

## اثر شدت تابش بر تحمل به سرمای سویا [Glycine max (L.) Merr.] با استفاده از روش فلورسانس کلروفیل

مریم جنایان<sup>۱</sup>، همت‌اله پیردشتی<sup>۲\*</sup> و یاسر یعقوبیان<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، <sup>۲</sup> گروه زراعت، پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، <sup>۳</sup> گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان  
(تاریخ دریافت: ۱۲/۱۱/۹۲، تاریخ پذیرش نهایی: ۰۹/۱۱/۱۳۹۳)

### چکیده:

به منظور بررسی اثر تنفس سرما و شدت تابش بر پارامترهای فلورسانس کلروفیل و امکان به کارگیری این روش برای ارزیابی اثر شدت تابش بر تحمل به سرما در گیاه سویا آزمایشی در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی به صورت فاکتوریل اجرا گردید. دو رقم ۰۳۲ و BP سویا در گلخانه و در شرایط مطلوب رشدی کشت شده و پس از سه هفته، به مدت ۱۲ روز تحت تیمارهای دمایی (پنج و ۲۸ درجه سانتی‌گراد) و تابشی (۲۰۰۰ و ۸۰۰۰ لوکس) قرار گرفتند و سپس پارامترهای فلورسانس کلروفیل اندازه‌گیری گردید. نتایج نشان داد که تنفس سرما در هر دو تیمار تابشی موجب کاهش فلورسانس متغیر (Fv) حداقل کارایی کوانتمی فتوسیستم II (Fv/Fm) و کارایی کوانتمی فتوشیمیایی مؤثر فتوسیستم II شد در حالی که کارایی کوانتمی غیر فتوشیمیایی تنظیم شده فتوسیستم II [Y(NPQ)]، کارایی کوانتمی غیر فتوشیمیایی تنظیم نشده فتوسیستم II [Y(NO)] و خاموشی غیر فتوشیمیایی (NPQ) را افزایش داد که میزان این تغییرات در شدت تابش ۸۰۰۰ نسبت به ۲۰۰۰ لوکس بیشتر بود. کاهش Fv/Fm و افزایش NPQ تحت تنفس سرما در رقم ۰۳۲ نسبت به BP بیشتر بود. همچنین در این رقم نسبت بیشتری از Y(II) کاهش یافته توسط Y(NPQ) جایگزین شده و از افزایش بیشتر (Y(NO)) اجتناب شد. تنفس سرما در هر دو سطح تابشی موجب خسارت به سیستم فتوشیمیایی و فتوستزی در بوته‌های سویا شد که میزان این خسارت در شدت تابش زیاد شدیدتر بود. در شرایط تنفس سرمایی رقم ۰۳۲ نسبت بیشتری از انرژی مازاد خود را از طریق خاموشی غیر فتوشیمیایی و همچنین فعالیت چرخه گزاناتوفیل منحرف نموده و نسبت به رقم BP متحمل تر بود. بنابراین می‌توان رقم ۰۳۲ را به عنوان رقم متحمل‌تر در مقایسه با رقم BP نسبت به تنفس سرما بویژه در مناطق با شدت تابش بالا معرفی کرد.

واژه‌های کلیدی: ارقام سویا، تنفس سرما، شدت تابش، فتوسیستم II، کارایی کوانتمی

### مقدمه:

زراعی در سطح جهان می‌گردد (Wang and Adams, 1980). بسیاری از گونه‌های گیاهان مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری مانند سویا، ذرت و پنبه زمانی که در معرض سرمایی (درجه حرارت‌های کم، ولی بالای صفر درجه سانتی‌گراد) قرار می‌گیرند آسیب می‌بینند (احمدی و همکاران، ۱۳۸۳). درجه حرارت پایین به ویژه در شب در مناطق معتدل و مرتفع منجر

نمای پایین به عنوان یکی از مهمترین عوامل محدودکننده رشد بر ویژگی‌های مورفو‌لوزیکی و فیزیولوزیکی بسیاری از گونه‌های گیاهان زراعی تأثیر گذاشته (Lee et al., 2007; Pan et al., 2011) و خسارت ناشی از آن در مراحل حساس رشد و نمو منجر به کاهش عملکرد گیاهان

(Baker, 2008). این سه فرآیند به صورت رقابتی اتفاق می‌افتد، بنابراین از طریق اندازه‌گیری عملکرد فلورسانس کلروفیلی، می‌توان اطلاعاتی در مورد تغییرات در کارایی فتوشیمیایی و هدر رفت گرمایی به دست آورد (Lazar, 1999). تنفس سرمایی و تابشی از طریق آسیب به فتوسیستم II و سایر اجزای زنجیره انتقال الکترون سبب بازدارندگی یا کاهش شدید انتقال الکترون فتوستزی می‌شوند که در این صورت سهم بیشتری از انرژی تابشی جذبی، به صورت گرما و فلورسانس منحرف خواهد شد (Rohacek *et al.*, 2008). بر اساس پژوهش‌های انجام شده، جریان الکترون در فتوستز، شاخصی برای میزان کلی فتوستز می‌باشد بطوری‌که اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیلی، تخمین میزان جریان الکترون و نحوه عمل فتوستز را امکان‌پذیر می‌سازد (Maxwell and Johnson, 2005).

در مطالعات متعدد ثابت شده است که اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل برگ‌ها، روش معتر و قابل اطمینانی برای مطالعه فرآیندهای فتوستزی و ارزیابی وضعیت فیزیولوژیک گیاه می‌باشد، برای مثال Behra و همکاران (۲۰۰۲) از این روش در گندم تحت تنفس خشکی و شدت تابش زیاد، روشناسی میزان تولیدات محصولات کشاورزی استفاده نمودند. از سوی دیگر، تجزیه و تحلیل آنچه که در جریان جذب تابش و هدر رفت بخشی از آن در جریان فلورسانس کلروفیل اتفاق می‌افتد، روش سریع و غیرتخربی را برای ارزیابی نحوه عملکرد سیستم فتوستزی در طول و بعد از تنفس‌های محیطی فراهم می‌کند و اطلاعات حاصل از آن برای مشخص کردن سرعت انتقال الکترون و چگونگی اتلاف انرژی الکترون برانگیخته شده به کار می‌رود (صفاری و همکاران، ۱۳۹۲). از آنجایی که، تاکنون از فلورسانس کلروفیل برای مطالعه واکنش گیاهان در شرایط تنفس‌های مختلف از جمله شوری (Yaman *et al.*, 2008; Bo *et al.*, 2009) (Gale *et al.*, 2002) و سرما (روسنا و سجادی نیا، ۱۳۸۹؛ حسنی و همکاران، ۱۳۹۳؛ Li *et al.*, 2004؛ Strauss *et al.*, 2006)

به اختلال در سوخت و ساز و رشد سویا شده و کشت آن را با محدودیت مواجه می‌سازد (Van Heerden *et al.*, 2003). بر اساس گزارش Hume و Jackson (۱۹۸۱) یک شب سرد با حداقل درجه حرارت هشت درجه سانتی‌گراد مانع از تشکیل غلاف در سویا می‌گردد.

