مقاله پژوهشی

برخی تغییرات رویشی و بیوشیمیایی گیاهان زینتی بنفشه (*Viola × wittrockiana*) و میمونی (*Antirrhinum majus*) در پاسخ به تنش حاصل از دماهای انجماد

بهروز صالحی اسکندری*[۱]، زهره نصیریان جزی[۲]، جلیل عباس‌پور، [۳] فاطمه دانشمند[۱]

[۱] گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام‌نور، ص. پ. ۴۶۹۷-۱۹۳۹۵ تهران، ایران

[۲]دانش آموخته دانشگاه پیام‌نور اصفهان

[۳]دانش‌آموخته دکتری فیزیولوژی گیاهی دانشگاه اصفهان

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۹/۱۸، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۰/۱۲/۱۶)

چکیده

قرارگرفتن در معرض تنش یخزدگی موجب تغییرات فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی در گیاهان می‌شود که با کاهش رشدونمو همراه است. در مناطق سردسیر گونه‌های حساس حذف و توزیع جغرافیایی نیز تغییر می‌کند. این تحقیق به‌منظور ارزیابی برخی پاسخ‌های رویشی و بیوشیمیایی دو گیاه زینتی مقاوم به سرما بنفشه (*Viola × wittrockiana*) و میمونی (*Antirrhinum majus*) در شرایط تنش یخزدگی انجام شد. بدین منظور از کمینه دمایی دی‌ماه در سه مکان مختلف گلخانه، شهر اصفهان و فریدون‌شهر به‌ترتیب با دمای ۲۰ (شاهد)، ۳- و ۱۱- درجه سانتی‌گراد جهت اعمال تیمار یخزدگی بر روی گیاهچه‌های ۷۰ روزه استفاده گردید. ۱۵ روز پس از اعمال تیمار، وزن گیاهچه‌ها و وزن خشک اندام‌های هوایی هر دو گیاه با افزایش برودت هوا به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. بیشترین کاهش رشد در هر دو گیاه مربوط به پایین‌ترین دما بود. کاهش دما موجب افزایش مقدار کلروفیل، کاروتنوئید، آنتوسیانین، پرولین، گلایسین بتائین و مالون دی‌آلدئید در آنها شد. به‌نظر می‌رسد افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی و واکوئلی در کنار تجمع اسمولیت‌هایی همچون پرولین و گلایسین بتائین نه‌تنها موجب تغلیظ سیتوپلاسم از طریق تنظیم اسمزی در این گیاهان شده است، بلکه موجب حفظ آنها از یخزدگی در سرمای زیر صفر شده و اثرات مخرب یخزدگی در ایجاد رادیکال‌های آزاد و پراکسیداسیون غشاءهای سلولی را نیز تا حدودی کاهش داده است.

کلمات کلیدی: اسمولیت‌ها، برودت، رنگیزه‌های گیاهی، گیاهان زینتی، مالون دی‌آلدئید

مقدمه

دمای پایین از عوامل نامساعد محیطی است که رشدونمو و بهره‌وری گیاهان را تحت‌تأثیر قرار می‌دهد. تنش حاصل از دماهای پایین به دو گروه تنش سرمایی و تنش یخزدگی تقسیم می‌شود. برخی محققان دمای بین صفر و ۲۰ درجه سانتی‌گراد و برخی دیگر دمای بین صفر و ۱۵ درجه سانتی‌گراد را به‌عنوان تنش سرما در نظر می‌گیرند. در مورد تنش یخزدگی محققان نظر مشابهی دارند و دمای کمتر از صفر درجه سانتی‌گراد را به‌عنوان تنش یخزدگی در نظر می‌گیرند (Ding *et al.*, 2019). در بیش از ۹۳ درصد از اراضی دنیا احتمال وقوع سرما وجود دارد و ۸۱ درصد از این مناطق در معرض یخبندان قرار دارند. بنابراین در اکثر مناطق معتدله کره زمین، رشدونمو

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: Behsalehi@ Pnu.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-19]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.48.16.7]

گیاهان زارعی تحت‌تأثیر دمای انجماد قرار می‌گیرد (Sanghera *et al.*, 2011). اولین آسیب دماهای زیر صفر، تشکیل بلورهای یخ در آوندهای گیاه است که این بلورها به‌سرعت تمام اندام‌های گیاه را در بر می‌گیرند. سپس یخ به فضای بین سلولی نفوذ کرده و باعث ایجاد تفاوت در فشار اسمزی درون و بیرون سلول می‌گردد و درنهایت با صدمه به غشا سلولی منجر به نشت آب از سلول می‌شود. فرآیند بازگشت از یخ‌زدگی در کنار تشکیل حباب‌های هوا در بافت آوندی به شکل قابل توجهی باعث ایجاد آسیب و از بین رفتن اندام‌های هوایی گیاه می‌گردد (Thomashow, 1999). تنش یخ‌زدگی علاوه بر تنش کم آبی به‌علت رشد بلورهای یخ و ایجاد خسارات مکانیکی به سلول‌ها و بافت‌ها باعث نشت یون‌ها (املاح)، عدم تعادل متابولیت‌ها و اختلال در عملکردهای فیزیولوژیک گیاه خواهد شد که از آسیب به غشاء ایجاد می‌شود. تنش یخ‌زدگی موجب تغییر در ساختار پروتئین‌ها و تخریب کمپلکس‌های ماکروملکول می‌گردد (Buchanan *et al.*, 2015).

در جریان سازگاری گیاهان به تنش دمای پایین، اسموتیکوم‌هایی چون پرولین، گلایسین بتائین، قندهای محلول و دیگر مولکول‌ها با وزن کم تولید می‌شوند که نقش آنها محافظت از گیاهان در برابر تخریب حاصل از سرماست (Ruelland *et al.*, 2009). این ترکیبات با تنظیم اسمزی (کمک به سلول‌ها برای حفظ وضعیت آبی و تورژسانس)، حفظ یکپارچگی غشاء، محافظت از ساختار ماکرومولکولی، تثبیت پروتئین‌ها و آنزیم‌ها، القاء پروتئین‌های تنش و سیستم‌های مهار گونه‌های فعال اکسیژن در گیاهان به بقاء گیاهان در تنش‌های مختلف کمک می‌کنند (Dawood, 2016).

آنتوسیانین‌ها گروهی از فلاوونوئیدها با خواص آنتی‌اکسیدانتی هستند که دارای توانایی جذب رادیکال‌های اکسیژن به میزان ۴ برابر بیشتر از اسید آسکوربیک و آنالوگ ویتامین E هستند (Gould *et al.*, 2002) و قادرند به‌طور مستقیم گونه‌های اکسیژن واکنش‌گر (ROS) همچون پراکسید هیدروژن، اکسیژن رادیکالی، آنیون سوپراکسید و رادیکال هیدروکسیل را خنثی کنند (Yamasaki *et al.*, 1996). در تحقیقاتی که روی کلم چینی (*Brassica rapa*) انجام شد، مشخص گردید بیان ژن تولیدکننده آنتوسیانین در گیاه تحت تنش سرما و یخ‌زدگی افزایش یافته و درنهایت موجب افزایش این ترکیب‌ها می‌شود (Ahmed *et al.*, 2015).

وجه مشترک همه تنش‌ها از جمله دمای پایین، تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) است که می‌تواند به ماکروملکول‌های مختلف درون سلول آسیب وارد کند. دمای پایین بخصوص وقتی با یخبندان همراه باشد، با سیستم‌های مؤثر جلوگیری‌کننده از تولید گونه‌های فعال اکسیژن همبستگی مثبت دارد (Heidarvand *et al.*, 2010; Sah *et al.*, 2016).

