

## اثر تنش خشکی و اسیدهیومیک بر صفات مورفولوژیک، عملکرد و میزان آنتوسیانین چای ترش (*Hibiscus sabdarifa* L.)

مژگان سنجری<sup>1\*</sup>، علیرضا سیروس مهر<sup>2</sup> و براتعلی فاخری<sup>3</sup>

تاریخ دریافت: 1393/03/04

تاریخ پذیرش: 1393/08/19

سنجری، م، سیروس مهر، ع.ر.، و فاخری، ب.ع. 1395. اثر تنش خشکی و اسیدهیومیک بر صفات مورفولوژیک، عملکرد و میزان آنتوسیانین چای ترش (*Hibiscus sabdarifa* L.). نشریه بوم‌شناسی کشاورزی، 8(3): 346-358.

### چکیده

به منظور مطالعه اثر تنش خشکی و اسیدهیومیک بر صفات مورفولوژیک، عملکرد و میزان آنتوسیانین چای ترش (*Hibiscus sabdarifa* L.)، آزمایشی در مرکز آموزش کشاورزی جیرفت در سال 1392 به صورت طرح کرت‌های خرد شده در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. تیمارهای مورد بررسی شامل تنش خشکی در سه سطح به صورت آبیاری پس از 50، 100 و 150 میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر کلاس آ به عنوان عامل اصلی و مصرف اسیدهیومیک به صورت شاهد (عدم مصرف)، یک‌بار مصرف همراه با آبیاری، یک‌بار مصرف همراه با آبیاری و یک‌بار محلول‌پاشی، یک‌بار مصرف همراه با آبیاری و دو بار محلول‌پاشی به عنوان عامل فرعی در نظر گرفته شدند. اسیدهیومیک جهت آبیاری و محلول‌پاشی به ترتیب با غلظت 10 کیلوگرم در هکتار و 250 سی‌سی در 100 لیتر آب استفاده شد. تنش خشکی و اسیدهیومیک اثر معنی‌داری بر پارامترهای رشدی، عملکرد رویشی و زایشی (کاسبرگ) و میزان آنتوسیانین داشت. با افزایش تنش خشکی ارتفاع بوته، طول گل‌آذین، تعداد شاخه فرعی، قطر ساقه، وزن تر و خشک بوته، وزن تر و خشک کاسبرگ کاهش نشان داد و میزان آنتوسیانین افزایش یافت. همچنین بیشترین میزان صفات مذکور از سطح چهارم اسیدهیومیک حاصل شد. اثر متقابل تنش خشکی و اسیدهیومیک بر تعداد شاخه فرعی، وزن تر و خشک بوته در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. بیشترین میزان این صفات مربوط به تیمار سطح اول تنش و سطح چهارم اسیدهیومیک بود. به طور کلی، اسیدهیومیک موجب تعدیل اثرات مضر تنش خشکی در گیاه دارویی چای ترش شد.

واژه‌های کلیدی: عملکرد کاسبرگ، کمبود آب، کود زیستی، گیاه دارویی

### مقدمه

کمبود آب از مهم‌ترین عوامل محیطی کاهش رشد و عملکرد بسیاری از گیاهان زراعی، باغی و دارویی، به خصوص در مناطق خشک و نیمه‌خشک دنیا است (Heidari et al., 2006). در گیاهان دارویی تنش خشکی باعث افزایش ماده مؤثره آن‌ها می‌شود. گیاه پروانش (*Catharanthus roseus* L.) به دلیل افزایش مواد مؤثره مخصوصاً آلکالوئید آجمالین در مناطق کم آب توصیه شده است (Jaleel et al., 2008). اما در برخی گونه‌ها هم مثل مرزنجوش مکزیکی (*Lippia berlandieris* L.) تغییری در میزان مواد مؤثره در شرایط تنش آبی مشاهده نشده است (Dunford & Vazquez, 2005). تنش خشکی باعث افزایش میزان تیمول موجود در اسانس گیاه دارویی آویشن (*Thymus vulgaris* L.) شد (Babae et al., 2010). همچنین فعالیت آنزیم فنیل آلانین

چای ترش (*Hibiscus sabdariffa* L.) متعلق به خانواده پنیرک<sup>4</sup> است، بومی آفریقا بوده و در تمام مناطق استوایی و گرم کشت می‌شود (Howard & Howard, 1911) و به عنوان گیاه دارویی مورد توجه است (Aziz et al., 2007). از کاسبرگ این گیاه برای درمان فشار خون بالا، اسهال، بیماری دهان و درمان اسکوریبت (کمبود ویتامین ث) استفاده می‌شود (Milena et al., 2012).

1، 2 و 3- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد گیاهان دارویی، گروه باغبانی، استادیار، گروه زراعت و دانشیار، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل  
\* - نویسنده مسئول: (Email: sanjarimojgan@yahoo.com)

### مواد و روش‌ها

این تحقیق در مزرعه تحقیقاتی مرکز آموزش کشاورزی شهید دهقان‌پور جیرفت در بهار سال 1392، به صورت طرح کرت‌های خرد شده در قالب بلوک کامل تصادفی با سه تکرار به اجرا در آمد. نتایج حاصل از تجزیه شیمیایی خاک محل آزمایش قبل از کاشت در جدول 1 آورده شده است.

