



بررسی اثر آسکوربات و جیبرلین بر صفات رنگیزه ای و سرعت واکنش هیل در گیاه دارویی بادرشبو

(*Dracocephalum moldavica* L.) در شرایط تنش شوری

علیرضا پازکی*

۱- گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد یادگار امام خمینی (ره) شهرری، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۱۰/۴ تاریخ پذیرش: ۹۷/۲/۶

چکیده

به منظور بررسی اثر مصرف آسکوربات و جیبرلین بر صفات رنگیزه ای و سرعت واکنش هیل در گیاه دارویی بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.) در سطوح مختلف تنش شوری، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در ۴ تکرار در دانشگاه آزاد اسلامی واحد یادگار امام خمینی (ره) شهرری اجرا گردید که در آن عامل شوری در ۴ سطح (۰، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی‌مولار)، محلول‌پاشی آسکوربات در دو سطح (۰ و ۴ میلی‌مولار) و جیبرلین در دو سطح (۰ و ۲ میلی‌مولار) در نظر گرفته شد. گیاهان پس از گذشت ۱۰ هفته برای انجام آزمایشات برداشت گردیدند. نتایج تحقیق نشان داد که اثرات اصلی عوامل آزمایشی بر تمامی صفات مورد آزمون معنی‌دار بود. در این شرایط شوری، رنگیزه‌های کلروفیل و سرعت واکنش هیل را کاهش و محتوی گزانتوفیل و کاروتن را افزایش داد. عدم تنش شوری و محلول‌پاشی ۴ mM آسکوربات و ۲ mM جیبرلین منجر به بیشترین افزایش معنی‌دار مقدار کلروفیل (۱۰۱/۴۱ μg/ml) a و گزانتوفیل (۷۱/۱۱) و گزانتوفیل (۱۰۱/۴۱ μg/ml) گردید.

واژه‌های کلیدی: آسکوربات، بادرشبو، جیبرلین، سرعت واکنش هیل، شوری، صفات رنگیزه‌ای

مقدمه

آویشن گیاهی معطر از خانواده نعناعیان است و به دلیل داشتن ترکیب تیمول و کارواکرول از گیاهان دارویی با ارزش و پرمصرف در صنایع دارویی و غذایی است (امیدبیگی، ۱۳۷۹). پراکنش حدود ۲۱۵ گونه آویشن در دنیا و ۱۴ گونه از آن در ایران گزارش شده است (جم زاد، ۱۳۸۹). این گیاه در بیشتر دارونامه های معتبر به عنوان یک گیاه دارویی معرفی شده است. به صورت سنتی به عنوان ضد نفخ، هضم کننده غذا، ضد اسپاسم، ضد سرفه و خلط آور در درمان سرماخوردگی استفاده می شود. قسمت های درمانی این گیاه، سرشاخه گلدار است. از مواد مؤثره موجود در گیاه آویشن داروهایی به صورت شربت، قرص مکیدنی و از عصاره های آبی، آبی-الکلی و پروپیلن گلایکولی آن نیز در تهیه شامپو، کرم و پماد استفاده می گردد. اثر ضد قارچ، ضد انگل و ضد باکتری این گیاه به اثبات رسیده است (امیدبیگی، ۱۳۷۹؛ نقدی بادی و مکی زاده تفتی، ۱۳۸۲).

انواع متفاوتی از اکسیژن ها در طی دوره تنش تولید می شود و باعث کاهش و تجزیه شیمیایی رنگیزه های فتوسنتزی می گردند. با اعمال تنش بر گیاه ریحان رقم اصلاح شده مجارستانی (دانشمندی و عزیزی، ۱۳۸۸)، گل مکزیکی (امیدبیگی و محمودی سورستانی، ۱۳۸۸) و گیاه بامیه (Baghizadeh et al, 2009)، کاهش قابل توجهی در مقدار رنگیزه های فتوسنتزی

مشاهده گردیده است که به نوبه خود عمل فتوسنتز را تحت تأثیر قرار می دهد. رنگیزه های کلروفیلی یک نقش اصلی در فتوسنتز دارند (Sairam et al, 1997). کاروتنوئیدها (β -کاروتن و گزانتوفیل) با رنگیزه ها فتوسنتزی همکاری کرده و طول موجهایی را کلروفیلها نمی تواند جذب کند، دریافت می نمایند و به فتوسیستم II که مرکز واکنش است، منتقل می کنند. همچنین کاروتنوئیدها با جذب رادیکال های اکسیژن و ایستادگی گیاه در برابر این رادیکالها حفظ می شود (Develin & Withman, 2002). به هر حال کاروتنوئیدها به وسیله چرخه گزانتوفیل اپوکسیداسیون کلروفیل را بر ضد واکنش فوتواکسیداسیون نگهداری و تنظیم می نماید (Sairam et al, 1997).

اسید آسکوربیک به عنوان یک آنتی اکسیدان مهم گیاهی می تواند با انواع مختلف اکسیژن های فعال ترکیب شود و از بسیاری از آسیب های ناشی از افزایش انواع مختلف اکسیژن های فعال می کاهد (Smirnolf & Wheeler, 2000). در حضور آسکوربات فعالیت چرخه گلوکوتاتیون - آسکوربات و در نتیجه جاروب کننده های H_2O_2 افزایش یافته و به دنبال آن با افزایش فعالیت کاتالاز با تنش اکسیداتیو مقابله می شود (Dixit et al, 2001). علاوه بر این که اسید آسکوربیک به عنوان سوبسترای آنزیم آسکوربات پراکسیداز در سم زدایی آنزیمی H_2O_2 نقش دارد، می تواند به طور مستقیم موجب بی اثر شدن آنیون سوپراکسید و اکسیژن یکتایی شده و نیز به

رنگیزه‌های فتوسنتزی با آسکوربات مهار می شود (Hamda & Hamda, 2001).

