بسم الله الرحمن الرحیم

وزارت علوم، تحقیقات و فناوری

دانشگاه دامغان

دانشکده زیست شناسی

پایان‌نامه کارشناسی ارشد

زیست شناسی (فیزیولوژی گیاهی)

بررسی نقش حفاظتی پوترسین در برابر تنش سرما در گیاه داروئی بادرشبو (*Dracocephalum moldavica*)

توسط:

عاطفه ابویسانی

استاد راهنما:

دکتر مهدی خورشیدی

شهریور ۱۳۹۲

به نام خدا

بررسی نقش حفاظتی پوترسین در برابر تنش سرما در گیاه دارویی بادرشبو (*Dracocephalum moldavica*)

به وسیله‌ی:

عاطفه ابوبسانی

پایان نامه

ارائه شده به تحصیلات تکمیلی دانشگاه به عنوان بخشی

از فعالیت‌های تحصیلی لازم برای اخذ درجه کارشناسی ارشد

در رشته‌ی:

زیست شناسی (گرایش فیزیولوژی تنهی)

از دانشگاه دامغان

ارزیابی و تأیید شده توسط کمیته پایان نامه با درجه: عالی

دکتر مهدی خورشیدی، استادیار فیزیولوژی گیاهی دانشکده زیست شناسی، دانشگاه دامغان (استاد راهنما)

دکتر تقی لشکربلوکی، استادیار بیوشیمی دانشکده زیست شناسی، دانشگاه دامغان (استاد داور)

دکتر مهری بهنام نیا، استادیار فیزیولوژی گیاهی دانشکده زیست شناسی، دانشگاه دامغان (استاد داور)

دکتر محمدتقی قربانیان، استادیار بافت شناسی و تشریح دانشکده زیست شناسی، دانشگاه دامغان (نماینده تحصیلات تکمیلی)

شهریور۹۲

تقدیم

تقدیم به پدر عزیزم او که هر بار نگاه به دستان پر تلاشش به من آموخت برای رسیدن به هدفم هیچگاه دست از تلاش برندارم.

تقدیم به مادر مهربانم ، او که به من یاد داد هیچگاه ناامید نشوم و توکل بر خدای بزرگ را فراموش نکنم و با صبر بی کرانش همراه همیشگی لحظه هایم بود.

تقدیم به همسرم که سایه مهربانیش سایه سار زندگیم است، او که اسوه صبر و تحمل بوده و مشکلات مسیر را برایم آسان نمود و پشتیبان همیشگی من بود.

سپاس

سپاس خدای را که سخنوران، در ستودن او بمانند و شمارندگان، شمردن نعمت های او ندانند و کوشندگان، حق او را گزاردن نتوانند. و سلام و درود بر محمّد و خاندان پاک او، طاهران معصوم، هم آنان که وجودمان وامدار وجودشان است؛ و نفرین پیوسته بر دشمنان ایشان تا روز رستاخیز...

با سپاس فراوان از استاد با کمالات و شایسته؛ جناب آقای دکتر خورشیدی که در کمال سعه صدر، با حسن خلق و فروتنی، از هیچ کمکی در این عرصه بر من دریغ ننمودند و زحمت راهنمایی این رساله را بر عهده گرفتند.

از اساتید فرزانه و دلسوز؛ سرکار خانم بهنام نیا و جناب آقای دکتر لشکر بلوکی که زحمت داوری این رساله را پذیرفتند؛ و مرا از نقطه نظرات ارزشمندشان بهره مند ساختند کمال تشکر و قدردانی را دارم.

از آقای دکتر قربانیان که به عنوان ناظر جلسه دفاع و نماینده تحصیلات تکمیلی در جلسه دفاع اینجانب شرکت داشتند تشکر می کنم.

از کارشناس محترم آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی سرکار خانم عالمی که در طی این پروژه دلسوزانه یاریم کردند کمال تشکر را دارم.

باشد که این خردترین، بخشی از زحمات آنان را سپاس گوید.

چکیده

بررسی نقش حفاظتی پوترسین در برابر تنش سرما در گیاه داروئی بادرشبو (*Dracocephalum moldavica*)

به وسیله‌ی:

