

Effect of UV-B radiation on physiological and phytochemical indices related to cold tolerance in Yaghooti grapes (*Vitis vinifera* L.)

Ahmad Orooji¹, Rouhollah Karimi^{2*} , Alireza Shayganfar³

1. MSc Student in Fruit Science, Department of Horticulture and Landscape Engineering, Faculty of Agriculture, Malayer University, Malayer, Iran
2. Associate Professor, Department of Horticulture and Landscape Engineering, Faculty of Agriculture, Malayer University, Malayer, Iran
3. Assistant Professor, Department of Horticulture and Landscape Engineering, Faculty of Agriculture, Malayer University, Malayer, Iran

Citation: Orooji, A., Karimi, R., Shayganfar, A. (2024) Effect of UV-B radiation on physiological and phytochemical indices related to cold tolerance in Yaghooti grapes (*Vitis vinifera* L.). *Plant Productions*, 47(2),195-212

Abstract

Introduction

Environmental stresses, especially damage caused by frost, often have a significant effect on plant growth and development. In order to adapt to the cold, plants show specific physiological and biochemical responses that lead to an increase in their durability and survival during exposure to low temperature. The use of ultraviolet (UV) rays to increase cold tolerance and physiological and biochemical changes related to it has been less researched. This is while UV-B is not necessarily a source of stress, but moderate, non-harmful levels of UV-B act as an environmental signal in higher plants and able to induce several key reactions in order to adapt to cold in the plant.

Materials and Methods

This experiment was carried out on rooted seedlings of *Vitis vinifera* L. cv. Yaghooti in a factorially (3×3) based on a completely randomized design with three replications in the research greenhouse of Malayer University in the spring and summer of 2022. In the 15-leaf stage, the vines (except for the control) were exposed to two doses of UV-B radiation in the following order: first dose (control): natural light, second dose (moderate): 5.98 kJ m⁻² d⁻¹ (equal to 0.55 W/m² for 3 hours) and the third dose (severe): 9.66 kJ m⁻² d⁻¹ (equal to 0.55 W/m² for 4.5 hours) was applied to the plants under the natural photoperiod in the greenhouse in June. After applying UV-B radiation treatments, one group of pots was kept in the greenhouse (temperature 24±1 °C) and another group of pots (control vines and treated with UV-B rays to apply cold stress to the

* Corresponding Author: Rouhollah Karimi
E-mail: R.Karimi@malayeru.ac.ir



cooling chamber) transferred and placed under the temperature of 4°C and -4°C (for 6 hours at each temperature).

Results and Discussion

According to the results, the highest and lowest total chlorophyll content was related to the treatment without irradiation and temperature of 24°C and the treatment of severe irradiation and temperature of -4°C, respectively. The highest and lowest carotenoid content was related to the severe UV-B irradiation treatment and 24°C temperature and the treatment without irradiation and 24°C temperature, respectively. The relative water content was the highest in the treatments without radiation and temperature of 24°C, and the lowest in the treatment of moderate irradiation and temperature of -4°C. The highest and lowest percentages of electrolyte leakage were observed in treatments without irradiation and temperature of -4°C and treatment without irradiation and temperature of 24°C, respectively. The content of malondialdehyde and hydrogen peroxide was the highest in the vines under severe UV-B irradiation along with (-4°C) and was the lowest in treatment without irradiation along with 24°C. The highest content of soluble sugar and soluble protein was observed in plants treated with severe irradiation along with (-4°C), and the lowest amount of these compounds was observed in the treatment without UV-B irradiation along with (24°C). The content of proline was the highest in the treatments with severe irradiation along with (4°C), and the lowest in the treatment without radiation and temperature of 24°C. The highest and lowest activity of ascorbate peroxidase (APX) enzyme was observed in the treatments of severe irradiation along with (4°C) and moderate irradiation along with (-4°C), respectively. The activities of guaiacol peroxidase (GPX) and catalase enzymes (CAT) were the highest in plants under moderate irradiation along with (4°C), and the lowest activity of these enzymes observed under non-irradiation condition along with (-4°C). The highest and lowest total phenol and flavonoid contents were related to those vines that were treated with severe irradiation along with (4°C) and without UV-B irradiation along with 24°C, respectively.

Conclusion

Totally, it can be concluded that moderate radiation treatment through the stimulation of antioxidant systems, the accumulation of UV-B absorbing compounds and acclimate osmolytes in the plant led to an increase in their tolerance to chilling temperatures (+4°C), but there was no effect on frost tolerance (-4°C). However, severe UV-B irradiation treatment both at normal and low temperatures caused damage to cell membranes and leaf necrosis. Based on the results of application of moderate dose of UV-B rays, it can be used as an elicitor to improve plant antioxidant system and cell membrane stability under chilling temperature (4°C).

Key words: Antioxidant enzymes, Cold stress, Flavonoids, Grape, Soluble sugars, UV-B

اثر پرتو فرابنفش B بر ویژگی های فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی مرتبط با تحمل سرما در انگور یاقوتی (*Vitis vinifera* L.)

احمد عروجی^۱، روح الله کریمی^{۲*}، علیرضا شایگان فر^۳

- ۱- دانشجوی کارشناسی ارشد درختان میوه، گروه علوم باغبانی و فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ملایر، ملایر، ایران
- ۲- دانشیار، گروه علوم باغبانی و فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ملایر، ملایر، ایران
- ۳- استادیار، گروه علوم باغبانی و فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ملایر، ملایر، ایران

چکیده

این آزمایش روی نهال های ریشه دار انگور رقم یاقوتی (*Vitis vinifera* L.) به صورت فاکتوریل (۳×۳) در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه ملایر در بهار و تابستان سال ۱۴۰۱ اجرا شد. در مرحله ۱۵ برگی تاک ها تحت سه تیمار پرتو فرابنفش B به ترتیب ذیل قرار گرفتند تیمار اول (شاهد): نور طبیعی، تیمار دوم (متوسط): ۵/۹۸ کیلو ژول بر متر مربع در روز (برابر با ۰/۵۵ وات در متر مربع به مدت ۳ ساعت) و تیمار سوم (شدید): ۹/۶۶ کیلو ژول بر متر مربع در روز (برابر با ۰/۵۵ وات در متر مربع به مدت ۴/۵ ساعت). این تیمارها تحت طول روز طبیعی موجود در گلخانه در خرداد ماه به مدت ۳ روز روی گیاهان اعمال شد. بعد از اعمال تیمارهای پرتو فرابنفش B، یک گروه از گلدان ها در گلخانه (دمای ۲۴±۱°C) نگهداری و گروه دیگری از گلدان ها (تاک های شاهد و تیمار شده با پرتو فرابنفش B) جهت اعمال تنش سرما به اتاقک سرماساز منتقل و تحت دمای ۴ و ۴- درجه سانتی گراد (مدت ۶ ساعت در هر دما) قرار داده شد. بر اساس نتایج بیشترین و کمترین محتوای کلروفیل کل مربوط به تیمار بدون پرتو دهی و دمای ۲۴°C و تیمار پرتو دهی شدید و دمای ۴°C بود. بیشترین و کمترین محتوای کاروتنوئید مربوط به تیمار شدید پرتو فرابنفش B و دمای ۲۴°C و تیمار بدون پرتو دهی و دمای ۲۴°C بود. محتوای نسبی آب در تیمارهای بدون پرتو و دمای ۲۴°C بیشترین و در تیمار پرتو دهی متوسط و دمای ۴°C- کمترین بود. بیشترین و کمترین درصد نشت الکترولیت ها در تیمارهای بدون پرتو دهی و دمای ۴°C- و تیمار بدون پرتو دهی و دمای ۲۴°C مشاهده گردید. محتوای مالون دی آلدئید و پراکسید هیدروژن تاک های تحت تیمار شدید پرتو فرابنفش B تحت دمای ۴°C- بیشترین و تیمار بدون پرتو دهی و دمای ۲۴°C کمترین بود. بیشترین محتوای قند محلول و پروتئین محلول در گیاهان تحت تیمارهای پرتو دهی شدید و دمای ۴°C- و کمترین مقدار این ترکیبات در تیمار بدون پرتو فرابنفش B و دمای ۲۴°C مشاهده گردید. محتوای پرولین در تیمارهای پرتو دهی شدید و دمای ۴°C بیشترین و تیمار بدون پرتو و دمای ۲۴°C کمترین بود. بیشترین و کمترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در تیمارهای پرتو دهی شدید و دمای ۴°C و

* نویسنده مسئول: روح الله کریمی

پرتو دهی متوسط و دمای 4°C - مشاهده گردید. فعالیت آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز و کاتالاز در گیاهان تحت تیمار متوسط پرتو دهی و دمای 4°C بیشترین و تیمار بدون پرتو دهی و دمای 4°C - کمترین بود. بیشترین و کمترین محتوای فنول و فلاونوئید کل مربوط به تاک‌هایی بود که به ترتیب با پرتو شدید فرابنفش B همراه با دمای 4°C و بدون پرتو دهی همراه با 24°C تیمار شده بودند. در کل می‌توان نتیجه گرفت که تیمار متوسط پرتو فرابنفش B از طریق انگیزش سامانه‌های آنتی اکسیدانی، تجمع ترکیبات جاذب پرتو فرابنفش B و اسمولیت‌های سازگاری در گیاه منجر به افزایش توان تحملی آنها در مواجهه با دمای سرمازدگی شد ولی تاثیری بر تحمل به یخ زدگی نداشت. تیمار شدید پرتو فرابنفش B هم در دمای معمولی و هم در دماهای پایین باعث آسیب به غشاءهای سلولی و نکروز برگ شد.