مواد و روش‌ها

به منظور به منظور بررسی اثر مصرف آسکوربات و جیبرلین بر صفات رنگیزه ای و سرعت واکنش هیل در گیاه دارویی بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.) در سطوح مختلف تنش شوری، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب کاملاً تصادفی در ۴ تکرار در دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرری و شهرستان پاکدشت اجرا گردید که در آن عامل شوری در ۴ سطح (۰، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی‌مولار)، آسکوربات در دو سطح (۰ و ۴ میلی‌مولار) و جیبرلین در دو سطح (۰ و ۲ میلی‌مولار) در نظر گرفته شد. همزمان با اعمال تنش شوری آسکوربات و جیبرلین براساس نقشه طرح به صورت اسپری به گلدان‌ها داده شد و مجدداً پس از گذشت ۷ و ۱۲ و ۱۸ روز آسکوربات و جیبرلین به گلدان‌های در حال تنش اسپری گردید. گیاهان پس از گذشت ۱۰ هفته برای انجام آزمایشات برداشت گردیدند. به منظور اجرای آزمایش خاک مورد نظر از الک ۲ میلی متر عبور داده شد و در نهایت کلیه خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک اعم از pH، EC، OM، CEC و بافت خاک و غلظت‌های عناصر غذایی (N, P, K) قبل از شروع آزمایش توسط تعیین گردید (جدول ۱).

عنوان آنتی اکسیدان ثانویه در چرخه های احیایی اشکال اکسید شده α - توکوفرول و آنتی اکسیدان‌های چربی دوست دیگر نقش داشته باشد (Shalata & Laspina *et al*, 2005), (Neumann, 2001).

بنابراین شکست اکسیداتیو رنگیزه‌های فتوسنتزی بطور قابل ملاحظه ای در این گیاهان کاهش می یابد. از سوی دیگر اسید آسکوربیک برای برخی از هیدروکسیلازها به ویژه آنزیم داپوکسیداز شرکت کننده در چرخه گزانتوفیل که در حفاظت نوری فتوسنتز دخالت دارد، به عنوان کوفاکتور آنزیم عمل می کند (Aravind & Prasad, 2005). ساخته شدن کاروتنوئید و زاگزانتین از آنتراگزانتین و ویولاگزانتین به وسیله آنزیم ویولاگزانتین داپواکسیداز در حضور آسکوربات در لومن تیلاکوئیدها از آسیب‌های بازدارندگی نوری بر فتوسیستم II نیز می کاهد (Smirnoff & Wheeler, 2000). گزارشات متعددی مبنی بر تاثیر مثبت اسید آسکوربیک بر افزایش محتوی کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها در گیاهان تحت تنش محیطی وجود دارد که از جمله می توان به گزارش (Baghizadeh *et al*, 2009) در رابطه با گیاه بامیه اشاره کرد. یکی از فاکتورهای مهم در حفاظت از ظرفیت فتوسنتز، حفظ مقدار کلروفیل در گیاهان زنده است (Jiang & Nhuag, 2001). گزارش شده است که در گندم و نخود کاهش اثرات تنش خشکی در

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمایش

بافت خاک	اسیدیته	سیلت	رس	شن	کربن	نیترژن	فسفر	سدیم	پتاسیم	هدایت
	pH	silt	Clay	San	آلی	کل		mg/kg	mg/k	الکتریکی
		%	%	d	Oc	N.tot		g		ds/m
				%	%	%				
شنی-	۷/۴	۲۳	۱۷	۶۰	۳/۸	۰/۳	۳۷	۴۱	۱۹۵	۱/۲۰
لومی										

۸ عدد با فاصله ۵ سانتی متر رسید (شکل ۱). میزان آبیاری همه گلدان‌ها از زمان کاشت بذرها تا زمان اعمال تنش شوری (هفته پنجم) یک بار در روز و بر اساس ظرفیت زراعی (۸۵۷ گرم) صورت گرفت. در هفته پنجم که گیاهان به مرحله ۴ تا ۵ برگی رسیدند، اعمال تنش بر اساس سطوح شوری ۰، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی‌مولار انجام پذیرفت. به منظور اندازه‌گیری صفات از هر گلدان ۴ بوته انتخاب شد. برای سنجش کلروفیل a و b از روش (1987) Lichtenthaler استفاده گردید. برای این منظور ۰/۲ گرم بافت تازه را از اندام هوایی جدا کرده با ۱۵ میلی‌مولار استون ۸۰٪ هموژن کرده و پس از سانتریفوز با دور ۳۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه جداسازی صورت پذیرفته و طول موج جذبی آن توسط اسپکتروفوتومتری (Carry 100) در طول موج ۶۴۶، ۶۶۳ و ۶۸۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. با استفاده از فرمول‌های زیر غلظت کلروفیل‌های a, b و کاروتنوئید برحسب میکرو گرم بر میلی لیتر محلول بدست آمد.

در زیر گلدان‌ها از زیر گلدانی استفاده گردید تا در صورت هر گونه شستشوی بر اثر آبیاری، آب جمع شده در زیر گلدانی مجدداً به گلدان برگردانده شود. کاشت گلدانی آویشن با استفاده از خاک کشاورزی سنجش شده از نظر عناصر ضروری خاک، قبل از استفاده و اصلاح آن و افزودن مواد لازم به آن انجام شد. تعداد ۶۴ گلدان با اندازه‌های ۳۵ سانتی متر قطر دهانه گلدان و ۴۰ سانتی متر ارتفاع گلدان انتخاب گردید. از کف گلدان تا ارتفاع ۴ سانتی متر شن درشت برای زه‌کشی مناسب و به میزان ۵ کیلوگرم از خاک مورد نظر پر گردید. وزن گلدان خالی (میانگین وزن ۱۰ گلدان به صورت تصادفی اندازه‌گیری شد) ۱۰۰ گرم تعیین شد. پس از آماده‌سازی خاک و گلدان‌های مناسب و پر نمودن آن‌ها، گلدان‌ها پس از کاشت در نهایت را در سه ردیف چهارتایی و در حقیقت هر تیمار با ۴ تکرار قرار داده شد. بذره‌های مورد نیاز از پژوهشکده گیاهان دارویی تهیه گردید و در هر گلدان بذرها با تعداد زیاد کشت شد تا در نهایت پس از تنک کردن، تعداد بوته‌ها در هر گلدان به

