تأثیر محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف آسکوربیک اسید بر واکنش سورگوم به تنش شوری

احمد رجبی دهنوی و مرتضی زاهدی*

گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۹/۰۷، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۸/۳/۲۸)

چکیده

به‌منظور بررسی تأثیر محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف آسکوربیک اسید بر واکنش گیاه سورگوم (رقم اسپیدفید) به تنش شوری یک آزمایش گلدانی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار در بهار و تابستان سال ۱۳۹٦ در فضای باز دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل دو سطح شوری (صفر و ۱۰۰ میلی‌مولار سدیم کلرید) و پنج غلظت آسکوربیک اسید (صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بود. در اثر شوری غلظت پتاسیم، نسبت غلظت پتاسیم به سدیم، غلظت کلروفیل و کاروتنوئید و وزن خشک اندام هوایی و ریشه کاهش ولی غلظت سدیم، پرولین و فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز اکسیداز و آسکوربات پراکسیداز افزایش یافت. میزان کاهش وزن خشک گیاه در اثر شوری در غلظت‌های صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر آسکوربیک اسید به‌ترتیب ۳۰، ۲۷، ۲٤، ۲۷ و۲۰ درصد بود. محلول‌پاشی گیاهان با آسکوربیک اسید موجب بهبود صفات رشدی، غلظت پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش غلظت سدیم در سورگوم گردید. در اثر کاربرد غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر آسکوربیک اسید بیشترین افزایش در وزن خشک گیاه در هر دو شرایط غیرشور (۳۰ درصد) و شور (٤۱ درصد) حاصل شد. اثر کاربرد آسکوربیک اسید بر افزایش فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز بیشتر از آنزیم کاتالاز مشاهده شد. براساس نتایج حاصل از این تحقیق محلول‌پاشی آسکوربیک اسید نه‌تنها موجب بهبود رشد گیاه سورگوم گردید بلکه اثرات منفی تنش شوری بر این گیاه را نیز تعدیل کرد.

کلمات کلیدی: سدیم کلرید، آسکوربیک اسید، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، سدیم، پتاسیم، پرولین

مقدمه

شوری ازجمله مهم‌ترین عوامل محیطی محدودکننده تولیدات زراعی به‌ویژه در نواحی خشک و نیمه‌خشک جهان است. حدود ۲۰ درصد از زمین‌های زراعی فاریاب و ۲/۱ درصد از زمین‌های دیم در جهان تحت تأثیر شوری هستند (Sytar *et al.*, 2017). در ایران نیز با توجه به اینکه بخش اعظمی از مساحت کشور در مناطق خشک و نیمه‌خشک واقع شده است، مشکل شوری یک معضل بزرگ است و حدود ۵۰ درصد از زمین‌های کشاورزی با مشکل شوری یا قلیایی روبه‌رو هستند (حق‌نیا، ۱۳٦۸). در محیط‌های شور بسته به شدت و مدت زمان تنش، رشد و نمو گیاهان عمدتاً توسط تنش اسمزی و سمیت یونی محدود می‌شود (Djanaguiraman and Prarad, 2013). در این محیط‌ها برهم‌خوردن تعادل عناصر غذایی، محدودشدن فعالیت‌های آنزیمی و واکنش‌های متابولیکی و

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: mzahedi@cc.iut.ac.ir

همچنین تغییر در سطح تنظیم‌کننده‌های رشد موجب کاهش عملکرد گیاهان می‌شود. از طرفی این شرایط باعث تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) از جمله رادیکال سوپراکسید ($O2^{\bullet-}$)، هیدروژن پراکسید (H_2O_2) رادیکال هیدروکسیل ($\bullet OH$) و اکسیژن یکتایی ($^1O_2$) در کلروپلاست، میتوکندری و فضای آپوپلاستی می‌گردد (Khan *et al.*, 2012). گونه‌های فعال اکسیژن بسیار مخرب هستند و از طریق پراکسیداسیون لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک سبب آسیب‌رساندن به غشاها و ساختار سلولی در گیاهان و کارکرد آنها می‌گردند که این امر سبب کاهش رشد گیاه می‌شود (Ahmad and Prasad, 2012).

فتوسنتز یکی از مهم‌ترین مسیرهای متابولیکی است که رشد گیاهان را کنترل می‌کند و از جمله مهم‌ترین فرآیندهای تأثیرپذیر از شوری نیز است. تنش شوری قادر است از طریق تأثیر بر فاکتورهای مختلف باعث کاهش ظرفیت فتوسنتزی در گیاه شود (Lin *et al.*, 2017). در واقع شوری از طریق آسیب به ماشین فتوسنتزی در سطوح مختلف از جمله غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی، کارکرد روزنه‌ها و تبادلات گازی، توسعه کلروپلاست‌ها، همچنین از طریق اختلال در ساختار و فعالیت غشاها و زنجیره انتقال الکترون و فعالیت‌های آنزیمی عملکرد گیاه را کاهش می‌دهد (Kaya *et al.*, 2013).

بسیاری از گونه‌های گیاهی برای مقابله با تنش شوری دارای فرآیندهای دفاعی متعددی هستند. از جمله این فرآیندها تجمع ترکیبات محلول سازگار مانند پرولین در سلول‌های گیاهی است (Farhangi-Abriz and Ghassemi, 2018). در واقع گیاهان تحت تنش شوری از این راهکار جهت حفظ تعادل یونی در واکوئل، مهار گونه‌های فعال اکسیژن، تنظیم اسمزی و محافظت از ماکرومولکول‌ها و اندامک‌ها استفاده می‌کنند (Mir *et al.*, 2015). سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی از جمله آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز نیز یک فرآیند دفاعی مهم دیگر جهت کاهش اثرات تنش است. این آنزیم‌ها نقش مهمی در کنترل تنش اکسیداتیو از طریق سمیت‌زدایی رادیکال‌های آزاد اکسیژن ایفا می‌کنند. مطالعات نشان داده است که گیاهان متحمل به شوری از دفاع آنتی‌اکسیدانی و تنظیم اسمزی با کارایی بالاتری برخوردار هستند (Nexel *et al.*, 2017).

آسکوربیک اسید یک متابولیت ثانویه است که در گیاهان سنتز می‌شود (Hasanuzzaman *et al.*, 2012). این ترکیب کوفاکتور مهمی برای آنزیم‌های دخیل در فتوسنتز و تنظیمات روزنه‌ای گیاه بوده که در بیوسنتز مواد تنظیم‌کننده رشد نیز نقش مؤثری دارد (Lisko *et al.*, 2014). به‌علاوه، آسکوربیک اسید یک ترکیب آنتی‌اکسیدانی مهم در جهت محافظت اندام‌ها و سلول‌ها از اثرات مخرب رادیکال‌های آزاد اکسیژن نیز است (Mukhtar *et al.*, 2016). در غالب موارد سطح داخلی آسکوربیک اسید برای کاهش اثرات منفی انواع تنش کافی نیست (Latif *et al.*, 2016). محلول‌پاشی آسکوربیک اسید سبب افزایش غلظت داخلی آن با جذب از روزنه‌ها می‌گردد و کاربرد خارجی آن می‌تواند در بهبود رشد گیاهان تحت تنش ایفای نقش کند (Mukhtar *et al.*, 2016). مطالعات متعددی نشان داده است که کاربرد آسکوربیک اسید در محیط شور سبب کاهش اثرات نامطلوب شوری بر رشد گیاهان می‌شود. چنانچه در مطالعه Younis و همکاران (۲۰۱۰) کاربرد آسکوربیک اسید موجب بهبود پارامترهای رشد در گیاهان لوبیا تحت تنش شوری گردید و این اثر مثبت با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون ردوکتاز همراه بود. در آزمایش Gadallah (۲۰۰۰) کاربرد اسید آسکوربیک موجب حفاظت از همبستگی غشا و ممانعت از آسیب‌رسیدن به کلروپلاست در گیاهان گلرنگ گردید. همچنین Shalata و Neumann (۲۰۰۱) نشان دادند کاربرد خارجی آسکوربیک اسید در بازیابی گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی از صدمات تنش شوری مؤثر است. در مطالعه Hamada و Al-Hakimi (۲۰۰۹) نیز کاربرد خارجی آسکوربیک اسید به‌طور مؤثر اثرات منفی شوری بر فتوسنتز، بیوسنتز رنگیزه‌ها و نفوذپذیری غشا را کاهش داد. Azzedine و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که کاربرد آسکوربیک اسید از طریق افزایش سطح برگ، بهبود غلظت کلروفیل و کاروتنوئید و افزایش تجمع پرولین و کاهش

هیدروژن پراکسید اثرات سو تنش شوری بر گیاهان را تعدیل می‌کند. با این حال، اثرات تعدیل‌کننده آسکوربیک اسید به مرحله نموی گیاه و غلظت کاربردی این ترکیب بستگی دارد.

