

مقایسه عملکرد فتوسیستم II در چهار رقم پایه‌ای پسته اهلی با استفاده از تکنیک فلورسانس کلروفیل در شرایط تنش خشکی

فاروق فهیمی خویردی و محمد حسین شمشیری*

گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی عصر (عج)

(تاریخ دریافت: ۹۳/۱۰/۱۳، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۴/۰۷/۱۱)

چکیده:

در آزمایشی با هدف مقایسه میزان مقاومت به تنش خشکی، ارزیابی کارکرد فتوسیستم II با استفاده از پارامترهای فلورسانس کلروفیل و محتوای کلروفیل چهار رقم پایه‌ای پسته (*Pistacia vera* L.) در قالب طرح کاملاً تصادفی و بصورت فاکتوریل با تیمار خشکی (پلی اتیلن گیکول PEG اضافه شده به محلول کامل هوگلند) در چهار سطح (صفر، ۱/۵، ۱- و ۲- مگاپاسکال) و چهار پایه پسته «بادامی ریز، قزوینی، سرخس و ابارقی» در شرایط گلخانه انجام شد. بعد از گذشت سه ماه از شروع تنش خشکی، با استفاده از دستگاه فلورومتر، فلورسانس کلروفیل و متغیرهای وابسته (F_0 , F_v , F_m , F_v/F_m , Area, V_j , PI, F_v/F_0 و RC /ABS) محاسبه گردید. محتوای کلروفیل a، b، کل و وزن خشک نیز در پایان آزمایش اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد که پارامترهای فلورسانس کلروفیل تحت تاثیر خشکی قرار گرفتند. پارامترهای F_v/F_m ، F_m ، F_v و PI با افزایش سطوح خشکی کاهش یافتند. پارامتر PI که بیانگر عملکرد دستگاه فتوستتزی است، در بالاترین سطح خشکی حدود ۹۰ درصد کاهش یافت. همچنین این پارامتر بیشترین همبستگی ($R^2 = 61$) را با وزن خشک داشت، بنابراین می‌تواند به عنوان یک پارامتر موثر در شناسایی پایه‌های حساس و مقاوم به خشکی استفاده گردد. همچنین نتایج بیانگر همبستگی مناسبی بین کاهش محتوای کلروفیل با کاهش پارامترهای فلورسانس کلروفیل و کاهش وزن خشک کل در سطوح خشکی بود. به‌طور کلی، رقم سرخس و بادامی ریز با ظرفیت فتوستتزی بالاتر و کاهش کمتر وزن خشک کل در شرایط خشکی، نسبت به شرایط تنش مقاوم‌تر و رقم ابارقی با ظرفیت فتوستتزی پایین‌تر و کاهش بیشتر وزن خشک، نسبت به شرایط تنش حساس‌تر ارزیابی گردید.

کلمات کلیدی: پسته، پلی اتیلن گلیکول، تنش خشکی، فلورسانس کلروفیل.

مقدمه:

مرکز تولید این محصول در جهان، ایران و استان کرمان محسوب می‌شود به طوری که سهم این شهرستان از سطح زیرکشت بارور این محصول در جهان، ایران و استان کرمان به ترتیب ۲۴ و ۳۴ و ۶۰ درصد می باشد (میرزایی خلیل آبادی و چیذری، ۱۳۸۳). یکی از مشکلات اصلی باغات پسته در منطقه رفسنجان در حال حاضر کاهش شدید منابع آبی ناشی از خشکسالی سالیان اخیر است که به شکل قابل توجهی از تولید

پسته اهلی (*Pistacia vera* L.) درختی است از خانواده پسته سانان و تنها گونه در جنس پسته است که دارای خشک میوه خندان بوده و از نظر باغبانی دارای اهمیت تجاری است (Kafkas et al., 2001) شهرستان رفسنجان در جنوب شرقی ایران با ارتفاع ۱۵۱۰ متر از سطح دریا و آب و هوای گرم و خشک با سطح زیر کشتی بالغ بر ۱۱۰ هزار هکتار عمده ترین

اشباع نوری بوده و مراکز واکنش کاملاً باز باشند، بخش زیادی از انرژی نورانی در فعالیت‌های فتوشیمیایی به مصرف می‌رسد و در نهایت تنها بخش کمی از آن به صورت فلورسانس بازتاب می‌یابد که به آن فلورسانس کمینه (F_0) می‌گویند، در مقابل هنگامی که تابش نور اشباع ادامه می‌یابد تمامی ملکول‌های اولین دریافت کننده الکترون یا انرژی یعنی کوئینون آ (Q_A) دست کم به صورت موقت به صورت احیا درآمده و به دلیل تداوم واکنش‌های فتوشیمیایی فتوسیستم II، مراکز واکنش بسته شده و فلورسانس به میزان زیادی افزایش می‌یابد که به آن فلورسانس بیشینه (F_m) اطلاق می‌شود (Maxwell and Johanson, 2000). افزایش میزان فلورسانس کلروفیل در شرایط تنش خشکی روی گیاهان زیادی از جمله توت فرنگی، کاهو و زیتون گزارش شده است (Razavi et al., 2008; Hussain and Reigosa, 2011; Petridis et al., 2012). تفاوت ژنوتیپ‌های حساس و مقاوم از نظر F_v/F_m در تنش شدید پدیدار می‌شود و ژنوتیپ‌های با نسبت بالای F_v/F_m در شرایط تنش شدید، کارایی فتوسنتزی بالاتری دارند (Sayed, 2003). پارامترهای مربوط به فلورسانس کلروفیل از سه بخش تشکیل شده است که عبارتند از پارامترهای مربوط به جذب نور (ABS)، به دام انداختن انرژی برانگیخته (TR) و انتقال انرژی برانگیخته به زنجیره انتقال الکترون (ET) از طریق مرکز واکنش (RC). به دلیل تغییر رفتار فتوسیستم II در شرایط تنش-های محیطی می‌توان با استفاده از آزمون O-J-I-P پارامترهای فیزیولوژیکی این فتوسیستم را تحت شرایط تنش‌های محیطی مختلف تجزیه و تحلیل کرد (Strasser et al., 2004).

مولکول‌های کلروفیل نوع a و b، در کنار کارتنوئیدها (کارتن‌ها و گزانثوفیل‌ها) مهمترین رنگیزه‌های جذب کننده نور در گیاهان عالی هستند (Scheer, 2004) و حضور آنها برای تبدیل انرژی نورانی به انرژی شیمیایی ذخیره شده در ناقل‌های الکترون ضروری است (Taiz and Zeiger, 2002). گزارش شده که تنش خشکی در گیاهان باعث پیری زودرس، شکسته شدن کلروپلاست‌ها و تجزیه کلروفیل در اثر افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز می‌گردد (Sheng et al., 2008). ضمن آنکه

این محصول کاسته است. یکی از راهکارهای پیش رو در مقابل این پدیده، شناسایی و استفاده از پایه‌های مقاوم‌تر نسبت به خشکی می‌باشد.

یکی از بارزترین پاسخ‌های گیاهان به تنش‌های محیطی، کم شدن فتوسنتز ناشی از اختلال در فعالیت فتوسیستم II می‌باشد (Anderws et al., 1995). با بسته شدن روزنه‌ها و کاهش تبادلات گازی تحت تاثیر تنش‌های محیطی، ادامه جذب انرژی نورانی منجر به اختلال در زنجیره انتقال الکترون و در پی آن، بسته شدن مراکز واکنش و کاهش عملکرد کوانتومی فتوسیستم II می‌گردد (Maxwell and Johnson, 2000). در زمان بروز تنش خشکی نیز در فرآیندی مشابه، روزنه‌های گیاه بسته شده و در نتیجه انتشار دی‌اکسید کربن از اتمسفر به محل انجام کربوکسیلاسیون کاهش می‌یابد که منجر به کاهش فتوسنتز می‌گردد (Peeva and Montanaro et al., 2007; Cornic, 2009).

بخش عمده‌ای از انرژی نورانی خورشید که به وسیله برگ دریافت می‌شود صرف فرآیندهای بیوشیمیایی می‌گردد، اما ممکن است بخش کوچکی از نور دریافت شده به صورت گرما تلف شده یا توسط ملکول‌های کلروفیل مستقر در مراکز واکنش با طول موج بلندتری (۶۸۰-۷۴۰ نانومتر) بازتابش نماید که به این پدیده فلورسانس کلروفیل گفته می‌شود (سلطانی، ۱۳۸۳). فلورسانس کلروفیل منحصراً در فتوسیستم II اتفاق می‌افتد (Strasser et al., 2000)، از این رو تجزیه و تحلیل تغییرات آن می‌تواند اطلاعات بسیار مفیدی در مورد ساختار و عملکرد فتوسیستم II ارائه کند. (Oukarroum et al., 2007). همچنین از فلورسانس کلروفیل برای تعیین وضعیت فیزیولوژی گیاه و میزان آسیب وارده به دستگاه فتوسنتزی در شرایط تنش‌های محیطی استفاده می‌گردد (Hakam et al., 2003 Percival and Henderson, 2003).

