

## Seasonal and diurnal changes in photochemistry and antioxidant responses, and phenolic metabolism in evergreen *Jasminum fruticans*

Ghader Habibi 

Department of Biology, Payame Noor University (PNU), Iran, Email: [ghabibi@pnu.ac.ir](mailto:ghabibi@pnu.ac.ir)

### Article type:

Research article

### Abstract

In this study, seasonal and diurnal changes in photosynthesis and phenolic metabolism in evergreen jasmin (*Jasminum fruticans* L.) were examined over a 12-month period. We found the differences in pigment and phenolic contents between the values determined during the autumn and winter months and the values determined during the spring and summer months. During the autumn and winter months, the low seasonality of Chla was accompanied by increases in both carotenoids and phenol levels which play a major role in photoprotection processes. While the maximal quantum efficiency of PSII ( $F_v/F_m$ ) showed diurnal changes during the winter months, such diurnal changes were not observed for the other seasons. These diurnal changes reflected dynamic photoinhibition, as an adaptation mechanism, which may actually protect the leaves against photodamage under cold conditions. During the winter months, increased O–J phase (from the OJIP chlorophyll fluorescence curve) and decreased I–P phase in parallel with the reduction of  $F_v/F_m$ , revealed that the cold stress influenced both the donor and acceptor sides of PSII. Interestingly, we found the relationship between diurnal changes of  $F_v/F_m$  and those of hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) levels and catalase (CAT) activity during the winter months. Diurnal changes in CAT activity represented the differences between the values determined in warm and cold seasons. Compared with the diurnal changes during the spring and summer months, the maximum activity of CAT was observed at 15:00 h during the winter months, which indicated that CAT may play an effective role in protection of photosystems under a high photosynthetically active radiation (PAR) during cold days.

### Article history

Received: 24.06.2022

Revised: 16.09.2022

Accepted: 07.10.2022

Published: 20.04.2023

### Keywords

Antioxidant system

Carotenoids

chlorophyll fluorescence

diurnal changes

flavonoids

*Jasminum fruticans*

seasonal changes

**Cite this article as:** Ghader, H. (2023). Seasonal and diurnal changes in photochemistry and antioxidant responses, and phenolic metabolism in evergreen *Jasminum fruticans*. *Journal of Plant Environmental Physiology*, 69(1): 44-62.



©The author(s)

Publisher: Islamic Azad University, Gorgan branch

Doi: 10.30495/iper.2022.1957240.1788

Dor: 20.1001.1.24237671.1402.18.69.10.8

## تغییرات فصلی و روزانه پاسخ‌های فتوشیمیایی و آنتی اکسیدان و متابولیسم فنل در گیاه همیشه سبز یاس (*Jasminum fruticans*)

قادر حبیبی

دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران، رایانامه: [ghabibi@pnu.ac.ir](mailto:ghabibi@pnu.ac.ir)

نوع مقاله:	چکیده
مقاله پژوهشی	در این پژوهش، تغییرات فصلی و روزانه فتوستتر و متابولیسم فنلی گیاه همیشه سبز یاس ( <i>Jasminum fruticans</i> L.) در طول ۱۲ ماه سال مورد مطالعه قرار گرفت. سنجش پارامترهای مربوط به رنگیزه‌های فتوستتری و متابولیسم فنلی، تفاوت‌های آشکاری را بین مقادیر اندازه‌گیری شده در بهار و تابستان با مقادیر پاییز و زمستان نشان داد. در پاییز و زمستان، کاهش مقادیر کلروفیل <i>a</i> ، با افزایش مقادیر کاروتنوئید و فنل برگ‌ها (بعنوان سازوکارهای موثر حفاظت نوری) همراه بود. در حالی که پارامتر بیشینه عملکرد کوانتومی فتوسیستم II ( $F_v/F_m$ ) II در زمستان نوسان روزانه نشان داد، چنین نوسانی در سایر فصول مشاهده نشد. وجود نوسان روزانه $F_v/F_m$ تنها در روزهای زمستان، نشان داد که مهار نوری دینامیک نقش موثری در حفاظت فتوسیستم‌ها در برابر آسیب نوری بعدازظهر روز سرد زمستانی داشت. افزایش فاز O-J (فاز مربوط به تغییرات منحنی فلورسانس کلروفیل OJIP) همراه با کاهش فاز I-P نشان داد که سرمای زمستانه هر دو قسمت دهنده و گیرنده الکترون در فتوسیستم II را متأثر کرد. نتایج، وجود ارتباط بین تغییرات روزانه $F_v/F_m$ با تغییرات روزانه پراکسید هیدروژن ( $H_2O_2$ ) و فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) را آشکار ساخت. الگوی تغییرات روزانه فعالیت آنزیم کاتالاز در فصول گرم با الگوی تغییرات روزانه این آنزیم در فصول سرد متفاوت بود بطوریکه برخلاف فصول گرم، بیشترین میزان فعالیت کاتالاز در ساعت ۱۵ بعداز ظهر روزهای سرد زمستان ثبت شد. افزایش فعالیت کاتالاز در ساعات بعداز ظهر روزهای سرد نشان داد که این آنزیم نقش مهمی در حفاظت فتوسیستم‌ها در این ساعات دارد.
واژه‌های کلیدی:	
سیستم آنتی‌اکسیدان	
کاروتنوئید	
فلورسانس کلروفیل	
تغییرات روزانه	
فلاوونوئید	
<i>Jasminum fruticans</i>	
تغییرات فصلی	

استاد: حبیبی، قادر. (۱۴۰۲). تغییرات فصلی و روزانه پاسخ‌های فتوشیمیایی و آنتی اکسیدان و متابولیسم فنل در گیاه همیشه سبز یاس (*Jasminum fruticans*). فیزیولوژی محیطی گیاهی، ۶۹ (۱)، ۶۲-۴۴.

Doi: 10.30495/iper.2022.1957240.1788

Dor: 20.1001.1.24237671.1402.18.69.10.8

ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرمان

© نویسنده‌گان.



## مقدمه

چرخه کالوین، باعث افزایش انباشت ROS می شود. بیش انباشت مولکولهای ROS باعث مهار نوری و فتواکسیداسیون فتوسیستم II می شود (Takahashi and Badger, 2011; Li et al., 2019). در چنین شرایطی گیاه همیشه سبز، از طریق افزایش فروکش غیر فتوشیمیایی (NPQ)، جریان انتقال الکترون چرخه ای و همچنین سایر سازوکارهای حفاظت نوری می تواند با تداوم مهار نوری (که ممکن است به آسیب نوری منجر شود) مقابله کند (Takahashi and Badger, 2011).

یکی از مهمترین سازوکارهای حفاظت نوری در گیاهان، فعالیت سیستم جاروب کننده ROS برای تجزیه گونه‌های فعال اکسیژن می‌باشد. این سیستم دفاعی شامل راهکارهای آنزیمی و غیرآنزیمی است. آنزیم‌های این سیستم دفاعی شامل سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، آسکوربات پراکسیداز (APX)، دهیدروآسکوربات رودوکتاز (DHAR) و گلوکاتیون رودوکتاز (GR) است. سیستم غیرآنزیمی شامل آسکوربیک اسید (ASA)، گلوکاتیون، آلفاتوکوفرول (ویتامین E) و کاروتنوئیدها می‌باشد (Habibi and Ajory, 2015). همچنین گیاهان در شدت نورهای بالا از طریق تغییر در آرایش کلروپلاست‌ها از شدت صدمات نوری می‌کاهند (Suetsugu and Wada, 2007; Tholen et al., 2008). گیاهان تحت شرایط نور شدید و پرتو فرابنفش در طی سازوکار دیگری، مولکول‌های فیلترکننده و جاذب پرتو فرابنفش از جمله ترکیبات فنلی یا فنولیک‌ها (مثل فنل‌ها و آنتوسیانین‌ها) که در سیتوپلاسم سنتز و در واکوئل انباشته می‌شوند را ذخیره می‌کنند (Winkel-Shirley, 2002).

هرچند سازوکارهای حفاظت نوری در فصول گرم بخوبی بررسی شده است (Takahashi and Badger, 2011)، ولی سازوکارهای حفاظت نوری در

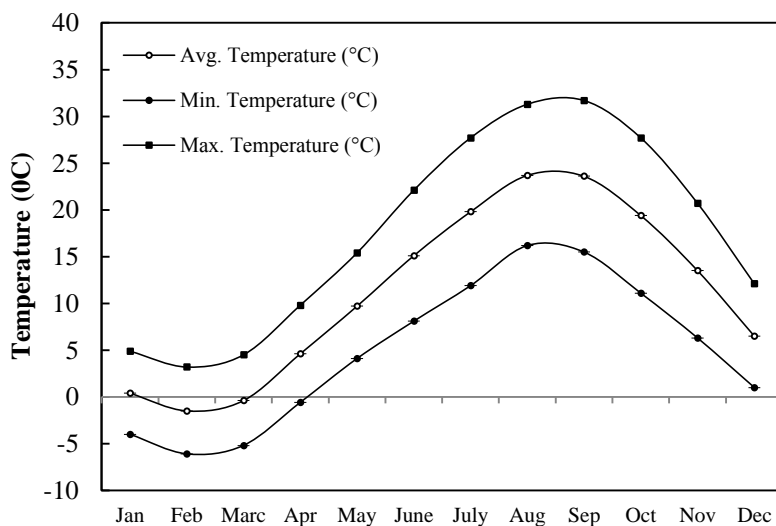
فتوسنتز از جمله فرآیندهایی است که به شدت تحت تأثیر شدت نور و سرما (Yamori et al., 2011; Azzabi et al., 2012) قرار می‌گیرد. با افزایش شدت نور، ظرفیت زنجیره انتقال الکترونی تکمیل شده و احتمال اکسیداسیون نوری افزایش می‌یابد. اکسیداسیون نوری باعث آسیب و تجزیه پروتئین‌ها شده و باعث مهار نوری می‌شود (Azzabi et al., 2012). از طرف دیگر، کاهش دما، تثبیت دی اکسیدکربن در گیاهان را محدود می‌کند (Yamori et al., 2011). سرما به تنهایی نیز باعث افزایش شکل‌گیری گونه‌های واکنش پذیر اکسیژن (ROS) می‌شود. شدت نور بالا هم باعث تخریب پروتئین D1 موجود در فتوسیستم II می‌شود و هم باعث افزایش انباشت ROS در کلروپلاست می‌شود (Scheller and Haldrup, 2005; Takahashi and Badger, 2011; Ivanov et al., 2012). وقتی تنش سرما با تابش نور روزانه همراه شود، باعث تشدید شکل‌گیری گونه‌های واکنش پذیر اکسیژن می‌شود. انباشت ROS در شرایط تنش توأم سرما و شدت نور بالا باعث پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء تیلاکوئید، مهار سنتز پروتئین D1 و در نهایت باعث مهار بازسازی فتوسیستم II می‌شود (Chen et al., 2012; Habibi et al., 2017b).