تیمارها شامل تنش خشکی در سه سطح به عنوان عامل اصلی به صورت آبیاری پس از 50، 100 و 150 میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر کلاس آ و مصرف اسیدهیومیک در چهار سطح به عنوان عامل فرعی شامل (شاهد یا عدم مصرف اسیدهیومیک، یک‌بار همراه با آبیاری، یک‌بار همراه با آبیاری و یک‌بار محلول‌پاشی، یک‌بار همراه با آبیاری و دوبار محلول‌پاشی) در نظر گرفته شدند. اسیدهیومیک جهت آبیاری و محلول‌پاشی به ترتیب با غلظت 10 کیلوگرم در هکتار و 250 سی‌سی در 100 لیتر آب بر اساس دستورالعمل تولیدکننده به کرت‌های مربوطه داده شد. زمین مورد نظر در پاییز شخم و در بهار دیسک زده شد، سپس کرت‌های مورد آزمایش (با ابعاد 4×3 متر) مشخص گردید. بذور گیاه چای‌ترش در فروردین ماه در جعبه نشا حاوی ماسه و خاک‌برگ کشت شدند و در مرحله چهار برگی در اواسط اردیبهشت ماه به زمین اصلی منتقل و با فاصله بین و روی ردیف 60 سانتی-متری کشت شدند. در همین زمان اسیدهیومیک همراه با آب آبیاری در یک نوبت به گیاهان داده شد. همه کرت‌های مورد آزمایش تا رسیدن گیاه به ارتفاع 40 سانتی‌متری (در مرحله رشد رویشی گیاه) به صورت یکسان آبیاری گردید. سپس تیمارهای تنش خشکی اعمال گردید. برای تعیین زمان آبیاری از تشت تبخیر کلاس آ استفاده شد. اسیدهیومیک به صورت محلول‌پاشی در دو نوبت، یک مرحله قبل از تغییر رنگ ساقه گیاه از سبز به قرمز در اوایل شهریور ماه و بار دیگر قبل از گلدهی به گیاه داده شد. در اواخر مهرماه که مصادف با پایان گلدهی بود، صفاتی نظیر ارتفاع بوته، طول بزرگ‌ترین گل‌آذین، تعداد شاخه‌های جانبی، قطر ساقه (در قسمت زیرین انشعابات فرعی)، وزن تر و خشک بوته، وزن تر و خشک کاسبرگ، مورد بررسی قرار گرفت. برای سنجش آنتوسیانین کاسبرگ از روش واگنر (Wagner, 1979) استفاده شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نسخه 9/1 نرم‌افزار آماری SAS و برای انجام مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد استفاده شد.

آمونیا لایز<sup>1</sup> (PAL) شدیداً تحت تأثیر شرایط محیطی قرار می‌گیرد و منجر به تجمع فلاونول‌ها و مشتقات آن‌ها می‌شود (Solar et al., 2006). در انیسون (*Pimpinella anisum L.*) تنش خشکی فعالیت آنزیم PAL و میزان آنتوسیانین را افزایش داد (Asadi Kavan et al., 2006).

با توجه به ملاحظات زیست‌محیطی، اخیراً استفاده از انواع اسیدهای آلی برای بهبود کمی و کیفی محصولات زراعی و باغی رواج فراوان یافته است. اسیدهیومیک از منابع مختلف نظیر خاک، هوموس، پیت، لیگنیت اکسید شده، زغال سنگ و غیره استخراج می‌شود (Sebahattin & Necdet, 2005). در ارتباط با اثرات مفید ترکیبات هیومیکی به افزایش رشد گیاهان گزارش شده است که غلظت‌های کم (60-50 میلی‌گرم بر لیتر) اسیدهیومیک رشد گیاه را به طور معنی‌داری افزایش می‌دهد (Xuenyanet et al., 2001). کاربرد کمپوست یا محلول‌پاشی اسیدهیومیک روی گیاه چای‌ترش سبب افزایش ارتفاع بوته، قطر ساقه، تعداد شاخه فرعی در بوته، وزن تر و خشک برگ و شاخه در بوته، تعداد میوه، وزن تر و خشک کاسبرگ‌ها، عملکرد بذر در بوته و مقدار کل آنتوسیانین گردید (Ahmad et al., 2011). همچنین، محلول‌پاشی اسیدهیومیک روی گیاه چای‌ترش سبب بهبود رشد ریشه و منجر به جذب بالاتر مواد و عناصر غذایی توسط ریشه شده است (Guvence et al., 1999). همچنین مطالعات نشان داده است که کاربرد اسیدهیومیک روی توتون (*Nicotiana tabacum L.*) و گیاهان دارویی موجب زیاد شدن میزان آلکالوئید در برگ‌ها می‌شود (Tan, 2003). اسیدهیومیک می‌تواند درجه باز بودن روزنه‌های برگ را برای کم کردن تبخیر آب کاهش دهد به طوری که گیاهان و خاک با نگه داشتن مقدار آب نسبت به خشکی و سرما مقاوم می‌شوند. اسیدهیومیک حاصل از هوموس و سایر منابع طبیعی و باکتری‌های محرک رشد از طریق اثرات هورمونی و بهبود جذب عناصر غذایی جهت بالا بردن عملکرد به خصوص در شرایط تنش می‌تواند مؤثر باشد (Sabzevari et al., 2009).

با توجه به موارد ذکر شده هدف از انجام این تحقیق بررسی اثر تنش خشکی و اسیدهیومیک بر خصوصیات مورفولوژیک، عملکرد و مقدار آنتوسیانین گیاه چای‌ترش بوده است.

جدول 1- مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک محل اجرای آزمایش (عمق 0-30 سانتی متر)

بافت Texture	هدایت الکتریکی (دسی- زیمنس برمتر) EC (dS.m <sup>-1</sup> )	اسیدیته pH	کربن آلی (درصد) OC (%)	نیترژن کل (درصد) Total N (%)	فسفر (پی پی ام) P (ppm)	پتاسیم (پی پی ام) K (ppm)
شنی - لومی Sandy-loam	1.38	7	0.031	0.014	6.7	138

## تعداد شاخه فرعی

نتایج تجزیه واریانس (جدول 2) نشان داد که تنش خشکی، اسیدهیومیک و اثرات متقابل این دو تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بر تعداد شاخه فرعی در گیاه چای‌ترش داشته است. مقایسه میانگین اثرات متقابل (جدول 6) نشان داد که بیشترین تعداد شاخه فرعی (9/63) از تیمار آبیاری پس از 50 میلی‌متر تبخیر و تیمار یک‌بار کاربرد اسیدهیومیک توأم با آبیاری و دوبار محلول‌پاشی به دست آمد. اسیدهیومیک با اصلاح خاک و بهبود دانه‌بندی آن فضای بیشتری برای نفوذ آب در خاک ایجاد می‌کند، به علاوه با تشکیل پیوند با مولکول‌های آب، تا حدود زیادی مانع از تبخیر آب از خاک می‌شوند. از این رو می‌توانند در شرایط تنش رطوبتی، باعث رشد بیشتر گیاه شود. از این‌ها گذشته مولکول‌های فولیک‌اسید (بخش ریزمولکول از هیومیک‌اسید) که به درون بافت‌های گیاهی نفوذ می‌کنند، با پیوند شدن به مولکول‌های آب تعریق و تعرق گیاه را کاهش داده به حفظ آب در درون گیاه کمک می‌کنند (Mirhajian, 2012). در نتیجه باعث افزایش تعداد شاخه فرعی که یکی از شاخص‌های رشد و توسعه گیاه است می‌شوند.