تنش خشکی و شوری موجب افزایش فلورسانس متغیر (F_v)، فلورسانس حداکثر (F_m)، فلورسانس اولیه (F_0) و کاهش حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II (F_v/F_m) می‌گردد (Zhao et al., 2007). هنگامی که شدت نور در حد ایجاد

و بصورت فاکتوریل با دو فاکتور خشکی در چهار سطح (صفر، ۰/۵، ۱- و ۲- مگاپاسکال) و رقم در چهار سطح (بادامی، قزوینی، سرخس و ابارقی) در چهار تکرار انجام شد.

اندازه‌گیری پارامترهای فلورسانس کلروفیل: متغیرهای

فلورسانس (OJIP) توسط یک دستگاه فلورومتر (Pocket PEA, Hansatech LTD, UK) اندازه‌گیری گردید. در پایان آزمایش، برای اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل بین ساعات ۱۱ تا ۱۳، ابتدا با اتصال گیره‌های مخصوص دستگاه روی برگ-های کاملاً توسعه یافته هر یک از ارقام، ۳۰ دقیقه تاریکی ایجاد شد. بعد از این زمان با اتصال رابط دستگاه فلورومتر به هر یک از این گیره‌ها اندازه‌گیری‌ها صورت گرفت. تغییرات فلورسانس کلروفیل در برگ سازگار شده با تاریکی و پس از قرارگرفتن در معرض نور، تابع منحنی کائوتسکی می‌باشد (شکل ۱). زمانی که برگ‌های گیاه در تاریکی قرار می‌گیرند، تمام مراکز واکنش (RC) کاملاً باز شده و کینون‌ها در حالت اکسید شده قرار می‌گیرند. با تابش نور ضعیفی در طیف قرمز (630 nm) توسط دستگاه فلورومتر، تنها بخش کوچکی از انرژی نورانی بصورت تابشی ساطع شده و فلورسانس کمینه (F0) بدست می‌آید. با تابش پالس‌های اشباع نوری (3500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) به سطح برگ، تمامی مراکز واکنش بسته شده و کینون‌ها احیاء می‌شوند، در نتیجه یک افزایش چند مرحله‌ای در میزان فلورسانس کلروفیل اتفاق می‌افتد که به بیشینه فلورسانس (Fm) ختم می‌شود (Misra et al., 2012). در پژوهش حاضر بین پارامترهای فلورسانس کلروفیل نه پارامتر تحت شرایط تنش اندازه‌گیری شد (جدول ۱).

محتوای کلروفیل برگ: میزان کلروفیل a، b و کلروفیل کل

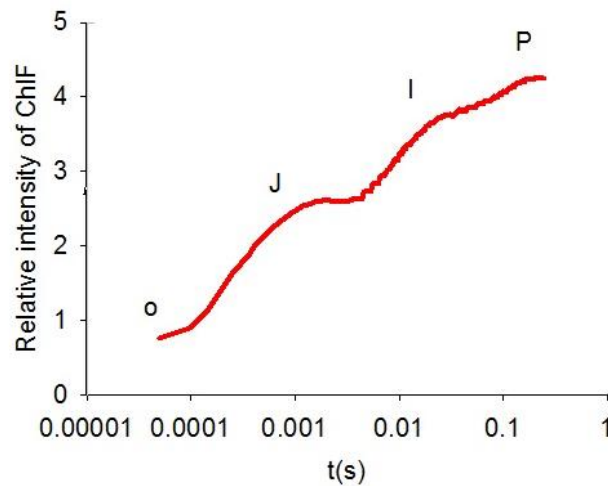
در پایان آزمایش با استفاده از روش طیف سنجی اندازه‌گیری گردید (Lichtenthaler, 1987). بدین منظور، ابتدا ۰/۲۵ گرم از نمونه برگ تازه در هاون چینی سرد با ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد ساییده شد تا به صورت محلول یکنواختی درآید، سپس نمونه‌ها به سانتریفیوژ منتقل و به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید، پس از جداسازی فاز مایع از جامد، قسمت مایع برای قرائت میزان

کاهش میزان کلروفیل برگ در اثر تنش خشکی، باعث کاهش کارایی فتوسنتز می‌شود و گیاهانی که در شرایط تنش میزان کلروفیل خود را در سطح بالایی حفظ می‌کنند کارایی فتوسنتزی بالاتری دارند (Penuelas and Filella, 1998).

هدف این پژوهش، ارزیابی و مقایسه چهار رقم پایه ای پسته در شرایط تنش خشکی با مطالعه کارکرد فتوسیستم II و با استفاده از تغییرات فلورسانس کلروفیل و محتوای کلروفیل آنها بود.

مواد و روش‌ها:

این تحقیق در سال ۱۳۹۲ در گلخانه و آزمایشگاه‌های دانشکده کشاورزی دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان روی چهار رقم پسته پایه‌ای اهلی به نام‌های بادامی‌ریز زرد، قزوینی، سرخس و ابارقی صورت گرفت. در این پژوهش بذر رقم بادامی‌ریز زرد، قزوینی و سرخس از موسسه تحقیقات پسته ایران واقع در شهرستان رفسنجان و رقم ابارقی از شهرستان ابارق واقع در جنوب استان کرمان تهیه شدند. پس از انتخاب و جداسازی بذرهای سالم و حذف پوسته استخوانی، بذرها را به مدت ۱۵ دقیقه در محلول ۲/۵ در هزار قارچ کش بنومیل همراه با هیپوکلریت سدیم ۵ درصد به منظور ضدعفونی خیسانده و سپس با آب مقطر شستشو شدند. پس از شستشو با آب مقطر بذرها در پارچه مرطوب و محل تاریک در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت یک هفته نگهداری شدند تا جوانه بزند. تعداد ۳ عدد بذر جوانه‌دار شده از هر رقم در گلدان‌های پنج لیتری حاوی پرلایت کشت شدند. بعد از منتقل کردن گلدان‌ها به گلخانه با متوسط دمای ۲۷/۶ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۳۰ درصد و شدت نور میانه روز 50 ± 10 کیلولوکس به مدت چهل روز با محلول غذایی کامل هوگلند تغذیه شدند. تیمارهای خشکی با اضافه کردن پلی‌اتیلن گلیکول (PEG) ۶۰۰۰ به محلول کامل هوگلند بر اساس فرمول Michel و Kaufmann (۱۹۷۳) تهیه گردید. چهار سطح خشکی صفر، ۰/۵-، ۱- و ۲- مگاپاسکال (پلی‌اتیلن گلیکول اضافه شده به محلول هوگلند) پس از گذشت چهل روز از رشد گیاه به مدت سه ماه اعمال شد. آزمایش حاضر در قالب طرح کاملاً تصادفی



شکل ۱- منحنی کائوتسکی و تغییرات فلورسانس در یک برگ سبز و سالم (Misra et al., 2012).
O: فلورسانس کمینه، J: فلورسانس پس از ۲ میلی ثانیه، I: فلورسانس پس از ۳۰-۲۰ میلی ثانیه، P: فلورسانس بیشینه

جدول ۱- تعریف برخی پارامترهای فلورسانس کلروفیل اندازه گیری شده در پژوهش حاضر.

| | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|
| F_0 | فلورسانس کمینه پس از گذشت ۵۰ میکرو ثانیه |
| F_m | فلورسانس بیشینه |
| $F_v = (F_m - F_0)$ | فلورسانس متغیر |
| $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$ | حداکثر کارایی فتوسنتزی فتوسیستم II |
| Area | سطح بالای منحنی فلورسانس کلروفیل بین F_0 و F_m |
| RC/ABS | تراکم مراکز واکنش به ازاء انرژی نوری جذب شده |
| F_v/F_0 | کارایی کمپلکس تجزیه آب در سمت دهنده الکترون در فتوسیستم II |
| $V_j = (F_j - F_0)/(F_m - F_0)$ | فلورسانس متغیر نسبی در مرحله J |
| $PI = \left(\frac{RC}{ABS}\right) \left[\left(\frac{TR_0}{ABS}\right) / \left(\frac{F_0}{F_m}\right)\right] \left[\left(\frac{ET_0}{RT_0}\right) / (V_j)\right]$ | شاخص کارایی فتوستنز |

وزن خشک گیاه: برای اندازه‌گیری وزن خشک گیاه (TDW) ، نمونه‌های شاخساره و ریشه به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و سپس وزن گردیدند.
تجزیه و تحلیل آماری: تجزیه آماری داده‌ها و ضرایب همبستگی با استفاده از نرم افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح ۱ و ۵ درصد صورت گرفت و برای محاسبه پارامترهای فلورسانس کلروفیل از نرم افزار PEA Plus استفاده گردید.

نتایج:

پارامترهای فلورسانس کلروفیل: نتایج حاصل از تجزیه

جذب استفاده شد. میزان جذب نور محلول با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (PG Instruments, T80 UV/VIS,) در طول موج‌های ۶۶۳/۲، ۶۴۶/۸ و ۴۷۰ نانومتر قرائت و غلظت رنگیزه‌ها براساس معادلات زیر محاسبه گردید (Lichtenthaler, 1987):

$$Chl a (mg.g^{-1} dw) = \{ 12.25 (A663.2) - 2.79 (A646.8) \} \times V / 1000 \times W$$

$$Chl b (mg.g^{-1} dw) = \{ 12.21(A646.8) - 5.10 (A663.2) \} \times V / 1000 \times W$$

$$Ch T (mg.g^{-1} dw) = Chl b + Chl a$$

A، میزان جذب نور. V، حجم نهایی محلول. W، وزن

نمونه مورد استفاده. Chl a: کلروفیل a. Chl b: کلروفیل b و

ChT: مجموع کلروفیل.

