Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Journal of Plant Production Research

Print ISSN: 2322-2050
Online ISSN: 2322-2778

Investigation the effect of two red seaweed species on growth, physiological indices and fruit yield of *Ecballium elaterium* under the influence of extraction method

Fariba Saedi[1], Taher Barzegar[*2], Jaefar Nikbakht[3], Zahra Ghahremani[4]

1. Ph.D. Student, Dept. of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran. E-mail: saedi.f@znu.ac.ir
2. Corresponding Author, Dept. of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran. E-mail: tbarzegar@znu.ac.ir
3. Dept. of Water Engineering, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran. E-mail: nikbakht.jaefar@znu.ac.ir
4. Dept. of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran. E-mail: z.ghahremani@znu.ac.ir

Article Info

Article type:
Full Length Research Paper

Article history:
Received: 07.27.2021
Revised: 08.22.2021
Accepted: 09.06.2021

Keywords:
Extraction Method,
Female Flowers,
Flavonoids,
Fruit,
Vegetative Growth

ABSTRACT

Background and Objectives: The idea of returning to nature and using less fertilizers and pesticides, and increasing people's tendency to use organic products has caused more attention to the use of biofertilizers. Products of natural origin, such as seaweed extract are used as a stimulator of the growth and development of agricultural and horticultural plants. Seaweed extracts contain a wide variety of plant growth-promoting substances such as auxins, cytokinins, betaines, gibberellins, and organic substances, including amino acids, macronutrients, and trace elements that improve crop yield and quality. The aim of this study was to investigate the effect of different extraction methods of two red seaweed species: *Gracilaria corticata* and *Acanthophora spiciferais* on growth, physiological indices and fruit yield of *Ecballium elaterium.*

Materials and Methods: This experiment was carried out as a completely randomized design with four replications in the research greenhouse of University of Zanjan during 2020. Experimental treatments included as 5 extraction methods (ME: microwave extract with aqueous solvent, OE: autoclave extract with aqueous solvent, BE: extract extracted by boiling with distilled water, NE: extract extracted with liquid nitrogen, EE: soaked extract in ethanol) and a control sample (C: (foliar application with distilled water)). During the growth stage, the number of leaves, the number of male and female flowers and the number of fruits were measured. At the end of the growing season, number of lateral branches, plant height and lateral branch length, leaf area index, fresh and dry weight of shoots, fresh and dry weight of fruit and fruit yield, root length and diameter and root sub-branches, root volume and area, total chlorophyll, carotenoids, total phenol and total flavonoids contents were measured.

Results: The results showed that foliar application of seaweed extracts had significant effects ($P<0.01$) on all traits. The treatment of plants with extract extracted by aqueous solvent in autoclave method increased 43.6% plant height, 59.4% lateral branch length, 58.3% shoot fresh weight, 71.7% shoot dry weight, 70.5% root length and 80.7% root volume. Also, the plants foliar sprayed with extract extracted by aqueous solvent had the higher number of male flowers (65.7%), number of female flowers (39.5%), fruit number (41.6%), fruit fresh weight (20.2%), fruit dry weight

(32.8%), fruit yield (55.6%) and flavonoids content (66.9%) compared to control plants. The highest leaf area index with increasing 42.9 and 41.5%, root diameter (57 and 53.4%), root area (78.3 and 73.9%), total chlorophyll (45.8 and 45.2%), carotenoids (69.3 and 71%) and total phenol contents (42.6 and 43.2) was observed in plants treated with the extract resulted of autoclave and microwave method, respectively compared to control plants.

Conclusion: According to the results, all methods of extracting red seaweed extract had positive effect on the growth, physiological traits and fruit yield of watercress. But, newer methods (autoclave, microwave) had better effect than traditional methods (boiling, liquid nitrogen, and ethanol), and extracts of these methods had more growth hormones, organic compounds and nutrients. Therefore, autoclave and microwave methods are proposed to extract seaweed extract. Also, these results showed that the red seaweeds Gracilaria (*Gracilaria corticata*) and Acanthophora (*Acanthophora spicifera*) are suitable biofertilizer for plant production.

Cite this article: Saedi, Fariba, Barzegar, Taher, Nikbakht, Jaefar, Ghahremani, Zahra. 2022. Investigation the effect of two red seaweed species on growth, physiological indices and fruit yield of *Ecballium elaterium* under the influence of extraction method. *Journal of Plant Production Research*, 29 (3), 69-88.

© The Author(s).
DOI: 10.22069/JOPP.2022.19335.2852
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی

شاپا چاپی: ۲۰۵۰-۲۳۲۲
شاپا آنلاین: ۲۷۷۸-۲۳۲۲

بررسی اثر دو گونه جلبک دریایی قرمز بر شاخص‌های رشدی، فیزیولوژیکی و عملکرد میوه خیار آب پران تحت‌تأثیر روش عصاره‌گیری

فریبا ساعدی[۱]، طاهر برزگر*[۲]، جعفر نیکبخت[۳]، زهرا قهرمانی[۴]

۱. دانشجوی دکتری گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران. رایانامه: saedi.f@znu.ac.ir
۲. نویسنده مسئول، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران. رایانامه: tbarzegar@znu.ac.ir
۳. گروه مهندسی آب، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران. رایانامه: nikbakht.jaefar@znu.ac.ir
۴. گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران. رایانامه: z.ghahremani@znu.ac.ir

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی- پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۵/۰۵
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۰/۰۵/۳۱
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۶/۱۵

واژه‌های کلیدی:
رشد رویشی،
روش استخراج،
فلاونوئید،
گل‌های ماده،
میوه

چکیده

سابقه و هدف: ایده بازگشت به طبیعت و استفاده کم‌تر از کودها و سموم شیمیایی و تمایل فزاینده مردم به استفاده از محصولات ارگانیک سبب توجه بیش‌تر به استفاده از کودهای زیستی شده است. محصولات با منشأ طبیعی مانند عصاره جلبک دریایی به عنوان محرک رشد و نمو گیاهان زراعی و باغی استفاده می‌شود. عصاره جلبک‌های دریایی حاوی طیف گسترده‌ای از مواد تقویت‌کننده رشد گیاهان مانند اکسین‌ها، سیتوکینین‌ها، بتائین‌ها، جیبرلین‌ها و مواد آلی و هم‌چنین جمله اسیدهای آمینه، عناصر مغذی بزرگ و عناصر کمیاب هستند که عملکرد و کیفیت محصول را بهبود می‌بخشند. هدف از انجام این پژوهش بررسی تأثیر روش‌های مختلف استخراج عصاره دو گونه جلبک دریایی قرمز *Gracilaria corticata* و *Acanthophora spiciferais* بر شاخص‌های رشدی، فیزیولوژیکی و عملکردی خیار آب‌پران (*Ecballium elaterium* L.) بود.

مواد و روش‌ها: این آزمایش به‌صورت طرح کاملاً تصادفی در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه زنجان در سال ۱۳۹۹ در چهار تکرار بر روی گیاه خیار آب‌پران انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل پنج روش استخراج (ME: عصاره استخراجی مایکروویو با حلال آبی، OE: عصاره استخراجی اتوکلاو با حلال آبی، BE: عصاره استخراج شده با روش جوشاندن با آب مقطر، NE: عصاره استخراج شده با ازت مایع، EE: عصاره خیسانده شده در اتانول) و یک نمونه شاهد (C: محلول‌پاشی با آب مقطر) بود. در طول دور رشد تعداد برگ، تعداد گل نر و ماده و تعداد میوه‌ها اندازه‌گیری شد. در پایان دوره رشد تعداد شاخه جانبی، ارتفاع بوته و طول شاخه‌های جانبی، شاخص سطح کل برگ، وزن تر و خشک شاخساره، وزن تر و خشک میوه و عملکرد

میوه، طول و قطر ریشه و انشعابات فرعی ریشه، حجم و سطح ریشه، کلروفیل کل، کارتنوئید، فنل کل و فلاونوئید کل آن اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد اثر محلول‌پاشی عصاره‌های جلبکی در همه صفات در سطح یک درصد معنی‌دار شد. تیمار گیاهان با عصاره استخراج شده با حلال آبی در اتوکلاو باعث افزایش ۴۳/۶ درصد ارتفاع بوته، ۵۹/۴ درصد طول شاخه جانبی، ۵۸/۳ درصد وزن تر شاخساره، ۷۱/۷ درصد وزن خشک شاخساره، ۷۰/۵ درصد طول ریشه، ۸۰/۷ درصد حجم ریشه در مقایسه با گیاهان شاهد گردید. هم‌چنین گیاهان محلول‌پاشی شده با عصاره استخراج شده با حلال آبی، تعداد گل نر (۶۵/۷ درصد)، تعداد گل ماده (۳۹/۵ درصد)، تعداد میوه (۴۱/۶ درصد)، وزن تر (۲۰/۲ درصد) و خشک (۳۲/۸ درصد) میوه، عملکرد میوه (۵۵/۶ درصد)، و محتوای فلاونوئید میوه (۶۶/۹ درصد) بیش‌تری نسبت به گیاهان شاهد داشتند. بیش‌ترین شاخص سطح برگ با افزایش ۴۲/۹ و ۴۱/۵ درصد، قطر ریشه (۵۷ و ۵۳/۴ درصد)، سطح ریشه (۷۸/۳ و ۷۳/۹ درصد)، کلروفیل کل (۴۵/۸ و ۴۵/۲ درصد)، کارتنوئید (۶۹/۳ و ۷۱ درصد) و فنل کل (۴۲/۶ و ۴۳/۲ درصد) به ترتیب در گیاهان تیمار شده با عصاره حاصل از روش‌های اتوکلاو و مایکروویو نسبت به گیاهان شاهد مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج، همه روش‌های استخراج عصاره جلبک‌های قرمز تأثیر مثبت بر رشد، صفات فیزیولوژیکی و عملکرد میوه خیار آب‌پران داشتند. اما به طور کلی روش‌های جدیدتر (اتوکلاو، مایکروویو) نسبت به روش‌های سنتی (جوشاندن، ازت مایع، اتانول) تأثیر بهتری داشتند و عصاره حاصل از این روش‌ها، هورمون‌های رشد، ترکیبات آلی و عناصر غذایی بیش‌تری داشتند. بنابراین روش‌های اتوکلاو و مایکروویو جهت استخراج عصاره جلبک‌ها پیشنهاد می‌گردد. هم‌چنین این نتایج نشان دادند که عصاره جلبک‌های قرمز گراسیلاریا (*Gracilaria corticata*) و اکانتوفورا (*Acanthophora spicifera*) کود زیستی مناسب برای تولید گیاهان می‌باشند.