کلید واژه ها: انگور، آنزیم‌های آنتی اکسیدان، پرتو فرابنفش، تنش سرما، فلاونوئید، قندهای محلول.

مقدمه

انگور (*Vitis vinifera* L.) یکی از مهمترین میوه های دنیاست که در گستره جغرافیایی وسیعی از نواحی گرمسیر تا نواحی سردسیر کاشته می‌شود. در برخی سال-ها به علت بروز سرمای شدید در زمستان، جوانه های زایشی و رویشی دچار سرمازدگی شده و سبب کاهش تشکیل گل و میوه و گاهی حتی مرگ تاک می‌گردد (Karimi, 2014). پاسخ‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی مشخصی طی فرایند سازگاری به سرما در گیاه رخ می‌دهد که عبارتند از کاهش محتوای آب بافت‌ها و تجمع ترکیبات سازگار از قبیل کربوهیدرات‌های محلول، آمینو اسیدها (پرولین و بتائین گلايسين) و ترکیبات ضد انجماد از قبیل پروتئین‌های ضد انجماد و اسید آسبیزیک (Lukatkin, 2002). این ترکیبات سازگاری ممکن است در حفظ ساختار سلول از دهیدراتاسیون ناشی از انجماد و یا کاهش نقطه انجماد ایفای نقش کنند. در طی تنش قندها با اتصال به غشاء با نگهداری لیپیدها و پایداری پروتئین‌ها از طریق ایجاد پیوندهای هیدروژنی با دنباله خطی پروتئین‌ها، سبب کاهش تنش اسمزی می‌شده (Kasuga et al., 2007) و بدین ترتیب سبب کاهش تلفات آب و حفظ تورژسانس سلول می‌شوند. قند سلول، با کاهش نقطه انجماد شیره سلولی سبب محافظت در برابر سرما می‌شود (Karimi, 2020). به

منظور کاهش یا جلوگیری از صدمات تنش اکسایشی ناشی از دمای پایین، گیاهان مجهز به سامانه‌های آنتی-اکسیدانی آنزیمی (مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز) و غیر آنزیمی (فنول‌ها و فلاونوئیدها) هستند (Foyer and Noctor, 2003) که افزایش آنها باعث بازدارندگی فعالیت گونه‌های واکنش پذیر اکسیژن شده و در بیشتر گونه‌های گیاهی از دستگاه فتوسنتزی در برابر صدمات تنش اکسایشی محافظت می‌کنند (Karimi et al., 2016).

تاکنون از روش‌های مختلفی برای افزایش تحمل به سرما و یخ‌زدگی در انگور استفاده شده است (Karimi et al., 2016). پرتو فرابنفش یکی از تشعشعات غیر یونیزان در طیف امواج الکترومغناطیسی بوده و در محدوده طول موج ۱۰۰ نانومتر تا ۴۰۰ نانومتر قرار می‌گیرد. با احتساب کمتر از ۵٪ درصد، پرتو فرابنفش B (۲۸۰-۳۱۵ نانومتر) کسر کوچکی از تشعشعات خورشید را شامل می‌شود که به سطح زمین می‌رسد. پاسخ‌های گیاه به پرتو فرابنفش B را می‌توان به پاسخ‌های استرسی و پاسخ‌های فتومورفونیک طبقه بندی کرد، که معمولاً به ترتیب با مواجهه با نرخ‌های نفوذ بالا و پایین پرتو فرابنفش B ایجاد می‌شوند. خصوصیات ژنوتیپی گیاهان (به عنوان مثال سطوح تشکیل دهنده ترکیبات محافظ پرتو فرابنفش) و سازگاری قبلی آنها عوامل مهمی هستند

پرتو فرابنفش B یا ترمیم آسیب پرتو فرابنفش B، از جمله تجمع ترکیبات فنولی جذب کننده پرتو فرابنفش B در بافت‌های اپیدرمی و تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی سلولی را افزایش می‌دهد (Jordan, 2002; Pontín *et al.*, 2010). انگورها معمولاً در نواحی مدیترانه رشد می‌کنند، بنابراین به دلیل وجود آسمان تابستانی بدون ابر اغلب در معرض آسیب‌های شدت زیاد پرتو فرابنفش B قرار می‌گیرند (Doupis *et al.*, 2011). علاوه بر این، با توجه به گرم شدن تدریجی زمین و اثر مضر بالقوه آن بر ترکیب حبه انگور، بسیاری از پرورش دهندگان تمایل به احداث و تمرکز تاکستان‌های خود را ارتفاعات بالاتر و در نتیجه خنک‌تر دارند. چنین تغییراتی در ارتفاع تاکستان‌های احداث شده منجر به نرخ نفوذ و شدت‌های بالاتر پرتو فرابنفش B در سال‌های آینده خواهد شد.

مطالعات زیادی در مورد تأثیر پرتو فرابنفش B بر فیزیولوژی برگ انگور پس از قرار گرفتن در معرض کوتاه مدت و بلند مدت پرتو فرابنفش B انجام شده است (Doupis *et al.*, 2011; Berli *et al.*, 2015; Núñez-Olivera *et al.*, 2006; Martínez-Lüscher, 2014). با این وجود اثر کاربرد پرتو فرابنفش B بر فیزیولوژی تحمل به سرمای تاک مورد تحقیق واقع نشده است. بنابراین مطالعه حاضر با هدف کاربرد کوتاه مدت پرتو فرابنفش B بر سازگاری به سرما و شاخص‌های فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی مرتبط با آن در انگور یاقوتی تحت شرایط گلخانه انجام شد. انگور رقم یاقوتی یکی از ارقام انگور زودرس در کشور می‌باشد. این رقم بومی مناطق نیمه گرمسیری از قبیل سیستم و بلوچستان و نقاط گرمسیری، استان خوزستان، مناطق جنوبی استان فارس و لرستان می‌باشد (Karimi, 2014). با این حال به دلیل میوه زودرس و خوش‌عطر و رنگ، کاشت آن در مناطق سردسیر نیز توسعه یافته است. یکی از نقاط ضعف این رقم حساسیت به یخ‌زدگی زمستانه و سرمازدگی دیررس بهاره می‌باشد (Karimi, 2014). ضمن اینکه این رقم به دلیل نیاز سرمایی کم و طول دوره

که تعیین می‌کنند آیا گیاه تحت تنش پرتو فرابنفش B است یا خیر. معمولاً گیاهانی که در پراکنش طبیعی خود رشد می‌کنند با پرتو فرابنفش B سازگار می‌شوند (Jansen *et al.*, 2012). معمولاً پرتو فرابنفش B به عنوان یک عامل تنش‌زا محیطی در نظر گرفته می‌شود که می‌تواند اثرات مخربی بر گیاهان ایجاد کند (Jansen *et al.*, 2012). علاوه بر این، سلول‌های گیاهی هنگامی که در معرض پرتو فرابنفش B قرار می‌گیرند، بدون توجه به شدت به کار رفته، در نتیجه اختلال در فعالیت‌های متابولیکی (Zlatev *et al.*, 2012) یا با فعال شدن NADPH-اکسیداز موضعی غشاء معمولاً گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) تولید می‌کنند (Kalbina and Strid, 2006). به منظور مقابله با آسیب اکسیداتیو، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در بسیاری از مطالعات مربوط به قرار گرفتن گیاهان در معرض پرتو فرابنفش B یافت شده است (Hideg *et al.*, 2013). یکی از مرتبط‌ترین پاسخ‌های فتومورفونیک به پرتو فرابنفش B تنظیم تولید فلاونوئید از طریق فعال کردن آنزیم‌های چاکلون‌سینتاز و فلاونول سینتاز است که با ساخت بیشتر فلاونوئیدها نقش مهمی در جذب پرتو فرابنفش B دارند (Cerovic *et al.*, 2002).

پرتو فرابنفش B اثرات خاصی بر روی گیاهان شامل مهار فتوسنتز، کاهش زیست توده، تغییرات در سنتز رنگدانه و پروتئین، آسیب به DNA یا تغییر بیولوژی تولید مثل دارد (Jordan, 2002). با این وجود، پرتو فرابنفش B لزوماً یک منبع تنش‌زا نیست. سطوح متوسط غیر مضر پرتو فرابنفش B به عنوان یک سیگنال محیطی در گیاهان عالی عمل کرده و قادر است چندین واکنش کلیدی در رشد و نمو گیاه را تنظیم و باعث یک نوع سازگاری القایی در گیاه شود (Pontín *et al.*, 2010). اخیراً رهیافت‌های آزمایشی زیادی روی اثر تنظیم‌کنندگی کاربرد شدت کم پرتو فرابنفش B متمرکز شده‌اند. پرتو دهی با شدت پایین پرتو فرابنفش B، بیان مجموعه‌ای از ژن‌های درگیر در حفاظت از صدمات

۱. ترتیب چرخه پرتودهی در تیمار دوم: (۳ ساعت پرتو فرابنفش B - ۶ ساعت نور طبیعی - ۳ ساعت پرتو فرابنفش B - ۲ ساعت نور طبیعی - ۱۰ ساعت تاریکی) ۲. ترتیب چرخه پرتودهی در تیمار سوم: (۴ ساعت پرتو فرابنفش B؛ ۶ ساعت نور طبیعی؛ ۴ ساعت پرتو فرابنفش B؛ ۱۰ ساعت تاریکی) ۳. در نهایت یک تیمار با ۰ کیلوژول متر مربع در روز پرتو فرابنفش B به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. پرتو فرابنفش B با استفاده از لامپ‌های لوله‌ای (فیلیپس، هلند) با طول موج ۳۱۱-۳۱۳ نانومتر که در ارتفاع ۳۵ سانتی متری شاسی بالای تاک‌ها نصب شده است تامین شد. بین تیمارها ورقه‌های آلومینیومی تعبیه شد تا از رسیدن پرتو فرابنفش B به گیاهان شاهد جلوگیری شود.