جدول ۲- میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس پارامترهای فلورسانس کلروفیل در چهار رقم پسته

| F_v/F_m | F_v | F_m | F_0 | درجه آزادی | رقم |
|---------------------|-----------------------|--------------------------|-------------------------|------------|--------------|
| ۰/۰۲** | ۲۰۰۰۷۰۱۴/۱** | ۱۳۶۹۴۹۱۲/۰۸* | ۲۰۰۴۵۴۷/۲** | ۳ | رقم |
| ۰/۱** | ۶۳۶۷۶۲۷۳/۲** | ۲۴۴۳۱۶۶۴/۳۸** | ۹۵۵۵۸۳۳/۱۳** | ۳ | خشکی |
| ۰/۰۰۳ ^{ns} | ۳۹۳۸۴۱۷ ^{ns} | ۴۵۴۳۰۴۷/۲۵ ^{ns} | ۶۴۱۸۲۹/۷۳ ^{ns} | ۹ | خشکی × رقم |
| ۰/۰۰۱ | ۲۷۸۶۷۴۵/۸ | ۴۲۵۷۹۵۲ | ۴۲۸۶۳۴/۱۵ | ۳۰ | خطا |
| ۶/۶۷ | ۱۵/۵۴ | ۱۲/۹۴ | ۱۲/۵۷ | - | ضریب تغییرات |

و* به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال یک و پنج درصد

جدول ۳- اثر سطوح مختلف خشکی و رقم بر پارامترهای فلورسانس کلروفیل دانه‌های پسته

| F_v/F_m | F_v | F_m | F_0 | تیماز |
|-------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|----------------|
| | | | | خشکی (MPa) |
| ۰/۷۶ ^a | ۱۳۴۶۳/۵۴ ^a | ۱۷۵۱۵/۸۳ ^a | ۴۰۵۲/۲۹ ^d | ۰.۰ |
| ۰/۶۹ ^b | ۱۱۳۸۴/۰۸ ^b | ۱۶۳۱۸/۶ ^a | ۴۹۳۴/۵۲ ^c | -۰/۵ |
| ۰/۶۳ ^c | ۱۰۰۶۷/۳۳ ^b | ۱۵۶۸۶/۰۸ ^b | ۵۶۱۸/۷۵ ^b | -۱.۰ |
| ۰/۵۲ ^d | ۷۴۹۲/۳۷ ^c | ۱۳۷۹۲/۱۲ ^c | ۶۲۹۹/۷۵ ^a | -۲.۰ |
| | | | | رقم |
| ۰/۶۲ ^b | ۹۹۲۹/۷۹ ^b | ۱۵۷۲۱/۲۲ ^b | ۵۷۹۱/۴۳ ^a | ابارقی |
| ۰/۶۴ ^b | ۹۹۶۴/۸۳ ^b | ۱۴۹۹۷/۷۵ ^c | ۵۰۳۲/۹۱ ^b | بادامی ریز زرد |
| ۰/۶۳ ^b | ۹۸۷۰/۹۱ ^b | ۱۵۱۵۰/۶۶ ^c | ۵۲۷۹/۷۵ ^a | قزویی |
| ۰/۷۲ ^a | ۱۲۶۴۱/۷۹ ^a | ۱۷۴۴۳ ^a | ۴۸۰۱/۲ ^b | سرخس |

در هر ستون، میانگین‌هایی که دارای یک حرف مشترک هستند، بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد دارای اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نیستند.

(جدول ۲). در سطح خشکی صفر و ۰/۵- مگاپاسکال بیشترین F_m مشاهده شد و بین این دو سطح از خشکی تفاوت معنی-داری مشاهده نگردید. با افزایش سطح خشکی پارامتر F_m کاهش یافت به طوری که در بالاترین سطح از تنش ۲- مگاپاسکال پارامتر F_m نسبت به تیمار شاهد ۲۱ درصد کاهش نشان داد (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که بیشترین مقدار پارامتر F_m متعلق به رقم سرخس بود که به ترتیب ۱۳.۲، ۱۴.۱ و ۹.۹ درصد بیشتر از ارقام قزویی، بادامی ریز و ابارقی بود. بین رقم بادامی ریز و قزویی اختلاف معنی‌داری از لحاظ این صفت مشاهده نگردید. نتایج تجزیه واریانس داده‌های مربوط به پارامتر F_v (جدول ۲) نشان داد که

واریانس (جدول ۲) نشان داد که تنش خشکی و رقم روی پارامتر F_0 اثرات معنی‌داری داشتند ولی این پارامتر تحت تاثیر اثرات متقابل آن‌ها قرار نگرفت. نتایج مقایسه میانگین‌ها (جدول ۳) نشان داد که با افزایش سطح خشکی، پارامتر F_0 افزایش یافت. کمترین مقدار F_0 متعلق به تیمار شاهد (صفر مگاپاسکال) بود و در تیمار خشکی ۲- مگاپاسکال حدود ۵۵ درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش نشان داد. در بین ارقام مورد بررسی رقم ابارقی و قزویی بیشترین مقدار F_0 را داشتند به طوری که اختلاف آن با رقم بادامی و سرخس معنی‌دار بود. پارامتر F_m تحت تاثیر تنش خشکی و رقم قرار گرفت ولی برهمکنش خشکی و رقم تاثیری روی این پارامتر نداشت

اثر تنش خشکی و رقم روی این پارامتر در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد ولی اثرات متقابل خشکی و رقم تاثیر معنی‌داری روی این پارامتر نداشت. پارامتر F_v با افزایش سطوح PEG کاهش نشان داد به طوری که در سطح خشکی ۲- مگاپاسکال نسبت به شاهد، ۴۴ درصد کاهش نشان داد (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین پارامتر F_v در بین ارقام نشان داد این پارامتر در رقم سرخس نسبت به سایر ارقام حدود ۲۲ درصد بیشتر بود و بین رقم ابارقی، قزوینی و سرخس تفاوت معنی‌داری از لحاظ این پارامتر مشاهده نگردید (جدول ۳). طبق نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) پارامتر F_v/F_m تحت تاثیر اثرات مستقل خشکی و رقم تغییرات معنی‌داری داشت ولی اثرات متقابل خشکی و رقم روی این پارامتر تاثیر معنی‌داری نداشت. نتایج مقایسه میانگین‌ها (جدول ۳) نشان داد که بیشترین مقدار پارامتر F_v/F_m در تیمار شاهد بود و با افزایش سطوح خشکی به ۱- و ۲- مگاپاسکال، مقدار آن به ترتیب ۱۷ و ۳۱ درصد کاهش یافت. در بین ارقام مورد بررسی از لحاظ پارامتر F_v/F_m تفاوت معنی‌داری بین رقم ابارقی، قزوینی و بادامی مشاهده نشد ولی در رقم سرخس با ۱۳ درصد افزایش، اختلاف معنی‌داری با سایر ارقام نشان داد (جدول ۳).

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به پارامتر سطح بالای منحنی (Area) نشان داد (جدول ۴) که اثر مستقل خشکی و رقم در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد ولی برهمکنش خشکی و رقم اثر معنی‌داری روی این پارامتر نشان نداد. پارامتر سطح بالای منحنی با افزایش سطوح خشکی کاهش معنی‌داری نشان داد (جدول ۵) به طوری که در سطح خشکی ۱- و ۲- مگاپاسکال، به ترتیب ۴۱ و ۵۰ درصد نسبت به شاهد کاهش یافت. در بین ارقام مورد بررسی نیز رقم سرخس و بادامی ریز بیشترین پارامتر سطح بالای منحنی را کسب نمودند و تفاوت معنی‌داری بین این دو رقم از لحاظ این صفت مشاهده نشد. رقم ابارقی با کاهش ۱۴ درصد در میزان سطح بالای منحنی نسبت به سایر ارقام از کمترین سطح بالای منحنی برخوردار بود (جدول ۵). نتایج جدول تجزیه واریانس داده‌های مربوط به RC/ABS (جدول ۴) نشان داد که اثر مستقل تنش خشکی و رقم در سطح احتمال یک درصد معنی

