مجله علمی پژوهشی اکوفیزیولوژی گیاهی
سال هشتم، شماره سی، ۱۳۹۶

دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان

اثر تنش دمای پایین بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی برخی ژنوتیپ‌های شبه لیموی موجود در شمال کشور

صالح محمدی [۱]، حمیدرضا خزاعی [۲]، احمد نظامی [۳]، یحیی تاجور [٤]

تاریخ دریافت: ۱۳۹٤/۹/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹٤/۱۲/۵

چکیده

مرکبات جزء درختان همیشه‌سبز نیمه گرمسیر بوده که حساس به تنش یخبندان می‌باشند. در این پژوهش میزان آسیب‌پذیری شش ژنوتیپ بومی شبه لیمو (شماره ٦-۱) در مقایسه با ارقام متحمل (انشو) و حساس (پرشین‌لایم) به دمای پایین، در شرایط کنترل شده نسبت به تنش دمای پایین (۳، ۰، ۳- و ٦-) مورد مطالعه قرار گرفت. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد، تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که برهمکنش ژنوتیپ و دما بر نشت یونی، آب‌گزیدگی برگ، پراکسیداسیون لیپید، محتوی پرولین و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی معنی‌دار گردید. این در حالی است که برهمکنش دما و ژنوتیپ بر صفات کربوهیدرات کل، کلروفیل a، b، کل و کارتنوئیدها معنی‌دار نبود. بیشترین مقدار نشت یونی (با میانگین ٪۹۱/٦۲۸)، آب‌گزیدگی برگ (با میانگین٪۹۹/۳) و واکنش پراکسیداسیون لیپید (بامیانگین ۳/۳۲ میکروگرم در گرم وزن‌تر برگ) در شاهد حساس پرشین لایم در دمای ٦- درجه سانتی‌گراد ثبت گردید. در مقابل، بیشترین محتوی پرولین (۳۲/۰۰٦ میلی‌گرم در گرم وزن‌تر برگ) و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (٪۷۳/۳٦) در شاهد متحمل انشو در دمای ۳- درجه سانتی‌گراد مشاهده شد. صفات کربوهیدرات کل، کلروفیل a و کل فقط تحت تأثیر عامل ژنوتیپ قرار گرفتند. بیشترین مقدار کلروفیل a (با ۲/۳۵۹ میلی‌گرم در گرم وزن‌تر برگ) و کلروفیل کل (۲/۹۳۲ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) و بالاترین محتوی کربوهیدرات کل (۳۳/٤۸٦ میلی‌گرم در گرم وزن‌تر برگ) در شاهد متحمل انشو مشاهده شد. در بین ژنوتیپ‌های بومی شبه لیموی مورد مطالعه واکنش‌های متفاوتی نسبت به تنش دمای پایین ثبت گردید. به طوری که بعد از شاهد متحمل انشو، ژنوتیپ بومی شبه لیموی شماره ٦ در مقابل تنش دمای پایین مقاومت بهتر نشان داد. در مقابل، در اغلب صفات تخریبی مورد مطالعه، ژنوتیپ بومی شبه لیموی شماره ۲ در جایگاه آماری مشابه و یا نزدیک به شاهد حساس پرشین‌لایم قرار داشت؛ بنابراین ژنوتیپ بومی شبه لیموی شماره ۲ در مقایسه با ۵ ژنوتیپ شبه لیموی دیگر، نسبت به تنش دمای پایین حساس‌تر بود.

واژه‌های کلیدی: مرکبات، یخبندان، رادیکال آزاد، پرولین، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی

محمدی، ص.، ح.ر. . خزائی، ا. نظامی و ی. تاجور. ۱۳۹٦. اثر تنش دمای پایین بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی برخی ژنوتیپ‌های شبه لیموی موجود در شمال کشور. مجله اکوفیزیولوژی گیاهی. ۳۰: ٦۵-۵۲.

