تأثیر تنش سرمای آب و هوا بر کارایی کوانتومی فتوسیستم II در ژنوتیپ‌های مختلف برنج (*Oryza sativa* L.)

زبیده حسنی[1*]، همت‌اله پیردشتی[2]، یاسر یعقوبیان[3]، محمدزمان نوری[4]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد زراعت، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۲- دانشیار گروه زراعت، پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۳- دانشجوی دکتری زراعت، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

۴- استادیار مؤسسه تحقیقات برنج کشور- معاونت مازندران (آمل)

*Email: z.s.hasani@gmail.com

چکیده

به‌منظور بررسی اثر تنش سرما بر پارامترهای فلورسانس کلروفیل ژنوتیپ‌های برنج، آزمایشی در گلخانه‌ی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری در پاییز ۱۳۹۱ به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی و در سه تکرار به اجرا در آمد. تیمارهای آزمایشی شامل سه سطح تنش سرما (شاهد، هوای سرد و آب سرد) و شش ژنوتیپ برنج بود. پس از اعمال تنش پارامترهای فلورسانس حداقل (Fo)، فلورسانس حداکثر (Fm)، فلورسانس متغیر (Fv= Fm - Fo)، حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II (Fv/Fm) و حداکثر کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II [Y(II)] اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که تنش هوای سرد باعث افزایش فلورسانس حداقل در لاین‌های 030 و 45 نسبت به تیمار شاهد گردید. همچنین بیشترین کاهش Fm در لاین 011 و Fv و Fv/Fm در رقم شیرودی مشاهده شد. Y(II) نیز تحت تأثیر تنش سرمای هوا نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت و لاین 030 بیشترین کاهش (۳۴/۸۴ درصد) را دارا بود. میزان Fm و Fv نیز تحت تأثیر تنش آب سرد قرار گرفتند که عکس‌العمل آن‌ها تنها در لاین 011 نسبت به تیمار شاهد (به ترتیب ۲۳/۴۵ و ۲۵/۲۶ درصد) کاهش معنی‌داری نشان داد. در مجموع نتایج به دست آمده از آزمایش حاضر بیانگر حساسیت بیشتر پارامترهای فلورسانس کلروفیل در برگ گیاهچه‌های برنج به تنش هوای سرد نسبت به آب سرد می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: برنج، تنش سرما، ژنوتیپ، فلورسانس کلروفیل

مقدمه

گیاهان در طول زندگی‌شان اغلب با تنش‌های مختلف از جمله شوری، درجه حرارت و خشکی مواجه می‌شوند که این تنش‌های محیطی بویژه تنش دمایی بر ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی آن‌ها تأثیر گذاشته و سبب پیچیده و پژمرده شدن برگ‌ها، کاهش رشد و در نهایت کاهش عملکرد می‌گردد (پن و همکاران، ۲۰۱۱). درجه حرارت آب نیز بر فرآیندهای مختلف رشد مؤثر است و طی مرحله رویشی آب سرد می‌تواند سرعت پنجه‌زنی، رویش و طول برگ را کاهش دهد که در بعضی از مواقع با زرد شدن برگ همراه می‌باشد (شیمونو و همکاران، ۲۰۰۲). سازگاری گیاه به سرما حاصل تغییرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی متنوعی است که اساساً از تغییر در بیان تعدادی از ژن‌های مسئول در تحمل به تنش سرما ناشی می‌شود (محسن‌زاده و همکاران، ۱۳۸۹).

به‌منظور تعیین وضعیت فیزیولوژیکی گیاه و میزان آسیب وارده به دستگاه فتوسنتزی از تکنیکی به‌نام سنجش فلورسانس کلروفیل استفاده می‌شود. در واقع میزان فلورسانس کلروفیل تابعی از فعالیت فتوسنتزی برگ می‌باشد که می‌تواند در تشخیص مدت و شدت تنش محیطی مورد استفاده قرار گیرد (نادعلی و همکاران، ۱۳۸۹). مطالعه پارامترهای کلروفیل روشی ساده و غیرتخریبی بوده و در زمان کوتاهی قابل اندازه‌گیری است (درویش بلوچی و همکاران، ۱۳۸۹). یکی از مهم‌ترین پارامترهای فلورسانس کلروفیل نسبت Fv/Fm (حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II) است که برای اکثر گونه‌های گیاهی در شرایط معمول محیطی حدود ۰/۸۳ می‌باشد ولی در شرایط وقوع تنش‌های محیطی کاهش می‌یابد (یعقوبیان و همکاران، ۱۳۹۱).

