گیاه و زیست فناوری ایران
Iranian Journal of Plant & Biotechnology (IJPB)
واحد گرمسار

DOI: 10.71829/BIOLOGY-2024-1187887

نوع مقاله: پژوهشی

تاثیر اسید آسکوربیک و پرولین بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذر تاج‌الملوک (*Aquilegia columbine*) تحت تنش شوری

مهدی نفر (نویسنده مسئول)[1*]

[*]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد، گروه علوم باغبانی، واحد گرمسار، دانشگاه آزاد اسلامی، گرمسار، ایران،

m.nafar.ual@gmail.com

تاریخ دریافت: مهر ۱۴۰۳ تاریخ پذیرش: آذر ۱۴۰۳

The effect of ascorbic acid and proline on the germination indices of *Aquilegia columbine* seeds under salt stress

Mehdi Nafar (Corresponding author)[1*]

[*]M.Sc Graguated, Department of Horticulture, Garmsar Branch, Islamic Azad University, Garmsar, Iran, m.nafar.ual@gmail.com

Received: October 2024 Accepted: December 2024

چکیده

تحقیق حاضر به منظور بررسی تأثیر اسید آسکوربیک و پرولین بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذور گیاه تاج الملوک در شرایط تنش شوری، به صورت آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح آماری کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل اسید آسکوربیک و پرولین هر کدام با غلظت‌های صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر و تنش شوری ناشی از نمک کلرید سدیم با سطوح صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر، بود. صفات مورد ارزیابی شامل شاخص‌های جوانه‌زنی (درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه)، میزان پرولین و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز ارزیابی بود. نتایج نشان داد که بیشترین درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه در تیمار پرولین ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر در عدم تنش شوری به‌دست آمد. بیشترین میزان پرولین در تیمار پرولین ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر در تنش شوری کلرید سدیم ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر بود. بیشترین فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در تیمار اسید آسکوربیک ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر در عدم تنش شوری به‌دست آمد. بنابراین، با توجه به نتایج تحقیق می‌توان استفاده از پرولین ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر را در شرایط تنش شوری ناشی از نمک کلرید سدیم برای بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی (درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه) و فعالیت آنزیمی بذور گیاه تاج الملوک توصیه کرد.

کلمات کلیدی: اسید آسکوربیک، پرولین، تاج الملوک، تنش شوری

فصلنامه گیاه و زیست فناوری ایران
پاییز ۱۴۰۳، دوره ۱۹، شماره ۳، صص ۳۶-۲۹

Abstract

In order to investigate the effect of ascorbic acid and proline on the germination indices of *Aquilegia columbine* seeds under salt stress conditions, the present research was conducted as a factorial experiment based on a completely randomized statistical design with three replications. The experimental treatments included ascorbic acid and proline each with concentrations of zero, 50 and 100 mg/liter and salinity stress caused by sodium chloride salt with levels of zero, 50 and 100 mg/liter. The evaluated traits included germination indices (percentage of germination, radicle length, shoot length), proline amount and catalase and peroxidase enzymes activity. The results showed that the highest percentage of germination, radicle and shoot length were obtained in proline 100 mg/l in the absence of salt treatment. The highest proline amount was in proline 100 mg/L in sodium chloride salinity stress 100 mg/L treatment. The highest catalase and peroxidase enzymes activities were obtained in 100 mg/l ascorbic acid in the absence of salt stress treatment. Therefore, according to the results of the research, it is possible to recommend the use of proline 100 mg/liter under salinity stress conditions caused by sodium chloride salt to improve germination indicators (germination percentage, radicle length, shoot length) and enzyme activity of *Aquilegia columbine* plant seeds.

