

ORIGINAL RESEARCH PAPER

## The Effect of Cold Stress on Some Physiological Traits in Different Populations of *Narcissus Tazetta*

Zabet<sup>1\*</sup>, M., Najafi<sup>2</sup>, F., Alizadeh<sup>3</sup>, Z. and Khazaii<sup>4</sup>, M.

1, 2, 3 and 4. Associate Professor, Former Master of Student, Assistant Professor and Instructor, Respectively, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture Natural Resources and Environment, University of Birjand, Birjand, Iran

\*: Corresponding Author

Email: mzabet@birjand.ac.ir

Received: 2024/11/02

Accepted: 2024/12/14

### Introduction

Iran has a wealth of flowers and wild plants and has valuable genetic resources. The *Narcissus* flower, known as the *Narcissus tazetta*, is considered one of the most important ornamental and medicinal plants from the family of *Narcissus tazetta* in temperate regions. The cold is one of the abiotic stresses that cause significant damage to the country's economy and production cycle every year, and most plants in temperate regions cannot successfully withstand freezing temperatures. To obtain a resistant plant, the most effective approach is to investigate and explore the genetic resource of plants that are cold-tolerant. The objective of this study was to investigate the cold tolerance of various populations collected from various parts of Iran.

### Materials and methods

This research was carried out in the molecular plant breeding laboratory and greenhouse of the Plant Production and Genetics Department, Faculty of Natural Resources and Environment, University of Birjand during 2018-2019. The factor A was included 13 narcissus populations (Azadshahr, Shehlai Shomal, Shastpar Shomal, Shiraz 1, Shiraz 2, Yasouj, Yasouj small perfume, Tabase Golshan, Khusf 1, Khusf 2, Behbahan 1, Behbahan 2 and Gachsaran) and the factor B was included four temperature levels (environment temperature= control, +5, zero and -5 °C). Five leaves were taken from each pot and placed in a refrigerator at temperatures +5°C, 0°C, and -5°C for 5 hours. The measured traits included relative leaf water content, ion leakage, amount of chlorophyll a (mg/gr FW), chlorophyll b (mg/gr FW), total chlorophyll (mg/gr FW), carotenoid (mg/gr FW), chlorophyll a / total chlorophyll, total chlorophyll/carotenoid and percent of chilling stress. Data analysis was performed using the statistical software SAS9.4, Excelv2010, and SPSSv26. Mean comparisons were conducted using Duncan's Multiple Range test, correlation analysis by the Pearson method, and cluster analysis based on the mean traits in both stress and normal environments. It is worth noting that the mean values for the treatments at +5°C, 0°C, and -5°C were considered as stress conditions, while environment temperature was regarded as the normal environment.

### Results and discussion

The analysis of variance showed that there was a significant difference in all traits except for the amount of phenol and malondialdehyde among different archetypes. The temperature had a significant effect on all traits, and population-temperature interactions were significant in all traits except malondialdehyde and total soluble sugars. The highest value of osmotic potential (in the negative direction), the amount of phenol, malondialdehyde, proline and total soluble sugars in treatment 4 (-5°C) and the lowest value of these traits in treatment 1 (the control treatment or environment temperature, 22°C) were observed, respectively. The highest and the lowest of chilling stress percent were observed during February and December, respectively. In other words, with the decrease in temperature, the amount of the aforementioned traits and the Chilling stress percent increased. The correlation and regression analysis revealed that the proline trait was the most significant factor that contributed to Chilling stress in both normal and stress conditions. The cluster analysis grouped the populations in three clusters in both normal (environment temperature) and stress (three temperature treatments +5, zero and -5) conditions. The populations Yasouj, Tabase Golshan, Shiraz1, small aromatic of Yasouj, Shastpar Shomal, Azadshahr and Khosuf1, Gachsaran, and Shehlai Shomal, Shiraz2, Behbahan2, Khosf2, Behbahan1 were placed in the first, second and third clusters, respectively. Cluster analysis revealed that populations with similar chilling stress percent were clustered together, and geographical proximity and closeness were not related to this issue.

**Conclusion**

In this study, with decreasing temperature, amounts of evaluated traits increased, which was known as one of the methods of cold tolerance in narcissus. The proline trait was more important than other traits, and therefore its measurement is suggested in future studies related to cold in Narcissus. In the context of cold resistance, the populations Khusf 1, and Gachsaran were the best and the populations Yasouj, Tabase-Golshan, Shiraz1, small aromatic Yasouj, Shastpar Shomal, and Azadshahr were the worst populations, respectively. The populations of Shehlai Shomal, Shiraz 2, Behbahan 2, Khusf 2 and Behbahan 1 were recognized as intermediate populations. Based on all analyses, the Gachsaran population was the most resistant population, while the Tabase-Golshan population was the most susceptible population in this investigation. The examination of populations showed that there was enough diversity among these populations, and the cold resistance of populations varied across regions. Due to the increasing importance of medicinal plants and ornamental flowers and climate variability, it is recommended that this test be done in different years, temperatures and environments to determine the superior population. Furthermore, the population Gachsaran (resistant) and Tabase-Golshan (sensitive) and the traits osmotic potential and proline (important identified in this study) to be further analyzed.

**Keywords:** Osmotic Potential, Proline, Soluble Sugars, Malondialdehyde.

**Citations:** Zabet, M., Najafi, F., Alizadeh, Z. and Khazaii, M. (2025). The Effect of Cold Stress on Some Physiological Traits in Different Populations of *Narcissus Tazetta*. *Plant Production Technology*, 24(2), 141-159.

<https://doi.org/10.22084/ppt.2024.30080.2141>

© 2022 The Author(s). Bu- Ali Sina University Publication. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

**Online ISSN:** 2476-5651

**Print ISSN:** 2476-6321

## اثر تنش سرما بر برخی صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در جمعیت‌های مختلف نرگس شیراز (*Narcissus tazetta*)

### The Effect of Cold Stress on Some Physiological and Biochemical Traits in Different Populations of *Narcissus Tazetta*

محمد ضابط<sup>\*</sup>، فروغ نجفی<sup>۲</sup>، زهره علیزاده<sup>۳</sup> و مسعود خزاعی<sup>۴</sup>

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۸/۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۹/۲۴

(مقاله پژوهشی)

#### چکیده

گل نرگس یکی از مهم‌ترین گیاهان زینتی و دارویی از خانواده نرگسیان می‌باشد. سرما یکی از تنش‌های غیرزیستی است که همه‌ساله خسارات قابل توجهی را به اقتصاد و چرخه تولید کشور تحمیل می‌کند. آزمایشی به صورت فاکتوریل با دو فاکتور در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند طی سال‌های ۹۹-۱۳۹۸ انجام شد. فاکتور A شامل ۱۳ اکوتیپ نرگس (آزادشهر، شهبان، شصت‌پر شمال، شیراز یک، شیراز دو، یاسوج، کوچک‌عطری یاسوج، طبس، خوسف یک، خوسف دو، بهبهان یک، بهبهان دو و گچساران) و فاکتور B شامل چهار سطح دمایی (شاهد (دمای محیط)، مثبت پنج، صفر و منفی پنج درجه سانتی‌گراد) بود. صفات پتانسیل اسمزی، پرولین، مالون دی‌آلدئید، قندهای محلول، فنل و درصد سرمازدگی اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که با کاهش دما کلیه صفات افزایش می‌یابند. پتانسیل اسمزی و پرولین مهم‌ترین صفات تأثیرگذار بر سرمازدگی بودند. اکوتیپ‌های یاسوج، طبس گلشن، شیراز یک، کوچک‌عطری یاسوج، شصت‌پر شمال و آزادشهر حساس، اکوتیپ‌های خوسف دو و گچساران مقاوم و اکوتیپ‌های شهبان شمال، شیراز دو، بهبهان دو، خوسف دو و بهبهان یک اکوتیپ‌هایی حد واسط در مقاومت به سرمازدگی شناخته شدند. به‌طور کلی، اکوتیپ گچساران مقاوم‌ترین و اکوتیپ طبس گلشن حساس‌ترین اکوتیپ نسبت به سرمازدگی شناخته شد. توصیه می‌گردد که مقدار تنش در مراحل مختلف رشد گیاه بررسی و آنتی‌اکسیدان‌ها و متابولیت‌های دیگر نیز مدنظر قرار گیرد. محققینی که علاقمند به تحقیق در زمینه تنش سرما هستند، حتماً اکوتیپ‌ها (گچساران مقاوم و طبس گلشن حساس) و صفات مهم شناسایی شده (پتانسیل اسمزی و پرولین) در این مطالعه را بیشتر مورد واکاوی قرار دهند.

واژه‌های کلیدی: پتانسیل اسمزی، پرولین، قندهای محلول، مالون دی‌آلدئید.

ارجاع به مقاله: ضابط، م.، نجفی، ف.، علیزاده، ز. و خزاعی، م. (۱۴۰۳). اثر تنش سرما بر برخی صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در جمعیت‌های مختلف نرگس شیراز (*Narcissus tazetta*)، مجله فناوری تولیدات گیاهی، ۲۴(۲)، ۱۴۱-۱۵۹. <https://doi.org/10.22084/ppt.2024.30080.2141>

حق نشر متعلق به نویسنده (گان) است و نویسنده تحت مجوز Commons Creative License

Attribution (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>) به مجله اجازه می‌دهد مقاله‌ی چاپ شده را در

سامانه به اشتراک بگذارد، منوط بر اینکه حقوق مؤلف اثر حفظ و به انتشار اولیه مقاله در این مجله اشاره شود.



شاپا چاپی: ۶۳۲۱-۲۴۷۶

شاپا الکترونیکی: ۵۶۵۱-۲۴۷۶

۱، ۲، ۳ و ۴. به ترتیب دانشیار، دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، استادیار و مربی، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی منابع طبیعی و محیط زیست، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران

\* نویسنده مسئول Email: mzabet@birjand.ac.ir

## ۱. مقدمه

ایران یکی از کشورهای غنی در زمینه گل و گیاهان وحشی است و منابع ژنتیکی بسیار ارزشمندی دارد. گل نرگس یکی از گیاهان زینتی مناطق معتدل است. نرگس شیراز ( *Narcissus tazetta* L از خانواده آماریلیداسه، گیاهی تک‌لپه و چندساله است (Heath and Heath, 2001) و گونه‌های مختلف آن در سرتاسر دنیا به‌جز مناطق گرمسیری رشد می‌کنند (Kamenetsky and Okubo, 2013). گل نرگس به‌صورت گل بریده، باغچه‌ای و گلدانی استفاده می‌شود (Li et al., 2012). گل‌آغازی در نرگس طی ماه‌های تابستان و در دماهای نسبتاً بالا انجام می‌گیرد. نرگس به درجه حرارت نسبتاً بالایی (۱۷ تا ۲۰ درجه سانتی‌گراد) برای گل‌آغازی و تمایز یابی اولیه نیاز دارد (Ebrahimi et al., 2014). گل‌های زیبای نرگس علاوه بر ارزش زینتی، به‌علت معطر بودن و تولید اسانس از ارزش دارویی بالایی نیز برخوردار است (Iranpak et al., 2012). مهم‌ترین تولیدکنندگان پیاز نرگس انگلستان، هلند، امریکا و ایران می‌باشند. میزان کل تولید گل شاخه بریده نرگس در ایران حدود ۶۷۰ میلیون شاخه بوده که از سطح ۹۶۹ هکتار برداشت می‌شود. خراسان جنوبی با ۴۰/۲ هکتار رتبه پنجم را در کشور به خود اختصاص داده است (SKAJO, 2023).

گیاهان برای رشد بهینه به محدوده دمایی خاصی نیاز دارند و خارج شدن از این محدوده به‌عنوان یک تنش محسوب می‌شود (Seppanen, 2000). سرما یکی از تنش‌هاست که همه ساله خسارات قابل توجهی را به اقتصاد و چرخه تولید کشور تحمیل می‌کند. بیشتر گیاهان در مناطق معتدله نمی‌توانند دمای یخبندان را با موفقیت پشت سر بگذارند، ولی بعد از سازگاری به سرما می‌توانند مقاومت خود را افزایش دهند (Kexuan et al., 2006). در پاسخ به تنش سرما علائم ظاهری متنوعی مثل جوانه‌زنی ضعیف بذر، گیاهچه‌های کوتاه، زردشدن برگ‌ها (کلروز)، کاهش توسعه برگ‌ها و پژمردگی مشاهده می‌شود که ممکن است منتج به مرگ بافت (نکروز) شوند (Yadav, 2010).

