

اثرات تنش سرما بر فیزیولوژیکی در گیاهان مقاوم به سرما

زهرة نصیریان جزی^۱، منصوره شفیعی^۲

^۱ کارشناسی ارشد بیوشیمی دانشگاه پیام نور یزد مرکز تفت

^۲ کارشناسی ارشد بیوشیمی دانشگاه پیام نور مرکز اصفهان

چکیده

قرارگیری گیاهان تحت تنش سرما، موجب تغییرات فیزیولوژیکی در آنها میشود. سرما یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیر زیستی است که باعث افزایش خاصیت شکل‌پذیری، توزیع جغرافیایی و عملکرد بسیاری از گیاهان می‌شود. تنش سرما در یک محدوده کم، باعث ایجاد ناهنجاری‌های مختلف در سطوح مختلف سازمان سلولی می‌شود. با هدف بررسی پاسخهای فیزیولوژیکی تحت تنش سرما در دو گونه گیاهی گیاه بنفشه (*viola odorata*) و گل میمونی (*Antirrhinum majus*)، در شرایط کنترل شده با سه تیمار دمایی شامل دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد زیر صفر، دمای ۳ درجه سانتی‌گراد و ۲۳ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ هفته در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا گردید. سپس طول ساقه، وزن خشک و تر اندام هوایی، میزان کلروفیل a و b، کاروتنوئیدها در برگ‌های گیاهان مورد سنجش قرار گرفت. نتایج نشان داد که تنش سرمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد زیر صفر، موجب افزایش ارتفاع، افزایش وزن تر، مقدار کاروتنوئیدها گردید. در حالیکه مقدار کلروفیل a نسبت به گیاهان شاهد در دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد تغییری نشان ندادند. نتایج این مطالعه نشان داد که گیاه گل میمونی و گل بنفشه با افزایش مقدار اسمولیت‌های سازگار و آنتیاکسیدانهای غیرآنزیمی و برخی آنتیاکسیدانهای آنزیمی از آسیب‌های ناشی از تنش سرما جلوگیری مینماید.

واژه‌های کلیدی: بنفشه، تغییرات فیزیولوژیکی، تنش سرما، گل میمونی

مقدمه

در طبیعت و کشاورزی، گیاهان همیشه تحت تأثیر برخی تنش‌های محیطی هستند که رشد و تکامل آن‌ها را در معرض تغییر قرار می‌دهد. مفهوم تنش یا تنش گیاهی عبارت است از فاکتورهای خارجی که سبب بروز اثرات زیان آور بر روی گیاهان می‌شود به گونه‌ای که برخی تنش‌ها نظیر دمای هوا می‌توانند برای مدت کوتاهی تنش‌زا باشند، برخی نیز مانند محتوای آب خاک ممکن است گیاه را برای چندین روز یا هفته تحت تأثیر قرار دهند و فاکتوری نظیر کمبود مواد معدنی خاک قادر است برای ماه‌ها برای گیاهان تنش‌زا باشد. از سویی تنش‌های محیطی نقش بسزایی در تعیین چگونگی تأثیر عوامل خاکی و اقلیمی در پراکنش و حفظ بقای گونه‌های گیاهی دارند؛ بنابراین واکنش‌های فیزیولوژیکی تحت تأثیر صدمات ناشی از تنش‌های محیطی، بروز مکانیسم‌های سازگاری و خودپذیری به تنش‌های مختلف محیطی از مهم‌ترین اتفاقات صورت گرفته در گیاهان چه در طبیعت و چه در کشاورزی است. خسارت سرمازدگی در گونه‌های حساس در درجه حرارت‌هایی اتفاق می‌افتد که از حد طبیعی برای رشد گیاه کمتر بوده، اما آن قدر نیست که باعث شکل‌گیری یخ شوند. در واقع خسارت سرمازدگی در گونه‌های نواحی گرمسیر اتفاق می‌افتد. سازگاری ژنتیکی به دماهای پایین در ارتفاعات باعث افزایش مقاومت به سرمازدگی می‌شود. به علاوه گیاهان اگر ابتدا در معرض سرما و سرمای خسارت‌زا قرار گیرند مقاومت آن‌ها افزایش می‌یابد. اگر گیاهان آهسته و به تدریج در معرض سرما قرار گیرند، خسارت سرمازدگی می‌تواند به حداقل کاهش یابد. خصوصیات غشایی از طریق خسارت سرما تغییر می‌کند. برگ‌ها در مقابل خسارت سرما خودداری از فتوسنتز و انتقال کربوهیدراتها، تنفس آهسته‌تر، جلوگیری از ساخت پروتئین و تلفات پروتئین‌های موجود را نشان می‌دهند. تمام این واکنش‌ها احتمالاً بستگی به مکانیسم اولیه مشترکی دارد که سبب تغییر خصوصیات غشا در طول سرمازدگی می‌شود (Gull et al., 2019).

در این مقاله به بررسی خصوصیات فیزیولوژیکی (میزان کلروفیل و کاروتنوئید) دو گیاه بنفشه (*viola odorata*) و گل میمونی (*Antirrhinum majus*) تحت تیمار در سه دمای ۲۳ (دمای شاهد)، ۳ و ۱۰- درجه سانتی‌گراد پرداخته شد.

مبانی نظری

سرمازدگی

خسارت سرمازدگی در گونه‌های حساس در درجه حرارت‌هایی اتفاق می‌افتد که از حد طبیعی برای رشد گیاه کمتر بوده اما آن قدر نیست که باعث شکل‌گیری یخ شوند. در واقع خسارت سرمازدگی در گونه‌های نواحی گرمسیری و نیمه گرمسیری اتفاق می‌افتد. در میان محصولات زراعی، ذرت، لوبیا، برنج، گوجه‌فرنگی، یا سیب زمینی شیرین و پنبه حساس هستند. گل ساعت، کلم و گلوکسینیا مثال‌هایی از گیاهان زینتی حساس هستند. زمانی که گیاهان در دماهای نسبتاً گرم (۲۵-۳۵) درجه سانتی‌گراد) رشد می‌کنند با سرد شدن آن (۱۵-۱۰) درجه سانتی‌گراد)، رشد کند می‌شود و برگ‌های رنگ پریده و خسارت دیده به صورت گوشتی رشد می‌کنند. اگر ریشه سرمازده شود ممکن است گیاه پژمرده گردد (Tester and Bacic, 2005).

اثرات تنش سرما بر فیزیولوژی گیاه

یکی از مهم‌ترین عوامل محیطی محدود کننده رشد گیاهان، دمای پایین است. گونه‌های مختلف گیاهی از نظر قابلیت تحمل به تنش دمای پایین، بسیار متفاوت‌اند. گیاهان گرمسیری حساس به سرما، حتی در دمای بالاتر از دمای انجماد بافت‌ها، به طور جبران ناپذیری آسیب می‌بینند. گیاه به واسطه اختلال در فرآیندهای متابولیسمی، تغییر در خواص غشاءهای سلولی و اندامکی، تغییر در ساختمان پروتئین‌ها و اثرات متقابل میان ماکرومولکولها و نیز توقف واکنش‌های آنزیمی دچار صدمه می‌گردد. گیاهانی که به یخبندان حساس ولی به سرما متحمل هستند، در دمای اندکی زیر صفر قادر به ادامه حیات بوده، ولی به محض تشکیل

کریستال‌های یخ در بافت‌ها، بشدت آسیب می‌بینند. این در حالی است که گیاهان متحمل به یخبندان قادر به ادامه حیات در سطوح متفاوتی از دماهای یخبندان هستند، البته درجه واقعی تحمل بستگی به گونه گیاهی، مرحله نمو گیاه و مدت زمان تنش دارد. قرار گرفتن گیاهان در معرض دمای زیر صفر منتج به تشکیل کریستال‌های یخ در فضای بین سلولی، خروج آب از سلول‌ها و از دست رفتن آب سلول (پسایدگی یا دهیدراسیون) می‌گردد؛ بنابراین، تحمل به یخبندان با تحمل به پسایدگی (که در اثر خشکی یا شوری زیاد به وجود می‌آید)، همبستگی شدیدی دارد. پسایدگی ناشی از یخبندان سبب اختلالات گوناگونی در ساختمان‌های غشایی از جمله به هم چسبیدن غشاءها می‌گردد. اگرچه پسایدگی سلولی ناشی از یخبندان، علت اصلی صدمات ایجاد شده در اثر یخبندان است، ولی عوامل دیگری هم در این امر دخالت دارند. کریستال‌های در حال رشد یخ سبب وارد آمدن خسارات مکانیکی به سلول‌ها و بافت‌ها می‌شود. دمای بسیار پایین حاکم در شرایط وقوع یخبندان فی‌نفسه و پسایدگی ناشی از آن سبب واسرشتگی پروتئین‌ها و تخریب کمپلکس‌های ماکرومولکول می‌گردد. وجه مشترک همه تنش‌های پیچیده‌ای نظیر دمای پایین، تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) است که می‌تواند سبب صدمه دیدن ماکرومولکولهای مختلف درون سلول گردد. دمای پایین بخصوص وقتی با یخبندان همراه باشد، با سیستم‌های مؤثر جلوگیری کننده از تولید اکسیژن فعال که عامل وقوع تنش اکسیداتیو است، همبستگی دارد. گیاهان نواحی معتدله با فعال نمودن مکانیسم سازگاری به سرما که منتج به افزایش تحمل به یخبندان می‌گردد، به دمای پایین واکنش نشان می‌دهند. این فرآیند سازگاری با تغییر نحوه ابراز برخی ژن‌های مسئول واکنش به تنش همراه است. این ژن‌ها تولید پروتئین‌ها و متابولیت‌های نگهدارنده ساختمان‌های سلولی و حافظ نقش آن‌ها در مقابل اثرات منفی یخبندان و پسایدگی ناشی از آن را کنترل می‌نمایند. تغییر در ابراز ژن‌های عامل واکنش به سرما توسط مجموعه‌ای از فاکتورهای رونوشت برداری که به محرک‌های دمایی واکنش نشان می‌دهند، کنترل می‌گردد. آبسزیک اسید هورمون پیغام دهنده وجود تنش‌های غیرزنده از آبسزیک اسید (ABA) به‌عنوان "هورمون تنش" یاد می‌شود که به تنش‌های محیطی مرتبط با تغییر در فعالیت آب، به‌وسیله مکانیسم‌های متابولیکی و نموی واکنش نشان می‌دهد. گیاهان به‌وسیله تغییر در غلظت ABA به تنش‌های محیطی نظیر خشکی و شوری واکنش نشان می‌دهند، ولی از طرف دیگر ABA به‌عنوان یک علامت داخلی ضروری برای نمو متناسب با رشد گیاه نیز محسوب می‌گردد. پس از اینکه غلظت آن از سطح آستانه فراتر رفت، سبب بسته شدن کامل روزنه‌ها و تغییر در نحوه ابراز ژن می‌گردد. سیستم پیام‌دهی ABA پدیده‌های سلولی گوناگونی از جمله تنظیم فشار تورگر و تغییر در نحوه ابراز ژن را کنترل می‌کند. پس بنابراین می‌توان مسیر تنظیم کنندگی فشار تورگر را از مرکز پیام دهی صادره از هسته سلول تشخیص داد. اثرات متقابل میان ABA و سایر مسیرهای متابولیکی، در ایجاد توازن در متابولیسم، رشد سلول و تقسیم آن نقش دارد (Sah et al., 2016).

