

بررسی آثار اسید آسکوربیک خارجی بر برخی شاخص های رشد و محتوای کلروفیل a و b

دانه رست های دو رقم کلزا تحت تنش شوری

رضوان لک

کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد

نویسنده مسئول: رضوان لک - لرستان - دورود - کوی شهید بهشتی فاز سوم پلاک ۴۸۴ Lak_rezvan@yahoo.com

چکیده

در این پژوهش، آثار افزودن اسید آسکوربیک خارجی بر دو رقم RGS و Hayola 401 از گیاه کلزا (*Brassica napus* L.)، رشد یافته تحت تنش شوری، مورد بررسی قرار گرفت. تیمارهای اعمال شده شامل غلظت های مختلف نمک کلرید سدیم (۱۵۰ و ۱۰۰ mM) و تیمارهای نمک بعلاوه تیمار آسکوربات ۰/۲ mM بود. آزمایشات بر روی گیاهان ۱۰ و ۲۰ روزه و کشت یافته در محیط کشت هیدروپونیک (هوگلند) و با سه تکرار، در شرایط یکسان آزمایشگاهی و ضریب اطمینان ۹۵٪ انجام گردید. در این بررسی میزان محتوای نسبی آب (RWC)، سرعت رشد نسبی (RGR)، سرعت ماده سازی خالص (NAR) و نسبت سطح برگ (LAR) در گیاهک ها با افزایش شوری کاهش یافت. تحت تنش شوری مقادیر کلروفیل های a و b کاهش یافت که کاهش در کلروفیل b بیشتر بود. با مقایسه دو رقم، کاهش شدیدتر در رقم RGS مشاهده شد. برطبق نتایج افزودن تیمار آسکوربات به تیمارهای مختلف شوری مقادیر شاخص های رشد و کلروفیل ها را افزایش داد و اثرات مخرب شوری را تعدیل کرد. در بررسی ها نشان داده شد که رقم Hayola401 نسبت به رقم RGS مقاومت بیشتری در برابر شوری دارد.

کلید واژه ها: شوری، اسید آسکوربیک، *Brassica napus* L.، شاخص های رشد، کلروفیل a و b

مقدمه

به طور بدیهی تنش شوری موجب کاهش و ممانعت از رشد بسیاری از گیاهان زراعی می شود. اکثر گیاهان زراعی نمی توانند در محیط شور رشد کنند و یا اگر رشد کند میزان محصول اندک خواهد بود (میبدی و قره یاضی، ۱۳۸۱). با توجه به گسترش روزافزون اراضی شور در سطح جهان و با توجه به نیاز جمعیت در حال رشد دنیا به مواد غذایی، اهمیت گیاهانی که دارای ارزش غذایی بالاتری هستند در این زمان به خوبی آشکار می شود. برای مقابله با این افزایش تقاضا، به ژنوتیپ هایی از گیاهان زراعی که دارای تحمل به نمک باشند نیاز خواهیم داشت (El-Hendawy et al., 2005). گیاه کلزا با نام علمی *Brassica napus* L. و از خانواده شب بو (*Brassicaceae*) از جمله مهم ترین گیاهان تولید کننده دانه های روغنی در جهان است. اولین اثر قابل ملاحظه شوری در گیاهان کاهش رشد است. یک پارامتر کلیدی سرعت رشد است، تحت شرایط شوری جهت مقایسه ژنوتیپ های یک گونه سرعت رشد نسبی (RGR) بسیار مطلوب تر از سرعت رشد مطلق است. RGR تابعی از سرعت ماده سازی خالص یا (NAR) است که شاخص تعیین ظرفیت ماده سازی فتوسنتزی گیاهان، برای هر واحد سطح برگ است. نسبت سطح برگ (LAR) یک شاخص پربریگی در گیاهان است (El-Hendawy et al., 2005). محتوای نسبی آب (RWC) نیز شاخصی برای فهمیدن حالت و چگونگی آب گیاه است. افزایش تحمل گیاهان به تنش شوری در خاک های مناطق خشک یعنی جائیکه آبیاری یک ضرورت است از اهمیت ویژه ای برخوردار است (میبدی و قره یاضی، ۱۳۸۱). یکی دیگر از آثار تنش شوری در گیاهان، کاهش فعالیت فتوسنتزی است. با کاهش مقادیر کلروفیل a و b و کاهش جذب CO₂، ظرفیت فتوسنتزی کاهش می یابد. Sakr & Arafa در سال ۲۰۰۹ نشان دادند، در برگ های کلزا با افزایش تنش شوری رنگیزه های فتوسنتزی کاهش می یابد. اثرات نامطلوب شوری در گیاه، نتیجه تجمع ROS (اکسیژن واکنش گر) در گیاه است، توانایی گیاهان عالی در جاروب کردن اثرات سمی اکسیژن رادیکالی عامل مهم و تعیین کننده ای در مقاومت آنها در برابر استرس ها است. ROS بر روی ماکرومولکول

