

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

منصور افشار محمدیان*، مطهره امیدی پور و فاطمه جمال امیدی

^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 فتوستمزی در طول زندگی گیاهان می‌باشد. بدین‌منظور، 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 کاروتوئیدها انجام شد. آزمایش با دو عامل تنش آبی شامل: ۳۰ و ۶۰ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی (FC) و رقم، شامل: رقم غفار و رقم G-۱۸ 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/Fm، 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-۱۸ با میانگین ۰/۷۸ مشاهده شد، این درحالی است که رقم G-۱۸ با کاهش ۰/۷۷ 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 F0 معنی‌دار شد. همچنین، بررسی همبستگی پرسن بین کلروفیل کل و Fv/Fm، همبستگی مثبت و معنی‌داری (R=۰/۶۴**) را در رقم غفار نشان داد، ولی در -G 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، لوبيا

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

مقدمه

خاک اضافه می‌شود (۳۱). لوبيا در کشور ایران بعد از گندم و برنج عمده‌ترین غذاي مردم را تشکيل مي‌دهد (۴). اين گیاه با داشتن ۱۸-۳۲ درصد پروتئين که برابر با مقدار پروتئين موجود در انواع گوشت‌ها (۲۵-۱۸٪) است، جايگريkin مناسي برای گوشت بوده و نقش مهمی را در تأمین مواد پروتئينی مورد نياز انسان دارد (۹). با توجه به گسترش روز افرون تنش‌های محيطی به ویژه خشکی و شوری ممکن است تا سال ۲۰۵۰ بيش از ۵۰٪ مناطق کشاورزی تحت تأثير اين تنش‌های محيطی قرار گيرند (۴۴). در طی سال‌های اخير کمبود آب بطور جدي

لوبيا (*Phaseolus vulgaris* L.) يکی از مهم‌ترین حبوبات در جهان است که در بسیاری از کشورهای در حال توسعه به عنوان یکی از منابع تأمین غذاي انسان، دارای پروتئين بالا، فسفر، ویتامین‌ها (فولات (B9)، ریز مغذی‌ها Zn، بالا، فسفر، ویتامین‌ها (فولات (B9)، ریز مغذی‌ها Zn، Mn, Ca, Fe, Mg, Cu) و فیبر بوده و فاقد کلسترول و قند است (۲۵). لوبيا بطور کلی بيش از ۵۰٪ تولید حبوبات دانه‌ایی را به خود اختصاص داده است (۱۳). علاوه بر این، بدليل همزيستي باكتري‌های ثبيت کننده نيتروژن اتمسفری با ريشه آنها، در حاصلخيزی خاک موثرند و هر ساله مقادير زيادي نيتروژن بعد از برداشت اين محصولات به

متفاوت است، عملکرد آن قابل اندازه گیری می‌باشد. بمنظور تعیین وضعیت فیزیولوژیکی گیاه و میزان آسیب وارده به دستگاه فتوستتری از تکنیکی به نام سنجش فلورسانس کلروفیل استفاده می‌شود. در حقیقت، مقدار فلورسانس کلروفیل می‌تواند توانایی گیاه در تحمل به تنش‌های محیطی، سالم بودن غشاء تیلاکوئید، کارآیی 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 کارآیی فتوستتری گیاه در مطالعات زیادی بررسی شده است (۷، ۳۰).

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

اگرچه مطالعات زیادی برای ارزیابی تحمل به خشکی رقم‌های مختلف گیاه لوپیا انجام شده است، ولی تاکنون به منظور ارزیابی اثر تنش خشکی بر پارامترهای فلورسانس کلروفیل و محتوا کلروفیلی گیاه لوپیا چیتی (رقم غفار) و لوپیای پاکوتاه (رقم G-۱۸) پژوهشی صورت نگرفته است. از آنجایی که فلورسانس منحصرًا 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 محتوا کلروفیل یکی از مهمترین فاکتورها برای تعیین ظرفیت فتوستتری در طول زندگی گیاه می‌باشد. با توجه به اهمیت موضوع، هدف از این این تحقیق پاسخ به این دو سوال بود: اول اینکه سازوکارهای مقاومتی در دو رقم از گیاه لوپیا تا چه حد

عملکرد گیاهان زراعی و از جمله لوپیا 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 لوپیا 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 روزنامه‌ای و غیر روزنامه‌ای فتوستتر را کاهش می‌دهد. از عوامل محدود کننده غیر روزنامه‌ای می‌توان به کاهش یا توقف سنتز رنگیزه‌های فتوستتری از جمله کلروفیل‌ها و کاروتونئیدها اشاره کرد (۲۹) چراکه با بسته شدن روزنامه، CO₂ داخل سلولی کاهش می‌یابد و در نتیجه باعث تجمع ناقلين الکترون پر انرژی، آشفتگی کمپلکس‌های برداشت کننده نور (CHL) و افت کارآیی فتوسیستر می‌شود. بنابراین برگ‌های گیاهان با بستن روزنامه در جهت حفظ آب به مثابه اولین دفاع به تنش خشکی پاسخ می‌دهند (۳). Yasar و همکاران (۴۹) کاهش محتوا کلروفیل را تحت تنش خشکی در ژنوتیپ‌های لوپیا 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 فتوسیستر 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 تنفس خشکی در سه سطح ۳۰٪ ظرفیت زراعی (تنفس خشکی شدید)، ۶۰٪ ظرفیت زراعی (تنفس خشکی ملایم) و ۱۰۰٪ ظرفیت زراعی (آبیاری نرمال) تعیین شد.