تیمارهای سرما دهی

بعد از اعمال تیمارهای پرتودهی پرتو فرابنفش B، یک گروه از گلدان‌ها در گلخانه (دمای 24 ± 1 °C) نگهداری و پس از ۲۴ ساعت اثر تیمارهای مختلف پرتو فرابنفش از لحاظ شاخص‌های مورد نظر روی آنها بررسی شد. گروه دیگری از گلدان‌ها (تاک‌های شاهد و تیمار شده با پرتو فرابنفش B) جهت اعمال تنش سرما به اتاقک سرماساز با شدت نور $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{S}^{-1}$ و رطوبت ۶۰٪ آزمایشگاه منتقل و تحت دمای ۴ و -۴ درجه سانتی‌گراد (مدت ۶ ساعت در هر دما) قرار داده شد (Karimi and Ershadi, 2015; Karimi et al., 2016). پس از اتمام هر تیمار سرمایی، تاک‌ها از اتاقک سرماساز خارج شده و از برگ‌های بالغ نمونه‌برداری و شاخص‌های ذیل سنجیده شد.

محتوای کلروفیل کل و کاروتنوئید به روش Arnon (1949) با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (Spekol, Germany, 2000) اندازه‌گیری شد. نشسته‌یونی با استفاده از دستگاه هدایت‌سنج دیجیتالی (Atago, Japan) سنجیده شد (Karimi and Ershadi, 2015). اندازه‌گیری میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء با تیوباریتوریک اسید و سنجش میزان مالون‌دی‌آلدئید

رشد کوتاه یکی از ارقام پیشنهادی برای تولید انگور گلخانه‌ای می‌باشد. نصب لامپ‌های فرابنفش B در گلخانه هم در جهت ضدعفونی و هم افزایش سازگاری به سرما جهت تولید انگور و دیگر محصولات گلخانه‌ای ضروری به نظر می‌رسد. تکنولوژی استفاده از پیش تیمار پرتو فرابنفش B در گلخانه به منظور افزایش تحمل به سرما در انگور و دیگر محصولات تاکنون مورد استفاده قرار نگرفته است و در این پژوهش برای اولین بار، از پرتو فرابنفش به عنوان یک راهکار مقرون به صرفه برای افزایش تحمل به سرمای از طریق راه اندازی موقت مکانیسم‌های سازگاری به سرما در انگور یاقوتی استفاده شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش روی نهال‌های ریشه دار انگور رقم یاقوتی (*V. vinifera* L.) به صورت آزمایش فاکتوریل (3×3) در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه ملایر در سال ۱۴۰۱ اجرا شد. قلمه‌های ریشه‌دار به گلدان‌های ۱۰ لیتری با ترکیب کوکوپیت و پرلیت (۱:۱) منتقل و تا مرحله ۱۵ برگی پرورش داده شد.

تیمارهای پرتودهی

در این مرحله از رشد (۱۵ برگی)، تاک‌ها تحت پرتودهی شدت‌های مختلف پرتو فرابنفش B که از لحاظ بیولوژیکی فعال هستند (Martínez-Lüscher, 2014) به ترتیب ذیل قرار گرفتند تیمار اول: نور طبیعی (شاهد)، تیمار دوم: ۵/۹۸ کیلوژول بر متر مربع در روز (برابر با ۰/۵۵ وات در متر مربع به مدت ۳ ساعت) و تیمار سوم: ۹/۶۶ کیلو ژول بر متر مربع در روز (برابر با ۰/۵۵ وات در متر مربع به مدت ۴/۵ ساعت). تیمارهای پرتو فرابنفش B به مدت ۳ روز با چرخه پرتودهی در یک شبانه روز به ترتیب زیر از ارتفاع ۳۵ سانتی‌متری تحت طول روز خرداد ماه در گلخانه بر روی گیاهان اعمال شد (Martines-Lüscher, 2014).

نتایج و بحث

کلروفیل کل

اثر پرتو فرابنفش B، دما و اثر متقابل آنها تاثیر معنی-داری بر محتوای کلروفیل کل داشت. دماهای بالا و پرتو کم باعث افزایش مقدار کلروفیل شد بطوری که کلروفیل بیشتر تحت تاثیر دما قرار داشت (شکل ۱). همزمان با کاهش دما محتوای کلروفیل در تمامی تیمارها روند کاهشی نشان داد. با این حال در تاک‌های پرتو دهی شده با اشعه فرابنفش تحت دمای پایین 4°C میزان پایداری کلروفیل در مقایسه با تاک‌های بدون تیمار اشعه فرابنفش و یا تاک‌های تحت تنش 4°C - بیشتر بود (شکل ۱). در بین اثرات متقابل به ترتیب بیشترین و کمترین اثر مربوط به تیمار بدون پرتو دهی و دمای 24°C و تیمار پرتو دهی شدید و دمای 4°C - بود (شکل ۱).

در تحقیقی روی انگور کاربرد همزمان اسید آبسزیک و دما (۴ و ۲۴ درجه سانتیگراد) نیز نتایجی مشابه با نتایج مطالعه حاضر داشت و اسید آبسزیک در دمای 24°C محتوای کلروفیل را کاهش داد ولی همین تیمار در تاک‌های تحت تنش سرما منجر به پایداری کلروفیل شد (Karimi, 2014). کاربرد پرتو فرابنفش و شدت نور منجر به کاهش کلروفیل کل برگ شمعدانی عطری شد (Jadidi et al., 2022). ممانعت پرتو فرابنفش از سنتز کلروفیل و تخریب پیش‌سازهای این رنگیزه یکی از دلایل کاهش غلظت آن ذکر شده است. این موضوع با مطالعه تاثیرات پرتو فرابنفش بر روی رنگیزه‌های فتوسنتزی گونه‌های آویشن (دنايي، باغي و شيرازي) نیز گزارش شده است (Shayganfar et al., 2018). در مطالعه حاضر بخشی از پایداری کلروفیل مشاهده شده در تاک‌های پرتو دهی شده با شدت متوسط پرتو فرابنفش B در تاک‌های تحت تنش سرما ممکن است با افزایش اسید آبسزیک در این گیاهان و القاء پایداری ساختار کلروفیل مرتبط باشد.

انجام شد (Health and Packer, 1968). اندازه‌گیری پراکسید هیدروژن (H_2O_2) به روش Loreto and Velikova (2001) صورت گرفت. محتوای نسبی آب بر اساس محاسبه وزن تر، وزن خشک و وزن آماس به روش Kirnak et al., (2001) تعیین شد. محتوای پرولین بر اساس معرف نین‌هیدرین (Bates et al., 1973) و قند محلول کل بر اساس معرف آنترون (Irigoyen et al., 1992) سنجیده شد.

استخراج و اندازه‌گیری فنول کل با معرف فولین-سیوکالتیو در طول طوج ۷۶۵ نانومتر صورت گرفت (Velioglu et al., 1998). برای سنجش محتوای فلاونوئید کل از روش رنگ سنجی کلرید آلومینیوم در طول موج ۴۱۵ نانومتر استفاده شد (Chang et al., 2002). استخراج و اندازه‌گیری آنتوسیانین با استفاده از متانول اسیدی در طول موج ۵۲۰ نانومتر، از روش Wagner (1979) استفاده شد. پروتئین محلول با معرف کوماسی آبی درخشان در طول موج ۵۹۵ نانومتر به روش Bradford (1976) اندازه‌گیری شد.

برای اندازه‌گیری آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، ابتدا برگ‌ها در حضور ازت مایع در یک هاون چینی سائیده و پودر شد. سپس مقدار ۰/۱ گرم پودر از هر نمونه در یک لوله پلاستیکی کوچک ریخته شده و تا زمان اندازه‌گیری در فریزر 8°C - نگهداری شد. استخراج و اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز (Bergmeyer, 1970)، گایاکول پراکسیداز (Herzog and Fahimi, 1973) و آسکوربات پراکسیداز (Nakano and Asada, 1981) به روش اسپکتروفتومتری به ترتیب در طول موج‌های ۲۴۰، ۴۶۵ و ۲۹۰ نانومتر انجام گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری با نرم افزار SAS (9.1.3) با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن صورت گرفت.