های داخل سلولی اثر کرده و باعث تخریب آنها می گردد. اسید آسکوربیک یکی از آنتی اکسیدان هایی است که گیاهان برای جاروب کردن انواع اکسیژن های واکنش گر و رادیکال های آزاد از آنها استفاده می کند (Smirnoff, 2000). اهداف این پژوهش مطالعه برهم کنش تنش شوری و اسید آسکوربیک بر برخی شاخص های رشد و محتوای کلروفیلی دو رقم کلزا است. انتظار می رود که اسید آسکوربیک بتواند تا حدودی از اثرات سمی نمک بر گیاهان کاسته و گیاه را به رشد مطلوب نزدیک کند تا شاید به این ترتیب بتوانیم تولید محصول بیشتر را در گیاهان زراعی در مناطق شور القا کنیم.

مواد و روش ها

این مطالعه بر روی بذور رقم های RGS و Hayola401 از گیاه کلزا (*Brassica napus* L.) انجام گردید که از مرکز جهاد کشاورزی استان لرستان تهیه شد. بذور مورد نظر پس از ضدعفونی شدن، تا مرحله دو برگگی رشد داده شدند. سپس به ظروف حاوی هوگلند (نیم قدرت) منتقل شدند و پس از ۲۴ ساعت تیمارهای مختلف اعمال گردید. تیمارها شامل نمک NaCl با غلظت های ۷۵، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی مولار و، هر یک از تیمارهای نمک بعلاوه تیمار آسکوربات ۰/۲ میلی مولار بود که به محیط کشت اضافه گردید. گیاهک ها در شرایط یکسان دما و رطوبت و نور آزمایشگاه به مدت ۲۰ روز رشد کردند. آزمایشات با سه تکرار انجام گردید. وزن خشک گیاهک ها پس از قرار گرفتن در آن ۷۰ درجه اندازه گیری و پارامترهای رشد محاسبه گردیدند.

$$RGR = \frac{LnW_2 - LnW_1}{t_2 - t_1} \text{ (g.Kg}^{-1}\text{d}^{-1}\text{)} \quad W_2 = \text{وزن ماده خشک گیاه در محلول هوگلند (۲۰ روزه)}$$

$$NAR = \frac{(w_2 - w_1)(LnL_2 - LnL_1)}{(t_2 - t_1)(l_2 - l_1)} \text{ (g.cm}^{-2}\text{d}^{-1}\text{)} \quad W_1 = \text{وزن ماده خشک گیاه در محلول هوگلند (۱۰ روزه)}$$

$$LAR = RGR / NAR \text{ (cm}^2\text{/g)} \quad t_2 = \text{مدت زمان رشد گیاه در محلول هوگلند (۲۰ روزه)}$$

$$L_2 = \text{سطح برگ در زمان } t_2 \quad L_1 = \text{سطح برگ در زمان } t_1 \quad t_1 = \text{مدت زمان رشد گیاه در محلول هوگلند (۱۰ روزه)}$$

$$RWC = (w_T - w_F) / (w_T - w_D) \times 100 \quad \text{سنجش RWC بر طبق رابطه فوق انجام گردید:}$$

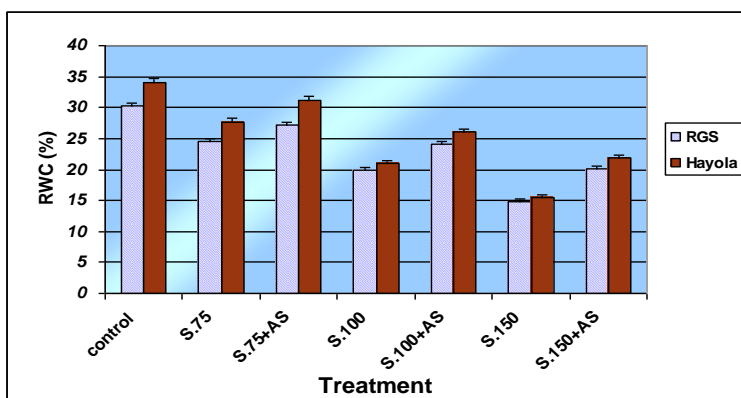
در این رابطه w_t = وزن توری w_D = وزن خشک دیسک های برگگی w_f = وزن تازه است

