Journal of Medicinal Plants Biotechnology

JMPB

Original Article

The effect of ascorbic acid on the amount of chlorophyll a, b and proline of *Salicornia persica Akhani* under salt stress

Bavashe, M[1]. Khorsandi Moghadam, M [2]. Ghiyasvand, *S [3]

1-MSc student OF biology

2-MSc of biology

3-Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Malayer University

ARTICLEINFO

Article history

Submitted: 2021-06-19
Revised: 2021-07-09
Accepted: 2021-08-20

KEYWORDS

The number of leaves, Dry weight, photosynthetic pigments, Proline

ABSTRACT

In the most regions of the world, salinity stress is the most important stress that limits the growth of plants and its performance by decreasing the osmotic potential and disrupting the absorption of water and some nutrients. *Salicornia Persica*, is a halophyte and annual plant and resistant to the salinity. Ascorbic acid can increase resistance of plant than stress through stimulating the activity of antioxidant enzymes. An experiment was carried out in2019 in the research greenhouse of Malayer University in a factorial format in a completely randomized design, in order to evaluate the effect of different concentrations of ascorbic acid (0, 0. 2mm) on the morphological characteristics of *Salicornia Persica*, under the conditions of salinity stress (0,300, and 600ppm). The results showed that salinity stress caused a significant increase in the dry weight of aerial parts. On the other hand, spraying with ascorbic acid caused an increase in the dry weight of aerial parts. Salinity caused a reduction in the amount of photosynthetic pigments. The amount of Proline increased at 300ppm salinity and decreased at 600ppm salinity. Generally, It can be concluded that spraying of *Salicornia Persica* with ascorbic acid improved the growth and the tolerance of this plant against the effects of salinity.

* Corresponding author: ***Keyvan Aghaei***
✉ E-mail: *saeedeh2070@yahoo.com*
Journal homepage:

مجله زیست فناوری گیاهان دارویی

JMPB

مقاله پژوهشی

بررسی اثر آسکوربیک اسید بر میزان کلروفیل *a*، *b* و میزان پرولین گیاه *Salicornia persica Akhani* تحت تنش شوری

مریم بواشه، مهسا السادات خرسندی مقدم [۲]، سعیده قیاسوند* [۳]

۱.دانشجوی ارشد زیست شناسی

۲. ارشد زیست شناسی

۳. استادیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه دانشگاه ملایر

چکیده

در اکثر مناطق دنیا تنش شوری عمده ترین تنشی است که از طریق کاهش پتانسیل اسمزی و اختلال در جذب آب و برخی از عناصر غذایی رشد و عملکرد گیاه زراعی را محدود میکند. گیاه *Salicornia Persica* گیاهی هالوفیت، یکساله ومقاوم به شوری است. آسکوربیک اسید می تواند از طریق تحریک فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان، مقاومت گیاهان را نسبت به تنش افزایش دهد. به منظور ارزیابی تأثیر غلظت های مختلف آسکوربیک اسید (۰ و ۰/۲میلی مولار) بر ویژگی های مورفوفیزیولوژیک سالیکورنیا پرسیکا، تحت شرایط تنش شوری (۰، ۳۰۰ و ۶۰۰ppm) آزمایشی در سال ۱۳۹۹در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه ملایر به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی به اجرا درآمد. نتایج نشان داد تنش شوری سبب کاهش میزان رنگیزه های فتوسنزی شد. میزان پرولین در شوری ۳۰۰ ppm افزایش یافت و در شوری ۶۰۰ ppm کاهش یافت. در مجموع می توان نتیجه گیری کرد که محلول پاشی سالیکورنیا پرسیکا با آسکوربیک اسید، موجب بهبود رشد و افزایش تحمل این گیاه در برابر تنش شوری گردید و سبب بهبود اثرات ناشی از شوری شد.