## قطر ساقه

تفاوت میان تیمارهای مختلف آبیاری در قطر ساقه چای‌ترش نیز معنی‌دار بود (جدول 2). بیشترین قطر در تیمار 50 میلی‌متر تبخیر (25/09 میلی‌متر) و کمترین آن در تیمار 150 میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر (15/86 میلی‌متر) بود (جدول 3). قطر ساقه نیز مانند ارتفاع بوته تحت تأثیر تقسیم و بزرگ شدن سلولی در شرایط تنش کمبود آب است. این مسئله احتمالاً نتیجه اختلال در فتوسنتز، تعرق، فرآیندهای متابولیسم گیاه و غیره است (Sarker et al., 2005; Jones & Tardieu, 1998). در مطالعه‌ای تأثیر تنش خشکی بر ساقه‌های مریم‌گلی (*Salvia officinalis* L.) سبب نازک‌تر و

## نتایج و بحث

## ارتفاع بوته

نتایج تجزیه واریانس حکایت از تأثیر معنی‌دار سطوح تنش خشکی بر ارتفاع بوته و طول بزرگ‌ترین گل‌آذین داشت (جدول 2). در تیمار آبیاری پس از 50 میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر کلاس آ ارتفاع بوته (162/58 سانتی‌متر) و طول بزرگ‌ترین گل‌آذین (112/58 سانتی‌متر) نسبت به تنش شدید به ترتیب 19 و 47 درصد افزایش داشت (جدول 3). علت کاهش ارتفاع، کاهش فشار تورژانس و متعاقب آن کاهش تقسیم و بزرگ شدن سلولی در شرایط تنش خشکی می‌باشد (Cabuslay et al., 2002). کاهش در ارتفاع را به موازات تنش خشکی می‌توان به اختلال در فتوسنتز به واسطه تنش خشکی و کاهش تولید مواد فتوسنتزی جهت ارائه به بخش‌های در حال رشد گیاه و در نهایت عدم دستیابی گیاه به پتانسیل ژنتیکی از نظر ارتفاع دانست.

ارتفاع بوته و طول بزرگ‌ترین گل‌آذین به طور معنی‌داری تحت تأثیر اسیدهیومیک قرار گرفت (جدول 2) و بیشترین میزان آن به ترتیب 153/65 و 98/36 سانتی‌متر در تیمار یک‌بار کاربرد اسیدهیومیک توأم با آبیاری و دو بار محلول‌پاشی بود، که نسبت به شاهد به ترتیب 11 و 10 درصد افزایش داشت (جدول 3). روسو و برلیان (Russo & Berlyn, 1990) گزارش کردند که کاربرد اسیدهیومیک موجب کاهش تنش گیاهی و افزایش جذب مواد غذایی و تحریک فعالیت هورمون‌های رشد می‌شود. این مواد مکانیسم‌هایی برای رشد طولی گیاهان دارند. وجود ترکیبات شبه هورمونی از جمله ترکیبات اکسینی (Atiyeh et al., 2002) و ترکیبات شبه جیبرلین (Nardi et al., 2002) در اسیدهیومیک می‌توانند رشد سلول‌ها را تحت تأثیر قرار دهند. احتمالاً هیومیک با تأثیر بر غشا سلول و رشد آن بر افزایش ارتفاع بوته و ارتفاع گل‌آذین با گذشت زمان مؤثر بوده است.

اسیدهیومیک سبب افزایش قطر و ارتفاع گیاه منداب (*Eruca sativa*) شد (L. Albayrak & Camas, 2005). مقادیر بسیار کم اسیدهیومیک اثر قابل ملاحظه‌ای بر بهبود ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی و بیولوژیکی خاک داشته و به دلیل وجود ترکیبات هورمونی اثرات مفیدی بر شاخص‌های رویشی و زایشی محصولات کشاورزی دارد (Samavat & Malakuti, 2005). بنابراین، می‌توان گفت اسیدهیومیک با افزایش جذب آب و مواد غذایی موجب بهبود رشد و توسعه قطر ساقه چای ترش شده است.

### وزن تر و خشک بوته

نتایج تجزیه واریانس (جدول 4) نشان می‌دهد که اثر متقابل تنش خشکی و اسیدهیومیک بر وزن تر و خشک بوته معنی‌دار بود. در تیمار آبیاری پس از 50 میلی‌متر تبخیر و یک‌بار کاربرد اسیدهیومیک توأم با آبیاری و دو بار محلول‌پاشی بیشترین وزن تر و خشک بوته به دست آمد (جدول 6).

خشک‌تر شدن آن شده است (Bettaieb et al., 2009).

مصرف اسیدهیومیک اثر معنی‌داری بر قطر ساقه چای‌ترش داشت (جدول 2). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که تیمار یک‌بار کاربرد اسیدهیومیک توأم با آبیاری و دوبار محلول‌پاشی بیشترین تأثیر را بر قطر ساقه (20/75 میلی‌متر) داشت که اختلاف معنی‌داری با سطوح دوم و سوم این کود مشاهده نشد، اما نسبت به شاهد 14 درصد افزایش داشت. نتایج تجزیه واریانس (جدول 2) نشان می‌دهد که اثر متقابل تنش خشکی و اسیدهیومیک بر قطر ساقه معنی‌دار نبود. کاربرد اسیدهیومیک در افزایش قطر ساقه طی تنش خشکی مؤثر بوده است. اختلاف معنی‌داری بین سطوح اسیدهیومیک با یکدیگر وجود نداشت تنها با شاهد دارای اختلاف معنی‌دار بود که احتمالاً به علت اثر محسوس کاربرد خاکی اسیدهیومیک بر صفت مذکور بوده است (جدول 3). در مطالعه‌ای کاربرد اسیدهیومیک در خاک موجب افزایش طول هیپوکوتیل، قطر ساقه، طول ساقه، وزن خشک و میزان عناصر غذایی و همچنین عملکرد گیاه فلفل دلمه‌ای (*Capsicum annum*) شد (L. Turkmen et al., 2005). در مطالعه دیگری کاربرد

جدول 2- تجزیه واریانس اثرات تنش خشکی و اسیدهیومیک بر ارتفاع بوته، طول بزرگ‌ترین گل‌آذین، تعداد شاخه فرعی و قطر ساقه چای ترش  
Table 2- Variance analysis for the effect of humic acid and drought stress on plant height, inflorescence length, number of branches and stem diameter of roselle

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	ارتفاع بوته Plant height	طول گل‌آذین Inflorescence length	تعداد شاخه فرعی Number of branches	قطر ساقه Stem diameter
تکرار Replication	2	290.01	322.37	3.08	18.31
تنش خشکی (A) Drought stress (A)	2	2273.70**	3960.15**	18.54**	261.07**
تنش خشکی×تکرار Drought stress× Replication	4	469.72	295.03	1.11	4.92
اسید هیومیک (B) Humic acid (B)	3	480.10*	172.44**	4.82**	15.87**
تنش خشکی×اسیدهیومیک (A×B)	6	60.60 <sup>ns</sup>	26.50 <sup>ns</sup>	0.40**	1.57 <sup>ns</sup>
خطا Error	18	94.99	25.50	0.06	0.69
ضریب تغییرات (درصد) CV (%)	-	6.60	5.32	3.15	4.13

\*\*، \* و ns: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال یک و پنج درصد و غیر معنی‌دار

\*\* , \* and ns: Are significant at 1 and 5% levels of probability and non-significant, respectively.

