2.9 | 11.51 | 13.41 |

*, **, ns = Significance at 5 and 1 percent levels and non-significance, respectively
RWC: Relative Water Content

همزیست با جذب بیشتر عناصری مثل فسفر و ازت در ساختمان پروتئین‌ها نقش دارند و پروتئین‌ها نیز جاذب آب هستند در نتیجه هر چه غلظت عناصر بیشتر شود محتوی نسبی آب گیاه هم بیشتر می‌شود (Farzaneh et al., 2011)

پژوهشگران در آزمایشات خود بر روی گیاه ذرت به این نتیجه رسیدند که با افزایش سطوح اسید هیومیک مصرفی، محتوی نسبی آب نیز افزایش می‌یابد که با نتایج این آزمایش همسو می‌باشد. اثر باکتری‌های حل کننده فسفات بر محتوی نسبی آب در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود و با افزایش سطح کود میکروبی حاوی باکتری‌های حل کننده فسفات محتوی نسبی آب بیشتر شد. بیشترین محتوی نسبی آب با (۸۶/۱۶) درصد از مصرف ۱۰ کیلوگرم کود میکروبی حاوی باکتری و کمترین مقدار آن (۷۹/۲۹) درصد از تیمار شاهد به دست آمد (Emam Ziae and Ziae, 2010)

بطوریکه بیشترین میانگین با توجه به شکل ۷ با (۰/۶۷ درصد) مربوط به میانگین تیمارهای قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا بوده و تیمارهای اسید هیومیک L ۹۰۰ mg/L با (۰/۲۴ درصد) و تیمارهای اسید هیومیک + قارچ میکوریزا با (۰/۹۰ درصد) بوده است و از طرفی کمترین میانگین با (۰/۸۵ درصد) مربوط به تیمار اسید هیومیک + قارچ میکوریزا و شاهد با (۰/۸۱ درصد) بدست آمد. کلنسازی در ریشه گوجه فرنگی بوسیله قارچ میکوریزا (*Glomus intraradices*) در شرایط گلخانه‌ای مورد ارزیابی قرار دادند و نتیجه گرفتند که ماده خشک اندام‌هوایی، محتوای نسبی آب برگ بطور معنی‌داری در گیاهان میکوریزایی شده بیشتر بود (Subramanian et al., 2006) افزایش اسید هیومیک و قارچ‌های همزیست باعث افزایش میزان کلروفیل و سطح برگ می‌شود و هر چه میزان کلروفیل و سطح برگ در گیاه بیشتر باشد گیاه توانایی ذخیره‌سازی آب بیشتری دارد، همچنین قارچ‌های



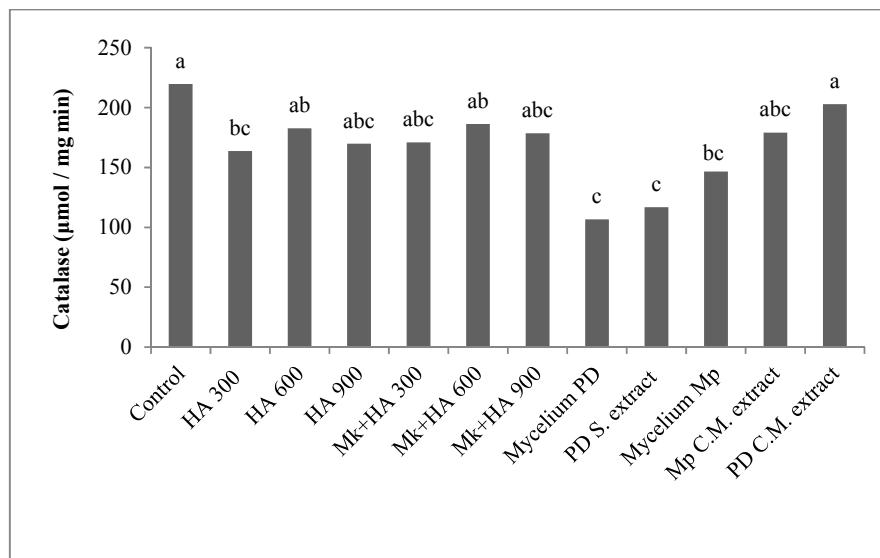
شکل ۷. مقایسه میانگین اثر اسید هیومیک و قارچ میکوریزا و قارچ ایندیکا روی محتوای نسبی آب برگ، گل در گل شاخه برشده رز، رقم مشکی (Bordeaux)

Figure 7. Mean comparison of effect of Humic acid, Mycorrhiza fungi and indica fungi on relative water content in rose cut flower, black variety (Bordeaux)

بوده و منحنی بدست آمده سیر نزولی داشت چون آنزیم کاتالاز باعث تجزیه پراکسید هیدروژن می‌شود و میزان جذب کمرت می‌شود. بر اساس نتایج حاصله اسید هیومیک و قارچ میکوریزا به عنوان یک عامل بیولوژیکی مهم که عملکرد اصلی آن بر فرآیند متابولیسم آنزیم کاتالاز است، نقش مهمی در جلوگیری از آزاد سازی رادیکالهای آزاد اکسیژن و پراکسید هیدروژن توسط آنزیم کاتالاز دارند و همچنین جلوگیری از تشکیل رادیکالهای هیدروکسیل توسط این آنزیم دارند (Spanou *et al.*, 2012). آنزیم کاتالاز در نگهداری تعادل متابولیسم اکسیژن در بافت گیاهی نقش دارد (Xie *et al.*, 2003). اکسیژن فعال باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های عامل پیری مثل کاتالاز، پروکسیداز و پراکسیداسیون لیپید و خسارت به غشای سلول و در نهایت پیری می‌شود (Li *et al.*, 2007).