سورگوم یک گیاه زراعی با نرخ فتوسنتز و تولید زیست توده بالا است که کشت آن در سطح جهان در مقام پنجم پس از گندم، برنج، ذرت و جو قرار دارد (Ighbal, 2015). این گیاه با شرایط ایران به‌ویژه مناطق گرم و خشک آن سازگاری خوبی دارد و دارای پتانسیل استفاده در محیط‌های شور است (Iqbal and Iqbal, 2015). تأثیر تنش شوری بر گیاه سورگوم در ایران نیز به‌طور گسترده‌ای مورد بررسی قرار گرفته است (رنجبر و ولی‌سلطانی، ۱۳۹۶؛ سعادت و همایی، ۱۳۹۳؛ آناقلی و همکاران، ۱۳۸۹؛ بزی و همکاران ۱۳۸۷ و پیری و همکاران ۱۳۹۵). برای مثال علی‌نیا و کاظمینی (۱۳۹۶) گزارش نمودند که با افزایش سطح شوری نسبت سدیم به پتاسیم در اندام هوایی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در دو رقم پگاه و اسپیدفید قرمز روند افزایشی نشان دادند. ایشان بیان داشتند که جذب و انتقال کمتر سدیم به اندام هوایی یکی از مکانیزم‌های تحمل به شوری ارقام مقاوم سورگوم است. همچنین پیری و همکاران (۱۳۹۵) نشان دادند که با افزایش شوری عملکرد علوفه تر و خشک و درصد پروتئین گیاهان سورگوم کاهش ولی غلظت کربوهیدرات‌ها و پرولین افزایش یافت. در مطالعه شاکری و همکاران (۱۳۹۶) تنش شوری باعث کاهش قطر ساقه، ارتفاع بوته، تعداد برگ، شاخص سطح برگ، عملکرد علوفه تر و خشک در ژنوتیپ‌های سورگوم گردید. همچنین دیانت مهارلویی و همکاران (۱۳۹۳) بیان داشتند که تنش شوری افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در گیاهان سورگوم به‌همراه دارد. اطلاعات قابل دسترسی در رابطه با تأثیر کاربرد غلظت‌های مختلف آسکوربیک اسید بر خصوصیات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه سورگوم تحت تنش شوری وجود ندارد. لذا، این تحقیق با هدف بررسی پاسخ گیاهان سورگوم به شوری و میزان تأثیرگذاری غلظت‌های مختلف آسکوربیک اسید بر بهبود رشد و تحمل این گیاه به تنش شوری انجام شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش با رقم علوفه‌ای اسپیدفید سورگوم (*Sorghum bicolor* (L.) var Speedfeed) تهیه‌شده از مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر در فضای باز مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان در بهار و تابستان سال ۱۳۹۶ انجام شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام گرفت. در این آزمایش فاکتور اول شامل دو سطح شوری (صفر و ۱۰۰ میلی‌مولار سدیم کلرید) و فاکتور دوم در برگیرنده پنج سطح محلول‌پاشی آسکوربیک اسید (صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بود. برای انجام این آزمایش از گلدان‌های پلاستیکی به قطر دهانه ۲۳ و ارتفاع ۲۵ سانتی‌متر با ظرفیت ۸ کیلوگرم خاک استفاده شد. جهت ایجاد شرایط زهکشی مناسب، در کف هر گلدان سنگریزه‌های ریخته‌شده و سپس به گلدان‌ها مخلوطی از خاک و ماسه شیرین به نسبت ۲ به ۱ اضافه و تعداد ۱۰ بذر در هر گلدان کشت گردید. پس از استقرار کامل، تعداد گیاهان در هرگلدان به ۳ بوته یکنواخت کاهش یافت و سپس تیمار شوری تا زمان برداشت اندام هوایی گیاهان اعمال شد. برای جلوگیری از واردشدن شوک اسمزی به گیاهان، میزان نمک در نظر گرفته‌شده جهت تیمار شوری به تدریج و طی سه مرحله به محیط رشد گیاه اضافه شد. زمان آبیاری در طول دوره رشد گیاهان براساس ۵۵ درصد تخلیه آب قابل استفاده در خاک در تیمار شاهد غیرشور تعیین گردید. به این منظور ابتدا رطوبت و مکش متناظر مورد نیاز برای ترسیم منحنی رطوبتی خاک با استفاده از دستگاه صفحه فشاری محاسبه و منحنی تغییرات رطوبت خاک رسم شد و رطوبت خاک جهت تعیین زمان اعمال تیمارها با دستگاه TDR (TDR Trase System, Model 6050XI; Soil Moisture, Santa Barbara, CA) اندازه‌گیری شد، به طوری که اندازه‌گیری‌ها از دو روز پس از آبیاری آغاز و تا آبیاری بعدی ادامه داشت. در هر نوبت آبیاری میزان ۱۵ درصد آب زهکش برای جلوگیری

جدول ۱- ویژگی‌های خاک مورد استفاده

بافت	هدایت الکتریکی (دسی‌زیمنس بر متر)	pH	ظرفیت زراعی (درصد وزنی)	پژمردگی دائم (درصد وزنی)	جرم مخصوص ظاهری (گرم بر سانتی‌متر مکعب)	نیتروژن کل (درصد)	فسفر (میلی¬گرم بر کیلوگرم)	پتاسیم (میلی¬گرم بر کیلوگرم)
لوم-رسی	۱/٦	۷/۵	۲۳	۱۰	۱/۳	۰/۱	۳۹/۱۹	٤۱٦

از تجمع نمک در نظر گرفته شد. یک ماه بعد از اعمال تیمار شوری و در ادامه تیمار شوری، محلول‌پاشی گیاهان در دو مرحله به فاصله یک هفته از یکدیگر انجام گرفت. در طول آزمایش با توجه به آنالیز خاک (جدول ۱)، نیاز غذایی گیاهان از طریق کاربرد کود کامل تأمین شد.

نحوه اندازه‌گیری صفات، تبادلات گازی: یک هفته پس از محلول‌پاشی دوم میزان فتوسنتز، هدایت روزنه‌ای و غلظت دی‌اکسید کربن زیر روزنه با دستگاه قابل حمل اندازه‌گیری تبادلات گازی مدل (LCA4, ADC, Biosientific LTD, UK) بر روی جوان‌ترین برگ توسعه‌یافته بین ساعت ۹ صبح تا ۱۲ ظهر انجام گرفت و پس از آن در این مرحله نمونه‌گیری جهت اندازه‌گیری غلظت پرولین، کلروفیل a، b و کاروتنوئید و همچنین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز انجام شد.

غلظت کلروفیل و کاروتنوئید: برای اندازه‌گیری غلظت کلروفیل از روش Lichtenthaler و Buschmann (۲۰۰۱) استفاده شد. در این روش ۰/۵ گرم از برگ به قطعات کوچکی خرد شد و در داخل هاون چینی به‌همراه ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد به‌طور کامل له گردید. نمونه حاصل با استفاده از کاغذ صافی واتمن صاف گردید، به طوری که مواد باقیمانده در بالای صافی کاملاً سفید و فاقد کلروفیل شده بودند. عصاره حاصل به‌مدت ۱۵ دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. محتوای هر لوله آزمایش با استون ۸۰ درصد به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد و سپس میزان جذب نوری هریک از عصاره‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول‌موج‌های ٦٦۳، ٦٤٦ و ٤۷۰ نانومتر خوانده شد. از استون ۸۰ درصد (بدون عصاره گیاهی) برای بلانک‌کردن دستگاه اسپکتروفتومتر استفاده شد. میزان صفات مذکور با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه شد.

$$Chl\ a = [(12.21 \times A663) - (2.81 \times A646) \times ml\ Aseton / mg\ Leaf$$

$$Chl\ b = [(20.13 \times A646) - (5.03 \times A663) \times ml\ Aseton / mg\ Leaf$$

$$Car = [(1000 \times A470 - 3.27(Chl\ a) - 104(Chl\ b)) / 227] \times ml\ Aseton / mg\ Leaf$$

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی: برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، ابتدا ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت گیاهچه در یک هاون سردشده با یک میلی‌لیتر بافر استخراج مخلوط و به‌طور کامل یکنواخت شد. بافر استخراج از پلی‌وینیل پیرولیدون یک درصد، تریتون X100 نیم درصد و بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=۷) تشکیل شده بود. عصاره حاصل با سرعت ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه و در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. بخش شفاف بالای عصاره برای سنجش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به‌کار گرفته شد (Elavarthi and Martin, 2010).

کاتالاز: فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از روش تغییریافته و اصلاح‌شده Aebi (۱۹۸۳) و با ردیابی اسپکتروفتومتری تجزیه H_2O_2 در طول‌موج ۲٤۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای این منظور ۲/۹۵ میلی‌لیتر بافر واکنش شامل بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار و هیدروژن پراکسید ۱۵ میلی‌مولار، با ۰/۰۵ میلی‌لیتر عصاره آنزیم مخلوط گردید. فعالیت ویژه آنزیم کاتالاز از تقسیم فعالیت حجمی این آنزیم بر میزان پروتئین عصاره که به روش Bradford (۱۹۷٦) تعیین شده بود، محاسبه گردید.

آسکوربات پراکسیداز: فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز با روش تغییریافته و اصلاح‌شده Nakano و Asada

(۱۹۸۱)، به‌صورت اسپکتروفتومتری و با اندازه‌گیری کاهش جذب در طول‌موج ۲۹۰ نانومتر تخمین زده شد. برای شروع واکنش، ۲/۹۵ میلی‌لیتر بافر واکنش شامل بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار، هیدروژن پراکسید نیم میلی‌مولار، آسکوربات ۵ میلی‌مولار با ۰/۰۵ میلی‌لیتر عصاره آنزیم مخلوط گردید. فعالیت ویژه آنزیم آسکوربات پراکسیداز از تقسیم فعالیت حجمی این آنزیم بر میزان پروتئین عصاره که به روش Bradford تعیین شده بود، محاسبه گردید.

سوپراکسید دیسموتاز: فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با استفاده از روش تغییریافته و اصلاح‌شده Giannopolitis و Ries (۱۹۷۷) اندازه‌گیری شد. ۵۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی به سه میلی‌لیتر بافر واکنش شامل بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷/۸)، EDTA ۷۵ نانومولار، متیونین ۱۳ میلی‌مولار، نیتروبلو تترازولیوم ٦٣ میکرومولار و ریبوفلاوین ۱/۳ میکرومولار اضافه گردید. نمونه‌ها به‌مدت ۱۵ دقیقه در معرض نور قرار گرفته و پس از این مدت میزان جذب آنها در طول‌موج ٥٦٠ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. یک نمونه مشابه ولی نور ندیده به‌عنوان بلانک و یک نمونه، که تمامی اجزای بافر واکنش به استثنای عصاره آنزیمی را دارا بود، به‌عنوان شاهد به‌کار گرفته شد. فعالیت ویژه آنزیم سوپراکسید دیسموتاز از تقسیم فعالیت حجمی این آنزیم بر میزان پروتئین عصاره که به روش Bradford تعیین شده بود، محاسبه گردید.

سنجش غلظت پرولین: برای تعیین غلظت پرولین از روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) استفاده شد. در ابتدا، برای تهیه معرف نین‌هیدرین، مقدار ۱/۲۵ گرم از این ماده، داخل ارلن ریخته شد و به آن ۳۰ میلی‌لیتر استیک اسید گلاسیال و ۲۰ میلی‌لیتر فسفریک اسید ٦ مولار اضافه گردید. سپس محلول حاصل به آرامی حرارت داده شد تا نین‌هیدرین به‌طور کامل حل شود. در مرحله بعد، مقدار نیم گرم از بافت گیاهچه، در هاون چینی و در ۱۰ میلی‌لیتر سولفوسالیسیلیک اسید سه درصد، به‌خوبی ساییده شد. ماده همگن حاصل در دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه، در دمای چهار درجه سانتی‌گراد و به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس ۲ میلی‌لیتر از عصاره صاف‌شده به لوله درب‌دار منتقل گردید و به آن ۲ میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر استیک اسید گلاسیال، اضافه شد. پس از بستن درب لوله‌ها، آنها به‌مدت یک ساعت در حمام آب‌گرم با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و بعد از سردشدن، به هر یک از لوله‌ها مقدار چهار میلی‌لیتر تولوئن اضافه شد. برای مخلوط‌کردن این دو محلول، به‌مدت ۱۵ تا ۲۰ ثانیه لوله‌ها تکان داده شدند. سرانجام فاز رویی که به رنگ قرمز در آمده و حاوی پرولین محلول در تولوئن بود، جدا گردید. استانداردهایی از پرولین از غلظت صفر تا ۰/۱ میکرومول بر میلی‌لیتر تهیه گردید و نهایتاً میزان جذب محلول‌های استاندارد و نمونه‌ها در طول‌موج ٥٢٠ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. از تولوئن به‌عنوان محلول شاهد (بلانک) استفاده گردید.

