Archive of SID

پاسخ‌های فیزیو-بیوشیمیایی پایه‌ها و دورگ‌های بین‌گونه‌ای جنس پسته (*Pistacia vera* L.) به سرما

حسین سجادیان[۱]، منصوره شمیلی[*۲]، حسین حکم‌آبادی[۳]، علی تاج‌آبادی‌پور[۴]، حجت هاشمی‌نسب[۴]

تاریخ ارسال: ۱۳۹۸/۰۲/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۴/۲۲

چکیده

سرما از جمله عوامل محیطی است که رشد و عملکرد محصولات کشاورزی را محدود می‌سازد. این پژوهش به منظور مطالعه سرما بر شاخص‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی پایه‌ها و دورگ‌های بین‌گونه‌ای جنس پسته و غربال کردن پایه‌های متحمل طراحی و اجرا گردید. فاکتورها شامل شش پایه (پایه بادامی ریز زرند، قزوینی، سرخس، دورگ-های بین گونه‌ای اینتگریما × بادامی ریز زرند، اینتگریما × قزوینی و اینتگریما × سرخس) و چهار رژیم دمائی (۴، ۰، ۲- و ۴- درجه سانتی‌گراد) و سه تکرار بود. دانهال‌ها جهت سرمادهی در مرحله ۶ تا ۸ برگی به مدت ۲ ساعت در دماهای ذکر شده قرار گرفتند. با توجه به نتایج کمترین محتوای پروتئین و بیشترین میزان نشت یونی، مالون‌دی-آلدهید، قندهای محلول، پرولین، فنل کل، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت پروتئاز در تیمار دمایی ۴- درجه سانتی-گراد بدست آمد. بیشترین محتوای قندهای محلول، پرولین، فنل کل، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و مقدار پروتئین کل در پایه‌های دورگ اینتگریما × قزوینی، قزوینی، دورگ اینتگریما × سرخس و سرخس مشاهده شد. به علاوه میزان بالای نشت یونی و مالون‌دی‌آلدهید در دورگ اینتگریما × بادامی ریز زرند شاخصی از شدت خسارت وارده بود. در مجموع، از میان پایه‌های مورد مطالعه، پایه‌های دورگ اینتگریما × قزوینی، قزوینی، دورگ اینتگریما × سرخس و سرخس به عنوان متحمل‌ترین و دورگ اینتگریما × بادامی ریز زرند به عنوان حساس‌ترین پایه به سرما تشخیص داده شدند.

واژگان کلیدی: ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، نشت یونی، مالون‌دی‌آلدهید، پرولین

[۱] - دانشجوی دکتری علوم باغبانی، دانشگاه هرمزگان

[۲]-دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه هرمزگان (*نویسنده مسئول: shamili@ut.ac.ir)

[۳]- استادیار مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان سمنان (شاهرود)، ایستگاه تحقیقات پسته دامغان

[۴] - استادیار پژوهشی، پژوهشکده پسته، موسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، رفسنجان، ایران

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

پسته از محصولات باغی با ارزش و صادراتی کشور است که در برخی سال‌ها دچار خسارت سرمازدگی بهاره می‌گردد (۱۱). از جمله رفتارهای فیزیولوژیک گیاهان در مواجهه با سرما می‌توان به اختلال تنفسی، تجزیه پروتئین‌ها و تغییر فعالیت‌های آنزیمی (۹ و ۶۰)، تغییر سیالیت غشاء، ساختار غشای سلولی و ترکیب لیپیدها اشاره کرد (۱۷، ۲۲ و ۴۹). عامل اصلی خسارت ناشی از تنش دمای پایین تجمع رادیکال‌های آزاد اکسیژن است. این گونه‌های مخرب اکسیژن باعث آغاز واکنش‌های تخریبی در غشای سلول و سایر اندامک‌ها می‌گردند (۲۷). سلول‌های گیاهی به منظور کاهش اثرات تخریبی رادیکال‌های آزاد اکسیژن، فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی خود را افزایش می‌دهد (۴۸). نشت یونی به عنوان شاخصی مناسب، ارزان و نسبتا سریع برای ارزیابی میزان خسارت سرما در گیاهان و یافتن ارقام متحمل به سرما به منظور بکارگیری در برنامه‌های به‌نژادی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۳۲). حکم‌آبادی و همکاران (۷) در پژوهشی تحمل به سرمای بهاره در سه رقم (شاهپسند، عباسعلی و خنجری) و چهار پایه (بادامی، سرخس، قزوینی و آتلانتیکا) پسته دامغان در سه مرحله رشدی (تورم جوانه گل، گلدهی و میوه‌های تازه تشکیل شده) از طریق مشخصه نشت‌یونی بررسی و گزارش گردید که نشت یونی می‌تواند به‌عنوان شاخصی مناسب در غربالگری ارقام و پایه‌های پسته مورد استفاده قرار گیرد. در بررسی افروشه و همکاران (۱۸) بر میزان نشت یونی چهار پایه پسته آتلانتیکا، بادامی‌زرند، سرخس و بنه تحت تنش سرما، پایه آتلانتیکا با بیشترین میزان نشت یونی، حساس‌ترین و بنه با کمترین میزان نشت یونی، مقاوم‌ترین پایه بود. تحمل به سرما با افزایش پرولین نیز رابطه مستقیمی داشته و این رابطه در بسیاری از گیاهان مانند زردآلو (۱۲) و انگور (۲۱) گزارش شده است. همچنین در شرایط تنش سرما در گونه‌های گیاهی مقاوم سنتز قندهای محلول، قندهای الکلی و ترکیبات نیتروژن‌دار با وزن کم افزایش می‌یابد (۴۲). قندها و پروتئین‌های محلول نه تنها به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های اسمزی، بلکه از طریق برهمکنش با لایه‌ی لیپیدی غشاء، در حفاظت از ساختار غشاء ایفای نقش می‌کنند (۴۳). افشاری و همکاران (۲۰) ضمن بررسی سه رقم تجاری پسته به سرما گزارش کردند که ارقام متحمل دارای بیشترین مقدار قندهای محلول و پرولین و ارقام حساس دارای مقادیر پایین‌تر بودند.

به دنبال کاهش محصول پسته کشور در اثر سرمازدگی، معرفی ارقام و پایه‌های متحمل یکی از راه حل‌های عملی، کارا و موثر در برنامه های تروج، توسعه، کشت و حمایت از این گیاه می‌باشد. لذا این پژوهش با هدف بررسی تحمل پایه‌های رایج پسته و دورگ‌های حاصل از آنها به سرما با کمک اندازه‌گیری برخی صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی انجام پذیرفت.

www.SID.ir

Archive of SID

مواد و روش‌ها

در این مطالعه به منظور بررسی تحمل به سرمای پایه‌ها و دورگ‌های بین گونه‌ای پسته، سه پایه اهلی (*Pistacia vera*) بادامی ریز زرند، قزوینی و سرخس به عنوان والد ماده و پایه اینتگریما (*P. integerrima*) به عنوان والد نر مورد استفاده قرار گرفت. سه پایه بادامی ریز زرند، قزوینی و سرخس (رقم وحشی گونه اهلی) از مهمترین پایه-های کشور جهت احداث باغ‌های پسته محسوب می‌شوند. به منظور تهیه بذور دورگ، تلاقی‌های مورد نظر در کلکسیون پژوهشکده پسته واقع در رفسنجان انجام گرفت. رفسنجان دارای آب و هوای نیمه کویری است. تابستان‌های گرم و زمستان‌های نسبتاً سردی دارد. میانگین بارش سالانه ۱۰۰ میلی‌متر است و ارتفاع آن از سطح دریا حدود ۱۴۶۹ متر می‌باشد. در اواسط اسفند ۱۳۹۵ ابتدا از هر والد ماده سه درخت و از هر درخت پنج شاخه که دارای چهار جوانه گل بود انتخاب گردید. چهار شاخه برای گرده‌افشانی کنترل شده و یک شاخه جهت گرده‌افشانی آزاد در نظر گرفته شد. سن درختان ۳۵ سال بود. قبل از باز شدن کامل خوشه‌های گل، بر روی شاخه‌ها الکل ۷۰٪ اسپری شد تا از احتمال وجود گرده‌های ناخواسته جلوگیری گردد. شاخه‌ها توسط کیسه‌های دو لایه ململ پوشانده شد (۱۳).

