مقاله پژوهشی، صفحات ۱۵-۱
DOI: 10.22034/jpr.2025.2271

مقایسه تغییرات فیزیولوژیک، روابط آبی و بیان ژن آکواپورین در اثر تنش‌های شوری، خشکی، غرقابی و دمایی در فلفل دلمه‌ای(*Capsicum annuum* L. var. Ps301)

زینب معصومی[۱]، مریم حقیقی[۱] و سیدامیرحسین جلالی[۲]

[۱] **ایران، اصفهان، دانشگاه صنعتی اصفهان، دانشکده کشاورزی، گروه باغبانی**

[۲] **ایران، اصفهان، دانشگاه صنعتی اصفهان، دانشکده منابع طبیعی، پژوهشکده زیست فناوری و مهندسی زیستی**

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۳/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۹/۰۸

چکیده

تنش به مفهوم تغییر شرایط بهینه رشدی گیاه است که موجب کاهش رشد و نمو می‌گردد.گیاهان در معرض تنش‌های محیطی مختلفی قرار می‌گیرند. تنش‌های محیطی یکی از مهم‌ترین عوامل کاهش‌دهنده عملکرد محصولات کشاورزی است بنابراین تنش‌های خشکی، غرقابی، شوری و گرما بعنوان مهم‌ترین تنش‌های غیر زستی مورد بررسی قرار گرفت. بنابراین در این مطالعه تغییرات فیزیولوژیکیو بیان ژن آکواپورین تحت تنش‌های خشکی، غرقابی، شوری و گرما بر گیاه فلفل دلمه‌ای رقم (Ps۳۰۱) با شرایط غیر تنش مورد بررسی قرار گرفت. تنش‌های اعمال شده شامل تنش خشکی (۵- بار) به‌وسیله پلی‌اتیلن گلایکول ۶۰۰۰، تنش غرقابی بدون هوادهی و شوری (۳۰۰ میلی‌مولار) به وسیله نمک NaClو تنش گرما (۳۸ درجه سانتی‌گراد) بوده است. نتایج نشان داد بیشترین میزان محتوای نسبی آب در تنش غرقابی، منفی‌ترین پتانسیل آب درتنش شوری و بیشترین سطح بیان ژن آکواپورین در تنش خشکی بدست آمد. از سوی دیگر، در اثر تنش‌های اعمال شده بیشترین سطح رنگریزه کاروتنوئید درتنش خشکی حاصل شد. همچنین تنش شوری موجب افزایش میزان اسیدآبسیزیک در گیاه فلفل دلمه‌ای گردید. نتایج نشان داد که در تنش خشکی و غرقابی میزان بیان ژن آکواپورین روند افزایشی داشته است که از طریق عبور آب بیشتر از این کانال‌های آبی به درون سلول موجب حفظ آب سلول شد و به نظر می رسد در تنش شوری و گرما با افزایش هورمون اسیدآبسیزیک و اتصال به گیرنده‌های سلول‌های محافظ روزنه از تعرق و کاهش آب سلول جلوگیری کند.

واژه های کلیدی: پتانسیل آب، فلفل دلمه‌ای، محتوای نسبی آب، ژن آکواپورین

* نویسنده مسئول، پست الکترونیکی: mhaghighi@cc.iut.ac.ir

مقدمه

یکی از متغیرهای آب و هوا، تنش آبی می‌باشد که به‌صورت افزایش یا کاهش آب بر رشد و نمو گیاهان تاثیر می-گذارد(۱۴). فلفل گیاهی حساس به شوری است و آستانه تحمل به شوری آن بین ۱ تا ۱/۵ دسی‌زیمنس بر متر است و با افزایش سطح شوری به بالاتر از سطح آستانه منجر به کاهش عملکرد در گیاه می‌شود (۱). به عنوان یک محصول فصل گرم، بالاترین دمای قابل تحمل برای آن دمای ۳۵ درجه‌سانتی‌گراد می‌باشد. میزان آب مورد نیاز برای رشد مطلوب فلفل ۳۰۰-۴۰۰ لیتر در هر متر مربع می‌باشد بنابراین بروز تغییر در این شرایط موجب ایجاد اختلال در فرآیندهای مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در این گیاه می-گردد (۱۲). فلفل دلمه با نام علمی (*Capsicum annum* L.)

DOI: 10.22034/jpr.2025.2271 مقاله پژوهشی، صفحات ۱۵-۱

یکی از سبزیجات مهم تیره سیب‌زمینی از اصلی‌ترین گیاهانی است که در شرایط گلخانه کشت می‌شود و نه تنها به‌خاطر ارزش اقتصادی بلکه به‌خاطر ارزش میوه‌های آن و همچنین منبع عالی رنگ‌های طبیعی و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی بسیار مورد توجه قرار گرفته است، (۲). مطالعات نشان داده است که وجود هریک از تنش‌های شوری و خشکی، جذب آب را کاهش می‌دهند و وجود هر دو باهم این کاهش را تشدید می‌کند (۱۴). با توجه به کمبود اکسیژن در شرایط تنش غرقابی تنفس به صورت بی‌هوازی می‌شود در نتیجه اکسیداسیون نهایی تنفس در چنین شرایطی انجام نمی‌شود و این عمل منجر به تجمع استالدئید و اتانول می‌گرددکه کاهش جذب را منجر می‌شود (۲). محتوای نسبی آب گیاه، یکی از صفات مهمی است که رابطه مستقیم با محتوای آب خاک دارد و نشان‌دهنده وضعیت آبی خاک است. محتوای نسبی آب یکی از چندین روش اندازه‌گیری وضعیت آبی بافت است که رابطه نزدیکی با پتانسیل آبی برگ دارد. شاخص مهم در تنش خشکی در برگ‌ها گزارش شده است که می‌تواند توانایی گیاه را برای در امان بودن از شدت تنش تحت تاثیر قرار دهد و در نتیجه بر عملکرد و پایداری آن موثر باشد (۱۳).