۱- دانشجوی دکتری گروه فیزیولوژی گیاهان زراعی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران، مسئول مکاتبات. پست الکترونیک: saleh.mohammadi92@yahoo.com

۲- استاد آموزشی گروه فیزیولوژی گیاهان زراعی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ، ایران

۳- استاد آموزشی گروه فیزیولوژی گیاهان زراعی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران

٤-استادیار پژوهشی موسسه تحقیقات علوم باغبانی، پژوهشکده مرکبات و میوه‌های نیمه‌گرمسیری، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رامسر، ایران

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

مرکبات یکی از مهم‌ترین محصولات باغبانی دنیا محسوب شده (کلوز، ۱۹۹۷) که در ایران نیز کشت و پرورش آن، دارای جایگاه ویژه‌ای است. بر طبق آمارهای ارائه شده، در بین استان‌های تولید کننده مرکبات در کشور، مازندران با ۱۸۸٤۳۷۲ تن محصول، در رتبه اول تولید قرار دارد (آمارنامه سالیانه محصولات باغبانی،۱۳۹۳). مرکبات جزء محصولات مناطق نیمه‌گرمسیری و متعلق به خانواده روتاسه[1] بوده که اغلب گیاهان تجاری موجود در این خانواده به دلیل همیشه سبز بودن، حساس به تنش یخبندان هستند (تاجور و همکاران،b۱۳۹۰).

تنش دمای پایین (یخبندان و سرما) جزء تنش‌های غیر زیستی است که از اثرات منفی آن بر گیاهان می‌توان به اختلال در فرایند فتوسنتز، تجمع رادیکال‌های آزاد اکسیژن، آسیب غشاء سلولی، تخریب رنگدانه‌های گیاهی و اسیدهای نوکلوئیک، اشاره داشت (شانکر و ونکاتسوارلو، ۲۰۱۱). اولین جایگاه ساختار گیاهی که تحت تأثیر تنش دمای پایین دچار آسیب خواهند شد، غشاءهای سلولی هستند که به علت عدم توانایی غشاء در کنترل ورود و خروج یون‌ها، افزایش نشت‌یونی صورت می‌گیرد (هینچا و همکاران، ۱۹۹٦). در شرایط آب‌گزیدگی برگ در زمان تنزل دما و یا تغییر رنگ برگ بعد از وقوع تنش از صفاتی هستند که می‌توانند به صورت مورفولوژیکی در ارزیابی میزان آسیب‌پذیری گیاهان تحت تنش یخبندان در مرکبات مورد استفاده قرار گیرند (تاجور و همکاران، a۱۳۹۰).

یکی از اثرات تنش دمای پایین اختلال انتقال الکترون در اندامک کلروپلاست بوده که نتیجه آن، تجمع رادیکال‌های آزاد اکسیژن است که می‌تواند در تخریب و کاهش کلروفیل‌های گیاهی تأثیرگذار باشد (هینچا و اسمیت، ۱۹۹۲). پراکسیداسیون‌لیپیدهای غشاء نیز از اثرات تخریبی تجمع رادیکال‌های فعال اکسیژن در تنش یخبندان است که در گیاهان آسیب دیده از تنش مذکور، به عنوان شاخص میزان آسیب، مورد استفاده قرار می‌گیرد (ژانک و همکاران، ۲۰۱۲). پراکسیداسیون لیپید غشاء تحت شرایط تنش، وقتی به وقوع می‌پیوندد که میزان تجمع رادیکال‌های آزاد اکسیژن به بیشتر از حد آستانه برسند (گیل و توتجا،۲۰۱۰). اسیدهای چرب غیر اشباع حساس‌ترین بخش غشا به اکسید شدن و تخریب از طریق تنش اکسایشی است. با تجمع رادیکال‌های آزاد در گیاهان تحت تنش غیرزیستی، اکسیده شدن اسیدهای چرب غیر اشباع غشاء تسریع یافته که حاصل این واکنش، ترکیبی مثل مالون‌دی‌آلدئید[2] می‌باشد. این ترکیب برای سلول مسمومیت ایجاد می‌کند، به طوریکه تجمع مالون‌دی‌آلدئید در شرایط تنش سبب افزایش نفوذپذیری غشای پلاسمایی و افزایش نشت یونی می‌گردد (گولن و همکاران،۲۰۰۸).

