مجله علوم کشاورزی ایران
جلد ۳۱، شماره۴، سال ۱۳۷۹ (۸۲۵-۸۱۳)

عوامل روزنه ای و غیر روزنه‌ای محدودکننده 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 (Ci)[1] دربرگهای 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)[2] و هدایت روزنه ای (g_s)[3] شروع به کاهش نموده در مرحله پیش پژمردگی[4] (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 نرم ایستاده خود را از دست داده و حالت لوله‌ای بخود گرفته بودند) به صفر رسیدند. پس از آبیاری گیاهان درجات متفاوتی از ترمیم[5]، 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[6] 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 یا در تنش های طولانی تر عوامل غیر روزنه ای نیز مزید بر علت می گردند.

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

مقدمه

فتوسنتز تعیین کننده اصلی رشد وعملکرد گیاهان است و توانائی حفظ آن در شرایط تنشهای محیطی برای حفظ ثبات عملکرد مهم است. بخش مهمی از کربن مورد نیاز جهت پرشدن دانه از فتوسنتزجاری و بقیه از مواد ذخیره شده در اندامهای رویشی تامین می‌شود که این خود نیز حاصل فتوسنتز مراحل قبلی‌تر می‌باشد. بعلاوه شدت بالای فتوسنتز در مرحله گیاهچه‌ای 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 ممکن است در مراحل مختلف رشد فرق کند.

1. Internal CO2 concentration
2. Net photosynthesis
3. Stomatal conductance
4. Pre-wilting
5. Recovery
6. Ultrastructure

عوامل محدودکننده فتوسنتز در شرایط تنش آبی در دو گروه کلی قرار داده شده اند ۱ - عوامل محدودکننده روزنه ای که منجربه کاهش انتشار CO_2 به فضای بین سلولی در اثر کاهش هدایت روزنه‌ای می گردد، ۲ - عوامل محدودکننده غیر روزنه ای که بخاطر اثر مستقیم کمبود آب روی فرایندهای بیوشیمیائی 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 روزنه‌ای نشان داده شده است (۳۷،۲۶).بسته شدن روزنه ممکن است در پاسخ به آماس[1] 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 C_i شده و بدین طریق با کاهش عرضه CO_2،فتوسنتز را محدود می کند . کیچوا و همکاران (۲۲) نشان دادند که تنش ملایم خشکی باعث کاهش P_n می‌شود ولی اثری روی فعایت Rubisco ندارد و زنجیره انتقال الکترون فتوسیستم II نیز اندکی تحت تاثیر قرار می‌گیرد. شدت مساوی فتوسنتز در گیاهان کنترل و تحت تنش وقتی که برگها در حضور غلظت بالای CO_2 برای فائق آمدن به مقاومت روزنه ای قرار داده شدند از شواهد قابل توجه در اهمیت محدودیت روزنه ای می باشد.

به هرحال در تعداد زیادی از تحقیقات انجام شده که در آنها P_n و g_s کاهش نشان دادند ولی Ci یا ثابت مانده یا افزایش یافته است ، عوامل غیر روزنه ای مسئول کاهش فتوسنتز شناخته شده اند(۱۲، ۲۰، ۳۷).

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 می‌دهد (۲۴،۲۸ ، ۳۰)در حالیکه درتحقیقات دیگر چنین کاهشی در کلروفیل در شرایط تنش مشاهده نشد (۱۵ ، ۲۳، ۳۱). 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 .

