

## تأثیر اسید هیومیک بر فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و متابولیت‌های سازگار در توت‌فرنگی رقم ساب‌رینا در شرایط تنش شوری

پیام خدامرادی<sup>۱</sup>، جعفر امیری\*<sup>۲</sup> و بهنام دولتی<sup>۳</sup>

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۰/۱۱ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۱/۱۳)

### چکیده

شوری از مخرب‌ترین تنش‌های غیرزنده محیطی است که میزان تولید محصولات کشاورزی را در دنیا محدود نموده است. پژوهش‌های کمی درباره کاربرد اسید هیومیک و تأثیر آن بر گیاهان در شرایط تنش شوری انجام گرفته است. به‌منظور تعیین اثر اسید هیومیک بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی در توت‌فرنگی رقم ساب‌رینا در شرایط تنش شوری، آزمایش گلخانه‌ای با سه فاکتور شامل دو روش کاربرد اسید هیومیک (محلول‌پاشی برگ‌ی و کاربرد در محیط کشت) سه غلظت اسید هیومیک (صفر، ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و سه سطح شوری ناشی از کلرید سدیم (صفر، ۲۰ و ۴۰ میلی‌مولار) به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. نتایج نشان داد که با افزایش شوری، میزان قندهای محلول و پروتئین کل در مقایسه با شاهد افزایش یافت. کاربرد اسید هیومیک در غلظت ۶۰۰ میلی‌گرم در لیتر در سطح شوری ۴۰ میلی‌مولار، میزان قندهای محلول را ۳/۸ برابر و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و گایاکول پراکسیداز را به‌ترتیب به میزان ۴/۱ و ۴/۵ برابر در مقایسه با شاهد افزایش داد. این پژوهش نشان داد که کاربرد اسید هیومیک (محلول‌پاشی برگ‌ی و کاربرد در محیط کشت) می‌تواند اثرات منفی شوری را در توت‌فرنگی رقم ساب‌رینا تعدیل نماید.

**کلمات کلیدی:** آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، پرولین، توت‌فرنگی، قندهای محلول، کشت هیدروپونیک

۱- دانشجوی سابق کارشناسی‌ارشد علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

۲- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

۳- استادیار گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

\* پست الکترونیک: j.amiri@urmia.ac.ir

## مقدمه

تنش شوری از عوامل مهم محدودکننده رشد رویشی و زایشی اکثر محصولات کشاورزی است (سعید<sup>۱</sup> و همکاران، ۲۰۰۳). تنش شوری از طریق تأثیر بر چندین مکانیسم بسیار مهم در گیاه مانند فتوسنتز، تنظیم فشار اسمزی و فعالیت آنزیم‌ها، رشد گیاه را کاهش می‌دهد (کانتریل و لیندرمن<sup>۲</sup>، ۲۰۰۱). شوری تولید گونه‌های فعال اکسیژن مثل فرم‌های اکسیژن منفرد، پراکسید هیدروژن، رادیکال هیدروکسیل و آنیون سوپراکسید را القا می‌کند (نوکتور و فویر<sup>۳</sup>، ۱۹۹۸). تنش شوری همچنین باعث انباشت انواع اکسیژن فعال در یاخته و آسیب رساندن به لیپیدهای غشا و انباشت مالون‌دی‌آلدئید، آسیب به پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌شود. افزایش مولکول‌های پراکسید هیدروژن و مالون‌دی‌آلدئید می‌تواند باعث کاهش رشد و کاهش توان سازگاری گیاه در برابر تنش شوری گردد (توتی جا<sup>۴</sup>، ۲۰۰۷). رادیکال‌های آزاد از طریق پراکسیداسیون چربی‌ها و واسرشته شدن پروتئین‌ها و تخریب اسیدنوکلئیک، متابولیسم سلولی را به هم می‌زنند (جیانگ و زنگ<sup>۵</sup>، ۲۰۰۱). در پژوهشی در برخی ارقام انگور تحت تنش شوری نشان داده شد که در اثر تنش شوری، دوازده اسید آلی، نوزده اسید آمینه، پانزده نوع قند، مالات، پرولین و گلوکز تولید می‌شود که در تنظیم اسمزی در شرایط تنش دخالت دارند (کرامر<sup>۶</sup> و همکاران، ۲۰۰۷).

توت فرنگی، میوه تجاری مهمی است که سطح زیر کشت و مصرف آن در جهان رو به افزایش است، اما این گیاه به شوری ناشی از کلرید سدیم بسیار حساس است (کوئگن و پاولزیک<sup>۷</sup>، ۲۰۰۸). آستانه تحمل توت‌فرنگی به شوری یک میلی‌موس بر سانتی‌متر می‌باشد و با افزایش غلظت شوری از عملکرد آن به شدت کم می‌گردد (کایا<sup>۸</sup> و همکاران، ۲۰۰۲). توت‌فرنگی پتانسیل بالایی در حفظ سلامت انسان داشته و سرشار از عناصر غذایی، ویتامین‌ت و ترکیبات فنلی همانند

آنتوسیانین و تانن قابل هیدرولیز می‌باشد (استیوارت<sup>۹</sup>، ۲۰۱۱). توت‌فرنگی (*Fragaria × ananassa* Duch.) گیاهی، چندساله، علفی، نهاندانه، دولپه‌ای، جداگلبرگ و از خانواده رزاسه<sup>۱۰</sup> می‌باشد (جلیلی‌مرندی، ۱۳۸۴). با در نظر گرفتن کمبود منابع آب شیرین، استفاده از آب شور برای پرورش محصولات باغی از لحاظ اقتصادی دارای ارزش و اهمیت اساسی می‌باشد (سیدلر فاطمی و همکاران، ۱۳۸۸). در دهه اخیر از مواد مختلفی مانند محافظت‌کننده‌های اسمزی (پرولین، گلیسین‌بتائین و تری‌هالوز)، تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی (اسیدجاسمونیک، اسیدسالسیلیک، برازینواستروئید، اسیدجیبرلیک و غیره)، مولکول‌های سیگنال (نیتریک‌اکسید و هیدروژن‌پروکسید)، پلی‌آمین‌ها (اسپرمین، اسپرمیدین و پوترسین) و عناصر کمیاب (سلنیم و سیلیکون) برای کاهش اثرات منفی تنش شوری در گیاهان استفاده شده است (آزدین<sup>۱۱</sup> و همکاران، ۲۰۱۱؛ ایکبال<sup>۱۲</sup> و همکاران، ۲۰۱۲؛ طاهیر<sup>۱۳</sup> و همکاران، ۲۰۱۲؛ ایونیدیس<sup>۱۴</sup> و همکاران، ۲۰۱۲). ایران در منطقه خشک و بیابانی واقع شده و شوری آب و خاک در مناطق خشک و نیمه‌خشک این کشور، رو به افزایش می‌باشد (نقی‌زاده و همکاران، ۱۳۹۳). در ایران از تیمارهایی مانند سیلیسیوم (سیدلر فاطمی و همکاران، ۱۳۸۸)، سولفات روی (سعادتی و معلمی، ۱۳۹۰)، کلرید کلسیم (مظلومی و همکاران، ۱۳۹۰)، پوتریسین (اکبری و همکاران، ۱۳۹۶) و سولفات کلسیم (خیاط<sup>۱۵</sup> و همکاران، ۲۰۰۹) در کاهش اثرات تنش شوری (کلریدسدیم) و افزایش عملکرد و بهبود ویژگی‌های رویشی میوه توت فرنگی استفاده شده است.

