



مقایسه برخی صفات فیزیولوژیک بنه *Pistacia atlantica* و کلخونگ *P. khinjuk* تحت تأثیر سخت‌واره‌شدن و سرما

سمیه همایونفر^۱، رقیه ذوالفقاری^{۲*} و پیام فیاض^۲

^۱ کارشناسی ارشد جنگلداری، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه یاسوج، یاسوج
^۲ دانشیار گروه جنگلداری، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه یاسوج، یاسوج

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۰/۱۶؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۲/۲۴)

چکیده

در این تحقیق به منظور درک بهتر سازوکارهای فیزیولوژیک تحمل به سرما در طی فرایند سخت‌واره شدن در دو گونه بنه و کلخونگ دو مجموعه آزمایش اجرا شد. در آزمایش اول، برای سخت‌واره شدن، نهال‌ها در دو مرحله و هر مرحله به مدت دو هفته با دمای روز، شب و دوره نوری متفاوت قرار گرفتند و سپس مشخصه‌های کلروفیل و فلورسانس کلروفیل اندازه‌گیری شد. در آزمایش دوم، اندام ساقه و برگ نهال‌ها تحت سه تیمار دمایی (+۴ (کنترل)، -۲۰- درجه سانتی‌گراد به مدت یک و دو ساعت) قرار گرفتند و نرخ نشت الکترولیت و محتوای نسبی آب در آنها اندازه‌گیری شد. نتایج آزمایش اول مشخص کرد که در طی سخت‌واره شدن به سرما مقدار کاهندگی فتوشیمیایی (۴۶ درصد) و سرعت انتقال الکترون (۴۴ درصد) کاهش یافت، اما در نهال‌های بنه ۳۰ درصد بیشتر از کلخونگ بود. در آزمایش دوم آشکار شد که محتوای نسبی آب و نرخ نشت الکترولیت برگ (۸ درصد و ۱۱ درصد) در طی سازگاری به سرما افزایش یافت. همچنین نرخ نشت الکترولیت ساقه با کاهش دما تنها در گونه کلخونگ افزایش یافت (۴۴ درصد). در واقع گونه بنه با کاهش محتوای نسبی آب در طی سخت‌واره شدن توانست عملکرد فتوسیستم II را حفظ کند و مقاومت بیشتری به سرما نشان دهد. نتایج این تحقیق نشان داد که با اندازه‌گیری مشخصه‌های فلورسانس کلروفیل می‌توان گونه‌ها یا ژنوتیپ‌های مقاوم به سرما را شناسایی کرد.

واژه‌های کلیدی: سخت‌واره شدن، زاگرس، فلورسانس کلروفیل، نرخ نشت الکترولیت.

مقدمه

جنگلی به دلیل طول عمر طولانی می‌تواند نوسان‌های دمایی را که در اثر تغییر اقلیم رخ می‌دهد تحمل کنند (Theocharis et al., 2012). در واقع گیاهان برای زنده ماندن در دماهای زیر صفر یا یخبندان در پاییز، زمستان و بهار به سازوکارهای ویژه‌ای نیاز

پس از تنش خشکی، دمای کم، از عوامل زیست‌محیطی محدود کننده پراکنش، رشد، بهره‌وری و بقای گیاهان چوبی در سراسر جهان است. کاهش دما به عنوان تنش غیرزیستی، دستخوش نوسان‌های پیش‌بینی‌ناپذیر و زودگذر روزانه است. درختان

دارند. مقاومت به سرما از دو راه وراثت^۱ و سخت‌واره شدن به سرما^۲ صورت می‌گیرد. در طبیعت گیاهان می‌توانند با توجه به قرار گرفتن تدریجی در معرض درجه حرارت کم و غیرانجماد، به سرما مقاومت نشان دهند که این فرایند، سخت‌واره شدن به سرما نام دارد (Tuteja & Singh, 2012). این فرایند در گیاهان چوبی مناطق معتدله تحت تأثیر طول روز و نوسانات فصلی است. در طی این فرایند، تغییرات ساختاری، بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی، توسعه‌ای و مولکولی برای جلوگیری از اثرهای زیان‌بار یا زنده ماندن در تنش دمایی کم در گیاه اتفاق می‌افتد (Theocharis et al., 2012).

راه‌های بسیاری برای آزمایش مقاومت به سرما در نهال‌ها از جمله صدمات مشهود، اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل، آزمایش یخ‌زدگی روی گیاه^۳ و اثر یخ‌زدگی بر نشأت الکترولیت‌ها^۴ وجود دارد که دو آزمایش فلورسانس کلروفیل و نرخ نشأت الکترولیت در سطح وسیع برای درختان جنگلی استفاده می‌شود (Haase, 2011). (Li et al., 2002) در بررسی تحمل به سرمای سه اکوتیپ گونه توس (*Betula pendula*) نشان دادند که سخت‌واره شدن در برگ‌ها با کاهش محتوای آب همراه بوده و تحمل به انجماد در ساقه بیشتر بوده است. همچنین در تحقیق Omayma (2014) تفاوت معنی‌داری از نظر محتوای نسبی آب در تمام واریته‌های گونه مانگو (*Mangifera indica*) مشاهده شد، به طوری که افزایش مقاومت به سرما با کاهش محتوای آب بافت گیاه در واریته مقاوم به انجماد همراه بود و نشأت الکترولیت نیز با افزایش زمان تنش افزایش یافت. در تحقیق روی نهال‌های ۲۱ واریته زیتون (*Olea europaea* L.) نیز گزارش شده که با اعمال سرما از دمایی صفر تا ۲۴- درجه سانتی‌گراد و

قرارگیری آنها به مدت چهار ساعت در دمایی مورد نظر، تخریب غشا و به عبارتی نشأت یونی هم در نهال‌های سخت‌واره شده و هم غیرسخت‌واره افزایش یافت که مقدار این مشخصه‌ها در نهال‌های سخت‌واره شده کمتر بود و به طور کلی، واریته دارای نرخ نشأت کمتر به عنوان گونه مقاوم به سرما معرفی شد (Azzarello et al., 2009). (Jiang et al., 2011) در تحقیق روی نهال‌های یکساله سه کلن از هیبرید *Populus ussuriensis* × *P. deltoides* دمایی در ۹ سطح (۰، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۱۵-، ۱۰- و ۵- درجه سانتی‌گراد و شاهد ۲۵ درجه) را به مدت ۲۴ ساعت اعمال کرده و مشاهده کردند که در هر سه کلن، نشأت الکترولیت افزایش یافت و این افزایش در درجه حرارت‌های منفی بیشتر بود و کلن UD183 به دلیل سطح بالاتر قند محلول و نشأت الکترولیت کمتر، کلن مقاوم تر معرفی شد. تحقیق دیگری روی گونه‌ی *Pinus strobus* L. به این صورت انجام پذیرفت که نمونه‌برداری از شاخه درختان در طی ماه‌های مختلف سال از آگوست تا ژانویه انجام گرفت و سپس شاخه‌ها به تدریج در دمایی انجماد ۲۰- درجه قرار گرفتند و مشخصه‌های مختلف فیزیولوژیکی پس از قرارگیری در دمایی اتناق اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که مقدار فتوسیستم II و محتوای کلروفیل آنها پس از قرار گرفتن در معرض دمایی کم کاهش یافت (Chang et al., 2015).

