مجله پژوهش‌های به زراعی
جلد۱۳، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۰

مجله پژوهش‌های به زراعی

اثر محلول‌پاشی آسکوربات بر رنگیزه‌های فتوسنتزی، فنل و فلاونوئید گیاه دارویی خرفه (*Portulaca oleracea* L.) در شرایط تنش شوری

الهام نیکی اسفلان[۱] *

۱–دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه زراعت، واحد یادگار امام خمینی (ره) شهرری، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۷/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۲۴

چکیده

به منظور بررسی اثر محلول‌پاشی آسکوربات بر رنگیزه‌های فتوسنتزی، فنل و فلاونوئید گیاه دارویی خرفه در شرایط تنش شوری، آزمایشی در سال ۱۳۹۵ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد یادگار امام خمینی (ره) شهرری و شهرستان پاکدشت به صورت فاکتوریل قالب طرح کاملا تصادفی در ۴ تکرار اجرا گردید که در آن تنش شوری در سه سطح (۰، ۷۰، ۱۴۰و ۲۱۰ میلی مولار) و مصرف آسکوربات در ۳ سطح (۰، ۱۰ و ۲۰ میلی مولار) در نظر گرفته شد. نتایج تحقیق نشان داد که بجز اثر ساده شوری بر فلاونوئید و فنل و اثر آسکوربات بر کاروتنوئیدها سایر اثرات بر صفات مورد آزمون معنی‌دار بود. اثر متقابل دو گانه عوامل آزمایشی تنها بر کلروفیل b و کاروتنوئیدها معنی‌دار گردید. نتایج مقایسات میانگین‌ها نشان داد که محلولپاشی ۲۰ mM آسکوربات منجر به بهبود کلروفیل گردید ولی افزایش معنی-داری در کاروتنوئیدها ایجاد نگردید. مقایسه میانگین اثرات متقابل نشان داد که اعمال تنش شوری ۲۱۰ mM و عدم کاربرد آسکوربات منجر به دستیابی به حداکثر میزان کاروتنوئید برگ (۰/۷۲ µg/ml) گردید در حالی‌که عدم استفاده از آب شور و محلول پاشی ۲۰ mM آسکوبات با ۴/۲۴ µg/ml بالاترین دستیابی به کلروفیلb برگ را نشان داد.

واژه‌های کلیدی: آسکوربات، خرفه، رنگیزه‌های فتوسنتزی، شوری، فنل، فلاونوئید

* نگارنده مسئول (el.nikee@gmail.com)

مقدمه

در بین تمام تنش‌های ذکر شده ، تنش شوری خصوصاً در اواخر فصل رشد (مراحل انتهایی رشد) یکی از مهمترین و شایع‌ترین عوامل محدود کننده رشد گیاهان در مناطق خشک و نیمه خشک به شمار می‌آید (Turhan & Baser., 2004). در گزارشات متعددی به اثرات نامطلوب تنش در کاهش رشد و تولید گیاهان زراعی اشاره شده است (Niknam *et al.*, 2003). پیچیده بودن تنش شوری به دلیل تحمیل کمبود آب و اثرات اسمزی آن بر گستره متنوعی از فعالیت‌های متابولیکی می‌باشد (پازکی، ۱۳۹۲). این کمبود آب موجب تشکیل انواع اکسیژن فعال (ROS) همچون رادیکال سوپر اکسید پراکسید هیدروژن (H_2O_2) رادیکال هیدروکسید ($^{P}OH^{\cdot}P$) و رادیکال آزاد اکسیژن می‌گردد. گونه‌های فعال اکسیژن سمی بوده و قادرند به طور جدی متابولیسم معمول سلول را از طریق آسیب اکسیداتیو به لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک مختل کنند. از آنجا که غلظت اکسیژن درونی در طی فتوسنتز زیاد می‌باشد، لذا کلروپلاست‌ها به طور ویژه مستعد تولید انواع اکسیژن فعال می‌باشند. رادیکال سوپراکسید بلافاصله پس از تشکیل تمایل به تبدیل به رادیکال آزاد اکسیژن دارد (به صورت آنزیمی یا غیر آنزیمی). به علاوه ممکن است در صورت وجود یون‌های فلزی خاص یا شلات‌های فلزات، H_2O_2 با آن‌ها فعل و انفال می‌کند که بسیار مضر است (El-Tayeb., 2005). عوامل محدود کننده غیر روزنه ای شامل عوامل زیست شیمیایی فتوسنتز نظیر مقدار کلروفیل، فعالیت آنزیم روبیسکو، انتقال الکترون فتوسنتزی، فسفوریلاسیون نوری و مقدار متابولیت‌ها می‌باشد (پازکی، ۱۳۹۲).

گونه‌های مختلف خرفه، به دلیل استفاده‌های دارویی، از دیرباز در سراسر جهان کشت شده اند. این گیاهان منابع غنی از تولید اسانس می باشند و بنابراین اهمیت اقتصادی دارند. سنتز این مواد تحت کنترل فرایندهای ژنتیکی است، بنابراین برنامه ریزی اصلاحی برای

چنین گیاهانی نیاز به اطلاعات سیتوژنتیکی و ژنتیکی پایه دارد(Chimenti *et al.*, 2002).

تحقیقات اخیر نشان داده است که بذور خرفه در شوری‌های بالا جوانه زده و می توانند به چرخه زندگی خود ادامه داده و بذر تولید کنند (Cros *et al.*, 2006). خرفه دارای اثرات دارویی از جمله منعقد کننده خونریزی، رفع گرفتگی عضلانی، تسکین دهنده تشنگی، تب بر و درمان سرفه‌های تسکین نیافتنی می باشد، همچنین بذر آن دارای امگا ۳ بوده که عامل موثری برای کاهش تری گلیسیرید و کلسترول خون کاهش سکته‌های قلبی است (Fechi *et al.*, 2003).