عاطفه ابویسانی

تنش سرما موجب تغییر در فرایندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی گیاه می‌گردد. کاهش دما سبب افزایش رادیکال-های فعال اکسیژن می‌شود و افزایش این رادیکال‌ها سبب تغییر در ساختار غشاء، مقدار پروتئین‌ها و ترکیبات درون سلول می‌شود، بنابراین شناسایی و به کار بردن ترکیباتی که بتوانند تحمل گیاهان را به تنش‌های محیطی از جمله سرما افزایش دهند بسیار حائز اهمیت است، تحقیقات نشان داده است در هنگام بروز تنش، پلی‌آمین‌ها درجهت بهبود پاسخ دفاعی گیاه افزایش قابل ملاحظه‌ای می‌یابند. هدف از این پژوهش بررسی تیمار پوترسین، بر افزایش تحمل به سرما در گیاه بادرشبو است، آزمایش با استفاده از تیمار پوترسین (یک میلی مولار) در سه گروه (گروه اول: شاهد بدون پوترسین، گروه دوم: یک میلی مولار پوترسین اضافه شده به محلول غذایی و گروه سوم: یک میلی مولار پوترسین که بصورت محلول پاشی هرروزه به مدت یک هفته) انجام شد، سپس گیاهچه ها در تنش سرما در دو دما (۱۲°C و ۵°C) به مدت سه روز قرار گرفتند.

نتایج حاصل نشان داد قرار گرفتن گیاه در دمای پایین سبب افزایش میزان مالون دی آلدئید و پراکسید هیدروژن تولید شده نسبت به گیاه شاهد می‌شود، استفاده از پوترسین در این دماها مقدار این ترکیبات را کم می‌کند. میزان کلروفیل a وb در پی تنش سرما کاهش معنی‌داری نشان نداد ولی استفاده از پوترسین سبب افزایش مقدار کلروفیل b می‌شود، مقدار پروتئین گیاه در نتیجه تنش سرما کاهش نشان داد و استفاده از پیش تیمار پوترسین در این دماها سبب افزایش این ترکیبات گردید. ترکیباتی از قبیل فلاونوئیدها، کارتنوئیدها، ترکیبات فنلی و قندها نیز با تنش سرما کاهش یافته و پیش تیمار پوترسین در این دماها مقدار این ترکیبات را افزایش می‌دهد .در واقع می-توان گفت قرارگرفتن گیاه بادرشبو در شرایط تنش سرما سبب وارد آمدن آسیب به گیاه می‌شود و استفاده از پوترسین یک میلی مولاردر این دما سبب کاهش اثرات مخرب ناشی ازتنش سرما بر روی این گیاه می‌شود.

واژگان کلیدی: پوترسین، تنش سرما، بادرشبو.

فهرست مطالب

عنوان .....صفحه

فصل اول: مقدمه ۱
مقدمه..... ۲
۱-۱- تنش..... ۲
۱-۲- تنش سرما..... ۲
۱-۳- اثرات فیزیولوژیکی تنش سرما..... ۳
۱-۳-۱-اثر تنش سرما بر فتوسنتز..... ۴
۱-۳- ۲- اثر تنش سرما بر غشاء..... ۴
۱-۴- تنش سرما و القاء تنش اکسیداتیو ۵
۱-۵- مکانیسم دفاعی گیاهان در برابر تنش اکسیداتیو ۷
۱-۵-۱-مکانیسم دفاع غیر آنزیمی ۷
۱-۵-۱-۱- کاروتنوئیدها..... ۷
۱-۵-۱-۲-فنل‌ها ۸
۱-۶- پلی‌آمین‌ها..... ۱۰
۱-۶-۱- بیوسنتز پلی‌آمین‌ها..... ۱۲
۱-۶-۲- نقش پلی‌آمین‌ها..... ۱۴
۱-۶-۲-۱- نقش پلی‌آمین‌ها در رشد و توسعه‌ی گیاه ۱۴
۱-۶-۲-۲- پلی‌آمین‌ها و تاثیر در فرایند پیری ۱۵
۱-۶-۲-۳- پلی‌آمین‌ها و چرخه‌ی سلولی ۱۶
۱-۶-۲-۴- نقش پلی‌آمین‌ها در گل‌دهی ۱۶
۱-۶-۳- پلی‌آمین‌ها و حفاظت از گیاه در برابر تنش..... ۱۶
۱-۶-۳-۱- تنش و تغییر عملکرد آنزیم‌های بیوسنتز کننده‌ی پلی‌آمین‌ها..... ۱۷
۱-۶-۳-۲- تغییر بیان ژن‌**های** آنزیم‌های درگیر در بیوسنتز پلی‌آمین در شرایط تنش ۱۸
۱-۶-۳-۳ پلی‌آمین‌ها و تغییر بیان ژن‌های آنزیم‌های آنتی اکسیدان در شرایط تنش ۱۹
۱-۶-۳-۴- مکانیسم مولکولی عملکرد حفاظتی پلی‌آمین‌ها ۲۰