اطلاعات مقاله

تاریخ

دریافت: ۱۴۰۰/۰۲/۲۶

بازنگری: ۱۴۰۰/۰۴/۱۹

پذیرش: ۱۴۰۰/۰۵/۱۸

کلید واژه

تنش، وزن خشک، تعداد برگ، پرولین

* نویسنده مسئول: **سعیده قیاسوند**

ایمیل: saeedeh2070@yahoo.com

آدرس اینترنتی: mpb.znu.ac.ir

مقدمه

در اکثر مناطق دنیا تنش شوری عمده ترین تنشی است که از طریق کاهش پتانسیل اسمزی و اختلال در جذب آب و برخی از عناصر غذایی رشد و عملکرد گیاه زراعی را محدود میکند(دولت آبادیان و همکاران ۱۳۰۰). همچنین افزایش یون های سدیم و کلر موجب کاهش جذب یون های ضروری از جمله یون های پتاسیم، کلسیم، آمونیوم و نیترات شده و از فعالیت آنزیم ها کاسته و ساختار غشا را برهم میزند(سلاح ورزی و همکاران ۱۳۹۰). شوری رشد گیاه را از طریق تنش اسمزی ناشی از وجود نمک در محیط اطراف ریشه و نیز سمیت یونی ناشی از تجمع نمک در برگ ها تحت تأثیر قرار می دهد (Meneguzzo et al ,2000). یکی از استراتژی ها برای دستیابی مستقیم تر به گزینه‌های مناسب و متحمل در برابر شوری کار بر روی گیاهان هالوفیت و گونه های گیاهی دارای تحمل ذاتی به نمک بوده است. این گیاهان از لحاظ دامنه تحمل به شوری و روند رشد و تولید در شرایط شور دارای تنوع زیادی هستند. سالیکورنیا گیاهی هالوفیت، یکساله با زوایدی بسیار کوچک شبیه برگ، گل های کم رنگ و میوه می باشد (Blum 1996). سالیکورنیا از آب شور تغذیه و به روش گرده افشانی تولید مثل می کند. سالیکورنیا از خانواده اسفناجیان که شامل ۵ جنس و ۶ گونه در ایران است. در این گیاه برگ ها کاهش یافته و بدون کرک هستند و ممکن است تا حدی تغییر یافته باشند. برگ ها فلس مانند ورنگ آن ها سبز تیره است و ساقه ها بند بند هستند (Parida et al, 2005). سالیکورنیا با عناوینی نظیر علف شور، لوبیا در دریا، مارچوبه دریا و رازیانه آبی که همگی شور پسند هستند نام برده می شود (Golshan et al, 2007). آسکوربات اولین آنتی اکسیدان مهمی است که به طور مستقیم با پراکسید هیدروژن، رادیکال های هیدروکسیل، سوپراکسید و اکسیژن یکتایی واکنش می دهد و نقش مهمی در حفاظت کلروپلاست سلول های گیاهی در برابر تنش اکسیداتیو دارد(Akhani et al, 2003). همچنین، این ماده به عنوان یک احیا کننده در باز تولید توکوفرول، چرخه ی گزانتوفیل شرکت داشته و حفاظت از آنزیم ها را نیز بر عهده دارد. اسید آسکوربیک ترکیبی است که برتقسیم میتوز و رشد سلول ها در گیاهان تأثیر دارد (Horbowicz et al ,2008). به عنوان سیگنال

فیتوهورمونی در طی انتقال از فاز رویشی به زایشی دخالت دارد (Noctor et al, 1998).

هدف

هدف از این تحقیق, مطالعه اثر تعدیل کنندگی آسکوربیک اسید روی گیاه سالیکورنیا پرسیکا آخانی تحت تنش شوری می باشد. سالیکورنیا پرسیکا یک هالوفیت از خانواده اسفناجیان می باشد که شوری های بالا را می تواند تحمل کند. این گیاه با قدرت تحمل شوری های بالا می تولند پتانسیل رویشی خوبی در مناطق شور ایران باشد. از طرفی مطالعه بر روی برخی ترکیبات تعدیل کننده ی شوری همانند آسکوربیک اسید در این گیاه انجام نشده است. با توجه به عدم چنین مطالعاتی لزوم این تحقیق در راستای مطالعه اثر تعدیل کنندگی آسکوربیک اسید در حین تنش شوری در گیاه سالیکورنیا پرسیکا به چشم می خورد. گونه ی سالیکورنیا پرسیکا گونه ی بومی ایران بوده و اهمیت ویژه ای دارد.

