Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 23:18 IRDT on Monday April 19th 2021

تأثیر آسکوربیک اسید بر پاسخ‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی آهار (*Zinnia elegans* L.) تحت شدت‌های متفاوت نور

مهری مهدوی‌فرد، عبدالحسین رضایی‌نژاد* و صادق موسوی‌فرد

گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۸/۲۳، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۸/۰۴/۰۵)

چکیده

نور یکی از مهم‌ترین عوامل مؤثر بر رشد گیاه است که با تغییرات در تابش، رشد، مورفولوژی، آناتومی و جنبه‌های مختلف فیزیولوژی و بیوشیمیایی سلولی اثر می‌گذارد. بنابراین رشد مطلوب گیاه نیازمند یک شدت نور مناسب است. هدف از این پژوهش بررسی اثر شدت‌های متفاوت نور و غلظت‌های آسکوربیک اسید بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گل آهار بود. آزمایش به‌صورت کرت خرده‌شده در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. شدت نور با سه سطح ۶۰۰، ۱۲۰۰ و ۱۸۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه به‌عنوان عامل اصلی با استفاده از پوشش ساران و محلول‌پاشی هفتگی آسکوربیک اسید با سه غلظت صفر، ۱ و ۲ میلی‌مولار به‌عنوان عامل فرعی در نظر گرفته شد. نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که شدت نور بر رنگیزه‌های فتوسنتزی، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و ویژگی‌های روزنه‌ای بجز ویژگی عرض سلول محافظ روزنه تأثیر معنی‌داری داشت. با افزایش شدت نور، مقدار پرولین، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز افزایش یافت. کاهش شدت نور موجب افزایش کلروفیل a، کلروفیل b، کارتنوئید، کلروفیل کل و فعالیت آنزیم پراکسیداز شد. با افزایش شدت نور، تراکم و شاخص روزنه‌ای نیز افزایش یافت، به طوری که تراکم روزنه‌ای در شدت نور ۱۸۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه دو برابر شدت نور ۶۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه بود. علاوه بر این محلول‌پاشی آسکوربیک اسید باعث افزایش تراکم روزنه‌ای، طول سلول‌های محافظ روزنه‌ای و فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز و کاهش مقدار پرولین و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز شد. به‌طور کلی نتایج نشان داد که افزایش شدت نور با کاهش کلروفیل و افزایش مقدار پرولین، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز باعث ایجاد تنش در آهار شده و کاربرد هفتگی آسکوربیک اسید باعث کاهش اثرات تنش شد.

کلمات کلیدی: آسکوربیک اسید، سایه‌دهی، گل آهار، پرولین

مقدمه

نور یکی از مهم‌ترین عوامل مؤثر بر رشد گیاه است که با تغییرات در تابش، رشد، مورفولوژی و آناتومی، جنبه‌های مختلف فیزیولوژی و بیوشیمیایی سلولی و درنهایت زمان گلدهی و عملکرد گیاه اثر می‌گذارد (Deng *et al.*, 2012; Dai *et al.*, 2009). در واکنش‌های نوری فتوسنتز، از انرژی نور برای تولید اکسیژن، ATP و NADPH استفاده می‌شود که از ATP و NADPH برای تثبیت کربن در کربوهیدرات‌ها استفاده می‌شود. سایه با کاهش نرخ فتوسنتز بر رشد و توسعه گیاه تأثیر می‌گذارد. گیاهانی که تحت شرایط سایه رشد می‌کنند،

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: rezaeinejad.h@lu.ac.ir

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 23:18 IRDT on Monday April 19th 2021

بهینه‌سازی بازده نور خود را با افزایش تراکم رنگ‌دانه‌ای در واحد سطح برگ انجام می‌دهند (Wittmann *et al.*, 2001). تأثیر نور بر رشد، گلدهی و کیفیت محصول به‌خوبی شناخته شده است. کاهش شدت نور فتوسنتز کل گیاه را کاهش می‌دهد (Frantz and Bugbee, 2005; Nemali and Van Iersel, 2004).

به‌نظر می‌رسد که کیفیت نور بر روی بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاهان در طول رشد و توسعه، به‌خصوص فتوسنتز تأثیر می‌گذارد (Hogewoning *et al.*, 2010, 2012) رشد مطلوب گیاه نیازمند یک شدت نور مناسب است. شدت بیش از حد نور یا شدت کم آن، فتوسنتز گیاه را کاهش می‌دهد (Dai *et al*,. 2009; Bertamini *et al.*, 2006). در شرایط تابش زیاد، بازدارندگی نوری صورت می‌گیرد؛ دستگاه فتوسنتزی انرژی نوری بیش از حد جذب می‌کند و باعث غیرفعال‌شدن یا آسیب‌رساندن به مراکز واکنش فتوسیستم II و درنتیجه کاهش فعالیت‌های فتوسنتزی می‌شود (Bertaminia, 2006; Chen and Murata, 2011). در مقابل در شرایط تابش کم، ATP کافی برای تثبیت کربن و بیوسنتز کربوهیدرات تولید نمی‌شود که این امر منجر به کاهش رشد گیاه می‌شود (Shao *et al.*, 2014). نتایج Pires و همکاران (۲۰۱۱) در بررسی تأثیر شدت‌های مختلف نور در گل ساعتی (*P. morifolia*, *Passiflora palmeri* var. sublanceolata و *P. suberosa* litoralis) نشان داد که در گیاهان نگهداری‌شده در سایه نسبت به گیاهان کشت‌شده در نور کامل خورشید غلظت کلروفیل کل افزایش و نسبت کلروفیل *a/b* در گیاهان رشدکرده در سایه کاهش یافته بود. دولتخواهی و همکاران (۱۳۹۳) با بررسی پاسخ سیستم‌های تربیت کمانی و سنتی به سایه‌دهی در رز بریدنی رقم آوالانژ *Rosa hybrida* cv. Avalanche به این نتیجه رسیدند که میزان کلروفیل *a*، کلروفیل *b* و کلروفیل کل با افزایش سطح سایه کاهش یافت. پژوهش Xu و همکاران (۲۰۱۰) روی اثر محافظتی اکسید نیتریک بر آسیب اکسیداتیو ناشی از نور روی برگ فسکیوی بلند Tall Fescue نشان داد که فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (CAT) و آسکوربات پراکسیداز (APX) با تیمار نور افزایش یافتند. در پژوهش Xu و همکاران (۲۰۱۳) روی گندم زمستانه فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (CAT) و پراکسیداز (POD) در سایه‌دهی ۲۲٪ افزایش یافت اما در سایه‌دهی ۵۰٪ و ۹۰٪ فعالیت کاتالاز و پراکسیداز کاهش یافت.

گیاهان برای مقابله با تنش نوری از دو سازوکار در میتوکندری که شامل افزایش ظرفیت تولید آسکوربیک اسید همراه با افزایش میزان تنفس و همچنین بالابردن ظرفیت اکسیدازهای جایگزین جهت مقابله با اکسیداسیون‌های غیرقابل کنترل استفاده می‌کنند (Bartoli *et al.*, 2006). همچنین از آسکوربیک اسید به‌عنوان کوفاکتور در چرخه ویولاگزانتین استفاده می‌شود که این چرخه گیاهان را در برابر آسیب‌های نوری محافظت می‌کند (Asada, 1999). گزارش‌های دیگری نیز در خصوص کنترل بیوسنتز آسکوربیک اسید توسط نور و تنفس بیان شده است (Bartoli *et al.*, 2005).

آسکوربیک اسید یک ترکیب آنتی‌اکسیدان قوی با وزن مولکولی کم و محلول در آب است (Smirnoff, 2005). افزایش سطح آسکوربیک اسید سلولی، می‌تواند سبب کاهش گونه‌های اکسیژن فعال حاصل از تنش شود. به‌علاوه در خنثی‌کردن رادیکال‌های سوپراکسید، اکسید منفرد یا سوپراکسید به‌طور مستقیم به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان ثانویه نقش ایفا می‌کند. آسکوربیک اسید در حفاظت نوری و فتوسنتز نیز نقش دارد (Noctor and Foyer, 1998). گزارش‌های متعددی مبنی بر اثر مثبت آسکوربیک اسید بر جنبه‌های مختلف فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهان مختلف وجود دارد. ازجمله می‌توان به تأثیر آن در افزایش پارامترهای رشد آرابیدوپسیس اشاره کرد (Huang *et al.*, 2005). میزان و ظرفیت سنتز آسکوربیک اسید در برگ‌های اسفناج در معرض نور پایین بیشتر از برگ‌های قرارگرفته در تاریکی بود (Toledo *et al.*, 2003).