Keywords: *Aquilegia columbine*, Ascorbic Acid, Proline, Salinity Stress

Iranian Journal of Plant & Biotechnology
Autumn 2024, Vol 19, No 3, Pp 29-36

مقدمه و کلیات

تاج الملوک (*Aquilegia columbine*) از خانواده Ranunculaceae از گیاهان چندساله است. در جنس Aquilegia حدود ٦٠ تا ٧٠ گونه وجود دارد که اغلب در علف‌زارها، بیشه‌زارها و در ارتفاعات بالا در سراسر نیمکره شمالی می‌رویند. اندازه بوته آن در حدود سی تا صد سانتی متر بوده و در زمین با خاک معمولی و مرطوب و آفتاب‌گیر رشد می‌کند. تاج الملوک در برابر سرما مقاوم است (سلاح‌ورزی و همکاران، ۱۳۹۸). زمان گلدهی آن از اوایل تا اواسط بهار هر سال می‌باشد و معمولاً گل‌های زیبای آن دارای پنج گلبرگ و گاهی بیشتر است. رنگ شکوفه‌های تاج الملوک، آبی و سفید به زرد، قرمز و یا صورتی بوده و از سال دوم به گل می‌نشیند. تاج الملوک به عنوان گیاه پوششی در حاشیه بوستان‌ها و در فضای سبز کاربرد دارد (Ghasemi Ghahsare and Kafi, 2015). اسیدهای آلی نیز به عنوان محرک زیستی در سالیان اخیر مورد توجه قرارگرفته‌اند (Soroori *et al.*, 2021b). اسیدآسکوربیک در رشد و توسعه گیاه تاثیر می‌گذارد و نقش مهمی در سیستم انتقال الکترون دارد. همچنین با انواع مختلفی از فعالیت‌های بیولوژیکی در گیاهان از جمله عوامل سازنده آنزیم، آنتی اکسیدان‌ها و به عنوان اهدا کننده یا پذیرنده الکترون حاصل در غشاء پلاسما یا در کلروپلاست در ارتباط است. سطح بالایی از آسکوربات درونی بطور موثر برای حفظ سیستم آنتی‌اکسیدانی ضروری است که گیاهان را از تنش اکسیداتیو محافظت می‌کند. همچنین اسیدآسکوربیک می‌تواند به عنوان یک ترکیب آنتی‌اکسیدانی برای تنظیم کردن اکسیژن فعال (ROS) بکاررود و موجب تثبیت غشاء سلولی، پروتئین‌ها و افزایش مقاومت آنها در برابر فعالیت ROS شود (Danaee and Abdossi, 2019). اسیدآمینه به عنوان محرک زیستی، اثرات مثبتی بر کیفیت و عملکرد گیاهان دارند و به‌طور قابل توجهی موجب کاهش صدمات ناشی از تنش‌های غیرزنده می‌شوند. نقش پرولین به عنوان اسمولیت، رباینده گونه‌های فعال اکسیژن (آنتی‌اکسیدان غیرآنزیمی) و تثبیت کننده ساختار پروتئین‌ها می‌باشد. به همین دلیل قادر است سلول‌ها را از آسیب‌های تنش حفظ کند (Szabados and Savoure, 2009). در تحقیقی اثر استفاده از اسید آسکوربیک در گیاه لیسیانتوس (*Eustoma grandiflorum* L.) بررسی شد که نتایج نشان‌دهنده بهبود صفات موفوفیزیولوژیک، میزان پروتئین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نسبت به شاهد بود (عزیزی و انسی‌نژاد، ١٣٩٤). درویژه و همکاران (١٣٩٦) اثر پرولین بر صفات کیفی و عملکرد بابونه آلمانی (*Matricaria chamomila* L.) را بررسی کردند که نتایج نشان دهنده اثر معنی‌دار محلول‌پاشی پرولین ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر بر افزایش وزن تر و خشگ گل‌ها، کلروفیل کل، فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز، پراکسیداز بود. در گیاه رازیانه (*Foeniculum vulgare* Mill.) استفاده از پرولین ۲۰ میلی‌مولار سبب افزایش محتوای کارتنوئید، کلروفیل کل، کربوهیدرات کل، پلی‌فنل و میزان اسانس شد (Gholami Zali and Ehsanzadeh, 2018). محلول‌پاشی پرولین ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر در گیاه همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.)، وزن تر و خشک گل‌ها، محتوای کارتنوئید گلبرگ و کلروفیل

کل برگ و میزان آنتی‌اکسیدان کل را افزایش داد (Soroori *et al*., 2021a).

