Iranian Journal of Horticultural Science
Vol 48, No 4, Winter 2018 (909-919)
DOI: 10.22059/ijhs.2018.218991.1114

علوم باغبانی ایران
دورهٔ ۴۸، شمارهٔ ۴، زمستان ۱۳۹۶ (ص ۹۱۹-۹۰۹)

بررسی تغییرپذیری‌های ناشی از خشکی در نژادگان طبیعی مرکبات

رضا فیفائی[1*]، رضا فتوحی قزوینی[2]، جواد فتاحی مقدم[1] و معصومه کیااشکوریان[3]
۱ و ۳. استادیار و محقق مؤسسهٔ تحقیقات علوم باغبانی، پژوهشکدهٔ مرکبات و میوه‌های نیمه گرمسیری، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رامسر، ایران
۲. استاد، دانشکدهٔ علوم کشاورزی دانشگاه گیلان، رشت، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۸/۱۰ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۰/٤)

چکیده

درختان مرکبات دمای پایین و زهکشی ضعیف خاک را به‌خوبی تحمل نکرده و در صورت پرورش آن‌ها در مناطق گرم در معرض تأثیر زیانبار خشکی قرار می‌گیرند. این پژوهش، به‌منظور بررسی تأثیر خشکی بر محتوای نسبی آب برگ، نشت یونی، میزان تجمع مالوندآلدیید، کربوهیدرات محلول کل و عنصرهای پتاسیم و کلسیم در دانهال‌های نوسلار نژادگان (ژنوتیپ) طبیعی مرکبات به همراه دو پایهٔ حساس و مقاوم به خشکی به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با سه تکرار در شرایط گلخانه‌ای انجام شد. عامل‌ها شامل ده نژادگان مختلف و تیمارهای آبیاری کامل (شاهد) و تنش شدید (قطع آبیاری) بودند. نتایج بررسی‌ها نشان داد، پونسیروس به دلیل نشت یونی پایین‌تر (۳۱/۸۵ درصد)، تجمع کمتر مالوندآلدیید (۱۳٤/٤ نانومول بر گرم وزن خشک برگ) و در نتیجه پراکسیداسیون کمتر چربی (لیپید)ها و میزان کلسیم بالاتر (۵۷ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک برگ) نسبت به دیگر نژادگان‌ها متحمل به خشکی و راف‌لمون به دلیل تجمع بیشتر مالوندآلدیید (۳۵٦/۹ نانومول بر گرم وزن خشک برگ) و در نتیجه پراکسیداسیون بیشتر چربی‌ها، نشت یونی بالا (٦۹/٤۳ درصد) و میزان پایین‌تر کلسیم (۳۲/٦۳ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک برگ) در مقایسه با دیگر نژادگان‌ها، حساس به خشکی هستند. همچنین نژادگان طبیعی شل‌محله به دلیل نشت یونی بالا (۷۷/۱۷ درصد) و تجمع پایین کربوهیدرات محلول کل (٤۸/٤۵ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک برگ)، پس از راف‌لمون در رتبهٔ بعدی حساسیت قرار داشت. بنابراین با توجه به مقایسهٔ میانگین‌ها و همبستگی خوب نشت یونی با دورهٔ بقا، می‌توان آن را به‌عنوان نشانگر فیزیولوژی مناسب در مبحث تحمل به خشکی معرفی کرد.

واژه‌های کلیدی: قطع آبیاری، مالوندآلدیید، محتوای نسبی آب برگ، نژادگان ناشناخته، نشت یونی.

Effects of drought on citrus natural genotypes

Reza Fifaei[1*], Reza Fotouhi Ghazvini[2], Javad Fatahi Moghadam[1] and Masomeh Kiaeshkevarian[3]
1, 3. Assistant Professor and Researcher of Horticultural Science Research Institute, Citrus and Subtropical Fruits Research Center, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Ramsar, Iran
2. Professor, Faculty of Agriculture Science, University of Guilan, Rasht, Iran
(Received: Oct. 31, 2016 - Accepted: Dec. 24, 2016)

ABSTRACT

Citrus tolerate low temperature and weak drainage. Growing citrus in warm regions, expose them to drought. This research was conducted to investigate drought effect on relative water content, ion leackage, malondialdehyde, soluble sugars, potassium and calcium nutrients in nucellar seedlings of *citrus* natural genotypes with two susceptible and tolerant rootstocks in factorial test based on randomized completely design with three replications in glasshouse conditions. Factors included commercial *Citrus* genotypes and two level of irrigation (optimum irrigation and withholding irrigation). The results showed that Poncirus because of lower ion leakage (31.85 %), lower malondealdehyde accumulation (134.4 nm/gdw) and higher calcium content (57 mg/gdw) compared with other genotypes was more tolerant to drought. Rough lemon because of higher malondealdehyde accumulation (356.9 nm/gdw), high ion leakage (69.43 %) and lower calcium content (32.63 mg/gdw) compared with other genotypes, was susceptible to drought. Genotype of Shelmahalleh because of high ion leakage (77.17 %) and slight total soluble carbohydrate accumulation was susceptible to drought after Rough lemon. Therefore, we could consider ion leakage as a proper physiological marker for drought tolerance with regard to means comparison and its good correlation to survival time.

Keywords: Ion leakage, leaf relative water content, malondialdehyde, unknown genotype, Withhold irrigation.

* Corresponding author E-mail: rezafifaei@yahoo.com

www.SID.ir

مقدمه

از نظر زیست‌شناختی *(بیولوژی)*، تنش نیرویی منفی است که بازدارندهٔ عملکرد طبیعی یک سامانهٔ زیستی می‌شود. تنش‌های محیطی که مهم‌ترین عامل کاهندهٔ عملکرد محصولات کشاورزی در جهان هستند به دو بخش تنش‌های زنده و غیرزنده تقسیم می‌شوند. خشکی یا کم‌آبی، مهم‌ترین تنش غیرزنده است و هنگامی ایجاد می‌شود که میزان آب دریافتی گیاه کمتر از هدررفت آن باشد (Mahajan & Tuteja, 2005).

ایران جزو کشورهای خشک و نیمه‌خشک جهان با میانگین بارندگی درازمدت حدود ۲۵۰ میلی‌متر در سال است (گفته می‌شود میانگین بارندگی سال‌های اخیر کشور به ۲۲۸ میلی‌متر کاهش یافته است. ۶۶ درصد گسترهٔ کشور در اقلیم خشک و نیمه‌خشک با میزان بارندگی کمتر از ۲۰۰ میلی‌متر در سال قرار دارد، ناگزیر در معرض خشکی قرار می‌گیرد (Nasr-e-esfahani *et al*., 2008).

خشکی بر برخی ویژگی‌های ریخت‌شناختی (مرفولوژیکی)، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی درختان مرکبات تأثیر می‌گذارد. بررسی دانهال‌های سه‌ماههٔ ده پایهٔ مختلف مرکبات تحت رژیم‌های متفاوت آبیاری در گلخانه نشان داد، وزن خشک ریشه به شاخه در شرایط تنش افزایش یافت (Beniken *et al*., 2013). در بررسی تأثیر دو گونه قارچ قارچریشه‌ای (میکوریزا) بر برخی ویژگی‌های دانهال‌های گلدانی ولکامریانا تحت تیمارهای تنش خشکی، وزن خشک برگ، شاخه و ریشه در شرایط تنش، کاهش معنی‌داری در مقایسه با شاهد داشت (Haghighatnia *et al*., 2011). بررسی دو تیمار تنش آبی روی دانهال‌های نارنگی تحت تأثیر پنج گونه قارچ قارچریشه‌ای نشان داد، وزن خشک شاخه و ریشه در شرایط خشکی بدون کاهش ولی وزن خشک کل گیاه کاهش معنی‌داری داشت (Wu *et al*., 2007). در بررسی دیگری وزن خشک شاخه و نسبت وزن خشک ریشه به شاخه در هلوی کاترینا روی چهار پایه با قطع آبیاری تا ۲۶ روز معنی‌دار نبود هرچند میزان آن‌ها نسبت به شاهد کاهش داشت (Jimenez *et al*., 2013). در رقم‌های زیتون نیز کاهش نسبت وزن خشک ریشه به تاج‌پوشش درختان در نتیجهٔ تنش خشکی دیده شد (Metheney *et al*., 1994).