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 بویر (۱۱) با طرح آزمایش دقیقی ادعا نمودندکه خیلی از تغییرات فراساختمانی گزارش شده در کلروپلاست به خاطر عمل آبگیری مجدد بافتها در طی فرایند "تثبیت"[2] 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 شناسائی خصوصیات فتوسنتزی ارقام در شرایط تنش خشکی از اهمیت بالائی برخوردار است . هدف از این تحقیق تعیین نقش برخی عوامل مهم روزنه‌ای وغیرروزنه‌ای 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 $19-25^0C$ و نور کمکی ۳۰۰ میکرومول بر متر مربع بر ثانیه باطول روز ۱۶ ساعت و رطوبت نسبی ۶۰% رویانیده شدند. گلدانها هفته ای یکبار بوسیله محلول غذایی سنگرل (Sangral 211) آبیاری شدند. در مرحله ۵-۴ برگی 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 محدودکردن آبیاری از ۱۰ روز پس از گرده افشانی به بعد و نگهداشتن رطوبت گلدانها در

1. Turgor 2. Fixation

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

اندازه‌گیری تبادلات گازی برگ

اندازه گیری همزمان P_n، g_s و C_i با استفاده ازدستگاه LCA-2 انجام شد. برای این کار قسمت میانی برگهای شماره۴و۶ (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 در۱۵ و۲۲ 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 و۶ و برگ پرچم گیاهان کمکی در هر گلدان برای تعیین وضعیت آبی گیاه استفاده شد.

اندازه‌گیری میزان کلروفیل برگ

برای تعیین کلروفیل برگ تمامی برگ کاملا" 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 کمرنگ (لامپ ۱۵ واتی Pygmy با فیلتر سبز شماره go7g, Ilford) انجام شد

برگهای تازه پس از توزین در نیتروژن مایع و در حضور مقادیر کافی کربنات منیزیم کوبیده شدندو سپس بمدت ۱۲ ساعت شبانه در استون ۸۰%در تاریکی ودمای صفردرجه عصاره گیری شدند.مواد جامد باقیمانده به وسیله فیلتر کردن در شرایط خلاءبا استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ جداگردید 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 ومقادیر کلروفیل b,a طبق روش آرنون (۳)محاسبه گردید.

مشاهدات فراساختمانی کلروپلاست

در مرحله پژمردگی و ترمیم از پژمردگی برگها از گیاهان کنترل و گیاهان تحت تنش جداگردیدند. قطعات یک‌میلی متر مربع از برگها تهیه و در محلول گلوتر آلدهاید تثبیت شد. بافتهای تثبیت شده سپس طی عبور از یک سری محلولهای استون باافزایش غلظت به سمت استون خالص آبگیری[1] شدند و بعدا" از یکسری از مخلوط‌های استون - رزین با افزایش نسبت رزین به سمت رزین خالص عبور داده شدند و نهایتا" درون قالب رزین محبوس شدند. قطعات نازک (۲میکرومتر ضخامت) حاوی بافت برگ از بلوکهای رزین به‌کمک 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(ψ_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 می‌دهد. 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 بیشترمی 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 لوبیا (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) وجوددارد. 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 کاهش‌تدریجی در توان تنظیم اسمزی این برگها شده (۳۲) و لذا سریعتر به خشکی پاسخ دهند.

1. Dehydration

جدول ۱ - اثر تنش آبی کوتاه مدت روی مقدار آب نسبی (RWC، الف) و پتانسیل آبی (ψ_w ب) برگهای ۴ و ٦ و برگ پرچم در مراحل قبل از پژمردگی ، پژمردگی معمولی و ترمیم . مقادیر متن جدول عباتنداز میانگین ۴ تکرار ± اشتباه معیار میانگین .

الف RWC

	تیمار	پیش پژمردگی	پژمردگی	ترمیم
برگ شماره ۴	کنترل	۹۷± ۱/۵	۹۵± ۰/٦	۹۳± ۱/۴
	استرس	۸۵± ۱/۷	٦۹± ۲/۳	۹۱± ۱/۲
برگ شماره ٦	کنترل	۹۵± ۱/۴	۹٦± ۱/۲	۹۵± ۰/۵
	استرس	۸٦± ۱/۷	٦۹± ۸/٦	۹۳± ۰/۸
برگ پرچم	کنترل	۹۴± ۱/۲	۹۴± ۱/۳	۹۳± ۱/۸
	استرس	۸۷± ۱/۵	۷۳± ۱/۵	۹۲± ۱/۷

