اثر تنش سرما بر برخی صفات فیزیولوژیکی و سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی بزرک (*Linum usitatissimum* L.) در مرحله گیاهچه‌ای

معظمه سلیمی، شهاب مداح حسینی*، آرمان آذری و علی‌اکبر محمدی میریک

گروه ژنتیک و تولید گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی‌عصر رفسنجان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۲/٦، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۰/۲۲)

چکیده

به‌منظور بررسی تأثیر تنش سرما بر برخی شاخص‌های فیزیولوژیک سه ژنوتیپ برگزیده بزرک، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در چارچوب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در اتاقک رشد دانشکده کشاورزی دانشگاه ولی‌عصر رفسنجان اجرا شد. عامل اول سرما در سه سطح (۲۵ ، صفر و ۲/۵- درجه سلسیوس) و عامل دوم ژنوتیپ در سه سطح شامل سه ژنوتیپ به نام‌های MAR778b، CYP706 و IND1257 بود. این سه ژنوتیپ براساس نتایج یک پیش‌آزمایش به‌ترتیب متحمل، نیمه‌متحمل و حساس به سرما بودند. نتایج نشان داد با کاهش دما از ۲۵ به صفر درجه سلسیوس تغییر معنی‌داری در هیچ یک از صفت‌های مورد بررسی دیده نشد اما با کاهش دما از صفر به ۲/۵- درجه محتوای قندهای محلول، پرولین و مالون دی‌آلدهید برگ ژنوتیپ حساس به سرما (IND1257) بسیار بیشتر از دو ژنوتیپ دیگر افزایش و محتوای کلروفیل (a+b) بسیار کمتر افزایش یافت. همچنین محتوای کاروتنوئیدهای برگ ژنوتیپ مقاوم (MAR778b) در دمای ۲/۵- درجه بطور معنی‌داری کمتر از دمای شاهد (۲۵ درجه سلسیوس) بود اما در دو ژنوتیپ دیگر تفاوتی با شاهد نداشت. در نهایت اینکه فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز با کاهش دما از شاهد به صفر و ۲/۵- درجه بطور معنی‌داری کاهش یافت اما فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز در ژنوتیپ مقاوم به سرما (MAR778b) در دمای ۲/۵- درجه بطور معنی‌داری بیش از دمای صفر و ۲۵ درجه سلسیوس بود. نتایج آزمون همبستگی رابطه معکوس و معنی‌دار فعالیت این آنزیم را با شاخص حساسیت به تنش نشان داد.

کلمات کلیدی: آنتی‌اکسیدان، تحمل، پرولین، قندهای محلول، مالون دی‌آلدهید

مقدمه

بزرک با نام علمی (*Linum usitatissimum* L.) گیاهی است یکساله، دانه روغنی، از تیره کتان (Linaceae)، روز بلند و سرمادوست که تنوع ژنتیکی قابل توجهی از آن در اقلیم‌های گوناگون ایران وجود دارد (بیدخوانی و همکاران، ۱۳۹۳). بزرک در بین گیاهان روغنی دارای بالاترین میزان امگا ۳ بوده که ارزش دارویی و تغذیه‌ای بسیار بالایی دارد. همچنین به سبب وجود ترکیبات فیتواستروژن خواص درمانی زیادی به مصرف آن نسبت داده شده است (Cloutier, 2016 b).

در برخی از مناطق جهان، گونه‌های زمستانه بزرک رشد می‌کنند. این گونه‌ها نیاز به بهاره‌سازی ندارند اما توانایی تحمل برخی درجه حرارت‌های پایین در مراحل آغازین رشد و نمو را دارند. گیاهچه‌های بزرک سرمای زیر صفر (٤- تا ٦- درجه سلسیوس) و بوته‌های استقراریافته سرمای نسبتاً شدید (تا ۱۰-

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: shahab.mhoseini@vru.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.4.4]

درجه) را به‌خوبی تحمل می‌کنند. اما گیاه پس از گلدهی به سرما حساس می‌شود و یخبندان موجب کاهش عملکرد و کیفیت دانه می‌گردد (Cloutier, 2016 a). پژوهش‌های ناچیزی بر روی تحمل به سرمای بزرک انجام شده است و بیشترین دانش ما در این زمینه به گیاهان دیگر محدود است.

روشن شده است که ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهان در اثر دماهای پایین بطور مشخصی تغییر می‌کند و برخی از آنها همبستگی بالایی با مقاومت گیاهان به یخزدگی و سرمازدگی دارند (Mahajan and Tuteja, 2005).

بطور کلی، پسابیدگی ناشی از سرما می‌تواند سبب آسیب به ساختمان کلروفیل در اثر افزایش فعالیت آنزیم‌هایی مانند کلروفیلاز و پراکسیداز باشد (Parry *et al*., 2002). با این حال نتیجه پژوهشی در مورد گندم (مجدی و همکاران، ۱۳۸٦) نشان داد که با اعمال تنش سرمایی محتوای کلروفیل برگ هم در رقم متحمل و هم در رقم حساس به سرما افزایش یافت که احتمالاً به سبب کاهش محتوای آب برگ و نه میزان سنتز کلروفیل بوده است. تغییرات محتوای کاروتنوئیدهای برگ نیز در واکنش به تنش‌های دمایی می‌تواند چشمگیر و مهم باشد. کاروتنوئیدها از طریق فرونشانی سریع وضعیت برانگیخته کلروفیل حفاظت نوری را انجام می‌دهند و بطور کلی نقش حفاظتی در طی آسیب اکسیداتیو دارند (Taiz and Zeiger, 2002). گزارش شده است که در آغاز تنش‌های محیطی میزان سنتز کاروتنوئید در برگ به علت نقش آنها در حفاظت در مقابل رادیکال‌های آزاد افزایش یافته اما با گذشت زمان و در تطابق گیاه با تنش میزان آن کاهش پیدا می‌کند (Groppa and Benavides, 2008). با این حال محتوای کاروتنوئیدهای ذرت در دمای کمتر از ۱۰ درجه سلسیوس (Lidon *et al*., 2001) و کلزا (کشاورز و همکاران،۱۳۹۰) در شرایط سرما کاهش یافت اگر چه در کلزا میزان کاهش در رقم حساس به سرما بیش از رقم مقاوم بود (Bandyopadhyay *et al*., 1999).

از سوی دیگر، به‌نظر می‌رسد همبستگی مثبتی بین تجمع قندهای ذخیره‌ای و میزان تحمل تنش‌های غیرزیستی در گیاهان وجود دارد (Suzuki, 1989) اعتقاد بر این است که در بسیاری از گیاهانی که نسبت به دماهای بسیار پایین متحمل هستند تجمع قند نقش مثبتی در مقابله با تنش سرما ایفا می‌کند (Peltzer *et al*., 2002). برای نمونه در گلرنگ (رجبی و پورداد، ۱۳۸۹) و گندم (احمدی و هکاران، ۱۳۸٤) محتوای کربوهیدرات‌های محلول برگ در اثر سرما کاهش یافت با این حال در برخی رگه‌های گلرنگ این افزایش ارتباطی با سطح تحمل به سرما نداشت (رجبی و پورداد، ۱۳۸۹). در سه اکوتیپ علف چمنی (*Poa annua*) هم افزایش میزان کربوهیدرات‌های محلول ارتباطی با سطح تحمل به دمای پایین نداشت (Dionne *et al*., 2001). همین رابطه بین تجمع پرولین و تحمل به سرما نیز گزارش شده است. تجمع پرولین آزاد در دماهای پایین افزایش می‌یابد و می‌تواند به‌عنوان یک شاخص تحمل به تنش سرما در گیاهان در نظر گرفته شود. افزایش سطح پرولین در طی تنش می‌تواند به سبب تغییراتی باشد که در سطوح نسخه‌برداری و ترجمه در فعالیت آنزیم‌های درگیر در بیوسنتز و تجزیه پرولین اتفاق می‌افتد (Kandpal *et al*., 1981). نتایج برخی پژوهش‌ها بیانگر افزایش محتوای پرولین در بافت‌های گندم بهاره (Apostolova *et al*., 2008)، گلرنگ (رجبی و پورداد، ۱۳۸۹) و جو (Chu *et al*., 1978) در شرایط تنش سرما است و در این مورد هم واکنش ژنوتیپ‌ها متفاوت بوده است.

