

غربال کردن ژنوتیپ برای تحمل دمای پائین استفاده از فلورسانس کلروفیل

Screening of rice genotypes for tolerance to low temperature- using chlorophyll fluorescence

ایمان حسینی، فواد مرادی و سید یونس

چکیدہ

حسیبی، پ، ف. مرادی و م. نبی پور. ۱۳۹۳. غربالگری ژنوتیپ‌های برنج برای تحمل به تنش دمای پائین با استفاده از فلنورسانس کلروفیل. *مجله علوم زراعی ایران*. ۱۱ (۲): ۳۳-۳۵.

[illegible]

واژه های کلیدی: دمای پائین، نورسانس کلروفیل، عدد کلروفیل متغیر، غربال کردن.

چکیده

واکنش گیاهان زراعی در دماهای مختلف شرایط آب و هوایی که از آن منشأ گرفته‌اند، دارد. گیاهان در دماهای پایین بسیار حساس و رشد و نمو آن در دماهای کمتر از ۱۰°C دچار مشکل می‌شود (Allen and Ort, 2001). حساس به سرما، افزایش سریع دما، بازدارنده فتوسنتزی است (Ort, 2002) در شدت‌های نور کم، نور کم می‌تواند به خسارت نوری و اختلال در فعالیت فتوسیستم دو (PSII) د. اولین اثر سرما، بازدارنده سوخت و ساز کربن است (Allen and Ort, 2001; Leegood and Edwards, 1996) (Ort, 2002) تولید محصولات انتقال الکترون در چرخه نوری (ATP و NADPH) و عملکرد کوآنزیمی فتوسیستم دو در شرایط نوری کم (Φ_{PSII}) می‌شود (Bruggemann and Linger, Anderews et al., 1995) (Francheboud and Leipner, 2003). این کاهش تولید محصولات فتوسنتزی و ATP، کاهش عملکرد کوآنزیمی فتوسیستم دو در گیاه شده و با افزایش میزان تلفات انرژی، عنوان می‌شود که بازدارنده در فتوسیستم دو (Francheboud and Leipner, 2003).

یکی از محدودیت‌های برنامه‌های اصلاح گیاهان زراعی، فقدان تکنیک غربال کردن دقیق برای انتخاب ژنوتیپ‌های برخوردار از رشد و سوخت ساز بهتر در شرایط تنش است (Baker and Rosenquis, 2004). روش‌های مختلف، نیاز به امکانات پیشرفته و گران قیمت آگروشیمیائی دارد که در آن تلفیقی از روش‌های بیولوژیک و بیوشیمیائی مورد استفاده واقع می‌شود. این روش، غربال کردن (Berg et al., 1999) مشهور است (Evans, 1999). روش‌های معمول انتخاب ژنوتیپ‌های بر پایه مشاهده گیاهان طی یک دوره چند هفته‌ای

استوار بوده و کارایی چندانی برای انتخاب تعداد زیادی تک بوته را ندارد. حال آنکه اندازه‌گیری رسانس کلروفیل روش کاملاً غیرمستقیم بوده و از دقت و سرعت بالایی نیز برخوردار است (Oxborough, 2004; Barbagallo et al., 2003).

میزان رسانس کلروفیل در ژنوتیپ‌های متحمل و حساس را می‌توان از کاهش عملکرد کوآنزیمی (Bruggemann and Linger, 1994). از این روش نسبت Fv/Fm برای غربال و ارزیابی نتایج حاصل از تلاقی واریته‌های برنج متحمل به سرما (Sthapit et al., 1995). برای بسیاری از گیاهان زراعی، رسانس کلروفیل آن می‌تواند موجب سوختگی برگ و از بین رفتن کلروفیل آن می‌شود. مثلاً در ذرت زمانی که گیاهان در ۱۰°C رشد داده شدند، رسانس کلروفیل و ظرفیت فتوسنتزی برگ محدود گردید (Baker and Nie, 1994) علت آن، از تولید تعدادی از پروتئین‌های تیلاکوئید رمنز شده توسط کلروپلاست، در مقایسه با پروتئین‌های کلروپلاست رمنز شده، سلول گزارش شده است (Nie and Baker, 1991). اشفته‌گی در کلروپلاست باعث کاهش بسیار زیادی در مقادیر Fv/Fm و عملکرد کوآنزیمی فتوسیستم دو می‌شود (Fryer et al., 1995). در نتیجه، این روش‌های رسانس کلروفیل، مانند روش‌های غربال ژنوتیپ‌های متحمل به سرما در طی نمو برگ با کار روند. در ذرت سازش یافته دماهای پایین، افزایش جریان الکترون به الکترون (NADP⁺) باعث افزایش عملکرد کوآنزیمی فتوسیستم دو در برگ این گیاهان گردید (Fryer et al., 1998).

میزان تفاوت Fv و F₀ بوده و نسبت Fv/Fm (Fv/Fm) کاربرد زیادی در درک وضعیت واکنش‌های نوری فتوسنتز دارد و می‌تواند به عنوان یک

