

اثر سطوح مختلف تنش خشکی بر محتوا و شاخص‌های فلورسانس کلروفیل دو رقم لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.)

منصور افشار محمدیان^{*}، مظهره امید پور و فاطمه جمال امید

^۱رشت، دانشگاه گیلان، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی

تاریخ پذیرش: ۹۷/۹/۲۱

تاریخ دریافت: ۹۷/۵/۲۶



چکیده

پارامترهای فلورسانس و محتوای کلروفیل از مهمترین فاکتورها برای تعیین ظرفیت فتوسنتزی در طول زندگی گیاهان می‌باشد. بدین منظور، آزمایشی با هدف مقایسه میزان مقاومت به سطوح مختلف تنش خشکی، ارزیابی مهم‌ترین شاخص‌های فیزیولوژیکی و ارزیابی کارکرد فتوسیستم II با استفاده از پارامترهای فلورسانس کلروفیل، محتوای کلروفیل (کلروفیل a, b و a+b) و کاروتنوئیدها انجام شد. آزمایش با دو عامل تنش آبی شامل: ۳۰، ۶۰ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی (FC) و رقم، شامل: رقم غفار و رقم G-18 به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوکهای کامل تصادفی با سه تکرار در دانشگاه گیلان انجام شد. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که تنش خشکی شدید باعث کاهش معنی‌داری در میزان محتوای کلروفیل، Fv, Fv/Fm و در مقابل موجب افزایش میزان فلورسانس حداقل و Y(NPQ) شد. بیشترین میزان نسبت Fv/Fm نیز در گیاه شاهد و در رقم G-18 با میانگین ۰/۷۸ مشاهده شد، این در حالی است که رقم G-18 با کاهش ۲۷ درصدی، بیشترین میزان کاهش نسبت Fv/Fm را در تنش شدید در مقایسه با شاهد نشان داد. بطور کلی اثر متقابل رقم و خشکی برای کلیه صفات بجز FO معنی‌دار شد. همچنین، بررسی همبستگی پیرسن بین کلروفیل کل و Fv/Fm، همبستگی مثبت و معنی‌داری ($R=0/86^{**}$) را در رقم غفار نشان داد، ولی در G-18 معنی‌دار نبود. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که رقم غفار با ایجاد تغییرات در برخی خصوصیات فیزیولوژیکی با عملکرد بهتری می‌تواند سطوح نسبتاً بالای تنش خشکی را تحمل کند.

واژه‌های کلیدی: فلورسانس کلروفیل، تنش خشکی، محتوای کلروفیل، لوبیا

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۱۲۳۲۳۶۷۹، پست الکترونیکی: afshar@guilan.ac.ir

مقدمه

خاک اضافه می‌شود (۳۱). لوبیا در کشور ایران بعد از گندم و برنج عمده‌ترین غذای مردم را تشکیل می‌دهد (۴). این گیاه با داشتن ۱۸-۳۲ درصد پروتئین که برابر با مقدار پروتئین موجود در انواع گوشت‌ها (۱۸-۲۵٪) است، جایگزین مناسبی برای گوشت بوده و نقش مهمی را در تأمین مواد پروتئینی مورد نیاز انسان دارد (۹). با توجه به گسترش روز افزون تنش‌های محیطی به ویژه خشکی و شوری ممکن است تا سال ۲۰۵۰ بیش از ۵۰٪ مناطق کشاورزی تحت تأثیر این تنش‌های محیطی قرار گیرند (۴۴). در طی سال‌های اخیر کمبود آب بطور جدی

لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) یکی از مهم‌ترین حبوبات در جهان است که در بسیاری از کشورهای در حال توسعه به عنوان یکی از منابع تأمین غذای انسان، دارای پروتئین بالا، فسفر، ویتامین‌ها (فولات (B9))، ریز مغذی‌ها (Zn, Cu, Ca, Fe, Mg, Mn) و فیبر بوده و فاقد کلسترول و قند است (۲۵). لوبیا بطور کلی بیش از ۵۰٪ تولید حبوبات دانه‌ای را به خود اختصاص داده است (۱۳). علاوه بر این، بدلیل همزیستی باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن اتمسفری با ریشه آنها، در حاصلخیزی خاک موثرند و هر ساله مقادیر زیادی نیتروژن بعد از برداشت این محصولات به

متفاوت است، عملکرد آن قابل اندازه‌گیری می‌باشد. بمنظور تعیین وضعیت فیزیولوژیکی گیاه و میزان آسیب وارده به دستگاه فتوسنتزی از تکنیکی به نام سنش فلورسانس کلروفیل استفاده می‌شود. در حقیقت، مقدار فلورسانس کلروفیل می‌تواند توانایی گیاه در تحمل به تنش‌های محیطی، سالم بودن غشاء تیلاکوئید، کارایی نسبی انتقال الکترون از فتوسیستم II به فتوسیستم I و میزان خسارتی که تنش به گیاه وارد می‌کند را به خوبی نشان دهد. رابطه بین فلورسانس کلروفیل و کارایی فتوسنتزی گیاه در مطالعات زیادی بررسی شده است (۳۰، ۷).

در طی خشکی واکنش شیمیایی فتوسیستم II به شدت تحت تأثیر آب قرار می‌گیرد (۱۸). در چنین شرایطی به دنبال کاهش فتوسنتز و ذخیره فرآورده‌های آن، انتقال الکترون یعنی ATP و NADPH در واکنش‌های وابسته به نور در فتوسنتز، عملکرد کوانتومی فتوسیستم II (PSII) کاهش پیدا می‌کند. در حقیقت مقدار فرود (Quenching) انرژی الکترون برانگیخته شده از مسیر غیرفتوشیمیایی (Non-photo) chemical qNP افزایش یافته و از این طریق فتوسیستم II به طور منفی تنظیم می‌شود.

اگرچه مطالعات زیادی برای ارزیابی تحمل به خشکی رقم‌های مختلف گیاه لوبیا انجام شده است، ولی تاکنون به منظور ارزیابی اثر تنش خشکی بر پارامترهای فلورسانس کلروفیل و محتوای کلروفیلی گیاه لوبیا چیتی (رقم غفار) و لوبیای پاکوتاه (رقم G-۱۸) پژوهشی صورت نگرفته است. از آنجایی که فلورسانس منحصراً در فتوسیستم II اتفاق می‌افتد، از این رو تجزیه و تحلیل تغییرات آن می‌تواند اطلاعات بسیار مفیدی در مورد ساختار و عملکرد فتوسیستم II ارائه کند. همچنین محتوای کلروفیل یکی از مهمترین فاکتورها برای تعیین ظرفیت فتوسنتزی در طول زندگی گیاه می‌باشد. با توجه به اهمیت موضوع، هدف از این تحقیق پاسخ به این دو سوال بود: اول اینکه سازوکارهای مقاومتی در دو رقم از گیاه لوبیا تا چه حد

عملکرد گیاهان زراعی و از جمله لوبیا را تحت تأثیر قرار داده است (۳۵) و امروزه مهم‌ترین علت آن گرمایش جهانی است که با افزایش خشکسالی، تبخیر و تعرق را افزایش می‌دهد. اثر تنش خشکی بر رشد و عملکرد گیاهان، بستگی به ژنوتیپ، طول مدت تنش، شرایط آب و هوایی، رشدی و مراحل نمو گیاهان زراعی دارد (۲۷). واکنش به تنش خشکی در لوبیا فرآیندی بسیار پیچیده است (۴۳) در واقع تنش خشکی از چندین جنبه مختلف گیاه را تحت تأثیر قرار داده و در سطوح مختلف مورفولوژیک، بیوشیمیایی و مولکولی، همانند جلوگیری از رشد، تجمع مواد آلی سازگار و تغییرات بیان ژن‌های پاسخگو به تنش نمود پیدا می‌کند. تنش خشکی توسط عوامل محدود کننده روزنه‌ای و غیر روزنه‌ای فتوسنتز را کاهش می‌دهد. از عوامل محدود کننده غیر روزنه‌ای می‌توان به کاهش یا توقف سنتز رنگیزه‌های فتوسنتزی از جمله کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها اشاره کرد (۲۹) چراکه با بسته شدن روزنه‌ها، CO₂ داخل سلولی کاهش می‌یابد و در نتیجه باعث تجمع ناقلین الکترون پر انرژی، آشفستگی کمپلکس‌های برداشت کننده نور (CHL) و افت کارایی فتوسنتز می‌شود. بنابراین برگ‌های گیاهان با بستن روزنه‌ها در جهت حفظ آب به مثابه اولین دفاع به تنش خشکی پاسخ می‌دهند (۳). Yasar و همکاران (۲۰۱۰) (۴۹) کاهش محتوای کلروفیل را تحت تنش خشکی در ژنوتیپ‌های لوبیا سبز گزارش کردند.

