

تأثیر محلول پاشی 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

به منظور بررسی تأثیر محلول پاشی غلظت‌های مختلف آسکوربیک اسید بر واکنش گیاه سورگوم (رقم اسپیدفید) به تنش شوری یک آزمایش گلدانی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار در بهار و تابستان سال ۱۳۹۶ 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 به ترتیب ۳۰، ۲۷، ۲۴، ۲۷ و ۲۰ درصد بود. محلول پاشی 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 (۴۱ 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 محلول پاشی آسکوربیک اسید نه تنها 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

مشکل شوری یک معضل بزرگ است و حدود ۵۰ درصد از زمین‌های کشاورزی با مشکل شوری یا قلیایی روبه‌رو هستند (حق‌نیا، ۱۳۶۸). 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 Prasad, 2013). در این محیط‌ها برهم‌خوردن تعادل عناصر غذایی، محدود شدن فعالیت‌های آنزیمی و واکنش‌های متابولیکی و

شوری از جمله 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،

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

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 ($O_2^{\cdot-}$)، هیدروژن پراکسید (H_2O_2) رادیکال هیدروکسیل ($\cdot OH$) 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

شوری انجام شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش با رقم علوفه‌ای اسپیدفید سورگوم (*Sorghum bicolor* (L.) var Speedfeed) تهیه شده 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 به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام گرفت. در این آزمایش فاکتور اول شامل دو سطح شوری (صفر و ۱۰۰ میلی مولار سدیم کلرید) و فاکتور دوم در برگزیده پنج سطح محلول پاشی آسکوربیک اسید (صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر) بود. برای انجام این آزمایش از گلدان‌های پلاستیکی به قطر دهانه ۲۳ و ارتفاع ۲۵ سانتی متر با ظرفیت ۸ کیلوگرم خاک استفاده شد. جهت ایجاد شرایط زهکشی مناسب، در کف هر گلدان سنگریزه‌های ریخته شده 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 هر گلدان به ۳ بوته یکنواخت کاهش یافت و سپس تیمار شوری تا زمان برداشت اندام هوایی گیاهان اعمال شد. برای جلوگیری از وارد شدن شوک اسمزی به گیاهان، میزان نمک در نظر گرفته شده 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

هیدروژن پراکسید اثرات سو تنش شوری بر گیاهان را تعدیل می‌کند. با این حال، اثرات تعدیل‌کننده آسکوربیک اسید به مرحله نمو 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؛ آنالقی 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 مهارلوبی 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

جدول ۱- ویژگی‌های خاک مورد استفاده

هدایت الکتریکی	ظرفیت زراعی	پژمردگی دائم	جرم مخصوص ظاهری	نیتروژن	فسفر	پتاسیم		
بافت	pH	(درصد وزنی)	(گرم بر سانتی متر مکعب)	کل	(میلی-گرم بر کیلوگرم)			
(دسی‌زیمنس بر متر)				(درصد)				
۱/۶	۷/۵	۱۰	۱/۳	۰/۱	۳۹/۱۹	۴۱۶	لوم-رسی	

خوانده شد. از استون ۸۰ درصد (بدون عصاره گیاهی) برای بلانک کردن دستگاه اسپکتروفتومتر استفاده شد. میزان صفات مذکور با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه شد.

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

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

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

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی: برای اندازه‌گیری فعالیت

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، ابتدا ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت گیاهچه در یک هاون سرد شده 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 ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. بخش شفاف بالای عصاره برای سنجش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به کار گرفته شد (Elavarthi and Martin, 2010).

کاتالاز: فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از روش تغییر یافته

و اصلاح شده Aebi (۱۹۸۳) و با ردیابی اسپکتروفتومتری تجزیه H_2O_2 در طول موج ۲۴۰ 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 (۱۹۷۶) تعیین شده بود، محاسبه گردید.

