تاریخ چاپ زمستان ۱۳۹۲

تأثیر تنش سرما بر شدت فتوسنتز، پراکسیداسیون لیپید، محتوای کلروفیل و پرولین در گیاه *آرابیدوپسیس تالیانا* [۱]

رمضانعلی خاوری‌نژاد؛ دانشگاه خوارزمی، دانشکدهٔ علوم زیستی
رضا شکسته‌بند؛ دانشگاه محقق اردبیلی، گروه زیست‌شناسی
فرزانه نجفی، زهرا قراری*؛ دانشگاه خوارزمی، دانشکدهٔ علوم زیستی

چکیده

به‌منظور فهم برخی مکانیسم‌های فیزیولوژیک حساسیت به سرما در گیاهان، اثرات تنش سرما و تیمار سرما روی مقدار کلروفیل، پرولین، مالون دی‌آلدهید و کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II گیاه *آرابیدوپسیس تالیانا* بررسی شد. گیاهان وحشی و جهش یافته‌ها (chs1-1، chs1-2، chs2-1 و chs2-2) پس از ۴ هفته رشد در دمای ۲۳ درجهٔ سانتی‌گراد (شاهد) به‌مدت ۱ هفته در معرض تیمارهای دمای پایین (شاهد (۲۳ درجهٔ سانتی‌گراد)، تیمار سرما (۱۳ درجهٔ سانتی‌گراد) و تنش سرما (۴ درجهٔ سانتی‌گراد)) قرار گرفتند. نتایج کاهش معنی‌داری در کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II و مقدار کلروفیل همهٔ جهش یافته‌ها را تحت تیمار سرما در مقایسه با شاهد و تنش سرما نشان داد. جهش یافته‌های *chs1-1* و *chs1-2* کم‌ترین مقدار کلروفیل و کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II را در میان جهش یافته‌های بررسی شده داشتند. مقدار پرولین در همهٔ جهش یافته‌ها و هم‌چنین در گیاه وحشی با تنش سرما و تیمار سرما در مقایسه با کنترل افزایش یافت. مقدار مالون دی‌آلدهید ساقه و برگ جهش یافته‌ها تحت تیمار سرما نسبت به ۲ تیمار دیگر به‌طور چشم‌گیری تغییر کرد. افزایش پراکسیداسیون لیپید در ۲ جهش یافته *chs1-1* و *chs1-2* نسبت به ۲ جهش یافتهٔ دیگر بارز بود. نتایج نشان داد که جهش یافته‌های *chs1-1* و *chs1-2* بیش‌ترین حساسیت را در مقایسه با دیگر گیاهان جهش یافته نسبت به تیمار سرما دارند بنا بر این احتمالاً برخی آسیب‌ها در سیستم‌های فتوسنتزی و/یا در متابولیسم پرولین ناشی از جهش در این گیاهان منجر به حساسیت نسبت به تیمار سرما شده است.

مقدمه

نحوهٔ مقابلهٔ گیاهان با نوسانات ناگهانی دما از بزرگ‌ترین چالش‌ها برای رشد و حاصل‌خیزی گیاه است و اغلب غیرقابل پیش‌بینی است. بسیاری از گونه‌های گیاهی زمستانی شامل غلات استراتژی‌های سازشی تکامل یافته‌ای برای احساس افت فصلی دما دارند. توانایی گیاهان برای کسب مقاومت نسبت به دماهای یخبندان[۲] نتیجه‌ای از تغییرات متعدد در سلول‌های گیاهی در طول دوره‌ای است که اصطلاحاً مقاوم‌سازی[۳] نامیده می‌شود [۵].

واژه‌های کلیدی: *آرابیدوپسیس تالیانا*، حساس به سرما، مقدار کلروفیل، کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II، پرولین، مالون دی‌آلدهید
دریافت ۹۰/۹/۹ پذیرش ۹۲/۲/۱۴
***نویسنده مسئول** Zahra_gharari@yahoo.com

۱. *Arabidopsis thaliana* L. ۲. freezing ۳. hardening

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-19]