میزان آن با $28/06 \mu\text{g/ml}$ در شرایط تنش شوری ۷۵ میلی مولار حاصل گردید (جدول ۳). اثر اصلی مصرف آسکورات بر میزان کلروفیل a برگ در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۲)، به صورتی که کاربرد ۴ mM آسکورات بیشترین ($50/07 \mu\text{g/ml}$) و عدم مصرف آن کمترین ($29/53 \mu\text{g/ml}$) مقدار کلروفیل a را نشان داد (جدول ۳). اثر اصلی مصرف جیبرلین بر محتوی کلروفیل a برگ در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۲)، به صورتی که کاربرد ۲ mM جیبرلین بیشترین ($56/06 \mu\text{g/ml}$) و عدم کاربرد آن کمترین ($23/54 \mu\text{g/ml}$) میزان این صفت را ایجاد نمود (جدول ۳). بجز اثر متقابل دو گانه شوری و جیبرلین سایر اثرات متقابل بر مقدار کلروفیل a معنی دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسات میانگین سه گانه نشان داد که عدم تنش شوری و محلول پاشی ۴ mM آسکورات و ۲ mM جیبرلین منجر به دستیابی به حداکثر محتوی کلروفیل a برگ معادل $71/11 \mu\text{g/ml}$ گردید (جدول ۷). در شرایط تنش شوری استفاده از جیبرلیک اسید سبب افزایش در میزان کلروفیل و سرعت واکنش هیل در گیاه کلزا شده است (Shah, 2007). در درخت سیب استفاده از جیبرلیک اسید سبب افزایش میزان فتوسنتز در آن شده است (Shahin et al, 2010). شکست اکسیداتیو رنگیزه‌های فتوسنتزی بطور قابل ملاحظه‌ای در این گیاهان کاهش می یابد. از سوی دیگر اسید آسکوربیک برای برخی از هیدروکسیلازها به ویژه

$$\begin{aligned} \text{Chla} &= 12.25 A B_{663B} - 2.79 A B_{646B} \\ \text{Chlb} &= 21.21 A B_{646B} - 5.1 A B_{663B} \\ \text{car} &= \frac{1000A480 - 1.8\text{chla} - 85.02\text{chlb}}{198} \end{aligned}$$

به منظور اندازه گیری سرعت واکنش هیل از روش (Trebst 1982) استفاده گردید. برای این منظور یک گرم از بافت تر برگ را که به حداکثر اندازه خود رسیده بود (Fully mature) انتخاب کرده و با ۳ میلی‌لیتر بافر فسقات (pHv) هموزن گردید و با دور ۵۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس رسوبات جدا شده و به آن ۲ میلی‌لیتر بافر تریس کلرید اضافه گردید. پس از هموزن کردن ۰/۵ میلی لیتر از بافر را با ۰/۳ میلی لیتر آب مقطر مخلوط شد و تغییرات جذبی در فواصل زمانی ۱ دقیقه در طول موج ۶۰۰ نانو متر با کمک اسپکتروفوتومتر اندازه گیری کرده و میانگین تغییرات جذب به عنوان سرعت واکنش هیل بیان گردید.

برای تجزیه واریانس و مقایسه میانگین صفات از برنامه SAS استفاده گردید. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح ۵ درصد انجام پذیرفت.

نتایج و بحث

کلروفیل a

نتایج تحقیق نشان داد که از نظر مقدار کلروفیل a بین سطوح شوری تفاوت معنی‌داری در سطح یک درصد معنی‌دار مشاهده گردید (جدول ۲)، در این شرایط بیشترین میزان آن با $55/09 \mu\text{g/ml}$ در شرایط عدم تنش شوری و کمترین

ایجاد نمود (جدول ۳). نتایج مقایسات میانگین‌ها نشان داد که تنها اثرات متقابل دو گانه شوری و جیبرلین و همچنین آسکوربات و جیبرلین بر مقدار کلروفیل b معنی دار بود (جدول ۲)، در این شرایط نتایج مقایسات میانگین‌ها نشان داد که عدم تنش شوری و محلول پاشی ۲ mM جیبرلین منجر به دستیابی به حداکثر محتوی کلروفیل b برگ معادل ۴۳/۳۱ $\mu\text{g/ml}$ گردید (جدول ۵)، همچنین بالاترین میزان صفت ذکر شده (۴۱/۰۶ $\mu\text{g/ml}$) در شرایط مصرف ۴ mM آسکوربات و ۲ mM جیبرلین حاصل گردید (جدول ۶). تنظیم کننده‌های رشد گیاهی مانند جیبرلیک اسید نقش حیاتی در کاهش سمیت-های تنش و بهبود رشد گیاهان، سنتز کلروفیل و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدها می‌شود (Maggio *et al* 2010, و (Saeidi-Sar *et al*, 2007).

کلروفیل a+b

نتایج تحقیق نشان داد که از نظر میزان کلروفیل a+b بین سطوح شوری تفاوت معنی‌داری در سطح یک درصد معنی‌دار مشاهده گردید (جدول ۲). در این شرایط بیشترین میزان آن با ۸۴/۳۱ $\mu\text{g/ml}$ در شرایط عدم شوری و کمترین میزان آن با ۴۲/۰۳ $\mu\text{g/ml}$ در شرایط تنش شوری شدید ۷۵ میلی مولار حاصل گردید (جدول ۳). اثر اصلی مصرف آسکوربات بر میزان کلروفیل a+b برگ در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۲)، به صورتی که کاربرد ۲ mM جیبرلین بیشترین (۳۰/۲۱ $\mu\text{g/ml}$) و عدم کاربرد آن کمترین (۱۱/۱۲ $\mu\text{g/ml}$) میزان این صفت را

آنزیم داپوکسیداز^۱ شرکت کننده در چرخه گزانتوفیل که در حفاظت نوری فتوسنتز دخالت دارد، به عنوان کوفاکتور آنزیم عمل می‌کند (Aravind & Prasad, 2005). ساخته شدن کاروتنوئید و زآگزانتین^۲ از آنتراگزانتین^۳ و ویولاگزانتین^۴ به وسیله آنزیم ویولاگزانتین داپوکسیداز در حضور آسکوربات در لومن تیلاکوئیدها از آسیب‌های بازدارندگی نوری بر فتوسیستم II نیز می‌کاهد (Smirnoff & Wheeler, 2000).

