تنش‌های محیطی در علوم زراعی
Environmental Stresses in Crop Sciences
جلد چهاردهم، شماره دوم، تابستان ۱۴۰۰
۵۲۹-۵۴۳
http://dx.doi.org/10.22077/escs.2020.2775.1726

مقاله پژوهشی

مکانیسم‌های فیزیولوژیک درگیر در پاسخ به شوری گیاه علف‌چای (*Hypericum perferatum* L.) و اثر محلول‌پاشی اسید آسکوربیک بر آن

سارا علی‌نیان جوزدانی[۱]، محمد رفیعی الحسینی[۲*]، جمشید رزمجو[۳]، بابک بحرینی‌نژاد[۴]

۱. دانشجوی دکتری گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد

۲. استادیار گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد

۳. استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان

۴. استادیار بخش تحقیقات منابع طبیعی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اصفهان

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۶/۲۳؛ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۹/۰۵

چکیده

گیاه علف چای یک گیاه دارویی ارزشمند با خاصیت درمان‌کنندگی افسردگی و التیام زخم است. این آزمایش به‌صورت گلدانی در بهار ۹۵ و ۹۶ به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. در این تحقیق گل راعی با غلظت‌های مختلف آب‌شور شامل ۲ (شاهد)، ۶ و ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر و محلول‌پاشی اسید آسکوربیک (شاهد، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) تیمار شد. بر اساس نتایج حاصله، شوری مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی، کارتنوئید، فنل برگ، پتاسیم ریشه، نسبت پتاسیم به سدیم هر دو بخش برگ و ریشه و وزن خشک هر دو بخش هوایی و زیرزمینی را کاهش داد؛ اما افزایش مقدار کلرید سدیم، پراکسید هیدروژن و سدیم برگ و ریشه را افزایش داد و تأثیری بر فنل ریشه و پتاسیم برگ نداشت. استفاده از اسید آسکوربیک کلروفیل a، کلروفیل کل، کارتنوئید، فنل برگ، پتاسیم و سدیم برگ، وزن خشک بخش هوایی و زیرزمینی را نسبت به شاهد افزایش داد و توانست پراکسید هیدروژن برگ و ریشه را کاهش دهد. در گیاهانی که با اسید آسکوربیک و شوری تیمار شدند، کاهش کلروفیل a، فنل برگ، پراکسید هیدروژن برگ و ریشه، پتاسیم برگ، نسبت پتاسیم به سدیم ریشه، وزن خشک اندام هوایی و ریشه در مقایسه با تیمارهایی که تنها تحت شوری بودند کمتر بود. بر پایه نتایج این پژوهش، این گیاه تا شوری ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر را قادر به تحمل و رشد است. افزایش ترکیبات فنلی به علت خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها، بازیابی پتاسیم برگ و حفظ تعادل یونی در برگ با حفظ مقادیر بالاتر از ۰/۵ نسبت پتاسیم به سدیم، مکانیسم‌های احتمالی تحمل شوری است. بالاترین غلظت اسید آسکوربیک (۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) به‌طور مؤثرتری اثرات منفی شوری را کاهش داد.

***واژه‌های کلیدی*: اسید آسکوربیک، تحمل به شوری، رنگیزه‌های فتوسنتزی، علف چای، گونه‌های فعال اکسیژن**

مقدمه

گیاه علف چای (*Hypericum perferatum*) گیاهی چندساله، خشبی و متعلق به تیره گل راعی است (Briskin et al., 2000). این گیاه به‌طور سنتی با خاصیت بهبود کنندگی زخم و ضدافسردگی شناخته شده است و اخیراً به‌عنوان چای و مکمل غذایی استفاده می‌شود. حتی عصاره گیاه در نوشیدنی‌های غیر الکی و با طعم میوه در بازار وجود دارد (Germ et al., 2010). بخش سبز و گل‌های گیاه دارای هایپرفورین، هایپرسین، فلاونوئید، تانن و دیگر ترکیبات جذب‌کننده اشعه UV-B است.

شوری آب یا خاک یکی از موانع مهم در مقابل رشد گیاهان در نقاط مختلف جهان بخصوص در مناطق خشک و نیمه‌خشک است (Ahl and Omer, 2011). شوری ابتدا

* نگارنده پاسخگو: محمد رفیعی الحسینی. پست الکترونیک: m_rafiee_1999@yahoo.com

توسط سیستم ریشه تشخیص داده می‌شود و سدیم توسط ریشه جذب و به اندام هوایی منتقل می‌شود (Bojorquez-Quintal et al., 2014). شوری بالا، پتانسیل اسمزی محلول خاک را کاهش می‌دهد و ایجاد تنش آبی می‌کند، ثانیاً محتوای یون‌های سدیم و کلر بالا می‌رود که سمیت یونی ایجاد می‌کند. با القای تنش اسمزی و در درازمدت به علت سمیت یون، اختلال در جذب مواد مغذی مانند پتاسیم، کلسیم و آسیب به رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه با کاهش رشد روبرو می‌شود (Acosta-Motos et al., 2017). در چنین شرایطی به خاطر برهم خوردن تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و سرعت پاک‌سازی آن‌ها، تنش اکسیداتیو ایجاد می‌گردد. تحمل به تنش از طریق پاک‌سازی گونه‌های فعال اکسیژن و کاهش آن در حد غلظت‌های مطلوب گیاه است تا رشد عادی گیاه حفظ شود (Khan et al., 2011). بروز دامنه وسیعی از تغییر بیان ژن و فعالیت مولکولی و سلولی، مکانیسم‌های مختلف بیوشیمیایی و فیزیولوژیک نشان‌دهنده به‌کارگیری سازوکارهای سازگاری به تنش است (Caretto et al., 2015; Reddy et al., 2004). افزایش ترکیبات فنلی یک راهکار دفاعی و سازگاری بیوشیمیایی در مقابل تنش‌های محیطی است (Bourgou et al., 2012). به‌علاوه کنترل جذب سدیم و انتقال آن از ریشه به بخش هوایی می‌تواند در تحمل بهتر اثرات شوری به گیاه کمک کند (Bojórquez-Quintal et al., 2014). پراکسید هیدروژن یکی از گونه‌های فعال اکسیژن است که در شرایط شوری در غلظت‌های کم در نقش مولکول سیگنال ثانویه عمل می‌کند و واسطه‌ای بین فرآیندهای فیزیولوژیک مختلف است و بررسی مقدار آن در این شرایط؛ معیاری از میزان تنش اکسیداتیو و آسیب به گیاه است (Jajic et al., 2015).

سلول‌های گیاهی در مقابل آسیب‌های اکسیداتیو، مجهز به سیستم دفاع آنزیمی و غیر آنزیمی جاروب کننده رادیکال-های آزاد هست. یکی از این آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی، اسید آسکوربیک است. اسید آسکوربیک هم به‌صورت مستقیم در پاک‌سازی رادیکال‌های فعال نقش دارد و هم پیش‌ماده آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی است (Khan et al., 2011). این ماده موجب حفاظت رنگ‌دانه‌ها و دستگاه فتوسنتزی از اکسیداسیون می‌گردد (Hamada, 1998). اسید آسکوربیک میزان هورمون ایندول استیک اسید را بهبود می‌بخشد که تقسیم و توسعه سلولی را زیاد می‌کند و رشد گیاه را افزایش می‌دهد (Mazid et al., 2011). در گیاه در شرایط عادی، در سلول اسید آسکوربیک یافت می‌شود؛ اما برای کاهش اثرات منفی تنش‌ها، این غلظت‌ها کافی نیست و برای استفاده از اثرات مثبت آن، می‌توان از کاربرد محلول‌پاشی آن بهره برد (Naz et al., 2016).