فعالیت آنزیم کاتالاز

بر اساس جدول تجزیه واریانس (۳) تفاوت معنی‌داری بین تیمارها در سطح احتمال ۵٪ وجود داشت. بطوریکه بیشترین میانگین تیمارها روی فعالیت آنزیم کاتالاز طبق شکل ۸ با (۲۳/۱۹ میکرومول بر میلی‌گرم در دقیقه) مربوط به تیمارهای قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا (عصاره محیط کشت Pd) و اسید هیومیک ۶۰۰mg/L (۱۹/۸۰ میکرومول بر میلی‌گرم در دقیقه) و اسید هیومیک ۶۰۰mg/L + قارچ میکوریزا با (۱۶/۷۲ میکرومول بر میلی‌گرم در دقیقه) بوده، از طرفی کمترین میانگین تیمارها با (۱۱/۱۶ میکرومول بر گرم در دقیقه) مربوط به تیمار اسید هیومیک ۳۰۰mg/L + قارچ میکوریزا و قارچ ایندیکا (عصاره محیط کشت Pd) با (۹/۱۸ میکرومول بر میلی‌گرم در دقیقه) بدست آمده است. عموماً فعالیت آنزیم کاتالاز در گلهای سالم در طول نمو جوانه گل با کاهش مواجه



شکل ۸ مقایسه میانگین اثر اسید هیومیک و قارچ میکوریزا و قارچ ایندیکا روی فعالیت آنزیم کاتالاز در گل شاخه برشیه رز، رقم مشکی (Bordeaux)

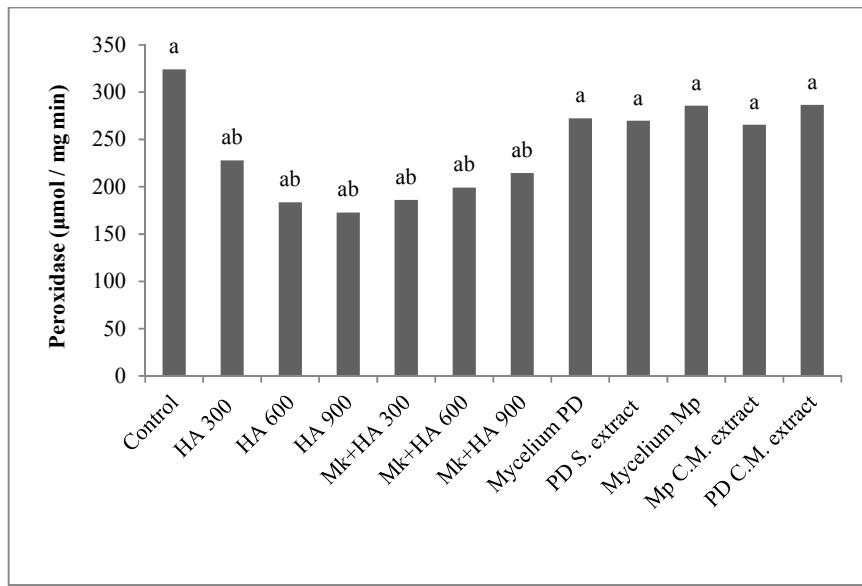
Figure 8. Mean comparison of effect of Humic acid, Mycorrhiza fungi and indica fungi on amount of catalase enzyme in rose cut flower, black variety (Bordeaux)

اکسیژنه در بافت‌های گیاهی تولید می‌شود که دو آنزیم پراکسیداز و کاتالاز به دو شکل متفاوت این ماده سمی را از محیط دور می‌کنند و همچنین ثابت شده است که آنزیم پراکسیداز از عوامل‌های مهم لیگنین سازی در گیاهان به خصوص در مرحله آخر پلیمریزاسیون سه الکل اصلی (کونیفریل، سیناپین و -P-کوماریل) است. در این امر نقش ایزوآنزیم‌های کاتدی در اوایل دوره سرما به عنوان شاخص مقاومت به سرما و نقش ایزوآنزیم‌های آندی به عنوان شاخص لیگنین سازی شناخته شده است (فهیمی، ۱۳۷۶).

فعالیت آنزیم پروکسیداز

بر اساس جدول تجزیه واریانس (۳) تفاوت معنی‌داری بین تیمارها در سطح احتمال ۵٪ وجود داشت. بطوریکه بیشترین میانگین رuoی فعالیت آنزیم پروکسیداز بر اساس شکل ۹ با (۱۵/۷۶ میکرومول بر میلی‌گرم در دقیقه) مربوط به تیمار قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا بوده و از طرفی کمترین میانگین با (۱۲/۸۴ میکرومول بر میلی‌گرم در دقیقه) مربوط به تیمار اسید هیومیک نسبت به شاهد بدست آمده است و تیمار قارچ میکوریزا + اسید هیومیک معنی‌دار نشد.