کلروفیل b

نتایج تحقیق نشان داد که از نظر میزان کلروفیل b بین سطوح شوری تفاوت معنی‌داری در سطح یک درصد معنی‌دار مشاهده گردید (جدول ۲). بیشترین مقدار آن با ۲۹/۲۱ $\mu\text{g/ml}$ در شرایط آبیاری مطلوب و کمترین میزان آن با ۱۳/۹۷ $\mu\text{g/ml}$ در شرایط تنش شوری شدید ۷۵ میلی مولار حاصل گردید (جدول ۳). اثر اصلی مصرف آسکوربات بر مقدار کلروفیل b برگ در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۲)، به صورتی که کاربرد ۴ mM آسکوربات بیشترین (۲۷/۶۱ $\mu\text{g/ml}$) و عدم مصرف آن کمترین (۱۳/۷۱ $\mu\text{g/ml}$) میزان کلروفیل b را نشان داد (جدول ۳). اثر اصلی مصرف جیبرلین بر محتوی کلروفیل b برگ در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۲)، به صورتی که کاربرد ۲ mM جیبرلین بیشترین (۳۰/۲۱ $\mu\text{g/ml}$) و عدم کاربرد آن کمترین (۱۱/۱۲ $\mu\text{g/ml}$) میزان این صفت را

اصلی مصرف آسکوربات بر میزان کاروتن برگ در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۱)، به صورتی که عدم کاربرد آسکوربات بیشترین (۶۹/۴۱ $\mu\text{g/ml}$) و مصرف ۴ mM کمترین (۳۲/۲۲ $\mu\text{g/ml}$) محتوی کاروتن را نشان داد (جدول ۳). اثر ساده مصرف جیبرلین بر میزان کاروتن برگ در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۲)، به صورتی که کاربرد ۲ mM جیبرلین کمترین (۱۹/۸۶ $\mu\text{g/ml}$) و عدم کاربرد آن بیشترین (۸۱/۷۸ $\mu\text{g/ml}$) مقدار این صفت را ایجاد نمود (جدول ۳). نتایج تحقیق نشان داد تنها اثر متقابل دو گانه شوری و آسکوربات و جیبرلین و آسکوربات بر مقدار کاروتن معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسات میانگین‌ها نشان داد که اعمال تنش شوری ۷۵ mM و عدم کاربرد آسکوربات منجر به دستیابی به حداکثر محتوی کاروتن برگ معادل ۹۱/۶۱ $\mu\text{g/ml}$ گردید (جدول ۴)، همچنین همچنین بالاترین میزان صفت ذکر شده (۱۱۵/۷۰ $\mu\text{g/ml}$) در شرایط عدم مصرف آسکوربات و جیبرلین حاصل گردید (جدول ۵). کاروتنوئیدها (β -کاروتن و گزانتوفیل) با رنگیزه‌ها فتوسنتزی کار می‌کند که طول موج‌ها را جذب می‌کند که کلروفیل نمی‌تواند جذب کند و به فتوسیستم II که مرکز واکنش است، منتقل می‌کند. همچنین کاروتنوئیدها با جذب رادیکال‌های اکسیژن و ایستادگی گیاه در برابر این رادیکال‌ها حفظ می‌شود (Develin & Withman, 2002). به هر حال کاروتنوئیدها به وسیله چرخه گزانتوفیل

آسکوربات بیشترین (۷۷/۶۸ $\mu\text{g/ml}$) و عدم مصرف آن کمترین (۴۳/۲۴ $\mu\text{g/ml}$) میزان کلروفیل a+b را نشان داد (جدول ۳). اثر اصلی مصرف جیبرلین بر محتوی کلروفیل a+b برگ در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۲)، در این شرایط کاربرد ۲ mM جیبرلین بیشترین (۸۶/۲۶ $\mu\text{g/ml}$) و عدم کاربرد آن کمترین (۳۴/۶۶ $\mu\text{g/ml}$) مقدار این صفت را ایجاد نمود (جدول ۳). تمامی اثرات متقابل دو گانه عوامل آزمایشی بر میزان کلروفیل a+b معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسات میانگین‌های دو گانه نشان داد که عدم تنش شوری و محلول پاشی ۴ mM آسکوربات منجر به دستیابی به حداکثر مقدار کلروفیل a+b برگ معادل ۱۰۷/۲۶ $\mu\text{g/ml}$ گردید (جدول ۴)، همچنین بالاترین میزان صفت ذکر شده (۱۱۳/۳۳ $\mu\text{g/ml}$) در شرایط مصرف ۴ mM آسکوربات و ۲ mM جیبرلین حاصل گردید (جدول ۶). در شرایط تنش شوری استفاده از جیبرلیک اسید سبب افزایش در میزان مجموع کلروفیل و سرعت واکنش هیل در گیاه کلزا شده است (Shah, 2007).

