Iranian Journal of Field Crop Science
Vol 51, No 2, Summer 2020 (171-182)
DOI: 10.22059/ijfcs.2019.275180.654578

علوم گیاهان زراعی ایران
دورهٔ ۵۱، شمارهٔ ۲، تابستان ۱۳۹۹ (ص۱۸۲-۱۷۱)

پاسخ چیا (*Salvia hispanica*) به تنش غرقابی در مراحل اولیه رشد

مجتبی کریمی *[۱]، امیرحسین قابشی[۲] ، کرامت الله سعیدی[۳]

۱و۲- استادیار و دانشجوی کارشناسی ، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد، ۳- دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۱/۱۵ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۳/۱۳)

چکیده

دانه‌های چیا (*Salvia hispanica*) به دلیل ارزش غذایی بسیار بالا، مورد توجه محققین و کشاورزان می‌باشند. با این حال، پاسخ این گیاه به متغیرهای محیطی، کمتر مورد مطالعه قرار گرفته است. در این آزمایش، پاسخ چیا به دوره‌های مختلف غرقاب در مراحل مختلف اولیه رشد، در یک آزمایش فاکتوریل با سه تکرار در سال ۱۳۹۷ در دانشگاه شهرکرد مورد ارزیابی قرار گرفت. تیمارهای آزمایشی شامل پنج مدت زمان غرقاب (صفر، یک، دو، سه و چهار هفته) در مراحل مختلف رشد (سبز شدن، دو، چهار، شش و هشت برگی) چیا بود. نتایج اولیه نشان داد که اثرات دوره غرقاب با زمان وقوع غرقاب، دارای برهمکنش بالایی بود. تعداد، سطح وو وزن برگ و وزن ریشه چیا در اثر غرقاب، کاهش معنی‌داری یافتند درحالی‌که رشد ساقه، حجم ریشه و ارتفاع چیا افت کمتری داشتند. افزایش نسبت وزنی شاخساره به ریشه چیا در غرقاب، نشان دهنده حساس‌تر بودن رشد ریشه به غرقاب بود. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بافت‌های برگی با تداوم غرقاب تا دو هفته، روند افزایشی داشت و سپس روند نزولی به خود گرفت، درحالی‌که ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ریشه در هفته اول، در بالاترین سطح خود قرار داشت و سپس نزولی شد. در مجموع، فعالیت آنتی‌کسیدانی بافت‌های برگی بیشتر از بافت‌های ریشه‌ای بود. به‌طورکلی، شدیدترین افت رشد چیا، در تیمار چهار هفته غرقاب مداوم و حساس‌ترین مرحله رشد آن، مرحله سبز شدن بود. چیا پس از سبز شدن، نسبت به غرقاب متحمل‌تر شد، به‌طوری‌که حداقل یک هفته غرقاب را تحمل می‌کرد. همچنین تحمل چیا به تنش غرقاب، متناسب با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آن بود.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، تنش، ریشه، شاخساره، کمبود اکسیژن.

Chia (*Salvia hispanica*) response to waterlogging stress at the early growth stages

Mojtaba Karimi[*1], Amirhossein Ghabeshi[1], Karamatollah Saeidi[2]

1. Agronomy Department, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, 2. Horticulture Department, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Iran.

(Received: February 4, 2019- Accepted: June 3, 2019)

ABSTRACT

Chia (*Salvia hispanica*) seeds are so interesting for farmers and researchers and farmers due to their high nutritional value. However, Chia response to environmental factors has poorly been studied. In the present study, the chia response to waterlogging intensity at early growth stages was studied under a factorial experiment with three replications. The experimental treatments were five periods of waterlogging (0, 1, 2, 3 and 4 weeks) occurring at different growth stages of Chia (i.e. seedling emergence as well as 2, 4, 6 and 8 leaves stages). Results showed that the waterlogging intensity had a significant interaction effect with the time of the waterlogging occurrence. Leaf number, area and dry weight and root dry weight were strongly reduced by waterlogging while stem growth, height and root volume showed a lower depression. The increase in shoot/root weight ratio in water logging showed the more sensitivity of root to waterlogging. It was observed that the leaf antioxidant capacity was increased by waterlogging during first two weeks and thereafter was diminished while it descended in root after the first week. Totally, the antioxidant activity of leaves was more than roots. Generally, the most chia growth reduction was observed after four weeks of waterlogging and the seedling emergence stage was the most sensitive stage responding to waterlogging stress. After seedling emergence, the chia tolerance to waterlogging was increased; so that it could tolerate the waterlogging for at least one week. In addition, the chia tolerance to waterlogging was commensurate with its antioxidant activity.

Keywords: Antioxidant, hypoxia, , root, shoot, stress.

* Corresponding author E-mail: m.karimi@sku.ac.ir

مقدمه

تنش‌های محیطی، همواره یکی از موانع بزرگ در کشاورزی بوده‌اند و هر ساله، بخش بزرگی از محصولات کشاورزی را از بین می‌برند. اگرچه کمبود آب، مهم‌ترین تنش محیطی در بخش کشاورزی در دنیاست، اما در برخی از مناطق، ازدیاد آب و تجمع آن در خاک، باعث مشکلات زیادی در تولید محصولات زراعی می‌شود. در چنین شرایطی، زیادی آب به دلیل کاهش اکسیژن در محیط ریشه، به گیاهان تنش وارد می‌کند که به آن تنش غرقاب[1] می‌گویند. معمولا تنش غرقاب در فصول پربارش به وقوع می‌پیوندد و باعث اختلال در رشد گیاهان می‌شود. غالبا تنش غرقاب با تنش کمبود اکسیژن یا نبود اکسیژن مترادف می‌شود (Maltby, 1991). غرقاب، حرکت اکسیژن به سمت جایگاه‌های تنفسی در ریشه را مختل می‌کند که ناگزیر، بر رشد ریشه و همچنین اندام‌های هوایی اثر می‌گذارد و به دنبال آن، سبب تغییر در فعالیت‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه می‌شود (Armstrong, 1978). تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن، یکی از تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ناشی از غرقاب می‌باشد (Biemelt *et al*., 2000) که می تواند اثرات زیانباری را برای سلول‌های گیاهی به همراه داشته باشد. در چنین شرایطی، سلول‌های گیاهی با تقویت فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و همچنین سنتز ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، به مقابله با رادیکال‌های آزاد می‌پردازند.