دار شد ولی اثر متقابل خشکی و رقم تاثیر معنی‌داری روی این پارامتر نداشت. همان‌طور که جدول ۵ نشان می‌دهد مقدار پارامتر RC/ABS با افزایش سطوح خشکی کاهش یافت به طوری که در تیمار شاهد بیشترین مقدار پارامتر RC/ABS مشاهده شد و در سطح خشکی ۲- مگاپاسکال، ۹/۵ درصد نسبت به تیمار شاهد کاهش نشان داد. نتایج حاصل از مقایسه میانگین ارقام پسته (جدول ۵) نشان داد که رقم سرخس نسبت به سایر ارقام بیشترین پارامتر RC/ABS را کسب نمود و اختلاف آن از لحاظ آماری با سایر ارقام معنی‌دار بود. پارامتر RC/ABS در رقم قزوینی و ابارقی ۳۴ درصد نسبت به رقم سرخس و ۱۲ درصد نسبت به رقم بادامی ریز کاهش نشان داد. نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول ۴) نشان داد که اثر رقم، خشکی و برهمکنش خشکی و رقم در ارتباط با پارامتر F_v/F_0 در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شد. همان‌طور که شکل ۲ نشان می‌دهد در سطح خشکی صفر مگاپاسکال رقم بادامی و سرخس نسبت به رقم ابارقی و قزوینی بیشترین مقدار پارامتر F_v/F_0 را کسب نمودند. با افزایش سطح خشکی از مقدار این پارامتر کاسته شد و در بالاترین سطح خشکی در بین ارقام مورد بررسی، این پارامتر در رقم سرخس حدود ۴۶ درصد بیشتر از سایر ارقام بود و رقم ابارقی دارای کمترین مقدار و بین رقم‌های بادامی و قزوینی در این سطح از خشکی از لحاظ پارامتر F_v/F_0 تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

نتایج نشان داد که پارامتر V_r با افزایش سطوح خشکی از یک روند کاهشی برخوردار بود، به طوری که در سطح خشکی ۱- و ۲- مگاپاسکال به ترتیب با ۲۲ و ۳۵ درصد، کاهش معنی‌داری نشان داد (جدول ۵). با توجه به اطلاعات بدست آمده از جدول ۵، بیشترین مقدار پارامتر PI در تیمار شاهد (پتانسیل صفر) مشاهده شد. خشکی اثر معنی‌داری روی این پارامتر گذاشت به طوری که در بالاترین سطح از تنش خشکی (۲- مگاپاسکال) پارامتر PI، ۷۵ درصد نسبت به تیمار شاهد کاهش نشان داد. همچنین نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در بین ارقام مورد بررسی، رقم سرخس از بالاترین میزان پارامتر PI برخوردار بود در شرایطی که مقدار آن در رقم ابارقی

جدول ۴- میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس پارامترهای فلورسانس کلروفیل در چهار رقم پسته

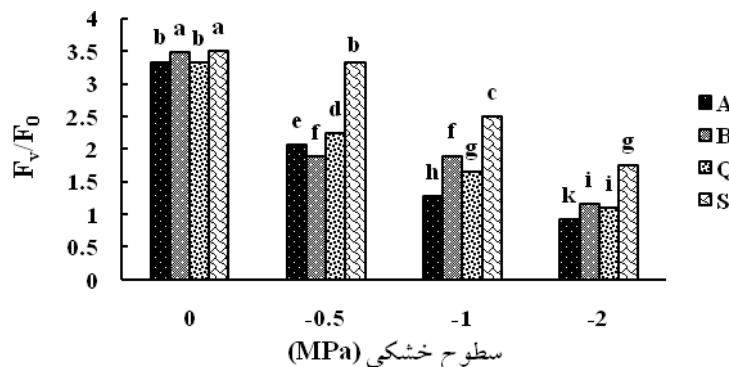
| منابع تغییرات | درجه آزادی | Area | RC/ABS | Fv/F _o | V _J | PI |
|------------------|------------|----------------------------|--------------------|-------------------|---------------------|--------------------|
| رقم | ۳ | ۶۴۱۳۲۱۶۸۳۰/۴* | ۱/۲۸** | ۱/۷۳** | ۰/۰۳۴** | ۱۲/۴۸** |
| خشکی | ۳ | ۹۰۲۱۸۶۰۴۷۴۱** | ۹/۲۶** | ۸/۳۹** | ۰/۱۲۳** | ۱۰۵/۱۱** |
| خشکی × رقم | ۹ | ۳۱۴۴۷۹۵۲۳۴/۴ ^{ns} | ۰/۱۳ ^{ns} | ۰/۲۱* | ۰/۰۰۵ ^{ns} | ۱/۷۳ ^{ns} |
| خطا | ۳۰ | ۳۱۱۹۷۳۸۲۸۳ | ۰/۰۶۲ | ۰/۰۷ | ۰/۰۰۳ | ۰/۹۴ |
| ضریب تغییرات (٪) | - | ۱۸/۴۲ | ۱۶/۷۳ | ۱۲/۷۷ | ۸/۹۵ | ۳۳/۶۰ |

**و* به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد و پنج درصد

جدول ۵- اثر سطوح مختلف خشکی و رقم بر پارامترهای فلورسانس کلروفیل دانه‌های پسته

| تیما | Area | RC/ABS | V _J | PI | خشکی (MPa) |
|----------------|------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|------------|
| رقم | | | | | |
| ابرقی | ۲۷۵۸۰۵/۸۵ ^c | ۱/۲۶ ^c | ۰/۵۵ ^c | ۲/۳ ^d | ۰ |
| بادامی ریز زرد | ۳۱۹۹۲۷/۹۱ ^a | ۱/۴۳ ^b | ۰/۶۴ ^b | ۲/۸۶ ^b | -۰.۵ |
| قزوینی | ۲۸۲۱۸۸/۹۱ ^b | ۱/۲۶ ^c | ۰/۶۲ ^b | ۲/۵۵ ^c | -۱.۰ |
| سرخس | ۳۲۰۵۴۹/۳۳ ^a | ۱/۹۹ ^a | ۰/۷۱ ^a | ۴/۵۱ ^a | -۲.۰ |

در هر ستون، میانگین‌هایی که دارای یک حرف مشترک هستند، بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد دارای اختلاف معنی‌دار با یکدیگر نیستند.



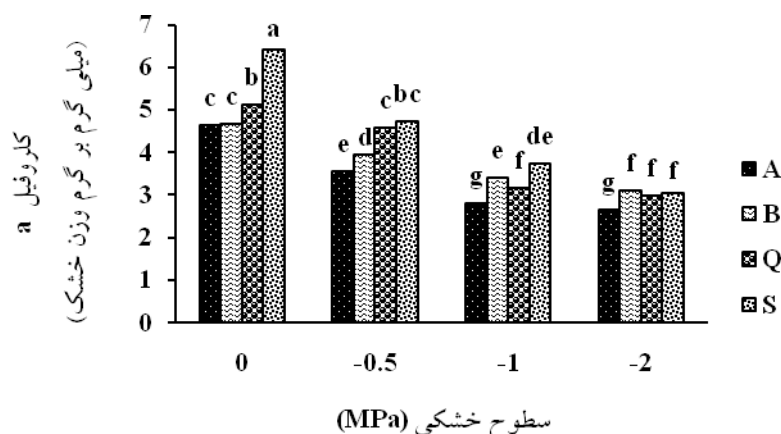
شکل ۲- اثر تنش خشکی بر پارامتر Fv/F0 در ارقام پسته A (ابرقی)، B (بادامی ریز زرد)، Q (قزوینی)، S (سرخس). سطوح خشکی (۰، -۰/۵، -۱ و -۲- مگاپاسکال). ستون‌های دارای حروف مشترک تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون LSD ندارند.

به میزان ۴۶ درصد نسبت به رقم سرخس کاهش نشان داد. کلروفیل a (جدول ۶) نشان داد تنش خشکی و برهمکنش رنگیزه‌های گیاهی: نتایج تجزیه واریانس داده‌های مربوط به تیمارهای خشکی و رقم از نظر آماری در سطح یک درصد بر

جدول ۶- میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس مربوط به رنگیزه‌های گیاهی و وزن خشک در چهار رقم پسته

| منابع تغییرات | درجه آزادی | کلروفیل a | کلروفیل b | کلروفیل کل | وزن خشک گیاه |
|------------------|------------|-----------|-----------|------------|--------------|
| رقم | ۳ | ۳/۳۴** | ۲/۹۲** | ۱۱/۹۵** | ۳۸/۰۴** |
| خشکی | ۳ | ۱۶/۲۵** | ۱۱/۶۶** | ۵۵/۴۲** | ۳۳/۶۶** |
| خشکی × رقم | ۹ | ۰/۶۱** | ۰/۴۶** | ۱/۸۷** | ۲/۴۶** |
| خطا | ۴۷ | ۰/۰۶ | ۰/۰۵ | ۰/۱۶ | ۰/۱۰ |
| ضریب تغییرات (%) | - | ۶/۹۸ | ۵/۶۵ | ۷/۰۳ | ۹/۷۵ |

و* به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد و پنج درصد.



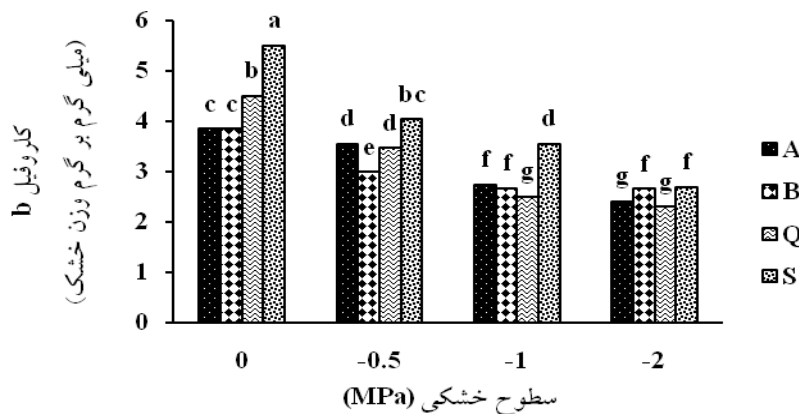
شکل ۳- تاثیر برهمکنش خشکی بر غلظت کلروفیل ا ارقام پسته A (ابارقی)، B (بادامی ریز زرد)، Q (قزوینی)، S (سرخس). سطوح خشکی (۰، ۰/۵، ۱- و ۲- مگاپاسکال). ستون‌های دارای حروف مشترک تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد با استفاده از آزمون LSD ندارند.