با توجه به کمبود آب‌های با کیفیت مناسب برای استفاده در کشاورزی، کشاورزان به اجبار به طرف استفاده از آب‌های با کیفیت پایین و شور پیش می‌روند. علاوه بر این، استفاده از کشت هیدروپونیک در سال‌های اخیر در کشور ایران روبه گسترش می‌باشد. به طور کلی، با توجه به افزایش سطح

9. Stewart  
10. Rosaceae  
11. Azzedine  
12. Iqbal  
13. Tahir  
14. Ioannidis  
15. Khayyat

1. Saied  
2. Cantrell and Linderman  
3. Noctor and Foyer  
4. Tuteja  
5. Jiang and Zhang  
6. Cramer  
7. Keutgen and Pawelzic  
8. Kaya

غلظت‌های صفر، ۶۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) به این نتیجه رسیدند که بیشترین میزان پروتئین محلول کل و فعالیت‌های آنزیمی مربوط به تیمارهای ۶۰ میلی‌مولار کلرید سدیم و تیمار هفت کیلوگرم در هکتار اسیدهیومیک و کمترین میزان این شاخص‌ها در تیمارهای ۱۸۰ میلی‌مولار کلرید سدیم و تیمار صفر میلی‌گرم در لیتر اسیدهیومیک به دست آمد. همچنین در پژوهش دیگری نشان داده شد که اسیدهیومیک باعث افزایش انتقال گلوکز از بین غشاهای یاخته‌ای در پیاز و نیز موجب افزایش میزان کربوهیدرات در گیاهانی مانند سیب زمینی، هویج و گوجه فرنگی می‌شود (تان<sup>۵</sup>، ۲۰۰۳).

از آنجایی که امروزه تولید توت‌فرنگی در دنیا اهمیت زیادی پیدا نموده و در کشور ما نیز گام‌های به نسبت خوبی در جهت گسترش کشت این محصول به‌ویژه در شرایط کشت هیدروپونیک در گلخانه برداشته شده است، از این رو پژوهش‌های کاربردی در این زمینه می‌تواند راهگشای برخی از مشکلات موجود به‌ویژه در خاک‌هایی با درجات مختلف شوری باشد. بنابراین پژوهش حاضر با هدف مطالعه تاثیر سطوح مختلف شوری و همچنین، سطوح مختلف اسیدهیومیک به دو صورت محلول‌پاشی برگ و کاربرد در محیط کشت بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی توت فرنگی رقم سابرینا در شرایط کاشت هیدروپونیک انجام گردید.

### مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در گلخانه‌ای تجاری واقع در شهر ارومیه و آزمایشگاه‌های گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه طی سال‌های ۱۳۹۴ و ۱۳۹۵ به اجرا درآمد. پژوهش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه فاکتور که فاکتور اول شامل نوع کاربرد اسیدهیومیک (محلول‌پاشی برگ و کاربرد در محیط کشت)، فاکتور دوم غلظت اسیدهیومیک در سه سطح (۰، ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و فاکتور سوم شامل شوری (کلرید سدیم) در سه سطح (۰، ۲۰ و ۴۰ میلی‌مولار) با چهار تکرار اجرا شد. هر واحد آزمایشی شامل یک گلدان بود و در مجموع ۷۲ گلدان مورد

شوری در منابع آب مورد استفاده در تولید محصولات گلخانه‌ای، کاهش اثرات تنش شوری حائز اهمیت می‌باشد. بنابراین، هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی تاثیر سطوح مختلف شوری و همچنین سطوح مختلف اسیدهیومیک به دو صورت محلول‌پاشی برگ و کاربرد در محیط کشت بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در توت فرنگی رقم سابرینا در شرایط کاشت هیدروپونیک بود.

اسید هیومیک، یک ترکیب پلیمر طبیعی است، ساختمان مولکول‌های اسیدهیومیک از زنجیرهای کربن تشکیل یافته که دارای مقادیر زیادی حلقه‌های آروماتیک است که مستقیماً یا از طریق پل‌های اکسیژن و نیتروژن به یکدیگر متصل شده‌اند. همچنین مواد معدنی می‌توانند به سطح نقاط تبادل ترکیبات هیومیکی بچسبند و قابل استفاده گیاهان شوند (میکلسن<sup>۱</sup>، ۲۰۰۵). تورهان<sup>۲</sup> و همکاران (۲۰۰۸) در بررسی روی سه رقم توت‌فرنگی کاماروزا، چاندلر و تیوگا که در معرض سطوح مختلف شوری (صفر، ۸/۵، ۱۷ و ۳۴ میلی‌مولار کلرید سدیم) به مدت یک ماه قرار داده شدند، به این نتیجه رسیدند که شوری فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و گلوکاتایون ردوکتاز را به میزان زیادی افزایش داد ولی فعالیت آنزیم کاتالاز فقط اندکی تغییر یافت. همچنین در پژوهش دیگری پیرلاک و اشیتکن<sup>۳</sup> (۲۰۰۴) در دو رقم توت‌فرنگی فرن (روز خنثی) و کاماروزا (روز کوتاه) که در معرض محلول‌های غذایی با ECهای ۲، ۵ و ۷/۵ میلی‌موس بر سانتی‌متر قرار داشتند، مشاهده نمودند که رشد گیاهان با افزایش شوری کاهش یافته و در ECهای ۷/۵ میلی‌موس بر سانتی‌متر گیاهان به‌طور کامل از بین رفتند. همچنین در این پژوهش، میزان پرولین در برگ‌های هر دو رقم افزایش یافت به طوری که در رقم فرن از ۱۶/۵۷ به ۳۳ و در رقم کاماروزا از ۴۵ به ۹۵/۵ میکرومول برگرم وزن تر رسید. حاتمی<sup>۴</sup> و همکاران (۲۰۱۸) در پژوهشی در سه پایه بادام (*Prunus dulcis* L.)، GF677، CN15 و Sangi Seedling با کاربرد اسیدهیومیک (در غلظت‌های صفر، ۲/۵، ۵ و ۷ کیلوگرم در هکتار) در شرایط تنش شوری (در

1. Mikkelsen
2. Turhan
3. Pirlak and Esitken
4. Hatami

(۱۹۹۲) استفاده شد و میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۶۲۵ نانومتر قرائت گردید. برای تعیین میزان پروتئین محلول کل از روش برادفورد<sup>۳</sup> (۱۹۷۶) استفاده شد و میزان جذب نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر قرائت شد. برای تهیه عصاره گیاهی جهت تعیین میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز از روش کانگ و سالتیویت<sup>۴</sup> (۲۰۰۱) استفاده شده سپس فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از روش ابی<sup>۵</sup> (۱۹۸۴)، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز با استفاده از روش ناکانو و آسادا<sup>۶</sup> (۱۹۸۱) و فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز با استفاده از روش آپدیاپا<sup>۷</sup> و همکاران (۱۹۸۵) انجام گرفت.

### تجزیه آماری داده‌ها

برای انجام تجزیه واریانس و مقایسه میانگین صفات مورد بررسی، از نرم‌افزار SAS سری 9.1 استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام گرفت. همچنین برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel سری ۲۰۱۰ استفاده گردید.

### نتایج و بحث

#### تأثیر سطوح مختلف شوری و اسیدهیومیک و برهمکنش آن‌ها بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک

نتایج به دست آمده از جدول تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که برخی از شاخص‌های فیزیولوژیک اندازه‌گیری شده تحت تأثیر تیمارهای مختلف اسیدهیومیک، نوع کاربرد آن و سطوح مختلف شوری قرار گرفتند (جدول ۱).