انرژی نورانی جذب شده به وسیله مولکول‌های کلروفیل برگ می‌تواند یکی از این سه سرنوشت را داشته باشد: بخشی از انرژی نور جذب شده به وسیله مولکول‌های کلروفیل در یک برگ برای پیشبرد فتوسنتز استفاده می‌شود (خاموشی فتوشیمیایی) و انرژی مازاد به صورت حرارت پراکنده شده (خاموشی غیرفتوشیمیایی) و یا به شکل نور با طول موج بلند از سطح برگ منعکس می‌شود که به این پدیده فلورسانس کلروفیل گفته می‌شود (۷). با توجه به اینکه طیف گسیل فلورسانس با طیف نور جذب شده

انجام شد. فاکتور تنش خشکی در سه سطح ۳۰٪ ظرفیت زراعی (تنش خشکی شدید)، ۶۰٪ ظرفیت زراعی (تنش خشکی ملایم) و ۱۰۰٪ ظرفیت زراعی (آبیاری نرمال) تعیین شد.

$$\%FC = \frac{Dw - Dw_{(وزن تر خاک)}}{Dw_{(وزن خشک خاک)}} \times 100 \quad (\text{معادله ۱})$$

آماده سازی خاک گلدان‌ها: گلدان‌های مورد استفاده از جنس پلاستیک، به قطر دهانه ۱۵ سانتی‌متر و ارتفاع ۱۸ سانتی‌متر و گنجایش ۳ کیلوگرم خاک بودند. خاک مورد استفاده از نقاط مختلف یکی از مزارع زراعی شهر رستم‌آباد واقع در استان گیلان از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متر به طور تصادفی برداشت و از ترکیب آن‌ها نمونه نهایی تهیه شد و سپس در آزمایشگاه بخش خاک و آب مؤسسه تحقیقات برنج کشور در رشت آنالیز شد که نتایج آن در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱- برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در کشت گلدانی

هدایت الکتریکی ds/m	اسیدیته کل اشباع	کربن آلی %	ازت کل %	فسفر قابل جذب p.p.m	پتاسیم قابل جذب p.p.m	شن %	سیلت %	رس %	بافت خاک
۱/۳۱	۷/۶۳	۲/۷۵	۰/۲۶	۵۶/۶	۶/۲۸	۲۵	۴۸	۲۷	CL=۱

WP 80٪) به صورت اسپری، بر روی برگ‌ها اعمال شد. از زمان کاشت بذر، به مدت ۲۱ روز آبیاری در تمام تیمارها یکسان بود و فاصله آبیاری هر ۴ روز یکبار انجام شد. پس از رسیدن رشد گیاه به مرحله ۳ برگچه‌ای (V₃)، یعنی ۲۱ روز پس از کاشت که گیاه یک مقاومت نسبی در مقابل تنش آبی کسب کرد، تیمارهای خشکی در سه سطح ۳۰، ۶۰ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی (FC) اعمال شدند.

سنجش فلورسانس کلروفیل: پس از گذشت ۱۲ روز از تنش خشکی، اندازه‌گیری پارامترهای فلورسانس کلروفیل از محل میانه برگ و بین رگبرگ اصلی و لبه آخرین برگ توسعه یافته هر گیاه با استفاده از دستگاه فلوریمتر (Florimeter) مدل PAM 2500-Walz, Germany

می‌تواند از خسارت تنش خشکی جلوگیری کند؟ دوم اینکه آیا شدت‌های متفاوت تنش در مرحله سه‌برگچه‌ای لوبیا (V₃) تا چه حد می‌تواند بر فلورسانس کلروفیل، میزان کلروفیل (a و b) و کاروتنوئیدهای برگ لوبیا تأثیر بگذارد؟

مواد و روشها

زمان و مکان آزمایش و تیمار خشکی: این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوکهای کامل تصادفی با سه تکرار در گلخانه دانشکده علوم پایه دانشگاه گیلان اجرا شد. میانگین دمای شب و روز گلخانه در طول انجام آزمایش به ترتیب ۱۶ و ۲۲ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی در محدوده ۶۷±۵ درصد و دوره نوری در شبانه روز ۱۰ ساعت بود. محاسبه ظرفیت زراعی خاک (FC) بوسیله معادله ۱ و به روش (Kellers and Bliesner 1990) (۱۶)

مواد گیاهی و شرایط رشد: بذر گیاه دو رقم لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) از مرکز تحقیقات کشاورزی استان گیلان تهیه شد. دو رقم لوبیا شامل: لوبیا چیتی (رقم غفار) با کلاس تجاری Cranberry، تیپ ۲، رشد نامحدود ایستاده (۵) و لوبیای پاکوتاه (رقم G-۱۸ رگه مشکلی)، که دارای تیپ ۱ و رشد محدود ایستاده است (۱۹). بذرهای گیاه با استفاده از هیپوکلریت سدیم ۵٪ به مدت ۱۰ دقیقه به صورت سطحی ضدعفونی شدند. در هر گلدان ۵ بذر با فاصله طولی مناسب و عمق ۱ سانتی‌متر به صورت تصادفی کاشته شد. کود NPK (15 5 30) بر اساس آزمون خاک و حد بحرانی عناصر غذایی مورد نیاز لوبیا به میزان ۱/۵ گرم به ازای هر گلدان مصرف شد. ۱۸ روز پس از کاشت (۱۸ DAP) قارچ کش مانکوزب (MANCOZEB)

و روشنایی، میزان فلورسانس متغیر (Fv)، حداکثر کارایی کواتومی فتوسیستم II (Fv/Fm)، کارایی کواتومی فتوشیمیایی مؤثر فتوسیستم II [Y(II)]، کارایی کواتومی غیرفتوشیمیایی تنظیم شده فتوسیستم II [Y(NPQ)]، کارایی کواتومی غیرفتوشیمیایی تنظیم نشده فتوسیستم II [Y(NO)] و خاموشی غیرفتوشیمیایی (NPQ) بر اساس جدول دو محاسبه شد. اندازه‌گیری‌ها در مرحله رویشی (۱۲ روز پس از اعمال سطوح تنش خشکی) در ساعت ۱۰ صبح تا ۱۴ بعد ظهر انجام شدند.

صورت گرفت (۴۷). بدین‌منظور، برگ‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفتند، با استفاده از دستگاه اندازه‌گیری فلورسانس، نور فرمز به برگ تابانده شد. فلورسانس حداقل (F₀) با هم‌همی مراکز واکنشی

باز فتوسیستم II و فلورسانس حداکثر (F_m) با هم‌همی مراکز واکنشی بسته فتوسیستم II در برگ‌های سازگار به تاریکی و در مرحله بعد میزان فلورسانس پایدار (F_t)، فلورسانس حداقل (F₀') و حداکثر (F_m') در برگ‌های سازگار شده به روشنایی تعیین شد. با استفاده از پارامترهای تعیین شده در برگ‌های سازگار شده به تاریکی

جدول ۲- مؤلفه‌های بیوفیزیکی اندازه‌گیری شده فلورسانس کلروفیل و معادلات مربوط به آنها (Klughammer and Schreiber, 2008; Li et al., 2008)

مؤلفه	شناسه	معادله
فلورسانس متغیر	Fv	Variable fluorescence
حداکثر کارایی کواتومی فتوسیستم II	Fv/Fm	Maximum photochemical quantum yield of photosystem II
کارایی کواتومی فتوشیمیایی مؤثر فتوسیستم II	Y(II)	Effective photochemical quantum yield of photosystem II
کارایی کواتومی غیرفتوشیمیایی تنظیم شده فتوسیستم II	Y(NPQ)	Quantum yield of regulated energy dissipation
کارایی کواتومی غیرفتوشیمیایی تنظیم نشده فتوسیستم II	Y(NO)	Quantum yield of non-regulated energy dissipation
خاموشی غیرفتوشیمیایی	NPQ	Non-photochemical quenching

زیر محاسبه شد. اندازه‌گیری‌ها بعد از گذشت ۱۲ روز از اعمال تنش در مرحله رویشی سه برگچه‌ای (V₃ DAP) (۳۳) انجام شد. اندازه‌گیری انواع کلروفیل و کاروتنوئید از همان برگ‌هایی که فلورسانس آن‌ها اندازه‌گیری شده بود، انجام و با استفاده از معادله‌های زیر محاسبه شد:

سنجش کمی میزان کلروفیل‌های a، b، کل و کاروتنوئید: محتوای کلروفیل با استفاده از روش Lichtenthaler (1987) (۲۳) و با استفاده از استن ۸۰٪ سنجش و جذب آن توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (CamSpec M501 UV/Visible) قرائت شد. مقدار کلروفیل و همچنین کاروتنوئید کل با استفاده از فرمول‌های

$$\text{Chl. } a \text{ } (\mu\text{g/g}) = 12.25 A_{663} - 2.79 A_{646} \times V/W \quad \text{معادله ۲}$$

$$\text{Chl. } b \text{ } (\mu\text{g/g}) = 21.50 A_{646} - 5.1 A_{663} \times V/W \quad \text{معادله ۳}$$

$$\text{Chl. T. } (\mu\text{g/g}) = \text{Chl. } a + \text{Chl. } b \quad \text{معادله ۴}$$

$$\text{Carotenoid } (\mu\text{g/g}) = (1000A_{470} - 1.82\text{Chl } a - 85.02\text{Chl } b) / 198 \times V/W \quad \text{معادله ۵}$$

برگ برحسب گرم، کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاروتنوئید و همچنین A₆₆₃، A₆₄₆، A₄₇₀ میزان نور جذبی

در معادله‌های ۲ تا ۵، V، W، Chl a، Chl b، Chl T و Carotenoid به ترتیب حجم استن به میلی‌لیتر، وزن‌تر

نتایج

محلول در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۶ و ۴۷۰ نانومتر می‌باشد.

