

بررسی فعالیت آنزیم کاتالاز و کارایی فتوسنتزی لاین‌های ذرت تحت آلودگی فوزاریوم (*Fusarium verticillioides*)

فرهاد باغبانی^۱، سجاد محرم‌نژاد^{۲*}، رامین لطفی^۳، علی بنده‌حق^۴ و حسین کربلایی خیای^۵

- ۱- مربی گروه علوم کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران.
 - ۲- استادیار پژوهشی، بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اردبیل (مغان)، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مغان، ایران.
 - ۳- استادیار پژوهشی، موسسه تحقیقات کشاورزی دیم، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مراغه، ایران.
 - ۴- دانشیار، گروه به‌نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.
 - ۵- استادیار پژوهشی، بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اردبیل (مغان)، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مغان، ایران.
- * نویسنده مسوول: sm.chakherlo@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۹۸/۶/۲۳

تاریخ دریافت: ۹۷/۱۲/۲۶

چکیده

به منظور بررسی اثر قارچ *Fusarium verticillioides* بر عملکرد دانه، فعالیت آنزیم کاتالاز و عملکرد کوانتومی لاین‌های ذرت، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه‌ی بلوک‌های کامل تصادفی با پنج تکرار طی سال زراعی ۱۳۹۶ در دانشگاه پیام نور واحد مغان اجرا شد. عامل اول دو لاین ذرت (MO₁₇ و B₇₃) و عامل دوم تیمار *F. verticillioides* در دو سطح (شاهد و آلودگی) بودند. نتایج نشان داد عملکرد دانه‌ی لاین‌های ذرت تحت تنش بیماری فوزاریوم بطور معنی‌دار کاهش و فعالیت آنزیم کاتالاز افزایش یافت. همچنین فلورسانس حداقل (Fo) در لاین MO₁₇ کاهش و در مقابل Fo در لاین B₇₃ افزایش پیدا نمود. کارایی کمپلکس تجزیه آب در فتوسیستم II (Fv/Fo) در لاین B₇₃ افزایش و در لاین MO₁₇ کاهش نشان داد. هر چند میزان فلورسانس حداکثر (F_M) در هر دو لاین کاسته شد. انرژی لازم برای بسته شدن مراکز واکنشی (S_M) و تعداد دفعات اکسیداسیون و احیاء اولین پذیرنده‌ی الکترون (Q_A) تا مرحله‌ی فلورسانس حداکثر (F_M) در لاین MO₁₇ افزایش و در لاین B₇₃ کاهش یافت. یافته‌های این مطالعه مشخص نمود که استفاده از میزان فلورسانس کلروفیل *a* یک روش سریع و غیر تخریبی برای ارزیابی واکنش ذرت به آسیب حاصل از قارچ فوزاریوم می‌تواند باشد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم آنتی اکسیدان، برگ ذرت، تنش زیستی، عملکرد، فلورسانس کلروفیل.

مقدمه

تولید شده توسط فوزاریوم، داکسی‌نیوالنول^۲ می‌باشد. درجه‌ی بیماری‌زایی فوزاریوم به میزان داکسی‌نیوالنول تولید شده توسط آن بستگی دارد (Santiago et al., 2012). داکسی‌نیوالنول باعث نشت غشای کلروپلاست، ریوزوم و سلول‌ها در بوته‌های آلوده‌ی غلات می‌گردد. سنتز داکسی‌نیوالنول توسط قارچ در اثر pH پایین، تنش

ذرت (*Zea mays* L.) یکی از مهم‌ترین گیاهان زراعی است که از لحاظ سطح زیر کشت بعد از گندم مقام دوم را در بین غلات به خود اختصاص داده است (FAO, 2017). گونه *Fusarium verticillioides* قادر به تولید زهرابه قارچی مایکوتوکسین^۱ بوده و مهم‌ترین زهرابه قارچی

² Deoxynivalenol

¹ Mycotoxin

تنش افزایش می‌یابد (Maksimov et al., 2015). در حالت کلی فلورسانس کلروفیل a یک شاخص فیزیولوژیک معتبر برای مشخص نمودن تغییرات القاء شده در دستگاه فتوسنتزی می‌باشد (Mehta et al., 2010). در زنجیر انتقال الکترون فتوسنتزی، فتوسیستم II نسبت به فتوسیستم I به تنش‌های محیطی حساس‌تر می‌باشد (Maksimov et al., 2015). یکی از دلایل آن وجود کمپلکس تجزیه کننده‌ی آب در فتوسیستم II است. اختلال در کارایی فتوسنتز بیشتر مربوط به فتوسیستم II است. به طوری که تنش فعالیت فتوسیستم II را به میزان زیادی کاهش می‌دهد و اختلال در انتقال الکترون زنجیره کینونی موجود در فتوسیستم III، عملکرد کوانتومی را کاهش می‌دهد (Baghbani et al., 2019). همچنین پروتئین‌های D_1 و D_2 فتوسیستم II در شرایط تنش آسیب می‌بینند. این پروتئین‌ها از اجزای اصلی این فتوسیستم بوده و تخریب آن‌ها بازدارندگی نوری را در پی دارد (Maksimov et al., 2015). از این رو ثابت شده است که فتوسیستم II نقش مهمی در دستگاه فتوسنتزی گیاهان آلی ایفا می‌کنند (Mishra et al., 2014). فلورسانس کلروفیل a یک علامت (پیغام رسانی) چند مرحله‌ای است که منحنی O-J-I-P خوانده می‌شوند. منحنی O-J-I-P احیاء یا اکسید متوالی خزانه انتقال الکترون را در فتوسیستم II نشان می‌دهد (Baghbani et al., 2019). در منحنی OJIP سطح زیر منحنی، حجم خزانه کینون‌های گیرنده‌ی الکترون (QA، QB و PQ) را نشان می‌دهد (Goncalves et al., 2007). ناحیه‌ی بالای منحنی القای فلورسانس ما بین فلورسانس حداقل و فلورسانس حداکثر را به عنوان نشان دهنده‌ی حجم خزانه کینون‌های گیرنده‌ی الکترون معرفی نمودند (Mehta et al., 2010). از مهم‌ترین پارامترهایی که از منحنی OJIP-test قابل محاسبه است، می‌توان به شاخص عملکرد اشاره نمود (Mehta et al., 2010). شاخص عملکرد پارامتری است که سه فاکتور درگیر در مراحل عملکردی فتوسنتز، شامل تعداد مراکز واکنشی موجود در