آسکوربات پراکسیداز: فعالیت آنزیم آسکوربات

پراکسیداز با روش تغییر یافته و اصلاح شده Nakano و Asada

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, Bioscientific LTD, UK) بر روی جوان‌ترین برگ توسعه یافته 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 به همراه 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 به مدت 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 طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۶ و ۴۷۰ نانومتر

(۱۹۸۱)، به صورت اسپکتروفتومتری و با اندازه‌گیری کاهش جذب در طول موج 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 تغییر یافته و اصلاح شده Giannopolitis و Ries (۱۹۷۷) اندازه‌گیری شد. ۵۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی به سه میلی‌لیتر بافر واکنش شامل بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (EDTA، pH=۷/۸، ۷۵ نانومولار، متیونین ۱۳ میلی‌مولار، نیتروبلو تترازولیوم ۶۳ میکرومولار و ریپوفلاوین ۱/۳ میکرومولار اضافه گردید. نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در معرض نور قرار گرفته و پس از این مدت میزان جذب آنها در طول موج ۵۶۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. یک نمونه مشابه ولی نور ندیده به عنوان بلانک و یک نمونه که تمامی اجزای بافر واکنش به استثنای عصاره آنزیمی را دارا بود، به عنوان شاهد به کار 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 ۶ مولار اضافه گردید. سپس محلول حاصل به آرامی حرارت داده شد تا نین‌هیدرین به طور کامل حل شود. در مرحله بعد، مقدار نیم گرم از بافت گیاهچه، در هاون چینی و در ۱۰ میلی‌لیتر سولفوسالیسیلیک اسید سه درصد، به خوبی ساییده شد. ماده همگن حاصل در دستگاه سانتیفریوژ با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه، در دمای چهار

درجه سانتی‌گراد و به مدت ۱۰ دقیقه سانتیفریوژ 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 به مدت یک ساعت در حمام آب گرم با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و بعد از سرد شدن، به هر یک از لوله‌ها مقدار چهار میلی‌لیتر تولوئن اضافه شد. برای مخلوط کردن این دو محلول، به مدت 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 طول موج ۵۲۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. از تولوئن به عنوان 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 خشک شدن 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) به مدت ۴ ساعت در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت تا اینکه به‌طور کلی مواد آلی آن سوخته و به خاکستر تبدیل شد. بعد از خنک شدن کروزه‌ها، مقدار ۱۰ میلی‌لیتر کلریدریک اسید ۲ نرمال به آنها اضافه شد. سپس با حرارت دادن 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 آب مقطر 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 خشک شدن در آون

به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد نمونه‌ها توزین شدند.

محاسبات آماری: پس از ثبت داده‌ها، تجزیه واریانس داده‌ها به صورت 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 فتوستتوز و هدایت روزنه‌ای در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). شوری میزان فتوستتوز 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 فتوستتوز به ترتیب ۳۴، ۲۶، ۲۹، ۲۷ و ۲۷ درصد و برای هدایت روزنه‌ای ۳۰، ۳۱، ۲۶، ۳۳ و ۴۰ 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.

به نظر می‌رسد تنش شوری از طریق کاهش پتانسیل آب در گیاه موجب القای بسته و محدود شدن انتشار روزنه‌ای شده و این محدودیت هدایت روزنه‌ای و فتوستتوز را کاهش داده است (Munns and Tester, 2008).

محلول‌پاشی آسکوربیک اسید در هر دو شرایط غیرشور و شور میزان فتوستتوز و هدایت روزنه‌ای را افزایش داد (جدول ۳). در اثر کاربرد سطوح ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر آسکوربیک اسید در مقایسه با تیمار عدم محلول‌پاشی، در شرایط غیرشور میزان فتوستتوز به ترتیب ۱۳، ۳۲، ۳۸ و ۲۳ درصد و هدایت روزنه‌ای ۱۰، ۲۷، ۱۵ و ۱۲ درصد افزایش یافت. این مقادیر افزایشی در شرایط شور برای فتوستتوز ۲۶، ۴۰، ۴۸ و ۳۴ درصد و برای هدایت روزنه‌ای ۸، ۱۴، ۱۰ و ۴ درصد بود. بر این اساس، در شرایط غیرشور و شور بیشترین

