

آثار بر هم کنش مس و آسکوربیک اسید بر برخی نشان‌ویژگی‌های فیزیولوژیک پیاز خوراکی (*Allium cepa* L.)

مینایه قدرتی^۱، نادر چاпарزاده^{۱*} و کمال‌الدین دیلمقانی^۲

^۱ گروه پژوهشی بیوتکنولوژی گیاهان شورپسند، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران

^۲ گروه زیست‌شناسی گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرند، مرند، ایران

چکیده

آسکوربیک اسید به عنوان آنتی‌اکسیدان محلول در آب، در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیک مانند مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی شرکت می‌کند. برای بررسی آثار تنش مس (۶/۵ میکرومولار) و کاربرد ریشه‌ای آسکوربیک اسید (۰/۵ میلی‌مولار) بر برخی نشان‌ویژگی‌های فیزیولوژیک پیاز خوراکی (*Allium cepa* L. cv. Red (Azarshahr)، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. تنش مس سبب کاهش معنی‌دار وزن خشک ریشه و برگ‌ها، محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی و پتاسیم بافت‌های گیاهان ۷ هفته‌ای شد. آسکوربیک اسید با افزایش محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی و پتاسیم، وزن خشک گیاهان را به تنهایی و تحت تنش مس افزایش داد. تنش مس انباشتگی آمینو اسیدهای آزاد و قندهای محلول را افزایش داد. آسکوربیک اسید برون‌زا به طور معنی‌داری محتوای این ترکیبات را به تنهایی و تحت تنش مس کاهش داد. تحت تنش مس، پتانسیل اسمزی در تورژسانس کامل (Ψ_{π}^{100}) منفی‌تر بود و سازگاری اسمزی برگ‌ها افزایش معنی‌داری داشت. حضور آسکوربیک اسید تأثیر معنی‌داری در Ψ_{π}^{100} برگ‌ها نداشت، در حالی که سازگاری اسمزی برگ‌ها را افزایش داد. پتاسیم در برگ‌های تحت تنش مس، سهم کمتری در Ψ_{π}^{100} داشت. با افزودن آسکوربیک اسید برون‌زا سهم اسمزی پتاسیم نیز به طور معنی‌داری افزایش یافت. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که با به کار بردن آسکوربیک اسید برون‌زا، آثار مضر تنش مس کاهش و مقاومت گیاهان پیاز افزایش می‌یابد.

واژه‌های کلیدی: آسکوربیک اسید، پیاز، سازگاری اسمزی، مس

مقدمه

است. این گیاه بومی ایران است و در حدود ۳۲۰۰ سال

پیش از میلاد برای نخستین بار در حوزه مدیترانه توسط

بابلیان و آشوری‌ها و سپس یونانی‌ها شناخته شد. پیاز نه

پیاز با نام علمی *Allium cepa* L. از مهم‌ترین

گیاهان خوراکی سرشار از ویتامین‌ها و مواد معدنی

اتو اکسیداسیون و واکنش فنتون، مکانیسم‌های مولکولی اصلی سمیت مس هستند (Schutzenduble and Polle, 2002؛ Yruela, 2009) که برای تحمل به سمیت مس ایجاد می‌شوند و برخی از مسیرهای آنتی‌اکسیداتیو را فعال می‌کنند. آنتی‌اکسیدان‌های جاروب کننده گونه‌های فعال اکسیژن، به دو گروه بزرگ آنزیمی (مانند سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز) و غیر آنزیمی (نظیر آسکوربات و گلوتاتیون) تقسیم می‌شوند که با جلوگیری از آسیب رادیکال‌های آزاد به مولکول‌های زیستی نقش مهمی در کاهش آثار تنش اکسیداتیو ایفا می‌کنند (Athar *et al.*, 2008؛ Mourato *et al.*, 2009). زمانی که توان آنتی‌اکسیدانی گیاه در برابر عوامل اکسیداتیو محدود باشد، گیاه آسیب می‌بیند. آسکوربیک اسید، مولکولی کوچک و محلول در آب است که در فرآیندهای گوناگونی نظیر: فتوسنتز، مقاومت به تنش‌های محیطی، رشد دیواره سلولی، گسترش و واکنش دار شدن سلول مشارکت دارد. این ترکیب به عنوان آنتی‌اکسیدان به طور مستقیم سوپراکسید، اکسیژن یکتایی و رادیکال هیدروکسیل را احیا و برای تبدیل هیدروژن پر اکسید به آب در نقش سوسترای آنزیم آسکوربات پراکسیداز عمل می‌کند (Davey *et al.*, 2000). برخی شواهد گویای این مطلب است که جهش یافته‌های آراییدوپسیس که دارای نقص در تولید آسکوربات درون‌زا هستند، در برابر انواع تنش‌ها حساسیت نشان می‌دهند (Veljovic-Jovanovic *et al.*, 2001). بنابراین، مقادیر بالایی از آسکوربات درون‌زا برای مقابله با شرایط تنش اکسیداتیو و انجام فرآیندهای فیزیولوژیک یاد شده لازم است. کاربرد برون‌زای آسکوربات از طریق محیط ریشه‌ای و یا اسپری برگ‌ها می‌تواند محتوای درونی

تنها اهمیت غذایی بالایی در بین مردم ایران و جهان دارد، بلکه در درمان بیماری‌هایی مانند: آسم، صرع، برونشیت مزمن، دیابت، بیماری‌های پوستی، سرطان و ... نیز کاربرد دارد (Vamshi *et al.*, 2010).

در حال حاضر، پراکنش و انباشتگی فلزات سنگین در آب‌ها و خاک‌ها از عوامل مهم آلودگی‌های محیطی محسوب می‌شود. انباشتگی عنصر سنگین مس در محیط‌زیست که به علت کاربرد کودها، قارچ‌کش‌ها، فعالیت‌های صنعتی و شهری، معدن‌کاوی و فعالیت‌های دیگر انسانی اتفاق می‌افتد (Yruela, 2009) سبب جذب مقادیر سمی از آن توسط گیاهان شده، بر واکنش‌های بیوشیمیایی و فرآیندهای فیزیولوژیک گیاهان تأثیر منفی می‌گذارد. غلظت‌های سلولی و بافتی مس در گیاهان دامنه فیزیولوژیک اندکی دارد، با وجود این، در همین دامنه محدود مس به عنوان عنصر ضروری و فلز فعال ردوکس، نقش کلیدی در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیک گیاهان نظیر: فتوسنتز، تنفس میتوکندریایی، سنتز دیواره سلولی و تولید اتیلن ایفا می‌کند (Hansch and Mendel, 2009). جذب مقادیر بالای مس توسط گیاهان ضمن تغییر در محتوای مواد معدنی از جمله پتاسیم بافت‌های گیاهی، با تولید گونه‌های فعال اکسیژن باعث تخریب مولکول‌های زیستی مانند: پروتئین‌ها، DNA و لیپیدها می‌شود (Barylta *et al.*, 2000؛ Yruela, 2009؛ Cui *et al.*, 2010). فتوسنتز (Sanchez-Viveros *et al.*, 2010)، محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی (Mourato *et al.*, 2009) و هدایت روزنه‌ای (Alaoui-Sosse *et al.*, 2004) در شرایط تنش مس کاهش یافته، در حالی که محتوای قندی برگ‌ها افزایش می‌یابد (Alaoui-Sosse *et al.*, 2004). تولید گونه‌های فعال اکسیژن توسط

تیمار آسکوربیک اسید

پس از ۵ هفته، در مرحله شروع ۳ برگی، دانه‌رست‌ها به طور تصادفی به دو گروه تقسیم شدند: گروه نخست با محلول نیم‌هوگلند (شاهد) و گروه دوم با محلول نیم‌هوگلند حاوی آسکوربیک اسید (۵/۰ میلی‌مولار) به مدت ۳ روز تیمار شدند.