این فرایند پاسخی به تنش دماهای پایین غیریخ‌بندان است و با تغییرات سریع در سطوح فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی ارتباط دارد [۱۱]. تحت شرایط تنشی هموستازی گیاه به‌هم می‌خورد و ترکیبات سمی درون سلول‌های گیاه جمع می‌شوند که از این جمله گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) هستند. این ترکیبات زمانی که در سطوح زیاد است برای سلول‌های گیاهی به‌طور بالقوه مضرند [۲۰]. کنترل دقیق سطوح ROS تحت شرایط رشد مطلوب و به‌ویژه در طی تنش به‌وسیلهٔ افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیداتیو و تولید مولکول‌های اکسیدان به‌دست می‌آید که تقریباً در همهٔ کده‌های سلولی یافت می‌شوند [۱۳]. سیستم‌های غیرآنزیمی شامل آسکوربات، گلوتاتیون، آلفاتوکوفرول، زآگزانتین، آنتراگزانتین و فلاونوییدها هستند [۱۲]. آنزیم‌های دخیل در فرایند غیرسمی کردن انواع اکسیژن فعال شامل سوپراکسیددیسموتاز، گلوتاتیون ردوکتاز، پراکسیداز و کاتالاز هستند که در پاک‌سازی انواع اکسیژن فعال به‌طور مستقیم نقش دارند [۱۸]. در پژوهش حاضر تأثیر تنش سرما[۱] (دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد) و تیمار سرما[۲] (۱۳ درجهٔ سانتی‌گراد) روی محتوای کلروفیل کل، Fv/Fm (کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II) برگ‌ها، محتوای پرولین و پراکسیداسیون لیپید در گیاه وحشی *آرابیدوپسیس تالیانا* و چند ژنوتیپ «حساس به سرما»[۳] بررسی شد. اسکینایدر[۴] و همکاران (۱۹۹۴) این جهش یافته‌ها[۵] را در ۴ کلاس طبقه‌بندی کردند. کلاس ۱ جهش یافته‌ها (*chs1*، *chs2* و *chs3*) شدیدترین فنوتیپ را دارند و پس از ۳ روز قرار گرفتن در معرض تیمار سرما می‌میرند. در این تحقیق جهش یافته‌های *chs1* (*chs1-1* و *chs1-2*) و *chs2* (*chs2-1* و *chs2-2*) از کلاس ۱ بررسی شدند جهش یافته‌های *chs1* دارای جهش (مغلوب)[۶] و جهش یافته‌های *chs2* دارای جهش (غالب)[۷] هستند [۷]. هدف از این پژوهش بررسی توانایی گیاهان جهش یافته برای مقابله با تیمار سرما در مقایسه با گیاه وحشی بر اساس سنجش برخی پارامترهای فیزیولوژیکی است.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق اثر تیمارهای دمایی ۴ و ۱۳ درجهٔ سانتی‌گراد به‌همراه شاهد (دمای ۲۳ درجهٔ سانتی‌گراد) بر مقدار کلروفیل، پرولین، پراکسیداسیون لیپید و کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II در گیاهان وحشی آرابیدوپسیس و ۴ ژنوتیپ حساس به سرما شامل *chs1-1*، *chs1-2*، *chs2-1* و *chs2-2* بررسی شد. بذر اکوتیپ‌ها از مرکز NASC (مرکز بذر آرابیدوپسیس اروپا) تهیه شد (جدول۱).

در این آزمایش برای هر تیمار، ۱۸ بذر یک‌نواخت پس از ضدعفونی سطحی با اتانول ۱۰% و شست و شو با آب مقطر، درون (خاک گلخانه ای)[۸] کشت شدند و ۴۸ ساعت در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از آن گلدان‌ها به (اتاقک کشت)[۹] با دمای ۲۳ درجهٔ سانتی‌گراد و رطوبت ۷۵% انتقال یافتند. در طی رشد ۲۸ روزه گیاهان هر هفته دو بار با آب مقطر و یک بار با محلول هوگلند (برای هر گلدان ۲۰ میلی‌لیتر) با افزودن

۱. cold stress ۲. chilling stress ۳. chilling sensitive ۴. schneider ۵. muatant
۶. recessive ۷. dominant ۸. mikskaar potting soil ۹. growth chamber

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-19]

به بستر خاک آبیاری شدند. آزمایش در ۳ تکرار برای هر گیاه در ۳ دمای مذکور انجام شد. گیاهان ۲۸ روزه به‌مدت ۱ هفته تحت تنش قرار گرفتند، سپس برای سنجش‌های مختلف برداشت شدند.

جدول۱. مشخصات کلی بذر گیاه وحشی و ۴ ژنوتیپ حساس به سرمای *آرابیدوپسیس تالیانا*

شناسه NASC	نام	شماره	لوکوس	حالل	مادهٔ جهش زا	نیاز رشد
N6299	حساس به سرما	ST117	*chs 2*	*chs 2-2*	سولفونات اتیل متان	هیچ چیز
N 6298	حساس به سرما	ST 106	*chs 2*	*chs 2-1*	سولفونات اتیل متان	هیچ چیز
N 6252	حساس به سرما	PM2	*chs 1*	*chs 1-2*	سولفونات اتیل متان	هیچ چیز
N 3097	حساس به سرما	PM11	*Chs1*	*chs 1-1*	سولفونات اتیل متان	رشد در دمای بالای ۲۳ درجه سانتیگراد

سنجش مقدار MDA (مالون دی‌آلدهید)

ابتدا ۰/۲ گرم بافت تازهٔ اندام هوایی گیاه پس از توزین با ازت مایع ساییده شد و به پودر به‌دست آمده ۵ میلی‌لیتر TCA (تری کلرواستیک اسید) ۰/۱% اضافه شد. عصاره حاصل ۵ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه (rpm) سانتریفوژ شد. ۱ میلی‌لیتر از محلول رویی با ۴ میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید ۲۰% حاوی TBA (تیوباربیتوریک اسید) ۰/۵% مخلوط شد و محلول حاصل پس از حرارت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجهٔ سانتی‌گراد، ۱۰ دقیقه به ظرف محتوی آب و یخ انتقال یافت. پس از این مرحله نمونه‌ها ۵ دقیقه با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه (rpm) سانتریفوژ شده و جذب محلول رویی در طول موج ۵۳۲ نانومتر تعیین و جذب ۶۰۰ نانومتر از آن کسر شد. غلظت مالون دی‌آلدهید با استفاده از ضریب تصحیح $0/155\ \mu molcm^{-1}$ محاسبه و بر اساس واحد میکرومول بر گرم وزن تر ($\mu molg^{-1}FW$) بیان شد [۸].