میزان افزایش فتوستتوز در اثر کاربرد غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار و بیشترین میزان افزایش هدایت روزنه‌ای با کاربرد غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار آسکوربیک اسید به دست آمد. در محیط‌های شور کاهش پتانسیل آب در گیاه و آسیب به ساختار کلروپلاست سبب کاهش فعالیت‌های فتوشیمیایی و ظرفیت فتوستتوزی 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). به علاوه Athar و همکاران (۲۰۰۹) بیان داشتند که تغییرات فتوستتوزی 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 فتوستتوزی را از تنش اکسیداتیو حاصل از تنش شوری محافظت می‌نماید (Akhtar et al., 2009). Hamada و Al-Hakimi (۲۰۰۹) نشان دادند که کاربرد خارجی آسکوربیک اسید به طور مؤثر اثرات بازدارندگی شوری بر فتوستتوز و بیوستتوز رنگیزه‌ها را تعدیل می‌کند. بیشترین مقادیر فتوستتوز (۲۱/۳ میکرومول بر متر مربع در ثانیه) و هدایت روزنه‌ای (۱۳۳ مول بر متر مربع در ثانیه) به ترتیب در تیمارهای محلول‌پاشی ۱۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر آسکوربیک اسید در شرایط غیرشور و کمترین آنها (۱۰/۲ و ۷۰/۴ میکرومول) به ترتیب در تیمارهای عدم محلول‌پاشی و محلول‌پاشی ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر آسکوربیک اسید در محیط شور به دست 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 ۴). این میزان

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

میانگین مربعات					درجه آزادی	منابع تغییرات
کارتونوئید	کلروفیل کل	کلروفیل b	کلروفیل a	هدایت روزنه‌ای		
۰/۱۷۸ **	۴/۴۵ **	۰/۶۸۷ **	۱/۶۴ **	۱۷۱۶۱ **	۲۹۰ **	۱ تیمار شوری
۰/۰۰۸ **	۰/۲۷۲ **	۰/۰۱۰ **	۰/۱۷۸ **	۴۱۰ **	۳۴/۹ **	۴ آسکوربیک اسید
۰/۰۰۰۶ **	۰/۰۲۵ *	۰/۰۰۰۵ **	۰/۰۱۸ *	۱۲۴ **	۰/۹۵۷ *	۴ شوری × آسکوربیک اسید
۰/۰۰۰۰۲	۰/۰۰۳۳	۰/۰۰۰۰۳	۰/۰۰۰۳	۱۰/۱	۰/۱۷۲	۳۰ خطا
۸/۶۲	۱۱/۸	۷/۷۲	۷/۵۱	۳/۲۴	۵/۹۹	ضریب تغییرات (%)

** و * به ترتیب نشان‌دهنده معنی‌دار بودن 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 (میلی مولار)	غلظت آسکوربیک اسید (میلی گرم در لیتر)	فتوسنتز (میکرومول بر متر مربع در ثانیه)	هدایت روزنه‌ای (مول بر متر مربع در ثانیه)
۰	صفر	۱۵/۴ ^e	۱۰۵ ^d
۱۰۰	۱۰۰	۱۰/۲ ^h	۷۳/۲ ^f
۰	۵۰	۱۷/۴ ^d	۱۱۵ ^c
۱۰۰	۵۰	۱۲/۹ ^g	۷۹/۴ ^e
۰	۱۰۰	۲۰/۳ ^b	۱۳۳ ^a
۱۰۰	۱۰۰	۱۴/۳ ^f	۸۳/۱ ^e
۰	۱۵۰	۲۱/۳ ^a	۱۲۰ ^b
۱۰۰	۱۵۰	۱۵/۱ ^e	۸۰/۴ ^e
۰	۲۰۰	۱۸/۹ ^c	۱۱۸ ^{bc}
۱۰۰	۲۰۰	۱۳/۷ ^f	۷۰/۴ ^f

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

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 زئانترنترین 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

کاهش در غلظت‌های صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی مولار آسکوربیک اسید برای کلروفیل a، به ترتیب ۴۴، ۲۳، ۲۵، ۲۷ و ۲۴ درصد، کلروفیل b به ترتیب ۶۲، ۵۰، ۴۸، ۴۷ و ۴۹ درصد، کلروفیل کل ۴۹، ۳۱، ۳۱، ۳۱ و ۳۲ درصد و کاروتنوئید ۴۸، 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 به دلیل غیرفعال شدن آنزیم مسئول سنتز آنها و یا افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز و همچنین اختلال در جذب برخی عناصر ضروری

جدول ۴- مقایسه میانگین اثرات برهمکنش شوری و آسکوربیک اسید بر غلظت کلروفیل و کارتنوئید