در تحقیقی ثابت شده است که در تمام فرایندهای فیزیولوژیکی و تغییرات فنولوژیکی گیاه ماده سمی آب

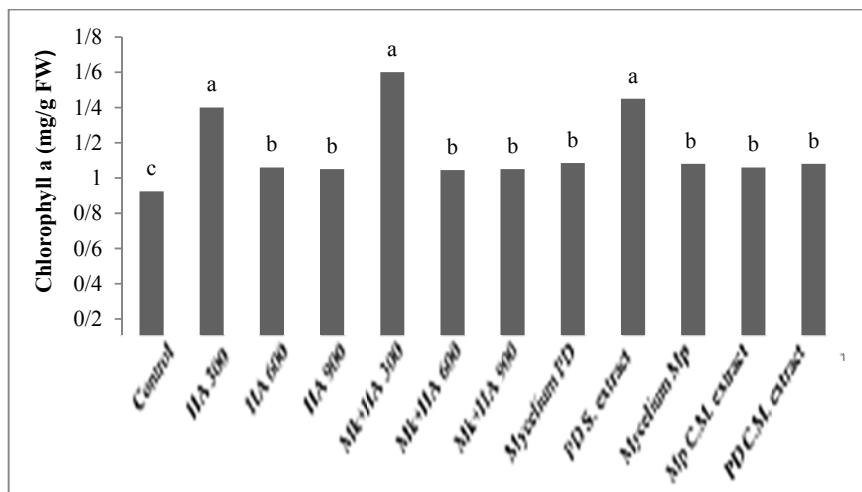


شکل ۹. مقایسه میانگین اثر اسید هیومیک و قارچ ایندیکا روی فعالیت آنزیم پراکسیداز در گل شاخه بریده رز، رقم مشکی (Bordeaux)

Figure 9. Mean comparison of effect of Humic acid, Mycorrhiza fungi and indica fungi on amount of peroxidase enzyme in rose cut flower, black variety (Bordeaux)

کشاورزی نقش به سزایی دارند قارچ های میکوریز آربوسکولار می باشند. قارچ های میکوریزا از طریق کاهش تلفات نیتروژن خاک و افزایش جذب عناصر غذایی می شود (Chen and Zhao, 2007). با ترشح ترکیبات سیدروفوری و یا فیتوسیدروفوری ایجاد مقاومت به خشکی، مقاومت به عوامل بیماری زای خاکی و افزایش مقاومت به شوری و فلزات سنگین و افزایش مقدار کلروفیل افزایش رشد گیاهان همیست با این قارچ ها شده و در مقابل با مصرف ۲۰-۴۰ درصد محصولات فتوستتری گیاه، انرژی مورد نیاز خود را تأمین می کنند Bhosale and Shinde, 2011). در پژوهشی با مصرف اسید هیومیک ۴۰۰ (میلی گرم در لیتر) میزان، کلروفیل افزایش معنی داری یافته است (Neilsen et al., 2004).

مقدار کلروفیل a
بر اساس جدول تجزیه واریانس (۳) تفاوت معنی داری بین تیمارها روی کلروفیل a در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪ وجود داشت. بطوریکه بیشترین میانگین بر اساس شکل ۱۰ با (۳/۸۵ میلی گرم بر گرم وزن تازه بافت) مربوط به میانگین تیمارهای اسید هیومیک و اسید هیومیک + قارچ میکوریزا با (۲/۲۵ میلی گرم بر گرم وزن تازه بافت) بوده است و تیمار قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا با (۱/۲۲ میلی گرم بر گرم وزن تازه بافت) بدست آمد. از طرفی کمترین میانگین ها با (۱/۰۶ میلی گرم بر گرم وزن تازه بافت) مربوط به تیمار قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا و شاهد با (۰/۹۴ میلی گرم بر گرم وزن تازه بافت) بدست آمد. مهم ترین قارچ های اندومیکوریزی که در



شکل ۱۰. مقایسه میانگین اثر اسید هیومیک و قارچ میکوریزا و قارچ ایندیکا روی کلروفیل a در گل شاخه بریده رز، رقم مشکی (Bordeaux)

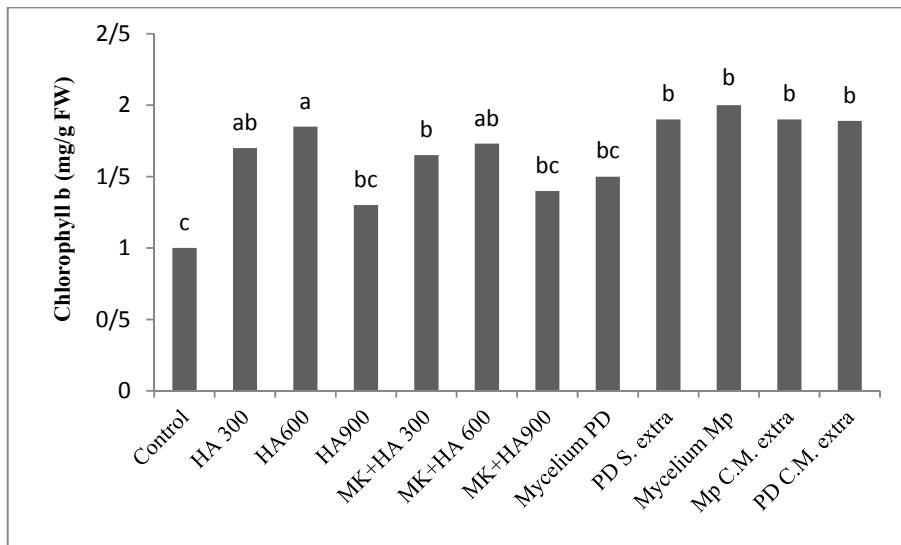
Figure 10. Mean comparison of effect of Humic acid, Mycorrhiza fungi and indica fungi on amount of chlorophyll a in rose cut flower, black variety (Bordeaux)

میکوریزا و شاهد با (۱/۵۵ میلی گرم بر گرم وزن تازه بافت) بدست آمد.