مواد و روش ها

این پژوهش در گلخانه دانشگاه ملایر، در سال ۱۳۹۹به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی اجرا شد. سه سطح شوری (صفر، ۳۰۰ و ۶۰۰ppm) نمک NaCl به عنوان فاکتور اول، دو سطح آسکوربیک اسید (صفر و ۰/۲ میلی مولار) به عنوان فاکتور دوم در نظر گرفته شدند. جهت لنجام این آزمایش ابتدا بذرهای سالیکورنیا پرسیکا درگلدان های پلاستیکی که حاوی ۳kg خاک سبک با درصد رس پایین بودند در عمق ۱ سانتی متری کاشته شدند و آبیاری به صورت یک روز در میان انجام شد. پس از جوانه زنی و کامل شدن ظهور اولین برگ، تا قبل از ورود گیاه به فازرایشی اعمال تنش شوری و تیمار (به صورت اسپری برگی) در گیاهان آغاز شد.اندازه گیری ویژگی های مورفولوژی دو هفته پس از برگ پاشی صورت گرفت.

سنجش رنگیزه های فتوسنتزی: سنجش محتوای کلروفیل با استفاده از روش لیتچن تالر (۱۹۸۳)، انجام شد. ابتدا ۰/۲ گرم بافت تر در هاون چینی حاوی ۵ میلی لیتر استون ۸۰ درصد ساییده شد و با کاغذ واتمن شماره یک صاف گردید. سپس حجم عصاره بدست

آمده با استون به ۱۰ میلی لیتر رسید. شدت جذب نوری عصاره در طول موج های ۶۶۳/۲، ۶۴۶/۸ و ۴۷۰ نانومتر به روش اسپکتروفتومتری خوانده شد (Conklin et al, 2004).

Chl.a=12/25 A663/2 – 2/79 A646/8
Chl.b=21/51 A646/8 – 5/10 A663/2

سنجش پرولین: برای سنجش پرولین ۰/۵ گرم بافت تر در ۱۰ میلی لیتر سولفوسالیسیلیک اسید ۳ درصد در هاون چینی سائیده و کاملا همگن شد. دو میلی لیتر از عصاره صاف شده با دو میلی‌لیتر محلول نین هیدرین و دو میلی‌لیتر استیک اسید گلاسیال مخلوط شده و به مدت یک ساعت در حمام آب گرم (۱۰۰ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفت. پس از آن با قراردادن لوله‌های آزمایش به مدت ۱۰ دقیقه در حمام یخ واکنش مذکور پایان یافت. سپس چهار میلی‌لیتر تولوئن به محتویات هر لوله اضافه گردید و به مدت ۱۵ ثانیه با دست به شدت تکان داده شد. فاز رویی که شامل تولوئن و پرولین بود از فاز آبی جدا شد و جذب آن به وسیله‌ی دستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج ۵۲۰ نانومتر تعیین گردید(Lichtenthaler, 1987). محاسبات آماری با استفاده از نرم افزار spss نسخه ۲۰۱۶ و ترسیم نمودار با استفاده از نرم افزارExcel1 انجام گردید..

$$\mu \text{ moles prolin/g} = \frac{(\mu g \text{ prolin/ml} \times \text{ml toluene})/115.5 \mu g/\mu mol}{\text{g sample}/5}$$

جدول۱- نتایج تجزیه واریانس تاثیر تیمار شوری و آسکوربیک اسید روی صفات موفوفیزیولوژیکی گیاه

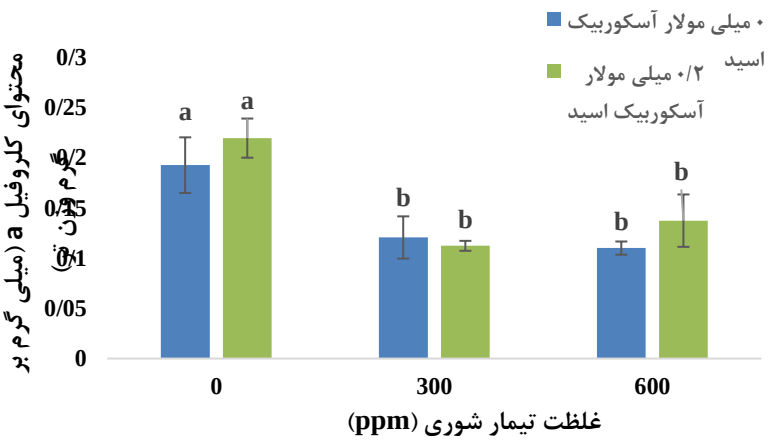
منابع تغییر	df	میانگین مربعات		
		کلروفیل a (mg/gFW)	کلروفیل b (mg/gFW)	پرولین (µmol/gFW)
تیمار شوری	۲	۰/۰۱۵**	۰/۰۶۱**	۰/۰۰۶**
تیمار آسکوربیک اسید	۱	۰/۰۰۱ns	۰/۰۰۸*	۰/۰۱۶**
شوری * آسکوربیک اسید	۵	۰/۰۰۶**	۰/۰۲۷**	۰/۰۰۷**
CV	۱۲	۰/۰۰۰	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰

