پاسخ‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه نخود زراعی (*Cicer arietinum* L.) به آسکوربیک اسید در تنش شوری

مهدی چنارانی ، اکبر صفی پور افشار *، فاطمه سعید نعمت پور

گروه زیست‌شناسی، واحد نیشابور، دانشگاه آزاد اسلامی، نیشابور، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۱/۲۹

تاریخ پذیرش: ۱۳۹٤/۵/۲۳

چکیده

شوری یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی است که تولید محصولات زراعی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. شوری از طریق اعمال تنش اکسیداتیو به ساختارهای سلولی آسیب می‌رساند و آنتی‌اکسیدان‌ها با حذف رادیکال‌های آزاد، تحمل به این نوع تنش‌ها را افزایش می‌دهند. در این پژوهش اثر تنش شوری و اسپری برگ با آسکوربیک اسید بر پارامترهای رشد، مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی برگ‌ها، میزان فعالیت برخی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، تجمع پرولین و پراکسیداسیون لیپیدی غشای سلولی گیاه نخود زراعی (*Cicer arietinum* L.) مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش در شرایط گلخانه‌ای، به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار انجام شد. تنش شوری با استفاده از محلول NaCl با غلظت‌های صفر، ۵۰، ۱۰۰ میلی مولار و اسپری برگ با آسکوربیک اسید با غلظت‌های صفر، ۳ و ٦ میلی مولار در مرحله ۳ تا ۵ برگی اعمال گردید. در گیاهانی که تنها در معرض کلرید سدیم قرار داشتند، در مقایسه با گیاهان شاهد، با افزایش شوری، پارامترهای رشد و مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی کاهش یافت اما میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز، میزان پرولین و پراکسیداسیون لیپیدها افزایش یافت. در حالی‌که گیاهانی که در معرض همزمان کلریدسدیم و آسکوربیک اسید قرار داشتند در مقایسه با گیاهانی که تنها در معرض تنش شوری بودند، در غلظت‌های یکسان نمک، پارامترهای رشد و میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی افزایش نشان داد اما پراکسیداسیون لیپیدها، میزان فعالیت‌های آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز و پرولین کاهش یافت. این نتایج نشان داد که اسپری آسکوربیک اسید (به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان) سبب افزایش تحمل به تنش شوری و کاهش اثرات مضر کلرید سدیم در گیاه نخود شده است.

واژگان کلیدی: کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداسیون لیپیدها، پرولین

* نویسنده مسئول، آدرس پست الکترونیکی: **asafshar@iau-neyshabur.ac.ir**

[Downloaded from ijppb.lu.ac.ir on 2024-04-29]

مقدمه

حبوبات به‌دلیل توانایی تثبیت بیولوژیک نیتروژن و میزان پروتئین بالا (تقریباً دو برابر غلات) در کشاورزی و تغذیه بشر اهمیت قابل‌توجهی دارند. در بین حبوبات، نخود یکی از مهم‌ترین آن‌هاست که از نظر سطح زیر کشت با داشتن متجاوز از ۱۰ میلیون هکتار سطح زیر کشت جهانی، پس از لوبیای معمولی رتبه دوم و از نظر میزان تولید دانه پس از لوبیا و نخودفرنگی رتبه سوم را به خود اختصاص داده است (Millan *et al.*, 2006). در کشور ما نیز نخود نسبت به سایر حبوبات از سطح زیر کشت، تولید و اهمیت بیشتری برخوردار است؛ اما عملکرد آن به‌دلیل عدم اتخاذ روش‌های مناسب تولید و حساسیت ارقام موجود به تنش‌های زیستی و غیرزیستی پایین می‌باشد. کاهش عملکرد نخود تحت تأثیر شرایط نامطلوب محیطی، حدود ۲۵ درصد برآورد شده است (Boyer, 1982)، مهم‌ترین این شرایط تأثیرگذار، تنش‌های غیرزیستی مانند شوری، خشکی و یخ زدگی می‌باشد.

تنش شوری عاملی است که به‌طور جدی تولید محصولات زراعی را در مناطق مختلف از جمله مناطق خشک و نیمه‌خشک محدود می‌کند. پاسخ گیاه به تنش شوری متفاوت است و به‌میزان سمیت و پتانسیل اسمزی نمک و مدت‌زمان تنش بستگی دارد (Comba *et al.*, 1998). تنش شوری مانند دیگر تنش‌های محیطی باعث تجمع گونه‌های فعال اکسیژن در سلول و آسیب‌رسانی به لیپیدهای غشاء، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌شود (Becana *et al.*, 1998). در سلول‌های گیاهی اندامک‌هایی مانند کلروپلاست، میتوکندری و پراکسیزوم‌ها تولید کننده اصلی رادیکال‌های آزاد اکسیژن در طی فرایند فتوسنتز و تنفس می‌باشند (Allu *et al.*, 2014). گیاهان سازوکارهای مختلفی را برای کاهش اثرات مخرب رادیکال‌های آزاد اکسیژن دارند. سیستم سمیت زدایی اکسیژن فعال در تمام گیاهان به دو دسته آنزیمی و غیر آنزیمی تقسیم می‌شود (Ozgur *et al.*, 2014). در پاسخ به افزایش تولید رادیکال‌های آزاد ظرفیت و فعالیت سیستم دفاعی آنزیمی افزایش می‌یابد. اولین آنزیم پاک‌سازی کننده‌ی گونه‌های فعال اکسیژن آنزیم سوپراکسید دیسموتاز می‌باشد که سبب تبدیل سوپراکسید (O_2^-) به پراکسید هیدروژن (H_2O_2) می‌شود که پراکسید هیدروژن نیز توسط آسکوربات پراکسیداز حذف می‌شود (Gill *et al.*, 2013). همچنین پراکسید هیدروژن توسط آنزیم کاتالاز زدوده می‌شود (Comba, *et al.*, 1998). آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی، مانند آسکوربات، گلوتاتیون، آلفا توکوفرول، فلاونوئیدها و کاروتنوئیدها در غلظت‌های میلی‌مولار در بافت‌های گیاهی وجود دارد (Simova-Stoilova *et al.*, 2008).

آسکوربیک اسید یک آنتی‌اکسیدان کوچک قابل حل در آب است که در سم‌زدایی گونه‌های فعال اکسیژن به‌ویژه پراکسید هیدروژن نقش دارد و به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان ثانویه در بازتولید آلفا توکوفرول و دیگر آنتی‌اکسیدان‌های چربی‌دوست نقش ایفا می‌کند (Noctor and Foyer., 1998). مصرف خارجی آسکوربیک اسید می‌تواند مقاومت به تنش شوری را افزایش و سبب کاهش اثر تنش اکسیداتیو حاصله شود (Shalata and Neumann, 2001). همچنین آسکوربیک اسید در فرایندهای رشد گیاه مانند تقسیم سلولی، گسترش دیواره سلولی بر طبق فرضیه اسیدی شدن نقش دارد (Pignocchi and Foyer., 2003). این آنتی‌اکسیدان همراه با گلوتاتیون و چندین آنزیم آنتی‌اکسیدان در خنثی کردن رادیکال‌های اکسیژن فعال از جمله یون سوپراکسید حاصل از چرخه‌ی مهلر نقش ایفا می‌کند. علاوه بر آن در مسیر آسکوربات ـ گلوتاتیون در پاک‌سازی گونه‌های فعال در کلروپلاست و سیتوزول نقش دارد و به‌عنوان یک ماده‌ی کلیدی عمل می‌کند(Asada, 1999).