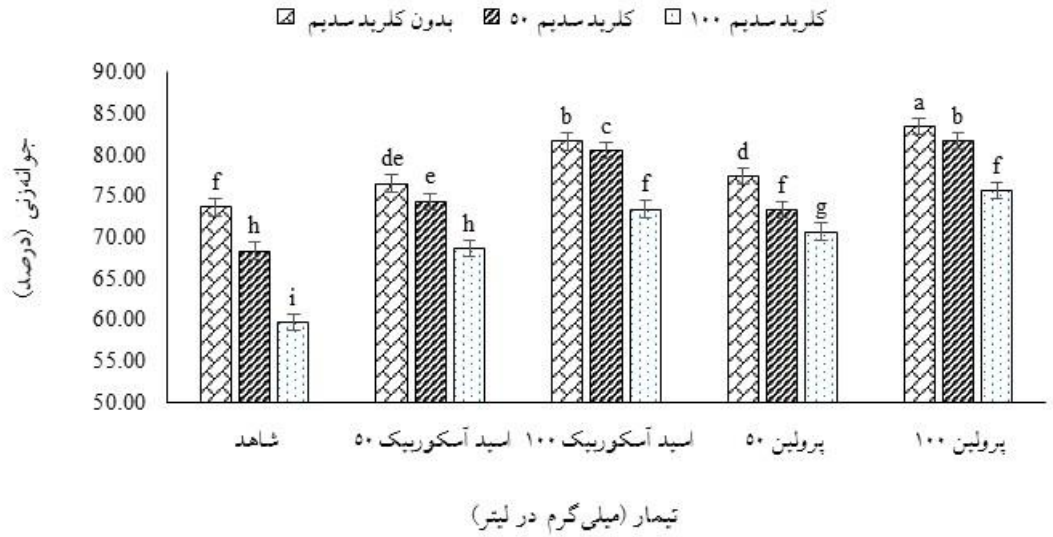
فرآیند پژوهش

برای انجام آزمایشات، ابتدا بذور سالم و یکنواخت تاج الملوک انتخاب و به مدت ۵ دقیقه در هیپوکلریت سدیم ۵٪ قرارداده شدند. سپس بذرها در داخل ظرف آبکش گذاشته و به مدت ۲۰ دقیقه در زیر آب جاری قرارگرفتند و چندین بار با آب مقطر شستشو شدند. پتری دیش‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در داخل هیپوکلریت سدیم ۱۰٪ قرارگرفتند. سپس با آب مقطر شسته شدند. جهت میکروب‌زدایی پتری دیش‌ها داخل آون در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت قرارگرفتند. سپس بذرها در داخل پتری دیش‌ها گذاشته و با اسید آسکوربیک و پرولین هر کدام با غلظت‌های صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر، تیمار شدند. مرطوب کردن بذرها با آب مقطر و یا نمک کلرید سدیم با سطوح صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر انجام شد. پس از جوانه‌زنی و تشکیل ریشه‌چه و ساقه‌چه، صفات مورد نظر ارزیابی گردید. درصد جوانه‌زنی به روش مستوفی و نجفی (۱۳۸٤)، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه با خط کش (Danaee *et al*., 2020)، میزان پرولین به روش الهویردی‌زاده و دانائی (۱٤۰۲) و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (Danaee and Abdossi, 2016) و پراکسیداز (Dareini *et al*., 2014) به کمک دستگاه اسپکتوفتومتر اندازه‌گیری گردید. این تحقیق به‌صورت آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح آماری کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. سپس داده‌های حاصل از تحقیق با نرم‌افزار آماری SPSS آنالیز گردید. مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۱٪ و ۵٪ انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر تیمار بر درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، وزن تر و خشک ساقه‌چه و ریشه‌چه و میزان پرولین در سطح ۱ درصد و بر طول ساقه‌چه، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در سطح ۵ درصد از نظر آماری معنی‌دار است. اثر تنش شوری بر درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه، میزان پرولین و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در سطح ۱ درصد و بر وزن تر و خشک ساقه‌چه و ریشه‌چه در سطح ۵ درصد از نظر آماری معنی‌دار است. اثرمتقابل تیمار و تنش شوری بر درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، وزن تر و خشک ساقه‌چه و ریشه‌چه، میزان پرولین و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در سطح ۱ درصد و بر طول ساقه‌چه در سطح ۵ درصد از نظر آماری معنی‌دار است.