سلول‌های گیاهی برای حفاظت در مقابل آسیب‌های اکسیداتیو، مجهز به یک سیستم جاروب کننده رادیکال‌های آزاد می‌باشند که از این میان می‌توان به اسید آسکوربیک (ASC) اشاره نمود. اسید آسکوربیک، مولکول محلول در آب و کوچک است که به صورت سوبسترای اولیه در چرخه سم زدایی آنزیمی پراکسید هیدروژن عمل می‌کند (Beltagi, 2008). اسید آسکوربیک در سیتوسل، واکوئل‌ها، میتوکندری‌ها و دیواره سلولی گیاه وجود دارد. اسید اسکوربیک همراه با ترکیبات دیگری مانند توکوفرول، کاروتنوئیدها و فنل‌ها ،سیستم آنتی اکسیدانی غیر آنزیمی را در گیاهان تشکیل می‌دهند (Smiroff & Wheeler., 2005). این ماده از آنتی اکسیدان‌های بسیار قوی می باشد که با احیای رادیکالهای آزاد موجب بازدارندگی آن‌ها می گردد (Fechi *et al.*, 2003).

اسید آسکوربیک به عنوان یک آنتی اکسیدان مهم گیاهی می‌تواند با انواع مختلف اکسیژن‌های فعال ترکیب شود و از بسیاری آسیب‌های ناشی از افزایش انواع مختلف اکسیژن‌های فعال بکاهد (Smiroff & Wheeler., 2005). در حضور اسید آسکوربیک، فعالیت چرخه گلوتاتیون-آسکوربات و در نتیجه جاروب کننده‌های $HB_{2B}OB_{2B}$ افزایش یافته و به دنبال آن توسعه فعالیت کاتالاز، با تنش اکسیداتیو مقابله می‌گردد (Farahat *et al*, 2007; Mukhtar *et al.*, 2016).

علاوه براینکه اسید آسکوربیک به عنوان زدایی آنزیم $HB_{2B}OB_{2B}$ نقش دارد، می‌تواند بطور مستقیم موجب بی اثر شدن سوپراکسید اکسیژن یکتایی و نیز به عنوان آنتی اکسیدان ثانویه در چرخه‌های احیایی اشکال اکسید شده α – توکوفرول و آنتی اکسیدان های چربی دوست دیگر نقش دارد (Laspina *et al.*, 2007 ;Shalata & Neumann, 2000).

کاروتنوئید ها (β-کاروتن و گزانتوفیل) با رنگیزه‌ها فتوسنتزی کار می‌کند که طول موج‌ها را جذب می‌کند که کلروفیل نمی‌تواند جذب کند و به فتوسیستم II که مرکز واکنش است، منتقل می‌کند. همچنین کاروتنوئیدها با جذب رادیکال‌های اکسیژن و ایستادگی گیاه در برابر این رادیکال‌ها حفظ می‌شود (Devlin & Withman., 2002).

فلاونوئیدها و ترکیبات فنولی علاوه بر این که آنتی اکسیدان‌های قوی هستند جزء متابولیت-های ثانویه گیاهی نیز محسوب می شوند. به طور کلی باید گفت یکیاز مهمترین عواملی که تولید متابولیتهای ثانویه را در گیاهان تحت سوبسترای آنزیم آسکوربات پراکسیداز در سم تأثیر قرار میدهد تنش‌های محیطی است (Bernstein *et al.*, 2009).

ترکیبات فنلی مولکول‌های بزرگ و پیچیده اند که در اندامک واکوئل و یا درون یاخته‌های مرده مشاهده می‌گردد. این‌گون مطرح گردیده است که این ترکیبات غیر محلول و نتیجه زائد واکنش‌های متابولیکی هستند. این ترکیبات در گیاهان به صورت جفت شده همراه با مولکول‌های قند به فرم گلوسیدها یافت می‌شود (Devlin & Withman., 2000).

ترکیبات فنلی نیز سال‌هاست که به عنوان اجزای سازنده گیاهان شناخته شده و وظایف زیادی به آن نسبت داده اند. از جمله اثرات ضد میکروبی و خاصیت آنتی اکسیدانی قوی. ترکیبات فنلی بخصوص فلاونوئیدها و آنتوسیانین ها به دلیل خاصیت آنتی اکسیدانی قوی با به دام انداختن رادیکال‌های آزاد کاهش استرس اکسیداتیو، همچنین مهار ماکرو مولکول‌های اکسیداسیون و DNA صدمه دیده، خطر آسیب را کم می‌کند (Sharafati-Chaleshtori *et al.*, 2010).

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر محلول‌پاشی آسکوربات بر رنگیزه‌های فتوسنتزی، فنل و فلاونوئید گیاه دارویی خرفه (*Portulaca oleracea* L.) در شرایط تنش شوری، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب کاملا تصادفی در ۴ تکرار در سال ۱۳۹۵ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد یادگار امام خمینی (ره) شهرری و شهرستان پاکدشت اجرا گردید که در آن تنش شوری در ۴ سطح (۰، ۷۰، ۱۴۰و ۲۱۰ میلی مولار) و مصرف آسکوربات در ۳ سطح (۰، ۱۰ و ۲۰ میلی مولار) در نظر گرفته شد.

