تأثیر آهن بر کارایی و نقشه عملکرد فتوشیمیایی سیستم فتوسنتزی II گل رز با استفاده از روش تصویر برداری کلروفیل فلورسنس

شهرام کیانی[۱*]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۷/۱۱ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۹/۸)

چکیده

زردی بین رگبرگی ناشی از کمبود آهن یکی از مشکلات گلخانه‌های تولید کننده گل رز در سراسر جهان می‌باشد. این پژوهش به منظور بررسی کارایی روش تصویر برداری کلروفیل فلورسنس در تشخیص زودهنگام کمبود آهن و مطالعه روابط همبستگی بین غلظت آهن برگ با شاخص میزان کلروفیل و کارایی فتوشیمیایی سیستم فتوسنتزی II برگ گل رز (*Rosa hybrida* L.) رقم First Red انجام شد. آزمایش به صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۵ تیمار شامل مقادیر ۱/۵، ۳، ۶، ۱۲ و ۲۴ میکرومولار آهن در محلول غذایی و با ۴ تکرار در گلخانه آبکشت دانشگاه واگنینگن هلند اجرا شد. نتایج نشان داد که افزایش میزان آهن در محلول غذایی از ۱/۵ به ۲۴ میکرومولار منجر به افزایش معنی‌دار ($P<0/01$) میانگین کارایی فتوشیمیایی سیستم فتوسنتزی II برگ رز از ۰/۰۶۲ به ۰/۵۹ شد که این امر به طور واضح در نقشه عملکرد فتوشیمیایی سیستم فتوسنتزی II برگ مشهود بود. هم‌چنین همبستگی‌های مثبت و معنی‌داری ($P<0/05$) بین غلظت آهن برگ رز با شاخص میزان کلروفیل برگ ($r=0/91$) و کارایی فتوشیمیایی سیستم فتوسنتزی II برگ ($r=0/85$) و بین شاخص میزان کلروفیل برگ رز با کارایی فتوشیمیایی سیستم فتوسنتزی II برگ ($r=0/86$) مشاهده شد. بر اساس نتایج، تشخیص زودهنگام گرسنگی پنهان آهن در گل رز با استفاده از روش تصویر برداری کلروفیل فلورسنس و به تبع آن افزایش عملکرد و کیفیت گل رز در گلخانه‌ها امکان‌پذیر است.

واژه‌های کلیدی: آهن، سیستم فتوسنتزی II، کارایی فتوشیمیایی، کلروفیل فلورسنس، گل رز

مقدمه

یکی از فن‌آوری‌های جدید برای اندازه‌گیری ویژگی‌های فیزیولوژیک گیاه استفاده از حسگرهای تصویر برداری از قبیل کلروفیل فلورسنس است که به صورت غیرمخرب برای تحلیل تصاویر گیاهان از لحاظ کیفیت و شادابی به کار برده می‌شود (۱۷). انرژی نور جذب شده به‌وسیله مولکول‌های کلروفیل برگ می‌تواند یکی از این سه سرنوشت را داشته باشد. بخشی از آن برای فتوسنتز مورد استفاده قرار گرفته، بخشی دیگر به صورت حرارت از سطح برگ منعکس شده و باقی‌مانده به شکل نور از سطح برگ منعکس می‌گردد که به این پدیده کلروفیل فلورسنس اطلاق می‌شود (۱۸). در این بین، هر گونه تنشی که موجب شود انتقال الکترون در خلال واکنش‌های مرحله نوری فتوسنتز مختل شود باعث هدررفت الکترون و افزایش کلروفیل فلورسنس برگ شده و به تبع آن کارایی فتوشیمیایی سیستم فتوسنتزی II (φ_{PsII})

۱. استادیار گروه خاک‌شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد

* : مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: shkiani2002@yahoo.com

گیاه کاهش می‌یابد. کارایی فتوشیمیایی سیستم فتوسنتزی II نسبت نور جذب شده به‌وسیله کلروفیل مرتبط با سیستم فتوسنتزی II را که در فرایندهای فتوشیمیایی مورد استفاده قرار گرفته، اندازه‌گیری می‌کند. در ضمن، این شاخص می‌تواند برای تعیین فتوسنتز و تهیه نقشه عملکرد فتوشیمیایی سیستم فتوسنتزی II برگ‌ها مورد استفاده قرار گیرد (۶).

در سال‌های اخیر تصاویر رنگی کلروفیل فلورسنس برای تشخیص وضعیت عناصر غذایی در برگ‌های گیاهان مورد استفاده قرار گرفته‌اند (۱۲). به عنوان مثال، روش تصویر برداری کلروفیل فلورسنس قادر بوده است کمبود منیزیم را حداقل ۳ روز قبل از ظهور علائم کمبود تشخیص دهد (۵). هم‌چنین تحقیقات لانگسدورف و همکاران (۱۳) نشان داد که گیاهان چغندرقند تغذیه شده با مقادیر زیاد نیتروژن به راحتی از گیاهان تغذیه شده با میزان کم نیتروژن با استفاده از روش کلروفیل فلورسنس قابل تشخیص بودند. نتایج تحقیقات بایلون و همکاران (۲) در مورد صنوبر نیز نشان داد که در تیمار دارای کمبود منیزیم، اولین نشانه‌های کمبود توسط تمامی پارامترهای فیزیولوژیک از قبیل کلروفیل فلورسنس قابل تشخیص بودند، قبل از این‌که علائم در برگ‌ها (سوزن‌ها) پدیدار شوند.