هر گیاه مجموعه‌ای بهینه از دما برای رشد و توسعه مناسب خود دارد. مجموعه خاصی از شرایط دما که برای یک گیاه مطلوب است، ممکن است برای گیاه دیگری تنش‌زا باشد. گیاهان بومی زیستگاه‌های گرم با قرار گرفتن در معرض دمای کم، علائم آسیب را نشان می‌دهند به‌عنوان مثال گیاهانی مانند ذرت (*Zea mays*)، پنبه (*Gossypium hirsutum*)، گوجه فرنگی (*Lycopersicon esculentum*) و موز (*Musa sp.*) با قرار گرفتن در معرض دمای زیر ۱۰-۱۵ درجه سانتی‌گراد علائم تنش را نشان می‌دهند (Lynch, 1990). علائم آسیب به حساسیت گیاه بستگی دارد و تنش سرما از گیاه به گیاه دیگر متفاوت است. آسیب ناشی از تنش سرما در گیاهان ممکن است بعد از ۴۸ تا ۷۲ ساعت قرار گرفتن در معرض تنش ظاهر شود. گیاهانی که در معرض تنش سرما قرار دارند، علائم مختلف فنوتیپی را نشان می‌دهند. که شامل کاهش برگ، پژمردگی و کلروز می‌شوند (زرد شدن برگ) و ممکن است منجر به نکروز (مرگ بافت) شود. تنش سرما به‌طور کلی منجر به جوانه زنی ضعیف

می‌شود. تنش سرما، مرحله تولید مثل گیاهان را به تأخیر می‌اندازد و منجر به عقیم سازی کرده می‌شوند (Suzuki et al., 2008).

گیاهان حساس به سرما معمولاً نسبت بالاتری از اسیدهای چرب اشباع شده در غشای پلاسمایی دارند. از این رو گیاهان حساس به سرما دمای انتقال بالاتری دارند. برعکس، گیاهان مقاوم به سرما نسبت اسیدهای چرب اشباع نشده بالاتری دارند و از این رو دمای انتقال پایین‌تر است. علت آسیب گیاه تشکیل یخ در بافت‌های گیاهی در طی تنش سرما منجر به کم آبی گیاه می‌شود. یخ در آپوپلاستیک شکل می‌گیرد. تشکیل یخ در آپوپلاست یک گرادیان فشار بخار بین آپوپلاست و سلول‌های اطراف ایجاد می‌کند. در نتیجه آب سیتوپلاسمی از سیتوزول سلول به فضای آپوپلاستیک حرکت می‌کند. بلورهای یخی موجود در فضای آپوپلاستیک باعث فشار در دیواره سلولی و غشای پلاسمای منجر به پارگی سلول می‌شود (Steponkus, 1993; McKersie and Bowley, 1997).

مبنای فیزیولوژیکی تحمل به سرما

مطالعات بسیاری، تحمل گونه‌های مختلف گیاهی را تحت فشارهای مختلف مانند خشکسالی، شوری و سرما ارزیابی کرده‌اند. با این حال، جزئیات کمتری با توجه به روش‌های استفاده شده برای ارزیابی واکنش تنش ارائه شده است. این مطالعات ممکن است نتیجه گیری گمراه کننده‌ای از دیدگاه زراعی یا فیزیولوژیکی داشته باشد (Sanghera and Wani, 2008). این امر به‌ویژه مهم است، به‌منظور نزدیک کردن طول عمر بیشتر محصولات زراعی و قرار گرفتن در برابر فشارهای شدید. اگرچه ما قبول داریم که قرار گرفتن در معرض کوتاه مدت در برابر تنش تنها در صورتی که هدف فقط ارزیابی بیان ژن باشد، کافی است. در این بخش، ما روی چشم انداز زراعی / فیزیولوژیکی تمرکز می‌کنیم و به معنای به چالش کشیدن کیفیت کار انجام شده برای ارزیابی بیان ژن نیست. اگرچه جزئیات دقیق در مورد پروتکل‌های مورد استفاده برای ارزیابی عملکرد گیاهان در برابر هر گونه تنش خاص، برای ارزیابی عملکرد مواد بسیار ضروری است. مناطق معتدل و خنک مناطقی است که ارتفاعات از ۲۵۰۰ (بالتر از میانگین سطح دریا) و درجه حرارت در طول دوره رشد محصول حدود ۲۰ درجه سانتی‌گراد است. در مناطق معتدل، درجه حرارت پایین تنش اصلی جاندار است که تولید محصول را محدود می‌کند. دمای پایین در مراحل گیاهچه و باروری، عمده‌ترین مشکل است که منجر به استقرار آرام و مجموعه بذر کم می‌شود که منجر به عملکرد ضعیف محصول می‌شود. دمای پایین هنگامی که درجه حرارت بالاتر از انجماد است که $0 <$ درجه سانتی‌گراد است، بازده محصول را محدود می‌کند، آن را تنش سرد می‌نامند. سرمازدگی ارقام حساس معمولاً ژنوتیپ‌های گرمسیری هستند. از دست دادن عملکرد، شدیدتر است هنگامی که تنش سرما در مرحله تولید مثل / آنتی بادی در برنج رخ می‌دهد که منجر به عقیم ماندگی بالای سنبلیچه می‌شود ۲۲/۴/۲۰۲۳. توانایی ژنوتیپ‌ها و خطوط محصول برای زنده ماندن / عملکرد بهتر در دمای پایین نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها به‌عنوان تحمل سرما گفته می‌شود. به‌طور معمول، این نتیجه از سخت شدن سرما است که قرار گرفتن در معرض درجه حرارت پایین برای یک دوره خاص است و در نتیجه، تحمل سرما در گیاهان مربوط افزایش می‌یابد. تحمل به سرما شامل افزایش تجمع کلروفیل، کاهش حساسیت فتوسنتز، جوانه زنی بهبود یافته، باروری کرده و مجموعه بذر است.

محتوای نسبی آب و همبستگی آن با سایر صفات فیزیولوژیکی

محتوای نسبی آب گیاه، یکی از صفات مهمی است که رابطه مستقیم با محتوای آب خاک دارد و نشان دهنده وضعیت آبی خاک است. محتوای نسبی آب یکی از چندین روش اندازه‌گیری وضعیت آب بافت است که با پتانسیل آبی برگ نیز رابطه

نزدیکی دارد. این فاکتور به عنوان شاخص مهم در تنش در برگ‌ها که می‌تواند توانایی گیاه را برای در امان بودن از شدت تنش تحت تأثیر قرار دهد و بر عملکرد و پایداری آن مؤثر باشد (Heidari et al., 2015).

محتوای نسبی آب با صفات فیزیولوژیک مانند هدایت روزنه‌ای، سرعت تعرق و فتوسنتز همبستگی دارد. با کاهش محتوای نسبی آب، هدایت روزنه‌ای و در نتیجه ورود دی‌اکسید کربن به داخل برگ را کاهش داده که این عامل به نوبه خود باعث کاهش فتوسنتز می‌شود. اختلاف در محتوای نسبی آب برگ‌ها در مرحله‌ای که با تنش مواجه می‌شود ممکن است از تفاوت قابلیت ارتجاعی دیواره‌های سلولی در این شرایط ناشی شده باشد. کاهش محتوای آب نسبی می‌تواند مانع تقسیم سلولی، رشد اندام‌های گیاهی، فتوسنتز خالص و سنتز پروتئین شده و تعادل هورمونی بافت‌های اساسی گیاه را تغییر دهد ۱:۳۸ ص.

تنش سرما و مقاومت در سطوح سلول و فرایندهای فیزیولوژیک آن

ارتباط رویدادهایی نظیر ژله‌ای شدن ساختارها، افزایش حجمی پروتولاست، بازیابی نظم ساختمان ارگانی، توسعه شبکه آندوپلاسمی و افزایش در پروتئین‌های محلول با افزایش تدریجی مقاومت گیاهان به دماهای پایین به خوبی گزارش شده است چون آسیب‌های ناشی از تنش‌های سرما با تغییر حالت غشا در ارتباط هست و حفظ حالت کریستال-مایع غشا برای انجام فعالیت‌های غشا ضروری است بنابراین هر عاملی که بتواند باعث تغییر حالت غشا در دمای پایین‌تر شود، به عنوان جزئی مهم در ایجاد مقاومت در گیاه شناخته می‌شود حفظ فعالیت غشا در دماهای پایین مستلزم اعمال متنوعی در فرایندهای مختلف در گیاه از قبیل فعالیت کلروپلاست، فعالیت سلولی، رابطه گیاه با آب و رشد است. تغییر حالت غشا در یک آستانه دمایی خاص روی می‌دهد و این آستانه دمایی به خوبی با دمای محل زندگی گیاه (زیستگاه) همبستگی دارد این مطلب در مورد ۳۰ گونه مختلف سازگار به دامنه وسیعی از اقلیم‌ها مطالعه و اندازه‌گیری شده است به نحوی که گونه‌های متعلق به مناطق معتدله از گونه‌های مناطق گرمسیری آستانه دمایی پایین‌تری دارد اگر چه این مطلب از یافته‌های مهم به شمار می‌رود اما الزاماً این نتیجه نمی‌تواند به تنوع بین‌گونه‌ای برای سازش به سرما در جایی که تنوعات کوچک در یک گونه حساس به تنش سرما می‌تواند دست‌کاری ژنتیکی قرار گیرد تعمیم داده شود بنابراین به نظر می‌رسد که تفاوت‌های موجود بین افراد مختلف یک گونه حساس به سرما در زمینه مقاومت می‌تواند توسط عوامل ثانویه‌ای غیر از تغییر حالت غشا کنترل شود که این عوامل نقش کمتری دارند (Zhang et al., 2010b). لویت با مرور اطلاعات مربوط به گونه‌های گیاهی مقاوم به تنش سرما بیان نمود که افزایش میزان لیپیدهای اشباع نشده غشا می‌تواند باعث پایین آمدن دمای تغییر حالت غشا شده مقاومت گیاه را به تنش سرما افزایش می‌دهد تطابق یابی گیاه در دماهای نزدیک به تنش سرما حداقل تا حدی به افزایش میزان چربی‌های اشباع نشده بستگی دارد این مقاومت با تغییر سریع نسبت اسیدهای چرب اشباع شده به اشباع نشده همراه است و در تعدادی از موارد اسید لینولئیک خیلی نقش دارد ارقام برنج مقاوم به تنش سرما در مقایسه با ارقام حساس‌تر دارای درجه بالاتری از چربی‌های اشباع نشده هستند در این ارقام، دمایی که در آن تغییر حالت غشا اتفاق می‌افتد حدود ۵ درجه سانتی‌گراد پایین‌تر از سایر ارقام است (Levitt, 1962).

