

## رفتار گیاه در پاسخ به تنش سرما

مریم کریمی علویجه<sup>۱\*</sup>، عبدالکریم زارعی<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> پژوهشکده گل و گیاهان زینتی، موسسه باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، محلات، ایران

<sup>۲</sup> گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جهرم، جهرم، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۴/۰۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۷/۰۴

### چکیده

تنش‌های محیطی همواره به عنوان یکی از عوامل مهم محدود کننده رشد و نمو و تولید مثل گیاهان می‌باشند. تنش سرمایی یکی از مهمترین نوع این تنش‌ها بوده که هر ساله خسارات زیادی محصولات مختلف گیاهی وارد می‌کند و بعنوان تهدیدی برای تولید پایدار محصولات گیاهی می‌باشد. به طی فصل پاییز، تغییرات مورفولوژی، فیزیولوژی، بیوشیمیایی و مولکولی، گیاهان را برای مقابله و تحمل دماهای پایین فصل زمستان آماده می‌کند. مطالعه سطح سلولی تنش، به منظور دستکاری‌های ژنتیکی برای کسب مقاومت به سرما در گیاهان ضروری است. در صورت بروز سرماهای زودرس پاییزه یا سرماهای دیررس بهاره صدمات مختلفی به گیاه وارد خواهد شد. کسب سازگاری در فصل پاییز برای تحمل شرایط زمستان ضروری می‌باشد. روند کلی کسب سازگاری تقریباً در تمامی گیاهان مشابه بوده ولی با توجه به نوع گیاه و شرایط منطقه تفاوت‌هایی وجود دارد. اندام مختلف گیاه، درجات و صدمات متفاوتی را بعد از گذراندن تنش سرما نشان خواهند داد که با رعایت برخی اصول کشاورزی، خسارات احتمالی تا حد زیادی قابل کنترل خواهند بود. تقویت به موقع و جلوگیری از هر گونه تنش به گیاه صدمات ناشی از سرما را به حداقل خواهند رساند. مرور کلی مسیرهای ایجاد صدمات تنش سرما و مکانیسم مقابله گیاه می‌تواند برای جلوگیری از ایجاد خسارات تا حد ممکن مفید باشد.

**واژه‌های کلیدی:** تنش سرما، سازگاری، صدمه، گونه گیاهی، خوپذیری

### مقدمه

مقابله با شرایط تنش سازگار خواهد شد (Windfield et al., 2010). در بین تنش‌های غیرزیستی، تنش‌های دمای بالا و پایین از مهمترین عوامل تعیین کننده کشت گیاهان بوده و در تولیدات گیاهی نقش تعیین کننده‌ای دارند. دماهای پایین اغلب بر روی رشد و عملکرد تاثیر می‌گذارد و میزان محصول گیاهان مختلف را به طور چشمگیری تحت تاثیر قرار می‌دهد (Wang et al., 2020). گیاهان در میزان تحمل دماهای پایین (۱۵-۰ درجه سانتی‌گراد) و یخ‌زدگی (زیر صفر درجه سانتی‌گراد) متفاوت می‌باشند. سازگاری به دماهای پایین با قرارگیری در معرض سرماهای کوتاه مدت

حدود یک سوم کل زمین‌های موجود بر روی کره زمین، برای کشت و کار مناسب می‌باشند. اگرچه به‌خاطر استرس‌های محیطی و دیگر عوامل محدود کننده حدود ده درصد از ۱۳ میلیارد هکتار مورد کشت قرار گرفته‌اند. تنش‌های غیرزنده به‌طور گسترده‌ای رشد و نمو و تولید مثل گیاهان را تحت تاثیر قرار می‌دهند. در پی این تنش‌ها تغییرات مورفولوژی، فیزیولوژی، بیوشیمیایی و مولکولی در گیاه اتفاق می‌افتد که با طی این مراحل، گیاه برای

\*نویسنده مسئول: mkarimia61@gmail.com

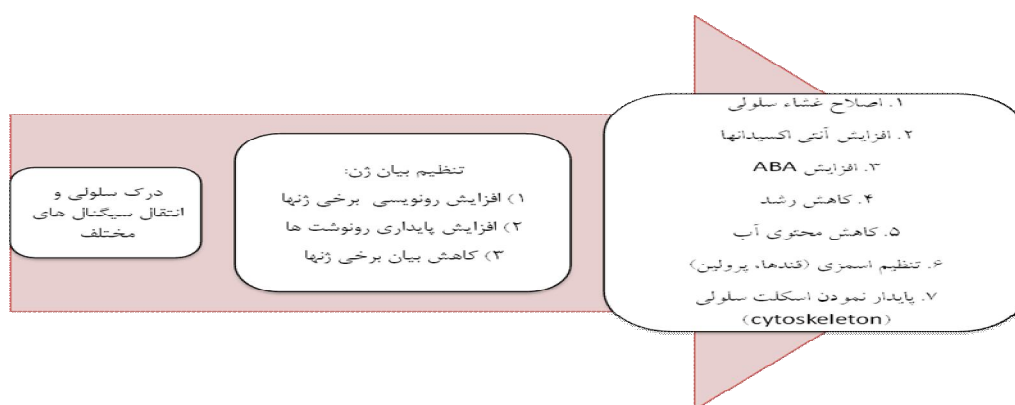
تنش دمای پایین بیان می‌شوند. گروهی از ژن‌های دخیل در مسیرهای ایجاد سازگاری به تنش دمای پایین شناسایی و به‌عنوان ژن‌های پاسخگو به سرما معرفی شده‌اند (Rihan et al., 2017). بیان ژن‌های تنظیم‌شونده بوسیله دمای پایین، هم بر روی تحمل سرما و هم برای سازگاری به سرما موثرند (Karimi et al., 2015; Ebadi et al., 2015; Hsieh et al., 2002). لازمه فعالیت آنزیم‌ها و سنتز پروتئین‌های دخیل در سازگاری و تحمل دمای پایین، فعالیت ژن‌هایی می‌باشد که در زمان‌ها و شدت‌های مختلف بعد از تنش سرما شروع به فعالیت می‌کنند. کسب دیدگاه کلی در مورد فرایندهای کلی و موثر در کسب مقاومت به سرما می‌تواند زمینه ساز مطالعات کاربردی برای پژوهشگران و محققان باشد.

**مکانیسم درک و سازگاری به سرما:** پاسخ گیاهان به دمای پایین از طریق فرایندهای خاصی انجام می‌گیرد که با تشخیص دمای پایین در سطوح سلولی شروع می‌شود و با فرایندهای سیگنالی که ژنهای پاسخ دهنده به سرما را القاء می‌کنند، دنبال می‌شود و در نهایت به پاسخ‌های مقتضی و سازگاری به سرما منتهی می‌گردد (شکل ۱).

حاصل می‌شود، که این پروسه تحمل سرما سازگاری به سرما شناخته می‌شود. تحمل به سرما عبارت است از توانایی گیاه به تحمل دماهای پایین (۱۵-۰ درجه سانتی‌گراد) بطوری‌که صدمه و خسارتی به بافت گیاه وارد نمی‌گردد (Yadav, 2010). این فرایند همراه با تغییرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی همراه است که در نهایت تغییرات چشمگیری را در بیان ژن، وضعیت لیپیدهای غشایی و تجمع مولکول‌های کوچک به دنبال خواهد داشت (Yamaguchi-Shinozaki and Shinozaki, 2006). سازگاری به سرما باعث افزایش تحمل گیاه به تغییرات فیزیکی و فیزیوشیمیایی در زمان مواجهه به دماهای یخ‌زدگی خواهد شد.

