زیست‌شناسی گیاهی ایران، سال هفتم، شماره بیست و چهارم، تابستان ۱۳۹۴، صفحه ۳۹-۵۲
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۳/۱۰/۱۳
تاریخ بررسی مجدد: ۱۳۹۳/۱۱/۲۵
تاریخ بررسی مجدد: ۱۳۹۴/۰۳/۱۸
تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۴/۰۳/۲۶

تأثیر شوری و آسکوربیک اسید بر رشد، روابط آبی و روابط اسمزی در گیاه شاهی (*Lepidium sativum*)

نادر چاپارزاده *، آزاده نجار خدابخش، محمد پاژنگ و لیلا زرندی میاندوآب
گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران

چکیده

شوری خاک در مناطق خشک و نیمه خشک یکی از تنش‌های اصلی گیاهان قلمداد می‌شود که می‌تواند اثر منفی بر تولید محصول داشته باشد. در پژوهش حاضر، به علت اهمیت دارویی و غذایی گیاه شاهی، اثر برهم کنش شوری (۲۲۵ میلی‌مولار NaCl) و آسکوربیک اسید (۱ میلی‌مولار) بر رشد و روابط آبی آن بررسی شد. آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی با چهار تکرار در شرایط تنظیم شده انجام گرفت. نتایج نشان داد که شوری موجب کاهش رشد، محتوای نسبی آب، پتانسیل اسمزی و پروتئین های محلول و افزایش قندهای محلول و آمینو اسیدهای آزاد از جمله پرولین گردید. بسیاری از صفات بررسی شده که از تنش شوری آسیب دیده بودند با افزودن آسکوربیک اسید به محیط شور بهبود نشان دادند. آسکوربیک اسید برون‌زا به تنهایی با افزایش میزان آب بافت ها، کربوهیدرات‌ها و پروتئین ها موجب افزایش رشد گیاهان شاهی در مقایسه با شرایط شاهد شد. به نظر می‌رسد که آسکوربیک اسید به عنوان یک آنتی‌اکسیدان با کاهش آثار مضر شوری مقاومت به تنش را در گیاه شاهی افزایش می دهد و موجب بهبود رشد می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: آسکوربیک اسید، سازگاری اسمزی، گیاه شاهی (*Lepidium sativum*)، شوری

مقدمه

تنش به عنوان یک عامل خارجی که آثار منفی بر گیاه به جای می‌گذارد تعریف می‌شود. بارندگی کم، تبخیر زیاد از سطح خاک، هوازدگی صخره‌ها و آزاد شدن املاح، آبیاری با آب شور و شیوه‌های نادرست کشاورزی مهم ترین عوامل شوری خاک (نمک غالب NaCl) محسوب می‌گردند. شوری یکی از مهم‌ترین عوامل محدود کننده رشد و تولید گیاهان زراعی است. پاسخ گیاهان به افزایش شوری پیچیده است و با تغییر در ویژگی‌های مورفولوژیک، فیزیولوژیک و متابولیک گیاه همراه است (Parida and Das, 2005). گیاهان در محیط شور با دو عامل اصلی مواجه هستند: نخست این

*نویسنده مسؤول: نشانی پست الکترونیک: nchapar@azaruniv.ac.ir، شماره تماس: ۰۴۱۳۴۳۲۷۵۰۰

Archive of SID
www.SID.ir

که، املاح زیاد موجود در محلول خاک با کاهش پتانسیل اسمزی باعث کاهش جذب آب توسط گیاه می‌شود؛ این امر موجب اختلال در تقسیم و رشد سلول‌ها می‌شود. دوم این که، غلظت زیاد یون‌های سدیم و کلر ضمن کاهش میزان جذب یون‌های ضروری از جمله پتاسیم، کلسیم و نیترات، بسیاری از عملکردهای متابولیکی را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Chaparzadeh *et al*., 2003).

تجمع اسمولیت‌های سازگار از پاسخ‌های رایج گیاهان به تنش اسمزی ناشی از تنش شوری است. توانایی محافظت از فعالیت آنزیم‌ها در شرایط شوری از ویژگی‌های این مواد محلول است (Parvaiz and Satyawati, 2008). پرولین و قندهای محلول از جمله این اسمولیت‌های سازگار هستند که افزایش آنها در گیاهان مختلف تحت تأثیر تنش‌های محیطی گزارش شده است. پرولین از ترکیبات دیواره سلولی و یک محافظت کننده اسمزی است و به پایداری غشا تحت تأثیر تنش کمک می‌کند. کربوهیدرات‌ها نقش دوگانه‌ای در سلول‌های گیاهی به عهده دارند. از یک سو، به عنوان یک عامل اسموتیک پتانسیل اسمزی را منفی کرده و باعث حفظ حالت تورژسانس و شادابی سلول‌ها می‌شوند و از سوی دیگر، با تأمین انرژی و اسکلت کربنی مورد نیاز فرآیندهای بیوسنتزی باعث رشد و نمو سلول‌ها می‌شوند.

تنش شوری با افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن و ایجاد تنش ثانویه اکسیداتیو، آسیب‌های جدی به گیاهان وارد می‌کند (Chaparzadeh *et al*., 2014). گیاهان به منظور کاهش آسیب اکسیداتیو به بخش‌های مختلف سلولی، سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی پیچیده‌ای را ایجاد نموده‌اند (Saed-Moucheshi *et al*., 2014). آسکوربیک اسید (ویتامین C) و آلفا توکوفرول (ویتامین E) به عنوان مولکول‌های آنتی‌اکسیدان به ترتیب در فاز آبی و غشاها در سم‌زدایی رادیکال‌های اکسیژن عمل می‌کنند. به هنگام سم‌زدایی رادیکال‌های اکسیژن آلفا توکوفرول به رادیکال تبدیل می‌شود که آسکوربیک اسید با احیای رادیکال آلفا توکوفرول در باز تولید آلفا توکوفرول دخالت می‌کند (Noctor and Foyer, 1998). آسکوربیک اسید در فرآیندهای رشدی گیاهان نظیر تقسیم سلولی و گسترش دیواره سلولی نقش دارد (Pignocchi and Foyer, 2003). کاربرد خارجی آسکوربیک اسید می‌تواند مقاومت به تنش شوری (Shalata and Neumann, 2001) و خشکی (Daneshmand, 2013) در گیاهان را افزایش و سبب کاهش اثر تنش اکسیداتیو شود.