غلظت یون‌های سدیم و پتاسیم: برای اندازه‌گیری غلظت یون‌های سدیم و پتاسیم ابتدا بالاترین برگ توسعه‌یافته نمونه‌گیری شد و پس از خشک‌شدن نمونه‌ها در آون، آسیاب شدند. از هر نمونه آسیاب‌شده به مقدار یک گرم توزین و داخل کروزه چینی ریخته شده و داخل کوره الکتریکی مدل (AG 111) به‌مدت ٤ ساعت در دمای ٥٥٠ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت تا اینکه به‌طور کلی مواد آلی آن سوخته و به خاکستر تبدیل شد. بعد از خنک‌شدن کروزه‌ها، مقدار ۱۰ میلی‌لیتر کلریدریک اسید ۲ نرمال به آنها اضافه شد. سپس با حرارت‌دادن ملایم کروزه روی هیتر مواد خاکسترشده در اسید حل گردید و محلول تهیه‌شده از قیف و کاغذ صافی عبور داده شد و عصاره در بالن ژوژه جمع‌آوری گردید. سپس مقدار کافی آب‌مقطر به بالن ژوژه اضافه شد و حجم نهایی عصاره به ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. پس از تهیه عصاره‌ها، برای اندازه‌گیری سدیم و پتاسیم از دستگاه شعله سنج (Flame Photometer 410) استفاده گردید.

وزن خشک گیاه: پس از برداشت گیاهان اندام‌های هوایی و ریشه گیاه در هر واحد آزمایشی به‌طور جداگانه در داخل پاکت‌های کاغذی قرار داده شد و پس از خشک‌شدن در آون

به‌مدت ۷۲ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد نمونه‌ها توزین شدند.

محاسبات آماری: پس از ثبت داده‌ها، تجزیه واریانس داده‌ها به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (SAS 9.4) بر روی صفات انجام شد و از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال ۵ درصد برای مقایسه میانگین داده‌ها استفاده گردید.

نتایج و بحث

تبادلات گازی: برهمکنش شوری و محلول‌پاشی آسکوربیک اسید بر فتوسنتز و هدایت روزنه‌ای در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). شوری میزان فتوسنتز و هدایت روزنه‌ای را در کلیه سطوح محلول‌پاشی آسکوربیک اسید کاهش داد (جدول ۳). میزان این کاهش در غلظت‌های صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار آسکوربیک اسید برای فتوسنتز به‌ترتیب ۳٤، ۲٦، ۲۹، ۲۹ و ۲۷ درصد و برای هدایت روزنه‌ای ۳۰، ۳۱، ۲٦، ۳۳ و ٤۰ درصد بود. هم‌راستا با نتایج آزمایش حاضر کاهش تبادلات گازی در اثر تنش شوری در مطالعه صادقی و شوریجه (۲۰۱۲) در ارقام اسپیدفید و پگاه سورگوم علوفه‌ای مشاهده گردید.

به‌نظر می‌رسد تنش شوری از طریق کاهش پتانسیل آب در گیاه موجب القای بسته و محدودشدن انتشار روزنه‌ای شده و این محدودیت هدایت روزنه‌ای و فتوسنتز را کاهش داده است (Munns and Tester, 2008).

محلول‌پاشی آسکوربیک اسید در هر دو شرایط غیرشور و شور میزان فتوسنتز و هدایت روزنه‌ای را افزایش داد (جدول ۳). در اثر کاربرد سطوح ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر آسکوربیک اسید در مقایسه با تیمار عدم‌محلول‌پاشی، در شرایط غیرشور میزان فتوسنتز به‌ترتیب ۱۳، ۳۲، ۳۸ و ۲۳ درصد و هدایت روزنه‌ای ۱۰، ۲۷، ۱۵ و ۱۲ درصد افزایش یافت. این مقادیر افزایشی در شرایط شور برای فتوسنتز ۲٦، ٤۰، ٤۸ و ۳٤ درصد و برای هدایت روزنه‌ای ۸، ۱٤، ۱۰ و ٤ درصد بود. بر این اساس، در شرایط غیرشور و شور بیشترین میزان افزایش فتوسنتز در اثر کاربرد غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار و بیشترین میزان افزایش هدایت روزنه‌ای با کاربرد غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار آسکوربیک اسید به‌دست آمد. در محیط‌های شور کاهش پتانسیل آب در گیاه و آسیب به ساختار کلروپلاست سبب کاهش فعالیت‌های فتوشیمیایی و ظرفیت فتوسنتزی می‌شود (Turan and Tripathy, 2012). مطالعات نشان داده است که ارتباط مثبتی بین وضعیت آبی گیاهان و سطح آسکوربیک اسید داخلی وجود دارد (Athar *et al.*, 2009). مطالعات نشان داده است که آسکوربیک اسید نقش مهمی در تنظیمات روزنه‌ای دارد (chen and gallie, 2004). به‌علاوه Athar و همکاران (۲۰۰۹) بیان داشتند که تغییرات فتوسنتزی در اثر کاربرد خارجی آسکوربیک اسید ممکن است مربوط به برخی عوامل غیرروزنه‌ای باشد که در سطوح پایین آسکوربیک اسید در گیاه القا می‌شوند. حفظ وضعیت آبی گیاه برای رشد و نمو گیاهان بسیار مهم است (Munns, 2002). در واقع افزایش جذب آسکوربیک اسید در اثر کاربرد خارجی این ترکیب سبب بهبود وضعیت آبی گیاه شده و دستگاه فتوسنتزی را از تنش اکسیداتیو حاصل از تنش شوری محافظت می نماید (Akhtar *et al.*, 2009). Hamada و Al-Hakimi (۲۰۰۹) نشان دادند که کاربرد خارجی آسکوربیک اسید به‌طور مؤثر اثرات بازدارندگی شوری بر فتوسنتز و بیوسنتز رنگیزه‌ها را تعدیل می‌کند. بیشترین مقادیر فتوسنتز (۲۱/۳ میکرومول بر متر مربع در ثانیه) و هدایت روزنه‌ای (۱۳۳ مول بر متر مربع در ثانیه) به‌ترتیب در تیمارهای محلول‌پاشی ۱۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر آسکوربیک اسید در شرایط غیرشور و کمترین آنها (۱۰/۲ و ۷۰/٤ میکرومول) به‌ترتیب در تیمارهای عدم‌محلول‌پاشی و محلول‌پاشی ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر آسکوربیک اسید در محیط شور به‌دست آمد (جدول ۳).

غلظت کلروفیل و کاروتنوئید: برهمکنش شوری و محلول‌پاشی آسکوربیک اسید بر غلظت کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). شوری غلظت کلروفیل و کاروتنوئید را در کلیه سطوح محلول‌پاشی آسکوربیک اسید کاهش داد (جدول ٤). این میزان

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر عوامل آزمایشی بر برخی از صفات فیزیولوژیکی سورگوم

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		فتوسنتز	هدایت روزنه‌ای	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کارتنوئید
تیمار شوری	۱	۲۹۰ **	۱۷۱۶۱ **	۱/٦٤ **	۰/٦٨٧ **	٤/٤٥ **	۰/۱۷۸ **
آسکوربیک اسید	٤	۳٤/۹**	٤۱۰ **	۰/۱۷۸ **	۰/۰۱۰ **	۰/۲۷۲ **	۰/۰۰۸ **
شوری × آسکوربیک اسید	٤	۰/۹۵۷ *	۱۲٤ **	۰/۰۱۸ *	۰/۰۰۰۵ **	۰/۰۲۵ *	۰/۰۰۰٦ **
خطا	۳۰	۰/۱۷۲	۱۰/۱	۰/۰۰۳	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۳۳	۰/۰۰۰۰۲
ضریب تغییرات (٪)		۵/۹۹	۳/۲٤	۷/۵۱	۷/۷۲	۱۱/۸	۸/٦۲

**** و * به‌ترتیب نشان‌دهنده معنی‌داربودن در سطوح احتمال ۱ و ۵ درصد است.**

جدول ۳- مقایسه میانگین‌های اثرات برهمکنش شوری و آسکوربیک اسید بر فتوسنتز و هدایت روزنه‌ای

سطح شوری (میلی‌مولار)	غلظت آسکوربیک اسید (میلی‌گرم در لیتر)	فتوسنتز (میکرومول بر متر مربع در ثانیه)	هدایت روزنه‌ای (مول بر متر مربع در ثانیه)
۰	صفر	۱۵/٤ e	۱۰۵ d
۱۰۰		۱۰/۲ h	۷۳/۲ f
۰	۵۰	۱۷/٤ d	۱۱۵ c
۱۰۰		۱۲/۹ g	۷۹/٤ e
۰	۱۰۰	۲۰/۳ b	۱۳۳ a
۱۰۰		۱٤/۳ f	۸۳/۱ e
۰	۱۵۰	۲۱/۳ a	۱۲۰ b
۱۰۰		۱۵/۱ e	۸۰/٤ e
۰	۲۰۰	۱۸/۹ c	۱۱۸ bc
۱۰۰		۱۳/۷ f	۷۰/٤ f

برای هر صفت میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در سطح احتمال ۵ درصد آزمون LSD اختلاف معنی‌داری ندارند.

کاهش در غلظت‌های صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار آسکوربیک اسید برای کلروفیل a، به‌ترتیب ٤٤، ۲۳، ۲۵، ۲۷ و ۲٤ درصد، کلروفیل b به‌ترتیب ٦۲، ۵۰، ٤۸، ٤۷ و ٤۹ درصد، کلروفیل کل ٤۹، ۳۱، ۳۱، ۳۲ و ۳۱ درصد و کاروتنوئید ٤۸، ۳۵، ۳۵، ۳۰ و ۳۱ درصد بود. هم‌راستا با این نتایج در مطالعه Tari و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که تنش شوری از طریق اختلال در بیوسنتز کلروفیل غلظت آن را در سورگوم کاهش داد. کاهش غلظت کلروفیل‌ها در محیط شور می‌تواند به‌دلیل غیرفعال‌شدن آنزیم مسئول سنتز آنها و یا افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز و همچنین اختلال در جذب برخی عناصر ضروری نظیر آهن و منیزیم باشد (Arulbalachandran *et al.*, 2009). در آزمایش حاضر نیز تنش شوری غلظت کاروتنوئید را در گیاهان سورگوم کاهش داد. مطالعات نشان داده است که علت کاهش غلظت کاروتنوئید مربوط به تجزیه بتاکاروتن و تشکیل زئازانترین در چرخه گزانتوفیل است (Sultana *et al.*, 1999). با این وجود، نتایج تحقیقات دیگر نشان می‌دهد که در برخی موارد غلظت کاروتنوئید در اثر شوری افزایش می‌یابد (وفادار و همکاران، ۱۳۹۷). کاروتنوئیدها نقش مهمی در حمایت گیاهان در برابر فرآیندهای اکسیداتیو دارند و می‌توانند به‌عنوان یک عامل آنتی‌اکسیدانی با اکسیژن یکتایی و رادیکال پراکسید

جدول ٤- مقایسه میانگین اثرات برهمکنش شوری و آسکوربیک اسید بر غلظت کلروفیل و کارتنوئید

سطوح شوری (میلی‌مولار)	غلظت آسکوربیک اسید (میلی‌گرم در لیتر)	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کارتنوئید
۰	۰	۱/۲۷ d	۰/٤٦۹ d	۱/۷٤ d	۰/۳۳۷ d
۱۰۰		۰/۷۱۵ g	۰/۱۷۷ h	۰/۸۹۲ g	۰/۱۷۵ i
۰	۵۰	۱/۳۸ c	۰/۵۰٦ c	۱/۸۹ c	۰/۳۷۰ c
۱۰۰		۱/۰٦ f	۰/۲۵۰ g	۱/۳۱ f	۰/۲۳۹ h
۰	۱۰۰	۱/٤۹ b	۰/۵۲۱ b	۲/۰۱ b	۰/۳۸۸ b
۱۰۰		۱/۱۲ ef	۰/۲٦۸ f	۱/۳۹ ef	۰/۲۵۲ g
۰	۱۵۰	۱/٦۱ a	۰/۵٤۸ a	۲/۱٦ a	۰/٤۰۰ a
۱۰۰		۱/۱۸ e	۰/۲۹۱ e	۱/٤۷ e	۰/۲۷۹ e
۰	۲۰۰	۱/٤٤ bc	۰/۵۰۹ c	۱/۹۵ bc	۰/۳۷۷ c
۱۰۰		۱/۰۹ f	۰/۲۵۷ g	۱/۳٤ f	۰/۲٦۰ f

برای هر صفت میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در سطح احتمال ۵ درصد آزمونLSD اختلاف معنی‌داری ندارند.

