

اثر تنش غرقابی بر برخی از پارامتر های فیزیولوژی گیاه فلفل (*Capsicum annuum* L.)

ساسان فرهنگیان کاشانی^۱ و فاطمه ملک احمدی^۲

۱-مدرس دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرری (مسئول مکاتبات: sfarhangian@yahoo.com) ۲-مدرس دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان

The effect of different periods of flooding stress on some of the Physiological parameters in peper (*Capsicum annuum* L.) plant

Farhangian-kashani. S¹, F.Malek- ahmadi²

1-The Faculty member of the Islamic Azd University, Shahr-E-Rey Branch

2-The Faculty member of the Islamic Azd University, Damghan Branch

Abstract

Flooding stress affects many physiological and biochemical functions of plants, some of these changes are decrease in water and mineral absorption, growth rate and also changes in harmonic balance.

Water logging has a major impact on both natural vegetation and agricultural crops. One of the important effects of flooding, include reducing of nutrient and water uptake in plants. Increase in root proteins in flooded plants could possibly the increase in some enzyme which induced during flooding.

Result obtained sugar measurement showed that, sugar content in leaves and roots significantly decreased in comparison with control plant. Most probably because reduction in photosynthesis rate caused by closure of stomata in flooded plants.

Measure of ethylene hormone showed that increased ethylene density in flooded plants leafs in comparison with control plant.

Keywords: Stress, Water logging, Physiological and *Capsicum annuum*

مجله زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد

گرمسار، ۱۳۸۸، دوره ۴، شماره ۱، ۵۲ - ۴۳

چکیده

تنش غرقابی بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی را در گیاهان تغییر می دهد، که از این تغییرات می توان به کاهش رشد، میزان جذب آب و مواد معدنی و تغییر در توازن هورمونی گیاه اشاره کرد. نتایج حاصل از تحقیق نشان داد، که در برگ های گیاه فلفل تحت تنش غرقابی، محتوی پروتئین کاهش یافت ولی محتوی پروتئین ریشه در گیاهان تحت تیمار افزایش نشان داد. افزایش پروتئین ریشه ممکن است به دلیل افزایش سنتز آنزیم های مسیر تخمیر باشد. با اندازه گیری قند های احیا کننده مشاهده شد که، محتوی قند در برگ ها و ریشه ها کاهش معنی داری را نسبت به گیاه شاهد نشان داد که این امر احتمالا به دلیل کاهش میزان فتوسنتز بوده و علت آن بسته شدن روزنه ها می باشد.

اندازه گیری هورمون اتیلن نیز نشان داد که غلظت اتیلن در برگ های گیاهان غرقاب شده در مقایسه با گیاهان شاهد افزایش یافته است.

واژگان کلیدی: تنش، غرقابی، فیزیولوژی و فلفل (*Capsicum annuum* L.)

مجله زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد

گرمسار، ۱۳۸۸، دوره ۴، شماره ۱، ۵۲ - ۴۳

۱-مقدمه

۵، ۲۱ و ۳۴). در خاکهایی که تحت تنش غرقابی هستند، چون فضاهای هوا بوسیله آب پر شده است، انتشار گازها بین اتمسفر و ریزوسفر کاهش می یابد و این امر موجب کاهش اکسیژن خاک می شود، همچنین تنش غرقابی بسیاری از خصوصیات خاک را نیز تغییر میدهد که می توان به افزایش اسیدیته خاک، کاهش میزان انتشار اکسیژن

تنش غرقابی بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی را در گیاهان مختل می کند، که از این تغییرات می توان به کاهش ظرفیت فتوسنتزی، کاهش هدایت روزنه ای، کاهش میزان جذب آب و مواد معدنی، تخریب رشد و تغییر در بالانس هورمونی اشاره کرد (۳)،

بوسیله آمینو اتوکسی وینیل گلایسین^۳ (AVG) و یا آمینو اکسی استیک اسید^۴ (AOA) بلوکه شود، تولید اتیلن و به دنبال آن میزان اپی ناستی در برگ کاهش می یابد (۲۳ و ۲۹). اتیلن واکسین در هیپرتروفی نقش به سزایی را ایفا می کند، زیرا اکسین بطور غیر مستقیم باعث تولید اتیلن می شود، اتیلن تولید شده هم فعالیت سلولاز را افزایش داده و باعث هیپرتروفی می شود (۲۹).

تحریک نمو و تشکیل ریشه های نابجا تحت شرایط غرقاب به دلیل تجمع اتیلن و اکسین است، بطوریکه در گیاه گندم تحت شرایط هوادهی خوب، با بکار بردن غلظتهایی از اتیلن تولید ریشه های نابجا مشاهده شده است (۲۱). همچنین گزارش شده است که اکسین تشکیل ریشه های نابجا را در دو گونه ترشک با تواناییهای مختلف القاء می کند، این به این دلیل نیست که نقش اتیلن در این زمینه کم رنگ دیده شود (۱۰).

گزارش شده است که در وارته های کشاورزی حساس به تنش، کاهش مشخصی در پتانسیل آب برگ و هدایت روزنه ای دیده شده است (۱۳) و کاهش در میزان فتوسنتز به دلیل محدودیت در انتشار و تبادل یونی است که از بسته شدن روزنه ای و بلوکه شدن فرایندهای متابولیکی ناشی می شود (۲۸) از طرفی لطمه زدن به تبادل گازی با تنشهای محیطی ممکن است منجر به دام انداختن اتیلن در درون بافتهای گیاهان غرقاب شود و غلظت آنرا افزایش دهد، از طرفی اتیلن به وسیله میکروارگانیسیمهایی که در خاک غرقاب تجمع پیدا می کنند، نیز تولید می شود (۱۴).