تنش شوری علاوه بر تأثیر روی میزان آنزیم‌ها آنتی‌اکسیدان بر میزان پرولین موجود در گیاه تأثیر می‌گذارد. پرولین نقش مهمی را در تحمل به شوری و خشکی گیاه بر عهده دارد (Amini and Ehsanpour, 2005). تنش اکسیداتیو با کاهش پروتئین‌ها، محتوی

[Downloaded from ijppb.lu.ac.ir on 2024-04-29]

کلروفیل و نفوذپذیری غشا منجر به کاهش فتوسنتز و در نتیجه کاهش رشد گیاه می‌شود Tompson, *et al*,. (1987). آسکوربیک اسید به‌دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی خود از تخریب کلروفیل جلوگیری کرده و به‌طور غیرمستقیم سبب افزایش آن می‌شود (Dolatabadian *et al.*, 2009).

با توجه به ارزش غذایی حبوبات به‌خصوص نخود و عوامل مختلف مؤثر در رشد و عملکرد آن ضرورت انجام مطالعه و تحقیق پیرامون مسائل و مشکلات مربوط به آن بیش از پیش احساس می‌شود. این پژوهش با هدف بررسی اثر تنش شوری ناشی از NaCl و نقش حفاظتی آسکوربیک اسید بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از قبیل کاتالاز، سوپر اکسیددیسموتاز و پاسخ‌های مورفولوژیکی ژنوتیپ کاندیدای حساس نخود تیپ کابلی MCC68 انجام شده است.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در آزمایشگاه تحقیقاتی فیزیولوژی گیاهی دانشکده علوم دانشگاه آزاد اسلامی واحد نیشابور انجام شد. بذرهای سالم نخود تهیه شده از پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد با محلول هیپوکلریت 7% ضد عفونی و پس از شستشوی کامل در ۲۷ گلدان پلاستیکی حاوی شن شسته شده و در هر گلدان ۵ بذر کاشته شد و به مدت دو هفته یک روز در میان با محلول غذایی هوگلند آبیاری گردید. آزمایش در شرایط گلخانه‌ای، به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار انجام شد. بعد از گذشت دو هفته (مرحله ۵ ـ ۳ برگی) یک سوم از گلدان‌ها تحت تیمارهای با غلظت صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار کلریدسدیم و دو سوم دیگر تحت تیمارهایی با همان غلظت کلریدسدیم ولی در دو گروه مساوی همراه با یک بار در روز اسپری اسید آسکوربیک با غلظت ۳ و ٦ میلی مولار قرار گرفتند. اسپری اسید آسکوربیک یک هفته قبل از شروع اعمال تنش شوری آغاز شد و همزمان با اعمال شوری و به مدت ۲ هفته دیگر ادامه یافت. گیاهان در شرایط تنظیم شده و در دمای ۲± ۱٦/۲۲ شب و روز و دوره نوری ۸/۱٦ ساعت رشد یافتند. در پایان پس از سه هفته از آغاز تیمار ضمن اندازه‌گیری طول و وزن تر قسمت‌های هوایی و ریشه، برای سنجش وزن خشک تعدادی از گیاهان در آون خشک شدند و سایر نمونه‌های جمع‌آوری شده بلافاصله برای آنالیزهای بیوشیمیایی و سنجش سایر شاخص‌ها به فریزر با دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شدند.

سنجش پارامترهای فیزیولوژیکی و رنگیزه‌های فتوسنتزی:

اندازه‌گیری طول ساقه و ریشه با خط کش میلی‌متری و توزین وزن تر و خشک گیاه با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ انجام شد. برای سنجش میزان رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی از روش Lichtenthaler (۱۹۸۷) استفاده شد. قرائت میزان جذب محلول استخراج شده جهت تعیین میزان کلروفیل‌های a و b و کاروتنوئید توسط اسپکتروفتومتر در طول‌موج ٦٤٧، ٦٦٤ و ٤٧۰ نانومتر انجام شد و میزان کلروفیل‌های a و b و کاروتنوئیدها با استفاده از معادله‌های زیر محاسبه شد. با توجه به حجم عصاره، ضریب رقت و وزن نمونه، غلظت آن‌ها برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر بیان شده است.

$$\text{Chl a} = [12.25\ (A_{644}) - 2.79\ (A_{647})]$$

$$\text{Chl b} = [21.51\ (A_{647}) - 5.10\ (A_{664})]$$

$$Carotenoid = \frac{[1000\ (A_{470}) - 1.8\,Ch\,a - 85.02\,Ch\,b]}{198}$$

سنجش میزان پرولین

به‌منظور سنجش میزان پرولین، از روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) (Bates *et al.*, 1973) استفاده شد. جذب نوری محلول استخراج شده در طول‌موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد و با استفاده از منحنی استاندارد، غلظت پرولین در محلول محاسبه گردید. در نهایت مقدار پرولین بر اساس میکرو مول در گرم وزن تر نمونه گیاهی محاسبه شد.

تهیه عصاره آنزیمی

جهت تهیه عصاره آنزیمی برای تعیین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از روش Sairam و همکاران (۲۰۰۲) استفاده شد. به این منظور ابتدا ۰/۵ گرم از نمونه برگ تازه را که با آب مقطر شسته و خشک شده بود را به کمک هیدروژن

[Downloaded from ijppb.lu.ac.ir on 2024-04-29]

مایع در هاون خوب نرم کرده و ۵ میلی‌لیتر از محلول استخراج، حاوی بافر فسفات پتاسیم ۰/۱ مولار (۷/۵ =pH) و ۰/۵ میلی‌مول EDTA، به آن افزوده و آن را کاملاً سائیده و مخلوط حاصل از تنظیف عبور داده شد. این محلول داخل تیوپ‌های ۱/۵ میلی‌لیتری ریخته شد و به مدت ۱۵ دقیقه به‌وسیله سانتریفیوژ یخچال‌دار با سرعت ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ٤ درجه سانتی‌گراد جداسازی گردید. این عصاره آنزیمی جهت تعیین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدان مورد استفاده قرار گرفت.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز

فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از روش Pereira و همکاران (۲۰۰۲) با بررسی میزان کاهش مقدار H_2O_2 در ۲٤۰ نانومتر سنجیده شد و میزان فعالیت آنزیم در تیمارهای مختلف بر اساس تجزیه یک مول پراکسید هیدروژن در دقیقه به ازای هر گرم وزن تر بیان گردید.

سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با استفاده از روش Beauchamp و Fridovich (۱۹۷۱) سنجیده شد. سنجش فعالیت این آنزیم با استفاده از سنجش مهار احیای نوری نیتروبلوتترازولیوم (NBT) در طول‌موج ٥٦۰ نانومتر انجام گرفت. یک واحد فعالیت سوپراکسید دیسموتاز به‌عنوان مقدار آنزیمی در نظر گرفته شد که منجر به مهار ۵۰ درصد احیای نوری نیتروبلوتترازولیوم گردید.

