اثر تنش خشکی بر فلورسانس، مقدار و شاخص کلروفیل چهار پایه دانهالی پسته

مصطفی قاسمی، کاظم ارزانی[۱] *، عباس یدالهی و حسین حکم آبادی

دانشجوی سابق دکتری باغبانی، دانشگاه تربیت مدرس تهران، ایران ، **mostafaghasemi1417@gmail.com**

استاد گروه باغبانی، دانشگاه تربیت مدرس تهران، ایران ، **arzani_k@modares.ac.ir**

استادیار گروه باغبانی، دانشگاه تربیت مدرس تهران، ایران ، **yadollahiabbas@gmail.com**

دانشیار پژوهش موسسه تحقیقات پسته کشور، رفسنجان، ایران ، **Hokmabadi@pri.ir**

چکیده

فلورسانس کلروفیل یک ابزار غیر تخریبی برای تخمین کارایی فتوشیمیایی و موقعیت فتوسنتزی در گیاهان می باشد و به طور گسترده ای در ارزیابی پاسخ گیاهان به تنش های محیطی مورد استفاده قرار گرفته است. در این راستا این پژوهش با هدف ارزیابی اثر تنش خشکی روی فلورسانس، مقادیر و شاخص کلروفیل و همچنین بیوماس چهار پایه دانهالی پسته رشد یافته در شرایط گلخانه انجام گرفت. پایه های مورد بررسی شامل بادامی زرند (*Pistacia vera cv. Badami-e-Zarand*)، قزوینی (*P. vera* cv. Ghazvini)، سرخس (*P. vera*) و بنه *P. mutica* بودند. نتایج نشان داد که تنش آبی نسبت F_V/F_m (که نشان دهنده حداکثر کارایی فتوسیستم II می باشد)، مقادیر کلروفیل و بیوماس گیاهان را کاهش داد. بیشترین میزان نسبت F_V/F_m در گیاهان شاهد (آبیاری کامل) مشاهده شد و تفاوت معنی داری با تنش شدید داشت. تفاوت بین پایه های مورد بررسی به جز پایه *P. mutica* که بالاترین عملکرد کوانتومی PSII را نشان داد، در اغلب موارد معنی دار نبود. بیشترین و کمترین غلظت کلروفیل نیز در تیمارهای آبیاری به ترتیب متعلق به شاهد و تنش شدید بود. اثر ژنوتیپ نیز بر مقادیر کلروفیل (کلروفیل a، b، کل و شاخص کلروفیل) معنی دار بود و بیشترین و کمترین مقدار این پارامترها به ترتیب متعلق به پایه بنه و سرخس بود. از نظر وزن خشک ساقه، ریشه و برگ، پایه‌های، بنه و بادامی کمتر تحت تأثیر خشکی قرار گرفتند. بر اساس نتایج تنش خشکی اثرات منفی بر پایه های دانهالی پسته داشت و پایه بنه نسبت به سایر پایه ها مقاومت بیشتری نشان داد.

واژه های کلیدی: بیوماس، زیست توده، عملکرد کوانتومی، نسبت F_V/F_m

مقدمه

تنش آبی یکی از مهم ترین عوامل محیطی محدود کننده فتوسنتز در گیاهان می باشد (ساید، ۲۰۰۳). در اثر تنش خشکی، روزنه ها در پاسخ به آبسزیک اسید منشا گرفته از ریشه یا برگ بسته شده و در نتیجه فتوسنتز کاهش می یابد. از جمله دلایل دیگر کاهش فتوسنتز در شرایط تنش،اختلال در فعالیت فتوسیستم II می باشد که معمولا با طولانی شدن دوره تنش اتفاق می افتد (مک دونالد و همکاران، ۱۹۹۳).

یکی از روش های تعیین اختلال در سیستم فتوسنتزی، اندازه گیری فلورسانس کلروفیل است که

---

[۱] نویسنده مسئول، آدرس: گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

* دریافت: آذر ۱۳۹۱و پذیرش:آبان ۱۳۹۲

بازتاب وضعیت فتوشیمیایی گیاه می باشد. (محمدی و همکاران، ۱۳۸۷). مقدار فلورسانس کلروفیل، سالم بودن غشای تیلاکوئید و کارآمدی نسبی انتقال الکترون را از فتوسیستم دو به فتوسیستم I نشان می دهد. بخش عمده‌ای از انرژی نورانی خورشید که به وسیله برگ دریافت می شود صرف فرایندهای بیوشیمیایی می شود، اما ممکن است بخش کوچکی از نور دریافت شده به صورت گرما و یا مجددا از مراکز واکنش در طول موج بلندتری بازتاب کند که به آن فلورسانس کلروفیل می‌گویند (سلطانی، ۲۰۰۴). اگر بیشتر انرژی مولکول برانگیخته به صورت انرژی گرمایی یا فلورسانس ساطع شود، انرژی برای واکنش های فتوشیمیایی کمتر می شود. در نتیجه تولید و ذخیره فرآورده های انتقال الکترون یعنی NADPH و ATPدر واکنش های نوری فتوسنتز کاهش و لذا عملکرد کوانتومی فتوسیستم دو (ΦPSII) کاهش پیدا می کند (عشقی زاده و احسان زاده، ۱۳۸۸).

صمیمی سده و همکاران (۱۳۸۶) با بررسی روی گندم نشان دادند هر چه فلورسانس کلروفیل لاین‌های گندم کمتر باشد از نور دریافتی استفاده بیشتری می کنند و مقاومت بیش تری به خشکی خواهند داشت. گزارش شده که تفاوت ژنوتیپ های حساس و مقاوم از نظر F_v/F_m در تنش های شدید پدیدار می شود و ژنوتیپ های با نسبت بالای F_v/F_m در شرایط تنش شدید کارایی فتوسنتزی بالاتری دارند (ساید، ۲۰۰۳). در گیاهان سه کربنه، تبادلات گازی می توانند میزان تنش آبی را در مراحل خیلی ابتدایی نشان دهند اما روش های فلورومتری استاندارد[1] فقط تنش آبی متوسط تا شدید را مشخص می کنند(بورک، ۲۰۰۷). پایداری کلروفیل نیز به عنوان یک معیار مقاومت به خشکی برای انتخاب ارقام پیشنهاد شده است (سی‌و سه‌مرده و همکاران، ۱۳۸۳). کاهش میزان کلروفیل در شرایط تنش خشکی می تواند به عنوان یک عامل محدودکننده غیرروزنه‌ای کاهش فتوسنتز باشد(بهرا و همکاران، ۲۰۰۲). تفاوت در میزان تبادلات گازی ژنوتیپ های پسته به وسیله روزبان و همکاران (۱۳۸۸) و حکم آبادی و همکاران (۱۳۸۴) گزارش شده است. هدف این پژوهش، بررسی اثر تنش خشکی بر روی پارامترهای فلورسانس کلروفیل، محتوا و شاخص کلروفیل برگ و همچنین وزن خشک ساقه، ریشه و برگ در چهار پایه دانهالی پسته به منظور گزینش ژنوتیپ متحمل به خشکی بود