کاروتن

نتایج تحقیق نشان داد که از نظر محتوی کاروتن بین سطوح شوری تفاوت معنی‌داری در سطح یک درصد معنی‌دار مشاهده گردید (جدول ۲)، در این شرایط بیشترین میزان آن با $\mu\text{g/ml}$ ۷۳/۷۴ در شرایط عدم شوری و کمترین مقدار آن با $\mu\text{g/ml}$ ۳۱/۹۰ متر در شرایط تنش شوری شدید ۷۵ mM حاصل گردید (جدول ۳). اثر

۷۵ mM و کمترین مقدار آن با $20/18 \mu\text{g/ml}$ در شرایط عدم شوری حاصل گردید (جدول ۳). اثر اصلی مصرف آسکوربات بر میزان گزانتوفیل برگ در سطح یک درصد معنی دار گردید (جدول ۲)، به صورتی که عدم کاربرد آسکوربات بیشترین ($50/19 \mu\text{g/ml}$) و مصرف 4 mM آن کمترین ($31/52 \mu\text{g/ml}$) محتوی گزانتوفیل را نشان داد (جدول ۳). اثر اصلی مصرف جیبرلین بر میزان گزانتوفیل برگ در سطح یک درصد معنی دار گردید (جدول ۲)، به صورتی که کاربرد 2 mM جیبرلین کمترین ($29/08 \mu\text{g/ml}$) و عدم کاربرد آن بیشترین ($52/63 \mu\text{g/ml}$) مقدار این صفت را ایجاد نمود (جدول ۳). نتایج تحقیق نشان داد تمامی اثرات متقابل دو و سه گانه عوامل آزمایشی بر میزان گزانتوفیل معنی دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسات میانگین سه گانه نشان داد که تنش شوری 75 mM و عدم محلول پاشی آسکوربات و جیبرلین منجر به دستیابی به کمترین مقدار گزانتوفیل برگ معادل $\mu\text{g/ml}$ $101/41$ گردید (جدول ۷).

کاروتنوئیدها (β -کاروتن و گزانتوفیل) با رنگیزه-ها فتوسنتزی کار می کند که طول موجها را جذب می کند که کلروفیل نمی تواند جذب کند و به فتوسیستم II که مرکز واکنش است، منتقل می کند. همچنین کاروتنوئیدها با جذب رادیکالهای اکسیژن و ایستادگی گیاه در برابر این رادیکالها حفظ می شود (Develin &

Withman

اپوکسیداسیون کلروفیل را بر ضد واکنش فوتواکسیداسیون حفظ می کند (Sairam *et al*, 1997). تنش خشکی همچنین سبب کاهش کاروتنوئیدها در گیاه بامیه شده است. یکی از دلایل کاهش کربوهیدراتها در برگهای گیاه این است که تحت تنش خشکی و در نتیجه تاثیرات این تنش در غشای تیلاکوئیدها، مقدار رنگیزههای فتوسنتزی و مقدار فتوسنتز کاهش می یابد (Baghizadeh *et al*, 2009). ساخته شدن کاروتنوئید و زاگزانتین از آنتراگزانتین ویولاگزانتین به وسیله آنزیم ویولاگزانتین داپواکسیداز در حضور آسکوربات در لومن تیلاکوئیدها از آسیبهای بازدارندگی نوری بر فتوسیستم II نیز می کاهد (Smirnoff & Wheeler, 2000). گزارشات متعددی مبنی بر تاثیر مثبت اسید آسکوربیک بر افزایش محتوی کلروفیلها و کاروتنوئیدها در گیاهان تحت تنش محیطی وجود دارد که از جمله می توان به گزارش (Baghizadeh *et al*, 2009) در رابطه با گیاه بامیه اشاره کرد. یکی از فاکتورهای مهم در حفاظت از ظرفیت فتوسنتز، حفظ مقدار کلروفیل در گیاهان زنده است (Jiang & Nhuag, 2001).

گزانتوفیل

نتایج تحقیق نشان داد که از نظر میزان گزانتوفیل بین سطوح شوری تفاوت معنی داری در سطح یک درصد معنی دار مشاهده گردید (جدول ۲)، در این شرایط، بیشترین میزان آن با $76/67 \mu\text{g/ml}$ در وضعیت تنش شوری شدید

مصرف آن کمترین ($0/08\% \text{OD}/\text{min}$) مقدار سرعت واکنش هیل را نشان داد (جدول ۳). اثر اصلی مصرف جیبرلین بر سرعت واکنش هیل در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۲)، به‌صورتی که کاربرد 2 mM جیبرلین بیشترین ($0/13\% \text{OD}/\text{min}$) و عدم کاربرد آن کمترین ($0/098\% \text{OD}/\text{min}$) میزان این صفت را ایجاد نمود (جدول ۳). هیچیک از اثرات متقابل دو و سه گانه عوامل آزمایشی بر سرعت واکنش هیل معنی‌دار نبود (جدول ۱). در شرایط تنش شوری استفاده از جیبرلیک اسید سبب افزایش در میزان کلروفیل و سرعت واکنش هیل در گیاه کلزا شده است (Shah, 2007).

سرعت واکنش هیل

نتایج تحقیق نشان داد که از نظر میزان سرعت واکنش هیل بین سطوح شوری تفاوت معنی‌داری در سطح یک درصد معنی‌دار مشاهده گردید (جدول ۲)، در این شرایط، بیشترین مقدار آن با $0/15\% \text{OD}/\text{min}$ در شرایط عدم تنش و کمترین میزان آن با $0/08\% \text{OD}/\text{min}$ در شرایط تنش شوی شدید 75 mM حاصل گردید (جدول ۳). اثر اصلی مصرف آسکورات بر سرعت واکنش هیل برگ در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۲)، به‌صورتی که کاربرد 4 mM آسکورات بیشترین ($0/13\% \text{OD}/\text{min}$) و عدم

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر عوامل آزمایشی بر صفات مورد آزمون