گیاهان همیشه سبز دارای سازوکارهایی هستند که دستگاه فتوسنتزی برگ‌های آنها را در برابر تابش نور در شرایط سرمای زمستانه محافظت می‌کند. بخاطر کاهش سرعت فعالیت آنزیم‌های چرخه کالوین در فصول سرد، همه انرژی نورانی جذب شده توسط کمپلکس جمع کننده نور (LHC)، صرف تثبیت دی اکسید کربن نمی‌شود، در نتیجه عدم تعادل بین ظرفیت انرژی نورانی جذب شده توسط کمپلکس جمع کننده و ظرفیت تثبیت دی اکسید کربن توسط

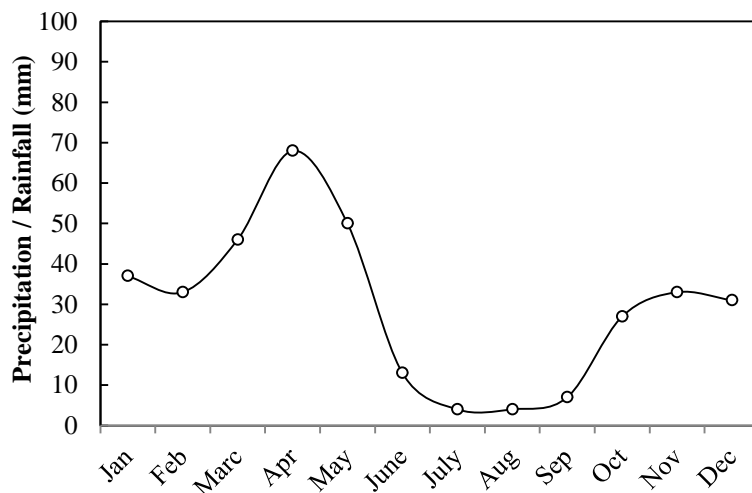
### مواد و روش‌ها

کشت گیاهان و شرایط آب و هوایی محل کشت: پایه‌های جوان با طول تقریبی ۲۰ سانتی متر که از گیاه مادر منشعب شده بودند، جداسازی و در مزرعه‌ای در اطراف شهرستان ملکان در بهار سال ۱۳۹۴ در قالب طرح کامل تصادفی با ۴ تکرار کشت شدند. سنجش‌ها در طی ماه‌های سال ۱۳۹۵ انجام پذیرفت. این منطقه در طول جغرافیایی ۴۶ درجه و ۶ دقیقه شرقی و در عرض ۳۶ درجه و ۵۸ دقیقه شمالی در وسط جلگه‌های منتهی به دریاچه ارومیه با ارتفاع ۱۳۱۴ متر از سطح دریا قرار دارد. متوسط بارندگی و دمای ماهانه در این منطقه بر اساس داده‌های ایستگاه هواشناسی مراغه در شکل ۱ و ۲ آورده شده است. آبیاری گیاهان تا ۸۰ درصد ظرفیت مزرعه انجام گرفت. نمونه برداری‌ها در پایان هر ماه انجام گرفت.

طی زمستان و در شرایط طبیعی (که نور خورشید بر برگ‌های سبز می‌تابد) و نحوه سازگاری این برگ‌های سبز زمستانه، فقط در تعداد محدودی از گیاهان مورد مطالعه قرار گرفته است (Míguez et al., 2015; Li et al., 2019). از آنجایی که سازوکارهای تحمل به سرما هنوز به طور کامل مشخص نیست، شناسایی سازوکارهای فیزیولوژیکی تحمل به سرما در فصول سرد در گیاهان همیشه سبز به زیست‌شناسان گیاهی کمک می‌کند تا راهکارهای افزایش تحمل به سرمای پاییزه و زمستانه را شناسایی کنند. در همین راستا، برای شناسایی سازوکارهای حفاظت نوری در شرایط سرمای پاییزه و زمستانه و مقایسه تفاوت سازوکارهای حفاظت نوری در فصول بهار و تابستان با فصول پاییز و زمستان، تغییرات فصلی و روزانه فتوسنتز و متابولیسم فنل در گیاه همیشه سبز یاس (*Jasminum fruticans* L.) در طول ۱۲ ماه سال مورد مطالعه قرار گرفت.



شکل ۱: پیشینه، کمینه و متوسط دمای ماهانه منطقه کشت گیاهان در سال ۱۳۹۵.



شکل ۲: متوسط بارندگی ماهانه منطقه کشت گیاهان در سال ۱۳۹۵.

بافت خاک مزرعه لوم سیلتی بود. برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱: مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک محل اجرای آزمایش

عمق خاک (cm)	بافت خاک	ظرفیت مزرعه (%)	اسیدیته	هدایت الکتریکی (dS. m <sup>-1</sup> )	آهن (mg kg <sup>-1</sup> )	منگنز (mg kg <sup>-1</sup> )	روی (mg kg <sup>-1</sup> )
۰-۵۰	لوم سیلتی	۲۰/۵	۷/۵	۱/۷۵	۹/۲۴	۶/۲۱	۰/۹۳

سنجش پارامترهای فلورسانس کلروفیل و تست JIP جهت تعیین فلورسانس کلروفیل، از دستگاه فلورسانس سنج (PEA, Hansatech Instruments) (King's Lynn, Norfolk, PE 32 1JL, Engl) استفاده شد. پارامترهای فلورسانس کلروفیل در برگ‌های (جفت سوم و چهارم) سازش یافته با تاریکی (به مدت حداقل ۴۰ دقیقه) شامل F<sub>0</sub> (فلورسانس پایه) و F<sub>m</sub> (فلورسانس بیشینه) اندازه گیری شد. شاخص‌های زیر در اندازه‌گیری‌های فلورسانس اولیه مورد استفاده قرار گرفت: شدت فلورسانس بیشینه (F<sub>m</sub>)، شدت فلورسانس در ۵۰ میکروثانیه به عنوان فلورسانس پایه، نسبت فلورسانس متغیر (V) و شدت فلورسانس در ۲ میلی ثانیه (مرحله J) که نشانگر F<sub>v</sub> است. سپس محاسبات لازم

برای بدست آوردن سایر پارامترها شامل شاخص کارایی فتوسیستم‌ها (PI<sub>abs</sub>) و بیشینه عملکرد کوانتومی فتوسیستم II (F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>) و همچنین سایر پارامترهای مرتبط با جذب نور (ABS/RC)، به دام اندازی نور (TR0/RC) و انتقال انرژی به مراکز واکنش (ET0/RC) انجام شد (Habibi, 2020). برای رسم منحنی گذار فلورسانس کلروفیل از نرم‌افزار PEA Plus V1.10 استفاده شد. در منحنی گذار فلورسانس OJIP برگ‌ها، گذار فلورسانس کلروفیل از سطح پایه «O» (فلورسانس کمینه) به سطح «J» که حدود ۲ میلی ثانیه طول میکشد، مربوط به احیاء QA توسط فتوسیستم II میباشد. تداوم فلورسانس از سطح «J» به سطح «I» که حدود ۳۰ میلی ثانیه طول میکشد با احیاء کامل ذخایر پلاستوکوئینونی (PQ) مرتبط

مقایسه با نمونه‌های شاهد بدون عصاره آنزیمی محاسبه شد.

فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) مطابق روش Simon و همکاران (۱۹۷۴) و بر اساس کاهش جذب پراکسید هیدروژن ( $H_2O_2$ ) در  $240\text{ nm}$  مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. عصاره آنزیمی پس از پودر شدن نمونه‌ها در نیتروژن مایع، در بافر فسفات پتاسیم با غلظت  $50\text{ mM}$  و  $pH=7$  استخراج شده و به مدت  $10$  دقیقه در  $10000\text{ g}$  سانتریفیوژ گردید. برای سنجش فعالیت آنزیم مقدار مناسبی از عصاره به محلول واکنش شامل بافر فسفات  $50\text{ mM}$  ( $pH=7$ ) و  $mM$   $10$  از  $H_2O_2$  افزوده شده و تغییرات جذب به مدت دو دقیقه توسط اسپکتروفتومتر مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. در نهایت فعالیت آنزیم بر اساس ضریب خاموشی  $H_2O_2$  ( $0.041\text{ mM}^{-1}\text{ cm}^{-1}$ ) محاسبه گردید. غلظت پراکسید هیدروژن ( $H_2O_2$ ) بر اساس روش Velikova و همکاران (۲۰۰۰) به دست آمد. محلول استخراج برگها، محلول  $0.1\%$  درصد (w/v) تری کلرو استیک اسید (TCA) بود. عصاره‌ها به مدت  $15$  دقیقه در  $12000\text{ g}$  سانتریفیوژ شده و روشناور مورد استفاده قرار گرفت.  $500$  میکرولیتر از عصاره به یک میلی لیتر از محلول واکنشی شامل  $10$  میلی مولار بافر فسفات پتاسیم ( $pH=7$ ) و یدید پتاسیم  $1\text{ M}$  اضافه شده و مخلوط حاصل به مدت  $60$  دقیقه در تاریکی به منظور انجام واکنش قرار گرفت. جذب نمونه‌ها در  $390\text{ nm}$  توسط اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. مقادیر بر اساس منحنی استاندارد  $H_2O_2$  در محدوده صفر تا  $50$  نانومول محاسبه شد (Habibi et al., 2018).