یکی از پارامترهای شناسایی تحمل به سرما پرولین است که نقش اساسی در تنظیم اسمزی بازی می‌کند. پرولین اسیدآمینه ذخیره شده در سیتوپلاسم است و احتمالاً در حفاظت از ساختمان ماکرومولکول‌ها و هیدروکسی پرولین در

سنتز دیواره سلولی نقش دارد (Heuer, 1994). از شاخص پرولین به‌منظور بررسی اثرات تنش‌های محیطی که میزان آب در دسترس گیاه را تحت‌تأثیر قرار می‌دهد، استفاده می‌شود. پرولین در مقایسه با سایر اسمولیت‌های سازگارکننده متداول به‌ویژه قندهای معمولی و قندهای الکلی از کارایی بالاتری جهت حفاظت در برابر تنش برخوردار است (Delauney and Verma, 1993). بررسی تنش سرما بر برخی شاخص‌های فیزیولوژیک سه ژنوتیپ برگ‌زیده بزرگ<sup>۱</sup> نشان داد که با کاهش دما از ۲۵ به منفی دو درجه سانتی‌گراد تغییر معنی‌داری در هیچ یک از صفات مورد بررسی دیده نشد، اما با کاهش دما از صفر به ۲/۵- در ژنوتیپ‌های حساس به سرما قندهای محلول، پرولین و مالون دی‌آلدئید بیشتر از ژنوتیپ‌های مقاوم افزایش یافت (Salimi et al., 2019). در ارزیابی مقاومت به سرمازدگی و تعیین مقدار پرولین در جوانه‌های زایشی ۲۳ ژنوتیپ گلابی درگزی، ژنوتیپ درگز ۲۰ بالاترین مقدار پرولین را در جوانه‌های زایشی داشت. مقاومت نسبت به سرمازدگی در ژنوتیپ‌های مختلف درگزی متفاوت بودند که این امر می‌تواند ناشی از منشاء ژنتیکی متفاوت و یا جهش در کلون‌های این رقم باشد (Khorshidi et al., 2016).

بررسی غلظت مالون‌دی‌آلدئید در بافت گیاهی می‌تواند نشان‌دهنده مقدار تخریب غشاء سلولی باشد (Bhattacharjee and Mukherjee, 2002). افزایش محتوای مالون دی‌آلدئید شاخصی از آسیب غشای سلولی توسط ROS و پراکسیداسیون لیپیدی غشاء و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی است (Olennikov et al., 2017). تجمع کربوهیدرات‌های محلول نیز یکی از بهترین واکنش‌های شناخته‌شده گیاهان به تنش سرما است (Tabaei et al., 2003). کربوهیدرات‌ها از جمله محافظت‌کننده‌های اسمزی هستند که تجمع آنها در پاسخ به تنش‌های محیطی در ارتباط با تنظیم اسمزی و یا حفاظت غشاهای سلولی می‌باشد (Kerepesi et al., 2004). افزایش مقاومت به سرما با میزان کربوهیدرات‌های محلول در ارتباط است و کربوهیدرات‌هایی مثل ساکاروز، سوربیتول و رافینوز اولین زیر واحدهای محافظت‌کننده گیاه می‌باشند (Levitt, 1980). مطالعات نشان داده است که قندهای محلول

1. *Linum usitatissimum*

در حدود دو سوم از مناطق جهان، سالیانه تحت دماهای زیر نقطه انجماد قرار می‌گیرند و در نیمی از این مناطق، دماهای زیر ۱۲ درجه سانتی‌گراد عامل بروز آسیب به گیاهان می‌باشند (Ashraf and Foolad, 2007). گیاهان توانایی سازگاری نسبت به درجه‌های مختلفی از تنش سرما را دارند. بهترین راهبرد برای دستیابی به گیاه مقاوم، بررسی و جستجوی خزانه ژنتیکی گیاهان برای تحمل به سرما است.

به‌طور کلی مطالعات اندکی در زمینه‌های گوناگون بر روی گل نرگس انجام شده است. تنش سرما یکی از مهمترین تنش‌ها بوده که هر ساله خسارات زیادی وارد می‌کند و تهدیدی برای تولید پایدار محصولات مختلف گیاهی است. بهترین راهبرد برای دستیابی به گیاه مقاوم، بررسی و جستجوی خزانه ژنتیکی پیرامون گیاه متحمل به سرما است. باتوجه به این امر، تأثیر تنش سرما بر مقدار پتانسیل اسمزی، پرولین، مالون دی‌آلدئید، قندهای محلول و مقدار فنل کل جمعیت‌های مختلف گل نرگس و در نهایت ارتباط بین مقاومت به سرما و صفات اندازه‌گیری شده مورد بررسی قرار گرفت.

## ۲. مواد و روش‌ها

### ۲-۱. مواد گیاهی

این تحقیق طی سال ۹۸-۱۳۹۷ در گلخانه و آزمایشگاه اصلاح نباتات مولکولی گروه تولید و ژنتیک گیاهی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه بیرجند انجام شد. پیازهای جمعیت‌های مختلف نرگس از مناطقی که کشت و زرع آن مرسوم بود جمع‌آوری شد. این جمعیت‌ها شامل نرگس آزادشهر، شهلاهای شمال، شصت‌پر شمال، دو نمونه از شیراز با نام شیراز یک، شیراز دو، یاسوج، کوچک‌عطری یاسوج، طبس، دو نمونه از خوسف با نام خوسف یک، خوسف دو، دو نمونه از بهبهان با نام بهبهان یک و بهبهان دو و یک جمعیت از گچساران بود.

### ۲-۲. طرح آماری

آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتور A شامل ۱۳ جمعیت مختلف نرگس آزادشهر، شهلاهای شمال، شصت‌پر شمال، شیراز یک، شیراز دو، یاسوج، کوچک‌عطری یاسوج، طبس، خوسف یک، خوسف دو، بهبهان یک، بهبهان دو، گچساران و فاکتور B شامل چهار

دارای وزن مولکولی پایین، نقش کلیدی در تحمل به دمای پایین در گیاهان برعهده دارند. غلظت گلوکز و ساکارز ممکن است چندین بار در معرض دمای پایین افزایش یابد (Cao et al., 2014). تجمع ساکاروز و قند باعث تقویت عملکرد حفاظت‌کننده‌های اسمزی می‌گردد و به دنبال آن باعث ثبات غشای سلولی و حفظ فشار تورژسانس می‌گردد (Emami Bistgani et al., 2017). طی یک مطالعه تحت تنش سرما، سطح مونوساکارید و الیگوساکارید گیاهچه‌های افرای سرخ<sup>۱</sup> افزایش یافت. سازگاری با سرما باعث تغییر در پلی‌ساکاریدهای غیرساختاری یا ذخیره شده در گیاهان می‌شود، به‌عنوان مثال نشاسته یا پلی‌ساکارید دیواره یونولین و دیواره سلولی مانند پکتین و پلیمرهای مرتبط با پکتین دچار تغییراتی می‌شوند (Le Gall et al., 2015).

کاهش دما و سازگاری به سرما تجمع فنل کل را القاء می‌کند. تیمار سرمایی سبب تغییرات معنی‌دار در مقدار فنل کل می‌شود (Cansev et al., 2012). گیاهان قادر هستند در شرایط تنش با تولید ترکیبات آنتی‌اکسیدانی نظیر ترکیبات فنلی از ساختارهای ملکولی خود در مقابل رادیکال‌های فعال تولیدشده در شرایط تنش محافظت کنند (Bettaieb et al., 2010). بررسی پاسخ‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی نارنگی پیچ (از پیوند دو نوع نارنگی است)<sup>۲</sup> تحت تنش دمای پایین نشان داد که با کاهش دما مقدار فنل گیاه افزایش پیدا می‌کند (Tadjvar et al., 2011). در گیاه سرخار گل با افزایش شدت تنش تا دمای منفی چهار درجه سانتی‌گراد، مقدار فنل به‌عنوان آنتی‌اکسیدان کاهش معنی‌دار نشان داد. این ترکیب آنتی‌اکسیدانی بیشترین مقدار کاهش را در دمای منفی چهار درجه سانتی‌گراد نشان داد که نسبت به تیمار شاهد ۹/۵ درصد کاهش داشت. در واقع کاهش مقدار فنل کل را می‌توان به افزایش تولید ROS و خسارت اکسیداتیو در سرخارگل‌های تحت تنش سرما اشاره نمود که موجب افزایش مقدار مالون دی‌آلدئید، پروتئین و فعالیت بیشتر آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز با کاهش گستره دمایی شد (Asadi-Sanam et al., 2015).

1. *Acer palmatum*

2. *Sunburst Tangerines*

ضابط و همکاران: اثر تنش سرما بر برخی صفات فیزیولوژیکی ...

سطح دمایی شاهد (دمای معمول محیطی)، مثبت پنج، صفر و منفی پنج درجه سانتی گراد بود.

### ۳-۲. اجرای آزمایش

سه عدد سوخ به تاریخ ۱۳۹۸/۸/۱ درون گلدان‌هایی با اندازه دهانه ۲۳ و ارتفاع ۲۱/۵ سانتی‌متر کشت شدند و به مدت چهار هفته برای رشد اولیه و استقرار خوب گیاه، از آب شرب با EC برابر با ۱/۱ دسی‌زیمنس و PH برابر با ۷/۷۹ آبیاری شدند. از خاک مزرعه به همراه ورمی‌کمپوست به نسبت یک:یک به عنوان خاک گلدان‌ها استفاده شد. به منظور ایجاد تنش سرمایی پس از حدوداً ۳۰ الی ۴۰ روز بسته به جمعیت مورد نظر و رسیدن به مرحله چهار برگی، نمونه‌های برگ (چندین قطعه برگ) به طور تصادفی انتخاب و تیمارهای مورد نظر بر روی برگ‌های جدا شده از گیاه اعمال شد (Zeinanloo and Tajik, 2022). برای هر یک از تیمارهای مثبت پنج، منفی پنج و صفر درجه سانتی‌گراد نمونه‌های برگ به مدت پنج ساعت در دماهای مدنظر قرار گرفتند و پس از گذشت زمان مدنظر اندازه‌گیری‌ها انجام شد.

### ۴-۲. صفات مورد اندازه‌گیری

صفات اندازه‌گیری شده شامل پتانسیل اسمزی، پرولین، مالون دی‌آلدئید، قندهای محلول کل، فنل کل و درصد سرمازدگی بود. برای بررسی مقاومت به سرما، نمونه‌های کشت شده در گلدان‌ها به محیط آزاد منتقل شدند و مقدار سرمازدگی طی سه مرحله در ماه آذر، دی و بهمن مورد ارزیابی قرار گرفت. هدف از این کار این بود که شرایط مشابه با آنچه در سه فصل مورد نظر در مکان‌های کشت نرگس اتفاق می‌افتد، باشد. متوسط دمای حداقل، حداکثر و میانگین دمای بیرجند طی این سه ماه در جدول یک آمده است. از مقیاس صفر الی ۱۰۰ برای سرمازدگی استفاده شد. به نمونه‌های با سرمازدگی کامل عدد ۱۰۰ و به نمونه‌هایی که سرمازدگی در آنها رویت نشد، عدد صفر و به سایر نمونه‌ها بر حسب مقدار سرمازدگی عددی بین صفر تا ۱۰۰ داده شد. برای اندازه‌گیری درصد سرمازدگی، مقدار زرد شدن و در نهایت نکروز شدن برگ‌ها، پژمردگی برگ‌ها و دمگل‌ها و مقدار آبدار شدن سطح برگ‌ها مورد توجه قرار گرفت و در این زمینه از افراد خبره‌ی محلی نیز کمک گرفته شد.