درک نحوه پاسخ گیاه به کاربرد خارجی این ترکیبات و تنش‌های محیطی یکسان نیست و بسته به عواملی مانند گونه‌گیاهی، رقم، شرایط جغرافیایی، غلظت ترکیبات و شدت تنش متفاوت است. ازاین‌رو مشخص کردن دامنه‌ای از شوری که گیاه در آن قادر به رشد است و هم‌چنین غلظتی از ماده که نتیجه بهتری خواهد داشت، ضروری است. لذا این پژوهش با هدف تعیین آستانه تحمل به شوری گیاه علف چای، درک مکانیسم‌های درگیر در پاسخ به شوری و تأثیر اسید آسکوربیک بر پاسخ به شوری به اجرا درآمد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در بهار ۹۵ و ۹۶ در مرکز تحقیقات فضای سبز محمودآباد اصفهان به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل آب‌شور در سه سطح ۲ (عدم تنش)، ۶ و ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر و محلول‌پاشی اسید آسکوربیک (AA) در سه سطح صفر، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بود. نشاهای رقم مجارستانی در داخل گلدان‌هایی با قطر ۲۰ و ارتفاع ۲۵ سانتی‌متر که حاوی مخلوطی از خاک مزرعه و کمپوست به نسبت ۳ به ۱ بود، کشت شدند. تعداد نهایی بوته داخل هر گلدان سه عدد بود. گلدان‌ها در ابتدا توسط آب مرکز تحقیقات با هدایت الکتریکی ۲ دسی‌زیمنس آبیاری شدند. اسپری اسید آسکوربیک، زمانی که گیاهان به ارتفاع ۱۰ سانتی‌متری رسیدند دومرتبه و با فاصله هفت روز انجام شد. هفت روز بعد از آخرین محلول‌پاشی، اعمال تنش شوری با استفاده از نمک معمولی آغاز شد و افزایش نمک تیمارهای ۶ و ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر به‌صورت تدریجی انجام شد تا به غلظت نهایی برسد. هدایت الکتریکی زه‌کش گلدان‌ها هر هفته اندازه‌گیری شد و با اضافه کردن آب خالص یا محلول نمک، سطوح شوری موردنظر حفظ گردید. سی روز بعد از آغاز تنش، بوته‌ها برداشت؛ پس از جداسازی ریشه و اندام هوایی با آب شسته شدند و نمونه برگ و ریشه برای اندازه‌گیری صفات در فریزر ۲۰- نگهداری شد.

محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی برگ با روش آرنون (Arnon, 1949) و جذب عصاره‌ها در طول‌موج‌های ۶۶۳،

۶۴۵ و ۴۸۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر UV/Vis خوانده شد و با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه گردید.

$$Chl\ a = [(12.21\times A\ 663) - (2.81\times A645)] \quad [۱]$$

$$Chl\ b = [(20.33\times A645) - (5.03\times A\ 663)] \quad [۲]$$

$$Total\ Chl\ (mgg^{-1}) = ([(7.18\times|663|) - (17.32\times|646|)] \times mlAcetone)/(gLeaf\times 1000) \quad [۳]$$

$$Carethonoid = (1000\times A\ 470) - (3.27\times A663) - (104\times A\ 645) \quad [۴]$$

مقادیر فنل در نمونه‌های برگ و ریشه با معرف فولین-سیکالتو اندازه‌گیری شد (Seevers and Daly, 1970). یک‌دهم گرم از برگ و ریشه در ۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد ساییده و به مدت ۷۲ ساعت در تاریکی قرار گرفت. سپس ۱ میلی‌لیتر از محلول رویی برداشته و ۱ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد به آن اضافه و به حجم ۵ میلی‌لیتر با استفاده از آب مقطر دو بار تقطیرشده رسانده شد. در مرحله بعد ۰/۵ میلی‌لیتر از معرف فولین‌سیکالتیو ۵۰ درصد و ۱ میلی‌لیتر از کربنات سدیم ۵ درصد به آن اضافه گردید. نمونه‌ها به مدت ۱ ساعت در دمای اتاق و در تاریکی قرار گرفته شد. سپس میزان جذب در طول‌موج ۷۲۵ نانومتر به‌وسیله اسپکتروفتومتر خوانده شد. از اسید گالیک به‌عنوان محلول استاندارد استفاده شد.

سنجش پراکسید هیدروژن با استفاده از روش ولیکوا و همکاران (Velikova et al., 2000) استفاده شد. از بافت تازه برگ و ریشه ۰/۲ گرم توزین شده و در حمام یخ با تری کلرواستیک ۰/۱ سائیده شد. عصاره در سانتریفوژ یخچال دار با ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه برای ۱۵ دقیقه در ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید. سپس به ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول بالایی، ۰/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۰/۱ میلی مولار (pH=۷) و ۱ میلی‌لیتر یدور پتاسیم ۱ مولار افزوده شد. برای محاسبه مقدار پراکسیدهیدروژن با استفاده از منحنی استاندارد، استانداردهایی از پراکسیدهیدروژن از غلظت صفر تا ۱۰ میلی‌مولار تهیه گردید و سپس شدت جذب نور در طول‌موج ۳۹۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر مدل (A 600UV-) قرائت گردید.

غلظت عناصر سدیم و پتاسیم با استفاده از عصاره خاکستر خشک برگ و ریشه اندازه‌گیری شد. مقدار سدیم و پتاسیم با استفاده از فلیم فتومتر اندازه‌گیری شد (Munns et al., 2010).

وزن خشک اندام هوایی و ریشه پس از قرار دادن نمونه‌ها در آون ۷۰ درجه به مدت ۴۸ ساعت و توزین با ترازوی دقیق به دست آمد. اعداد حاصل از دو سال میانگین گرفته شد و محاسبات آماری توسط نرم‌افزار DSAASTAT انجام گرفت، میانگین‌ها با استفاده از LSD گروه‌بندی شدند و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excell انجام شد.

نتایج و بحث

رنگیزه‌های فتوسنتزی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تنش شوری بر کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئید در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). اثر محلول‌پاشی اسید آسکوربیک بر میزان کلروفیل a و کلروفیل کل در سطح یک درصد و کارتنوئید در سطح پنج درصد معنی‌دار گردید (جدول ۱). با افزایش غلظت کلرید سدیم، مقدار کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئید کاهش داشت (جدول ۲). درحالی‌که محلول‌پاشی اسید آسکوربیک میزان کلروفیل a، کلروفیل کل و کارتنوئید را افزایش داد و بیشترین مقادیر مربوط به تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بود (جدول ۲). محلول‌پاشی اسید آسکوربیک بر میزان کلروفیل b تأثیری نداشت.

اثر متقابل شوری و محلول‌پاشی بر میزان کلروفیل a در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). در غلظت-های یکسان نمک، میزان کاهش کلروفیل a در گیاهان تیمار شده با اسید آسکوربیک در مقایسه با گیاهانی که تنها تحت تأثیر شوری بودند کمتر بود (شکل ۱). در سطوح ۶ و ۱۰ دسی‌زیمنس، کاهش محتوای کلروفیل a در گیاهانی که اسید آسکوربیک دریافت نکرده بودند بیشتر بود (به ترتیب ۵۵ و ۷۸ درصد) (شکل ۱)؛ درحالی‌که در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر کاهش ۵۱ و ۴۸ درصدی میزان کلروفیل a مشاهده شد و در تیمار ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر در سطح ۶ دسی‌زیمنس مقدار کلروفیل a، 13 درصد افزایش و سپس در ۱۰ دسی-زیمنس ۵۴ درصد کاهش داشت (شکل ۱).

جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس داده‌های حاصل از تأثیر تنش شوری و محلول‌پاشی اسید آسکوربیک بر مقدار رنگیزه‌های گیاه علف چای

Table 1. Results of variance analysis for the effects of salinity levels and ascorbic acid foliar application on pigment amounts of St John's wort

S.O.V	منابع تغییرات	درجه آزادی Df	کلروفیل a Chl a	کلروفیل b Chl b	کلروفیل کل Total Chl	کارتنوئید Carotenoids
Salinity (S)	شوری	2	0.199**	0.010**	0.179**	0.018**
Foliar application (F)	محلول‌پاشی	2	0.040**	0.002ns	0.128**	0.010*
S × f	شوری × محلول‌پاشی	4	0.066**	0.004ns	0.098ns	0.011ns
Error	خطا	9	0.010	0.005	0.068	0.009
CV%	ضریب تغییرات		*11*	*26*	*23*	*22*

ns، * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار، اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد

ns: Non-significant, **,*:significant at 1% and 5% probability level respectively

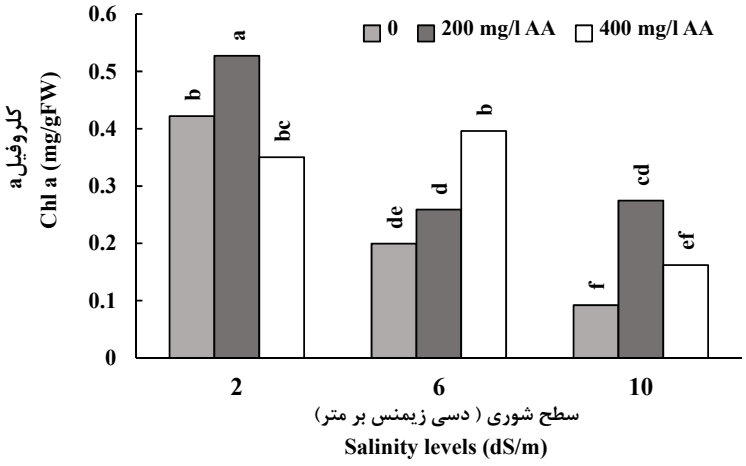
جدول ۲. مقایسه میانگین اثرات سطوح شوری و محلول‌پاشی اسید آسکوربیک بر مقدار رنگیزه‌های گیاه علف چای

Table 2. Mean comparison of salinity levels and ascorbic acid foliar application on pigments of St John's wort

