

## پاسخ های فیزیولوژیکی ارقام متحمل و حساس کلزا به تنش گرما

احمد رضایی زاده<sup>۱</sup>، ولی اله محمدی<sup>۲\*</sup>، حسن زینالی<sup>۳</sup>، عباسعلی زالی<sup>۴</sup>

۱-دانشجوی دکتری گروه زراعت و اصلاح نباتات پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران ۲و ۳-۴- دانشیار، استاد و

استاد بازنشسته گروه زراعت و اصلاح نباتات پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۵/۲۷ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۹/۲۱)

### چکیده

تنش گرما یکی از مهمترین تنش های غیرزیستی است که عملکرد کلزا را تحت تأثیر قرار می دهد. به منظور مطالعه پاسخ های فیزیولوژیکی ارقام متحمل و حساس کلزا به تنش گرما، دو رقم متحمل (صفی ۵ و مهتاب) و دو رقم حساس (DH13 و زمان) به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در اتاقک رشد کشت شدند و در مرحله گلدهی به مدت ۷۲ ساعت تحت تنش گرما با دمای ۲۲/۳۵ (روز/ شب) قرار گرفتند. دمای برگ، محتوای نسبی آب برگ، نشت یونی، محتوای کلروفیل a و b، فلئورسانس کلروفیل (Fv/Fm) و میزان کاروتنوئید، اندازه گیری شدند. نتایج نشان داد که در شرایط تنش، محتوای نسبی آب کاهش و دمای برگ افزایش یافت، در حالیکه دمای بالا تأثیری بر نشت یونی نداشت. فلئورسانس کلروفیل تحت تنش کاهش یافت که این کاهش در ارقام حساس بیشتر از ارقام متحمل بود. از میزان کلروفیل a و b نیز در شرایط تنش کاسته شد، اما میزان کاروتنوئید در ارقام حساس کاهش و در ارقام متحمل افزایش یافت. همبستگی بالایی بین صفات محتوای نسبی آب، دمای برگ، فلئورسانس کلروفیل و میزان کلروفیل گیاه مشاهده شد. به طور کلی یافته ها نشان داد که محتوای نسبی آب و دمای برگ، نقش بیشتری در تحمل گرما دارند که می توان از آنها در غربال ارقام متحمل استفاده نمود.

**واژه های کلیدی:** کلزا، محتوای نسبی آب، فلئورسانس کلروفیل، دمای برگ، محتوای کلروفیل

### Physiological responses of tolerant and susceptible rapeseed (*Brassica napus L.*) cultivars to heat stress

Ahmad Rezaeizadeh<sup>1</sup>, Valiollah Mohammadi<sup>2</sup>, Hasan Zeinali<sup>3</sup>, Abbasali Zali<sup>3</sup>

1- Ph. D. Candidate, Department of Agronomy and Plant Breeding, University of Tehran, Karaj, Iran. 2, 3- Associated Professor and Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, University of Tehran, Karaj, Iran  
(Received: August 18, 2018 - Accepted: December 12, 2018)

### ABSTRACT

Heat stress is one of the most important abiotic stresses reducing rapeseed productivity. In order to study the physiological responses of tolerant and susceptible rapeseed cultivars to heat stress, two tolerant, SAFI5 and MAHTAB, and two susceptible cultivars, DH13 and ZAMAN, were planted in a growth chamber in a factorial experiment based on a completely randomized design with three replications. Plants were moved to a chamber with 35/22 (day/night) temperature for 72 hours at the flowering stage. Leaf temperature, relative water content, electrolyte leakage, chlorophyll fluorescence (Fv/Fm), the content of chlorophyll a and b and carotenoid content were measured. Relative water content decreased significantly and leaf temperature increased under stress while electrolyte leakage did not change remarkably. Chlorophyll fluorescence decreased due to heat stress, susceptible cultivars showing more reduction. Content of chlorophyll a and b decreased under heat stress condition. Carotenoid content, however, increased in tolerant cultivars and decreased in susceptible ones. Significant high correlations were observed among relative water content, leaf temperature, chlorophyll fluorescence, and chlorophyll content. In sum, the results indicated that relative water content and leaf temperature had a greater contribution to heat tolerance and could be applied in screening tolerant varieties.

**Keywords:** Chlorophyll, chlorophyll fluorescence, leaf temperature, rapeseed, relative water content

\* Corresponding author E-mail: vmohammadi@ut.ac.ir

## مقدمه

(Ahmadi et al., 2004).

پدیده تغییر اقلیم، پیامدهای محیطی مختلفی به دنبال دارد که افزایش دما نگران کننده ترین آنهاست. بطوریکه پیش بینی می شود تا سال ۲۱۰۰ دمای زمین  $۱/۸ - ۴$  درجه سانتی گراد گرم تر شود (IPCC, 2007). گرما، یکی از عوامل اصلی مؤثر بر استقرار، رشد، تولیدمثل و سازگاری گیاهان است.

تنش گرما به ویژه تنش آخر فصل، یکی از محدودیت های تولید کلزا و اغلب محصولات زراعی در مناطق خشک و نیمه خشک به شمار می آید. درجه حرارت های بالا بصورت زودگذر یا دائمی، سبب تغییرات مورفولوژیک، آناتومیک، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در گیاهان و در نتیجه کاهش رشد و نمو و عملکرد می شوند (Porter, 2005). تفاوت زیاد عملکرد در زراعت های مناطق گرم در مقایسه با همان زراعت ها در مناطق سرد و یا به عبارت دیگر برتری عملکرد زراعت های زمستانه به زراعت های بهاره، علاوه بر اینکه از تأمین آب کافی در زمستان و طولانی بودن فصل رشد ناشی می شود، به تأثیر تنش گرما در کاهش محصول زراعت های بهاره نیز باز می گردد (Paulsen, 1994).

فتوسنتز، یکی از حساسترین فرآیندهای فیزیولوژیکی به افزایش دما است و کاهش در فتوسنتز در اثر افزایش دما منجر به محدودیت در رشد گیاه و در نهایت کاهش عملکرد می شود (Al-Khatib & Paulsen, 1990). واکنش های فتوشیمیایی در غشای تیلاکوئیدی و متابولیسم کربن در استرومای کلروپلاست، اولین مکانهای صدمه دمای بالا هستند (Allakhverdiev et al., 2008). فتوسیستم ۲، حساس ترین جزء دستگاه فتوسنتزی به تنش گرما شناخته شده است (Farooq et al., 2011). در دمای بالا به دلیل توانایی فعالیت رایبیسکو بصورت اکسیژناز و حلالیت کمتر دی اکسید کربن در مقایسه با اکسیژن، تنفس نوری افزایش و فتوسنتز کاهش می یابد (Farooq et al., 2011). دمای بالا به طور غیر مستقیم از طریق افزایش تنفس و در نتیجه افزایش غلظت دی اکسید کربن زیر روزنه ای، باعث بسته شدن روزنه ها می شود. ممکن است در صورت وجود محدودیت آبی، بسته شدن روزنه ها به دو صورت غیر فعال و فعال وابسته به آب نیز انجام شود

پدیده تغییر اقلیم، پیامدهای محیطی مختلفی به دنبال دارد که افزایش دما نگران کننده ترین آنهاست. بطوریکه پیش بینی می شود تا سال ۲۱۰۰ دمای زمین  $۱/۸ - ۴$  درجه سانتی گراد گرم تر شود (IPCC, 2007). گرما، یکی از عوامل اصلی مؤثر بر استقرار، رشد، تولیدمثل و سازگاری گیاهان است.