ب ψ_w

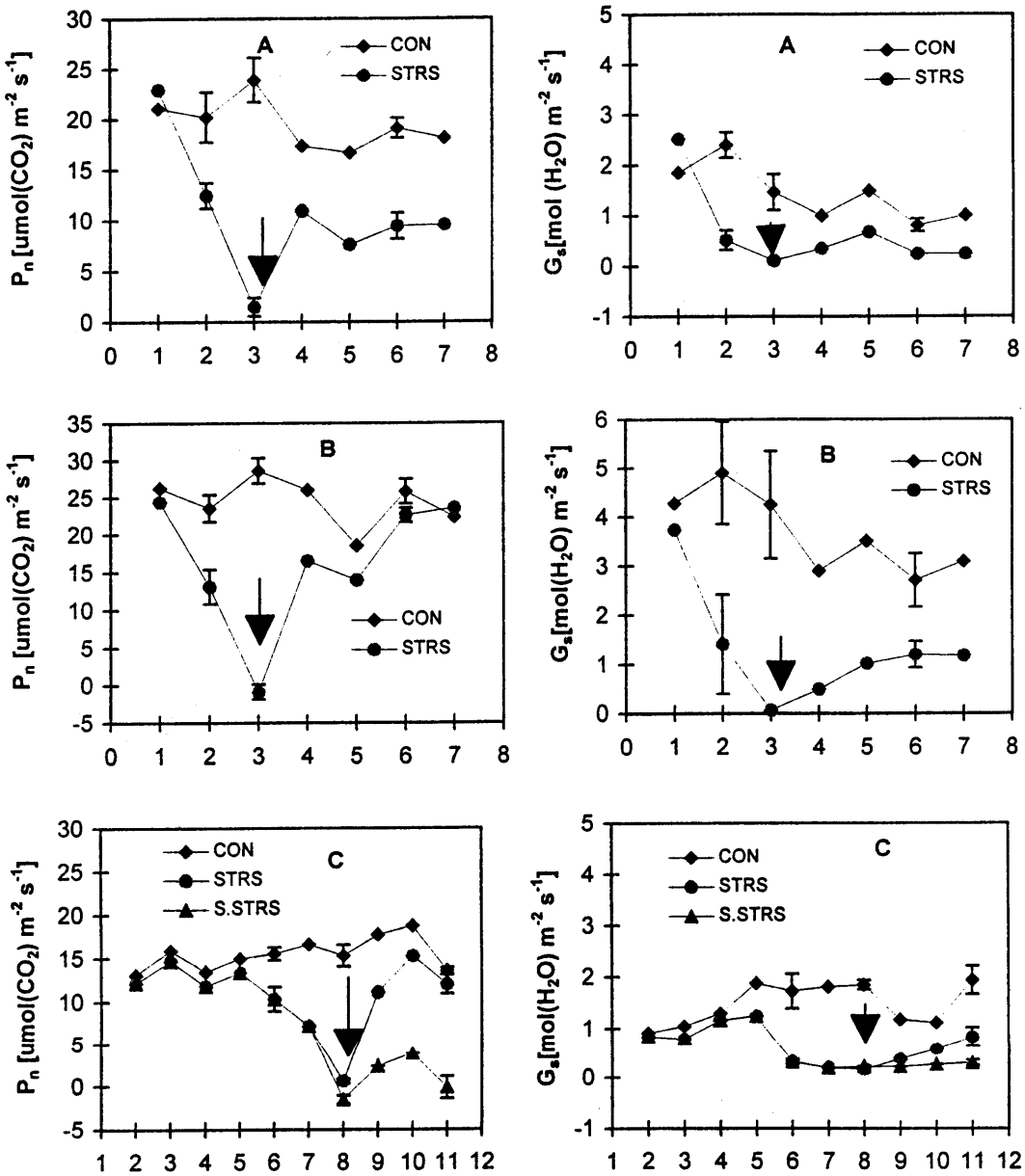
برگ ۴	کنترل	-/۳۹± ۰/۰۳	-/۴۵± /۰۲	- ۰/۴۹± ۰/۰۴
	استرس	-۰/۷۵± ۰/۱۱	- ۱/۲۲± /۱۲	- ۰/۵۷± ۰/۰۵
برگ ٦	کنترل	-۰/۴۳± ۰/۰۴	-۰/۴۳± ۰/۰۴	- ۰/۴۵± ۰/۰۲
	استرس	-۰/۷۲± ۰/۰۵	- ۱/۲± ۰/۰۳	- ۰/۵۱± ۰/۰۳
برگ پرچم	کنترل	-۰/٦۹± ۰/۰۳	- /٦۹± ۰/۰۴	- ۰/۷۱± ۰/۰۵
	استرس	- /۸۹± ۰/۰۵	- ۱/۳۱± ۰/۰۵	- ۰/۷۵± ۰/۰۵۳