#### پرولین

با توجه به جدول تجزیه واریانس داده‌ها مشخص شد که اثر اصلی شوری و اسیدهیومیک بر مقدار پرولین در سطح احتمال یک درصد و اثر متقابل اسیدهیومیک و نوع کاربرد آن در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). با

استفاده قرار گرفت. در این پژوهش، بوته‌های یک‌دست و هم اندازه توت‌فرنگی رقم ساپرینا تهیه و به گلدان‌هایی به ابعاد ۱۷×۱۵ سانتی‌متر منتقل شدند به نحوی که هرگلدان محتوی دو بوته بود. مخلوط محیط کشت در این گلدان‌ها شامل پرلیت و کوکوپیت به نسبت حجمی ۱:۱ بود. گیاهان در گلخانه‌ای با شرایط نور طبیعی و دمای  $27/19 \pm 3$  (شب/روز) درجه سلسیوس و رطوبت نسبی  $50 \pm 10$  درصد قرار گرفتند. از شروع کاشت بوته‌های توت‌فرنگی در گلدان‌ها، گیاهان هفته‌ای سه بار، ابتدا با ۱۰۰ میلی‌لیتر و در ادامه همزمان با افزایش رشد گیاهان با ۱۵۰ میلی‌لیتر محلول غذایی هوگلند (نیم غلظت) آبیاری شدند. بوته‌های توت‌فرنگی بعد از استقرار در گلدان با محلول غذایی نیم غلظت هوگلند آبیاری شده و پس از گذشت ۵۰ روز از کاشت بوته‌ها در گلدان‌ها، تیمارهای شوری، اعمال شد. نمک مورد استفاده برای تنش شوری، کلرید سدیم آزمایشگاهی بود. این نمک همراه با محلول غذایی هوگلند، مورد استفاده قرار گرفت. غلظت‌های کلرید سدیم مورد استفاده شامل صفر (شاهد)، ۲۰ و ۴۰ میلی‌مولار بودند. مدت زمان اعمال تنش شوری، یک ماه بود. گیاهان شاهد، فقط محلول غذایی نیم غلظت هوگلند (بدون نمک) دریافت نمودند. برای جلوگیری از ایجاد شوک ناشی از تنش شوری به گیاهان، در اولین آبیاری بعد از شروع تنش شوری، از نمک ۲۰ میلی‌مولار همراه با محلول غذایی هوگلند استفاده شد. در آبیاری دوم از نمک‌های ۲۰ و ۴۰ میلی‌مولار، در محلول غذایی استفاده شد. هدایت الکتریکی نمک‌های مورد استفاده به ترتیب ۱/۶ و ۳/۷ میلی‌موس بر سانتی‌متر بود. هفته‌ای یک بار، شستشوی کامل محیط ریشه گیاهان با آب مقطر انجام گرفت تا تغییرات EC و pH ناشی از تجمع نمک‌ها در بستر کاشت در اثر انجام عمل آبیاری به کم‌ترین حد ممکن برسد.

برای اندازه‌گیری پرولین از روش پاکوین و لیچاشر<sup>۱</sup> (۱۹۷۹) استفاده شد و میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. برای اندازه‌گیری قندهای محلول، از روش ایریگوین<sup>۲</sup> و همکاران

3. Bradford

4. Kang and Saltveit

5. Aebi

6. Nakano and Asada

7. Updhyaya

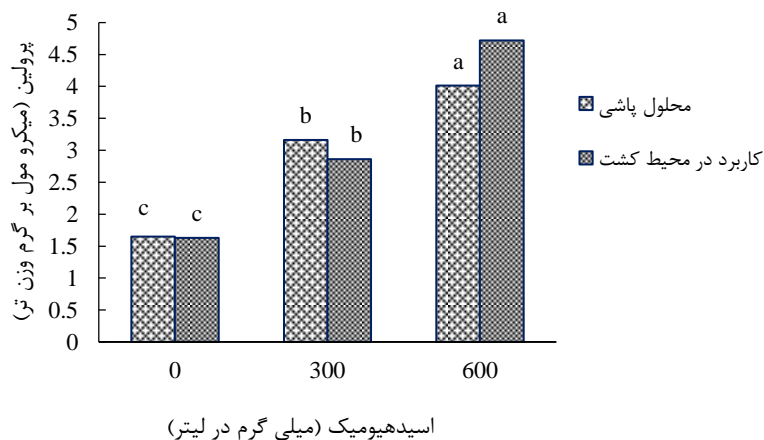
1. Paquin and Lechasseur

2. Irigoyen

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس تأثیر سطوح مختلف شوری و اسیدهیومیک و برهمکنش آن‌ها بر برخی صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در توت فرنگی رقم سابرینا

میانگین مربعات							منابع تغییرات
گایاکول پراکسیداز	آسکوربات پراکسیداز	کاتالاز	قند محلول	پروتئین کل	پرولین	درجه آزادی	
۳۳/۵۶۵۳**	۰/۰۵۰۱۳ <sup>ns</sup>	۰/۸۸۰۰۲ <sup>ns</sup>	۰/۲۳۳۱۳**	۰/۱۶۹۷۴**	۰/۲۹۱۳۳ <sup>ns</sup>	۱	نوع کاربرد اسید هیومیک
۷۱۴/۷۲۲۷**	۱۶۰/۱۸۸**	۷۹/۰۷۳۶**	۸/۹۰۲۳۴**	۴/۷۱۲۹۳**	۲/۷۹۴۸**	۲	شوری
۱۴۱/۰۵۳۰۷**	۴/۸۳۶۷**	۱۰/۲۳۹۰۸**	۰/۶۹۶۲**	۰/۵۷۹۹**	۴۴/۴۱۷۹**	۲	اسیدهیومیک
۴/۱۲۵۸ <sup>ns</sup>	۰/۰۸۴۶۲ <sup>ns</sup>	۰/۱۱۳۹۰۱۴ <sup>ns</sup>	۰/۰۲۲۹۵ <sup>ns</sup>	۰/۱۳۰۹۸**	۰/۳۸۲۹ <sup>ns</sup>	۲	شوری × نوع کاربرد
۵/۶۱۱۹ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۹۰۶ <sup>ns</sup>	۰/۴۵۰۹۵۵ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰۹۱ <sup>ns</sup>	۰/۰۱۰۴۳ <sup>ns</sup>	۱/۶۰۸۹*	۲	اسیدهیومیک × نوع کاربرد
۲۷/۲۹۲۳**	۰/۸۱۴۴۳ <sup>ns</sup>	۱/۸۹۶۲۱**	۰/۲۹۶۶**	۰/۱۷۰۹**	۰/۵۹۹۱ <sup>ns</sup>	۴	شوری × اسیدهیومیک
۵/۸۰۴۳ <sup>ns</sup>	۰/۳۶۰۷۶ <sup>ns</sup>	۰/۱۸۱۹۷۲ <sup>ns</sup>	۰/۰۱۰۹۰۸ <sup>ns</sup>	۰/۰۲۱۶۹ <sup>ns</sup>	۰/۰۲۸۸۷ <sup>ns</sup>	۴	شوری × اسیدهیومیک × نوع کاربرد
۲/۷۳۳۶	۰/۷۸۵۴	۰/۳۸۸۱	۰/۰۲۶۳	۰/۰۲۶۷	۰/۳۸۶۴۶۵۷	۵۴	خطای آزمایش
۱۵/۹۳	۱۷/۴۴۰۷	۱۷/۱۵	۱۵/۳۳۹	۱۴/۴۲۴	۲۰/۶۷۲۳		ضریب تغییرات (%)

ns، \*\* و \* : به ترتیب نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ و معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪



شکل ۱- مقایسه میانگین اثرات متقابل اسیدهیومیک و نوع کاربرد آن بر میزان پرولین در توت فرنگی رقم سابرینا. حروف غیر مشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد در بین میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن می‌باشد.

