

## Investigation the Effects of Salinity and Nitric Oxide on the Changes of Chlorophyll a Fluorescence in Oat (*Avena sativa* L.) Plant Probed by JIP-Test

Mojgan Khalilpoor and Mojtaba Jafarinia \*

Biology Department, Science College, Islamic Azad University, Marvdash Branch, Marvdasht, Iran

### Abstract

Salinity is one of the most important abiotic stresses that affect plant growth and development. In order to study the effects of salinity stress on oat (*Avena sativa* L.), salinity treatments including 0 (control), 50, 100, and 150 mM sodium chloride and nitric oxide in form of sodium nitroprusside in three concentrations (0, 25 and 50  $\mu$ M) were applied. The changes of chlorophyll  $\alpha$  fluorescence were analyzed using the JIP-test. Results of this experiment showed that concentrations of 50 and 100mM of Nacl did not have a remarkable effects on chloropyll a fluorescence. Significant increase in chlorophyll a fluorescence was observed in highest salinity (150 mM of Nacl). Furthermore, results of this study also revealed that the application of nitric oxide van alleviates the harmful effects of salinity on photosynthetic electron transport chain where application of sodium nitroprusside in concentration of 50 mM, led to decrease in chlorophyll a fluorescence intensity compared to non-treated plant under salinity stress.

**Keywords:** Chlorophyll a, Fluorescence, Oat, Nitric Oxide, Salinity

\* Corresponding Author: Jaafarinia@yahoo.com

## بررسی تأثیرات تنش شوری و نیتریک اکساید بر تغییرات فلورسانس کلروفیل a در گیاه جو دوسر (*Avena sativa*) با روش JIP - تست

مژگان خلیل‌پور و مجتبی جعفری‌نیا \*

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مرودشت، مرودشت، ایران

### چکیده

تنش شوری می‌تواند بر رشد و نمو بسیاری از گیاهان تأثیرگذار باشد. جو دوسر (*Avena sativa* L.) از جمله گیاهانی است که علاوه بر استفادهٔ علوفه‌ای، خواص دارویی نیز دارد. در پژوهش حاضر، آثار تنش شوری و نیتریک اکساید در گیاه جو دوسر، به ترتیب با غلظت‌های صفر (شاهد)، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار سدیم کلرید و سه غلظت صفر، ۲۵ و ۵۰ میکرومولار نیتریک اکساید به شکل سدیم نیتروپروساید بررسی شد. روند تغییرات فلورسانس کلروفیل a در این گیاه نیز با روش JIP-تست اندازه‌گیری شد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که با اعمال تنش شوری در غلظت‌های اندک (۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار) تغییرات معنی‌داری در میزان فلورسانس کلروفیل a ایجاد نشد؛ در حالی که در بیشترین غلظت شوری (۱۵۰ میلی‌مولار)، افزایش میزان فلورسانس کلروفیل a و تغییر در مراحل مختلف زنجیره انتقال الکترون فتوسنتزی مشاهده شد. همچنین نتایج این بررسی نشان داد که استفاده از نیتریک اکساید به ویژه در غلظت ۵۰ میکرومولار می‌تواند آسیب‌های تنش شوری را به زنجیره انتقال الکترون فتوسنتزی در گیاه جو دوسر کاهش دهد.

**واژه‌های کلیدی:** جو دوسر، شوری، فلورسانس کلروفیل a، نیتریک اکساید.

### مقدمه

ویژگی یونی و نبودن تعادل بین عناصر غذایی یا مجموعه‌ای از این عوامل ایجاد شود (Khan et al., 2009). نبودن تعادل بین یون‌های سلولی در نتیجه شوری، به هم خوردن توازن متابولیک و در پی آن تولید گونه‌های فعال اکسیژن و نیز تنش اکسیداتیو را در

تنش شوری یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیرزیستی است که می‌تواند بر رشد و نمو گیاهان اثر بگذارد. آثار منفی تنش شوری بر گیاهان ممکن است به دلیل کاهش پتانسیل اسمزی محلول خاک (تنش اسمزی)، اثرهای

\* نگارنده مسؤول: نشانی پست الکترونیک: Jaafarina@yahoo.com، شماره تماس: ۰۷۱۴۳۳۱۱۱۵۶

فیزیولوژیک ترجمه کرد که جریان انرژی و الکترون در زنجیره انتقال الکترون و عملکرد اجزاء آن را متمایز می‌کند. روش JIP-test در حال حاضر کاربرد بسیاری در بررسی رفتار دستگاه فتوسنتزی به‌ویژه زنجیره انتقال الکترون فتوسنتزی در شرایط مختلف محیطی دارد. سدیم نیتروپروساید ترکیب غیر آلی و محلول در آب و اتانول است و نوعی رهاکننده نیتریک اکسید شناخته می‌شود (Li *et al.*, 2008 ; Zheng *et al.*, 2009). نیتریک اکسید نقش دوگانه دارد. این ماده می‌تواند برای سلول‌های گیاهی سمی باشد یا وظایف مهم حفاظتی، تنظیمی و سیگنالی را در آن‌ها انجام دهد (Wieczorek *et al.*, 2006) که به غلظت آن، نوع گیاه، بافت گیاهی، سن گیاه و نوع تنش وارده به گیاه بستگی دارد (Del Rio *et al.*, 2004). نیتریک اکسید در تحریک جوانه‌زنی دانه، تقسیم سلولی، بسته‌شدن روزنه‌ها و افزایش میزان کلروفیل دخالت دارد و با واکنش در برابر گونه‌های فعال اکسیژن، آسیب ناشی از آن‌ها را کاهش می‌دهد (Zheng *et al.*, 2009). همچنین شتاب‌دادن به سنتز پروتئین، افزایش سرعت فتوسنتز، افزایش آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز، حفظ محتوای نسبی آب و کاهش اتلاف آب از برگ‌ها را موجب می‌شود (Tian and Lei, 2007).