سنجش کلروفیل **a** و **b** (Arnon, 1957): ۰/۲ گرم برگ گیاه را جدا کرده و در هاون چینی همراه با ۱۰ میلی لیتر استون ۸۰٪ ساییده و محلول درون لوله سانتریفیوژ شده تا عمل جداسازی انجام گیرد و سپس حجم نهایی عصاره را با ۱۰ میلی لیتر استون ۸۰٪ به ۲۰ میلی لیتر رساندیم. جهت محاسبه تراکم کلروفیل های **a**، **b**، جذب محلول در طول موج های ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتر با توجه به وزن تر نمونه برحسب میلیگرم وزن تر ارزیابی شد.

آنالیز آماری داده ها تحت ANOVA و توسط نرم افزار SPSS(ver.15) انجام گردید و مقایسه میانگین داده ها بوسیله تست دانکن و با ضریب اطمینان ۹۵٪ انجام شد. نمودارها بوسیله نرم افزار Excel رسم شدند.

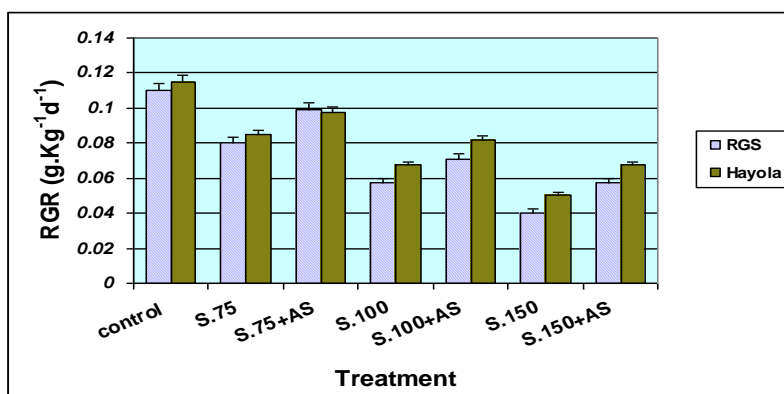
نتایج

بر طبق نتایج، با افزایش میزان شوری، میزان RWC برگ هر دو رقم RGS و Hayola401 کاهش یافت. این کاهش در همه سطوح شوری نسبت به نمونه شاهد معنی دار بود ($P < 0/05$) که این کاهش در رقم RGS نسبت به Hayola401 بیشتر بود. افزودن تیمار آسکوربات در همه سطوح شوری میزان RWC برگ را نسبت به تیمارهای حاوی نمک افزایش داد که این افزایش نیز معنی دار بود ($P < 0/05$) (نمودار ۱).



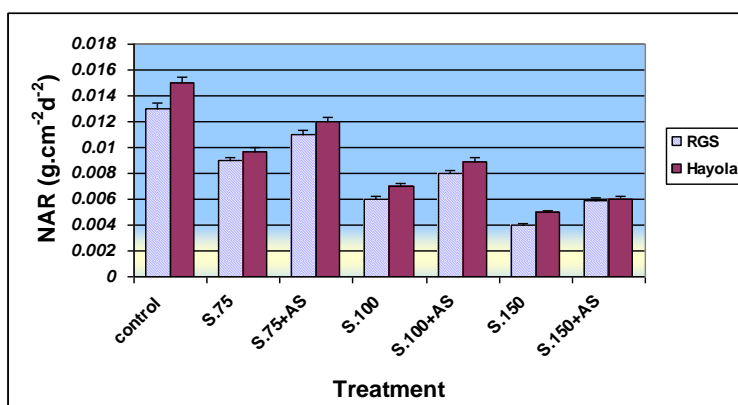
نمودار ۱- تغییرات میزان رطوبت نسبی برگ رقم های RGS و Hayola401

میزان RGR در دو رقم فوق با افزایش غلظت نمک NaCl کاهش معنی داری نسبت به نمونه شاهد نشان داد ($P < 0.05$)، که این کاهش در رقم RGS بیشتر بود. با افزودن تیمار آسکوربات به تیمارهای شوری میزان RGR نسبت به تیمارهای نمک افزایش یافت که این افزایش معنی دار بود ($P < 0.05$) (نمودار ۲).