عنوان .....صفحه

۱-۶-۳-۵ پلی‌آمین‌ها و تجمع اسمولیت‌های سازگار به تنش ۲۲
۱-۷- بادرشبو ۲۴
۱-۷-۱- گیاهشناسی ۲۴
۱-۷-۲- خواص درمانی ۲۵
۱-۷-۳- صوردرمانی ۲۵
۱-۷-۴- عصاره بادرشبو ۲۶
۱-۷-۵- اسانس بادرشبو ۲۶
۱-۸- اهداف پژوهش ۲۸
فصل دوم: مواد و روش‌ها ۲۹
۲-۱- کاشت گیاه ۳۰
۲-۲- نحوه‌ی اعمال تیمارها ۳۰
۲-۳- مطالعات بیوشیمیایی ۳۱
۲-۳-۱- مقدار رنگیزه‌های گیاه ۳۱
۲-۳-۱-۱ رنگیزه‌های فتوسنتزی ۳۱
۲-۳-۱-۲- آنتوسیانین ۳۲
۲-۳-۱- ۳- فلاونوئید به روش اسپکتروفتومتری ۳۳
۲-۳-۲- میزان قندهای احیاء کننده ۳۳
۲-۳-۳- مالون دی آلدئید ۳۵
۲-۳-۴- پرولین ۳۶
۲-۳-۵- پروتئین ۳۷
۲-۳-۶- پراکسید هیدروژن ۳۹
۲-۳-۷- ترکیبات فنلی ۳۹
۲-۳-۸- آنزیم گایاکول پراکسیداز ۴۰
۲-۴- تجزیه تحلیل آماری ۴۱
فصل سوم: نتایج ۴۲
۳-۱- نتایج تغییرات مالون دی آلدئید(MDA) ۴۳
۳-۱-۱- تاثیر تنش سرما بر میزان MDA ۴۳
۳-۱-۲- تاثیر پیش تیمار پوترسین در دمای ۱۲ درجه سانتیگراد بر تغییرات MDA ۴۴

عنوان .....صفحه

۳-۱-۳- تاثیر پیش تیمار پوترسین در دمای ۵ درجه سانتیگراد بر تغییرات MDA ۴۵
۳-۲- نتایج اندازه گیری پراکسید هیدروژن (H_2O_2) ۴۶
۳-۲-۱- تاثیر تنش سرما بر میزان H_2O_2 ..... ۴۷
۳-۲-۲- تاثیر پیش تیمار پوترسین در دمای ۱۲ درجه سانتیگراد بر تغییرات H_2O_2 ..... ۴۸
۳-۲-۳- تاثیر پیش تیمار پوترسین در دمای ۵ درجه سانتیگراد بر تغییرات H_2O_2 ..... ۴۹
۳-۳- بررسی تغییرات میزان کلروفیل ۵۰
۳-۳-۱- نتایج اندازه گیری میزان کلروفیلa..... ۵۰
۳-۳-۱-۱- تاثیر تنش سرما بر میزان کلروفیلa ۵۱
۳-۳-۱-۲- تاثیر پیش تیمار پوترسین در دمای ۱۲ درجه سانتیگراد بر تغییرات کلروفیل a..... ۵۱
۳-۳-۱-۳- تاثیر پیش تیمار پوترسین در دمای ۵ درجه سانتیگراد بر تغییرات کلروفیل a..... ۵۲
۳-۳-۲- نتایج اندازه گیری میزان کلروفیل b ۵۳
۳-۳-۲-۱- تاثیر تنش سرما بر میزان کلروفیل b ۵۴
۳-۳-۲-۲- تاثیرپیش تیمار پوترسین در دمای ۱۲ درجه سانتیگراد بر تغییرات کلروفیل b..... ۵۵
۳-۳-۲-۳- تاثیر پیش تیمار پوترسین در دمای ۵ درجه سانتیگراد بر تغییرات کلروفیل b..... ۵۶
۳-۳-۳- نتایج اندازه گیری میزان کلروفیل کل ۵۷
۳-۳-۳-۱- تاثیر تنش سرما بر میزان کلروفیل کل ۵۷
۳-۳-۳-۲- تاثیرپیش تیمار پوترسین در دمای ۱۲ درجه سانتیگراد بر تغییرات کلروفیل کل..... ۵۸
۳-۳-۳-۳- تاثیر پیش تیمار پوترسین در دمای ۵ درجه سانتیگراد بر تغییرات کلروفیل کل..... ۵۹
۳-۴- نتایج اندازه گیری میزان کاروتنوئید..... ۶۰
۳-۴-۱- تاثیر تنش سرما بر میزان کاروتنوئید..... ۶۰
۳-۴-۲- تاثیرپیش تیمار پوترسین در دمای ۱۲ درجه سانتیگراد بر تغییرات کاروتنوئید ۶۱
۳-۴-۳- تاثیرپیش تیمار پوترسین در دمای ۵ درجه سانتیگراد بر تغییرات کاروتنوئید..... ۶۲
۳-۵- نتایج تغییرات میزان آنتوسیانین ۶۳
۳ -۵-۱- نتایج تغییرات میزان آنتوسیانین تاثیر تنش سرما بر میزان آنتوسیانین..... ۶۴
۳-۵-۲- تاثیر پیش تیمار پوترسین در دمای ۱۲ درجه سانتیگراد بر تغییرات آنتوسیانین ۶۵
۳-۵-۳- تاثیر پیش تیمار پوترسین در دمای ۵ درجه سانتیگراد بر تغییرات آنتوسیانین ۶۶
۳-۶- نتایج اندازه گیری میزان قندهای محلول..... ۶۷
۳-۶-۱- تاثیر تنش سرما بر میزان قندهای محلول ۶۷