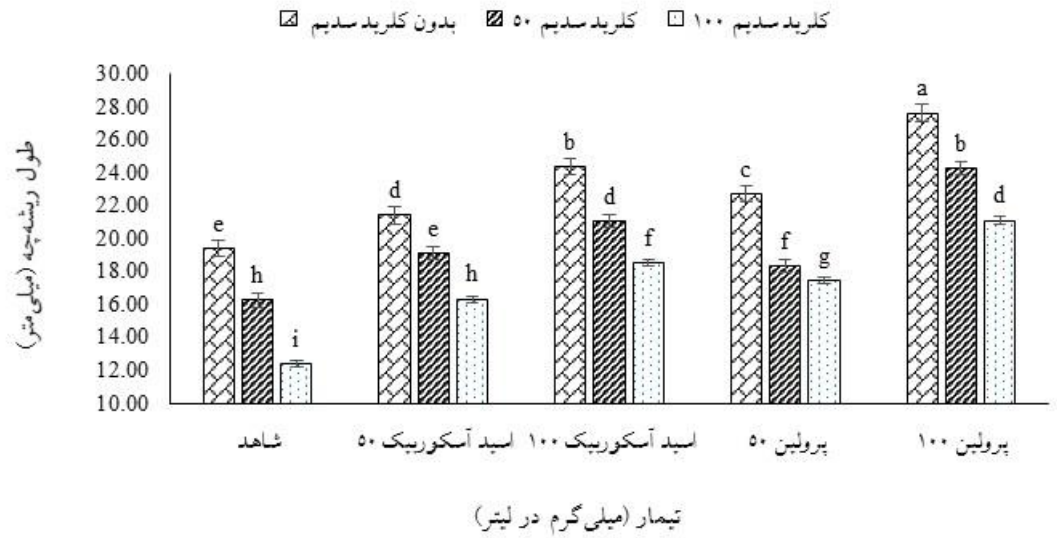
درصد جوانه‌زنی: نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین و کمترین درصد جوانه‌زنی با ۸۳/٤۲ و ۵۹/۷۲ درصد به ترتیب در تیمار پرولین ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر در عدم تنش شوری و تیمار کلرید سدیم ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر بود.



شکل ۱- اثرات کاربرد پرولین، اسید آسکوربیک در تنش شوری کلرید سدیم بر درصد جوانه‌زنی تاج الملوک

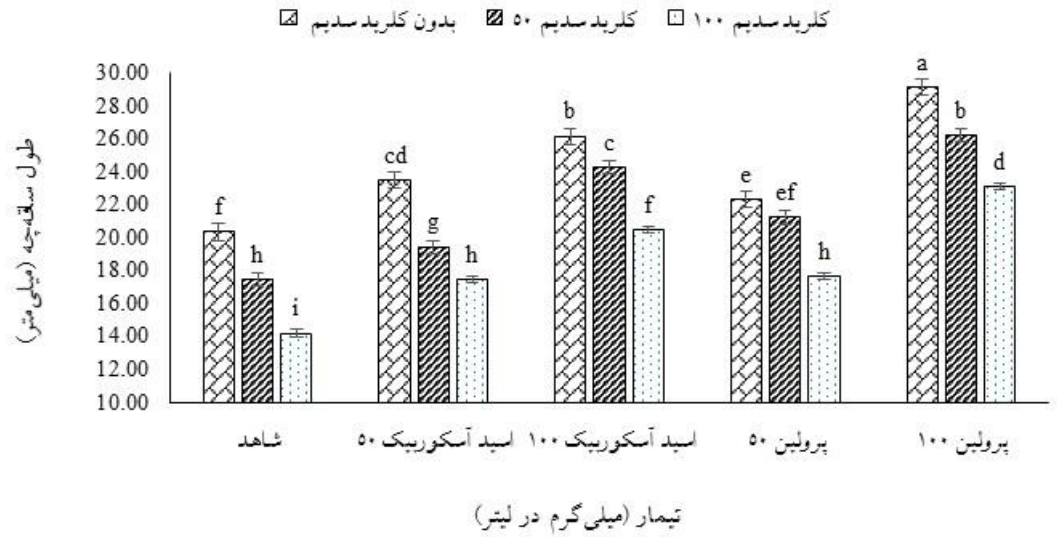
Fig 1- Effects of proline and ascorbic acid application in sodium chloride salinity stress on germination percentage of *Aquilegia columbine*

طول ریشه‌چه و ساقه‌چه: مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که به ترتیب بیشترین طول ریشه‌چه و ساقه‌چه با ۲۷/۶۵ و ۲۹/۱۷ میلی‌متر و کمترین با ۱۲/۴۳ و ۱۴/۲۱ میلی‌متر در در تیمار پرولین ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر در عدم تنش شوری و تیمار کلرید سدیم ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر بود.