Table 1: The minimum, maximum and average monthly temperature of Birjand meteorological station in winter 2023

Month	Average minimum temperature °C	Average maximum temperature °C	Average annual temperature °C
November	1.36	14.27	7.81
December	-1.99	11.09	4.55
January	-0.68	14.59	6.95

درصد سائیده شد. محلول به دست آمده صاف و سپس دو میلی‌لیتر از محلول صاف شده با دو میلی‌لیتر از معرف نین‌هیدرین و دو میلی‌لیتر اسید استیک در یک لوله آزمایش ریخته و به مدت یک ساعت در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد در حمام آب گرم قرار داده شد. پس از سرد شدن محلول، چهار میلی‌لیتر تولوئن اضافه گردید و لوله آزمایش ۱۵ تا ۲۰ ثانیه به شدت به هم زده شد. جذب نوری محلول روئی واکنش در طول موج ۵۲۰ نانومتر با استفاده از محلول بلانک تولوئن با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد و غلظت اسید آمینه پرولین آزاد نمونه با استفاده از یک منحنی استاندارد پرولین خالص تعیین و مقدار آن بر اساس رابطه‌ی دو، در گرم وزن‌تر نمونه محاسبه گردید.

پتانسیل اسمزی به روش (Curtis, 2003) محاسبه شد (رابطه یک). یک گرم از برگ‌تر با استفاده از نیتروژن مایع خرد گردید. نمونه‌ی پودر شده در سیلندر سرنگ دو میلی‌گرمی که در انتهای آن کاغذ صافی بود، قرار داده شد و با فشار دادن پیستون سرنگ از نمونه عصاره گرفته شد و با دستگاه اسمومتر قرائت گردید. با استفاده از رابطه زیر (معادل وانت هوف) عدد به دست آمده به مگا پاسکال تبدیل شد.

رابطه یک:  $\phi S = -MRIT$

M عدد مولاریته (عدد اسمومتر تقسیم بر ۱۰۰۰)، T دما بر حسب کالوین، I ضریب یونیزاسیون و R ثابت گازها است. اندازه‌گیری پرولین به روش (Bates et al., 1973) انجام شد. ۰/۵ گرم برگ تازه همراه با ۱۰ میلی‌لیتر سولفوسالیسیلیک سه

روی، ۱/۸ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۲ میلی‌لیتر معرف فولین اضافه و محلول به مدت پنج دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. در پایان یک میلی‌لیتر سدیم کربنات ۱۲ درصد به محلول بالا اضافه و پس از دو ساعت قرارگرفتن در دمای آزمایشگاه، جذب محلول حاصل در طول موج ۷۶۵ نانومتر با اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد. غلظت فنل براساس میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن تر بیان شد و از گالیک اسید برای رسم نمودار استاندارد استفاده شد.

## ۲-۵. تجزیه آماری

پس از بررسی نرمال بودن داده‌ها تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم افزارهای آماری SAS<sup>9.4</sup>، Excel و Spss انجام شد. مقایسه میانگین‌ها مطابق با آزمون چند دامنی دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام پذیرفت.

## ۳. نتایج

### ۳-۱. تجزیه واریانس

تجزیه واریانس صفات مختلف نشان داد که بین جمعیت‌های مختلف به غیر از صفات مقدار فنل و مالون دی‌آلدئید تفاوت آماری معنی‌دار وجود داشت. دما بر تمامی صفات اثر معنی‌دار داشت و اثرات متقابل جمعیت × دما در تمامی صفات به غیر از صفات مالون دی‌آلدئید و قندهای محلول کل معنی‌دار بود (جدول ۲). تجزیه واریانس صفت درصد سرمازدگی نیز نشان داد که بین جمعیت‌های مختلف تفاوت آماری معنی‌دار وجود داشت. دما بر این صفت اثر معنی‌دار داشت و اثرات متقابل جمعیت × دما نیز برای این صفت معنی‌دار بود (جدول ۳). بررسی مقادیر ضریب تغییرات نشان داد که جمعیت‌های مختلف دارای ضریب تغییرات نسبتاً بالایی در اکثر صفات بودند و لذا از تنوع لازم برای مقاومت به سرما برخوردار بودند. در صفات مالون دی‌آلدئید بالاترین مقدار تنوع وجود داشت و پایین‌ترین ضریب تغییرات در مقدار فنل مشاهده شد.

$$A = \frac{B \times C + 115/5}{D \div 5}$$

رابطه دو:

A: مقدار پرولین بر حسب میکرومول بر گرم ماده‌ی تر،  
B: عدد خوانده شده توسط دستگاه، C: مقدار تولوئن مصرفی،  
D: وزن نمونه بر حسب گرم می‌باشد.

اندازه‌گیری مالون دی‌آلدئید به روش (Heath and Packer, 1968) صورت گرفت. ۰/۲ گرم از بافت تر گیاهی در پنج میلی‌لیتر TCA یک درصد ساییده و به مدت ده دقیقه با سرعت ۸۰۰۰ دور سانتریفوژ شد. روی یک میلی‌لیتر از محلول رویی چهار میلی‌لیتر از محلول TCA ۲۰ درصد و تیوباربیتوریک اسید پنج درصد اضافه شد. نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد گذاشته و بلافاصله در یخ سرد قرار داده شد و پنج دقیقه در ۸۰۰۰ دور سانتریفوژ شدند و در نهایت جذب نمونه‌ها در دو طول موج ۵۳۲ نانومتر (مجموعه قرمز تیوباربیتوریک - مالون دی‌آلدئید) و ۶۰۰ نانومتر (بقیه رنگی‌های غیراختصاصی) توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر قرائت شد. مقدار مالون دی‌آلدئید از کسر عدد اول و دوم به دست آمد.

اندازه‌گیری قند محلول کل به روش (Mcready et al., 1950) انجام شد. برای اندازه‌گیری قند کل، ۰/۲ میلی‌لیتر از عصاره‌ی تغلیظ شده با سه میلی‌لیتر معرف آنترون (۱۵۰ میلی‌گرم آنترون در ۱۰۰ میلی‌لیتر سولفوریک اسید ۱۳ مولار) مخلوط و به مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۱۰۰ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از سرد شدن نمونه‌ها، میزان جذب هر یک از آنها در طول موج ۶۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. در نهایت میزان قندهای محلول کل با منحنی استاندارد گلوکز محاسبه شد.

سنجش محتوای فنل کل با روش (Singleton and Rossi, 1965) انجام شد. ۰/۰۵ گرم از بافت تازه‌ی برگ گیاه در دو میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد با معرف فولین - سیوکالتو ساییده و همگن شد و در بن ماری در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفت. بعد از سانتریفوژ با سرعت ۵۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه به یک میلی‌لیتر از محلول متانولی

Table 2: Analysis of variance of different traits in narcissus populations under different temperature

S.O.V	D.F	MS				
		Proline (μMol/gr)	Soluble Sugar (mgr/gr)	Malondialdehyde (nMol/gr)	Phenol (mgr/gr)	Osmotic Potential (MPa)
A=Population	12	4.58*	9.75**	7.25 <sup>ns</sup>	0.20 <sup>ns</sup>	0.16**
B=Temperature	3	2592.26**	1824.97**	1018.13**	259.80**	4.66**
AB=Population×Temperature	36	3.88**	4.44 <sup>ns</sup>	4.96 <sup>ns</sup>	0.46**	0.05**
Error	104	2.10	3.81	6.07	0.18	0.01
CV	-		15.61	24.24	8.85	8.67

ns, \*and\*\* are non-significant, significant at 5% and 1% levels, respectively.

Table 3: Analysis of variance of chilling stress in narcissus populations

S.O.V	D.F	MS	
		Chilling stress (%)	
Population (A)	12	728.42**	
Month (B)	2	11453.85**	
A ×B	24	72.61**	
Error	78	19.25	
CV	19.55	-	

ns, \*and\*\* are non-significant, significant at 5% and 1% levels, respectively

جمعیت یک (بهبهان یک) و کمترین مقدار آن مربوطه به جمعیت یک (شهلاهی شمال) بود. بالاترین مقدار قندهای محلول کل مربوط به جمعیت یک (خوسف دو) و کمترین مقدار آن مربوطه به جمعیت یک (شهلاهی شمال)، بالاترین مقدار پرولین مربوطه به جمعیت پنج (شیراز دو) و کمترین را جمعیت دو (شصت پر شمال)، بالاترین درصد سرمازدگی مربوط به جمعیت هشت (طبس گلشن) و کمترین مقدار آن مربوطه به جمعیت ۱۳ (گچساران) بود (جدول ۴).

### ۲-۳. مقایسه میانگین جمعیت‌ها

مقایسه میانگین جمعیت‌های مختلف نرگس نشان داد که در همه دماها بین جمعیت‌ها تفاوت معنی‌داری وجود داشت. بالاترین مقدار پتانسیل اسمزی مربوط به جمعیت یک (بهبهان دو) و کمترین مقدار آن مربوطه به جمعیت هشت (طبس گلشن) بود. بالاترین مقدار فنل مربوط به جمعیت نه (خوسف یک) و کمترین مقدار آن مربوط به جمعیت یک (شهلاهی شمال) بود. بالاترین مقدار مالون دی‌آلدئید مربوط به

Table 4: Mean comparison of different populations of narcissus

Populations	Phenol (mgr/gr)	Proline (μMol/gr)	Osmotic potential (MPa)	Malondialdehyde (nMol/gr)	Total soluble sugars (mgr/gr)	Chilling stress (%)
Shehlai North	4.60 <sup>b</sup>	9.03 <sup>bc</sup>	-1.26 <sup>c</sup>	8.58 <sup>b</sup>	10.36 <sup>c</sup>	20.66 <sup>cd</sup>
Shastpar North	5.00 <sup>ab</sup>	8.71 <sup>c</sup>	-1.13 <sup>c</sup>	9.44 <sup>ab</sup>	12.91 <sup>ab</sup>	24.00 <sup>d</sup>
Azadshahr	4.99 <sup>ab</sup>	9.62 <sup>abc</sup>	-1.07 <sup>ab</sup>	10.00 <sup>ab</sup>	12.44 <sup>ab</sup>	24.00 <sup>d</sup>
Shiraz 1	4.85 <sup>ab</sup>	9.07 <sup>bc</sup>	-1.12 <sup>ab</sup>	9.97 <sup>ab</sup>	12.64 <sup>ab</sup>	29.33 <sup>c</sup>
Shiraz 2	4.75 <sup>ab</sup>	10.61 <sup>a</sup>	-1.16 <sup>b</sup>	10.04 <sup>ab</sup>	11.53 <sup>bc</sup>	21.00 <sup>cd</sup>
Small Fragrant	4.78 <sup>ab</sup>	9.13 <sup>bc</sup>	-1.28 <sup>c</sup>	9.52 <sup>ab</sup>	12.85 <sup>ab</sup>	28.66 <sup>c</sup>
Yasouj	4.92 <sup>ab</sup>	8.97 <sup>bc</sup>	-1.14 <sup>ab</sup>	11.26 <sup>a</sup>	12.17 <sup>ab</sup>	34.33 <sup>b</sup>
Tabase Golshan	4.74 <sup>ab</sup>	10.26 <sup>ab</sup>	-1.47 <sup>d</sup>	10.02 <sup>ab</sup>	11.80 <sup>bc</sup>	39.00 <sup>a</sup>
Khusf 1	5.05 <sup>a</sup>	9.58 <sup>abc</sup>	-1.31 <sup>c</sup>	9.82 <sup>ab</sup>	12.82 <sup>ab</sup>	10.66 <sup>gh</sup>
Khusf 2	4.79 <sup>ab</sup>	9.57 <sup>abc</sup>	-1.131 <sup>c</sup>	10.66 <sup>ab</sup>	13.94 <sup>a</sup>	17.55 <sup>ef</sup>
Behbahan 1	4.97 <sup>ab</sup>	9.26 <sup>abc</sup>	-1.12 <sup>ab</sup>	11.33 <sup>a</sup>	12.72 <sup>ab</sup>	14.33 <sup>fg</sup>
Behbahan 2	4.82 <sup>ab</sup>	10.33 <sup>ab</sup>	-1.05 <sup>a</sup>	10.42 <sup>ab</sup>	13.15 <sup>ab</sup>	20.77 <sup>cd</sup>
Gachsaran	4.78 <sup>ab</sup>	10.29 <sup>ab</sup>	-1.08 <sup>ab</sup>	11.02 <sup>a</sup>	13.31 <sup>ab</sup>	7.33 <sup>h</sup>

ns, \*and\*\* are non-significant, significant at 5% and 1% levels, respectively.