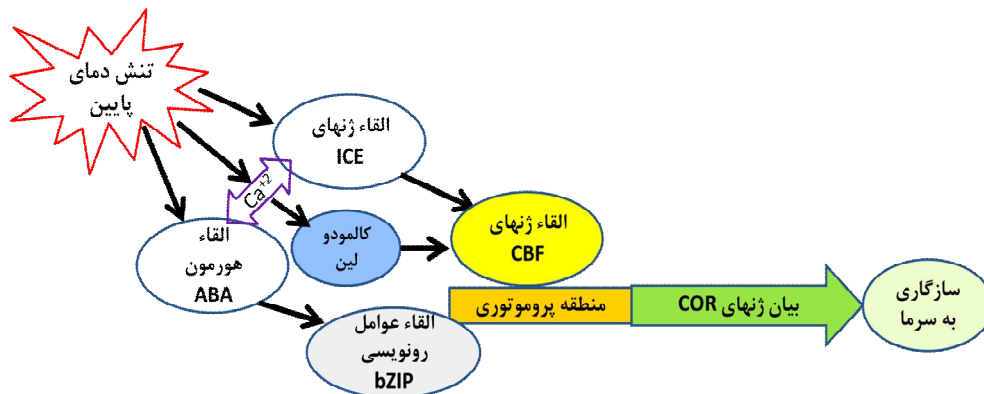
گیاهان مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری فاقد مکانیسم‌های مقاومت به سرما می‌باشند و در مواجهه با دماهای پایین دچار آسیب دیدگی‌های غیرقابل برگشتی خواهند شد. مقاومت گیاهان به دماهای پایین مکانیسم پیچیده‌ای دارد که شامل مسیرهای مختلف متابولیکی در بخش‌های مختلف سلولی است (Hannah et al., 2005).

در سطح مولکولی ژن‌های متعددی در پاسخ به



شکل ۱: فرایندهای سلولی دخیل در فرایند سازگاری به سرما در گیاهان (Yadav, 2010)

سرما در این مسیر قرار دارند (Wang et al., 2020a). این مسیر توسط دمای پایین تحریک شده و با القاء‌های مرحله به مرحله حدواسط‌های متعددی، در نهایت باعث افزایش بیان ژن‌های پایین دست که مواد تنظیم‌کننده اسمزی را کد می‌کنند، می‌گردد.



شکل ۲: مکانیسم‌های مولکولی غالب در نحوه دریافت و انتقال پیام تنش سرمائی در گیاهان سازگار به سرما. دو مکانیسم غالب در پاسخ به تنش سرما در گیاهان یعنی مسیر وابسته به ABA و غیروابسته به ABA بعنوان القاء‌کننده‌های ژن‌های COR در ارتباط با یون کلسیم که پیشنهاد شده بعنوان رابط این دو مسیر باشد به تصویر کشیده شده است.

باشند و بدین وسیله باعث سازگاری و تحمل به سرما در گیاهان شوند (Guo et al., 2019). البته ژن‌های CBF علاوه بر تنش سرما در پاسخ به دیگر تنش‌های غیرزنده هم نقش دارند. برخی از ژن‌های پاسخ دهنده به سرما (COR) در مناطق پروموتوری خود دارای عوامل پاسخ دهنده به ABA و دهیدراسیون می‌باشند. در اصل هورمون‌های گیاهی تحت تاثیر تنش‌های غیر زیستی تغییر نموده و باعث کاهش رشد گیاه می‌شوند. این ترکیبات باعث القاء آبشاری ژن‌های پاسخ دهنده به سرما می‌شوند. هورمون گیاهی آبسزیک اسید (ABA) نقش مهمی به‌عنوان سیگنال شیمیایی در پاسخ به تنش‌های زیستی و غیر زیستی ایفا می‌کند. این هورمون علاوه بر اینکه باعث تحریک تغییرات متعددی در فرایندهای فیزیولوژیکی، مولکولی و نموی گیاه به سمت سازگاری با تنش محیطی می‌گردد (Ton et al., 2009)، می‌تواند به‌عنوان یک

مطالعات انجام شده بر روی گیاهان مدل نشان داده است که ۳۰۶ ژن در پاسخ به سرما تغییر بیان دارند که از این تعداد ۲۱۸ ژن بیش بیان و ۸۸ ژن کاهش بیان را نشان دادند یکی از مسیرهای درک و پاسخ به سرما در گیاهان مسیر ICE-CBF-COR می‌باشد که تنها ۱۲ درصد از کل ژن‌های پاسخگو به

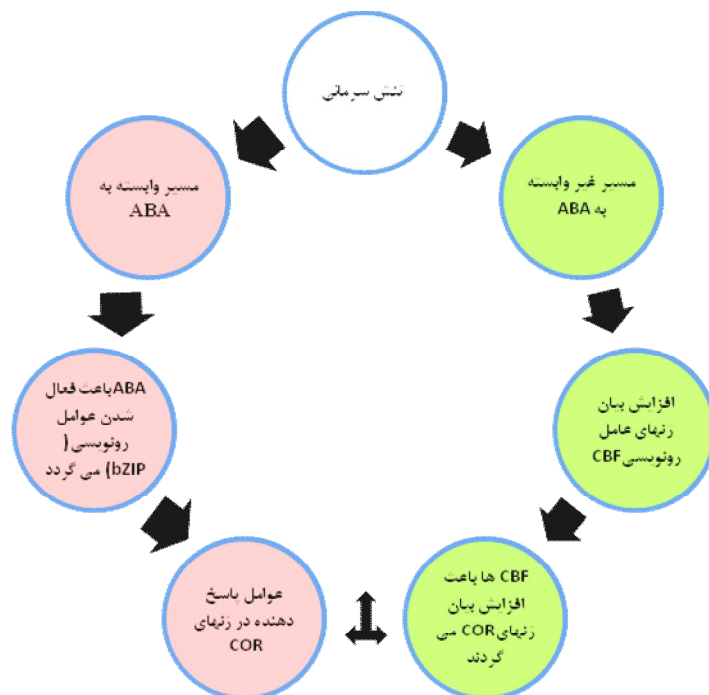
ژن‌های ICE<sup>۱</sup> که با دمای پایین تحریک می‌شوند، بعنوان پیش‌تاز فرایند سازگاری به سرما محسوب می‌شوند و باعث القاء بیان ژن‌های عامل رونویسی CBF<sup>۲</sup> می‌گردند. ژن‌های HOS1<sup>۳</sup> و MYB15<sup>۴</sup> ژن‌های دیگری می‌باشند که باعث کاهش بیان ژن‌های CBF می‌شوند. ژن‌های CBF می‌توانند باعث تنظیم بیان ژن‌های پاسخ دهنده به سرما<sup>۵</sup> (COR) گردند و این کار را از طریق اتصال به عوامل تنظیمی سیس در پروموتور ژن‌های COR (CRT: TGGCCCGAC) انجام می‌دهند (شکل ۲).

گروه‌های مختلف ژن‌های COR شناسایی شده‌اند که می‌تواند در ممبران‌های مختلف سلول قرار گرفته

1. Inducer of CBF Expression
2. C-repeat binding factor
3. High expression of Osmotically responsive gene1
4. Myeloblastosis 15
5. Cold-responsive

وابسته به ABA و مسیر غیر وابسته به ABA (شکل ۳). وجود یک عامل تنظیمی سیس ABRE به عنوان یک جزء ضروری برای افزایش بیان ژن‌های القاء شونده با ABA، لازم می‌باشد. همچنین ABA می‌تواند از طریق القاء ژن‌های مقاومت به دهیدراسیون باعث مقاومت به تنش یخ زدگی گردد (Ritonga and Chen, 2020).