استناد: ساعدی، فریبا، برزگر، طاهر، نیکبخت، جعفر، قهرمانی، زهرا (۱۴۰۱). بررسی اثر دو گونه جلبک دریایی قرمز بر شاخص‌های رشدی، فیزیولوژیکی و عملکرد میوه خیار آب پران تحت‌تأثیر روش عصاره‌گیری. *نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی*، ۲۹ (۳)، ۸۸-۶۹.
DOI: 10.22069/JOPP.2022.19335.2852

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
© نویسندگان.

مقدمه

گیاه خیار آب‌پران (*Ecballium elaterium* (L.) A. Rich) متعلق به تیره Cucurbitaceae بوده و بومی مناطق معتدل آسیا، شمال آفریقا و اروپا است (۱). این گیاه حاوی کوکوربیتاسین‌های I، E، D، L و R می‌باشد (۲)؛ که این مولکول‌های شناخته شده دارای طیف گسترده‌ای از فعالیت‌های دارویی مانند فعالیت ضد التهابی، ضدسرطانی و آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی (۳) هستند.

یکی از راه‌های رسیدن به کشاورزی پایدار، استفاده از کودهای زیستی است. انواعی از کودهای زیستی با منشأ باکتری، قارچ، جلبک و یا دیگر موجودات خاکزی در جهان قابل تولید است که سازوکار عمل تمامی آن‌ها قابل جذب نمودن عناصر غذایی توسط گیاه است (۴). یکی از نهاده‌های مورد استفاده در کشاورزی ارگانیک، استفاده از عصاره جلبک دریایی است که می‌تواند جایگزین مناسبی برای کودهای شیمیایی صنعتی باشد (۵).

جلبک‌های دریایی یکی از مهم‌ترین منابع پایدار با پتانسیل صنعتی به حساب می‌آیند. عصاره‌های به‌دست آمده از جلبک‌ها شامل ترکیبات پلی‌ساکاریدی، پروتئین‌ها، اسیدهای چرب اشباع نشده (PUFA ها)، رنگدانه‌ها، پلی فنل‌ها، ویتامین‌ها، مواد معدنی (به عنوان مثال K، Mg، Ca و Na) و هورمون‌های رشد گیاه هستند که با افزودن به خاک یا محلول‌پاشی سبب جبران عناصری هم‌چون N، P و K در خاک و گیاه می‌شود (۶).

اولین و مهم‌ترین مرحله شناسایی و ایزوله کردن ترکیبات زیست فعال، مرحله استخراج می‌باشد که معمولاً روش واحدی برای ترکیبات مختلف به عنوان استاندارد وجود ندارد (۷). معمولاً انتخاب حلال‌ها برای استخراج با توجه به هدفی که وجود دارد، طبیعت ترکیبات، خصوصیات فیزیکی-شیمیایی ماده، قابل دسترس بودن مواد و تجهیزات انجام می‌شود (۸). روش‌های استخراج متنوعی برای به دست آوردن ترکیبات زیست‌فعال و به حداکثر رساندن خروج آن‌ها از مواد گیاهی معرفی شده است (۹)، به عنوان مثال، استخراج با کمک مایکروویو (۱۰)، استخراج با سوکسله (۱۱)، استخراج به کمک آنزیم (۱۲)، استخراج با متانول، نفت اتر، اتیل استات، دی‌کلرومتان و بوتانول (۱۳) و استخراج با کمک امواج التراسونیک (۱۴). در خصوص جلبک‌های دریایی به دلیل داشتن دیواره سلولی پیچیده، کارایی استخراج کاهش می‌یابد، زیرا تحت‌تأثیر ترکیب حلال، دما، زمان و pH قرار می‌گیرند (۱۵). در پژوهشی از سه روش استخراج مایکروویو، رفلاکس ساده و التراسوند؛ برای تهیه عصاره جلبک قهوه‌ای سارگوسوم استفاده شد که در این بین استخراج به کمک مایکروویو عملکرد بهتری نسبت به سایر تیمارها داشت (۱۶). در مطالعه لوپز و همکاران (۲۰۱۸)، تأثیر حلال‌های متفاوت (آب، اتانول، متانول، آب/ متانول) بر ترکیبات فنلی یک گونه جلبک بررسی شد و نتایج نشان داد آب بالاترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی و فنل کل را دارا بود و حلال آب/متانول نیز بعد از آن بالاترین ترکیبات فنلی را داشت (۱۷). عصاره آبی جلبکی سارگوسوم اختلاف معنی‌داری با عصاره‌های متانولی، اتانولی و استن در استخراج ترکیبات فنل کل داشت و در کل عصاره آبی جلبکی بهتر از عصاره‌های الکلی در استخراج ترکیبات فنلی موفق بودند (۱۸). قاسمی مهام و همکاران (۲۰۱۸) در پژوهشی با دو روش مایکروویو و خیساندن در اتانول ۹۸ درصد، اقدام به تهیه عصاره جلبکی آزولا کردند، نتایج نشان داد که عصاره حاصل از مایکروویو از لحاظ ترکیبات موجود در عصاره بسیار غنی‌تر از عصاره اتانولی بود (۱۹).

جلبک‌های گراسیلاریا (*Gracilaria corticata*) و اکانتوفورا (*Acanthophora spiciferais*) متعلق به خانواده جلبک‌های قرمز (*Rhodophyceae*) هستند (۲۰). قطعاً حلال و روشی که درصد بالاتری از ترکیبات زیست‌فعال را از سلول‌های گیاهی خارج کند تأثیر بیش‌تری نیز در رشد و توسعه گیاه خواهد داشت. از طرف دیگر، خیار آب‌پران از لحاظ ارزش دارویی بسیار دارای اهمیت می‌باشد که متأسفانه پژوهش‌های زیادی روی آن انجام نشده است؛ به همین دلیل هدف از این پژوهش، استخراج عصاره جلبک‌های قرمز با روش‌های مختلف و بررسی اثرات آن بر شاخص‌های رویشی و زایشی گیاه خیار آب‌پران است.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر عصاره استخراج شده به روش‌های مختلف دو گونه جلبک قرمز، آزمایش به‌صورت طرح کاملاً تصادفی با شش تیمار و چهار تکرار در بهار و تابستان سال ۱۳۹۹ در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان انجام شد. جلبک‌های دریایی قرمز گراسیلاریا (*Gracilaria corticata*) و اکانتوفورا (*Acanthophora spicifera*) از بانک جلبک ایران (شرکت توسعه ذخایر زیستی جلبک‌های فارس) در شیراز تهیه شد. تیمارهای آزمایش شامل عصاره استخراج شده توسط مایکروویو با حلال آبی (۲۱)، عصاره استخراج شده به کمک اتوکلاو با حلال آبی (۲۲)، عصاره استخراج شده با روش جوشاندن با آب مقطر (۲۳)، عصاره استخراجی توسط ازت مایع (۲۴)، عصاره خیسانده شده در اتانول با غلظت‌های یک لیتر در هکتار (۲۵) و شاهد (بدون تیمار) بود.

ابتدا، بذرهای خیار آب‌پران از دشت مغان، شهر پارس‌آباد تهیه شد. بذرها در گلدان حاوی بستر ماسه، کود دامی پوسیده و خاک باغچه به نسبت ۲:۱:۲ در گلخانه (دمای ^{o}C ۲± ۲۵ روز و ^{o}C ۲±۱۹ شب با رطوبت نسبی ۶۰-۷۰ درصد) کشت شد. تیمار محلول‌پاشی عصاره‌ها در چهار مرحله شامل مرحله چهار برگی حقیقی (استقرار کامل گیاهچه)، مرحله شاخه‌زایی جانبی، مرحله آغاز گلدهی و مرحله بعد از تشکیل اولین میوه انجام شد، طوری‌که هر مرحله با نسبت یک لیتر در هکتار محلول‌ها آماده و روی گیاهان محلول‌پاشی شدند.