اسمزی، تنش اکسیداتیو و میزان بالای پلی‌آمین‌ها تحریک می‌شود. واکنش‌های دفاعی القا شده می‌توانند فقط در محلی که تحریک صورت گرفته اتفاق افتند (القای موضعی) که تولید ترکیباتی مانند هیدروکسی پرولین‌ها، لینگین و فیتوآلکسین‌ها در محل تحریک و مرگ سریع سلول‌ها در محل ورود عوامل بیماری‌زا (واکنش فوق حساسیت) از جمله‌ی این موارد است (Walter et al., 2010). همچنین ممکن است انواع اکسیژن فعال¹ (ROS) در اثر توکسین‌های فوزاریومی ایجاد شوند. تجمع پراکسید هیدروژن (H_2O_2) در داخل بافت‌های گیاهی آلوده یکی از اولین مراحل پاسخ به بیماری است. انواع اکسیژن فعال از احیاء ناقص اکسیژن در طی فرآیندهای زیستی و هوازی سلول مانند فتوسنتز، تنفس و تنفس نوری به وجود می‌آیند (Moharramnejad et al., 2016). تخریب اکسایشی H_2O_2 در داخل بافت‌های گیاهی آلوده به فوزاریوم در پنج روز اول بعد از آلودگی است. به نظر می‌رسد H_2O_2 با فعال کردن برخی ژن‌های مرتبط با تنش در بهبود مقاومت گیاهان به آلودگی فوزاریومی مؤثر باشد (Zhou et al., 2005). کاتالاز (CAT) یکی از مهم‌ترین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان است که نقش بسیار مهمی برای حفظ سلول در برابر صدمات حاصل از H_2O_2 تحت شرایط تنش محیطی (زیستی و غیر زیستی) در گیاه دارد (Magbanua et al., 2007).

کلروفیل a انرژی دریافتی از فوتون نوری را به مرکز واکنشی انتقال داده و این فعل و انفعالات سبب راه افتادن زنجیر انتقال الکترونی در کلروپلاست می‌گردد. در شرایط تنش‌های محیطی به دلیل مسدود شدن مسیر انتقال الکترونی، زنجیره متوقف می‌شود. در چنین شرایطی، یکی از راه‌حلهایی که کلروفیل a برانگیخته برای برگشت به حالت پایدار در پیش می‌گیرد، فلورسانس است. میزان فلورسانس کلروفیل در شرایط عادی حدود ۰/۳ تا ۲ درصد کل انرژی دریافتی است که این میزان در شرایط

¹Reactive oxygen species

پژوهش برای بررسی مسیر انتقال الکترون فتوسنتزی، عملکرد دانه و فعالیت آنزیم کاتالاز روی ژل پلی آکریلامید لاین‌های ذرت تحت تیمار با این قارچ بود.

مواد و روش‌ها

شرایط مزرعه و اعمال تیمار بیماری

این آزمایش طی سال زراعی ۱۳۹۶ در دانشگاه پیام نور واحد ممقان اجرا شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با پنج تکرار به اجرا درآمد. یکی از عامل‌های آزمایش دو لاین ذرت (MO17 و B73) و عامل دوم تیمار بیماری فوزاریوم (شاهد و آلودگی در مرحله‌ی گیاهچه‌ای) بودند. قارچ فوزاریوم از بخش ذرت و گیاهان علوفه‌ای موسسه‌ی تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه شد. این جدایه‌ها برای رشد در محیط کشت (20 g dextrose + 20 g agar + 250 g PDA potato extract) با شرایط ۱۲ ساعت نور در دمای ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد و ۱۲ ساعت تاریکی در دمای ۲۰ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شدند. زمانی که گیاهان چهار برگه شدند، قارچ‌های رشد داده شده در محیط PDA روی برگ گیاهان تیمار شدند و گیاهان شاهد نیز فقط با محیط کشت PDA خالص بدون قارچ تیمار گردیدند.

عملیات تهیه‌ی بستر شامل شخم برگردان، روتیواتور، دیسک و تسطیح بهاره در زمان مناسب انجام گردید. براساس توصیه کودی، قبل از کاشت، ۳۰۰ کیلوگرم در هکتار اوره، که نیمی از آن قبل از کاشت و مابقی در مرحله‌ی هشت تا ۱۰ برگی به عنوان کود سرک و ۳۰۰ کیلوگرم در هکتار فسفات آمونیوم به کار برده شد و سپس آبیاری صورت گرفت. هر کرت آزمایشی شامل چهار ردیف به فاصله ۷۵ سانتی‌متر و به طول ۵ متر بود که در روی هر ردیف جهت اطمینان از سبز شدن دو بذر در ۲۵ نقطه به فاصله ۲۰ سانتی‌متر به صورت دستی کاشته شد. پس از تنک کردن در مرحله‌ی

