اثر تنش غرقابی بر القاء تنش اکسیداتیو و غلظت عناصردر گیاه فلفل (*Capsicum annum L.*)

فاطمه ملک احمدی[۲،۱]، خسرو منوچهری کلانتری[۱] و مسعود ترکزاده[۲]

[۱] دانشگاه شهید باهنر کرمان،-دانشکده علوم، بخش زیست شناسی

[۲] مرکز بین المللی علوم و تکنو لوژی پیشرفته و علوم محیطی کرمان

چکیده

تنش غرقابی اثرات مورفولوژیک و فیزیو لوژیک مهمی بر گیاهان وحشی و زراعی دارد. این تنش زمانی ایجاد می شود که خاک با آبیاری بیش از حد و یا زهکشی ضعیف روبرو شده باشد. از اثرات مهم غرقابی می توان به کاهش مقدار جذب آب و جذب مواد غذایی گیاه اشاره کرد. تأثیر دیگر این تنش تولید گونه های اکسیژن فعال (Ros) و ایجاد تنش اکسیداتیو در بافتهای گیاهی است. اندازه گیری غلظت مالون دآلدئید شاخصی برای تعیین مقدار پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء می باشد و افزایش غلظت این ماده در طول تنش، نشانگر افزایش پراکسیداسیون اسیدهای چرب غشائی در حضور رادیکالهای آزاد اکسیژن است. در این مطالعه، بذرهای گیاه فلفل(*Capsicum annum L.*) در گلدانهای حاوی ورمیکولیت کاشته شد، سپس گلدانها به اتاق رشد با شرایط کنترل شده دما ۲۷/۲۳ (شب/روز) و دوره نوری ۱٦/۸ ساعت (شب/ روز) منتقل شدند. بعد از سه هفته، گیاهان بمدت ۳، ۵ و ۷ روز تحت تیمار غرقابی قرار گرفتند. پس از برداشت، مقدار آنتی اکسیدانهایی مانند آسکوربیک اسید، کاروتنوئیدها و میزان پراکسیداسیون لیپیدها و غلظت عناصر معدنی اندازه گیری شد. افزایش غلظت آسکوربیک اسید در برگ گیاهان تحت تنش نسبت به شاهد مشاهده گردید. مقدار کلروفیل b در گیاهان تحت تیمار ۵ و۷ روز تنش غرقابی نسبت به شاهد در سطح معنی دار ۵ درصد کاهش نشان داد. تنش غرقابی باعث کاهش معنی دار مقدار کاروتنوئیدها نسبت به شاهد شد. در تمامی گیاهان تحت تیمار تنش غرقابی، افزایش معنی دار در مقدار مالون دآلدئید مشاهده گردید. مقدار یون پتاسیم درگیاهان تحت تیمار تنش غرقابی کاهش معنی داری نسبت به شاهد نشان داد، در صورتیکه مقدار یون سدیم در گیاهان تحت تیمار، در مقایسه با شاهد دو تا سه برابر افزایش نشان داد.

واژه های کلیدی: تنش اکسیداتیو، غرقابی، غلظت عناصر معدنی ، *capsicum annuum L.*

مقدمه

غرقابی تنشی است که بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی را در گیاهان مختل می کند. از جمله این فرآیندها می توان به ظرفیت فتوسنتزی، مقدار رشد ریشه و ساقه، تولید تودهٔ زنده گیاه، روابط آبی، متابولیسم کربوهیدرات، تغذیه و تعادل بین هورمونها اشاره کرد که اثرات فوق در گیاهان ذرت و لوبیا مشاهده شده است (۱۸و٤). مطالعات انجام شده نشان می هد که مقدار کاهش ظرفیت فتوسنتزی در گیاهان حساس به غرقابی از جمله گندم وگوجه فرنگی در مقایسه با گیاهان مقاوم به غرقابی مانند برنج بیشتر است (٤). مهمترین علت اثرات زیان آور غرقابی بر گیاهان، مربوط به کاهش اکسیژن خاک در طول مدت تنش غرقابی است. گر چه گیاهان عالی به آب آزاد در محیط اطراف ریشه خود نیاز دارند، با این حال آب اضافی در محیط ریشه می تواند به گیاهان آسیب رسانده و یا حتی برای آنها کشنده باشد، زیرا ریشه نسبت به

Archive of SID
www.SID.ir

کاهش اکسیژن حساس بوده و غرقابی عامل کاهش امکان انتشار اکسیژن و دیگر گازها بین خاک و اتمسفر است (۱۰). بررسیهای انجام شده بر روی گیاهان مختلف نشان داده است که اثرات تنش غرقابی در گیاهان مختلف متفاوت بوده و این تفاوتها مربوط به گونه گیاهی، سن گیاه، شرایط فیزیولوژیک و نوع خاک می باشد (۱۸). از دیگر اثرات تنش غرقابی اسیدی شدن سیتوپلاسم، تخمیر بی هوازی، افزایش غلظت کلسیم ستیوزولی، تغییر در حالت ردوکس خاک وکاهش عملکرد غشاء است (۱۸و۱٦).