جدول 3- اثرات تنش خشکی و اسیدهیومیک بر ارتفاع بوته، طول بزرگ‌ترین گل‌آذین، تعداد شاخه فرعی و قطر بوته چای ترش  
 Table 3- Effect of drought stress and humic acid on plant height, inflorescence length, number of branches and stem diameter of roselle

تیماژ Treatment	سطوح Levels	ارتفاع بوته (سانتی‌متر) Plant height (cm)	طول گل‌آذین (سانتی‌متر) Inflorescence length (cm)	تعداد شاخه فرعی Number of branches	قطر ساقه (میلی‌متر) Stem diameter (mm)
تنش خشکی (میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر) Drought stress (mm evaporation of evaporation basin)	50	162.58 <sup>a*</sup>	112.58 <sup>a</sup>	9.19 <sup>a</sup>	25.09 <sup>a</sup>
	100	144.57 <sup>ab</sup>	95.65 <sup>b</sup>	8.41 <sup>b</sup>	19.30 <sup>b</sup>
	150	135.54 <sup>c</sup>	76.28 <sup>c</sup>	6.57 <sup>c</sup>	15.86 <sup>c</sup>
هیومیک اسید Humid acid	شاهد Control	137.70 <sup>b</sup>	88.99 <sup>b</sup>	7.28 <sup>d</sup>	18.10 <sup>b</sup>
	یک‌بار با آبیاری Once irrigation	146.46 <sup>ab</sup>	93.98 <sup>b</sup>	7.82 <sup>c</sup>	20.60 <sup>a</sup>
	یک‌بار با آبیاری و یک‌بار محلول‌پاشی Once irrigation and once spraying	152.49 <sup>a</sup>	98.02 <sup>a</sup>	8.38 <sup>b</sup>	20.89 <sup>a</sup>
	یک‌بار با آبیاری و دو‌بار محلول‌پاشی Once irrigation and twice spraying	153.65 <sup>a</sup>	98.36 <sup>a</sup>	8.98 <sup>a</sup>	20.75 <sup>a</sup>

\* اعداد دارای حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار نیستند.

\* Means in each column, followed by similar letters are not significantly different at the 5% probability level- using Dancan test.

وزن تر و خشک کاسبرگ را داشت (جدول 4). همچنین با شدیدتر شدن تنش از میزان این دو کاسته شد. اثرات متقابل تنش و اسیدهیومیک بر این دو معنی‌دار نبود (جدول 4). با افزایش شدت تنش وزن تر و خشک کاسبرگ نسبت به شاهد کاهش نشان داد. برای به وجود آمدن کپسول به تبع آن افزایش وزن کاسبرگ، گیاه نیاز به رشد رویشی مناسب و تولید اندام‌های تشکیل‌دهنده آن در مراحل مختلف رشد رویشی و زایشی دارد. تأثیر خشکی بر هر یک از اجزای عملکرد می‌تواند در نهایت منجر به تغییر در عملکرد کاسبرگ تولیدی در چای ترش شود. کاهش میزان عملکرد بر اثر افزایش خشکی مربوط به کاهش ارتفاع گیاه، کاهش سطح برگ و افزایش اختصاص مواد فتوسنتزی به ریشه نسبت به بخش هوایی گیاه است (Sreevalli et al., 2001). در این بررسی احتمالاً اسیدهیومیک با قرار دادن آب و مواد غذایی بیشتر و بهبود فعالیت متابولیکی، شیمیایی و فیزیکی خاک و در نهایت توسعه رشد رویشی و زایشی و تداوم

نتایج نشان می‌دهد که اسیدهیومیک اثرات تنش خشکی را کاهش داده و سبب افزایش جذب آب و مواد غذایی و در نتیجه باعث افزایش وزن تر و خشک بوته گردید. اسیدهیومیک رشد گیاهان را از طریق تغییر فیزیولوژی گیاه و با بهبود خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی خاک تغییر می‌دهد. با انجام یک آزمایش در شرایط کنترل شده مشخص شد که با کاربرد مواد هیومیکی وزن خشک عملکرد ذرت (*Zea mays L.*) و گیاهچه‌های یولاف (*Avena sativa L.*) افزایش معنی‌داری یافت (Shariff, 2002). مواد هیومیکی ممکن است اثرات ضدتنشی تحت شرایط تنش غیرزنده نشان دهند (Kulikova et al., 2005).

#### وزن تر و خشک کاسبرگ

اثرات ساده تنش و هیومیک بر وزن تر و خشک کاسبرگ معنی‌دار بود (جدول 5). تیمار آبیاری پس از 50 میلی‌متر تبخیر بیشترین

آنتوسیانین‌ها دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند (Hoekstra et al., 2001). و آنتی‌اکسیدان‌های فلاونوئیدی اثر محافظتی طی استرس خشکی دارند. همچنین افزایش سنتز این ترکیب‌ها در اثر محرک‌های متعدد محیطی نظیر حملات میکروبی، پرتوهای فرابنفش و تنش‌های فیزیکی و شیمیایی و محیطی گزارش شده است. به عنوان مثال، گزارش شده است که مقدار آنتوسیانین در *Bgonia semperflorens* L. در شرایط تنش افزایش یافته است. این افزایش به علت نقش حفاظت نوری آنتوسیانین به وسیله حذف مستقیم ROS<sup>1</sup> در طول تنش اکسیداتیو می‌باشد (Zhang et al., 2010).

اسیدهیومیک در این آزمایش به طور چشمگیری بر میزان آنتوسیانین در کاسبرگ چای ترش افزود (جدول 5). که یافته‌های این آزمایش با نتایج جندی و همکاران (Gendy et al., 2012) و احمد و همکاران (Ahmad et al., 2011) در چای ترش مطابقت دارد. این نتایج ممکن است به علت اثر اسیدهیومیک (مشقات ترکیب فنلی) به عنوان پیش ماده سنتز آنتوسیانین (ساختار فلاونوئید) باشد.