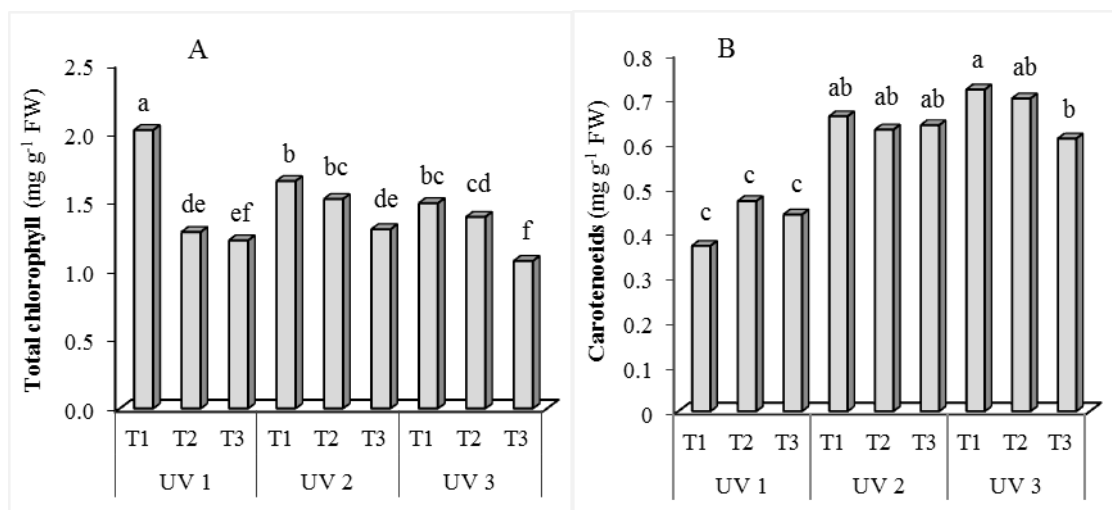


Figure 1. The effect of ultraviolet B irradiation and different temperature treatments on the content of total chlorophyll (panel A) and total carotenoid (panel B) of Yaghooti grape leaves. The means with same letters in each column are not statistically significant ($P \leq 0.01$). UV1: no radiation; UV2: UV-B ($5.98 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$); UV3: UV-B ($9.66 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$); T1: 24°C ; T2: 4°C and T3: -4°C

از طرفی کاهش دما کاهش میزان کلروفیل را در پی داشته که به نظر می‌رسد این امر ناشی از رقابت در سنتز کلروفیل و پرولین باشد زیرا این دو ماده دارای پیش ماده یکسان یعنی گلوتامین هستند (Karimi *et al.*, 2016).

که تاییدی بر نتایج مطالعه حاضر است.

محتوای نسبی آب

اثر پرتو فرابنفش B، دما و اثر متقابل آنها بر محتوای نسبی آب معنی‌دار شد. در بین اثرات متقابل به ترتیب بیشترین و کمترین اثر در تیمارهای بدون پرتو و دمای 24°C و پرتودهی متوسط و دمای -4°C مشاهده گردید (شکل ۲). در مطالعه تأثیر پرتو فرابنفش و شدت نور بر خصوصیات مورفو فیزیولوژی شمعدانی عطری با افزایش شدت نور، محتوای نسبی آب برگ کاهش یافت (Jadidi *et al.*, 2022). به نظر می‌رسد که افزایش شدت نور باعث افزایش دمای بافت‌های گیاهی می‌شود (Williams *et al.*, 2022). در نتیجه گیاه برای خنک نگه داشتن بافت‌ها، آب را از طریق روزنه طی فرآیند تعرق از دست می‌دهد. در چنین شرایطی کاهش محتوای نسبی آب منجر به بسته شدن روزنه‌ها و در نتیجه کاهش هدایت روزنه‌ای می‌گردد (Centritto *et al.*, 2000).

از طرفی کاهش دما کاهش میزان کلروفیل را در پی داشته که به نظر می‌رسد این امر ناشی از رقابت در سنتز کلروفیل و پرولین باشد زیرا این دو ماده دارای پیش ماده یکسان یعنی گلوتامین هستند (Karimi *et al.*, 2016).

کاروتنوئید

اثر پرتو فرابنفش B، دما و اثر متقابل آنها بر محتوای کاروتنوئید معنی‌دار شد. به نحوی که دماهای بالا (24°C) باعث افزایش مقدار کاروتنوئید شد (شکل ۱). صرف نظر از تیمارهای دمایی، اعمال پرتو فرابنفش B منجر به افزایش محتوای کاروتنوئید برگ شد در بین اثرات متقابل به ترتیب بیشترین و کمترین اثر مربوط به تیمار شدید پرتو فرابنفش B و دمای 24°C و تیمار بدون پرتودهی و دمای 24°C بود (شکل ۱). کاربرد پرتو فرابنفش B روی گیاه پنبه‌باد منجر به تجمع کاروتنوئیدها در برگ شد که ممکن است گیاه را از آسیب پرتو فرابنفش B مازاد حفاظت کند (Takshak and Agrawal, 2014). تولید متابولیت‌های ثانویه مانند کاروتنوئیدها، آنتوسیانین‌ها، آلکالوئیدها و فنول‌ها از جمله سازوکارهای دفاعی گیاهان در برابر پرتو فرابنفش می‌باشد (Bagheri *et al.*, 2020). حساسیت گیاهان به پرتو فرابنفش بسته به گونه گیاهی، رقم، مراحل رشد

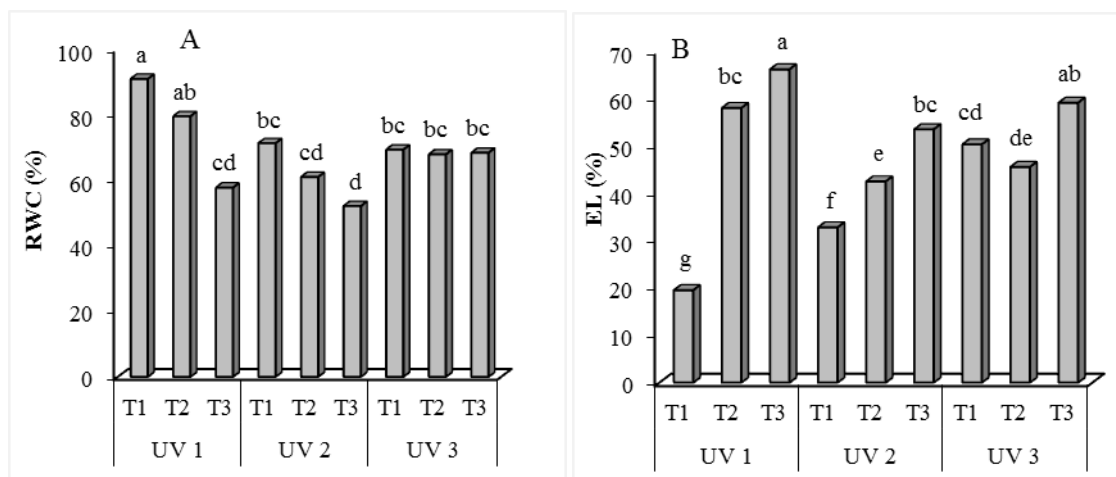


Figure 2. The effect of ultraviolet B irradiation and different temperature treatments on relative water content (RWC; panel A) and electrolyte leakage (EL; panel B) of Yaghooti grape leaves. The means with same letters in each column are not statistically significant ($P \leq 0.01$). UV1: no radiation; UV2: UV-B ($5.98 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$); UV3: UV-B ($9.66 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$); T1: 24°C ; T2: 4°C and T3: -4°C

الکترولیت‌ها دارد. همچنین درصد نشت الکترولیت‌ها با سلامت و پایداری غشا رابطه معکوس دارد و هرچه درصد نشت الکترولیت در گیاهی بیشتر باشد، نشان‌دهنده غشای ناپایدار و حساسیت بیشتر به تنش است (Hana and Bischof, 2004). در بررسی تحمل به سرما ۱۵ رقم انگور (بومی و خارجی) در محدوده دمایی 4°C تا 28°C - سرمادهی مصنوعی در شرایط کنترل شده مشخص شد که در همه ارقام با کاهش دما از 4°C تا 28°C -، نشت یونی افزایشی یافت؛ بر اساس روش نشت یونی مقاومت به سرمای ارقام در دی‌ماه از $19/13^\circ\text{C}$ - در رقم یاقوتی تا $23/82^\circ\text{C}$ - در رقم خلیلی متفاوت بود (Karimi, 2014). یکی از دلایلی که باعث ایجاد صدمات غشایی می‌شود تنش اکسایشی است که در نتیجه افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن ایجاد می‌شود. تنش سرما با کاهش سیالیت فسفولیپیدهای غشاءهای زیستی یا غیر فعال کردن آنها و یا دست کم کاهش سرعت پمپ های یونی متصل به غشاء، ضمن کاهش یا اختلال در عملکرد غشاء، نشت یونی را افزایش می‌دهد (Beck et al., 2004). در پژوهش حاضر کاربرد پرتو فرابنفش B در شدت متوسط به طور معنی‌داری نشت الکترولیتی برگ را به عنوان یک

به نظر می‌رسد در هنگام تنش سرما گیاه دچار تنش آبی نیز می‌شود که به وسیله کاهش هدایت هیدرولیکی ریشه آغاز و با کاهش شدید در پتانسیل آب و آماس برگ ادامه می‌یابد، روزنه‌ها بسته شده و کاهش تعرق سبب کاهش هدایت هیدرولیکی ریشه گردیده و در نتیجه تنش آبی ناشی از خسارت سرمازدگی تشدید می‌شود. کاهش محتوای نسبی آب سریعترین اثر تنش سرما بر روی گیاهان تلقی می‌شود (Erdal, 2012). کاهش محتوای آب در تاک‌های در مواجهه با دمای پایین می‌تواند به دلیل اتصال آب آزاد سلولی با درشت مولکول‌ها از قبیل قند و پروتئین‌های ضد یخ باشد که در راستای افزایش تحمل به یخ زدگی صورت می‌گیرد (Karimi, 2020)

نشت الکترولیتی

اثر پرتو فرابنفش B، دما و اثر متقابل آنها بر شاخص نشت الکترولیتی برگ معنی‌دار بود. در بین اثرات متقابل به ترتیب بیشترین و کمترین میزان نشت الکترولیتی در تیمارهای بدون پرتودهی و دمای 4°C - و تیمار بدون پرتودهی و دمای 24°C مشاهده گردید (شکل ۲). میزان کاهش درجه حرارت و مدتی که گیاهان در معرض سرما قرار می‌گیرند نقش مهمی در افزایش میزان نشت

تاک‌های سرما دیده افزایش پیدا کرد. با این حال کاربرد پرتو فرابنفش B به ویژه در تیمار متوسط به میزان زیادی محتوای مالون‌دی‌آلدئید تولید شده در تاک‌های سرما دیده را نسبت به تاک‌های شاهد تحت تنش سرما بدون تیمار پرتو دهی کاهش شد. احتمالاً پرتو فرابنفش B با تاثیر بر روی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان موجب کاهش در محتوای رادیکال‌های سوپراکسید و پراکسید هیدروژن گردیده و از فعالیت آنزیم لیپوکسی‌ژناز و تجزیه اسیدهای چرب غشاء جلوگیری و در نهایت منجر به کاهش صدمات اکسیداتیو وارده به لیپیدهای غشاء طی دمای پایین شده است (Foyer and Noctor, 2003).