کاروتنوئیدها شامل بتاکاروتن، گزانتوفیل‌ها، آنتی‌اکسیدان‌های چربی‌دوست با وزن مولکولی کم در کلروپلاست هستند که غشاهای کلروپلاستی را در مقابل تنش اکسیداتیو محافظت می‌کنند. کاروتنوئیدها علاوه بر نقش ساختمانی و جذب نور می‌توانند مستقیم اکسیژن آزاد را غیرفعال کنند به این صورت که انرژی را از مولکول‌های تهییج شده و آزاد اکسیژن گرفته و به انرژی گرمایی تبدیل می‌کنند و از این طریق مانع شروع پراکسیداسیون لیپیدی در دستگاه فتوسنتزی می‌گردد. همچنین به‌عنوان پیش‌ساز هورمون اسیدآبسیزیک باعث تولید این هورمون در شرایط تنش می‌شود (۲۷). اسیدآبسیزیک یکی از مهمترین هورمون‌های گیاهی است که براثر اعمال تنش جهت کاهش تعرق و حفظ آب تولید می‌شود و به‌عنوان یک واسطه موجب کاهش حساسیت گیاه به تنش می‌گردد و در هنگام تنش، با افزایش هورمون اسیدآبسیزیک در سلول‌های نگهبان روزنه، روزنه‌ها بسته می‌شود و بدین صورت آب درون سلولی حفظ می‌شود (۲۶). هنگامی که دما، در یک بازه‌ی زمانی از سطح آستانه گیاه فراتر رود باعث آسیب‌های غیرقابل بازگشت در رشد و نمو گیاه می‌شود. تغییرات در دمای محیط سریع‌تر از تغییرات در سایر تنش‌ها همچون خشکی، شوری رخ می‌دهد (۲۶). آکواپورین‌ها پروتئین‌های غشایی هستند که شامل پروتئین‌های ذاتی غشای پلاسما(PIPs)، پروتئین‌های درونی تونوپلاست(TIPs)، پروتئین‌های غشایی شبه نودولین۲۶(NIPs)، پروتئین‌های بازی کوچک (SIPs) می‌شوند. این چهار گروه ذکرشده براساس توالی DNA به زیر گروه‌های کوچکتری تقسیم بندی می‌گردند و وظیفه انتقال آب، اوره، گلیسرول و دی‌اکسیدکربن را در فضای سیمپلاستی به عهده دارند. آکوپورین‌ها همچنین مسئول تنظیم دقیق حرکات آب می‌باشند در نتیجه به عنوان یکی از مولکول‌های اصلی برای مقابله با تنش‌ها به خصوص تنش شوری و خشکی عمل می‌کنند (۲۴). پس با توجه به مطالب ذکر شده فلفل دلمه‌ای در معرض کلیه تنش‌های شوری، خشکی، غرقابی و دمایی قرار دارد. اما درصد تاثیر و مقایسه تغییرات صفات فیزیولوژیک آن تحت این تنش‌ها نامعلوم است. در تحقیقاتی در گلخانه‌های پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان در سال ۱۳۹۷ تاثیر جداگانه هریک از تنش‌های شوری، خشکی، غرقابی و دمایی بر خصوصیات فیزیولوژیکی فلفل دلمه‌ای مورد بررسی قرار گرفته است. اما تا به حال تحقیق جامعی بر مقایسه اثر این تنش‌ها بر خصوصیات فیزیولوژیک گیاه فلفل دلمه‌ای انجام نشده است. بنابراین، با توجه به تغییرات اقلیمی ایجاد شده در ایران و اهمیت غذایی فلفل و اثرات تنش‌ها بر تغییرات فیزیولوژیکی و عملکردی آن تحقیقی جهت بررسی تاثیر تنش‌های شوری، خشکی، غرقابی و دمایی و مقایسه اثرات این تنش‌ها بر فلفل انجام شد.

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۵-۱
DOI: 10.22034/jpr.2025.2271

مواد و روشها

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی در شرایط متوسط دمای روزانه/شبانه ۲± ۱۸/۲۵ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۶۰ درصد در گلخانه‌های تحقیقاتی دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان بر فلفل دلمه‌ای (*Capsicum annuum*, L. var. Ps301) با تیمار شاهد بدون تنش، تیمارهای تنش خشکی (۵- بار)، تنش غرقابی (بدون هوادهی) و تنش شوری ۳۰۰میلی‌مولار به وسیله کلریدسدیم و تنش گرمایی ۳۸ درجه‌سانتی‌گراد انجام گرفت که در ادامه به تفصیل آمده است (۱۵). جهت آماده‌سازی نشاهای مورد استفاده ابتدا بذرهای فلفل دلمه‌ای رقم *Ps301* در سینی نشا حاوی بستر پرلایت و ورمی کولایت با نسبت حجمی دو به یک کشت شد. سپس با ظهور ۳-۴ برگ حقیقی و شستشوی کامل ریشه با آب مقطر به ظروف پلاستیکی به قطر ۱۶ و ارتفاع ۱۳ سانتی‌متر و حجم ۱ لیتر حاوی محلول غذایی جانسون انتقال یافت (۱۷). تنش خشکی به‌وسیله پلی اتیلن‌گلایکول ۶۰۰۰ مطابق با روش میچل و کافمن در دمای ۲۵ درجه‌سانتی‌گراد در گلخانه‌ی آموزشی-پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان اعمال گردید (۲۳). جهت اعمال تنش غرقابی در ابتدا برای حذف اکسیژن محلول در محلول غذایی به مدت یک هفته محلول غذایی در ظروف کاملا بسته و بدون اکسیژن نگهداری گردید. سپس گیاه به ظروف منتقل شد و در آن در محل طوقه کاملاپوشانده شد و در محیط کشت هیدروپونیک بدون هوادهی جهت ایجاد شرایط غرقابی اعمال شد (۱۸). تنش شوری در چهار سطح۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ میلی‌مولار به وسیله نمک کلریدسدیم (۲۹) و تنش گرما در چهار دمای ۳۲، ۳۴، ۳۶، ۳۸ درجه سانتی‌گراد در انکوبارتور(GC-400، IRAN) اعمال گردید (۱۵). سطوح تنش‌ها به مدت ۱۰ روز به‌صورت تدریجی اعمال شد و در کلیه تنش ها خشکی، غرقابی، شوری و گرما ، بصورت جداگانه و همزمان اعمال تنش از پایین‌ترین سطح آغاز و هر ۴۸ ساعت کلیه سطح تیمارها تغییر و به سطح بالاتر منتقل شد. پس اتمام دوره ۱۰ روزه اعمال تنش، نمونه‌برداری انجام شد.

جهت اندازه‌گیری وزن تر و خشک ریشه پس از خارج کردن گیاهان از ظروف پلاستیکی ریشه آن‌ها شسته با کمک چاقوی تیز از محل طوقه بخش هوایی و ریشه از هم جدا شد و هرکدام به کمک ترازوی دیجیتال توزین شدند. سپس ریشه‌ها به صورت جداگانه داخل پاکت‌های کاغذی قرار گرفتند و به مدت ۴۸ ساعت در آون ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک گردید و سپس با ترازوی دیجیتال توزین شدند.