پیامبر درون سلولی عمل نموده و نقش مهمی بعنوان قلب عملیات سیگنالینگ ایفا می‌کند (Xue-Xuan et al., 2010). در اصل تنش‌های محیطی باعث سنتز ABA می‌شوند که این ترکیب می‌تواند باعث بیان ژن‌های مربوط به مقاومت و همچنین بسته شدن روزنه‌ها گردد. به خاطر اهمیت این هورمون در پاسخ به تنش، دو مکانیسم عمده برای پاسخ به تنش در گیاهان در نظر گرفته شده است که عبارتند از مسیر



شکل ۳: دو مکانیسم غالب در پاسخ به تنش سرما در گیاهان. هر دو مسیر وابسته به ABA و غیروابسته به ABA بعنوان القاء کننده‌های ژن‌های COR گزارش شده‌اند.

تحریک بیان ژن‌های LEA<sup>1</sup> (که برای پایدار نمودن غشاء و جلوگیری از تجمع پروتئین‌ها مفید می‌باشند) هم قابل توجه و تأیید شده است (Chen et al., 2019).

یون کلسیم بعنوان مهمترین القاء کننده سیگنال در سلسله مراتب انتقال پیام القاء شده در پاسخ به تنش‌های غیر زنده مد نظر می‌باشد. غلظت یون کلسیم آزاد ( $Ca^{+2}$ ) به سرعت در سیتوپلاسم سلول‌های

هرچند ارتباط قوی بین مسیرهای وابسته به ABA و غیر وابسته به ABA در پاسخ به تنش وجود ندارد، ولی یون کلسیم بعنوان رابط این دو مسیر پیشنهاد گردیده است (Rihan et al., 2017). علت این امر این است که غلظت کلسیم به سرعت تحت تاثیر ABA و تنش‌های غیرزنده از قبیل سرما، شوری و خشکی در سلول افزایش می‌یابد. به علاوه، تغییرات متعددی از قبیل تجمع پروتئین در هر دو مسیر وابسته و غیروابسته به ABA مشاهده شده است. به علاوه نقش ABA در

1. Late Embryogenesis abundant

یکی دیگر از عوامل تاثیرگذار در مقاومت به سرما، عنصر مولیبدن (Mo) می باشد. مولیبدن عنصر ضروری برای بیش از ۴۰ آنزیم می باشد که ۴ تای آنها در گیاهان شناسایی شده اند (Mendel and Hansch, 2002). این چهار آنزیم عبارتند از: نیترات ردوکتاز (NR) (دخیل در فرایند تثبیت نیتروژن)، گزانتین دهیدروژناز/اکسیداز (XDH) (دخیل در کاتابولیسم پورین)، آلدئید اکسیداز (AO) (دخیل در سنتز IAA و ABA)، و سولفیت اکسیداز (SO) (دخیل در متابولیسم سولفور) (Mendel and Bittner, 2006). مکانیسم های متعددی پیشنهاد شده که از طریق آنها مولیبدن می تواند باعث افزایش مقاومت به سرما گردد. مولیبدن می تواند باعث افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان SOD، CAT و POX گردد و ظرفیت آنتی اکسیدانی گیاه را در شرایط تنش بالا برده و ROS حاصله را از بین برد و در نهایت باعث کاهش تخریب غشاء پلاسمائی گردد. مکانیسم محتمل دیگر افزایش فعالیت آنزیم AO توسط مولیبدن است. آنزیم AO نقش مهمی در سنتز ABA دارد که این ترکیب می تواند باعث تحریک تولید عوامل رونویسی bZIP گردد که افزایش بیان ژن های COR را از مکانیسم وابسته به ABA به همراه دارد. مکانیسم های بعدی می تواند از طریق آنزیم NR و افزایش آسیمیلایون نیترات و یا از طریق افزایش بیان مسیر CBF که منجر به افزایش بیان ژن های COR تاثیرگذار باشد.

**اصول مورفوفیزیولوژیکی سازگاری به سرما:** مطالعات زیادی برای ارزیابی تحمل به سرما در گونه های مختلف گیاهی انجام شده است. کاهش دما در مرحله اولیه رشد نشاء و بعد از آن در مرحله تولیدمثلی به ترتیب باعث کاهش استقرار و کاهش تولید بذر در گیاه می شود که به دنبال آن عملکرد کاهش پیدا می کند (Sanghera and Wani, 2008).

گیاهی طی پاسخ به سرما افزایش می یابد. متعاقباً کلسیم موجود در هسته سلول هم در پاسخ به دمای پایین افزایش می یابد و این افزایش حداکثر ۵ تا ۱۰ ثانیه بعد از افزایش کلسیم سیتوزولی اتفاق می افتد (Miura and Furumoto, 2013) و نقش مهمی در کنترل بیان ژن های مربوطه ایفا می کند. اعتقاد بر این است که کلسیم جلوی فعالیت فسفاتاز را گرفته و می تواند منجر به فسفوریلاسیون پروتئین هایی گردد که در القاء ژن های ایجاد کننده مقاومت به سرما دخیل می باشند (Eckardt, 2009). شواهد بیانگر این موضوع می باشد که نقش سیگنالینگ  $Ca^{+2}$  مربوط به القاء مسیرهای CBF می باشد (Rihan et al., 2017). همچنین به نظر می رسد که این یون بعنوان واسط بین مسیرهای مختلف تنش های غیرزنده هم ایفای نقش کند. علت این است که غلظت این کاتیون تحت تاثیر انواع مختلف تنش های غیر زنده افزایش می یابد. پروتئین های متصل شونده به کلسیم (سنسورهای  $Ca^{+2}$ ) باعث هدایت سیگنال تحت تاثیر تنش ها می گردند. سه پروتئین مهم مرتبط با  $Ca^{+2}$  در گیاهان عبارتند از: پروتئین های کیناز وابسته به  $Ca^{+2}$ ، کالمودولین (CaM) و پروتئین های کالسینیورین شبه B<sup>1</sup> (Jenks and Wood, 2010). گزارش شده که کالمودولین اولین سنسور  $Ca^{+2}$  سیتوزولی در تمام سلول های یوکاریوتی می باشد. بنابراین ژن های کالمودولین که فرایند جریان کلسیم را کنترل می کنند بعنوان اولین دریافت کننده های سیگنال های محیطی مثل سرما می باشند. کالمودولین یک پروتئین متصل شونده به کلسیم می باشد که به عناصر تنظیمی در پروموتور ژن های CBF2، که نقش مهمی در کنترل رگولون CBF و مقاومت به یخ زدگی دارند، متصل می گردد (Doherty et al., 2009).

## 1. Calcineurin B-like

به طور کلی، ظهور علائم سرما به حساسیت گیاه به تنش سرما بستگی دارد و از یک گیاه به گیاه دیگر تفاوت نشان می‌دهد. حدود ۷۲-۴۸ ساعت بعد از قرارگیری در معرض سرما، علائم صدمات سرما در گیاه قابل مشاهده است. گیاهانی که در معرض سرما قرار گرفته‌اند علائم فنوتیپی مشابهی از جمله کاهش سطح برگ، پژمردگی و نکروزه شدن بافت (مرگ بافت) را نشان می‌دهند. همچنین تنش سرما بر نمو تولید مثلی گیاهان نیز تاثیر منفی می‌گذارد و باعث عقیم شدن گلها خواهد شد (Jiang et al., 2002). تنش سرما جوانه‌زنی را ضعیف، رشد و نمو گیاهچه را متوقف، رنگ برگ‌ها را زرد می‌کند و باعث پژمردگی و چروکیدگی شدن برگ‌ها می‌شود. تاثیر سرما بر مرحله تولیدمثلی گیاهان باعث تاخیر در باز شدن گل و به دنبال آن عقیم شدن گرده‌ها (که به نظر می‌رسد یکی از فاکتورهای کلیدی بر میزان عملکرد محصولات باشد) خواهد شد (Suzuki et al., 2008; Hannah et al., 2005). دماهای پایینی که می‌تواند تولید مثل گیاه را در محدوده بالاتر از حد یخ‌زدگی (بالای صفر درجه) تحت تاثیر قرار دهند به‌عنوان محدوده سرمازدگی شناخته می‌شود. تنش سرما بسته به شدت و زمان آن، تاثیرات متفاوتی بر روی گیاه خواهد داشت. خسارات سرما در مراحل تولید مثل و گلدهی چشم‌گیرتر است که دلیل آن حساسیت بیشتر بافتهای زایشی نسبت به دماهای پایین می‌باشد (Sanghera et al., 2003).