در بررسی تنش شدید خشکی روی پایهٔ فورنر آلکائید ۵ در مقایسه با والدینش یعنی کلئوپاتراماندارین و پونسیروس تریفولیاتا مشاهده کردند در هر سه پایه محتوای نسبی آب برگ کاهش یافت (Rodríguez-Gamir *et al*., 2010). بررسی دو پایهٔ کاریزوسیترنج و کلئوپاتراماندارین نشان داد، محتوای نسبی آب برگ در دانهال‌های تحت خشکی پایین‌تر از شاهد بود و این کاهش در کاریزوسیترنج بیشتر از کلئوپاتراماندارین دیده شد (Garcıa-Sancheza *et al*., 2007). بررسی دانهال‌های سه‌ماههٔ ده پایهٔ مختلف مرکبات تحت رژیم‌های متفاوت آبیاری در گلخانه نشان داد، با افزایش تنش خشکی کاهش معنی‌داری در محتوای نسبی آب برگ همهٔ پایه‌ها مشاهده شد (Beniken *et al*., 2013). بررسی یک دوره یا چرخهٔ (سیکل) خشکی در نهال‌های شش ماههٔ پرتقال نیوهال و تانگور الندیل در شرایط گلخانه‌ای کنترل‌شده نشان داد، در پایان دورهٔ تنش، کاهش فراوانی در محتوای نسبی آب برگ در نهال‌های تانگور مشاهده شد (Save *et al*., 1995). تأثیر تنش خشکی بر نهال‌های گلدانی پرتقال والنسیا روی پایه‌های رانگ‌پورلایم دیپلوییدی و تتراپلوییدی در شرایط گلخانه‌ای نشان داد، سطوح پلوییدی پایه‌ها، تأثیری بر محتوای نسبی آب برگ نداشت و تفاوتی بین والنسیا پیوندی روی رانگ‌پورلایم دیپلویید و تتراپلویید دیده نشد (Allario *et al*., 2012).

بررسی واکنش پنج رقم انگور در چهار سطح پتانسیل آب خاک نشان داد، پایداری نسبی غشاء یاخته‌ای، با افزایش شدت تنش خشکی کاهش و در نتیجه نشت یونی افزایش یافت. درصد پایداری نسبی در ۱/۵- مگاپاسکال در رقم‌های انگور خوشناو، ساهانی و بیدانهٔ سفید نسبت به بقیه به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (Ghaderi *et al*., 2010). بررسی تنش خشکی در رقم‌های سیب ویستا بلا و گلابی سانتا ماریا نشان داد، با افزایش سطوح تنش آبی، درصد نشت یونی در هر دو رقم روی پایه‌های مورد بررسی افزایش داشت. میزان این افزایش در گلابی رقم سانتا ماریا کمتر بود (Bollat *et al*., 2014).

Archive of SID

www.SID.ir

بررسی تأثیر قارچریشه و تنش خشکی پیش‌رونده در نهال‌های پرتقال نیوهال روی پایهٔ پونسیروس نشان داد، میزان مالون‌دآلدیید در برگ‌ها با افزایش شدت تنش افزایش یافت (Wu & Zou, 2009). بررسی تنش آبی در سوئینگل سیترواملو تراریخته در مقایسه با شاهد غیرتراریخته نشان داد، غلظت مالون‌دآلدیید در شرایط آبیاری مناسب در گیاهان تراریخته و غیرتراریخته یکسان است ولی در تنش متوسط و شدید در تراریخته‌ها پایین‌تر است. در تنش متوسط افزایش معنی‌داری در گیاهان تراریخته مشاهده نشد، ولی در تنش شدید این افزایش معنی‌دار بود. در گیاهان غیرتراریخته نیز افزایش معنی‌داری در شرایط تنش متوسط و شدید در مقایسه با شاهد دیده شد (de Campos *et al*., 2011). بررسی دو پایهٔ حساس و مقاوم سیب به تنش خشکی مشاهده کردند میزان مالون دآلدئید در پایهٔ حساس افزایش بیشتری یافت (Wang *et al*., 2011).

بررسی دانهال‌های دو سالهٔ پرتقال نیوهال و نارنگی انشو یاماسیتاکا نشان داد، تنش خشکی می‌تواند باعث تجمع کربوهیدرات محلول کل در هر دو رقم شود (Xie *et al*., 2012). در شرایط کم‌آبی، پایهٔ فورنر آلکائید ۵ در مقایسه با والدینش مواد پروردهٔ (آسیمیلات‌های) بیشتری دارد (Rodriguez-Gamir *et al*., 2010). بررسی تنش خشکی ۹ روزه در کاریزوسیترنج و کلئوپاتراماندارین نشان داد، کربوهیدرات محلول کل در برگ‌ها و ریشه‌های هر دو نژادگان افزایش یافت (Garcıa-Sancheza *et al*., 2007). افزایش معنی‌دار کربوهیدرات محلول کل در برگ ده پایهٔ مرکبات مورد آزمایش تحت رژیم‌های مختلف آبیاری دیده شد (Beniken *et al*., 2013). بررسی تنش آبی و قارچ قارچریشه‌ای روی دانهال‌های نارنگی نشان داد، میزان کربوهیدرات محلول کل برگ در گیاهان تحت تنش، افزایش معنی‌داری در مقایسه با شاهد نداشت ولی همهٔ گونه‌های قارچریشه در افزایش کربوهیدرات محلول کل مؤثر بودند (Wu *et al*., 2007). بررسی تنش آبی پیش‌رونده در پایان ۱۶ و ۲۶ روز نشان داد، اثر متقابل خشکی و نژادگان بر میزان کربوهیدرات محلول کل برگ معنی‌دار نبود، هرچند میزان آن‌ها در بافت‌های برگ و ریشه به‌ویژه در شرایط تنش شدید افزایش یافت (Jimenez *et al*., 2013). در رقم‌های انگور، زیتون، بادام، گلابی و سیب افزایش کربوهیدرات محلول کل در نتیجهٔ تنش خشکی گزارش شده است (Ghaderi *et al*., 2010; Rabiei, 2004; Yazdani *et al*., 2007; Arji *et al*., 2003; Rosban, 2009; Javadi, 2003; Alizadeh *et al*., 2011).

بروز تنش خشکی باعث ایجاد تغییرهایی در میزان عنصرهای کانی نیز می‌شود. در آزمایش‌های انجام‌شده روی دو پایهٔ کاریزوسیترنج و کلئوپاتراماندارین شش‌ماهه در شرایط تنش خشکی، غلظت کلسیم برگ در هر دو پایه افزایش یافت که میزان این افزایش در دانهال‌های کلئوپاتراماندارین بیشتر از کاریزوسیترنج بود. غلظت پتاسیم برگ نیز در شرایط خشکی در هر دو پایه افزایش معنی‌داری نداشت هرچند این افزایش در کلئوپاتراماندارین بیشتر بود (Garcıa-Sanchez *et al*., 2007). Cimo *et al*. (2013) با بررسی تأثیر تنش و حلقه‌برداری روی دانهال‌های دوسالهٔ سوئینگل سیترواملو و کلئوپاتراماندارین در شرایط گلخانه‌ای نتیجه گرفتند در شاهد میزان پتاسیم در کلئوپاتراماندارین کمتر از سوئینگل سیترواملو و میزان کلسیم بیشتر بود. با اعمال تنش میزان پتاسیم در هر دو پایه کاهش یافت که در سیترواملو این کاهش کمتر بود. میزان کلسیم نیز در کلئوپاترا کاهش ولی در سیترواملو افزایش یافت. Haghighatnia *et al*. (2011) دانهال‌های گلدانی ولکامریانا را همراه با دو گونه قارچ قارچریشه‌ای در معرض تنش خشکی قرار دادند. در این بررسی میزان پتاسیم با افزایش شدت تنش، کاهش معنی‌داری داشت و در تنش شدید به کمترین میزان رسید. همچنین میزان کلسیم در شاهد و تنش ملایم تغییری نداشت ولی در تنش شدید افزایش معنی‌داری یافت. قارچریشه در همهٔ موارد باعث افزایش در میزان جذب کلسیم و پتاسیم شد.

