

# اثر ویتامین E (آلفا توکوفرول) بر برخی از شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه تنباکو (*Nicotiana rustica* L.) تحت تنش شوری در کشت در شیشه

عرفانه شفیعیون<sup>۱</sup>، علی اکبر احسان پور\*<sup>۲</sup>

تاریخ دریافت: ۹۵/۸/۲

تاریخ تصویب: ۹۷/۲/۹

## چکیده

توکوفرول‌ها که تحت عنوان ویتامین E شناخته می‌شوند، مولکول‌های آمفی‌پاتیکی هستند که به عنوان آنتی‌اکسیدان قادر به حذف گونه‌های فعال اکسیژن می‌باشند. در این پژوهش، گیاه تنباکو به مدت چهار هفته در محیط MS حاوی غلظت‌های صفر، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار NaCl به همراه غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر ویتامین E رشد داده شد و سپس شاخص‌های رشد از جمله وزن تر و خشک، میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی، شامل کلروفیل a، b، کلروفیل کل، کاروتنوئیدها، غلظت‌های سدیم و پتاسیم، میزان پرولین، ترکیبات فنلی، قند محلول، آنتوسیانین و پروتئین کل، مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که افزایش غلظت آلفاتوکوفرول سبب افزایش معنی‌دار وزن تر و خشک گیاه و افزایش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی و نیز پتاسیم و کاهش سدیم گردیده است. علاوه بر این، تیمار آلفاتوکوفرول سبب افزایش میزان پرولین، ترکیبات فنلی، قند محلول و آلفاتوکوفرول داخلی گیاه در تنش شوری شد. همچنین میزان پروتئین گیاه فقط توسط بالاترین غلظت آلفاتوکوفرول افزایش یافت. به نظر می‌رسد تیمار ویتامین E با تغییر برخی از شاخص‌های فیزیولوژیکی منجر به افزایش تحمل به شوری گیاه تنباکو گردیده است.

**واژه‌های کلیدی:** آلفاتوکوفرول، تنش شوری، شاخص‌های رشد، گیاه تنباکو

## مقدمه

تنش شوری یکی از مهم‌ترین عوامل محیطی است که رشد و تولید گیاهان را محدود می‌کند. شوری با منفی‌تر کردن پتانسیل اسمزی محلول خاک موجب القای تنش آبی می‌شود (Mahajan & Tuteja 2005). تنش شوری همچنین با افزایش غلظت یون‌های سمی درون پیکر گیاه منجر به کاهش رشد و تولید گیاه می‌گردد (Parida & Das 2005). از آنجایی که مقادیر بالای یون‌های سمی  $Na^+$  و  $Cl^-$ ، به‌ویژه در سیتوزول، بازدارنده بسیاری از فرایندهای متابولیکی سلولی است، از این رو این یون‌ها در واکنش‌ها انبار می‌شوند (Blumwald et al. 2000). تولید گونه‌های فعال اکسیژن، تغییر در متابولیسم نیتروژن و کربن، ناپایداری و تخریب غشاهای سلولی، سمیت متابولیکی، ممانعت از فتوسنتز و کاهش جذب مواد غذایی از عواملی هستند که به رویدادهای نامطلوب در گیاه می‌انجامند (Hasegawa et al. 2000).

گیاهان ترکیبات اساسی و مؤثری تولید می‌کنند که نه فقط اعمال حیاتی را در سلول‌های گیاه انجام می‌دهند، بلکه مواد

۱- کارشناسی ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان

۲- استاد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان

(نویسنده مسئول: ehsanpou@sci.ui.ac.ir)

غذایی ضروری و سودمند برای انسان‌ها به شمار می‌آیند (Schneider 2005). یک دسته از این ترکیبات ویتامین E است که یک آنتی‌اکسیدان محلول در چربی می‌باشد (Vidi *et al.* 2006؛ Matringe *et al.* 2008). هشت دسته از توکوکرومانول‌ها وجود دارند که شامل توکوفرول‌ها و توکوترینول‌ها و از نظر ساختمانی تحت عنوان ویتامین E مطرح هستند (Grusak & DellaPenna 1999؛ Schneider 2005). سنتز این گروه از ویتامین‌ها به موجودات فتوسنتزکننده، شامل گیاهان، جلبک‌ها و بعضی سیانوباکتری‌ها، محدود می‌شود (Horvath *et al.* 2006؛ Dasilva & Jensen 1971) و در پلاستید یا در غشای تیلاکوئید قرار دارند. توکوفرول‌ها شامل یک حلقه کرومانول قطبی و یک زنجیره ۱۵ کربنی پرینیل چربی دوست مشتق شده از هموجنتیسیک اسید و فیتیل‌دی‌فسفات است (Grusak & DellaPenna 1999). توکوفرول‌ها به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های مهم قادر به حذف ROS (Reactive Oxygen Species) و رادیکال‌های لیپید پیروکسیل در محیط چربی‌دوست هستند (Foyer & Noctor 2003, 2005؛ Soll & Schultz 1979). اولین عملکرد توکوفرول در گیاهان، حفاظت دستگاه فتوسنتزی از آسیب فتواکسیداتیو است (Foyer 1992). نقش دیگر این ویتامین نیز حفاظت اسیدهای چرب غیراشباع از پراکسیداسیون لیپید در غشای کلروپلاست می‌باشد (Shao *et al.* 2008, Hugly & Somerville 1992). سطح توکوفرول‌ها با شدت تنش، حالت فیزیولوژیکی گیاه و حساسیت گونه‌ها نسبت به تنش‌ها ارتباط دارد (Munne-Bosch 2005).

غلظت بالای شوری خاک باعث به هم خوردن هم‌مستازی یونی در سلول شده که سمیت یون و تنش اسمزی ناشی از آن باعث افزایش ROS (Reactive Oxygen Species) می‌شود. در بیشتر مطالعات نشان داده شده است که برای خنثی کردن ROS که در نتیجه تنش شوری تولید شده‌اند، افزایش تولید آنتی‌اکسیدان‌ها صورت می‌گیرد (Ashraf 2009). به عنوان مثال، افزایش سطح آلفاتوکوفرول در رقم‌های مقاوم به شوری پنبه نسبت به ارقام حساس به‌طور چشمگیری دیده شده است (Gossett *et al.* 1994). مطالعات بیوشیمیایی نشان داده است که در گیاهان تحت تنش، تعدادی از ترکیبات آلی (اسمولیت‌ها) تجمع می‌یابد. این ترکیبات، تداخلی در فرایندهای شیمیایی گیاه وارد ایجاد نمی‌کنند. از این ترکیبات می‌توان به انواعی از کربوهیدرات‌های محلول (مانیتول، ساکارز، رافینوز و اولیگوساکارید) و ترکیبات نیتروژنه (پرولین و گلیسین-بتائین) اشاره کرد. اسمولیت‌ها نقش مهمی در بهبود تنظیم اسمزی در گیاهان تحت تنش دارند (Good & Zaplachinski 1994). تجمع این ترکیبات در غلظت‌های بالا سمیتی برای فعالیت‌های سیتوپلاسم گیاهان ندارد و سبب حفظ فشار آماس سلول و ساختار ماکرومولکول‌ها در هنگام کاهش آب سلول می‌شوند. در این بین تغییر در میزان کربوهیدرات‌ها از اهمیت زیادی برخوردار است؛ چراکه این ترکیبات رابطه مستقیمی با فرایند فیزیولوژیکی گیاه همچون فتوسنتز و تنفس دارند (Fedina & Popova 1996). از آنجایی که تغییرات شاخص‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی در نتیجه به‌کارگیری ویتامین E در شرایط کشت در شیشه تاکنون گزارش نشده و اطلاعات منتشر شده در این زمینه بسیار محدود است، هدف این مطالعه بررسی عکس‌العمل بیوشیمیایی و

فیزیولوژیکی گیاه تنباکو به عنوان یک گیاه مدل نسبت به به کارگیری این ویتامین در محیط کشت گیاه تحت تنش شوری می باشد.

## مواد و روش ها

در این تحقیق بذرهای گیاه تنباکو (*Nicotiana rustica*) به مدت ۳۰ ثانیه در اتانول ۷۰ درصد و سپس به مدت ۱۵ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم با غلظت ۱۰ درصد حجمی قرار داده شد. سپس بذرها در شرایط کاملاً استریل سه تا چهار بار با آب مقطر استریل شستشو و پس از خشک شدن، بذرهای استریل در شیشه های حاوی ۴۰ میلی لیتر محیط کشت MS منتقل گردید. سپس شیشه های کشت به اتاق کشت با فتوپرود ۱۶ ساعت روشنایی (حدود  $44 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) و هشت ساعت تاریکی و دمای  $25-23^\circ \text{C}$  نگهداری شد. بعد از جوانه زنی، گیاهچه های یک هفته ای ابتدا در محلول ویتامین E با غلظت های، صفر، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم در لیتر آغشته و سپس به محیط کشت های حاوی غلظت صفر، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی مولار نمک (NaCl) منتقل و پس از چهار هفته شاخص های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهان تیمار شده بررسی گردید.