گیاه‌شناسی بنفشه (*viola odorata*)

ویولا از گیاهان گل‌دار در خانواده ویولاسه^۱ است. این بزرگ‌ترین سرده در خانواده است که حاوی ۵۲۵ تا ۶۰۰ گونه است (Ning et al., 2012). بیشتر گونه‌ها در نیمکره معتدل شمالی یافت می‌شوند. با این حال، برخی نیز در مناطق بسیار واگرا مانند هاوایی، استرالیا و آند یافت می‌شود. برخی از گونه‌های ویولا گیاهان چند ساله، برخی از آن‌ها گیاهان یک ساله و

¹Violaceae

تعدادی نیز بوته‌های کوچک هستند. گونه‌ها و ارقام زیادی به دلیل گل‌های زینتی خود در باغ‌ها پرورش می‌یابند. در باغبانی اصطلاح pansy برای آن دسته از ارقام چند رنگ و پر گل که سالانه یا دوساله از بذر پرورش می‌یابند و به‌طور گسترده استفاده می‌شود، بکار می‌رود (Paxton et al., 2004).

بنفشه به‌طور طبیعی در شمال ایران می‌روید، ولی با توجه به این که امروزه به‌عنوان یک گل زینتی در باغچه‌ها کاشته می‌شود، می‌توان آن را در اکثر نقاط ایران مشاهده نمود. به بنفشه گل زیر برف می‌گویند؛ زیرا آن را در زمستان می‌کارند. مقاومت بنفشه در سرما یکی از صفات بارز آن محسوب می‌شود و حتی در فصل زمستان اگر در جای گرمی محفوظ شود در مقابل سرما مقاوم است. گونه‌های زودرس آن در پاییز گل می‌دهند و سپس در اوایل بهار دوباره شروع به گل دادن می‌کنند و گلدهی آن در ماه خرداد متوقف می‌شود. گونه‌های دیررس نیز از اردیبهشت تا مرداد ماه به گل می‌نشینند.



شکل 1- گیاه بنفشه (*viola odorata*)

گیاه‌شناسی گل میمونی (*Antirrhinum majus*)

Antirrhinum majus (Snapdragon)، گونه‌ای از گیاهان گلدار متعلق به جنس *Antirrhinum* است. این گیاه پس از بازنگری در خانواده کلاسیک قبلی خود، *Scrophulariaceae*، در خانواده *Plantaginaceae* قرار گرفت (Hudson et al., 2008). نام snapdragon، از واکنش گل به فشردن گلوی آن‌ها ناشی می‌شود، که باعث می‌شود "دهان" گل مانند دهان اژدها باز شود. از این گیاه به‌عنوان یک گیاه زینتی در مرزها و به‌عنوان یک گل بریده استفاده می‌شود. معمولاً سالی یک‌بار کشت می‌شود. این گیاه چندساله علفی است، به طول ۰/۵ تا ۱ متر رشد می‌کند، به‌ندرت تا ۲ متر. برگ‌ها به‌صورت مارپیچ، طول ۷ سانتی‌متر و ۲-۲/۵ سانتی‌متر عرض دارند. گاهی چوبی برگ‌های آن ساده، بیضوی تا پهن، گاه خطی و معمولاً سفید است. گل‌ها سنبله بلند، هر گل ۳/۵-۵/۵ سانتی‌متر طول، زیگومورفیک و دو لب آن را بسته است که لوله کرولا را به سه قسمت تقسیم کرده و به رنگ قرمز بنفش، تقریباً ۵ سانتی‌متر طول دارد. گیاهان وحشی دارای گل‌های صورتی تا بنفش، اغلب با لبه‌های زرد هستند. بیشتر ۸ تا ۳۰ گل کوتاه ساقه در یک گل آذین باهم قرار دارند. محور گل آذین موی غده‌ای است. تاج از ۲۵ تا ۴۵ (به‌ندرت تا ۷۰) میلی‌متر و در رنگ‌های مختلف (قرمز، صورتی، نارنجی، زرد، سفید) است. میوه یک کپسول تخم‌مرغی به قطر ۱۰-۱۴ میلی‌متر است که به‌صورت مجمله شکل گرفته است و حاوی تعداد زیادی دانه کوچک است ۰۱:۳۸ ص. بومی منطقه مدیترانه است. آن‌ها اغلب در شکاف‌ها و دیوارها رشد می‌کنند (Mateu-Andres and Boscaiu, 2003). *Antirrhinum majus* تا حدی می‌تواند در یخ زدگی و همچنین درجه حرارت بالاتر زنده بماند، اما در دماهای حدود ۱۷-۲۵ درجه سانتی‌گراد بهترین عملکرد را دارد. دمای شبانه در حدود ۱۵ تا ۱۷ درجه سانتی‌گراد رشد

می‌کند (Hudson et al., 2008). این گونه قادر است از دانه‌ها به خوبی رشد کند، در ۳ تا ۴ ماه به سرعت گلدهی می‌کند (Sutton, 1988).



شکل ۲- گیاه *Antirrhinum majus* (www.gardenerspath)

پیشینه تحقیق

اثرات تنش سرما بر رشد و تولید مثل در محصولات دانه مورد بررسی قرا گرفته است. درجه حرارت پایین دلیل ضرر و زیان عظیم کشاورزی به ویژه در محصولات زراعی نیمه گرمسیری و معتدل است. دوره تولید مثل یک مرحله حیاتی در چرخه زندگی کلیه گیاهان یکساله است و متابولیسم حاصل از این مرحله در نهایت عملکرد محصول را تعیین می‌کند. گیاهان در معرض دمای پایین در طول بازسازی مجدد نشان می‌دهد که میزان متابولیک منجر به بازده کم می‌شود. در این بررسی، اثرات تنش در مراحل مختلف تولید مثل، از میوز تا پر شدن دانه و حساسیت به دما در اندام‌های مختلف تولید مثل بررسی شده است. درجه حرارت پایین باعث از بین رفتن جنین، گرده و انعطاف پذیری گل‌ها می‌شود، باعث از بین رفتن لقاح و پر شدن بذر می‌شود و منجر به مجموعه دانه کم و در نهایت عملکرد دانه می‌شود. پایه‌های فیزیولوژیکی و متابولیکی تنش سرما، از جمله نقش فیتوهورمون‌ها به ویژه (ABA) و تنظیم قند ناشی از آن بررسی شده است (Thakur et al., 2010). تأثیر تنش سرما و خشکسالی بر پاسخهای آنتی اکسیدانی و پارامترهای رشد در شاخساره و ریشه گیاه عدس (*Lens culinaris*) مورد بررسی قرار گرفت. نهالهای رشد یافته به مدت ۵ روز تحت تنش خشکی و سرما (۴ درجه سانتیگراد) قرار گرفتند. طول و وزن تر اندام هوایی در هر دو شرایط تنش به طور قابل توجهی کاهش یافت. برخلاف افزایش این پارامترهای رشد برای ریشه در شرایط مشابه، آسیب اکسیداتیو به عنوان نسل مالون دآلدئید و پراکسید هیدروژن در شاخه‌ها به طور قابل توجهی بیشتر بود. هر دو شرایط تنش باعث افزایش معنی دار سطح مالون دی آلدئید در بافتهای ریشه شد. افزایش سطح پرولین در تنش سرما، شاخه‌ها و ریشه‌ها بیشتر بود. شرایط تنش مورد آزمایش هیچ تأثیر معنی داری بر محتوای کلروفیل نداشت. فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در بافت‌های ریشه در شرایط خشکی و تنش سرد تغییر کرد. در اثر تنش خشکی، فعالیت کاتالاز در ریشه بیشتر بود. از طرف دیگر، فعالیت آسکوربات پراکسیداز در بافتهای ریشه تحت تنش سرما

افزایش یافته است. نتایج حاکی از آن است که بهبود تحمل نسبت به سرما و تنش خشکی در بافتهای ریشه و شاخه عدس ممکن است با افزایش ظرفیت سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی ارتباط داشته باشد (Öktem et al., 2008).

در بررسی اثر تنش سرما بر خصوصیات فیزیولوژیکی سه هیبرید ذرت در مرحله گلدهی، برای اعمال تنش سرما گیاهچه های چهار برگگی به مدت ۱۲ ساعت در معرض دمای ۵ درجه سانتی گراد قرار گرفتند. تنش سرما در دو رقم سیگل کراس ۲۶۰ و رقم سینگل کراس ۷۰۴ منجر به افزایش مالون دی آلدئید شد. غلظت دی تیروزین نیز در رقم کراس ۷۰۴ حدود ۴۰ درصد بیشتر از ارقام دیگر بود. تنش سرما سبب کاهش معنی دار فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به شرایط عدم تنش شد. آن‌ها بیان نمودند هرچند که به لحاظ مورفولوژی تنش سرما اثر بارزی بر ارقام ذرت نداشت.

اسدی صنم و همکاران (۱۳۹۴) باهدف بررسی پاسخ‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک گیاه دارویی سرخارگل به تنش دمای پایین، گیاهچه های پنج ماهه سرخارگل به مدت ۶ ساعت در سه سطح دمایی ۲۳ (شاهد) و ۴- درجه سانتی گراد قرار داده شدند و مقدار نشت یونی (EL) و مالون دآلدئید (MDA)، فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز، پراکسیداز، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پلی فنول اکسیداز، اکسیداسیون پروتئین برگ‌ها، میزان ترکیبات فنل، فلاونوئید کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و متغیرهای فلورسانس کلروفیل اندازه‌گیری شدند. نتایج افزایش معنی دار مقدار نشت یونی و مالون در آلدئید را در برگ‌های سرخارگل به دنبال داشته و فعالیت دو آنزیم پلی ترکیبات فنل اکسیداز و پراکسیداز با کاهش دما به ۴- درجه سانتی‌گراد کاهش یافت. مقدار پروتئین هم در شرایط سرما نسبت به تیمار شاهد ۶۵/۵ درصد افزایش داشت. تنش سرما، مقدار ترکیبات فنل و فلاونوئید کل را کاهش داد. به‌طور کلی گیاه سرخارگل تحمل نسبی به تنش دمای پایین تا ۴- درجه سانتی‌گراد دارد (اسدی صنم و همکاران، ۱۳۹۴).

رضایی و همکاران (۱۳۹۳) برای ارزیابی تأثیر تنش سرما بر میزان ترکیبات فنل کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و سه ترکیب ترکیبات فنلی الثوروپین، هیدروکسی تیروزول و تیروزول و همچنین فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز در برگ دو رقم زیتون، نهال‌های یک‌ساله در معرض هفت دمای ۲۰ (دمای شاهد)، ۱۰، ۵، ۰، -۵، -۱۰، -۱۵ و -۲۰ درجه سانتی‌گراد به‌تدریج به مدت ۱۲ ساعت قرار دادند. نتایج نشان داد که اعمال تنش سرمایی سبب افزایش میزان ترکیبات فنل کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز شد. ارقام فرانتوئو و سویلاتا در برابر تنش سرمایی مقاومت متفاوتی از خود نشان دادند، به‌طوری که رقم فرانتوئو مقاوم‌تر از رقم سویلاتا بود (رضایی و همکاران، ۱۳۹۳).

