هجدهمین کنگره ملی و چهارمین کنگره بین‌المللی
علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران
18th Iranian National & 4th International Crop Sciences Congress
Ferdowsi University of Mashhad, Iran
Sept. 10 – 12th , 2024
دانشگاه فردوسی مشهد
۲۲ – ۲۰ شهریورماه ۱۴۰۳

بررسی اثر تنش یخ‌زدگی و سدیم نیتریک‌اکسید بر رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی باقلا (*Vicia faba* L.)

جعفر نباتی۱*، عاطفه میرزائیان۲، محمد جواد احمدی لاهیجانی۱، فائقه جنگجو۲

۱- استادیار، گروه اگروتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد/۲-دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی، گروه اگروتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

***- نویسنده مسئول: Email:jafarnabati@um.ac.ir**

ارائه‌دهنده: جعفر نباتی

نباتی، ج.، میرزائیان، ع.، احمدی لاهیجانی، م.ج.، جنگجو، ف. (۱۴۰۳). بررسی اثر تنش یخزدگی و سطوح مختلف نیتریک‌اکسید بر رنگدانه‌های فتوسنتزی باقلا (*Vicia faba* L.). هجدهمین کنگره ملی و چهارمین کنگره بین‌المللی علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران. ۲۲-۲۰ شهریور ۱۴۰۳، دانشگاه فردوسی مشهد.

چکیده فارسی:

به‌منظور بررسی اثر تنش یخزدگی و سطوح نیتریک‌اکسید بر رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی باقلا (*Vicia faba* L.)، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در سال ۱۴۰۱ در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه فردوسی مشهد با چهار تکرار انجام شد. عوامل آزمایش شامل سطوح نیتریک‌اکسید (صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار) و تنش یخزدگی (صفر، ۴-، ۸-، ۱۲- و ۱۶- درجه سانتی‌گراد) بودند. نتایج نشان داد که کاربرد ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار نیتریک‌اکسید در تنش یخزدگی ۸- درجه سانتی‌گراد، محتوای کلروفیل a را به‌ترتیب ۳۴ و ۳۶ درصد نسبت به شرایط عدم‌کاربرد نیتریک‌اکسید در دمای مشابه (یخزدگی ۸- درجه سانتی‌گراد) افزایش داد. در کلیه سطوح تنش یخزدگی مورد مطالعه، محتوای کاروتنوئیدها در شرایط کاربرد ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار نیتریک‌اکسید بیشتر از تیمار شاهد بود. در هر دو شرایط محلول‌پاشی ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار نیتریک‌اکسید کمترین محتوای کل رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی در دمای ۱۶- درجه سانتی‌گراد حاصل گردید. به‌طور کلی، محلول‌پاشی مقادیر متوسط نیتریک‌اکسید در سطوح تنش یخزدگی منجر به افزایش رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی شد، از این رو کاربرد سطوح بهینه آن برای مقابله با خسارات منفی ناشی از این تنش توصیه می‌گردد.

مقدمه و بیان مسئله:

تنش یخزدگی یکی از محدودیت‌های حیاتی است که رشد و نمو گیاهان را در سراسر جهان محدود می‌کند و مستقیماً بر رشد و عملکرد گیاه تأثیر می‌گذارد (Hasanfard *et al*., 2022). کاهش محتوای کلروفیل یکی از پیامدهای تنش دمای پایین است که منجر به اختلال در فرآیند فتوسنتز می‌گردد (Nabati *et al*., 2021). نیتریک‌اکسید به دلیل اهمیت ایجاد و تنظیم پیام برای مقاومت و دفاع گیاه در پاسخ به تنش‌های محیطی در حال حاضر به‌عنوان یک مولکول پیام‌رسان مهم عمل می‌کند. نیتریک‌اکسید با حذف گونه‌های فعال اکسیژن و با کاهش در سطوح پلی‌آمین‌ها، آنتوسیانین‌ها، فلاونوئیدها، قندها و فیتوهورمون‌ها مانند اسیدآبسیزیک و جاسمونات‌ها سبب القای مقاومت به تنش سرما می‌کند (Costa-Broseta *et al*., 2019).

باقلا سهم مهمی در تثبیت همزیستی نیتروژن اتمسفر داشته و از این رو در حفظ پایداری کشاورزی نقش بسیار کارآمدی دارد؛ همچنین مستعد تنش‌های مختلف زیستی و غیرزیستی است که به تلفات وابسته به محیط کمک می‌کند. باقلا در طول زمستان رشد می‌کند؛ بنابراین ممکن است در فصول سرد دچار آسیب تنش دمای پایین شود. اگرچه باقلای زمستانه دارای عملکرد و محتوای پروتئین بالاتری نسبت به نوع بهاره است، اما برای افزایش عملکرد در مناطق معتدل سرد، به دلیل مقاومت ناکافی و اندک ارقام زمستانه، عمدتاً به‌عنوان محصول بهاره کشت می‌شود (Arbaoui *et al*., 2008).