سنجش مالون دی آلدئید (MDA) به عنوان معیاری برای بررسی میزان پراکسیداسیون لیپیدها بر اساس روش Doran و Boominathan (۲۰۰۲) صورت گرفت. عصاره گیاهی در محلول  $0.1\%$  درصد (w/v)

است. گذار فلورسانس از سطح «I» به سطح «P» نتیجه احیاء جایگاه گیرنده الکترون فتوسیستم PSI میباشد (Strasser et al., 2004; Kalaji et al., 2011).

**سنجش رنگیزه‌های برگ:** جهت سنجش مقدار رنگیزه‌ها، نمونه‌های گیاهی با آب دوبار تقطیر شستشو، و روی کاغذ صافی خشک شدند. پس از اندازه‌گیری وزن تر (تقریباً  $200$  میلی گرم)، نمونه‌ها در داخل ورقه آلومینیومی قرار گرفته و در ازت مایع تا زمان سنجش نگهداری شدند. استخراج رنگیزه با استفاده از حلال استن روی یخ و باهاون چینی سرد انجام شد و به مدت  $24$  ساعت در یخچال در دمای  $4$  درجه سانتی گراد نگهداری شد. غلظت کلروفیل و کاروتنوئیدها به وسیله اسپکتروفتومتر، بعد از  $24$  ساعت استخراج در استن  $100$  درصد تعیین شد. جذب در  $662$ ،  $645$  و  $470\text{ nm}$  نانومتر اندازه‌گیری، و غلظت کلروفیل‌های  $a$  و  $b$  و کاروتنوئیدها طبق فرمول‌های زیر محاسبه شد (Lichtenthaler & Wellburn 1985).

$$C_a = 11.75 A_{662} - 2.350 A_{645}$$

$$C_b = 18.61 A_{645} - 3.960 A_{662}$$

$$C_{x+c} = 1000 A_{470} - 2.270 C_a - 81.4 C_b / 22$$

$C_a$  = کلروفیل  $a$ ،  $C_b$  = کلروفیل  $b$ ،  $C_{x+c}$  = کل

کاروتنوئید،  $A$  = جذب در طول موج موردنظر

**سنجش فعالیت آنزیم‌ها و متابولیت‌های سیستم دفاع آنتی اکسیدانی:** فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) مطابق روش Giannapolitis و Ries (۱۹۷۷) و بر اساس درصد ممانعت از احیاء (NBT nitroblue tetrazolium) به ترکیب ارغوانی رنگ دی فورمازان به‌وسیله رادیکال سوپراکسید ( $O_2^{\cdot-}$ ) حاصل از فتولیز ربیوفلاوین، توسط آنزیم موجود در عصاره مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. جذب نمونه‌ها در  $560\text{ nm}$  توسط اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. یک واحد فعالیت آنزیم بر اساس مقدار پروتئین آنزیمی لازم برای القاء  $50$  درصد ممانعت از احیاء NBT در

۲۹۰ nm توسط اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. یک واحد فعالیت آنزیم بر اساس غلظت پروتئین آنزیمی لازم برای تولید یک نانومول سینامیک اسید مطابق روش Zucker (۱۹۶۵) محاسبه شد.

**سنجش فنل کل:** از آنجایی که بیشترین ترکیبات فنلی گیاهان از نوع پلی‌فنل‌ها می‌باشد، از روش معرف فنلی فولین سیوکالتو (Mavi et al., 2004) برای سنجش فنل کل استفاده شد. برای این منظور ۵ گرم برگ پس از پودر شدن توسط‌هاون در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر به مدت ۳۰ دقیقه جوشانده شد و با استفاده از کاغذ واتمن شماره ۴۲ صاف گردید. غلظت ۲۵۰ میکرولیتر معرف فولین با ۲۵ میکرولیتر عصاره و ۵۰۰ میکرولیتر محلول آبی کربنات سدیم ۲۰ درصد مخلوط شد. نمونه‌های شاهد فاقد عصاره بودند. پس از قرار دادن نمونه‌ها در دمای آزمایشگاه به مدت ۳۰ دقیقه جذب آنها در طول موج ۷۶۵ نانومتر اندازه‌گیری شد و غلظت فنل کل بر اساس منحنی استاندارد اسید گالیک به دست آمد. برای هر عصاره این سنجش ۴ بار تکرار شد و میانگین فنل کل موجود در عصاره تیمارها به صورت میلی‌گرم اسید گالیک در گرم بافت بیان شد.

برای سنجش فلاونوئیدها نمونه‌های برگ در متانول حاوی آلومینیوم کلرید ۲ درصد استخراج شده و پس از سانتریفوژ، روشناور برداشت و جذب آن در طول موج ۴۱۵ نانومتر قرائت شد. از غلظت‌های مختلف کوئرستین (صفر تا ۱۶ میلی‌گرم در لیتر) به عنوان استاندارد استفاده گردید و مقدار فلاونوئیدها محاسبه شد (Sarikurkcu et al., 2008).

**بررسی آماری نتایج:** هر تیمار دارای ۴ تکرار مستقل بود. نمونه برداری در وسط هر ماه انجام پذیرفت. میانگین و انحراف معیار (SD) داده‌ها و همچنین رسم نمودارها بوسیله نرم افزار Excel 2010 به انجام رسید. برای تجزیه و تحلیل آماری از نرم‌افزار Sigma Stat

تری کلرو استیک اسید (TCA) استخراج شده و به مدت پنج دقیقه در ۱۰۰۰۰g سانتریفوژ گردید. نسبت ۱ به ۴ از روشناور با محلول ۲۰ درصد از TCA حاوی ۰/۵٪ تیوباربتوریک اسید در لوله آزمایش با هم مخلوط شده و به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس لوله‌ها سریعاً در یخ سرد شده و به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰g سانتریفوژ شدند. همزمان با عصاره‌های گیاهی محلول‌های استاندارد در محدوده صفر تا ۱۰۰ نانومول از ۱،۱،۳،۳- تترا اتوکسی پروپان تهیه شده و جذب نمونه‌ها در ۵۳۲ nm توسط اسپکتروفتومتر مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. در نهایت مقدار MDA نمونه‌ها بر حسب واحد  $\text{nmol g}^{-1} \text{FW}$  محاسبه شد.

برای اندازه‌گیری پروتئین محلول کل، عصاره پروتئینی در بافر فسفات سدیم با غلظت ۵۰ mM و  $\text{pH}=7/8$  استخراج شده و به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۵۰۰۰g سانتریفوژ شد. از روشناور حاصل برای سنجش پروتئین کل به روش Bradford (۱۹۷۶) استفاده به عمل آمد.

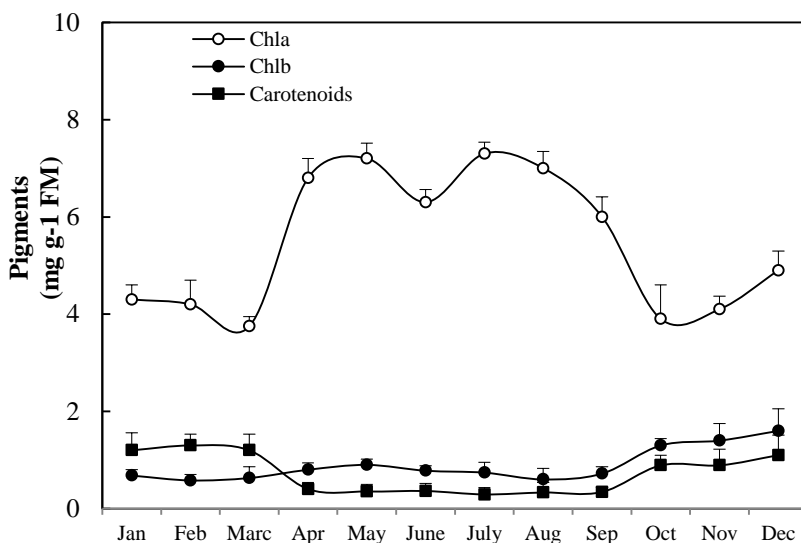
**سنجش فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیا‌لیاز:** فعالیت فنیل‌آلانین آمونیا‌لیاز (PAL) مطابق روش Zucker (۱۹۶۵) مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. ابتدا عصاره آنزیمی در بافر ۵۰ mM سدیم فسفات با  $\text{pH}=7/8$  و حاوی اتیلن دی‌آمین تترااستیک اسید (EDTA) با غلظت ۲ mM، ۱۸ mM مرکاپتواتانول و ۰/۱ درصد تریتون X-100 استخراج شد. عصاره‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۵۰۰۰ g سانتریفوژ شده و روشناور برای سنجش فعالیت مورد استفاده قرار گرفت. ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره به یک میلی‌لیتر از محلول واکنشی شامل ۵۰ mM بافر سدیم بورات ( $\text{pH}=8/8$ ) و ۵ mM-L- فنیل‌آلانین اضافه شده و مخلوط حاصل به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۳۰ درجه به منظور انجام واکنش قرار گرفت. جذب نمونه‌ها در

3.5 استفاده شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون Tukey در سطح احتمال  $p \leq 0.05$  استفاده به عمل آمد.