**، * و ns بترتیب به نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در سطح ۱٪، ۵٪ و عدم معنی دار بودن هستند

نتیجه و بحث

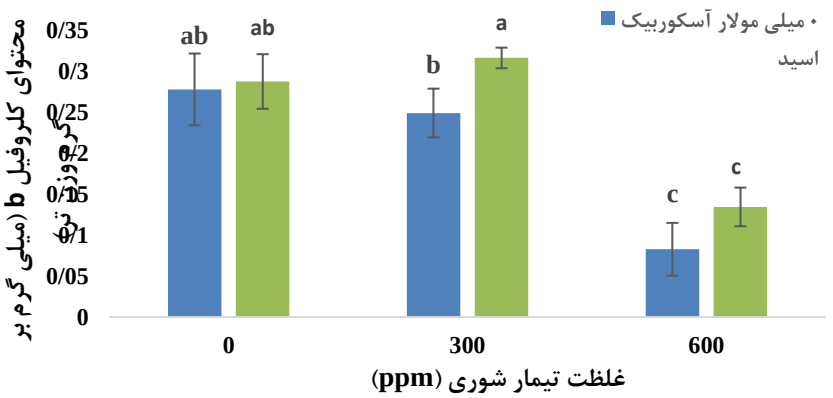
با توجه به جدول آنالیز واریانس(جدول۱)، برای میزان کلروفیل a اثر متقابل شوری و آسکوربیک اسید معنی دار شد. نتایج حاصل از این پژوهش نشان دادکه میزان کلروفیل a در شوری ppm ۳۰۰ و عدم کاربرد آسکوربیک اسید نسبت به شاهد، افزایش معنی داری داشت و در شوری ppm ۶۰۰ نسبت به شاهد کاهش یافت. از طرفی نتایج نشان داد که کاربرد ۰/۲ میلی مولار آسکوربیک اسید در هر ۳سطح شوری باعث افزایش کلروفیل a نسبت به عدم کاربرد آسکوربیک اسید شد. اسید آسکوربیک به سه طریق در واکنش های بیوشیمیایی در گیاهان ایفای نقش می کند . نخست اینکه ، این

اسید به عنوان آنتی اکسیدان به طور مستقیم در از بین بردن پراکسید هیدروژن تولید شده به وسیلهٔ احیای نوری عمل می کند .دوم اینکه، اکسیژن در فتوسیستم یک، مونو دهیدروآسکوربات تولید شده به وسیلهٔ آسکوربات پراکسیداز به طور مستقیم پذیرندهٔ الکترون در فتوسیستم است. سوم اینکه، اسید آسکوربیک کوفاکتوری برای چرخهٔ ویولا گزانتین دیوکسیداز کاتالیز کننده VDE (آنزیم ویولاگزانتین به زاگزانتین) در چرخه گزانتوفیل (است که برای فعالیت خود نیاز به آسکوربات دارد . این چرخه گیاهان را در برابر آسیب های ناشی از اکسیداسیون نوری حفاظت می کند (۱۴). اسید آسکوربیک در گندم نقش مؤثری در افزایش کلروفیل a ، b و کاروتنوئید ها دارد (Bates et al 1973) مطالعات خان و همکاران در سال ۲۰۰۵ نشان داد در شرایط تنش شوری، برگ ها ابتدا کلروزه می شوند و سپس شروع به ریزش می کنند. کاهش در مقدار رنگیزه های فتوسنتزی گیاهان به دلیل بسته شدن روزنه ها وجلوگیری از بیوسنتر کلروفیل می باشد (Degu et al 2008).