با توجه به اهمیت گیاه باقلا به عنوان گیاه خوراکی و با در نظر گرفتن اهمیت بهبود مقاومت این گیاه به تنش یخزدگی در ابتدای فصل رشد، این پژوهش با هدف بررسی اثر محلول‌پاشی سطوح مختلف نیتریک‌اکسید و تنش یخزدگی بر رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی گیاه باقلا انجام شد.

مواد و روش‌ها:

این پژوهش در پاییز و زمستان سال ۱۴۰۱ روی گیاهخ باقلا در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه فردوسی مشهد به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار اجرا گردید. عوامل آزمایشی شامل نیتریک‌اکسید در سه سطح (صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار) از منبع سدیم نیتروپروساید و تنش یخزدگی در پنج سطح (صفر، ۴-، ۸-، ۱۲- و ۱۶- درجه سانتی‌گراد) بودند. تیمارهای نیتریک‌اکسید به‌طور متوالی سه روز قبل از اعمال تنش یخزدگی هر روز یک نوبت روی

گیاهان اسپری شد. دمای فریزر در ابتدای آزمایش پنج درجه سانتی‌گراد تنظیم شد و تا ۱۶- سانتی‌گراد دما با سرعت دو درجه سانتی‌گراد در ساعت به‌صورت پیوسته کاهش پیدا کرد و به مدت یک ساعت در دمای ۱۶- قرار گرفت و سپس از فریزر خارج شدند. نمونه‌ها بلافاصله بعد از خارج شدن از فریزر در اتاقک رشد به مدت ۲۴ ساعت با دمای ۲±۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۸۰ درصد نگهداری شدند. سپس گلدان‌ها به گلخانه منتقل شده و هفت روز پس از اعمال تنش یخ‌زدگی، محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی برگ شامل کلروفیل a، کلروفیل b، نسبت کلروفیل a به b و محتوای کاروتنوئیدها بر اساس روش سوکران و همکاران (Sukran *et al*., 1998) اندازه‌گیری شد. تجزیه آماری داده‌ها و رسم شکل‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای SAS Ver 9.4 و Excel 2018 و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث:

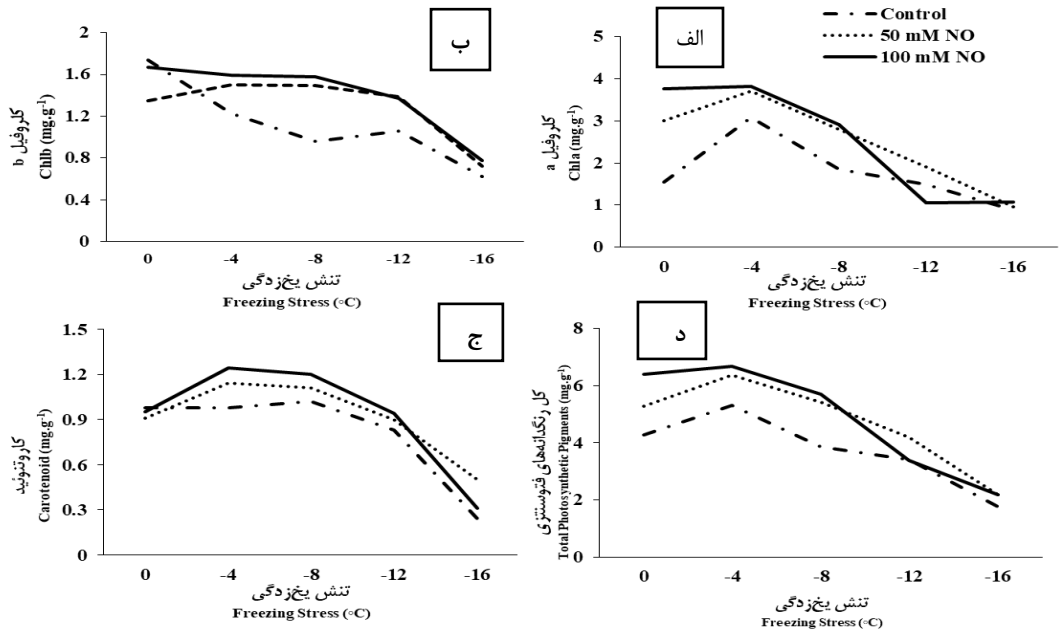
در کلیه دماهای یخ‌زدگی به‌جز دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد، محتوای کلروفیلa با کاربرد ۱۰۰ میلی‌مولار نیتریک‌اکسید بیشتر از شاهد بود (شکل۱، الف). در دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد بیشترین محتوای کلروفیلa با ۵۰ میلی‌مولار نیتریک‌اکسید محلول‌حاصل شد (شکل۱، الف). محتوای کلروفیلb در اثر محلول‌پاشی ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار نیتریک‌اکسید به‌ترتیب از افزایش ۱۲ و ۱۹ درصدی نسبت به تیمار شاهد برخوردار بود. در هر دو شرایط محلول‌پاشی ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار نیتریک‌اکسید با کاهش دما تا ۴- درجه سانتی‌گراد محتوای کاروتنوئیدها افزایش یافت و سپس با کاهش دما به ۸-، ۱۲- و ۱۶- درجه سانتی‌گراد محتوای کاروتنوئیدها دچار روند نزولی شد (شکل۱، ج). محتوای کل رنگدانه‌های فتوسنتزی تحت‌تأثیر معنی‌دار مقادیر نیتریک‌اکسید، تنش یخ‌زدگی و برهمکنش این عوامل قرار گرفت (جدول۱).