آهن از جمله عناصر ضروری برای رشد و تولید مثل گیاهان بوده و بنابراین برای بقای آنها لازم است. این عنصر در فرایند فتوسنتز، تنفس، جذب و ساخت نیتروژن و هم‌چنین در ساخت و تکوین کلروپلاست در گیاهان نقش دارد. نقش آهن در فرایند فتوسنتز و تنفس به واسطه شرکت آن در واکنش‌های اکسیداسیون و احیا در کلروپلاست و میتوکندری است که آهن در آنها به عنوان گروه‌های دهنده- گیرنده الکترون شرکت می‌کند. از طرف دیگر، آهن در ساخت کلروفیل نقش اساسی دارد. کاهش در میزان کلروفیل برگ‌های جوان به دلیل نقش آهن در ساخت کلروفیل آشکارترین نشانه کمبود آهن است که به صورت زردی بین رگبرگی در برگ‌های جوان نمایان می‌گردد (۱۴). شاخص میزان کلروفیل برگ که در حقیقت انعکاسی از شدت رنگ سبز آن است ارتباط زیادی با وضعیت تغذیه آهن گیاه دارد. نتایج تحقیقات اردال و همکاران (۹) در درختان سیب نشان داد مقدار آهن کل و شاخص میزان کلروفیل برگ به طور معنی‌داری با افزایش میزان آهن کاربردی افزایش یافت. به طوری که یک همبستگی مثبت بین میزان آهن کل و شاخص کلروفیل برگ ملاحظه شد. همبستگی مثبت و معنی‌دار بین میزان آهن کل برگ و شاخص میزان کلروفیل برگ در تحقیقات هیرایی و همکاران (۱۱) در جو نیز مشاهده شده است. در تحقیقات تری (۱۹) نیز میزان کلروفیل برگ‌های چغندرقند تحت شرایط تنش آهن همبستگی مثبتی با غلظت آهن برگ داشت.

استفاده از روش کلروفیل فلورسنس برای بررسی وضعیت آهن گیاه در مطالعات انجام شده مورد توجه قرار گرفته است (۳، ۱۵ و ۱۶). تحقیقات مورالس و همکاران (۱۵) در چغندرقند نشان داد که کارایی فتوشیمیایی سیستم فتوسنتزی II در برگ گیاهان دارای کمبود آهن کمتر از گیاهان شاهد (بدون کمبود آهن) بود. هم‌چنین در تحقیقات بالاکریشنان و همکاران (۳) کمبود عناصر غذایی آهن، منگنز و روی در انبه منجر به کاهش معنی‌دار کارایی فتوشیمیایی سیستم فتوسنتزی II برگ شد. بر اساس نتایج این پژوهش‌ها، کلروفیل فلورسنس به عنوان یک ابزار برای آزمایش سلامت گیاهان می‌تواند استفاده شود.

گل رز (*Rosa hybrida* L.) از جمله گیاهان حساس به کمبود آهن بوده و علائم کمبود آهن به صورت زردی بین رگبرگی در اکثر گلخانه‌های تولید کننده دیده می‌شود. در برخی از مواقع علائم کمبود این عنصر ظاهر نشده و گیاه از گرسنگی پنهان آن رنج می‌برد. از زمانی که گیاه دارای گرسنگی پنهان است تا زمانی که علائم بروز می‌کند سلامتی گیاه و تولید محصول ممکن است کاهش یافته و اقدامات اصلاحی مؤثر واقع نشود. بنابراین استفاده از روش‌هایی که قبل از ظهور علائم کمبود، قادر به تشخیص آن باشند از اهمیت زیادی برخوردار است. کاهش کارایی فتوشیمیایی سیستم فتوسنتزی II برگ این امکان را فراهم می‌سازد تا بتوان سریعاً نسبت به شناسایی گیاهان دارای کمبود اقدام کرد. با توجه به اهمیت این مسئله،