واکنش دهند (Stahli and Sies, 2003). به‌علاوه، کاروتنوئیدها از طریق مکانیسم چرخه گزانتوفیل باعث مصرف اکسیژن و حفاظت از کلروفیل در مقابل فتواکسیداسیون می‌شوند (علیزاده بناب و همکاران، ۱۳۸٦). در واقع مهم‌ترین نقش کاروتنوئیدها جلوگیری از تشکیل اکسیژن یکتایی و حفاظت کلروفیل‌ها با فرونشاندن حالت‌های برانگیخته آنها از طریق انتشار انرژی حرارتی است (Ashraf *et al.*, 2008). به‌نظر می‌رسد افزایش غلظت کاروتنوئیدها در ژنوتیپ‌های متحمل به شوری سورگوم ممکن است مربوط به تغییر در سنتز کاروتنوئیدها برای محافظت از کلروپلاست از تنش اکسیداتیو باشد (Ashraf *et al.*, 2008).

محلول‌پاشی آسکوربیک اسید در هر دو شرایط غیرشور و شور محتوای کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید را افزایش داد (جدول ٤). در اثر کاربرد سطوح ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر آسکوربیک اسید در مقایسه با تیمار عدم‌محلول‌پاشی، در شرایط غیرشور میزان محتوای کلروفیل a به‌ترتیب ۸، ۱۷، ۲۷ و ۱۳ درصد، کلروفیل b به‌ترتیب ۸، ۱۱، ۱۷ و ۸ درصد، کلروفیل کل به‌ترتیب ۸، ۱۵، ۲٤ و ۱۲ درصد و کاروتنوئید به‌ترتیب ۹، ۱۵، ۱۹ و ۱۲ درصد افزایش و در شرایط شور این مقادیر افزایشی برای محتوای کلروفیل a به‌ترتیب ٤۸، ۵٦، ٦۵ و ۵۲ درصد، کلروفیل b به‌ترتیب ٤۱، ۵۱، ٦٤ و ٤۵ درصد، کلروفیل کل به‌ترتیب ٤۷، ۵٦، ٦۵ و ۵۰ درصد و کاروتنوئید به‌ترتیب ۳٦، ٤٤، ٦۰ و ٤۸ درصد بود. آسکوربیک اسید نقش مؤثری در بازسازی مجدد کاروتنوئیدهای اکسیده‌شده و یا توکوفرول‌ها دارد (Choudhury *et al.*, 1993; Shao *et al.*, 2006). اکسیژن یکتایی و رادیکال هیدروکسیل دو گونه فعال اکسیژن هستند که از طریق حمله به ترکیبات دارای باند دوگانه مانند اسیدهای چرب غیراشباع و کلروفیل سبب آسیب به سیستم غشا کلروپلاست و مراکز واکنش فتوسنتزی می‌شوند (Zhang *et al.*, 2003). آسکوربیک اسید یک ترکیب سمیت‌زدا و خنثی‌کننده رادیکال‌های سوپراکسید و سایر گونه‌های اکسیژن یکتایی است که از طریق بازداری از فعالیت این رادیکال‌های آزاد سبب حفظ محتوای کلروفیل می‌شود (Dolatabadian *et al.*, 2008). همچنین کاربرد خارجی آسکوربیک اسید می‌تواند از طریق حفاظت از ساختار و غشا کلروپلاست‌ها در مقابل سمیت سدیم کلرید سبب حفظ نفوذپذیری آنها شود (Foyer *et al.*, 1991). از طرفی افزایش سطح آسکوربیک اسید در گیاه سبب حفاظت از دستگاه فتوسنتزی در مقابل تنش اکسیداتیو

حاصل از تنش شوری می‌شود (Gul *et al.*, 2015). بیشترین غلظت کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید (به‌ترتیب ۱/٦۱، ۰/٥٤۸، ۲/۱٦ و ۰/٤۰۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) در تیمار محلول‌پاشی ۱٥۰ میلی‌گرم در لیتر آسکوربیک اسید در شرایط غیرشور و کمترین غلظت آنها (۰/۷۱٥، ۰/۱۷۷، ۰/۸۹۲ و ۰/۱۷٥ میلی‌گرم) در تیمار عدم‌محلول‌پاشی در محیط شور به‌دست آمد (جدول ٤).

فعالیت ویژه آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی: برهمکنش شوری و محلول‌پاشی آسکوربیک اسید بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ٥). شوری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را در کلیه سطوح محلول‌پاشی آسکوربیک اسید افزایش داد (جدول ٦). این میزان افزایش در غلظت‌های کاربردی صفر، ٥۰، ۱۰۰، ۱٥۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر آسکوربیک اسید برای کاتالاز به‌ترتیب ۱۰٤، ۱۸٦، ۱۹۸، ۲۱۰ و ۱۸۲ درصد، آسکوربات پراکسیداز ۱۰۲، ۲۱۰، ۲۳۲، ۲٤۰ و ۲۰٦ درصد، سوپراکسید دیسموتاز ۱۰٦، ۱۸۰، ۲۰۲، ۲۲۳ و ۱۸۹ درصد بود. نتایج این تحقیق هم‌راستا با نتایج سایر تحقیقات بر روی گیاه سورگوم (Temizgul *et al.*, 2016) است. از جمله مهم‌ترین مکانیسم‌های دفاعی در برابر تنش اکسیداتیو حاصل از تنش شوری افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی است. افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی جمع‌آوری‌کننده رادیکال‌های فعال اکسیژن مانند کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در پاسخ به تنش‌های محیطی اتفاق می‌افتد (Alhasnawi *et al.*, 2014). نتایج بررسی گیاهان مختلف نشان داده است که یک سیستم آنتی‌اکسیدانی کارآمد با تحمل به تنش شوری همبستگی مثبتی دارد (Sajid and Aftab, 2009). گیاهان دارای محتوای بالاتر آنتی‌اکسیدان مقاومت بیشتری نسبت به تنش‌های اکسیداتیو دارند (Garratt *et al.*, 2002). در واقع ترکیبات آنتی‌اکسیدانی نقش مهمی در سمیت‌زدایی رادیکال‌های آزاد اکسیژن ایفا می‌کنند (Mittler *et al.*, 2004).

محلول‌پاشی آسکوربیک اسید در هر دو شرایط غیرشور و شور فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را افزایش داد (جدول ٦). در اثر کاربرد سطوح ٥۰، ۱۰۰، ۱٥۰ ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر آسکوربیک اسید در مقایسه با تیمار عدم‌محلول‌پاشی، در شرایط غیرشور فعالیت کاتالاز به‌ترتیب ٤، ۸، ۹ و ۱۳ درصد، آسکوربات پراکسیداز ۱۸، ۳۸، ٥۱ و ۳۳ درصد و سوپراکسید دیسموتاز ۲۱، ٤٦، ٥۳ و ٤۲ درصد افزایش یافت. این مقادیر افزایشی در شرایط شور برای کاتالاز به‌ترتیب ۲٦، ۹٦، ٥۳ و ۰/۳ درصد، آسکوربات پراکسیداز ۸۱، ۱۲٦، ۱٥٤ و ۹۹ درصد و سوپراکسید دیسموتاز ٦٥، ۱۱٤، ۱٤۱ و ۹۹ درصد بود. بر این اساس، بیشترین میزان افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز در شرایط غیرشور به‌ترتیب در اثر کاربرد غلظت ۲۰۰، ۱٥۰ و ۱٥۰ میلی‌گرم در لیتر آسکوربیک اسید و در شرایط شور در اثر کاربرد غلظت‌های ۱۰۰، ۱٥۰ و ۱٥۰ میلی‌گرم در لیتر آسکوربیک اسید به‌دست آمد. بررسی‌های متعدد نشان داده است که آسکوربیک اسید نقش مؤثری در بهبود تحمل گیاهان به تنش‌های غیرزنده ایفا می‌کند (Amiri *et al.*, 2013). در مطالعه Dehghan و همکاران (۲۰۱۱) نیز محلول‌پاشی آسکوربیک اسید از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پروکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز سبب بهبود رشد گیاهان سویا تحت تنش شوری گردید. همچنین آزادی و همکاران (۱۳۹۲) نشان دادند که کاربرد آسکوربیک اسید از طریق افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و آسکوربات پروکسیداز در گیاهان سورگوم تحت تنش شوری باعث بهبود رشد آنها شد. در آزمایش حاضر بیشترین میزان فعالیت کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز (به‌ترتیب ۱/٦٤، ۹/٥۷ و ۸/۲٥ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) در تیمار محلول‌پاشی ۱٥۰ میلی‌گرم در لیتر آسکوربیک اسید در شرایط شور و کمترین میزان فعالیت آنها (۰/۳٤۹، ۱/۸٦ و ۱/٦٦ واحد) در تیمار عدم‌محلول‌پاشی در محیط غیرشور به‌دست آمد (جدول ٦). به‌نظر می‌رسد که افزایش سطح فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در اثر کاربرد خارجی آسکوربیک اسید در راستای افزایش مقاومت گیاهان نسبت به

جدول ۵- تجزیه واریانس اثر عوامل آزمایشی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، غلظت پرولین و عناصر