کارتنوئید	کلروفیل کل	کلروفیل b	کلروفیل a	غلظت آسکوربیک اسید (میلی گرم در لیتر)	سطوح شوری (میلی مولار)
۰/۳۳۷ ^d	۱/۷۴ ^d	۰/۴۶۹ ^d	۱/۲۷ ^d	۰	۰
۰/۱۷۵ ⁱ	۰/۸۹۲ ^g	۰/۱۷۷ ^h	۰/۷۱۵ ^g	۰	۱۰۰
۰/۳۷۰ ^c	۱/۸۹ ^c	۰/۵۰۶ ^c	۱/۳۸ ^c	۵۰	۰
۰/۲۳۹ ^h	۱/۳۱ ^f	۰/۲۵۰ ^g	۱/۰۶ ^f	۱۰۰	۱۰۰
۰/۳۸۸ ^b	۲/۰۱ ^b	۰/۵۲۱ ^b	۱/۴۹ ^b	۱۰۰	۰
۰/۲۵۲ ^g	۱/۳۹ ^{ef}	۰/۲۶۸ ^f	۱/۱۲ ^{ef}	۱۵۰	۱۰۰
۰/۴۰۰ ^a	۲/۱۶ ^a	۰/۵۴۸ ^a	۱/۶۱ ^a	۱۵۰	۰
۰/۲۷۹ ^e	۱/۴۷ ^e	۰/۲۹۱ ^e	۱/۱۸ ^e	۲۰۰	۱۰۰
۰/۳۷۷ ^c	۱/۹۵ ^{bc}	۰/۵۰۹ ^c	۱/۴۴ ^{bc}	۲۰۰	۰
۰/۲۶۰ ^f	۱/۳۴ ^f	۰/۲۵۷ ^g	۱/۰۹ ^f	۲۰۰	۱۰۰

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

مقادیر افزایشی برای محتوای کلروفیل a به ترتیب ۴۸، ۵۶، ۶۵ و ۵۲ درصد، کلروفیل b به ترتیب ۴۱، ۵۱، ۶۴ و ۴۵ درصد، کلروفیل کل به ترتیب ۴۷، ۵۶، ۶۵ و ۵۰ درصد و کارتنوئید به ترتیب ۳۶، ۴۴، ۶۰ و ۴۸ درصد بود. آسکوربیک اسید نقش مؤثری در بازسازی مجدد کارتنوئیدهای 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 بازسازی 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

واکنش دهند (Stahli and Sies, 2003). به‌علاوه، کارتنوئیدها از طریق مکانیسم چرخه گرانتوفیل باعث مصرف اکسیژن و حفاظت از کلروفیل در مقابل فتواکسیداسیون می‌شوند (علیزاده بناب و همکاران، ۱۳۸۶). در واقع مهم‌ترین نقش کارتنوئیدها 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 کارتنوئیدها در ژنوتیپ‌های متحمل به شوری سورگوم ممکن است مربوط به تغییر در سنتز کارتنوئیدها 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 کارتنوئید را افزایش داد (جدول ۴). در اثر کاربرد سطوح ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر آسکوربیک اسید در مقایسه با تیمار عدم‌محلول‌پاشی، در شرایط غیرشور میزان محتوای کلروفیل a به ترتیب ۸، ۱۷، ۲۷ و ۱۳ درصد، کلروفیل b به ترتیب ۸، ۱۱، ۱۷ و ۸ درصد، کلروفیل کل به ترتیب ۸، ۱۵، ۲۴ و ۱۲ درصد و کارتنوئید به ترتیب ۹، ۱۵، ۱۹ و ۱۲ درصد افزایش و در شرایط شور این