جو دوسر یا یولاف (*Avena sativa* L.) گیاهی علفی و یک‌ساله از خانواده Poaceae (گندمیان) است. بیشترین مصرف این گیاه برای تامین علوفه نشخوارکنندگان است. همچنین دانه‌های آن خواص دارویی فراوانی دارد از جمله کاهش‌دهنده کلسترول، ضد التهاب، آرام‌بخش و ضد سرطان است (Kumar *et al.*, 2014). هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی اثر

گیاهان سبب می‌شود (Sabbagh *et al.*, 2014). این مواد آسیب به لیپیدهای غشا با پراکسیداسیون آن‌ها، تجزیه پروتئین‌ها، غیرفعال‌شدن آنزیم‌ها، جهش در DNA و اختلال در رنگدانه‌های فتوسنتزی را سبب می‌شوند و در نهایت ممکن است به مرگ گیاه منجر شوند (Del Rio *et al.*, 2003). یکی از جایگاه‌های مهم تاثیر تنش شوری در گیاه، دستگاه فتوسنتزی است. تنش شوری به کاهش کارایی فتوسیستم II و انتقال الکترون فتوسنتزی در گیاه منجر می‌شود و در نهایت، تولید ATP و NADPH را کاهش می‌دهد (Lopez-Climent *et al.*, 2008). افت ظرفیت فتوسنتزی ممکن است به علت کاهش در محتوای کلروفیل نیز باشد که مهم‌ترین علت آن به‌ویژه در تنش شدید، کاهش فعالیت آنزیم‌های موثر در سنتز کلروفیل (ALA dehydrogenase) است (Vieira Santos, 2004). تنش شوری کاهش میزان فعالیت کمپلکس تجزیه‌کننده آب را در زنجیره انتقال الکترون فتوسنتزی سبب می‌شود؛ در نتیجه به کاهش میزان انتقال الکترون به فتوفایتین (Pheo)، پلاستوکینون A (Q<sub>A</sub>) و B (Q<sub>B</sub>) و سایر پذیرنده‌های الکترون در زنجیره انتقال و در نهایت، کاهش فعالیت فتوسنتزی منجر می‌شود (Fricke and Peters, 2002). همچنین تنش می‌تواند تغییر ویژگی‌ها و میزان فلورسانس کلروفیل a را موجب شود (Strauss *et al.*, 2006). تحلیل تغییرات کینتیک فلورسانس کلروفیل a اطلاعات مهمی را درباره ساختار و عملکرد دستگاه فتوسنتزی گیاه فراهم می‌کند (Strasser *et al.*, 2000). با روش JIP-test می‌توان اطلاعات ابتدایی حاصل از اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل a را با معادلات ریاضی به اصطلاحات

پس از ۳۰ دقیقه تاریکی، نمونه‌ها به مدت یک ثانیه با دستگاه PEA (مدل Handy، شرکت Hansatech، انگلستان) و با شدت ۳۰۰۰ میکرومول فوتون بر مترمربع بر ثانیه نوردهی شدند. اطلاعات اولیه فلورسانس کلروفیل a در نمونه‌های شاهد و تحت تنش با دستگاه ثبت شد. در مرحله بعد با انتقال داده‌ها به کامپیوتر، با روش JIP-test، اطلاعات اولیه فلورسانس کلروفیل a با نرم افزارهای BioLyzer HP4 و PEAPlus به شاخص‌های متفاوت بیوفیزیکی تبدیل شد. شاخص‌های استفاده شده در پژوهش حاضر و توصیف آن‌ها در جدول ۱ ارائه شده است. همچنین برای رسم نمودارهای نرمال شده بین مراحل مختلف موجود روی نمودار القایی فلورسانس کلروفیل a از رابطه ۱ استفاده شد.

$$W_{ox} = (F_t - F_0) / (F_x - F_0)$$

$$\Delta W_{ox} = W_{ox}(\text{treatment}) - W_{ox}(\text{control}) \quad \text{رابطه ۱:}$$

در این رابطه،  $W_{ox}$  برابر با مقادیر نرمال شده فلورسانس بین مرحله O تا  $X$  (J, I or P)،  $F_0$  برابر با حداقل مقدار فلورسانس،  $F_t$  برابر با مقدار فلورسانس در زمان‌های متفاوت بین دو مرحله مد نظر و  $F_x$  برابر با مقدار فلورسانس در مرحله J، I یا P است. نمودارها نیز با نرم افزار Excel 2003 رسم شد.

جدول ۱- شاخص‌های اولیه حاصل از اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل a و آزمون JIP تست

شاخص	توصیف شاخص
$F_0$	شدت فلورسانس در $50 \mu s$ (مرحله O)
$F_K$	شدت فلورسانس در $300 \mu s$ (مرحله K)
$F_J$	شدت فلورسانس در $2 ms$ (مرحله J)
$F_I$	شدت فلورسانس در $30 ms$ (مرحله I)
$F_M$	بیشینه شدت فلورسانس (مرحله P)
$F_V$	فلورسانس متغیر بیشینه ( $F_V = F_M - F_0$ )

تنش شوری و نیتریک اکساید بر زنجیره انتقال الکترون فتوسنتزی گیاه جو دوسر با تحلیل تغییرات فلورسانس کلروفیل a است.

## مواد و روش‌ها

**منابع تهیه بذر، نحوه آزمایش و طرح آزمایش:**  
برای انجام این پژوهش، بذرهای گیاه *A. sativa* از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه و از روش کشت گیاهان در خاک استفاده شد. ۱۵ ظرف کشت پلاستیکی به ابعاد  $33 \times 61$  سانتی متر متشکل از ۷۰ خانه با ابعاد  $4 \times 4 \times 4$  سانتی متر تهیه و در هر خانه، یک بذر کاشته شد. حدود یک ماه پس از آبیاری و در مرحله سه‌برگی گیاهچه‌ها، تیمارهای شوری و سدیم نیتروپروساید اعمال شدند. برای انجام این آزمایش از طرح فاکتوریل و در قالب طرح تصادفی استفاده شد. بدین منظور، گیاهان با چهار غلظت شوری متفاوت (۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار سدیم کلرید) و سه غلظت سدیم نیتروپروساید (صفر، ۲۵ و ۵۰ میکرومولار) تیمار شدند؛ سپس به مدت یک ماه در شرایط تنش شوری باقی ماندند. برای اعمال تنش شوری، غلظت‌های شوری مد نظر، در مدت یک هفته به صورت تدریجی اضافه شد. سدیم نیتروپروساید در مدت اعمال تنش شوری، هر سه روز یک‌بار به صورت محلول پاشی روی برگ‌ها اعمال شد. پس از یک ماه و هنگامی که گیاهان آثار تنش شوری را نشان دادند، میزان فلورسانس کلروفیل a در برگ گیاهان اندازه‌گیری شد.