خشکی ۲- مگاپاسکال رقم سرخس و بادامی ریز مقدار کلروفیل b بالاتری نسبت به سایر ارقام نشان دادند در این سطح از خشکی رقم ابارقی و قزوینی مقدار کلروفیل b کمتری حاصل کردند. در تیمار شاهد (پتانسیل صفر) رقم سرخس مقدار کلروفیل b بالاتری نشان داد و از اختلاف معنی‌داری نسبت به سایر ارقام مورد مطالعه برخوردار بود.

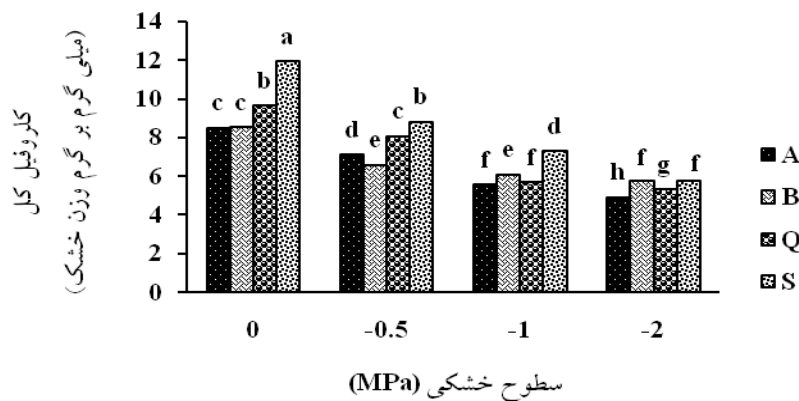
نتایج تجزیه واریانس داده‌های مربوط به کلروفیل کل (جدول ۶) نشان داد اثر خشکی و برهمکنش تنش خشکی و رقم بر میزان کلروفیل کل در سطح یک درصد معنی‌دار شد. نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها نشان داد با افزایش تنش خشکی میزان کلروفیل کل کاهش یافت. بیشترین میزان کلروفیل کل در تیمار شاهد (پتانسیل اسمزی صفر) در رقم سرخس و کمترین میزان کلروفیل کل در سطح خشکی ۲- مگاپاسکال) در رقم ابارقی مشاهده شد (شکل ۵).

غلظت کلروفیل a تاثیر داشتند. نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها نشان داد با افزایش سطوح خشکی غلظت کلروفیل a در هر چهار رقم روند نزولی داشت. در همه ارقام، بیشترین میزان کلروفیل a در شرایط غیر تنش مشاهده شد. در این سطح رقم سرخس بیشترین میزان کلروفیل a را داشت. در سطح خشکی ۲- مگاپاسکال، رقم ابارقی میزان کلروفیل a کمتری نسبت به سایر ارقام تولید کرد. بین ارقام سرخس، قزوینی و بادامی ریز زرد از لحاظ میزان کلروفیل a تفاوت معنی‌داری در سطح خشکی ۲- مگاپاسکال مشاهده نشد (شکل ۳).

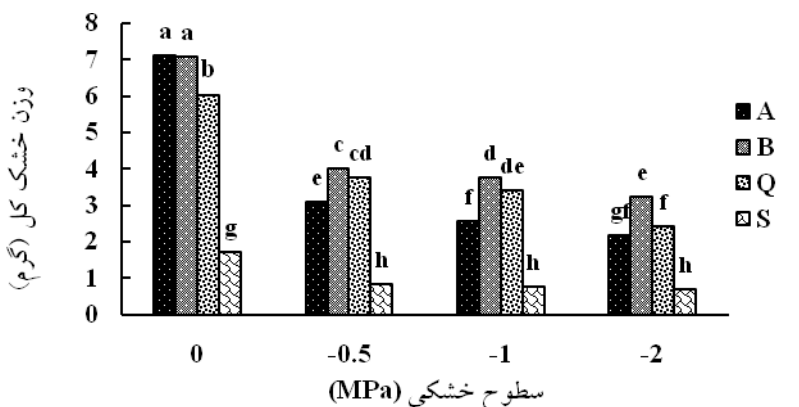
همان طور که در جدول تجزیه واریانس (جدول ۶) نمایش داده شده بر همکنش تنش خشکی و رقم بر میزان کلروفیل b اثر معنی‌داری در سطح یک درصد نشان داد. نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که با افزایش سطوح خشکی میزان کلروفیل b در همه ارقام کاهش یافت (شکل ۴). در سطح



شکل ۴- تاثیر برهمکنش خشکی بر غلظت کلروفیل b ارقام پسته A (ابارقی)، B (بادامی ریز زرنده)، Q (قزوینی)، S (سرخس). سطوح خشکی (۰، ۰/۵، ۱، ۲- مگاپاسکال). ستون‌های دارای حروف مشترک تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد با استفاده از آزمون LSD ندارند.



شکل ۵- تاثیر برهمکنش خشکی بر غلظت کلروفیل کل ارقام پسته A (ابارقی)، B (بادامی ریز زرنده)، Q (قزوینی)، S (سرخس). سطوح خشکی (۰، ۰/۵، ۱، ۲- مگاپاسکال). ستون‌های دارای حروف مشترک تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد با استفاده از آزمون LSD ندارند.



شکل ۶- تاثیر برهمکنش خشکی و رقم بر وزن خشک کل ارقام پسته A (ابارقی)، B (بادامی ریز زرنده)، Q (قزوینی)، S (سرخس). سطوح خشکی (۰، ۰/۵، ۱، ۲- مگاپاسکال). ستون‌های دارای حروف مشترک تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد با استفاده از آزمون LSD ندارند.

(شکل ۶). با افزایش سطوح خشکی از میزان وزن خشک کل در بین ارقام کاسته شد به طوری که در بالاترین سطح از تنش

وزن خشک کل: نتایج نشان داد که تنش خشکی سبب کاهش قابل توجهی در وزن خشک گیاهان مورد بررسی گردید

جدول ۷- ضرایب همبستگی پیروسون بین صفات ارزیابی شده در ارقام پسته مورد آزمایش (n=4)

| متغیر | F _v /F ₀ | F ₀ | F _m | F _v | F _v /F _m | Area | RC/ABS | V _J | PI | Chl _a | Chl _b | ChlT | TDW |
|--------------------------------|--------------------------------|---------------------|--------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|-----|
| F _v /F ₀ | ۱ | | | | | | | | | | | | |
| F ₀ | -۰/۲۷ ^{ns} | ۱ | | | | | | | | | | | |
| F _m | ۰/۷۹ ^{oo} | -۰/۱۴ ^{ns} | ۱ | | | | | | | | | | |
| F _v | ۰/۹۳ ^{oo} | -۰/۱۲ ^{ns} | ۰/۹۰ ^{oo} | ۱ | | | | | | | | | |
| F _v /F _m | ۰/۹۳ ^{oo} | -۰/۱۱ ^{ns} | ۰/۸۰ ^{oo} | ۰/۹۷ ^{oo} | ۱ | | | | | | | | |
| Area | ۰/۹۱ ^{oo} | -۰/۱۳ ^{ns} | ۰/۶۲ ^{oo} | ۰/۸۴ ^{oo} | ۰/۸۸ ^{oo} | ۱ | | | | | | | |
| RC/ABS | ۰/۹۲ ^{oo} | -۰/۳۰ ^{ns} | ۰/۶۶ ^{oo} | ۰/۸۴ ^{oo} | ۰/۸۶ ^{oo} | ۰/۹۰ ^{oo} | ۱ | | | | | | |
| V _J | ۰/۹۳ ^{oo} | -۰/۲۸ ^{ns} | ۰/۸۳ ^{oo} | ۰/۸۹ ^{oo} | ۰/۹۲ ^{oo} | ۰/۹۲ ^{oo} | ۰/۸۵ ^{oo} | ۱ | | | | | |
| PI | ۰/۹۲ ^{oo} | -۰/۱۹ ^{ns} | ۰/۶۷ ^{oo} | ۰/۸۳ ^{oo} | ۰/۸۴ ^{oo} | ۰/۸۲ ^{oo} | ۰/۸۳ ^{oo} | ۰/۸۵ ^{oo} | ۱ | | | | |
| Chl _a | ۰/۹۰ ^{oo} | -۰/۴۵ ^o | ۰/۶۳ ^{oo} | ۰/۷۷ ^{oo} | ۰/۸۰ ^{oo} | ۰/۸۲ ^{oo} | ۰/۸۲ ^{oo} | ۰/۸۳ ^{oo} | ۰/۹۰ ^{oo} | ۱ | | | |
| Chl _b | ۰/۸۹ ^{oo} | -۰/۴۷ ^o | ۰/۶۴ ^{oo} | ۰/۸۲ ^{oo} | ۰/۸۵ ^{oo} | ۰/۹۰ ^{oo} | ۰/۸۳ ^{oo} | ۰/۸۲ ^{oo} | ۰/۹۰ ^{oo} | ۰/۹۵ ^{oo} | ۱ | | |
| ChlT | ۰/۹۰ ^{oo} | -۰/۴۳ ^{ns} | ۰/۷۰ ^{oo} | ۰/۸۰ ^{oo} | ۰/۸۳ ^{oo} | ۰/۸۳ ^{oo} | ۰/۷۸ ^{oo} | ۰/۸۳ ^{oo} | ۰/۹۲ ^{oo} | ۰/۹۹ ^{oo} | ۰/۹۸ ^{oo} | ۱ | |
| TDW | ۰/۳۸ ^{ns} | -۰/۲۱ ^{ns} | ۰/۱۳ ^{ns} | ۰/۲۵ ^{ns} | ۰/۴۷ ^o | ۰/۵۸ ^o | ۰/۴۸ ^o | ۰/۳۵ ^{ns} | ۰/۶۱ ^{oo} | ۰/۳۶ ^{ns} | ۰/۳۶ ^{ns} | ۰/۱۸ ^{ns} | ۱ |