مواد و روش ها

این تحقیق درسال زراعی ۱۳۹۱-۱۳۹۰ با استفاده از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک های کاملا تصادفی با سه تکرار در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس تهران روی چهار پایه دانهالی پسته به نام‌های بادامی زرند، قزوینی، سرخس و بنه(پسته وحشی) صورت گرفت. سه پایه اول، ارقامی از گونه *Pistacia vera* هستند و پایه بنه ازگونه *P. mutica* می باشد. بذور پایه های پسته در اواخر زمستان در گلدان‌های ۱۱ لیتری کشت شدند. دمای متوسط روزانه گلخانه ۳۵-۲۷ درجه سانتیگراد، دمای متوسط شبانه ۲۵-۱۹ درجه سانتیگراد و رطوبت نسبی ۵±۳۷ درصد بود. پس از رشد و مراقبت های لازم از گیاهان، تیمارهای آبیاری روی دانهال های ۴ ماهه اعمال شد. تیمارهای آبیاری شامل سه سطح آبیاری شاهد یا ۱۰۰ درصد ET_c، تنش متوسط یا ۶۵ درصد ET_c و تنش شدید یا ۳۰ درصد ET_c بودند. برای اعمال تنش از روش وزن کردن گلدان ها استفاده شد. به طوری که در گیاهان شاهد، همواره همه مقدار آب تبخیرو تعرق شده از گیاه و سطح خاک به گلدان ها برگردانده می شد. اما در تیمار تنش متوسط، ۶۵ درصد و در تیمار شدید، ۳۰ درصد آبی که به گیاهانی شاهد داده می شد به گلدان ها اضافه می شد.

اندازه گیری فلورسانس کلروفیل

اندازه گیری فلورسانس کلروفیل در پنج مرحله در طی فصل رشد و با استفاده از دستگاه تنش‌سنج گیاهی[2] انجام گرفت. قابلیت این دستگاه در تخمین میزان آسیب

[1] Standard fluorometer methods

[2] - Plant stress meter

وارده به فتوسیستم دو در اثر تنش های مختلف مانند خشکی (گرزسیاک و همکاران، ۲۰۰۳؛ لی و همکاران، ۲۰۰۶) ، شوری (مورانت- مانسئو و همکاران، ۲۰۰۴)، سرما (گری و همکاران، ۱۹۹۷ ؛ ریزا و همکاران، ۲۰۰۱) و فلزات سنگین (موستاکاس و همکاران، ۱۹۹۳) گزارش شده است و پژوهشگران توانسته اند با این ابزار کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم دو را اندازه‌گیری کنند. در این پژوهش اندازه گیری های فلورسانس کلروفیل، دو هفته پس از شروع تیمارها و با فواصل ۱۵ روزه، قبل از آبیاری مجدد در بین ساعات ۱۱ تا ۱۳، روی برگ های کاملا توسعه یافته انجام گرفت (اونیل و همکاران، ۲۰۰۶). برای این منظور ابتدا، با اتصال گیره‌های مخصوص دستگاه به برگ هر یک از پایه‌ها،۳۰ دقیقه تاریکی ایجاد شد. بعد از این زمان با اتصال رابط دستگاه استرس‌متر به هر یک از این گیره ها و تابیدن نور قرمز توسط دستگاه، اندازه گیری ها صورت گرفت.

شاخص F_v/F_m در برگ سازگار شده به تاریکی، نشان‌دهنده‌ی حداکثر کارایی کوانتوم فتوسیستم II می‌باشد و به طور گسترده‌ای برای نشان دادن اختلال ایجادشده در مراکز فتوشیمیایی در اثر تنش استفاده شده است و از رابطه $F_v/F_m=(F_m-F_0)/F_m$ به دست می آید (جانسون و همکاران، ۱۹۹۳؛ یاماساکی و همکاران، ۲۰۰۲). از آنجا که در برگ‌های سازگار شده به تاریکی همه مراکز واکنش فتوسیستم دو باز (اکسیده) هستند، با تابیدن نور قرمز توسط دستگاه، واکنش فتوشیمیایی (تثبیت گازکربنیک) آغاز می‌شود و سیستم دارای کمترین فلورسانس (F_o) است. F_0 هر چقدر کمتر باشد بدین معناست که تثبیت کربن یا به عبارتی انتقال الکترون سریع‌تر آغاز شده است. تنش‌های محیطی با ایجاد تغییرات ساختاری و خسارت به مراکز واکنش فتوسیستم II موجب افزایش شدید فلورسانس اولیه می‌شوند (آندریوز و همکاران، ۱۹۹۵). به تدریج با افزایش احیا شدن مولکول‌های کوئینون(گیرنده الکترون فتوسیستم دو) ، فلورسانس افزایش می‌یابد. این روند تا احیای کامل مولکول‌های آن ادامه می‌یابد. در چنین حالتی مرکز فتوسیستم در حالت احیای کامل بوده و دارای بیش‌ترین فلورسانس (F_m) می باشد. هرچه سیستم دیرتر بسته شود یعنی قادر باشد تعداد الکترون‌های بیشتری را بپذیرد، F_m آن بالاتر یا سیستم کاراتر خواهد بود (گیتلسون و همکاران، ۱۹۹۹). رابطه F_v/F_m از پارامترهای ذکر شده در فوق به دست می آید و تنش های محیطی با تحریک فرآیندهای کاهشی و خسارت نوری به مراکز واکنش فتوسیستم دو سبب کاهش این نسبت می شوند (جانسون و همکاران، ۱۹۹۳ ؛ ما و همکاران، ۱۹۹۵). شدت نور و مدت اندازه‌گیری مورد استفاده بر ای هر نمونه به ترتیب روی شدت ۴۰۰ میکرومول فوتون بر مترمربع بر ثانیه و ۵ ثانیه تنظیم شد و داده های گزارش شده توسط دستگاه ثبت گردید.