دی‌آلدئید، پرولین و قندهای محلول کل، بالاترین مقدار این صفات در تیمار چهار (منفی پنج درجه سانتی‌گراد) و کمترین مقدار این صفات در تیمار یک یا تیمار شاهد (دمای محیط، ۲۲ درجه سانتی‌گراد) مشاهده شد (جدول ۵). با کاهش دما مقدار

### ۳-۳. مقایسه میانگین دماها

مقایسه میانگین دماهای مختلف مورد مطالعه نشان داد که در کلیه صفات بین دماها تفاوت معنی‌داری وجود داشت. در صفات پتانسیل اسمزی (در جهت منفی)، مقدار فنل، مالون



دیده شد. بیشترین سرمازدگی در طی بهمن ماه و کمترین سرمازدگی در آذر ماه دیده شد. در اینجا نیز با کاهش دما درصد سرمازدگی افزایش یافت (شکل ۱).

این صفات افزایش نشان داد، به طوری که بالاترین پتانسیل اسمزی، فنل، مالون دی آلدئید، پرولین و قندهای محلول کل در دمای منفی پنج درجه سانتی گراد و کمترین مقدار این صفات در دمای ۲۲ درجه سانتی گراد یا تیمار شاهد (دمای محیط)

Table 5: Mean comparison of the different temperatures in narcissus populations

Temperature	Phenol (mgr/gr)	Proline (μMol/gr)	Osmotic potential (MPa)	Malondialdehyde (nMol/gr)	Total soluble sugars (mgr/gr)	Chilling stress (%)
1 Control (22°C)	2.22 <sup>d</sup>	2.99 <sup>d</sup>	-0.84 <sup>a</sup>	4.99 <sup>d</sup>	4.99 <sup>d</sup>	Azar 2.69 <sup>c</sup>
2 +5°C	3.64 <sup>c</sup>	5.33 <sup>c</sup>	-1.07 <sup>b</sup>	8.04 <sup>c</sup>	9.38 <sup>c</sup>	Day 31.15 <sup>b</sup>
3 0°C	5.31 <sup>b</sup>	8.81 <sup>b</sup>	-1.18 <sup>c</sup>	10.61 <sup>b</sup>	14.89 <sup>b</sup>	Bahman 33.46 <sup>a</sup>
4 -5°C	8.23 <sup>a</sup>	21.24 <sup>a</sup>	-1.66 <sup>d</sup>	17.01 <sup>a</sup>	20.78 <sup>a</sup>	- -

ns, \*and\*\* are non-significant, significant at 5% and 1% levels, respectively

مقدار را جمعیت خوسف دو و کمترین مقدار را جمعیت شهلاهی شمال به خود اختصاص دادند (جدول ۷).

در صفت پتانسیل اسمزی در دمای منفی پنج درجه بالاترین مقدار را (با علامت منفی) جمعیت یاسوج و کمترین مقدار را (با علامت منفی) جمعیت های شهلاهی شمال، خوسف یک، خوسف دو و گچساران و در دمای صفر درجه بالاترین مقدار را جمعیت شصت پر و کمترین مقدار را جمعیت های طبس گلشن و شهلاهی شمال به خود اختصاص دادند. در صفت درصد سرمازدگی در ماه دی و بهمن بالاترین سرمازدگی را جمعیت طبس گلشن و کمترین سرمازدگی را جمعیت گچساران نشان دادند (جدول ۸). بررسی صفات مختلف نشان می دهد که در صفات مختلف، جمعیت های مختلفی بالاترین و کمترین مقادیر را به خود اختصاص دادند. آنچه مسلم است این است که بدون در نظر گرفتن رابطه و همبستگی این صفات با درصد سرمازدگی نمی توان قضاوت منصفانه ای در مورد بهترین و یا بدترین جمعیت ارائه نمود؛ لذا در ادامه مبحث همبستگی صفات و سایر تجزیه ها مورد بررسی قرار می گیرد تا بتوان نتیجه ی منطقی تری بر اساس کلیه صفات ارائه نمود.

### ۳-۴. مقایسه میانگین اثرات متقابل جمعیت × سرما برای صفات در دماهای مختلف

باتوجه به آنکه مقایسه میانگین اثرات متقابل جمعیت × سرما در تمامی سطوح دمایی نتایج ملموسی را در پی نداشت، لذا در دو تیمار دمایی منفی پنج و صفر درجه که در بحث مقاومت به سرما از اهمیت بالاتری برخوردار بود، مورد واکاوی قرار گرفت. در دمای منفی پنج درجه بالاترین پرولین را جمعیت شیراز دو و کمترین مقدار را جمعیت های شهلاهی شمال، آزادشهر، شیراز یک، یاسوج، خوسف دو و بهبهان یک و در دمای صفر درجه بالاترین مقدار را جمعیت های آزادشهر و گچساران و کمترین مقدار را جمعیت شصت پر شمال به خود اختصاص دادند. در صفت مقدار فنل در دمای منفی پنج درجه بالاترین مقدار را جمعیت یاسوج و کمترین مقدار را جمعیت شیراز دو و در دمای صفر درجه تمامی جمعیت ها مشابه بودند و تفاوتی نداشتند (جدول ۶).

در صفت مقدار مالون دی آلدئید در دمای منفی پنج درجه تمامی جمعیت ها مشابه بودند و در دمای صفر درجه بالاترین مقدار را جمعیت های خوسف دو، بهبهان یک و بهبهان دو و کمترین مقدار را جمعیت شهلاهی شمال به خود اختصاص دادند. در صفت مقدار قندهای محلول کل در دمای منفی پنج درجه بالاترین مقدار را جمعیت گچساران و کمترین مقدار را جمعیت های یاسوج و آزادشهر و در دمای صفر درجه بالاترین

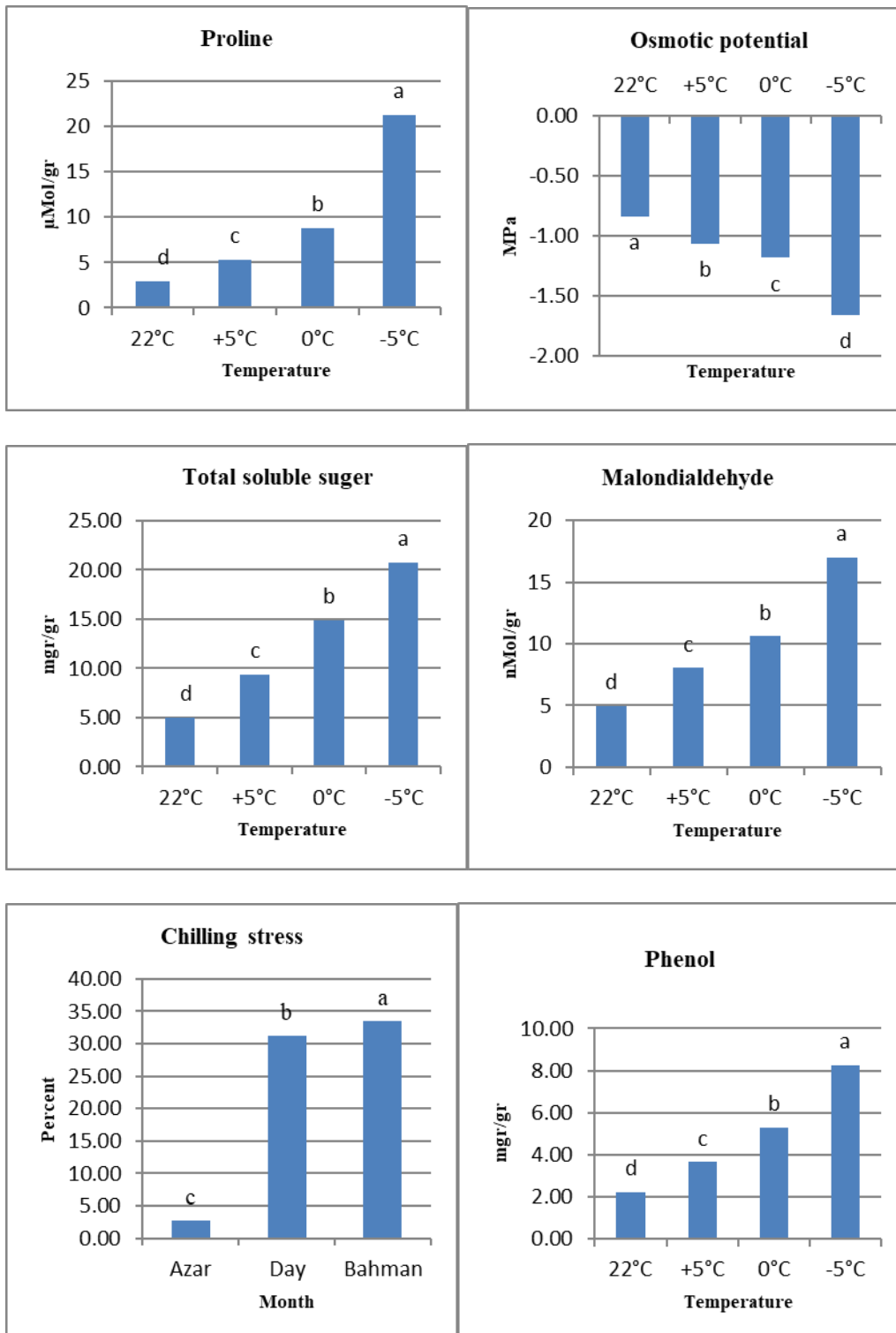


Fig. 1: The trend of trait changes with decreasing temperature

Table 6. Mean comparison of population × cold interaction effects for proline and phenol traits

Populations	Proline (μMol/gr)				Phenol (mgr/gr)			
	22°C	+5°C	0°C	-5°C	22°C	+5°C	0°C	-5°C
Shehlai North	2.25 <sup>bc</sup>	4.74 <sup>cd</sup>	9.20 <sup>ab</sup>	19.94 <sup>b</sup>	2.13 <sup>abc</sup>	3.56 <sup>abc</sup>	5.26 <sup>a</sup>	7.46 <sup>de</sup>
Shastpar North	1.51 <sup>bc</sup>	4.21 <sup>d</sup>	6.99 <sup>b</sup>	22.12 <sup>ab</sup>	2.54 <sup>a</sup>	3.72 <sup>abc</sup>	5.44 <sup>a</sup>	8.30 <sup>abcd</sup>
Azadshahr	3.69 <sup>abc</sup>	5.76 <sup>bc</sup>	8.35 <sup>a</sup>	20.68 <sup>b</sup>	2.62 <sup>a</sup>	3.42 <sup>bc</sup>	5.32 <sup>a</sup>	8.61 <sup>abc</sup>
Shiraz 1	2.04 <sup>bc</sup>	5.29 <sup>bcd</sup>	8.47 <sup>ab</sup>	20.50 <sup>b</sup>	2.31 <sup>abc</sup>	4.00 <sup>ab</sup>	5.27 <sup>a</sup>	7.84 <sup>cde</sup>
Shiraz 2	2.08 <sup>bc</sup>	5.26 <sup>bcd</sup>	9.84 <sup>a</sup>	25.29 <sup>a</sup>	2.65 <sup>a</sup>	3.57 <sup>abc</sup>	5.56 <sup>a</sup>	7.24 <sup>e</sup>
Small Fragrant	1.16 <sup>c</sup>	4.51 <sup>cd</sup>	9.19 <sup>ab</sup>	21.69 <sup>ab</sup>	2.28 <sup>abc</sup>	3.25 <sup>c</sup>	4.93 <sup>a</sup>	8.67 <sup>abc</sup>
Yasouj	1.74 <sup>bc</sup>	5.04 <sup>cd</sup>	9.00 <sup>ab</sup>	20.10 <sup>b</sup>	1.92 <sup>abc</sup>	3.62 <sup>abc</sup>	5.08 <sup>a</sup>	9.09 <sup>a</sup>
Tabase Golshan	3.88 <sup>ab</sup>	7.12 <sup>a</sup>	8.23 <sup>ab</sup>	21.81 <sup>ab</sup>	2.44 <sup>ab</sup>	3.47 <sup>abc</sup>	5.24 <sup>a</sup>	7.84 <sup>cde</sup>
Khusf 1	3.85 <sup>ab</sup>	5.35 <sup>bcd</sup>	7.91 <sup>ab</sup>	21.22 <sup>ab</sup>	1.74 <sup>bc</sup>	3.87 <sup>abc</sup>	5.85 <sup>a</sup>	8.79 <sup>ab</sup>
Khusf 2	4.90 <sup>a</sup>	5.21 <sup>bcd</sup>	8.87 <sup>ab</sup>	19.30 <sup>b</sup>	2.00 <sup>abc</sup>	3.87 <sup>abc</sup>	5.28 <sup>a</sup>	8.01 <sup>bcde</sup>
Behbahan 1	3.31 <sup>abc</sup>	4.72 <sup>cd</sup>	10.09 <sup>ab</sup>	18.92 <sup>b</sup>	2.59 <sup>a</sup>	3.55 <sup>abc</sup>	5.02 <sup>a</sup>	8.71 <sup>abc</sup>
Behbahan 2	3.74 <sup>abc</sup>	6.46 <sup>ab</sup>	9.02 <sup>ab</sup>	22.08 <sup>ab</sup>	2.12 <sup>abc</sup>	3.45 <sup>abc</sup>	5.45 <sup>a</sup>	8.27 <sup>abcd</sup>
Gachsaran	3.53 <sup>abc</sup>	5.68 <sup>bc</sup>	9.36 <sup>a</sup>	22.59 <sup>ab</sup>	1.59 <sup>c</sup>	4.07 <sup>a</sup>	5.30 <sup>a</sup>	8.19 <sup>bcd</sup>

