مجله علوم باغبانی ایران
دوره ۴۲، شماره ۲، ۱۳۹۰ (۱۶۷-۱۵۹)

تأثیر کاربرد برون‌زای آسکوربیک اسید بر برخی از تغییرات فیزیوشیمیایی مرزنجوش (*Origanum majorana* L.) تحت تنش شوری

یحیی سلاح‌ورزی[1]*، مرتضی گلدانی[2]، جعفر نباتی[3] و مرتضی علیرضایی[4]
۱، ۲، ۳، ۴، مربی، استادیار، دانشجوی سابق دکتری و دانشجوی کارشناسی ارشد
دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد
(تاریخ دریافت: ۸۹/۷/۱۸ - تاریخ تصویب: ۹۰/۳/۲۱)

چکیده

به منظور بررسی اثر آسکوربیک اسید (AsA) به عنوان یک آنتی‌اکسیدان مهم در کاهش خسارات شوری، آزمایشی در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه فردوسی مشهد، روی گیاه مرزنجوش انجام گرفت. غلظت های متفاوتی از AsA (صفر، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر) به صورت محلول پاشی روی گیاهانی که تحت شرایط صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار نمک NaCl قرار داشتند، به کار برده شد. به این ترتیب آزمایش مورد نظر به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملا تصادفی با ۳ تکرار در سال ۱۳۹۰، صورت پذیرفت. شوری به صورت معنی‌داری بر تمامی صفات فیزیوشیمیایی (نشت الکترولیت، محتوای کلروفیل، پرولین، کربوهیدرات کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنولیک) اندازه گیری شده در گیاه مرزنجوش تأثیر داشت. نشت الکترولیتی از سلول‌های برگی در غلظت بالای نمک (۱۵۰ mM) به بیشترین مقدار خود رسید. اما کاربرد AsA (۲۰۰ mg/l) ضمن محافظت غشا پلاسمایی از تأثیر منفی شوری، نشت الکترولیتی را در همین سطح از شوری، ۵۲٪ کاهش داد. آسکوربیک اسید همچنین مقادیر کلروفیل کل، کربوهیدرات کل و ترکیبات فنولیک گیاه را در مجموع معادل ۶۵، ۶۰ و ۳۸ درصد در مقایسه با شاهد افزایش داد. نتایج آزمایش نشان داد که آسکوربیک اسید می‌تواند ضمن افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه به بیش از ۵ برابر شاهد، به نحو مؤثرتری از فعالیت رادیکال‌های آزاد تحت شرایط تنش شدید شوری جلوگیری کرده و به این ترتیب بقای بیشتر گیاه را تضمین نماید.

واژه‌های کلیدی: رادیکال‌های آزاد، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، کربوهیدرات کل، نشت الکترولیتی، نمک.

مقدمه

شوری یکی از مهمترین عوامل در کاهش محصولات کشاورزی است. نزدیک ۲۰ درصد سطح کل زمین‌های مورد کشت دنیا و تقریبا نیمی از اراضی تحت آبیاری آن با مشکل شوری روبرو می‌باشند (FAO, 2005). غلظت بالای نمک در محیط ریشه ممکن است اثرات متعددی نظیر کاهش پتانسیل اسمزی، سمیت یون‌ها، عدم تعادل عناصر غذایی، تغییر در متابولیسم سلولی و کاهش در رشد و عملکرد را بوجود آورد (Sajid & Aftab, 2009).

تنش اکسیداتیو یک تنش ثانویه است که در نتیجه تنش شوری بوجود آمده و می‌تواند منجر به تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن[1]، پراکسید هیدروژن، رادیکال‌های هیدروکسیل و سوپر اکسید گردد. این

1. Reactive Oxygen Species (ROS)

* نویسنده مسئول: یحیی سلاح‌ورزی تلفن: ۰۹۱۵-۱۰۳۳۵۷۳ E-mail: selahvarzi@ferdowsi.um.ac.ir

رادیکال‌های آزاد می‌توانند خساراتی را به لیپیدهای غشا، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک وارد سازند (Noctor & foyer, 1998). غلظت رادیکال‌های تشکیل یافته در گیاهان، معمولاً به وسیله فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های محافظت‌کننده کنترل می‌شود. این سیستم ضد اکسیدکنندگی می‌تواند شامل آسکوربات، گلوتاتیون، آلفا توکوفرول و یا آنزیم‌های مختلف باشد (Khan & Panda, 2002).

آسکوربیک اسید (AsA)[1] یک ترکیب آنتی‌اکسیدانی قوی با وزن مولکولی کم و محلول در آب بوده که می تواند نقش عمده‌ای را در خنثی کردن فعالیت رادیکال‌های آزاد و غیرسمی کردن پراکسید هیدروژن داشته باشد (Smirnoff, 2005). Shalata & Neumann (2001) گزارش کردند که کاربرد ۰/۵ میلی‌مولار AsA قبل از تنش شوری به بازیافت و بقای بهتر گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی (*Lycopersicum esculentum*) منجر می‌گردد. Younis et al. (2010) اثرات کاربرد برون زای AsA بر گیاهچه‌های باقلا (*Vicia faba*) تحت شرایط شوری را بررسی نمودند. آنها نتیجه گرفتند که مقادیر درونی آسکوربیک اسید، گلوتاتیون و سایر آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در اثر خیساندن بذور باقلا در AsA افزایش می‌یابد. همچنین خیساندن بذور گندم در AsA، اثرات مطلوبی روی رشد و تعرق این گیاه نشان می‌دهد و اثرات سوء شوری را بی‌اثر و خنثی می‌سازد (Al-Hakimi & Hamada, 2001).