برنج (*Oryza sativa* L.) از گیاهان زراعی مهم قاره آسیا بوده و دانه‌های برنج و فرآورده‌های به‌دست آمده از آن نزدیک به ۴۰ درصد غذای مورد نیاز نصف مردم جهان را تشکیل می‌دهد و از نظر تولید جهانی نیز می‌تواند با گندم برابری کند (عباسی و همکاران، ۱۳۹۱). آسیب گیاه برنج ناشی از دمای پایین در مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری و معتدل گزارش گردیده و این آسیب یکی از بزرگ‌ترین مشکلات تولید برنج در این مناطق می‌باشد (قربانی و همکاران، ۱۳۹۰). بنابراین این آزمایش با هدف بررسی اثر تنش سرما بر پارامترهای فلورسانس کلروفیل در ژنوتیپ‌های مختلف برنج اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در پاییز ۱۳۹۱ در گلخانه‌ی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری به صورت هیدروپونیک در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی به‌صورت فاکتوریل و در سه تکرار به اجرا در آمد. تیمارهای آزمایشی شامل سه سطح تنش سرما (شاهد، هوای سرد و آب سرد) و شش ژنوتیپ برنج بود. بذور ژنوتیپ‌های برنج که شامل ارقام کوهسار، طارم هاشمی و شیرودی و همچنین لاین‌های 1-1-96-1812084 RI-030، 011 و 45 بود، از مؤسسه تحقیقات برنج کشور – معاونت مازندران (آمل) تهیه گردید. ابتدا بذرها با هیپوکلرید یک درصد به‌مدت ۱۰ دقیقه ضدعفونی و سپس به مدت پنج روز در ژرمیناتور با دمای ۲۸- ۲۵ درجه سانتی‌گراد جوانه‌دار شدند. بذرهای جوانه‌زده به محیط کشت هیدروپونیک در گلخانه با فتوپریود ۱۶ ساعت و دمای ۲۸/۲۵ (شب/روز) انتقال یافتند. تا دو روز بعد از انتقال گیاهچه‌ها از آب مقطر استفاده و سپس محلول غذایی یوشیدا به ظرف‌ها اضافه و هر هفت روز تعویض گردید (یوشیدا، ۱۹۷۶). دو هفته پس از کاشت، تنش سرما (آب و هوا) به مدت ۴۸ ساعت و با دمای هشت درجه سانتی‌گراد اعمال شد. به منظور اعمال تنش هوای سرد گیاهچه‌ها در اتاقک رشد قرار گرفته و برای تنش آب سرد نیز از دستگاه سردکننده استفاده گردید. گیاهچه‌های شاهد نیز در شرایط گلخانه نگهداری شدند. پس از اعمال تنش سرما اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل در آخرین برگ توسعه‌یافته با استفاده از دستگاه فلورومتر مدل (PAM 2500-Walz) صورت گرفته و پارامترهای فلورسانس حداقل (Fo)، فلورسانس حداکثر (Fm)، فلورسانس متغیر (Fv= Fm - Fo)، حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II (Fv/Fm) و حداکثر کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II [Y(II)] ثبت گردید. داده‌های به‌دست آمده با استفاده از نرم افزار SAS نسخه‌ی ۹/۱ تجزیه و میانگین‌ها با آزمون حداقل اختلاف معنی دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد مورد مقایسه قرار گرفتند.

نتایج و بحث

بر اساس جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) اثر ساده تنش سرما بر تمامی پارامترها و اثر ساده ژنوتیپ به‌جز کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II [Y(II)] در تمامی پارامترهای مورد بررسی معنی‌دار ($P<۰/۰۱$) شد. اثر متقابل تنش سرما و ژنوتیپ نیز در پارامترهای Fo، Fv، Fv/Fm ($P<۰/۰۱$) و Y(II) ($P<۰/۰۵$) معنی‌دار بود.