حال آنکه تحمل گیاهان به دمای پایین متفاوت است. البته گیاهان می‌توانند با تغییر عرض جغرافیایی تحمل خود را به دمای پایین افزایش داده و به آن سازگار (Cold acclimation) شوند (Sanghera *et al.*, 2011). مقاومت در برابر درجه حرارت پایین در گیاهان یک ویژگی بسیار پیچیده است که شامل بسیاری از مسیرهای متابولیک مختلف و کده‌بندی سلولی است (Sarwat *et al.*, 2016). پاسخ گیاهان به تنش دمای پایین شامل سه مرحله سازگاری، مقاوم‌سازی و بازگشت می‌شود. سازگاری به سرما (Pre-hardening) در دماهای بالای صفر ایجاد می‌شود. مقاوم‌سازی (Hardening) که بیشترین تحمل به تنش یخ‌زدگی را در گیاه ایجاد می‌کند در دمای زیر صفر رخ می‌دهد و مرحله نهایی، بازگشت گیاه از تنش در پایان دوره سرما صورت می‌گیرد. سازگاری به تنش یخ‌زدگی دنتیجه مکانیسم‌های پیچیده بیوشیمیایی حاصل می‌شود که منجر به افزایش تجمع پروتئین‌های پاسخ‌دهنده به تنش (پروتئین‌های دهیدرین)، افزایش قندهای محلول و آنتی‌اکسیدان‌ها و تغییر در ترکیبات لیپیدی غشاء می‌شود (Charrier *et al.*, 2018). غشاء پلاسمایی، حساس‌ترین بخش در برابر سرماست. ترکیبات غشاء پلاسمایی از اواخر تابستان تا پاییز به شکل قابل‌توجهی تغییر می‌یابند. نتیجه این تغییرات حفاظت در برابر از دست‌دادن آب، آسیب‌های اکسیداتیو و دیگر فرآیندهای تحت‌تأثیر تنش است (Mishra 2019; Saadati *et al.*, 2019; Wisniewski *et al.*, 2017).

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-19]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.48.16.7]

بنفشه (*Viola* × *wittrockiana*) گیاهی زینتی از خانواده Violaceae است، دارای گل‌های زیبا و مقاوم به سرماست (Deljou *et al.*, 2016). گل میمونی (*Antirrhinum majus*) متعلق به خانواده Plantaginaceae است و در نواحی معتدل مدیترانه‌ای کشت می‌شود و دوره گل‌دهی آن در بهار به سرما وابسته است (Noto and Romano, 1988). این تحقیق به منظور درک بهتر مقاومت به تنش یخ‌زدگی گیاهان زینتی بنفشه و گل میمونی، تغییرات بیوشیمیایی و رشدی آنها در تیمارهای مختلف دماهای انجماد انجام گرفته تا بخشی از مکانسیم‌های تحمل به یخ‌زدگی این گیاهان مشخص گردد.

مواد و روش‌ها

بذرهای گیاهان بنفشه و گل میمونی از مؤسسه پاکان بذر خریداری شد. در اوایل مهرماه، بذرها با محلول هیپوکلرید سدیم ۱۰ درصد به‌مدت ۲۰ دقیقه ضدعفونی شده و در سینی کشت حاوی پیت‌ماس در شرایط گلخانه با دمای ۵±۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از جوانه‌زنی و رشد، سه گیاهچه ۲۰ روزه یکسان به گلدان‌های پلاستیکی به قطر ۹/۵ و ارتفاع ۱۰ سانتی‌متر حاوی خاک معمولی، خاک برگ، پیت‌ماس و پرلیت با نسبت‌های برابر منتقل و در همان شرایط گلخانه‌ای با رطوبت ۴۰ درصد و نور طبیعی نگهداری شدند. گیاهچه‌ها ۷۰ روزه در اوایل دی‌ماه ۱۳۹۹ به‌مدت ۱۵ روز در سه مکان مختلف از نظر دمایی شامل گلخانه با همان شرایط قبلی (به‌عنوان گیاهان شاهد در آزمایش در نظر گرفته شدند)، مزرعه کنار گلخانه (شهر اصفهان با ارتفاع ۱۵۵۰ متر از سطح دریا) و فریدون‌شهر در مزرعه‌ای در همان شهر (با ارتفاع ۲۴۹۰ متر از سطح دریا) قرار گرفتند. کمینه دمایی ثبت‌شده در این مکان‌ها در این بازه زمانی به‌ترتیب ۲۰، ۳/۴- و ۱۰/۵- درجه سانتی‌گراد بود که برای اعمال تنش یخ‌زدگی در این پژوهش مورد استفاده قرار گرفت و نمودارها براساس این کمینه دمایی ترسیم شدند. طبق اطلاعات هواشناسی، سایر عوامل مؤثر بر رشد از جمله نور و رطوبت در این دوره زمانی اعمال تیمار یخ‌زدگی در این سه مکان تقریباً مشابه بود.

محاسبه میزان رشد: قبل از شروع تیمار یخ‌زدگی، گلدان‌های حاوی گیاه را با آب اشباع کرده تا آخرین قطرات آب از انتهای گلدان‌ها خارج شود. پس از ۱۶روز مجدداً، گلدان‌ها از آب اشباع شده و اختلاف وزن گلدان‌ها را به تعداد گیاهان تقسیم کرده و سپس افزایش وزن هر گیاه برحسب گرم گزارش گردید. پس از برداشت، اندام‌های هوایی از ریشه‌ها جدا و برای تعیین وزن خشک در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت در آون نگه‌داری و مجدداً توزین شدند.

سنجش محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی: سنجش مقدار کلروفیل کل از رابطه ۱ به روش Arnon (۱۹۴۹) انجام شد و برای محاسبه کاروتنوئیدها از رابطه ۲ (Lichtenthaler *et al.*, 1983) استفاده شد. برای استخراج این رنگیزه‌ها، ۰/۰۵ گرم برگ (بدون دمبرگ) در استون ۸۰ درصد خوب سائیده شد. پس از سانتریفوژ و صاف‌کردن، جذب آن‌ها در طول‌موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و۴۷۰ نانومتر ثبت شد. نتایج طبق رابطه ۱ و ۲ محاسبه و مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه و ارائه گردید.

رابطه ۱:

$$Chl\ T = (20.2A_{645} + 8.02A_{663}) \times V/1000 \times 1/W$$

رابطه ۲:

$$Car = \left(\frac{(1000A_{470} - 3.27Chla - 104Chlb)}{229}\right) \times \frac{V}{1000} \times \frac{1}{W}$$

در رابطه ۱ و ۲، A: میزان جذب نوری عصاره در طول‌موج مورد مطالعه، V: حجم نهایی عصاره و W: وزن برگ تر

اندازه‌گیری میزان آنتوسیانین: ۰/۱ گرم از نمونه‌های خشک پودرشده را با ۵ میلی‌لیتر متانول اسیدی (با نسبت حجمی ۱:۹۹ اسید کلریدریک خالص بعلاوه متانول خالص) ترکیب کرده و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی نگهداری شدند سپس در دور ۱۲۰۰۰ rpm، به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ و در طول‌موج ۵۵۰ نانومتر جذب محلول رویی آنها ثبت شد. ضریب خاموشی M^{-1} Cm^{-1} ۳۳۰۰۰ برای محاسبه غلظت آنتوسیانین استفاده شد (Wagner, 1979).