بستر کلروفیل، میزان به دام انداختن انرژی برانگیخته و میزان تبدیل انرژی برانگیخته به انتقال الکترون را به یک فاکتور چند متغیره تبدیل می‌کند. شاخص عملکرد، یک شاخص مطلوب برای ارزیابی عملکرد گیاه در مورد جذب انرژی نوری، بدام انداختن انرژی برانگیخته و تبدیل انرژی برانگیخته به انتقال الکترون، به وسیله فتوسنتز در شرایط تنش‌های محیطی مانند شوری، خشکی، گرما و غیره می‌باشد (Mishra et al., 2014). شاخص عملکرد علاوه بر نشان دادن میزان عملکرد فلورسانس در محدوده‌ی فلورسانس حداقل و حداکثر، می‌تواند در نقاط حدواسط آنها مانند مرحله a ، میزان فلورسانس را نشان دهد. همچنین با استفاده از این شاخص می‌توان شبیهی که فلورسانس بروز می‌نماید، را نیز مشخص نمود. شاخص عملکرد، اجازه‌ی تجزیه‌ی همه جانبه‌ی عملکرد فتوسنتزی را فراهم می‌آورد. به طوری که با استفاده از این پارامتر می‌توان ارتباط بین کارایی جذب فوتون و تصرف انرژی برانگیخته در فتوسیستم II، تراکم تعداد مراکز واکنشی و احتمال انتقال الکترون به بعد از Q_A^- توسط انرژی برانگیخته را بررسی کرد (Kalaji et al., 2014). در میان پارامترهایی که منجر به کاهش شاخص عملکرد می‌شوند می‌توان به غیرفعال شدن تعداد زیادی از مراکز واکنشی فعال در سطح برگ، شدت بالای انرژی نوری، کاهش پارامتر حداکثر عملکرد کوانتومی فتوسیستم II و کاهش شدت جریان الکترون بعد از Q_A^- اشاره کرد. از این‌رو منحنی فلورسانس سریع کلروفیل a یک شاخص معتبر برای ارزیابی پاسخ فتوسیستم II به شرایط تنش است. از جمله چندین گونه قارچ از جنس فوزاریوم که بیشتر ذرت را تحت تاثیر قرار می‌دهند می‌توان *Fusarium verticillioides* را نام برد. این قارچ عامل بیماری پوسیدگی بذر، ریشه، ساقه، بلال و مرگ گیاهچه در ذرت است (Fandohan et al., 2003). تاکنون اطلاعات موجود در خصوص اثرات قارچ فوزاریوم بر فتوسنتز ذرت کم و محدود است و لذا هدف از انجام این

¹Potato Dextrose Agar

نوری در طول موج ۶۵۰ نانومتر با شدت ۳۰۰۰ میکرومول فوتون بر مترمربع بر ثانیه تابیده شد و پارامترهای مختلف دستگاه با استفاده از نرم افزار ویژه این دستگاه (PEA plus v1.10) قرائت و یادداشت شدند.

تجزیه تحلیل آماری

از نرم افزار MCID برای کمی سازی "مساحت × شدت" نوار آنزیمی به عنوان فعالیت دنسیتومتریک کاتالاز روی ژل پلی آکریلامید استفاده شد. آزمون نرمال بودن داده ها به روش تست کولموگروف- اسمیرنوف انجام گرفت. همچنین مقایسه میانگین داده ها توسط آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد صورت گرفت. تجزیه های آماری با استفاده از نرم افزار SPSS 19.0 اجرا شد.

نتایج و بحث

عملکرد دانه و فعالیت آنزیم کاتالاز

تنش فوزاریوم باعث کاهش معنی دار عملکرد دانه در لاین های ذرت شد. بطوریکه این میزان کاهش نسبت به تیمار شاهد حدود ۱۵/۲۲ درصد بود (شکل ۱). براساس شکل (۲) الگوی نواربندی آنزیم CAT در لاین های ذرت مورد مطالعه در دو شرایط بدون بیماری و بیماری فوزاریوم روی ژل پلی آکریلامید هشت درصد را نشان می دهد. همانطوریکه پیداست، یک ایزوفرم برای آنزیم کاتالاز مشاهده می شود. تنش بیماری زیستی فوزاریوم باعث افزایش فعالیت CAT شد (شکل ۳). طوریکه این میزان افزایش فعالیت نسبت به شرایط عادی حدود ۱۸/۶ درصد بود.

نتایج حاصل از این مطالعه به روشنی مشخص کرد که لاین های مختلف ذرت پاسخ متفاوتی به آلودگی قارچ فوزاریوم دادند که این تفاوت ناشی از محل اثر و بازدارندگی واکنش های فیزیولوژیکی تحت تاثیر قارچ می تواند باشد که این امر منجر به کاهش ۱۵/۲۲ درصدی عملکرد دانه لاین های ذرت شد. وجود یک ایزوفرم نیز برای آنزیم CAT در گیاه ذرت (Moharramnejad et

۴-۵ برگگی فقط یک بوته در هر نقطه نگه داشته شد. وجین علف های هرز از مرحله ی ابتدایی کاشت تا مراحل نهایی به صورت دستی انجام شد. برداشت محصول برای اندازه گیری عملکرد دانه پس از حذف دو ردیف کناری هر کرت و ۲۵ سانتی متر از ابتدا و انتهای هر ردیف کاشت به عنوان اثر حاشیه ای، فقط از دو ردیف وسط هر کرت انجام شد.