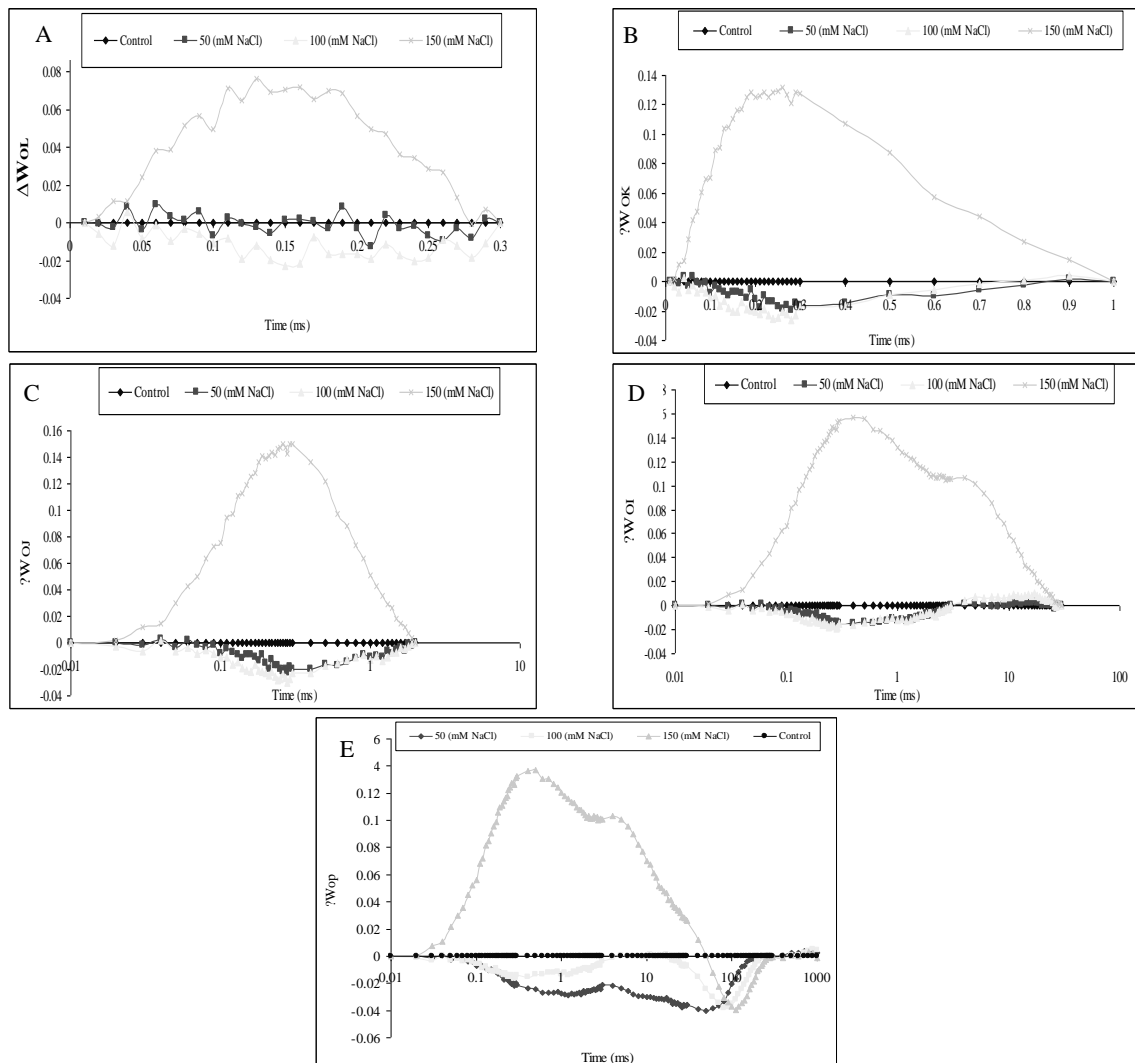
**نحوه اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل a:** برای اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل a گیره‌های ویژه ای به جوان‌ترین برگ‌های توسعه یافته در هر گیاه متصل شدند.

## نتایج

**تأثیر غلظت‌های مختلف شوری در تغییرات فلورسانس نسبی کلروفیل a در گیاه جو دو سر:**

شکل ۱، نتایج مربوط به تأثیر غلظت‌های متفاوت شوری را در تغییرات فلورسانس نسبی کلروفیل a در حدواسط مراحل مختلف نمودار کینتیک فلورسانس نشان می‌دهد. براساس این نتایج، در حدواسط مراحل OL، تیمار ۱۵۰ میلی‌مولار شوری افزایش معنی‌دار فلورسانس نسبی کلروفیل a را نسبت به شاهد سبب شده است. حدود ۰/۱۵ میلی‌ثانیه پس از نوردهی، نقطه اوجی در نمودار پدیدار شده است که به L-band معروف است و وجود آن نشان‌دهنده به‌وجود آمدن اختلالاتی در پیوستگی کلروفیل‌های آنتن با مراکز واکنش و با همدیگر و نشان‌دهنده انتقال ناکارآمد انرژی بین کلروفیل‌های آنتن و به‌دام‌اندازی انرژی در آنتن‌های جمع‌کننده نور در فتوسیستم II است. در نمودار مربوط به مرحله OK نیز نقطه اوجی در حدود ۰/۳ میلی‌ثانیه پس از نوردهی مشاهده می‌شود که به K-band معروف است و زمانی شکل می‌گیرد که در کمپلکس تجزیه‌کننده آب مشکلی ایجاد شده باشد. براساس نتایج شکل ۱، تیمارهای شوری ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار تأثیری بر فعالیت کمپلکس تجزیه‌کننده آب نداشته است؛ اما با افزایش شوری به غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار، اختلالاتی در این کمپلکس به‌وجود آمده است که نتیجه آن به افزایش فلورسانس نسبی کلروفیل a در ۰/۳ میلی‌ثانیه پس از نوردهی و

