

## عوامل روزنه ای و غیر روزنه ای محدود کننده فتوسنتز در گندم در شرایط تنش خشکی

علی احمدی و د.آ. بیکر

استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران و استاد علوم بیولوژی

دانشکده کشاورزی دانشگاه لندن

تاریخ پذیرش مقاله ۷۹/۱/۳۱

### خلاصه

تغییرات در تبادلات گازی و غلظت داخلی  $CO_2$  ( $C_i$ ) در برگهای باسنین مختلف و تحت شرایط متفاوت تنش آبی و مراحل مختلف رشد در گیاه گندم مطالعه شد. با پیشرفت تنش خشکی فتوسنتز خالص ( $P_n$ )<sup>۲</sup> و هدایت روزنه ای ( $g_s$ )<sup>۳</sup> شروع به کاهش نموده در مرحله پیش پژمردگی<sup>۴</sup> (زمانی که برگ مورد نظر علائم اولیه پژمردگی را نشان داد) به طور معنی داری از مقادیر کنترل کمتر شدند و در مرحله پژمردگی قابل رویت (زمانی که برگها فرم ایستاده خود را از دست داده و حالت لوله ای بخود گرفته بودند) به صفر رسیدند. پس از آبیاری گیاهان درجات متفاوتی از ترمیم<sup>۵</sup>، براساس سن برگ و درجه تنش آبی، مشاهده گردید.  $C_i$  در گیاهان تحت تنش ابتدا یک کاهش جزئی در مرحله پیش پژمردگی نشان داد ولی در مرحله پژمردگی به طور معنی داری از مقادیر کنترل بیشتر شد و پس از آبیاری گیاهان شدیداً کاهش نشان داد. وقتی که آبیاری مجدد تا مرحله پژمردگی شدید به عقب افتاد  $P_n$  و  $g_s$  هیچکدام ترمیم نیافتند و  $C_i$  نیز به طور معنی داری در سطح بالاتری نسبت به  $C_i$  گیاهان کنترل باقی ماند. میزان کلروفیل برگهایی که به پژمردگی رسیده بودند با کلروفیل برگهای کنترل تفاوت نشان نداد ولی سه روز پس از آبیاری میزان کلروفیل این برگها کمتر از گیاهان کنترل شد. تنش بلند مدت خشکی باعث کاهش معنی دار در سطح کلروفیل برگ گردید. مطالعات فراساختمانی<sup>۶</sup> کلروپلاست تغییراتی را در کلروپلاست برگهای پژمرده نشان داد. چنین نتیجه گیری شد که تنش ملایم خشکی فتوسنتز را عمدتاً از طریق عوامل قابل برگشت روزنه ای کاهش میدهد اما در شرایط شدیدتر تنش با در تنش های طولانی تر عوامل غیر روزنه ای نیز مزید بر علت می گردند.

واژه های کلیدی: گندم، تنش خشکی، فتوسنتز، روزنه

### مقدمه

می شود که این خود نیز حاصل فتوسنتز مراحل قبلی تر می باشد. بعلاوه شدت بالای فتوسنتز در مرحله گیاهچه ای در تعیین بنیه (vigor) گیاه و لذا پتانسیل تولید نقش مهمی دارد. لذا تنش خشکی در هر مرحله از رشد گیاه می تواند بر پتانسیل عملکرد اثر بگذارد. اگر چه شدت این تاثیر مسکن است در مراحل مختلف رشد فرق کند.

فتوسنتز تعیین کننده اصلی رشد و عملکرد گیاهان است و توانایی حفظ آن در شرایط تنشهای محیطی برای حفظ ثبات عملکرد مهم است. بخش مهمی از کربن مورد نیاز جهت پرشدن دانه از فتوسنتز جاری و بقیه از مواد ذخیره شده در اندامهای رویشی تامین

1. Internal CO<sub>2</sub> concentration

2. Net photosynthesis

3. Stomatal conductance

4. Pre-wilting

5. Recovery

6. Ultrastructure

ارتباط نزدیک بین بازدارندگی فتوسنتزی در شرایط تنش و تغییرات فراساختمانی در کلروپلاست بعنوان دلیلی بر اثر مستقیم تنش روی کلروپلاست دانسته شده است (۳۳). مطالعات ماروتی و همکاران (۲۹) روی گیاهان C3, C4 و CAM تغییرات ساختمانی متفاوتی را در کلروپلاست این گیاهان در اثر تنش آبی نشان داد. باز داری عامل سازنده ATP در شرایط کم آبی به تغییرات در ساختمان پروتئین و کاهش میل اتصال آن با ADP نسبت داده شد (۵). در گیاه توتون علاوه بر مشاهدات تغییرات فراساختمانی متعدد در شرایط تنش آبی ملاحظه شد که آسیب به غشاء در ارقام حساس به خشکی شدیدتر از ارقام مقاوم به خشکی بود (۳۵). بهرحال فیلوز و بوی (۱۱) با طرح آزمایش دقیقی ادعا نمودند که خیلی از تغییرات فراساختمانی گزارش شده در کلروپلاست به خاطر عمل آنگیری مجدد بافتها در طی فرایند "تثبیت" بوده و نه اثر طبیعی تنش خشکی.

تعیین توان فتوسنتزی ارقام مختلف در شرایط تنش خشکی و تعیین میزان سهم عوامل روزنه ای و غیر روزنه ای در کاهش فتوسنتز برای شناسایی خصوصیات فتوسنتزی ارقام در شرایط تنش خشکی از اهمیت بالایی برخوردار است. هدف از این تحقیق تعیین نقش برخی عوامل مهم روزنه ای و غیرروزنه ای و اهمیت نسبی آنها در شرایط تنشهای مختلف آبی بود.

### مواد و روشها

بذور گندم (رقم بهاره کدنزا) در گلدانهای پلاستیکی (با ۱۲ سانتی متر قطر و ۱۵ سانتی متر عمق) حاوی مخلوط ۴:۱ پیت و شن کاشته شدند و سپس در شرایط گلخانه ای با دمای متوسط روزانه  $19-25^{\circ}\text{C}$  و نور کمکی ۳۰۰ میکرومول بر متر مربع بر ثانیه با طول روز ۱۶ ساعت و رطوبت نسبی ۶۰٪ رویانیده شدند. گلدانها هفته ای یکبار بوسیله محلول غذایی سنگرل (Sangral 211) آبیاری شدند. در مرحله ۴-۵ برگگی ۲ گیاه یکنواخت در گلدان حفظ و بقیه حذف شدند. تیمارهای استرس آبی کوتاه مدت با قطع آبیاری تا رسیدن گیاه به مرحله پژمردگی قابل برگشت یا شدید (غیر قابل برگشت) و تیمار تنش آبی بلند مدت با محدود کردن آبیاری از ۱۰ روز پس از کرده افشانی به بعد و نگهداشتن رطوبت گلدانها در