در این میان اگر تنفس سرما همراه با شدت تابش زیاد رخداد خسارت ناشی از آن شدیدتر خواهد بود. با این وجود، گیاهان رشد یافته در مناطق مرتفع اغلب در معرض شدت تابش بالا و دمای پایین قرار دارند (Streb *et al.*, 2003) طبیعتاً با شرایط آب و هوایی این مناطق سازگار شده و دارای مکانیسم‌های حفاظتی کارآمدی می‌باشند (Koerner, 2003). در حالی که گیاهان رشد یافته در مناطق کم ارتفاع در زمان وقوع ناگهانی تنفس سرما، نمی‌توانند انرژی بیش از حد خورشید را تحمل کنند، در نتیجه انرژی اضافه از طریق کلروفیل به اکسیژن منتقل می‌شود که منجر به اکسیداسیون تابشی می‌شود. علاوه بر این خسارتی در پروتئین D<sub>1</sub> در فتوسیستم II ظاهر شده و تخریب غشاء‌ها و اکسیداسیون کلروفیل را به همراه داشته (روسنا و سجادی نیا، ۱۳۸۹) و در نهایت موجب اختلال در کوانتومی فتوسیستم II و به دنبال آن کاهش فتوستز خواهد شد (Maxwell and Johnson, 2005) همکاران (۱۳۸۶) نیز بیان داشتند که تنفس دمای پایین در گیاهان حساس به سرما حتی تحت شرایط متوسط تابش نیز می‌تواند منجر به خسارت تابشی و در نتیجه اختلال در فعالیت فتوسیستم II گردد. اختلال در فعالیت‌های فتوستزی تحت تأثیر دمای پایین باعث کاهش ساخت کربوهیدرات‌های قابل استفاده برای تولید محصول خواهد شد (Zamski and Schaffer, 1996; Ort, 2002).

در گیاهان انرژی حاصل از تابش بعد از جذب به‌وسیله مولکول‌های کلروفیل برگ، در طول زنجیره انتقال الکترون منتقل می‌شود و برای اجرای فرآیند فتوستز (فرآیند فتوشیمیایی) مصرف می‌گردد و انرژی اضافی یا به صورت گرما هدر می‌رود (فرآیند غیر فتوشیمیایی) یا به صورت تابش قرمز بازتاب داده می‌شود که فلورسانس کلروفیل نامیده می‌شود

فلورسانس حداکثر (Fm) در برگ‌های سازگار به روشنایی تعیین شد. سپس پرتوی نور مرئی قطع و با تابش نور قرمز دور. فلورسانس حداقل در مرحله روشنایی (Fo) ثبت گردید. فرکانس تابشی برای اندازه‌گیری Fo و Fm<sup>۱</sup> هرتز و برای Fm<sup>۲</sup> کیلو هرتز بود. با استفاده از پارامترهای تعیین شده در برگ‌های سازگار به تاریکی و روشنایی، میزان فلورسانس متغیر (Fv)، حداکثر کارایی کوانتمویی فتوسیستم II (Fv/Fm)، کارایی کوانتمویی فتوشیمیایی مؤثر فتوسیستم II [Y(II)], کارایی کوانتمویی غیرفوشیمیایی تنظیم شده فتوسیستم II [Y(NPQ)], کارایی کوانتمویی غیرفوشیمیایی تنظیم نشده فتوسیستم II [Y(NO)] و خاموشی غیرفوشیمیایی (NPQ) بر اساس جدول ۱ محاسبه گردید. در نهایت داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم افزار SAS نسخه ۹/۱ تجزیه و میانگین‌ها با آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد مورد مقایسه قرار گرفتند.

#### نتایج:

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های آزمایش (جدول ۲) نشان داد که تنش سرما و تابش اثر کاملاً معنی‌داری ( $P < 0.01$ ) بر تمامی پارامترهای مورد مطالعه (Fv/Fm, Fv, Fm, Fv/Fm, Fv, Y(II), Y(NO), Y(NPQ)) داشت. همچنین بین ارقام NPQ, Y(II), Y(NO), Y(NPQ) مورد مطالعه نیز از نظر پارامترهای Fv/Fm و Y(II) در سطح احتمال پنج درصد و در پارامتر Y(NO) در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌داری وجود داشت.

بین سرما و شدت تابش نیز در تمامی پارامترهای مورد مطالعه در سطح احتمال یک درصد برهمکنش معنی‌داری مشاهده گردید. همچنین اثر متقابل سرما و رقم بر پارامترهای Fv/Fm, Fv, Fm, Fv/Fm, Fv, Y(II), Y(NO), Y(NPQ) در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. برهمکنش میزان تابش و رقم نیز در پارامترهای Fv/Fm, Fv, Fm, Fv/Fm, Fv, Y(II), Y(NO), Y(NPQ) ( $P < 0.05$ ) معنی‌دار گردید. همچنین اثر سه‌گانه سرما، تابش و رقم بر پارامترهای Fv/Fm, Fv, Fm, Fv/Fm, Fv, Y(II), Y(NO) و Y(NPQ) در سطح

استفاده گردیده است. بنابراین پژوهش حاضر با هدف کاربرد تکنیک فلورسانس کلروفیل در تعیین میزان تحمل به سرمای گیاه سویا در شدت تابش‌های مختلف طراحی و اجرا گردید.

#### مواد و روش‌ها:

پژوهش در بهار سال ۱۳۹۲ در گلخانه تحقیقاتی و شرایط کنترل شده پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری طبرستان، واقع در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار به اجرا درآمد. تیمارهای آزمایشی شامل دو رقم سویا (BP ۰۳۲ و BP ۰۳۳) سطح دمایی ([شامل شاهد (۲۸ درجه سانتی‌گراد) و تنش سرما (پنج درجه سانتی‌گراد)] و دو سطح شدت تابش (۲۰۰۰ و ۸۰۰۰ لوکس) بود. ابتدا بذرهای سویا با محلول هیپوکلریت سدیم یک درصد به مدت ۱۵ دقیقه ضدغونی و دو بار با آب مقطور شست و شو گردید. تعداد شش عدد بذر در گلدان‌هایی به قطر و ارتفاع ۱۲ سانتی‌متر و در عمق دو سانتی‌متری خاک کشت گردید. گلدان‌ها به مدت ۲۰ روز در شرایط مطلوب رشدی (دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد و دوره تابشی ۱۵ ساعت) نگهداری شد. سپس به منظور اعمال تیمارهای آزمایشی به مدت ۱۲ روز به اتفاقک‌های رشد (مدل SPG30000، شرکت نور صنعت) منتقل گردید. پس از اعمال تنش سرما و تابش اندازه‌گیری پارامترهای فلورسانس کلروفیل در آخرین برگ توسعه یافته با استفاده از دستگاه فلورومتر (PAM 2500-Walz, Germany) و بر اساس روش Genty و همکاران (1989) صورت گرفت. بدین منظور، برگ‌ها با استفاده از گیوه‌های مخصوص برگ (2030-B, Walz) به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفتند. فلورسانس حداقل (Fo) با همه‌ی مراکز واکنشی باز فتوسیستم II، توسط تابش مدوله شده‌ای با شدت پایین ( $0.1 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) و فلورسانس حداکثر (Fm) با تابش پالس اشباع تابشی ( $8000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) به مدت یک ثانیه در برگ‌های سازگار به تاریکی تعیین شد. در مرحله بعد نور مرئی سفید رنگ ( $685 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) به صورت متوالی به برگ تابانیده شد و بعد از آن میزان فلورسانس پایدار (Ft) ثبت و مجدداً پالس اشباع تابشی ( $8000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) اعمال و میزان

جدول ۱- شاخص‌های بیوفیزیک اندازه‌گیری شده فلورسانس کلروفیل و معادلات مربوط به آنها (Klughammer and Schreiber, 2008; Li et al., 2008).