مرزنجوش (*Origanum majorana* L.) یکی از مهمترین گیاهان خانواده نعناییان است که به دلیل وجود ترکیبات ویژه و روغن‌های فرار در برگ‌های آن، به صورت گسترده در صنایع غذایی و دارویی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Said-Al Ahl & Hussein, 2010). گزارشات متعددی وجود دارد که نشان می‌دهد کیفیت و به ویژه ترکیبات مؤثره این گیاه در اثر تنش‌های محیطی تغییر می‌یابد (Ali et al., 2007; Mombeini et al., 2007). افزایش غلظت نمک NaCl در محیط ریشه تا ۱۵۰ میلی‌مولار به سرعت نسبت سدیم به پتاسیم، سطح برگ و تعداد برگ را در گیاه مرزنجوش کاهش داد (Batour et al., 2010). اثر برخی از پلی‌آمین‌ها بر ماده خشک و متابولیت‌های گیاه مرزنجوش تحت شرایط شوری نیز مورد بررسی قرار گرفته است. به این ترتیب مشخص گردید که در اثر اعمال ۱۵۰ میلی‌مولار نمک NaCl به شدت از وزن خشک گیاه و پروتئین‌های محلول آن کاسته می‌شود. در صورتی که پیش تیمار پلی‌آمین می‌تواند کاهش وزن را جبران و محتوای پرولین گیاه را افزایش دهد (Ali et al., 2007). آنها بنابراین پژوهش حاضر به منظور بررسی اثرات کاربرد آسکوربیک اسید بر خصوصیات فیزیوشیمیایی مرزنجوش تحت شرایط شوری صورت پذیرفت.

مواد و روش‌ها

موادگیاهی

در ابتدا بذور اصلاح شده مرزنجوش که از پژوهشکده گیاهان دارویی دانشگاه شهید بهشتی تهران تهیه شده بودند، جهت جوانه‌زنی و سبز شدن بهتر در سینی‌های مخصوص نشاء مورد کشت قرار گرفتند. پس از رشد ابتدایی (مرحله ۴ برگی)، گیاهچه‌های یکنواخت و سالم به گلدان‌های پلاستیکی با قطر دهانه ۱۵ سانتی‌متر، ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر و گنجایش ۲ کیلوگرم خاک، منتقل شدند. خاک گلدان‌ها از ترکیب یکسان خاک زراعی، ماسه و خاکبرگ تشکیل شد. گلدان‌ها در گلخانه در شرایط ۱۶ ساعت روشنایی (دمای ۲۵-۲۷ درجه سانتی‌گراد) و ۸ ساعت تاریکی (۱۵-۱۷ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند. بنابراین گیاهان طی دوره استقرار به مدت ۷۵ روز تحت شرایط بهینه و بدون اعمال تنش شوری رشد کردند.

آزمایش حاضر به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام پذیرفت. بر این اساس گیاهچه‌های مرزنجوش پس از دوره استقرار و تا پایان آزمایش تحت شرایط شوری ۰ میلی‌مولار (شاهد)، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار نمک NaCl قرار گرفتند. آبیاری با آب شور، به فاصله زمانی هر دو روز یکبار به گونه‌ای انجام می‌پذیرفت که محتوای آب گلدان‌ها در زمان آبیاری برابر ۸۰٪ ظرفیت زراعی باشد. محلول‌پاشی AsA (وزن مولکولی=۱۵۶/۱) با غلظت‌های ۱۰۰و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر از یک هفته قبل از اعمال تنش شوری

1. Ascorbic Acid

آغاز و با فواصل زمانی هر ۷ روز یکبار تکرار شد. گیاهان شاهد (۰ میلی‌گرم بر لیتر آسکوربیک اسید) تنها بوسیله آب مقطر محلول‌پاشی شدند.

نمونه‌برداری و اندازه‌گیری صفات

چهار هفته پس از اعمال تنش شوری و همزمان با ظهور گل‌آذین در گیاهان شاهد، صفات ذیل مورد ارزیابی قرار گرفت.

مقادیر نشت الکترولیت‌ها از طریق معادله ۱ محاسبه شد (Marcum, 1988). در این رابطه E_1 و E_2 به ترتیب نشت الکترولیتی اولیه و ثانویه می‌باشند:

$$EL = (E_1/ E_2) \times 100 \quad (۱$$

اندازه‌گیری کلروفیلa، b، کل و کاروتن کل نیز با استفاده از روش (Dere et al., 1998)، انجام و براساس روابط زیر محاسبه گردید:

$$CHL_a = 15.65A_{666} - 7.340A_{653}$$
$$CHL_b = 27.05\ A_{653} - 11.21\ A_{666}$$
$$C_{x+c} = 1000\ A_{470} - 2.860\ C_a - 129.2\ C_b/245$$
$$CHL_t = CHL_a + CHL_b + C_{x+c}$$

در این روابط CHL_a: میزان کلروفیل a؛ CHL_b: میزان کلروفیل b؛ C_{x+c}: میزان کاروتن کل و CHL_t: کلروفیل کل را نشان می‌دهند.