گل آهار Zinnia spp به‌عنوان یک گیاه زینتی پرکاربرد یکی از گیاهان خانواده کلاپرک سانان (Asteraceae) با گل‌های رنگارنگ و بومی مکزیک است (Dole and Wilkins, 2005). آهار از جمله گل‌های تابستانه است که در حاشیه‌کاری، باغچه

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 23:18 IRDT on Monday April 19th 2021

و به‌عنوان گل بریدنی استفاده می‌شود (حکمتی، ۱۳۸۲). گونه *Z. elegans* گسترده‌ترین سطح کشت در دنیا را بین گونه‌های *Zinnia* دارد و به‌دلیل بزرگی گل و ظاهر جذاب و همچنین تنوع در رنگ و شکل گلبرگ‌ها مورد توجه واقع شده است (Lou *et al.*, 2011).

آهار به‌عنوان یک گیاه زینتی فصلی به‌طور وسیعی در فضای سبز شهری کشت می‌شود. با اینکه در منابع مختلفی بیان شده که آهار گیاه نورپسندی است (ابراهیم‌زاده و سیفی، ۱۳۷۵؛ حکمتی، ۱۳۸۲) اما میزان نیاز نوری این گیاه مشخص نشده است. اگر بتوان این گیاهان را در شرایط سایه و نیم‌سایه (اطراف درختان و حاشیه‌کاری‌ها) کشت کرد، ارزش فضای سبز آنها بیشتر خواهد شد. بنابراین به‌منظور تعیین سطح بهینه شدت نور برای رشد مطلوب آهار، پژوهش حاضر با هدف بررسی پاسخ‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گل آهار به شدت‌های متفاوت نور و کاربرد آسکوربیک اسید در کاهش اثرات احتمالی تنش نوری اجرا شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در طی زمستان ۹۵ و بهار ۹۶ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان واقع در شهر خرم‌آباد صورت گرفت. بذر گل آهار در ۲۳ اسفندماه سال ۹۵ در محیط‌کشت شامل خاک (لومی رسی)، ماسه و کود دامی پوسیده به نسبت مساوی در گلدان پلاستیکی کشت شد. آزمایش به‌صورت اسپلیت پلات در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. این آزمایش شامل سه سطح شدت نور (۶۰۰، ۱۲۰۰ و ۱۸۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه) به‌عنوان عامل اصلی و سه غلظت آسکوربیک اسید (صفر، ۱، ۲ میلی‌مولار)، به‌عنوان عامل فرعی در نظر گرفته شد. تیمار شدت نور ۱۸۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه در نور کامل (شاهد)، تیمار ۱۲۰۰ با پوشش ساران (سایبان) سبز رنگ یک لایه و تیمار ۶۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه با پوشش ساران سبز رنگ دولایه اجرا شد. منبع شدت نور، نور خورشید بود و آزمایش در فضای آزاد انجام شد. پوشش ساران بر سازه‌های فلزی با ارتفاع یک متر نصب شد. شدت نور با استفاده از نورسنج نصب‌شده روی دستگاه فتوسنتزی LCA4 (LCA4, ADC Bioscientific, Ltd., Hoddesdon, England) در طول دوره آزمایش اندازه‌گیری شد. سایه‌دهی و محلول‌پاشی آسکوربیک اسید از زمان ظهور دو برگ حقیقی (سه هفته بعد از کاشت) تا انتهای آزمایش (تقریباً سه ماه) اعمال گردید. محلول‌پاشی آسکوربیک اسید به‌صورت هفتگی انجام و اندازه‌گیری کلیه صفات در زمان گل‌دهی انجام شد.

اندازه‌گیری ویژگی‌های روزنه‌ای: ویژگی‌های روزنه‌ای با استفاده از اپیدرم تحتانی برگ‌های بالغ اندازه‌گیری شد. برای این کار از روش عکس‌برداری میکروسکوپ نوری و نرم‌افزار ایمج تولز (Image Tools, TX)، تراکم روزنه‌ای، تراکم سلول‌های اپیدرمی و طول و عرض سلول‌های محافظ روزنه اندازه‌گیری و محاسبه شد (Rezaei Nejad and Meeteren, 2005). برای محاسبه شاخص روزنه از رابطه ۱ استفاده گردید:

رابطه ۱

$$SI=[S/(E+S)] \times 100$$

SI: شاخص روزنه

S: تعداد روزنه در میلی‌متر مربع برگ

E: تعداد سلول‌های اپیدرمی در میلی‌متر مربع برگ

اندازه‌گیری ویژگی‌های بیوشیمیایی، کلروفیل و کارتنوئید: برای سنجش میزان کلروفیل (Chl) و کارتنوئید از روش Lichtenthaler (۱۹۸۷) استفاده شد. برای این کار ۰/۱ گرم برگ تازه با ۱۰ میلی‌لیتر استون خالص هموژن گردید. عصاره به‌دست آمده در فالکن ۱۵ میلی‌لیتری ریخته و به‌مدت ۱۵ دقیقه در ۴۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس از محلول رویی با اسپکتروفتومتری (مدل Mapada UV-1800)، جذب محلول در طول‌موج‌های ۴۷۰، ۶۶۲ و ۶۴۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. میزان کلروفیل *a*، کلروفیل *b*، کلروفیل کل و کارتنوئیدها برحسب میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ به‌ترتیب از طریق روابط ۲، ۳، ۴ و ۵ محاسبه شدند:

رابطه ۲

$$Chla\ (mg/g) = (11.24 \times A662) - (2.04\ C\ A645)$$

رابطه ۳

$$Chlb\ (mg/g) = (20.13 \times A645) - (4.19 \times A662)$$

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 23:18 IRDT on Monday April 19th 2021

رابطه ٤ $$Total\ Chl\ (mg/g) = chl\ a + chl\ b$$

رابطه ۵

$$Car = 1000 \times (A470 - 1.90\ Chl\ a - 63.14\ Chl\ b) / 214$$

اندازه‌گیری آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز: استخراج آنزیم کاتالاز طبق روش Chance و Maehly (۱۸۹۵) انجام شد. عصاره آنزیمی پس از پودرشدن نمونه‌ها در ازت مایع، در بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار با اسیدیته معادل ۷ حاوی EDTA و PVP استخراج شد و سوسپانسیون حاصل با دستگاه سانتریفیوژ به‌مدت ۲۰ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد با دور ۱٤۰۰۰ در دقیقه سانتریفیوژ شد. برای سنجش فعالیت آنزیم، ٤۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۲۵ میلی‌مولار (PH=۷)، ۳۰۰ میکرولیتر هیدروژن پراکسید به‌عنوان پذیرنده الکترون و درنهایت ۲۰ میکرولیتر از محلول عصاره استخراج‌شده از برگ به کووت انتقال و تغییرات جذب به‌مدت دو دقیقه با اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۲٤۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. درنهایت، مقدار فعالیت آنزیم بر حسب میزان آب‌اکسیژنه غیرفعال‌شده در یک دقیقه در هر گرم وزن تازه بافت بیان شد.

برای اندازه‌گیری آنزیم پراکسیداز از روش MacAdam و همکاران (۱۹۹۲) استفاده شد. برای استخراج آنزیم نمونه‌های برگی از بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار با اسیدیته معادل ۷ استفاده و سوسپانسیون حاصل به‌مدت ۲۰ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد با دور ۱٤۰۰۰ در دقیقه سانتریفیوژ گردید. برای سنجش فعالیت آنزیم، ۱۲۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۰/۱ میلی‌مولار (PH=۷) با ۵۰ میکرولیتر هیدروژن پراکسید به‌عنوان پذیرنده الکترون، ۵۰ میکرولیتر گایاکول به‌عنوان الکترون‌دهنده در داخل کووت ریخته و تغییرات جذب به‌مدت دو دقیقه با اسپکتروفتومتر در طول‌موج ٤۷۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. درنهایت، مقدار فعالیت آنزیم بر حسب میزان آب‌اکسیژنه غیرفعال‌شده در یک دقیقه در هر گرم وزن تازه بافت بیان شد.

برای استخراج آنزیم آسکوربات پراکسیداز روش Nakano و Asada (۱۹۸۱) استفاده شد. اساس این روش، کاهش جذب نور در طول‌موج ۲۹۰ نانومتر است که ناشی از اکسیده‌شدن آسکوربات است. نمونه‌ها بلافاصله پس از برداشت، در ازت مایع پودر شدند و عصاره آنزیمی در بافر فسفات سدیم ۵۰ میلی‌مولار (PH=۷) استفاده شد و سوسپانسیون حاصل به‌مدت ۲۰ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد با دور ۱٤۰۰۰ در دقیقه سانتریفیوژ شد. جذب روشناور نمونه با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۲۹۰ نانومتر خوانده شد. درنهایت، مقدار فعالیت آنزیم بر حسب میزان آب‌اکسیژنه غیرفعال‌شده در یک دقیقه در هر گرم وزن تازه بافت بیان شد.