شرایط کمبود اکسیژن، سنتراتیلن را در ریشه ها تحریک می کند، که این اتیلن تولید شده اثرات ثانویه را در گیاه به دنبال دارد (۲۲). کاهش میزان اکسیژن، تولید ۱-آمینوسیکلوپروپان-۱-کربوکسیلات (ACC) را به وسیله ریشه ها تحریک می کند. ACC تولید شده از طریق آندها به برگها منتقل می شود. در برگها به دلیل

و کاهش میزان پتانسیل احیایی خاک اشاره کرد (۲۱). عاملی که احتمال بیشتری در تشکیل آثرانثیم دارد، اتیلن است که غلظت آن در بافتهای ریشه در زمان غرقابی افزایش پیدا می کند. بطوریکه در گل آفتابگردان نیز مشاهده شده است که اتیلن در تشکیل آثرانثیم نقش به سزایی را ایفا می کند (۶ و ۹).

درو و همکارانش (۱۹۷۹)^۱ نشان دادند که اتیلن در تشکیل آثرانثیم های لیزوژنوس در ریشه های نابجای ذرت دخالت می کند (۱۵). گزارش شده است که عملکرد اتیلن در این زمینه، به دلیل اثر آن بر دیواره سلولی و آنزیمهای دیواره است، چون دیواره سلولی را تجزیه کرده و فعالیت آنزیمهای آنرا تحریک می کند (۹، ۱۳، ۱۹ و ۳۲). یونهای نقره (Ag^+) ممانعت کننده عمل اتیلن هستند، به همین دلیل نقره یک ابزار مهم جهت سنجش نقش اتیلن در نمو آثرانثیم است (۶ و ۱۵).

گزارش شده است که آثرانثیم یک مسیر درونی با مقاومت کم برای تبادل گازی بین بخشهای گیاهی غرقاب شده و ما بقی بافتهای گیاه بوجود آورده و اکسیژن لازم رامپیا می کند (۱۰، ۱۲ و ۲۶). جکسون و همکارانش^۲ (۱۹۸۵) گزارش دادند که نمو آثرانثیم در ریشه های برنج به اتیلن نیاز کمی دارند و یا اصلاً نیازی ندارند، چرا که دیده شده که ریشه های برنج حتی اگر در شرایط هوادهی خوب نیز قرار گیرند، آثرانثیم تشکیل می دهند (۲۲).

تحت شرایط غرقابی تخلیه اکسیژن در ناحیه ریشه رخ می دهد که منجر به تولید ترکیباتی چون ACC می شود که حد واسط تولید اتیلن می باشد. ACC تولید شده به دلیل کمبود اکسیژن موجود در ریشه نمی تواند به اتیلن تبدیل شود، در نتیجه به ساقه منتقل شده و در آنجا به اتیلن تبدیل می شود، اتیلن تولید شده منجر به اپی ناستی در برگ گیاهان می شود. مشاهده شده است که اگر در مرحله تبدیل آدنوزین متیونین به ACC بیوستزاتیلن

^۳ -Aminoethoxy Vinylglycine

^۴ -Aminoxyactic Acid

^۱ -Drew et al

^۲ -Jackson et al

استفاده قرار گرفت. در هر تیمار ۴ تکرار و در هر گلدان ۶ بذر کاشته شد. گلدانها در اتاق رشد^۶ (ساخت شرکت گروک تهران)، با دوره نوری ۱۶ ساعت نور با دمای ۲۷ درجه سانتی گراد و ۸ ساعت تاریکی با دمای ۲۵ درجه سانتی گراد قرار گرفتند. همچنین شدت نور اتاق رشد آن (۱۵ Nm^{ol} photon m⁻² s⁻¹) و رطوبت آن ۷۵ درصد بود. در طول هفته اول پس از کشت در گلدان، آبیاری با آب مقطر بطور روزانه انجام گرفت. به منظور تأمین املاح مورد نیاز گیاه، پس از یک هفته، آبیاری با محلول کامل غذایی لانگ آشتون^۷ سه بار در هفته انجام شد و این کار به مدت دو هفته ادامه یافت. پس از گذشت ۳ هفته (سه برگی شدن گیاه)، نمونه های گیاهی تحت تیمار قرار گرفتند، و پس از آن جهت بررسی پارامترهای مورد نظر و انجام کروماتوگرافی گازی، مورد استفاده قرار گرفتند.

جدول شماره ۱: محلول ساخته شده توسط محلول پتاس ۰/۱ مولار و سولفوریک اسید ۰/۱ مولار، در حدود ۰/۵ PH=۵ تنظیم شد.

عناصر غذایی ماکرو	محلول استفاده شده (mg/lit)	محلول پایه (گرم بر عناصر غذایی مورد استفاده) (لیتر)
KNO ₃	۸	۵۰/۶۰
Ca(NO ₃) ₂ .Anhydrous	۸	۸۰/۲۵
MgSO ₄ .7H ₂ O	۸	۴۶/۰۰
NaH ₂ PO ₄ .2H ₂ O	۴	۵۲/۰۰
عناصر غذایی میکرو		
FeEDTA	۵	۳/۳۰
MnSO ₄ .4H ₂ O	۱	۲/۲۳
ZnSO ₄ .5H ₂ O	۱	۰/۲۹
CuSO ₄ .5H ₂ O	۱	۰/۲۵
H ₃ BO ₃	۱	۳/۱۰
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	۱	۰/۱۲
NaCl	۱	۵/۸۵
CoSO ₄ .7H ₂ O	۱	۰/۰۵۶

حضور اکسیژن کافی برای عملکرد آنزیم ACC اکسیداز، ACC به اتیلن تبدیل می شود (۳). اتیلن تولید شده در طول غرقابی، در تحریک و رشد ساقه، نمو آثرانثیم و تولید ریشه های نابجا دخیل است. در گوجه فرنگی نیز گزارش شده است که تحت شرایط غرقابی میزان ACC تولید شده در ساقه افزایش می یابد (۱۰، ۱۳ و ۱۷).

در این تحقیق موارد زیر مورد بررسی و مطالعه قرار گرفت:

۱- بررسی دوره های مختلف غرقابی بر پارامترهای مورفولوژیکی در گیاه فلفل.

۲- مطالعه اثر دوره های مختلف غرقابی در القاء تنش اکسیداتیو و مکانیسمهای مقاومت به آن در مرحله رویشی گیاه.