شور فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را افزایش داد (جدول ۶). در اثر کاربرد سطوح ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر آسکوربیک اسید در مقایسه با تیمار عدم‌محللول‌پاشی، در شرایط غیرشور فعالیت کاتالاز به ترتیب ۴، ۸، ۹ و ۱۳ درصد، آسکوربات پراکسیداز ۱۸، ۳۸، ۵۱ و ۳۳ درصد و سوپراکسید دیسموتاز ۲۱، ۴۶، ۵۳ و ۴۲ درصد افزایش یافت. این مقادیر افزایشی در شرایط شور برای کاتالاز به ترتیب ۲۶، ۹۶، ۵۳ و ۰/۳ درصد، آسکوربات پراکسیداز ۸۱، ۱۲۶، ۱۵۴ و ۹۹ درصد و سوپراکسید دیسموتاز ۶۵، ۱۱۴، ۱۴۱ و ۹۹ درصد بود. بر این اساس، بیشترین میزان افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز در شرایط غیرشور به ترتیب در اثر کاربرد غلظت ۲۰۰، ۱۵۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر آسکوربیک اسید و در شرایط شور در اثر کاربرد غلظت‌های ۱۰۰، ۱۵۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر آسکوربیک اسید به دست 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 محللول‌پاشی 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 (به ترتیب ۱/۶۴، ۹/۵۷ و ۸/۲۵ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) در تیمار محللول‌پاشی ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر آسکوربیک اسید در شرایط شور و کمترین میزان فعالیت آنها (۰/۳۴۹، ۱/۸۶ و ۱/۶۶ واحد) در تیمار عدم‌محللول‌پاشی در محیط غیرشور به دست آمد (جدول ۶). به نظر می‌رسد که افزایش سطح فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در اثر کاربرد خارجی آسکوربیک اسید در راستای افزایش مقاومت گیاهان نسبت به

حاصل از تنش شوری می‌شود (Gul et al., 2015). بیشترین غلظت کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید (به ترتیب ۱/۶۱، ۰/۵۴۸، ۲/۱۶ و ۰/۴۰۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) در تیمار محللول‌پاشی ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر آسکوربیک اسید در شرایط غیرشور و کمترین غلظت آنها (۰/۷۱۵، ۰/۱۷۷، ۰/۸۹۲ و ۰/۱۷۵ میلی‌گرم) در تیمار عدم‌محللول‌پاشی در محیط شور به دست آمد (جدول ۴).

فعالیت ویژه آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی: برهمکنش شوری

و محللول‌پاشی آسکوربیک اسید بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۵). شوری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را در کلیه سطوح محللول‌پاشی آسکوربیک اسید افزایش داد (جدول ۶). این میزان افزایش در غلظت‌های کاربردی صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر آسکوربیک اسید برای کاتالاز به ترتیب ۱۰۴، ۱۸۶، ۱۹۸، ۲۱۰ و ۱۸۲ درصد، آسکوربات پراکسیداز ۱۰۲، ۲۱۰، ۲۳۲، ۲۴۰ و ۲۰۶ درصد، سوپراکسید دیسموتاز ۱۰۶، 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). محللول‌پاشی آسکوربیک اسید در هر دو شرایط غیرشور و

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

میانگین مربعات							درجه آزادی	منابع تغییرات
پتاسیم / سدیم	پتاسیم	سدیم	پرولین	سوپراکسید دیسموتاز	آسکوربات پراکسیداز	کاتالاز		
۱۱۲۷۰ **	۱۳۲ **	۱/۸۰ **	۲۱۱۷ **	۱۶۸ **	۲۳۷ **	۶/۸۳ **	۱	تیمار شوری
۲۰۵ **	۴/۹۶ **	۰/۰۷۱ **	۲۴۱ **	۹/۸۹ **	۱۳/۲ **	۰/۳۷۹ **	۴	آسکوربیک اسید
۳۱/۲ **	۰/۲۳۴ **	۰/۰۵۰ **	۳۱/۷ **	۴/۵۱ **	۶/۸۴ **	۰/۱۶۸ **	۴	شوری × آسکوربیک اسید
۰/۱۳۰	۰/۰۰۷	۰/۰۰۰۰۶	۲/۴۹	۰/۰۱۴	۰/۰۱۳	۰/۰۰۲	۳۰	خطا
۶/۰۱	۱۰/۸	۸/۵۲	۶/۵۸	۱۰/۳	۱۰/۵۳	۷/۴۱		ضریب تغییرات (%)

** نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح احتمال ۱ درصد است.

جدول ۶- مقایسه میانگین اثرات برهمکنش شوری و آسکوربیک اسید بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و پرولین