$$\text{معادله ۱} \quad \%FC = \frac{\frac{FW}{DW} - \frac{(وزن خشک خاک)}{(وزن تراخاک)}}{\frac{(وزن خشک خاک)}{(وزن خشک خاک)}} \times 100$$

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 برج کشور در رشت آنالیز شد که نتایج آن در جدول ۱ ارائه شده است.

می‌تواند از خسارت تنفس خشکی جلوگیری کند؟ دوم اینکه آیا شدت‌های متفاوت تنفس در مرحله سه‌برگچه‌ای لوبيا (V3) تا چه حد می‌تواند بر فلورسانس کلروفیل، میزان کلروفیل (a و b) و کاروتوئیدهای برگ لوبيا 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 67 ± 5 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)

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

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

۸۰٪ WP 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 تنفس آبی کسب کرد، تیمارهای خشکی در سه سطح ۳۰، ۶۰ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی (FC) اعمال شدند.

سنجر فلورسانس کلروفیل: پس از گذشت ۱۲ روز از تنفس 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 PAM 2500-Walz، Germany (Florimeter)

مواد گیاهی و شرایط رشد: بذر گیاه دو رقم لوبيا (*Phaseolus vulgaris* L.) از مرکز تحقیقات کشاورزی استان گیلان تهیه شد. دو رقم لوبيا شامل: لوبيا چیتی (رقم غفار) با کلاس تجاری Cranberry، تیپ ۲، رشد نامحدود ایستاده (۵) و لوبيای پاکوتاه (رقم G-۱۸ رگه مشکی)، که دارای تیپ ۱ او رشد محدود ایستاده است (۱۹). بذرهای گیاه با استفاده از هیپوکلریت سدیم ۰.۵٪ 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 (15 5 30) NPK بر اساس آزمون خاک و حد بحرانی عناصر غذایی مورد نیاز لوبيا به میزان ۱/۵ گرم به ازای هر گلدان مصرف شد. ۱۸ روز پس از کاشت (18 DAP) قارچ کش مانکوزب (MANCOZEB)

و روشنایی، میزان فلورسانس متغیر (Fv)، حداکثر کارایی کوانتمی فتوسیتم II (Fv/Fm)، کارایی کوانتمی فتوشیمیابی مؤثر فتوسیستم II [Y(II)] کارایی کوانتمی غیرفتوشیمیابی تنظیم شده فتوسیستم II [Y(NPQ)]، کارایی کوانتمی غیرفتوشیمیابی تنظیم شده فتوسیستم II [Y(NO)] و خاموشی غیرفتوشیمیابی (NPQ) بر اساس جدول دو محاسبه شد. اندازه گیری‌ها در مرحله رویشی (۱۲ روز پس از اعمال سطوح تنفس 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 قرمز به برگ تابانده شد. فلورسانس حداقل (F_0) با همهٔ مراکز واکنشی

باز فتوسیستم II و فلورسانس حداکثر (Fm) با همهٔ مراکز واکنشی بسته فتوسیستم II در برگ‌های سازگار به تاریکی و در مرحله بعد میزان فلورسانس پایدار (F_t)، فلورسانس حداقل (F_0') 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)

معادله	شناخت	مؤلفه
$Fm-F_0$	Fv	فلورسانس متغیر
$(Fm-F_0)/Fm$	Fv/Fm	حداکثر کارایی کوانتمی فتوسیتم II
$(Fm-F_t)/Fm'$	Y(II)	کارایی کوانتمی فتوشیمیابی مؤثر فتوسیستم II
$(Ft/Fm') - (Ft/Fm)$	Y(NPQ)	کارایی کوانتمی غیرفتوشیمیابی تنظیم شده فتوسیستم II
Ft/Fm	Y(NO)	کارایی کوانتمی غیرفتوشیمیابی تنظیم شده فتوسیستم II
$(Fm-Fm')/Fm'$	NPQ	خاموشی غیرفتوشیمیابی

زیر محاسبه شد. اندازه گیری‌ها بعد از گذشت ۱۲ روز از اعمال تنفس در مرحله رویشی سه برگچه‌ایی DAP) V_3 (۳۳ انجام شد. اندازه گیری انواع کلروفیل و کاروتونئید از همان برگ‌هایی که فلورسانس آنها اندازه گیری شده بود، انجام و با استفاده از معادله‌های زیر محاسبه شد:

