به زراعی کشاورزی
دوره ۲۰ ■ شماره ۲ ■ تابستان ۱۳۹۷
صفحه‌های ۳۲۷-۳۱۵

ارزیابی میزان تحمل به انجماد سرو بادبزنی (نوش) و سرو نقره‌ای در شرایط کنترل‌شده

حمیده ایگدری[1*]، ابراهیم گنجی مقدم[2]، احمد اصغرزاده[3]

۱. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد باغبانی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیروان، خراسان شمالی، ایران.
۲. دانشیار بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد، ایران.
۳. استادیار گروه باغبانی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیروان، خراسان شمالی، ایران.

تاریخ وصول مقاله: ۱۳۹۲/۱۲/۰۸ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۵/۰۱/۲۱

چکیده

سرو نقره‌ای (*Cupressus arizonica* L.) و سرو بادبزنی (*Thuja orientalis* L.) از مهم‌ترین درختان همیشه‌سبز زینتی مورد استفاده در فضای سبز شهری می‌باشند. این مطالعه با هدف بررسی تحمل به انجماد این دو گونه گیاهی در شرایط کنترل‌شده در دو آزمایش مستقل با هشت سطح دمایی (شاهد، ۱۰-، ۱۵-، ۲۰-، ۲۵-، ۳۰-، ۳۵-، ۴۰- درجه سانتی‌گراد) در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا گردید. در این پژوهش میزان پرولین، نشت یونی، تغییرات کربوهیدرات (از نمونه‌های برگی) و رشد مجدد مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که با کاهش دما محتوی پرولین و نشت یونی در هر دو گونه افزایش یافت. با کاهش دما کاهش چشم‌گیری در رشد مجدد هر دو گونه مشاهده شد، به‌طوری‌که در ۳۰- و۲۰- درجه سانتی‌گراد به‌ترتیب در سروبادبزنی و نقره‌ای هیچ‌گونه رشد مجددی مشاهده نشد. مقادیر کربوهیدرات محلول در سرو بادبزنی با کاهش دما افزایش کم و غیرمعنی‌دار ولی در سرو نقره‌ای به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. همبستگی منفی معنی‌دار بین رشد مجدد و دما در سروبادبزنی (۰/۸۹۵-) و نقره‌ای (۰/٦٤٦-) مشاهده شد. سرونقره‌ای نسبت به یخ‌زدگی حساس‌تر از و سرو بادبزنی بود.

کلیدواژه‌ها: پرولین، رشد مجدد، کربوهیدرات محلول، نشت یونی، همبستگی.

* نویسنده مسئول
Email: igdarih@yahoo.com

Archive of SID
www.SID.ir

۱. مقدمه

درخت نوش (سرو خمره‌ای) از گونه‌های مهم و اقتصادی در میان سوزنی برگان موجود در ایران می‌باشد [۲]. که با هدف ایجاد فضای سبز و احداث پارک‌ها و تفرجگاه‌های جنگلی در شمال کشور و مناطق سردسیر و مناطق نیمه‌سردسیر و مناطق مرکزی خارج از شمال تولید می‌گردد [۵]. کاشت گونه یادشده در استان‌های آذربایجان‌غربی و شرقی، تهران، خراسان، سمنان، لرستان، قم، یزد، فارس، کردستان، چهارمحال و بختیاری، مرکزی و همدان با موفقیت همراه بوده است [۱۱]. سرو نقره‌ای نیز که یکی از گونه‌های وارداتی است، به‌رغم عدم موفقیت‌هایی که در مناطق دارای یخبندان و ماسه‌های ساحلی شمال کشور داشته است دارای استفاده گسترده‌ای در طرح‌های جنگل‌کاری و فضای سبز شهری است [۱ و ۱۶]. این گیاه به‌دلیل بردبار بودن نسبت به شرایط سخت و متنوع رویشگاهی و از طرفی تولید تاج خوش‌فرم، خوش‌رنگ و هرس‌پذیر، همواره در ایران یکی از مهم‌ترین درختان برای جنگل‌کاری، پارک‌سازی و طراحی فضاهای سبز به‌شمار می‌رود [۱۰] و از آن می‌توان برای احداث بادشکن و تولید درخت کریسمس نیز استفاده نمود [۴۲]. کاربرد زیاد این گونه باعث شده است که نهال آن به فراوانی در نهالستان‌های کشور تولید شود [۷].

تنش‌ها از مهم‌ترین فاکتورهای محدودکننده فتوسنتزی در گیاهان می‌باشند [۲۲]. گیاهان برای رشد بهینه به محدوده دمایی خاصی احتیاج دارند و خارج از این محدوده به‌عنوان یک تنش محسوب می‌شود [۴۰]. در مناطق سردسیر ایران گیاهان در معرض انواع تنش سرمایی در زمستان به‌ویژه تنش یخ‌زدگی قرار می‌گیرند. در فرآیند یخ‌زدگی، تشکیل یخ و خسارت‌های ناشی از آن تأثیر جدی بر رشد گیاهان دارند. به‌طوری‌که تشکیل بلورهای یخ در اطراف سلول‌های گیاه سبب تخریب غشا، نشت‌الکترولیت‌ها و ایجاد لکه‌های نکروزه در گیاه می‌شود [۳]. با این وجود در مناطق مذکور با کاهش طول روز و دماهای کمتر از ۱۰ درجه سانتی‌گراد در پاییز، به سرما سازگار می‌شوند. شرایط سازگاری با سرما سبب بهبود نسبی تحمل آن‌ها به شرایط زمستان خواهد شد و گیاهان قادر خواهند بود که بقای زمستانه به نسبت خوبی داشته‌باشند [۲۷ و ۴۱]. علی‌رغم این وضعیت، وقوع سرماهای شدید در برخی سال‌ها سبب بروز خسارت جبران‌ناپذیری به گیاهان شده و حتی در مواردی منجر به مرگ کامل گیاهان می‌شود [۴۳]. به همین دلیل شناسایی گیاهان متحمل به سرما و کاشت آن‌ها در مناطق تحت خطر تنش یخ‌زدگی از جمله راه‌کارهای مناسب جهت کاهش خسارت سرما می‌باشد [۱۵].

جهت ارزیابی تحمل به یخ‌زدگی، انواع آزمون‌ها در شرایط کنترل‌شده مورد بررسی قرار گرفته است. در یکی از این روش‌ها نشت الکترولیت‌ها از سلول‌های گیاهی پس از اعمال تنش یخ‌زدگی اندازه‌گیری شده است [۲۵]. اعتقاد بر این است که اولین مکان خسارت در اثر سرما، غشای سلولی است و سرما باعث تغییر حالت غشا از کریستال- مایع به حالت جامد- ژل می‌شود و با این تغییر فعالیت غشا مختل می‌گردد [۲۰]. به همین دلیل اندازه‌گیری میزان نشت الکترولیت‌ها از بافت‌های گیاهی به‌عنوان یک روش مناسب برای تخمین تراوایی غشا و ارزیابی اثر تنش‌های محیطی بر ژنوتیپ‌های مختلف گیاهان مورد استفاده قرار گرفته است [۲۳].