نمایان شدن باندهای K منجر شده است. در حدواسط مرحله OJ که تا ۲ میلی‌ثانیه را پس از نوردهی در بر می‌گیرد، همان‌گونه که در شکل ۱ نشان داده شده است، تیمار شوری ۱۵۰ میلی‌مولار افزایش فلورسانس نسبی کلروفیل a را حدود ۰/۵ میلی‌ثانیه پس از نوردهی موجب شده است. افزایش فلورسانس نسبی در این مرحله، نشان‌دهنده وجود مشکل در رسیدن الکترون‌ها از مراکز واکنش به نخستین گیرنده الکترون یعنی  $Q_A$  و تجمع  $Q_A$  در حالت احیا است که ممکن است به علت اختلال در انتقال الکترون از  $Q_A$  به  $Q_B$ ، ایجاد شده باشد. با توجه به نتایج شکل ۲، در مرحله OI، نقطه اوج جدیدی در نمودار فلورسانس نسبی کلروفیل، پس از ۲ میلی‌ثانیه نوردهی مشاهده می‌شود که به J-band معروف است و نشان‌دهنده افت عملکرد ناقلین الکترون در حدواسط  $Q_B$  تا ابتدای فتوسیستم I است. براساس نتایج این نمودار، تیمار ۱۵۰ میلی‌مولار شوری، افزایش فلورسانس نسبی کلروفیل را در این مرحله سبب شده است و بیان‌کننده آن است که شوری به ایجاد اختلال در انتقال الکترون بین ناقلین زنجیره، پس از  $Q_B$  تا رسیدن الکترون‌ها به فتوسیستم I شده است. در نمودار مربوط به مرحله OP مشاهده می‌شود که تأثیر تیمارهای شدید شوری بر عملکرد فتوسیستم I نیز موثر بوده است و سبب کاهش عملکرد انتقال الکترون تا رسیدن به فردوکسین NADP<sup>+</sup> ردوکتاز و احیای NADPH به NADP<sup>+</sup> شده است.



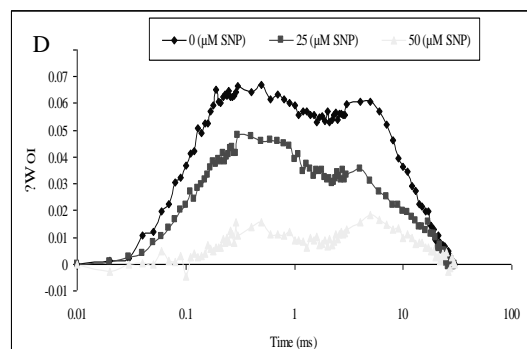
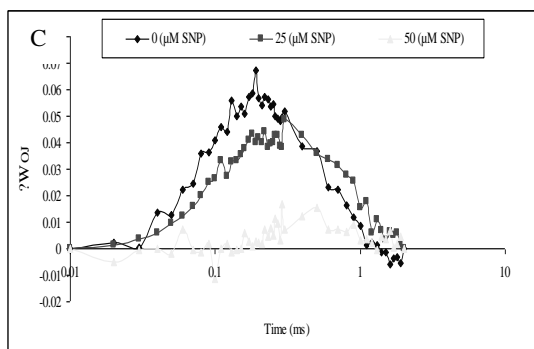
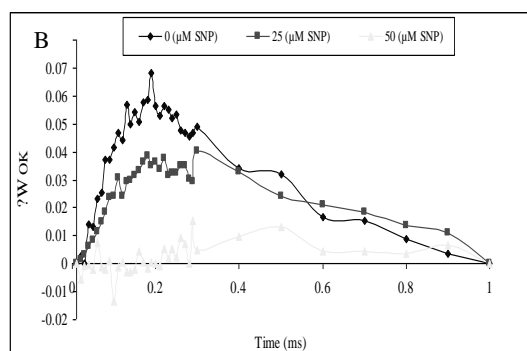
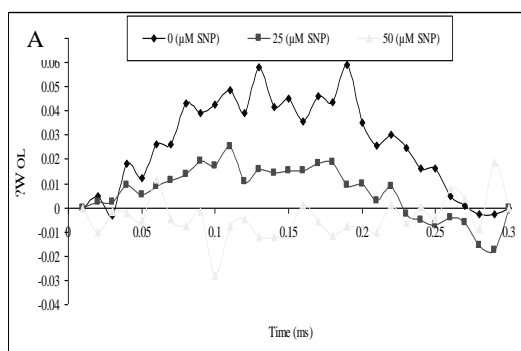
شکل ۱- بررسی تأثیر غلظت‌های متفاوت شوری بر میزان تغییرات فلورسانس نسبی کلروفیل a در گیاه جو دوسر در حواسط مراحل مختلف نمودار کینتیک فلورسانس کلروفیل a: (A) مرحله OL، (B) مرحله OK، (C) مرحله OJ، (D) مرحله OI، (E) مرحله OP

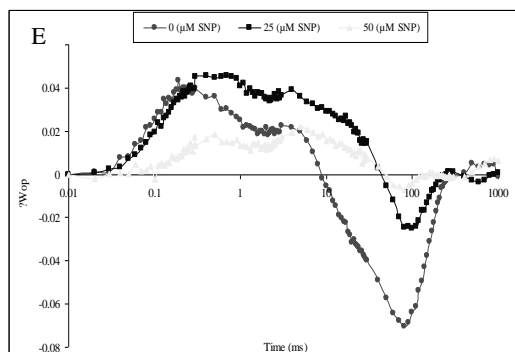
است؛ اما در تیمارهای حاوی ۲۵ میکرومولار سدیم نیتروپروساید، فلورسانس نسبی، کاهش یافته و در تیمار ۵۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید با کاهش بیشتر فلورسانس، باند L شکل نگرفته است که خود نشان‌دهنده تأثیر مثبت سدیم نیتروپروساید به‌ویژه در مقدار ۵۰ میکرومولار، در افزایش کارایی انتقال انرژی بین کلروفیل‌های آنتن و مراکز واکنش در کمپلکس‌های جمع‌کننده نور در فتوسیستم II است. در نمودار مربوط

تأثیر غلظت‌های مختلف سدیم نیتروپروساید بر تغییرات فلورسانس نسبی کلروفیل a در گیاه جو دوسر: شکل ۲، تأثیر غلظت‌های متفاوت سدیم نیتروپروساید را بر تغییرات فلورسانس کلروفیل a در گیاه جو دوسر و در تنش شوری نشان می‌دهد. در مرحله OL، تیمار بدون سدیم نیتروپروساید بیشترین میزان فلورسانس نسبی را در کلروفیل a ایجاد کرده است؛ به‌طوری‌که شکل‌گیری L-band در این تیمار مشهود

کاهش انتقال الکترون را از مراکز واکنش به نخستین گیرنده الکترون ( $Q_A$ ) سبب شده است؛ اما استفاده از سدیم نیتروپروساید در غلظت ۵۰ میکرومولار، کارایی انتقال الکترون را بین مراکز واکنش و  $Q_A$  افزایش داده است و به فرونشاندن فلورسانس کلرفیل a منجر شده است. همچنین نتایج مراحل OI و OP نیز در شکل ۲ تایید می‌کند که استفاده از سدیم نیتروپروساید در غلظت ۵۰ میکرومولار، تاثیر بهتری نسبت به تیمار ۲۵ میکرومولار و استفاده از سدیم نیتروپروساید، تاثیر بهتری در مقایسه با استفاده نکردن از سدیم نیتروپروساید هنگام انتقال الکترون بین ناقلین زنجیره انتقال الکترون فتوسنتزی تا رسیدن الکترون‌ها به دریافت‌کننده نهایی الکترون در فتوسیستم I داشته است.