پراکسیداسیون لیپیدها

سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء با استفاده از روش Heath و Packer (۱۹٦۸) بر اساس تشکیل کمپلکس مالون دی آلدئید حاصل از پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء با اسید تیوباربیتوریک (TBT) انجام شد. به این منظور ۰/۵ گرم بافت تر برگ با ۵ میلی‌لیتر اسید تری کلرواستیک اسید ۰/۱ درصد در هاون چینی به‌خوبی سائیده شد. همگن حاصل به مدت ۵ دقیقه و در ۱۵۰۰۰ دور سانتریفیوژ گردید. سپس ۱ میلی‌لیتر از محلول شفاف رویی را با ۳ میلی‌لیتر از محلول‌تری کلرواستیک اسید ۲۰ درصد که حاوی تیوباربیتوریک ۰/۵ درصد بود، مخلوط شد. محلول حاصله به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم ۹۰ درجه قرار گرفت و بعد از اتمام این مدت به‌منظور انکوبه شدن به یخ منتقل شد، سپس به مدت ۵ دقیقه در دور ۱۵۰۰۰ در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد میزان مالون دی آلدئید با اندازه‌گیری جذب در طول‌موج ۵۳۲ و سایر ترکیبات در طول‌موج ٦۰۰ نانومتر سنجش شد. پس از کسر میزان جذب در ٦۰۰ نانومتر از میزان جذب در ۵۳۲ نانومتر با استفاده از رابطه $A=\varepsilon bc$ غلظت مالون دی آلدئید محاسبه شد. در معادله فوق A جذب نمونه مورد نظر ε ضریب خاموشی $1.55\ Mcm^{-1}$ است و c غلظت مالون دی آلدئید بر حسب µmol/gFW می‌باشد.

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه واریانس داده‌ها بر اساس طرح آزمایشی که به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی بود، با استفاده از نرم‌افزار SAS و Statistix انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با روش حداقل اختلاف معنی‌دار LSD انجام گرفت و رسم نمودارها با استفاده از Excel صورت گرفت.

نتایج

تغییرات طول، وزن تر و خشک ساقه و ریشه:

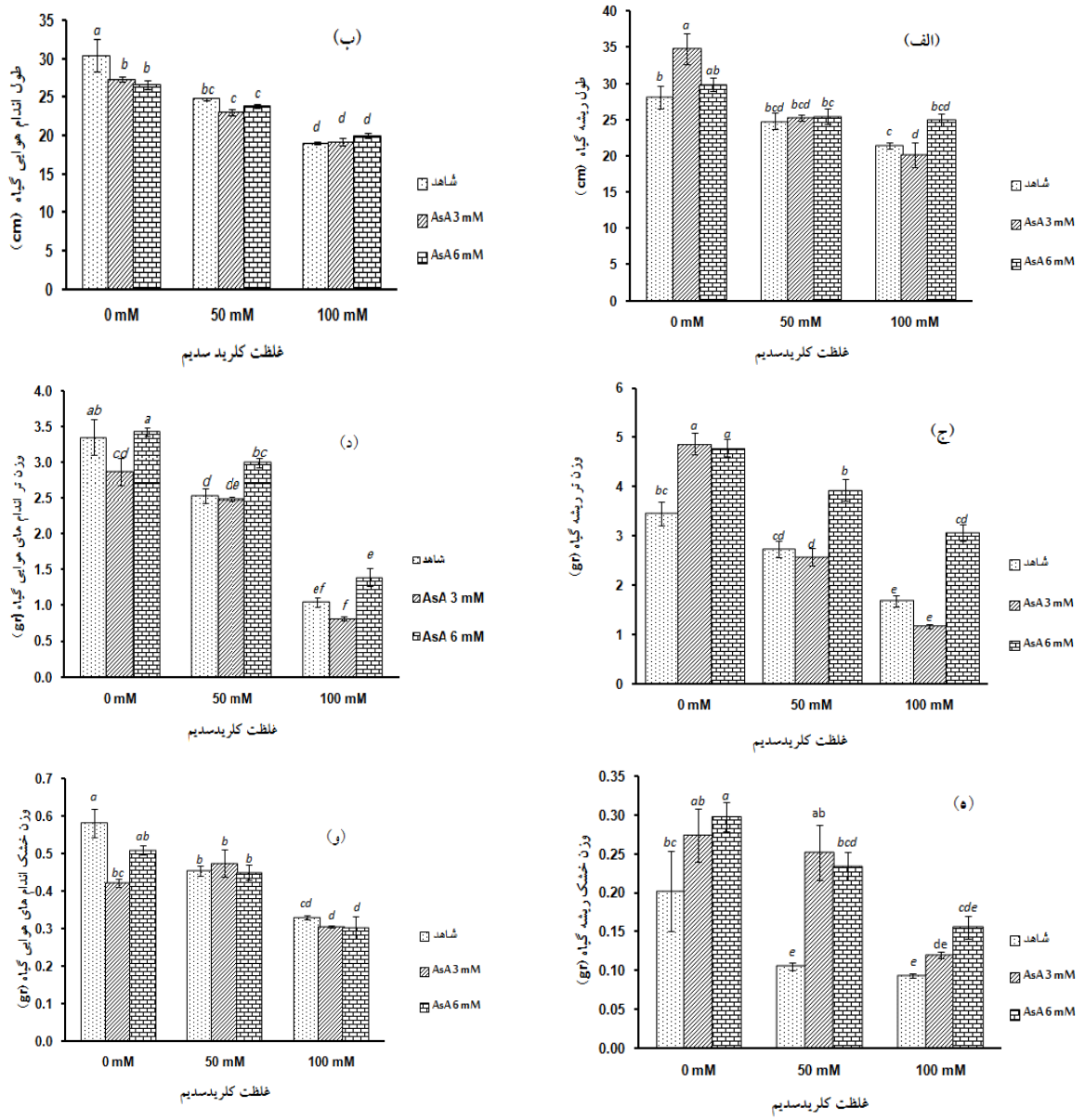
مقایسه میانگین اثر کلرید سدیم به‌تنهایی نشانگر آن است که با افزایش غلظت کلریدسدیم، کاهش طول ساقه و ریشه گیاه، وزن تر و خشک ریشه و ساقه نسبت به شاهد مشاهده می‌شود. به‌طوری که بیشترین میزان در تیمار شاهد و کمترین آن در تیمار ۱۰۰ میلی‌مولار کلریدسدیم، مشاهده شد (جدول ۱).

مقایسه میانگین اثر متقابل سطوح مختلف شوری و آسکوربیک اسید بیانگر آن است که در غلظت‌های یکسان کلرید سدیم، کاهش طول اندام‌های هوایی و ریشه، وزن تر و خشک ساقه و ریشه در تیمارهایی که تحت اسپری آسکوربیک اسید قرارگرفته بودند در مقایسه با گیاهانی که فقط تحت تنش شوری بودند، کمتر بود (شکل۱). به‌طور مثال بیشترین اندازه طول ساقه مربوط به تیمار صفر نمک و صفر آسکوربیک اسید و کمترین اندازه طول ساقه

[Downloaded from ijppb.lu.ac.ir on 2024-04-29]

جدول ۱- مقایسه میانگین اثر شوری بر شاخص‌های رشد در گیاه نخود. مقادیر میانگین ۳ تکرار می‌باشد و حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح P<0.05 بین تیمارهاست و ± انحراف میانگین را نشان می‌دهد

تیمار شوری	طول اندام(سانتی‌متر)		وزن تر (گرم)		وزن خشک (گرم)	
(NaCl)	بخش هوایی	ریشه	بخش هوایی	ریشه	بخش هوایی	ریشه
شاهد	28.11 ^{a} ±2.13	30.93 ^{a} ±1.53	3.21 ^{a} ±0.252	4.37 ^{a} ±0.246	0.258 ^{a} ±0.038	0.505 ^{a} ±0.052
50 میلی‌مولار	23.83 ^{b} ±0.27	25.17 ^{b} ±1.81	2.66 ^{b} ±0.153	3.08 ^{b} ±0.267	0.197 ^{b} ±0.02	0.460 ^{a} ±0.007
100 میلی‌مولار	19.35 ^{c} ±0.34	22.18 ^{c} ±0.15	1.09 ^{c} ±0.126	1.98 ^{c} ±0.222	0.123 ^{c} ±0.011	0.313 ^{b} ±0.006



شکل ۱ـ مقایسه میانگین اثر متقابل شوری و آسکوربیک اسید بر طول ریشه (الف)، طول اندام‌های هوایی (ب)، وزن تر ریشه(ج)، وزن تر اندام‌های هوایی (د)، وزن خشک ریشه (ه) و وزن خشک اندام‌های هوایی (و) در گیاه نخود ۲۸ روزه. مقادیر میانگین ۳ تکرار می‌باشد و حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح P<0.05 بین تیمارهاست

[Downloaded from ijppb.lu.ac.ir on 2024-04-29]

مربوط به تیمار نمک ۱۰۰ میلی مولار و آسکوربیک اسید سطح صفر می‌باشد؛ اما این کاهش به‌جز در رابطه با وزن تر ریشه معنی‌دار نبوده است.