سنجش اسموتیکوم‌ها: مقدار پرولین با روش Bates و

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-19]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.48.16.7]

همکاران (۱۹۷۳) اندازه‌گیری شد (Bates *et al*., 1973). بدین منظور ابتدا ۱۰۰ میلی‌گرم از اندام‌های هوایی گیاه به‌همراه ۱/۷ میلی‌لیتر اسید سولفوسالسیلیک ۳٪ (w/v) به‌صورت هموژن درآمد. سپس عصاره‌های حاصل به‌مدت ۲۰ دقیقه در دور ۸۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شدند و به ۱ میلی‌لیتر از محلول رویی بدست آمده ۱ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال و ۱ میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین اضافه گردید. نمونه‌ها به‌مدت یک ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد در بن‌ماری حرارت داده شدند. در اثر حرارت واکنش بین نین‌هیدرین و پرولین انجام و ترکیب رنگی شکل گرفت. پس از سردشدن نمونه‌ها ۲ میلی‌لیتر تولوئن به آنها اضافه شد و سپس به‌مدت ۲۰ ثانیه به‌شدت ورتکس گردیدند. پس از این مرحله نمونه‌ها به‌مدت ۱ تا ۲ ساعت در شرایط آزمایشگاه به‌صورت ثابت قرار داده شدند. در این مرحله دو فاز تشکیل شد. فاز آلی (صورتی مایل به قرمز) در بالا و فاز آبی (بی رنگ و شفاف) که در زیر آن قرار داشت. فاز آلی جهت رنگ‌سنجی استفاده گردید. درنهایت جذب نمونه‌ها در طول‌موج ۵۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. از روش Grieve و Grattan (۱۹۸۳) نیز برای اندازه‌گیری میزان گلایسین بتائین استفاده گردید. بدین منظور، ۲ میلی‌لیتر آب دیونیزه با ۵۰ میلی‌گرم پودر برگ خشک شده مخلوط و روی شیکر در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۸ ساعت قرار داده شد. پس از صاف‌کردن، ۵۰۰ میکرولیتر اسید سولفوریک ۲ نرمال با نسبت مساوی از محلول رویی بر روی یخ مخلوط و درنهایت ۲۰۰ میکرولیتر یدید پتاسیم به آن اضافه شد و مخلوط در دمای ۴-۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت نگه‌داری شد. رسوب حاصل از سانتریفیوژ نمونه‌ها با ۲ میلی‌لیتر کلرواتان حل شد و مقدار جذب آن در ۳۶۵ نانومتر ثبت گردید.

محاسبه میزان مالون دی‌آلدئید: برای بررسی غلظت مالون دی‌آلدئید ابتدا ۰/۰۵ گرم بافت برگ تازه در ازت مایع کاملاً ساییده و هموژن شد. سپس ۱ میلی‌لیتر محلول یک دهم درصد تری‌کلرو استیک اسید به آن اضافه گردید. محلول حاصل با دور ۶۰۰۰ rpm به‌مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ گردید. سپس به ۰/۲۵ میلی‌لیتر از عصاره رویی، ۱/۲۵ میلی‌لیتر محلول تری‌کلرو استیک اسید ۲۰ درصد حاوی ۰/۵ درصد تیوباربیتوریک اسید اضافه گردید و محلول حاصل به‌مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای جوش قرار داده شد. پس از سردشدن در محیط، جذب محلول‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. غلظت مالون دی‌آلدئید با ضریب خاموشی ۱۵۵ $mM^{-1}cm^{-1}$ و برحسب نانومول بر گرم وزن تر محاسبه شد (Valentovic *et al*., 2006).

کلیه آزمایش‌ها با سه تکرار بصورت فاکتوریل با دو فاکتور بر اساس طرح کاملاً تصادفی آنالیز شد و تجزیه و تحلیل کلیه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS 20 انجام شد. میانگین‌ها براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح احتمال کمتر از پنج درصد مقایسه شدند و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel نسخه ۲۰۰۷ استفاده شد.

نتایج و بحث

تأثیر دماهای انجماد بر صفات رویشی: مطابق (شکل 1A)، با کاهش دما، تغییرات وزن گیاهان در هر دو گیاه مورد مطالعه نسبت به دمای گروه شاهد (۲۰ درجه سانتی‌گراد) روند کاهشی معنی‌داری را نشان دادند. این کاهش در دمای ۳- و ۱۱- درجه سانتی‌گراد در گیاه میمونی به‌ترتیب ۲۹ و ۴۷ درصد بود ($P<0.05$). در گیاه بنفشه نیز کاهش معنی‌دار ۲۶ و ۴۳ درصدی در مقایسه با گیاه شاهد مشاهده گردید که تغییرات کاهشی وزن در این گیاه در دمای ۱۱- سانتی‌گراد نسبت به دمای ۳- سانتی‌گراد از نظر آماری معنی‌دار نبود ($P>0.05$). با توجه به اینکه روند کاهش وزن هر گیاه با کاهش دما در هر دو گیاه متفاوت بود بنابراین طبق جدول ۱ اثر هر کدام از عوامل (یخ‌زدگی و گیاه) و برهمکنش‌های آنها نیز معنی‌دار شد.

وزن خشک اندام‌های هوایی هر دو گیاه نیز روندی کاهشی داشت بطوریکه وزن خشک گل میمونی در دمای ۳- درجه سانتی‌گراد به میزان ۳۸ درصد نسبت به گروه شاهد کاهش داشت و در پایین‌ترین دما (۱۱- درجه سانی‌گراد) این کاهش

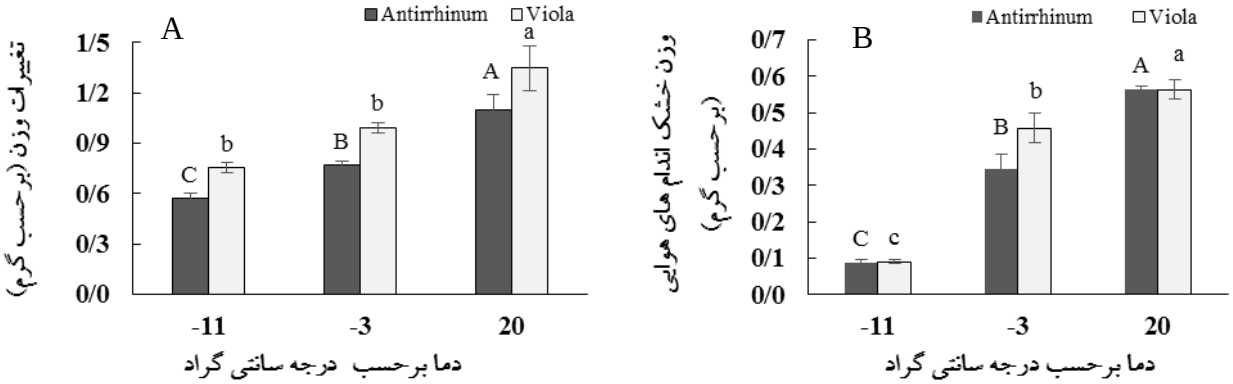
[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-19]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.48.16.7]

جدول ۱- تجزیه واریانس (مجموعه مربعات) اثر دما و گیاه‌ها و برهمکنش آن‌ها بر صفات رویشی، رنگدانه‌ها، آنتوسیانین، اسموتیکوم‌ها و مالون دی‌آلدئید