**تغییرات فیزیولوژیکی گیاهان در استرس سرما:** تعداد زیادی از گونه‌های گیاهی زمانی که در معرض دمای پایین قرار می‌گیرند، دچار تغییرات فیزیولوژیکی و یا سلولی متعددی می‌گردند (Wang et al., 2020b). تحت دمای پایین، گیاهان تلاش می‌کنند تا عملکرد و فعالیت سلول را حفظ نمایند، بخصوص پایداری غشاء سلولی و ساختار پروتئین‌های دارای فعالیت

بیولوژیکی در زنده‌مانی تحت تنش‌های محیطی اهمیت بالایی دارند. قرار گرفتن گیاهان در دماهای زیر صفر منجر به تشکیل یخ در بافت‌های گیاه می‌گردد (Ritonga and Chen, 2020). غلظت‌های بالاتر هسته‌های تشکیل دهنده یخ در محلول آپوپلاستی گیاهان، باعث می‌شود که این بخش گیاه نقطه انجماد بالاتری داشته و بنابراین کریستال‌های یخ ابتدا در فضاها بین سلولی شکل می‌گیرند. این فرایند منجر به کاهش پتانسیل آب محلول آپوپلاستی می‌گردد، که در نهایت باعث خروج آب از سلول می‌گردد. بنابراین، استرس انجماد در گیاهان معمولاً با تنش خشکی (دهیدراسیون) همراه می‌گردد. کریستال‌های یخ منجر به تغییرات در فاز لیپیدهای غشاء و افزایش نشت یونی می‌گردد. با ادامه یافتن فرایند یخ‌زدگی، تنش‌های اسمزی باعث دهیدراسیون سلولی شده، و باعث تسهیل تشکیل کریستال‌های یخ درون سلولی می‌گردد. در حالت شدید این وضعیت کریستال‌های یخ می‌توانند منجر به پاره شدن سلول و نشت سیتوزول به بیرون و مرگ گیاه گردد. بنابراین جلوگیری از تشکیل یخ درون سلولی و گسترش آن می‌تواند باعث افزایش مقاومت گیاه به تنش سرمائی گردد. مهمترین روشی که گیاهان برای مقابله با سرما بکار می‌برند، سازگاری با سرما می‌باشد که این امکان را برای گیاهان فراهم می‌کند که با تجمع پلی‌پپتیدهای محافظ سرمائی<sup>۱</sup> (مثل COR15a) و اسمولیت‌ها (از قبیل فندهای محلول و پرولین) با سرما مقابله کنند (Ritonga and Chen, 2020). گیاهان سازگار شده با دمای پایین اغلب میزان قند (گلوکز، گلوکز-۶-فسفات، آمیلوز، نشاسته و مالتوز) بیشتری در بافت‌های زیر زمینی خود ذخیره می‌کنند (Furtauer et al., 2019).

1. Cryoprotective

آنها رادیکال‌های سوپر اکسید ( $O_2^{\cdot-}$ ) تولید شده توسط آنزیم SOD را تبدیل به  $H_2O_2$  می‌کردند. هر چند حجم زیاد  $H_2O_2$  بی که توسط SOD حاصل می‌گردد هم برای گیاه سمی است ولی این ترکیب خود می‌تواند بعنوان سیگنال ثانویه عمل نموده و منجر به القاء مسیرهایی گردد که منجر به فعالیت بیشتر CAT، APX و POD می‌گردد. این آنزیم‌ها توانایی غیر سمی کردن و تبدیل  $H_2O_2$  به آب را دارا می‌باشند. کاتالاز بیشتر نقش خود را در پراکسی زوم و سیتوپلاسم ایفا می‌کند در حالی که گلوکاتایون پراکسیداز در بخش‌های وسیع تری از قبیل سیتوپلاسم، هسته، میتوکندری، شبکه اندوپلاسمی و خارج سلول عمل می‌کند. مطالعات متعددی نشان داده که میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و بیان ژن‌های مربوطه در ارقام حساس به سرما بسیار کمتر از ارقام مقاوم به سرما می‌باشد (De Freitas et al., 2019).

علاوه بر این گونه‌های فعال اکسیژن نقش مهمی بعنوان پیامبر ثانویه در انواع تنش‌های غیر زنده ایفا می‌کنند. به عبارتی گیاهان به غلظت‌های پایین ROS بعنوان واسطه‌های انتقال سیگنال نیاز دارند. سطوح پایین ROS می‌تواند باعث افزایش جریان کلسیم به درون سیتوپلاسم گردد (Chinnusamy et al., 2007). سطوح بالای کلسیم باعث فعال شدن NADPH اکسیداز می‌گردد و از طریق آنزیم سوپر اکسیددیسموتاز (SOD) رایکال‌های سوپراکسید  $O_2^{\cdot-}$  را به  $H_2O_2$  تبدیل می‌کند. بنابراین تولید ROS هم فرایندی است که وابسته به کلسیم می‌باشد و غلظت کلسیم هم از طریق غلظت‌های ROS ناشی از فعال شدن کانال‌های کلسیمی در غشاء پلاسمائی تنظیم می‌گردد (Kwak et al., 2003). بنابراین ارتباط هماهنگ کلسیم و ROS، فعالیت پروتئین‌های خاصی را که کنترل بیان ژن‌های خاصی را در هسته انجام می‌دهند، تنظیم می‌کند. به هرحال، همانطور که قبلا

نکروزه شدن گیاهان یکی از پی آمدهای خسارت سرمازدگی در گیاهان است که بطور معمول بوسیله تولید زیاد گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) ایجاد می‌گردد. خیلی از بخش‌های درون سلولی از قبیل دیواره سلولی، غشاء پلاسمائی، میتوکندری، کلروپلاست، پراکسی زوم، شبکه اندوپلاسمی و هسته ذاتا مسئول تولید ROS در پاسخ به تنش می‌باشند. افزایش سطوح  $H_2O_2$  در گیاهان تحت تنش سرمائی می‌تواند در نتیجه واکنش‌های تولید اکسیژن در کلروپلاست‌ها باشد که می‌تواند منجر به افزایش محتوی گلیکولات گردد. گلیکولات در پراکسی زوم توسط گلیکولات اکسیداز به گلی اکسیلات تبدیل می‌گردد که این فرایند همراه با تجمع  $H_2O_2$  می‌باشد. اثرات مضر ROS بعلاوه توانایی این ترکیبات برای آغاز زنجیره ایی از اتواکسیداسیون روی اسیدهای چرب غیر اشباع می‌باشد. ROS می‌تواند باعث تخریب لیپیدهای غیر اشباعی و تبدیل آنها به مالون دی آلدئید (MDA) که یک آلدئید فعال است، گردد که در نهایت تنش سلولی و صدمه به گیاه را به دنبال دارد. علاوه بر افزایش MDA تخریب لیپیدهای غشائی می‌تواند باعث افزایش غلظت  $Ca^{2+}$  در سیتوزول هم گردد. روند فیزیولوژیکی سمیت  $H_2O_2$  می‌تواند توسط توسعه سیستم‌های کارای دفاع آنتی‌اکسیدانی و جمع‌آوری ROS کاهش یابد. گیاهان برای مقابله با اثرات مضر ترکیباتی از قبیل MDA روی پروتئین‌ها، لیپیدها و اسیدهای نوکلئیک، سیستم‌های آنتی‌اکسیدان متعددی را توسعه داده‌اند از جمله آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی از قبیل آلفا توکوفرول، آسکوربات، بتاکاروتن، فلاوونوئیدها و گلوکاتایون و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان که شامل کاتالاز (CAT)، سوپر اکسید دسموتاز (SOD)، آسکوربات پراکسیداز (APX)، و پراکسیداز (POX) می‌باشند. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان اهمیت زیادی در مقابله با ROS دارند،