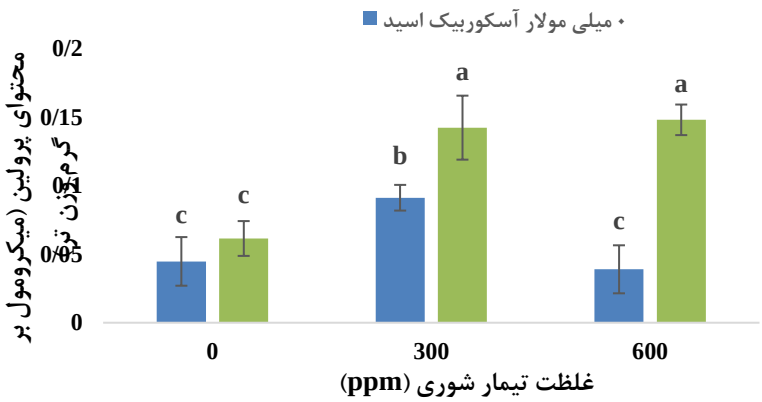
شکل۲- اثر متقابل غلظت های مختلف شوری و کاربرد آسکوربیک اسید بر میزان کلروفیل a سالیکورنیا پرسیکا

با توجه به جدول آنالیز واریانس(جدول۱)، برای میزان کلروفیل b اثر متقابل شوری و آسکوربیک اسید معنی دار شد. نتایج حاصل از این پژوهش نشان دادکه میزان کلروفیل b در شوری ppm ۳۰۰ و عدم کاربرد آسکوربیک اسید نسبت به شاهد، کاهش یافت و در شوری ppm ۶۰۰ نسبت به شاهد کاهش یافت. از طرفی نتایج نشان داد که کاربرد ۰/۲ میلی مولار آسکوربیک اسید در هر ۳سطح شوری باعث افزایش کلروفیل b نسبت به عدم کاربرد آسکوربیک اسید شد. در گندم بهاره افزایش شدت تنش شوری موجب ایجاد تغییراتی در ساختمان کلروفیل ها و از بین رفتن ساختار تیلاکوئیدی کلروپلا ست شده، که این امر درنهایت موجب کاهش محتوی کلروفیل کل گیاه شده است (Saeed et al 2020). گزارش های معدودی از تأثیر افزایشی شوری روی محتوای کلروفیل ها در دست است (Shigeoka et al 2002). اسید آسکوربیک به عنوان آنتی اکسیدان قوی توانسته است از فعالیت رادیکال های آزاد اکسیژن ناشی از تنش و به دنبال آن تخریب غشای کلروپلاستی جلوگیری کرده و محتوای کلروفیل گیاه را حفظ کند (Amin et al 2008).



شکل۳- اثر متقابل غلظت های مختلف شوری و کاربرد آسکوربیک اسید بر میزان کلروفیلb سالیکورنیا پرسیکا

با توجه به جدول آنالیز واریانس(جدول۱)، برای میزان پرولین اثر متقابل شوری و آسکوربیک اسید معنی دار شد. نتایج حاصل از این پژوهش نشان دادکه میزان پرولین در شوری ppm ۳۰۰ و عدم کاربرد آسکوربیک اسید نسبت به شاهد، افزایش یافت و در شوری ppm ۶۰۰ نسبت به شاهد کاهش یافت. از طرفی نتایج نشان داد که کاربرد ۰/۲ میلی مولار آسکوربیک اسید در هر ۳سطح شوری باعث افزایش پرولین نسبت به عدم کاربرد آسکوربیک اسید شد. در گیاهان مهمترین محلول حمایت کننده اسمزی سازگار پرولین هست(Zhang et al 2003). تجمع پرولین رابطه مثبت و مستقیم با افزایش مقاومت به شوری در گیاه دارد. در زمینه افزایش میزان پرولین گزارش هایی وجود دارد که بیانگر افزایش پرولین در گیاهان تحت تنش شوری و آسکوربات مانند سویا به طور همزمان است (Le-Dily et al 1993).