شاهی با نام علمی *Lepidium sativum* L. گیاهی علفی و یک‌ساله، متعلق به تیره Brassicaceae است. این گیاه از دیرباز به عنوان یک گیاه با کاربردهای طبی وسیع در درمان بسیاری از بیماری‌ها شناخته شده است (Diwakar *et al*., 2010). با توجه به اهمیت دارویی و غذایی شاهی و نیز گسترش روزافزون خاک‌های شور که در آینده ناگزیر به استفاده از آن خواهیم بود، در پژوهش حاضر، میزان حساسیت این گیاه به تنش شوری و اثر متقابل شوری و آسکوربیک اسید بر روابط آبی و اسمزی بررسی شد.

Archive of SID

www.SID.ir

مواد و روش‌ها

بذرهای سالم گیاه شاهی (*Lepidium sativum* L. cv. Red Mobarakeh) انتخاب و با هیپوکلریت سدیم ۱ درصد ضدعفونی و با آب مقطر شستشو داده شد. بذرها پس از ۴ ساعت نگهداری در آب مقطر به گلدان‌های حاوی پرلیت منتقل و با محلول غذایی هوگلند تغییر یافته تغذیه شدند. گلدان‌ها در شرایط نوری تنظیم شده ۱۴ ساعت نور و ۱۰ ساعت تاریکی در شدت نور فتوسنتزی ۲۵۰ میکرو مول فوتون بر متر مربع و رطوبت ۳۰ تا ۴۰ درصد و دمای ۲±۲۵ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. پس از ۱۴ روز، دانه‌رُست‌ها به چهار گروه تقسیم شدند: گروه اول با محلول هوگلند (شاهد)، گروه دوم با محلول هوگلند حاوی ۱ میلی‌مولار آسکوربیک اسید (ASA)، گروه سوم با محلول هوگلند حاوی ۲۲۵ میلی مولار NaCl و گروه چهارم با محلول هوگلند حاوی ASA (۱ میلی مولار) و NaCl (۲۲۵ میلی مولار) تیمار شدند. تیمارها به مدت هشت روز (چهار بار) به محیط ریشه اضافه شدند. برگ‌ها و ریشه‌ها ۲۴ ساعت پس از آخرین تیمار، برای بررسی استفاده شدند.

اندازه گیری وزن خشک بخش هوایی و ریشه پس از قرار دادن نمونه‌ها در آون ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۷۲ ساعت صورت گرفت.

تعیین محتوای نسبی آب (Relative Water Content, RWC) و پتانسیل اسمزی روی نمونه‌های برگی انجام گرفت. نمونه‌های برگی تر پس از جداسازی وزن شده (FW) و سپس به مدت ۶ ساعت در محیطی اشباع از آب قرار داده شدند و دوباره توزین شدند (TW). در ادامه، نمونه‌ها به منظور تبخیر آب بافتی به مدت ۷۲ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه قرار گرفته و دوباره توزین گردیدند (DW).

از رابطه ۱ برای محاسبه محتوای نسبی آب برگ‌ها استفاده و نتیجه بر حسب درصد گزارش گردید.

رابطه ۱: $RWC= [(FW-DW)/(TW-DW)]$

برای اندازه گیری پتانسیل اسمزی، نمونه‌های برگی پس از چند بار انجماد در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد و ذوب تخریب شدند. برای استخراج و جداسازی شیره سلولی، نمونه‌های برگی تخریب شده به مدت ۱۵ دقیقه در ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ (مدل EBA، شرکت Hettich، آلمان) شد. اسمولاریته شیره سلولی با اسمومتر انجمادی (مدل OSMOMAT 030، شرکت GONOTEC، آلمان) تعیین شد. پتانسیل اسمزی از رابطه ۲ (وانتهوف) در دمای ۲۰ درجه سانتیگراد محاسبه و بر حسب مگاپاسگال گزارش شد (Chaparzaeh *et al.*, 2003).

رابطه ۲: $\Psi_\pi\ (MPa) = 0.002437\ (m^3\ MPa\ mol^{-1}) \times Osmolality\ (mol.m^{-3})$

برای تعیین پتانسیل اسمزی در حالت تورژسانس ۱۰۰ درصد، برگ‌ها به مدت ۶ ساعت در محیط سرد داخل آب مقطر قرار داده شد و تمام مراحل استخراج و اندازه‌گیری پتانسیل اسمزی روی آنها اعمال شد. میزان سازگاری اسمزی برگ ها از رابطه ۳ محاسبه شد که در آن OA سازگاری اسمزی بر حسب مگاپاسکال، $\Psi_\pi^{100\ control}$ مقدار پتانسیل اسمزی برگ شاهد در حالت تورژسانس ۱۰۰ درصد و $\Psi_\pi^{100\ treatment}$ مقدار پتانسیل اسمزی برگ تیمار (غیر از شاهد) در حالت تورژسانس

Archive of SID

www.SID.ir

۱۰۰ درصد است (Ghodrati *et al*., 2013).

رابطه ۳: $OA= \Psi_{\pi}^{100\ control} - \Psi_{\pi}^{100\ treatment}$

برای استخراج و اندازه گیری مقدار قندهای محلول کل، بافت ریشه‌ای یا برگی تر با اتانول ۸۰ درصد همگن و با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ (مدل EBA، شرکت Hettich، آلمان) شد. مقداری از عصاره رویی با محلول آنترون (anthrone) مخلوط و در حمام آب جوش قرار داده شد. پس از توقف واکنش در آب یخ میزان جذب در طول موج ۶۲۵ نانومتر (اسپکتروفتومتر مدل Genova، شرکت Genway، انگلستان) اندازه‌گیری شد (Roe, 1955) و مقدار قند هر نمونه با استفاده از منحنی استاندارد گلوکز خالص تعیین و بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر گزارش گردید.

برای اندازه‌گیری مقدار آمینو اسید پرولین، بافت ریشه‌ای یا برگی تر با سولفوسالیسیلیک اسید ۳ درصد همگن و به مدت ۱۵ دقیقه در ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ (مدل EBA، شرکت Hettich، آلمان) گردید. مقداری از عصاره رویی با معرف نین هیدرین و استیک اسید مخلوط و در حمام آب جوش قرار داده شد. پس از توقف واکنش در آب یخ و افزودن تولوئن، میزان جذب نوری فاز رنگی در طول موج ۵۲۰ نانومتر تعیین و مقدار پرولین با استفاده از منحنی استاندارد پرولین خالص بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر گزارش گردید (Bates *et al*., 1973).