به مرحله OK در شکل ۲ نیز نتایج، بیان‌کننده آن است که تیمار بدون سدیم نیتروپروساید، میزان بیشتری از فلورسانس نسبی را نشان داده است که نشان‌دهنده آسیب به کمپلکس تجزیه‌کننده آب در تنش شوری و هنگام استفاده نکردن از سدیم نیتروپروساید است. تیمار کردن گیاه جو دوسر با سدیم نیتروپروساید در مقادیر ۲۵ و ۵۰ میکرومولار کاهش فلورسانس را سبب شده است که به دلیل بهبود عملکرد کمپلکس تجزیه‌کننده آب، هنگام استفاده از سدیم نیتروپروساید به‌ویژه در غلظت ۵۰ میکرومولار بوده است. نتایج مرحله OJ در شکل ۲ نیز ضمن تایید آثار بهبودبخش سدیم نیتروپروساید در فعالیت فتوسیستم II، نشان می‌دهد که هنگام استفاده نکردن از سدیم نیتروپروساید، تنش شوری





شکل ۲- بررسی تأثیر غلظت های متفاوت سدیم نیتروپروساید بر میزان تغییرات فلورسانس نسبی کلروفیل a در گیاه جو دوسر در تنش شوری در حدواسط مراحل مختلف نمودار کینتیک فلورسانس کلروفیل a: (A) مرحله OL، (B) مرحله OK، (C) مرحله OJ، (D) مرحله OI، (E) مرحله OP

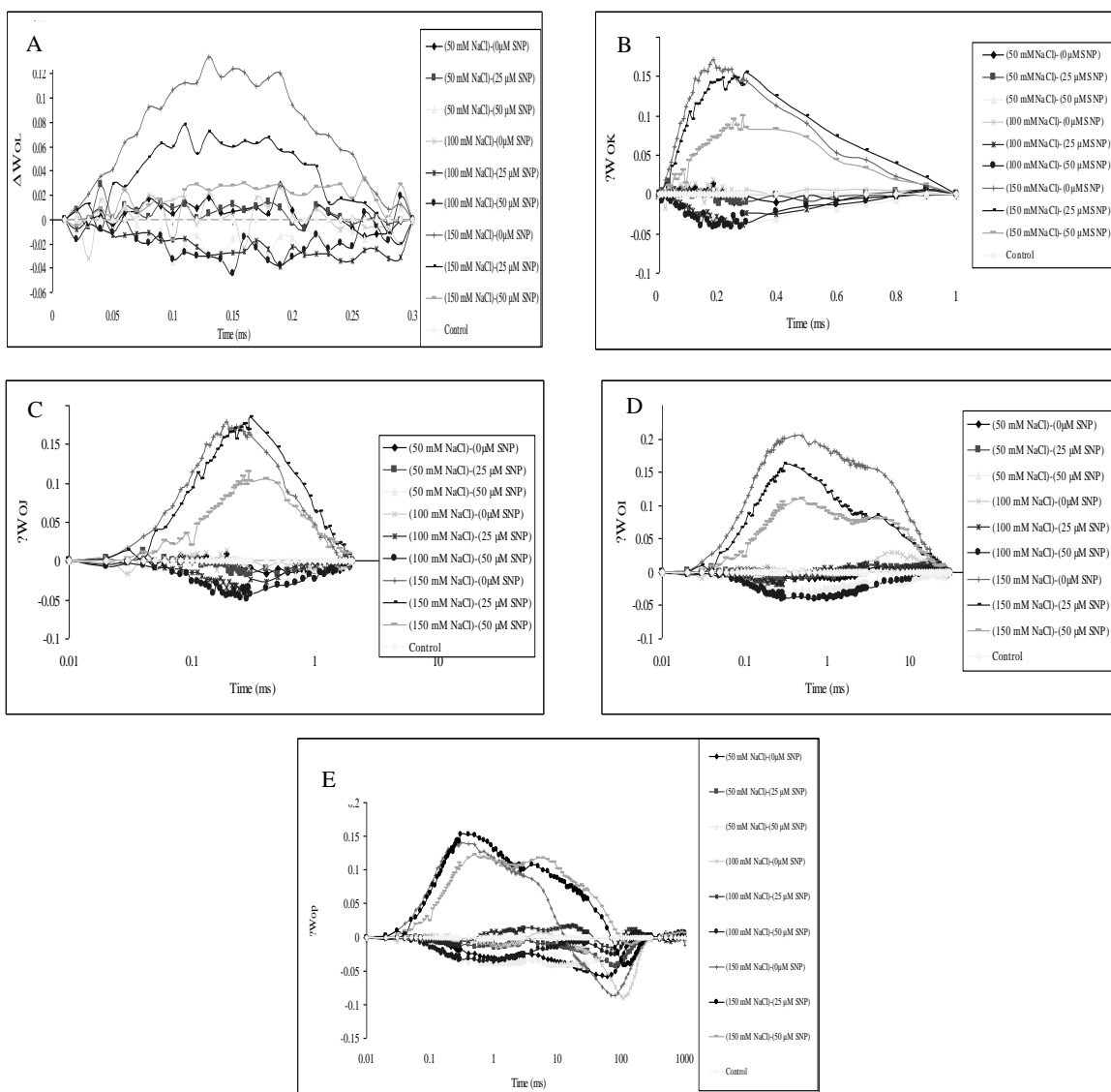
مربوط به OK نیز باند K در تیمار ۱۵۰ میلی مولار شوری مشاهده و بیشترین مقدار آسیب به کمپلکس تجزیه کننده آب، در تیمار ۱۵۰ میلی مولار شوری و بدون سدیم نیتروپروساید دیده شد. استفاده از ۲۵ میکرومولار سدیم نیتروپروساید نیز تأثیر معنی داری در فعالیت کمپلکس تجزیه کننده آب نسبت به استفاده نکردن از سدیم نیتروپروساید در این تیمار شوری نداشته است؛ اما استفاده از غلظت ۵۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید به طور متمایزی کاهش میزان فلورسانس کلروفیل a یا آسیب به کمپلکس تجزیه کننده آب را سبب شد. نتایج مربوط به مرحله OJ نمودار نیز نشان می دهد که شوری ۱۵۰ میلی مولار، میزان فلورسانس نسبی کلروفیل a هنگام انتقال الکترون ها از مراکز واکنش به  $Q_A$  را افزایش داده است و استفاده از سدیم نیتروپروساید، میزان فلورسانس کلروفیل a را کاسته است. در مرحله OI نیز اثر افزایشی فلورسانس کلروفیل a هنگام اعمال ۱۵۰ میلی مولار سدیم کلرید دیده شد و آثار بهبودبخش سدیم نیتروپروساید نیز به ویژه در غلظت ۵۰ میکرومولار مشاهده می شود که کاهش میزان