تنش گرما به ویژه تنش آخر فصل، یکی از محدودیت های تولید کلزا و اغلب محصولات زراعی در مناطق خشک و نیمه خشک به شمار می آید. درجه حرارت های بالا بصورت زودگذر یا دائمی، سبب تغییرات مورفولوژیک، آناتومیک، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در گیاهان و در نتیجه کاهش رشد و نمو و عملکرد می شوند (Porter, 2005). تفاوت زیاد عملکرد در زراعت های مناطق گرم در مقایسه با همان زراعت ها در مناطق سرد و یا به عبارت دیگر برتری عملکرد زراعت های زمستانه به زراعت های بهاره، علاوه بر اینکه از تأمین آب کافی در زمستان و طولانی بودن فصل رشد ناشی می شود، به تأثیر تنش گرما در کاهش محصول زراعت های بهاره نیز باز می گردد (Paulsen, 1994).

فتوسنتز، یکی از حساسترین فرآیندهای فیزیولوژیکی به افزایش دما است و کاهش در فتوسنتز در اثر افزایش دما منجر به محدودیت در رشد گیاه و در نهایت کاهش عملکرد می شود (Al-Khatib & Paulsen, 1990). واکنش های فتوشیمیایی در غشای تیلاکوئیدی و متابولیسم کربن در استرومای کلروپلاست، اولین مکانهای صدمه دمای بالا هستند (Allakhverdiev et al., 2008). فتوسیستم ۲، حساس ترین جزء دستگاه فتوسنتزی به تنش گرما شناخته شده است (Farooq et al., 2011). در دمای بالا به دلیل توانایی فعالیت رایبیسکو بصورت اکسیژناز و حلالیت کمتر دی اکسید کربن در مقایسه با اکسیژن، تنفس نوری افزایش و فتوسنتز کاهش می یابد (Farooq et al., 2011). دمای بالا به طور غیر مستقیم از طریق افزایش تنفس و در نتیجه افزایش غلظت دی اکسید کربن زیر روزنه ای، باعث بسته شدن روزنه ها می شود. ممکن است در صورت وجود محدودیت آبی، بسته شدن روزنه ها به دو صورت غیر فعال و فعال وابسته به آب نیز انجام شود

فتوسیستم در شرایط سازگار شده با تاریکی هستند. Zhang et al. (2005) تغییر در ساختار کلروفیل و در نتیجه کاهش فتوسنتز در اثر تنش گرما در انگور گزارش کردند. میزان فتورسانس کلروفیل، سالم بودن غشای تیلاکوئید و کارایی نسبی انتقال الکترون را از فتوسیستم ۲ به فتوسیستم ۱ نشان می دهد. تنش ها ظرفیت انتقال الکترون را کاهش می دهند که سبب کاهش فتورسانس متغیر (Fv) و در نتیجه کاهش کارایی فتوسیستم ۲ (Fv/Fm) می شود (Ma et al., 1995).

نسبت کلروفیل a به b در طی تنش افزایش می یابد و نسبت کلروفیل به کاروتنوئید کاهش می یابد که نشان دهنده ارتباط تغییرات این نسبت ها به تحمل گرما در گوجه فرنگی می باشد (Wahid & Ghazanfar, 2006)؛ Camejo et al., 2005). فتوسیستم ۲، آنزیم روبیسکو، سیتوکروم b559 و پلاستوکوئینون نقاط هدف تنش گرما بر فتوسنتز هستند (Mathur et al., 2014). در شرایط دمای بالا، کربن تولید شده توسط فتوسنتز نمی تواند جایگزین کربن استفاده شده برای تنفس شود، بنابراین کربوهیدرات های ذخیره شده کاهش می یابند تا تعدیل کربنی بین تنفس و فتوسنتز برقرار شود. این کاهش در کربوهیدرات های ذخیره ای ممکن است از تاثیر دما بر بسته شدن سلول های روزنه و کاهش سطح برگ نیز ناشی شود (Taiz & Zeiger, 2010).

Elferjani and Soolanayakanahally (2018) با

## مواد و روش‌ها

به منظور مطالعه پاسخ‌های فیزیولوژیکی کلزا به تنش گرما، دو لاین امیدبخش متحمل (صافی ۵ و مهتاب) و دو لاین امید بخش حساس به تنش گرما (DH13) و زمان بر اساس نتایج *Fathi et al.* (2017) انتخاب شدند. بذور در بهمن ماه سال ۱۳۹۶ در اتاقک‌های رشد گروه زراعت و اصلاح نباتات پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران در گلدان‌های بزرگ ۱۰ کیلویی به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار کشت شدند. تمامی گیاهان مورد آزمایش تا مراحل زایشی و قبل از اعمال تیمار، در شرایط طبیعی مناسب کلزا (در دمای ۱۸/۲۲ (روز / شب) پرورش یافتند. اعمال تیمار در شروع گلدهی انجام پذیرفت و زمانیکه حدود ۵۰ درصد بوته‌های هر رقم وارد مرحله گلدهی شدند، نیمی از گلدان‌ها به اتاقک رشد با شرایط تنش گرما (دمای ۲۲/۳۵ روز/ شب) منتقل و نمونه‌گیری و ثبت پارامترهای فیزیولوژیکی در فواصل ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت از اعمال تیمار از هر دو شرایط طبیعی و تنش انجام شد.

