تولیدات گیاهی (مجله علمی کشاورزی)، جلد ۳۸ شماره ۲، تابستان ۹۴

اثر اسید آسکوربیک برخصوصیات کمی و کیفی ژنوتیپ‌های "برگ موجی" و "برگ صاف" آلترنانترا (*Alternanthera repens*) تحت تنش شوری

داریوش پورقاسمی[۱]، عبدالحسین رضایی نژاد[۲] * و مهرانگیز چهرازی[۳]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان

*۲- **نویسنده مسوول:** استادیار گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان (Rezaeinejad.Hossien@gmail.com)

۳- استادیار گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز

تاریخ دریافت: ۹۲/۹/۱۳ تاریخ پذیرش: ۹۳/۳/۲۷

چکیده

به منظور بررسی اثر اسید آسکوربیک به عنوان یک آنتی‌اکسیدان مهم در کاهش خسارت شوری، پژوهشی در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه شهید چمران اهواز، روی گیاه آلترنانترا ژنوتیپ های "برگ موجی" و "برگ صاف" در سال ۱۳۹۲ انجام شد. سطوح ۰، ۰/۵ و یک میلی مولار اسید آسکوربیک به‌صورت هفتگی بر روی گیاهانی که تحت شرایط شاهد (۰)، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ میلی مولار کلرید سدیم قرار داشتند، محلول‌پاشی شد. آزمایش به صورت فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار صورت پذیرفت. گیاهان در شرایط هیدروپونیک و محلول غذایی هوگلند کشت شدند. نتایج نشان داد شوری به طور معنی‌داری بر تمامی صفات مرفولوژیکی (طول گیاه، قطر گیاه و سطح برگ)، فیزیولوژیکی (نشت الکترولیت، محتوای نسبی‌آب برگ، وزن تر و وزن خشک قسمت هوایی) و بیوشیمیایی (کلروفیل کل، پرولین و آنتوسیانین) تأثیر داشت. طول ساقه در ژنوتیپ "برگ صاف" از ۱۰۰٪ به ۲۸٪ و در ژنوتیپ "برگ موجی" از ۱۰۰٪ به ۵۰٪ در شوری ۹۰ میلی مولار رسید. کاربرد اسید آسکوربیک باعث کاهش نشت الکترولیت در سطح بالای شوری گردید. کمترین میزان نشت الکترولیت و بیشترین میزان کلروفیل کل در تیمار بدون شوری و اسید آسکوربیک ۰/۵ میلی مولار ، بیشترین محتوای نسبی آب برگ در تیمار بدون شوری و یک میلی مولار اسید آسکوربیک، بیشترین میزان پرولین در تیمار شوری ۹۰ میلی مولار و اسید آسکوربیک یک میلی مولار و بیشترین میزان آنتوسیانین در تیمار شوری ۹۰ میلی مولار و اسید آسکوربیک صفر به‌دست آمد. نتایج این پژوهش نشان داد که گیاه آلترنانترا به طور نسبی به شوری متحمل بوده و ژنوتیپ "برگ موجی" نسبت به "برگ صاف" مقاومت بیشتری نشان داده است. براساس نتایج حاصل اسید آسکوربیک توانست مقاومت به شوری را افزایش دهد.

کلید واژه ها: آلترنانترا، اسید آسکوربیک، کلرید سدیم، آنتوسیانین، کلروفیل

مقدمه

گیاه آلترنانترا گیاهی پوششی از خانواده تاج خروس[۱] بوده که سال‌هاست در ایران کشت و کار می‌شود و کشت آن در حاشیه‌های گل‌کاری کشور رایج است. گیاهی است که در مناطق گرمسیری به صورت چند ساله و در مناطق سرد به صورت یکساله کشت و کار می‌شود (قاسمی قهساره و کافی،۱۳۹۰).

بالغ بر ۸۰۰ میلیون هکتار از خشکی‌های دنیا تحت تنش شوری می‌باشند (مونز[۲]،۲۰۰۵). از این میان ۱۵ درصد از خشکی‌های ایران نیز در معرض شوری هستند (قاسمی و همکاران[۳]، ۱۹۹۵). نمک از طریق افزایش

1- Amaranthaceae

2- Munns

3- Ghasemi *et al.*

اسمزی محلول خاک، سمیت یون‌ها و بهم زدن تعادل یون‌ها یا کمبود تغذیه ای موجب آسیب رساندن به گیاه می‌شود (قورهام[1]، ۱۹۹۳). کاهش رشد گیاهان تحت شرایط شوری می‌تواند به دلیل کاهش ذخایر انرژی گیاه باشد که این امر متأثر از کاهش و اختلال فعالیت‌های زیستی و متابولیسمی می باشد (کرپسی و گالیبا[2]، ۲۰۰۰). تنش شوری همچنین باعث کاهش قابل توجهی در وزن خشک و تر برگ، ساقه و ریشه می‌شود (هرناندز و همکاران[3]، ۱۹۹۳). پاسخ گیاهان به افزایش شوری پیچیده است و باعث تغییراتی در ویژگی های مرفولوژیکی، فیزیولوژیکی و متابولیسم گیاه می شود (پاریدا و داس[4]، ۲۰۰۵). شوری میزان انرژی لازم برای حفظ حالت طبیعی سلول را افزایش داده و در نتیجه انرژی کمتری برای نیازهای رشدی باقی می ماند (مونز، ۲۰۰۲). در شرایط تنش شوری کاهش ماده خشک می‌تواند بدلیل کاهش سطح برگ گیاه، کاهش فشار آماس سلول و کاهش میزان فتوسنتز باشد (مونز، ۲۰۰۵). وقتی که گیاه در پتانسیل‌های آبی پایین رشد می کند، سطح بالای پرولین گیاه را قادر می‌سازد که پدیده اسمزی را حفظ کند. پرولین به عنوان ذخیره انرژی و نیتروژن برای استفاده در طول تنش شوری به کار می‌رود (سادهاکرو همکاران[5]،۱۹۹۳). در شرایط تنش شوری میزان تولید پرولین برای ایجاد مقاومت در گیاه و شرکت در فرایند تنظیم اسمزی افزایش می یابد (وندراسکلو و همکاران[6]، ۲۰۰۷). محتوای نسبی آب برگ معیار مناسبی جهت بررسی وضعیت آبی گیاه است. کاهش محتوای نسبی آب می تواند در نتیجه کاهش دسترسی به آب در اثر افزایش پتانسیل اسمزی ناشی از وجود نمک باشد (کایا و همکاران[7]، ۲۰۰۶).