۲۰۰۷). در پژوهشی میسرا و ساکسینا<sup>۲</sup> (۲۰۰۹) بیان نمودند که در شرایط تنش شوری، فعالیت آنزیم پرولین‌اکسیداز کاهش یافته در نتیجه تجزیه پرولین کم شده، از طرفی فعالیت آنزیم پیرولین-۵- کربوکسیلات سینتاز بالا رفته، در نهایت میزان پرولین افزایش می‌یابد که می‌تواند از دلایل افزایش پرولین در شرایط شوری در پژوهش حاضر دانست.

افزایش غلظت اسیدهیومیک (در هردو نوع کاربرد)، میزان پرولین افزایش یافت و غلظت ۶۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدهیومیک بیشترین تأثیر را در افزایش پرولین داشت (شکل ۱).

یک ارتباط قوی و مثبتی بین مقاومت به تنش‌ها و تجمع پرولین در گیاهان مشاهده گردیده است (اشرف و فولند<sup>۱</sup>،

### پروتئین کل

اثرات اصلی سطوح مختلف اسیدهیومیک، نوع کاربرد آن، سطوح مختلف شوری، اثرات متقابل نوع کاربرد اسید هیومیک و شوری، همچنین سطوح مختلف شوری و اسید هیومیک بر میزان پروتئین کل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). بیشترین و کمترین مقدار پروتئین کل (به ترتیب ۱/۸۲۵ و ۰/۷۲۸ میلی‌گرم در گرم وزن تر) به ترتیب مربوط به تیمار ۴۰ میلی‌مولار شوری و شاهد بود. با افزایش شوری و اسید هیومیک (شوری ۴۰ میلی‌مولار و اسید هیومیک ۶۰۰ میلی‌گرم در لیتر) ۷۴/۵۹ درصد افزایش در مقدار پروتئین کل نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد. همچنین کاربرد در محیط کشت اسید هیومیک در افزایش میزان پروتئین کل در مقایسه با کاربرد محلول‌پاشی بهتر بود هر چند که این تأثیر معنی‌دار نبود (شکل ۲).

اثر مثبت اسید هیومیک بر افزایش پروتئین کل می‌تواند به دلیل ویژگی‌های شبه‌هورمونی سایتوکینین مانند آن و جلوگیری از ایجاد وقفه در فعالیت آنزیم‌ها باشد (نیکبخت<sup>۸</sup> و همکاران، ۲۰۰۸). همچنین در رابطه با اسید هیومیک می‌توان بیان نمود که چون عملکرد پروتئین تابعی از نیتروژن گیاه است، اسید هیومیک نیز با افزایش نفوذپذیری غشای سلول‌های ریشه، جذب و انتقال نیتروژن را بهبود بخشیده و باعث افزایش میزان پروتئین موجود در گیاه می‌شود (آیمان<sup>۹</sup> و همکاران، ۲۰۰۹). همچنین در تأیید نتایج پژوهش حاضر، کایا<sup>۱۰</sup> و همکاران (۲۰۰۵) در لوبیا و نیز پی‌زیجلو<sup>۱۱</sup> (۲۰۱۳) در ذرت گزارش کردند که اسید هیومیک، مقدار پروتئین برگ را افزایش می‌دهد.

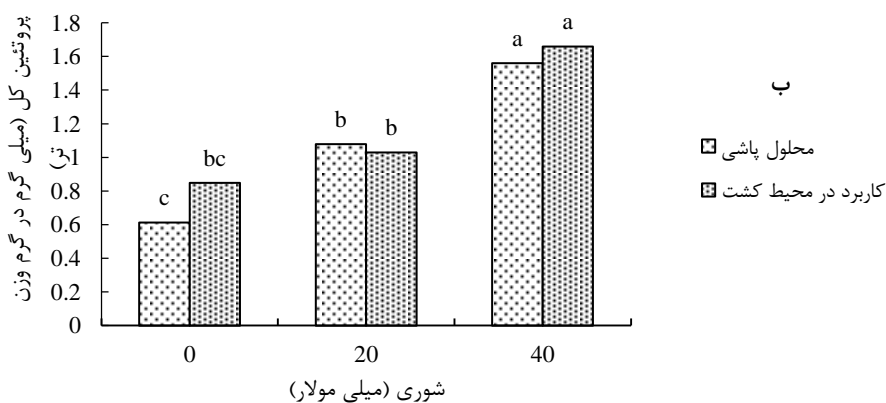
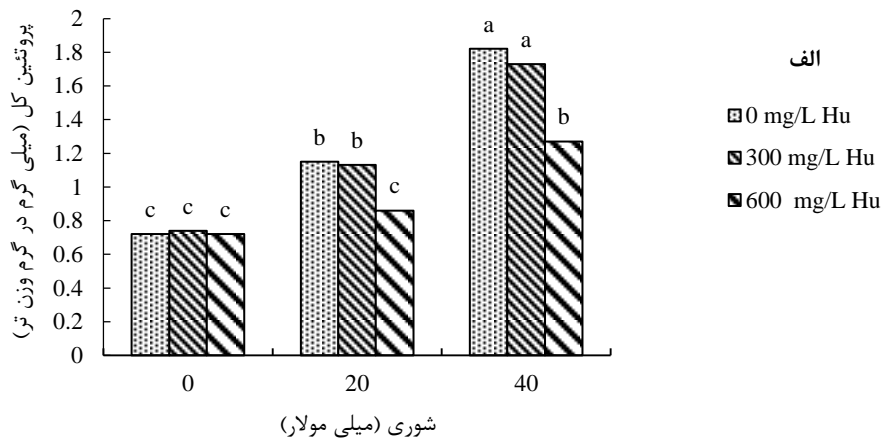
### قند محلول

اثرات اصلی سطوح مختلف اسید هیومیک، نوع کاربرد آن، شوری و همچنین اثرات متقابل شوری و اسید هیومیک بر میزان قند محلول در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). با افزایش سطوح شوری، میزان قند محلول افزایش یافت و اختلاف بین تیمارها از این نظر معنی‌دار بود. با افزایش شوری و غلظت اسید هیومیک (شوری ۴۰