چیا (*Salvia hispanica*) گیاهی یک‌ساله و گرمسیری و از خانواده نعناعیان (Labiatae) است (Coates, 1996) که در دهه اخیر، به‌دلیل کیفیت غذایی بالای بذر آن مورد توجه کشاورزان و پژوهشگران قرار گرفته است. در برخی کشورها نیز به مریم گلی اسپانیایی، چیا مکزیکی و یا چیا سیاه مشهور است (Hentry *et al*., 1990). چیا تقریبا تا ارتفاع یک متر رشد می‌کند و برگ‌های آن متقابل و از نظر طول (چهار تا هشت سانتی‌متر) و عرض (سه تا پنج سانتی‌متر) متغیر است. گل‌های آن کوچک (سه تا چهار میلی‌متر) و دوجنسی است و درصد خودگشنی بسیار بالایی دارند. دانه آن کوچک (با قطر یک تا دو میلی‌متر) و بیضی شکل است و به رنگ سیاه، خاکستری و خالدار می‌باشد (Cahill & Provance, 2002; Peiretti & Meineri, 2008; Bresson *et al*., 2009). به‌طور متوسط، عملکرد دانه چیا حدود ۱۵۰۰- ۱۲۵۰ کیلوگرم در هکتار است اما درصورتی‌که همه عوامل زراعی مورد نیاز فراهم شود، پتانسیل تولید تا شش تن هکتار را هم دارد (Cahill, 2003). زراعت چیا در کشورهای آرژانتین، استرالیا، بولیوی، کلمبیا، گواتمالا، مکزیک، پرو و بخش‌هایی از جنوب آسیا رایج است (Jamboonsri *et al*., 2012).

دانه چیا دارای ارزش غذایی بالایی است و از زمان‌های قدیم در آمریکای مرکزی مورد استفاده بوده است. به‌طور متوسط، بذر چیا حاوی ۳۹ درصد روغن است که از لحاظ کیفی می‌تواند بالاترین میزان (۶۸ درصد) آلفا لینولنیک را دارا باشد (Ayerza, 1995). همچنین بذر چیا دارای مقدار قابل توجهی امگا سهنیز می‌باشد (Ayerza *et al*., 2002) که خود از دلایل اصلی زراعت آن می‌باشد. در پژوهشی روی کیفیت بذر چیا مشاهده شد که بذور ارقام مختلف چیا، ۲۵-۲۰ درصد نیز پروتئین داشتند (Ayerza & Coates, 2004). چیا حاوی مقادیر قابل توجهی فیبر خوراکی نیز می‌باشد (Cahill, 2003) و محتویات دانه چیا و روغن آن، منبع سرشاری از توکوفرول‌ها، فیتواسترول‌ها، کاروتنوئیدها (Álvarez-Chávez *et al*., 2008) و ترکیبات فنولی (Martínez-Cruz & Paredes-Lopez, 2014) است. مقادیر مواد معدنی دانه چیا نیز بسیار قابل توجه است، به گونه‌ای که کلسیم، فسفر و پتاسیم آن چندین برابر گندم، برنج و ذرت و آهن آن، شش برابر اسفناج است (Beltran-Orozco & Romero, 2003).

با وجود ویژگی‌های کیفی قابل توجهی که در دانه چیا وجود دارد، مباحث زراعی مرتبط با تولید این گیاه، کمتر مورد مطالعه قرار گرفته است. دوره رشد چیا طولانی است و بسته به طول روز می‌تواند به بیش از شش ماه برسد (Amato *et al*., 2015)؛ بنابراین در

[1] Waterlogging stress

برخی از مناطق، به ناچار باید اقدام به کشت این گیاه در فصول پربارش کرد تا برداشت آن با بارش‌های پاییزی و سرما مواجه نشود. با وجود چنین شرایطی، گیاه چیاه ممکن است دوره متغیری از غرقاب را تجربه کند. از این رو در این پژوهش تلاش بر این بوده است تا پاسخ چیا به شرایط غرقاب در اوایل رشد مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال ۱۳۹۷ در گلخانه پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد انجام شد. در این آزمایش، اثر غرقاب (شاهد بدون غرقاب و یک، دو، سه و چهار هفته غرقاب مداوم) و زمان وقوع آن مراحل مختلف ابتدایی رشد چیا (*Salvia hispanica*)، به‌صورت یک آزمایش فاکتوریل با سه تکرار مورد بررسی قرار گرفت. شروع اعمال تیمارهای غرقاب از مراحل کاشت (شروع غرقاب بلافاصله بعد از کشت در خاک خشک)، دوبرگی، چهار ، شش و هشت برگی بود و برای هر مرحله اعمال غرقاب، یک تیمار شاهد مخصوص نیز در نظر گرفته شد.

در این آزمایش، از گلدانهای پنج لیتری حاوی خاک لومی-رسی استفاده شده که کف آن‌ها کاملا بسته بود و در هر گلدان، ۱۰ بذر چیا کشت شد. در تیمارهای غرقاب، ارتفاع آب حداقل یک سانتی متر روی سطح خاک نگه داشته شد. بذرها ابتدا در خاک خشک کشت شدند و سپس تیمارهای مورد نظر اعمال شد. پس از اتمام دوره مورد نظر برای غرقاب، کف گلدانها سوراخ شد تا آب آن کامل تخلیه شود و شرایط به وضعیت عادی باز گردد. دو هفته پس از اعمال آخرین تیمار غرقاب، گیاهان برداشت شدند و صفات مورد نظر اندازه‌گیری شدند.

قبل از برداشت، ارتفاع گیاه، شاخص سبزینگی (SPAD) و تعداد برگ سبز ثبت شد و سپس سطح برگ در هر گیاه نیز اندازه‌گیری شد. در ادامه، اندام-های مختلف گیاهی در آون در دمای ۶۵ درجه سانتی گراد خشک شدند و وزن خشک برگ و ساقه اندازه-گیری شد. ریشه‌های گیاهان با روش شستشو، از خاک گلدان‌ها جدا شدند و وزن خشک و حجم آن‌ها اندازه‌گیری شد. حجم ریشه‌ها از طریق شناورسازی آن‌ها در آب مقطر و میزان تغییر حجم آب محاسبه شد.

میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی ریشه و برگ چیا با روش تایپونگ و همکاران (Thaipong *et al*., 2006) و کاتسوبه و همکاران (Katsube *et al*., 2009) و سینگ و همکاران (Singh & Chauhan, 2009) با کمی تغییر و با استفاده از DPPH[1] اندازه‌گیری شد. بدین منظور، ۰/۰۱ گرم از بافت برگ و ریشه در ۰/۱ میلی‌لیتر اتانول حل شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. مخلوط حاصل با تعداد دور ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد و عصاره آن جدا شد. برای تهیه محلول پایه، ۲/۵ میلی‌گرم DPPH در چهار میلی‌لیتر متانول حل شد. محلول عمل DPPH با حل کردن غلظت‌های مختلف محلول استوک در واحدهای پنج میلی‌لیتری متانول ایجاد شد تا این‌که غلظتی در آن‌ها پیدا شد که جذب آن در ۵۱۷ نانومتر، برابر یک بود. محلول واکنش شامل ۱۵ میکرولیتر متانول، هفت میکرولیتر DPPH و یک میکرولیتر نمونه گیاهی بود که به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق و شرایط تاریک نگهداری شد و پس از گذشت ۲۴ ساعت، ، مقدار جذب محلول با استفاده از اسپکتروفوتومتر، در ۵۱۷ نانومتر قرائت شد. متانول خالص به عنوان معیار جذب در نظر گرفته شد و از مخلوط ۱۵ میکرولیتر متانول با هفت میکرولیتر DPPH به عنوان شاهد استفاده شد. برای بیان مقدار فعالیت آنتی‌اکسیدانی، از عکس IC_{50} (IC_{50}^{-1}) استفاده شد (Hasperué *et al*., 2011). IC_{50} مقدار عصاره گیاهی (سوبسترای) لازم برای مصرف ۵۰ درصد از DPPH موجود در محلول واکنش است.

تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام شد و سپس میانگین‌های هرکدام از تیمارها به همراه اشتباه معیار[2] آن ارائه شد و بر اساس اشتباه معیار حاصل از تکرارهای هر کدام از تیمارها، میانگین آن‌ها در سطح پنج درصد انجام شد.

---

[1] - 2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl

[2] - Standard Erorr

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس داده‌های این آزمایش نشان داد که تغییرات صفاتی همچون ارتفاع گیاه، تعداد و سطح برگ، شاخص سبزینگی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی برگ و ریشه و وزن خشک برگ، ساقه و ریشه، حجم ریشه و نسبت وزن خشک شاخساره به ریشه، به‌طور معنی-داری تحت تاثیر برهمکنش دوره غرقاب و زمان وقوع غرقاب بود (جدول ۱، P≤۰/۰۱).

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات موفولوژیک و فیزیولوژیک چیا تحت تاثیر از زمان‌های مختلف غرقاب و همچنین وقوع غرقاب در مراحل مختلف رشدی آن (اعداد، میانگین مربعات اثر هر تیمار روی صفات می‌باشند)

Table 1. Variance analysis of for the physiological and morphological traits of chia under the effect of waterlogging time and duration at its different growth stages (Values are traits mean of squares).

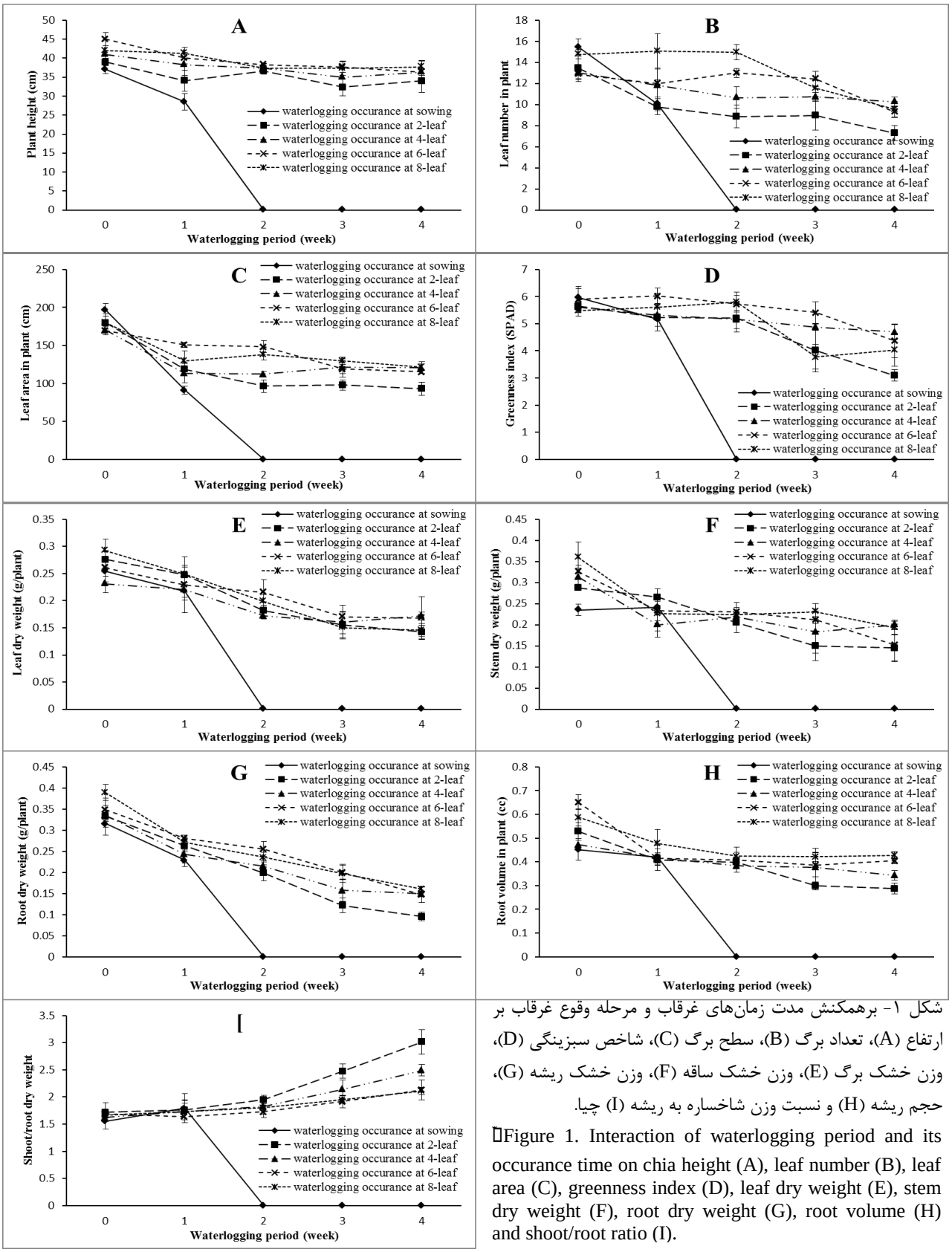
Source of variation	df	Mean of squares										
		Plant height	Leaf number	Leaf area	Greenness index	Leaf dry weight	Stem dry weight	Root dry weight	Root volume	Shoot/root dry weight	Leaf antioxidant capacity	Root antioxidant capacity
Waterlogging time occurance	4	1967**	124**	6766**	29.5**	0.033**	0.04**	0.06**	0.23**	2.7**	2.6**	1.06**
Waterlogging period	4	398**	63**	9318**	12.9**	0.06**	0.04**	0.03**	0.11**	2.1**	0.62**	0.44**
Waterlogging time occurance×waterlogging period	16	168**	41**	1509**	5.3**	0.004*	0.007**	0.015**	0.035**	0.44**	0.32**	0.17**
Error	-	10	5.1	76	0.49	0.002	0.002	0.003	0.004	0.07	0.009	0.06
Coefficient variation (%)	-	9.8	21	11	15	28	27	27	18	19	8.7	28
Coefficient of Determination	-	0.95	0.84	0.95	0.91	0.80	0.79	0.77	0.88	0.87	0.97	0.75