پرولین از اسیدی شدن جلوگیری کرده و تنش سلولی را کاهش می‌دهد و تجمع آن در گیاهان ممکن است در پاسخ به تنش‌های زیستی و غیر زیستی ایجاد شود [۲۸]. در گیاه سویا بیشترین مقدار پرولین در زمستان مشاهده شده و فعالیت آن با کاهش دما افزایش یافته است [۲۴]. در گیاهان حساس به سرما افزایش پرولین سلولی به

Archive of SID
www.SID.ir

حدی نیست که موجب افزایش مقاومت شود، مگر این‌که مقادیر بالایی پرولین قبل از تنش به‌وجود آمده باشد [٤٦].

قندها یکی دیگر از مهمترین فاکتورهای مطرح‌شده در بحث تحمل به یخ‌زدگی می‌باشند [۲۹]. در گیاهان چوبی، از پاییز تا زمستان قندها با افزایش تحمل به یخ‌زدگی انباشته می‌شوند [۳۹]. در بعضی از گونه‌های علفی از جمله گندم، اسفناج و نوعی تمشک تغییرات محتوی قندها با تحمل به یخ‌زدگی دارای همبستگی می‌باشد [۲۹]. کاهش ذخیره کربوهیدرات در گیاهان چوبی باعث کاهش مقاومت به سرما می‌شود که به‌خوبی شناخته شده است. کاهش نشاسته به حداقل و افزایش قندهای محلول به حداکثر باعث افزایش سازش‌پذیری درختان به سرمای پاییز و زمستان می‌شود [٤٤].

سروها می‌توانند در دامنه وسیعی از دماها سازگار شوند. این گیاهان، اگرچه تابستان‌های گرم و خشک و زمستان‌های معتدل را ترجیح می‌دهند، می‌توانند بیشتر شرایط سخت آب‌وهوایی را نیز تحمل کنند [۳۷]. معمولاً سروهای بالغ در زمستان‌های سخت با دماهای زیر ۱۵- درجه سانتی‌گراد می‌توانند زنده بمانند [۳۳]. گزارشی از مقاومت در ۲۳- درجه سانتی‌گراد نیز وجود دارد اما تحت چنین شرایطی میزان خسارت وارده به تاج درختان قابل‌توجه است. مقاومت به دمای پایین در گیاهان ویژگی بسیار پیچیده‌ای است که، بسیاری از مسیرهای متابولیکی و بخش‌های سلولی را درگیر می‌کند [۳۷]. تحمل نسبت به سرما در گیاهان (از جمله گیاهان زینتی) یکی از مهم‌ترین عوامل بقای آنها در زمستان می‌باشد. به همین دلیل رشد مجدد (درصد بقا) گیاهان پس از قرار گرفتن آن‌ها در معرض سرما به‌عنوان یکی از شاخص‌های تحمل به سرما معرفی شده‌است [۳۰]. با توجه به سرمای سال ۱۳۸٦ و خسارت شدید به درختان زینتی ایران از قبیل انواع سروها از جمله سرو نقره‌ای و سرونوش (بادبزنی) و نبود اطلاعات در خصوص میزان تحمل به انجماد در دمای پایین‌تر از ۲۰- درجه سانتی‌گراد، این مطالعه با هدف بررسی اثرات تنش انجماد بر دو گونه سرو نقره‌ای و بادبزنی در شرایط کنترل‌شده و همچنین تعیین آستانه تحمل این دو گونه اجرا گردید.

۲. مواد و روش‌ها

مواد گیاهی جهت بررسی میزان تحمل به انجماد دو گونه گیاهی سرو نقره‌ای و بادبزنی (نوش) نهال‌های دو ساله که تحت شرایط کشت مشابهی قرار داشتند از نهالستان قرق (گرگان) با عرض جغرافیایی ۳٦ درجه و ۵۳ دقیقه و طول جغرافیایی ٥٤ درجه و ۵۰ دقیقه و در ارتفاع ۱۲۰ متری از دریا با خاکی تقریباً جنگلی، دمای محیط ۱٦ تا ۲۲ درجه سانتی‌گراد و بهمن‌ماه تهیه گردید. این گونه‌ها به‌دلیل ارزش زینتی در پارک‌ها و باغ‌ها و همچنین تثبیت شنزار، همیشه‌سبز و مناسب بودن برای خاک‌های فقیر و سطحی [۳۷] انتخاب شدند.

این پژوهش در زمستان ۱۳۹۰ در آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه شیروان انجام شد. به‌منظور اعمال تیمارهای دمایی همه نمونه‌ها (نمونه‌های برگی با وزن مشخص برای اندازه‌گیری پارامترهایی از قبیل پرولین، نشت یونی و کربوهیدرات محلول و گیاه کامل برای بررسی رشد مجدد) به‌جز شاهد در فریزر ترموگرادیان (فریزر تحقیقاتی تست تنش سرما و گرما ساخت شرکت مهندسی گروگ) قرار گرفتند. دمای محیط، دمای آغازگر فریزر بود، سپس فریزر طوری تنظیم شد که نمونه‌ها ۲ ساعت در معرض تیمار دمایی قرار می‌گرفتند. پس از هر تیمار دمایی، نمونه‌هایی که برای اندازه‌گیری پارامترهای دیگر در نظر گرفته شده بود ابتدا در ازت تثبیت شدند و سپس در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. از دو آزمایش مستقل با هشت سطح دمایی (شاهد، ۱۰-،

www.SID.ir
Archive of SID

۱۵- ، ۲۰- ، ۲۵- ، ۳۰- ، ۳۵- و ٤٠- درجه سانتی‌گراد) [۲٦ و ٤۷] در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با چهار تکرار استفاده گردید. تجزیه داده‌ها با نرم‌افزار SPSS (Version 19) انجام گرفت. میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون دانکن مقایسه شدند. فاکتورهای پرولین، نشت یونی، کربوهیدرات محلول و رشد مجدد مورد بررسی قرار گرفتند.