پراکسید هیدروژن

اثر پرتو فرابنفش B، دما و اثر متقابل آنها بر محتوای پراکسید هیدروژن معنی‌دار بود. دمای پایین منجر به افزایش محتوای پراکسید هیدروژن شد ولی کاربرد پرتو فرابنفش B به ویژه در تیمار متوسط منجر به کاهش محتوای این ترکیب شد. بیشترین و کمترین اثر در تیمارهای پرتو دهی شدید همراه با دمای 4°C - و بدون پرتو دهی همراه با دمای 24°C مشاهده گردید (شکل ۳). اثر پرتوهای فرابنفش B و C محتوای مالون‌دی‌آلدئید و پراکسید هیدروژن را در آویشن افزایش داد (Shayganfar *et al.*, 2018). نتایج آزمایش‌های مختلف هم نشان می‌دهد که با کاهش دما فعالیت آنزیم پراکسیداز به منظور جلوگیری از آسیب‌های وارده به گیاه ناشی از تنش سرما و تولید هیدروژن پراکسید افزایش می‌یابد (Karimi *et al.*, 2016). پرتوهای فرابنفش باعث افزایش گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود که یکی از موارد آسیب آنها پراکسیداسیون لیپیدهای غشای پلاسمایی و سایر غشاهای درونی اندامک‌هایی نظیر کلروپلاست و میتوکندری است (Loreto and Velikova, 2001).

شاخص آسیب‌دیدگی غشاء، در تاک‌های سرما دیده کاهش داد. پرتو فرابنفش B منجر به افزایش فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیا لایز (PAL) شده و در نتیجه باعث سنتز سینامیک اسید و فعال شدن مسیر بیوسنتزی ترکیبات فنیل پروپانوئیدی می‌گردد که از طریق افزایش میزان ترکیبات فنولی باعث حذف رادیکال‌های آزاد می‌شو. پرتو فرابنفش B پاسخ‌های حفاظتی (فعال کردن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی) در داخل گیاهان تولید نموده و از طریق حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن بافت‌های گیاهی را محافظت می‌نماید (Frohnmeier and Staiger, 2003) و بدین ترتیب در شدت‌های مناسب برای هر گیاه ضمن حفظ پایداری غشاء میزان نشت یونی را کاهش می‌دهد.

مالون‌دی‌آلدئید

اثر پرتو فرابنفش B، دما و اثر متقابل آنها بر محتوای مالون‌دی‌آلدئید به عنوان محصول نهایی حاصل از پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء سلولی معنی‌دار بود. به طوری که در بین اثرات متقابل به ترتیب بیشترین و کمترین اثر در تیمار شدید پرتو فرابنفش B و دمای 4°C - و تیمار بدون پرتو دهی و دمای 24°C مشاهده گردید (شکل ۳). در شرایط تنش سرما به دلیل عدم توازن در نور دریافتی و عملکرد مراکز فتوسنتزی، بخشی از مولکول‌های اکسیژن تولید شده در اثر فتولیز آب از زنجیره انتقال الکترون خارج و به شکل گونه‌های واکنش پذیر اکسیژن باعث پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء می‌شوند (Foyer and Noctor, 2003). در تحقیقی تحت عنوان تاثیر شدت‌های مختلف پرتو فرابنفش بر روی رشد و برخی متابولیت‌های ثانویه گیاه گل راعی کردار مشخص شد که با افزایش شدت پرتو فرابنفش غلظت فنول‌ها، فلاونوئیدها و مالون‌دی‌آلدئید به طور قابل توجهی افزایش یافت (Bagheri *et al.*, 2020). در مطالعه حاضر غلظت مالون‌دی‌آلدئید در برگ

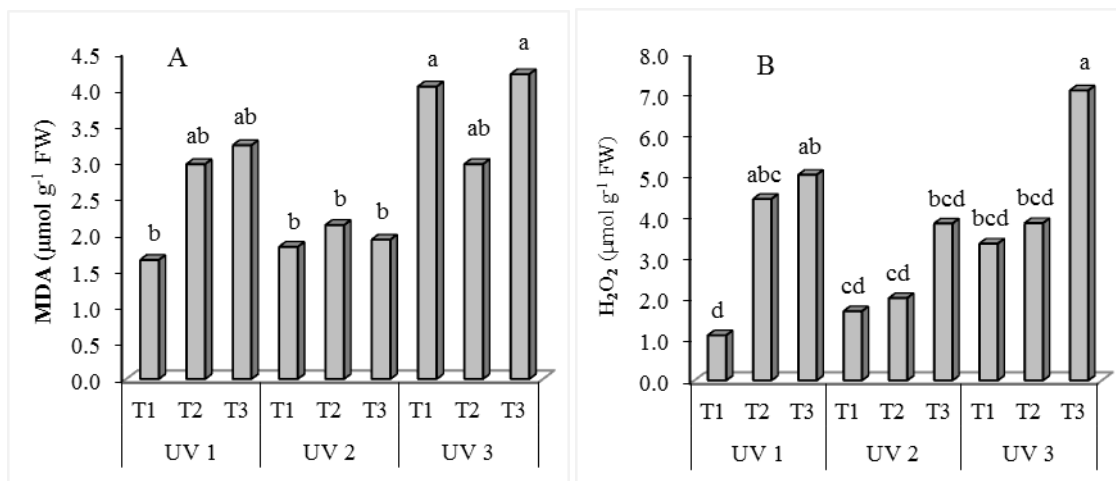


Figure 3. The effect of ultraviolet B irradiation and different temperature treatments on malonaldehyde (MDA; panel A) and hydrogen peroxide (H₂O₂; panel B) of Yaghootti grape leaves. The means with same letters in each column are not statistically significant ($P \leq 0.01$). UV1: no radiation; UV2: UV-B (5.98 KJ m⁻² d⁻¹); UV3: UV-B (9.66 KJ m⁻² d⁻¹); T1: 24°C; T2: 4°C and T3: -4°C

Pourdad, 2011). همچنین آنها از غشای پلاسمایی و پروتئین‌ها در برابر خسارت‌های تنش سرمایی محافظت می‌کنند (Karimi, 2020).

پرولین

اثر پرتو فرابنفش B، دما و اثر متقابل بر محتوای پرولین برگ انگور یا قوتی معنی‌دار بود. همانطور که در شکل ۴ دیده می‌شود محتوای پرولین تحت دمای ۴°C افزایش ولی تحت دمای ۴°C - کاهش شدیدی یافت. این افزایش در تاک‌های بیمار شده با پرتو فرابنفش B به طور چشمگیری بیشتر بود (شکل ۴). بیشترین و کمترین محتوای پرولین در تیمارهای پرتو دهی شدید همراه با دمای ۴°C و بدون پرتو همراه با دمای ۲۴°C مشاهده گردید (شکل ۴). در بررسی اثر پرتو فرابنفش و اسید آبسزیک در خصوصیات مختلف انگور، با افزایش شدت پرتو انباشت قند محلول و پرولین بیشتر شد (Berli, 2015). طی پژوهشی که به منظور ارزیابی تحمل به سرمای ۱۵ رقم انگور صورت گرفت، مشخص شد که میزان تجمع پرولین در ارقام حساس به سرمای انگور کمتر از محتوای این اسید آمینه در ارقام با تحمل به سرمای بیشتر می‌باشد (Karimi, 2014).

قندهای محلول

اثر پرتو فرابنفش B، دما و اثر متقابل آنها بر محتوای قندهای محلول معنی‌دار شد. محتوای قندهای محلول تحت تاثیر تنش دمایی پایین و شدت پرتو فرابنفش افزایش چشم‌گیری پیدا کرد. بیشترین و کمترین محتوای قند محلول در تیمارهای پرتو دهی شدید همراه با دمای ۴°C و بدون پرتو همراه با دمای ۲۴°C مشاهده گردید (شکل ۴). در آزمایشی روی گیاه انگور نتایج نشان داد در دماهای پایین‌تر، فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در برگ‌ها کاهش یافت. در حالی که مقدار مالون دی-آلدئید و قندهای محلول به طور پیوسته افزایش نشان داد (Karimi et al., 2016). افزایش غلظت کربوهیدرات‌های محلول در تاک‌ها نقش مهمی در افزایش تحمل به سرما دارد به این دلیل که قندها با اتصال به فسفولیپیدهای غشاء منجر به پایداری غشاء سلولی تحت تنش دمایی پایین می‌شوند (Karimi, 2014). یکی از مهمترین مشخصات گیاهان در شرایط تنش، افزایش تجمع کربوهیدرات‌ها است، زیرا آنها رابطه مستقیمی با فرایندهای فیزیولوژیکی مانند فتوسنتز، انتقال و تنفس دارند. کربوهیدرات‌ها با بالا بردن غلظت درون سلولی، مانع یخ زدن آن در اثر سرما می‌شوند (Rajabi and