تنش اکسیداتیو یک تنش ثانویه است که در نتیجه شوری بوجود آمده و می‌تواند منجر به تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن، پراکسید هیدروژن، رادیکال‌های هیدروکسیل و سوپراکسید گردد. این رادیکال‌های آزاد می‌توانند خساراتی را به لیپیدهای غشاء، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلوئیک وارد سازند (ناکتورو فویر[8]، ۱۹۹۸). غلظت رادیکال‌های تشکیل یافته در گیاهان، معمولاً بوسیله فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های محافظت کننده کنترل می‌شود. این سیستم ضد اکسیدکنندگی شامل آسکوربات، گلوتاتیون، آلفا توکوفرول و یا آنزیم‌های مختلف می‌باشد (خان و پاندا[9]،۲۰۰۲). اسید آسکوربیک یک ترکیب آنتی‌اکسیدان قوی با وزن ملکولی کم و محلول در آب بوده که می‌تواند نقش عمده‌ای را در خنثی کردن فعالیت رادیکال‌های آزاد و غیر سمی کردن پراکسید هیدروژن داشته باشد (اسمیرنوف[10]، ۲۰۰۵). سازگاری به نمک بوسیله افزایش میزان آنتی اکسیدان‌ها برای از بین بردن رادیکال‌های آزاد صورت می گیرد (هرناندز و همکاران،۱۹۹۳). گزارش‌هایی مبنی بر اثر مثبت اسید آسکوربیک بر جنبه‌های مختلف فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهان مختلف وجود دارد. از جمله می توان به تأثیر آن در افزایش پارامترهای رشد، بر روی آرابیدوپسیس (هانگ و همکاران[11]، ۲۰۰۵) وافزایش محتوای کلروفیل و کارتنوئید و پرولین بر روی سویا اشاره کرد (شتیوای[12]، ۲۰۰۷). به علاوه مشخص شده است که اسید آسکوربیک مجموعه‌ای از نقش‌ها را در رشد گیاهان مانند تقسیم و بزرگ شدن سلول، توسعه دیواره سلولی و دیگر فرآیندهای نموی بازی می‌کند (پیگنوچی و فویر[13]،۲۰۰۳). کاربرد ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید آسکوربیک به صورت محلول‌پاشی بر روی

1- Gorham
2- Kerepesi & Galiba
3- Hernandez *et al.*
4- Parida & Das
5- Sudhakar *et al.*
6- Vendruscolo *et al.*
7- Kaya *et al.*
8- Noctor & Foyer
9- Khan & Panda
10- Smirnoff
11- Huang *et al.*
12- Sheteawi
13- Pignocchi & Foyer

گیاه مرزنجوش ضمن محافظت غشاء پلاسمایی تحت تاثیر منفی شوری، نشت الکترولیت را در شوری ۱۵۰ میلی مولار ،۵۲ درصد کاهش داد. اسید آسکوربیک همچنین مقادیر کلروفیل کل، کربوهیدرات کل و ترکیبات فنولیک گیاه را در مجموع معادل ۶۵، ۶۰ و ۳۵ درصد در مقایسه با شاهد افزایش داد (سلاح‌ورزی و همکاران، ۱۳۹۰). به دلیل افزایش روز افزون خسارت های ناشی از تنش ها بویژه شوری به محصولات کشاورزی لزوم شناخت پاسخ های فیزیولوژیک در شرایط تنش شوری آشکار می شود. لذا در صورت درک بهتر پارامترهای تأثیرگذار بر افزایش عملکرد محصول می توان نسبت به شناسایی و غربال کردن ژنوتیپ‌های متحمل و حساس اقدام نمود. هدف از اجرای این تحقیق بررسی میزان تحمل به شوری دو ژنوتیپ گیاه آلترنانترا و تأثیر اسید آسکوربیک در کاهش اثرات شوری بود.

مواد و روش ها

کاشت گیاه آلترنانترا: این پژوهش بر روی دو ژنوتیپ "برگ موجی" و "برگ صاف" گیاه آلترنانترا در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز در سال ۱۳۹۲ انجام شد. ابتدا گیاهان از طریق تقسیم بوته تکثیر شدند و سپس در گلدان‌های با قطر ۲۵ سانتیمتر درون ماسه کاشته شدند. سپس گیاهان روزانه به میزان ۲۰۰ میلی لیتر با محلول هوگلند تغذیه شدند.

تهیه محلول های لازم برای تیمارها

تهیه محلول های کلرید سدیم: ابتدا میزان نمک خالص از کلرید سدیم (NaCl) برای هر تیمار با غلظت های شاهد (۰)،۳۰، ۶۰، ۹۰، میلی مولار تهیه شد و با محلول هوگلند برای اعمال تیمارهای شوری ترکیب گردید.

تهیه محلول آسکوربات

ابتدا میزان اسید آسکوربیک لازم برای غلظت‌های شاهد (۰)، ۰/۵ و یک میلی مولار وزن گردید و با آب مقطر حل گردید و به حجم رسانده شد و بلافاصله استفاده گردید. به علت ناپایداری آن برای هرسری استفاده در تیمارها، این محلول به صورت تازه تهیه و استفاده شد.

اعمال تیمار بر روی گیاهان

بعد از استقرار کامل گیاهان و ایجاد یکنواختی در آنها تیمارها اعمال شد. لازم به ذکر است که گیاهان دو هفته قبل از اعمال تیمارهای شوری تحت تیمار اسید آسکوربیک قرار گرفتند که به صورت اسپری روی گیاهان انجام شد و تا پایان تحقیق به فاصله هر ۷ روز یک‌بار ادامه یافت. هر هفته یک‌بار گلدان با آب مقطر شستشو شد که این کار به خاطر جلوگیری از تجمع نمک در گلدان انجام شد. اعمال تیمارها به مدت ۱۲ هفته ادامه داشت و در پایان این مدت برخی صفات مرفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری صفات مرفولوژیکی

صفاتی که اندازه‌گیری شد شامل طول گیاه، قطرگیاه و سطح برگ بود. طول گیاه بوسیله خط‌کش، قطر گیاه با کولیس دیجیتالی از میانگره دوم گرفته شد و سطح برگ با استفاده از دستگاه برگ سنج [1]مدل (دلتا- تی- اسکن [2]) اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری صفات فیزیکوشیمیایی

وزن تر و خشک قسمت هوایی: نظر به اینکه گیاه پوششی می باشد با استفاده از کادر ۱۰×۱۰ سانتیمتری از هر گلدان به عنوان نمونه در نظر گرفته شد و جهت اندازه‌گیری وزن تر و خشک، قسمت هوایی جدا شد و بلافاصله وزن تر اندازه‌گیری گردید و در آون

1- Leaf area meter
2- Delta-T-Scan

با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شد و وزن خشک نیز اندازه‌گیری گردید.