جمع‌آوری و آماده‌سازی دانه‌های گرده گونه اینتگریما به عنوان والد نر در اواخر اسفندماه سال ۱۳۹۵ از باغ شرکت کوهبنان در ارزوئیه بافت استان کرمان صورت پذیرفت. بهترین زمان جمع‌آوری گل‌ها جهت تهیه گرده نر پسته زمانی است که یک سوم از بساک‌های گل باز شده باشند و رنگ گل‌ها از قرمز به زرد متمایل شده‌اند. گل‌ها پس از جمع‌آوری بلافاصله در اتاق با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد روی کاغذ روزنامه قرار داده شدند. پس از ۲۴ ساعت بساک‌ها باز شده و گرده‌های آزاد شده گل‌ها با تکان دادن بر روی کاغذ منتقل شدند. سپس گرده‌ها از الک سوراخ ریز عبور داده شده و در ظروف شیشه‌ای ریخته شدند. تا زمان گرده افشانی ظروف گرده در فریزر و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردیدند. تست زنده بودن گرده در نیمه دوم فروردین ۱۳۹۶ انجام شد. به دلیل متفاوت بودن ارقام ماده عمل گرده‌افشانی از اواسط تا اواخر فروردین سال ۱۳۹۶ در مرحله اوج گل‌دهی (زمانی که قسمت اعظم گل‌های خوشه باز شده و به رنگ صورتی و کلاله‌های هر گل به رنگ سفید-شیری بود) در سه نوبت و یک روز در میان انجام گرفت. به منظور جلوگیری از آلودگی گل با دیگر گرده‌ها و همچنین به دلیل سهولت انجام کار، گرده‌ها توسط سرنگ ۵۰ سی-سی داخل کیسه عایق تزریق شد.

پس از گرده‌افشانی، در اردیبهشت‌ماه هنگامی که کلاله‌ی گل‌ها قهوه‌ای رنگ شد و میوه‌ها به اندازه دانه ارزنی رسیدند کیسه‌ها از روی شاخه‌ها برداشته شده و شاخه‌ها علامت‌گذاری شدند. در نیمه دوم شهریورماه برداشت میوه‌ها انجام گرفت.

www.SID.ir

Archive of SID

کشت بذور ارقام بادامی ریز زرند، اینتگریما × بادامی ریز زرند، قزوینی، اینتگریما × قزوینی، سرخس و اینتگریما × سرخس در نیمه دوم اسفندماه ۱۳۹۶ در گلخانه پژوهشکده پسته انجام شد. بذور ابتدا به‌مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر خیسانده شده و به منظور ضدعفونی به‌مدت ۱۰ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۵ درصد قرار داده شدند. سپس بذور با آب مقطر ۳ مرتبه شستشو شده و در نهایت به‌مدت ۱ ساعت در قارچ‌کش کاپتان قرار گرفتند. درهر گلدان نایلونی حاوی کوکوپیت و پرلیت (با نسبت حجمی ۷۰ به ۳۰) سه بذر کشت شد. پس از سبز شدن بذور در فروردین‌ماه محلول‌دهی با محلول غذایی هوگلند به حجم ۵۰ میلی‌لیتر به ازای هر گلدان هر ۳ روز یک‌بار انجام شد. در اواخر خردادماه پس از مرحله ۶ تا ۸ برگی شدن (سه ماهگی)، دانهال‌ها جهت سرمادهی در دماهای ۴ (شاهد)، ۰، ۲- و ۴- درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. بدین منظور دانهال‌ها با آب مقطر اسپری و سپس داخل انکوباتور قرار داده شدند. دمای انکوباتور در عرض ۵ ساعت از دمای محیط به ۴ درجه سانتی‌گراد رسید و سپس تیمارهای سرمایی به مدت دو ساعت بر آنها اعمال گردید. پس از اعمال هر تیمار دمایی صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی شامل نشت یونی، پرولین، قندهای محلول، مالون‌دی‌آلدهید، پروتئین، فنل کل، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و آنزیم پروتئاز اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری میزان نشت یونی

به‌منظور تعیین پایداری غشای سلولی در برگ، میزان نشت یونی با روش سایرام (۶۳) اندازه‌گیری گردید. بر اساس این روش ۰/۱ گرم برگ داخل ۱۰ میلی لیتر آب دو بار تقطیر شده قرار گرفت. بعد از آن نمونه به مدت ۳۰ دقیقه داخل آب ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و میزان هدایت الکتریکی (نشت ابتدایی) هر نمونه با استفاده ازدستگاه EC متر اندازه‌گیری شد. سپس نمونه به مدت ۱۵ دقیقه داخل حمام بن ماری با دمای ۱۰۰ درجه قرار داده شده و برای بار دوم میزان هدایت الکتریکی (نشت نهایی) اندازه‌گیری و درصد نشت یونی از رابطه ذیل محاسبه شد.

درصد نشت یونی = نشت ابتدایی/ نشت نهایی ×۱۰۰

اندازه‌گیری پرولین

برای استخراج پرولین، ۰/۵ گرم برگ تر را با استفاده از ۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد در هاون چینی سائیده و محلول حاصل را در لوله فالکون ریخته و عمل استخراج دو بار و هر بار با ۵ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد تکرار شد. مخلوط حاصل را به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ و پس از جداسازی فاز مایع از جامد، قسمت مایع برای استخراج پرولین مورد استفاده قرار گرفت. برای تعیین غلظت پرولین یک میلی‌لیتر عصاره الکلی

www.SID.ir

Archive of SID

فوق‌الذکر با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر رقیق شد و ۵ میلی‌لیتر معرف نین هیدرین (مخلوط ۱/۲۵ گرم نین هیدرین در ۳۰ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال و ۲۰ میلی‌لیتر اسید فسفریک ۶ مولار) به آن اضافه گردید و پس از افزودن ۵ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال به آن و هم زدن به مدت چند ثانیه با دست، محلول به مدت ۴۵ دقیقه در حمام آب گرم قرار گرفت. پس از خارج کردن نمونه‌ها از حمام آب گرم و خنک کردن آن‌ها، ۱۰ میلی‌لیتر بنزن به آن‌ها اضافه و با همزن مکانیکی مخلوط شدند تا پرولین وارد فاز بنزن شود. نمونه‌ها ۳۰ دقیقه به حال ساکن رها و میزان جذب با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۵ نانومتر قرائت گردید. منحنی استاندارد پرولین نیز با استفاده از ال- پرولین در غلظت‌های ۰، ۳۱/۲۵، ۶۲/۵، ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ (میلی‌گرم در لیتر) تهیه و ترسیم شد (۵۶).

اندازه‌گیری مقدار قندهای محلول

به‌منظور تعیین قندهای محلول برگ، ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره الکلی که قبلا برای پرولین تهیه شده بود با ۳ میلی‌لیتر آنترون تازه تهیه شده (۱۵۰ میلی‌گرم آنترون به‌علاوه ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۷۲ درصد) مخلوط کرده و محلول ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم قرار داده شد تا واکنش انجام و رنگی شود. سپس میزان جذب نوری محلول با اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۲۵ نانومتر قرائت و مقدار قندهای محلول محاسبه گردید. برای تهیه استاندارد قندها از گلوکز خالص در غلظت‌های ۰، ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰، ۱۰۰۰، ۱۲۵۰، ۱۵۰۰، ۱۷۵۰، ۲۰۰۰، ۲۲۵۰ و ۲۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر استفاده شد (۴۰).

سنجش مقدار مالون‌دی‌آلدهید

برای سنجش مقدار پراکسیداسیون لیپیدهای غشا، غلظت مالون‌دی‌آلدهید (MDA) که محصول اکسیداسیون اسیدهای‌چرب غیراشباع است، اندازه‌گیری گردید. برای اندازه‌گیری غلظت مالون‌دی‌آلدهید مقدار ۰/۲۵ گرم بافت تازه برگ را در ۵ میلی‌لیتر TCA (تری‌کلرو استیک اسید) ۰/۱ درصد داخل هاون چینی ساییده شد و به مدت ۱۰ دقیقه در ۵۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. بعد از آن ۱ میلی‌لیتر از عصاره رویی را با ۴ میلی‌لیتر از TCA ۲۰ درصد که حاوی TBA (تیوباربیتوریک اسید) ۰/۵ درصد می‌باشد، اضافه گردید. مخلوط مورد نظر در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۵ دقیقه درون حمام آب گرم حرارت داده شد. سپس بلافاصله در حمام آب سرد قرار گرفت و با دستگاه اسپکتروفتومتر میزان جذب نور در طول موج‌های ۴۵۰، ۵۳۲، ۶۰۰ نانومتر قرائت شد و مقدار مالون‌دی‌آلدهید از فرمول زیر محاسبه گردید (۷۰).

www.SID.ir

Archive of SID

MDA(mol/g FW) = x (OD 532-OD 660) –a(OD 450)

OD = عدد قرائت شده در طول موج مورد نظر

اندازه‌گیری مقدار پروتئین کل

برای اندازه‌گیری میزان مجموع پروتئین‌های محلول، ۰/۵ گرم از برگ تر را درون هاون چینی ریخته سپس مقدار ۶/۲۵ میلی‌لیتر بافر استخراج (Tris-HCl و pH=۷/۵) در چند مرحله به نمونه اضافه نموده و عمل سائیدن به مدت ۳۰ دقیقه ادامه یافت، سپس نمونه مذکور را درون فالکون ۱۵ میلی‌لیتری ریخته شد. به‌منظور استخراج بهتر پروتئین و حل شدن کامل نمونه در بافر، لوله های فالکون نمونه به مدت ۲۴ ساعت به حالت سکون در سردخانه نگهداری شدند. سپس نمونه‌ها در دمای ۴-۲ درجه سلسیوس و با دور ۱۶۰۰ دور در دقیقه به مدت ۴۰-۳۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. پس از سانتریفیوژ، مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر از فاز مایع شناور نمونه‌ها را برداشته و درون فالکون ۱۵ میلی‌لیتری ریخته و مقدار پنج میلی‌لیتر معرف برادفورد به آن افزوده و به‌سرعت ورتکس گردید. پس از ۲۵ دقیقه، با دستگاه اسپکتروفتومتر میزان جذب نوری محلول حاصل در طول موج ۵۹۵ نانومتر قرائت گردید. غلظت پروتئین با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه گردید (۲۸).