کلیه ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک قبل از شروع آزمایش اعم از (pH)، (OM)، (EC) و (CEC) بافت خاک و غلظت‌های عناصر غذایی (N,P,K) توسط آزمایش تعیین گردید و سپس خاک مورد نظر را از الک ۲ میلی متر عبور داده و بذر های گیاه خرفه تحت تیمارهای مختلف کشت شد. آزمایش در ۱۲ تیمار با ۴ تکرار و در مجموع ۴۸ گلدان انجام پذیرفت، در ابتدا وزن گلدان‌های خالی (میانگین وزن ۱۰ گلدان به صورت تصادفی اندازه گیری شد) ۱۰۰ گرم اندازه‌گیری شد و از کف گلدان تا ارتفاع ۴ سانتی متری شن درشت برای زهکشی مناسب ریخته شده و از خاک مورد نظر پر گردید.

بذرها از پژوهشکده گیاهان دارویی تهیه گردید و در هر گلدان ۸ منطقه برای کاشت بذر ها در نظر گرفته شده و عملیات کاشت صورت گرفت تا بعد از جوانه زنی فاصله گیاهان به ۵ سانتی متر و تراکم مطلوب برسد. میزان آبیاری همه گلدان‌ها از زمان کاشت نشاها تا زمان اعمال تنش (هفته پنجم) یک بار در روز و بر اساس ظرفیت زراعی (۸۵۷ گرم) صورت گرفت. در هفته پنجم و پس از رسیدن به مرحله ۴ تا ۵ برگی، اعمال تنش شوری بر اساس غلظت‌های تهیه شده نمک طعام (۰، ۷۰، ۱۴۰و ۲۱۰ میلی مولار) صورت پذیرفت. پس از گذشت سه روز از اعمال تنش شوری، محلول‌پاشی آسکوربات براساس نقشه طرح انجام پذیرفت و مجددا پس از گذشت ۷ ، ۱۲ و ۱۸ روز تکرار عملیات

انجام پذیرفت.

تهیه محلول آسکوربات

برای تهیه محلول، از اسید آسکوربیک ($CB_{6B}HB_{8B}OB_{6B}$) با درجه خلوص ۱۰۰٪ و آب دوبار تقطیر شده استفاده شد، به این ترتیب با توجه به جرم مولکولی آسکوربات محلول‌های ۲ و ۴ میلی مولار تهیه شد، با توجه به ناپایداری اسید آسکوربیک در هر سری از آزمایش به صورت تازه تهیه و مورد استفاده قرار گرفت. برای تیمارهای شاهد محلول‌پاشی تنها با آب معمولی انجام پذیرفت.

سنجش میزان کروفیل a , b , a+b و کاروتنوئید

برای سنجش کلروفیل a و b از روش Lichtenther (1987) استفاده گردید. برای این منظور ۰/۲ گرم بافت تازه برگ‌های کاملا توسعه یافته (Fully mature) را انتخاب کرده با ۱۵ ml استون ۸۰٪ هموژن کرده و پس از سانتریفوژ با دور ۳۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه جداسازی صورت پذیرفته و طول موج جذبی آن توسط اسپکتروفوتومتری مدل Carry 100 در طول موج ۶۶۳ و ۶۴۶ و ۴۸۰ نانومتر اندازه گیری شد. با استفاده از فرمول‌های زیر غلظت کلروفیل‌های a ,b و کاروتنوئید برحسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر محلول بدست آمد (پازکی، ۱۳۹۲).

$$Chla = 12.25\ A\ B_{663B}\text{-}2.79A\ B_{646B}$$

$$Chlb = 21.21A\ B_{646B}\text{-}5.1AB_{663B}$$

$$car = \frac{1000A480 - 1.8chla - 85.02chlb}{198}$$

سنجش فلاونوئیدها

تعیین میزان فلاونوئیدها بر اساس روش Jordan *et al* (1994) انجام پذیرفت. بر این اساس یک گرم بافت تر برگ در ۱۰میلی لیتر متانول اسیدی (شامل الکل متیلیک و هیدروکلریک اسید خالص به نسبت حجمی ۹۹ به ۱) همگن و سانتریفوژ شد. جذب عصاره رویی در ۳۰۰ نانومتر برای فلاونوئیدها با روش اسپکتروفوتومتر تعیین و نتایج به صورت جذب

در گرم وزن تر مورد مقایسه قرار گرفت (Nogues & Baker, 2000).

سنجش فنول کل

برای سنجش مقدار ترکیبات فنول کل از روش Matta & Giai (1969) استفاده شد. بر این اساس ۰/۱ گرم نمونه تر در ۱۰ میلی لیتر اتانول ۸۰٪ جوشانده شد. سپس نمونه‌ها سانتریفیوژ شده و به آن فولن رقیق شده با آب (۱:۳) و کربنات سدیم اشباع اضافه گردید و دوباره سانتریفیوژ شد. در نهایت جذب توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۴۰ نانومتر تعیین و رسم منحنی استاندارد با استفاده از کاتکول صورت گرفت. محاسبه میزان ترکیبات فنلی بر حسب میلی‌گرم در گرم وزن تر انجام پذیرفت.