تیمار مس

پس از کاربرد آسکوربیک اسید، محلول نیم‌هوگلند حاوی $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (صفر و ۶/۵ میکرومولار) به مدت یک هفته به محیط اضافه شد. پس از ۲۴ ساعت از برگ‌های سوم برای سنجش شاخص‌های رشد استفاده شد.

سنجش شاخص‌های رشد

سنجش وزن خشک ریشه‌ها و بخش‌های هوایی، پس از قرار گرفتن نمونه‌ها در آون ۷۰ درجه سانتیگراد به مدت ۷۲ ساعت انجام شد.

سنجش محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی

بافت برگ‌ها تازه در استون خالص همگن و پس از سانتریفیوژ (مدل EBA 20، شرکت Hettich، ساخت آلمان) (سرعت ۲۵۰۰ دور در دقیقه و مدت ۱۵ دقیقه) میزان جذب محلول رویی در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۶ و ۴۷۰ نانومتر تعیین و بر اساس میکروگرم بر گرم وزن تر گزارش شد. برای محاسبه مقادیر کلروفیل و کاروتنوئید از روابط زیر استفاده شد (Lichtenthaler, 1987).

A: میزان جذب نور در طول موج مربوط است.

$$a \text{ کلروفیل } = 12/21 A_{663} - 2/81 A_{646}$$

$$b \text{ کلروفیل } = 20/13 A_{663} - 5/03 A_{646}$$

$$\text{کل کاروتنوئید} = [A_{470} - 3/27 \text{Chla} - 104 \text{Chlb}] / [227]$$

$$\text{کلروفیل کل} = 20/2 A_{663} + 8/02 A_{646}$$

آسکوربات را افزایش دهد (Athar et al., 2008). در بررسی‌های انجام شده، پژوهش روی عوامل سازگاری اسمزی گیاهان در شرایط تنش مس مشاهده شده است، با وجود این، اطلاعاتی درباره تأثیر تنش مس بر روابط اسمزی گیاه پیاز خوراکی وجود ندارد.

با توجه به گزارش‌های یاد شده در بالا و شناخت نقش آسکوربیک اسید، مهم‌ترین هدف پژوهش حاضر بررسی این مسأله است که آیا غلظت بالای مس در محیط ریشه‌ای به آسیب‌های فیزیولوژیک در پیاز منجر خواهد شد؟ در صورت مثبت بودن پاسخ، نقش کاربرد برونزای آسکوربیک اسید که باعث تغییر توان آنتی‌اکسیداتیو بافت‌های گیاهی خواهد شد، بر تغییرات شاخص‌های رشد، محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی، پتاسیم، آمینو اسیدهای آزاد، قندهای محلول و همچنین روابط اسمزی مطالعه خواهد شد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و شرایط کشت

بذرهای سالم گیاه پیاز خوراکی (*Allium cepa* L. cv. Red Azarshahr) انتخاب و با هیپوکلریت سدیم یک درصد ضد عفونی و با آب مقطر شستشو شد.

جوانه‌زنی بذرهای روی کاغذ صافی مرطوب به مدت یک هفته انجام شد. دانه‌رست‌های ۷ روزه به گلدان‌های حاوی پرلیت انتقال یافت و با محلول غذایی نیم‌هوگلند تغذیه شد. گلدان‌های حاوی دانه‌رست‌ها در شرایط نوری تنظیم شده ۱۶ ساعت نور و ۸ ساعت تاریکی و شدت نور فتوسنتزی ۲۵۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه و رطوبت حدود ۳۰ تا ۴۰ درصد و دمای 27 ± 2 درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

سنجش پتانسیل اسمزی در تورژسانس کامل و سازگاری اسمزی

شیره سلولی از بافت‌های برگ‌گی که به مدت ۶ ساعت در محیط سرد و در آب مقطر قرار گرفته بودند، پس از انجماد، تخریب و سانتریفیوژ (مدل EBA 20، شرکت Hettich، ساخت آلمان) (دمای ۴ درجه سانتیگراد، سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه و مدت ۲۰ دقیقه) مقادیری از مایع رویی با معرف نین‌هیدرین مخلوط و به مدت ۵ دقیقه در بن‌ماری جوشان قرار داده شد. پس از سرد شدن، جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۷۰ نانومتر ثبت شد (Harding and MacLean, 1916). با رسم منحنی استاندارد با استفاده از گلیسین، مقدار آمینو اسیدهای آزاد بر اساس میکروگرم بر گرم وزن تر گزارش شد.

$$\Psi_{\pi}^{100} \text{ (MPa)} = 0.002437 \text{ (m}^3 \cdot \text{MPa} \cdot \text{mol}^{-1}) \times \text{osmolality (mol/m}^3)$$

سازگاری اسمزی از رابطه ۲ محاسبه و بر اساس مگا پاسکال گزارش شد (Rauf and Sadaqat, 2008) که در آن، OA: سازگاری اسمزی، $\Psi_{\pi}^{100 \text{ non stressed}}$: پتانسیل اسمزی در تورژسانس کامل گیاه شاهد و $\Psi_{\pi}^{100 \text{ stressed}}$: پتانسیل اسمزی در تورژسانس کامل گیاه تحت تنش است.

رابطه ۲:

$$OA = \Psi_{\pi}^{100 \text{ non stressed}} - \Psi_{\pi}^{100 \text{ stressed}}$$

محاسبه سهم اسمزی پتاسیم

غلظت پتاسیم موجود در شیره سلولی با روش فلیم فتومتری تعیین شد. سهم اسمزی پتاسیم از رابطه وانتروف محاسبه و بر اساس مگا پاسکال گزارش شد (Chaparzadeh et al., 2003).

تحلیل داده‌ها

این آزمایش در طرح کاملاً تصادفی طراحی شد. داده‌ها با روش واریانس یک طرفه تحلیل و برای انجام

سنجش محتوای آمینو اسیدهای آزاد کل

بافت برگ‌گی و ریشه‌ای تازه با بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مول سرد (اسیدیته ۷/۵) همگن و پس از سانتریفیوژ (مدل Universal 320، شرکت Hettich، ساخت آلمان) (دمای ۴ درجه سانتیگراد، سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه و مدت ۲۰ دقیقه) مقادیری از مایع رویی با معرف نین‌هیدرین مخلوط و به مدت ۵ دقیقه در بن‌ماری جوشان قرار داده شد. پس از سرد شدن، جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۷۰ نانومتر ثبت شد (Harding and MacLean, 1916). با رسم منحنی استاندارد با استفاده از گلیسین، مقدار آمینو اسیدهای آزاد بر اساس میکروگرم بر گرم وزن تر گزارش شد.