اندازه گیری محتوای کلروفیل برگ و شاخص کلروفیل برگ

در پایان آزمایش، به منظور تعیین میزان کلروفیل برگ، ۰/۵ گرم برگ تازه در هاون چینی له و به وسیله ۱۰ml استون ۸۰ درصد عصاره گیری شد. عصاره به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و جذب روشناورها در طول موج ۶۶۳ و ۶۴۵ با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. استون ۸۰ درصد به عنوان بلانک استفاده و برای محاسبه مقادیر کلروفیل(میلی گرم در هر گرم برگ تازه) از معادلات ارائه شده زیر استفاده شد (کیژداث و سانتا، ۲۰۱۱).

معادله ۱:کلروفیل a $(mg/g)= [۱۲/۷(A۶۶۳)-۲/۶۹(A۶۴۵)] \times V/(1000\times W)$

معادله ۲:کلروفیل b $(mg/g)= [۲۲/۹(A۶۴۵)-۴/۶۸(A۶۶۳)] \times V/(1000\times W)$

معادله ۳: کلروفیل کل $(mg/g)=[۲۰/۲(A۶۴۵)+۸/۰۲(A۶۶۳)] \times V/(1000\times W)$

در اینجا A، میزان جذب در طول موج موردنظر ،V حجم عصاره کلروفیل (۱۰ml) و W وزن تر برگ مورداستفاده (۰/۵ g) می باشد. همچنین همزمان با اندازه گیری میزان کلروفیل برگ، شاخص کلروفیل برگ نیز با استفاده از دستگاه کلروفیل متر دستی CCM-200 (ساخت آمریکا) اندازه گیری شد. دستگاه اندازه گیری کلروفیل برگ، تخمینی از کلروفیل برگ را بدون ایجاد

تخریب در برگ فراهم می سازد(قاسمی و همکاران، ۲۰۱۱).

اندازه‌گیری پارامترهای رشدی

به منظور بررسی اثرات سطوح مختلف آبیاری بر پارامترهای رشدی در انتهای دوره آزمایش پارامترهایی مانند وزن خشک ریشه، ساقه و برگ اندازه‌گیری شدند. در انتهای آزمایش گیاهان از گلدان‌ها خارج و اقدام به شستن ریشه های آن‌ها گردید. به منظور اندازه گیری وزن خشک اندام‌ها، گیاهان به اندام‌های ریشه شاخه و برگ تقسیم شدند. جهت اندازه‌گیری وزن خشک نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد در آون خشک شدند. تجزیه و تحلیل داده های به دست آمده با استفاده از نرم افزارSPSS انجام شدند.

نتایج

شاخص های فلورسانس کلروفیل

نتایج نشان داد تاثیر سطوح مختلف تنش آبی بر میزان پارامتر فلورسانس حداقل (F_0) معنی دار نبود. پارامترF_v به طور معنی داری تحت تاثیر تنش خشکی قرار گرفت و کاهش یافت. در همه مراحل اندازه گیری، بیشترین مقدار F_v متعلق به تیمار شاهد بود و با تیمار تنش شدید اختلاف معنی داری نشان داد. اختلاف این پارامتر بین سطوح تنش متوسط و شدید در هیچیک از مراحل اندازه گیری معنی دار نبود. بیشترین میزان F_m نیز متعلق به تیمار شاهد بود و این سطح (شاهد) با سطوح دیگر تنش تفاوت معنی داری نشان داد اما این تفاوت در هیچیک از مراحل اندازه گیری بین تیمار تنش متوسط و شدید معنی دار نبود. آبیاری اثر معنی داری روی پارامتر F_v/F_m داشت (سطح احتمال ۱ درصد). اما اثر پایه و اثر برهمکنش آبیاری و پایه، تنها در آخرین مرحله اندازه گیری معنی دار بود. در این مرحله (۷۵ روز پس از تنش) اثر پایه و اثر برهمکنش آبیاری و پایه به ترتیب در سطح ۱ و ۵ درصد معنی دار بودند.

مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن نشان داد بیشترین نسبت F_v/F_m متعلق به تیمار شاهد بود و اختلاف معنی داری با سطح شدید تنش نشان داد. اما تفاوت بین سطح متوسط و شدید تنش معنی دار نبود. در دو مرحله اول اندازه گیری، اختلاف این پارامتر بین تیمار شاهد و تیمار تنش متوسط معنی دار نبود و پس از آن معنی دار شد. اثرات آبیاری بر پارامترهای فلورسانس کلروفیل در جدول ۱ آورده شده است. نتایج همچنین نشان داد پایه های مورد بررسی تنها در آخرین مرحله اندازه گیری (۷۵ روز پس از اعمال تنش) در پارامتر F_v/F_m ، تفاوت معنی داری در سطح ۱درصد نشان دادند. در این مرحله بیشترین میزان F_v/F_m که شاخص مناسبی برای نشان دادن کارایی فتوسیستم دو می‌باشد، متعلق به پایه بنه بود و پس از آن پایه های بادامی، قزوینی و سرخس قرار داشتند. پایه بنه تفاوت معنی داری با سایر پایه‌ها داشت. پایه بنه تفاوت معنی داری از نظر پارامتر F_v/F_m در بین سه سطح آبیاری نشان نداد. تفاوت بین پایه های بادامی، قزوینی و سرخس نیز معنی دار نبود. اثرات متقابل تنش نیز تنها در آخرین مرحله اندازه گیری و در سطح ۵ درصد معنی دار بود و در هیچ‌یک از مراحل قبلی معنی دار نبود (شکل۱). همان طور که مشاهده می‌شود در همه سطوح آبی، بیشترین مقدار این پارامتر متعلق به پایه بنه بود و تفاوت معنی داری با سایر پایه ها نشان داد.