سنجش مقدار پرولین

به‌منظور بررسی مقدار پرولین، ۰/۲ گرم از بافت تازهٔ برگ گیاهان در نیتروژن مایع ساییده شد و سپس ۱۰ میلی‌لیتر SSA (سولفوسالیسیلیک اسید) ۳% به آن اضافه شد. پس از سانتریفوژ کردن مخلوط فوق، ۲ میلی‌لیتر استیک اسید خالص درون یک لوله مخلوط گردید. محلول حاصل پس از جوشاندن ۱ ساعت در دمای ۱۰۰ درجهٔ سانتی‌گراد ۲۰ دقیقه در ظرف محتوی آب و یخ قرار گرفت. پس از اضافه شدن ۴ میلی‌لیتر تولوئن به محلول حاصل، جذب محلول رویی در طول موج ۵۲۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. غلظت پرولین نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد پرولین و در نهایت به‌صورت میکروگرم بر گرم وزن تر ارزیابی گردید [۹].

سنجش کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II برگ‌ها

کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II گیاهان به‌وسیلهٔ افزایش نشر فلورسانس کلروفیل محاسبه شد که ماکزیمم

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-19]

بازده واکنش فتوشیمیایی فتوسیستم II را با استفاده از PEA (کلروفیل فلورسانس متر)[۱] نشان می‌دهد. برگ‌های آرابیدوپسیس (وحشی و ۴ جهش یافته حساس به سرما) از هر تیمار سنجیده شد. قبل از اندازه‌گیری فلورسانس سطح رویی برگ‌ها به قطر ۱ سانتی‌متر ۵ دقیقه (زمان سازش با تاریکی) با گیره[۲] پوشانده شد که به‌وسیلهٔ آن از عبور نور به برگ‌ها ممانعت می‌شود. سپس با کنار زدن گیره‌ها وعبور نور فلورسانس از محدودهٔ برگی مذکور، شدت فلورسانس برگ‌ها با استفاده از فلورسانس متر دستی اندازه‌گیری شد [۱۰].

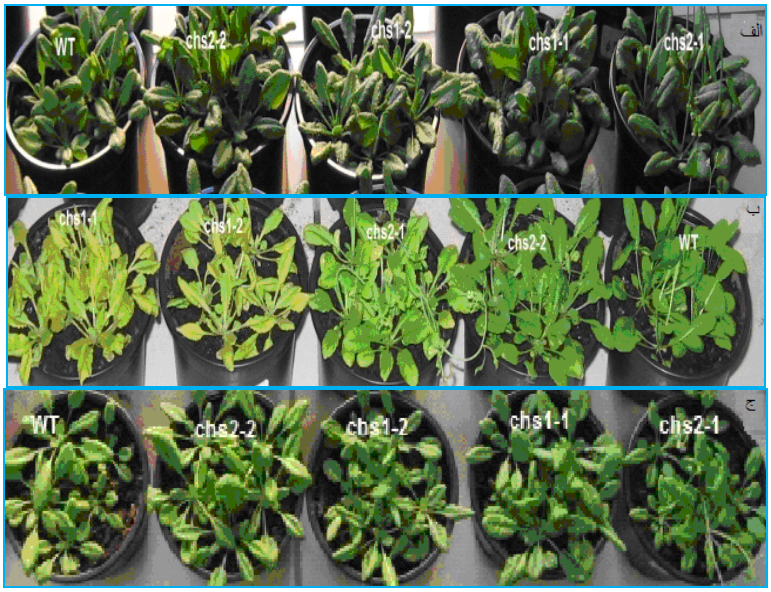
سنجش مقدار کلروفیل کل برگ‌ها

مقدار کلروفیل به‌وسیلهٔ (کلروفیل متر دستی)[۳] که مقدار سبزینگی را مشخص می‌کند، اندازه‌گیری شد. این سنجش به‌ترتیب برای همهٔ گیاهان (وحشی و جهش یافته) در هر سه سطح از تیمار انجام شد [۱۱].

نتایج

نتایج حاصل از تأثیر تنش سرما بر ویژگی‌های مورفولوژیکی گیاهان وحشی و جهش یافته

ویژگی‌های مورفولوژیکی ناشی از دمای پایین در گیاهان جهش یافته آرابیدوپسیس تحت تیمار سرما مشاهده شد. تحت این تیمار دمایی برگ گیاهان جهش یافته زرد شد و پس از یک هفته قرارگیری در معرض تیمار سرما همهٔ این گیاهان از بین رفتند و با بازگشت به دمای رشد نرمال زنده نماندند (شکل۱ ب). تحت تنش سرما و شاهد گیاهان وحشی و جهش یافته ظاهر طبیعی داشتند و ویژگی مورفولوژیکی خاصی نشان ندادند (شکل۱ الف ج).



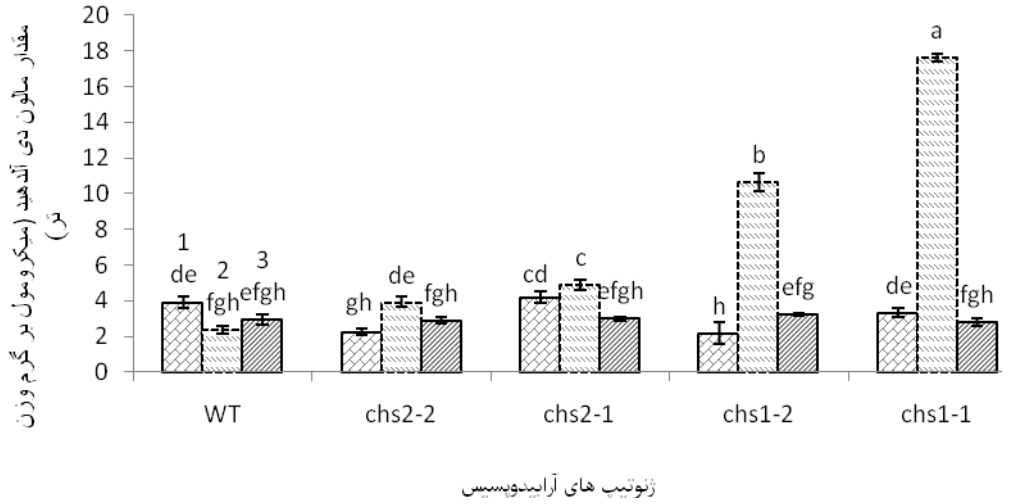
شکل۱. گیاهان تحت تیمارهای دمایی متفاوت. الف) گیاهان شاهد، ب) گیاهان تحت تیمار سرما، ج) گیاهان تحت تنش سرما