دمای برگ (LT) با استفاده از دماسنج مادون قرمز OMEGA مدل OS1327D اندازه‌گیری شد. بدین منظور در ساعت ۱۲ ظهر برای هر تکرار حدود ۱۰ بار اندازه‌گیری صورت پذیرفت و میانگین این مقادیر برای تجزیه و تحلیل مورد استفاده قرار گرفت. میزان نشت یونی (ELI<sup>۱</sup>) نیز بر اساس پروتکل *Flint et al.*, (1967) اندازه‌گیری شد. برای این منظور ۰/۸ گرم برگ پس از برش افقی، به لوله آزمایش حاوی ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر انتقال یافت. جهت جذب بهتر آب توسط برگ نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در داخل آب باقی ماندند. سپس لوله‌های آزمایش به مدت ۴۵ دقیقه در دستگاه شیکر قرار گرفتند و پس از آن میزان هدایت الکترولیتی نمونه‌ها (EC<sub>۱</sub>) با استفاده از دستگاه EC متر قرائت شد. سپس محتوی لوله آزمایش در حمام آب جوش (۹۵ درجه سانتی‌گراد) به مدت ۱۰ دقیقه و همچنین ۴۵ دقیقه در دستگاه شیکر قرار داده شده و میزان هدایت الکترولیتی (EC<sub>۲</sub>) تعیین شد. در نهایت مقدار شاخص خسارت براساس فرمول زیر محاسبه گردید.

پژوهشی نشان دادند که تنش گرما سبب کاهش هدایت مزوفیلی کلزا شد، در حالیکه از هدایت روزنه‌ای آن کاسته نشده بود. بعلاوه تنش گرما اختلال و کاهش نرخ انتقال الکترون و نرخ کارایی کربوکسیلاسیون کلزا را به دنبال داشت.

*Qaderi et al.* (2006) در مطالعه‌ای اثر همزمان تنش گرما، غلظت بالای CO<sub>2</sub> و تنش خشکی بر کلزا را بررسی و گزارش نمودند که گرما سبب کاهش وزن و سطح برگ، میزان آسیمیلایون CO<sub>2</sub> و فلئورسانس کلروفیل و همچنین افزایش محتوای کلروفیل می‌شود.

*Wilson et al.* (2013) گزارش کردند که در *Brassica juncea* میزان نشت یونی و همچنین پراکسیداسیون لیپیدی (MDA) در ارقام حساس بیشتر از ارقام متحمل بود، در حالیکه که محتوای کلروفیل ارقام حساس و متحمل تفاوت معنی‌داری از خود نشان ندادند.

*Fathi et al.* (2017) در پژوهشی نشان دادند که در شرایط بدون تنش، صفات تعداد دانه در خورجین، تعداد خورجین در شاخه اصلی، وزن هزار دانه و ارتفاع بوته به ترتیب بیشترین همبستگی را با عملکرد دانه نشان دادند در حالیکه در شرایط تنش همبستگی بین عملکرد دانه و ارتفاع گیاه دیده نشد و وزن هزار دانه، تعداد دانه در خورجین، تعداد خورجین در شاخه اصلی و طول خورجین به ترتیب دارای بالاترین همبستگی با عملکرد دانه بودند. همچنین نتایج نشان داد که رقم DH13 حساسترین رقم و رقم صافی ۵، متحمل‌ترین رقم بود.

با توجه به پدیده تغییر اقلیم و گرمایش جهانی، درک مکانیسم‌های تحمل گیاهان زراعی و بخصوص کلزا به تنش گرما، یکی از پیش نیازهای بهنژادی برای مقاومت به گرماست. لذا پژوهش حاضر با هدف شناخت پاسخ‌های فیزیولوژیکی ارقام متحمل و حساس کلزای ایرانی به تنش دمای بالا صورت پذیرفت، تا با شناسایی صفات مؤثر در مقاومت به گرما بتوان از آنها در برنامه‌های بهنژادی استفاده نمود.

استفاده از دستگاه، نور به مدت ۲ ثانیه به برگ تابیده شد و میزان فلئورسانس توسط دستگاه ثبت شد. اندازه گیری میزان محتوای کلروفیل و کاروتنوئید بر مبنای روش (Welschmeyer 1994) انجام شد. بدین منظور از ۰/۱ گرم نمونه برگ با استفاده از استون ۸۰ عصاره گیری شد. سپس عصاره با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (Shimadzu UV-160) در طول موج های ۶۴۵ نانومتر، ۶۶۳ نانومتر، ۴۸۰ نانومتر و ۵۱۰ نانومتر، قرائت شد. با استفاده از روابط زیر میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید محاسبه گردید (Chappelle *et al.*, 1992)

$$\begin{aligned} \text{میلی گرم کلروفیل a در هر گرم برگ تر} &= [(12.25 \times A_{663}) - (2.79 \times A_{645})] \times V / 1000 \times W \\ \text{میلی گرم کلروفیل b در هر گرم برگ تر} &= [(21.5 \times A_{645}) - (5.1 \times A_{663})] \times V / 1000 \times W \\ \text{میلی گرم کلروفیل کل در هر گرم برگ تر} &= [(20.2 \times A_{645}) + (8.02 \times A_{663})] \times V / 1000 \times W \\ \text{میلی گرم کاروتنوئید در هر گرم برگ تر} &= 7.6 \times (A_{480}) - 14.9 \times (A_{510}) \times V / 1000 \times W \end{aligned}$$

هدایت روزنه ای داشت (Urban *et al.* 2017). (جدول ۱).

پایین تر بودن دمای برگ نشان دهنده تعادل بهتر آب می باشد. جذب آب بیشتر و باز نگه داشتن بیشتر روزنه ها می تواند سبب کاهش دمای برگ شود. بطور کلی رقمی که بتواند در شرایط تنش گرما و خشکی دمای برگ پایین تری داشته باشد، به عنوان رقم متحمل قلمداد می شود (Hosseini Salekdeh *et al.*, 2009). همچنین کاهش بیشتر دمای گیاه، باعث کاهش خسارت تنش گرما بر سیستم فتوسنتزی و افزایش محتوای آب گیاه و در نتیجه باز ماندن روزنه ها و ورود دی اکسید کربن برای انجام فرآیند فتوسنتز می شود (Ayeneh Balota *et al.* 2002) (2007) و (Bahar *et al.* 2008). نتایج مشابهی را در گندم مشاهده کردند.

میزان نشت یونی و تخریب غشا نیز تحت تأثیر تنش قرار گرفت و در طی تنش بر میزان نشت یونی افزوده شد. تیمارهای ۷۲ ساعت تنش گرما بر ارقام DH13 و زمان، بترتیب با میانگین ۲۹/۶۶ و ۳۱/۷۲ درصد، بیشترین میزان خسارت را داشتند. بطور کلی میزان تغییر این صفت بگونه ای بود که اکثر تیمارها تفاوت معنی داری با هم نداشتند.

$$ELI = \frac{EC1}{EC2} \times 100$$

میزان محتوای نسبی آب (RWC) نیز با استفاده از وزن تر، وزن اشباع و وزن خشک برگ بر اساس فرمول زیر اندازه گیری شد (Matin *et al.*, 1989).

$$\%RWC = [(W_f - W_d) / (W_t - W_d)] * 100$$

در این رابطه  $W_f$  وزن تازه برگ،  $W_t$  وزن تورژسانس برگ و  $W_d$  وزن خشک برگ می باشد.

