اثر اسید ۵- آمینولوولونیک و تنش خشکی بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و برخی پارامترهای فیزیولوژیکی فلفل دلمه‌ای

Effect of 5-Aminolevulinic Acid and Drought Stress on Antioxidant Activity and Some Physiological Parameter of Pepper (*Capsicum annuum*)

زهرا خزائی[۱*] و محمد سیاری[۲]

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۰/۱۵ تاریخ پذیرش: ۹۳/۰۲/۲۰

چکیده

مطالعه حاضر جهت ارزیابی اثر اسید ۵-آمینولوولونیک و تنش خشکی بر برخی پارامترهای فیزیولوژیکی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه فلفل دلمه‌ای انجام شد. سه سطح تنش خشکی شامل شرایط بدون تنش (ظرفیت مزرعه)، تنش ملایم (۶۰ درصد ظرفیت مزرعه) و تنش شدید (۳۰ درصد ظرفیت مزرعه) و چهار سطح اسید ۵-آمینولوولونیک شامل ۰، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار مورد بررسی قرار گرفت. در شرایط تنش خشکی پارامترهای رشدی کاهش یافته اما کلروفیل a، b و کل، کاروتنوئید، میزان آنتوسیانین و فعالیت آنزیم پراکسیداز افزایش یافت. کاربرد اسید ۵-آمینولوولونیک باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم پراکسیداز، کلروفیل a، b و کلروفیل کل، کاروتنوئید، آنتوسیانین و نیز قطر، طول و وزن میوه شد. برهمکنش تنش خشکی و اسید ۵-آمینولوولونیک در همه صفات اندازه‌گیری شده به جز طول میوه معنی‌دار شد. نتایج نشان داد که کاربرد اسید ۵-آمینولوولونیک می‌تواند راهبرد مؤثری در کاهش اثر تنش خشکی و حفظ ظرفیت آنتی‌اکسیدانی فلفل باشد.

واژه‌های کلیدی: آنتوسیانین، کاروتنوئید، میزان کلروفیل، آنزیم پراکسیداز

۱. کارشناسی ارشد علوم گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام، ایلام

۲. استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی‌سینا، همدان

*: نویسنده مسئول Email: zahrakhazaei55@yahoo.com

مقدمه

فلفل دلمه‌ای محصول مهم کشاورزی است که نه تنها به‌خاطر ارزش اقتصادی بلکه به‌دلیل ارزش میوه‌های آن و همچنین منبع عالی رنگ‌های طبیعی و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، بسیار مورد توجه قرار گرفته است، (*تاپوس و ازدم*[1]، 2007). تعداد زیادی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی شامل ترکیبات فنولی، ویتامین ث و کاروتنوئیدها در میوه فلفل وجود دارد که استفاده از این ترکیبات در رژیم غذایی در حفظ سلامتی انسان بسیار مفید است. تمایل به مصرف فلفل به‌دلیل داشتن مواد حیاتی و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی رو به افزایش است (شبانی و همکاران، ۱۳۹۰).

تنش‌های محیطی از مهم‌ترین عوامل کاهش‌دهنده محصولات کشاورزی در سطح جهان هستند. تنش موجب می‌شود تعادل بین تولید گونه‌های اکسیژن فعال و دفاع ضد اکسنده در بخش‌های مختلف گیاه از بین برود (*بای و سوی*[2]، 2006). خشکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی است که منجر به تولید گونه‌های فعال اکسیژن[3] ازجمله رادیکال‌های سوپراکسید، هیدروکسیل و پراکسید هیدروژن می‌شود (ال‌تبت[4]، 2006). گونه‌های اکسیژن فعال به‌طور بالقوه دارای پتانسیلی هستند که با بسیاری از ترکیب‌های سلولی واکنش داده و سبب خسارت به غشاء و سایر ماکرو مولکول‌های ضروری از قبیل رنگدانه‌های فتوسنتزی، پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و لیپیدها می‌شوند (*بای و سوی*، 2006). لذا میزان آنها بایستی در سلول کنترل شود. گیاهان با دارا بودن سیستم ضد اکسنده که شامل ترکیب‌های آنزیمی (سوپراکساید دیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز، گلوتاتیون پراکسیداز، آسکوربیت پراکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز) و غیرآنزیمی (اسیدآسکوربیک، کاروتنوئیدها، گلوتاتیون و توکوفرول) است معمولاً سطوح گونه‌های اکسیژن فعال را در سلول در حد متعادل نگه می‌دارند (هادوی و همکاران، ۱۳۸۹). فعالیت آنزیم‌های ضداکسنده و کاهش میزان گونه‌های اکسیژن فعال در سلول‌های گیاهی موجب حفاظت گیاه در برابر تنش‌های محیطی می‌شود (*کاتیلا و لوپس-گالوس*[5]، ۱۹۹۴).