### نتایج

بررسی مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی در طول ماه‌های سال نشان داد که با شروع بهار، مقدار کلروفیل *a* برگ‌ها افزایش معنی دار یافت (شکل ۳). بیشترین انباشت کلروفیل *a* در برگ‌های متعلق به ماه‌های

آوریل تا سپتامبر و کمترین انباشت آن متعلق به ماه‌های ژانویه تا مارس (زمستان) و اکتبر تا دسامبر (پاییز) بود. در حالیکه مقدار کلروفیل *b* در برگ‌های متعلق به ماه‌های ژانویه تا سپتامبر تغییر محسوسی نشان نداد، بیشترین انباشت کلروفیل *b* در برگ‌های متعلق به ماه‌های اکتبر تا دسامبر بود. مقدار انباشت کاروتنوئید در ماه‌های سرد زمستان و پاییز نسبت به ماه‌های گرم بهار و تابستان افزایش معنی دار نشان داد.



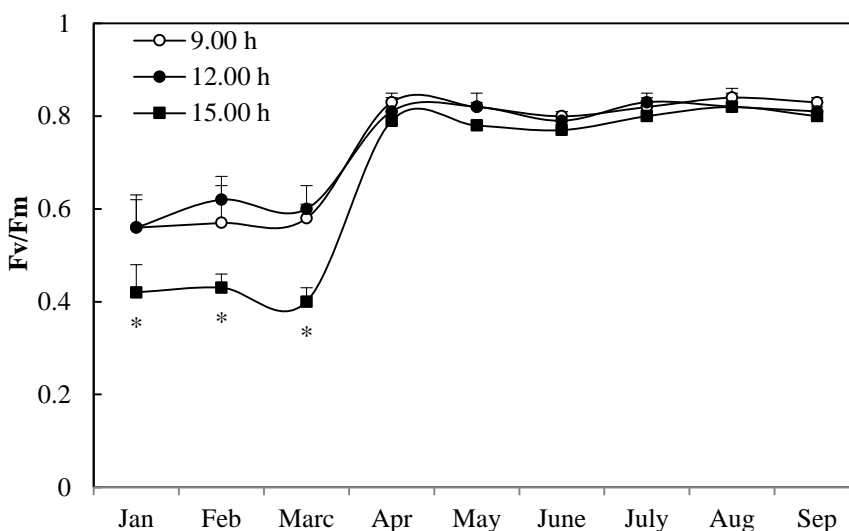
شکل ۳: تغییرات ماهانه کلروفیل *a* به *b* و کاروتنوئید برگ‌های گیاه یاس در رویشگاه طبیعی. میانگین  $\pm$  StD (انحراف معیار) است. میانگین‌های متعلق به هر ماه که دارای علامت ستاره باشند در سطح احتمال ۹۵ درصد با آزمون توکی با یکدیگر اختلاف معنی داری دارند.

مقایسه پارامتر بیشینه عملکرد کوانتومی فتوسیستم II ( $F_v/F_m$ ) نشان داد که هرچند تفاوت معنی داری بین بیشینه عملکرد کوانتومی فتوسیستم II برگ‌ها در بهار و تابستان وجود نداشت، ولی بیشینه عملکرد کوانتومی فتوسیستم II برگ‌ها در بهار و تابستان در مقایسه با برگ‌های زمستانه بسیار بالا بود (شکل ۴). مقدار پارامتر  $F_v/F_m$  در فصل زمستان نوسان روزانه نشان داد بطوریکه کمترین مقدار بیشینه عملکرد کوانتومی فتوسیستم II در ساعت ۱۵ بعدازظهر ثبت شد (شکل ۴). کمترین مقدار شاخص کارایی

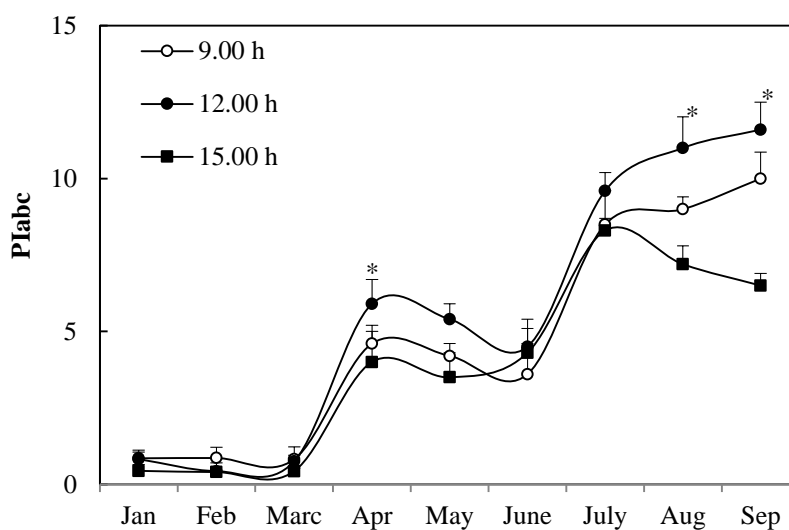
فتوسیستم‌ها ( $PI_{abs}$ ) متعلق به برگ‌های فصل سرد سال (زمستان) بود ولی با افزایش دما از بهار تا تابستان این پارامتر با سیر صعودی افزایش نشان داد (شکل ۵). مقدار پارامتر  $PI_{abs}$  در ماه‌های آوریل، آگوست و سپتامبر نوسان روزانه نشان داد بطوریکه بیشترین مقدار این پارامتر در ساعت ۱۲ ظهر ثبت شد (شکل ۵). بررسی پارامترهای مرتبط با جذب نور ( $ABS/RC$ )، به دام اندازی نور ( $TR0/RC$ ) و انتقال انرژی به مراکز واکنش ( $ET0/RC$ ) نشان داد که بیشترین مقدار این پارامترها متعلق به برگ‌های فصل



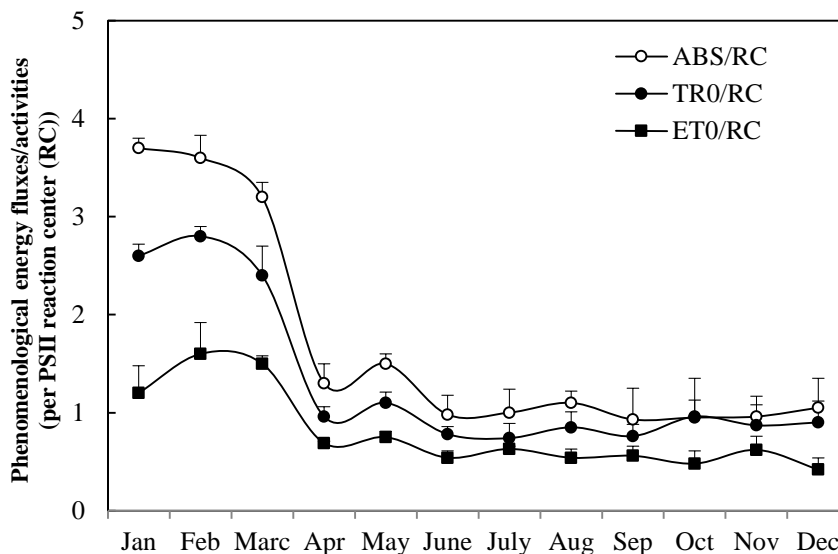
سرد سال (زمستان) بود ولی با افزایش دما از بهار تا تابستان این پارامترها با سیر نزولی کاهش نشان دادند (شکل ۶).



شکل ۴: تغییرات روزانه پارامتر بیشینه عملکرد کوانتومی فتوسیسستم II برگ‌های گیاه یاس در رویشگاه طبیعی. میانگین  $\pm$  StD (انحراف معیار) است. میانگین‌های متعلق به هر ماه که دارای علامت ستاره باشند در سطح احتمال ۹۵ درصد با آزمون توکی با یکدیگر اختلاف معنی‌داری دارند.



شکل ۵: تغییرات روزانه پارامتر شاخص کارایی فتوسیسستم‌های برگ‌های گیاه یاس در رویشگاه طبیعی. میانگین  $\pm$  StD (انحراف معیار) است. میانگین‌های متعلق به هر ماه که دارای علامت ستاره باشند در سطح احتمال ۹۵ درصد با آزمون توکی با یکدیگر اختلاف معنی‌داری دارند.

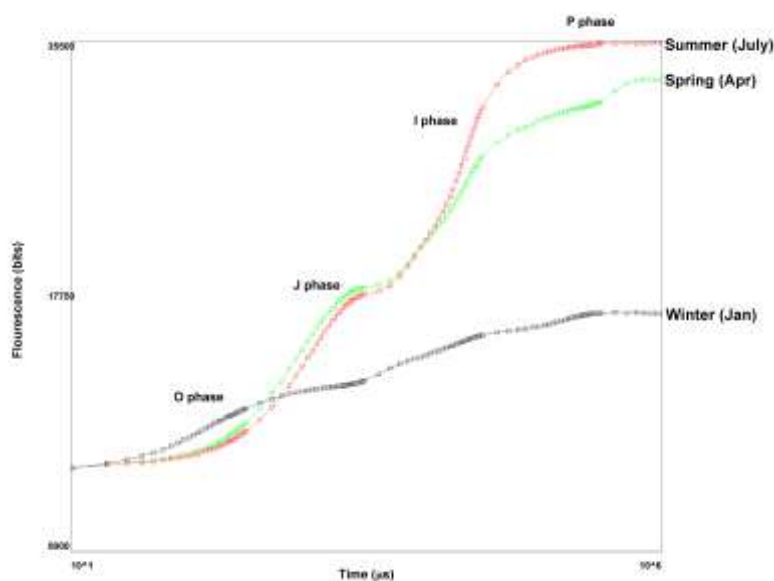


شکل ۶: تغییرات پارامترهای مرتبط با جذب نور (ABS/RC)، به دام اندازی نور (TR0/RC) و انتقال انرژی به مراکز واکنش برگ‌های گیاه یاس در رویشگاه طبیعی در ساعت ۱۲ ظهر. میانگین ۴ تکرار  $\pm$  StD (انحراف معیار) است. میانگین‌های متعلق به هر ماه که دارای علامت ستاره باشند در سطح احتمال ۹۵ درصد با آزمون توکی با یکدیگر اختلاف معنی‌داری دارند.