محتوای نسبی آب برگ (RWC)[1]

محتوای نسبی آب برگ طبق روش ریچی وهانسون[2] (۱۹۹۰) اندازه‌گیری شد. برای این منظور برگ های جوان توسعه یافته نمونه برداری و وزن تر (FW) آنها تعیین شد. سپس نمونه ها در آب مقطر قرار گرفتند، پس از ۲۴ ساعت وزن اشباع (SW) برگ ها اندازه‌گیری و برگ ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد در آون خشک گردیدند و وزن خشک (DW) هر کدام تعیین گردید. سپس بوسیله فرمول زیر محتوای نسبی آب برگ محاسبه گردید (TW:وزن کل).

$$\%RWC=[(FW-DW)/(TW-DW)]\times 100$$

نشت الکترولیت

نشت الکترولیت[3] با استفاده از روش ژائو و همکاران[4] (۱۹۹۲) اندازه‌گیری شد. برای این منظور قطعات برگی را به اندازه ۲-۱ سانتیمتر (وزن تازه بافت برگ ۰/۸ - ۰/۵ گرم) جدا کرده و در فالکون های حاوی ۲۰ میلی لیتر آب مقطر قرارداده شد. پس از ۳۰ ثانیه ورتکس نمونه ها، EC_0 هر نمونه اندازه‌گیری شد. نمونه ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای چهار درجه سانتی‌گراد نگه‌داری و سپس EC_1 اندازه‌گیری گردید. پس از آن نمونه ها به مدت ۱۵ دقیقه در اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و بعد از خنک شدن در دمای اتاق EC_2 برای سومین بار اندازه گیری گردید. نشت الکترولیت از رابطه زیر بدست آمد.

$$\text{درصد نشت الکترولیت} = ((EC_1 - EC_0)/(EC_2 - EC_0)) \times 100$$

سنجش میزان کلروفیل

میزان کلروفیل در برگ بر اساس روش لیختن تالر[5] (۱۹۸۷) با استفاده از استون ۸۰ درصد و جذب (D) در طول موج های ۶۶۳ و۶۴۵ نانومتر انجام شد. ۰/۱ گرم نمونه برگ (W) را وزن کرده ودر فالکون قرار داده سپس ۱۰ سی سی استون ۸۰ درصد (V) به آن اضافه گردید. پس از بستن در ظرف با پارافیلم و پوشانیدن ظرف با ورقه آلومینیومی، نمونه در محل تاریک و دمای چهار درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا کلروفیل برگ خارج شود و بافت برگ سفید گردد. در فواصل زمانی مختلف تکان دادن ظرف حاوی نمونه انجام گرفت. قرائت در طول مو ج های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر صورت گرفت . میزان کلروفیل با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید.

$$\text{Chl a (mg/gr)}=\{[12.7(D_{663}) - 2.69 (D_{645})]\}\times (V/1000 \times W)$$

$$\text{Chl b (mg/gr)}=\{[22.9 (D_{645}) - 4.68 (D_{663})]\}\times (V/1000 \times W)$$

$$\text{Total Chl (mg/gr)} = \text{Chl a} + \text{Chl b}$$

سنجش مقدار پرولین

اندازه‌گیری پرولین مطابق روش بیتس و همکاران[6] (۱۹۷۳) انجام گرفت. جذب در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد و با استفاده از منحنی استاندارد پرولین، مقدار این ماده محاسبه و بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر اعلام شد.

سنجش مقدار آنتوسیانین

سنجش آنتوسیانین بر طبق روش واگنر[7] (۱۹۷۹) انجام گردید و میزان آنتوسیانین با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$A=\epsilon bc$$

A: جذب خوانده شده

b: عرض کووت

ϵ: ۳۳۰۰۰cm/mol

C: غلظت محلول مورد نظر

1- Relative Water Content
2- Ritchie & Hanson
3- Electrolyte leakage
4- Zhao *et al.*
5- Lichtenthaler
6- Bates *et al.*
7- Wagner

تجزیه و تحلیل آماری

تحقیق به صورت فاکتوریل، در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی و با چهار تکرار انجام شد. برای تجزیه آماری از نرم افزارهای SAS و EXCEL استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام گردید.

نتایج

صفات مرفولوژیکی: نتایج بدست آمده از تجزیه واریانس نشان داد که اثر سطوح مختلف شوری، ژنوتیپ و اثر متقابل ژنوتیپ و شوری از نظر طول ساقه، قطر ساقه و سطح برگ اختلاف معنی‌دار ($P\leq 0.05$) بود (جدول ۱). کاهش طول و قطر در ژنوتیپ "برگ صاف" بیشتر بود به طوری که طول ساقه در ژنوتیپ "برگ صاف" از ۴۴/۲۵ به ۲۵/۵۳ سانتی متر (۴۲/۳۰ درصد کاهش طول)، و در ژنوتیپ "برگ موجی" از ۴۴/۲۵ به ۳۶/۴۱ سانتی متر (۱۷/۷۱ درصد کاهش طول)، رسید (جدول ۲). کاربرد اسید آسکوربیک بر روی صفات مرفولوژیکی معنی‌دار ($P\leq 0.05$) نشد.