استخراج و رنگ آمیزی آنزیم کاتالاز^۱ (CAT):

نمونه های برگگی تازه در بافر استخراج (تریس ۵۰ میلی-مولار، پنج درصد ساکاروز، ۵۰ میلی مولار اسکوربیک اسید، ۲۰ میلی مولار سدیم متابی سولفیت و دو درصد پلی-اتیلن گلیکول) با pH برابر ۷/۵ حاوی ۰/۱ درصد ۲-مرکاپتواتانول با نسبت وزنی یک از برگ و یک از بافر استخراج، به خوبی هموژنیزه و سپس محلول حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور و دمای چهار درجه ی سانتی گراد سانتریفوژ شد. عصاره ی آنزیمی با قطعات بریده شده کاغذ واتمن شماره ۳ و مناسب با ابعاد چاهک، جذب و در ژل پلی آکریلامید هشت درصد با ابعاد ۱۲×۱۵×۰/۶ سانتی متر بارگذاری شد (Valizadeh et al., 2013). برای رنگ آمیزی آنزیم CAT از روش محرم نژاد و همکاران (Moharramnejad et al., 2016) استفاده شد.

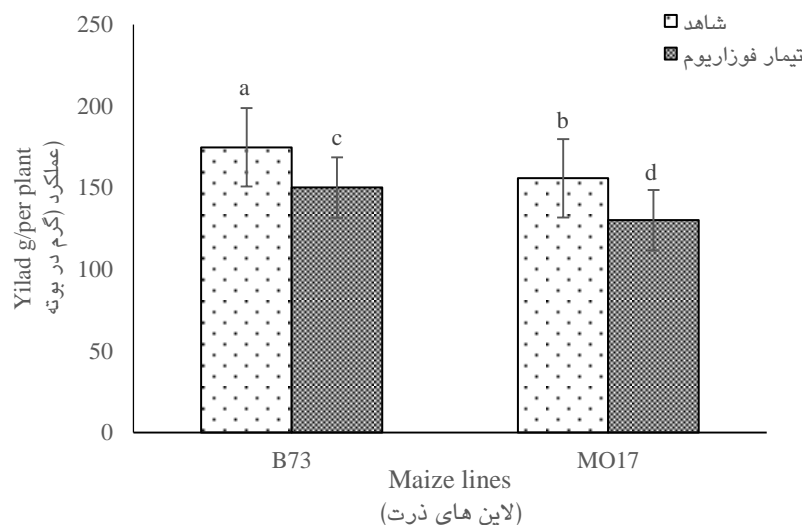
عملکرد فتوسنتزی: عملکرد فتوسنتزی گیاهان با

استفاده از دستگاه Handy-PEA بعد از اعمال تیمار بیماری فوزاریوم ارزیابی شدند. برای اندازه گیری فلورسانس کلروفیلی برگ های کاملاً توسعه یافته بالای بوته انتخاب شد. برگ های انتخاب شده با استفاده از کلیپس های مخصوص این دستگاه به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفتند. در این دوره تاریکی مراکز واکنشی موجود در سیستم فتوسنتزی به صورت کامل باز می شود. سپس به این برگ ها به مدت ۴ ثانیه یک پالس

^۱Catalase

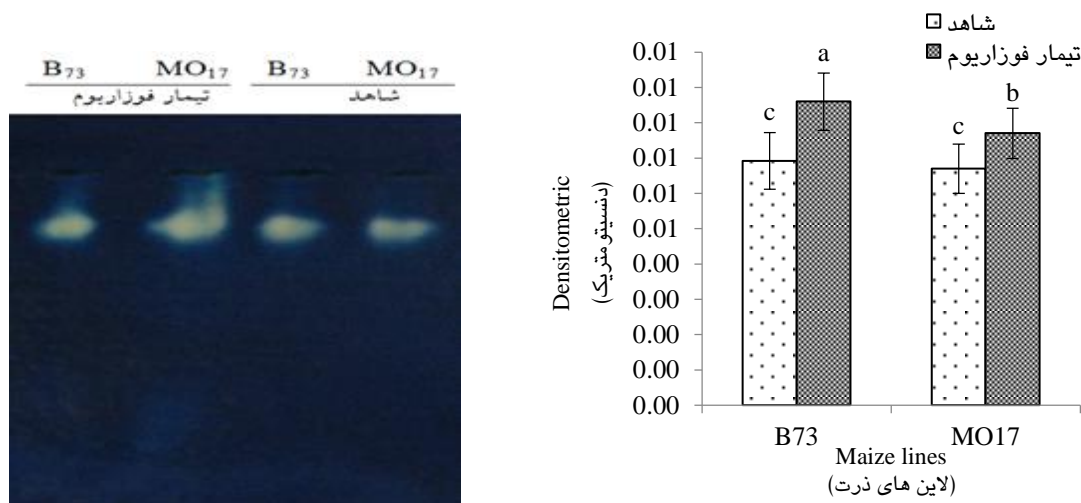
(2016) همخوانی داشت. افزایش فعالیت CAT در شرایط تنش می‌تواند به عنوان شاخصی برای افزایش ROS باشد.

(al., 2016) گزارش شده‌است که با نتایج ما مطابقت دارد (شکل ۲). میزان فعالیت CAT در لاین‌های ذرت تحت تیمار فوزاریوم بطور معنی‌دار ۱۸/۶ درصد افزایش یافت (شکل ۲) که با نتایج مابانوا و همکاران (Balabanova et al.,)



شکل ۱- عملکرد دانه‌ی لاین‌های ذرت تحت تیمار فوزاریوم (میانگین‌های دارای حروف مشابه اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند).

Figure 1. Grain yield of maize lines under fusarium treatment (Means with the same letters have not significant difference at 5% probability level).



شکل ۲- فعالیت آنزیم CAT روی ژل پلی آکریل آمید در لاین‌های ذرت تحت تیمار فوزاریوم (میانگین‌های دارای حروف مشابه اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند).

Figure 2. Catalase activity in polyacrylamide gel in maize lines under fusarium treatment (Means with the same letters have not significant difference at 5% probability level).