مؤلفه‌های فلورسانس کلروفیل: نتایج تجزیه واریانس داده‌های مربوط به پارامترهای فلورسانس کلروفیل (F_0 ، F_v/F_m ، F_m) نشان داد که سطوح مختلف تنش خشکی تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ بر مقادیر آنها داشت. با توجه به نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول ۳)، تغییرات F_0 متأثر از اثر متقابل رقم خشکی نیست. این درحالی است که تغییرات مقادیر F_v ، F_m ، F_v/F_m ، PAR، $Y(NPQ)$ ، $Y(NO)$ و $Y(II)$ تحت تأثیر رقم و خشکی قرار دارند.

فلورسانس حداقل در رقم غفار از میانگین بالاتری نسبت به رقم ۱۸-G دارا بود، به طوری که این دو رقم تفاوت معنی‌داری را در سطح احتمال ۵ درصد نشان دادند.

تجزیه و تحلیل آماری: پس از پایان آزمایش، آزمون نرمال بودن داده‌ها به روش کولموگروف-اسمیرنوف و همسانی واریانس‌ها با استفاده از تست Levene انجام شد. میانگین، انحراف استاندارد نمونه‌ها و نمودارها با استفاده از برنامه‌های آماری SPSS (24.0) و Microsoft excel 2016 محاسبه و رسم شد. در کلیه شکل‌ها، ستون‌ها نماینده میانگین ۳ تکرار و بارهای عمودی نشان‌دهنده خطای معیار می‌باشد. مقایسه ارقام بر اساس آنالیز واریانس ($\pm SE$) و ANOVA و آزمون DUNCAN در سطح احتمال $P \leq 0.05$ انجام شد. همچنین ضریب همبستگی با استفاده از آزمون Pearson بدست آمد. از آنجایی که داده‌های مربوط به $Y(NPQ)$ نرمال نبودند، از تبدیل (Transform-Log₁₀) جهت نرمال سازی داده‌ها استفاده شد.

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر سطوح مختلف تنش خشکی بر برخی صفات ارقام لوبیا.

میانگین مربعات									
F0	Fm	Fv	Fv/Fm	Y(II)	Y(NO)	Y(NPQ)	PAR	درجه آزادی	منابع تغییرات
۸۵۴۹۹۶*	۶۶۵۰*	۷۱۰۸۲۹ ^{ns}	۰/۰۵۲*	۶/۴۶*	۰/۰۰۷*	۴/۰۵*	۵۱۸۵۰۱ ^{ns}	۱	رقم
۵۶۶۵۵۴*	۱۳۱۳۰۹*	۱۲۱۵۴۰۰*	۰/۰۵۴*	۰/۰۲*	۰/۰۲*	۰/۰۰۴*	۵۴۹۰۴۵*	۲	خشکی
۸۱۴۲۴ ^{ns}	۴۲۰۵۲۲*	۱۵۷۰۲۴*	۰/۰۰۱*	۰/۰۰۸*	۰/۰۲۲*	۰*	۲۵۲۶۲*	۲	رقم و خشکی
۲۶۴۷۷	۲۱۲۹۷	۲۳۸۲۶	۰/۰۰۱	۰/۰۰۶	۰/۰۰۱	۲/۲۴	۴۹۳۲۸	۱۲	خطای آزمایش
۱۱/۴	۳/۸۹	۶/۶۴	۵/۱	۱۰/۹۱	۹/۸۸	۱۰/۲۸	۱۱/۵۳	-	ضریب تغییرات (%)

ns و * به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

جدول ۴- ادامه تجزیه واریانس اثر سطوح مختلف تنش خشکی بر برخی صفات ارقام لوبیا.

میانگین مربعات					
کاروتنوئید	کلروفیل کل	کلروفیل b	کلروفیل a	درجه آزادی	منابع تغییرات
۰*	۵*	۱*	۱*	۱	رقم
۰*	۳*	۳*	۵*	۲	خشکی
۰/۰۵۳*	۲*	۰*	۱/۰۵۳*	۲	رقم و خشکی
۰/۰۳۲	۰/۰۶۹	۰/۰۲۸	۰/۰۳۶	۱۲	خطای آزمایش
۵/۰۹	۴/۹۹	۶/۵۱	۶/۲۶	-	ضریب تغییرات (%)

ns و * به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

جدول ۵- ضرایب همبستگی پیرسون بین صفات ارزیابی شده در دو رقم لویبا.

	Y(NPQ) [†]	Y(NO) [†]	PAR [‡]	Fv/Fm [‡]	Fv [‡]	Fm [‡]	F ₀ [‡]	Chl _{a/b} [‡]	Car [‡]	Chl _T [‡]	Chl _b [‡]	Chl _a [‡]	متغیر (رقم غفار)
Chl _a [†]	۱	۰/۷۸ [*]	۰/۹۱ ^{**}	-۰/۸۸ ^{**}	-۰/۹۷ ^{**}	-۰/۸۶ ^{**}	۰/۶۶ ^{NS}	-۰/۹۳ ^{**}	-۰/۹۱ ^{NS}	-۰/۹۶ ^{**}	-۰/۷۷ ^{**}	-۰/۵۹ ^{NS}	Y(NPQ) [‡]
Chl _b [†]	۰/۹۵ ^{**}	۱	۰/۴۵ ^{NS}	-۰/۵۸ ^{NS}	-۰/۶۸ [*]	-۰/۷۰ [*]	۰/۳۵ ^{NS}	-۰/۹۱ ^{**}	-۰/۰۶ ^{NS}	-۰/۸۳ ^{**}	-۰/۵۵ ^{NS}	-۰/۸۲ [*]	Y(NO) [‡]
Chl _T [†]	۰/۹۱ ^{**}	۰/۹۰ ^{**}	۱	-۰/۸۵ ^{**}	-۰/۹۰ ^{**}	-۰/۷۳ [*]	۰/۶۹ [*]	-۰/۶۶ ^{NS}	-۰/۲۷ ^{NS}	-۰/۸۷ ^{**}	-۰/۸۱ ^{**}	۰/۲۴ ^{NS}	PAR [‡]
Car [†]	۰/۹۶ ^{**}	۰/۹۶ ^{**}	۰/۸۷ ^{**}	۱	۰/۹۰ ^{**}	۰/۶۱ ^{NS}	-۰/۹۶ ^{**}	۰/۶۸ [*]	۰/۳۵ ^{NS}	۰/۹۰ ^{**}	۰/۸۷ ^{**}	۰/۳۷ ^{NS}	Fv/Fm [‡]
Chl _{a/b} [†]	۰/۶۶ ^{NS}	-۰/۹۱ ^{**}	-۰/۴۰ ^{NS}	-۰/۷۱ [*]	۱	۰/۸۳ ^{**}	-۰/۷۵ [*]	-۰/۸۰ ^{**}	۰/۱۸ ^{NS}	۰/۹۲ ^{**}	۰/۸۳ ^{**}	۰/۵۷ ^{NS}	Fv [‡]
F ₀ [†]	-۰/۹۴ ^{**}	-۰/۷۷ [*]	-۰/۷۵ [*]	-۰/۷۸ [*]	۰/۵۶ ^{NS}	۱	۰/۱۴ ^{NS}	۰/۸۳ ^{**}	-۰/۱۴ ^{NS}	۰/۰۱ ^{NS}	۰/۵۴ ^{NS}	۰/۹۰ ^{**}	Fm [‡]
Fm [†]	۰/۳۱ ^{NS}	۰/۲۱ ^{NS}	-۰/۳۶ ^{NS}	۰/۰۱ ^{NS}	-۰/۳۹ ^{NS}	۰/۳۲ ^{NS}	۱	-۰/۴۱ ^{NS}	-۰/۴۷ ^{NS}	-۰/۶۶ ^{NS}	-۰/۷۹ ^{**}	۰/۲۴ ^{NS}	F ₀ [‡]
Fv [†]	۰/۷۶ ^{**}	۰/۷۶ ^{**}	۰/۵۰ ^{NS}	۰/۷۹ [*]	-۰/۸۹ ^{**}	-۰/۷۸ [*]	۰/۳۲ ^{NS}	۱	-۰/۰۴ ^{NS}	۰/۹۲ ^{**}	۰/۶۰ ^{NS}	۰/۷۸ [*]	Chl _{a/b} [‡]
Fv/Fm [†]	۰/۸۸ ^{**}	۰/۸۰ ^{**}	۰/۶۶ ^{NS}	۰/۸۲ ^{**}	-۰/۷۱ [*]	-۰/۸۹ ^{**}	-۰/۰۳ ^{NS}	۰/۹۳ ^{**}	۱	۰/۲۵ ^{NS}	۰/۱۶ ^{NS}	-۰/۳۴ ^{NS}	Car [‡]
PAR [†]	-۰/۶۸ [*]	-۰/۶۹ [*]	-۰/۵۳ ^{NS}	-۰/۵۹ ^{NS}	۰/۷۵ [*]	۰/۸۲ ^{**}	۰/۱۷ ^{NS}	-۰/۷۱ [*]	-۰/۸۱ ^{**}	۱	۰/۸۶ ^{**}	۰/۵۹ ^{NS}	Chl _T [‡]
Y(NO) [†]	۰/۷۵ [*]	۰/۶۹ [*]	۰/۸۸ ^{**}	۰/۶۳ ^{NS}	-۰/۲۶ ^{NS}	-۰/۴۷ ^{NS}	-۰/۴۹ ^{NS}	۰/۱۵ ^{NS}	۰/۳۴ ^{NS}	-۰/۲۶ ^{NS}	۱	۰/۳۳ ^{NS}	Chl _b [‡]
Y(NPQ) [†]	-۰/۹۶ ^{**}	-۰/۹۳ ^{**}	-۰/۷۸ [*]	-۰/۹۵ ^{**}	۰/۸۲ ^{**}	۰/۷۹ ^{**}	-۰/۱۷ ^{NS}	-۰/۹۱ ^{**}	-۰/۸۹ ^{**}	۰/۶۶ ^{NS}	-۰/۴۹ ^{NS}	۱	Chl _a [‡]
متغیر (رقم ۱۸-G)	Chl _a [†]	Chl _b [†]	Chl _T [†]	Car [†]	Chl _{a/b} [†]	F ₀ [†]	Fm [†]	Fv [†]	Fv/Fm [†]	PAR [†]	Y(NO) [†]	Y(NPQ) [†]	