رنگیزه‌ها توسط حلال استون۱۰۰٪ استخراج گردید و به کمک دستگاه اسپکتوفتومتر مدل UV-600A میزان جذب نور در سه طول‌موج۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر به ترتیب برای کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید قرائت گردید (۴).

به منظور اندازه‌گیری محتوای نسبی آب ۱۰ عدد از دیسک-های برگی به قطر ۱ سانتی متر از برگ سوم جدا شد. سپس وزن‌تر دیسک‌های برگی به دست آمد. بلافاصله دیسک‌های برگی در پتری‌دیش حاوی آب مقطر به مدت ۲۴ ساعت در محیطی تاریکی نگهداری شد. آب سطحی برگ‌ها با استفاده از دستمال خشک گرفته و وزن اشباع دیسک‌های برگی توزین شدند سپس به به مدت ۴۸ ساعت دیسک‌های برگی در آون ۸۵ درجه سلیسیوس قرار داده و وزن خشک دیسک-های برگی اندازه‌گیری شد. در نهایت محتوای نسبی آب برگ از رابطه زیر محاسبه گردید (۵).

$$\mathrm{RWC} = \frac{FW - DW}{TW - DW} * 100$$

FW=وزن تر، DW=وزن خشک و TW=وزن اشباع دیسک های برگی

برای اندازه‌گیری پتانسیل آب، برگ های بالغ جدا گردید و با استفاده از دستگاه بمب فشار میزان پتانسیل آب برگ قرائت گردید.

برای استخراج محتوای اسیدآبسیزیک بافت، برگ تازه با متانول ۸۰٪ و پلی‌وینیل پیرولیدون (PVPP) در چهار درجه

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۵-۱
DOI: 10.22034/jpr.2025.2271

سلیسیوس هموژن گردید. بعد از آن به مدت ۱۵ دقیقه در دور ۴۰۰۰ سانتریفوژ و محلول رویی جدا شد و اسیدیته آن به هشت رسید. توسط خلا، متانول تبخیرو سپس آب دیونیزه به آن اضافه گردید. این عمل دو بار دیگر تکرار شد و در نهایت به آن اتیل‌استات اضافه گردید و تبخیر در شرایط خلا مجددا تکرار شد. بر رسوب حاصل محلول حاوی سه درصد متانول و ۰/۱ مول اسیداستیک به نسبت ۱:۲ اضافه شد. سپس از صافی ۰/۴۵ میلی‌متر عبور داده شد و جهت تعیین غلظت نمونه‌ها به ستون فازمعکوس (Diamonsic, C_{18}) به طول ۲۵ سانتی‌متر و قطر ۴/۶ میلی‌متر در دستگاه HPLC (Unicam-Crystal-200, UK) تزریق گردید. برای فاز متحرک گرادیان متانول-اسیداستیک (۳-۹۷٪) با سرعت چهار میلی‌لیتر در دقیقه از دتکتور استفاده شد. از استاندارد اسیدآبسیزیک با خلوص۹۹/۹۷٪ ساخت کارخانه Sigma استفاده شد. براساس سطح زیر منحنی حاصل از پیک خروجی با کالیبراسیون و موقعیت آن در پیک‌های خروجی مقدار نمونه مجهول استخراجی تعیین شد (۱۰). وضعیت سلول‌های روزنه پشت اپیدرم تحتانی برگ را با میکروسکوپ الکترونی (مدل hp-PI20، آلمان) با بزرگنمایی ۴۰x و عکس‌برداری با دوربین(مدل Canon-DS126271، ژاپن) بررسی شد. جهت استخراج RNA و سنتز cDNA بافت گیاهی همراه با پودر PVPP و بافر استخراج RNA کیت ایرایزول (شرکت زیست فن‌آوران RNA) به خوبی ساییده شد. ترکیب حاصل به میکروتیوب استریل شده انتقال و به مدت ۲ دقیقه در g ۱۴۰۰۰ سانتریفوژ شد. سپس فاز رویی (شفاف) جدا شد و به میکروتیوب استریل جدید انتقال یافت. به میزان ۵۰۰ میکرولیتر کلروفرم و ۰/۱ حجم مایع جدا شده، سدیم استات ۳ مولار با pH، ۵/۲ به محلول اضافه شود سپس ۳۰ ثانیه ورتکس و به مدت ۸ دقیقه در g ۱۴۰۰۰ سانتریفوژ گردید. سپس فاز رویی جدا شد و به میکروتیوب جدید منتقل و به میزان یک سوم حجم فاز رویی جدا شده لیتیم‌کلراید ۲ مولار و همچنین ایزوپروپانول سرد (۲۰°C-) هم حجم نمونه اضافه شد. ترکیب حاصل در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه نگهداری شد. نمونه به مدت ۲۰ دقیقه در g ۱۴۰۰۰ سانتریفوژ شد. بعد از حذف محلول رویی ایجاد شده به میزان ۱۰۰۰ میکرولیتر اتانول ۷۰٪ اضافه شد. نمونه در دور g ۱۴۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شد. الکل اضافه شده خارج و جهت خشک شدن سروته شد. پس از خشک شدن پلت به میزان ۵۰-۳۰ میکرولیتر آب عاری از RNAse اضافه شد و در نهایت به مدت ۵ دقیقه در ترمومیکس در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. واکنش Real-Time بدین صورت انجام شد که جهت از بین بردن آلودگی حاصل از DNA با DNaseI (Thermoscientific, USA) در دمای ۳۷ درجه سانتی-گراد به مدت ۱۵ دقیقه نمونه‌ها تیمار شد. برای تعیین غلظت RNA استخراج شده از دستگاه نانودراپ (Pico200, Picodrop, UK) استفاده شد. ۱ میکروگرم از RNA کل استخراج‌شده با استفاده از RevertAid M-MuLV reverse transcriptase با توجه به دستورالعمل کیت (Thermo Scientific, USA)، جهت سنتزرشته cDNA استفاده شد. جفت پرایمر مورد استفاده برای بیان ژن آکواپورین (JX402929.1) و ژن مرجع اکتین (GQ339766.1) به عنوان استاندارد داخلی برای تجزیه و تحلیل زمان واقعی PCR استفاده شد. مخلوط واکنش ۱۰ میلی‌لیتر، که شامل ۵ میکرولیتر SYBRGreen (Gent Bio. PRK)، ۱/۸ میکرولیتر آب DEPC ، ۱ میکرولیتر از هر آغازگر و ۰/۲ واحد از ROX با شرایط PCR به شرح: ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه، به دنبال آن ۴۰ دور، ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، ۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه بوده است. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز در زمان واقعی با استفاده از روش Comparative C_t ($\Delta\Delta C_t$) انجام شد و مقایسه دوره از رابطه $2^{-\Delta\Delta ct}$ برای بررسی بیان ژن محاسبه شد (۱۹). داده‌ها بااستفاده از نرم‌افزار اکسل طبقه‌بندی و با برنامه آماری Statestix 8 آنالیز شدند و مقایسه میانگین داده‌ها به کمک آزمون LSD، در سطح احتمال ۵ درصد محاسبه شد.