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات							
		کاتالاز	آسکوربات پراکسیداز	سوپراکسید دیسموتاز	پرولین	سدیم	پتاسیم	پتاسیم/ سدیم
تیمار شوری	۱	٦/۸۳ **	۲۳۷ **	۱٦۸ **	۲۱۱۷ **	۱/۸۰ **	۱۳۲ **	۱۱۲۷۰ **
آسکوربیک اسید	٤	۰/۳۷۹ **	۱۳/۲ **	۹/۸۹ **	۲٤۱ **	۰/۰۷۱ **	٤/۹٦ **	۲۰۵ **
شوری×آسکوربیک اسید	٤	۰/۱٦۸ **	٦/۸٤ **	٤/۵۱ **	۳۱/۷ **	۰/۰۵۰ **	۰/۲۳٤ **	۳۱/۲ **
خطا	۳۰	۰/۰۰۲	۰/۰۱۳	۰/۰۱٤	۲/٤۹	۰/۰۰۰۰٦	۰/۰۰۷	۰/۱۳۰
ضریب تغییرات(٪)		۷/٤۱	۱۰/۵۳	۱۰/۳	٦/۵۸	۸/۵۲	۱۰/۸	٦/۰۱

** نشان‌دهنده معنی‌داربودن در سطح احتمال ۱ درصد است.

جدول ٦- مقایسه میانگین اثرات برهمکنش شوری و آسکوربیک اسید بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و پرولین

سطوح شوری (میلی‌مولار)	غلظت آسکوربیک اسید (میلی‌گرم در لیتر)	کاتالاز	آسکوربات پراکسیداز	سوپراکسید دیسموتاز	پرولین
۰	صفر	۰/۳٤۹ g	۱/۸٦ i	۱/٦٦ i	۱۲/۰ f
۱۰۰		۰/۷۱۱ e	۳/۷۷ e	۳/٤۲ e	۲۱/۱ d
۰	۵۰	۰/٤۰۹ g	۲/۲۰ h	۲/۰۲ h	۱٤/۱ f
۱۰۰		۱/۱۷ d	٦/۸۳ d	۵/٦٦ d	۲٦/۰ c
۰	۱۰۰	۰/۵۰۰ f	۲/۵۷ g	۲/٤۳ fg	۱۸/٤ e
۱۰۰		۱/٤۹ b	۸/۵٤ b	۷/۳۵ b	۳٤/۲ b
۰	۱۵۰	۰/۵۲۹ f	۲/۸۱ f	۲/۵۵ f	۲۰/۳ de
۱۰۰		۱/٦٤ a	۹/۵۷ a	۸/۲۵ a	۳۹/۰ a
۰	۲۰۰	۰/٤۸۹ f	۲/٤۷ g	۲/۳٦ g	۱۹/۲ de
۱۰۰		۱/۳۸ c	۷/۵٦ c	٦/۸۳ c	۳٦/۱ b

برای هر صفت میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در سطح احتمال ۵ درصد آزمون LSD اختلاف معنی‌داری ندارند.

تنش اکسیداتیو باشد (Athar *et al.*, 2008; Athar *et al.*, 2009). بر این اساس، گیاهان دارای سطح بالاتر فعالیت آنتی‌اکسیدانی نسبت به تنش اکسیداتیو حاصل از تنش شوری مقاومت بیشتری نشان می‌دهند (Meloni and Martinez, 2009). به‌علاوه، کاربرد آسکوربیک اسید با حفظ و افزایش محتوای پروتئین سبب بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در محیط‌های شور می‌شود (El-Bassiouny and Sadak, 2015). با این وجود، گزارشاتی نیز دلالت بر کاهش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در اثر کاربرد آسکوربیک اسید دارند. این گزارشات کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی را مرتبط با کاهش اثرات منفی تنش شوری بر فعالیت‌های متابولیکی گیاه به‌واسطه کاربرد آسکوربیک اسید دانسته که درنتیجه آن تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و فعال‌شدن سیستم آنتی‌اکسیدانی به میزان کمتری به‌وقوع می‌پیوندد (Hassanein, 1999; Hassanein *et al.*, 2009).

غلظت پرولین: برهمکنش شوری و محلول‌پاشی آسکوربیک اسید بر غلظت پرولین در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۵). شوری غلظت پرولین را در کلیه

سطوح محلول‌پاشی آسکوربیک اسید افزایش داد (جدول ٦). این میزان افزایش در غلظت‌های کاربردی صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر آسکوربیک اسید به‌ترتیب ۷٦، ۸٤، ۸٦، ۹۲ و ۸۸ درصد بود. هم‌راستا با این نتایج، افزایش غلظت پرولین در گیاهان سورگوم تحت تنش شوری در مطالعات مختلفی گزارش شده است (Bavei *et al.*, 2011, Omari and Nhiri, 2015, Temizgul *et al.*, 2016). تحقیقات نشان داده است که افزایش غلظت پرولین در محیط شور مربوط به افزایش فعالیت آنزیم‌ها از جمله پیرولین کربوکسیلیک سینتتاز و بیان برخی از ژن‌ها مربوطه است (Zhu *et al.*, 1998). به‌نظر می‌رسد افزایش غلظت پرولین در گیاهان تحت تنش شوری نوعی واکنش از طرف گیاه به کاهش پتانسیل آب در محیط ریشه است و گیاه از این طریق با کاهش پتانسیل اسمزی سلول‌های ریشه، شرایط لازم برای جذب آب و عناصر غذایی را فراهم می‌کند (Cavelierl, 1983). از طرفی تجمع پرولین در اثر شوری علاوه بر افزایش تحمل گیاهان به شوری در طول بازیابی گیاه به‌صورت یک منبع آلی کربن و نیتروژن عمل می‌کند (Gupta and Huang, 2014).

محلول‌پاشی آسکوربیک اسید در هر دو شرایط غیرشور و شور غلظت پرولین را افزایش داد (جدول ٦). در اثر کاربرد سطوح ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر آسکوربیک اسید در مقایسه با تیمار عدم‌محلول‌پاشی، غلظت پرولین در شرایط غیرشور به‌ترتیب ۱۷، ۵۳، ٦۹ و ٦۰ درصد و در شرایط شور ۲۳، ٦۲، ۸۵ و ۷۱ درصد افزایش یافت. بر این اساس، بیشترین میزان افزایش غلظت پرولین در هر دو شرایط غیرشور و شور در اثر کاربرد غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر آسکوربیک اسید به‌دست آمد. بیشترین غلظت پرولین (۳۹ نانومول بر گرم وزن تر) در تیمار محلول‌پاشی۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر آسکوربیک اسید در شرایط شور و کمترین آن (۱۲ نانومول) در تیمار عدم محلول‌پاشی در محیط غیرشور به‌دست آمد (جدول ٦). افزایش غلظت پرولین در اثر محلول‌پاشی آسکوربیک اسید ممکن است مربوط به تأثیر آسکوربیک اسید بر فعالیت آنزیم‌های سنتزکننده پرولین از جمله پیرولین کربوکسیلیک اسید و گلوتامیل کیناز باشد (Misra and Misra, 2012). با این وجود، کاهش غلظت پرولین در اثر کاربرد آسکوربیک اسید نیز در برخی آزمایشات گزارش شده است (Dolatabadian *et al.*, 2008; Alqurainy, 2007). به‌نظر می‌رسد آسکوربیک اسید به‌علت ایفای نقش آنتی‌اکسیدانی در شرایط تنش و همچنین به‌علت کوفاکتوربودن آن برای آنزیم پرولین هیدروکسیلاز از طریق تبدیل پرولین به هیدروکسی پرولین قادر است مقدار پرولین آزاد را کاهش دهد (Alqurainy, 2007).

غلظت یون‌های سدیم و پتاسیم: برهمکنش شوری و محلول‌پاشی آسکوربیک اسید بر غلظت سدیم، پتاسیم و نسبت پتاسیم به سدیم اندام هوایی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۵). شوری در کلیه سطوح محلول‌پاشی آسکوربیک اسید غلظت سدیم در اندام هوایی را افزایش ولی غلظت پتاسیم و نسبت پتاسیم به سدیم را کاهش داد (جدول ٦). در غلظت‌های کاربردی صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر آسکوربیک اسید میزان افزایش غلظت سدیم به‌ترتیب ۲٤٦، ۲۵۲، ۱۸۰، ۱۲۰ و ۱٤۱ درصد و میزان کاهش غلظت پتاسیم ٤۰، ۳۸، ۳٤، ۳۷ و ۳۹ درصد و همچنین میزان کاهش نسبت پتاسیم به سدیم ۸۳، ۸۲، ۷٦، ۷۱ و ۷۵ درصد بود. هم‌راستا با نتایج این تحقیق، در مطالعات دیگر نیز افزایش غلظت سدیم و کاهش غلظت پتاسیم در سورگوم در اثر تنش شوری گزارش شده است (Almodares *et al.*, 2014). در واقع مشخص شده است که افزایش سدیم در بافت‌های گیاهان تحت تنش شوری به‌علت ورود بالای این یون از طریق کانال‌های کاتیونی و آنیونی غیرانتخابی اتفاق می‌افتد به‌علاوه، تجمع این یون در ریشه سبب ایجاد اختلال در مکانیسم جذب عناصر غذایی به‌وسیله غشا سلولی شده و این امر سبب افزایش انتقال سدیم به اندام هوایی گیاهان می‌گردد (Amtmann and Sanders, 1999). از طرفی افزایش غلظت سدیم و کاهش غلظت پتاسیم در محیط‌های شور مربوط به رقابت این دو یون در جایگاه‌های جذب در ریشه گیاهان است. افزایش نسبت غلظت پتاسیم به سدیم نقش مؤثری در حفظ نرخ فتوسنتزی و عملکرد روزنه‌ها ایفا می‌کند و پائین‌بودن نسبت پتاسیم به

جدول ۷- مقایسه میانگین اثرات برهمکنش شوری و آسکوربیک اسید بر غلظت سدیم و پتاسیم و نسبت پتاسیم به سدیم اندام هوایی

سطوح شوری (میلی‌مولار)	غلظت آسکوربیک اسید (میلی‌گرم در لیتر)	سدیم اندام هوایی	پتاسیم اندام هوایی	پتاسیم/ سدیم
۰	صفر	۰/۲۵۳ f	۸/۱۵ e	۳۲/۲ e
۱۰۰		۰/۸۷۵ a	٤/۹۰ j	۵/٦۰ j
۰	۵۰	۰/۲۲۰ g	۹/۵۰ d	٤۳/۱ d
۱۰۰		۰/۷۷۵ b	۵/۸٤ i	۷/۵۳ i
۰	۱۰۰	۰/۲۱٦ g	۹/۷۲ c	٤۵/۰ c
۱۰۰		۰/٦۰٤ c	٦/۳۹ g	۱۰/٦ h
۰	۱۵۰	۰/۲۱۱ g	۱۰/۵ a	٤۹/۹ a
۱۰۰		۰/٤٦٤ e	٦/٦۱ f	۱٤/۲ f
۰	۲۰۰	۰/۲۱۵ g	۱۰/۲ b	٤۷/۵ b
۱۰۰		۰/۵۱۹ d	٦/۲۲ h	۱۱/۹ g

برای هر صفت میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در سطح احتمال ۵ درصد آزمونLSD اختلاف معنی‌داری ندارند.