اندازه‌گیری پرولین از روش (Bates, 1973) مورد محاسبه قرار گرفت. کربوهیدرات کل نمونه های برگی مرزنجوش نیز با استفاده از معرف آنترون ارزیابی شدند (Hedge & Hofreiter, 1962). تعیین فنول کل با استفاده از معرف فولین سیکالتو[1] در طول موج ۶۶۰ نانومتر صورت پذیرفت. در این آزمایش مقادیر فنول کل بوسیله کالیبره کردن منحنی استاندارد با گالیک اسید اندازه گیری گردید (Singleton & Rossi, 1965). روش DPPH[2] نیز جهت اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها و ارزیابی فعالیت خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد، مورد استفاده قرار گرفت (Abe et al., 1998). در نهایت ظرفیت تخریب رادیکال‌های فعال با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{تخریب رادیکال‌های فعال (٪)} = \frac{\text{جذب نمونه شاهد} - \text{جذب نمونه مورد ارزیابی}}{\text{جذب نمونه شاهد}} \times ۱۰۰$$

تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای MSTAT-C و JMP4 و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار EXCEL صورت گرفت. میانگین داده‌ها نیز با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد مورد مقایسه قرار گرفتند.

نتایج و بحث

نشت یونی

شوری موجود در محیط ریشه گیاه و کاربرد برگی AsA هر یک به طور جداگانه اثرات معنی‌داری بر نشت یون‌ها از غشای سلولی برگ گیاه مرزنجوش نشان دادند (جدول ۱). در مجموع نشت یونی در اثر افزایش سطوح شوری به تدریج افزایش یافت ولی در مقابل با کاربرد AsA از مقادیر آن کاسته شد. به گونه‌ای که در شدیدترین تیمار شوری (۱۵۰ mM)، کاربرد آسکوربیک اسید با غلظت ۲۰۰ppm، نشت یونی را نسبت به گیاهانی که تیمار نشده بودند ۵۲٪ کاهش داد (شکل۱). تحقیقات متعددی مطابق با نتایج این پژوهش وجود دارد که نشان می‌دهد همزمان با افزایش غلظت نمک، نشت یونی از سلولهای برگی افزایش می‌یابد (Tiwari et al., 2010; Kaya et al., 2003). دراین زمینه همبستگی بالایی بین نشت یونی از سلول‌ها و سطح تحمل گیاهان به شوری گزارش شده است (Karima & Salama, 2009). نشت یونی بالاتر در تیمارهای شوری، عموما به تجمع مولکول‌های پراکسید هیدروژن و یا پراکسیده شدن چربی‌های غشا باز می‌گردد (Noctor & Foyer, 1998). بنابراین به نظر می‌رسد تیمار AsA در این آزمایش توانسته است با افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه در مقایسه با گیاهان شاهد، به نحو مؤثرتری رادیکال‌های آزاد و مولکول‌های پراکسید هیدروژن را خنثی کرده و پایداری بیشتر غشا پلاسمایی را خصوصا در تیمارهای بالای شوری بوجود آورد. نتایج مشابه با این مطالعه توسط Karima & Salama (2009) در پیاز (*Allium cepa* L.) و Emam and Helal (2008) در کتان (*Linum ustatissimum* L.) گزارش شده است.

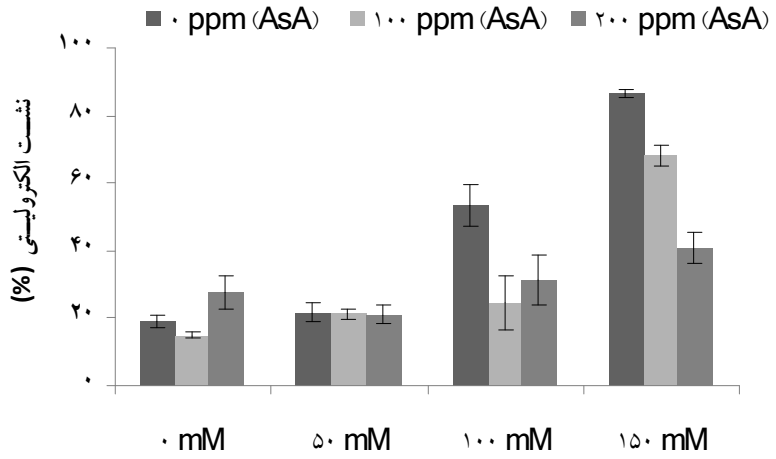
1 . Folin-ciocalteu
2 . 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس حاصل از صفات مورد ارزیابی