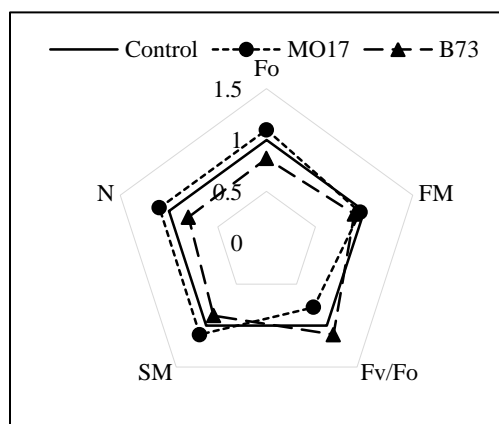
تغییر معنی‌داری نشان نداد اما لاین MO₁₇ به طور معنی‌داری کاهش یافت. مقدار انرژی جذبی هدر رفته در آنتن-های فتوسیستم II (φD₀) در لاین MO₁₇ افزایش و در لاین B₇₃ کاهش یافت. هر دو پارامتر عملکرد کوانتومی انتقال الکترون از اولین پذیرنده‌ی الکترون (Q_A) به پلاستوکینون (PSE₀) و عملکرد کوانتومی احیاء آخرین پذیرنده‌های الکترون در فتوسیستم II (φR₀) در هر دو لاین باتیمار فوزاریوم نسبت به شاهد کاهش یافتند (شکل ۴).

مقایسه‌ی گیاهان تیمار شده با قارچ فوزاریوم نسبت به گیاهان شاهد نشان داد که میزان سرعت بسته شدن مراکز واکنشی (Mo) و اندازه‌ی آنتن‌ها در مراکز واکنشی فعال فتوسیستم II (ABS/RC) در لاین MO₁₇ نسبت به لاین B₇₃ افزایش یافته است (شکل ۵ الف و ب). در مقابل شاخص عملکرد فتوسنتزی در فتوسیستم II (PI abs) و جریان انتقال الکترون در واحد هر مرکز واکنشی در لاین B₇₃ نسبت به لاین MO₁₇ افزایش یافت (شکل ۵ ج و د).

از آنجایی که CAT به حفظ همستازی اکسیژن فعال در زمان ایجاد تنش کمک می‌کند، فعالیت آن در گیاه به هنگام تنش افزایش یافته (Balabanova et al., 2016) و سنتز آن نوعی پاسخ سازگاری در برابر تنش اکسیداتیو می‌باشد (Ashraf, 2010).

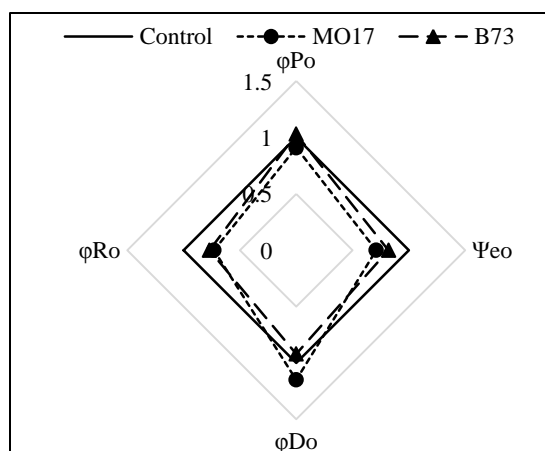
عملکرد فتوسنتزی

تیمار گیاهان با قارچ فوزاریوم، فلورسانس حداقل (F₀)، اندازه مخزن پذیرنده‌های الکترون در بخش احیاء فتوسیستم II (S_M) و تعداد دفعاتی که اولین پذیرنده‌ی الکترون (Q_A) تا رسیدن به فلورسانس به بیشینه خود (F_M) احیاء می‌شود (N)، را در لاین MO₁₇ نسبت به شاهد و در لاین B₇₃ کاهش داد. در مقابل، کارایی کمپلکس تجزیه کننده‌ی آب در فتوسیستم II (F_v/F₀) با تیمار فوزاریوم در لاین MO₁₇ کاهش و در لاین B₇₃ افزایش یافت. مقدار بیشینه فلورسانس (F_M) در لاین MO₁₇ نسبت به شاهد تغییر معنی‌داری را نشان نداد، ولی تیمار فوزاریوم فلورسانس بیشینه را در لاین B₇₃ کاهش داد (شکل ۳). تیمار بوته‌های لاین B₇₃ گیاهان با فوزاریوم حداکثر کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II (φP₀) نسبت به شاهد



شکل ۳- طرح عنکبوتی نشانگر پارامترهای فلورسانس کلروفیل JIP-test لاین‌های ذرت تحت تیمار فوزاریوم (Fo- فلورسانس حداقل، F_M- فلورسانس حداکثر، F_v/F₀- کارایی کمپلکس تجزیه کننده‌ی آب در فتوسیستم II، S_M- اندازه مخزن پذیرنده‌های الکترون در بخش احیاء فتوسیستم II و N- تعداد دفعاتی اکسیداسیون و احیاء اولین پذیرنده‌ی الکترون (Q_A) تا رسیدن به فلورسانس حداکثر).

Figure 3. Spider plot to show JIP-test of chlorophyll fluorescence parameters in maize lines under fusarium treatment (Fo; min fluorescence, F_M; max fluorescence, F_v/F₀; the activity of the watersplitting complex on the donor side of PSII, S_M; the pool size of the electron acceptors on the reducing side of PSII and N; the number of Q_A redox turnovers until F_M).