**اندازه گیری شاخص های رشد:** گیاهچه های تیمار شده از محیط کشت خارج و سپس وزن تر و خشک آنها اندازه گیری شد.

**استخراج و سنجش رنگیزه های فتوسنتزی:** ۱۰۰ میلی گرم از بافت تر برگ از هر تیمار وزن شد و سپس با استفاده از پنج میلی لیتر استون ۸۰ درصد حجمی در محیطی تاریک و درروی یخ درون هاون چینی ساییده شد تا در نهایت محلولی همگن به دست آمد. سپس عصاره به دست آمده توسط قیف و کاغذ صافی درون بالن ژوژه ۱۰ میلی لیتری صاف و حجم محلول به کمک استون ۸۰ درصد به ۱۰ میلی لیتر رسانده شد. سپس جذب محلول به دست آمده به کمک اسپکتروفوتومتر مدل AE-UV1600 در طول موج های ۶۶۳ و ۶۴۶ و ۴۷۰ نانومتر و میزان کلروفیل a و کلروفیل b و کلروفیل کل بر اساس روش (1987) Lichtenthaler اندازه گیری شد.

$$\text{chl a (mg/g)} = [12.21(A_{663}) - 2.81(A_{646})] \times \frac{V}{1000} \times \frac{1}{W}$$

$$\text{chl b (mg/g)} = [20.13(A_{646}) - 5.03(A_{663})] \times \frac{V}{1000} \times \frac{1}{W}$$

$$\text{Total chl (mg/g)} = \text{chl a} + \text{chl b}$$

$$\text{Car (mg/g)} = \frac{1000A_{470} - 3.27\text{chl a} - 104\text{chl b}}{229}$$

A = میزان جذب نوری عصاره

V = حجم نهایی عصاره بر حسب میلی لیتر

W = وزن بافت تر بر حسب گرم

**اندازه‌گیری آنتوسیانین:** سنجش آنتوسیانین با استفاده از روش Wagner (1979) انجام گرفت. برای این کار ۱۰۰ میلی‌گرم بافت برگ از هر تیمار وزن شد و با استفاده از ۱۰ میلی‌لیتر متانول اسیدی (متانول خالص و اسید کلریدریک به نسبت حجمی ۹۹:۱) درون هاون چینی همگن گردید. عصاره حاصل به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. پس از آن عصاره به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۰۰۰ rpm سانتریفیوژ گردید و جذب محلول رویی در ۵۵۰ نانومتر خوانده شد. غلظت آنتوسیانین هر نمونه بر اساس معادله ذیل محاسبه و گزارش شد.

$$(g) \text{ وزن بافت} \times 1 \times (mL \text{ حجم عصاره}) \times (OD_{530} - 0.25 OD_{657})$$

### استخراج قند از بافت‌های گیاهی

برای استخراج قند، مقدار ۱۰ میلی‌گرم بافت خشک به تعداد سه تکرار در هر تیمار توزین گردید و با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر گرم در هاون ساییده و سپس با کمک کاغذ صافی صاف گردید.

**اندازه‌گیری کربوهیدرات محلول:** دو میلی‌لیتر از عصاره گیاهی استخراج شده را با ۵۰ میکرولیتر ترکیبات فنلی ۸۰ درصد وزنی (حل شده در آب مقطر) مخلوط و سپس پنج میلی‌لیتر اسیدسولفوریک غلیظ به آن اضافه شد. این مخلوط به مدت ۳۰ دقیقه در محیط نگهداری و سپس جذب محلول در ۴۹۰ نانومتر خوانده شد (Dubois et al. 1956). مقدار کربوهیدرات محلول با کمک منحنی استاندارد حاصل از گلوکز بر حسب میلی‌گرم بر گرم بافت گیاهی گزارش شد.

**سنجش پرولین:** برای اندازه‌گیری پرولین از روش (Bates et al. 1973) استفاده شد. ابتدا ۴۰۰ میلی‌گرم از بافت تر برگ و ریشه گیاهان به تعداد سه تکرار در هر غلظت وزن گردید. هر نمونه با ۱/۷ میلی‌لیتر اسیدسولفوسالسیلیک سه درصد (w/v) به خوبی ساییده شد تا به طور کامل همگن گردید. عصاره‌های حاصل به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۴۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شد. در مرحله بعدی یک میلی‌لیتر از محلول رویی برداشته شد و به داخل لوله‌های آزمایش ۱۰ میلی‌لیتری انتقال یافت. سپس یک میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال و یک میلی‌لیتر معرف نین هیدرین به هر لوله اضافه شد. درب هر لوله با فویل آلومینیومی محکم بسته شد و لوله‌ها به مدت یک ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد داخل بن ماری حرارت داده شدند. در اثر حرارت واکنش بین نین هیدرین و پرولین انجام یافت و ترکیب رنگی بین صورتی تا قرمز شکل گرفت. پس از خارج نمودن لوله‌ها از بن ماری و سرد شدن در زیر هود، به طور دقیق به هر لوله دو میلی‌لیتر تولوئن اضافه شد. با افزودن تولوئن (به دلیل سبک بودن آن نسبت به محلول آبی درون لوله) محلول رنگی آبی در زیر و تولوئن بی‌رنگ شفاف در بالا قرار گرفت. لوله‌ها به مدت ۲۰ ثانیه به شدت مخلوط و سپس به مدت یک ساعت در شرایط آزمایشگاهی به صورت ثابت قرار داده شد. پس از ورتکس، ترکیب رنگی در تماس با فاز آلی قرار گرفته و پس از یک ساعت از ورتکس نمونه‌ها، دو فاز آلی (صورتی در بالا) و آبی (بی‌رنگ و شفاف

در پایین) تشکیل شد. فاز آلی به منظور رنگ‌سنجی استفاده گردید. برای اندازه‌گیری، ابتدا دستگاه اسپکتروفتومتر توسط تولوئن و در طول موج ۵۲۰ نانومتر روی صفر تنظیم و سپس از هر لوله یک میلی‌لیتر از فاز بالایی برداشته و داخل کووت شیشه‌ای ریخته شد. جذب ترکیب رنگی هر نمونه در طول موج ۵۲۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل AE-UV1600 خوانده شد.

**اندازه‌گیری سدیم و پتاسیم:** به منظور اندازه‌گیری سدیم و پتاسیم، از روش تغییر یافته Wet ashing (رفرنس ندارد) استفاده شد. میزان ۱۰ میلی‌گرم از پودر خشک نمونه‌ها داخل لوله‌های آزمایش جداگانه ریخته و ۱۰ میلی‌لیتر محلول سولفوسالیسیلیک اسید سه درصد به هر کدام اضافه گردید. درب لوله‌ها محکم با فویل یا پارافیلیم بسته و نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت درون یخچال در دمای چهار درجه انکوبه شد. پس از ۲۴ ساعت نمونه‌ها از یخچال خارج و با کاغذ واتمن شماره ۴۲ صاف گردید. درب محلول‌های صاف‌شده برای جلوگیری از تبخیر با فویل یا پارافیلیم بسته و برای اندازه‌گیری سدیم و پتاسیم آماده شدند. منحنی استاندارد با استفاده از غلظت‌های مشخص سدیم و پتاسیم تهیه شد. پس از آماده‌سازی محلول‌های استاندارد، غلظت نمونه‌ها به کمک دستگاه شعله‌سنج مدل Halstead, Essex-corning 410 اندازه‌گیری و مقدار سدیم و پتاسیم برحسب میلی‌مول در گرم بافت خشک گزارش گردید.

**اندازه‌گیری ترکیبات فنلی:** اندازه‌گیری ترکیبات فنلی کل بر اساس روش (Singleton *et al.* 1999) انجام گرفت. در این روش ابتدا ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت‌های تر برگ گیاهان از هر تیمار درون هاون چینی توسط متانول ۸۰ درصد ساییده شدند. سپس همه نمونه‌ها به حجم ۱۰ میلی‌لیتر با متانول ۸۰ درصد رسانده شدند. پس از استخراج، نمونه‌ها به مدت ۴۵ دقیقه در دمای آزمایشگاه نگهداری شد. محلول همگن حاصل در ۴۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید و از محلول رویی برای تعیین محتوای ترکیبات فنلی کل استفاده شد. برای اندازه‌گیری محتوای ترکیبات فنلی کل ابتدا ۵۰۰ میکرولیتر از محلول رویی سانتریفیوژ شده را درون لوله‌های آزمایش ریخته، سپس ۱/۵ میلی‌لیتر از فولین سیوکالتو (v/v) ۱۰ درصد و یک میلی‌لیتر  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  ۷/۵ (w/v) به لوله آزمایش حاوی عصاره اضافه و ورتکس گردید که در این مرحله نمونه‌ها آبی‌رنگ شدند و در نهایت جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل AE-UV1600 خوانده شد.