بافت‌های فتوسنتز کننده توانسته است، عملکرد کاسبرگ را افزایش دهد. کاربرد اسیدهیومیک به صورت محلول‌پاشی در گندم موجب افزایش 24 درصدی عملکرد در این گیاه شد (Delfine et al., 2005). اثر کمپوست با محلول‌پاشی اسیدهیومیک سبب افزایش تعداد میوه وزن تر و خشک کاسبرگ گردید (Ahmad et al., 2011).

### آنتوسیانین

میزان آنتوسیانین به طور معنی‌داری تحت تأثیر تنش خشکی و اسیدهیومیک قرار گرفت (جدول 4). بیشترین میزان ترکیب فنولی آنتوسیانین در سطوح تنش خشکی، از تیمارتنش شدید ( $0/38 \mu\text{mol.g}^{-1}$ ) (جدول 5). بیشترین میزان آنتوسیانین ( $0/49 \mu\text{mol.g}^{-1}$ ) به دست آمد که نسبت به شاهد 172 درصد افزایش داشت (جدول 5). یک‌بار کاربرد اسیدهیومیک توأم با آبیاری و دو بار محلول‌پاشی به دست آمد (جدول 5). آنتوسیانین‌ها جزئی از ترکیبات فنلی می‌باشند که گروه بزرگی از متابولیت‌های ثانویه را تشکیل می‌دهند.

جدول 4- تجزیه واریانس اثرات تنش خشکی و اسیدهیومیک بر وزن تر و خشک بوته، وزن تر و وزن خشک کاسبرگ و آنتوسیانین چای ترش  
Table 4- Analysis of variance for the effect humic acid and drought stress on fresh and dry weight plant, fresh and dry weight sepal and anthocyanin of roselle

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	وزن تر بوته Plant fresh weight	وزن خشک بوته Plant dry weight	وزن تر کاسبرگ Sepals fresh weight	وزن خشک کاسبرگ Sepals dry weight	آنتوسیانین Anthocyanin
تکرار Replication	2	314227378	16319611.8	4288.53	820.08	0.008
تنش خشکی (A) Drought stress (A)	2	197488016**	1082244474.3**	22311733.69**	618038.08**	0.27**
تنش خشکی×تکرار stress× replication	4	89674548	4778714.5	50390.15	1049.29	0.01
اسیدهیومیک (B) Humic acid (B)	3	311117101**	17283979.7**	124620.25**	28102.76**	0.009*
تنش خشکی×اسیدهیومیک (A×B)	6	57956595**	3299538.3**	181618.25 <sup>ns</sup>	5817.49 <sup>ns</sup>	0.0006 <sup>ns</sup>
خطا Error	18	9092051	436098	84895.50	3122.88	0.0022
ضریب تغییرات (درصد) CV (%)	-	4.29	4.16	5.59	6.35	13.84

\*\*, \* و ns: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال یک و پنج درصد و غیر معنی‌دار

\*\*, \* and ns: Are significant at 1 and 5% levels of probability and non-significant, respectively.

جدول 5- اثرات تنش خشکی و اسیدهیومیک بر وزن تر و خشک بوته، وزن تر و خشک کاسبرگ و آنتوسیانین چای ترش  
 Table 5- Effect of drought stress and humic acid on fresh and dry weight plant, fresh and dry weight sepals, and anthocyanin of roselle

تیمار Treatment	سطوح Levels	وزن تر بوته (کیلوگرم در هکتار) Fresh weight plant (kg.ha <sup>-1</sup> )	وزن خشک بوته (کیلوگرم در هکتار) Dry weight plant (kg.ha <sup>-1</sup> )	وزن تر کاسبرگ (کیلوگرم در هکتار) Fresh weight sepals (kg.ha <sup>-1</sup> )	وزن خشک کاسبرگ (کیلوگرم در هکتار) Dry weight sepals (kg.ha <sup>-1</sup> )	آنتوسیانین (میکرومول بر گرم) Anthocyanin (μmol.g <sup>-1</sup> )
تنش خشکی (میلی متر تبخیر از تشتک تبخیر)	50	84176 <sup>a</sup>	19589.5 <sup>a</sup>	6541.25 <sup>a</sup>	1100 <sup>a</sup>	0.18 <sup>b</sup>
	100	67625 <sup>b</sup>	15735.7 <sup>b</sup>	5266.33 <sup>b</sup>	891.17 <sup>b</sup>	0.35 <sup>a</sup>
Drought stress (mm evaporation of evaporation basin)	150	58923 <sup>b</sup>	13672.3 <sup>b</sup>	3816 <sup>c</sup>	646/58 <sup>c</sup>	0.49 <sup>a</sup>
	شاهد Control	64322 <sup>d</sup>	14972.7 <sup>d</sup>	481.3 <sup>b</sup>	824 <sup>b</sup>	0.31 <sup>c</sup>
	یکبار با آبیاری Once irrigation	67604 <sup>c</sup>	15663.6 <sup>c</sup>	5004.3 <sup>a</sup>	846.56 <sup>b</sup>	0.32 <sup>bc</sup>
	یکبار با آبیاری و یکبار محلول پاشی Once irrigation and once spraying	70977 <sup>b</sup>	16508.2 <sup>b</sup>	5368.3 <sup>a</sup>	903.44 <sup>a</sup>	0.36 <sup>ab</sup>
Humid acid	یکبار با آبیاری و دو بار محلول پاشی Once irrigation and twice spraying	78062 <sup>a</sup>	18185.6 <sup>a</sup>	5646 <sup>a</sup>	946 <sup>a</sup>	0.38 <sup>a</sup>

\* اعداد دارای حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد معنی دار نیستند.

\* In each column, followed by similar letter are not significantly different at the 5% probability level using Dancan test.