16

14

جدول ۱- نام و منشأ ژنوتیپ های برنج

Table 1. Name and origin of rice genotypes

شماره	نام	کد	منشأ	شماره	نام	کد	منشأ
No.	Name	Code	Origin	No	Name	Code	Origin
1	79061-TR61-3-3-1-1	IRCTN1	Turkey	40	IR74520-29-4-2-2-4-1-1	IRCTN40	IRRI
2	82079-TR489-3-1-1	IRCTN2	Turkey	41	CHINA 1039	IRCTN41	India
3	83025-TR643-1-1-1-1	IRCTN3	Turkey	42	IR6677-22-1-3-2-5	IRCTN42	IRRI
4	8601-TR888-2-1-2-1	IRCTN4	Turkey	43	PJ-2(NSICRC 104)	IRCTN43	Philippines
5	87041-TR990-11-2-1	IRCTN5	Turkey	44	PJ-2(NSICRC 110)	IRCTN44	Philippines
6	88018-TR1043-6-2-3-1	IRCTN6	Turkey	45	PSB RC44(IR59468-B-B-3-2)	IRCTN45	Philippines
7	88024-TR1049-3-1-1-1	IRCTN7	Turkey	46	PSB RC46	IRCTN46	Philippines
8	88024-TR1049-6-1-2-1	IRCTN8	Turkey	47	PSB RC92(IR9202-25-1-3)	IRCTN47	Philippines
9	88076-TR1101-9-2-1	IRCTN9	Turkey	48	RCPL3-2	IRCTN49	India
10	STEJAREE 45	IRCTN10	Turkey	49	K39-96-1-1-1-2	IRCTN50	India
11	88088-TR1113-4-1-1	IRCTN11	Turkey	50	Line 6		Iran
12	88090-TR1115-4-1-1	IRCTN12	Turkey	51	Anbori ghermez		Iran
13	89010-TR1130-8-1-1-2	IRCTN13	Turkey	52	LD 183		Iran
14	90040-TR1232-4-1-1	IRCTN14	Turkey	53	Rasmi		Iran
15	90051-TR1243-2-2-1	IRCTN15	Turkey	54	Shafagh		Iran
16	CU 11	IRCTN16	India	55	Chaparsar 5		Iran
17	GWANSAN 2	IRCTN17	N-Korea	56	Gerdeh-Zanjan		Iran
18	H231-59-3-1	IRCTN18	Argentina	57	Fajer		Iran
19	NONG 56	IRCTN19	N-Korea	58	Champa6		Iran
20	TATSUMI-MOCHI	IRCTN20	Japan	59	Hovaizeh		Iran
21	OLBYE 1	IRCTN21	Korea	60	Champa16		Iran
22	ROJOFOTSY 653	IRCTN22	Madagascar	61	Amol3		Iran
23	ZHI 20-5	IRCTN23	China	62	Neda		Iran
24	SR22746-68-2-3-4-2-4	IRCTN24	IRRI	63	Chaparsar Dailamani		Iran
25	HR17512-11-2-3-1-4-2-3	IRCTN25	IRRI	64	Domsiah Aleshtar		Iran
26	HR17570-21-5-2-5-2-2-1-5	IRCTN26	IRRI	65	Tarom domsiah		Iran
27	IR57107-2B-12-2-2-2	IRCTN27	IRRI	66	Kohrang		Iran
28	IR60059-4B-4-1-1-2-1	IRCTN28	IRRI	67	Nemat		Iran
29	IR66097-8-1-1-1	IRCTN29	IRRI	68	Anborbo Ilam		Iran
30	IR68373-R-R-B-22-2-2	IRCTN30	IRRI	69	Binam Tabriz		Iran
31	BARKAT(K78-13)	IRCTN31	India	70	Sari Chilik		Iran
32	IR71131-BF4-B-30-5	IRCTN32	IRRI	71	Khazar		Iran
33	IR72944-1-2-2	IRCTN33	IRRI	72	Omid bakhsh		Iran
34	IR73688-57-2	IRCTN34	IRRI	73	Hashemi		Iran
35	IR73688-82-2-3-2-2	IRCTN35	IRRI	74	Domsiah Vaisaan		Iran
36	IR3688-82-3	IRCTN36	IRRI	75	Sahel		Iran
37	IR73690-7-2-1-1-3-2-2-1	IRCTN37	IRRI	76	Onda		Iran
38	IR73694-41-2	IRCTN38	IRRI	77	Ghermez Sadri		Iran
39	IR74506-28-4-3-2-1-3-2-2	IRCTN39	IRRI				

فتوسیستم دو)، ETR (سرعت انتقال الکترون)، qP
(فتوسیستم دو) فتوشیمیائی کلروفیل برانگیخته)، و qN
(فتوسیستم دو) فتوشیمیائی کلروفیل برانگیخته)، و qN
دستگاه فلور، متر مدل PAM 2000 (والز-المان)

19

جدول ۲- های متداول فلئورسانس و معادلات مربوطه شامل عملکرد کوانتمی فتوسیستم دو، Φ_{PSII} ، حداکثر عملکرد کوانتمی فتوسیستم دو و خاموشی qP ، $Fv:Fm$ و qN

Table 2. Frequently used chlorophyll fluorescence parameters and their equations including Φ_{PSII} , qP , $Fv:Fm$ and qN

معادله	نماد	پارامتر
Equation	Symbol	Parameter
Photochemical quenching parameters	مؤلفه های خاموشی فتوشیمیایی	
Quantum yield of PSII	Φ_{PSII}	عملکرد کوانتمی فتوسیستم دو
Photochemical quenching	qP	خاموشی فتوشیمیایی
Maximum quantum yield of PSII	$Fv:Fm$	حداکثر عملکرد کوانتمی فتوسیستم دو
Non-photochemical quenching	qN	مؤلفه خاموشی غیر فتوشیمیایی

جدول ۳. خلاصه تجزیه واریانس برای های فلئورسانس کلروفیل به همراه عدد کلروفیل متر و قدرت رویش ارقام Φ_{PSII} ، qP ، $Fv:Fm$ و qN در تیمارهای دمای پایین و شاهد

Table 3. Summary of analysis variance for chlorophyll fluorescence as well as SPAD value and vigor in rice genotypes under low temperature treatments

درجه	منابع تغییرات	df	Fv:Fm	Φ_{PSII}	ETR	qN	qP	SPAD	قدرت رویش Vigor
SOV									
Temperature (T)	دما	1	5.191**	2.76**	23207.7**	0.047 ^{ns}	3.428**	2375.8**	987.7**
Error a	خطای a	6	0.054	0.008	90.2	0.040	0.034	86.9	2.01
Genotype (G)	ژنوتیپ	76	0.084**	0.009**	91.1**	0.030**	0.039**	103.2**	7.36**
T * G	دما * ژنوتیپ	76	0.089**	0.009**	87.2**	0.027**	0.019**	74.9 ^{ns}	4.75**
Error b	خطای b	465	0.011	0.003	27.5	0.022	0.011	59.4	1.34

