Journal of Abiotic Stress in Horticultural Crops
https://jabssh.znu.ac.ir

Research Article
Vol. 1, No. 1, Autumn and Winter 2026, p. 95-110

Influence of humic acid application on growth, yield and physiological indices of fennel *(Foeniculum vulgare cv.* Boeili RZ*)* under deficit irrigation conditions

Zohreh Mireisa Khani [1], Jaefar Nikbakht [2], Mohammad Ebrahim Ranjbar [3*]

1 - Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran.

2 - Department of Water Engineering, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran.

3 - Department of Safiabad Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Khuzestan, Iran.

(*- Corresponding author's Email: jahan.r.niaki@gmail.com)

Received: 15 August 2026
Received in revised form: 07 September 2026
Accepted: 07 September 2026

How to cite this article:
Mireisa Khani, Z., Nikbakht, J., and Ranjbar, M. (2026). Influence of humic acid application on growth, yield and physiological indices of fennel (*Foeniculum vulgare* cv. Boeili RZ) under deficit irrigation conditions. *Journal of Abiotic Stress in Horticultural Crops*, 1(1), 95-110. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.30470/ashc.2026.742868

Introduction

Fennel *(Foeniculum vulgare* Mill.*)* is a herbaceous perennial plant belonging to the Apiaceae family and is native to the Mediterranean region and southern Europe. Drought stress induces a wide range of plant responses, ranging from changes in cellular metabolism to reductions in growth rate and crop yield. Humic acid is a natural organic polymeric compound that improves soil physical properties and aggregation, thereby increasing the available space for water infiltration. In addition, humic acid molecules interact with water molecules present in the soil, considerably enhancing the soil's water-holding capacity.

Materials and Methods

The present study was conducted as a split-plot experiment based on a randomized complete blocks design (RCBD) with three replications at the Research Farm of the Faculty of Agriculture, University of Zanjan, in 2018 (1397). The experimental treatments consisted of three irrigation levels as the main factor, including 100% (control), 85%, and 75% of field capacity (FC), and three levels of humic acid as the subplot factor, including 0 (control), 1, and 1.5 kg ha^{-1}. The experiment comprised a total of 27 experimental units, with 16 plants in each experimental unit.

Results and Discussion

The results showed that increasing water-deficit severity reduced fennel yield, whereas increasing the amount of humic acid increased this trait. The reduction in fennel yield under water-deficit conditions was probably associated with reduced stomatal conductance, restricted photosynthesis, decreased nutrient uptake, and consequently reduced production and translocation of photo-assimilates. In contrast, humic acid application enhanced plant yield by promoting root growth, improving water and nutrient uptake, and maintaining photosynthetic activity. Water-use efficiency was significantly affected by the interaction between water stress and humic acid treatments. The highest value of this trait was recorded in plants irrigated at 85% FC and treated with the highest level of humic acid (0.62 g m^{-3}). Humic acid application improved water use efficiency in sweet fennel, which was probably attributable to enhanced root development, improved water and nutrient uptake, and the maintenance of photosynthetic activity under limited water conditions. In contrast, increasing water-deficit severity affected water use efficiency by reducing plant growth and disrupting physiological processes. Bio-stimulants such as humic acid can enhance plants' ability to maintain biomass production under water-deficit conditions by improving water uptake and water use efficiency. Several studies have reported increased water

Authors retain the copyright. This is an open access article distributed under Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0).
https://doi.org/10.30470/ashc.2026.742868

use efficiency in horticultural crops following the application of bio-stimulants. The antioxidant capacity of fennel plants reached 93.12% under 75% FC combined with 1.5 kg ha^{-1} humic acid, whereas control plants showed a significant reduction in this trait. Proline content reached its highest level (2.04 mg g^{-1}) with increasing water-stress severity and humic acid application. Previous studies on basil have shown that the application of humic substances increases proline content and antioxidant capacity and improves plant tolerance to water deficit. In addition, a study on lettuce demonstrated that humic bio-stimulants enhanced antioxidant activity and reduced membrane damage, thereby helping maintain plant growth under drought stress conditions.

Conclusions

The results of the present study demonstrated that humic acid application significantly enhanced the tolerance of fennel plants to water-deficit stress. This treatment reduced the damage caused to the cellular membrane structure and significantly decreased electrolyte leakage in plant cells under water-deficit conditions by enhancing antioxidant capacity, increasing the content of non-enzymatic antioxidants, and preventing the degradation of photosynthetic pigments. Ultimately, humic acid application can contribute to maintaining fennel yield and improving physiological responses under water-deficit conditions. Based on the obtained results, application of humic acid at a rate of 1.5 kg ha^{-1} can be recommended as an effective and promising strategy for fennel cultivation in water-limited areas to maintain the quantity and quality of the harvested crop.

Keywords: Antioxidant capacity, Foeniculum vulgare, Humic substances, Water use efficiency, Yield

نشریه تنش‌های غیر زیستی در محصولات باغبانی
https://jabssh.znu.ac.ir

مقاله پژوهشی

جلد ۱، شماره ۱، پاییز و زمستان ۱۴۰۵، ص. ۹۵ – ۱۱۰

تأثیر کاربرد هیومیک‌اسید بر رشد، عملکرد و شاخص‌های فیزیولوژیکی گیاه رازیانه (*Foeniculum vulgare* cv. Boeili RZ) تحت شرایط تنش کم‌آبیاری

زهره میرعیسی‌خانی، جعفر نیک‌بخت و محمدابراهیم رنجبر*

تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۰۵/۱۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۶/۱۶

چکیده

رازیانه گیاهی علفی از خانواده چتریان است. تنش خشکی طیف گسترده‌ای از پاسخ‌های گیاه، از تغییر در متابولیسم سلولی تا کاهش سرعت رشد را در پی دارد. به‌منظور بررسی واکنش‌های رشدی و فیزیولوژیکی گیاه رازیانه به کاربرد تیمار هیومیک‌اسید تحت شرایط تنش کم‌آبی، آزمایشی به‌صورت کرت‌های خردشده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار طی سال ۱۳۹۷ در دانشگاه زنجان صورت گرفت. تیمارهای آزمایش شامل سه سطح تنش آبی (۱۰۰، ۸۵ و ۷۵ درصد ظرفیت زراعی) و سه سطح هیومیک‌اسید (صفر، ۱ و ۱/۵ کیلوگرم در هکتار) بود. نتایج نشان داد که با افزایش شدت تنش کم‌آبی، عملکرد گیاه کاهش و از سوی دیگر، با افزایش مقدار مصرف هیومیک‌اسید، این صفت افزایش یافت. کارایی مصرف آب تحت تأثیر برهم‌کنش بین تنش کم‌آبی و تیمار هیومیک‌اسید قرار گرفت. بیشترین میزان این صفت در گیاهان آبیاری‌شده در سطح ۸۵ درصد ظرفیت زراعی و تیمارشده با بالاترین سطح هیومیک‌اسید ثبت شد (۰/۶۲ گرم بر مترمکعب). ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان رازیانه تحت آبیاری ۷۵ درصد و سطح ۱/۵ کیلوگرم در هکتار هیومیک‌اسید، ۹۳/۱۲ درصد اندازه‌گیری شد، در حالی که قرار گرفتن گیاهان تحت شرایط عدم تنش آبی و عدم کاربرد هیومیک‌اسید موجب کاهش معنادار این مقدار شد. میزان پرولین با افزایش سطح تنش و مقدار مصرف هیومیک‌اسید به بالاترین سطح رسید (۲/۰۴ میلی‌گرم بر گرم). کاربرد هیومیک‌اسید در فرایند کشت و تولید رازیانه با هدف غلبه بر پیامدهای منفی حاصل از رشد گیاه تحت شرایط کم‌آبی، قابل توصیه و حائز الزام بر بررسی‌های بیشتر است.

کلمات کلیدی: رازیانه، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، عملکرد، کارایی مصرف آب، مواد هیومیکی

مقدمه

رازیانه (*Foeniculum vulgare* Mill) گیاهی علفی و چندساله از خانواده چتریان و بومی نواحی مدیترانه و جنوب اروپا است (Jafarie *et al*., 2023). این محصول دارای ارزش غذایی بالا و حاوی ویتامین‌هایی همچون K، B_6، B_2، B_1، C، بتاکاروتن و مواد معدنی نظیر پتاسیم، کلسیم، منیزیم، سدیم و فسفر است. همچنین از خواص دارویی این گیاه می‌توان به مواردی همچون اثرات ضدالتهاب، ضداسپاسم، مدر، خلط‌آور، ملین و ضددرد اشاره کرد. تمام پیکر گیاه حاوی اسانس است و در این بین، دانه بیشترین میزان اسانس (۲ تا ۶ درصد) را دارا است. در اسانس رازیانه بیش از ۳۰ نوع ترکیب ترپنی وجود دارد که مهم‌ترین آن‌ها آنتول، فنکون، لیمونن و استراگول هستند. رازیانه در دو تیپ تلخ و شیرین شناخته می‌شود. رازیانه شیرین معمولاً اسانس ملایم‌تر و طعم شیرین‌تری دارد و بیشتر در مصارف خوراکی و دارویی استفاده می‌شود، در حالی که رازیانه تلخ، اسانس قوی‌تر، طعم تندتر و ترکیبات فنولی و اسانسی متفاوت‌تری دارد و بیشتر برای مصارف دارویی و استخراج اسانس مورد توجه است (Marković *et al*., 2024).

