

تأثیر اسید آسکوربیک بر برخی ویژگی‌های مورفولوژی و فیزیولوژی شمعدانی معطر (*Pelargonium graveolens*) در شرایط کمبود آهن

کبری سپهوند^۱، عبدالحسین رضایی نژاد^{۲*} و سیده زهرا حسینی^۳

۱ و ۲. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و دانشیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان

۳. مربی، دانشگاه صنعتی خاتم‌الانبیاء بهبهان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱/۲۶ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۳/۱)

چکیده

به منظور بررسی تأثیر اسید آسکوربیک در کاهش تأثیر وجود کمبود آهن، آزمایشی به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با شش تکرار در گیاه شمعدانی معطر انجام شد. عامل‌ها شامل میزان آهن با سه سطح (۰، ۲۰ و ۴۰ میکرو مولار) و اسید آسکوربیک با سه سطح (۰، ۱ و ۲ میلی مولار) بود. قلمه‌های ریشه‌دار شده به صورت آبکشتی (هیدروپونیک) درون ماسه کاشت شده و پس از استقرار گیاهان تیمارهای آهن و اسید آسکوربیک به همراه محلول غذایی نیم‌هوکند اعمال شد. نتایج نشان داد، با کاهش میزان آهن ویژگی‌های رشد مانند ارتفاع گیاه، قطر ساقه، شمار و طول شاخه‌های جانبی و سطح برگ در بوته کاهش یافت. با کاهش میزان آهن وزن تر و خشک برگ، ساقه و پیکر رویشی کاهش یافته ولی میزان اسانس افزایش یافت. واکنش گیاه به اسید آسکوربیک در تغذیه با آهن ۰ و ۲۰ میکرومولار با هم متفاوت بود. اسید آسکوربیک (به ویژه با غلظت ۱ میلی مولار) باعث افزایش زیست توده (بیوماس) و میزان اسانس شد. با کاهش میزان آهن، عملکرد اسانس کاهش و با کاربرد اسید آسکوربیک افزایش یافت. کاهش آهن باعث کاهش سبزینه (کلروفیل)ها و کاروتنوئیدها و کاربرد اسید آسکوربیک باعث بهبود این ویژگی‌ها شد. بنابر نتایج، کاربرد اسید آسکوربیک توانست رشد و عملکرد گیاه شمعدانی معطر را در تیمار ۲۰ میکرومولار آهن بهبود بخشد اما تأثیر آن در شرایط آهن ۰ میکرومولار بسیار کمتر بود.

واژه‌های کلیدی: اسانس، تغذیه گیاه، کشت بدون خاک.

Effect of ascorbic acid on some morphological and physiological characteristics of *Pelargonium graveolens* under iron deficiency

Kobra Sepahvand¹, Abdolhossein Rezaei Nejad^{2*} and Seyedeh Zahra Hosseini³

1, 2. Former M.Sc. Student and Associate Professor, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran

3. Lecturer, Faculty of Basic Sciences, Behbahan Khatam Alanbia University of Technology, Behbahan, Iran

(Received: Apr. 14, 2016 - Accepted: May 21, 2016)

ABSTRACT

In order to study the effect of ascorbic acid (AsA) on quantitative and qualitative characteristics of *Pelargonium graveolens* under iron (Fe) deficiency stress, a pot experiment was carried out. Three levels of Fe (0, 20 and 40 μ M) and three levels of AsA (0, 1 and 2 mM) were combined factorially based on a completely randomized design with six replications. Uniform rooted cutting were planted in sand and grown hydroponically. After plant establishment, Fe and AsA treatments were applied through half-Hoagland nutrient solution. Results showed that as Fe in nutrient solution decreased, growth characters i.e. plant height, stem diameter, number and length of axillary shoots and leaf area decreased. Moreover, as Fe in nutrient solution decreased, leaf fresh and dry weight, stem fresh and dry weight, decreased, while, oil content increased. Growth responses to AsA was different in plants grown in nutrient solution with 0 μ M Fe compared with those in plants grown in nutrient solution containing 20 μ M Fe. Daily application of AsA (especially with 1 mM concentration in nutrient solution) increased biomass and oil content. Oil yield, Chlorophylls and carotenoids contents decreased with decreasing Fe, while, AsA increased them under Fe deficiency. Overall, AsA could improve growth and yield of geranium under 20 μ M Fe nutrition, however, it was less effective at 0 μ M Fe.

Keywords: Essential oil, plant nutrition, soilless culture.

* Corresponding author E-mail: Rezaeinejad.Hossein@gmail.com

مقدمه

شمعدانی معطر^۱ گیاهی چندساله از تیره شمعدانی^۲ است. اسانس آن بوی خوش، مانند بوی رز دارد که به‌طور گسترده‌ای در صنایع عطرسازی، آرایشی و بهداشتی، غذایی و داروسازی استفاده می‌شود (Rajeswara Rao *et al.*, 1996). جنوب آفریقا مبدأ بسیاری از گونه‌های این گیاه است (Lis-Balchin, 2003). برگ‌های این گیاه با ابعاد میانگین ۴ تا ۶ سانتی‌متر است که رنگ سبز تا سبز کم‌رنگ دارند. حاشیه برگ‌ها پوشیده از کرک‌های غده‌ای نرم و کوتاه است که با لمس آن‌ها بوی تند و خوش بویی متصاعد می‌شود. حاشیه برگ‌ها دندان‌دار است و بریدگی‌های عمیقی که در برگ‌ها وجود دارد آن‌ها را به پنج تا هفت پار پهنک (لوب) تقسیم می‌کند (Motsa *et al.*, 2006). شمعدانی معطر در بعضی کشورها مانند رواندا، آفریقای جنوبی و هند در مزرعه هوای آزاد و در بعضی کشورها مانند ایتالیا و آلمان به‌صورت گلخانه‌ای برای تولید اسانس کشت و کار می‌شود. در مناطق معتدله کشور ما امکان کشت آن به‌صورت گلخانه‌ای وجود دارد و افزون بر استفاده زینتی، استفاده از آن به‌عنوان یک گیاه دارویی افزایش یافته است (Rezaei Nejad & Ismaili, 2014).