ذکر شده برخی گیاهان سازگار سعی می‌کنند از طریق تغییراتی در فرایندهای‌های فیزیولوژیک و بکارگیری سیستم آنتی‌اکسیدانی، بقاء خویش در وضعیت تنش را بهبود بخشند (تاجور و همکاران، b۱۳۹۰). یکی از مسائل مطرح سازگاری در زمان وقوع تنش یخبندان، حفظ محتوی آب و جلوگیری از انجماد سیتوپلاست درون سلولی بوده که عموماً گیاهان از طریق افزایش پرولین و کربوهیدرات (با تغییراتی در پتانسیل اسمزی)، در برابر چالش ذکرشده مقاومت می‌کنند (مشایخی و همکاران،۱۳۹۳). در گزارشی عنوان شده است که مدیریت کم‌آبیاری توانسته از طریق افزایش میزان کربوهیدرات محلول و پرولین در اندام‌های برگ و ساقه درختان جوان مرکبات (والنسیا و گریپ‌فروت استار روبی) تحت تنش یخبندان، بر بهبود بقاء و پایداری آنها مؤثر باشد (ژانک و همکاران، ۲۰۱۲).

با توجه به وقوع دوره‌ای تنش یخبندان (سال ۱۳۸٦ و ۱۳۹۲) و بروز چالش‌های فراوان اقتصادی و اجتماعی، ضرورت فعالیت در زمینه کاهش این خسارت الزامی به نظر می‌رسد. نظر به ماهیت ژنتیکی تحمل به تنش دمای پایین (پلی ژن بودن)، این گونه به نظر می‌رسد که انتخاب ژنوتیپ متحمل و انجام فعالیت‌های به‌زراعی مناسب، می‌تواند در تعدیل این آسیب مؤثر واقع گردد. با توجه به وجود تنوع ژنوتیپ‌های بومی مرکبات در شمال کشور، هدف از اجرای این پژوهش، شناسایی میزان تحمل‌پذیری ژنوتیپ‌های بومی ناشناخته مرکبات (واقع در کلکسیون ایستگاه تحقیقاتی کترا)، در مقابل تنش دمای پایین است.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

در این پژوهش شاخه‌های یک‌ساله حاوی برگ شش ژنوتیپ بومی شبه لیمو (شماره ۱ تا ٦) در کنار شاهد متحمل (انشو) و حساس (پرشین لایم) به دمای پایین، در زمستان ۱۳۹۳ از ذخائر ژرم پلاسم پژوهشکده مرکبات و میوه‌های نیمه گرمسیری در شمال کشور (ایستگاه کترا تنکابن) تهیه و بلافاصله به آزمایشگاه ایستگاه ستادی پژوهشکده (رامسر) منتقل گردید.

اعمال تنش دمای پایین

شاخه‌های ژنوتیپ‌های بومی شبه‌لیمو یاد شده (در کنار گیاهان شاهد متحمل و حساسبه دمای پایین) به طول ۳۰ سانتی‌متر، پس از علامت‌گذاری و بسته‌بندی، درون دستگاه فریزر ترموگرادیان[3] قرار

1-Rutaceae
2-Malondialdehyde
3-Thermo gradient freezer

Archive of SID

www.SID.ir

گرفتند. تیمارهای دمایی در چهار سطح، ۳، ۰، ۳-، ٦- درجه سانتی‌گراد بود. کاهش دمای دستگاه یک درجه سانتی‌گراد در هر ساعت تنظیم گردید که پس از رسیدن به هر تیمار دمایی، نمونه‌ها به مدت ۳ ساعت در دماهای ذکر شده نگهداری و سپس برای اندازه‌گیری صفات استفاده شدند. با توجه به ماهیت بروز علائمی هم‌چون نشت‌یونی و آب‌گزیدگی برگ، بلافاصله بعد از هر تیمار دمایی، شاخص‌های ذکر شده ارزیابی شدند. به منظور اندازه‌گیری برخی صفات همچون پرولین، کربوهیدرات محلول، رنگدانه‌های کلروفیل و پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء در مراحل بعد از تنش، اقدام به نمونه‌برداری برگ، انجماد سریع (در ازت مایع) و سپس نگهداری نمونه‌ها در فریزر (۸۰- درجه‌سانتی‌گراد) گردید که در مراحل بعد شاخص‌های ذکر شده، به شرح زیر مورد بررسی قرار گرفتند.