کاهش کلروفیل که به عنوان عامل محدود کننده غیر روزنها فتوستتر محسوب می شود به دلیل افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز و پراکسیداز اتفاق می افتاد که به دلیل تنفس می باشد. گیاهان تلقیحی میکوریزایی جلوی تنفس را می - گیرند و از کاهش کلروفیل جلوگیری می کنند همچنین نشان داد که محتوای کلروفیل گیاهان فلفل همزیست با قارچ میکوریزا در مقایسه با گیاهان کترنل غیر میکوریزا بالاتر بود (Bhosale and Shinde, 2011). که با نتایج این تحقیق همسو می باشد.

کلروفیل b

بر اساس جدول تجزیه واریانس (۳) تفاوت معنی داری بین تیمارها روی کلروفیل b در سطح احتمال ۰.۵٪ و ۰٪ وجود داشت. بطوریکه بیشترین میانگین طبق شکل ۱۱ با (۳/۰۵ میلی گرم بر گرم وزن تازه بافت) مربوط به میانگین تیمارهای اسید هیومیک بوده و تیمارهای قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا با (۲/۲۱ میلی گرم بر گرم وزن تازه بافت) و اسید هیومیک + قارچ میکوریزا با (۲/۰۲ میلی گرم بر گرم وزن تازه بافت) بوده است. از طرفی کمترین میانگین ها با (۱/۸۴ میلی گرم بر گرم وزن تازه بافت) مربوط به تیمار اسید هیومیک L ۹۰۰ mg/L + قارچ



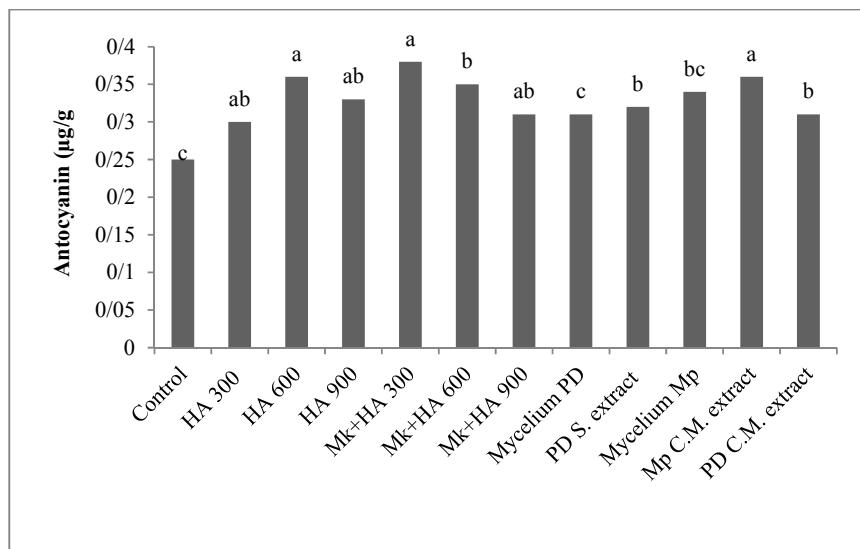
شکل ۱۱. مقایسه میانگین اثر اسید هیومیک و قارچ میکوریزا و قارچ ایندیکا روی کلروفیل b در گل شاخه بریده رز، رقم مشکی (Bordeaux)

Figure 11. Mean comparison of effect of Humic acid, Mycorrhiza fungi and indica fungi on amount of chlorophyll b in rose cut flower, black variety (Bordeaux)

خشک شدن و چروک شدن است. این ضایعات آب از گلبرگ‌های در حال بالغ شدن همچنین در گل‌هایی که در آب نگهداری می‌شوند (راحمی، ۱۳۸۲). در بررسی محتوای آنتوسیانین برگ ریحان‌های سبز و بنفش برای تعیین تأثیر همزیستی قارچ با گیاه بر میزان این متابولیت ثانویه مشخص شد که مقدار آنتوسیانین برگ ریحان در گیاهان تیمار نسبت به شاهد به طور معنی داری افزایش یافته است (Chen and Zhao, 2007) بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق مشخص شد که قارچ *Glomus etunicatum* بر رشد و پارامترهای فیزیولوژیک بررسی شده گیاه زیستی رز دارای اثر مثبتی است که می‌توان این تأثیر مثبت را بهبود جذب عناصر معدنی مفید در گیاهان میکوریزایی نسبت داد.