علاوه بر سازوکارهای فوق، گیاهان برای تحمل سرما و کاهش آسیب‌های ناشی از آن از سیستم‌های آنزیمی مختلفی نیز استفاده می‌کنند تا آسیب پدیدآمده توسط گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) کاهش یابد (Bakalova *et al*., 2004) (Khanna-Chopra and Selote, 2007). پلی‌فنل اکسیداز یکی از این آنزیم‌ها است که سبب تبدیل مونوفنل به دی‌فنل و یا تبدیل دی‌فنل به کینون می‌گردد. با این حال، بسته به گونه گیاهی و شدت تنش میزان فعالیت آن در گیاه تغییر می‌کند (جعفری و همکاران، ۱۳۸۵). کاهش دما (۰-٤ درجه سلسیوس) بر روی گیاه هندوانه، گوجه‌فرنگی و گیاهچه کلزا سبب کاهش فعالیت آنزیم PPO و تجمع ترکیبات فنلی در گیاه شد (Rivero *et al*., 2001). همچنین بنا بر برخی گزارش‌ها،

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.4.4]

افزایش فعالیت فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) و میزان فنل کل در ارتباط با مقاومت به سرما در گیاهان است (سلیمانی‌اقدم و اصغری، ۱۳۹۱). این آنزیم اولین آنزیم در مسیر بیوسنتز فنیل پروپانوئیدها است و فعالیت آن در شرایط سرما افزایش می‌یابد (Janas *et al*., 2000) نتایج آزمایشی با هدف بررسی واکنش به سرمای درختان زیتون نشان داد که در تنش سرمایی ملایم و متوسط فعالیت آنزیم PAL نسبت به شاهد افزایش و در سرمای نسبتاً شدید (۷- درجه سلسیوس) حدود ۴۷ درصد کاهش یافت. فعالیت این آنزیم احتمالاً در فرایند بهبود پس از سرما مؤثر است و نه مقاومت در برابر آن (Ortega-Garcia and Peragon, 2009).

در کشت پاییزه توانایی تحمل به سرما نقش تعیین کننده‌ای در موفقیت محصول دارد با این حال ارزیابی ارقام متحمل به سرما در شرایط مزرعه به‌دلیل عدم‌امکان کنترل شدت سرما و همچنین طولانی‌بودن زمان آزمایش بسیار مشکل به‌نظر می‌رسد. اعمال تیمارهای سرمایی در شرایط کنترل‌شده اتاق رشد یک روش برای حل این مشکل است. این پژوهش با هدف ارزیابی تغییرات برخی شاخص‌های فیزیولوژیک ژنوتیپ‌های بزرک در واکنش به دماهای پایین در مرحله گیاهچه‌ای و ارتباط آنها با تحمل به سرما انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به‌صورت یک پیش آزمایش و یک آزمایش اصلی در پاییز و زمستان سال ۱۳۹۵ و در اتاق رشد گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه ولی‌عصر رفسنجان انجام شد.

پیش آزمایش: پیش از آزمایش اصلی، یک پیش آزمایش با هدف ارزیابی اولیه واکنش ده ژنوتیپ بزرک به سرما با اعمال دماهای ۲۵، صفر، ۲/۵- و ۵- درجه سلسیوس در مرحله گیاهچه‌ای انجام شد. ژنوتیپ‌ها از ژرم‌پلاسم جهانی بزرک واقع در کشور آلمان و با مبدأ مراکش، هند، انگلستان، قبرس، ایتالیا، ترکیه، لیبی، آرژانتین، مراکش و پاکستان انتخاب شدند. هیچ یک از آنها قادر به تحمل دمای ۵- درجه نبودند و از بین رفتند. اما در دمای ۲/۵- درجه سلسیوس تنوع ژنتیکی قابل ملاحظه‌ای مشاهده شد. براساس وزن زیست‌توده در شرایط نرمال (دمای ۲۵ درجه) (Yp) و تنش (دمای ۲/۵-) (Ys) و روابط ۱ و ۲ شاخص‌های حساسیت به تنش (Stress Susceptibility Index) (SSI) (Fischer and Morrer, 1978) و تحمل به تنش (Stress Tolerance Index) (STI) (Fernandez, 1993) ژنوتیپ‌های MAR778b، CYP706 و IND1257 به‌ترتیب با مبدN مراکش، قبرس و هند به‌عنوان ژنوتیپ‌های متحمل، نیمه‌متحمل و حساس به سرما برای آزمایش اصلی و ارزیابی صفات فیزیولوژیک گزینش شدند

رابطه ۱ $SSI = (1- Ysi/Ypi)/SI; \quad SI = (1- \bar{Y}s/\bar{Y}p)$

$\bar{Y}s$ و $\bar{Y}p$: به‌ترتیب میانگین زیست‌توده همه ژنوتیپ‌ها در شرایط تنش (۲/۵- درجه سلسیوس) و نرمال (۲۵ درجه سلسیوس)

Ysi و Ypi: زیست‌توده ژنوتیپ i به‌ترتیب در شرایط تنش و نرمال

SI: شدت تنش

رابطه ۲ $STI = (Ypi \times Ysi)/ (\bar{Y}p)^2$

آزمایش اصلی: این آزمایش به‌صورت فاکتوریل دو عاملی و در چارچوب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا گردید. عامل‌ها عبارت بودند از دما در سه سطح شامل ۲۵، صفر و ۲/۵- درجه سلسیوس و ژنوتیپ در سه سطح شامل ژنوتیپ‌های MAR778b، CYP706 و IND1257 که برگزیده از پیش آزمایش بودند.

روش اجرا: بذور گندزدایی‌شده در گلدان‌هایی استوانه‌ای به قطر ۸ و ارتفاع ۱۲/۵ سانتی‌متر و در عمق ۲ سانتی‌متری پرشده با خاک مزرعه (EC =۱/٤ dS/m) کشت شدند و در اتاقک رشد آگروترون (Agrotron, Rahavard Danesh Paidar, IRAN) با دمای ۲۵ درجه روز و ۱۸ درجه شب و نور دوره ۱٤ ساعت و شدت نور ۱۲۰۰۰ لوکس قرار گرفتند. پس از استقرار کامل گیاهچه‌ها، تعداد بوته‌ها به ۷ عدد (سالم و همگن) در هر گلدان کاهش یافت. تیمار سرما ۲۲ روز پس از کاشت (شش برگی، ارتفاع گیاهچه ٦/۵ سانتی‌متر) اعمال شد.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.4.4]

بدین ترتیب که ابتدا تمام گلدان‌ها آبیاری شدند. پس از ٢٤ ساعت برای اعمال تنش سرما به اتاق رشد دوم (با ویژگی‌های یکسان با اتاق رشد اول اما دمای متفاوت) منتقل شدند و سپس دمای اتاق رشد با سرعت ۲ درجه سلسیوس در ساعت کاهش یافت و به ۵ درجه رسید و به‌مدت ٢٤ ساعت در این دما ثابت ماند. این دوره زمانی برای شروع فرایند سخت‌شدن (Hardening) یا خوپذیری به سرما در نظر گرفته شد (Rife and Zeinali, 2003) و در آن نور دوره طبیعی اعمال شد. آنگاه در شرایط تاریکی دما با سرعت ۲ درجه سلسیوس در ساعت کاهش یافت و به صفر یا ۲/۵- درجه سلسیوس رسید و این شرایط به‌مدت ۷ ساعت ادامه یافت. پس از این مدت، دما با سرعت ۲ درجه سلسیوس در ساعت افزایش یافت و به ۲۵ درجه سلسیوس رسید. پس از ٢٤ ساعت (Deryabin *et al.*, 2005; Du *et al.*, 2013)، نمونه‌برداری از اندام‌های هوایی انجام شد. این دوره معمولاً به‌عنوان دوره بازیابی (recovery) پس از سرما در نظر گرفته می‌شود که در آن یا فرآیندهای سازگاری یا تحمل به سرما (در صورت وجود) تکمیل می‌گردد.