جدول ۱- میانگین مربعات اثر تنش سرما بر پارامترهای فلورسانس کلروفیل در ژنوتیپ‌های برنج

منابع تغییرات	درجه آزادی	Fo	Fm	Y(II)	Fv	Fv/Fm
ژنوتیپ (A)	۵	۰/۰۴۲۵**	۰/۷۹۱۲**	۰/۰۰۵۶^{ns}	۰/۵۷۲۷**	۰/۰۰۲۴**
تنش سرما (B)	۲	۰/۰۲۸۳**	۴/۹۶۳۰**	۰/۰۹۰۸**	۵/۵۶۱۸**	۰/۰۴۴۰**
A×B	۱۰	۰/۰۲۶۲**	۰/۵۰۱۲*	۰/۰۰۷۱**	۰/۳۸۱۶**	۰/۰۰۱۸**
خطای آزمایشی	۳۶	۰/۰۰۵۱	۰/۱۸۸۹	۰/۰۰۲۷	۰/۱۲۴۲	۰/۰۰۰۳
ضریب تغییرات (درصد)		۶/۲۶	۱۰/۷۱	۸/۵۰	۱۲/۰۵	۲/۴۶

* و ** معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد، ns غیر معنی‌دار

مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که تنش هوای سرد باعث افزایش فلورسانس حداقل (*Fo*) در لاین‌های *030* (۲۵/۶۶ درصد) و *45* (۱۲/۵۰ درصد) نسبت به تیمار شاهد گردید ولی در سایر ژنوتیپ‌ها اثر معنی‌داری نداشت. تنش سرمای هوا به‌جز لاین *45* در تمامی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه باعث کاهش معنی‌دار میزان فلورسانس ماکزیمم (Fm)، فلورسانس متغیر (Fv) و حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II (Fv/Fm) گردید که بیشترین کاهش در پارامتر Fm در لاین *011* (۳۱/۰۱ درصد) و در Fv و Fv/Fm در رقم شیرودی (به ترتیب ۴۲/۱۵ و ۱۸/۹۱ درصد) مشاهده شد (جدول ۳) که نشانگر حساسیت این ژنوتیپ‌ها نسبت به تنش سرمای هوا می‌باشد، همچنین با توجه به اهمیت ویژه پارامترهای Fv و Fv/Fm در مطالعات فلورسانس کلروفیل (لو و همکاران، ۲۰۰۲)، کاهش بیشتر این پارامترها در رقم شیرودی می‌تواند بیانگر حساسیت بیشتر این رقم نسبت به تنش سرمای هوا باشد. بر اساس گزارش رمزی و مورالس (۱۹۹۴) ارقام متحمل به شوری جو نیز نسبت Fv/Fm بالاتری نسبت به ارقام حساس داشتند و به عبارت دیگر کارایی کوانتومی فتوسیستم II در رقم مقاوم بیشتر بوده است. کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II [Y(II)] نیز تحت تأثیر تنش سرمای هوا نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت که این کاهش در تمامی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه به‌جز لاین *45* و رقم طارم هاشمی معنی‌دار بود و در میان ژنوتیپ‌های مورد مطالعه لاین *030* بیشترین کاهش را (۳۴/۸۴ درصد) دارا بود. کاهش میزان Y(II) با نتایج محققان دیگر یامان و همکاران(۲۰۰۸) در گیاه برنج تحت تنش شوری هم‌خوانی داشت.

در بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، لاین *45* کم‌ترین حساسیت را نسبت به تنش سرمای هوا نشان داده و به‌جز Fo در سایر پارامترهای اندازه‌گیری شده تغییر معنی‌داری مشاهده نشد که می‌توان این لاین را به‌عنوان متحمل‌ترین ژنوتیپ نسبت به تنش سرمای هوا در این مرحله رشدی برنج معرفی نمود.

در تنش سرمای آب نیز میزان فلورسانس حداقل در لاین 45 و رقم طارم هاشمی به‌صورت معنی‌داری افزایش و در لاین 011 کاهش یافت (جدول ۲). میزان Fm و Fv نیز تحت تأثیر تنش آب سرد قرار گرفتند که عکس‌العمل آن‌ها تنها در لاین 011 معنی‌دار بوده و نسبت به تیمار شاهد (به ترتیب ۲۳/۴۵ و ۲۵/۲۶ درصد) کاهش معنی‌داری داشتند. بنابراین می‌توان این لاین را نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها به شرایط تنش آب سرد حساس‌تر دانست.

در مجموع نتایج به دست آمده از آزمایش حاضر بیانگر حساسیت بیشتر پارامترهای فلورسانس کلروفیل در برگ گیاهچه‌های برنج به تنش هوای سرد نسبت به آب سرد می‌باشد که می‌تواند به دلیل تماس مستقیم برگ‌ها با سرما در تنش سرمای هوا و اثر تخریبی بیشتر آن نسبت به تنش آب سرد روی سیستم فتوسنتزی گیاه باشد.