۲- مواد و روشها

گیاه مورد بررسی، فلفل دلمه ای با نام علمی *Capsicum annum L.* است که مربوط به تیره سیب زمینی است. گیاهان این تیره معمولاً به صورت درختچه هایی با برگهای منفرد هستند. این تیره از نظر کاربرد دارویی و غذایی یکی از تیره های بسیار مهم نهانانگان به شمار می رود (۱). بذرهای گیاه فلفل پس از آماده شدن جهت کشت در گلدان مورد استفاده قرار گرفتند.

محیط کشت گلدانی مورد استفاده در این پژوهش، گلدان هایی با قطر ۱۵ سانتی متر حاوی ورمیکولیت^۵ بود. ورمیکولیتی که از معدن سیخوران یکی از معادن اسفندقه، واقع در ۱۹۰ کیلومتری شهرستان بافت آورده شده بود، با حرارت حدود ۲۸۰ درجه سانتیگراد به حالت منبسط شده درآمد. سپس چندین مرتبه با آب شستشو و در نهایت توسط اتوکلاو سترون شده و در این مرحله مورد

۵- ورمیکولیت (Vermiculite) نوعی سنگ خرد شده از نوع میکاها با بلورهای جلای فلزی بوده که ظرفیت تبادل یونی آن در آب مقطر بسیار پایین می باشد و غلظت یونی و PH محلول غذایی مورد استفاده را کمتر تغییر می دهد.

6-Growth Chamber
7-Long Shtone

منحنی استاندارد غلظت قندهای احیاء کننده محاسبه گردید. میزان پروتئین کل اندام هوایی و ریشه گیاهان تحت تیمار به روش لوری (۱۹۵۱) اندازه گیری شد. برای اندازه گیری غلظت پروتئینها از منحنی استاندارد استفاده شد. برای رسم منحنی استاندارد، از آلبومین گاوی به عنوان یک پروتئین خالص استفاده شد (۲).

۲-۶ تهیه معرفهای لازم جهت سنجش پروتئین کل
معرف A: مقدار ۲ گرم کربنات کلسیم ۰/۰۴ گرم سود و ۰/۰۲ گرم تارتارات سدیم پتاسیم را در مقداری آب حل کرده و حجم محلول به ۱۰۰ میلی لیتر رسانده شد.
معرف B: مقدار ۰/۵ گرم سولفات مس آبدار در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل شد.

معرف C: شامل ۱ میلی لیتر معرف B و ۵۰ میلی لیتر معرف A می باشد که باید بلافاصله قبل از مصرف تهیه شود.

معرف D: ۱۰ میلی لیتر از محلول فولین فنل به ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه گردیده و محلول با رقت ۱:۱۰ به دست آمد.

۲-۷ تهیه بافر فسفات نمکی (بافر استخراج پروتئین)
این بافر جهت استخراج پروتئینهای بافت ریشه و اندام هوایی بدون تجزیه ساختاری آنها مورد استفاده قرار می گیرد. این بافر مخلوطی از محلولهای A و B و کلرید سدیم است.

محلول A: ۱/۷۸ گرم فسفات هیدروژن دی سدیم آبدار را در مقدار کمی آب مقطر حل کرده و حجم محلول به ۱۰۰ میلی لیتر رسانده شد.

محلول B: ۱/۵۶ گرم فسفات دی هیدروژن سدیم آبدار را در مقدار کمی آب مقطر حل کرده و حجم محلول به ۱۰۰ میلی لیتر رسانده شد.

پس از تهیه محلول های A و B، ۶۰ میلی لیتر A با ۴۰ میلی لیتر محلول B مخلوط شد و نهایتاً مقدار ۲۹۲۵ گرم کلرید سدیم به آن اضافه گردید. پس از آنکه نمک خوب حل شد، بافر فسفات نمکی با pH برابر ۷ بدست آمد. سپس مقدار ۰/۰۲ گرم بافت خشک ریشه و اندام

گیاهان موجود در ۳۲ گلدان کاشته شده، پس از گذشت ۲۱ روز بعد از کاشتن به طور کاملاً تصادفی به دو گروه ۱۶ تایی تقسیم شدند: در گروه اول، ۴ گلدان به عنوان شاهد و ۱۲ گلدان تحت تیمار غرقابی قرار داده شد، به این طریق که ۱۲ گلدان مذکور را در سه گروه چهار تایی به مدت ۳، ۵ و ۷ روز درظروفی پراز آب طوری قرار داده شدند که تا یک سانتی متری سطح گلدانها را آب فرا گرفت.

در گروه دوم، جهت سنجش نقش اتیلن در نمو آثرانسیم، گروهی به عنوان شاهد و گروهی تحت تیمار نیترات نقره قرار گرفتند. جهت انجام این آزمایش، گیاهان شاهد با محلول غذایی که در بالا ذکر شد، آبیاری شدند، ولی گیاهان تحت تیمار، با محلول غذایی که حاوی غلظتهای ۱۰، ۵ و ۱۵ μM نیترات نقره بود، آبیاری شدند.

تهیه معرف های مورد نیاز برای سنجش قندها:

محلول سولفات مس: ۴۰ گرم کربنات سدیم بی آب در ۴۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل شده و به آن ۷/۵ گرم تارتاریک اسید اضافه گردید. پس از اینکه اسید حل شد، مقدار ۴/۵ گرم سولفات مس آبدار به آن اضافه شد و در نهایت حجم محلول به یک لیتر رسانده شد.

محلول فسفومولیدیک اسید: ۷۰ گرم فسفومولیدیک اسید و ۱۰ گرم تنگستات سدیم در ۷۰۰ میلی لیتر محلول ۵ درصد هیدروکسید سدیم حل گردید و ۴۰ دقیقه حرارت داده شد. پس از سرد کردن محلول، مقدار ۲۵۰ میلی لیتر اسید فسفریک ۸۵ درصد به آن افزوده و در نهایت حجم آن به یک لیتر رسانده شد.