سنجهش کمی میزان کلروفیل‌های a، b، کل و کاروتونئید: محتوای کلروفیل با استفاده از روش Lichtenthaler (۱۹۸۷) (۲۳) و با استفاده از استن٪۸۰ سنجش و جذب آن توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر CamSpec M501 UV/Visible) قرائت شد. مقدار کلروفیل و همچنین کاروتونئید کل با استفاده از فرمول‌های

$$\text{Chl. } a \text{ } (\mu\text{g/g}) = 12.25 A_{663} - 2.79 A_{646} \times V/W \quad (2)$$

$$\text{Chl. } b \text{ } (\mu\text{g/g}) = 21.50 A_{646} - 5.1 A_{663} \times V/W \quad (3)$$

$$\text{Chl. T. } (\mu\text{g/g}) = \text{Chl. } a + \text{Chl. } b \quad (4)$$

$$\text{Carotenoid } (\mu\text{g/g}) = (1000A_{470} - 1.82\text{Chl } a - 85.02\text{Chl } b)/198 \times V/W \quad (5)$$

برگ بر حسب گرم، کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاروتونئید و همچنین A_{663} , A_{646} , A_{470} میزان نور جذبی

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

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 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 ، $Y(II)$ و $Y(NO)$ تحت تأثیر رقم و خشکی قرار دارند.

فلورسانس حداقل در رقم غفار از میانگین بالاتری نسبت به رقم G-۱۸ 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 Microsoft excel 2016 و SPSS (24.0) برآورد شد. در کلیه شکل‌ها، متون‌ها نماینده محاسبه و رسم شد. در کلیه شکل‌ها، متون‌ها نماینده میانگین ۳ تکرار و بارهای عمودی نشان‌دهنده خطای معیار ($\pm SE$) می‌باشد. مقایسه ارقام بر اساس آنالیز واریانس 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 ($Transform-Log_{10}$) جهت نرمال‌سازی داده‌ها استفاده شد.

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

میانگین مربعات										
F_0	F_m	F_v	F_v/F_m	$Y(II)$	$Y(NO)$	$Y(NPQ)$	PAR	درجه آزادی	منابع تغییرات	
۸۵۴۹۹۶*	۶۶۵۰*	۷۱۰۸۲۹ ^{ns}	۰/۰۵۲*	۶/۴۲*	۰/۰۰۷*	۴/۰۵*	۵۱۸۵۰۱ ^{ns}	۱	رقم	
۵۶۶۵۵۴*	۱۳۱۳۰۹*	۱۲۱۵۴۰*	۰/۰۵۴*	۰/۰۲*	۰/۰۰۴*	۵۴۹۰۴۵*		۲	خشکی	
۸۱۴۲۴ ^{ns}	۴۲۰۵۲۲*	۱۵۷۰۲۴*	۰/۰۰۱*	۰/۰۰۸*	۰/۰۴۲*	۰*	۲۵۲۶۲*	۲	رقم و خشکی	
۲۶۴۷۷	۲۱۲۹۷	۲۲۸۲۶	۰/۰۰۱	۰/۰۰۶	۰/۰۰۱	۲/۲۴	۴۹۳۴۲۸	۱۲	خطای آزمایش	
۱۱/۴	۳/۸۹	۶/۶۴	۵/۱	۱۰/۹۱	۹/۸۸	۱۰/۲۸	۱۱/۵۳	-	ضریب تغییرات (%)	

* و ns 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 لوپیا.

میانگین مربعات						
کاروتوئید	کلروفیل کل	b	a	کلروفیل	درجه آزادی	منابع تغییرات
*	۵*	۱*	۱*	۱*	۱	رقم
*	۳*	۳*	۵*	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 (%)	