جدول 6- اثرات متقابل تنش خشکی و اسیدهیومیک بر تعداد شاخه فرعی، وزن تر و خشک بوته چای ترش  
 Table 6- Interaction effects drought stress and humic acid on number of branches, fresh and dry weight plant of roselle

تیمار Treatment	تعداد شاخه فرعی Number of branches	وزن تر بوته (کیلوگرم در هکتار) Plant fresh weight (kg.ha <sup>-1</sup> )	وزن خشک بوته (کیلوگرم در هکتار) Plant dry weight (kg.ha <sup>-1</sup> )
A <sub>1</sub> B <sub>1</sub>	8.13 <sup>cd</sup>	74338 <sup>cd</sup>	17280 <sup>cd</sup>
A <sub>1</sub> B <sub>2</sub>	8.63 <sup>bc</sup>	79229 <sup>bc</sup>	18421 <sup>bc</sup>
A <sub>1</sub> B <sub>3</sub>	9.36 <sup>b</sup>	84717 <sup>b</sup>	19686 <sup>b</sup>
A <sub>1</sub> B <sub>4</sub>	9.63 <sup>a</sup>	98420 <sup>a</sup>	22961 <sup>a</sup>
A <sub>2</sub> B <sub>1</sub>	7.60 <sup>efd</sup>	62072 <sup>ef</sup>	14480 <sup>ef</sup>
A <sub>2</sub> B <sub>2</sub>	8.10 <sup>cde</sup>	64948 <sup>ef</sup>	15010 <sup>ef</sup>
A <sub>2</sub> B <sub>3</sub>	8.83 <sup>bc</sup>	68506 <sup>cd</sup>	15928 <sup>ed</sup>
A <sub>2</sub> B <sub>4</sub>	9.13 <sup>b</sup>	74974 <sup>cd</sup>	17524 <sup>cd</sup>
A <sub>3</sub> B <sub>1</sub>	6.13 <sup>g</sup>	56556 <sup>f</sup>	13150 <sup>f</sup>
A <sub>3</sub> B <sub>2</sub>	6.73 <sup>ef</sup>	58634 <sup>f</sup>	13559 <sup>f</sup>
A <sub>3</sub> B <sub>3</sub>	6.96 <sup>ef</sup>	59707 <sup>ef</sup>	13910 <sup>ef</sup>
A <sub>3</sub> B <sub>4</sub>	7.20 <sup>ef</sup>	60793 <sup>ef</sup>	14070 <sup>ef</sup>

اعداد دارای حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد معنی دار نیستند.

level using Dancan test In each column, followed by similar letter are not significantly different at the 5% probability.

A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub> و A<sub>3</sub> به ترتیب معادل 50، 100 و 150 میلی متر تبخیر از تشتک تبخیر کلاس A و B<sub>1</sub>، B<sub>2</sub>، B<sub>3</sub> و B<sub>4</sub> به ترتیب نشان دهنده عدم مصرف اسیدهیومیک، اسیدهیومیک یکبار همراه با آب آبیاری، یکبار همراه با آب آبیاری و یکبار محلول پاشی، یکبار همراه با آب آبیاری و دوبار محلول پاشی  
 A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub> and A<sub>3</sub> are 50, 100, 150 mm evaporation from pan class A respectively, and B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub> and B<sub>4</sub> are no use, once with irrigation, once with irrigation+once spraying, and once with irrigation+twice spraying of humic acid, respectively.

جز آنتوسیانین همگی صفات دارای همبستگی مثبت و معنی دار

همبستگی بین صفات مورد مطالعه

هستند. همبستگی آنتوسیانین با صفات مورد بررسی منفی و معنی دار

ضرایب همبستگی صفات مورد مطالعه (جدول 7) نشان داد، به

جدول ۷- ضرایب همبستگی بین صفات مورد مطالعه چای ترش  
Table 7- Correlation coefficients between studied traits of roselle

صفات Treatmentd	ارتفاع بوته Plant height	طول گل آذین Inflorescence length	تعداد شاخه فرعی Number of branches	قطر ساقه Stem diameter	وزن تر بوته Plant fresh weight	وزن خشک بوته Plant dry weight	وزن تر کاسبرگ Sepals fresh weight	وزن خشک کاسبرگ Sepals dry weight	آنتوسیانین Antocyanin
ارتفاع بوته Plant height	1								
طول گل آذین Inflorescence length	0.87**	1							
تعداد شاخه فرعی Number of branches	0.69**	0.81**	1						
قطر ساقه Stem diameter	0.71**	0.82**	0.82**	1					
وزن تر بوته Plant fresh weight	0.66**	0.78**	0.92**	0.87**	1				
وزن خشک بوته Plant dry weight	0.66**	0.79**	0.93**	0.88**	0.99**	1			
وزن تر کاسبرگ Sepals fresh weight	0.69**	0.86**	0.83**	0.92**	0.85**	0.86**	1		
وزن خشک کاسبرگ Sepals dry weight	0.67**	0.87**	0.82**	0.91**	0.85**	0.85**	0.99**	1	
آنتوسیانین Antocyanin	-0.48**	-0.70**	-0.61**	-0.77**	-0.78**	-0.70**	-0.77**	-0.77**	1

\*\*\*: معنی دار در سطح احتمال یک درصد بر اساس آزمون دانکن

\*\*\*: Significant at the %1 level, according to Duncan test



این گیاه در شرایط تنش مختلف خشکی عکس‌العمل منحصر به فردی دارد، به طوری که در شرایط رطوبت کافی خاک، توانایی ژنتیکی بالایی جهت استفاده بهینه از پتانسیل محیط دارد. اگرچه تنش خشکی در سطح احتمال یک درصد بر کاهش عملکرد تأثیرگذار بود، و در شرایط تنش شدید از عملکرد آن تا حدودی کاسته شد، اما عملکرد آن قابل قبول است. از طرفی مصرف اسیدهیومیک با بهبود شرایط تغذیه‌ای گیاه در شرایط تنش آبی می‌تواند نقش مهمی در جهت کاهش خسارت‌های شرایط تنش‌زا داشته باشد و مهم‌تر آن‌که، جایگزینی کود آلی اسیدهیومیک به جای کودهای شیمیایی، نوید بخش کشاورزی پایدار و کاهش آلودگی‌های زیست‌محیطی در آینده می‌باشد.

آنتوسیانین یک ترکیب فلاونوئیدی است که خاصیت آنتی-اکسیدانی دارد و طی تنش‌های محیطی افزایش می‌یابد. آنزیم PAL در تشکیل فلاونوئیدها اثر مستقیم دارد (Cheng et al., 2005). فعالیت PAL برای ساختن آنتوسیانین‌ها الزامی است (Lister et al., 1996). فعالیت آنزیم PAL در مراحل نمو گیاه، تمایز سلولی و بافتی و شرایط استرس متفاوت است (Morello et al., 2005). همبستگی منفی آنتوسیانین با شاخص‌های رشد و عملکرد در این بررسی نشان از فعالیت متفاوت آنزیم PAL در هنگام رشد رویشی و تولید آنتوسیانین است.