محتوای کلروفیل برگ و شاخص کلروفیل(CCI)

تفاوت معنی داری در پارامترهای محتوا و شاخص کلروفیل برگ در بین سطوح تنش و همچنین بین پایه های مورد بررسی مشاهده شد. بنابراین تیمار آبیاری و نوع پایه اثر معنی داری بر محتوای کلروفیل برگ و شاخص کلروفیل داشتند. اما نتایج نشان داد برهمکنش بین آبیاری و پایه در هیچیک از دو سطح ۰/۰۱ و ۰/۰۵ معنی دار نبود. اثرات آبیاری و نوع پایه بر مقادیرکلروفیل a، b، کلروفیل کل و شاخص کلروفیل در جدول ۲ آورده شده است. همانطور که در جدول ۲ مشاهده می شود بیشترین مقدار همه پارامترهای اندازه گیری شده متعلق به تیمار شاهد و کمترین آن متعلق به تنش شدید آبی می باشد. یعنی تنش آبی شدید اثر معنی داری روی همه

پارامترهای اندازه گیری شده در مقایسه با شاهد داشت. در تیمار تنش متوسط نیز به جز میزان کلروفیل b، سایر پارامترها با شاهد تفاوت معنی داری نشان دادند. همچنین با مشاهده میانگین پارامترهای اندازه گیری شده در بین ژنوتیپ ها، مشاهده می شود که تنها بین پایه سرخس با بقیه تفاوت وجود دارد و بین سایر پایه ها تفاوت معنی داری مشاهده نشد.

وزن خشک ساقه، ریشه و برگ

تجزیه واریانس اثرات خشکی بر روی وزن خشک ساقه، ریشه و برگ نشان داد که تنش خشکی سبب کاهش قابل توجهی در وزن خشک ساقه، ریشه و برگ گیاهان مورد بررسی گردید. بیشترین کاهش در همه پارامترهای رشدی متعلق به تیمار تنش شدید بود. بین هر سه سطح آبیاری تفاوت در سطح یک درصد معنی دار بود. از بین همه اندامها وزن خشک برگ بیشتر تحت تأثیر تنش خشکی قرار گرفت و حساسیت بیشتری نشان داد و اندامهای ساقه و ریشه در مراتب بعدی حساسیت بودند. یعنی ریشه به میزان کمتری تحت تأثیر خشکی قرار گرفت. وزن خشک ساقه، ریشه و برگ در تیمارهای تنش متوسط و شدید، به ترتیب ۵۵-۷۱، ۴۰-۵۸ و ۵۷-۷۶ درصد نسبت به شاهد کاهش یافت. تفاوت در وزن خشک ساقه، ریشه و برگ بین پایه‌ها نیز معنی دار بود.

به طوری که بیشترین وزن خشک ساقه، ریشه و برگ متعلق به پایه بادامی بود و کمترین میزان متعلق به پایه بنه بود. گرچه بین پایه بنه و سرخس تفاوت معنی داری یافت نشد. اثرات متقابل تنش آبی و پایه نشان داد از نظر وزن خشک ساقه و برگ پایه بنه کمتر از سایر پایه‌ها تحت تأثیر تنش خشکی قرار گرفت و وزن خشک ساقه و برگ این پایه در تیمارهای تنش آبی، کاهش کمتری نسبت به شاهد نشان داد. در حالی که از نظر وزن خشک ریشه، پایه بادامی کمتر تحت تأثیر خشکی قرار گرفت و پس از آن پایه های بنه، قزوینی و سرخس قرار داشتند (شکل ۲). پایه های سرخس و قزوینی بیشتر از سایر پایه‌ها تحت تأثیر تنش خشکی قرار گرفتند.

بحث

به منظور ارزیابی اثر خشکی بر سیستم فتوسنتزی گیاه و تخمین میانگین کارایی کوانتوم فتوسیستم دو (ΦII)از پارامترهای فلورسانس کلروفیل استفاده زیادی شده است. محدودیت آبی با آسیب به مرکز فتوسیستم II، سبب افزایش شدید انرژی برانگیختگی غیرتشعشعی و افزایش بازدارندگی نوری (کاهش کارآیی مصرف فوتون ها توسط این فتوسیستم) می شود که منجر به آزادسازی انرژی به صورت فلورسانس و حرارت می شود، لذا کارایی فتوسیستم II کاهش می یابد (محمد و همکاران، ۱۹۹۶). نتایج نشان داد تفاوت داده های مربوط به F_v/F_m بین تیمارهای آبیاری معنی دار بود. بنابراین قابلیت فتوسیستم II برای انجام فرآیندهای اولیه فتوشیمیایی بطور معنی داری تحت تاثیر تنش آبی قرار گرفت. به طوری که بالاترین کارایی در تیمار آبیاری کامل (شاهد) بدست آمد.

نتایج عشقی زاده و احسان زاده (۱۳۸۸) روی هیبریدهای ذرت نتایج نشان داد که فلورسانس حداقل، اختلاف معنی داری در سطح ۱درصد داشت اما در سایر موارد تفاوت معنی داری وجود نداشت. بررسی روی سیب زمینی نشان داد که تنش خشکی سبب کاهش Fv/Fm شد و با رفع تنش مجددا به حالت طبیعی بازگشت (باسو و همکاران، ۱۹۹۸) اما در بررسی دیگری روی گندم زمستانه تغییری در نسبت Fv/Fm مشاهده نشد (شانگوان و همکاران، ۲۰۰۰). گزارش شده نسبت Fv/Fm در حد ۰/۸۵ در گیاهان تحت سلامت کامل و بدون وجود تنش بدست می آید و مقادیر کمتر از ۰/۸۵ حاکی از وجود انواع تنش های زنده و غیر زنده روی گیاهان می باشد (کلاجی و گوئو، ۲۰۰۸). از آنجا که داده های بدست آمده از Fv/Fm حتی در گیاهان شاهد که در وضعیت آبی مناسبی بودند کمتر از ۸۵/ بودند می توان بیان کرد که برخی از تنش ها از جمله تنش دمای بالا این نسبت را کاهش داده است. نسبت F_v/F_m در پایه های متحمل به خشکی بالاتر گزارش شده است. پایین تر بودن نسبت F_v/F_m حاکی از کارایی کمتر فتوسیستم دو می