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

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

	Chl _a	Chl _b	Chl _T	Car ^r	Chl _{a/b} ^r	Fm ^r	Fv ^r	F ₀ ^r	Chl _a ^r	Chl _b ^r	Chl _a ^r	متغیر (رقم غفار)	
Y(NPQ) ^r	1	.0/V8°	.0/V1°°	-.0/A8°°	-.0/V8°°	-.0/A6°°	-.0/V6°°	.0/65NS	-.0/A7°°	-.0/A4°NS	-.0/A5°°	-.0/V8°°	-.0/59NS
Chl _a	.0/V5°°	1	.0/V5NS	-.0/A5NS	-.0/V8°	-.0/V°	.0/V3NS	-.0/A1°°	-.0/A7°NS	-.0/A5°	-.0/A5NS	-.0/A8°	Y(NPQ) ^r
Chl _b	.0/V1°°	.0/V0°°	1	-.0/A5°°	-.0/V1°°	-.0/V7°	.0/V9°	-.0/56NS	-.0/V2NS	-.0/AV°°	-.0/A1°°	.0/V4NS	Y(NO) ^r
Chl _T	.0/V6°°	.0/V6°°	.0/AV°°	1	.0/V0°°	.0/V61NS	-.0/V6°°	.0/V8°	.0/V35NS	.0/V9°°	.0/AV°°	.0/V3NS	PAR ^r
Car ^r	.0/V5NS	-.0/V1°°	-.0/V4NS	-.0/V1°	1	.0/A3°°	-.0/V5°	-.0/A0°°	.0/V1NS	-.0/V4°°	.0/A3°°	.0/V7NS	Fv/Fm ^r
Chl _{a/b} ^r	.0/V4°°	-.0/V1°°	-.0/V4NS	-.0/V1°	1	.0/V1NS	-.0/V5°	-.0/A3°°	.0/V1NS	.0/V4NS	.0/V4°°	.0/V4NS	Fv ^r
F ₀ ^r	-.0/V4°°	-.0/V8°	-.0/V5°	-.0/V8°	.0/V5NS	1	.0/V1NS	-.0/A3°°	-.0/V1NS	.0/V1NS	.0/V4NS	.0/V4°°	Fm ^r
Fm ^r	.0/V1NS	.0/V1NS	-.0/V3NS	.0/V1NS	-.0/V39NS	.0/V27NS	1	-.0/V1NS	-.0/V7NS	-.0/V6NS	-.0/V9°°	.0/V2NS	F ₀ ^r
Fv ^r	.0/V6°°	.0/V6°	.0/V5°	.0/V9°	-.0/V8°°	-.0/V8°	.0/V27NS	1	-.0/V4NS	.0/V9°°	.0/V6NS	.0/V8°	Chl _{a/b} ^r
Fv/Fm ^r	.0/A8°°	.0/A8°°	.0/V6NS	.0/V8°°	-.0/V1°	-.0/V8°	-.0/V3NS	.0/V4°°	1	.0/V25NS	.0/V6NS	-.0/V4NS	Car ^r
PAR ^r	-.0/V6°	-.0/V6°	-.0/V5NS	-.0/V5NS	.0/V5°	.0/V8°	.0/V7NS	-.0/V1°	-.0/A1°°	1	.0/A6°°	.0/V4NS	Chl _T ^r
Y(NO) ^r	.0/V5°	.0/V6°	.0/V8°	.0/V3NS	-.0/V26NS	-.0/V7NS	-.0/V9NS	.0/V15NS	.0/V3NS	-.0/V26NS	1	.0/V3NS	Chl _b ^r
Y(NPQ) ^r	-.0/V6°	-.0/V1°°	-.0/V8°	-.0/V5°	.0/V8°	-.0/V1°	-.0/V1NS	-.0/A1°°	-.0/V8°°	.0/V6NS	-.0/V4NS	1	Chl _a ^r
متغیر (رقم غفار) (G-18)													
Chl _a ^r	Chl _b ^r	Chl _T ^r	Car ^r	Chl _{a/b} ^r	F ₀ ^r	Fm ^r	Fv ^r	Fv/Fm ^r	PAR ^r	Y(NO) ^r	Y(NPQ) ^r		

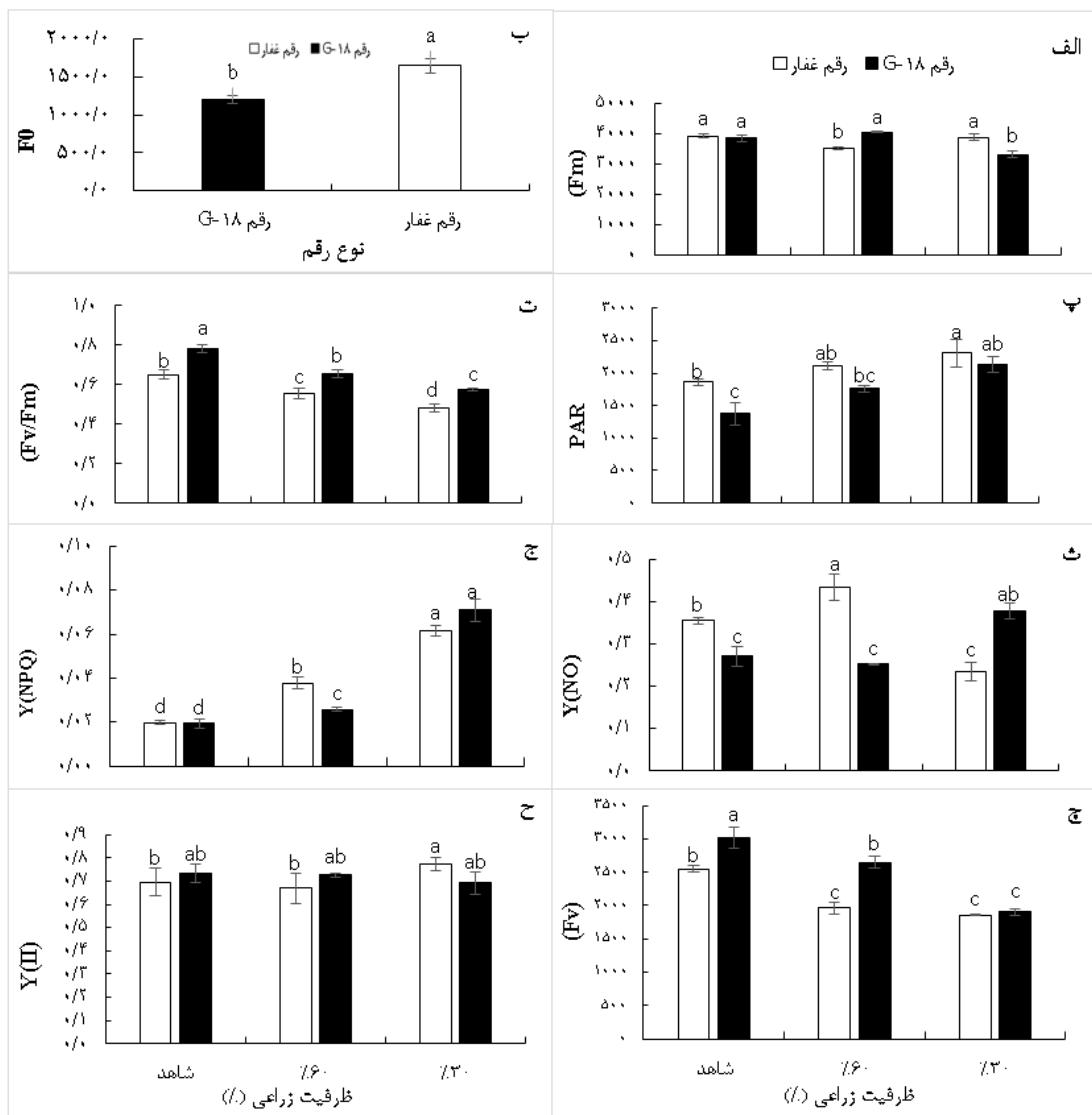
* و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد (دو جهت) و ns تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. متغیر با اندیس ۱ و ۲ به ترتیب مربوط به رقم G-18 و غفار می‌باشد.