رشد گیاه و تولید اسانس در گیاهان معطر تحت تأثیر عامل‌های مختلفی از جمله ژنتیک، بستر کاشت، تغذیه و ... قرار می‌گیرد (Eiasu *et al.*, 2009; Malatova *et al.*, 2011; Rezaei Nejad & Ismaili, 2008; Rousaphael *et al.*, 2014). عنصر آهن یکی از عنصرهای کم‌مصرف مورد نیاز گیاه به شمار می‌آید که جایگاه خاصی در تغذیه گیاه دارد. اگرچه این عنصر جزء ساختمان سبزینه (کلروفیل)ها نیست ولی برای ساخت و تشکیل سبزینه‌ها ضروری است (Mengel & Akirkby, 1987). در کشور ما به دلیل قلیایی بودن خاک‌ها و همچنین وجود آهنک در آن‌ها کمبود آهن در بسیاری از گیاهان زراعی و باغی گزارش شده است (Malakouti & Tehrani, 1999). به‌احتمال همه خاک‌ها آهن کافی دارند اما حلالیت آن با توجه به

اینکه در درجه اول با pH خاک کنترل و تنظیم می‌شود، ممکن است به‌قدری کم باشد که کمبود آهن به‌ویژه در گونه‌ها و رقم‌هایی که از نظر جذب آن کارآمد نیستند، دیده شود. به ازای هر واحد تغییر در افزایش pH حلالیت ممکن است تا هزار برابر کاهش باشد. به علت کاهش میزان سبزینه‌ها، برگ‌های آن به‌صورت رنگ‌پریده خواهند بود. در این حالت در آغاز فاصله بین رگبرگ‌ها زرد شده و پس از آن با شدت یافتن کمبود، سطح برگ به زردی می‌گراید (Mengel & Akirkby, 1987). نقش اصلی آهن هنگامی خود را بهتر نشان می‌دهد که کمبود آن باعث زردی برگ‌های جوان می‌شود. نشانه‌های کمبود آهن در آغاز در جوان‌ترین برگ‌ها به‌صورت زردی بین رگبرگی و سرانجام در پهنک‌برگ به رنگ زرد و حتی سفید بروز می‌کند (Marschner, 2011).

پژوهش‌ها نشان می‌دهد، اسید آسکوربیک باعث بالا بردن مقاومت گیاهان در برابر تنش‌های مختلف از جمله شوری و خشکی می‌شود (Shalata & Neumann, 2001; Singh *et al.*, 2001). همچنین شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد در مراحل اولیه رشد گیاه، اسید آسکوربیک باعث کاهش تأثیر کمبود آهن می‌شود (Ramirez *et al.*, 2013). ولی در مورد تأثیر آن بر رشد کامل گیاه و تولید اسانس در گیاهان معطر در شرایط کمبود آهن اطلاعات مستندی در دست نیست. لذا در این پژوهش سعی شده است واکنش‌های ریخت‌شناختی (مورفولوژیکی) و فیزیولوژیکی گیاه شمعدانی معطر به سطوح مختلف آهن در حضور اسید آسکوربیک بررسی شود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در گلخانه پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان با میانگین دمای شبانه‌روز ۲۸-۲۲ درجه سلسیوس، رطوبت ۷۰-۶۰ درصد و شدت نور ۶۰۰-۵۰۰ میکرومول بر مترمربع در ثانیه در سال ۱۳۹۲ انجام گرفت. آزمایش به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با شش تکرار انجام شد. عامل‌ها شامل میزان آهن با سه سطح (۰، ۲۰ و ۴۰

1. *Pelargonium graveolens*
2. Geraniaceae

ارتفاع و قطر ساقه معنی‌دار شد (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد، بدون کاربرد اسید آسکوربیک، در آهن سطح ۰ و ۲۰ میکرومولار به ترتیب کمترین و بیشترین ارتفاع گیاه به دست آمد. اسید آسکوربیک در آهن سطح ۰ میکرومولار، تنها با غلظت ۱ میلی‌مولار، در آهن سطح ۲۰ میکرومولار با غلظت ۱ و ۲ میلی‌مولار و در سطح ۴۰ میکرومولار آهن تنها با غلظت ۲ میلی‌مولار باعث افزایش ارتفاع شد. در کل بیشترین نسبت افزایش ارتفاع به ترکیب تیماری آهن ۲۰ میکرومولار و اسید آسکوربیک ۱ میلی‌مولار اختصاص یافت (جدول ۲). همچنین مقایسه میانگین‌ها نشان داد، در اسید آسکوربیک سطح ۰ میلی‌مولار، با افزایش میزان آهن قطر ساقه افزایش یافت و اسید آسکوربیک در آهن سطح ۰ میکرومولار تنها با غلظت ۲ میلی‌مولار و در آهن سطح ۲۰ میکرومولار تنها با غلظت ۱ میلی‌مولار باعث افزایش نسبت قطر ساقه شد اما در سطح ۴۰ میکرومولار آهن تأثیری در قطر ساقه نداشت (جدول ۲).

شمار و طول شاخه‌های جانبی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد، تأثیر آهن بر شمار شاخه‌های جانبی در سطح ۰/۰۱ معنی‌دار شد، اما تأثیر اسید آسکوربیک و اثر متقابل آهن × اسید آسکوربیک معنی‌دار نشد (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد، در اسید آسکوربیک سطح ۰ میلی‌مولار، با کاهش میزان آهن شمار شاخه‌های جانبی کاهش یافت، هرچند که از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری دیده نشد. کاربرد اسید آسکوربیک در شرایط آهن سطح ۲۰ میکرومولار باعث افزایش شمار شاخه‌های فرعی شد ولی از نظر آماری معنی‌دار نبود (جدول ۲). همچنین نتایج تجزیه واریانس نشان داد، تأثیر آهن و اثر متقابل آهن × اسید آسکوربیک در سطح احتمال ۰/۰۱ بر طول شاخه‌های جانبی معنی‌دار شد اما تأثیر اسید آسکوربیک معنی‌دار نشد (جدول ۱). در اسید آسکوربیک سطح ۰ میلی‌مولار، با کاهش میزان آهن طول شاخه‌های جانبی کاهش یافت. کاربرد اسید آسکوربیک در سطوح مختلف آهن متفاوت بود. در آهن سطح ۰ میکرومولار، کاربرد اسید