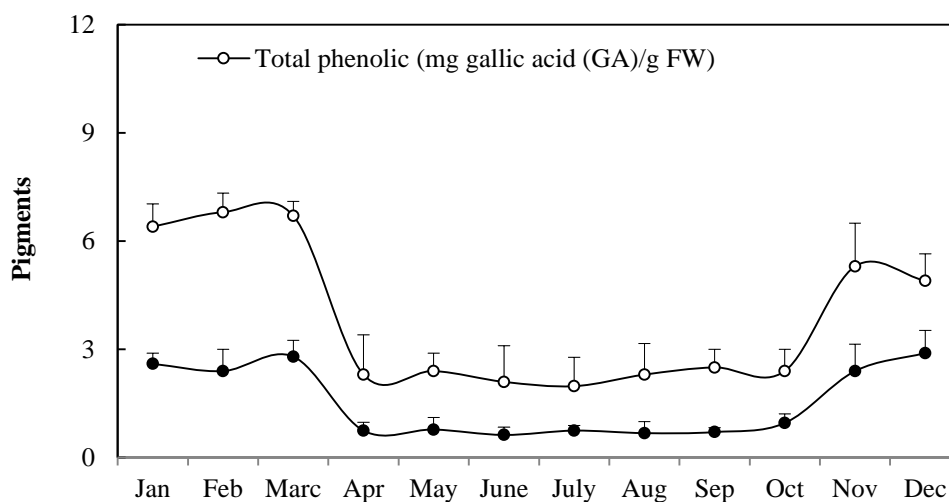
بطوریکه شدت فلورسانس در فاز IP کاهش چشمگیری یافت و منحنی فلورسانس نسبت به منحنی فلورسانس OJIP در بهار (آوریل) و تابستان (جولای) شکل مسطحی پیدا کرد.

بررسی مقدار فنل‌ها نشان داد که بیشترین مقدار فنل کل و فلاونوئید برگ‌ها متعلق به فصل سرد سال (زمستان) و دو ماه آخر پاییز بود ولی با افزایش دما از بهار تا تابستان مقدار فنل کل و فلاونوئید برگ‌ها نسبت به فصول سرد کاهش یافت (شکل ۸). فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیلایز (PAL) در همه ماه‌ها از الگوی افزایش مقدار فنل کل و فلاونوئید برگ‌ها تبعیت کرد و بیشترین فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیلایز تحت تأثیر سرمای ژانویه و نوامبر مشاهده شد (شکل ۹). فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیلایز در ماه نوامبر نوسان روزانه نشان داد بطوریکه بیشترین فعالیت این آنزیم در ساعت ۱۵ بعد از ظهر ثبت شد (شکل ۹).

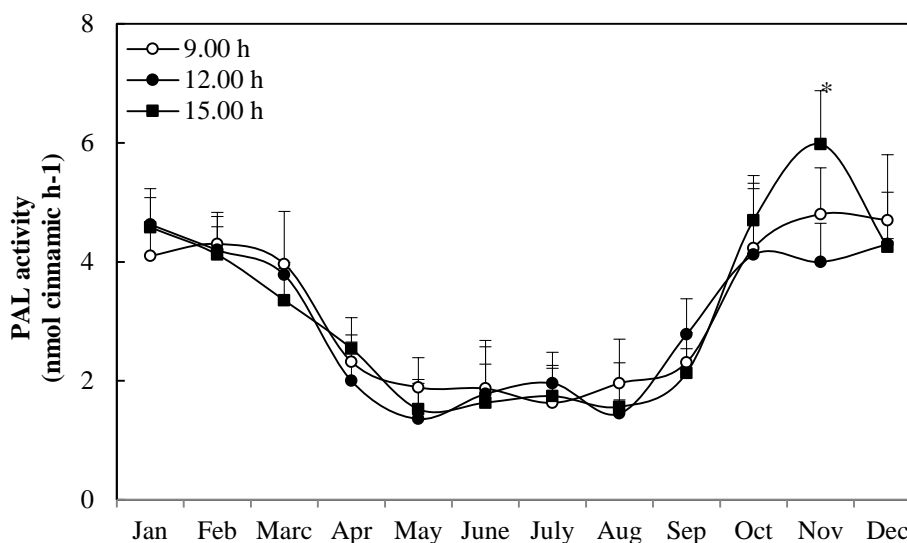
برای رسم منحنی فلورسانس از تست JIP بهره گرفته شد. تست JIP داده‌های ثبت شده اولیه توسط دستگاه فلورسانس سنج را به پارامترهای بیوفیزیکی تبدیل می‌کند و کمیت مراحل جریان انرژی را طی فتوسیستم II تعیین می‌کند. بررسی تغییرات منحنی فلورسانس OJIP (شکل ۷: محور عمودی شدت فلورسانس و محور افقی زمان بر اساس میکروثانیه) در گیاه یاس در فصل زمستان (ژانویه)، بهار (آوریل) و تابستان (جولای) نشان داد که بیشترین شدت فلورسانس متعلق به تابستان و کمترین شدت فلورسانس متعلق به زمستان بود. کاهش شدید پارامتر  $F_v/F_m$  در فصل زمستان با افزایش فلورسانس پایه ( $F_0$ ) و کاهش شدید فلورسانس بیشینه ( $F_m$ ) همراه بود. شدت فلورسانس در فاز O در برگ‌های زمستانه نسبت به برگ‌های بهاره و تابستانه افزایش نشان داد (شکل ۶). سرما باعث تغییرات عمده‌ای در شکل منحنی فلورسانس OJIP در فصل زمستان (ژانویه) شد



شکل ۷: تغییرات منحنی فلورسانس OJIP (محور عمودی شدت فلورسانس و محور افقی زمان بر اساس میکروثانیه است) برگ‌های گیاه یاس در رویشگاه طبیعی در ساعت ۱۲ ظهر در طول فصل بهار، تابستان و زمستان. برای تولید منحنی فلورسانس OJIP، از نور قرمز با طول موج ۶۲۷ نانومتر و شدت ۳۵۰۰ میکرومول/مترمربع/ثانیه (برای اطمینان از رسیدن به پیک  $F_m$ ) استفاده به عمل آمد.



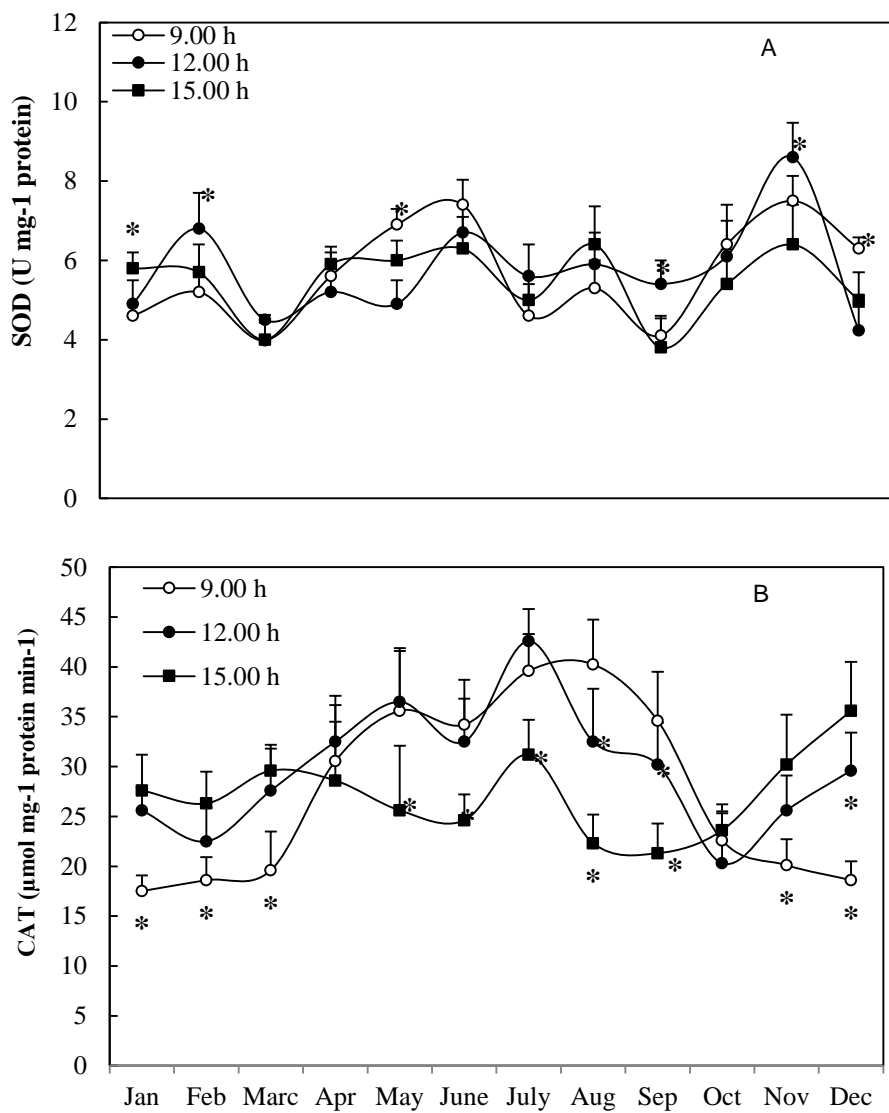
شکل ۸: تغییرات ماهانه مقدار فنل و فلاونوئید برگ‌های گیاه یاس در رویشگاه طبیعی. میانگین  $\pm$  StD (انحراف معیار) است. میانگین‌های متعلق به هر ماه که دارای علامت ستاره باشند در سطح احتمال ۹۵ درصد با آزمون توکی با یکدیگر اختلاف معنی‌داری دارند.