معادله	شناخته	مؤلفه
Fm-Fo	Fv	Variable fluorescence
(Fm-Fo)/Fm	Fv/Fm	Maximum photochemical quantum yield of photosystem II
(Fm'-Ft)/Fm'	Y(II)	Effective photochemical quantum yield of photosystem II
(Ft/Fm') - (Ft/Fm)	Y(NPQ)	Quantum yield of regulated non-photochemical
Ft/Fm	Y(NO)	Quantum yield of non-regulated non-photochemical
Fm-Fm'/Fm'	NPQ	Non-photochemical quenching

جدول ۲- میانگین مربuat اثر تیمارهای مورد بررسی بر پارامترهای فلورسانس کلروفیل در گیاه سویا

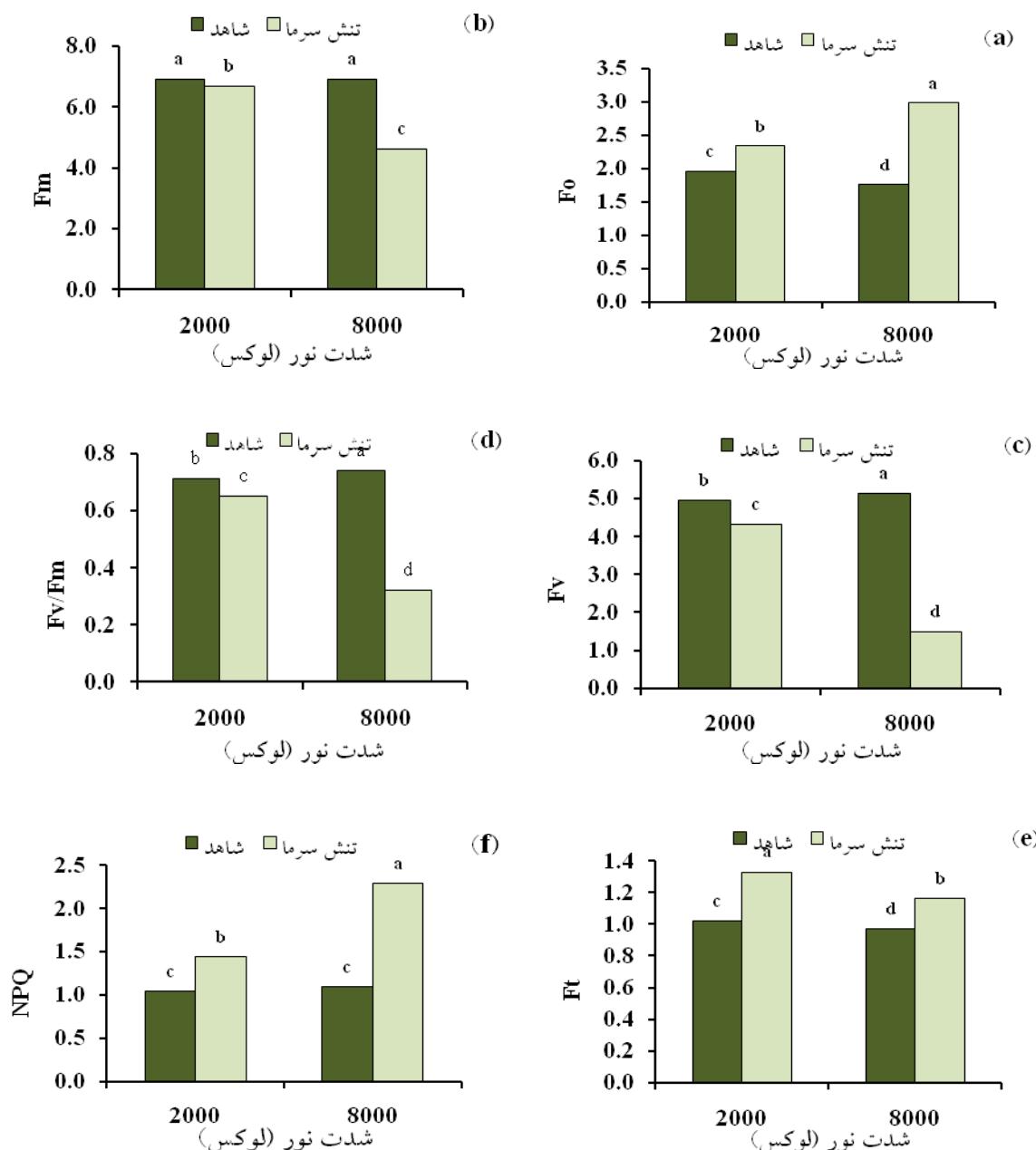
ضریب تغییرات (درصد)	خطای آزمایش	C×L×V			L×V		C×V		C×L		(V) رقم	شدت تابش (L)	منابع تغییر (C)	سرما	درجه آزادی
		۱۶	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱					
۲/۶۰	۰/۰۰۳۴	۰/۰۰۲۷ ns	۰/۰۰۲۲ ns	۰/۰۰۲۷۹*	۱/۰۸۱**	۰/۰۱۲۶ ns	۰/۳۱۶**	۳/۸۷**	۰/۳۱۶**	۰/۳۱۶**	Fo				
۱/۶۹	۰/۰۱۱۳	۰/۱۱۵۴**	۰/۱۱۵۶**	۰/۰۰۶۱ ns	۶/۳۷۳**	۰/۰۰۶۱ ns	۶/۴۲۹**	۹/۶۶**	۶/۴۲۹**	۶/۴۲۹**	Fm				
۲/۳۸	۰/۰۰۸۹	۰/۰۰۵۸۹*	۰/۰۰۵۷*	۰/۰۰۹۷ ns	۱۳/۷۹۱**	۰/۰۰۱۷ ns	۱۰/۵۴۸**	۲۷/۳۲**	۱۰/۵۴۸**	۱۰/۵۴۸**	Fv				
۱/۵۸	۰/۰۰۰۰۹	۰/۰۰۰۰۷*	۰/۰۰۰۰۶*	۰/۰۰۰۰۸**	۰/۱۸۵**	۰/۰۰۰۰۴*	۰/۱۳۰**	۰/۳۵**	۰/۱۳۰**	۰/۱۳۰**	Fv/Fm				
۳/۶۴	۰/۰۰۱۶	۰/۰۰۰۴ ns	۰/۰۱۷۵**	۰/۰۰۰۵۴ ns	۰/۰۱۸**	۰/۰۰۰۶۱ ns	۰/۰۷۵**	۰/۳۹**	۰/۰۷۵**	۰/۰۷۵**	Ft				
۳/۵۶	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۰۶ ns	۰/۰۰۰۱ ns	۰/۰۰۰۲۱*	۰/۱۷۷**	۰/۰۰۰۱ ns	۰/۱۵۸**	۰/۷۵**	۰/۱۵۸**	۰/۱۵۸**	Y(II)				
۵/۳۸	۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۰۲۵**	۰/۰۰۰۸ ns	۰/۰۰۰۴۸**	۰/۱۱۹**	۰/۰۰۰۱۳*	۰/۱۱۶**	۰/۴۳**	۰/۱۱۶**	۰/۱۱۶**	Y(NPQ)				
۳/۴۲	۰/۰۰۰۰۴	۰/۰۰۰۰۶**	۰/۰۰۰۱۶**	۰/۰۰۰۰۵**	۰/۰۰۰۰۵**	۰/۰۰۰۰۵**	۰/۰۰۰۳**	۰/۰۰۴**	۰/۰۰۰۳**	۰/۰۰۰۳**	Y(NO)				
۷/۶۱	۰/۰۱۲۵	۰/۱۲۰۱**	۰/۱۰۳۲*	۰/۲۶۷۱**	۰/۹۷۵**	۰/۰۹۲۷*	۱/۲۳۶**	۳/۸۲**	۱/۲۳۶**	۱/۲۳۶**	NPQ				

ns غیر معنی دار، \* و \*\* به ترتیب معنی دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

شدت تابش، کاهش فلورسانس حداقل را به دنبال داشت. واکنش فلورسانس حداقل (Fm) نسبت به تنش سرما، عکس فلورسانس حداقل بود و در اثر اعمال تنش سرما پنج درجه سانتی گراد، Fm در هر دو سطح تابشی کاهش معنی داری نشان داد که این کاهش در شدت تابش کم (۲۰۰۰ لوکس) حدود سه درصد و در شدت تابش زیاد (۸۰۰۰ لوکس) حدود ۳۳ درصد بود (شکل b-1). همچنین تنش سرما، فلورسانس متغیر (Fv) و حداقل کارایی کوانتمی فتوسیستم II (Fv/Fm) را در هر دو میزان تابش کاهش داد. از بین دو تیمار تابشی مورد

احتمال یک درصد و بر پارامترهای Fv و Fv/Fm در سطح احتمال پنج درصد معنی دار بود.