* و ** به ترتیب معنی دار در سطح احتمال یک و پنج درصد و ns تفاوت معنی داری وجود ندارد. TDW وزن خشک.

تیلاکوئید و کارایی نسبی انتقال الکترون از فتوسیستم II به فتوسیستم I را نشان می‌دهد (Bilger and Björkman, 2014). نتایج ما در این پژوهش نشان داد که پارامترهای فلورسانس کلروفیل مورد بررسی به جز فلورسانس کمینه، تحت شرایط تنش خشکی کاهش یافتند. کاهش پارامترهای فلورسانس در شرایط خشکی می‌تواند به دلیل اتلاف انرژی بصورت گرما یا خاموشی غیر فتوشیمیایی باشد (Sheuermann *et al.*, 1991). نتایج ما در این پژوهش نشان داد که فلورسانس کمینه (F₀) با افزایش سطوح خشکی افزایش یافت و در تیمار شاهد کمترین مقدار بود. کاهش در میزان فلورسانس کمینه (F₀) در شرایط مناسب رطوبتی به دلیل افزایش فعالیت دستگاه فتوسنتزی و انتقال بیشتر الکترون از فتوسیستم II به زنجیره‌ی انتقال الکترون می‌باشد (Lu *et al.*, 1999). تنش‌های محیطی با ایجاد تغییرات ساختاری و خسارت به مراکز واکنش فتوسیستم II موجب افزایش شدید فلورسانس اولیه می‌شوند و فلورسانس کمینه (F₀) هرچه قدر کمتر باشد بدین معناست که فعالیت‌های فتوسنتزی به نحو مطلوب‌تری در جریان هستند (Andrewes *et al.*, 1995). افزایش پارامتر F₀ در شرایط خشکی گزارش شده که می‌تواند در نتیجه کاهش یکپارچگی غشاء تیلاکوئید ایجاد گردد (Wright *et al.*, 2009). نتایج این پژوهش نشان داد که همبستگی منفی بین افزایش F₀ و

(۲- مگاپاسکال) دانهال‌ها کمترین وزن خشک کل را تولید کردند (شکل ۶). اگرچه تنش خشکی سبب کاهش وزن خشک گیاهان مورد بررسی گردید ولی پاسخ آن‌ها نسبت به شرایط تنش متفاوت بود به طوری که کاهش وزن خشک کل در رقم سرخس بین سطوح خشکی ۰/۵-، ۱- و ۲- مگاپاسکال تفاوت معنی داری نشان نداد. رقم بادامی ریز زرد نسبت به سایر ارقام در بالاترین سطح از خشکی کمترین کاهش وزن خشک کل را با ۵۴ درصد نشان داد و رقم ابارقی از بیشترین کاهش وزن خشک کل در تیمار ۲- مگاپاسکال خشکی با ۶۵ درصد برخوردار بود.

نتایج ضرایب همبستگی (جدول ۷) نشان داد که همبستگی معنی داری بین پارامتر عملکرد کمی و کیفی دستگاه فتوسنتز (PI) با وزن خشک گیاه وجود دارد (R²= 0.61) در حالی که همبستگی معنی داری بین محتوای کلروفیل برگ و وزن خشک گیاه مشاهده نگردید.

بحث:

فلورسانس کلروفیل به عنوان یک معیار سنجش تاثیر تنش‌های محیطی، از جمله تنش خشکی بر گیاهان و تعیین میزان مقاومت به خشکی آن‌ها پیشنهاد شده است (Moffatt *et al.*, 1990). در حقیقت، مقدار فلورسانس کلروفیل، تمامیت غشای

مخزن کینون مسدود شود (مثلاً در مواجهه با شرایط تنش)، سطح مذکور به شدت کاهش می‌یابد (Misra et al., 2001). پارامتر RC /ABS نشان دهنده‌ی تراکم مراکز واکنش به ازاء مقدار انرژی نورانی جذب شده می‌باشد (Mehta et al., 2010). در پژوهش حاضر تنش خشکی باعث کاهش میزان RC /ABS شد که نشان دهنده‌ی کاهش در تراکم مولکول‌های آنتن یا تعداد کلروفیل، در دریافت نور می‌باشد (Sterasser et al., 2004). همان‌طور که نتایج ضرایب همبستگی (جدول ۷) نشان می‌دهد بین پارامتر RC /ABS و کلروفیل a, b و کل در این پژوهش همبستگی مثبت معنی‌داری وجود دارد ($R^2=82$ ، $R^2=90$ و $R^2=83$) به‌اینصورت که با کاهش برداشت کننده‌های نور (CHL) پارامتر RC /ABS نیز کاهش یافته است. گزارش شده که در اثر اعمال تنش، بخشی از مراکز واکنش (RC) غیر فعال شده یا تعداد و گنجایش ظرفیت کینون‌ها در شرایط تنش کم می‌شود (Misra et al., 2001). مطالعات مختلف در گیاهان تحت شرایط تنش نشان داد که تخریب پروتئین‌های D1 و D2 باعث مهار انتقال الکترون شده و در نتیجه جذب نور و در ادامه فتوسنتز کاهش می‌یابد (Giardi et al., 1996).

همان‌طور که نتایج این پژوهش نشان می‌دهد با افزایش سطوح خشکی و کاهش جذب آب توسط دانه‌ها، فعالیت کمپلکس تجزیه آب در سمت دهنده الکترون در فتوسیستم II (F_v/F_m) کاهش معنی‌داری را نشان داد. این پارامتر حساس‌ترین جزء در زنجیره انتقال الکترون به شرایط تنش می‌باشد (Kalaji et al., 2011). کاهش این نسبت در نتیجه کاهش جذب آب و اختلال در فرآیند انتقال الکترون در فتوسنتز رخ می‌دهد (Periera et al., 2000). نتایج این پژوهش با نتایج پژوهش پیرا و همکاران (۲۰۰۰) بر روی پایه‌های مرکبات تحت شرایط تنش مطابقت دارد.

پارامتر V_1 نشان دهنده فلورسانس متغیر نسبی در مرحله J منحنی کائوتسکی (شکل ۱) است. کاهش فلورسانس در ناحیه J به دلیل تخلیه انرژی از مرکز واکنش به اولین دریافت کننده الکترون یعنی Q_A می‌باشد (Xia et al., 2004). در پژوهش حاضر، VJ در سطح خشکی ۱- و ۲- مگاپاسکال به

پارامترهای فلورسانس کلروفیل و مخصوصاً کلروفیل a و b ($R^2=-45$ و $R^2=-47$) وجود دارد (جدول ۷). بین ارقام مورد بررسی رقم سرخس و بادامی‌ریز از کمترین پارامتر فلورسانس کلروفیل کمینه (F_0) برخوردار بودند. به نظر می‌رسد دستگاه فتوسنتزی این ارقام تحت شرایط تنش خشکی از کارایی بالاتری در انتقال الکترون برخوردار می‌باشد. افزایش فلورسانس کمینه (F_0) در شرایط تنش خشکی در زیتون (Angelopoulos et al., 1996) و انگور (Wright et al., 2009) نیز گزارش شده است. نتایج نشان داد که پارامترهای F_v ، F_m و F_v/F_m با افزایش سطوح خشکی کاهش نشان دادند. کاهش در میزان فلورسانس بیشینه (F_m)، فلورسانس متغیر (F_v) و نسبت فلورسانس متغیر به فلورسانس بیشینه (F_v/F_m) در سطوح خشکی می‌تواند به دلیل مهار الکترون و جلوگیری از انتقال آن از سمت دهنده فتوسیستم II به محل پذیرش الکترون توسط مولکول‌های کینون (Q_A ، Q_C) باشد (Mahta et al., 2010). تنش خشکی با اثرات نامطلوبی که بر تثبیت کربن می‌گذارد، ظرفیت پذیرش و انتقال الکترون را کاهش داده، در نتیجه سیستم به سرعت به F_m می‌رسد که نتیجه آن کاهش در فلورسانس متغیر (F_v) خواهد بود از این رو، کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II که بصورت نسبت F_v/F_m بیان می‌شود، تحت تاثیر تنش خشکی کاهش می‌یابد (Ma et al., 1995). در بین ارقام مورد بررسی در این پژوهش، پارامتر F_v/F_m در رقم سرخس ۱۳ درصد نسبت به سایر ارقام بیشتر بود اما بین رقم بادامی، قزوینی و سرخس از نظر این پارامتر تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید. کاهش میزان F_v/F_m تحت شرایط تنش خشکی روی توت‌فرنگی، کاهو و زیتون گزارش شده است (Razavi et al., 2008؛ Hussain and Reigosa, 2011؛ Petridis et al., 2012).