تیمار	EL[1] (درصد)	CHL. a (میلی گرم بر گرم وزن تر)	CHL. b (میلی گرم بر گرم وزن تر)	X+C (میلی گرم بر گرم وزن تر)	CHL. t (میلی گرم بر گرم وزن تر)	PRO. (میکرو مول بر گرم وزن تر)	CAR. t (میلی گرم بر گرم وزن تر)	A.A. (درصد)	PHE. (میلی گرم بر گرم وزن تر)
شوری	*[2]	**	**	**	**	**	**	**	**
آسکوربات	*	*	**	**	**	ns	**	**	**
شوری * آسکوربات	**	*	*	**	**	ns	**	**	ns

۱- EL، CHLa، CHLb، X+C، CHL t، PRO.، CAR. T، A.A و PHE. به ترتیب نشانگر نشت یونی، کلروفیل a، کلروفیل b، کاروتنوییدها، کلروفیل کل، پرولین، کربوهیدرات کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنولیک است.

۲- * و ** به ترتیب نشانگر معنی‌داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و ns بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار می باشد.



شکل ۱- اثر آسکوربیک اسید بر نشت الکترولیتی از سلول‌های برگی مرزنجوش تحت سطوح مختلف شوری

رنگدانه‌های فتوسنتزی

تجزیه آماری مربوط به داده های فتوسنتزی برگ گیاه مرزنجوش شامل کلروفیل a، b، کاروتنوییدها و نهایتا کلروفیل کل نشان داد که مقادیر این صفت با افزایش کاربرد آسکوربیک اسید افزایش یافت (جدول۲). نکته مهم آنکه هر چند با افزایش غلظت نمک در محیط ریشه گیاه، به تدریج از محتوای کلروفیل کل برگ کاسته شد ولی باید توجه داشت که کاربرد ppm ۲۰۰ آسکوربیک اسید در مقایسه با عدم کاربرد آن محتوای کلروفیل برگ را طی تنش‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار نمک NaCl به ترتیب ۲۴ و ۱۳۷ درصد افزایش داد (شکل ۲).

Parida & Das (2005) بیان کردند که محتوای کلروفیل و کاروتنوییدهای گیاهان، تحت شرایط شوری کاهش پیدا می‌کند. به این ترتیب برگ‌ها در اثر شوری ابتدا کلروز یافته و سپس شروع به ریزش می‌کنند. کاهش در رنگدانه‌های فتوسنتزی گیاهان تحت شرایط شوری عموماً در اثر جلوگیری از بیوسنتز و یا تجزیه آنها صورت می‌پذیرد (Khan et al., 2006). در واقع تنش شوری منجر به افزایش رادیکال‌های آزاد اکسیژن در کلروپلاست‌ها شده و در نتیجه غشا کلروپلاستی صدمه دیده و قابلیت حیاتی خود را از دست می‌دهد (Zhang et al., 2003). از سوی دیگر کاهش در محتوای کلروفیل ممکن است که در اثر افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز و یا اثر مستقیم سمیت یونی ناشی از غلظت بالای سدیم نیز به وجود آید (Khan et al., 2006). اما چنانکه از شکل ۲ پیداست، آسکوربیک اسید، سبب افزایش محتوای کلروفیل کل در هر دو شرایط شوری و شاهد شده است. لذا به نظر می رسد آسکوربیک اسید به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی توانسته است از فعالیت

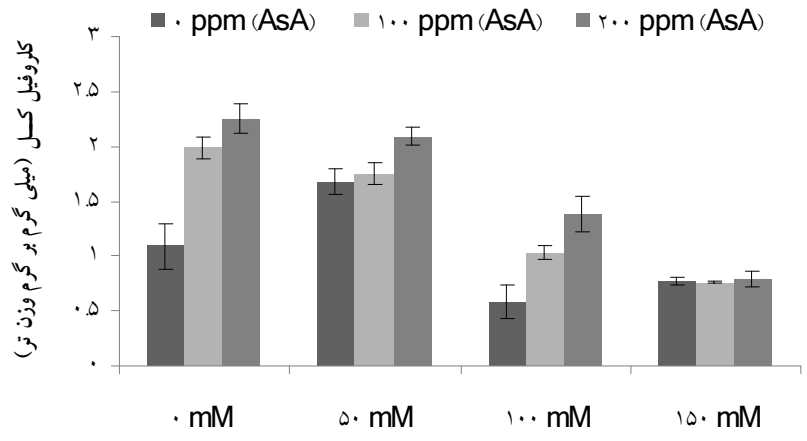
رادیکالهای آزاد اکسیژن ناشی از تنش شوری و به دنبال آن تخریب غشای کلروپلاستی در گیاه مرزنجوش جلوگیری نموده و محتوای کلروفیلی گیاه را حفظ نماید. Beltagi (2008) نیز با بررسی اثر کاربرد برون زای AsA بر تحمل به شوری نخود نتیجه گرفت که همزمان با افزایش غلظت نمک تا ۴۰mM، محتوای کلروفیلی برگ کاهش یافته ولی با کاربرد AsA با غلظت ۴mM این کاهش به سرعت جبران گردید.