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۵-۱
DOI: 10.22034/jpr.2025.2271

نتایج

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تیمار بر کلیه تنش های خشکی، غرقابی، شوری و گرما بر میزان وزن خشک ریشه، کاروتنوئید، محتوای نسبی آب، پتانسیل آب برگ، اسیدآبسیزیک و بیان ژن آکواپورین در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود در حالیکه بر وزن تر ریشه تاثیر معنی‌داری نداشت (جدول۱).

جدول۱- تجزیه واریانس اثر تنش بر میزان وزن تر و خشک ریشه، کاروتنوئید، محتوای نسبی آب، پتانسیل آب، اسید آبسیزیک و بیان ژن آکواپورین

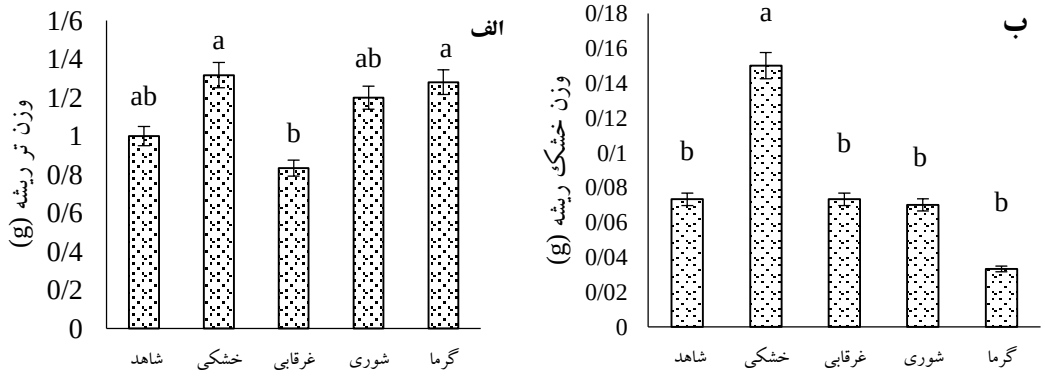
منابع تغییرات	درجه آزادی	وزن‌تر ریشه (گرم)	وزن خشک ریشه (گرم)	کاروتنوئید (میلی گرم بر گرم وزن خشک)	محتوای نسبی آب (درصد)	پتانسیل آب برگ (مگاپاسکال)	محتوای اسیدآبسیزیک (نانوگرم گرم وزن خشک)	بیان ژن آکواپورین
تیمار	۴	۰/۱۲ ns	۰/۰۰۵**	۸۶/۷۵*	۹۰۲/۸۵**	۴۳/۱۰**	۶۱۲/۹۴**	۶/۴۵**
خطا	۱۰	۰/۰۵	۰/۰۰۰۷	۷/۸۸	۱۶/۳۴	۱/۷	۰/۰۱	۰/۲۲
ضریب تغییرات	۱۴	۲۰/۸۰	۳۰/۹۱	۲۱/۷۰	۵/۷۴	۶/۶۸	۰/۳۲	۲۵/۶۷

n.sغیر معنی‌دار،* و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

میزان وزن تر ریشه در تنش خشکی ۳۰٪، تنش گرما و شوری ۲۰٪ افزایش و در تنش غرقابی ۲۵٪ کاهش داشت. بیشترین وزن خشک ریشه در گیاهان تحت تنش خشکی و کمترین در گیاهان تحت تنش گرما بدست آمد (شکل ۱ الف وب).

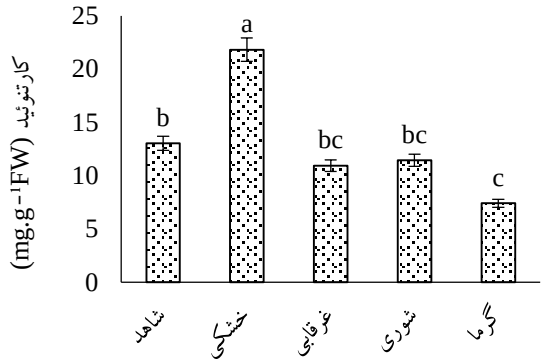
نتایج نشان داد که میزان کاروتنوئید در تنش خشکی به میزان ۷۶ ٪ نسبت به شاهد افزایش یافت و در تنش شوری و غرقابی به میزان ۱۵٪ و در تنش گرما به میزان ۴۶٪ کاهش داشت (شکل۲).

نتایج حاصل از مقایسه میانگین نشان داد بیشترین میزان محتوای نسبی آب برگ در تیمار شاهد و تنش غرقابی می‌باشد (شکل۳ الف).

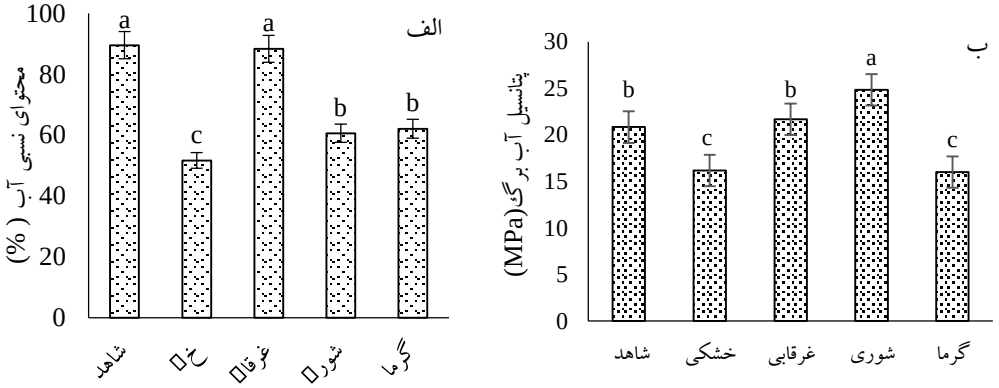


شکل ۱- اثر تنش خشکی، غرقابی، شوری و گرما در گیاه فلفل دلمه‌ای رقمPs301 بر وزن تر ریشه(الف)، وزن خشک ریشه (ب) حروف متفاوت روی ستونها، از نظرآماری در سطح ۵ درصد آزمون LSD معنی دار هستند.