** و *: به‌ترتیب معنی‌دار در سطح یک و پنج درصد.

** and *: significant at 1% and 5% of probability levels, respectively.

بیشترین ارتفاع گیاه در شرایط بدون غرقاب مشاهده شد اما در اغلب شرایط و با تداوم غرقاب تا چهار هفته، با شیب کمی کاهش یافت؛ بجزاین‌که افت ارتفاع زمانی تشدید شد که غرقاب در مرحله سبز شدن اتفاق افتاد، به‌طوری‌که با ادامه غرقاب از این مرحله به مدت سه هفته، گیاهان از بین رفتند (شکل ۱A). شروع غرقاب از مرحله سبز شدن ادامه آن به مدت یک هفته، تعداد برگ‌های چیا را در مقایسه با شاهد، ۳۵ درصد کاهش داد و در هفته دوم به صفر رسید، درحالی‌که در وقوع غرقاب در مراحل بعد از سبز شدن، روند کاهش تعداد برگ‌ها ملایم‌تر بود (شکل ۱B). وقوع تنش در مراحل چهار، شش و هشت برگی (و به مدت دو هفته)، کاهش معنی‌داری در تعداد برگ‌های چیا در پی داشت. سطح برگ، حساسیت زیادی به وقوع غرقاب نشان داد، به‌طوری‌که تمام تیمارهای غرقاب که در مراحل مختلف رشدی ، باعث کاهش معنی‌دار سطح برگ نسبت به شاهد شدند (به‌طور متوسط ۳۰ درصد کاهش در هفته اول غرقاب نسبت به شاهد) و همانند صفات قبلی، بیشترین افت سطح برگ نیز زمانی بود که غرقاب در زمان سبز شدن اعمال شد و پس از آن، اعمال غرقاب در مرحله دوبرگی، بیشترین کاهش سطح برگ را به دنبال داشت (شکل ۱C). با این حال، تداوم تنش غرقاب از هفته دوم تا چهارم؛ اثرات مشابهی بر سطح برگ چیا داشت. شاخص سبزینگی (SPAD) در زمان وقوع غرقاب در مراحل پس از سبز شدن تا هفته دوم پس از غرقاب، تغییر معنی‌داری نداشت درحالی‌که در زمان وقوع غرقاب در مرحله سبز شدن در هفته دوم، کاهش شدید نشان داد (شکل ۱D). به عبارت دیگر، با تداوم غرقاب، رنگ برگ‌های چیا به سبز روشن متمایل شد و از شدت سبزی آن‌ها کاسته شد. تا یک هفته پس از غرقاب، وزن خشک برگ تفاوت معنی‌داری با شاهد نداشت، اما دامه غرقاب به بیشتر از یک هفته، باعث کاهش معنی‌دار آن شد که این موضوع در همه مراحل وقوع تنش غرقاب مشاهده شد (شکل ۱E). روند وزن خشک ساقه تا حدودی متفاوت بود، به‌طوری‌که در وقوع تنش در مراحل سبز شدن و همچنین دوبرگی تا یک هفته پس از غرقاب، کاهش معنی‌داری در مقایسه

با شاهد نداشت (شکل ۱F).

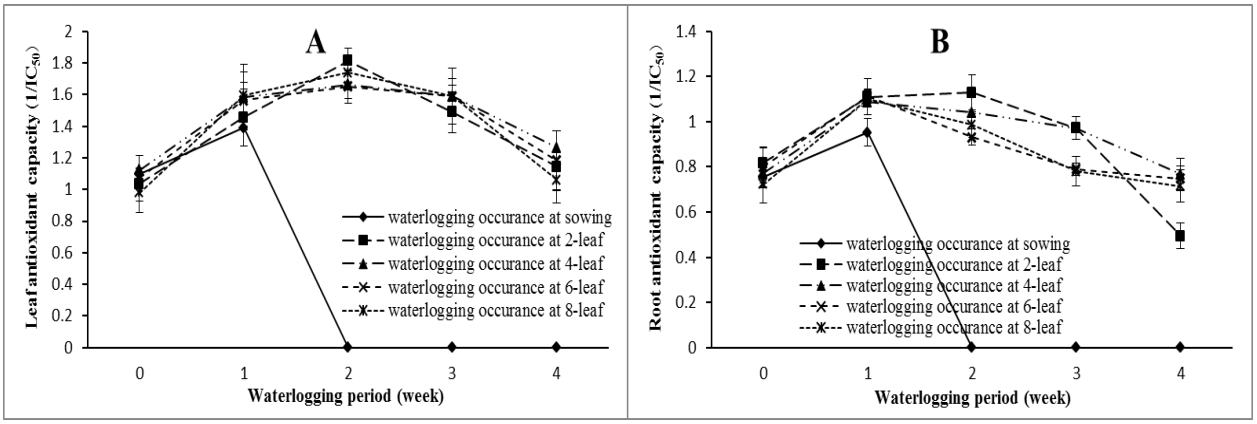


شکل ۱- برهمکنش مدت زمان‌های غرقاب و مرحله وقوع غرقاب بر ارتفاع (A)، تعداد برگ (B)، سطح برگ (C)، شاخص سبزینگی (D)، وزن خشک برگ (E)، وزن خشک ساقه (F)، وزن خشک ریشه (G)، حجم ریشه (H) و نسبت وزن شاخساره به ریشه (I) چیا.

Figure 1. Interaction of waterlogging period and its occurance time on chia height (A), leaf number (B), leaf area (C), greenness index (D), leaf dry weight (E), stem dry weight (F), root dry weight (G), root volume (H) and shoot/root ratio (I).

همچنین تغییرات وزن خشک ساقه در بین تیمارها از هفته اول تا چهارم، نزدیک به هم بود. تغییرات وزن خشک ریشه، اثرپذیری زیادی از تیمارهای غرقاب داشت، به‌گونه‌ای که در برابر استمرار غرقاب و در مقایسه با وزن برگ و ساقه، با شدت بیشتری کاهش یافت و کاهش به‌طورمعنی‌داری نسبت به شاهد نشان داد (شکل 1G). صرفنظر از زمان وقوع تنش غرقاب، کاهش بسیار چشمیگیری (حدود ۲۵ درصد) در وزن خشک ریشه در هفته اول مشاهده شد و تداوم غرقاب در هفته‌های بعدی نیز افت وزن ریشه چیا را تشدید کرد. از نظر وقوع زمان غرقاب، بیشترین کاهش وزن ریشه، به‌ترتیب در زمان سبز شدن و سپس در مرحله دوبرگی بود (شکل 1G). تغییرات حجم ریشه‌ها در مقایسه با وزن ریشه‌ها کمتر بود؛ اگرچه در اثر غرقاب نیز کاهش معنی‌دار داشتند (شکل 1H). از نظر زمان وقوع تنش غرقاب، کمترین تغییرات حجم ریشه در تیمار غرقاب در مرحله هشت برگی اتفاق افتاد و بیشترین تغییرات نیز در تیمارتنش در مرحله سبز شدن مشاهده شد. در مجموع، اگرچه تغییرات مقادیر حجم ریشه در اثر تنش غرقاب، کاهش معنی‌دار داشت اما تغییرات آن در میان مدت زمان‌های استمرار غرقاب، مشابه بود (شکل 1H). اثرات متفاوت تیمارهای غرقاب بر بخش‌های مختلف رویشی چیا، باعث برهم خوردن تناسب رشدی شاخساره به ریشه شد، به شکلی که با تداوم غرقاب، نسبت وزن شاخساره به ریشه در دوره‌های بالای غرقاب (سه و چهار هفته) در مقایسه با شرایط بدون غرقاب، به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (شکل 1I). بیشترین شدت افزایش نسبت شاخساره به ریشه، در تنش غرقاب به مدت چهار هفته در مرحله دوبرگی و به‌دنبال آن، در مرحله چهار برگی اتفاق افتاد که به ترتیب ۷۵ و ۵۳ درصد نسبت به شاهد افزایش داشتند.