مقدار ۲ میلی لیتر از هر یک از عصاره های تهیه شده، به لوله آزمایش منتقل شدند و پس از افزودن ۲ میلی لیتر محلول سولفات مس به آن، درب لوله ها با پنبه مسدود گردید. سپس هر یک از لوله ها به مدت ۸ دقیقه در بن ماری با دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد قرار گرفتند. با

استفاده از اسپکتروفتومتر uv-visible مدل s2100diod ساخت کارخانه Varian، شدت جذب در طول موج ۶۰۰ نانومتر تعیین گردید و با استفاده از

آمد. سپس با استفاده از منحنی استاندارد، غلظت اتیلن در مورد هر نمونه اندازه گیری شد.

دستگاه کروماتوگرافی گازی مورد استفاده Shimadzu-japan GC-168 بود. همانطور که در فوق ذکر شد، یک میلی لیتر از گاز تولید شده از قسمت تزریق دستگاه به آن تزریق شد. درجه حرارت قسمت تزریق، آشکار ساز و محفظه گرماده (آون) به ترتیب ۱۵۰، ۱۵۰ و ۱۰۰ درجه سانتیگراد تنظیم شد. از گاز هلیوم با سرعت جریان ۹/۹ میلی لیتر در دقیقه به عنوان فاز متحرک استفاده گردید. به منظور رسم منحنی استاندارد از اتیلن خالص استفاده شد و نمودار غلظت استاندارد بر حسب سطح پیک رسم و معادله خط از رابطه مقابل محاسبه گردید.

معادله: $Y = 36/517 X + 158/32$ (در این معادله X غلظت اتیلن بر حسب جز در میلیون و Y سطح پیک نمونه است).

۲-۸ آنالیز آماری

این پژوهش بر اساس طرح کاملاً تصادفی انجام شد. برای هر تیمار ۴ تکرار در نظر گرفته شد. مقایسه میانگین ها با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون دانکن با ضریب اطمینان ۹۵ درصد انجام شد.

۳- نتایج

۳-۱ نتایج حاصل از اندازه گیری قندهای احیاءکننده در برگ و ریشه

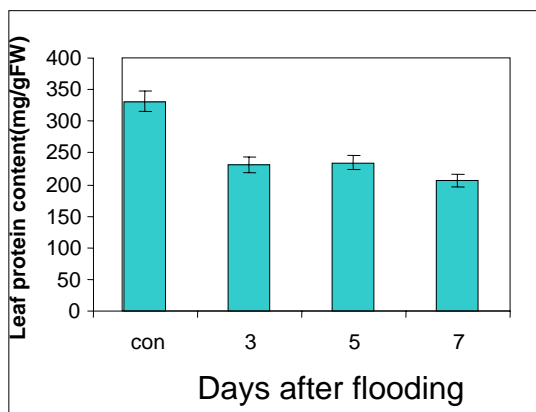
نتایج حاصل از اندازه گیری قند برگ گیاه در تیمارهای ۳ و ۷ روزه غرقابی به ترتیب کاهشی حدود ۲۸/۷ و ۴۸/۶ درصد نسبت به کنترل نشان داد، اما در تیمار ۵ روزه غرقابی کاهش قند برگ معنی دار نبود (نمودار شماره ۱). همانطور که در نمودار شماره ۲ مشاهده می شود، اندازه گیری قندهای احیاءکننده در ریشه گیاه نیز نتایج مشابهی را نشان داد.

یعنی تحت تیمارهای ۳ و ۷ روزه غرقابی میزان قندهای احیاءکننده در مقایسه با کنترل به ترتیب به میزان ۷، ۳۶ و ۴۸ درصد افزایش نشان دادند.

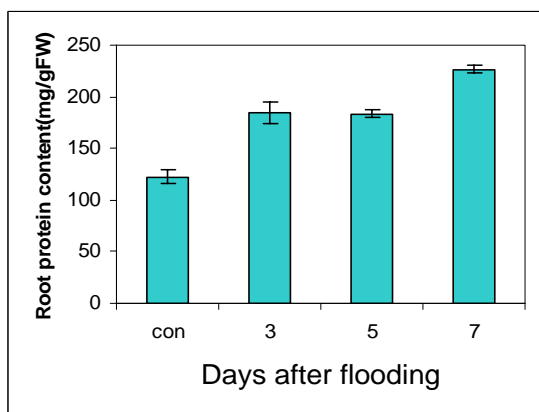
هوایی با ترازوی دقیق وزن شده و هر نمونه توزین شده به طور جداگانه با ۴ میلی لیتر بافر فسفات نمکی در هاون چینی که درون ظرف یخ قرار داده شده بود سائیده و توسط کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف شد.

عصاره گیاهی تهیه شده با روش فوق به مدت ۳۰ دقیقه در ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید. ۱ میلی لیتر از محلول شفاف رویی برداشته و در لوله آزمایش ریخته شد. سپس ۴ میلی لیتر از معرف C به لوله آزمایش حاوی عصاره گیاهی اضافه گردید و به مدت ۱۵ دقیقه در درجه حرارت آزمایشگاه نگهداری شد. پس از آن ۱/۵ میلی لیتر محلول رقیق شده فولین فنل (معرف D) اضافه شد و محلول حاصل به شدت به هم زده شد. لوله ها به مدت ۴۵ دقیقه در تاریکی در درجه حرارت آزمایشگاه نگهداری شدند (بجای این کار می توان نمونه را ۱۵ دقیقه در بن ماری با درجه حرارت ۵۰ درجه سانتی گراد قرار داد). با استفاده از اسپکترومتر شدت جذب محلول های بدست آمده (دارای رنگ آبی)، در طول موج ۶۶۰ نانومتر تعیین شد. با استفاده از منحنی استاندارد، غلظت پروتئین تعیین و بر حسب میلی گرم بر گرم وزن خشک محاسبه گردید.