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۵-۱
DOI: 10.22034/jpr.2025.2271

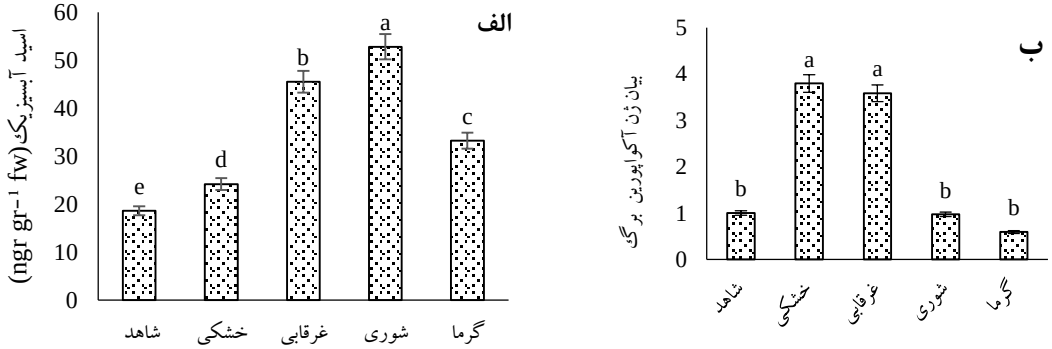


شکل ۲- اثر تنش خشکی، غرقابی، شوری و گرما در گیاه فلفل دلمه‌ای رقمPs301 بر میزان کاروتنوئید
حروف متفاوت روی ستون‌ها، از نظرآماری در سطح ۵ درصد آزمون LSD معنی دار هستند



شکل ۳- اثر تنش خشکی، غرقابی، شوری و گرما در گیاه فلفل دلمه‌ای رقمPs301 بر میزان محتوای نسبی آب (الف) و پتانسیل آب برگ (ب).
حروف متفاوت روی ستون‌ها، از نظرآماری در سطح ۵ درصد آزمون LSD معنی دار هستند

براساس نتایج حاصل از این پژوهش (شکل۴ الف) بیشترین میزان هورمون اسیدآبسیزیک در تنش شوری مشاهده گردید. همچنین در اثر تنش‌های اعمال شده میزان این هورمون نسبت به شاهد افزایش یافت. بیان ژن آکواپورین در تنش خشکی و غرقابی به میزان ۲/۵ برابر نسبت به شاهد افزایش نشان داد و در تنش شوری به میزان ۳٪ و در تنش گرما ۴۱٪ کاهش نشان داد (شکل۴ ب).



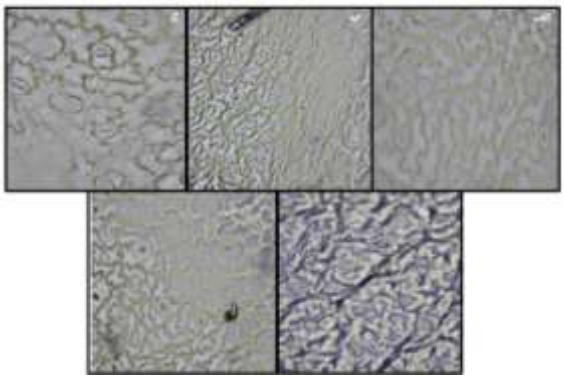
شکل ۴- اثر تنش خشکی، غرقابی، شوری و گرما در گیاه فلفل دلمه‌ای رقم Ps301 بر میزان محتوای اسید آبسیزیک(الف) و بیان ژن آکواپورین(ب).
حروف متفاوت روی ستون‌ها، از نظرآماری در سطح ۵ درصد آزمون LSD معنی دار هستند

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۵-۱
DOI: 10.22034/jpr.2025.2271

اسیدآبسیزیک یکی از هورمون‌هایی است که نقش مهمی در بسیاری از فرآیندهای مهم فیزیولوژیکی، نموی و همچنین عکس‌العمل‌های سازگاری گیاه به محیط های تنشی را تنظیم می‌نماید (شکل ۵). براساس تصویر حاصل از وضعیت روزنه سلول‌های اپیدرمی پشت برگ گیاه فلفل دلمه‌ای میزان گشودگی روزنه‌ها در نمونه شاهد ۵۴٪، تنش خشکی ۲۵٪، تنش غرقابی ۲۸٪، تنش شوری۷۲٪ و تنش گرما ۴۴٪ می‌باشد. با توجه به نتایج حاصل بیشترین تاثیر روزنه‌ها تحت تاثیر تنش‌های اعمال شده در تنش خشکی مشاهده شد (شکل ۵). طی مسیر بسته شده روزنه در تنش خشکی میزان کاروتنوئید و محتوای اسیدآبسیزیک نیز افزایش داشت. در تنش شوری کمترین بسته شدن روزنه‌ها مشاهده شد که با توجه به کاهش میزان کاروتنوئید و همچنین افزایش محتوای اسیدآبسیزیک در مقابل تنش تعداد کمتری از روزنه‌ها بسته شدند (شکل ۵).