برای تجزیه واریانس و مقایسه میانگین صفات از برنامه SAS و برای رسم نمودارها از برنامه Excel استفاده گردید . $P \leq 0.05$ به عنوان سطح معنی‌دار بودن اختلافات در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث

کلروفیل a

نتایج تحقیق نشان داد که از نظر میزان کلروفیل a بین سطوح شوری و محلولپاشی آسکوربات تفاوت معنی‌داری مشاهده گردید (جدول ۱)، در این‌شرایط بیشترین میزان این صفت با ۳/۷۰ µg/ml در شرایط عدم تنش شوری و کمترین مقدار با ۱/۹۹ µg/ml در شرایط تنش شوری شدید ۲۱۰ میلی مولار حاصل گردید (جدول ۴-۲). همچنین یافته‌های حاصل از مصرف آسکوربات موید این نکته بود که محلولپاشی ۲۰ mM بیشترین (۳/۷۲ µg/ml) و عدم مصرف آن کمترین (۲/۶۲ µg/ml) میزان کلروفیل a را نشان داد (جدول ۲). اثر متقابل دو گانه شوری و آسکوربات بر میزان کلروفیل a معنی دار نبود (جدول ۱). Tari *et al* (2013) اظهار داشتند که تنش شوری به واسطه بروز اختلال در ساخت کلروفیل‌ها، غلظت آن‌ها را در سورگوم تنزل داد. به‌نظر می‌رسد، کم شدن غلظت کلروفیل‌ها در محیط شور ناشی از غیرفعال

شدن آنزیم مسئول ساخت آن‌ها و یا افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز و همچنین اختلال در جذب برخی عناصر ضروری نظیر آهن و منیزیم باشد (Arulbalachandran *et al.*, 2009). در پژوهش‌های انجام شده، تیمار خارجی آسکوربات در شرایط تنش از کاهش محتوای پروتئین و کلروفیل در گیاه ذرت جلوگیری کرد (Dolatabadian *et al.*, 2009). در حقیقت کلروفیل a هسته مرکزی واکنش را در فتوسیستم دو تشکیل می‌دهد. از این رو افزایش آن می‌تواند بیانگر تقویت سیستم فتوسنتزی گیاه باشد. لذا با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان استنباط کرد که کاربرد محلولپاشی آسکوربیک اسید به واسطه تقویت مرکز واکنش فتوسیستم دو موجب بهبود سیستم فتوسنتز گیاه می‌گردد. در تحقیقی روی مرزنجوش کاربرد آسکوربات در شرایط تنش شوری میزان کلروفیل a و کارتنوئید را افزایش داد (سلاح‌ورزی و همکاران، ۱۳۹۰).

کلروفیل b

بر اساس یافته‌های تحقیق از نظر میزان کلروفیل b بین سطوح شوری و مصرف آسکوربات تفاوت معنی‌داری مشاهده گردید (جدول ۱). به صورتی که بیشترین و کمترین میزان این صفت به ترتیب با ۳/۳۹ µg/ml و ۱/۵۳ µg/ml در شرایط عدم اعمال شوری و تنش شوری شدید ۲۱۰ میلی مولار حاصل گردید، همچنین محلول‌پاشی ۲۰ mM آسکوربات بیشترین (۲/۹۱ µg/ml) و عدم مصرف آن کمترین (۱/۹۱ µg/ml) میزان کلروفیل b را ایجاد نمود (جدول ۲). اثرات متقابل دو گانه شوری و آسکوربات بر میزان کلروفیل b در سطح ۵ درصد معنی دار بود (جدول ۱)، در این شرایط نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که عدم تنش شوری و محلول پاشی ۲۰ mM آسکوبات منجر به دستیابی به حداکثر میزان کلروفیل b برگ معادل ۴/۲۴ µg/ml گردید (جدول ۳)

.

Azzedine *et al* (2011) نشان دادند که کاربرد اسید آسکوربیک از طریق افزایش سطح برگ، بهبود غلظت کلروفیلهای a و b و کاروتنوئید و افزایش تجمع پرولین و کاهش هیدروژن پراکسیداثرات نامطلوب تنش شوری بر گیاهان را تعدیل می‌نماید. با این‌حال، اثرات تعدیل کننده آسکوربیک اسید به مرحله نموی گیاه و غلظت کاربردی این ترکیب بستگی دارد.

کلروفیلa+b

نتایج تحقیق نشان داد که از نظر میزان کلروفیلa+b بین سطوح شوری تفاوت معنی‌داری مشاهده گردید (جدول ۱)، به صورتی که بالاترین مقدار این صفت µg/ml ۶/۶۳ در شرایط عدم اعمال شوری و کمترین میزان آن با µg/ml ۳/۲۰ در شرایط تنش شوری شدید ۲۱۰ میلی‌مولار حاصل گردید (جدول ۲). اثر ساده محلول‌پاشی آسکوربات بر میزان کلروفیلa+b برگ نیز در سطح ۵ درصد معنی‌دار گردید (جدول ۱)، به صورتی که کاربرد ۲۰ mM آسکوربات بیشترین (۵/۴۸ µg/ml) و عدم مصرف آن کمترین (۳/۶۰ µg/ml) میزان کلروفیلa+b را نشان داد (جدول ۲). اثرات متقابل دو گانه عوامل آزمایشی بر میزان کلروفیلa+b معنی دار نبود (جدول ۳).

انواع متفاوتی از اکسیژن‌ها در مدت تنش تولید می‌شود و باعث کاهش و آنالیز شیمیایی رنگیزه‌های فتوسنتزی می‌گردند. با اعمال تنش بر گیاه ریحان رقم اصلاح شده مجارستانی، گل مکزیکی و گیاه بامیه کاهش قابل توجهی در مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی مشاهده می‌شود که عمل فتوسنتز را تحت تاثیر قرار می‌دهد در این میان حفظ رنگیزه-های کلروفیلی نقشی بسیار تعیین کننده دارند (Baghizadeh & Mahmood., 2011; Baghizadeh & Mahmood). نتایج حاصل از مطالعه سلاح ورزی و همکاران (۱۳۹۰) در گیاه مرزنجوش نشان داد که تیمار آسکوربات با ممانعت از افزایش شدید نشت الکترولیتی و دوام بیشتر کلروفیل و کاروتنوئیدها با افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی گیاه و بهبود سایر

تغییرات متابولیکی نظیر افزایش کربوهیدرات‌های کل، ترکیبات فنولی و اسید آمینه پرولین را تحت تنش شوری در پی داشت.