عنوان .....صفحه

۳-۶-۲- تاثیرپیش تیمار پوترسین در دمای ۱۲ درجه سانتیگراد بر تغییرات قندهای محلول ۶۸
۳-۶-۳- تاثیرپیش تیمار پوترسین در دمای ۵ درجه سانتیگراد بر تغییرات قندهای محلول ۶۹
۳-۷- نتایج اندازه گیری پرولین ۷۰
۳-۷-۱- تاثیر تنش سرما بر میزان پرولین ۷۱
۳-۷-۲- تاثیرپیش تیمار پوترسین در دمای ۱۲ درجه سانتیگراد بر میزان پرولین ۷۱
۳-۷-۳- تاثیر پیش تیمار پوترسین در دمای ۵ درجه سانتیگراد بر میزان پرولین ۷۲
۳-۸- نتایج اندازه گیری پروتئین ۷۳
۳-۸-۱- تاثیر تنش سرما بر میزان پروتئین ۷۴
۳-۸-۲- تاثیرپیش تیمار پوترسین در دمای ۱۲ درجه سانتیگراد بر تغییرات پروتئین ۷۵
۳-۸-۳- تاثیر پیش تیمار پوترسین در دمای ۵ درجه سانتیگراد بر تغییرات پروتئین ۷۶
۳-۹- نتایج اندازه گیری میزان ترکیبات فنلی ۷۷
۳-۹-۱- تاثیر تنش سرما بر میزان ترکیبات فنلی ۷۷
۳-۹-۲- تاثیرپیش تیمار پوترسین در دمای ۱۲ درجه سانتیگراد بر تغییرات ترکیبات فنلی ۷۸
۳-۹-۳- تاثیرپیش تیمار پوترسین در دمای ۵ درجه سانتیگراد بر تغییرات ترکیبات فنلی ۷۹
۳-۱۰- نتایج تغییرات میزان فلاونوئید ۸۰
۳-۱۰-۱- تاثیر تنش سرما بر میزان فلاونوئید ۸۱
۳-۱۰-۲- تاثیرپیش تیمار پوترسین در دمای ۱۲ درجه سانتیگراد بر تغییرات فلاونوئید ۸۱
۳-۱۰-۳- تاثیر پیش تیمار پوترسین در دمای ۵ درجه سانتیگراد بر تغییرات فلاونوئید ۸۲
۳-۱۱- نتایج اندازه گیری بر فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز ۸۳
۳-۱۱-۱- تاثیر تنش سرما بر میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز ۸۳
۳-۱۱-۲- تاثیرپیش تیمار پوترسین در دمای ۱۲ درجه سانتیگراد بر تغییرات گایاکول پراکسیداز ۸۴
۳-۱۱-۳- تاثیرپیش تیمار پوترسین در دمای ۵ درجه سانتیگراد بر تغییرات گایاکول پراکسیداز ۸۵
فصل چهارم: بحث و نتیجه گیری ۸۷
بحث ۸۸
۴-۱- پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء ۸۸
۴-۲- تولید H_2O_2 ..... ۹۰
۴-۳- تغییرات کلروفیل ۹۱

عنوان .....صفحه

۴-۴- کاروتنوئید ۹۳
۴-۵- ترکیبات فنلی ۹۴
۴-۶- آنتوسیانین ۹۶
۴-۷- فلاونوئید ۹۷
۴-۸- قندهای محلول ۹۷
۴-۹- پرولین ۹۹
۴-۱۰- پروتئین ۱۰۰
۴-۱۱- آنزیم گایاکول پراکسیداز ۱۰۱
نتیجه گیری کلی ۱۰۳
پیشنهادات ۱۰۴
منابع ۱۰۵

