پاسخ روزنه‌ها و رنگدانه‌های فتوسنتزی گل رز چینی در شرایط تنش سرما و گرما

شهرزاد وضیعی*[۱]، مصطفی خوشحال سرمست[۲]

[۱]دانشجوی کارشناسی ارشد، گیاهان زینتی و فضای سبز، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

[۲] استادیار گروه علوم باغبانی و فضای سبز، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

*نویسنده مسئول:shahrzad.vaziee@yahoo.com

چکیده

گل رز از مهم‌ترین گیاهان زینتی در سراسر جهان است. رشد و نمو گل رز به‌طورکلی تحت تنش گرما محدود می‌شود و بسیاری از واریته‌ها، مستقیماً به خواب‌رفته و شکوفا نمی‌شوند. درجه حرارت پایین نیز بر رشد و نمو گیاه تأثیر منفی می‌گذارد و باعث تلفات زیادی در عملکرد و کیفیت گل می‌شود. این تحقیق به بررسی اثر تنش‌های غیرزیستی گرما و سرما بر روی پاسخ سلول‌های روزنه (طول ،عرض، دهانه و تراکم) و رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی (کلروفیلa، کلروفیلb، کلروفیل کل و کارتنوئید)، قلمه‌های ریشه‌دار شده گل رز چینی رقم Old Blush می‌پردازد. این آزمایش در قالب طرح کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. اعمال تنش گرمایی در اتاقک رشد در دمای ۴۲ درجه به مدت ۲، ۶ و ۱۲ ساعت انجام شد. تنش سرمایی در دمای ۴ درجه به مدت ۳، ۶ و ۲۴ ساعت انجام شد. گیاهان شاهد در شرایط دمای ۲۵ درجه سانتیگراد قرار داشتند. نتایج بیانگر این است که تنش گرما باعث بسته شدن روزنه‌ها شد. کمترین میزان طول، عرض و دهانه روزنه در تنش گرما ۱۲ ساعت مشاهده گردید. اما تنش گرما در تراکم روزنه تأثیر معنی‌داری نداشت. در این مطالعه محتوای کلروفیل a، کلروفیلb، کلروفیل کل و کارتنوئید در شرایط تنش گرما بیش از شرایط معمول شد، به‌طوری‌که بیشترین میزان کلروفیلa، کلروفیلb، کلروفیل کل و کارتنوئید در تنش گرما ۱۲ ساعت مشاهده شد . در تنش سرما اختلاف معنی‌داری بین سطوح مختلف تنش در میزان کلروفیلa، کلروفیلb، کلروفیل کل و کارتنوئید مشاهده نشد. طول روزنه تحت تنش سرما کاهش‌یافته است. کمترین میزان طول روزنه در تنش سرما ۳ ساعت و بیشترین طول روزنه در شاهد مشاهده شد. این درحالی است که عرض روزنه در اثر تنش سرما افزایش‌یافته است. کمترین عرض روزنه در شاهد و بیشترین عرض روزنه در تنش سرما ۳ ساعت مشاهده گردید. تنش سرما در گشودگی دهانه روزنه تأثیر معنی‌داری نداشت و تراکم روزنه در تنش ۶ و ۲۴ ساعت سرما افزایش یافت.

واژه‌های کلیدی: تنش غیرزیستی، رز چینی، روزنه، رنگ‌دانه‌ها

مقدمه

گل رز شامل گروهی از گونه‌های مهم باغی از جنس *Rosa* در تیره Rosaceae است. این گیاهان دارای حدود ۲۰۰ گونه گیاه چندساله می‌باشد و دارای بالاترین میزان صادرات جهانی در تجارت گل در دنیا هستند (Wu et al., 2005). ارزش جهانی گل و گیاهان زینتی به‌خصوص در رابطه با گل‌های بریدنی، بالغبر ۱۴ میلیارد دلار تا سال ۲۰۲۵ برآورد شده‌است. (https://www.researchandmarkets.com).