شکل ۲- اثرات کاربرد پرولین، اسید آسکوربیک در تنش شوری کلرید سدیم بر طول ریشه‌چه تاج الملوک

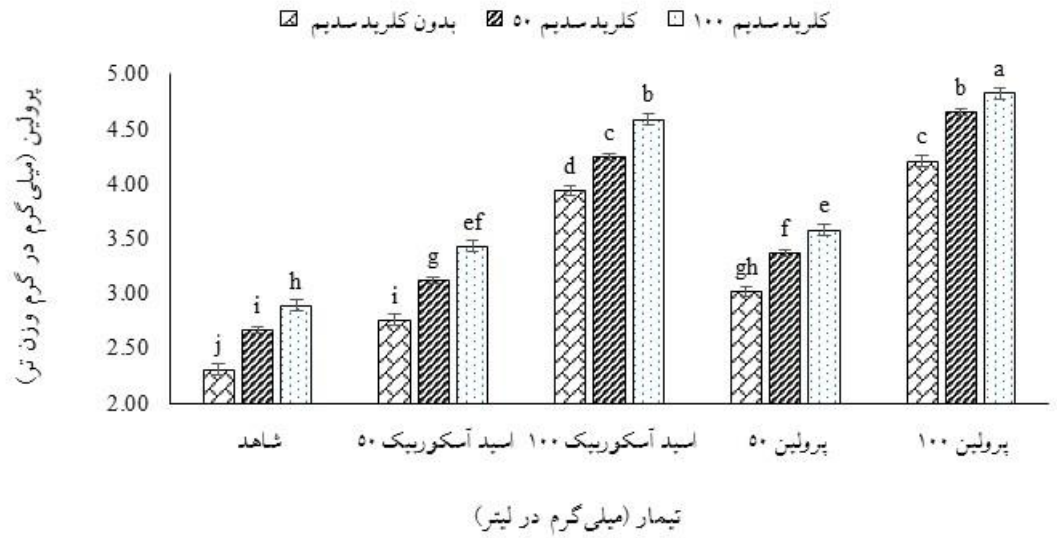
Fig 2- Effects of proline and ascorbic acid application in sodium chloride salinity stress on root lenght of *Aquilegia columbine*



شکل ۳- اثرات کاربرد پرولین، اسید آسکوربیک در تنش شوری کلرید سدیم بر طول ساقه‌چه تاج الملوک

Fig 3- Effects of proline and ascorbic acid application in sodium chloride salinity stress on shoot lenght of *Aquilegia columbine*

پرولین: نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین و کمترین میزان پرولین با ٤/٨٣ و ٢/٣١ میلی‌گرم در گرم وزن تر به ترتیب در تیمار تیمار پرولین ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر در تنش شوری کلرید سدیم ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر و تیمار شاهد (عدم تنش شوری) بود.