فلاحیان و همکاران (۱۳۹۱)، در بررسی بیان ژن در شرایط تنش سرما در گیاه بنفشه با استفاده از روش نمایش افتراقی، تفاوت بیان ژن در شرایط دماهای پائین ۵، صفر، ۵- و ۱۰- درجه سانتی‌گراد نسبت به دمای شاهد ۲۵ درجه سانتی‌گراد، برای یک گونه دورگ بنفشه به نام *Viola wittrockiana* به دلیل مقاومت بالای آن به شرایط سرما و یخبندان بررسی شده است. از نمونه‌های برگگی مربوط به هر تیمار دمایی کل RNA استخراج شده و از روی RNA استخراج شده به کمک سه آغازگر اولیگو dT و با کمک واکنش رونویسی معکوس (RT-PCR)، cDNA، (تک رشته‌ای ساخته شد. برای تکثیر cDNA با استفاده از آغازگر اولیگو و ۸ آغازگر انتخابی، واکنش PCR صورت گرفت و سپس محصول PCR بر روی ژل پلی اکریل آمید غیر واسرشت ساز ۱۹ درصد الکتروفورز گردید. رنگ آمیزی ژل به کمک نیترات نقره انجام شد. تفاوت در تعداد و نوع باندهای مربوط به هر تیمار دمایی، تفاوت در بیان ژن نمونه‌های مربوط به تیمارهای مختلف دمایی را نشان می‌دهد.

رضانی و همکاران (۱۳۹۰)، در بررسی تأثیر دمای محیط بر فعالیت ضد باکتریایی عصاره آبی اندام‌های مختلف گونه *Viola odorata* در مراحل مختلف رشد گیاه در این مطالعه، گیاه پس از کاشت در ۳ تیمار دمایی ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درجه سانتی‌گراد،

جمع آوری شد. در بررسی فعالیت ضد باکتریایی اندام‌ها دیده شد که تیمار سرما اثر مؤثرتری را نسبت به تیمار دمایی گرما و شاهد دارا بوده و با رشد گیاه، فعالیت ضد باکتریایی در دو اندام برگ و ریشه کاهش یافته ولی در مرحله گلدهی در اندام گل فعالیت ضد باکتریایی افزایش یافته است.



شکل ۳- نمونه های گیاه بنفشه (*viola gracilis*) و گیاه گل میمونی (*Antirrhinum majus*) استفاده شده در تنش سرما

بررسی فاکتورهای رویشی

اندازه گیری وزن تر و خشک برگها

به منظور اندازه‌گیری وزن تر و خشک اندام هوایی، پس از برداشت از گیاهان از یکدیگر جدا و با آب دو بار تقطیر، سه بار شسته و توزین شدند. سپس به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۵ درجه سانتیگراد درون آون قرار داده شدند و سپس وزن خشک آنها محاسبه شد.

اندازه گیری ارتفاع گیاه

جهت اندازه‌گیری ارتفاع گیاهان مورد نظر، قبل از شروع اعمال تیمار، ارتفاع آنها از سطح خاک تا بالاترین برگ بر حسب سانتیمتر اندازه گرفته شد و یادداشت گردید. پس از اعمال تیمار سرما نیز مجدداً ارتفاع گیاهان اندازه‌گیری شدند.

اندازه‌گیری کاروتنوئید و کلروفیل a و b

جهت سنجش میزان کلروفیل و کاروتنوئید (Lichtenthaler, 1987)، ۰/۰۵ گرم از بافت فریز شده نمونهها با ۲۰ میلی‌لیتر استون ۸۰٪ به خوبی ساییده شد و پس از صاف کردن با استفاده از کاغذ صافی، سانتریفیوژ با سرعت ۱۲۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتیگراد انجام شد. سپس جذب آن در طول موج ۴۷۰، ۶۴۵ و ۶۶۳ خوانده شد. نتایج اصل از اندازه‌گیری مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر ارائه گردید.

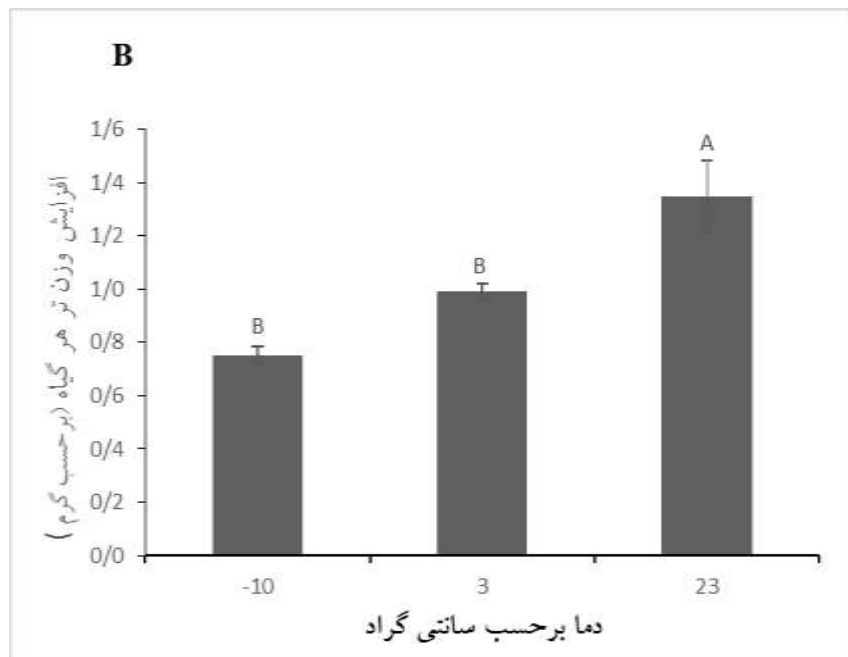
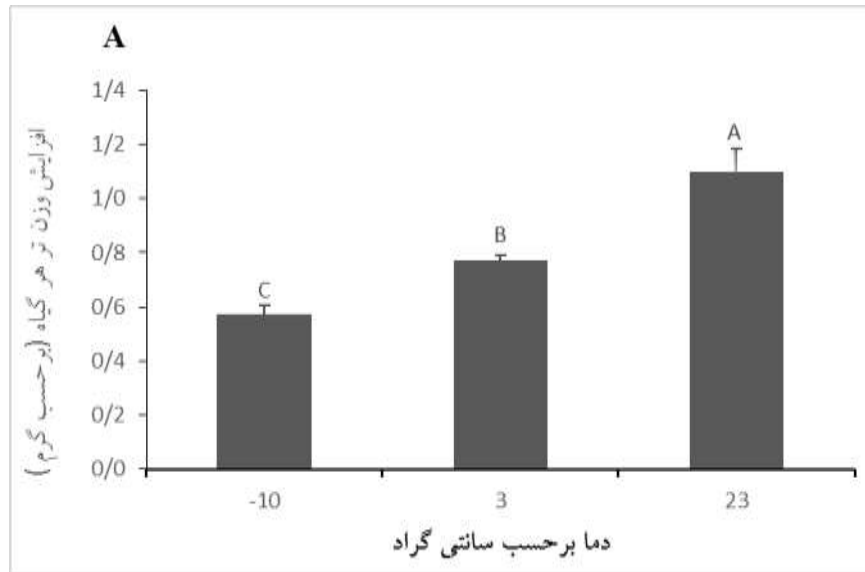
تحزیه و تحلیل داده های پژوهش

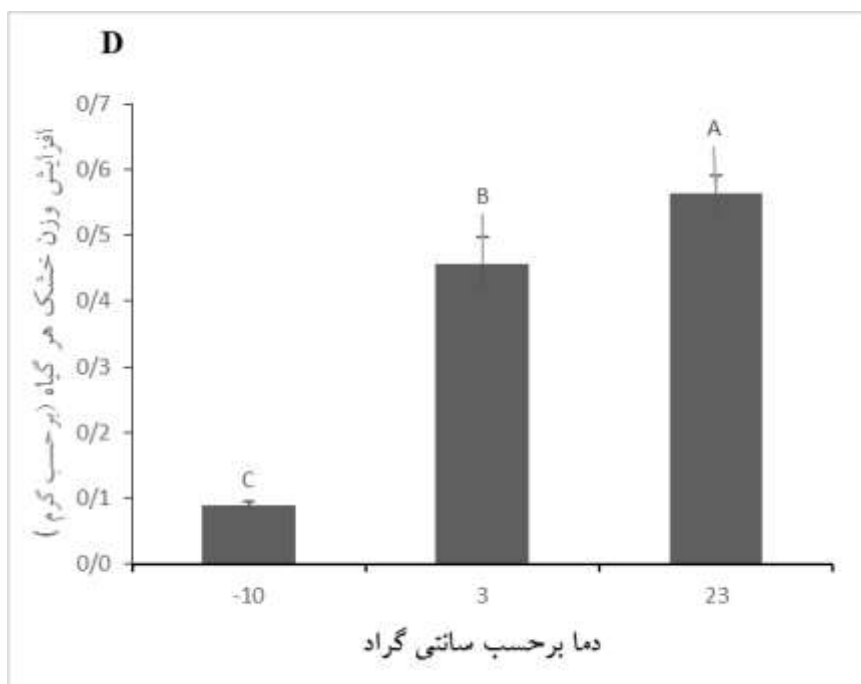
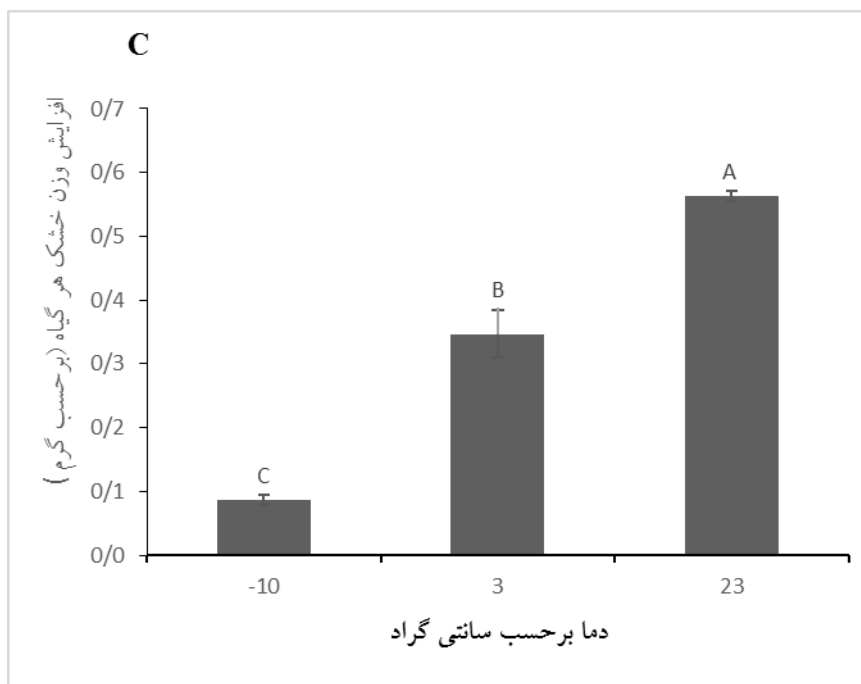
فاکتورهای رویشی

تغییرات وزن خشک و تر

وزن تر در گیاه بنفشه شکل ۴ با افزایش دما افزایش یافت که این افزایش معنی دار بود ($P < 0.05$). در گیاه گل میمونی، شکل زیر، با افزایش دما وزن تر افزایش یافت که این افزایش در دمای ۳ درجه معنی دار نبود ولی در دمای ۲۳ درجه معنی داری بود ($P < 0.05$). وزن خشک در هر دو گیاه بنفشه شکل ۴ و گل میمونی شکل با افزایش دما افزایش یافت و این افزایش معنی دار بود ($P < 0.05$).