شکل ۴- طرح عنکبوتی نشانگر پارامترهای عملکرد کوانتومی JIP-test لاین‌های ذرت تحت تیمار فوزاریوم (ϕPo) - حداکثر کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II، ΨEo - عملکرد کوانتومی انتقال الکترون از اولین پذیرنده‌ی الکترون (QA) به پلاستوکینون، ϕDo - مقدار انرژی جذبی هدر رفته در آنتن‌های فتوسیستم II و ϕRo - عملکرد کوانتومی احیاء آخرین پذیرنده‌های الکترون در فتوسیستم II

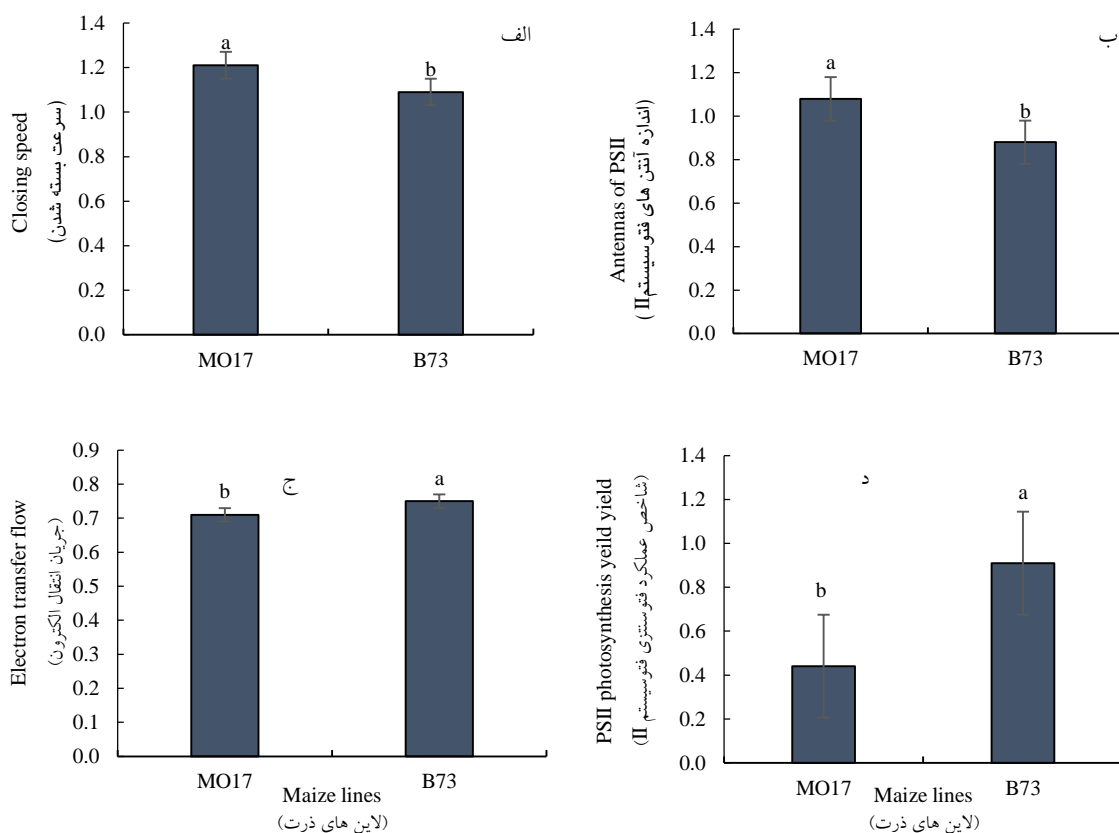
Figure 4. Spider plot to show JIP-test of quantum yield parameters in mazie lines under fusarium treatment (ϕPo ; max photochemical efficiency of PSII, ΨEo ; the quantum yield of reduction of first electron acceptors (QA) to plastoquinone, ϕDo ; the loss of energy absorbed in antennas of PSII and ϕRo ; the quantum yield of reduction of end electron acceptors at the PSI acceptor side).

نتیجه‌ی خسارت به مراکز واکنشی فتوسیستم II است که باعث کاهش حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II می‌شود (Baker et al., 2004). طوریکه این عمل باعث کاهش بیشتر عملکرد دانه‌ی لاین MO_{17} (۲۲/۱۵ درصد) نسبت به لاین B_{73} تحت بیماری فوزاریوم شد (شکل ۱). باغبانی و همکاران (Baghbani et al., 2019) گزارش کردند که ارقام متحمل به تنش زیستی ذرت نسبت حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II بالاتری نسبت به ارقام حساس دارند، به عبارتی کارایی فتوسیستم II در رقم مقاوم بیشتر بوده است. بعلاوه، افزایش اندازه‌ی مخزن پذیرنده‌های الکترون در بخش احیاء فتوسیستم II (SM) و تعداد دفعاتی که QA تا رسیدن فلورسانس به حد بیشینه احیاء (N) بعد از تیمار قارچ فوزاریوم نشان دهنده‌ی افزایش تعداد نسبی پذیرنده‌های الکترون در مخزن پلاستوکینون یا در بخش‌های پذیرنده فتوسیستم I در لاین MO_{17} است. کاهش عملکرد کوانتومی انتقال الکترون از QA تا پلاستوکینون (ΨEo) و عملکرد کوانتومی احیاء آخرین پذیرنده‌ی الکترون در فتوسیستم II (ϕRo) در