فهرست شکل‌ها

شماره و عنوان شکل.....صفحه

شکل (۱-۱): مکانیسم تولید رادیکال‌های فعال در پی تنش ۶
شکل (۱-۲): بررسی ساختار شیمیایی پلی‌آمین‌ها. ۱۱
شکل (۱-۳): مسیر بیوسنتزی پلی‌آمین‌ها..... ۱۳
شکل (۱-۴): تفاوت بیان ژن‌های مختلف بیوسنتز کننده‌ی پلی‌آمین‌ها تحت تنش‌های متفاوت ۱۹
شکل(۱-۵): مقایسه بیان ژن‌های آنزیم‌های دخیل در بیوسنتز پلی‌آمین‌ها در پی تنش..... ۲۰
شکل (۱-۶): ساختار مورفولوژیکی گیاه بادرشبو ۲۵
شکل (۳-۱): تاثیر تنش سرما بر میزان MDA ۴۴
شکل (۳-۲): تاثیر پیش تیمار پوترسین در دمای ۱۲ درجه سانتیگراد بر تغییرات MDA..... ۴۵
شکل (۳-۳): تاثیر پیش تیمار پوترسین در دمای ۵ درجه سانتیگراد بر تغییرات MDA..... ۴۶
شکل (۳-۴): تاثیر تنش سرما بر میزان H2O2 ..... ۴۷
شکل (۳-۵): تاثیر پیش تیمار پوترسین در دمای ۱۲ درجه سانتیگراد بر تغییرات H2O2..... ۴۸
شکل (۳-۶): تاثیر پیش تیمار پوترسین در دمای ۵ درجه سانتیگراد بر تغییرات H2O2..... ۴۹
شکل (۳-۷): تاثیر تنش سرما بر میزان کلروفیلa ۵۱
شکل (۳-۸): تاثیر پیش تیمار پوترسین در دمای ۱۲ درجه سانتیگراد بر تغییرات کلروفیل a ۵۲
شکل (۳-۹): تاثیر پیش تیمار پوترسین در دمای ۵ درجه سانتیگراد بر تغییرات کلروفیل a ۵۳
شکل (۳-۱۰): تاثیر تنش سرما بر میزان کلروفیل b..... ۵۴
شکل (۳-۱۱): تاثیر پیش تیمار پوترسین در دمای ۵ درجه سانتیگراد بر تغییرات کلروفیل b ۵۵
شکل (۳-۱۲): تاثیر پیش تیمار پوترسین در دمای ۵ درجه سانتیگراد بر تغییرات کلروفیل b ۵۶
شکل (۳-۱۳):. تاثیر تنش سرما بر میزان کلروفیل کل ۵۷
شکل (۳-۱۴):. تاثیرپیش تیمار پوترسین در دمای ۱۲ درجه سانتیگراد بر تغییرات کلروفیل کل.. ..... ۵۸
شکل (۳-۱۵): تاثیر پیش تیمار پوترسین در دمای ۵ درجه سانتیگراد بر تغییرات کلروفیل کل ۵۹
شکل (۳-۱۶): تاثیر تنش سرما بر میزان کاروتنوئید ۶۱

فهرست شکل‌ها

شماره و عنوان شکل.....صفحه

شکل (۳-۱۷): تاثیرپیش تیمار پوترسین در دمای ۱۲ درجه سانتیگراد بر تغییرات کاروتنوئید..... ۶۲
شکل (۳-۱۸): تاثیرپیش تیمار پوترسین در دمای ۵ درجه سانتیگراد بر تغییرات کاروتنوئید..... ۶۳
شکل (۳-۱۹): تاثیر تنش سرما بر میزان آنتوسیانین ۶۴
شکل(۳-۲۰): تاثیرپیش تیمار پوترسین در دمای ۱۲ درجه سانتیگراد بر تغییرات آنتوسیانین ۶۵
شکل (۳-۲۱): تاثیرپیش تیمار پوترسین در دمای ۵ درجه سانتیگراد بر تغییرات آنتوسیانین ۶۶
شکل (۳-۲۲): تاثیر تنش سرما بر میزان قند ۶۸
شکل (۳-۲۳): تاثیرپیش تیمار پوترسین در دمای ۱۲ درجه سانتیگراد بر تغییرات قند ۶۹
شکل (۳-۲۴):. تاثیرپیش تیمار پوترسین در دمای ۵ درجه سانتیگراد بر تغییرات قند ۷۰
شکل (۳-۲۵):. تاثیر تنش سرما بر میزان پرولین.. ..... ۷۱
شکل (۳-۲۶): تاثیرپیش تیمار پوترسین در دمای ۱۲ درجه سانتیگراد بر تغییرات پرولین ۷۲
شکل (۳-۲۷): تاثیرپیش تیمار پوترسین در دمای ۵ درجه سانتیگراد بر تغییرات پرولین ۷۳
شکل (۳-۲۸): تاثیر تنش سرما بر میزان پروتئین..... ۷۴
شکل (۳-۲۹): تاثیرپیش تیمار پوترسین در دمای ۱۲ درجه سانتیگراد بر تغییرات پروتئین..... ۷۵
شکل (۳-۳۰): تاثیرپیش تیمار پوترسین در دمای ۵ درجه سانتیگراد بر تغییرات پروتئین ۷۶
شکل (۳-۳۱): تاثیر تنش سرما بر میزان ترکیبات فنلی..... ۷۸
شکل (۳-۳۲): تاثیرپیش تیمار پوترسین در دمای ۱۲ درجه سانتیگراد بر تغییرات ترکیبات فنلی ۷۹
شکل (۳-۳۳): تاثیرپیش تیمار پوترسین در دمای ۵ درجه سانتیگراد بر تغییرات ترکیبات فنلی ۸۰
شکل (۳-۳۴):. تاثیر تنش سرما بر میزان فلاونوئید ۸۱
شکل (۳-۳۵):. تاثیرپیش تیمار پوترسین در دمای ۱۲ درجه سانتیگراد بر تغییرات ت فلاونوئید. ۸۲
شکل (۳-۳۶): تاثیرپیش تیمار پوترسین در دمای ۵ درجه سانتیگراد بر تغییرات فلاونوئید..... ۸۳
شکل (۳-۳۷): تاثیر تنش سرما بر میزان آنزیم گایاکول پراکسیداز ۸۴
شکل (۳-۳۸): تاثیرپیش تیمار پوترسین در دمای ۱۲ درجه سانتیگراد بر تغییرات گایاکول پراکسیداز ۸۵
شکل (۳-۳۹): تاثیرپیش تیمار پوترسین در دمای ۵ درجه سانتیگراد بر تغییرات گایاکول پراکسیداز ۸۶