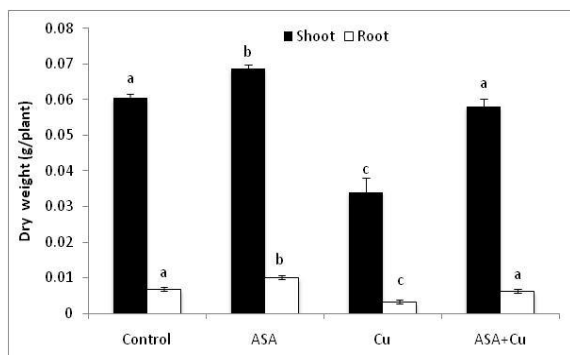
سنجش محتوای قندهای محلول کل

بافت برگ‌گی و ریشه‌ای تازه با اتانول همگن و پس از سانتریفیوژ (مدل EBA 20، شرکت Hettich، ساخت آلمان) (سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه و مدت ۱۵ دقیقه) مقادیری از مایع رویی با معرف آنترون مخلوط و در بن‌ماری در حال جوش قرار داده شد. بلافاصله پس از توقف واکنش در آب یخ، جذب نمونه‌ها در طول موج ۶۲۵ نانومتر تعیین شد. با رسم منحنی استاندارد با استفاده از گلوکز، مقدار کربوهیدرات‌های محلول بر اساس میلی‌گرم بر گرم وزن تر گزارش شد (Ross, 1991).

سنجش محتوای پتاسیم

خاکستر بافت برگ‌گی و ریشه‌ای در نیتریک اسید حل و محتوای پتاسیم به روش فلیم فتومتری تعیین شد (Chaparzadeh et al., 2003). با رسم منحنی استاندارد با استفاده از پتاسیم، مقدار پتاسیم بافت بر اساس میلی‌گرم بر گرم وزن خشک گزارش شد.

سم‌زدایی H_2O_2 نقش دارد (Davey *et al.*, 2000). همچنین، آسکوربیک اسید باعث تثبیت نیتروژن، تعادل هورمون‌ها و افزایش هورمون اکسین (هورمون تسریع‌کننده رشد) می‌شود (Azzedine *et al.*, 2011). افزایش رشد در اثر کاربرد آسکوربیک اسید در گیاهان مختلف ممکن است به علت افزایش تقسیم سلولی (از طریق تسریع انتقال از مرحله G_1 به مرحله S چرخه سلولی) و رشد طولی سلول (از طریق مهار پراکسیدازهای آپوپلاستی) باشد (Athar *et al.*, 2008؛ Azzedine *et al.*, 2011). تیمار با آسکوربیک اسید در گیاهچه‌های باقلای تحت تنش شوری و مانیتول ضمن افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و محتوای گلوکوتایون و آسکوربیک اسید، دو مولکول آنتی‌اکسیدان مهم، باعث بهبود تغذیه نیتروژنی و از این طریق سبب افزایش رشد گیاهان شده است (Younis *et al.*, 2010). یافته‌های یاد شده در بالا و نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهند که بهبود رشد گیاه پیاز در اثر کاربرد آسکوربیک اسید در گیاهان شاهد یا تحت تنش احتمالاً به علت افزایش توان آنتی‌اکسیدانی و افزایش تقسیم و گسترش سلولی است.



شکل ۱- تأثیر مس و آسکوربیک اسید بر وزن خشک بخش هوایی و ریشه پیاز. مقادیر میانگین \pm SE تکرار ۴ است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P < 0.05$ است.

تجزیه‌های آماری از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ و Excel استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث رشد

تیمار مس باعث کاهش معنی‌دار وزن خشک بخش هوایی و ریشه گیاهان تیمار دیده نسبت به گیاهان شاهد شد (شکل ۱). کاهش وزن خشک بخش هوایی و ریشه تحت تنش مس در گونه‌های دیگر نیز گزارش شده است (El-Tayeb and El-Enany, 2006؛ Gorecka *et al.*, 2007). مهار رشد گیاهان در حضور مس به اختلال در وضعیت آب سلول، میتوز، چرخه سلولی، سخت شدن دیواره سلولی به علت تشکیل اتصالات عرضی پلیمرهای دیواره در اثر فعالیت پراکسیدازهای وابسته به H_2O_2 (El-Tayeb and El-Enany, 2006) و هم خوردگی تعادل هورمونی (Groppa *et al.*, 2007)، کاهش محتوای نیتروژن (Xiong *et al.*, 2006)، کاهش محتوای پتاسیم و نرخ فتوسنتز (Guo *et al.*, 2006)، انباشتگی اسیدهای فنلی آزاد (Gorecka *et al.*, 2007) و کاهش سطح برگ (Alaoui-Sosse *et al.*, 2004) نسبت داده شده است. بدین ترتیب، احتمالاً کاهش رشد گیاه پیاز تحت تنش مس به علت اختلال در تقسیم و گسترش سلولی است.

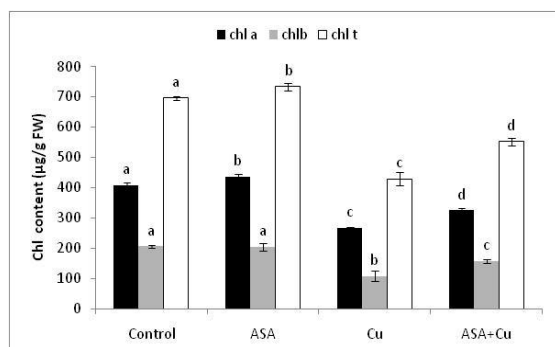
تیمار آسکوربیک اسید وزن خشک بخش هوایی و ریشه را به تنهایی و تحت تنش مس به طور معنی‌داری بهبود بخشید (شکل ۱). آسکوربیک اسید در سنتز گلیکو پروتئین‌های اکستانسین غنی از هیدروکسی پرولین دیواره، هورمون‌های جیبرلین و

محتوای کلروفیل

تنش مس به طور معنی‌داری محتوای کلروفیل‌های a، b و کل را نسبت به شاهد کاهش داد (شکل ۲). کاهش معنی‌دار کلروفیل‌های a، b و کل در *Lemna minor* (Hou et al., 2007)، *Trebouxia ericia* (Backer et al., 2004) و *Lupinus luteus* (Mourato et al., 2009) و آفتابگردان (Zengin and Kirbag, 2007) تحت تنش مس گزارش شده است. مس از طریق واکنش فتون به افزایش رادیکال O_2^- و اکسیژن یکتایی در کلروپلاست منجر می‌شود. این رادیکال‌ها به ترکیبات دارای پیوند دوگانه مانند کلروفیل حمله کرده، باعث آزاد شدن کلروفیل از غشای تیلاکوئیدی و کاهش محتوای آن می‌شوند (Zhang et al., 2003). کاهش محتوای کلروفیل به تسریع تولید کلروفیل‌از، مهار بیوسنتز از طریق برهم کنش با گروه سولفیدریلی δ - آمینو لولینیک اسید دهیدروژناز و پروتوکلروفیلید ردوکتاز (Prasad and Strzalka, 1999) و کاهش تثبیت نیتروژن (Xiong et al., 2006) نیز نسبت داده می‌شود. مس می‌تواند توسط آثار آنتاگونیستی، جذب و انتقال یون‌هایی نظیر: Mg^{+2} ، Fe^{+2} ، Zn^{+2} ، Mn^{+2} را مهار کند. در سمت پذیرنده الکترون فتوسیستم II، مس با اتصال به تیروزین Y_z پروتئین D_1 انتقال الکترون را به جفت ویژه کلروفیلی مرکز واکنش مهار و در سمت دهنده اتصال یون‌های مس به گروه‌های هیستیدینی در نزدیکی کوئینون‌ها، گیرنده کوئینون B را ناپایدار می‌کند. به همین علت فتوسیستم II نسبت به سمیت مس حساس‌تر از فتوسیستم I است (Yruela, 2009).

کاهش جذب منیزیم نیز می‌تواند به بیوسنتز کلروفیل آسیب رساند.