جنس پسته (*Pistacia* L.) از خانواده Anacardiaceae دارای ۱۱ گونه در جهان است که سه گونه آن شامل پسته خوراکی (*Pistacia vera*)، بنه (*P. atlantica*) و کلخونگ (*P. khinjuk*) در ایران استقرار دارند. بنه به عنوان مهم‌ترین و باارزش‌ترین گونه درختی جنگل‌های ایران و تورانی، در ارتفاع ۶۰۰ تا ۳۰۰۰ متر از سطح دریا پراکنش دارد. این گونه سازگار با آب‌وهوای خشک کوهستانی است و بیشتر در مناطق سردسیری کشور دیده می‌شود. گونه کلخونگ هم در شمال زاگرس پراکنده‌گی بسیار کمی دارد یا در دره‌های

دارند. مقاومت به سرما از دو راه وراثت^۱ و سخت‌واره شدن به سرما^۲ صورت می‌گیرد. در طبیعت گیاهان می‌توانند با توجه به قرار گرفتن تدریجی در معرض درجه حرارت کم و غیرانجماد، به سرما مقاومت نشان دهند که این فرایند، سخت‌واره شدن به سرما نام دارد (Tuteja & Singh, 2012). این فرایند در گیاهان چوبی مناطق معتدله تحت تأثیر طول روز و نوسانات فصلی است. در طی این فرایند، تغییرات ساختاری، بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی، توسعه‌ای و مولکولی برای جلوگیری از اثرهای زیان‌بار یا زنده ماندن در تنش دمایی کم در گیاه اتفاق می‌افتد (Theocharis et al., 2012).

راه‌های بسیاری برای آزمایش مقاومت به سرما در نهال‌ها از جمله صدمات مشهود، اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل، آزمایش یخ‌زدگی روی گیاه^۳ و اثر یخ‌زدگی بر نشأت الکترولیت‌ها^۴ وجود دارد که دو آزمایش فلورسانس کلروفیل و نرخ نشأت الکترولیت در سطح وسیع برای درختان جنگلی استفاده می‌شود (Haase, 2011). (Li et al., 2002) در بررسی تحمل به سرمای سه اکوتیپ گونه توس (*Betula pendula*) نشان دادند که سخت‌واره شدن در برگ‌ها با کاهش محتوای آب همراه بوده و تحمل به انجماد در ساقه بیشتر بوده است. همچنین در تحقیق Omayma (2014) تفاوت معنی‌داری از نظر محتوای نسبی آب در تمام واریته‌های گونه مانگو (*Mangifera indica*) مشاهده شد، به طوری که افزایش مقاومت به سرما با کاهش محتوای آب بافت گیاه در واریته مقاوم به انجماد همراه بود و نشأت الکترولیت نیز با افزایش زمان تنش افزایش یافت. در تحقیق روی نهال‌های ۲۱ واریته زیتون (*Olea europaea* L.) نیز گزارش شده که با اعمال سرما از دمایی صفر تا ۲۴- درجه سانتی‌گراد و

¹ Inherent

² Cold Acclimation

³ WPFT

⁴ Freeze Induced Electrolyte Leakage Test

(Chebouti-Meziou et al., 2014)، سپس در آذرماه، بذور در گلدان پلاستیکی کاشته شدند. خاک استفاده شده در گلدان‌ها حاوی ۳/۲ درصد سیلت ریز، ۲۱/۲ درصد سیلت درشت، ۵۰/۶ درصد ماسه و ۲۵/۲ درصد رس بود و در هر گلدان دو تا سه بذر کاشته شد. گلدان‌ها چهار ماه در فضای باز قرار گرفتند و به محض سبز شدن (در فروردین سال بعد) برای بر خورداری از شرایط ثابت و بدون نوسان محیطی تا زمان آزمایش به گلخانه منتقل شدند.

- آزمایش اول

در مجموع ۱۲۰ نهال یکساله (با میانگین ارتفاع ۱۳ سانتی‌متر و قطر ۳ میلی‌متر) از تیرماه دو مرحله سخت‌واری را با الگوبرداری از تغییرات دمایی و دوره نوری منطقه گذراندند. الگوی کاهش دما و طول روز در اتافک رشد براساس ماه‌های شهریور تا آبان در یاسوج بود تا به سخت‌واره شدن و در نتیجه مقاومت گیاهان به سرمای زودرس پاییزه و زمستان بینجامد (Cavender-Bares et al., 2000; Hodge et al., 2012). دمای شب و روز و فتوپریود مرحله‌های اول و دوم در جدول ۱ آورده شده است.

نهال‌ها پس از گذراندن مرحله سخت‌واره شدن اول، به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و بلافاصله مشخصه‌های کلروفیل و فلورسانس کلروفیل برای پایش تغییرات اعمال سخت‌واره شدن روی آنها اندازه‌گیری شد.

مشخصه کلروفیل توسط کلروفیل‌متر دستی (SPAD-502) از طریق قرارگیری قسمت میانی برگ در بین گیره دستگاه اندازه‌گیری شد. به منظور کاهش خطا، میانگین پنج تکرار به‌عنوان عدد نهایی هر تکرار استفاده شد.

کم‌ارتفاع با هوای گرم‌تر دیده می‌شود، اما در زاگرس میانی و جنوبی فراوانی بیشتری دارد. این گونه در حد فاصل مناطق سردسیر و نیمه‌گرمسیر کشور دیده می‌شود و گونه‌ای حساس به سرما به‌شمار می‌رود (Tahmasby & Fattahizadeh, 2001).

با توجه به ارزش‌های زیاد اقتصادی و زیستی دو گونه بانه و کلخونگ و افزایش خطر سرمای زودرس در منطقه با نظر به تغییرات اقلیمی، واکنش‌های فیزیولوژیکی این دو گونه به افت دمای محیط با هدف شناسایی سازوکارهای مقاومت در کنار نقش سخت‌واره شدن در توان تحمل به سرما و یخبندان در هر یک از این گونه‌ها بررسی شد. شناسایی صفات مؤثر در انتخاب ژنوتیپ‌های برتر مقاوم به سرما به‌منظور احیای این گونه‌ها در مناطق متأثر از سرمای زودرس یا زمستان از نتایج کاربردی بحث‌شده در این تحقیق است.

مواد و روش‌ها

منطقه پژوهش

برای اجرای این تحقیق، در پاییز ۱۳۹۱ بذور دو گونه از جنس پسته (بانه *Pistacia atlantica* و کلخونگ *P. Khinjuk*) از منطقه نورآباد در استان فارس جمع‌آوری شد و ادامه مراحل به صورت گلخانه‌ای در شهرستان یاسوج انجام شد.