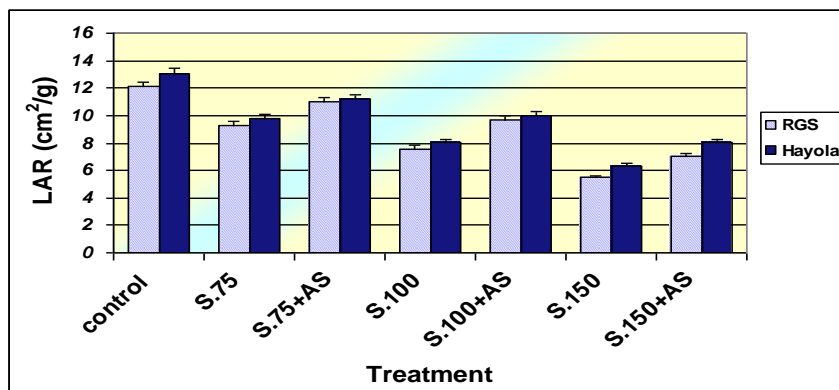
نمودار ۲- تغییرات میزان سرعت رشد نسبی گیاهک های دو رقم RGS و Hayola401

با افزایش میزان غلظت نمک در تیمارها، میزان NAR کاهش یافت. این کاهش در تیمارهای مختلف نسبت به شاهد معنی دار بود ($P < 0.05$). افزودن آسکوربات به تیمارهای حاوی نمک میزان NAR را در گیاهک های رقم RGS و Hayola401 نسبت به تیمارهای حاوی نمک بطور معنی داری افزایش داد ($P < 0.05$) (نمودار ۳).



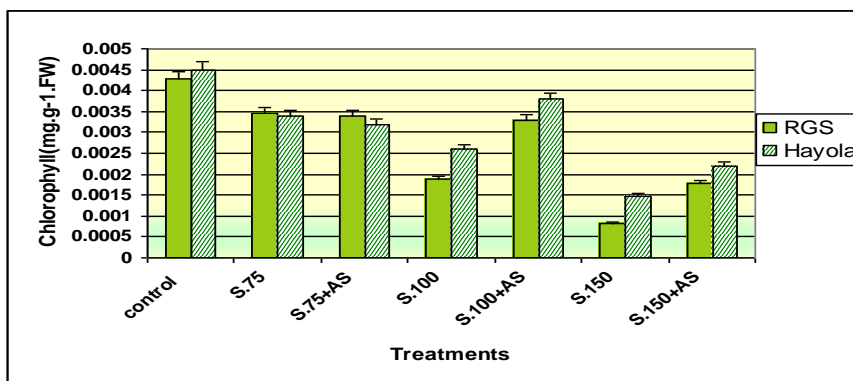
نمودار ۳- تغییرات میزان سرعت ماده سازی خالص گیاهک های دو رقم RGS و Hayola401

تغییرات نسبت سطح برگ (LAR): تیمارهای مختلف نمک میزان LAR را بطور معنی داری در هر دو رقم RGS و Hayola401 نسبت به شاهد کاهش داد ($P < 0.05$). این کاهش برای رقم RGS بیشتر بود. تیمار آسکوربات اضافه شده به تیمارهای نمک میزان LAR را نسبت به تیمارهای حاوی نمک افزایش داد که این افزایش معنی دار بود ($P < 0.05$). (نمودار ۴).