برای سنجش محتوای آمینو اسیدهای آزاد کل، بافت برگی و ریشه‌ای تازه با بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مول سرد (اسیدیته= ۷/۵) همگن و سپس در دمای ۴ درجه سانتیگراد، سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ (مدل Universal 320، شرکت Hettich، آلمان) گردید. پس از آن، مقادیری از مایع رویی با معرف نین هیدرین مخلوط و به مدت ۵ دقیقه در بن‌ماری جوشان قرار داده شد. پس از سرد شدن، جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۷۰ نانومتر تعیین گردید (Harding and MacLean, 1916). با رسم منحنی استاندارد با استفاده از گلیسین، مقدار آمینو اسیدهای آزاد بر اساس میکروگرم بر گرم وزن تر گزارش گردید.

برای اندازه‌گیری پروتئین‌های محلول کل، بافت ریشه‌ای یا برگی تر در بافر Tris-HCl همگن شد و به مدت ۱۵ دقیقه در دور ۱۳۰۰۰ در دمای ۴ درجه سانتیگراد سانتریفیوژ (مدل Universal 320، شرکت Hettich، آلمان) گردید. مقداری از عصاره با محلول Bradford (۱۹۷۶) مخلوط و پس از ۵ دقیقه میزان جذب نوری در طول موج ۵۹۵ نانومتر تعیین شد. محتوای پروتئین‌ها با استفاده از منحنی استاندارد سرم آلبومن گاوی تعیین و بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر گزارش گردید.

تحلیل آماری: برای تحلیل‌های آماری از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ و Excel استفاده شد. آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی با چهار تکرار و مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج

رشد: بر اساس نتایج، شوری موجب کاهش معنی دار وزن خشک بخش‌های هوایی و ریشه‌ها نسبت به شاهد

Archive of SID

www.SID.ir

شد. در حالی که تیمار آسکوربیک اسید باعث افزایش معنی‌دار وزن خشک بخش‌های هوایی و ریشه‌ها گردید. در تیمار شوری همزمان با آسکوربیک اسید وزن خشک بخش های هوایی و ریشه ها نسبت به شرایط شاهد تغییر معنی داری نشان نداد اما نسبت به تنش شوری افزایش معنی‌داری یافت (شکل ۱).

محتوای نسبی آب برگ: شوری کاهش معنی‌داری در محتوای نسبی آب برگ نسبت به شاهد ایجاد کرد. با این وجود، تیمار آسکوربیک اسید سبب افزایش معنی‌دار محتوای نسبی آب برگ گردید. محتوای نسبی آب برگ در گیاه تیمار شده با شوری همزمان با آسکوربیک اسید نسبت به شرایط شاهد تغییر معنی داری نشان نداد ولی نسبت به تنش شوری افزایش معنی‌داری نشان داد (شکل ۲).

پتانسیل اسمزی، پتانسیل اسمزی در تورژسانس کامل و سازگاری اسمزی: نتایج حاصل از تأثیر شوری بر پتانسیل اسمزی برگ‌ها و پتانسیل اسمزی در تورژسانس کامل نشان داد که شوری باعث منفی‌تر شدن معنی‌دار پتانسیل اسمزی برگ‌ها و پتانسیل اسمزی در تورژسانس کامل نسبت به شاهد شده است. آسکوربیک اسید نیز پتانسیل اسمزی برگ‌ها و پتانسیل اسمزی در تورژسانس کامل را منفی‌تر کرد. در گیاه تیمار شده با شوری همزمان با آسکوربیک اسید، پتانسیل اسمزی برگ‌ها و پتانسیل اسمزی در تورژسانس کامل نسبت به گیاه تحت تنش شوری تفاوتی نشان نداد (شکل‌های ۳ و ۴). تنش شوری و تیمار آسکوربیک اسید باعث افزایش سازگاری اسمزی شد (شکل ۵).

قندهای محلول کل: محتوای قندهای محلول کل برگ‌ها و ریشه‌ها هم در تنش شوری و هم تحت تیمار آسکوربیک اسید افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد نشان داد. محتوای قندهای محلول کل برگ‌ها و ریشه‌ها در گیاه تیمار شده با شوری همزمان با آسکوربیک اسید نسبت به تیمار شوری نیز افزایش معنی‌داری نشان داد (شکل ۶).

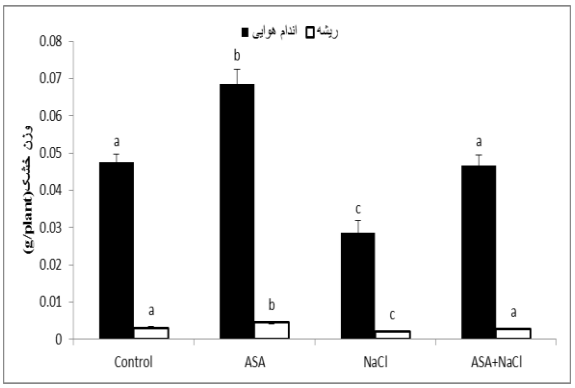
پروتئین‌های محلول کل: بر اساس نتایج به دست آمده شوری موجب کاهش معنی‌دار محتوای پروتئین‌های محلول کل برگ‌ها و ریشه‌ها نسبت به شاهد شد. در حالی که آسکوربیک اسید باعث افزایش معنی‌دار محتوای پروتئین‌های محلول کل برگ‌ها و ریشه‌ها گردید. محتوای پروتئین‌های محلول کل برگ‌ها و ریشه‌ها در گیاه تیمار شده با شوری همزمان با آسکوربیک اسید نسبت به شوری افزایش معنی‌داری نشان داد (شکل ۷).

آمینو اسیدهای آزاد کل: شوری موجب افزایش معنی‌دار محتوای آمینو اسیدهای آزاد کل برگ‌ها و ریشه‌ها نسبت به شاهد شد. این در حالی است که تیمار آسکوربیک اسید محتوای آمینو اسیدهای آزاد کل برگ‌ها و ریشه‌ها را به طور معنی‌داری کاهش داد. شوری همزمان با آسکوربیک اسید نیز موجب کاهش آمینو اسیدهای آزاد کل برگ‌ها و ریشه‌ها نسبت به تنش شوری گردید (شکل ۸).