اسید ۵-آمینولوولونیک (ALA)[6]، یک کتوآمینواسید پنج کربنه با وزن مولکولی ۱۳۱، از مواد طبیعی گیاهی بوده و در رشد و نمو و پاسخ‌های دفاعی گیاهی نقش مهمی را ایفا می‌کند (*ژنگ*[7] و همکاران، 2006). اسید ۵- آمینولوولونیک پیش ماده کلیدی تتراپیرول‌هایی چون پورفیرین‌ها، هم وکلروفیل می‌باشد. کاربرد خارجی ALA در غلظت‌های کم باعث بهبود رشد و عملکرد در گیاهان تربچه، لوبیا، سیر، سیب زمینی و جو شده است (*واتنب*[8] و همکاران، 2000). همچنین باعث بهبود میزان فتوسنتز، محتوای کلروفیل و تبادل گاز دانهال‌های خربزه در شرایط نور کم و سرما شده است، (*لیچتن دالر*[9]، 1987). در گندم کاربرد اسید ۵-آمینولوولونیک باعث افزایش مقاومت به تنش خشکی شده است (*ال‌خطیب*[10] و همکاران، 2006). بنابراین این پژوهش با هدف بررسی اثر متقابل تنش خشکی و اسید ۵- آمینولوولونیک بر برخی صفات رشدی، فیزیولوژیکی و آنتی‌اکسیدانی در گیاه فلفل دلمه‌ی انجام شد.

مواد و روش‌ها

آزمایش به‌صورت فاکتوریل ۴×۳ در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام اجرا گردید. فاکتورهای آزمایش شامل ALA در چهار غلظت (۰، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار) و تنش خشکی در سه سطح (آبیاری در حد ۱۰۰، ۶۰ و ۳۰ درصد ظرفیت زراعی) بودند. هر تیمار شامل چهار تکرار و هر تکرار دارای سه گلدان بود (در مجموع ۱۴۴ گلدان). ابتدا بذرها در یک شاسی به مساحت یک مترمربع در گلخانه کاشته شده و هنگامی‌که نشاها چهار برگی شدند به لیوان‌های یک بار مصرف انتقال داده شده و پس از سازگاری با محیط به گلدان‌ها انتقال یافتند. مخلوط خاکی مورد استفاده در گلدان‌ها به نسبت‌های مساوی از خاک مزرعه، ماسه و خاک برگ پوسیده تهیه شد. اندازه گلدان‌های مورد استفاده ۲۳×۲۰ بود که به‌منظور فراهم‌کردن زهکش مناسب ابتدا با مقداری شن درشت و سپس با مخلوط خاکی پر شدند. پس از پر کردن گلدان‌ها (در هر گلدان هفت کیلوگرم مخلوط خاکی) تا مرحله ۳-۴ برگی گیاهچه (حدود یک ماه پس از کاشت) گلدان‌ها به مقدار مساوی و در حد ظرفیت زراعی آبیاری شدند. در این مرحله تیمار ALA (مرک[11]، آلمان) به‌صورت کاربرد برگی اعمال شد و ۷۲ ساعت پس از تیمار، تنش خشکی آغازگردید و تا پایان آزمایش (۲۰ هفته) ادامه یافت. زمانی که تقریباً تمام بوته‌ها میوه داده بودند نمونه-

1. Topuz and Ozdem
2. Bai and Sui
3. Reactive oxygen species (ROS)
4. AL. Thabet
5. Castilla and Lopes.Galvez
6. Aminolevulinic acid
7. Zhang
8. watanab
9. Lichtenthaler
10. AL.Khateeb
11. Merck

های برگی و میوه‌ها جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شدند و انـــــدازه‌گیری صفات آغاز شد.

اندازه‌گیری کلروفیل a، b و کلروفیل کل و کاروتنوئیدها: بدین‌منظور از روش *لیشتن تالر و ولبورن*[1] (1987) استفاده شد. شد. در این روش ابتدا مقدار ۰/۲۵ گرم برگ تازه را با استفاده از ۵ میلی‌لیتر آب مقطر در هاون چینی کاملاً ساییده تا توده یکنواختی به‌دست آید. مخلوط حاصل را به یک فالکون منتقل کرده و حجم آن به‌وسیله آب مقطر به ۱۲/۵ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره نمونه با ۴/۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد مخلوط شده و محلول حاصل را به مدت ۱۰ دقیقه در ۳۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس، محلول رویی برداشته شده و در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۶، ۴۷۰ نانومتر و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر طول موج جذبی قرائت و میزان کلروفیل و کاروتنوئید براساس فرمول‌های زیر محاسبه گردید. از استون ۸۰ درصد به‌عنوان شاهد دستگاه اسپکتروفتومتر استفاده شد.