نشت‌یونی

برای بررسی نشت‌یونی، قطعات یکسان برگی به ابعاد یک سانتی‌متر مربع (دو طرف رگبرگ اصلی) تهیه و در درون لوله آزمایش درپوش‌دار محتوی ۱۰ میلی‌لیتر آب‌مقطر قرار داده و پس از ۲٤ ساعت شیکر در دمای آزمایشگاه، میزان نشت‌یونی مرحله اول (EL_1)اندازه‌گیری شد. در ادامه جهت اندازه‌گیری نشت مرحله دوم (EL_2)، لوله‌های آزمایش محتوی آب مقطر و قطعات برگی (به کار گرفته شده برای نشت مرحله اول)، اتوکلاو گردید (در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه). بعدازخروج (ازاتوکلاو)، مجدداً لوله‌های آزمایش محتوی آب مقطر و قطعات برگی به مدت ۱۲ ساعت شیکر و سپس هدایت الکتریکی مرحله دوم (EL_2) ثبت و بر مبنای فرمول ارائه شده نشت یونی محاسبه شد (سولیون و راس. ۱۹۷۹).

$$\%EL = (EL_1/EL_2) \times 100$$

آب‌گزیدگی برگ

بعد از وقوع تنش یخبندان (یک روز بعد)، با محاسبه سطح کل و سطح تخریب شده پشت برگ (به رنگ سبز تیره) با استفاده از دستگاه سطح سنج برگ ۱(مدل AM300 انگلستان) آب‌گزیدگی برگ بر اساس درصد اندازه‌گیری و بیان گردید (سالا و لافونته،۲۰۰۰).

پرولین

برای سنجش پرولین، دو میلی‌لیتر از عصاره گیاهی (استخراج از طریق محلول سولفوسالیسیلیک اسید ۱۰٪) با ۲ میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسیداستیک مخلوط و به حمام آب گرم (۱۰۰ درجه سانتی‌گراد و به مدت یک ساعت) منتقل شدند. بعد از سرد شدن محلول واکنش فوق، به هر یک ٤ میلی‌لیتر تولوئن اضافه شد که بعد از ورتکس دو فاز جداگانه تشکیل گردید. در ادامه با قرائت جذب فاز رویی در طول موج ۵۲۰ نانومتر و با استفاده از منحنی استاندارد، غلظت پرولین مورد ارزیابی قرار گرفت (بیتس و همکاران،۱۹۷۳).

پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء

برای اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء، غلظت مالون‌دی‌آلدئید (محصول واکنش پراکسیداسیون لیپیدها) مورد ارزیابی قرار گرفت. به این منظور ۱ میلی‌لیتر عصاره گیاهی با ٤ میلی‌لیتر محلول ۲۰٪ تری‌کلرواستیک اسید (حاوی ۰/۵٪ تیوباربیوتیک اسید) مخلوط و ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. مالون‌دی‌آلدئید در واکنش با تیوباربیتوریک اسید[1] تشکیل کمپلکس رنگی داده که پس از سرد شدن و سانتریفیوژ و جداسازی فاز رویی در نهایت با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر نانودراپ (مدل ND-1000 ساخت آمریکا) جذب نمونه‌ها در طول موجهای ۵۳۲ و ٦۰۰ نانومتر قرائت شد و غلظت کمپلکس رنگی MDA-TBA با استفاده از معادله A=□BC محاسبه شد که در آن A حاصل کسر جذب ٦۰۰ از ۵۳۲ نانومتر، mMcm-1 ۱۵۵ =□ ضریب خاموشی کمپلکس MDA-TBA، B عرض کوت و C غلظت کمپلکس بر حسب میکرومول بر گرم وزنتر برگ بوده که محاسبه شد گردید (کامپوز و همکاران، ۲۰۰۳).

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی

قدرت مهار رادیکال DPPH[2] توسط عصاره نمونه با استفاده از اسپکتروفتومتر نانودراپ و در طول موج ۵۱۷ نانومتر تعیین شد. فعالیت مهار رادیکال DPPH از طریق بکارگیری فرمول درصد فعالیت خنثی کنندگی رادیکال محاسبه گردید. در این معادله A_C جذب رادیکال DPPH بدون عصاره به عنوان کنترل، A_S جذب DPPH به علاوه نمونه و از متانول به عنوان شاهد استفاده شد (فتاحی مقدم و همکاران، ۱۳۹۱).