صفات مورد بررسی، محتوای کلروفیل و کاروتنوئیدهای برگ: از قطعات برگ با محلول استن عصاره‌گیری شد و محلول به‌دست آمده سانتریفیوژ گردید. پس از آن میزان جذب محلول روشناور در طول‌موج‌های ٤٨٠، ٥١٠، ٦٤٥، ٦٥٢ و ٦٦٣ نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. سپس با توجه به فرمول‌های موجود به اعداد غلظت بر حسب میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ تبدیل شد (Arnon, 1949).

محتوای قندهای محلول: با استفاده از اتانل گرم نمونه‌های برگی عصاره‌گیری شدند. سپس به محلول آنترون افزوده شده و میزان جذب آن در طول‌موج ٦٢٥ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. آنگاه با توجه به محلول‌های استاندارد اعداد به واحد میلی‌گرم در کیلوگرم (ppm) وزن تر تبدیل شد (Irigoyen *et al.*, 1992).

محتوای پرولین برگ: عصاره اتانل گرم از نمونه برگ در معرض معرف نین‌هیدرین و استیک اسید قرار گرفت. سپس به آن بنزن اضافه شد و آنگاه میزان جذب محلول روشناور در دستگاه اسپکتروفتومتر با طول‌موج ۵۱۵ نانومتر خوانده شد. داده‌های جذب به واحد میکرومول بر گرم وزن تر برگ تبدیل شدند (Bates *et al.*, 1973).

پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی (محتوای مالون دی‌آلدهید): ابتدا به نمونه‌های منجمد برگ که با تری‌کلرو استیک عصاره‌گیری شده‌بودند تیوباربیتوییک اسید افزوده شد. پس از نیم ساعت قرارگرفتن در حمام آب گرم (دمای ١٠٠ °C) روشناور در دستگاه اسپکتروفتومتر باطول‌موج ۵۳۲ و ٦٠٠ نانومتر و ضریب خاموشی (ε =۱۵۵ $mM^{-1}cm^{-1}$) خوانده شد و بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر برگ مالون دی‌آلدهید گزارش شد (De Vos *et al.*, 2013).

سنجش فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز(PPO): فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز براساس روش (Nicoli *et al.*, 1991) اندازه‌گیری شد. در این روش از پیروگالل به‌عنوان پیش‌ماده آنزیم استفاده شد. مخلوط واکنش شامل بافر پتاسیم فسفات، پیروگالل و عصاره آنزیمی بود. جذب نمونه‌ها در طول‌موج ٤٢٠ نانومتر و بعد از سه دقیقه خوانده شد. فعالیت ویژه آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی پیروگالل برابر با ٦/٢ mM^{-1} cm^{-1} و برحسب واحد آنزیم در مقدار پروتئین کل (میلی‌گرم) موجود در ١٠٠میکرولیتر عصاره بیان شد.

سنجش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL): مخلوط بافر استخراج فنیل آلانین، آب دو بار تقطیر و عصاره آنزیمی به‌مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس در بن‌ماری قرار گرفتند. واکنش با اضافه‌کردن کلریدریک اسید متوقف شد و جذب نمونه‌ها در طول‌موج ٢٦٠ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد (D'Cunha *et al.*, 1996).

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد. آزمون همبستگی نیز بین شاخص‌های تحمل و حساسیت به تنش محاسبه‌شده در پیش آزمایش و صفت‌های فیزیولوژیک اندازه‌گیری شده در آزمایش اصلی انجام شد.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.4.4]

نتایج و بحث

محتوای کلروفیل (a+b) و کاروتنوئیدهای برگ: محتوای کلروفیل و کاروتنوئیدهای برگ تحت تأثیر دما و برهمکنش دما در ژنوتیپ قرار گرفتند (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌های کلروفیل (جدول ۳) نشان داد که با کاهش دما از ۲۵ به صفر درجه سلسیوس محتوای کلروفیل برگ در هیچ یک از سه ژنوتیپ تغییر معنی‌داری نداشت اما با کاهش بیشتر دما (از صفر به ۲/۵- درجه) در ژنوتیپ‌های MAR778b و CYP706 (متحمل و نیمه‌متحمل به سرما) بطور معنی‌داری افزایش یافت (به‌ترتیب ۳۰ و ۲۵ درصد). با این حال در ژنوتیپ حساس به سرما (IND1257) در این دما نیز محتوای کلروفیل تفاوتی با شاهد و دمای صفر درجه نداشت. آزمون همبستگی (جدول ۲) نیز نشان داد که تغییرات میزان کلروفیل برگ نه با شاخص حساسیت به تنش و نه با شاخص تحمل به تنش ارتباط مشخصی نداشته است.

بطور کلی تأثیر تنش بر میزان کلروفیل بسیار متنوع بوده و بستگی به شدت تنش و ویژگی‌های ژنوتیپی گیاهان دارد. در برخی موارد کاهش دما (یا آب خاک) به سرعت سبب توقف رشد و کاهش سطح برگ می‌شود ولی بر سنتز کلروفیل یا تجزیه آن اثر فوری ندارد. در این شرایط ممکن است غلظت کلروفیل به سبب تراکم کلروفیل در واحد سطح برگ درنتیجه کوچکترشدن سلول‌ها و کاهش سطح برگ افزایش یابد (صفاری و همکاران، ۱۳۹۲) در پژوهشی در مورد اثر سرما بر دو رقم پاییزه (متحمل به سرما) و یک رقم بهاره (حساس به سرما) گندم مشاهده شد که در هر سه رقم، با گذشت زمان سرمادهی محتوای کلروفیل برگ افزایش یافت. این پدیده به تفاوت در کاهش محتوای نسبی آب نسبی سلول‌های برگ نسبت داده شد. بدین صورت که با افزایش مدت زمان سرمادهی و کاهش محتوای آب نسبی سلول‌های برگ، غلظت کلروفیل در سلول‌های برگ به تدریج افزایش می‌یابد. البته این افزایش در رقم مقاوم به سرما بیشتر بود (مجدی و همکاران، ۱۳۸۶).

از سوی دیگر، تغییرات محتوای کاروتنوئیدهای برگ (جدول ۳) در دو ژنوتیپ CYP706 و IND1257 (نیمه‌متحمل و حساس) با کاهش دما از ۲۵ تا ۲/۵- درجه سلسیوس معنی‌دار نبود اما در ژنوتیپ MAR778b (متحمل) در دمای ۲/۵- درجه بطور معنی‌داری کمتر از شاهد بود. همچنین در دماهای صفر و ۲/۵- درجه سلسیوس محتوای کاروتنوئیدهای برگ IND1257 بطور معنی‌داری بیش از MAR778b بود. با بررسی نتایج آزمون همبستگی (جدول ۲) دیده می‌شود تغییرات محتوای کاروتنوئیدهای برگ رابطه معکوس و معنی‌داری با شاخص تحمل به تنش و رابطه مستقیم و معنی‌داری با شاخص حساسیت به تنش دارد. به بیان دیگر با کاهش دما از ۲۵ به ۲/۵- درجه سلسیوس تجمع کاروتنوئیدها در برگ در گیاهان حساس به سرما بیشتر از گیاهان متحمل به آن بوده است با این حال بیشتربودن محتوای کاروتنوئیدها در ژنوتیپ IND1257 نسبت به دو ژنوتیپ دیگر نتوانسته است سبب القا تحمل به سرما در آن گردد.

به‌نظر می‌رسد به سبب نقش حفاظتی کاروتنوئیدها در طی آسیب اکسیداتیو (Taiz and Zeiger, 2002) احتمالاً میزان آنها در اثر تنش افزایش می‌یابد. با این حال نتیجه برخی پژوهش‌ها بر خلاف این را نشان داده است. برای نمونه محتوای کاروتنوئیدهای ذرت در دمای کمتر از ۱۰ درجه سلسیوس (Lidon *et al.*, 2001) و کلزا (کشاورز و همکاران،۱۳۹۰) در شرایط سرما کاهش یافته است. البته در کلزا کاهش در رقم‌های حساس به سرما بیش از رقم مقاوم بود. این کاهش می‌تواند به‌دلیل اکسیده‌شدن آنها توسط اکسیژن فعال و تخریب ساختار آنها باشد (Bandyopadhyay *et al.*, 1999). همچنین در جهش یافته‌ای از برنج که فاقد توانایی تولید کاروتنوئید بود تحمل به خشکی کاهش اما تحمل به سرما افزایش یافته بود. این امر همراه با تغییر در مسیر بیوسنتزی IAA و ABA بود (Du *et al.*, 2013). در گونه وحشی و دو نمونه جهش‌یافته از *Sloanum commersni* با توانایی تحمل یخبندان میزان کاروتنوئیدهای برگ در دمای پایین تفاوت معنی‌داری با شاهد نداشت و تنها در یک جهش‌یافته افزایش پیدا کرده بود (Pino *et al.*, 2008).