تنش خشکی طیف گسترده‌ای از پاسخ‌های گیاه، از تغییر در متابولیسم سلولی تا کاهش سرعت رشد و عملکرد محصول را در پی دارد. رشد، عملکرد، پایداری غشای سلولی، محتوای رنگدانه‌ها، روابط آبی گیاه، تنظیم اسمزی و فعالیت‌های فتوسنتزی، به‌طور قابل ملاحظه‌ای تحت تأثیر تنش کم‌آبی قرار می‌گیرند (Seleiman *et al*., 2024). با وجود این، حساسیت گیاهان به تنش، بسته به شدت تنش، گونه‌های گیاهی و مراحل رشد و نمو، متفاوت است (Zandalinas *et al*., 2023). کاهش رشد رویشی، ارتفاع گیاه، انشعابات جانبی، رشد و گسترش ریشه، سطح برگ و همچنین ایجاد محدودیت در برخی از مهم‌ترین فاکتورهای زایشی گیاه همچون کمیت و کیفیت گلدهی، میوه‌دهی و میزان تولید بذر، ازجمله اثرات منفی قرار گرفتن گیاه تحت تنش کم‌آبی است که در بسیاری از محصولات باغی نظیر گوجه (Ghazal *et al*., 2024)، فلفل (Altaf *et al*., 2023)، ریحان (Mahdavi *et al*., 2023)، خربزه (Rady *et al*., 2023) و هندوانه (Yildirim *et al*., 2024) گزارش شده است. امروزه استفاده از انواع اسیدهای آلی برای بهبود کمّی و کیفی تولید محصولات زراعی و باغی رواج فراوان یافته است (Nardi *et al*., 2023). مقادیر بسیار اندک از اسیدهای آلی به علت وجود ترکیبات هورمونی، آثار درخور توجهی بر بهبود ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی خاک و افزایش تولید و کیفیت محصولات کشاورزی دارند (Canellas *et al*., 2024). هیومیک‌اسید ترکیب پلیمری طبیعی آلی است که در نتیجه پوسیدگی مواد آلی خاک، پیت، لیگنین و غیره، به وجود می‌آید. از مزایای مهم کاربرد هیومیک‌اسید، کلات‌کنندگی عناصر غذایی مختلف، مانند پتاسیم، منیزیم، روی، کلسیم، آهن و مس برای غلبه بر کمبود عناصر غذایی است که افزایش طول، وزن ریشه و ایجاد ریشه‌های جانبی را سبب می‌شوند (de Azevedo *et al*., 2024; Canellas *et al*., 2024). مطالعات نشان داده است که این ترکیب با اصلاح فیزیکی و بهبود دانه‌بندی خاک، فضای بیشتری برای نفوذ آب ایجاد می‌کند (Baldi *et al*., 2023)؛ علاوه بر این، مولکول‌های هیومیک‌اسید با مولکول‌های آب موجود در خاک، پیوندی تشکیل می‌دهند که تا حد زیادی موجب افزایش ظرفیت نگهداری آب می‌شود (Schiavon *et al*., 2023). همچنین هیومیک‌اسید با افزایش فعالیت آنزیم روبیسکو، موجب حفظ فعالیت فتوسنتزی گیاه در شرایط تنش می‌شود (Ertani *et al*., 2018).

در چای ترش (*Hibiscus sabdariffa* L.)، تیمار محلول‌پاشی هیومیک‌اسید، بهبود تحرک و کارایی عناصر غذایی، افزایش مقدار روی و آهن برگ و در نتیجه، افزایش فتوسنتز، تولید کربوهیدرات و پروتئین را سبب شد (Abdelkader *et al*., 2023). در پژوهشی، کاربرد هیومیک‌اسید به میزان ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک، افزایش طول هیپوکوتیل، قطر ساقه، طول ساقه، وزن خشک و میزان عناصر غذایی را در گیاه فلفل (*Capsicum annum* L.) موجب شد (Karakurt *et al*., 2009). تنش خشکی در گل‌گاوزبان اروپایی (*Borago officinalis* L.) بر میزان پرولین و کربوهیدرات‌های محلول برگ و همچنین بر عملکرد زیستی گل و سرشاخه‌های گل‌دار، تأثیر معنی‌داری داشت. میزان پرولین با تأثیر متقابل تنش خشکی و هیومیک‌اسید دچار تغییر شد؛ اما میزان کربوهیدرات‌های محلول و کلروفیل تغییر نکرد (Behzadi *et al*., 2023). بررسی اثر هیومیک‌اسید و فولیک‌اسید برگ‌های آفتاب‌گردان تحت تنش خشکی نشان داد خشکی سبب کاهش وزن هزار دانه و عملکرد بیولوژیک گردید، در حالی که با کاربرد اسیدهیومیک و فولیک‌اسید، وزن هزار دانه و تعداد دانه در طبق افزایش یافت (Ahmadian *et al*., 2023). کاربرد

هیومیک‌اسید در تنش خشکی باعث افزایش کارایی مصرف آب به مقدار ۱۱/۴۹ درصد نسبت به شاهد در گیاه ذرت شد (Shaaban *et al*., 2024).

مدیریت تنش کم‌آبی از الزامات تولید پایدار رازیانه است و اسیدهیومیک می‌تواند در تعدیل پاسخ گیاه به این تنش نقش داشته باشد. با این حال، اطلاعات درباره پاسخ هم‌زمان رازیانه به سطوح مختلف کم‌آبی و اسیدهیومیک، به‌ویژه از نظر صفات رشدی، مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی، محدود است؛ بنابراین، پژوهش حاضر با هدف ارزیابی پاسخ رازیانه رقم هیبرید Boeili RZبه سطوح مختلف کم‌آبی، کاربرد اسیدهیومیک، تعیین مناسب‌ترین سطح مصرف آن برای بهبود رشد و کاهش پیامدهای نامطلوب کم‌آبی انجام شد.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر به‌صورت کرت‌های خردشده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان در سه تکرار، طی سال ۱۳۹۷ صورت گرفت. تیمارهای آزمایش شامل سه سطح کم‌آبیاری به‌عنوان عامل اصلی (۱۰۰ درصد (شاهد)، ۸۵ درصد و ۷۵ درصد ظرفیت زراعی) و سه سطح هیومیک‌اسید به‌عنوان عامل فرعی (صفر (شاهد)، ۱ و ۱/۵ کیلوگرم در هکتار) بود که در مجموع شامل ۲۷ واحد آزمایشی و هر واحد آزمایشی شامل ۱۶ بوته بود. بذور رازیانه شیرین در اسفند ماه در گلخانه و نشاهای آن در مرحله سه برگ حقیقی با فاصله بین ردیف ۵۰ سانتی‌متر و فاصله بین بوته ۲۰ سانتی‌متر در زمین اصلی کشت شدند. تیمار هیومیک‌اسید با نام تجاری Green Hum، پودری، محصول کشور ایتالیا، حاوی ۷۵ درصد هیومیک‌اسید، ۹۲/۸ درصد ماده آلی، اسیدیته ۰/۵±۹، هدایت الکتریکی ۲۳۹ میکروزیمنس بر سانتی‌متر و وزن خالص ۱ کیلوگرم در هر بسته) در یک نوبت (در اواخر بهار، تقریباً پس از گذشت یک ماه از انتقال نشا از گلخانه به زمین اصلی) و به‌صورت محلول در آب آبیاری به گیاهان در سه سطح داده شد و نیاز آبی گیاه در تیمار شاهد (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) بر اساس میانگین بلندمدت روزانه پارامترهای هواشناسی ثبت‌شده در ایستگاه هواشناسی زنجان و با استفاده از معادله استاندارد فائو-پنمن-مانتیث تعیین شد. سپس مقدار تبخیر - تعرق محاسبه‌شده (ET برحسب میلی‌متر) با در نظر گرفتن مساحت هر کرت (۲۰ مترمربع)، به حجم آب مورد نیاز کرت تبدیل شد؛ به‌طوری که حجم آب آبیاری از حاصل‌ضرب ET در مساحت کرت به دست آمد (هر ۱ میلی‌متر آب، معادل ۱ لیتر در مترمربع است). بر این اساس، تیمارهای ۸۵ و ۷۵ درصد نیز به‌ترتیب با تأمین ۸۵ و ۷۵ درصد حجم آب محاسبه‌شده برای تیمار شاهد اعمال شدند (Allen *et al*., 1998). اعمال تنش کم‌آبیاری پس از استقرار گیاه در زمین اصلی آغاز شد و تا زمان برداشت ادامه یافت. آبیاری در فواصل زمانی ۶ روزه و از طریق نوار تیپ انجام شد.

اندازه‌گیری صفات

در پایان دوره کشت، به‌منظور حذف اثر حاشیه‌ای، از گیاهان موجود در بخش‌های میانی ردیف‌های کشت برای نمونه‌برداری استفاده شد.

پارامترهای مرتبط با رشد و صفات مورفولوژیکی

در زمان برداشت، پیازهای کاذب بازارپسند (دارای شکل و اندازه مناسب، بدون علائم پوسیدگی، آفت‌زدگی، آسیب مکانیکی و سایر عیوب ظاهری) از هر کرت برداشت و پس از حذف برگ‌ها و ریشه‌ها، توزین شدند. سپس عملکرد پیاز کاذب بر اساس سطح برداشت هر کرت به کیلوگرم در هکتار ($kg\ ha^{-1}$) تبدیل و گزارش شد (Petropoulos *et al*., 2022). طول و قطر پیازهای کاذب با استفاده از کولیس دیجیتالی (مدل Z22855) برحسب میلی‌متر ثبت شد. وزن هر پیاز کاذب با استفاده از ترازوی دیجیتال (Sartorius AG, Germany) با دقت ۰/۰۱ گرم اندازه‌گیری و برحسب گرم (g) ثبت گردید (Petropoulos *et al*., 2022). وزن تر برگ با ترازوی دیجیتالی (Sartorius AG, Germany) برحسب گرم توزین شد و برای تعیین وزن خشک، به مدت ۴۸ ساعت در آون و تحت دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و سپس وزن خشک نمونه‌ها برحسب گرم توزین گردید. طول برگ به کمک خط‌کش و کارایی مصرف آب از نسبت عملکرد پیاز کاذب به حجم کل آب مصرفی در هر کرت محاسبه و برحسب گرم بر مترمکعب گزارش شد (Allen *et al*., 1998).

صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی

محتوای نسبی آب برگ با اندازه‌گیری وزن تورژسانس، تر و خشک برگ‌های برداشت‌شده و با استفاده از رابطه ۱، محاسبه شد (Barrs and Weatherley, 1962):

رابطه (۱)

$$\text{محتوای نسبی آب (\%)} = \frac{\text{وزن خشک}-\text{وزن تر}}{\text{وزن خشک}-\text{وزن تورژسانس}} \times 100$$

مقدار پرولین با استفاده از روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) اندازه‌گیری شد. در این روش، پرولین با اسیدسولفوسالیسیلیک استخراج شد و پس از واکنش با نین‌هیدرین و اسیداستیک، جذب عصاره رنگی حاصل در طول موج ۵۲۰ نانومتر اندازه‌گیری و مقدار آن با استفاده از منحنی استاندارد پرولین محاسبه شد و برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر گیاه گزارش گردید. نشت یونی بر اساس روش لوتس و همکاران (Lutts *et al*., 1996) و با اندازه‌گیری میزان هدایت الکتریکی اولیه و ثانویه و با استفاده از رابطه ۲ محاسبه و گزارش گردید. در این رابطه، هدایت اولیه نشان‌دهنده هدایت الکتریکی محلول حاصل از خروج الکترولیت‌های سلولی در شرایط اولیه و هدایت ثانویه نشان‌دهنده هدایت الکتریکی همان محلول پس از تخریب کامل غشای سلولی و آزادسازی کامل الکترولیت‌ها است:

رابطه (۲)

$$\text{هدایت الکتریکی نهایی}(\%) = \text{هدایت اولیه}/\text{هدایت ثانویه} \times 100$$

محتوای کلروفیل برگ مطابق روش آرنون (Arnon, 1949) تعیین شد. بدین منظور، رنگیزه‌های برگ با استفاده از استون ۸۰ درصد استخراج و جذب نوری عصاره در طول‌های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. مقادیر کلروفیل a و b به‌طور جداگانه محاسبه شدند و مقدار کلروفیل کل از مجموع آن‌ها به دست آمد و نتایج بر اساس میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ گزارش گردید. محتوای کارتنوئید برگ با استفاده از روش لیچتنتالر (Lichtenthaler, 1987) اندازه‌گیری شد. بدین منظور، نمونه‌های تازه برگ پس از توزین و همگن‌سازی، با حلال استون استخراج و عصاره حاصل پس از صاف کردن، با استفاده از اسپکتروفوتومتر در طول موج‌های ۴۸۰ و ۵۱۰ نانومتر قرائت شد. در پایان، میزان کارتنوئید برحسب میلی-گرم بر گرم وزن تر برگ ثبت و گزارش گردید. از روش یدومتریک به‌منظور اندازه‌گیری میزان آسکوربیک‌اسید استفاده شد. در این روش، عصاره نمونه با محلول استاندارد ید در حضور محلول نشاسته به‌عنوان شناساگر تیتر شد و مقدار آسکوربیک‌اسید بر اساس حجم محلول ید مصرف‌شده در نقطه پایانی واکنش محاسبه و برحسب میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر عصاره گزارش گردید (AOAC, 2019). محتوای فنول کل با استفاده از معرف فولین سیوکالتو اندازه‌گیری گردید. میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۲۰ نانومتر قرائت شد و برای به دست آوردن منحنی کالیبراسیون، از اسیدگالیگ به‌عنوان استاندارد استفاده گردید (Singleton *et al*., 1999). محتوای فلاونوئید کل با استفاده از روش چانگ و همکاران (Chang *et al*., 2002) اندازه‌گیری شد. میزان جذب در طول موج ۵۰۷ نانومتر ثبت و قرائت شد. برای به دست آوردن منحنی کالیبراسیون، از کوئرستین به‌عنوان استاندارد استفاده شد. محتوای فلاونوئید نمونه‌ها برحسب میلی‌گرم، معادل کوئرستین در گرم وزن تر نمونه بیان شد. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH و با استناد به مطالعه براند-ویلیامز و همکاران (Brand-Williams *et al*., 1995) اندازه‌گیری و گزارش گردید. بدین منظور، از محلول DPPH با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار استفاده شد. مخلوط واکنش پس از ۳۰ دقیقه انکوباسیون در شرایط تاریکی، در طول موج ۵۱۵ نانومتر قرائت و درصد مهار رادیکال DPPH با استفاده از رابطه ۳ محاسبه و گزارش گردید:

رابطه (۳)
$$(\%)DPPH = (A_0 - A_s/A_s) \times 100$$

در این رابطه، A_0 جذب نمونه شاهد و A_s جذب نمونه حاوی عصاره در طول موج ۵۱۵ نانومتر است.

آنالیز داده‌ها

پژوهش حاضر به‌صورت کرت‌های خردشده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار صورت پذیرفت. تیمارهای آزمایش شامل سه سطح تنش آبی (۱۰۰ درصد (شاهد)، ۸۵ درصد و ۷۵ درصد ظرفیت زراعی) و سه سطح هیومیک‌اسید (صفر (شاهد)، ۱ و ۱/۵ کیلوگرم در هکتار) بود. نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون بارتلت و به‌وسیله نرم‌افزار Minitab16 مورد ارزیابی قرار گرفت. تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS9/1 انجام شد و مقایسه میانگین با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج و یک درصد انجام گرفت. نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel 2010 رسم شدند.

نتایج و بحث

تأثیر تیمار هیومیک‌اسید و تنش کم‌آبی بر پارامترهای مرتبط با رشد و صفات مورفولوژیکی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات اصلی فاکتورهای آبیاری و تیمار هیومیک‌اسید بر صفات عملکرد، طول پیاز کاذب، طول برگ و وزن تر و خشک برگ،

در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بوده است. از سوی دیگر، اثر متقابل سطوح آبیاری و هیومیک‌اسید بر دو صفت قطر و وزن پیاز کاذب در سطح احتمال یک درصد و بر صفت کارایی مصرف آب در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بوده است (جدول ۱).

جدول ۱- تجزیه واریانس تأثیر سطوح مختلف تنش کم‌آبی و تیمار هیومیک‌اسید بر عملکرد و شاخص‌های مرتبط با رشد گیاه رازیانه

Table 1. Analysis of variance relating to effect of water-deficit stress and humic acid treatment levels on yield and growth-related indices of fennel

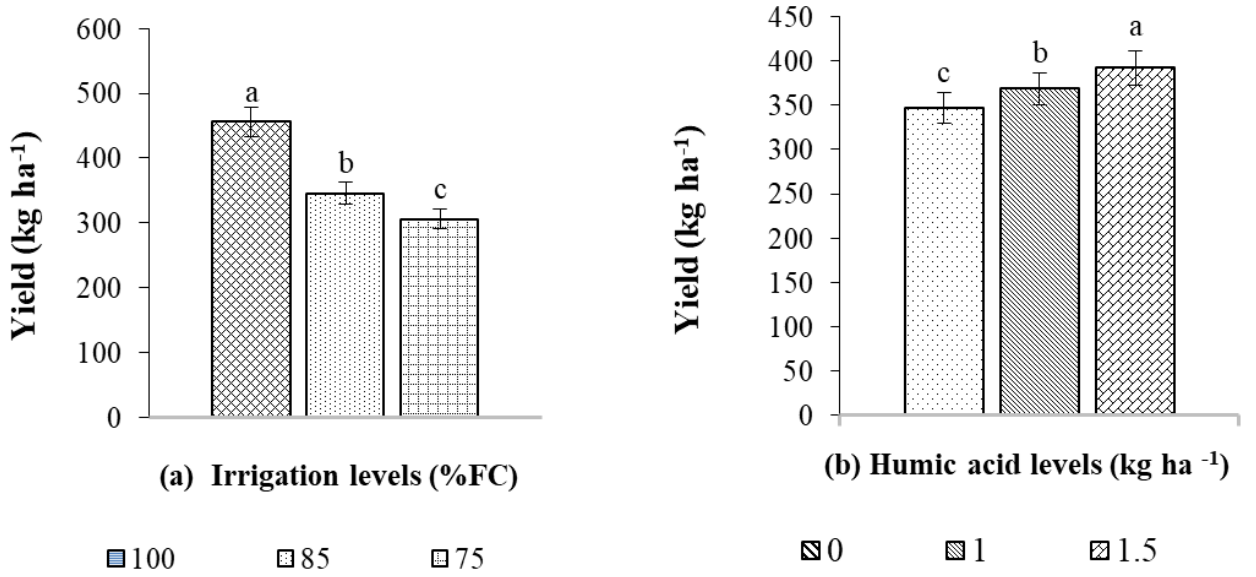
Source of variation	(df)	Mean of square							
		Yield	Pseudobulb length	Pseudobulb diameter	Pseudobulb weight	Leaf length	Leaf fresh weight	Leaf dry weight	Water use efficiency
Irrigation	2	54683.30**	1290.331**	105.789**	4671.222**	69.213**	10150.68**	240.35**	20.67**
Replication	2	170.94*	6.508^{ns}	1.823^{ns}	2.332^{ns}	16.00^{ns}	3.966^{ns}	1.03^{ns}	1.19*
Main plot error	4	51.32	5.987	0.918	1.392	9.68	10.579	0.940	0.157
Humic acid	2	4713.86**	163.842**	115.202**	1227.54**	41.58**	218.918**	31.957**	18.16**
I×H	4	108.07^{ns}	0.805^{ns}	10.510**	51.503**	3.33^{ns}	8.299^{ns}	0.178^{ns}	0.379*
Subplot error	12	35.68	12.413	1.002	1.129	1.485	5.348	0.639	0.112
CV (%)		1.61	4.034	2.89	1.326	2.975	2.128	4.441	1.48