به منظور اندازه گیری میزان فلئورسانس کلروفیل (Fv/Fm)، از دستگاه شرکت Hansatech استفاده شد. بدین ترتیب که با استفاده از گیره های مخصوص، ۲۰ دقیقه شرایط تاریکی برای برگ ایجاد شد. سپس با

در روابط بالا A میزان جذب در طول موج مورد نظر، V حجم نهایی استون ۸۰ درصد بر حسب میلی لیتر و W اندازه برگ تازه بر حسب گرم می باشد.

آزمایش بصورت فاکتوریل سه عاملی (رقم، رژیم دمایی و زمان) با استفاده از نرم افزار SAS 9.4 تجزیه شد و مقایسه میانگین ها بر اساس روش دانکن صورت پذیرفت. ضرایب همبستگی پیرسون صفات نیز با استفاده از همین نرم افزار محاسبه شد.

## نتایج و بحث:

نتایج تجزیه واریانس صفات نشان داد که تقریباً اکثر صفات تحت تأثیر اثر رقم، رژیم دمایی، مدت زمان تنش و اثر متقابل بین آنها قرار گرفتند (جدول ۱). روند تغییر دمای برگ (جدول ۲)، نشان داد که در شرایط تنش، دمای برگ افزایش یافته و این افزایش دما با افزایش مدت تنش نیز بیشتر شده است. بیشترین میزان دمای برگ در تیمار تنش گرما و در دو رقم حساس DH13 و زمان در حالت ۷۲ ساعت تنش به ترتیب با میانگین ۳۲،۲۵ و ۳۴،۶۷ درجه سانتیگراد مشاهده شد. همچنین ارقام متحمل (صفی ۵ و مهتاب) دمای برگ پایین تری نسبت به ارقام حساس (زمان و DH13) از خود نشان دادند. دمای برگ، همبستگی مثبتی با

جدول ۱- میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیکی ارقام کلزا تحت تنش گرما  
Table 1- Mean square of physiological traits of rapeseed cultivars under heat stress

| S.O.V           | df | MS                 |                     |                     |                       |                     |               |                    |                     |
|-----------------|----|--------------------|---------------------|---------------------|-----------------------|---------------------|---------------|--------------------|---------------------|
|                 |    | CT                 | RWC                 | ELI                 | Fv/Fm                 | Chlorophyll A       | Chlorophyll B | Total chlorophyll  | Carotenoids         |
| Cultivar (C)    | 3  | 86.69**            | 27.02 <sup>ns</sup> | 83.00**             | 0.00080**             | 0.011**             | 0.31**        | 0.34**             | 0.021**             |
| Temperature (T) | 1  | 772.24**           | 3.73 <sup>ns</sup>  | 6.53 <sup>ns</sup>  | 0.01488**             | 0.002 <sup>ns</sup> | 0.24**        | 0.21*              | 0.010 <sup>ns</sup> |
| Duration (D)    | 2  | 32.74**            | 207.49**            | 6.23 <sup>ns</sup>  | 0.00010 <sup>ns</sup> | 0.013**             | 0.58**        | 0.70**             | 0.037**             |
| C x T           | 3  | 24.41**            | 64.90*              | 49.23*              | 0.00043*              | 0.013**             | 0.17**        | 0.26**             | 0.013*              |
| C x D           | 6  | 27.42**            | 35.73 <sup>ns</sup> | 39.35*              | 0.00056**             | 0.011**             | 0.16**        | 0.22**             | 0.022**             |
| T x D           | 2  | 0.82 <sup>ns</sup> | 45.89 <sup>ns</sup> | 13.42 <sup>ns</sup> | 0.00005 <sup>ns</sup> | 0.013**             | 0.16**        | 0.04 <sup>ns</sup> | 0.006 <sup>ns</sup> |
| C x T x D       | 6  | 13.51**            | 84.71**             | 3.98 <sup>ns</sup>  | 0.00023 <sup>ns</sup> | 0.016**             | 0.06*         | 0.07 <sup>ns</sup> | 0.006 <sup>ns</sup> |
| Error           | 48 | 2.98               | 21.42               | 13.19               | 0.00015               | 0.001               | 0.02          | 0.03               | 0.004               |
| CV%             | -  | 7.11               | 6.39                | 20.69               | 1.45                  | 4.75                | 21.87         | 12.7               | 18.39               |

ns, \* و \*\*: به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد  
ns, \* and \*\*: Not significant and significant at 1 and 5 % probability levels, respectively

آنجا که تمام واکنش‌های زیستی در محیط آبی رخ می‌دهد، کاهش آب در دسترس، سبب اختلال در فعالیت آنزیم‌های مورد نیاز گیاه برای رشد و توسعه می‌شود. میزان فلئورسانس کلروفیل یکی از مهمترین پارامترهای فیزیولوژیکی گیاه در پاسخ به تنش‌ها می‌باشد که نشان دهنده میزان حفظ فتوسنتز گیاه در شرایط تنش می‌باشد. در این تحقیق، با اعمال تنش و افزایش مدت زمان آن از میزان شاخص Fv/Fm کاسته شد که این کاهش در دو رقم حساس بیشتر از ارقام متحمل بود و کمترین میزان آن در تیمار ۷۲ ساعت تنش گرما در رقم زمان، با میانگین ۰/۸۱۳ بود (جدول ۲). تنش‌های زیستی با تأثیر بر فتوسیستم ۲ و زنجیره انتقال الکترون و کاهش ظرفیت انتقال الکترون، سبب کاهش کارایی انتقال الکترون و در نتیجه آن کاهش فتوسنتز می‌شوند (Ma et al., 1995). نتایج Qaderi et al. (2006)، نشان داد که کاهش تعرق و تبادلات روزنه‌ای گیاه برای کاستن از تلفات آب، می‌تواند سبب کاهش میزان فلئورسانس کلروفیل در کلزا شود. Feng et al. (2014) و Willits & Peet (2001)، برترتیب نتایج مشابهی در گندم و گوجه مشاهده کردند.