شکل۴- اثر متقابل غلظت های مختلف شوری و کاربرد آسکوربیک اسید بر میزان پرولین سالیکورنیا پرسیکا

نتیجه نهایی

تنش شوری سبب آسیب به ساختار گیاه می شـــود و در ســـطوح پایین شوری تولید پرولین افزایش یافت اما در ســـطوح شـــوری بالاتر میزان آن کاهش یافت. همچنین شـوری سـبب آسـیب به دسـتگاه فتوسـنتزی گیاه می شـــود. و کاربرد ۰/۲ میلی مولار آسـکوربیک اسـید سـبب بهبود اثرات ناشی از شوری شد.

ملاحظات اخلاقی:

حامی مالی: این پژوهش هیچ کمک مالی از سازمان های تأمین مالی دریافت نکرده است.

تعارض منافع: طبق اظهار نویسنده، این مقاله تعارض منافع ندارد.

برگرفته از پایان نامه/رساله: این مقاله برگرفته از پایان نامه/رساله نبوده است.

منابع

- دولت آبادیان، ا.، مدرسثانوی، س. ع. م. و شریفی، م. (۱۳۰۰). اثر تغذیه برگ با آسکوربیکاسید بر فعالیت های آنزیمهای آنتی اکسیدان، تجمع پرولین و لیپید پراکسیداسیون کلزا در شرایط تنش شوری. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی۶۲۸-۶۱۱.
- سلاح ورزی ی.، گلدانی م.، نباتی، ج . و علیرضایی، م (۱۳۹۰) تأثیرکاربرد برونزای آسکوربیک اسید بر برخی از تغییرات فیزیوشیمیایی مرزنجوش تحت تنششوری .مجلهٔ علوم باغبانی ایران۱۶۷-۱۵۹.
- Meneguzzo, S., F. Navari-Izzo and R. Izzo. (2000). NaCl effects on water relations and accumulation of mineral nutrients in shoots, roots and cell sap of wheat seedling. J. Plant Physiol. 156: 711-716.
-
- Blum, A. (1996). Crop Responses to Drought and the Interpretation of Adaptation. p. 103-
- 123. In Belhassen, E.
- Parida, A.K. and A.B. Das 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. Ecotoxicology and Environmental Safety. 60: 324-349.
- Golshan,Z,Keshavarzi,M,(2007).Morphological study of persica (Cenopodiaceae) native to iran. Journal of Biological sciences 10(6): 852_860.
- Akhani, H, (2003). SalicorniaPersicaAkhani(chenopodiaceae) aremarkable new species from central Iran.
- Horbowicz M., Kosson R., Grzesiuk A,(2008), Dębski H. Anthocyanins of fruits and vegetables-theiroccurrence, analysis and role in human nutrition. Veget. Crops Res. Bull.; 68: 5-22.
- 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.
- Conklin P.L., and Barth C. (2004). Ascorbic acid, a familiar small molecule intertwined in the response of plants to ozon, pathogens, and the onset of senescence.

- Amin, A.A., E.M. Rashad, and A.E. Gharib, (2008). Changes in morphological, physiological and reproductive characters of wheat plants as affected by foliar application with salicylic acid and ascorbic acid. Aust. J. of Basic and Appli. Sci. 2: 252-261.
- 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 Research75:41–48.
- Le-Dily, F., Billiard, J. P., Le-Saos, J. and Huault, C. (1993) Effects of NaCl and gabaculine on chlorophyll and proline levels during growth of radish cotyledons. Plant Physiology and Biochemistry31: 303-310.
Plant and Cell and Environment 27: 959-971.
- Lichtenthaler, H. K. (1987) Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembrane. Methods of Enzymology 148: 350.
- Bates, L., Waldren, R. and Teare, I. (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil 39: 205-207
- Degu HD, Ohta M, Fujimura T. (2008). Drought tolerance of Eragrostistef and development.
- Saeed, Abdul Kareem A.J. Mohammad. (2020). Effect of ascorbic and salicylic acids on growth and flowering of Gazania cv. Frosty Kiss Mixed. Ornamental Horticulture, 26(4), 537-544. Epub November 09, 2020.https://dx.doi.org/10.1590/2447- 536x.v26i4.2118.
- Shigeoka S., Ishikawa T., Tami M. and Miyagawa Y. (2002) Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes. Journal of Experimental Botany. 53: 1305-1319.