** : Significant at 1% Probability level.

** : معنی دار در سطح احتمال یک درصد.

ns: Non- significant

ns: غیر معنی دار

بیشترین همبستگی مثبت از میان صفات اندازه گیری شده بین Φ_{PSII} و ETR دیده شد که نشان دهنده نوعی ساز و کار تحمل به تنش اکسیداتیو (کاهش Φ_{PSII}) از تنش سرما (تنش اولیه) در ژنوتیپ های مورد بررسی است. باید توجه داشت که Φ_{PSII} تخمینی از کارایی جذب نور توسط آنتن فتوسیستم دو بوده و تغییرات احیاء کینون A را نشان می دهد. بنابراین در یک شدت نور معین، Φ_{PSII} سنجشی از کارایی کوانتومی انتقال خطی الکترون از طریق فتوسیستم دو، در حالیکه ETR نشان دهنده سرعت انتقال الکترون از فتوسیستم دو بوده و ارتباط زیادی با سرعت فتوسنتز داشته و شاخصی از توانایی گیاه در محافظت Φ_{PSII} دو در برابر خسارت های اکسیداتیو محسوب می گردد

(Fransis and Piekielek, 2000). ساز و کار دیگری که برای محافظت از تنش ثانویه در گیاه وجود دارد همان تنفس نوری است زیرا تنفس نوری در شرایط تنش سرما Φ_{PSII} می تواند مقداری از الکترون های تولید شده در دو مورد مصرف نموده و دستگاه فتوسنتزی را در مقابل آسیب نوری ناشی از تنش سرما محافظت نماید (Francheboud and Leipner, 2003). بهر حال روشن شدن وجود تنفس نوری و بررسی میزان کارایی این ساز و کار در ژنوتیپ های مورد بررسی، نیاز به تحقیق بیشتری دارد. استریر (Stryer, 1988) در یک مقاله مروری، بروگمان و لنگر (Bruggermann and Lnger, 1994) در آزمایشی بر روی گوجه فرنگی، اندروز و همکاران (Andrews et al., 1995) در مطالعه بر روی گیاه ذرت،

جدول ۴- معنی‌های فلوئورسانس کلروفیل، عدد کلروفیل متر و قدرت رویش ارقام برنج در تیمار دمای پایین و شاهد

Table 4. Means of chlorophyll fluorescence attributes, SPAD value and vigore in rice genotypes under control (N) and low temperature (S) conditions

شماره ژنوتیپ Genotype No.	Fm:Fv		Φ_{PSII}		ETR		qN		qP		SPAD		رویش قدرت Vigor	
	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S
1	0.78	0.21	0.37	0.25	37.2	25.5	0.59	0.49	0.80	0.61	30.0	25.6	3.50	4.00
2	0.81	0.23	0.39	0.24	38.5	24.2	0.56	0.53	0.84	0.68	36.3	25.8	1.00	4.00
3	0.80	0.22	0.37	0.30	36.7	29.4	0.56	0.49	0.77	0.74	35.6	26.7	2.25	4.00
4	0.79	0.19	0.35	0.23	34.0	23.3	0.53	0.47	0.71	0.60	29.2	22.1	3.75	6.00
5	0.80	0.28	0.44	0.20	43.1	19.9	0.50	0.44	0.82	0.60	33.7	25.9	2.50	4.00
6	0.79	0.20	0.47	0.21	46.7	20.7	0.52	0.45	0.79	0.56	32.3	25.5	3.50	4.00
7	0.79	0.32	0.46	0.23	46.0	23.5	0.42	0.41	0.81	0.57	31.8	22.4	3.25	4.00
8	0.80	0.30	0.45	0.25	43.8	25.4	0.50	0.65	0.79	0.64	33.9	23.2	3.00	4.00
9	0.79	0.23	0.39	0.23	38.3	24.1	0.50	0.74	0.77	0.83	29.2	20.8	2.75	6.50
10	0.80	0.30	0.47	0.23	45.9	24.6	0.50	0.74	0.83	0.78	33.1	22.7	2.00	4.00
11	0.80	0.41	0.46	0.28	44.9	19.6	0.55	0.73	0.85	0.39	35.0	21.4	2.25	7.50
12	0.80	0.31	0.47	0.18	46.3	19.2	0.55	0.78	0.84	0.51	36.8	22.2	2.00	4.00
13	0.78	0.50	0.46	0.27	44.8	22.7	0.47	0.57	0.77	0.57	29.1	24.0	5.00	4.00
14	0.80	0.21	0.44	0.20	43.2	20.0	0.55	0.49	0.82	0.53	33.9	25.1	3.50	4.00
15	0.79	0.30	0.41	0.23	39.1	22.3	0.51	0.53	0.76	0.72	29.7	27.0	3.50	4.25
16	0.78	0.19	0.39	0.25	38.3	26.7	0.50	0.74	0.74	0.83	25.9	24.8	2.25	3.00
17	0.78	0.23	0.38	0.19	36.3	19.9	0.51	0.81	0.66	0.45	24.0	28.0	4.00	6.00
18	0.79	0.34	0.45	0.24	42.7	25.4	0.46	0.77	0.80	0.63	29.9	28.3	3.50	6.00
19	0.78	0.51	0.47	0.24	45.4	24.9	0.47	0.73	0.77	0.50	26.1	25.7	3.00	6.75
20	0.79	0.51	0.50	0.23	47.8	24.5	0.50	0.76	0.82	0.70	29.9	28.2	3.50	6.00
21	0.79	0.49	0.48	0.28	45.7	29.6	0.49	0.77	0.84	0.74	31.4	29.1	4.00	5.75
22	0.79	0.47	0.45	0.17	43.7	17.1	0.47	0.55	0.81	0.44	26.9	18.1	1.25	4.00
23	0.79	0.51	0.44	0.23	42.5	22.9	0.46	0.39	0.77	0.56	28.8	23.6	2.50	3.00
24	0.79	0.54	0.40	0.14	38.1	14.1	0.42	0.43	0.71	0.37	27.9	17.8	3.00	8.00
25	0.80	0.52	0.38	0.24	37.9	24.1	0.55	0.50	0.79	0.65	32.2	27.5	2.00	5.75
26	0.80	0.51	0.35	0.33	34.9	34.1	0.47	0.53	0.70	0.71	30.7	28.0	3.00	3.75
27	0.79	0.52	0.40	0.29	39.7	30.0	0.52	0.52	0.77	0.65	28.0	30.2	2.25	3.00
28	0.78	0.53	0.34	0.24	33.9	24.0	0.45	0.51	0.72	0.66	23.5	27.7	6.00	6.50
29	0.79	0.55	0.37	0.29	35.5	28.9	0.48	0.56	0.76	0.69	30.9	30.7	3.50	3.75
30	0.79	0.50	0.42	0.29	41.1	28.9	0.56	0.49	0.86	0.62	30.3	30.5	3.00	3.00
31	0.79	0.54	0.40	0.27	39.3	27.3	0.56	0.50	0.81	0.63	31.4	33.0	2.00	3.00
32	0.79	0.67	0.36	0.32	34.7	31.9	0.55	0.55	0.80	0.72	29.9	28.7	3.00	5.00
33	0.79	0.80	0.44	0.36	42.4	37.3	0.54	0.51	0.87	0.73	31.4	29.4	2.25	4.00
34	0.79	0.80	0.38	0.33	36.6	33.6	0.60	0.51	0.85	0.69	29.5	26.7	1.50	4.00
35	0.79	0.76	0.41	0.32	40.2	32.5	0.56	0.59	0.80	0.72	31.2	28.0	1.50	4.50
36	0.79	0.80	0.40	0.33	38.2	33.5	0.54	0.59	0.84	0.71	30.5	26.6	3.00	4.00
37	0.79	0.75	0.36	0.37	32.4	30.4	0.54	0.54	0.78	0.68	28.9	26.3	3.25	6.25
38	0.79	0.79	0.41	0.32	39.8	32.2	0.55	0.57	0.83	0.73	32.0	28.1	2.50	5.50
39	0.79	0.78	0.37	0.36	36.6	35.8	0.55	0.56	0.81	0.78	30.8	27.1	2.00	5.50
40	0.79	0.78	0.36	0.28	34.7	28.1	0.48	0.58	0.75	0.73	29.3	27.4	2.00	6.00
41	0.79	0.78	0.39	0.24	37.4	24.1	0.56	0.53	0.80	0.56	27.9	23.5	2.25	5.75
LSD 5%	0.103		0.098		10.76		0.103		0.149		7.575		1.137	
S _x	0.037		0.035		3.873		0.037		0.054		2.726		0.409	