خصوصیات فیزیکوشیمیایی

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس نشان داد که تنش شوری بر تمام صفات مورد ارزیابی اثر معنی‌دار ($P\leq 0.05$) داشت (جدول۳) . با افزایش غلظت کلرید سدیم میزان پرولین (شکل ۱)، نشت الکترولیت (شکل ۴) و آنتوسیانین (جدول ۲) در تمام تیمارها افزایش یافت به‌طوری که تغییرات افزایش در ژنوتیپ "برگ صاف" نسبت به "برگ موجی" بیشتر بود. با افزایش شوری محتوای نسبی آب برگ (شکل ۳) و کلروفیل کل (شکل ۲) و وزن تر و خشک قسمت هوایی (جدول ۲) کاهش یافت به‌طوری که کاهش در ژنوتیپ "برگ صاف" نسبت به "برگ موجی" بیشتر بود. گیاهانی که تحت تیمار اسید آسکوربیک قرار گرفته بودند، افزایش بیشتری در میزان پرولین (شکل ۱)، کلروفیل کل (شکل ۲)، وزن تر و خشک قسمت هوایی (جدول ۲) و محتوای نسبی آب برگ (شکل ۳) نشان دادند. اسید آسکوربیک درصد نشت الکترولیت (شکل ۴) و آنتوسیانین (جدول ۲) را کاهش داد. کمترین میزان نشت الکترولیت و

جدول۱- نتایج تجزیه واریانس بر اساس میانگین مربعات ویژگی‌های مرفولوژیکی و فیزیولوژیکی

منابع تغییر	درجه آزادی	طول ساقه	سطح برگ	قطر گیاه	وزن تر هوایی	وزن خشک هوایی
تکرار	۳	۶/۲۸۸۱۹۴**	۰/۰۶۸۰۱۳۶^{ns}	۰/۰۶۴۵*	۳۶۰۰۱/۵۶۹**	۱۷۰۳/۱۵۲۸**
ژنوتیپ	۱	۲۸۳۸/۳۷۵**	۶۲/۰۳۶۳۲۰۰**	۰/۱۶۱۷**	۱۷۱۵۷۴۵/۴**	۱۰۹۳۵۰/۰۰**
شوری	۳	۳۲۱۰/۶۸۴**	۰/۰۷۰۷۹۳۹**	۱۵/۳۸۲۳*	۶۱۶۹۲۷/۷۹**	۲۸۹۱۹/۸۴۷**
اسید آسکوربیک	۲	۵/۳۷۵۰۰۰^{ns}	۰/۰۲۷۱۷۳۵^{ns}	۰/۰۰۳۳^{ns}	۲۳۵۰۱۹۸**	۳۹/۳۸۵۴**
ژنوتیپ × شوری	۳	۱۴۰/۹۲۳۶**	۲/۰۸۹۰۷۳۸**	۲/۸۴۲۲**	۸۱۹۷/۵۶۹**	۶۶۱۲/۶۹۴۴**
ژنوتیپ × اسید آسکوربیک	۲	۴/۳۴۳۷۵۰^{ns}	۰/۰۰۱۰۹۰۹^{ns}	۰/۰۰۶۹^{ns}	۰/۵۹۴^{ns}	۰/۰۳۱۲^{ns}
شوری × اسید آسکوربیک	۶	۰/۹۴۴۴۴^{ns}	۰/۰۰۲۰۳۳۰^{ns}	۰/۰۰۲۴^{ns}	۰/۵۹۴^{ns}	۲/۵۶۶۰^{ns}
ژنوتیپ × شوری × اسید آسکوربیک	۶	۱/۱۰۰۶۹۴^{ns}	۰/۰۰۳۰۷۶۸^{ns}	۰/۰۰۹۰^{ns}	۶/۵۳۸^{ns}	۴/۲۶۷۴^{ns}
خطا	۶۹	۲/۲۵۵۵۹	۰/۰۱۰۸۲۰۵	۰/۰۱۷۱	۲۰/۰۰۴	۲/۲۰۳۵
ضریب تغییرات (٪)		۴/۸۴۹	۳/۶۲۳	۴/۲۵۵	۱/۰۱۷۷	۲/۲۰۳۵

** ، * به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۱ ٪ و ۵ ٪ وns غیر معنی دار

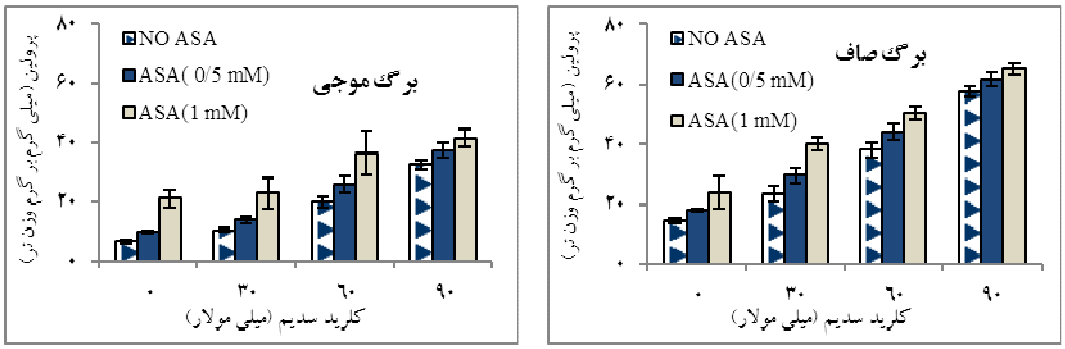
جدول۲- مقایسه میانگین اثرات اصلی بر برخی خصوصیات مرفولوژیکی و فیزیکوشیمیایی ژنوتیپ های "برگ موجی" و "برگ صاف" آلترنانترا

اثرات اصلی	تیمارها	طول ساقه (سانتی‌متر)	سطح برگ (میلی‌متر مربع)	قطر ساقه (میلی‌متر)	وزن تر هوایی (گرم)	وزن خشک هوایی (گرم)	آنتوسیانین (میکرو مول بر گرم وزن تر)
شوری (میلی مولار)	شاهد	۴۴/۲۵ a	۴/۴۹ a	۴/۰۶ a	۶۳۵/۹ a	۱۵۷/۳ a	۲/۶۷ d
	۳۰	۳۶/۲۱ b	۳/۵۵ b	۳/۲۶ b	۴۹۱/۲ b	۱۳۷/۲ b	۴/۹۶ c
	۶۰	۲۵/۳۱ c	۲/۴۵ c	۲/۸۳ c	۳۶۵/۷ c	۹۷/۷ c	۷/۲۶ b
	۹۰	۱۸/۱۰ d	۱/۱۸ d	۲/۱۵ d	۲۶۵/۰ d	۸۲/۱ d	۹/۳۲ a
اسید آسکوربیک (میلی مولار)	شاهد	۳۰/۵۳ a	۲/۸۵ a	۳/۰۷ a	۴۳۶/۶ c	۱۱۷/۵ c	۶/۱۴ a
	۰/۵	۳۱/۰۳ a	۲/۸۶ a	۳/۰۷ a	۴۳۹/۷ b	۱۱۸/۶ b	۶/۰۵ b
	۱	۳۱/۳۴ a	۲/۹۰ a	۳/۰۹ a	۴۴۲/۰ a	۱۱۹/۷ a	۵/۹۷ c
ژنوتیپ	برگ موجی	۳۶/۴۱ a	۲/۰۷ b	۳/۱۲ a	۵۷۳/۱ a	۱۵۲ a	۴/۹۹ b
	برگ صاف	۲۵/۵۳ b	۳/۶۷ a	۳/۰۳ b	۳۰۵/۷ b	۸۴ b	۷/۱۲ a