میکرومولار) و اسید آسکوربیک با سه سطح (۰، ۱ و ۲ میلی‌مولار) بود. کاشت قلمه‌های ریشه‌دار به صورت آبکشتی (هیدروپونیک) درون ماسه در گلدان (هر قلمه در یک گلدان) انجام شد. هر گیاه به‌عنوان یک تکرار در نظر گرفته شد و در کل ۵۴ گیاه در آزمایش استفاده شد. پس از استقرار گیاهان، تیمارها اعمال شد. محلول دهی با محلول غذایی ۰/۵ هوگلند دو بار در روز انجام شد و تیمار اسید آسکوربیک هر روز به‌صورت حل‌شده در محلول غذایی انجام شد. در زمان برداشت عامل‌های مختلفی از جمله ارتفاع بوته، قطر ساقه، شمار برگ، سطح برگ، شمار شاخه‌های فرعی، طول شاخه‌های فرعی، وزن تر و خشک پیکر رویشی اندازه‌گیری و ثبت شد. بوته‌های برداشت‌شده در دمای حدود ۲۵ درجه سلسیوس و در سایه خشک شدند و سپس به روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر میزان اسانس اندازه‌گیری شد. برای سنجش میزان سبزینه‌ها و کاروتنوئیدها (Lichtenthaler, 1987) ۰/۱ گرم برگ در هاون چینی با نیتروژن مایع خرد و با ۱۰ میلی‌لیتر استون خالص مخلوط شد. پس از آن نمونه‌ها در فالكون ۱۵ میلی‌لیتری ریخته و به مدت پانزده دقیقه در دور ۴۰۰۰ سانتریفوژ شد. سپس با استفاده از طیف‌سنج نوری (اسپکتروفوتومتر) جذب محلول در طول موج‌های ۴۷۰، ۶۶۲ و ۶۴۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. استون به‌عنوان محلول شاهد برای تنظیم صفر جذب نوری استفاده شد. میزان سبزینه‌های a، سبزینه‌های b، سبزینه کل و کاروتنوئیدها برحسب میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ محاسبه شدند.

در نهایت داده‌های به‌دست‌آمده از آزمایش‌ها با کمک نرم‌افزارهای آماری Excel، Prism 5 و MSTAT-C تجزیه و تحلیل و میانگین‌ها توسط آزمون دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵ مقایسه شد.

نتایج

ارتفاع گیاه و قطر ساقه (درصد نسبت به زمان آغاز تیمار)

نتایج تجزیه واریانس نشان داد، تأثیر سطوح مختلف آهن، سطوح مختلف اسید آسکوربیک و اثر متقابل آهن × اسید آسکوربیک در سطح احتمال ۰/۰۱ بر نسبت

میلی‌مولار، با کاهش میزان آهن وزن تر برگ‌های گیاه کاهش یافت. در آهن سطح ۰ میکرومولار، اسید آسکوربیک ۱ و ۲ میلی‌مولار به ترتیب باعث افزایش و کاهش وزن تر برگ‌ها در مقایسه با شاهد شدند. در آهن سطح ۲۰ میکرومولار، اسید آسکوربیک باعث افزایش وزن تر برگ‌ها شد و تأثیر غلظت ۱ میلی‌مولار بیشتر از ۲ میلی‌مولار آن بود. در آهن سطح ۴۰ میکرومولار، اسید آسکوربیک تأثیری در وزن تر برگ‌ها در مقایسه با شاهد نداشت (شکل ۱). همچنین، مقایسه میانگین‌ها نشان داد، در اسید آسکوربیک سطح ۰ میلی‌مولار، با کاهش میزان آهن وزن خشک برگ‌ها کاهش یافت. در آهن سطح ۰ میکرومولار، اسید آسکوربیک ۱ میلی‌مولار تأثیری در وزن خشک برگ‌ها نداشت و اسید آسکوربیک ۲ میلی‌مولار باعث کاهش وزن خشک برگ‌ها در مقایسه با شاهد شد. در آهن سطح ۲۰ میکرومولار، اسید آسکوربیک ۱ و ۲ میلی‌مولار به‌طور یکسانی باعث افزایش وزن خشک برگ‌ها شدند. در آهن سطح ۴۰ میکرومولار، اسید آسکوربیک ۱ میلی‌مولار تأثیری در وزن خشک برگ‌ها نداشت و اسید آسکوربیک ۲ میلی‌مولار باعث افزایش وزن خشک برگ‌ها در مقایسه با شاهد شد (شکل ۱).

وزن تر و خشک ساقه

نتایج تجزیه واریانس نشان داد، تأثیر سطوح مختلف آهن، اسید آسکوربیک و اثر متقابل آهن × اسید آسکوربیک در سطح ۰/۰۱ بر وزن تر ساقه معنی‌دار شد (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد، در اسید آسکوربیک سطح ۰ میلی‌مولار، با کاهش میزان آهن وزن تر ساقه کاهش یافت. در آهن سطح ۰ میکرومولار، اسید آسکوربیک ۱ میلی‌مولار تأثیری در وزن تر ساقه نداشت و اسید آسکوربیک ۲ میلی‌مولار باعث کاهش وزن تر ساقه در مقایسه با شاهد شد. در آهن سطح ۲۰ میکرومولار، اسید آسکوربیک ۱ و ۲ میلی‌مولار به‌طور یکسانی باعث افزایش وزن تر ساقه شدند. در آهن سطح ۴۰ میکرومولار، اسید آسکوربیک تأثیری در وزن تر ساقه در مقایسه با شاهد نداشت (جدول ۲). همچنین، نتایج تجزیه واریانس نشان داد،

آسکوربیک باعث کاهش طول شاخه‌های جانبی شد اما در آهن سطح ۲۰ میکرومولار، کاربرد اسید آسکوربیک باعث افزایش طول شاخه‌های جانبی شد به‌طوری‌که بیشترین طول شاخه‌های جانبی به آهن سطح ۲۰ میکرومولار و اسید آسکوربیک ۲ میلی‌مولار اختصاص یافت که با آهن سطح ۴۰ میکرومولار و اسید آسکوربیک ۰ و ۲ میلی‌مولار اختلاف معنی‌داری نداشت (جدول ۲).