Chlorophyll a (µg /ml) =12.21(A_{663}) - 2.81(A_{646})

Chlorophyll b (µg /ml) =20.13(A_{646}) - 5.03(A_{663})

Total Chlorophyll (µg /ml) =Chlorophyll a + Chlorophyll b

Caretenoid (µg /ml) =11.75(A_{663}- 2/350A_{646})

اندازه‌گیری میزان آنتوسیانین: جهت اندازه‌گیری مقدار آنتوسیانین برگ از روش *ونگر*[2] (1979) استفاده شد. ۰/۱ گرم بافت گیاه تازه را در هاون چینی با ۱۰ میلی‌لیتر متانول اسیدی (متانول خالص و اسیدکلریدریک خالص به نسبت حجمی ۱:۹۹) کاملاً ساییده و عصاره در لوله آزمایش سر پیچ‌دار ریخته شد و به‌مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس به‌مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و جذب محلول روئی در طول موج ۵۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. غلظت با استفاده از فرمول زیر و با در نظر گرفتن ضریب خاموشی (ε)۳۳۰۰۰ سانتی‌متر بر مول محاسبه شد. A جذب، b عرض کوت اندازه‌گیری برابر با یک سانتی‌متر و c غلظت محلول مقدار آنتوسیانین برحسب مول بر گرم وزن تر گیاه می‌باشد.

$$A = \varepsilon bc$$

1. Lichtenthaler and Welburn
2. Wangar

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکســیداز: فعالیت آنزیم پراکسیداز با استفاده از روش *کوچبا*[3] و همکاران (1977) اندازه-اندازه‌گیری شد. ۰/۲ گرم از نمونه‌ی منجمد در نیتروژن مایع با ۱/۶ میلی‌لیتراز بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷/۸) که حاوی یک درصد وزنی به حجمی پلی وینیل پیرولیدون ۴ بود عصاره‌گیری شد و سپس محلول یکنواخت حاصل در ۱۲۰۰۰ دور در دمای چهار درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شده و محلول رویی جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز مورد استفاده قرار گرفت. مخلوط واکنش پراکسیداز حاوی بافر فسفات ۲۰ میلی‌مــولار (pH=۶)، گوایکول ۲۰ میلی‌مولار، پراکسیدهیدروژن ۴۰ میلی‌مولار و ۴۰ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی بود که تغییرات جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر خوانده شد.

محاسبات آماری

به‌منظور انجام محاسبات آماری از نرم‌افزارهای SAS و MSTAT-C استفاده گردید و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن انجام گرفت.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که سطوح مختلف اسید ۵- آمینولوولونیک اثر مثبتی بر فعالیت آنزیم پراکسیداز، میزان کلروفیل a، b و کل، کاروتنوئید، آنتوسیانین و قطر میوه داشته و تأثیر تنش خشکی نیز بر روی صفات فوق قابل ملاحظه بوده است. اثر متقابل اسید ۵- آمینولوولونیک و تنش خشکی بر قطر و وزن میوه، کاروتنوئید، کلروفیل a، b، کل، آنتوسیانین و آنزیم پراکسیداز نیز معنی‌داری بوده است (جدول ۲).

3. Kochba
4. Polyvinyl pyrrolidone

جدول ۱: مقایسه میانگین اثر اسید ۵-آمینولوولونیک و تنش خشکی بر خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی فلفل دلمه‌ای (کلروفیل، کاروتنوئیدها، آنزیم پراکسیداز، آنتوسیانین‌ها، طول میوه‌ها، قطر میوه، وزن میوه)

Table1: Mean comparison of 5-Aminolevulinic acid and drought stress effects on morphological and physiological parameters of pepper (Chlorophyll: Chl, Carotenoids: Caro, Peroxidase enzyme: POD, Antocyanines: Anto, Fruits Length: FL, Fruit Diameter: FD, Fruit Weight: FW)