روش پژوهش

قبل از کاشت بذور، تیمار استراتیغیکاسیون برای جوانه‌زنی روی آنها اعمال شد. بدین‌صورت که ابتدا به مدت ۱۰ دقیقه در آب جوش قرار گرفتند، سپس غشای بذور توسط دستکش زبر از روی آنها پاک شد. پس از آن به مدت چهار هفته در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و در داخل ماسه مرطوب قرار داده شدند

جدول ۱- شرایط اعمال شده در آزمایش سخت‌واره شدن به سرما

مرحله	دمای روز و شب (°C)	ساعت آفتابی	رطوبت (درصد)	مدت زمان
سخت‌واره شدن اول	۱۷ و ۲۵	۱۳	۷۰	۲ هفته
سخت‌واره شدن دوم	۹ و ۱۸	۱۲	۷۰	۲ هفته

اندازه‌گیری شد (Cavender-Bares et al., 2000). مدت زمان کاهش دما تا دمای یخ‌زدگی و افزایش دما تا دمای محیط که با دماسنج در طی زمان‌های مختلف (هر ۲۰ دقیقه) اندازه‌گیری شد در شکل ۱ نشان داده شده است. براساس این شکل می‌توان دریافت که نمونه‌ها در طی دو ساعت قرارگیری در فریزر به دمای ۲۰- درجه و همچنین دو ساعت پس از خارج کردن از فریزر به تدریج به دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد یا دمای محیط رسیدند.

مقدار نشت الکترولیت (EL) با استفاده از دستگاه هدایت‌سنج (EC متر مدل Inolab, آلمان) براساس رابطه ۷ و محتوای نسبی آب (RWC) اندام‌های ساقه و برگ بر اساس رابطه ۸ محاسبه شد.

برای تعیین مقدار نشت الکترولیت، یک برگ از هر نهال به‌طور تصادفی انتخاب شد. سپس برگ نهال به مدت ۲۴ ساعت در ظروف فالتون در بسته غوطه‌ور شد. پس از ۲۴ ساعت هدایت الکترولیت‌ها به‌عنوان هدایت الکترولیکی ۲۴ ثبت شد (EC₂₄) و سپس نمونه‌ها در حمام آب گرم با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت جوشانده شدند پس از رسیدن دمای نمونه‌ها به دمای اتاق، هدایت الکترولیت‌ها از نو اندازه‌گیری شد و بیشینه هدایت الکترولیکی از این طریق ثبت شد (EC_{Max}), سپس نسبت هدایت الکترولیکی ۲۴ به بیشینه برحسب درصد به‌عنوان شاخص آسیب‌غشایی محاسبه شد (Fayyaz et al., 2013).

$$EL = (EC_{24}/EC_{Max}) \times 100 \quad \text{رابطه ۷}$$

هدایت الکترولیکی بعد از ۲۴ ساعت (EC₂₄), بیشینه هدایت الکترولیکی (EC_{Max})

برای اندازه‌گیری محتوای نسبی آب اندام‌های ساقه و برگ، حدود ۰/۲ گرم از هر اندام انتخاب شد به‌طوری‌که نمونه برگ از میان برگ‌های جدید کاملاً توسعه یافت و نمونه ساقه از قسمت تحتانی ساقه انتخاب شد.

همچنین متغیرهای فلورسانس کلروفیل (با دستگاه فلورومتر Optic-Sciences ساخت ایالات متحده آمریکا) از جمله Fv/Fm', Fv/Fm, ETR, Pq و NPQ براساس رابطه‌های ۱ تا ۶ محاسبه شد (Minagawa, 2008).

رابطه ۱- مقدار فلورسانس متغیر (Variable fluorescence)

$$Fv = Fm - Fo$$

F و Fm به ترتیب بیشینه و کمینه فلورسانس کلروفیل در برگ سازگار شده به تاریکی به مدت ۵ ساعت

رابطه ۲- بیشینه عملکرد فتوسیستم دو^۱

$$Fv/Fm = (Fm - Fo) / Fm$$

رابطه ۳- عملکرد بهینه فتوسیستم دو^۲

$$Fv'/Fm' = (Fm' - Fo') / Fm'$$

رابطه ۴- سرعت انتقال الکترون^۳

$$ETR = \Phi_{PSII} \times PPFD \times (0.5)$$

رابطه ۵- کاهندگی فتوشیمیایی^۴

$$Pq = (Fm' - Fs) / (Fm' - Fo)$$

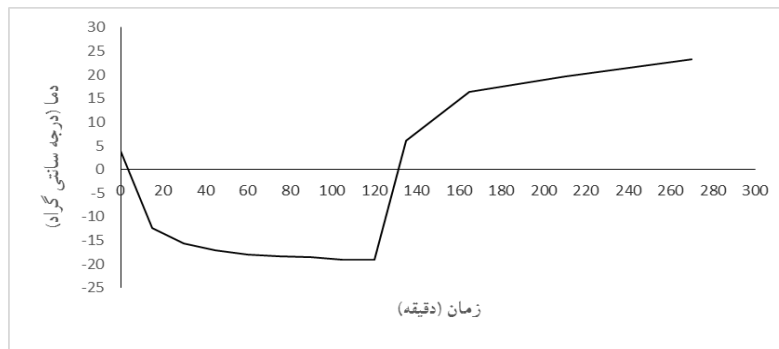
رابطه ۶- کاهندگی غیرفتوشیمیایی^۵

$$NPQ = Fm - Fm' / Fm$$

- آزمایش دوم

پس از هر مرحله سخت‌واره شدن، ساقه و برگ نهال‌ها از آنها جدا شد و داخل فویل آلومینیومی قرار گرفت و تیمارهای دماهایی شامل ۴+ (شاهد) و ۲۰- درجه سانتی‌گراد به مدت یک و دو ساعت بر آنها اعمال شد و مقدار نشت الکترولیت‌ها^۶ و محتوای نسبی آب^۷ ساقه و برگ بعد از دو ساعت قرارگیری در دمای اتاق

1. Maximum quantum efficiency of PSII
2. Optimum quantum yield of photosystem II
3. Electron transport rate
4. Photochemical quenching
5. Non-photochemical quenching
6. Electrolyte Leakage (EL)
۷. Relative Water Content (RWC)



شکل ۱- چرخه یخ زدگی تا ۲۰- درجه، مدت زمان نگهداری در فریزر به مدت ۲ ساعت و آب شدن تا رسیدن به دمای محیط

بنابراین تیمار دمایی بر آنها اعمال نشد و شامل دو سطح عامل گونه و سخت‌واره شدن بود، اما مشخصه‌های نرخ نشت الکترولیت و محتوای نسبی آب نهال‌ها پس از گذراندن هر مرحله سخت‌واره شدن، در تیمارهای دمایی مختلف قرار گرفتند و اندازه‌گیری شدند. همچنین از آزمون دانکن برای مقایسه‌های چندگانه استفاده شد. تجزیه‌های آماری داده‌ها نیز با استفاده از نرم‌افزار SPSS19 انجام گرفت.

نتایج

- نتایج آزمایش اول

کلروفیل و فلورسانس کلروفیل: نتایج تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها حاکی از نبود تفاوت معنی‌دار در دو گونه بنه و کلخونگ از نظر شاخص کلروفیل برگ بود، اما سخت‌واره شدن یا پیش تیمار سرما (دو هفته، روز ۱۷ درجه، شب ۹، ۱۲ ساعت فتوپریود) موجب کاهش معنی‌دار شاخص کلروفیل در هر دو گونه (۱۲ درصد) شد (جدول‌های ۲ و ۳).

همچنین نتایج تجزیه واریانس نشان داد که گونه‌های مورد بررسی از نظر کاهندگی فتوشیمیایی (Pq) و سرعت انتقال الکترون (ETR) تفاوت معنی‌داری داشتند (جدول ۲) و مقدار هر دو در گونه کلخونگ کمتر از بنه بود (به مقدار ۲۸ درصد در Pq و ۳۰ درصد در ETR) (جدول ۳).