عوامل محدودکننده فتوسنتز در شرایط تنش آبی در دو گروه کلی قرار داده شده اند ۱- عوامل محدودکننده روزنه ای که منجر به کاهش انتشار  $\text{CO}_2$  به فضای بین سلولی در اثر کاهش هدایت روزنه ای می گردد، ۲- عوامل محدودکننده غیر روزنه ای که بخاطر اثر مستقیم کمبود آب روی فرایندهای بیوشیمیایی می باشد. در مورد اهمیت نسبی هر یک از این دو عامل اختلاف نظر وجود دارد (۲۵). اهمیت محدودیت روزنه ای در شرایط تنش خشکی با مشاهدات مکرر کاهش موازی در فتوسنتز و هدایت روزنه ای نشان داده شده است (۳۷، ۲۶). بسته شدن روزنه ممکن است در پاسخ به آماس<sup>۱</sup> پائین سلول محافظ در اثر افزایش شیب فشار بخار بین هوا و برگ (۳۵) و افزایش هورمون ABA باشد (۳۴). بسته شدن روزنه باعث کاهش  $\text{C}_i$  شده و بدین طریق با کاهش عرضه  $\text{CO}_2$ ، فتوسنتز را محدود می کند. کیچوا و همکاران (۲۲) نشان دادند که تنش ملایم خشکی باعث کاهش  $\text{P}_n$  می شود ولی اثری روی فعالیت Rubisco ندارد و زنجیره انتقال الکترون فتوسنتز II نیز اندکی تحت تاثیر قرار می گیرد. شدت مساوی فتوسنتز در گیاهان کنترل و تحت تنش وقتی که برگها در حضور غلظت بالای  $\text{CO}_2$  برای فائق آمدن به مقاومت روزنه ای قرار داده شدند از شواهد قابل توجه در اهمیت محدودیت روزنه ای می باشد.

بهرحال در تعداد زیادی از تحقیقات انجام شده که در آنها  $\text{P}_n$  و  $\text{g}_s$  کاهش نشان دادند ولی  $\text{C}_i$  یا ثابت مانده یا افزایش یافته است، عوامل غیر روزنه ای مسؤل کاهش فتوسنتز شناخته شده اند (۳۷، ۲۰، ۱۲).

غلظت کلروفیل به عنوان یک شاخص برای ارزیابی قدرت منبع شناخته شده است (۱۸) و لذا کاهش در آن در شرایط تنش آبی می تواند به عنوان یک عامل محدودکننده غیر روزنه ای به حساب آید. شواهدی در دست است مبنی بر آنکه تنش آبی میزان کلروفیل برگ را کاهش می دهد (۳۰، ۲۸، ۲۴) در حالیکه در تحقیقات دیگر چنین کاهشی در کلروفیل در شرایط تنش مشاهده نشد (۱۵، ۳۱، ۲۳). در تحقیق دیگری روی گوجه فرنگی میزان کلروفیل در یک رقم در پاسخ به تنش خشکی کاهش نشان داد در حالیکه در رقم دیگر چنین پاسخی دیده نشد (۶). پایداری کلروفیل به عنوان یک معیار مقاومت به خشکی برای انتخاب ارقام پیشنهاد شده است.

کنترل و گیاهان تحت تنش جدا گردیدند. قطعات یک میلی متر مربع از برگها تهیه و در محلول گلوتر آلد هاید تثبیت شد. بافتهای تثبیت شده سپس طی عبور از یک سری محلولهای استون با افزایش غلظت به سمت استون خالص آبگیری<sup>۱</sup> شدند و بعداً از یکسری از مخلوطهای استون - رزین با افزایش نسبت رزین به سمت رزین خالص عبور داده شدند و نهایتاً درون قالب رزین محبوس شدند. قطعات نازک (۲ میکرومتر ضخامت) حاوی بافت برگ از بلوکهای رزین به کمک چاقوی شیشه ای و دستگاه اولترا میکروتوم تهیه و پس از انجام یکسری عملیات آماده سازی بوسیله چاقوی الماس Diatom برشهای بسیار نازک (Ultra thin section) از قطعات نازک تهیه گردید که پس از رنگ آمیزی در شرایط استاندارد بوسیله میکروسکوپ الکترونی (هیتاچی ۶۰۰۰) مورد مشاهده قرار گرفت

### نتایج و بحث

وضعیت آبی برگ های تحت مطالعه بر حسب مقدار آب نسبی (RWC) و پتانسیل آبی ( $\psi_w$ ) در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. شکل ۱ شدت فتوسنتز و هدایت روزنه ای برگهای مختلف را در شرایط کنترل و تنش آبی کوتاه مدت نشان می دهد. شدت فتوسنتز بالاتر در برگ شماره ۶ نسبت به برگ شماره ۴ مبین این واقعیت است که با افزایش سن گیاه اهمیت فتوسنتزی برگهای جوان تر برای مرحله دانه بندی بیشتری شود. شدت فتوسنتز پائین تر در برگهای پیرتر با هدایت روزنه ای پائین این برگها همراه بود. کاهش در  $g_s$  با افزایش سن برگ در لویا (۹) و پنبه (۱) نیز گزارش شده است.

پس از آبیاری، برگهای جوان ترمیم بهتری نسبت به برگهای مسن نشان دادند (شکل ۱) که مبین تحمل بالاتر تنش خشکی در آنها می باشد. گزارش مشابهی در مورد گندم مبنی بر آنکه فتوسنتز و هدایت روزنه ای در برگهای پیر حساسیت بیشتری به خشکی دارند در مقایسه با برگهای جوان تر (۳۸، ۳۹) وجود دارد. بعلاوه پاسخ  $g_s$  به تنش در برگهای جوان کندتر از برگهای پیر بود. فتوسنتز پائین تر برگهای پیر و نیاز بیشتر سایر قسمتهای گیاه برای مواد پرورده با افزایش سن گیاه ممکن است باعث کاهش تدریجی در توان تنظیم اسمزی این برگها شده (۳۲) و لذا سریعتر به خشکی پاسخ دهند.

۱۵ % ظرفیت زراعی اعمال گردید. در هر تیمار آزمایش ۴ یا ۵ تکرار (گلدان) در نظر گرفته شد و داده ها بر اساس طرح کاملاً تصادفی تجزیه شدند.

### اندازه گیری تبادلات گازی برگ

اندازه گیری همزمان  $P_n$ ،  $g_s$  و  $C_i$  با استفاده از دستگاه LCA-2 انجام شد. برای این کار قسمت میانی برگهای شماره ۴ و ۶ (شماره گذاری از پائین گیاه) گیاهچه های ۳۵ روز (آزمایش ۱) و برگ پرچم در ۲۱-۱۲ روز پس از گرده افشانی (آزمایش دوم) در شرایط تنش آبی کوتاه مدت و نیز برگ پرچم گیاهان در ۱۵ و ۲۲ روز پس از گرده افشانی در شرایط تنش خشکی بلند مدت (آزمایش ۳) در داخل محفظه شیشه ای دستگاه قرار داده شد و عدد دستگاه پس از ۳۰ ثانیه ثبت گردید. اندازه گیری در ساعت ۱۱ صبح انجام شد. از برگهای شماره ۴ و ۶ و برگ پرچم گیاهان کمکی در هر گلدان برای تعیین وضعیت آبی گیاه استفاده شد.