جدول ۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) برخی خصوصیات فتوسنتزی باقلا تحت‌تأثیر مقادیر مختلف نیتریک اکساید و در شرایط تنش یخ‌زدگی

منبع تغییرات	درجه آزادی	کل رنگدانه‌های فتوسنتزی	کاروتنوئید	کلروفیل b	کلروفیل a
نیتریک اکساید	۲	۷/۶۰**	۰/۰۸^{ns}	۰/۳۷**	۳/۵۵**
تنش یخزدگی	۴	۳۰/۶۹**	۱/۱۸**	۱/۳۴**	۱۲/۷۲**
نیتریک اکساید×تنش یخزدگی	۸	۱/۰۰*	۰/۰۲^{ns}	۰/۱۳^{ns}	۱/۰۸**
خطای آزمایشی	۴۵	۰/۳۹	۰/۰۳	۰/۰۶	۰/۲۹
ضریب تغییرات (درصد)	-	۱۴/۱۶	۲۰/۶۷	۲۰/۱۵	۲۳/۹۵

**، * و ns به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال یک و پنج درصد و عدم‌معنی‌دار.

محلول‌پاشی با ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار نیتریک‌اکسید در دماهای صفر و ۸- درجه سانتی‌گراد منجر به افزایش معنی‌دار محتوای کل رنگدانه‌های فتوسنتزی نسبت به دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد شد. در کلیه دماهای مورد مطالعه محتوای کل رنگدانه‌های فتوسنتزی در شرایط محلول‌پاشی ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار نیتریک‌اکسید بیشتر از شاهد بود. فتوسنتز در گیاهان با جذب انرژی نور توسط رنگدانه‌های فتوسنتزی آغاز شده و ظرفیت فتوسنتزی گیاهان می‌تواند به طور غیرمستقیم توسط محتوای رنگدانه فتوسنتزی در برگ‌های گیاه منعکس شود (Wang *et al*., 2022). کاهش بیشتر دمای انجماد به طور کامل به ساختار برگ آسیب رساند و درنهایت فتوسنتز را متوقف می‌کند. کاهش میزان کلروفیلa و b تحت تنش یخزدگی در باقلا توسط نباتی و همکاران (Nabati *et al*., 2021) گزارش شد. در شرایط تنش رادیکال‌های آزاد اکسیژن موجب تخریب رنگیزه‌های فتوسنتزی، غشاء سلولی و کلروپلاستی و درنتیجه کاهش توانایی فتوسنتز و متعاقب آن ماده خشک گیاه می‌گردد. احتمالاً نیتریک‌اکسید با اثرات جاذب گونه‌های واکنش کننده اکسیژن تولید شده در تنش موجب بهبود وضعیت کلروفیل سلول‌های گیاهی و افزایش فتوسنتز و درنتیجه افزایش مقدار ماده خشک گیاه می‌گردد (zare Mehrjerdi *et al*., 2012).



شکل ۱- روند تغییرات کلروفیل a (الف)، کلروفیل b (ب)، کاروتنوئیدها (ج) و کل رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی (د) تحت‌تأثیر محلول‌پاشی مقادیر مختلف نیتریک‌اکسید و تنش یخزدگی

مهمترین یافته‌ها:

۱- محلول‌پاشی نیتریک‌اکسید بر اکثر صفات مورد مطالعه معنی‌دار بود و کلیه رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی گیاه تحت‌تأثیر این ماده افزایش یافت.

۲- کاهش دما تا ۴- درجه سانتی‌گراد منجر به بهبود محتوای اکثر رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی مورد مطالعه شد.