وزن برگ و ساقه هر نهال، جداگانه اندازه‌گیری شد و به‌عنوان وزن تر (FW) در نظر گرفته شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در آب مقطر غوطه‌ور شدند تا به حالت اشباع برسند و پس از خشک کردن آب موجود بر روی آنها، دوباره وزن شدند تا وزن اشباع (TW) به دست آمد. در نهایت نمونه‌های اشباع‌شده به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد برای محاسبه وزن خشک (DW) قرار گرفتند (Salvador, 2004).

$$\text{رابطه ۸} \quad \text{RWC (\%)} = [(FW-DW) / (TW-DW)] \times 100$$

- تجزیه و تحلیل آماری

در این تحقیق مشخصه‌های نرخ نشت الکترولیت و محتوای نسبی آب به‌صورت آزمایش فاکتوریل سه‌عامله شامل دو سطح گونه (بنه، کلخونگ)، دو سطح سخت‌واره شدن و سه سطح تیمار دمایی (کنترل یا ۴ درجه، ۲۰- درجه به مدت یک ساعت و ۲۰- درجه به مدت دو ساعت) و برای مشخصه‌های کلروفیل و فلورسانس کلروفیل به‌صورت فاکتوریل دوعامله شامل دو سطح گونه و دو سطح سخت‌واره شدن در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت، به‌نحوی که هر سطح تیمار دست‌کم ۲۰ نهال بررسی شد. از آنجا که مشخصه‌های کلروفیل و فلورسانس کلروفیل روی نهال‌های داخل گلدان اندازه‌گیری شد،

جدول ۲- میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس اثر سرما بر مشخصه‌های فلورسانس کلروفیل

NPQ	ETR	Pq	Fv'/ Fm'	Fv/Fm	عدد کلروفیل (CCI)	درجه آزادی	منابع تغییر
۰/۰۶ ^{ns}	۵۸۱۶۴/۸۵**	۰/۳۶**	۰/۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۰ ^{ns}	۴/۴۹ ^{ns}	۱	گونه (S)
۰/۰۲ ^{ns}	۲۴۱۷۴۰/۹۵**	۱/۷۷**	۰/۰۰۸ ^{ns}	۰/۰۱**	۶۶۹/۵۵*	۱	سخت‌واره شدن (H)
۰/۹۳**	۱۵۹۸۴/۴۹ ^{ns}	۰/۰۵ ^{ns}	۰/۰۳*	۰/۰۰۱ ^{ns}	۳/۹۵ ^{ns}	۱	S×H
۸/۹۹	۹/۷۵	۷/۴۳	۷/۲۲	۳ /۷۸	۸/۵۸	-	ضریب تغییرات (CV)

** در سطح ۰/۰۱ معنی‌دار، * در سطح ۰/۰۵ معنی‌دار، ns معنی‌دار نیست.

بیشینه عملکرد فتوسیستم II (Fv/Fm)، عملکرد فتوسیستم II در روشنایی (Fv'/Fm')، کاهندگی فتوشیمیایی (Pq)، سرعت انتقال الکترون (ETR)، کاهندگی غیرفتوشیمیایی (NPQ).

جدول ۳- نتایج آزمون مقایسه میانگین گونه‌ها و سخت‌واره‌شدن بر مشخصه‌های فلورسانس کلروفیل

NPQ	ETR	Pq	Fv'/ Fm'	Fv/Fm	عدد کلروفیل (CCI)	سطح	عامل
۰/۵۰±۰/۰۳a	۲۰۷/۹۸±۱۰/۲۴a	۰/۶۰±۰/۰۲a	۰/۶۷±۰/۰۰۹a	۰/۸۲±۰/۰۰۲a	۳۹/۷۱±۱/۲۱a	بنه	گونه
۰/۵۲±۰/۰۵a	۱۴۴/۴۷±۱۴/۲۸b	۰/۴۳±۰/۰۲b	۰/۶۷±۰/۰۰۹a	۰/۸۱±۰/۰۰۳a	۳۹/۱۱±۱/۵۶a	کلخونگ	
۰/۵۱±۰/۰۳a	۲۲۱/۸۶±۸/۷۶a	۰/۶۴±۰/۰۲a	۰/۶۸±۰/۰۰۹a	۰/۸۲±۰/۰۰۱a	۴۱/۳۰±۱/۱۸a	سخت‌واره شدن اول	
۰/۵۱±۰/۰۵a	۱۱۸/۷۸±۱۲/۸۱b	۰/۳۶±۰/۰۳b	۰/۶۷±۰/۰۰۷a	۰/۸۰±۰/۰۰۴b	۳۶/۳۳±۱/۵۳b	سخت‌واره شدن دوم	

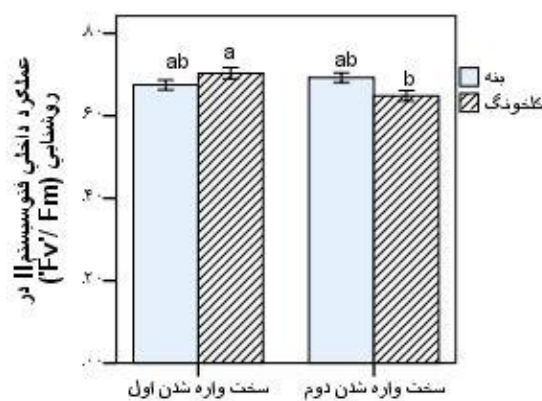
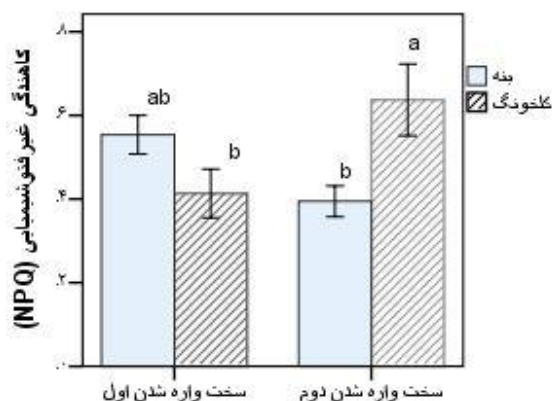
مقادیر، میانگین ۲۰ تکرار ± SE است. حروف غیر مشترک بیان‌کننده تفاوت معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ است.

بیشینه عملکرد فتوسیستم II (Fv/Fm)، عملکرد فتوسیستم II در روشنایی (Fv'/Fm')، کاهندگی فتوشیمیایی (Pq)، سرعت انتقال الکترون (ETR)، کاهندگی غیرفتوشیمیایی (NPQ).

شکل ۳، مقدار NPQ تنها در گونه کلخونگ با اعمال تیمار سخت‌واره شدن (دوم) افزایش معنی‌دار (۵۴ درصد) نشان داد.

مقایسه میانگین‌ها نیز نشان داد که مقدار RWC برگ در بنه ۶ درصد کمتر از کلخونگ است (جدول ۵). در طی سازگاری به سرما نیز مقدار RWC و EL برگ افزایش معنی‌دار (۸ درصد و ۲۱ درصد) داشتند، در حالی که افزایش یخ‌زدگی و کاهش دما موجب افزایش RWC اندام‌ها به ترتیب ۱۰ درصد و ۱۶ درصد در برگ و ۱۲ درصد و ۱۷ درصد در ساقه نسبت به شاهد شد، به طوری که RWC برگ ۴ درجه (شاهد)، اختلاف معنی‌داری با دو تیمار دیگر (۲۰- درجه به مدت یک ساعت و دو ساعت) نشان داد (جدول ۶).