باشد. کاهش در نسبت Fv/Fm به دلیل افزایش در میزان F_oیا کاهش F_m و یا هر دو می باشد. نتایج ما نشان داد کاهش این نسبت تحت شرایط محدودیت آبی، ناشی ازکاهش Fm بود. یعنی محدودیت آبی کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم دو را به علت کاهش فلورسانس ماکزیمم کاهش داد که با نتایج ممنوعی و سید شریفی (۱۳۸۹) همخوانی دارد. همچنین گزارش شده است که بر اثر تنش آبی، محتوای رنگدانه های فتوسنتزی (کلروفیل a وb) در برگ ها کاهش می یابد. کلروپلاست های بیشتر گیاهان در غشاهای تیلاکوئیدی دارای دو نوع کلروفیلa و bهستند. کلروفیل b به گیاه این امکان را می دهد تا از طیف نوری وسیعتری نسبت به حالتی که کلروفیل a تنها وجود دارد، استفاده و فتوسنتز کند. هنگامی که ملکول کلروفیل b نور را جذب می کند، انرژی را به ملکول کلروفیل a انتقال می دهد (بورس، ۱۹۹۱ ؛ وو و همکاران، ۲۰۰۸). بررسی محتوای نسبی کلروفیل و همچنین شاخص کلروفیل ژنوتیپ ها (اندازه گیری توسط CCM-200) در تیمارهای مختلف آبی نشان داد، که با افزایش محدودیت آبی، مقدار کلروفیل کاهش یافت و قرائت کلروفیل مترعدد کوچکتری را نشان داد. کاهش در میزان کلروفیل می تواند در نتیجه تخریب کلروفیل در اثر تنش آبی باشد و می تواند فتوسنتز خالص را نیز کاهش دهد. البته کاهش در میزان فتوسنتز در درجه اول ناشی از بسته شدن روزنه ها می باشد (اومدی، ۱۳۸۹؛ یاداوا، ۱۹۸۹). گزارش شده که کاهش پروتئین محلول و کلروفیل با کاهش فعالیت روبیسکو در برگ همراه است (هولادی و همکاران، ۱۹۹۲). صفی خانی (۲۰۰۶) با بررسی روی بادرشبویه نشان داد که تنش خشکی سبب کاهش میزان کلروفیل a و افزایش میزان کلروفیل b شد. در بررسی دیگری روی بابونه مقدار کلروفیل a و b و در نتیجه کلروفیل کل در شرایط تنش خشکی کاهش پیدا کرد اما بر میزان کارتنوئیدهای برگ اضافه شد (آرزمجو و همکاران، ۱۳۸۹). کاهش در میزان کلروفیل‌ها در اثر تنش خشکی به علت افزایش تولید رادیکال های آزاد اکسیژن در سلول است که این رادیکال ها سبب پراکسیداسیون و تجزیه این رنگدانه ها می شوند (شوتز و فانگمیر، ۲۰۰۱). در تنش های شدید، میزان کاروتنوئیدها که به عنوان حمایت کننده ای برای کلروفیل ها در برابر اکسیداسیون نوری محسوب می شوند افزوده می شود تا مانع تخریب بیشتر کلروفیل ها گردد (آرزمجو و همکاران، ۱۳۸۹). بررسی دیگری روی پایه های پسته نشان داد که تنش شوری اثر معنی داری روی مقادیر کلروفیل نداشت (حکم‌آبادی و همکاران، ۱۳۸۴). گراوس و ویلسون (۱۹۸۷) نشان دادند که فلورسانس کلروفیل، ابزار توانمندی برای تمایز بین درجات مقاومت به یخ زدگی در بافت برگ جدا شده ژنوتیپ های تحت کشت سیب زمینی از ژنوتیپ های وحشی می باشد. در بین پایه‌ها، بنه و بادامی کمتر تحت تأثیر خشکی قرار گرفتند. از نظر وزن خشک ساقه و برگ، پایه بنه و از نظر وزن خشک ریشه، پایه بادامی کمتر از سایر پایه‌ها تحت تأثیر تنش خشکی قرار گرفتند و وزن خشک ساقه، برگ و ریشه این‌ها در تیمارهای تنش آبی، کاهش کمتری نسبت به شاهد نشان داد. در حالی که پایه قزوینی در تیمار آبیاری کامل نسبت به سه پایه دیگر از نظر ژنتیکی یک پایه پر رشدتری نشان داد.

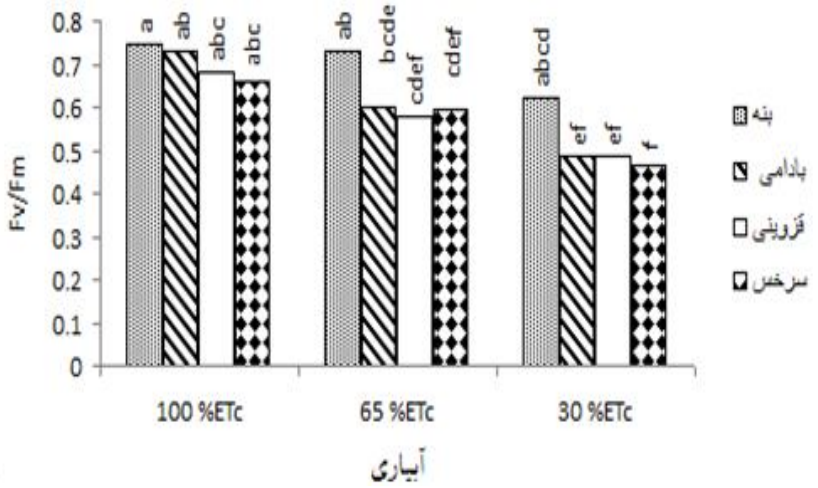
دلایل متعددی برای کاهش رشد در شرایط تنش کم آبی گزارش شده است. از آن جمله می‌توان به کاهش فتوسنتز،کاهش تورژسانس، کاهش سطح برگ، صرف ATP بیشتر جهت هیدرولیز ترکیبات اسمزی و سنتز هورمون‌هایی مانند آبسایسیک اسید اشاره کرد. بطور کلی نتایج نشان داد، محدودیت آبی اثر معنی داری بر کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II یا Fv/Fm (به دلیل بازدارندگی نوری)، محتوای کلروفیل برگ (a، b و کل)، قرائت کلروفیل متر (CCM-200) و پارامترهای رشدی در پایه های دانهالی پسته داشت و این پارامترها را کاهش داد. با توجه به تفاوت پارامترهای فلورسانس که نشان دهنده وجود تفاوت فسفوریلاسیون نوری بین تیمارهای مختلف است، می توان بیان کرد که انرژی لازم برای فعالیت روبیسکو و انجام چرخه کلوین تحت تأثیر تنش آبی قرار