$$DPPH=100\ (1-A_S/A_C)$$

کربوهیدرات محلول

اندازه‌گیری کربوهیدرات محلول برگ، از طریق به‌کارگیری روش فنل-اسیدسولفوریک که مبتنی بر آبگیری قندهای محلول و تشکیل ترکیب فورفورال است، انجام گرفت. به این منظور،۱ میلی‌لیتر عصاره استخراجی (حاوی کربوهیدرات) با یک میلی‌لیتر محلول فنل ۵٪ و چهار میلی‌لیتر محلول سولفوریک اسید غلیظ ۹۸٪ مخلوط و برای انجام فرایند شیمیایی و ظهور رنگ، به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار

1-Thiobarbituric acid

2- 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

Archive of SID

www.SID.ir

گرفت. با محلول اتانول ۸۰٪ (به عنوان شاهد) جذب دستگاه اسپکتروفتومتر (نانودراپ) در طول موج ٤۸۵ نانومتر صفر و سپس با بررسی میزان تغییر رنگ محلول واکنش، مقدار کربوهیدرات نمونه‌های تحت تیمار و شاهد مورد ارزیابی قرار گرفت. مقدار کربوهیدرات محلول با استفاده از منحنی استاندارد گلوکز محاسبه و بر مبنای واحد میلی‌گرم در گرم وزن تازه برگ بیان شد (چاپلین و کندی، ۱۹۹۲).

محتوی رنگدانه‌های گیاهی

برای اندازه‌گیری رنگدانه‌های گیاهی (محتوی رنگدانه‌های کلروفیل)، بعد از خرد کردن نمونه ها با آسیاب، ۱ گرم نمونه تازه را وزن کرده و با ۲۰ سی سی استن ۸۰ درصد در هاون چینی له کرده سپس در سانتریفیوژ در دور ۵۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه قرار گرفت. در ادامه عصاره صاف و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ٤۸۰، ٦٤۵ و ٦٦۳ نانومتر قرائت شدند. استن ۸۰ درصد به عنوان نمونه شاهد استفاده و سپس با استفاده از فرمول ارائه شده، میزان رنگدانه‌ها محاسبه گردید (پیترینی و همکاران، ۲۰۰۵).

$$Chla = 12.7A663 - 2.63A645$$

$$Chlb = 22.9A645 - 4.68A663$$

$$Total\ Ch = Chla + Chlb$$

$$Total\ Carotenoid = (1000A470 - 1/8\ Chla - 85/02\ Chlb)/198$$

A: جذب در طول موج

Chla: کلروفیل a

Chlb: کلروفیل b

تجزیه آماری

داده‌های حاصل از این پژوهش بر مبنای آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار تجزیه‌ی واریانس و سپس میانگین‌ها از طریق آزمون توکی در سطح ۵ درصد از طریق نرم‌افزار SAS مقایسه شدند

نتایج و بحث

نشت‌یونی

جدول تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) بیان‌گر آن بود که عامل ژنوتیپ، دما و برهمکنش آنها بر میزان نشت‌یونی سلول‌های برگ ژنوتیپ‌های بومی شبه لیمو، تأثیر معنی‌دار داشته است. مقایسه میانگین اثر متقابل دمای پایین و ژنوتیپ‌های مورد مطالعه نشان داد که با کاهش دما میزان نشت یونی افزایش داشته که این افزایش با توجه به نوع ژنوتیپ متغیر بود. بر این اساس، بیشترین مقدار نشت یونی (۹۱/٦۲۸٪) در ژنوتیپ شاهد حساس (پرشین لایم) در دمای ٦- درجه سانتی‌گراد ثبت گردید. در مقابل کمترین مقدار این صفت (٦/۹۷۳٪) در نمونه شاهد متحمل (انشو) در دمای ۳ درجه سانتی‌گراد مشاهده شد. بعد از شاهد متحمل انشو، مقاومت ژنوتیپ بومی شبه لیموی شماره ٦ در مقابل کاهش دما بیشتر بوده به طوری که در دمای ٦- درجه‌سانتی‌گراد (دمای تخریبی دیواره سلولی)، نشت یونی آن۱۸/۲۹۲٪ بود. این در حالی بود که در بین ژنوتیپ‌های بومی شبه لیموی مورد مطالعه، در ژنوتیپ بومی شبه لیموی شماره ۲، میزان نشت یونی در دمای ٦- درجه سانتی‌گراد، ۸٦/۵۷۲٪ بود (جدول ۲).