### اندازه گیری میزان کلروفیل برگ

برای تعیین کلروفیل برگ تمامی برگ کاملاً توسعه یافته که بلافاصله زیر برگ پرچم در حال نمو قرارداشت در مرحله وقوع پژمردگی و نیز سه روز پس از آبیاری گیاهان پژمرده شده (آزمایش تنش خشکی کوتاه مدت) و نیز برگ پرچم در مرحله ۱۶ روز پس از گرده افشانی (آزمایش تنش خشکی بلند مدت) استفاده شد. همه عملیات استخراج و اندازه گیری در زیر نور سبز کم رنگ (لامپ ۱۵ وات) Pygmy با فیلتر سبز شماره (Ilford, go7g) انجام شد

برگهای تازه پس از توزین در نیتروژن مایع و در حضور مقادیر کافی کربنات منیزیم کوبیده شدند و سپس بمدت ۱۲ ساعت شبانه در استون ۸۰% در تاریکی و دمای صفر درجه عصاره گیری شدند. مواد جامد باقیمانده به وسیله فیلتر کردن در شرایط خلاء با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ جدا گردید و عصاره حاصل با استون ۸۰% رقیق شده و به حجم رسانیده شد. میزان جذب نور توسط عصاره با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (Novaspec CKB) که روی طول موجهای ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر تنظیم شده بود اندازه گیری شد و مقادیر کلروفیل a, b طبق روش آرنون (۳) محاسبه گردید.

### مشاهدات فراساختمانی کلروپلاست

در مرحله پژمردگی و ترمیم از پژمردگی برگها از گیاهان

جدول ۱- اثر تنش آبی کوتاه مدت روی مقدار آب نسبی (RWC، الف) و پتانسیل آبی ( $\psi_w$ ، ب) برگهای ۴ و ۶ و برگ پرچم در مراحل قبل از پژمردگی، پژمردگی معمولی و ترمیم. مقادیر متن جدول عبارتند از میانگین ۴ تکرار  $\pm$  اشتباه معیار میانگین.

## الف RWC

تیمار	پیش پژمردگی	پژمردگی	ترمیم
برگ شماره ۴	کنترل	۹۷ ± ۱/۵	۹۳ ± ۱/۴
استرس	۸۵ ± ۱/۷	۶۹ ± ۲/۳	۹۱ ± ۱/۲
برگ شماره ۶	کنترل	۹۵ ± ۱/۴	۹۵ ± ۰/۵
استرس	۸۶ ± ۱/۷	۶۹ ± ۸/۶	۹۳ ± ۰/۸
برگ پرچم	کنترل	۹۴ ± ۱/۲	۹۳ ± ۱/۸
استرس	۸۷ ± ۱/۵	۷۳ ± ۱/۵	۹۲ ± ۱/۷
ب $\psi_w$			
برگ ۴	کنترل	-۰/۳۹ ± ۰/۰۳	-۰/۴۹ ± ۰/۰۴
استرس	-۰/۷۵ ± ۰/۱۱	-۱/۲۲ ± ۱/۱۲	-۰/۵۷ ± ۰/۰۵
برگ ۶	کنترل	-۰/۴۳ ± ۰/۰۴	-۰/۴۵ ± ۰/۰۲
استرس	-۰/۷۲ ± ۰/۰۵	-۱/۲ ± ۰/۰۳	-۰/۵۱ ± ۰/۰۳
برگ پرچم	کنترل	-۰/۶۹ ± ۰/۰۳	-۰/۷۱ ± ۰/۰۵
استرس	-۰/۸۹ ± ۰/۰۵	-۱/۳۱ ± ۰/۰۵	-۰/۷۵ ± ۰/۰۵۳

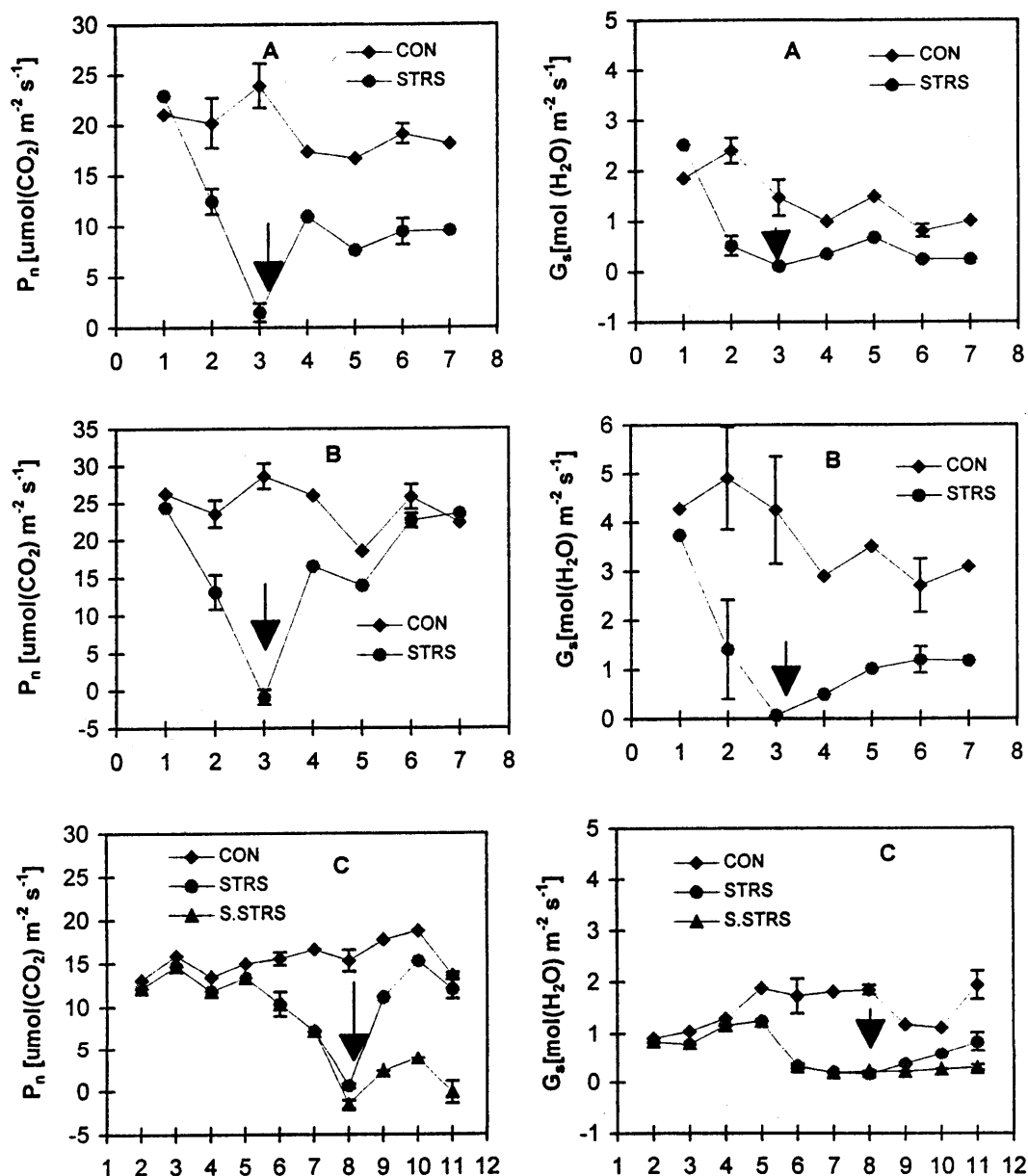
برگ  $P_n$  و  $g_s$  تقریباً به طور کامل متوقف شدند (شکل ۱) ولی  $C_i$  به حداکثر مقدار خود افزایش یافت (شکل ۲). این افزایش در  $C_i$  در شرایط تنش بلند مدت نیز بخوبی مشهود بود (شکل ۳). کاهش  $C_i$  در شرایط تنش ملایم و سپس افزایش در آن در گیاه گندم (۲۰) و پنبه (۳۷) نیز گزارش شده است. افزایش در  $C_i$  با وجود کاهش شدید در  $g_s$  را می توان به کاهش ظرفیت فتوسنتزی کلروپلاست نسبت داد (۱۲، ۲۰، ۳۷). لیو (۲۷) نیز افزایش در  $C_i$  را در شرایط تنش خشکی به کاهش بازده کربوکسیلاسیون نسبت داد.