هدف از انجام این پژوهش، بررسی نژادگان‌های طبیعی مرکبات از نظر تحمل به خشکی و مقایسهٔ آن‌ها با دو نژادگان حساس و متحمل رافلمون و پونسیروس از لحاظ برخی شاخص‌های فیزیولوژی و بیوشیمیایی و دستیابی به یک شاخص مناسب است.

Archive of SID

www.SID.ir

مواد و روش‌ها

این پژوهش در گلخانهٔ تحقیقاتی و آزمایشگاه‌های پژوهشکدهٔ مرکبات و میوه‌های نیمه‌گرمسیری کشور (رامسر) در سال ۱۳۹۳ انجام شد. بذرهای هشت نژادگان طبیعی ناشناخته (۵-۵، معلم‌کوه، شل‌محله، ۳-۳، ۳-۶، ۴-۸، آف‌تایپ و ۵-۲) به همراه دو پایهٔ متحمل پونسیروس (*Poncirus trifoliate* Raf.) و حساس راف‌لمون (*Citrus jambhiri* Lush.) در آذرماه ۱۳۹۲ گردآوری و پس از آماده‌سازی و ضدعفونی با قارچ‌کش کاپتان (به غلظت دو در هزار) در ترکیب سترون‌شده (استریل) متشکل از پرلیت و ماسهٔ اتوکلاوشده (به نسبت یکسان) کشت شدند. پس از سبز شدن بذرها، دانهال‌های نوسلار تولیدی در مرحلهٔ دو تا سه برگی به گلدان‌های پلاستیکی ۲٫۵ لیتری محتوای ترکیب سترون‌شده کوکوپیت و ماسه به نسبت یکسان (اتوکلاو شده) منتقل و در گلخانهٔ کنترل‌شده (با دمای ۲۶- ۲۸ درجهٔ سلسیوس در روز و ۲۰ -۲۲ درجه در شب با رطوبت نسبی ۸۰- ۸۵ درصد) قرار گرفتند. آبیاری در حد حفظ ظرفیت گلدانی و تغذیه با محلول هوگلند (هر هفت روز یک‌بار) انجام شد.

تحقیق به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با سه تکرار و دو دانهال در هر واحد آزمایشی انجام شد. عامل‌ها شامل نژادگان‌های مختلف (۱۰ نژادگان) و تیمارهای آبیاری در دو سطح شامل آبیاری کامل (شاهد) و تنش شدید (قطع آبیاری) بودند. با توجه به اینکه دورهٔ بقای نژادگان‌ها در آزمایش دیگری مشخص شده بود یک هفته پیش از این دوره برای هرکدام از نژادگان‌ها، پایان آزمایش به شمار آمده و نمونه‌برداری انجام شد (Rodriguez-Gamir *et al*., 2010).

رطوبت وزنی بستر محاسبه و با توجه به منحنی ویژگی‌های رطوبتی خاک، پتانسیل ماتریک بستر کشت به دست آمد که در تیمار شاهد ۰/۰۳- مگاپاسکال و در تیمار تنش شدید ۱/۵- مگاپاسکال بود. در تیمار تنش شدید، در آغاز آزمایش گلدان‌ها به‌طور کامل آبیاری شدند و پس از زهکشی کامل و خروج آب اضافی با کیسهٔ پلاستیکی سیاه پوشیده و قسمت پایین ساقه برای جلوگیری از تبخیر آب به‌کلی بسته شد (Rodriguez-Gamir *et al*., 2010).

تنش روی دانهال‌های یک‌ساله اعمال و یک هفته پیش از پایان دورهٔ بقا، نمونه‌برداری از برگ‌های میانی دانهال‌ها انجام شد.

تعیین محتوای نسبی آب برگ (RWC)

برای تعیین محتوای نسبی آب برگ چهار برگ بالغ به طور کامل توسعه‌یافتهٔ یکنواخت از قسمت وسط ساقه هرکدام از تیمارها در هر تکرار (دو برگ از هر دانهال) انتخاب و در پاکت پلاستیکی به آزمایشگاه منتقل و با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم (مدل KERN ALS 120-4 ساخت کشور آلمان)، وزن تر برگ‌ها اندازه‌گیری شد. سپس درون یک بشر محتوای آب مقطر و در محیط تاریک به مدت یک شبانه‌روز قرارگرفته و وزن اشباع یا آماس آن‌ها اندازه‌گیری شد. پس از آن، در آغاز برگ‌ها با دستمال‌کاغذی خشک‌شده، سپس در پاکت کاغذی گذاشته و درون آون ۸۰ درجهٔ سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت قرار داده و وزن خشک آن‌ها تعیین شد (Morgan, 1984) محتوای نسبی آب برگ به‌صورت زیر بیان می‌شود:

$$RWC= [(FW-DW) / (TW-DW)] \times 100$$

که در آن FW وزن تر (گرم)، DW وزن خشک (گرم) و TW وزن برگ در حالت اشباع است.

اندازه‌گیری نشت یونی

برای تعیین نشت یونی یا پایداری نسبی غشای یاخته‌ای، چهار برگ بالغ به‌طورکامل توسعه‌یافتهٔ یکنواخت از قسمت وسط ساقهٔ هرکدام از تیمارها در هر تکرار (دو برگ از هر دانهال) انتخاب و در پاکت پلاستیکی به آزمایشگاه منتقل شد. سپس سه مرتبه با آب مقطر و هر بار به مدت ۱۰ دقیقه شستشو و در محیط آزمایشگاه خشک شد. از هر برگ، چهار قطعهٔ یکسان هرکدام به قطر تقریبی ۱ سانتی‌متر از دو طرف رگبرگ اصلی جدا کرده و در لولهٔ آزمایش درپوش‌دار محتوای ۱۵ میلی‌لیتر آب مقطر قرار داده شد. نشت یونی اولیه پس از ۲۴ ساعت تکان تدریجی در دمای آزمایشگاه روی لرزا (شیکر) توسط دستگاه هدایت

Archive of SID

www.SID.ir

الکتریکی‌سنج (EC) متر اندازه‌گیری و سپس نمونه‌ها در دمای ۱۰۰ درجهٔ سلسیوس به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آبی قرار داده شدند و نشت یونی ثانویه پس از خنک شدن و رسیدن به دمای آزمایشگاه تعیین شد (Whitlow *et al*., 1992). درصد نشت یونی (EL) به‌صورت زیر بیان می‌شود:

$$EL\ (\%) = (EL1/EL2) \times 100$$

که در آن EL1 نشت یونی اولیه و EL2 نشت یونی نهایی است.