**تأثیر غلظت های مختلف شوری و سدیم نیتروپروساید در تغییرات فلورسانس نسبی کلروفیل a در گیاه جو دوسر:** نتایج آثار غلظت های متفاوت شوری و سدیم نیتروپروساید بر تغییرات فلورسانس نسبی کلروفیل a در گیاه جو دوسر نشان داد که در مرحله OL، بیشترین میزان فلورسانس کلروفیل a، در تیمار ۱۵۰ میلی مولار شوری و بدون استفاده از سدیم نیتروپروساید دیده شده است (شکل ۳). با سدیم نیتروپروساید از میزان فلورسانس کلروفیل a کاهش یافته است؛ به طوری که در غلظت ۵۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید، فلورسانس کلروفیل a به کمترین میزان خود در تیمار ۱۵۰ میلی مولار شوری رسیده است. سایر تیمارهای شوری به شکل گیری باند L منجر نشده اند. بنابراین شوری در غلظت های ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار تأثیری در جذب نور و انتقال انرژی بین کلروفیل های آنتن و مراکز واکنش نداشته است. در تیمار ۱۵۰ میلی مولار شوری با غلظت ۵۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید نیز اثر منفی شوری بر این قسمت از فتوسیستم II کاهش یافته است و آثار بهبودبخش سدیم نیتروپروساید مشاهده شده است. در نمودار



استفاده از سدیم نیتروپروساید بیشتر، افزایش در میزان فلورسانس کلروفیل a کمتر بوده است که آثار بهبودبخش استفاده از این ماده را به‌ویژه در غلظت ۵۰ میکرومولار در این قسمت از زنجیره نیز تایید می‌کند.

فلورسانس کلروفیل a را سبب شده است. همچنین نتایج مرحله OP نمودار نیز تاثیر گذاری غلظت زیاد شوری را در تغییرات فلورسانس کلروفیل a در طول زنجیره تایید می‌کند و کاهش انتقال الکترون و فرایندهای فتوشیمیایی را در فوتوسیستم I نیز بر اثر غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار سدیم کلرید نشان می‌دهد. هرچه میزان



شکل ۳- بررسی تاثیر غلظت های متفاوت شوری و سدیم نیتروپروساید در میزان تغییرات فلورسانس نسبی کلروفیل a در گیاه جو دوسر در حدواسط مراحل نمودار کینتیک فلورسانس کلروفیل a: (A) مرحله OL، (B) مرحله OK، (C) مرحله OJ، (D)، (E) مرحله OP، (E) مرحله OI.

## بحث

نتایج نشان داد که تنش شوری در بیشترین غلظت (۱۵۰ میلی مولار) تغییرات متمایزی در مراحل مختلف نمودار کینتیک فلورسانس کلروفیل a ایجاد کرده است و استفاده از سدیم نیتروپروساید هم توانسته است در مراحل مختلف این نمودار، تعدیل آثار شوری را موجب شود. همچنین کاهش فلورسانس نسبی کلروفیل a در بیشتر مراحل زنجیره، بر اثر استفاده از سدیم نیتروپروساید مشاهده شد. همان طور که نتایج نمودارهای شکل ۱ نشان داد، تنش شوری ایجاد باند L را در غلظت‌های زیاد شوری سبب شد که وجود آن نشان دهنده به وجود آمدن اختلالاتی در پیوستگی کلروفیل‌های آنتن با مراکز واکنش و با همدیگر است و بیان کننده انتقال ناکارآمد انرژی بین کلروفیل‌های آنتن و به دام‌اندازی انرژی در آنتن‌های جمع کننده نور در فتوسیستم II است. تحقیقات نشان داده اند که مراکز واکنش فتوستتزی به سه شکل  $\alpha$ ،  $\beta$  و  $\gamma$  وجود دارند (Mehta et al., 2010). مراکز واکنش  $\alpha$  از جنبه ویژگی های فتوشیمیایی فعال هستند و مراکز  $\beta$  گرچه فعال هستند، ضریب ارتباط کمتری با سایر مراکز واکنش و کلروفیل‌های آنتن دارند. مراکز نوع  $\gamma$  غیرفعال هستند و کلروفیل‌های موجود در این مراکز نمی‌توانند انرژی را به خوبی دریافت و به سایر مراکز واکنش انتقال دهند؛ به همین دلیل مقدار انرژی به دام افتاده کاهش می‌یابد و افزایش فلورسانس در مرحله OL مشاهده و باند L پدیدار می‌شود (Mehta et al., 2010). تحقیقات مختلف نشان داده‌اند که بر اثر تنش شوری از میزان مراکز  $\alpha$  کاسته می‌شود و میزان مراکز  $\beta$  و  $\gamma$  افزایش می‌یابد. Mehta و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که در گیاه گندم با اعمال تنش شوری ۱ مولار،