منابع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات							
		تغییرات وزن	وزن خشک	کلروفیل کل	کاروتنوئید	آنتوسیانین	پرولین	گلایسین بتائین	مالون دی آلدئید
یخزدگی	۲	۰/۴۸***	۰/۳۵***	۱۴/۲۲***	۰/۳۵***	۱۰/۲۴***	۲۳/۱۹***	۳۶/۹۶***	۰/۰۰۴**
گیاه	۱	۰/۲۲**	۰/۰۰۶ns	۱/۹۱**	۰/۰۱***	۰/۰۵ns	۰/۵۸***	۲/۰۰***	۰/۰۰۱ns
یخزدگی × گیاه	۲	۰/۰۰۲ns	۰/۰۰۶ ns	۰/۹۶*	۰/۰۵***	۰/۰۰۸ns	۰/۱***	۰/۱***	۰/۰۰۰ns
ضریب تغییرات		۷/۲	۱۴/۰۲	۱۰/۲۴	۱۲/۲۵	۱۰/۲۶	۱۳/۳۲	۴/۸۳	۱۴/۰۸

ns، *، ** و * به‌ترتیب نشان‌دهنده نداشتن اختلاف معنی‌دار، اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال کمتر از ۵ درصد، اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال کمتر از ۱ درصد و اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال کمتر از ۰/۱ درصد**



شکل ۱- اثر تنش یخزدگی بر افزایش وزن هر گیاه (A) وزن خشک اندام‌های هوایی (B) در گل میمونی (*Antirrhinum majus*) و بنفشه (*Viola* × *wittrockiana*). هر عدد میانگین سه تکرار ± خطای استاندارد. حروف غیرمشابه بزرگ و کوچک، بیانگر اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها براساس آزمون دانکن (P<۰/۰۵) است.

به ۸۵ درصد گیاه شاهد رسید. گیاه بنفشه نیز در نتیجه اعمال سرمای ۳- درجه سانتی‌گراد، کاهش معنی‌دار ۱۸ درصدی وزن خشک را نشان داد و این کاهش در تنش یخزدگی ۱۱- درجه سانتی‌گراد به حداکثر مقدار خود (۸۴ درصد) رسید (شکل 1B). با توجه به پاسخ مشابه هر دو گیاه نسبت به تنش یخ-زدگی، اثر گیاه و اثر متقابل یخزدگی و گیاه بر وزن خشک معنی‌دار نشد (جدول ۱).

رشدونمو گیاهان به‌طور مستقیم به‌وجود شرایط بهینه محیطی وابسته است و هر گونه انحراف از این شرایط می‌تواند باعث ایجاد تنش شود. دمای پایین یکی از بحرانی‌ترین شرایط محیطی است که بر رشد، نمو و توزیع جغرافیایی گیاهان تأثیر منفی می‌گذارد. قرارگرفتن در معرض دماهای پایین، منجر به تغییرات فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی در گیاهان می‌شود (Hereme *et al.*, 2021). در مطالعه حاضر اعمال تنش یخزدگی، کاهش رشد دو گیاه گل میمونی و بنفشه را در پی داشت. کاهش رشد گیاهان درنتیجه دمای پایین با تنش سرما (۱۵-۰ درجه سانتی‌گراد) و یخزدگی (دمای کمتر از صفر درجه سانتی‌گراد) در مطالعات متعدد نشان داده شده است. در ژنوتیپ‌های مختلف گیاه بابونه آلمانی نیز تیمار سرما (دمای کمتر از ۱۰ درجه سانتی‌گراد تا صفر درجه) سبب کاهش معنی‌دار وزن تر و خشک در این گیاهان شده است (Bagheri *et al.*, 2020). تنش سرما و یخبندان با ممانعت از رشد سلول

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-19]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.48.16.7]

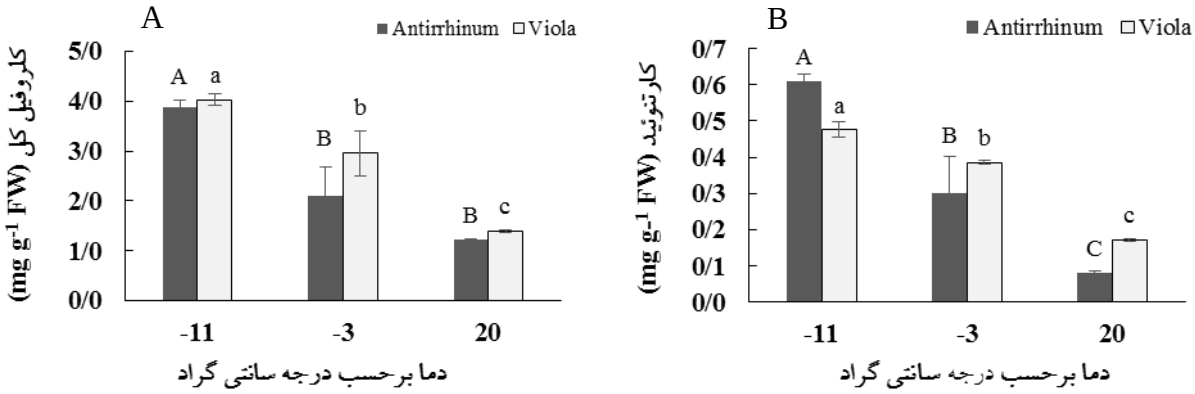
و اندام‌های ریشه و ساقه، بر تمام جنبه‌های عملکرد سلولی گیاهان تأثیر می‌گذارد. با این حال، سرما ممکن است با تغییرات بیوشیمیایی تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) را افزایش دهد که فعالیت‌های طبیعی گیاهان را با آسیب رساندن به اجزای سلولی مختلف از جمله اسیدهای نوکلئیک، پروتئین‌ها، لیپیدها و رنگدانه‌ها مختل نماید که نتیجه آن محدودشدن فتوسنتز و رشد است (Pouramir-Dashtmian *et al*., 2014).