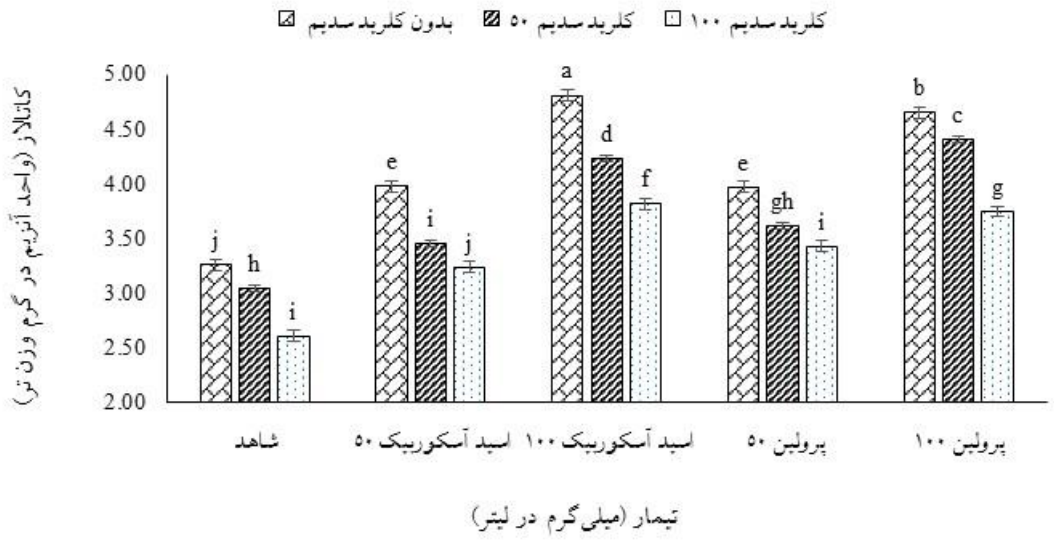


شکل ٤- اثرات کاربرد پرولین، اسید آسکوربیک در تنش شوری کلرید سدیم بر میزان پرولین تاج الملوک

Fig 4- Effects of proline and ascorbic acid application in sodium chloride salinity stress on proline content of *Aquilegia columbine*

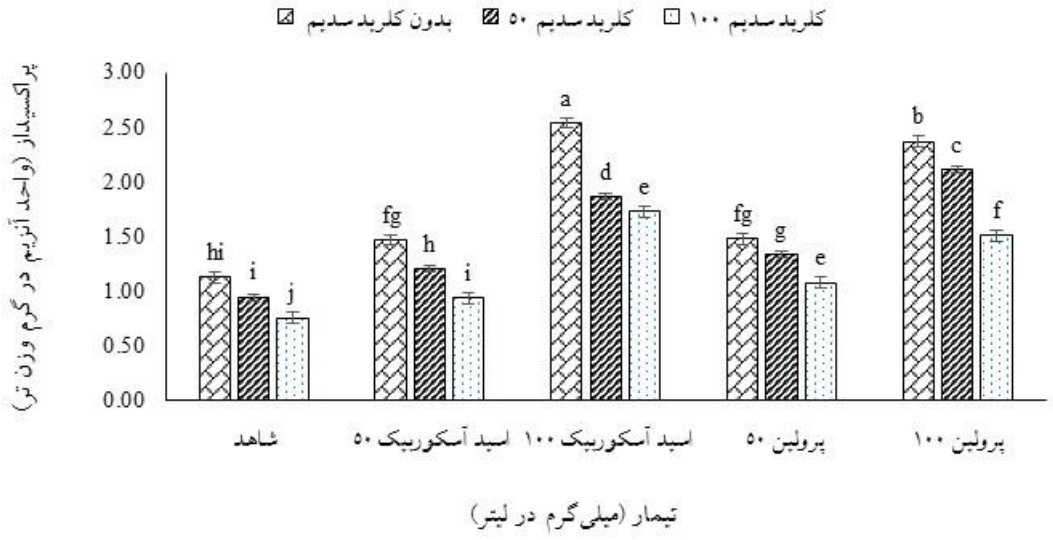
آنزیم کاتالاز و پراکسیداز: مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که به ترتیب بیشترین فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز با ٤/٨١ و ٢/٥٤ واحد آنزیم در گرم وزن تر و کمترین با ٣/٢٦ و ١/١٣ واحد آنزیم در گرم وزن تر

در در تیمار اسید آسکوربیک ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر در
عدم تنش شوری و تیمار کلرید سدیم ۱۰۰ میلی‌گرم
در لیتر بود.



شکل ۵- اثرات کاربرد پرولین، اسید آسکوربیک در تنش شوری کلرید سدیم بر فعالیت آنزیم کاتالاز تاج الملوک

Fig 5- Effects of proline and ascorbic acid application in sodium chloride salinity stress on Catalase enzyme activity of *Aquilegia columbine*



شکل ٦- اثرات کاربرد پرولین، اسید آسکوربیک در تنش شوری کلرید سدیم بر فعالیت آنزیم پراکسیداز تاج الملوک

Fig 6- Effects of proline and ascorbic acid application in sodium chloride salinity stress on Peroxidase enzyme activity of *Aquilegia columbine*