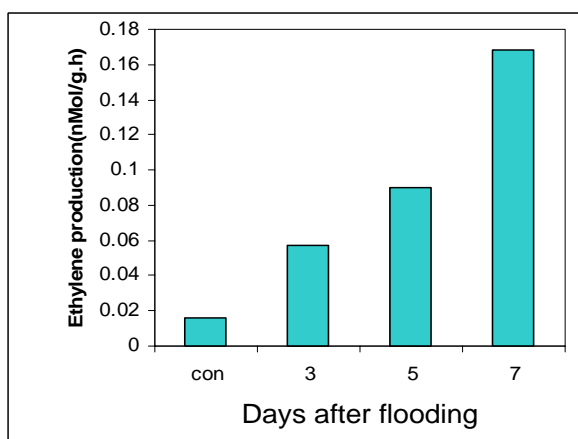
یکی از پارامترهای اندازه گیری شده، میزان اتیلن تولید شده در نتیجه تنش توسط گیاه بود که در گیاهان کشت شده در گلدان، چهار هفته پس از رشد، مورد مطالعه قرار گرفت. برای اندازه گیری اتیلن تولید شده، ۵ گرم از برگ گیاهان مورد نظر جدا و در لوله های آزمایش قرار گرفتند و درب لوله ها با استفاده از درب پوش لاستیکی مخصوص^۱ پوشانده شد. برای جلوگیری از دست رفتن تورژسانس بافت برگ در طول آزمایش مقداری آب مقطر به لوله ها اضافه شد. لوله های مورد نظر به مدت ۱۶۰ تا ۱۸۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شدند. پس از این مدت، یک میلی لیتر از هوای موجود در هر لوله که حاوی اتیلن تولید شده بود، به دستگاه کروماتوگرافی گازی تزریق شد و پیک و ارتفاع حاصل از اتیلن به دست



نمودار شماره ۳: اثر دوره های غرقابی بر میزان پروتئین برگ



نمودار شماره ۴: اثر دوره های غرقابی بر میزان پروتئین ریشه

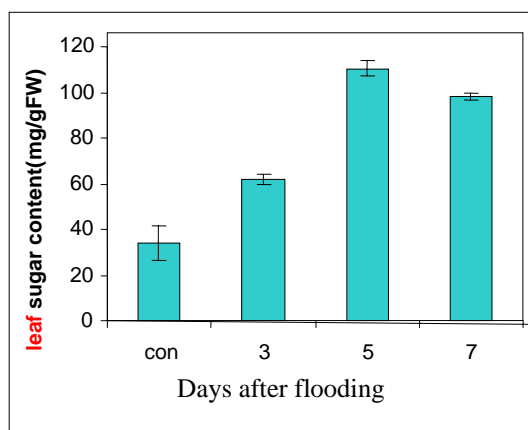


نمودار شماره ۵: اثر دوره های غرقابی بر میزان تولید اتیلن در برگ

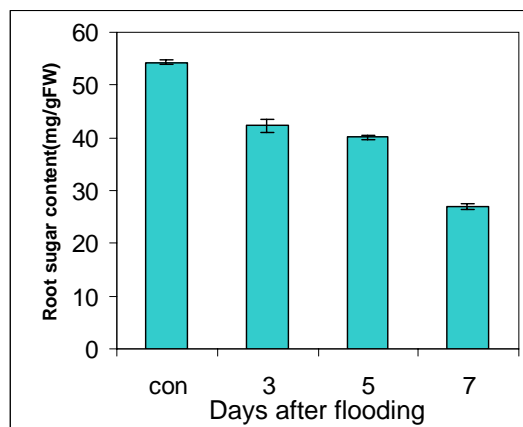
۲-۳ نتایج حاصل از اندازه گیری پروتئین برگ و ریشه گیاه مقایسه پروتئینها در برگ گیاه فلغل نشان داد که مقدار این پروتئینها تحت تیمارهای غرقابی کاهش می یابد و این کاهش در تمام تیمارها نسبت به کنترل در سطح ۵٪ معنی دار بود (نمودار شماره ۳). اندازه گیری پروتئینهای موجود در ریشه گیاه نتایج عکس نشان داد. یعنی تحت تیمارهای ۵،۳ و ۷ روزه غرقابی میزان پروتئینها در مقایسه با کنترل افزایش نشان دادند. نمودار شماره ۴ نتیجه فوق را نشان می دهد.

۳-۳ اثر غرقابی بر میزان اتیلن تولید شده

اثر دوره های مختلف تنش غرقابی در میزان اتیلن تولید شده در گیاه فلغل در نمودار شماره ۵ نشان داده شده است. همانطور که در نمودار مشخص شده است، میزان تولید اتیلن در تیمار های ۵،۳ و ۷ روزه غرقابی افزایش معنی داری را در سطوح ۵٪ و ۱٪ نسبت به شاهد نشان میدهند.



نمودار شماره ۱: اثر دوره های غرقابی بر میزان قند برگ



نمودار شماره ۲: اثر دوره های غرقابی بر میزان قند ریشه

۴- بحث و نتیجه گیری

۱-۴ اثر تنش غرقابی بر میزان قندهای احیا کننده در برگ و ریشه

در مطالعه حاضر، مشاهده می شود که تحت تیمارهای ۳، ۵ و ۷ روزه غرقابی میزان قند در برگ و ریشه گیاه فلفل کاهش نشان داده است (نمودار ۱ و ۲). غرقابی می تواند با کاهش نفوذپذیری ریشه و هدایت هیدرولیکی آن؛ کاهش هدایت روزه ای و در نهایت بسته شدن روزه ها را باعث شود (۲۵ و ۲۷). همچنین در ریشه های گیاهان لوبیا و نخود در طول تنش غرقابی غلظت ABA زیاد می شود (۳۲). کاهش میزان قند موجود در ریشه ممکن است به دلیل کاهش میزان انتقال نیز باشد (۲۰ و ۳۲).

در طول تنش، به دلیل بلوکه شدن انتقال محصولات فتوسنتزی در فلوئم، تقاضا برای بارگیری ساکارز کاهش یافته در نتیجه تجمع نشاسته در کلروپلاست و کاهش آن در ریشه مشاهده می شود (۳۲). همچنین گزارش شده است که انتقال کربن به ریشه هایی که دارای کمبود اکسیژن هستند نسبت به ریشه هایی که در شرایط معمول هستند ۵۰٪ کمتر است. در نتیجه این محدودیت ایجاد شده در انتقال کربن به ریشه ها در طول تنش، میزان کربوهیدرات قابل دسترس ریشه کاهش می یابد (۲۱).