جدول ۲- اثر شوری و آسکوربیک اسید بر ویژگی های مورد اندازه گیری در مرزنجوش

تیمار	EL[1] (درصد)	CHL. a (میلی گرم بر گرم وزن تر)	CHL. b (میلی گرم بر گرم وزن تر)	X+C (میلی گرم بر گرم وزن تر)	CHL. t (میلی گرم بر گرم وزن تر)	PRO. (میکرو مول بر گرم وزن تر)	CAR. t (میلی گرم بر گرم وزن تر)	A.A. (درصد)	PHE. (میلی گرم بر گرم وزن تر)
شوری (mM)									
۰ (شاهد)	۱۹/۶c[2]	۰/۷۷a	۰/۷۸a	۰/۲۱a	۱/۷۷a	۰/۰۴c	۳۵/۳c	۲/۹c	۶/۸c
۵۰	۲۱/۳c	۰/۸۴a	۰/۷۹a	۰/۲۲a	۱/۸۴a	۰/۲۴b	۳۸/۸c	۵/۷ab	۸/۱b
۱۰۰	۳۸/۸b	۰/۴۷b	۰/۴۰b	۰/۱۱b	۰/۹۹b	۰/۳۹b	۶۳/۲b	۷/۳a	۸/۷b
۱۵۰	۶۸a	۰/۳۳b	۰/۳۵b	۰/۰۹b	۰/۷۷b	۲/۲۰a	۷۹a	۶/۲ab	۱۰/۷a
آسکوربات (mgl^{-1})									
۰ (شاهد)	۴۵/۱a	۰/۵۰b	۰/۳۹b	۰/۱۲c	۱/۰۳c	۰/۵۶a	۳۸/۷b	۲/۹c	۷/۲b
۱۰۰	۲۹/۴b	۰/۵۶b	۰/۶۷a	۰/۱۶b	۱/۴۰b	۰/۵۴a	۶۱/۵a	۶/۷b	۸/۷b
۲۰۰	۳۰/۱b	۰/۷۷a	۰/۷۲a	۰/۲۰a	۱/۷۰a	۰/۹۱a	۶۲a	۸/۹a	۱۰a

۱- EL، CHLa، CHLb، X+C، CHL t، PRO.، CAR. T، A.A و PHE. به ترتیب نشانگر نشت یونی، کلروفیل a، کلروفیل b، کاروتنوییدها، کلروفیل کل، پرولین، کربوهیدرات کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنولیک است.

۲- میانگین‌هایی که در هر ستون و برای هر عامل، مشترک می‌باشند، بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن ($p<0/5$)، معنی‌دار نیستند.



شکل ۲- اثر آسکوربیک اسید بر محتوای کلروفیل مرزنجوش تحت سطوح مختلف شوری

پرولین

اثر شوری بر محتوای پرولین برگ مرزنجوش در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بوده است (جدول ۱). بر این اساس به تدریج و با افزایش غلظت نمک در محیط ریشه گیاه، محتوای پرولین برگ‌ها افزایش یافت، به گونه‌ای که بیشترین مقادیر آن با میانگین ۲/۲۰ میلی مول بر گرم، در بالاترین سطح شوری به دست آمد (جدول ۲).

پرولین به عنوان یک ماده محافظت کننده غیر سمی، جهت تنظیم اسمزی در شرایط شوری و سایر تنش‌های محیطی مطرح است (Cayley et al., 1992). از سوی دیگر پرولین تجمع یافته در گیاهان، باعث افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد هیدروکسیل می‌گردد (Smirnoff & Cumbes, 1989). در این تحقیق نیز چنانکه گفته شد

محتوای پرولین برگ گیاه مرزنجوش در اثر اعمال تنش شوری به شدت افزایش یافت. لذا به نظر می‌رسد تجمع اسید آمینه پرولین در گیاه مرزنجوش می‌تواند به عنوان سازوکاری مؤثر جهت کاهش فعالیت رادیکال‌های آزاد اکسیژن و حفظ محتوای آب سلولی گیاه، تحت شرایط شوری مطرح باشد. همچنین نتایج این آزمایش نشان داد که کاربرد AsA بر مقادیر این صفت تأثیر معنی‌داری ندارد. هر چند که Emam & Helal (2008) گزارش کردند که اعمال سطوح متفاوت از آسکوربیک اسید باعث افزایش غلظت اسید آمینه پرولین در کتان خواهد شد.