پژوهش حاضر به منظور بررسی کارایی روش تصویر برداری کلروفیل فلورسنس در تشخیص کمبود زودهنگام آهن و مطالعه روابط همبستگی بین غلظت آهن برگ با شاخص میزان کلروفیل و کارایی فتوشیمیایی سیستم فتوسنتزی II برگ گل رز انجام شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۵ تیمار و ۴ تکرار (هر پلات آزمایشی شامل ۳ گلدان) در گلخانه آبکشت دانشگاه واگنینگن هلند روی گل رز رقم First Red انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل ۵ غلظت ۱/۵، ۳، ۶، ۱۲ و ۲۴ میکرومولار آهن از منبع سکوسترین ۱۳۸ آهن (Fe-EDDHA) بودند. غلظت سایر عناصر غذایی مورد استفاده برای نیتروژن، فسفر، پتاسیم، کلسیم و منیزیم به ترتیب ۱۲/۲۵، ۱/۲۵، ۴/۵۰، ۳/۲۵ و ۱/۵۰ میلی‌مولار و برای مس، بور، منگنز، روی و مولیبدن به ترتیب برابر ۰/۷۵، ۲۰، ۵، ۳/۵ و ۰/۵ میکرومولار بود (۸). در تمامی محلول‌های غذایی مورد استفاده، pH با استفاده از اسید سولفوریک یک مولار، در ۵/۵±۰/۲ تنظیم گردید. به منظور اجرای آزمایش، در تیرماه ۱۳۸۶ تعداد ۶۰ قلمه پیوندی گل رز به گلدان‌های ۶ لیتری حاوی کوکوپیت منتقل شدند. گلدان‌های حاوی گل در یک گلخانه با دمای روز ۲۵±۳ و دمای شب ۲۰±۳ درجه سلسیوس قرار داده شده و با محلول‌های غذایی حاوی مقادیر مختلف آهن تغذیه شدند. سامانه آبکشت مورد استفاده در این تحقیق از نوع باز بود که از طریق یک سامانه آبیاری قطره‌ای عملیات کودآبیاری به طور خودکار انجام می‌گرفت. دور کودآبیاری بسته به مرحله رشدی گیاه، ۶ تا ۱۰ بار در روز بوده و کسر آب‌شویی ۲۰-۲۵ درصد در نظر گرفته شد. در اوایل دوره گل‌دهی، بوته‌ها به یک محیط کنترل شده با شدت نور ۱۰۰ میکرومول بر متر مربع بر ثانیه، دمای ۲۰±۱ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۶۰٪ انتقال داده شدند. به دنبال آن، گلدان‌ها برای اندازه‌گیری کارایی فتوشیمیایی سیستم فتوسنتزی II به آزمایشگاه منتقل شدند.

کارایی فتوشیمیایی سیستم فتوسنتزی II در اولین پنج برگچه‌ای ساقه گل‌دهنده (از بالا) با استفاده از دستگاه فلورکم (FluorCam 700MF, Photon Systems Instruments, 2001) اندازه‌گیری شد. بدین منظور، برگ در داخل محفظه دستگاه فلورکم قرار داده شد. بالای محفظه برگ یک سیستم تصویر برداری کلروفیل فلورسنس مشتمل بر یک دوربین CCD فلورسنس جنبشی نصب شده بود. نور مورد نیاز توسط دو سری ۲۳۵ تایی لامپ‌های نارنجی فوق العاده درخشان (LED's) تأمین شد که تابش‌های اشباعی و هم‌چنین تابش‌های پیوسته با مدت زمان قابل تعریف را ایجاد می‌کرد. با استفاده از نرم‌افزار فلورکم، مدت زمان تابش‌های اشباعی و شدت آنها و هم‌چنین مدت زمان لازم برای تابش نور پیوسته در قالب پروتکل مربوطه برای دستگاه تعریف شد. تحت شدت تابش پیوسته تعریف شده در قالب پروتکل (۱۰۰ میکرومول بر متر مربع بر ثانیه) به هنگام اجرای آزمایش، دو تصویر فلورسنس متوالی یکی درست قبل از تابش نور اشباعی با شدت ۶۰۰ میکرومول بر متر مربع بر ثانیه (I_t) و دیگری بعد از تابش (I'_m) تهیه شد. شدت‌های فلورسنس حاصله برای هر پیکسل مربوطه در تصاویر I_t و I'_m به طور مستقیم به عنوان اندازه‌گیری‌های نسبی عملکرد فلورسنس F_t و F'_m منظور شدند. برای هر پیکسل سطح برگ، مقدار کارایی فتوشیمیایی سیستم فتوسنتزی II (φ_{PsII}) بر اساس معادله زیر محاسبه شد:

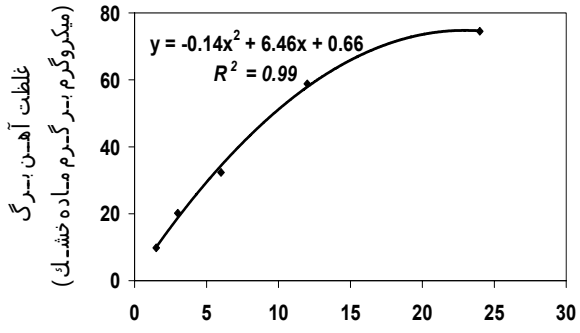
$$\varphi_{PsII} = (F'_m - F_t)/F'_m \qquad [۱]$$

در این فرمول، F'_m حداکثر فلورسنس در نور اشباعی (۶۰۰ میکرومول بر متر مربع بر ثانیه) و F_t مقدار فلورسنس تحت شرایط پایدار است که در میزان معین نور (۱۰۰ میکرومول بر متر مربع بر ثانیه) اندازه‌گیری شده است (۱۰). سپس نقشه پراکندگی کارایی فتوشیمیایی سیستم فتوسنتزی II در کل سطح برگ با استفاده از نرم‌افزار فلورکم رسم شد. لازم به ذکر است در این تحقیق کارایی فتوشیمیایی سیستم فتوسنتزی II بین صفر تا یک تنظیم شد. هم‌چنین هیستوگرام توزیع فراوانی، مقدار متوسط و انحراف استاندارد برای عملکرد فتوشیمیایی سیستم