تجمع پرولین به طور عمده به دلیل افزایش ساخت و کاهش تجزیه آن است و همچنین به عنوان منبع ذخیره کربن و نیتروژن، جمع‌کننده گونه‌های فعال اکسیژن، چارپون مولکولی در به ثبات بخشیدن به ساختار پروتئین‌ها و نیز خنثی نمودن اسیدیته یاخته عمل می‌نماید (وربروگن و هرمانس<sup>۱</sup>، ۲۰۰۸). در بررسی‌های انجام گرفته در برخی گونه‌های گیاهی مانند توت‌فرنگی (گاریگا<sup>۲</sup> و همکاران، ۲۰۱۵)، انار (خیاط<sup>۳</sup> و همکاران، ۲۰۱۴)، انجیر (عبدلی‌نژاد و شکافنده<sup>۴</sup>، ۲۰۱۴) و بادام (زریک و همکاران<sup>۵</sup>، ۲۰۱۶) در شرایط تنش شوری، پرولین افزایش یافت که مطابق پژوهش حاضر بود. لذا به نظر می‌رسد که تجمع اسید آمینه پرولین، در شرایط تنش شوری، می‌تواند به‌عنوان مکانیسم موثر، در جهت کاهش فعالیت رادیکال‌های آزاد اکسیژن، افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه، حفظ ثبات و سلامتی غشاء، حفظ ساختار درشت مولکول‌هایی مانند پروتئین‌ها، DNA، RNA، لیپیدها و در نهایت تنظیم ری‌داکس (Redox) یاخته‌ای دانست. افزایش توان آنتی‌اکسیدانی در گیاهان و نیز حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن با کمک پرولین، توسط پژوهش‌گران دیگری مانند ریدی<sup>۶</sup> و همکاران (۲۰۰۴)، همچنین وربروگن و هرمانس (۲۰۰۸) گزارش گردیده است. اسیدهیومیک از طریق ایجاد شرایط مناسب برای افزایش در محتوای نیتروژن گیاهان سبب افزایش رشد و عملکرد می‌شود. همچنین اسیدهیومیک با بالا بردن میزان سنتز ترکیبات آلی نیتروژن‌دار همانند پروتئین و اسیدهای آمینه، سرعت رشد و تولید زیست توده در گیاه را افزایش داد (شریفی<sup>۷</sup> و همکاران، ۲۰۰۲). احتمال می‌رود در پژوهش حاضر، اسید هیومیک (در هر دو روش کاربرد) از طریق سنتز ترکیبات آلی نیتروژن‌دار، میزان پرولین را در شرایط تنش شوری افزایش داده باشد.

1. Verbruggen and Hermans
2. Garriga
3. Khayyat
4. Abdoli Nejad and Shekafandeh
5. Zrig
6. Reddy
7. Sharifa

8. Nikbakht  
9. Ayman  
10. Kaya  
11. Pizzeghello



شکل ۲- مقایسه میانگین اثرات متقابل اسیدهیومیک و شوری (الف)، شوری و نوع کاربرد اسیدهیومیک (ب) بر پروتئین کل در توت فرنگی رقم سابرینا.

حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد در بین میانگین‌ها در آزمون دانکن می‌باشد.

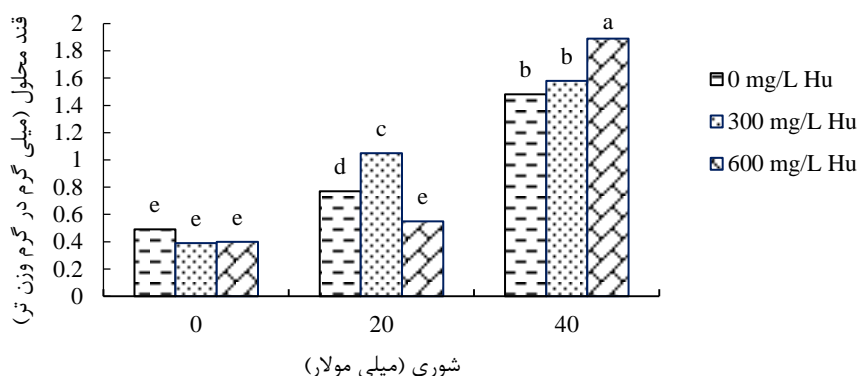
بیشتر قندهای محلول، می‌تواند به‌عنوان مکانیسمی در جهت کاهش پتانسیل آب یاخته‌ای و در نتیجه حفظ محتوای آب گیاه باشد. مانس<sup>۲</sup> و همکاران (۲۰۰۳) معتقدند که غلظت بیشتر کربوهیدرات‌ها در پاسخ به تنش شوری به احتمال زیاد، ناشی از کاهش رشد است. در پژوهش حاضر نیز مشاهده شد که با افزایش شدت تنش شوری، شاخص‌های رویشی در اثر عوامل مختلفی مانند کاهش جذب مواد غذایی و افزایش جذب یون‌های Na<sup>+</sup> کاهش یافتند. در شرایط کمبود آب (ناشی از تنش شوری یا خشکی)، تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، در گیاهان، افزایش می‌یابد. بنابراین در این گیاهان، تجمع قندهای محلول، افزایش یافته تا پروتئین‌ها را در مقابل آسیب‌های اکسیدی ناشی از

میلی‌مولار و اسیدهیومیک ۶۰۰ میلی‌گرم در لیتر) میزان قند محلول نسبت به تیمار شاهد ۳/۸ برابر افزایش داشت (شکل ۳).

نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر نشان داد که تنش شوری، باعث افزایش میزان قندهای محلول شده، که این افزایش با شدت تنش شوری، بیشتر بود. در شرایط تنش شوری، مهمترین نقش کربوهیدرات‌ها، شامل تنظیم و حفظ تعادل اسمزی، ذخیره کربن و خنثی نمودن رادیکال‌های آزاد می‌باشد (پریدا و داس<sup>۱</sup>، ۲۰۰۵). قندهای محلول به عنوان محافظت‌کننده‌های اسمزی در تنظیم اسمزی سلول نقش دارند و در پاسخ به تنش‌های محیطی تجمع می‌یابند. بنابراین احتمال می‌دهیم که در شرایط تنش شوری، سنتز

2. Munns

1. Parida and Das



شکل ۳- مقایسه میانگین اثرات متقابل اسیدهیومیک و شوری بر قند محلول در توت فرنگی رقم سابرینا. حروف غیر مشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد در بین میانگین‌ها در آزمون دانکن می‌باشد.

۴/۱ برابر نسبت به تیمار شاهد افزایش نشان داد (شکل ۴- الف). اثرات اصلی سطوح مختلف اسید هیومیک، نوع کاربرد آن، شوری و اثر متقابل اسید هیومیک و شوری بر فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). بیشترین میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (۱۰/۵۸ میکرومول در دقیقه در گرم وزن تر) در تیمار ۴۰ میلی‌مولار شوری بود. با افزایش شوری و اسید هیومیک (شوری ۴۰ میلی‌مولار و اسیدهیومیک ۶۰۰ میلی‌گرم در لیتر) در فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز نسبت به تیمار شاهد، ۴/۵ برابر افزایش مشاهده شد (شکل ۴- ب). اثرات اصلی سطوح مختلف اسید هیومیک و شوری بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). با افزایش شوری، میزان آنزیم، افزایش یافت. بیشترین و کمترین مقدار فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (به ترتیب ۷/۳۱ و ۲/۲۵ میکرومول در دقیقه در گرم وزن تر) به ترتیب در تیمار ۶۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدهیومیک و شاهد به دست آمد (شکل ۵- الف و ب).