آنتوسیانین

بر اساس جدول تجزیه واریانس (۳) تفاوت بسیار معنی داری بین تیمارها روی آنتوسیانین در سطح احتمال ۵٪ وجود داشت، بطوریکه بیشترین میانگین با توجه به شکل ۱۲ با (۰/۹۰ میکروگرم بر گرم بافت تازه) مربوط به میانگین تیمار اسید هیومیک ۳۰۰mg/L + قارچ میکوریزا بوده است و تیمارهای اسید هیومیک با (۰/۳۵ میکروگرم بر گرم وزن بافت تازه) و قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا با (۰/۳۱ میکروگرم بر وزن بافت تازه) بدست آمده است، و از طرفی کمترین میانگین با (۰/۲۴ میکروگرم بر وزن بافت تازه)، مربوط به تیمار اسید هیومیک ۳۰۰mg/L و شاهد با (۰/۲۳ میکروگرم بر وزن تازه بافت) بدست آمده است. آنتوسیانین گلبرگ یکی از نشانه‌های اصلی بروز پیری در گلبرگ‌ها، افت وزن تر،



شکل ۱۲. مقایسه میانگین اثر اسید هیومیک و قارچ میکوریزا و قارچ ایندیکا روی آنتوسیانین گلبرگ در گل شاخه بریده رز، رقم مشکی (Bordeaux)

Figure 12. Mean comparison of effect of Humic acid, Mycorrhiza fungi and indica fungi on amount of antocyanin in rose cut flower, black variety (Bordeaux)

ریشه‌های وسیع تر و قویتر دارد سالم تر و مقاوم تر نیز خواهد بود. تقویت ریشه زایی با مکانیسم‌های متعددی مرتبط است. اسید هیومیک با افزایش نفوذ پذیری سلول‌های ریشه به جذب بهتر مواد غذایی و توسعه بیشتر گیاه کمک می‌نماید ثابت شده است که اسید هیومیک با تولید بیشتر اسیدهای نوکلئیک و اسیدهای آمینه تکثیر سلولی را در کل گیاه و بخصوص در ریشه‌ها افزایش می‌دهد. حفظ رطوبت خاک برای همه کشاورزان مهم است، بخصوص برای مناطق خشک و کویری و بالاخص برای زمین‌های شنی ماسه‌ای که بر بسترها شبدار قرار گرفته‌اند بی نهایت اهمیت دارد.

در این تحقیق تیمار اسید هیومیک ۳۰۰mg/L با ۵۰ گرم قارچ میکوریزا، به ترتیب باعث افزایش صفات صفات ارتفاع شاخه (۶۴/۷۰cm)، قطر جام گل (۶/۱۷cm)، عمر گلچایی (۱۱/۲۲ روز)، کلروفیل b (۰.۵/۳۰ mg/gFW) با کاربر

نتیجه گیری کلی

با توجه نتایج بدست آمده مشخص شد که اسید هیومیک، قارچ میکوریزا و قارچ اندوفیت پیریفورموسپورا ایندیکا، هر کدام با تاثیری بدینه روی گل شاخه بریده رز رقم مشکی (Bordeaux)، باعث شدند که بیش از پیش در امر تغذیه گیاهان زیستی مورد توجه قرار گیرند، استفاده از کودهای بیولوژیک و باکتریهای همزیست، موجب افزایش جذب عناصر غذایی کم تحرک و حجم ریشه و در نتیجه جلوگیری از مصرف بیش از حد کودهای شیمیایی می‌شوند. همچنین ویژگی‌های منحصر بفرد این قارچ‌ها و کود بیولوژیک اسید هیومیک که در افزایش عملکرد و عمر پس از برداشت نقش بسزایی دارد، تحقیقی در این زمینه انجام گرفت. تاثیر اسید هیومیک بر رشد ریشه چنان واضح و شگرف است که در مواردی حجم ریشه را تا چند برابر افزایش می‌دهد. چنانکه همه می‌دانیم گیاهی که

آب (٪ ۰/۷۷)، سطح برگ ($2911/5 \text{ mm}^2$) و عملکرد (٪ ۱۷/۰۲ تعداد گل) نیز در اثر تیمار قارچ پیریفورموسپورا ایندیکا (عصاره اسپور) به دست آمد. قارچ اندوفتی پیریفورموسپورا ایندیکا با تاثیرات شبه میکوریزای، نقش قابل توجهی در عملکرد و کیفیت گل دارد. این قارچ تنها تفاوتی که با میکوریزا دارد، بلکه در نحوه همزیستی و ایجاد هیفهای بدون ظاهر مشخص، بر خلاف میکوریزا ایجاد گره در ریشه نمی‌کند و مکانیسم عمل این قارچها به این صورت است که با تولید اسید سیتریک منجر به اسیدی شدن محیط ریشه شده و عناصری مثل آهن و فسفر که در شرایط اسیدی قابل جذب هستند را افزایش می‌دهند.