کاربرد آسکوربیک اسید به تنهایی و تحت تنش مس باعث افزایش چشم‌گیر محتوای کلروفیل a و کل شد، در حالی که محتوای کلروفیل b را تنها در گیاهان تحت تنش مس به طور معنی‌داری افزایش داد (شکل ۲). کلروپلاست منبع بزرگ تولید گونه‌های فعال اکسیژن در گیاهان است و در عین حال فاقد آنزیم کاتالاز برای جاروب آنها است. آسکوربیک اسید به عنوان سوبسترای آنزیم آسکوربات پراکسیداز برای جاروب گونه‌های فعال اکسیژن تولید شده در غشاهای تیلاکوئیدی عمل می‌کند (Davey et al., 2000). تأثیر کاربرد آسکوربیک اسید در افزایش محتوای کلروفیل (a، b و کل) در فلفل شیرین (Khafagy et al., 2009)، گندم (Azzedine et al., 2011) و باقلا (Azooz et al., 2011) گزارش شده است. این احتمال وجود دارد که آسکوربیک اسید به عنوان مولکولی سم‌زدا و جاروب‌کننده گونه‌های فعال اکسیژن، محتوای کلروفیل را از طریق مهار فعالیت این رادیکال‌ها در گیاه بیاز افزایش دهد.

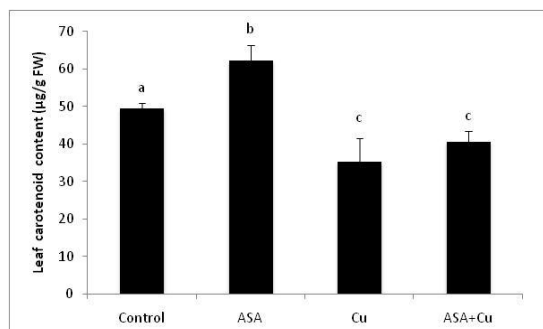


شکل ۲- تأثیر مس و آسکوربیک اسید بر محتوای کلروفیلی. مقادیر میانگین ۴ تکرار $SE \pm$ است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P < 0.05$ است.

محتوای کاروتنوئیدها

(Azzedine *et al.*, 2011؛ Farahat *et al.*, 2007)

ارتباط چرخه گزانتوفیل، آسکوربیک اسید و وضعیت ردوکس به خوبی شناخته شده است. در چرخه گزانتوفیل آنزیم ویولاگزانتین داپواکسیداز برای فعالیت خود به آسکوربیک اسید نیاز دارد (Muller-Moule *et al.*, 2002). آسکوربیک اسید احتمالاً با افزایش محتوای کاروتنوئیدها و تغییر نسبت آنها شرایط چرخه گزانتوفیل را بهبود می‌بخشد. عدم بهبود محتوای کاروتنوئیدها در گیاهان تحت تنش توسط آسکوربیک اسید برون‌زا احتمالاً به علت نسبت زیاد اکسیداسیون کاروتنوئیدها است.



شکل ۳- تأثیر مس و آسکوربیک اسید بر محتوای کاروتنوئیدها. مقادیر میانگین ۴ تکرار \pm SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P < 0.05$ است.

محتوای آمینو اسیدهای آزاد کل برگ‌ها و ریشه‌ها

تحت تنش مس محتوای آمینو اسیدهای آزاد کل برگ‌ها و ریشه‌ها در گیاهان تحت تنش به طور چشم‌گیری نسبت به گیاهان شاهد افزایش پیدا کرد (شکل ۴). اغلب گیاهان پس از قرار گرفتن در معرض فلزات سنگین، متابولیت‌هایی مانند آمینو اسیدها (نظیر پرولین و هیستیدین)، پلی‌آمین‌ها و اسیدهای آلی را سنتز و انباشته می‌کنند (Sharma and Dietz, 2006). با

تنش مس به طور درخور توجهی محتوای کاروتنوئیدها را در گیاهان تحت تنش نسبت به گیاهان شاهد کاهش داد (شکل ۳). کاروتنوئیدها رنگیزه‌های چربی دوست موجود در غشاهای کلروپلاستی هستند و عملکردهای متعددی در متابولیسم گیاه دارند. علاوه بر جذب نور به عنوان رنگیزه‌های کمکی، کاروتنوئیدها دستگاه فتوسنتزی را از آسیب فوتون‌های اضافی و تنش اکسیداتیو (توسط چرخه گزانتوفیل)، واکنش با کلروفیل سه تایی و ممانعت از تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن محافظت می‌کنند (El-Tayeb and Enany, 2006). در چرخه گزانتوفیل، فرآیند داپواکسیداسیون (de-epoxidation) باعث افزایش مقدار زآگزانتین در گیاهان تحت تنش شده، با کاهش نفوذپذیری غشاها در برابر گونه‌های فعال اکسیژن، سیستم‌های فتوسنتزی از آسیب‌های اکسیداتیو در امان می‌مانند (Chaparzadeh, and Zarandi-Miandoab, 2011). تأثیر تنش فلزات سنگین در افزایش محتوای کاروتنوئیدها در گیاهان مختلفی مانند *Vicia faba* گزارش شده است (Azooz *et al.*, 2011). مطابق با گزارش‌های پیشین (Hou *et al.*, 2007؛ Backer *et al.*, 2004) کاهش محتوای کاروتنوئیدهای گیاهان تحت تنش مس ممکن است به علت اکسیداسیون آنها برای مهار تنش اکسیداتیو باشد.

کاربرد ریشه‌های آسکوربیک اسید اگر چه به تنهایی محتوای کاروتنوئیدها را به طور معنی‌داری افزایش داد، با وجود این، تحت تنش مس تأثیر چندانی نداشت (شکل ۳). تأثیر آسکوربیک اسید در افزایش محتوای کاروتنوئیدها در گیاهان مختلفی گزارش شده است

کاربرد برون‌زای آسکوربیک اسید به تنهایی موجب کاهش معنی‌دار محتوای آمینو اسیدهای آزاد کل برگ‌ها و ریشه‌ها شد. از سوی دیگر، به کار بردن آسکوربیک اسید برون‌زا به هنگام تنش مس باعث کاهش معنی‌دار آمینو اسیدهای آزاد نسبت به شرایط تنش و عدم تغییر نسبت به شرایط شاهد شد (شکل ۴). تأثیر تیمار آسکوربیک اسید در افزایش آمینو اسیدهای آزاد در برخی از گیاهان گزارش شده است (Farouk, 2011; Gadallah, 2000). در مطالعه‌ای روی گیاه جو، آسکوربیک اسید درون‌زا به هنگام تنش کادمیوم، به عنوان عنصری سنگین، در برگ‌های رقم‌های بردبار و حساس کاهش یافت، در حالی که محتوای آمینو اسیدها افزایش معنی‌داری یافت (Wu et al., 2004). امکان دارد که آسکوربیک اسید برون‌زا با جبران کاهش احتمالی درون‌زای آن (Athar et al., 2008) و از طریق کاهش آثار تنش مس به علت ویژگی آنتی‌اکسیدانی خود، بیوستز آمینو اسیدهای آزاد اضافی را مهار و محتوای آنها را کاهش دهد. محتوای زیاد آمینو اسیدها در ریشه‌ها احتمالاً به علت کلات کردن یون‌های مس برای جلوگیری از فعالیت آنها و کاهش پتانسیل اسمزی برای جذب آب از محیط خارجی باشد. کاهش محتوای پروتئینی در گیاهچه‌های باقلا تحت شرایط تنش شوری مشاهده شده است و افزودن آسکوربیک اسید به محیط، محتوای پروتئین‌ها را بهبود بخشید (Younis et al., 2010). بنابراین، احتمال دارد در گیاه پیاز تحت تیمار آسکوربیک اسید کاهش میزان آمینو اسیدهای آزاد به علت افزایش بیوستز پروتئین‌ها نیز باشد.