سنجش مقدار پرولین: اندازه‌گیری پرولین مطابق روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) انجام گرفت. نمونه برگی در هاون چینی حاوی ۵ میلی‌لیتر محلول سولفوسالسیلیک اسید ۳ درصد ساییده و مخلوط یکنواختی تهیه شد. عصاره حاصل به‌مدت ۱۵ دقیقه با دمای ٤ درجه سانتی‌گراد با دور ۱۵۰۰۰ در دقیقه سانتریفیوژ شد. ۲ میلی‌لیتر از مایع رویی حاصل از سانتریفیوژ عصاره با ۲ میلی‌لیتر معرف ناین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر استیک اسید خالص مخلوط شد و یک ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد حمام آب‌گرم قرار گرفت. بعد از سردشدن لوله‌های محتوی مخلوط، ٤ میلی‌لیتر تولوئن به هر مخلوط اضافه و به‌هم زده شد تا دو فاز جداگانه ایجاد گردید. از فاز رنگی بالایی که حاوی تولوئن و پرولین بود، برای اندازه‌گیری غلظت پرولین استفاده شد. جذب در طول‌موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد و با استفاده از منحنی استاندارد پرولین، مقدار این ماده محاسبه و برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر اعلام شد.

تجزیه و تحلیل آماری: تحلیل داده‌ها با آزمایش اسپلیت پلات و طبق طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد و داده‌ها با نرم‌افزارهای SAS (نسخه‌ی ۹,۱) و Minitab (نسخه ۱۸) تحلیل واریانس شد. مقایسه میانگین ویژگی‌های مورد مطالعه با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال پنج و یک درصد انجام شد.

نتایج

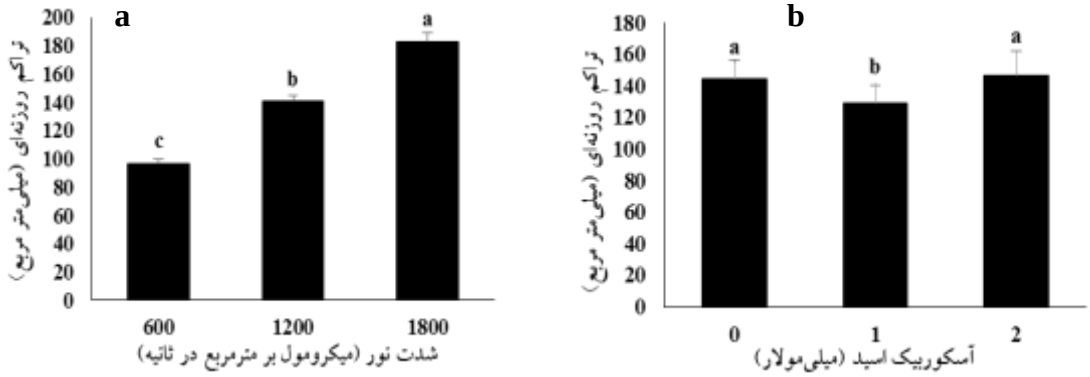
تراکم و شاخص روزنه‌ای: نتایج تجزیه واریانس تراکم روزنه‌ای (جدول ۱) نشان داد که تأثیر شدت نور در سطح

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 23:18 IRDT on Monday April 19th 2021

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس ویژگی‌های روزنه‌ای آهار

منابع تغییرات	درجه آزادی	تراکم روزنه‌ای	شاخص روزنه‌ای	عرض سلول محافظ	طول سلول محافظ	تراکم اپیدرمی
شدت نور	۲	۱۶۷۲۲**	۴۲/۹**	۰/۱۴۹ns	۲۴/۷**	۸۵۸۶۵**
خطای اصلی (Ea)	۶	۶۹/۷	۰/۲۳۶	۰/۱۰۸	۱/۴۷	۹۷۵
آسکوربیک اسید	۲	۸۴۰/۷*	۶/۱۶ns	۰/۴۸۸*	۳/۸۷ns	۱۹۵۱ns
شدت نور × آسکوربیک اسید	۴	۲۱۲ns	۵/۸۱*	۰/۲۵۲ns	۴/۳۷*	۳۳۱۵ns
خطای فرعی (Eb)	۱۲	۱۳۹	۱/۴۷	۰/۰۸۵	۱/۰۷	۱۲۶۰
ضریب تغییرات (٪)		۸/۴۳	۶/۱۷	۳/۳۱	۳/۰۸	۷/۰۱

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



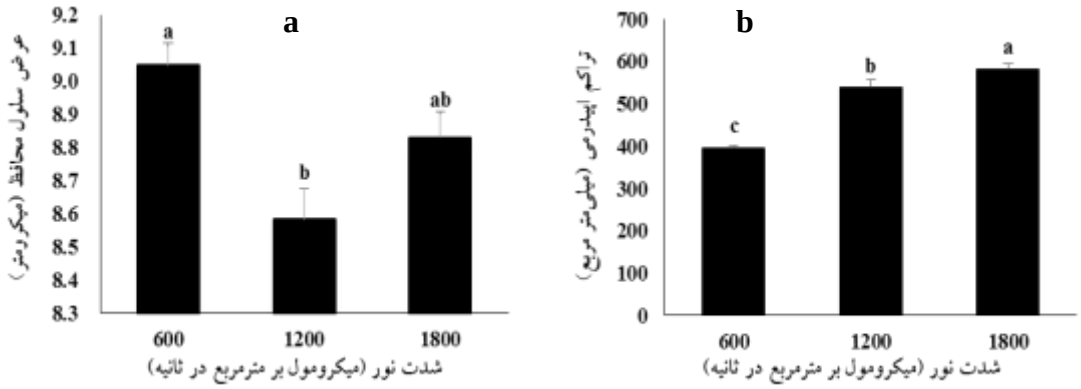
شکل ۱- اثرات شدت نور (a) و آسکوربیک اسید (b) بر تراکم روزنه‌ای گیاه آهار. میانگین‌های با حداقل یک حرف مشترک دارای اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ براساس آزمون LSD نیستند. نوارهای عمودی نشان‌دهنده خطای استاندارد (n=۳) است.

آماری ۱ درصد و اثر آسکوربیک اسید در سطح آماری ۵ درصد اختلاف معنی‌داری وجود داشت اما اثر متقابل شدت نور و آسکوربیک اسید روی این ویژگی تفاوت معنی‌داری نشان نداد. نتایج نشان داد که با افزایش شدت نور بر میزان تراکم روزنه‌ای افزوده شده است. مقایسه میانگین تیمارها (شکل a ۱) نشان داد که بیشترین تراکم مربوط به شدت نور ۱۸۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه و کمترین در شدت نور ۶۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه مشاهده شد که افزایش چشمگیری (تقریباً دو برابر) تراکم روزنه‌ای مشاهده شد. نتایج تجزیه واریانس شاخص روزنه‌ای (جدول ۱) تأثیر مختلف شدت نور و اثر متقابل بین شدت نور و آسکوربیک اسید معنی‌داری بود و اثر آسکوربیک اسید روی ویژگی مورد ارزیابی معنی‌دار نشد. مقایسه میانگین نشان داد که با کاهش شدت نور شاخص روزنه‌ای کاهش یافت.

تراکم سلول‌های اپیدرمی: نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که تأثیر شدت نور بر تراکم سلول‌های اپیدرمی در سطح احتمال ۱ درصد اختلاف معنی‌داری داشت ولی تأثیر آسکوربیک اسید و اثر متقابل شدت نور و آسکوربیک اسید روی این ویژگی اختلاف معنی‌داری نشان نداد. مقایسه میانگین نشان داد که با کاهش شدت نور تراکم سلول‌های اپیدرمی کاهش یافته است به‌طوری که تیمار ۶۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه نسبت به تیمار شاهد (۱۸۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه) کاهش ۳۲/۱ درصدی داشت (شکل a ۲).

طول و عرض سلول محافظ: نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که تأثیر شدت نور و اثر متقابل شدت نور و آسکوربیک اسید بر طول سلول محافظ اختلاف معنی‌داری

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 23:18 IRDT on Monday April 19th 2021



شکل ۲- اثر شدت نور بر تراکم اپیدرمی (a) و عرض سلول محافظ (b) گیاه آهار. میانگین‌های با حداقل یک حرف مشترک دارای اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ براساس آزمون LSD نیستند. نوارهای عمودی نشان‌دهنده خطای استاندارد (n=۳) است.