****: معنادار در سطح احتمال ۱ درصد، *: معنادار در سطح احتمال ۵ درصد و ns: غیرمعنادار**

****: significant at 1% probability level, *: significant at 5% probability level and ns: non-significant**

نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که با افزایش شدت تنش کم‌آبی، عملکرد گیاه کاهش یافته (بیشترین عملکرد برابر با ۴۵۶/۰۲ کیلوگرم در هکتار در سطح ۱۰۰ درصد) (شکل a ۱) و از سوی دیگر، با افزایش مقدار مصرف هیومیک‌اسید، عملکرد گیاه افزایش یافته است (بیشترین عملکرد برابر با ۳۹۲/۱۰ کیلوگرم در هکتار در سطح ۱/۵ کیلوگرم در هکتار) (شکل b ۱). همچنین کاهش آب دریافتی توسط گیاه موجب کاهش معنادار طول پیاز کاذب در گیاه رازیانه شد. تیمار هیومیک‌اسید موجب بهبود این صفت گردید؛ به‌طوری که بیشترین مقدار ثبت‌شده برابر با ۹۱/۵۵ میلی‌متر در بالاترین سطح اعمال تیمار هیومیک‌اسید مشاهده و ثبت شد. بیشترین و کمترین میزان طول برگ به‌ترتیب در سطح شاهد آبیاری و سطح ۷۵ درصد ظرفیت زراعی به ثبت رسید. نتایج حاکی از آن بود که کاربرد تیمار هیومیک‌اسید در سطح ۱ کیلوگرم در هکتار موجب افزایش طول برگ گیاه رازیانه نسبت به شرایط شاهد خواهد شد؛ اما افزایش مقدار مصرف به ۱/۵ کیلوگرم در هکتار موجب کاهش معنادار این صفت شد. وزن تر و خشک برگ، با رفتاری مشابه یکدیگر، با افزایش سطح تنش کم‌آبی دچار کاهش و با افزایش سطح تیمار هیومیک‌اسید دچار افزایش شدند؛ بطوری که با افزایش سطح تنش از سطح شاهد به سطح ۷۵ درصد، میزان وزن تر و خشک گیاه به‌ترتیب ۶۳/۶۱ و ۴۱/۰۴ درصد کاهش یافت (جدول ۲).

کاهش عملکرد رازیانه در شرایط تنش کم‌آبی احتمالاً ناشی از کاهش هدایت روزنه‌ای، محدود شدن فتوسنتز، کاهش جذب عناصر غذایی و در نهایت، کاهش تولید و انتقال مواد فتوسنتزی است. در مقابل، کاربرد هیومیک‌اسید با تأثیر بر رشد ریشه، میزان جذب آب و عناصر غذایی و حفظ فعالیت فتوسنتزی موجب افزایش عملکرد گیاه می‌شود (Calvo *et al.*, 2014). نتایج این پژوهش با گزارش کانلاس و اولیوارس (Canellas and Olivares, 2014) مبنی بر نقش هیومیک‌اسید در بهبود رشد و عملکرد گیاهان از طریق تحریک رشد ریشه و افزایش جذب عناصر غذایی مطابقت دارد. همچنین کالوو و همکاران (Calvo *et al.*, 2014) گزارش کردند که هیومیک‌اسید به‌عنوان بیواستیمولانت، اثرات منفی تنش خشکی را کاهش می‌دهد و موجب بهبود عملکرد محصولات باغبانی می‌شود.



شکل ۱- مقایسه میانگین اثرات اصلی تنش کم‌آبی (a) و تیمار هیومیک‌اسید (b) بر عملکرد گیاه رازیانه. داده‌ها به‌صورت میانگین ± خطای استاندارد (SE) ارائه شده‌اند (n=3). حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنادار در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن است.

Fig. 1. Mean comparing of water-deficit (a) and humic acid treatment (b) main effects on yield of fennel. Data are presented as mean ± standard error (SE) (n = 3). Different letters in each column show significant difference at the 5% probability level based on Duncan's multiple range test.

جدول ۲- مقایسه میانگین اثرات اصلی تنش کم‌آبی و تیمار هیومیک‌اسید بر طول پیاز کاذب و طول، وزن تر و وزن خشک برگ گیاه رازیانه

Table 2. Mean comparison of Main effects of water-deficit stress and humic acid treatment on pseudobulb length, and leaf length, fresh weight and dry weight of fennel

Treatments	Pseudobulb length (mm)	Leaf length (cm)	Leaf fresh weight (g)	Leaf dry weight (g)
Irrigation levels (%FC)				
100	100.52^{a}	43.56^{a}	146.77^{a}	24.37^{a}
85	84.342^{b}	41.25^{b}	95.80^{b}	15.95^{b}
75	77.194^{c}	38.04^{c}	53.41^{c}	14.37^{c}
Humic acid levels (kg h^{-1})				
0	87.439^{b}	38.91^{c}	103.93^{c}	16.42^{c}
1	83.024^{c}	43.20^{a}	108.27^{b}	17.43^{b}
1.5	91.533^{a}	40.74^{b}	113.77^{a}	20.08^{a}

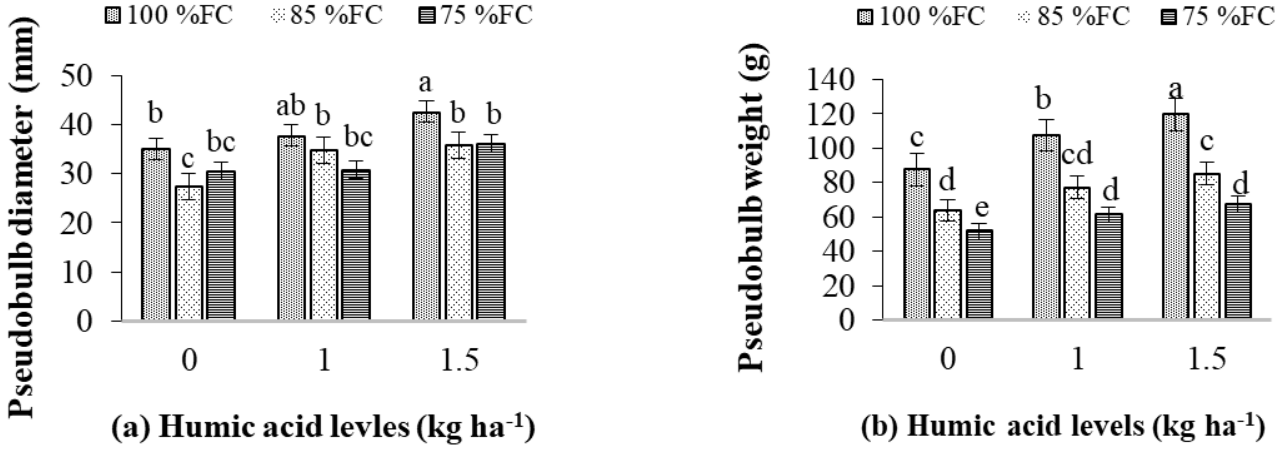
حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنادار در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن است.

Different letters in each column show significant difference at the 5% probability level based on Duncan's multiple range test.

صفات قطر و وزن پیاز کاذب تحت تأثیر برهم‌کنش بین تنش کم‌آبی و تیمار هیومیک‌اسید قرار گرفت؛ به‌طوری که بیشترین میزان این صفات در گیاهان رشدیافته تحت آبیاری ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی و تیمار ۱/۵ کیلوگرم در هکتار هیومیک‌اسید اندازه‌گیری و ثبت شد که به‌ترتیب برابر با ۴۲/۷۰ میلی‌متر و ۱۱۹/۶۷ گرم بود. کمترین مقادیر قطر و وزن پیاز کاذب، در گیاهان تیمارنشده و در سطوح ۸۵ و ۷۵ درصد تنش کم‌آبی مشاهده و ثبت شد (به‌ترتیب ۲۷/۴۶ میلی‌متر و ۵۱/۶۲ گرم) (شکل a ۲ و b ۲).

کاهش طول، قطر و وزن پیاز کاذب رازیانه شیرین در شرایط تنش کم‌آبی احتمالاً ناشی از کاهش فشار تورژسانس، محدود شدن تقسیم و طویل شدن سلول‌ها، کاهش فعالیت مریستم‌های رشدی، کاهش محتوای نسبی آب، محدود شدن فتوسنتز و کاهش انتقال مواد فتوسنتزی به اندام ذخیره‌ای است که در نهایت، تجمع ماده خشک، وزن و اندازه پیاز کاذب را کاهش می‌دهد. این نتایج با گزارش ناردی و همکاران (Nardi *et al.*, 2021) مبنی بر نقش مواد هیومیکی در بهبود رشد و تجمع زیست‌توده گیاهان تحت تنش‌های محیطی مطابقت دارد. همچنین رافائل و کولا (Rouphael and Colla, 2020) بیان کردند که بیواستیمولانت‌هایی نظیر هیومیک‌اسید،

با افزایش کارایی مصرف آب و بهبود فرایندهای فیزیولوژیکی موجب افزایش عملکرد و زیست‌توده محصولات باغبانی در شرایط تنش خشکی می‌شوند. بنا بر گزارش‌ها، هیومیک‌اسید با تحریک تقسیم سلولی، افزایش فعالیت آنزیم H^+-ATPase غشای پلاسمایی و بهبود انتقال آب و مواد فتوسنتزی، رشد بخش‌های مختلف گیاه را بهبود می‌بخشد (Nardi *et al.*, 2021). ترویسان و همکاران (Trevisan *et al.*, 2010) نشان دادند که مواد هیومیکی با تحریک بیان ژن‌های مرتبط با رشد، توسعه اندام‌های رویشی را افزایش می‌دهند. همچنین اولائتکسئا و همکاران (Olaetxea *et al.*, 2018) گزارش کردند که هیومیک‌اسید از طریق تنظیم سیگنال‌های هورمونی و افزایش رشد سلولی، موجب بهبود رشد اندام‌های گیاهی در شرایط تنش می‌شود.