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، ۲٦، 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 پسابیدگی از اهمیت بالائی برخوردار است ،مخصوصا" اینکه این نوع پاسخ در مقایسه با پاسخهای بلند مدت تر (مثلا" کاهش سطح برگ) هم سریعتر است و هم قابل برگشت . به هرحال 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 می‌دهد. 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 منجربه کاهش C_i شده است . لذا عامل عمده محدودکننده فتوسنتز در شرایط تنش ملایم عامل روزنه ای بوده است .

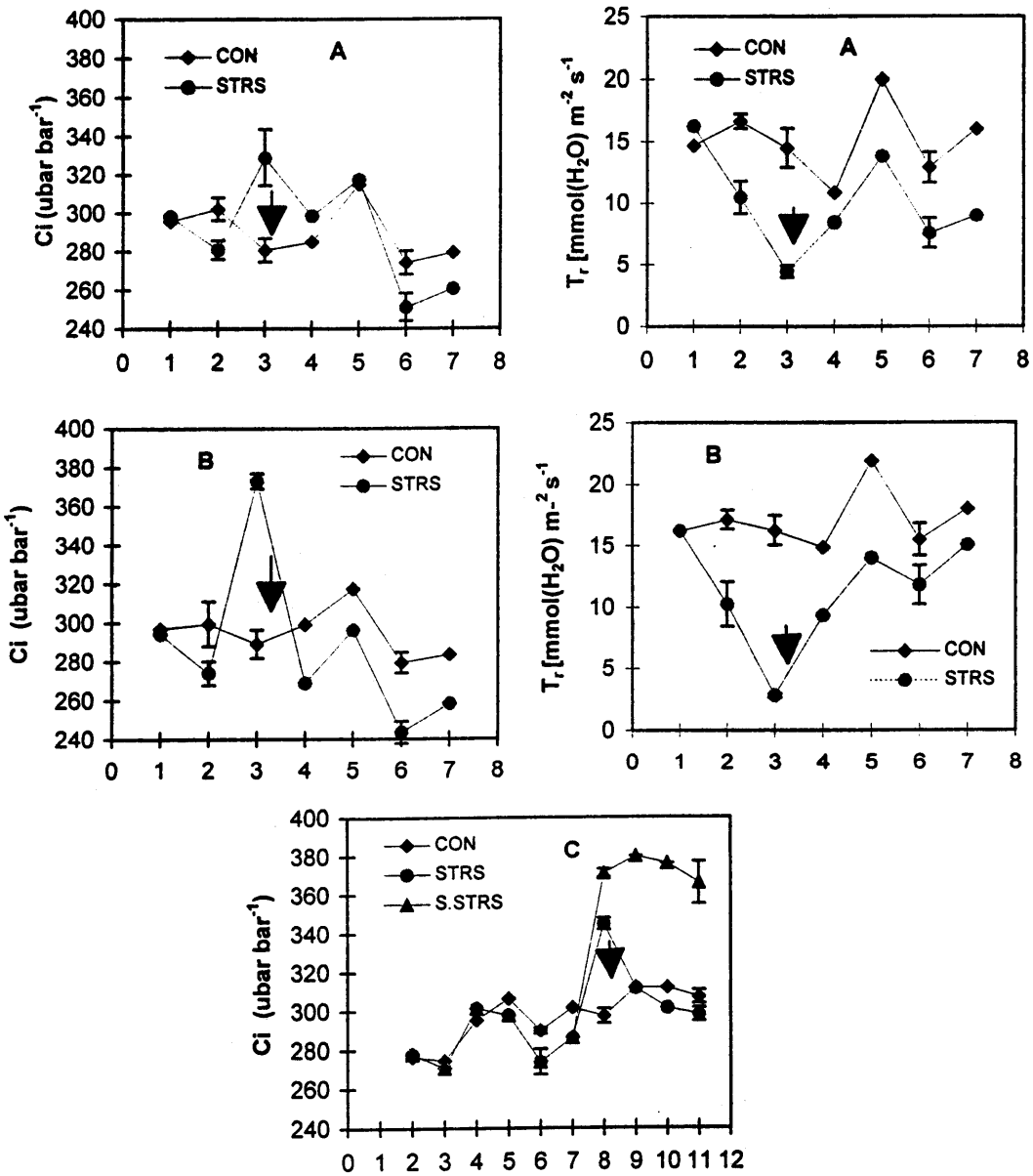
با پیشرفت تنش خشکی تا مرحله ایجاد پژمردگی معمولی در برگ P_n و g_s تقریبا" به طور کامل متوقف شدند(شکل ۱) ولی C_i به حداکثر مقدار خود افزایش یافت (شکل ۲). این افزایش در C_i در شرایط تنش بلند مدت نیز بخوبی مشهود بود (شکل ۳) . کاهش C_i در شرایط تنش ملایم و سپس افزایش در آن در گیاه گندم (۲۰) و پنبه (۳۷) نیز 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 فتوسیستمII(۱۷) و فسفوریلاسیون نوری (۵، ۲۵) از اجزاء اصلی سیستم فتوسنتزی هستند که کاهش یا اخلال 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 برگشت‌باشد.حتی ترمیم کامل برگ شماره ٦ نیز نمی تواند با وقوع محدودیت های غیر روزنه ای در تضاد باشد