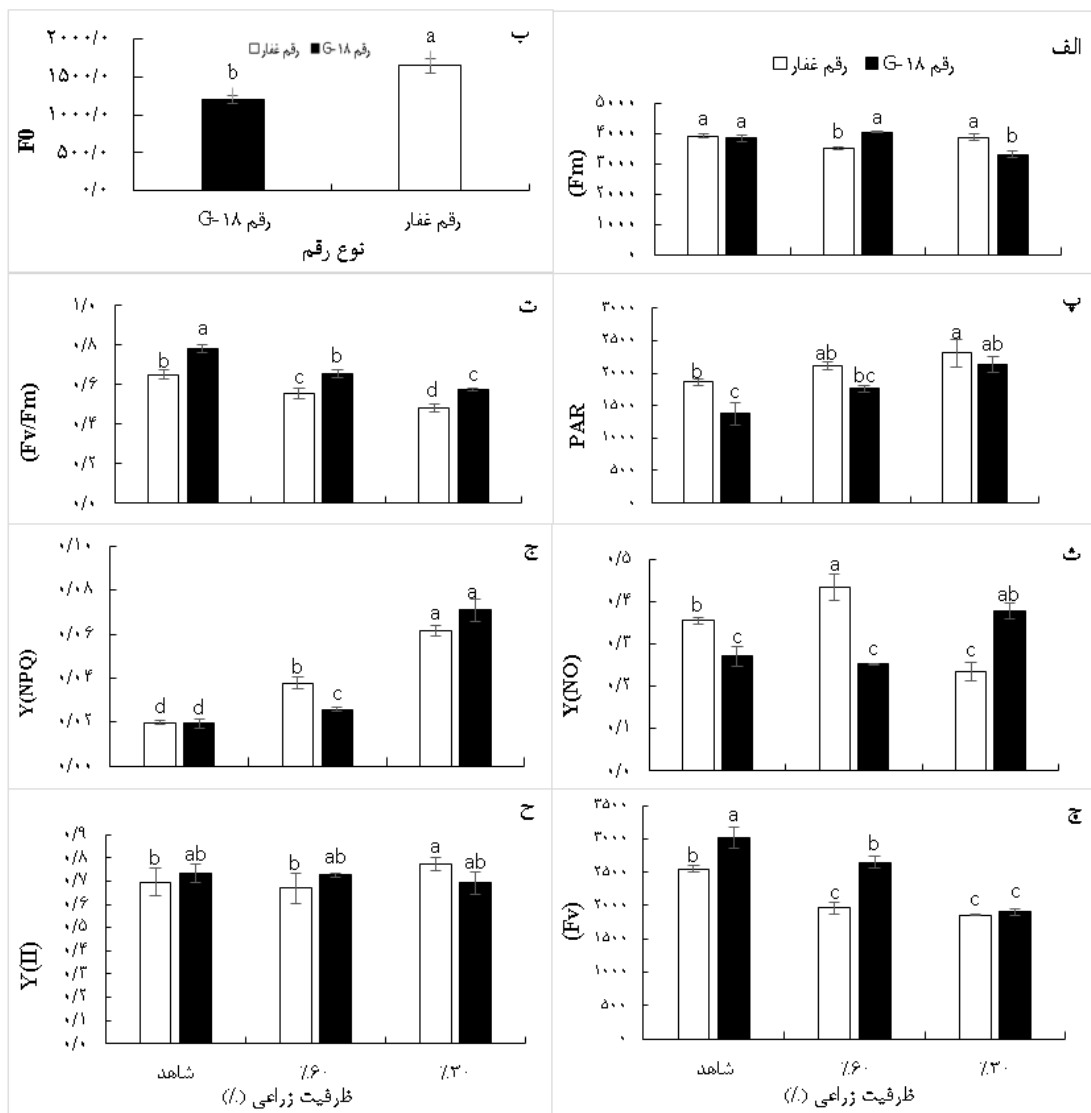
* و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد (دو جهته) و NS تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. متغیر با اندیس ۱ و ۲ به ترتیب مربوط به رقم ۱۸-G و غفار می‌باشد.

(شکل ۱، پ). اگرچه تفاوتی در تنش ۳۰٪ و آبیاری نرمال بین ارقام ۱۸-G و غفار مشاهده نمی‌شود، اما میانگین بالاتری در رقم غفار نسبت به رقم ۱۸-G در تنش ۶۰٪، بدست آمد (شکل ۱، ج). بالاترین مقدار [Y(NO)] در سطح تنشی ۶۰٪ ظرفیت زراعی مربوط به رقم غفار است که با میانگین ۰/۴۳۴ بدست آمد، در صورتی که در رقم ۱۸-G در سطح تنش شدید، میزان [Y(NO)] بیشتر از سطح تنش ملایم بود (شکل ۱، ث).

محتوای کلروفیل و رنگیزه‌های فتوسنتزی: نتایج پژوهش حاضر نشان داد که با افزایش تنش خشکی از مقدار رنگیزه‌ها (کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید) کاسته شد. برهمکنش رقم و خشکی بر میزان کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاروتنوئید معنی‌دار شد (جدول ۴). میزان محتوای کلروفیل a برگ‌های رقم غفار در سطح تنش ۶۰٪ و ۳۰٪ ظرفیت زراعی بالاتر از رقم ۱۸-G بود. این درحالی است که میزان محتوای کلروفیل a در برگ‌های رقم ۱۸-G به صورت معنی‌داری به میزان بیشتری نسبت به رقم غفار کاهش یافت و کمترین میزان آن در تنش ۳۰٪ ظرفیت زراعی بود (شکل ۲، الف).

با افزایش سطح تنش خشکی، روند کاهش معنی‌داری در مقدار Fv/Fm ایجاد شد، به طوری که بیشترین نسبت Fv/Fm که شاخص مناسبی برای نشان دادن کارایی فتوسنتز دو می‌باشد، متعلق به تیمار شاهد در رقم ۱۸-G بود و اختلاف معنی‌داری با سطح تنش شدید خشکی نشان داد. این درحالی است که میزان کاهش مقدار Fv/Fm در تنش شدید نسبت به شرایط کنترل در رقم ۱۸-G، ۲ درصد بیشتر از رقم غفار بود. این نتیجه نشان می‌دهد که با ادامه تنش خشکی در سطوح ۶۰٪ و ۳۰٪ ظرفیت زراعی، کارایی فتوشیمیایی سیستم فتوسنتزی II دچار اختلال و کاهش شده است (شکل ۱، ت).

همچنین رقم غفار نسبت به رقم ۱۸-G در سطح تنش ۶۰٪ کاهش بیشتری در مقدار Fv داشته است، اما با افزایش شدت تنش از ۶۰٪ به ۳۰٪ ظرفیت زراعی، این دو رقم در یک گروه آماری قرار گرفتند. در تنش شدید، رقم ۱۸-G با میانگین ۱۹۰۵/۳۳ کاهش بیشتری نسبت به رقم غفار با میانگین ۱۸۶۰/۳۳ داشته است (شکل ۱، ج). میزان PAR در رقم غفار در تیمار تنشی ۳۰٪ ظرفیت زراعی نسبت به شرایط نرمال به صورت معنی‌داری بیشتر بود. همچنین در تنش شدید تفاوت معنی‌داری بین دو رقم مشاهده نشد.