اندازه‌گیری میزان تجمع مالون‌دی‌آلدیید (MDA)

مالون‌دی‌آلدیید فرآوردهٔ نهایی اکسید شدن اسیدهای چرب غیراشباع است که با تیوباربیتوریک اسید واکنش داده و تشکیل کمپلکس رنگی می‌دهد. به ۰/۲ گرم نمونه برگی پودر شده در نیتروژن مایع، ۵ میلی‌لیتر تری کلرو استیک اسید ۰/۱ درصد اضافه کرده و یک‌شب در محیط آزمایشگاه نگه‌داشته شد. روز بعد نمونه‌ها را تکان (ورتکس) شدید داده و سپس سانتریفیوژ (۳ دقیقه در ۱۴۰۰۰ دور) شدند. در نهایت ۱ میلی‌لیتر عصارهٔ رویی را برداشته و به آن ۴ میلی‌لیتر تری کلرو استیک اسید ۲۰ درصد محتوای ۰/۵ درصد تیوباربیتوریک اسید اضافه شد. نمونه‌ها ۳۰ دقیقه در بن ماری ۹۵ درجه قرار گرفتند و بی‌درنگ به یخ منتقل شدند و پس از سرد شدن به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفیوژ شدند و در پایان کار شدت جذب این کمپلکس با استفاده از طیف‌سنج نوری (اسپکتروفتومتر) مدل ND-1000 ساخت آمریکا و در طول‌موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. برای حذف تأثیر ترکیب‌های مزاحم، جذب نمونه‌ها در طول‌موج ۶۰۰ نانومتر از جذب نمونه در طول‌موج ۵۳۲ نانومتر کسر شد و غلظت کمپلکس محاسبه شد (Heath & Packer, 1968).

اندازه‌گیری میزان کربوهیدرات محلول کل

برای اندازه‌گیری میزان تجمع کربوهیدرات محلول کل، به ۰/۰۵ گرم بافت ساییده‌شدهٔ برگ در نیتروژن مایع، ۱۰ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر اضافه کرده و پس از تکان دادن، درون حمام آب گرم با دمای ۱۰۰ درجهٔ سلسیوس قرار داده شد. پس از ۲۰ دقیقه (هنگامی‌که محلول به جوش آمد) نمونه‌ها با استفاده از کاغذ صافی واتمن صاف شدند. از عصارهٔ صاف‌شدهٔ نمونه‌ها، ۲ میلی‌لیتر برداشته و به آن ۲ میلی‌لیتر سولفات مس اضافه شد. هر یک از نمونه‌ها ۸ تا ۱۰ دقیقه درون حمام آب گرم با دمای ۱۰۰ درجهٔ سلسیوس قرار گرفته و پس از آن درون یخ سرد شدند. پس از سرد شدن ۲ میلی‌لیتر محلول اسید فسفومولیبدیک به نمونه‌ها اضافه شد. نمونه‌ها با آب دو بار تقطیر به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد و با استفاده از طیف‌سنج نوری مدل ND-1000 ساخت آمریکا، شدت جذب در طول‌موج ۶۰۰ نانومتر خوانده و با استفاده از منحنی استاندارد، غلظت کربوهیدرات محلول کل در نمونه‌ها محاسبه شد. قند مورد استفاده برای تهیهٔ منحنی استاندارد گلوکز بوده است (Somogyi, 1952).

اندازه‌گیری غلظت عنصرهای کانی

پس از خشک‌کردن برگ‌ها، نمونه‌ها آسیاب و با الک شماره ۱ صاف شدند. سپس ۱ گرم برداشته و به مدت ۵ ساعت در کوره و در دمای ۵۵۰-۵۳۵ درجهٔ سلسیوس قرارگرفت. پس از خروج از کوره، روی نمونه‌ها، ۱۰ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک ۲ نرمال ریخته و عصاره تهیه شد. برای اندازه‌گیری پتاسیم از دستگاه نورسنج شعله‌ای (فلیم‌فتومتر Jenway مدل PFP7 ساخت کشور انگلستان) استفاده شد. محلول استاندارد پتاسیم با غلظت‌های ۰، ۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر تهیه شد. غلظت پتاسیم نمونه‌های برگ برحسب میلی‌گرم در لیتر به دست آمد و میزان پتاسیم با استفاده از رابطهٔ زیر برحسب درصد مادهٔ خشک تعیین شد.

درصد پتاسیم =

[وزن خشک نمونهٔ مورد استفاده / (حجم نهایی عصارهٔ تهیه‌شده × غلظت عنصر)] × ۱۰۰

برای اندازه‌گیری کلسیم، میزان ۱ میلی‌لیتر از عصارهٔ تهیه‌شده را در ارلن مایر ۵۰ میلی‌لیتری ریخته و به آن ۲۴ میلی‌لیتر آب دیونیزه اضافه شد تا حجم کل محلول به ۲۵ میلی‌لیتر رسید. سپس به محلول، ۱ میلی‌لیتر سود ۴ نرمال و ۰/۰۲ گرم پودر موروکسید اضافه شد تا رنگ محلول صورتی شود،

Archive of SID

www.SID.ir

آنگاه عمل عیارسنجی (تیتراسیون) با EDTA ۰/۰۱ نرمال با استفاده از بورت دیجیتال تا ظهور رنگ ارغوانی ادامه یافت. درنهایت میزان یون‌های کلسیم با رابطهٔ زیر برحسب میلی‌اکی والانت در لیتر محاسبه شد (Jones, 1993).

$$Ca\ (meq/l) = [(v1-v2)/v] \times N \times 1000$$

این پژوهش با بیست تیمار، سه تکرار و دو دانهال در هر واحد آزمایشی صورت گرفت. برای تجزیهٔ آماری و تجزیهٔ واریانس از نرم‌افزار SAS و برای مقایسهٔ میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج بررسی طول دورهٔ بقا نژادگان‌ها که در آزمایش دیگری انجام شده بود نشان داد، دورهٔ بقا نژادگان‌های طبیعی ۵-۵، معلم‌کوه، شل‌محله، ۳-۳، ۳-۶، ۴-۸، آف‌تایپ، ۵-۲، پونسیروس و راف‌لمون به ترتیب ۵۵، ۶۱، ۵۱، ۶۴، ۵۳، ۶۶، ۵۹، ۵۲، ۱۲۵ و ۳۸ روز بود.

نتایج تجزیهٔ واریانس داده‌ها در این آزمایش نشان داد، اثر اصلی نژادگان، سطوح آبیاری و اثر متقابل نژادگان و سطوح آبیاری بر محتوای نسبی آب برگ، نشت یونی و میزان تجمع مالون‌دی‌آلدیید در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱).

محتوای نسبی آب برگ

مقایسهٔ میانگین اثر متقابل نژادگان و سطوح آبیاری بر محتوای نسبی آب برگ نشان داد، نژادگان آف‌تایپ در وضعیت شاهد با ۹۵/۳۶ درصد بیشترین و نژادگان ۳-۳ در وضعیت تنش با ۲۴/۴۷ درصد کمترین محتوای نسبی آب برگ را داشتند. نژادگان‌های معلم‌کوه، ۳-۶، ۴-۸، ۵-۲، راف‌لمون، شل‌محله، ۳-۳ و پونسیروس در وضعیت شاهد پس از نژادگان آف‌تایپ شاهد بیشترین و نژادگان‌های ۵-۵، ۵-۲ و معلم‌کوه در وضعیت تنش کمترین محتوای نسبی آب برگ را پس از نژادگان ۳-۳ تنش نشان دادند (جدول ۲).