جوانه‌زنی یکنواخت و تسریع در مرحله جوانه‌زنی بذور تاج الملوک می‌تواند در تولید این گیاه داروئی بسیار حائز اهمیت باشد. اسید آسکوربیک از مهمترین آنتی اکسیدان‌های غیرآنزیمی است که در رشد، تمایز و متابولیسم گیاه تحت شرایط تنش مشارکت دارد (Khan *et al*., 2011). اسید آسکوربیک بطور مستقیم موجب سمیت‌زدایی سوپراکسید، رادیکال هیدروکسیل و اکسیژن شده و از طریق واکنش آسکوربات پراکسیداز سبب احیای پراکسید هیدروژن به آب گردد (Wang *et al*., 2013). همچنین تحقیقات El-besiweny و Sadak (2015) نشان داد که اسید آسکوربیک نقش کلیدی در چرخه آسکوربات گلوتاتیون دارد که از گیاه در برابر شرایط تنش محافظت می‌کند. پرولین به‌عنوان یک اسمولیت نقش مهمی در شرایط تنش در گیاهان دارد. بطورکلی شرایط تنش موجب تولید زیاد پرولین در گیاهان می‌شود که از طریق حفظ فشار سلولی یا تعادل اسمزی، پایداری غشاء از طریق جلوگیری از نشت الکترولیت‌ها و پاکسازی رادیکال‌های آزاد اکسیژن موجب تحمل گیاهان می‌گردد (Hayat *et al*., 2012). تحقیقات Hua-long و همکاران (2014) نشان داد که پرولین نقش موثری در شاخص‌های جوانه‌زنی گیاهان زراعی در شرایط تنش داشت. همچنین تحقیقات Azooz و همکاران (2013) نشان داد که تیمار بذر باقلا (*Vicia faba*) با اسید آسکوربیک موجب افزایش میزان پتاسیم و منیزیم و کاهش سدیم و کلر شد. استفاده از اسید آسکوربیک در جوانه‌زنی بذور ذرت (*Zea mays*) سبب افزایش تحمل سرما گردید (Ahmad *et al*., 2012). همچنین تیمار اسید آسکوربیک موجب افزایش جوانه‌زنی بذور کبر (*Capparis spinosa*) شد (Heydarian *et al*., 2014) که نتایج این تحقیق با آنها همسو است.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج تحقیق نشـان داد که در مجموع بیشترین درصد جوانه‌زنی، طول ریشـه‌چه و ساقه‌چه در تیمار پرولین ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر در عـدم تنش شـــوری بود. بیشـترین میزان پرولین در تیمار پرولین ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر در تنش شوری کلرید سدیم ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر به‌دست آمد. بیشترین فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسـیداز در تیمار اسـید آسـکوربیک ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر در عـدم تنش شـــوری بود. لذا، اســـتفاده از پرولین در شـــرایط تنش شـــوری کلرید ســـدیم برای بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی (درصد جوانه‌زنی، طول ریشـه‌چه، طول ساقه‌چه) و فعالیت آنزیمی بذور گیاه تاج الملوک قابل توصیه است.

منابع

۱) الهویردی‌زاده، ص و. ا، دانائی. ۱٤۰۲. تاثیر کاربرد اسید هیومیک و ورمی‌کمپوست بر برخی شاخص‌های رویشی و میزان پرولین گیاه پروانش (*Catharanthus roseous*) تحت تنش کم‌آبی. محیط زیست و مهندسی آب، ۹(۱): ۱۵۱-۱٤۱.

۲) درویژه، ح.، زواره، م و . م، قاسم‌نژاد. ۱۳۹٦. تأثیر محلول‌پاشی پرولین بر ویژگی‌های بیوشیمیایی بابونه آلمانی در شرایط تنش آبی (*Matricaria chamomilla* L.). نشریه تحقیقات کاربردی اکوفیزیولوژی گیاهی، ٤(۱): ٦۰-۳۵.

۳) سلاح‌ورزی، ی.، کمالی، م.، نباتی، ج و. ح، احمدپور میر. ۱۳۹۸. بررسی اثر برخی مالچ‌های آلی

بر افزایش مقاومت به سرما درگیاه تاج الملوک. نشریه علوم باغبانی، ۳۳(٤): ۷٦۷-۷۵۷.