Parameters									
واحد بر میلی گرم پروتئین POD (Umg^{-1} protein)	مول بر گرم وزن تر Anto (mol g^{-1} FW)	میکروگرم بر میلی‌لیتر Caro (µg ml^{-1})	میکروگرم بر میلی‌لیتر Total Chl (µg/ml)	میکروگرم بر میلی‌لیتر Chl b (µg/ml)	میکروگرم بر میلی‌لیتر Chl a (µg/ml)	گرم FW (g)	میلیمتر (mm) FD	میلیمتر FL (mm)	تیمارها Treatments
									اسید ۵-آمینولوولونیک (میلی مولار) (mM) ALA
7.77^{c}	0.308^{c}	0.62^{d}	2.61^{b}	0.7^{c}	1.64^{c}	59.51^{c}	39.5^{b}	48.42^{c}	0
9.62^{b}	0.315^{c}	0.86^{b}	2.69^{b}	0.79^{b}	1.81^{b}	69.11^{b}	43.06^{a}	53.41^{b}	0.25
13.9^{a}	0.362^{b}	1.01^{a}	2.9^{a}	0.81^{ab}	2.08^{a}	87.39^{a}	50.01^{a}	62.48^{a}	0.5
13.78^{a}	0.41^{a}	۰.94^{b}	2.99^{a}	0.89^{a}	2.08^{a}	86.04^{a}	49.84^{a}	61.63^{a}	1
									تنش خشکی Drought stress
4.27^{c}	0.271^{c}	0.66^{c}	1.2^{c}	0.51^{c}	1.44^{c}	121.23^{a}	59.53^{a}	77.44^{a}	شرایط بدون تنش Stress free condition
8.6^{b}	۰.336^{b}	0.73^{b}	2.26^{b}	0.61^{b}	1.61^{b}	71.37^{b}	51.07^{b}	61.22^{b}	تنش ملایم Mild stress (60% of field capacity)
92^{a}.20	0.439^{a}	1.18^{a}	4.12^{a}	1.27^{a}	2.66^{a}	33.94^{c}	26.21^{c}	30.79^{c}	تنش شدید Sever stress (30% of field capacity)

در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد ندارند

In each column, means with at least one common letter are not significantly different at 5<0.05

جدول ۲: اثر متقابل اسید۵- آمینولوولونیک و تنش خشکی بر خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی فلفل دلمه‌ای (کلروفیل، کاروتنوئیدها، آنزیم پراکسیداز، آنتوسیانین‌ها، طول میوه‌ها، قطر میوه، وزن میوه)

Table1: Interaction effects of 5-Aminolevulinic acid and drought stress on morphological and physiological characteristics of pepper pepper (Chlorophyll: Chl, Carotenoids: Caro, Peroxidase enzyme: POD, Antocyanines: Anto, Fruit Diameter: FD, Fruit Weight: FW)

واحد بر میلی گرم پروتئین POD (Umg^{-1} protein)	مول بر گرم وزن تر Anto (mg g^{-1} FW)	میکرو گرم بر میلی‌لیتر Caro (µg/ml)	میکرو گرم بر میلی‌لیتر Total Chl (µg/ml)	میکرو گرم بر میلی‌لیتر Chl b (µg/ml)	میکرو گرم بر میلی‌لیتر Chl a (µg/ml)	گرم FW (g)	میلیمتر FD (mm)	اسید ۵-آمینولوولونیک (میلی مولار) ALA(Mm)	تنش خشکی Drought stress
4.04^{g}	0.26^{e}	0.62^{fg}	1.48^{f}	0.38^{e}	1.2^{g}	97.46^{c}	55.76^{cd}	0	شرایط بدون تنش Stress free Condition
3.38^{g}	0.23^{f}	0.55^{g}	2.01^{ef}	0.49^{de}	1.58^{def}	111.6^{b}	57.99^{bc}	0.25	
6.87^{f}	0.27^{f}	0.74^{de}	1.78^{f}	0.49^{de}	1.34^{fg}	139.8^{a}	62.65^{a}	0.5	
2.83^{g}	0.34^{cd}	0.72^{ef}	1.81^{f}	0.52^{d}	1.65^{de}	136^{a}	61.72^{ab}	1	
7.84^{ef}	0.3^{cde}	0.55^{g}	2.01^{ef}	0.54^{d}	1.43^{efg}	60.05^{e}	47.81^{f}	0	تنش ملایم Mild stress
4.01^{g}	0.28^{def}	0.67^{ef}	2.12^{e}	0.52^{d}	1.12^{g}	66.27^{e}	49.94^{e}	0.25	
13.05^{c}	0.32^{cde}	0.85^{cd}	2.36^{bc}	0.72^{c}	2.04^{bc}	79.83^{d}	53.2^{de}	0.5	
9.53^{de}	0.45^{ab}	0.87^{c}	2.42^{bc}	0.83^{b}	1.77^{cd}	79.35^{d}	53.35^{de}	1	
11.43^{cd}	0.52^{c}	0.68^{ef}	3.46^{b}	1.18^{a}	135.5^{b}	21.02^{g}	14.95^{i}	0	تنش شدید Sever stress
21.5^{b}	0.58^{b}	1.35^{a}	3.54^{ab}	1.23^{a}	149.9^{a}	29.45^{g}	21.25^{h}	0.25	
21.79^{b}	0.53^{a}	1.45^{a}	3.7^{ab}	1.1^{ab}	411.7^{a}	42.57^{f}	34.16^{g}	0.5	
28.37^{a}	0.61^{ab}	1.22^{b}	3.97^{a}	1.35^{a}	524.2^{a}	42.74^{f}	34.47^{g}	1	