سدیم موجب اختلال در فعالیت‌های آنزیمی سیتوپلاسم می‌شود (Redouane and Mohamed, 2015).

محلول‌پاشی آسکوربیک اسید در هر دو شرایط غیرشور و شور غلظت سدیم اندام هوایی را کاهش ولی غلظت پتاسیم و نسبت پتاسیم به سدیم را افزایش داد (جدول ۷). در اثر کاربرد سطوح ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر آسکوربیک اسید در مقایسه با تیمار عدم‌محلول‌پاشی، در شرایط غیرشور غلظت پتاسیم به‌ترتیب ۱٦، ۱۹، ۲۹ و ۲۵ درصد و نسبت پتاسیم به سدیم ۳٤، ٤۰، ۵۵ و ٤۷ درصد افزایش و غلظت سدیم ۱۳، ۱۵، ۱۷ و ۱۵ درصد کاهش یافت. در شرایط شور مقادیر افزایشی برای غلظت پتاسیم به‌ترتیب ۱۹، ۳۰، ۳۵ و ۲۷ درصد و برای نسبت پتاسیم به سدیم ۳٤، ۸۹، ۱۵۳ و ۱۱۲ درصد و مقادیر کاهشی برای غلظت سدیم ۱۱، ۳۱، ٤۷ و ٤۱ درصد بود. بر این اساس، در هر دو شرایط غیرشور و شور بیشترین میزان کاهش غلظت سدیم و بیشترین میزان افزایش غلظت پتاسیم و نسبت پتاسیم به سدیم در اثر کاربرد غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر آسکوربیک اسید به‌دست آمد. در مطالعه حاضر، کمترین غلظت سدیم (۰/۲۱۱ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک برگ) و بیشترین غلظت پتاسیم (۱۰/۵ میلی‌گرم) و نسبت پتاسیم به سدیم (٤۹/۹) در تیمار محلول‌پاشی۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر آسکوربیک اسید در شرایط غیرشور و بیشترین غلظت سدیم (۰/۸۷۵ میلی‌گرم) و کمترین میزان غلظت پتاسیم (٤/۹۰ میلی‌گرم) و نسبت پتاسیم به سدیم (۵/٦۰) در تیمار عدم‌محلول‌پاشی در شرایط شور به‌دست آمد (جدول ۷). در واقع تحقیقات مختلف نشان داده است که کاربرد آسکوربیک اسید در محیط‌های شور از طریق افزایش ترشح اسیدهای آلی از ریشه‌ها به داخل خاک سبب افزایش حلالیت اکثر عناصر غذایی در خاک و بهبود جذب آنها می‌گردد و همچنین این ترکیب از طریق تنظیم پروسه‌های مختلفی شامل جذب عناصر غذایی از خاک سبب کاهش تجمع یون‌های مضر در گیاهان تحت شوری می‌شود (Azooz, 2004). به‌علاوه، ویتامین‌ها از جمله آسکوربیک اسید از طریق افزایش تحمل یونی و یا از طریق تنظیم پروسه‌های مختلفی شامل جذب عناصر غذایی از خاک سبب افزایش یون‌ها در گیاهان تحت تنش شوری می‌شوند (Buschamann and Lichtenthaler, 1979). همچنین روابط آنتاگونیستی بین سدیم و پتاسیم ممکن است به‌عنوان یک نشانه از نقش ویتامین‌ها از جمله آسکوربیک اسید در بهبود انتخابی نسبت پتاسیم به سدیم

جدول ۸- تجزیه واریانس اثر عوامل آزمایشی بر وزن خشک اندام هوایی و ریشه

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		نسبت ریشه به اندام هوایی	وزن خشک ریشه	وزن خشک اندام هوایی
تیمار شوری	۱	۰/۰۱۲ ns	۱۵۵۶ **	۱۷۰۹ **
آسکوربیک اسید	٤	۰/۰۰۷ ns	۱۷۵ **	۱٤۳ **
شوری × آسکوربیک اسید	٤	۰/۰۰۲ ns	۵/٦۷ *	۱/۵۳ **
خطا	۳۰	۰/۰۰۰۸	۱/۸۵	۰/۲۱٤
ضریب تغییرات(٪)		۳/٤٤	۸/۳۱	۹/٤۸

**** و * به‌ترتیب نشان‌دهنده معنی‌داربودن در سطوح احتمال ۱ و ۵ درصد است.**

جدول ۹- مقایسه میانگین اثرات برهمکنش شوری و آسکوربیک اسید بر وزن خشک اندام هوایی و ریشه

سطوح شوری (میلی‌مولار)	غلظت آسکوربیک اسید (میلی‌گرم در لیتر)	وزن خشک اندام هوایی	وزن خشک‌ریشه
۰	۰	۵۱/۳ d	٤۱/۸ e
۱۰۰		۳۷/٤ i	۲۹/۱ i
۰	۵۰	۵٦/٤ c	٤۵/۸ d
۱۰۰		٤۲/۳ h	۳۳/٤ h
۰	۱۰۰	٦۰/۹ a	۵٤/٤ a
۱۰۰		٤۸/٤ e	٤۱/۰ e
۰	۱۵۰	۵۸/۳ b	۵۰/٦ b
۱۰۰		٤٦/۲ g	۳٦/۷ g
۰	۲۰۰	٦۰/٤ a	٤۸/٦ c
۱۰۰		٤۷/۷ f	۳۸/۹ f

برای هر صفت میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در سطح احتمال ۵ درصد آزمون LSD اختلاف معنی‌داری ندارند.

در شرایط شوری باشد (Alpaslan and Gune, 2001; Azooz, 2004).

وزن خشک اندام هوایی و ریشه: برهمکنش شوری و محلول‌پاشی آسکوربیک اسید بر وزن خشک اندام هوایی و ریشه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود ولی بر نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی معنی‌دار نبود (جدول ۸). شوری وزن خشک اندام هوایی و ریشه را در کلیه سطوح محلول‌پاشی آسکوربیک اسید کاهش داد (جدول ۹). میزان این کاهش در غلظت‌های صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر آسکوربیک اسید برای وزن خشک اندام هوایی به‌ترتیب ۲۷، ۲۵، ۲۰،۲۱ و ۲۱ درصد و برای وزن خشک ریشه ۳۰، ۲۷، ۲٤، ۲۷ و ۲۰ درصد بود. مشابه با این نتایج، بررسی‌های متعددی نشان داده‌اند که تنش شوری باعث کاهش پارامترهای رشدی در گیاه سورگوم می‌شود (Tari *et al.*, 2013). تغییر در غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی حاصل از تنش اکسیداتیو، همچنین رقابت و اختلال در جذب و انتقال یون‌ها و کمبود عناصر ضروری در اثر سمیت یونی ازجمله علل کاهش رشد گیاهان در محیط‌های شور است (Parida and Das, 2005).

محلول‌پاشی آسکوربیک اسید در هر دو شرایط غیرشور و شور وزن خشک اندام هوایی و ریشه را افزایش داد (جدول ۹). در اثر کاربرد سطوح ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر آسکوربیک اسید در مقایسه با تیمار عدم‌محلول‌پاشی، در شرایط غیرشور وزن خشک اندام هوایی به‌ترتیب ۱۰، ۱۹، ۱۳ و ۱۸ درصد و وزن خشک ریشه ۹، ۳۰، ۲۱ و ۱۶ درصد و در شرایط شور وزن خشک اندام هوایی ۱۳، ۲۹، ۲۳ و ۲۷ درصد و وزن خشک‌ریشه ۱۵، ٤۱، ۲٦ و ۳۳ درصد افزایش یافت. به‌نظر می‌رسد کاربرد آسکوربیک اسید نه‌تنها سبب بهبود رشد گیاهان سورگوم شده است، بلکه اثرات سو تنش شوری را نیز کاهش داده است.

نتایج این تحقیق با نتایج دیگران در گیاهان مختلف از جمله گندم (*Triticum aestivum* L.) (Azzedine *et al*., 2011) و نیشکر (*Saccharum officinarum* L.) (Batool *et al*., 2012). در رابطه با تأثیر مثبت کاربرد آسکوربیک اسید بر رشد گیاهان مطابقت دارد. بررسی‌های متعددی نشان داده است که آسکوربیک اسید از طریق کاهش و بازسازی آسیب‌های گونه‌های فعال اکسیژن باعث توسعه و افزایش فرآیندهای دفاعی سلولی در مقابل تنش اکسیداتیو القاشده حاصل از شوری شده و موجب بهبود رشد گیاهان می‌گردد (Hemida *et al*., 2014). همچنین به‌نظر می‌رسد که اثرات مثبت کاربرد خارجی آسکوربیک اسید بر نرخ فتوسنتزی، ساختار کلروپلاست و انتقال الکترون فتوسنتزی موجب کاهش آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از تنش شوری به گیاه می‌شود (Kumar *et al*., 1988; Hamada, 2000). در آزمایش حاضر به‌نظر می‌رسد محلول‌پاشی آسکوربیک اسید با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی اثرات تنش شوری بر نرخ فتوسنتزی و ساختار کلروپلاست را کاهش داده و با محافظت از دستگاه فتوسنتزی از تنش اکسیداتیو القاشده توسط تنش شوری سبب بهبود رشد گیاهان گردیده است. بیشترین میزان وزن خشک اندام هوایی و ریشه (به‌ترتیب ٦۰/۹ و ٥٤/٤ گرم در بوته) در تیمار محلول‌پاشی ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر آسکوربیک اسید در شرایط غیرشور و کمترین آنها (۳۷/٤ و ۲۹/۱ گرم در بوته) در محیط شور و بدون محلول‌پاشی آسکوربیک اسید به‌دست آمد (جدول ۹). نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که غلظت کاربردی آسکوربیک اسید در میزان کاهش اثرات نامطلوب تنش شوری مؤثر است و غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر آسکوربیک اسید بهترین غلظت برای بهبود رشد گیاهان سورگوم بود. بر خلاف نتایج به‌دست آمده در این آزمایش، افزایش و یا کاهش نسبت ریشه به اندام هوایی یک پاسخ رایج به تنش شوری است. در واقع ریشه بزرگ‌تر در شرایط شوری می‌تواند در نگهداری یون‌های سمی در این اندام و همچنین کنترل انتقال این یون‌ها به اندام هوایی مؤثر باشد (Cassaniti *et al*., 2012; Cassaniti *et al*., 2009). با این حال، کاهش این نسبت نیز در گیاهان مختلف مشاهده شده است. کاهش نسبت ریشه به اندام هوایی در اثر شوری مربوط به کاهش آب قابل دسترس، سمیت ویژه یون‌ها و برهم‌خوردن تعادل عناصر غذایی است. به‌علاوه، اثرات منفی بیشتر شوری بر ریشه می‌تواند به‌علت تماس مستقیم ریشه با نمک نیز باشد (Neelambari *et al*., 2018).