Table 7: Mean comparison of population × cold interaction effects for malondialdehyde and total soluble sugars traits

Populations	Malondialdehyde (nMol/gr)				Total soluble sugars (mgr/gr)			
	22°C	+5°C	0°C	-5°C	22°C	+5°C	0°C	-5°C
Shehlai North	3.83 <sup>bc</sup>	7.23 <sup>a</sup>	7.51 <sup>b</sup>	15.77 <sup>a</sup>	3.53 <sup>c</sup>	6.81 <sup>b</sup>	12.04 <sup>c</sup>	19.06 <sup>b</sup>
Shastpar North	4.23 <sup>abc</sup>	5.93 <sup>a</sup>	10.90 <sup>ab</sup>	16.70 <sup>a</sup>	3.86 <sup>bc</sup>	11.25 <sup>a</sup>	15.63 <sup>abc</sup>	20.90 <sup>ab</sup>
Azadshahr	3.47 <sup>c</sup>	8.10 <sup>a</sup>	8.90 <sup>ab</sup>	19.57 <sup>a</sup>	4.60 <sup>abc</sup>	10.16 <sup>ab</sup>	15.89 <sup>abc</sup>	19.13 <sup>b</sup>
Shiraz 1	3.97 <sup>abc</sup>	7.60 <sup>a</sup>	10.23 <sup>ab</sup>	18.07 <sup>a</sup>	5.37 <sup>abc</sup>	11.59 <sup>a</sup>	13.36 <sup>abc</sup>	20.22 <sup>ab</sup>
Shiraz 2	3.97 <sup>abc</sup>	9.73 <sup>a</sup>	10.13 <sup>ab</sup>	16.33 <sup>a</sup>	4.35 <sup>abc</sup>	8.16 <sup>ab</sup>	13.02 <sup>abc</sup>	20.60 <sup>ab</sup>
Small Fragrant	4.10 <sup>abc</sup>	7.70 <sup>a</sup>	9.47 <sup>ab</sup>	16.83 <sup>a</sup>	6.01 <sup>a</sup>	8.61 <sup>ab</sup>	16.27 <sup>ab</sup>	20.53 <sup>ab</sup>
Yasouj	6.67 <sup>ab</sup>	8.33 <sup>a</sup>	10.80 <sup>ab</sup>	19.23 <sup>a</sup>	5.26 <sup>abc</sup>	8.99 <sup>ab</sup>	15.36 <sup>abc</sup>	19.06 <sup>b</sup>
Tabase Golshan	6.73 <sup>a</sup>	8.93 <sup>a</sup>	10.33 <sup>ab</sup>	14.10 <sup>a</sup>	5.79 <sup>ab</sup>	8.77 <sup>ab</sup>	12.69 <sup>bc</sup>	19.96 <sup>ab</sup>
Khusf 1	6.17 <sup>abc</sup>	5.90 <sup>a</sup>	11.47 <sup>ab</sup>	15.77 <sup>a</sup>	4.66 <sup>abc</sup>	10.84 <sup>ab</sup>	14.80 <sup>abc</sup>	21.02 <sup>ab</sup>
Khusf 2	6.13 <sup>abc</sup>	7.73 <sup>a</sup>	12.23 <sup>a</sup>	16.53 <sup>a</sup>	6.32 <sup>a</sup>	10.50 <sup>ab</sup>	17.17 <sup>a</sup>	21.77 <sup>ab</sup>
Behbahan 1	5.90 <sup>abc</sup>	8.60 <sup>a</sup>	12.63 <sup>a</sup>	18.20 <sup>a</sup>	5.22 <sup>abc</sup>	8.16 <sup>ab</sup>	14.80 <sup>abc</sup>	22.71 <sup>ab</sup>
Behbahan 2	3.70 <sup>c</sup>	8.77 <sup>a</sup>	11.76 <sup>a</sup>	17.47 <sup>a</sup>	4.96 <sup>abc</sup>	10.01 <sup>ab</sup>	16.79 <sup>ab</sup>	20.83 <sup>ab</sup>
Gachsaran	6.00 <sup>abc</sup>	9.97 <sup>a</sup>	11.60 <sup>ab</sup>	16.53 <sup>a</sup>	4.96 <sup>abc</sup>	8.16 <sup>ab</sup>	15.78 <sup>abc</sup>	24.37 <sup>a</sup>

Table 8: Mean comparison of population × cold interaction effects for osmotic potential and chilling stress traits

Populations	Osmotic potential (MPa)				Chilling stress (%)		
	22°C	+5°C	0°C	-5°C	Azar	Day	Bahman
Shehlai North	-0.80 <sup>bcde</sup>	-1.06 <sup>bcd</sup>	-1.40 <sup>d</sup>	-1.79 <sup>e</sup>	0.00 <sup>c</sup>	30.00 <sup>de</sup>	32.00 <sup>cd</sup>
Shastpar North	-0.82 <sup>cde</sup>	-0.94 <sup>ab</sup>	-0.99 <sup>a</sup>	-1.76 <sup>de</sup>	0.00 <sup>c</sup>	35.00 <sup>cd</sup>	37.00 <sup>bcd</sup>
Azadshahr	-0.55 <sup>a</sup>	-1.01 <sup>abcd</sup>	-1.07 <sup>ab</sup>	-1.64 <sup>cd</sup>	0.00 <sup>c</sup>	35.00 <sup>cd</sup>	37.00 <sup>bcd</sup>
Shiraz 1	-0.79 <sup>bcde</sup>	-1.12 <sup>bcd</sup>	-1.08 <sup>ab</sup>	-1.49 <sup>ab</sup>	5.00 <sup>c</sup>	40.00 <sup>bc</sup>	43.00 <sup>abc</sup>
Shiraz 2	-0.81 <sup>cde</sup>	-1.03 <sup>abcd</sup>	-1.14 <sup>ab</sup>	-1.66 <sup>cde</sup>	0.00 <sup>c</sup>	30.00 <sup>de</sup>	33.00 <sup>cd</sup>
Small Fragrant	-0.99 <sup>ef</sup>	-1.32 <sup>f</sup>	-1.36 <sup>cd</sup>	-1.46 <sup>ab</sup>	5.00 <sup>c</sup>	40.00 <sup>bc</sup>	41.00 <sup>abc</sup>
Yasouj	-0.93 <sup>def</sup>	-1.04 <sup>abcd</sup>	-1.17 <sup>abc</sup>	-1.44 <sup>a</sup>	10.00 <sup>b</sup>	45.00 <sup>ab</sup>	48.00 <sup>ab</sup>
Tabase Golshan	-1.23 <sup>g</sup>	-1.30 <sup>ef</sup>	-1.40 <sup>d</sup>	-1.72 <sup>cde</sup>	15.00 <sup>a</sup>	50.00 <sup>a</sup>	52.00 <sup>a</sup>
Khusf 1	-1.06 <sup>fg</sup>	-1.16 <sup>de</sup>	-1.25 <sup>bcd</sup>	-1.79 <sup>e</sup>	0.00 <sup>c</sup>	15.00 <sup>gh</sup>	17.00 <sup>fg</sup>
Khusf 2	-1.09 <sup>fg</sup>	-1.12 <sup>cd</sup>	-1.24 <sup>bcd</sup>	-1.80 <sup>e</sup>	0.00 <sup>c</sup>	25.00 <sup>ef</sup>	27.00 <sup>de</sup>
Behbahan 1	-0.72 <sup>abcd</sup>	-0.97 <sup>abc</sup>	-1.12 <sup>ab</sup>	-1.69 <sup>cde</sup>	0.00 <sup>c</sup>	20.00 <sup>fg</sup>	23.00 <sup>ef</sup>
Behbahan 2	-0.57 <sup>ab</sup>	-0.94 <sup>ab</sup>	-1.10 <sup>ab</sup>	-1.58 <sup>bc</sup>	0.00 <sup>c</sup>	30.00 <sup>de</sup>	32.00 <sup>cd</sup>
Gachsaran	-0.60 <sup>abc</sup>	-0.87 <sup>a</sup>	-1.08 <sup>ab</sup>	-1.79 <sup>e</sup>	0.00 <sup>c</sup>	10.00 <sup>h</sup>	12.00 <sup>h</sup>

شرایط تنش (سه تیمار دمایی مثبت پنج، صفر و منفی پنج) سرمازدگی با پتانسیل اسمزی همبستگی منفی و با پرولین همبستگی مثبت معنی داری داشت (جدول ۹).

### ۳-۵. تجزیه همبستگی و رگرسیون

تجزیه همبستگی بین صفات مختلف نشان داد که در شرایط نرمال (شاهد) سرمازدگی با پرولین همبستگی منفی و در

Table 9: Correlation analysis of different traits in narcissus populations in normal and stress conditions

Traits	Condition	Osmotic Potential (MPa)	Proline ( $\mu\text{Mol/gr}$ )	Malondialdehyde (nMol/gr)	Soluble Sugar (mgr/gr)	Phenol (mgr/gr)	Chilling stress (%)
Proline ( $\mu\text{Mol/gr}$ )	Normal	-0.08					
	Chilling	-0.89**					
Malondialdehyde (nMol/gr)	Normal	-0.39*	0.27				
	Chilling	-0.78**	0.93**				
Soluble Sugar (mgr/gr)	Normal	-0.22	0.11	0.08			
	Chilling	-0.81**	0.90**	0.88**			
Phenol (mgr/gr)	Normal	0.09	-0.07	-0.22	-0.19		
	Chilling	-0.84**	0.95**	0.94**	0.93**		
Chilling stress (%)	Normal	-0.26	-0.33*	-0.11	0.15	0.28	1
	Chilling	-0.32*	0.32*	0.27	0.24	0.29	1

ns, \*and\*\* are non-significant, significant at 5% and 1% levels, respectively

درصد سرمازدگی به ترتیب در شرایط نرمال و تنش نتیجه گرفته می شود که تجزیه رگرسیون نتایج تجزیه همبستگی را تأیید نمود و به نوعی تأکیدی مجدد بر اهمیت این صفت در شناسایی جمعیت های متحمل به سرمازدگی است (جدول ۱۰).

نتایج حاصل از تجزیه رگرسیون نشان داد که در هر دو شرایط نرمال و تنش تنها صفت پرولین وارد مدل گردید و لذا مهم ترین صفت موثر بر سرمازدگی شناخته شد. پرولین در شرایط نرمال با علامت منفی و در شرایط تنش با علامت مثبت وارد مدل گردید. باتوجه به همبستگی منفی و مثبت آن با

Table 10: Regression analysis of different traits in narcissus populations in normal and chilling stress conditions

Condition	Model	B	Std. Error	Beta	T value	Sig.
Normal temperature	Constant	38.51	3.90	-	9.87	0.00
	Proline	-2.54	1.89	-0.33	-2.14	0.03
Chilling stress	Constant	24.70	3.65	-	6.78	0.00
	Proline	0.55	0.27	0.32	2.05	0.04

ns, \*and\*\* are non-significant, significant at 5% and 1% levels, respectively.