نحوه استخراج و تهیه عصاره‌های جلبک: جلبک‌ها پس از شستشو با آب شیرین و حذف شن و ماسه در سایه خشک شدند. نمونه‌های خشک شده در آسیاب الکتریکی (Lion Steel Industrial Electric Mill 2Kg) آسیاب شدند. برای تهیه عصاره‌های جلبکی از پنج روش استخراج عصاره استفاده شد. پودر دو جلبک خشک شده به نسبت وزنی ۱:۱ با هم ترکیب شد و با پنج روش شکستن سلول، مورد استخراج قرار گرفت. عصاره‌های به‌دست آمده با این روش‌ها به عنوان غلظت ۱۰۰ درصد (استوک اصلی) در نظر گرفته شدند و برای محلول‌پاشی بوته از استوک اصلی، غلظت‌های یک لیتر در هکتار تهیه شد.

۱- استخراج به روش اتوکلاو کردن: در این روش ۱۰۰ گرم پودر جلبکی (گراسیلاریا و اکانتوفورا) با نسبت وزنی ۱:۱ در ظرف آزمایشگاهی سربسته یک لیتری ریخته شد و با آب مقطر به عنوان حلال به حجم رسانده شد. نمونه‌ها در این روش به مدت ۱۵ دقیقه در اتوکلاو (OT-032-Autoclave steam sterilize) در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۵ بار قرار گرفتند (۲۲).

۲- استخراج به روش امواج ماکروویو: نمونه پودر جلبکی با نسبت وزنی ۱:۱ تهیه شد و در یک ظرف یک لیتری با آب مقطر به عنوان حلال به

حجم رسانده شد؛ سپس در مایکروویو خانگی (ME3410W. Sumsung - مالزی) به مدت پنج دقیقه (با تولید دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد و ۲۴۵۰ MHz و قدرت ۴۰۰ وات) قرار گرفت (۲۱)، و با این روش عصاره از بقایای گیاهی جدا شد.

۳- روش جوشاندن: ابتدا ۱۰۰ گرم پودر جلبک با نسبت وزنی ۱:۱ با آب مقطر مخلوط شد و به حجم یک لیتر رسانده شد. سپس به مدت ۳۰ دقیقه روی شیکر قرار گرفت و بعد درون بالن ریخته شد. محلول حاصل به مدت ۳۰ دقیقه روی هیتر تحت دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. عصاره جوشانده شده پس از ۲۰-۳۰ دقیقه در دمای اتاق سرد شد. سپس با کاغذ صافی واتمن شماره یک فیلتر شد و پس از سانتریفیوژ (دور ۳۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه) و جدا کردن فاز بالایی محلول در یخچال نگهداری شد (۲۶).

۴- استخراج به روش ازت مایع: ۱۰۰ گرم پودر جلبک ترکیبی با نسبت وزنی ۱:۱ به‌وسیله ترازو با دقت ۰/۰۱ گرم وزن شد و در هاون چینی ریخته شد؛ سپس به آرامی ازت مایع به پودر جلبک اضافه گردید و هم‌زمان با اضافه نمودن ازت مایع، پودر جلبک با دسته هاون کاملاً خورد و سابیده شد. نمونه‌های خورد شده با ازت مایع توسط آب مقطر به حجم یک لیتر رسانده شد. پس از این مرحله نمونه در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتی‌گراد) به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفته و در نهایت مراحل فیلتراسیون با پارچه موسلین انجام شد (۱۰).

۵- استخراج با الکل اتانول: اتانول ۸۰ درصد به نسبت حجمی وزنی ۵ : ۱ روی ۱۰۰ گرم پودر جلبک (ترکیب جلبکی ۱:۱) ریخته شد. محلول حاصل ۲۴ ساعت شیک شد سپس با پارچه موسلین فیلتراسیون انجام شد. در مرحله بعد به‌منظور حذف حلال، عصاره حاصل در دستگاه روتاری (مدل Labrator 40002/4003 control ساخت شرکت هایدولف آلمان) تحت عملیات تقطیر در خلأ قرار گرفت. در این مرحله از دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد استفاده شد تا میزان آسیب‌پذیری پروتئین‌ها و اسیدهای آمینه به حداقل برسد. در نهایت عصاره‌های غلیظ شده به پیلت‌های شیشه‌ای منتقل شدند و روی بن‌ماری در دمای ۳۵ درجه قرار گرفتند تا باقی‌مانده حلال نیز حذف شود. سپس عصاره‌های غلیظ شده با آب مقطر تا حجم یک لیتر رقیق شدند و به ظرف شیشه‌ای منتقل شدند و تا زمان استفاده در دمای چهار درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (۲۳).

بعد از استخراج عصاره‌ها با روش‌های فوق، ترکیبات جلبکی طبق روش‌های زیر اندازه‌گیری شدند. ترکیبات پروتئینی: ۰/۳ گرم پودر جلبک با یک قرص کاتالیست هضم و هفت میلی‌لیتر اسید سولفوریک مخلوط گردید. سپس به بلوک هضم انتقال یافته و به مدت دو ساعت، دما به‌تدریج تا ۴۰۰ درجه سانتی‌گراد افزایش یافت. سپس نمونه هضم شده در دستگاه میکروکجلدال اتوماتیک مدل Tecator Kjeltec Auto 1030 Analyzer سوئد، قرار گرفت و درصد نیتروژن خوانده شد. برای محاسبه درصد پروتئین، مقدار نیتروژن کل هر نمونه در عدد ۶/۲۵ ضرب شد) (۲۷). چربی خام: یک گرم پودر جلبک درون کاغذ صافی و سپس فنجان دستگاه سوکسله اتوماتیک Foss soxtec 2050 سوئیس قرار گرفتند. به‌وسیله حلال هگزان نرمال و اعمال حرارت، چربی استخراج و محاسبه شد (۲۸). کربوهیدرات: با روش فنل- سولفوریک اسید تعیین شد. مخلوط واکنش شامل یک میلی‌لیتر نمونه، یک میلی‌لیتر فنل پنج درصد، پنج میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ بود که در دمای اتاق به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه شدند. عدد جذب در ۴۹۰ نانومتر خوانده شد و از گلوکز به‌عنوان استاندارد استفاده شد (۲۹). آمینو اسید کل: یک لوله

آزمایش حاوی یک میلی‌لیتر نمونه خنثی شده با NAOH ۰/۱ نرمال و با استفاده از نشانگر متیل قرمز و یک میلی‌لیتر معرف نین هیدرین به مدت ۲۰ دقیقه جوشانده شد. سپس به لوله آزمایش یک میلی‌لیتر محلول رقیق سازی حاوی پروپانول و آب مقطر با نسبت ۱: ۱ اضافه شد. جذب در ۵۷۰ نانومتر انجام شد و غلظت اسیدهای آمینه از نمودار استاندارد لوسین بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه شد (۳۰). عناصر ماکرو و میکرو: این عناصر بر حسب میلی‌گرم در صد گرم ماده خشک (به روش A.A.S (Atomic absorption spectroscopy) با به‌کارگیری دستگاه جذب اتمی (ساخت شرکت آمریکایی Varian مدل Spectr AA-200) با هضم نمونه‌ها توسط اسید نیتریک و آب اکسیژنه در دستگاه مایکروویو (ساخت شرکت ایتالیایی، MILESTONE مدل ETHOS) و تزریق نمونه‌ها به دستگاه جذب اتمی، تهیه محلول‌های استاندارد، رسم منحنی کالیبراسیون و به‌دست آوردن میزان جذب نور عناصر نمونه‌ها تعیین شد (۳۱). هورمون‌های رشد: به‌منظور اندازه‌گیری میزان اکسین، نیم گرم جلبک در ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد جوشانده و پس از ساییده شدن، از کاغذ صافی عبور داده شد. مقدار دو میلی‌لیتر معرف سالکوفسکی به یک میلی‌لیتر از عصاره‌های حاصل اضافه شد. به‌منظور تهیه معرف سالکوفسکی، یک میلی‌لیتر محلول کلریدفری ۰/۵ مولار با ۵۰ میلی‌لیتر پرکلریک‌اسید ۳۵ درصد مخلوط و هم زده شد؛ سپس لوله‌ها به‌مدت ۱۵ دقیقه در حمام آبی ۴۰ تا ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند تا واکنش کامل و حضور اکسین در عصاره با رنگ صورتی آشکار شود. در پایان، میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۳۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (UV/Vis مدل WPA S2100, UK) خوانده شد. مقدار IAA موجود در نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد و بر حسب درصد بیان شد (۳۲). هورمون سایتوکنین: نیم گرم جلبک تر را با ۱۵ میلی‌لیتر محلول استخراج (متانول: کلروفرم: آمونیوم هیدروکسید با نسبت حجمی ۱۲:۳: ۵) مخلوط و در هاون ساییده شد. به محلول همگن حاصل، شش میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد و در ادامه فاز کلروفرم دور ریخته شد و فاز آبی برای تبخیر متانول روی هیتر قرار گرفت. در ادامه فاز آبی روی pH ۷ تنظیم گردید. سپس مقدار چهار میلی‌لیتر اتیلن استات به فاز آبی اضافه شد. فاز اتیلن استات به یک پتری دیش با قطر ۱۵ سانتی‌متر منتقل و روی هیتر قرار داده شد تا به طور کامل تبخیر گردد. این کار سه مرتبه تکرار شد. محتوای باقی‌مانده روی پتری را با یک میلی‌لیتر NAOH یک نرمال شستشو و به اپندورف انتقال داده شد. برای سنجش از اسپکتروفتومتر با طول موج ۲۶۰ نانومتر استفاده شد. از روی منحنی استاندارد میزان هورمون ها محاسبه و در نهایت برحسب درصد اعلام شد (۳۳). هورمون جیبرلین: به‌منظور اندازه‌گیری میزان جیبرلین، ۰/۵ گرم بافت تر جلبک در دو و نیم میلی‌لیتر اتانول مطلق ساییده شد. عصاره حاصل به‌مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و سپس یک قطره کلریدریک‌اسید (۰/۱ مولار) به محلول اضافه شد. محلول حاصل به قیف جداکننده (دکانتور) منتقل، ۱۰ میلی‌لیتر اتیل‌استات به آن اضافه و به‌مدت دو دقیقه به‌خوبی تکان داده شد؛ سپس ۱۰ میلی‌لیتر بافر فسفات‌سدیم با اسیدیته ۷/۴ به آن اضافه شد. پس از تکان دوباره و تشکیل دو فاز، فاز رنگی دور ریخته شد و سه میلی‌لیتر کلریدریک اسید (۳/۷ مولار) و سه میلی‌لیتر بافر فسفات‌سدیم (اسیدیته ۷/۴) به سه میلی‌لیتر از فاز آبی اضافه و جذب نمونه‌ها در طول موج ۲۵۴ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد (۳۴). به‌منظور تعیین میزان جیبرلین، منحنی استاندارد با استفاده از غلظت‌های معلوم جیبرلین تهیه شد و در نهایت بر حسب درصد بیان شد.