(شکل ۱، پ). اگرچه تفاوتی در تنش ۳۰٪ و آبیاری نرمال بین ارقام G-۱۸ و غفار مشاهده نمی‌شود، اما میانگین بالاتری در رقم غفار نسبت به رقم G-۱۸ 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، درصورتی که در رقم G-۱۸ در سطح تنش شدید، میزان [Y(NO)] بیشتر از سطح تنش ملایم بود (شکل ۱، ث).

محتوای کلروفیل و رنگیزه‌های فتوسترزی: نتایج پژوهش حاضر نشان داد که با افزایش تنش خشکی از مقدار رنگیزه‌ها (کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتینوئید) کاسته شد. برهمکنش رقم و خشکی بر میزان کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاروتینوئید 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 برگ‌های رقم G-۱۸ 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 کاهشی معنی‌داری در مقدار F_v/F_m ایجاد شد، به طوریکه بیشترین نسبت F_v/F_m که شاخص مناسبی برای نشان دادن کارایی فتوسیستم دو می‌باشد، متعلق به تیمار شاهد در رقم G-۱۸ بود و اختلاف معنی‌داری با سطح تنش شدید خشکی نشان داد. این درحالی است که میزان کاهش مقدار F_v/F_m در تنش شدید نسبت به شرایط کنترل در رقم G-۱۸، ۲ درصد بیشتر از رقم غفار بود. این نتیجه نشان می‌دهد که با ادامه تنش خشکی در سطوح ۶۰ و ۳۰٪ ظرفیت زراعی، کارایی فتوشیمیابی سیستم فتوسترزی II دچار اختلال و کاهش شده است (شکل ۱، ت).