بررسیهای انجام شده بر روی گیاهانی چون ذرت، سیب زمینی، گندم، آفتابگردان و زنبق نشان داده است انواع مختلف اکسیژن فعال، بین یون سوپر اکسید (o_2^-) ، پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و رادیکال هیدروکسیل (OH^-) ، می توانند به ترکیبات حیاتی سلول مانند اسیدهای چرب غیر اشباع، پروتئینها و نوکلئیک اسیدها حمله نمایند. این واکنشها بطور طبیعی ویژگیهایی چون سیالیت غشاء، انتقال یونی فعالیت آنزیمی و سنتز پروتئینها را کاهش داده و باعث تخریب DNA هسته ای و میتوکندریایی و نهایتا مرگ سلولی می شوند. یکی از واکنشهایی که در حضور انواع اکسیژن فعال سرعت بیشتری پیدا می کند، پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی است که باعث تولید آلدئیدهایی مثل مالون دآلدئید (MDA) و ترکیباتی مثل اتیلن می شوند (۱۹).

اثر رادیکالهای اکسیژن بر لیپیدها و پراکسیداسیون آنها ناشی از اثر بر پیوندهای دوگانه اسیدهای چرب غیر اشباع می باشد که واکنشهای زنجیره ای پراکسیداسیون را تحریک کرده و منجر به تخریب اسیدهای چرب می شوند. رادیکالهای هیدروکسیل و یا اکسیژن یکتایی می توانند با گروههای متیلن اسیدهای چرب غیر اشباع واکنش داده و تولید دی انهای متصل و رادیکالهای لیپید پراکسی و هیدروپراکسی کنند. رادیکال پراکسیل شکل گرفته بسیار واکنشگر بوده و قادر به شروع زنجیره واکنشهای پراکسیداسیون می باشد (۵). اثرگونه های اکسیژن فعال (ROS) بر تخریب DNA هسته ای شامل تغییر شکل، اکسیداسیون اوکسی ریبوز، شکستگی رشته DNA و موتاسیون می باشد که در بین انواع متنوع ROS، رادیکال هیدروکسیل نقش مهمتری را در این زمینه ایفا می کند (۵). رادیکالهای آزاد اکسیژن باعث تخریب اکسیداتیو پروتئینها می شود. گزارش شده است که تخریب ایجاد شده در جایگاه خاصی از آمینو اسیدها در پروتئین رخ می دهد (۵،۸،۲۲و۱۹).

برای مقابله با تنش اکسیداتیو ایجاد شده یک سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی با کارائی بالا در گیاهان وجود دارد که می تواند رادیکالهای آزاد را از بین برده، خنثی و یا جارو کند. این سیستم دفاعی شامل سازوکارهای آنزیمی و غیر آنزیمی است. آنزیمهای این سیستم دفاعی شامل سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، آسکوربیک پراکسیداز (APOX)، دهیدروآسکوربات ردوکتاز (DHAR) و گلوتاتیون ردوکتاز (GR) است و سیستم غیر آنزیمی شامل آسکوربیک اسید (ASA)، گلوتاتیون (GS)، آلفاتوکوفرول (ویتامین E) و کاروتنوئیدها می باشد (٦، ۲۰و۱۹).

گزارش شده که تنشهایی مثل غرقابی، نورشدید، خشکی ،حرارت بالا، سرما، شوری و آلوده کننده های هوا مانند اوزون، تنشهای مکانیکی، فیزیکی و بعضی پاتوژنها باعث ایجاد انواع مختلف اکسیژن فعال در بافتهای گیاهی می گردند (٦و۱۹).

اگر تعادل بین تولید ROS و سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی کاهش یابد، تنش اکسیداتیو ایجاد شده منجر به تضعیف غشاهای سلول و سایر اندامکها می گردد (۵). بسیاری از تنشهای محیطی باعث می شوند که گونه های اکسیژن فعال بیش از ظرفیت دفاعی سیستم طبیعی گیاه تولید شده وباعث خسارت به گیاه شود.

Archive of SID

www.SID.ir

هدف از انجام این پژوهش بررسی اثر تنش غرقابی بر برخی پارامترهای فیزیولوژیک، القاء تنش اکسیداتیو در گیاه فلفل و مقدار سازگاری این گیاه به این تنش بوده است.

مواد و روشها

در این مطالعه برای بررسی اثر تنش غرقابی در ایجاد تنش اکسیداتیو، از گیاه فلفل استفاده شد . بذرهای این گیاه را درگلدانهای حاوی ورمیکولیت کاشته و سپس در اتاق رشد دارای شرایط تحت کنترل (دما۲±۲۷ و ۲±۲۳ درجه سانتیگراد به ترتیب در شرایط روشنایی ١٦ ساعته و تاریکی ۸ ساعته، شدت نور ۱۵کیلو لوکس) قرار داده شدند. پس از ۳ هفته، زمانیکه گیاهان به مرحله ۳ تا ٤ برگی رسیدند، جهت اعمال تیمار غرقابی، آنها را در ظروف محتوی آب قرار داده، بطوریکه آب ۲۵ میلی متر بالای سطح ورمیکولیتها قرارگرفت. گیاهان شاهد روزی یکبار با آب مقطر آبیاری شدند. پس از سه، پنج و هفت روز از تیمار غرقابی، گیاهان برداشت شدند. تمام گلدانها قبل از شروع تیمار هفته ای ۳ بار علاوه بر آب مقطر با محلول غذایی آبیاری شدند.