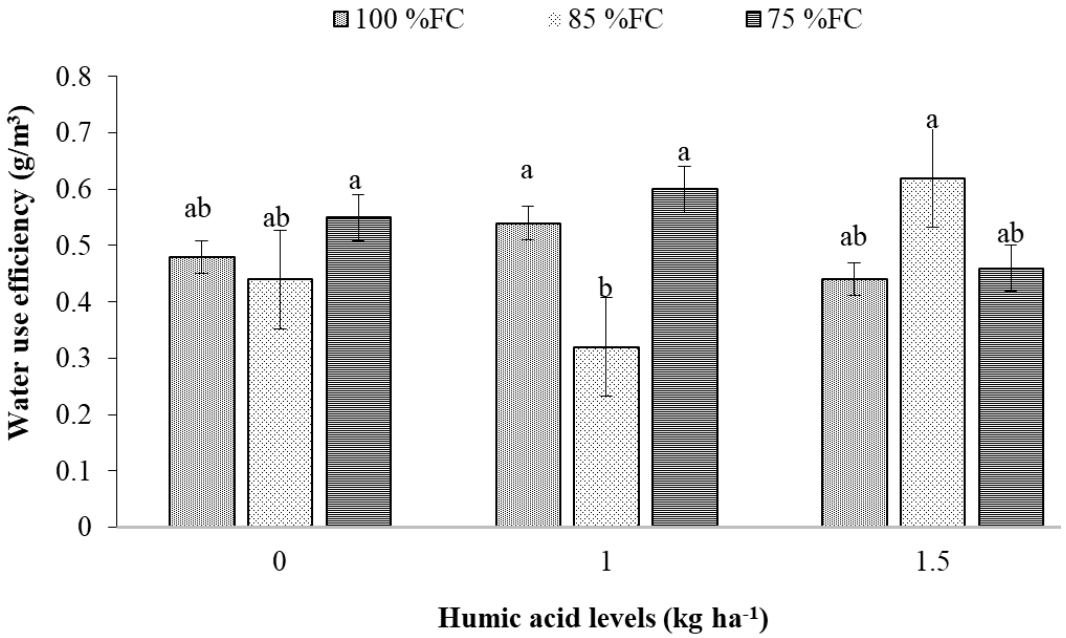


شکل ۲- مقایسه میانگین برهم‌کنش تنش کم‌آبی و تیمار هیومیک‌اسید بر قطر (a) و وزن پیاز کاذب (b) گیاه رازیانه. داده‌ها به‌صورت میانگین ± خطای استاندارد (SE) ارائه شده‌اند (n=3). حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنادار در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن است.

Fig. 2. Mean comparing of water-deficit and humic acid treatment interaction on pseudobulb diameter (a) and weight (b) of fennel. Data are presented as mean ± standard error (SE) (n = 3). Different letters in each column show significant difference at the 5% probability level based on Duncan's multiple range test.

نتایج نشان داد که کارایی مصرف آب تحت تأثیر متقابل سطح آبیاری و اسیدهیومیک قرار گرفت. بیشترین کارایی مصرف آب در تیمار ۸۵ درصد آبیاری همراه با ۱/۵ کیلوگرم در هکتار اسیدهیومیک مشاهده شد (۰/۶۲ گرم بر مترمکعب) که نشان‌دهنده بهبود استفاده از آب در شرایط کاهش نسبی آب در حضور مقدار مناسب اسیدهیومیک است. همچنین در آبیاری ۷۵ درصد، کاربرد ۱ کیلوگرم در هکتار اسیدهیومیک موجب افزایش کارایی مصرف آب به ۰/۶۰ گرم بر مترمکعب شد. به نظر می‌رسد اسیدهیومیک با بهبود شرایط فیزیکی خاک، افزایش ظرفیت نگهداری آب و بهبود جذب آب و عناصر غذایی توسط ریشه (Nardi *et al.*, 2021)، توانسته است بخشی از اثرات محدودیت آبی را کاهش و کارایی مصرف آب گیاه را افزایش دهد. با این حال، پاسخ صفت کارایی مصرف آب به هیومیک‌اسید وابسته به سطح آبیاری و مقدار مصرف آن بود؛ به‌طوری که در آبیاری ۸۵ درصد، مصرف ۱ کیلوگرم در هکتار کمترین مقدار کارایی مصرف آب را ایجاد کرد (۰/۳۲ گرم بر مترمکعب)؛ بنابراین، بر اساس نتایج، مقدار بهینه اسیدهیومیک برای افزایش کارایی مصرف آب، به شرایط رطوبتی خاک وابسته است (شکل ۳).

کاربرد هیومیک‌اسید موجب بهبود کارایی مصرف آب رازیانه شیرین شد که احتمالاً ناشی از افزایش توسعه ریشه، بهبود جذب آب و عناصر غذایی و حفظ فعالیت فتوسنتزی در شرایط محدودیت رطوبت است. در مقابل، تشدید تنش کم‌آبی با کاهش رشد و اختلال در فرایندهای فیزیولوژیکی، کارایی مصرف آب را تحت تأثیر قرار داد. بیواستیمولانت‌هایی مانند هیومیک‌اسید، با افزایش کارایی جذب و استفاده از آب، توانایی گیاه را برای حفظ تولید زیست‌توده در شرایط کم‌آبی افزایش می‌دهند. مطالعات متعددی افزایش بهره‌وری آب در گیاهان باغبانی در اثر مصرف بیواستیمولانت‌ها را گزارش کردند (Nardi *et al.*, 2021; Ertani *et al.*, 2018). همچنین مدرانو و همکاران (Medrano *et al.*, 2015) بیان کردند که بهبود کارایی مصرف آب، یکی از مهم‌ترین راهکارهای حفظ عملکرد گیاهان در شرایط محدودیت منابع آبی است.



شکل ۳- مقایسه میانگین برهم‌کنش تنش کم‌آبی و تیمار هیومیک‌اسید بر کارایی مصرف آب گیاه رازیانه. داده‌ها به‌صورت میانگین ± خطای استاندارد (SE) ارائه شده‌اند (n=3). حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنادار در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن است.

Fig. 3. Mean comparing of water-deficit and humic acid treatment interaction on water use efficiency of fennel. Data are presented as mean ± standard error (SE) (n = 3). Different letters in each column show significant difference at the 5% probability level based on Duncan's multiple range test.

تأثیر تیمار هیومیک‌اسید و تنش کم‌آبی بر صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که صفات محتوای کارتنوئید، ویتامین ث و محتوای آب نسبی گیاه، تحت تأثیر اثرات اصلی تنش کم‌آبی و تیمار هیومیک‌اسید قرار گرفتند. در مقابل، برهم‌کنش بین فاکتورها بر صفات محتوای کلروفیل و نشت یونی به‌طور معناداری تأثیرگذار بود (جدول ۳).

جدول ۳- تجزیه واریانس تأثیر سطوح مختلف تنش کم‌آبی و تیمار هیومیک‌اسید بر صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه رازیانه

Table 3. Analysis of variance relating to effect of water-deficit stress and humic acid treatment levels on physiological and biochemical traits of fennel

Source of variation	df	Mean of square				
		Chlorophyll	Carotenoid	Vitamin C	Relative water content	Electrolyte leakage
Irrigation	2	0.6792**	0.0279**	110.973**	14.178*	286.969**
Replication	2	0.0002^{ns}	0.0011^{ns}	3.535^{ns}	11.683^{ns}	6.739^{ns}
Main plot error	4	0.0005	0.0024	1.596	0.502	1.538
Humic acid	2	0.0451**	0.0049*	44.252**	47.978*	809.359**
I×H	4	0.0014*	0.0011^{ns}	1.083^{ns}	2.395^{ns}	15.752*
Subplot error	12	0.0004	0.0005	1.216	2.668	4.729
CV (%)		1.64	8.94	3.58	2.39	2.88

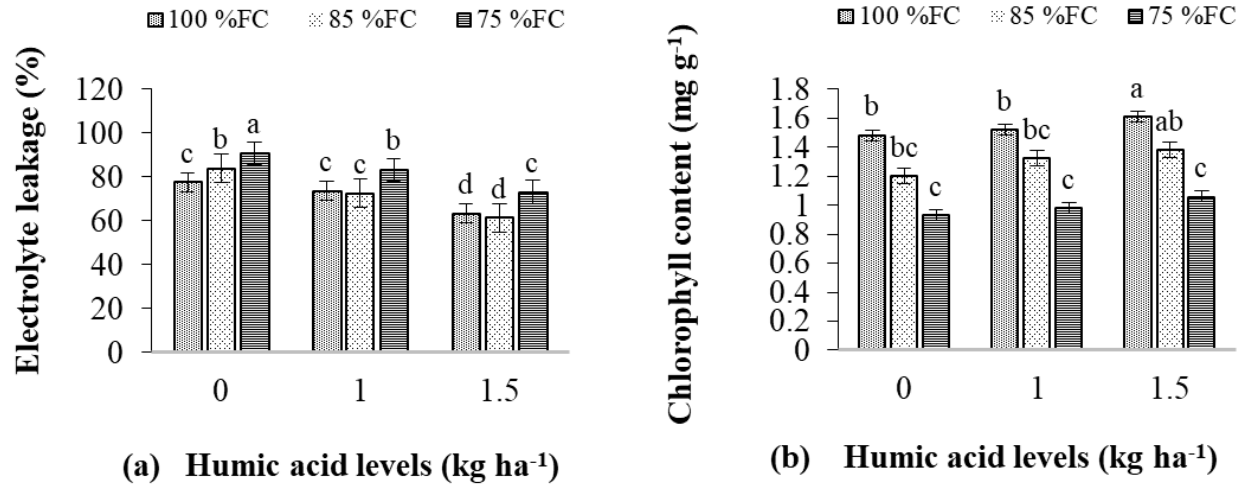
****: معنادار در سطح احتمال ۱ درصد، *: معنادار در سطح احتمال ۵ درصد و ns: غیرمعنادار**