گرفت. تحقیقات نشان داده که همبستگی بالایی بین توقف فتوسنتز و کاهش میزان F_v/F_m وجود دارد. لذا F_v/F_m شاخص مناسبی برای نشان دادن بازدارندگی نوری است (بونگی و لورتو، ۱۹۸۹). گزارش شده که ژنوتیپ های با نسبت بالای F_v/F_m کارایی فتوسنتزی بالاتری دارند. اما نسبت F_v/F_m در تنش های نسبتا شدید تحت تأثیر قرار می گیرد و تفاوت ژنوتیپ های حساس و مقاوم در تنش های شدید پدیدار می شود(ساید، ۲۰۰۳). در بررسی حکم آبادی و همکاران (۱۳۸۴) تفاوت معنی داری در میزان فلورسانس ژنوتیپ های پسته تحت شاهد و تنش شوری مشاهده نشد.

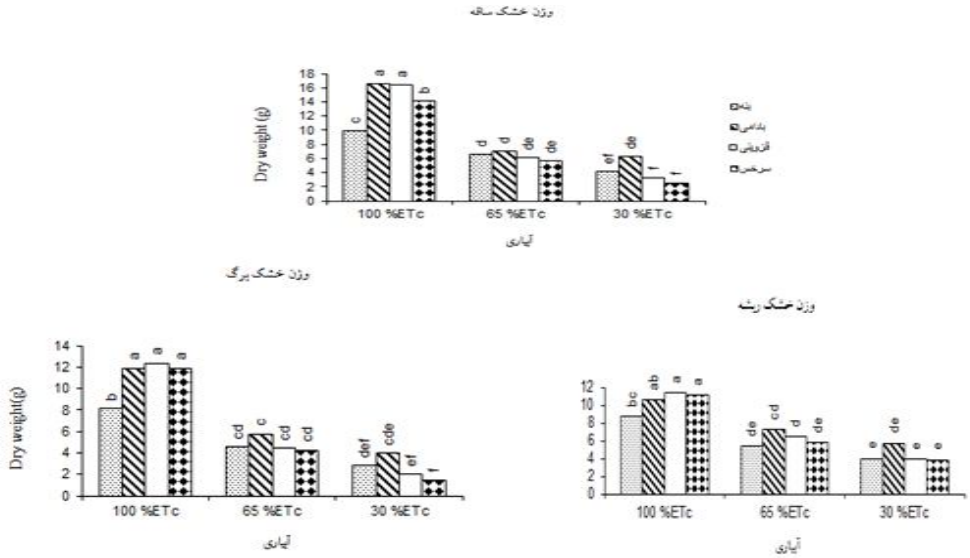
در بررسی ما تنها در آخرین مرحله اندازه گیری (۷۵روز پس از تنش)، پارامتر F_v/F_m تفاوت معنی داری را بین پایه های مورد بررسی نشان داد که می تواند بیانگر اعمال تنش کافی در این مرحله باشد. بر اساس نتایج، بیشترین مقدار F_v/F_m در شرایط تنش شدید متعلق به ژنوتیپ بنه بود. می توان بیان کرد که این پایه قادر است شرایط تنش آبی را بهتر از سایر پایه ها تحمل کند. به عبارت دیگر می توان گفت فعالیت آنزیم روبیسکو و کارایی فتوسیستم دو در سیستم فتوسنتزی پایه بنه به میزان کمتری تحت تاثیر تنش خشکی قرار می گیرد. وجود اختلاف معنی دار در پارامترهای محتوای کلروفیل برگ و شاخص کلروفیل در سطوح مختلف آبی نمایانگر حساس بودن این پارامترها به تنش خشکی می باشد. همانند کارایی فتوسیستم دو(F_v/F_m)، بیشترین و کمترین میزان محتوای کلروفیل برگ و شاخص کلروفیل برگ به ترتیب متعلق به پایه بنه و سرخس بود. می توان گفت که سیستم فتوسنتزی پایه سرخس به شرایط تنش آبی حساس تر بوده و آسیب به مراکز واکنش سیستم فتوسنتزی و تخریب کمپلکس های فتوسیستم دو و همچنین تولید رادیکال های آزاد، سبب کاهش در کارایی فتوسیستم دو و کاهش در مقادیر کلروفیل این پایه شده است. در مجموع می توان بیان کرد که تحمل ژنوتیپ های مختلف پسته به خشکی متفاوت بود و برخی پایه ها مانند بنه و بادامی تنش شدیدتر را بهتر تحمل می کنند. بر اساس داده های به دست آمده می توان بیان کرد نسبت F_v/F_m که همبستگی بالایی با میزان فتوسنتز دارد در مراحل ابتدایی تنش آبی شاخص مناسبی برای گزینش ژنوتیپ های مقاوم به خشکی نمی باشد و تفاوت ژنوتیپ های مقاوم در شرایط استمرار تنش مشخص می شود و پایه بنه نسبت به سایر پایه ها مقاومت بیشتری به خشکی دارد.

سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله از مؤسسه تحقیقات پسته کشور به خاطر در اختیار قراردادن بذور پسته نهایت تشکر و قدردانی را دارند.