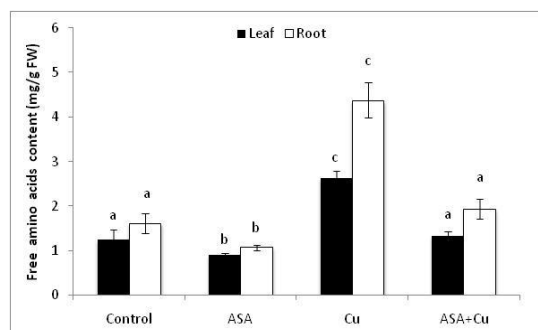
وجود این، کاهش محتوای آمینو اسیدهای آزاد در *Albizia procera* تحت تنش فلزات سنگین مشاهده شده است (Pandey and Tripathi, 2011). در تأیید نتایج این پژوهش، افزایش محتوای آمینو اسیدهای آزاد در بافت‌های گیاهان دیگر مانند *Brassica pekinsis* (Xiong et al., 2006) و *Corchorus olitorius* (Mazen, 2004) تحت تنش مس گزارش شده است. آمینو اسید آزاد پرولین نقش مهمی در بردباری به تنش‌های گیاهی ایفا می‌کند. در شرایط تنش مس افزایش محتوای گلوتامین و آرژینین به همراه پرولین در برگ‌های جدا شده برنج مشاهده شده است. افزایش محتوای پرولین به علت افزایش فعالیت آنزیم‌های بیوستزی پرولین و تخریب پروتئین‌ها بیان شده است (Chen et al., 2001). آمینو اسیدها مهم‌ترین لیگاندهای متصل شونده به فلزات در غلظت‌های میلی‌مولار در بافت‌های گیاهی هستند. آنها حداقل دارای یک گروه کربوکسیل و یک گروه آمین بوده، می‌توانند دست کم دو پیوند با یون فلزی برقرار کنند. آمینو اسیدهایی که حاوی گروه کربوکسیل (مانند آسپاراتات)، آمین (مانند هیستیدین) و یا گروه سولفیدریل (مانند سیستئین) در زنجیره جانبی خود هستند، نقش مهمی در کلات کردن یون‌های فلزی دارند (Pohlmeier, 1999). در شیر خام گیاهان بخش عمده مس به شکل متصل با آسپاراژین و هیستیدین منتقل می‌شود (Sharma and Dietz, 2006). با توجه به نقش مهم آمینو اسیدها در کلات کردن و سم‌زدایی فلزات سنگین و نیز تنظیم اسمزی به نظر می‌رسد گیاهان برای بردباری در برابر تنش مس، آمینو اسیدها را سنتز و انباشته می‌کنند.

فلزات سنگین نیز در دست است (Pandey and Tripathi, 2011). احتمال دارد که در شرایط تنش مس، با کاهش فتوسنتز و در نتیجه کاهش کربوهیدرات‌های ساختاری و رشد، قندهای محلول افزایش یابد (Morgan, 1984). علاوه بر این، تجزیه نشاسته یا مهار سنتز آن توسط اثر مهار کنندگی تنش فلزات سنگین بر فعالیت آنزیم‌های سنتزی نشاسته و کاهش استفاده و یا انتقال کم کربوهیدرات‌ها از طریق آوند آبکشی (Brad et al., 2003) می‌تواند به انباشتگی قندهای محلول منجر شود.

آسکوربیک اسید برون‌زا به تنهایی کاهش قابل ملاحظه‌ای در محتوای قندهای محلول کل برگ‌ها و ریشه‌ها ایجاد کرد. به کار بردن آسکوربیک اسید برون‌زا تحت تنش مس باعث کاهش معنی‌دار قندهای محلول کل نسبت به شرایط تنش و افزایش نسبت به شرایط شاهد شد (شکل ۵). مشابه با نتایج این پژوهش، کاهش محتوای قندهای محلول گیاهان در اثر کاربرد آسکوربیک اسید گزارش شده است (Debolt et al., 2007؛ Azzedine et al., 2011). با وجود این، افزایش محتوای قندهای محلول نیز با تیمار برون‌زای آسکوربیک اسید در گیاهان مشاهده شده است (Farouk, 2011). با توجه به نقش مهم آسکوربیک اسید در متابولیسم و رشد و نمو گیاه (Davey et al., 2000) می‌توان احتمال داد که با کاربرد آسکوربیک اسید محتوای قندهای محلول کاهش و در مقابل محتوای قندهای ساختاری افزایش یابد.

محتوای K^+ برگ‌ها و ریشه‌ها

تنش مس به شکل چشم‌گیری محتوای K^+ برگ‌ها و ریشه‌ها را در گیاهان تحت تنش نسبت به گیاهان

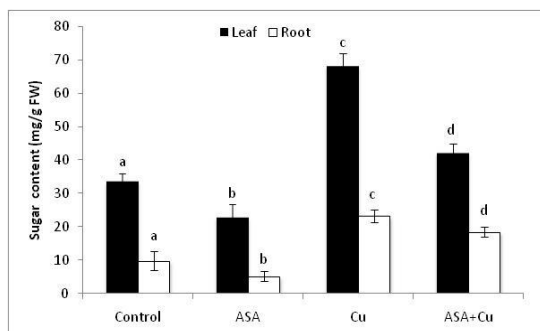


شکل ۴- تأثیر مس و آسکوربیک اسید بر محتوای آمینو اسیدهای آزاد کل برگ و ریشه. مقادیر میانگین ۴ تکرار \pm SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P < 0.05$ است.

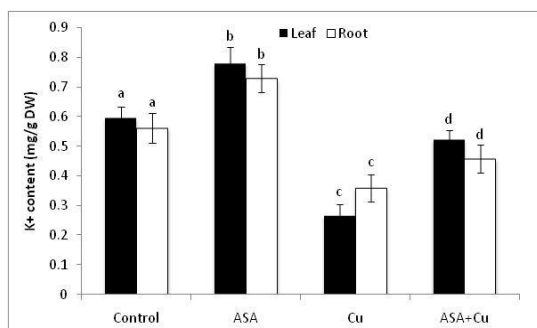
محتوای قندهای محلول کل برگ‌ها و ریشه‌ها

تنش مس به طور معنی‌داری محتوای قندهای محلول کل برگ‌ها و ریشه‌ها را در گیاهان تحت تنش نسبت به گیاهان شاهد افزایش داد (شکل ۵). محتوای قندهای محلول در شرایط تنشی مانند شوری، سرما، فلزات سنگین و غیره افزایش پیدا می‌کند. انباشتگی قندهای محلول در شرایط تنشی باعث تنظیم اسمزی سلولی، حفظ تورژسانس و پایداری مولکول‌های زیستی و غشاها می‌شود. گیاه با افزایش قندهای محلول در شرایط تنشی قادر خواهد بود تا ذخیره کربوهیدرات خود را برای متابولیسم پایه سلولی در حد مطلوب نگه دارد (Farahat et al., 2007). محتوای قندهای محلول کل در گیاهانی نظیر *Hibiscus esculentus* (Azooz et al., 2011) و نخود (Devi et al., 2007) در پاسخ به تنش فلزات سنگین افزایش نشان داده است. در برگ‌های خیار افزایش قندها تحت تنش مس به بر هم خوردن روابط مبدأ-مقصد و در نتیجه آسیب فتوسنتز نسبت داده شده است (Alaoui-Sosse et al., 2004). البته گزارش‌هایی از کاهش قندهای محلول در اثر تنش

غشا، باعث جذب K^+ به درون سلول می‌شود (Khafagy *et al.*, 2009). سنتز سترات و مالات نیز در حضور آسکوربیک اسید یون‌های مس را در خارج از ریشه کلات کرده (Yruela, 2009) و با کاستن از اثر رقابتی مس، جذب K^+ را افزایش می‌دهد. با توجه به این که K^+ در فعال‌سازی آنزیم‌های سنتز کننده نشاسته نقش دارد (Pettigrew, 2008)، افزایش محتوای K^+ و وجود سیستم آنتی‌اکسیدانی قوی در حضور آسکوربیک اسید با افزایش رشد و سنتز کربوهیدرات‌های ساختاری، احتمالاً محتوای قندهای محلول را نیز کاهش می‌دهد.