تغییرات میزان رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی:

با افزایش غلظت کلریدسدیم میزان کلروفیل a، b و کل کلروفیل و کاروتنوئیدها کاهش یافته است (جدول۲). مقایسه میانگین‌ها نشان می‌دهد سطوح مختلف تیمار شوری و آسکوربیک اسید بر روی میزان کلروفیل a و کلروفیل کل در سطح ۰/۰۱ و بر میزان کلروفیل b در سطح ۵٪ تأثیر معنی‌داری داشته ولی این افزایش در رابطه با کاروتنوئیدها معنی‌دار نبوده است (شکل ۲).

تغییرات میزان پرولین:

سطوح مختلف شوری اثر معنی‌داری در سطح ۰/۰۱ بر میزان پرولین داشته است و باعث افزایش میزان پرولین شده است (جدول ۳) ولی آسکوربیک اسید و تأثیر متقابل این دو تیمار روی این صفت اثر معنی‌داری نداشته است. مقایسه میانگین‌ها نشان می‌دهد که آسکوربیک اسید نیز اثر افزایشی روی پرولین داشته ولی این افزایش معنی‌دار نبوده است. به‌طوری که کمترین میزان پرولین در تیمار شاهد نمک و آسکوربیک اسید و بیشترین میزان در تیمار ۱۰۰ میلی مولار نمک و آسکوربیک اسید ۳ میلی مولار مشاهده شد (شکل۳).

تغییرات میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان:

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که سطوح مختلف شوری اثر معنی‌داری بر میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز (SOD) داشته است. این امر بیانگر آن است که سطوح مختلف شوری اثر افزایشی روی میزان فعالیت این دو آنزیم داشته است (جدول ۳).

مقایسه میانگین اثر متقابل سطح شوری و آسکوربیک - اسید نشان می‌دهد که آسکوربیک اسید اثر کاهشی روی فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز داشته ولی این کاهش معنی‌دار نبوده است (شکل ۳).

تغییرات میزان مالون دی آلدئید:

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که میزان مالون دی آلدئید در سطح آماری ۰/۰۱ تحت تأثیر شوری قرار گرفته است. این امر بیانگر آن است که سطوح مختلف شوری اثر افزایشی روی میزان مالون دی آلدئید داشته است (جدول ۳). همچنین اثر آسکوربیک اسید و تأثیر متقابل این دو تیمار روی این صفت نیز در سطح یک درصد معنی‌دار بوده است.

مقایسه میانگین اثر متقابل سطح شوری و آسکوربیک اسید نشان می‌دهد که آسکوربیک اسید اثر کاهشی روی میزان مالون دی آلدئید داشته است (شکل ۳).

بحث و نتیجه‌گیری

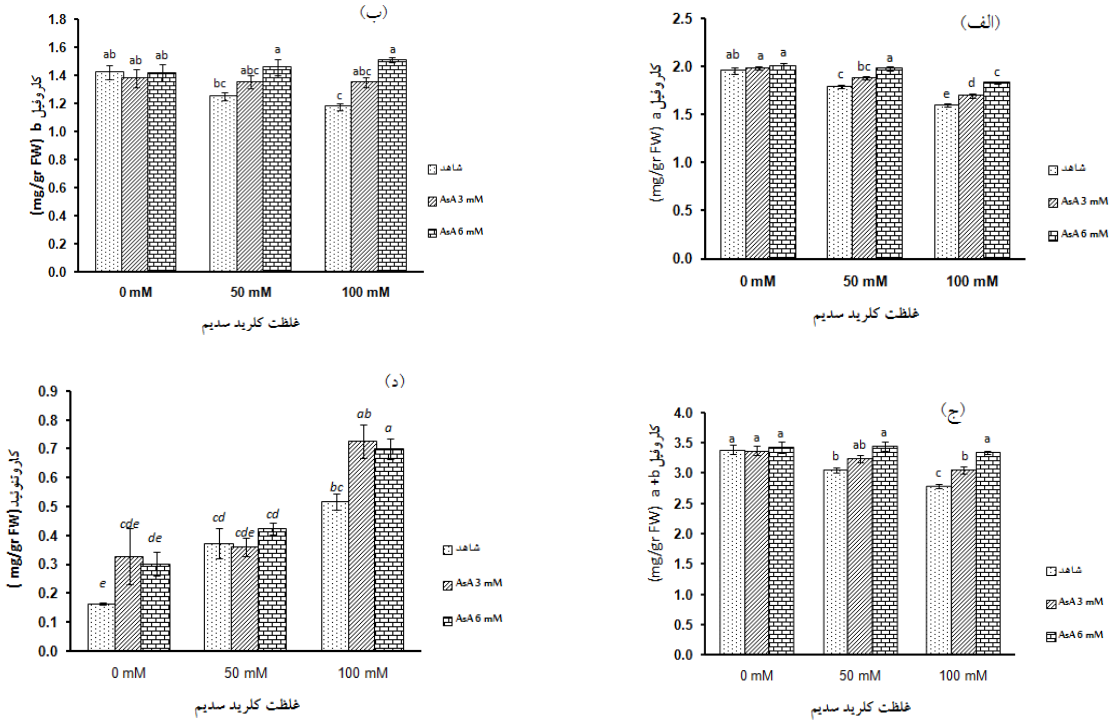
کاهش رشد تحت شرایط تنش شوری را می‌توان به کاهش میزان فتوسنتز ناشی از تأثیر شوری بر مکانیسم‌های شیمیایی و غیر شیمیایی (Munns and Tester, 2008) و صرف قسمتی از فتواسمیلات‌ها جهت ایجاد تعادل اسمزی و کاهش اثرات سمی نمک‌ها نسبت داد. یکی از تغییرات بیوشیمیایی که در تنش‌های محیطی از جمله تنش شوری رخ می‌دهد، تولید انواع گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) می‌باشد (Garratt *et al.*, 2002). تنش اکسیداتیو در سطح کل گیاه نیز توقف رشد طولی ریشه و ساقه و کاهش ماده سازی را به‌دنبال خواهد داشت (Ruley *et al.*, 2004). استرس شوری باعث برهم خوردن موازنه‌ی آب آپوپلاستی و سیمپلاستی می‌شود و نهایتاً باعث کاهش تورژسانس سلولی می‌گردد. گیاه برای برقراری مجدد موازنه آب اقدام به ساخت ترکیبات و محافظت‌کننده‌های اسمزی می‌نماید. در صورت از دست رفتن میزان زیاد آب، رشد گیاه به‌شدت تحت تأثیر قرار خواهد گرفت (Bohnert *et al.*, 1995).