داشتند اما اثر آسکوربیک اسید بر این ویژگی معنی‌دار نشد. مقایسه میانگین اثرات متقابل نشان داد که با کاهش شدت نور طول سلول محافظ افزایش یافت. در شدت نور ۱۸۰۰ غلظت ۲ میلی‌مولار آسکوربیک اسید باعث کاهش ۷/٦ درصدی و در تیمار ٦۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه موجب افزایش ٤/۵ درصدی طول سلول محافظ نسبت به تیمار عدم محلول‌پاشی در شدت نور مشابه شد. در تیمار ۱۲۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه محلول‌پاشی آسکوربیک اسید تأثیر معنی‌داری بر طول سلول محافظ وجود نداشت (جدول ۲). اثر آسکوربیک اسید بر عرض سلول محافظ در سطح ۰/۰۵ معنی‌دار شد. در حالی که تأثیر شدت نور و اثر متقابل شدت نور و آسکوربیک اسید اختلاف معنی‌داری روی عرض سلول محافظ نداشت. نتایج مقایسه میانگین نشان داد با محلول‌پاشی آسکوربیک اسید عرض سلول محافظ کاهش یافت به‌طوری که غلظت ۱ و ۲ میلی‌مولار نسبت به شاهد (عدم محلول‌پاشی) به‌ترتیب ۵/۱ و ۲/۳ درصد کاهش داشت (شکل b ۲).

رنگیزه‌های فتوسنتزی و کارتنوئید: نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان داد که تأثیر شدت نور و آسکوربیک اسید بر کلروفیل *a* در سطح آماری ۱ درصد معنی‌دار بودند. این در حالی است که اثر متقابل شدت نور و آسکوربیک بر این ویژگی معنی‌دار نبود. در مقایسه میانگین اثر شدت نور، بیشترین مقدار کلروفیل *a* در شدت نور ٦۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه و کمترین در شدت نور ۱۸۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه مشاهده شد که نشان می‌دهد با کاهش شدت نور محتوی کلروفیل *a* ۱۳۹ درصد نسبت به گیاهان شاهد (۱۸۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه) به‌صورت معنی‌داری افزایش یافته است (شکل a ۳). همچنین غلظت ۲ میلی‌مولار آسکوربیک اسید سبب کاهش ۱٤/۳ درصدی محتوی کلروفیل *a* نسبت به تیمار شاهد (بدون آسکوربیک اسید) شد (شکل b ۳).

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳) کلروفیل *b* نشان داد که تأثیر شدت نور، آسکوربیک اسید و اثر متقابل شدت نور و آسکوربیک اسید بر ویژگی مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد وجود داشت. نتایج نشان داد که با کاهش شدت نور، محتوی کلروفیل *b* ۱۷٤ درصد افزایش یافت. همچنین تیمار ۲ میلی‌مولار آسکوربیک اسید محتوای کلروفیل *b* را در مقایسه با تیمار شاهد (بدون آسکوربیک اسید) ۱۸/٤ درصد کاهش داد. در تیمار شدت نور ٦۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه، غلظت ۱ میلی‌مولار آسکوربیک اسید باعث افزایش (۲٤/۸ درصد) و غلظت ۲ میلی‌مولار آن موجب کاهش (۲۳/۲ درصد) کلروفیل *b* در مقایسه با گیاهان تیمارشده با شدت نور مشابه اما بدون کاربرد آسکوربیک اسید شد. در شدت نور ۱۲۰۰ و ۱۸۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه محلول‌پاشی آسکوربیک اسید تأثیر معنی‌داری روی کلروفیل *b* نداشت (جدول ۲).

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان داد که اثر شدت

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 23:18 IRDT on Monday April 19th 2021

جدول ۲- مقادیر میانگین اثر متقابل شدت نور و آسکوربیک اسید بر ویژگی‌های شاخص روزنه‌ای، طول سلول محافظ، کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، پرولین، کاتالاز و پراکسیداز آهار

شدت نور ($\mu mol\ m^{-2}s^{-1}$)	آسکوربیک اسید (mM)	شاخص روزنه‌ای (٪)	طول سلول محافظ (µm)	کلروفیل b ($mg\ g^{-1}\ FW$)	کلروفیل کل ($mg\ g^{-1}\ FW$)	پرولین ($\mu mol\ g\ FW^{-1}$)	کاتالاز ($\mu mol\ min^{-1}\ g\ FW^{-1}$)	پراکسیداز ($\mu mol\ min^{-1}\ g\ FW^{-1}$)
۱۸۰۰	۰	۲۳/۵^{ab}	۳۲/٤^{d}	۱/۳۲^{e}	۵/۷۳^{e}	۳۵/۹^{a}	۷/۵٦^{a}	۲/۰۳^{d}
	۱	۲۲/۸^{bc}	۳۳/۱^{cd}	۱/۱٦^{e}	۵/۵٤^{e}	۱۳/۰۳^{c}	۵/٤۸^{b}	۱/۰۲^{g}
	۲	۲۵/۲^{a}	۲۹/۹^{e}	۱/۲۱^{e}	۵/۵۰^{e}	۲٦/۱^{b}	۵/٤۰^{b}	۱/۹۰^{de}
۱۲۰۰	۰	۲۰/۸^{cd}	۳۲/۸^{cd}	۲/۱۱^{cd}	۸/۳۹^{cd}	۳۱/۲^{ab}	۳/۹۹^{cd}	۳/۸۵^{a}
	۱	۲۰/۵^{cd}	۳٤/٦^{abc}	۱/۹۷^{d}	۸/٦۳^{c}	٤/۳۱^{de}	۳/٦٤^{d}	۱/٦۹^{f}
	۲	۲۰/۹^{cd}	۳۳/۹^{bcd}	۱/۸۳^{d}	۷/۳٦^{d}	۱۰/٤۷^{cd}	٤/۳۲^{c}	۱/۷٦^{ef}
٦۰۰	۰	۲۱/۹^{bc}	۳٤/۲^{abc}	۳/۲۷^{b}	۱۳/۹^{a}	۳/٤۷^{e}	۲/۷۷^{e}	۳/٤۳^{b}
	۱	۱۸/۱^{e}	۳۵/۲^{ab}	٤/۰۸^{a}	۱٤/۹^{a}	۳/۳۵^{e}	۳/۱۰^{e}	۲/۵۸^{c}
	۲	۱۸/۷^{de}	۳۵/۸^{a}	۲/۵۱^{c}	۱۱/۳^{b}	۵/۵۲^{de}	۳/۰٤^{e}	۲/۰٦^{d}

حروف یکسان بیانگر عدم‌اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون LSD است.

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی آهار

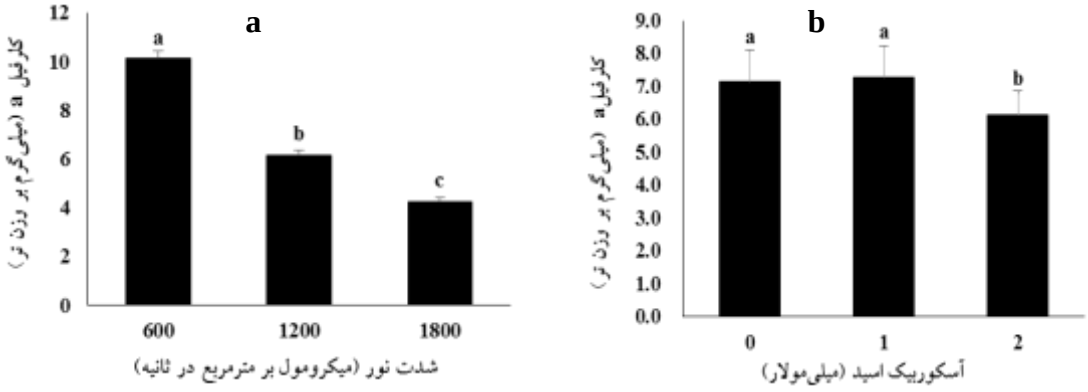
منابع تغییرات	درجه آزادی	کلروفیل *a*	کلروفیل *b*	کارتنوئید	کلروفیل کل	پرولین	کاتالاز	پراکسیداز	آسکوربات پراکسیداز
شدت نور	۲	۸۱/۱**	۱۰/۰۳**	٤/۲۸**	۱٤۸**	۹۷۹**	۲۳/٦**	۲/٦۳**	۰/۰۰۰۸*
خطای اصلی (Ea)	٦	۰/۱۱۵	۰/۰۱۳	۰/۰۲٦	۰/۱۱۳	۲۲/۱	۰/۰٤۰	۰/۰۱٤	۰/۰۰۰۱
آسکوربیک اسید	۲	۳/٦۱**	۰/۸۱۱**	۰/۰۹٤^{ns}	۷/۸۰**	٦۲۲**	۱/۱۹**	٤/۸۷**	۰/۰۰۳**
شدت نور × آسکوربیک اسید	٤	۰/۵٤۳^{ns}	۰/۵٦۰**	/۰٦۹^{ns}	۱/۸٤*	۱۸٦**	۱/۸۷**	۱/۰۳**	۰/۰۰۰۰۵^{ns}
خطای فرعی (Eb)	۱۲	۰/۱۸۸	۰/۰٦۲	۰/۰٤۵	۰/۳٤۷	٤۸/۱	۰/۰٦۱	۰/۰۰۸	۰/۰۰۰۱
ضریب تغییرات (٪)		٦/۳۵	۱۱/٦	۱۰/۹	٦/۵۵	۲۳/۸	۵/٦۸	٤/۰۲	۱۱/۵

ns عدم‌وجود اختلاف معنی‌دار، * و ** اختلاف معنی‌دار به‌ترتیب در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