****: significant at 1% probability level, *: significant at 5% probability level and ns: non-significant**

نتایج نشان داد که افزایش شدت تنش موجب افزایش نشت یونی در تمامی سطوح تیمار هیومیک‌اسید شد. کمترین مقادیر نشت یونی در گیاهان تغذیه‌شده با هیومیک‌اسید ۱/۵ کیلوگرم در هکتار به ثبت رسید (شکل a ۴). افزایش نشت یونی در شرایط تنش کم‌آبی احتمالاً ناشی از افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن و پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی است که موجب کاهش پایداری غشا و افزایش خروج الکترولیت‌ها از سلول می‌شود. در مقابل، کاربرد هیومیک‌اسید با

تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و حفظ یکپارچگی غشای سلولی، نشت یونی را به‌طور معنی‌داری کاهش داد. این نتایج با یافته‌های سیلتی و همکاران (Silletti *et al*., 2021) مطابقت دارد که گزارش کردند مواد هیومیکی با افزایش تحمل گیاهان به تنش‌های غیرزیستی، از آسیب غشای سلولی جلوگیری می‌کنند. همچنین خلیل‌پور و همکاران (Khalilpour *et al*., 2023) نشان دادند که کاربرد هیومیک‌اسید تحت تنش خشکی، با کاهش پراکسیداسیون لیپیدها و نشت الکترولیت، موجب حفظ پایداری غشای سلولی می‌شود.

بیشترین محتوای کلروفیل در گیاهان تیمارشده با بالاترین سطح مصرف هیومیک‌اسید و آبیاری‌شده با سطح ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی به ثبت رسید (۱/۶۱ میلی‌گرم بر گرم). در مقابل، میزان کلروفیل در گیاهان تیمارنشده‌ای که در بالاترین سطح تنش قرار گرفته بودند، ۴۲/۲۴ درصد کاهش یافت (شکل b ۴). مطالعات نشان داده‌اند که کاهش محتوای کلروفیل در شرایط تنش کم‌آبی، به تخریب رنگیزه‌های کلروفیلی در اثر افزایش گونه‌های فعال اکسیژن، کاهش سنتز کلروفیل و تسریع پیری برگ‌ها مربوط می‌شود (Ertani *et al*., 2018). کاربرد هیومیک‌اسید با بهبود جذب عناصری مانند نیتروژن، منیزیم و آهن که در ساختار و سنتز کلروفیل نقش اساسی دارند، موجب حفظ و افزایش محتوای کلروفیل خواهد شد (Trevisan *et al*., 2010). همچنین هیومیک‌اسید با کاهش تنش اکسیداتیو و حفظ یکپارچگی کلروپلاست‌ها، از تخریب رنگدانه‌های کلروفیل در شرایط کم‌آبی جلوگیری می‌کند (Nardi *et al*., 2021). نتایج این پژوهش با یافته‌های جانین و همکاران (Jannin *et al*., 2012) مطابقت دارد که افزایش میزان کلروفیل در گیاهان تیمارشده با بیواستیمولانت‌های هیومیکی را گزارش کردند.



شکل ۴- مقایسه میانگین برهم‌کنش تنش کم‌آبی و تیمار هیومیک‌اسید بر نشت یونی (a) و محتوای کلروفیل (b) گیاه رازیانه. داده‌ها به‌صورت میانگین ± خطای استاندارد (SE) ارائه شده‌اند (n=3). حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنادار در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن است.

Fig. 4. Mean comparing of water-deficit and humic acid treatment interaction on electrolyte leakage (a) and chlorophyll content (b) of fennel. Data are presented as mean ± standard error (SE) (n = 3). Different letters in each column show significant difference at the 5% probability level based on Duncan's multiple range test.

بیشترین میزان کارتنوئید در سطح ۸۵ درصد و بیشترین محتوای ویتامین ث در سطح شاهد آبیاری مشاهده شد. افزایش مقدار مصرف هیومیک‌اسید موجب کاهش رنگدانه کارتنوئید شد. همچنین بیشترین محتوای ویتامین ث در سطح ۱ کیلوگرم در هکتار تیمار هیومیک‌اسید به ثبت رسید. محتوای نسبی آب گیاه با افزایش شدت تنش به ۸۵ درصد افزایش یافت و سپس در سطح ۷۵ درصد دچار کاهش گردید. مصرف هیومیک‌اسید موجب افزایش محتوای نسبی آب گیاه شد (جدول ۴).

افزایش محتوای کاروتنوئید در شرایط تنش ملایم کم‌آبی، پاسخ سازگاری گیاه برای مقابله با تنش اکسیداتیو است. کاروتنوئیدها با خنثی‌سازی گونه‌های فعال اکسیژن و محافظت از دستگاه فتوسنتزی، از تخریب کلروفیل و غشاهای تیلاکوئیدی جلوگیری می‌کنند (Hasanuzzaman *et al*., 2020). در مقابل، در شرایط آبیاری کامل و همچنین کاربرد هیومیک‌اسید، به دلیل کاهش شدت تنش اکسیداتیو، نیاز گیاه به تجمع رنگیزه‌های محافظتی کاهش یافت (Brito *et al*., 2023). کاهش ویتامین ث در شرایط تنش کم‌آبی احتمالاً به دلیل مصرف بیشتر اسیدآسکوربیک در چرخه آسکوربات - گلوتاتیون برای مقابله با تنش اکسیداتیو است؛ به‌طوری که در تنش‌های شدید، میزان مصرف این آنتی‌اکسیدان از سنتز آن پیشی می‌گیرد

(Hasanuzzaman *et al*., 2020). رافائل و کیریاکو (Rouphael and Kyriacou, 2022) نقش بیواستیمولانت‌ها در بهبود کیفیت تغذیه‌ای و افزایش ترکیبات آنتی‌اکسیدانی محصولات باغبانی را گزارش دادند. افزایش محتوای نسبی آب در شرایط تنش ملایم کم‌آبی (۸۵ درصد ظرفیت زراعی) احتمالاً ناشی از فعال شدن سازوکارهای تنظیم اسمزی، تجمع اسمولیت‌های سازگار و کاهش اتلاف آب از طریق کنترل تعرق است که به حفظ تورژسانس سلولی کمک می‌کند (Trevisan *et al*., 2010).

جدول ۴- مقایسه میانگین اثرات اصلی تنش کم‌آبی و تیمار هیومیک‌اسید بر محتوای کارتنوئید، ویتامین ث و محتوای آب نسبی گیاه رازیانه

Table 4. Mean comparison of main effects of water-deficit stress and humic acid treatment on carotenoid, vitamin C and relative water content of fennel

Treatments	Carotenoid (mg g-1)	Vitamin C (mg 100 ml-1)	Relative water content (%)
Irrigation levels (%FC)			
100	0.29b	34.44a	67.37b
85	0.31a	30.28b	69.63a
75	0.20b	27.46c	67.56b
Humic acid levels (kg h-1)			
0	0.294a	1.4c	65.94c
1	0.273a	1.8a	68.08b
1.5	0.248b	1.6b	70.55a

حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنادار در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن است.

Different letters in each column show significant difference at the 5% probability level based on Duncan's multiple range test.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که صفات ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای فنول و پرولین، تحت تأثیر برهم‌کنش فاکتورهای آزمایشی و صفات محتوای فلاونوئید، تحت تأثیر اثرات اصلی سطوح آبیاری و تیمار هیومیک‌اسید قرار گرفتند (جدول ۵).

جدول ۵- تجزیه واریانس تأثیر سطوح مختلف تنش کم‌آبی و تیمار هیومیک‌اسید بر صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه رازیانه

Table 5. Analysis of variance relating to effect of water-deficit stress and humic acid treatment levels on physiological and biochemical traits of fennel

Source of variation	df	Mean of square			
		Radical scavenging activity	Flavonoid	Phenol	Proline
Irrigation	2	92.901**	1080.337**	469.06**	0.103**
Replication	2	0.003^{ns}	11.64^{ns}	0.287^{ns}	0.007*
Main plot error	4	0.042	42.471	2.231	0.001
Humic acid	2	0.163**	1391.004**	16.675**	0.183**
I×H	4	1.771**	29.128^{ns}	6.912**	0.011**
Subplot error	12	0.009	30.751	0.708	0.001
CV (%)		0.10	8.66	1.90	2.41