تأثیر دماهای انجماد بر رنگیزه‌های فتوسنتری و آنتوسیانین: نتایج حاصل از تنش یخ‌زدگی بر تغییرات میزان کلروفیل کل و کاروتنوئیدها در برگ گل میمونی و بنفشه نشان داد که با کاهش دما میزان این رنگیزه‌های فتوسنتزی در برگ هر دو گیاه افزایش می‌یابد (شکل ۲). افزایش مقدار کلروفیل در دمای ۳- درجه سانتی‌گراد برای گل میمونی ۰/۷۵ درصد و در پایین‌ترین سطح تنش (دمای ۱۱- سانتی‌گراد) به ۳/۲۵ برابر گیاهان کشت داده شده در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد رسید. در گل بنفشه نیز به‌ترتیب در دمای ۳- و ۱۱- درجه سانتی‌گراد افزایش ۲/۱۴ و ۲/۸۵ برابری مقدار کلروفیل در مقایسه با گروه شاهد مشاهده شد ($P<0.05$). میزان افزایش کاروتنوئیدها در گل میمونی با کاهش دما با شیب بیشتری افزایش یافت (شکل ۲) بطوریکه این افزایش در دمای ۳- و ۱۱- درجه‌سانتی گراد نسبت به گروه شاهد به‌ترتیب ۳/۷ و ۷/۵ برابر بود. در گل بنفشه نیز افزایش ۲/۳ و ۲/۸ برابری محتوای کاروتنوئیدی نسبت به گروه شاهد مشاهده گردید ($P<0.05$). همچنین با توجه به پاسخ متفاوت رنگیزه‌های فتوسنتزی دو گیاه نسبت به تنش، برهمکنش آنها با تنش یخ‌زدگی (گیاه × یخ‌زدگی) معنی‌دار شد (جدول ۱). کاهش دمای محیط، موجب افزایش قابل‌توجه مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی در هر دو گیاه گل میمونی و بنفشه شد. اثر تنش سرما بر مقدار کلروفیل و کاروتنوئید گیاهان در مطالعات مختلف به‌صورت متناقض گزارش شده است. میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در ارقام مختلف برنج (Rehman and Tanti, 2021) و *Stevia rebaudiana* (Hajihashemi *et al*., 2018) کاهش معنی‌دار داشته که ناشی از اثر ممانعتی سرما بر تولید این رنگیزه‌ها بوده است. با این وجود، در مطالعات دیگر مشخص شده است که تنش سرما محتوای کلروفیل را در برخی گیاهان افزایش می‌دهد. مقدار کلروفیل گیاه مانگرو *Sonneratia apetal* که نسبت به سرما سازگار شده بود تحت تنش سرما نسبت به گیاهان سازگار-نشده افزایش داشت (Shen *et al*., 2021). همچنین افزایش کلروفیل در مطالعه بر روی یکی از لاین‌های خالص برنج که ۴۸ ساعت با تنش سرما تیمار شده بودند تأیید شد (Yu *et al*., 2020). وجه اشتراک همه تنش‌های غیرزیستی (از جمله تنش یخ‌زدگی) برای سلول‌های گیاهی کاهش دسترسی به آب است که این کاهش با پایین آمدن پتانسیل آبی ایجاد می‌شود. آنچه که باعث کم آبی سلول در تنش یخ‌زدگی می‌شود، تشکیل کریستال‌های یخ در فضای خارج سلولی است. تشکیل یخ در فضای خارج سلولی، پتانسیل آبی فضای خارج سلولی را کاهش می‌دهد و منجر به حرکت آب به خارج از سلول و دیواره سلولی می‌شود که این روند تا رسیدن به حالت تعادل ادامه می‌یابد. این حالت شبیه کم آبی گیاهان، در خاک در حال خشک‌شدن است. بنابراین، تنش یخ‌زدگی عمدتاً با کم‌آبی و فروپاشی سلول‌ها باعث آسیب می‌شود به نحوی که سبب مختل‌شدن ساختار بافت از طریق تشکیل کریستال‌های بزرگ یخ شده که جریان‌های بزرگ آب در غشای سلولی را در خلال انجماد و ذوب ایجاد می‌کند (Verslues *et al*., 2006). دلیل احتمالی افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی را کم آبی سلول‌ها به دلیل تشکیل کریستال‌های یخ در فضاهای خارج سلولی می دانند که منجر به تغلیظ رنگیزه‌های فتوسنتزی شده است. در این شرایط تغلیظ رنگیزه‌ها درنتیجه کاهش آب سلول، الزاماً تضادی با کاهش بیوسنتز آنها بر طبق آنچه که اکثر مطالعات گزارش نموده‌اند، ندارد زیرا اینگونه می‌توان فرض نمود که اثر تغلیظ رنگیزه‌های فتوسنتزی در واحد حجم بیشتر از اثر کاهش بیوسنتز این رنگیزه‌ها بوده و درنتیجه به شکل افزایش مقدار این رنگیزه‌ها بروز کرده است.

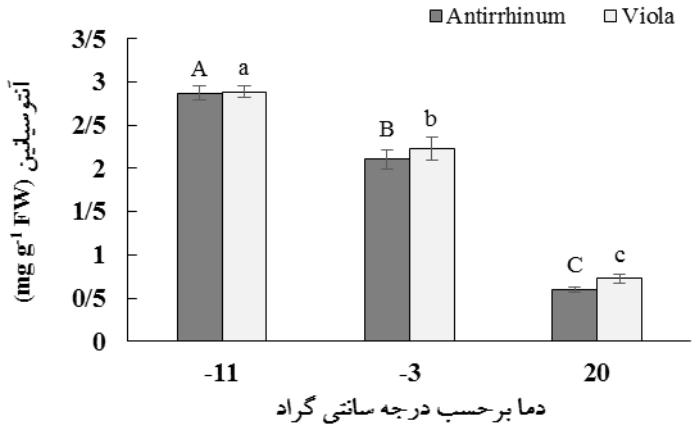
همانطور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود در هر دو گیاه روند مشابهی برای افزایش آنتوسیانین در پاسخ به کاهش دما دیده شد ($P<0.05$). در گیاه گل میمونی محتوای رنگیزه

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-19]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.48.16.7]



شکل ۲- اثر تنش یخزدگی بر میزان کلروفیل کل (A) و کاروتنوئیدها (B) در گل میمونی (*Antirrhinum majus*) و بنفشه (× *Viola wittrockiana*). هر عدد میانگین سه تکرار ± خطای استاندارد. حروف غیرمشابه بزرگ و کوچک، بیانگر اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها براساس آزمون دانکن (P<۰/۰۵) است.

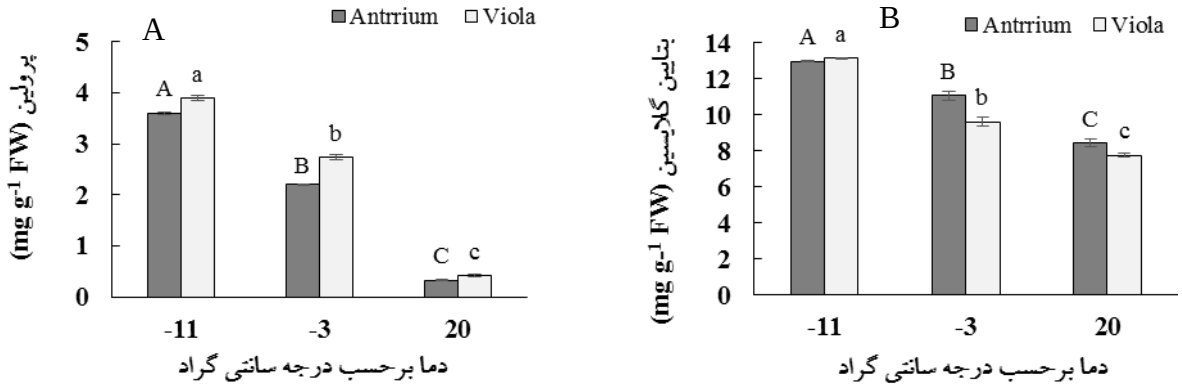


شکل ۳- اثر تنش یخزدگی بر میزان آنتوسیانین در گل میمونی (*Antirrhinum majus*) و بنفشه (*Viola* × *wittrockiana*). هر عدد میانگین سه تکرار ± خطای استاندارد. حروف غیرمشابه بزرگ و کوچک، بیانگر اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها براساس آزمون دانکن (P<۰/۰۵) است.

آنتوسیانین به‌ترتیب در دمای ۳- و ۱۱- درجه سانتی‌گراد ۳/۵ و ۴/۸ و در گل بنفشه ۳/۱ و ۴ برابر گیاهان رشدیافته در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد بود. همچنین با توجه به پاسخ مشابه آنتوسیانین دو گیاه نسبت به تنش سرما، اثر تنش، گیاه و برهمکنش آنها با تنش یخزدگی (گیاه × یخزدگی) معنی‌دار نشد (جدول ۱). میزان آنتوسیانین *Haberlea rhodopensis* نیز در تنش یخزدگی افزایش داشته است (Georgieva *et al.*, 2021) که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد. در مطالعه انجام شده بر روی آرابیدوپسیس نیز مشخص شده است که بیان ژن‌های بیوسنتز آنتوسیانین‌ها در خلال تنش سرما افزایش می‌یابد که با بالارفتن سطح این ترکیب در گیاه همراه می‌شود (Wingler *et al.*, 2020). تجمع آنتوسیانین حاصل از بیان این ژن‌ها، می‌تواند دستگاه فتوسنتزی را از ممانعت نوری القاءشده در اثر دماهای انجماد حفاظت کند و به احتمال زیاد به‌عنوان فیلتر نور خورشید عمل کرده و همچنین پیشنهاد شده است که نقش آنتی‌اکسیدان دارد (Juvany *et al.*, 2013).