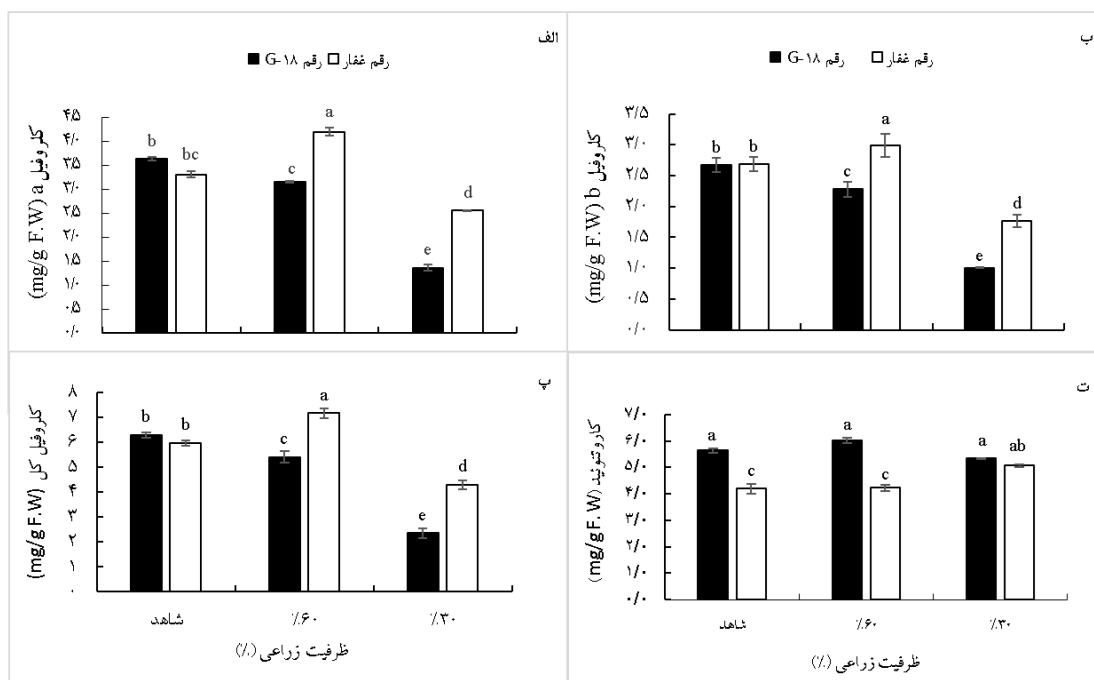


شکل ۱- مقایسه میانگین برهم کنش رقم و تنش برای (کلیه نمودارها بجز نمودار ب): الف) حداکثر فلورسانس کلروفیل، ب) فلورسانس حداقل، پ) تابش فعال فتوسنتزی، ت) حداکثر کارایی کوانتومی فتوسنتز دو، ث) کارایی کوانتومی غیرفتوشیمیایی تنظیم نشده فتوسنتز دو، ج) کارایی کوانتومی غیرفتوشیمیایی تنظیم شده فتوسنتز دو، چ) فلورسانس متغیر، ح) کارایی کوانتومی فتوشیمیایی مؤثر فتوسنتز دو. مقادیر، میانگین ۳ تکرار \pm SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال $P \leq 0.05$ است.

میزان کلروفیل کل در هردو رقم غفار و G-18 با افزایش تنش خشکی کاهش یافت و این میزان کاهش در رقم 18-G بیشتر از رقم غفار بود. این در حالی است که در تنش ملایم خشکی، بالاترین میزان کلروفیل با میانگین 7/18 میلی‌گرم بر گرم وزن تر به رقم غفار اختصاص داشت (شکل ۲، پ).

همچنین همبستگی منفی و معنی‌داری ($R = -0.94^{**}$) بین F_0 و کلروفیل a رقم G-18 در سطح احتمال ۱٪ وجود داشت (جدول ۵).

میزان کلروفیل b در رقم G-18 در سطح تنش 30٪ ظرفیت زراعی کاهش بیشتری نسبت به شرایط آبیاری نرمال خود در مقایسه با رقم غفار داشته است (شکل ۲، ب). همچنین



شکل ۲- الف) محتوای کلروفیل a، ب) محتوای کلروفیل b، پ) محتوای کلروفیل کل، ت) محتوای کاروتنوئید را در ارقام G-18 و غفار نشان می‌دهد. مقادیر، میانگین ۳ تکرار \pm SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال $P \leq 0.05$ است.

فلورسانس کلروفیل را افزایش می‌دهد. به نظر می‌رسد مقدار فلورسانس کلروفیل، تمامیت غشای تیلاکوئید و کارایی نسبی انتقال الکترون را از فتوسیستم II به فتوسیستم I نشان می‌دهد (۸).

F_0 بیانگر سطحی از فلورسانس در زمانی است که پذیرنده کوئینون آ (QA) در بالاترین مقدار شرایط اکسیداسیونی قرار دارد (مرکز فتوسیستم II باز هستند). نتایج ما در این پژوهش نشان داد که برهمکنش رقم و خشکی معنی‌دار نیست این در حالی است که مقایسه ارقام نشان داد مقدار فلورسانس حداقل در رقم غفار دارای میانگین بالاتری نسبت به G-18 است. درحقیقت F_0 هر چه کمتر باشد، بدین معناست که فعالیت‌های فتوستتزی به نحو مطلوب‌تری در جریان هستند و تثبیت کربن یا به عبارتی انتقال الکترون سریع‌تر آغاز شده است. این درحالی است که مقدار F_0 بالاتر نشان از آسیب به زنجیره انتقال الکترون فتوسیستم II در اثر کاهش ظرفیت QA و عدم اکسیداسیون کامل آن به دلیل جریان کند الکترون در طول مسیر

میزان کاروتنوئیدها با افزایش شدت تنش در رقم غفار افزایش یافت و بالاترین مقدار آن با میانگین ۵/۰۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر به تنش شدید اختصاص داشت که در مقایسه با تنش ۶۰٪ (با میانگین ۴/۲۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و ۳۰٪ (با میانگین ۴/۱۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) دارای تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد بود. این درحالی است که رقم G-18 تفاوت معنی‌داری در میزان کاروتنوئیدها در سطوح ۳۰٪ و ۶۰٪ در مقایسه با آبیاری نرمال نشان نداد (شکل ۲، ت).

بحث و نتیجه‌گیری

بمنظور ارزیابی اثر تنش خشکی بر سیستم فتوستتزی گیاه و تخمین میانگین کارایی کوانتوم فتوسیستم II (QII) از پارامترهای فلورسانس کلروفیل استفاده‌های زیادی شده است. هنگام وقوع تنش، تسهیم انرژی بین بخش‌های فلورسانس، فرود فتوشیمیایی و فرود غیرفتوشیمیایی یا اتلاف گرما تغییر می‌کند. درحقیقت هر عاملی که باعث کاهش فتوستتز شود و یا برای سیستم تنش‌زا باشد،

عملکرد کوانتومی فتوسیستم II (PSII) می‌باشد و مقدار آن برای گیاهانی که در شرایط تنش قرار ندارند، در گزارش‌های مختلف بین ۰/۸۵-۰/۶۵ (۵۱) و محدوده ۰/۸۵ (۱۵) گزارش شده است و هرگونه تغییر در ورای این دامنه می‌تواند حاکی از فتواکسیداسیون نوری و آسیب رسیدن به مراکز واکنش فتوسیستم II و یا شاخص تنش باشد.

در این تحقیق، در تنش شدید خشکی، رقم G-۱۸ کاهش بیشتری در میزان Fm داشت، بنابراین با افزایش تنش خشکی از کارایی کمتری در مقایسه با رقم غفار برخوردار است. بر اساس داده‌های بدست آمده از Fv/Fm و مقایسه تأثیر تنش خشکی در ۳۰٪ ظرفیت زراعی و آبیاری نرمال در ارقام بررسی شده نشان می‌دهد که رقم غفار از تحمل و توانایی بالاتری در حفظ و ثبات این نسبت در مقایسه با رقم G-۱۸ دارا می‌باشد. کاهش میزان Fv/Fm حاکی از کارایی کمتر فتوسیستم II می‌باشد. کاهش این نسبت یا به دلیل افزایش در میزان F₀ و یا کاهش Fm و یا هر دو می‌باشد. در پژوهش حاضر، در رقم غفار و G-۱۸ بترتیب همبستگی منفی معنی‌داری (R^{**}= -۹۶) و (R^{*}= -۸۹) بین F₀ و Fv/Fm مشاهده شد (جدول ۵) و به نظر می‌رسد که محدودیت آبی، کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II را به علت افزایش در F₀ کاهش داده است. کاهش Fv/Fm در این آزمایش، احتمالاً به علت صدمات وارده بر کلروپلاست بوده و کاهش میزان محتوای کلروفیل نیز این موضوع را تأیید می‌کند. گزارش شده است که نسبت Fv/Fm در تنش خشکی تحت تأثیر قرار می‌گیرد و تفاوت ژنوتیپ‌های حساس و مقاوم در تنش‌های شدید پدیدار می‌شود (۳۹). Li و همکاران (۲۰۱۰) (۲۱) نیز نتایج مشابهی مبنی بر کاهش Fv/Fm گزارش کردند. همچنین گزارش شده است که کاهش نسبت Fv/Fm و Fm تحت تنش خشکی در گیاه لوبیا ممکن است ناشی از آسیب دیدن چرخه تنظیم آب و یا انتقال الکترون‌ها در فتوسیستم II باشد (۳۳).