همچنین با اعمال پیش‌تیمار سرما یا سخت‌واره شدن شاخص‌های فتوشیمیایی مراکز فتوسیستم دو شامل کاهندگی فتوشیمیایی (Pq) و سرعت انتقال الکترون (ETR) کاهش یافت (به ترتیب ۴۴ درصد و ۴۶ درصد) (جدول‌های ۲ و ۳). برهم‌کنش گونه در سخت‌واره شدن نیز برای عملکرد فتوسیستم II در روشنایی (Fv'/Fm') و کاهندگی غیرفتوشیمیایی (NPQ) اختلاف معنی‌دار بود (جدول ۲). همان‌طور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود، در گونه کلخونگ قرار دادن نهال‌ها در شرایط روز کوتاه و سرد (سخت‌واره شدن دوم) موجب کاهش عملکرد مؤثر فتوسیستم II در روشنایی (Fv'/Fm') (به مقدار ۸ درصد) شد، اما بنه تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. همچنین با توجه به



شکل ۳- برهم کنش گونه × سخت‌واره‌شدن NPQ

شکل ۲- برهم کنش گونه × سخت‌واره‌شدن Fv/Fm

مقادیر، میانگین ۲۰ تکرار ± SE است. حروف غیرمشترک بیان‌کننده تفاوت معنی دار در سطح $P < 0.05$ است.

جدول ۴- میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس اثر سرما بر مشخصه‌های فیزیولوژیک

منابع تغییر	درجه آزادی	محتوای نسبی آب برگ	محتوای نسبی آب ساقه	نرخ نشت الکترولیت ساقه	نرخ نشت الکترولیت برگ
گونه	۱	۶۳۶/۴۷**	۱۹۳/۸۷ ^{n.s}	۳۵۲/۰۶**	۱۰۵۴/۳۶**
تیمار دمایی	۲	۱۷۳۲/۱۸**	۱۲۵۴/۴۶**	۲۶۸۴/۲۵**	۴۵۹۴/۰۱**
سخت‌واره‌شدن	۱	۱۳۳۸/۰۲**	۲۱۳۵/۰۱**	۴۲۱۷/۰۳**	۶۹۳۷/۹۷**
گونه×تیمار دمایی	۲	۲۷/۰۴ ^{n.s}	۲۴/۳۸ ^{n.s}	۳۲۶/۴۸*	۳۳۲/۰۴*
گونه×سخت‌واره‌شدن	۱	۶۷/۶۹ ^{n.s}	۳۸۴/۰۶*	۴۹۸/۵۹*	۳۲/۱۷ ^{n.s}
تیمار دمایی×سخت‌واره‌شدن	۲	۱۵۱/۸۷ ^{n.s}	۱۸/۷۸ ^{n.s}	۲۳۱/۵۶ ^{n.s}	۱۳۲/۹۵ ^{n.s}
گونه×تیمار دمایی×سخت‌واره‌شدن	۲	۱۵۹/۱۵ ^{n.s}	۲/۱۰ ^{n.s}	۳۲۲/۴۹ ^{n.s}	۱۳۷/۹۰ ^{n.s}
ضریب تغییرات (CV)	-	۹/۳۸	۷/۸۷	۷/۰۹	۶/۵۸

** در سطح ۰/۰۱ معنی دار، * در سطح ۰/۰۵ معنی دار، n.s معنی دار نیست.

دو گونه از تیمار ۴ درجه به تیمار ۲۰- درجه یک ساعت افزایش معنی‌داری را نشان داد (۴۲ درصد در بنه و ۲۴ درصد در کلخونگ)، اما در تیمار ۴ درجه گونه بنه نرخ نشت کمتری نسبت به کلخونگ داشت. همچنین EL ساقه در کلخونگ از تیمار ۴ درجه به ۲۰- درجه یک ساعت افزایش معنی‌داری داشت (۴۴ درصد)؛ اما در بنه معنی‌دار نبود و افزایش معنی‌دار تنها در تیمار ۲۰- درجه به مدت دو ساعت مشاهده شد (به مقدار ۱۶ درصد) (شکل ۵).

اما RWC ساقه در هر تیمار اختلاف معنی‌داری با تیمار دیگر داشت و در سه گروه مجزا قرار گرفتند، به طوری که تیمار ۴ درجه کمترین و تیمار ۲۰- درجه دو ساعت بیشترین RWC ساقه را دارا بودند (جدول ۶). برهم کنش گونه در تیمار برای مشخصه‌های EL برگ و ساقه نیز تفاوت معنی‌داری نشان داد (جدول ۴). با توجه به شکل ۴ می‌توان گفت EL برگ در هر

جدول ۵- نتایج آزمون مقایسه میانگین گونه‌ها و سخت‌واره‌شدن بر مشخصه‌های فیزیولوژیک

محتوای نسبی آب برگ (درصد)	محتوای نسبی آب ساقه (درصد)	نرخ نشت الکترولیت برگ (درصد)	نرخ نشت الکترولیت ساقه (درصد)	گونه
۷۹/۳۹±۱/۲۱b	۷۰/۸۷±۱/۶۹a	۵۸/۰۳±۲/۲۲b	۴۲/۱۸±۱/۹۰b	بنه
۸۴/۰۰±۱/۳۷a	۷۳/۴۲±۱/۱۸a	۶۵/۱۹±۱/۹۳a	۴۶/۶۶±۱/۸۲a	کلخونگ
۸۵/۰۳±۱/۲۲a	۷۶/۳۶±۱/۲۳a	۶۹/۶۷±۲/۲۹a	۵۰/۶۹±۲/۱۷a	اول
۷۸/۳۵±۱/۲۸b	۶۷/۹۳±۱/۴۸b	۵۴/۸۲±۱/۵۰b	۳۹/۱۳±۱/۲۹b	دوم

مقادیر، میانگین ۲۰ تکرار ± SE است. حروف غیرمشترک بیان‌کننده تفاوت معنی‌دار در سطح $P < 0.05$ است.