٤) عزیزی، س و. ر، انسی‌نژاد. ۱۳۹٤. تاثیر اسید مالیک و اسید آسکوربیک بر ماندگاری و خصوصیات کیفی گل بریده‌ی لیسیانتوس(. *Eustoma grandiflorum* L). اولین همایش علمی پژوهشی زیست‌شناسی و علوم باغبانی ایران.

۵) مستوفی، ی. و ف، نجفی.۱۳۸٤. روش‌های آزمایشگاهی تجزیه‌ای در علوم باغبانی. ترجمه انتشارات دانشگاه تهران. ۱۳٦صفحه.

6) Ahmad, I., T. Khaliq., Ahmad, A., Basra, S.M.A., Hasnain, Z.and A, Ali. 2012. Effect of seed priming with ascorbic acid, salicylic acid and hydrogen peroxide on emergence, vigor and antioxidant activities of maize. African Journal of Biotechnology, 11(5): 1127-1132.

7) Azooz, M.M., Alzahrani, A.M. and M.M, Youssef. 2013. The potential role of seed priming with ascorbic acid and nicotinamide and their interactions to enhance salt tolerance in broad bean (*Vicia faba* L.). *Austin Joyrnal of Crop Sci*ence, 7: 2091-2100.

8) Danaee, E. and V, Abdossi. 2016. Evaluation of the effect of plant growth substances on longevity of gerbera cut flowers cv. Sorbet. *Iranian Journal Plant Physioogyl*, 7 (1): 1943-1947.

9) Danaee, E. and V, Abdossi. 2019. Effects of Some Amino Acids and Organic Acids on Enzymatic Activity and Longevity of *Dianthus caryophyllus* cv. Tessino on at Pre-Harvest Stage. *Journal of Ornamental Plants*, 9(2): 93-104.

10) Danaee, E., Abdossi, V., Mostofi, Y. and P, Moradi. 2010. Effect of GA_3 and BA on postharvest quality and vase life of gerbera cut flowers. International Horticultural Congress on Science and Horticulture.

11) Dareini, H., Abdossi, V. and E, Danaee. 2014. Effect of some essential oils on postharvest quality and vase life of gerbera cut flowers (*Gerbera Jamesonii* cv. Sorbet). *European Journal of Experimental Biology*, 4(3): 276-280.

12) Ghasemi Ghahsare, M. and M, Kafi. 2015. Scientific and practical flowering.

13) Hayat, S., Hayat, Q., Alyemeni, M.N., Wani, A.S., Pichtel, J. and A, Ahmad. 2012. Role of proline under changing environments: A review. *Plant Signaling* & *Behavior*, 7 (11): 1456-1466.

14) Heydariyan, M., Basirani, N., Sharifi-Rad, M., Khmmari, I.and S, Rafat Poor. 2014. Effect of seed priming on germination and seedling growth of the caper (*Capparis spinosa*) under drought stress. *International Journal of Advanced Biological and Biomedical*, 2 (8): 2381-2389.

15) Hua-long, L., Han-jing. S., Jing-guo, W., Yang, L., De-tang, Z. and Z, Hong-Wei. 2014. Effect of seed soaking with exogenous proline on seed germination of rice under salt stress. *Journal* of *Agricultural* Science and Technology, 21(3):1-6.

16) Khan, M.B., Gurchani, M.A., Hussain, M., Freed, S. and K, Mahmood. 2011. Wheat seed enhancement by vitamin and hormonal priming. *Pakistan Journal of Botany*, 43: 1495.1499.

17) Soroori, S., Danaee, E., Hemmati, Kh. and A, Ladan Moghadam. 2021a. Effect of foliar application of proline on morphological and physiological traits of *Calendula officinalis* L. under drought stress. *Journal of ornamental plants*, 11(1): 13-30.

18) Soroori, S., Danaee, E., Hemmati, Kh. and A.R, Ladan Moghadam. 2021b. The metabolic response and enzymatic activity of *Calendula officinalis* L. to foliar application of spermidine, citric acid and proline under drought stress and in a post-harvest condition. *Journal of Agriculture Scince and Technology*, 23 (6): 1339-1353.

19) Szabados, L. and A, Savoure. 2009. Proline: a multifunctional amino acid. *Trends in Plant Sciences*, 15: 89-97.

20) Wang, J., Zhang, Z.and R, Huang. 2013. Regulation of ascorbic acid synthesis in plants. *Plant Signaling* & *Behavior*, 8: 1559-2324.