سنجش فعالیت آنزیم پروتئاز

جهت استخراج عصاره جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم ابتدا ۰/۵ گرم از بافت برگ در ۵ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی مولار (pH = ۷/۵) حاوی PVP یک درصد و EDTA یک میلی‌مولار روی یخ و در یک هاون چینی خوب ساییده شد. مخلوط حاصل بلافاصله به میکروتیوب‌های دو میلی‌لیتری منتقل و در دمای چهار درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. از محلول شفاف رویی برای سنجش فعالیت آنزیم استفاده شد. برای سنجش آنزیم پروتئاز دو میلی لیتر کازئین هیدرولیز شده یک درصد با pH = ۶ و ۰/۴ میلی لیتر عصاره آنزیمی به مدت یک ساعت در دمای ۴۵ درجه سانتیگراد بر روی صفحه حرارتی نگهداری و سپس برای توقف واکنش به آن ۰/۴ میلی‌لیتر تری کلرو استیک اسید ۴۰ درصد اضافه گردید و جذب در ۲۸۰ نانومتر ثبت شد. فعالیت ویژه آنزیم بر حسب میکرومول سوبسترای تبدیل شده در ثانیه در میلی‌گرم پروتئین کل محاسبه شد (۶).

www.SID.ir

Archive of SID

ارزیابی فنل کل

برای ارزیابی فنل کل ۰/۱ گرم از نمونه برگ در ۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد کوبیده، سپس مخلوط حاصل در لوله‌های آزمایش ریخته شد و به‌مدت ۴۸ ساعت در تاریکی نگه‌داری گردید. سپس ۱ میلی‌لیتر از محلول رویی برداشت و ۱ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد به آن اضافه گردید و با آب مقطر دوبار تقطیر به حجم ۵ میلی‌لیتر رسانده شد. به محلول فوق ۰/۵ میلی‌لیتر معرف فولین ۵۰ درصد و ۱ میلی‌لیتر کربنات‌کلسیم ۵ درصد اضافه گردید که منجر به ایجاد رنگ سیاه در نمونه‌ها شد. لوله‌ها به‌مدت ۱ ساعت در تاریکی نگه‌داری شدند. سپس توسط دستگاه اسپکتروفتومتر میزان جذب نور در طول‌موج ۷۲۵ نانومتر قرائت گردید (۴۱). استانداردهای ترکیبات فنلی با استفاده از اسید گالیک در غلظت‌های ۰، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر تهیه و اندازه‌گیری شد. سپس با استفاده از رسم منحنی استاندارد، مقدار ترکیبات فنلی برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تازه برگ محاسبه گردید.

ارزیابی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl)

سنجش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی از طریق خاصیت خنثی کنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH با استفاده از روش اسپکتروفتومتری تعیین شد (۲۹). برای این منظور ۳۰۰ میکرولیتر DPPH ۱ مولار با ۱۰۰ میکرولیتر نمونه رقیق شده مخلوط گردیده و با استفاده از متانول به حجم نهایی ۲ میلی‌لیتر رسانده شد. بعد از ۳۰ دقیقه تاریکی، جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت گردید. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی به صورت درصد مهارکننده‌گی رادیکال های آزاد DPPH با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد.

درصد مهار DPPH = (ADPPH -ASample/ADPPH)*100

ADPPH: جذب در عدم حضور نمونه DPPH، ASampl: جذب در حضور نمونهDPPH

این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی انجام گرفت. فاکتورها شامل شش پایه (پایه بادامی ریز زرند، قزوینی، سرخس، دورگ‌های بین گونه‌ای اینتگریما × بادامی ریز زرند، اینتگریما × قزوینی و اینتگریما × سرخس) و چهار رژیم دمائی (۴، ۰، ۲- و ۴- درجه سانتی‌گراد) در سه تکرار بود. تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد صورت پذیرفت. آنالیز همبستگی با استفاده از روش پیرسون و با نرم افزار SPSS انجام شد.

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج و بحث

نشت یونی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تنش سرما بر میزان نشت یونی تأثیر بسیار معنی‌داری داشته است (جدول ۱). مقایسه میانگین تیمارها حاکی از آن بود که بیشترین میزان نشت یونی در تیمار دمایی ۴- درجه سانتی‌گراد و کمترین مقدار آن در تیمار دمایی ۴ درجه سانتی‌گراد به دست آمد (جدول ۲). نتایج نشان داد اعمال تیمارهای مختلف سرما سبب افزایش میزان نشت یونی به ترتیب ۱۴/۵، ۲۷/۳ و ۶۱/۹ درصد در تیمارهای ۰، ۲- و ۴- درجه سانتی‌گراد نسبت به شاهد گردید. آزارلو و همکاران (۲۴) بیان داشتند که تنش دمای پایین باعث اختلال در فعالیت غشاء و نشت الکترولیت‌های داخل سلول به خارج از آن می‌شود. یافته‌های حاصل از مطالعه بخت و همکاران (۲۵) و بارانکو و همکاران (۲۶) نشان داد که شدت آسیب وارده به سلول‌های گیاهی با مقدار نشت الکترولیت‌ها متناسب است. میزان نشت یونی بالا نشان دهنده عدم توانایی غشاء در حفظ ترکیبات درون سلولی، اختلال در فعالیت و انسجام غشاهای سلولی و خروج بیشتر الکترولیت‌ها از غشاء است (۳۵). در این پژوهش با کاهش دما میزان نشت یونی شدیداً افزایش یافت که با نتایج مطالعه ارشادی و طاهری (۱) در انگور که بیان داشتند کاهش دما منجر به افزایش میزان نشت الکترولیت می‌شود همسو است. این میزان نشت یونی در پایه‌های مختلف پسته معنی‌دار بود اما اثرات متقابل پایه و دما معنی‌دار نبود (جدول ۱). با مقایسه میانگین داده‌ها بیشترین میزان نشت یونی در پایه‌های دورگ اینتگریما × بادامی ریز زرند، بادامی ریز زرند و دورگ اینتگریما × سرخس به‌دست آمد و به مقدار کمتر به پایه‌های سرخس، دورگ اینتگریما × قزوینی و قزوینی اختصاص داشت (جدول ۳). پایه دورگ اینتگریما × بادامی ریز زرند دارای اختلاف معنی‌داری با پایه‌های سرخس، دورگ اینتگریما × قزوینی و قزوینی بود، اما با پایه بادامی ریز زرند و پایه دورگ اینتگریما × سرخس اختلاف معنی‌داری نشان نداد. در زیتون اندازه‌گیری نشت‌یونی روشی ساده، سریع و تکرارپذیر در انتخاب ژنوتیپ‌های متحمل به سرما می‌باشد (۲۴). حکم‌آبادی و همکاران (۷) اظهار داشتند میزان نشت یونی می‌تواند به‌عنوان شاخصی مناسب در غربالگری ارقام و پایه‌ها پسته مورد استفاده قرار گیرد. پژوهش بر میزان حساسیت گل‌های ۶۰ ژنوتیپ بادام نشان داد بین میزان خسارت حاصل از سرمازدگی و میزان نشت یونی ارتباط وجود دارد و ارقام مقاوم‌تر به تنش سرما دارای نشت یونی پایین‌تری بودند (۳۹). لو و همکاران (۴۷) بیان کردند پایه‌های انگور مقاوم به سرما میزان نشت یونی کمتری دارند. همچنین نتایج این آزمایش با نتایج بارانکو و همکاران (۲۶)، مشتاقی و همکاران (۵۳) و آزارلو و همکاران (۲۴) در زیتون و خرم و همکاران (۸) در چندین رقم بادام مطابقت داشت.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر تیمارهای تنش سرما بر روی برخی صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی پایه‌های مختلف پسته