دمای مناسب برای رشد و گلدهی گل رز بین ۲۲ تا ۲۶ درجه سانتی‌گراد می‌باشد. درجه حرارت بالا مانع تولید گل شده و در شرایط تنش گرمایی، رشد و نمو گل رز به‌طورکلی محدود می‌شود و بسیاری از واریته‌ها به طور مستقیمً به خواب‌رفته و شکوفا نمی‌شوند (Jiang et al., 2009) درجه حرارت پایین نیز بر رشد و نمو گیاه تأثیر منفی می‌گذارد و باعث تلفات زیادی در عملکرد و کیفیت شده و تا حد زیادی توزیع جغرافیایی آن را محدود می‌کند (Taji et al. 2002; Zhao et al. 2016) گیاهان برای سازگاری با تنش‌های غیرزیستی سازوکارهای پیچیده‌ای مانند تغییرات ریخت‌شناسی و فیزیولوژیکی ازجمله اصلاح غشا و دیواره سلولی، تجمع کربوهیدرات‌ها و غیره را از خود نشان می‌دهند. (Guy et al. 2008; Winfeld et al. 2010; Wang et al. 2019)

روزنه ها ساختارهای اپیدرمی خاصی هستند که در تبادل گازهای Co_2 وO_2 که برای فتوسنتز بهینه لازم است نقش دارند و با تعدیل سطح تعرق اتلاف آب را کاهش می‌دهند (Nadeau and Sack, 2002) بررسی‌ها نشان می‌دهد که در شرایط تنش، گیاه با بستن روزنه‌ها، اتلاف آب از طریق روزنه‌ها را کاهش می‌دهد. مشخص شده است که اعمال تنش کوتاه‌مدت بر روی گیاهان نونهال امکان

مطالعه تغییرات فیزیولوژیک و مورفولوژیک گیاه مانند تراکم و اندازه روزنه‌ها و شاخص‌های فتوسنتزی را فراهم می‌کند (Yadollahi et al., 2009).

این مطالعه باهدف بررسی پاسخ سلول‌های روزنه و رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی به تنش‌های غیر زیستی سرما و گرما در گل رز چینی صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

این طرح در قالب طرح کامل تصادفی با حداقل ۳ تکرار بیولوژیک در اتاقک رشد درآمیخته خاکی پیت و پرلایت (با نسبت برابر) انجام گرفت. قلمه‌های رز چینی از دانشگاه نانجینگ چین به دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی منتقل و در گلخانه به کمک قلمه نیمه خشبی به‌صورت تیمار فروبری سریع در محلول IBA با غلظت ۴۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر ریشه‌دار و طی مدت‌زمان ۴-۵ ماه مستقر شدند. این گیاهان هر ۱۴ روز یک‌بار با محلول هوگلند به میزان ۱۵۰ میلی‌لیتر برای هر گلدان برای رسیدن به رشد بهینه آبیاری شدند.

نحوه اعمال تنش‌های غیر زیستی

اعمال تیمارهای گرما و سرما در اتاقک رشد انجام گرفت برای تیمار گرما گیاهان به مدت ۲، ۶ و ۱۲ ساعت در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد و برای تیمار سرما به مدت ۳ ، ۶ و ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند و داده‌برداری در مدت‌زمان معین از برگ‌های گیاه انجام شد. و گیاهان شاهد در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در اتاقک رشد نگه‌داری شدند.

اندازه‌گیری کلروفیل و کاروتنوئید

این دو ترکیب با استفاده از روش Hiscox اندازه گیری شد (Hiscox ,1979). بدین منظور ۰/۵ میلی‌گرم از برگ تازه گل رز چینی در ۵ میلی لیتر دی متیل سولفواکساید (DMSO) غوطه ور شد و به مدت۳ ساعت درآون با دمای ۷۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت سپس جذب نوری کلروفیل عصاره‌های برگی در طول موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر و سنجش کارتنوئید در طول موج ۴۸۰ نانومتر قرائت شد و با قرارگیری اعداد به دست آمده در فرمول زیر محتوای نسبی کلروفیل و کارتنوئید برگ محاسبه شد.