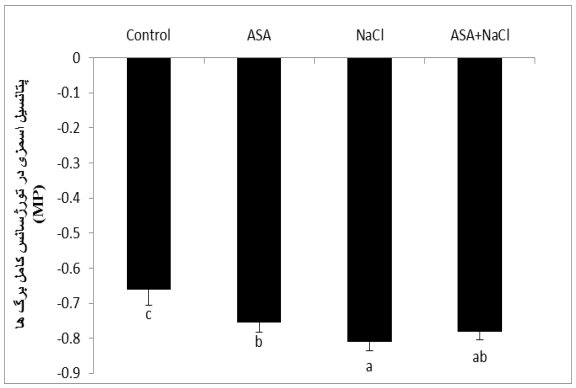
محتوای پرولین: محتوای پرولین برگ‌ها و ریشه‌ها تحت تنش شوری افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد نشان داد. تیمار آسکوربیک اسید باعث کاهش معنی‌دار محتوای پرولین برگ‌ها و ریشه‌ها گردید. محتوای پرولین برگ‌ها و ریشه‌های گیاه شاهی در تیمار شوری همزمان با آسکوربیک اسید نسبت به تیمار شوری کاهش نشان داد (شکل ۹).

Archive of SID

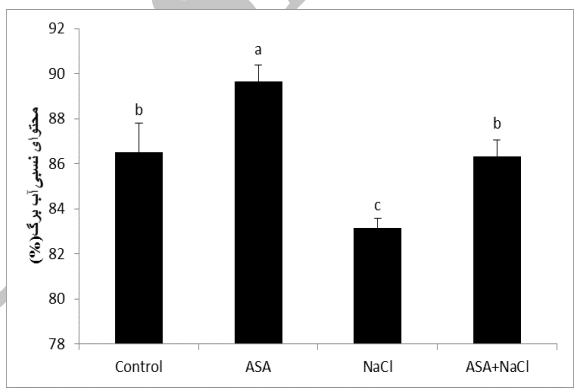
www.SID.ir



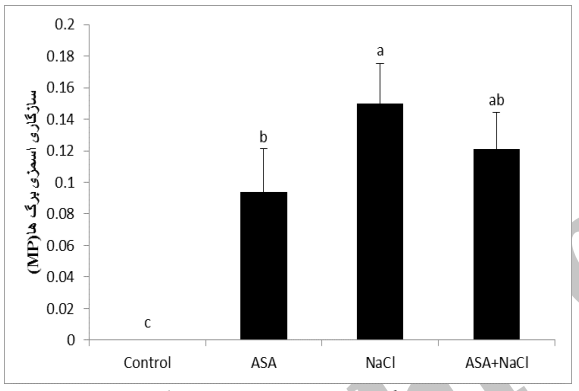
شکل ۱- مقادیر میانگین وزن خشک بخش هو ایی و ریشه‌ها با ۴ تکرار ±SD است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ است.



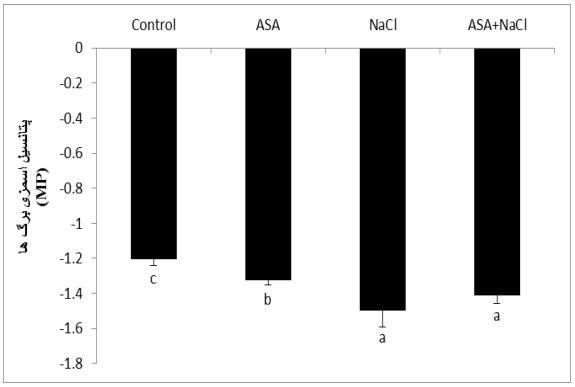
شکل ۴- مقادیر میانگین پتانسیل اسمزی در تورژسانس کامل برگ‌ها با ۴ تکرار ±SD است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ است.



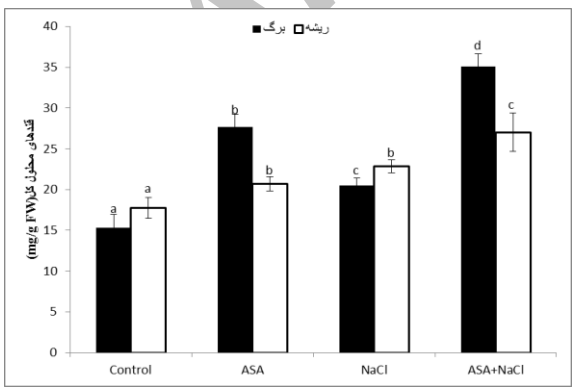
شکل ۲- مقادیر محتوای نسبی آب برگ‌ها با ۴ تکرار ±SD است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ است.



شکل ۵- مقادیر میانگین سازگاری اسمزی برگ‌ها با ۴ تکرار ±SD است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ است.



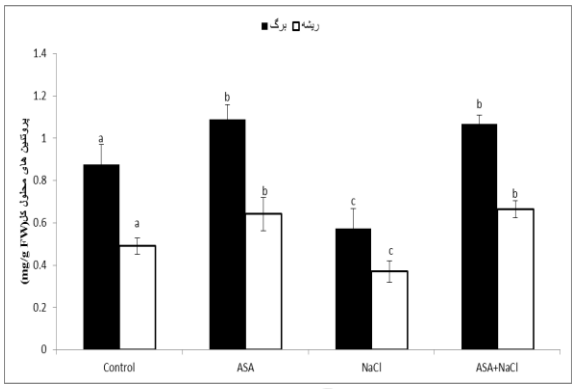
شکل ۳- مقادیر میانگین پتانسیل اسمزی برگ‌ها با ۴ تکرار ±SD است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ است.



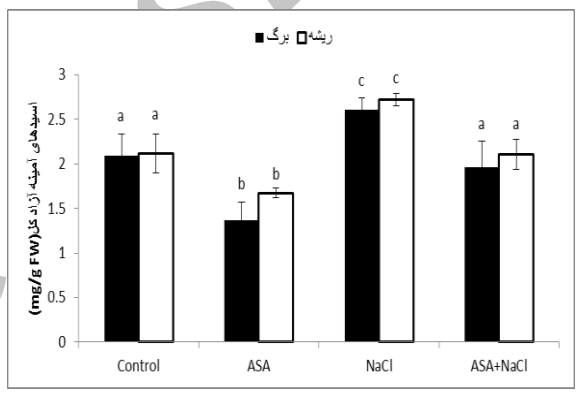
شکل ۶- مقادیر میانگین محتوای قندهای محلول کل برگ‌ها و ریشه‌ها با ۴ تکرار ±SD است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ است.