جدول ۲- میانگین مربعات اثر تنش سرما بر پارامترهای فلورسانس کلروفیل در ژنوتیپ‌های برنج

منابع تغییر		Fo	Fm	Fv	Fv/Fm	Y(II)
تنش سرما	ژنوتیپ					
شاهد	لاین 011	۱/۲۷^{b}	۵/۰۳^{a}	۳/۷۶^{a}	۰/۷۴$^{a-b}$	۰/۶۵^{a}
	لاین 030	۱/۱۳$^{c-g}$	۴/۵۲$^{a-c}$	۳/۳۸$^{a-d}$	۰/۷۴$^{a-b}$	۰/۶۶^{a}
	لاین 45	۰/۹۶^{h}	۳/۶۴$^{e-g}$	۲/۶۷$^{c-h}$	۰/۷۳$^{a-c}$	۰/۶۵^{a}
	شیرودی	۱/۰۷$^{f-h}$	۴/۱۲$^{c-f}$	۳/۰۶$^{c-f}$	۰/۷۴$^{a-b}$	۰/۶۶^{a}
	کوهسار	۱/۱۰$^{d-g}$	۴/۴۶$^{a-d}$	۳/۳۶$^{a-d}$	۰/۷۵^{a}	۰/۶۶^{a}
	طارم هاشمی	۱/۰۹$^{e-g}$	۴/۵۱$^{a-c}$	۳/۴۱$^{a-c}$	۰/۷۵^{a}	۰/۶۳$^{a-b}$
هوای سرد	لاین 011	۱/۲۰$^{b-e}$	۳/۴۷$^{f-g}$	۲/۲۶$^{g-i}$	۰/۶۴$^{e-f}$	۰/۴۶$^{d-e}$
	لاین 030	۱/۴۲^{a}	۳/۵۱$^{e-g}$	۲/۱۹$^{h-i}$	۰/۶۲$^{f-g}$	۰/۴۳^{e}
	لاین 45	۱/۰۸$^{f-g}$	۳/۷۶$^{d-f}$	۲/۶۷$^{c-h}$	۰/۷۱$^{c-d}$	۰/۶۲$^{a-b}$
	شیرودی	۱/۱۶$^{b-f}$	۲/۹۴^{g}	۱/۷۷^{i}	۰/۶۰^{g}	۰/۵۲$^{c-d}$
	کوهسار	۱/۱۷$^{b-f}$	۳/۴۳$^{f-g}$	۲/۲۵$^{g-i}$	۰/۶۵^{e}	۰/۵۵$^{b-c}$
	طارم هاشمی	۱/۰۶$^{f-h}$	۳/۵۹$^{e-g}$	۲/۵۲$^{f-h}$	۰/۷۰^{d}	۰/۶۰$^{a-b}$
آب سرد	لاین 011	۱/۰۴$^{g-h}$	۳/۸۵$^{c-f}$	۲/۸۱$^{d-g}$	۰/۷۳$^{a-d}$	۰/۶۳$^{a-b}$
	لاین 030	۱/۲۱$^{b-d}$	۵/۰۳^{a}	۳/۸۱^{a}	۰/۷۵^{a}	۰/۶۷^{a}
	لاین 45	۱/۱۱$^{c-g}$	۴/۱۹$^{b-e}$	۳/۰۸$^{b-f}$	۰/۷۳$^{a-c}$	۰/۶۵^{a}
	شیرودی	۱/۰۸$^{e-g}$	۳/۶۴$^{e-g}$	۲/۶۴$^{e-h}$	۰/۷۲$^{b-d}$	۰/۶۸^{a}
	کوهسار	۱/۱۵$^{c-g}$	۴/۴۰$^{a-d}$	۳/۲۵$^{a-e}$	۰/۷۲$^{a-c}$	۰/۶۳$^{a-b}$
	طارم هاشمی	۱/۲۲$^{b-c}$	۴/۸۸$^{a-b}$	۳/۶۵$^{a-b}$	۰/۷۴$^{a-b}$	۰/۶۷^{a}

در هر ستون میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشترک تفاوت معنی‌داری در سطح پنج درصد بر اساس آزمون LSD ندارند