تنش گرما، سبب کاهش مقادیر کلروفیل a شد. این کاهش در ارقام حساس به مراتب از ارقام متحمل بیشتر بود. کمترین میزان کلروفیل a در رقم حساس DH13

پایداری غشای سلولی تحت تنش، یکی از مکانیسم‌های اصلی مقاومت است. اغلب تنش‌های غیرزیستی باعث پراکسیداسیون چربی‌ها و در نتیجه از دست رفتن یکپارچگی غشا نشت مواد به خارج از سلول می‌شوند (Blokchina et al., 2003; Mirjalili 2008). بنابراین عدم خسارت زیاد به غشای گیاهان کلزای مورد پژوهش را می‌توان ناشی از داشتن برگ‌های ضخیم و مملو از چربی دانست که نتایج بدست آمده با نتایج Savchenko et al. (2002) مغایرت داشت.

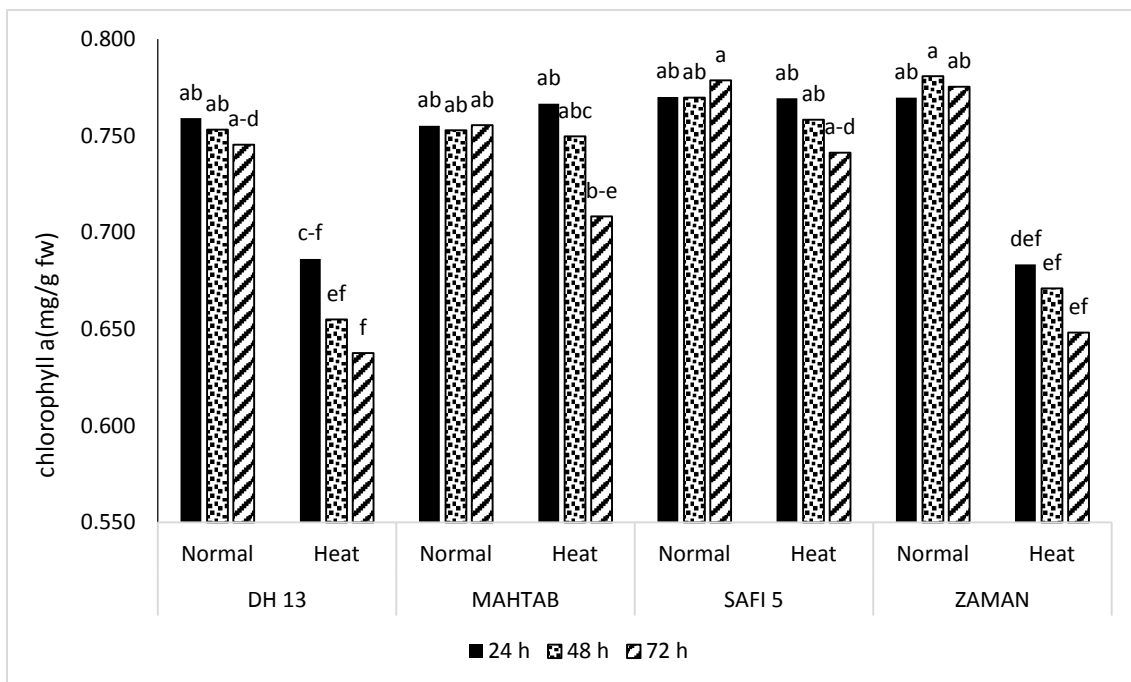
محتوای نسبی آب نیز مانند دیگر صفات تحت تأثیر تنش گرما قرار گرفت و میزان این صفت در طی تنش کاهش یافت (جدول ۲). این کاهش تا ۴۸ ساعت بعد از اعمال تنش با روند کندی صورت پذیرفت و پس از آن روند آن افزایش چشمگیری داشت. کمترین میزان محتوای نسبی آب در تیمار ۷۲ ساعت گرما در رقم DH13، با میانگین ۶۱/۸ درصد مشاهده شد (جدول ۲). محتوای نسبی آب، منعکس کننده فعالیت متابولیک در بافت‌های گیاه بوده و به عنوان شاخصی مناسب به منظور شناسایی ارقام متحمل به تنش‌های زیستی در تحمل پسابدگی استفاده می‌شود. گیاهان متحمل به تنش گرما و خشکی با جذب آب از پروتوپلاست، آب بیشتری را در خود نگهداری می‌کنند، بنابراین دارای مقدار بالاتری RWC می‌باشند (Silva et al., 2007). از

جدول ۲- مقایسه میانگین صفات دمای برگ، نشت یونی، محتوای نسبی آب و فلئورسانس کلروفیل ارقام کلزا  
Table 2- Mean comparisons of leaf temperature, electrolyte leakage, relative water content, and Chlorophyll fluorescence in rapeseed cultivars

|            |        | CT       |          |          | ELI      |          |          | RWC    |        |        | Fv/Fm    |          |          |
|------------|--------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|--------|--------|--------|----------|----------|----------|
|            |        | 24h      | 48h      | 72h      | 24h      | 48h      | 72h      | 24h    | 48h    | 72h    | 24h      | 48h      | 72h      |
| DH13       | Normal | 22.13f-i | 20.20i   | 20.90hi  | 14.20c-f | 17.36a-f | 18.97a-f | 91.02d | 87.66h | 87.13i | 0.856a   | 0.857a   | 0.854ab  |
|            | Heat   | 24.37efg | 29.20 b  | 32.53ab  | 14.23c-f | 22.11ab  | 29.66a   | 75.6r  | 73.33t | 61.82x | 0.833a-f | 0.822ef  | 0.816f   |
| MAHT<br>AB | Normal | 20.70i   | 21.97f-i | 20.70i   | 20.10a-e | 18.79a-f | 24.42a   | 89.37e | 86.03k | 84.45l | 0.849a-d | 0.846a-d | 0.852abc |
|            | Heat   | 25.13def | 29.23b   | 28.20bcd | 20.55a-d | 18.00a-f | 21.19abc | 78.52n | 76.49p | 69.28v | 0.843a-e | 0.837a-f | 0.830b-f |
| SAFI5      | Normal | 21.53ghi | 20.17i   | 20.03i   | 13.26ef  | 14.16c-f | 13.69def | 93.61b | 95.51a | 88.20g | 0.845a-e | 0.843a-e | 0.850a-d |
|            | Heat   | 24.03e-h | 25.50cde | 24.67efg | 18.02a-f | 19.11a-e | 22.87a-f | 79.45m | 75.72q | 70.71u | 0.843a-e | 0.835a-f | 0.829c-f |
| ZAMA<br>N  | Normal | 21.10hi  | 23.10e-i | 25.27def | 19.38a-e | 15.07b-f | 17.55a-f | 86.95j | 88.84f | 91.90c | 0.846a-d | 0.845a-e | 0.841a-e |
|            | Heat   | 30.43b   | 28.43bc  | 34.67a   | 18.13a-f | 23.61b   | 31.72a   | 77.37o | 73.92s | 64.98w | 0.837a-f | 0.826def | 0.813f   |