۱. Handy PEA(Plant Efficiency Analayzer) Hansatech ۲. dark leaf clip ۳. CL-01, Hansatech

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-19]

مقدار مالون دی‌آلدهید تحت تیمارهای دمایی پایین

نتایج حاصل از اندازه‌گیری مقدار مالون دی‌آلدهید نشان داد که تیمار سرما بیش‌ترین تأثیر را نسبت به شاهد و تنش سرما روی مقدار مالون دی‌آلدهید دارد. این تأثیر در دو جهش یافته *chs1-2* و *chs1-1* بارز بود و افزایش ۷/۵ و ۴/۵ برابر به‌ترتیب نسبت به گیاهان وحشی و گیاهان تحت تیمار سرما مشاهده شد (شکل۲). در سایر جهش یافته‌ها (*chs2-2* و *chs2-1*) این افزایش ۲ برابر بود.



شکل۲. اثر تنش سرما بر روی مقدار مالون دی‌آلدهید (میکرومول بر گرم وزن تر) در گیاهان وحشی و جهش یافته در گیاه آرابیدوپسیس ۱: تنش سرما، ۲: تیمار سرما، ۳: شاهد

مقدار پرولین

گیاهان تحت تیمارهای دمایی پایین افزایش معنی‌داری ($P < ۰/۰۰۱$) در مقدار پرولین نشان دادند (جدول۲). تنش سرما تأثیر بیش‌تری بر روی مقدار پرولین گیاهان (وحشی و جهش یافته) به‌ترتیب نسبت به تیمار سرما و شاهد نشان داد.

جدول۲. مقدار پرولین (میکروگرم بر گرم وزن تر) برگ گیاه آرابیدوپسیس تحت تیمارهای دمایی پایین

ژنوتیپ آرابیدوپسیس	۲۳ درجهٔ سانتی‌گراد	۱۳ درجهٔ سانتی‌گراد	۴ درجهٔ سانتی‌گراد
wt	^{h}۱/۹۱+۰/۸۱۹	^{fg}۳۲/۴۹+۱/۶۴۸	^{b}۴۲/۹۷+۱/۹۳۵
Chs2-2	^{ef}۱۹/۸۷+۲/۴	^{de}۳۲/۵۱+۱/۰۸	^{cd}۲۷/۰۹+۱/۰۴۰
Chs2-1	^{fg}۱۵/۴۴+۱/۰۹۰	^{de}۲۲/۵۸+۱/۰۶۷	^{a}۶۲/۲۲+۱/۰۸۷
Chs1-2	^{g}۱۱/۳۹+۲/۲۶۷	^{c}۲۳/۳۴+۴/۴۹	^{a}۶۱/۶۸+۲/۰۶۴
Chs1-1	^{de}۲۴/۹۴+۰/۸۵۱	^{c}۱۴/۹۷+۱/۶۶	^{a}۶۷/۸۶+۲/۹۱۳

داده ها $\bar{X} \pm SE$ را نشان می‌دهند. حروف یک‌سان نشان دهنده عدم تفاوت معنی‌دار است ($P < ۰/۰۰۱$).

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-19]

کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II گیاهان تحت تیمارهای دمایی پایین

نتایج مربوط به سنجش کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II برگ‌ها تغییرات مشابه مقدار کلروفیل کل را نشان داد (جدول۳). کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II برگ‌ها تحت تیمار سرما بیش‌ترین کاهش را نسبت به تنش سرما و شاهد نشان داد. تحت این شرایط جهش یافته‌های *chs1-1* و *chs1-2* کم‌ترین مقدار کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II را دارند که هم‌سو با نتایج مربوط به مقدار کلروفیل در این دو گیاه است. مقدار کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II جهش یافته‌های *chs2-2* و *chs2-1* کاهش کم‌تری نسبت به گیاه نوع وحشی نشان داد.

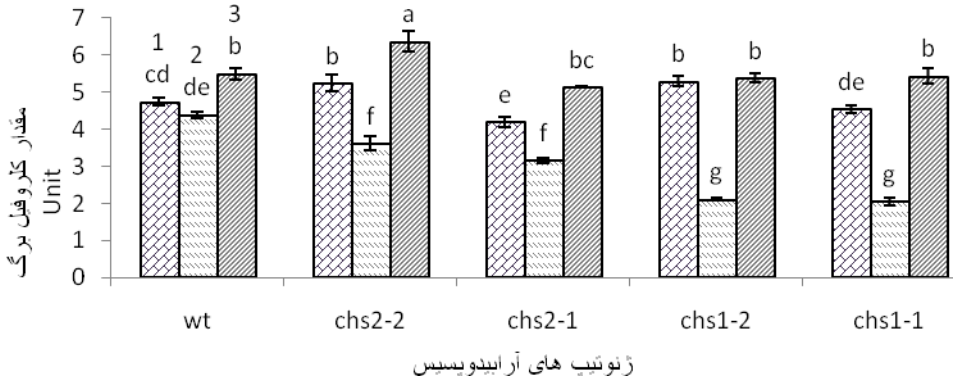
جدول۳. مقدار کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II (Fv/Fm) تحت تیمارهای دمایی پایین در گیاه *آرابیدوپسیس*