عامل با کلیه صفات همبستگی بالایی داشت و اگرچه با درصد سرمازدگی همبستگی بالایی نداشت، لیکن قابل توجه و بالا بود و لذا این عامل آنرا نیز توجیه نمود. با در نظر گرفتن همبستگی این عامل با کلیه صفات، این عامل، عامل فیزیولوژی کل نام گذاری شد. علت اینکه تنها یک عامل تمامی واریانس را توجیه نمود همبستگی تقریباً بالای کلیه صفات با یکدیگر بود (جدول ۱۱).

### ۳-۷. تجزیه خوشه ای

براساس تجزیه خوشه ای در شرایط نرمال جمعیت ها در سه خوشه قرار گرفتند. در خوشه اول جمعیت های یاسوج، طبس گلشن، شیراز یک، کوچک عطری یاسوج، شصت پر شمال و آزادشهر در خوشه دوم جمعیت های خوسف یک و گچساران و در خوشه سوم جمعیت های شهلا شمال، شیراز دو، بهبهان دو، خوسف دو و بهبهان یک قرار گرفتند (شکل ۲).

### ۳-۶. تجزیه به مؤلفه های اصلی و تجزیه عاملی

تجزیه به مؤلفه های اصلی نشان داد که در شرایط نرمال (شاهد) در مجموع دو مؤلفه بیش از ۵۰ درصد (۵۳/۶۴ درصد) از واریانس داده ها را توجیه نمودند. تجزیه عاملی در شرایط نرمال نشان داد که عامل اول با صفات مقدار فنل و درصد سرمازدگی همبستگی مثبت و با صفت پرولین همبستگی منفی و عامل دوم با صفات مالون دی آلدئید و قندهای محلول کل همبستگی مثبت و با پتانسیل اسمزی همبستگی منفی بالایی داشت. با در نظر گرفتن همبستگی عامل ها با صفات مورد نظر، عامل اول، عامل سرمازدگی و عامل دوم، باتوجه به همبستگی قندها (هیدرات کربن) با تنظیم اسمزی و توجیه نمودن پتانسیل اسمزی، عامل اسمزی نام گذاری شد. در شرایط تنش (سه تیمار دمایی) تنها یک مؤلفه درصد بالایی (۷۷/۵۸ درصد) از واریانس داده ها را توجیه نمود. تجزیه عاملی در شرایط تنش نشان داد که این یک

شمال قرار گرفته است. در هر صورت خوشه‌ها در هر دو شرایط تغییر چندانی نکرده است.

آنچه مسلم است این است که قرارگیری جمعیت‌ها در خوشه‌ها بر اساس دوری و یا نزدیکی جغرافیایی نبوده است و بر اساس مقدار مقاومت به سرما در یک خوشه و یا در دو خوشه متفاوت قرار گرفته‌اند. به عنوان مثال قرارگیری جمعیت‌های مختلف با فاصله جغرافیایی دور، مثلاً خوسف دو (از خراسان جنوبی) با گچساران (کهگیلویه و بویراحمد) و بهبهان دو (خوزستان) با شهلای شمال در یک خوشه و قرارگیری جمعیت‌های با فاصله جغرافیایی نزدیک مانند طبس گلشن و خوسف (هر دو نمونه از خراسان جنوبی) در دو خوشه متفاوت نشان از آن دارد که تنوع ژنتیکی از تنوع جغرافیایی تبعیت نمی‌نماید. قرارگیری جمعیت‌های طبس گلشن با یاسوج در یک خوشه مبین این است که جمعیت‌های هر دو ناحیه حساس به سرما بوده و بر این اساس در یک گروه قرار گرفته‌اند.

در شرایط تنش نیز جمعیت‌ها در سه خوشه قرار گرفتند. در خوشه اول جمعیت‌های شیراز دو، بهبهان دو، شهلای شمال، خوسف دو و بهبهان یک، در خوشه دوم جمعیت‌های خوسف یک و گچساران و در خوشه سوم جمعیت‌های شیراز یک، کوچک عطری یاسوج، شصت‌پر شمال، آزادشهر، یاسوج و طبس گلشن قرار گرفتند (شکل ۳).

بررسی خوشه‌ها نشان می‌دهد که در هر دو شرایط جمعیت‌های قرار گرفته در خوشه‌ها مشابه است و تنها جایگاه خوشه‌ها تغییر کرده است. خوشه اول در شرایط نرمال مشابه با خوشه سوم در شرایط تنش، خوشه سوم در شرایط نرمال مشابه با خوشه اول در شرایط تنش و خوشه دوم در هر دو شرایط یکی است. نکته دیگری که مشاهده می‌شود این است که دوری و نزدیکی جمعیت‌ها کمی تغییر کرده است. به عنوان مثال در خوشه اول در شرایط نرمال جمعیت خوسف دو در بین جمعیت‌های بهبهان یک و بهبهان دو قرار گرفته است، ولی در شرایط تنش در بین جمعیت‌های بهبهان یک و شهلای

Table 11: Factor analysis in normal and chilling stress conditions in narcissus populations

Traits	Normal temperature		Chilling stress
	F1	F2	F1
Osmotic Potential	0.01	-0.83	-0.91
Proline	-0.67	0.09	0.98
Malondialdehyde	-0.51	0.55	0.95
Soluble Sugar	-0.05	0.58	0.94
Phenol	0.57	-0.18	0.98
Chilling stress	0.77	0.46	0.38
Eigenvalue	1.64	1.58	4.66
Variance%	27.27	26.37	77.58
Cumulative Variance%	27.27	53.64	77.58

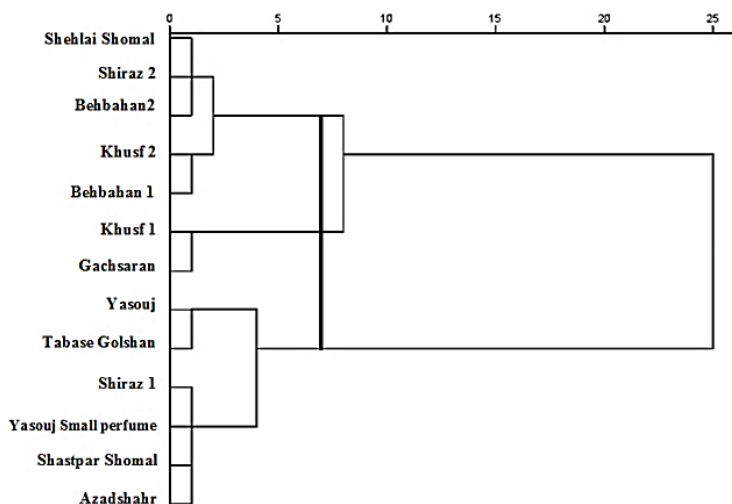


Fig. 2: Cluster analysis of different traits in narcissus populations in normal condition

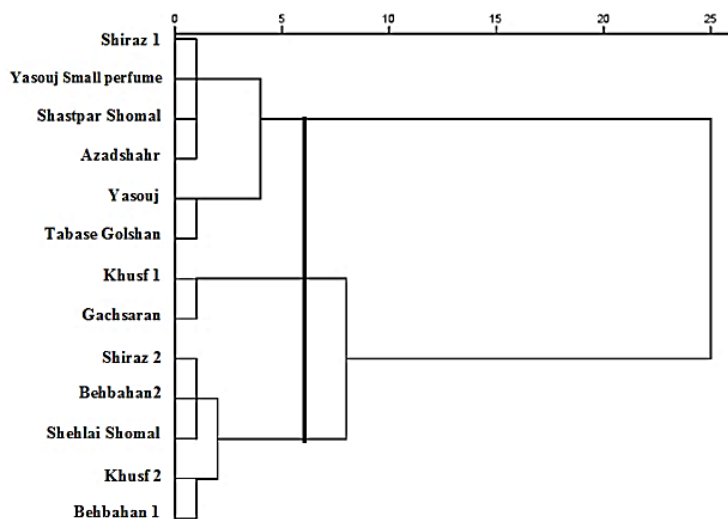


Fig. 3: CorrelClustering analysis of different traits in narcissus populations in stress condition

#### ۴. بحث و نتیجه گیری

نتایج به دست آمده در این مطالعه نشان داد که با کاهش دما پتانسیل اسمزی افزایش (در جهت منفی) پیدا نمود. سرما به عنوان یک تنش اسمزی جذب آب از ریشه گیاه را محدود کرده و باعث افت پتانسیل آب می شود (Joshi *et al.*, 2007) که کم آبی شدیدی را به دنبال خواهد داشت و به معنی افزایش پتانسیل اسمزی در جهت منفی است. خسارت سرمازدگی در گونه های حساس در درجه حرارت هایی اتفاق می افتد که از حد طبیعی برای رشد گیاه کمتر باشد، ولی این درجه حرارت ها باعث شکل گیری یخ نشوند. در شرایط خسارت سرما مقدار فتوسنتز و انتقال کربوهیدرات ها کاهش یافته و تنفس آهسته تر و ساخت پروتئین ها کاهش می یابد و در الگوی جریان سیتوپلاسمی اختلال ایجاد می گردد (Rahnama, 2019). گیاه با توجه به شرایط تنش سرما سعی می کند پتانسیل اسمزی خود را از راه تنظیم کننده اسمزی افزایش دهد تا تحمل آن در مقابل سرما افزایش یابد (Olennikov *et al.*, 2017).

در این مطالعه با کاهش دما مقدار مالون دی آلدئید افزایش پیدا نمود. سرمازدگی باعث تنش اکسیداتیو شدید و تولید گونه های فعال اکسیژن (ROS) در گیاهان می شود که خود عامل بروز خسارت در گیاهان هستند. تحت شرایط سرمازدگی، تولید بیش از اندازه ROS ها از جمله پراکسید هیدروژن باعث تجمع و بروز خسارت در گیاهان می شود، چون ROS ها باعث اکسید شدن ترکیبات آلی و در نتیجه چربی های غشاء می شوند. سمیت ROS ها اغلب از طریق

اندازه گیری پراکسیداسیون لیپیدها مشاهده می شود. مالون دی آلدئید یکی از فرآورده های نهایی پراکسیداسیون لیپیدها در نتیجه ی تنش است که به عنوان یک نشانگر جهت حساسیت به سرما به کار می رود (Prasad *et al.*, 1994). در توت فرنگی کاهش دما سبب افزایش خطی مقدار مالون دی آلدئید گردید (Gulen *et al.*, 2008). بررسی بافت برگ *D. palmatum* تحت شرایط دمای پایین نشان دهنده افزایش قابل ملاحظه ای در مقدار مالون دی آلدئید بود و مویذ این مطلب است که تنش سرما باعث آسیب به لیپیدهای غشاء شده است (Olennikov *et al.*, 2017). تنش دمای پایین سبب افزایش معنی دار محتوای مالون دی آلدئید در گیاهچه های سرخارگل شد، به طوری که بیشترین مقدار مالون دی آلدئید در دمای منفی چهار درجه سانتی گراد به دست آمد که نسبت به دمای شاهد ۵۰/۷ درصد افزایش داشت (Asadi-Sanam *et al.*, 2015). تغییرات مالون دی آلدئید در ژنوتیپ های مختلف کنجد در زمان های مختلف متفاوت بود و با افزایش تنش سرما مقدار مالون دی آلدئید افزایش یافت که نشان دهنده حداکثر آسیب وارد شده به غشاء بود (Aki *et al.*, 2016).

در مطالعه کنونی با کاهش دما مقدار پرولین افزایش پیدا نمود. در بسیاری از گیاهان هنگامی که گیاه در معرض تنش های محیطی قرار می گیرد پرولین تجمع می یابد. پرولین از طریق تنظیم فشار اسمزی، جلوگیری از تخریب آنزیم ها و زدودن رادیکال های هیدروکسیل، تحمل گیاهان را در برابر تنش ها افزایش می دهد (Kuznetsov and

داشته باشند کمتر و در ارقام حساس تر، بیشتر خواهد بود. بررسی پراکسیداسیون لیپید در گونه های مختلف آراییدوپسیس تحت تنش سرما، افزایش مقدار مالون دی آلدئید در گونه حساس تر را نشان داد (Distelbarth, et al., 2012). در پژوهشی دیگر، (Wang et al., 2013) دو گونه از گیاه برنج را تحت تنش سرما مورد بررسی قرار داده و شاهد آسیب بیشتر غشاء و تجمع چشمگیر مالون دی آلدئید در گونه حساس بودند.