نتیجه‌گیری

در این آزمایش شوری از طریق کاهش غلظت کلروفیل a و b، کاروتنوئید و نسبت پتاسیم به سدیم و هدایت روزنه‌ای سبب کاهش فتوسنتز و به‌دنبال آن موجب کاهش میزان بیوماس تولیدی سورگوم گردید. با این حال، محلول‌پاشی آسکوربیک اسید از طریق القای یک پاسخ پیش سازگاری به شوری ازجمله بهبود محتوای کلروفیل و کاروتنوئید و هدایت روزنه‌ای، همچنین با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و غلظت پرولین سبب حفظ ظرفیت فتوسنتزی و افزایش تحمل به شوری سورگوم گردید. نتایج این آزمایش نشان داد که غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر آسکوربیک اسید در هر دو شرایط غیرشور و شور مؤثرترین غلظت آسکوربیک اسید در جهت بهبود رشد گیاهان سورگوم بود.

منابع

آزادی، م. ص.، یونسی، ا. و طباطبایی، س. ع. (۱۳۹۲) اثر آسکوربیک اسید بر شاخص‌های جوانه‌زنی و تغییرات بیوشیمیایی بذر سورگوم تحت شرایط تنش شوری. نشریه تحقیقات بذر۳: ۵۱-۴۳.

آناقلی، ا.، طباطبایی، س. ع. و فومن، ع. (۱۳۸۹) ارزیابی تحمل به شوری ارقام سورگوم علوفه‌ای با استفاده از شاخص‌های حساسیت و تحمل به تنش. مجله الکترونیک تولید گیاهان زراعی ۳ : ۱۰۲-۸۹.

بزی، ص.، حیدری، م.، مهدی‌نژاد، ن. و عباسی، ف. (۱۳۸۷) بررسی سطوح مختلف شوری بر تنظیم‌کننده‌های اسمزی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی دو رقم سورگوم. علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی ٤٦: ۱۷-۹.

پیری، ح.، انصاری، ح. و پارسا، م. (۱۳۹۵) بررسی عملکرد کمی و کیفی سورگوم علوفه‌ای در سطوح مختلف شوری و آب آبیاری در سامانه آبیاری قطره‌ای زیرسطحی. نشریه پژوهش آب در کشاورزی ٤ : ٤٨٢-٤٦٧.

حق‌نیا ، غ. (۱۳٦۸) راهنمای تحمل گیاهان نسبت به شوری. ا نتشارات دانشگاه فردوسی مشهد.

دیانت مهارلویی، ز.، مقصودی، ک.، دیانت مهارلویی، ز. و امام، ی. (۱۳۹۳) تأثیر شوری و سالیسیلیک اسید بر ویژگی‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک سورگوم (*Sorghum bicolor* L. Moench) در مراحل اولیه رشد. فرآیند و کارکرد گیاهی ۷: ۵۷-٦۵.

رنجبر، غ. و ولی سلطانی، گ. (۱۳۹٦) مقایسه عملکرد و غلظت عناصر برگ سورگوم و کوشیا در شوری‌های مختلف آب آبیاری و تراکم کوشیا. نشریه پژوهش آب در کشاورزی ۳۱ :٤۲-۲۹.

سعادت، س. و همایی، م. (۱۳۹۳) نمون‌سازی واکنش سورگوم به شوری در مرحله جوانه‌زنی. نشریه پژوهش آب در کشاورزی ۲۸ :٥۱٦-٥۰۳.

شاکری، ا.، امام، ی. و طباطبایی، س. ع. (۱۳۹٦) ارزیابی ارقام و لاین‌های سورگوم (*Sorghum bicolor* L.) در شرایط تنش شوری با استفاده از شاخص‌های تحمل. تحقیقات غلات ۲ : ۲۹۹-۲۸۵.

علیزاده بناب، ق.، قاسمی گلعذانی، ک. و تقی‌زاده ص. (۱۳۸٦) بررسی تأثیر شوری و دما بر جوانه‌زنی رشد گیاهچه و روابط یونی در ارزن پروسو. پژوهش و سازندگی در زراعت و باغبانی ۱: ۱۲۲-۱۱۵.

علی‌نیا، م. و کاظمینی، س. ع. (۱۳۹٦) اثر تنش شوری بر رشد، عملکرد و برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک ارقام سورگوم علوفه‌ای. نشریه تولید و فرآوری محصولات زراعی و باغی ۲: ۳۱-۱۹.

وفادار، ز.، رحیم ملک، م.، سبزعلیان، م. و نیکبخت، ع. (۱۳۹۷) اثر تنش شوری و زمان برداشت بر خصوصیات مورفولوژی و فیزیولوژی گیاه مورد (*Myrtus communis*). فرآیند و کارکرد گیاهی ۲۳: ٤۷-۳۳.

Aebi, H. E. (1983) Catalase. Methods of Enzymatic Analysis. 3nd Ed. Verlag Chemie, Weinheim.

Ahmad, P. and Prasad, M. N. V. (2012) Abiotic stress responses in plants: metabolism, productivity and sustainability. Springer, New York.

Alhasnawi, A. N., Kadhimi, A. A., Isahak, A., Mohamad, A., Doni, F., Yusoff, W. W. and Zain, C. M. (2014) Salinity stress in plant and an important antioxidant enzyme. Life Science Journal 11: 913-920.

Almodares, A., Hadi, M. R. B., Kholdebarin, B., Samedani, B. and Kharazian, Z. A. (2014) The response of sweet sorghum cultivars to salt stress and accumulation of Na^+, Cl^- and K^+ ions in relation to salinity. Journal of Environmental Biology 35: 733-739.

Alpaslan, A. and Gune, H. (2001) Interactive effects of boron and salinity stress on the growth, membrane permeability and mineral composition of tomato and cucumber plants. Plant and Soil 236: 123-126.

Alqurainy, F. (2007) Responses of bean and pea to vitamin C under salinity stress. Research Journal of Agriculture and Biological Sciences 3: 714-722.

Amiri, S., Ashtari, S., Imanzadeh, A., Babaiy, A. H. and Ghanifathi, T. (2013) Evaluating effects of antioxidant turmeric and ascorbic acid on callus forage cactus (*Opuntia Ficusindica*) in vitro condition. Journal of American Science 9: 109-112.

Amtmann, A. and Sanders, D. (1999) Mechanisms of Na^+ uptake by plant cells. Advances in Botanical Research 29: 75-112.

Arulbalachandran, D., Ganesh, K. S. and Subramani, A. (2009) Changes in metabolites and antioxidant enzyme activity of three vigna species induced by NaCl stress. American European Journal of Agronomy 2: 109-116.

Ashraf, M., Ozturk, M. and Athar, H. R. (2008) Salinity and Water Stress: Improving Crop Efficiency. Springer, Netherlands.

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

Athar, H. U. R., Khan, A. and Ashraf, M. (2009) Inducing salt tolerance in wheat by exogenously applied ascorbic acid through different modes. Journal of Plant Nutrition 32: 1799-1817.

Azooz, M. M. (2004) Proteins, sugars and ion leakage as a selection criterion for the salt tolerance of three sorghum cultivars at seedling stage grow under NaCl and nicotinamide. International Journal of Agriculture and Biology 6: 27-35.

Azzedine, F., Gherroucha, H. and Baka, M. (2011) Improvement of salt tolerance in durum wheat by ascorbic acid application. Journal of Stress Physiology and Biochemistry 7: 27-37.

Bates, L. S., Waldran, R. P. and Teare, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water studies. Plant and Soil 39: 205-208.

Batool, E. J., Zahoor Ahmad, S. A. J. and Faheem, A. F. T. (2012) Effect of exogenous application of ascorbic acid on antioxidantenzyme activities, proline contents, and growth parameters of Saccharum spp. hybrid cv. HSF-240 under salt stress. Turkish Journal of Biology 36: 630-640.

Bavei, V., Shiran, B. and Arzani, A. (2011) Evaluation of salinity tolerance in sorghum (*Sorghum bicolor* L.) using ion accumulation, proline and peroxidase criteria. Plant Growth Regulation 64: 275-285.

Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. Analytical Biochemistry 72: 248-254.

Buschamann, C. and Lichtenthaler, H. K. (1979) The influence of phytohormones on prenyllipid composition and photosynthetic activities of thylakoids. In: Advances in Biochemistry and Physiology of plant lipids. (eds. Appelgvist, L. A. and Lilj Enberg, C.) Pp. 145-150. Elsevier, Amserdam.

Cassaniti, C., Leonardi, C. and Flowers, T. J. (2009) The effects of sodium chloride ornamental shrubs. Scientia Horticulturae 122: 586-593.

Cassaniti, C., Romano, D. and Flowers, T. J. (2012) The response of ornamental plants to saline irrigation water. In Irrigation Water Management, Pollution and Alternative Strategies; (ed. Garcia-Garizabal, I.) Pp.132-158. Tech Europe, Rijeka, Croatia.

Cavelierl, A. J. (1983) Proline and glycin-betain accumulation by spartina alterniflora loisel in response to NaCl and nitrogen in a controlled environment. Oecologia 57: 20-24.

Chen, Z. and Gallie, D. R. (2004) The ascorbic acid redox state controls guard cell signaling and stomatal movement. The Plant Cell 16: 1143-1162.

Choudhury, N. K., Choe, H. T. and Huffaker, R. C. (1993) Ascorbate induced zeaxanthin formation in wheat leaves and photoprotection of pigment and photochemical activities during aging of chloroplasts in light. Journal of Plant Physiology 141: 551-556.

Dehghan, G., Rezazadeh, L. and Habibi, G. (2011) Exogenous ascorbate improves antioxidant defense system and induces salinity tolerance in soybean seedlings. Acta Biologica Szegediensis 55: 261-264.

Djanaguiraman, M. and Prasad, P. W. V. (2013) Effect of salinity on ion transport, water relations and oxidative damage. In: Ecophysiology and Responses of Plants under Salt Stress (eds. Ahmad, P., Azooz, M. M. and Prasad, M. N. V.) Pp. 89-114. Springer, New York.

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

Elavarthi, S. and Martin, B. (2010) Spectrophotometric assays for antioxidant enzymes in plants. Method Molecular Biology 639: 273-281.

El-Bassiouny, H. M. S. and Sadak, M. S. (2015) Impact of foliar application of ascorbic acid and α-tocopherol on antioxidant activity and some biochemical aspects of flax cultivars under salinity stress. Acta Biologica Colombiana 20: 209-222.

Farhangi-Abriz, S. and Ghassemi-Golezani, K. (2018) How can salicylic acid and jasmonic acid mitigate salt toxicity in soybean plants? Ecotoxicology and Environmental Safety 147: 1010-1016

Foyer, C. H., Lelandais, M., Edwards, E. A. and Mullineaux, P. M. (1991) The role of ascorbate in plants, interactions with photosynthesis, and regulatory significance. In: Activ Oxygen/Oxidative Stress and Plant Metabolism. (eds. Pell, E. and Steffen, K.) Pp. 131-144. Current Topics in Plant Physiology 6, American Society of Plant Physiologists Series.