## نتیجه‌گیری

## منابع

- Ahmad, Y.M., Shahlaby, E.A., and Shnan, N.T. 2011. The use of organic and inorganic cultures in improving vegetative growth, yield characters and antioxidant activity of roselle plants (*Hibiscus sabdariffa* L.). African Journal of Biotechnology 10(11): 1988-1996.
- Asadi Kavan, Z., Ghorbanli, M., and Sateei, A. 2010. The effect of drought stress and exogenous ascorbate on photosynthetic pigments, flavonoids, phenol compounds and lipid peroxidation in *Pimpinella anisum* L. Journal of Medicinal and Aromatic Plants 25(4): 456-469. (In Persian with English Summary)
- Atiyeh, R.M., Arancon, N., Edwards, C.A., and Metzger, J.D. 2002. The influence of humic acids derived from earthworm processed organic wastes on plant growth. Bioresource Technology 84(1): 7- 14.
- Aziz, E., Gad, N., and Badran, N.M. 2007. Effect of cobalt and nickel on plant growth, yield and flavonoids content of *Hibiscus sabdariffa* L. Australian Journal of Basic Applied Sciences 1(2): 73-78.
- Babae, K., Amini Dehaghi, M., Modares Sanavi, S.A.M., and Jabbari, R. 2010. Water deficit effect on morphology, prolin content and thymol percentage of Thyme (*Thymus vulgaris* L.) Journal of Medicinal and Aromatic Plants 26(2): 239-251. (In Persian with English Summary)
- Bettaieb, I., Zakhama, N., Aidi Wannas, W., Kchou, M.E., and Marzouk, B. 2009. Water deficit effects on *Salvia officinalis* fatty acids and essential oils composition. Scientia Horticulturae 120: 271-27.
- Cabuslay, G.S., Ito, O., and Alejal, A.A. 2002. Physiological evaluation of responses of rice (*Oryza sativa* L.) to water deficit. Plant Science 63: 815-827.
- Cheng, S.Y., Wang, Y., Liu, W.H., Du, H.W., and Chen, K.S. 2005. Effects of plant growth regulators on phenylalanine ammonia-lyase (PAL) activities in leaves of *Ginkgo biloba*. Journal Plant Resources Environment 14: 20-22.
- Delfine, S., Tognetti, R., Desiderio, E., and Alvino, A. 2005. Effect of foliar application of N and humic acids on growth and yield of durum wheat. Agronomy for Sustainable Development 25: 183-191.
- Dunford, N.T., and Vazquez, R.S. 2005. Effect of water stress on plant growth and thymol and carvacrol concentrations in Mexican oregano grown under controlled conditions. Journal of Applied Horticulture 7(1): 20-22.
- Gendy, A.S.H., Said-Al Ahl, H.A.H., and Mahmoud, A.A. 2012. Growth, productivity and chemical constituents of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) plants as influenced by cattle manure and biofertilizers treatments. Australian Journal of Basic and Applied Sciences 6(5): 1-12.
- Guvence, I., Dursun, A., Turan, M., Tuzel, Y., Burrage, S.W., Bailey, B.J., Gul, A., Smith, A.R., and Tuncay, O. 1999. Effect of different foliar fertilizers on growth, yield and nutrient content of lettuce and crisp lettuce. Acta Horticulturae 491: 247-252.

Heidari, M., Bakhshandeh, A.M., Nadeyan, H., Fathi, G., and Alami, S. 2006. The effect of different levels salinity and nitrogen on seed yield, uptake and osmotic regulation of Na and K wheat (*Triticum aestivum*) c.v. Chamran. Journal of Horticultural Science 37(3): 501-510. (In Persian with English Summary)

Hoekstra, F.A., Golovina, E.A., and Buitink, J. 2001. Mechanisms of plant desiccation tolerance. Trends in Plant Science 6(9): 431-438.

Howard, A., and Howard, G.L.C. 1911. Studies in Indian fibre plants. No. 2. On some new varieties of *Hibiscus cannabinus* L. and *Hibiscus sabdariffa* L. Genetics and Molecular Biology 4: 9-36.

Jaleel, C.A., Manivannan, P., Lakshmanan, G.M.A., Gomathinayagam, M., and Panneerselvam, R. 2008. Alterations in morphological parameters and photosynthetic pigment responses of *Catharanthus roseus* under soil water deficits. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 61: 298-303.

Jones, H.G., and Tardieu, F. 1998. Modeling water relations of horticultural crops: a review. Scientia Horticulture 74: 21-46.

Khalid, K.H.A. 2006. Influence of water stress on growth, essential oil and chemical composition of herbs (*Ocimum* sp.). International Agrophysics 20: 289-296.

Kulikova, N.A., Stepanova, E.V., and Koroleva, O.V. 2005. Mitigating activity of humic substances: direct influence on biota. In: I.V. Perminova, et al. (Ed.). Use of humic substances to remediate polluted environments: from theory to practice. Springer Netherlands 52: 285-309.

Lister, C.E., Lancaster, J.E., and Walker, J.R. 1996. Developmental changes in enzymes biosynthesis in the skins of red and of flavonoid green apple cultivars. Journal of the Science of Food and Agriculture 71: 313-330.

Milena, M., Ramírez-Rodriguez, A., Maria, L., Plaza, A., Alberto Azeredo, A., Murat, O., Balaban, B., Maurice, R., and Marshall, A. 2012. Phytochemical, sensory attributes and aroma stability of dense phase carbon dioxide processed *Hibiscus sabdariffa* beverage during storage. Food Chemistry 134: 1425-1431.

Mirhajian, A. 2012. Humic acid is?. Journal of Agricultural Engineering 33: 7-16. (In Persian with English Summary)

Morello, J.R., Romero, M.P., Ramo, T., and Motilva, M.J. 2005. Evaluation of L-phenylalanine ammonia-lyase activity and phenolic profile in olive drupe (*Olea europaea* L.) from fruit setting period to harvesting time. Plant Science 168: 65-72.

Nardi, S., Pizzeghello, D., Muscolo, A., and Vianello, A. 2002. Physiological effects of humic substances on higher plants. Soil Biology and Biochemistry 34: 1527-1536.

Russo, R.O., and Berlyn, G.P. 1990. The use organic bio stimulants to help low input sustainable agriculture. Journal sustainable agriculture 1(2): 19-42.

Sabzevari, S., and Khazaei, H.R. 2009. The Effect of foliar application with humic acid on growth, yield and yield components of wheat (*Triticum aestivum* L.). Journal of Agroecology 1(2): 53-63. (In Persian with English Summary)

Samavat, S., and Malakuti, M. 2005. Important use of organic acid (humic and fulvic) for increase quantity and quality agriculture productions. Water and Soil Researchers Technical Issue 463: 1-13. (In Persian with English Summary)

Sarker, B.C., Hara, M., and Uemura, M. 2005. Proline synthesis, physiological responses and biomass yield of eggplants during and after repetitive soil moisture stress. Science Horticulture 103: 387-402.