یکی از دلایل افزایش نشت‌یونی مواد گیاهی مورد مطالعه در این پژوهش می‌تواند به تغییر فاز غشاء از حالت مایع کریستالی به شکل جامد ژله‌ای در شرایط تنش دمای پایین باشد که این وضعیت منجر به نفوذپذیری بیشتر غشاء و در نتیجه افزایش نشت‌یونی شده است (میردهقان وهمکاران،۱۳۹۳).

در خصوص اثرات کاهش دما در افزایش نشت‌یونی گزارش‌های متعددی ارائه شده که می‌توان به مطالعات صورت گرفته روی گیاهچه مکزیکن لایم مرکبات (گائو و همکاران، ۲۰۱۰) و درختان زیتون در شرایط کنترل شده تنش یخبندان (بارتلوزی و همکاران، ۲۰۰۱) اشاره داشت که به افزایش نشت یونی برگ، تحت تنش مذکور تاکید داشتند.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱- تجزیه واریانس واکنش برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ژنوتیپ‌های شبه لیمو به دماهای پایین

		میانگین مربعات								
منابع تغییر	درجه آزادی	آب‌گزیدگی	نشت یونی	پرولین	پراکسیداسیون لیپید	ظرفیت آنتی‌اکسیدانی	کربوهیدرات	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کارتنوئیدها
ژنوتیپ	۷	۲۲۵۵/۱۱۷*	۱۳۲۲/۷۸۹*	۱۷۹/۵۷۵*	۱/۸۷۹*	۵۲۵/۰۲۹*	۹۵/۴۷۲۶۲۱۴*	۰/۷۰۹۴۳۸۵۶*	۰/۰۲۶۴۴۸۷۵ns	۰/۶۴۰۵۳۹۶۷*	۰/۰۱۹۲۰۱۰۴ns
دما	۳	۹۴۹۵/۳۴۴*	۱۰۶۶۲/۲۸۵*	۹۹۶/۶۲۰*	۷/۷۷۱*	۱۹۵۸/۸۱۴*	۷/۳۴۶۳۰۰۰ns	۰/۲۴۸۶۰۰۷۵ns	۰/۰۰۳۶۹۱۸۲ns	۰/۲۵۹۰۲۶۴۴ns	۰/۰۰۲۰۶۵۵ns
ژنوتیپ × دما	۲۱	۷۷۴/۳۶۷*	۵۸۳/۴۱۷*	۲۰/۵۶۷*	۰/۵۱۵*	۱۰۹/۰۵۷*	۸/۳۱۱۴۷۶۲ns	۰/۰۸۶۶۲۳۰۶ns	۰/۰۱۷۵۷۳۷۵ns	۰/۱۳۲۶۴۷۶۶ns	۰/۰۱۱۷۵۹۱۲ns
خطاء	۶۴	۲/۷۶	۱/۷۸۰	۱/۲۳	۰/۰۲۵	۳/۰۶۹	۱۱/۳۲۶۰۸۴	۰/۱۶۵۸۶۴۸۳	۰/۰۳۰۴۹۷۵۱	۰/۱۹۱۴۱۳۶۰	۰/۰۲۰۴۳۹۷۳
ضریب تغییرات (درصد)		۱۰/۵۸۴	۵/۶۷۲	۷/۱۱۱	۱۲/۵۸۵	۳/۸۸۵	۱۲/۲۳۸۴۶	۲۰/۴۳۷۸۹	۲۹/۸۲۶۸۸	۱۶/۹۶۹۵۷	۲۵/۴۴۲۴۳

* (معنی‌دار در سطح ۵٪) و ns (فاقد تفاوت معنی‌دار)

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل دما و ژنوتیپ بر میزان نشت یونی برگ (درصد) ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در تنش دمای پایین