تنش خشکی در همهٔ نژادگان‌ها باعث کاهش معنی‌دار محتوای نسبی آب برگ در مقایسه با شاهد شد. تنش خشکی باعث شد تا محتوای نسبی آب برگ به ترتیب در نژادگان‌های ۳-۳، ۵-۲، معلم‌کوه، ۵-۵، آف‌تایپ، ۴-۸، پونسیروس، ۳-۶، راف‌لمون و شل‌محله کاهش یابد و در مقایسه با شاهد به ترتیب ۰/۳، ۰/۴۳۸، ۰/۴۳۹، ۰/۴۵۸، ۰/۴۸، ۰/۵۰، ۰/۵۲، ۰/۵۳۶، ۰/۵۸ و ۰/۶۶ برابر شود. بنابراین بیشترین کاهش ناشی از خشکی در نژادگان ۳-۳ و کمترین کاهش در نژادگان شل‌محله دیده شد. در این پژوهش، در همهٔ نژادگان‌ها کاهش معنی‌دار محتوای نسبی آب برگ در مقایسه با شاهد در نتیجهٔ تنش خشکی دیده شد. در شرایط تنش، نژادگان شل‌محله بیشترین و نژادگان‌های ۳-۳ و ۵-۵ کمترین محتوای نسبی آب برگ را داشتند (جدول ۲).

این نتایج در تحقیق‌های انجام‌شده روی پایهٔ فورنر آلکائید ۵ (Rodríguez-Gamir *et al*., 2010)، پایه‌های کاریزوسیترنج و کلئوپاتراماندارین (Garcıa-Sancheza *et al*., 2007)، دانهال‌های سه‌ماههٔ ده پایهٔ مختلف مرکبات (Beniken *et al*., 2013)، نهال‌های شش ماههٔ پرتقال نیوهال و تانگور الندیل (Save *et al*., 1995) و پرتقال والنسیا روی پایه‌های رانگ‌پورلایم دیپلوییدی و تتراپلوییدی (Allario *et al*., 2012) نیز مشاهده شد.

نشت یونی

مقایسهٔ میانگین اثر متقابل نژادگان و آبیاری بر درصد نشت یونی نشان داد، نژادگان ۳-۶ در وضعیت تنش با ۹۶/۶۳ درصد بیشترین و پونسیروس در وضعیت شاهد با ۹/۷۷۳ درصد کمترین درصد نشت یونی را داشتند. نژادگان‌های ۳-۳، ۵-۲، آف‌تایپ و ۵-۵ در وضعیت تنش پس از نژادگان ۳-۶ تنش بیشترین و نژادگان‌های معلم‌کوه، ۵-۵، شل‌محله، ۳-۳، ۳-۶، ۴-۸، آف‌تایپ، ۵-۲ و راف‌لمون در وضعیت شاهد و ۴-۸ در وضعیت تنش کمترین درصد نشت یونی را پس از پونسیروس در وضعیت شاهد نشان دادند (جدول ۲).

تنش خشکی در همهٔ نژادگان‌ها باعث افزایش معنی‌دار درصد نشت یونی در مقایسه با شاهد شد. خشکی باعث شد تا درصد نشت یونی در نژادگان‌های ۴-۸، پونسیروس، راف‌لمون، شل‌محله، ۳-۳، معلم‌کوه، ۵-۲، ۵-۵، آف‌تایپ و ۳-۶ افزایش و در مقایسه با شاهد به ترتیب ۱/۹، ۳/۲۶، ۴/۷۲، ۵/۰۹، ۵/۵۵، ۵/۶۲، ۶/۰۳، ۶/۲۱، ۶/۲۸ و ۶/۳۴ برابر شود. بیشترین افزایش نشت یونی ناشی از خشکی در نژادگان ۳-۶ و

Archive of SID

www.SID.ir

کمترین افزایش در نژادگان ۴-۸ دیده شد. در شرایط تنش نژادگان‌های ۳-۶، ۳-۳، ۵-۲، ۵-۵، آف‌تایپ و شل‌محله بیشترین و نژادگان‌های ۴-۸ و پونسیروس کمترین نشت یونی را داشتند. بنابراین نژادگان شل‌محله با ۷۷/۱۷ درصد نشت یونی به دلیل تخریب بیشتر در شرایط تنش، حساس در برابر خشکی و پونسیروس نیز با ۳۱/۸۵ درصد به دلیل تخریب کمتر، متحمل به خشکی هستند (جدول ۲).

جدول ۱. تجزیهٔ واریانس محتوای نسبی آب برگ، نشت یونی و مالون‌دآلدیید در نژادگان‌های مرکبات

Table 1. ANOVA of Leaf relative water content, Ion leackage and Malondialdehyde in citrus genotypes

Source	Degree of Freedom	Mean of Squares		
		Relative water content	Ion leakage	Malondialdehyde
Rootstock	9	196.73**	891.52**	35233.22**
Irrigation levels	1	66385.4**	115892.08**	191764.43**
Rootstock × Irrigation levels	9	122.51**	598.44**	13333.5**
Error	40	34.83	35.13	2952.79
CV%		9.23	13.54	28.58

** Significant difference at 1% of probability level.

** اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

این نتایج در تحقیق انجام‌شده درزمینهٔ بررسی واکنش‌های فیزیولوژی پنج رقم انگور در چهار سطح پتانسیل آب خاک نیز دیده شد که پایداری نسبی غشاء یاخته‌ای، با افزایش شدت تنش خشکی کاهش و در نتیجه نشت یونی افزایش یافت (Ghaderi *et al.*, 2010). همچنین در بررسی تنش خشکی در رقم‌های سیب ویستا بلا و گلابی سانتا ماریا مشخص شد با افزایش سطوح تنش آبی، درصد نشت یونی در هر دو رقم روی پایه‌های مورد بررسی افزایش داشت. میزان این افزایش در گلابی رقم سانتا ماریا کمتر بود. بنابراین گلابی سانتا ماریا به‌عنوان مقاوم به خشکی شناخته شد (Bollat *et al.*, 2014).

مالون‌دی‌آلدیید

مقایسهٔ میانگین اثر متقابل نژادگان و سطوح آبیاری بر میزان تجمع مالون‌دآلدیید نشان داد، نژادگان ۵-۵ در وضعیت تنش با ۴۱۶/۲ نانومول بر گرم وزن خشک برگ بیشترین میزان تجمع مالون‌دآلدیید داشت و نژادگان‌های ۳-۶، معلم‌کوه، راف‌لمون، ۳-۳، ۴-۸ و آف‌تایپ در وضعیت تنش پس از آن بیشتر از بقیه بودند. راف‌لمون در وضعیت شاهد با ۶۳/۶۷ نانومول بر گرم وزن خشک برگ کمترین میزان تجمع مالون‌دآلدیید را داشت و نژادگان‌های آف‌تایپ در وضعیت شاهد، ۵-۲ در وضعیت تنش و شاهد و پونسیروس در وضعیت تنش کمترین تجمع را پس از آن نشان دادند (جدول ۲).

تنش خشکی در نژادگان‌های ۵-۵، ۳-۳، ۳-۶، ۴-۸، آف‌تایپ و راف‌لمون باعث افزایش معنی‌دار میزان تجمع مالون‌دآلدیید در مقایسه با شاهد شد. خشکی باعث شد تا میزان تجمع مالون‌دآلدیید در نژادگان‌های ۴-۸، ۳-۶، ۵-۵، ۳-۳، آف‌تایپ و راف‌لمون افزایش یابد و در مقایسه با شاهد به ترتیب ۱/۴۸، ۱/۴۹، ۱/۶۵، ۲/۳، ۳/۵۲ و ۵/۶۱ برابر شود. بیشترین افزایش ناشی از خشکی در راف‌لمون و کمترین افزایش در نژادگان ۴-۸ دیده شد. در این پژوهش، در شماری از نژادگان‌ها افزایش معنی‌دار مالون‌دآلدیید در مقایسه با شاهد در نتیجهٔ تنش خشکی دیده شد. در شرایط تنش، نژادگان‌های ۵-۵، ۳-۶، راف‌لمون، معلم‌کوه، ۳-۳ و آف‌تایپ بیشترین و نژادگان‌های ۵-۲ و پونسیروس کمترین میزان تجمع مالون‌دآلدیید را داشتند. بنابراین راف‌لمون با ۳۵۶/۹ نانومول بر گرم وزن خشک برگ تجمع مالون‌دآلدیید حساس در برابر خشکی و پونسیروس نیز با ۱۳۴/۴ نانومول بر گرم وزن خشک برگ تجمع مالون‌دآلدیید، متحمل به خشکی هستند (جدول ۲).