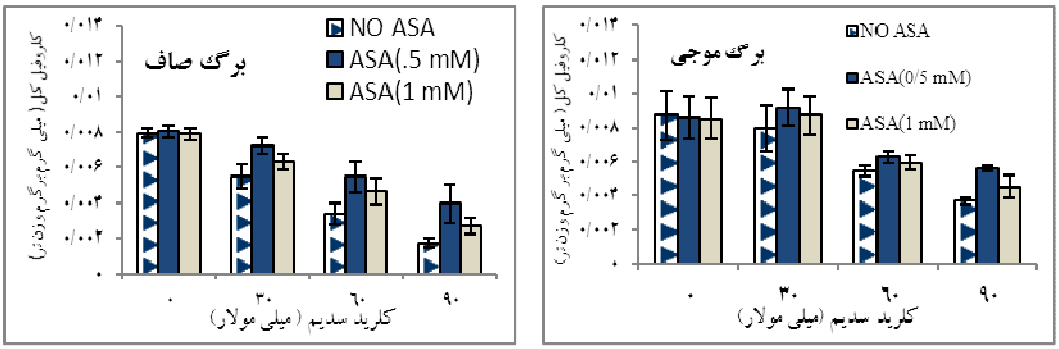
جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس بر اساس میانگین مربعات صفات فیزیکوشیمیایی دو ژنوتیپ گیاه آلترنانترا تحت تأثیر شوری و اسید آسکوربیک

منابع تغییر	درجه آزادی	پرولین	کلروفیل کل	آنتوسیانین	نشت لکترولیت	محتوای نسبی آب برگ
تکرار	۳	۳۴۴/۵۵**	۰/۰۰۰۰۱۱**	۱/۳۴E-۱۲**	۲/۵۶^{ns}	۷۱/۱۶**
ژنوتیپ	۱	۵۸۷۳/۴۷**	۰/۰۰۰۰۵۷**	۱/۰۹E-۱۰**	۲۲/۱۴**	۸/۱۹*
شوری	۳	۵۱۸۲/۷۷**	۰/۰۰۰۱۰۶**	۱/۹۸E-۱۰**	۱۰۶/۰۷**	۱۱۲۵/۶۳**
اسید آسکوربیک	۲	۱۲۱۷/۶۵**	۰/۰۰۰۰۱۲**	۲/۰۹E-۱۳**	۷۰/۸۲**	۵۰۱/۶۸**
ژنوتیپ × شوری	۳	۳۳۶/۵۰**	۰/۰۰۰۰۰۳^{ns}	۹/۳۷E-۱۳**	۶/۶۴**	۸۷/۳۷**
ژنوتیپ × اسید آسکوربیک	۲	۱۰ /۹۰^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۱^{ns}	۲/۴۸E-۱۵^{ns}	۵/۵۵*	۱۲/۵۹**
شوری × اسید آسکوربیک	۶	۲۲/۰۳^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۲^{ns}	۳/۴۹E-۱۵^{ns}	۵/۷۷**	۴۹/۸۳**
ژنوتیپ × شوری × اسید آسکوربیک	۶	۱۰/۳۱^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۱^{ns}	۱/۰۹E-۱۵^{ns}	۱/۷۳^{ns}	۷/۴۲**
خطا	۶۹	۲۰/۲۴	۰/۰۰۰۰۰۲	۷/۱۲E -۱۵	۱/۲۰	۱/۹۰
درصد ضریب تغییرات (٪)		۱۴/۴۶	۲۳/۰۸	۱/۳۹	۲۸/۹۳	۱/۷۳

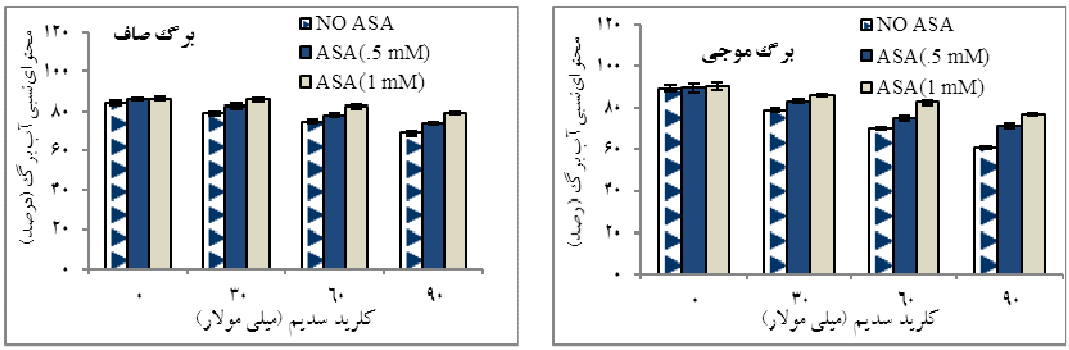
**، * به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۱٪، ۵٪ و ns غیر معنی دار



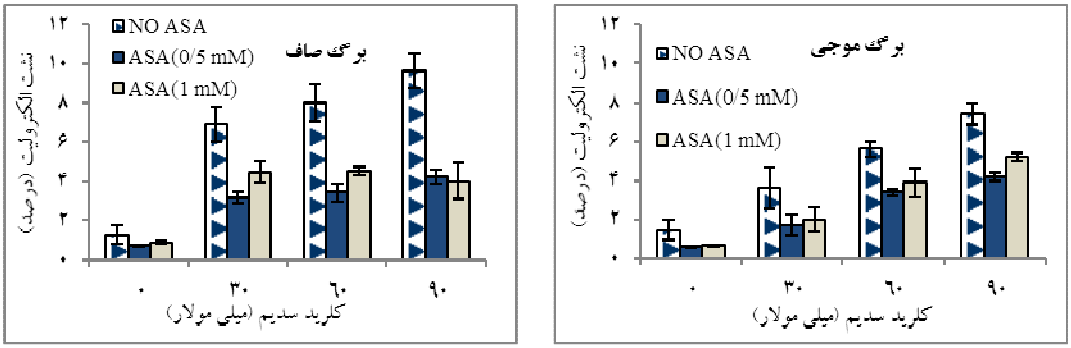
شکل۱- مقایسه میانگین اثر شوری و اسید آسکوربیک بر میزان پرولین ژنوتیپ های "برگ موجی" و "برگ صاف" گیاه آلترنانترا