ژنوتیپ آرابیدوپسیس	۲۳ درجهٔ سانتی‌گراد	۱۳ درجهٔ سانتی‌گراد	۴ درجهٔ سانتی‌گراد
wt	^{a}۰/۸۴۴+۰/۰۰۳	^{a}۰/۸۴۴+۰/۰۰۱	^{a}۰/۸۳۳+۰/۰۰۲
Chs2-2	^{a}۰/۸۳۹+۰/۰۰۲	^{a}۰/۸۱۶+۰/۰۰۶	^{a}۰/۸۲۴+۰/۰۰۱
Chs2-1	^{a}۰/۸۳۵۳+۰/۰۰۱	^{ab}۰/۸۱۳۷+۰/۰۰۱۴	^{a}۰/۸۲۷+۰/۰۰۴۵
Chs1-2	^{a}۰/۸۳۳۷+۰/۰۰۳	^{ab}۰/۷۷۹۳+۰/۰۱۸	^{a}۰/۸۲۶+۰/۰۱۲
Chs1-1	^{a}۰/۸۳۷+۰/۰۰۲	^{c}۰/۷۲۸۳+۰/۰۴۰	^{a}۰/۸۳۵+۰/۰۰۱

داده‌ها $\bar{X} \pm SE$ را نشان می‌دهند. حروف یکسان نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار است ($P < 0.001$).

مقدار کلروفیل گیاهان تحت تیمارهای دمایی پایین

مقدار کلروفیل گیاهان جهش یافته تحت تیمار سرما نسبت به گیاه وحشی تحت تنش سرما و شاهد به مقدار زیادی کاهش یافته است (شکل۳). این کاهش در جهش یافتهٔ chs2-2 کم‌تر و در جهش یافته‌های chs1-1 و chs1-2 بیش‌تر بود. بیش‌ترین مقدار کلروفیل در گیاهان شاهد و سپس در گیاهان تحت تنش سرما مشاهده شد که به‌طور مشخص از مقدار کلروفیل گیاهان تحت تیمار سرما بیش‌تر بود.



شکل۳. اثر تیمارهای دمایی پایین روی مقدار کلروفیل کل در گیاهان وحشی و جهش یافته آرابیدوپسیس. ۱: تنش سرما، ۲: تیمار سرما، ۳: شاهد

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-19]

بحث

بسیاری از گونه‌های گیاهان عالی در معرض انواع تنش‌های محیطی نظیر تنش خشکی، شوری زیاد و دمای پایین هستند. دمای کم تأثیر زیادی روی رشد، نمو، حاصل‌خیزی، توزیع و بازدهی اغلب محصولات کشاورزی دارد [۱۲] و [۱۳] و شامل تیمار سرما (۰ الی ۱۵ درجهٔ سانتی‌گراد) و یخبندان (دماهای کمتر از ۰ درجه سانتی‌گراد) است. تیمار سرما به‌طور متداول در طبیعت رخ می‌دهد و مهم‌ترین مسئله‌ای است که رشد گیاهان را محدود می‌کند و به بسیاری از گونه‌های گیاهی نواحی گرمسیری و نیمه گرمسیری آسیب می‌رساند [۱۴]، در صورتی که گیاهان مقاوم به سرما می‌توانند زنده بمانند و در محدودهٔ دمایی ۰ الی ۲۰ درجهٔ سانتی‌گراد رشد کنند. اسکینایدر و همکاران (۱۹۹۴) بیست و یک جهش یافته آرابیدوپسیس با فنوتیپ حساس به تیمار سرما را شناسایی کرده‌اند. این جهش یافته‌ها به ۴ کلاس فنوتیپی تقسیم می‌شوند و فنوتیپ‌های واضحی را پس از یک هفته قرار گرفتن در معرض تیمار سرما نشان می‌دهند. کلاس ۱ جهش یافته‌ها (*chs1* و *chs2*) که در این پژوهش بررسی شدند، شدیدترین فنوتیپ را دارند و پس از سه روز قرار گیری تحت تیمار سرما می‌میرند و نمی‌توانند با برگشت به دماهای عادی رشد نجات یابند [۷]. در تأیید این نتایج دراین پژوهش مشخص شد که از بین تیمارهای دمایی اعمال شده، تیمار سرما منجر به ظهور فنوتیپ متمایزی می‌گردد. از بین گیاهان وحشی و جهش یافته بررسی شده، جهش یافته‌های حساس به سرما فنوتیپ زردشدگی را بروز می‌دهند. شدت کلروز در میان جهش یافته‌ها متفاوت بود. جهش یافته‌های *chs1-1* و *chs1-2* بیش‌ترین میزان کلروز را نسبت به ۲ جهش یافته دیگر داشتند، در صورتی‌که گیاه وحشی فنوتیپ طبیعی را تحت این تیمار دمایی داشت. دو جهش یافته *chs2-1* و *chs2-2* درجه‌های کمتری از فنوتیپ مذکور را نشان دادند و همهٔ جهش یافته‌ها پس از بازگشت به دمای رشد نرمال از بین رفتند.