صرفنظر از زمان وقوع تنش، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بافت‌های برگی در هفته‌های اول و دوم غرقاب نسبت به شرایط نرمال، روند افزایشی معنی‌دار داشت و پس آن، سیر نزولی پیدا کرد، به‌طوری که سطح ظرفیت آنتی‌اکسیدانی برگ‌ها در چهار هفته غرقاب به سطح شاهد رسید (شکل 2A)؛ در واقع حداکثر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی برگ‌های چیا در دو هفته غرقاب ایجاد شد. روند تغییرات ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ریشه، متفاوت کمی از برگ‌ها داشت و نسبتا کمتر از برگ‌ها بود (شکل 2B). در ریشه‌ها، حداکثر ظرفیت آنتی-اکسیدانی، تقریبا پس از یک هفته غرقاب ایجاد شد و سپس روند نزولی پیدا کرد. کمترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ریشه زمانی بود که تنش غرقاب در مرحله دوبرگی شروع شد و چهار هفته استمرار داشت.



شکل ۲- برهمکنش مدت زمان‌های غرقاب و مرحله وقوع غرقاب بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی برگ (A) و ریشه (B) چیا

Figure 2. Interaction of waterlogging period and occurance time on antioxidant capacity of leaf (A) and root (B).

اگر چه تنش غرقاب، مستقیما روی ریشه تاثیر می-گذارد، اما باعث بروز اختلال در رشد سایر اندام‌های گیاهی نیز با می‌شود، چراکه ریشه، تامین‌کننده آب و غذا برای همه اندام‌های گیاهی است. در آزمایش

کنونی نیز رشد رویشی چیا، تحت تاثیر غرقاب قرار گرفت، اما شدت اثر آن بستگی به نوع تیمارهای اعمال شده داشت. علاوه بر این، تاثیرپذیری صفات اندازه-گیری شده نیز یکسان نبود. به‌عنوان مثال ارتفاع چیا، کمتر از تعداد و سطح برگ و وزن خشک برگ و ساقه، تحت تاثیر تنش غرقاب قرار گرفت. احتمالا کاهش ارتفاع می‌تواند به دلیل کاهش جیبرلین درونی گیاه در شرایط غرقاب باشد (Reid & Crozier, 1971; Reid *et al*., 1969). در بحث تاثیرپذیری بیشتر رشد برگ می‌توان گفت که احتمالا مریستم‌های جانبی گیاه، بیشتر تحت تاثیر تنش غرقاب قرار گرفته‌اند. تعداد برگ‌های تشکیل شده در چیا، دارای دامنه تغییرات گسترده‌ای بود که نشان از تاثیرات فیزیولوژیک تنش غرقاب بر آغازه‌های برگی داشت. احتمالا غرقاب از طریق تولید اتیلن در بخش‌های هوایی گیاه (Jackson *et al*., 1978; Kawase, 1978; Jackson, 1985) بر جوانه‌های برگی تاثیر گذاشته است و از رشد آغازه‌های برگی جلوگیری کرده است (Skirycz *et al*., 2011). کاهش تعداد برگ‌ها در زمان وقوع تنش غرقاب در زمان سبز شدن نشان داد که نقصان در استقرار گیاهچه‌ها، موجب افت تولید آغازه-های برگی شد که این مورد نیز می‌تواند با اتیلن در ارتباط باشد، چرا که اثرات منفی اتیلن بر تقسیم سلولی نیز گزارش شده است (Dan *et al*., 2003). در کنار کاهش تولید برگ در چیا، غرقاب مانع توسعه برگ‌های آن نیز شد که هر دو پدیده می‌تواند کاهش کارایی سیستم فتوسنتزی و خسارات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی را در پی داشته باشد. احتمالا برهم خوردن تعادلات هورمونی در برگ، باعث ممانعت از توسعه آن شد، به ویژه آن‌که بازدارندگی توسعه سلولی توسط هورمونی مانند اتیلن، بارها گزارش شده است (Kieber *et al*., 1993; Rodrigues-Pousada *et al*., 1993; Roman *et al*., 1995). از نشانه‌های اختلال در سیستم فتوسنتزی گیاه می‌توان به رنگ‌پریدگی برگ‌ها در تنش غرقاب اشاره کرد که می‌تواند حاکی از تحلیل و تخریب کلروفیل‌ها باشد. کاهش غلظت کلروفیل‌ها می‌تواند به دلیل عدم جذب مناسب عناصر مغذی موثر در ساختار کلروفیل (Smethurst *et al*., 2005) و کاهش انرژی سلول‌ها در راه‌اندازیواکنش‌های مورد نیاز برای سنتز کلروفیل‌ها باشد (Bailey-Serres & Voesenek, 2008). علاوه بر این، تخریب ساختمان کلروفیل و تخریب کلروپلاست‌ها در شرایط غرقاب نیز می‌تواند دلیل دیگری برای آن باشد (Titarenko, 2000; Ashraf *et al*., 2011). از دیگر دلایل احتمالی رنگ پریدگی برگ‌ها می‌توان به تجمع نشاسته در برگ‌ها در شرایط غرقاب (Wample & Davis, 1983) نیز اشاره کرد. همانند این پژوهش، کاهش عدد SPAD در برگ پرچم در اثر غرقاب در گندم (Fan *et al*., 2005)، نیشکر (Bajpai & Chandra, 2015)، سویا (Maekawa *et al*., 2011)، استویا (REN *et al*., 2012) و پنبه (Conaty *et al*., 2008) نیز گزارش شده است.

تضعیف سیستم فتوسنتزی می‌تواند کاهش کربوکسیلاسیون و به‌دنبال آن، کاهش تولید ماده خشک را در پی داشته باشد، به‌گونه‌ای که در این پژوهش، کاهش چشمگیر وزن خشک برگ و ساقه در اثر تنش غرقاب نیز مشاهده شد. علاوه بر این، کمبود اکسیژن و به‌دنبال آن، اختلال در جذب عناصر غذایی مناسب نیز می‌تواند عامل مهمی در ایجاد اختلال در دستگاه تولید کننده ماده خشک در گیاهان باشد، چرا که اتیلن حاصل از غرقاب می‌تواند باعث تحریک بیوسنتز آبسزیک اسید و در نتیجه بستن روزنه شود که کاهش تبادلات گازی و فتوسنتز و به‌دنبال آن، تولید ماده خشک را در پی خواهد داشت (Trought & Drew, 1982; Bradford, 1983; Jackson & Kowalewska, 1983). اختلالات حاصل از تنش غرقاب، بیشتر از این‌که اندام‌های بالایی را تحت تاثیر قرار دهد، می‌تواند بر رشد ریشه و فعالیت آن اثر گذارد (Malik *et al*., 2002)، به‌گونه‌ای که در این آزمایش نیز وزن خشک ریشه، به‌طور قابل ملاحظه‌ای کاهش یافت. کاهش شدید وزن ریشه در اثر وقوع تنش غرقاب در اوایل رشد می‌تواند به‌دلیل توسعه کمتر ریشه‌ها باشد و در نقطه مقابل نیز مشاهده شد که وقوع تنش غرقاب در مراحل پس از استقرار گیاهچه‌ها، به‌دلیل توسعه قبلی ریشه‌ها، آسیب کمتری وارد کرد و گیاهانی که غرقاب را دیرتر تجربه کردند،