تیمارها Treatments	کلروفیل a Chl a	کلروفیل b Chl b	کلروفیل کل Total Chl	کارتنوئید Carotenoids
سطوح شوری (دسی زیمنس بر متر) Salinity levels (dS.m^{-1})	----------Mg/g FW----------			
2	*0.43^{a}	0.12^{a}	0.51^{a}	0.19^{a}
6	0.28^{b}	0.08^{ab}	0.35^{ab}	0.14^{ab}
10	0.18^{c}	0.06^{b}	0.27^{b}	0.11^{b}
محلول‌پاشی اسید آسکوربیک Ascorbic acid foliar application (mg/L)				
0	0.24^{b}	0.07^{a}	0.29^{b}	0.12^{b}
200	0.35^{a}	0.10^{a}	0.49^{a}	0.18^{a}
400	0.30^{ab}	0.08^{a}	0.35^{ab}	0.13^{b}

*در هر ستون و برای هر تیمار، میانگین‌های حداقل دارای یک حرف مشترک بر اساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارد

In each column and for each treatment means with the same letter do not have statistically significant differences at 5% level of probability according to LSD



شکل ۱. اثر متقابل شوری و محلول‌پاشی اسید آسکوربیک بر مقدار کلروفیل a

Fig. 1. Interaction effect of salinity × foliar application of ascorbic acid on Chl a content

نتایج پژوهش حاضر بیانگر رابطه مستقیم بین افزایش غلظت نمک و کاهش پارامترهای رشد نظیر کلروفیل a و b است که گزارش‌هایی بر روی سیاه‌دانه (Ghorbanli et al., 2010)، مرزه تابستانه (Najafi and Khavari-Nejad, 2010)، آویشن (*Thymus vulgaris* L.) (Koocheki et al., 2008) و (Centaury Siler et al., 2007) وجود دارد. این کاهش کلروفیل عمدتاً به علت ایجاد اخلال در سنتز کلروفیل و افزایش تجزیه کلروفیل است و نهایتاً کاهش رشد به دلیل کمبود انرژی مشاهده می‌گردد (Ahl and Omer, 2011). جذب یون‌های سدیم و کلر از توسعه کلروپلاست و ترجمه پروتئین در پلاستید جلوگیری می‌کند یا بر این فرآیندها اثرات منفی دارد (Ahl and Omer, 2011; Banerjee and Roychoudhury, 2017). در این پژوهش، اثر منفی شوری بر مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاهانی که تحت تأثیر آسکوربیک بودند، کمتر بود. اسید آسکوربیک در پاک‌سازی گیاه از حضور گونه‌های فعال اکسیژن‌های تولیدشده که عمدتاً در کلروپلاست برگ یافت می‌شوند نقش دارد و یک سد دفاعی سلولی در مقابل تنش اکسیداتیو است (Noctor and Foyer, 1998). آسکوربیک اسید از کمپلکس‌های دریافت‌کننده نور حفاظت می‌کند و کوفاکتور واکنش‌های آنزیمی فتوسنتز است (Akram et al., 2017). در گیاه مرزنجوش (Origanum majorana L.) با افزایش غلظت نمک، از محتوای کلروفیل کل کاسته شد؛ اما کاربرد اسید آسکوربیک در مقایسه با گیاهان شاهد موجب افزایش ۲۴ و ۱۳۷٪ در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار نمک شد (Selahvarzi et al., 2011). این محققان مشاهده کردند که در هر دو شرایط وجود تنش شوری و عدم شوری، اسید آسکوربیک به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان از تخریب غشای کلروپلاستی جلوگیری و محتوای کلروفیل را حفظ می‌کند. در شرایط تنش وجود رادیکال‌های آزاد اکسیژن به غشای کلروپلاستی صدمه وارد کرده و عملکرد طبیعی را مختل می‌کند (Selahvarzi et al., 2011). در گیاه سویا شده است که بالاترین غلظت کارتنوئید در سطح ۱۰۰ میلی‌مولار شوری مربوط به محلول‌پاشی اسید آسکوربیک با غلظت ۱/۵ میلی-مولار بود (Shahbazi Zadeh et al., 2015).

جدول ۳. نتایج تجزیه واریانس داده‌های حاصل از تأثیر شوری و محلول‌پاشی اسید آسکوربیک بر مقدار فنل و پراکسید هیدروژن برگ و ریشه علف چای

Table 3. Results of variance analysis for the effect of salinity and ascorbic acid foliar application on phenol and hydrogen peroxide contents of leaf and root of St John's wort

S.O.V	منابع تغییرات	درجه آزادی df	فنل کل برگ Leaf total phenol	فنل کل ریشه Root total phenol	پراکسید هیدروژن برگ Leaf H_2O_2	پراکسید هیدروژن ریشه Root H_2O_2
Salinity (S)	**شوری**	2	741.42**	24.14 ns	3208**	90.41**
Foliar application (F)	**محلول‌پاشی**	2	873.67**	84.28 ns	1252*	108.80**
S × F	**شوری × محلول‌پاشی**	4	248.23*	268.24 ns	3200**	239.09**
Error	**خطا**	9	181.88	206.54	1096	34.15
CV%	**ضریب تغییرات**		*4*	*8*	*8*	*11*

ns، * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار، اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد

ns: Non-significant, **,*:significant at 1% and 5% probability level respectively.

فنل کل

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر عوامل شوری، محلول‌پاشی اسید آسکوربیک و اثر متقابل این دو عامل بر فنل کل برگ معنی‌دار بود، درحالی‌که این عوامل تفاوتی در فنل ریشه ایجاد نکردند (جدول ۳). مقدار فنل برگ در سطح ۱۰ دسی‌زیمنس بالاترین مقدار بود و که نسبت به شاهد ۱۴ درصد افزایش داشت (جدول ۴).

استفاده از اسید آسکوربیک به‌صورت اسپری هم باعث افزایش مقدار فنل کل برگ به ترتیب ۱۶ و ۶ درصد در دو غلظت ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر شد (جدول ۴). برهم-کنش شوری و محلول‌پاشی بر فنل کل برگ در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). افزایش غلظت نمک در شرایط عدم محلول‌پاشی تنها در سطح ۱۰ دسی زیمنس باعث افزایش مقدار فنل کل برگ شد. غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر اسید

آسکوربیک تفاوت معنی‌داری در مقدار فنل کل میان تمامی تیمارهای کلرید سدیم در مقایسه با شاهد ایجاد نکرد (شکل ۲). درحالی‌که محلول‌پاشی ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر اسید آسکوربیک همراه با افزایش شوری موجب افزایش مقدار فنل کل شد. این نتایج می‌تواند بیانگر این باشد که اسید آسکوربیک در غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر اثر القاکنندگی بیشتری بر سنتز ترکیبات فنلی دارد.

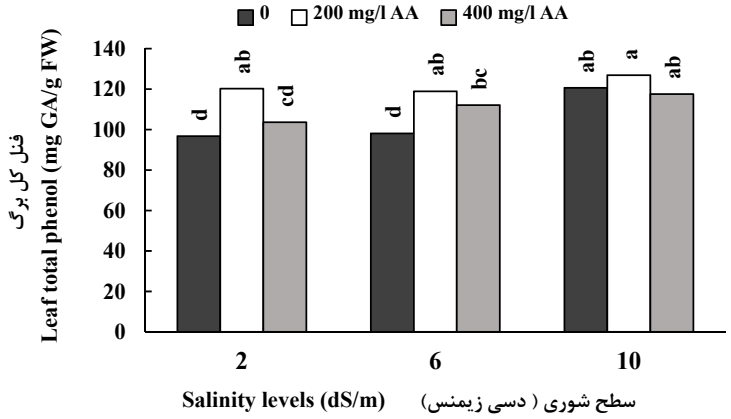
جدول ۴. مقایسه میانگین اثرات سطوح شوری و محلول‌پاشی اسید آسکوربیک بر مقدار فنل کل و پراکسید هیدروژن برگ و ریشه گیاه علف چای

Table 4. Mean comparison of salinity levels and ascorbic acid foliar application on phenol and hydrogen peroxide contents of leaf and root of St John's wort

تیمارها Treatments	فنل کل برگ Leaf total phenol	فنل کل ریشه Root total phenol	پراکسید هیدروژن برگ Leaf H_2O_2	پراکسید هیدروژن ریشه Root H_2O_2
سطوح شوری (دسی زیمنس بر متر) Salinity levels ($dS.m^{-1}$)	-------- (mg GA/g FW) --------		----------µmol/ g FW----------	
2	*106.88^{b}	58.96^{a}	115.58^{b}	14.41^{b}
6	109.71^{b}	59.46^{a}	127.43^{ab}	16.48^{ab}
10	121.68^{a}	61.43	147.90^{a}	19.85^{a}
محلول‌پاشی اسید آسکوربیک Ascorbic acid foliar application (mg/L)				
0	105.19^{b}	57.39^{a}	138.56^{a}	19.93^{a}
200	122.00^{a}	59.51	118.87^{b}	13.91^{b}
400	111.07^{a}	62.66	133.48^{a}	16.91^{ab}