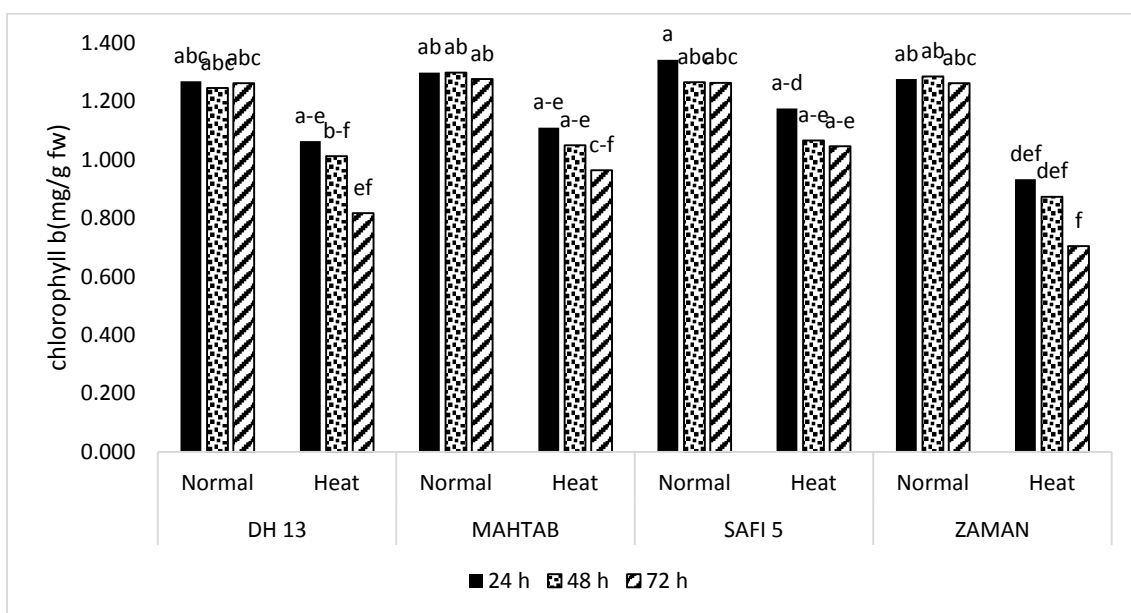
حفظ کلروفیل در طی تنش) که به عنوان سیزمانی (Stay green) از آن یاد می‌شود، یکی از مهمترین ویژگی‌های مورد مطالعه جهت غربالگری ارقام متحمل از ارقام حساس می‌باشد (Reynolds *et al.*, 1997). نتایج بررسی محتوای کاروتنوئید نشان داد که در ارقامی که نسبت به تنش گرما متحمل بوده و در باقی صفات پاسخ بهتری از خود نشان دادند، میزان کاروتنوئید آنها در پاسخ به تنش افزایش پیدا کرد. اما در ارقام حساس، تنش سبب کاهش میزان کاروتنوئید شد که می‌تواند تدبیر گیاه برای کاهش هزینه‌های انرژی و مواد در این بخش و اختصاص این هزینه در بخش‌های دیگر باشد. روند تغییر این صفت بگونه‌ای بود که با افزایش مدت زمان تنش، بر میزان این متابولیت در ارقام متحمل افزوده و در ارقام حساس از مقدار آن کاسته شد. در طی تنش، طول عمر کلروفیل برانگیخته شده تکی، افزایش می‌یابد که سبب تشکیل کلروفیل سه‌گانه می‌شود. در طی واکنش‌هایی که کلروفیل سه‌گانه انجام می‌دهد، تک اکسیژن تولید می‌شود که سبب خسارت سلولی می‌شود. کاروتنوئید به عنوان یک متابولیت با خواص آنتی‌اکسیدانی شناخته می‌شود که می‌تواند با هر دو کلروفیل سه‌گانه و اکسیژن تکی واکنش داده و آنها را خاموش کند. همچنین می‌تواند نقش رفتروبی رادیکال‌های آزاد را ایفا کرده و از خسارت اکسایشی گیاه جلوگیری کند (Havaux & Tardy, 1999).

و در طی اعمال ۷۲ ساعت تنش گرما با میانگین ۰.۶۳۸ گرم کلروفیل a در یک گرم وزن خشک مشاهده شد. نکته قابل ذکر عدم کاهش معنی دار میزان کلروفیل a رقم صفی ۵ حتی در طی ۷۲ ساعت تنش بود که نشان دهنده سامانه فتوسنتزی متحمل و کارایی این رقم برای شرایط تنش می‌باشد. کلروفیل b نیز همانند کلروفیل a در اثر تنش گرما کاهش پیدا کرد و این کاهش در ارقام حساس بیشتر از ارقام متحمل بود اما این تفاوت به اندازه‌ی کاهش میزان کلروفیل a نبود. بطور کلی کاهش کلروفیل در طی پیری گیاه رخ می‌دهد، اما این اتفاق می‌تواند در گیاهان تحت تنش گرما قبل از مراحل انتهایی رشد رخ دهد (Fork *et al.*, 1998). در این مطالعه، گیاهان در شرایط طبیعی کاهش معنی‌داری از خود نشان ندادند. بنابراین این کاهش، ناشی از اثر دمای بالا بر میزان کلروفیل برگ بود. مکانیسم اثر تنش گرما بر کاهش کلروفیل به طور کامل مشخص نشده است اما پیشنهاد شده که تنش گرما باعث تسریع در پیری و به طبع آن افزایش فعالیت آنزیم‌های پروتئولیتیک که سبب تخریب پروتئین‌ها شده و کاهش میزان کلروفیل را سبب می‌شود. همچنین تخریب غشای تیلاکوئیدی و خسارت به فتوسیستم ۲ نیز می‌تواند سبب کاهش محتوای کلروفیل شود (Ristic *et al.*, 2007). بنابراین ارقامی که کاهش کمتری در کلروفیل خود در طی تنش گرما دارند، ارقام متحمل‌تری به تنش خواهند بود و این قابلیت گیاه