جدول ۱- غلظت ترکیبات مغذی، عناصر و هورمون‌های رشد موجود در عصاره‌های استخراج شده از مخلوط با نسبت ۱:۱ جلبک‌های دریایی قرمز *G. corticata* و *A. spicifera*.

Table 1. Concentrations of nutrients, elements and growth hormones in extracts extracted from the 1:1 ratio mixture of red seaweed *G. corticata* and *A. spicifera*.

اتانول Ethanol	ازت مایع Liquid Nitrogen	جوشاندن Boiling	مایکروویو Microwave	اتوکلاو Autoclave		
3.2	5.4	6.2	5.9	6.8	چربی خام Fat	ترکیبات آلی Organic Composition ($g.100g^{-1}DW$)
10.2	9.7	10.3	16.5	18.4	کربوهیدرات Carbohydrate	
20.5	18.1	22.1	25.6	23.1	پروتئین Protein	
97.2	88.5	95.2	118.6	125.7	آمینواسید کل Total Amino acid	
15.9	19.8	22.9	23.2	27.1	Cu	عناصر میکرو Micro Elements ($mg\ 100g^{-1}DW$)
13.2	16.3	18.8	17.8	19.5	Mn	
134.3	110.1	123.1	140.9	132.2	Zn	
203.3	221.7	234	283.3	274	Fe	
1143.3	1241.1	1124.7	1306.1	1465.5	N	عناصر ماکرو Macro Elements ($mg\ 100g^{-1}DW$)
287.2	216.7	251.3	450.1	421	P	
1021.4	997.2	1208.6	1427.2	1386.5	K	
1232.1	873.3	1032.9	1119.7	1128.1	Mg	
1436.2	1765.7	2134	2151	2549.8	Na	
11.3	11.6	13.1	14.1	14.9	IAA	هورمون‌های رشد Growth Hormones ($mg\ L^{-1}$)
21.3	20.6	24.6	26.9	27.7	CK	
12.2	11.9	11.8	15	14.1	GA	

اندازه‌گیری صفات ریخت‌شناسی و فیزیولوژیکی: تعداد برگ، تعداد گل نر و ماده و تعداد میوه در طی دوره رشد شمارش شدند. در پایان دوره رشد تعداد شاخه جانبی، ارتفاع بوته و طول شاخه‌های جانبی با خط‌کش اندازه‌گیری شدند. طول و قطر میوه‌ها با کولیس دیجیتال (مدل 150-1112) و وزن تر میوه با ترازوی دیجیتال ۰/۰۱ گرم اندازه گرفته شد. برای محاسبه شاخص سطح کل برگ؛ از هر بوته شش برگ به طور یکسان از گره‌های مشخص انتخاب شد و بعد از اسکن با دستگاه اسکنر با نرم‌افزار Image J شاخص سطح برگ محاسبه شد. وزن خشک بعد از قرار گرفتن در آون به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به‌دست آمد. برای اندازه‌گیری کلروفیل کل و کارتنوئید، ۵۰۰ میلی‌گرم از برگ در پنج میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد هموژن شد و بعد از سانتریفیوژ با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه و دمای چهار درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه، مایع رویی برداشته و حجم آن با استن ۸۰ درصد به ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس با دستگاه اسپکتروفتومتر میزان جذب نور در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۶/۶، ۶۶۳/۶ و

۴۷۰ نانومتر مشخص شد و با استفاده از روابط زیر رنگدانه‌های فتوسنتزی برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه شد (۳۵).

اندازه‌گیری فلاونوئید کل با روش رنگ‌سنجی با آلومینیوم کلرید انجام شد. ۰/۵ گرم برگ تازه با پنج میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد در هاون کاملاً ساییده شد، عصاره حاصل با سرعت ۸۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. یک میلی‌لیتر از محلول رویی و محلول‌های استاندارد (غلظت‌های ۱۰۰-۰ میلی‌گرم در لیتر کوئرسیتین در متانول مطلق) با ۴/۴ میلی‌لیتر آب مقطر رقیق شد سپس ۳۰۰ میکرولیتر سدیم نیتریت ۱۰ درصد، ۳۰۰ میکرولیتر آلومینیوم کلرید پنج درصد و چهار میلی‌لیتر سدیم هیدروکسید یک نرمال به محلول اضافه شد و شدت جذب در طول موج ۵۱۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومترخوانده شد. برای رسم نمودار استاندارد از کوئرسیتین استفاده شد و محتوای فلاونوئید برحسب میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر بیان شد (۴).

برای اندازه‌گیری فنل کل، یک گرم بافت گیاه تر با ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد کاملاً ساییده شد و این ترکیب به مدت یک ساعت در شرایط تاریکی نگه داشته شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۵۰۰ سانتریفیوژ شد. ۵۰ میکرولیتر از عصاره بالایی و محلول‌های استاندارد (غلظت‌های۱۰۰-۰ میلی‌گرم در لیتر گالیک اسید در آب مقطر) با ۴۵۰ میکرولیتر آب مقطر، دو میلی‌لیتر کربنات سدیم ۷/۵ درصد و ۲/۵ میلی‌لیتر معرف فولین (۰/۱ درصد) مخلوط شدند. ۱۵ دقیقه در بن‌ماری در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد، سپس در دمای اتاق سرد شد و در طول موج ۷۶۵ نانومتر با اسپکتروفتومتر خوانده شد. برای رسم نمودار استاندارد از گالیک اسید استفاده شد و میزان فنل کل بر حسب میلی‌گرم در ۱۰۰گرم وزن تر بیان شد (۳۶).

هم‌چنین در پایان دوره شد، طول و قطر ریشه‌ها با کولیس دیجیتال (مدل 150-1112)، وزن تر ریشه با ترازوی دیجیتال ۰/۰۱ گرم و حجم ریشه بر حسب میلی‌لیتر اندازه گرفته شد و تعداد انشعابات فرعی ریشه شمارش شد. سطح ریشه با رابطه زیر (اتکینسون) محاسبه شد (۳۷):

$$\text{سطح ریشه} = ۲(\text{حجم ریشه} \times \pi \times \text{طول ریشه})^{۰/۵} \quad (۱)$$

داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.2 نسخه ۹، تجزیه و تحلیل شده و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح پنج درصد صورت گرفت. برای ترسیم نمودارها از نرم‌افزار اکسل استفاده شد.

نتایج و بحث

ارتفاع بوته، تعداد و طول شاخه جانبی: طبق نتایج تجزیه واریانس، اثر عصاره‌ها بر ارتفاع بوته، تعداد شاخه جانبی و طول شاخه جانبی در سطح یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). بیش‌ترین میزان ارتفاع بوته (۳۲/۲۵ سانتی‌متر)، تعداد شاخه جانبی (۱۰/۷۵) و طول شاخه جانبی (۱۷/۳۷ سانتی‌متر) مربوط به عصاره تهیه شده به روش اتوکلاو و کم‌ترین میزان ارتفاع بوته (۱۸/۷۵ سانتی‌متر)، تعداد شاخه جانبی (۳/۷۵) و طول شاخه جانبی (۷ سانتی‌متر) در گیاهان شاهد مشاهده شد (جدول ۳).