*در هر ستون و برای هر تیمار، میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، بر اساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارد

In each column and for each treatment means with the same letter do not have statistically significant differences at 5% level of probability according to LSD



شکل ۲. اثر متقابل شوری و محلول‌پاشی اسید آسکوربیک بر مقدار فنل کل برگ

Fig. 2. Interaction effect of salinity × foliar application of ascorbic acid on leaf total

تشکیل ترکیبات فنولی به‌عنوان راهی در شرایط تنش شناخته می‌شود که کربن را ذخیره می‌کند تا ترکیباتی سنتز شود که نقش دفاعی دارند (Caretto et al., 2015). هم‌چنین افزایش ترکیبات فنولیک یک مکانیسم دفاعی و تطابق بیوشیمیایی در پاسخ به شرایط محیطی است (Bourgou et al., 2012). در گیاه کتان کاهش ۶۹ درصدی ترکیبات فنولیک در سطح شوری ۳۰۰ میلی‌مولار نسبت به شاهد گزارش شد که علت را به مصرف شدن ترکیبات فنولیک

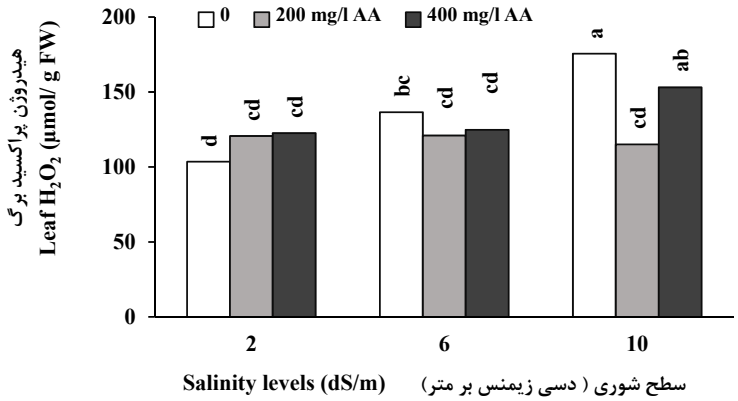
به‌عنوان سوبسترای آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در حضور نمک مربوط داشتند (Emam and Helal, 2008). در بذر گشنیز کاهش ۶۶ درصدی میزان فنل در غلظت ۷۵ میلی‌مولار NaCl گزارش شد که می‌تواند به علت اثرات منفی رادیکال-های آزاد اکسیژن بر روی دستگاه فتوسنتزی و تثبیت کربن باشد که موجب کاهش پیش‌ماده موردنیاز سنتز ترکیبات فنولیک می‌شود (Neffati et al., 2011). شوری ۷۵ میلی-مولار باعث شد که ترکیبات فنولیک ریشه گیاهچه‌های زیتون (Olea europaea L.) با شدت بیشتری نسبت به برگ افزایش یابند و نسبت به شاهد دو برابر شوند (Petridis et al., 2012). این محققان نتیجه گرفتند که ترکیبات فنولیک انتقال نمی‌یابند و هر ارگان ظرفیت سنتز این ترکیبات را در مقدار مشخص برای عملکرد بی‌نقص دارد. در سیاه‌دانه نحوه پاسخ ریشه و برگ متفاوت بود؛ شوری ترکیبات فنولیک برگ را در سیاه‌دانه، افزایش و ریشه را کاهش داد که علت مربوط به تجمع بیشتر یون‌های کلر و سدیم در برگ نسبت به ریشه بود (Bourgou et al., 2012). بیشترین مقدار ترکیبات فنولیک گیاه مرزنجوش در بالاترین سطح شوری (۱۵۰ میلی-مولار) مشاهده شد که می‌تواند به علت نقش آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات در خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد اکسیژن تحت شرایط شوری باشد؛ به‌علاوه کاربرد ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر اسید آسکوربیک موجب افزایش ترکیبات فنلی شد (Selahvarzi et al., 2011) در گیاه چای، کاربرد ppm 600 اسید آسکوربیک در فواصل زمانی منظم و متناوب باعث فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز و افزایش محتوای ترکیبات فنلی شد (Murugan et al., 2012).

پراکسید هیدروژن

اثر شوری، محلول‌پاشی و برهم‌کنش این دو عامل بر مقدار پراکسید هیدروژن برگ و ریشه در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). با افزایش غلظت نمک در آب آبیاری، پراکسید هیدروژن ریشه و برگ تدریجاً افزایش یافت؛ به‌گونه‌ای که بیشترین مقدار آن در بالاترین سطح شوری در هر دو بخش برگ و ریشه به دست آمد (جدول ۴). کاربرد اسید آسکوربیک از میزان پراکسید هیدروژن برگ و ریشه کاست، به‌طوری‌که بیشترین مقدار آن در گیاهان شاهد در هر دو بخش مشاهده شد (جدول ۴). با افزایش شوری و عدم کاربرد اسید آسکوربیک پراکسید هیدروژن برگ افزایش داشت (شکل ۳). پراکسید هیدروژن برگ در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر اسید آسکوربیک در تمام سطوح شوری ثابت بود؛ درحالی‌که افزایش غلظت اسید آسکوربیک در بالاترین سطح شوری (۱۰ دسی‌زیمنس) موجب ۲۳ درصد افزایش نسبت به شاهد شد و تفاوتی بین سطوح ۶ و ۲ دسی‌زیمنس نبود. در نبود اسید آسکوربیک و با افزایش شوری، پراکسید هیدروژن ریشه افزایش ۷۵ و ۱۰۰ درصدی در ۶ و ۱۰ دسی-زیمنس داشت (شکل ۴). مشابه روند مشاهده‌شده در برگ، کاربرد غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر، مقدار پراکسید هیدروژن ریشه را ثابت نگه داشت، اما با بالا رفتن غلظت اسید آسکوربیک به ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و در سطح ۱۰ دسی-زیمنس، مقدار پراکسید هیدروژن ریشه نسبت به شاهد افزایش ۱۰۰ درصد داشت (شکل ۴).

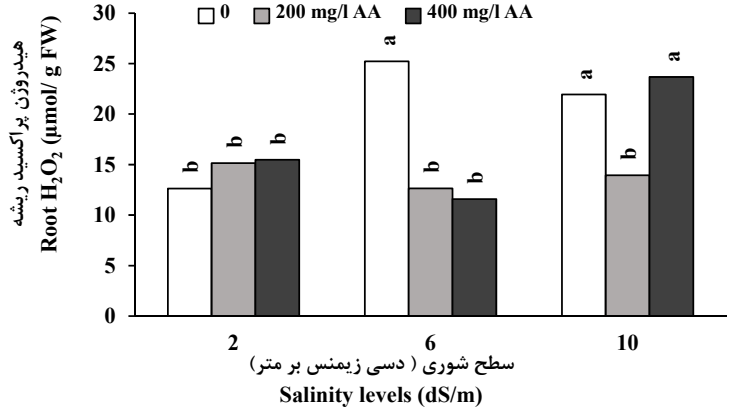
در میان گونه‌های فعال اکسیژن، پراکسید هیدروژن پایداری بالاتر و نیمه‌عمر طولانی‌تری دارد و معمولاً به‌عنوان مولکول سیگنال در گیاه فعالیت می‌کند (Shu-Hsien et al., 2005) و نشان‌دهنده فعال کردن سیستم دفاعی بخش-های مختلف گیاه است (Hernandez et al., 2009). مقدار پراکسید هیدروژن برگ (بدون در نظر گرفتن غلظت نمک) بیشتر از ریشه بود که مشابه نتایج گزارش‌شده در برنج (Lee et al., 2001) است و بیانگر این است که تنش اکسیداتیو حاصل از شوری در برگ بیشتر از ریشه است. طول مدت تنش بر میزان پراکسید هیدروژن سلول اثر می‌گذارد، همان‌طور که هرناندز و همکاران (Hernandez et al., 2009) بیان کردند که شوری کوتاه‌مدت ۸۰ میلی‌مولار موجب تجمع مالون‌دی آلدئید در ریشه کلزا شد؛ اما در طولانی‌مدت حتی غلظت ۴۰ میلی‌مولار هم غلظت مالون‌دی آلدئید را بالا برد.