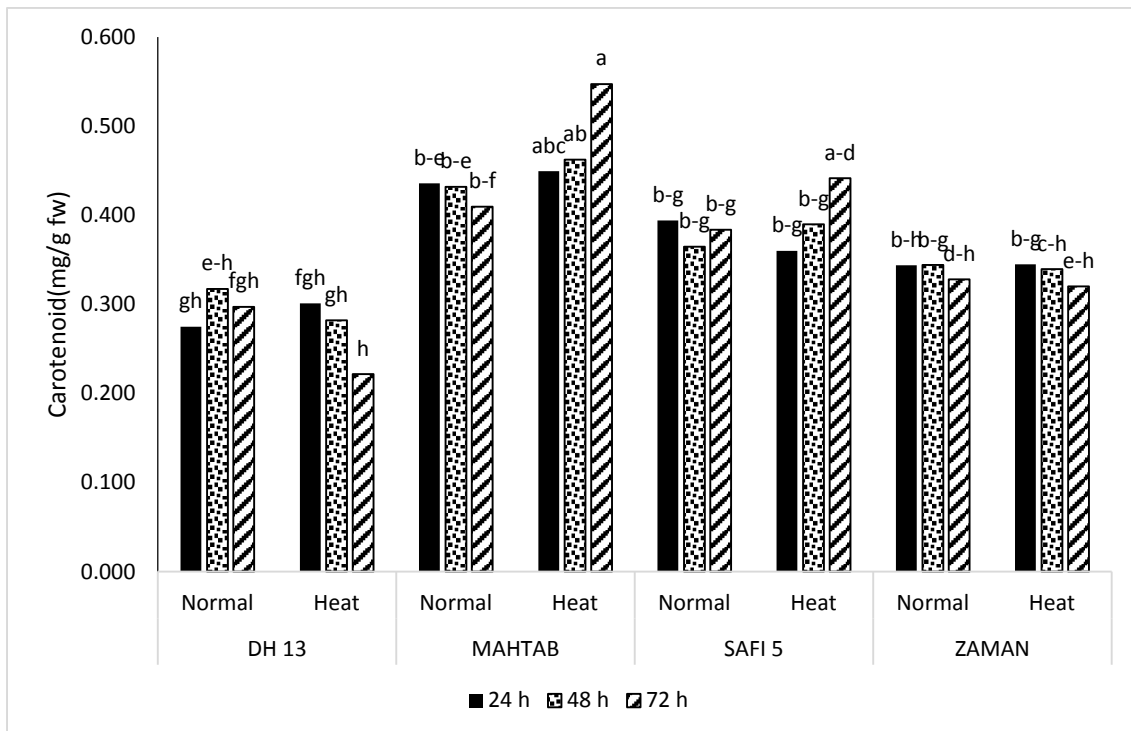
شکل ۱- اثر تنش گرما×زمان×رقم بر میزان کلروفیل a

Figure 1- Effect of heat×time× cultivar on chlorophyll a content



شکل ۲- اثر تنش گرما×زمان×رقم بر میزان کلروفیل b

Figure 2- Effect of heat×time× cultivar on chlorophyll b content



شکل ۳- اثر تنش گرما× زمان× رقم بر میزان کاروتنوئید

Figure 3- Effect of heat× time× cultivar on carotenoid content

ارقام به تنش گرما مورد استفاده قرار داد ( Thomas & Ram *et al.*, 2000). در صفت پایداری غشا با عملکرد همبستگی مثبت و معنی داری را گزارش نمودند. Qaderi *et al.* (2006) بین میزان فلئورسانس کلروفیل و مقدار کلروفیل رابطه معکوسی را گزارش نموده و پیشنهاد نمودند که احتمالاً میزان تعرق و هدایت روزنه‌ای بیش از میزان کلروفیل بر فلئورسانس کلروفیل مؤثر است.

نتایج همبستگی بین صفات نشان داد که همبستگی مثبت معنی داری بین صفات محتوای نسبی آب، کلروفیل a، کلروفیل b و فلئورسانس کلروفیل وجود داشت. همچنین همبستگی معنی دار و منفی بین صفت دمای برگ با تمامی صفات بجز کاروتنوئید مشاهده شد. کاروتنوئید با هیچکدام از صفات، همبستگی معنی داری از خود نشان نداد. با توجه به همبستگی بالا بین میزان کلروفیل و میزان فلئورسانس کلروفیل، اندازه‌گیری میزان کلروفیل را می‌توان جهت غربالگری سریع و ارزان

جدول ۳: همبستگی صفات فیزیولوژیکی کلزا تحت تنش گرما

Table 3- Correlation coefficients of physiological traits of rapeseed under heat stress

|               | LT                  | ELI                 | RWC                | Fv/Fm              | Chlorophyll a      | Chlorophyll b      | Carotenoid |
|---------------|---------------------|---------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|------------|
| LT            | 1                   | -                   | -                  | -                  | -                  | -                  | -          |
| ELI           | -0.15 <sup>ns</sup> | 1                   | -                  | -                  | -                  | -                  | -          |
| RWC           | -0.71 <sup>**</sup> | -0.17 <sup>ns</sup> | 1                  | -                  | -                  | -                  | -          |
| Fv/Fm         | -0.76 <sup>**</sup> | 0.07 <sup>ns</sup>  | 0.85 <sup>**</sup> | 1                  | -                  | -                  | -          |
| Chlorophyll a | -0.65 <sup>**</sup> | 0.01 <sup>ns</sup>  | 0.79 <sup>**</sup> | 0.81 <sup>**</sup> | 1                  | -                  | -          |
| Chlorophyll b | -0.83 <sup>**</sup> | 0.07 <sup>ns</sup>  | 0.92 <sup>**</sup> | 0.89 <sup>**</sup> | 0.87 <sup>**</sup> | 1                  | -          |
| Carotenoid    | -0.05 <sup>ns</sup> | 0.28 <sup>ns</sup>  | 0.02 <sup>ns</sup> | 0.13 <sup>ns</sup> | 0.38 <sup>ns</sup> | 0.14 <sup>ns</sup> | 1          |

\*، \*\* و ns: به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و غیر معنی دار

\*، \*\* and ns: Significant at the 5% and 1% probability levels, and non-significant, respectively



## نتیجه‌گیری کلی

صفات میزان نشت یونی و میزان کاروتنوئید، نتوانستند تفاوت‌های بین ارقام متحمل و حساس را نشان دهند. به طور کلی به نظر می‌رسد که دمای برگ و محتوای نسبی آب می‌توانند پس از راستی آزمایشی در تعداد بیشتری از ارقام، در غربال ارقام برای تحمل تنش گرما به کار گرفته شوند.

یافته‌های این پژوهش نشان داد که ارقام متحمل به گرما دارای شرایط آبی بهتری نسبت به ارقام حساس بودند که احتمالاً ناشی از دمای پایین‌تر این ارقام بوده است. همچنین کارایی فتوسیستم و محتوای رنگیزه‌های این ارقام بیشتر از ارقام حساس بود که بر توانایی بیشتر این ارقام در انجام فتوسنتز در حالت تنش دلالت دارد.