شکل ۵- تأثیر مس و آسکوربیک اسید بر محتوای قندهای محلول کل برگ و ریشه. مقادیر میانگین \pm SE تکرار ۴ است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P < 0.05$ است.



شکل ۶- تأثیر مس و آسکوربیک اسید بر محتوای K^+ برگ و ریشه. مقادیر میانگین \pm SE تکرار ۴ است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P < 0.05$ است.

شاهد کاهش داد (شکل ۶). پتاسیم عنصر ضروری بسیار مهمی است که نقش مهمی در فرآیندهای فیزیولوژیک نظیر: فتوسنتز، فعال‌سازی آنزیم‌ها، حفظ تورژسانس و القای سنتز پروتئین‌های تنشی ایفا می‌کند (Khafagy *et al.*, 2009). تنش مس در کاهش جذب عناصر **پُر** مصرف ضروری گیاهان تأثیر اساسی می‌گذارد (Alaoui-Sosse *et al.*, 2004). کاهش محتوای K^+ در گیاه *Vigna radiate* L. در اثر غلظت بالای مس گزارش شده است. کاهش محتوای پتاسیم در اثر تنش مس ممکن است به علت اثر سمی مس روی رشد گیاه یا رقابت با یون‌های دیگر باشد که به نوبه خود جذب پتاسیم را به مخاطره می‌اندازد. همچنین، امکان دارد یون‌های مس با اتصال به گروه‌های سولفیدریل پروتئین‌های غشایی و القای پراکسیداسیون چربی‌های غشایی (Barylá *et al.*, 2000)، با آسیب به یکپارچگی غشاهای سلولی، سبب دفع K^+ از ریشه‌ها شوند (Backer *et al.*, 2004).

کاربرد آسکوربیک اسید برون‌زا، محتوای K^+ برگ‌ها و ریشه‌ها را به طور معنی‌داری افزایش داد. به کار بردن آسکوربیک اسید برون‌زا تحت تنش مس باعث افزایش معنی‌دار K^+ نسبت به شرایط تنش تنها و کاهش نسبت به شرایط شاهد شد (شکل ۶). کاربرد آسکوربیک اسید محتوای K^+ را در گندم (Athar *et al.*, 2008) و *Carthamus tinctorius* (Gadallah *et al.*, 2000) نیز افزایش می‌دهد. به نظر می‌رسد آسکوربیک اسید با پایدار کردن غشا، دفع K^+ را کاهش می‌دهد. از سوی دیگر، دهیدروآسکوربات موجود در دیواره سلولی با تحریک H^+ -ATPase

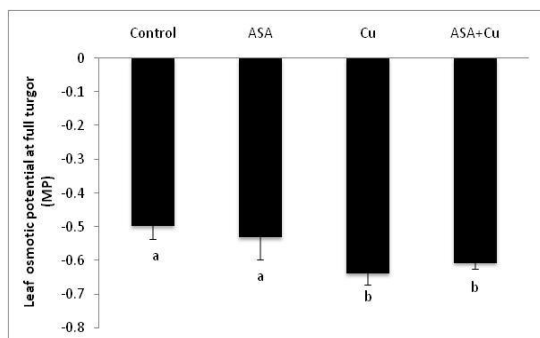
سازگاری اسمزی برگ‌ها

تنش مس به طور معنی‌داری پتانسیل اسمزی در تورژسانس کامل (Ψ_{π}^{100})، برگ‌های گیاهان تحت تنش را نسبت به گیاهان شاهد منفی‌تر نمود (شکل ۷) و سازگاری اسمزی برگ‌ها را افزایش داد (شکل ۸). انواع تنش‌های محیطی به طور مستقیم و غیر مستقیم باعث القای تنش خشکی می‌شوند. کاهش پتانسیل آب توسط شرایط خشکی فرآیندهای فیزیولوژیک مانند رشد و فتوسنتز را تحت تأثیر قرار می‌دهد. انباشتگی مواد محلول درون سلول‌ها به حفظ فشار تورژسانس منجر می‌شود. این پدیده سازگاری یا تنظیم اسمزی (osmotic adjustment) خوانده می‌شود (Farouk, 2011) که باعث حفظ فشار تورژسانس و تعادل آب برای انجام فرآیندهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گوناگون می‌شود (Athar *et al.*, 2008). در برگ‌های بالغ، پتانسیل اسمزی و سازگاری اسمزی نقش مهمی در عملکرد سلول‌ها، باز شدن روزنه‌ها و گسترش برگ‌ها برای تداوم فتوسنتز در شرایط تنشی ایفا می‌کند (Farouk, 2011). منفی‌تر شدن پتانسیل اسمزی تحت تنش مس در آفتابگردان نیز گزارش شده است (Groppa *et al.*, 2007). با توجه به این که تنش مس جذب و انتقال آب در ریشه‌ها و برگ‌ها را کند می‌کند (Groppa *et al.*, 2007) این احتمال وجود دارد که گیاهان برای مقابله با اختلال‌های فیزیولوژیک و کمبود آب ناشی از تنش مس، سنتز و انباشتگی مواد آلی نظیر: پرولین، قند، آمینو اسیدهای آزاد و ... را افزایش داده، پتانسیل اسمزی را منفی‌تر کنند. به این ترتیب، تداوم جریان آب و تورژسانس برای انجام فرآیندهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی حفظ می‌شود.

سهم K^+ در پتانسیل اسمزی برگ‌ها

سهم K^+ در پتانسیل اسمزی در تورژسانس کامل برگ‌ها تحت تنش مس به طور چشم‌گیری کاهش یافت (شکل ۹). پتاسیم فراوان‌ترین کاتیون در بافت‌های گیاهی است و نقش مهمی در ایجاد فشار اسمزی و تورژسانس (فرآیند ضروری برای گسترش برگ) ایفا می‌کند. توسعه و رشد سلول‌های برگ‌گی نسبت مستقیم با محتوای پتاسیم آنها دارد (Guo *et al.*, 2006). تحت تنش مس، به علت کاهش جذب K^+ ، پتاسیم کمترین سهم را در پتانسیل اسمزی داشته و ترکیبات آلی مانند قندهای محلول، آمینو اسیدها، پرولین و ... بیشترین سهم را به خود اختصاص می‌دهند.

آسکوربیک اسید به طور معنی‌داری سهم K^+ را در پتانسیل اسمزی در تورژسانس کامل برگ‌ها افزایش داد. به کار بردن آسکوربیک اسید برون‌زا تحت تنش مس باعث افزایش معنی‌دار سهم K^+ در پتانسیل اسمزی در تورژسانس کامل نسبت به شرایط تنش تنها و کاهش نسبت به شرایط شاهد شد (شکل ۹). در حضور آسکوربیک اسید، K^+ بیشترین سهم را در پتانسیل اسمزی به علت افزایش جذب دارد.