۲-۴ اثر غرقابی بر محتوی پروتئینها در برگ و ریشه گیاه فلفل

کاهش محتوی پروتئین برگ، یکی دیگر از اثراتی است که در طول تنش غرقابی در گیاه فلفل مشاهده شد (نمودار ۳). از دلایل این کاهش می توان به تخریب پروتئینها در طول تنش اشاره کرد. از جمله پروتئینهایی که در طول تنش میزان فعالیتش کاهش می یابد، روبیسکو می باشد (۳۲). بطوریکه گزارش شده است که ۷۹٪ کاهش در پروتئین محلول برگ می باشد که کاهش میزان روبیسکو است (۳۲). رادیکالهای آزاد اکسیژن، باعث تخریب اکسیداتیو پروتئینها می شود. گزارش شده است که تخریب ایجاد شده در جایگاه خاصی از آمینواسیدها در پروتئینها رخ می دهد (۷، ۱۱، ۳۰ و ۳۵). برخلاف

کاهش محتوی پروتئین برگ در طول تنش، محتوی پروتئین ریشه در گیاه فلفل افزایش نشان داده است (نمودار ۴). تحت شرایط غرقابی و غیاب اکسیژن، متابولیسم هوازی به تخمیری تغییر می کند (۳۲). مسیر تخمیری ایجاد شده نیز منجر به تولید لاکتات و اتانول شده که در چرخه بی هوازی نقش مهمی را ایفا می کند (۱۶ و ۳۱). بطوریکه در زنبق و *Acorus* تجمع اتانول در همه اندام های این گیاهان دیده شده است (۳۱). گیاهان در برابر غرقابی با تغییر دادن الگوی سنتز پروتئین و سنتز پلی پپتیدهای بی هوازی Anaerobic (ANPs polypeptides)، به تنش پاسخ می دهند (۳۲).

ساج لیو و همکارانش (۱۹۹۹) گزارش کرده اند که در ذرت و برنج، افزایش فعالیت بسیاری از آنزیمهای تخمیری و گلیکولیتیکی، نوعی استراتژی در برابر تنش محسوب میشود (۴). در بین ANPS های شناسایی شده که مربوط به آنزیمهای گلیکولیتیکی بوده، الکل دهیدروژناز (ADH) بسیار برجسته بوده و در همه جا دیده شده است (۱۰ و ۳۲). مثلاً در جو گزارش شده است که تحت شرایط تنش، فعالیت ADH به میزان زیادی افزایش می یابد (۱۰).

لازم به ذکر است که افزایش در فعالیت ADH، احتمالاً به دلیل القاء شدن ژن Adh تحت شرایط تنش است (۴). کندی و رمفو (۱۹۸۱) نشان دادند که یک افزایش مشخصی در فعالیت ADH در گونه های مقاوم تحت شرایط غرقابی مشاهده می شود. این افزایش در فعالیت ADH به گیاهان مقاوم کمک می کند که از اثرات زیان آور تجمع بالای استالدئید یا لاکتات که منجر به اسیدی شدن سیتوپلاسم می شوند دوری کنند (۱۰). علاوه بر ADH، پیرووات دکربوکسیلاز از دیگر آنزیمهایی است که میزانش در طول تنش افزایش می یابد، بطوریکه فعالیت PDC بطور ناگهانی بعد از تنش زیاد می شود (۳۱). درو (۱۹۷۴) گزارش کرده است که اسیدی شدن سیتوپلاسم نوعی آسیب و مرگ برای بسیاری از ریشه های گیاهی تحت تنش است. همچنین دیویس و همکارانش (۱۹۷۴)

شرایط غرقابی در ریشه های ذرت؛ به دلیل افزایش فعالیت ACC سنتتاز و سطوح بالای ACC اکسیدازی میزان سنتز اتیلن افزایش می یابد (۱۹). تولید اتیلن در گیاه گوجه و ترشک تحت تنش غرقابی یکی از پاسخ های مهم محسوب شده است. مشاهده شده است که در طول تنش میزان سنتز ACC (پیش ماده بلا فصل تولید اتیلن در گیاهان) در ریشه ها زیاد می شود، زیرا میزان بروز و القاء ژن ACC سنتتاز در طول تنش افزایش می یابد (۸ و ۱۸). با توجه به نمودار، میزان اتیلن در گیاه فلفل نیز تحت دوره های مختلف غرقابی افزایش یافته است؛ که احتمالاً این اتیلن تولیدی در تشکیل فضاهای گازی لیزوزنوس در ساقه گیاه فلفل دخالت می کند؛ زیرا درو و همکارانش (۱۹۷۹) گزارش کرده اند که کاربرد غلظت بیشتر اتیلن باعث افزایش تشکیل فضاهای گازی در ریشه های گیاه ذرت می شود (۱۵).

۴-۴ نتیجه گیری کلی

تولید آثرانثیم و ریشه نابجا در طول مدت تنش، از دیگر اثرات مشاهده شده در این مطالعه بود، که در تیمارهای ۵ و ۷ روزه کاملاً واضح است. حضور آثرانثیم در ریشه و ساقه گیاهان غرقاب، باعث بقاء گیاهان تحت شرایط بی هوایی می شود و به عنوان یک پاسخ سازشی مهم محسوب می شود. تولید ریشه های نابجا نیز یکی دیگر از مهمترین مکانیسمهای سازشی گیاهان غرقاب است که برای جایگزینی ریشه هایی که از بین رفته اند تولید می شود. بسیاری از پروتئینهای فتوسنتزی تحت تأثیر غرقابی تخریب می شوند و محتوی پروتئین را کاهش می دهند؛ اما علیرغم تخریب پروتئینها تحت تیمارهای ۳، ۵ و ۷ روزه غرقابی در برگ گیاه فلفل، محتوی پروتئین ریشه افزایش بارزی نشان داد؛ که احتمالاً این افزایش نوعی مکانیسم دفاعی را در این شرایط نشان می دهد، زیرا تحت تیمار غرقابی ژنهای مربوط به برخی از آنزیمهای دفاعی بروز می کنند. اندازه گیری قندهای احیاء کننده در گیاه نشان داد که تحت تیمارهای مختلف غرقابی میزان

نیز پیشنهاد کردند که LDH و PDC نقش مهمی را بعنوان تنظیم کننده های pH در متابولیسم تخمیر بازی می کنند (۱۰).