Archive of SID

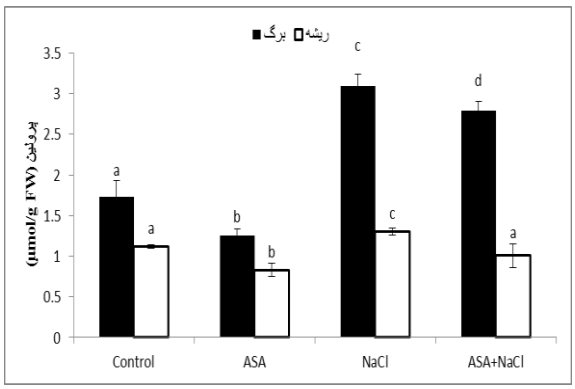
www.SID.ir



شکل ۷- مقادیر میانگین محتوای پروتئین‌های محلول کل برگ‌ها و ریشه‌ها با ۴ تکرار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ است.



شکل ۸- مقادیر میانگین محتوای آمینو اسیدهای آزاد کل برگ‌ها و ریشه‌ها با ۴ تکرار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ است.



شکل ۹- مقادیر میانگین محتوای پرولین برگ‌ها و ریشه‌ها با ۴ تکرار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ است.

بحث

کاهش رشد، عمده‌ترین اثر شوری بر گیاهان است. وزن تر و خشک از شاخص‌هایی هستند که به منظور بررسی میزان رشد گیاه استفاده می‌گردند. از آنجا که آب بافت‌ها در وزن خشک دخالتی ندارد و وزن موادی که در اثر فعالیت‌های متابولیسمی گیاه ساخته شده است اندازه‌گیری می‌شود، شاخص بسیار مناسبی برای اندازه‌گیری رشد است. با توجه به شکل ۱ شوری موجب کاهش وزن خشک اندام هوایی و ریشه‌ها شد. جلوگیری از رشد گیاه تحت شوری می‌تواند به علت کاهش تقسیم سلولی، عدم تعادل یونی، کاهش جذب آب، اختلال در جذب عناصر، تأثیر یون‌های سمی به ویژه سدیم، اختلال در جذب، احیا و متابولیسم نیتروژن و پروتئین، بسته شدن روزنه‌ها و کاهش کارآیی فتوسنتز باشد (Parida and Das, 2005). همچنین، شوری با افزایش رادیکال‌های آزاد و آسیب به دستگاه فتوسنتزی و پروتئین‌سازی، بر رشد و تولید اثر منفی را مضاعف می‌کند (Parida and Das, 2005). کاهش شاخص‌های رشد در گیاه *Catharanthus roseus* (Jaleel *et al.*, 2007) و نخود (*Cicer arietinum*) (Beltagi, 2008) تحت شوری گزارش شده است. تیمار ASA همزمان با شوری موجب افزایش وزن خشک اندام هوایی و ریشه‌ها نسبت به شوری شد. اثر مثبت آسکوربیک اسید بر رشد گیاه را شاید بتوان به نقش آن به عنوان کوفاکتور مهم در بیوسنتز برخی از هورمون‌های گیاهی دخیل در رشد و تقسیم سلولی از جمله جیبرلین و پایداری رنگدانه‌ها و دستگاه فتوسنتزی نسبت داد (Taqi *et al.*, 2011). بهبود شاخص‌های رشد در گیاهان تیمار شده با شوری همزمان با آسکوربیک اسید در گیاه لوبیا (Alqurainy, 2007) و

Archive of SID

www.SID.ir

نخود (Beltagi, 2008) گزارش شده است.

بر اساس شکل ۲، شوری محتوای نسبی آب برگ را کاهش داد. محتوای نسبی آب به عنوان معیاری قابل اعتماد برای اندازه‌گیری وضعیت آب در بافت‌های گیاهی به شمار می‌رود و به علت ارتباط مستقیم با حجم سلول می‌تواند تعادل بین آب گیاه و سرعت تعرق را بهتر نشان دهد (Schonfield *et al*., 1988). کاهش محتوای نسبی آب در گیاهان تحت تنش شوری می‌تواند به کاهش پتانسیل آب محیط ریشه و کاهش توان گیاه در جذب آب مربوط باشد (Munns *et al*., 2006). تیمار ASA همزمان با شوری موجب افزایش محتوای نسبی آب برگ نسبت به شوری شد. افزایش محتوای نسبی آب تحت تیمار آسکوربیک اسید در گیاه کتان نیز گزارش شده است (El-Hariri *et al*., 2010). تیمار آسکوربیک اسید برون‌زا با افزایش تقسیم سلولی (از طریق تسریع انتقال از مرحله G_1 به S چرخه سلولی) و رشد سلولی (از طریق مهار پراکسیدازهای آپوپلاستی) موجب افزایش رشد گیاه می‌شود (Azzedine *et al*., 2011). ASA از طریق افزایش اکسین درونی و تأثیر در طویل شدن ریشه‌ها (Taqi *et al*., 2011) می‌تواند موجب بهبود جذب آب توسط گیاه شود.

با توجه به شکل‌های ۳ و ۴، هم شوری، هم آسکوربیک اسید و هم شوری همزمان با آسکوربیک اسید موجب منفی‌تر شدن پتانسیل اسمزی و پتانسیل اسمزی در تورژسانس کامل برگ‌ها شدند. شوری همزمان با آسکوربیک اسید در مقایسه با شوری تنها هم در پتانسیل اسمزی هم در پتانسیل اسمزی در تورژسانس کامل اختلاف معنی‌داری نشان نداد. منفی‌تر شدن پتانسیل اسمزی و پتانسیل اسمزی در تورژسانس کامل به هنگام شوری در گیاه تربچه گزارش شده است (Hosseinzad-Behboud *et al*., 2014). قرار گرفتن سلول گیاهی در محیط شور، باعث تجمع NaCl در سیتوپلاسم شده، باعث منفی‌تر شدن پتانسیل اسمزی سلولی می‌شود. گیاهان به هنگام مواجه شدن با شوری، به منظور حفظ تعادل اسمزی با تجمع ترکیبات آلی خاصی (مانند پرولین و قندها) پتانسیل آب خود را کاهش می‌دهند تا به این ترتیب جریان آب به درون گیاه هدایت شود (Khaliel, 2010). احتمال می‌رود آسکوربیک اسید با افزایش جذب یون‌هایی نظیر پتاسیم یا سنتز و انباشتگی مواد آلی همچون سیترات و مالات، پتانسیل اسمزی را منفی‌تر کند. کاهش پتانسیل اسمزی به وسیله تجمع مواد محلول (معدنی یا آلی) را سازگاری اسمزی گویند. طی فرآیند سازگاری اسمزی، کاهش پتانسیل آب سلول بدون هیچ تغییری در تورژسانس سلول صورت می‌گیرد (Ashraf, 2004). بر اساس نتایج پژوهش حاضر، شوری و آسکوربیک اسید موجب افزایش سازگاری اسمزی در گیاهان شد (شکل ۵). تأثیر آسکوربیک اسید در افزایش سازگاری اسمزی پیاز خوراکی و افزایش سهم پتاسیم در پتانسیل اسمزی برگ‌ها نیز گزارش شده است (Ghodrati *et al*., 2013). گیاهی که قادر به سازگاری اسمزی باشد، توانایی ادامه رشد از طریق حفظ تورژسانس یا افزایش شیب پتانسیل آب از خاک به برگ به منظور جذب آب را دارا است.