تأثیر دماهای انجماد بر اسموتیکوم‌ها: پرولین و گلایسین بتائین به‌عنوان اسمویکوم نقش مهمی در سازگاری گیاهان به تنش‌های محیطی دارند. همانطور که شکل ۴ نشان می‌دهد دماهای انجماد باعث افزایش معنی‌دار این اسموتیکوم‌ها در هر

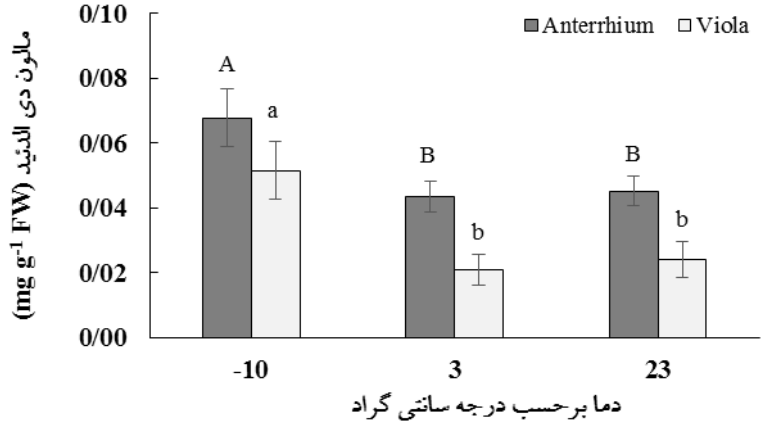
[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-19]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.48.16.7]



شکل ۴- اثر تنش یخزدگی بر میزان پرولین (A) و گلایسین بتائین (B) در گل میمونی (*Antirrhinum majus*) و بنفشه (× *Viola wittrockiana*). هر عدد میانگین سه تکرار ± خطای استاندارد. حروف غیرمشابه بزرگ و کوچک، بیانگر اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها براساس آزمون دانکن (P<۰/۰۵) است.

دو گیاه مورد مطالعه شده است (P<0.05). مقدار پرولین در گیاه میمونی در دمای ۳- و ۱۱- درجه سانتی‌گراد نسبت به گیاه شاهد (دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد) به‌ترتیب افزایش مشهود ۶/۷۵ و ۱۱ برابری نشان داد. در گیاه بنفشه نیز محتوای پرولین در دمای ۳- و ۱۱- درجه سانتی‌گراد افزایش ۶/۵ و ۹/۳ برابری را در مقایسه با دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد نشان داد. همچنین مقدار اسموتیکوم گلایسین بتائین در گیاه میمونی در دمای ۳- و ۱۱- درجه سانتی‌گراد به‌ترتیب افزایش ۳۱ و ۵۳/۶ درصدی و در گیاه بنفشه به‌ترتیب افزایش ۲۳/۸ و ۶۹/۸ درصدی در مقایسه با گروه شاهد (۲۰ درجه سانتی‌گراد) داشت. با توجه به روند متفاوت افزایش اسموتیکم‌ها در هر دو گیاه، اثر هر عامل و برهمکنش آنها با تنش یخزدگی (گیاه × یخزدگی) معنی‌دار شد (جدول ۱). اسمولیت‌های مختلفی در گیاهان شناسایی شده که به‌عنوان محافظ اسمزی عمل می‌کنند و از مهمترین آنها می‌توان به پرولین و گلایسین‌بتائین اشاره کرد. در پژوهش حاضر کاهش دما منجر به افزایش شدید این اسمولیت‌ها در هر دو گیاه شد. افزایش اسمولیت‌ها در پاسخ به تنش‌های محیطی از جمله یخزدگی در گزارشات متعدد ذکر شده است. مشابه با نتایج ما میزان پرولین و قندهای محلول در دو گونه مقاوم به سرما کاج در دمای ۴۰- درجه سانتی‌گراد نسبت به دمای ۵ درجه سانتی‌گراد افزایش قابل‌توجهی داشت بطوریکه افزایش پرولین و قندهای محلول در گونه *Pinus densiflora* به‌ترتیب ۳/۶ و ۵/۳ برابر بود ولی این افزایش‌ها در رقم *Pinus sylvestris* به‌ترتیب ۴/۱ برابری و ۰/۷۵ درصد بود (Meng *et al*., 2015). در اکثر گیاهان حساس به سرما تا زمانی که غلظت بالاتری از پرولین قبل از تنش حاصل نشود، تحمل به تنش سرما ایجاد نمی‌شود. پرولین مقاومت در برابر تنش‌های مختلف را از طریق تنظیم تعادل اسمزی، تحریک بسیاری از پروتئین‌های مرتبط با تنش، حفظ آنزیم‌ها و غشای سلولی و همچنین خاموش‌سازی گونه‌های فعال اکسیژن فراهم می‌کند. پرولین همچنین با فعالیت شبه چاپرونی که از خود نشان می‌دهد موجب حفظ یکپارچگی و عملکرد آنزیم‌ها و پروتئین‌های مختلف تحت شرایط نامساعد محیطی در گیاهان می‌شود (Saleem *et al*., 2021). تجمع پرولین آزاد ناشی از تنش سرما نه‌تنها به سنتز آن بستگی دارد، بلکه به مهار تخریب آن نیز بستگی دارد. تنش سرما از یک طرف موجب افزایش فعالیت آنزیم بیوسنتزی پرولین یعنی دلتا پرولین ۵-کربوکسیلات سنتتاز (P5CS) شده و از طرفی دیگر کاهش فعالیت آنزیم تجزیه‌کننده آن (پرولین دهیدروژناز) را در پی‌دارد که منجر به تجمع این اسمولیت در گیاه می‌شود (Wang *et al*., 2021). در گیاهان عالی، گلایسین بتائین تأثیر مثبتی بر حفظ فشار اسمزی سلول، محافظت از پروتئین و تنظیم پاسخ‌های تنش دارد. همچنین گزارش شده است که گلایسین بتائین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مهارکننده

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-19]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.48.16.7]



شکل ۵- اثر تنش یخزدگی بر میزان مالون دی‌آلدئید در گل میمونی (*Antirrhinum majus*) و بنفشه (*Viola* × *wittrockiana*). هر عدد میانگین سه تکرار ± خطای استاندارد. حروف غیرمشابه بزرگ و کوچک، بیانگر اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها براساس آزمون دانکن (P<۰/۰۵) است.

گونه‌های فعال اکسیژن را در شرایط تنش افزایش می‌دهد (Ashraf and Foolad, 2007).