سرعت واکنش هیپل	کاروتنوئید	گرانتوفیل	کلروفیل a+b	کلروفیل b	کلروفیل a	درجه آزادی	منبع تغییرات
۰/۰۱۷**	۵۵۶۱/۸۱**	۱۰۱۴۵/۵۱**	۵۱۶۶/۴۶**	۲۰۶۵/۵۰**	۷۱۱/۹۱**	۳	شوری
۰/۰۴۳**	۲۲۱۳۲/۴۹**	۵۵۷۹/۶۳**	۱۸۹۲۰/۷۸**	۶۷۴۵/۰۳**	۳۰۹۲/۰۶**	۱	آسکوربات
۰/۰۳	۶۱۳۳۸/۲۶**	۸۸۶۸/۳۴**	۴۲۶۰۴/۸۳**	۱۶۹۱۲/۱۹**	۵۸۳۱/۲۳**	۱	جیبرلین
۰/۰۰۰۵ ^{ns}	۳۸/۸۹ ^{ns}	۵۱۹/۵۱**	۳۷۸/۰۲*	۲۹۰/۹۵*	۳۷/۴۹ ^{ns}	۳	شوری×جیبرلین
۰/۰۰۰۳ ^{ns}	۱۷۳۴/۳۸**	۷۶۰/۸۹**	۵۴۴/۸۱**	۹۹/۷۴ ^{ns}	۱۸۸/۰۲**	۳	شوری×آسکوربات
۰/۰۰۰۱ ^{ns}	۱۵۰۳۴/۵۹**	۲۱۷/۱۰*	۶۲۰۸/۹۵**	۲۲۵۹/۱۷**	۹۷۷/۳۴**	۱	جیبرلین×آسکوربات
۰/۰۰۰۴ ^{ns}	۶۶/۱۶ ^{ns}	۶۶۷/۵۱**	۲۳۳/۰۱ ^{ns}	۱۰۶/۴۴ ^{ns}	۷۹/۳۷*	۳	شوری×جیبرلین×آسکوربات
۰/۰۰۰۴	۴۸/۸۵	۴۲/۶۲	۱۲/۰۷	۷۵/۷۷	۲۶/۲۵	۴۸	خطا
۱۹/۰۷	۱۳/۷۵	۱۵/۹۸	۱۷/۵۱	۲۱/۸۷	۲۴/۸		ضریب تغییرات (درصد)

**، * و ^{ns} به ترتیب بیانگر عدم وجود اختلاف معنی دار بر اساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد می باشد.

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر اصلی شوری، آسکوربیک اسید و جیبرلین بر صفات مورد آزمون

سرعت واکنش هیل %/od/min	کاروتنوئید (µg/mL)	گزامتوفیل (µg/mL)	a+b کلروفیل (µg/mL)	b کلروفیل (µg/mL)	a کلروفیل (µg/mL)	عامل
۰/۱۵a	۳۱/۹۰d	۲۰/۱۸d	۸۴/۳۱a	۲۹/۳۱a	۵۵/۰۹a	شوری ۰ mM (S0)
۰/۱۲b	۴۰/۱۰c	۲۷/۱۰c	۶۲/۵۳b	۲۲/۳۶b	۴۰/۱۷b	۲۵ mM (S1)
۰/۰۸c	۵۷/۵۳b	۳۹/۴۶b	۵۲/۹۸c	۱۷/۱۱c	۳۵/۸۸b	۵۰ mM (S2)
۰/۰۸c	۷۳/۷۴a	۷۶/۶۷a	۴۲/۰۳d	۱۳/۹۷c	۲۸/۰۶c	۷۵ mM (S3)
۰/۰۸b	۶۹/۴۱a	۵۰/۱۹a	۴۳/۲۴b	۱۳/۷۱b	۲۹/۵۳b	آسکوربیک اسید ۰ mM (AS0)
۰/۱۲a	۳۲/۲۲b	۳۱/۵۲b	۷۷/۶۸a	۲۷/۶۱a	۵۰/۰۷a	۴ mM (AS1)
۰/۰۹b	۸۱/۷۸a	۵۲/۶۳a	۳۴/۶۶b	۱۱/۱۲b	۲۳/۵۴b	جیبرلین ۰ mM (GA0)
۰/۱۲a	۱۹/۸۴b	۲۹/۰۸b	۸۲/۲۶a	۳۰/۲۱a	۵۶/۰۶a	۲ mM (GA1)

حروف مشابه در هر ستون و برای هر عامل بیانگر عدم وجود اختلاف معنی دار بر اساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد می باشد.

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل شوری و آسکوربیک اسید بر صفات مورد آزمون

سرعت واکنش هیل /od/min	کاروتنوئید (µg/mL)	گزانوفیل (µg/mL)	کلروفیل a+b (µg/mL)	کلروفیل b (µg/mL)	کلروفیل a (µg/mL)	تیماژ
۰/۱۳b	۵۱/۳۸d	۲۶/۵۲e	۶۱/۳۷bc	۲۲/۲۹bc	۳۹/۰۸c	S0+AS0
۰/۱۷a	۱۲/۴۳g	۱۳/۸۴f	۱۰۷/۲۶a	۳۶/۱۳a	۷۱/۱۱a	S0+AS1
۰/۰۹d	۶۰/۳۵c	۳۱/۶۵d	۴۴/۲۲d	۱۳/۲۳d	۳۱/۰۱cd	S1+AS0
۰/۱۴b	۱۹/۸۶f	۲۲/۵۵e	۸۰/۷۲b	۳۱/۳۹ab	۴۹/۳۳b	S1+AS2
۰/۰۵e	۷۴/۳۱b	۵۶/۸۹c	۳۶/۳۸d	۱۰/۶۳e	۲۵/۷۵d	S2+AS0
۰/۱۱c	۴۰/۷۴e	۲۲/۰۴e	۶۹/۵۷bc	۲۲/۵۸c	۴۵/۹۹bc	S2+AS2
۰/۰۵e	۹۱/۶۱a	۸۵/۷۲a	۳۰/۸۸e	۸/۵۸f	۲۲/۲۹d	S3+AS0
۰/۱۱c	۵۵/۸۶cd	۶۷/۶۵b	۵۲/۱۷c	۱۹/۳۵c	۳۳/۸۳c	S3+AS2

حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم وجود اختلاف معنی دار بر اساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد می باشد.