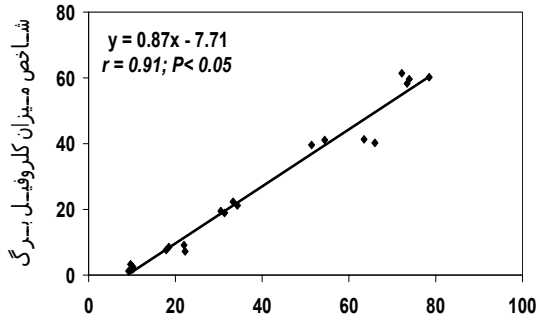
جدول ۱. تأثیر مقادیر مختلف آهن در محلول غذایی بر غلظت آهن و شاخص میزان کلروفیل برگ (± انحراف استاندارد) در گل رز

غلظت آهن در محلول غذایی (میکرومولار)	غلظت آهن برگ (میکروگرم بر گرم ماده خشک)	شاخص میزان کلروفیل برگ*
۱/۵	۹/۸۳e ± ۰/۴۷	۲/۲۰e ± ۰/۹۱
۳/۰	۲۰/۱۵d ± ۴/۲۵	۸/۱۱d ± ۰/۸۶
۶/۰	۳۲/۳۵c ± ۴/۷۸	۲۰/۴۸c ± ۱/۵۶
۱۲/۰	۵۸/۸۸b ± ۴/۹۷	۴۰/۵۵b ± ۰/۷۹
۲۴/۰	۷۴/۵۶a ± ۲/۲۹	۵۹/۸۸a ± ۱/۲۹

* میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ هستند (آزمون LSD).



شکل ۱. رابطه بین غلظت آهن در محلول غذایی و غلظت آهن برگ در گل رز



شکل ۲. همبستگی بین غلظت آهن برگ و شاخص میزان کلروفیل برگ در گل رز

فتوسنتزی II با استفاده از نرم‌افزار Excel محاسبه شدند. شاخص میزان کلروفیل برگ با استفاده از دستگاه کلروفیل‌سنج (Chlorophyll content meter) مدل Opti-Sciences, CCM-200 در برگ‌های یک سوم انتهایی ساقه گل‌دهنده اندازه‌گیری شد. سپس برگ‌های فوق‌الذکر برداشت شده و پس از هضم خشک، غلظت آهن در آنها با دستگاه ICP مدل Spectroflame Modula version 1.20 اندازه‌گیری شد (۱). نتایج حاصل به کمک نرم‌افزار SAS تجزیه و تحلیل شده و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) استفاده شد. هم‌چنین روابط همبستگی با استفاده از نرم‌افزار SPSS محاسبه و با استفاده از آزمون پیرسون (Pearson test) مورد تجزیه آماری قرار گرفتند.

نتایج و بحث

تأثیر آهن بر غلظت آهن و شاخص کلروفیل برگ گل رز

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که افزایش غلظت آهن در محلول غذایی از ۱/۵ به ۲۴ میکرومولار منجر به افزایش معنی‌دار غلظت آهن برگ در سطح ۱٪ شد (جدول ۱). به طوری که یک معادله درجه دو بین غلظت آهن در محلول غذایی و غلظت آهن در برگ گل رز برازش داده شد (شکل ۱). با این وجود، در تمامی سطوح آهن مصرفی، به استثنای سطح ۲۴ میکرومولار، غلظت آهن برگ کمتر از حد بحرانی ۶۰ میکروگرم بر گرم ماده خشک گیاهی بود (۷). چون pH تمامی محلول‌های غذایی استفاده شده در ۵/۵±۰/۲ تنظیم شده بود، به نظر نمی‌رسد مشکلی از لحاظ جذب آهن برای ریشه وجود داشته باشد. بنابراین، کمبود آهن در محلول غذایی