برای اندازه‌گیری پرولین ابتدا نیم گرم از بافت برگ انتخاب و در هاون کاملاً له شد. سپس پنج میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد به آن اضافه و به لوله آزمایش منتقل و به شدت تکان داده شد. قسمت روئی جدا و به لوله دیگری منتقل شد و سپس دو مرتبه و هر بار پنج میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد به بخش جامد باقی‌مانده اضافه و شسته شد. سپس بخش مایع روئی به لوله آزمایش دیگری منتقل گردید. در نهایت ۱۵ میلی‌لیتر از عصاره به‌دست‌آمده را با سانتریفیوژ ٤۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شده و فاز مایع بالائی به دقت جدا و به یخچال چهار درجه سانتی‌گراد منتقل گردید. یک میلی‌لیتر از عصاره الکلی انتخاب و به لوله آزمایش درب‌دار منتقل و ۱۰ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر به آن اضافه شد. سپس پنج میلی‌لیتر نین هیدرین به نمونه‌ها اضافه شد. برای تهیه نین‌هیدرین به ازای هر نمونه ۰/۱۲۵ گرم نین‌هیدرین را در دو میلی‌لیتر اسید فسفریک شش مولار و سه میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال حل کرده و به‌مدت ۱٦ ساعت با همزن مگنت‌دار هم‌زده شد تا کاملاً حل گردد. در مرحله بعد پنج میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال به هر نمونه اضافه گردید و نمونه داخل حمام آب جوش یا بن‌ماری به‌مدت ٤۵ دقیقه قرار داده شد. پس از این مرحله نمونه‌ها از بن‌ماری خارج و در دمای محیط خنک گردید. به هر نمونه ۱۰ میلی‌لیتر تولوئن اضافه و به شدت تکان داده شد تا پرولین وارد فاز تولوئن گردد. نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه به حال سکون قرار داده شدند و میزان جذب نور نمونه‌ها در طول موج ۵۱۵ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر مدل (T80+UV/VIS Spectrometer) ساخت انگلستان قرائت گردید [۳۸]. میزان پرولین آزاد نمونه‌ها در مقایسه با استاندارد تهیه شده بر اساس میکرومول بر گرم وزن‌تر برگ محاسبه شد.

برای به‌دست آوردن مقدار نشت یونی نسبی ابتدا نمونه‌های سه گرمی از برگ تهیه شد، و قطعات یک سانتی‌متری از برگ داخل ویال‌ها قرار داده شد و ۲۵ میلی‌لیتر آب دیونیزه به هر ویال اضافه شد. نمونه‌ها به‌مدت ۲٤ ساعت در دمای آزمایشگاه روی شیکر قرار گرفتند و پس از ۲٤ ساعت، هدایت الکتریکی اولیه (EL_f) آن‌ها توسط EC متر (Weiser CJ method) اندازه‌گیری شد. سپس به‌مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد اتوکلاو شدند و بعد از ۱۲ ساعت EC کل ($EC_{Autocel}$) آن‌ها اندازه‌گیری شده و در نهایت درصد نشت یونی (REL) طبق رابطه زیر محاسبه شد [۹ و ۲۵].

$$EC_{REL}= (EC_f / EC_{Autocel}) \times 100 \quad (۱)$$

برای ارزیابی میزان کربوهیدرات محلول نیم گرم از نمونه‌برگی تهیه شد و سپس در هاون چینی له شده و به آن پنج میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد اضافه شد. قسمت بالای محلول جدا گردید و با پنج میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد مجدداً استخراج عصاره بر روی رسوبات باقی‌مانده ادامه یافت. عصاره استخراج شده به‌مدت ۱۵ دقیقه در ٤۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. به ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره تهیه‌شده، سه میلی‌لیتر معرف آنترون (۱۵۰ میلی‌گرم آنترون خالص + ۱۰۰ میلی‌لیتر سولفوریک اسید ۷۲ درصد) اضافه گردید. سپس به‌مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار داده شد و پس از خنک شدن نمونه‌ها، جذب آن‌ها در طول موج ٦۲۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل (T80+UV/VIS Spectrometer) ساخت انگلستان قرائت و با استفاده از محلول استاندارد منحنی آن‌ها رسم گردید [۳۱].

Archive of SID
www.SID.ir

برای ارزیابی رشد مجدد نمونه‌های گیاهی پس از خروج از دستگاه فریزر، جهت قابلیت بقا و رشد مجدد به‌مدت ۳ ماه در شرایط دمای بیرون نگهداری شدند و سپس از طریق رابطه زیر رشد مجدد (درصد بقا) هر یک از تیمارها محاسبه گردید.

$$\text{رشد مجدد} = T_a / T_t \times 100 \quad (۲)$$

T_a تعداد نهال‌های‌فعال و T_t نشانگر تعداد کل نهال‌های هر تیمار دمایی می‌باشد، با این تفاوت که دوره زمانی طولانی‌تری برای رشد مجدد در نظر گرفته شد و به‌جای شاخه کل نهال جایگزین شد. همچنین به‌دلیل محدودیت فضای آزمایشگاهی نمونه‌ها بعد از تیمار دمایی کم‌کم به فضای باز منتقل شدند [۱۲].

۳. نتایج و بحث

۳.۱. پرولین

تجزیه واریانس اثر سطوح مختلف دمایی و نوع اندام گیاهی بر محتوی پرولین نشان داد دما و نوع اندام گیاهی (برگ و ساقه) و همچنین اثر متقابل نوع اندام گیاهی در سطح پنج درصد تأثیرگذار بوده است (جدول ۱).در سرو بادبزنی کمترین میزان پرولین در شرایط شاهد مشاهده شد و تا دمای ۳۰- درجه سانتی‌گراد تقریباً تفاوت معنی‌داری بین دماهای مختلف مشاهده نشد. اما در تیمارهای دمایی ۳۵- و ٤۰- درجه سانتی‌گراد افزایشی در میزان پرولین مشاهده شد. مقدار پرولین از ابتدا (شاهد) در سرو نقره‌ای بسیار کمتر از میزان پرولین سرو بادبزنی بود، که این میزان پرولین با اولین تیمار سرمایی ایجادشده (۱۰- درجه سانتی‌گراد) به دو برابر اولیه افزایش یافت این افزایش تقریباً تا دمای ٤۰- درجه سانتی‌گراد ثابت بود و بین تیمارهای دمایی اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد مشاهده نشد (جدول ۲). به‌نظر می‌رسد سرو نقره‌ای با افزایش اسیدآمینه پرولین، سعی در حفظ پتانسیل‌آب بافت‌هایش دارد و در یک مقایسه می‌توان چنین گفت که نسبت به تنش سرما حساس‌تر باشد. اما، گونه سرو بادبزنی حد بالایی از میزان اسیدآمینه را دارا می‌باشد و به‌نظر می‌رسد می‌تواند مقاوم‌تر از سرو نقره‌ای باشد. این نتایج با مطالعه روی ارقام پسته مطابقت دارد: ارقام اکبری و احمدآقایی تحت تنش سرما با افزایش اسید آمینه پرولین، سعی در حفظ پتانسیل آب بافت خود نمودند و در یک مقایسه می‌توان چنین گفت که نسبت به تنش سرما حساس‌تر باشند، ولی رقم کله‌قوچی و اوحدی نسبت کمتری از این اسیدآمینه را دارا هستند و احتمالاً به سرما حساس‌تر باشند. میزان پرولین آزاد در بسیاری از گیاهان در عکس‌العمل به تنش‌های محیطی مانند تنش سرما و خشکی به مقدار زیادی افزایش می‌یابد و باعث تثبیت غشا در هنگام تنش سرما می‌شود [۸]. می‌توان چنین گفت که پرولین در تیمارهای دمایی ۳۵- و ٤۰- درجه سانتی‌گراد در سرو بادبزنی افزایش معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد داشته است که ممکن است به‌خاطر تبدیل پرولین از فاز ذخیره‌ای به فرم غیرذخیره‌ای و نیز فرم‌های دیگر به‌خصوص فرم قابل‌مصرف گیاه باشد (جدول ۲). غلظت قند و پرولین طی مقاوم شدن به سرما افزایش می‌یابد، در حالی‌که غلظت نشاسته کاهش می‌یابد [۱۸]. این نتایج با یافته‌های این پژوهش مطابقت دارد که مقادیر اسیدآمینه پرولین در طول تیمارهای دمایی افزایش یافت و از طرفی این اسیدآمینه در گونه بادبزنی بسیار بیشتر از سرو نقره‌ای بود.