تنش‌های زیستی و غیرزیستی منجر به تولید انواع فعال اکسیژن در گیاهان می‌شود که در نهایت تنش اکسیداتیو ثانویه را به سلول‌های گیاهی تحمیل می‌کند [۱۵]. افزایش تولید انواع فعال اکسیژن ممکن است اثر زیان‌آوری بر متابولیسم و رشد و نمو سلول‌ها به‌واسطهٔ توانایی آن‌ها برای شروع واکنش آبشاری داشته باشد که منجر به تولید گونه‌های سمی نظیر رادیکال‌های هیدروکسیل و پراکسیداسیون لیپید می‌شود [۱۶] و [۱۷]. مالون دی‌آلدهید محصول رایج پراکسیداسیون لیپید و یک شاخص تشخیص حساسیت نسبت به آسیب اکسیداتیو است [۱۸]. در این رابطه افزایش پراکسیداسیون لیپید تحت تنش‌های محیطی مختلف در بسیاری از گیاهان گزارش شده است [۱۹]، [۲۰]. محتویات مالون دی‌آلدهید به‌عنوان یکی از نشانه‌های پراکسیداسیون لیپید تحت تیمار سرما افزایش یافت، این اطلاعات شدت آسیب به غشای سلولی را نشان می‌دهد [۲۱]. موافق با این یافته‌ها نتایج نشان داد که تحت تیمارهای دمایی پایین مقدار مالون دی‌آلدهید افزایش یافت و تیمار سرما بیش‌ترین تأثیر را نسبت به شاهد و تنش سرما روی مقدار مالون دی‌آلدهید داشت. نتایج پیشنهاد می‌کند که احتمالاً تنش سرما افزایش

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-19]

تولید انواع فعال اکسیژن را به‌راه می‌اندازد و تجمع اولیه انواع فعال اکسیژن در گیاهان منجر به تولید سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدان می‌گردد [۲۲]. تحت این شرایط دفاع آنزیمی سلول می‌تواند برای ممانعت از آسیب به سلول‌های گیاهی افزایش یابد و موجب حفظ هموستازی آن‌ها گردد، اما اگر تنش شدید باشد، سیستم آنزیمی گیاهان نمی‌تواند به‌طور مؤثر از افزایش تولید انواع فعال اکسیژن ممانعت کند، از این‌رو فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاهش می‌یابد و منجر به آسیب‌های متعدد به گیاهان و حتی مرگ آن‌ها می‌گردد [۲۳].

حفظ غشای سلولی از آسیب تنش سرما امری مهم است که به‌وسیله تجمع (مواد سازگار اسمزی)[۱] در سیتوپلاسم به‌دست می‌آید و تغییراتی را در ترکیبات لیپیدهای غشا ایجاد می‌کند. مواد سازگار اسمزی طی مقاوم‌سازی انباشته می‌شوند و در تطابق سلول گیاهی نسبت به تنش سرما از طریق کاهش دهیدراسیون سلولی و (فروپاشی)[۲] ماکرومولکول‌ها شرکت می‌کنند [۲۴]. بسیاری از گیاهان مقادیرزیاد پرولین آزاد را در بافت‌های خود در پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی انباشته می‌کنند که به‌عنوان یکی از عوامل ایجاد کننده مقاومت پیشنهاد شده است [۲۵]. نتایج حاصل از سنجش مقدار پرولین نشان داد که تنش سرما تأثیر بیش‌تری روی مقدار پرولین گیاهان نسبت به تیمار سرما و شاهد دارد. تحت شرایط شاهد گیاهان جهش یافته در مقایسه با گیاه وحشی مقادیر بسیار بزیادی پرولین را در برگ‌های خود انباشته می‌کنند که این امر می‌تواند نشان‌دهندهٔ اختلالی مهم در متابولیسم پرولین بر اثر جهش باشد. پژوهش‌های قبلی نتایج متفاوت و گاه متضادی را در رابطه با تنش‌های فیزیکی و تجمع پرولین در گیاهان ارائه می‌دهند. در این پژوهش نیز ظاهراً تجمع پرولین در دماهای مختلف تأثیر متفاوتی بر روی گیاه اعمال می‌کند و این اختلاف می‌تواند ناشی از اختلال در متابولیسم پرولین در این گیاهان باشد و ناشی از مقدار نهایی پرولین نیست.

ماکزیمم کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II وابسته به کارآیی فتوسنتزی برگ است و کاهش این نسبت نشان‌دهندهٔ آسیب (بازدارندگی نوری)[۳] است. آسیب بازدارندگی نوری در گیاهان در معرض تنش‌های محیطی به‌وجود می‌آید [۲۶] ، [۲۷]. پژوهش‌های اخیر بر روی ژنوتیپ‌های حساس به تیمار سرمای برنج نشان داد که فتوسیستم II و نه فتوسیستم I هدف تیمار سرما است و کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II بهترین شاخص برای بازدارندگی نوری است [۲۸] و [۲۹]. با توجه به‌نتایج پژوهش کوساوا[۴] و همکاران (۲۰۰۵)، کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II تحت تیمار سرما درهر دو ژنوتیپ CE 704 و CE 810 گیاه کدو کاهش نشان داده است [۳۰]. نتایج پژوهش‌های وب[۵] و فلیچر[۶] (۱۹۹۶) نشان داد که ماکزیمم کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II برابر با ۰/۸ نشان‌دهندهٔ بافت برگی سالم و مستعد فتوسنتز ماکزیمم است [۳۱]. این مقدار برای برگ‌های همه گیاهان وحشی و جهش یافته شاهد و تحت تنش سرما مشاهده شد، در صورتی که گیاهان جهش یافته *chs1-1* و *chs1-2* تحت تیمار سرما کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II کم‌تر از مقدار ۰/۸ داشتند. درگیاه وحشی و دو جهش