نتایج این پژوهش نشان می‌دهد گیاهانی که تحت اسپری اسید آسکوربیک واقع‌شده بودند کاهش رشد آن‌ها نسبت به گیاهانی که تنها در معرض تنش شوری قرار داشتند کمتر بود به‌عبارت دیگر آسکوربیک اسید اثر جبران‌کنندگی بر رشد ساقه و ریشه داشته است.

[Downloaded from ijppb.lu.ac.ir on 2024-04-29]

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر شوری بر رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی در گیاه نخود. مقادیر میانگین ۳ تکرار می‌باشد و حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح P<0.05 بین تیمارهاست و ± انحراف میانگین را نشان می‌دهد

تیمار شوری (NaCl)	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کاروتنوئیدها
	(میلی‌گرم بر گرم وزن تر)			
شاهد	1.983 [a] ±0.031	1.409 [a] ±0.050	3.931 [a] ±0.077	0.641 [a] ±0.008
50 میلی‌مولار	1.885 [b] ±0.027	1.355 [b] ±0.49	3.240 [b] ±0.058	0.385 [b] ±0.018
100 میلی‌مولار	1.71 [c] ±0.042	1.348 [c] ±0.054	3.057 [c] ±0.063	0.264 [c] ±0.031

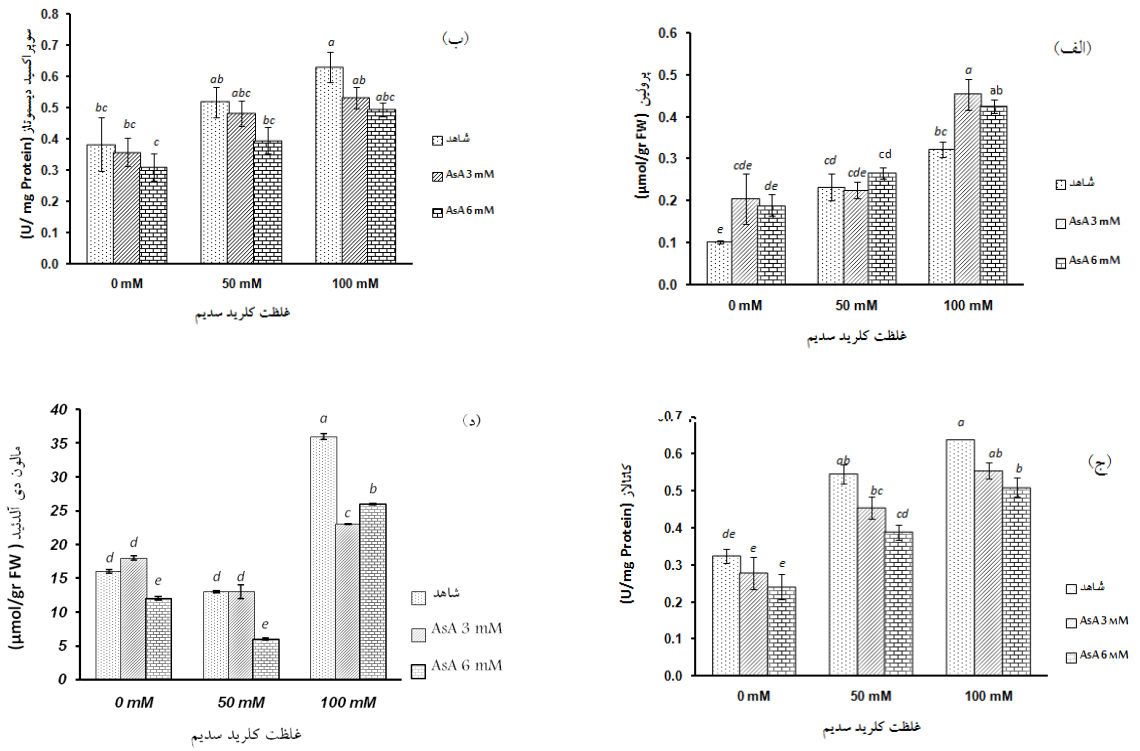


شکل ۲ـ مقایسه میانگین اثر متقابل شوری و آسکوربیک اسید بر میزان کلروفیلa (الف) کلروفیلb (ب) کلروفیل کل (ج) و کاروتنوئیدها (د) در گیاه نخود ۲۸ روزه. مقادیر میانگین ۳ تکرار می‌باشد و حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح P<0.05 بین تیمارهاست

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر شوری بر میزان پرولین، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و مالون دی آلدئید در گیاه نخود. مقادیر میانگین ۳ تکرار می‌باشد و حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح P<0.05 بین تیمارهاست و ± انحراف میانگین را نشان می‌دهد

تیمار شوری (NaCl)	پرولین	کاتالاز	سوپراکسید دیسموتاز	مالون دی آلدئید
	میلی‌گرم بر گرم وزن تر	واحد بر میلی‌گرم پروتئین		میکرومول بر گرم وزن تر
شاهد	0.165 [a] ±0.003	0.281 [c] ±0.018	0.350 [b] ±0.087	0.0142 [c] ±0.0003
50 میلی مولار	0.284 [c] ±0.051	0.463 [b] ±0.040	0.463 [ab] ±0.077	0.0151 [b] ±0.0003
100 میلی مولار	0.40 [c] ±0.036	0.568 [a] ±0.054	0.551 [a] ±0.098	0.0207 [a] ±0.001

[Downloaded from ijppb.lu.ac.ir on 2024-04-29]



شکل ۳ـ مقایسه میانگین اثر متقابل شوری و آسکوربیک اسید بر میزان پرولین (الف) سوپراکسید دیسموتاز (ب) کاتالاز (ج) و مالون دی آلدئید (د) در گیاه نخود ۲۸ روزه. مقادیر میانگین ۳ تکرار می‌باشد و حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P<0.05$ بین تیمارهاست.

نتایج این پژوهش نشان می‌دهد گیاهانی که تحت اسپری اسید آسکوربیک واقع‌شده بودند کاهش رشد آن‌ها نسبت به گیاهانی که تنها در معرض تنش شوری قرار داشتند کمتر بود به‌عبارت دیگر آسکوربیک اسید اثر جبران‌کنندگی بر رشد ساقه و ریشه داشته است.

آسکوربات کوفاکتور برای بیوسنتز فیتو هورمون‌ها مختلف از جمله اتیلن، ژیبرلین‌های (GA) و آبسزیک اسید (ABA) می‌باشد (Taqi *et al.*, 2011). آسکوربات درون زا بیوسنتز فیتوهورمون‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Taqi *et al.*, 2011). همچنین به‌عنوان میانجی‌گر در مسیر انتقال سیگنال با فیتو هورمون‌ها عمل می‌کند و می‌تواند در برگ‌ها رشد گیاه را از طریق تعامل با فیتوهورمون‌ها تنظیم نماید (Pastori *et al.*, 2003).