تأثیر دماهای انجماد بر مالون دی‌آلدئید: درنتیجه تنش یخزدگی در دمای ۳- درجه سانتی‌گراد، تغییر معنی‌داری در محتوای مالون دی‌آلدئید هر دو گیاه در مقایسه با گروه شاهد یافت نشد (P>0.05) اما تنش یخزدگی در دمای ۱۱- درجه سانتی‌گراد منجر به افزایش ۵۰ درصدی محتوای مالون دی‌آلدئید گیاه میمونی شد. در گیاه بنفشه مقدار مالون دی‌آلدئید گیاهان قرار گرفته در دمای ۱۱- حدود ۲/۲ برابر گیاهان شاهد بود (P<0.05). با مقایسه مقدار مالون دی‌آلدئید دو گیاه مشخص شد که در همه سطوح، مقدار مالون دی‌آلدئید در گیاه گل میمونی نسبت به گیاه گل بنفشه بیشتر بوده است (شکل ۵). همچنین با توجه به پاسخ مشابه مالون دی‌آلدئید دو گیاه نسبت به تنش یخزدگی، برهمکنش آنها با تنش یخزدگی (گیاه × یخزدگی) معنی‌دار نشد (جدول ۱).

تحت تنش‌های محیطی، به‌دلیل افزایش پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء مقدار مالون دی‌آلدئید در گیاهان افزایش می‌یابد. به همین دلیل افزایش مقدار این ترکیب به‌عنوان شاخصی مهم، جهت ارزیابی آسیب‌های القاءشده درنتیجه تنش سرما در گیاهان محسوب می‌شود (Wang *et al*., 2021; Pandey *et al*., 2009). در این مطالعه نیز به‌دنبال اعمال دماهای انجماد در بالاترین سطح تنش مقدار مالون دی‌آلدئید در دو گیاه افزایش معنی‌داری داشت. مطالعات صورت‌گرفته در گیاه نخود نشان داده است که بین افزایش مقدار مالون دی‌آلدئید و هیدروژن پراکسید (H_2O_2) در دماهای زیر صفر درجه سانتی‌گراد همبستگی مثبت وجود دارد. علاوه بر این به‌خوبی مشخص شده است که دماهای انجماد با آسیب غشاءهای تیلاکوئیدی مقدار کلروفیل را کاهش می‌دهند. در نتیجه تجمع مالون دی‌آلدئید و H_2O_2 بقاء گیاه را به خطر می‌اندازد و کاهش وزن خشک را به‌دنبال خواهد داشت (Soureshjani *et al*., 2021). همچنین بین مقدار کلروفیل و کارایی فتوسیستم دو، همبستگی مثبت و بین این دو با مقدار مالون دی‌آلدئید همبستگی منفی وجود دارد (Arslan *et al*., 2018). با این وجود براساس نتایج بدست آمده در این پژوهش کاهش مقدار کلروفیل درنتیجه افزایش مالون دی‌آلدئید مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری

قرارگرفتن در معرض تنش یخزدگی تأثیرات نامطلوبی بر رشد گیاهچه‌های دو گیاه زینتی گل میمونی و بنفشه داشت که به‌صورت کاهش رشد نمایان گردید. به نظر می‌رسد تجمع اسمولیت‌ها (پرولین و گلایسین بتائین) نشانه کاهش میزان آب

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-19]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.48.16.7]

موجود در یاخته‌های گیاهی است که منجر به تغلیظ سیتوپلاسم و تجمع کلروفیل، کاروتنوئید و آنتوسیانین می‌شود. بنابراین احتمالاً ازدیاد رنگیزه‌ها و اسمولیت‌ها ضمن افزایش توان آنتی-اکسیدانی، از انجماد یاخته‌های این گیاهان نیز جلوگیری کرده است. دماهای انجماد از طریق ازدیاد گونه‌های فعال اکسیژن در سلول‌ها منجر به افزایش تولید مالون دی‌آلدئید شد که تا حدودی توسط این اسمولیت‌ها و رنگیزه‌های آنتوسیانین و کارتنوئیدی کاهش یافت. بنابراین به‌نظر می‌رسد مجموعه این عوامل بقاء این دو گونه را در شرایط تنش یخ زدگی افزایش می‌دهند. با توجه به پاسخ گیاهان مورد مطالعه می‌توان گفت دو گیاه زینتی گل میمونی و بنفشه تا حدودی گونه‌های مقاوم به تنش یخ‌زدگی هستند که این سازگاری را با تغییر در مسیرهای متابولیکی کسب کرده‌اند.

تشکر و قدردانی

از معاونت پژوهشی دانشگاه پیام‌نور استان اصفهان واحد شاهین‌شهر به‌دلیل حمایت مالی از این تحقیق صمیمانه سپاسگزاری می‌شود.

منابع

Ahmed, N. U., Park, J. I., Jung, H. J., Hur, Y. and Nou, I. S. (2015) Anthocyanin biosynthesis for cold and freezing stress tolerance and desirable color in *Brassica rapa*. Functional and Integrative Genomics 15: 383-394.

Arnon, D. I. (1949) Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiology 24: 1-15.

Arslan, O., Eyidogan, F. and Ekmekci, Y. (2018) Freezing tolerance of chickpea: Biochemical and molecular changes at vegetative stage. Biologia Plantarum 62: 140-148.

Ashraf, M. and Foolad, M. R. (2007) Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environmental and Experimental Botany 59: 206-216.

Bagheri, R., Dehdari, M. and Salehi, A. (2020) Effect of cold stress at flowering stage on some important characters of five German chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) genotypes in a pot experiment. Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants 16: 100228.

Bates, L. S., Waldren, R. P. and Teare, I. (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil 39: 205-207.

Buchanan, B. B., Gruissem, W. and Jones, R. L. (2015) Biochemistry and Molecular Biology of Plants. Wiley, New York.

Charrier, G., Lacointe, A. and Ameglio, T. (2018) Dynamic modeling of carbon metabolism during the dormant period accurately predicts the changes in frost hardiness in walnut trees *Juglans regia* L. Frontiers in Plant science 9: 1746.

Dawood, M. G. (2016) Influence of osmoregulators on plant tolerance to water stress. Science Agriculture 13: 42-58.

Deljou, A., Hosseini-Vasoukolaei, M., Goudarzi, S., Falahatian, S., Mirzaie-Asl, A., Hosseini-Vasoukolaei, N. and Shad, M. A. A. (2016) Differential gene expression in response to cold stress in *Viola wittrockiana*. Bio Technologia. Journal of Biotechnology Computational Biology and Bionanotechnology 97: 87-94.

Ding, Y., Shi, Y. and Yang, S. (2019) Advances and challenges in uncovering cold tolerance regulatory mechanisms in plants. New Phytologist 222: 1690-1704.

Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. T. and Smith, F. (1956) Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Analytical Chemistry 28: 350-356.

Georgieva, K., Mihailova, G., Gigova, L., Dagnon, S., Simova-Stoilova, L. and Velitchkova, M. (2021) The role of antioxidant defense in freezing tolerance of resurrection plant *Haberlea rhodopensis*. Physiology and Molecular Biology of Plants 27: 1119-1133.

Gould, K., McKelvie, J. and Markham, K. (2002) Do anthocyanins function as antioxidants in leaves? Imaging of H_2O_2 in red and green leaves after mechanical injury. Plant, Cell and Environment 25: 1261-1269.

Grieve, C. and Grattan, S. (1983) Rapid assay for determination of water soluble quaternary ammonium compounds. Plant and Soil 70: 303-307.

Hajihashemi, S., Noedoost, F., Geuns, J., Djalovic, I. and Siddique, K. H. (2018) Effect of cold stress on photosynthetic traits, carbohydrates, morphology, and anatomy in nine cultivars of *Stevia rebaudiana*. Frontiers in Plant Science 9: 1430.