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات							
		نشت یونی	پرولین	قندهای محلول	مالون‌دی-آلدهید	پروتئین کل	پروتئاز	فنل کل	ظرفیت آنتی اکسیدانی
پایه	۵	۲۱/۹۶۶۰۴*	۰/۰۰۲۵۸۴**	۰/۱۸۰۱۹۸*	۹۸۴۲۱/۶۴**	۲۱۳۱۹۹/۸*	۰/۰۰۰۰۰۰۸ ^{ns}	۴۷۲۷/۸۳۲*	۲۳۶/۲۹۱**
سرما	۳	۴۵۶/۲۱۹۴**	۰/۰۳۱۳۶۳**	۱/۸۸۱۶۲۹**	۱۳۷۷۷۰۱**	۱۵۸۴۲۲۷**	۰/۰۰۰۰۱۷۰۶**	۸۸۶۳۲/۵۲**	۲۱۷/۵۸۸۴**
پایه × سرما	۱۵	۱۰/۶۶۷۵۶ ^{ns}	۰/۰۰۰۹۸۲ ^{ns}	۰/۰۴۴۰۴۳ ^{ns}	۱۶۸۲۱/۶۶ ^{ns}	۱۲۷۵۹۰/۹ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۰۲۷ ^{ns}	۷۶۸/۵۳۳۸ ^{ns}	۷/۲۷۶۵۲۳ ^{ns}
خطا	۴۸	۷/۲۲۳۶۳۸	۰/۰۰۰۷۱۳	۰/۰۶۰۹۷۲	۱۹۳۹۴/۱۵	۷۵۸۶۸/۱۵	۰/۰۰۰۰۰۰۵۲۲	۱۸۵۲/۵۹۳	۹/۰۱۶۲۳۶
ضریب تغییرات		۱۱/۲۱۵۷۶	۱۳/۹۳۲۲۸	۱۸/۱۱۷۸۹	۱۸/۱۸۳۴۷	۱۸/۳۳۸۷۸	۱/۱۲۴۰۸۵	۲/۴۰۵۹۷۵	۴/۲۰۳۶۸۲

^{ns}، * و **: به ترتیب غیرمعنی دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد و یک درصد

جدول ۲- میانگین تأثیر تیمارهای تنش سرما بر روی برخی صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی

صفات / تیمار دمایی	نشت یونی (درصد)	پرولین (میکرو مول در گرم وزن تازه برگ)	قندهای محلول (میلی گرم در گرم وزن تازه برگ)	مالون‌دی-آلدهید (میکرو مول در گرم وزن تازه برگ)	پروتئین کل (میکرو گرم در گرم وزن تازه برگ)	پروتئاز (میکرو گرم در گرم وزن تازه برگ)	فنل کل (میکرو گرم در گرم وزن تازه برگ)	ظرفیت آنتی-اکسیدانی (درصد)
۴	۱۹/۰۳^{d}	۰/۱۴^{d}	۱/۱۱^{c}	۰/۵۳^{d}	۱۸۵۹/۳۸^{a}	۰/۰۶۳۳^{d}	۱۷۰۶/۶۷^{d}	۶۷/۵۸^{b}
۰	۲۱/۷۹^{c}	۰/۱۸^{c}	۱/۱۷^{c}	۰/۶۳^{c}	۱۶۱۰/۰۵^{b}	۰/۰۶۳۸^{c}	۱۷۶۴/۶۲^{c}	۶۹/۵۰^{b}
-۲	۲۴/۲۴^{b}	۰/۲۱^{b}	۱/۳۶^{b}	۰/۷۴^{b}	۱۳۵۹/۴۰^{c}	۰/۰۶۴۴^{b}	۱۸۱۲/۸۸^{b}	۷۳/۵۹^{a}
-۴	۳۰/۸۱^{a}	۰/۲۴^{a}	۱/۸۲^{a}	۱/۱۶^{a}	۱۱۷۹/۰۳^{c}	۰/۰۶۵۶^{a}	۱۸۷۱/۶۴^{a}	۷۵/۰۵^{a}

حروف مشابه نشان دهنده‌ی عدم اختلاف معنی‌دار در آزمون دانکن در سطح ۵ درصد است.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳- میانگین تأثیر برخی صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی بر روی پایه‌های مختلف پسته

صفات / پایه	نشت یونی (درصد)	پرولین (میکرو مول در گرم وزن تازه برگ)	قندهای محلول (میلی گرم در گرم وزن تازه برگ)	مالون‌دی-آلدهید (میکرو مول در گرم وزن تازه برگ)	پروتئین کل (میکرو گرم در گرم وزن تازه برگ)	فنل کل (میکرو گرم در گرم وزن تازه برگ)	ظرفیت آنتی-اکسیدانی (درصد)
BZ	۲۴/۴۹ ab	۰/۱۷۷ c	۱/۲۳ b	۰/۸۲۲ ab	۱۳۳۳/۲ c	۱۷۶۱/۶۴ c	۶۷/۸۴ c
BZI	۲۶/۲۵ a	۰/۱۸۱ c	۱/۲۶ b	۰/۹۰۵۲ a	۱۴۰۷/۸ bc	۱۷۷۳/۱۹ bc	۶۵/۶۴ c
GH	۲۲/۴۹ b	۰/۲۰۶ ab	۱/۴۶ ab	۰/۶۸۰ c	۱۶۳۰/۹ ab	۱۸۰۶/۰۳ ab	۷۷/۳۷ a
GHI	۲۲/۹۹ b	۰/۲۱۴ a	۱/۵۵ a	۰/۶۶۱ c	۱۶۷۳/۳ a	۱۸۱۴/۶۹ a	۷۵/۴۹ a
SA	۲۳/۲۸ b	۰/۱۸۴ bc	۱/۳۰ b	۰/۷۷۵ bc	۱۴۳۴/۲ abc	۱۷۸۵/۸۲ abc	۷۱/۲۷ b
SAI	۲۴/۲۵ ab	۰/۱۸۹ bc	۱/۳۸ ab	۰/۷۵۶ bc	۱۵۳۲/۵ abc	۱۷۹۲/۳۴ abc	۷۰/۹۵ b

حروف مشابه نشان دهنده‌ی عدم اختلاف معنی‌دار در آزمون دانکن در سطح ۵ درصد است.

بادامی ریز زرند (BZ)، اینتگریما × بادامی ریز زرند (BZI)، قزوینی (GH)، اینتگریما × قزوینی (GHI)، سرخس (SA)، اینتگریما × سرخس (SAI)

پرولین

غلظت پرولین تحت تنش دمای پایین افزایش داشت، به طوری که بیشترین مقدار این اسید آمینه در تیمار دمایی ۴- درجه سانتی‌گراد مشاهده شد (جدول ۲). در گیاهان تحت تنش‌های محیطی پرولین تجمع پیدا می‌کند (۵۹). افزایش سنتز پرولین در گیاهان تحت تنش سرما موجب استحکام غشا می‌شود (۳۶). همسو با نتایج بدست آمده، افشاری و همکاران (۴) نشان دادند در شرایط تنش سرمایی در دو رقم زردآلو، بیش‌ترین مقدار پرولین در دمای ۴- درجه سانتیگراد مشاهده گردید. در یک بررسی روی ارقام زیتون گزارش شد با افزایش تنش سرما مقدار پرولین افزایش پیدا کرد (۳۷). مقایسه میانگین‌ها نشان داد تفاوت معنی‌داری بین پایه‌ها از نظر میزان پرولین وجود داشت. بیشترین میزان پرولین در پایه دورگ اینتگریما × قزوینی و پایه قزوینی مشاهده شد. کمترین میزان پرولین در پایه‌های بادامی ریز زرند و دورگ اینتگریما × بادامی ریز زرند بود که اختلاف بین آن‌ها معنی‌دار نبود (جدول ۳). پایه دورگ اینتگریما × قزوینی دارای اختلاف معنی‌داری با پایه‌های دورگ اینتگریما × سرخس، سرخس، دورگ اینتگریما × بادامی ریز زرند و بادامی ریز زرند بوده و با پایه قزوینی اختلاف معنی‌داری نشان نداد. بررسی‌ها نشان داده است بالا بودن میزان پرولین از طریق خنثی کردن رادیکال‌های اکسیژن آزاد، تنظیم فشار اسمزی، کاهش پتانسیل آب و تثبیت ساختار پروتئین‌ها باعث افزایش مقاومت به سرما شده است (۶۵). منصوری ده‌شعیبی و همکاران (۱۵) بیان داشتند که

www.SID.ir

Archive of SID

مقاومت به سرمای ارقام اکبری و اوحدی متأثر از افزایش تجمع اسیدآمینه پرولین می‌باشد. ارتباط مثبت میان تجمع پرولین و ایجاد مقاومت به سرما در گیاهان مختلف از جمله هلو (۶۴)، زردآلو (۱۲) و انگور (۲۱) نیز به اثبات رسیده است. نتایج حاصل از همبستگی داده‌ها بیانگر وجود ارتباط مثبت و معنی‌داری بین میزان پرولین و نشت یونی برگ‌های در معرض تنش دمای پایین بود؛ به طوری که با افزایش خسارت تنش سرما به غشای سلولی، میزان پرولین به‌عنوان یک سازوکار افزایش تحمل به سرما نیز افزایش یافت (جدول ۴).