وزن و حجم ریشه‌های آن‌ها بیشتر از گیاهانی بود که از ابتدا با غرقاب مواجه بودند. این نتایج بیانگر این است که چیا نباید در ابتدای رشد و سبز شدن با غرقاب مواجه شود، چراکه باعث عدم توسعه ریشه و در نتیجه اختلال در رشد گیاه می‌شود.

یکی از اثرات بارز تنش غرقاب در گیاهان، برهم زدن تناسب رشد اندام‌های گیاهان است و در این آزمایش نیز به‌وضوح مشاهده شد که نسبت رشد شاخساره به ریشه تغییر یافت. افزایش رشد شاخساره نسبت به ریشه، نشان از محدودیت بیشتر ریشه دارد. در این راستا می‌توان گفت که گیاه در شرایط تنش غرقاب تمایل دارد تا تخصیص مواد فرآورده را به اندام‌های هوایی تسهیل کند، چراکه ریشه، ظرفیت چندانی ندارد و علاوه بر این، انتقال مواد پرورده از برگ‌ها به ریشه نیز مختل می‌شود (Bradford, 1983; Yordanova *et al*., 2004). افزایش نسبت شاخساره به ریشه ناشی از وقوع تنش در ابتدای رشد، مربوط به افت رشد ریشه (نه رشد بیشتر ساقه) در چنین شرایطی است. اعتقاد بر این است که گیاه تحت شرایط غرقاب، توده ریشه را کم می‌کند تا از این طریق، نیاز به اکسیژن را کاهش دهد که خود نوعی سازگاری به کمبود اکسیژن است (Naidoo & Naidoo, 1992). در آزمایشی مشابه روی گندم مشاهده شد که تاثیر غرقاب در افت رشد، در ریشه بیشتر از شاخساره بود و به همین دلیل، نسبت وزنی شاخساره به ریشه کاهش یافت (Malik *et al*., 2001). نتیجه مشابهی نیز در پاسخ ارقام یونجه به غرقاب گزارش شده است (Smethurst & Shabala, 2003). در مطالعه دیگری نیز به حساسیت بیشتر ریشه یونجه (نسبت به شاخساره) نسبت به شرایط بی‌هوازی (هایپوکسیا) اشاره شده است (Huang *et al*., 1994).

یکی از اثرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی کمبود اکسیژن در سلول‌های گیاهی، ایجاد تنش اکسیداتیو در گیاه و تغییر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سلول‌هاست (Sairam *et al*., 2008; Ashraf, 2012). این تغییرات می‌تواند به‌دلیل برهم خوردن تعادل تنفسی و تولید انرژی در بافت‌ها تحت کمبود اکسیژن باشد، چرا که افت تولید ATP در میتوکندری، از رایج‌ترین اثرات کمبود اکسیژن در گیاهان می‌باشد (Pradet & Bomsel, 1978). تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن در اثر کمبود اکسیژن می‌تواند خسارت زیادی به اندامک‌های سلولی و مولکول‌ها وارد کند (Sairam *et al*., 2008; Halliwell & Gutteridge, 2015). در چنین شرایطی، گیاهان مجبورند برای بقای خود به تولید آنزیم‌ها و ترکیبات آنتی‌اکسیدان روی آورند تا از خسارات رادیکال‌های آزاد اکسیژن جلوگیری کنند (Apel & Hirt, 2004; Sairam *et al*., 2008).

در این آزمایش، روند تغییرات ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بافت‌های گیاه چیا متفاوت بود؛ روند افزایشی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی برگ‌ها تا سه هفته پس از غرقاب، به نوعی پاسخ به شرایط تنش و تلاش برای مقابله با رادیکال‌های آزاد بود، اما با استمرار بیشتر مدت غرقاب و احتمالا به دلیل نقصان شدید تنفسی و تحلیل فیزیولوژیک سلول‌ها، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نزولی شد. در ریشه، روند نزولی شدن ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (پس از یک صعود دو هفته‌ای) زودتر آغاز شد و حتی پس از چهار هفته غرقاب، در تیماری (شروع غرقاب از دوبرگی) به کمتر از شاهد رسید که علت آن می‌تواند مرگ سلول‌ها پس از یک دوره غرقاب شدید و عدم تحمل غرقاب باشد. علاوه بر این، احتمالا در شرایط تنش غرقاب در اوایل رشد، فرصت کمتری برای ریشه‌ها وجود داشت تا سیستم‌های فیزیولوژیکی تحمل و مقاومت را تقویت کنند. در مطالعه‌ای روی گندم مشاهده شد که پیش‌تیمار گندم با غرقاب، باعث افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی برگ پرچم آن و درنتیجه القای تحمل به تنش در آن شد (Li *et al*., 2011).

یکی از اثرات بیوشیمیایی کمبود اکسیژن در بافت‌های گیاهی، انحراف مسیر تنفس از چرخه کربس به سمت تخمیر می‌باشد که باعث کاهش تولید انرژی در سلول می‌شود (Bailey-Serres & Voesenek, 2008). با این حال، تخمیر کربوهیدرات‌ها باعث حفظ سیستم تولید انرژی در سلول در شرایط کمبود اکسیژن می‌شود (Dennis *et al*., 2000). در واقع، کاهش تولید انرژی

در اثر تخمیر، باعث کاهش کارایی فیزیولوژیکی در گیاه می‌شود و رشد و متابولیسم آن را دچار اختلال می‌کند، اما خود تخمیر در گیاهان، به نوعی یک ساز و کار برای بقا در شرایط کمبود اکسیژن است (Jain *et al*., 2010). احتمالا یکی از دلایل بقای چیا در دوره‌های کوتاه تنش غرقابی، فعالیت تخمیری بافت‌های آن بوده است.