Table 4. Continued

ادامه جدول

شماره ژنوتیپ Genotype No.	Fm:Fv		Φ_{PSII}		ETR		qN		qP		SPAD		رویش قدرت Vigor	
	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S
42	0.79	0.79	0.40	0.31	38.5	31.1	0.54	0.55	0.80	0.66	32.6	27.0	1.75	6.00
43	0.79	0.77	0.39	0.26	36.8	25.8	0.56	0.48	0.82	0.55	29.5	24.6	2.50	6.00
44	0.79	0.80	0.44	0.33	42.3	32.6	0.48	0.52	0.78	0.73	31.9	28.9	1.75	4.50
45	0.79	0.79	0.39	0.23	37.4	22.4	0.47	0.59	0.77	0.66	29.0	23.4	1.00	3.00
46	0.78	0.76	0.38	0.25	36.6	25.0	0.50	0.51	0.75	0.65	25.5	23.4	2.50	3.50
47	0.77	0.77	0.32	0.21	30.7	20.9	0.49	0.53	0.66	0.60	19.8	23.2	3.50	3.75
48	0.79	0.76	0.38	0.23	36.2	22.7	0.49	0.36	0.74	0.47	27.8	19.1	1.00	4.50
49	0.79	0.73	0.34	0.17	32.3	17.1	0.55	0.40	0.66	0.43	24.4	18.1	3.50	5.75
50	0.78	0.70	0.36	0.19	34.6	19.7	0.47	0.39	0.67	0.50	27.6	24.5	4.50	6.75
51	0.79	0.76	0.44	0.28	43.6	28.5	0.52	0.39	0.79	0.56	33.3	23.4	1.00	3.50
52	0.78	0.78	0.31	0.20	30.2	20.3	0.49	0.50	0.68	0.48	28.0	26.3	2.25	3.00
53	0.79	0.75	0.43	0.32	41.2	31.6	0.50	0.50	0.82	0.81	31.1	26.9	2.00	3.50
54	0.78	0.76	0.37	0.30	35.7	29.7	0.47	0.35	0.69	0.57	28.6	26.5	1.50	3.25
55	0.78	0.77	0.32	0.28	30.7	26.5	0.46	0.49	0.64	0.58	28.5	25.8	1.00	4.25
56	0.79	0.79	0.35	0.30	33.9	29.9	0.51	0.47	0.73	0.69	31.3	28.5	3.00	3.25
57	0.78	0.77	0.33	0.28	32.1	27.8	0.38	0.38	0.59	0.57	25.1	25.9	3.00	4.25
58	0.79	0.76	0.41	0.31	39.8	30.7	0.51	0.44	0.76	0.64	30.9	28.0	1.50	4.00
59	0.78	0.49	0.36	0.19	34.3	21.7	0.40	0.56	0.64	0.52	22.3	21.5	4.50	9.00
60	0.79	0.72	0.32	0.19	30.7	19.0	0.53	0.55	0.73	0.47	30.6	20.5	1.25	6.00
61	0.78	0.71	0.41	0.21	39.7	20.9	0.47	0.47	0.76	0.56	30.7	19.2	1.75	8.00
62	0.78	0.75	0.36	0.19	34.9	19.3	0.53	0.53	0.74	0.55	29.5	22.4	1.50	5.50
63	0.79	0.78	0.32	0.23	30.8	23.0	0.51	0.55	0.71	0.57	27.5	21.5	2.00	7.00
64	0.79	0.76	0.35	0.24	33.9	23.6	0.56	0.41	0.79	0.52	26.7	21.0	2.50	6.50
65	0.78	0.75	0.33	0.23	31.1	22.5	0.54	0.44	0.73	0.53	23.2	21.4	1.50	7.25
66	0.78	0.75	0.39	0.22	37.6	21.6	0.49	0.53	0.74	0.63	29.2	25.5	1.75	5.50
67	0.78	0.75	0.39	0.24	37.5	23.4	0.52	0.53	0.71	0.59	23.5	21.3	2.00	6.50
68	0.78	0.76	0.43	0.26	41.1	26.3	0.47	0.46	0.75	0.58	29.4	24.9	1.00	4.00
69	0.78	0.77	0.37	0.26	35.2	25.8	0.53	0.54	0.74	0.61	28.9	25.0	2.00	5.50
70	0.77	0.77	0.31	0.24	29.8	24.6	0.53	0.55	0.69	0.59	26.2	27.3	2.75	6.25
71	0.76	0.75	0.34	0.28	32.8	28.4	0.45	0.48	0.65	0.66	27.3	26.3	4.00	5.75
72	0.78	0.73	0.33	0.21	31.7	21.0	0.46	0.34	0.60	0.42	26.3	18.1	1.25	6.50
73	0.78	0.75	0.38	0.30	36.1	30.4	0.65	0.49	0.90	0.73	26.7	25.6	2.00	6.00
74	0.79	0.77	0.34	0.25	32.5	25.2	0.61	0.45	0.82	0.57	30.0	21.4	2.75	6.00
75	0.78	0.77	0.39	0.28	37.7	28.2	0.46	0.36	0.71	0.55	28.3	22.3	1.00	4.75
76	0.79	0.74	0.34	0.26	32.5	23.5	0.52	0.50	0.73	0.57	30.3	22.1	3.25	7.00
77	0.78	0.76	0.39	0.30	36.6	30.6	0.49	0.45	0.75	0.61	29.4	22.3	2.25	5.00
LSD 5%	0.103		0.098		10.76		0.103		0.149		7.575		1.137	
S _x ⁻	0.037		0.035		3.873		0.037		0.053		2.726		0.409	