بررسی نهال‌های پرتقال نیوهال روی پونسیروس (Wu & Zou, 2009)، بررسی سوئینگل سیترومیلو تراریخته (de Campos *et al.*, 2011) و بررسی دو پایهٔ حساس و مقاوم سیب به تنش خشکی (Wang *et al.*, 2011) نشان داد، خشکی باعث افزایش مالون‌دی‌آلدیید شد.

همچنین نتایج تجزیهٔ واریانس داده‌ها نشان داد،

Archive of SID

www.SID.ir

اثر اصلی نژادگان، سطوح آبیاری و اثر متقابل نژادگان و سطوح آبیاری بر میزان کل کربوهیدرات محلول در سطح احتمال ۱ درصد، اثر اصلی نژادگان بر میزان پتاسیم و کلسیم در سطح ۱ درصد و اثر اصلی سطوح آبیاری بر میزان پتاسیم در سطح ۵ درصد و بر میزان کلسیم در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود. اثر متقابل نژادگان و سطوح آبیاری بر میزان عنصرهای اختلاف معنی‌داری ایجاد نکرد (جدول ۳).

کربوهیدرات محلول کل

مقایسهٔ میانگین اثر متقابل نژادگان و سطوح آبیاری بر میزان کربوهیدرات محلول کل نشان داد، نژادگان‌های ۴-۸ و ۵-۲ در وضعیت تنش به‌ترتیب با ۱۶۴/۶ و ۱۶۳/۱میلی‌گرم بر گرم وزن خشک برگ بیشترین و نژادگان ۵-۵ شاهد با ۹/۴۹۷میلی‌گرم بر گرم وزن خشک برگ کمترین میزان کربوهیدرات محلول کل را داشتند. راف‌لمون در وضعیت تنش پس از نژادگان‌های ۴-۸ و ۵-۲ تنش بیشترین و نژادگان‌های معلم‌کوه و ۵-۲ در وضعیت شاهد کمترین میزان کربوهیدرات محلول کل را پس از نژادگان ۵-۵ شاهد نشان دادند (جدول۴).

تنش خشکی در ۱۵ نژادگان باعث افزایش معنی‌دار و تنها در یک نژادگان سبب کاهش معنی‌دار کربوهیدرات محلول کل در مقایسه با شاهد شد. تنش خشکی باعث شد تا میزان کربوهیدرات محلول کل در نژادگان‌های ۳-۳، ۳-۶، آف‌تایپ، ۴-۸، ۵-۵، معلم‌کوه و ۵-۲ افزایش یابد و در مقایسه با شاهد به ترتیب ۱/۳۷۶، ۱/۵، ۱/۷۱، ۲/۲۵، ۴/۷۹، ۴/۸۹، ۸/۹۳ برابر و در راف‌لمون کاهش یافته و ۰/۵ برابر شود. بنابراین بیشترین افزایش ناشی از تنش خشکی در نژادگان ۵-۲ و کمترین افزایش در نژادگان ۳-۳ دیده شد. در شرایط تنش، نژادگان‌های ۴-۸ و ۵-۲ بیشترین و نژادگان شل‌محله کمترین میزان کربوهیدرات محلول کل را داشتند. بنابراین نژادگان شل‌محله با ۴۸/۴۵ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک برگ کربوهیدرات محلول کل به دلیل تنظیم اسمزی ضعیف‌تر در شرایط تنش خشکی، حساس به خشکی هستند (جدول ۴).

در بررسی دانهال‌های دو سالهٔ پرتقال نیوهال و نارنگی انشو یاماسیتاکا (Xie *et al*., 2012)، بررسی پایهٔ فورنر آلکائید ۵ (Rodriguez-Gamir *et al*., 2010)، بررسی تنش خشکی در کاریزوسیترنج و کلئوپاتراماندارین (Garcıa-Sancheza *et al*., 2007)، بررسی ده پایهٔ مرکبات (Beniken *et al*., 2013)، بررسی تنش آبی پیش‌رونده در هلو (Jimenez *et al*., 2013) و بررسی رقم‌های انگور، زیتون، بادام، گلابی و سیب (Ghaderi *et al*., 2010; Rabiei, 2004; Yazdani *et al*., 2007; Arji *et al*., 2003; Rosban, 2009; Javadi, 2003; Alizadeh *et al*., 2011) افزایش کل کربوهیدرات محلول در نتیجهٔ تنش خشکی دیده شد.

جدول ۲. مقایسهٔ میانگین اثر متقابل نژادگان‌های مرکبات و سطح آبیاری بر برخی صفات فیزیولوژی و بیوشیمیایی
Table 2. Mean comparisons of interaction between citrus genotype and irrigation level on some physiological and biochemical characteristics

Genotype	Irrigation	Relative water content (%)	Ion leakage (%)	Malondialdehyde (nm/g dw)
5-5	Control	70.14 de	14.21 nop	253 c-j
5-5	Stress	32.13 mn	88.19 a-e	416.2 a
Moalemkooh	Control	85.94 abc	12.38 op	266 b-h
Moalemkooh	Stress	37.7 klm	69.54 ghi	356.9 abc
Shelmahalleh	Control	83.59 bc	15.15 nop	276.7 b-f
Shelmahalleh	Stress	55.34 fgh	77.17 e-h	206.4 e-n
3-3	Control	81.18 bc	16.87 nop	149.3 j-p
3-3	Stress	24.47 n	93.57 abc	343.5 a-d
6-3	Control	85.18 abc	15.23 nop	245.1 d-k
6-3	Stress	45.62 h-l	96.63 a	364.8 ab
8-4	Control	84.72 abc	12.87 nop	230.4 e-l
8-4	Stress	42.07 i-m	24.48 mn	341.6 a-d
Off-type	Control	95.36 a	13.87 nop	84.89 op
Off-type	Stress	46.22 h-k	87.08 a-e	299.2 b-e
2-5	Control	85.84 abc	14.79 nop	119.5 m-p
2-5	Stress	37.58 klm	89.15 a-d	100.8 nop
Poncirus	Control	81.07 bc	9.77 p	142.3 k-p
Poncirus	Stress	42.17 i-m	31.85 lm	134.4 l-p
Rough lemon	Control	85.13 abc	14.7 nop	63.67 p
Rough lemon	Stress	49.42 g-j	69.43 ghi	356.9 abc

میانگین‌های دارای حرف‌های مشترک در هر ستون، اختلاف معنی‌دار در سطح ۱ درصد نداشتند.

The means with similar letter in each column didn't have significant difference at 1 % level.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۳. تجزیهٔ واریانس میزان کربوهیدرات محلول کل، پتاسیم و کلسیم در نژادگان‌ها

Table 1. ANOVA of Total soluble carbohydrate content, Potassium and Calcium in genotypes

Source	Degree of Freedom	Mean of Squares		
		Total Soluble carbohydrate	Potassium	Calcium
Rootstock	9	3666.95**	30.49**	457.83**
Irrigation levels	1	34775.87**	105.38*	1928.9**
Rootstock × Irrigation levels	9	2726.41**	9.66 ns	151.89 ns
Error	40	116.4	7.56	0.026
CV%		16.12	16.54	10.53

**، * و ns: اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و بدون اختلاف معنی‌دار.

**, *, ns: Significantly differences at 1 and 5% of probability levels, and non- significantly differences, respectively.