**سنجش پروتئین کل:** اندازه‌گیری پروتئین کل طبق روش برادفورد (Bradford 1976) انجام گرفت. از BSA (آلبومین سرم گاوی) با وزن مولکولی ۶۶/۲ کیلوالتون به عنوان پروتئین استاندارد استفاده گردید. ۱۰ میلی‌گرم از پودر BSA در ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل و محلول استاندارد (μg/ml) تهیه شد. محدوده غلظت‌های استاندارد بین یک تا ۳۰ میکروگرم در یک میل لیتر انتخاب شد و اندازه‌گیری جذب هر نمونه با استفاده از کووت شیشه‌ای انجام یافت.

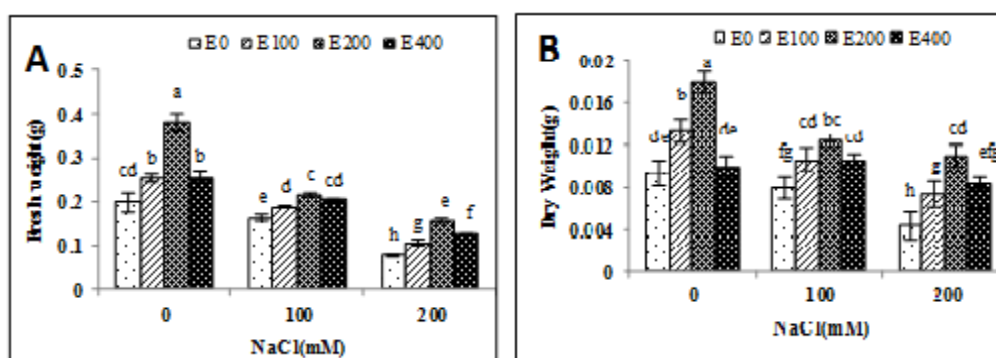
## آنالیز آماری داده‌ها

کلیه آزمایشات با حداقل سه تکرار و آنالیز واریانس داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS انجام گرفت. مقایسه میانگین داده‌ها بر اساس آزمون Duncan انجام و سطوح معنی‌داری تیمارها در سطح  $p \leq 0.05$  محاسبه گردید.

## نتایج و بحث

### اثر آلفاتوکوفرول بر وزن تر و خشک گیاه

چنانچه در (شکل ۱) نشان داده شده است، اندازه وزن تر و خشک گیاه در سطح شوری ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار به ترتیب ۰،۱۶۳ و ۰،۰۷۶ گرم و نیز وزن خشک در همین سطح شوری ۰،۰۰۸ و ۰،۰۰۴ گرم شد. به این ترتیب، نتیجه گرفته می‌شود که با افزایش غلظت نمک وزن تر و خشک گیاه نسبت به گیاه شاهد (بدون تیمار شوری و آلفاتوکوفرول) کاهش می‌یابد. تیمار آلفاتوکوفرول سبب افزایش وزن تر و خشک گیاه در شرایط تنش شوری نسبت به تنش شوری بدون تیمار شد که بیشترین وزن تر و خشک را در سطح ۱۰۰ میلی‌مولار با تیمار ۴۰۰ میلی‌گرم ویتامین E مشاهده شد؛ به طوری که وزن تر گیاه ۰،۲۰۳ گرم و خشک ۰،۰۱ گرم گردید که این مقدار حتی نسبت به گیاه شاهد در همین سطح شوری بدون ویتامین افزایش چشمگیری داشت. در شرایط بدون تنش هر سه غلظت ویتامین سبب افزایش معنادار وزن تر و خشک گیاه نسبت به گیاه شاهد شدند که بیشترین میزان وزن تر و خشک با اضافه کردن ۲۰۰ میلی‌گرم ویتامین بود که وزن تر و خشک به ترتیب ۰،۳۸۱ و ۰،۰۱۸ گرم بود.

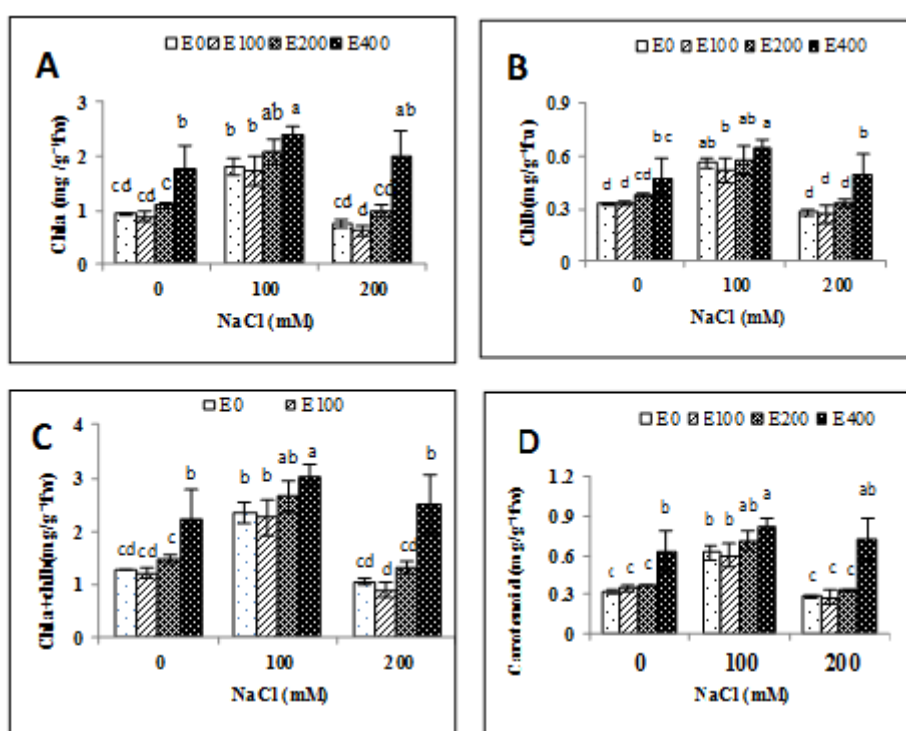


شکل ۱: اثر آلفاتوکوفرول بر وزن تر (A) و خشک (B). داده‌ها میانگین سه تکرار انحراف معیار و حروف غیرمشترک بیانگر معنی‌دار بودن  $p \leq 0.05$  بر اساس آزمون دانکن می‌باشد.

### اثر آلفاتوکوفرول بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی

میزان رنگیزه‌های کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید در گیاه شاهد به ترتیب ۰،۹۴۰، ۰،۳۲۶، ۱،۲۶۶ و ۰،۳۱۸

میلی گرم بر گرم وزن تر شد. تیمار الفاتوکوفرول در غلظت ۴۰۰ میلی گرم در لیتر در شرایط بدون تنش شوری میزان رنگیزه‌های کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید را به ترتیب ۱،۷۵، ۰،۴۷۴، ۲،۲۲۷ و ۰،۶۳۰ میلی گرم در لیتر نسبت به گیاه شاهد افزایش داد. همچنین نتایج نشان داد در شرایط بدون تنش تیمار الفاتوکوفرول در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر تغییری در میزان رنگیزه‌ها ایجاد نکرد. در هردو سطح شوری، تیمار الفاتوکوفرول در غلظت ۴۰۰ میلی گرم بر لیتر باعث افزایش معنادار رنگیزه‌های فتوسنتزی هم نسبت به گیاه شاهد و هم گیاهان رشدیافته در سطوح شوری بدون تیمار الفاتوکوفرول گردید.