یکی از دلایل برای تأثیر بیش‌تر عصاره‌های استخراج شده با حلال آبی این است که آب یک محیط کاملاً قطبی ایجاد می‌کند که در آن ترکیبات اسیدهای آلی، پروتئین‌ها و قندهای محلول، هورمون‌ها و بسیاری از عناصر در آن به راحتی حل شده و براساس شیب غلظتی، از سلول‌های شکسته با غلظت بالاتر به محیط آبی با غلظت کم‌تر سرازیر می‌شوند

(۳۸). برهمکنش مستقیم امواج مایکروویو با آب موجود در گیاه سبب افزایش استخراج عصاره شد. عناصر ریزمغذی برای رشد طبیعی گیاهان مورد نیاز هستند و علاوه بر شرکت در ساختار بعضی از اندامک‌ها، در بسیاری از واکنش‌های زیست شیمیایی گیاه دخالت دارند (۳۹). پژوهش‌گران تأثیر عصاره‌های جلبک دریایی بر افزایش شاخص‌های رشد گیاه را به تجمع مواد فعال زیستی مؤثر در رشد به صورت مستقیم یا تأثیرگذار در تنظیم‌کننده ژن‌های مربوطه یا ممانعت از تخریب کلروفیل نسبت داده‌اند (۱۶). نتایج این پژوهش با نتایج گزارش شده در مورد ذرت، توت‌فرنگی و گوجه‌فرنگی نیز هم‌خوانی دارد (۴۰).

وزن تر و خشک شاخساره: طبق نتایج تجزیه واریانس، اثر عصاره‌های جلبکی بر وزن تر و خشک شاخساره در سطح یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). بیش‌ترین میزان وزن تر شاخساره (۹۴/۰۹ گرم) و وزن خشک شاخساره (۱۱/۶۳ گرم) در گیاهان تیمار شده با عصاره استخراج شده به روش اتوکلاو، کم‌ترین وزن تر (۳۹/۲۳ گرم) و خشک (۳/۲۹ گرم) در گیاهان شاهد حاصل شد (جدول ۲).

ترکیبات هورمونی سایتوکنین، جیبرلین و اکسین موجود در عصاره جلبک‌ها به عنوان کود سبب افزایش رشد و تولید در گیاهان می‌گردد (۴۱). تغییرپذیری میزان رشد به‌وسیله جیبرلین‌ها ممکن است به‌دلیل افزایش در سطح مؤثر برگ، تحریک میزان فتوسنتز، افزایش فعالیت برخی آنزیم‌ها یا تغییر در توزیع مواد فتوسنتزی و یا اثر مشارکتی این موارد باشد؛ و از طرفی جیبرلین‌ها با تحریک فعالیت برخی آنزیم‌های پروتئاز موجب تبدیل پروتئین‌ها به اسیدهای آمینه ازجمله تریپتوفان که پیش‌ساز اکسین است، می‌شوند. بنابراین برخی اثر خود را به صورت غیرمستقیم از طریق اکسین نیز اعمال می‌کنند (۴۲)؛ از طرفی گروهی از پژوهش‌گران اعلام کردند سطح بیان ژن‌های درگیر در بیوسنتز اکسین، جیبرلین و سایتوکنین در گیاهان تیمار شده با عصاره جلبک دریایی بسیار بالاتر بود (۴۳). حق‌پرست و همکاران (۲۰۱۲) گزارش نمودند محلول‌پاشی عصاره جلبکی، تأثیر معنی‌داری در افزایش تعداد ساقه‌های جانبی، ارتفاع بوته و وزن خشک بوته‌های نخود داشت (۴۴).

شاخص سطح برگ: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تأثیر تیمارهای جلبکی بر شاخص سطح برگ معنی‌دار شد (جدول ۲). مشاهده شد که همه روش‌های استخراج به‌جز روش استخراج با اتانول، اثرات تقریبا مشابهی داشتند و همه در یک گروه آماری قرار گرفتند (جدول ۳).

اثرات این عصاره‌های استخراج شده به نوع ترکیبات استخراج شده، میزان هر یک از ترکیبات استخراج شده و نسبت مواد استخراجی به یکدیگر بستگی دارد (۳۲). افزایش در ویژگی‌های رویشی گیاه ممکن است به خاطر عناصر پرمصرفی باشد که در عصاره جلبک دریایی وجود دارند، میزان عناصر پرمصرفی که در عصاره جلبک دریایی وجود دارد نقش بسیار مهمی در تغذیه گیاهان دارند، مانند نیتروژن، پتاسیم و فسفر که برای رشد و توسعه گیاه بسیار ضروری هستند (۴۰). اساس یافته‌های بسیمی‌فر و همکاران (۲۰۱۶) محلول‌پاشی عصاره جلبک دریایی، شاخص سطح برگ، سرعت رشد محصول و عملکرد دانه ماش (*Vigna radiata*) را افزایش داد (۴۵). طبق نتایج جدول یک، میزان هورمون‌های اکسین و سایتوکنین و مواد مغذی در عصاره استخراج شده به روش اتوکلاو بیش‌تر بود.

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر روش‌های مختلف استخراج ترکیبات جلبک‌های قرمز گراسیلاریا (*G. corticata*) و اکانتوفورا (*A. spiciferais*) بر صفات رشدی و عملکرد خیار آب‌پران.

Table 2. Variance analysis of effect of different methods of extracting compounds of red seaweed gracylaria (*G. corticata*) and acanthophora (*A. spiciferais*) on growth and yield of *Ecballium elaterium*.

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	ارتفاع بوته Plant height	تعداد شاخه جانبی Number of lateral branch	طول شاخه جانبی Lateral branch length	وزن تر شاخساره Shoot FW	وزن خشک شاخساره Shoot DW	شاخص سطح برگ Leaf area index	تعداد گل نر Male Flowers number	تعداد گل ماده Female Flowers numbers	تعداد میوه Fruit number	وزن تر میوه Fruit FW	وزن خشک میوه Fruit DW	عملکرد میوه Fruit Yield
روش استخراج Extraction method	5	96.377**	30566**	58.450 **	1767.257**	41.422**	3458.664**	2259.466**	11.941**	13.200**	2.228**	0.304**	1446.62**
خطا Error	18	1.533	1.027	2.097	75.465	1.393	261.500	71.222	2.125	1.444	0.206	0.003	81.87
ضریب تغییرات (درصد) CV%		4.60	14.14	12.32	13.36	17.57	10.56	14.14	15.83	13.35	6.76	10.79	14.72

** معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد

** Significant at 1% of probability levels

جدول ۳- مقایسه میانگین‌های روش‌های مختلف استخراج ترکیبات جلبک‌های قرمز گراسیلاریا (*G. corticata*) و اکانتوفورا (*A. spiciferais*) و تاثیر آن بر پارامترهای رشدی و فیزیولوژیک خیار آب‌پران.

Table 3. Comparison mean of effect of different methods of extracting compounds of red seaweed Gracylaria (*G. corticata*) and Acanthophora (*A. spiciferais*) on growth and yield of *Ecballium elaterium*.

تیمارها Treatments	ارتفاع بوته Plant height (cm)	تعداد شاخه جانبی Lateral branch number	طول شاخه جانبی Lateral branch length (cm)	وزن تر شاخساره Shoot FW (gr)	وزن خشک شاخساره Shoot DW (gr)	شاخص سطح برگ Leaf area index (cm^2)	تعداد گل نر Male Flowers	تعداد گل ماده Female Flowers	تعداد میوه Fruit number	وزن تر میوه Fruit FW (gr)	وزن خشک میوه Fruit DW (gr)	عملکرد میوه Fruit yield (gr)
اتوکلاو Autoclave	33.25 a	10.75 a	17.37 a	94.09 a	11.63 a	182.12 a	97.00 a	12.00 a	12.00 a	7.65 a	0.73 a	90.87 a
مایکروویو Microwave	29.62 b	9.75 a	14.87 b	82.41 ab	9.24 b	177.66 a	77.25 b	10.25 ab	10.00 b	7.54 a	0.60 b	76.39 b
جوشاندن Boiling	28.37 b	7.75 b	12.00 c	69.71 bc	6.95 c	161.71 a	60.25 c	9.00 bc	9.00 bc	6.62 b	0.52 bc	59.38 c
نیتروژن مایع Liquid nitrogen	26.37 c	6.25 bc	9.62 d	57.25 cd	5.06 d	168.59 a	45.50 d	9.00 bc	8.50 bcd	6.55 b	0.52 bc	55.57 c
اتانول Ethanol	24.93 c	4.75 cd	9.62 d	47.30 de	4.12 de	134.46 b	44.75 d	7.75 c	7.50 cd	6.15 bc	0.50 c	46.23 cd
شاهد Control	18.75 d	3.75 d	7.00 e	39.23 e	3.29 e	103.84 c	33.25 d	7.25 c	7.00 d	5.78 c	0.49 c	40.27 d

در هر ستون میانگین‌های با حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن می‌باشند

Columns with similar letter (s) are not significantly different ($P \leq 0.05$) using Duncan's multiple range test

تعداد گل نر و گل ماده: طبق نتایج تجزیه واریانس، اثر عصاره‌های جلبکی بر تعداد گل‌های نر و ماده خیار آب‌پران در سطح یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). بیش‌ترین تعداد گل‌های نر و ماده به‌ترتیب در تیمار اتوکلاو با ۹۷ و ۱۲ عدد و کم‌ترین تعداد گل نر و ماده به ترتیب در نمونه شاهد با تعداد ۳۲/۲۵ و۷/۲۵ عدد دیده شد (جدول ۳).