شکل۲- مقایسه میانگین اثر شوری و اسید آسکوربیک بر میزان کلروفیل کل ژنوتیپ های "برگ موجی" و "برگ صاف" گیاه آلترنانترا



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر شوری و اسید آسکوربیک بر میزان محتوای نسبی آب ژنوتیپ های "برگ موجی" و "برگ صاف" گیاه آلترنانترا



شکل٤- مقایسه میانگین اثر شوری و اسید آسکوربیک بر درصد نشت الکترولیت ژنوتیپ های "برگ موجی" و "برگ صاف" گیاه آلترنانترا

بیشترین میزان کلروفیل در تیمار شوری صفر و اسید آسکوربیک ۰/۵ میلی مولار ژنوتیپ "برگ موجی"، بیشترین محتوای نسبی آب برگ در تیمار شوری صفر و ۱ میلی مولار اسید آسکوربیک ژنوتیپ "برگ صاف"، بیشترین میزان پرولین در تیمار شوری ۹۰ میلی مولار و اسید آسکوربیک ۱ میلی مولار ژنوتیپ "برگ صاف" و بیشترین میزان آنتوسیانین در تیمار شوری ۹۰ میلی مولار و اسید آسکوربیک صفر در ژنوتیپ "برگ صاف" بود. خصوصیات فیزیکوشیمیایی بر روی ژنوتیپ "برگ صاف" نسبت به "برگ موجی" تأثیر بیشتری داشتند. ژنوتیپ "برگ صاف" نسبت به "برگ موجی" به افزایش‌میزان شوری حساسیت بیشتر و پاسخ بهتری به کاربرد اسید آسکوربیک نشان داد.

بحث

در این پژوهش با قرار گرفتن گیاهان تحت تیمارهای ۳۰، ۶۰ و ۹۰ میلی مولار شوری، طول گیاه، سطح برگ، قطر گیاه، وزن تر و خشک قسمت هوایی، کلروفیل کل و محتوای نسبی آب برگ کاهش یافت و اختلاف معنی‌دار بین تیمارها گویای این مطلب بود. با توجه به نتایج بدست آمده، گیاه آلترنانترا به طور نسبی به شوری مقاوم می‌باشد و در مقایسه دو ژنوتیپ مشاهده شد که ژنوتیپ "برگ صاف" کاهش بیشتری با افزایش شوری در میزان فاکتورهای مرفولوژیکی نشان داد (جدول ۲).طول گیاه شاهد در ژنوتیپ "برگ موجی" و "برگ صاف" به ترتیب ۴۷/۵ و ۴۰/۵ سانتیمتر بود که در شوری ۹۰ میلی مولار به ترتیب به ۲۳/۸ و ۱۱/۵ سانتیمتر رسیدند و این نتایج نشان داد ژنوتیپ "برگ صاف" نسبت به شوری حساستر بود. در ابتدای تنش شوری، تنش خشکی حاصل می‌شود که عامل اصلی کاهش رشد است که این کاهش در نتیجه کاهش سطح فتوسنتز کننده یا میزان فتوسنتز در واحد سطح می‌باشد که به دلیل پایین بودن پتانسیل اسمزی محیط ریشه، جذب آب و مواد غذایی توسط گیاه کاهش می‌یابد (سرمدنیا، ۱۳۷۲). در این تحقیق با افزایش تنش شوری میزان پرولین در گیاه افزایش یافت که در ژنوتیپ "برگ صاف" افزایش بیشتری نشان داد که نشان دهنده حساسیت بیشتر آن به شوری نسبت به ژنوتیپ "برگ موجی" بود و کاربرد اسید آسکوربیک در سطوح بالای شوری باعث افزایش میزان پرولین گردید. گیاهان برای غلبه بر تنش شوری از خود مکانیسم‌های پیچیده‌ای ظاهر می‌سازند تا آنها را در برابر تنش‌های اسموتیک و یونی ناشی از شوری بالا سازگار کند که یکی از این مکانیسم‌ها، تنظیم اسمزی است که معمولاً بوسیله یون‌های غیر آلی انجام می‌شود، تجمع محلول‌های سازگار [1] یا حمایت کننده‌های اسمزی است. یون‌های غیر آلی در واکوئل قرار گرفته‌اند (بینزل و همکاران[2]، ۱۹۸۸). حمایت کننده‌های اسمزی ملکول‌های کوچک، خنثی و غیر سمی هستند که پروتئین‌های غشاء را در برابر اثرهای مخرب محلول نمک در غلظت بالا و سایر محلول‌های زیان‌آور تثبیت می‌کنند (مونز،۲۰۰۲). در گیاهان مهمترین محلول حمایت کننده اسمزی سازگار گلیسین بتائین و پرولین هستند (رانتین و همکاران[3]، ۲۰۰۲). معمولاً سطح حمایت کننده‌های اسمزی در زمان در معرض قرار گرفتن تنش اسمزی بالاست (بانرتو همکاران[4]، ۱۹۹۵). تجمع پرولین رابطه مثبت و مستقیم با افزایش مقاومت به شوری در گیاه دارد (سانوکاو همکاران[5]، ۲۰۰۴). پرولین منجر به حفظ تورم و کاهش خسارت غشاء درگیاهان می شود. بدین ترتیب با روش تنظیم اسمزی، سازگاری به تنش کم آبی و شوری افزایش می‌یابد (پاندی و آگارل[6]، ۱۹۹۸) در زمینه افزایش میزان پرولین گزارشهای وجود دارد که بیانگر افزایش پرولین در گیاهان تحت تنش‌شوری وآسکوربات مانند سویا (شتاوی،۲۰۰۷) به طور همزمان است. در تحقیق حاضر با افزایش شوری میزان آنتوسیانین گیاه افزایش یافت که این افزایش در ژنوتیپ "برگ صاف" بیشتر بود که به نظر می رسد به دلیل حساسیت بیشتر آن به شوری میزان مواد آنتی‌اکسیدان از جمله آنتوسیانین برای حفظ بقای گیاه در شرایط تنش افزایش یافته است. تنش شوری از طریق القای اسمزی می تواند موجب القای تجمع آنتوسیانین‌ها گردد. تجمع آنتوسیانین‌ها در عشقه (موری[7]، ۱۹۹۴) گزارش شده است. بر اساس نتایج بدست آمده میزان نشت الکترولیت با افزایش شوری بیشتر شد ولی کاربرد اسید آسکوربیک نشت الکترولیت را در سطوح بالای شوری کاهش داد. به نظر می‌رسد اسید آسکوربیک با مهار گونه‌های فعال