جدول ۴- ضریب همبستگی برخی صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در پایه‌ها و دورگ‌های بین گونه‌ای پسته تحت تنش سرما

صفات	نشت یونی	فنل کل	مالون‌دی‌آلدهید	پرولین	قندهای محلول	پروتئین کل	آنزیم پروتئاز	DPPH
نشت یونی	۱							
فنل کل	۰/۷۷۵**	۱						
مالون‌دی‌آلدهید	۰/۸۸۹**	۰/۷۵۰**	۱					
پرولین	۰/۶۷۹**	۰/۹۳۵**	۰/۶۸۶**	۱				
قندهای محلول	۰/۷۳۴**	۰/۸۸۴**	۰/۶۹۰**	۰/۸۲۶**	۱			
پروتئین کل	-۰/۷۸۳**	-۰/۶۲۰**	-۰/۷۶۰**	-۰/۵۵۲**	-۰/۵۰۷*	۱		
آنزیم پروتئاز	۰/۸۴۱**	۰/۹۱۰**	۰/۸۱۲**	۰/۸۶۷**	۰/۸۷۵**	-۰/۶۵۴**	۱	
DPPH	۰/۳۲۴	۰/۷۱۷**	۰/۲۳۶	۰/۷۲۲**	۰/۶۷۴**	-۰/۲۱۵	۰/۵۸۶**	۱

* و **: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد و یک درصد

قندهای محلول

تنش دمای پایین سبب افزایش معنی‌دار مقدار قندهای محلول شد (جدول ۱). همچنین بیشترین میزان قندهای محلول در دمای ۴- درجه سانتی‌گراد و کمترین میزان در تیمار دمایی ۴ و ۰ درجه سانتی‌گراد ثبت گردید. اما بین این دو دما تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۲). تنش سرما بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژی گیاه را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۵۱) و باعث ایجاد برخی مکانیسم‌های دفاعی در گیاه می‌گردد (۴۴). تجمع قندهای محلول پس از تنش سرما به عنوان یک مکانیسم دفاعی از گذشته به اثبات رسیده است (۴۵). همسو با نتایج این تحقیق، افشاری و همکاران (۴) نشان دادند که در دو رقم زردآلو تحت تنش سرمایی، بیش‌ترین مقدار قندهای محلول در دمای ۴- درجه سانتی‌گراد مشاهده گردید. از سوی دیگر در انگور ارشادی و طاهری (۱) گزارش کردند سرما سبب افزایش میزان کربوهیدرات‌های محلول شد. همچنین نتایج پژوهش حاضر با نتایج اسماعیلی‌زاده و همکاران (۲) در پسته رقم کله-قوچی، تاجور و همکاران (۵) در نارنگی سیترنج مطابقت داشت. بیشترین مقدار قندهای محلول (میلی گرم در گرم)

www.SID.ir

Archive of SID

مربوط به پایه‌های دورگ اینتگریما × قزوینی (۱/۵۵)، قزوینی (۱/۴۶) و دورگ اینتگریما × سرخس (۱/۳۸) بود و به مقدار کمتر در پایه‌های سرخس (۱/۳۰)، دورگ اینتگریما × بادامی ریز زرند (۱/۲۶) و بادامی ریز زرند (۱/۲۳) مشاهده گردید (جدول ۳). پایه دورگ اینتگریما × قزوینی دارای اختلاف معنی‌داری با پایه‌های سرخس، دورگ اینتگریما × بادامی ریز زرند و بادامی ریز زرند بوده و با پایه قزوینی و پایه دورگ اینتگریما × سرخس اختلاف معنی‌داری نشان نداد. با توجه به نتایج این پژوهش حساس بودن این پایه‌ها به سرما را می‌توان به علت کاهش میزان قندهای محلول توجیه نمود. زیرا افزایش در میزان قندهای محلول با افزایش مقاومت به تنش سرما در ارتباط است (۵۸). در بسیاری از گیاهان این ارتباط ثابت شده و از آن برای شناسایی ژنوتیپ‌های مقاوم در گلابی (۳۸)، بادام (۴۶) و انگور (۴۷) استفاده می‌گردد. قندها موجب افزایش پایداری پروتئین‌ها می‌گردند و از تخریب پروتئین‌ها با ایجاد پیوندهای هیدروژنی جلوگیری می‌کنند (۲۳). همچنین از جمله سازوکارهای عمده و مهم تجمع کربوهیدرات‌های محلول در شرایط سرما می‌توان به نقش این ترکیبات در ثبات سلول با حفظ غشاء سلولی از طریق تنظیم پتانسیل اسمزی درون سلول اشاره کرد (۶۱). گزارش‌های مشابهی در خصوص مقدار قندهای محلول در گیاهان تحت تنش دمای پایین ارائه شده که تأییدکننده نتایج آزمایش حاضر است. افشاری و همکاران (۲۰) در بررسی سه رقم پسته تحت تنش سرما نشان دادند مقاوم‌ترین رقم دارای بیشترین مقدار قندهای محلول و حساس‌ترین رقم دارای کمترین مقدار قندهای محلول بود. همچنین در بادام رقم موناقا بالاترین میزان کربوهیدرات‌ها تحت تنش یخزدگی در دمای ۶- درجه سانتی‌گراد، ثبت شده است (۱۹). در آزمایشی دیگر روی بادام تایید گردید که ژنوتیپ‌های مقاوم دارای میزان قندهای محلول بیش‌تری نسبت به ژنوتیپ‌های حساس هستند (۱۶). در بررسی آزمون همبستگی، رابطه‌ی مثبت و معنی‌داری بین مقدار پرولین و مقدار قندهای محلول مشاهده گردید. با افزایش پرولین مقدار قندهای محلول نیز افزایش یافت (جدول ۴).

مالون‌دی‌آلدهید

تأثیر کاهش دما بر مقدار مالون‌دی‌آلدهید معنی‌دار بود و بیشترین مقدار مالون‌دی‌آلدهید تولید شده در تیمار دمایی ۴- درجه سانتی‌گراد مشاهده گردید (جدول ۲). محصول تجزیه اسیدهای چرب غیر اشباع و هیدراکسیدها، مالون‌دی‌آلدهید است که به عنوان یک نشانگر مناسب برای پراکسید لیپیدی استفاده می‌شود (۵۰). مالون‌دی‌آلدهید مانند نشت یونی به عنوان یک شاخص آسیب غشایی برای اندازه‌گیری غیرمستقیم انسجام سلولی مورد توجه قرار گرفته است (۱۰). در برگ درخت انگور با افزایش مدت زمان سرما مقدار مالون‌دی‌آلدهید به طور قابل توجهی افزایش یافت (۶۹) که تأیید کننده نتایج تحقیق حاضر است. نتایج تفاوت معنی‌داری بین پایه‌های مختلف از نظر ظرفیت مقدار

www.SID.ir

Archive of SID

مالون‌دی‌آلدهید نشان داد، اما اثرات متقابل پایه و دما معنی‌دار نبود. بیشترین میزان مالون‌دی‌آلدهید در پایه دورگ اینتگریما × بادامی ریز زرند و پایه بادامی ریز زرند به‌دست آمد. کمترین میزان در پایه‌های سرخس، دورگ اینتگریما × سرخس، قزوینی و دورگ اینتگریما × قزوینی مشاهده شد و این پایه‌ها به سرما مقاومت بیشتری نشان دادند (جدول ۳). پایه دورگ اینتگریما × بادامی ریز زرند دارای اختلاف معنی‌داری با پایه‌های سرخس، دورگ اینتگریما × سرخس، قزوینی و دورگ اینتگریما × قزوینی بوده و با پایه دورگ اینتگریما × بادامی ریز زرند اختلاف معنی‌داری نشان نداد. لو و همکاران (۴۷) اظهار داشتند پایه‌های انگور مقاوم به سرما، میزان مالون‌دی‌آلدهید کمتری دارند. همچنین گزارش شده است که در نهال‌های پسته تحت تنش دمای پایین (۶- درجه سانتی‌گراد) میزان مالون‌دی‌آلدهید به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است کـــه همسو با نتایج پژوهش حاضر است (۵۴). در بررسی ضرایب همبستگی مشاهده گردید که بین مقدار مالون‌دی‌آلدهید و نشت یونی برگ‌های در معرض تنش سرما، رابطه‌ی مثبت و معنی‌داری وجود داشت. به طوری که با افزایش واحد نشت یونی میزان مالون‌دی‌آلدهید نیز افزایش پیدا کرد (جدول ۴).