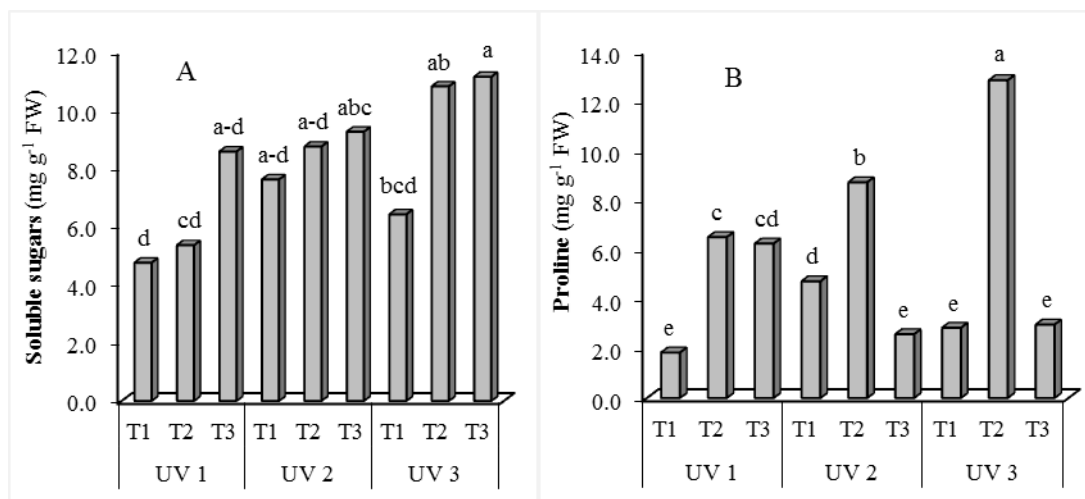


Figure 4. The effect of ultraviolet B irradiation and different temperature treatments on soluble sugars content (panel A) and proline (EL; panel B) of Yaghooti grape leaves. The means with same letters in each column are not statistically significant ($P \leq 0.01$). UV1: no radiation; UV2: UV-B ($5.98 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$); UV3: UV-B ($9.66 \text{ KJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$); T1: 24°C ; T2: 4°C and T3: -4°C

در تمامی ارقام سطح پروتئین کل افزایش یافته است (Karimi, 2014). در مطالعه حاضر محتوای پروتئین محلول در تیمار شدید پرتو فرابنفش B به ویژه تحت تنش دمای -4°C بیش از دیگر تیمارها بود. این درحالی است که پرتو دهی فرابنفش بر مقدار پروتئین‌های کلروپلاستی و نفوذپذیری غشای کلروپلاست و پروتئین‌های جمع کننده نور در مرکز واکنش فتوسیستم نوری II و روبیسکو تأثیر می‌گذارد (Doupis *et al.*, 2011). این نتیجه حاکی از آن است که ممکن است اثرات منفی پرتو فرابنفش تحت دمای پایین بر پروتئین‌ها کاهش پیدا کند که البته نیازمند مطالعه بیشتری می‌باشد به هر حال در مطالعه حاضر پروتئین‌های محلول نه پروتئین‌های ساختاری افزایش یافت که می‌تواند در راستای سازگاری به دمای پایین در تاک‌های انگور باشد.

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

اثر پرتو فرابنفش B، دما و اثر متقابل آنها بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات-پراکسیداز معنی دار بود. در معرض قرار گرفتن تاک‌ها تحت دمای پایین (4°C و -4°C) منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و گایاکول پراکسیداز در مقایسه با تاک‌های رشد یافته در دمای 24°C شد (جدول ۱).

همزمان با کاهش دما تا 4°C ، غلظت پرولین به ویژه در تاک‌های تیمار شده با شدت متوسط پرتو فرابنفش B افزایش چشمگیری نشان داد. پرولین یک مولکول آلی غالب است که در واکنش به تنش‌های محیطی در بسیاری از موجودات زنده تجمع پیدا می‌کند و در راستای سازگاری به تنش‌های مختلف از قبیل تنش سرما در گیاهان نقش‌های متعددی ایفا می‌کند (Rajabi and Pourdard, 2011). به نظر می‌رسد که بیوسنتز پرولین نسبت به کاهش دما حساس است به طوری که در دمای -4°C تجمع چشمگیری نشان داد ولی پرتو فرابنفش B حتی در شدت بالا مانع بیوسنتز این اسید آمینه نشد.

پروتئین محلول

اثر پرتو فرابنفش B، دما و اثر متقابل آنها بر پروتئین محلول معنی دار بود. بیشترین و کمترین اثر در تیمارهای پرتو شدید همراه با دمای -4°C و بدون پرتو همراه با دمای 24°C مشاهده گردید (جدول ۱). در بررسی اثر تنش 4°C به مدت ۱۲ ساعت روی تاک انگور، سرما موجب افزایش پروتئین محلول کل در برگ گیاه شد (Karimi *et al.*, 2016). همچنین طی بررسی پاسخ به سرما ۱۵ رقم انگور مشخص شد که در روند کاهش دما

Table 1. The interaction effect of UV-B irradiation and different temperature treatments on leaves soluble protein content and antioxidant enzyme activity of Yaghooti grape

Treatments		Soluble protein (mg g ⁻¹ FW)	Catalase	Guaiacol peroxidase	Ascorbate peroxidase
UV-B irradiation	Temperatures		(Unit mg ⁻¹ leaf protein)		
Control, without UV-B (0 kJ m ⁻² d ⁻¹)	24°C	1.97e	1.21 f	1.10 c	2.02 e
	4°C	3.97d	4.41 c	2.53 bc	3.35 c
	-4°C	5.02bcd	1.98 e	1.07 c	0.58 f
Moderate UV-B (5.98 kJ m ⁻² d ⁻¹)	24°C	4.75 cd	4.02 d	2.73 bc	3.32 cd
	4°C	5.42 bc	12.8 a	7.97 a	4.15 b
	-4°C	8.8a	6.60 b	1.15 c	0.27 f
Sever UV-B (9.66 kJ m ⁻² d ⁻¹)	24°C	4.03cd	1.94 e	1.41 c	2.57 d
	4°C	6.37b	6.49 b	3.54 b	6.88 a
	-4°C	8.91a	3.99 d	1.82 bc	0.54 f

Means with common letters in each column do not have a statistically significant difference

سیبزمینی اندازه گیری شد. فعالیت آنزیم کاتالاز طی یک روز در تمامی گیاهان ذکر شده، افزایش یافت تا اثرات مخرب فعالیت گونه‌های اکسیژن فعال را از بین ببرد (Lukatkin., 2002). در سه گونه آویشن دنايي، قره‌باغی و باغی نیز فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پروکسیداز در تیمار پرتو فرابنفش B افزایش نشان داد (Shayganfar *et al.*, 2018) که تاییدی با نتایج مطالعه حاضر است. در پژوهشی در زمینه تحمل به سرمای انگور مشخص شد که سه آنزیم مهم آنتی اکسیدانی شامل کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پروکسیداز در اثر کاهش دما فعالیت خود را با هدف خنثی کردن و به حداقل رساندن آسیب‌های اکسایشی افزایش می‌دهند (Karimi *et al.*, 2016). پرتو فرابنفش B به طور موقت باعث تحریک تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شود، ولی بلافاصله پس از برقراری مقاومت القایی و ارسال هشدارهای لازم برای برقراری مقاومت سیستمیک، خود به عنوان آنتی‌اکسیدان عمل کرده و سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی را در سلول‌های گیاهی فعال و باعث حذف رادیکال‌های آزاد می‌شود (Takshak and Agrawal, 2014). در مطالعه حاضر فعالیت هر سه آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در تاک‌های سرما دیده در مقایسه با تاک‌های باقیمانده در دمای معمول بیشتر

فعالیت آنزیم آسکوربات پروکسیداز فقط در دمای ۴°C افزایش یافت و فعالیت این آنزیم در دمای ۴°C- به شدت کاهش یافت که حاکی از حساست فعالیت این آنزیم به دمای پایین است. حتی کاربرد پرتو فرابنفش B نیز تاثیری بر فعالیت آنزیم آسکوربات-پروکسیداز در دمای ۴°C- نداشت درحالی که کاربرد پرتو فرابنفش B منجر به افزایش فعالیت هر سه آنزیم آنتی‌اکسیدان در دمای ۴°C شد و به طور جالب فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز، گایاکول-پروکسیداز و آسکوربات پروکسیداز تاک‌هایی که با شدت متوسط پرتو فرابنفش B تیمار و سپس در معرض دمای ۴°C قرار گرفته بودند بیشتر از دیگر تیمارها بود (جدول ۱). این یافته حاکی از تاثیر پذیری تاک‌ها از این تیمارها در راستای سازگاری به سرما است که با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی خود را نشان داده است.

مهمترین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان خنثی‌کننده گونه‌های فعال اکسیژن از قبیل سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، پروکسیداز و آسکوربات پروکسیداز، به عنوان آنزیم‌های خط مقدم دفاع علیه اثرات مخرب تنش سرما عمل می‌کنند (Foyer and Noctor, 2003). در مطالعه‌ای میزان فعالیت آنزیم کاتالاز یک روز بعد از تنش سرمای ۲°C در خیار، ذرت، ارزن و

سازوکارهای متعددی نظیر جاروب کردن رادیکال-های آزاد و قطع کردن واکنش‌های زنجیرهای اکسیداسیون، دادن هیدروژن و ... نقش پاداکسایشی خود را ایفا می‌کند. در پژوهشی تحت عنوان تاثیر شدت‌های مختلف پرتو فرابنفش بر روی رشد و برخی متابولیت‌های ثانویه گیاه گل راعی کرکدار، با افزایش شدت تابش پرتو فرابنفش محتوای فنول کل و فلاونوئید کل افزایش یافت (Bagheri *et al.*, 2020) که تاییدی بر یافته‌های مطالعه حاضر است.