در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد ندارند

In each column, means with at least one common letter are not significantly different at 5<0.05

پارامترهای رشدی

قطر، طول و وزن میوه: قطر، طول و وزن میوه با افزایش غلظت اسید ۵- آمینولوولونیک افزایش و با افزایش شدت تنش خشکی کاهش یافتند (جدول ۱). بیشترین میزان قطر، طول و وزن میوه در غلظت ۰/۵ میلی‌مولار و کمترین میزان مربوط به سطح ۰ میلی‌مولار اسید ۵- آمینولوولونیک بود و بین این دو غلظت اسید ۵- آمینولوولونیک تفاوت معنی‌داری وجود داشت (جدول ۱). بالاترین میزان قطر، طول و وزن میوه در سطح بدون تنش و کمترین میزان آنها در ۳۰ درصد ظرفیت مزرعه (تنش شدید) مشاهده شد که بین آن‌ها اختلاف معنی‌داری وجود داشت (جدول ۱). بیشترین میزان قطر در شرایط فاقد تنش و تیمار ۰/۵ میلی‌مولار اسید ۵-آمینولوولونیک و کمترین میزان آن در شرایط تنش شدید و بدون کاربرد اسید ۵-آمینولوولونیک مشاهده شد (جدول ۲). تنش خشکی باعث کاهش وزن، طول و قطر میوه شد (جدول ۱). کاهش آب آبیاری و به‌دنبال آن کاهش محتوای آب خاک و پتانسیل آب برگ باعث کاهش تقسیم سلولی و رشد گیاه و در نتیجه کاهش وزن میوه و در نهایت قطر و طول آن شد که نشان‌دهنده اثر کاهش آب آبیاری بر محتوای آب قسمت‌های مختلف گیاه است (*اینز و مونتاگو*[1]، 2000). در تحقیق حاضر کاربرد اسید ۵-آمینولوولونیک سبب افزایش وزن، طول و قطر میوه در فلفل شد (جدول ۱) که با نتایج گزارش شده توسط *الخطیب* و همکاران (2001) در خرما مطابقت دارد.

کلروفیل a، b و کل

با افزایش تنش خشکی و غلظت اسید ۵-آمینولوولونیک، میزان کلروفیل a، b و کلروفیل کل افزایش یافت (جدول ۱). حفظ غلظت کلروفیل تحت شرایط تنش به ثبات فتوسنتز در این شرایط کمک می‌کند. در گیاهان زراعی گزارش‌هایی در رابطه با واکنش متفاوت کلروفیل به خشکی در ارقام حساس و مقاوم، (*کوچبا* و همکاران، 1997) و یا عدم تأثیر تنش خشکی بر غلظت کلروفیل (*چارکر- اسکوت*[2]، 1999) ارائه شده است. در تحقیق حاضر در اثر تنش خشکی میزان کلروفیل نسبت به شاهد افزایش یافت (جدول ۱) که با نتایج شهریاری (۱۳۸۰) در گندم مطابقت و نتایج علی‌محمدی (۱۳۸۸) در گندم نان مغایرت دارد.

1. Inze and Montagu
2. Chalker.Scott

افزایش مقدار کلروفیل در اثر تنش ملایم به دلیل افزایش وزن مخصوص برگ می‌باشد. تنش میزان سطح برگ را کاهش می‌دهد که ناشی از کاهش اندازه سلول است. بنابراین در طی بروز تنش ملایم به دلیل وجود سلول‌های بیشتر در واحد وزن برگ، میزان کلروفیل نیز افزایش می‌یابد (*نونامی*[3] و همکاران، 1997). محتوای کلروفیل برگ‌ها یکی از عوامل کلیدی در تعیین سرعت فتوسنتز و تولید ماده خشک می‌باشد.