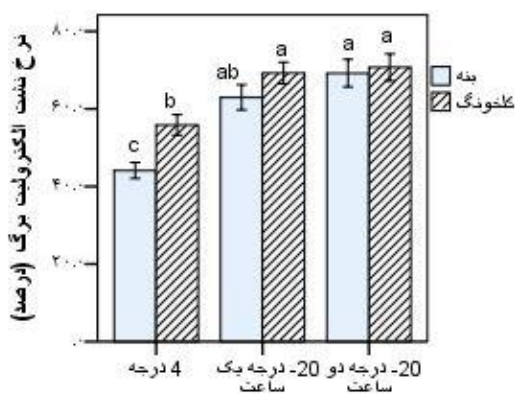
جدول ۶- نتایج آزمون مقایسه میانگین تیمارهای دمایی بر مشخصه‌های فیزیولوژیک

محتوای نسبی آب برگ (درصد)	محتوای نسبی آب ساقه (درصد)	نرخ نشت الکترولیت برگ (درصد)	نرخ نشت الکترولیت ساقه (درصد)	تیمار دمایی
۷۴/۳۳±۱/۶۹b	۶۶/۱۹±۱/۷۷c	۴۹/۸۴±۱/۹۰b	۳۵/۹۷±۱/۲۱b	۴ درجه سانتی‌گراد
۸۳/۷۷±۱/۰۲a	۷۲/۹۴±۱/۵۲b	۶۶/۰۹±۲/۱۷a	۴۶/۶۷±۲/۴۱a	۲۰-درجه (یک‌ساعت)
۸۶/۹۹±۱/۴۰a	۷۷/۳۱±۱/۶۵a	۶۹/۹۸±۲/۴۵a	۵۱/۳۹±۲/۴۲a	۲۰-درجه (دوساعت)

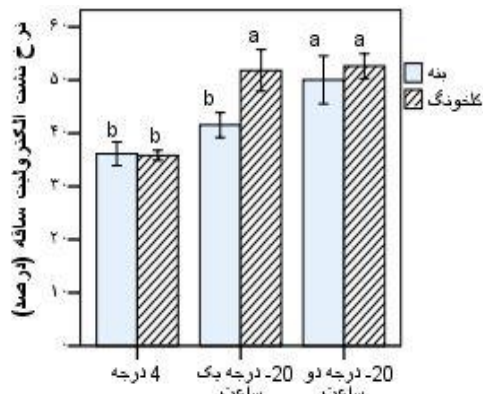
مقادیر، میانگین ۲۰ تکرار ± SE است. حروف غیرمشترک بیان‌کننده تفاوت معنی‌دار در سطح $P < 0.05$ است.

کلخونگ دو مرحله سخت‌واره شدن با هم تفاوت معنی‌دار نداشتند. همچنین EL ساقه در هر دو گونه از سخت‌واره شدن اول به دوم کاهش معنی‌دار نشان داد، اما این کاهش در بنه بیشتر بود (کاهش ۳۰ درصد در بنه و ۱۵ درصد در کلخونگ) (شکل ۷).

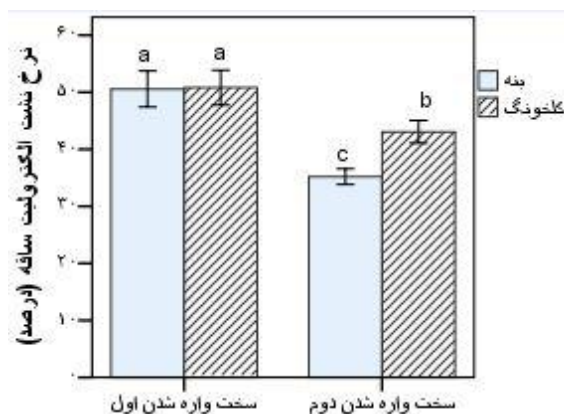
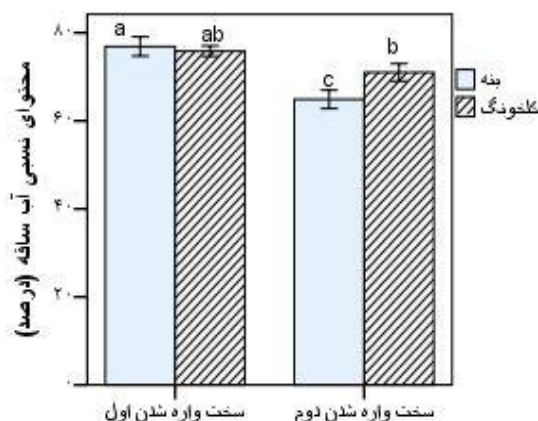
برهم‌کنش گونه در سخت‌واره‌شدن برای مشخصه‌های RWC و EL ساقه نیز تفاوت معنی‌دار نشان داد (جدول ۴). همان‌طور که در شکل ۶ مشاهده می‌شود، RWC ساقه در گونه بنه از مرحله سخت‌واره شدن اول به دوم (با کاهش دما و طول روز) کاهش معنی‌دار یافت (۱۸ درصد)، اما در گونه



شکل ۵- برهم‌کنش گونه × دما نرخ نشت ساقه



شکل ۴- برهم‌کنش گونه × دما نرخ نشت برگ



شکل ۶ - برهم کنش گونه × سخت واره شدن نرخ نشت ساقه شکل ۷ - برهم کنش گونه × سخت واره شدن محتوای آب ساقه مقادیر، میانگین ۲۰ تکرار \pm SE است. حروف غیر مشترک بیان کننده تفاوت معنی دار در سطح $P < 0.05$ است.

مقدار ETR دارند، سرعت فتوسنتزی بیشتر و در نتیجه مقاومت بیشتری به سرما نشان می دهند (Hasani et al., 2014). در پژوهش اخیر نیز کاهش سرعت انتقال الکترون (ETR) در بنه کمتر از کلخونگ و کاهندگی فتوشیمیایی (Pq) نیز در بنه بیشتر از کلخونگ بود که می تواند نشان دهنده سازوکارهای مؤثرتر بنه نسبت به کلخونگ در محافظت از واکنش های نوری فتوسنتزی در مواجهه با تنش سرما باشد. نتایج بررسی Zhou et al. (2017) روی *Rhododendron chrysanthum* Pall. نیز نشان داد که در شرایط تنش سرما، مؤلفه های پیشینه عملکرد فتوسیستم II (Fv/Fm)، سرعت انتقال الکترون (ETR) و کاهندگی فتوشیمیایی (Pq) کاهش معنی دار یافتند و ژنوتیپ هایی را که کاهش کمتری در شرایط تنش داشتند متحمل به سرما معرفی کردند که با نتایج این بررسی یکسان است. همچنین شاخص پیشینه عملکرد فتوسیستم II (Fv/Fm) در مرحله دوم سخت واره شدن، کاهش معنی داری یافت. این نسبت نشان دهنده فلورسانس کلروفیل است که در شرایط تنش سرمایی و یخبندان تحت تأثیر قرار می گیرد. کاهش در پیشینه عملکرد فتوسیستم II (Fv/Fm) بعد از تنش انجماد را می توان به مهار

بحث

آزمایش اول (اثرهای سخت واره شدن بر مشخصه های کلروفیل و فلورسانس کلروفیل)

نتایج این تحقیق نشان داد که در طی سخت واره شدن (با کاهش دما و دوره نوری) شاخص کلروفیل کاهش یافت. یکی از راه کارهای گیاهان برای کاهش تولید اکسیژن های فعال، کاهش تراکم کلروفیل و در نتیجه کاهش ایجاد اکسیژن های فعال ناشی از تنفس نوری است که به کمک افزایش برخی آنزیم ها مانند کلروفیلاز محقق می شود (Wijewardana et al., 2016). در تحقیق حاضر نیز کاهش کلروفیل در هر دو گونه بنه و کلخونگ طی سخت واره شدن، می تواند صفتی مطلوب برای کاهش تولید رادیکال های آزاد اکسیژن باشد که مشابه این نتیجه در تحقیقی روی گونه *Pinus strobus* با اعمال تنش سرمایی تا ۲۰- درجه سانتی گراد مشاهده شد که کلروفیل کاهش یافت و در نتیجه خسارت به غشای کلروپلاست نیز کم شد (Chang et al., 2015). از طرف دیگر در شرایط تنش سرما، سرعت انتقال الکترون (ETR) به دلیل کاهش سرعت فعالیت فتوسنتزی و تثبیت دی اکسید کربن کاهش می یابد (Zhou et al., 2017). بنابراین ژنوتیپ هایی که در شرایط تنش کاهش کمتری از نظر