شکل ۷- تأثیر مس و آسکوربیک اسید بر پتانسیل اسمزی در تورژسانس کامل (Ψ_{π}^{100}) برگ‌ها. مقادیر میانگین \pm تکرار SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P < 0.05$ است.

جمع‌بندی

به طور کلی، نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد که تنش مس رشد و بسیاری از جنبه‌های فیزیولوژیک را در گیاه پیاز تحت تأثیر قرار می‌دهد. کاربرد برونزای آسکوربیک اسید به عنوان آنتی‌اکسیدان نشان‌ویژه‌های یاد شده را بهبود بخشید. تنش مس، عوامل مؤثر در فتوسنتز (رنگدانه‌ها)، روابط یونی (پتاسیم) و آبی (اسمزی) گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. کاربرد اسکوربیک اسید برونزا باعث بهبود فرآیندهای فوق، احتمالاً با بهبود توان آنتی‌اکسیدانی، افزایش توان سازگاری گیاهان در شرایط تنشی می‌شود. داده‌های پژوهش حاضر بیانگر آن است که در شرایط تنش مس میزان اسکوربیک اسید درونزا پاسخگوی نیاز گیاهان نیست.

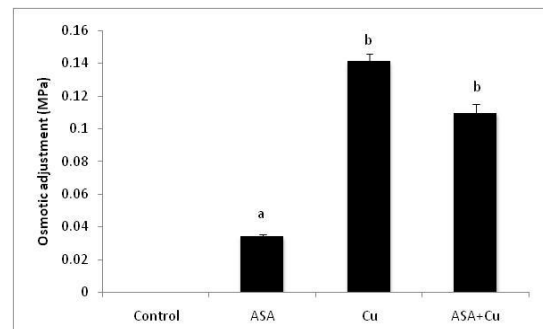
سپاسگزاری

نگارندگان مراتب سپاس خویش را از معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه شهید مدنی آذربایجان به خاطر تأمین مالی این پژوهش اعلام می‌نمایند.

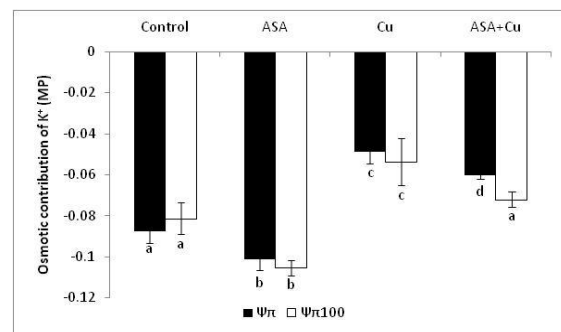
Alaoui-Sosse, B., Genet, P., Vinit-Dunand, F., Toussaint, M. L., Epron, D. and Badot, P. M. (2004) Effect of copper on growth in cucumber plants (*Cucumis sativus*) and its relationships with carbohydrate accumulation and changes in ion contents. *Plant Science* 166: 1213-1218.

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.

Azooz, M. M., Youssef, M. M. and Al-Omar, M. A. (2011) Comparative evaluation of zinc and lead and their synergistic effects



شکل ۸- تأثیر مس و آسکوربیک اسید بر سازگاری اسمزی برگ. مقادیر میانگین ۴ تکرار $\pm SE$ است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P < 0.05$ است.



شکل ۹- تأثیر مس و آسکوربیک اسید بر سهم اسمزی K^+ برگ. مقادیر میانگین ۴ تکرار $\pm SE$ است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P < 0.05$ است.

منابع

- on growth and some physiological responses of hassawi okra (*Hibiscus esculentus*) seedlings. *American Journal of Plant Physiology* 6(6): 269-282.
- Azzedine, F., Cherroucha, 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.
- Backer, M., Fahselt, D. and Wu, C. T. (2004) Free proline content is positively correlated with copper tolerance of the lichen photobiont *Trebouxia ericia* (Chlorophyta). *Plant Science* 167: 151-157.

- Baryla, A., Laborde, C., Montillet, J. L., Triantaphylides, C. and Chagvardieff, P. (2000) Evaluation of lipid peroxidation as a toxicity bioassay for plants exposed to copper. *Environmental Pollution* 109: 131-135.
- Bradr, A., Genet, P., Dunand, F., Toussaint, M., Epron, D. and Badot, P. (2003) Effect of copper on growth in cucumber plants and its relationships with carbohydrate accumulation and change in ion contents. *Plant Science* 166: 1213-1218.
- Chaparzadeh, N. and Zarandi-Miandoab, L. (2011) The effects of salinity on pigments content and growth of two canola (*Brassica napus*) cultivars. *Journal of Plant Biology* 3(9): 13-26 (in Persian).
- Chaparzadeh, N., Khavari-Nejad, R. A., Navari-Izzo, F. and Izzo, R. (2003) Water relations and ionic balance in *Calendula officinalis* L. under salinity conditions. *Agrochimica* 47(1/2): 69-79.
- Chen, C. T., Chen, L. M., Lin, C. C. and Kao, C. H. (2001) Regulation of proline accumulation in detached rice leaves exposed to excess copper. *Plant Science* 160: 283-290.
- Cui, X. M., Zhang, Y. K., Wu, X. B. and Liu, C. S. (2010) The investigation of the alleviated effect of copper toxicity by exogenous nitric oxide in tomato plants. *Plant, Soil and Environment* 56: 274-281.
- Davey, M., Managu, M., Dirk, I., Maite, S., Angelos, K., Smirnoff, N., Binenzir, I., Strain, J., Favell, D. and Fletcher, J. (2000) Plant ascorbic acid: chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. *Journal of Sciences of Food and Agriculture* 80: 825-850.
- Debolt, S., Melino, V. and Ford, C. (2007) Ascorbate as a biosynthetic precursor in plants. *Annals of Botany* 99: 3-8.
- Devi, R., Munjral, N., Gupta, A. K. and Kaur, N. (2007) Cadmium induced changes in carbohydrate status and enzymes of carbohydrate metabolism, glycolysis and pentose phosphate pathway in pea. *Environmental and Experimental Botany* 61: 67-174.
- El-Tayeb, M. and El-Enany, A. (2006) Salicylic acid-induced adaptive response to copper stress in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Plant Growth Regulation* 50: 191-199.
- Farahat, M. M., Ibrahim, M. M. S., Taha, L. S. and El-Quesni E. M. F. (2007) Response of vegetative growth and some chemical constituents of *Cupressus sempervirens* L. to foliar application of ascorbic acid and zinc at Nubaria. *World Journal of Agricultural Sciences* 3(3): 282-288.
- Farouk, S. (2011) Osmotic adjustment in wheat flag leaf in relation to flag leaf area and grain yield per plant. *Journal of Stress Physiology and Biochemistry* 7(2): 117-138.
- 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.
- Gorecka, K., Cvikrova, M., Kowalska, U., Eder, J., Ska, K., Gorecki, R. and Janas, K. M. (2007) The impact of Cu treatment on phenolic and polyamine levels in plant material regenerated from embryos obtained in anther culture of carrot. *Plant Physiology and Biochemistry* 45: 54-61.
- Groppa, M. D., Ianuzzo, M. P., Tamaro, M. L. and Benavides, M. P. (2007) Polyamine metabolism in sunflower plants under long-term cadmium or copper stress. *Amino Acids* 32: 265-275.
- Guo, Y., Sun, X. Z., Song, X. L., Wang, Q. C., Li, Y. J. and Chen, S. Y. (2006) Effects of potassium nutrition on growth and leaf physiological characteristics at seedling stage of cotton. *Plant Nutrition and Fertilizer Science* 12: 363-368 (in Chinese).
- Hansch, R. and Mendel, R. (2009) Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl). *Current Opinion in Plant Biology* 12: 259-266.