CLTotal (mg/g FW) = 20.2 (A645) – 8.02 (A663) × (V/1000 W)
Chl a (mg/g FW) = 12.7 (A663) – 2.69 (A645) × (V/1000 W)
Chl b (mg/g FW) = 22.9 (A645) – 4.68 (A663) × (V/1000 W)
Carotenoid (mg/g FW) = 7.6 (A470) – 1.49 (A510) × (V/1000 W)

نحوه اندازه‌گیری ویژگی‌های روزنه

جهت اندازه گیری طول، عرض و دهانه روزنه از یک میکروسکوپ نوری با قابلیت عدسی چشمی مدرج استفاده شد. جهت تهیه نمونه ها یک لایه نازک لاک ناخن شفاف به اپیدرم زیرین برگ گیاهان در زمان‌های نمونه برداری زده شد و سپس به وسیله چسب نواری اپیدرم برگ جدا و بر روی لام ثابت گردید و به آزمایشگاه منتقل و زیر میکروسکوپ بررسی شد از هر تکرار در هر تیمار دو نمونه برگ گرفته شد و در هر نمونه تعداد روزنه‌ها در ده میدان دید شمرده شده و در هر نمونه طول، عرض و دهانه ده روزنه با استفاده از عدسی چشمی مدرج اندازه گیری شد.

نتایج و بحث

جدول ۱- اثر تیمار گرما بر میزان رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی و خصوصیات روزنه اپیدرم سطح زیرین برگ رز چینی

گرما (ساعت)	کلروفیلa ($mg.Fw^{-1}$)	کلروفیلb (mg.Fw-1)	کلروفیل کل (mg.Fw-1)	کارتنوئید (mg.Fw-1)	میانگین طول روزنه (µm)	میانگین عرض روزنه (µm)	میانگین دهانه روزنه (µm)	تراکم (mm2)
۰	۰/۸۴^{b}	۱/۰۰^{b}	۱/۸۴^{b}	۰/۵۳^{b}	۲۵/۰۴^{ab}	۱۲/۹۵^{b}	۴/۹۲^{a}	۷/۶۲^{a}
۲	۱/۴۳^{a}	۱/۰۰^{b}	۲/۴۳^{ab}	۰/۸۳^{a}	۲۴/۶۲^{b}	۱۳/۶۴^{a}	۴/۴۱^{ab}	۹۵/۷۵^{a}
۶	۱/۲۱^{ab}	۱/۰۹^{ab}	۲/۳۱^{ab}	۰/۷۵^{ab}	۲۶/۱۲^{a}	۱۲/۶۶^{b}	۳/۷۱^{b}	۷۶/۲۱^{a}
۱۲	۱/۴۱^{a}	۱/۲۴^{a}	۲/۶۶^{a}	۰/۹۰^{a}	۲۲/۷۸^{c}	۱۱/۲۹^{c}	۲/۴۳^{c}	۹۶/۸۹^{a}

حروف مشترک در هر ستون اختلاف معنی داری در سطح ۵٪ با استفاده از آزمون دانکن ندارند