گیاهان عموماً از طریق فعال سازی سیستم آنتی اکسیدانی، شامل آنزیم ها (کاتالاز، پراکسیداز،...) و متابولیت های آنتی اکسیدانی (فنل، کاروتنوئیدها) سازگاری خویش به تنش دمای پایین را افزایش می دهند (Jafari et al., 2007). در مجموع نتایج این تحقیق نشان داد که با وقوع تنش خشکی میزان کل فنل افزایش یافت. (Peterlunger et al., 2005) با مطالعه بر روی ژنوتیپ های انگور دریافتند که در شرایط تنش محتوای ترکیب های فنولیک گیاه انگور چندین برابر در مقایسه با شرایط عدم تنش افزایش داشت. (Ma et al., 2004) نیز دریافتند که محتوی فلاونوئید، فنل و آنتوسیانین کل در ژنوتیپ های گندم در شرایط تنش افزایش نشان داد. ترکیب های پلی فنولیک مورد مطالعه در ژنوتیپ های انار ایرانی در شرایط تنش افزایش یافت؛ هرچند با افزایش شدت تنش از نظر محتوی فنل تم تفاوت معنی داری مشاهده نگردید (Faraji et al., 2020). یکی از سازوکارهای دفاعی گیاه در شرایط تنش افزایش بیان ژن های مسیر بیوستنز فلاونوئیدها به عنوان شناخته شده ترین مسیر در متابولیسم متابولیت های ثانویه و مشتق شده از مسیر سنتز فنیل پروپانویید است (Shih et al., 2008). آنچه مسلم است این است که نتایج این مطالعه با گزارش های فوق مطابقت دارد و در اکثر مطالعات با افزایش شدت تنش (خشکی، شوری، سرما و...) مقدار فنل کل افزایش می یابد. این نتایج با گزارش (Tadjar et al., 2011) در گیاه نارنگی همخوانی دارد.

نتایج نشان داد که با کاهش دما مقدار فندهای محلول افزایش پیدا نمود. به صورت کلی افزایش فندهای محلول در برگ و ریشه را می توان یکی از مهم ترین عکس العمل های گیاهان در مقابل تنش سرما در نظر گرفت (Kerepesi et al.,

1999) و باعث کاهش از دست دادن آب و نگهداری آماس سلول می شود. در تعدادی از گیاهان تحت تنش سرما مقدار پرولین تا ۱۰۰ برابر شرایط نرمال افزایش می یابد. مقدار تجمع پرولین در ژنوتیپ های حساس بیشتر می باشد (Matysik et al., 2002). میزان پرولین گوجه فرنگی در اثر تنش سرما کاهش و در آراییدوپسیس افزایش پیدا می کند (Soleimani Aghdam et al., 2014). در پایه های مرکبات افزایش پرولین همبستگی خوبی با مقدار مقاومت نسبی به سرمازدگی نداشت. در گیاهان حساس افزایش پرولین سلولی به اندازه ای نیست که موجب افزایش مقاومت به سرما شود و افزایش پرولین سلولی همیشه موجب افزایش مقاومت به سرما نمی شود (Young, 1977). در بررسی کلون های عناب مقدار پرولین در کلون آسیب دیده از سرمازدگی، بالاتر از کلون مقاوم بود و پرولین نشانه ای از آسیب تا یک عکس العمل سازشی بود (Khalafalla and Palzkill, 1990). تأثیر سرما بر خصوصیات فیزیولوژیکی ژنوتیپ های مختلف کنگد نشان داد که روند تغییرات پرولین به صورت افزایشی بوده و با افزایش سرما همه ژنوتیپ ها با تجمع پرولین همراه بودند (Aki et al., 2016). همبستگی منفی بالایی بین مقدار پرولین و مقاومت به سرما دیده شده است (Barka and Audran, 1997). در بررسی ارقام انار مقدار بالای پرولین واقعاً مقاومت بالا به سرمازدگی را نشان نداد، زیرا سطح پرولین هم چنان بعد از شکستن مقاومت بالا بود (Soloklui et al., 2012). پرولین محلول با تغییر حلالیت پروتئین های مختلف باعث افزایش پایداری آنها گشته و از تغییر ماهیت آنها جلوگیری می کند (Li et al., 2008). همه گیاهان در شرایط تنش (زیستی و غیرزیستی) پرولین را در بافت های خود ذخیره می کنند، ولی مقدار آن بسته به گونه گیاهی و شدت تنش ممکن است متفاوت باشد. بنابراین به طور کل ارتباط بین تجمع پرولین و مقاومت به سرما برای هر گونه گیاهی حتی رقم متفاوت است و نمی توان به طور قطع درباره نقش آن سخن گفت.

طی این بررسی مقدار مالون دی آلدئید با کاهش دما افزایش یافت. انتظار می رود که تحت تنش سرما به علت فعالیت رادیکال های آزاد اکسیژن و تخریب غشاء، مقدار مالون دی آلدئید آزاد شده افزایش یابد. تحقیقات نشان داده که مقدار مالون دی آلدئید در ارقامی که مقاومت بیشتری در مقابل تنش

2004). مطالعات قبلی نشان داده است که قندهای محلول دارای وزن مولکولی پایین نقش کلیدی را در تحمل به دمای پایین در گیاهان دارند. غلظت گلوکز و ساکارز ممکن است چندین بار در معرض دمای پایین افزایش یابد (Cao et al., 2014). تجمع قند باعث تقویت عملکرد حفاظت کننده های اسمزی می گردد که در واقع به دنبال آن ثبات غشای سلولی و حفظ فشار تورژسانس می گردد (Emami Bistgani et al., 2017). در شناسایی برخی از ویژگی های فیزیولوژیکی مرتبط با مقاومت به سرما در گندم غلظت قندهای محلول برگ گیاهان نسبت به قبل از سرمادهی افزایش یافت و به علاوه فرآیند تجمع قند پس از تنش سرما در گیاهان رویش یافته در دمای پائین بهتر صورت گرفت (Ahmadi et al., 2005). قندها سبب تنظیم فشار اسمزی و کاهش از دست دادن آب سلول و نگهداری آماس می شوند (Karimi et al., 2012). در گیاه بادرنجبویه قندهای محلول در شدت های متوسط تنش، افزایش قابل توجهی داشت و با شدیدتر شدن تنش، مقدار قند شروع به کاهش نمود (Abbaszadeh et al., 2007). در این مطالعه گیاه از یک سو با افزایش قندهای محلول و از سوی دیگر با افزایش مقدار پرولین که نشان دهنده تجمع مواد سازگارکننده جهت حفاظت اسمزی است، شرایط سازگاری گیاه با شرایط تنش فراهم شده است.

از مجموع نتایج تجزیه همبستگی و رگرسیون بر می آید که صفات پتانسیل اسمزی و پرولین صفات شاخصی در شناسایی جمعیت های متحمل به سرما در این مطالعه است. باتوجه به همبستگی منفی پتانسیل اسمزی با درصد سرمازدگی در هر دو شرایط این گونه قضاوت می شود که هر چه پتانسیل اسمزی بیشتر باشد درصد سرمازدگی کمتر و در نتیجه مقاومت به سرما بیشتر خواهد بود. باتوجه به همبستگی منفی و مثبت پرولین با سرمازدگی در شرایط نرمال و تنش می توان این گونه قضاوت نمود که هرچقدر مقدار پرولین در ابتدا بیشتر باشد (دمای محیط = شرایط نرمال) و پس از متحمل شدن یک دوره

سرما (شرایط تنش) کم تر گردد، جمعیت مقاوم تر به سرمازدگی خواهد بود. علت این امر می تواند مصرف پرولین در ساخت محافظت کننده های اسمزی در گیاه باشد. به عبارت دیگر گیاه پرولین خود را صرف مقابله با سرمازدگی نموده است. بالاترین درصد سرمازدگی را جمعیت هشت (طبس گلشن) و کمترین را جمعیت ۱۳ (گچساران) به خود اختصاص دادند. نتایج تجزیه عاملی نیز نشان داد که صفات مقدار فنل و پرولین همراه با سرمازدگی در یک عامل توجیه شدند و لذا این صفات مهم تر از سایر صفات در شناسایی جمعیت های متحمل به سرما می باشند. بررسی خوشه ها در تجزیه کلاستر نشان داد که خوشه جمعیت های یاسوج، طبس گلشن، شیراز یک، کوچک عطری یاسوج، شصت پر شمال و آزادشهر به عنوان خوشه حساس به سرمازدگی، خوشه جمعیت های خوسف یک و گچساران خوشه مقاوم و خوشه جمعیت های شهلا شمال، شیراز دو، بهبهان دو، خوسف دو و بهبهان یک به عنوان خوشه حد واسط در مقاومت به سرمازدگی بودند. به طور کل و با در نظر گرفتن نتایج حاصل از تمامی تجزیه ها جمعیت گچساران مقاوم ترین و جمعیت طبس گلشن حساس ترین جمعیت در این مطالعه شناخته شد.

باتوجه به اهمیت روزافزون به گیاهان داروئی و گل های زینتی و تنوع آب و هوایی موجود توصیه می گردد که این آزمایش در سال ها و دماهای مختلف و محیط های دیگر غیر از خراسان جنوبی برای تعیین جمعیت برتر صورت گیرد. به بررسی مقدار تنش در مراحل مختلف رشد گیاه و بررسی دیگر آنتی اکسیدان ها و متابولیت های درگیر در فعالیت سلولی پرداخته شود و در صورت در اختیار داشتن امکانات گلخانه ای پیشرفته آزمایش در سطوح دمایی پایین تر مورد مطالعه قرار گیرد. محققینی که تمایل به مطالعه در زمینه مقاومت به سرما دارند، حتما جمعیت ها (گچساران مقاوم و طبس گلشن حساس) و صفات مهم شناسایی شده (پتانسیل اسمزی و پرولین) در این مطالعه را بیشتر مورد واکاوی قرار دهند.

## ۵. منابع

- Abbaszadeh, B., Sharifi Ashourabadi, E., Lebaschi, M. H., Naderi Haji Bagherkandi, M. and Moghadami, F. (2007). The effect of drought stress on proline contents, soluble sugars, chlorophyll and relative water contents of Balm (*Melissa officinalis* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 23 (4): 504-513. <https://doi.org/10.22092/ijmapr.2008.10090>. (In Persian with English abstract).