جدول ۳- درصد تغییرات پارامترهای مرتبط با فلورسانس کلروفیل نسبت به تیمار شاهد

منابع تغییر	Fm		Fv		Fv/Fm		Y(II)	
ژنوتیپ	هوای سرد	آب سرد	هوای سرد	آب سرد	هوای سرد	آب سرد	هوای سرد	آب سرد
لاین 011	-۳۱/۰۱	-۲۳/۴۵	-۳۹/۸۹	-۲۵/۲۶	-۱۳/۵۱	-۱/۳۵	-۲۹/۲۳	-۳/۰۷
لاین 030	-۲۲/۳۴	+۱۸/۳۵	-۳۵/۲۰	+۱۲/۷۲	-۱۶/۲۱	+۱/۳۵	-۳۴/۸۴	+۱/۵۱
لاین 45	-۳/۲۹	+۱۵/۱۰	۰۰/۰۰	+۱۵/۳۵	۲/۷۳	۰/۰۰	۴/۶۱	۰/۰۰
شیرودی	-۲۸/۸۱	-۱۱/۸۶	-۴۲/۱۵	-۱۳/۷۲	-۱۸/۹۱	-۲/۷۰	-۲۱/۲۱	+۳/۰۳
کوهسار	-۲۳/۰۹	-۱/۳۴	-۳۳/۰۳	-۳/۲۷	-۱۲/۲۳	-۲/۶۶	-۱۶/۶۶	-۴/۵۴
طارم هاشمی	-۲۰/۳۹	-۸/۲۰	-۲۶/۰۹	-۷/۰۳	-۶/۶۶	-۱/۳۳	-۴/۷۶	-۶/۳۴

برخی از منابع مورد استفاده

عباسی م، نجفی ن، اصغرزاده ن ع و اوستان ش، ۱۳۹۱. اثر شرایط آب و خاک، لجن‌فاضلاب و کودهای شیمیایی عناصر پرمصرف در برنج در یک خاک قلیایی. مدیریت خاک و تولید پایدار. ۱: ۲۶- ۱.

قربانی ا، زرین‌کمر ف، فلاح ا، ۱۳۹۰. اثر تنش سرما بر صفات تشریحی و مورفولوژی در دو رقم مقاوم و حساس برنج در مرحله جوانه‌زنی. سلول و بافت. ۳: ۲۴۴– ۲۳۵.

محسن‌زاده س، کریمی‌اندانی ج و محبت‌کار ح، ۱۳۸۹. مطالعه پاسخ‌های فیزیولوژیکی و توالی یکی از ژن‌های پاسخ‌دهنده به تنش سرما در چهار رقم گندم حساس و مقاوم. علوم گیاهان زراعی. ۳: ۶۲۱- ۶۱۳

نادعلی ا، پاک‌نژاد ف، مرادی ف، نصری م و پازوکی ع، ۱۳۸۹. اثر محلول‌پاشی متانول بر محتوای آب نسبی، محتوای کلروفیل و فلورسانس کلروفیل برگ چغندرقند در شرایط تنش کمبود آب. علوم گیاهان زراعی ایران. ۴: ۷۳۱-۷۴۰.

یعقوبیان ی، پیردشتی ه، فیضی‌اصل و، محمدی‌گل‌تپه ا، اسفندیاری ع، جعفرزاده ج، ۱۳۹۱. اثر همزیستی میکوریزایی بر کارایی کوانتومی فتوسیستم II تحت تنش رطوبتی در گندم. دوازدهمین کنگره علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج.

Lu Q, Lu C, Zhang J, Kuang T, 2002. Photosynthesis and chlorophyll a fluorescence during flage – grown wheat plants. *Journal of Plant Physiology*. 159: 1173-1178.

Pan Y, Wang W, Zhao X, Zhu L, Fu B, Li Z, 2011. DNA methylation of rice in response to cold stress. Plant Omics Journal. 4(7): 364- 369.

Ramzi B and Morales F, 1994. Chlorophyll flourescence and possible tool for salinity tolerance screening in barley. Plant Physiology. 104: 667 - 673.

Shimono H, Hasegawa T, Kazuto I, 2002. Response of growth and grain yield in paddy rice to cool water at different growth stages, Field Crops Research. 73: 67- 76.

Yaman K, Kawasaki M, Taniguchi M, Miyake H, 2008. Correlation between Chlorophyll ultrastracture and chlorophyll fluorescence characteristics in the leaves of rice (*Oryza sativa* L.) grown under salinity. Plant Production Science, 11(1): 139 - 145.

Yoshida S, Forno DA, Cock JH, Gomez KA, 1976. Laboratory manual for physiological studies of rice, IRRI Los Babos, Philippines, pp 83.