دما	ژنوتیپ	شاهد متحمل	شاهد حساس	شبه لیموی شماره ۶	شبه لیموی شماره ۵	شبه لیموی شماره ۴	شبه لیموی شماره ۳	شبه لیموی شماره ۲	شبه لیموی شماره ۱	میانگین
۳°C		۶/۹۷۳ n	۸/۸۸۰ n	۸/۹۵۳ n	۹/۰۵۹ n	۴/۴۸۹ n	۷/۴۳۳ n	۹/۲۱۹ n	۱۰/۴۴۵ lmkn	۸/۶۸۱D
۰°C		۷/۴۱۹ n	۹/۷۵۴ mn	۹/۸۷۰ lmn	۱۴/۱۶۶ lhjki	۹/۵۹۹ mn	۸/۶۶۰ n	۱۸/۹۲۵ g	۱۴/۴۷۸ hjki	۱۱/۶۰۹C
-۳°C		۸/۵۶۱ n	۱۶/۳۳۱ hgi	۱۱/۲۵۲ lmjkn	۱۸/۱۵۵ hg	۱۴/۹۳۳ hjgi	۱۶/۴۳۹ hg	۵۳/۳۵۸ e	۱۵/۹۸۸ hgi	۱۹/۳۷۶B
-۶°C		۱۳/۵۴۹ lmjki	۹۱/۶۲۸ a	۱۸/۹۲۹ g	۶۰/۳۷۹ d	۴۱/۶۲۴ f	۶۵/۰۰۵ c	۸۶/۵۷۲ b	۵۷/۵۰۹ ed	۵۴/۴۰۰۰A
	میانگین	۹/۱۲۵F	۳۱/۶۴۷B	۱۲/۲۵۱E	۲۵/۴۴C	۱۸/۶۶۱D	۲۴/۳۸۵C	۴۲/۰۱۸A	۲۴/۶۰۵C	

در هر ستون و ردیف میانگین‌های دارای حروف مشترک در سطح ۵٪ آزمون توکی اختلاف معنی‌دار ندارند (حروف کوچک برای اثرات متقابل و حروف بزرگ برای اثرات ساده)

Archive of SID

www.SID.ir

آب‌گزیدگی برگ

در بررسی تجزیه واریانس (جدول ۱) صفت آبگزیدگی برگ نمونه‌های مورد آزمایش، اثردما، ژنوتیپ و اثر متقابل دما و ژنوتیپ معنی‌دار گردید. لذا در مقایسه میانگین اثر متقابل ملاحظه شد که شروع آب‌گزیدگی برخی از ژنوتیپ‌ها (به واسطه حساسیت بیشتر به دمای پایین) از دمای صفر درجه بوده که بروز این صفت در تیمار دمایی ٦- درجه به اوج خود رسید. در دمای ٦- درجه سانتی‌گراد، کمترین میزان آب‌گزیدگی با میانگین ۵ درصد در ژنوتیپ شماره ٦ مشاهده شد که از اختلاف معنی‌دار نسبت به شاهد متحمل (انشو) برخوردار نبود. در مقابل بیشترین میانگین آب‌گزیدگی برگ مربوط به نمونه شاهد حساس پرشین‌لایم (با میانگین٪۹۹/۳۳) بود. مقدار این صفت در ژنوتیپ بومی شبه لیموی شماره ۲ در دمای ٦- درجه سانتی‌گراد ۷۱٪ شد که از لحاظ آماری بعد از نمونه شاهد حساس قرار داشته است (جدول ۳).

در توجیه این نتایج می‌توان اینگونه استدلال داشت که احتمالاً وقوع یخبندان می‌تواند از طریق افزایش نشت‌یونی، موجب خروج آب از درون سلول به فضای بیرون شده که در چنین وضعیتی بروز پدیده آب‌گزیدگی برگ نیز وجود دارد؛ بنابراین افزایش همزمان نشت‌یونی و پدیده آب‌گزیدگی برگ نمونه‌های مورد مطالعه در این پژوهش نیز می‌تواند تایید کننده این استدلال باشد. گزارش مشابهی در خصوص تأثیر تنش یخبندان بر آب‌گزیدگی برگ گیاهچه بذری هلو (لنگ و کیو،۲۰۰۳) و ارقام حساس مرکبات (تاجور و همکاران، ۱۳۹۲) ارائه شده که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد.