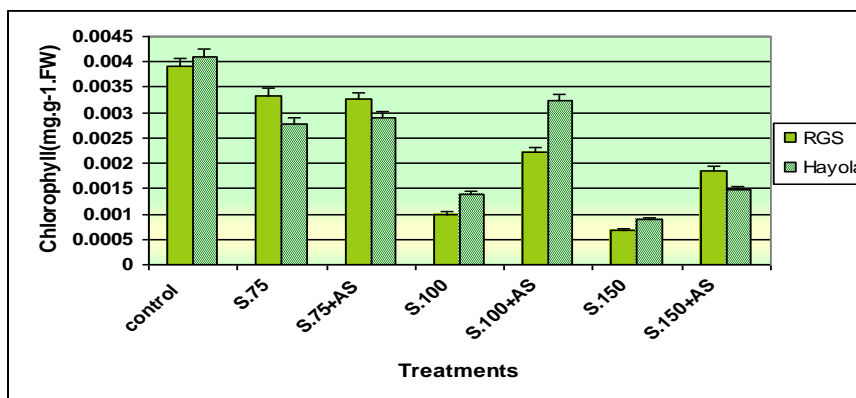


نمودار ۴- تغییرات میزان نسبت سطح برگ در دو رقم RGS و Hayola401

تغییرات کلروفیل: بر طبق نتایج تحت تنش شوری میزان کلروفیل a و b به شدت کاهش یافت که این کاهش نسبت به نمونه شاهد معنی دار بود ($P < 0.05$) و کاهش برای کلروفیل b بیشتر بود. افزودن آسکوربات باعث افزایش میزان کلروفیل ها شد، بطوریکه اختلاف بین تیمارهای نمک حاوی آسکوربات با تیمارهای نمک در هر دو رقم معنی دار بود ($P < 0.05$). کاهش میزان کلروفیل ها در رقم RGS بیشتر دیده شد (نمودارهای ۷ و ۸).



نمودار ۷- تغییرات میزان کلروفیل a در رقم های RGS و Hayola401 تحت تیمارهای مختلف



نمودار ۸- تغییرات میزان کلروفیل b در رقم های RGS و Hayola401 تحت تیمارهای مختلف

بحث

تجزیه تحلیل رشد به منظور توجیه و تفسیر واکنش گیاه به شرایط محیطی است و بوسیله آن می توان میزان مواد فتوسنتزی را در طول زمان اندازه گیری کرد. در مطالعه حاضر با قرار گرفتن گیاهک ها تحت تیمار های نمک NaCl میزان RWC, RGR, NAR و LAR به شدت کاهش یافت و اختلاف معنی دار بین تیمارها و شاهد گویای این مطلب بود. برطبق نتایج، آسکوربات خارجی در تعدیل اثرات نمک بر میزان فاکتورها مؤثر عمل کرد. با توجه به نتایج، در مقایسه دو رقم، رقم RGS نسبت به Hayola401 کاهش بیشتری را در میزان فاکتورها نشان داده و حساس تر و رقم Hayola 401 مقاوم تر بود. تحقیقات Sairam و همکاران در سال ۲۰۰۲ نشان داد که میزان رطوبت نسبی برگ گیاه گندم با افزایش میزان شوری کاهش یافت که به علت افزایش نمک در اطراف ریشه آب در محیط اطراف ریشه کم شد و منجر به کاهش میزان RWC گردید. میزان RWC در نمونه موتانت آراییدوبسیس که فقط حاوی ۳۰٪ آسکوربات نسبت به نوع طبیعی خود بود ۶۳٪ گزارش شد حال آنکه در نمونه طبیعی این مقدار ۷۶٪ گزارش شد. این نتایج نشان داد که حضور آسکوربات جهت تعدیل اثرات تنش شوری مؤثر بود (Huang et al., 2005). این نتایج توسط Alqurainy در سال ۲۰۰۷ نیز نشان داده شد. Pitman در سال ۱۹۸۴ مشاهده کرد که میزان NAR با افزایش شوری در گیاه چغندر قند کاهش یافت و میزان RGR نیز با افزایش شوری در گیاه جو رو به کاهش نهاد. در ابتدای تنش شوری، تنش خشکی حاصل می شود که عامل اصلی کاهش رشد است که این کاهش در نتیجه کاهش سطح فتوسنتز کننده یا میزان فتوسنتز در واحد سطح می باشد که به دلیل پایین تر بودن پتانسیل اسمزی محیط ریشه، جذب آب و مواد غذایی توسط گیاه کاهش می یابد. در مطالعاتی که توسط Shalata و همکاران در سال ۲۰۰۱ صورت گرفت مشاهده شد آسکوربات باعث افزایش ۵۰ درصدی جلوگیری از پژمردگی دائم گیاه گوجه فرنگی تحت تنش های خشکی و شوری می شود. بر طبق تحقیقات در زمان تنش شوری میزان ROS و رادیکال های آزاد تولید شده در گیاه توسط آسکوربات خنثی می شود، همچنین با نقش داشتن در تقسیم و انبساط سلول ها باعث جذب مواد محلول به درون سلول ها شده (Smirnoff, 2000) و به این ترتیب از اثرات سوء تنش شوری بر گیاهان می کاهد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد، در پاسخ به تنش شوری میزان کلروفیل های a و b کاهش معنی دار نشان داد. پس از افزودن تیمار آسکوربات به تیمارهای نمک این کاهش جبران شد در حالی که تیمار جیبرلین در سطوح پایین شوری مؤثر ظاهر شد. کاهش کلروفیل تحت شوری به علت افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز است همچنین تجمع یون های کلر و سدیم در برگ ها روی بیوسنتز کلروفیل تأثیر منفی می گذارد که در مشاهدات پیشین در برگ های کلزا مشاهده شده است (Sakr & Arafa, 2009). آنتی اکسیدان ها با حفظ و پایدار کردن جایگاه فعال آنزیم، افزایش ورود یون های ضروری مانند Mg^{2+} و افزایش میزان پتاسیم ورودی به درون سلول ها که باعث افزایش پیش سازهای کلروپلاست می شود بازده فتوسنتزی گیاهان را افزایش می دهند (Sakr & Arafa, 2009). نتیجه گیری کلی: در این پژوهش نشان داده شد در جهت کنترل تنش شوری، که باعث ممانعت از رشد بسیاری از گیاهان زراعی می گردد، میتوان از اسید آسکوربیک به عنوان یک آنتی اکسیدان استفاده کرد.