و آنتوسیانین ($0/93 \mu\text{g/gFW}$) شد و همچنین میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز ($\text{mg min} / \mu\text{mol}$) و پروکسیداز ($\text{mg min} / \mu\text{mol}$) نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت که با کاهش فعالیت این دو آنزیم موجب افزایش کیفیت و عمر پس از برداشت این رقم گل شد. با توجه به تاثیری که اسید هیومیک در جلوگیری از بروز تنشهای زنده و غیر زنده دارد و قارچ میکوریزا در ترکیب با این فاکتور که باعث حل کردن برخی عناصر غیر قابل جذب می‌شود، نتایج فوق بدست آمد. همچنین در اثر تیمار اسید هیومیک 300 mg/L بیشترین میزان کلرفیل a ($3/85 \text{ mg/gFW}$) به دست آمد. بیشترین میزان طول جام گل ($7/68 \text{ cm}$)، محتوای نسبی

منابع

- امیری، م.، ۱۳۹۱. بررسی تأثیر اسید هیومیک بر اجزاء عملکرد و دوام عمر گل دو رقم گل شاخه بریده ژربرا، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار.
- تولایی، م.، ۱۳۸۰. راهنمای کاشت گیاهان گلخانه ای به روش هیدرопونیک در سطح تجاری. نشر آموزش کشاورزی، کرج. ایران. ۴۳۶ صفحه.
- چمنی، ا. اسماعیل پور، ا. پور بیرامی، ا. ملکل لجایر، ح. و سعادتی، ا.، ۱۳۹۱. بررسی اثرات تیدیازرون و اسید هیومیک روی عمر پس از برداشت گل آلسترومیرا رقم کنیامبه. مجله علوم و فنون باغبانی، علوم و صنایع کشاورزی (جلد، ۲۶) شماره ۲، صفحات ۱۵۲-۱۴۷.
- خوشخوی، م. شبیانی، ب. روحانی، ا. و تفضلی، ع.، ۱۳۹۱. اصول باغبانی. چاپ بیستم، انتشارات دانشگاه شیراز. ۵۵۶ صفحه.
- Rahimi, M., 1382. فیزیولوژی پس از برداشت (مقدمه‌ای بر فیزیولوژی و جابجایی میوه سبزی‌ها و گیاهان زینتی)، انتشارات دانشگاه شیراز. چاپ سوم. ۲۵۰ صفحه.
- ریزی، س.، ۱۳۸۹. اثر تغذیه سیلیسیم و کاربرد سالیسیلیک اسید در شرایط آبکشت بر کیفیت رز شاخه بریدنی و بیماری سفیدک پودری. رساله دکتری گروه باغبانی دانشگاه پرديس کشاورزی و منابع طبیعی.
- سیحانی، ا. رسولی، م. و موحدی، ز.، ۱۳۹۵. تاثیر عنصر فسفر و قارچ میکوریزا روی برخی از صفات مورفولوژی و فیزیولوژی گل شاخه بریده لیلیوم رقم رویال ترینیتی در شرایط گلخانه‌ای. اولین کنگره بین المللی و دومین کنگره ملی گل و گیاهان زینتی ایران.
- فهیمی، م.، ۱۳۷۶. تنظیم کننده‌های رشد گیاهی. انتشارات دانشگاه تهران، ۲۷۱ صفحه.

نیکبخت، ع. کافی، م. بابلار، ن. اعتمادی، ح. ابراهیم زاده، ع. و بیپینگ، ش. ۱۳۸۶. اثر اسید هیومیک بر جذب کلسیم و رفتار فیزیولوژیکی پس از برداشت گل ژربا. *مجله علوم و فنون باستانی ایران*. ۸(۴): ۲۳۷-۲۴۸.

Abusuwar, A.O. and Omer, E.A. 2011. Effect of intercropping, phosphorus solubilizing bacteria rhizobium inoculation on the growth and nodulation of some leguminous. *Agriculture and Biology Journal of North America*. 2 (1): 109–124.

Anderson, N.O. 2006. Flower breeding and genetics, Issues, challenges and opportunities for the 21 century. *Netherlands*. 700 pp.

Autio, J. 2006. Supplementary lighting regimes strongly affect the quantity of gerbera flower yield. *Acta Horticulturae*. 515: 91-98.

Bakker, J. Bridle, P. and Bellworthy, S.J. 1994. Strawberry juice color; A study of the quantitative and qualitative pigment composition of juices from 39 genotypes. *Journal of Science and Food Agriculture*. 64(1): 7-31.

Bhosale, K.S. and Shinde, B.P. 2011. Influence of arbuscular mycorrhizal fungi on proline and chlorophyll content in *Zingiber officinale* Rosc grown under water stress. Indian *Journal of Fundamental and Applied Sciences*. 1(3): 172-176.

Burchi, G. Prisa, D. Ballarin, A. and Menesatti, P. 2010. Improvement of flower color by means of leaf treatments in lily. *Horticultural Science*. 125: 456_460.

Cardoso, I.M. and Kuyper, T.W. 2006. Mycorrhizas and tropical soil fertility. *Agriculture Ecosystems and Environment*. 116(1): 72-84

Chance, B. and Maehly, A.C. 1995. Assay of catalase and peroxidase. In: S.P. Culowic and N.O. Kaplan (Eds.). Methods in Enzymology. Vol. 2. Academic Press. Inc. New York. 814 p.

Chen, X.H. and Zhao, B. 2007. Arbuscular mycorrhizal fungi mediated uptake of lanthanum in Chinese milk vetch (*Astragalus sinicus* L.). *Chemosphere*. 68(8): 1548-1555.

Chutichudet, P. Chutichudet, B. and Boontiang, K. 2010. Effect of 1-MCP fumigation on vase life and other postharvest qualities of Siam tulip (*Curcuma aeruquinosa* Roxb) cv. Laddawan. *International Journal of Agriculture Research*. 5:1-10.