کاروتنوئید

از نظر میزان کاروتنوئید برگ بین سطوح شوری تفاوت معنی‌داری مشاهده شد (جدول ۱)، به صورتی که بیشترین میزان آن با ۰/۵۰ µg/ml در شرایط تنش شوری شدید ۲۱۰ میلی‌مولار و کمترین مقدار با µg/ml ۰/۳۴ در شرایط شاهد یا عدم اعمال تنش شوری (جدول ۲). اثر ساده مصرف آسکوربات بر محتوی کاروتنوئید برگ معنی‌دار نگردید (جدول ۱)، نتایج تحقیق نشان داد، اثر متقابل دو گانه شوری و آسکوربات بر میزان کاروتنوئید در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). به صورتی که اعمال تنش شوری ۲۱۰ mM و عدم کاربرد آسکوربات منجر به دستیابی به حداکثر میزان کاروتنوئید برگ (۰/۷۲ µg/ml) گردید، همچنین کمترین میزان صفت ذکر شده (۰/۳۱ µg/ml) در شرایط عدم شوری و مصرف آسکوربات ۲۰ میلی مولار حاصل گردید (جدول ۳). کاروتنوئیدها (β-کاروتن و گزانتوفیل) با رنگیزه‌ها فتوسنتزی کار می‌کند که طول موج‌ها را جذب می‌کند که کلروفیل نمی‌تواند جذب کند و به فتوسیستم II که مرکز واکنش است، منتقل می‌کند. همچنین کاروتنوئیدها با جذب رادیکال‌های اکسیژن و ایستادگی گیاه در برابر این رادیکال‌ها حفظ می‌شود (Devlin & Withman., 2002).

کاروتنوئیدها رنگیزه‌های چربی‌دوست موجود در غشاهای کلرو پلاستی هستند و عملکردهای متعددی در متابولیسم گیاه دارند. ن‌ها علاوه بر جذب نور عنوان رنگیزه‌های کمکی، دستگاه فتوسنتزی را از آسیب فوتون‌های اضافی و تنش اکسیداتیو (توسط چرخه

گزانتو فیل و ممانعت از تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن محافظت می‌کند (El-Tayeb & El-Enany., 2006). تنش شوری همچنین سبب کاهش کاروتنوئیدها در

گیاه بامیه شده است. یکی از دلایل کاهش کربوهیدرات‌ها در برگهای گیاه این است که تحت تنش خشکیو شوری و در نتیجه تاثیرات این تنش در غشای تیلاکوئیدها، مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی و مقدار فتوسنتز کاهش می‌یابد (Devlin & Withman., 2002). ساخته شدن کاروتنوئید و زآگزانتین از نتراگزانتین ویولاگزانتین به وسیله آنزیم ویولا گزانتین داپواکسیداز در حضور آسکوربات در لومن تیلاکوئیدها از آسیب‌های بازدارندگی نوری بر فتوسیستم II نیز می‌کاهد (Smiroff & Wheeler., 2000). گزارشات متعددی مبنی بر تاثیر مثبت اسید آسکوربیک بر افزایش محتوی کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها در گیاهان تحت تنش محیطی وجود دارد که از جمله می‌توان به گزارش (Chai *et al*., 2007) در رابطه با گیاه بامیه اشاره کرد.

فلاونوئید

نتایج تحقیق نشان داد که از نظر میزان فلاونوئید بین سطوح اعمال تنش شوری تفاوت معنی‌داری داری مشاهده نگردید ولی اثر ساده مصرف آسکوربات بر میزان فلاونوئید برگ درسطح ۵ درصد معنی‌دار گردید (جدول ۱)، به صورتی که عدم کاربرد آسکوربات بیشترین (۰/۵۵ درصد) و مصرف ۲۰ mM آن کمترین (۰/۴۳ درصد) میزان فلاونوئید را نشان داد (جدول ۲). بر اساس یافته‌های تحقیق اثرات متقابل دو گانه عوامل آزمایشی بر میزان فلاونوئید برگ معنی دار نبود

(جدول ۳). طی بررسی های انجام شده توسط Butter *et al* (2001) و واریته‌های مختلف سویا اختلافی را در ترکیبات گلوکوزیدی نشان داده‌اند. بنابر این پژوهشگران ترکیبات خاص از گلیکوزیدها یافته اند که منجر به کاهش فتوسنتز و رشد گردید (Butter *et al*., 2001). برخی از متابولیت‌ها مانند کاروتنوئیدها، فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها و آسکوربات با جاروب کردن رادیکال‌های آزاد موجب حفاظت گیاه در برابر تنش‌های اکسیداتیو می‌شود

(Schaller & Kiebe , J. 2002). در عین حال یافته‌های *Wahid* & Ghazanfar (2006) تایید نمود که افزایش متابولیت‌های ثانویه از گروه ترکیب‌های فنولی، آنتوسیانینی و فلاونوئیدی در حادث شدن مقاومت به تنش شوری تاثیر معنی‌داری را ایجاد می‌نماید.