ستونهای دارای حرف غیر مشترک (ABC) نشان دهنده اختلاف معنی دار از دید آماری با استفاده از آزمون دانکن میباشد.

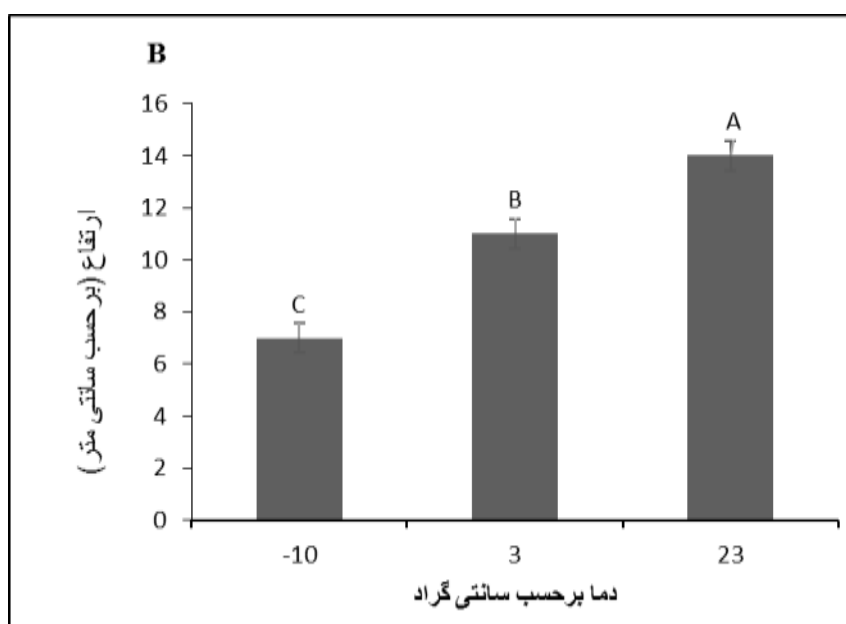
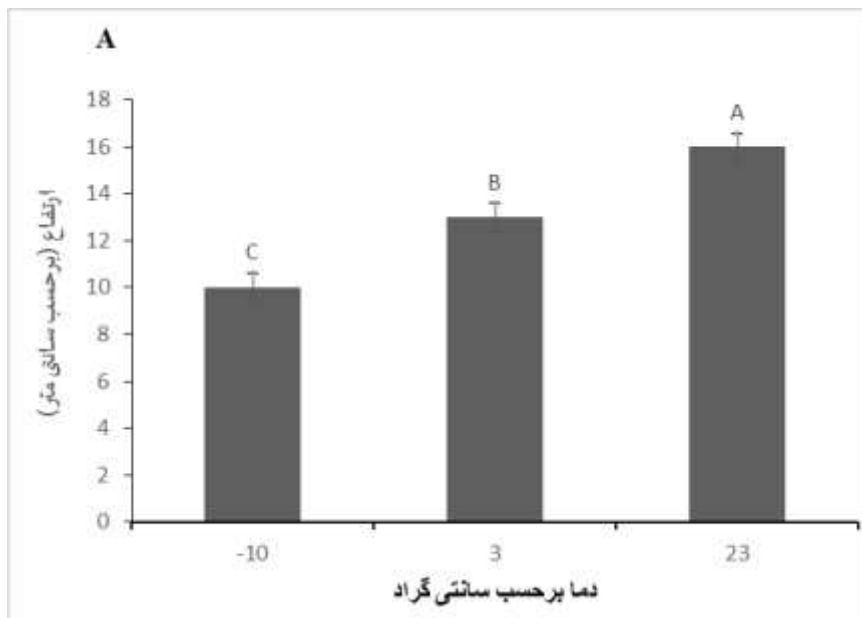




شکل ۴- تغییرات وزن خشک و تر در گیاهان تحت تنش سرما در سه دمای ۲۳، ۳ و ۱۰- درجه سانتی‌گراد. تغییرات وزن تر در گیاه بنفشه (A) *Viola odorata* و گیاه گل میمونی (B) *Antirrhinum majus*. تغییرات وزن خشک در گیاه بنفشه (C) *Viola odorata* و گیاه گل میمونی (D) *Antirrhinum majus*. ستونهای دارای حرف غیر مشترک (ABC) از لحاظ آماری نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در آزمون دانکن هستند.

تغییرات ارتفاع

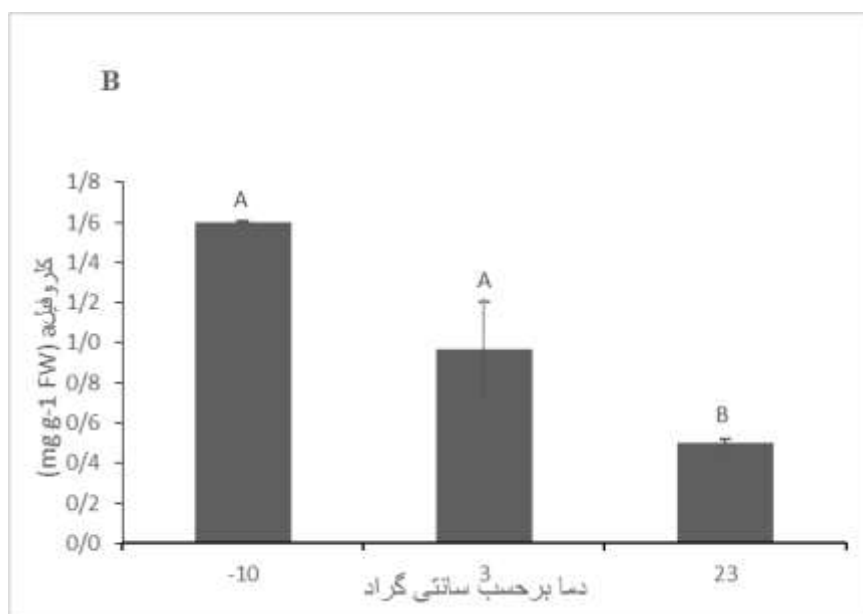
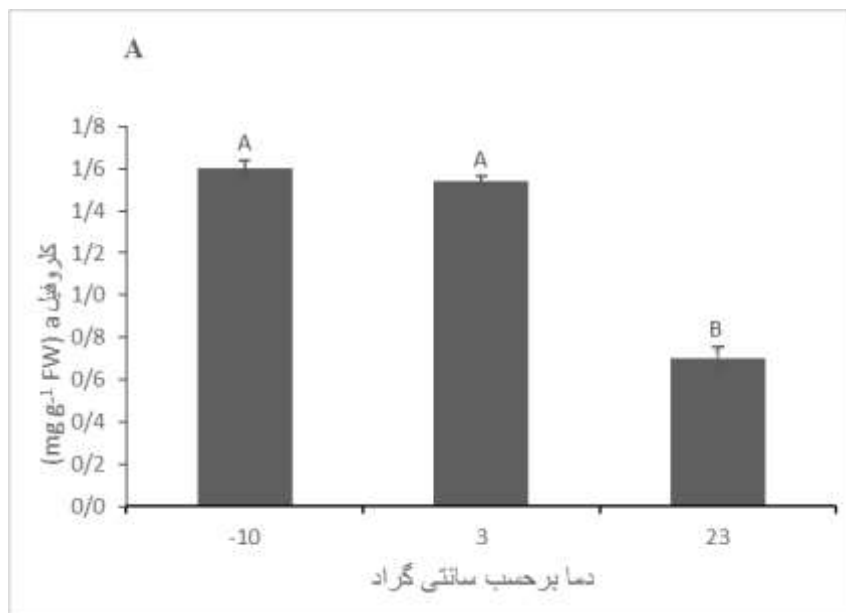
در بررسی تغییرات ارتفاع گیاه مشخص شد که در هر دو گیاه بنفشه، شکل ۵ و گل میمونی، شکل ۵ با افزایش دما، ارتفاع افزایش یافت و این افزایش معنی دار بود ($P < 0.05$).



شکل ۵- بررسی ارتفاع در گیاهان تحت تنش سرما در سه دمای ۲۳، ۳ و -۱۰ درجه سانتی گراد در گیاه بنفشه (*Viola odorata*) A و گیاه گل میمونی (*Antirrhinum majus*) B. ستونهای دارای حرف غیرمشترک (ABC) از لحاظ آماری نشاندهنده اختلاف معنی دار در آزمون دانکن میباشد.

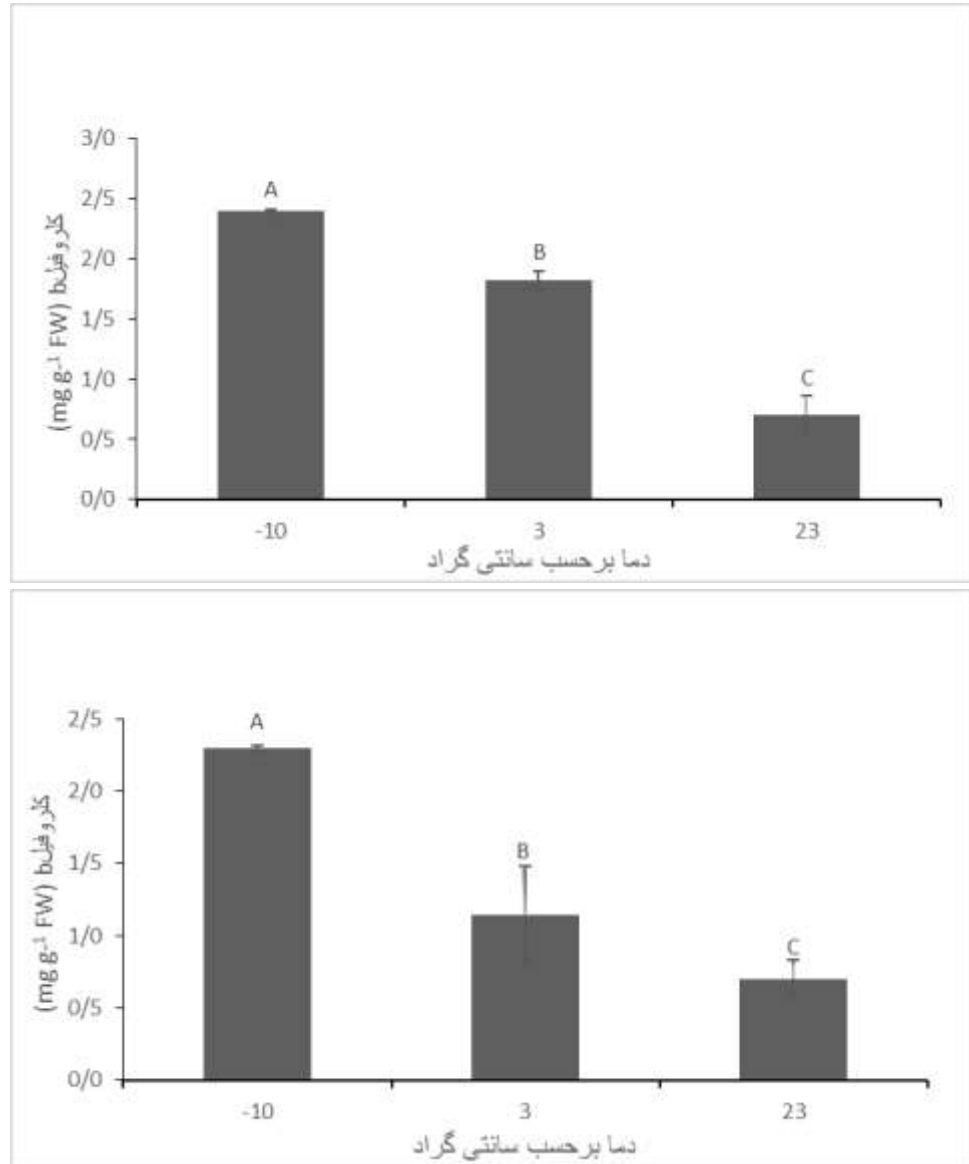
مقدار کلروفیل و کاروتنوئید

میزان کلروفیل a در هر دو گیاه با افزایش دما کاهش یافت اما این کاهش در گیاه بنفشه شکل ۶ در دما ۲۳ درجه معنی دار بود ($P>0.05$). ولی در گیاه گل میمونی در دما ۲۳ درجه کاهش معنی دار بود ولی اختلاف معنی داری بین دمای ۳ درجه و دمای ۱۰- درجه وجود نداشت ($P<0.05$) (شکل ۶).