در این پژوهش سطح بالای منحنی فلورسانس بین F_0 و F_m ، با افزایش تنش خشکی کاهش یافت. سطح بالای منحنی فلورسانس بین F_0 و F_m متناسب با گنجایش مخزن پذیرنده الکترون یا همان Q_A در طرف احیاء کننده فتوسیستم II می‌باشد در صورتی که انتقال الکترون از مراکز واکنش به سمت

به عنوان رقمی برشمرده که دستگاه فتوستتزی آن در مقایسه با سایر ارقام مورد آزمایش، از کارایی و عملکرد فتوستتزی کمتری برخوردار است و سرخس را به عنوان رقمی در نظر گرفت که از بالاترین کارایی سیستم فتوستتزی بهره می برد.

کاهش پارامترهای فلورسانس کلروفیل تحت شرایط تنش خشکی می تواند به دلیل کاهش در محتوای کلروفیل باشد (Kocheva et al., 2004). براساس نتایج به دست آمده تیمار خشکی باعث کاهش در میزان کلروفیل a، b و کل گردید. کاهش در محتوای کلروفیل برگ ممکن است به علت از بین رفتن آنزیم های خاصی باشد که در بیوستتزی رنگدانه های فتوستتزی نقش دارند (Murkute et al., 2006). از جمله این آنزیم ها آنزیم گلوتامات لیگاز است که نقش مهمی در سنتز کلروفیل دارد و کاهش سنتز کلروفیل تحت شرایط تنش خشکی به دلیل ممانعت از فعالیت آنزیم گلوتامات لیگاز می باشد (Dalal and Tripathy, 2012). در پژوهشی بررسی اثر تنش خشکی ناشی از پلی اتیلن گلیکول بر محتوای رنگدانه های فتوستتزی گیاه برنج، کاهش محتوای کلروفیل تحت شرایط تنش خشکی به کاهش در سنتز آنزیم گلوتامات لیگاز نسبت داده شد (Dalal and Tripathy, 2012). همچنین کاهش میزان کلروفیل می تواند به دلیل فعالیت بیشتر آنزیم کلروفیلاز در شرایط تنش باشد (Sheng et al., 2008). دلایل متعددی برای کاهش رشد در شرایط تنش خشکی گزارش شده است. از جمله آن می توان به کاهش فتوستتزی، کاهش سطح برگ، کاهش فشار تورژسانس سلول و محدودیت تثبیت CO₂ اشاره کرد. بر اساس نتایج بدست آمده تنش خشکی اثر معنی داری بر میزان کلروفیل و کارایی فتوشیمیایی سیستم II و تولید وزن خشک ارقام مختلف پسته گذاشت. تحقیقات نشان داده که همبستگی مناسبی بین توقف فتوستتزی، پارامترهای فلورسانس کلروفیل و در نهایت تولید وزن خشک وجود دارد (Bongi and Loreto, 1989).

نتیجه گیری کلی:

براساس داده های بدست آمده از این پژوهش پارامتر F_v/F_m ، PI

ترتیب ۲۲ و ۳۵ درصد کاهش یافت. کاهش پارامتر V_J تحت تنش خشکی می تواند به دلیل کاهش در میزان Q_A باشد همچنین کاهش القای برانگیخته گی در فتوسیستم II می تواند به دلیل کاهش در سرعت احیاء شدن کینون ها اتفاق افتد (Kocheva et al., 2004). کاهش پارامتر V_J تحت تنش خشکی در گیاه زراعی جو (Kocheva et al., 2004) و آفتاب گردان (Sheuermann et al., 1991) گزارش شده است. در پژوهش حاضر پارامتر V_J در رقم سرخس نسبت به سایر ارقام بالاتر بود که نشان دهنده فعالیت بهتر مراکز واکنش در انتقال الکترون به Q_A در این رقم می باشد.

پارامتر PI در این پژوهش تحت تاثیر سطوح خشکی قرار گرفت. این پارامتر بیان کننده عملکرد کمی و کیفی دستگاه فتوستتزی است و نقش مهمی در تعیین مقدار تنش وارد شده به گیاه و همچنین در شناسایی ارقام مقاوم و حساس به خشکی دارد (Barazzouk., et al., 2005). کاهش پارامتر کارایی فتوستتزی (PI) در شرایط تنش خشکی نشان دهنده از دست دادن کارایی فتوشیمیایی نظام نوری II و I در گیاهان می باشد (Tach et al., 2007). نتایج نشان داد که در شدیدترین سطح از خشکی (۲- مگاپاسکال) پارامتر PI کمترین مقدار بود. گزارش شده، الکترون ها در شرایط تنش شدید به دلیل عدم انتقال آن در زنجیره انتقال الکترون تجمع یافته و در ادامه، در فتوسیستم I از طریق واکنش مهلر با اکسیژن ترکیب شده و در نتیجه رادیکال های آزاد مانند سوپراکسید، هیدروکسیل و پراکسید هیدروژن تولید می شوند، در صورتی که این رادیکال ها مهار نشوند سبب تنش اکسیداتیو شده و به دستگاه فتوستتزی آسیب می رسانند (Aganchich et al., 2009). به طوری که نتایج جدول ۷ نشان می دهد، همبستگی قابل قبولی ($R^2=61$) بین پارامتر PI و زیست توده گیاه (بر اساس وزن خشک) برقرار است که نشان دهنده حساسیت این پارامتر نسبت به تنش خشکی بوده و می توان از آن برای مقایسه میزان مقاومت ارقام و گونه ها نسبت به تنش خشکی و همچنین برای برآورد شدت تنش خشکی در یک گیاه استفاده کرد. بنابراین در بین ارقام مورد بررسی، بر اساس پارامتر PI رقم ابارقی را می توان

فتوستتزی رقم ابارقی حساسیت بیشتری به تنش خشکی نشان داد. همچنین کاهش وزن خشک در این رقم در سطح بالای خشکی بیشتر بود بنابراین نسبت به سایر ارقام مقاومت کمتری به تنش خشکی داشت. بر اساس نتایج این آزمایش، کاربرد فلورسانس کلروفیل به عنوان یک روش سریع و غیر مخرب و تجزیه و تحلیل متغیرهای آن می‌تواند در بررسی واکنش ارقام و پایه‌های پسته به تنش خشکی قابل توصیه باشد.

و محتوای کلروفیل در ارقام مورد بررسی همبستگی بالایی با تولید وزن خشک دارند (جدول ۷). در بین ارقام مورد بررسی رقم سرخس و بادامی‌ریز از ظرفیت فتوستتزی بالاتری در شرایط تنش خشکی برخوردار بودند همچنین کاهش وزن خشک در این ارقام در سطوح خشکی نسبت به تیمار شاهد کمتر بود در نتیجه می‌توان گفت که در شرایط خشکی نسبت به سایر ارقام از عملکرد بهتری برخوردارند. در مقابل دستگاه

منابع:

سلطانی، ا. (۱۳۸۳) فلورسانس کلروفیل و کاربرد آن. انتشارات داخلی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. ۱۹ صفحه.
میرزایی خلیل آبادی، ح. ر. و چیدری، ا. ح. (۱۳۸۳) تعیین کارآیی فنی و مقدار بهینه آب در تولید پسته. مجله پژوهش و سازندگی در زراعت و باغبانی ۴۳: ۶۲-۴۹.