۳.۲. کربوهیدرات محلول

دما و همچنین اثر متقابل دما و نوع اندام گیاهی بر کربوهیدرات محلول تأثیری نشان نداد. اما نوع اندام گیاهی در سطح پنج درصد تأثیر معنی‌داری داشت (جدول۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که مقادیر

Archive of SID
www.SID.ir

کربوهیدرات محلول در سرو بادبزنی با کاهش دما افزایش یافت. اما، این افزایش در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار نبود. در سرو نقره‌ای با اولین تیمار دمایی (۱۰- درجه سانتی‌گراد) کاهش ۵۰ درصدی در میزان کربوهیدرات محلول مشاهده شد. سرو نقره‌ای در ابتدا میزان کربوهیدرات بالایی داشت، ولی با بروز تنش و کاهش دما به۱۰- درجه سانتی‌گراد کربوهیدرات محلول را به مصرف رساند و به‌نظر می‌رسد میزان تنش وارده به آن بیشتر از سرو بادبزنی باشد (جدول ۳).

افزایش قند در طول دوره مقاوم شدن گیاه در فصل پاییز به‌عنوان یک مکانیسم دفاعی در برابر خسارت سرما پیشنهاد شده است. در طول این دوره گیاه با از دست دادن تدریجی آب، غلظت مواد را افزایش می‌دهد و به این ترتیب از طریق افزایش میزان قند، تشکیل یخ کاهش یافته و از آبگیری القاشده توسط یخ جلوگیری می‌شود [٦]. تغییرات تقریباً ثابت کربوهیدرات محلول در سرو بادبزنی حاکی از مقاومت بیشتر این گونه به سرما و انجماد باشد (جدول ۳). چرا که نمونه‌های سرو بادبزنی از ابتدا دارای کربوهیدرات بالایی بوده و به‌نظر می‌رسد به‌دلیل مقاوم بودن نسبت به دماهای پایین نیازی به افزایش غلظت و یا مصرف مواد محلول نداشته است. در همین راستا در مورد اثر سرما بر میزان قندهای محلول لیموآب شیراز نیز روند ویژه‌ای در مورد افزایش یا کاهش قندها با افزایش سرما دیده نشد [٤]. در شرایط شاهد با این که مقادیر کربوهیدرات در سرو بادبزنی تقریباً ۵۰ درصد کربوهیدرات سرو نقره‌ای بود، ولی این میزان کربوهیدرات تا دمای ۳۰- درجه سانتی‌گراد تقریباً ثابت باقی ماند. اما، سرو نقره‌ای به‌دلیل مصرف نمودن کربوهیدرات محلول در تیمارهای دمایی اعمال شده به‌نظر می‌رسد نمی‌تواند همانند سرو بادبزنی تحمل بیشتری به انجماد داشته باشد.

جدول ۱. تجزیه واریانس محتوی پرولین و کربوهیدرات محلول در اندام های مختلف سرو نقره‌ای

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		پرولین	کربوهیدرات محلول
دما	۷	۱۸۸/۰۱۹*	۳۳۲۷/۵٤۷ns
اندام	۱	۱۳۵٤۸/۰۵۸*	۲۹۳۹۸۰/۸٤۰*
دما × اندام	۷	۱۸٦/٤٤٦*	۲۲٦٤/۸٤۱ns
خطا	٤۸	٦۹/۸٦۹	۳۰۱۸/۸۵٦

* و ns: به‌ترتیب معنی‌دار در سطح پنج درصد و غیر معنی‌دار هستند.

جدول ۲. مقایسه میانگین تغییرات پرولین (میکرومول بر گرم وزن‌تربرگ) برگ در سروبادبزنی و نقره‌ای

نوع درخت	شاهد	دما (درجه سانتی‌گراد)						
		-۱۰	-۱۵	-۲۰	-۲۵	-۳۰	-۳۵	-٤۰
بادبزنی	۹۳/۷a	۹۵/۳ab	۱۰۹/٤ab	۹۱/۷a	۱۲۱/۹b	۱۰۵/۵ab	۲۲٤/۳d	۱۸٦/۷c
نقره‌ای	۱۳/٦a	۲۵/۲ab	۳۱/۱abc	٤٦/۲c	۳۰/۳abc	۳۹/۳bc	۳۲/٤abc	۳٤/۱bc

در هر ردیف میانگین‌هایی که حروف مشترک دارند، در سطح پنج درصد آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۳. مقایسه میانگین تغییرات کربوهیدرات محلول (میلی‌گرم در هر گرم وزن تر برگ) برگ در سروبادبزنی و نقره‌ای

نوع درخت	شاهد	دما (درجه سانتی‌گراد)						
		-۱۰	-۱۵	-۲۰	-۲۵	-۳۰	-۳۵	-۴۰
بادبزنی	۲۰۵/۸a	۲۱۹/۳a	۲۰۲/٤a	۲۲٤/٤a	۲۳۵/۸a	۲۳۰/۹a	۲۲۹/۰a	۲۲۵/۲a
نقره‌ای	٥۳٦/۷b	۲٥٤/۱a	۲۳۲/۰a	۲۹۳/۷a	۲٦۱/٤a	۳۰۱/۸a	۲۳۷/۱a	۲٦۳/۷a

* در هر ردیف میانگین‌هایی که حروف مشترک دارند، در سطح پنج درصد آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

یکی از راه‌های مقاومت به یخزدگی، افزایش مواد محلول در سلول، به‌ویژه در شیره واکوئلی است. بنابراین، بین مقدار مواد محلول و تحمل به یخزدگی ارتباطی وجود دارد [۳۵]. با این حال بر اساس نتایج این پژوهش بین کربوهیدرات محلول و نشت یونی نمونه‌های سرو بادبزنی همبستگی معنی‌داری وجود نداشت. در سرو نقره‌ای نیز همبستگی منفی معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد مشاهده شد. این نتایج احتمالاً به این دلیل است که علاوه بر غلظت متابولیت‌های محلول درون‌سلولی، عوامل متعدد دیگری نیز در این امر دخالت دارند [٤٥].