فصل اول

مقدمه

مقدمه

۱-۱- تنش[1]

گیاهان موجودات ثابتی هستند بنابراین نمی‌توانند از شرایط نامطلوب محیطی فرار کنند به همین خاطر با قرار گرفتن در محیط تنش، راه‌های متفاوتی برای جبران عدم تحرک خود در پیش می-گیرند و در فرایندهای خود در سطح مولکولی و سلولی تغییر ایجاد می‌کنند که این تغییر به تنشی که به گیاه وارد می شود وابسته است [۱، ۲].

گیاهان در دوره‌ی حیات خود تحت تاثیر تنش‌های مختلف قرار می‌گیرند که این تنش‌ها مهم ترین عوامل کاهش عملکرد گیاهان هستند، تنش‌های محیطی وارد شده به گیاه به دو گروه زیستی[2] و غیرزیستی[3] تقسیم می‌شوند، تنش‌های زیستی شامل پاتوژن‌ها، آفات و علفخواران می باشد وتنش های غیرزیستی شامل سرما، گرما، خشکی، موادشیمیایی، uv و...است [۳، ۴].

۱-۲-تنش سرما

دما عامل مهمی در تعیین پراکنش جغرافیایی وتولید گونه‌های گیاهی است، گیاهان برای رشد بهینه خود به محدوده‌ی دمایی خاصی احتیاج دارند و خارج شدن از این محدوده به عنوان تنش

1. Stress
2. Biotic
3. Abiotic

محسوب می‌شود، در واقع در مناطقی که شرایط محیطی برای رشد یک گونه‌ی خاص مطلوب است تغییرات غیر قابل پیش بینی ممکن است سبب بروز خسارت و کاهش رشد و تولید گیاه گردد. در بیش از ۹۳٪ از اراضی دنیا احتمال وقوع سرما وجود دارد [۵]، بنابراین در اغلب نقاط دنیا رشد ونموی گیاهان تحت تاثیر سرما قرار می‌گیرد به طوری که خسارت سالانه‌ی درجه حرارت‌های کم در سطح دنیا معادل ۱۴میلیارد دلار گزارش شده است [۶].

به طورکلی در طبیعت تنش سرما به دو صورت سرمازدگی و یخزدگی حادث می‌شود، سرمازدگی به شرایطی اطلاق می‌گردد که گیاه در نتیجه بروز درجه حرارت‌های کم (بین صفر تا بیست درجه سانتیگراد) بسته به گونه و رقم، شدت تنش و دوره‌ی تنش آسیب می‌بینند [۷، ۸] ولی یخزدگی آسیب‌های حاصل از دماهای زیر صفر می‌باشد که غالباً اثرات بسیار زیانبارتری نسبت به تنش سرمازدگی دارد.

تنش سرما باعث ایجاد تغییرات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی در گیاه می‌شود نتیجه این تغییرات ممکن است به صورت قابل برگشت[1] یا غیرقابل برگشت[2] بروز کند، خسارات قابل برگشت معمولاً اختلالاتی هستند که با رفع عامل تنش‌زا تا حدود زیادی جبران شده و از بین میروند ولی آسیب-های غیرقابل برگشت اختلالات متابولیسمی هستند که معمولاً پس از رفع عامل تنش‌زا به حالت اولیه بر نمی‌گردند [۹].