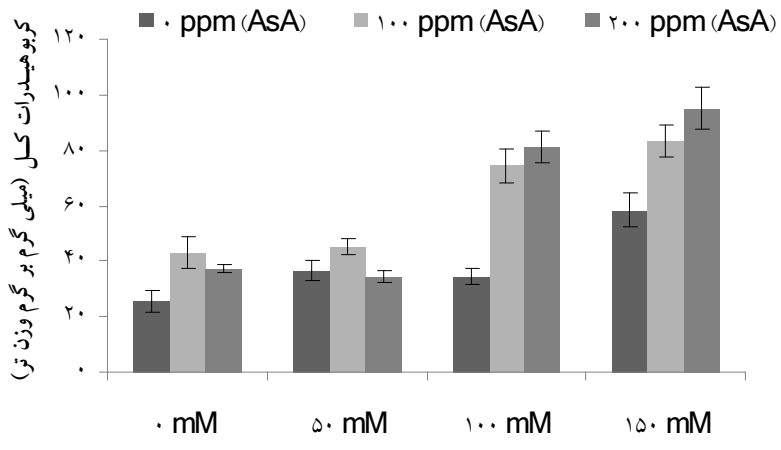
کربوهیدرات کل

محتوای کربوهیدرات کل اندازه گیری شده دراین آزمایش، با افزایش غلظت AsA در سطوح مختلف شوری افزایش یافت. به گونه‌ای که کاربرد ppm ۲۰۰ آسکوربیک اسید تحت شوری mM ۱۵۰ نمک، محتوای کربوهیدرات کل را در مقایسه با گیاهانی که آسکوربیک اسید دریافت نکرده بودند، ۶۲ درصد افزایش داد (شکل۳). تنش شوری در این آزمایش، خود به تنهایی نیز سبب افزایش مقادیر این صفت شد. غلظت بالای نمک (۱۵۰ mM)، محتوای کربوهیدرات کل را به بیش از ۲ برابر شاهد رساند (جدول ۲).

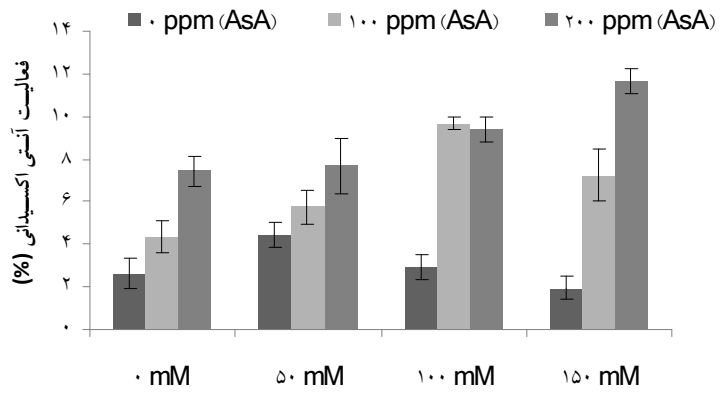
Parida et al. (2002) عنوان کردند که اصولاً کربوهیدرات کل شامل قندها (گلوکز، فروکتوز، ساکاروز) و نشاسته تحت شرایط شوری افزایش می‌یابند. مهمترین نقش کربوهیدرات‌ها تحت شرایط تنش شوری شامل تنظیم و تعادل اسمزی، ذخیره مواد کربنی و خنثی کردن رادیکال‌های آزاد است (Parida & Das, 2005). در این زمینه Cram (1976)، بیش از ۵۰٪ پتانسیل اسمزی حاصل در اثر شوری در گیاهان را ناشی از مواد قندی دانست. لذا چنین به نظر می‌رسد که تحت شرایط شوری، سنتز بیشتر قندهای محلول می‌تواند راهکاری جهت کاهش پتانسیل آب سلولی و در نتیجه حفظ محتوای آب در گیاه مرزنجوش باشد. از سوی دیگر و براساس نتایج حاصل از این تحقیق چنانکه مشخص است با افزایش سطوح AsA نیز بر مقادیر کربوهیدرات کل گیاه مرزنجوش افزوده شد. لذا احتمالاً کاربرد برون‌زای AsA می‌تواند با تحریک بیشتر سنتز کربوهیدرات کل در گیاه، تحمل به شوری را افزایش دهد (Sheteawi, 2007).

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی

نتایج نشان داد که همزمان با کاربرد AsA و شوری، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه مرزنجوش نیز افزایش می‌یابد. بر این اساس بیشترین مقادیر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی با میانگین ۱۱/۶٪ و با بیش از ۴ برابر افزایش نسبت به شاهد در بالاترین سطح آسکوربیک اسید و شدیدترین تیمار شوری (AsA: 200ppm و NaCl: 150 mM) به دست آمد (شکل ۴).



شکل ۳- اثر آسکوربیک اسید بر کربوهیدرات کل در برگ گیاه مرزنجوش، تحت سطوح مختلف شوری



شکل ۴- اثر آسکوربیک اسید بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه مرزنجوش تحت سطوح مختلف شوری

در بسیاری از گیاهان جهت کاهش اثرات مخرب رادیکال‌های آزاد ناشی از تنش شوری، سیستم آنتی‌اکسیدانی فعال می‌گردد و به این ترتیب مطابق با نتایج حاصل از پژوهش حاضر، با افزایش غلظت نمک NaCl در محیط، فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه نیز افزایش می‌یابد (Younis et al., 2010; Athar et al., 2008; Noctor & Foyer, 1998). از سوی دیگر مشخص شده است که همزمان با کاربرد برون‌زای AsA در گیاهانی که تحت شرایط شوری قرار داشتند، فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه نیز افزایش می‌یابد (Younis et al., 2010; Athar et al., 2008). هر آنچه میزان ترکیبات و یا آنزیم‌های مؤثر در فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گیاه بالاتر باشد، توانایی گیاه جهت خنثی‌سازی اثرات مخرب رادیکال‌های آزاد اکسیژن در پراکسیده کردن لیپیدها، پروتیین‌ها و حتی اسیدهای نوکلئیک و نهایتا تحمل به شوری نیز بیشتر است (Emam & Helal, 2008). بر این اساس به نظر می رسد نه تنها گیاه مرزنجوش می تواند تحت شرایط شوری، فعالیت آنتی‌اکسیدانی خود را به عنوان یک مکانیسم دفاعی افزایش دهد بلکه محلول پاشی آسکوربیک اسید نیز به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی باعث افزایش بیش از پیش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در گیاه مرزنجوش گردید.