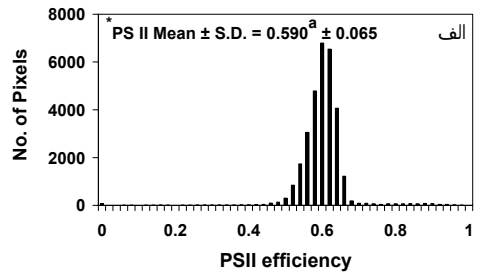
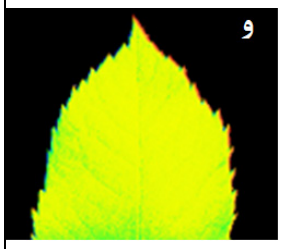
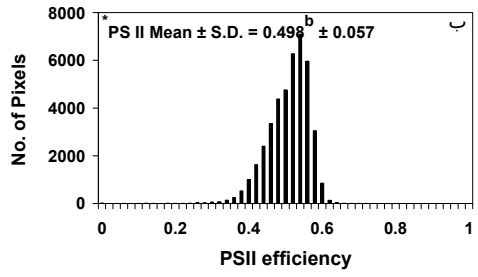
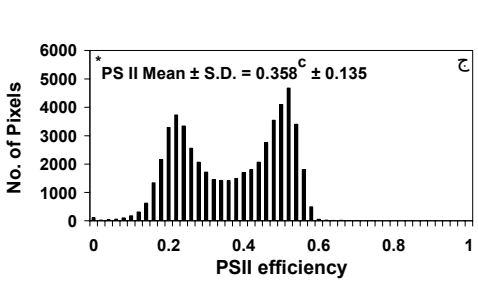
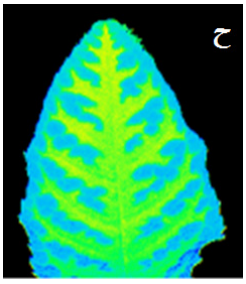
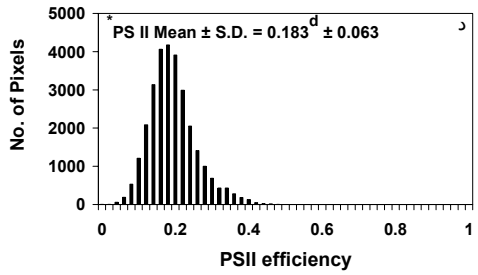
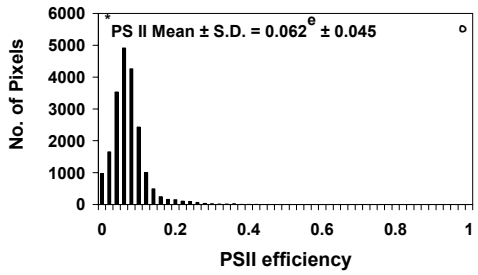
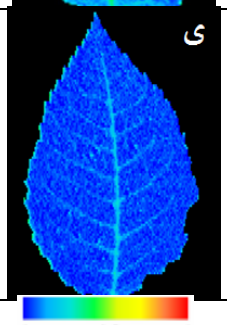
می‌تواند دلیل اصلی کاهش میزان آهن برگ در سطوح کمتر از ۲۴ میکرومولار باشد. کاهش غلظت آهن برگ در نتیجه کاهش میزان آهن مصرفی با تحقیقات اردال و همکاران (۹) در سیب مطابقت دارد.

افزایش میزان آهن در محلول غذایی منجر به افزایش معنی‌دار شاخص میزان کلروفیل برگ در سطح آماری ۱٪ شد (جدول ۱) که این امر به دلیل افزایش غلظت آهن برگ بود. به طوری که یک همبستگی مثبت و معنی‌دار (r=۰/۹۱) بین میزان آهن برگ و شاخص میزان کلروفیل برگ دیده شد (شکل ۲). شاخص میزان کلروفیل برگ، که تابعی از میزان کلروفیل برگ است، به راحتی با دستگاه‌های کلروفیل‌سنج قابل اندازه‌گیری است. کاهش شاخص میزان کلروفیل برگ در نتیجه کاهش میزان آهن برگ (جدول ۱) به دلیل نقش آهن در ساخت کلروفیل است. ماده مشترک برای ساخت کلروفیل و هیم، اسید دلتا-آمینولوولینیک است که میزان تشکیل آن به‌وسیله آهن مهار می‌شود. به کار رفتن آهن و یا منیزیم، به عنوان اتم مرکزی در درون تتراپیرول، به ترتیب به تشکیل کوآنزیم‌های هیم و منیزیم- پروتوپورفیرین منجر می‌شود. ثابت شده است که آهن برای تشکیل پروتوکلروفیلید از منیزیم- پروتو پورفیرین لازم است. هم‌چنین آنزیم کپروپورفیرینوژن اکسیداز که یک پروتئین آهن‌دار است اکسید شدن منیزیم- پروتوپورفیرین را به پروتو کلروفیلید کاتالیز می‌کند (۱۴). افزایش شاخص میزان کلروفیل برگ در نتیجه افزایش میزان آهن مصرفی با تحقیقات انجام شده توسط بانولز و همکاران (۴) در پرتقال، هیرایی و همکاران (۱۱) در جو و اردال و همکاران (۹) در سیب مطابقت دارد.