۳- روند تغییرات محتوای کلروفیل a، b، کاروتنوئیدها و کل رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی با کاربرد ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار نیتریک‌اکسید، نسبتاً مشابه بود و ابتدا با اعمال تنش یخزدگی ۴- درجه سانتی‌گراد صفات مذکور افزایش و سپس با کاهش دما مقدار عددی این صفات کاهش یافت.

۴- در اکثر صفات مورد مطالعه، محلول‌پاشی ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار نیتریک‌اکسید در تنش‌های یخزدگی منجر به افزایش صفات نسبت به تیمار شاهد در تنش‌های یخزدگی مشابه شد.

واژگان کلیدی: تنش، کاروتنوئیدها، کلروفیل، محلول‌پاشی

Evaluation of effect of freezing stress and sodium nitroprusside on photosynthetic pigments of faba (*Vicia faba* L.)

Abstract:

An experiment was conducted in 2023 at Ferdowsi University of Mashhad, Iran to assess the impact of freezing stress and varying levels of Sodium nitroprusside (NO) on photosynthetic pigments in faba (*Vicia faba* L.). The study utilized a factorial factorial based on CRD with four replications, incorporating different concentrations of NO (0, 50, and 100 mM) and freezing stress levels (0, -4, -8, -12, and -16 ˚C). Results indicated that the application of 50 and 100 mM NO during freezing stress at -8˚C resulted in a 34% and 36% increase in chlorophyll a, respectively, compared to conditions without NO at -8 ˚C. Carotenoid levels were higher under all freezing stress levels when 50 and 100 mM NO were applied compared to the control. The lowest chlorophyll a to b ratios were observed at freezing stresses of -12 and -16 ˚C, while the application of 50 and 100 mM NO at 0 ˚C increased the ratio by 53% and 54%, respectively. The lowest total photosynthetic pigments were recorded at -16 ˚C when 50 and 100 mM NO were applied. Overall, moderate levels of NO application during freezing stress enhanced photosynthetic pigments, suggesting the use of optimal NO levels to mitigate negative impacts of this stress.

Keywords: Stress, Carotenoids, Chlorophyll, Spraying

منابع:

Arbaoui, M., Link, W., Satovic, Z., & Torres A-M. (2008). Quantitative trait loci of frost tolerance and physiologically related trait in faba bean (*Vicia faba* L.) *Euphytica*, 164, 93–104. https://doi.org/10.1007/s10681-008-9654-0

Costa-Broseta, Á., Perea-Resa, C., Castillo, MC., Ruíz, MF., Salinas, J., & León, J. (2019). Nitric oxide deficiency decreases C-repeat binding factor dependent and -independent induction of cold acclimation. *Journal of Experimental Botany*, 70, 3283–3296. https://doi.org/10.1093/jxb/erz115

Hasanfard, A., Rastgoo, M., Darbandi, E.I., Nezami, A., & Chauhan, B.S. (2022). Freezing stress affects the efficacy of clodinafop-propargyl and 2,4-D plus MCPA on wild oat (*Avena ludoviciana* Durieu.) and turnipweed [*Rapistrum rugosum* (L.) All.] in wheat (*Triticum aestivum* L.). PloS One, 17(10), e0274945. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0274945

Nabati, J., Hasanfard, A., Nezami, A., Ahmadi-Lahijani, M. J., & Boroumand Rezazadeh, E. (2021). Gas exchange variables as promising criteria for screening freezing-tolerant faba bean (*Vicia faba* L.) landraces at early growth stages. *Legume Science*, *3*(1), e72. https://doi.org/10.1002/leg3.72

Şükran, D., Güneş, T., & Sivaci, R. (1998). Spectrophotometric determination of chlorophyll-A, B and total carotenoid contents of some algae species using different solvents. *Turkish Journal of Botany*, 22(1), 13–18.

Wang, C., Wei, L., Zhang, J., Hu, D., Gao, R., Liu, Y., Feng, L., Gong, W., & Liao, W. (2022). Nitric oxide enhances salt tolerance in tomato seedlings by regulating endogenous S-nitrosylation levels. *Journal of Plant Growth Regulation*, pp.1-19. https://doi.org/10.1007/s00344-021-10546-5

zare Mehrjerdi, M., Bagheri, R., Bahrami, A., Nabati, J. and Maasoumi, A. (2012). Effect of drought stress on photosynthetic characteristics, phenolic compounds and active radical scavenging capacity of different genotypes of chickpea (*Cicer arientinum* L.) in hydroponic culture. Journal of Science Technology. Greenhouse Cultures, 3 (12): 93-104. https://doi.org/20.1001.1.20089082.1391.3.4.9.3