فعالیت آنزیمهای چرخه کالوین (۱۰، ۲۲)، انتقال الکترون فتوسیستم II (۱۷) و فسفوریلاسیون نوری (۵، ۲۵) از اجزاء اصلی سیستم فتوسنتزی هستند که کاهش یا اختلال در هر یک از آنها در شرایط تنش آبی گزارش شده است.

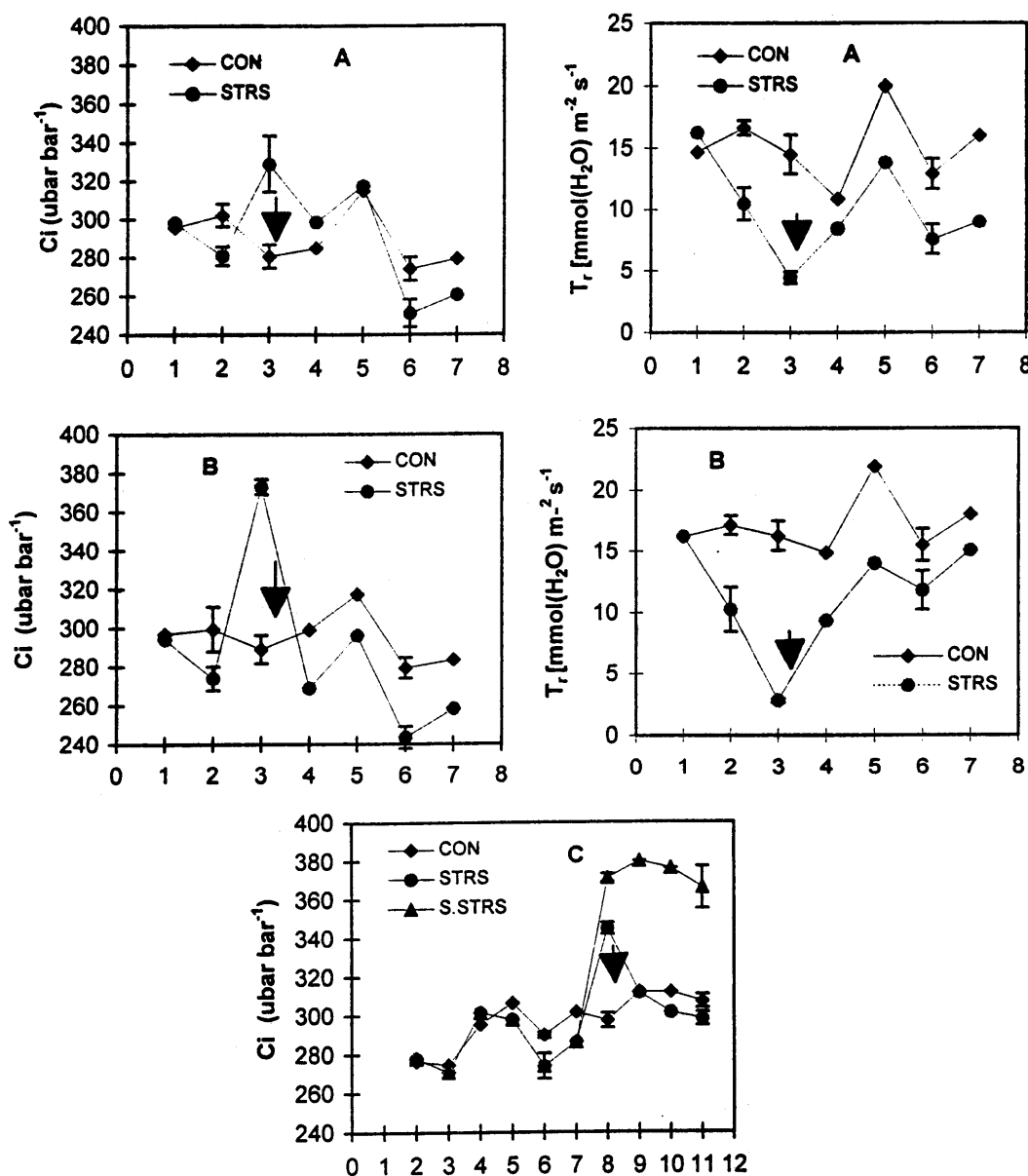
عدم ترمیم  $P_n$  در برگ شماره ۴ و نیز در برگ پرچم در شرایط تنش شدیدتر (شکل ۱) می تواند نشان دهنده وقوع عوامل غیر روزنه ای غیر قابل برگشت باشد. حتی ترمیم کامل برگ شماره ۶ نیز نمی تواند با وقوع محدودیت های غیر روزنه ای در تضاد باشد

کاهش موازی در  $P_n$  و  $g_s$  در پاسخ به افزایش تنش خشکی (شکل ۱) با سایر نتایج به دست آمده در این زمینه مطابقت دارد (۲۵، ۲۶، ۳۷). چنین روابط موازی بین  $P_n$  و  $g_s$  در شرایط تنش بلند مدت نیز مشهود بود (شکل ۳). چنین تنظیم روزنه ای (کاهش  $g_i$  با پیشرفت تنش آبی) برای حفظ بافت از خسارت پسایدگی از اهمیت بالائی برخوردار است، مخصوصاً اینکه این نوع پاسخ در مقایسه با پاسخهای بلند مدت تر (مثلاً کاهش سطح برگ) هم سریعتر است و هم قابل برگشت. به هر حال این بسته شدن روزنه کاهش ورود  $CO_2$  به داخل برگ و لذا کاهش  $P_n$  را به دنبال دارد. مقادیر پائین تر  $C_i$  در مرحله پیش پژمردگی (شکل ۲) این موضوع را نشان می دهد. این کاهش در  $C_i$  می تواند بدان معنی باشد که هنوز ظرفیت فتوسنتزی کلروپلاست تحت تاثیر این شدت خشکی (خشکی ملایم) قرار نگرفته است و لذا کاهش  $g_s$  منجر به کاهش  $C_i$  شده است. لذا عامل عنده محدود کننده فتوسنتز در شرایط تنش ملایم عامل روزنه ای بوده است.