بهبود شرایط تغذیه‌ای گیاه با افزایش رشد و توسعه سیستم ریشه، منجر به افزایش سطح برگ و آسیمیلاسیون گیاه و در نتیجه افزایش تعداد گل‌های نر و ماده می‌شود که نهایتاً منجر به تولید بیش‌تر میوه می‌گردد. بر اساس نتایج پژوهش‌های انجام شده، عناصر ریزمغذی و هورمون‌های گیاهی نقش مهمی در رشد زایشی گیاه و افزایش تعداد گل‌های بارور در گیاه دارد (۴۶). عصاره جلبک دریایی نیز حاوی مواد مغذی و معدنی بسیاری است که می‌تواند بر فرآیندهای رشدی و نمو گیاه از جمله تبدیل تعداد گل بیش‌تر به میوه در گیاهان اثر مثبت و فزاینده‌ای داشته باشد (۶). عصاره جلبک دریایی باعث گلدهی زودرس در محصولاتی چون گوجه‌فرنگی، فلفل و لوبیا شد (۴۳)، طبق نتایج پژوهش‌گران دیگر محلول‌پاشی عصاره‌های جلبکی باعث افزایش تعداد گل و غلاف در بوته نخود (۴۴) شد.

تعداد میوه، وزن تر و خشک میوه، عملکرد میوه: طبق نتایج تجزیه واریانس، اثر تیمارها بر تعداد میوه و وزن تر و خشک میوه در سطح یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). بیش‌ترین تعداد میوه در اثر کاربرد عصاره جلبکی استخراج شده با اتوکلاو (۱۲ عدد) و کم‌ترین تعداد میوه نیز در تیمار شاهد با (۷ عدد)، بیش‌ترین مقدار وزن تر (۷/۶۵ گرم) و وزن خشک (۰/۷۳ گرم) و بیش‌ترین عملکرد میوه (۹۰/۸۷ گرم در بوته) مربوط به تیمار اتوکلاو می‌باشد، البته تیمار اتوکلاو و مایکروویو تقریباً از لحاظ تأثیر یکسان بودند و در یک گروه آماری جای گرفتند (جدول ۳). در هر دو صفت تیمارهای جوشاندن و ازت مایع تأثیرات یکسانی داشتند و در یک گروه آماری قرار گرفتند (جدول ۳).

بر اساس نتایج، عصاره حاصل از روش استخراج اتوکلاو با افزایش تعداد گل‌های ماده، باعث افزایش تعداد میوه گردید. در پژوهشی عصاره‌گیری از سبوس برنج با آب به عنوان حلال و دستگاه اتوکلاو، افزایش دما سبب افزایش میزان استخراج ترکیبات موجود در سبوس برنج شد به طوری که عصاره استخراج شده با دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد دارای درصد ماده خشک، خاکستر، پروتئین و چربی بالاتری به نسبت عصاره استخراج شده در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد است (۴۷). محلول‌پاشی برگی کود جلبک دریایی طی رشد رویشی گیاه توت‌فرنگی، باعث افزایش اندازه، طول، قطر، وزن و عملکرد میوه می‌شود و این افزایش به حضور تنظیم‌کننده‌های رشدی هم‌چون اکسین، جیبرلین، کینتین و زآتین در عصاره جلبک دریایی نسبت داده شده است (۴۸).

طول، قطر و انشعابات فرعی ریشه و حجم و سطح ریشه: طبق نتایج تجزیه واریانس، اثر عصاره‌های جلبکی بر صفات طول و قطر ریشه، انشعابات فرعی، حجم و سطح ریشه در سطح یک درصد معنی‌دار شدند (جدول ۴). بیش‌ترین طول ریشه (۱۵۳/۷۲ سانتی‌متر) و تعداد ریشه جانبی (۱۴) مربوط به تیمار جلبکی استخراج شده با اتوکلاو، بیش‌ترین قطر ریشه هم مربوط به تیمارهای اتوکلاو (۲۱/۹ میلی‌متر) و مایکروویو (۲۰/۱۸ میلی‌متر)، بیش‌ترین حجم ریشه (۶۴/۰۷ میلی‌لیتر) مربوط به تیمار اتوکلاو و کم‌ترین

مربوط به تیمار شاهد (۱۲/۳۰ میلی‌لیتر) و در نهایت بیش‌ترین سطح ریشه مربوط به تیمارهای اتوکلاو (۳۶۱/۸۸ سانتی‌متر مربع) و مایکروویو (۳۰۱/۲۱ سانتی‌متر مربع) و کم‌ترین آن مربوط به نمونه شاهد (۷۸/۵۸ سانتی‌متر مربع) بود (جدول ۵).

از جمله سودمندی‌های استفاده از کود جلبک دریایی در کشاورزی، رشد و گسترش بیش‌تر ریشه‌ها، جوانه‌زنی بهتر و سریع‌تر بذرها، افزایش توان و مقاومت گیاهان در مقابل تنش‌های زنده و غیرزنده و افزایش کمیت و کیفیت میوه‌ها می‌باشد (۴۶). اگر مقدار مناسبی از مواد غذایی در اختیار گیاه قرار بگیرد، تأثیر بسیار خوبی بر توسعه ریشه و مراحل مختلف دوره زایشی بوته خواهد گذاشت (۴۹). بذرهای گیاه زراعی جو (*Hordeum vulgare*) که با عصاره جلبک دریایی آغشته شده بودند، نسبت به بذرهای آغشته شده با جیبرلین و شاهد، جوانه‌زنی و طول ریشه‌چه وساقه‌چه بیش‌تری داشتند (۳۹) پژوهش‌های دیگر نشان دادند که محلول‌پاشی عصاره جلبک دریایی بر توسعه و رشد ریشه گیاهانی مانند کلزای زمستانه، کاج ساحلی و توت‌فرنگی تأثیر قابل‌توجهی داشت (۵۰).

جدول ۴- تجزیه واریانس تأثیر روش‌های مختلف استخراج ترکیبات جلبک‌های قرمز گراسیلاریا (*G. corticata*) و اکانتوفورا (*A. spiciferais*) بر صفات ریشه و فیزیولوژیکی خیار آب‌پران.

Table 4. Variance analysis of different methods of extracting compounds of red seaweed Gracylaria (*G. corticata*) and Acanthophora (*A. spiciferais*) and its effect on root and physiological parameters of *Ecballium elaterium*.

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	طول ریشه Root length	قطر ریشه Root diameter	انشعابات فرعی ریشه Root subdivisions	حجم ریشه Root volume	سطح ریشه Root level	کلروفیل کل Total chlorophyll	کارتنوئید Carotenoid	فنل کل Total phenol	فلاونوئید کل Total flavonoids
استخراج Extraction Method	۵	5507.592**	86.635**	53.741**	1569.629**	43152.319**	15.612**	13.734**	145.300**	13.764**
خطا Error	18	159.209	5.023	2.125	25.500	607.134	0.830	0.201	6.463	0.286
ضریب تغییرات (درصد) CV%		12.28	14.10	14.63	13.40	11.05	10.16	8.08	7.91	5.46

** معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد

** Significant at 1% of probability levels

جدول ۵- مقایسه میانگین روش‌های مختلف استخراج ترکیبات جلبک‌های قرمز گراسیلاریا (*G. corticata*) و اکانتوفورا (*A. spiciferais*) و تأثیر آن بر پارامترهای ریشه و فیزیولوژیک خیار آب‌پران.

Table 5. Comparison mean of effect of different methods of extracting the compounds of red seaweed Gracylaria (*G. corticata*) and Acanthophora (*A. spiciferais*) on root and physiological parameters of *Ecballium elaterium*.

تیمارها Treatments	طول ریشه Root Length (cm)	قطر ریشه Root Diameter (mm)	انشعابات فرعی Root Subdivisions	حجم ریشه Root Volume (mlit)	سطح ریشه Root Level (cm^2)	کلروفیل کل Total Chlorophyll ($mg\ g^{-1}FW$)	کارتنوئید Cartonoid ($mg\ g^{-1}FW$)	فنل کل Total Phenol ($mg\ 100g^{-1}FW$)	فلاونوئید کل Total Flavonoids ($mg\ 100g^{-1}FW$)
اتوکلاو Autoclave	153.72 a	21.90 a	14.00 a	64.07 a	361.88 a	10.91 a	6.69 ab	37.98 a	21.59 a
مایکروویو Microwave	124.39 b	20.18 a	13.75 ab	55.16 b	301.21 a	10.77 a	7.09 a	38.38 a	10.50 b
جوشاندن Boiling	113.92 b	16.73 b	11.75 b	42.59 c	257.04 c	9.69 ab	6.35 b	31.23 b	10.53 b
نیتروژن مایع Liquid nitrogen	93.13 c	13.61 b	8.00 c	28.94 d	187.77 d	9.11 b	6.11 b	31.92 b	8.96 c
اتانول Ethanol	85.89 c	13.50 b	6.25 c	23.00 d	150.33 e	7.35 c	4.98 c	31.28 b	9.06 c
شاهد Control	45.16 d	9.40 c	6.00 c	12.30 e	78.58 f	5.91 d	2.05 d	21.80 c	7.13 d

در هر ستون میانگین‌های با حروف مشترک بدون اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد آزمون دانکن می‌باشند

Columns with similar letter (s) are not significantly different ($P \leq 0.05$) using Duncan's multiple range test

کلروفیل کل و کارتنوئید: طبق نتایج تجزیه واریانس، تأثیر عصاره‌های جلبکی بر رنگیزه‌های کلروفیل و کارتنوئید در سطح یک درصد معنی‌دار شدند (جدول ۴). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیش‌ترین میزان کلروفیل کل در تیمار اتوکلاو (۱۰/۹۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و مایکروویو (۱۰/۷۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر)، و بیش‌ترین میزان کارتنوئید در تیمار مایکروویو (۶/۶۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) دیده شد (جدول ۵).