آسکوربیک اسید خارجی به‌عنوان یک عامل مهم در تنظیم بیوسنتز و علامت‌دهی هورمون‌های گیاهی در سطح بافت، می‌تواند تأثیر حیاتی در تنظیم فرآیندهای رشد داشته باشد (Taqi *et al.*, 2011). آسکوربات در تنظیم چرخه سلولی و در عبور از G1 به مرحله S چرخه سلولی مؤثر است (Smirnoff, 1996). همچنین در دیواره سلولی می‌تواند بر اتصال عرضی پروتئین و پلی‌ساکارید دیواره سلولی، تأثیر گذاشته و منجر به شل شدن دیواره سلولی شود (Padh, 1990). علاوه بر این، آسکوربات یک کوفاکتور برای پرولیل هیدروکسیلاز می‌باشد که با انتقال باقی‌مانده‌های هیدروکسی پرولین به دیواره سلولی در تقسیم سلولی و توسعه دیواره بسیار مؤثر است (Padh, 1990). Rosales و همکاران (۲۰۰۶) دریافتند که آسکوربیک اسید تقسیم سلولی را تقویت کرده، سطح برگ و وزن تر و خشک برگ را افزایش می‌دهد و با خاصیت آنتی‌اکسیدانی، آسیب ناشی از رادیکال‌های اکسیژن که در شرایط تنش تولید می‌شوند را کاهش می‌دهد. در این زمینه می‌توان به گزارش‌هایی که بر روی کلزا (Dolatabadian *et al.*, 2008)، سیاه‌دانه (Gorbanli *et al.*, 2010)، نخود

[Downloaded from ijppb.lu.ac.ir on 2024-04-29]

(Beltagi, 2008) و در گل مریم (Banu Aytul and Meltem, 2012) اشاره کرد.

تنش شوری به‌طور معنی‌داری سبب کاهش فتوسنتز می‌شود. تفاوت‌های مشاهده شده در میزان سنتز کلروفیل گیاهان مختلف به هنگام شوری نتیجه عملکرد مسیرهای مختلف سنتزی است که با آنزیم‌های متفاوت قابل‌پیگیری بوده و این آنزیم‌ها پاسخ‌های متفاوت به شوری نشان می‌دهند. وجود رقابت برای استفاده از پیش سازها بین مسیر سنتز کلروفیل و پرولین دلیل دیگری است بر اینکه شوری نقش بازدارندگی روی مسیرهای سنتز کلروفیل می‌گذارد در زمان بروز تنش انتقال الکترون از فتوسیستم ۲ به ۱ و گیرنده اصلی الکترون ($NADP^+$) مختل می‌شود (Hassibi *et al.*, 2007) و در این زمان بالا بودن میزان کلروفیل تنها سطح ROS را بالا می‌برد. یکی از راهکارهای کاهش تولید ROS همان کاهش میزان کلروفیل برگ است که معمولاً در گیاهان با افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز صورت می‌گیرد (Guo *et al.*, 2005) این آنزیم، زنجیره خطی کلروفیل را از قسمت حلقوی آن جدا می‌نماید که این زنجیره خطی همان فیتول است که پیش‌ماده آلفاتوکوفرول می‌باشد. احتمالاً در این بررسی گیاهان مورد مطالعه توانستند با استفاده از این پیش‌ماده سطح آلفاتوکوفرول را افزایش داده و نیز میزان کلروفیل را که در شرایط تنش می‌تواند مضر باشد، کاهش دهند.

گزارش‌های متعددی حکایت از کاهش محتوی کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدهای تحت تنش شوری دارد که ازجمله می‌توان به گزارش‌هایی بر روی سویا (Sheteawi, 2007) و باقلا (Stoeva and Kaymakanova, 2008) اشاره کرد.

تنش شوری سبب افزایش رادیکال‌های اکسیژن در کلروپلاست شده و تخریب مولکول کلروفیل و غشای کلروپلاست را در پی دارد که خود منجر به کاهش فتوسنتز و رشد می‌گردد. گیاه با افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌اکسیدان‌ها می‌تواند گیاه را در برابر اثرات مخرب گونه‌های اکسیژن فعال محافظت نمایند. یکی از این آنتی‌اکسیدان‌ها آسکوربیک اسید می‌باشد که نقش تعیین کننده‌ای در جاروب کردن ROSهای تولید شده در فتوسنتز و همچنین در پراکندگی فوتون‌های مازاد بازی می‌کند (Niyogi, 1999).

آسکوربیک اسید به‌دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی خود از تخریب کلروفیل جلوگیری کرده و به‌طور غیرمستقیم سبب افزایش آن می‌شود (Dolatabadian *et al.*, 2009) در پژوهش حاضر در تیمارهایی که تحت تنش شوری و اسپری اسید آسکوربیک قرار گرفتند، اثر جبران‌کنندگی بر محتوی کلروفیلی گیاه نخود مشاهده شد. علاوه بر آن شواهد متعددی مبنی بر بهبود محتوی کلروفیل در گیاهانی که تحت اسپری اسید آسکوربیک و تنش شوری واقع‌شده بودند نسبت به گیاهانی که تنها در معرض تنش شوری قرار داشتند، وجود دارد. ازجمله می‌توان به گزارش‌هایی بر روی سویا (Sheteawi, 2007)، نخود (Beltagi, 2008) و سیاه‌دانه (Gorbanli *et al.*, 2010) اشاره کرد.

تجزیه داده‌های این تحقیق بیانگر آن است که شوری بر میزان پرولین بخش هوایی تأثیر معنی‌داری داشته است. اسیدآمینه پرولین در هنگام تنش‌های محیطی و از جمله آن‌ها شوری، به جهت تنظیم اسمزی، حفظ ساختار پروتئین‌ها و از بین بردن رادیکال‌های آزاد در گیاه، مقدار آن به بالاترین میزان می‌رسد و از اثرات مخرب تنش بر گیاه می‌کاهد و به این ترتیب موجب سازش سلول گیاهی نسبت به شرایط تنش می‌شود (Morgan *et al.*, 1991).

مطالعات Dolatabadian و همکاران (۲۰۰۸) روی گیاه کلزا نشان داد که استفاده از آسکوربیک اسید در این گیاه در شرایط بدون تنش تأثیری بر محتوی پرولین نداشت اما تحت تنش شوری با آسکوربیک اسید باعث کاهش میزان پرولین گردید. به‌نظر می‌رسد که آسکوربیک اسید با پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد اکسیژن سبب کاهش خسارت به اسیدهای چرب و پروتئین‌ها شده، در نتیجه اثر مخرب تنش را کاهش می‌دهد و لذا سنتز و تجمع پرولین به‌عنوان یک عکس‌العمل گیاه به تنش کاهش می‌یابد.

بررسی نتایج بیانگر آن است که شوری بر میزان آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز تأثیر معنی‌داری داشته

[Downloaded from ijppb.lu.ac.ir on 2024-04-29]

است. به‌دنبال اولین استرسی که ایجاد می‌شود، NaCl با القای تولید انواع اکسیژن فعال سبب تغییراتی در متابولیسم گیاه می‌شود (Ashraf and Harris, 2004). سپس با کاهش فعالیت برخی آنزیم‌ها و اختلال در فتوسنتز (Tatar *et al.*, 2010)، سبب کاهش متابولیسم نیتروژن (Krouma, 2009) و متابولیسم کربن (Balibrea *et al.*, 2003) می‌شود. همه‌ی این موارد عامل کاهش تقسیم سلولی و اثرات مستقیم بر روی سلول از جمله افزایش مرگ سلولی است (Zhu, 2002). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در شرایط تنش می‌توانند به‌عنوان شاخصی برای افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن در نظر گرفته شوند. به‌طوری که افزایش فعالیت آنزیم‌های فوق در شرایط تنش شوری و خشکی گزارش شده است (Kukreja *et al.*, 2005).