پرولین	سوپراکسید دیسموتاز	آسکوربات پراکسیداز	کاتالاز	غلظت آسکوربیک اسید (میلی‌گرم در لیتر)	سطوح شوری (میلی‌مولار)
۱۲/۰ ^f	۱/۶۶ ⁱ	۱/۸۶ ⁱ	۰/۳۴۹ ^g	صفر	۰
۲۱/۱ ^d	۳/۴۲ ^e	۳/۷۷ ^e	۰/۷۱۱ ^e	۵۰	۱۰۰
۱۴/۱ ^f	۲/۰۲ ^h	۲/۲۰ ^h	۰/۴۰۹ ^g	۱۰۰	۰
۲۶/۰ ^c	۵/۶۶ ^d	۶/۸۳ ^d	۱/۱۷ ^d	۱۵۰	۱۰۰
۱۸/۴ ^e	۲/۴۳ ^{fg}	۲/۵۷ ^g	۰/۵۰۰ ^f	۲۰۰	۰
۳۴/۲ ^b	۷/۳۵ ^b	۸/۵۴ ^b	۱/۴۹ ^b		۱۰۰
۲۰/۳ ^{de}	۲/۵۵ ^f	۲/۸۱ ^f	۰/۵۲۹ ^f		۰
۳۹/۰ ^a	۸/۲۵ ^a	۹/۵۷ ^a	۱/۶۴ ^a		۱۰۰
۱۹/۲ ^{de}	۲/۳۶ ^g	۲/۴۷ ^g	۰/۴۸۹ ^f		۰
۳۶/۱ ^b	۶/۸۳ ^c	۷/۵۶ ^c	۱/۳۸ ^c		۱۰۰

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

دارند. این گزارشات کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی را مرتبط با کاهش اثرات منفی تنش شوری بر فعالیت‌های متابولیکی گیاه به‌واسطه کاربرد آسکوربیک اسید دانسته که در نتیجه آن تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و فعال شدن 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

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

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). به نظر 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 ۶). در غلظت‌های کاربردی صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر آسکوربیک اسید میزان افزایش غلظت سدیم به‌ترتیب ۲۴۶، ۲۵۲، ۱۸۰، ۱۲۰ و ۱۴۱ درصد و میزان کاهش غلظت پتاسیم ۴۰، ۳۸، ۳۴، ۳۷ و ۳۹ درصد و همچنین میزان کاهش نسبت پتاسیم به سدیم ۸۳، ۸۲، ۷۶، 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

سطوح محلول‌پاشی آسکوربیک اسید افزایش داد (جدول ۶). این میزان افزایش در غلظت‌های کاربردی صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر آسکوربیک اسید به‌ترتیب ۷۶، ۸۴، ۸۸ و ۹۲ 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 پیروولین 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 ۶). در اثر کاربرد سطوح ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر آسکوربیک اسید در مقایسه با تیمار عدم‌محلول‌پاشی، غلظت پرولین در شرایط غیرشور به‌ترتیب ۱۷، ۵۳، ۶۹ و ۶۰ درصد و در شرایط شور ۲۳، ۶۲، 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 محلول‌پاشی ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر آسکوربیک اسید در شرایط شور و کمترین آن (۱۲ نانومول) در تیمار عدم محلول‌پاشی در محیط غیرشور به‌دست آمد (جدول ۶). افزایش غلظت پرولین در اثر محلول‌پاشی آسکوربیک اسید ممکن است مربوط به تأثیر آسکوربیک اسید بر فعالیت آنزیم‌های سنتزکننده پرولین از جمله پیروولین کربوکسیلیک اسید و

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

سپتاسیم / سدیم	پتاسیم اندام هوایی	سدیم اندام هوایی	غلظت آسکوربیک اسید (میلی گرم در لیتر)	سطوح شوری (میلی مولار)
۳۲/۲ ^e	۸/۱۵ ^e	۰/۲۵۳ ^f	صفر	۰
۵/۶۰ ^j	۴/۹۰ ^j	۰/۸۷۵ ^a	۵۰	۱۰۰
۴۳/۱ ^d	۹/۵۰ ^d	۰/۲۲۰ ^g	۱۰۰	۰
۷/۵۳ ⁱ	۵/۸۴ ⁱ	۰/۷۷۵ ^b	۱۵۰	۱۰۰
۴۵/۰ ^c	۹/۷۲ ^c	۰/۲۱۶ ^g	۲۰۰	۰
۱۰/۶ ^h	۶/۳۹ ^g	۰/۶۰۴ ^c	۲۰۰	۱۰۰
۴۹/۹ ^a	۱۰/۵ ^a	۰/۲۱۱ ^g	۲۰۰	۰
۱۴/۲ ^f	۶/۶۱ ^f	۰/۴۶۴ ^e	۲۰۰	۱۰۰
۴۷/۵ ^b	۱۰/۲ ^b	۰/۲۱۵ ^g	۲۰۰	۰
۱۱/۹ ^g	۶/۲۲ ^h	۰/۵۱۹ ^d	۲۰۰	۱۰۰