شمار و سطح برگ

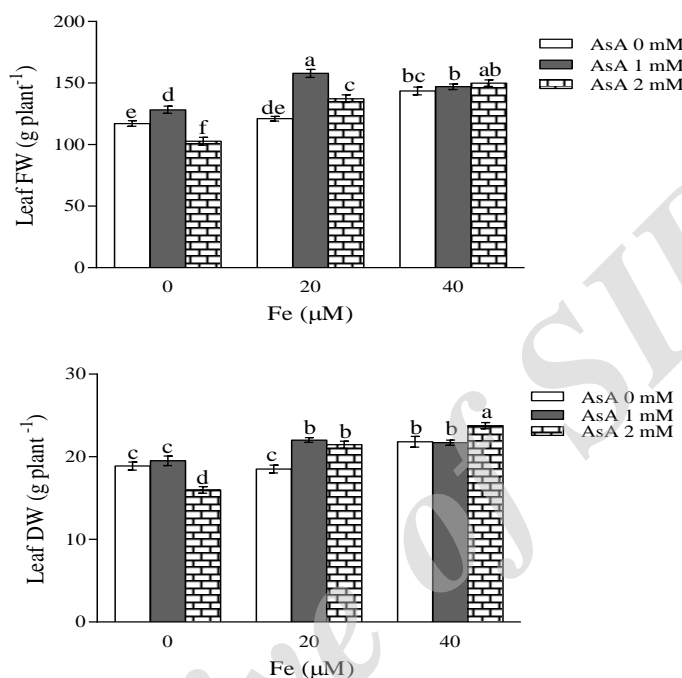
نتایج تجزیه واریانس نشان داد، تأثیر آهن بر شمار برگ در بوته در سطح ۰/۰۱ معنی‌دار شد، اما تأثیر اسید آسکوربیک و اثر متقابل آهن × اسید آسکوربیک معنی‌دار نشد (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد، در اسید آسکوربیک سطح ۰ میلی‌مولار، با کاهش میزان آهن شمار برگ کاهش یافت، هرچند که از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری دیده نشد. کاربرد اسید آسکوربیک در شرایط آهن سطح ۰ میکرومولار، باعث کاهش شمار برگ ولی در شرایط آهن سطح ۲۰ میکرومولار، باعث افزایش شمار برگ شد ولی از نظر آماری معنی‌دار نبود (جدول ۲). همچنین، نتایج تجزیه واریانس نشان داد، تأثیر آهن و اثر متقابل آهن × اسید آسکوربیک در سطح ۰/۰۱ بر سطح برگ در بوته معنی‌دار شد ولی تأثیر اسید آسکوربیک معنی‌دار نشد (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد، در اسید آسکوربیک سطح ۰ میلی‌مولار، با کاهش میزان آهن سطح برگ کاهش یافت. کاربرد اسید آسکوربیک در سطوح مختلف آهن متفاوت بود. در شرایط آهن سطح ۰ میکرومولار کاربرد اسید آسکوربیک باعث کاهش سطح برگ شد، اما در شرایط آهن سطح ۲۰ میکرومولار، کاربرد اسید آسکوربیک باعث افزایش سطح برگ شد (جدول ۲).

وزن تر و خشک برگ‌ها

نتایج تجزیه واریانس نشان داد، تأثیر سطوح مختلف آهن، اسید آسکوربیک و اثر متقابل آهن و اسید آسکوربیک بر وزن تر و خشک برگ‌ها در سطح احتمال ۰/۰۱ معنی‌دار شد (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد، در اسید آسکوربیک سطح ۰

میزان آهن وزن خشک ساقه کاهش یافت. در آهن سطح ۰ میکرومولار، اسید آسکوربیک باعث کاهش وزن خشک ساقه در مقایسه با شاهد شد. در آهن سطح ۲۰ میکرومولار، اسید آسکوربیک تأثیر معنی داری در وزن خشک ساقه نداشت (جدول ۲).

تأثیر سطوح مختلف آهن بر وزن خشک ساقه گیاه در سطح احتمال ۰/۰۱ معنی دار شد. اما تأثیر اسید آسکوربیک و اثر متقابل آهن و اسید آسکوربیک معنی دار نشد (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد، در اسید آسکوربیک سطح ۰ میلی‌مولار، با کاهش



شکل ۱. تأثیر سطوح مختلف آهن و اسیدآسکوربیک بر وزن تر و خشک برگ‌های شمعدانی معطر
Figure 1. Effect of different levels of Fe and ascorbic acid on leaf fresh and dry weight in *Pelargonium graveolens*

جدول ۱. تجزیه واریانس تأثیر اسید آسکوربیک بر برخی ویژگی‌های ریخت‌شناختی و فیزیولوژی شمعدانی معطر تحت تنش کمبود آهن

Table 1. Analysis of variance of effect of ascorbic acid (AsA) on some morphological and physiological characteristics of geranium under iron (Fe) deficiency

Source of variations	df	Mean square								
		Plant height	Stem diameter	No. of axillary shoots	Length of axillary shoots	No. of leaves	Leaf area	Leaf FW	Leaf DW	
Fe	2	9454.6**	1855.4**	21.91**	1722.2**	788.2**	858992**	4574.8**	84.23**	
AsA	2	1720.2**	481.1**	1.35 ^{ns}	19.95 ^{ns}	1.389 ^{ns}	189999 ^{ns}	1525.4**	8.1**	
Fe × AsA	4	1030.1**	677.1**	3.05 ^{ns}	435.95**	150.4 ^{ns}	407537**	779.95**	21.19**	
Error	45	30.91	46.76	1.50	7.47	105.7	101257	46.77	1.26	

ادامه جدول ۱. تجزیه واریانس تأثیر اسید آسکوربیک بر برخی ویژگی‌های ریخت‌شناختی و فیزیولوژی شمعدانی معطر تحت تنش کمبود آهن

Continued table 1. Analysis of variance of effect of ascorbic acid (AsA) on some morphological and physiological characteristics of geranium under iron (Fe) deficiency

Source of variations	df	Mean square									
		Stem FW	Stem DW	Shoot FW	Shoot DW	Chl. a	Chl. b	Total Chl.	Carotenoids	Oil content	Oil yield
Fe	2	950.8**	15.12**	11357.9**	190.35**	53.93**	5.93**	95.32**	4.349**	0.031*	0.009**
AsA	2	120.8**	0.438 ^{ns}	2496.8**	4.405 ^{ns}	1.75 ^{ns}	0.10 ^{ns}	2.55 ^{ns}	0.047 ^{ns}	0.166**	0.008**
Fe × AsA	4	202.6**	0.984 ^{ns}	1544.7**	26.528**	2.16*	0.29**	4.04**	0.107 ^{ns}	0.037**	0.003*
Error	45	15.44	0.416	114.13	5.07	0.636	0.046	0.857	0.052	0.008	0.001

*, ** و ns: معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و غیر معنی دار.

*, ** and ns: Significantly difference at 5 and 1% probability levels, and Non-significantly difference, respectively.