میزان مراکز  $\alpha$  از ۷۰٪ در نمونه‌های شاهد به ۳۸٪ کاهش یافته است. در پژوهش Mathur و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که تنش گرما نیز کاهش مراکز  $\alpha$  و افزایش مراکز  $\beta$  و  $\gamma$  را در گیاه گندم سبب شد. اختلال در کمپلکس تجزیه کننده آب بروز باند K را حدود ۰/۳ میلی ثانیه پس از نوردهی باعث می‌شود. در بررسی حاضر، این باند در تیمار شوری ۱۵۰ میلی مولار ایجاد شده است (شکل ۱) که علت آن ممکن است جدا شدن منگنز از کمپلکس تجزیه کننده آب و غیرفعال شدن کمپلکس و در نتیجه ممانعت از انتقال الکترون از این کمپلکس به پذیرنده بعدی الکترون (YZ)، بر اثر تنش باشد. همچنین آسیب‌های اکسیداتیو حاصل از تنش، به پروتئین‌های سازنده این کمپلکس ممکن است کاهش فعالیت کمپلکس تجزیه کننده آب را در شرایط تنش سبب شود (Ait et al., 2006). نتایج پژوهش Kalaji و همکاران (۲۰۱۰) کاهش فعالیت کمپلکس تجزیه کننده آب را در تنش شوری، در گیاه جو تایید می‌کند. این کاهش می‌تواند اختلال در انتقال الکترون از مراکز واکنش به نخستین گیرنده یعنی Q<sub>A</sub> را در پی داشته باشد. Misra و همکاران در سال ۲۰۰۱ با پژوهش بر گیاه کلزا پی بردند که میزان انتقال الکترون از P<sub>680</sub> به Q<sub>A</sub> بر اثر تنش شوری کاهش می‌یابد. به دنبال کاهش انتقال الکترون به Q<sub>A</sub>، اختلالاتی در انتقال الکترون از Q<sub>A</sub> به Q<sub>B</sub> و سپس به ناقلین بعدی زنجیره تا سیتوکروم b<sub>6</sub>f و پلاستوکینون‌ها و در نهایت، پذیرنده‌های نهایی الکترون در سمت فتوسیستم I (NADP<sup>+</sup> و Fd) مشاهده می‌شود. Jafarinia و Shariati (۲۰۱۲) با بررسی اثر تنش شوری بر گیاه کلزا، به کاهش انتقال الکترون از Q<sub>A</sub> به Q<sub>B</sub> پی بردند. از دیگر دلایل این اختلال می‌توان به کاهش

پس از  $Q_B$  پی بردند. دلیل دیگر رفع اختلال در انتقال الکترون به ناقلین و دریافت‌کننده‌های نهایی در فتوسیستم I در نتیجه استفاده از سدیم نیتروپروساید، ممکن است افزایش پذیرنده‌های الکترون به دلیل نقش آن در مهار اکسیدان‌ها و جلوگیری از اثر آن‌ها بر غشاهای زیستی باشد (Chen et al., 2013). همچنین Yang و همکاران (۲۰۱۲) با بررسی اثر متقابل آلومینیم و سدیم نیتروپروساید بر پوملو به افزایش احیای آخرین پذیرنده الکترون در فتوسیستم I اشاره کرده‌اند.

### جمع‌بندی

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که غلظت‌های بیشتر از ۱۰۰ میلی‌مولار شوری، در مجموع، افزایش میزان فلورسانس کلروفیل a را در گیاه جو دو سر سبب می‌شود. این تغییرات به علت تاثیر شوری بر کلروفیل‌های آنتن در مراکز واکنش و کاهش میزان پیوستگی و به دام‌اندازی انرژی در این مراکز اتفاق می‌افتد و به دنبال آسیب‌های وارد شده به کمپلکس تجزیه‌کننده آب و ناقلین الکترون، جریان انتقال الکترون در زنجیره کاهش می‌یابد. همچنین نتایج نشان داد که اگرچه استفاده از ماده سدیم نیتروپروساید آثار تنش شوری را به طور کامل از بین نمی‌برد، به طور چشمگیری از آثار منفی تنش شوری در قسمت‌های مختلف زنجیره انتقال الکترون فتوسنتزی به ویژه در غلظت ۵۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید می‌کاهد.

### سپاسگزاری

نگارندگان از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت برای تامین مالی پروژه سپاسگزاری می‌کنند.

میزان پذیرنده‌های الکترون ( $Q_A$ ،  $Q_B$  و پلاستوکینون‌ها) در تنش شوری اشاره کرد. Mehta و همکاران (۲۰۱۰) با بررسی گیاه گندم دریافتند که تنش شوری میزان پذیرنده‌های الکترون را کاهش می‌دهد. مصرف سدیم نیتروپروساید، میزان فلورسانس کلروفیل ایجاد شده را به مقدار زیادی کاهش می‌دهد که علت آن ممکن است حفظ محتوای کلروفیل به دلیل افزایش مقاومت سلول‌ها به تنش اکسیداتیو و در نتیجه، افزایش کارایی انتقال انرژی بین کلروفیل‌های آنتن و مراکز واکنش در فتوسیستم II باشد (Neill et al., 2003). همچنین این ماده با افزایش مقاومت به تنش، بر فعالیت کمپلکس تجزیه‌کننده آب اثر مثبت داشته است (Li et al., 2008). Ding و همکاران (۲۰۰۸) نیز با بررسی اثر سدیم نیتروپروساید بر گیاه کلزا در تنش کمبود آهن دریافتند که میزان فعالیت کمپلکس تجزیه‌کننده آب هنگام استفاده از سدیم نیتروپروساید افزایش می‌یابد. این افزایش در حضور سدیم نیتروپروساید می‌تواند بهبود انتقال الکترون را به باقیمانده تیروزین در پروتئین  $D_1$  در مراکز واکنش فتوسیستم II سبب شود (Kim and Lee, 2005)؛ در نتیجه، بهبود انتقال الکترون از  $P_{680}$  به  $Q_A$  و سپس به  $Q_B$  و به دنبال آن بین ناقلین زنجیره انتقال الکترون فتوسنتزی تا رسیدن الکترون‌ها به پذیرنده نهایی در فتوسیستم I حاصل شود (Chen et al., 2013). از دیدگاه Song و همکاران (۲۰۱۳) استفاده از سدیم نیتروپروساید در گیاه برنج در تنش گرما، سبب افزایش میزان انتقال الکترون به  $Q_A$  می‌شود. همچنین Fan و همکاران (۲۰۱۵) با مطالعه تاثیر سدیم نیتروپروساید در چمن برمودا که در معرض تنش سرما قرار داشت به افزایش انتقال الکترون از  $Q_B$  به زنجیره انتقال الکترون