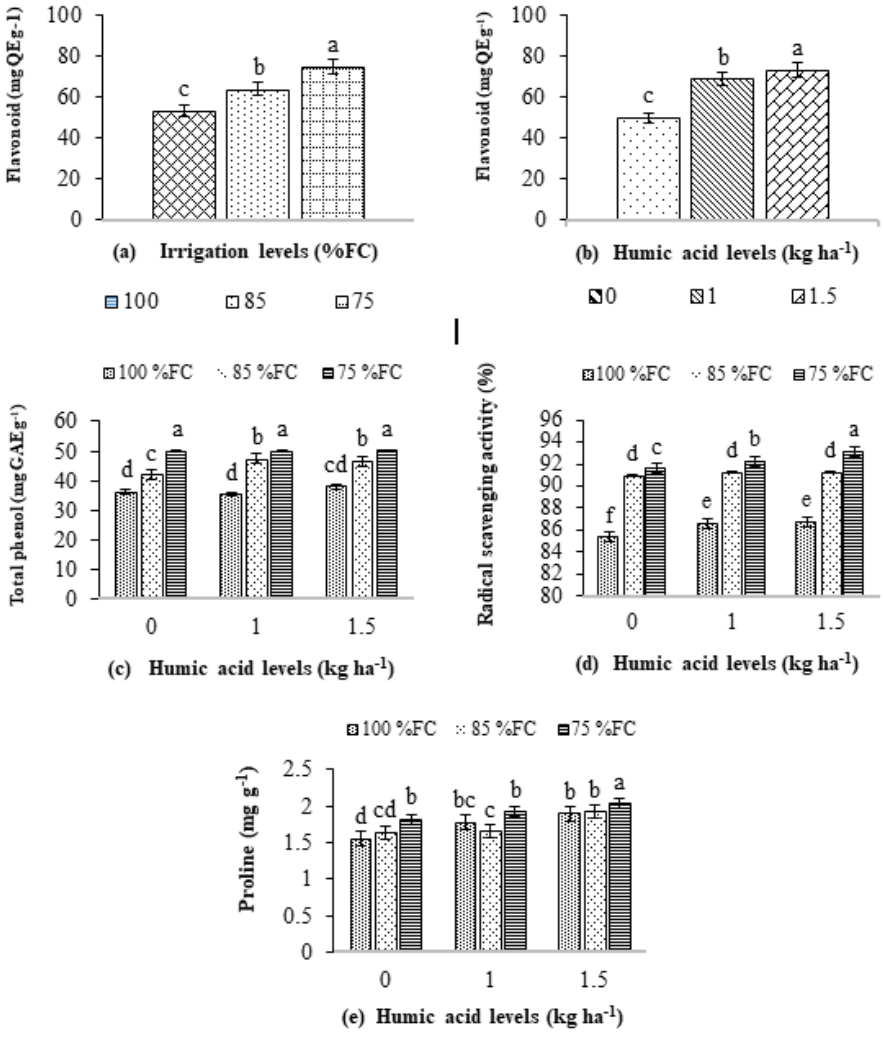
****: معنادار در سطح احتمال ۱ درصد، *: معنادار در سطح احتمال ۵ درصد و ns: غیرمعنادار**

****: significant at 1% probability level, *: significant at 5% probability level and ns: non-significant**

بیشترین میزان فلاونوئید در سطح ۷۵ درصد آبیاری و همچنین در گیاهان تغذیه‌شده با بالاترین سطح مصرف هیومیک‌اسید اندازه‌گیری و ثبت شد (به‌ترتیب ۷۵/۰۴ و ۷۳/۲۶ میلی‌گرم معادل کوئرستین بر گرم) (شکل a ۵ و b ۵). بیشترین مقدار فنول کل در سطح ۷۵ درصد آبیاری و ۱/۵ کیلوگرم در هکتار هیومیک‌اسید اندازه‌گیری شد (۵۰/۱۶ میلی‌گرم، معادل گالیک‌اسید بر گرم)؛ هرچند اختلاف معناداری با میزان این صفت در گیاهان آبیاری‌شده با سطح ۷۵ درصد و تغذیه‌شده با سطح شاهد و ۱ کیلوگرم در هکتار هیومیک‌اسید نداشت (شکل c ۵). ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان رازیانه تحت آبیاری ۷۵ درصد و سطح ۱/۵ کیلوگرم در هکتار هیومیک‌اسید، ۹۳/۱۲ درصد اندازه‌گیری شد، در حالی که قرار گرفتن گیاهان تحت شرایط عدم تنش آبی و عدم کاربرد هیومیک‌اسید موجب کاهش معنادار این مقدار شد (شکل d ۵). میزان پرولین با افزایش سطح تنش و مقدار مصرف هیومیک‌اسید به بالاترین سطح رسید (۲/۰۴ میلی‌گرم بر گرم) و کمترین میزان این

صفت در سطوح شاهد آبیاری و تیمار هیومیک‌اسید ثبت شد (۱/۵۵ میلی‌گرم بر گرم) (شکل e ۵).

مطالعات نشان داده‌اند که افزایش محتوای فنول و فلاونوئید در شرایط تنش کم‌آبی ناشی از فعال شدن مسیر فنیل‌پروپانوئید و افزایش فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز است که موجب سنتز بیشتر ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی می‌شود و کاربرد هیومیک‌اسید نیز با کاهش تنش اکسیداتیو و تحریک متابولیسم ثانویه، تجمع این مواد را افزایش می‌دهد (Brito *et al*., 2023). در مطالعه‌ای روی کاهو (*Lactuca sativa*)، پایم و همکاران (Paim *et al*., 2020) گزارش کردند که اعمال تنش خشکی ملایم باعث افزایش آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی می‌شود و این پاسخ را به تحریک متابولیسم دفاعی گیاه نسبت دادند. افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در شرایط تنش کم‌آبی احتمالاً ناشی از افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن و فعال شدن سیستم دفاعی گیاه برای کاهش آسیب اکسیداتیو است. کاربرد هیومیک‌اسید نیز با تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی، ظرفیت گیاه را برای مقابله با تنش افزایش داد. آکلادیوس و همکاران (Akladious *et al*., 2022) در مطالعه‌ای روی گوجه‌فرنگی گزارش کردند که کاربرد هیومیک‌اسید تحت تنش خشکی موجب افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و کاهش خسارت اکسیداتیو شد که آن را به تحریک سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی نسبت دادند. الانساری و همکاران (Elansary *et al*., 2020) در مطالعه‌ای روی ریحان نشان دادند که کاربرد مواد هیومیکی باعث افزایش پرولین، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و بهبود تحمل گیاه به کم‌آبی می‌شود؛ علاوه بر این، پانیکو و همکاران (Pannico *et al*., 2021) در پژوهشی روی کاهو گزارش کردند که بیواستیمولانت‌های هیومیکی با افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و کاهش آسیب غشایی، موجب حفظ رشد گیاه در شرایط تنش خشکی شدند.



شکل ۵- مقایسه میانگین اثرات اصلی تنش کم‌آبی (a) و تیمار هیومیک‌اسید (b) بر محتوای فلاونوئید و اثر برهم‌کنش فاکتورها بر فنول کل (c)، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (d) و پرولین (e) گیاه رازیانه. داده‌ها به‌صورت میانگین ± خطای استاندارد (SE) ارائه شده‌اند (n=3). حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنادار در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن است.

Fig. 5. Mean comparing of water-deficit (a) and humic acid treatment (b) main effects on flavonoid, and interaction effect of factors on total phenol (c), radical scavenging activity (d) and proline content (e) of fennel. Data are presented as mean ± standard error (SE) (n = 3). Different letters in each column show significant difference at the 5% probability level based on Duncan's multiple range test.

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تغذیه گیاه رازیانه با هیومیک‌اسید موجب افزایش معنادار میزان تحمل گیاه به شرایط تنش کم‌آبی می‌شود. این تیمار با تأثیر بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، محتوای آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی و جلوگیری از تخریب رنگیزه‌های فتوسنتزی موجب کاهش خسارت واردشده به ساختار غشای سلولی و کاهش معنادار نشت یونی در سلول‌های گیاهی تحت شرایط تنش کم‌آبی می‌شود. در نهایت، کاربرد هیومیک‌اسید می‌تواند به حفظ عملکرد و برخی پاسخ‌های فیزیولوژیکی گیاه رازیانه تحت شرایط کم‌آبی کمک کند. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده، به‌منظور حفظ کمیت و کیفیت محصول تولیدشده، کاربرد تیمار ۱/۵ کیلوگرم در هکتار هیومیک‌اسید برای کشت گیاه رازیانه در مناطقی که با مشکل کمبود آب مواجه هستند، به‌عنوان راهکاری مؤثر و امیدبخش قابل توصیه است.

References

Abdelkader, M.A.I., El-Sayed, S.A., Abd El-Rahman, S.S., and Hassan, H.S.A., 2023. Response of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) to humic acid application: Growth, mineral nutrition, photosynthetic pigments, and productivity. Horticulturae. 9, 1186. https://doi.org/10.3390/horticulturae9111186

Ahmadian, M., Pessarakli, M., Habibi, D., and Mohammadi, G., 2023. Effects of humic acid and fulvic acid on growth, seed yield, and physiological characteristics of sunflower (*Helianthus annuus* L.) under drought stress. Journal of Plant Nutrition. 46, 4345–4361. https://doi.org/10.1080/01904167.2023.2204182

Akladious, S.A., Mohamed, H.I., and El-Metwally, M.A., 2022. Humic acid enhances drought tolerance in tomato by improving antioxidant defense and physiological performance. Journal of Plant Growth Regulation. 43, 23-53.

Allen, R.G., Pereira, L.S., Raes, D., and Smith, M., 1998. Crop evapotranspiration: Guidelines for computing crop water requirements (FAO Irrigation and Drainage Paper No. 56). Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.

Altaf, M.A., Shahid, R., Ren, M.X., Naz, S., and Shahid, S., 2023. Drought stress affects growth, physiology and fruit yield of pepper (*Capsicum annuum* L.): A review. Horticulturae. 9, 679. https://doi.org/10.3390/horticulturae9060679

AOAC International, 2019. Official Methods of Analysis of AOAC International. 21st ed. AOAC International, Gaithersburg, MD, USA.

Arnon, D.I., 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts: Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiology. 24(1), 1–15.