با پیشرفت تنش خشکی تا مرحله ایجاد پژمردگی معمولی در



شکل ۱- شدت فتوسنتز ( $P_n$ ، نمودارهای سمت چپ) و هدایت روزنه ای ( $G_s$ ، نمودارهای سمت راست) در گیاهان گندم در شرایط کنترل (CON) و تنش آبی کوتاه مدت (STRS). اندازه گیری ها روی برگهای شماره ۴ (A) و ۶ (B) گیاهان ۳۵ روزه و روی برگ پرچم (C) در ۱۲ تا ۲۱ روز پس از گرده افشانی انجام شد. گیاهان تحت تنش کوتاه مدت یا در مرحله پژمردگی (STRS) یا پژمردگی شدید (S.STRS) همانگونه که با علامت پیکان نشان داده شده است، آبیاری شدند. هر نقطه میانگین ۵ تکرار است. خطوط عمودی روی نقاط اشتباه معیار میانگین ها است که برای سه مرحله پیش پژمردگی، پژمردگی و ترمیم محاسبه شد.

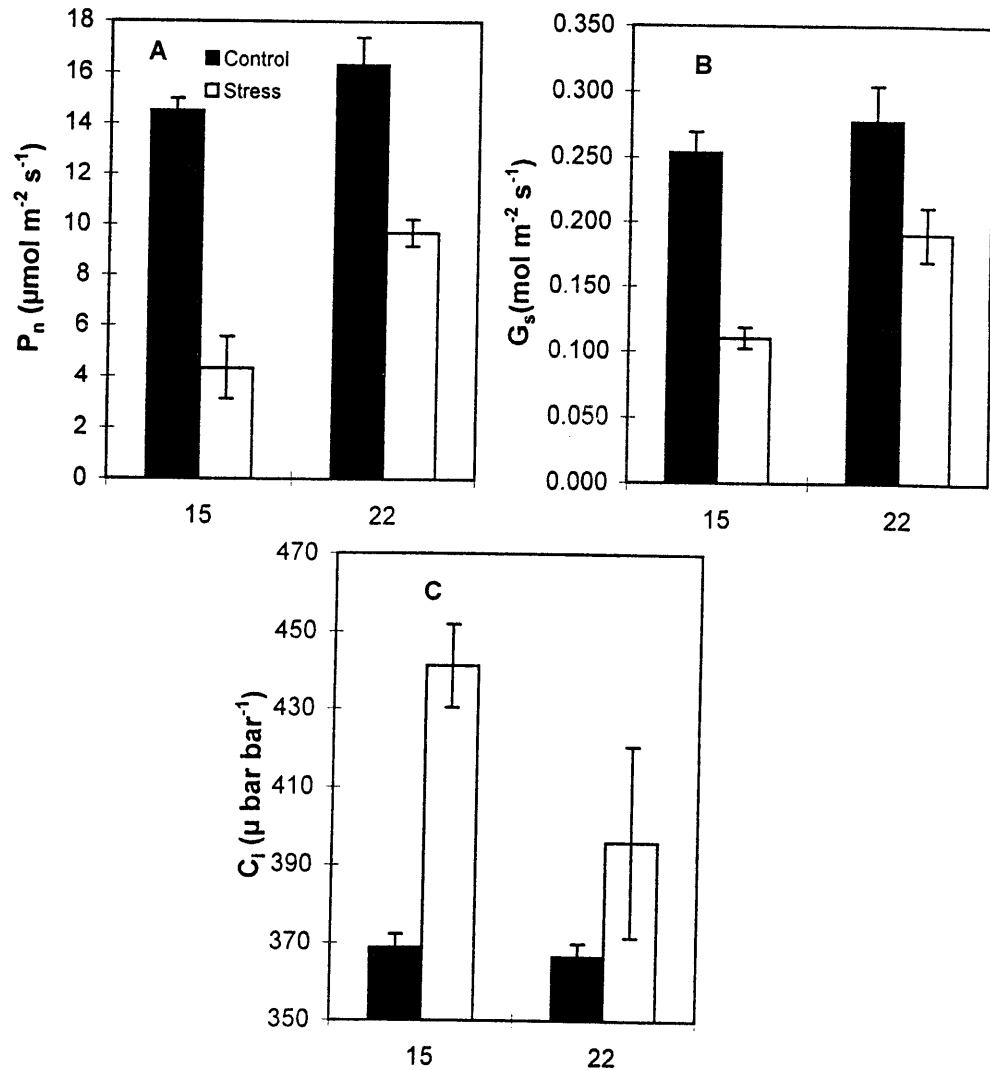


شکل ۲- غلظت داخلی CO<sub>2</sub> (C<sub>i</sub>)، نمودارهای سمت چپ) و شدت تعرق (T<sub>r</sub>)، نمودارهای سمت راست) در گیاهان گندم تحت شرایط کنترل (CON) و تنش آبی کوتاه مدت (STRS). اندازه گیریها روی برگهای شماره ۴ (A) و ۶ (B) در گیاهان ۳۵ روزه و برگ پرچم (C) در مرحله ۱۲ تا ۲۱ روز پس از گرده افشانی انجام شد. برای توضیحات بیشتر به شکل ۱ مراجعه شود.

روزنه‌ها در شرایط تنش خشکی غیر مطمئن به نظر برسد (۳۷). در چنین حالتی ممکن است مقدار C<sub>i</sub> محاسبه شده بیشتر از مقدار واقعی برآورد گردد و لذا علت آن به عوامل غیر روزنه ای فتوسنتز نسبت داده شود. به هرحال وقوع چنین حالت بسته شدن غیر یکنواخت (Patchiness) روزنه در شرایط تنش خشکی در گندم، مخصوصاً در شرایطی که خشکی تدریجی باشد غیر محتمل دانسته شده است (۱۴). در مطالعه حاضر اولاً پیشرفت تنش خشکی تدریجی بوده و

در این حالت ممکن است محدودیت روزنه ای ایجاد شده از نوع قابل برگشت بوده باشد. چنین واکنشهای قابل برگشتی در رطوبت های نسبی ۷۰-۴۰٪ برگ به اثر منفی غلظت بالای املاحی چون Mg، بیونهای سولفات و فسفات نسبت داده شده است (۸)، (۲۱، ۲۵).