فتوسیستم II دارد (۵۲)، بنابراین رقم غفار آسیب بیشتری را در فتوسیستم دو خود تجربه کرده است.

Wright و همکاران (۲۰۰۹) (۴۶) افزایش پارامتر F₀ را تحت تنش خشکی، نتیجه‌ی کاهش یکپارچگی غشاء تیلاکوئید عنوان کردند. Soheyli Movahed و همکاران (۲۰۱۶) (۴۲) افزایش F₀ را تحت تنش خشکی در ارقامی از لوبیا چیتی گزارش کردند. از آنجایی که رقم G-۱۸ از مقدار کمتری از فلورسانس حداقل برخوردار بود، می‌توان گفت که دستگاه فتوستتزی این رقم از کارایی بالاتری در انتقال الکترون برخوردار می‌باشد. Zair و همکاران (۲۰۰۳) (۵۰) اظهار نمودند که تنش به تنهایی تغییرات معنی‌داری در F₀ ایجاد نمی‌کند. درحالی که Behra و همکاران (۲۰۰۲) (۶) مشخص کردند که F₀ توسط تنش‌های محیطی دچار تغییراتی می‌شوند که علت آن دگرگونی ساختار و تغییر در رنگدانه‌های فتوسیستم II می‌باشد.

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که با افزایش سطوح تنش خشکی، پارامترهای Fm و حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II برای تبدیل انرژی نور جذب شده به انرژی شیمیایی کاهش می‌یابد. Fm در اثر تابش فوتون‌های نوری و احیای همه ناقل‌های الکترون و بسته بودن (اشباع) همه مراکز واکنشی ایجاد می‌شود (۲۴). وقتی همه مراکز واکنشی فتوسیستم II بسته است، نشان دهنده افزایش تدریجی عملکرد فلورسانس و کاهش سرعت واکنش‌های فتوشیمیایی است و هرچه سیستم دیرتر بسته شود، یعنی قادر باشد تعداد الکترون‌های بیشتری را بپذیرد، Fm آن بالاتر یا سیستم کارا تر خواهد بود. درحقیقت، افزایش فلورسانس از F₀ به Fm به علت کاهش QB و مخزن بزرگی از پلاستوکوئینون می‌باشد. همچنین پارامتر Fv/Fm به عنوان یک ابزار موثر در کشف آسیب‌های وارده به دستگاه فتوستتزی کننده قبل از آشکارشدن آن در مورفولوژی گیاه ارزیابی می‌شود و شاخص مناسبی برای بازدارندگی نوری است. این نسبت نشان‌دهنده پتانسیل یا بیشینه

آن احتمالاً افزایش سرعت آسمیلاسیون CO_2 در این سطوح است (۱۷).

یکی دیگر از پارامترهای فیزیولوژیکی متأثر از تنش خشکی، محتوای کلروفیل و کاروتنوئید برگ است. برخی گیاهان در طول تنش خشکی میزان کلروفیل خود را حفظ می‌کنند و در برخی دیگر میزان کلروفیل کاهش می‌یابد. در این مطالعه، روند کاهشی معنی‌داری در تمام رنگیزه‌های مربوط به نمونه‌های تحت تنش نسبت به شرایط پیش از تنش مشاهده شد. این روند کاهشی را می‌توان احتمالاً به علت از بین رفتن آنزیم‌های بیوستتزی رنگدانه‌های فتوستتزی و همچنین القای تجزیه شدن یا مهار سنتز آن‌ها در شرایط تنش نسبت داد. آنزیم گلوتامات لیگاز از جمله این آنزیم‌ها است که نقش مهمی در سنتز کلروفیل دارد و کاهش سنتز کلروفیل تحت شرایط تنش خشکی به دلیل ممانعت از فعالیت آنزیم گلوتامات لیگاز می‌باشد (۱۱). از دلایل دیگر کاهش مقدار رنگیزه‌های فتوستتزی تحت تنش خشکی را می‌توان عموماً به تخریب ساختمان کلروپلاست و دستگاه فتوستتزی، فتواکسیداسیون کلروفیل‌ها، واکنش آنها با اکسیژن یکنایی و اختلالات هورمونی نسبت داد (۲۷). تخریب مولکولی کلروفیل به علت جدا شدن زنجیره فیتولی از حلقه پورفیرین در اثر ROS و یا آنزیم کلروفیلاز صورت می‌گیرد. بنابراین می‌توان گفت که ابتدایی‌ترین و معنی‌دارترین تغییر در ساختار سلولی، تخریب ساختاری کلروپلاست است که در آن فرآیند متابولیکی تجزیه کلروفیل و ماکرومولکول‌های دیگر رخ می‌دهد (۴۰). بطور کلی می‌توان گفت که کاهش در مقادیر کلروفیل تحت تنش خشکی به علت تخریب بیشتر کلروفیل نسبت به سنتز آن است.

Hosseinzadeh و همکاران (۲۰۱۶) (۱۴) کاهش شدید رنگدانه‌ها در سطوح بالای تنش آبی را به دلیل کاهش انتقال مواد معدنی و عناصر ضروری برگ در اثر کاهش مکشی ناشی از تعرق در آوند چوب و افزایش تنش

فلورسانس متغیر (Fv) نشانگر احیای کامل پذیرنده‌های الکترون (QA) می‌باشد. بدین‌صورت که وقتی پذیرنده‌های الکترون در حالت احیای کامل باشند، فلورسانس کلروفیل زیاد است، بنابراین Fv نیز زیاد است، اما وقتی پذیرنده‌های الکترون در حالت اکسید هستند، مقدار فلورسانس حداقل است و مقدار Fv نیز کاهش می‌یابد، در نتیجه در شرایط تنش خشکی QA در حال اکسید شدن است. در پژوهش حاضر میزان فلورسانس متغیر در تمامی سطوح تنش کاهش یافت که این کاهش می‌تواند به دلیل مهار الکترون و جلوگیری از انتقال الکترون آن از سمت دهنده فتوسیستم II به محل پذیرش الکترون توسط مولکول‌های کوئینون (QA و QC) و ممانعت از فتواکسیداسیون فتوسیستم II باشد (۲۴). در نتیجه میزان کارایی کوانتومی فتوستتز خالص کاهش می‌یابد. در تحقیق حاضر، همبستگی منفی معنی‌دار بین Fv و F_0 نشان داد که همزمان با افزایش F_0 از میزان فلورسانس متغیر کاسته شد.

Y(NPQ) در واقع شاخص مربوط به هدر رفت گرمایی است و افزایش این پارامتر بیانگر ظرفیت بالای چرخه زانتوفیل و توانایی گیاه در دفع تنش از طریق هدر دادن انرژی به صورت گرما می‌باشد (۱۰). بدین‌ترتیب از توان دستگاه فتوستتز کننده کاسته می‌شود که خود یک مکانسیم دفاعی در برابر اکسایش فتوسیستم‌های I و II به شمار می‌آید و به بازدارندگی نوری معروف است (۳۶). چنانچه مکانسیم‌های پراکنش انرژی مانند NPQ کارایی موثری را داشته باشند، آسیب ناشی از بازدارندگی نوری قابل جبران است، در غیر این صورت، موجب آسیب غیر قابل برگشت به سیستم فتوستتزکننده می‌شود. باتوجه به اینکه در مطالعه حاضر به موازات افزایش بازدارندگی نوری، NPQ هم افزایش یافت، بنظر می‌رسد اثر بازدارندگی نوری برگشت‌پذیر است که با یافته‌های Li و همکاران (۲۰۱۳) (۲۲) مطابقت دارد. در این تحقیق، Y(NO) در تنش ۳۰ و ۶۰٪ بترتیب در رقم غفار و G-۱۸ افزایش یافت و علت

مشاهده نشد. می‌توان گفت رقم G-18 با حفظ ظرفیت کاروتنوئیدی خود، آسیب‌های ناشی از تنش خشکی را تعدیل کرده است. (Silva (۲۰۰۷) (۴۱) نیز کاهش محتوای کاروتنوئید را تحت تنش خشکی در لوبیا گزارش کرد. درحالی که Emadi و همکاران (۲۰۱۲) (۱۲)، افزایش میزان کاروتنوئید را تحت تنش خشکی در لوبیا چیتی گزارش کردند. کاهش محتوای کاروتنوئید ظاهراً به دلیل اکسید شدن توسط اکسیژن فعال و تخریب ساختار آنها است (۴۵). می‌توان نتیجه گرفت که تأثیر تنش خشکی بر میزان کاروتنوئیدها در ارقام و گونه‌های گیاهان مختلف یکسان نیست و پاسخ‌های متفاوتی دیده می‌شود.