---

۱. osmotic protectant ۲. denaturation ۳. photo inhibition ۴. Kosova ۵. Webb
۶ . Fleetcher

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-19]

یافته دیگر تحت تیمار سرما مقدار این پارامتر بیش‌تر از ۰/۸ بود. اگر چه سرعت فتوسنتز خالص در تحقیق حاضر اندازه‌گیری نشده است، اما بازده فلورسانس و کوانتوم ممکن است به‌طور غیرمستقیم فعالیت فتوسنتزی را منعکس کند. نتایج نشان داد که کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II برگ‌ها تحت تیمار سرما بیش‌ترین کاهش را نسبت به تنش سرما و شاهد دارد. این کاهش نشان‌دهندهٔ کاهش کارآیی و راندمان فتوسنتزی در گیاهان کاهش یافته و احتمالاً وقوع بازدارندگی نوری فتوسنتز است. تحت تنش سرما کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II برگ‌های گیاهان جهش یافته کاهش چندانی نسبت به شاهد نشان نداد که یا ناشی از عدم کاهش در ماکزیمم بازده فتوشیمیایی فتوسیستم II است و یا شاید واکنش‌های فتوشیمیایی اولیه دستگاه فتوسنتزی آسیب ندیده‌اند. این امر می‌تواند نشان‌دهندهٔ رشد متعادل جهش یافته‌ها تحت تنش سرما باشد.

از مهم‌ترین فاکتورهایی که ممکن است فعالیت فتوسنتزی را محدود کند دمای پایین است.. کاهش فتوسنتز القا شده به‌وسیلهٔ دمای پایین یک پاسخ شناخته شده گیاهان حساس به تیمارسرما است [۳۲]. گزارش شده است که مقدار کلروفیل a و b زمانی‌که گیاهان در معرض تیمار سرما قرار دارند، کاهش می‌یابد [۳۳]. نتایج حاصل از سنجش مقدار کلروفیل برگ گیاهان آرابیدوپسیس نشان داد که مقدار کلروفیل گیاهان جهش یافته تحت تیمار سرما در مقایسه با شاهد کاهش یافت. کاهش مقدار کلروفیل برگ‌ها، توقف سرعت فتوسنتز گیاهان جهش یافته را نشان می‌دهد که احتمالاً ناشی از کاهش سطوح رونوشت پروتیین‌های (موج‌گیر)[۱] و توقف عمل‌کرد LHCII (کمپلکس تشکیل‌دهندهٔ اکسیژن) است [۳۴]. این مطلب به دلیل این است که الکترون‌های زنجیره انتقال الکترون برای تشکیل انواع فعال اکسیژن به‌ویژه O_2 به‌کار رفته‌اند [۳۵] که از نشانه‌های تنش اکسیداتیو است.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از اندازه‌گیری مقدار کلروفیل و کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II تحت تیمار سرما نشان می‌دهد که به احتمال زیاد کلروپلاست و سیستم فتوسنتزی بر اثر جهش مذکور با قرار گرفتن گیاهان جهش یافته در معرض تیمار سرما آسیب می‌بینند و شدت تخریب در دو جهش یافته *chs1-1* و *chs1-2* نسبت به دو جهش یافته دیگر شدیدتر است. نتایج مربوط به افزایش مقدار پرولین و مالون دی‌آلدهید تحت تیمار سرما نسبت به تنش سرما در گیاهان جهش یافته در متابولیسم پرولین و آسیب به سیستم غشایی اختلال نشان می‌دهد که منجر به حساسیت گیاهان جهش یافته نسبت به این تیمار دمایی و در نتیجه ظهور فنوتیپ زردشدگی در اثر جهش مذکور می‌گردد

تشکر و قدردانی

این پژوهش در آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی دانشکده علوم زیستی دانشگاه خوارزمی انجام شده است، از استادان محترم و تمام کسانی که به اجرای این پروژه کمک کرده‌اند، سپاسگزاری می‌شود.

۱. antena

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-19]