در کلروپلاست دو محل برای آسیب تنش‌های زنده و غیر زنده وجود دارد: الف؛ زنجیره‌ی انتقال الکترون و ب؛ سنتز رنگدانه‌های دریافت نور شامل کلروفیل و کاروتنوئید (Dayan and Zaccaro, 2012) که هر دو محل در این مطالعه بررسی شده است. تیمار گیاهان با قارچ فوزاریوم منجر به افزایش فلورسانس حداقل (Fo)، سرعت بسته شدن مراکز واکنشی (MO)، اندازه‌ی آنتن‌ها در مراکز واکنشی فعال فتوسیستم II (ABS/RC) در لاین MO_{17} نسبت به لاین B_{73} شد که نشان می‌دهد در لاین MO_{17} کاهش رنگدانه کلروفیل به عنوان آنتن‌های دریافت کننده‌ی نور نمی‌توانند انرژی دریافتی خود را به مراکز واکنشی انتقال دهند و در نهایت گیاهان فلورسانس بیشتری نشر می‌دهند. این پدیده را می‌توان به کاهش حداکثر کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II (FV/FM) نسبت داد. نسبت فلورسانس متغیر به فلورسانس حداکثر، حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II برای تبدیل نور جذب شده به انرژی شیمیایی را نشان می‌دهد (Dayan and Zaccaro, 2012). کاهش حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II

واکنشی فتوسیستم II، حداکثر عملکرد کوانتومی واکنش-های اولیه‌ی فتوشیمیایی و عملکرد کوانتومی انتقال الکترون باشد. در لاین MO17 افزایش نسبی در اندازه‌ی آنتن در واحد مراکز واکنشی (ABS/RC) و تعداد دفعاتی که QA تا رسیدن فلورسانس حداکثر احیاء می‌شود (N) نشان می‌دهد که تراکم مراکز واکنشی فعال در فتوسیستم II در نتیجه‌ی تیمار گیاهان با قارچ فوزاریوم کاهش پیدا کرده است (Balabanova et al., 2016).

گیاهان تحت تیمار فوزاریوم نشان دهنده‌ی افزایش میزان فلورسانس در مراحل J و I از منحنی فلورسانس کلروفیل (نتایج آورده نشده است) است که منجر به کاهش شاخص عملکرد فتوسنتزی (PI abs) می‌شود. شاخص عملکرد فتوسنتزی نشانگر رفتار فتوسیستم II بوده و شاخصی از فعالیت فتوسنتزی گیاهان است. تیمار گیاهان با فوزاریوم منجر به آسیب واکنش‌های تاریکی فتوسنتز شده و در نهایت شاخص عملکرد فتوسنتزی کاهش پیدا می‌کند. کاهش بیشتر این شاخص در لاین MO17 نسبت به لاین B73 ممکن است نتیجه‌ی اثر این قارچ بر تراکم مراکز



شکل ۵- درصد تغییرات پارامترهای مختلف فلورسانس کلروفیل در لاین‌های ذرت تحت تیمار فوزاریوم (میانگین‌های دارای حروف مشابه اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند).

Figure 5. Change percentages of various chlorophyll fluorescence parameters in maize lines under fusarium treatment (Means with the same letters have not significant difference at 5% probability level).

است (Mehta et al., 2010). میزان فلورسانس حداکثر در شرایط تنش به علت کاهش فعالیت کمپلکس تجزیه کننده و کاهش فعالیت فتوسیستم II کاهش می‌یابد (Lotfi et al.,

در اثر تابش فوتون‌های نوری همه‌ی ناقل‌های الکترون به فرم احیا در آمده و همه‌ی مراکز واکنشی بسته می‌شوند کلروفیل a در این زمان نشان دهنده‌ی فلورسانس حداکثر

کارایی کمپلکس تجزیه کننده‌ی آب در فتوسیستم II (FV/F0) در لاین MO₁₇ نسبت به لاین B₇₃ حساسیت بیشتر دارد. کاهش این پارامتر در نتیجه‌ی تیمار گیاهان با قارچ فوزاریوم نشان دهنده‌ی مختل شدن زنجیره‌ی انتقال الکترون است. نتایج ما به روشنی مشخص کرد که عملکرد کوانتومی انتقال الکترون در هر دو فتوسیستم در لاین MO₁₇ حساسیت بیشتری به قارچ فوزاریوم نسبت به لاین B₇₃ دارد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از ریاست و معاون پژوهشی دانشگاه پیام نور استان آذربایجان شرقی به خاطر فراهم نمودن امکانات لازم برای این تحقیق تشکر و قدردانی می‌گردد. این مقاله مستخرج از طرح پژوهشی به شماره ۲۸۰۱۸/د دانشگاه پیام نور استان آذربایجان شرقی می‌باشد.

افزایش در میزان فلورسانس حداقل (Fo) با تجمع پلاستوکینون‌های احیاء شده در ارتباط است و این تجمع می‌تواند منجر به فسفریلاسیون کمپلکس‌های دریافت کننده‌ی نور در فتوسیستم II شوند (Kalaji et al., 2014). کاهش در میزان حداکثر فلورسانس (Fm) نشان از افزایش تعداد QA احیاء نشده در مراکز واکنشی باشد که منجر به از دست دادن انرژی به شکل گرما می‌شود (Mishra et al., 2014). بازدارندگی شدید در بخش پذیرنده فتوسیستم I می‌تواند میزان فلورسانس حداکثر را کاهش دهد (Mishra et al., 2014).