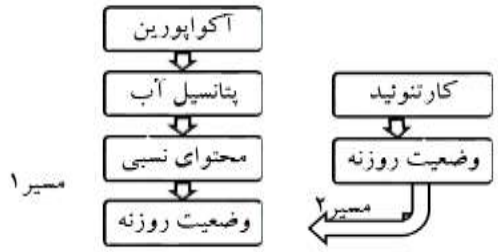
بحث

براساس نتایج این پژوهش شکل ۶ که طراحی شده است و نشان می‌دهد که گیاه فلفل ، از طریق دو مسیر در جهت حفظ آب سلول برای مقابله با تنش‌های اعمال شده عمل می‌کند. در شرایط تنش خشکی میزان بیان ژن آکواپورین در برگ افزایش می‌یابد و با توجه به نقش اختصاصی این کانال در عبور آب به داخل سلول با افزایش بیان این ژن میزان آب بیشتری وارد سلول شده در نتیجه پتانسیل و محتوای نسبی آب نسبت به شاهد در اثر تنش خشکی کاهش یافت و در نهایت گیاه برای کاهش تعرق حفظ آب اقدام به بستن روزنه‌ها کرد (مسیر-۱). در تنش غرقابی میزان بیان ژن آکواپورین افزایش یافت همچنین میزانی محتوای نسبی آب و پتانسیل آب نسیت به شاهد تغییری نشان نداد و میزان ۷۲٪ از روزنه ها جهت حفظ آب و کاهش تعرق بسته شدند (مسیر-۱). با توجه به نتایج حاصل در مسیر ۱ میزان بیان ژن آکواپورین در تنش خشکی و غرقابی به میزان ۲/۵ برابر نسبت به شاهد افزایش و تنش شوری به میزان ۳٪ و تنش گرما به میزان ۴۱٪ نسبت به شاهد کاهش نشان داد. میزان پتانسیل آب در تنش خشکی ۱۶٪ و در تنش گرما ٪ ۱۹ نسبت به شاهد کاهش و در تنش غرقابی ۱۰٪ و تنش شوری ۲۴٪ نسبت به شاهد افزایش داشته است. در مسیر شماره ۲ میزان کاروتنوئید در تنش خشکی ۷۶٪ و تنش گرما ۴۶٪ نسبت به شاهد و همچنین میزان هورمون اسیدآبسیزیک در تنش خشکی ۳۳٪، تنش غرقابی ۱/۵ برابر، در تنش شوری ۱/۸ برابر ودر تنش گرما ۷۷٪ نسبت به شاهد افزایش داشت. میزان تغییرات روزنه نسبت به شاهد در تنش خشکی ۲۵٪، تنش غرقابی ۲۸٪، تنش شوری ۷۲٪ و تنش گرما ۴۴٪ افزایش نشان داد که بیانگر این نکته است که در تنش خشکی و غرقابی با افزایش میزان بیان ژن آکواپورین به عنوان یک کانال اختصاصی انتقال آب، میزان عبور آب در سطح غشاء پلاسمایی افزایش داشته است و این امر موجب تغییرات پتانسیل آب و افزایش محتوای نسبی آب می‌شود و درنهایت برای حفظ آب و کاهش تعرق روزنه‌ها بسته می-شود اما در تنش شوری و گرما با افزایش میزان کاروتنوئید و تولید بیشتر هورمون اسیدآبسیزیک و اتصال این هورمون به گیرنده‌های سلول‌های محافظ روزنه، روزنه‌ها بسته می‌شود.



شکل۵- تصاویر وضعیت روزنه فلفل دلمه‌ای رقم Ps301 الف) شاهد ب) تنش خشکی ج) تنش غرقابی ر) شوری د)گرما

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۵-۱
DOI: 10.22034/jpr.2025.2271



شکل ۶- مسیرهای تاثیر گذار بر تغییرات وضعیت روزنه

زمانی که گیاه در معرض خشکی قرار می‌گیرد، قبل از هر گونه کاهش در فشار تورژسانس، ابتدا انعطاف‌پذیری دیواره سلول‌های در حال رشد برگ‌ها و ساقه‌ها کم می‌شود در نتیجه توسعه سلول و در نهایت رشد اندام‌ها کاهش می‌یابد در حالیکه به نظر می‌رسد دیواره سلولی ریشه به تنش خشکی کمتر حساس بوده به‌طوری‌که ممکن است زمانی که رشد اندام هوایی متوقف شده رشد ریشه به منظور جذب آب بیشتر و حفظ رطوبت گیاه برای مقابله با شرایط تنش همچنان ادامه داشته باشد. در شرایط تنش غرقابی بدلیل قرار گرفتن ریشه در شرایط بی‌هوازی، کمبود اکسیژن و افزایش تخمیر میزان رشد ریشه کاهش می‌یابد (۲۲). میزان وزن خشک ریشه در تنش شوری و گرما به دلیل کمبود آب و کاهش پتانسیل اسمزی محلول غذایی و کاهش جذب آب و عناصر کاهش یافت. در تنش غرقابی میزان وزن خشک ریشه نسبت به شاهد تغییری نشان نداد ولی میزان آن در تنش خشکی به دلیل اشباع شدن برگ از عدم انتقال مواد فتوسنتری افزایش یافت. با توجه به این‌که کاروتنوئید پیش‌ساز هورمون اسیدآبسیزیک می‌باشد میزان تغییرات این رنگریزه به عنوان گیرنده نوری مکمل، طول موج‌هایی را جذب می‌کنند که توسط کلروفیل‌ها جذب نمی‌شود. مهم‌ترین نقش کاروتنوئیدها، توانایی در رفع سمیت شکل‌های مختلفی از اکسیژن فعال شده می‌باشد که در نتیجه برانگیختگی ترکیب‌های فتوسنتزی به‌وسیله نور تولید می‌شوند و همچنین به ساخت هورمون اسید آبسیزیک در زمان تنش کمک می‌کند (۲۱). میزان محتوای نسبی آب در تنش خشکی به میزان ۴۰٪ و در تنش شوری و گرما به میزان ۳۲٪ کاهش نشان داد و در تنش غرقابی نسبت به شاهد تفاوتی مشاهده نشد. میزان محتوای نسبی آب در تنش‌های اعمال شده نسبت به شاهد کاهش یافت که بیانگر این می‌باشد که بر اثر تنش‌های اعمال شده آب سلول‌ها رو به زوال رفته که نشان‌دهنده‌ی عدم جذب و حفظ تورژسانس می‌باشد. بدون تغییر میزان محتوای نسبی آب در تنش غرقابی نشان‌دهنده این موضوع است که گیاه تحت تنش غرقابی توانسته میزان محتوای نسبی آب و تورژسانس سلول را حفظ و ریشه آب بیشتری را جذب کند. در پژوهشی مشاهده شد که در تنش غرقابی میزان رطوبت نسبی نسبت به شاهد در گیاه پرتقال تغییری نداشت (۱۶). با افزایش سطح تنش، گیاهان تحت تنش به طور چشمگیری پتانسیل آب برگ‌های خود را کاهش و مقاومت انتشار روزنه‌ها را افزایش می‌دهند لیکن بدنبال کاهش آب سلول‌های برگ، رشد سلول‌های برگ و جریان دی-اکسیدکربن کاهش یافته تا ازاین طریق تعرق گیاه کاهش یابد (۲۸). حفظ محتوای نسبی آب نسبتا بالا در طی اعمال تنش نشان دهنده تحمل گیاه نسبت به تنش می‌باشد در حالیکه بررسی تنش‌های مختلف در گونه‌های گیاهی گوناگون نشان داده است که با افزایش دوره و شدت تنش، میزان آب نسبی گیاهان کاهش می‌یابد (۹). طبق نتایج حاصل از این پژوهش، منفی‌ترین پتانسیل آب متعلق به تنش شوری می‌باشد (شکل۳ ب) که در اثر تجمع نمک در بستر رشد گیاه، توان جذب آب توسط گیاه کاهش می‌یابد، بنابراین افت محتوای آب برگ و پتانسیل آب برگ را به دنبال دارد. تطابق اسمزی بالا، نسبت بالای ریشه به شاخه و همچنین راندمان تعرق یا کارایی مصرف آب بالا از راهکارهای تحمل و سازگاری این گیاهان به تنش است. با این شرایط گیاه قادر خواهد بود تا با وجود کمبود آب، پتانسیل آبی خود را بالا نگه داشته و آن را قادر می‌سازد تا تورژسانس سلولی و رشد را حفظ نموده و از اثرات بعدی تنش‌های اعمال شده دوری گزینند. تطبیق