کاربرد اسید ۵-آمینولوولونیک در این تحقیق سبب افزایش کلروفیل نسبت به شاهد شد (جدول ۱) که با نتایج گزارش شده از اثر این ماده در خرما مطابقت دارد. از آنجایی‌که ALA پیش‌ماده کلروفیل است و سنتز آن را تنظیم می‌کند، بدیهی است که کاربرد خارجی ALA میزان کلروفیل a را بهبود می‌بخشد (*یوسف و آواد*[4]، 2008) و از آنجایی‌که بین کلروفیل a و کلروفیل کل رابطه مستقیم و مثبتی وجود دارد باعث افزایش کلروفیل کل می‌گردد. از طرف دیگر اسید ۵-آمینولوولونیک در گیاهان سبب افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه می‌گردد که گیاه را در برابر صدمات ناشی از تنش خشکی از جمله تخریب کلروفیل حفظ می‌کند. بیشترین مقدار کلروفیل a، b و کل در شرایط تنش شدید و غلظت یک میلی‌مولار ALA و کمترین میزان آنها در شرایط عاری از تنش و غلظت ۰ میلی‌مولار ALA مشاهده شد (جدول ۲).

میزان کاروتنوئید

با افزایش تنش خشکی و غلظت اسید ۵-آمینولوولونیک، میزان کاروتنوئیدها افزایش یافت (جدول ۱). کاروتنوئیدها قادرند انرژی زیاد طول موج‌های کوتاه را و با گرفتن رادیکال‌های اکسیژن تولید شده، نقش آنتی‌اکسیدانی خود را ایفا نمایند (*الکترا و میچل*[5]، 2012). در پژوهش حاضر در اثر تنش خشکی میزان کاروتنوئیدها افزایش یافتند (جدول ۱) که با نتایج *اشرف و فاروک*[6] (2005) مطابقت دارد و با نتایج احمدی‌موسوی و همکاران (۱۳۸۴) در کلزا مغایرت دارد.

برای خنثی‌کردن اثر سمی گونه‌های اکسیژن فعال ایجاد شده در تنش کم آبی، یک سیستم آنتی‌اکسیدان با کارایی بالا نیاز است. به‌خوبی مشخص شده است که کاروتنوئیدها می‌توانند سیستم جمع‌کننده نور دستگاه فتوسنتزی را از گزند مولکول‌های اکسیژن رادیکال حفاظت نمایند. بنابراین به‌طور

3. Nonami
4. Youssef and Awad
5. Ilektra and Michael
6. Ashraf and Farooq

غیرمستقیم تولید گونه‌های اکسیژن را کاهش می‌دهند. همچنین کاروتنوئیدها از طریق مکانیسمی که چرخه گزانتوفیل نامیده می‌شود باعث مصرف اکسیژن و حفاظت از کلروفیل در مقابل فتواکسیداسیون می‌گردند (۱۰). بنابراین با توجه به نقش حفاظتی کاروتنوئیدها نتایج تحقیق حاضر که افزایش معنی‌دار مقدار کاروتنوئیدها در طی تنش آبی و افزایش بیشتر در موقع استفاده از اسید ۵-آمینولوولونیک را نشان داد قابل توجیه است (جدول ۱). بدین‌ترتیب گیاه فلفل برای کاهش خسارت حاصل از تنش اکسیداتیو، مقدار کاروتنوئیدها را افزایش داده تا بتواند تنش آبی را بهتر تحمل نماید. بیشترین میزان کارتنوئیدها در تنش شدید و غلظت ۰/۵ میلی‌مولار ALA و کمترین میزان آنها در شرایط بدون تنش و غلظت ۰/۲۵ میلی‌مولار ALA مشاهده شد (جدول ۲).

محتوای آنتوسیانین

با افزایش شدت تنش خشکی و غلظت اسید ۵-آمینولوولونیک، میزان آنتوسیانین‌ها افزایش یافت (جدول۱) که با نتایج آزمایش *چالکر-اسکات* (1999) مطابقت دارد. آنتوسیانین‌ها ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را تحت تأثیر داده (*ژیلیانگ*[1] و همکاران، 2009) و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله گلوتاتیون اس ترانس‌فراز و سوپراکسید دیسمیوتاز را تحریک می‌کنند (*اپستین*[2]، 1994). نقش آنتی‌اکسیدانی آنتوسیانین‌ها می‌تواند به دو شیوه انجام شود: ۱- از طریق تابش ۲- گونه‌های اکسیژن فعال، (*فرح* و همکاران، 2008). با توجه به نقش آنتی‌اکسیدانی آنتوسیانین‌ها افزایش معنی‌دار مقدار آنتوسیانین‌ها در طی تنش آبی و افزایش بیشتر آنها در زمان تیمار اسید ۵- آمینولوولونیک می‌باشد توجیه است (جدول۱). بدین‌ترتیب گیاه فلفل برای کاهش خسارت حاصل از تنش اکسیداتیو، مقدار آنتوسیانین را افزایش داده تا بتواند در برابر تنش آبی مقاومت کند. بیشترین میزان آنتوسیانین‌ها در شرایط تنش شدید و غلظت ۰/۵ میلی مولار ALA و کمترین میزان آنها در شرایط بدون تنش و غلظت ۰/۲۵ میلی‌مولار ALA مشاهده شد (جدول ۲).