تأثیر آهن بر کارایی و نقشه عملکرد فتوشیمیایی سیستم فتوسنتزی II برگ گل رز

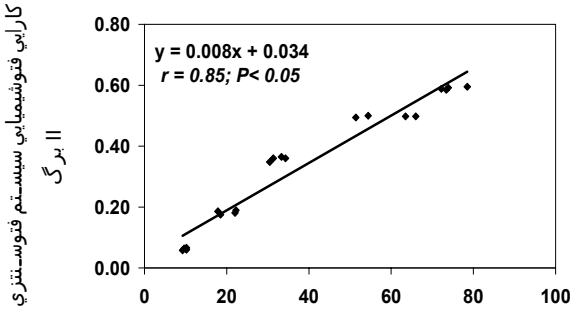
نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که افزایش غلظت آهن در محلول غذایی و به تبع آن افزایش غلظت آهن برگ منجر به افزایش معنی‌دار کارایی فتوشیمیایی سیستم فتوسنتزی II برگ در سطح آماری ۱٪ شد (شکل‌های ۳- الف، ۳- ب، ۳- ج، ۳- د و۳- ه). به طوری که بیشترین میزان کارایی (۰/۵۹۰) در سطح ۲۴ میکرومولار آهن و کمترین آن (۰/۰۶۲) در سطح ۱/۵ میکرومولار آهن دیده شد (شکل‌های ۳- الف و ۳- ه). در واکنش‌های مرحله روشنایی فتوسنتز، انرژی نور جذب شده به‌وسیله مولکول‌های کلروفیل سیستم فتوسنتزی II برگ به مراکز واکنش این سیستم انتقال داده می‌شود. این انرژی پس از برانگیخته کردن مولکول‌های P_{680} و P_{700} و ایجاد یک زنجیره انتقال الکترون، نهایتاً منجر به تولید محصولات نهایی واکنش‌های مرحله روشنایی یعنی NADPH و ATP می‌شود (۱۸). پژوهش‌ها نشان می‌دهند که هر گونه تنشی که موجب شود انتقال الکترون در خلال واکنش‌های مرحله نوری فتوسنتز مختل شود باعث افزایش کلروفیل فلورسنس و کاهش کارایی فتوشیمیایی سیستم فتوسنتزی II برگ می‌شود (۶). در این میان، نقشه عملکرد فتوشیمیایی سیستم فتوسنتزی II برگ در سطح ۲۴ میکرومولار آهن (شکل ۳- و) نشان داد که در این سطح، کارایی فتوشیمیایی سیستم فتوسنتزی II در تمامی پیکسل‌های سطح برگ از حالت نسبتاً یک‌نواختی برخوردار بود. اما با ایجاد تنش آهن در سطح ۱۲ میکرومولار، اکثر پیکسل‌های سطح برگ دچار کاهش کارایی شدند (شکل ۳- ز). این در حالی بود که در این تیمار هیچگونه زردی بین رگبرگی در زمان اندازه‌گیری قابل رؤیت نبود (شکل ۳- ل) که این امر نشان‌دهنده وجود گرسنگی پنهان آهن در سطح ۱۲ میکرومولار آهن بود. کاهش کارایی فتوشیمیایی سیستم فتوسنتزی II برگ در سطح ۱۲ میکرومولار مؤید آن است که روش تصویر برداری کلروفیل فلورسنس از قابلیت بسیار خوبی برای تشخیص زود هنگام کمبود آهن در گل رز برخوردار است، که این مسئله از لحاظ قابلیت کاربردی آن دارای اهمیت فراوانی است.

با ادامه تنش آهن در سطح ۶ میکرومولار، کارایی فتوشیمیایی سیستم فتوسنتزی II باز هم دچار کاهش شده (شکل ۳- ح) و علائم کمبود به صورت زردی بین رگبرگی در این تیمار ظاهر شد (شکل ۳- م). در این تیمار، دو منطقه قابل تشخیص از لحاظ کارایی فتوشیمیایی سیستم فتوسنتزی II در

غلظت آهن (میکرومولار)	میانگین کارآیی فتوشیمیایی سیستم فتوسنتزی II برگ گل رز	نقشه عملکرد فتوشیمیایی سیستم فتوسنتزی II برگ گل رز	شکل ظاهری برگ گل رز
۲۴/۰			
۱۲/۰			
۶/۰			
۳/۰			
۱/۵			

شکل ۳. تأثیر سطوح مختلف آهن در محلول غذایی بر میانگین کارایی فتوشیمیایی سیستم فتوسنتزی II برگ (الف،ب، ج، د و ه)، نقشه عملکرد فتوشیمیایی سیستم فتوسنتزی II برگ (و، ز، ح، ط و ی) و شکل ظاهری برگ گل رز (ک، ل، م، ن و س)

* در شکل‌های الف،ب، ج، د و ه، میانگین‌های با حروف مشابه فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح ۱٪ هستند (آزمون LSD).

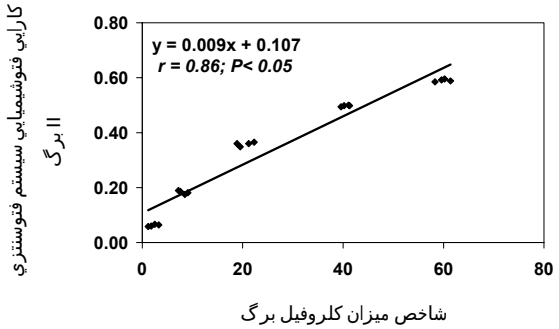


شکل ۴. همبستگی بین غلظت آهن برگ و کارایی فتوشیمیایی سیستم فتوسنتزی II برگ در گل رز

برگ‌های رز وجود داشت. منطقه اول، رگبرگ‌های سطح برگ و مناطق نزدیک به آنها بودند که از لحاظ کارایی در حد قابل قبولی بودند. اما منطقه دوم مربوط به بافت بین رگبرگی بود که دچار کاهش شدید کارایی فتوشیمیایی سیستم فتوسنتزی II شده بود. بالا بودن میزان کارایی فتوشیمیایی سیستم فتوسنتزی II در رگبرگ‌ها و مناطق نزدیک به آنها را می‌توان احتمالاً به بالا بودن میزان سیتوکینین آنها نسبت داد (۱۴).