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۵-۱
DOI: 10.22034/jpr.2025.2271

اسمزی یک فرایند سازگاری است که گیاه را قادر می‌سازد تا علیرغم پایین بودن پتانسیل اسمزی، تورژسانس خود را حفظ نماید (۲۰). طی مطالعاتی که بر روی برگ گیاه انگور انجام شده است تنش خشکی میزان پتانسیل آب برگ منفی‌تر را موجب می‌گردد (۱۱). براساس داده‌های حاصل از این پژوهش می‌توان به این نکته پی برد که تنش‌های اعمال شده برگیاه باعث تغییر در وضعیت آب گیاه شده است که این تغییرات برای مقابله با پیری و مرگ سلول روی داده است (۲۲). تحت تنش‌های محیطی سیستم هورمونی گیاهان تحت تاثیر قرار می‌گیرد و با افزایش یا کاهش سطح هورمون‌ها موجب پاسخ‌های متفاوت و سازگاری گیاه به شرایط تنش می‌شود (۸). محتوای اسیدآبسیزیک در گیاهان با افزایش شدت تنش افزایش می‌یابد. از سوی دیگر ذکر این نکته بسیارحائز اهمیت می‌باشد که در اثر تنش اعمال شده گیاه برای حفظ آب این هورمون را در جهت بسته شدن روزنه‌ها برای جلوگیری از تعرق افزایش می‌دهد. شواهد معتبری وجود دارد که افزایش محتوای اسیدآبسیزیک بافت برگ، خروج آب از گیاه را از طریق کاهش گشودگی روزنه هاکاهش می‌دهد (شکل ۳) و عمل بسته‌شدن روزنه‌ها بسیار سریع انجام می‌شود (۸). آکوپورین‌ها مسئول تنظیم دقیق حرکات آب هستند، در نتیجه نقش مهمی در تحمل تنش خشکی ایفا می‌کنند. میزان بیان آکوپورین‌ها تحت تاثیرگونه گیاهی، شدت تنش، طول مدت تنش و مرحله رشدی قرار می‌گیرد (۷). اثر منفی تنش خشکی بر روی هدایت هیدرولیکی ریشه و انتقال آب سلول به سلول در پاسخ به تنش در ریشه‌ها به شدت کاهش می‌دهد، این پدیده نشان می دهد که کانال‌های آب می‌تواند به طور مستقیم درگیر تنش شود. نتایج نشان می دهد که احتمالاآکواپورین می‌تواند نقش ویژه‌ای را برای جذب آب باقی مانده تحت تنش خشکی بازی کند (۶).

میزان رنگیزه کاروتنوئید به عنوان پیش‌ساز ساخت هورمون اسیدآبسیزیک در اثر عمال تنش شوری و گرما کاهش یافت و در نهایت میزان هورمون اسیدآبسیزیک به عنوان عاملی جهت اتصال به گیرنده‌های سطح سلول نگهبان روزنه افزایش یافت و در جهت حفظ رطوبت اقدام به بستن روزنه‌ها شد (۳و ۲۸) که موید نتایج حاصله از این تحقیق است.

نتیجه گیری کلی

به‌طور کلی می‌توان گفت که در تنش‌های خشکی، غرقابی، شوری و گرمای اعمال شده بر گیاه فلفل دلمه‌ای، مکانیزم خشکی به این صورت است که با افزایش میزان کاروتنوئید بعنوان پیش‌ساز ساخت هورمون اسیدآبسیزیک و افزایش تولید این هورمون در جهت بستن روزنه‌ها برای جلوگیری از تعرق و کاهش میزان آب وارد عمل می‌شود. در بین تنش‌های اعمال شده بیشترین آسیب در اثر تنش گرما به گیاه وارد شد و گیاهان تحت تنش خشکی با افزایش میزان بیان ژن آکواپورین و همچنین تولید هورمون اسیدآبسیزیک سازگاری بیشتری با تنش نشان دادند.

سپاسگزاری

از همکاران و مسئولین زیست فناوری و مهندسی زیستی دانشگاه صنعتی اصفهان که نویسندگان را در انجام این تحقیق یاری رساندند تشکر می‌شود.

منابع

۱. فرخی، ا. و گالشی، س. ۱۳۸۴. بررسی تأثیر شوری، اندازه بذر و اثرات متقابل آن‌ها برتندش، کارایی تبدیل ذخایر بذرو رشد گیاهچه سویا. مجله علوم کشاورزی ایران ۱۲۳۹:۵ –۱۲۳۳.

۲. غلامی، ر. و غلامی، ح. ۱۳۹۷. اثر تنش آبی بر برخی ویژگی‌های رشدی و فیزیولوژیکی ژنوتیپ‌های برتر زیتون در شرایط گلدان. مجله تولیدات گیاهی. ۴۱ (۴): ۲۸-۱۵.

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۵-۱ DOI: 10.22034/jpr.2025.2271

3. Alexandersson, E., Danielson, J., Rade, A., Moparthi, H., Fontes, J., Kjellbom, V. K. and and Johanson, U. 2010. Transcriptional regulation of aquaporins in accessions of Arabidopsis in response to drought stress. Journal of Plant. 61: 650-660.

4. Arnon, A. N. 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. Agronomy Journal. 23: 112-124.

5. Barrs, H. D. and Weatherley, P. E. 1962. A Re-Examination of the Relative Turgidity Techniques for Estimating Water Deficits in Leaves. Australian Journal of Biological Sciences. 15: 413-428.

6. Biela, A., Grote, K., Otto, B., Hoth, S. and Hedrich, R. 1999. The Nicotiana tabacum plasma membrane aquaporin NtAQP1 is mercury-insensitive and permeable for glycerol. Journal of Plant. 18: 565-570.

7. Bienert, G. P., Bienert, M. D., Jahn, T. P., Boutry, M. and Chaumont, F. 2011. Solanaceae XIPs are plasma membrane aquaporins that facilitate the transport of many uncharged substrates. Journal of Plant. 66: 306-317.