۳.۳. نشت‌یونی

دما و نوع اندام گیاهی (برگ، ساقه و ریشه) و اثر متقابل این دو فاکتور در سطح احتمال پنج درصد تأثیر معنی‌داری بر نشت یونی نسبی داشته است (جدول ٤). نتایج نشان داد با کاهش دما تا ۱۰- درجه سانتی‌گراد درصد نشت‌یونی در سرو بادبزنی در مقایسه با شاهد افزایش یافت ولی تغییری در درصد نشت یونی سرو نقره‌ای مشاهده نشد. به‌گونه‌ای که بیشترین میانگین نشت یونی در سرو بادبزنی دمای ۲۵- درجه سانتی‌گراد با ۷۷/۳ درصد و در سرو نقره‌ای در دمای ۳۰- درجه سانتی‌گراد با ۹۹ درصد مشاهده شد. از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری در میزان نشت یونی بین تیمارهای ۱۰- تا ۲۰- درجه سانتی‌گراد در سروبادبزنی و ۱۵- تا ۲۵- درجه سانتی‌گراد در سرو نقره‌ای در سطح احتمال پنج درصد مشاهده نشد (جدول ۵). در سرو نقره‌ای نیز نتایج نشان داد که با کاهش دما نشت یونی افزایش یافت، به‌گونه‌ای‌که پس از اعمال تیمار دمایی ۱۵- درجه سانتی‌گراد میزان نشت یونی به‌شدت افزایش یافت. بیشترین مقدار نشت یونی در دمای ۳۰- درجه سانتی‌گراد با ۹۹ درصد مشاهده شد. بین تیمارهای ۱۵- تا ٤۰- درجه سانتی‌گراد تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد مشاهده نشد (جدول ۵). بیشترین میانگین نشت یونی در سرو نقره‌ای مشاهده شد که، به‌نظر می‌رسد حساسیت بیشتری نسبت به سرو بادبزنی دارد (جدول ۵). غشای سلولی اولین مکان خسارت در اثر سرما است و این امر منجر به تغییر وضعیت غشا از حالت کریستال مایع به حالت جامد-ژل می‌شود و به‌دنبال آن فعالیت غشا مختل می‌گردد. بنابراین، اختلال در فعالیت غشاهای سلولی در اثر تنش سرما، سبب نشت یونی از سلول شده و اندازه‌گیری میزان نشت از بافت‌های تحت تنش می‌تواند معیار قابل قبولی برای سنجش مقاومت به تنش‌سرما باشد [۲۳]. در مطالعه روی اثر تنش یخزدگی بر گیاه مینای چمنی گزارش شده است که با کاهش دما درصد نشت یونی به طور معنی‌داری افزایش یافت. به‌طوری‌که در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد به حداکثر رسید [۱۷]. با کاهش دما درصد نشت یونی در بنفشه زینتی نیز به‌طور معنی‌داری افزایش یافت به‌طوری‌که در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد به حداکثر رسید [۱٤]. آزمون نشت یونی برای طبقه‌بندی چندین

www.SID.ir
Archive of SID

گونه متفاوت از بلوط نیز استفاده شد [۳٦]. در چندین گونه از چمن دماهای یخزدگی روی نشت یونی بافت برگ بیشتر از بافت طوقه تأثیرگذار بوده است و بیشترین میزان نشت یونی بافت برگ در دمای ۱٦/۵- درجه سانتی‌گراد، ۹۰ درصد بود درحالی‌که در بافت طوقه در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد، ۷٦ درصد بود [۱۰]. در مطالعه فیزیولوژی و مولکولی تحمل به یخزدگی گونه‌ای سرو نشت یونی بافت برگ به‌ترتیب در ژنوتیپ‌های مختلف متفاوت گزارش شد [۳۷]. معنی‌دار بودن اختلاف بین میانگین نشت یونی در نمونه‌های شاهد و تیمارهای دمایی به همین دلیل است. مقدار نشت یونی با شدت آسیب وارده بر سلول‌های گیاهی متناسب است. با این حال در چنین شرایطی سلول‌های مرده تمام محتوی خود را تخلیه می‌کنند. اگر تراکم سلول‌های آسیب‌دیده، در بافت‌های مورد آزمایش در پاسخ به تنش یخزدگی تغییر کند، یعنی برخی از سلول‌ها از بین بروند و برخی دیگر زنده بمانند، در نتیجه، مقدار نشت یونی نیز متناسب با تعداد این سلول‌ها تغییر خواهد کرد. بنابراین، نتایج حاصل از این روش می‌تواند به نوع بافت، شدت تنش یخزدگی، جنس و گونه گیاه بستگی داشته باشد [۲۱ و ۳٤]. به‌طورکلی، گونه‌های سرو بادبزنی و نقره‌ای از گیاهانی هستند که میزان نشت یونی برگ‌هایشان در پاسخ به تنش انجماد افزایش یافت.

۳.٤. رشد مجدد

نتایج مقایسه رشد مجدد نشان داد با کاهش دما، کاهش معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد در بین هر دو گونه مشاهده شد. به‌طوری‌که در دماهای ۳۰- و ۲۰- به‌ترتیب در سرو بادبزنی و نقره‌ای هیچ‌گونه رشدی مشاهده نشد (جدول ٦). روش تعیین بقا و رشد مجدد نمونه‌های پس از اعمال انجماد هرچند در زمان طولانی‌تری نسبت به سایر روش‌ها انجام می‌گردد، ولی به‌صورتی‌که در جدول ٦ نشان داده شده است به‌درستی می‌توان با استفاده از این روش، آستانه دمایی مربوط به نابودی کامل نمونه‌ها در اثر تیمارهای انجماد را مشخص نمود. در بررسی پاسخ‌های فیزیوشیمیایی شش رقم انار خراسان رضوی در تنش یخزدگی گزارش کردند [۱۲] در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد هیچ‌گونه رشد مجددی در ارقام شیرین پوست قرمز، پوست سفید و شهوار مشاهده نشد. درحالی‌که ارقام ترش ملس، شلغمی و شیشه کپ در این دما به‌ترتیب و به صورت میانگین ۲۵، ۳۲ و ٦۲٪ رشد مجدد داشتند. عدم رشد و مرگ کامل در نژادگان‌های ترش ملس و شلغمی در دمای ۲۲- و در نژادگان شیشه کپ در دمای ۲٤- درجه سانتی‌گراد اتفاق افتاد. کاهش رشدمجدد با کاهش دما که با یافته‌های این مطالعه نیز مطابقت دارد. در بررسی دمای یخزدگی روی گیاه زینتی گل داوودی (*Chrysanthemum morifolium* L.) مشاهده شد با کاهش دما از صفر به ۱۲- درجه سانتی‌گراد مرگ‌ومیر گیاهان افزایش یافت، به‌طوری‌که در دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد اغلب گیاهان از بین رفته و قادر به رشد مجدد نبودند [۳۲]. در یافته‌های این بررسی نیز با کاهش دما به ۳۰- و ۲۰- درجه سانتی‌گراد به‌ترتیب از سرو بادبزنی و نقره‌ای هیچ‌گونه رشدی مشاهده نشد.