Gadallah, M. A. A. (2000) Effects of acid mist and ascorbic acid treatment on the growth, stability of leaf membranes, chlorophyll content and some mineral elements of *Carthamus tinctorius*, the safflower. Water Air and Soil Pollution 118: 311-327.

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

Giannopolitis, C. N. and Ries, S. K. (1977) Superoxide dismutase: occurrence in higher plants. Plant Physiology 59: 309-314.

Gul, H., Ahmad, R. and Hamayun, M. (2015) Impact of exogenously applied ascorbic acid on growth, some biochemical constituents and ionic composition of guar (*Cymopsis Tetragonoloba*) subjected to salinity stress. Pakhtunkhwa Journal of Life Science 3: 22-40.

Gupta, B. and Huang, B. (2014) Mechanism of salinity tolerance in plants: physiological, biochemical, and molecular characterization. International Journal of Genomics 2014: 18.

Hamada, A. M. (2000) Amelioration of drought stress by ascorbic acid, thiamin or aspirin in wheat plants. Indian Journal of Plant Physiology 5: 358-364.

Hamada, A. M. and Al-Hakimi, A. M. (2009) Exogenous ascorbic acid or thiamine increases the resistance of sun fl ower and maize plants to salt stress. Acta Agron Hung 57: 335-347

Hasanuzzaman, M., Hossain, M. A., da Silva, J. A. T. and Fujita, M. (2012) Plant responses and tolerance to abiotic oxidative stress: antioxidant defense is a key factor. In: Crop Stress and its Management: Perspectives and Strategies (eds. Bandi, V., Shanker, A. K., Shanker, C. and Mandapaka, M.) Springer, Berlin.

Hassanein, A. M. (1999) Alterations in protein and esterase patterns of peanut plants in response to salinity stress. Biologia Plantarum 42: 241-248.

Hassanein, R. A., Bassuony, F. M., Baraka, D. M. and Khalil, R. R. (2009) Physiological effects of nicotinamide and ascrobic acid on *Zea mays* plant grown under salinity stress. I- Changes in growth, some relevant metabolic activities and oxidative defense systems. Research Journal of Agriculture and Biological Sciences 5: 72-81.

Hemida, K. A., Ali, R. M., Ibrahim, W. M. and Sayed, M. A. (2014) Ameliorative role of some antioxidant compounds on physiological parameters and antioxidants response of wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings under salinity stress. Life Science Journal 11: 324-342.

Ighbal, M. A. (2015) Agronomic management strategies elevate forage sorghum yield: A review. Journal of Advanced Botany and Zoology 3: 1-6.

Iqbal, M. A. and Iqbal, A. (2015) Overviewing forage shortage for dairy animals and suitability of forage sorghum for ensiling. Global Veterinaria 14: 173-177.

Kaya, C., Ashraf, M., Dikilitas, M. and Tuna, A. L. (2013) Alleviation of salt stress-induced adverse effects on maize plants by exogenous application of indoleacetic acid (IAA) and inorganic nutrients-A field trial. Australian Journal of Crop Science 7: 249-256.

Khan, M. I. R., Iqbal, N., Masood, A. and Khan, N. A. (2012) Variation in salt tolerance of wheat cultivars: role of glycinebetaine and ethylene. Pedosphere 22: 746-754.

Kumar, K. K., Vidyasaar, R. and Rao, K. (1988) Studies on growth and activity of photosynthetic enzymes on *sorghum bicolor* L. as influenced by micronutrients. In: Proceedings of the National Academy of Sciences, India.

Latif, M., Akram, N. A. and Ashraf, M. (2016) Regulation of some biochemical attributes in drought-stressed cauliflower (*Brassica oleracea* L.) by seed pre-treatment with ascorbic acid. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology 91: 129-137.

Lichtenthaler, H. K. and Buschmann, C. (2001) Chlorophylls and carotenoids: measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. Current Protocols in Food Analytical Chemistry F4.2.1-F4.2.6.

Lin, J., Wang, Y., Sun, S., Mu, C. and Yan, X. (2017) Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on the growth, photosynthesis and photosynthetic pigments of *Leymus chinensis* seedlings under salt-alkali stress and nitrogen deposition. Science of the Total Environment 576: 234-241.

Lisko, K. A., Aboobucker, S. I., Torres, R. and Lorence, A. (2014) Engineering elevated vitamin C in plants to improve their nutritional content, growth, and tolerance to abiotic stress. In: Phytochemicals, Biosynthesis, Function and Application (ed. Jetter, R.) Pp. 109-128. Springer International Publishing, Switzerland.

Meloni, D. A. and Martinez, C. A. (2009) Glycinebetaine improves salt tolerance in vinal (*Prosopis ruscifolia Griesbach*) seedlings. Brazilian Journal of Plant Physiology 21: 233-241.

Mir, B. A., Khan, T. A. and Fariduddin, Q. (2015) 24-epibrassinolide and spermidine modulate photosynthesis and antioxidant systems in *Vigna radiata* under salt and zinc stress. International Journal of Advanced Research 3: 592-608.

Misra, N. and Misra, R. (2012) Salicylic acid changes plant growth parameters and proline metabolism in Rauwolfia serpentina leaves grown under salinity stress. American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences 12: 1601-1609.

Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M. and Van Breusegem, F. (2004) Reactive oxygen gene network of plant. Trends in Plant Science 9: 490-498.

Mukhtar, A., Akram, N. A., Aisha, R., Shafiq, S. and Ashraf, M. (2016) foliar applied ascorbic acid enhances antioxidative potential and drought tolerance in cauliflower (*Brassica oleracea* L. var. Botrytis). Agrochimica 60: 100-113.

Munns, R. (2002) Comparative physiology of salt and water stress. Plant, Cell and Environment 25: 239-250.

Munns, R. and Tester, M. (2008) Mechanisms of salinity tolerance. Annual Review of Plant Biology 59: 651-681.

Nakano, Y. and Asada, K. (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplast. Plant and Cell Physiology 22: 867-880.

Neelambari, M., Chetanaben, M. and Sree Ganesh, S. (2018) Curative effect of ascorbic acid and gibberellic acid on wheat (*Triticum astivum* L.) metabolism under salinity stress. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences 7: 522-533.

Nexel, A., Klein, A. and Ndimba, B. K. (2017) Drought and salinity stress alters ROS accumulation, water retention, and osmolyte content in sorghum plants. South African Journal of Botany 108: 261-266.

Omari, R. E. L. and Nhiri, M. (2015) Adaptive response to salt stress in sorghum (*Sorghum bicolor*). American Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences 15: 1351-1360.

Parida, A. K. and Das, A. B. (2005) Salt tolerance and salinity effects on plants: A review. Ecotoxicology and Environmental Safety 60: 324-349.

Redouane, E. and Mohamed, N. (2015) Adaptive response to salt stress in sorghum (*Sorghum bicolor*). American Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences 15: 1351-1360.

Sajid, Z. A. and Aftab, F. (2009) Amelioration of salinity tolerance in *Solanum tuberosum* L. by exogenous application of ascorbic acid. In vitro Cellular and Developmental Biology Plant 45: 540-549.

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.

Shao, H. B., Chu, L. Y., Zhao, C. X., Guo, Q. J., Liu, X. A. and Ribaut, J. M. (2006) Plant gene regulatory network system under abiotic stress. Acta Biologica Szegediensis 50: 1-9.

Stahli, W. and Sies, H. (2003) Antioxidant activity of carotenoids. Journal of Molecular Medicine 24: 345-351.

Sultana, N., Ikeda, T. and Itoh, R. (1999) Effect of NaCl salinity on photosynthesis and dry matter accumulation in developing rice grains. Environmental and Experimental Botany 42: 211-220.

Sytar, O., Brestic, M., Zivcak, M., Olsovska, K., Kovar, M., Shao, H. and He, X. (2017) Applying hyperspectral imaging to explore natural plant diversity towards improving salt stress tolerance. Science of the Total Environment 578: 90-99.

Tari, I., Laskay, G., Takacs, Z. and Poor, P. (2013) Response of sorghum to abiotic stresses: A review. Journal of Agronomy and Crop Science 199: 264-274.

Temizgul, R., Kaplan, M., Kara, R. and Yilmaz, S. (2016) Effects of salt concentrations on antioxidant enzyme actitity of grain sorghum. Current Trends in Natural Sciences 5: 171-178.

Turan, S. and Tripathy, B. C. (2012) Salt and genotype impact on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in two rice cultivars during de-etiolation. Protoplasma 250: 209-222.

Younis, M. E., Hasaneen, M. N. A. and. 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.

Zhang, S., Weng, J., Pan, J., Tu, T., Yao, S. and Xu, C. (2003) Study on the photogeneration of superoxide radicals in Photosystem II with EPR spin trapping techniques. Photosynthesis Research 75: 41-48.

Zhu, B., Su, J., Chang, M., Verma, D. P. S., Fan, Y. L. and Wu, R. (1998) Overexpression of a Δ1 pyrroline-5-carboxylate synthetase gene and analysis of tolerance to water-and salt stress in transgenic rice. Plant Science 139: 41-48.

Effects of foliar application of different ascorbic acid concentrations on the response of sorghum to salinity

Ahmad Rajabi Dehnavi and Morteza Zahedi*

Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

(Received: 28/11/2018, Accepted: 18/06/2019)

Abstract

A pot experiment was conducted during spring and summer of 2017 at the collage of agriculture of Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran, in order to evaluate the effects of different concentrations of foliar ascorbic acid application on the response of sorghum (Speedfeed cultivar) to salinity. Treatments included two salinity levels (0 and 100 mM NaCl) and five concentrations of ascorbic acid (0, 50, 100, 150 and 200 mg/l). Treatments were arranged as factorial based on a completely randomized design with four replications. Salinity decreased potassium concentration, potassium/ sodium ratio, chlorophyll and carotenoid contents as well as shoot and root dry weights, while salt enhanced the concentrations of sodium and proline and the activities of antioxidant enzymes catalase, superoxide dismutase and ascorbate peroxidase. The decreases due to salinity at 0, 50, 100, 150 and 200 mg/l concentrations of ascorbic acid were 30, 27, 24, 27 and 20 percent, respectively. Foliar application of ascorbic acid improved plant growth parameters, the concentrations of proline and the activities of antioxidant enzymes but decreased sodium concentrations in sorghum plants. The highest increase in plant dry matter due to the application of ascorbic acid in both non-saline (30%) and saline (41%) conditions were obtained at 100 mg/l ascorbic acid. The increases due to ascorbic acid application in the antioxidant enzyme activity were greater for superoxide dismutase and ascorbate peroxidase as compared to the catalase. Based on the results of this experiment, ascorbic acid application not only improved the growth of sorghum plants, but also alleviated the negative effects of salinity in this plant.

Key words: NaCl, Ascorbic acid, Antioxidant enzymes, Sodium, Potassium, Proline

Corresponding author, Email: mzahedi@cc.iut.ac.ir