جدول ۵- میانگین وزن خشک بوته (گرم بر بوته) ژنوتیپ‌های برنج در تیمار دمای پایین و شاهد در سطح احتمال ۵٪

Table 5. Means of shoot dry weight (g plant⁻¹) in rice genotypes under control and low temperature condition using LSD 5%

ژنوتیپ شماره	وزن خشک بوته (گرم در بوته)		ژنوتیپ شماره	وزن خشک بوته (گرم در بوته)		ژنوتیپ شماره	وزن خشک بوته (گرم در بوته)	
Genotype	Shoot d.wt		Genotype	Shoot d.wt		Genotype	Shoot d.wt	
No.	g plant ⁻¹		No.	g plant ⁻¹		No.	g plant ⁻¹	
	□□□□	□ □		□□□□	□ □		□□□□	□ □
	N	S		N	S		N	S
1	0.92	0.54	27	0.85	0.42	53	1.05	0.82
2	0.89	0.82	28	0.36	0.19	54	0.68	0.45
3	1.11	0.56	29	0.76	0.36	55	0.52	0.49
4	0.46	0.29	30	1.03	0.44	56	0.84	0.44
5	0.92	0.64	31	0.99	0.58	57	0.59	0.36
6	1.36	0.44	32	0.67	0.29	58	0.78	0.53
7	0.78	0.35	33	1.34	1.02	59	0.89	0.24
8	0.83	0.29	34	1.23	0.97	60	0.79	0.74
9	0.64	0.34	35	0.59	0.40	61	0.67	0.59
10	0.63	0.55	36	1.36	1.04	62	0.47	0.41
11	0.58	0.58	37	0.33	0.26	63	0.67	0.45
12	0.75	0.68	38	0.52	0.42	64	0.60	0.34
13	0.70	0.23	39	0.42	0.32	65	0.49	0.39
14	0.86	0.36	40	0.41	0.39	66	0.57	0.56
15	0.66	0.38	41	0.40	0.40	67	0.57	0.50
16	1.02	0.43	42	0.50	0.50	68	0.70	0.54
17	0.64	0.23	43	0.38	0.36	69	0.55	0.52
18	0.60	0.33	44	1.35	1.14	70	0.50	0.40
19	0.41	0.32	45	1.29	0.87	71	0.45	0.24
20	0.49	0.31	46	0.76	0.47	72	0.62	0.57
21	0.72	0.27	47	0.58	0.26	73	0.62	0.38
22	0.98	0.86	48	0.50	0.47	74	0.65	0.46
23	0.78	0.36	49	1.13	0.45	75	0.73	0.39
24	0.59	0.35	50	0.75	0.58	76	0.34	0.32
25	0.58	0.48	51	1.14	0.80	77	0.51	0.42
26	0.92	0.29	52	0.80	0.43			
LSD5%	0.278							
S _x ²	0.100							

در این مطالعه، برای بررسی اثر دما بر وزن خشک بوته، از ۷۷ ژنوتیپ برنج استفاده شد. نتایج نشان داد که در دمای پایین، وزن خشک بوته در اکثر ژنوتیپ‌ها کاهش یافته است. این کاهش در دمای ۱۵ درجه سانتیگراد به وضوح مشاهده شد. همچنین، در دمای ۱۰ درجه سانتیگراد، کاهش وزن خشک بوته در اکثر ژنوتیپ‌ها مشاهده شد. این نتایج نشان می‌دهد که دما بر وزن خشک بوته در برنج تأثیر دارد.

گری و همکاران (Gray *et al.*, 1997) در یک مقاله مروری، نتایج مشابهی را گزارش کرده‌اند. کارآیی دستگاه فتوسنتزی در انتقال الکترون و تولید فرآورده‌های چرخه روشنایی فتوسنتز (ATP و NADPH) همبستگی بالایی با میزان تحمل تنش سرما در ژنوتیپ‌های مختلف دارد (Francheboud and Leipner, 2003).

ولی، سطوح فاکتور فرعی و اثرات متقابل آن دارای اختلاف معنی داری با یکدیگر بودند (جدول ۲). مقدار این در شرایط تنش دیده شد. در این آزمایش، بیشترین میزان O_2 در الکترون مربوط به لا O_2 با منشاء کره به میزان O_2/O_2 در شرایط O_2 بود. و جالب توجه اینکه کمترین مقدار آن نیز در شرایط تنش و در O_2/O_2 (ژنوتیپ شماره ۱) از ایران به مقدار O_2/O_2 دیده شد (جدول ۲).