منابع

۱. میرمحمد میبیدی، ع.م.، قره یاضی، ب.، ۱۳۸۱، جنبه های فیزیولوژیک و به نژادی تنش شوری گیاهان، انتشارات دانشگاه صنعتی اصفهان.
2. Al qurainy, F., 2007, **Responses of bean and pea to vitamin C under salinity stress**, Agriculture and biological sciences, 3(6): 714-722.
3. Arnon , D.I. 1957; **Copper enzymes in isolated chloroplasts; polyphenol oxidase in Beta Vulgaris**, Plant Physiol., 24:1-15



4. El- Hendawy.S., Yuncai.H., Schmid hater. U., 2005, **Growth, ion content, gas exchange, and water relation of wheat genotypes differing in salt tolerances**, Australian journal of agricultural research, 56, 123 – 134.
5. Huang, C., et al., 2005, **increased sensitivity to salt stress in an ascorbate-deficient Arabidopsis mutant**, Journal of Experimental botany, 56 (422):3041-3049.
6. Pitman. M.C.T., 1984, **Salinity tolerance implants strategies for crop improvement**. PP. 93-123. New york, John Wiley.
7. Sairam, R.K., G. C. Srivastava. 2002. **Change in antioxidant activity in subcellular froction of tolerant and Susceptible wheat genotypes in response to long term Salt Stress**. 162:897-904.
8. Sakr, M., Arafa, A., 2009, **effect of some antioxidants on canola plants growth under soil salt stress condition**, Pakistan jornal of biological sciences,
9. Shalata A, Neumann PM. 2001. **Exogenous ascorbic acid (vitamin C) increases resistance to salt stress and reduces lipid peroxidation**. Journal of Experimental Botany 52, 2207-2211.
10. Smirnoff N and Wheeler GL. 2000, **Ascorbic acid in Plants: biosynthesis and function**. Critical Reviews in Plant Sciences 19:267-290.

Study effects of exogenous Ascorbic acid on some growth factors and chlorophyll a and b content of two cultivar of brassica napus L.seedlings under salt stress

Rezvan lak

Master of science plant physiology, Islamic Azad university, Broujerd branch
lak_rezvan@yahoo.com

Abstract

In this research, was studied effects of exogenous Ascorbic acid on two cultivars RGS & Hayola401 of *Brassica napus* L. under salt stress. The treatments include three salt concentrations (75, 100 and 150mM) and salt and ascorbat 0.2mM treatments. researchs is done on 20 day plants in hydroponics (Hogland) environment with three repeated in the similar room condition. increase salinity, decreased the relative water content (RWC), relative growth rate (RGR), net assimilation rate (NAR) and leaf area rate (LAR) inplantules, and decrease chlorophyll content, increasingly b chlorophyll. Applying of exogenous ascorbat decreased adverse of salinity effects on growth factors and chlorophylls. The results showed Hayola401 cultivar is more tolerant to salinity than RGS cultivar.

Keywords: Salinity, Ascorbic acid, *Brassica napus* L., growth factors, chlorophyll a and b