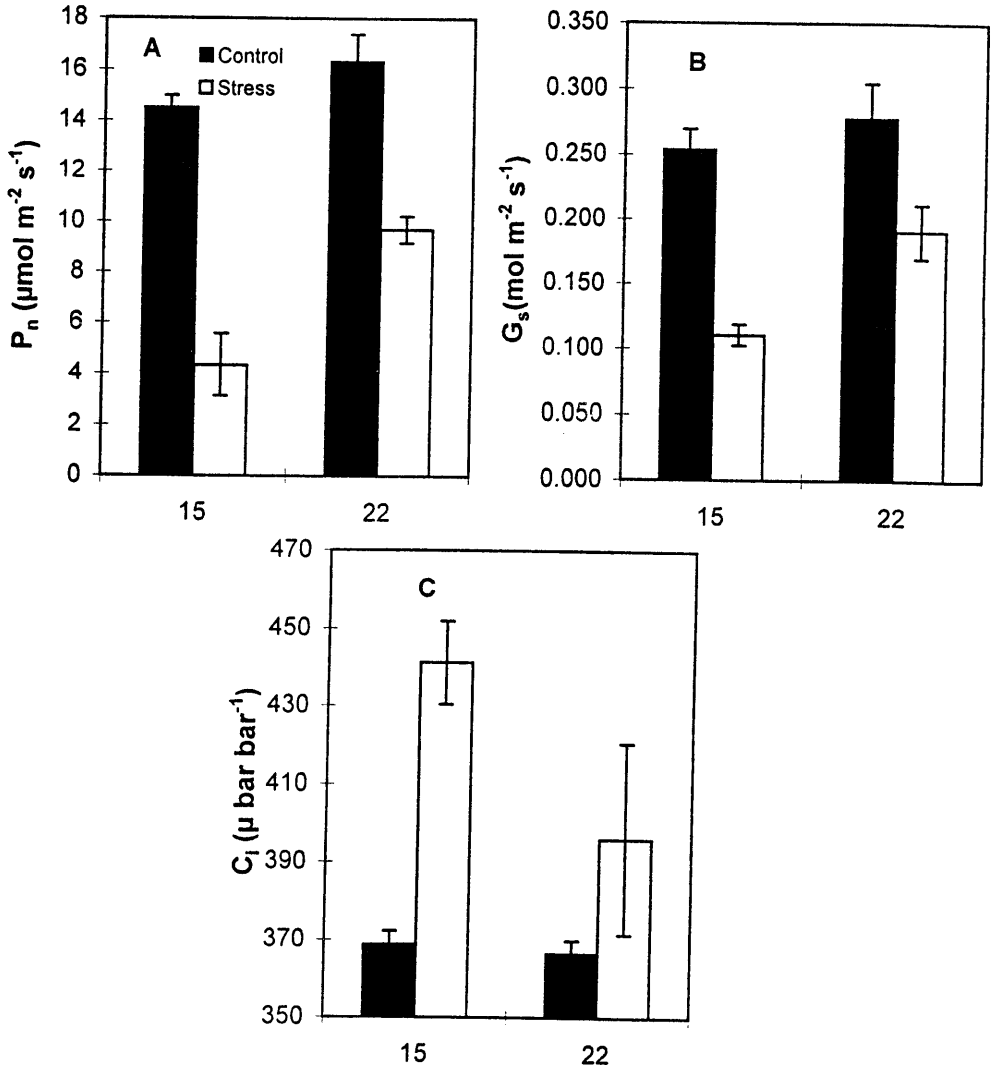
شکل ۱ - شدت فتوسنتز (P_n، نمودارهای سمت چپ) و هدایت روزنه ای (g_s، نمودارهای سمت راست) در گیاهان گندم در شرایط کنترل(CON) وتنش آبی کوتاه مدت (STRS). اندازه گیری ها روی برگهای شماره ۴ (A) و ٦ (B) گیاهان ۳۵ روزه و روی برگ پرچم (C) در ۱۲ تا ۲۱ روز پس از گرده افشانی انجام شد . گیاهان تحت تنش کوتاه مدت یا 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 عمودی‌روی‌نقاط‌اشتباه‌معیار میانگین هااست‌که‌برای سه مرحله پیش پژمردگی ، پژمردگی و ترمیم محاسبه شد.