در ریشه کلزا در ۲۴ ساعت اول تنش شوری میزان پراکسید هیدروژن با سرعت‌بالا رفت که علت آن تنش اسمزی ناشی از نمک کلرید سدیم بود (Kim et al., 2005). کاربرد ۱۰ میلی‌مولار اسید آسکوربیک مقدار پراکسید هیدروژن تولیدشده در برگ همیشه‌بهار را تحت شرایط خشکی کاهش و سیستم پاک‌سازی گیاه را فعال کرد (Hemmati et al., 2018). آنزیم آسکوربات پراکسیداز در حذف پراکسیدهیدروژن نقش دارد و برای انجام آن، به اسید آسکوربیک به‌عنوان پیش ماده نیاز دارد تا آن را حذف کند (Mazid et al., 2011) و باعث حفاظت غشاء در برابر دیگر گونه‌های اکسیژن فعال می‌شود (Shao et al., 2008).



شکل ۳. اثر متقابل شوری و محلول‌پاشی اسید آسکوربیک بر مقدار پراکسید هیدروژن برگ

Fig. 3. Interaction effect of salinity × foliar application of ascorbic acid on leaf hydrogen peroxide



شکل ۴. اثر متقابل شوری و محلول‌پاشی اسید آسکوربیک بر مقدار پراکسید هیدروژن ریشه

Fig. 4. Interaction effect of salinity × foliar application of ascorbic acid on root hydrogen peroxide

عناصر

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر سطوح مختلف شوری بر مقدار پتاسیم ریشه و سدیم، نسبت پتاسیم به سدیم برگ و ریشه معنی‌دار بود (جدول ۵). تأثیر محلول‌پاشی بر سدیم ریشه معنی‌دار بود (جدول ۵).

بالا رفتن میزان نمک در آب آبیاری تغییری در مقدار پتاسیم برگ ایجاد نکرد، اما پتاسیم ریشه تحت تأثیر غلظت نمک قرار گرفت و به ترتیب ۱۵ و ۲۱ درصد در دو سطح ۶ و ۱۰ دسی‌زیمنس کاهش یافت (جدول ۶). استفاده از اسید آسکوربیک، میزان پتاسیم برگ را افزایش داد؛ اما با بالا رفتن غلظت آن از میزان پتاسیم کاسته شد؛ درحالی‌که محلول‌پاشی اسید آسکوربیک بر مقدار محتوای پتاسیم ریشه تأثیری نداشت (جدول ۶). با افزایش غلظت کلرید سدیم، سدیم برگ و ریشه نسبت به شاهد افزایش یافت و به ترتیب در برگ ۳۵ و ۴۴ درصد و در ریشه ۱۱ و ۱۷ درصد در سطوح ۶ و ۱۰ دسی‌زیمنس بالا رفت (جدول ۶). محلول‌پاشی اسید آسکوربیک تنها میزان سدیم ریشه را نسبت به شاهد افزایش داد و بیشترین مقدار در بالاترین غلظت اسید آسکوربیک مشاهده شد (جدول ۶).

نسبت پتاسیم به سدیم برگ و ریشه تحت تأثیر شوری کاهش یافت و مقدار کاهش در برگ ۲۱ و ۱۶ درصد بود؛ درحالی‌که در ریشه میزان کاهش به ترتیب ۲۰ و ۳۳ درصد در سطوح ۶ و ۱۰ نسبت به شاهد بود (جدول ۶). محلول‌پاشی اسید آسکوربیک بر این نسبت در برگ و ریشه تأثیری نداشت. اثر برهم‌کنش شوری و محلول‌پاشی تنها بر پتاسیم برگ و نسبت پتاسیم به سدیم ریشه در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۵). در غیاب اسید آسکوربیک و با افزایش نمک در آب آبیاری، میزان پتاسیم برگ کاهش یافت (شکل ۵).

محلول‌پاشی ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر اسید آسکوربیک تنها در سطح شوری ۶ دسی‌زیمنس باعث افزایش پتاسیم برگ شد. افزایش غلظت اسید آسکوربیک (۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) در دو سطح ۶ و ۱۰ دسی‌زیمنس تحت شرایط شوری تجمع پتاسیم در بافت برگ را، نسبت به شاهد به ترتیب ۱۸ و ۲۲٪ افزایش داد (شکل ۵). محلول‌پاشی اسید آسکوربیک از اثرات منفی شوری بر نسبت پتاسیم به سدیم ریشه کاست؛ به‌طوری‌که در گیاهانی که اسید آسکوربیک دریافت نکرده بودند نسبت پتاسیم به سدیم ریشه ۲۵ و ۴۸ درصد در سطوح ۶ و ۱۰ کاهش یافت (شکل ۶). درحالی‌که در محلول‌پاشی ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر اسید آسکوربیک ۲۳ و ۲۴ درصد و در ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر ۱۶ و ۲۴ درصد کاهش مشاهده شد (شکل ۶).

جدول ۵. نتایج تجزیه واریانس داده‌های حاصل از تأثیر شوری و محلول‌پاشی اسید آسکوربیک بر مقدار پتاسیم، سدیم و نسبت پتاسیم به سدیم برگ و ریشه گیاه علف چای

Table 5 Results of variance analysis for the effect of salinity and ascorbic acid foliar application on potassium, sodium and K/Na ratio of leaf and root of St John's wort

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	پتاسیم برگ Leaf potassium	پتاسیم ریشه Root potassium	سدیم برگ Leaf sodium	سدیم ریشه Root sodium	نسبت پتاسیم به سدیم برگ Leaf K/Na Ratio	نسبت پتاسیم به سدیم ریشه Root K/Na Ratio
شوری Salinity (S)	2	8576^{ns}	28048^{*}	507140^{**}	66128^{**}	0.13^{**}	0.10^{**}
محلول‌پاشی Foliar application(F)	2	19130^{*}	2048^{ns}	91369^{ns}	51282^{**}	0.06^{ns}	0.01^{ns}
شوری×محلول‌پاشی S×F	4	108230^{**}	19618^{ns}	125839^{ns}	42525^{ns}	0.22^{ns}	0.05^{**}
خطا Error	9	17643	21087	103373	27055	0.16	0.006
ضریب تغییرات CV%		*5*	*12*	*9*	*5*	*16*	*5*

^{ns}، * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار، اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد

ns: Non-significant, **,*:significant at 1% and 5% probability level respectively

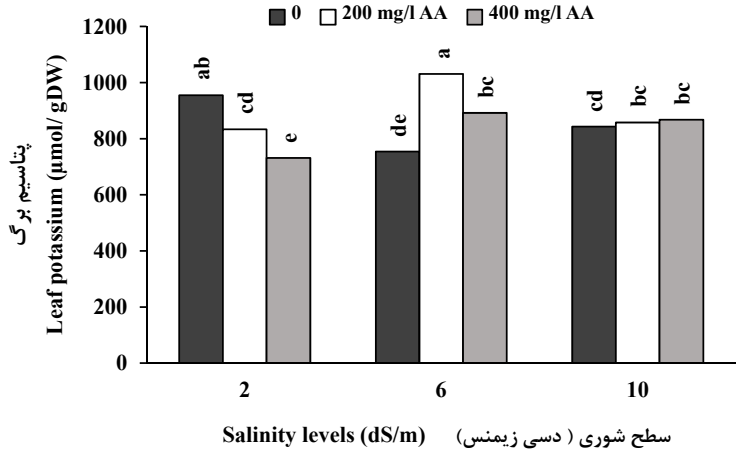
جدول ۶. مقایسه میانگین اثرات سطوح شوری و محلول‌پاشی اسید آسکوربیک بر پتاسیم، سدیم و نسبت پتاسیم به سدیم برگ و ریشه گیاه علف چای

Table 6. Mean comparison of salinity levels and ascorbic acid spraying on potassium, sodium and K/Na ratio of leaf and root of St john's wort

تیمارها Treatments	پتاسیم برگ Leaf potassium	پتاسیم ریشه Root potassium	سدیم برگ Leaf sodium	سدیم ریشه Root sodium	نسبت پتاسیم به سدیم برگ Leaf K/Na Ratio	نسبت پتاسیم به سدیم ریشه Root K/Na Ratio
	----------µmol/ gDW----------					
Salinity levels شوری (دسی زیمنس بر متر)						
2	840.11^{a*}	454.66^{a}	886.46^{b}	844.66^{b}	0.95^{a}	0.55^{a}
6	892.38^{a}	387.43^{b}	1197.5^{a}	938.21^{ab}	0.75^{b}	0.44^{b}
10	856.48^{a}	360.86^{b}	1273.8^{a}	991.28^{a}	0.80^{b}	0.37^{c}
محلول‌پاشی اسید آسکوربیک Ascorbic acid foliar (mg.L)						
0	850.78^{b}	398.44^{a}	1019.4^{a}	862.07^{b}	0.85^{a}	0.48^{a}
200	907.60^{a}	415.13^{a}	1160.2^{a}	919.57^{ab}	0.90^{a}	0.45^{a}
400	830.60^{b}	389.37^{a}	1179.2^{a}	992.51^{a}	0.76^{a}	0.43^{a}