اندازه گیری پراکسیداسیون لیپیدها: برای اندازه گیری این پارامتر غلظت مالون دالدئید (MDA) با استفاده از روش هیت و پاکر (١٩٦٨) بعنوان محصول شاخص واکنش پراکسیداسیون اسیدهای چرب اندازه گیری شد (۱۹). طبق این روش ۰/۱ گرم وزن تر برگ از هر تکرار را برداشته و در ٤ میلی لیتر تری کلرواستیک اسید (TCA) ۰/۱ درصد کاملاً سائیده شد. عصاره حاصله بمدت ۵ دقیقه با شدت ۱۰۰۰g سانتریفوژ سپس به ۱میلی لیتر از محلول روئی ٤ میلی لیتر تری کلرواستیک اسید ۲۰ درصد حاوی تیو بار بیتوریک اسید(TBA) ۰/۱۵ درصد، اضافه گردید. این مخلوط بمدت ۳۰ دقیقه درحمام آب گرم در حرارت ۹۵ درجه سانتی گراد قرار گرفت و بلافاصله دریخ سرد شد . ماده مورد نظر برای جذب در طول موج ۵۳۲ نانومتر ماده قرمز رنگ MDA-TBA بود و جذب سایر رنگیزه های غیر اختصاصی در ٦۰۰ نانومتر تعیین و از این مقدار کم گردید. برای محاسبه غلظت MDA از فرمول $A=\varepsilon bc$ با مقدار ε (ضریب خاموشی extinction coefficient) معادل mM ۱۵۵cm^{-1}، استفاده شد (۱۹).

اندازه گیری میزان نفوذ پذیری غشاء: نفوذ پذیری غشای برگ بوسیله هدایت الکتریکی آن تعیین شد. بدین طریق که ۰/۲ گرم وزن تر برگ از هر تکرار را بدقت شسته و سپس در ظروف شیشه ای در پوش دار محتوی ۱۰ میلی لیتر آب مقطر قرار داده شد. بعد از آن ظروف شیشه ای درپوش دار بمدت ۳ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد در حمام آب گرم قرار گرفت که بعد از ۳ ساعت، هدایت الکترولیتی محلولها با استفاده از هدایت سنج الکتریکی (Metrohm مدل ۷۱۲) اندازه گیری شد. سپس، دوباره شیشه های محتوی نمونه برگی را بمدت ۲ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد قرار داده و برای بار دوم هدایت الکترولیتی آنها پس از سرد شدن محلول اندازه گیری شد . در صد نشت الکترولیتی محلولها با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

$$\text{Percent EC} = C_1/C_2 \times 100$$

که در این فرمول C_1 و C_2 بترتیب هدایت الکتریکی محلول قبل و بعد از جوش می باشد (۱۹).

اندازه گیری مقدار کلروفیل و کاروتنوئید: جهت سنجش این پارامترها از روش لیچتن و تالر (۱۹۸۷) استفاده شد (۲۲). ۰/۱ گرم وزن تر برگ را در هاون چینی با ۵ میلی لیتر استن ۸۰ درصد سائیده و محتوی هاون با کاغذ صافی واتمن شماره ۱ که در قیف شیشه ای قرار داشت صاف گردید. با استفاده از اسپکتر و فتو متر(Varian, $S_2$100 diod) در طول موجهای ٦٦٤ و٦٤٧ و ٤٧۰ نانومتر جذب این محلول خوانده شد. مقدار

Archive of SID

www.SID.ir

کلروفیل a ، کلروفیل b و کاروتنوئیدها با استفاده از فرمولهای زیر محاسبه گردید:

$C_a=12/25A_{664}-2/79A_{647}$

$C_b=21/51A_{647}- 5/10A_{664}$

$C_{X+C}= (1000A_{470}-1/8C_a- 85/02c_b)/198$

C_a و C_b و C_{X+C} برحسب(mg/ml) بترتیب غلظت کلروفیل a ، b و کاروتنوئیدها شامل کاروتن وگزانتوفیل می باشد (۲۲).

اندازه گیری آسکوربیک اسید: جهت سنجش این پارامتر از روش امسی دی پینکو و همکاران (۱۹۹۹) استفاده شد (۲). مقدار ۰/۵ گرم از بافت تر برگ در ۱۰ میلی لیتر متافسفریک اسید ۵ درصد سائیده شد و سپس عصاره بمدت ۱۵ دقیقه در g ۱۰۰۰۰ سانتریفوژ گردید. برای اندازه گیری آسکوربات مراحل زیر انجام شد: ۰/۳ میلی لیتر از عصاره گیاهی با ۰/۷۵ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم و ۰/۳ میلی لیتر آب مقطر مخلوط پس از بهم زدن کامل محلولها با ورتکس، نمونه ها بمدت ده دقیقه در دمای اتاق قرار داده شدند. سپس بترتیب ۰/٦ میلی لیترتری کلرو استیک اسید (TCA) ۱۰ درصد، ۰/٦ میلی لیتر ارتو فسفریک اسید ٤٤ درصد، ٦/ ۰میلی لیتر دی پیریدیل ٤ درصد و ۱۰ میکرولیترکلرید آهن($FeCl_3$) اضافه شد. پس از بهم زدن محلول لوله آزمایش، نمونه ها بمدت ۲۰ دقیقه در دمای ٤۰ درجه سانتی گراد در حمام آب گرم قرارداده شدند، با ورتکس مجدد برای ادامه واکنش، محلولها بمدت ۲۰ دقیقه دیگر در دمای ٤۰ درجه قرار گرفتند. سرانجام جذب در ۲۵۲ نانومتر خوانده شد. مقدار آسکوربات با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه گردید (۲).