ترکیبات فنولیک

در مطالعه حاضر مقدار ترکیبات فنولیک موجود در برگ گیاه مرزنجوش در سطوح مختلف AsA و همچنین غلظت‌های مختلف شوری، تفاوت معنی‌داری نشان داد (جدول۱). به این ترتیب کاربرد AsA در غلظت ۲۰۰ppm سبب افزایش ۳۹ درصدی ترکیبات فنولیک در مقایسه با گیاهانی شد که هیچ‌گونه آسکوربیک اسیدی را دریافت نکرده بودند. از سوی دیگر شدیدترین تیمار شوری (۱۵۰ mM) نیز با میانگین ۱۰/۷ میلی گرم گالیک اسید بر گرم بالاترین مقادیر این صفت را در بین سطوح شوری به خود اختصاص داد (جدول ۲).

مطابق با نتایج مطالعه حاضر، افزایش در مقدار ترکیبات فنولیک در بافت‌های متفاوتی از خیار (*Cucumis sativus* L.) تحت تنش شوری گزارش شده است (Tiwari et al., 2010). احتمالاً افزایش ترکیبات فنولیک در گیاه مرزنجوش می‌تواند به علت نقش آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات در شرایط شوری و خنثی‌سازی گروه‌های آزاد اکسیژن رخ داده باشد. از طرف دیگر تیمار AsA نیز در این آزمایش، محتوای فنولیک برگ گیاه مرزنجوش را افزایش داد. در واقع این افزایش ممکن است یک جنبه از نقش AsA در کاهش اثرات سطوح شوری باشد (Emam & Helal, 2008). از سوی دیگر ساختار شیمیایی ایده‌آل ترکیبات فنولیک، آنها را جهت خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه توانا می‌سازد (Gaballah et al., 2006). هرچند بر خلاف نتایج حاصل از این آزمایش Emam & Helal (2008) با مطالعه اثرات شوری بر گیاهچه‌های کتان نتیجه گرفتند که همزمان با افزایش شوری به سطح ۳۰۰ mM، محتوای ترکیبات فنولیک کل گیاه ۶۹ درصد در مقایسه با شاهد کاهش پیدا می‌کند. آنها این مسئله را به مصرف ترکیبات فنولیک به

عنوان سوبسترا جهت سنتز آنزیم پلی‌فنل اکسیداز (POD) مربوط دانستند.

نتیجه‌گیری کلی

در مجموع، نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که تنش شوری اثرات مخرب خود را از طریق کاهش مقدار رنگدانه‌های گیاهی و یا افزایش شدید نشت الکترولیتی بروز می‌دهد. بنابراین سایر تغییرات متابولیک گیاه نظیر افزایش کربوهیدرات‌های کل، ترکیبات فنولیک، اسید آمینه پرولین و حتی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه به عنوان پاسخی موقتی 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 برون‌زای AsA می‌تواند حتی در سطوح شوری بالا نیز با حفظ مکانیسم‌های مذکور، به بقای بیشتر گیاه منجر گردد.