فنل اندام هوایی

نتایج تحقیق نشان داد که از نظر میزان فنل اندام هوایی بین سطوح شوری تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید ولی اثر ساده محلول‌پاشی آسکوربات بر فنل اندام هوایی در سطح ۵ درصد معنی‌دار گردید (جدول ۱)، به صورتی که کاربرد ۲۰ mM آسکوربات بالاترین (۱/۴۲ mg/gFw) و عدم مصرف آن کمترین (۱/۲۴ mg/gFw) میزان فنل اندام هوایی را نشان داد (جدول ۲). اثر متقابل دو گانه شوری و آسکوربات بر میزان فنول معنی دار نگردید (جدول ۴-۱). ترکیباتی چون کومارین، فلاونوئید، آنتوسیانین، کاتکول، کافئیک اسید جزء ترکیبات فنلی محسوب می‌شوند. پژوهش‌های مختلفی افزایش این ترکیبات را در پاسخ به عوامل تنش زا نشان می‌دهد، برخی از فنول‌های ساده ، قارچ کش و باکتری کش قوی می‌باشد که گیاهان را در مقابل هجوم قارچها و باکتری‌ها حفظ می‌نمایند (پازکی، ۱۳۹۲). Hernandez *et al* (2004) اعلام کردند که با گسترش اثرات تنش میزان فنل در گیاه کاهش می‌یابد، این مسئله ممکن است مربوط به تداخل فرضی بین هر دو گروه (آسکوربات و ترکیبات فنلی کل) باشد. چون رادیکال‌های فنوکسیل مثل محصولات اکسیداسیون فنولیک می‌توانند به وسیله آسکوربات به فرم احیا شده شان باز گردند. چنانچه در گیاه *Cistus clusii* نیز در شرایط تنش با افزایش غلظت آسکوربات، ترکیبات فنلی کل افزایش یافت بنابراینبه‌نظر می‌رسد که ارتباط فیزیکی بین هر دو آنتی اکسیدان در سطح غشا امکان پذیر است. آسکوربات فلاونوئید را کاهش می‌دهد در حالی که ترکیبات فنلی کل متاثر از آسکوربات افزایش می‌یابد (Hernandez *et al.*, 2004; Hernandez Schaller & Kiebe., 2002).

ترکیبات فنلی نیز سال‌هاست که به عنوان اجزای سازنده گیاهان شناخته شده و وظایف زیادی به آن نسبت داده اند. از جمله اثرات ضد میکروبی و خاصیت آنتی اکسیدانی قوی. ترکیبات فنلی بخصوص فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها به دلیل خاصیت آنتی اکسیدانی قوی با به دام انداختن رادیکال‌های آزاد کاهش استرس اکسیداتیو، همچنین مهار ماکرو مولکولهای اکسیداسیون و DNA صدمه دیده، خطر آسیب را کم می‌کند (Hernandez *et al*., 2004).

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر تنش شوری و آسکوربات بر صفات مورد بررسی

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		نشت یونی	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل $a+b$	کاروتنوئید	فلاونوئید	فنول
شوری	۳	۰/۱۸*	۱۱/۷۷**	۰/۲۵**	۵/۴۱**	۰/۰۳*	۰/۰۰۱^{ns}	۰/۰۲^{ns}
آسکوربات	۲	۱/۰۳**	۴/۴۳**	۰/۲۵**	۴/۱۷*	۰/۰۰۶^{ns}	۰/۰۳*	۰/۳۲۰
شوری × آسکوربات	۶	۰/۰۱^{ns}	۰/۰۱^{ns}	۰/۱۱*	۰/۵۹^{ns}	۰/۱۲**	۰/۰۰۴^{ns}	۰/۰۰۴^{ns}
خطا	۳۳	۰/۰۴	۷/۷۰	۰/۴۴	۹/۴۹	۰/۰۰۹	۰/۰۰۵	۱/۰۵
ضریب تغییرات (درصد)		۱۳/۵۷	۸/۵۱	۱۱/۲۳	۱۶/۰۱	۲۳/۷۸	۱۵/۳۳	۱۰/۲۸

ns ، * و ** به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح ۵ و ۱ درصد می باشند.

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر عوامل آزمایشی بر صفات مورد آزمون

منابع تغییرات	مقایسه میانگین اثر ساده صفات مورد بررسی					
	کلروفیل a (µg/ml)	کلروفیل b (µg/ml)	کلروفیل $a+b$ (µg/ml)	کاروتنوئید (µg/ml)	فلاونوئید (%)	فنول (mg/gFw)
شوری						
۰ میلی مولار	۳/۷۰^{a}	۳/۳۹^{a}	۶/۶۳^{a}	۰/۳۴^{b}	۰/۴۲^{a}	۱/۲۸^{a}
۷۰ میلی مولار	۳/۱۲^{ab}	۲/۳۴^{ab}	۴/۴۱^{b}	۰/۳۷^{ab}	۰/۴۶^{a}	۱/۳۱^{a}
۱۴۰ میلی مولار	۳/۰۲^{ab}	۲/۰۳^{ab}	۳/۶۸^{b}	۰/۴۱^{ab}	۰/۴۹^{a}	۱/۳۳^{a}
۲۱۰ میلی مولار	۱/۹۹^{b}	۱/۵۳^{b}	۳/۲۰^{b}	۰/۵۰^{a}	۰/۵۴^{a}	۱/۴۳^{a}
آسکوربات						
۰ میلی مولار	۲/۶۲^{b}	۱/۹۱^{b}	۳/۶۰^{b}	۰/۴۹^{a}	۰/۵۵^{a}	۱/۲۴^{c}
۱۰ میلی مولار	۲/۸۶^{b}	۲/۴۸^{a}	۴/۹۷^{a}	۰/۳۸^{a}	۰/۴۶^{ab}	۱/۳۴^{b}
۲۰ میلی مولار	۳/۷۲^{a}	۲/۹۱^{a}	۵/۴۸^{a}	۰/۳۸^{a}	۰/۴۷^{b}	۰/۴۳^{b}

حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم وجود اختلاف معنی دار بر اساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد می باشند.