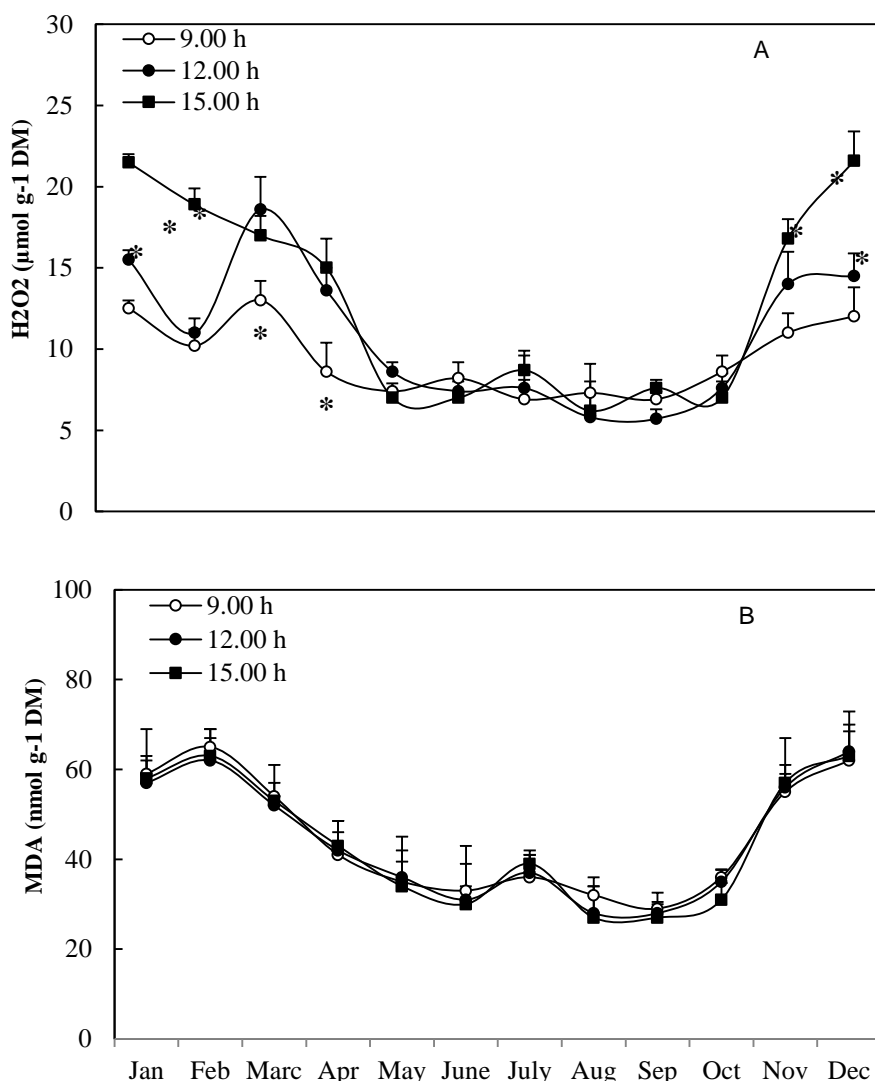
شکل ۹: تغییرات روزانه فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز (PAL) برگ‌های گیاه یاس در رویشگاه طبیعی در طول ۱۲ ماه سال. میانگین  $\pm$  تکرار  $\pm$  STD (انحراف معیار) است. میانگین‌های متعلق به هر ماه که دارای علامت ستاره باشند در سطح احتمال ۹۵ درصد با آزمون توکی با یکدیگر اختلاف معنی‌داری دارند.

انباشت این متابولیت‌های اکسیدانت در برگ‌های متعلق به ماه‌های ژانویه تا مارس (زمستان) و نوامبر تا دسامبر (پاییز) و کمترین انباشت متعلق به ماه‌های بهار و تابستان بود (شکل ۱۱). در حالیکه انباشت مالون دی آلدئید در برگ‌ها الگوی نوسان روزانه در فصل‌های مختلف نشان نداد، بررسی نوسان روزانه انباشت پراکسید هیدروژن، وجود یک الگوی مشخص نوسان روزانه در فصول سرد زمستان و پاییز را نشان داد بطوریکه بیشترین انباشت پراکسید هیدروژن در ماه ژانویه، فوریه، نوامبر و دسامبر در ساعت ۱۵ بعداز ظهر ثبت گردید.

بررسی تغییرات فصلی فعالیت آنزیم سوپراکسید دیس موتاز و کاتالاز نشان داد که بین فعالیت این آنزیم در فصول گرم و سرد تفاوت معنی‌داری وجود ندارد (شکل ۱۰). همچنین، بررسی نوسان روزانه فعالیت آنزیم سوپراکسید دیس موتاز در فصل‌های مختلف نشان داد که الگوی تغییرات این آنزیم در فصول مختلف متفاوت بود بطوریکه بیشترین فعالیت آنزیم در ماه فوریه، سپتامبر و نوامبر در ساعت ۱۲ ظهر و در ماه‌های می و دسامبر در ساعت ۹ صبح ثبت گردید. بررسی مقدار پراکسید هیدروژن و مالون دی آلدئید در طول ماه‌های سال نشان داد که بیشترین



شکل ۱۰: تغییرات روزانه فعالیت آنزیمهای سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) و کاتالاز (CAT) برگ‌های گیاه یاس در رویشگاه طبیعی در طول ۱۲ ماه سال. میانگین ۴ تکرار  $\pm$  StD (انحراف معیار) است. میانگین‌های متعلق به هر ماه که دارای علامت ستاره باشند در سطح احتمال ۹۵ درصد با آزمون توکی با یکدیگر اختلاف معنی‌داری دارند.



شکل ۱۱: تغییرات روزانه مقدار پراکسید هیدروژن (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) و مالون دی آلدئید (MDA) برگ‌های گیاه یاس در رویشگاه طبیعی در طول ۱۲ ماه سال. میانگین ۴ تکرار ± StD (انحراف معیار) است. میانگین‌های متعلق به هر ماه که دارای علامت ستاره باشند در سطح احتمال ۹۵ درصد با آزمون توکی با یکدیگر اختلاف معنی‌داری دارند.

#### بحث

آنتوسیانین بعنوان سازوکارهای حفاظتی فتوسیستم‌ها محسوب می‌شوند (Wong and Gamon, 2015). در این تحقیق نیز سرما باعث افزایش معنی‌دار مقدار انباشت کاروتنوئید در برگ‌های یاس گردید. انباشت کاروتنوئید بعنوان یک ترکیب آنتی‌اکسیدانت در برگ‌ها باعث افزایش فلورسانس انرژی مازاد نور در طی چرخه گزاتوفیل می‌شود (Cazzonelli and Pogson, 2010; Miura and Tada, 2014; Habibi

در این پژوهش، کاهش معنی‌دار مقدار کلروفیل a در طول ماه‌های سرد زمستان و پاییز، با افزایش معنی‌دار مقدار کاروتنوئید در برگ‌ها همراه شد. کاهش کلروفیل در شرایط سرد به مهار بیوسنتز ۵-آمینولولینیک اسید (ALA) نسبت داده می‌شود (Ashraf and Harris, 2013). در فصول سرد سال، کاهش مقدار کلروفیل، افزایش کاروتنوئید و

دهد. معمولاً، در طول زمستان، تثبیت دی اکسید کربن در برگ‌های درختان همیشه سبز متوقف می‌شود (Russell et al., 2009; Savitch et al., 2010). در این درختان تغییرات عمده‌ای در فراساختار کلروپلاست‌ها رخ می‌دهد که با کاهش محسوس مقدار غشاهای تیلاکوئیدی گرانایی، تجزیه پروتئین‌های مرتبط با فتوسیستم II و I و در نهایت کاهش شدید فعالیت فتوسیستم II و I، همراه می‌باشد (Silva-Cancino et al., 2012; Míguez et al., 2017). از طرف دیگر، کاهش تثبیت دی اکسید کربن در نتیجه کاهش گشودگی روزنه‌ها می‌تواند به عنوان یک مکانیسم حفاظت کننده در شرایط تنش عمل کند (Li et al., 2019). شاخص  $PI_{abs}$  در برگ‌های زمستانه، افزایش معنی دار نشان نداد. این یافته با نتایج تحقیق Brestič و Živčák (۲۰۱۳) که نشان دادند پارامتر  $PI_{abs}$  در مقایسه با پارامتر  $F_v/F_m$  به تنش حساس تر است، در انطباق می‌باشد. پارامتر  $PI_{abs}$  یک پارامتر کمپلکس است که با ظرفیت فتوستتزی و میزان تثبیت دی اکسیدکربن در برگ‌ها همبستگی دارد (Van Heerden et al., 2007).

در این تحقیق نتایج تست JIP نشان داد که پارامتر  $F_v/F_m$  در فصل زمستان بخاطر افزایش فلورسانس پایه ( $F_0$ ) و کاهش شدید فلورسانس بیشینه ( $F_m$ ) کاهش شدید یافته است. فاز IP فعالیت فلورسانس بیشینه ( $F_m$ ) را نشان می‌دهد. ممکن است کاهش فاز IP نشان دهنده غیرفعال شدن تعدادی از مراکز فعال فتوستتزی و بلوکه شدن انتقال الکترون در آن مراکز باشد (Strasser et al., 2004; van Heerden et al., 2007; Kalaji et al., 2011). کاهش شدت فلورسانس در فاز IP تحت تأثیر سرد شدن هوا نشان دهنده‌ی غیر فعال شدن پروتئین‌ها در ساختار فتوسیستم II نیز می‌باشد (Habibi, 2017a, b).