جدول ٤. تجزیه واریانس سطوح مختلف دمایی و نوع اندام گیاهی بر درصد نشت یونی سرو بادبزنی

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات
دما	۷	۹۵۵/۵۷۰*
نوع اندام گیاهی	۲	۵٤۳۵/۳٤٦*
دما × نوع اندام گیاهی	۱٤	٤۸۲/۵۵۱*
خطا	۷۲	۱٦٤/۷۱٤

*: معنی‌دار در سطح پنج درصد است.

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۵. مقایسه میانگین تغییرات نشت یونی نسبی برگ (درصد) در سرو بادبزنی و نقره‌ای تحت شرایط شاهد و دماهای یخزدگی

نوع درخت	شاهد	دما (درجه سانتی‌گراد)						
		−۱۰	−۱۵	−۲۰	−۲۵	−۳۰	−۳۵	−۴۰
بادبزنی	۳۵/۹a	۵٤/٦b	٦٥/٤bcd	٦٦/۸bcd	۷۷/۳d	۷۰/٤bcd	۷۳/۱cd	۵۹/۰bc
نقره‌ای	۲٤/۸a	۳۸/۰a	۷۲/۳b	۸۱/۵b	۸۷/۲bc	۹۹/۰c	۸٤/۱bc	۸۸/۹bc

در هر ردیف میانگین‌هایی که حروف مشترک دارند، در سطح پنج درصد آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

جدول ٦. مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف دمایی بر رشد مجدد (درصد) در سرو بادبزنی و نقره‌ای

نوع درخت	شاهد	دما (درجه سانتی‌گراد)						
		−۱۰	−۱۵	−۲۰	−۲۵	−۳۰	−۳۵	−۴۰
بادبزنی	۱۰۰a	۱۰۰a	۱۰۰a	۲۵b	۱۲/۵bc	۰c	۰[c]	۰c
نقره‌ای	۱۰۰a	۱۲/۵b	٦/۲۵bc	۰c	۰c	۰c	۰c	۰c

* در هر ردیف میانگین‌هایی که حروف مشترک دارند، در سطح پنج درصد آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

همبستگی صفات مورد بررسی

همبستگی منفی معنی‌دار بین رشد مجدد و تیمارهای دمایی در هر دو گونه بادبزنی و نقره‌ای (۰/۸۹۵- و ۰/٦٤٦-) در سطح احتمال یک درصد مشاهده شد (جدول ۷). این نتایج نشان می‌دهد با کاهش دما رشد مجدد کاهش یافت تا جایی‌که در دمای ۳۰- و ۲۰- درجه سانتی‌گراد به‌ترتیب در سرو بادبزنی و نقره‌ای هیچ‌گونه رشدی مشاهده نشد (جدول ٦) در پژوهش روی دانهال‌های نوئل دریافتند که بین میزان نشت یونی و درصد بقای درختان همبستگی بالایی وجود دارد [۱۹] که با نتایج این مطالعه مطابقت دارد. همبستگی مثبت معنی‌داری بین مقادیر پرولین و تیمارهای دمایی در هر دو گونه بادبزنی و نقره‌ای (۰/۷۳۷ و ۰/۳۷۸) در سطح احتمال یک درصد و پنج درصد مشاهده شد (جدول ۷). همان‌گونه‌که نتایج مقایسه میانگین تغییرات پرولین نشان داد با کاهش دما میزان پرولین در سرو بادبزنی افزایش یافت. اما، این افزایش در سرو نقره‌ای فقط در تیمارهای اولیه دمایی مشاهده شد. این نتایج با یافته‌های حاصل از بررسی تغییرات قندها، نشاسته، پرولین و آب میان‌بافتی ارقام زردآلو [۱۳] که گزارش شد با کاهش دما مقادیر پرولین افزایش یافت، مطابقت دارد. بین دما و درصد نشت یونی نسبی برگ نیز همبستگی مثبت معنی‌داری در هر دو گونه بادبزنی و نقره‌ای (۰/٤۹٦ و ۰/۷۷۹) در سطح احتمال یک درصد مشاهده شد که نشان می‌دهد با کاهش دما، میزان نشت یونی نسبی برگ افزایش یافته است. در مطالعه اثر تنش یخزدگی روی مینای‌چمنی [۱۷] نیز همبستگی بسیار معنی‌داری بین درصد بقای گیاهان و درصد نشت الکترولیت‌ها وجود داشت به‌طوری‌که با افزایش نشت الکترولیتی، درصد بقا کاهش معنی‌داری نشان داد (جدول ۷).

همبستگی منفی (۰/٤۲۳-) معنی‌دار مقادیر کربوهیدرات محلول با دما در سرو نقره‌ای در سطح احتمال پنج درصد نشان داد که، با افزایش سرما، مقادیر کربوهیدرات محلول کاهش یافت (جدول ۷). این نتایج با یافته‌های حاصل از بررسی ارقام مختلف پسته [۸] مطابقت دارد. در این بررسی پایین آمدن ناگهانی دما مقدار قند در رقم اکبری را به‌طور معنی‌داری نسبت به مرحله باز شدن گل‌ها کاهش داد.

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۷. ضرایب همبستگی پارامترهای مورد بررسی

		کاهش‌دما	نشت‌یونی	کربوهیدرات	پرولین
بادبزنی	کاهش‌دما	۱			
	نشت‌یونی	۰/٤۹٦**	۱		
	کربوهیدرات	۰/۱۸۱	۰/۲۸٤	۱	
	پرولین	۰/۷۳۷**	۰/۲۷٤	۰/۱۱٦	۱
	رشدمجدد	-۰/۸۹۵**	-۰/٤٦۰**	-۰/۲۲٤	-۰/۵۵۰**
نقره‌ای	کاهش‌دما	۱			
	نشت‌یونی	۰/۷۷۹**	۱		
	کربوهیدرات	-۰/٤۲۳*	-۰/۳۷۹*	۱	
	پرولین	۰/۳۷۸*	۰/۵۵۱**	-۰/۳۷۱*	۱
	رشدمجدد	-۰/٦٤٦**	-۰/۷۳٤**	۰/۷۷۳**	-۰/۵۱۱**

** و *: به‌ترتیب معنی‌دار در سطوح یک و پنج درصد.

٤. نتیجه‌گیری

اندازه‌گیری میزان رشد مجدد نمونه‌ها پس از اعمال تیمارهای دمایی به‌خوبی و به‌طور کاملاً عینی می‌تواند درصد بقای نمونه را مشخص نماید، ولی چنان که مشخص است، نیاز به زمان طولانی جهت ارزیابی میزان خسارت‌ها، نکته منفی در مورد این ویژگی محسوب می‌گردد. بنابراین به‌دلیل همبستگی بالای ویژگی یادشده با مقادیر نشت یونی و پرولین (در سطح احتمال یک درصد) می‌توان از این روش‌های سریع و جایگزین استفاده نمود. وجود همبستگی بالای نشت یونی با کاهش دما در هر دو گونه می‌تواند نشت یونی را شاخصی مناسب برای تعیین آستانه خسارت معرفی کند ضمن آن‌که این روش نسبت به روش‌های دیگر سریع‌تر و کم‌هزینه‌تر می‌باشد. همان‌گونه‌که نتایج نشان داد سرو نقره‌ای در ابتدا مقادیر بالایی کربوهیدرات داشته است و با شروع سرما، کربوهیدرات‌ها را به مصرف خود رسانده است. در نتیجه با رسیدن سرمای بیشتر و تداوم آن به‌نظر می‌رسد نسبت به سرو بادبزنی حساس‌تر باشد. از طرفی تجمع بیشتر اسیدآمینه پرولین در سرو بادبزنی حاکی از مقاومت بیشتر این گونه نسبت به سرو نقره‌ای است.