با توجه به شکل ۶ شوری، آسکوربیک اسید و شوری همزمان با آسکوربیک اسید باعث افزایش قندهای محلول شدند. افزایش قندهای محلول در

Archive of SID

www.SID.ir

بافت‌های گیاهی توسط طیف وسیعی از تنش‌های محیطی القا می‌شود. بین این افزایش و تحمل به تنش‌ها از جمله تنش شوری رابطه مستقیم وجود دارد (Rodziewicz *et al*., 2014) افزایش قندهای محلول در گیاهان تحت تنش سویا (Sheteawi, 2007) و برنج (Parida and Das, 2005) نیز گزارش شده است. طی تنش شوری به منظور حفظ پتانسیل اسمزی و کاهش خطر کاهش آب با تجزیه قندهای نامحلول (نشاسته) میزان قندهای محلول افزایش می‌یابد. مهم‌ترین نقش این ترکیبات تنظیم و تعادل اسمزی و خنثی کردن رادیکال‌های آزاد است (Parida and Das, 2005). همچنین احتمال دارد در اثر القای تنش با کاهش توسعه سلولی و کاهش تبدیل قندهای محلول به پلی‌ساکاریدهای ساختاری نظیر سلولز میزان قندهای محلول در گیاه افزایش یابد. امروزه اطلاعاتی از نقش کربوهیدرات‌های محلول به عنوان مولکول‌های پیام‌رسان (سیگنال) در سازش به شرایط تنشی در دست است (Rodziewicz *et al*., 2014). با توجه به نقش آسکوربیک اسید در متابولیسم و رشد و نمو گیاه احتمال دارد که این ماده با خنثی کردن رادیکال‌های آزاد سوپر اکسید و اکسیژن یکتایی حاصل از تنش و حفاظت و یکپارچگی غشای کلروپلاستی، عملکرد دستگاه فتوسنتزی را بالا ببرد و با تولید فرآورده‌های کربنی موجب تجمع قندهای محلول شود (Shao *et al*., 2008). افزایش محتوای قندهای محلول کل با تیمار ASA در گیاه گندم (Azzedine *et al*., 2011) گزارش شده است. بنابراین، کاربرد آسکوربیک اسید برونزا با تحریک بیشتر سنتز قندهای محلول، تحمل به شوری را افزایش می‌دهد.

با توجه به شکل ۷ مقدار پروتئین‌های محلول در پاسخ به شوری کاهش یافت. کاهش محتوای پروتئینی تحت تنش شوری در گیاهان دیگر همچون کلزا (Dolatabadian *et al*., 2008) و تربچه (Hosseinzad-Behboud *et al*., 2014) نیز گزارش شده است. شوری با تغییر در ساختمان پروتئین‌ها موجب کاهش فعالیت بسیاری از آنزیم‌ها (مثلا کاهش فعالیت آنزیم رابیسکو) در گیاهان می‌شود (Parida and Das, 2005). همچنین، رادیکال‌های آزاد تولید شده طی تنش شوری، به دلیل میل ترکیبی زیاد با پروتئین‌ها و لیپیدها، باعث تخریب غشای سلولی، نوکلئیک اسیدها و پروتئین‌های سلول می‌شوند. در پژوهش حاضر، آسکوربیک اسید باعث افزایش محتوای پروتئین‌ها شد (شکل ۷). افزایش پروتئین‌های محلول با کاربرد برگی آسکوربیک اسید در گیاهان کلزا (Dolatabadian *et al*., 2008) و *Carthamus tinetorius* (Gadallah, 2000) گزارش شده است. افزایش مقدار پروتئین در گیاه سویا (Sheteawi, 2007)، نخود (Beltagi, 2008) و کلزا (Dolatabadian *et al*., 2008) تحت تنش شوری همزمان با آسکوربیک اسید در مقایسه با گیاهانی که تنها در معرض تنش شوری قرار داشتند نیز گزارش شده است. ASA می‌تواند محتوای پروتئین‌ها را از طریق افزایش جذب K^+، به عنوان یک عنصر ضروری در پروتئین‌سازی افزایش دهد (Parvaiz and Satyawati, 2008). همچنین، ASA با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در برابر تنش اکسیداتیو (Dolatabadian *et al*., 2008) و ایجاد پایداری در پیوندهای پروتئینی موجب کاهش تخریب پروتئین‌ها می‌گردد (Beltagi, 2008).