شکل ۱ - اثر تیمار آبی و پایه پس از ۷۵ روز اعمال تنش بر کارایی فتوسیستم دو



شکل ۲- اثرات متقابل تنش آبی و پایه بر وزن خشک ساقه، ریشه و برگ

جدول ۱- اثرات آبیاری بر پارامترهای فلورسانس کلروفیل پایه های دانهالی پسته

روز پس از	۱۵				۳۰				۴۵			
تیمار	F_0	F_v	F_m	F_v/F	F_0	F_v	F_m	F_v/F	F_0	F_v	F_m	F_v/F
۱۰۰%ET_c	a	a	a	/۷۶۲^a	a	a	a	/۷۴۷^a	a	a	a	۷۲۳۲^a
۶۵%ET_c	a	ab	۶۵۴^{ab}	ab	۱۶۶۷^a	b	/۵۸۸^b	ab	/۱۴۲۵^b	b	۴۰۸۳^b	b
۳۰%ETc	a	b	b	b	a	b	b	b	b	b	b	b

روز پس از	۶۰				۷۵			
تیمار	F_0	F_v	F_m	F_v/F	F_0	F_v	F_m	F_v/F
۱۰۰%ETc	۱۶۱۷^a	a	a	۷۰۷۸^a	۱۵۰۸^a	a	a	۷۰۴۸^a
۶۵%ETc	۱۴۲۵^a	b	b	b	۱۳۱۷^a	b	/۳۱۰^b	b
۳۰%ETc	a	b	b	b	a	b	b	b

بر اساس آزمون دانکن، میانگین‌های دارای حروف مشترک، تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد ندارند(F_0: فلورسانس حداقل، F_v: فلورسانس متغیر، F_m: فلورسانس حداکثر، F_v/F_m: نسبت فلورسانس متغیر به فلورسانس حداکثر).

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر آبیاری و نوع پایه روی مقادیرکلروفیلa، b، کلروفیل کل (میلی گرم بر گرم وزن تازه) و CCI

آبیاری	کلروفیل a	کلروفیلb	کلروفیل کل	شاخص کلروفیل(CCI)
۱۰۰٪ETc	۰/۵۶۴۱[a]	۰/۲۰۶۹[a]	۰/۷۷۱۰[a]	۳۹/۳۸[a]
۶۵٪ETc	۰/۴۷۳۲[b]	۰/۱۹۸۲[a]	۰/۶۷۱۴[b]	۳۴/۸۱[b]
۳۰٪ETc	۰ ۴۴۴۹ [b]	۰/ ۱۱۵۸ [b]	۰/ ۵۶۰۶ [c]	۲۷/ ۴۶ [c]
پایه				
بنه	۰/۵۳۲۷[a]	۰/۲۱۷۶[a]	۰/۷۴۷۵[a]	۳۸/۴۸[a]
بادامی	۰/۵۱۸۹[a]	۰/۱۶۳۷[a]	۰/۶۸۲۶[a]	۳۵/۸۹[a]
قزوینی	۰/۵۰۳۳[a]	۰/۲۱۴۸[a]	۰/۷۲۰۸[a]	۳۷/۲۷[a]
سرخس	۰/ ۴۲۱۴ [b]	۰/ ۰۹۸۴۰ [b]	۰/ ۵۱۹۸ [b]	۲۳/ ۹۰[b]

بر اساس آزمون دانکن، میانگین‌های دارای حروف مشترک، تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد ندارند.

فهرست منابع

۱. آرزمجو، ا.، م.، حیدری، ا.، قنبری، ب.، سیاه سر و ا. احمدیان، ۱۳۸۹. تاثیر سه نوع کود بر درصد اسانس، رنگدانه های فتوسنتزی و تنظیم کننده‌های اسمزی در بابونه تحت تنش خشکی. مجله تنش های محیطی در علوم زراعی، ۳(۱):۲۳-۳۳.

۲. حکم آبادی، ح.، ک.، ارزانی و پ.گریرسون. ۱۳۸۴. اثرات تنش شوری بر شاخص های رشد و تبعیض ایزوتوپ کربن در ۳ پایه پسته. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ۱۲(۳): ۴۴-۵۴.

۳. روزبان، م. ر.، ک.، ارزانی و س. م. میرلطیفی. ۱۳۸۸. تغییرات روزانه تبادلات گازی فتوسنتزی در دو رقم پسته (*Pistacia vera* L.) ایران. نهال و بذر، ۲۵(۲): ۲۸۷-۳۰۲.

۴. سی و سه مرده، ع .، ع.، احمدی، ک.، پوستینی و ح. ابراهیم‌زاده.۱۳۸۳. عوامل روزنه‌ای و غیر روزنه‌ای کنترل‌کننده فتوسنتز و ارتباط آن با مقاومت به خشکی در ارقام گندم. مجله علوم کشاورزی ایران، ۳۵(۱):۹۳-۱۰۶.

۵. صمیمی سده، ن.، ج.، صبا، ف.، شکاری و ک. سلیمانی. ۱۳۸۶. قابلیت استفاده از صفات فیزیولوژیک به عنوان شاخص ارزیابی مقاومت به خشکی در گندم. فصلنامه علوم کشاورزی و منابع طبیعی، ۱۴(۵): ۱۰۵-۱۱۵.

۶. عشقی زاده، ح.ر.، و پ. احسان زاده. ۱۳۸۸. تاثیر رژیم های مختلف آبیاری بر چند ژنوتیپ ذرت: I. فلورسانس کلروفیل، خصوصیات رشد و عملکرد دانه مجله علوم گیاهان زراعی ایران، ۴۰ (۲) :۱۳۵-۱۴۴.

۷. محمدی، ه.، ا.، سلطانی، ح.ر.، صادقی پور ، ا.، زینلی و ر. نجفی هزارجریبی. ۱۳۸۷. تاثیر زوال بذر بر رشد رویشی و فلورسانس کلروفیل در سویا(*Glycine max*) . مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، ۱۵(ضمیمه۵ ویژه نامه زراعت و اصلاح نباتات):۱۱۲ -۱۱۸.

۸. ممنوعی، ا.، و ر. سید شریفی. ۱۳۸۹. بررسی اثر کمبود آب بر شاخص های فلورسانس کلروفیل و میزان پرولین در شش ژنوتیپ جو و رابطه آن با دمای آسمانه (Canopy) و عملکرد. مجله زیست شناسی گیاهی، ۲(۵): ۵۱-۶۲.