با افزایش بیشتر تنش آهن در سطوح ۳ و ۱/۵ میکرومولار آهن، کلیه مناطق سطح برگ دچار کاهش شدید کارایی فتوشیمیایی سیستم فتوسنتزی II در تمامی پیکسل‌های سطح برگ شدند (شکل‌های ۳- ط و ۳- ی) که البته این امر در سطح ۱/۵ میکرومولار آهن بیشتر ملموس بود. به طوری که عوارض ناشی از کمبود آهن به صورت نقاط بافت مرده در سطح برگ‌های این تیمار پدیدار گشت (شکل ۳- س). در این دو سطح نیز کارایی فتوشیمیایی سیستم فتوسنتزی II برگ در رگبرگ‌ها بیش از مناطق بین رگبرگی بود. در این میان، همبستگی مثبت و معنی‌داری (r=۰/۸۵) بین غلظت آهن برگ و کارایی فتوشیمیایی سیستم فتوسنتزی II مشاهده شد (شکل ۴). آهن در فرایند فتوسنتز در واکنش‌های اکسیداسیون و احیا به واسطه حضور پروتئین‌های حاوی آن از قبیل سیتوکروم‌ها و فرودکسین‌ها نقش دارد. سیتوکروم‌ها از شناخته‌ترین پروتئین‌های هیم هستند که در واکنش‌های اکسیداسیون و احیا در کلروپلاست‌ها و میتوکندری‌ها نقش داشته و به عنوان گروه‌های دهنده-گیرنده الکترون در واکنش‌های فتوسنتز و تنفس شرکت می‌کنند. فرودکسین‌ها مهم‌ترین پروتئین‌های حاوی آهن- گوگرد هستند که در تولید ATP و NADPH در فتوسنتز به عنوان جابجا کننده الکترون نقش دارند. در اثر کمبود آهن، انتقال الکترون فتوسنتزی کاهش یافته که این امر موجب کاهش تثبیت دی اکسید کربن و کاهش غلظت نشاسته و کربوهیدرات‌های محلول در گیاهان در طی دوره رشد رویشی شده و از این طریق موجب کم شدن تولید ماده خشک گیاهی یا کاهش رشد سبزینه‌ای گیاه می‌شود (۱۴). بنابراین با توجه به موارد فوق، کمبود آهن می‌تواند منجر به ایجاد محدودیت در ظرفیت چرخه انتقال الکترون و به دنبال آن کاهش کارایی فتوشیمیایی سیستم فتوسنتزی II شود که این امر در تحقیقات مورالس و همکاران (۱۵ و ۱۶) در چغندرقند و بالاکریشنان و همکاران (۳) در انبه نیز ثابت شده است.

کاهش معنی‌دار کارایی فتوشیمیایی سیستم فتوسنتزی II برگ تحت شرایط کمبود آهن نشان می‌دهد که زنجیره انتقال الکترون فتوسنتزی نسبت به کمبود آهن بسیار حساس است. این امر در نهایت منجر به کاهش میزان تثبیت دی اکسید کربن در فرایند فتوسنتز می‌شود. وجود همبستگی مثبت و معنی‌دار (r=۰/۸۶) بین شاخص میزان کلروفیل برگ و کارایی فتوشیمیایی سیستم فتوسنتزی II (شکل ۵) حاکی از نقش بارز آهن در توسعه کلروفیل و به دنبال آن ایجاد ظرفیت کافی در چرخه انتقال الکترون برای دستیابی به کارایی فتوشیمیایی مطلوب در سیستم فتوسنتزی II برگ برای دستیابی به عملکرد مطلوب است. تحقیقات مورالس و همکاران (۱۵) در چغندرقند نیز نشان داد که کمبود آهن منجر به کاهش غلظت رنگدانه‌های فتوسنتزی از قبیل کلروفیل و کاروتنوئید در واحد سطح برگ شده که به دنبال آن میزان فتوسنتز برگ به دلیل کاهش تعداد واحدهای فتوسنتزی و هم‌چنین کاهش کارایی فتوشیمیایی سیستم فتوسنتزی II در واحدهای باقی‌مانده دچار کاهش شده است.



شکل ۵. همبستگی بین شاخص میزان کلروفیل برگ و کارایی فتوشیمیایی سیستم فتوسنتزی II برگ در گل رز

نتیجه‌گیری

در سال‌های اخیر روش تصویر برداری کلروفیل فلورسنس به طور وسیعی در بسیاری از گونه‌های گیاهی برای مطالعه رفتار اجزای فتوسنتزی نسبت به تنش‌های گیاهی مورد استفاده قرار گرفته است (۱۲). این روش به عنوان یک ابزار مفید و غیرمخرب قادر است اطلاعات کاملی را در مورد میزان و نوع پاسخ گیاهان به تنش‌های زیستی و غیرزیستی از قبیل کمبود و سمیت عناصر غذایی، تجمع عناصر سنگین، شوری، آلودگی هوا، سرما، گرما، مواد شیمیایی سمی، کمبود آب و بروز آفات و بیماری‌های گیاهی در طول دوره رشد، حمل و نقل و انبارداری ارائه دهد (۶). نتایج این تحقیق نشان داد روش تصویر برداری کلروفیل فلورسنس از قابلیت بسیار خوبی برای تشخیص زودهنگام کمبود آهن در گل رز برخوردار است. مزیت این روش نسبت به روش‌هایی که به صورت تک نقطه‌ای میزان کارایی فتوشیمیایی سیستم فتوسنتزی II را در سطح برگ اندازه-گیری می‌کنند این است که کارایی را در کل سطح برگ اندازه-گیری کرده و به تبع آن میانگین نهایی از دقت بسیار بالایی برخوردار است که این امر با تحقیقات انجام شده در این زمینه همخوانی دارد (۳، ۵، ۱۲ و ۱۵). سرعت عمل و دقت بالا از دیگر مزایای این روش است که کاربرد آن را در گلخانه‌های تجاری امکان پذیر می‌سازد. بر اساس نتایج این تحقیق، کاربرد مقدار مطلوب آهن (۲۴ میکرومولار) در محلول‌های غذایی مورد استفاده برای پرورش گل رز در شرایط آبکشت برای دستیابی به غلظت مطلوب آهن در برگ و به تبع آن شاخص میزان کلروفیل و کارایی فتوشیمیایی سیستم فتوسنتزی II برگ ضروری است. علاوه بر آن، تعیین شاخص میزان کلروفیل و کارایی فتوشیمیایی سیستم فتوسنتزی II برگ که به آسانی در گلخانه با استفاده از دستگاه‌های موجود قابل اندازه‌گیری هستند در کمک به تشخیص زودهنگام کمبود آهن و به دنبال آن جلوگیری از کاهش عملکرد می‌تواند بسیار مفید باشد.