جدول ۲. مقایسه میانگین تأثیر اسید آسکوربیک بر برخی ویژگی‌های ریخت‌شناختی و فیزیولوژی شمعدانی معطر تحت تنش کمبود آهن

Table 2. Mean comparison of the effects of ascorbic acid (AsA) on some morphological and physiological characteristics of geranium (*Pelargonium graveolens*) under iron (Fe) deficiency

Fe (μM)	AsA (mM)	Plant height (% of initial value)	Stem diameter (% of initial value)	No. of axillary shoots/plant	Length of axillary shoots (cm/plant)	No. of leaves/plant	Leaf area (cm ² /plant)	Stem FW (g/plant)
0	0	172.2 e	155.8 d	5.8 bc	45.2 c	70.3 abcd	1356 b	40.8 b
	1	196.8 d	159.2 d	4.5 c	38.2 d	64.0 d	1607 ab	37.9 b
	2	174.0 e	181.2 b	4.7 c	27.2 e	65.0 cd	932 c	27.3 c
20	0	219.7 b	172.7 c	6.5 ab	42.5 c	67.7 bcd	1428 b	37.9 b
	1	248.8 a	187.7 ab	8.0 a	52.7 b	71.7 abcd	1661 ab	49.0 a
	2	211.7 c	169.0 c	6.7 ab	56.7 a	78.3 abc	1862 a	46.8 a
40	0	202.2 d	181.8 ab	6.8 ab	58.9 a	80.7 ab	1627 ab	50.4 a
	1	202.3 d	184.8 ab	6.8 ab	51.8 b	82.2 a	1728 ab	50.7 a
	2	215.5 bc	190.3 a	6.5 ab	56.5 a	76.2 abcd	1739 ab	48.0 a

ادامه جدول ۲. مقایسه میانگین تأثیر اسید آسکوربیک بر برخی ویژگی‌های ریخت‌شناختی و فیزیولوژی شمعدانی معطر تحت تنش کمبود آهن

Continued table 2. Mean comparison of the effects of ascorbic acid (AsA) on some morphological and physiological characteristics of geranium (*Pelargonium graveolens*) under iron (Fe) deficiency

Fe (μM)	AsA (mM)	Stem DW (g/plant)	Shoot FW (g/plant)	Shoot DW (g/plant)	Chl. a (mg/g FW)	Chl. b (mg/g FW)	Total Chl. (mg/g FW)	Carotenoids (mg/g FW)
0	0	5.94 de	155.0 c	24.32 b	7.52 d	2.38 d	9.90 d	2.21 d
	1	5.16 ef	163.4 c	23.34 b	6.63 d	1.99 e	8.61 e	2.02 d
	2	4.71 f	132.4 d	19.94 c	6.72 d	1.95 e	8.67 e	2.10 d
20	0	5.93 de	160.6 c	24.77 b	8.45 c	2.74 c	11.19 c	2.48 c
	1	6.36 bcd	211.9 a	27.70 a	9.14 bc	2.93 bc	12.07 bc	2.69 bc
	2	6.26 cd	190.8 b	28.22 a	9.71 b	3.10 b	12.80 b	2.84 ab
40	0	7.14 ab	194.9 b	27.95 a	10.00 b	3.14 ab	13.15 b	3.06 a
	1	7.20 a	201.0 ab	28.91 a	10.05 b	3.09 b	13.15 b	3.10 a
	2	7.04 abc	197.9 b	29.81 a	11.09 a	3.39 a	14.48 a	3.10 a

اعداد میانگین شش تکرار هستند. میانگین‌های با حرف‌های مشترک در هر ستون اختلاف معنی‌داری بر پایه آزمون دانکن در سطح ۵٪ ندارند.

Values are the mean of six replications. Values followed with the same letter(s) (column-wise) are not significantly different at $P < 0.05$ according to Duncan's multiple range test.

وزن تر و خشک پیکر رویشی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد، تأثیر سطوح مختلف آهن، اسید آسکوربیک و اثر متقابل آهن و اسید آسکوربیک بر وزن تر پیکر رویشی گیاه در سطح احتمال ۰/۰۱ معنی‌دار شد (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد، کاهش آهن در محلول غذایی باعث کاهش وزن تر پیکر رویشی شد. در آهن سطح ۰ میکرومولار، اسید آسکوربیک ۱ میلی‌مولار تأثیری در وزن تر پیکر رویشی نداشت و اسید آسکوربیک ۲ میلی‌مولار باعث کاهش وزن تر پیکر رویشی در مقایسه با شاهد شد. در آهن سطح ۲۰ میکرومولار، اسید آسکوربیک باعث افزایش وزن تر پیکر رویشی شد و تأثیر غلظت ۱ میلی‌مولار بیشتر از ۲ میلی‌مولار آن بود. در آهن سطح ۴۰ میکرومولار، اسید آسکوربیک تأثیری در وزن تر پیکر رویشی در مقایسه با شاهد نداشت (جدول ۲). همچنین، نتایج تجزیه واریانس نشان داد، تأثیر سطوح مختلف آهن

و اثر متقابل آهن و اسید آسکوربیک بر وزن خشک پیکر رویشی گیاه در سطح احتمال ۰/۰۱ معنی‌دار شد اما اثر اصلی اسید آسکوربیک معنی‌دار نشد (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد، کاهش آهن باعث کاهش وزن خشک پیکر رویشی شد. در آهن سطح ۰ میکرومولار، اسید آسکوربیک ۱ میلی‌مولار تأثیری در وزن خشک پیکر رویشی نداشت و اسید آسکوربیک ۲ میلی‌مولار باعث کاهش وزن خشک پیکر رویشی در مقایسه با شاهد شد. در آهن سطح ۲۰ میکرومولار، اسید آسکوربیک ۱ و ۲ میلی‌مولار به‌طور یکسانی باعث افزایش وزن خشک پیکر رویشی شدند. در آهن سطح ۴۰ میکرومولار، اسید آسکوربیک تأثیری در وزن خشک پیکر رویشی در مقایسه با شاهد نداشت (جدول ۲).

میزان سبزینه‌ها

نتایج تجزیه واریانس نشان داد، اثر ساده آهن در سطح

میزان اسانس

نتایج تجزیه واریانس نشان داد، تأثیر سطوح مختلف آهن در سطح ۰/۰۵ و تأثیر سطوح مختلف اسید آسکوربیک و اثر متقابل آهن × اسید آسکوربیک در سطح احتمال ۰/۰۱ بر میزان اسانس معنی دار شد (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد، با افزایش سطح آهن میزان اسانس به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. کاربرد اسیدآسکوربیک در سطح ۱ میلی‌مولار باعث افزایش درصد اسانس شد (شکل ۲).