اهمیت عناصر در فعالیت‌های فتوسنتزی و تولید رنگیزه‌های گیاهی کاملاً واضح است؛ عنصر روی در تولید هورمون‌های رشد و انجام فتوسنتز، عنصر بر در تقسیم سلولی و آهن در تشکیل کلروفیل نقش دارند (۳۹). از طرف دیگر وجود بتائین، اسیدهای آمینه و سایر مواد فعال درعصاره جلبکی از تخریب کلروفیل جلوگیری می کند، عصاره جلبک دریایی هم‌چنین حاوی منیزیم است که برای ساخت کلروفیل لازم است (۵۱). پژوهش‌ها نشان داد محلول‌پاشی عصاره جلبکی باعث افزایش شاخص کلروفیل در اسفناج و نیشکر (۵۲) شد؛ از طرفی محلول‌پاشی عصاره جلبک دریایی باعث جلوگیری از کاهش شدید رنگیزه‌های فتوسنتزی مانند کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل در گیاه ریحان در اثر تنش خشکی شد، از طرف دیگر بیش‌ترین مقدار کارتنوئید در گیاه محلول‌پاشی شده با غلظت دو گرم در لیتر عصاره جلبک دریایی به‌دست آمد (۵۳). در پژوهشی دیگر عصاره جلبک دریایی *A. nodosum* باعث افزیش کلروفیل کل در گوجه‌فرنگی در شرایط تنش خشکی شد (۵۴).

فنل و فلاونوئید کل: طبق نتایج تجزیه واریانس، اثر عصاره‌های جلبکی استخراج شده با روش‌های مختلف بر فنل و فلاونوئید کل در سطح یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۴). بیش‌ترین میزان فنل کل مربوط به تیمار استخراج با مایکروویو (۳۸/۳۸ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم وزن تر) و اتوکلاو (۳۷/۹۸ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم وزن تر) و بیش‌ترین میزان فلاونوئید کل نیز مربوط به تیمار استخراج شده با اتوکلاو (۱۲/۵۹ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم وزن تر) بود که در بالاترین گروه آماری قرار گرفت و کم‌ترین فنل کل (۲۱/۸۰ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم وزن تر) و فلاونوئید کل (۷/۱۳ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم وزن تر) مربوط به نمونه‌های شاهد بودند (جدول ۵).

نتایج پژوهش‌گران دیگر روی لوبیا (۱۷) و همیشه بهار (۵۵) نشان داد که استعمال عصاره‌های جلبکی باعث افزایش ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در گیاهان مورد بررسی شد؛ دلیل این مسأله افزایش دسترسی به مواد مغذی و ترکیات واسطه در سنتز ترکیبات فنلی، افزایش فعالیت آنزیم‌های مشارکت‌کننده در این فعالیت (فنیل آلانین آمونیا لیاز و چالکون سنتتاز) می‌باشد. محلول‌پاشی با عصاره جلبکی در خیار سبب افزایش قابل‌توجه فنل کل، ویتامین C و ظرفیت آنتی‌اکسیدان شد (۵۶)، از طرفی دیگر در توت‌فرنگی و توت میزان آنتوسیانین‌ها و فنل کل افزایش یافت (۵۷).

نتیجه‌گیری

طبق مطالعات پیشین که در این راستا انجام گرفته است ارائه یک روش و یک حلال مناسب و یکسان برای استخراج ترکیبات زیستی و طبیعی از جلبک‌های دریایی امکان‌پذیر نیست. در این پژوهش نیز تأثیر روش‌های مختلف استخراج جلبک‌های قرمز دریایی اثرات متفاوتی از خود نشان دادند و روش‌های جدیدتر (اتوکلاو و مایکروویو) نسبت به روش‌های سنتی (جوشاندن، ازت مایع و اتانول) درصد استخراج ترکیبات آلی، عناصر و هورمون‌های رشد بالاتری داشتند و بیش‌ترین تاثیر را در پارامترهای رشدی، رنگدانه‌های فتوسنتزی، عملکرد شاخساره و میوه، سطح و چگالی ریشه و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی خیار آب‌پران داشتند. آب که حلالی سازگار با اکثر ترکیبات زیستی می‌باشد در نقش خود نسبت به اتانول بسیار قوی عمل کرد، به راحتی ترکیبات شکسته شده در اثر دما و فشار را در خود حل نمود و مانع تغییر ساختار این ترکیبات شد.

منابع

1. Apostolos, P., Athanasios, P., Georgios, G., Charalambos, S., Emmanouil, L., Ioannis, D. and Georgios, A. 2012. Severe uvular edema and resulting hypoxemia due to single use of *Ecballium elaterium* L. extract. Am. J. Med. Case Rep. 13: 3-11.
2. Bohlooli, S., Jafari, N. and Jahed, S. 2012. Cytotoxic effect of freeze-dried extract of *Ecballium elaterium* fruit on gastric adenocarcinoma (AGS) and esophageal squamous cell carcinoma (KYSE30) cell lines. J. Gastrointest. Cancer. 43: 579-583.
3. Abbassi, F., Ayari, B., Mhamdi, B. and Toumi, L. 2014. Phenolic contents and antimicrobial activity of squirting cucumber (*Ecballium elaterium*) extracts against food-borne pathogens. Pak. J. Pharm. Sci. 27: 3. 475-479.
4. Bindhu, K.B. 2013. Effect of Azolla extract on growth performance of *Pisum sativum*. J. Biol. Sci. 2: 10. 88-90.
5. Javanmardi, J. and Azadi, H. 2012. The effect of foliar application with seaweed extract on growth, yield and quality characteristics of cherry tomatoes (*Lycopersicon esculentum* var. Cerasiform).

J. Hort. Sci. Technol. 13: 3. 283-290. (In Persian)

6.Trivedi, K., Vijay Anand, K.G., Kubavat, D., Patidar, R. and Ghosh, A. 2018. Drought alleviatory potential of kappaphycus seaweed extract and the role of the quaternary ammonium compounds as its constituents towards imparting drought tolerance in *Zea mays* L. J. Appl. Phycol. 30: 2001-2015.

7.Ignat, I., Volf, I. and Popa, V.I. 2011. A critical review of methods for characterization of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. Food Chem. 126: 1821-1835.

8.Rebey, I.B., Bourgou, S., Debez, I.B.S., Karoui, I.J., Sellami, I.H., Msaada, K., Limam, F. and Marzouk, B. 2011. Effects of extraction solvents and provenances on phenolic contents and antioxidant activities of cumin (*Cuminum cyminum* L.) seeds. Food Bioproc. Tech. 5: 2827-2836.

9.Yang, B., Jiang, Y., Shi, J., Chen, F. and Ashraf, M. 2011. Extraction and pharmacological properties of bioactive compounds from longan (*Dimocarpus longan* Lour.) fruit- a review, Food Res. Int. 44: 7. 1837-1842.

10.Michalak, I., Tuhy, L. and Chojnacka, K. 2015. Seaweed extract by microwave assisted extraction as plant growth biostimulant, Open Chemis. 13: 1. 1183-1195.

11.Mozdastan, S.H., Ali Ebrahimzadeh, M. and Khalili, M. 2015. Comparing the impact of different extraction methods on antioxidant activities of myrtle (*Myrtus communis* L.). J. Mazandaran Univ. Med. Sci. 25: 127. 10-24. (In Persian)

12.Billakanti, J.M., Catchpole, O.J., Fenton, T.A., Mitchell, K.A. and Mackenzie, A.D. 2013. Enzyme-assisted extraction of fucoxanthin and lipids containing polyunsaturated fatty acids from *Undaria pinnatifida* using dimethyl ether and ethanol. Process Biochem. 48: 12. 1999-2008.

13.Ganesan, P., Kumar, C.S. and Bhaskar, N. 2008. Antioxidant properties of methanol extract and its solvent fractions obtained from selected Indian red seaweeds. Bioresour. Technol. 99: 8. 2717-2723.

14.Youssef, R., Maria, G., Mariateresa, C., Eugenio, C., Mauro, M., Marios, K. and et al. 2018. Plant and seaweed-based extracts increase yield but differentially modulate nutritional quality of greenhouse spinach through biostimulant action. Agrono. 8: 126. 1-15.

15.Michalak, L., and Chojnacka, K. 2014. Algal extracts: technology and advances. Eng. Life Sci. 14: 6. 581-591.

16.Babakhani Lashkan, A., Rezaei, M., Rezaei, K. and Seifabadi, S.J. 2012. Optimization of extraction of antioxidant compounds in microwave-assisted extracts of brown Algae *Sargassum angustifolium*. J. Fish. 65: 3. 243-255. (In Persian)

17.Lopez, A., Rico, M.; Rivero, A. and Tangil, D.M.S. 2018. The effects of solvents on the phenolic contents and antioxidant activity of *Stypocaulon scoparium* algae extracts. Food Chemis. 125: 1104-1109.

18.Cox, S., Abu-Ghannam, N. and Gupta, S. 2010. An assessment of the antioxidant and antimicrobial activity of six species of edible Irish seaweeds. Int. Food Res. J. 17: 205-220.

19.Ghasemi Maham, S., Rahimi, A. and L-Smith, D. 2018. Environmental assessment of the essential oils produced from dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.) in conventional and organic farms with different irrigation rates. J. Clean. Prod. 20: 4. 1070-1086.