جدول ۴. مقایسهٔ میانگین اثر متقابل نژادگان و سطح آبیاری بر برخی صفات بیوشیمیایی

Table 4. Mean comparisons of interaction between genotype and irrigation level on some biochemical characteristics

Genotype	Irrigation	Total soluble carbohydrate (mg/g dw)	Potassium (mg/g dw)	Calcium (mg/g dw)
5-5	Control	10.85 st	17.71 b-g	33.92 a-h
5-5	Stress	52.01 mno	14.28 d-i	55.17 abc
Moalemkooh	Control	19.65 rst	16.3 c-g	40.55 a-h
Moalemkooh	Stress	96.02 d-g	17.09 c-g	57.03 ab
Shelmahalleh	Control	43.86 n-q	17.55 b-g	33.53 a-h
Shelmahalleh	Stress	48.45 m-p	16.07 c-h	44.57 a-h
3-3	Control	53.77 l-o	14.12 e-i	50 a-e
3-3	Stress	74.32 h-k	19.35 a-e	52.6 a-d
6-3	Control	50.72 m-p	14.2 d-i	33.23 a-h
6-3	Stress	75.83 g-k	17.87 b-g	35.43 a-h
8-4	Control	73.1 h-l	14.59 d-i	14.3 i
8-4	Stress	164.6 a	19.66 a-e	46.8 a-f
Off-type	Control	48.31 m-p	17.71 b-g	45.15 a-g
Off-type	Stress	82.65 f-j	19.66 a-e	45.2 a-h
2-5	Control	18.27 rst	16.38 c-g	51.07 a-d
2-5	Stress	163.1 a	14.67 d-i	51.73 a-e
Poncirus	Control	80.46 f-k	18.18 b-f	35.13 a-h
Poncirus	Stress	64.49 i-n	17.32 b-g	57 ab
Rough lemon	Control	105 cde	16.85 c-g	32.5 a-i
Rough lemon	Stress	51.57 mno	17.79 b-g	32.63 a-h

میانگین‌های دارای حرف‌های مشترک در هر ستون، اختلاف معنی‌دار در سطح ۱ درصد نداشتند.

The means with similar letter in each column didn't have significant difference at 1 % level.

پتاسیم و کلسیم

مقایسهٔ میانگین اثر متقابل نژادگان و سطوح آبیاری بر میزان پتاسیم نشان داد، نژادگان ۳-۳ در وضعیت تنش با ۱۹/۳۵ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک برگ بیشترین و نژادگان ۳-۳ در وضعیت شاهد با ۱۴/۱۲ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک برگ کمترین میزان پتاسیم را داشتند. نژادگان‌های ۴-۸ و آف‌تایپ در وضعیت تنش پس از نژادگان ۳-۳ تنش بیشترین و نژادگان‌های ۳-۶ در وضعیت شاهد، ۵-۵ در وضعیت تنش، ۴-۸ در وضعیت شاهد و ۵-۲ در وضعیت تنش کمترین میزان پتاسیم را پس از نژادگان ۳-۳ در وضعیت شاهد نشان دادند. در شرایط تنش، نژادگان‌های آف‌تایپ، ۴-۸ و ۳-۳ بیشترین و نژادگان‌های ۱ و ۹ کمترین میزان پتاسیم را داشتند (جدول ۴).

مقایسهٔ میانگین اثر متقابل نژادگان و سطوح آبیاری بر میزان کلسیم نیز نشان داد، نژادگان معلم‌کوه در وضعیت تنش با ۵۷/۰۳ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک برگ بیشترین و نژادگان ۴-۸ در وضعیت شاهد با ۱۴/۳ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک برگ کمترین میزان کلسیم را داشتند. نژادگان‌های پونسیروس، ۵-۵، ۳-۳ و ۵-۲ در وضعیت تنش و ۵-۲ در وضعیت شاهد پس از نژادگان معلم‌کوه در وضعیت تنش بیشترین و نژادگان‌های راف‌لمون و ۳-۶ در وضعیت شاهد، راف‌لمون در وضعیت تنش، شل‌محله و ۵-۵ در وضعیت شاهد کمترین میزان کلسیم را پس از نژادگان ۴-۸ در وضعیت شاهد نشان دادند. همچنین خشکی باعث شد تا میزان کلسیم در نژادگان ۴-۸ افزایش یابد و در مقایسه با شاهد ۳/۲۷ برابر شود (جدول ۴).

در شرایط تنش، نژادگان‌های معلم‌کوه، پونسیروس، ۵-۵، ۳-۳ و ۵-۲ بیشترین و راف‌لمون کمترین میزان کلسیم را داشتند. بنابراین پونسیروس با ۵۷ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک برگ، متحمل و راف‌لمون با ۳۲/۶۳ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک برگ حساس در برابر خشکی هستند (جدول ۴).

Archive of SID

www.SID.ir

نتایج به‌دست‌آمده از این تحقیق درزمینهٔ عنصرهای کانی با نتایج بررسی‌های دیگر محققان همخوانی داشت. Garcıa-Sanchez *et al*. (2007) با بررسی دو پایهٔ کاریزوسیترنج و کلئوپاتراماندارین تحت تنش خشکی (قطع آبیاری به مدت نه روز) نتیجه گرفتند، خشکی باعث افزایش غلظت کلسیم برگ در هر دو پایه شد ولی بر غلظت پتاسیم تأثیری نداشت. Cimo *et al*. (2013) نیز در سوئینگل سیترومِلو و کلئوپاتراماندارین مشاهده کردند، با اعمال تنش، میزان پتاسیم در هر دو پایه و میزان کلسیم در کلئوپاترا کاهش ولی در سیترومِلو افزایش یافت. Haghighatnia *et al*. (2011) با بررسی دو گونه قارچ قارچریشه‌ای در ولکامریانا نتیجه گرفتند، میزان پتاسیم با افزایش شدت تنش، کاهش معنی‌داری داشت و در تنش شدید به کمترین میزان رسید ولی میزان کلسیم در شاهد و تنش ملایم تغییری نداشت و در تنش شدید افزایش معنی‌داری یافت.

همبستگی صفات

آزمون همبستگی صفات با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام و همبستگی بین صفات مورد بررسی تعیین شد. نتایج به‌دست‌آمده از همبستگی بین دورهٔ بقا با صفات نشان داد، دورهٔ بقا تنها با نشت یونی در سطح احتمال ۱ درصد همبستگی معنی‌داری داشته است. دورهٔ بقا با نشت یونی همبستگی منفی نشان داد و درواقع نژادگان‌هایی که نشت یونی بالاتری داشتند تخریب بیشتری در آن‌ها صورت گرفت و دورهٔ بقا کوتاه‌تری نشان دادند (جدول ۵).

جدول ۵. همبستگی دورهٔ بقا با صفات فیزیولوژی و بیوشیمیایی

Table 5. Correlation between survival time and physiological and biochemical characteristics

	RWC	Ion leakage	Malondialdehyde	Total soluble carbohydrate	Potassium	Calcium
Survival time	0.171	-0.525**	-0.114	-0.058	-0.031	0.135

** Significantly differences at 1% of probability level. ** اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد.

نتیجه‌گیری کلی

بنابر نتایج به‌دست‌آمده از این تحقیق، تحمل یا حساسیت به تنش خشکی در نژادگان‌ها به برخی صفات و دلایل زیر مربوط بوده است. پونسیروس به دلیل نشت یونی پایین‌تر، تجمع کمتر مالون‌دآلدیید و درنتیجهٔ پراکسیداسیون کمتر چربی‌ها و میزان کلسیم بالاتر نسبت به دیگر نژادگان‌ها، در برابر خشکی متحمل بود. راف‌لمون به دلیل تجمع بیشتر مالون‌دآلدیید و در نتیجه پراکسیداسیون بیشتر چربی‌ها، نشت یونی بالاتر و میزان پایین‌تر کلسیم در مقایسه با دیگر نژادگان‌ها، دورهٔ بقای کمتری در برابر خشکی داشت و حساس‌تر بود. نژادگان طبیعی شل‌محله نیز به دلیل نشت یونی بالا و تجمع پایین کربوهیدرات محلول کل پس از راف‌لمون در رتبهٔ بعدی حساسیت قرار داشت. بنابراین با توجه به مقایسهٔ میانگین‌ها و همبستگی خوب صفت نشت یونی با دورهٔ بقا، می‌توان آن را به‌عنوان نشانگر فیزیولوژی مناسب در مبحث تحمل به خشکی معرفی کرد.