Archive of SID

www.SID.ir

تنش شوری موجب افزایش معنی‌دار آمینو اسیدهای آزاد کل در ریشه و برگ گیاه شاهی در مقایسه با شاهد شد (شکل ۸). نتایج مشابه در گیاهان دیگر نیز گزارش شده است (Katerji *et al*., 2005؛ Hosseinzad-Behboud *et al*., 2014). آمینو اسیدهای آزاد با یک گروه کربوکسیل و یک گروه آمین جزو اسمولیت‌هایی هستند که به هنگام تغییر حالت اسمزی در سیتوزول انباشته می‌شوند. آمینو اسیدهایی که طی تنش شوری تجمع می‌یابند، سازگاری اسمزی را به عهده دارند و به عنوان منابع در دسترس برای نیتروژن و کربن به شمار می‌آیند. انباشت ترکیبات نیتروژن‌دار به طور معمول به تحمل شوری گیاهان نسبت داده می‌شود. به هنگام تنش شوری، انواع آمینو اسیدها نظیر: آلانین، آرژینین، گلیسین، سرین، لوسین، ایمینو اسید پرولین، آمینو اسیدهای غیر پروتئینی سیترولین و اورنیتین انباشته می‌شوند که نقش مهمی در سازگاری اسمزی ایفا می‌کنند (Ashraf, 2004). در پژوهش حاضر، ASA به تنهایی و همچنین همزمان با شوری باعث کاهش محتوای آمینو اسیدهای آزاد گردید (شکل ۸). با پاشیدن ASA روی برگ‌ها، محتوای آمینو اسیدهای گیاه *Carthamus tinetorius* (Gadallah, 2000) و پیاز خوراکی (Ghodrati *et al*., 2013) کاهش یافت. آمینو اسیدها از اجزای پروتئین‌ها هستند که احتمال دارد کاهش آمینو اسیدهای تحت تیمار آسکوربیک اسید به علت افزایش پروتئین‌سازی لازم برای رشد گیاهان به ویژه در شرایط شوری باشد (شکل ۷). از سوی دیگر، احتمال دارد در افزایش سازگاری اسمزی با تیمار آسکوربیک اسید انباشتگی دیگر ترکیبات آلی سازگار یا افزایش احتمالی جذب برخی یون‌های معدنی دخالت نمایند.

با توجه به شکل ۹ شوری موجب افزایش محتوای پرولین گردید. اگرچه در شرایط تنش استفاده از یون‌های معدنی برای تنظیم اسمزی از نظر مصرف انرژی با صرفه‌تر از سنتز اسمولیت‌های آلی هستند، در عین حال، بسیاری از گیاهان برای تحمل تنش اسمزی، اسمولیت‌های آلی را ساخته و انباشته می‌کنند (Parvaiz and Satyawati, 2008). پرولین به عنوان یک اسمولیت سازگار به میزان زیادی در آب محلول است و در غلظت‌های بالا اثر مختل کننده بر واکنش‌های بین درشت مولکول‌ها و حلال ندارد (Yancey, 2001). در شرایط تنش، پتانسیل ردوکس سلولی در اثر فرآیندهای اکسایشی آسیب می‌بیند. در چنین شرایطی، تجمع پرولین به عنوان یک تامپون برای حفظ پتانسیل ردوکس سلولی عمل می‌کند تا فرآیندهای بیوشیمیایی وابسته به حالت ردوکس بتوانند تداوم داشته باشند. افزایش پرولین در گیاه *Catharanthus roseus* تحت تنش شوری (Jaleel *et al*., 2007) گزارش شده است. تجمع پرولین با حفظ ساختارهای سلولی سبب افزایش اسمولاریته سلولی، هدایت آب به درون سلول (ضرورت گسترش سلولی) و کاهش انتشار آب به خارج سلول می‌شود. در تیمار ASA در مقایسه با گروه شاهد و همچنین در تیمار ASA همزمان با شوری در مقایسه با شرایط شوری کاهش میزان معنی‌دار پرولین مشاهده شد (شکل ۹). در تأیید نتایج پژوهش حاضر، کاهش محتوای پرولین به طور معنی‌دار با کاربرد ASA، در لوبیا (Alqurainy, 2007) و کلزا (Dolatabadian *et al*., 2008) گزارش شده است. با توجه به نقش

Archive of SID

www.SID.ir

آنتی‌اکسیدانی ASA در تنش‌ها و نیز به علت این که ASA کوفاکتور آنزیم پرولین هیدوکسیلاز است، با تبدیل پرولین به هیدروکسی پرولین از مقدار پرولین آزاد کاسته می‌شود (Alqurainy, 2007). آزمایش‌های متعدد نشان داده است که تحت تنش شوری، گیاهان حساس غلظت بالاتری از پرولین را در مقایسه با گیاهان متحمل انباشته می‌کنند (Parvaiz and Satyawati, 2008). در گیاهان تراریخت با ظرفیت سنتز زیاد پرولین، انباشتگی پرولین در بافت‌های گیاهی موجب ایجاد مقاومت به انواع تنش‌ها می‌شود (Rodziewicz *et al*., 2014). ظرفیت گیاهان زراعی برای تجمع پرولین در پاسخ به تنش‌های محیطی ممکن است از گونه‌ای به گونه دیگر و حتی بین ارقام مختلف یک گونه گیاهی بسیار متفاوت باشد.

جمع‌بندی

نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان داد که شوری ۲۲۵ میلی‌مولار NaCl تأثیرات منفی بر گیاه شاهی دارد. افزایش اسمولیت‌ها به عنوان پاسخی به شرایط تنش شوری موجب حفظ و تداوم رشد و متابولیسم می‌شوند. کاربرد برون‌زای آسکوربیک اسید با بهبود روابط آبی و اسمزی به افزایش میزان پروتئین‌سازی گیاه شرایط شور کمک کرده، رشد آن را بهبود می‌بخشد.

سپاسگزاری

نگارندگان از معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه شهید مدنی آذربایجان به خاطر حمایت مالی و آقای علیرضا محمدپور به سبب همکاری آزمایشگاهی سپاسگزاری می‌نمایند.

منابع

Alqurainy, F. (2007) Responses of bean and pea to vitamin C under salinity stress. Research Journal of Agriculture and Biological Sciences 3: 714-722.

Ashraf, M. (2004) Some important physiological selection criteria for salt tolerance in plants. Flora 199: 361-376.

Azzedine, F., Cherroucha, H. and Baka, M. (2011) Improvement of salt tolerance in durum wheat by ascorbic acid application. Journal of Stress Physiology and Biochemistry 7(1): 27-37.

Bates, L., Waldren, R. and Teare, I. (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil 39: 205-207.

Beltagi, M. S. (2008) Exogenous ascorbic acid (vitamin C) induced anabolic changes for salt tolerance in chick pea (*Cicer arietinum* L.) plants. African Journal of Plant Science 2(10): 118-123.

Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 72: 248-254.

Chaparzadeh, N., Aftabi, Y., Dolati, M., Mehrnejad, F. and Pessarakli, M. (2014) Salinity tolerance ranking of various wheat landraces from the west of the urmia saline lake in iran by using physiological parameters. Journal of Plant Nutrition 37: 1025-1039.

Chaparzadeh, N., Khavari-Nejad, R. A., Navari-Izzo, F. and Izzo, R. (2003) Water relations and ionic balance in *Calendula officinalis* L. under salinity conditions. Agrochimica 47(1/2): 69-79.