20.Ali, O., Ramsubhag, A. and Jayaraman, J. 2021. Biostimulant Properties of Seaweed Extracts in Plants: Implications towards sustainable crop production. Plants. 10: 531-558.

21.Chemat, F., Smadja, J. and Lucchesi, M.E. 2004. Solvent-free microwave extraction of volatile natural substances. U S Pat. Applicat. 4: 5. 164-185.

22.Hoseini, S.M., Montazeri, F. and Afsharzadeh, S. 2014. Comparison of cell disruption methods for extracting lipid from *Spirulina platensis* and *Chlorella vulgaris*. Biocatal. Agric. Biotechnol. 5: 3. 45-56.

23.Bahman Abadi, J. 2011. Optimization of barberry extract extraction by ultrasound technology using low level method, Master Thesis, Islamic Azad University, Quchan Branch. 23p. (In Persian)
24.Natarajan, S., Xu, C., Caperna, T.J. and Garrett, W.M. 2005. Comparison of protein solubilization methods suitable for proteomic analysis of soybean seed proteins. Anal. Biochem. 342: 2. 214-220.
25.Sibi, M., Khazaei, H.R. and Nezami, A. 2016. Effect of concentration, time and method of consumption of seaweed extract on some morphological characteristics of safflower root and shoot. J. Crop Plant Physiol. 8: 29. 5-21.
26.Ramarajan, S., Joseph, L.H. and Ganthi, A.S. 2012. Effect of seaweed liquid fertilizer on the germination and pigment concentration of soybean. J. Crop Sci. Technol. 1: 2. 1-5.
27.Horwitz, W. 1995. Official methods of analysis. 17 th editions. A.O.A.C international. Washington, DC, USA.
28.Bligh, E.G. and Dyer, W.J. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. Can. J. Biochem. Physiol. 37: 911-917.
29.A.O.A.C. 2005. Official methods of analysis. 15th ed. Association of Official Agricultural Chemists. 12th Ed., Washington, D.C., USA.
30.Rosen, H. 1956. A modified ninhydrin colorimetric analysis for amino acids arch. Biochem. 67: 10-15.
31.Manivannan, K., Thirumaran, G., Karthikai Devi, G., Anantharaman, P. and Balasubramanian, T. 2009. Proximate composition of different group of seaweeds from Vedalai coastal water (Gulf of Mannar): Southeast coast of India. Middle East J. Sci. Res. 4: 2. 72-77.
32.He, Y., Oyaizu, H. and Suzuki, S. 2002. Indole-3-acetic acidproduction in Pseudomonas fluorescens HP72 andits association with suppression of creepingbentgrass brown patch. Curr Microbiol. 47: 138-143.
33.Ergun, N., Topcuoulu, F. and Yildiz, A. 2002. Auxin (Indole-3-acetic acid), gibberellic acid (GA3), abscisic acid (ABA) and cytokinin (zeatin) production by some species of mosses and lichens. Turkish Journal of Botany. 26: 13-18.
34.Berrios, J., Illanes, A. and Aroca, G. 2004. Spectrophotometric method for determining gibberellic acid in fermentation broths. Biotechnol Lett. 26: 67-70.
35.Porra, R.J. 2002. The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls a and b. Photosynth. Res. 73: 149-156.
36.Malek Ziarati, H., Sahebani, N.A., Rahnama, K. and Noori, N. 2007. Effect of fungus Trichoderma *harzianum* on induced systemic phenolic compounds against root knot nematode *Meloidogyne javanica* in tomato. J. Agric. Nat. Resour. Sci. 14: 6. 161-168.
37.Alizadeh, A. 2009. Water, soil and plant relation. 9th edition, Astane Godse Razavi Press. 484p.
38.Chirinos, R., Rogez, H., Campos, D., Pedreschi, R. and Larondelle, Y. 2007. Optimization of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruíz and amp; Pavón) tubers. Sep. Purif. Technol. 55: 2. 217-225.
39.Ravi, S., Channal, H.T., Hebsur, N.S., Patil, B.N. and Dharmatti, P.R. 2008. Effect of sulphur, zinc and iron nutrition on growth, yield, nutrient uptake & quality of safflower (*Carthamus tinctorius* L.). Karnataka J. Agric. Sci. 32: 382-385.
40.Alam, M.Z., Braun, G., Norrie, J. and Hodges, D.M. 2013. Effect of Ascophyllum extract application Ali, N., Farrell, A., Ramsubhag, A., and Jayaraman, J. 2016. The effect of *ascophyllum nodosum* extract on the growth, yield and fruit quality of tomato grown under tropical conditions. J. Appl. Phycol. 28: 1353-1362.
41.Thambiraj, J., Lingakumar, K. and Paulsamy, S. 2012. Effect of seaweed liquid fertilizer (SLF) prepared from *Sargassum wightii* and *Hypnea musciformis* on the growth and

biochemical constituents of the pulse, (*Cyamopsis tetragonoloba* L.). J. Agric. Res. 1: 1. 65-70.

42. Akbari Charmahini, S. and Moalei, N. 2012. Effect of gibberellic acid on the growth of seedlings olive (*Olea europaea* L.). J. Hort. Sci. 24: 2. 184-188.
43. Ali, O., Ramsubhag, A. and Jayaraman, J. 2019. Biostimulatory activities of *Ascophyllum nodosum* extract in tomato and sweet pepper crops in a tropical environment. PLoS ONE. 14: 1-19.
44. Haghparast, M., Maleki Gharahani, S., Masoud Sinki, J. and Zarei, G. 2012. Reducing the negative effects of drought stress in chickpeas with the use of humic acid and seaweed extract. Crop Produc. Environ. Stress. 4: 1. 59-71. (In Persian)
45. Basimfar, R., Nasri, M. and Zargari, K. 2016. Effect of sea alga extract and vermicompost on yield and plant growth indices of *mung bean*. J. Crop Prod. Res. 8: 1. 55-71. (In Persian)
46. Norrie, J. and Keathley, J. 2006. Benefits of *Ascophyllum nodosum* marine-plant extract applications to ‘Thompson seedless’ grape production. Acta Hortic. 727: 243-245.
47. Raeisi, F., Hojjatoleslamy, M., Razavi, S.H., Zahedi, M. and Memarzade, S.M. 2013. Investigation of rheological properties of enriched orange drink using rice bran extract. Food Sci. Technol. 40: 10. 117-128. (In Persian)
48. Eshghi, S., Moharami, S. and Jamali, B. 2017. Effect of salicylic acid on growth, yield and quality of strawberry Fruit of Parus cultivar under salinity conditions. Soil Plant Interac. 7: 28. 163-173. (In Persian)
49. He, J., Wang, Y., Xu, L., Qiao, J., Ouyang, D. and He, X. 2013. Cucurbitacin IIa induces caspase-3-dependent apoptosis and enhances autophagy in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophages. Int. Immunopharmacol. 16: 1. 27-34.
50. Jannin, L., Arkoun, M., Etienne, P., Laîné, P., Goux, D., Garnica, M., Fuentes, M., Francisco, S.S., Baigorri, R., Cruz, F., Houdusse, F., Garcia-Mina, J.M., Yvin, J.C. and Ourry, A. 2013. Brassica napus growth is promoted by *Ascophyllum nodosum* (L.). Seaweed extract: microarray analysis and physiological characterization of N, C, and S metabolisms. J. Plant Growth Regul. 32: 31-52.
51. Almaroai, Y.A. and Eissa, M.A. 2020. Role of marine algae extracts in water stress resistance of onion under semiarid conditions. J. Plant. Nutr. Soil Sci. 20: 1092-1101.
52. Chen, D., Zhou, W., Yang, J., Ao, J., Huang, Y., Shen, D., Jiang, Y., Huang, Z. and Shen, H. 2021. Effects of seaweed extracts on the growth, physiological activity, cane yield and sucrose content of sugarcane in China. Front. Plant Sci. 12p.
53. Esmaielpour, B., Fatemi, H. and Moradi, M. 2020. Effects of seaweed extract on physiological and biochemical characteristics of basil (*Ocimum basilicum* L.) under water deficit stress conditions. J. Sci. Technl. Greenhouse Culture. 11: 1. 59-69. (In Persian)
54. Goñi, O., Fort, A., Quille, P., McKeown, P.C., Spillane, C. and O'Connell, S. 2016. Comparative transcriptome analysis of two *Ascophyllum nodosum* extract biostimulants: Same seaweed but different. J. Agric. Food Chem. 64: 2980-2989.
55. Vojodi Mehrabani, L., Hassanpour Aghdam, M.B., Ebrahimzadeh, A. and Valizadeh Kamran, R. 2017. The effects of organic fertilizers and cover beds on yield and some physiological traits of *Calendula officinalis* L. treated with brown algae extract foliar application. J. Plant Ecophysiol. 10: 35. 212-220. (In Persian)
56. Tuhy, L., Samoraj, M., Bas ladyn ska, S. and Chojnacka, K. 2015. New micronutrient fertilizer biocomponents based on seaweed biomass. Pol. J. Environ. Stud. 24: 2213-2221.
57. Frioni, T., Sabbatini, P., Tombesi, S., Norrie, J., Poni, S., Gatti, M. and Palliotti, A. 2018. Effects of a biostimulant derived from the brown seaweed *Ascophyllum nodosum* on ripening dynamics and fruit quality of grape vines. Sci. Hort. 232: 97-106.