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل شوری و جیبرلین بر صفات مورد آزمون

سرعت واکنش هپل %/od/min	کاروتنوئید (µg/mL)	گزانتوفیل (µg/mL)	کلروفیل a+b (µg/mL)	کلروفیل b (µg/mL)	کلروفیل a (µg/mL)	تیمار
۰/۱۲b	۵۳/۶۸d	۲۷/۴۲cd	۵۱/۱۲c	۳۶/۰۰cd	۱۵/۱۲d	S0+GA0
۰/۱۸a	۱۰/۱۲g	۱۲/۹۴e	۱۱۷/۴۹a	۷۴/۱۸a	۴۳/۳۱a	S0+GA1
۰/۱۰b	۶۲/۹۱c	۳۲/۴۲c	۳۴/۸۵d	۲۲/۵۵d	۱۲/۳۰d	S1+GA0
۰/۱۳b	۱۷۳۰f	۳۱/۷۸d	۹۰/۳۰ab	۵۷/۷۸e	۳۲/۴۲b	S1+GA1
۰/۰۶c	۹۳/۵۶b	۵۳/۵۶b	۳۱/۰۱d	۲۱/۷۸d	۹/۲۳e	S2+GA0
۰/۱۱b	۲۱/۴۰ef	۲۵/۳۷d	۷۴/۹۵b	۴۹/۹۷bc	۲۴/۹۸	S2+GA1
۰/۰۶e	۱۱۶/۸۵a	۹۷/۱۲a	۲۱/۶۵e	۱۳/۸۴e	۷/۸۲e	S3+GA0
۰/۱۰b	۳۰/۶۳e	۵۶/۲۵b	۶۲/۴۰b	۴۲/۲۸c	۲۰/۱۲c	S3+GA1

حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم وجود اختلاف معنی دار بر اساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد می باشد.

جدول ۶- مقایسه میانگین اثر متقابل آسکوربیک اسید و جیبرلین بر صفات مورد آزمون

سرعت واکنش هیل	کارتنوئید ($\mu\text{g/mL}$)	گزانوئیل ($\mu\text{g/mL}$)	کلروفیل a+b ($\mu\text{g/mL}$)	کلروفیل b ($\mu\text{g/mL}$)	کلروفیل a ($\mu\text{g/mL}$)	تیمار
۰/۰۴a	۱۱۵/۷۰a	۶۳/۸۱a	۲۷/۲۹d	۱۹/۲۲d	۸/۰۷c	GA0+AS0
۰/۰۴a	۲۲/۱۲c	۳۶/۵۸c	۵۹/۱۹b	۳۹/۸۵b	۱۹/۳۵b	GA0+AS4
۰/۰۲c	۴۷/۸۵b	۴۱/۴۵b	۴۲/۰۳c	۲۷/۸۷c	۱۴/۱۶bc	GA2+AS0
۰/۰۳b	۱۶/۵۹c	۲۱/۵۹d	۱۱۳/۳۳a	۷۲/۲۶a	۴۱/۰۶a	GA2+AS04

حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم وجود اختلاف معنی دار بر اساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد می باشد.

جدول ۷- مقایسه میانگین اثر متقابل شوری، آسکوربیک اسید و جیبرلین بر صفات مورد آزمون

سرعت واکنش هیل %/od/min	کارتنوئید (µg/mL)	گزامتوئیل (µg/mL)	a+b (µg/mL)	کلروفیل b (µg/mL)	کلروفیل a (µg/mL)	تیمار
۰/۱۲b	۵۳/۶۸d	۲۷/۴۲cd	۴۲/۵۴f-h	۱۲/۸۱de	۲۹/۷۳h-i	S0+AS0+GA0
۰/۱۸a	۱۰/۱۲g	۱۲/۹۴e	۸۰/۲۱d	۳۱/۷۸bc	۴۸/۴۳de	S0+AS1+GA0
۰/۱۸a	۱۰/۱۲g	۱۲/۹۴e	۵۹/۷۱ef	۱۷/۴۳d	۴۲/۲۸d-g	S0+AS0+GA1
۰/۱۰b	۶۲/۹۱c	۳۲/۴۲c	۱۵۴/۷۸a	۵۴/۸۴d	۹۹/۹۴a	S0+AS1+GA1
۰/۱۲b	۵۳/۶۸d	۲۷/۴۲cd	۲۷/۹۳hi	۹/۴۸edf	۱۵/۶۳jk	S1+AS0+GA0
۰/۱۸a	۱۰/۱۲g	۱۲/۹۴e	۶۰/۷۳e	۱۷/۲۷d	۴۳/۳۱a	S1+AS1+GA0
۰/۱۸a	۱۰/۱۲g	۱۲/۹۴e	۴۲/۷۷e-h	۱۵/۱۲de	۲۶/۶۵h-k	S1+AS0+GA1
۰/۱۰b	۶۲/۹۱c	۳۲/۴۲c	۱۱۹/۶۷b	۴۷/۶۶a	۷۲/۰۱b	S1+AS1+GA1
۰/۱۲b	۵۳/۶۸d	۲۷/۴۲cd	۲۲/۲۹c	۶/۶۶ef	۱۵/۶۳jk	S2+AS0+GA0
۰/۱۸a	۱۰/۱۲g	۱۲/۹۴e	۵۰/۴۷e-g	۱۴/۶۱de	۳۵/۸۸e-h	S2+AS1+GA0
۰/۱۸a	۱۰/۱۲g	۱۲/۹۴e	۳۷/۷۲gh	۱۱/۷۹de	۲۷/۹۳h-j	S2+AS0+GA1
۰/۱۰b	۶۲/۹۱c	۳۲/۴۲c	۹۹/۴۳c	۳۵/۵۶b	۶۴/۰۶bc	S2+AS1+GA1
۰/۱۲b	۵۳/۶۸d	۲۷/۴۲cd	۱۶/۴۰i	۳/۳۳f	۱۴/۶۱kj	S3+AS0+GA0
۰/۱۸a	۱۰/۱۲g	۱۲/۹۴e	۴۵/۳۶e-h	۱۳/۸۴de	۳۱/۵۲fi	S3+AS1+GA0
۰/۱۸a	۱۰/۱۲g	۱۲/۹۴e	۲۶/۹۱hi	۱۲/۳۰de	۱۳/۰۷k	S3+AS0+GA1
۰/۱۰b	۶۲/۹۱c	۳۲/۴۲c	۷۹/۴۴d	۲۶/۳۹c	۵۳/۰۴cd	S3+AS1+GA1

حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم وجود اختلاف معنی دار بر اساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد می باشد.

oxidative stress 445 in *Ceratophyllum demersum* by zinc involves ascorbate-glutathione cycle and 446 glutathione metabolism. *Plant Physiol. Biochem.* 43: 107-116.