پروتئین

در این آزمایش مقدار پروتئین کل تحت تأثیر معنی‌دار تیمار دماهای پایین قرار گرفت. نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌های به‌دست آمده در دماهای مختلف نشان داد که بیشترین مقدار پروتئین کل در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و کمترین مقدار در دماهای ۴- و ۲- درجه سانتی‌گراد ثبت گردید. البته بین این دو دما تفاوت معنی‌داری از نظر مقدار پروتئین کل مشاهده نگردید (جدول ۲). تحت تنش سرما مقدار پروتئین در نتیجه واکنش با رادیکال‌های آزاد، افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه کننده پروتئین، تغییر در سنتز پروتئین، اختلال در فرآیند رونویسی و ترجمه mRNA و تجمع پرولین کاهش می‌یابد (۶۷). تحت تنش سرما کاهش میزان پروتئین کل در انگور (۶۹) و شاه‌توت (۶۶) گزارش شده است که با نتایج آزمایش حاضر مطابقت دارد. بیشترین میزان پروتئین در پایه دورگ اینتگریما × قزوینی و بعد از آن در پایه‌های قزوینی، دورگ اینتگریما × سرخس، سرخس، دورگ اینتگریما × بادامی ریز زرند و بادامی ریز زرند مشاهده شد (جدول ۳). پایه دورگ اینتگریما × قزوینی دارای اختلاف معنی‌داری با پایه دورگ اینتگریما × بادامی ریز زرند و پایه بادامی ریز زرند بوده و با پایه‌های قزوینی، دورگ اینتگریما × سرخس و سرخس اختلاف معنی‌داری نشان نداد. افزایش میزان پروتئین کل بعد از اعمال تنش در پایه‌های متحمل می‌تواند مربوط به افزایش بیان ژن‌های دخیل در سنتز آنزیم‌های دفاعی باشد که باعث افزایش میزان پروتئین کل می‌گردد (۳۳ و ۶۸).

www.SID.ir

Archive of SID

افشار محمدیان و همکاران (۳) در پژوهشی روی دو رقم زیتون گزارش کردند که در رقم مقاوم به سرما میزان پروتئین کل نسبت به رقم حساس بیشتر بوده است. از سوی دیگر بررسی میزان مقاومت به سرما در شش رقم انگور نشان داد مقاوم‌ترین رقم به سرما دارای میزان پروتئین کل بالاتری بود (۱۴). سالاری سرخان و همکاران (۶۲) مشاهده کردند تحت تنش سرما میزان پروتئین‌ها در پایه‌های پسته مقاوم به سرما افزایش یافت. در تحقیق دیگری پسته رقم اکبری به علت میزان پروتئین بالا نسبت به سرمای بهاره مقاومت نشان داد (۱۵). بررسی روابط همبستگی نشان داد بین مقدار پروتئین و درصد نشت یونی برگ، همبستگی معنی‌داری وجود داشت و با افزایش نشت یونی میزان پروتئین کل کاهش یافت (جدول ۴).

آنزیم پروتئاز

همانطور که در جدول ۱ آورده شده است اثر تیمار دماهای پایین بر فعالیت آنزیم پروتئاز معنی‌دار بوده است. بیشترین فعالیت این آنزیم در دمای ۴- درجه سانتی‌گراد و کمترین فعالیت آن نیز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد مشاهده شد (جدول ۲). در گیاه تحت تنش، کاهش مقدار پروتئین می‌تواند به دلیل افزایش فعالیت پروتئازها باشد (۵۵). پروتئین‌ها به وسیله پروتئازها هیدرولیز شده تا آمینواسیدها را افزایش دهند. تنظیم اسمزی، محافظت از ماکرومولکول‌های سلولی، سمیت‌زدایی سلول‌ها و مهار رادیکال آزاد جزء اعمال پیشنهادی برای آمینواسیدهای آزاد شده از پروتئین تحت تنش می‌باشند (۵۷). طبق نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها اثرات پایه‌های مختلف پسته بر روی میزان فعالیت آنزیم پروتئاز معنی‌دار نشد، همچنین اثرات متقابل پایه و دما معنی‌دار نبود (جدول ۱). در بررسی آزمون همبستگی رابطه‌ی مثبت و معنی‌داری بین مقدار نشت یونی و فعالیت آنزیم پروتئاز مشاهده شد. این نتایج نشان داد که به ازای افزایش نشت یونی میزان فعالیت‌های آنزیمی افزایش داشته است (جدول ۴).

فنل

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) حاکی از تأثیر معنی‌دار تیمار دمای پایین بر میزان ترکیبات فنلی بود. بیشترین میزان ترکیبات فنلی در دمای ۴- درجه سانتی‌گراد و کمترین میزان آن در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد مشاهده شد (جدول ۲). نتایج مربوط به مقایسه میانگین پایه‌ها مورد مطالعه نشان داد که بیشترین میزان ترکیبات فنلی در پایه دورگ اینتگریما × قزوینی و بعد از آن در پایه‌های قزوینی، دورگ اینتگریما × سرخس، سرخس، دورگ اینتگریما × بادامی ریز زرند و بادامی ریز زرند مشاهده گردید (جدول ۳). پایه دورگ اینتگریما × قزوینی دارای اختلاف معنی‌داری

www.SID.ir

Archive of SID

با پایه دورگ اینتگریما × بادامی ریز زرند و پایه بادامی ریز زرند بوده و با پایه‌های قزوینی، دورگ اینتگریما × سرخس و سرخس اختلاف معنی‌داری نشان نداد. ترکیبات فنلی یکی از متابولیت‌های ثانویه هستند و در شرایط تنش نقش حیاتی در ایجاد مقاومت گیاه و اندام‌های آن دارند (۳۴). این ترکیبات به عنوان یکی از مهمترین ترکیبات آنتی-اکسیدانی، از طریق مکانیسم‌هایی مثل حذف رادیکال‌های آزاد و قطع کردن واکنش‌های زنجیره‌وار اکسیداسیون، اهدای هیدروژن، حذف اکسیژن یکتایی و یا قرار گرفتن به‌عنوان سوبسترای آنزیم‌های پراکسیداز عمل می‌کنند (۳۱). طبق نتایج بین مقدار فنل و درصد نشت یونی برگ دانهال‌های پسته همبستگی بسیار معنی‌داری مشاهده گردید و با افزایش نشت یونی میزان فنل افزایش یافت (جدول ۴).

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی

بر اساس نتایج این پژوهش، تأثیر تنش دمای پایین بر میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نیز معنی‌دار بود. بیشترین میزان در تیمار دمایی ۴- و ۲- درجه سانتی‌گراد مشاهده شد. البته بین این دو تیمار تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید. کمترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی به ترتیب مربوط به تیمار دمایی ۴ و ۰ درجه سانتی‌گراد بود اما بین این دو تیمار دمایی نیز تفاوت معنی‌داری از نظر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مشاهده نگردید (جدول ۲). نتایج نشان داد اعمال تیمارهای مختلف سرما سبب افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی به ترتیب ۲/۸۴، ۸/۸۹ و ۱۱/۰۵ درصد در تیمارهای ۰، ۲- و ۴- درجه سانتی‌گراد نسبت به شاهد گردید. در شرایط تنش دمای پایین برای خنثی کردن اثر سمی رادیکال‌های آزاد اکسیژن در محیط سلول نیاز به ترکیبات آنتی‌اکسیدانی است. سلول‌های گیاهی برای حل این معضل از دو سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی استفاده می‌کنند (۳۰ و ۵۲). بالا بودن اثرات آنتی‌اکسیدانی می تواند احتمالاً به دلیل افزایش مقدار فنل در دماهای ۴- و ۲- درجه سانتی‌گراد باشد. نتایج مربوط به مقایسه میانگین‌ها نشان داد تفاوت معنی‌داری بین پایه‌ها از نظر میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی وجود داشت اما اثرات متقابل پایه و دما معنی‌دار نبود. بیشترین میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در بین پایه‌ها مربوط به پایه‌های قزوینی و دورگ اینتگریما × قزوینی بود اما بین این دو پایه تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید. بعد از آن به ترتیب پایه‌های سرخس، دورگ اینتگریما × سرخس، بادامی ریز زرند و دورگ اینتگریما × بادامی ریز زرند قرار داشتند(جدول ۳). همچنین همبستگی مثبت بین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و فنل مشاهده شد (جدول ۴).

www.SID.ir

Archive of SID

نتیجه‌گیری کلی

در این پژوهش تنش سرما باعث تغییر در خصوصییات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی برگ دانهال‌های پسته گردید، به طوری که با کاهش دما مقدار نشت یونی که نشان دهنده میزان تخریب و آسیب به غشاء سلولی است افزایش یافت. همچنین میزان قندهای محلول، پرولین، مالون‌دی‌آلدهید، فنل کل، آنزیم پروتئاز و ظرفیت آنتی-اکسیدانی در شرایط تنش دمای پایین افزایش یافت. این در حالی بود که مقدار پروتئین‌های محلول روندی کاهش نشان داد. با ارزیابی شاخص‌های مورد مطالعه مشخص شد که به ترتیب پایه‌های دورگ اینتگریما × قزوینی، قزوینی، دورگ اینتگریما × سرخس و سرخس متحمل‌ترین پایه‌ها نسبت به سرما بودند و دارای میزان قندهای محلول، پروتئین کل، پرولین، فنل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بیشتر و میزان نشت یونی و مالون‌دی‌آلدهید کمتر بودند. این امر بیانگر خسارت وارده کمتر به غشاء و محتویات سلولی در پایه‌های متحمل در مقایسه با پایه‌های حساس است.

منابع

۱. ارشادی، ا. و س. طاهری. ۱۳۹۲. بررسی اثر اسید سالیسیلیک بر تحمل به‌یخبندان بهاره در انگور (*Vitis Vinifera*) رقم بی‌دانه سفید. مجله به‌زراعی کشاورزی، ۱۵ (۲)، ۱۳۵-۱۴۶.