(and Ajory, 2015) و بعنوان یک سازوکار حفاظتی از فتوسیستم‌ها در برابر شرایط تنش محافظت می‌کند. بسیاری از محققان بر این باورند که سنجش فلورسانس کلروفیل و انجام تست OJIP می‌تواند به عنوان ابزاری تعیین کننده در ارزیابی عملکرد فتوسیستم II در شرایط تنش به کار رود (Habibi and Ajory, 2015). شاخص  $F_v/F_m$  یکی از شاخص‌های مهم جهت تعیین مقاومت به انواع تنش‌ها از جمله پاتوزن‌ها (Rousseau et al., 2013)، خشکی و سرما (Ehlert and Hinch, 2008) و دما (Xu et al., 2014) می‌باشد. سنجش  $F_v/F_m$  برگ‌های گیاه یاس در طول فصول زمستان، بهار و تابستان نشان داد که این پارامتر تحت تأثیر سرمای زمستان قرار گرفته است. با افزایش شدت سرما از ماه ژانویه تا مارس، ما شاهد کاهش معنی‌دار  $F_v/F_m$  و به ویژه شاخص عملکرد فتوسیستمی حساس یعنی  $PI_{abs}$  بودیم. کاهش  $F_v/F_m$  و  $PI_{abs}$  در زمستان با افزایش پارامترهای مرتبط با جذب نور (ABS/RC)، به دام اندازی نور (TR0/RC) و انتقال انرژی به مراکز واکنش (ET0/RC) همراه بود. کاهش  $F_v/F_m$  می‌تواند دلیل بر امکان وقوع مهار نوری باشد (Ashraf and Harris, 2013). برای اولین بار در این تحقیق، نوسان روزانه مقدار پارامتر  $F_v/F_m$  در طی ساعات روزانه در فصل زمستان نشان داده شد. در روزهای سرد زمستان، تنش توأم سرما و نور در ساعت ۱۵ بعدازظهر می‌تواند باعث کاهش انتقال الکترون در فتوسیستم II و در نهایت تخریب پروتئین D1 موجود در کمپلکس فتوسیستم II گردد. علت تخریب D1 در این شرایط تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و گونه‌های ROS می‌باشد (Fischer, 2013). کاهش  $F_v/F_m$  ممکن است به خاطر کاهش گشودگی روزنه‌ها اتفاق افتاده باشد و در نتیجه بخاطر ورود کم دی اکسید کربن به گیاه مهار نوری روی

از سازوکارهای مهم گیاهان برای حفاظت فتوسیستم‌ها در برابر تنش سرما و نور، فعال شدن سیستم جاروب کننده مولکول‌های ROS (Telfer, 2014) و انباشت جاذب‌های نوری در اپیدرم برگ‌ها از جمله فلاوونوئیدها و آنتوسیانین‌ها می‌باشد (Takahashi et al., 2016). در این پژوهش، فعالیت آنزیم PAL، مقادیر فنل کل و فلاوونوئید در برگ‌های متعلق به فصل سرد سال (زمستان) و دو ماه آخر پاییز نسبت به برگ‌های بهار و تابستان افزایش نشان دادند. شاید دلیل بالا بودن مقادیر فنل در برگ‌های متعلق به فصل سرد سال این است که این برگ‌ها در طی فصل سرد برای جلوگیری از مهار نوری فتوسیستم‌ها، مقادیر فنل‌ها را افزایش داده‌اند و این توانایی و سازگاری را تا بهار سال بعد حفظ کرده‌اند. بیش افزایش فعالیت آنزیم فنیل‌آلنین‌آمونیا‌لیاز در برگ‌های برداشت شده در ساعت ۱۵ پاییز نشان داد که تابش نور بعدازظهر به همراه سرما باعث تشدید فعالیت آنزیم شده است.

هرچند بین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت سوپراکسید دیس موتاز و کاتالاز در فصول گرم و سرد تفاوت معنی داری وجود نداشت، بررسی نوسان روزانه فعالیت آنزیم کاتالاز نشان داد که اولاً یک الگوی مشخص از نوسان روزانه فعالیت این آنزیم در فصول مختلف وجود دارد و دوم اینکه الگوی نوسان روزانه فعالیت این آنزیم در فصول سرد با الگوی نوسان روزانه فعالیت این آنزیم در فصول گرم متفاوت می‌باشد. نوسان روزانه فعالیت آنزیم کاتالاز در فصول تابستان و بهار در گیاهان مختلف مورد مطالعه قرار گرفته است و در تطابق با یافته‌های این تحقیق گزارش شده است که با افزایش شدت تابش در ساعات بعدازظهر سرعت انباشت رادیکال‌های آزاد اکسیژن بالا رفته و با تشدید تنفس نوری، فعالیت آنزیم کاتالاز دچار کاهش می‌شود

در (Luna et al., 2005; Cheng and Ma, 2004). در چنین شرایطی ممکن است فعالیت جاروب کردن رادیکال‌های آزاد توسط سایر آنزیم‌های سیستم آنتی‌اکسیدانت تدوam یابد. ولی نوسان روزانه فعالیت آنزیم کاتالاز در فصول سرد پاییز و زمستان در گیاهان همیشه سبز مورد مطالعه قرار نگرفته است و یافته‌های این تحقیق برای اولین بار نشان دادند که نوسان روزانه فعالیت آنزیم کاتالاز در فصول سرد با فصول گرم متفاوت بوده و فعالیت این آنزیم در ماه‌های سرد سال (ژانویه، فوریه، مارس، نوامبر و دسامبر) در ساعت ۹ صبح نسبت به سایر ساعات کاهش معنی دار نشان داد و بیشترین فعالیت متعلق به ساعت ۱۵ بعدازظهر روزهای سرد بود. از آن جایی که غشا اولین بخش از سلول است که تحت تأثیر تنش قرار می‌گیرد، در این تحقیق برای تعیین آسیب غشاها در شرایط تنش، مقدار MDA به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدها سنجش شد. بررسی مقدار پراکسید هیدروژن و مالون دی آلدئید در طول ماه‌های سال نشان داد که بیشترین انباشت این متابولیت‌های اکسیدانت در برگ‌های متعلق به ماه‌های ژانویه تا مارس (زمستان) و نوامبر تا دسامبر (پاییز) و کمترین انباشت متعلق به ماه‌های بهار و تابستان بود. در حالیکه انباشت مالون دی آلدئید در برگ‌ها الگوی نوسان روزانه در فصل‌های مختلف نشان نداد، انباشت پراکسید هیدروژن در فصول پاییز و زمستان الگوی نوسان روزانه نشان داد که این الگو با الگوی نوسان روزانه فعالیت آنزیم کاتالاز در فصول سرد مطابقت داشت. بررسی دقیق تر الگوی نوسان روزانه انباشت پراکسید هیدروژن در فصول سرد، وجود یک همبستگی منفی با الگوی نوسان روزانه پارامتر  $F_v/F_m$  را آشکار کرد. این یافته نشان می‌دهد که افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن در ساعات بعدازظهر روزهای سرد پاییز و زمستان باعث تغییرات عمده ای



در فعالیت فتوسیستم II و I، گردیده و مهار نوری دینامیک (برگشت پذیر) رخ داده است.

### نتیجه گیری نهایی

گیاه یاس در فصول سرد سال، با کاهش مقدار کلروفیل و افزایش کاروتنوئید، فنل و فلاونوئید مقاومت فتوسیستم‌ها به سرمای پاییزه و زمستانه را افزایش داد. وجود یک الگوی نوسان روزانه در مقدار  $F_v/F_m$  در فصول سرد نشان داد که کاهش بیشینه عملکرد کوانتومی فتوسیستم II در ساعت ۱۵ بعداز ظهر برگشت پذیر بوده و گیاه از سازوکار مهار نوری دینامیک برای حفاظت بیشتر فتوسیستم‌ها در زمستان

بهره می‌برد. برای اولین بار در این تحقیق مشخص شد که نوسان روزانه فعالیت آنزیم کاتالاز در فصول سرد با فصول گرم متفاوت بوده و برخلاف فصول بهار و تابستان، بیشترین فعالیت آنزیم در ساعات بعداز ظهر روزهای سرد ثبت گردید. این یافته نقش موثر آنزیم کاتالاز در حفاظت نوری فتوسیستم‌ها را در فصول سرد سال بویژه در ساعاتی از روز که شدت تابش نور بالاست، بیش از پیش آشکار کرد.

### سپاسگزاری

نگارندگان مقاله از همکاری صمیمانه خانم ندا آجری سپاسگزاری می‌کنند.