محتوای مالون دی‌آلدهید برگ (MDA): تجزیه داده‌ها

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.4.4]

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس برخی صفات فیزیولوژیک و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بزرگ در سه تیمار دمایی در مرحله گیاهچه‌ای

منبع تغییر	df	محتوای کلروفیل a+b	محتوای کاروتنوئید	محتوای مالون دی‌آلدهید	محتوای پرولین برگ	قندهای محلول برگ	فعالیت پلی‌فنل اکسیداز	فعالیت فنیل آلانین آمونیالیاز
دما	۲	۱۸/٤۷ **	۸۱/٦۲ ^{ns}	۲٤/۰۵ **	۰/۸۳۳ **	۲۳/۲٦ **	۳/۳۷ **	۰/۰۱۹ **
ژنوتیپ	۲	٤۳/٦۰ **	۱۲٤٤/۱۱ **	۲۱/۲۰ **	۰/۱٦۸ **	٤/۲۵ **	۱/۳۷ **	۰/۰۵۷ **
دما × ژنوتیپ	٤	۳۷/۵۸ **	۲۸۱/۰٦ **	۲۷/۱۷ **	۰/۰٦۳ *	٤/۹۸ **	۱/۰۸ **	۰/۰۰٦۹ **
خطا	۱۸	۰/۰۸۲	٤۷/۲۰۱	۰/۸۵۲	۰/۰۱۵	۰/۱٤۷	$۱/۲\times۱۰^{-۷}$	۰/۰۰۰٦۰
ضریب تغییرات	-	۳/۷۱	۷/۰۷	۱۲/۳۳	۷/۰۸	۱۳/۵۸	۱٤/۸۸	۱٤/٦٤

****، * به‌ترتیب معنی‌دار در سطح ۱ و ۵ درصد و ns غیرمعنی‌دار. اعداد درون جدول میانگین مربعات هستند.**

جدول ۲- نتایج آزمون همبستگی بین برخی صفات فیزیولوژیک و دو شاخص تحمل (STI) و حساسیت به تنش (SSI) ژنوتیپ‌های بزرگ

	STI	کلروفیل	کاروتنوئیدها	مالون دی‌آلدهید	پرولین	قندهای محلول	پلی‌فنل اکسیداز	فنیل آلانین آمونیالیاز
SSI	- ۰/۸۸ **	- ۰/۲۵ ^{ns}	۰/۷۸ *	۰/۳٦ ^{ns}	۰/۰۸ ^{ns}	۰/۱٤ ^{ns}	- ۰/٤۳ ^{ns}	- ۰/۷٦ *
STI	-	۰/۵۱ ^{ns}	- ۰/٦۲ *	- ۰/۳۱ ^{ns}	۰/۲۷ ^{ns}	۰/۳۷ ^{ns}	۰/۰٤ ^{ns}	۰/۵۵ ^{ns}
کلروفیل		-	- ۰/٤۰ ^{ns}	- ۰/۷۵ *	+ ۰/۱ ^{ns}	۰/۹۲ **	- ۰/۵۷ ^{ns}	- ۰/۱۲ ^{ns}
کاروتنوئیدها			-	+ ۰/٦۱ *	۰/۳۱ ^{ns}	۰/۲۸ ^{ns}	- ۰/۳۵ ^{ns}	- ۰/۷۷ *
مالون دی‌آلدهید				-	۰/۰۹ ^{ns}	+ ۰/۷٦ *	۰/۱۹ ^{ns}	-۰/۰۷ ^{ns}
پرولین					-	- ۰/۱٤ ^{ns}	- ۰/۱۱ ^{ns}	- ۰/۵۰ ^{ns}
قندهای محلول						-	۰/۷۰ *	۰/۳۳ ^{ns}

در محاسبه شاخص‌های SSI و STI، شرایط نرمال دمای ۲۵ درجه سلسیوس و شرایط تنش دمای ۲/۵- درجه سلسیوس در نظر گرفته شد.

نشان داد که اثر سرما و ژنوتیپ و اثر متقابل سرما در ژنوتیپ بر میزان MDA معنی‌دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۳) نشان داد که در هر سه ژنوتیپ با کاهش دما از ۲۵ (شاهد) به صفر درجه تغییرات این صفت معنی‌دار نبود اما با کاهش دما از صفر به ۲/۵- درجه سلسیوس محتوای MDA بطور معنی‌داری افزایش یافت که بیشترین افزایش (۱۰٦ درصد) در ژنوتیپ IND1257 (حساس به سرما) دیده شد. نتایج آزمون همبستگی (جدول ۲) نشان داد که میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی (محتوای MDA) نه با شاخص حساسیت به تنش و نه با شاخص تحمل به تنش همبستگی معنی‌داری نداشت. بدین ترتیب به‌نظر می‌رسد عامل‌های دیگری هم در حساسیت یا تحمل به سرما مؤثر بوده‌اند.

بطور کلی میزان کم پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی (محتوای مالون دی‌آلدهید) در سلول‌های برگ یکی از سازه‌های مهم تحمل گیاه به تنش سرما به شمار می‌آید (Deryabin *et al.*, 2005). سطح پایین MDA در ریشه و برگ ژنوتیپ‌های متحمل نشان‌دهنده آن است که این گیاهان حفاظت بهتری در برابر اکسیداسیون ناشی از دمای پایین داشته‌اند (حسیبی و همکاران، ۱۳۸۷). نتایج پژوهشی با هدف بررسی مقاومت به سرمای نهال‌های یکساله یک رقم حساس (سویلانا) و یک رقم مقاوم (فرانتوئیو) زیتون نشان داد که با کاهش دما از ۲۵ تا صفر درجه آسیب قابل توجهی به هیچ یک

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.4.4]

جدول ۳- تغییرات محتوای کلروفیل (a + b)، کاروتنوئیدها (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)، قندهای محلول (میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر)، مالون دی‌آلدهید و محتوای پرولین برگ (میکرومول بر گرم وزن تر برگ) به همراه فعالیت آنزیم‌های پلی‌فنل اکسیداز و فنیل آلانین آمونیالیاز (واحد آنزیم بر میلی‌گرم پروتئین محلول برگ) سه ژنوتیپ بزرک در سه تیمار دمایی