جدول ۳- اثرات متقابل دو گانه عوامل آزمایشی بر صفات مورد آزمون

فنول (mg/gFw)	فلاونوئید (%)	کاروتنوئید (µg/ml)	کلروفیل a + b (µg/ml)	کلروفیل b (µg/ml)	کلروفیل a (µg/ml)	
۱/۱۷^{c}	۰/۵۱^{bc}	۰/۳۵^{cde}	۵/۸۱^{b}	۳/۰۱^{ab}	۳/۳۴^{bcd}	NaCl=0mM + As=0mM
۱/۱۹^{c}	۰/۵۱^{bc}	۰/۵۶^{b}	۳/۸۷^{cd}	۲/۰۹^{bcd}	۲/۷۴^{cde}	NaCl=70mM + As=0mM
۱/۲۳^{c}	۰/۵۴^{cb}	۰/۶۳^{a}	۳/۱۴^{d}	۱/۷۶^{bcd}	۲/۲۶^{de}	NaCl=140mM + As=0mM
۱/۱۹^{c}	۰/۶۳^{a}	۰/۷۲^{a}	۱/۵۸^{e}	۱/۴۹^{cd}	۱/۸۳^{e}	NaCl=210mM + As=0mM
۱/۳۰^{c}	۰/۴۹^{bcd}	۰/۳۴^{cd}	۶/۲۶^{ab}	۳/۹۵^{a}	۴/۲۹^{ab}	NaCl=0mM + As=10mM
۱/۳۰^{bc}	۰/۴۲^{def}	۰/۳۷^{b}	۴/۴۱^{c}	۲/۳۳^{bcd}	۳/۰۲^{cde}	NaCl=70mM + As=10mM
۱/۳۰^{bc}	۰/۴۵^{cde}	۰/۵۰^{b}	۳/۴۵^{cd}	۱/۶۹^{bcd}	۲/۷۲^{cde}	NaCl=140mM + As=10mM
۱/۳۲^{bc}	۰/۵۴^{b}	۰/۴۱^{b}	۳/۲۰^{cd}	۱/۵۳^{d}	۱/۹۹^{e}	NaCl=210mM + As=10mM
۱/۶۴^{ab}	۰/۳۶^{f}	۰/۳۱^{de}	۷/۲۸^{a}	۴/۲۴^{a}	۴/۷۵^{ab}	NaCl=0mM + As=20mM
۱/۶۵^{ab}	۰/۴۰^{ef}	۰/۳۵^{c}	۵/۸۳^{b}	۲/۹۷^{ab}	۴/۵۳^{abc}	NaCl=70mM + As=20mM
۱/۶۶^{ab}	۰/۳۷^{ef}	۰/۳۸^{e}	۴/۲۲^{cd}	۲/۹۰^{abc}	۳/۹۷^{bc}	NaCl=140mM + As=20mM
۱/۷۱^{a}	۰/۳۶^{ef}	۰/۴۹^{e}	۳/۵۹^{cd}	۲/۲۹^{bcd}	۲/۸۴^{cde}	NaCl=210mM + As=20mM

حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم وجود اختلاف معنی دار بر اساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد می باشند.

منابع

پازکی. ع.ر. ۱۳۹۲. بررسی اثر آسکوربات و جیبرلین بر روی برخی صفات فیزیولوژیکی گیاه دارویی بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.) در شرایط تنش شوری. گزارش نهایی طرح پژوهشی, واحد یادگار امام خمینی (ره) شهرری. ۱۳۰ ص.

سلاح ورزی، ی.، م . گلدانی، ج. نباتی، و م. علیرضایی. ۱۳۹۹. تاثیر کاربرد برون‌زای آسکوربیک اسید بر برخی از تغییرات فیزیکی و شیمیایی مرزنجوش (*Origanum majorana* L.) تحت تنش شوری. مجله علوم باغبانی ایران. ۴۲ (۲) ۱۶۷-۱۵۳.

Azzedine, F., H. Gherroucha, and M. Baka. 2011. Improvement of salt tolerance in durum wheat by ascorbic acidapplication. Journal of Stress Physiology and Biochemistry. 7: 27-37.

Baghizadeh, A. M. Ghorbanli, H.M. Rezaei, and H. Mozafri. 2009. Evaluation of Interaction effect of drought stress with ascorbate and salicylic acid on some of physiological and Biochemical parameters in okra

Protected Cultivation in Mild Winter Climate.

Devlin, M.R. and F.H. Withman. 2002. Plant physiol. CBS publishers and distributors chapter 12.

Dolatabadian, A., S.A.M. Modarres Sanavy, and M. Sharifi. 2009. Alleviation of water deficit stress effects by foliar application of ascorbic acid on (*Zea mays* L.). J. of Agron. and Crop Sci. 195: 347-355.

El-Tayeb, M.A. 2005. Response of barley Grains to the interactive effect of Salinity and salicylic acid. Plant Growth Regulation. 45: 215-225.

Farahat, M.M., M.M. Soad Ibrahim, S. Lobna Taha, and F. El-Quesni. 2007. Response vegetative growth and some chemical constituents of *Cupressus sempervirens L.* to foliar application of ascorbic acid and zinc at Nubaria. World J. of Agric Sci. 3(3):282-288.

Fechi – Christoffera, M. M., P. Maier, and W.J. Horst. 2003. Apoplastic peroxidases and ascorbate are involved in manganese toxicity and tolerance of *Vigna anguiculata*. Physiol plant. 117: 237-244.