اندازه گیری یون سدیم و پتاسیم: جهت سنجش یونهای سدیم و پتاسیم از دستگاه فلیم فوتومتر(Jenway, PEP7) استفاده شد. در ابتدا نمونه های تازه برگی بمدت ۲٤ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی گراد خشک شدند، سپس ۰/۲۵ گرم از ماده خشک در ۱۰ میلی لیتر اسید نیتریک غلیظ ۸۵ درصد سائیده، و سوسپانسیون حاصل بمدت ۲٤ ساعت در دمای اتاق قرار داده شد تا نمونه های گیاهی به خوبی در اسید حل شوند . بعد از این مدت نمونه ها روی اجاق برقی با درجه حرارت ملایم جهت هضم قرار گرفتند. سرانجام حجم محلولها به۵۰ میلی لیتر رسانده شد و صاف گردید. در نهایت با استفاده از منحنی های استاندارد مربوط به یونهای سدیم و پتاسیم مقدار دو یون در نمونه تعیین شد (۱).

آنالیز آماری: تمام آزمایش بر اساس طرح کاملا تصادفی با ٤ تکرار انجام گرفت. مقایسه میانگین با استفاده از نرم افزار SPSS 9.0 و آزمون توکی با ضریب اطمینان ۹۵ درصد انجام گرفت.

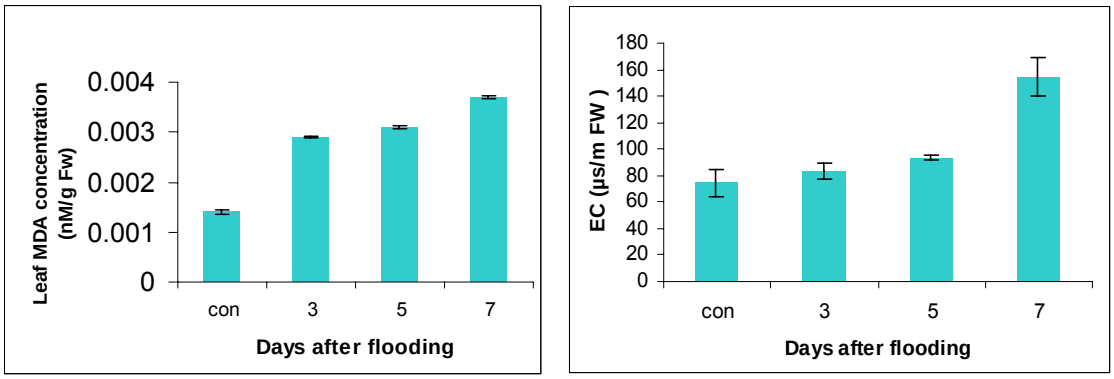
نتایج

ایجاد تنش اکسید اتیو: همانطور که در شکل ۱ مشاهده می شود غلظت MDA که شاخص واکنش پراکسیداسیون لیپیدها است در تیمارهای ۳، ۵ و ۷ روز غرقاب افزایش معنی داری را نسبت به شاهد نشان داد.

تیمار پنج و هفت روز غرقابی باعث افزایش معنی داری درمقدار آسکوربیک اسید نسبت به شاهد شد. در حالیکه مقدار آسکوربیک اسید در تیمار سه روزه نسبت به شاهد کاهش نشان داد(شکل۲). همچنین افزایش آسکوربیک اسید به عنوان یک آنتی اکسیدان در تیمارهای مختلف غرقابی بیانگر القاء تنش اکسیداتیو است. همانطور که در شکل۲ (B) مشاهده می شود، میزان دهیدرو آسکوربیک اسید در طول تنش در تیمارهای ۳، ۵ و ۷ روزه غرقابی کاهش معنی داری نسبت به شاهد نشان می دهد. هدایت الکترولیتی در تیمارهای ۳ و ۵ روزه تنش غرقابی نیز افزایش معنی داری نسبت به شاهد نشان داد، در صورتیکه تیمار ۷ روزه اختلاف معنی داری با سایر تیمارها نداشت (شکل ۱).

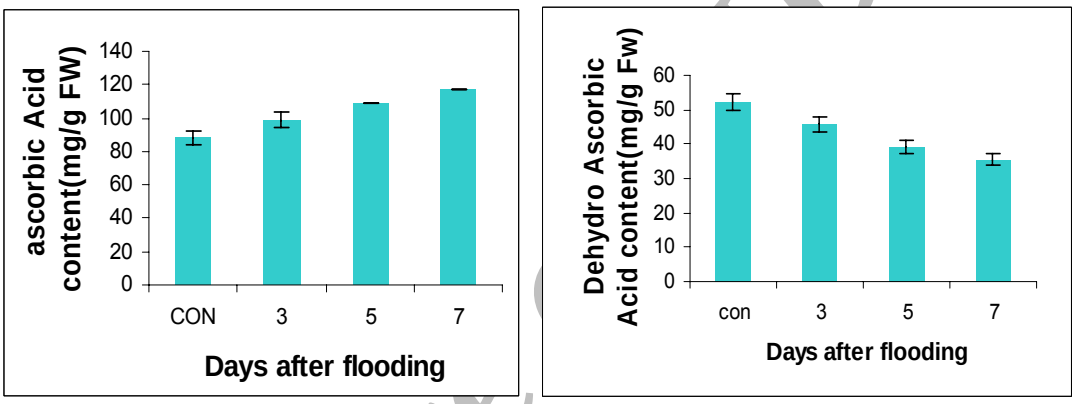
Archive of SID

www.SID.ir



A B

شکل۱: اثر دوره های ۳، ۵ و ۷ روزهٔ غرقابی بر القاء تنش اکسیداتیو در برگهای گیاه فلفل A: مقایسه میزان تولید MDA-TBA (nM/g FW). B: مقایسهٔ درصد EC بعنوان شاخصی از تخریب غشایی (µs/gr.FW).