تنش‌های گیاهی از جمله تنش خشکی، اثر بازدارنده بر فعالیت‌های مختلف دستگاه فتوسنتزی بخصوص فعالیت فتوسیستم II، در رقم‌های مختلف لوبیا می‌گذارد. در این بررسی مشخص شد که پارامترهای فلورسانس کلروفیل به همراه محتوای کلروفیل، نقش ویژه‌ای در بررسی اثرات تنش خشکی بر سیستم‌های فتوسنتزی گیاه دارند. علاوه بر این، استفاده از روش فلوریمتری نسبت به سایر روش‌های مطالعه فیزیولوژیکی گیاهان، یک روش غیر مخرب و در عین حال دقیق است. داده‌های بدست آمده از این مطالعه نشان داد که رقم غفار از طریق بکارگیری سازوکارهای خاص خود، تحمل بهتری نسبت به تنش خشکی داشته است، بنابراین بدلیل کارایی بهتر خود، کشت این رقم در شرایط آب و هوایی خشک توصیه می‌شود.

سپاسگزاری

مؤلفین این مقاله وظیفه خود می‌دانند از مرکز تحقیقات استان گیلان به خاطر در اختیار قرار دادن بذر ارقام مورد آزمایش سپاس‌گزاری نمایند.

خشکی بر فتوسنتز، پارامترهای وابسته به آن و محتوای نسبی آب گیاه آنیسون (*Pimpinella anisum* L.)، مجله پژوهش‌های گیاهی، ۲۷: ۸۲۹-۸۳۹.

اکسیداتیو ناشی از ROS (گونه‌های فعال اکسیژن) در سلول‌های برگ و تجزیه این رنگدانه‌ها دانسته‌اند. کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی تحت تنش خشکی در لوبیا چشم بلبلی، چند واریته دیگر لوبیا و آنیسون توسط محققین به ثبت رسیده است (۳۶، ۱). همچنین افزایش محتوای رنگیزه‌های کلروفیلی گیاه به لیمو تحت تنش خشکی ملایم توسط محققین به ثبت رسیده است (۲). مقایسه تغییرات مقادیر کلروفیل a و b در تحقیق حاضر نشان داد که در اثر تنش خشکی، میزان کاهش کلروفیل a در رقم G-18 بیشتر از میزان کاهش کلروفیل b آن است. کاهش میزان کلروفیل a در اثر تنش خشکی مربوط به افزایش تولید ROS در سلول می‌باشد. این رادیکال‌های آزاد سبب پراکسیداسیون و در نتیجه تجزیه این رنگیزه‌ها می‌شوند و با کاهش میزان کلروفیل، تغییرات زیادی در مقدار تولید در گیاهان به وجود می‌آید (۳۴). اثرات تنش خشکی بر کاهش میزان کلروفیل a در گیاهان زراعی از جمله لوبیا توسط محققین مورد بررسی قرار گرفته است (۳۸). همچنین گزارش شده است که تغییر در کلروفیل a به دلیل شکسته شدن کلروپلاست، ناپایداری کمپلکس کلروفیل-پروتئین، کاهش تشکیل پلاستیدهای جدید کلروفیل a و تغییر در سیستم‌های فتوسنتزی در جهت کاهش نسبت PSII به PSI در شرایط تنش خشکی است (۲۰).

کاروتنوئیدها در شرایط تنش خشکی انرژی زیاد طول موج‌های کوتاه را گرفته و اکسیژن یکتایی را به ۳ تایی تبدیل می‌کنند و با گرفتن رادیکال‌های اکسیژن تولید شده، نقش آنتی‌اکسیدانی خود را ایفا می‌کنند. کمبود خفیف آب باعث افزایش میزان کاروتنوئیدها می‌شود، درحالی که کمبود شدید آب موجب کم شدن میزان کاروتنوئیدها می‌شود (۲۶). در این مطالعه، میزان کاروتنوئیدها در رقم غفار افزایش یافت، اما در رقم G-18 اختلاف معنی‌داری

منابع

۱. حیدری، ن.، پوریوسف، م. و توکلی، ا. (۲۰۱۵)، «تأثیر تنش

- فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه به لیمو *Lippia citriodora* HBK»، مجله پژوهش‌های گیاهی، ۲۸ (۳): ۶۱۷-۶۲۸.
3. Amiri, H., A. Ismaili, and S. R. Hosseinzadeh, (2017), "Influence of vermicompost fertilizer and water deficit stress on morpho-physiological features of chickpea (*Cicer arietinum* L. cv. Karaj)" *Compost Science & Utilization* 25 (3):152-165.
 4. Ansari, M. H., Asadi, R., Mazaheri R., Rezazadeh B. (2017), "Effect of Different Nitrogen Resources on Nitrogen Absorption and Transference in Guilan Local Beans in Organic Agriculture", *Scientific Journal of Plant Physiology*, 9 (35): 21-38, (in persian).
 5. Asadi, B., A. Ghadiri, M. Lak, M. Yousefi, A. Ghanbari, E. Beizai, M. Kamel, M. Kooshki, H. Asteraki, R. Poormatin, and M. Hatamabadi Farahani, (2016), "Ghaffar, a New Variety of Chitti Bean", *Research Achievements for Field and Horticulture Crops*, 5 (2):143-155.
 6. Bahra, M. J., H. Bahrami, and A. A. K. Haghighi, (2010), "Effect of water stress on ten forage grasses native or introduced to Iran", *Grassland Science*, 56 (1):1-5.
 7. Baker, N. R. (2008), "Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo", *Annual Review of Plant Biology*, 59:89-113.
 8. Bilger, W., and O. Björkman, (1994), "Relationships among violaxanthin deepoxidation, thylakoid membrane conformation, and nonphotochemical chlorophyll fluorescence quenching in leaves of cotton (*Gossypium hirsutum* L.)", *Planta*, 193 (2):238-246.
 9. Costa, G. E., K. da Silva Queiroz-Monici, S. M. P. M. Reis, and A. C. de Oliveira, (2006), "Chemical composition, dietary fibre and resistant starch contents of raw and cooked pea, common bean, chickpea and lentil legumes", *Food chemistry*, 94 (3):327-330.
 10. Chaves, M. M., J. Flexas, and C. Pinheiro. (2009), "Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell", *Annals of Botany*, 103 (4):551-560.
 11. Dalal, V. K., and B. C. Tripathy, (2012), "Modulation of chlorophyll biosynthesis by water stress in rice seedlings during chloroplast biogenesis", *Plant, Cell and Environment*, 35 (9):1685-1703.
 12. Emadi, N., Baluchi, H. And worldview, s. (2012), "Effect of drought stress on grain yield and some physiological characteristics of different red bean genotypes", *Plant Ecophysiology*, 18: 1-11, (in persian).
 13. Farid, M., H. J. Earl, and A. Navabi, (2016), "Yield stability of dry bean genotypes across nitrogen-fixation-dependent and fertilizer-dependent management systems", *Crop Science*, 56 (1):173-182.
 15. Hosseinzadeh, S., H. Amiri, and A. Ismaili, (2016), "Effect of vermicompost fertilizer on photosynthetic characteristics of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under drought stress", *Photosynthetica*. 54 (1):87-92.
 15. Kalaji, M., and P. Guo. (2008), "Chlorophyll fluorescence: a useful tool in barley plant breeding programs", *Photochemistry Research Progress*, 29:439-463.
 16. Keller J. and Bliesner, R. D. Sprinkler and Trickle Irrigation, Van Nostrand Reinhold, New York, (1990).
 17. Klughammer, C., and U. Schreiber, (2008), "Complementary PS II quantum yields calculated from simple fluorescence parameters measured by PAM fluorometry and the Saturation Pulse method", *PAM application notes*, 1 (2):201-247.
 18. Kordrostami, F., A. Shirvany, P. Attarod, and M. Khoshnevis, (2014), "Does drought stress induce physiological mechanisms in *Celtis caucasica* L. Seedlings", *Advances in Bioresearch*, 5 (4).
 19. Kokabi, S., Ashrafi, N., Javanmard, T. And aghajani, m (2015), "Evaluation of some morphological traits, yield in green beans of *Phaseolus vulgaris* L. in Karaj climate conditions", 9th Iranian Horticultural Science Congress, Ahwaz, Iranian Horticultural Society and Ahwaz Shahid Chamran University, (in persian).
 20. Kulshreshtha, S., D. Mishra, and R. Gupta, (1987), "Changes in contents of chlorophyll, proteins and lipids in whole chloroplasts and chloroplast membrane fractions at different leaf water potentials in drought resistant and sensitive genotypes of wheat", *Photosynthetica (Czechoslovakia)*.
 21. Li, G., S. Wan, J. Zhou, Z. Yang, and P. Qin. (2010), "Leaf chlorophyll fluorescence, hyperspectral reflectance, pigments content, malondialdehyde and proline accumulation responses of castor bean (*Ricinus communis* L.)