1- Osmoprotectant

2- Binzel *et al.*
3- Rontein *et al.*
4- Bohnert *et al.*
5- Saneoka *et al.*
6- Pandey & Agarwal
7- Murray

اکسیژن مانع تخریب غشاء و افزایش نشت یونی شد. گونه های فعال اکسیژن عامل اصلی پراکسیداسیون لیپیدی هستند (آپادهایا و پاندا[1]، ۲۰۰۴). همزمان با افزایش غلظت نمک، نشت یونی از سلولهای برگی افزایش می‌یابد (تیواری و همکاران[2]، ۲۰۱۰). نشت یونی بالاتر در تیمارهای شوری، عموما به تجمع مولکول‌های پراکسید هیدروژن و یا پر اکسیده شدن چربی‌های غشاء باز می‌گردد (ناکتر و فوی[3]، ۱۹۹۸). نتایج مشابه با این مطالعه توسط امام و حلال[4](۲۰۰۸) در گیاه کتان گزارش شده است. نتایج نشان داد که با کاربرد اسید آسکوربیک کلروفیل کل افزایش یافت. پاریدا و داس[5](۲۰۰۵) بیان کردندکه محتوای کلروفیل و کارتنوئیدهای گیاهان، تحت شرایط شوری کاهش پیدا می‌کند. به این ترتیب برگ ها در اثر شوری، ابتدا دچار کلروز شده و سپس شروع به ریزش می‌کنند. در واقع تنش شوری منجر به افزایش رادیکال‌های آزاد اکسیژن در کلروپلاست ها شده و در نتیجه غشاء کلروپلاستی صدمه دیده و قابلیت حیاتی خود را از دست می‌دهد (ژانگ و همکاران[6]، ۲۰۰۳). لذا به نظر می‌رسد اسید آسکوربیک توانسته است از فعالیت رادیکال‌های آزاد اکسیژن ناشی از شوری جلوگیری کند و به دنبال آن از تخریب غشاء کلروپلاستی در گیاه آلترنانترا جلوگیری نموده و محتوای کلروفیلی گیاه راحفظ نماید. بلتاجی[7](۲۰۰۸) با بررسی اثر کاربرد برون زای اسید آسکوربیک بر تحمل به شوری نخود نتیجه گرفت که همزمان با افزایش غلظت نمک تا ۴۰ میلی مولار محتوای کلروفیلی برگ کاهش یافته ولی با کاربرد اسید آسکوربیک با غلظت ۴ میلی مولار این کاهش جبران شد. محتوای نسبی آب برگ از طریق ارتباط مستقیم با حجم سلول می تواند تعادل بین آب و گیاه و سرعت تعرق را بهتر نشان دهد (چونفیلد و همکاران[8]، ۱۹۸۳). با افزایش غلظت کلرید سدیم محتوای نسبی آب برگ کاهش یافت. کاربرد اسید آسکوربیک باعث افزایش محتوای آب نسبی برگ شد .به نظر می‌رسد مهار گونه‌های فعال اکسیژن و جلوگیری ازنشت یونی باعث از دست نرفتن محتوای نسبی آب برگ باشد.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل ازاین مطالعه نشان داد که تنش شوری اثرات مخرب خود را از طریق کاهش مقدار رنگدانه‌های گیاهی، طول، قطر، وزن تر، وزن خشک و افزایش شدید نشت الکترولیت و تولید گونه‌های فعال اکسیژن بروز می‌دهد. بنابراین سایر تغییرات متابولیک گیاه نظیر افزایش اسید آمینه پرولین، به عنوان پاسخی موقت تحت شرایط تنش شوری مطرح می‌باشند، به گونه‌ای که با افزایش بیشتر غلظت نمک، گیاه توانایی اعمال این تغییرات و در نتیجه تنظیم اسمزی خود را از دست می‌دهد. اما کاربرد برون زای اسید آسکوربیک می‌تواند حتی در سطوح شوری بالا نیز با حفظ مکانیسم های مذکور، به بقای بیشتر گیاه منجر شود. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که گیاه آلترنانترا به طور نسبی به شوری مقاوم بوده و ژنوتیپ "برگ موجی" نسبت به "برگ صاف" مقاوم تر بود. ژنوتیپ "برگ صاف" در شوری بالاتر از ۶۰ میلی مولار آسیب دید اما کاربرد اسید آسکوربیک باعث بقای این ژنوتیپ در شوری بالاتر شد.

1- Upadhyaya & Panda
2- Tiwari *et al.*
3- Noctor & Foye
4- Emam & Helal
5- Parida & Das
6- Zhang *et al.*
7- Beltagi
8- Schonfield *et al.*

منابع

۱. سلاح‌ورزی، ی.، گلدانی، م.، نباتی ج. و علیرضایی، م. ۱۳۹۰. تاثیر کاربرد برون‌زای اسید آسکوربیک بر برخی از تغییرات ۲ فیزیوشیمیایی مرزنجوش (*Origanum majorana L.*) تحت تنش شوری.مجله علوم باغبانی ایران، ۴۲(۳) : ۱۵۹-۱۶۷.

۲. سرمدنیا، غ. ۱۳۷۲. اهمیت تنش‌های محیطی در زراعت، مقالات کلیدی اولین کنگره زراعت و اصلاح نباتات ایران، صص: ۱۵۷ - ۱۶۹.

۳. قاسمی قهساره، م. و کافی، م. ۱۳۹۰. گل‌کاری علمی و عملی. مؤلف. اصفهان، ۱: ۳۱۰ ص.