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که با افزایش شوری، میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی اندازه‌گیری شده، افزایش یافتند. میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، تحت تأثیر تنش شوری افزایش می‌یابد اما میزان افزایش آن‌ها، بین گونه‌های گیاهی و حتی درون گونه‌های مشابه به مقدار زیادی متفاوت

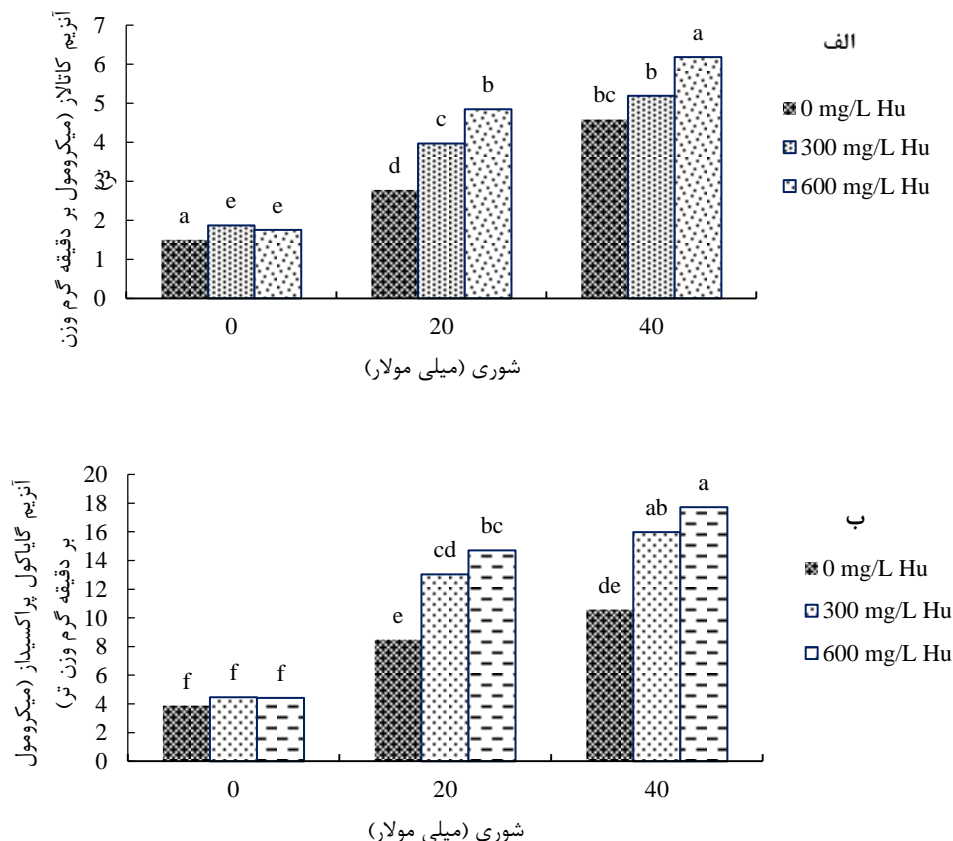
رادیکال‌های آزاد محافظت نماید (بوهنرت<sup>۱</sup> و همکاران، ۱۹۹۵). قندها با ممانعت از اتصال بین غشاهای مجاور هم در طول دوره تنش منجر به نگهداری لیپیدها و پایداری پروتئین‌ها از طریق ایجاد پیوند هیدروژنی با دنباله‌های خطی پروتئینی، تنظیم ژن و تنظیم اسمزی عمل می‌کنند (هو<sup>۲</sup> و همکاران، ۲۰۰۱). بنابراین، انتظار می‌رود که در برگ‌ها، افزایش بیشتر قندهای محلول، باعث افزایش مقاومت بیشتر آن‌ها به شوری گردد. در پژوهش حاضر، بیشترین قند محلول مربوط به غلظت ۶۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید هیومیک (در شوری ۴۰ میلی‌مولار) بود. بر اساس نظر تای لوا و بوم<sup>۳</sup> (۲۰۰۱) اسید هیومیک دارای فعالیت شبه هورمونی است و جذب عناصر معدنی همانند فسفر و پتاسیم را در گیاهان افزایش می‌دهد، این امر می‌تواند باعث بهبود قندهای محلول در یاخته‌های گیاهان گردد.

### فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

اثرات اصلی اسید هیومیک، شوری و همچنین اثر متقابل اسید هیومیک و شوری بر فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). با افزایش سطوح شوری و اسید هیومیک فعالیت آنزیم کاتالاز افزایش یافت. با افزایش شوری و اسید هیومیک (شوری ۴۰ میلی‌مولار و اسید هیومیک ۶۰۰ میلی‌گرم در لیتر) فعالیت آنزیم کاتالاز

1. Bohnert  
2. Ho  
3. Thi Lua and Bome





شکل ۴- مقایسه میانگین اثرات متقابل اسیدهیومیک و شوری بر فعالیت آنزیم کاتالاز (الف) و آنزیم گایاکول پراکسیداز (ب) در توت فرنگی رقم ساپرینا.

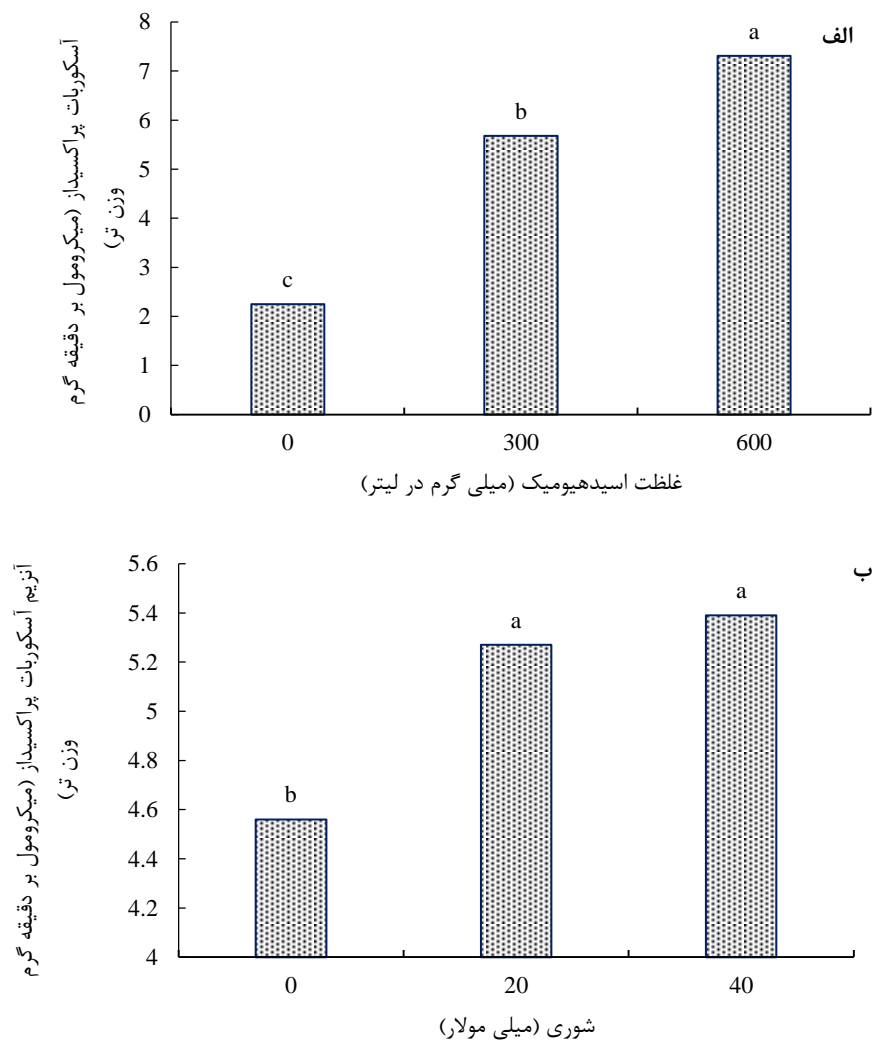
حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد در بین میانگین‌ها در آزمون دانکن می‌باشد.