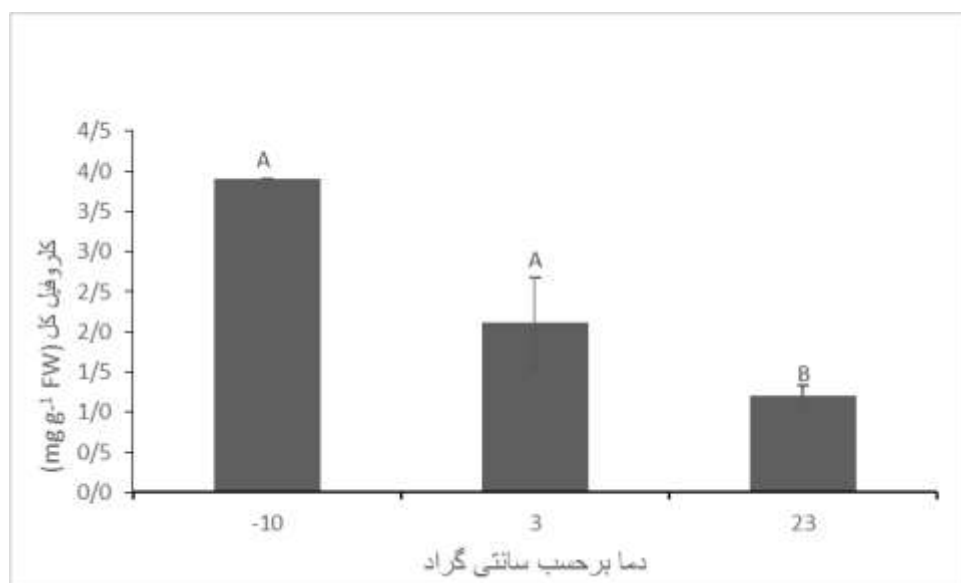
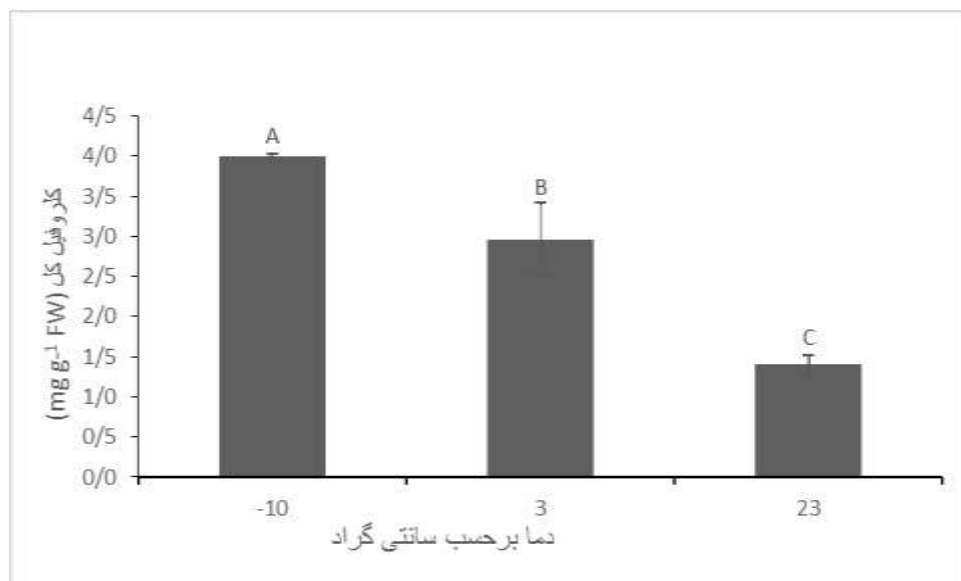
شکل ۶- بررسی میزان کلروفیل a در برگ گیاهان تحت تنش سرما در سه دمای ۲۳، ۳ و ۱۰- درجه سانتی گراد در گیاه بنفشه (A) (*Viola odorata*) و گیاه گل میمونی (B) (*Antirrhinum majus*). ستونهای دارای حروف مشترک (AAB) از لحاظ آماری نشاندهنده عدم اختلاف معنی دار در آزمون دانکن هستند.

میزان کلروفیل b در هر دو گیاه با افزایش دما کاهش یافت این کاهش هم در گیاه بنفشه شکل ۷ و هم در گیاه گل میمونی (شکل ۷) معنی دار بود ($P < 0.05$).



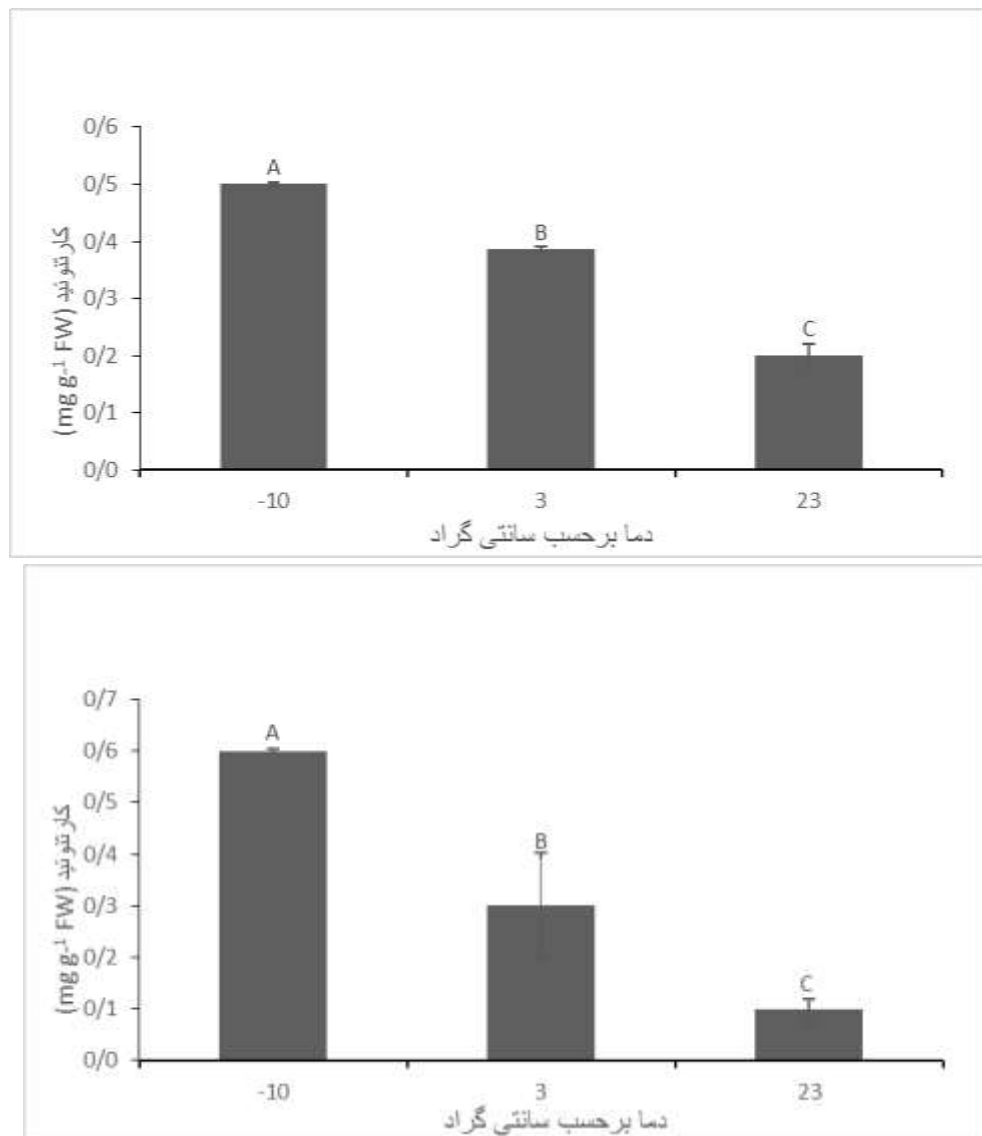
شکل ۷- بررسی میزان کلروفیل b در برگ گیاهان تحت تنش سرما در سه دمای ۲۳، ۳ و -۱۰ درجه سانتی گراد در گیاه بنفشه (*Viola odorata*) (A) و گیاه گل میمونی (*Antirrhinum majus*) (B). ستونهای دارای حرف غیرمشترک (ABC) از لحاظ آماری نشاندهنده اختلاف معنیدار در آزمون دانکن هستند.

میزان کلروفیل کل در هر دو گیاه با افزایش دما کاهش یافت، این کاهش در گیاه بنفشه شکل ۸، معنی دار بود ($P > 0.05$) ولی در گیاه گل میمونی بین دمای -۱۰ درجه و دمای ۲۳ درجه اختلاف معنی داری وجود نداشت ($P < 0.05$) (شکل ۸).



شکل ۸- بررسی میزان کلروفیل کل در برگ گیاهان تحت تنش سرما در سه دمای ۲۳، ۳ و -۱۰ درجه سانتی گراد. در گیاه بنفشه (A) (*Viola odorata*) و گیاه گل میمونی (B) (*Antirrhinum majus*). ستونهای دارای حرف مشترک (AAB) از لحاظ آماری نشاندهنده عدم اختلاف معنیدار در آزمون دانکن هستند.

میزان کارتنوئید در هر دو گیاه با افزایش دما کاهش یافت این کاهش هم در گیاه بنفشه شکل ۹ و هم در گیاه گل میمونی (شکل ۹) معنی دار بود ($P < 0.05$).