9. Andrews, J. R., M. J., Fryer and N. R. Baker. 1995. Characterization of chilling effects on photosynthetic performance of maize crops during early season growth using chlorophyll fluorescence. *Journal of Experimental Botany*,46: 1195-1203.
10. Basu, P.S., S., Ashoo, N.P., Sukumaran and A. Sharma. 1998. Changes in photosynthetic rate and chlorophyll florescence in potato leaves induced by water stress. *Photosynthetica*, 35: 13-19.
11. Behra, R.K., P.C., Mishra and N.K. Choudhury. 2002. High irradiance and water stress induce alterations in pigment composition and chloroplast activities of primary wheat leaves. *Journal of Plant Physiology*,159: 967-973.
12. Bongi, G. and F. Loreto. 1989. Gas exchange properties of salt stressed olive (*Olea europea* L.) leaves. *Plant physiology*, 90:1408-1416.
13. Burce, J.A. 1991. Comparative responses of leaf conductance to humidity in single attached leaves. *Journal of Experimental Botany*, 32: 629-634.
14. Burke, J. 2007. Evaluation of Source Leaf Responses to Water-Deficit Stresses in Cotton Using a Novel Stress Bioassay. *Plant Physiology*, 143: 108-121.
15. Ghasemi, M., K., Arzani, A.,Yadollahi, S., Ghasemi and S. Sarikhani khorrami. 2011. Estimate of Leaf Chlorophyll and Nitrogen Content in Asian Pear (*Pyrus serotina* Rehd.) by CCM-200. *Notulae Scientia Biol*ogica, 3(1): 91-94.
16. Gitelson, A.A., C., Buschmann and H. K. Lichtenthaler. 1999. The Chlorophyll Fluorescence Ratio F735/F700 as an Accurate Measure of the Chlorophyll Content in Plants. *Remote Sensing of Environment*, 69: 296-302.
17. Gray, G.R., L.P., Cauvin, F., Sarhan and N.P.A. Huner. 1997. Cold acclimation and freezing tolerance. A complex interaction of light and temperature. *Plant Physiology*, 114: 467–474.
18. Greaves, J.A., and J.M. Wilson. 1987. Chlorophyll fluorescence analysis- An aid to Plant breeders. *Biologist*, 34: 209-214.
19. Grzesiak, S., M.T., Grzesiak, W., Filek and J. Stabryla. 2003. Evaluation of physiological screening tests for breeding drought resistant triticale (x *Triticosecale* Wittmack). Acta Physiol. *Plantar*, 25: 29-37.
20. Holaday, A.S., S.W., Ritchie and H.T. Neguyen. 1992. Effect of water deficit on gas exchange parameters and ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase activation in wheat. *Environmental and Experimental Botany*, 32: 403-409.
21. Johnson, G.N., A.J., Young, J.D., Scholes and P. Horton. 1993. The dissipation of excess excitation energy in British plant species. *Plant, Cell & Environment*, 16: 673-679.
22. Kalaji, H.M., and P. Guo. 2008. Chlorophyll fluorescence: a useful tool in barley plant breeding programs. In: *Photochemistry Research Progress*, 439-463.
23. Kizhedath, A., and V. Suneetha. 2011. Estimation of chlorophyll content in common household medicinal leaves and their utilization to avail health benefits of chlorophyll. *Journal of Pharmacy Research*, 4(5): 1412-1413.
24. Li, R., P., Guo, M., Baum, S., Grande and S. Ceccarelli. 2006. Evaluation of chlorophyll content and fluorescence parameters as indicators of drought tolerance in barley. *Agricul. Sci. China*, 5: 751-757.
25. Ma, B.L., M.J., Morison and H. D. Videng. 1995. Leaf greenness and photosynthetic rates in soybean. *Crop Science*, 35: 1411-1414.
26. Macdonald, G.E., D.G., Shilling and T.A. Bewick. 1993. Effects of endothall and other aquatic herbicides on chlorophyll fluorescence, respiration and cellular integrity. *Journal of Aquatic Plant Management*, 31: 50-55.

27. Mohammad, J., M., Naziri, A., Nazir, D., Shah and H. Jamal. 1996. Wheat yield component as affected by low water stress at different growth stage. *Sarhad Journal Agriculture*, 12: 19-26.
28. Morant-Manceau, A., E., Pradier and G. Tremblin. 2004.Osmotic adjustment, gas exchanges and chlorophyll fluorescence of a hexaploid triticale and its parental species under salt stress. *J. Plant Physiol*, 161: 25-33.
29. Moustakas, M., G., Ouzounidou and R. Lannoye. 1993. Rapid screening for aluminium tolerance in cereals by use of the chlorophyll fluorescence test. *Plant Breeding*, 111: 343–346.
30. O'Neill, P.M., J. F., Shanahan and J.S. Schepers. 2006. Use of chlorophyll fluorescence assessments to differentiate corn hybrids response to variable water conditions. *Crop Science*, 46: 681–687.
31. Rizza, F., D., Pagani, A. M., Stanca and L. Cattivelli. 2001.Use of chlorophyll fluorescence to evaluate the cold acclimation and freezing tolerance of winter and spring oats. *Plant Breeding*, 120: 389–396.
32. Safikhani, F. 2006. Study of physiologic resistance to drought in *Dracocephalum moldavica* L. PhD thesis, Chamran University. [In Persian with English summary].
33. Sayed, O.H. 2003. Chlorophyll flourscence as a tool in cereal research. *Photosynthetica*, 3: 321-330.
34. Schutz, H., and E. Fangmier. 2001. Growth and yield responses of spring wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Minaret) to elevated CO2 and water limitation. *Environmental Pollution*, 114: 187-194.
35. Shangguan, F.J., M., Shao and J. Dyckmans. 2000. Effects of nitrogen nutrition and water deficit on net photosynthetic rate and chlorophyll fluorescence in winter wheat. *Journal of Plant Physiolog*y, 156: 45-51.
36. Soltani, A. 2004. Chlorophyll florescence and its application. Internal Press. University of Agricultural Science and Natural Resource, Gorgan, Iran.
37. Umedi, L.V. 1989. A rapid and nondestructive method to determine response to water deficit in the barley plant. *Crop Science*, 35:655-650.
38. Wu, F., W., Bao, F., Li and N. Wu. 2008. Effect of drought stress and N supply on the growth, biomass partitioning and water use efficiency of *Sophora davidii* seedlings. *Environal and Experimental Botany,* 63:248-255.
39. Yadava, U. 1989. A rapid and nondestructive method to determine chlorophyll in intact leaves. *Horticulture Science*, 21: 1449-1450.
40. 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: 1087-1097.