منابع مورد استفاده

۱. امامی، ع. ۱۳۷۵. روش‌های تجزیه گیاه. نشریه فنی شماره ۹۸۲، انتشارات مؤسسه تحقیقات خاک و آب، تهران ، ۲۰۲ ص.

2. Baillon, F., X. Dalschaert, S. Grassi and F. Geiss. 1988. Spruce photosynthesis: Possibility of early damage diagnosis due to exposure to magnesium or potassium deficiency. Trees 2: 173-179.
3. Balakrishnan, K., C. Rajendran and G. Kulandaivelu. 2000. Differential responses of iron, magnesium, and zinc deficiency on pigment composition, nutrient content and photosynthetic activity in tropical fruit crops. Photosynthetica 38: 477-479.
4. Banuls, J.A., B. Quinones, E. Martin, E. Primo-Millo and F. Legaz. 2003. Effects of frequency of iron chelate supply by fertigation on chlorosis in citrus. J. Plant Nutr. 26: 1985-1996.
5. Chaerle, L., D. Hagenbeek, X. Vanrobaeys and D. Van Der Straeten. 2007. Early detection of nutrient and biotic stress in *Phaseolus vulgaris*. Int. J. Rem. Sens. 28: 3479-3492.
6. DeEll, J.R. and P.M.A. Toivonen. 2003. Practical Applications of Chlorophyll Fluorescence in Plant Biology. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
7. De Kreij, C., C. Sonneveld, M.G. Warmenhoven and N.A. Straver. 1992. Guide values for nutrient element contents of vegetables and flowers under glass. Report No. 15, Research Station for Floriculture and Greenhouse Vegetables, The Netherlands.
8. De Kreij, C., W. Voogt and R. Baas. 2003. Nutrient solutions and water quality for soilless cultures. Report No. 196,

Research Station for Floriculture and Greenhouse Vegetables, The Netherlands.
9. Erdal, I., M. Atilla Askin, Z. Kucukyumuk, F. Yildirim and A. Yildirim. 2008. Rootstock has an important role on iron nutrition of apple trees. World J. Agric. Sci. 4: 173-177.
10. Harbinson, J., U.V. Meeteren and R.V. Rensen. 2005. The use of imaging of the efficiency of photosystem II electron transport to visualize the effect of dry storage on the photosynthesis and stomata closure of cut rose stems. Acta Hort. 669: 57-62.
11. Hirai, M., K. Higuchi, K. Sasaki, H. Suzuki, T. Maruyama, T. Yoshiba and T. Tadano. 2007. Contribution of iron associated with high molecular weight substances to the maintenance of the SPAD value of young leaves of barley under iron deficient conditions. J. Soil Sci. Plant Nutr. 53: 612-620.
12. Jones, H.G. and P. Schofield. 2008. Thermal and other remote sensing of plant stress. Gen. Appl. Plant Physiol. 34: 19-32.
13. Langsdorf, G., C. Buschmann, M. Sowinska, F. Banbani, F. Mokry, F. Timmermann and H.K. Lichtenthaler. 2000. Multicolour fluorescence imaging of sugar beet leaves with different nitrogen status by flash lamp UV-excitation. Photosynthetica 38: 539-551.
14. Marschner, H. 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants. 2nd Ed., Academic Press, New York, USA.
15. Morales, F., A. Abadía and J. Abadía. 1998. Photosynthesis, quenching of chlorophyll fluorescence and thermal energy dissipation in iron-deficient sugar beet leaves. Aust. J. Plant Physiol. 25: 403-412.
16. Morales, F., A. Abadía and J. Abadía. 1991. Chlorophyll fluorescence and photon yield of oxygen evolution in iron deficient sugar beet (*Beta vulgaris* L.) leaves. Plant Physiol. 97: 886-893.
17. Perreault, F., A. Oukarroum, L. Pirastru, L. Sirois, W.G. Matias and R. Popovic. 2010. Evaluation of copper oxide nanoparticles toxicity using chlorophyll a fluorescence imaging in L*emna gibba*. J. Bot. 2010: 1-9.
18. Taiz, L. and E. Zeiger. 2002. Plant Physiology. 3rd Ed., Sinauer Associates, Inc., Sunderland, USA.
19. Terry, N. 1980. Limiting factors in photosynthesis. I. Use of iron stress to control photochemical capacity *in vivo*. Plant Physiol. 65: 114-120.