4. Bates, L.S., Waldren, R.P., and Teare, I.D. 1973. Rapid determination of proline for water stress studies, plant soil, 39: 205-207.

5. 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, 10, 118-123.

6. Binzel, M.L., Hess, F.D, Bressan, R.A., and Hasegawa, P.M., 1988. Intracellular compartmentation of ions in salt adapted tobacco cells. Plant Physiology, 86:607-614.

7. Bohnert, H.J., Nelson, D.E., and Jensen, R.G., 1995. Adaptation to environmental stresses. Plant Cell, 7(7): 1099-1111.

8. Emam, M.M., and Helal, N.M. 2008. Vitamins Minimize the Salt-Induced Oxidative Stress Hazards. Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 2: 1110-1119.

9. Ghassemi, F., Jakeman, A.J., and Nik, H.A., 1995. Salinization of Land and Water Resources. Human Causes, Extent, Management and Case Studies,University of New South Wales Press, Sydney, P 526.

10. Gorham, J. 1993. Genetics and physiology of enhanced K/Na discrimination pp: 151-159. In p.Randall (ed) Genetic aspects of plant mineral nutrition.Kluwer Academ. Pub. The Netherlands.

11. Hernandez, J.A., Corpas, F.J., Gomez, M., del Rı´o, L.A., and Sevilla, F., 1993. Salt-induced oxidative stress mediated by activated oxygen species in pea leaf mitochondria. Physiologia Plantarum, 89: 103-110.

12. Huang, C., He, W., Gua, J., Change, X., Su, P., and Zhang, L., 2005. Increased sensitivity to salt stress in an ascorbate-deficient Arabidopsis mutant. Journal of Experimental Botany, 56(422); 3041-3049.

13. Kaya, M.D., Okcu, G., Atak, M., Cikili, Y., and Kolsarici, O. 2006. Seed treatments to overcome salt and drought stress during germination in sunflower (*Helianthus annuus* L.). European Journal of Agronomy, 24(4): 291-295.

14. Kerepesi, H., and Galiba, G. 2000.Osmotic and salt stress induced alternation in soluble carbohydrate content in wheat seedling .Crop Science, 40: 482-487.

15. Khan, M.H., and Panda, S.K. 2002. Induction of oxidative stress in roots of *Oryza sativa* L. in responseto salt stress. Biology of Plants, 45, 525-527.

16. Lichtenthaler, H.K. 1987.Chlorophylls and cartenoides:pigmentsof hotosynthetice bio-membranes.In:Method in Enzymol .(eds.s.p.colowick and N.O. Kaplan) Academic press. NewYork , 48:350-382

17. Munns, M., 2002. Comparative physiology of salt and water stress. Plant, Cell and Environment, 25: 239-250.

18. Munns, R., 2005. Genes and salt tolerance: bringing them together. New Phytologist, 167(3): 645–663.

19. Murray, Y. 1994. Ca2+ regulation of outward rectifying K+ channel in the plasma membrane of tobacco cultured cells in suspension: a role of the K+ channel in mitigation of salt-stress effects by external Ca+. Plant Cell Physiology, 39: 1039-1044

20. 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.

21. Pandey, R., and Agarwal, R.M., 1998. Water stressinduced change in proline contents and nitrate reductase activity in Rice under light and dark condition. Physiology and olecular Biology of Plants, 4: 53-57.

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

23. Piganocchi, C., and Foyer, C.H., 2003. Apoplastic ascorbate metabolism and its role in the regulation of cell signaling. Current Opinion in Plant Biology, 6(4): 379-389.

24. Rontein, D., Basset, G., and Hanson, A.D., 2002. Metabolic engineering of smoprotectants accumulation in plants. Metabolic Engineering, 4: 49-56.

25. Ritchie , S.W., and Hanson, A.D. 1990.Leaf water content and gas exchange parameters of to wheat genotypes differing in drought resistance. Crop Science, 30: 105-111.

26. Saneoka, H., Moghaieb, R.E.A., Premachandra, G.S., and Fujita, K., 2004. Nitrogen nutrition and water stress effects on cell membrane stability and leaf water relations in Agrostis palustris Huds. Environmental and Experimental Botany, 52(2): 131-138.

27. 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.

28. Sheteawi, S.A., 2007. Improving growth and yield of salt-stressed soybean by exogenous application of Jasmonic acid and ascobin. International Journal of Agriculture and Biology, 9(3): 473-478.

29. Smirnoff, N. 2005. Ascorbate, tocopherol and carotenoids: metabolism, path-way engineering andfunctions. In: Smirnoff, N. (Ed), Antioxidants and reactive oxygen species in plants. (pp: 53–86.) Blackwell Publishing Ltd., Oxford, UK.

30. Sudhakar, P.R., Reddy, M.P., and Veeranjaneyulu, K. 1993. Effect of salt stress on the enzymes of proline synthesis and oxidation in Green gram seedling. Journal Plant Physiology, Tiwari, J.K., 141: 621-623.

31. Munshi, A.D., Kumar, R., Pandey, R.N., Arora, A., Bhat, J.S., and Sureja, A.K. 2010. Effect of salt stress on cucumber: Na+K+ ratio, osmolyte concentration, phenols and chlorophyll content. Acta Physiology Plant, 32: 103–114.

32. Upadhyaya, H. Panda, S.K. 2004. Responses of *Camellia sinensis* to drought and rehydration. - Biology Plant. 48: 597-600.

33. Vendruscolo, E.C.G., Schuster, I., Pilegg, M., Scapim, C.A., Molinari, H.B.C., Marur, C.J., and Vieira, L.G.E., 2007. Stress-induced synthesis of proline confers tolerance to water deficit in transgenic wheat. Journal of Plant Physiology, 164(10): 1367-1376.

34. Wagner. G.J. 1979. Content and vacuole/extra vacuole distribution of neutral sugars,free amino acids and anthocyanin in protoplasts. Plant Physiology, 64: 88-93.

35. Zhang, S., Weng, J., Pan, J., Tu, T., Yao, S., and Xu, C. 2003. Study on the photogeneration of superoxide radicals in Photosystem II with EPR spin trapping techniques. Photosynthesis Research, 75: 41–48.

36. Zhao, Y., Aspinall, D., and paleg, L.G. 1992. Protection of membrane integrity in *edicago saliva L.* by glycinebetaine against the effects of freezing. Journal of plant physiology, 140: 541-543.