- Ahmadi, A., Yazdi Samadi, B. and Zargarnataj, J. (2005). Physiological responded of Wheat seedlings to low temperatures. *Journal of Agricultural Knowledge*, 15 (2): 27-43. (In Persian with English abstract).
- Aki, F., Kazemitabar, S. K., Hashemi, S. H. and Najafi Zarini, H. (2016). Evaluated of effect of cold stress on proline, malondialdehyde and photosynthetic pigments in seedling stage of Sesame (*Sesamum indicum* L.) genotypes. *Journal of Crop Breeding*, 8 (18): 166-175. <https://doi.org/10.29252/jcb.8.18.166>.
- Asadi-Sanam, S., Zavareh, M., Pirdashti, H., sefidcan, F. and Nematzadeh, G. (2015). Evaluation of biochemical and physiological responses of purple coneflower (*Echinacea purpurea* L.) medicinal plant to low temperature stress. *Plant Process and Function*, 4 (12) :11-28. <https://doi.org/20.1001.1.23222727.1394.4.12.8.8>. (In Persian with English abstract).
- Ashraf, M. and Foolad, M. R. (2007). Role of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany*, 59: 206-216. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2005.12.006>.
- Bates, L., Waldren, R. and Teare, I. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and soil*, 39 (1): 205-207. <https://doi.org/10.1007/BF00018060>.
- Bettaieb, I., Bourgou, S., Aidi Wannas, W., Hamrouni, I., Limam, F. and Marzouk, B. (2010). Essential oils, phenolics, and antioxidant activities of different parts of Cumin (*Cuminum cyminum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58 (19): 10410-10418. <https://doi.org/10.1021/jf102248j>. PMID:20809647.
- Bhattacharjee, S. and Mukherjee, A. K. (2002). Salt stress induced cytosolute accumulation, antioxidant response and membrane deterioration in three rice cultivars during early germination. *Seed Science and Technology*, 30: 279287. <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:89234851>.
- Cao, Y. Y., Tao Yang, M., Li, X., Qing, Z., Juan, X., Ji, W. and Bai, G. (2014). Exogenous sucrose increases chilling tolerance in cucumber seedlings by modulating antioxidant enzyme activity and regulating proline and soluble sugar contents. *Scientia Horticulturae*, 179: 67-77. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2014.09.016>
- Cansev, A., Gulen, H., Celik, G. and Eris, A. (2012). Alterations in total phenolic content and antioxidant capacity in response to low temperatures in Olive (*Olea europaea* L. cv. Gemlik). *Plant Archives*, 12: 489-494.
- Curtis, I. S. (2003). The noble radish: past, present and future. *Trends in Plant Science*, 8 (7): 305-307. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(03\)00127-4](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(03)00127-4). PMID:12878009
- Delauney, A. J. and Verma, D. P. S. (1993). Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. *The plant journal*, 4 (2): 215-223. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.1993.04020215.x>
- Distelbarth, H., Neagele, T. and Heyer, A. G. (2012). Responses of antioxidant enzymes to cold and high light are not correlated to freezing tolerance in natural accessions of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Biology*, 15 (6): 982-990. <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.2012.00718.x>. PMID:23578291
- Ebrahimi, A., Hatamzadeh, A. and Hassanpour Asil, M. (2014). Evaluation effect of low temperature on rowth and flowering processes of ornamental bulbous plants. In: *proceeding of the First Electronic Congress of New Findings in the Environment and Agricultural Ecosystems*, Tehran, Iran.
- Emami Bistgani, Z., Siadat, S. A., Bakhshandeh, A., Ghasemi Pirbalouti, A. and Hashemi, M. (2017). Interactive effects of drought stress and chitosan application on physiological characteristics and essential oil yield of *Thymus daenensis* Celak. *The Crop Journal*, 5: 407-415. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2017.04.003>. (In Persian with English abstract).
- Faraji, S., Hadadinejad, M., Abdoosi, V., Basaki, T. and Karami, S. (2020). Effects of drought stress on the phenol, flavonoid and cyanidin 3-glocoside content of juice and fruit yield in native pomegranate genotypes (*Punica granatum* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 35 (6): 889-901. <https://doi.org/10.22092/ijmapr.2019.123934.2426>. (In Persian with English abstract).
- Gulen, H., Çetinkaya, C., Kadioğlu, M., Kesici, M., Cansev, A. and Eriş, E. (2008). Peroxidase activity and lipid peroxidation in Strawberry (*Fragaria X ananassa*) plants under low temperature. *Journal of Biology and Environment Science*, 2: 95-100.
- Heath, B. and Heath, B. (2001). *Daffodils: for north american gardens*. Bright Sky Press, 144p.
- Heath, R. L. and Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplast, kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Journal of Archives of Biochemistry and Biophysics*. 125: 189-198. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(68\)90654-1](https://doi.org/10.1016/0003-9861(68)90654-1). PMID:5655425
- Heuer, B. (1994). *Osmoregulatory role of proline in water-and salt -stressed plants*. Handbook of Plant and Crop Stress. Marcel Dekker publication, New York.
- Iranpak, N., Kalateh Jari, S. and Kalantari, S. (2012). Effects of explant and plant growth regulators on callus induction and shoot formation in *Narcissus tazetta* L. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 28 (2): 356-369. <https://doi.org/10.22092/ijmapr.2012.3052>. (In Persian with English abstract).
- Jafari, S. R., Manoochehri Kalantari, K. H. and Ahmadi Mosave, E. S. (2007). The role of paclobutrazol on accumulation of antioxidant in tomato plants (*Lycopersicum esculentom* L.) under cold stress. *Iranian Journal of Biology*, 20 (3): 206-218. (In Persian with English abstract).
- Joshi, S. C., Chandra, S. and Palni, L. M. S. (2007). Differences in photosynthetic characteristics and accumulation of osmoprotectants in saplings of evergreen plants grown inside and outside a glasshouse during the winter season. *Photosynthetica*, 45 (4): 594-600. <https://doi.org/10.1007/s11099-007-0102-5>
- Kamenetsky, R. and Okubo, H. (2013). *Ornamental geophytes: from basic science to sustainable production*. CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 578 p. <https://doi.org/10.1201/b12881>

- Karimi, S., Abbaspour, H., Sinaki, J. M. and Makarian, H. (2012). Effects of water deficit and chitosan spraying on osmotic adjustment and soluble protein of cultivars castor bean (*Ricinus communis* L.). *Journal of Stress Physiology and Biochemistry*, 8: 160-169.
- Kerepesi, I., Bányai-Stefanovits, E. and Galiba, G. (2004). Cold acclimation and abscisic acid induced alterations in carbohydrate content in calli of wheat genotypes differing in frost tolerance. *Plant Physiology*, 161 (1): 131-133. <https://doi.org/10.1078/0176-1617-00766>. PMID:15002675
- Kexuan, T., XingLong, W., XiaoFen, S., ZhongXiang, D. and Teixeira da Silva, J. (2006). Cold: a double-edged sword to plants. *Floriculture, Ornamental and Plant Biotechnology*, 102-107.
- Khalafalla, M. S. and Palzkill, D. A. (1990). Seasonal patterns of carbohydrates and proline in jojoba clones that differ in frost susceptibility. *HortScience*, 25 (1): 103-105. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.25.1.103>
- Khorshidi, S. H., Davarynejad, G. H., Samiei, L. and Moghaddam, M. (2016). Investigation of the frost resistance of vegetative and reproductive buds of pear cultivars in Mashhad climate condition. *Journal of horticulture science*, 30 (3): 581 - 589. <https://doi.org/10.22067/jhorts4.v30i3.50169>
- Kuznetsov, V. I. and Shevykova, N. I. (1999). Proline under stress: Biological role, metabolism, and regulation. *Russian Journal of Plant Physiology*, 46: 274-287.
- Le Gall, H., Philippe, F., Domon, J. M., Gillet, F., Pelloux, J. and Rayon, C. (2015). Cell wall metabolism in response to abiotic stress. *Plants*, 4 (1):112-166. <https://doi.org/10.3390/plants4010112>. PMID:27135320. PMCid:PMC4844334.
- Levitt, J., 1980. *Responses of plant to environmental stress. Water, radiation, salt and other stresses*. Academic Press, New York.
- Li, X. F., Shao, X. H., Deng, X. J., Wang, Y., Zhang, X. P., Jia, L.Y. and Xu, L. (2012). Necessity of high temperature for the dormancy release of *Narcissus tazetta* var. chinensis. *Journal of plant physiology*. 169 (14): 1340-1347. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2012.05.017>. PMID:22795676.
- Li, Q. Y., Niu, H. B., Yin, J., Wang, M. B., Shao, H. B., Deng, D. Z., Chen, X. X., Ren, J. P. and Li, Y. C. (2008). Protective role of exogenous nitric oxide against oxidative stress induced by salt stress in barley (*Hordeum vulgare*). *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 56 (2): 220-225. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2008.04.007>. PMID:18502620.
- Ma, D., Sun, D., Wang, C., Li, Y. and Guo, T. (2014). Expression of flavonoid biosynthesis genes and accumulation of flavonoid in wheat leaves in response to drought stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 80: 60-66. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2014.03.024>. PMID:24727789.
- Matysik, J., Bhalu, A. B. and Mohnty, P. (2002). Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline under stress in plants. *Current Science*, 82 (5): 525-532.
- Mocready, R., Guggolz, J., Silveira, V. and Owens, H. (1950). Determination of starch and amylose in vegetables. Application to peas. *Analytical Chemistry*, 22 (9): 1156-1158. <https://doi.org/10.1021/ac60045a016>
- Olennikov, D. N., Chirikova, N. K., Kashchenko, N. I., Gornosta, T. G., Selyutina, Y. I. and Zilfikarov, I. N. (2017). Effect of low temperature cultivation on the phytochemical profile and bioactivity of arctic Plants: A case of *Dracocephalum palmatum*. *International journal of Molecular Science*, 1-29. <https://doi.org/10.3390/ijms18122579>. PMID:29189749. PMCid:PMC5751182.
- Peterlunger, E., Siviloti, P. and Colussi, V. (2005). Water stress and polyphenolic quality in 'Merlot' grapes. *Acta horticulturae*, 689: 293-300. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2005.689.34>
- Prasad, T. K., Anderson, M. D., Martin, B. A. and Stewart, C. R. (1994). Evidence for chilling-induced oxidative stress in maize seedlings and a regulatory role for hydrogen peroxide. *The Plant Cell*, 6: 65-74. <https://doi.org/10.1105/tpc.6.1.65>. PMID:12244221 PMCid:PMC160416.
- Rahnama, A. (2019). *Plant physiology*. Puran Pazhohesh Publications, 399 p.
- Salimi, M., Madahhosseini, S. H., Azari, A. and Mohammadi Mirik, A. A. (2019). Effect of cold stress on some physiological characteristics and antioxidant systems in (*Linum usitatissimum* L.) genotypes at seedling stage. *Journal of Plant Process and Function*, 9 (33): 449-461. <https://doi.org/20.1001.1.23222727.1398.8.33.4.4>. (In Persian with English abstract).
- Seppanen, M. 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, Helsinki, Finland.
- Shih, C. H., Chu, H., Tang, L. K., Sakamoto, W., Maekawa, M., Chu, I. K., Wang, M. F. and Lo, C. (2008). Functional characterization of key structural genes in rice flavonoid biosynthesis. *Planta*, 228: 1043-1054. <https://doi.org/10.1007/s00425-008-0806-1>. PMID:18726614
- Singleton, V. L. and Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16 (3): 144-158. <https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144>
- SKAJO. (2023). South Khorasan Agricultural Jihad Organization. Available at: www. <https://kj-agrijahad.ir/pr/index.php>.
- Soleimani Aghdam, M., Asghari, M. R., Khorsandi, O., Moradbeygi, H., Mohammadkhani, N., Mohayjeji, M. and Hassanpouraghdam, M. B. (2014). Possible mechanisms of salicylic acid effects for alleviation of postharvest chilling injury on tomato fruit. *Journal of Plant Research*, 27 (2): 216-227.(In Persian with English abstract). <https://doi.org/20.1001.1.23832592.1393.27.2.6.6>

- Soloklui, A. A. G., Ershadi, A. and Fallahi, E. (2012). Evaluation of cold hardiness in seven Iranian commercial pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars. *HortScience*, 47 (12): 1821-1825. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.47.12.1821>
- Tabaei-Aghdael, R., Pearce, R.S. and Harrison, P. (2003). Sugars regulate cold-induced gene expression and freezing tolerance in barley culture. *Journal of Experimental Botany*, 54 (387):1565-1575. <https://doi.org/10.1093/jxb/erg173>. PMID:12730262
- Tadjvar, Y., Fotouhi Ghazvini, R., Hamidoghli, Y. and Sajedi, R.H. (2011). Physiological and biochemical responses of Page mandarin on citrange rootstock to low temperature stress. *Journal of Plant Biology*, 3 (9): 1-12. <https://doi.org/10.1001.1.20088264.1390.3.9.2.2>.
- Wang, X., Fang, G., Li, Y., Ding, M., Gong, H. and Li, Y. (2013). Differential antioxidant responses to cold stress in cell suspension cultures of two subspecies of rice. *Plant Cell Tissue Organisms Culture*, 113: 353-361. <https://doi.org/10.1007/s11240-012-0273-z>
- Yadav, S.K. (2010). Cold stress tolerance mechanisms in plants. *Agronomy for Sustainable Development*, 30 (3): 515-527. <https://doi.org/10.1051/agro/2009050>
- Young, R.H. (1977). The effect of rootstocks on citrus cold hardiness. *President of the international society of citriculture*, 2: 518-522. <https://doi.org/10.1080/87559129.2021.1978093>
- Zeinanloo, A. and Tajik, H. (2022). Assessment of cold stress tolerance in the leaves of some olive (*Olea europaea* L.) cultivars. *Seed and Plant*, 38 (3): 323-338. <https://doi.org/10.22092/spj.2023.360267.1278>