در دیگری که در تحقیق مورد بررسی قرار گرفت qP "فوتوشیمیایی الکترون" بود که نشان دهنده کارکرد دستگاه فتوسنتزی است و ارتباط اصلی الکترون های برانگیخته در چرخه روشنایی دستگاه فتوسنتزی دارد. دست آمده نشان داد این qP به طور معنی داری O_2/O_2 و تنش سرما و اثر O_2/O_2 آن بوده است (جدول ۲). در مقدار qP به طور معنی داری بیش از شرایط O_2/O_2 دمای پایین بود (جدول ۲)، طوریکه در تیمار شاهد O_2/O_2 و O_2/O_2 مقدار این O_2/O_2 مربوط به دو رقم ایرانی O_2/O_2 و فجر O_2/O_2 O_2/O_2 و O_2/O_2 دیده شد. در شرایط O_2/O_2 O_2/O_2 O_2/O_2 از هند (O_2/O_2) بالاترین و O_2/O_2 با منشاء IRRI در شرایط تنش، O_2/O_2 میزان O_2/O_2 فوتوشیمیایی الکترون را داشتند (جدول ۲). این موضوع نشان می دهد که تولید O_2/O_2 های انرژی (ATP و NADPH) کاهش یافته و O_2/O_2 طور همزمان اتلاف حرارتی (qN) انرژی افزایش یافته است. و همکاران (Sheiber et al., 1995) اظهار داشتند که خاموشی غیر O_2/O_2 شیمیایی کلروفیل برانگیخته، نشان دهنده اتلاف غیرتشنه انرژی جذب شده توسط فتوسیستم بوده و برطرف کننده برانگیختگی الکترون می باشد. این برانگیختگی بیشتر از طریق دفع گرمایی و توزیع مجدد انرژی الکترون برانگیخته از فتوسیستم دو O_2/O_2 صورت می گیرد.

درجه O_2/O_2 گراد در مرحله رویشی برنج، سبب کاهش فتوسنتز و بازداری متابولیسم کربن، ارتفاع گیاه، رشد ریشه و وزن ماده خشک می گردد. با استفاده از روش غربال توسط فلئورسانس کلروفیل، O_2/O_2 ای قبلا توسط بیکر و نای (Baker and Nie) در بررسی روش های مختلف انتخاب برنج برای تحمل سرما در نپال، O_2/O_2 ای گوجه فرنگی تحت نور کم و سرما (Bruggemann and Linger, 1994)، عملکرد فتوسنتز ذرت در مواجهه با تنش سرما (Andrews et al., 1995) و در آزمایش کاربرد فلئورسانس کلروفیل برای مطالعه O_2/O_2 های نور، دما و خشکی (Sthapit et al., 1995) گزارش شده است.

تجزیه واریانس نشان داد O_2/O_2 ارقام O_2/O_2 و O_2/O_2 دما از نظر عدد کلروفیل O_2/O_2 در O_2/O_2 یک درصد اختلاف معنی دار داشته اند در حالیکه اثر متقابل آن O_2/O_2 اختلاف معنی نشان نداد (جدول ۲). مقدار این O_2/O_2 در O_2/O_2 ، O_2/O_2 طور طبیعی بیشتر از شرایط O_2/O_2 بود (جدول ۲). عدد کلروفیل O_2/O_2 O_2/O_2 مقدار کلروفیل در گیاه بوده و معمولا برای یک ژنوتیپ در شرایط بهینه عدد نسبتا ثابتی است. در این مطالعه O_2/O_2 و کمترین O_2/O_2 O_2/O_2 در تیمار شاهد، در O_2/O_2 با منشاء ترکیبی و لاین O_2/O_2 از IRRI O_2/O_2 O_2/O_2 و O_2/O_2 دست آمد. در شرایط O_2/O_2 ، بیشترین و کمترین مقدار آن مربوط به لاین های O_2/O_2 و O_2/O_2 به ترتیب با منشاء هند و IRRI به میزان O_2/O_2 و O_2/O_2 بود. از میان O_2/O_2 واریته ایران، مورد آزمایش در شاهد رقم عنبروری قرمز با مقدار O_2/O_2 O_2/O_2 ، و رقم هویزه (O_2/O_2) کمترین مقدار عدد کلروفیل را داشتند، در حالیکه در تنش سرما رقم کرده زنجان بالاترین (O_2/O_2) و واریته امید O_2/O_2 (O_2/O_2) ترین مقدار قرائت شده این را داشتند (جدول ۲).

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که سطوح فاکتور اصلی و فرعی و اثر متقابل آن O_2/O_2 اختلاف معنی داری از

جدول ۶- بین صفات فلئورسانس کلروفیل، عدد کلروفیل متر و قدرت رویش ارقام برنج در تیمار شاهد

Table 6. Correlation between chlorophyll fluorescence attributes, SPAD value, and vigor in rice genotypes, under control condition

	Fv:Fm	Φ_{PSII}	ETR	qN	qP	SPAD	Vigor
Fv: Fm	1						
Φ_{PSII}	0.429**	1					
ETR	0.991**	0.452**	1				
qN	0.037 ^{ns}	0.023 ^{ns}	0.210**	1			
qP	0.510**	0.526**	0.645**	0.653**	1		
SPAD	0.573**	0.258**	0.227**	0.504**	0.547**	1	
Vigor	-0.200 ^{ns}	-0.226**	-0.519**	-0.098 ^{ns}	-0.365**	-0.235**	1

* و **: معنی دار در سطح احتمال یک درصد. * and **: Significant at 1% Probability level, respectively.

ns: Non- significant

ns: معنی دار

جدول ۷- بین صفات فلئورسانس کلروفیل، عدد کلروفیل متر و قدرت رویش ارقام برنج در تیمار دمای

Table 7. Correlation between chlorophyll fluorescence attributes, SPAD, and vigor in low tempertuer stress in rice genotypes