Hernandez, I., L. Alegre, and S. Munne-Bosch. 2004. Drought-induced changes in flavonoids and other low molecular weight antioxidants in *Cistus chisii* grown under Mediterranean field conditions. Tree Physiology. 24:1303-1311.

(*Hibiscus esculentus* L.). Journal Biological sciences. 4 (4): 380-387.

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

Bernstein, N., M. Kravchik, and N. Dudai. 2009. Salinity-induced changes in essential oil, pigments and salts accumulation in sweet basil (Osimum basilicum *L.)* in relation to alteration of morphological development. Annals Applied Biology. 156: 167-177.

Butter, R.B.T., C.S. Buzzel, J.D. Gaynor, and D.C. Matarish. 2001. Water stress. Plant Soil. 149:283-288.

Chai, T.T., N.M. Fadzillah, M. Kusnan, and M. Mahmood. 2005. Water stress-induced oxidative damage and antioxidant responses in micropropagated banana plantlets. Biologia Plantarum. 49: 153-156.

Chimenti, C.A., J. Pearson, and A.J. Hall. 2002. Osmotic adjustment and yield maintenance under drought in sunflower. Field crop res. 75: 235-246.

Cros, V., J.J. Martinez-Sanchez, J.A. Fernandez, E. Conesa, M.J. Vicente, J. Franco, and S. Carreno. 2006. Salinity effects on germination and yield of purslane (*Portulaca oleracea* L.) in a hydroponic floating system. Eighth International Symposium on

Laspina, N.V. M.D. Groppa, M.l. Tomaro, and M.P. Benavides. 2005. Nitric oxide protects sunflower leaves against Cd-induced oxidative stress-plant. Sci. 169: 323-330.

Niknam, S.R., Q. Ma, and W. Turner. 2003. Osmotic adjustment and seed yield of *Brassica napus* and *B. Juncea* genotypes in a water – limited environment in south –western Australia. Australian Journal of EXP Agric. 43(9):1127-1135.

Mukhtar, A., N.A. Akram, R. Aisha, S. Shafiq, and M. Ashraf. 2016. foliar applied ascorbic acid enhances antioxidative potential and drought tolerance in cauliflower (*Brassica oleracea* L. var. Botrytis). Agrochimica 60: 100-113.

Nogués. S. and N. R. Baker. 2000. Effects of Drought on Photosynthesis in Mediterranean Plants Grown under Enhanced UV-B Radiation," Journal of Experimental Botany, Vol. 51, No. 348, 2000, pp. 1309-1317.

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

Smiroff, N. and G.L. Wheeler. 2000. Ascorbic acid in plants: biosynthesis and function. CRC crit. Rev. plant Sci. 19: 267-290.

Turhan, H. and I. Baser. 2004. In vitro and *in vivo* water stress in sunflower (*Helianthus annus* L.). HELLA. 27:227-236.

Sairam, R.K., P.S. Deshmukh, and D.C. Saxena. 2007. Role of antioxidant systems in wheat . Genotype tolerance to water stress. Biologic Plantarum. 41(3): 387-394.

Schaller, G. and J. Kiebe. 2002. Ethylene. Amer. Soc. Plant Biologists. 1-17.

Shalata, A. and P.M. Neumann. 2001. Exogenous ascorbic acid (Vitamin C) increase resistance to salt stress and reduces lipid peroxidation. J. Experim. Bot. 52: 2207-2228.

Sharafati-Chaleshtori, R. F. Sharafati-Chaleshtori, A. Sharafati-Chaleshtori, K. Ashrafi. 2010**.** Antimicrobial effects and evalution of total phenols, flavonoids and flavonols contents of ethanolic extracts of *Scrophularia striata*. J. Medical Sci. 32-37.

Sheteawi, S. A. 2007. Improving growth and yield of salt-stressed soybean by exogenous application of jasmonic acid and ascobin. Inter. J. of Agric. and Biol. 9(3): 473-478.

Wahid, A. and A. Ghazanfar. 2006. Possible involvement of some secondary metabolites in salt tolerance of sugarcane. Journal of Plant Physiology. 163: 723-730.

The effect of ascorbate foliar application on photosynthetic pigments, phenols and flavonoids of Purslane (*Portulaca oleracea* L.) under salinity stress conditions

E. Niki Esfahlan[1*]

1- M.Sc Graduated, Department of Agronomy, Yadgar-e-Imam Khomeini (RAH) Shahre Rey Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Abstract

Due to study the effect of ascorbate foliar application on photosynthetic pigments, phenols and flavonoids of purslane under salinity stress conditions, an experiment was carried out in 2016 at Islamic Azad University, Yadgar-e-Imam Khomeini (RAH) Shahre Rey Branch and Pakdasht city, as factorial design based on Completely Randomized design with 4 replications, in which salinity stress in 3 levels (0, 70, 140 and 210 mM) and ascorbate foliar application in three levels (0, 10 and 20 mM) were considered. The results showed that except for the simple effect of salinity on flavonoid and phenol and the effect of ascorbate on carotenoids and other effects on evaluated traits were significant. The double interaction effect of experimental factors was significant only on chlorophyll b and carotenoids. Base of the finding the mean comparison results indicated that foliar spraying of 20 mM ascorbate led to the highest chlorophyll content, but there was no significant increase in carotenoids. The mean comparison interaction effects demonstrated that 210 mM and non using of ascorbate gained to maximum leaves carotenoids content (0.72 µg/ml), while no use of salinity water and 20 mM of ascorbate solution with µg/ml 4.24 ml produced the highest leaves chlorophyll b.

Keywords: Ascorbate, Flavonoid, Phenol, Photosynthetic pigments, Purslane, Salinity

* Corresponding author (el.nikee@gmail.com)