منابع

۱. احمدلو ف، طبری م، رحمانی ا و یوسف‌زاده ح (۱۳۸۸) اثر ترکیبات خاک بر رشد و راندمان نهال‌های سرونقره‌ای و زربین در نهالستان. علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی. ۱۳(٤۸): ٤۳۷-٤٤۷.

۲. امام م (۱۳۸۲) تکثیر درون‌شیشه‌ای درخت نوش (*Thuja orientalis* L.) از طریق سرشاخه‌های آن. تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران. ۱۱(۱): ۱-۱۵.

۳. باقری ع (۱۳۷۹) اصلاح حبوبات سرمادوست برای تحمل به تنش‌ها. وزارت کشاورزی. ٤٤٦ صفحه.

٤. باغبان‌ها م ر، فتوحی قزوینی ر، حاتم‌زاده ع و حیدری م (۱۳۸٦) اثر سالیسیلیک اسید بر تحمل تنش یخ‌زدگی دانهال‌های لیموآب شیراز. ۸ (۳): ۱۸۵-۱۹۸.

۵. پورعسگری ع م و پورلزرجانی (۱۳۸٤) راهنمای تولید نهال، درخت‌کاری و معرفی تعدادی از درختان و درختچه‌های جنگلی. مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور. ۱۳۸ صفحه.

Archive of SID

www.SID.ir

٦. جوانشاه ا (۱۳۷۹) مطالعه گلدهی پسته و روش‌هایی برای به تأخیراندازی آن به‌منظور جلوگیری از سرمازدگی بهاره. دانشگاه تربیت مدرس. تهران. رساله دکتری. ١٦٧ صفحه.

۷. حسینی س م، علی‌عرب ع ر، اکبری نیا م، جلالی س غ، طبری م، علمی م ر و رسولی اکردی ی د (۱۳۸۵) اثر تیمارهای مختلف شدت نور بر رشد ارتفاعی، شادابی و زنده‌مانی نهال‌های سرو نقره‌ای در نهالستان. پژوهش و سازندگی. ۷۲: ۲۵-۳۱.

۸. داوری نژاد غ ح، منصوری ده شعیبی ر، حکم‌آبادی ح و تهرانی‌فر ع (۱۳۹۰) ارزیابی تغییرات پرولین، پروتئین کل و قندهای محلول در طی مراحل فنولوژی جوانه گل ارقام پسته. علوم باغبانی. ۲۵(۲): ۱۱۶-۱۲۱.

۹. رضایی ج، نظامی ا و علیزاده ب (۱۳۸۹) ارزیابی تحمل به تنش سرما در چند گونه علف چمنی با استفاده از آزمون نشت الکترولیت‌ها. آب و خاک. ۲٤(۵): ۱۰۱۹-۱۰۲٦.

۱۰. .زارع ح (۱۳۸۰) گونه‌های بومی و غیربومی سوزنی‌برگ ایران. انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع. ٤۹۸ صفحه.

۱۱. سلطانی ا (۱۳۷٦) طبقه‌بندی پارک‌ها و مناطق حفاظت‌شده ایران از نظر گونه‌های شاخص گیاهی و جانوری. پایان‌نامه کارشناسی ارشد دانشکده منابع طبیعی. دانشگاه تهران. ١٤٠ صفحه.

۱۲. سلاح‌ورزی ی، نظامی ا، داوری‌نژاد غ، تهرانی‌فر ع، و نعمتی ح (۱۳۸۹) بررسی پاسخ‌های فیزیوشیمیایی شش رقم انار خراسان رضوی در تنش یخ‌زدگی. مجله علوم و فنون باغبانی. ۳(۱۱): ۱۹۷-۲۰۸.

۱۳. عابدی ب، تفضلی ع ا، راحمی م، خلد برین ب، و گنجی مقدم ا (۱۳۸۹) تغییرات قندها، نشاسته، پرولین و آب‌میان‌بافتی در مواجه به سرما در برخی از ارقام زردآلو (*Prunus armeniaca* L.). مجله علوم باغبانی. ٤۱(٤): ۳۷۵-۳۸۲.

١٤. کیخا آخر م، نظامی ا، ایزدی ا، موسوی م ج، یوسف ثانی م و نظانی س (۱۳۸۸) اثر تنش سرما بر گیاه دارویی- زینتی بنفشه (*Viola gracilis*) در شرایط کنترل‌شده. همایش ملی تنش‌های محیطی در علوم کشاورزی (چکیده).

۱۵. میرمحمدی میبدی ع و اصفهانی س (۱۳۷۹) جنبه‌های فیزیولوژی و به‌نژادی تنش‌های سرما و یخ‌زدگی گیاهان زراعی. انتشارات گلبن اصفهان. ۳۳٦ صفحه.

١٦. نوری ش (١٣٧٤) بررسی سوزنی‌برگان در جنگل‌کاری‌های شمال کشور. دفتر جنگل‌کاری و پارک‌های سازمان جنگل‌ها و مراتع کشور. ۸٤ صفحه.

۱۷. نظامی ا، موسوی م ج، نظامی س، ایزدی دربندی ا، یوسف ثانی م، و کیخاآخر ف (۱۳۹۰) مطالعه اثرات تنش یخ‌زدگی بر گیاه مینای‌چمنی (*Bellis perennis*) در شرایط کنترل‌شده. نشریه آب و خاک. ۲(۲۵): ۳۸۰-۳۸۸.

18. Aaron J, Suzanne M, Volenec J and Zachary J (2007) Differences in freeze tolerance of Zoysiagrasses. II. Carbohydrate and proline accumulation. Crop Science. 47: 2170-2181.
19. Bigras FJ (1997) Root cold tolerance of black spruce seedlings: viability tests in relation to survival and regrowth. Tree Physiology. 17: 311-318.
20. Blum A (1988) Plant breeding for stress environments. CRC Press, Inc., Boca Raton, FL, 223 p.
21. Boorse GC (1998) Comparative methods of estimating freezing temperatures and freezing injury in leaves of chaparral shrubs. International Journal of Plant Sciences. 159: 513-521.
22. Bradford KJ and Hsiao TC (1982) Physiological response to moderate stress. *In*: Lange OL. Nobel PS. Osmond CB and Ziegler H (Eds.), Encyclopedia of plant physiology. Physiological plant ecology. New York. pp. 263-324.