	Fv:Fm	Φ_{PSII}	ETR	qN	qP	SPAD	Vigor
Fv: Fm	1						
Φ_{PSII}	0.199**	1					
ETR	0.903**	0.218**	1				
qN	0.022 ^{ns}	-0.020 ^{ns}	-0.154 ^{ns}	1			
qP	0.445**	0.334**	0.684**	0.595**	1		
SPAD	0.552**	0.450**	0.145*	0.588**	-0.001 ^{ns}	1	
Vigor	-0.349**	-0.437**	-0.331**	-0.308**	-0.380**	-0.316**	1

* و **: معنی دار در سطح احتمال یک درصد. * and **: Significant at 1% Probability level, respectively.

ns: Non- significant

ns: معنی دار

جدول ۸- نتایج رگرسیون گام به گام ژنوتیپ های برنج در شرایط دمای پایین و شاهد

Table 8. Stepwise regression for rice genotypes under low temperature and control conditions

صفت وابسته Dependent	صفات مستقل Indepentent	بیشترین همبستگی	
		کنترل Control	استرس Stress
		وزن خشک اندام هوایی Shoot dwt	وزن خشک ریشه Root dwrt
	صفات مورفولوژیک Morphological characteristics	51.9†	47.0
		0.66**‡	0.63**
	مؤلفه های فلئورسانس متری Fluorescence Parameters(alone)	Fv:Fm 22.8	qP 30.1
قدرت رویش Vigor		0.59**	0.63**
	مؤلفه های فلئورسانس متری+ SPAD Fluorescence Parameters+ SPAD	SPAD 36.0	SPAD 41.0
		0.57**	0.61**

†، ‡ و **: به ترتیب درصد از کل همبستگی، r و معنی دار در سطح احتمال یک درصد.

†, ‡ and **: Percent of total correlation, correlation coefficient (r) and significant at $p < 0.01$, respectively

جدول ۹- میانگین وزن خشک ریشه (گرم بر بوته) ژنوتیپ‌های برنج در تیمار دمای پایین و شاهد در سطح احتمال ۱٪

Table 9. Means of root dry weight (g plant⁻¹) in rice genotypes under control and low temperature condition using LSD 5%

ژنوتیپ شماره	وزن خشک ریشه (گرم در بوته)	ژنوتیپ شماره	وزن خشک ریشه (گرم در بوته)	ژنوتیپ شماره	وزن خشک ریشه (گرم در بوته)
Genotype No.	Root d.wt g plant ⁻¹	Genotype No.	Root d.wt g plant ⁻¹	Genotype No.	Root d.wt g plant ⁻¹
	ن		ن		ن
1	0.120	27	0.180	53	0.220
2	0.140	28	0.145	54	0.130
3	0.180	29	0.150	55	0.090
4	0.050	30	0.145	56	0.140
5	0.110	31	0.150	57	0.100
6	0.180	32	0.130	58	0.130
7	0.380	33	0.155	59	0.110
8	0.100	34	0.160	60	0.080
9	0.080	35	0.110	61	0.085
10	0.085	36	0.165	62	0.065
11	0.080	37	0.035	63	0.105
12	0.110	38	0.100	64	0.190
13	0.120	39	0.080	65	0.065
14	0.155	40	0.060	66	0.100
15	0.085	41	0.065	67	0.080
16	0.195	42	0.105	68	0.100
17	0.105	43	0.080	69	0.065
18	0.120	44	0.153	70	0.055
19	0.070	45	0.225	71	0.035
20	0.080	46	0.115	72	0.085
21	0.120	47	0.100	73	0.085
22	0.175	48	0.105	74	0.090
23	0.145	49	0.170	75	0.120
24	0.045	50	0.130	76	0.065
25	0.090	51	0.240	77	0.075
26	0.210	52	0.135		0.055
LSD5%	0.044				
S _x ²	0.0158				

ژنوتیپ‌های مورد بررسی، نیاز به تحقیق بیشتری دارد.

در بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، ژنوتیپ‌های شماره ۱، ۲، ۳ و ۴ بیشترین میزان تولید ماده خشک اندام هوایی و ریشه را در شرایط تنش دمای پائین داشته‌اند (جدول ۱ و ۲). دمای پائین در این بررسی، ۱۰ °C

هدایت روزنه‌ای، کاهش می‌دهد. از آنجا که یکی از اثرات غیر مستقیم تنش دما، کاهش واکنش روزنه‌ها و تغییرات محتوای رطوبتی گیاه و ایجاد ارتباط آبی است (Baker and Nie, 1994) وجود ارتباطی در این آزمایش تا حدودی قابل مشاهده است. هرچند روشن شدن وجود این ارتباط در