مشخص نموده که بیان مداوم CBF1 منجر به فعالیت کمتر GA شده و در نهایت منجر به پاکوتاهی و تاخیر در گلدهی گیاهان می‌گردد. ژن‌های RGL که پروتئین‌های DELLA را کد می‌کنند، به‌عنوان بازدارنده رشد عمل می‌کنند، درحالی‌که GA از طریق غلبه بر ممانعت رشدی ایجاد شده توسط DELLA، باعث تشویق رشد می‌گردد (Claeys et al., 2014).

هورمون گیاهی جاسمونیک اسید (JA) هم به‌عنوان یکی از اجزای کمکی در مقاومت به سرما عمل می‌کند و کاربرد برون زاد آن باعث مقاومت به سرما در طیف وسیعی از گیاهان گردیده است. بعلاوه ممانعت از جاسمونیک اسید درون‌زاد باعث حساسیت به سرما می‌گردد. مشخص شده است که جاسمونیک اسید می‌تواند باعث افزایش بیان ژن‌های مسیر سیگنالینگ CBF/DREB1 گردد (Hu et al., 2013).

همچنین هورمون‌های دیگر گیاهی از قبیل سیتوکینین و اتیلن هم نقش‌هایی در مقاومت به سرما ایفا می‌کنند. کاربرد سیتوکینین هم می‌تواند تا حدودی باعث مقاومت به سرما گردد ولی نقش دقیق این هورمون در مقاومت به سرما هنوز مشخص نشده است. همچنین گزارش شده که میزان اتیلن هم طی سرما دهی در انگور افزایش می‌یابد (Sun et al., 2016). تیمار اتیلن در آرابیدوپسیس باعث افزایش مقاومت به سرما در این گیاه گردیده و تغییرات فیزیولوژیکی از قبیل کاهش MDA و افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از قبیل SOD، CAT، و POD گردیده است (Sun et al., 2019).

تولید ترکیبات متابولیت‌های ثانویه در گیاهان مختلف هم در مقابله با تنش سرمائی نقش مهمی ایفا می‌کند. تیمار سرمائی می‌تواند موجب افزایش تولید ترکیبات فنولیک از قبیل سوربین و لیگنین شده که با جایگیری در دیواره سلولی باعث تقویت این بخش می‌گردند در حالی‌که افزایش تولید کلروژنیک اسید در

بیان شد، ژن‌های متعدد دیگری از قبیل کینازها و عوامل رونویسی هم در پاسخ به تنش‌های محیطی نقش دارند.

پروتئین‌های AQP<sup>1</sup> در حفظ سیالیت و نفوذپذیری غشاء در مقابل آب و مولکول‌های کوچک مانند گلیسرول، دی‌اکسید کربن و بورن نقش مهمی ایفا می‌کنند. نقش حیاتی پروتئین‌های AQP حفظ آب سلولی در پاسخ گیاه به شرایط تنش تأیید شده است و گیاهانی که ژنهای مسئول ساخت این پروتئین را بیش بیان کرده اند از لحاظ مقاومت به تنش‌های محیطی موفق عمل کرده اند (Xu et al., 2020).

**نقش هورمون‌های گیاهی و متابولیت‌های ثانویه در مقابله با تنش سرما:** علاوه بر ABA که نقش آن بعنوان یک ترکیب مهم تنظیم کننده سازگاری به سرما توضیح داده شد، تنظیم کننده‌های رشد دیگری هم در این فرایند دخیل می‌باشند. سالیسیلیک اسید تنظیم کننده رشد گیاهی دیگری است که در اثر سرما میزان آن در گیاهان تجمع می‌یابد و کاربرد آن باعث مقاومت به سرما در گیاهان مختلف گردیده است و می‌تواند از طریق القاء ژن‌های مربوطه باعث مقاومت گیاه گردد. ژبیرلین (GA) هورمون دیگر گیاهی است که میزان آن در پاسخ به سرما تغییر می‌کند. مشخص شده که این هورمون در بیان ژن فاکتور متصل شونده به CRT/DRE و در نهایت مقاومت به خشکی، شوری و سرما نقش ایفا می‌کند. بعلاوه GA در تعادل SA/JA در پاسخ هدایت شونده توسط CBF نقش دارد. از بخش‌های کلیدی ژبیرلین پروتئین‌های هسته‌ای DELLA (از پروتئین‌های تنظیم کننده رونویسی که دارای اسید آمینه‌های آسپارتیک اسید، گلوتامیک اسید، لوسین، لوسین و آلانین در انتهای N ترمینال خود می‌باشند) می‌باشند که مانع از رشد گیاه می‌شوند. بررسی ارتباط بین مسیره‌های CBF1 و GA

#### 1. Aquaporin protein



درختان مقاوم به سرما یکی از مکانیسم‌های مقاومت به سرما می‌باشد. همچنین تولید پلی آمین‌ها و سپس تشکیل فنیل آمین‌ها در برخی از گیاهان گزارش شده که عملکرد غیرفعال سازی گونه‌های فعال اکسیژن را به عهده دارند (Isah, 2019).

غشاء سلولی از لیپید و پروتئین تشکیل شده است. لیپیدها به دو گروه اسیدهای چرب اشباع و غیر اشباع تقسیم می‌شوند که نسبت این دو میزان سیالیت غشا را تعیین می‌کند. در هنگام تغییر دمای محیط، غشاء از حالت نیمه سیال به نیمه کریستاله تغییر حالت پیدا می‌کند. گیاهان حساس به سرما معمولاً میزان بیشتری از اسیدهای چرب اشباع را در ساختمان غشاء سلولی خود دارند. بنابراین گیاهان حساس به سرما در دماهای بالاتری دچار تغییرات در ساختمان غشاء خواهند شد. در مقایسه گیاهان مقاوم‌تر به سرما میزان بیشتر از اسیدهای چرب غیراشباع را در ساختمان غشاء پلاسمايي خود دارند و بنابراین در دماهای پایین‌تری دچار تغییرات ساختاری غشاء خواهند شد (Sanchez et al., 2019). قرارگیری در معرض دماهای تنش‌زا منجر به تغییر مسیر و تعدیل مجدد متابولیسم سلولی طی دو مرحله می‌گردد. در مرحله اول گیاه سعی می‌کند متابولیسم سلولی خود را مطابق با شرایط دمای پایین تعدیل کند. استرس دمایی نه تنها باعث تغییرات در ساختار، خصوصیات کاتالیزوری و عمل آنزیم‌ها می‌شود (Kubien et al., 2003, Karimi et al., 2015)، بلکه نقل و انتقالات متابولیت‌ها از غشاء را تحت تاثیر قرار خواهد داد. در نتیجه این تغییرات به طور قابل توجهی مکانیسم‌های تنظیم کننده گیاهان به منظور حفظ سطح متابولیت‌ها و جریان متابولیتی، فعال خواهد شد. در مرحله دوم بهبود و تغییر متابولیسم در پاسخ به تنش دمایی به مکانیسم‌های سازگاری مرتبط خواهد شد. به نظر می‌رسد برخی از متابولیت‌ها سهم مهمی در القاء