شکل ۹- بررسی میزان کاروتنوئید در برگ گیاهان تحت تنش سرما در سه دمای ۲۳، ۳ و ۱۰- درجه سانتی‌گراد در گیاه بنفشه (A) (*Viola odorata*) و گیاه گل میمونی (*Antirrhinum majus*) (B). ستونهای دارای حرف غیر مشترک (ABC) از لحاظ آماری نشاندهنده اختلاف معنی‌دار در آزمون دانکن می‌باشد.

بحث

تنش درجه حرارت پایین یکی از مخرب‌ترین فشارهای محیطی است که به‌طور قابل توجهی کارایی و کیفیت محصولات در حال رشد در مناطق گرمسیری را محدود می‌کند. این تنش باعث ایجاد اختلال در ناهنجاری‌های فیزیولوژیکی، مورفولوژیکی و آناتومیکی گسترده‌ای می‌شود. در غشاها به دلیل تغییرات ناشی از سرما از جمله کاهش سیالیت، تعادل بین جذب آب و تفرق مختل می‌شود و کم‌آبی در شاخه‌ها اتفاق می‌افتد. سرانجام مکانیسم باز و بسته شدن روزنه‌ها تحت تأثیر قرار گرفته و فتوسنتز به‌طور قابل توجهی کاهش می‌یابد. علاوه بر این، نقص در سیستم حمل و نقل الکترونی در میتوکندری و کلروپلاست منجر به تولید بیش از حد گونه‌های اکسیژن واکنش پذیر می‌شود (ROS). تولید بیش از حد (گونه اکسیژن فعال) ROS منجر به پراکسیداسیون لیپیدها در غشاها، شکستن زنجیره‌های DNA و غیرفعال کردن آنزیم‌های مختلف می‌شود. گیاهان

استراتژی‌های مختلفی را برای محافظت از خود در برابر اثرات مضر ROS (گونه اکسیژن فعال) ایجاد کرده‌اند. مهم‌ترین آن‌ها داشتن سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی قدرتمند است که از ترکیبات آنزیمی و غیر آنزیمی تشکیل شده است. به‌منظور بهبود مقاومت گیاهان در برابر تنش سرما، مطالعات بی‌شماری انجام می‌شود. امروزه، بسیاری از متابولیتها و تنظیم‌کننده‌ها که نقش مهمی در تنظیم تنش سرمازدگی گیاهان دارند، برای این منظور مورد مطالعه قرار گرفته است؛ اما مقاومت گیاهان در برابر تنش سرما نمی‌تواند بهبود یابد. تنش سرما که شامل هم خسارت سرد (کمتر از ۲۰ درجه سانتی‌گراد) و هم آسیب یخ‌زدگی (کمتر از ۰ درجه سانتی‌گراد) است، یکی از مهم‌ترین تنش‌های گیاهان کشاورزی است که روی رشد گیاه تأثیر می‌گذارد. این یک عامل اصلی در تعیین توزیع طبیعی گیاهان است؛ بنابراین، درجه حرارت، بسته به موقعیت نسبی مطلوب، بر رشد و بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی تأثیر می‌گذارد. بسیاری از گونه‌های گیاهی گرمسیری و نیمه گرمسیری هنگامی که در چرخه زندگی خود در معرض کمتر از حد مطلوب قرار دارند، به‌طور قابل توجهی تحت تأثیر قرار می‌گیرند. به‌عنوان مثال، در برنج، دمای سرمازدگی مسئولیت کاهش ۳۰-۴۰٪ عملکرد در مناطق معتدل را دارد با این حال، تنش سرما نیز یکی از دلایل اصلی کاهش تولید محصول و کیفیت در بسیاری از محصولات منطقه معتدل و خشک است. بسیاری از محصولات مهم اقتصادی از جمله پنبه، سویا، برنج ذرت حساس به سرما هستند و قادر به زنده ماندن در سرما نیستند (Akbulut et al., 2019).

اثر تنش سرما بر کاهش میزان رشد گیاه از واضحترین پاسخهای گیاهان به سرما است. بررسی وزن خشک ریشه و ساقه و ارتفاع گیاه در دو گیاه بنفشه و گل میمونی نشان داده است که هر دو گیاه تحت تنش سرما با کاهش معنیداری همراه بوده است. در بررسی گیاه گوجه فرنگی تحت تنش سرما بیان شده است که با کاهش رشد و محصول همراه بوده است (Allen and Ort, 2001).

بررسی وضعیت محتوای کلروفیل نشان از تفاوت معنی دار در گیاه بنفشه داشت. مقایسه میانگینها به روش دانکن در خصوص محتوای کلروفیل بین شرایط نرمال و دمای ۱۰- درجه سانتیگراد، نشانگر برتری شرایط دمای پایین به عادی بود. گسترش ریشه در گیاه تحت تنش سرما و در نتیجه ساخت بیشتر سیتوکینین و افزایش انتقال آن به اندام هوایی میتواند منجر به افزایش سنتر کلروفیل گردد. در درجه حرارت‌های پایین، انرژی نورانی جذب شده به‌وسیله رنگیزهها نمی‌تواند در واکنش‌های فتوسنتزی به کار گرفته شود. این انرژی نورانی جذب شده باعث واکنش‌های اکسیداسیون نوری می‌شود که موجب از دست رفتن رنگیزهها، لیپیدها و اسیدهای چرب به‌خصوص در غشای تیلاکوئیدی می‌شود (McCue et al., 2000). که به‌نوبه خود باعث کاهش فعالیت فتوسنتزی و در نتیجه رشد گیاه خواهد شد (Paeizi and Shariati, 2012). چون میزان کلروفیل همبستگی مثبتی با سرعت فتوسنتز دارد (Wang et al., 2008). بانو و همکاران (۲۰۱۵) بیان کردند که کلروفیل a به‌عنوان بازتابی از کارایی فتوسنتزی هر گیاه، تغییرات زیادی در تنش‌ها از خود نشان می‌دهد و می‌تواند بهترین پارامتر برای تشخیص مقاومت به دمای پایین باشد (Bano et al., 2015). در گیاه سویا، تنش سرما تأثیر معنی داری بر محتوای کلروفیل نداشت هرچند تنش سرما میزان کلروفیل a و b را به‌طور معنی داری کاهش داد (Jenabiyan et al., 2014).

میزان کاروتنوئید در طول تنش سرما کمی افزایش یافته است که نقش حفاظتی خود را ایفا کرده است. مقاومت به سرما گاهی با افزایش سطح رنگیزههایی مانند کاروتنوئید صورت می‌گیرد. این رنگیزهها در دمای پایین اکسید شده و سبب کاهش تلفات کلروفیل a و b می‌شود که ممکن است از خسارت سرما جلوگیری کند. در بررسی سازگاری دو رقم گندم به سرما، میزان

کلروفیل a در رقم زمستانه پس از دو هفته سازگاری نسبت به شاهد کاهش معنی داری را نشان داد اما در رقم بهاره افزایش یافت، در حالی که افزایش کاروتنوئید در هر دو رقم گندم مشاهده شد ۰۱:۳۸ ص.

آنتوسیانینهای موجود در برگ دو گیاه بنفشه و گل میمونی در تنش سرما افزایش پیدا کرده که در گل میمونی این افزایش محسوس تر است. آنتوسیانینهای برگ به عنوان گیرنده رادیکالهای آزاد عمل می کنند و گیاهان را در برابر تنش های اکسیداتیو محافظت می کنند ۰۱:۳۸ ص. به غیر از فعالیت های آنزیمی و تجمع مواد محلول، تجمع متابولیت های ثانویه از جمله ترکیبات آنتوسیانین تحت تأثیر تنش قرار می گیرد و شواهد زیادی نشان می دهد که در شرایط تنش، تولید برخی از آن ها چندین برابر افزایش می یابد. به نظر می رسد در این پژوهش سیستم دفاع غیر آنزیمی از جمله آنتوسیانین به طور توأم با سیستم دفاع آنزیمی همکاری می نماید تا اثر مخرب تنش را خنثی نمایند. متابولیت های ثانویه برای پاک سازی گونه های فعال اکسیژن افزایش می یابد. این ترکیبات نه تنها رادیکال های آزاد را از بین می برند بلکه از تولید بیشتر آن ها در گیاه جلوگیری می کنند. گزارش مشابهی مبنی بر افزایش مقدار آنتوسیانین در *Begonia Semperflorens* در پاسخ به تنش وجود دارد (Zhang et al., 2010a).

میزان ترکیبات فنلی در اثر افزایش تنش سرما در دو گیاه بنفشه و گل میمونی بالا رفت و این افزایش در تنش ۱۰- درجه سانتی گراد در گل میمونی بیشتر مشاهده شد. در این پژوهش افزایش میزان ترکیب های ترکیبات فنلی بر اثر افزایش تنش سرما مشاهده شد که این امر ارتباط مستقیم با ظرفیت آنتی اکسیدانی آن ها دارد (Kim et al., 1997). در دو واریته از فلفل (*Capsicum annum L.*) در تنش سرما میزان این ترکیب در گیاه افزایش پیدا کرد (Esra et al., 2010). در سایر تنش های غیر زیستی و زیستی نیز این افزایش مشاهده شده است (André et al., 2009). پس می توان نتیجه گرفت پیش از آنکه سیستم آنزیمی وارد عمل شود ترکیبات فنلها و فلاونوئیدها دست به کار شده اما با افزایش تنش، سیستم آنزیمی وارد عمل شده و از میزان ترکیبات فنلها کمی کاسته می شود. ترکیبات ترکیبات فنلی از اجزا سیستم دفاع غیر آنزیمی و آنتی اکسیدانی سلول به حساب می آید. این ترکیبات می توانند به عنوان خاموش کننده رادیکال های آزاد اکسیژن و یا سایر گونه های فعال اکسیژن عمل نمایند (Solecka, 1997).

نتیجه گیری

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که افزایش قند کل به عنوان یک مکانیسم دفاعی در برابر خسارات سرما باشد. در طول تنش، گیاه با از دست دادن تدریجی آب، غلظت مواد را افزایش داده و تشکیل یخ کاهش و از آگیری القا شده توسط یخ جلوگیری می شود. در این آزمایش با کاهش دما تا ۱۰- درجه سانتی گراد، فعالیت بیشتر آنزیم ها و محتوای پروتئین در مقایسه با شاهد در دو گیاه بنفشه (*Viola odorata*) و گل میمونی (*Antirrhinum majus*) افزایش یافتند. با توجه به یافته های پس از تنش می توان نتیجه گرفت که هر دو گیاه بنفشه و گل میمونی به تنش دمای پایین تحمل نسبی دارند.