سپاسگزاری

این مقاله از پروژهٔ تحقیقاتی پایان‌یافته با شمارهٔ مصوب ۹۲۱۱۶-۱۷-۱۷-۲ پژوهشکدهٔ مرکبات و میوه‌های نیمه گرمسیری است که از حمایت مالی آن مجموعه، تشکر و قدردانی می‌گردد.

REFERENCES

1. Alizadeh, A., Alizadeh, V., Nassery, L. & Eivazi, A. (2011). Effect of drought stress on apple dwarf rootstocks. *Technical Journal of Engineering and Applied Science*, 3, 86-94.
2. Allario, Th., Brumos, J., Colmenero-Flores, J. M., Pina, J. A., Navarro, L., Talon, M., Ollitrault, P. & Morillon, R. (2012). Tetraploid rangpur lime rootstock increases drought tolerance via enhanced constitutive root abscisic acid productionpce. *Plant, Cell and Environment*, 36(4), 856-868.
3. Arji, E., Arzani, K. & Ebrahimzadeh, H. (2003). Accumulation of proline and total soluble sugars in five cultivars *olea europaea* L. exposed to drought stress. *Iran Biology Journal*, 16 (4), 47-59. (in Farsi)
4. Beniken, L., Omari, F. E., Dahan, R., Van Damme, P., Benkirane R. & Benyahia, H. (2013). Screening of ten citrus rootstocks to drought stress. In *1st International Plant Breeding congress*, 19.

Archive of SID

www.SID.ir

5. Bollat, I., Dikilitas, M., Ercisli, S., Ikinci, A. & Tonkaz, T. (2014). The effect of water stress on some morphological, physiological and biochemical characteristics and bud success on apple and quince rootstocks. *Scientific World Journal*, Article ID 769732, 1-8.
6. Cimo, G., Lo Bianco, R., Gonzalez, P., Bandaranayake, W., Etxeberria, E. & Syvertsen, J. P. (2013). Carbohydrate and Nutritional Responses to Stem Girdling and Drought Stress with Respect to Understanding Symptoms of huanglongbing in Citrus. *Hortscience*, 48(7), 920-928.
7. De Campos, M. K. F., de Carvalho, K., de Souza, F. S., Marur, C. J., Pereira, L. F. P., Filho, J. C. B. & Vieira, L. G. E. (2011). Drought tolerance and antioxidant enzymatic activity in transgenic 'Swingle' citrumelo plants over-accumulating proline. *Environmental and Experimental Botany*, 72, 242-250.
8. Garcıa-Sancheza, F., Syvertsena, J. P., Gimenoc, V., Botlab, P. & Perez-Perezb, J. G. (2007). Responses to flooding and drought stress by two citrus rootstock seedlings with different water-use efficiency. *Physiologia Plantarum*, 130, 532-542.
9. Ghaderi, N., Talaei, E., Ebadi, E. & Lesani, H. (2010). Effect of drought stress and renewable irrigation on some of the physiological charachteristics in three Vitis cultivar included sahani, farokhi and white seedless. *Iran Horticultural Science Journal*, 41(2), 179-188. (in Farsi)
10. Haghighatnia, H., Nadian, H. A. & Rejali, F. (2011). Effects of mycorrhizal colonization of growth, nutrients uptake and some other characteristics of *Citrus Volkameriana* rootstock under drought stress. *World Applied Science Journal*, 13(5), 1077-1084.
11. Heath, R. L. & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives. *Biochemistry and Biophysics*, 125, 189-198.
12. Javadi, T., Arzani, K. & Ebrahimzadeh, H. (2003). Investigation of soluble sugars and proline content in 9 genotypes *pyrus serotna* under drought stress. *Iran Biology Journal*, 17(4), 369-387. (in Farsi)
13. Jimenez, S., Dridi, J., Gutierrez, D., Moret, D., Jrigoyen, J. J., Moreno, M. A. & Gogorcena, Y. (2013). Physiological, biochemical and molecular responses in four prunus rootstocks submitted to drought stress. *Tree Physiology*, 33(10), 1061-1075.
14. Jones, H. G. (1993). Drought Tolerance and Water-Use Efficiency. In: J. A.C. Smith & H. Griffiths (Eds.), *Water Deficits Plant Responses from Cell to Community* (pp. 193-203). Bios Science Ltd. Oxford.
15. Metheney, P. D., Ferguson, L., Goldhamer, D. A. & Dunai, J. (1994). Effects of irrigation on Manzanillo olive flowering and shoot growth. *Acta Horticulturae*, 356, 168-171.
16. Mahajan, S. & Tuteja, N. (2005). Cold, salinity and drought stresses: An overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 444, 139-158.
17. Morgan, J. M. (1984). Osmoregulation and water stress in higher plants. *Annual Review Plant Physiology*, 35, 299-319.
18. Nasr-e-esfahani, A. & Golchin, N. (2008). *Estimating of water use efficiency of farm crops in Esfahan, Gorgan and Gonbad regions*. Planning Economic & rural Development Research Institute, pp. 25-34. (in Farsi)
19. Rabiei, V., Talaei, A. R., Peterlonger, E., Ebadi, A. & Ahmadi, A. (2004). Effect of deficit irrigation on vitis fruit compounds in cultivar merlot at late season. *Journal of Iran Agricultural Sciences*, 34(4), 961-968. (in Farsi)
20. Rodríguez-Gamir, J., Primo-Millo, E., Forner, J. B. & Forner-Giner, M. A. (2010). Citrus rootstock responses to water stress. *Scientia Horticulturae*, 126, 95-102.
21. Rosban, M. R. (2009). *Investigation of physiological mechanisms of drought tolerant in seedling rootstock of Pistacia*. Doctora of science thesis, pp. 158-264. (in Farsi)
22. Save, R., Biel, C., Domingo, R., Ruiz-Sanchez, M. C. & Torrecillas A. (1995). Some physiological and morphological characteristics of *Citrus* plants for drought resistance. *Plant Science*, 110, 167-172.
23. Somogyi, M. (1952). Note on sugar determination. *Journal of Biological and Biochemistry*, 195, 19-23.
24. Wang, S., Liang, D., Li, C., Hao, Y., Ma, F. & Shu, H. (2011). Influence of drought stress on the cellular ultrastructure and antioxidant system in leaves of drought tolerant and drought sensitive apple rootstocks. *Plant Physiology and Biochemistry*, 51, 81-89.
25. Whitlow, T. H., Bassuk, N. L., Ranney, T. G. & Reichert, L. D. (1992). An improved method for using electrolyte leakage to assess membrane competence in plant tissues. *Plant Physiology*, 98, 198-205.
26. Wu, Q. Sh., Zou, Y. N., Xia, R. X. & Wang, M. Y. (2007). Five *Glomus* species affect water relations of *Citrus tangerine* during drought stress. *Botanical Studies*, 48, 147-154.
27. Xie, S. X., Lu, X. P., Ni, Q. & Zhao, X. L. (2012). The effect of water stress on ABA, Jaand physiological characteristic of Citrus. In: *XII International Citrus Congress*, 125.
28. Yazdani, N., Arzani, K. & Arji, E. (2007). Modulation of drought stress with Paclobutrazol application in two Olea cultivars (Blaidi and Meision). *Iran Agricultural Science Journal*, 38. (in Farsi)

Archive of SID

www.SID.ir