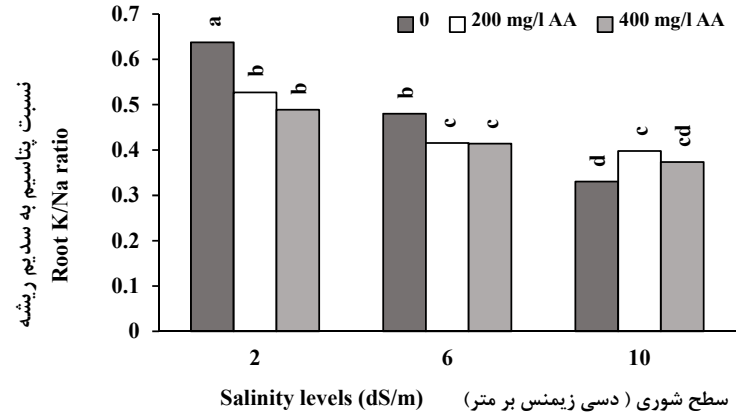
*در هر ستون و برای هر تیمار، میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، بر اساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارد

In each column and for each treatment means with the same letter do not have statistically significant differences at 5% level of probability according to LSD



شکل ۵. اثر متقابل شوری و محلول‌پاشی اسید آسکوربیک بر مقدار پتاسیم برگ

Fig. 5. Interaction effect of salinity × foliar application of ascorbic acid on leaf potassium



شکل ۶. اثر متقابل شوری و محلول‌پاشی اسید آسکوربیک بر نسبت پتاسیم به سدیم ریشه

Fig. 6. Interaction effect of salinity × foliar application of ascorbic acid on root K/Na

زنده ماندن گیاه در شرایط شوری به هوموستازی یون‌ها وابسته است. در فلفل هابانرو هم مشابه نتایج این آزمایش مشاهده شد که در هر دو ژنوتیپ حساس و مقاوم مقدار پتاسیم برگ تحت تأثیر شوری نبود و این ویژگی حفظ و بازیابی پتاسیم توسط ریشه گیاه، به‌عنوان یکی از مکانیسم‌های مقاومت به شوری بیان شد (Bojórquez-Quintal et al., 2014). میان مقادیر سدیم برگ و ریشه صرف‌نظر از سطح تنش شوری تفاوت چشمگیری نبود که می‌تواند نشان‌دهنده این موضوع باشد که سازوکاری برای محبوس کردن سدیم در ریشه و جلوگیری از انتقال آن به برگ و اندام‌های فتوسنتز کننده وجود ندارد (Bojórquez-Quintal et al., 2014). اگرچه نسبت پتاسیم به سدیم در گیاه علف چای کاهش داشت، اما در نسبت پتاسیم به سدیم برگ، مقادیر بالاتر از ۰/۵ می‌تواند نشانگر حفظ تعادل یونی باشد (Gengmao et al., 2015).

افزایش مقدار سدیم، کاهش پتاسیم و کاهش نسبت پتاسیم به سدیم در گیاهانی مانند مریم‌گلی (Gengmao et al., 2014) و گلرنگ (Patil, 2012) گزارش شده است و بیانگر این موضوع است که بالا رفتن غلظت سدیم به رقابت آن برای جذب با پتاسیم، موجب کاهش پتاسیم و نسبت پتاسیم به سدیم می‌شود؛ اما همیشه جذب بالای سدیم، نشان‌دهنده حساسیت به تنش نیست؛ در هالوفیت‌ها و گاهی در گیاهانی مانند جو مشاهده است که با هدف تنظیم یونی، یون‌های معدنی سدیم و کلر در واکوئل ذخیره می‌شود

(Hameed et al., 2015). حضور رادیکال‌های آزاد اکسیژن، حتی در غلظت کم، موجب فعال شدن کانال‌های پلاسمایی کاتیونی و نشت پتاسیم سلول می‌گردد (Koyro et al., 2013). کاهش جذب پتاسیم می‌تواند به علت عدم وجود مکانیسم جذبی انتخابی. وجود اختلالات متابولیسمی مانند کاهش پروتئین‌های سنتزی، اختلال فعالیت آنزیم‌ها دخیل در فرآیند جذب و افزایش نفوذپذیری غشا باشد (Gengmao et al., 2014). یکی دیگر از عواملی که روی کاهش جذب کاتیون‌ها اثرگذار است، لیگنین شدن آوند چوب توسط آنزیم پراکسیداز و به علت تجمع پراکسید هیدروژن در بسیاری از گیاهان تحت شوری است که حرکت کاتیون‌هایی نظیر سدیم را از کورتکس ریشه به اندودرم محدود می‌کند (Fernandez-Garcia et al., 2009). استفاده از اسید آسکوربیک در گیاه علف چای، تغییر معنی‌داری در نسبت پتاسیم به سدیم برگ و ریشه ایجاد نکرد، برخلاف نتایج ما در گیاهچه‌های گندم اسید آسکوربیک در غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نسبت پتاسیم به سدیم برگ را بالا و ریشه را کاهش داد که احتمالاً نسبت کمتر در ریشه نشان‌دهنده احتباس بیشتر سدیم در ریشه است (Athar et al., 2008).

وزن خشک اندام هوایی و ریشه

اثر تنش شوری، محلول‌پاشی و برهمکنش آن‌ها بر وزن خشک ریشه و اندام هوایی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۷).

با بالا رفتن میزان نمک متوسط وزن اندام هوایی و ریشه هر گیاه در گلدان به‌طور متوسط ۲۷ و ۲۱ درصد کاهش یافت و تفاوتی میان سطوح شوری ۶ و ۱۰ دسی‌زیمنس نبود (جدول ۸). محلول‌پاشی اسید آسکوربیک تأثیر مثبت بر این صفات داشت و بیشترین وزن در بالاترین غلظت اسید آسکوربیک (۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) مشاهده شد (جدول ۸). در حضور اسید آسکوربیک و هم‌چنین در عدم حضور آن، کاهش معنی‌داری (در سطح ۵ درصد) در وزن خشک اندام هوایی و ریشه بین تیمارهای کلرید سدیم در مقایسه با شاهد مشاهده گردید؛ جز تیمار ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر اسید آسکوربیک که باعث افزایش وزن خشک ریشه ش (شکل ۷ و ۸). بیشترین وزن اندام هوایی و ریشه در سطح ۲ دسی‌زیمنس و غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر اسید آسکوربیک و کمترین مقدار در بالاترین سطح شوری (۱۰ دسی‌زیمنس) و بدون محلول‌پاشی اسید آسکوربیک به دست آمد (شکل ۷ و ۸).

کاهش مشاهده‌شده در وزن اندام هوایی ممکن است به‌عنوان مکانیسم مقاومت و بقا در نظر گرفته شود تا هدر رفت آب را از سطح برگ کم کند و موجب احتباس یون‌های سمی ریشه و جلوگیری از انباشت این یون‌ها در بخش هوایی گردد (Acosta Motos et al., 2017). کم شدن وزن تر و خشک گیاه یک پاسخ رایج به تنش شوری است و بیشتر ناشی از اثر اسمزی و تنش آبی حاصل از شوری است. کاهش وزن خشک بر اثر شوری در تحقیقات بر روی گیاهانی مانند گیاه مریم‌گلی (Gengmao et al., 2014)، مرزه تابستانه (Najafi and Khavari-Nejad, 2010) و گشنیز (Neffati et al., 2011) مشاهده شده است. با افزایش شوری، یون‌های سمی کلر و سدیم در برگ-های پیرتر انباشت و این برگ‌ها دچار ریزش می‌شوند و از طرف دیگر محدودیت در ساخت برگ‌های جدید به علت وجود غلظت-های سمی این یون‌ها باعث کاهش وزن خشک گیاه می‌شوند (Tounekti and Khemira, 2015). در مطالعه‌ای، همبستگی قوی بین بیوماس خشک مریم‌گلی و پتاسیم ریشه بود و بیانگر این بود که ممانعت از جذب پتاسیم در ریشه، می‌تواند موجب کاهش بیوماس شود (Taârit et al., 2012).

جدول ۷. نتایج تجزیه واریانس داده‌های حاصل از تأثیر شوری و محلول‌پاشی اسید آسکوربیک بر وزن خشک اندام هوایی و ریشه گیاه علف چای

Table 7. Results of variance analysis for the effect of salinity and ascorbic acid foliar application on shoot and root dry weight of St John's wort

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	وزن خشک اندام هوایی Shoot dry weight	وزن خشک ریشه Root dry weight
شوری Salinity(S)	2	0.27**	0.14**
محلول‌پاشی Foliar application (F)	2	0.08**	0.07**
شوری × محلول‌پاشی S × F	4	0.5**	۰0.20**
خطا Error	9	0.01	0.01
ضریب تغییرات CV%		*4*	*5*

ns، * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار، اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد

ns: Non-significant, **,*:significant at 1% and 5% probability level respectively.