اعمال سخت‌واره شدن روی دو گونه نیز نشان داد که گونه بنه به کاهش تدریجی دما و فتوپریود پاسخ بهتری می‌دهد، زیرا در مرحله سخت‌واره شدن دوم، مقدار نرخ نشت الکترولیت ساقه بنه به‌طور معنی‌داری کمتر از گونه کلخونگ بود. همچنین در شرایط تنش دمایی نیز از دمای ۴ درجه (شاهد) به ۲۰- یک ساعت، افزایش نرخ نشت الکترولیت ساقه، تنها در گونه کلخونگ اتفاق افتاد؛ اما در مورد اندام برگ این افزایش معنی‌دار نرخ نشت الکترولیت در هر دو گونه وجود داشت. از آنجا که ساقه، اندام ماندگار نهال است، مقاومت ساقه بنه می‌تواند به ماندگاری نهال بنه در این شرایط کمک کند. از این‌رو براساس شاخص نشت الکترولیت به نظر می‌رسد که بنه نسبت به کلخونگ تحمل بیشتری در برابر تنش یخ‌زدگی دارد. در بررسی تحمل به سرما در گونه توس (*Betula pendula*) که یک گونه مقاوم به سرماست، ساقه بیشتر از برگ مقاومت نشان داد (Li et al., 2002) که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد.

کاهش RWC نیز سبب کاهش نقطه انجماد درون سلولی و در نتیجه افزایش مقاومت به سرما می‌شود (Francko et al., 2011). در تحقیق حاضر می‌توان گفت که بنه با دارا بودن RWC برگ کمتر نسبت به کلخونگ دارای مقاومت بیشتری به سرماست. کاهش محتوای آب برگ در پاسخ به دمای انجماد در گونه توس (*Betula pendula*) نیز مشاهده شده است (Maenpaa et al., 2013). در طی دوره سخت‌واره شدن به سرما نیز محتوای رطوبت بافت‌های مختلف دستخوش تغییر می‌شود و مقدار آن کاهش می‌یابد. به همین سبب، محتوای آب گونه‌های بررسی‌شده در طی مرحله سخت‌واره شدن برای مقاومت به تنش سرما کاهش یافت، اما در گونه بنه همانند نرخ نشت الکترولیت، کاهش آن بیشتر از گونه کلخونگ بود. در تحقیق (Li et al., 2002) روی گونه توس (*Betula pendula*) کاهش محتوای نسبی آب ساقه در طول دوره سخت‌واره شدن مشاهده شد، اما

فسفریلاسیون نوری و فرایندهای آنزیمی در چرخه تبدیل کربن و در نتیجه کاهش چشمگیر در تثبیت دی‌اکسید کربن نسبت داد (Rose & Haase, 2002). (Chang et al., 2015) گزارش کردند که بیشینه عملکرد فتوسیستم II (Fv/Fm) در *Pinus strobus* L. پس از تنش سرمایی اغلب به دلیل تخریب کلروپلاست کاهش می‌یابد و کاهش شاخص کلروفیل نیز این موضوع را تأیید می‌کند. همچنین با توجه کاهش معنی‌دار عملکرد فتوسیستم II در روش‌نایی (Fv/Fm') تنها در کلخونگ نیز نشان‌دهنده تخریب برگشت‌ناپذیر مراکز واکنش فتوسیستم دو در اثر تنش سرما در این گونه است. کاهش مشخصه عملکرد فتوسیستم II در روش‌نایی (Fv/Fm') در شرایط تنش سرما در دو گونه بلوط *Q. virginiana* و نیز پیشتر گزارش شده است (Cavender-Bares et al., 2000).

- آزمایش دوم (اثرهای تنش دمایی کم بر محتوای نسبی آب و نرخ نشت الکترولیت)

در تحقیق حاضر، نرخ نشت الکترولیت برگ و ساقه در بنه کمتر از کلخونگ بود و در نتیجه افزایش نشت از کلخونگ در شرایط تنش یخ‌زدگی احتمالاً بیانگر حساسیت آن به تنش سرماست. نتایج همبستگی نیز نشان داد که با افزایش نشت الکترولیت و آسیب غشای سیتوپلاسمی، پارامترهای فلورسانس کلروفیل کاهش می‌یابند. به‌طور کلی، هنگامی که بافت‌های گیاه در اثر سرما آسیب می‌بینند، فعالیت غشا مختل می‌شود و الکترولیت‌های داخل سلول به خارج از آن نشت می‌کنند (Rihan et al., 2017). تحقیقات دربارهٔ واریته‌های زیتون نیز نشان داد که با اعمال بیشتر تنش، نشت الکترولیت افزایش یافت و ژنوتیپ‌های متحمل به سرما به دلیل غشای سیتوپلاسمی پایدارتر و نشت الکترولیتی کمتر (در مقایسه با ژنوتیپ‌های حساس)، به‌عنوان گونه مقاوم به سرما معرفی شدند (Azzarello et al., 2009).

گونه بنه با کاهش محتوای آب ساقه در طی سخت‌واره شدن توانست مقاومت بیشتری به سرما از خود نشان دهد و در نتیجه نشت الکترولیت یا آسیب‌پذیری غشای پلاسمایی کمتری در هر دو اندام برگ و ساقه نسبت به کلخونگ داشت. دامنه وسیع انتشار این گونه در مناطق سردسیری و کوهستانی کشور می‌تواند مؤید این مطلب باشد. از نتایج این تحقیق همچنین می‌توان دریافت که مطالعات فیزیولوژیکی به‌ویژه اندازه‌گیری پارامترهای فلورسانس کلروفیل که کم‌هزینه است و بدون آسیب زدن به نهال انجام می‌گیرد، می‌تواند به ما در شناسایی نهال‌های با ژنوتیپ مقاوم‌تر به سرما در نهالستان‌ها کمک کند تا جنگل‌کاری‌های موفق‌تری داشته باشیم.

در مورد تیمارهای دمایی از آنجا که روی برگ جدا شده از نهال انجام گرفت، محتوای نسبی آب در اثر رطوبت محیط افزایش یافت، به‌طوری که این افزایش ناشی از تغییر فیزیولوژیکی دمای کم نبود.