Dhindsa, R.S. Dhindsa, P. and Thorpe, T.A. 1981. Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *Environtal and Experimental Botany*. 32:93-101.

Ebrahimzadeh, A. and Seyfi, Y. 1999. Storage and handling of cut flowers, ornamental green plantsand pot plants. (Translation). *Akhtar Publications*. 233.

Emam, Y. and Ziae, E. 2010. Evaluation of Water and Photosynthetic Nitrogen Use Efficiency in Two Maize Hybrids. *Iranian Journal of field Crop Science*. 41(3): 423-432.

Eyheragibel, B. Silvestre, j. and Morard, P. 2008. Effects of humic substances derived fromorganic waste enhancement on the growth and mineral nutrition of maize. *Bioresource Technology*. 99(10): 4206-4212.

Farzaneh, M. Vierheilig, H. Lossll, A. and Kaull, HP. 2011. Arbuscular mycorrhiza enhances nutrient uptake in chickpea. *Plant Soil Environment*. 57:465-470.

Karakurt, Y. Unlu, H. and Padem, H. 2009. The influence of foliar and soli fertiizationn of humic acid on yeild and quality of pepper. *Plant and soil*. 59(3): 233-237.

- Li, Z. Wang, L. Wang, W. and Zhu, Y. 2007. Physiological effect and application of 1-MCP on delaying fruit senescence. *Plant Physiology Communications*. 43: 201-206.
- Lorenz, R. Neil, O. Mattson, S. and Lieth, H. 2006. Predicting Stem Length of Cut Flower Roses at Harvest Using Stem Elongation Rates in Relationship to Developmental Events. *Acta Horticulturae*. 718.
- Marschner, H. 2005. Mineral Nutrition of Higher Plants. 2nd Ed., Academic Press, New York.
- Maxwell, K. and Johnson, G.N. 2000. Chlorophyll fluorescence, a practical guide. *Journal of Experimental Botany*. 51(345): 659-668.
- Michalczuk, B. Goszcynska, D.M. Rudnicki, R.M. and Halevy, A.H. 2010. Calcium promotes longevity and bud opening in cut rose flowers. *Isr. American Journal of Botany*. 38: 209-215.
- Nielsen, K.B. Kjoller, R. Olsson, P.A. Schweiger, P.F. Andersen, F.O. and Rosendahl, S. 2004. Colonization intensity and molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in the aquatic plants *Littorella uniflora* and *Lobelia dortmanna* in southern Sweden. *Mycological Research*. 108: 616-625.
- Nikbakht, A. Kafi, M. Babalar, M. Xia, Y.P. Luo, A. and Etemadi, N. 2008. Effect of commercial humic acid on plant growth, nutrients uptake and postharvest life of gerbera. *Journal Plant Nutrition*. 31: 2155-2167.
- Qiang, X. Weiss, M. Kogel, K.H. and Schafer, P. 2011. *Piriformospora indica* mutualistic basidiomycete with an exceptionally large plant host range. *Molecular Plant Pathology*. 13(5): 508-518.
- Rai, M. Acharya, D. Singh, A. and Varma, A. 2001. Positive growth responses of the medicinal plants *Spilanthes calva* and *Withania somnifera* to inoculation by *Piriformospora indica* in a field trial. *Mycorrhiza*. 11(3): 123-128.
- Rai, M. and Varma, A. 2005. Arbuscular mycorrhiza-like biotechnological potential of *Piriformospora indica*, which promotes the growth of *Adhatoda vasica* Nees. *Journal of Biotechnology*. 8(1): 1-6.
- Singh, A. Sharma, J. Rexer, K.H. and Varma, A. 2000. Plant productivity determinants beyond minerals, water and light: *Piriformospora indica*-A revolutionary plant growth promoting fungus. *Current Science-Bangalore*. 79(11): 1548-1554.
- Soleimani Aghdam, M. Hassanpour Aghdam, M. Paliyat, G. and Farmani, B. 2012. The language of calcium in postharvest life of fruits, vegetables and flowers. *Horticulturae Scientia*. 144: 102-115.
- Spanou, C.I. Veskoukis, A.S. Stagos, D. Liadaki, K. Aligiannis, N. Angelis, A. Skaltsounis, A.L. Anastasiadis, M. Haroutounian, S.A. and Kouretas, D. 2012. Effects of Greek legume plant of extracts on xanthine oxidase, catalase and superoxide dismutase activities. *Journal of Physiology and Biochemistry*. 68(1): 37-45.
- Subramanian, K. Santhanakrishnan, P. and Balasubramanian, P. 2006. Responses of field grown tomato plants to arbuscular mycorrhizal fungal colonization under varying intensities of drought stress. *Scientia Horticulturae*. 107: 245-253.
- Varma, A. Abbott, L. Werner, D. and Hampp, R. 2004. The state of art. Plant surface microbiology. *Plant surface microbiology*. Springer, Berlin Heidelberg New York: 1-11.
- Varma, A. Verma, S. Sahay, N. Butehorn, B. and Franken, P. 1999. *Piriformospora indica*, a cultivable plant-growth-promoting root endophyte. *Applied Environmental Microbiology*. 65(6): 2741-2744.
- Verma, S. Varma, A. Rexer, K.H. Hassel, A. Kost, G. Sarbhoy, A. Bisen, P. Bütehorn, B. and Franken, P. 1998. *Piriformospora indica*, gen. et sp. nov., a new root-colonizing fungus. *Mycologia*. 896-903.