جدول ۸. مقایسه میانگین اثرات سطوح شوری و محلول‌پاشی اسید آسکوربیک بر وزن خشک اندام هوایی و ریشه گیاه علف چای

Table 8. Mean comparison of salinity levels and ascorbic acid foliar application shoot and root dry weight of St John's wort

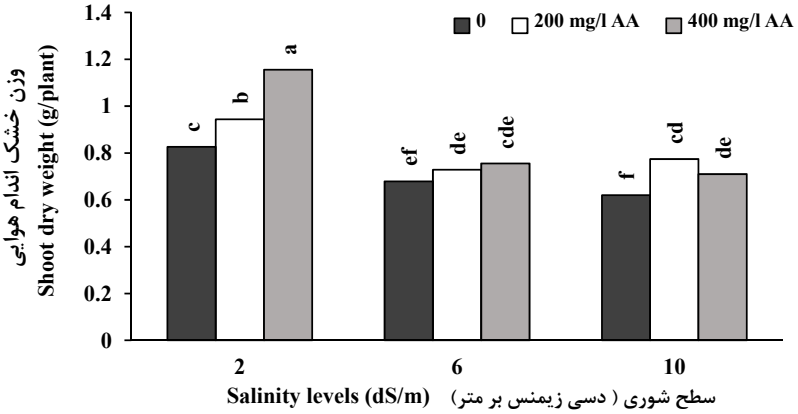
تیمارها Treatments	وزن خشک اندام هوایی Shoot dry weight	وزن خشک ریشه Root dry weight
سطوح شوری Salinity levels ($dS.m^{-1}$)	------ (g /plant) ------	
2	*0.97[a]	0.86[a]
6	0.72[b]	0.69[b]
10	0.70[b]	0.66[b]
محلول‌پاشی اسید آسکوربیک Ascorbic acid foliar application ($mg.l^{-1}$)		
0	0.71[b]	0.65[b]
200	0.82[a]	0.78[a]
400	0.87[a]	0.79[a]

*در هر ستون و برای هر تیمار، میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، بر اساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارد

In each column and for each treeatment means with the same letter do not have statistically.

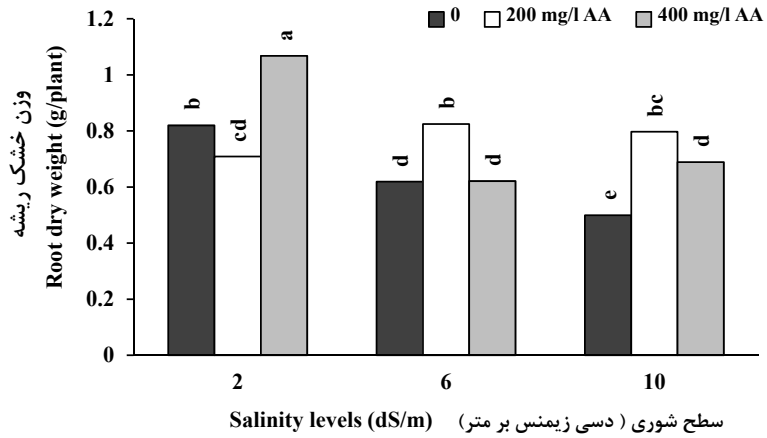
میزان آسیب تنش شوری و تحمل گیاه به غلظت نمک و طول مدت بستگی دارد؛ غلظت نمک ۴۰ تا ۶۰ میلی‌مولار بیوماس اندام هوایی و ریشه را کاهش داد (Bourgou et al., 2012)، درحالی‌که غلظت‌های ۲-۵ دسی‌زیمنس بر متر در طول مدت سه ماه تغییری در وزن خشک برگ و ریشه گیاه *Mytus communis* ایجاد نکرد (Acosta-Motos et al., 2016). در ارزن شن‌دوست (*Panicum turgidum*) که یک گیاه هالوفیت است تا غلظت‌های ۱۲۵ میلی‌مولار نمک تغییری در وزن خشک مشاهده نشد، اما در غلظت ۲۵۰ میلی‌مولار، همگام با افزایش مقدار پراکسید هیدروژن به‌عنوان شاخصی از میزان آسیب اکسیداتیو به گیاه، وزن تر و خشک گیاه کاهش یافت (Koyro et al., 2013). انباشت دو عنصر سدیم و کلر در برگ موجب بسته شدن روزنه و کاهش کلروفیل می‌شود که درنهایت تولید ماده خشک را کاهش می‌دهد (Shahbazi Zadeh et al., 2015). علاوه بر این محدودیت بیوشیمیایی مانند ممانعت از فعالیت روبیسکو و سنتز ATP موجب کاهش فتوسنتز و رشد می‌گردد (Reddy et al., 2004).

در سیاه‌دانه هم کاهش وزن تر و خشک به علت شوری مشاهده شد که در گیاهان تحت تیمار با اسید آسکوربیک به علت خاصیت جبران‌کنندگی آن، میزان کاهش کمتر بود (Ghorbanli et al., 2010). شوری در غلظت ۳۰۰ میلی مولار روی وزن خشک گیاه Limonium stocksii تأثیری نداشت؛ اما با شدت یافتن شوری و رسیدن غلظت نمک به ۶۰۰ میلی‌مولار وزن خشک تا ۵۰٪ کاهش یافت و اسپری کردن آسکوربیک اسید توانست این میزان کاهش را جبران کند (Hameed et al., 2015). در شرایط تنش، وجود هورمون اسید آبسیزیک تولید پراکسید هیدروژن را بالا می‌برد و موجب بسته شدن روزنه می‌شود؛ اما به خاطر پاک‌سازی توسط اسید آسکوربیک فرایند بسته شدن روزنه کاهش و میزان تولید بیوماس گیاه کمتر تحت تأثیر مضرات تنش قرار می‌گیرد که با نتایج این آزمایش تطابق دارد (Venkatesh and Park, 2014).



شکل ۷. اثر متقابل شوری و محلول‌پاشی اسید آسکوربیک بر مقدار بیوماس اندام هوایی

Fig. 7. Interaction effect of salinity × foliar application of ascorbic acid on shoot biomass



شکل ۸. اثر متقابل شوری و محلول‌پاشی اسید آسکوربیک بر مقدار بیوماس ریشه

Fig. 8. Interaction effect of salinity × foliar application of ascorbic acid on root biomass

درمجموع، در گیاه علف چای، شوری با افزایش یون سدیم، تأثیر منفی بر کلروفیل و ماده خشک داشت. افزایش گونه‌های فعال اکسیژن نظیر پراکسید هیدروژن و ترکیبات فنولی بیانگر ارتباط بین رادیکال‌های آزاد و فعال شدن سیستم دفاعی بیوشیمیایی گیاه است. این گیاه با بازیابی و حفظ پتاسیم راهکار تحمل به تنش را به اجرا گذاشت و به مقابله با اثرات منفی شوری پرداخت. ازآنجایی‌که تفاوت چندانی میان دو سطح شوری ۶ و ۱۰ وجود نداشت، به همین خاطر به نظر می‌رسد این گیاه تا سطح ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر قادر به تحمل شوری است. کاربرد اسید آسکوربیک توانست درصد کاهش تحت شرایط تنش شوری بکاهد و غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر اسید آسکوربیک در شرایط مشابه توصیه می‌شود.

منابع

Acosta-Motos, J., Ortuño, M., Bernal-Vicente, A., Diaz-Vivancos, P., Sanchez-Blanco, M., Hernandez, J., 2017. Plant responses to salt stress: adaptive mechanisms. Agronomy. 7, 18.

Acosta-Motos, J.R., Ortuño, M.F., Álvarez, S., López-Climent, M.F., Gómez-Cadenas, A., Sánchez-Blanco, M.J., 2016. Changes in growth, physiological parameters and the hormonal status of Myrtus communis L. plants irrigated with water with different chemical compositions. Journal of Plant Physiology. 191, 12-21.

Ahl, S.-A., Omer, E., 2011. Medicinal and aromatic plants production under salt stress. A review. Herba Polonica. 57.

Akram, N.A., Shafiq, F., Ashraf, M., 2017. Ascorbic acid-a potential oxidant scavenger and its role in plant development and abiotic stress tolerance. Frontiers in Plant Science. 8, 613.

Arnon, D.I., 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. Plant physiology, 24, p.1.

Athar, R., Khan, A., Ashraf, M., 2008. Exogenously applied ascorbic acid alleviates salt-induced oxidative stress in wheat. Environmental and Experimental Botany. 63, 224-231.

Banerjee, A., Roychoudhury, A., 2017. Effect of salinity stress on growth and physiology of medicinal plants, Medicinal Plants and Environmental Challenges. Springer, pp. 177-188.