Baghizadeh, A., M. Ghorbanli, H.M Rezaei, and H. Mozafri. 2009. Evaluation of Interaction effect of drought stress with ascorbate and salicylic acid on some of physiological and Biochemical parameters in okra (*Hibiscus esculentus* L.). *Journal Biological sciences.* 4 (4): 380-387

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

Hamad. A. and Hamda. A. 2001. Grain soaking pre sowing in ascorbic acid or thiamin versus the adverse effects of combined salinity and drought on wheat seedlings. *A ssiut, Egypt.* pp : S15-005.

Jiang, R. and N. hunag. 2001. Drought and Heat stress injure to two cool-season turf grass in Relation to Antioxidant Metabolism and Lipid peroxidation . *Crop Sci.* 41: 436-442.

منابع

امیدبیگی، ر. ۱۳۷۹. رهیافته‌های تولید و فراورده‌های گیاهان دارویی، انتشارات طراحان نشر، جلد ۲، فصل ۷، ص ۱۸۸.

امیدبیگی، ر. و محمودی سورستانی، م. ۱۳۸۹. اثر تنش خشکی بر برخی صفات مرفولوژی، میزان و عملکرد اسانس گیاه گل مکزیکی (*Agastache foeniculum* (Pursh) Kuntze). *علوم کشاورزی ایران.* ۴۱ (۲): ۱۶۱-۱۵۳.

جم زاده، ز. ۱۳۸۴. آویشن‌ها و مرزه‌های ایران. انتشارات موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع. ۱۷۲ ص.

نقدی بادی، ح. م. تفتی زاده مکی. ۱۳۸۲. مروری بر گیاه آویشن (*Thymus vulgaris* L.) نشریه گیاهان دارویی. ۲(۷): ۱-۱۲.

دانشمندی، م. ح. و م. عزیزی. ۱۳۸۸. بررسی اثر تنش خشکی و کاربرد زئولایت معدنی بر خصوصیات کمی و کیفی ریحان، رقم اصلاح شده مجارستانی. ششمین کنگره علوم باغبانی ایران. صفحه ۱۲۳-۱۲۹.

Aravind, P. and M.N.V. Prasad. 2005. Modulation of cadmium-induced

- and temperature stress related with stress tolerance in wheat genotypes, Abstract: National Seminar (ISSP), IARI, New Delhi. p. 6.
- Shah, S.H.** 2007. Physiological effects of pre-sowing seed treatment with gibberellic acid on *Nigella sativa* L. *Acta Bot Croat.* 66 (1): 67–73.
- Shahin, A., S. Sadri, R. Gazor.** 2010. **Evaluating the Application of Learning Requirements Planning Model in the ERP Project of Esfahan Steel Company.** *International Journal of Business and Management.* 5. (2010)
- Shalata, A. and P.M. Neumann.** 2001. Exogenous ascorbic acid (Vitamin C) increase resistance to salt stress and reduces lipid peroxidation. *J. Experm. Bot.* 52: 2207-2228.
- Smiroff, N. and G.L. Wheeler.** 2000. Ascorbic acid in plants : biosynthesis and function. *CRC crit. Rev. Plant Sci.* 19: 267-290.
- Trebst, A.** 1872. Measurement of the Hill reaction and photoreduction. *Methods Enzymol.* 24: 146-165.
- Laspina , N.V., M.D. Groppa, M.L. Tomaro, and M.P. Benavides.** 2005. Nitric oxide protects sunflower leaves against Cd-induced oxidative stress-plant. *Sci.* 169: 323-330.
- Lichtenthaler, H.K.** 1987. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods Enzymol.* 148:350-382.
- Maggio, A., G. Barbieri, G. Raimondi, and S.D. Pascale.** 2010. Contrasting effects of GA3 treatments on tomato plants exposed to increasing salinity. *J Plant Growth Regul.* 29:63–72.
- Saeidi – Sar., S. Khavari – Nejad , R. A. Fahimi , H. M. Ghorbanli. and A. Majd.** 2007. Interactive effect , of gibberellin A₃ and ascorbic acid on lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in *Glycine max* seedlings under nickel stress . *Russian Journal of plant physiology.* 54 (1): 74-79.
- Sairam, R.K, P.S. Deshmukh, D.S. Shukla.**1997 . Increased antioxidant enzyme activity in response to drought

Effect of ascorbate and gibberellin on pigment traits and hill reaction of dragon head (*Dracocephalum moldavica* L.) under salinity stress conditions

A.R. Pazoki^{1*}

1. Department of Agronomy and Plant Breeding, Yadegar-e-Imam Khomeini (RAH) Shahre-rey Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Abstract

Due to study the effect of ascorbate and gibberellin on pigment characters and hill reaction of Dragon head (*Dracocephalum moldavica* L.) under salinity stress conditions. The experiment was done as factorial based on completely randomized design with 4 replications at Islamic Azad University, Yadegar-e-Imam Khomeini (RAH) Shahre-Rey Branch. Salinity in 4 levels (0, 25, 50 and 75 mM NaCl), ascorbate in 2 levels (0 and 4 mM) and gibberellin in 2 levels (0 and 2 mM) were considered. Plants harvested after 10 weeks for doing experiment. The results showed that effect of experimented factor were significant on all evaluated characters. In this case salinity stress decreased chlorophyll and hill reaction and increased carotene and xanthophyll. Non salinity, 4 mM ascorbate and 2mM gibberellins treatment significantly increased chlorophyll a and xanthophyll to 71.11 µg/ml and 101.41 µg/ml alternatively.

Keywords: Ascorbate, Chlorophyll, Dragon head (*Dracocephalum moldavica* L.), Gibberellins, Hill reaction

* Corresponding author (pazoki@iausr.ac.ir)