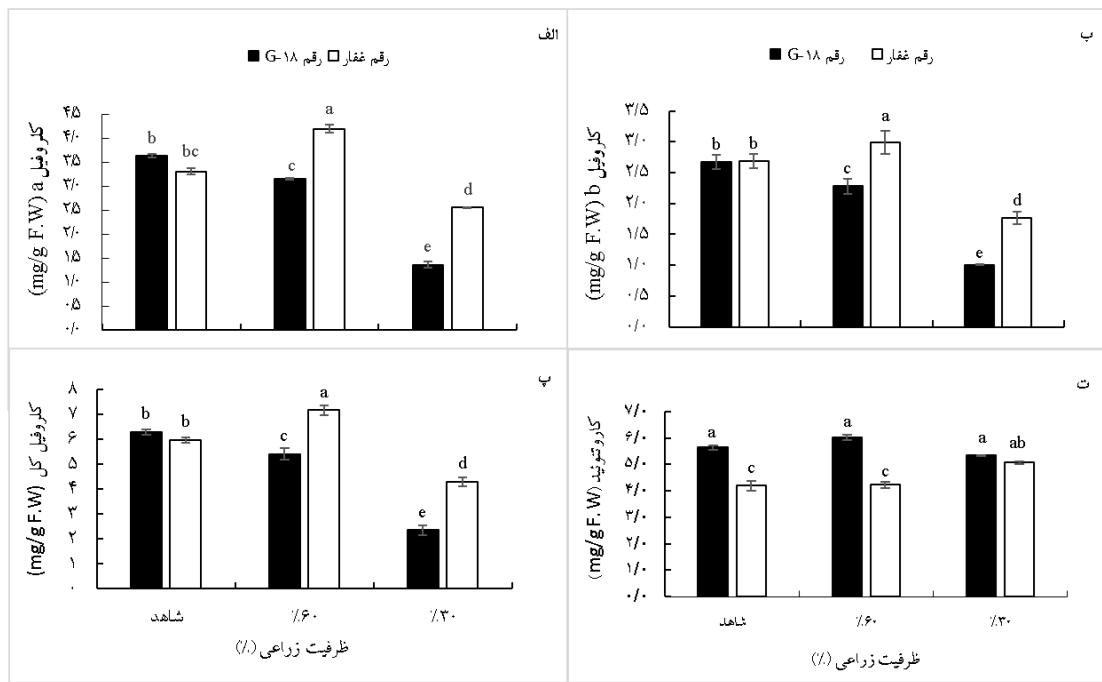
همچنین رقم غفار نسبت به رقم G-۱۸ در سطح تنش ۶۰٪ کاهش بیشتری در مقدار F_v داشته است، اما با افزایش شدت تنش از ۶۰ به ۳۰٪ ظرفیت زراعی، این دو رقم در یک گروه آماری قرار گرفتند. در تنش شدید، رقم G-۱۸ با میانگین ۱۹۰۵/۳۳ کاهش بیشتری نسبت به رقم غفار با PAR میانگین ۱۸۶۰/۳۳ داشته است (شکل ۱، ج). میزان شرایط نرمال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



شکل ۱- مقایسه میانگین برهم کش رقم و تنش برای (الف) حداقل فلورسانس کلروفیل، (ب) فلورسانس حداقل، (پ) تابش فعال فتوستتری، (ت) حداقل کارآیی کوانتمی فتوسیستم دو، (ث) کارآیی کوانتمی غیرفوشیمیابی تنظیم نشده فتوسیستم دو، (ج) کارآیی کوانتمی غیرفوشیمیابی تنظیم شده فتوسیستم دو، (چ) فلورسانس متغیر، (ح) فلورسانس متغیر، (د) مقدار میانگین ۳ تکرار غیرفوشیمیابی کارآیی کوانتمی فتوسیستم دو، (ز) میزان کلروفیل کل در هردو رقم غفار و G-18 با افزایش تنش خشکی کاهش یافت و این میزان کاهش در رقم ۱۸-۱۸ بیشتر از رقم غفار بود. این در حالی است که در تنش G ملایم خشکی، بالاترین میزان کلروفیل با میانگین ۷/۱۸ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر به رقم غفار اختصاص داشت (شکل ۲، پ).

همچنین همبستگی منفی و معنی‌داری ($R=-94^{***}$) 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 ۳۰٪ 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 کاروتینید را در ارقام G-۱۸ و غفار نشان می‌دهد. مقادیر، میانگین \pm SE تکرار ۳ است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار 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 کارآیی 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 معنی دار نیست این در حالی است که مقایسه ارقام نشان داد مقدار فلورسانس حداقل در رقم غفار دارای میانگین بالاتری نسبت به G-۱۸ است. در حقیقت F_0 هر چه کمتر باشد، بدین معناست که فعالیت‌های فتوستزی به نحو مطلوب‌تری در جریان هستند و ثبیت کربن یا به عبارتی انتقال الکترون سریع‌تر آغاز شده است. این در حالی 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 کاروتینیدها با افزایش شدت تنفس در رقم غفار افزایش یافت و بالاترین مقدار آن با میانگین ۵/۰۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر به تنفس شدید اختصاص داشت که در مقایسه با تنفس ۰/۶۰٪ (با میانگین ۴/۲۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و ۰/۳۰٪ (با میانگین ۴/۱۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) دارای تفاوت معنی داری در سطح احتمال پنج درصد بود. این در حالی است که رقم G-۱۸ تفاوت معنی داری در میزان کاروتینیدها در سطوح ۰/۳۰٪ و ۰/۶۰٪ در مقایسه با آبیاری نرمال نشان نداد (شکل ۲، ت).