A B

شکل۲: A: مقایسهٔ مقدار تولید ASA بعنوان یک آنتی اکسیدان (mg/g FW). B: مقایسهٔ میزان تولید DHASA بعنوان یک آنتی اکسیدان (mg/g FW).

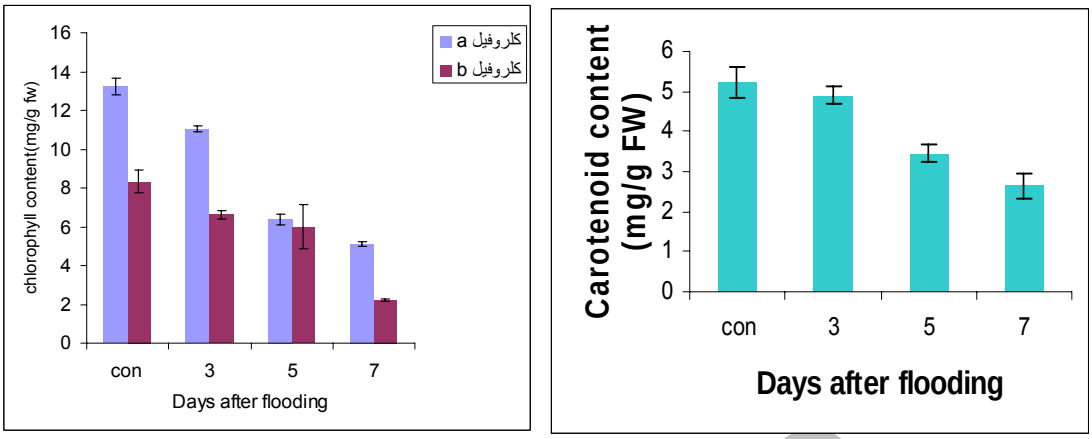
اثربر رنگیزه های فتوسنتزی: غرقابی بر مقدار کلروفیل a درگیاهان تحت تنش ۳ روزه غرقابی اثر معنی داری نداشت، ولی در تیمار های ۵ روز و ۷ روزه تنش غرقابی در مقدار کلروفیل a کاهش معنی داری مشاهده شد (شکل ۳). مقدار کلروفیل b در تیمارهای ۳، ۵ و ۷ روز تنش غرقابی نسبت به گیاهان شاهد کاهش یافت. کاروتنوئیدها نیز در تیمارهای مختلف نسبت به شاهد کاهش معنی داری نشان دادند (شکل۳)

اثر بر میزان جذب یونها: اثر دوره های مختلف تنش غرقابی بر مقدار غلظت یونها ی سدیم و پتاسیم در برگ گیاه فلفل در شکل (٤) نشان داده شده است . همانطور که در شکل مشخص است، مقدار غلظت سدیم در تیمارهای ۳، ۵ و۷ روز تنش غرقابی افزایش معنی داری نسبت به شاهد نشان می دهد، در صورتیکه بین دو تیمار ۳ و۵ روز تنش غرقابی اختلاف معنی داری وجود ندارد. از نمودار مربوط به یون پتاسیم نیز چنین بر می آید که مقدار غلظت یون پتاسیم در تیمارهای مختلف تنش غرقابی کاهش معنی داری نسبت به شاهد از خود نشان می دهد (شکل٤).

بحث و نتیجه گیری

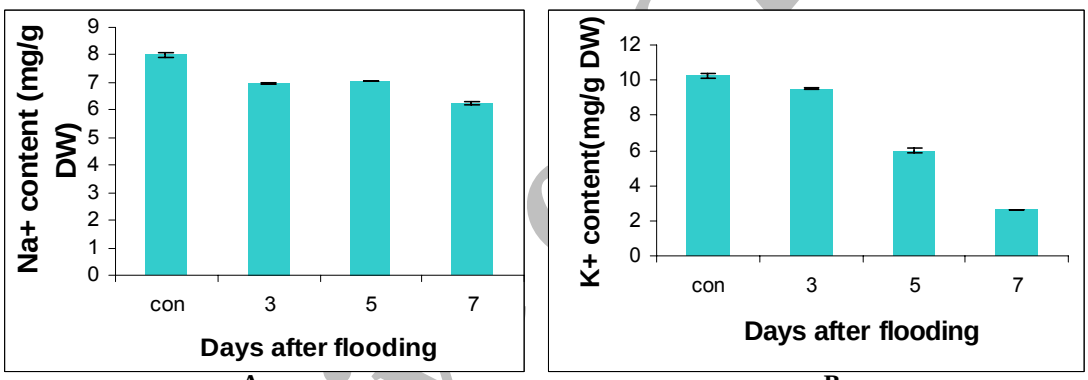
در این تحقیق افزایش غلظت MDA در تیمارهای۳، ۵ و ۷ روزه تنش غرقابی مشاهده شد که نشان دهنده افزایش واکنش پراکسیداسیون لیپیدها و اکسید شدن اسیدهای

Archive of SID
www.SID.ir



A B

شکل ۳: اثر دوره های ۳، ٥ و ۷ روزهٔ غرقابی بر رنگیزه های فتوسنتزی در برگهای گیاه فلفل. A: مقدار کلروفیل a و b (mg/g FW). B: مقدار کاروتنوئیدهای برگ (mg/g FW).