Archive of SID
www.SID.ir

23. Cardona CA, Duncan RR and Lindstrom O (1997) Low temperature tolerance assessment in paspalm. Crop Science. 37: 1283-1291.
24. Chen YZ and Ane L (2005) The relationship between seasonal changes in anti oxidative system and freezing tolerance in the leaves in woody plants. Science Horticulture. 73: 272-279.
25. Eugenia M, Nunes S and Ray Smith G (2003) Electrolyte leakage assay capable of quantifying freezing resistance in rose clover. Crop Science. 43: 1349-1357.
26. Strimbeck GR, Kjellsen TD, Schaberg PG and Murakami PF (2007) Cold in common garden: comparative low-temperature tolerance of boreal and temperate conifer foliage. Trees. 21: 557-567.
27. Griesbach RJ and Berberich SM (1995) The early history of research on ornamental plants at the US. Department of agriculture from 1862 to 1940. HortScience. 30: 421-425.
28. Hare PD and Cress WA (2004) Implications of stress induced proline accumulation in plant. African Journal of Biotechnology. 9(7): 1008-1015.
29. Hidekazu S, Kazuo I and Masayuki O (1996) Changes in sugar content during cold acclimation and deacclimation of cabbage seedlings. Annals of Botany. 78: 365-369.
30. Hofgard IS, Vollsnes AV, Marum P, Larsen A and Tronsmo AM (2003) Variation in resistance to different winter stress factors within a full-sub family of perennial ryegrass. Euphytica. 134: 61-75.
31. Irigoyen JJ, Emerich D W and Sanchez-Diaz M (1992) Water stress induced changes in concentrations of prolin and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. Physiologia Plantarun. 84: 55-60.
32. Kim DC and Anderson NO (2006) Comparative analysis of laboratory freezing methods to establish cold tolerance of detached rhizomes and intact crowns in garden chrysanthemums (*Dendranthema X grandiflora* tzvelv). Scientia Horticulture. 109: 345-352.
33. Larcher W (2001) Okophysiologie de Pflanzen (Stuttgart: Eugen ulmer) ISBN-B978-382528074 p.302.
34. Levitt J (1980) Response of plants to environment stresses, chilling, freezing and high temperature stresses. I: Academic Press, New York, 365 p.
35. Linden L (2002) Measuring cold hardiness in woody plants. PhD. thesis. Helsinki Univ. Pub. 57 p.
36. Morin X, Ameglio T, Ahas R, Kurz-Besson C, Lanta V, Leburgeois F, Miglietta F and Chuine I (2007) Variation in cold hardiness and carbohydrate concentration from dormancy induction to bud burst among provenances of three European oak species. Tree Physiology. 27: 817-825.
37. Paolo B, Luca P, Ari M, Hietala and Nicola La P (2011) Cold tolerance in cypress (*Cupressus sempervirens* L.): a physiological and molecular study. Tree Genetics and Genomes. 7: 79-90.
38. Paquine R and Lechasseur P (1979) Observations sur une méthode de dosage de la proline libre dans les extraits de plantes. Canadian Journal of Botany. 57: 1851-1854.
39. Sakai A and Yoshida S (1968) The role of sugar and related compounds in variations of freezing resistance. Cryobiology. 5:160-174.
40. Seppanen MM (2000) Characterize of freezing tolerance in *Solanum commersonii* (dun.) with special reference of the relationship between and oxidative stress. University of Helsinki, Department of production, section of crop Husbandry. 56: 4-44.
41. Still S, Disabato A and Brenneman G (1988) Cold hardiness of herbaceous perennials. Proceeding International Plant Propagation Society. 37: 386-392.
42. Vines RA (1960) Trees, Shrubs and woody vines of the southnest. Austin. University of texas Press. 1104 p.
43. Warmund RM, Guinan P and Fernandez G (2008) Temperatures and cold damage to small fruit crops across the eastern associated with the aprill 2007 freeze. Horticultural Science. 43: 1643-1647.
44. Xavier M and Ameglio T (2007) Variation in cold hardiness and carbohydrate concentration from dormancy induction to bud burst among provenance of three European Oak Species. Tree Physiology. 27: 817-825.
45. Yamada T, Kuroda K, Jitsuyama Y, Takezawa K, Arakawa K and Fujikawa S (2002) Roles of the plasma membrane and the cell wall in the responses of plant cells to freezing. Planta. 215: 770-778.
46. Yelonsky G (1979) Accumulation of free proline in citrus leaves during cold hardening of young tree in controlled temperature regimes. Plant Physiology. 64: 425-427.
47. Zimmerman EM, Jull LG and Shirazi AM (2005) Effects of Salinity and freezing on *Acer platanoides*, *Tilia cordata*, and *Viburnum lantana*. Search Results The Journal of Environmental Horticulture. 23(3): 138-144.

Archive of SID
www.SID.ir

Crops Improvement
(Journal of Agricultural Crops Production)
Vol. 20 ■ No. 2 ■ Summer 2018

Evaluation of freezing tolerance of Thuja (*Thuja orientalis* L.) and Arizona Cypress (*Cupressus arizonica* L.) under controlled conditions

Hamideh Igdari[1*], Ebrahim Ganji moghaddam[2], Ahmad Asgharzadeh[3]

1. Former M.Sc. Student, Department of Horticulture, Islamic Azad University, Shirvan Branch, Shirvan, North Khorasan, Iran.
2. Associate Professor, Department of Crop and Horticultural Science Research, Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Mashhad, Iran.
3. Assistant Professor, Department of Horticulture, Islamic Azad University, Shirvan Branch, Shirvan, North Khorasan, Iran.

Received: February 27, 2014 Accepted: April 9, 2016

Abstract

Arizona Cypress *(Cupressus arizonica* L.) and Thuja *(Thuja orientalis* L.) are very important evergreen and mainly used as ornamental trees. This study was carried out in two independent experiments with the main purpose of evaluating of freezing tolerance of Arizona Cypress and Thuja with eight levels of temperatures (control, -10, -15, -20, -25, -30, -35, -40 ℃) in a completely randomized design. Proline, electrolyte leakages, soluble carbohydrate and re-growth were measured. Results showed that proline and electrolyte leakages were increased in both species. Re-growth percentage decreased dramaticaly in both species with decreasing the temperature so that any re-growth was observed for Thuja and Arizona Cypress in the -30 and -20℃, respectively. Interactions between soluble carbohydrate and temperature were not significant for Thuja but decreased significantly in Arizona Cypress. There was a negative significant correlation between re-growth, in Thuja (-0.895) and Arizona Cypress (-0.646) with temperature. According to the results, Arizona Cypress was more susceptible to freezing compared to Thuja.

Keywords: Correlation, electrolyte leakage, proline, re-growth, soluble carbohydrate.

Corresponding author: igdarih@yahoo.com

www.SID.ir