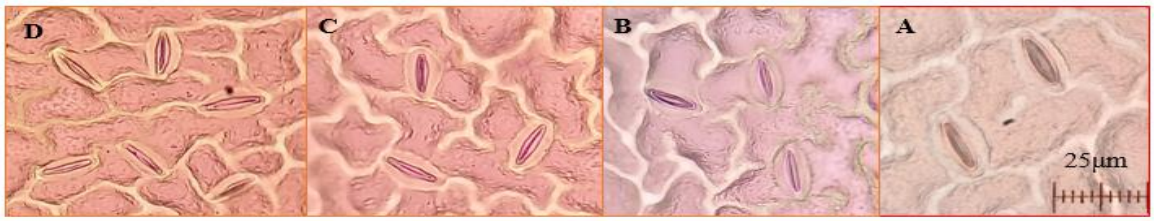
نتایج بیانگر این است که در این مطالعه محتوای کلروفیلa، کلروفیلb، کلروفیل کل و کارتنوئید در شرایط تنش بیش از شرایط معمول شد به طوری که بیشترین میزان کلروفیلa، کلروفیلb، کلروفیل کل و کارتنوئید در تنش گرمایی ۱۲ ساعت مشاهده شد. در رابطه با طول روزنه، کمترین طول روزنه در تنش گرمایی ۱۲ ساعت و بیشترین میزانطول روزنه در تنش گرمایی ۶ ساعت مشاهده گردید. از طرفی عرض روزنه در تنش ملایم ۲ ساعت ابتدا افزایش و با افزایش مدت زمان تنش تا ۱۲ ساعت، عرض روزنه کاهش یافته است به طوری که کمترین عرض روزنه در تنش گرمای ۱۲ ساعت بوده است. گشودگی دهانه روزنه با توجه به شکل ۱با افزایش مدت زمان تنش کاهش یافته و دهانه روزنه‌ها در تنش ۱۲ ساعت به طور کامل بسته شده–اند. تنش گرما بر میزان تراکم روزنه ها در واحد سطح برگ، تاثیر معنی داری نداشته است.

جدول ۲- اثر تیمار سرما بر میزان رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی و خصوصیات روزنه اپیدرم سطح زیرین برگ رز چینی

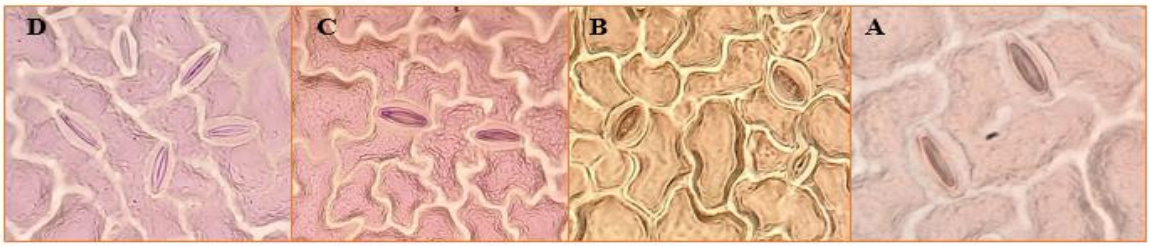
سرما (ساعت)	کلروفیلa ($mg.Fw^{-1}$)	کلروفیلb ($mg.Fw^{-1}$)	کلروفیل کل ($mg.Fw^{-1}$)	کارتنوئید ($mg.Fw^{-1}$)	میانگین طول روزنه (µm)	میانگین عرض روزنه (µm)	میانگین دهانه روزنه (µm)	تراکم (mm^2)
۰	۰/۸۴^{a}	۱/۰۰^{a}	۱/۸۴^{a}	۰/۵۳^{a}	۲۵/۰۴^{a}	۱۲/۹۵^{b}	۴/۹۲^{a}	۷۱/۶۲^{b}
۳	۱/۱۸^{a}	۱/۰۵^{a}	۲/۲۴^{a}	۰/۷۴^{a}	۲۱/۸۷^{b}	۱۵/۷۵^{a}	۴/۹۹^{a}	۹۵/۰۵^{b}
۶	۱/۰۲^{a}	۰/۹۳^{a}	۱/۹۶^{a}	۰/۶۷^{a}	۲۲/۰۰^{b}	۱۵/۰۸^{a}	۵/۷۹^{a}	۴۲/۵۹^{a}
۲۴	۰/۸۴^{a}	۰/۹۴^{a}	۱/۷۹^{a}	۰/۵۴^{a}	۲۲/۹۱^{b}	۱۳/۵^{b}	۵/۱۶^{a}	۲۶/۸۲^{a}

حروف مشترک در هر ستون اختلاف معنی داری در سطح ۵٪ با استفاده از آزمون دانکن ندارند