مشاهده شده است که در ریشه های شبدر پس از گذشت ۷ روز غرقابی، افزایش میزان ADH و LDH رخ می دهد که این افزایش جهت نگهداری و تولید ATP در غیاب اکسیژن لازم است. همچنین افزایش غلظت اتانول در ریشه شبدر ۴ برابر بیشتر از غلظت لاکتات یا مالات بوده است. که نشاندهنده این مطلب است که مسیر تخمیر الکلی نسبت به تخمیر لاکتات یک مسیر متابولیکی مهم در ریشه های شبدر است (۱۰).

۴-۳ اثر غرقابی بر تولید اتیلن

افزایش تولید اتیلن، شاخص تنش غرقابی در گیاه است (۳۶). جکسون (۱۹۸۵) گزارش کرده است که انتشار گازها در آب ۱۰۰۰۰ بار آرامتر از هوا است. به دلیل کاهش سرعت انتشار گازها در آب، تولید و تجمع گازهایی از قبیل اتیلن در گیاهان غرقاب رخ می دهد. مشاهده شده است که این افزایش غلظت در هورمون اتیلن به شدت رشد ریشه را در ترشک کاهش داده است (۳۳). همچنین آرمسترانگ و جکسون (۱۹۹۹) گزارش کردند که در ارگانهای غیر فتوسنتزی مثل ریشه های گیاهان غرقاب شده، غلظت اتیلن و دی اکسید کربن افزایش یافته، در حالیکه میزان اکسیژن به شدت کاهش می یابد. به طوریکه در ترشک میزان اتیلن از ۰/۰۵ به ۱ μl/lit افزایش پیدا کرده است (۳۲).

غرقابی باعث تولید و تجمع اتیلن در اندام هوایی می شود. به این طریق که در طول دوره تنش، میزان ACC در ریشه ها افزایش می یابد. ACC تولیدی نیز از طریق ACC اکسیداز به اتیلن تبدیل می شود. ACC اکسیداز جهت عملکرد خود به اکسیژن نیاز دارد. به دلیل کمبود میزان اکسیژن در ریشه، ACC تولیدی به برگ منتقل و در آنجا به اتیلن تبدیل می شود (۲۴ و ۳۳). هی و همکارانش (۱۹۹۴-۱۹۹۶) گزارش داده اند که تحت

6- Bandayopadhyay, U., Das, D & Banerjee, R. K. 1999. Reactive oxygen species: Oxidative damage and pathogenesis. *Current Science*. 77: 658-666.

7- Banga, M., Slaa, E. j., Blom, C & voesenek, L. 1996. Ethylene biosynthesis & Accumulation under drained and Submerged condition (A comparative study of two *Rumex* species). *Plant physiology*. 112(1): 229-237.

8- Campbell, R & Drew, M. C. 1983. Electron microscopy of gas space (aerenchyma) formation in adventitious roots of *Zea mays* L. Subjected to oxygen shortage. *Planta*. 157: 350-357.

9- Chen, H & Qualls, R. G. 2003. Anaerobic metabolism in the roots of seedlings of the invasive exotic *Lepidium latifolium*. *Environmental & experimental Botany*. 50: 29-40.

10- Chen, H., Qualls, R. G & miller, G. C. 2002. Adaptive responses of *Lepidium latifolium* to soil flooding: biomass allocation, adventitious rooting, aerenchyma formation and ethylene production. *Environmental and Experimental Botany*. 48: 119-128.

11- Chirkova, T. V., Novitskaya & Blokhina, O, B. 1998. Lipid peroxidation and antioxidant systems under anaerobic in plants differing in their tolerance to oxygen deficiency. *Russian Journal Of Plant Physiology*. 45(1): 55-62.

12- Colmer, T. D. 2002. Aerenchyma and an Inducible Barrier to radial oxygen loss facilitate root aeration in upland, paddy and deep-water rice. (*Oryza sativa* L.). *Annals Of Botany*. 91: 301-309.

13- Dat, j. F., Capelli, N., Folzer, H., Bourgeade, P & Badot, P. M. 2004. Review: Sensing and signaling during plant flooding. *Plant physiology & Biochemistry*. 42: 273-282.

14- Drew, M. C., Jackson, M. B & Giffard, S. 1979. Ethylene-prom adventitious rooting and development of cortical air spaces (Aerenchyma) in roots may be adaptive responses to flooding in *Zea mays* L. 1979. *Planta*. 147: 83-88.

15- Drew, M. C., Jackson, M. B., Giffard, S. C & Campbell, R. 1981. Inhibition by silver ions of gas spaces (aerenchyma) formation

قند برگ و ریشه کاهش می یابد که به دلیل کاهش میزان فتوسنتز می باشد.

سنجش میزان گاز اتیلن تولید شده در طول تنش نیز نشان داد که تیمار ۷ روزه غرقابی در گیاه؛ اتیلن بیشتری را تولید کرده است. که این نشان دهنده افزایش میزان فعالیت ACC سنتاز و ACC اکسیداز در تیمار ۷ روزه می باشد.

در پایان لازم به ذکر است که این تحقیق در اتاق رشد مخصوص تحت شرایط خاص از نظر نور و دما انجام شده و ممکن است که در شرایط طبیعی میزان خسارات کمتر یا بیشتر شود؛ زیرا گیاه در شرایط طبیعی علاوه بر تنش مورد نظر تحت تأثیر عوامل مختلفی قرار می گیرد.