این در حالی است که کاربرد آسکوربیک اسید سبب کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در برگ گردید. یکی از مهم‌ترین ترکیبات سمی تولید شده ناشی از رادیکال‌های آزاد اکسیژن، پراکسید هیدروژن است(Gondim *et al.*, 2012). آنزیم کاتالاز این مولکول را به آب و اکسیژن تبدیل می‌کند و در طی این واکنش آسکوربات به‌عنوان دهنده هیدروژن عمل می‌کند (Hegedus *et al.*, 2001). در واقع چنین به‌نظر می‌رسد که افزودن آسکوربیک اسید به‌عنوان یک عامل آنتی‌اکسیدان سبب کاهش احتمالی تنش و در نتیجه کاهش سطح فعالیت آنزیم کاتالاز شده است. از طرفی کاهش یون سوپراکسید توسط آسکوربیک اسید تولید این ماده را توسط سوپراکسید دیسموتاز کاهش داده و در نتیجه فعالیت آن برای تجزیه‌ی پراکسید هیدروژن کاهش می‌یابد. به‌طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، ناشی از مصرف آسکوربیک اسید، به اثر غیرمستقیم آن بر روی آنزیم‌ها بر می‌گردد. بدین ترتیب اسید آسکوربیک با کاهش اثر مخرب تنش از افزایش فعالیت آنزیم‌ها جلوگیری کرده است.

پژوهش انجام شده نشان داد که شوری بر پراکسیداسیون لیپیدها تأثیر بسیار معنی‌داری داشته است. Bandeoglu و همکاران (۲۰۰٤) افزایش غلظت مالون دی آلدهید برگ تحت تأثیر تنش شوری را در گیاهچه‌های برنج گزارش نمودند. پرکسیداسیون لیپید و تولید مالون دی آلدئید به‌عنوان شاخصی برای میزان خسارت تنش اکسیداتیو به‌کار می‌رود(Di Cori *et al.*, 2013). اسیدهای چرب و لیپیدها حساسیت زیادی به اکسیژن دارند و به‌سرعت اکسید می‌شوند از آنجایی که غشای سلولی یک غشای فسفولیپیدی می‌باشد واکنش اکسیژن با آن سبب تخریب غشاء سلولی و ترشح الکترولیت‌ها به بیرون سلول می‌شود. آسکوربیک اسید در چرخه‌ی آسکوربات-گلوتاتیون که یک چرخه‌ی بسیار مهم در تجزیه H2O2 می‌باشد، نقش اساسی را ایفا می‌کند (Gill *et al.*, 2013). آسکوربیک اسید به‌وسیله خنثی کردن رادیکال‌های اکسیژن از طریق مصرف آن‌ها و تولید مونو دهیدرو آسکوربات از بروز آسیب به سلول و چربی غشاء جلوگیری می‌کند و سبب کاهش پراکسیداسیون لیپید می‌شود (Asada, 1999) و در نهایت مونودهیدروآسکوربات توسط مونودهیدرو آسکوربات ردوکتاز به آسکوربات تبدیل می‌شود. نتایج به‌دست آمده در این تحقیق با نتایج آزمایش Shalata و Neumann (۲۰۰۱) بر روی گوجه‌فرنگی مطابقت دارد. علاوه بر موارد اشاره شده با توجه به نقش سایر آنتی‌اکسیدان‌ها مانند آلفا توکوفرول و نقش آن‌ها در حذف رادیکال‌های هیدروکسیل (Ismail *et al.*, 2014) و اثر آسکوربیک اسید به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان ثانویه در طی احیای شکل اکسیدشده آلفا توکوفرول، اثر تقویتی این دو آنتی‌اکسیدان در حفظ ساختار غشای سلولی، سبب کاهش معنی‌داری در پراکسیداسیون لیپیدها می‌شود.

به‌عنوان نتیجه‌گیری کلی می‌توان گفت که اسپری برگی آسکوربیک اسید بر گیاه نخود در شرایط تنش شوری سبب افزایش تحمل این گیاه به شرایط تنش شده است و همچنان که نتایج تحقیق نشان می‌دهد آسکوربیک اسید به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان صدمات ناشی از تنش اکسیداتیو

[Downloaded from ijppb.lu.ac.ir on 2024-04-29]

حاصله از شرایط شور را کاهش داده و گیاه توانسته است پارامترهای رشدی و فیزیولوژیکی خود را بهبود بخشد و حتی در حضور آسکوربیک اسید از سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی آنزیمی خود چندان استفاده ننموده است.

References

Allu, A. D., Soja, A. M., Wu, A., Szymanski, J. and Balazadeh, S. (2014). Salt stress and senescence: identification of cross-talk regulatory components. Journal of Experimental Botany. (press online)

Amini, F. and Ehsanpour, A. (2005). Soluble protein, proline, carbohydrates and Na+/K+ changes in two tomato (Lycopersicom escolentom Mill.) cultivars under in vitro salt stress. American Journal of Biochemistry and Biotechnology 1: 212-216.

Asada, K. (1999). The water–water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 50: 601–639.

Ashraf, M. and Harris, P. J. C. (2004). Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. Plant Science 166: 3-16.

Balibrea, M. E., Cuartero., J ,.Bolarin., M. C. and F. Perez-Alfocea (2003). Activities during fruit development of Lycopersicon genotypes differing in tolerance salinity. Physiologia Plantarum 118: 38-46.

Banu Aytul, E. and Meltem, K. (2012). Exogenous ascorbic acid increases resistance to salt of Silybum marianum (L.) pp. DOI: 10.5897/AJB11.1874: 9932-9940.

Bates, L. S., Waldern, R. P. and Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress stadies. Plant and Soil 39: 205- 207.

Becana, M., Moran, J. and Iturbe-Ormaetxe., I. (1998). Iron dependent oxygen free radical generation in plants subjected to environmental stress: toxicity and antioxidant protection. . Plant and Soil 201: 137-147.

Behboodin, B., Lahoti, M. and Nezami, A. (2004). Effects of salt stress on seed germination of pea. Scientific Journal of Agriculture 28(2): 127-138. (in Persian)

Beltagi, M. s. (2008). Exogenous ascorbic acid (vitamin C) induced anabolic changes for salt tolerance in chick pea (Cicer arietinum). African Journal of Plant Science Vol 2: 118-123.

Bohnert, H., Nelson, D. and Jensen, R. (1995). Adaptations to environmental stresses. Plant Cell 7: 1099-1111.

Boyer, j. s. (1982) Plant productivity and environment. Science 218: 443-448.

Comba, M. E., Benavides, M. P. and Tomaro, M. L. (1998.) Effect of salt stress on antioxidant defence system in soybean root nodules. Australian Journal of Plant Physiology 25: 665-671.

Di Cori, P., Lucioli, S., Frattarelli, A., Nota ,P., Tel-Or, E., Benyamini, E., Gottlieb, H., Caboni, E. and Forni, C. (2013). Characterization of the response of in vitro cultured Myrtus communis L. plants to high concentrations of NaCl. Plant Physiology and Biochemistry 73: 420-426.

Dolatabadian, A., sanary, S. A. M. M. and Chashmi, N. A. (2008). The effect of foliar application of ascorbic acid(Vitamin C) on antioxidant enzymes activities,lipid peroxidation and proline accumulation of canola (Brassica napus) under conditions of salt stress. Journal of Agronomy and Crop Sciences,V 194: 206-213.

Dolatabadian, A., Modarres Sanavy, S.A.M. and Sharifi, M. (2004). Effect of Water Deficit Stress and Foliar Application of Ascorbic acid on Antioxidants Enzymes Activity and Some Biochemical's Changes in Leaves of Grain Corn (Zea maize L.). Iranian journal of Biology 22(3): 407-422. (in Persian).