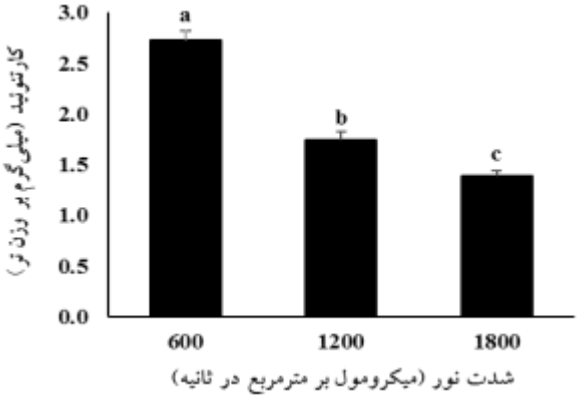
نور در سطح احتمال ۱ درصد روی ویژگی کارتنوئید تفاوت معنی‌داری داشت ولی اثر آسکوربیک اسید و اثر متقابل بین شدت نور و آسکوربیک اسید بر روی این عامل اختلاف معنی‌داری نشان نداد. شدت نور ٦۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه بیشترین میانگین (۲/۷۲ میلی‌گرم بر وزن تر) و شدت نور ۱۸۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه کمترین میانگین (۱/۳۹ میلی‌گرم بر وزن تر) کارتنوئید را به خود اختصاص داد که نشان می‌دهد با کاهش شدت نور مقدار کارتنوئید ۹۵/۷ درصد افزایش یافته است (شکل ٤).

نتایج تجزیه واریانس کلروفیل کل (جدول ۳) نشان داد که تأثیر شدت نور و آسکوربیک اسید در سطح احتمال ۱ درصد و اثر متقابل شدت نور و آسکوربیک اسید در سطح آماری ۵ درصد اختلاف معنی‌داری وجود داشت. نتایج این پژوهش نشان داد که به‌موازات کاهش شدت نور، کلروفیل کل افزایش یافت، به‌طوری که بیشترین کلروفیل کل در شدت نور ٦۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه حاصل شد که نسبت به گروه

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 23:18 IRDT on Monday April 19th 2021



شکل ۳- اثرات شدت نور (a) و آسکوربیک اسید (b) بر کلروفیل a گیاه آهار. میانگین‌های با حداقل یک حرف مشترک دارای اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ براساس آزمون LSD نیستند. نوارهای عمودی نشان‌دهنده خطای استاندارد (n=۳) است.



شکل ٤- اثر شدت نور بر کارتنوئید گیاه آهار. میانگین‌های با حداقل یک حرف مشترک دارای اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ بر اساس آزمون LSD نیستند. نوارهای عمودی نشان‌دهنده خطای استاندارد (n=۳) است.

شاهد ۱٤۷ درصد افزایش نشان داد. همچنین غلظت ۲ میلی‌مولار آسکوربیک اسید محتوای کلروفیل کل را نسبت به تیمار شاهد (عدم محلول‌پاشی آسکوربیک اسید) ۱۵/٤ درصد کاهش داد. کلروفیل کل گیاهان محلول‌پاشی‌شده با آسکوربیک اسید در مقایسه با عدم‌کاربرد آسکوربیک اسید در تیمار نوری ٦۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه، غلظت ۲ میلی‌مولار آن موجب کاهش ۱۸/۵ درصدی شد و غلظت ۱ میلی‌مولار آسکوربیک اسید تأثیر معنی‌داری بر کلروفیل کل نداشت. در شدت نور ۱۲۰۰ و ۱۸۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه کاربرد آسکوربیک اسید تأثیر معنی‌داری روی کلروفیل کل نداشت (جدول ۲).

پرولین: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تأثیر شدت نور، آسکوربیک اسید و اثر متقابل شدت نور و آسکوربیک اسید بر محتوای پرولین در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). مقایسه میانگین نشان داد که افزایش شدت نور موجب افزایش محتوای پرولین شد و تیمار گیاهان با محلول‌پاشی آسکوربیک اسید مقدار پرولین را کاهش داد. میانگین درصد تغییرات محتوای پرولین در تیمار ٦۰۰ و ۱۲۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه نسبت به شاهد (۱۸۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه) در شرایط بدون آسکوربیک اسید به‌ترتیب ۹۰/۳ و ۱۲/۹ درصد کاهش یافت. همچنین در شدت نور ۱۲۰۰ و ۱۸۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه غلظت ۱ میلی‌مولار

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 23:18 IRDT on Monday April 19th 2021

آسکوربیک اسید به‌ترتیب ۶۳/۷ و ۸۶/۲ درصد و غلظت ۲ میلی‌مولار آسکوربیک اسید به‌ترتیب ۲۷/۶ و ۶۶/۵ درصد محتوای پرولین را در مقایسه با گیاهان تیمارشده با شدت نور مشابه اما عدم‌کاربرد آسکوربیک اسید کاهش داد. در شدت نور ۶۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه محلول‌پاشی آسکوربیک اسید تأثیر معنی‌داری بر محتوای پرولین نداشت (جدول ۲).

کاتالاز: نتایج تجزیه واریانس میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (جدول ۳) نشان داد که تأثیر شدت نور، آسکوربیک اسید و اثر متقابل شدت نور و آسکوربیک اسید بر ویژگی مورد مطالعه تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد وجود داشت. مقایسه میانگین اثرات متقابل (جدول ۲) نشان داد که با افزایش شدت نور، فعالیت آنزیم کاتالاز افزایش یافت. در تیمار شدت نور ۱۸۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه با اعمال محلول‌پاشی آسکوربیک اسید میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (۲۸/۶ درصد) کاهش یافت که بین غلظت‌های آن اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. در شدت نور ۶۰۰ و ۱۲۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه کاربرد آسکوربیک اسید بر فعالیت آنزیم کاتالاز تأثیر معنی‌داری نداشت (جدول ۲).

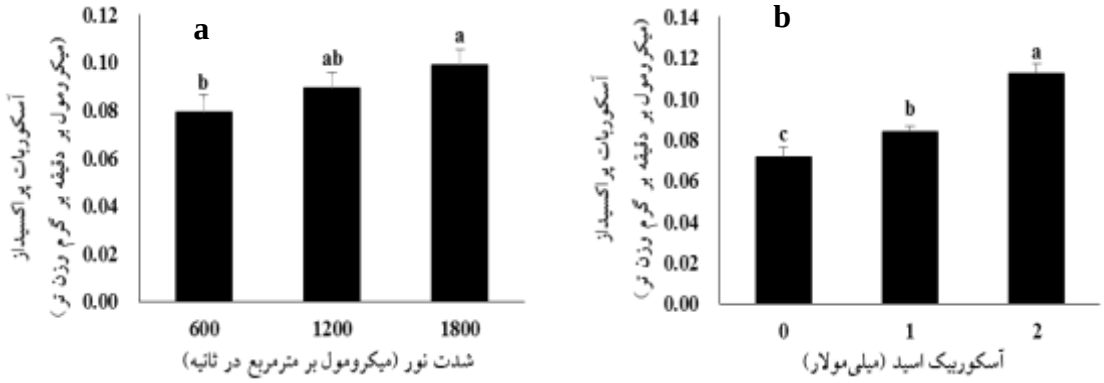
پراکسیداز: نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان داد که تأثیر شدت نور، آسکوربیک اسید و اثر متقابل شدت نور و آسکوربیک اسید بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز تأثیر معنی‌داری در سطح آماری ۱ درصد داشت. نتایج نشان داد که با کاهش شدت نور از ۱۸۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه به شدت نور ۶۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه فعالیت آنزیم پراکسیداز ۶۳ درصد افزایش یافت. همچنین اعمال محلول‌پاشی آسکوربیک اسید موجب کاهش ۳۸/۴ درصدی فعالیت آنزیم پراکسیداز نسبت به گیاهان شاهد (عدم محلول‌پاشی آسکوربیک اسید) شد. مقایسه میانگین نشان داد که در تیمارهای ۶۰۰، ۱۲۰۰ و ۱۸۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه غلظت ۱ میلی‌مولار آسکوربیک اسید به‌ترتیب ۲۴/۸، ۵۶/۱ و ۴۹/۸ درصد و غلظت ۲ میلی‌مولار آسکوربیک اسید به‌ترتیب ۳۹/۹، ۵۴/۳ و ۶/۴ درصد فعالیت آنزیم پراکسیداز را در مقایسه با گیاهان تیمارشده با شدت نور مشابه اما عدم‌کاربرد آسکوربیک اسید کاهش داد (جدول ۲).