تفکیک عوامل روزنه‌ای از غیر روزنه‌ای بر اساس روابط P<sub>n</sub>، g<sub>s</sub> و C<sub>i</sub> ممکن است با توجه به عدم همگنی در بسته شدن



شکل ۳- اثر تنش آبی بلند مدت روی شدت فتوسنتز خالص (P<sub>n</sub>) و (A)، هدایت روزنه ای (G<sub>s</sub>) (B) و غلظت داخلی CO<sub>2</sub> (C<sub>i</sub>) (C) در برگ پرچم گندم. اندازه گیری ها بلافاصله قبل از آبیاری محدود و مدتی بعد از آبیاری محدود به عمل آمده میانگین آنها برای محاسبات آماری در نظر گرفته شد. تنش آبی از ۱۰ روز پس از گرده افشانی و در سطح ۱۵٪ ظرفیت زراعی اعمال شد. نتایج میانگین ۴ تکرار هستند. خطوط عمودی عبارتند از اشتباه معیار میانگین ها.

نگهداری و سپس آبیاری شدند میزان کلروفیل در این گیاهان سه روز پس از آبیاری نسبت به کنترل کاهش معنی دار نشان داد. همچنین وقتی گیاهان در شرایط تنش ملایم (معادل ۱۵٪ ظرفیت زراعی خاک گلدان) به مدت هفت روز قرار گرفتند (جدول ۲) میزان کلروفیل برگ به طور معنی داری کاهش نشان داد. این نتایج نشان می دهد که یک حداقل شدت یا طول دوره تنش لازم است تا کلروفیل برگ بالغ تحت تاثیر قرار بگیرد. هاسپل - هورواتویک و هلیوبکوا (۱۶) (نقل از منبع شماره ۷) نیز نتیجه گیری نمودند که زمانی کلروفیل شروع به تجزیه شدن می کند که وضعیت آبی برگ

ثانیا" در مرحله پژمردگی، G<sub>s</sub> تقریباً به طور کامل متوقف شده بود (شکل ۱) و لذا احتمال وقوع بسته شدن غیر همگن روزنه ها و لذا تخمین غیر صحیح C<sub>i</sub> بعید به نظر می رسد.

تنش آبی کوتاه مدت که باعث پژمردگی معمولی و توقف کامل P<sub>n</sub> شد (شکل ۱) اثری روی کلروفیل برگ نداشت (جدول ۲) ولی نسبت کلروفیل a/b را افزایش داد. عدم کاهش در میزان کلروفیل در گیاهان آفتاب گردان (۳۱) و گندم (۲۳) و نیز افزایش در نسبت کلروفیل a/b در گندم (۴) نیز گزارش شده است. به هر حال وقتی گیاهان به مدت چند روز در مرحله پژمردگی قابل ترمیم

جدول ۲- اثر تنش های آبی کوتاه مدت و بلند مدت بر روی مقدار کلروفیل برگ . تنش کوتاه مدت در مرحله نمو برگ پرچم اعمال شد و کلروفیل برگ کاملاً" نمو یافته بلافاصله زیر برگ پرچم اندازه گیری شد. تنش بلند مدت (۱۵٪ ظرفیت زراعی) از ۱۰ روز پس از گرده افشانی آغاز شد و مقدار کلروفیل برگ پرچم در ۱۶ روز پس از گرده افشانی اندازه گیری شد. اعداد متن جدول میانگین  $\pm$  تکرار ۴ خطای معیار میانگین می باشند. اعداد با حروف مشابه در هر ستون تفاوت معنی داری ندارند.

مقدار کلروفیل ( میلی گرم در هر گرم وزن خشک برگ )				تیمار
a/b	کل	b	a	-
تنش کوتاه مدت				
۲/۰۶±۰/۰۲a	۱۳/۱۶±۰/۴۵a	۴/۲۶±۰/۱۵a	۸/۸±۰/۳a	کنترل
۲/۲۵±۰/۰۲b	۱۳/۱±۱/۱۱a	۴/۰۱±۰/۳۶a	۹/۰±۰/۷a	پژمردگی
۲/۲۲±۰/۰۴b	۸/۷۲±۱/۳۳b	۲/۶۸±۰/۴۲b	۵/۹±۰/۹b	ترمیم
۰/۰۰۱	/۰۲۱	/۰۱۷	/۰۲	درصداحتمال
ب				
تنش بلند مدت				
۲/۱۹±۰/۰۶a	۱۴/۷۱±۰/۴۹a	۴/۶۳±۰/۱۶a	۱۰/۱۱±۰/۳۴a	کنترل
۲/۱±۰/۰۷a	۱۲/۱±۰/۷۵b	۳/۲۷±۰/۱۷b	۸/۲±۰/۴۹b	تنش آبی
/۰۴	/۰۳	۰/۰۰۸	۰/۰۱۹	درصداحتمال

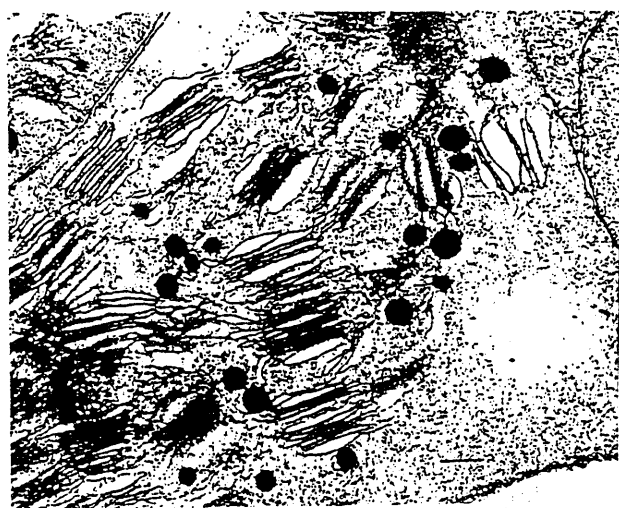
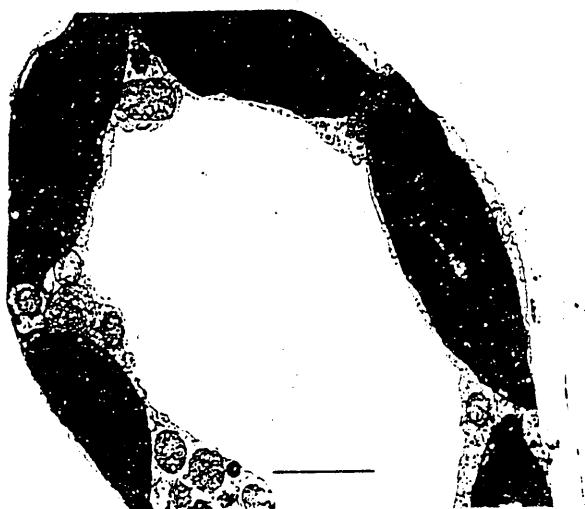
این مطالعه انجام شد ( نتایج در این جا بیان نشده است ) یعنی افزایش در ترکیبات محلول در اتانول به هزینه کاهش ترکیبات نامحلول در اتانول ( احتمالاً "نشاسته" ) در شرایط تنش خشکی مطابقت داشت. افزایش ذرات چربی در شرایط خشکی به اثر سوء تنش روی ماهیت غشاء ها (۱۳، ۳۵) و در نتیجه جدا شدن فازلیپیدها از پروتئین های غشاء (۳۳) نسبت داده شده است. تغییرات در غشاء تیلاکوئیدی می تواند فرایندهایی مانند انتقال الکترون و فسفوریلاسیون نوری را مختل سازد. گزارش های حاکی از افزایش فواصل تیلاکوئیدی در شرایط تنش خشکی وجود دارد (۳۳، ۳۵).