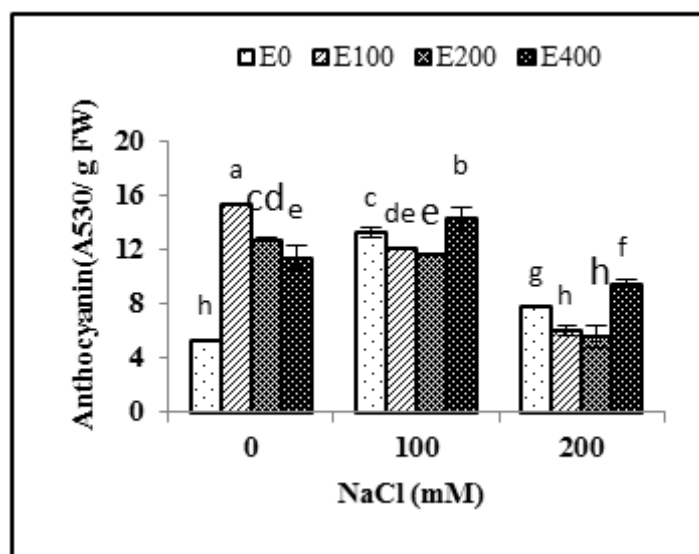


شکل ۲: اثر غلظت‌های مختلف تیمار الفاتوکوفرول روی کلروفیل a (A)، کلروفیل b (B)، کلروفیل کل (C) و کاروتنوئید (D). داده‌ها میانگین سه تکرار انحراف معیار و حروف غیرمشترک بیانگر معنی‌دار بودن  $p \leq 0.05$  بر اساس آزمون دانکن می‌باشد.

### اثر الفاتوکوفرول بر میزان آنتوسیانین

همان‌طور که در (شکل ۳) نشان داده شده است، میزان آنتوسیانین در گیاهان رشدیافته در دو سطح ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی مولار نمک بدون الفاتوکوفرول در جذب ۵۳۰ نانومتر به ترتیب ۷،۸۷۹ و ۱۳،۳۱۶ و در گیاهان شاهد ۵،۳۵ مشاهده شد که افزایش معنی‌داری را نشان داد. این افزایش در میزان آنتوسیانین در سطح ۱۰۰ میلی مولار نمک نسبت به سطح ۲۰۰ میلی مولار بیشتر بود. همچنین در گیاهان تحت تنش شوری در دو سطح ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی مولار، تیمار الفاتوکوفرول در دو غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر میزان آنتوسیانین گیاه را به‌طور معنی‌داری کاهش داد؛ در حالی که غلظت ۴۰۰ میلی گرم بر لیتر در دو سطح

شوری ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی مولار به ترتیب ۹،۵۲۵ و ۱۴،۳۰۴ و بیانگر افزایش معنی‌دار آنتوسیانین نسبت به گیاهان بدون تیمار ویتامین تحت تنش شوری شد. علاوه بر این، مقایسه میزان آنتوسیانین گیاه پیش‌تیمار شده با توکوفرول در هر سه غلظت ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر با گیاه شاهد در شرایط بدون تنش افزایش معنی‌دار این رنگیزه را نشان داد؛ به‌طوری‌که بیشترین افزایش در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم آلفاتوکوفرول جذب ۱۵،۴۰۸ را نشان داد.

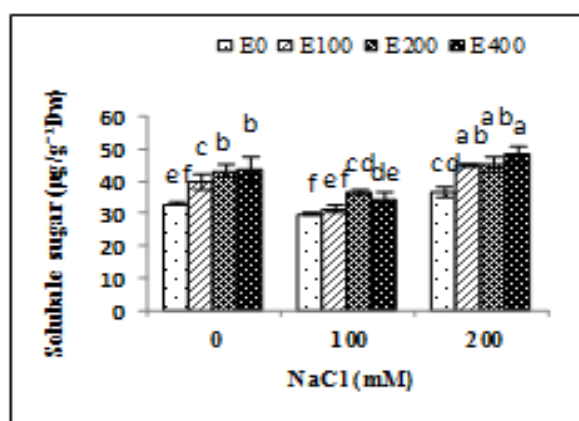


شکل ۳: اثر غلظت‌های مختلف تیمار آلفاتوکوفرول بر آنتوسیانین. داده‌ها میانگین سه تکرار انحراف معیار و حروف غیرمشترک بیانگر معنی‌دار بودن  $p \leq 0.05$  بر اساس آزمون دانکن می‌باشد.

#### اثر آلفاتوکوفرول بر میزان قند محلول

نتایج به‌دست آمده نشان داد، با افزایش غلظت تیمار آلفاتوکوفرول، میزان قند محلول در گیاهان تحت تیمار ویتامین به‌ویژه در غلظت‌های بالا نسبت به گیاه شاهد افزایش معنی‌داری بود که این میزان به‌ترتیب در غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر آلفاتوکوفرول به‌ترتیب ۳۹،۸۴۷، ۴۳،۱۰۵ و ۴۳،۸۱۱  $\mu\text{g/g}^{-1}\text{Dw}$  بود. تنش شوری در سطح ۲۰۰ میلی‌مولار نمک ( $\mu\text{g}$ ) ۳۶،۵۵۸ فقط میزان قند محلول را نسبت به گیاه شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش داد. ولی در غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار نمک ( $\mu\text{g}$ ) ۲۹،۹۰۲ تغییر معنی‌داری مشاهده نگردید. به‌استثنای غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر ویتامین در سطح ۱۰۰ میلی‌مولار نمک ( $\mu\text{g}$ ) ۳۱،۵۵۲، تیمارهای آلفاتوکوفرول در گیاهان رشدیافته در هر دو سطح شوری باعث افزایش معنی‌دار میزان قند محلول نسبت به گیاهان بدون توکوفرول تحت تنش شوری گردید که در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم توکوفرول میزان قند کل ۳۶،۷۷۵ و در غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم، ۳۴،۱۱۵ میکروگرم بر گرم وزن خشک مشاهده شد (شکل ۴).

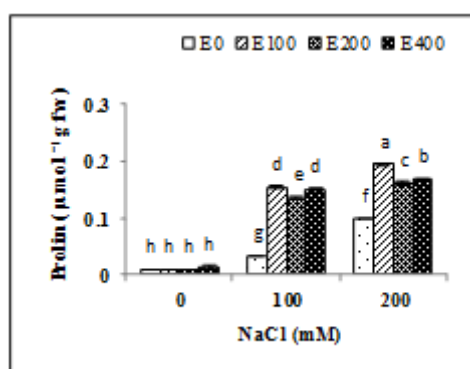




شکل ۴: اثر غلظت‌های مختلف تیمار آلفاتوکوفرول بر قند محلول. داده‌ها میانگین سه تکرار انحراف معیار و حروف غیرمشترک بیانگر معنی‌دار بودن  $p \leq 0.05$  بر اساس آزمون دانکن می‌باشد.

#### اثر آلفاتوکوفرول بر میزان پرولین

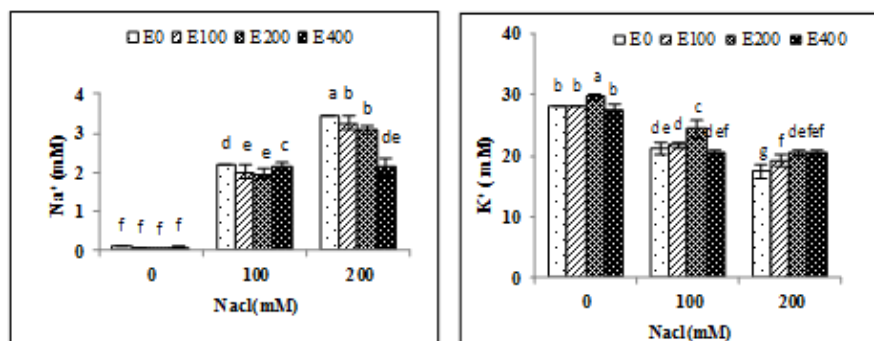
با توجه به (شکل ۵)، با افزایش غلظت نمک، مقدار پرولین نسبت به گیاه شاهد ( $0.008 \mu\text{mol}$ ) به‌طور معنی‌داری افزایش نشان داد. میزان پرولین در شوری باغلظت کم،  $0.033 \mu\text{mol}$  و در غلظت شوری غلظت بالا  $0.098 \mu\text{mol prolin}$  بود. تیمارهای آلفاتوکوفرول در شرایط بدون تنش در هر سه غلظت تغییری در میزان پرولین نسبت به شاهد ایجاد نکرد، ولی در دو سطح ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار نمک موجب افزایش معنی‌داری مقدار پرولین نسبت به گیاهان بدون تیمار گردید. در شوری ۲۰۰ میلی‌مولار حداکثر افزایش مقدار پرولین در تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر ویتامین ( $0.194 \mu\text{mol}$ ) و در شوری ۱۰۰ میلی‌مولار حداکثر افزایش در غلظت‌های ۱۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر ویتامین مشاهده گردید.