۲. اسماعیلی‌زاده، م.، پور رجبی‌نژاد، م. ح.، کریمی، ح. ر. و ع. ا. محمدی. ۱۳۹۲. اثر کاربرد بنزیل‌آدنین و حذف آبیاری زمستان بر ویژگی‌های درخت و میوه‌ی پسته کله‌قوچی. مجله به‌زراعی کشاورزی، ۱۵ (۳)، ۱۷۱-۱۸۶.

۳. افشار محمدیان، م.، رضایی، ش. و م. رمضانی ملک‌رودی. ۱۳۹۱. بررسی مقاومت دو رقم زیتون به تنش سرما. مجله فرآیند و کارکرد گیاهی، ۱ (۲)، ۱-۱۱.

۴. افشاری، ح.، زاهدی، ر.، پروانه، ط. و م. زاده باقری. ۱۳۹۳. تأثیر اسید سالیسیلیک بر سطوح پرولین، قندهای محلول و نشت یونی دو رقم زردآلو تحت تنش سرما. مجله به زراعی کشاورزی، ۱۶ (۱)، ۱۲۷-۱۳۸.

۵. تاجور، ی.، فتوحی قزوینی، ر.، حمید اوغلی، ی. و ر. حسن ساجدی. ۱۳۹۰. پاسخ‌ها فیزیولوژیک و بیوشیمیایی نارنگی پیچ روی پایه سیترنج تحت تنش دمای پایین. مجله زیست‌شناسی گیاهی، ۳ (۹)، ۱-۱۲.

۶. حسین زاده، م.، کیارستمی، م.، ایلخانی زاده، م. و ع. صبورا. ۱۳۸۸. بررسی اثرات آللوپاتیک جو خودرو بر میزان پروتئین‌ها، کربوهیدرات و فعالیت برخی آنزیم‌های گندم. مجله زیست شناسی ایران، ۲۲ (۳)، ۳۹۲-۴۰۶.

۷. حکم‌آبادی، ح.، رضایی، ل.، محمدی مقدم، م.، مرتضوی، ع.، صرفی، ح.، قربانی، ع.، عوض‌آبادیان، ع. ا. و ح. رضی-آبادی. ۱۳۹۵. بررسی مقاومت به سرما در سه رقم تجاری پسته دامغان و سه پایه عمده پسته‌کاری از طریق

www.SID.ir

Archive of SID

پارامترهای نشت یونی. گزارش نهایی پروژه تحقیقاتی موسسه تحقیقات پسته کشور. ایستگاه تحقیقات پسته دامغان. ۷۲ ص.

۸. خرم، ا.، ربیعی، و.، ایمانی، ع. و س. ن. مرتضوی. ۱۳۹۰. رابطه برخی شاخص‌های فیزیولوژی با سرمازدگی در چند رقم بادام در مرحله نمو جوانه گل. مجله علوم باغبانی ایران، ۱۲ (۱)، ۶۵-۷۶.

۹. روحانی نیا، م.، گریگوریان، و.، مطلبی آذر، ع. و ج. دژم پور. ۱۳۸۶. بررسی خسارت و تغییرات سطوح پرولین در جوانه‌های گل چند رقم زردآلوی تجاری در مراحل مختلف فیزیولوژیکی. علوم و فنون باغبانی ایران، ۸ (۲)، ۱۰۳-۱۱۲.

۱۰. سلیمانی اقدم، م.، اصغری، م.، خرسندی، ا.، مراد بیگی، ه.، محمد خانی، ن.، مهیجی، م. و م. حسن پور اقدم. ۱۳۹۳. سازوکارهای احتمالی تأثیر اسید سالیسیلیک بر کاهش سرمازدگی پس از برداشت میوه گوجه فرنگی. مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست شناسی ایران)، ۲۷ (۲)، ۲۱۶-۲۲۷.

۱۱.سهرابی، ن.، حکم‌آبادی، ح. و ع. تاج آبادی پور. ۱۳۸۸. فیزیولوژی سرمازدگی در درختان پسته. نشریه ترویجی، انتشارات موسسه تحقیقات پسته کشور. ۳۵ ص.

۱۲. عابدی، ب.، تفضلی، ع.، راحمی، م.، خلدبرین، ب. و ا. گنجی. ۱۳۸۹. تغییرات قندها، نشاسته، پرولین و آب میان بافتی در مواجه با سرما در برخی ارقام زردآلو (*Prunus armeniaca* L.). مجله علوم باغبانی ایران، ۴۱ (۴)، ۳۷۵-۳۸۲.

۱۳. علی پور، ح.، حسینی فرد، ج.، محمدی محمدآبادی، ا.، حکم آبادی، ح. و ر. زاده پاریزی. ۱۳۹۲. گزارش نهایی طرح هیبرید پسته مقاوم به شوری و بررسی مارکرهای مورفولوژیکی مقاومت به شوری. موسسه تحقیقات پسته کشور. ۳۱ ص.

۱۴. کریمی علویجه، م.، عبادی، ع.، موسوی، س. ا. و س. ع. سلامی. ۱۳۹۳. بررسی تغییرات آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز و پروتئین کل در پاسخ به تنش سرما در برخی ارقام انگور. مجله علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)، ۲۹ (۱)، ۱۱۰-۱۰۳.

۱۵. منصوری ده‌شعیبی، ر.، داوری‌نژاد، غ.، حکم‌آبادی، ح. و ع. تهرانی فر. ۱۳۹۰. ارزیابی تغییرات پرولین، پروتئین کل و قندهای محلول در طی مراحل فنولوژی جوانه گل ارقام پسته. نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)، ۲۵ (۲)، ۱۲۱-۱۱۶.

www.SID.ir

Archive of SID

۱۶. موسوی، س. ص.، شیران، ب.، ایمانی، ع.، هوشمند، س. و ا. ابراهیمی. ۱۳۹۳. بررسی برخی شاخص‌های فیزیولوژیکی مرتبط با سرمازدگی در ارقام بادام با زمان گلدهی متفاوت. مجله تولید و فرآوری محصولات زراعی و باغی، ۴ (۱۲)، ۲۳۵-۲۴۶.

17. Achard, P., Gong, F., Cheminant, S., Alioua, M., Hedden, P. and P. Genschik. 2008. The cold-inducible CBF1 factor-dependent signaling pathway modulates the accumulation of the growth-repressing DELLA proteins via its effect on gibberellin metabolism. Plant Cell, 20(8): 2117-2129.
18. Afrousheh. M., Hokmabadi. H., Arab. H. and A. Tajabadipour. 2018. Evaluation of frost damage tolerance in some pistachio seedling rootstocks. Journal of Nuts, 9(1): 77-83.
19. Afshari, H. and T. Parvane. 2013. Study the effect of cold treatments on some physiological parameters of 3 cold resistance almond cultivars. Life Science Journal, 10(4s): 252-259.
20. Afshari, H., Hokmabadi, H., Ebadi, A. and G. Laee. 2010. Measurement of chemical and non-chemical parameters of three native pistachio cultivars of Damghan region (Iran) for studying spring frost. Asian Journal of Chemistry, 22(3): 2356-2366
21. Ait Barka, E., Nowak, J. and C. Christophe. 2006. Enhancement of chilling resistance of inoculated grapevine plantlets with a plant growth promoting rhizobacterium, *Burkholderia phytofirmans* strain PsJN. Applied and Environmental Microbiology, 72: 7246– 7252.
22. Allagulova, C., Gimalov, F., Shakirova, F. and V. Vakhitov. 2003. The plant dehydrins structure and putative functions. Biochemistry (Moscow), 68: 945-951.
23. Ashraf, M. and M.R. Foolad. 2007. Roles ofglycine betaine and proline in improving plantabiotic strees resistance. Environmental and Exprimental Botany, 59: 206-2016.
24. Azzarello, E., Mugnai, S., Pandolfi, C., Masi, E., Marone, E. and S. Mancuso. 2009. Comparing image (fractal analysis) and electrochemical (impedance spectroscopy and electrolyte leakage) techniques for the assessment of the freezing tolerance in olive. Trees, 23: 159–167.
25. Bakht, J., Bano, A., Shafi, M. and P. Dominy. 2013. Effect of abscisic acid applications on cold tolerance in chickpea (*Cicer arietinum* L.). European Journal of Agronomy. 44: 10-21.
26. Barranco, D., Ruiz, N. and M. Gómez-del Campo. 2005. Frost tolerance of eight olive cultivars. HortScience, 40(3): 558-560.
27. Biswas, M.S. and J.I. Mano. 2015. Lipid peroxide-derived short-chain carbonyls mediate hydrogen peroxide-induced and salt-induced programmed cell death in plants. Plant Physiology, 168(3): 885-898.
28. Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, 72(1-2): 248-254.
29. Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. and C. Berset. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT-Food Science and Technology, 28(1): 25-30.