پیشنهادها

-اندازه گیری آنتی اکسیدانی بنفشه (*Viola odorata*) و گل میمونی (*Antirrhinum majus*)، قبل و بعد از تنش

سرما

-بررسی نشت پذیری غشای سلولی گیاه بنفشه (*Viola odorata*) و گل میمونی (*Antirrhinum majus*) تحت

تنش سرما

-الکتروفورز پروتئین های ذخیره ای بذر گیاهان بنفشه (*Viola odorata*) و گل میمونی (*Antirrhinum majus*)

تحت تنش سرما

-بررسی بیان ژنهای تحمل به سرما و بررسی ژنوتیپهای برتر در گیاهان بنفشه (*Viola odorata*) و گل میمونی

(*Antirrhinum majus*) تحت تنش سرما

منابع

۱. رضایی، ش.، افشار محمدیان، م. و بخشی، د. (۱۳۹۳). بررسی تغییرات برخی ترکیبات موثره دارویی و فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز در دو رقم زیتون تحت تنش سرما، مجله زیست شناسی گیاهی ایران. ۱۹: ۱-۱۶.
۲. طریق الاسلامی، م.، کافی، م.، نظامی، ا. و ضرغامی، ر. (۱۳۹۵). اثر تنش سرما بر خصوصیات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی سه هیبرید ذرت (*Zee mays L.*) در مرحله گیاهچه‌های، مجله پژوهشهای گیاهی، ۲۹ (۳): ۵۴۰-۵۵۲.
۳. فلاحتیان، س.، دلجو، ع.، میرزایی اصل، ا. و حسینی واسوکلانی، م. (۱۳۹۱). بررسی بیان ژن در شرایط تنش سرما در گیاه بنفشه با استفاده از روش نمایش افتراقی، دوازدهمین کنگره ژنتیک ایران، تهران، انجمن ژنتیک ایران،
۴. کارگر خرمی، س. و زنگنه، ر. (۱۳۹۷). سازوکارهای سلولی و مولکولی گیاهان در برابر تنشهای غیرزیستی، انتشارات دانشگاه ارومیه، ۲۴۵.
۵. نظری، م.، معالی امیری، ر. و رمضانپور، س. س. (۱۳۹۰). بررسی پاسخ آنزیمی و بیان نسبی ژنهای کاتالاز و پراکسیداز به تنش سرما به ژنوتیپهای ایرانی نخود، ژنتیک در هزاره سوم، ۱: ۲۲۹۹-۲۲۹۰.
۶. ونایی، س. و حیدری، ع. (۲۰۱۲). اثرات تنش سرما در مرحله جوانه‌زنی و گیاهچه‌ای بر فعالیت آنزیم های گیاهچه‌ای و برخی صفات فیزیولوژیکی در نخود. پژوهشهای زراعی ایران ۹: ۵۱۴-۵۲۴.
7. Alisoltani, A., Alizadeh, H., Mahfoozi, S., Khayalparast, F., 2012. Effect of short and long terms cold acclimation on biochemical characteristics of spring and winter wheat (*Triticum aestivum L.*) cultivars. Iranian Journal of Crop Sciences 14, 108-120.
8. Allen, D.J., Ort, D.R., 2001. Impacts of chilling temperatures on photosynthesis in warm-climate plants. Trends in plant science 6, 36-42.
9. Amini-Khoei, H., Mohammadi-Asl, A., Amiri, S., Hosseini, M.-J., Momeny, M., Hassanipour, M., Rastegar, M., Haj-Mirzaian, A., Haj-Mirzaian, A., Sanjarimoghaddam, H., 2017. Oxytocin mitigated the depressive-like behaviors of maternal separation stress through modulating mitochondrial function and neuroinflammation. Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry 76, 169-178.
10. Amini, Z., Haddad, R., 2013. Role of photosynthetic Pigments and antioxidant enzymes against oxidative stress. Veterinary Journal 81, 383-386.

11. Amirkhiz, K., Dehaghi, M., Sanavy, S., Zadeh, A., Heshmati, S., 20 .۱۱ Effect of iron application on enzymatic activity, grain yield and oil content of safflower under water deficit conditions. *Iranian Journal of Crop Sciences* 13, 452-465.
12. Anchordoguy, T.J., Rudolph, A.S., Carpenter, J.F., Crowe, J.H., 1987. Modes of interaction of cryoprotectants with membrane phospholipids during freezing. *Cryobiology* 24, 324-331.
13. André, C.M., Schafleitner, R., Legay, S., Lefèvre, I., Aliaga, C.A.A., Nomberto, G., Hoffmann, L., Hausman, J.-F., Larondelle, Y., Evers, D., 2009. Gene expression changes related to the production of phenolic compounds in potato tubers grown under drought stress. *Phytochemistry* 70, 1107-1116.
14. Blamey, M., Grey-Wilson, C., 1989. *Illustrated flora of Britain and Northern Europe*. Hodder and Stroughton.
15. Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry* 72, 248-254.
16. Culver, D.C., Beattie, A.J., 1978. Myrmecochory in *Viola*: dynamics of seed-ant interactions in some West Virginia species. *The journal of Ecology*, 53.۷۲-
17. Cushman, J.C., Bohnert, H.J., 2000. Genomic approaches to plant stress tolerance. *Current opinion in plant biology* 3, 117-124.
18. Elisafenko, T., 2015. Features of seed germination in different ecological groups of the species of the section *Violidum*, subgenus *Nomimium*, genus *Viola* L.(*Violaceae*). *Contemporary problems of ecology* 8, 523-533.
19. Esra, K., İŞLEK, C., Üstün, A.S., 2010. Effect of cold on protein, proline, phenolic compounds and chlorophyll content of two pepper (*Capsicum annuum* L.) varieties. *Gazi University Journal of Science* 23, 1.۶-
20. Fowler, S., Thomashow, M.F., 2002. *Arabidopsis* transcriptome profiling indicates that multiple regulatory pathways are activated during cold acclimation in addition to the CBF cold response pathway. *The Plant Cell* 14, 1675-1690.
21. Gomès, E., Jakobsen, M.K., Axelsen, K.B., Geisler, M., Palmgren ,M.G., 2000. Chilling tolerance in *Arabidopsis* involves ALA1, a member of a new family of putative aminophospholipid translocases. *The Plant Cell* 12, 2441-2453.
22. Gulen, H., Turhan, E., Eris, A., 2016. 15 Molecular and Physiological Responses of Strawberry Plants to Abiotic Stress. *Strawberry: Growth, Development and Diseases*, 288.
23. Hashida, S.-n., Kishima, Y., Mikami, T., 2005. DNA methylation is not necessary for the inactivation of the Tam3 transposon at non-permissive temperature in *Antirrhinum*. *Journal of plant physiology* 162, 1292-1296.

24. Heidari, H., Golbabaie, F., Shamsipour, A., Forushani, A.R., Gaeini, A., 2015. Outdoor occupational environments and heat stress in IRAN. *Journal of Environmental Health Science and Engineering* 13, 48.
25. Horváth, I., Glatz, A., Varvasovszki, V., Török, Z., Páli, T., Balogh, G., Kovács, E., Nádasdi, L., Benkő, S., Joó, F., 1998. Membrane physical state controls the signaling mechanism of the heat shock response in *Synechocystis* PCC 6803: identification of hsp17 as a "fluidity gene". *Proceedings of the National Academy of Sciences* 95, 3513-3518.
26. Hussain, S.S., Ali, M., Ahmad, M., Siddique, K.H., 2011. Polyamines: natural and engineered abiotic and biotic stress tolerance in plants. *Biotechnology advances* 29, 300-311.
27. Kim, J.S., Park, S.J., Kwak, K.J., Kim, Y.O., Kim, J.Y., Song, J., Jang, B., Jung, C.-H., Kang, H., 2006. Cold shock domain proteins and glycine-rich RNA-binding proteins from *Arabidopsis thaliana* can promote the cold adaptation process in *Escherichia coli*. *Nucleic acids research* 35, 506-516.
28. Kuroda, H., Sagisaka, S., 1993. Ultrastructural changes in cortical cells of apple (*Malus pumila* Mill.) associated with cold hardiness. *Plant and cell physiology* 34, 357-365.
29. Larcher, W., Bauer, H., 1981. Ecological significance of resistance to low temperature, *Physiological plant ecology I*, Springer, pp. 403-437.
30. Lee, D.H., Lee, C.B., 2000. Chilling stress-induced changes of antioxidant enzymes in the leaves of cucumber: in gel enzyme activity assays. *Plant science* 159, 75-85.
31. Lei, Y., Shah, T., CHENG, Y., Yan, L., ZHANG, X.-k., ZOU, X.-l., 2019. Physiological and molecular responses to cold stress in rapeseed (*Brassica napus* L.). *Journal of Integrative Agriculture* 18, 2742-2752.
32. Lord, E.M., 1981. Cleistogamy: a tool for the study of floral morphogenesis, function and evolution. *The Botanical Review* 47, 421-449.
33. McKersie, B.D., Lesheim, Y., 2013. Stress and stress coping in cultivated plants. Springer Science & Business Media.
34. Nakano, Y., Asada, K., 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and cell physiology* 22, 867-880.
35. Ortega-García, F., Peragón, J., 2009. The response of phenylalanine ammonia-lyase, polyphenol oxidase and phenols to cold stress in the olive tree (*Olea europaea* L. cv. Picual). *Journal of the Science of Food and Agriculture* 89, 1565-1573.
36. Plewa, M.J., Smith, S.R., Wagner, E.D., 1991. Diethyldithiocarbamate suppresses the plant activation of aromatic amines into mutagens by inhibiting tobacco cell peroxidase. *Mutation research/fundamental and molecular mechanisms of mutagenesis* 247, 57-64.

37. Prabhavathi, V.R., Rajam, M.V., 2007. Polyamine accumulation in transgenic eggplant enhances tolerance to multiple abiotic stresses and fungal resistance. *Plant Biotechnology* 24, 273-282.
38. Shanker, A., Venkateswarlu, B., 2011. Abiotic stress in plants: mechanisms and adaptations. *BoD-Books on Demand*.
39. Solecka, D., 1997. Role of phenylpropanoid compounds in plant responses to different stress factors. *Acta Physiologiae Plantarum* 19, 257-268.
40. Steponkus, P., 1993. A contrast of the cryostability of the plasma membrane of winter rye and spring oat-two species that widely differ in their freezing tolerance and plasma membrane lipid composition. *Advances in low temperature biology* 3, 211-312.
41. Steponkus, P.L., 1984. Role of the plasma membrane in freezing injury and cold acclimation. *Annual Review of Plant Physiology* 35, 543-584.
42. Walters, D.R., Keil, D.J., 1996. *Vascular plant taxonomy*. Kendall Hunt.
43. Wang, F., Liang, D., Pei, X., Zhang, Q., Zhang, P., Zhang, J., Lu, Z., Yang, Y., Liu, G., Zhao, X., 2019. Study on the physiological indices of *Pinus sibirica* and *Pinus koraiensis* seedlings under cold stress. *Journal of Forestry Research* 30, 1255-1265.
44. Wang, F., Wang, G., Li, X., Huang, J., Zheng, J., 2008. Heredity, physiology and mapping of a chlorophyll content gene of rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of plant physiology* 165, 324-330.
45. Wisniewski, M., Willick, I.R., Gusta, L.V., 2017. 11 Freeze Tolerance and Avoidance in Plants. *Plant stress physiology*, 279.
46. Xin, Z., Mandaokar, A., Chen, J., Last, R.L., Browse, J., 2007. Arabidopsis ESK1 encodes a novel regulator of freezing tolerance. *The Plant Journal* 49, 786-799.
47. Yadav, S.K., 2010. Cold stress tolerance mechanisms in plants. A review. *Agronomy for sustainable development* 30, 515-527.
48. Yadegari, L.Z., Heidari, R., Carapetian, J., 2007. Total protein and pigments contents in soybean (*Glycine max*) seedlings. *J of Bio Sci* 7, 1436-1441.