Garratt, L. C., Janagoudar, B. S., K.C. Lowe, P. A., Power, J. B. and Davey, M. R. (2002). Salinity tolerance and antioxidant status in cotton cultures. Free Radical Biology and Medicine 33: 502–511.

Gill, S. S., Anjum, N. A ,.Hasanuzzaman, M., Gill, R., Trivedi, D. K., Ahmad, I., Pereira, E. and Tuteja, N. (2013). Glutathione and glutathione reductase: A boon in disguise for plant abiotic stress defense operations. Plant Physiology and Biochemistry 70: 204-212.

Gondim, F. A ,.Gomes-Filho, E., Costa, J. H., Mendes Alencar, N. L. and Prisco, J. T. (2012). Catalase plays a key role in salt stress acclimation induced by hydrogen peroxide pretreatment in maize. Plant Physiology and Biochemistry 56: 62-71.

Ghorbanli, M., Adib hashemi, N. and Peyvandi, M. (2010). Study of salinity and ascorbic acid on some physiological responses of Nigella sativa L. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 26(3): 371-388. (in Persian).

[Downloaded from ijppb.lu.ac.ir on 2024-04-29]

Guo, Z., Tan, H., Zhu, Z ,.Lu, S. and Zhou, B. (2005). Effect of intermediates on ascorbic acid and oxalate biosynthesis of rice and in relation to its stress resistance. Plant Physiology and Biochemstry 43: 955–962.

Hassibi, P., Moradi, F. and Nabipour., M. (2007). Screening of rice genotypes for low temperature stress-using chlorophyll flourescence. Iranian Journal of Crop Science 9: 14-31

Hegedus, A., S., E. and G., H. (2001). Comparative studies of H2O2 detoxifying enzymes in green and greening barely seedlings under cadmium stress. Plant Science 160: 1085-1093.

Ismail, A., Takeda, S. and Nick, P. (2014). Life and death under salt stress: same players, different timing? Journal of Experimental Botany 65: 2963-2979.

Krouma, A. (2009). Differences in response of some Tunisian chickpea genotypes (Cicer arietinum L.) to salinity. Pakistan Journal of Botany 41: 3081-3091.

Kukreja, S. A., S. Nandval, N. Kumar, S.K. Sharma, S.K. Sharma ,Unvi, V. and Sharma, P. K. (2005). Plant water status, H2O2 scavenging enzymes, and ethylene evolution and membrane integrity of Cicer arietinum roots as affected by salinity. Biologia Plantarum 49: 305-308.

Millan, T., Clarke, H. J., Siddique, K. H. M., Buhariwalla, H. K. and Gaur, P. M. (2006). Chickpea molecular breeding: New tools and concepts. Euphytica 147: 81-103.

Morgan, J. M., Rodriguez, M. B. and E.J. Knights (1991). Adaptation to water deficit in chickpea breeding lines by osmoregulation:Relationship to grain yields in the field. Field Crops Research 27 61– 70.

Munns, R. and Tester, M. (2008) Mechanisms of Salinity Tolerance. Annual Review of Plant Biology 59: 651–658.

Niyogi, K. K. (1999). Photoprotection revisited: genetic and molecular approaches. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 50: 333-359.

Noctor, G. and Foyer, C. (1998) Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 49: 249-279.

Ozgur, R., Turkan, I., Uzilday, B. and Sekmen, A. H. (2014). Endoplasmic reticulum stress triggers ROS signalling, changes the redox state, and regulates the antioxidant defence of Arabidopsis thaliana. Journal of Experimental Botany 65: 1377-1390.

Padh, H. (1990) Cellular functions of ascorbic–acid biochemistry and cell biology. Biochimie et Biologie Cellulaire 68: 1166–1173.

Pastori, G., Kiddle, G., Antoniw, J., Bernard, S., Veljovic-Jovanovic, S., Verrier, P., Noctor, G. and Foyer, C. (2003). Leaf vitamin C contents modulate plant defense transcripts and regulate genes that control development through hormone signaling. Plant Cell 15: 939–951.

Pignocchi, C. and Foyer, C. (2003). Apoplastic ascorbate metabolism and its role in the regulation of cell signaling. . Current Opinion in Plant Biology 6: 379-389.

Ruley, A. T., Sharma, N. C. and Sahi, S. V. (2004) Antioxidant defense in a lead accumulation plant, Sensbania drummondii. Plant Physiology and Biochemistry 42: 899-906.

Shalata, A. and 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.

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(3): 473-478.

Simova-Stoilova, L., Demirevaska, K., Petrova, T., Tsenov, N. and Feller, U. (2008). Antioxidative protection in Wheat vatieties under severe recoverable drought at seedling stage. Plant, Soil and Environment 54: 529 - 539.

Smirnoff, N. (1996). The function and metabolism of ascorbic acid in plants Ann. Bot 78: 661-669.

Stoeva, N. and Kaymakanova, M. (2008) Effect of salt stress on the growth and photosynthesis rate of bean plants (Phaseolus vulgaris L.). Book of proceedings of 2nd International conference of Journal Central Europian Agriciltural, Nitra 181-187.

Taqi ,A. K., Mohd, M. and Firoz, M. (2011). Ascorbic acid: an enigamatic molecule to developmental and environmental stress in plants. International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology 2: 468-483.

[Downloaded from ijppb.lu.ac.ir on 2024-04-29]

Tatar, O., H. Brueck, Gevrek, M. N. and F. Asch (2010). Physiological responses of two Turkish rice (Oryza sativa L.) varieties to salinity. Turkish Journal of Agricultural Foresty 34: 451-459.

Zhu, J.-K. (2002) Salt and drought signal transduction in plants. Annual Review of Plant Biology 53: 247–273.

[Downloaded from ijppb.lu.ac.ir on 2024-04-29]

Physiological and Biochemical Responses of Chickpea (*Cicer arietinum* L.) to Ascorbic Acid under Salinity Stress

Mehdi Chenarani, Akbar Safipour Afshar*, Fatemeh Saied Nematpour

Department of Biology, Neyshabur Branch, Islamic Azad University, Neyshabur, Iran.

Abstract

Salinity is a major environmental stress that affects the crop yields and the pea plants are high sensitive to salt stress. Salinity through oxidative stress damage cell structures, and antioxidants by eliminating free radicals increase tolerance to these stresses. In this research, effects of salt stress and leaf spray with ascorbic acid on growth parameters, photosynthetic pigments, antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation on chickpea (*Cicer arietinum* L.) were investigated. The experiment is conducted as a factorial in a completely random design with three replications in greenhouse conditions. Salt stress has been applied by 0, 50, 100 mM NaCl solution and foliar were treatment by ascorbic acid solution 0, 3 and 6 mM in 3-5 leave stage. plants exposure to sodium chloride, were showed decrease in growth parameters and content of photosynthetic pigments in comparison with control plants, But the activity of catalase, superoxide dismutase enzymes and the content of proline and lipid peroxidation were increased. In plants exposed to sodium chloride and ascorbic acid, growth parameters, photosynthetic pigments were higher than plants only exposed to sodium chloride, although the lipid peroxidation and activity of catalase and superoxide dismutase enzymes and the content of proline were decreased. The results showed that spraying of ascorbic acid (as an antioxidant) is caused tolerance to salt stress and decreased of side effects of sodium chloride in *Cicer arietinumm* L.

Key words: Catalase, Superoxide dismutase, Lipid peroxidation, Proline

* **Corresponding Author, E-mail: asafshar@iau-neyshabur.ac.ir**

[Downloaded from ijppb.lu.ac.ir on 2024-04-29]