دما (°C)	ژنوتیپ	کلروفیل a+b	تغییر	کاروتنوئید†	تغییر	مالون دی آلدهید	تغییر	پرولین	تغییر	قندهای محلول	تغییر	فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز	تغییر	فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز	تغییر
۲۵	MAR778b	۵/۹۶^{d}	-	۹۴/۹۱^{cde}	-	۵/۴۸ ^{efg}	-	۱/۴۲ef	-	۲/۲۳^{cd}	-	۰/۰۰۳۷^{a}	-	۰/۱۹۷ ^{b}	-
	CYP706	۶/۳۹^{cd}	-	۹۸/۸۷^{bcd}	-	۶/۱۶ ^{ef}	-	۱/۸۰bc	-	۱/۴۵ ^{ef}	-	۰/۰۰۱۸^{c}	-	۰/۱۱۷ ^{cd}	-
	IND1257	۶/۸۳^{bc}	-	۱۰۴/۹۶^{bcd}	-	۵/۴۴^{ef}	-	۱/۲۲f	-	۱/۲۷^{f}	-	۰/۰۰۳۸ ^{a}	-	۰/۲۳۳ ^{b}	-
۰	MAR778b	۵/۰۱^{de}	-۱۶	۸۵/۲۶^{ef}	-۱۰	۵/۰۶ ^{g}	-۷	۱/۶۴cd	+۱۵	۲/۴۸^{cd}	+۱۱	۰/۰۰۲۱^{bc}	-۴۳	۰/۱۹۷^{b}	۰
	CYP706	۶/۴۲^{bc}	+۰/۴	۹۰/۰۴^{de}	-۹	۵/۲۵^{fg}	-۱۴	۱/۶۷cd	-۱	۲/۰^{de}	+۳۸	۰/۰۰۱۷^{c}	-۱	۰/۰۴۸^{e}	-۵۹
	IND1257	۶/۳۰^{bc}	-۷	۱۰۶/۰۲^{abc}	+۱	۵/۳۲ ^{efg}	-۲	۱/۵۱de	+۲۴	۲/۰۴^{de}	+۶۰	۰/۰۰۱۹^{bc}	-۵۰	۰/۱۳۵^{c}	-۴۲
-۲/۵	MAR778b	۷/۷۹ ^{a}	+۳۰	۷۳/۴۸^{f}	-۲۲	۷/۷۱^{bcd}	+۲۵	۱/۹۷ab	+۹	۴/۳۰^{b}	+۹۲	۰/۰۰۲۴ ^{b}	-۳۵	۰/۳۳۰^{a}	+۶۷
	CYP706	۷/۹۶ ^{a}	+۲۵	۱۰۸/۲۲^{abc}	+۹	۷/۹۷ ^{b}	+۲۵	۲/۱۴a	+۱۹	۲/۷۶^{c}	+۹۰	۰/۰۰۱۹^{bc}	-۵	۰/۰۸۹^{d}	-۲۴
	IND1257	۶/۸۸ ^{bcd}	+۰/۷	۱۱۲/۵۲^{ab}	+۷	۱۱/۰^{a}	+۱۰۶	۲/۰۷ a	+۷۰	۶/۹۱^{a}	+۴۴۴	۰/۰۰۲۲^{bc}	-۴۲	۰/۲۰۰^{b}	-۱۵

در هر ستون میانگین‌های دارای یک حرف مشترک از لحاظ آماری تفاوتی با یکدیگر ندارند (دانکن ۰/۰۵). †: درصد نسبت به شاهد (۲۵ درجه سلسیوس)

از دو ژنوتیپ وارد نشد اما رقم فرانتوئیو حتی تا دمای ۱۵- قادر به حفظ ساختارهای فتوسنتزی خود بود و میزان MDA نیز در آن افزایش چندانی در مقایسه با شاهد (دمای ۲۵ درجه سلسیوس) نداشت (افشارمحمدیان و همکاران، ۱۳۹۱). به همین ترتیب، درواکنش به دمای پایین میزان مالون دی‌آلدهید یک رقم متحمل به سرما کلزا بهاره (زرفام)، بسیار کمتر از رقم آپشن ۵۰۰، (حساس به سرما) افزایش یافت (Karimzadeh and Sharifi, 2014).

محتوای پرولین برگ: تجزیه داده‌ها نشان داد که اثر سرما و ژنوتیپ و اثر متقابل سرما در ژنوتیپ بر محتوای پرولین برگ معنی‌دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین (جدول ۳) نشان داد در هر سه ژنوتیپ مورد مطالعه (MAR778b، IND1257 و CYP706) با کاهش دما از ۲۵ به ۲/۵- درجه سلسیوس، محتوای پرولین برگ بطور معنی‌داری افزایش یافت. بیشترین افزایش در محتوای پرولین در اثر دمای ۲/۵- درجه در ژنوتیپ IND1257 (۷۰ درصد) دیده شد. همچنین بجز در ژنوتیپ CYP706 با کاهش دما از ۲۵ به صفر درجه نیز محتوای پرولین بطور معنی‌داری افزایش یافت. بدین ترتیب به‌نظر می‌رسد با کاهش دما در هر سه ژنوتیپ محتوای پرولین در مجموع افزایش یافته اما شدت افزایش در اثر دمای ۲/۵- بیشتر بوده است. با این حال مقایسه سه ژنوتیپ در دماهای ۲/۵- و صفر درجه تفاوت معنی‌داری از لحاظ محتوای پرولین را نشان نداد. از این رو می‌توان نتیجه گرفت که افزایش محتوای پرولین در این آزمایش ارتباطی با سطح تحمل یا حساسیت به سرما نداشته است. نتایج آزمون همبستگی (جدول ۲) نیز نشان داد که محتوای پرولین با دو شاخص حساسیت به تنش و تحمل به تنش رابطه معنی‌داری نداشته است.

پرولین به‌عنوان اسیدآمینه‌ای غیرپروتئینی و چندمنظوره نقش‌های متنوعی مانند پایدارکننده پروتئین‌ها، غشاها و ساختارهای سلولی و محافظت از کارکرد سلول‌ها با مهار گونه‌های اکسیژن فعال در شرایط تنش دارد (Kaur and Asthir, 2015).

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.4.4]

افزایش غلظت پرولین تحت تنش ممکن است نشان‌دهنده نقش این اسیدآمینه در تنظیم پتانسیل اسمزی باشد. سرعت سنتز این ماده در شرایط تنش سرما که همراه با کاهش محتوای آب گیاه و القا خشکی فیزیولوژیک در هنگام تشکیل بلورهای یخ است، افزایش می‌یابد (Seppanen, 2000). در گیاهان حساس به سرما افزایش محتوای پرولین سلول آنقدر نیست که موجب افزایش مقاومت شود مگر اینکه مقادیر بالای پرولین قبل از تنش بوجود آمده باشد یا به بیان دیگر گیاه تطابق (خوپذیری) لازم را به‌دست آورده باشد (توپچی‌زاده تبریزیان و همکاران، ١٣٩٤). در همین رابطه گزارش شده است در نوع وحشی آرابیدوپسیس در طی ۲ روز خوپذیری (Acclimation) به سرما در دمای ٤ درجه، میزان پرولین ۱۰ برابر افزایش یافت. با این حال، در نبود خوپذیری در یک جهش‌یافته از این گیاه میزان پرولین نسبت به نوع وحشی ۳۰ برابر بیشتر افزایش یافت که نشان می‌دهد کنترل ژنتیکی قابل توجهی در ساخته‌شدن پرولین اعمال می‌شود (Xin and Browse, 2000). نتایج برخی پژوهش‌ها بیانگر افزایش محتوای پرولین در بافت‌های گندم بهاره (Apostolova *et al.*, 2008)، گلرنگ (رجبی و پورداد، ۱۳۸۹) و جو (Chu *et al.*, 1978) در شرایط تنش سرما است و در این مورد تنوع ژنوتیپی قابل توجهی نیز مشاهده شده است.

محتوای قندهای محلول برگ: نتایج تجزیه واریانس داده‌های محتوای قند محلول برگ بیانگر آن است که این صفت بطور معنی‌داری تحت تدثیر سرما، ژنوتیپ و برهمکنش سرما در ژنوتیپ قرار گرفت (جدول ۱). براساس نتایج مقایسه میانگین (جدول ۳) در هر سه ژنوتیپ مورد مطالعه (MAR778b، IND1257 و CYP706) با کاهش دما از ۲۵ به صفر و ۲/۵- درجه سلسیوس، محتوای قندهای محلول برگ افزایش یافت. بیشترین افزایش مربوط به ژنوتیپ IND1257 (٤٤٤ درصد) بود. غلظت قندهای محلول برگ سه ژنوتیپ در دمای صفر درجه تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند اما در دمای ۲/۵- درجه سلسیوس محتوای قندهای محلول دو ژنوتیپ MAR778b (متحمل به سرما) و IND1257 (حساس به سرما) بطور معنی‌دار و قابل توجهی بیشتر از ژنوتیپ CYP706 (نیمه‌حساس) به سرما بود. نتایج آزمون همبستگی (جدول ۲) نیز حاکی از عدم‌همبستگی مشخص قندهای محلول با شاخص تحمل و حساسیت به تنش بوده است.