A B

شکل ٤: اثر دوره های ۳، ٥ و ۷ روزهٔ غرقابی بر مقدار غلظت یونهای سدیم و پتاسیم در برگهای گیاه فلفل. A: مقدار غلظت یونهای سدیم (mg/g DW). B: مقدار غلظت یونهای پتاسیم (mg/g DW).

چرب غشایی است. کاهش میزان اسیدهای چرب غیر اشباع موجود در فسفولیپیدهای غشاء تحت تنش غرقابی در گیاهان گندم و جو و زنبق نیز گزارش شده است (۸ و ۱۹).

بنظر می رسد رادیکالهای واکنش گر ایجاد شده در اثر تنش غرقابی می تواند باعث افزایش واکنش پراکسیداسیون و درنتیجه باعث افزایش MDA در گیاه فلفل تحت غرقابی شود. این رادیکالها آغازگر پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع در غشاء می باشند (۱۹). نگهداری وحفظ تمامیت غشاهای زیستی درگیاهان مقاوم به غرقاب از طریق نگهداری اسیدهای چرب غیر اشباع در غشاهای سلول میسر می گردد. از آنجا که اسیدهای چرب غیر اشباع در میتوکندری و بخصوص در تیلاکوئیدهای کلروپلاستی فراوان است، از اینرو این اندامکها بیشتر تحت تأثیر رادیکالهای آزاد ایجاد شده توسط تنش غرقابی قرار می گیرند (٦) .

همچنین گزارش شده است که طی این تنش در مقایسه با شرایط هوازی، غلظت مالون دآلدئید (MDA) بعنوان شاخصی که حاصل تخریب لیپیدها است ۲ تا ۳ برابر افزایش می یابد (۷). برگهای جوان نسبت به برگهای

Archive of SID
www.SID.ir

مسن و بالغ در برابر تنش غرقابی کمتر آسیب پذیرند. این مطلب بیانگر حساسیت برگهای پیرتر و بالغترنسبت به فرآیند های اکسید اتیو است(۱۹).

علاوه بر این، پراکسیداسیون غشاء کلروپلاستها و تیلاکوئیدها باعث بر هم زدن شیب pH و نفوذ پذیری این غشاها می شود، فتوسنتز را مختل و منجر به کاهش تولید در گیاهان می شود (۲۲).

یکی دیگر از پارامترهایی که بعنوان شاخصی از تخریب غشاء اندازه گیری می شود هدایت الکترولیتی است که مقدار آن در طول تنش افزایش پیدا می کند (۱۹). پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع موجود در فسفولیپیدهای غشا ء می تواند باعث افزایش مقدار نشت پذیری الکترولیتی غشاء شود، بنابراین نشت پذیری می تواند شاخصی جهت تعیین تخریب غشاهای زیستی محسوب شود (۱۹). در این تحقیق افزایش مقدار هدایت الکترولیتی در تیمار هفت روزه تنش غرقابی مؤید مطالب فوق است .

در حالت طبیعی بین تولید و جارو کردن گونه های اکسیژن فعال (ROS) در گیاهان تعادلی وجود دارد که گیاهان را درحالت نسبتا پایداری نگه می دارد. آسکوربیک اسید یک آنتی اکسیدان قوی است که در بسیاری از سلولهای گیاهی، ارگانلها و اپوپلاست یافت می شود و بعنوان احیا کننده بسیاری از رادیکالهای آزاد عمل کرده و این عمل را بصورت مستقیم از طریق احیا رادیکالها و یا بصورت غیر مستقیم با احیا مجدد آلفا توکوفرول انجام می دهد (۲۰و۱۹). در حدود ۹۰ درصد این اسید تحت شرایط فیزیولوژیکی به شکل احیا شده در برگها وکلروپلاست موجود بوده و غلطت درون سلولی آن در حد میلی مولار است (٤). در این بررسی برای اندازه گیری مقدار فرایندهای آنتی اکسیدانی غلظت آسکوربیک اسید (ASA) اندازه گیری شد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان می دهد که در تیمارهای غرقابی بویژه پنج وهفت روز غرقابی مقدار آسکوربیک اسید افزایش می یابد. در مقابل مقدار دهیدروآسکوربیک اسید در تیمارهای ۳، ۵ و ۷ روزه غرقابی نسبت به شاهد کاهش معنی داری نشان می دهد (شکل ۲).

با توجه به نمودار A وB در شکل ۲ نتیجه گیری می شود که مقدار آسکوربات برگ در تیمارهای ۳، ۵ و ۷ روزه غرقابی نسبت به شاهد افزایش معنی داری دارد ولی مقدار دهیدروآسکوربیک اسید نسبت به شاهد کاهش نشان می دهد. مطالب فوق بیانگر این است که در طول تنش غرقابی چرخه آسکوربات گلوتاتیون غیر فعال بوده و یا مقدار فعالیتش کاهش می یابد، در نتیجه بخوبی نمی تواند نقش دفاعی خود را ایفا کند، و افزایش آسکوربیک اسید افزوده شده مربوط به آسکوربیک کل گیاه است.