Bojorquez-Quintal, E., Velarde-Buendía, A., Ku-González, Á., Carillo-Pech, M., Ortega-Camacho, D., Echevarría-Machado, I., Pottosin, I., Martínez-Estévez, M., 2014. Mechanisms of salt tolerance in habanero pepper plants (*Capsicum chinense* Jacq.): proline accumulation, ions dynamics and sodium root-shoot partition and

compartmentation. Frontiers in Plant Science. 5, 605.

Bourgou, S., Bettaieb, I., Hamrouni, I., Marzouk, B., 2012. Effect of NaCl on fatty acids, phenolics and antioxidant activity of Nigella sativa organs. Acta Physiologiae Plantarum. 34, 379-386.

Briskin, D.P., Leroy, A., Gawienowski, M., 2000. Influence of nitrogen on the production of hypericins by St. John's wort. Plant Physiology and Biochemistry. 38, 413-420.

Caretto, S., Linsalata, V., Colella, G., Mita, G., Lattanzio, V., 2015. Carbon fluxes between primary metabolism and phenolic pathway in plant tissues under stress. International Journal of Molecular Sciences. 16, 26378-26394.

Emam, M., Helal, N., 2008. Vitamins minimize the salt-induced oxidative stress hazards. Australian Journal of Basic and Applied Sciences. 2, 110-1119.

Fernandez-Garcia, N., Lopez-Perez, L., Hernandez, M., Olmos, E., 2009. Role of phi cells and the endodermis under salt stress in Brassica oleracea. New Phytologist 181, 347-360.

Gengmao, Z., Quanmei, S., Yu, H., Shihui, L., Changhai, W., 2014. The physiological and biochemical responses of a medicinal plant (*Salvia miltiorrhiza* L.) to stress caused by various concentrations of NaCl. PloS one 9, e89624.

Gengmao, Z., Yu, H., Xing, S., Shihui, L., Quanmei, S., Changhai, W., 2015. Salinity stress increases secondary metabolites and enzyme activity in safflower. Industrial Crops and Products 64, 175-181.

Germ, M., Stibilj, V., Kreft, S., Gaberščik, A., Kreft, I., 2010. Flavonoid, tannin and hypericin concentrations in the leaves of St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.) are affected by UV-B radiation levels. Food Chemistry. 122, 471-474.

Ghorbanli, M., Hashemi, N., 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, 370-388. [In Persian with English summary].

Hamada, A., 1998. Effects of exogenously added ascorbic acid, thiamin or aspirin on photosynthesis and some related activities of drought-stressed wheat plants, Photosynthesis: Mechanisms and effects. Springer, pp. 2581-2584.

Hameed, A., Gulzar, S., Aziz, I., Hussain, T., Gul, B., Khan, M.A., 2015. Effects of salinity and ascorbic acid on growth, water status and antioxidant system in a perennial halophyte. AoB Plants. 7.

Hemmati, K., Ebadi, A., Khomari, S., Sedghi, M., 2018. Influence of ascorbic acid and 24-epibrassinolide on physiological characteristics of pot marigold under water-stress condition. Journal of Plant Interactions. 13, 364-372.

Hernandez, M., Fernandez-Garcia, N., Diaz-Vivancos, P., Olmos, E., 2009. A different role for hydrogen peroxide and the antioxidative system under short and long salt stress in Brassica oleracea roots. Journal of Experimental Botany. 61, 521-535.

Jajic, I., Sarna, T., Strzalka, K., 2015. Senescence, stress, and reactive oxygen species. Plants. 4, 393-411.

Khan, T., Mazid, M., Mohammad, F., 2011. A review of ascorbic acid potentialities against oxidative stress induced in plants. Journal of Agrobiology. 28, 97-111.

Kim, S.-Y., Lim, J.-H., Park, M.-R., Kim, Y.-J., Park, T.-I., Seo, Y.-W., Choi, K.-G., Yun, S.-J., 2005. Enhanced antioxidant enzymes are associated with reduced hydrogen peroxide in barley roots under saline stress. BMB Reports 38, 218-224.

Koocheki, A., Nassiri-Mahallati, M., Azizi, G., 2008. Effect of drought, salinity, and defoliation on growth characteristics of some medicinal plants of Iran. Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants. 14, 37-53

Koyro, H.-W., Hussain, T., Huchzermeyer, B., Khan, M.A., 2013. Photosynthetic and growth responses of a perennial halophytic grass Panicum turgidum to increasing NaCl concentrations. Environmental and Experimental Botany. 91, 22-29.

Lee, D.H., Kim, Y.S., Lee, C.B., 2001. The inductive responses of the antioxidant enzymes by salt stress in the rice (*Oryza sativa* L.). Journal of Plant Physiology. 158, 737-745.

Mazid, M., Khan, T.A., Khan, Z.H., Quddusi, S., Mohammad, F., 2011. Occurrence, biosynthesis and potentialities of ascorbic acid

in plants. International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences. 1, 167-184.

Munns, R., Wallace, P.A., Teakle, N.L., Colmer, T.D., 2010. Measuring soluble ion concentrations (Na^+, K^+, Cl^-) in salt-treated plants, Plant stress tolerance. Springer, pp. 371-382.

Murugan, A.C., Thomas, J., Rajagopal, R.K., Mandal, A., 2012. Metabolic responses of tea (*Camellia* sp.) to exogenous application of ascorbic acid. Journal of Crop Science and Biotechnology. 15, 53-57.

Najafi, F., Khavari-Nejad, R., 2010. The effects of salt stress on certain physiological parameters in summer savory (*Satureja hortensis* L.) plants. Journal of Stress Physiology and Biochemistry 6.

Naz, H., Akram, N.A., Ashraf, M., 2016. Impact of ascorbic acid on growth and some physiological attributes of cucumber (*Cucumis sativus*) plants under water-deficit conditions. Pakistan Journal of Botany. 48, 877-883.

Neffati, M., Sriti, J., Hamdaoui, G., Kchouk, M.E., Marzouk, B., 2011. Salinity impact on fruit yield, essential oil composition and antioxidant activities of Coriandrum sativum fruit extracts. Food Chemistry. 124, 221-225.

Noctor, G., Foyer, C.H., 1998. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. Annual Review of Plant Biology. 49, 249-279.

Patil, N.M., 2012. Adaptations in response to salinity in safflower Cv. Bhima. Asian Journal of Crop Science. 4, 50-62.

Petridis, A., Therios, I., Samouris, G., Tananaki, C., 2012. Salinity-induced changes in phenolic compounds in leaves and roots of four olive cultivars (*Olea europaea* L.) and their relationship to antioxidant activity. Environmental and Experimental Botany. 79, 37-43.

Reddy, A.R., Chaitanya, K.V., Vivekanandan, M., 2004. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. Journal of Plant Physiology. 161, 1189-1202.

Seevers, P., Daly, J., 1970. Studies on Wheat stem rust resistance controlled at the Sr6 locus. I. The role of phenolic compounds. Phytopathology. 60, 1322-1328.

Selahvarzi, Y., Goldani, M., Nabati, J., Alirezaei, M., 2011. Effect of exogenous application of ascorbic acid on some physiochemical changes in oregano (*Origanum majorana* L.) under salt stress. Iranian Journal of Horticultural Science. 42,159-16. [In Persian with English summary].

Shahbazi Zadeh, E., Movahhedi Dehnavi, M., Balouchi, H., 2015. Effects of foliar application of salicylic and ascorbic acids on some physiological characteristics of soybean (cv. Williams) under salt stress. Journal of Plant Process and Function. 4, 13-22. [In Persian with English summary].

Shao, H.-B., Chu, L.-Y., Lu, Z.-H., Kang, C.-M., 2008. Primary antioxidant free radical scavenging and redox signaling pathways in higher plant cells. International Journal of Biological Sciences. 4, 8.

Shu-Hsien, H., Chih-Wen, Y., Lin, C.H., 2005 Hydrogen peroxide functions as a stress signal in plants. Botanical Bulletin of Academia Sinica. 46.

Siler, B., Misic, D., Filipovic, B., Popovic, Z., Cvetic, T., Mijovic, A., 2007. Effects of salinity on in vitro growth and photosynthesis of common centaury (*Centaurium erythraea* Rafn.). Archives of Biological Sciences. 59, 129-134.

Taârit, M.B., Msaada, K., Hosni, K., Marzouk, B., 2012. Physiological changes, phenolic content and antioxidant activity of Salvia officinalis L. grown under saline conditions. Journal of the Science of Food and Agriculture. 92, 1614-1619.

Tounekti, T., Khemira, H., 2015. NaCl stress-induced changes in the essential oil quality and abietane diterpene yield and composition in common sage. Journal of Intercultural Ethnopharmacology. 4, 208.

Velikova, V., Yordanov, I. and Edreva, A., 2000. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. Plant Science, 151, 59-66.

Venkatesh, J., Park, S.W., 2014. Role of L-ascorbate in alleviating abiotic stresses in crop plants. Botanical Studies. 55, 38.