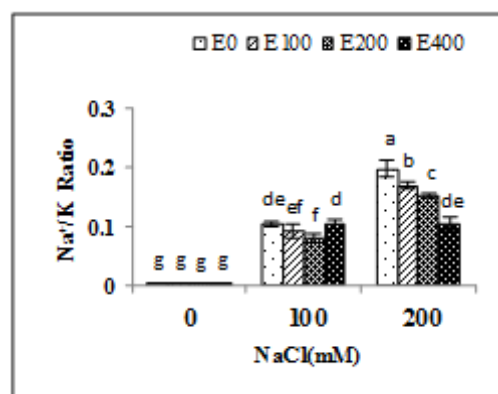
شکل ۵: اثر غلظت‌های مختلف تیمار آلفاتوکوفرول روی پرولین. داده‌ها میانگین سه تکرار انحراف معیار و حروف غیرمشترک بیانگر معنی‌دار بودن  $p \leq 0.05$  بر اساس آزمون دانکن می‌باشد.

## اثر آلفا توکوفرول بر میزان سدیم و پتاسیم

اندازه‌گیری سدیم و پتاسیم نشان داد که با افزایش غلظت نمک، میزان سدیم و نسبت سدیم به پتاسیم گیاه افزایش و مقدار پتاسیم کاهش پیدا کرده است. میزان سدیم و پتاسیم و همچنین نسبت سدیم به پتاسیم در گیاه شاهد به ترتیب ۰,۱۱۰، ۲۸,۱۰۱ و ۰,۰۰۳ میلی‌مولار مشاهده گردید. تیمار غلظت‌های مختلف آلفا توکوفرول در گیاهان بدون تنش شوری، تغییری در میزان سدیم، پتاسیم و نسبت سدیم به پتاسیم گیاه نداشت؛ به جز اینکه در ۲۰۰ میلی‌گرم میزان پتاسیم در این شرایط نسبت به شاهد افزایش یافت. در شوری ۱۰۰ میلی‌مولار فقط غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم ویتامین میزان پتاسیم را به طور معنی‌دار افزایش داد (۱۹,۰۶۸ میلی‌مولار)؛ در حالی که کاهش میزان سدیم و نسبت سدیم به پتاسیم (شکل ۷) در همه غلظت‌های توکوفرول دیده شد. همچنین تأثیر مثبت تیمار ویتامین در کاهش مقدار سدیم و نسبت سدیم به پتاسیم و همچنین افزایش پتاسیم در همه غلظت‌های ویتامین تحت تنش شوری ۲۰۰ میلی‌مولار مشاهده گردید؛ به طوری که غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم ویتامین ۲۰,۴۰۶ میلی‌مولار بود که بیشترین تأثیر را در این شرایط داشت (شکل ۶).



شکل ۶: اثر غلظت‌های مختلف تیمار آلفا توکوفرول (۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) و شوری (۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار) روی سدیم و پتاسیم. داده‌ها میانگین سه تکرار انحراف معیار و حروف غیرمشترک بیانگر معنی‌دار بودن  $p \leq 0.05$  بر اساس آزمون دانکن می‌باشد.

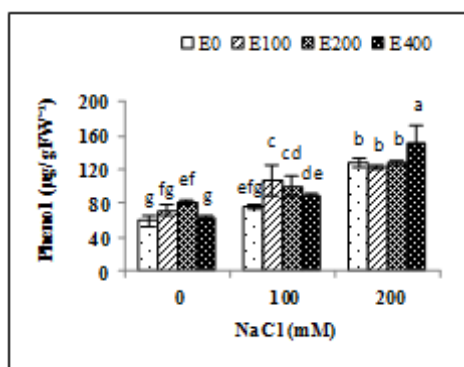


شکل ۷: اثر غلظت‌های مختلف تیمار آلفا توکوفرول بر نسبت سدیم به پتاسیم. داده‌ها میانگین سه تکرار انحراف معیار

و حروف غیرمشترک بیانگر معنی دار بودن  $p \leq 0.05$  بر اساس آزمون دانکن می باشد.

### اثر آلفاتوکوفرول بر میزان ترکیبات فنلی کل

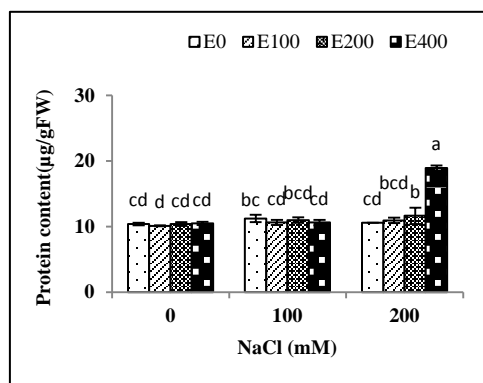
نتایج نشانگر این است که با افزایش غلظت نمک از صفر تا ۲۰۰ میلی مولار، میزان ترکیبات فنلی کل نسبت به گیاه شاهد ( $60,144 \mu\text{g/gFW}^{-1}$ ) افزایش پیدا کرد. در شرایط بدون تنش و همچنین شوری ۱۰۰ میلی مولار، آلفاتوکوفرول در غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر باعث افزایش معنی دار ترکیبات ترکیبات فنلی کل گردید (شکل ۸)، ولی غلظت ۴۰۰ میلی گرم بر لیتر تأثیری در میزان ترکیبات ترکیبات فنلی کل نداشت که میزان ترکیبات فنل کل در تنش ۱۰۰ میلی مولار نمک و ویتامین ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم به ترتیب مقدار ۱۰۰ و ۱۰۶٫۶۶ میکروگرم بود. همچنین تحت تنش ۲۰۰ میلی مولار نمک فقط غلظت ۴۰۰ میلی گرم بر لیتر آلفاتوکوفرول باعث افزایش معنی دار ترکیبات ترکیبات فنلی کل گردید که میزان پرولین  $\mu\text{g/gFW}^{-1}$  ۱۵۰٫۸۶۹ گزارش گردید.



شکل ۸: اثر غلظت های مختلف تیمار آلفاتوکوفرول بر ترکیبات ترکیبات فنلی کل. داده ها میانگین سه تکرار انحراف معیار و حروف غیرمشترک بیانگر معنی دار بودن  $p \leq 0.05$  بر اساس آزمون دانکن می باشد.

### اثر آلفاتوکوفرول بر میزان پروتئین کل

اثر تیمار توکوفرول و تنش شوری بر میزان پروتئین محلول گیاه در (شکل ۹) نشان داده شده است. اندازه پروتئین کل در گیاه شاهد  $10,393 \text{ mg/gFW}$  بود. چنانچه نتایج نشان می دهد، میزان پروتئین محلول گیاه تحت تیمار شوری تغییر معنی داری نشان نداد. همچنین در شرایط بدون تنش، تیمار ویتامین میزان پروتئین محلول را تغییر نداد. تنها اثر افزایشی معنی دار در اثر تیمار ویتامین در غلظت ۴۰۰ میلی گرم تحت تنش شوری ۲۰۰ میلی مولار مشاهده گردید ( $18,936 \text{ mg/gFW}$ ).



شکل ۹: اثر غلظت‌های مختلف تیمار آلفاتوکوفرول روی پروتئین کل. داده‌ها میانگین سه تکرار انحراف معیار و حروف غیرمشترک بیانگر معنی‌دار بودن  $p \leq 0.05$  بر اساس آزمون دانکن می‌باشد.

در مطالعه حاضر وزن تر و خشک گیاه تنباکو به‌طور معنی‌داری توسط غلظت بالای نمک در مقایسه با غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار نمک و صفر کاهش یافت. نتایج مشابه مطالعه حاضر توسط Datta و همکاران (۱۹۹۸) بر روی گیاه گندم نیز گزارش شده است. همچنین در گزارشی دیگر، اثر تنش شوری در گیاه سویا نیز باعث کاهش وزن تر و خشک گیاه سویا در مقایسه با گیاه شاهد شد (Doğan 2013). در شرایط بدون تنش، آلفاتوکوفرول در هر سه غلظت به‌طور معنی‌دار باعث افزایش وزن تر و خشک گردید. سلطانی و همکاران در سال ۲۰۱۲ نشان دادند که تیمار توکوفرول به‌صورت اسپری در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ ppm باعث افزایش وزن تر و خشک گیاه همیشه بهار (*Calendula officinalis* L) نسبت به گیاه شاهد می‌شود (Soltani et al. 2012). همچنین تنش شوری باعث کاهش فرایندهای فیزیولوژی و بیولوژی شامل فتوسنتز، ظرفیت آنتی‌اکسیدان‌ها و هموستازی یون‌ها می‌شود (Ashraf et al. 2004) که کاهش رشد سلولی را در پی دارد (Chen & Murata 2002). هنگامی که گیاه تحت تنش شوری، با آلفاتوکوفرول که یک آنتی‌اکسیدان غیرآنزیمی است، تیمار می‌گردد. این آنتی‌اکسیدان باعث کاهش میزان ROS در شرایط تنش می‌شود. نتایج مشابه نشان می‌دهد که اسپری برگی آلفاتوکوفرول باعث بهبود پارامترهای رشد گیاه در شوری آب دریا ( $6/25 \text{ dsm}^{-1}$ ) می‌گردد (Orabi & Abdelhamid 2014). همچنین آلفاتوکوفرول از طریق مهار ROS که طی فرایند فتوسنتز تولید شده است، منجر به استحکام غشای تیلاکوئید می‌گردد. بنابراین ممکن است یکی از دلایل افزایش وزن تر و خشک توسط توکوفرول، افزایش میزان فتوسنتز نیز باشد (Foyer 1992).