Sebahattin, A., and Necdet, C. 2005. Effects of different levels and application times of humic acid on root and leaf yield and yield components of forage Turnip (*Brassica rapa* L.). Agronomy Journal 4: 130-133.

Shariff, M. 2002. Effect of lignitic coal derived HA on growth and yield of wheat and maize in alkaline soil. PhD thesis, NWFP Agriculture University Peshawar, Pakistan.

Solar, A., Colaric, M., Usenik, V., and Stampar, F. 2006. Seasonal variations of selected flavonoids, phenolic acids and quinines in annual shoots of common walnut (*Juglans regia* L.). Plant Science 170: 453-461

Sreevalli, Y., Baskaran, K., chandra shekara, R., Kuikkarni, R., Sushil, H., Samresh, D., Kukre, J., Ashok, A., Sharmr Singh, K., Srikant, S., and Rakesh, T. 2001. Preliminary observation on the effect of irrigation frequency and genotypes on yield and alkaloid concentration in petriwinkle. Journal of Medicinal and Aromatic Plant Science 22: 356-358.

Tan, K.H. 2003. Humic Matter in Soil and the Environment. Marcel Dekker, New York.

Turkmen, O., Demir, S., Sensoy, S., and Dursun, A. 2005. Effect of arbuscular mycorrhizal fungus and humic acid

on the seedling development and nutrient content of pepper grown under saline soil conditions. *Journal of Biological Sciences* 5(5): 565-574.

Wagner, G.J. 1979. Content and vacuole/extra vacuole distribution of neutralsugars, free amino acids and anthocyanins in protoplasts. *Plant Physiology* 64: 88-93.

Xuenuanet, G., Xiaorong, W., Zhimany, G., Lemei, D., and Yijun, C. 2001. Effect of humic acid speciation and bioavailability ti wheat of rare earth elements in soil. *Chemical Speciation and Bioavailability* 13: 83-88.

Zhang, K.M., Yu, H.J., Shi, K., Zhou, Y.H., Yu, J.Q., and Xia, X.J. 2010. Photoprotective roles of anthocyanins in *Begonia semperflorens*. *Plant Science* 179(3): 202-208.

## The Effects of Drought Stress and Humic Acid on Morphological Traits, Yield and Anthocyanin of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.)

M. Sanjarimijani<sup>1\*</sup>, A.R. Sirousmehr<sup>2</sup> and B. Fakheri<sup>3</sup>

Submitted: 25-05-2014

Accepted: 10-11-2014

Sanjarimijani, M., Sirousmehr, A.R., and Fakheri, B. 2016. The effects of drought stress and humic acid on morphological traits, yield and anthocyanin of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). Journal of Agroecology 8(3):346-358.

### Introduction

Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) as a medicinal plant belongs to the Malvacea family. Their active ingredient increases under water stress. Humic acid bacteria derived from humus and other natural resources have hormonal effects and can improve nutrient absorption to enhance performance especially under stress conditions.

### Materials and methods

This experiment was conducted in the research of agricultural education centre Jiroft in 2013. Field experiment was carried out as split plot design with three replications. Water deficit stress set as main factor with three levels ( $A_1$ = Irrigation after 50,  $A_2$ = 100 and  $A_3$ = 150 mm evaporation from pan class A) and humic acid was in four manners ( $B_1$ = non humic acid,  $B_2$ = once with Irrigation,  $B_3$ = once with Irrigation + Once spraying,  $B_4$ = once with Irrigation + twice Spraying). Humic acid was used to form Irrigation spray in order to arrange with compactness ( $10 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ ), (250 ml/100L). In late September, which coincides with the end of the heading, plant height, inflorescence length, number of branches, stem diameter, fresh and dry weight of plant, fresh and dry weight of sepals, were examined. Wagner method was used to measure anthocyanin content sepals (Wagner, 1979). Finally, data was analyzed using SAS 9.1 and means were compared by Duncan's multiple range test at 5% level of probability.

### Results and discussion

The analysis of variance showed that drought stress and humic acid had significant effect on growth parameters, vegetative and generative yield and anthocyanin. Drought stress decreased plant height, inflorescence length, stem diameter and fresh and dry weight sepals. The highest values of these traits was obtained in the first level of stress (50 mm evaporation from pan class A). Due to the reduction in mentioned properties, reducing the pressure tolerance and the subsequent reduction in drought conditions was considered as division and cell enlargement. The reduction in growth parameters by drought stress can be due to disorder in photosynthesis and reduction in photosynthetic. The impact of drought on each of growth parameters could finally lead to a change in the performance of the roselle calyx production.

Drought stress increased anthocyanin content. The highest phenolic compounds anthocyanins ( $0.49 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ ) was obtained in three level stress (150 mm evaporation from pan class A). Antioxidant flavonoids had protective effect during drought stress and due to the role of anthocyanin in protection from sun during oxidative stress, ROS was directly removed. The results showed a significant interaction between stress and humic acid on number of branches, fresh and dry weight of plants. The highest value of these traits treatment was observed in first level stress (irrigation after 50 mm evaporation from pan class A) and in four level of humic acid (once with irrigation + twice spraying). Plant height, inflorescence length, stem diameter, fresh and dry weight of sepals and anthocyanin were significantly affected by humic acid. The highest value of these traits was obtained in four humic acid (once with irrigation + twice spraying). Humic acid can reduce the effects of drought, increase absorption of water and nutrient and the growth of plants by physiological changes in plant and by improving the physical, chemical and biological characteristics of soil, in order to improve growth parameters, vegetative

1, 2 and 3- MSc Student of Medicinal Plants, Department of Horticulture, Assistant Professor, Department of Agronomy and Associated Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Iran, respectively.

(\* - Corresponding author Email: sanjarimojgan@yahoo.com)

and generative yield and anthocyanin in the experiment.

### **Conclusion**

Sufficient moisture in the soil and high genetic potential for optimum usage of the potential environment are essential for plants. The amount of humic acid due to its role in improving the nutritional conditions of the plant can play an important role in offseting the harmful effects of drought stress on the plant.

**Keywords:** Bio-fertilizer, Calyx yield, Drought stress, Medicinal plant

### **References**

Wagner, G.J. 1979. Content and vacuole/extra vacuole distribution of neutralsugars, free amino acids and anthocyanins in protoplasts. *Plant Physiology* 64: 88-93.