به‌نظر می‌رسد در طی بروز تنش سرما گیاه با از دست‌دادن تدریجی آب و همچنین از طریق افزایش مقدار قند سلول، غلظت شیره سلولی را افزایش داده از تشکیل یخ و از القاشده توسط آن جلوگیری می‌کند (افشاری و همکاران، ۱۳۹۳). نتایج آزمایشی با هدف بررسی مقاومت به سرمای ارقام و لاین‌های گلرنگ نشان داد که تنش سرما (دماهای کمتر از ۱۵ درجه سلسیوس)، غلظت قندهای محلول برگ را بطور معنی‌داری افزایش داد اگر چه بین ارقام تفاوت زیادی مشاهده شد. همچنین در یک رقم از سه رقمی که بیشترین افزایش در محتوای قندهای محلول را نشان دادند این صفت ارتباطی با سطح تحمل نداشت. در این آزمایش همبستگی منفی بین میزان آسیب به غشا سلولی و محتوای قندهای محلول مشاهده شد. (رجبی و پورداد، ۱۳۸۹). در پژوهشی دیگر که با هدف شناسایی برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی مرتبط با مقاومت به سرما در گیاهچه‌های سه رقم گندم انجام شد، نتایج نشان داد که پس از سرمادهی (۲ درجه سلسیوس) و پس از یخ‌زدگی (۱۰- درجه سلسیوس) غلظت قندهای محلول گیاهان نسبت به قبل از سرمادهی افزایش یافت. بیشترین افزایش مربوط به رقم مقاوم به سرما بود (احمدی و همکاران، ١٣٨٤). در مقابل نتیجه پژوهشی دیگر نشان داد که برخلاف کلزای پاییزه، میزان ساکارز اندام‌های هوایی کلزای بهار سخت‌شده به سرما در واکنش به دمای پایین افزایش نیافت (Patton *et al.*, 2007). به همین ترتیب در سه اکوتیپ علف چمنی یکساله (*Poa annua*) در اثر کاهش دما میزان قندهای محلول (ساکارز و فروکتان) افزایش یافت اما این افزایش ارتباطی با حد تحمل آنها به سرما نداشت (Dionne *et al.*, 2001).

فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز (PPO): تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز تحت تأثیر دما، ژنوتیپ و برهمکنش دما در ژنوتیپ قرار گرفت (جدول

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.4.4]

۱). نتایج مقایسه میانگین (جدول ۳) نشان داد که با کاهش دما از ۲۵ به صفر فعالیت این آنزیم در دو ژنوتیپ MAR778b (متحمل به سرما) و IND1257 (حساس به سرما) به‌ترتیب ۴۳ و ۵۰ درصد کاهش یافت اما در ژنوتیپ CYP706 (نیمه‌متحمل) تغییر معنی‌داری نیافت. با کاهش دما از صفر به ۲/۵- درجه سلسیوس کاهش بیشتری در فعالیت PPO مشاهده نشد. بدین ترتیب به‌نظر نمی‌رسد فعالیت این آنزیم ارتباط نزدیکی با سطح تحمل به سرمای ژنوتیپ‌های این آزمایش داشته باشد. نتایج آزمون همبستگی (جدول ۲) نیز نشان داد که فعالیت آنزیم PPO همبستگی معنی‌داری نه با شاخص تحمل و نه شاخص حساسیت به تنش ندارد.

پلی‌فنل اکسیداز نقش بسیار مهمی در غیرفعال‌کردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن در سلول‌های گیاهان دارد. این آنزیم موجب تبدیل مونوفنل به دی‌فنل و یا تبدیل دی‌فنل به کینون می‌گردد. از این رو، احتمالاً کاهش فعالیت آن سبب کاهش محتوای فنل‌های اسیدی می‌شود. بررسی اثر کاهش دما (٤ تا صفر درجه سلسیوس) بر روی هندوانه، گوجه‌فرنگی و گیاهچه کلزا نشان داد که فعالیت آنزیم PPO در سرما کاهش می‌یابد که ممکن است سبب تجمع ترکیبات فنلی در گیاه شود (Rivero *et al.*, 2001). فعالیت پلی‌فنل اکسیداز و فنیل آلانین آمونیالیاز و همچنین آسیب سرما در دو رقم موز با کاهش دما افزایش یافت اما تفاوت قابل توجهی بین ارقام وجود داشت و تفاوت در حساسیت به سرما به تنهایی به فعالیت این دو آنزیم ارتباطی نداشت (Nguyen *et al.*, 2003). از سوی دیگر، با کاهش دما فعالیت پلی‌فنل اکسیداز و تراکم لکه‌های قهوه‌ای (ترکیبات فنلی) درون میوه در چند رقم حساس به سرما آناناس افزایش یافت اما در رقم غیرحساس به سرما و در دمای شاهد فعالیت آن بسیار اندک بود (Raimbault *et al.*, 2011). همچنین، فعالیت پلی‌فنل اکسیداز در جهش یافته‌هایی از گوجه‌فرنگی که آسیب نوراکسایشی کمتری در شرایط تنش خشکی دیده بودند کاهش یافته بود (Thipyapong *et al.*, 2004)

گزارش‌هایی مبنی بر کاهش فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی دیگر مانند سوپراکسید دیسموتاز (Bartoli *et al.*, 1999) و کاتالاز (Apostolova *et al.*, 2008) در اثر کاهش دما یا اعمال تنش سرما گزارش شده است. کاهش فعالیت آنزیم در دماهای پایین ممکن است به سبب آسیب سرما به فعالیت (یا ساختار آن) باشد. با این حال، بسته به گونه گیاهی و شدت تنش میزان فعالیت آن در گیاه تغییر می‌کند (جعفری و همکاران، ۱۳۸۵).

فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL): تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز تحت تأثیر سطوح مختلف سرما، ژنوتیپ و برهمکنش سرما در ژنوتیپ قرار گرفت (جدول ۱). مقایسه میانگین (جدول ۳) نشان داد که در هر سه ژنوتیپ با کاهش دما از صفر به ۲/۵- درجه سلسیوس فعالیت این آنزیم بطور معنی‌داری افزایش یافت اما بجز در ژنوتیپ MAR778b، نسبت به شاهد (۲۵ درجه) تفاوت معنی‌داری نداشت. در همین ژنوتیپ MAR778b (متحمل به سرما) افزایش معنی‌دار و قابل توجه فعالیت PAL نسبت به شاهد (٦٧ درصد) نشان از واکنش پذیری خوب آن به کاهش دما و اهمیت احتمالی آن در تحمل به سرما در این ژنوتیپ دارد. نتیجه آزمون همبستگی (جدول ۲) نشان داد که فعالیت PAL همبستگی منفی معنی‌دار و قابل توجهی با شاخص تحمل به تنش دارد (r = -۰/۷٦) دارد به بیان دیگر فعالیت زیاد آن با حساسیت به تنش رابطه معکوس دارد با این حال همبستگی غیرمعنی‌دار (اما مثبت) آن با شاخص تحمل به تنش نشان می‌دهد که بالابودن فعالیت آن الزاماً نشان‌دهنده تحمل به سرما نیست و ممکن است سازوکارهای دیگری هم در تحمل دخالت داشته باشند.

بنا بر برخی گزارش‌ها، افزایش فعالیت PAL و میزان فنل کل در ارتباط با مقاومت به سرما در گیاهان است (سلیمانی اقدم و اصغری، ۱۳۹۱، Chen *et al.*, 2008). این آنزیم اولین آنزیم در مسیر بیوسنتز فنیل پروپانوئیدها است و فعالیت آن در شرایط سرما افزایش می‌یابد (Janas *et al.*, 2000). نتایج آزمایشی با هدف بررسی واکنش به سرمای درختان زیتون نشان داد که در تنش سرمایی ملایم و متوسط فعالیت آنزیم

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.4.4]

PAL نسبت به شاهد افزایش و در سرمای نسبتاً شدید (۷- درجه سلسیوس) حدود ٤٧ درصد کاهش یافت. فعالیت این آنزیم احتمالاً در فرایند بهبود پس از سرما مؤثر است و نه مقاومت در برابر آن (Ortega-Garcia and Peragon, 2009). با این حال، گزارش‌هایی متضادی نیز وجود دارد. برای نمونه در آرابیدوپسیس اگر چه افزایش قابل توجه در رونوشت‌های آنزیم PAL در اثر اعمال دماهای پایین مشاهده شد اما این افزایش ارتباطی با تحمل به سرما نداشت (Leyva *et al*., 1995).