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

نسبت پتاسیم به سدیم (۴۹/۹) در تیمار محلول‌پاشی ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر آسکوربیک اسید در شرایط غیرشور و بیشترین غلظت سدیم (۰/۸۷۵ میلی‌گرم) و کمترین میزان غلظت پتاسیم (۴/۹۰ میلی‌گرم) و نسبت پتاسیم به سدیم (۵/۶۰) در تیمار عدم محلول‌پاشی 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

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 عدم محلول‌پاشی، در شرایط غیرشور غلظت پتاسیم به‌ترتیب ۱۶، ۱۹، ۲۹ و ۲۵ درصد و نسبت پتاسیم به سدیم ۳۴، ۴۰، ۵۵ و ۴۷ 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 ۳۴، ۳۹، ۴۳ و ۱۱۲ درصد و مقادیر کاهش برای غلظت سدیم ۱۱، ۳۱، ۴۷ و ۴۱ درصد بود. بر این اساس، در هر دو شرایط غیرشور و شور بیشترین میزان کاهش غلظت سدیم و بیشترین میزان 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

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
تیمار شوری	۱	۰/۰۱۲ ^{ns}	۱۵۵۶ ^{**}
آسکوربیک اسید	۴	۰/۰۰۷ ^{ns}	۱۷۵ ^{**}
شوری × آسکوربیک اسید	۴	۰/۰۰۲ ^{ns}	۵/۶۷ [*]
خطا	۳۰	۰/۰۰۰۸	۱/۸۵
ضریب تغییرات (/)		۳/۴۴	۸/۳۱
			۹/۴۸

** و * به ترتیب نشان‌دهنده معنی‌دار بودن 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 (میلی مولار)	غلظت آسکوربیک اسید (میلی گرم در لیتر)	وزن خشک اندام هوایی	وزن خشک ریشه
۰	۰	۵۱/۳ ^d	۴۱/۸ ^e
۱۰۰	۰	۳۷/۴ ⁱ	۲۹/۱ ⁱ
۰	۵۰	۵۶/۴ ^c	۴۵/۸ ^d
۱۰۰	۵۰	۴۲/۳ ^h	۳۳/۴ ^h
۰	۱۰۰	۶۰/۹ ^a	۵۴/۴ ^a
۱۰۰	۱۰۰	۴۸/۴ ^e	۴۱/۰ ^e
۰	۱۵۰	۵۸/۳ ^b	۵۰/۶ ^b
۱۰۰	۱۵۰	۴۶/۲ ^g	۳۶/۷ ^g
۰	۲۰۰	۶۰/۴ ^a	۴۸/۶ ^c
۱۰۰	۲۰۰	۴۷/۷ ^f	۳۸/۹ ^f

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

لیتر آسکوربیک اسید برای وزن خشک اندام هوایی به ترتیب ۲۷، ۲۵، ۲۱، ۲۰ درصد و برای وزن خشک ریشه ۳۰، ۲۷، ۲۴، 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 از جمله علل کاهش رشد گیاهان در محیط‌های شور است (Parida and Das, 2005).

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

محیط شور و بدون محلول پاشی آسکوربیک اسید به دست 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 میلی گرم در لیتر آسکوربیک اسید بهترین غلظت برای بهبود رشد گیاهان سورگوم بود. بر خلاف نتایج به دست 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 می تواند در نگهداری یون های سمی در این اندام و همچنین کنترل انتقال این یونها به اندام هوایی مؤثر باشد (Cassaniti et al., 2009; al., 2012). 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 برهم خوردن تعادل عناصر غذایی است. به علاوه، اثرات منفی بیشتر شوری بر ریشه می تواند به علت تماس مستقیم ریشه با نمک نیز باشد (Neelambari et al., 2018).