در سطح شوری ۱۰۰ میلی‌مولار، میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی نسبت به گیاه شاهد افزایش معنی‌داری داشت و علت این افزایش ممکن است به دلیل کاهش وزن تر و خشک گیاه در این سطح نمک نسبت به گیاه شاهد باشد که در نتیجه آن سطح

برگ نیز نسبت به کنترل کاهش یافته و به همین دلیل باعث تراکم رنگیزه‌ها در واحد سطح شده است. باوجوداین، میزان رنگیزه‌ها در شوری بالا کاهش می‌یابد و احتمالاً علت آن افزایش تولید ROS تحت تنش بالای نمک و آسیب دیدن غشاست (Hossain *et al.* 2011؛ Hasanuzzaman *et al.* 2011b). همچنین کاهش مقدار کلروفیل ممکن است به علت افزایش تجزیه کلروفیل و یا کاهش سنتز کلروفیل باشد (Santos 2004). به‌علاوه نشان داده شده است که تنش شوری روی تیلوکوئیدها و غشای پلاستیدها اثر می‌گذارد و سبب تجزیه آنها می‌گردد. تجزیه کلروپلاست موجب افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز و در نتیجه کاهش میزان کلروفیل می‌شود (Fang *et al.* 1998). در مطالعه‌ای روی گیاه سویا نشان داده شده است که میزان کلروفیل در شوری با غلظت‌های مختلف نمک در مقایسه با گیاه شاهد کاهش پیدا می‌کند (Doğan 2013). افزایش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی توسط آلفاتوکوفرول در شرایط تنش شوری ممکن است به این دلیل باشد که عملکرد مهم توکوفرول در گیاهان حفاظت دستگاه فتوسنتزی بر ضد خسارت اکسیداتیو است (Foyer 1992؛ Fryer 1993؛ Munne-Bosch 2005؛ Munné-Bosch & Alegre 2002a). همچنین نقش دیگر توکوفرول که یک آنتی‌اکسیدان قوی است، حفاظت اسیدهای چرب غیراشباع از پراکسیداسیون لیپید در غشای کلروپلاست است (Hugly & Somerville 1992). بنابراین می‌توان این‌گونه برداشت نمود که در هنگام تنش شوری مقدار ROS سلول‌های گیاهی افزایش می‌یابد و توکوفرول می‌تواند باعث حفاظت دستگاه فتوسنتزی بر ضد ROS ناشی از تنش شوری و در نتیجه مهار گونه‌های فعال اکسیژن شوند. همچنین این ویتامین باعث جلوگیری از پراکسیداسیون لیپید می‌شود و در نتیجه باعث افزایش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در تنش شوری نسبت به شرایط شوری بدون تیمار توکوفرول می‌گردد. Orabi و همکارانش در سال ۲۰۱۴ با اسپری برگی آلفاتوکوفرول روی دو رقم گیاه باقلا که با آب دریا آبیاری شده بودند، نشان داد که آلفاتوکوفرول باعث افزایش محتوای کاروتنوئید نسبت به گیاه شاهد می‌شود.

آنتوسیانین یک آنتی‌اکسیدان غیرآنزیمی و بازدارنده پراکسیداسیون لیپید است و اثر آنتوسیانین روی پراکسیداسیون لیپید توسط Narayan و همکاران در سال ۱۹۹۹ گزارش شده است. آنها روی گیاه *Arabidopsis thaliana* نشان دادند که با غیرفعال کردن دو ژن کدکننده آنزیم‌های موجود در مسیر بیوسنتز آلفاتوکوفرول، میزان آنتوسیانین نسبت به گیاه وحشی کاهش می‌یابد. نتایج ما نشان داد که آلفاتوکوفرول سبب افزایش میزان آنتوسیانین در تنش شوری و غیرتنش نسبت به گیاه شاهد می‌گردد. به نظر می‌رسد که تیمار آلفاتوکوفرول با افزایش میزان آنتوسیانین به‌عنوان یک ترکیب آنتی‌اکسیدانت منجر به افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل در گیاه تنباکو گردیده که پتانسیل گیاه برای مقابله با تنش شوری را تقویت نموده است.

در این آزمایش میزان قند محلول در شرایط تنش شوری نسبت به گیاه شاهد افزایش یافته است؛ زیرا افزایش در میزان کربوهیدرات‌های محلول نقش بسیار مهمی در کاهش پتانسیل اسمزی و در نهایت ایجاد شیب مناسب بین گیاه و خاک دارد که

سبب افزایش جذب آب می‌گردد؛ کربوهیدرات‌ها نقش بسیار مهمی به عنوان تنظیم‌کننده اسمزی دارند. افزایش قندهای محلول در اغلب شرایط تنش زا به عنوان یک مکانیسم تحمل در برابر تنش به شمار می‌آید و در واقع باعث تنظیم پتانسیل آب سلول در بخش سیتوزول برای مقابله با غلظت بالای یون‌های جذب‌شده و تجمع‌یافته در واکوئل، می‌گردد (Kameli & Lösel, 1993). تغییر در میزان کربوهیدرات‌ها از اهمیت زیادی برخوردار است؛ چراکه این ترکیبات رابطه مستقیمی با فرایند فیزیولوژیکی گیاه همانند فتوسنتز و تنفس دارند (Fedina & Popova 1996). افزایش قندهای محلول در تنش شوری در حفاظت و تنظیم اسمزی، ذخیره کربنی، جمع‌آوری رادیکال‌های آزاد، حفاظت از غشاها و پروتئین‌ها در سلول‌های در معرض شوری می‌شود و در کاهش تجمع پروتئین‌های آسیب دیده نقش بسزا دارد (Parida & Das 2005). Orabi و همکارانش در سال ۲۰۱۴ در مطالعه‌ای روی گیاه لوبیا نشان دادند که آلفاتوکوفرول در شرایط بدون تنش میزان قند کل را افزایش می‌دهد. همچنین در شرایط تنش شوری آلفاتوکوفرول باعث افزایش قند محلول نسبت به گیاهان بدون تیمار می‌شود. اثر آلفاتوکوفرول بر افزایش میزان قند کل در گیاه آفتابگردان نیز گزارش شده است (Sadak et al. 2010). علت افزایش قند توسط آلفاتوکوفرول در تنش شوری ممکن است به این دلیل باشد که آلفاتوکوفرول باعث حفاظت غشای تیلاکوئید از خسارت اکسیداتیو می‌شود (Munné-Bosch & Alegre 2002a; Munne-Bosch 2005; Fryer 1993; Foyer 1992) و همچنین از پر اکسیداسیون لیپیدها جلوگیری می‌کند و باعث مهار گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود. چون در تنش شوری میزان ROS گیاه افزایش می‌یابد و باعث آسیب به غشای تیلاکوئید و همچنین تجزیه کلروفیل می‌شود، آلفاتوکوفرول به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان غیر آنزیمی از عملکردهای فوق جلوگیری می‌نماید و در نتیجه باعث حفاظت غشای تیلاکوئید می‌شود.

نتایج ما نشان داد که افزایش غلظت نمک باعث افزایش مقدار پرولین گیاه نسبت به گیاه شاهد شد که مشابه این نتیجه بر روی دو رقم گونه لوبیا گزارش شده است (Orabi & Abdelhamid 2014). همچنین افزایش میزان پرولین تحت شرایط تنش شوری در گیاه سویا نیز گزارش شده است (Doğan 2013). علت افزایش پرولین در تنش شوری به این دلیل است که این ترکیب جزء ترکیبات سازگارکننده بوده است که به هنگام تنش شوری در گیاه افزایش پیدا می‌کند. تیمار آلفاتوکوفرول بر طبق نتایج حاضر در شرایط شوری سبب افزایش بیشتر میزان پرولین نسبت به گیاهان بدون تیمار گردید. در آزمایش بر روی گیاه باقلا (*Vicia faba*) که با آلفاتوکوفرول اسپری برگی شده بود، نشان داده شد که در شرایط شوری آلفاتوکوفرول سبب افزایش میزان پرولین می‌گردد (Orabi & Abdelhamid 2014). تأثیر آلفاتوکوفرول بر افزایش میزان پرولین نیز ممکن است با افزایش فعالیت آنزیم‌های مسیر بیوسنتزی و کاهش فعالیت آنزیم‌های مسیر کاتابولیسم این ترکیب مرتبط باشد (Jaleel et al. 2007). همچنین افزایش پیش‌سازهای پرولین شامل گلوتاتیون و اورنیتین به وسیله آلفاتوکوفرول در شرایط تنش نیز محتمل است.