آسکوربات پراکسیداز: نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان داد که اثر شدت نور بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در سطح احتمال ۵ درصد و اثر آسکوربیک اسید بر این آنزیم در سطح آماری ۱ درصد اختلاف معنی‌داری داشت ولی اثر متقابل بین شدت نور و آسکوربیک اسید بر روی این ویژگی تفاوت معنی‌داری نشان نداد. نتایج نشان داد که با افزایش شدت نور و همچنین کاربرد آسکوربیک اسید میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز افزایش یافت. مقایسه میانگین نشان داد که بیشترین میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (۰/۰۹۹ میکرومول بر دقیقه بر گرم وزن تر) مرتبط با شدت نور ۱۸۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه و کمترین (۰/۰۷۹ میکرومول بر دقیقه بر گرم وزن تر) مربوط به شدت نور ۶۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه (۲۰/۲۰ درصد کاهش نسبت به شاهد) بود (شکل a ۵). در مورد کاربرد آسکوربیک اسید نیز بیشترین و کمترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به‌ترتیب مربوط به تیمار ۲ میلی‌مولار و عدم محلول‌پاشی آن بوده است که غلظت ۲ میلی‌مولار آسکوربیک اسید فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز را نسبت به تیمار شاهد ۵۷/۷ درصد افزایش داد (شکل b ۵).

بحث

در پژوهش حاضر با افزایش شدت نور تراکم و شاخص روزنه و تراکم سلول‌های اپیدرمی افزایش و طول سلول محافظ روزنه کاهش یافت. شدت نور عامل مؤثری بر ساختار مورفولوژی و آناتومی گیاهان است (Pazourek, 1970). افزایش شدت نور باعث افزایش تعداد روزنه در واحد سطح برگ می‌شود. زیرا نمو روزنه براساس بررسی‌های انجام‌شده تا حد زیادی تحت تأثیر شدت نور است (Lee *et al.*, 2007). غالباً روزنه گیاهان رشدیافته در سایه بزرگ‌تر است (Aasamaa and Aphalo, 2017) که با نتایج پژوهش حاضر همسو است. همچنین تراکم روزنه و شاخص روزنه آنها نیز کمتر از گیاه رشدیافته در نور کامل هستند (Lombardini *et al*,. 2009; Brodribb and

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 23:18 IRDT on Monday April 19th 2021



شکل ۵- اثرات شدت نور (a) و آسکوربیک اسید (b) بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز گیاه آهار. میانگین‌های با حداقل یک حرف مشترک دارای اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ براساس آزمون LSD نیستند. نوارهای عمودی نشان‌دهنده خطای استاندارد (n=۳) است.

Jordan, 2011; Sun *et al*,. 2003) که با نتایج پژوهش حاضر هم‌خوانی دارد. همچنین افزایش تعداد روزنه و همزمان کاهش اندازه آن یک مکانیسم تطابقی برای جلوگیری از اتلاف آب بیش از حد توسط گیاه با افزایش کارایی روزنه‌ها است (Hetherington and Woodward, 2003). پژوهش حاتمیان و همکاران (۱۳۹۳) نشان داد که بیشترین طول و عرض روزنه دو رقم گل رز، مربوط به‌شدت نور ٦٤٠ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه نسبت به تیمارهای ۲٤٠، ۵۲٠ و ۱۲٠٠ (شاهد) بوده ولی از نظر تراکم تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد. در پژوهش Pazourek (۱۹۷۰) با بررسی تراکم روزنه در برگ‌های زنبق هلندی (*Iris hollandica*) چهار شدت نور مختلف ۱۲، ۳۷، ۷۵ و ۱۰۰ درصد نور کامل، در نظر گرفته شد. نتایج نشان داد که تراکم روزنه در واحد سطح، در شدت‌های نور زیاد، بیشتر است.

گیاهان رشدیافته در سایه، نور کمتری برای فتوسنتز دریافت می‌کنند بنابراین برای اینکه بتوانند تا حدودی این کمبود نور را جبران کنند ملزم به افزایش سطح برگ و مقدار رنگیزه‌ها در برگ خود هستند. درنتیجه مقدار کلروفیل در آنها افزایش می‌یابد (Hamerlynck *et al.*, 2000). در بافت‌های فتوسنتزی، کارتنوئید عامل حفاظتی محسوب می‌شود و از اکسیدشدن مولکول‌های کلروفیل در حضور نور و اکسیژن جلوگیری می‌کند. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که با افزایش سطح سایه میزان کلروفیل *a*، کلروفیل *b* و کلروفیل کل افزایش یافته و غلظت ۲ میلی‌مولار آسکوربیک اسید باعث کاهش کلروفیل شده است. همچنین میزان کارتنوئید نیز با کاهش شدت نور افزایش یافت. در پژوهش Zhao و همکاران (۲۰۱۲) و Pires و همکاران (۲۰۱۱) میزان کلروفیل با افزایش سطح سایه افزایش یافته که با مطالعات پژوهش حاضر همسویی دارد. در پژوهش دولتخواهی و همکاران (۱۳۹۳) که اعمال سایه‌دهی را در شرایط گلخانه انجام داده‌اند، میزان کلروفیل *a*، کلروفیل *b* و کلروفیل کل با افزایش سطح سایه کاهش یافت اما پژوهش حاضر در شرایط فضای آزاد انجام گرفته است که باعث می‌شود شدت نورها متفاوت شود و نتایج این دو پژوهش همسو نباشند. در مطالعه Amin و همکاران (۲۰۰۸) مشخص شد آسکوربیک اسید نقش مؤثری در افزایش رنگدانه‌های فتوسنتزی، کلروفیل *a*، کلروفیل *b* و کلروفیل کل در گندم دارد. نتایج پژوهش سلاحورزی و همکاران (۱۳۹۰) نشان داد که با کاربرد آسکوربیک اسید غلظت کلروفیل *a*، کلروفیل *b*، کارتنوئیدها و نهایتاً کلروفیل کل در گیاه مرزنجوش (*Origanum majorana* L.) افزایش یافت که با نتایج پژوهش حاضر متناقض است که نشان‌دهنده اختلاف غلظت‌های مورد استفاده است.

در یک بافت سیستمیک، به‌منظور به حداقل‌رساندن تنش اکسیداتیو حاصل از افزایش گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 23:18 IRDT on Monday April 19th 2021

(ROS)، گیاهان سازوکارهای سم‌زدایی شامل ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و برخی از آنزیم‌های مهار ROS مانند پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، آسکوربات پراکسیداز (APX) را ایجاد کرده‌اند (Sharma *et al.*, 2012). نتایج این مطالعه نشان داد که با افزایش شدت نور فعالیت آنزیم‌های APX و CAT افزایش یافته است. آنزیم پراکسیداز (POD) نیز با افزایش شدت نور از ۶۰۰ به ۱۲۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه افزایش و در شدت نور ۱۸۰۰ کاهش یافت. همچنین محلول‌پاشی آسکوربیک اسید میزان فعالیت آنزیم APX را افزایش داد. در حضور آسکوربات فعالیت APX افزایش می‌یابد (Raven El, 2000) که درنتیجه چرخه گلوتاتیون- آسکوربات که در پاک‌سازی گونه‌های فعال اکسیژن نقش دارد، فعال شده و به‌دنبال آن فعالیت CAT افزایش می‌یابد که مقاومت گیاه را در برابر تنش اکسیداتیو افزایش می‌دهد (Dixit *et al.*, 2001). نتایج پژوهشی روی گل رز رقم آولانش (*Rosa hybrida* cv. 'Avalanche') نشان داد که فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز در نور بالا افزایش یافت (Bayat *et al.*, 2018). در پژوهش Shao و همکاران (۲۰۱٤) روی گیاه *Anoectochilus roxburghii* که ٤۰ روز در سایه قرار داشت سطوح POD در گیاهان در تابش ۵٪، ۲۰٪ و ۳۰٪ نور طبیعی به‌طور معنی‌داری بیشتر از گیاهان در تابش ۵۰٪ بود در حالی که فعالیت CAT کمتر بود. پژوهش Xu و همکاران (۲۰۱۰) روی برگ فسکیوی بلند (Tall Fescue) نشان داد که فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در تیمار نوری ۵۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه افزایش یافتند. گزارش شده است که فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در اسفناج در شدت نور زیاد و دمای پایین افزایش می‌یابد (Schoner and Krause, 1990). Schmidt و همکاران (۲۰۰٦) گزارش کردند که فعال‌شدن آنزیم کاتالاز در برگ‌های چاودار زمستانه در تیمار نور آبی بیشتر از تیمار نور قرمز یا نور قرمز دور است. فعالیت آنزیم کاتالاز در برگ گندم با انتقال آن از نور کم به نور زیاد افزایش یافت (Mishra *et al.*, 1995). در پژوهش Xu و همکاران (۲۰۱۳) روی گندم زمستانه فعالیت کاتالاز و پراکسیداز در سایه‌دهی ۲۲٪ افزایش و در سایه‌دهی ۵۰٪ و ۹۰٪ کاهش یافت. آزادی و همکاران (۱۳۹۲) گزارش کردند که آسکوربیک اسید باعث افزایش فعالیت کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز می‌شود.