همان طور که جدول مقایسه میانگین نشان میدهد (جدول۲) اختلاف معنی داری بین سطوح مختلف تنش سرما درمیزان کلروفیلa، کلروفیلb، کلروفیل کل و کارتنوئید وجود ندارد طول روزنه تحت تنش سرما کاهش یافته است کمترین میزان طول روزنه در تنش سرما ۳ ساعت و بیشترین طول روزنه در شاهد مشاهده شد درحالی که عرض روزنه در اثر تنش سرما افزایش یافته است کمترین عرض روزنه در شاهد و بیشترین عرض روزنه در تنش ۳ ساعت سرما مشاهده گردید تنش سرما در گشودگی دهانه روزنه تاثیر معنی داری نداشته است و تراکم روزنه تحت تنش ۶ و ۲۴ ساعت سرما افزایش یافته است.



شکل ۱ : نمایی از روزنه‌های رز چینی تحت سطوح مختلف تنش گرما که توسط میکروسکوپ نوری با عدسی ۴۰X تهیه‌شده است. (A) گیاهان شاهد (B) گیاهان تحت تنش ۲ ساعت گرما (C)گیاهان تحت تنش ۶ ساعت گرما (D) گیاهان تحت تنش ۱۲ ساعت گرما



شکل ۲ : نمایی از روزنه‌های رز چینی تحت سطوح مختلف تنش سرما که توسط میکروسکوپ نوری با عدسی ۴۰X تهیه‌شده است (A) گیاهان شاهد (B) گیاهان تحت تنش ۳ ساعت سرما (C)گیاهان تحت تنش ۶ ساعت سرما (D) گیاهان تحت تنش ۲۴ ساعت سرما

صالحی و همکاران (۱۳۸۲) گزارش کردند که در گندم میزان نیتروژن و کلروفیل در واکنش به محدودیت رطوبتی افزایش‌یافته است سیدیک و همکاران ۱۹۹۹ کاهش در میزان فتوسنتز را ناشی از کاهش هدایت روزنه‌ها و نه کاهش در محتوای کلروفیل آن‌ها دانسته‌اند. برای گیاهانی که دچار تنش کم‌آبی می‌شوند مهم‌ترین عامل توانایی بسته شدن روزنه‌ها و درنتیجه جلوگیری از اتلاف اضافی آب است که باز و بسته شدن روزنه‌ها با تورم و کوچک شدن سلول‌های محافظ روزنه که حاصل از تبادل یونی است صورت می‌گیرد (Kim et al., 2010) تورم سلول‌های محافظ منجر به باز شدن روزنه‌ها می‌شود زیرا محتوای یون‌ها و اسمولیت‌ها در آن‌ها باعث بزرگ‌تر شدن و دور شدن آن‌ها از یکدیگر می‌شود در مقابل بسته شدن روزنه‌ها درنتیجه کوچک شدن سلول‌های محافظ روزنه و ورود جریان یون‌ها رخ می‌دهد بسته شدن روزنه اولین واکنش گیاه به کمبود آب است (Schroeder et al., 2001) از عوامل دیگر بسته شدن روزنه‌ها آبسیزیک اسید (ABA) است که این هورمون در اثر تنش تحریک‌شده و میزان آن افزایش می‌یابد و به‌نوبه خود موجب کنترل و بسته شدن روزنه‌ها می‌شود (Koocheki &Rashed, 1987). تعداد و تراکم روزنه‌ها متأثر از ژنوتیپ و محیط‌اند و در مقایسه با باز و بسته شدنشان تأثیر کمتری بر میزان کل تعرق می‌گذارند (Koocheki & Sarmadnia, 1987). با توجه به نتایج این پژوهش مشخص شد که تنش گرما ویژگی‌های روزنه را کاهش می‌دهد و تاثیری بر کاهش میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی ندارد بلکه میزان آنها تحت تنش گرما بیشتر از شرایط معمول شده است و تنش سرما نیز بر محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی تاثیری نداشته است عرض و تراکم روزنه تحت تنش سرما افزایش و طول روزنه کاهش یافته است.