### References

- Ashraf, M.H.P.J.C. and Harris, P.J. (2013) Photosynthesis under stressful environments: an overview. *Photosynthetica*, 51: 163-190.
- Azzabi, G., Pinnola, A., Betterle, N., Bassi, R. and Alboresi, A. (2012) Enhancement of non-photochemical quenching in the *Bryophyte physcomitrella patens* during acclimation to salt and osmotic stress. *Plant Cell Physiology*, 53: 1815-1825.
- Boominathan, R. and Doran, P.M. (2002) Ni induced oxidative stress in roots of the Ni hyperaccumulator, *Alyssum bertoloni*. *New Phytologist*, 156: 202-205.
- Bradford, M.M. (1976) A rapid & sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248-254.
- Cazzonelli, C. I. and Pogson, B. J. (2010). Source to sink: regulation of carotenoid biosynthesis in plants. *Trends in Plant Science*, 15: 266-274.
- Chen, L., Jia, H., Tian, Q., Du, L. and Gao, Y. (2012) Protecting effect of phosphorylation on oxidative damage of D1 protein by down-regulating the production of superoxide anion in photosystem II membranes under high light. *Photosynth Research*, 112: 141-148.
- Cheng, L., Ma, F. (2004) Diurnal operation of the xanthophyll cycle and the antioxidant system in apple peel. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 129(3): 313-320.
- Ehlert, B. and Hinch, D.K. (2008) Chlorophyll fluorescence imaging accurately quantifies freezing damage and cold acclimation responses in *Arabidopsis* leaves. *Plant Methods*, 4(1): 12.
- Fischer, B.B., Hideg, E. and Krieger-Liszkay, A. (2013) Production, detection and redox signaling of singlet oxygen in photosynthetic organisms. *Antioxidants Redox Signaling*, 18: 2145-2162.
- Giannopolitis, C.N. and Ries, S.K. (1977) Superoxide dismutase: occurrence in higher plants. *Plant Physiology*, 59: 309-314.
- Ivanov, A.G., Allakhverdiev, S.I., Huner, N.P.A. and Murata, N. (2012) Genetic decrease in fatty acid unsaturation of phosphatidylglycerol increased photoinhibition of photosystem I at low temperature in tobacco leaves. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics*, 1817: 1374-1379.
- Habibi, G. and Ajory, N. (2015) The effect of drought on photosynthetic plasticity in *Marrubium vulgare* plants growing at low & high altitudes. *Plant Research*, 128: 987-994

- Habibi, G. (2020) Comparison of CAM expression, photochemistry and antioxidant responses in *Sedum album* and *Portulaca oleracea* under combined stress. *Physiologia Plantarum*, 170(4): 550-568.
- Habibi, G., Elyaghi, S., Abedini, M. and sabourmoghaddam, N. (2018) Benefit of iodine soil application for alleviating detrimental effects of salinity stress in strawberry. *Iranian Journal of Plant Biology* 10(2): 57-72.
- Habibi, G. (2014) Hydrogen Peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) Generation, Scavenging & Signaling in Plants. In: Ahmad P, (eds.), *Oxidative Damage to Plants: Antioxidant Networks and Signaling*. Elsevier, USA, 557-574.
- Habibi, G. (2017a) Physiological, photochemical and ionic responses of sunflower seedlings to exogenous selenium supply under salt stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 39(10): 213.
- Habibi, G., Servataian, N. and Abedini, M. (2017b) Photoprotection mechanisms in wheat plants under high light and cold temperature conditions. *Iranian Journal of Plant Biology*, 9(1): 59-72.
- Kalaji, H. M., Bosa, K., Kościelniak, J. and Żuk-Gołaszewska, K. (2011) Effects of salt stress on photosystem II efficiency and CO<sub>2</sub> assimilation of two Syrian barley landraces. *Environmental and Experimental Botany*, 73: 64-72.
- Lichtenthaler, H.K. and Wellburn, A.R. (1985) Determination of total carotenoids & chlorophylls *a* & *b* of leaf in different solvents. *Biochemical Society Transactions*, 11: 591-592.
- Li, Y.N., Li, Y.T., Ivanov, A.G., Jiang, W.L., Che, X.K., Liang, Y., Zhang, Z.S., Zhao, S.J. and Gao, H.Y. (2019) Defective photosynthetic adaptation mechanism in winter restricts the introduction of overwintering plant to high latitudes. *BioRxiv*, p.613117.
- Luna, C.M., Pastori, G.M., Driscoll, S., Groten, K., Bernard, S. and Foyer, C.H. (2005) Drought controls on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> accumulation, catalase (CAT) activity and CAT gene expression in wheat. *Journal of Experimental Botany*, 56: 417-423.
- Mavi, A., Terzi, Z. and Ozgen, U. (2004) Antioxidant properties of some medicinal plants: *Prangos ferulacea* (Apiaceae), *Sedum sempervivoides* (Crassulaceae), *Malva neglecta* (Malvaceae), *Cruciata taurica* (Rubiaceae), *Rosa pimpinellifolia* (Rosaceae), *Galium verum* subsp. *Verum* (Rubiaceae), *Urtica dioica* (Urticaceae). *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 27: 702-705.
- Míguez, F., Fernández-Marín, B., Becerril, J.M. and García-Plazaola, J.I. (2015) Activation of photoprotective winter photoinhibition in plants from different environments: a literature compilation and meta-analysis. *Physiologia Plantarum*, 155: 414-423.
- Míguez, F., Fernández-Marín, B., Becerril, J.M. and García-Plazaola, J.I. (2017) Diversity of winter photoinhibitory responses: a case study in co-occurring lichens, mosses, herbs and woody plants from subalpine environments. *Physiologia Plantarum*, 160: 282-296.
- Miura, K. and Tada, Y. (2014). Regulation of water, salinity, and cold stress responses by salicylic acid. *Frontiers in Plant Science*, 5: 4-12.
- Rousseau, C., Belin, E., Bove, E., Rousseau, D., Fabre, F. and Berruyer, R. (2013) High throughput quantitative phenotyping of plant resistance using chlorophyll fluorescence image analysis. *Plant Methods*, 9: 17.
- Russell, R.B., Lei, T.T. and Nilsen, E.T. (2009) Freezing induced leaf movements and their potential implications to early spring carbon gain: *Rhododendron maximum* as exemplar. *Functional Ecology*, 23: 463-471.
- Sarikurku, C., Tepe, B. and Yamac, M., 2008. Evaluation of the antioxidant activity of four edible mushrooms from the Central Anatolia, Eskisehir - Turkey: *Lactarius deterrimus*, *Suillus collitinus*, *Boletus edulis*, *Xerocomus chrysenteron*. *Bioresource Technology*, 99: 6651-6655.
- Savitch, L.V., Ivanov, A.G., Krol, M., Sprout, D.P., Öquist, G. and Huner, N.P. (2010) Regulation of energy partitioning and alternative electron transport pathways during cold acclimation of lodgepole pine is oxygen dependent. *Plant, Cell & Environment* 51: 1555-1570.

- Scheller, H. and Haldrup, A. (2005) Photoinhibition of photosystem I. *Planta*, 221: 5-8.
- Silva-Cancino, M.C., Esteban, R., Artetxe, U. and Plazaola, J.I.G. (2012) Patterns of spatio-temporal distribution of winter chronic photoinhibition in leaves of three evergreen Mediterranean species with contrasting acclimation responses. *Physiologia Plantarum*, 144: 289-301.
- Simon, L.M., Fatrai, Z., Jonas, D.E. and Matkovics, B. (1974) Study of peroxide metabolism enzymes during the development of *Phaseolus vulgaris*. *Biochemie und Physiologie der Pflanzen*, 166: 387-392.
- Strasser, R.J., Tsimilli-Michael, M. and Srivastava, A. (2004) Analysis of the chlorophyll *a* fluorescence transient. In: Papageorgiou, G.C., Govindjee (Eds.), *Chlorophyll a Fluorescence: A Signature of Photosynthesis*. Springer, Dordrecht, 321-362.
- Suetsugu, N. and Wada, M. (2007) Chloroplast photorelocation movement mediated by phototropin family proteins in green plants. *Biological Chemistry* 388: 927-935.
- Takahashi, S. and Badger, M.R. (2011) Photoprotection in plants: a new light on photosystem II damage. *Trends in Plant Science*, 16: 1-10.
- Takahashi, S. (2010) The solar action spectrum of photosystem II damage. *Plant Physiology*, 153: 988-993.
- Takahashi, D., Kawamura, Y. and Uemura, M. (2016) Cold acclimation is accompanied by complex responses of glycosylphosphatidylinositol (GPI)-anchored proteins in *Arabidopsis*. *Journal of Experimental Botany*, 67: 5203-5215.
- Telfer, A. (2014) Singlet oxygen production by PSII under light stress: mechanism, detection & the protective role of b-Carotene. *Plant Cell Physiology*, 55(7): 1216-1223.
- Tholen, D. (2008) The chloroplast avoidance response decreases internal conductance to CO<sub>2</sub> diffusion in *Arabidopsis thaliana* leaves. *Plant Cell Environment* 31: 1688-1700.
- Velikova, V., Yordanov, I. and Edreva, A. (2000) Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants-protective role of exogenous polyamines. *Plant Science* 151: 59-66.
- Van Heerden, P.D.R., Swanepoel, J.W. and Krüger, G.H.J. (2007) Modulation of photosynthesis by drought in two desert scrub species exhibiting C<sub>3</sub>-mode CO<sub>2</sub> assimilation. *Environmental and Experimental Botany* 61(2): 124-136.
- Winkel-Shirley, B. (2002) Biosynthesis of flavonoids and effects of stress. *Current Opinion in Plant Biology* 5: 18-223.
- Wong, C.Y. and Gamon, J.A. (2015) The photochemical reflectance index provides an optical indicator of spring photosynthetic activation in evergreen conifers. *New Phytologist* 206: 196-208.
- Yamori, W., Sakata, N., Suzuki, Y., Shikanai, T. and Makino, A. (2011) Cyclic electron flow around photosystem I via chloroplast NAD(P)H dehydrogenase (NDH) complex performs a significant physiological role during photosynthesis and plant growth at low temperature in rice. *The Plant Journal* 68: 966-976.
- Xu, H.G., Liu, G.J., Liu, G.T., Yan, B.F., Duan, W. and Wang L.J. (2014) Comparison of investigation methods of heat injury in grapevine (*Vitis*) & assessment to heat tolerance in different cultivars & species. *BMC Plant Biology* 14: 156.
- Zucker, M. (1965) Induction of phenylalanine deaminase by light, its relation to chlorogenic acid synthesis in potato tuber tissue. *Physiologia Plantarum* 40: 779-784.