در پژوهش حاضر با افزایش شدت نور، پرولین نیز افزایش و با محلول‌پاشی آسکوربیک اسید مقدار پرولین کاهش یافت. پرولین علاوه بر اینکه به‌عنوان اسموپروتئین عمل می‌کند، نقش آنتی‌اکسیدانی خود را نیز در شرایط تنش با قراردادن غلظت ROS در محدوده‌های سازگار نشان می‌دهد (Hayat *et al.*, 2012). در بسیاری از گونه‌های گیاهی پرولین یک اسمولیت ارگانیک مهم در حفظ تعادل اسمزی محسوب می‌شود. همچنین پرولین بیان ژن‌هایی که در پاسخ به تنش و در حفظ ساختارهای زیر سلولی نقش دارند را القا می‌کند (Phang *et al.*, 2010). علاوه بر این پرولین در سلول به‌عنوان یک ماده اسمزه‌کننده عمل کرده و از آنزیم‌ها و برخی درشت مولکول‌ها در برابر تنش محافظت می‌کند (Hare *et al.*, 1998). پژوهش Mo و همکاران (۲۰۱۵) روی رقم Yuxiangyouzhan برنج نشان داد که با اعمال تیمار سایه‌دهی میزان پرولین در مرحله اولیه پرشدن دانه و مرحله کامل پرشدن دانه افزایش یافت. در پژوهش ابری و همکاران (۱۳۹۳) روی گل رز میزان پرولین در گل‌های تیمارشده با آسکوربیک اسید نسبت به شاهد (صفر میلی‌مولار AsA) پایین‌تر بود.

نتیجه‌گیری

با توجه به اینکه در طراحی فضای سبز تعداد گیاهان فصلی که در شرایط سایه و سایه نیم (اطراف درختان و حاشیه‌کاری‌ها) کشت می‌شود محدود است، بنابراین استفاده از آهار در شرایط سایه و نیم‌سایه امکان طراحی فضای سبز شهری بهتری را فراهم می‌کند. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که با کاهش شدت نور میزان کلروفیل *a*، کلروفیل *b*، کارتنوئید و کلروفیل کل افزایش یافت. همچنین با افزایش شدت نور، تراکم و شاخص روزنه‌ای نیز افزایش یافت، به‌طوری که تراکم روزنه‌ای در شدت نور ۱۸۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه دو

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 23:18 IRDT on Monday April 19th 2021

برابر شدت نور ٦٠٠ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه بود. علاوه بر این افزایش شدت نور موجب افزایش غلظت پرولین و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز گردید. این در حالی است که کاربرد آسکوربیک اسید منجر به کاهش میزان غلظت پرولین و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز شد و فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز را نیز افزایش داد. به‌طور کلی نتایج نشان داد که افزایش شدت نور با کاهش کلروفیل و افزایش مقدار پرولین، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز باعث ایجاد تنش در آهار شده و کاربرد هفتگی آسکوربیک اسید باعث کاهش اثرات تنش شد.

منابع

ابراهیم‌زاده، ا. و سیفی، ی. (۱۳۷۵) انبارداری و جابجایی گل‌های بریده، گیاهان سبز زینتی و گیاهان گلـدانی. انتـشارات اختر. تبریز.

ابری، ف.، قاسم‌زاده، م.، ساجدی، ر. ح.، بخشی، د. و شیری، ع. (۱۳۹۳) تأثیر آسکوربیک اسید در به تأخیرانداختن تغییرات بیوشیمیایی ضمن پیری و افزایش ماندگاری گل رز. نشریه علوم باغبانی ۱: ۳۳-۲۵.

آزادی، م. ص.، یونسی، ا.، طباطبایی، ع. و انصاری، ا. (۱۳۹۲) اثر آسکوربیک اسید بر شاخص‌های جوانه‌زنی و تغییرات بیوشیمیایی بذر سورگوم تحت تنش شوری. نشریه تحقیقات بذر ۳: ۵۱-٤۳.

حاتمیان، م.، عرب، م. و روزبان، م. (۱۳۹۳) مطالعه‌ی رفتار روزنه‌ای دو رقم گل رز در شدت‌های مختلف نور. به‌زراعی کشاورزی ۱: ۱۱-۱.

حکمتی، ج. (۱۳۸۲) گل‌های فصلی (گل‌های فضای آزاد). نشر علوم کشاورزی.

دولتخواهی، ع.، مطلوبی، م. و مطلبی آذر، ع. (۱۳۹۳) پاسخ سیستم‌های تربیت کمانی و سنتی به سایه‌دهی در رز بریدنی رقم آوالانژ (*Rosa hybrida* cv. Avalanche). مجله علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای ۱۸: ۱۲۱-۱۱۵.

سلاحورزی، ی.، گلدانی، م.، نباتی، ج. و علیرضایی، م. (۱۳۹۰) تأثیر کاربرد برون‌زای آسکوربیک اسید بر برخی از تغییرات فیزیوشیمیایی مرزنجوش (*Origanum majorana* L.) تحت تنش شوری. نشریه علوم باغبانی ایران ۲: ۱٦۷-۱۵۹.

Aasamaa, K. and Aphalo, P. J. (2017) The acclimation of *Tilia cordata* stomatal opening in response to light, and stomatal anatomy to vegetational shade and its components. Tree Physiology 37: 209-219.

Amin, A. A., Rashad. E. M. and Gharib, A. E. (2008) Changes in morphological, physiological and reproductive characters of wheat plants as affected by foliar application with salicylic acid and ascorbic acid. Australian Journal of Basic and Applied Sciences 2: 252-261.

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

Bartoli, C. G., Guiamet, J. J., Kiddle, G., Pastori, G. D., Cagno, R., Theodoulou, F. L. and Foyer, Ch. (2005) The relationship between Lgalactono 1, 4-lactone dehydrogenase (GalLDH) and ascorbate content in leaves under optimal and stress conditions. Plant, Cell and Environment 28: 1073-1081.

Bartoli, C. G., Yu, J., Gomez, F., Fernandez, L., McIntosh, L. and Foyer, C. H. (2006) Inter relationships between light and respiration in the control of ascorbic acid synthesis and accumulation in *Arabidopsis thaliana* leaves. Journal of Experimental Botany 57: 1621-1631.

Bates, L., Waldren, R. and Teare, I. (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil 39: 205-207.

Bayat, L., Arab, M., Aliniaeifard, S., Seif, M., Lastochkina, O. and Li, T. (2018) Effects of growth under different light spectra on the subsequent high light tolerance in rose plants. AoB Plants 10: 52.

Bertamini, M., Muthuchelian, K., Rubinigg, M., Zorer, R., Velasco, R. and Nedunchezhian, N. (2006) Low-night temperature increased the photo inhibition of photosynthesis in grapevine (*Vitis vinifera* L. cv. Riesling) leaves. Environmental and Experimental Botany 57: 25-31.

Brodribb, T. J. and Jordan, G. J. (2011) Water supply and demand remain balanced during leaf acclimation of *Nothofagus cunninghamii* trees. New Phytologist 192: 437-448.

Chance, B. and Maehly, A. C. (1995) Assay of catalas and proxidase. In: Methods in Enzymology. (eds. Colowick, S. P. and Kaplan, N. D.) Pp. 764-775. Academic Press, New York.

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 23:18 IRDT on Monday April 19th 2021

Chen, T. H. H. and Murata, N. (2011) Glycinebetaine protects plants against abiotic stress: mechanisms and biotechnological applications. Plant, Cell and Environment 34: 1-20.

Dai, Y., Shen, Z., Liu, Y., Wang, L., Hannaway, D. and Lu, H. (2009) Effects of shade treatments on the photosynthetic capacity, chlorophyll fluorescence, and chlorophyll content of *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg. Environmental and Experimental Botany 65: 177-182.

Deng, Y. M., Li, C. C., Shao, Q. S., Ye, X. Q. and She, J. M. (2012) Differential responses of double petal and multi petal jasmine to shading: I. Photosynthetic characteristics and chloroplast ultrastructure. Plant Physiology and Biochemistry 55: 93-102.

Dixit, V., Pandey, V. and Shyam, R. (2001) Differential antioxidative responses to cadmium in roots and leaves of pea (*Pisum sativum*). Journal of Experimental Botany 52: 1101-1109.

Dole, J. M. and Wilkins, H. F. (2005) Floriculture: Principles and Species. Prentice Hall, USA.