مطابق نتایج به دست آمده افزایش غلظت نمک میزان سدیم را افزایش و پتاسیم را کاهش داد. این تغییرات با افزایش جذب و تجمع یون‌های سمی مثل سدیم و کلر طی تنش شوری ارتباط دارد (Doğan 2013). به نظر می‌رسد افزایش جذب یون سدیم نیز با افزایش نفوذپذیری غشای سلول به دلیل آسیب ناشی از تجمع ROS در ارتباط است (Abo-Kassem 2007). در غلظت‌های بالای شوری پیشنهاد شده است که افزایش تجمع یون‌های سدیم و کلر در بافت‌ها، فرایندهای بیوشیمیایی مرتبط با فتوسنتز را از طریق این یون‌های سمی ممانعت می‌کند و منجر به کاهش پتانسیل آب می‌شود (Kiarostami & Mohseni 2010). مشابه نتایج ما در مطالعه‌ای بر روی گیاه سویا نیز به دست آمده؛ به طوری که مشاهده شده است افزایش شوری میزان سدیم را افزایش و پتاسیم را کاهش می‌دهد (Doğan 2013). در این پژوهش آلفاتوکوفرول در تنش شوری باعث کاهش سدیم و افزایش پتاسیم نسبت به گیاه بدون تیمار آلفاتوکوفرول گردید. به طور مشابه گزارش شده است آلفاتوکوفرول سبب کاهش سدیم و افزایش پتاسیم گیاه می‌شود (Orabi & Abdelhamid 2014). به علاوه نتایج به دست آمده در این پژوهش نشان می‌دهد که آلفاتوکوفرول سبب افزایش پتاسیم و کاهش سدیم و در نتیجه کاهش نسبت سدیم به پتاسیم می‌شود و نتایج مذکور به وسیله مطالعات قبلی تأیید می‌گردد (Doğan 2013; Abdelhamid et al. 2010; El-Samad et al. 2011). آلفاتوکوفرول با افزایش استحکام غشا و مهار پمپ‌ها و کانال‌های غشایی طی تنش شوری سبب می‌شود که غشا عملکرد خود را در اثر تخریب از دست ندهند و مانند شرایط عادی عمل کنند (El-Lethy et al. 2013). در مطالعه‌ای روی گیاه باقلا (*Vicia faba*) نشان داده شد که در تنش شوری آلفاتوکوفرول سبب افزایش پتاسیم و کاهش سدیم و در نتیجه افزایش نسبت پتاسیم به سدیم می‌گردد که تأییدکننده نتایج ما می‌باشد (Semida et al. 2014).

ترکیبات فنلی جزء متابولیت‌های ثانویه به شمار می‌روند. گیاهان به ترکیبات فنلی برای تجمع رنگدانه‌ها در بافت‌ها، رشد، تولید مثل و مقاومت به پاتوژن‌ها و بسیاری اعمال دیگر نیاز دارند (Lattanzio et al. 2006). مطابق نتایج به دست آمده، تنش شوری سبب افزایش محتوای ترکیبات فنلی کل در مقایسه با گیاه شاهد گردید. اصولاً انباشتگی ترکیبات فنلی نوعی پاسخ دفاعی در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی است (Alcázar et al. 2006). در مطالعه‌ای روی برگ‌های گیاه *Cynara scolymus* L. نشان دادند که محتوای ترکیبات فنلی برگ، وابسته به شوری خاک است و تجمع میزان ترکیبات فنلی به طور معنادار توسط شوری افزایش می‌یابد (Rezazadeh et al. 2012). در این پژوهش آلفاتوکوفرول باعث افزایش محتوای ترکیبات فنلی کل در تنش شوری نسبت به گیاه شاهد گردید. همچنین در شرایط غیرتنش آلفاتوکوفرول در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر سبب افزایش محتوای ترکیبات فنلی کل شد. از آنجایی که ترکیبات فنلی در تنش شوری باعث افزایش مقاومت گیاه می‌شود و در نتیجه تیمار آلفاتوکوفرول با افزایش میزان ترکیبات فنلی کل احتمالاً سبب افزایش مقاومت گیاه در مقابل تنش شوری شده است.

تنش شوری تغییرات کمی و کیفی را در میزان پروتئین‌های محلول القای می‌کند (Wimmer *et al.* 2003). نتایج حاصله نشان داد که افزایش مقدار پروتئین در غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر آلفاتوکوفرول در شوری ۲۰۰ میلی‌مولار، شاید بدین دلیل است که آلفاتوکوفرول در تحت این غلظت شوری سبب افزایش میزان رونویسی و ترجمه ژن‌ها و در نتیجه باعث افزایش سنتز پروتئین‌ها گردیده است (Tuteja & Tuteja 2004).

### نتیجه‌گیری کلی

به‌طور کلی از نتایج به‌دست آمده چنین استنباط می‌شود که تأثیر آلفاتوکوفرول هم در شرایط غیرتنش و هم در شرایط تنش شوری سبب بهبود شاخص‌های رشد، بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی نظیر وزن تر و خشک، کلروفیل، کبروهیدرات‌های محلول، انتوسیانین و ترکیبات ترکیبات فنلی‌ها، پروتئین و سدیم پتاسیم جذب شده توسط گیاه می‌شود.

### سپاسگزاری

نویسندگان مقاله از دانشگاه اصفهان به واسطه حمایت از این پژوهش تشکر می‌نمایند.

### منابع

- Abdelhamid, M.T., Shokr, M.M., Bekheta, M. (2010) Growth, root characteristics, & leaf nutrients accumulation of four faba bean (*Vicia faba* L.) cultivars differing in their Broomrape tolerance & the Soil properties in relation to salinity. *Communications in Soil Science & Plant Analysis* 41:2713-2728.
- Abo-Kassem, E. (2007) Effects of salinity: Calcium interaction on growth & nucleic acid metabolism in five species of *Chenopodiaceae*". *Turkish Journal of Botany* 31:125-134.
- Alcázar, R., Marco, F. Cuevas, J.C. Patron, M. Ferr&o, A. Carrasco, P. Tiburcio, A.F. Altabella, T. (2006) Involvement of polyamines in plant response to abiotic stress". *Biotechnology Letters* 28:1867-1876.
- Ashraf, M. (2009) Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers. *Biotechnology Advances* 27:84-93.
- Ashraf, M. Harris, P. (2004) Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. *Plant Science* 166:3-16.
- Ashraf, M., Mukhtar, N. Rehman, S. Rha, E. (2004) Salt-induced changes in photosynthetic activity & growth in a potential medicinal plant Bishop's weed (*Ammi majus* L.). *Photosynthetica* 42:543-550.
- Bates, L., Waldren, R. Teare, I. (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant & Soil* 39:205-207.
- Blumwald, E. Aharon, G.S., Apse, M.P. (2000) Sodium transport in plant cells". *Biochimica et Biophysica Acta Biomembranes* 1465:140-151.
- Bradford, M.M. (1976) A rapid & sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein



- utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72:248-254.
- Chen, T.H. & Murata, N. (2002) Enhancement of tolerance of abiotic stress by metabolic engineering of betaines & other compatible solutes. *Current Opinion in Plant Biology* 5:250-257.
- Dasilva, E.J. Jensen, A. (1971) Content of  $\alpha$ -tocopherol in some blue-green algae. *Biochimica et Biophysica Acta Lipids & Lipid Metabolism* 239:345-347.
- Datta, K., Vasquez, A., Tu, J. Torrizo, L. Alam, M. Oliva, N. Abrigo, E. Khush, G. Datta, S. (1998) Constitutive & tissue-specific differential expression of the cryIA (b) gene in transgenic rice plants conferring resistance to rice insect pest. *Theoretical & Applied Genetics* 97:20-30.
- Doğan, M. (2013) Antioxidative & proline potentials as a protective mechanism in soybean plants under salinity stress. *African Journal of Biotechnology* 10:5972-5978.
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P. Smith, F. (1956) Colorimetric method for determination of sugars & related substances. *Analytical Chemistry* 28:350-356.
- El-Lethy, S.R., Abdelhamid, M.T. Reda, F. (2013) Effect of potassium application on wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars grown under salinity stress. *World Applied Sciences Journal* 26:840-850.
- El-Samad, H.A. Shaddad, M. Barakat, N. (2011) Improvement of plants salt tolerance by exogenous application of amino acids. *Journal of Medicinal Plants Research* 5:5692-5699.
- Fang, Z., Bouwkamp, J.C. Solomos, T. (1998) Chlorophyllase activities & chlorophyll degradation during leaf senescence in non-yellowing mutant & wild type of *Phaseolus vulgaris* L. *Journal of Experimental Botany* 49:503-510.
- Fedina, L., Popova, A. (1996) Photosynthesis, photorespiration & proline accumulation in water-stressed pea leaves. *Photosynthetica* 32:213-220.
- Foyer, C.H., Noctor, G. (2003) Redox sensing & signalling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes & mitochondria. *Physiologia Plantarum* 119:355-364.
- Foyer, C.H., Noctor, G. (2005) Redox homeostasis & antioxidant signaling: a metabolic interface between stress perception & physiological responses. *The Plant Cell* 17:1866-1875.
- Foyer, M. (1992) The antioxidant effect of tylakoid vitamin E. *Plant Cell Environment* 15:381-392.
- Fryer, M.J. (1993) Evidence for the photoprotective effects of vitamin E. *Photochemistry & Photobiology* 58:304-312.
- Good, A.G., Zaplachinski, S.T. (1994) The effects of drought stress on free amino acid accumulation & protein synthesis in *Brassica napus*. *Physiologia Plantarum* 90:9-14.
- Gossett, D.R., Millhollon, E.P., Lucas, M. (1994) Antioxidant response to NaCl stress in salt-tolerant & salt-sensitive cultivars of cotton. *Crop Science* 34:706-714.
- Grusak, M.A., DellaPenna, D. (1999) Improving the nutrient composition of plants to enhance human nutrition & health 1. *Annual Review of Plant Biology* 50:133-161.
- Hasanuzzaman, M., Hossain, M.A., Fujita, M. (2011b) Selenium-induced up-regulation of the antioxidant defense & methylglyoxal detoxification system reduces salinity-induced damage in rapeseed seedlings. *Biological Trace Element Research* 143:1704-1721.
- Hasegawa, P.M., Bressan, R.A., Zhu, J.K., Bohnert, H.J. (2000) Plant cellular & molecular responses to high

- salinity. *Annual Review of Plant Biology* 51:463-499.
- Horvath, G., Wessjohann, L., Bigirimana, J., Jansen, M., Guisez, Y., Caubergs, R., Horemans, N. (2006) Differential distribution of tocopherols & tocotrienols in photosynthetic & non-photosynthetic tissues. *Phytochemistry* 67:1185-1195.
- Hossain, M.A., Hasanuzzaman, M., Fujita, M. (2011) Coordinate induction of antioxidant defense & glyoxalase system by exogenous proline & glycinebetaine is correlated with salt tolerance in mung bean. *Frontiers of Agriculture in China* 5:1-14.
- Hugly, S., Somerville, C. (1992) A role for membrane lipid polyunsaturation in chloroplast biogenesis at low temperature. *Plant Physiology* 99:197-202.
- Jaleel, C.A., Manivannan, P., Sankar, B., Kishorekumar, A., Panneerselvam, R. (2007) Calcium chloride effects on salinity-induced oxidative stress, proline metabolism & indole alkaloid accumulation in *Catharanthus roseus*. *Comptes Rendus Biologies* 330:674-683.
- Kamal-Eldin, A., Appelqvist, L.Å. (1996) The chemistry & antioxidant properties of tocopherols & tocotrienols. *Lipids* 31:671-701.
- Kameli, A. Lösel, D. (1993) Carbohydrates & water status in wheat plants under water stress". *New Phytologist* 125:609-614.
- Kiarostami, K., Mohseni, R. (2010) Biochemical changes of *Rosmarinus officinalis* under salt stress. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry* 6: 114-122.
- Lattanzio, V., Lattanzio, V.M., Cardinali, A. (2006) Role of phenolics in the resistance mechanisms of plants against fungal pathogens & insects. *Phytochemistry: Advances in Research* 66:23-67.
- Lichtenthaler, H.K. (1987) Chlorophylls & carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembrane. *Methods in Enzymology* 148:350-382.
- Mahajan, S., Tuteja, N. (2005) Cold, salinity & drought stresses: an overview. *Archives of Biochemistry & Biophysics* 444:139-158.
- Munne-Bosch, S. (2005) The role of  $\alpha$ -tocopherol in plant stress tolerance. *Journal of Plant Physiology* 162:743-748.
- Munné-Bosch, S., Alegre, L. (2002a) The function of tocopherols & tocotrienols in plants. *Critical Reviews in Plant Sciences* 21:31-57.
- Narayan, M., Naidu, K.A., Ravishankar, G., Srinivas, L., Venkataraman, L. (1999) Antioxidant effect of anthocyanin on enzymatic & non-enzymatic lipid peroxidation. *Prostaglandins, Leukotrienes & Essential Fatty Acids* 60:1-4.
- Orabi, S.A., Abdelhamid, M.T. (2014) Protective role of  $\alpha$ -tocopherol on two *Vicia faba* cultivars against seawater-induced lipid peroxidation by enhancing capacity of anti-oxidative system. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*. In press
- Parida, A.K., Das, A.B. (2005) Salt tolerance & salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology & Environmental Safety* 60:324-349.
- Rezazadeh, A., Ghasemnezhad, A., Barani, M., Telmadarrehei, T. (2012) Effect of salinity on phenolic composition & antioxidant activity of artichoke (*Cynara scolymus* L.) leaves. *Research Journal of Medicinal*

- Plant 6:245-252.
- Sadak, M.S., Rady, M., Badr, N., Gaballah, M. (2010) Increasing sunflower salt tolerance using nicotinamide &  $\alpha$ -tocopherol. International Journal of Academic Research 2:263-270.
- Santos, C.V. (2004) Regulation of chlorophyll biosynthesis & degradation by salt stress in sunflower leaves. Scientia Horticulturae 103:93-99.
- Schneider, C. (2005) Chemistry & biology of vitamin E. Molecular Nutrition & Food Research 49:7-30.
- Semida, W., Taha, R., Abdelhamid, M., Rady, M. (2014) Foliar-applied  $\alpha$ -tocopherol enhances salt-tolerance in *Vicia faba* L. plants grown under saline conditions. SouthAfrican Journal of Botany 95:24-31.
- Seo, Y.S., Kim, S.J., Harn, C.H., Kim, W.T. (2011) Ectopic expression of apple fruit homogentisate phytyltransferase gene (MdHPT1) increases tocopherol in transgenic tomato (*Solanum lycopersicum* cv. *Micro-Tom*) leaves & fruits. Phytochemistry 72:321-329.
- Shao, H.B., Chu, L.Y., Lu, Z.H., Kang, C.M. (2008) Primary antioxidant free radical scavenging & redox signaling pathways in higher plant cells. International Journal of Biological Sciences 4:8-14.
- Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R.M. (1999) Analysis of total phenols & other oxidation substrates & antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent". Methods in Enzymology 299:152-178.
- Soll, J., Schultz, G. (1979) Comparison of geranylgeranyl & phytyl substituted methylquinols in the tocopherol synthesis of spinach chloroplasts. Biochemical & Biophysical Research Communications 91:715-720.
- Soltani, Y., Saffari, V.R., Moud, A.A.M., Mehrabani, M. (2012) Effect of foliar application of  $\alpha$ -tocopherol & pyridoxine on vegetative growth, flowering, & some biochemical constituents of *Calendula officinalis* L. plants. African Journal of Biotechnology 11:11931-11935.
- Tuteja, N., Tuteja, R. (2004) Prokaryotic & eukaryotic DNA helicases. European Journal of Biochemistry 271:1835-1848.
- Vidi, P.A., Kanwischer, M., Baginsky, S., Austin, J.R., Csucs, G., Dörmann, P., Kessler, F., Bréhélin, C. (2006) Tocopherol cyclase (VTE1) localization & vitamin E accumulation in chloroplast plastoglobule lipoprotein particles. Journal of Biological Chemistry 281:11225-11234.
- Wagner, G.J. (1979) Content & vacuole/extravacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, & anthocyanin in protoplasts. Plant Physiology 64:88-93.
- Wimmer, M., Mühlhling, K., Läuchli, A., Brown, P., Goldbach, H. (2003) The interaction between salinity & boron toxicity affects the subcellular distribution of ions & proteins in wheat leaves. Plant, Cell & Environment 26:1267-1274.