سازگاری به سرما و پاسخ به تنش داشته باشند (Nayyar et al., 2005). در این مورد توجه خاصی بر روی متابولیت‌هایی که به عنوان اسمولیت عمل می‌کنند شده است. اسمولیت‌ها در تنظیم روابط آبی سلولی نقش دارند و دهیدراته شدن سلول‌ها را کاهش می‌دهند. رفتار سازگار اسمولیت‌ها، اجازه پایداری آنزیم‌ها، غشاء و دیگر اجزا سلولی را فراهم می‌آورد. اسمولیت‌ها در شکل‌گیری مجدد وضعیت لیپیدهای غشاء به منظور تعدیل ساختار فیزیکی سیال و کریستالی برای فعالیت مناسب غشاء و منابع انرژی نقش مهمی ایفا می‌کنند. از جمله این متابولیت‌ها که در مقابل تنش‌ها پاسخگو می‌باشند میتوان به قندهای محلول، اسیدهای آمینه، اسیدهای ارگانیک، پلی‌آمین‌ها و لیپیدها اشاره کرد (Farooq et al., 2009).

چاپرون‌های محافظ همانند گروهی از پروتئین‌ها به نام پروتئین‌های فراوان اواخر دوره جنینی (LEA) در محافظت از صدمات غشایی فعال هستند (Chen et al., 2019). شواهد موجود نشان می‌دهد، صدمات وارد شده به غشاء که با کاهش دما اتفاق می‌افتد با وجود مکانیسم‌های آنتی اکسیداتیو، افزایش سطح قندها در فضای آپوپلاستی و تحریک ژن‌های کد کننده چاپرون‌ها کنترل می‌شوند (Guy, 1990). تنظیم کننده‌های اسمزی از جمله اسموپروتکتانت آلی (مانند پرولین)، دیگر آمین‌ها مانند (گلیسین بتائین و پلی آمین‌ها) و انواع قندها و قندهای الکلی (مانند مانیتول، ترهالوز و گالاکتینول) در تنش سرما نقش فعال دارند. پروتئین‌های شوک سرما که به اسید نوکلئیک متصل می‌شوند (CSPPs) در هنگام مواجهه گیاه با شرایط تنش به عنوان ضدپایان نسخه برداری و یا محرک نسخه برداری عمل می‌کنند، این فرایند با جلوگیری از فروپاشی ساختار ثانویه RNA ممکن می‌شود (Jones,

1994). پروتئین‌های انگشت روی<sup>۱</sup> که حاوی نواحی غنی از گلايسين هستند نیز با تنش سرما افزایش بیان خواهند داشت (Han et al., 2020).

فعالیت ژن‌های اسمزی پاسخگو به تنش سرما<sup>۲</sup> (LOS) برای فرستادن مقادیر مناسب از انواع RNA از هسته به درون سیتوپلاسم تحت شرایط تنش ضروری است (Kim et al., 2005). یک نقش کلیدی پروسه سازگاری به سرما، پایدار کردن غشاء نسبت به صدمات دمای پایین و جلوگیری از توسعه فرایند از هم‌پاشی لپیدهای غشاء می‌باشد. در اواخر تابستان و اوایل پاییز گیاهان طی گذراندن مرحله‌ای به نام "سازگاری به سرما" خود را برای شرایط دمایی پایین آماده می‌نمایند. این مرحله با شروع کاهش دما و طول روز در این بازه زمانی از سال آغاز خواهد شد. سازگاری به سرما باید در زمان مناسب رخ دهد، اگر این فرایند زودتر از محدوده زمانی مناسب رخ دهد باعث کوتاه شدن دوره رشدی گیاه خواهد شد و اگر دیرتر رخ دهد باعث می‌شود که در مواجهه گیاه با اولین سرماهای پاییزه صدمات جبران ناپذیری به گیاه وارد شود.

سه مرحله کسب سازگاری به سرما عبارتند از:

۱. سازگاری به سرما: سازگاری به سرما شامل پروسه‌ای می‌باشد که تغییرات فیزیولوژیکی درون گیاه اتفاق می‌افتد که باعث تغییر ماهیت گیاه از یک گیاه حساس به گیاه متحمل می‌شود.
۲. کسب حداکثر تحمل به سرمای شدید زمستانه: که در این مرحله گیاه حداکثر تحمل به سرمای زمستانه را دارا خواهد بود و در مواجهه با دماهای پایین حداقل خسارت را متحمل می‌گردد.
۳. از بین رفتن سازگاری: از بین رفتن سازگاری به عنوان کاهش تحمل به سرمای گیاهان بیان

می‌شود و در مراحل اولیه به دما وابسته است. در حالی که در بهار هوا گرم می‌شود، گیاهان سازگاری به سرما را از دست می‌دهند و جوانه-های غیر فعال آنها شروع به رشد خواهند کرد. گیاهان ممکن است به دوره‌های کوتاه گرما در زمستان نیز پاسخ داده و سازگاری به سرما را از دست بدهند، در حالیکه نمی‌توانند به برگشت دوره سرما سریعاً پاسخ داده و مجدداً سازگاری نشان دهند. این فرایند منجر به ایجاد خسارت‌های دمای پایین خواهد شد (Hummel and Ophardt, 2016; Rubio and Peres, 2019) (شکل ۴).

تیمار سرمایی نامناسب و یا دوره ناکافی هر یک از مراحل قید شده در بالا، بقای گیاه را با محدودیت مواجه می‌کند (Gusta and Wisniewski, 2013). چندین فاکتور از جمله: شرایط آب و هوایی منطقه، انتخاب گیاه و انجام عملیات زراعی مناسب می‌تواند در سازگاری گیاهان فضای سبز به سرما مدنظر قرار گیرند. در درختان و درختچه‌های مقاوم به سرما، سازگاری به سرما طی دو مرحله صورت می‌گیرد. مرحله اول بوسیله کوتاه شدن طول روز در اواخر فصل رشد القاء می‌شود، که باعث مقاومت جزئی خواهد شد. طول روز و یا فتوپریود کوتاه‌تر از یک محدوده خاص باعث تحریک اتمام رشد قسمت هوایی گیاه خواهد شد. روزهای کوتاه باعث القاء تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مرتبط با کسب سازگاری به سرما می‌گردند. مرحله دوم با شروع دماهای پایین القاء می‌شود که منجر به کسب حداکثر مقاومت خواهد شد. در مورد گیاهان یک گونه، مبداء جغرافیایی گیاهان نقش مهمی را برای سازگاری به سرما ایفا می‌کند. تحقیقات بیانگر اختلاف در تحمل به سرما به خاطر تفاوت در پاسخ به طول روز می‌باشد. گیاهان بومی مناطق سردسیر بلافاصله به کوتاه شدن طول روز پاسخ داده و سریعاً به سرما

1. Zinc finger
2. Low expression of osmotically responsive gene

کلی گیاهانی با رشد فعال قادر به سازگاری به سرما نمی‌باشند (Olsen et al., 2004) (شکل ۵).