برهمکنش سرما و شدت تابش: طبق نمودار برهمکنش سرما و تابش (شکل ۱-a)، تنش سرما در هر دو سطح تابشی (۲۰۰۰ و ۸۰۰۰ لوکس)، فلورسانس حداقل (Fo) را به صورت معنی داری نسبت به شاهد (به ترتیب حدود ۱۹ و ۷۰ درصد) افزایش داد. با این وجود، میزان افزایش آن در شدت تابش زیاد (۸۰۰۰ لوکس) نسبت به شدت تابش کم (۲۰۰۰ لوکس) بیشتر بود. همچنین در تیمار شاهد (بدون تنش سرما) افزایش

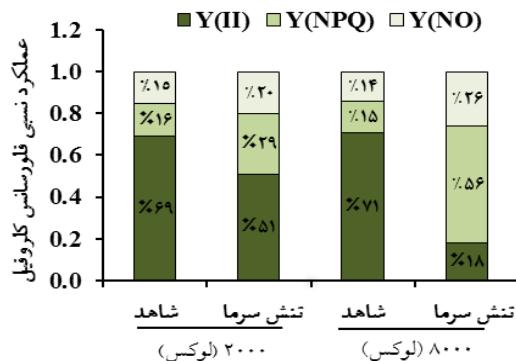


شکل ۱ - اثر متقابل تنش سرما و شدت تابش بر پارامترهای فلورسانس حداقل (a)، فلورسانس حداکثر (b)، فلورسانس متغیر (c)، حداکثر کارایی کوانتم فتوسیستم II (d)، فلورسانس پایدار (e) و خاموشی غیر فتوشیمیایی (f) در گیاه سویا.

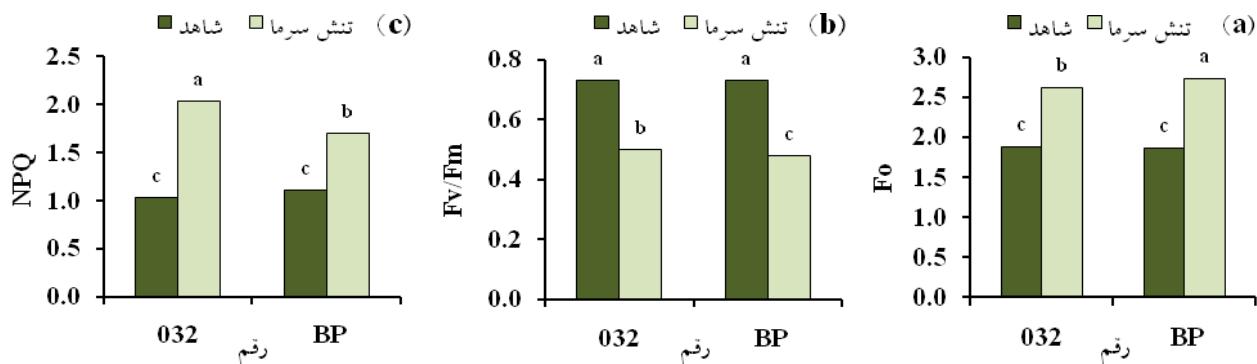
درصد کاهش داد (شکل ۱- c و d). تنش سرما همچنین منجر به افزایش پارامترهای فلورسانس پایدار (Ft) و خاموشی غیر فتوشیمیایی (NPQ) در هر دو شرایط تابشی گردید. به طوری که این افزایش در شدت تابش کم و زیاد برای Ft به ترتیب حدود ۳۰ و ۲۰ درصد و برای NPQ به ترتیب حدود ۳۸ درصد و ۱/۱ برابر بود (شکل ۱- e و f).

در پژوهش حاضر کارایی کوانتمومی فتوشیمیایی مؤثر

مطالعه بیشترین کاهش هر دو پارامتر Fv و Fv/Fm در تیمار شدت تابش زیاد (به ترتیب حدود ۶۶ و ۵۱ درصد) مشاهده شد (شکل ۱- c و d). در تیمار شاهد افزایش شدت تابش از ۲۰۰۰ به ۸۰۰۰ لوکس، میزان هر دو پارامتر Fv و Fv/Fm را حدود چهار درصد افزایش داد، حال آنکه در بوتهایی که تحت تنش سرمای پنج درجه سانتی گراد قرار داشتند، افزایش شدت تابش هر دو پارامتر را به ترتیب ۶۵ و



شکل ۲ - اثر تنش سرما و شدت تابش بر پارامترهای Y(II)، Y(NPQ) و Y(NO) در گیاه سویا



شکل ۳ - اثر تنش سرما بر پارامترهای فلورسانس حداقل (a)، حداکثر کارایی کوانتمومی فتوسیستم II (b) و خاموشی غیرفتوشیمیایی (c) در دو رقم سویا.

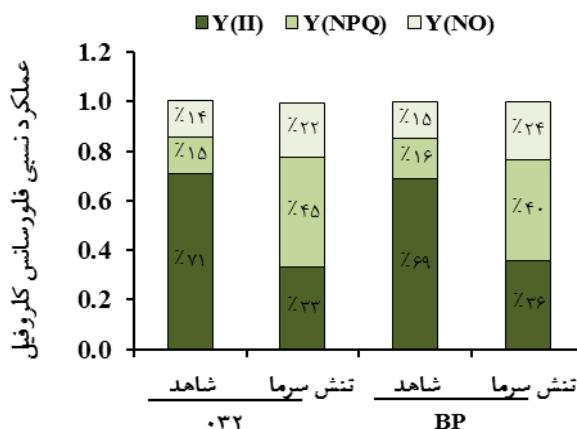
برخوردیار بود (شکل ۳ a-۳ c). واکنش حداکثر کارایی کوانتمومی فتوسیستم II ( $F_v/F_m$ ) نسبت به تنش سرما، برخلاف فلورسانس حداقل و خاموشی غیر فتوشیمیایی بود و در اثر اعمال تنش سرما، در هر دو رقم مورد مطالعه کاهش معنی داری (به ترتیب حدود ۳۲ و ۳۴ درصد) نشان داد که این کاهش در رقم BP محسوس تر بود (شکل ۳ b-c).

همچنین کارایی کوانتمومی فتوشیمیایی مؤثر فتوسیستم II [Y(II)], کارایی کوانتمومی غیرفتوشیمیایی تنظیم شده فتوسیستم II [Y(NPQ)] و کارایی کوانتمومی غیرفتوشیمیایی تنظیم نشده فتوسیستم II [Y(NO)] تحت تأثیر تنش سرما قرار گرفتند (شکل ۴). بر اساس یافته ها، در هر دو رقم مورد مطالعه، تنش سرمایی میزان (II) Y(II) را کاهش و (NO) Y و (NPQ) Y را افزایش داد. کاهش (II) Y در رقم ۰۳۲ و BP به ترتیب حدود ۴۸ و ۵۴ درصد و افزایش (NPQ) Y به ترتیب حدود ۲ و ۱/۵ برابر و (NO) Y به ترتیب حدود ۵۷ و ۶۰ درصد بود.

برهمکش شدت تابش و رقم: در پژوهش حاضر، افزایش

فوتوسیستم II [Y(II)], کارایی کوانتمومی غیرفتوشیمیایی تنظیم شده فتوسیستم II [Y(NPQ)] و همچنین کارایی کوانتمومی غیرفتوشیمیایی تنظیم نشده فتوسیستم II [Y(NO)] تحت تأثیر برهمکش تنش سرما و شدت تابش قرار گرفتند (شکل ۲). در هر دو تیمار تابشی مورد مطالعه، تنش سرما میزان (II) Y را کاهش داد به طوری که این کاهش از حدود ۲۶ درصد در تیمار تابشی ۰۳۲ لوکس به حدود ۷۵ درصد در تیمار ۸۰۰۰ لوکس رسید. همچنین در هر دو سطح تابشی کاهش (II) Y با افزایش میزان (NPQ) Y (به ترتیب حدود ۸۱ درصد و ۲/۷۳ برابر) و (NO) Y (به ترتیب حدود ۳۳ و ۸۶ درصد) همراه بود.