بررسیهای انجام شده در گیاه ذرت نشان داده است که تنش غرقابی مقدار کلروفیل a و b به ویژه کلروفیل b را کاهش می دهد (۲۰). مطالعه بر روی گیاهان مختلف از جمله ژنوتیپهای مختلف ذرت نشان می دهد که کلروفیل b نسبت به کلروفیل a حساسیت بیشتری نسبت به تنش غرقابی دارد (٤و۲۱). کاهش محتوای کلروفیلی تحت تنش غرقابی، ممکن است بدلیل آهسته تر شدن سنتز و یا شکسته شدن و تخریب سریع رنگیزه های کلروفیلی نیز باشد (٤). بعلاوه دیده شده که فتو سیستم II یک جزء حساس فتوسنتز بوده که تحت تأثیر تنشهای محیطی قرار می گیرد، بنابراین چون کلروفیل b بیشتری در این فتو سیستم موجود است، مقدار تخریب کلروفیل b بیشتر است (١٦). در این تحقیق نیز، کاهش معنی داری در مقدار کلروفیل a وb بویژه کلروفیل b درگیاهان تحت تنش غرقابی در مقایسه با شاهد مشاهده شد (شکل۳). نقش کاروتنوئیدها بعنوان آنتی اکسیدان در تنشهای اکسیداتیو مورد توجه قرار گرفته است (۲۲). در بافتهای فتوسنتزی کاروتنوئیدها اختصاصاً وظیفه

Archive of SID

www.SID.ir

حفاظت از فتوسیستمها را بعهده دارند (۵). کاروتنوئیدها از طریق فروکش کردن سریع وضعیت برانگیخته کلروفیل، حفاظت نوری را انجام می دهند. همانطور که در شکل (B)۳ مشاهده می شود در طول تنش غرقابی مقدار کاروتنوئیدها کاهش یافته و نتوانسته اند نقش حفاظتی خود را ایفا کنند، ولی کاهش آنها نسبت به کلروفیلها کمتر است. کاهش محتوای کاروتنوئیدی می تواند بدلیل اکسیده شدن آنها توسط اکسیژن فعال و تخریب ساختار آنها باشد (۵).

یکی دیگر از پارامترهای اندازه گیری شده مقدار غلظت یونهای سدیم و پتاسیم است که در تیمارهای مختلف تنش غرقابی افزایش یون سدیم و کاهش یون پتاسیم مشاهده شد.

گزارش شده است که کاهش اکسیژن بشدت بر مقدار غلظت یون پتاسیم اثر می گذارد، زیرا جذب فعال پتاسیم بوسیله ریشه ها نیاز به اکسیژن دارد. از طرفی دیده می شود که کاهش مقدار عناصر موجود در خاکهای غرقابی تنها بدلیل کاهش مقدار غلظت آنها نیست، بلکه بدلیل نشت یونها از ریشه به محیط نیز می باشد. برای مثال گزارش شده است که خروج یونهای پتاسیم از ریشه *prunus domes tica* تحت تنش غرقابی افزایش می یابد (۱۳). احتمال داده می شود که کاهش مقدار یون پتاسیم در برگ گیاه فلفل نیز بهمین دلیل باشد. غلظت پایین اکسیژن از خروج فعال یونهای Na^+ ممانعت بعمل می آورد، در نتیجه توانایی ریشه ها نسبت به خروج این یون از بین رفته و مقدار Na^+ در ریشه و سپس در برگ افزایش می یابد. مطالعه روی گیاه ذرت نشان می دهد که در برگ انتقال یونهای Na^+ در شرایط غرقابی افزایش یافته در حالیکه از انتقال فعال K^+ ممانعت می شود و در نتیجه نسبت Na^+/k^+ در برگ ذرت افزایش می یابد (۱۲و۳).

سپاسگزاری

از آقای دکتر محمد میرزایی ریاست محترم مرکز علوم وتکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی بدلیل فراهم کردن امکان استفاده از امکانات مرکز و آقای مهندس مسعود ترک زاده کارشناس آزمایشگاه علوم محیطی به خاطر همکاری در تهیه مواد و کار با دستگاههای مورد نیاز در این تحقیق، تشکر وقدردانی می گردد.

فهرست منابع

۱- طهماسبی، لیلا. (۱۳۸۱). مطالعه اثر متقابل شوری و برخی باز دارنده های رشد بر روی صفات مرفولوژیک و بیوشیمیایی نهالهای پسته رقم بادام *pistachio vera* پایان نامه دوره کارشناسی ارشد. دانشگاه تهران.

۲-نصیبی، فاطمه (۱۳۸۲). اثر باندهای مختلف اشعه ماوراء بنفش بر برخی از پارامتر های رشد و القاء تنش اکسیداتیو در گیاه کلزا (*Brassica napus L.*). پایان نامه دوره کارشناسی ارشد، دانشگاه باهنر کرمان.

3-Armstrongt W., Drew M., Lety J., and Stolzy L.H. (2002). Root growth and metabolism under oxygen deficiency. 729-757.

4-Ashraf, M. (2003). Relationships between leaf gas exchange characteristics and growth of differently adapted populations of Blu panicgrass(*Panicum antidotale* Retz.) under salinity or waterlogging . *Plants Science* 165: 69-75.