بحث و نتیجه‌گیری

بمنظور ارزیابی اثر تنفس خشکی بر سیستم فتوستزی گیاه و تخمین میانگین کارآیی کوانتم فتوسیستم II (QII) از پارامترهای فلورسانس کلروفیل استفاده‌های زیادی شده است. هنگام وقوع تنفس، تسهیم انرژی بین بخش‌های فلورسانس، فرود فتوشیمیایی و فرود غیرفوتوشیمیایی یا اتلاف گرما تغییر می‌کند. در حقیقت هر عاملی که باعث کاهش فتوستز شود و یا برای سیستم تنفس زا باشد،

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

در این تحقیق، در تنفس شدید خشکی، رقم G-۱۸ کاهش بیشتری در میزان Fm داشت، بنابراین با افزایش تنفس خشکی از کارآیی کمتری در مقایسه با رقم غفار برخوردار است. بر اساس داده‌های بدست آمده از Fv/Fm و مقایسه تأثیر تنفس 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 کارآیی کمتر فتوسیستم II می‌باشد. کاهش این نسبت یا به دلیل افزایش در میزان F₀ و یا کاهش Fm و یا هردو می‌باشد. در پژوهش حاضر، در رقم غفار و G-۱۸ بترتیب همبستگی منفی معنی‌داری ($R=-0.96^{***}$) و ($R=-0.89^{**}$) بین F₀ و Fv/Fm مشاهده شد (جدول ۵) و به نظر می‌رسد که محدودیت آبی، کارآیی فتوشیمیابی فتوسیستم II را به علت افزایش در F₀ کاهش داده است. کاهش Fv/Fm در این آزمایش، احتمالاً به علت خدمات واردہ بر کاروپلاست بوده و کاهش میزان محتوای کلروفیل نیز این موضوع را تأیید می‌کند. گزارش شده است که نسبت Fv/Fm در تنفس خشکی تحت تأثیر قرار می‌گیرد و تفاوت ژنتیک‌های حساس و مقاوم در تنفس‌های شدید پدیدار می‌شود (۳۹). Li و همکاران (۲۰۱۰) (۲۱) نیز نتایج مشابهی مبنی بر کاهش Fv/Fm گزارش کردند. همین گزارش شده است که کاهش نسبت Fv/Fm و Fm تحت تنفس خشکی در گیاه لویا 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 تنفس خشکی، نتیجه‌ی کاهش یکپارچگی غشاء تیلاکوئید عنوان کردند. Soheyli Movahed و همکاران (۲۰۱۶) (۴۲) افزایش F₀ را تحت تنفس خشکی در ارقامی از لویا چیزی گزارش کردند. از آنجایی که رقم G-۱۸ از مقدار کمتری از فلورسانس حداقل برخوردار بود، می‌توان گفت که دستگاه فتوستتری این رقم از کارآیی بالاتری در انتقال الکترون برخوردار می‌باشد. Zair و همکاران (۲۰۰۳) (۵۰) اظهار نمودند که تنفس به تنهایی تغییرات معنی‌داری در F₀ ایجاد نمی‌کند. در حالی که Behra و همکاران (۲۰۰۲) (۶) مشخص کردند که F₀ توسط تنفس‌های 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 تنفس خشکی، پارامترهای Fm و حداثر کارآیی کوانتوومی فتوسیستم II برای تبدیل انرژی نور جذب شده به انرژی شیمیابی کاهش می‌یابد. Fm در اثر تابش فوتون‌های نوری و احیای همه ناقل‌های الکترون و بسته بودن (اشیاع) همه مراکز واکنشی ایجاد می‌شود (۲۴). وقتی همه مراکز واکنشی فتوسیستم II بسته است، نشان دهنده افزایش تدریجی عملکرد فلورسانس و کاهش سرعت واکنش‌های فتوشیمیابی است و هرچه سیستم دیرتر بسته شود، یعنی قادر باشد تعداد الکترون‌های بیشتری را پذیرد، آن بالاتر یا سیستم کاراتر خواهد بود. در حقیقت، افزایش فلورسانس از F₀ به علت کاهش QB و مخزن Fv/Fm بزرگی از پلاستوکوئینون می‌باشد. همچنین پارامتر Fv/Fm به عنوان یک ابزار موثر در کشف آسیب‌های واردہ به دستگاه فتوستتر 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 آسیمیلاسیون CO_2 در این سطوح است (۱۷).

یکی دیگر از پارامترهای فیزیولوژیکی متأثر از تنش خشکی، محتوای کلروفیل و کاروتونئید 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 بیوسترزی رنگدانه‌های فتوسترزی و همچنین القای تجزیه شدن یا مهار ستز آن‌ها در شرایط تنش نسبت داد. آنزیم گلوتامات لیگاز از جمله این آنزیم‌ها است که نقش مهمی در ستز کلروفیل دارد و کاهش ستز کلروفیل تحت شرایط تنش خشکی به دلیل ممانعت از فعالیت آنزیم گلوتامات لیگاز می‌باشد (۱۱). از دلایل دیگر کاهش مقدار رنگیزه‌های فتوسترزی تحت تنش خشکی را می‌توان عموماً به تخریب ساختمان کلروپلاست و دستگاه فتوسترزی، فتواکسیداسیون کلروفیل‌ها، واکنش آنها با اکسیژن یکتایی 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). بطэр کلی می‌توان گفت که کاهش در مقادیر کلروفیل تحت تنش خشکی به علت تخریب بیشتر کلروفیل نسبت به ستز آن است.