برهمکش سرما و رقم: در هر دو رقم مورد مطالعه (۰۳۲ و BP)، تنش سرما باعث افزایش پارامترهای فلورسانس حداقل (F<sub>o</sub>) و خاموشی غیرفتوشیمیایی (NPQ) نسبت به شاهد گردید. با این تفاوت که پارامتر F<sub>o</sub> در رقم ۰۳۲ (۳۹ درصد) و پارامتر NPQ در رقم BP (۴۷ درصد) از افزایش بیشتری



شکل ۴- اثر تنش سرما بر پارامترهای Y(II)، Y(NPQ) و Y(NO) در دو رقم سویا

جدول ۳- برهمکنش رقم و تابش پارامترهای فلورسانس کلروفیل

NPQ	Ft	Fv/Fm	Fv	Fm	تیمار*	
					شدت تابش (لوکس)	رقم
1/24 <sup>c</sup>	1/19 <sup>a</sup>	0/68 <sup>a</sup>	4/60 <sup>a</sup>	774 <sup>a</sup>	2000	032
1/83 <sup>a</sup>	1/03 <sup>c</sup>	0/54 <sup>b</sup>	3/37 <sup>b</sup>	5/84 <sup>b</sup>	8000	
1/25 <sup>c</sup>	1/17 <sup>a</sup>	0/68 <sup>a</sup>	4/68 <sup>a</sup>	785 <sup>a</sup>	2000	
1/57 <sup>b</sup>	1/11 <sup>b</sup>	0/52 <sup>c</sup>	3/26 <sup>b</sup>	5/67 <sup>c</sup>	8000	BP

\* در هر ستون میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشترک بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

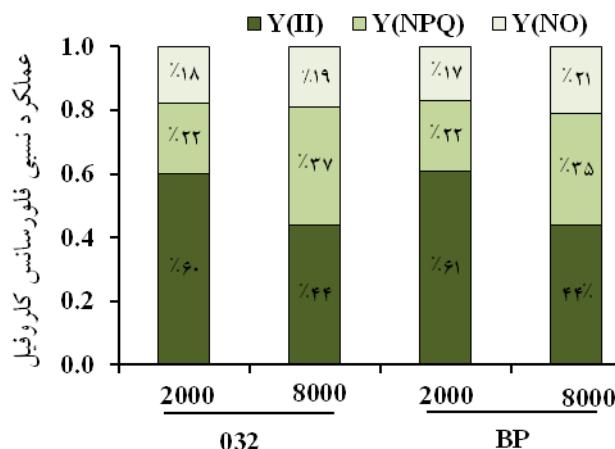
فتوسیستم II(Y(NO)) در هر دو رقم مورد مطالعه تحت تأثیر شدت تابش قرار گرفتند (شکل ۴). بر اساس یافته‌ها، در هر دو رقم مورد مطالعه (۰۳۲ و BP) شدت تابش زیاد میزان (II) Y را کاهش و (NPQ) Y را نسبت به شدت تابش کم افزایش داد، در حالی که میزان (NO) Y را تنها در رقم BP افزایش داد. در سطوح تیمار تابشی بین دو رقم ۰۳۲ و BP از نظر پارامتر Y(II) تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد و میزان این پارامتر در هر دو رقم کاهش یکسانی (حدود ۲۷ درصد) داشت. با افزایش شدت تابش از ۲۰۰۰ به ۸۰۰۰ لوكس میزان (NPQ) Y در هر دو رقم ۰۳۲ و BP (به ترتیب حدود ۶۸ و ۵۹ درصد) و میزان (NO) Y (حدود ۲۳ درصد) تنها در رقم BP افزایش یافت (شکل ۵).

### بحث:

یافته‌های آزمایش حاضر بیانگر افزایش میزان فلورسانس حداقل در اثر تنش سرما در هر دو سطح تابشی (۲۰۰۰ و

شدت تابش از ۲۰۰۰ به ۸۰۰۰ لوكس در هر دو رقم مورد مطالعه (۰۳۲ و BP)، خاموشی غیرفتوصیمیایی را به صورت معنی‌داری نسبت به شاهد (به ترتیب حدود ۲۶ و ۴۸ درصد) افزایش داد (جدول ۳). این میزان افزایش در رقم BP (حدود ۸۵ درصد) نسبت به رقم ۰۳۲ بیشتر بود. واکنش پارامترهای فلورسانس حداکثر، فلورسانس متغیر، حداکثر کارایی کوانتمومی فتوسیستم II و فلورسانس پایدار به افزایش شدت تابش از ۲۰۰۰ به ۸۰۰۰ لوكس، عکس خاموشی غیرفتوصیمیایی بود و در اثر اعمال شدت تابش زیاد (۸۰۰۰ لوكس) در هر دو رقم ۰۳۲ و BP کاهش معنی‌داری نشان دادند. با این تفاوت که بیشترین کاهش پارامترهای Fm و Fv (به ترتیب حدود ۱۷ و ۳۰ درصد) در رقم BP و بیشترین کاهش Ft و Fv/Fm (به ترتیب حدود ۲۱ و ۱۳ درصد) در رقم ۰۳۲ مشاهده شد.

پارامترهای کارایی کوانتمومی فتوسیستم II (Y(II)), کارایی کوانتمومی غیرفتوصیمیایی مؤثر فتوسیستم II (NPQ) و کارایی کوانتمومی غیرفتوصیمیایی تنظیم نشده



شکل ۵- اثر میزان تابش بر پارامترهای Y(II)، Y(NPQ) و Y(NO) در دو رقم سویا

احیای همه ناقل‌های الکترون و بسته بودن همه مراکز واکنشی ایجاد می‌شود (Mehta *et al.*, 2010) در شرایط تنش، به علت کم شدن فعالیت کمپلکس تجزیه‌کننده و کاهش فعالیت فتوسیستم II کاهش می‌یابد (Aro *et al.*, 1993). نتایج مشابهی مبنی بر کاهش میزان Fm در اثر تنش خشکی در گیاهچه‌های گندم زمستانه (Zlatev, 2009) و لوپیا (Zlatev and Yordanov, 2004) گزارش شده است. مؤلفه Fv از تفاصل Fm و Fo محاسبه شده و بیشتر بودن آن نشان‌دهنده عملکرد خوب مکانیسم فلورسانس کلروفیل در شرایط تنش و کاهش سرعت واکنش‌های فتوشیمیایی است (Baker and Roosenqvist, 2004). به طور معمول، وقتی تنشی به دستگاه فتوسترزی گیاه وارد می‌شود این مؤلفه کاهش می‌یابد (Maxwell and Johnson, 2005). بر اساس پژوهش Ommen (Maxwell and Johnson, 2005) کاهش مقدار فلورسانس متغیر در اثر تنش‌های محیطی، به علت ممانعت از فتواسیداسیون فتوسیستم II می‌باشد.