- Aganchich, B., Wahbi, S., Loreto, F. and Centritto, M. (2009) Partial root zone drying: regulation of photosynthetic limitations and antioxidant enzymatic activities in young olive (*Olea europaea*) saplings. *Tree Physiology* 29: 685-696.
- Andrews, J. R., Fryer, M. J. and Baker, N. R. (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.
- Angelopoulos, K., Dichio, B. and Xiloyannis, C. (1996) Inhibition of photosynthesis in olive trees (*Olea europaea* L.) during water stress and rewatering. *Journal of Experimental Botany* 47:1093-11301.
- Barazzouk, S., Kamat, P. V. and Hotchandani, S. (2005) Photoinduced Electron Transfer between Chlorophyll a and Gold Nanoparticles. *Journal Physiology and Chemistry* 109:716-723.
- Bilger, W. and Björkman, O. (2014) Relationships among violaxanthin deepoxidation, thylakoid membrane conformation, and nonphotochemical chlorophyll fluorescence quenching in leaves of cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Planta* 193: 238-246.
- Bongi, G. and Loreto, F. (1989) Gas exchange properties of salt stressed olive (*Olea europaea* L.) leaves. *Plant physiology* 90:1408-1416.
- Dalal, V. K. and Tripathy, B. C. (2012) Modulation of chlorophyll biosynthesis by water stress in rice seedlings during chloroplast biogenesis. *Plant Cell and Environment* 35: 1685-1703.
- Giardi, M.T., Cona, A., Geiken, B., Kucera, T., Masjidek, J., Mattoo, A. K. (1996) Long-term drought stress induces structural and functional reorganization of photosystem II. *Planta* 199: 118-125.
- Hakam, N., Deell, J. R., Khanizadeh, S. and Richer, C. (2000) Assessing chilling tolerance s using in chlorophyll fluorescence. *Hort Science* 35: 184-186.
- Hussain, M. I. and Reigosa, M. J. (2011) A chlorophyll fluorescence analysis of photosynthetic efficiency, quantum yield and photon energy dissipation in PSII antennae of *Lactuca sativa* L. leaves exposed to cinnamic acid. *Journal of Experimental Botany* 51: 659-668.
- Kafkas, S. and Rperl, T. (2001) Morphological and molecular phylogeny of pistacia species in turkey. *Theoretical and Applied Genetics* 102: 908-915.
- Kalaji, H., Govindjee, I., Koscielniak, K., J. and Gołaszewska, K. (2011) Effects of salt stress on photosystem II efficiency and CO₂ assimilation of two Syrian barley landraces. *Journal Environmental and Experimental Botany* 73: 64-72.
- Kocheva, K., Lambrev, P., Georgiev, G., Goltsev, V. and Karabaliiev, M. (2004) Evaluation of chlorophyll fluorescence and membrane injury in the leaves of barley cultivars under osmotic stress. *Bio electrochemistry* 63: 121 – 124.
- Lichtenthaler, H. K. (1987) Chlorophylls and carote-noids: pigments of photosynthetic biomembra-nes. *Methods in Enzymology* 148:350-382.
- Lu, A. and Vonsh, K. (1999) Characterization of PSII photochemistry in salt adapted cells of cyan bacterium *Spirulina platensis*. *New Phytology* 141: 231- 239.
- Ma, B. L., Morison, M. J. and Videng, H. D. (1995) Leaf greenness and photosynthetic rates in soybean. *Crop Science* 35: 1411-1414.

- Maxwell, K. and Johnson, G. (2000) Chlorophyll fluorescence a practical guide *Journal experimental botany* 51:659-668.
- Mehta, P., Jajoo, A., Mathur, S. and Bharti, S. (2010) Chlorophyll a fluorescence study revealing effects of high salt stress on Photosystem II in wheat leaves. *Plant Physiology and Biochemistry* 48: 16-20.
- Michel, B. E. and Kaufmann, M. R. (1973) The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. *Plant Physiology* 51: 914-916.
- Misra, A. N., Misra, M. and Singh, R. (2012) Chlorophyll fluorescence in plant biology. In: *Biophysics* (ed. Misra, A. N.) Pp. 171-192. InTech Europe, Rijeka.
- Misra, A. N., Srivastava, A. and Strasser, R. J. (2001) Utilization of fast chlorophyll a fluorescence technique in assessing the salt/ion sensitivity of mugbean and Brassica seedlings. *Journal of Plant Physiology* 158: 1173-1181.
- Moffatt, J., Sears, M. R. G. and Paulsen, G. (1990) Wheat height temperature tolerance during reproductive growth. Evaluation by chlorophyll fluorescence. *Crop Science*: 881-885.
- Montanaro, G., Dichio, B. and Xiloyannis, C. (2007) Response of photosynthetic machinery of field-grown kiwifruit under Mediterranean conditions during drought and re-watering. *Photosynthetica* 45: 533-540.
- Murkute, A., Sharma, S. and Singh, S. (2006) Studies on salt stress tolerance of citrus rootstock genotypes with arbuscular mycorrhizal fungi. *Horticultural Science* 33: 70-76.
- Oukarroum, A., El Madidi, S., Schansker, G. and Strasser, R. J. (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: 438-446.
- Peeva, V. and Cornic, G. (2009) Leaf photosynthesis of *Haberlea rhodopensis* before and during drought. *Environmental and Experimental Botany* 65: 310-318.
- Penuelas, J. and Filella, I. (1998) Visible and near-infrared reflectance techniques for diagnosing plant physiological status. *Trends in Plant Science* 3: 151-156.
- Percival, G. and Henderson, A. (2003) An assessment of the freezing tolerance of urban trees using chlorophyll fluorescence. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 78: 254-260.
- Pereira, W.E., Siqueira, D.L., Martínez, C.A. and Puiatti, M. (2000) Gas exchange and chlorophyll fluorescence in four citrus rootstocks under aluminium stress. *Journal Plant Physiology* 157: 513-520.
- Petridis, A., Therios, I., Samouris, G., Koundouras, S. and Giannakoula, A. (2012) Effect of water deficit on leaf phenolic composition, gas exchange, oxidative damage and antioxidant activity of four Greek olive (*Olea europaea* L.) cultivars. *Plant Physiology and Biochemistry* 60: 1-11.
- Razavi, F., Pollet, B., Steppe, K. and Van Labeke, C. (2008) Chlorophyll fluorescence as a tool for evaluation of drought stress in strawberry. *Photosynthetica* 46: 631-633.
- Sayed, O.H. (2003) Chlorophyll fluorescence as a tool in cereal research. *Photosynthetica* 3: 321-330.
- Scheer, H. (2004) Chlorophylls and carotenoids. *Encyclopedia of Biological Chemistry* 1: 430-433.
- Sheng, M., Tang, M., Chen, H., Yang, B., Zang, F. and Y. Huang. (2008) Influence of Arbuscular mycorrhizal on photosynthesis and water status of maize plants under salt stress. *Mycorrhiza* 18: 287- 296.
- Sheuermann, R., Biehler, K., Stuhlfauth, T. and Flock, H.P. (1991) Simultaneous gas exchange and fluorescence measurements indicate differences in the adaptation of sunflower, bean and maize to water stress. *Photosynthetica Researched* 27: 187 - 197.
- Strasser, R. J., Srivastava, A. and Tsimilli-Michael, M. (2000) The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. In: *Probing photosynthesis: mechanisms, regulation and adaptation* (eds. Yanus, M., Pathre, U. and Mohanty, P.) Pp. 443-480. Taylor and Francis, London.
- Strasser, R. J., Tsimilli-Michael, M. and Srivastava, A. (2004) Analysis of the fluorescence transient. In: *Chlorophyll fluorescence: A Signature of Photosynthesis* (eds. Papageorgiou, G. and Govindjee, C.) Pp. 321 - 362. *Advances in Photosynthesis and Respiration Series*, Dordrecht: Springer.
- Taiz, L. and Zeiger, E. (2002) *Plant Physiology*. Sinecure Associates Inc. 690p.
- 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.
- Xia, J., Li, Y. and Zou, D. (2004) Effects of salinity stress on PSII in *Ulva lactuca* as probed by chlorophyll fluorescence measurements. *Aquatic Botany* 80: 129-137.
- Zhao, G. Q., Ma, B. L. and Ren, C. Z. (2007) Growth, Gas Exchange, chlorophyll fluorescence, and ion content of naked oat in response to salinity. *Journal Crop Science* 41: 123-131.

Comparison of photosystem II efficiency in four Pistachio rootstocks under drought stress using chlorophyll fluorescence technique

Farooq Fahimi Kuyerdı and Mohammad Hussain Shamshiri

Department of Science Horticulture, College of Agriculture, Vali-Asr-University
(Received: 3 January 2015, Accepted: 3 October 2015)

Abstract

In a greenhouse experiment aimed to compare drought resistance, photosystem II efficiency was evaluated using chlorophyll fluorescence parameters and chlorophyll content of four pistachio (*Pistacia vera* L.) rootstocks based on a completely randomized design (CRD) as factorial with drought treatment (PEG + Hoagland solution) at four levels (0, -0.5, -1 and -2 MPa) and four pistachio rootstocks «Abareqi, Badami-Rize-zarand, Qazvini and sharakhs». After three months of stress, chlorophyll fluorescence and related transients (F_0 , F_v , F_m , F_v/F_m , Area, V_J , PI, F_v/F_0 and RC /ABS) were measured by fluorimeter. Chlorophyll a, b, total chlorophyll content and total dry weight of plants were measured at the end of experiment. Results showed that chlorophyll fluorescence parameters were influenced by drought stress. The parameters of F_v , F_m , F_v/F_m and PI were decreased with increasing of drought stress level. PI, a photosynthesis efficiency index, was reduced by 90% at the highest level of drought intensity. These parameters showed the most correlation with total dry weight ($R^2 = 0.61$) so it could be used as an effective parameter to identify drought susceptible or tolerance rootstocks. Our results showed that there was a significant correlation between chlorophyll content, chlorophyll fluorescence parameters and total dry weight under drought stress. Results of the experiment revealed that sarakhs and Badami-Riz-zarand could be categorized as more drought resistant based on their higher photosynthetic capacity and dry weight as compared to Abareqi.

Keywords: Chlorophyll fluorescence, Drought stress, Pistachio, Polyethylene glycol (PEG).

*corresponding author, Email: shamshiri88@gmail.com