## منابع

- Chen, K., Chen, L. and Fan, J. (2013) Alleviation of heat damage to photosystem II by nitric oxide in tall fescue. *Photosynthetic Research* 116: 21-31.
- Del Rio, L. A., Corpas, F. J., Sandalio, L. M., Palma, J. M. and Barroso, J. B. (2003) Plant peroxisomes, reactive oxygen metabolism and nitric oxide. *International Union of Biochemistry and Molecular Biology* 55: 71-81.
- Del Rio, L. A., Corpas, F. J. and Barroso, J. B. (2004) Nitric oxide and nitric oxide synthase activity in plants. *Phytochemistry* 67: 783-792.
- Ding, F., Wang, X. F., Shi, Q. H., Wang, M. L., Yang, F. J. and Gao, Q. H. (2008) Exogenous nitric oxide alleviated the inhibition of photosynthesis and antioxidant enzyme activities in iron-deficient chinese cabbage (*Brassica chinensis* L.). *Agricultural Sciences in China* 7(2): 168-179.
- Fan, J., Chen, K., Amombo, E., Hu, Z., Chen, L. and Fu, J. (2015) Physiological and molecular mechanism of nitric oxide (NO) involved in bermuda grass response to cold stress. *Journal PLoS One* 10(7): 1-14.
- Fricke, W. and Peters, W. S. (2002) The biophysics of leaf growth in salt-stressed barley. A study at the cell level. *Plant Physiology* 129(1): 374-388.
- Jafarinaia, M. and Shariati, M. (2012) Effect of salt stress on photosystem II of canola plant (*Brassica Napus*, L.) probing by chlorophyll a fluorescence measurements. *Iranian Journal of Science and Technology* 1: 71-76.
- Kalaji, H. M., Govindjee, Bosa, K., Koscielniak, J. and Zuk-Golaszewska, K. (2010) Effects of salt stress on photosystem II efficiency and CO<sub>2</sub> Assimilation of two *Syrian barley* landraces. *Environmental and Experimental Botany* 73: 64-72.
- Khan, M. A., Shirazi, M. U., Khan, M. A., Mujtaba, S. M., Islam, E. S., Mumtaz, S., Shereen, A., Ansari, R. U. and Ashraf, M. Y. (2009) Role of proline, K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> ratio and chlorophyll content in salt tolerance of wheat. *Pakistan Journal of Botany* 41(2): 633- 638.
- Kim, J. H. and Lee, C. H. (2005) *In vivo* deleterious effects specific to reactive oxygen species on photosystem II after photooxidative treatment of rice leaves. *Plant Sciences* 168: 1115-1125.
- Kumar, A., Agarwai, S. and Singh, A. (2014) Salinity effects the germination and seedling growth in some cultivars of oat (*Avena sativa* L.). *Indian Journal of Advances in Plant Research* 1(2): 1-10.
- Li, Q. Y., Niu, H. B., Yin, J., Wang, M. B., Shao, H. B., Deng, D. Z., Chen, X. X., Ren, J. P. and Li, Y.C. (2008) Protective role of exogenous nitric oxide against oxidative-stress induced by salt stress in barley (*Hordeum vulgare*). *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 56: 220-225.
- Lopez-Climent, M. F., Rosa, M. V. A. and Gomez-Cadenas, P. C. A. (2008) Relationship between salt tolerance and photosynthetic machinery perforation in citrus. *Environmental and Experimental Botany* 62: 176-184.
- Mehta, P., Jajoo, A., Mathur, S. and Bharti, S. (2010) Chlorophyll a fluorescence study revealing effects of high salt stress on Photosystem II in wheat leaves. *Plant Physiology and Biochemistry* 48(1): 16-20.
- Misra, A. N., Srivastava, A. and Strasser, R. J. (2001) Utilization of fast chlorophyll a fluorescence technique in assessing the salt/ion sensitivity of mung bean and *Brassica* seedlings. *Journal of Plant Physiology* 158: 1173-1181.

- Neill, J., Radhika, D. and Hancock, J. (2003) Nitric oxide signaling in plant. *New Phytologists* 159: 11-35.
- Sabbagh, E., Lkzayi, M., Keshtehgar, A. and Rigi, K. (2014) The effect of salt stress on respiration, PSII function, chlorophyll, carbohydrate and nitrogen content in crop plants. *International Journal of Farming and Allied Sciences* 3: 988-993.
- Song, L., Yue, L., Zhao, H. and Hao, M. (2013) Protection effect of nitric oxide on photosynthesis in rice under heat stress. *Acta Physiological Plant* 35: 3323-3333.
- Strauss, A. J., Krüger, G., Strasser, R. J. and VanHeerden, P. D. (2006) Ranking of dark chilling tolerance in *soybean* genotypes probed by the chlorophyll a fluorescence transient O-J-I-P. *Environmental and Experimental Botany* 56: 147-157.
- Strasser, R. J., Srivastava, A. and Tsimilli-Michael, M. (2000) The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. In: *Probing photosynthesis; mechanisms, regulation and adaption* (Eds. Mohanty, M., Yunus, S. and Pathre, G.) 25: 445-483. Taylor and Francis, London.
- Tian, X. R. and Lei, Y. B. (2007) Physiological Responses of wheat Seedling to Drought and UV-B Radiation. Effect of exogenous Sodium Nitro preside Application. *Russian Journal of Plant Physiology* 54: 763-769.
- Vieira Santos, C. (2004) Regulation of chlorophyll biosynthesis and degradation by salt stress in sunflower leaves. *Scientia Horticulturae* 103(1): 93-99.
- Wieczorek, J. F., Milczarek, G., Arasimovicz, M. and Ciszewski, A. (2006) Do nitric oxide donors mimic endogenous NO-related response in plants? *Planta* 224: 1363-1372.
- Yang, L. T., Qi, y. p., Chen, L. S., Sang, W. and Lin, X. J. (2012) Nitric oxide protects sour pummel (*Citrus grandees*) seedlings against aluminum-induced inhibition of growth and photosynthesis. *Environmental and Experimental Botany* 82: 1-13.
- Zheng, C., Jiang, D., Liu, F., Dai, T., Jing, Q. and Cao, W. (2009) Effects of salt and water stresses and their combination on leaf photosynthesis, chloroplast ATP synthesis, and antioxidant capacity in wheat. *Plant Science* 176(4): 575-58.