۱-۳-اثرات فیزیولوژیکی تنش سرما

در دمای پایین، در دسترس بودن انرژی متابولیکی، دریافت آب و جذب مواد غذایی، بیوسنتز و

1. Reversible
2. Ireversible

رشدکاهش می‌یابد، فرایندهای عمده‌ی فیزیولوژیکی که با تنش سرما تحت تاثیر قرار می‌گیرد رشد و نمو، ساختار ریشه وعملکرد آن، فتوسنتز، تنفس، تقسیم و تولید مثل می‌باشد [۱۰].

۱-۳-۱-اثر تنش سرما بر فتوسنتز

آشکارترین خسارت ناشی از سرما آسیب به سیستم فتوسنتزی است، فتوسنتز خالص گیاهان تحت تنش، به دلیل توقف جریان سیتوپلاسمی، کاهش انرژی حاصل از تنش و فراهم نبودن فسفات‌های غنی از انرژی کاهش می‌یابد. کاهش فتوسنتز ممکن است به دلیل کاهش سنتز کلروفیل و یا ناشی از کند شدن نموی کلروپلاست باشد، چنانچه دما به مدت طولانی پایین باقی بماند ممکن است تمام برگ‌ها دچار کاهش کلروفیل و در نتیجه کلروز شوند، با افت بیشتر دما کل فرایند کلروفیل سازی متوقف شده و رنگ برگ‌ها به سفیدی تا زردی می‌گراید که این امر نشانه‌ی کمبود کلروفیل به ویژه در شرایط تابش شدید نور است. توقف تولید کلروفیل به نوعی با محدودیت تشکیل سیستم غشایی تیلاکوئیدها در پلاستیدهای در حال رشد مرتبط است [۱۱].

۱-۳-۲-اثر تنش سرما بر غشاء

سرما سبب تغییر در ساختار و ترکیب غشاء می‌شود به گونه ای که نسبت اسیدهای چرب غیر اشباع در این حالت نسبت به حالت نرمال افزایش می‌یابد، البته این نسبت از گیاهی به گیاه دیگر متفاوت است و این تفاوت به مقاومت گیاه به سرما بستگی دارد [۱۲، ۱۳]، افزایش میزان اسیدهای

چرب غیر اشباع سبب می‌گردد جریانات پروتوپلاستی به خوبی صورت نگیرد، همچنین این امر سبب نشت بیشتر الکترولیت ها شده که در نهایت سبب ایجاد پلاسمولیز سلولی می‌گردد، پلاسمولیز سلول‌ها نیز سبب تغییر در ساختار برگ و ریشه شده و رشد کاهش می یابد [۱۴].

۱-۴-تنش سرما و القاء تنش اکسیداتیو

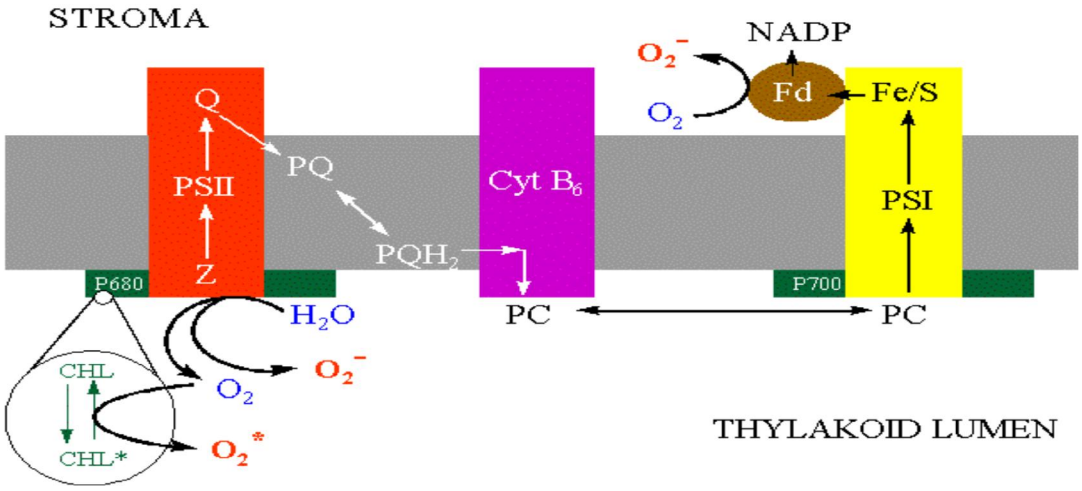
یکی از تغییراتی که در زمان مواجهه‌ی گیاهان با شرایط تنش‌زای محیط حادث می‌شود تولید گونه‌های فعال اکسیژن است[1] [۱۵]، در دمای پایین علت اصلی تشکیل رادیکال فعال اکسیژن عدم تعادل بین دریافت نور و فتوسنتز می‌باشد. در گیاهان مقاوم به سرما تشکیل رادیکال‌های فعال اکسیژن کنترل شده و تعدیل می‌گردد، همچنین کاهش دما در حضور نور خطر اکسیداسیون نوری را به علت عدم توان استفاده لازم از نور افزایش می‌دهد [۹].