نتیجه‌گیری

نتایج این آزمایش نشان داد که اعمال تنش سرما با دمای صفر درجه اثر قابل توجهی بر هیچ یک از شاخص‌های فیزیولوژیک ژنوتیپ‌های مورد بررسی در این آزمایش نداشت اما دمای ۲/۵- درجه سبب افزایش قابل توجه در محتوای قندهای محلول، مالون دی‌آلدهید و محتوای پرولین برگ در ژنوتیپ حساس به سرما شد. فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در هر سه ژنوتیپ با کاهش دما کاهش یافت اما فعالیت آنزیم فنیل الانین آمونیالیاز در ژنوتیپ متحمل به سرما بطور معنی‌داری افزایش و در ژنوتیپ حساس به سرما کاهش یافت. ممکن است فعالیت این آنزیم با تحمل به سرما در این ژنوتیپ در ارتباط باشد با این حال دیگر صفات فیزیولوژیک مورد بررسی در این آزمایش ارتباط نزدیکی به تحمل به سرما نداشتند.

منابع

احمدی، ع.، یزدی‌صمدی، ب. و زرگرنتاج، ج. (۱۳۸٤) واکنش فیزیولوژیکی گیاهچه‌های گندم به دمای پایین. نشریه دانش کشاورزی ۲: ٤۳-۲۷.

افشارمحمدیان، م.، رضایی، ش. و رمضانی ملک‌رودی، م. (۱۳۹۱) بررسی مقاومت دو رقم زیتون به تنش سرما. مجله فرایند و کارکرد گیاهی ۱: ۱۱-۲.

افشاری، ح.، زاهدی، ر.، پروانه، ط. و باقری، م. ز.(۱۳۹۳) تأثیر سالیسیلیک اسید بر سطوح پرولین، قندهای محلول و نشت یونی دو رقم زردآلو تحت تنش سرما. مجله به‌زراعی کشاورزی ۱٦: ۱۳۸-۱۲۷.

بیدخوانی، ف.، محمدی‌میریک، ع. ا. و دشتی، ح. (۱۳۹۳) ارزیابی دو زیر گونه بزرک (*Linum usitatissimum* L.) در مناطق مختلف جغرافیایی از نظر میزان و تنوع ژنتیکی برای عملکرد دانه و اجزای آن. مجله علوم گیاهان زراعی ایران ٤٥: ٦۱۱-٦۰۳.

توپچی‌زاده تبریزیان، س.، حاجی‌لو، ج. و دهقان، غ. (۱۳۹٤) ارزیابی تغییرات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در طی رکود جوانه گل در چند رقم زردآلو (*Prunus armeniaca*) براساس تجمع نیاز سرمایی. مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران) ۱: ٦٤-٥٤.

جعفری، ر.، منوچهری کلانتری، خ. و احمدی موسوی، ع. ا. (۱۳۸٥) اثر پاکلوبوترازول بر تجمع آنتی‌آکسیدان‌ها در نهال‌های گوجه‌فرنگی (*Lycopersicum esculentom* L.) تحت تنش سرما. مجله زیست‌شناسی ایران ۳: ۲۱۷-۲۰٦.

حسیبی، پ.، مرادی، ف. و نبی‌پور، م. (۱۳۸۷) اثر دمای پایین بر سازوکار آنتی‌اکسیدان‌های ژنوتیپ‌های حساس و متحمل برنج (*Oryza sativa* L.) در مرحله گیاهچه‌ای. مجله علوم زراعی ایران ۳: ۲۸۰-۲٦۲.

رجبی، ر. و پورداد، س. (۱۳۸۹) بررسی مقاومت به سرما در ارقام و لاین‌های گلرنگ با استفاده از شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیائی. تولیدات گیاهی (مجله علمی کشاورزی) ۲: ۱٤-۱.

سلیمانی‌اقدم، م. و اصغری، م. ر. (۱۳۹۱) کاهش سرمازدگی پس از برداشت میوه گوجه‌فرنگی با تیمار براسینواستروئید. مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران) ۳: ٤۳۹-٤۲۷.

صفاری، ر.، مقصودی‌مود، ع. ا. و صفاری، و. ر. (۱۳۹۲) اثر تنش شوری بر فلوئورسانس کلروفیل و عملکرد دانه برخی ارقام آفتابگردان (*Helianthus annuse* L.). مجله به‌زراعی نهال و بذر ۱: ۱۳۰-۱۰۹.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.4.4]

کشاورز، ح.، مدرس‌ثانوی، ع. م.، زرین‌کمر، ف.، دولت‌آبادیان، آ.، پناهی، م. و اسیلان، ک. (۱۳۹۰) بررسی اثر محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید بر برخی خصوصیات بیوشیمیایی دو رقم کلزا (*Brassica napus* L.) تحت شرایط تنش سرما. مجله علوم گیاهان زراعی ایران ٤٢: ٧٣٤-٧٢٣.

مجدی، م.، کریم‌زاده، ق. و محفوظی، س. (١٣٨٦) اثر دمای پایین و کلسیم خارجی بر روی راندمان کوانتومی فتوسیستم II (Fv/Fm) و میزان کلروفیل در ارقام گندم حساس و متحمل به سرما. پژوهش و سازندگی در زراعت و باغبانی ٧٧: ١٨١-١٧٥.

Apostolova, P., Yordanova, R. and Popova, L. (2008) Response of antioxidative defence system to low temperature stress in two wheat cultivars. General and Applied Plant Physiology 3-4: 281-294.

Arnon, D. I. (1949) Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiology 1: 1-15.

Bandyopadhyay, U., Das, D. and Banerjee, R. K. (1999) Reactive oxygen species: oxidative damage and pathogenesis. Current Science 658-666.

Bakalova, S., Nikolova, A. and Nedeva, D. (2004) Isoenzyme profiles of peroxidase, catalase and superoxide dismutase as affected by dehydration stress and ABA during germination of wheat seeds. Bulgarian Journal of Plant Physiology 1-2: 64-77.

Bartoli, C. G., Simonthacchi, M., Tambussi, E. A., Beltrano, J., Montaldi, E. R. and Puntarulo, S. (1999) Drought and watering dependent oxidative stress: Effect of antioxidant content in *Triticum aestivum* L. leaves. Journal of Experimental Botany 50: 375-383.

Bates, L., Waldren, R. and Teare, I. (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil 1: 205-207.

Cloutier, S. (2016 a) Linseed, Reference Module in Food science. Elsevier.

Cloutier, S. (2016 b) Linseed, Encyclopedia of Food Grains 2nd Ed. Academic Press, Oxford.

Chen, J. Y., He, L. H., Jiang, Y. M., Wang, Y., Joyce, D. C., Ji, Z. and Lu, W. J. (2008) Role of phenylalanine ammonia-lyase in heat pretreatment-induced chilling tolerance in banana fruit. Physiologia Plantarum 132: 318-328.

Chu, T., Jusaitis, M., Aspinall, D. and Paleg, L. (1978) Accumulation of free proline at low temperatures. Physiologia Plantarum 3: 254-260.

D'Cunha, G. B., Satyanarayan, V. and Nair, P. M. (1996) Purification of phenylalanine ammonia lyase from *Rhodotorula glutinis*. Phytochemistry 1: 17-20.

De Vos, A. C., Broekman, R., de Almeida Guerra, C. C., van Rijsselberghe, M. and Rozema, J. (2013) Developing and testing new halophyte crops: A case study of salt tolerance of two species of the Brassicaceae, *Diplotaxis tenuifolia* and *Cochlearia officinalis*. Environmental and Experimental Botany 92: 154-164.

Deryabin, A., Dubinina, I., Burakhanova, E., Astakhova, N., Sabel'nikova, E. and Trunova, T. (2005) Influence of yeast-derived invertase gene expression in potato plants on membrane lipid peroxidation at low temperature. Journal of Thermal Biology 1: 73-77.