نتیجه گیری کلی

نتایج این پژوهش نشان دهنده حساسیت زیاد چیا در مرحله سبز شدن به غرقاب است و اگر غرقاب در این مرحله بیش از یک هفته دامه یابد، تلفات گیاهچه‌ها زیاد می‌شود. پس از مرحله سبز شدن، وقوع غرقاب در مرحله دوبرگی، بیشترین خسارات را برای چیا به دنبال داشت. در مجموع می‌توان گفت که وقوع غرقاب پس از سبز شدن چیا، آسیب کمتری را برای این گیاه به همراه دارد. زمانی‌که غرقاب از هفته اول تا چهارم ادامه یافت، رشد ریشه و اندام‌های هوایی چیا در روندی وابسته به شدت غرقاب، کاهش داشت اما افت رشد ریشه در اثر غرقاب بیشتر بود. همچنین مشاهده شد که ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه در هفته‌های اول و دوم غرقاب، افزایش یافت که می‌تواند به تحمل غرقاب کمک کند. استمرار غرقاب در هفته‌های سوم و چهارم، توان آنتی‌اکسیدانی بافت‌های ریشه و برگ چیا را کاهش داد و متعاقب آن، رشد این اندام‌ها نیز به شدت کاهش یافت. بر اساس نتایج این پژوهش می‌توان پیشنهاد داد که در کاشت چیا بایستی به‌گونه‌ای عمل شود که مراحل ابتدایی رشد آن دچار غرقاب طولانی مدت (بیش از یک هفته) نشود.

REFERENCES

1. Álvarez-Chávez, L. M., Valdivia-López, M. d. L. A., Aburto-Juarez, M. D. L., & Tecante, A. (2008). Chemical characterization of the lipid fraction of Mexican chia seed (*Salvia hispanica* L.). *International Journal of Food Properties*, 11(3), 687-697.
2. Amato , M., Caruso, M. C., Guzzo, F., Galgano, F., Commisso, M., Bochicchio, R. & Favati, F. (2015). Nutritional quality of seeds and leaf metabolites of Chia (*Salvia hispanica* L.) from Southern Italy. *European Food Research and Technology*, 241(5), 615-625 .
3. Apel, K., & Hirt, H. (2004). Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annual Review* of *Plant Biology*, 55, 373-399.
4. Armstrong, W. (1978). Root aeration in the wetland condition. *Plant life in an Aerobic Environments, 1*, 19, 7.
5. Ashraf, M. A. (2012). Waterlogging stress in plants: A review. *African Journal of Agricultural Research*, 7(13), 1976-1981.
6. Ashraf, M. A., Ahmad, M. S. A., Ashraf, M., Al-Qurainy, F., & Ashraf, M. Y. (2011). Alleviation of waterlogging stress in upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.) by exogenous application of potassium in soil and as a foliar spray. *Crop and Pasture Science*, 62(1), 25-38.
7. Ayerza, R. (1995). Oil content and fatty acid composition of chia (*Salvia hispanica* L.) from five northwestern locations in Argentina. *Journal of the American Oil Chemists' Society,* 72, 1079-1081.
8. Ayerza, R. & Coates, W. (2004). Composition of chia (*Salvia hispanica*) grown in six tropical and subtropical ecosystems of South America. *Tropical Science*, 44(3), 131-135.
9. Ayerza, R., Coates, W. & Lauria, M. (2002). Chia seed (*Salvia hispanica* L.) as an omega-3 fatty acid source for broilers: Influence on fatty acid composition, cholesterol and fat content of white and dark meats, growth performance, and sensory characteristics. *Poultry Science*, 81(6), 826-837.
10. Bailey-Serres, J. & Voesenek, L. (2008). Flooding stress: acclimations and genetic diversity. *Annual Review of Plant Biology*, 59, 313-339.
11. Bajpai, S. & Chandra, R. (2015). Effect of waterlogging stress on growth characteristics and sod gene expression in sugarcane. *International Journal of Ccientific Research*,5, 1-8.
12. Beltran-Orozco, M. & Romero, M. (2003). La Chia, Alimento Milenario, Departamento de Graduados e Investigacion en Alimentos. *ENCB, IPN, Mexico*.
13. Biemelt, S., Keetman, U., Mock, H. P. & Grimm, B. (2000). Expression and activity of isoenzymes of superoxide dismutase in wheat roots in response to hypoxia and anoxia. *Plant, Cell & Environment,* 23(2), 135-144.

14. Bradford, K. J. (1983). Effects of soil flooding on leaf gas exchange of tomato plants. *Plant Physiology*, 73(2), 475-479.
15. Bresson, J. L., Flynn, A., Heinonen, M., Hulshof, K., Korhonen, H., Lagiou, P. & Moseley, B. (2009). Opinion on the safety of "chia seeds (*Salvia hispanica* L.) and ground whole chia seeds" as a food ingredient. *The European Food Safety Authority Journal*, 996, 1-26.
16. Cahill. J. (2003). Ethnobotany of chia, *Salvia hispanica* L.(Lamiaceae). *Economic Botany*, *57*(4), 604-618.
17. Cahill, J. & Provance, M. (2002). Genetics of qualitative traits in domesticated chia (*Salvia hispanica* L.). *Journal of Heredity*, 93(1), 52-55.
18. Coates, W. (1996). Production potential of chia in northwestern Argentina. *Industrial Crops and Products*, 5(3), 229-233.
19. Conaty, W., Tan, D., Constable, G., Sutton, B., Field, D. & Mamum ,E. (2008). Genetic variation for waterlogging tolerance in cotton. *Journal of Cotton Science*, 12, 53-61.
20. Dan, H., Imaseki, H., Wasteneys, G. O. & Kazama, H. (2003). Ethylene stimulates endoreduplication but inhibits cytokinesis in cucumber hypocotyl epidermis. *Plant Physiology*, 133(4), 1726-1731.
21. Dennis, E. S., Dolferus, R., Ellis, M., Rahman, M., Wu, Y., Hoeren, F. & Peacock, W. (2000). Molecular strategies for improving waterlogging tolerance in plants. *Journal of Experimental Botany*, 51(342), 89-97.
22. Fan ,X., Jiang, D., Dai, T., Jing, Q. & Cao, W. (2005). Effects of nitrogen supply on flag leaf photosynthesis and grain starch accumulation of wheat from its anthesis to maturity under drought or waterlogging. *Ying Yong Sheng Tai Xue Bao*, 16(10), 1883-1888.
23. Halliwell, B. & Gutteridge, J. M. (2015). *Free radicals in biology and medicine*: Oxford University Press, USA.
24. Hasperué, J. H., Chaves, A. R. & Martínez, G. A. (2011). End of day harvest delays postharvest senescence of broccoli florets. *Postharvest Biology and Technology*, 59(1), 64-70.
25. Hentry, H.S., M. Mittleman, P. R. & McCrohan. (1990). Introducción de la Chía y la goma de tragacanto en los Estados Unidos. pp. 252-256 in: J. Janick y J. E. Simon (eds.), *Avances en Cosechas Nuevas. Prensa de la Madera*, Portland, Ohio.
26. Huang, B., Johnson, J. W., NeSmith, D. S. & Bridges, D. C. (1994). Root and shoot growth of wheat genotypes in response to hypoxia and subsequent resumption of aeration. *Crop Science*, 34(6), 1538-1544 .
27. Jackson, M. B. (1985). Ethylene and responses of plants to soil waterlogging and submergence. *Annual Review of Plant Physiology*, 36(1), 145-174.
28. Jackson, M. B., Gales, K. & Campbell, D. J. (1978). Effect of waterlogged soil conditions on the production of ethylene and on water relationships in tomato plants. *Journal of Experimental Botany*, 29(1), 183-193.
29. Jackson, M. B. & Kowalewska, A. K. (1983). Positive and negative messages from roots induce foliar desiccation and stomatal closure in flooded pea plants. *Journal of Experimental Botany*, 34(5), 493-506.
30. Jain, V., Singla, N. K., Jain, S. & Gupta, K. (2010). Activities of enzymes of fermentation pathways in the leaves and roots of contrasting cultivars of sorghum (*Sorghum bicolor* L.) during flooding. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 16(3), 241-247
31. Jamboonsri, W., Phillips, T. D., Geneve, R. L., Cahill, J. P. & Hildebrand, D. F. (2012). Extending the range of an ancient crop, *Salvia hispanica* L. a new ω3 source. *Genetic Resources and Crop Evolution* ,59(2), 171-178.
32. Katsube, T., Tsurunaga, Y., Sugiyama, M., Furuno, T. & Yamasaki, Y. (2009). Effect of air-drying temperature on antioxidant capacity and stability of polyphenolic compounds in mulberry (*Morus alba* L.) leaves. *Food Chemistry*, 113(4), 964-969.
33. Kawase, M. (1978). Anaerobic elevation of ethylene concentration in waterlogged plants. *American Journal of Botany*, 65(7), 736-740.
34. Kieber, J. J., Rothenberg, M., Roman, G., Feldmann, K. A. & Ecker, J. R. (1993). CTR1, a negative regulator of the ethylene response pathway in *Arabidopsis*, encodes a member of the raf family of protein kinases. *Cell*, 72(3), 427-441.
35. Li, C., Jiang, D., Wollenweber, B., Li, Y., Dai, T. & Cao, W. (2011). Waterlogging pretreatment during vegetative growth improves tolerance to waterlogging after anthesis in wheat. *Plant Science*, 180(5), 672-678.