از مجموع نتایج این تحقیق چنین می توان نتیجه گیری نمود که شدت فتوسنتز حتی در شرایط تنش آبی ملایم و کوتاه مدت از طریق بسته شدن روزنه ها سریعاً کاهش می یابد و در مراحل شدیدتر تنش خشکی عوامل غیر روزنه ای نیز مزید بر علت می شوند. اگر چه ممکن است پس از یک تنش ملایم چند روزه شدت فتوسنتز به حالت اول بهبود پیدا کند، ولی اثر بعدی این تنش یا تنش های بلند مدت

از یک حد معینی کمتر باشد. کاهش در پروتئین های غشایی خاص ( پروتئین کلروفیل a/b برداشت کننده نور ) در شرایط تنش خشکی (۲)، افزایش در فعالیت آنزیم کلروفیلاز (۲۸) و پرکسیداز (۴) از عوامل موثر در کاهش کلروفیل در شرایط تنش آبی ذکر شده اند. همچنین کاهش سبزینه گی برگ در شرایط تنش طولانی مدت ممکن است تا حدودی به خاطر کاهش جریان نیتروژن به بافتها و تغییر در فعالیت آنزیمهایی مثل نیترات ریداکتاز باشد (۱۹).

مشاهدات با میکروسکوپ الکترونی برگهای پژمرده و مقایسه آن با گیاهان کنترل تغییرات فراساختمانی در کلروپلاست را نشان داد. ناپدید شدن دانه های نشاسته، افزایش فواصل غشاء های تیلاکوئیدی و افزایش تعداد ذرات خاکستری (منسوب به چربی ها) از تغییرات عمده قابل مشاهده بود (شکل ۴). کاهش در اندازه یا تعداد دانه های نشاسته در تحقیقات دیگری نیز گزارش شده است (۱۱، ۳۵) و علت آن افزایش ABA یا بسته شدن روزنه ها بیان شده است (۱۳). این کاهش در تعداد دانه های نشاسته با نتایج آزمایشهای دیگری که در





شکل ۴- B

شکل ۴- A

شکل ۴- ساختمان کلروپلاست بوسیله میکروسکوپ الکترونی در برگهای کنترل (A) و پژمرده (B). ساختمان معمولی تیلاکوئید و ذرات نشاسته در کلروپلاست گیاهان کنترل مشهود است (خط مقیاس بالائی = ۱ میکرومتر، خط مقیاس پائین = ۰/۱ میکرومتر). در برگهای پژمرده (B) تیلاکوئیدها حالت تورم نشان دادند و ذرات نشاسته ناپدید شدند. تعداد ذرات خاکستری (ذرات چربی) افزایش یافت (خط مقیاس بالائی = ۱ میکرومتر، خط مقیاس پائین = ۰/۱ میکرومتر).

با حمایت مالی وزارت فرهنگ و آموزش عالی در دانشکده کشاورزی دانشگاه لندن - انگلستان انجام شد. بدینوسیله از آن وزارتخانه محترم به دلیل فراهم نمودن امکان این تحقیق سپاسگزاری می شود.

روی فتوسنتز کل گیاه ظاهر خواهد شد که باعث تغییر در مقدار کربن گیاه شده و احتمالاً در مراحل بعدی محدودیت منبع ایجاد خواهد نمود.

#### سپاسگزاری

این مقاله بخشی از کار تحقیقاتی پایان نامه دکتری می باشد که

## REFERENCES

1. Ackerson, R. C., and R. R. Hebert. 1981. Osmoregulation in cotton in response to water stress. I. Alterations in photosynthesis, leaf conductance, translocation and ultrastructure. *Plant physiology* 67: 484-488.
2. Alberte, R. S., and J. P. Thorner. 1977. Water stress effects on the content and organization of chlorophyll in mesophyll and bundle sheath chloroplasts of maize. *Plant Physiology* 59: 351-353.
3. Arnon, D. T., 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology* 24:1-15.
4. Ashraf, M. Y., A. R. Azim, A. H. Khan, and S. A. Ala. 1994. Effect of water stress on total phenols, peroxidase activity and chlorophyll content in wheat (*Triticum aestivum* L.) *Acta physiologia Plantarum* 16:185-191.
5. Boyer, J. S., and H. M. Younis. 1984. Molecular aspects of photosynthesis at low leaf water potentials. In: Sybesma, C.(Ed). *Advances in photosynthesis Research*. Vol. IV. Martinus Nijhoff/ W. Junk publisher, pp. 359-365.
6. Castrillo, M. and A. M. Calcagno. 1989. Effects of water stress and rewatering on ribulose-1-5, biphosphate carboxylase activity, Chlorophyll and protein contents in two cultivars of tomato. *Journal of Horticultural Science* 64: 717-724.
7. Castrillo, M., and T. Trujillo. 1994. Ribulose 1, 5-biphosphate carboxylase activity and chlorophyll and protein contents in two cultivars of french bean plants under water stress and rewatering. *Photosynthetica* 30:175-181.
8. Chaves, M. M., 1991. Effects of water deficit on carbon assimilation. *Journal of Experimental Botany*. 42:1-16.
9. Davis, S. D., C. H.M. Van Bavel, and K. J. McCree. 1977. Effect of leaf aging upon stomatal resistance in bean plant. *Crop Science* 17:640-645.
10. Du, Y. c., Y. Kawamistu, A. Nose, S. Hiyane, S. Murayama, K. Wasano, and Y. Uchida. 1996. Effects of water stress on carbon exchange rate and activity of photosynthetic enzymes in leaves of sugarcane (*Saccharum* sp.). *Australian Journal of plant physiology*, 23:719-726.
11. Fellows, R. J. and J. S. Boyer. 1976. Structure and activity of chloroplasts of sunflower leaves having various water potential . *Planta* 123:229-239.
12. Frederick, J. R., D. M. Alm, and J. D. Hesketh. 1989a. Leaf photosynthetic rates, stomatal resistances, and internal CO<sub>2</sub> concentrations of soybean cultivars under drought stress. *Photosynthetica* 23:575-584.
13. Giles, K. L., M. F., Beardsell and D. Chohen. 1974. Cellular and ultrastructural changes in mesophyll and bundle sheath cells of maize in response to water stress. *Plant Physiology* 54:208-212.