(سیمرین<sup>۳</sup> و همکاران، ۲۰۱۰). در پژوهشی ایلمانجی<sup>۴</sup> و همکاران (۲۰۱۸) در آزاله همیشه سبز نشان دادند که کاربرد اسیدهیومیک در غلظت‌های یک و دو میلی‌گرم در لیتر (در محیط کشت بافت) باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددسموتاز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز می‌گردد. در پژوهش دیگری گارسیا<sup>۵</sup> و همکاران (۲۰۱۴) در برنج نشان دادند که کاربرد اسید هیومیک باعث افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز به میزان ۲۷۰ درصد در مقایسه با گیاهان شاهد شد. احتمال می‌رود این افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، به دلیل نقش کاربردی اسید هیومیک به عنوان یک آنتی‌اکسیدانت و فعال کننده

است (مولاسیوتیس<sup>۱</sup> و همکاران، ۲۰۰۶). گیاهان از طریق دو سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی (پراکسیدازها و کاتالازها) و غیر آنزیمی (کارتنوئیدها و ترکیبات فنلی) یاخته‌ها و سیستم‌های زیریاخته‌ای را در برابر اثرات سمی رادیکال‌های فعال اکسیژن محافظت می‌کنند (ال-تیب<sup>۲</sup>، ۲۰۰۵). در پژوهش حاضر، کاربرد اسید هیومیک و شوری تأثیر معنی‌داری بر افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی داشت که این افزایش به نوعی بیانگر فعال شدن سیستم آنتی‌اکسیدانی برای از بین بردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن در مقابله گیاه با تنش شوری می‌باشد. از اثرات بیوشیمیایی اسید هیومیک، می‌توان به نقش مهم آن در افزایش سنتز پروتئین‌هایی مانند آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی اشاره نمود

3. Cimrin  
4. Elmongy  
5. Garcia

1. Molassiotis  
2. El-Tayeb



شکل ۵ - مقایسه میانگین اثرات ساده اسید هیومیک (الف) و شوری (ب) بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در توت فرنگی رقم سابرینا. حروف غیر مشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد در بین میانگین‌ها در آزمون دانکن می‌باشد.

گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز افزایش یافتند و همچنین مقدار متابولیت‌های سازگار پرولین، قندهای محلول و پروتئین کل نیز افزایش یافت تا گیاه بتواند خود را با شرایط شوری سازگار نماید. همچنین کاربرد اسید هیومیک به دو شکل محلول‌پاشی و کاربرد در محیط گلدان توانست نقش مهمی در تعدیل شوری در این رقم توت فرنگی ایفاء نماید.

اکسین (کوردیرو<sup>۱</sup> و همکاران، ۲۰۱۱) و یا توانایی آن به عنوان جرابرگر گونه‌های اکسیژن فعال (بیلی<sup>۲</sup>، ۲۰۰۴) باشد.

### نتیجه‌گیری کلی

بر اساس نتایج پژوهش حاضر، شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی اندازه‌گیری شده در توت فرنگی سابرینا، تحت تاثیر تیمارهای مختلف اسید هیومیک، نوع کاربرد آن و سطوح مختلف شوری قرار گرفتند. با افزایش سطوح شوری در محلول غذایی، مقدار آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز،

1. Cordeiro  
2. Bailly

## منابع

- اکبری، ع.، خادمی، ا.، شرفی، ی. و طباطبایی، س. ج. ۱۳۹۶. اثر تیمار پوتریسین بر میوه توت فرنگی رقم 'کاماروسا' تحت شرایط تنش شوری ناشی از کلرید سدیم. مجله به زراعی کشاورزی، ۱۹ (۱): ۱۴۷-۱۶۱.
- جلیلی‌مردی، ر. ۱۳۸۴. میوه‌های ریز. انتشارات جهاد دانشگاهی ارومیه، ۲۹۷ ص.
- سعادتی، ص. و معلمی، ن. ۱۳۹۰. بررسی تأثیر محلول‌پاشی روی بر رشد و عملکرد گیاه توت فرنگی در شرایط تنش شوری. مجله علوم باغبانی ایران، ۴۲: ۲۶۷-۲۷۵.
- سیدلر فاطمی، ل.، طباطبایی، س. ج. و فلاحی، ا. ۱۳۸۸. اثر سیلیسیوم بر رشد و عملکرد توت فرنگی در شرایط شوری. مجله علوم باغبانی. ۲۳: ۸۸-۸۹.
- مظلومی، م.، رونقی، ع. و کریمیان، ن. ۱۳۹۰. اثر شوری و کلسیم تکمیلی بر رشد رویشی، عملکرد میوه و غلظت برخی عناصر در توت فرنگی در کشت بدون خاک. علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای، ۲ (۶): ۵۱-۶۲.
- نقی‌زاده، م.، غلامی‌شبستری، م. و شمس‌الدین سعید، م. ۱۳۹۳. بررسی برخی پاسخ‌های فیزیولوژیک سه توده بومی زعفران ایران به تنش شوری. نشریه زراعت و فناوری زعفران، ۲: ۱۲۷-۱۳۶.
- Abdoli Nejad, R. and Shekafandeh, A. 2014. Salt stress-induced changes in leaf antioxidant activity, proline and protein content in 'Shah Anjir' and 'Anjir Sabz' fig seedlings. *International Journal of Horticultural Science and Technology*, 1:121-129.
- Aebi, H. 1984. Catalase *in vitro*. *Methods in Enzymology*, 105: 121-126.
- Ashraf, M. and Fooland, M.R. 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany*, 59: 206-216.
- Ayman, M., Kamar, M. and Khalid, M. 2009. Amino and humic acids promote growth, yield and disease resistance of faba bean cultivated in clay soil. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 3(2): 731-739.
- Azzedine, F., Gherroucha, H. and Baka, M. 2011. Improvement of salt tolerance in durum wheat by ascorbic acid application. *Journal of Stress Physiology and Biochemistry*, 7: 27-37.
- Bailly, C. 2004. Active oxygen species and antioxidants in seed biology. *Seed Science Research*, 14: 93-107.
- Bohnert, H.J., Nelson, D.E. and Jensen, R.G. 1995. Adaptions to environmental stresses. *Plant Cell*, 7: 1099-1111.
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation and microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Annual Review of Biochemistry*, 72: 248-254.
- Cantrell, I.C. and Linderman, R.G. 2001. Preinoculation of lettuce and onion with VA mycorrhizal fungi reduces deleterious effects of soil salinity. *Plant and Soil*, 233: 269-281.
- Cimrin, K.M., Turkmen, O., Turan, M. and Tuncer, B. 2010. Phosphorus and humic acid application alleviate salinity stress of pepper seedling. *African Journal of Biotechnology*, 9(36): 5845-5851.
- Cordeiro, F.C., Santa-Catarina, C., Silveira, V. and de Souza, S.R. 2011. Humic acid effect on catalase activity and the generation of reactive oxygen species in corn (*Zea mays*). *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 75: 70-74.
- Cramer, G.R., Lauchli, A. and Polito, V.S. 1985. Displacement of  $Ca^{2+}$  by  $Na^{+}$  from the plasmalemma of root cells. *Plant Physiology*, 79: 207-211.
- Elmongy, M.S., Zhou, H., Cao, Y., Liu, B. and Xia, Y. 2018. The effect of humic acid on endogenous hormone levels and antioxidant enzyme activity during *in vitro* rooting of evergreen azalea. *Scientia Horticulturae*, 227: 234-243.
- El-Tayeb, M.A. 2005. Responses of barely grains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. *Plant Growth Regulation*, 45: 215-224.
- García, A.C., Santos, L.A., Izquierdo, F.G., Rumjanek, V.M., Castro, R.N., dos Santos, F.S., de Souza, L.G.A., Berbara, R.L.L., 2014. Potentialities of vermicompost humic acids to alleviate water stress in rice plants (*Oryza sativa* L.). *Journal of Geochemical Exploration*, 136:48-54.