## REFERENCES

- Ahmadi, A., Si-O-Semardeh, A. & Zali, A. A. (2004). A comparison between the capacity of photoassimilate storage and remobilization and their contribution to yield in four wheat cultivars under different moisture regimes. *Iranian Journal of Agricultural Sciences* 35 (4): 921-931. (In Farsi).
- Al-Khatib, K. & Paulsen, G. M. (1990). Photosynthesis and productivity during high-temperature stress of wheat genotypes from major world regions. *Crop Sciences* 30: 1127-1132.
- Allakhverdive, S. I., Kreslavski, V. D., Klimov, V. V., Los, D. A., Carpentier, R. & Mohanty, P. (2008). Heat stress: an overview of molecular responses in photosynthesis. *Photosynthesis Research* 98: 541-550.
- Ayeneh, A., Van Ginkel, M., Reynolds, M. P., & Ammar, K. (2002). Comparison of leaf, spike, peduncle and canopy temperature depression in wheat under heat stress. *Field Crops Research* 79(2-3), 173-184.
- Bahar B, Yildirim M, Barutcular C & Genc I (2008) Effect of canopy temperature depression on grain yield and yield components in bread and durum wheat. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 36(1): 34-37.
- Balota, M., W. A., Evett, S. R. & Lazer, M. D. (2007) Canopy temperature depression sampling to assess grain yield and genotypic differentiation in winter wheat. *Crop Science* 47: 1518-1529.
- Chappelle, E. W., Kim, M. S., Mc Murtrey, J. E. (1992) Ratio analysis of reflectance spectra (RARS): an algorithm for the remote estimation of the concentrations of chlorophyll a, chlorophyll b, and carotenoids in soybean leaves. *Remote Sens Environ* 39: 239-247
- Daniel, E. (1997). The temperature dependence of photoinhibition in leaves of *Phaseolus vulgaris* (L.). *Plant Science* 124: 1-8.
- Elferjani, R., and Soolanayakanahally, R. (2018). Canola responses to drought, heat, and combined stress: Shared and specific effects on carbon assimilation, seed yield, and oil composition. *Frontiers in Plant Science* 9 (1224) 1-17.
- Fathi. H. (2017). Physiological and biochemical studies on seeds dormancy and germination process in deciduous fruit trees. Ph.D. Thesis. University of Tehran, Iran. (In Farsi).
- Farooq, M., Bramley, H., Palta, J. A. & Siddique, H. M. (2011). Heat stress in wheat during reproductive and grain-filling phases. *Critical Reviews in Plant Sciences* 30:1-17.
- Feng, B., Liu, P., Li, G., Dong, S. T., Wang, F. H., Kong, L. A., & Zhang, J. W. (2014). Effect of heat stress on the photosynthetic characteristics in flag leaves at the grain filling stage of different heat resistant winter wheat varieties. *Journal of Agronomy and Crop Science* 200(2), 143-155.
- Flint H. L., Boyce B. R. & Beattie D. J. (1967). Index of injury: A useful expression of freezing injury to plant tissues as determined by the electrolytic method. *Canadian Journal of Plant Science* 47: 229- 230.
- Fokar, M., Nguyen, H. T. & Blum, A. (1998). Heat tolerance in spring wheat: I. Estimating cellular thermotolerance and its heritability. *Euphytica* 104:1-8.
- Havaux, M., & Tardy, F. (1999). Loss of chlorophyll with limited reduction of photosynthesis as an adaptive response of Syrian barley landraces to high-light and heat stress. *Functional Plant Biology* 26(6), 569-578.
- Hosseini Salekdeh, G. R., John, R., Boyer, E. & John, M. (2009). Conceptual framework for drought phenotyping during molecular breeding. *Trends in Plant Science* 14, 1360-1385.

17. Ma, B. L., Morison, M. J. & Videng, H. D. (1995). Leaf greenness, and photosynthetic rates in soybean. *Crop Science* 35, 1411-1414.
18. Matin, M., Brown, J. H. and Ferguson, H. (1989). Leaf water potential, relative water content, and diffusive resistance as screening techniques for drought resistance in barley. *Agronomy Journal* 81(1): 100- 105.
19. Paulsen, G. M. (1994). High temperature responses of crop plants. In: K. J. Boote, J. M. Bennett, T. R. Sinclair, & G. M. Paulsen (Ed), *Physiology and determination of crop yield*. (pp. 365–389.). American Society of Agronomy, Madison, WI.
20. Porter, J. R. (2005). Rising temperatures are likely to reduce crop yields. *Nature* 436(7048), 174-174.
21. Qaderi, M. M., Kurepin, L. V., and Reid, D. M. (2006). Growth and physiological responses of canola (*Brassica napus*) to three components of global climate change: temperature, carbon dioxide, and drought. *Physiologia Plantarum* 128(4), 710-721.
22. Reynolds, M. P., Nagarayan, S. Razzaue, M. A. & Ageeb, O. A. A. (1997). Using canopy temperature depression to select for yield potential of wheat in heat-stressed environments. *Wheat Special Rep. No. 42*. CIMMYT, Mexico.
23. Ristic, Z., Bukovnik, U., & Prasad, P. V. (2007). Correlation between heat stability of thylakoid membranes and loss of chlorophyll in winter wheat under heat stress. *Crop Science* 47(5), 2067-2073.
24. Savchenko G. E., Klyunchareva E. A., Abrabchik L. M. and Serdyuchenko E. V. (2002) Effect of periodic heat shock on the membrane system of etioplasts. *Russian Journal of Plant Physiology* 49: 349-359.
25. Silva, M. A., Jifon, J. L., Silva, J. A. G. & Sharma, V. (2007). Use of physiological parameters as fast tools to screen for drought tolerance in sugarcane. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 19: 3, 193-201 .
26. Thomas, H. & Howarth, C.J. (2000). Five ways to stay green. *Journal of Experimental Botany* 51:329–337
27. Urban, J., Ingwers, M. W., McGuire, M. A., & Teskey, R. O. (2017). Increase in leaf temperature opens stomata and decouples net photosynthesis from stomatal conductance in *Pinus taeda* and *Populus deltoides* x *nigra*. *Journal of Experimental Botany* 68(7), 1757-1767.
28. Welschmeyer, N. A. (1994). Fluorometric analysis of chlorophyll a in the presence of chlorophyll b and photopigments. *Limnology and Oceanography* 39(8), 1985-1992.
29. Willits, D. H., & Peet, M. M. (2001). Measurement of chlorophyll fluorescence as a heat stress indicator in tomato: Laboratory and greenhouse comparisons. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 126(2), 188-194.
30. Wilson, R. A., Sangha, M. K., Banga, S. S., Atwal, A. K., & Gupta, S. (2014). Heat stress tolerance in relation to oxidative stress and antioxidants in *Brassica juncea*. *Journal of Environmental Biology* 35(2), 383.