سازگار می‌شوند در حالیکه گیاهانی که به مناطق سردسیر متعلق نیستند، احتیاج به طول روزهای کوتاه‌تر برای القا آغاز سازگاری به سرما دارند. به طور



شکل ۴: صدمات ناشی از یخزدگی بهاره، بعد از شروع رشد مجدد آزالیا



شکل ۵: رشد درختان یا درختچه‌ها در اواخر فصل رشد مانع یا باعث به تاخیر افتادن سازگاری به سرما



شکل ۶: صدمه سرمای زمستانه به ریشه بداغ ژاپنی (*Viburnum plicatum* f. *tomentosum*) و توقف ناگهانی رشد بهاره

ریشه گیاه می‌تواند قابل مشاهده باشد. معمولاً صدمات سرما بر روی برگ‌ها و ساقه گیاهان سریع‌تر

نوع صدمات وارد شده به گیاه: صدمات سرما در همه بخش‌های گیاه از جمله گل، ساقه، برگ، تنه و

نیستند. شکست در تولید جوانه‌های سالم، عدم تشکیل برگ در شاخه، شاخساره و یا کل گیاه به عنوان صدمات ناشی از دمای پایین شناخته می‌شوند. در فصل بهار، بعضی از گیاهان شروع به رشد ضعیف، گلدهی و برگ‌دهی غیرمعمول می‌نمایند، اما به طور ناگهانی در شروع فصل گرما از بین می‌روند (Hummel and Ophardt, 2016) (شکل ۶).

اکثر مطالعات انجام شده بر روی مکانیسم‌های صدمات سرما بر روی بخش‌های هوایی گیاه متمرکز شده‌اند. که احتمالاً علت سختی مطالعه بر روی ریشه در شرایط طبیعی و نگرانی‌های کمتر برای صدمه به ریشه در شرایط یخ‌زدگی می‌باشد. اندام‌های زیر سطح خاک و بالای خاک هر دو مکانیسم‌های متفاوتی در مقابله با تنش سرما نشان می‌دهند. به طوری که در آرابیدوبسیس ۸۶٪ تغییرات در سطح تراسکرپتوم بین ریشه و اندام هوایی مشترک نمی‌باشد (Ambroise et al., 2020).

مطالعه پدیده سرمازدگی در گیاهان از سطح سلولی تا نمایان شدن علائم در اندام گیاه دیدگاهی مناسب برای مقابله با این پدیده محیطی را ارائه خواهد نمود. مطالعه و آشنایی با روابط فیزیولوژیکی مربوطه می‌تواند به تهیه برنامه جامعی برای کنترل این پدیده خسارت‌زا در محصولات باغی کمک نماید.

قابل مشاهده می‌شود. تشکیل یخ در بافت‌های گیاهی باعث دهیدراته شدن بافت‌ها خواهد شد. رشد بلورهای یخ در فضای آپوپلاستی به علت غلظت پایین مواد محلول سریع‌تر اتفاق می‌افتد. فشار بخار یخ از آب در هر دمایی پایین‌تر می‌باشد، بنابراین تشکیل یخ در فضای آپوپلاستی باعث ایجاد یک جریان بین آپوپلاست و سلول‌های اطرافش خواهد شد. در نتیجه این شیب، آب سیتوپلاسمی از سیتوزل سلولی به فضای آپوپلاستی مهاجرت خواهد کرد. این اضافه شدن حجم به کریستال‌های یخ ایجاد شده در فضای آپوپلاستی منجر به ایجاد فشار مکانیکی به دیواره سلولی و غشاء پلاسمایی خواهد شد که منجر به گسیختگی سلول می‌گردد (Uemura and Steponkus, 1997).

یخ‌های شکل گرفته در سلول‌های گیاهی باعث مرگ سلولها شده و به دنبال آن برگ‌ها و ساقه‌ها تغییر رنگ داده (قهوه‌ای متمایل به سیاه) و نرم می‌شوند. گیاهانی که سازگاری کافی را به دست آورده‌اند، در برابر ایجاد یخ‌ها تحمل دارند، اما گیاهانی که سازگاری ندارند ممکن است صدمات را به سیستم ریشه منتقل کنند و حتی در صورت صدمات شدید از بین بروند. گاهی این صدمات تا بهار سال بعد و با عدم توانایی گیاه برای تولید برگ، قابل مشاهده

## References

- Ambroise, V., Legay, S., Guerriero, G., Hausman, J.F., Cuypers, A. and Sergeant, K. (2020). The roots of plant frost hardiness and tolerance. *Plant and Cell Physiology*, 61(1), 3-20.
- Chen, T., Li, C., Zhang, B., Yi, J., Yang, Y., Kong, C., Lei, C. and Gong, M. (2019). The role of the late embryogenesis-abundant (LEA) protein family in development and the abiotic stress response: a comprehensive expression analysis of potato (*Solanum tuberosum*). *Genes* (Basel). 10(2): 148. doi: 10.3390/genes10020148.
- Chinnusamy, V., Zhu, J., Zhu, and J.K. (2007). Cold stress regulation of gene expression in plants. *Trends in Plant Science*. 12: 444-451.
- Claeys, H., De Bodt, S. and Inzé, D. (2014). Gibberellins and DELLAs: central nodes in growth regulatory networks. *Trends in Plant Science*. 19: 231-239.
- deFreitas, G.M., Thomas, J., Liyanage, R., Lay, J.O., Basu, S. and Ramegowda, V. (2019). Cold tolerance

- response mechanisms revealed through comparative analysis of gene and protein expression in multiple rice genotypes. *PLoS ONE*. 14: 1.19. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0218019>.
- Doherty, C.J., Van Buskirk, H.A., Myers, S.J. and Thomashow, M.F. (2009).** Roles for Arabidopsis CAMTA transcription factors in cold-regulated gene expression and freezing tolerance. *Plant Cell Online*. 21: 972–984.
- Ebadi, A., Karimi-alavijeh, M., Mousavi, S.A. and Salami, S.A. (2015).** Quantitative expression analysis of CBF1 and CBF4 genes under cold stress treatments in grape cultivars “Khalili-Danedar”, “Shahroodi” in comparison with *Vitis riparia*. *Iranian Journal of Horticultural Science*. 46: 379-386.
- Eckardt, N.A. (2009).** CAMTA proteins: a direct link between calcium signals and cold acclimation. *Plant Cell Online*. 21: 697–697.
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D. and Basra, S.M.A. (2009).** Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development*. 29: 185–212.
- Guo, X., Zhang, L., Dong, G., Xu, Z., Li, G., Liu, N. and Zhu, J. (2019).** A novel cold-regulated protein isolated from *Saussurea involucreta* confers cold and drought tolerance in transgenic tobacco (*Nicotiana tabacum*). *Plant Science*, 289: 110-246.
- Gusta, L.V. and Wisniewski, M. (2013).** Understanding Plant Cold Hardiness: An Opinion. *Physiologia Plantarum*. 147: 4–14.
- Guy, C.L. (1990).** Cold acclimation and freezing stress tolerance: role of protein metabolism, *Annually Review of Plant Physiology*. 41: 187-223.
- Han, G., Lu, C., Guo, J., Qiao, Z., Sui, N., Qiu, N. and Wang, B. (2020).** C<sub>2</sub>H<sub>2</sub> zinc finger proteins: Master regulators of abiotic stress responses in plants. *Frontiers in plant science*, 11, 115.
- Hannah, M.A., Heyer, A.G. and Hincha, D.K. (2005).** A global survey of gene regulation during cold acclimation in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS Genetics*. 1: 26.
- Hsieh, T.H., Lee, J.T., Yang, P.T., Chiu, L.H., Charng, Y., Wang, Y.C. and Chan, M.T. (2002).** Heterology expression of the *Arabidopsis* C-repeat/dehydration response element binding factor 1 gene confers elevated tolerance to chilling and oxidative stresses in transgenic tomato. *Plant Physiology*. 129: 1086-1094.
- Hu, Y., Jiang, L., Wang, F. and Yu, D. (2013).** Jasmonate regulates the inducer of CBF expression—c-repeat binding factor/DRE binding factor1 cascade and freezing tolerance in *Arabidopsis*. *Plant Cell*. 25:2907–2924.
- Hummel, R.L. and Ophardt, M.C. (2016).** Environmental Injury: Frost Cracks. Washington State University Extension Publication FS199E.
- Isah, T. (2019).** Stress and defense responses in plant secondary metabolites production. *Biological Research*. 52:39. <https://doi.org/10.1186/s40659-019-0246-3>
- Jenks, M.A. and Wood, A.J. (2010).** Genes for plant abiotic stress. Ames (IA): Wiley-Blackwell.
- Jiang, Q.W., Kiyoharu, O. and Ryoze, I. (2002).** Two novel mitogen-activated protein signaling components, *OsMEK1* and *OsMAP1*, are involved in a moderate low-temperature signaling pathway in rice, *Plant Physiology*. 129: 1880–1891.
- Jones, P.G. and Inouye, M. (1994).** The cold shock response—a hot topic. *Molecular microbiology*. 11: 811-818.
- Karimi Alavijeh, M., Ebadi, A., Mousavi, S. and Salami, S. (2015).** Investigation of catalase, proxidase and total protein level in some cold treated grapevine cultivars cold stress response. *Journal of Horticulture Science*. 29: 103-110. (in Persian)
- Karimi, M., Ebadi, A., Mousavi, S.A., Salami, S.A. and Zarei, A. (2015).** Comparison of CBF1, CBF2, CBF3 and CBF4 expression in some grapevine cultivars and species under cold stress. *Scientia Horticulturae*. 197: 521–526.
- Kim, Y.O., Kim, J.S. and Kang, H. (2005).** Cold-inducible zinc finger containing glycine rich RNA binding protein contributes to the enhancement of