Baldi, E., Toselli, M., Quartieri, M., Marcolini, G., and Sorrenti, G., 2023. Humic substances improve soil physical properties, water infiltration, water retention, and crop performance: A review. Agronomy. 13, 2275. https://doi.org/10.3390/agronomy13092275

Barrs, H.D., and Weatherley, P.E., 1962. A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficits in leaves. Australian Journal of Biological Sciences. 15, 413–428. https://doi.org/10.1071/BI9620413

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. https://doi.org/10.1007/BF00018060

Behzadi, Y., Salehi, A., Dehnavi, M.M., and Balouchi, H., 2023. Improvement of biochemical and antioxidant responses of borage (*Borago officinalis* L.) under drought stress conditions with the use of vermicompost and zinc sulfate. Plant Physiology and Molecular Biology of Plants. 29, 1881–1896. https://doi.org/10.1007/s12298-023-01363-z

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., and Berset, C., 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT - Food Science and Technology. 28, 25–30. https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5

Brito, C., Silva, S., Dias, M.C., Pinto, G., and Correia, C., 2023. Plant biostimulants as a sustainable strategy to improve plant tolerance to abiotic stress. Plants. 12, 1102. https://doi.org/10.3390/plants12051102

Calvo, P., Nelson, L., and Kloepper, J.W., 2014. Agricultural uses of plant biostimulants. Plant and Soil. 383, 3–41. https://doi.org/10.1007/s11104-014-2131-8

Canellas, L.P., and Olivares, F.L., 2014. Physiological responses to humic substances as plant growth promoter. Chemical and Biological Technologies in Agriculture. 1, 3. https://doi.org/10.1186/2196-5641-1-3

Canellas, L.P., Olivares, F.L., Aguiar, N.O., Jones, D.L., Nebbioso, A., Mazzei, P., and Piccolo, A., 2024. Humic and fulvic acids as plant biostimulants: Mechanisms of action and agronomic applications. Scientia Horticulturae. 336, 113506. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2024.113506

Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M., and Chern, J.C., 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Journal of Food and Drug Analysis. 10, 178–182.

de Azevedo, I.G., Canellas, L.P., Olivares, F.L., Baldotto, L.E.B., and Baldotto, M.A., 2024. Humic substances as plant biostimulants: Advances in mechanisms of action and agricultural applications. Journal of Plant Growth Regulation. 43, 1885–1903. https://doi.org/10.1007/s00344-023-11066-9

Elansary, H.O., Yessoufou, K., Mahmoud, E.A., and El-Ansary, D.O., 2020. Humic acid improves growth, antioxidant activity and drought tolerance of basil (*Ocimum basilicum*). Horticulturae. 32, 54-56.

Ertani, A., Francioso, O., Tinti, A., Schiavon, M., Pizzeghello, D., and Nardi, S., 2018. Evaluation of seaweed extracts from Laminaria and *Ascophyllum nodosum* spp. as biostimulants in Zea mays L. using a combination of chemical, biochemical and morphological approaches. Frontiers in Plant Science. 9, 428. https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00428

Ghazal, M., Ali, E.F., Hassan, F.A.S., and Elkelish, A., 2024. Drought stress impairs growth, yield, and fruit quality of tomato (*Solanum lycopersicum* L.): Physiological responses and mitigation strategies. Scientia Horticulturae. 334, 113356. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2024.113356

Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M.H.M.B., Zulfiqar, F., Raza, A., Mohsin, S.M., Mahmud, J.A., Fujita, M., and Fotopoulos, V., 2020. Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: Revisiting the crucial role of a universal defense regulator. Antioxidants. 9, 681. https://doi.org/10.3390/antiox9080681

Jafarie, S.M., Akbari-Alavijeh, S., Ahmadian-Kouchaksaraei, Z., Lorenzo, J.M., and Munekata, P.E.S., 2023. Exploring fennel (*Foeniculum vulgare*): Composition, functional properties, potential health benefits, and safety. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 64, 6924–6941. https://doi.org/10.1080/10408398.2023.2176817

Jannin, L., Arkoun, M., Ourry, A., Laîné, P., Goux, D., Garnica, M., Fuentes, M., San Francisco, S., Baigorri, R., Cruz, F., Houdusse, F., Garcia-Mina, J.M., Yvin, J.C., and Etienne, P., 2012. Microarray analysis of humic acid effects on Brassica napus growth: Involvement of N, C and S metabolisms. Plant and Soil. 359, 297–319. https://doi.org/10.1007/s11104-012-1191-x

Karakurt, Y., Unlu, H., Unlu, H., and Padem, H., 2009. The influence of foliar and soil fertilization of humic acid on yield and quality of pepper (*Capsicum annuum* L.). Acta Agriculturae Scandinavica, Section B – Soil & Plant Science. 59, 233–237. https://doi.org/10.1080/09064710802022952

Khalilpour, H., Bakhshandeh, E., and Aghaalikhani, M., 2023. Humic substances alleviate drought-induced oxidative damage by improving antioxidant defense and membrane stability in horticultural crops. Plants. 12, 1847.

Lichtenthaler, H.K., 1987. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. Methods in Enzymology. 148, 350–382. https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1

Lutts, S., Kinet, J.M., and Bouharmont, J., 1996. NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. Annals of Botany. 78, 389–398. https://doi.org/10.1006/anbo.1996.0134

Mahdavi, A., Ghorbanpour, M., and Varma, A., 2023. Morphophysiological and biochemical responses of basil (*Ocimum basilicum* L.) to drought stress. Plants. 12, 1658. https://doi.org/10.3390/plants12081658

Marković, T., Šojić, B., Ikonić, P., Tomović, V., Škaljac, S., and colleagues, 2024. Fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) essential oil: The chemical profile, biological activity, and utilization of the commercial products. Food Bioscience. 61, 104901. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2024.104901

Medrano, H., Tomás, M., Martorell, S., Flexas, J., Hernández, E., Rosselló, J., Pou, A., Escalona, J.M., and Bota, J., 2015. From leaf to whole-plant water use efficiency under drought: A review. Plant Science. 236, 220–228.

Nardi, S., Pizzeghello, D., Schiavon, M., and Ertani, A., 2023. Plant biostimulants: Physiological responses induced by humic substances and other organic compounds for improving crop productivity and quality. Journal of Plant Growth Regulation. 42, 4889–4910. https://doi.org/10.1007/s00344-022-10774-0

Nardi, S., Schiavon, M., and Francioso, O., 2021. Chemical structure and biological activity of humic substances define their role as plant growth promoters. Molecules. 26, 2256. https://doi.org/10.3390/molecules26082256

Olaetxea, M., De Hita, D., García, C.A., Fuentes, M., Baigorri, R., Mora, V., Garnica, M., Urrutia, O., Erro, J., Zamarreño, A.M., and García-Mina, J.M., 2018. Hypothetical framework integrating the main mechanisms involved in the promoting action of rhizospheric humic substances on plant root- and shoot-growth. Applied Soil Ecology. 123, 521–537.

Paim, B.T., Crizel, R.L., Siebeneichler, J.T., Rodrigues, V.R., Rombaldi, C.V., and Galli, V., 2020. Mild drought stress has potential to improve lettuce yield and quality. Scientia Horticulturae. 272, 109578.

Pannico, A., El-Nakhel, C., Kyriacou, M.C., Giordano, M., Stazi, S.R., De Pascale, S., Colla, G., and Rouphael, Y., 2021. Biostimulants improve antioxidant

status and stress tolerance in lettuce under water deficit. Scientia Horticulturae. 12634, 243.

Petropoulos, S.A., Fernandes, Â., Vasileios, A., and Barros, L., 2022. Nutritive and phytochemical composition of aromatic microgreen herbs and spices belonging to the Apiaceae family. Plants. 11, 3057. https://doi.org/10.3390/plants11223057

Rady, M.M., Desoky, E.M., El-Maati, M.F.A., and Semida, W.M., 2023. Drought stress reduces growth, yield and fruit quality of melon (*Cucumis melo* L.): Physiological insights and management strategies. Agricultural Water Management. 286, 108396. https://doi.org/10.1016/j.agwat.2023.108396

Rouphael, Y., and Colla, G., 2020. Biostimulants in agriculture. Frontiers in Plant Science. 11, 40. https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00040

Rouphael, Y., and Kyriacou, M.C., 2022. Biostimulants in horticulture: Scientific advances and future perspectives. Horticulturae. 8, 1024. https://doi.org/10.3390/horticulturae8111024

Schiavon, M., Ertani, A., Nardi, S., and Pizzeghello, D., 2023. Humic substances enhance soil water retention and plant drought tolerance through improvements in soil physical properties and plant physiological responses. Journal of Plant Growth Regulation. 42, 4331–4348. https://doi.org/10.1007/s00344-022-10745-5

Seleiman, M.F., Al-Suhaibani, N., Ali, N., Akmal, M., Alotaibi, M., Refay, Y., Dindaroglu, T., Abdul-Wajid, H.H., and Battaglia, M.L., 2021. Drought stress impacts on plants and different approaches to alleviate its adverse effects. Plants. 10, 259. https://doi.org/10.3390/plants10020259

Shaaban, M., El-Sayed, H.M., El-Naggar, A., Rizwan, M., and Rinklebe, J., 2024. Humic substances improve water use efficiency, physiological performance, and drought tolerance of maize (Zea mays L.) under water deficit conditions. Agricultural Water Management. 294, 108725. https://doi.org/10.1016/j.agwat.2024.108725

Silletti, S., Caradonia, F., Puglisi, E., Nardi, S., and Rouphael, Y., 2021. Biostimulant-mediated enhancement of plant tolerance to abiotic stresses: Physiological and molecular aspects. Agronomy. 11, 2224. https://doi.org/10.3390/agronomy11112224

Singleton, V.L., Orthofer, R., and Lamuela-Raventós, R.M., 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. Methods in Enzymology. 299, 152–178. https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1

Trevisan, S., Francioso, O., Quaggiotti, S., and Nardi, S., 2010. Humic substances biological activity at the plant–soil interface: From environmental aspects to molecular factors. Plant Signaling & Behavior. 5, 635–643. https://doi.org/10.4161/psb.5.6.11211

Yildirim, E., Ekinci, M., Turan, M., and Dursun, A., 2024. Growth, physiological responses and fruit yield of watermelon (*Citrullus lanatus*) under drought stress. Scientia Horticulturae. 329, 112964. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2024.112964

Zandalinas, S.I., Fichman, Y., Devireddy, A.R., Sengupta, S., Azad, R.K., and Mittler, R., 2023. Systemic and local responses of plants to abiotic and biotic stresses: The role of stress intensity, duration, developmental stage, and species specificity. Plant, Cell & Environment. 46, 2843–2862. https://doi.org/10.1111/pce.14652