موسی رسولی و همکاران: بهبود شاخص های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گل رز رقم (Bordeaux) با کاربر

- Wang, B. and Qiu, Y.L. 2006. Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants. *Mycorrhiza*. 16(5), 299-363.
- Xie, M. Zhang, J. and Xie, J. 2003. Relationships between some physio-biochemical changes and senescence during storage in bitter gourd. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*. 24(4): 716-719.
- Yamasaki, S. and Dillenburg, L.R. 1999. Measurements of leaf relative water content in *Araucaria angustifolia*. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*. 11(2):69-75.
- Zhu, Y.G. and Miller, R. 2003. Carbon cycling by arbuscular mycorrhizal fungi in soil-plant systems. *Trends in Plant Science*. 8(9): 407-409

Improving Morphological and Physiological Parameters of Rose Flower (Cultivar Bordeaux) by Application of Humic Acid, (*Glomus Etunicatum*) and (*Piriformospora Indica*) Fungies

Mousa Rasouli^{*1}, Sahar Mirzaei², Kourosh Farhadi³, Mehdi Ghaboli⁴

1- Corresponding Author and Associate Professor, Department of Horticultural Science and Landscape Engineering, Faculty of Agriculture, Malayer University, Malayer, Iran. mousarasouli@gmail.com

2- Assistant Professor, Ornamental Plants Research Centre, Horticultural Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Mahallat, Iran. sahar_mirzaei81@yahoo.com

3- M.Sc. Graduate, Department of Horticultural Science and Landscape Engineering, Malayer University, Malayer, Iran. Kourosh.farhadi2020@gmail.com

4- Assistant Professor, Department of Plant Product and Genetic, Malayer University, Malayer, Iran.
mehdi.ghabooli@gmail.com

Received Date: 2019/08/15

Accepted Date: 2019/11/26

ABSTRACT

Introduction: Rose (*Rosa hybrida* L.), it is from Rosaceae family and native of Northern Hemisphere (Anderson, 2006). Today, production of ornamental plants has a great importance in the world. More than one third of their production belongs to rose, in the world and widely it is produced in Iran. Balanced nutrition is one of the most important factors that affect the quality and quantity of roses. This study aimed to investigate the effect of humic acid, endophytic fungus mycorrhiza (*Glomus etunicatum*) and (*Piriformospora indica*) fungi on some of the characteristics of black rose flower (*Rosa hybrida*, cv 'Bordeaux') in the hydroponic media at greenhouse conditions.

Material and methods: This experiment was designed in the frame of completely randomized design (CRD) with 12 treatments in three replications. Treatments were include: 1) foliar application of humic acid in three levels (300, 600, 900 mg/L), 2) humic acid in three levels (300, 600, 900 mg/L) + 50g mycorrhizal fungi (inoculation with root media), 3) *P. indica* fungi in five levels (spore extract Potato Dextrose (PD), Mycelium PD, Mycelium Multiple (Mr), extract of Mp culture media, extract of PD culture media) and control treatment. The traits such as length of flowering stem, length and diameter of corolla, vase life, leaf area, yield, relative water content, activities of peroxidase and catalase, chlorophyll (a, b) and anthocyanins were measured.

Result and discussion: Based on the results, the highest value of flower stem length (64.70 cm), corolla diameter (6.17 cm), vase life (22.11 days), chlorophyll b (3.05 mg/g FW), anthocyanins (0.93 µg/g FW) and also the lowest amount of catalase (16.72 µmol/mg min) and peroxidase (6.35 µmol/mg min) activity was obtained with the humic acid (300 mg/L) + (50 g) mycorrhizal fungi treatment. In addition, highest amount of chlorophyll a (3.85 mg/g FW) was showed in the 300 mg/L humic acid treatment. On the other hand, the highest value of corolla length (6.68 cm), relative water content (0.67%), leaf area (2911.5 mm²) and yield (17.02 flowers) was observed in spore extract of *P. indica* fungi treatment. Chutichudet *et al.*, (2010) showed that mycorrhiza fungi treatment could increase stem height in the gerbera cut flower. Neilsen *et al.*, (2004) reported that the treatment of 400 mg/l humic acid increased amount of chlorophyll in the plants.

Conclusion: On the base of the results, we concluded that humic acid, Mycorrhiza fungi and endophytic *Piriformospora indica* fungi treatments caused obvious effects on the black rose cut flower. Application of biologic fertilizers and symbiotic bacteria increased nutrient absorption. Therefore, consumption of the chemical fertilizers was reduced. Also, treatments increased vase life of flowers. Effect of humic acid on root growth was wonderful, as increased root volume. Humic acid increases plant tolerance to biotic and abiotic stresses and mycorrhiza fungi helps in absorbing non-soluble elements. Therefore, qualitative and quantitative parameters of black rose cut flower were increased.

موسی رسولی و همکاران: بهبود شاخص های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گل رز رقم (Bordeaux) با کاربر.....

Keywords: Endophytic fungi, Humic acid, Nutrition, Mycorrhiza fungi, Rose.