- Garriga, M., Muñoz, C.A., Caligarib, P.D.S. and Retamalesa, J.B. 2015. Effect of salt stress on genotypes of commercial (*Fragaria x ananassa*) and Chilean strawberry (*F.chiloensis*). *Scientia Horticulturae*, 195:37-47.
- Hatami, E., Shokouhian, A.A., Ghanbari, A.R. and Naseri, L.A. 2018. Alleviating salt stress in almond rootstocks using of humic acid. *Scientia Horticulturae*, 237: 296- 302.
- Iqbal, N., Masood, A. and Khan, N.A. 2012. Phytohormones in salinity tolerance: ethylene and gibberellins cross talk. In: Khan, N.A., Nazar, R., Iqbal, N. and Anjum, N.A. (Eds.) *Phytohormones and abiotic stress tolerance in plants*. Springer, Berlin, pp: 77-98.
- Irigoyen, J.J., Emerich, D.W. and Sanchez-Diaz, M. 1992. Water stress induced changes in concentrations of prolin and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Plant Physiology*, 84: 55-60.
- Jiang, M. and Zhang, J. 2001. Effect of abscisic acid on active oxygen species, antioxidative defense system and oxidative damage in leaves of maize seedlings. *Plant Cell Physiology*, 42: 1262-73.
- Kang, H. and Saltveit, M. 2001. Activity of enzymatic antioxidant defense systems in chilled and heat shocked cucumber seedling radicals. *Physiologia Plantarum*, 113: 548-556.
- Kaya, C., Kirnak, H., Higgs, D. and Saltati, K. 2002. Supplementary calcium enhances plant growth and fruit yield in strawberry cultivars grown at high (NaCl) salinity. *Scientia Horticulturae*, 26: 807-820.
- Kaya, M., Atak, M., Khawar, K.M., Ciftci, C.Y. and Ozcan, S. 2005. Effect of presowing seed treatment with Zinc and foliar spray of humic acids on yield of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *International Journal of Agriculture and Biology*, 6: 875-878.
- Keutgen, A.J. and Pawelzic, E. 2009. Impacts of NaCl stress on plant growth and mineral nutrient assimilation in two cultivars of strawberry. *Environmental and Experimental Botany*, 65(2): 170-176.
- Khayyat, M., Tehranifar, A., Akbarian, A., Shayestehnia, S. and Khabari, S. 2009. Effects of calcium forms on electrolyte leakage, total nitrogen, yield and biomass production by strawberry plants under NaCl salinity. *Journal of Central European Agriculture*, 10: 297-302.
- Khayyat, M., Tehranifar, A., Davarynejad, G.H. and Sayyari-Zahan, M.H. 2014. Vegetative growth, compatible solute accumulation, ion partitioning and chlorophyll fluorescence of 'Malas-e-Saveh' and 'Shishe-Kab' pomegranates in response to salinity stress. *Photosynthetica*, 5:301-312.
- Mikkelsen, R.L. 2005. *Humic Materials for Agriculture*. *Better Crops*, 89 (3): 6-10.
- Misra, N. and Saxena, P. 2009. Effect of salicylic acid on proline metabolism in lentil grown under salinity stress. *Plant Science*, 177: 181-189.
- Molassiotis, A.N., Sotiropoulos, T., Tanou, G., Kofidis, G., Diamantidis, G. and Therios, I. 2006. Antioxidant and anatomical responses in shoot culture of the apple rootstock MM106 treated with NaCl, KCl, manitol or sorbitol. *Biologia Plantarum*, 50: 61-68.
- Munns, R., Samarakoon, A.S. and Gifford, R.M. 2003. Elevated CO<sub>2</sub> improves the growth of *Zea mays* under salinity. *Australian Journal of Plant Physiology*, 20: 341-360.
- Nakano, Y. and Asada, K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidases in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiology*, 22:867-880.
- Nikbakht, A., Kafi, M., Babalar, M., Xia Y.P., Luo, A. and Etemadi, N. 2008. Effect of humic acid on plant growth, nutrient uptake and postharvest life of Gerbera. *Journal of Plant Nutrition*, 31: 2155-2167.
- Noctor, G. and Foyer, C. 1998. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 49: 249-79.
- Paquin, R. and Lechasseur, P. 1979. Observations sur une methode de dosage de la proline libre les extraits de plantes. *Canadian Journal of Botany*, 57: 1851-1854.
- Parida, A.K. and Das, A.B. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60: 324-349.
- Pirlak, L. and Eşitken, A. 2004. Salinity effects on growth, proline and ion accumulation in strawberry plants. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B — Soil and Plant Science*, 54 (3): 189-192.
- Pizzeghello, D., Francioso, O., Ertani, A., Muscolo, A. and Nardi, S., 2013. Isopentenyladenosine and cytokinin-like activity of different humic substances. *Journal of Geochemical Exploration*, 129:70-75.

- Reddy, A., Chaitanya, K. and Vivekanadan, M. 2004. Drought induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *Plant Physiology*, 161: 1189-1202.
- Saied, A. S., Keutgen, N. and Noga, G. 2003. Effects of NaCl stress on leaf growth, photosynthesis and ionic contents of strawberry cvs. 'Elsanta' and 'Korona'. *Acta Horticulturae*, 609: 67-73.
- Sharifa, M., Khattaka, R.A. and Sarira, M.S. 2002. Effect of different levels of lignitic coal derived humic acid on growth of maize plants. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 33: 3567-3580.
- Stewart, P.J. 2011. *Fragaria* history and breeding. In: Folta, K.M. and Kole, A. [Eds.]. genetics, genomics and breeding of berries. Science Publishers, New Hampshire, USA. pp: 114-137.
- Tahir, M.A., Aziz, T., Farooq, M. and Sarwar, G. 2012. Silicon-induced changes in growth, ionic composition, water relations, chlorophyll contents and membrane permeability in two salt-stressed wheat genotypes. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 58: 247-256.
- Tan, K.H. 2003. Humic matter in soil and environment. Principles and controversies. Marcel Dekker, Inc., Madison, New York, NY. 408 p.
- Thi Lua, H. and Bohme, M. 2001. The influence of humic acid on tomato in hydroponic system. *Agronomy Journal*, 548: 451-458.
- Turhan, E., Gulen, H. and Eris, A. 2008. The activity of antioxidative enzymes in three strawberry cultivars related to salt-stress tolerance. *Acta Physiologiae Plantarum*, 30:201-208.
- Tuteja, N. 2007. Mechanisms of high salinity tolerance in plants. *Methods in Enzymology*, 428: 419-438.
- Updhyaya, A., Sankhla, D., Davis, T.D., Sankhla, N. and Smidh, B.N. 1985. Effect of paclobutrazol on the activities of some enzymes of activated oxygen metabolism and lipid peroxidation in senescing soybean leaves. *Plant Physiology*, 121: 453-461.
- Verbruggen, N. and Hermans, C. 2008. Proline accumulation in plants: a review. *Amino Acids*, 35(4): 753-759.
- Zrig, A., Ben Mohamed, H., Tounekti, T., Khemira, H., Serrano, M., Valero, D. and Vadel, A.M. 2016. Effect of rootstock on salinity tolerance of sweet almond (cv. Mazzetto). *South African Journal of Botany*, 102:50-59.