تنش دمای پایین نسبت Fv/Fm را کاهش داد. این شاخص نشانگر حداکثر کارایی انرژی محرکه به دام افتاده به وسیله مراکز واکنشی باز فتوسیستم II است و کاهش آن بیانگر تعدیل فعالیت فتوسترزی یا بازدارنگی تابشی می‌باشد که با کاهش کارایی مصرف فوتون‌ها به وسیله فتوسیستم II مشخص می‌شود (Baker and Roosenqvist, 2004; Goncalves *et al.*, 2007; Adams, 2007) و همکاران (1995) نیز گزارش دادند که

۸۰۰۰ لوکس) بود (شکل ۱-a). از آنجا که پس از سازگاری گیاه به تاریکی، هنگامی که شدت تابشی در حد ایجاد اشباع تابشی به برگ تابانیده شده و میزان فلورسانس کلروفیل اندازه‌گیری می‌شود، در این نقطه همه مراکز واکنشی باز است (Mehta *et al.*, 2010)، بنابراین دارای توان استفاده از انرژی برانگیخته در حداکثر میزان ممکن خود می‌باشد، از این رو قسمت بیشتری از انرژی مولکول برانگیخته در واکنش فتوشیمیایی مصرف شده و فلورسانس را به حداقل ممکن می‌رساند که به عنوان فلورسانس حداقل (Fo) شناخته می‌شود (Maxwell and Johnson, 2005). فلورسانس حداقل تحت تأثیر تنش‌های محیطی که تغییر ساختاری در مراکز واکنش اوایله فتوسیستم II بوجود می‌آورند، قرار می‌گیرد. بنابرین تنش‌هایی چون خشکی و دمای پایین با خسارت به مرکز واکنش فتوسیستم II موجب افزایش شدید Fo می‌گردد (Araus *et al.*, 1998). در همین راستا، افزایش میزان Fo در اثر تنش سرما در ریحان بتفش و کاهو (روستا و سجادی نی، ۱۳۸۹) و برنج (حسنی و همکاران، ۱۳۹۳) و در اثر تنش خشکی در جو (ممنوعی و سید شریفی، ۱۳۸۹) گزارش شده است.

نتایج ارائه شده در این پژوهش (شکل ۱-b و d)، نشان می‌دهد که تنش دمای پایین در هر دو سطح تابشی موجب افت میزان فلورسانس حداکثر (Fm)، فلورسانس متغیر (Fv) و حداکثر کارایی کواتومی فتوسیستم II (Fv/Fm) می‌شود. فلورسانس حداکثر (Fm) که در اثر تابش فوتون‌های تابشی و

مؤثر فتوسیستم II [Y(II)], کارایی کوانتمومی غیرفتوصیمیایی تنظیم شده فتوسیستم II [Y(NPQ)], کارایی کوانتمومی غیرفتوصیمیایی تنظیم نشده فتوسیستم II [Y(NO)] شناخته می‌شوند، مکمل یکدیگر بوده و به صورت رقابتی عمل می‌نمایند (Klughammer and Schreiber, 2008; Li *et al.*, 2008). به طوری که کاهش در مقدار یکی از این سه فرآیند با افزایش هر دو یا یکی از دو فرآیند دیگر خواهد شد. در آزمایش حاضر، اعمال تنش سرمای پنج درجه سانتی گراد Y(NO) میزان (II) Y و به دنبال آن افزایش (Y(NPQ) و Y(II)) را به همراه داشت (شکل ۲). از آنجایی که (II) Y نسبت تابش استفاده شده در فرآیند فتوستتر به کل تابش جذب شده به وسیله کلروفیل مربوط به فتوسیستم II بوده، مستقیماً با سرعت آسیمیلاسیون  $\text{CO}_2$  در برگ ارتباط دارد (Genty *et al.*, 1989; Li *et al.*, 2008). این کاهش احتمالاً بیانگر کاهش فرآیند فتوستتری و آسیمیلاسیون  $\text{CO}_2$  در اثر تنش دمای پایین می‌باشد. در همین راستا، افزایش پارامتر Y(NPQ) در شرایط تنش سرما در گیاه ذرت (Fracheboud *et al.*, 1999) گزارش شده است.

افزایش میزان پارامترهای  $\text{Ft}$ ,  $\text{Fo}$ ,  $\text{NPQ}$  و همچنین کاهش  $\text{Fm}$ ,  $\text{Fv}$  و به دنبال آن  $\text{Fv/Fm}$  تحت تنش سرما، در سطح تابشی ۸۰۰۰ لوکس بیشتر از ۲۰۰۰ لوکس بود (شکل ۱). همچنین کاهش میزان (II) Y و افزایش (Y(NPQ) و Y(NO) تحت تنش سرما در شدت تابش بالا به مراتب شدیدتر از شدت تابش پایین بود (شکل ۲). یکی از دلایل چنین نتیجه‌هایی که ممکن است در اثر تنش سرما باشد، کاهش فعالیت آنزیم روپیسکو و به دنبال آن عملکرد چرخه کالوین و تثبیت  $\text{CO}_2$  و در نتیجه مصرف  $\text{NADPH}, \text{H}^+$  به عنوان یکی از محصولات مرحله تابشی فتوستتر در اثر تنش سرما است. در این حالت محصولات بخش روشنایی فتوستتر (ATP و  $\text{NADPH}, \text{H}^+$ ) مصرف نشده و حجم خزانه NADPH<sup>+</sup> کاهش می‌یابد. در نتیجه الکترون برانگیخته به جای NADPH<sup>+</sup> به روی اکسیژن منتقل شده و تولید رادیکال آزاد می‌کند (Allen and Ort, 2001).

در این شرایط افزایش شدت تابش باعث افزایش

مؤلفه Fv/Fm می‌تواند معیار مفیدی برای تعیین میزان تحمل به تنش سرما در گیاهان مختلف حتی در شدت‌های تابش کم باشد. در پژوهشی که توسط Zelatev (۲۰۰۹) در گیاه گندم صورت گرفت نیز کاهش میزان Fv/Fm تحت تنش خشکی مشاهده گردید.

در این پژوهش، تنش دمای پایین افزایش معنی‌داری را در فلورسانس پایدار (Ft) و خاموشی غیرفتوصیمیایی (NPQ) به دنبال داشت (شکل ۱- c و f). Ft حالت پایدار فلورسانس می‌باشد و تابعی است از رقابت بین عکس العمل فتوسیمیایی و غیرفتوصیمیایی تابش در گیاهان (Schreiber *et al.*, 1998) و در شدت تابش زیاد رابطه مستقیمی با جذب  $\text{CO}_2$ , سرعت انتقال الکترون در جریان فلورسانس و هدایت روزنها ای دارد (Flexasa *et al.*, 2002). شاخص NPQ نیز در حقیقت مربوط به هدر رفت گرمایی است که گستره‌ی آن می‌تواند بین صفر تا بی‌نهایت باشد ولی به طور معمول از  $0/5$  تا  $3/5$  متغیر است (Maxwell and Johnson, 2005). در منابع از این پارامتر به عنوان یک شاخص مطلوب برای ارزیابی میزان انرژی تابشی تلف شده در چرخه گرانتوفیل نامبرده شده است (Demmig-Adams and Adams, 1996).

فعالیت چرخه گرانتوفیل سبب افزایش اتلاف انرژی به صورت گرما و ازدیاد خاموشی غیرفتوصیمیایی (NPQ) می‌شود ولی با افزایش بیشتر سطوح تنش، ممکن است افزایش در NPQ برای مصرف انرژی مازاد و حفظ اکسیداسیون پذیرنده‌های الکترون فتوسیستم II ناکافی باشد (Ort and Baker 2002). در این راستا Li و همکاران (۲۰۰۴) افزایش NPQ را در گیاه توتون تحت تنش سرما گزارش نمودند.

جریان انرژی برانگیختگی در فتوسیستم II در سه مسیر اصلی متفاوت قرار می‌گیرد که عبارتند از کاربرد فتوسیمیایی، هدر رفت گرمایی تنظیم شده که یک فرآیند اتلافی برای حفاظت فتوسیستم II محسوب می‌شود و همچنین هدر رفت گرمایی تنظیم شده که یک فرآیند اتلافی است که موجب غیرفعال شدن فتوسیستم II می‌شود (Kramer *et al.*, 2004). این سه فرآیند که به ترتیب به عنوان کارایی کوانتمومی فتوسیمیایی

مازاد خود از طریق فرآیندهای غیر مخرب و در نتیجه تحمل بالاتر آن نسبت به رقم BP می‌باشد. این نتایج با نتایج به دست آمده از اندازه‌گیری شاخص‌های فیزیولوژیکی در همین آزمایش (داده‌ها نشان داده نشده است) همبستگی و مطابقت دارد.