فلاونوئید کل

اثر پرتو فرابنفش B، دما و اثر متقابل بر محتوای فلاونوئید کل برگ انگور یاقوتی معنی‌دار شد. در بین اثرات متقابل به ترتیب بیشترین و کمترین اثر در تیمار شدید پرتو فرابنفش B همراه با دمای ۴°C و بدون پرتو همراه با دمای ۲۴°C مشاهده گردید (جدول ۲). فلاونوئیدها ترکیبات جذب کننده پرتو فرابنفش هستند که در واکنش سلول‌ها به ویژه سلول‌های اپیدرم تجمع می‌یابند و یا به صورت متصل در دیواره یا کوتیکول قرار می‌گیرند. این کار نوعی سازوکار حفاظتی برای گیاه است که از نفوذ پرتو فرابنفش جلوگیری می‌کند (Burchard, 2000). گزارش‌ها نشان می‌دهند افزایش در غلظت فلاونوئیدها تحت تنش پرتو فرابنفش ناشی از فعالیت زیاد آنزیم فنیل-آلانین آمونیا لیااز (PAL) و یا سرعت بالای بیوسنتز این آنزیم و همچنین افزایش فعالیت آنزیم چالکون سنتاز است (Pontín *et al.*, 2010). کاربرد اشعه فرابنفش در انگور منجر به تغییر کمی و کیفی در پروفایل فلاونوئیدها و اسیدهای آمینه شده است (Martínez-*et al.*, 2014). افزایش محتوای فلاونوئید در تاک‌های تیمار شده با سطح سوم پرتو فرابنفش B تحت تنش دمای پایین حاکی از اثر برهمکنش مثبت این دو عامل تنش در راستای تقویت سیستم آنتی-اکسیدانی غیر آنزیمی گیاه می‌باشد (Karimi *et al.*, 2016; Shayganfar *et al.*, 2018).

بود. نتایج ما نشان داد پرتو فرابنفش B می‌تواند به طور چشمگیری فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز را در تاک‌های تحت تنش سرما افزایش دهد. افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی یکی از سازوکارهای مهم گیاهان به منظور افزایش تحمل به تنش دمای پایین می‌باشد (Nemati *et al.*, 2021).

فنول کل

اثر پرتو فرابنفش B، دما و اثر متقابل آنها بر محتوای فنول کل معنی‌دار شد. محتوای فنول کل در دمای ۴°C به ویژه در تیمار پرتو دهی شدید پرتو فرابنفش B افزایش قابل توجهی نشان داد (جدول ۲) که احتمالاً نشان‌دهنده بیان بهتر ژن‌های مرتبط و سنتز ترکیبات فنولی در این تیمار دمایی است چرا که با کاهش بیشتر دما (۴°C-) سنتز ترکیبات فنولی ثابت مانده و یا حتی کاهش یافت (جدول ۲). از طرفی در تاک‌های تیمار شده با پرتو فرابنفش B تجمع فنول کل بیشتر از تاک‌های شاهد در دمای پایین بود. این نتیجه حاکی از نقش پرتو فرابنفش B در مسیر بیوسنتز فنول است که احتمالاً منجر ساخت ترکیبات فنولی جدید در راستای سازگاری به سرما در تاک‌ها می‌شود.

کاربرد پرتو فرابنفش B ضمن افزایش ترکیبات فنولی، منجر بهبود شاخص‌های مورفوفیزیولوژیکی بوته‌های شمع‌دانی عطری شد (Jadidi *et al.*, 2022). در بین اثرات متقابل به ترتیب بیشترین و کمترین اثر در تیمار شدید پرتو فرابنفش B همراه با دمای ۴°C و بدون پرتو همراه با دمای ۲۴°C مشاهده گردید (جدول ۲). افزایش غلظت فنول کل در تمام تیمارهای پرتو فرابنفش B نسبت به شاهد معنی‌داری بود. عوامل تنش‌زای محیطی از جمله نور باعث تحریک تولید متابولیت‌های ثانویه و به ویژه ترکیبات فنولی می‌شوند (Zlatev *et al.*, 2012). ترکیبات پلی‌فنلی گروهی از ترکیبات پاداکساینده هستند که با

Table 2. The interaction effect of UV-B irradiation and different temperature treatments on leaves total phenol, total flavenoid and total anthocyanins of Yaghooti grape

Treatments		Total phenol	Total flavenoid	Total anthocyanins
UV-B irradiation	Temperatures	(mg g ⁻¹ FW)	(mg g ⁻¹ FW)	(mg g ⁻¹ FW)
Control, without UV-B (0 kJ m ⁻² d ⁻¹)	24°C	9.77 e	4.76 f	0.87 f
	4°C	13.01 d	7.42 e	1.19 e
	-4°C	14.03 d	6.94 e	1.12 e
Moderate UV-B (5.98 kJ m ⁻² d ⁻¹)	24°C	14.62 cd	7.34 e	1.51 c
	4°C	19.95 b	9.78 d	2.41 cd
	-4°C	17.97 bc	12.08 bc	1.23d
Sever UV-B (9.66 kJ m ⁻² d ⁻¹)	24°C	17.21 bc	11.26 c	1.29 d
	4°C	25.54 a	19.05 a	1.95 b
	-4°C	19.75 b	14.6 b	1.62 c

Means with common letters in each column do not have a statistically significant difference

و زنده مانی گیاه تحت دمای پایین می‌شود (Zhang *et al.*, 2011).

نتیجه گیری

به طور کلی نتایج نشان داد که با کاهش دما از ۲۴°C (دمای گلخانه) به دمای ۴°C (دمای سرمازدگی) و دمای -۴°C (دمای یخ زدگی) رنگیزه های فتوسنتزی کاهش و شاخص های آسیب پذیری غشاء (نشت یونی، مالون دی آلدئید و پروکسید هیدروژن) در تمامی تاک ها افزایش یافت که حاکی از تاثیر منفی دمای پایین بر این شاخص ها می باشد با این حال کاربرد پرتو فرابنفش B به ویژه در تیمار متوسط با افزایش فعالیت آنزیم های آنتی-اکسیدانی، ترکیبات فنولی و تنظیم کننده های اسمزی منجر به افزایش تحمل به سرمای تاک شد. تاثیر کارایی پرتو فرابنفش B در دمای سرمازدگی بیشتر از دمای یخ زدگی بود. کاربرد تیمار متوسط ضمن ایجاد خسارت خفیف در غشاء های سلولی، به عنوان یک محرک باعث افزایش فعالیت سامانه های آنتی اکسیدانی در تاک ها شد. بر اساس نتایج کاربرد تیمار متوسط پرتو فرابنفش B می تواند به عنوان یک محرک برای بهبود سیستم آنتی-اکسیدانی گیاه و پایداری غشاء سلولی تحت دمای سرمازدگی (۴°C) در انگور گلخانه ای مورد استفاده قرار گیرد.

آنتوسیانین کل

اثر پرتو فرابنفش B، دما و اثر متقابل آنها بر محتوای آنتوسیانین برگ معنی دار شد. تیمار دمای پایین به تنهایی تاثیر معنی داری بر محتوای آنتوسیانین برگ داشت با این حال برهمکنش پرتو فرابنفش B و دمای پایین منجر به افزایش محتوای آنتوسیانین برگ شد. تنش سرما در نشاء های گوجه فرنگی موجب افزایش میزان آنتوسیانین شد (Nemati *et al.*, 2021) که تاییدی بر یافته های مطالعه حاضر است. بیشترین محتوای آنتوسیانین مربوط به تاک های تیمار شده با تیمار متوسط پرتو فرابنفش B تحت دمای ۴°C بود (جدول ۲). تحت شرایط تیمار شدید پرتو فرابنفش B محتوای آنتوسیانین برگ در همه تیمار های دمایی در مقایسه با تیمار متوسط پرتو فرابنفش B کاهش یافت با این حال تاک های تحت پرتو دهی شدید، محتوای آنتوسیانین برگ تاک های تحت دمای ۴°C بیشتر از برگ تاک های تحت دمای ۴- و ۲۴ درجه سانتیگراد بود (جدول ۲). در مطالعه ای برهمکنش تنش خشکی و پرتو فرابنفش علاوه بر تقویت سیستم آنتی اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی منجر به افزایش آنتوسیانین برگ سه رقم گندم شد (Rezayi Far *et al.*, 2018). به طور کلی آنتوسیانین ها به عنوان ترکیبات جاذب پرتو فرابنفش در اپیدرم برگ عمل کرده و بافت های داخلی به ویژه پروتئین های سیستم فتوسنتزی را از آسیب محافظت می کنند این عامل باعث تداوم فتوسنتز

از معاونت پژوهشی دانشگاه ملایر جهت تامین اعتبار
پژوهشی لازم قدردانی می‌گردد.