نتیجه‌گیری

براساس نتایج این تحقیق می‌توان گفت دو گونه جنس پسته بررسی شده در این تحقیق، پاسخ‌های متفاوتی به تنش سرما نشان دادند. در هر دو گونه، کاهش دما موجب کاهش بیشینه عملکرد فتوسیستم II (Fv/Fm) شد، اما با توجه به تغییر نکردن عملکرد فتوسیستم II در روشنایی (Fv'/Fm') و کاهندگی غیرفتوشیمیایی (NPQ) در گونه بنه، فتوسیستم II در گونه بنه آسیب‌پذیری کمتری نشان داد. همچنین

References

- Azzarello, E., Mugnai, S., Pandolfi, C., Masi, E., Marone, E. & Mancuso, S. (2009). Comparing image (fractal analysis) and electrochemical (impedance spectroscopy and electrolyte leakage) techniques for the assessment of the freezing tolerance in olive. *Trees*, 23(1), 159-167.
- Cavender-Bares, J., Aposto, S., Moya, I., Briantais, J.M. & Abazzaz, F. (2000). Chilling-induced photoinhibition in two oak species: Are evergreen leaves inherently better protected than deciduous leaves? *Photosynthetica*, 36(4), 587-596.
- Chang, C.Y., Unda, F., Zubilewich, A., Mansfield, S.D. & Ensminger, I. (2015). Sensitivity of cold acclimation to elevated autumn temperature in field-grown *Pinus strobus* seedlings. *Frontiers in Plant Science*, 6(1), 30-37.
- Chebouti-Meziou, N., Merabet, A., Chebouti, Y., Bissaad, F. Z., Behidj-Benyounes, N. & Doumandji, S. (2014). Effect of cold and scarification on seeds germination of *Pistacia atlantica* L. for rapid multiplication. *Pakistan Journal of Botany*, 46(2), 441-446.
- Fayyaz, P., Etemadi, E., Jolaeie-Manesh, N. & Zolfaghari, R. (2013). Sodium and potassium allocation under drought stress in Atlas mastic tree (*Pistacia atlantica* subsp. mutica). *iForest – Biogeosciences and Forestry*, 6, 90-94.
- Francko, D.A., Wilson, K.G., Li, Q.Q. & Equiza, M.A. (2011). A topical spray to enhance plant resistance to cold injury and mortality. *Horticulture Technology*, 21(1), 109-118.
- Haase, D.L. (2011). Seedling phenology and cold hardiness: moving targets. Riley LE, Haase DL, Pinto JR (tech coords) National proc: Forest and conservation nursery associations-2010. USDA Forest Service RMRS-P-65, 121-127.
- Hasani, Z., Pirdashti, H., Yaghoubian, Y. & Zaman Nouri, M. (2014). Application of Chlorophyll Fluorescence Technique to Evaluate the Tolerance of Rice (*Oryza sativa* L.) Genotypes to Cold Temperature and Water Stresses. *Iranian Journal of Journal of Cell & Tissue (JCT)*, 5(2), 195-206.

- Hodge, G.R., Dvorak, W.S. & Tighe, M.E. (2012). Comparisons between laboratory and field results of frost tolerance of pines from the southern USA and Mesoamerica planted as exotics Southern forests. *Journal of Forest Science*, 74(1), 7-17.
- Jiang, X., Song, Y., Xi, X., Guo, B., Ma, K., Wang, Z., Li, B., Zhang, D., An, X. & Zhang, Z. (2011). Physiological and biochemical responses to low temperature stress in hybrid clones of *Populus ussuriensis* Kom. × *P. deltoides* Bartr. *African Journal of Biotechnology*, 10(82), 19011-19024.
- Li, C., Puhakainen, T., Welling, A., Vihera-Aarnio, A., Ernstsén, A., Junttila, O., Heino, P. & Palva, E.T. (2002). Cold acclimation in silver birch (*Betula pendula*). Development of freezing tolerance in different tissues and climatic ecotypes. *Physiologia Plantarum*, 116(4), 478-488.
- Maenpää, M., Ossipov, V., Kontunen-Soppela, S., Keinänen, M., Rousi, M. & Oksanen, E. (2013). Biochemical and growth acclimation of birch to night temperatures: genotypic similarities and differences. *Plant Biology*, 15(1), 36-43.
- Minagawa, J. (2008). *Fluorescence quenching analysis*. Institute of Low Temperature Science, Hokkaido University, N19 W8, Sapporo 060-0819, Japan. 15p.
- Omayma, M.I. (2014). Use of Electrical Conductivity as a Tool for Determining Damage Index of Some Mango Cultivars. *International Journal of Plant and Soil Science*, 3(5), 448-456.
- Rihan, H.Z., Al-Issawi, M. & Fuller, M.P. (2017). Advances in physiological and molecular aspects of plant cold tolerance. *Journal of Plant Interactions*, 12(1), 143-57.
- Rose, R. & Haase, D. (2002). Chlorophyll fluorescence and variations in tissue cold hardiness in response to freezing stress in Douglas-fir seedlings. *New Forests*, 23(2), 81-96.
- Salvador, V. (2004). Drought tolerant and transplanting performance of holm oak (*Quercus ilex*) seedling after drought hardening in the nursery. *Journal of tree physiology*, 24, 1147-1155.
- Tahmasby, M. & Fattahizadeh, M. (2001). Relationship between ecological factors and quantitative and qualitative characteristics of *Pistacia atlantica* trees in Ilam province. *Iranian Journal of Forest and Poplar Research*, 10(1), 145-170.
- Theocharis, A., Clement, C. & Barka, E.A. (2012). Physiological and molecular changes in plants grown at low temperatures. *Planta*, 235(6), 1091-1105.
- Tuteja, N., & Singh, G. S. (Eds.). (2012). *Plant acclimation to environmental stress*. Springer Science & Business Media.
- Wijewardana, C., Henry, W.B., Hock, M.W. & Reddy, K.R. (2016). Growth and physiological trait variation among corn hybrids for cold tolerance. *Canadian Journal of Plant Science*, 96(4), 639-656.
- Zhou, X., Chen, S., Wu, H. & Xu, H. (2017). Effects of Cold Stress on the Photosynthesis and Antioxidant System of *Rhododendron chrysanthum* Pall., *Preprints*, 1-10.



Research Article

**Effect of Cold Stress on Physiological Traits of
Pistacia atlantica and *P. khinjuk* during Acclimation**

S. Homayounfar¹, R. Zolfaghari^{2*}, and P. Fayyaz²

¹M.Sc., Dept. of Forestry, Faculty of Agriculture & Natural Resources, University of Yasouj, Yasouj, I. R. Iran

²Associate Prof., Dept. of Forestry, Faculty of Agriculture & Natural Resources, University of Yasouj, Yasouj, I. R. Iran

(Received: 6 January 2018, Accepted: 14 May 2019)

Abstract

Among the different species of *Pistacia* genus, *P. atlantica* is more distributed in cold area than *P. khinjuk*. In this study, in order to illustrate the physiological mechanisms of cold tolerance under acclimation phenomenon, two experiments were established. First experiment was conducted to induction of acclimation on seedlings at two stages and each stage was done for two weeks with different photoperiods. Then chlorophyll and florescence's chlorophyll was measured. For second experiment, leaves and stems of seedlings were exposed to three levels of temperature, +4°C (control), -20°C in one hour and -20°C in two hours. For this purpose, we measure relative water content (RWC) and electrolyte leakage (EL). Results of first experiment showed that 44% electron transport rate and 46% photochemical quenching was significantly reduced. This reduction in *P. atlantica* was grater by 30% compared to *P. khinjuk*. Second experiment results revealed that leaf RWC and EL increased during cold acclimation to be 8 and 11%, respectively. In addition, stem EL increased only in *P. khinjuk* (44%). In fact, *P. atlantica* due to decreasing of RWC during acclimation was able to maintain the photosystem efficiency and showed more resistance to cold stress. According to our findings, we can identify cold-resistant species or genotypes by measuring the florescence's chlorophyll.

Keywords: Chlorophyll Fluorescence, Electrolyte Leakage, Hardening, Zagros.