#### نتیجه گیری:

در مجموع نتایج نشان داد که حساسیت پارامترهای فلورسانس کلروفیل برگی در گیاهچه‌های سویا نسبت به تنش دمای پایین با افزایش شدت تابش افزایش می‌یابد. این موضوع می‌تواند به دلیل تشدید تولید رادیکال‌های آزاد و ایجاد بازدارندگی تابشی در حضور شدت‌های تابشی بالا باشد که در نهایت منجر به آسیب شدیدتر گیاه در شرایط مذکور خواهد شد. از میان دو رقم مورد مطالعه، رقم ۰۳۲ نسبت به رقم BP تغییرات کمتری را در افزایش فلورسانس حداقل (F<sub>o</sub>) و کاهش حداکثر کارایی کوانتمومی فتوسیستم II (F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>) در اثر تنش سرما نشان داد، همچنین خاموشی غیر فتوشیمیایی (NPQ) در این شرایط در رقم ۰۳۲ افزایش بیشتری داشت. از سوی دیگر در رقم ۰۳۲ در مقایسه با رقم BP نسبت بیشتری از Y(II) کاهش یافته در اثر تنش سرما، توسط Y(NPQ) جایگزین شده و از افزایش بیشتر Y(NO) اجتناب شده است. بنابراین به نظر می‌رسد رقم ۰۳۲ نسبت بیشتری از انرژی مازاد خود را از طریق خاموشی غیر فتوشیمیایی و همچنین فعالیت چرخه گزان توفیل منحرف نموده و تحت تنش سرما توانایی بالاتری در مدیریت انرژی مازاد خود داشته است. از این رو می‌توان رقم ۰۳۲ را به عنوان رقم متحمل‌تر در مقایسه با رقم BP تحت تنش سرما معرفی کرد.

#### تشکر و قدردانی:

بدین‌وسیله از مسئولین پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان به خاطر حمایت‌های مالی جهت انجام این پژوهش تشکر و قدردانی می‌گردد.

تولید رادیکال آزاد شده و بازدارندگی تابشی و در نهایت افزایش آسیب به گیاه را به دنبال خواهد داشت. این نتایج با نتایج Skribanek و Boddi (۲۰۰۱) در گیاهچه‌های بلوط تحت تنش سرما همخوانی دارد.

افزایش فلورسانس حداقل و کاهش حداکثر کارایی کوانتمومی فتوسیستم II در اثر تنش سرما در رقم BP شدیدتر از رقم ۰۳۲ بود، حال آنکه خاموشی غیر فتوشیمیایی در این شرایط در رقم ۰۳۲ افزایش بیشتری داشت (شکل ۳). افزایش F<sub>v</sub> و کاهش F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub> نشانگر بروز بازدارندگی تابشی در فتوسیستم II است (Goncalves *et al.*, 2007; Baker and Roosenqvist, 2004) و در ارقام متحمل نسبت به ارقام حساس، این دو پارامتر تحت تأثیر تنش‌های محیطی تغییرات کمتری نشان می‌دهند (Zlatev, 2009). همچنین افزایش بیشتر NPQ در رقم ۰۳۲ بیانگر توانایی بالاتر این رقم در دفع انرژی اضافی از طریق فرآیند غیر فتوشیمیایی می‌باشد.

از سوی دیگر، تنش سرما در هر دو رقم مورد مطالعه میزان Y(II) را کاهش و Y(NO) و Y(NPQ) را افزایش داد. هرچند کاهش Y(II) در رقم ۰۳۲ نسبت به رقم BP بیشتر بود ولی با این حال در رقم ۰۳۲ در مقایسه با رقم BP نسبت بیشتری از Y(II) کاهش یافته (حدود ۷۹ درصد)، توسط Y(NPQ) جایگزین شده و از افزایش بیشتر Y(NO) اجتناب شده است، در حالی که این نسبت در رقم BP کمتر (حدود ۷۳ درصد) بود (شکل ۴). بنابراین به نظر می‌رسد رقم ۰۳۲ نسبت بیشتری از انرژی مازاد خود را از طریق فعالیت چرخه گزان توفیل منحرف نموده و تحت تنش سرما توانایی بالاتری در مدیریت انرژی مازاد خود داشته است. بنابراین می‌توان این رقم را به عنوان رقم متحمل‌تر نسبت به رقم BP تحت تنش سرما معرفی کرد. همچنین در رقم ۰۳۲ با افزایش شدت تابش میزان کاهش F<sub>v</sub> و F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub> و میزان افزایش NPQ نسبت به رقم BP بیشتر بود (جدول ۳). از سوی دیگر در رقم ۰۳۲ در مقایسه با رقم BP، نسبت بیشتری از کاهش Y(II) در اثر افزایش Y(NPQ) جبران گردید (شکل ۵)، که این نتیجه نیز به نوبه خود بیانگر توانایی بالاتر رقم ۰۳۲ در هدر دادن انرژی