- freezing tolerance in *Arabidopsis thaliana*. The Plant Journal. 42: 890-900.
- Kubien, D.S., Von Caemmerer, S., Furbank, R.T. and Sage, R.F. (2003).** C4 photosynthesis at low temperature. A study using transgenic plants with reduced amounts of rubisco. Plant Physiology. 132: 1577-1585.
- Kwak, J.M., Mori, I.C., Pei, Z.M., Leonhardt, N., Torres, M.A., Dangel, J.L., Bloom, R.E., Bodde, S., Jones, J. D.G. and Schroeder, J.I. (2003).** NADPH oxidase *AtrbohD* and *AtrbohF* genes function in ROS-dependent ABA signaling in Arabidopsis. The EMBO Journal. 22: 2623-2633.
- Mendel, R.R. and Bittner, F. (2006).** Cell biology of molybdenum. Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research. 1763: 621-635.
- Mendel, R.R. and Hansch, R. (2002).** Molybdoenzymes and molybdenum cofactor in plants. Journal of Experimental Botany. 53: 1689-1698.
- Miura, K. and Furumoto, T. (2013).** Cold signaling and cold response in plants. International Journal of Molecular Sciences. 14: 5312-5337.
- Nayyar, H., Chander, K., Kumar, S. and Bains, T. (2005).** Glycine betaine mitigates cold stress damage in Chickpea. Agronomy for Sustainable Development. 25: 381-388.
- Olsen, J. E., Jensen, J. B., Mölmann, J. A., Ernsten, A. and Junttila, O. (2004).** Photoperiodic Regulation of Apical Growth Cessation in Northern Tree Species: The Role of Phytochrome and Gibberellin. Pp 77-112. In R. Arora, editor, Adaptations and Responses of Woody Plants to Environmental Stresses. New York: Haworth Press.
- Rubio, S. and Pérez, F.J. (2019).** ABA and its signaling pathway are involved in the cold acclimation and deacclimation of grapevine buds. Scientia Horticulturae, 256: 108565.
- Rihan, H.Z., Al-Issawi, M. and Fuller, M.P. (2017).** Advances in physiological and molecular aspects of plant cold tolerance. Journal of Plant Interactions. 12:1, 143-157
- Ritonga, F.N. and Chen, S. (2020).** Physiological and Molecular Mechanism Involved in Cold Stress Tolerance in Plants. Plants. 9: 560.
- Sanchez, J., Mangat, P.K. and Angeles-Shim, R.B. (2019).** Weathering the cold: modifying membrane and storage fatty acid composition of seeds to improve cold germination ability in upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.). Agronomy, 9: 684.
- Sanghera, G.S. and Wani, S.H. (2008).** Innovative approaches to enhance genetic potential of rice for higher productivity under temperate conditions of Kashmir. Journal of Plant Science Research. 24: 99-113.
- Sanghera, G.S., Zarger M.A., Anwar, A., Singh, S.P., Ahmad, N. and Rather, M.A. (2003).** Studies on spikelet fertility and incidence of leaf blast mechanisms against oxidative stress. Physiology Plant. 117: 540-549.
- Sun, X., Zhao, T., Gan, S., Ren, X., Fang, L., Karungo, S.K., Wang, Y., Chen, L., Li, S. and Xin, H. (2016).** Ethylene positively regulates cold tolerance in grapevine by modulating the expression of ethylene response factor. Scientific Reports. 6.
- Sun, X., Zhu, Z., Zhang, L., Fang, L., Zhang, J., Wang, Q., Li, S., Liang, Z. and Xin, H. (2019).** Overexpression of ethylene response factors *VaERF080* and *VaERF087* from *Vitis amurensis* enhances cold tolerance in *Arabidopsis* Scientia Horticulturae. 243: 320-326.
- Suzuki K., Nagasuga K. and Okada M. (2008).** The chilling injury induced by high root temperature in the leaves of rice seedlings. Plant Cell Physiology. 49: 433-442.
- Ton, J., Flors, V. and Mauch-Mani, B. (2009).** The multifaceted role of ABA in disease resistance. Trends in Plant Science - Cell Press. 14: 310-317.
- Uemura M. and Steponkus P.L. (1997).** Effect of cold acclimation on membrane lipid composition and freeze induced membrane destabilization, in: Plant Cold Hardiness, Molecular Biology, Biochemistry and Physiology. Plenum, New York. 171-79.

- Wang, F., Chen, S., Liang, D., Qu, G. Z., Chen, S. and Zhao, X. (2020a).** Transcriptomic analyses of *Pinus koraiensis* under different cold stresses. *BMC genomics*. 21(1): 1-14.
- Wang, H., Blakeslee, J. J., Jones, M. L., Chapin, L.J. and Dami, I.E. (2020b).** Exogenous abscisic acid enhances physiological, metabolic, and transcriptional cold acclimation responses in greenhouse-grown grapevines. *Plant Science*. 110437.
- Winfield, M.O., Lu, C., Wilson, I.D., Coghill, J.A. and Edwards, K.J. (2010).** Plant responses to cold: transcriptome analysis of wheat. *Plant Biotechnology Journal*. 8(7): 749-771.
- Xue-Xuan, X., Hong-Bo, S., Yuan-Yuan, M., Gang, X., Jun-Na, S., Dong-Gang, G. and Cheng-Jiang, R. (2010).** Biotechnological implications from abscisic acid (ABA) roles in cold stress and leaf senescence as an important signal for improving plant sustainable survival under abiotic-stressed conditions. *Critical Reviews in Biotechnology*. 30: 222-230.
- Xu, Y., Hu, W., Liu, J., Song, S., Hou, X., Jia, C. and Xu, B. (2020).** An aquaporin gene MaPIP2-7 is involved in tolerance to drought, cold and salt stresses in transgenic banana (*Musa acuminata* L.). *Plant Physiology and Biochemistry*. 147: 66-76.
- Yadav, S.K. (2010).** Cold stress tolerance mechanisms in plants. A review. *Agronomy for sustainable development*. 30(3): 515-527.
- Yamaguchi-Shinozaki, K. and Shinozaki, K. (2006).** Transcriptional regulatory networks in cellular responses and tolerance to dehydration and cold stresses. *Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 57: 781-803.