- Harding, V. J. and Maclean, R. M. (1916) The ninhydrin reaction with amines and amides. *Journal of Biological Chemistry* 25: 337-350.
- Hou, W., Chen, X., Song, G., Wang, Q. and Chang, C. (2007) Effects of copper and cadmium on heavy metal polluted waterbody restoration by duckweed (*Lemna minor*). *Plant Physiology and Biochemistry* 45: 62-69.
- Khafagy, M. A., Arafa, A. A. and El-Banna, M. F. (2009) Glycinebetaine and ascorbic acid can alleviate harmful effects of NaCl salinity in sweet pepper. *Australian Journal of Crop Science* 3: 257-267.
- Lichtenthaler, H. K. (1987) Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology* 148: 350-83.
- Manivasogaperumal, R., Vijayarengan, P., Balamurugan, S. and Thiyagarajan, G. (2011) Effect of copper on growth, dry matter yield and nutrient content of *Vigna radiata* L. wilczek. *Journal of Phytology* 3(3): 53-62.
- Mazen, A. (2004) Accumulation of four metals in tissue of *Corchorus olitorius* and possible mechanisms of their tolerance. *Biologia Plantarum* 48: 267-272.
- Morgan, J. M. (1984) Osmoregulation and water stress in higher plants. *Annual Review Plant Physiology* 35: 299-319.
- Mourato, M. P., Martins, L. L. and Campos-Andrada, M. P. (2009) Physiological responses of *Lupinus luteus* to different copper concentrations. *Biologia Plantarum* 53: 105-111.
- Muller-Moule, P., Conklin, P. and Niyogi, K. (2002) Ascorbate deficiency can limit Violaxanthin de-epoxidase activity in vivo. *Plant Physiology* 128: 970-977.
- Pandey, P. and Tripathi, A. K. (2011) Effect of heavy metals on morphological and biochemical characteristics of *Albizia procera* (Roxb.) Benth. seedlings. *International Journal of Environmental Sciences* 1(5): 1009-1018.
- Pettigrew, W. T. (2008) Potassium influences on yield and quality production for maize, wheat, soybean and cotton. *Physiologia Plantarum* 133: 670-681.
- Pohlmeier, A. (1999) Metal speciation, chelation and complexing ligands in plants In: *Heavy metal stress in plants: from molecules to ecosystems* (Eds. Prasad, M. N. V. and Hagemeyer, J.) 30-50. Springer Verlag, Berlin.
- Prasad, M. N. V. and Strzalka, K. (1999) Impact of heavy metals on photosynthesis In: *Heavy metal stress in plants: from molecules to ecosystems* (Eds. Prasad, M. N. V. and Hagemeyer, J.) 117-138. Springer Verlag, Berlin.
- Rauf, S. and Sadaqat, H. A. (2008) Identification of physiological traits and genotypes combined to high achene yield in sunflower (*Helianthus annuus* L.) under contrasting water regimes. *Australian Journal of Crop Science* 1(1): 23-30.
- Ross, D. (1991) The determination of sugar in blood and spinal fluid with anthrone reagent. *Journal of Biological Chemistry* 212: 335-346.
- Sanchez-Viveros, G., Gonzalez-Mendoza, D., Alarcon, A. and Ferrera-Cerrato, R. (2010) Copper effects on photosynthetic activity and membrane leakage of *Azolla filiculoides* and *A. caroliniana*. *International Journal of Agriculture and Biology* 12: 365-368.
- Schutzenduble, A. and Polle, A. (2002) Plant responses to abiotic stresses: heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhization. *Journal of Experimental Botany* 53(372): 1351-1365.
- Sharma, S. S. and Dietz, K. J. (2006) The significance of amino acids and amino acid-derived molecules in plant responses and adaptation to heavy metal stress. *Journal of Experimental Botany* 57: 711-726.

- Vamshi, N. S. K., Rao, K. N. V., David, B., Sandhya, S., Sudhakar, K., Saikuma, P., Shudha, P. and Chaitanya, R. K. (2010) A comprehensive review on *Allium cepa*. Journal of Advanced Pharmaceutical Research 1(2): 94-100.
- Veljovic-Jovanovic, S. D., Pignocchi, C., Noctor, G. and Foyer, C. H. (2001) Low ascorbic acid in the vtc-1 mutant of Arabidopsis is associated with decreased growth and intracellular redistribution of the antioxidant system. Plant Physiology 127: 426-435.
- Wu, F. B., Chen, F., Wei, K. and Zhang, G. P. (2004) Effect of cadmium on free amino acid, glutathione and ascorbic acid concentrations in two barley genotypes (*Hordeum vulgare* L.) differing in cadmium tolerance. Chemosphere 57: 447-454.
- Xiong, Z. T., Liu, C. and Geng, B. (2006) Phytotoxic effects of copper on nitrogen metabolism and plant growth in *Brassica pekinensis* Rupr. Ecotoxicology and Environmental Safety 64: 273-280.
- 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.
- Yruela, I. (2009) Copper in plants: acquisition, transport and interactions. Functional Plant Biology 36: 409-430.
- Zengin, F. K. and Kirbag, S. (2007) Effects of copper on chlorophyll, proline, protein and abscisic acid level of sunflower (*Helianthus annuus* L.) seedlings. Journal of Environmental Biology 28: 561-566.
- Zhang, S., Weng, J., Pan, J., Tu, T., Yao, S. and Xu, C. H. (2003) Study on the photogeneration of superoxide radicals in photosystem II with EPR spin trapping techniques. Photosynthesis Research 75: 41-48.

Interactive effects of copper and ascorbic acid on some physiological characters in *Allium cepa* L.

Minayeh Ghodrati ¹, Nader Chaparzadeh ^{1*} and Kamal-ol-ddin Dilmaghani ²

¹ Halophyts Biotechnology Center, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran

² Department of Plant Biology, Islamic Azad University, Marand Branch, Marand, Iran

Abstract

Ascorbic acid as a water soluble antioxidant molecule, participates in many physiological processes such as resistance to environmental stresses. To evaluate the effects of copper stress (6.5 μ M) and application of ascorbic acid through rooting medium (0.5 mM) on some physiological characters of onion plants (*Allium cepa* L. cv. Red Azarshahr), a completely randomized design with four replications was conducted. Results showed that excess Cu reduced the dry weight of roots and leaves, as well as content of photosynthetic pigments and K⁺ of seven-week-old plants. Exogenous ascorbic acid significantly improved dry weight of roots and leaves with increasing content of K⁺ and photosynthetic pigments in both the non-stressed and Cu-stressed plants. Cu stress led to accumulation of free amino acids and soluble sugars in roots and leaves. Treatment with exogenous ascorbic acid considerably reduced the contents of these compounds in both non-stressed and Cu-stressed plants. There was considerable reduction in osmotic potential at full turgor and significant increase in osmotic adjustment in leaves of Cu-stressed plants. Application of exogenous ascorbic acid had no effect on osmotic potential at full turgor, but significantly increased osmotic adjustment. In leaves of Cu-stressed plants K⁺ was the minor contributor to osmotic potential at full turgor. Also, by adding ascorbic acid, K⁺ contribution was increased in leaves of non-stressed and Cu-stressed plants. Results of the present study indicated that usage of exogenous ascorbic acid reduced harmful effects of copper stress and increased resistance to copper stress in onion plants.

Key words: Ascorbic acid, Onion (*Allium cepa* L.), Osmotic adjustment, Copper

* Corresponding Author: nchapar@azaruniv.ac.ir