- seedlings to salt stress levels", *Industrial crops and products*, 31 (1):13-19.
22. Li, G. L., Wu, H. X., Sun, Y. Q. and Zhang, S. Y. (2013), "Response of chlorophyll Fluorescence parameters to drought stress in sugar beet seedlings", *Russian Journal of Plant Physiology*, 60: 337-342.
 23. Lichtenthaler, H. K. (1987), "Chlorophyll fluorescence signatures of leaves during the autumnal chlorophyll breakdown", *Journal of Plant Physiology*, 131(1-2), 101-110.
 24. Mehta, P., A. Jajoo, S. Mathur, and S. Bharti, (2010), "Chlorophyll a fluorescence study revealing effects of high salt stress on Photosystem II in wheat leaves", *Plant Physiology and Biochemistry*, 48 (1):16-20.
 25. Miklas, P. N., J. D. Kelly, S. E. Beebe, and M. W. Blair, (2006), Common bean breeding for resistance against biotic and abiotic stresses: from classical to MAS breeding", *Euphytica*, 147 (1-2):105-131.
 26. Munné-Bosch, S., and L. Alegre, (2004), "Die and let live: leaf senescence contributes to plant survival under drought stress", *Functional Plant Biology*, 31 (3):203-216.
 27. Naghavi, M. R., M. Toorchi, M. Moghaddam, and M. R. Shakiba, (2015), "Evaluation of diversity and traits correlation in spring wheat cultivars under drought stress", *Notulae Scientia Biologicae*, 7 (3):349.
 28. Neocleous, D., and M. Vasilakakis, (2007), "Effects of NaCl stress on red raspberry (*Rubus idaeus* L. 'Autumn Bliss')", *Scientia Horticulturae* 112 (3):282-289.
 29. Oliveira Neto, C. F. d., A. K. d. S. Lobato, M. C. Gonçalves-Vidigal, R. C. L. d. Costa, B. G. d. Santos Filho, G. A. R. Alves, W. Maia, F. Cruz, H. Neves, and M. S. Lopes, (2009), "Carbon compounds and chlorophyll contents in sorghum submitted to water deficit during three growth stages", *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 7 (3&4):588-593.
 30. Oukarroum, A., S. El Madidi, G. Schansker, and R. J. Strasser, (2007), "Probing the responses of barley cultivars (*Hordeum vulgare* L.) by chlorophyll a fluorescence OLKJIP under drought stress and re-watering", *Environmental and Experimental Botany*, 60 (3):438-446.
 31. Peralta, H., A. Aguilar, R. Díaz, Y. Mora, G. Martínez-Batallar, E. Salazar, C. Vargas-Lagunas, E. Martínez, S. Encarnación, and L. Girard, (2016), "Genomic studies of nitrogen-fixing rhizobial strains from *Phaseolus vulgaris* seeds and nodules", *BMC Genomics*, 17 (1):711.
 32. Rendon-Anaya, M., A. Herrera-Estrella, P. Gepts, and A. Delgado-Salinas, (2017), "A new species of *Phaseolus* (Leguminosae, Papilionoideae) sister to *Phaseolus vulgaris*, the common bean", *Phytotaxa*, 313 (3):259-266.
 33. Retuerto, R., B. Fernández-Lema, and J. Obeso, (2006), "Changes in photochemical efficiency in response to herbivory and experimental defoliation in the dioecious tree *Ilex aquifolium*", *International Journal of Plant Sciences*, 167 (2):279-289.
 34. Sadeghipour, O., and P. Aghaei, (2012), "Response of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) to exogenous application of salicylic acid (SA) under water stress conditions", *Advances in Environmental Biology*, 6 (3):1160-1168.
 35. Sadeghipour, A., and B. Hashemi, (2015), "Study the effect of brassinolide application on drought tolerance of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.)", *Crop Physiology Journal*. 7 (26):57-70.
 36. Saglam, A., N. Saruhan, R. Terzi, and A. Kadioglu, (2011), "The relations between antioxidant enzymes and chlorophyll fluorescence parameters in common bean cultivars differing in sensitivity to drought stress", *Russian journal of plant physiology*, 58 (1):60-68.
 37. Sánchez-Díaz, M., C. Tapia, and M. C. Antolín, (2008), "Abscisic acid and drought response of Canarian laurel forest tree species growing under controlled conditions", *Environmental and Experimental Botany*, 64 (2):155-161.
 38. Santos, C. V. (2004), "Regulation of chlorophyll biosynthesis and degradation by salt stress in sunflower leaves", *Scientia Horticulturae*, 103 (1):93-99.
 39. Sayed, O. (2003), "Chlorophyll fluorescence as a tool in cereal crop research", *Photosynthetica*, 41 (3):321-330.
 40. Severino, L. S., and D. L. Auld. (2013), "Seed yield and yield components of castor influenced by irrigation", *Industrial Crops and Products*, 49:52-60.
 41. Silva, M. A., Jifon, J. L., Silva, J. A. G. and Sharma, V. (2007), "Use of physiological parameters as fast tools to screen for drought tolerance in sugarcane", *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 19: 193-201.

42. Soheyli movahed S., and M. A. esmaeeli, and F. Jabari, (2017), "Investigation the effect of different levels of irrigation on morph physiological and biochemical traits in five genotypes of mung bean (*Vigna radiata* L.)", *crop physiology journal*, 9 (34):5-21, (in persian).
43. Trapp, J. J., C. A. Urrea, J. Zhou, L. R. Khot, S. Sankaran, and P. N. Miklas, (2016), "Selective phenotyping traits related to multiple stress and drought response in dry bean", *Crop Science*, 56 (4):1460-1472.
44. Wang, H., X. Ju, Y. Wei, B. Li, L. Zhao, and K. Hu. (2010a), "Simulation of bromide and nitrate leaching under heavy rainfall and high-intensity irrigation rates in North China Plain", *Agricultural water management* 97 (10):1646-1654.
45. Wang, L.-J., L. Fan, W. Loescher, W. Duan, G.-J. Liu, J.-S. Cheng, H.-B. Luo, and S.-H. Li. (2010b), "Salicylic acid alleviates decreases in photosynthesis under heat stress and accelerates recovery in grapevine leaves", *BMC plant biology*, 10 (1):34.
46. Wright, H., Delong, j., Lada, R. and Prange, R. (2009), "The relationship between water status and chlorophyll a fluorescence in grapes (*Vitis* spp.)", *Postharvest Biology and Technology*, 51:193-199.
47. Yaghoubian, Y., S. Siadat, M. M. Telavat, and H. Pirdashti, (2016), "Quantify the response of purslane plant growth, photosynthesis pigments and photosystem II photochemistry to cadmium concentration gradients in the soil", *Russian Journal of Plant Physiology*, 63 (1):77-84.
48. Yamasaki, T., T. Yamakawa, Y. Yamane, H. Koike, K. Satoh, and S. Katoh, (2002), "Temperature acclimation of photosynthesis and related changes in photosystem II electron transport in winter wheat", *Plant Physiology*, 128.
49. Yasar, F., Uzal, O. and Ozpay, T. (2010), "Changes of the lipid peroxidation and chlorophyll amount of green bean genotypes under drought stress", *African Journal of Agricultural Research*, 5(19):2705-2709.
50. Zair, I., Chlyah, A., Sabounji, K., Tittahsen, M., and Chlyah, H. (2003), "Salt tolerance improvement in some wheat cultivars after application of in vitro selection pressure", *Plant cell, Tissue and Organ Culture*, 73(3), 237-244.
51. Zhao, G., B. Ma, and C. Ren. (2007), "Growth, gas exchange, chlorophyll fluorescence, and ion content of naked oat in response to salinity", *Crop Science*, 47 (1):123-131.
52. Zlatev, Z. S., and I. T. Yordanov, (2004), "Effects of soil drought on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in bean plants", *Bulgarian Journal of Plant Physiology*, 30 (3-4):3-18.

Effect of different drought stress levels on content and chlorophyll fluorescence indices of two bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.)

Afshar Mohamadian A., Omidipour M. and Jamal Omidi F.

Biology Dept., Faculty of Sciences, University of Guilan, Rasht, I.R. of Iran

Abstract

Chlorophyll fluorescence parameters and chlorophyll content are the most important factors for determining photosynthesis capacity in plant. For this purpose, an experiment was conducted to compare the resistance to different levels of drought stress, to evaluate the most important physiological indices and assess the function of photosystem II using chlorophyll fluorescence parameters, chlorophyll content (chlorophyll a, b and a + b) and carotenoids. The experiment was performed with two factors including; water treatments 30, 60 and 100% crop capacity (FC) and cultivars G-18 and Ghaffar cultivars in the form of the factorial arrangement in a randomized complete block design with three replications in the greenhouse of the University of Guilan. Comparison of mean values showed that severe drought stress reduced the amount of chlorophyll content, Fv/Fm, Fv and, in contrast, increased the amount of fluorescence and Y (NPQ). The highest Fv/Fm ratio was observed in the control plants and in the G-18 cultivar with the mean 0.78 percent, while the highest reduction in Fv/Fm ratio in severe stress was obtained for the G-18 cultivar compared to the control. In general, the interaction of drought and cultivar was significant for all traits except F₀. Also, Pearson correlation between total chlorophyll and Fv/Fm showed a positive and significant correlation (R = 0.86 **) in Ghaffar cultivar, but was not significant in G-18. Therefore, it can be concluded that Ghaffar cultivar can tolerate relatively high levels of drought by making changes in some physiological characteristics with better performance.

Key words: chlorophyll fluorescence, drought stress, chlorophyll content, bean