دمای پایین فعالیت آنزیم‌ها از جمله آنزیم روبیسکو را کاهش می‌دهد [۱۶] کاهش فعالیت کربوکسیلازی روبیسکو، باعث کاهش عمکرد چرخه‌ی کالوین می‌شود و از آن‌جائیکه محصولات نوری از جمله $NADPH_2$ در چرخه‌ی کالوین به مصرف می‌رسند بنابراین در هنگام مواجهه با تنش سرما این محصولات تجمع می‌یابند [۱۷]، در این شرایط مقدار $NADP^+$ به علت عدم مصرف $NADPH_2$ کاهش می‌یابد و انتقال الکترون از فرودوکسین به اکسیژن انجام گرفته و رادیکال فعال اکسیژن تولید می‌شود [۱۸].

1. Reactive Oxygen Species(ROS)

همچنین در دمای پایین کارایی انتقال انرژی به مرکز فتوسیستم II کاهش می‌یابد وافزایش انرژی در کلروفیل سبب تشکیل کلروفیل سه تایی می‌شود که می‌تواند با انتقال الکترون به اکسیژن رادیکال فعال اکسیژن تولید کند، شکل (۱-۱) [۱۷، ۱۹].

در واقع الکترون‌هایی که در اثر فلورسانس کلروفیل از زنجیره انتقال الکترون نشت کرده‌اند با اکسیژن درون سلول واکنش داده و گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) نظیر سوپراکسید ($O_2^{\cdot-}$)، پراکسیدهیدروژن (H_2O_2)، سینگلت اکسیژن و رادیکال هیدروکسیل ($^{\cdot}OH$) را تولید می‌نماید [۲۰]، این مواد که بسیار واکنش‌گر بوده و برای سلول سمی می‌باشند، می‌توانند به عنوان یک سیگنال برای فعال سازی مکانیسم‌های دفاعی عمل نمایند، تحت شرایط طبیعی رشد، مقدار تولید ROS در سلول ها کم می‌باشد (۲۴۰ میکرومول بر ثانیه)، اما بسیاری از تنش هایی که باعث شکسته شدن مکانیسم‌های درون سلول می شوند، تولید ROS را افزایش می‌دهند (۲۷۰ میکرومول بر ثانیه) این مواد محل‌های اثر مختلفی مانند لیپیدها، رنگدانه‌ها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک دارندکه با تخریب این قسمت‌ها آسیب جدی به گیاه وارد می‌شود [۲۱، ۲۲].



شکل(۱-۱): مکانیسم تولید رادیکال‌های فعال در پی تنش

۱-۵-مکانیسم دفاعی گیاهان در برابر تنش اکسیداتیو

گیاهان برای پیشگیری از اثرات مخرب رادیکال‌های آزاد به روش‌های مختلفی عمل می‌کنند، حضور ROSها به عنوان پیام رسان ثانویه، تولید آنتی اکسیدان‌ها را افزایش می‌دهد [۲۳]، ترکیبات آنتی اکسیدان می‌توانند با خنثی کردن یا از بین بردن رادیکال‌های آزاد با تشکیل این ترکیبات سمی مقابله کنند، سیتم دفاع آنتی اکسیدانی گیاهان، به دو صورت آنزیمی و غیرآنزیمی می‌باشد.

۱-۵-۱-مکانیسم دفاع غیر آنزیمی

آنتی اکسسیدان‌های غیرآنزیمی مولکول‌هایی با وزن مولکولی کم هستند که نوع اثر گذاری هر یک از آنها متفاوت است، این ترکیبات از طریق دادن الکترون یا هیدروژن نقش اساسی در از بین بردن رادیکال‌های آزاد دارند، آنتی اکسیدان‌های غیرآنزیمی شامل مولکول‌های محلول در چربی (آلفا توکوفرول و بتاکاروتن) و مولکول‌های محلول در آب (گلوتاتیون، آسکوربات و ترکیبات فنلی) می-باشند [۲۴].

۱-۵-۱-۱-کاروتنوئید

کاروتنوئیدها با جذب طول موج هایی که کلروفیل قادر به جذب آنها نیست و انتقال آنها به مراکز