14. Gunasekera, D., and G. A. Berkowitz. 1992. Heterogenous stomatal closure in response to leaf water deficits is not a universal phenomenon. *Plant Physiology* 98:660-665.
15. Hamada, A. M., 1996. Effect of NaCl, water stress or both on gas exchange and growth of wheat. *Biologia Plantarum*, 38:405-412.
16. Haspel-Horvatovic, E., and B. Holubkova. 1981. Experimental studies of chlorophyll-water relations. *Phytopathologie Zeitschrift*, 100:340-346.
17. He, J. X., J. Wang, and H. G., Laing. 1995. Effects of water stress on photochemical function and protein metabolism of photosystem II in wheat leaves. *Physiologia Plantarum* 93:771-777.
18. Herzog, H. 1986. Source and sink during the reproductive period of wheat. Scientific publishers, Berlin and Hamburg.
19. Huffaker, R.C., T. Radin, E. Kleinkopfig, and E. I. Cox. 1970. Effect of mild water stress on enzymes of nitrate assimilation and of the carboxylative phase of photosynthesis in barley. *Crop Science*, 10:471-474.
20. Jhnson, R. C., D. W., Mornhinweg. D. M., Ferris, and J. J. Heitholt. 1987. Leaf photosynthesis and condctance of selected *Triticum* species at different water potentials. *Plant Physiology* 83:1014-1017.
21. Kaiser, M. W., 1987. Effects of water deficit on photosynthetic capacity. *Physiologia. Plantarum*. 71:142-149.
22. Kicheva, M. I., T. D. Tsonev, and L. P. Popova. 1994. Stomatal and nonstomatal limitation to photosynthesis in two wheat cultivars subjected to water stress. *Photosynthetica* 30:107-116.
23. Kulshreshtha, S., D. P. Mishra, and P. K. Gupta. 1987. Changes in contents of chlorophyll, proteins and lipids in whole chloroplast and chloroplasts membrane fractions at different leaf water potentials in drought resistant and sensitive genotypes of wheat. *Photosynthetica* 21:65-70.
24. Kuroda, M. T. Qzawa, and H. imagawa. 1990. Changes in chloroplast peroxidase activities in relation to chlorophyll loss in barley leaf segments. *physiologia Plantarum*, 80:555-560.
25. Lawlor, D. W., 1995. The effects of water deficit on photosynthesis in: Smirnoff, N (Ed.). *Environment and Plant Methabolism; Flexibility and Acclimation*. BIOS Scientific Publishers, pp 129-160.
26. Leidi, E. O., J. M., Lopez, M. Lopez, and J. C. Gutierrez. 1993. Searching for tolerance to water stress in cotton genotypes: photosynthesis. stomatal conductance and transpiration. *Photosynthetica* 28:383-390.
27. Luo, Y. 1991. Changes of Ci/Ca in association with stomatal and non-stomatal limitation to photosynthesis in water stressed *Abutilon theophrasti*. *Photosynthetica* 25: 273-279.
28. Majumdar, S., S. Ghosh , B. R., Glick, and E. B., Dumbroff. 1991. Activities of chlorophyllase, phosphoenolpyruvate carboxyllase and ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase in the primary leaves of

- soybean dying denescence and drought. *Physiologia Plantarum*, 81: 473-480.
29. Maroti, I., Z. Tuba, and M. Csik. 1984. Changes of chloroplast ultrastructure and carbohydrate level in *Festuca*, *Achillea*, and *Sedum* during drought and after recovery. *Journal of plant physiology* 116:1-10.
  30. Mayoral, M. L. D. Atsmon, D. Shimshi, and Z. Gromete-Elhanan. 1981. Effect of water stress on enzyme activities in wheat and related wild species: Carboxylase activity, electron transport and photophosphorylation in isolated chloroplasts. *Australian Journal of plant physiology* 8:385-393.
  31. Mohanty, P. and J. S., Boyer. 1976. Chloroplast response to low leaf water potentials. IV. Quantum yield is reduced . *Plant Physiology*, 57:704-709.
  32. Morgan, J. M. 1984. Osmoregulation and water stress in higher plants. *Annual Review of plant physiology*, 35: 299-319.
  33. Poljakoff-Mayber, A. 1981. Ultrastructural consequences of drought. In: paleg, L. G., and D. Aspinall. (Eds.). *Physiology and Biochemistry of Drought Resistance*. Academic Press, Australia. pp:389-404.
  34. Schulze, E. D. 1986. Carbon dioxide and water vapour exchange in response to drought in the atmosphere and in the soil. *Annal Review of plant physiology*, 37:247-274.
  35. Tyree, M. T., and Yianoulis, P. 1980. The site of water evaporation from substomatal cavities, liquid path resistance and hydroactive stomatal closure. *Annals of Botany*, 46:175-193.
  36. Van Rensburg, L., G. H.J. Kruger, and H. Kruger. 1993. Proline accumulation as drought-tolerance selection criterion: its relationship to membrane integrity and chloroplast ultrastructure in *Nicotiana tabacum* L. *Journal of Plant Physiology* 141:188-194.
  37. Wise, R. R., R. J., Frederick, D. M., Alm, D. M. Kramer, and J. D., Hesketh, 1990. Investigation of the limitations to photosynthesis induced by leaf water deficit in field- grown sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Plant, Cell and Environment* 13:923-931.
  38. Xu, H. L., T. Yamagishi, and A. Kumura, 1987a. Effects of water deficit on photosynthesis in wheat plants. I. Effects of water deficit treatment on photosynthesis and transpiration in various parts of plant. *Japanese Journal of Crop Science* 56: 461-466.
  39. Xu, H. L., T. Yamagishi, and A. Kumura. 1987b. Effects of water deficit on photosynthesis in wheat plants. II. The physiological basis for the difference in photosynthetic sensitivity to water stress among plant part. *Japanese Journal of Crop Science* 56:467-473.

## **Stomatal and Nonstomatal Limitations of Photosynthesis Under Water Stress Conditions in Wheat Plant**

**A. AHMADI**

**Assistant Professor, Faculty of Agriculture University of Tehran Karaj, Iran and  
Professor, Department of Biology Sciences Faculty of Agriculture  
University of London.**

**Accepted April, 19, 2000**

### **SUMMARY**

Changes in gas exchange and internal CO<sub>2</sub> concentration (C<sub>i</sub>) of leaves of different ages under different water stress conditions and at different growth stages were investigated. As water stress progressed, net photosynthesis rate (P<sub>n</sub>) and stomatal conductance (g<sub>s</sub>) declined, becoming significantly lower than those of control at per-wilting and showed a further reduction to per-wilting followed by a marked increase at wilting stage and then a sharp decline upon rewatering. When rewatering delayed until severe wilting, neither P<sub>n</sub> nor g<sub>s</sub> recovered and C<sub>i</sub> remained at a significantly higher level than that of the control. Although chlorophyll content of wilting leaves was not reduced, a significant reduction in chlorophyll content of leaves recovered from wilting was observed. Long term water stress, however caused a significant reduction in chlorophyll content. Ultrastructural studies revealed some alteration in the chloroplast of wilted leaves. It was concluded that mild water stress reduced P<sub>n</sub> mainly through reversible stomatal limitations, but under more severe or prolonged water stress conditions, non stomatal factors also contribute P<sub>n</sub>.

**Key words:** Wheat, Water stress, Photosynthesis, Stomata