منابع

1. J. Browse, Z. Xin, "Temperature sensing and cold acclimation", Current Opinion in Plant Biology, 4(2001) 241-246.
2. N. P. A. Huner, G. Öquist, F. Sarhan, "Energy balance and acclimation to light and cold", Trends Plant Science, 3 (1998) 224-230.
3. N. Suzuki, R. Mittler, "Reactive oxygen species and temperature stresses: a delicate balance between signaling and destruction", Plant Physiology, 126(2006) 45-51.
4. K. Maxwell, G. N. Johnson, "Chlorophyll fluorescence-a practical guide", Journal Expression Botony, 51(2000) 659-668.
5. J. W. Mac Adam, C. J. Nelson, R. E. Sharp, "Peroxidase activity in the leaf elongation zone of tall fescue, Plant Physiology, 99 (1992) 294-878.
6. R. Serraj, T. R. Sinclair, "Inhibition of nitrogenase activity and nodule oxygen permeability by water deficit", Journal Expression Botony, 47(1996) 1067-1073.
7. J. C. Schneider, S. Hugly, C. R. Somerville, "Chilling Sensitive Mutants of Arabidopsis", Weeds World, 1(1994).
8. R. L. Heath, L. Packer, "Photoperoxidation in isolated chloroplasts, Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation", Archives of Biochemistry and Biophysiology, 125 (1968) 189-198.
9. L. S. Bates, R. P. Waldern, I. D. Teare, "Rapid determination of free proline for water-stress studies", Plant and Soil, 39 (1973) 205-207.
10. L. Tang, M. D. Kim, K-S. Yang, S-Y. Kwon, S-H. Kim, D-J. Yun, S-S. Kwak and H-S. Lee, "Enhanced tolerance of transgenic potato plants overexpressing nucleoside diphosphate kinase2 against multiple environmental stresses", Transgenic research, 17 (2008) 705-715.
11. W. C. Fang, J. W. Wang, C. C. Lin, C. H. Kao, "Iron induction of lipid peroxidation and effects on antioxidative enzyme activies in rice leaves", Plant Growth Regulation, 35 (2001) 75-80.
12. L. Xiong, K. . Schumaker, J. K. Zhu, "Cell signaling during cold, drought, and salt stress", Plant Cell, 14 (2002) 165-183.
13. Z. Xin, J. Browse, "eskimo1 mutants of Arabidopsis are constitutively freezing tolerant", Proceedings of the National Academy of Sciences of the United states, 95 (1998) 7799-7804.
14. J. M. Lyons, "Chilling injury in plants", Annual Review Plant Physiology, 24 (1973) 445-466.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-19]

15. C. H. Foyer, H. Lopez-Delgando, J. E. Dat, P I. M. Scott, "Hydrogen peroxide-and 6 glutathione-associated mechanisms of acclamatory stress tolerance and signaling", Plant Physiology,100(1997) 241-254.
16. R. G. Alscher, J. Donahue, C. L. Cramer, "Reactive oxygen species and antioxidant: Plant relationships in green cells", Plant Physiology, 100 (1997) 224-233.
17. S. Bhattacharjee, "Reactive oxygen species and oxidative burst Roles in stress", senescence and signal transduction in plants. The Current Science, 89 (2005) 1113-1121.
18. D. Janero, "Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury", Free Radical Biology and Medicine, 9 (1990) 515-540.
19. T. K. Prassad, "Mechanisms of chilling-induced oxidative stress injury and tolerance in developing maize seedlings: changes in antioxidant system", oxidation of proteins and lipids, and protease activities, Plant Journal, 10 (1996) 1017-1026.
20. E. F. Moran, E. S. Brondizio, P. Mausel, Y. Wu, "Integrating Amazonian vegetation, land-use and satellite data", BioScience, 44 (1994) 329-339.
21. H. Gülen, C. etinkaya, M. Kad o lu, M. Kesici, A. Cansev, A. Eri , "Peroxidase activity and lipid peroxidation in strawberry (*Fragaria* X *ananassa*) plants under low temperature", Journal of Biological & Environmental Sciences, 2 (2008) 95-100.
22. B. Y. Zhou, Z. F. Guo, Z. L. LIU, "Effects of abscisic acid on antioxidant systems of stylosanth esguianensis (Aublet) Sw. under chilling stress", Crop Science, 45 (2005) 599-605.
23. R. S. Pearce, "Plant freezing and damage", Annual Botony, 87 (2001) 417-424.
24. P. L. Steponkus, "Role of the plasma membrane in freezing injury and cold acclimation", Annual Review Plant Physiology, 35(1984) 543-584.
25. B. Hawrylak-Nowak, R. Matraszek, M.Szymanska, "Selenium modifies the effect of short-term chilling stress on cucumber plants", Biology Trace Element Research, 138 (2010) 307-315.
26. O. Bjorkman, B. Demming, "Photon yield of oxygen evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77ºK among vascular plants of diverse origin", Planta, 170 (1987) 489-504.
27. R. Mittler, S. Vanderauwera, M. Gollery, F. Van Breusegem, "Reactive oxygen gene network of plants", Trends Plant Science, 9 (2004) 490-498.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-19]

28. N. Hirotsu, A. Makino, S. Yokota, T. Mae, "The photosynthetic properties of rice leaves treated with low temperature and high irradiance", Plant Cell Physiology, 46 (2005) 1377-1383.
29. K. Maxwell, G. N. Johnson, "Chlorophyll fluorescence: a practical guide", Journal Experimental of Botany, 51 (2000) 659-668.
30. K. Kosová, D. Haise, I. Tichá, "Photosynthetic performance of two maize genotypes as affected by chilling stress", Pant Soil and Environment, 51(2005) 206-212.
31. J. Webb, R. Fletcher, "Paclobutrazol protects wheat seedlings from injury due to water logging", Plant Growth Regulation, 18(1996) 201-206.
32. L. Z. Yadegari, R. Heidari, J. Carapetian, "The influence of cold acclimation on proline, malondialdehyde (MDA), total protein and pigments contents in soybean (Glycine max) seedlings", Journal of Biological Sciences, 7 (2007) 1436-1441.
33. R. R. Wise, A. W. Naylor, "The peroxidative destruction of lipids during chilling injury to photosynthesis and ultrastructure", Plant physiology, 83 (1987) 272-277.
34. L. Rizhsky, H. Liang, R. Mittler, "The water-water cycle is essential for chloroplast protection in the absence of stress", The American Society for Biochemistry and Molecular Biology, 278 (2003) 38921-38925.
35. C. Bowler, M. V. Montagu, D. Inzé, "Superoxide dismutase and stress tolerance", Annual Review Plant Physiology Plant Molecular Biology, 43 (1992) 83-116.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-19]