شکل ۲ - غلظت داخلی CO_2 (C_i)، نمودارهای سمت چپ) و شدت تعرق (Tr، نمودارهای سمت راست) در گیاهان گندم تحت شرایط کنترل (CON)و تنش آبی کوتاه مدت (STRS). اندازه گیریها روی برگهای شماره ۴ (A) و ٦(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.

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 ،یونهای سولفات و فسفات نسبت داده شده است (۸ ، ۲۵،۲۱).

تفکیک عوامل روزنه‌ای از غیر روزنه‌ای بر اساس روابط P_n، g_s و C_i ممکن است با توجه به عدم همگنی دربسته شدن روزنه‌ها درشرایط تنش خشکی غیر مطمئن به نظر برسد(۳۷). در چنین حالتی ممکن است مقدار Ci محاسبه شده بیشتر از مقدار واقعی برآورد گرددو لذا علت آن به عوامل غیر روزنه ای فتوسنتز نسبت داده شود . به هرحال وقوع چنین حالت بسته شدن غیر یکنواخت (Patchines) روزنه در شرایط تنش خشکی در گندم ، مخصوصا" در شرایطی که خشکی تدریجی باشد غیر محتمل دانسته شده است (۱۴) . در مطالعه حاضر اولا" پیشرفت تنش خشکی تدریجی بوده و



شکل ۳ - اثر تنش آبی بلند مدت روی شدت فتوسنتز خالص (P_n) و (A)، هدایت روزنه ای (G_s) (B) و غلظت داخلی CO_2 (C_i)(C) در برگ پرچم گندم. اندازه گیری ها بلافاصله قبل از آبیاری محدود و مدتی بعد از آبیاری محدود به عمل آمده ومیانگین 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 عبارتنداز اشتباه معیارمیانگین ها .