فعالیت آنزیم پراکسیداز

بیشترین فعالیت این آنزیم در شرایط تنش شدید و غلظت یک میلی‌مولار ALA و کمترین آن در شرایط بدون تنش و تیمار یک میلی‌مولار ALA مشاهده شد (جدول ۲). کاتالازها و پراکسیدازها از جمله آنزیم‌هایی به‌شمار می‌روند که نقش بسیار مهمی در پاسخ به تنش‌های غیرزیستی دارند و تحت تنش فعال می‌شوند. افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در گندم گزارش شده است (رنجبر و همکاران، ۱۳۹۰). با اعمال تنش ملایم خشکی بر گیاه برنج فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسمیوتاز، آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز افزایش یافت. همچنین پژوهشگران دیگر نیز گزارش مشابهی منتشر کرده‌اند که تنش خشکی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند سوپراکسید دیسمیوتاز، آسکوربات پراکسیداز را افزایش داده است (ضرآبی و همکاران، ۱۳۸۹) که نتایج این تحقیق هم اثر مثبت تنش خشکی بر فعالیت آنزیم پراکسیداز را تأیید می‌نماید.

1. Zhiliang
2. Epstein

منابع

احمدی موسوی، ع.، منوچهری کلانتری، خ. و ترک‌زاده، م. ۱۳۸۴. اثر نوعی براسینواستروئید (epibrassinolide - 24) بر مقدار تجمع مالون دی‌آلدئید، پرولین، قند و رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاه کلزا (*Brassica napus* L.) تحت تنش کم آبی. زیست‌شناسی ایران، ۱۸(۴): ۳۰۶-۲۹۵.

شبانی، ط.، پیوست، غ. ع. و الفتی، ج. ع. ۱۳۹۰. بررسی اثر بسترهای کشت بر صفات کمی و کیفی سه رقم فلفل دلمه‌ای در سیستم کشت بدون خاک. علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای، (۶): ۲۰-۱۱.

شهریاری، ر. و کریمی، ا. ۱۳۸۰. ارزیابی مقاومت به سرما در ژرم پلاسم‌های گندم با اندازه‌گیری محتوای کلروفیل و رنگ برگ‌ها. چکیده مقالات هفتمین کنگره علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران، ۵۰۷ صفحه.

رنجبر، م.، لاری یزدی، ح. و برومند جزی، ش.۱۳۹۰. تأثیر اسیدسالیسیلیک بر رنگیزه‌های فتوسنتزی، محتوای قنـــد و آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی در گیاه کلزا تحت تنش سرب. زیست‌شناسی گیاهی، ۹: ۵۲-۳۹.

ضرابی، م. م.، طلائی، ع. ر.، سلیمانی، ع. و حداد، ر. ۱۳۸۹. نقش فیزیولوژیکی و تغییرات بیوشیمیائی شش رقم زیتون (*Olea europaea* L.) در برابر تنش خشکی. نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)، ۲۴(۲): ۲۴۴-۲۳۴.

علیزاده، ا. (کرامر، پال جی ۱۳۷۴) رابطه آب خاک و گیاه. نشر مشهد، ۷۴۴ صفحه.

علی‌محمدی، م.، رضایی، ع. م. و میرمحمدی میبدی، س. ع. م. ۱۳۸۸. بررسی برخی صفات فیزیولوژیک و عملکرد ده رقم گندم نان در دو رژیم آبیاری. علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، ۴۸: ۱۰۷-۱۲۰.

هادوی، م.، منتصرکوهساری، ش. و سریری، ر. ۱۳۸۹. تغییرات الگوی الکتروفورتیک و فعالیت آنزیم پراکسیداز گیاهچه‌های پسته‌ی احمد آقایی (*Pistacia vera* L.) رفسنجان در پاسخ به آلودگی با قارچ *آسپرژیلوس نیجر* (*Aspergillus niger*). زیست‌شناسی گیاهی ایران، ۲: ۲۱- ۳۰.

AL-Khateeb, S. A. 2006. Promotive effect of 5-aminolevulinic acid on growth, yield and gas exchange capacity of barley *(Hordeum vulgare* L.) grown under different irrigation regimes. Journal of King Saud University, 18: 103-111.

AL- Thabet, S. S. 2006. Promotive effect of 5-aminolevulinic acid on growth and yield of wheat grown under dry conditions. Agronomy, 5: 45-49.

Ashraf, M. and Farooq, M. 2005. Pre-sowing seed treatment a shotgun approach to improve germination, plant growth, and crop yield under saline and non-saline conditions. Advance Agronomy, 88: 223 271.