28

- Baker, N. R. and E. Rosenquist. 2004.** Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *J. Expt. Botany*. 403: 1607-1621.
- Baker, N. R. and G. Nie. 1994.** Chilling sensitivity of photosynthesis in maize. In: *Baja YPS (ed.) Biotechnology of Maize*. Berlin: Springer- Verlag. 465-481.
- Barbagallo, R. P., K. Oxborough, K. E. Palette and N. R. Baker. 2003.** Rapid, non-invasive screening for perturbations of metabolism and plant growth using chlorophyll fluorescence imaging. *Plant Physiology*. 132: 485-493.
- Bazzaz, F.A. 1996.** Plants in changing environments: linking physiological population and community ecology. Cambridge University Press, Cambridge, UK. pp. 124-152.
- Berg, D., K. Tiejten, D. Wollweber and R. Hain. 1999.** From genes to targets: impact of genomics on herbicide discovery. *Proceedings of the BCPC Conference – Weeds*. 26-30 Sep. 1999. Italy.
- Bruggemann, W. and P. Linger. 1994.** Long-term chilling of young tomato plants under low light. IV. Differential responses of chlorophyll fluorescence quenching coefficients in lycopersicon species of different chilling sensitivity. *Plant and Cell Physiology*. 35: 585-591.
- Cerovic, Z. G., G. Samson, F. Morales, N. Tremblay and I. Moya. 1999.** Ultraviolet-induced fluorescence for plant monitoring: present stage and prospects. *Agronomic*. 19: 543-578.
- Evans, D. A. 1999.** How can technology feed the world safely and sustainably. In: Brooks, G. T., T. R. Roberts (eds.). *Pesticide chemistry and bioscience: the food- environment challenge*. London, UK. Royal Society of Chemistry. 3-24.
- Francheboud, Y. and J. Leipner. 2003.** The application of chlorophyll fluorescence to study light, temperature and drought stress. In: De-Ell, J.R., P. M. A. Tiovonon (eds.). *Practical applications of chlorophyll fluorescence in plant biology*. Boston: Kluwer Academic Publishers. 125-150.
- Fransis, D., D. Piekielek. 2000.** Assessing crop nitrogen needs with chlorophyll meters. The Site-Specific Management Guidelines Series is published by the Potash and Phosphate Institute (PPI). Coordinated by South Dakota State University (SDSU). 237p.
- Fryer, M. J., K. Oxborough, B. Martin, D. R. Ort and N. R. Baker. 1995.** Factors associated with the depression of photosynthetic quantum efficiency in maize at low growth temperatures. *Plant Physiology*. 108: 761-767.
- Gregorio, G. B., D. Senenadhira and D. Mendoza. 1997.** Screening rice for salinity tolerance. IRRI Discussion Paper Series Number 22. International Rice Research Institute, Manila, Philippines.
- Genty, B., J. Briantais and N. Baker. 1989.** The relationship between quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochemical Biophysica Acta*. 990: 87-92
- Gray, G. R., L. P. Cauvin, F. Sarhan and N. P. A. Huner. 1997.** Cold acclimation and freezing tolerance. A complex interaction of light and temperature. *Plant Physiology*. 114: 467-474.
- Lee, M. H. 2001.** Low temperature tolerance in rice: the Korean experience. Increased lowland rice in the Mekong region edited by Fukai and Jaya Basnayake. *ACIAR Proceeding*. 101:109-117.
- Leegood, R. C. and G. E. Edwards. 1996.** Carbon metabolism and photorespiration: temperature dependence in relation to other environmental factors. In: Baker, N. R. (ed.). *Photosynthesis and the environment*. 191-221pp. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.

- Maxwell, K. and G. N. Johnson. 2000.** Chlorophyll fluorescence- a practical guide. J. Expt. Botany. 345: 659-668.
- Nie, G. Y. and N. R. Baker. 1991.** Modifications to thylacoid composition during development of maize leaves at low growth temperatures. Plant Physiology. 95: 184-191.
- Oquist, G. and N. Hunner. 1991.** Effects of cold acclimation on the susceptibility of photosynthesis to photo inhibition in Scots pine and in winter and spring cereals: a fluorescence analysis. Functional Ecology. 5: 91-100.
- Ort, D. R. 2002.** Chilling-induced limitations on photosynthesis in warm climate plants: contrasting mechanisms. Environmental Control in Biology. 40: 7-18.
- Oxborough, K. 2004.** Using chlorophyll fluorescence imaging to monitor photosynthetic performance. 254-298. In: Papa Georgiou, G. and E. D. S. Govindjee. Chlorophyll fluorescence: a signature of photosynthesis. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.
- Sheiber, V. and V. B. W. Schliwa. 1986.** Continuous recording of photochemical and non- photochemical chlorophyll fluorescence quenching with a new type of modulation fluorimeter. Photosynthetic Research. 10: 51-62
- Sthapit, B. R., J. R. Witcombe and J. M. Wilson. 1995.** Methods of selection for chilling tolerance in Nepalese rice by chlorophyll fluorescence analysis. Crop Sci. 35: 90-94.
- Stryer, L. 1988.** Biochemistry, 3rd edition. WH Freeman and Company, New York. 1089 pp
- Yoshida, S. 1981.** Fundamentals of rice crop science. IRRI, Los Banos, Philippines. 35p.

Screening of rice genotypes for low temperature stress- using chlorophyll fluorescence

Hassibi¹, P., F. Moradi² and M. Nabipour³

ABSTRACT

Hassibi, P., F. Moradi and M. Nabipour. 2007. Screening of rice genotypes for low temperature stress-using chlorophyll fluorescence. Iranian Journal of Crop Sciences. 9(1): 14-31.

Rice is a tropical and sub-hopical crop, which is sensitive to low temperature. Chlorophyll fluorescence is a common method for crop screening and monitoring of photosynthesis fluctuations under abiotic stresses. In this experiment, 77 rice genotypes including 49 line of International Rice Cold Tolerance Nursery (IRCTN 2005) and 28 Iranian rice were tested in split plot arrangement using compbility Randomized Design (CRD) in phytotrone for screening and monitoring of their performance. Variences International Rice Research Institute (IRRI) scoring system used for ranking of genotypes at normal and stress conditions. Chlorophyll fluorescence attributes, Chlorophyll content (SPAD values) as well as root and shoot dry weight were measured. Results showed that in low temperature 13/15 °C (night/ day, respectively) qP, ETR, Φ_{PSII} , Fv:Fm, SPAD value and vigor of seedlings as well as root and shoot dry weight significant 7 reduced as compared with normal temperature 22/29 °C (night/day, respectively). Among genotypes of IRCTN No. 33, 34, 36 and 44 (the Philippines) had the highest values and stability of Fv:Fm and Φ_{PSII} parameters in low and normal temperatures while Hoveizeh (from Iran) had the lowest tolerance to low temperature. In addition, there was a highly significant correlation between root dry matter and vigor, showing sensitivity of root to low temperature. Therefore, this parameter could be used as a criterion for selection of tolerant cultivars and genotypes to low temperatuer stress.

Key words: Chlorophyll fluorescence, Low temperatuer stress, Rice, Screening, SPAD value.

Received: February, 2007

1- Ph. D. student, The University of Shahid Chamran. Ahvaz, Iran.

2- Assistant Professor, Agricultural Biotechnology Research Institute, Karaj, Iran. (Corresponding authour)

3- Assistant Professor, Faculty of Agriculture, The University of Shahid Chamran. Ahvaz, Iran.