ثانیا" در مرحله پژمردگی ، g_s تقریبا" به طور کامل متوقف شده بود (شکل ۱) و لذا احتمال وقوع بسته شدن غیر همگن روزنه ها و لذا تخمین غیر صحیح Ci بعید به نظر می‌رسد.

تنش آبی کوتاه مدت که باعث پژمردگی معمولی وتوقف کامل P_n شد(شکل ۱) اثری روی کلروفیل برگ نداشت (جدول ۲) ولی نسبت کلروفیل a/b را افزایش داد. عدم کاهش در میزان کلروفیل درگیاهان آفتاب گردان (۳۱) وگندم (۲۳) و نیز افزایش در نسبت کلروفیل a/b درگندم (۴) نیز گزارش شده است . به هرحال وقتی گیاهان به مدت چند روز در مرحله پژمردگی قابل ترمیم 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 می‌دهد که یک حداقل شدت یا طول دوره تنش لازم است تا کلروفیل برگ بالغ تحت تاثیر قرار بگیرد. هاسپل - هورواتویک و هلیوبکوا (۱۶) (نقل ازمنبع شماره ۷) نیز نتیجه گیری نمودند که زمانی کلروفیل شروع به تجزیه شدن می کند که وضعیت آبی برگ

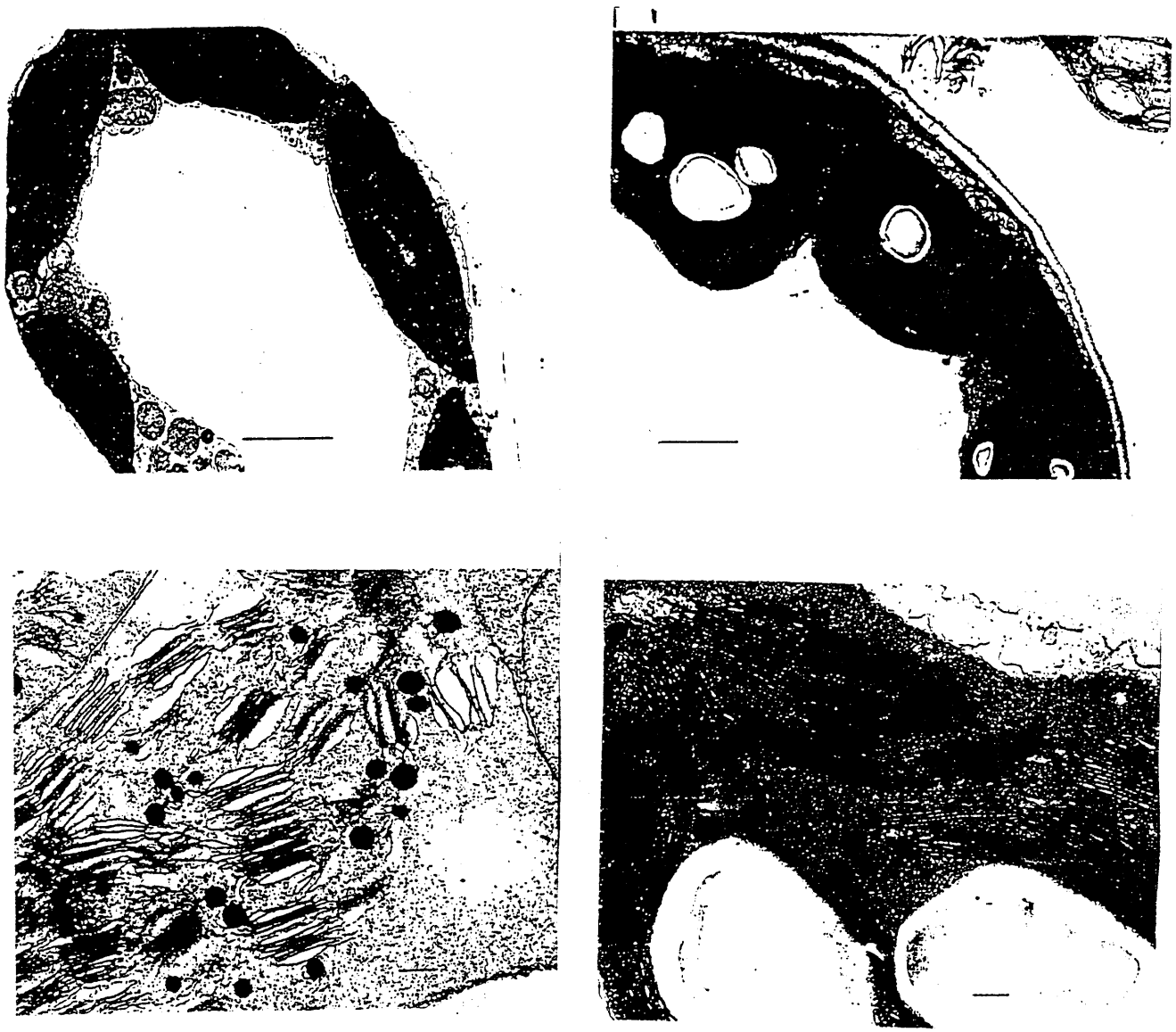
جدول ۲ - اثر تنش های آبی کوتاه مدت و بلند مدت بر روی مقدار کلروفیل برگ . تنش کوتاه مدت در مرحله نمو برگ پرچم اعمال شد و کلروفیل برگ کاملا" نمو یافته بلافاصله زیر برگ پرچم اندازه گیری شد. تنش بلند مدت (۱۵% ظرفیت زراعی) از ۱۰ روز پس از گرده افشانی آغاز شد و مقدار کلروفیل برگ پرچم در ۱۶ روز پس از گرده افشانی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