www.SID.ir

Archive of SID

30. Chen, Y., Zhang, M., Chen, T., Zhang, Y. and L. An. 2006. The relationship between seasonal changes in anti-oxidative system and freezing tolerance in the leaves of evergreen woody plants of Sabina. South Afrcan Journal of Botany 72: 272-279.
31. Chu, YH., Chang, CL. and H.F. Hsu. 2000. Flavonoid content of several vegetable and their antioxidant activity. Journal of the Science of Food and Agriculture; 80(5): 561-566.
32. Concellon, A., Anon, M.C. and A.R. Chaves. 2007. Effect of low temperature storage on physical and physiological characteristics of eggplant fruit (*Solanum melongena* L.). LWTFood Science and Technology. 40: 389-396.
33. Guy, C.L. 1990. Cold acclimation and freezing stress tolerance: Role of protein metabolism. Annual Reviews in Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 41: 187-223.
34. Halvorsen, B.L., Holte, K. and M.C. Myhrstad. 2002. A systematic screening of total antioxidants in dietary plants. J Nutr, 132: 461 –471.
35. Hana, B. and J.C. Bischofa. 2004. Direct cell injury associated with eutectic crystallization during freezing. Cryobiology 48: 8-21.
36. Hare, P.D., Cress, W.A. and J. Van Staden. 1999. Proline synthesis and degradation: a model system for elucidating stess-related signal transduction. Journal of Exprimental Botany, 50: 413-434.
37. Hashempour, A., Ghasemnezhad, M., Ghazvini, R.F. and M.M. Sohani. 2014. The physiological and biochemical responses to freezing stress of olive plants treated with salicylic acid. Russian journal of plant physiology, 61(4): 443-450.
38. Honty K., Sárdi É., Stefanovits-Bányai É. and M. Tóth. 2008. Frost induced changes in enzyme activities and carbohydrate content in the spurs of some pear cultivars during the dormancy. International Journal Horticultural Science. 14: 41-44.
39. Imani, A., Barzegar, K. and S. Piripireivatlou. 2011. Relationship between frost injury and ion leakage as an indicator of cold hardiness in 60 almond selections. International Journal of Nuts and Related Sciences, 2(1): 22-26.
40. Irigoyen, J.J., Einerich, D.W. and M. Sánchez-Díaz. 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. Physiologia Plantarum, 84(1): 55-60.
41. Isfendiyaroglu, M. and E. Zeker. 2002. The relation between phenolic compound and seed dormancy in Pistacia spp. In AKB. E. (Ed). 11 Grema Serr Pistachios and Almond. Chieres optins Mediterraneenes, 56: 232-277.
42. Janská, A., Marsík, P., Zelenková, S. and J. Ovesná. 2010. Cold stress and acclimation what is important for metabolic adjustment. Plant Biology, 12 (3): 395–405.
43. Karimzadeh, G., Sharifi-Sirchi, G.R., Jalali-Javaran, M., Dehghani, H. and D. Francis. 2006. Soluble proteins induced by low temperature treatment in the leaves of spring and winter wheat cultivars. Pakistan Journal of Botany, 38(4): 1015-1026.

www.SID.ir

Archive of SID

44. Krasensky, J. and C. Jonak. 2012. Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic rearrangements and regulatory networks. Journal of experimental botany, 63(4): 1593-1608.
45. Levitt, J. 1958. Frost, drought, and heat resistance. Protoplasmologia VIII/6, 1–85.
46. Li, B., Liu, L.Q., Luo, S.P., Li, N., Li, J., Cheng, M.L. and L. Li. 2012. Effects of low temperature stree on flower bud cold resistance of almonds. Journal of Xinjiang Agricultural University. 1: 002.
47. Lu, J.X., Jiang, H.Y. and W. Li. 2012. Effects of low temperature stress on the cold resistance of rootstock and branch of wine grapes. Journal of Fruit Science, 29(6): 1040-1046.
48. Luo, Z., Wu, X., Xie, Y. and C. Chen. 2012. Alleviation of chilling injury and browning of postharvest bamboo shoot by salicylic acid treatment. Food Chemistry 131(3): 456-461.
49. Matteucci, M., D'Angeli, S., Errico, S., Lamanna, R., Perrotta, G. and M.M. Altamura. 2011. Cold affects the transcription of fatty acid desaturases and oil quality in the fruit of *Olea europaea* L. genotypes with different cold hardiness. Journal of Experimental Botany, 62: 3403–3420.
50. Mayne, S.T. 2013. Oxidative stress, dietary antioxidant supplements, and health: Is the Glass Half Full or Half Empty Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention, 22: 2145-2147.
51. Miura, K. and Furumoto, T. 2013. Cold signaling and cold response in plants. International journal of molecular sciences, 14(3): 5312-5337.
52. Molla, S., Villar-Salvador, P., Garcia-Fayos, P. and J.L. Rubira. 2006. Physiological and transplanting performance of *Quercus ilex* L. (holm oak) seedlings grown in nurseries with different winter conditions. Forest Ecology and Management, 237: 218-226.
53. Moshtaghi, E.A., Shahsavar, A.R. and M.R. Taslimpour. 2009. Ionic leakage as indicators of cold hardiness in olive (*Olea europaea* L.). World Applied Science Journal, 7: 1308-1310.
54. Nasibi, F., Barand, A., Kalantari, K.M. and F. Rezanejad. 2013. The effect of arginine pretreatment on germination, growth and Physiological parameters in the increase of low temperature tolerance in *Pistacia vera* L. in vitro culture. International Journal of Agriculture and Crop Sciences, 5(17): 1918-1925.
55. Palma, J.M., Sandalio, L.M., Javier Corpas, F., Romero-Puertas, M.C., McCarthy, I. and L.A. DelRio. 2002. Plant proteases protein degradation and oxidative stress:Role of peroxisomes. Plant Physiology Biochemistry, 40: 521-530.
56. Paquin, R. and P. Lechasseur. 1979. Observations sur une methode dosage de la proline libre dans les extraits de plants. Canadia Journal of Botany, 57: 1851-1854.
57. Parida, A.K., Das, A.B., Mittra, B. and P. Mohanty. 2004. Salt-stress Induced Alterations in Protein Profile and Protease Activity in the Mangrove *Bruguiera parviflora*. Zeitschrift für Naturforschung, 59: 408-414.
58. Ranney, T.G., Bassuk, N.L. and T.H. Whitlow. 1991. Osmotis adjustment and solute constituents in leaves and roots of water-stressed cherry (*Prunus*) trees. Journal of the American Scoiety for Horticultural Science, 116: 684-688.

www.SID.ir

Archive of SID

59. Roychoudhury, A., Banerjee, A. and V. Lahiri. 2015. Metabolic and molecular-genetic regulation of proline signaling and its cross-talk with major effectors mediates abiotic stress tolerance in plants. Turkish Journal of Botany, 39(6): 887-910.
60. Ruelland, E. and A. Zachowski. 2010. How plants sense temperature. Environmental and Experimental Botany, 69 (3): 225–232.
61. Ruelland, E. and S. Collin. 2011. Chilling stress. Plant Stress Physiology, 94-118.
62. Salary Sorkhan, R., Enteshari, S., Hokmabadi, H. and A. Tajabadipour. 2011. Physiological evaluation of pistachio frost damage resistant rootstocks. International Journal of Nuts and Related Science, 2(4): 55-66.
63. Sairam, R.K. 1994. Effect of moisture stress on physiological activities of two contrasting wheat genotypes. Indian Journal Experimental Biology. 32: 584-593.
64. Shang, H.T., Cao, S.F., Yang, Z.F., Cai, Y.T. and Y.H. Zheng. 2011. Effect of exogenous_-aminobutyric acid treatment on proline accumulation and chilling injury in peach fruit after long-term cold storage. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 59(4): 1264–1268.
65. Szabados, L. and A. Savoure. 2009. Proline: a multifunctional amino acid. Trends in Plant Science. 15(2): 89-97.
66. Ukaji, N., Kuwabara, C., Takezawa, D., Arakawa, K. and S. Fujikawa. 2004. Accumulation of pathogenesis-related (PR) 10/Bet v 1 protein homologues in mulberry (*Morus bombycis* Koidz.) tree during winter. Plant, Cell and Environment, 27(9): 1112-1121.
67. Van Kiet, H., Nose, A. and S.H. Zheng. 2016. Effect of cold stress on root growth, accumulation of soluble proteins and free amino acids of sheath blight-resistant rice genotype 32R. Tropical Agriculture and Development, 60(3): 191-194.
68. Vítámvás, P. and I.T. Prášil. 2008. WCS120 protein family and frost tolerance during cold acclimation, deacclimation and reacclimation of winter wheat. Plant Physiology and Biochemistry. 46(11): 970-976.
69. Xu, W., Li, R., Zhang, N., Ma, F., Jiao, Y. and Z. Wang. 2014. Transcriptome profiling of Vitis amurensis, an extremely cold-tolerant Chinese wild *Vitis* species, reveals candidate genes and events that potentially connected to cold stress. Plant molecular biology, 86(4-5): 527-541.
70. Zhao, D.Y., Shen, L., Fan, B., Liu, K.L., Yu, M.M., Zheng, Y., Ding, Y. and J.P. Sheng. 2009a. Physiological and genetic properties of tomato fruits from 2 cultivars differing in chilling tolerance at cold storage. Journal of Food Science, 74: 348–352.

www.SID.ir