Frantz, J. M. and Bugbee, B. (2005) Acclimation to shade: Photosynthesis, respiration, canopy quantum yield, and carbon use efficiency. Journal of the American Society for Horticultural Science, 130: 918-927.

Hamerlynck, E. P., Tuba, Z., Csintalan, Z., Nagy, Z., Henebry, G. and Goodin, D. (2000) Diurnal variation in photochemical dynamics and surface reflectance of the desiccation-tolerant moss, Tortula ruralis. Plant Ecology 151: 55-63.

Hare, P. D., Cress, W. A. and Van Staden, J. (1998) Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress, Plant, Cell and Environment 21: 535-553.

Hayat, S., Hayat, Q., Alyemeni, M. N., Wani, A. S. and Pichtel, J. (2012) Role of proline under changing environments: A review. Plant signaling and behavior 7: 1456-1466.

Hetherington, A. M. and Woodward F. I. (2003) The role of stomata in sensing and driving environmental change. Nature 424: 901-908.

Hogewoning, S. W., Trouwborst, G., Maljaars, H., Poorter, H., Van Ieperen, W. and Harbinson, J. (2010) Blue light dose-responses of leaf photosynthesis, morphology, and chemical composition of *Cucumis sativus* grown under different combinations of red and blue light. Journal of Experimental Botany 61: 3107-3117.

Hogewoning, S. W., Trouwborst, G., Meinen, E. and Van Ieperen, W. (2012) Finding the optimal growth-light spectrum for greenhouse crops. Acta horticulturae 956: 357-363.

Huang, C., Gua, W., He, J., Su, X. and Zhang, L. (2005) Increased sensitivity to salt stress in an ascorbate-deficient Arabidopsis mutant. Journal of Experimental Botany 56: 3041-3049.

Lee, S. H., Tewari, R. K., Hahn, E. J. and Paek, K. Y. (2007) Photon flux density and light quality induce changes in growth, stomatal development, photosynthesis and transpiration of *Withania somnifera* L. Dunal. Plantlets. Plant Cell Tissue and Organ Culture 90: 141-151.

Lichtenthaler, H. K. (1987) Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembrane. Methods of Enzymology 148: 350.

Lombardini, L., Restrepo-Diaz, H. and Volder, A. (2009) Photosynthetic light response and epidermal characteristics of sun and shade pecan leaves. Journal of the American Society for Horticultural Science 134: 372-378.

Lou, X., Lu, T., Li, M., Pang, R., Ye, Y. and Bao, M. (2011) Combining ability among male sterile two-type and restorer lines of *Zinnia elegans* and implications for the breeding of this ornamental species. Scientia Horticulturae 129: 862-868.

MacAdam, J. W., Nelson, C. J. and Sharp, R. E. (1992) Peroxidase activity in the leaf elongation zone of tall fescue I. Spatial distribution of ionically bound peroxidase activity in genotypes differing in length of the elongation zone. Plant Physiology 99: 872-878.

Mishra, N. P., Fatma, T. and Singhal, G. S. (1995) Development of antioxidative defense system of wheat seedlings in response to high light. Physiologia Plantarum 95: 77-82.

Mo, Z., Li, W., Pan, S., Fitzgerald, T. L., Xiao, F., Tang, Y. and Tang, X. (2015) Shading during the grain filling period increases 2-acetyl-1-pyrroline content in fragrant rice. Rice 8: 9.

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

Nemali, K. S. and van Iersel, M. W. (2004) Light effects on wax begonia: Photosynthesis, growth respiration, maintenance respiration, and carbon use efficiency. Journal of the American Society for Horticultural Science 129: 416-424.

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

Pazourek, J. (1970) The effect of light intensity on stomatal frequency in leaves of *Iris hollandica* hort var. Wedgwood. Biologia Plantarum 12: 208-215.

Phang, J. M., Liu, W. and Zabirnyk, O. (2010) Proline metabolism and microenvironmental stress. Annual Review of Nutrition 30: 441-463.

Pires, M. V., Almeida, A. A., Figueiredo, A. L., Gomes, F. P. and Souza, M. M. (2011) Photosynthetic characteristics

of ornamental passion flowers grown under different light intensities. Photosynthetica 49: 593-602.

Raven, E. L. (2000) Peroxidase-catalyzed oxidation of ascorbate structural, spectroscopic and mechanistic correlations in ascorbate peroxidase. Subcellar Biochemistry 35: 317-349.

Rezaei Nejad, A. and van Meeteren, U. (2005) Stomatal response characteristics of *Tradescantia virginiana* grown at high relative air humidity. Physiologia Plantarum 125: 324-32.

Schmidt, M., Grief, J. and Feierabend, J. (2006) Mode of translational activation of the catalase (cat1) mRNA of rye leaves (*Secale cereale* L.) and its control through blue light and reactive oxygen. Planta 223: 835-846.

Schoner, S. and Krause, G. H. (1990) Protective systems against active oxygen species in spinach: response to cold acclimation in excess light. Planta 180: 383-389.

Shao, Q., Wang, H., Guo, H., Zhou, A., Huang, Y., Sun, Y. and Li, M. (2014) Effects of shade treatments on photosynthetic characteristics, chloroplast ultrastructure, and physiology of *Anoectochilus roxburghii*. Plos One 9: 85996.

Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S. and Pessarakli, M. (2012) Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. American Journal of Botany 1-26.

Smirnoff, N. (2005) Ascorbate, tocopherol and carotenoids: metabolism, pathway engineering and function. In: Antioxidants and Reactive Oxygen Species in Plants. (ed. Smirnoff, N.) Pp. 53-86. Blackwell Publishing Ltd, Oxford, UK.

Sun, B., Dilcher, D. L., Beerling, D. J., Zhang, C., Yan, D. and Kowalski, E. (2003) Variation in *Ginkgo biloba* L. leaf characters across a climatic gradient in China. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 100: 7141-7146.

Toledo, M. E. A., Ueda, Y., Imahori, Y. and Ayaki, M. (2003) L-Ascorbic acid metabolism in spinach (*Spinacia oleracea* L.) during postharvest storage in light and dark. Postharvest Biology and Technology 28: 47-57.

Wittmann, C., Aschan, G. and Pfanz, H. (2001) Leaf and twig photosynthesis of young beech (*Fagus sylvatica*) and aspen (*Populus tremula*) trees grown under different light regime. Basic and Applied Ecology 2: 145-154.

Xu, C., Yin, Y., Cai, R., Wang, P., Ni, Y., Guo, J. and Yang, D. (2013) Responses of photosynthetic characteristics and antioxidative metabolism in winter wheat to post-anthesis shading. Photosynthetica 51: 139-150.

Xu, Y., Sun, X., Jin, J. and Zhou, H. (2010) Protective effect of nitric oxide on light induced oxidative damage in leaves of tall fescue. Journal of Plant Physiology 167: 512-518.

Zhao, D., Hao, Z. and Tao, J. (2012) Effects of shade on plant growth and flower quality in the herbaceous peony (*Paeonia lactiflora* Pall.). Plant Physiology and Biochemistry 61: 187-196.

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 23:18 IRDT on Monday April 19th 2021

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 23:18 IRDT on Monday April 19th 2021

Effects of ascorbic acid on physiological and biochemical responses of *Zinnia elegans* L. to different levels of light intensity

Mehri Madavifard, Abdolhossein Rezaei Nejad* and Sadegh Mousavifard

Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran

(Received: 14/11/2018, Accepted: 25/06/2019)

Abstract

The aim of this study was to investigate the effects of different light intensities and ascorbic acid on some physiological and biochemical characteristics of *Zinnia elegans* L. The experiment was designed as a completely randomized design in a form of split-plot with three replications. The treatments consisted of three light intensity levels (600, 1200 and 1800 µmol m^{-2} s^{-1}) as the main factor using shade net and weekly spraying three ascorbic acid concentrations (0, 1, 2 mM) as sub-plots. Analysis of variance showed that light intensity had a significant effect on all the studied traits, except for the guard cell width. As light intensity increased, proline content, catalase, and ascorbate peroxidase activity increased. The lower light intensity increased chlorophyll a and b, carotenoids, total chlorophyll, and peroxidase enzyme activity. Furthemore, with increasing light intensity, stomatal density and index, and epidermal cells density increased, so that stomatal density of plants grown under 1800 µmol m^{-2} s^{-1} light intensity was twice of that under 600 µmol m^{-2} s^{-1} light intensity. Moreover, application of ascorbic acid increased ascorbate peroxidase enzyme activity, stomatal density, guard cell length, while, it reduced proline content, catalase and peroxidase enzyme activities. Overall, the results showed that increasing light intensity induced stress in *Zinnia* and weekly application of ascorbic acid alleviated the stress effects.

Key words: Ascorbic acid, Proline, Shading, *Zinnia elegans* L.

Corresponding author, Email: rezaeinejad.h@lu.ac.ir