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

از یک حد معینی کمتر باشد . کاهش در پروتئین های غشائی 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 وتغییر در فعالیت آنزیمهایی مثل نیترات ریداکتاز باشد (۱۹) .

مشاهدات با میکرسکوپ الکترونی برگهای پژمرده و مقایسه آن با گیاهان کنترل تغییرات فراساختمانی در کلروپلاست را نشان داد . ناپدیدشدن 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 این مطالعه انجام شد (نتایج در این جا بیان نشده‌است) یعنی افزایش در ترکیبات محلول در اتانول به هزینه کاهش ترکیبات نامحلول در اتانول (احتمالا" 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 فرایندهائی 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 سریعا" 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



شکل ۴-A

شکل ۴-B

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 = ۰/۰۱ میکرومتر) .

روی‌فتوسنترکل‌گیاه‌ظاهرخواهدشدکه‌باعث تغییر در مقدار کربن گیاه شده و احتمالا" در مراحل بعدی محدودیت منبع ایجاد خواهد نمود.

سپاسگزاری

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

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, bisphosphate 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-bisphosphate carboxylase activity and chlorophyll and protein contents in two cultivars of french bean plants under water stress and rewaterning. 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 photosynethic 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 CO2 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. l. 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 Scienctific 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 dyring 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. Aspinal. (Eds.). *Physiology and Biochemistry of Drought Resistance.* Academic Press, Australia. pp:389-404.
34. Schulze, E. D. 1986. Carbon doixide 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 memberane integrity and chloroplast ultrastrructure 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 filed- 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 CO2 conecentration (Ci) of leaves of different ages under different water stress conditions and at different growth stages were investigated. As water stress progressed, net photosynthesis rate (Pn) and stomatal conductance (gs) declined, becoming significantly lower than those of control at per-wilting and showed a further reduction to per-wilting followed by a marked invreased at wilting stage and then a sharp decline upon rewatering. When rewatering delayed until severe wilting, neither Pn nor gs recovered and Ci 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 Pn mainly through reversible stomatal limitations, but under more severe or prolonged water stress conditions, non stomatal factors also contribute Pn.

Key words: Wheat, Water stress, Photosynthesis, Stomata