5-Bandyopadhyay U., Das D., and Banerjee R.K. (1999). Reactive oxygen species: Oxidative damage and pathogenesis. *Current Science* 77: 658-666.

6-Blokhin O., Virolainen E., and Fagerstedt K. (2003). Antioxidant Oxidative Damage and Oxygen Deprivation Stress. *A Review.Annuals of Botany* 91: 179-194.

7-Chen H., and Qualls R. (2003). Anaerobic metabolism in the roots of seedlings of the invasive exotic *Lepidium latifolium. Environmental and Exprimental Botany* 50: 29-40.

Archive of SID
www.SID.ir

8-Chirkova T., Novitskaya V., and Blokhina O.B. (1998). Lipid peroxidation and Antioxidant systems under Anaerobic in plants Differing in their Tolerance to Oxygen Deficiency. *Russion journal of plant physiology* 45: 55-62.

9-Dat J., Capelli F.H., Bourgeade P., and Badot P. (2004). Sensing during plant flooding. *Plant Physiology and Biochemistry* 42: 273-282.

10-Drew M. (1997). Oxygen Deficiency and Root Metabolism : Injury and Acclimation under Hypoxia and Anoxia. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 48: 223-250.

11-Gitelson, A.A., Zur,Y., Chirkunova, O.B., and Merzlyak M.N. (2002). Assessing Carotenoid content in plant leaves with Reflectance spectroscopy. *Photochemistry and Photobiology* 75(3): 272-281.

12-Gutierrez B.F., Lavado R., and Porcelli C. (1996). Note on the effects of winter and spring waterloggoing on growth, chemical composition and yield of rapeseed. *Field crops Research* 47: 175-179.

13-Kozlowski T. (1997). Responses of woody plants to flooding and salinity. *Tree Phsiology Monograph* 1: 1-17.

14-Liao J.L., Monje S., and Porterfield D. (2004). Induction of hypoxic root metabolism results from Physical limitation in oxygen bioavailability in microgravity. *Advances in Space Research* 32:54-61.

15-Lin K., Weng L., and Chen J. (2004). Study of the root antioxidative system of tomatoes and eggplants under waterlogged conditions. *Plant Science* 167: 355-365.

16-Mauchamp A., and Methy M. (2004). Submergence-induced damage of photosynthetic apparatus in phragmites australis. *Environmental and Exprimental Botany* 51: 227-235.

17-Pezeshki S.R. (2001). Wetland plant responses to soil flooding. *Environmental and Exprimental Botany* 46: 299-312.

18-Huang B., and Wilkinson R.E. (2000). *Plant – Environment intractions* 263-280.

19-Qiujie D., Bin y.S., Xiao Z., and Wang Z. (1996). Flooding –induce membrane damage ,lipid oxidation and activated oxygen generation in Corn leaves. *Plant and soil* 179: 261-268.

20-Yordanova R., Christov K., and Popora L.P. (2003). Antioxidative enzymes in *Barley* plants subjected to soil flooding. *Environmental and Exprimental Botany* 51: 93-101

21-Zaidi P., Rafique S., and Singh N. (2003). Response of Maize(*Zea mays L.*) genotypes to exsess soil moisture stress: Morpho-Physiological effects and basis of tolerance. *Europian Journal of Agronomy* 19: 383-399.

22-Zhang J., and Kirkham M.B. (1996). Antioxidation responses to drought in *Sunflower* and *Sorghum* seedling. *New Phytology* 132: 361-373.

Archive of SID

www.SID.ir

The effect of flooding stress on induction of oxidative stress and concentration of mineral element in pepper (*capsicum annum*) plants

Malekahmadi F.[1, 2], kalantari Kh.M.[1]and Torkzadeh M.[2]

[1]**Biology Dept., Faculty of Science, Shahid Bahonar university of Kerman, I.R. of Iran**
[2]**International center for science, High technology and Environmental Science, Kerman, I.R. of Iran**

Abstract

Flooding stress has important morphological and physiological effects on crop and wild plants. Flooding is induced by excessive irrigation or rainfall in soils with poor drainage. One of the important effects of flooding is the reduction of nutrient and water uptake in plants. Production of reactive oxygen species (ROS) and induction of oxidative stress in plant tissues are some of the other effects of flooding. Malondealdehyde (MDA) production is the indicator of lipid peroxidation reactions. A significant increase in MDA in plants which were flooded probably is the indication of fatty acid oxidation in the present of free radicals generated by flooding. In this research, seeds of *Capsicum annum* were sown in pots filled with vermiculate and then the pots were transferred to a controlled growth room with photoperiod of 16/8h light/dark and temperature 27/23 day/night. After three weeks, the seedlings were flooded for 3, 5 and 7 days. After sampling, antioxidant contents including ascorbic acid (ASA), carotenoids, as well as lipid peroxidation reactions and uptake of mineral elements were measured. In those plants which were flooded, ASA increased significantly. Flooding caused a significant decrease in chlorophyll b content ($p=0.05$) in those plants which were flooded for 5 and 7 days. Flooding also significantly decreased carotenoid in flooded plants when compared with controls. Flooded plants had a much higher MDA content than unflooded control plants. Potassium content of flooded plants decreased significantly, but sodium ion content was 2 to 3 times more in flooded plants in comparison with controls.

Keywords: oxidative stress, flooding, concentration of mineral element, *capsicum annuum*.

Archive of SID

www.SID.ir