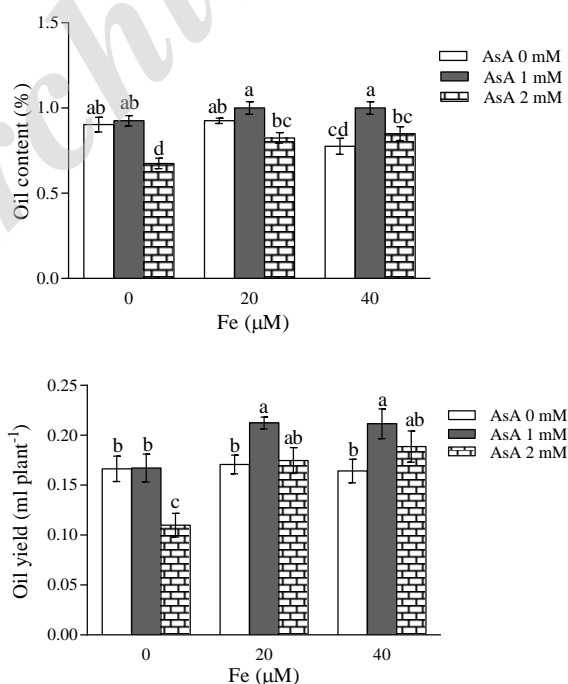
عملکرد اسانس در بوته

نتایج تجزیه واریانس نشان داد، اثر اصلی آهن و اسیدآسکوربیک در سطح ۰/۰۱ و اثر متقابل آهن × اسید آسکوربیک در سطح ۰/۰۵ بر عملکرد اسانس معنی‌دار بودند (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد، در آهن سطح ۰ میکرومولار، اسید آسکوربیک ۱ میلی‌مولار تأثیری در عملکرد اسانس نداشت و اسید آسکوربیک ۲ میلی‌مولار باعث کاهش عملکرد اسانس در آهن سطوح ۲۰ و ۴۰ میکرومولار، اسیدآسکوربیک در سطح ۱ میلی‌مولار باعث افزایش عملکرد اسانس شد (شکل ۲).

احتمال ۰/۰۱ و اثر متقابل آهن و اسیدآسکوربیک بر میزان سبزینه‌ها در سطح احتمال ۰/۰۱ معنی‌دار شد، اما اثر ساده اسیدآسکوربیک معنی‌دار نشد (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد، با کاهش میزان آهن میزان سبزینه‌ها کاهش یافت. در آهن سطح ۰ میکرومولار، کاربرد اسیدآسکوربیک باعث کاهش سبزینه‌ها شد. در آهن سطوح ۲۰ و ۴۰ میکرومولار، کاربرد اسیدآسکوربیک به‌ویژه با غلظت ۲ میلی‌مولار باعث افزایش میزان سبزینه‌ها شد (جدول ۲).

کاروتنوئیدها

نتایج تجزیه واریانس نشان داد، اثر ساده آهن بر میزان کاروتنوئیدها در سطح احتمال ۰/۰۱ معنی‌دار شد اما تأثیر اسید آسکوربیک و اثر متقابل آهن و اسید آسکوربیک معنی‌دار نشد (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد، با کاهش میزان آهن میزان کاروتنوئیدها کاهش یافت. در آهن سطوح ۰ و ۴۰ میکرومولار، اسید آسکوربیک تأثیری بر میزان کاروتنوئیدها نداشت ولی در آهن سطح ۲۰ میکرومولار، اسید آسکوربیک به‌ویژه با غلظت ۲ میلی‌مولار باعث افزایش کاروتنوئید شد (جدول ۲).



شکل ۲. تأثیر سطوح مختلف آهن و اسیدآسکوربیک بر میزان و عملکرد اسانس شمعدانی معطر

Figure 2. Effect of different levels of Fe and ascorbic acid on oil content and yield in *Pelargonium graveolens*

بحث

محلول غذایی حاوی آهن تغذیه شده بودند. دوم اینکه آب شهری مورد استفاده برای تهیه محلول غذایی بنا بر نتایج آزمایشگاهی حاوی حدود ۱ میکرومولار آهن بود. سوم اینکه گیاهان بر پایه واکنش به کمبود آهن به دو دسته تقسیم می‌شوند: ۱- گیاهانی^۱ که در شرایط کمبود شدید آهن سبزروی نشان نمی‌دهند و ۲- گیاهانی^۲ که با کمبود آهن سبزروی نشان می‌دهند (Santos *et al.*, 2015). بنابر نتایج این تحقیق، به نظر می‌رسد گیاه شمعدانی معطر جزو گروه اول باشد.

از این نتایج چنین به نظر می‌رسد، ترکیب‌های تیماری آهن با سطوح مختلف اسید آسکوربیک و اثر متقابل آن‌ها تأثیر معنی‌داری بر ویژگی‌های وزن تر و خشک برگ، میزان اسانس و عملکرد اسانس گیاه شمعدانی معطر داشت، به طوری که با کاهش میزان آهن ویژگی‌های رشدی کاهش و با کاربرد اسیدآسکوربیک، اثر کمبود آهن بهبود پیدا کرد. شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد اسید آسکوربیک از تأثیر زیانبار کمبود آهن در دانه‌های علف تال (آرابیدوپسیس) جلوگیری می‌کند. افزون بر این، ظاهر کم‌رنگ گیاه که در نتیجه کمبود آهن ایجاد شده است با تیمار اسیدآسکوربیک قابل‌برگشت به حالت سبز است لذا در ظاهر گیاه این انعطاف را دارد که در شرایط آهن سطح ۰ میکرومولار هم باوجود موادی مانند اسیدآسکوربیک به حالت سبز باقی بماند (Ramirez *et al.*, 2013). این نتایج با نتایج این تحقیق همخوانی دارد. از آنجاکه آهن جزو ساختار بعضی اجزای زنجیره انتقال الکترون در میتوکندری و کلروپلاست است، کمبود آن باعث اختلال در حالت عادی انتقال الکترون و در نهایت افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود (Allen, 1995). در همین راستا، علت تأثیر اسید آسکوربیک بر کاهش آسیب‌های ناشی از کمبود آهن، تأثیر اسید آسکوربیک در جلوگیری از تجمع گونه‌های فعال اکسیژن ناشی از کمبود آهن و حفظ ثبات واکنش‌های کاهشی و اکسایشی یاخته عنوان شده است (Ramirez *et al.*,