منابع

1. Guy C, Kaplan F, Kopka J, Selbig J, Hincha DK (2008) Metabolomics of temperature stress. Physiol Plantarum 132:220–235
2. http://www.researchandmarkets.com
3. Jiang, C.G., Xu, J.Y., Zhang, H., Zhang, X., Shi, J.L., Li, M., et al., 2009. A cytosolic class I small heat shock protein, RcHSP17.8, of Rosa chinensis confers resistance to a variety of stresses to Escherichia coli, yeast and Arabidopsis thaliana. Plant Cell Environ. 32, 1046–1059
4. Koochaki, A, & Rashed, M. H. (1987). Physiological principles of crop growth and development . Astan Ghods Razavi Publication. 404p. (In Farsi). 6.
5. Nadeau, J. A., and Sack, F. D. (2002). Stomatal development in Arabidopsis. Arabidopsis Book 1, e0
6. Schroeder, J. I., Allen, G. J., Hugouvieux, V., Kwak, J. M., and Waner, D. (2001b). Guard cell signal transduction. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 52, 627–658.
7. Taji T, Ohsumi C, Iuchi S, Seki M, Kasuga M, Kobayashi M, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K (2002) Important roles of droughtand cold- inducible genes for galactinol synthase in stress tolerance in Arabidopsis thaliana. Plant J 29:417–426
8. Wang P, Chen X, Guo Y, Zheng Y, Yue C, Yang J, Ye N (2019) Identifcation of CBF transcription factors in tea plants and a survey of potential CBF target genes under low temperature. Int J Mol Sci 20:5137
9. Winfeld MO, Lu C, Wilson ID, Coghill JA, Edwards KJ (2010) Plant responses to cold: transcriptome analysis of wheat. Plant Biotechnol J 8:749–77
10. Wu, Z., Raven, P. H., & Hong, D. (2005). Flora of China. Volume 14: Apiaceae through Ericaceae. Science Press.
11. Yadollahi, A., Arzani, K. & Ebadi, A. (2009). An evaluation of morphological markers linked to drought resistance in cultivated almond seedlings (Prunus dulcis Mill.). Iranian Journal of Hoticultural Science , 40(1), 1-12. (In Farsi)

Stomata and leaf pigments content response to heat and low temperature in *Rosa chinensis*

Shahrzad Vaziee[1]*, Mostafa K. Sarmast [2]
[1*] Department of Horticultural Science, Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resources
[2] Department of Horticultural Science, Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resources
Corresponding Author: shahrzad.vaziee@yahoo.com

Abstract
Rose is one of the most important ornamental plants in the world. The rose growth and development is generally limited under heat stress by which many varieties go to the dormancy stage and do not bloom. Low temperatures also negatively affect the growth and development of the plant by influecing flower yield and quality. This study was laid out to investigate the stomata cells (length, width, opening and density) and photosynthetic pigments (chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll and carotenoids) response to cold and heat stress condition. . The Chinese roses of Old Blush cultivar cutting were used in a completely randomized design with three replications in growth chamber. In order to apply heat stress, plant exposed to 42 ° C for 2, 6 and 12 h. Plants received cold stress at 4 ° C during the course of 3, 6 and 24 h. Control plants were grown at 25ºC. The research results indicate that heat stress caused the closure of stomata. The lowest length, width and opening of the pores were observed after 12 h of the heat stress.However the heat stress did not have any significant effect on the stomata density. The content of chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll and carotenoids was much more than control specially after 12 h of heat treatment. No significant difference was observed among chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll and carotenoids subjected to the cold stress in different levels Cold stress leads to stomata length reduction. The lowest stomata width was observed in the control plants however, their width increased to great extent after 3 h of cold stress. Cold stress had no significant effect on stomatal opening but the stomatal density significantly increased at 6 and 24 hours of cold stress.
key words: Abiotic stress, Rosa chinensis, stomata, pigments