36. Maekawa, T., Shimamura, S. & Shimada, S. (2011). Effects of short-term waterlogging on soybean nodule nitrogen fixation at different soil reductions and temperatures. *Plant Production Science*, 14(4), 349-358.
37. Malik, A. I., Colmer, T. D., Lambers, H. & Schortemeyer, M. (2001). Changes in physiological and morphological traits of roots and shoots of wheat in response to different depths of waterlogging. *Functional Plant Biology*, 28(11), 1121-1131.
38. Malik, A. I., Colmer, T. D., Lambers, H., Setter, T. L. & Schortemeyer, M. (2002). Short-term waterlogging has long-term effects on the growth and physiology of wheat. *New Phytologist*, 153(2), 225-236.
39. Maltby, E. (1991). Wetlands–their status and role in the biosphere. *Plant life under oxygen deprivation. Ecology, physiology and biochemistry*, SPB Academic Publishing, The Hague, P:3-21.
40. Martínez-Cruz, O. & Paredes-Lopez, O. (2014). Phytochemical profile and nutraceutical potential of chia seeds (*Salvia hispanica* L.) by ultra high performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1346, 43-48.
41. Naidoo, G. & Naidoo, S. (1992). Waterlogging responses of *Sporobolus virginicus* (L.) Kunth. *Oecologia*, 90(3), 445-450.
42. Peiretti, P. & Meineri, G. (2008). Effects on growth performance, carcass characteristics, and the fat and meat fatty acid profile of rabbits fed diets with chia (*Salvia hispanica* L.) seed supplements. *Meat Science*, 80(4), 1116-1121.
43. Pradet, A., & Bomsel, J. (1978). Energy metabolism in plants under hypoxia and anoxia. *Plant life in anaerobic environments*, 89-118.
44. Reid, D. & Crozier, A. (1971). Effects of waterlogging on the gibberellin content and growth of tomato plants. *Journal of Experimental Botany* , 22(1), 39-48.
45. Reid, D., Crozier, A. & Harvey, B. M. (1969). The effects of flooding on the export of gibberellins from the root to the shoot. *Planta*, 89(4), 376-379.
46. REN, G. X., LIU, X. Y. & SHI, Y. (2012). Effects of waterlogging on photosynthesis and dry leaf yield of *stevia rebaudina*. *Sugar Crops of China*, 1, 4.
47. Rodrigues-Pousada, R. A., De Rycke, R., Dedonder, A., Van Caeneghem, W., Engler, G., Van Montagu, M. & Van Der Straeten, D. (1993). The Arabidopsis 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase gene 1 is expressed during early development. *The Plant Cell*, 5(8), 897-911.
48. Roman, G., Lubarsky, B., Kieber, J. J., Rothenberg, M. & Ecker, J. R. (1995). Genetic analysis of ethylene signal transduction in *Arabidopsis thaliana*: five novel mutant loci integrated into a stress response pathway. *Genetics*, 139(3), 1393-1409.
49. Sairam, R., Kumutha, D., Ezhilmathi, K., Deshmukh, P. & Srivastava, G. (2008). Physiology and biochemistry of waterlogging tolerance in plants. *Biologia Plantarum*, 52(3), 401 .
50. Singh, P. P. & Chauhan, S. (2009). Activity guided isolation of antioxidants from the leaves of *Ricinus communis* L. *Food Chemistry*, 114(3), 1069-1072.
51. Skirycz, A., Claeys, H., De Bodt, S., Oikawa, A., Shinoda, S., Andriankaja, M., & Yoo, S. D. (2011). Pause-and-stop: The effects of osmotic stress on cell proliferation during early leaf development in *Arabidopsis* and a role for ethylene signaling in cell cycle arrest. *The Plant Cell*, tpc. 1876-1888.
52. Smethurst, C. F., Garnett, T. & Shabala, S. (2005). Nutritional and chlorophyll fluorescence responses of lucerne (*Medicago sativa*) to waterlogging and subsequent recovery. *Plant and Soil*, 270(1), 31-45.
53. Smethurst, C. F. & Shabala, S. (2003). Screening methods for waterlogging tolerance in lucerne : comparative analysis of waterlogging effects on chlorophyll fluorescence, photosynthesis, biomass and chlorophyll content. *Functional Plant Biology*, 30(3), 335-343.
54. Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L. & Byrne, D. H. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6-7), 669-675 .
55. Titarenko, T. (2000). Test parameters of revealing the degree of fruit plants tolerance to the root hypoxia caused flooding of soil. *Plant Physiol. Biochem*, 38(Suppl 115).
56. Trought, M. & Drew, M. (1982). Effects of waterlogging on young wheat plants (*Triticum aestivum* L.) and on soil solutes at different soil temperatures. *Plant and Soil*, 69(3), 311-326 .
57. Wample, R. L. & Davis, R. W. (1983). Effect of flooding on starch accumulation in chloroplasts of sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Plant Physiology*, 73(1), 195-198.

58. Yordanova, R. Y., Christov, K. N. & Popova, L. P. (2004). Antioxidative enzymes in barley plants subjected to soil flooding. *Environmental and Experimental Botany*, 51(2), 93-101.