Daneshmand, F. (2013) The effect of ascorbate pre-treatment on tomato plant under drought stress:

Archive of SID

www.SID.ir

oxidative stress, osmolytes, phenolics and protein. Iranian Journal of Plant Biology 5(18): 53-66 (in Persian).

Diwakar, B. T., Dutta, P. K., Lokesh, B. R. and Naidu, K. A. (2010) Physicochemical properties garden cress (*Lepidium sativum*) seed oil. Journal of the American Oil Chemists Society 87: 539-548.

Dolatabadian, A., Sanavy, S. and Chashmi, N. (2008) The effects of foliar application of ascorbic acid (vitamin C) on antioxidant enzymes activities, lipid peroxidation and proline accumulation of canola (*Brassica napus* L.) under conditions of salt stress. Journal of Agronomy and Crop Science 194: 206-213.

El-Hariri, D. M., Sadak, M. S. and El-Bassiouny, H. M. S. (2010) Response of flux cultivars to ascorbic acid and α-tocopherol under salinity stress condition. International Journal of Academic Research 2(6): 101-109.

Gadallah, M. (2000) Effects of acid mist and ascorbic acid treatment on the growth, stability of leaf membranes, chlorophyll content and some mineral elements of *Carthamus tinctorius*, the safflower. Water, Air and Soil Pollution 118: 311-327.

Ghodrati, M., Chaparzadeh, N. and Dilmaghani, K. (2013) Interactive effects of copper and ascorbic acid on some physiological characters in *Allium cepa* L.. Iranian Journal of Plant Biology 5(18): 37-52 (in Persian).

Harding, V. J. and MacLean, R. M. (1916) The ninhydrin reaction with amines and amides. Journal of Biological Chemistry 25: 337-350.

Hosseinzad-Behboud, E., Chaparzadeh, N. and Dilmaghani, K. (2014) Effect of salicylic acid on growth parameters, osmolytes and osmotic potential in radish (*Raphanus sativus* L.) under salt stress. Iranian Journal of Biology (Plant Researches) 27(1): 32-40 (in Persian).

Jaleel, C. A., Gopi, R., Manivannan, P. and Panneerselvam, R. (2007) Responses of antioxidant defense system of *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. to paclobutrazol treatment under salinity. Acta Physiologiae Plantarum 29: 205-209.

Katerji, N., Van Hoorn, J. W., Hamdy, A., Mastrorilli, M., Nachit, M. M. and Oweis, T. (2005) Salt tolerance analysis of chickpea, faba bean and durum wheat varieties: II. Durum wheat. Agricultural Water Management 72(3): 195-207.

Khaliel, A. S. (2010) Effect of salinity stress on mycorrhizal association and growth response of peanut infected by Glomus mosseae. Plant, Soil and Environmental 56: 318–324.

Munns, R., James, R. A. and Lauchli, A. (2006) Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. Journal of Experimental Botany 57(5): 1025-1043.

Noctor, G. and Foyer, C. H. (1998) Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 49: 249-279.

Parida, A. K. and Das, A. B. (2005) Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. Ecotoxicology and Environmental Safety 60: 324-349.

Parvaiz, A. and Satyawati, S. (2008) Salt stress and phyto-biochemical responses of plants-a review. Plant, Soil and Environment 54: 89-99.

Pignocchi, C. and Foyer, C. H. (2003) Apoplastic ascorbate metabolism and its role in the regulation of cell signaling. Current Opinion in Plant Biology 6: 379-389.

Rodziewicz, P., Swarcewicz, B., Chmielewska, K., Wojakowska, A. and Stobiecki M. (2014) Influence of abiotic stresses on plant proteome and metabolome changes. Acta Physiologiae Plantarum 36: 1-19.

Archive of SID

www.SID.ir

Roe, J. H. (1955) The determination of sugar in blood and spinal fluid with anthrone reagent. Journal of Biological Chemistry 212: 335-343.

Saed-Moucheshi, A., Shekoofa, A. and Pessarakli, M. (2014) Reactive oxygen species (ROS) generation and detoxifying in plants. Journal of Plant Nutrition 37: 1573-1585.

Schonfield, M. P., Richard, J. C., Carver, B. P. and Mornhi, N. W. (1988) Water relations in winter wheat as drought resistance indicators. Crop Science 28: 526-531.

Shalata, A. and Neumann, P. M. (2001) Exogenous ascorbic acid (vitamin C) increases resistance to salt stress and reduces lipid peroxidation. Journal of Experimental Botany 52: 2207-2211.

Shao, H. B., Chu, L. Y., Lu, Z. H. and Kang, C. M. (2008) Primary antioxidant free radical scavenging and redox signaling pathways in higher plant cells. International Journal of Biological Sciences 4(1): 8-14.

Sheteawi, S. (2007) Improving growth and yield of salt-stressed soybean by exogenous application of jasmonic acid and ascobin. International Journal of Agriculture and Biology 9: 473-478.

Taqi, A. K., Mazid, M. and Firoz, M. (2011) A review of ascorbic acid potentialities against oxidative stress induced in plants. Journal of Agrobiology 28(2): 97-111.

Yancey, P. H. (2001) Water stress, osmolytes and proteins. American Zoologist 41(4): 699-709.

Archive of SID

www.SID.ir

Effect of salinity and ascorbic acid on growth, water and osmotic relations of *Lepidium sativum*

Nader Chaparzadeh *, Azadeh Najjar-Khodabakhsh, Mohammad Pazhang and Leila Zarandi-Miandoab

Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran

Abstract

Soil salinity is a serious environmental problem in arid and semi-arid regions that have negative impacts on crop production. In this research, because of medicinal and nutritional importance of the garden cress (*Lepidium sativum*) plant, the interactive effects of salinity (225 mM NaCl) and ascorbic acid (1 mM) were evaluated on growth and its water relations. A completely randomized design with four replications was conducted under controlled conditions. The results showed that salinity decreased growth, relative water content, osmotic potential and soluble proteins and increased soluble sugars, amino acids and proline contents. Many of salinity damaged characteristic were improved by adding exogenous ascorbic acid to salty environment. Exogenous ascorbic acid alone, in comparison with control, enhanced the growth of garden cress by increasing relative water content, soluble sugars and soluble proteins contents. The results indicated that usage of ascorbic acid, as an antioxidant, reduced harmful effects of salinity stress and led to growth improvement in garden cress plants.

Key words: Ascorbic acid, Osmotic adjustment, *Lepidium sativum* L., Salinity

Archive of SID

* Corresponding Author: nchapar@azaruniv.ac.ir

www.SID.ir