نتایج بررسی‌ها نشان داد، ترکیب‌های تیماری آهن با سطوح مختلف اسید آسکوربیک و برهمکنش آن‌ها تأثیر معنی‌داری بر ویژگی‌های رشد گیاه شمعدانی معطر داشت، به طوری که با کاهش میزان آهن ویژگی‌های رشد کاهش یافت و با کاربرد اسیدآسکوربیک به‌ویژه در شرایط کمبود آهن رشد بهبود پیدا کرد. با کاربرد آهن فعالیت نورساختی (فتوسنتزی) گیاه افزایش یافته و باعث توسعه پوشش گیاهی و افزایش شاخ و برگ گیاه می‌شود (Marschner, 2011). کمبود آهن باعث توقف رشد برگ و تقسیم یاخته و کاهش میزان سبزینه‌ها و سیتوکروم‌ها می‌شود ولی با کاربرد آهن ساخت مواد در گیاه و همچنین قطر ساقه افزایش می‌یابد (Marschner, 2011; Zha *et al.*, 2014). در نتایج پژوهش‌های مختلف نشان داده شده، کاربرد عنصرهای کم‌مصرف از جمله آهن باعث افزایش وزن تر و خشک گیاهانی مانند ریحان (Said-Al Ahl & Mahmoud, 2010) و علف لیمو (Singh *et al.*, 2003) شد. در نتیجه کاربرد آهن، میزان سبزینه‌ها، نورساخت و رشد رویشی گیاه افزایش یافته و این موضوع باعث افزایش سطح کربن‌گیری و در نتیجه میزان ماده خشک تولیدی در گیاه می‌شود (Almaliotis *et al.*, 2000; Chen *et al.*, 2004).

در این تحقیق، کاهش آهن باعث کاهش میزان سبزینه‌ها و کاروتنوئیدها در گیاه شد. عنصر آهن جزء ساختمان سبزینه‌ها نیست ولی برای ساخت و تشکیل سبزینه ضروری است (Mengel & Akirkby, 1987). آهن برای ساخت پروتئین‌های مهم که پیش‌نیاز ساخت سبزینه هستند، مورد نیاز است و کمبود آن باعث کاهش میزان سبزینه در گیاه می‌شود که این امر کاهش نورساخت و عملکرد را به همراه دارد (Mori, 1999). در این تحقیق، نکته قابل توجه این بود، گیاهانی که با محلول غذایی بدون آهن تغذیه شده بودند با وجود کاهش در میزان سبزینه سبزروی (کلروز) شدید نشان ندادند. علت این موضوع را می‌توان به چند عامل نسبت داد. اول اینکه قلمه‌های ریشه‌دار شده شمعدانی معطر تا مرحله استقرار کامل با

1. Fe-efficient plants
2. Fe-inefficient plants

وزن خشک برگ‌ها در درصد اسانس بوده است. لذا با توجه به اینکه افزایش آهن باعث افزایش میزان عملکرد برگ‌ها شده است کاهش درصد اسانس در گیاهان تغذیه‌شده با آهن بالا جبران و تفاوتی در عملکرد اسانس دیده نشده است. به‌طورمعمول، افزایش رشد رویشی باعث افزایش عملکرد اسانس می‌شود. در بررسی تأثیر محلول‌پاشی روی و آهن بر میزان عملکرد اسانس ریحان نشان داده شد که محلول‌پاشی همزمان روی و آهن (۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر) موجب افزایش رشد رویشی گیاه و در نتیجه عملکرد اسانس نسبت به تیمار شاهد شد (Said-Al Ahl & Mahmoud, 2010). همچنین اسیدآسکوربیک باعث افزایش بیشتر عملکرد اسانس در سطح ۱ میلی‌مولار شد (شکل ۲) که دلیل این امر تأثیر اسید آسکوربیک در بهبود رشد و افزایش زیست‌توده (بیوماس) گیاه بوده است.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج به‌دست‌آمده از این بررسی نشان می‌دهد، کمبود آهن باعث کاهش ویژگی‌های رشد از جمله ارتفاع گیاه، قطر گیاه، سطح برگ، شمار شاخه‌های جانبی، طول شاخه‌های جانبی، وزن تر و خشک اندام‌های هوایی، میزان سبزینه‌ها و کاروتنوئیدها در گیاه شد و کاربرد اسید آسکوربیک توانست تأثیر زینبار ناشی از کمبود آهن را کاهش دهد و باعث بهبود رشد و عملکرد فیزیولوژی گیاه شود اما تأثیر آن در شرایطی که گیاهان با محلول غذایی بدون آهن تغذیه شدند بسیار کمتر بود.

2013). اسیدآسکوربیک تقسیم یاخته‌ای و رشد یاخته را در گیاهان تحت تأثیر قرار می‌دهد. همچنین در دوره فرآیند فعالیت تغذیه‌ای گیاهان عالی مؤثر است و یک نقش مهم را در سامانه انتقال الکترون دارد (Veljovic-Jovanovic et al., 2001). اسید آسکوربیک با تأثیر بر مسیرهای بیوشیمیایی و افزایش فعالیت آنزیم‌های پاداکسنده (آنتی‌اکسیدانی) در القاء تحمل به تنش مؤثر است (Shalata & Neumann, 2001; Singh et al., 2001).

نتایج این تحقیق در زمینه تأثیر کمبود آهن در محلول غذایی در افزایش درصد اسانس شمعدانی معطر قابل توجه است (شکل ۲). پژوهش‌های زیادی وجود دارند که نشان می‌دهند تنش‌ها باعث افزایش درصد اسانس در گیاهان معطر می‌شوند به‌طوری‌که درصد اسانس در ریحان با افزایش تنش آبی بیشتر شد (Simon et al., 1992, Khalid, 2006). محققان در نتایج بررسی‌های خود نشان داده‌اند، کمبود آهن باعث کاهش میزان پاداکسنده‌هایی چون کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز شده و منجر به تجمع بیشتر H_2O_2 می‌شود (Tewari et al., 2005). این ماده باعث القاء تنش و افزایش تولید متابولیت‌های ثانوی می‌شود. لذا به نظر می‌رسد کمبود آهن باعث افزایش تولید متابولیت‌های ثانوی در این گیاه و در نتیجه افزایش درصد اسانس شده است. همچنین نتایج نشان داد، تفاوت معنی‌داری بین گیاهان تغذیه شده با سطوح مختلف آهن بدون کاربرد اسید آسکوربیک وجود نداشت (شکل ۲). عملکرد اسانس حاصل‌ضرب عملکرد