## منابع:

- Baker, N. R. (2008) Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo. *Annual Review of Plant Biology* 59: 89-113.
- Baker, N. R. and Roosenqvist, E. (2004) Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *Journal of Experimental Botany* 55: 1607-1621.
- Behra, R. K., Mishra, P. and Choudhury, N. K. (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.
- Bo, S. H., Jing, J., Weidong, Y., Yeyang, F. and Jieyan Z. (2009) QTL analysis of chlorophyll fluorescence parameters in rice seedling under salt stress. *Chinese Journal of Rice Science* 23: 319-322.
- Demming-Adams, B. and Adams III, W. W. (1996) Xanthophyll cycle and light stress in nature, uniform response to excess direct sunlight among higher plant species. *Planta* 198: 460-470.
- Flexasa, J., Mariano Escalona, J., Evain, S., Gulias, J. Moia, L., Osmond, C. B. and Medrano, H. (2002) Steady-state chlorophyll fluorescence (Fs) measurements as a tool to follow variations of net CO<sub>2</sub> assimilation and stomatal conductance during water-stress in C3 plants. *Physiologia Plantarum* 114: 231-240.
- Fracheboud, Y., Haldimann, P., Leipner, J. and Stamp, P. (1999) Chlorophyll fluorescence as a selection tool for cold tolerance of photosynthesis in maize (*Zea mays* L.). *Journal of Experimental Botany* 50: 1533-1540.
- Gale, A., Csiszar, J., Tari, I. and Erdei, L. (2002) Changes in water chlorophyll fluorescence parameters under osmotic stress in wheat cultivars. In: Proceedings of the 7th Hungarian congress on plant physiology, *Acta Biologica Szegediensis* 46: 85-86.
- Genty, B., Briantais, J. M. and Baker, N. R. (1989) The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and photochemical quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta* 990: 87-92.
- Goncalves, J. F. C., Santos, U. M., Nina, A. and Chevreuil, L. R. (2007) Energetic flux and performance index in copaiba (*Copaifera multijuga* Hayna) and mahogany (*Swietenia macrophylla* King) seedling grown under two irradiance environments. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 19: 171-184.
- Grafts-Brander, S. J. and Salvucci, M. E. (2002) Sensitivity of photosynthesis in a C4 plant, maize, to heat stress. *Plant Physiology* 129: 1773-1780.
- Hume, D. J. and Jackson, A. K. H. (1981) Frost tolerance in soybeans. *Crop Science* 21: 689-692.
- Klughammer, C. and Schreiber, U. (2008) Complementary PSII quantum yields calculated from simple fluorescence parameters measured by carboxylic acid fluorometry. *Photosynthetica* 46: 139-146.
- احمدی، ع.، احسان زاده، پ. و جباری، ف. (۱۳۸۸) مقدمه‌ای بر فیزیولوژی گیاهی. جلد دوم، انتشارات دانشگاه تهران، تهران.
- حسنی، ز.، پیردشتی، ه.، یعقوبیان، ی. و نوری م. ز. (۱۳۹۳) کاربرد تکنیک فلورسانس کلروفیل برای شناسایی ژنوتیپ‌های متتحمل به سرمای هوا و آب در گیاه برنج (*Oryza sativa* L.). *مجله سلول و بافت* ۵: ۲۰۶-۱۹۵.
- حسیبی، پ.، مرادی، ف. م. و نبی‌پور، ع. (۱۳۸۶) غربال کردن ژنوتیپ‌های برنج برای تحمل به تنفس دمای پایین با استفاده از فلورسانس کلروفیل. *مجله علوم زراعی ایران* ۹: ۳۱-۴۱.
- روستا، ح. ر. و سجادی‌نیا، ع. (۱۳۸۹) بررسی اثرات تنفس سرما بر ریحان سبز، ریحان بنفش، گوجه فرنگی و کاهو با استفاده از تکنیک فلورسانس کلروفیل. *تنش‌های محیطی در علوم زراعی* ۳: ۸-۱۷.
- صفاری، ر.، مقصودی مود، ع. ا. و صفاری و. ر. (۱۳۹۲) اثر تنفس شوری بر فلورسانس کلروفیل و عملکرد دانه برخی ارقام آفتابگردان (*Helianthus annus* L.). *مجله به زراعی نهال و بذر* ۹: ۱۳۰-۱۰۹.
- ممونی، ا. و سید شریفی، ر. (۱۳۸۹) بررسی اثر کمبود آب بر شخص‌های فلورسانس کلروفیل و میزان پرولین در شش ژنوتیپ جو و رابطه آن با دمای آسمانه (Canopy) و عملکرد. *زمیست‌شناسی گیاهی ایران* ۲: ۶۲-۵۱.
- Adams, W. W., Demming-Adams, B., Verhoven, A. S. and Barker, D. H. (1995) Photoinhibition during winter stress-involvement of sustained xanthophylls cycle-dependent energy dissipation. *Australian Journal of Plant Physiology* 122: 261-267.
- Allen, D. J. and Ort, D. R. (2001) Impact of chilling temperature on photosynthesis in warm climate plants. *Trends in Plant Science* 6: 36-42.
- Araus, J. L., Amaro, T., Voltas, J., Nakkoul, H. and Nachit, M. M. (1998) Chlorophyll fluorescence as a selection criterion for grain yield in durum wheat under mediterranean conditions. *Field Crops Research* 55: 209-223.
- Aro, E. M., Virgin, I. and Anderssen, B. (1993) Photoinhibition of Photosystem II. Inactivation, protein damage and turnover. *Biochimica et Biophysica Acta* 1143: 113-134.

- plant physiology and plant stress. In: Plant Cell Compartments - Selected Topics. (ed. Schoefs B) Pp. 41-104.
- Schreiber, U., Bilger, W., Hormann, H. and Neubauer, C. (1998) Chlorophyll fluorescence as a diagnostic tool. Basics and some aspects of practical relevance. In: Photosynthesis a comprehensive treatise. (ed. Raghavendra, A. S.) Pp. 320-336.
- Skribanek, A. and Boodi, B. (2001) Light and cold-stress effects on the greening process in epicotyls and young stems of red oak (*Quercus rubra*) seedlings. *Tree Physiology* 21: 549-554.
- Strauss, A. J., Kruger, G. H. J., Strasser, R. J. and Van Heerden, P. D. R. (2006) Ranking of dark chilling tolerance in soybean genotypes probed by the chlorophyll a fluorescence transient O-J-I-P. *Environmental and Experimental Botany* 56: 147-157.
- Streb, P., Aubert, S., Gout, E. and Bligny, R. (2003) Reversibility of cold- and light-stress tolerance and accompanying changes of metabolite and antioxidant levels in the two high mountain plant species *Soldanella alpina* and *Ranunculus glacialis*. *Journal of Experimental Botany* 54: 405-418.
- Van Heerden, P. D. R., Tsimilli-Michael, M., Kruger, G. H. J. and Strasser, R. J. (2003) Dark chilling effects on soybean genotypes during vegetative development: parallel studies of CO<sub>2</sub> assimilation, chlorophyll a fluorescence kinetics O-J-I-P and nitrogen fixation. *Physiologia Plantarum* 117: 476-491.
- Wang, C. Y. and Adams, D. O. (1980) Ethylene production by chilled cucumbers (*Cucumis sativus* L.). *Plant Physiology* 66: 841- 843.
- Yaman, K., Kawasaki, M., Taniguchi, M. and Miyake, H. (2008) Correlation between chloroplast ultrastructure and chlorophyll fluorescence characteristics in the leaves of rice (*Oryza sativa* L.) grown under salinity. *Plant Production Science* 11: 139 - 145.
- Zamski, E., and Schaffer, A., (1996) Photoassimilate Distribution in Plants and Crops: Source-Sink Relationships. M. Dekker, New York.
- Zlatev, Z. (2009) Drought-induced changes in chlorophyll fluorescence of young wheat plants. *Biotechnology and Biotechnological Equipment* 23: 438-441.
- Zlatev, Z. and Yordanov, T. (2004) Effect of soil drought on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in bean plants. *Bulgarian Journal of Plant Physiology* 30: 3-18.
- PAM fluorometry and the saturation pulse method. PAM Application Notes 1: 27-35.
- Koerner, C. (2003) Alpine plant life. Functional plant ecology of high mountain ecosystems. 2th Ed. Heidelberg, Berlin.
- Kramer, D. M., Johnson, G., Kiirats, O. and Edwards, G. E. (2004) New fluorescence parameters for the determination of QA redox state and excitation energy fluxes. *Photosynthesis Research* 79: 209-218.
- Laz'ar, D. (1999) Chlorophyll a fluorescence induction. *Biochimica et Biophysica Acta* 1412: 1-28.
- Lee, D. G., Ahsan, N., Lee, S. H., Kang, K. Y., Lee, J. J. and Lee, B. H. (2007) An approach to identify cold-induced low-abundant proteins in rice leaf. *Comptes Rendus Biologies* 330: 215-225.
- Li, G. M., Liu, B. B., Wu, Y. and Zou, Z. R. (2008) Interactive effects of drought stresses and elevated CO<sub>2</sub> concentration on photochemistry efficiency of cucumber seedlings. *Journal of Integrative Plant Biology* 50: 1307-1317.
- Li, X. G., Duan, W., Meng, Q. W. and Zou, Q. (2004) The function of chloroplastic NAD (P) H dehydrogenase in tobacco during chilling stress under low irradiance. *Plant Cell Physiology* 45: 103-108.
- Maxwell, K. and Johnson, G. N. (2005) Chlorophyll fluorescence-a practical guide. *Journal of 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.
- Ommen, O. E. and Donnelly, A. (1999) Chlorophyll content of spring wheat flag leaves grown under elevated CO<sub>2</sub> concentrations and other environmental stresses within the "ESPACE-wheat" project. *European Journal of Agronomy* 10: 197-203.
- Ort, D. R. (2002) Chilling-induced limitations on photosynthesis in warm climate plants: contrasting mechanisms. *Environmental Control in Biology* 40: 7-18.
- Ort, D. R. and Baker, N. R. (2002) A photoprotective role for O<sub>2</sub> as an alternative electron sink in photosynthesis. *Current Opinion in Plant Biology* 5: 193-198.
- Pan, Y., Wang, W., Zhao, X., Zhu, L., Fu, B. and Li, Zh. (2011) DNA methylation alteration of rice in response to cold stress. *Plant Omics Journal* 4: 364- 369.
- Rohacek, K., Soukupova J. and Bartak, M. (2008) Chlorophyll fluorescence: A wonderful tool to study