منابع

- ۱- دانشمند، فاطمه (۱۳۷۹). بررسی اثرات درجه حرارت بر تشکیل میوه در گیاه فلفل *L. Capsicum annum*. پایان نامه دوره کارشناسی ارشد. دانشگاه کرمان.
- ۲- مظفری، حسین. (۱۳۸۳). بررسی نقش کلسیم در مقاومت گیاه خاکشیر *Descurainia Sophia* به تنش شوری. پایان نامه دوره کارشناسی ارشد، دانشگاه باهنر کرمان.
- 2- Armstrong, W., Drew, M., Lety, J & Stolzy, Lh. 2002. Root growth and metabolism under oxygen deficiency. PP: 729-757.
- 3- Aschi-Smiti, S., Chaibi, W., Brouquisse, R., R Card, B & saglio, P. 2003. Assessment of enzyme induction & aerenchyma formation as mechanisms for flooding tolerance in *Trifolium subterra neum park*. *Annals of Botany*. 91: 195-204.
- 4- Ashraf, M. 2003. Relationships between leaf gas exchange characteristics and growth of differently adapted population of blue panicgrass (*Panicum antidolate retz.*) under salinity or waterlogging. *Plant Science*. 165: 69-75.
- 5- Bacanamwo, M cand Purcell, L. C. 1999. Soybean root morphological and anatomical traits associated with associated with acclimation to flooding. *Crop Science*. 39: 143-149.

- measurement with the folin phenol reagent J. Biol. Chem. 193: 265-275.
- 27- Maricle, B. R & Lee, R. W. 2002. Aerenchyma development and oxygen transport in the estuarine cordgrasses *Spartina alterniflora* and *S. anglica*. *Aquatic Botany*. 74(2): 109-120.
- 28- Pezeshki, S. R. 2001. Wetland plant responses to soil flooding. *Environmental and Experimental Botany*. 46: 299-312.
- 29- Mielke, M. S., De Almeida, A-A. F., Gomes, F. P., Aguilar, M. A. G & Mangabeira, P. A. O. 2003. Leaf gas exchange, chlorophyll fluorescence & growth responses of *Genipa Americana* seedlings to soil flooding. *Environmental and Experimental Botany*. 50: 221-231.
- 30- Prasad, M.N.V. 1997. Plant ecophysiology. John Wiley & Sons. ISBN: 0-471-13157-1. PP: 153-171.
- 31- Qiuji, D., Binyan, S., Xiao, Z & Wang, Z. 1996. Flooding – induced membrane damage, lipid oxidation and activated oxygen generation in *Corn* leaves. *Plant and Soil*. 179: 261-268.
- 32- Schluter, U & Crawford, R. M. M. 2001. Long-term anoxia tolerance in leaves of *Acorus calamus* L. and *Iris pseudacorus*. *Experimental Botany*. 52(364): 1-21.
- 33- Taliao, C & Holin, C. 2001. Invited review paper: physiological adaptation of crop plants to flooding stress. *Proc. Natl. Sci. Counc. Roc(B)*. 25(3): 148-157.
- 34- Voesenek, L. A. C. J., Benschop, J. J., Bou, J., Cox, M. C. H., Groeneveld, H. W., Millenaar, F. F., Vreeburg, R. A. M & Peters, J. M. 2003. Interactions between plant hormones regulate submergence-induced shoot elongation in the flooding-tolerant Dicot *Rumex palustris*. *Annals of Botany*. 91: 205-211.
- 35- Yan, B., Dai, Lin, X., Huang, Sh & Wang, Z. 1996. Flooding-induced membrane damage, lipid oxidation and activated oxygen generation in *Corn* leaves. *Plant and Soil*. 179: 261-268.
- 36- Zhang, J & Kirkham, M. B. 1996. Antioxidant responses to drought in *Sunflower* and *Sorghum* seedlings. *New Phytol*. 132: 361-373.
- in adventitious roots of *Zea mays* L. Subjected to exogenous ethylene or to oxygen deficiency. *Planta*. 153: 217-224.
- 16- Dubey, H & Grover, A. 2003. Respiratory pathway enzymes are differentially altered in flood tolerant and sensitive rice types during O₂ deprivation stress and post-stress recovery phase. *Plant science*. 164(5): 815-821.
- 17- English, Ph. J., Lycett, G. W., Robert, J. A & Jackson, M. B. 1995. Increased 1-Aminocyclopropane-1-carboxylic acid oxidase activity in shoots of flooded *Tomato* plants raises ethylene production to physiologically active levels. *Plant Physiol*. 109: 1435-1440.
- 18- Grichko, V. P. & Glick, B. R. 2001. Ethylene and flooding stress in plants. *Plant Physiol. Biochem*. 39: 1-9.
- 19- He, C-J., Morgan, P. W & Drew, M. C. 1996. Transduction of an ethylene signal is required for cell death and lysis in the root cortex of *Maize* during aerenchyma formation induced by hypoxia. *Plant Physiol*. 112: 463-472.
- 20- Hsiangsu, P., Huiwu, T & Lin, Ch-H. 1998. Root sugar level in *Luffa* and *Bitter melon* is not referential to their flooding tolerance. *Bot. Bull. A. Cad. Sin* 39: 175-179.
- 21- Huang, B & Wilkinson, R. E. 2000. *Plant Environment Interactions*. Manhattan, Kansas. pp. 263-280.
- 22- Ito, O., Ella, E & Kawano, N. 1999. Physiological basis of submergence tolerance in rainfed lowland *Rice* ecosystem. *Field Crops Research*. 64: 75-90.
- 23- Jackson, M. B & Drew, M. C. 1980. Flooding and plant growth. Wantage, Oxfordshire, England. pp. 53-125.
- 24- Jackson, M. B., Gales, K. & Campbell. D. J. 1978. Effect of water logging soil condition on the production of ethylene and on water relationships in *Tomato* plants. *Journal Of Experimental Botany*. 29(108): 183-193.
- 25- Kozlowski, T. T. 1997. Responses of woody plants to flooding and salinity. *Tree Physiology Monograph*. 1: 1-12.
- 26- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farry, A.L., Randall, R.J. 1951; Protein