REFERENCES

- Allen, R. D. (1995). Dissection of oxidative stress tolerance using transgenic plants. *Plant Physiology* 107, 1049-1054.
- Almaliotis, D., Velemis, D., Bladenopoulou, S. & Karapetsas, N. (2000). Leaf nutrient levels of strawberries (cv. Tudla) in relation to crop yield. In: *IV International Strawberry Symposium 567* (pp. 447-450).
- Chen, Y., Clapp, C. E. & Magen, H. (2004). Mechanisms of plant growth stimulation by humic substances: The role of organo-iron complexes. *Soil Science and Plant Nutrition*, 50(7), 1089-1095.
- Eiasu, B. K., Steyn, J. M. & Soundy, P. (2009). Rose-scented geranium (*Pelargonium capitatum* × *P. radens*) growth and essential oil yield response to different soil water depletion regimes. *Agricultural Water Management*, 96(6), 991-1000.
- Khalid, K. A. (2006). Influence of water stress on growth, essential oil, and chemical composition of herbs (*Ocimum sp.*). *International Agrophysics*, 20(4), 289-296.
- Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. In: *Method in Enzymology*. (eds. S. P. Colowick and N.O. Kaplan) Academic Press. New York, 48, 350-382.

7. Lindsay, W. L. (1979). *Chemical equilibria in soils*. John Wiley and Sons Ltd. New York. USA.
8. Lis-Balchin, M. (2003). 14 Essential oils from different Pelargonium species and cultivars: their chemical composition (using GC, GC/MS) and appearance of trichomes (under EM). *Geranium and Pelargonium: History of Nomenclature, Usage and Cultivation*, 147.
9. Malakouti, M. J. & Tehrani, M. M. (1999). *Effect of micronutrients application on yield and quality of agricultural products*. Tarbiat Modares University Press. 300pp. (in Farsi)
10. Malatova, K., Hitimana, N., Niyibizi, T., Simon, J. E. & Juliani, H. R. (2011). Optimization of harvest regime and post-harvest handling in geranium production to maximize essential oil yield in Rwanda. *Industrial Crops and Products*, 34(2), 1348-1352.
11. Marschner, H. (2011). *Marschner's mineral nutrition of higher plants*. Academic press. New York. USA.
12. Mengel, K. & Kirkby, E. A. (1987). *Principles of plant nutrition* (No. Ed. 4). International Potash Institute. Bern, Switzerland.
13. Mori, S. (1999). Iron acquisition by plants. *Current opinion in plant biology*, 2(3), 250-253.
14. Motsa, N. M., Soundy, P., Steyn, J. M., Learmonth, R. A., Mojela, N. & Teubes, C. (2006). Plant shoot age and temperature effects on essential oil yield and oil composition of rose-scented geranium (*Pelargonium sp.*) grown in South Africa. *Journal of Essential Oil Research*, 18, 106-110.
15. Rajeswara Rao, B., Kaul, P. N., Mallavarapu, G. R. & Ramesh, S. (1996). Effect of seasonal climatic changes on biomass yield and terpenoid composition of rose-scented geranium (*Pelargonium species*). *Biochemical Systematics and Ecology*, 24(7), 627-635.
16. Ramirez, L., Bartoli, C. G. & Lamattina, L. (2013). Glutathione and ascorbic acid protect Arabidopsis plants against detrimental effects of iron deficiency. *Journal of Experimental Botany*, 64(11), 3169-3178.
17. Rezaei Nejad, A. & Ismaili, A. (2014). Changes in growth, essential oil yield and composition of geranium (*Pelargonium graveolens* L.) as affected by growing media. *Journal of the science of food and agriculture*, 94(5), 905-910.
18. Rouphael, Y., Cardarelli, M., Rea, E. & Colla, G. (2008). The influence of irrigation system and nutrient solution concentration on potted geranium production under various conditions of radiation and temperature. *Scientia horticultrae*, 118(4), 328-337.
19. Said-Al Ahl, H. A. H. & Mahmoud, A. A. (2010). Effect of zinc and/or iron foliar application on growth and essential oil of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) under salt stress. *Ozean Journal of Applied Science*, 3(1), 97-110.
20. Shalata, A. & Neumann, P. M. (2001). Exogenous ascorbic acid (vitamin C) increases resistance to salt stress and reduces lipid peroxidation. *Journal of Experimental Botany*, 52(364), 2207-2211.
21. Santos, C. S., Roriz, M., Carvalho, S. M. & Vasconcelos, M. W. (2015). Iron partitioning at an early growth stage impacts iron deficiency responses in soybean plants (*Glycine max* L.). *Frontiers in Plant Science*, 6.
22. Simon, J. E., Reiss-Bubenheim, D., Joly, R. J. & Charles, D. J. (1992). Water stress-induced alterations in essential oil content and composition of sweet basil. *Journal of Essential Oil Research*, 4(1), 71-75.
23. Singh, R. K., Singh, R. P. & Singh, R. S. (2003). Effect of iron on herbage and oil yield of lemon grass (*Cymbopogon flexuosus*). *Crop Research-Hisar*, 26(1), 185-187.
24. Singh, D. V., Srivastava, G. C. & Abdin, M. Z. (2001). Amelioration of negative effect of water stress in *Cassia angustifolia* by benzyladenine and/or ascorbic acid. *Biologia Plantarum*, 44(1), 141-143.
25. Tewari, R. K., Kumar, P. & Sharma, P. N. (2005). Signs of oxidative stress in the chlorotic leaves of iron starved plants. *Plant Science* 169, 1037-1045.
26. Veljovic-Jovanovic, S. D., Pignocchi, C., Noctor, G. & Foyer, C. H. (2001). Low ascorbic acid in the vtc-1 mutant of *Arabidopsis* is associated with decreased growth and intracellular redistribution of the antioxidant system. *Plant Physiology*, 127(2), 426-435.
27. Zha, Q., Wang, Y., Zhang, X. Z. & Han, Z. H. (2014). Both immanently high active iron contents and increased root ferrous uptake in response to low iron stress contribute to the iron deficiency tolerance in *Malus xiaojinensis*. *Plant Science*, 214, 47-56.