REFERENCES

1. Abe, N., Murata, T. & Hirota, A. (1998). Novel 1,1-diphenyl-2-picryhy- drazyl- radical scavengers, bisorbicillin and demethyltrichodimerol, from a fungus. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 62, 661-662.
2. Al-Hakimi, A. M. A. & Hamada, A. M. (2001). Counteraction of salinity stress on wheat plants by grain soaking in ascorbic acid, thiamin or sodium salicylate. *Plant Biology*, 44, 253–261.
3. Ali, R. M., Abbas, H. M. & Kamal, R. K. (2007). The effects of treatment with polyamines on dry matter, oil and flavonoid contents in salinity stressed chamomile and sweet marjoram. *Plant, Soil and Environment*, 55, 477–483.
4. Athar, H. R., Khan, A. & Ashraf, M. (2008). Exogenously applied ascorbic acid alleviates salt-induced oxidative stress in wheat. *Environmental and Experimental Botany*, 63, 224-231.
5. Baatour, O., Kaddour, R., Aidi Wannes, W., Lachaa, M. & Marzouk , B. (2010). Salt effects on the growth, mineral nutrition, essential oil yield and composition of marjoram (*Origanum majorana*). *Acta Physiology Plant*, 32, 45-51.
6. Bates, L. S., Waldran, R. P. & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water studies. *Journal of Plant and Soil*, 39, 205–208.
7. 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.
8. Cayley, S., Lewis, B. A. & Record, M. T. (1992). Origins of the osmoprotective properties of betaine and proline in Esherichia coli K-12. *Journal of Bacteriology*, 174, 1586-1595.
9. Cram, W. J. (1976): Negative feedback regulation of transport in cells. The maintenance of turgor, volume and nutrient supply. In: U. Luttge, M.G. Pitman (Ed.): *Encyclopaedia of Plant Physiology*. (pp.224-239) Springer-Verlag, Berlin.
10. Dere, S., Gunes, T. & Sivaci, R. (1998). Spectrophotometric determination of chlorophyll - a, b and total carotenoid contents of some algae species using different solvents. *Journal of Botany*, 22, 13-17.
11. Emam, M. M. & Helal, N. M. (2008). Vitamins Minimize the Salt-Induced Oxidative Stress Hazards. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 2, 1110-1119.
12. F. A. O. (2005). Global network on integrated soil management for sustainable use of salt-affected soils. Rome, Italy: land and plant nutrition management services. Retrieved june 20, 2010, from http://www.fao.org/ag/agl/agll/spush.
13. Gaballah, M. S., Ouda, S. A., Mandour, M. S. & Rady, M. M. (2006). Predicting the role of antioxidants and irrigation sunflower grown under saline condition. In: Proceedings of *(515) Environmentally sound Technology in water Resources Management*, 11-13 Sep., Gaborone, Southern Africa, pp. 43-47.
14. Hedge, J. E. & Hofreiter, B. T. (1962). In: R. L. Whistler & B. Miller (Ed.), *Carbohydrate Chemistry*. (pp.17-22.) Academic Press, New York.
15. Karima, H. & Salama A. (2009). Amelioration of NaCl-induced alterations on the plasma membrane of *Allium cepa* L. by Ascorbic Acid. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 3, 990-994.
16. Kaya, C., Higgs, D., Ince, F., Amador, B. M., Cakir, A. & Sakar, E. (2003). Ameliorative effects of potassium phosphate on salt stressed pepper and cucumber. *Journal of Plant Nutrition*, 26, 807–820.
17. Khan, M. H. & Panda, S. K. (2002). Induction of oxidative stress in roots of *Oryza sativa* L. in response to salt stress. *Biology of Plants*, 45, 525-527.
18. Khan, M. A., Ahmad, M. Z. & Hameed, A. (2006). Effect of sea salt and L-ascorbic acid on the seed germination of halophytes. *Journal of Arid Environments*, 67, 535–540.
19. Marcum, K. B. (1998). Cell membrane theromotability and whole-plant heat tolerance of Kentucky bluegrass. *Crop Science*, 38, 1214-1218.

20. Mombeini, T., Mombeini, M. & Aghayi, M. (2007). Evaluation of pharmacological effects of *Origanum* genus. *Journal of Medicinal Plants*, 29, 18-35. (In Farsi).
21. Noctor, G. & Foyer, C. H. (1998). Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 49, 249–279.
22. Parida, A., Das, A. B. & Das, P. (2002). NaCl stress causes changes in photosynthetic pigments, proteins and other metabolic components in the leaves of a true mangrove, *Bruguiera parviflora*, in hydroponic cultures. *Journal of Plant Biology*, 45, 28–36.
23. Parida, A. & Das, A. B. (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60, 324-349.
24. Said-Al Ahl, H. A. H. & Hussein, M. S. (2010). Effect of water stress and potassium humate on the productivity of oregano plant using saline and fresh water irrigation. *Ozean Journal of Applied Sciences*, 3, 125-141.
25. Sajid, Z. A. & Aftab, F. (2009). Amelioration of salinity tolerance in *Solanum tuberosum* L. by exogenous application of ascorbic acid. *In Vitro Cellular & Developmental Biology*, 45, 540–549.
26. Shalata, A. & Neumann, P. M. (2001). Exogenous ascorbic acid (vitamin C) increases resistance to salt stress and reduces lipid peroxidation. *Journal of Experimental Botany*, 52, 2207–2211.
27. 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, 473-478.
28. Singleton, U. L. & Rossi, J. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-posphotungustic acid reagent. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158.
29. Smirnoff, N. (2005). Ascorbate, tocopherol and carotenoids: metabolism, path-way engineering and functions. In: Smirnoff, N. (Ed), *Antioxidants and reactive oxygen species in plants*. (pp. 53–86.) Blackwell Publishing Ltd., Oxford, UK.
30. Smirnoff, N. & Cumbes, Q. J. (1989). Hydroxyl radical scavenging of compatible solutues. *Phytochemistry*, 28, 1057-1060.
31. Tiwari, J. K., Munshi, A. D., Kumar, R., Pandey, R. N., Arora, A., Bhat, J. S. & 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. Younis, M. E., Hasaneen, M. N. A. & Kazamel, A. M. S. (2010). Exogenously applied ascorbic acid ameliorates detrimental effects of NaCl and mannitol stress in *Vicia faba* seedlings. *Protoplasma*, 239, 39–48.
33. Zhang, S., Weng, J., Pan, J., Tu, T., Yao, S. & Xu, C. (2003). Study on the photogeneration of superoxide radicals in Photosystem II with EPR spin trapping techniques. *Photosynthesis Research*, 75, 41–48.