Heidarvand, L. and Amiri, R. M. (2010) What happens in plant molecular responses to cold stress? Acta Physiologiae Plantarum 32: 419-431.

Hereme, R., Galleguillos, C., Morales-Navarro, S. and Molina-Montenegro, M. A. (2021) What if the cold days return? Epigenetic mechanisms in plants to cold tolerance. Planta 254: 1-11.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-19]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.48.16.7]

Juvany, M., Muller, M. and Munne-Bosch, S. (2013) Photo-oxidative stress in emerging and senescing leaves: A mirror image? Journal of Experimental Botany 64: 3087-3098.

Lichtenthaler, H. K. and Wellburn, A. R. (1983) Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. Biochemical Society Transactions 11: 591-592.

Meng, P., Bai, X., Li, H., Song, X. and Zhang, X. (2015) Cold hardiness estimation of *Pinus densiflora* var. zhangwuensis based on changes in ionic leakage, chlorophyll fluorescence and other physiological activities under cold stress. Journal of Forestry Research 26: 641-649.

Mishra, P. (2019) Control of adventitious rooting in the alpine perennial *Arabia alpina*. Universitat zu Koln.

Noto, G. and Romano, D. (1988) Timing of snapdragon (*Antirrhinum majus* L.) in cold greenhouse cultivation. Acta Horticulturae 246: 175-181

Pandey, K. B. and Rizvi, S. I. (2009) Protective effect of resveratrol on formation of membrane protein carbonyls and lipid peroxidation in erythrocytes subjected to oxidative stress. Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism 34: 1093-1097.

Pouramir-Dashtmian, F., Khajeh-Hosseini, M. and Esfahani, M. (2014) Alleviating harmful effects of chilling stress on rice seedling via application of spermidine as seed priming factor. African Journal of Agricultural Research 9: 1412-1418.

Rehman, M. and Tanti, B. (2021) Screening of boro rice varieties of Assam, India to estimate their potential resistance to cold and heat stresses. Vegetos 34: 540-554.

Ruelland, E., Vaultier, M. N., Zachowski, A. and Hurry, V. (2009) Cold signalling and cold acclimation in plants. Advances in Botanical Research 49: 35-150.

Saadati, S., Baninasab, B., Mobli, M. and Gholami, M. (2019) Measurements of freezing tolerance and their relationship with some biochemical and physiological parameters in seven olive cultivars. Acta Physiologiae Plantarum 41: 51.

Sah, S. K., Reddy, K. R. and Li, J. (2016) Abscisic acid and abiotic stress tolerance in crop plants. Frontiers in Plant Science 7: 571.

Saleem, M., Fariduddin, Q. and Janda, T. (2021) Multifaceted role of salicylic acid in combating cold stress in plants :A review. Journal of Plant Growth Regulation 40: 464-485.

Sanghera, G. S., Wani, S. H., Hussain, W. and Singh, N. (2011) Engineering cold stress tolerance in crop plants. Current Genomics 12: 30.

Sarwat, M., Ahmad, A., Abdin, M. and Ibrahim, M. M. (2016) Stress Signaling in Plants: Genomics and Proteomics Perspective. Springer, New York.

Shen, Z. J., Qin, Y. Y., Luo, M. R., Li, Z., Ma, D. N., Wang, W. H. and Zheng, H. L. (2021) Proteome analysis reveals a systematic response of cold-acclimated seedlings of an exotic mangrove plant *Sonneratia apetala* to chilling stress. Journal of Proteomics 248: 104349.

Soureshjani, H. K., Nezami, A., Nabati, J., Oskoueian, E. and Ahmadi-Lahijani, M. J. (2021) The physiological, biochemical, and molecular modifications of chickpea (*Cicer arietinum* L.) seedlings under freezing stress. Journal of Plant Growth Regulation 1-16.

Thomashow, M. F. (1999) Plant cold acclimation: Freezing tolerance genes and regulatory mechanisms. Annual Review of Plant Biology 50: 571-599.

Valentovic, P., Luxova, M., Kolarovic, L. and Gasparikova, O. (2006) Effect of osmotic stress on compatible solutes content, membrane stability and water relations in two maize cultivars. Plant Soil and Environment 52: 184.

Verslues, P. E., Agarwal, M., Katiyar-Agarwal, S., Zhu, J. and Zhu, J. K. (2006) Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status. The Plant Journal 45: 523-539.

Wagner, G. J. (1979) Content and vacuole/extravacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanin in protoplasts. Plant Physiology 64: 88-93.

Wang, W., Wang, X., Lv, Z., Khanzada, A., Huang, M., Cai, J., Zhou, Q., Huo, Z. and Jiang, D. (2021) Effects of cold and salicylic acid priming on free proline and sucrose accumulation in winter wheat under freezing stress. Journal of Plant Growth Regulation 1-14.

Wingler, A., Tijero, V., Muller, M., Yuan, B. and Munne-Bosch, S. (2020) Interactions between sucrose and jasmonate signalling in the response to cold stress. BMC Plant Biology 20: 1-13.

Wisniewski, M., Willick, I. R. and Gusta, L. V. (2017) 11 freeze tolerance and avoidance in plants. Plant Stress Physiology 279.

Yamasaki, H., Uefuji, H. and Sakihama, Y. (1996) Bleaching of the red anthocyanin induced by superoxide radical. Archives of Biochemistry and Biophysics 332: 183-186.

Yu, P., Jiang, N., Fu, W., Zheng, G., Li, G., Feng, B., Chen, T., Ma, J., Li, H. and Tao, L. (2020) ATP hydrolysis determines cold tolerance by regulating available energy for glutathione synthesis in rice seedling plants. Rice 13: 1-16.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-19]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.48.16.7]

Some growth and biochemical changes of *viola* (*Viola* × *wittrockiana*) and Snapdragon (*Antirrhinum majus*) ornamental plants to freezing stress

B. Salehi-Eskandari [1*], Z.Nasirian Jazi[1], J. Abbaspour[2], F. Daneshmand[1]

[1] Department of Biology, Payame Noor University (PNU), P.O.Box 19395-4697, Tehran, Iran
[2] Graduate of Isfahan University
(Received: 09/12/2021, Accepted: 07/03/2022)

Abstract

Exposure to freezing stress causes physiological, biochemical and molecular changes in plants, which are accompanied by reduced growth and development. In cold areas, sensitive species are removed and the geographical distribution is changed. This study was conducted to evaluate some vegetative and biochemical responses of two cold-resistant ornamental plants, *viola* (*Viola wittrockiana*) and Snapdragon (*Antirrhinum majus*), under freezing stress. For this purpose, the minimum temperature in January in three different locations (greenhouse, Isfahan, Fereidoon shahr, respectively) was used to apply freezing treatment on 70-day-old seedlings (20, -3 and -11 Celsius degrees, respectively). After 15 days, following the intensfication of coldness, seedling weight changes and dry weight of both plants were significantly reduced. The highest decrease in growth was related to the lowest temperature. Lowering the temperature increased the amount of chlorophyll, carotenoids, anthocyanin's, proline, glycine betaine and malondialdehyde (MDA). It seemed that increasing photosynthetic and vacuole pigments along with the accumulation of osmolites such as proline and glycine betaine not only concentrated the cytoplasm through osmotic regulation, but also protected plans from freezing in sub-zero temperatures, It had also somewhat reduced the destructive effects of freezing caused by the formation of free radicals and peroxidation of cell membranes.

Keyword: Freezing stress, Pigments, Malondialdehyde, Ornamental plants, Osmolyte

.

Corresponding author, Email: Behsalehi@pnu.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-19]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.48.16.7]