سپاس‌گزاری

هزینه‌های این پژوهش از محل پژوهانه نگارنده

دوم (۱۴۸-۸۴/۹-۱۴۰۲) تامین شده است که بدین وسیله

References

- Arnon, D.I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 24:1-15.
- Bagheri, M., Motafakkerzad, R., Salehi Lisar, S. Y. & Talebpour, A. (2020). Effects of different levels of ultraviolet (UV) on growth and some secondary metabolites of the Hairy St. John's wort (*Hypericum hirsutum* L.). *Technology of Medicinal and Aromatic Plants of Iran*, 3(1), 92-114. [In Persian]
- Bates, L., Waldren, R. P. & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 13, 39-250.
- Beck, E. H., Heim, R. & Hansen, J. (2004). Plant resistance to cold stress: mechanisms and environmental signals triggering frost hardening and dehardening. *Journal of Biosciences*, 29, 449-459.
- Bergmeyer, H. U. (1970). *Methods of enzymatic analysis*. Akademie Verlag, Berlin, Germany, 636-647.
- Berli, F. J., Alonso, R., Beltrano, J. & Bottini, R. (2015). High -altitude solar UV -B and abscisic acid sprays increase grape berry antioxidant capacity. *American Journal of Enology and Viticulture*, 66, 65 -72.
- Bradford, M. M. (1976). Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254.
- Burchard, P., Bilger, W. & Weissenböck, G. (2000). Contribution of hydroxycinnamates and flavonoids to epidermal shielding of UV-A and UV-B radiation in developing rye primary leaves as assessed by ultraviolet-induced chlorophyll fluorescence measurements. *Plant, Cell and Environment*, 23(12), 1373-1380.
- Centritto, M., Loreto, F., Massacci, A., Pietrini, F., Villani, M. C. & Zacchini, M. (2000) Improved growth and water use efficiency of cherry saplings under reduced light intensity. *Ecological Research*, 15, 385-392.
- Cerovic, Z. G., Ounis, A., Cartelat, A., Latouche, G., Goulas, Y., Meyer, S. & Moya, I. (2002). The use of chlorophyll fluorescence excitation spectra for the non-destructive in situ assessment of UV-absorbing compounds in leaves. *Plant, Cell and Environment* 25, 1663-1676.
- Chang, C., Yang, M., Wen, H. & Chern, J. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal Food Drug Analysis*, 10, 178-182.
- Doupis, G., Chartzoulakis, K., Beis, A. & Patakas, A. (2011). Allometric and biochemical responses of grapevines subjected to drought and enhanced ultraviolet-B radiation. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 17, 36-42.
- Erdal, S. (2012). Androsterone-induced molecular and physiological changes in maize seedlings in response to chilling stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 57, 1-7.
- Ershadi, A., Karimi, R. & Mahdei, K. N. (2016). Freezing tolerance and its relationship with soluble carbohydrates, proline and water content in 12 grapevine cultivars. *Acta Physiologiae Plantarum*, 38(2), 1-10.
- Foyer, C. H. & Noctor, G. (2003). Redox sensing and signalling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. *Physiologia Plantarum*, 119, 355-364.
- Frohnmeyer, H. & Staiger, D. (2003). Ultraviolet-B radiation-mediated responses in plants. Balancing damage and protection. *Plant physiology*, 133(4), 1420-1428.
- Hana, B. & Bischof, J. C. (2004). Direct cell injury associated with eutectic crystallization during freezing. *Cryobiology*, 48, 8-21.
- Heath, R. L. & Packer, L. (1968). Photo-peroxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Arch Biochem Biophys*, 125, 189-198.

- Herzog, V. & Fahimi, H. D. (1973). Determination of the activity of peroxidase. *Analytica Chimica Acta*, 55, 554-562.
- Hideg, E., Jansen, M. A. & Strid, A. (2013). UV-B exposure, ROS, and stress: inseparable companions or loosely linked associates? *Trends in Plant Science*, 18, 107-115.
- Irigoyen, J. J., Emerich, D. W. & Sanchez-Diaz, M. (1992). Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa* L.) plants. *Physiologia Plantarum*, 84, 55-60.
- Jadidi, M., Mumivand, H., Ehteshamnya, A. & Shayganfar, A. (2022). Effect of light intensity and UV radiation on morpho-physiological characteristics and biomass of Rose-scented geranium (*Pelargonium graveolens* L'Heritier). *Journal of Plant Process and Function*, 11(48), 299-314. [In Persian].
- Jansen, M. A. & Bornman, J. F. (2012). UV-B radiation: from generic stressor to specific regulator. *Physiologia Plantarum*, 145, 501-504.
- Jordan, B. R. (2002). Molecular response of plant to UV-B stress. *Functional Plant Biology*, 29, 909-916.
- Kalbina, I. & Strid, Å. (2006). The role of NADPH oxidase and MAP kinase phosphatase in UV-B-dependent gene expression in Arabidopsis. *Plant, Cell and Environment*, 29(9), 1783-1793.
- Karimi, R. & Ershadi, A. (2015). Role of exogenous abscisic acid in adapting of 'Sultana' grapevine to low temperature stress. *Acta Physiologia Plantarum*, 37(8), 1-11.
- Karimi, R. (2020). Cold Hardiness evaluation of 20 commercial table grape (*Vitis vinifera* L.) cultivars. *International Journal of Fruit Science*, 20(3), 433-450.
- Karimi, R. (2014). Evaluation of nutrition and abscisic acid efficacy on cold hardiness of grapevine (*Vitis vinifera* L.). Bu-Ali Sina University. Doctoral dissertation. p, 240. [In Persian].
- Karimi, R., Ershadi, A., Rezaei Nejad, A., & Khanizadeh, S. (2016). Abscisic acid alleviates the deleterious effects of cold stress on 'Sultana' grapevine (*Vitis vinifera* L.) plants by improving the antioxidant activity and photosynthetic capacity of leaves. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 91(4), 386-395.
- Kasuga, J., Arakawa, K. & Fujikawa, S. (2007). High accumulation of soluble sugars in deep supercooling Japanese white birch xylem parenchyma cells. *New Phytologist*, 174(3), 569-579.
- Kirnak, H., Kaya, C., Tas, I., & Higgs, D. (2001). The influence of water deficit on vegetative growth, physiology, fruit yield and quality in eggplants. *Bulg. J. Plant Physiol*, 27(3-4), 34-46.
- Loreto, F., & Velikova, V. (2001). Isoprene produced by leaves protects the photosynthetic apparatus against ozone damage, quenches ozone products, and reduces lipid peroxidation of cellular membranes. *Plant Physiology*, 127(4), 1781-1787.
- Lukatkin, A. S. (2002). Contribution of oxidative stress to the development of cold-induced damage to leaves of chilling-sensitive plants: 2. The activity of antioxidant enzymes during plant chilling. *Russian Journal of Plant Physiology*, 49(6), 782-788.
- Martínez-Lüscher, J., Torres, N., Hilbert, G., Richard, T., Sánchez-Díaz, M., Delrot, S., ... & Gomès, E. (2014). Ultraviolet-B radiation modifies the quantitative and qualitative profile of flavonoids and amino acids in grape berries. *Phytochemistry*, 102, 106-114.
- Nakano, Y., & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and cell physiology*, 22(5), 867-880.
- Nemati, Z., Nemati, S. H., Mirshamsi Kakhki, A. & Nabati, J. (2021). Comparison of physiological indices in response to cold stress in wild tomato (*Solanum habrochaites*) for screening of cold tolerant lines. *Plant Productions*, 44(3), 395-406. [In Persian]
- Núñez-Olivera, E., Martínez-Abalgar, J., Tomás, R., Otero, S., & Arróniz-Crespo, M. (2006). Physiological effects of solar ultraviolet-B exclusion on two cultivars of *Vitis vinifera* L. from La Rioja, Spain. *American journal of enology and viticulture*, 57(4), 441-448.
- Pontin, M. A., Piccoli, P. N., Francisco, R., Bottini, R., Martinez-Zapater, J. M., & Lijavetzky, D. (2010). Transcriptome changes in grapevine (*Vitis vinifera* L.) cv. Malbec leaves induced by ultraviolet-B radiation. *BMC Plant Biology*, 10, 1-13.

- Rajabi, R. & Pourdad S. S. (2011). A study on cold resistance in safflower varieties and lines by physiological and biochemical indices. *Plant Productions*, 33(2), 1-14. [In Persian].
- Rezayi Far, Z., Fallahi, S. & Gholinezhad, E. (2018). The effect of drought stress and ultraviolet on antioxidant defensive system of enzyme and non-enzyme in three varieties of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Plant Process and Function*, 7(24): 155-170. [In Persian]
- Shayganfar, A., Azizi, M. & Rasouli, M. (2018). Various strategies elicited and modulated by elevated UV-B radiation and protectant compounds in *Thymus* species: Differences in response over treatments, acclimation and interaction. *Industrial Crops and Products* 113, 298-307.
- Takshak, S. & Agrawal, S. B. (2014). Effect of ultraviolet-B radiation on biomass production, lipid peroxidation, reactive oxygen species, and antioxidants in *Withania somnifera*. *Biologia plantarum*. 58(2), 328- 334.
- Velioglu, Y. S., Mazza, G., Gao, L. & Oomah, B. D. (1998). Antioxidant activity and total phenolics in fruits, vegetables and grain products. *Journal of Agriculture and Food Chememistry*, 46, 4113-4117.
- Wagner, G. J. (1979). Content and vacuole/extra vacuole distribution of neutral sugars, ferr aminoacids and anthocyanins in protoplasts. *Plant Physiology*, 64, 87-93.
- Williams, T. B., Dodd, I. C., Sobeih, W. Y., & Paul, N. D. (2022). Ultraviolet radiation causes leaf warming due to partial stomatal closure. *Horticulture Research*, 9, 1-13.
- Zhang, Y., Zheng, S., Liu, Z., Wang, L., & Bi, Y. (2011). Both HY5 and HYH are necessary regulators for low temperature-induced anthocyanin accumulation in *Arabidopsis* seedlings. *Journal of Plant Physiology*, 168(4), 367-374.
- Zlatev, Z. S., Lidon, F. J. & Kaimakanova, M. (2012). Plant physiological responses to UV-B radiation. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 24 (6), 481-501.