نتیجه گیری

در این آزمایش شوری از طریق کاهش غلظت کلروفیل a و b، کاروتنوئید و نسبت پتاسیم به سدیم و هدایت روزنه ای سبب کاهش فتوسنتز و به دنبال آن موجب کاهش میزان بیوماس تولیدی سورگوم گردید. با این حال، محلول پاشی آسکوربیک اسید از طریق القای یک پاسخ پیش سازگاری به شوری از جمله بهبود محتوای کلروفیل و کاروتنوئید و هدایت روزنه ای، همچنین با افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی و غلظت پرولین سبب حفظ ظرفیت فتوسنتزی و افزایش تحمل به شوری سورگوم گردید. نتایج این آزمایش نشان داد که غلظت ۱۰۰ میلی گرم در لیتر آسکوربیک اسید در هر دو شرایط غیرشور و شور مؤثرترین غلظت آسکوربیک اسید در جهت بهبود رشد گیاهان سورگوم بود.

محلول پاشی 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 و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر آسکوربیک اسید در مقایسه با تیمار عدم محلول پاشی، در شرایط غیرشور وزن خشک اندام هوایی به ترتیب 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 خشک ریشه ۱۵، ۴۱، ۲۶ و ۳۳ درصد افزایش یافت. به نظر می رسد کاربرد آسکوربیک اسید نه تنها 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.) (Batoool et al., 2012). در رابطه با تأثیر مثبت کاربرد آسکوربیک اسید بر رشد گیاهان مطابقت دارد. بررسی های متعددی نشان داده است که آسکوربیک اسید از طریق کاهش و بازسازی آسیب های گونه های فعال اکسیژن باعث توسعه و افزایش فرآیندهای دفاعی سلولی در مقابل تنش اکسیداتیو القاشده حاصل از شوری شده و موجب بهبود رشد گیاهان می گردد (Hemida et al., 2014). همچنین به نظر می رسد که اثرات مثبت کاربرد خارجی آسکوربیک اسید بر نرخ فتوسنتزی، ساختار کلروپلاست و انتقال الکترون فتوسنتزی موجب کاهش آسیب های اکسیداتیو ناشی از تنش شوری به گیاه می شود (Kumar et al., 1988; Hamada, 2000). در آزمایش حاضر به نظر می رسد محلول پاشی آسکوربیک اسید با افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی 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 (به ترتیب ۶۰/۹ و ۵۴/۴ گرم در بوته) در تیمار محلول پاشی ۱۰۰ میلی گرم در لیتر آسکوربیک اسید در شرایط غیرشور و کمترین آنها (۳۷/۴ و ۲۹/۱ گرم در بوته) در

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 بذر ۳: 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 ۶۶: 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 ۴: ۴۸۲-۴۶۷.
- حق‌نیا، غ. (۱۳۶۸) راهنمای تحمل گیاهان نسبت به شوری. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد.
- دیانت مهارلوئی، ز.، مقصودی، ک.، دیانت مهارلوئی، 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: ۵۷-۶۵.
- رنجبر، غ. و ولی سلطانی، گ. (۱۳۹۶) مقایسه عملکرد و غلظت عناصر برگ سورگوم و کوشیا در شوری‌های مختلف آب آبیاری و تراکم کوشیا. نشریه پژوهش آب در کشاورزی ۳۱: ۴۲-۲۹.
- سعادت، س. و همایی، م. (۱۳۹۳) نمون‌سازی واکنش سورگوم به شوری در مرحله جوانه‌زنی. نشریه پژوهش آب در کشاورزی ۲۸: ۵۱۶-۵۰۳.
- شاکری، ا.، امام، ی. و طباطبایی، س. ع. (۱۳۹۶) 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 گل‌عدانی، ک. و تقی‌زاده ص. (۱۳۸۶) 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. (۱۳۹۶) 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.، رحیم‌ملک، م.، سبزی‌علیان، 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: ۴۷-۳۳.

Aebi, H. E. (1983) Catalase. Methods of Enzymatic Analysis. 3rd 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 prenillipid 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, Amsterdam.
- 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 glycine-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 sunflower 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 ascorbic 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 aestivum* 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 activity 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 $\Delta 1$ 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