Bai, L. and Sui, F. 2006. Effect of soil drought stress on leaf of maize. Pedosphere, 16: 326-332.

Chalker-Scott, L. 1999. Environmental significance of anthocyanins in plant stress responses. Phytochemistry Photobiology, 70(1):1-9.

Castilla, N. and Lopes-Galvez, J. 1994. Vegetable crop responses in improred low cost plastic greenhouses. Horticultural Science, 69(5): 915-921.

Epstein, E. 1994. The anomaly of silicon in plant biology. Proceedings of the National Academy of Science, 91: 11-17.

Farah, S., Hosseinian, A., Wende Li, A. and Trust, B. 2008. Measurement of anthocyanins and other phytochemicals in purple wheat. Food Chemistry, 109: 916-924.

Ilektra, S. and Michael, M. 2012. Interaction of proline, sugars and anthocyanins during photosynthetic acclimation of *Arabidopsis thaliana* to drought stress. Plant Physiology, 169: 577-585.

Inze, D. and Montagu, M. V. 2000. Oxidative stress in plants. TJ International Ltd, Padstow, Cornawall. Great Britain, 321.

Kochba, J., Lavee, S. and Spiegel-Roy, P. 1977. Differences in peroxidase activity and isoenzymes in embryogenic and non-embryogenic 'Shamouti' orange ovular callus lines. Plant Cell Physiology, 18: 463-467.

Lichtenthaler, H. K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. Methods Enzymol, 148: 350-382.

Wagner, G. J. 1979. Content and vacuole/extravacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanins in protoplast. Plant Physiology, 64: 88-93.

Nonami, H. W. u. Y. and Matthewse, M. A. 1997. Decreased growth-induced water potential a primary cause of growth inhibition at low water potentials. Plant Physiology, 114: 501-509.

Topuz, A. and Ozdem, F. 2007. Assessment of carotenoids, capsaicinoids and ascorbic acid composition of some selected pepper cultivars (*Capsicum annuum* L.) grown in Turkey. Food Composition and Analysis, 20: 596-602.

Youssef, T. and Awad, M. A. 2008. Mechanisms of enhancing photosynthetic gas exchange in date palm seedling (*Phoenix dactylifera* L.) under salinity stress by a 5-aminolevulinic acid- based fertilizer. Plant Growth Regulation, 27: 1-9.

Zhiliang, H., Baowu, W., Paul, W. and Ralphenia, D. P. 2009. Identification of anthocyanins in muscadine grapes with HPLC-ESI-MS. LWT - Food Science and Technology, 42: 819-824.

Watanabe, K., Tanaka, T., Hotta, Y., Kuramochi, H. and Takeuchi, Y. 2000. Improving salt tolerance of cotton seedling with 5-aminolevulinic acid. Plant Growth Regulation, 32: 99-103.

Zhang, Z. J., Li, H. Z., Zhou, W. J., Takeuchi, Y. and Yoneyama, K. 2006. Effect of 5-aminolevulinic acid on development and salt tolerance of Potato (*Solanum tuberosum* L.) microtubers *in vitro*. Plant Growth Regulation, 49: 27-34.

Lichtenthaler, H. K., Welburn, W. R., 1994. Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. Biochemical Society Transactions. 11: 591-592.

Effect of 5-Aminolevulinic Acid and Drought Stress on Antioxidant Activity and Some Physiological Parameter of Pepper (*Capsicum annuum*)

Khazaei[1*], Z. and Sayyary[2], M.

Abstract

The present study was conducted to assess the effects of 5-aminolevulinic acid (ALA) and drought stress on some physiological parameters and antioxidant activity of pepper (*Capsicum annuum* L.) seedlings. Three levels of drought stress including stress-free conditions (irrigation within the field capisity), mild stress (60% of field capacity) and sever stress (30% of field capacity) and four concentrations of ALA including 0 (as a control), 0.25, 0.5 and 1 mM were investigated. In drought stress condition, growth parameters reduced, but chlorophyll a, b, total chlorophyll, carotenoids, anthocyanins and peroxidase activities increased. Application of ALA caused significant increasing of peroxidase enzyme activities, total chlorophyll content, chlorophyll a and b, carotenoids, anthocyanins and weight, length and diameter of fruits. Interaction effects of ALA and drought stress were significant in measured parameters except fruits length. The results showed that ALA could be effective approach in reducing negative effects of drought stress and maintaining antioxidant capacity of pepper.

Keyword: Anthocyanin, Carotenoid, Chlorophyll content, Peroxidase enzyme

1. Graduate Student, College of Agriculture, Ilam University, Ilam
2. Assistant Professor, Department of Horticultural Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamedan
*: Corresponding author Email: Zahrakhazaei55@yahoo.com