8. Castonguay, Y., Nadeau, P. and Simard, R. R. 1993. Effects of flooding on carbohydrate and ABA levels in roots and shoots of alfalfa. Plant Cell and Environmental. 16: 695-702.

9. Diallo, A. T., Samb, P. I. and RoyMacauley, H. 2001. water status and stomatal benavioxr of cowpea, *Vigna unguiclata* (L.) Walp, plauts inoculated with two Glomus species at low soil moisture levels. European Journal of Soil Biology. 37: 187-196.

10. Flexas, J., Ribas-Carbo, M., Hanson, D. T., Bota, J., Otto, B., Cifre, J. McDowell, N., Medrano, H. and Kaldenhoff, R. 2006. Tobacco aquaporin NtAQP1 is involved in mesophyll conductance to CO_2 in vivo. Journal of Plant. 48: 427-439.

11. Galmes, J., Pou, A., Alsina, M. M., Tomas, M., Medrano, H. and Flexas J. 2007. Aquaporin expression in response to different water stress intensities and recovery in Richter-110 (*Vitis sp*.): Relationship with ecophysiological status. Planta. 226: 671-681.

12. Grattan, S. and Grieve, C. 1985. Betaine status in wheat in relation to nitrogen stress and to transient salinity stress. Plant and Soil. 85: 3-9.

13. Heidari, N., Kheyrabi, J., Alaei, M., Farshi, A.A., Kazemi, P., Vaziri, J., Entesari, M.R., Dehghani Sanij, H., Sadat Mirei, M.H. and Mirlatifi, M. 2008. Water Use Efficiency in Greenhouse Production. iranian national committee on irrigation and drainage (IRNCID) press. 180p.

14. Homaee, M., Dirksen, C. and Feddes, R.A. 2002. Simulation of root water uptake . I .Nonuniform transient salinity using different macroscopic reduction functions. Agricultural Water Management. 57: 89-109 .

15. Hu, W. H., Xiao, Y. A., Zeng, J. J. and Hu, X. H. 2010. Photosynthesis, respiration and antioxidant enzymes in pepper leaves under drought and heat stresses. Biologia Plantarum. 54: 761-765.

16. Johanson, U., Karlsson, M., Johansson, I., Gustavsson, S. and Sjovall, S. 2001. The complete set of genes encoding major intrinsic proteins in Arabidopsis provides a framework for a new nomenclature for major intrinsic proteins in plants. Plant Physiology. 126: 1358-1369.

17. Jones, J. B. 2005. Hydroponics: a practical guide for the soilless grower. CRC Press, USA.

18. Kuan, T. L. and Erwin, D. C. 1980. Formae speciales differentiation of Phytophthora megasperma isolates from soybean and alfalfa. Phytopathology. 70: 333-338.

19. Livak, K. J. and Schmittgen, T. D. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) method. Methods San Diego Calif. 25: 402-408.

20. Maricle, B. R., Cobos, D. R. and Campbell, C. S. 2007. Biophysical and morphological leaf adaptations to drought and salinity in salt marsh grasses. Environmental and Experimental Botany. 60: 458-467.

21. Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M. and VanBreusegem, F. 2004. Reactive oxygen gene network of Plants. Plants Science. 9: 490-491.

22. Mohammadkhani, N. and Heidari. R. 2008. Water stress induced stomatal closure in two maize cultivars. Journal of Biology Science. 3: 750-754.

23. Nahar, Sh., Sahoo, L. Tanti, B. 2018. Screening of drought tolerant rice through morphophysiological and biochemical approaches. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. 15: 150-159.

24. Postaire, O., TournaireRoux, C., Grondin, A., Boursiac, Y. and Morillon, R. 2010. A PIP1 aquaporin contributes to hydrostatic pressure-induced water transport in both the root and rosette of Arabidopsis. Plant Physiology. 152: 1418-1430.

25. Rosales, M. A., Romero, L. and Ruiz, J. M. 2010. Genotypic differences in some physiological parameters symptomatic for oxidative stress

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۵-۱ DOI: 10.22034/jpr.2025.2271

under moderate drought in tomato plants. Plant Science. 178: 30–40.

26. Sanchez Rodrıguez, E., Rubio Wilhelmi, M., Cervilla, L. M., Blasco, B., Rios, J. J., Stiki, R. and Davies, W. J. 2000. Stomatal reactions of two different Maize Lines to osmotically induced drought Stress. Biology Plantarum. 43: 339-405.

27. Seo, M. and Koshiba, T. 2002. Complex regulation of ABA biosynthesis in plants. Plant Science. 7: 41-48.

28. Young-Kwon, M. and Young-Woo, S. 2016. Plants responses to drought and shade Environments. Journal of Biotechnology. 15: 30-33.

29. Zaman Akhtar, M., Azhar, H. Furqan, A. 2017. Screening of Pepper (*Capsicum annuum* L.) Genotypes Against Salinity Stress. Journal of Environmental and Agricultural Sciences. 11: 51-58.

Comparison of Physiological Changes, Aquatic Relationships and Acuoporin Gene Expressions under Salinity, Drought, Flooding and Heat Stresses in Sweet Pepper (*Capsicum annuum* L. var. Ps301)

Maasoumi Z., Haghighi M., and Jalali S.A.H.

[1] Dept. of Horticulture, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, I.R. of Iran

[2] Dept. of Natural Resources, Research Institute for Biotechnology and Bioengineering, Isfahan University of Technology, Isfahan, I.R. of Iran

Abstract

Stress means changing the optimal growing conditions of the plant, which reduces growth and development. Plants are exposed to various environmental stresses. Environmental stress is one of the most important factors in reducing the yield of agricultural products, so drought, flooding, salinity, and heat stress were considered as the most important abiotic stresses. Therefore, in this study, physiological, water changes, and expression of the aquaporin gene under drought, flood, salinity, and heat stress on the bell pepper (301Ps) were compared with non-stress plants were investigated. Stresses included drought stress (5-bar) by polyethylene, glycol- 6000 flooding stress by aeration, and salinity stress (300 mmol) by NaCl salt and heat stress (38° C). The results showed that the highest relative water content was obtained in flood stress, the highest negative water potential was in salinity stress, and the highest expression level of the aquaporin gene was in drought stress. Also, due to the applied stresses, the highest pigmented carotenoid surface was obtained in drought stress. Salinity stress also increased the amount of acetic acid in bell peppers. The results showed that in drought and flooding stress, the expression of the aquaporin gene had an increasing trend. Receptor cells receptor receptors prevent cell transpiration and dehydration.

Keywords: Water potential, Sweet pepper, Relative water content, Aquaporin gene