Dionne, J., Castonguay, Y., Nadeau, P. and Desjardins, Y. (2001) Freezing tolerance and carbohydrate changes during cold acclimation of green-type annual Bluegrass (*Poa annua* L.) ecotypes contribution no. 677 of the Sainte-Foy Research Centre. Crop Science 41: 443-451.

Du, H., Wu, N., Chang, Y., Li, X., Xiao, J. and Xiong, L. (2013) Carotenoid deficiency impairs ABA and IAA biosynthesis and differentially affects drought and cold tolerance in rice. Plant Molecular Biology 83: 475-488.

Fernandez, G. C. J. (1993) Effective selection criteria for assessing plant stress tolerance. Adaptation of food crops to temperature and water stress. In: Proceedings of International Symposium on Adaptation of Vegetables and Other Food Crops in Temperature and Water Stress (ed. Kuo, C. G.) Pp. 257-270. AVRDC Publication, Taiwan.

Fischer, R. A. and Maurer, R. (1978) Drought resistance in spring wheat cultivars. I. Grain yield responses. Australian Journal of Agricultural Research 29: 897-912.

Groppa, M. and Benavides, M. (2008) Polyamines and abiotic stress: recent advances. Amino Acids 1: 35-45.

Irigoyen, J., Einerich, D. and Sanchez-Diaz, M. (1992) Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. Physiologia Plantarum 1: 55-60.

Janas, K. M., Cvikrova, M., Palagiewicz, A. and Eder, J. (2000) Alterations in phenylpropanoid content in soybean roots during low temperature acclimation. Plant Physiology and Biochemistry 38: 587-593

Kandpal, R. P., Vaidyanathan, C., Kumar, M. U., Sastry, K. S. K. and Rao, N. A. (1981) Alterations in the activities of the enzymes of proline metabolism in ragi (*Eleusine coracana*) leaves during water stress. Journal of Biosciences 3: 361-370.

Karimzadeh, G. and Sharifi, M. (2014) Cold-induced changes of proline, malondialdehyde and chlorophyll in spring canola cultivars. Journal of Plant Physiology and Breeding 1: 1-11.

Kaur, G. and Asthir, B. (2015) Proline: a key player in plant abiotic stress tolerance. Biologia Plantarum 59: 609-619.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.4.4]

Khanna-Chopra, R. and Selote, D. S. (2007) Acclimation to drought stress generates oxidative stress tolerance in drought-resistant than-susceptible wheat cultivar under field conditions. Environmental and Experimental Botany 2: 276-283.

Lidon, F., Loureiro, A., Vieira, D., Bilho, E., Nobre, P. and Costa, R. (2001) Photoinhibition in chilling stressed wheat and maize. Photosynthetica 39: 161-166.

Leyva, A., Jarillo, J. A., Salinas, J. and Martinez-Zapater, J. M. (1995) Low temperature induces the accumulation of phenylalanine ammonia-lyase and chalcone synthase mRNAs of *Arabidopsis thaliana* in a light-dependent manner. Plant Physiology 108: 39-46.

Mahajan, S. and Tuteja, N. (2005) Cold, salinity and drought stresses: an overview. Archives of Biochemistry and Biophysics 2: 139-158.

Nicoli, M. C., Elizalde, B. E., Pitotti, A. and Lerici, C. R. (1991) Effect of sugars and maillard reaction products on polyphenol oxidase and peroxidase activity in food. Journal of Food Biochemistry 3: 169-184.

Nguyen, T. B. T., Ketsa, S. and van Doorn, W. G. (2003) Relationship between browning and the activities of polyphenoloxidase and phenylalanine ammonia lyase in banana peel during low temperature storage. Postharvest Biology and Technology 30: 187-193.

Ortega-Garcia, F. and Peragon, 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 Agricultur 9: 1565-1573.

Parry, M. A., Andralojc, P. J., Khan, S., Lea, P. J. and Keys, A. J. (2002) Rubisco activity: effects of drought stress. Annals of Botany 89: 833-839.

Peltzer, D., Dreyer, E. and Polle, A. (2002) Differential temperature dependencies of antioxidative enzymes in two contrasting species: *Fagus sylvatica* and *Coleus blumei*. Plant Physiology and Biochemistry 40: 141-150.

Patton, A. J., Cunningham, S. M., Volenec, J. J. and Reicher, Z. J. (2007) Differences in freeze tolerance of Zoysiagrasses: II. Carbohydrate and proline pccumulation. Crop Science 47: 2170-2181.

Pino, M. T., Skinner, J. S., Jeknic, Z., Hayes, P. M., Soeldner, A. H., Thomashow, M. F. and Chen, T. H. H (2008) Ectopic AtCBF1 over-expression enhances freezing tolerance and induces cold acclimation-associated physiological modifications in potato. Plant, Cell and Environment 31: 393-406.

Raimbault, A. K., Marie-Alphonsine, P. A., Horry, J. P., Francois-Haugrin, M., Romuald, K. and Soler, A. (2011) Polyphenol oxidase and peroxidase expression in four pineapple varieties (*Ananas comosus* L.) after a chilling injury. Journal of Agricultural and Food Chemistry 59: 342-348.

Rife, C. L. and Zeinali, H. (2003) Cold tolerance in oilseed rape over varying acclimation durations contribution. Crop Science 43: 96-100.

Rivero, R. M., Ruiz, J. M., Garcıa, P. C., Lopez-Lefebre, L. R., Sanchez, E. and Romero, L. (2001) Resistance to cold and heat stress: accumulation of phenolic compounds in tomato and watermelon plants. Plant Science 160: 315-321.

Seppanen, M. (2000) Characterization of freezing tolerance in *Solanum commersonii* (Dun.) with special reference to the relationship between freezing and oxidative stress. PhD Thesis, University of Helsinki, Turku, Finland.

Suzuki, M. (1989) Fructans in forage grasses with varying degrees of coldhardiness. Journal of Plant Physiology 134: 224-231.

Taiz, L. and Zeiger, E. (2002) Plant Physiology. Sinauer Associates, Sunderland, Inc.

Thipyapong, P., Melkonian, J., Wolfe, D. W. and Steffens, J. C. (2004) Suppression of polyphenol oxidases increases stress tolerance in tomato. Plant Science 167: 693-703.

Xin, Z. and Browse, J. (2000) Cold comfort farm: the acclimation of plants to freezing temperatures. Plant, Cell and Environment 9: 893-902.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.4.4]

Effect of cold stress on some physiological characteristics and antioxidant systems in (*Linum usitatissimum* L.) genotypes at seedling stage

Moazame Salimi, Shahab Madahhosseini*, Arman Azari and Ali Akbar Mohammadi Mirik

Genetic and Plant Production Department, College of Agriculture, Vali-e-Asr University of Rafsanjan, Rafsanjan, Iran

(Received: 26/4/2018, Accepted: 12/1/2019)

Abstract

In order to study the effects of cold stress on some physiological characteristics of three pre-selected of linseeds, a factorial experiment based on completely randomized design with two factors and three replications was carried out in growth chamber of Faculty of Agriculture, Vali-e-Asr University of Rafsanjan, IRAN. The first factor was cold treatment at three levels (25, 0 and -2.5 ^{o}C) and the second factor was genotype including three accessions named MAR778b, CYP706 and IND1257 selected based on preliminary test as tolerant, semi tolerant and sensitive to cold, respectively. The results showed that temperature decrease from 25 to 0^{o}C did not induce any significant change in any traits. On the contrary, -2.5 ^{o}C treatment significantly increased content of total soluble sugars, proline and malondialdehyde IND1257 (susceptible) much more, and chlorophyll content, much less than two other genotypes. Also, total leaf carotenoids content of tolerant genotype (MAR778b) at -2.5 ^{o}C was significantly lower companed to the control (25 ^{o}C), though those of two other genotypes were not different. Finally, poly phenol oxidase activity decreased by 0 and -2.5 ^{o}C in all three genotypes but phenyl alanine amonialyase increased at -2.5 ^{o}C compared to 0 and 25 ^{o}C only in tolerant cultivar (MAR778b). Correlation analysis revealed a significant reverse association of PAL activity with stress susceptibility index.

Keywords: Antioxidant, Malondialdehyde, Proline, Soluble sugars, Tolerance

Corresponding author, Email: shahab.mhoseini@vru.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.4.4]