Hosseinzadeh و همکاران (۲۰۱۶) 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، درنتیجه 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 (QC) و ممانعت از فتواکسیداسیون فتوسیستم II باشد (۲۴). در نتیجه میزان کارآیی کواترمی فتوسترز خالص کاهش می‌یابد. در تحقیق حاضر، همبستگی منفی معنی‌دار بین Fv و F0 نشان داد که همزمان با افزایش F0 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 گرمایی می‌باشد (۱۰). بدین‌ترتیب از توان دستگاه فتوسترز کننده کاسته می‌شود که خود یک مکانیسم دفاعی در برابر اکسایش فتوسیستم‌های I و II به شمار می‌آید و به بازدارندگی نوری معروف است (۳۶). چنانچه مکانیسم‌های پراکنش انرژی مانند NPQ کارآیی موثری را داشته باشند، آسیب ناشی از بازدارندگی نوری قابل جبران است، در غیر این صورت، موجب آسیب غیر قابل برگشت به سیستم فتوسترز کننده می‌شود. با توجه 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، (NO)Y در تنش ۳۰ و ۶۰٪ بترتیب در رقم غفار و G-۱۸ افزایش یافت و علت

مشاهده نشد. می‌توان گفت رقم G-۱۸ با حفظ ظرفیت کاروتوئیدی خود، آسیب‌های ناشی از تنفس خشکی را تعدیل کرده است. Silva (۲۰۰۷) (۴۱) نیز کاهش محتوای کاروتوئید را تحت تنفس خشکی در لوپیا گزارش کرد. در حالی که Emadi و همکاران (۲۰۱۲) (۱۲)، افزایش میزان کاروتوئید را تحت تنفس خشکی در لوپیا چیزی گزارش کردند. کاهش محتوای کاروتوئید ظاهراً به دلیل اکسید شدن توسط اکسیژن فعال و تخریب ساختار آن‌ها است (۴۵). می‌توان نتیجه گرفت که تأثیر تنفس خشکی بر میزان کاروتوئیدها در ارقام و گونه‌های گیاهان مختلف یکسان نیست و پاسخ‌های متفاوتی دیده می‌شود.

تنفس‌های گیاهی از جمله تنفس خشکی، اثر بازدارنده بر فعالیت‌های مختلف دستگاه فتوستراتی بخصوص فعالیت فتوسیستم II. در رقم‌های مختلف لوپیا می‌گذارد. در این بررسی مشخص شد که پارامترهای فلورسانس کلروفیل به همراه محتوای کلروفیل، نقش ویژه‌ای در بررسی اثرات تنفس خشکی بر سیستم‌های فتوستراتی 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 تنفس خشکی داشته است، بنابراین بدلیل کارآئی 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 فتوسترات، پارامترهای وابسته به آن و محتوای نسبی آب گیاه آنسیون (*Pimpinella anisum* L.)، مجله پژوهش‌های گیاهی، ۲۷: ۸۲۹-۸۳۹

اکسیداتیو ناشی از ROS (گونه‌های فعال اکسیژن) در سلول‌های برگی و تجزیه این رنگدانه‌ها دانسته‌اند. کاهش رنگیزه‌های فتوستراتی تحت تنفس خشکی در لوپیا چشم بلبلی، چند واریته دیگر لوپیا و آنسیون توسط محققین به ثبت رسیده است (۳۶، ۱). همچنین افزایش محتوای رنگیزه‌های کلروفیلی گیاه به لیمو تحت تنفس خشکی ملایم توسط محققین به ثبت رسیده است (۲). مقایسه تغییرات مقادیر کلروفیل a و b در تحقیق حاضر نشان داد که در اثر تنفس خشکی، میزان کاهش کلروفیل a در رقم G-۱۸ بیشتر از میزان کاهش کلروفیل b آن است. کاهش میزان کلروفیل a در اثر تنفس 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 تنفس خشکی بر کاهش میزان کلروفیل a در گیاهان زراعی از جمله لوپیا 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 فتوستراتی در جهت کاهش نسبت PSI در شرایط تنفس خشکی است (۲۰).

کاروتوئیدها در شرایط تنفس 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 یافا می‌کنند. کمبود خفیف آب باعث افزایش میزان کاروتوئیدها می‌شود، در حالی که کمبود شدید آب موجب کم شدن میزان کاروتوئیدها می‌شود (۲۶). در این مطالعه، میزان کاروتوئیدها در رقم غفار افزایش یافت، اما در رقم G-۱۸ اختلاف معنی‌داری

منابع

1. حیدری، ن.، پوریوسف، م. و توکلی، ا.، (۲۰۱۵)، «تأثیر تنفس

- Lippia citriodora* فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه به لیمو و HBK، «محله 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 Transferation 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. Haghghi, (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.
 14. 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 Trickler 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. Toorchini, 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., Chlyyah, A., Sabounji, K., Tittahsen, M., and Chlyyah, 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 tints 30, 60 and 100% crop capacity (FC) and cultivars G-18 and ghafar 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