نتیجه‌گیری کلی

براساس نتایج حاصل، تنش فوزاریوم باعث کاهش ۱۵/۲۲ درصد عملکرد دانه و افزایش ۱۸/۶ درصد فعالیت آنزیم کاتالاز شد. همچنین در این مطالعه مشخص شد که

منابع

- Ashraf M, 2010. Inducing drought tolerance in plants: some recent advances. *Biotechnology Advances*. 28: 169-183.
- Baghbani F, Lotfi R, Moharramnejad S, Bandehagh A, Roostaei M, Rastogi A and Kalaji HM, 2019. Impact of *Fusarium verticillioides* on chlorophyll fluorescence parameters of two maize lines. *European Journal of Plant Pathology*. 153 (2): 337-346.
- Baker NR and Rosenqvist E, 2004. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *Journal of Experimental Botany*. 55: 1607-1621.
- Balabanova DA, Paunov M, Goltsev V, Cuypers A, Vangronsveld J and Vassilev A, 2016. Photosynthetic performance of the imidazolinone resistant sunflower exposed to single and combined treatment by the herbicide imazamox and an amino acid extract. *Frontiers in Plant Science*. 7: 151-159.
- Dayan FE and Zaccaro MLM, 2012. Chlorophyll fluorescence as a marker for herbicide mechanisms of action. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 102: 189-197.
- Fandohan PK, Hell WFO, Marasas W and Wingfield MJ, 2003. Infection of maize by *Fusarium* species and contamination with fumonisin in Africa. *African Journal of Biotechnology*. 2:570-579.
- FAO, 2017. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>.
- Goncalves JFC, Santos UM, Nina A and Chevreuil LR 2007. Energetic flux and performance index in copaiaba (*Copaifera multijuga* Hayna) and mahogany (*Swietenia macrophylla* King) seedling grown under two irradiance environments. *Brazilian Journal of Plant Physiology*. 19: 171-184.

- Kalaji HM, Oukarroum A, Alexandrov V, Kouzmanova M, Brestic M, Zivcak M, Samborska IA, Cetner MD, Allakhverdiev SI and Goltsev V, 2014. Identification of nutrient deficiency in maize and tomato plants by in vivo chlorophyll a fluorescence measurements. *Plant Physiology and Biochemistry*. 81: 16-25.
- Lotfi R, Pessarakli M, Gharavi-Kouchebagh P and Khoshvaghti H, 2015. Physiological responses of *Brassica napus* to fulvic acid under water stress: Chlorophyll *a* fluorescence and antioxidant enzyme activity. *The Crop Journal*. 3: 434-439.
- Magbanua ZV, Moraes CMD, Brooks TD, Williams WP and Luthe DS, 2007. Is catalase activity one of the factors associated with maize resistance to *Aspergillus flavus*? *Molecular Plant Microbe Interact*. 20: 697-706.
- Maksimov E, Klementiev K, Shirshin E, Tsoraev G, Elanskaya I and Paschenko V, 2015. Features of temporal behavior of fluorescence recovery in *Synechocystis* sp. PCC6803. *Photosynthesis Research*. 125: 167-178.
- 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: 16-20.
- Mishra A, Heyer AG and Mishra KB, 2014. Chlorophyll fluorescence emission can screen cold tolerance of cold acclimated *Arabidopsis thaliana* accessions. *Plant Methods*. 10: 38-45.
- Moharramnejad S, Sofalian O, Valizadeh M, Asgari A and Shiri MR, 2016. Response of antioxidant defense system to osmotic stress in maize seedlings. *Fresenius Environmental Bulletin*. 25: 805-811.
- Santiago LV, Cervantes-Chavez AC, Leon-Ramirez CG and Ruiz-Herrera J, 2012. Polyamine metabolism in fungi with emphasis on phytopathogenic species. Review article. *Journal of Amino Acids*. 2: 1-13.
- Valizadeh M, Moharramnejad S, Ahmadi M and Mohammadzadeh Jalaly H, 2013. Changes in activity profile of some antioxidant enzymes in alfalfa half-sib families under salt stress. *Journal of Agricultural Science and Technology*. 15: 801-809.
- Walter S, Nicholson P and Doohan FM, 2010. Action and reaction of host and pathogen during fusarium head blight disease review. *New Phytologist*. 185: 54-66.
- Zhou WC, Kolb FL and Riechers DE, 2005. Identification of proteins induced or upregulated by fusarium head blight infection in the spikes of hexaploid wheat (*Triticum aestivum*). *Genome*. 48: 770-780.

Study of Catalase Activity and Photosynthetic Efficiency of Maize Lines under *Fusarium* Contamination (*Fusarium verticillioides*)

F Baghbani¹, S Moharramnejad^{2*}, R Lotfi³, A Bandehagh⁴ and H Karbalaee Khiavi⁵

¹Department of Agricultural Science, Payame Noor University, Tehran, Iran.

²Research Assistant Professor, Crop and Horticultural Science Research Department, Ardabil Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Moghan, Iran.

³Research Assistant Professor, Dryland Agricultural Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization, Maragheh, Iran.

⁴Associate Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

⁵Research Assistant Professor, Plant Protection Research Department, Ardabil Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Moghan, Iran.

*Corresponding Author: sm.chakherlo@yahoo.com

Received: 17 March 2019

Accepted: 14 September 2019

Abstract

In order to evaluate the effect of *Fusarium verticillioides* on seed yield, catalase (CAT) activity on polyacrylamide gel and quantum yield of maize line, a factorial experiment based on randomized complete block design with five replications during 2017 growing season at the Payame Noor University, Mamaghan branch was performed. The experimental factors were two maize lines (B₇₃ and MO₁₇) and two levels of *F. verticillioides* (control and fusarium contamination). The results indicated that *Fusarium verticillioides* reduced seed yield, but enhanced CAT activity in two maize lines. Furthermore, minimum fluorescence (F_o) in MO₁₇ decreased, and increased in B₇₃. Water splitting complex at donor side of PSII (F_v/F_o) in B₇₃ was increased, but was decreased in MO₁₇. The level of maximum fluorescence (F_m) in both line decreased. The energy necessary for closing reaction centers in PSII (S_m) and number of the QA reduction during fluorescence from F_o until F_m (N) in MO₁₇ were increased, but were decreased in B₇₃. The results of this study revealed++ using from the chlorophyll *a* fluorescence can be a rapid and non-destructive method for evaluation of the maize reactions to injuries caused by fusarium fungi infections.

Keywords: Antioxidant enzyme, Biotic stress, Chlorophyll fluorescence, Maize leaf, Yield.