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل دما و ژنوتیپ بر میزان آبگزیدگی برگ (درصد) ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در تنش دمای پایین

دما	ژنوتیپ	شاهد متحمل	شاهد حساس	شبه لیموی شماره ٦	شبه لیموی شماره ۵	شبه لیموی شماره ٤	شبه لیموی شماره ۳	شبه لیموی شماره ۲	شبه لیموی شماره ۱	میانگین
۳°C		۰/۰۰۰^{i}	۰/۰۰۰^{i}	۰/۰۰۰^{i}	۰/۰۰۰^{i}	۰/۰۰۰^{i}	۰/۰۰۰^{i}	۰/۰۰۰^{i}	۰/۰۰۰^{i}	۰/۰۰۰۰D
۰°C		۰/۰۰۰^{i}	۵/۰۰۰^{hgi}	۰/۰۰۰^{i}	۳/۰۰۰^{hi}	۰/۰۰۰^{i}	۲/۰۰۰^{hi}	۸/٦٦٧^{g}	۱/٦٦٧^{hi}	۲/۵٤۱C
-۳°C		۰/۰۰۰^{i}	۵۰/۰۰۰^{d}	۰/۰۰۰^{i}	۱۵/۳۳۳^{f}	۳/۳۳۳^{hgi}	۱۵/۳۳۳^{f}	٤۵/۰۰۰^{ed}	٦/۰۰۰^{hg}	۱٦/۸۷۵B
-٦°C		٦/۰۰۰^{hg}	۹۹/۳۳۳^{a}	۵/۰۰۰^{hgi}	٤٤/۳۳۳^{e}	۱۵/۳۳۳^{f}	٦۰/٦٦٧^{c}	۷۱/۰۰۰^{b}	٤۵/۳۳۳^{ed}	٤۳/۳۷۵A
	میانگین	۱/۵G	۳۸/۵۸۳A	۱/۲۵G	۱۵/٦٦٦D	/٦٦٦vF	۱۹/۵C	۳۱/۱٦٦B	۱۳/۲۵E	

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون و ردیف در سطح ۵٪ آزمون توکی اختلاف معنی‌دار ندارند (حروف کوچک برای اثرات متقابل و حروف بزرگ برای اثرات ساده)

پرولین

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که عامل ژنوتیپ، دما و اثر متقابل آن‌ها بر محتوی پرولین برگ تأثیرگذار بود. به طوری که بعد از نارنگی انشو (به عنوان ژنوتیپ متحمل با بیشترین محتوی پرولین)، مقدار پرولین در ژنوتیپ بومی شبه لیموی شماره ٤ در دمای ۳- درجه‌سانتی‌گراد،۲۷/۳۳ میلی‌گرم در گرم وزن‌تر برگ ثبت گردید که از لحاظ آماری در رتبه دوم قرار داشت. این در حالی است که کمترین مقدار پرولین ٦/۲۸ میلی‌گرم در گرم وزن تازه برگ بوده که در ژنوتیپ شماره ۲ در دمای ۳ درجه سانتی‌گراد مشاهده شد (جدول ٤).

تجمع پرولین آزاد اغلب در ارتباط با مقاومت گیاهان تحت تنش دمای پایین می‌باشد (رنی و همکاران،۱۹۹۱) به طوری که طی گزارش‌های متعددی این گونه عنوان شده است که در گیاهان تحت تنش، افزایش اسیدآمینه پرولین توانسته با تاثیرگذاری بر تنظیمات اسمزی و در مواقعی خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد، نسبت به متحمل سازی گیاهان مؤثر گردد (کاویکیشورو همکاران، ۲۰۰۵ و اشرف و فولاد، ۲۰۰٦). در پژوهش انجام شده روی زردآلو تحت تنش دمای پایین به اثر تجمع پرولین بر پایداری این درخت تحت تنش دمای پایین اشاره شده که با نتایج حاصل از این آزمایش مطابقت دارد (افشاری و همکاران،۱۳۹۳).

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ٤- مقایسه میانگین اثرمتقابل دما و ژنوتیپ بر محتوی پرولین (میلی‌گرم در گرم وزن تازه برگ) ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در تنش دمای پایین

دما	ژنوتیپ	شاهد متحمل	شاهد حساس	شبه لیموی شماره ٦	شبه لیموی شماره ٥	شبه لیموی شماره ٤	شبه لیموی شماره ٣	شبه لیموی شماره ٢	شبه لیموی شماره ١	میانگین
۳°C		۸/۸۹۳^{ij}	۸/۷۲٦^{ij}	۸/۰۷۳^{ij}	۸/۲۳^{ij}	۸/۲۷^{ij}	۸/۵۸۳^{ij}	٦/۲۸^{j}	۷/۲۳۳^{ij}	۸/۰۳٦۳D
۰°C		۱۷/۳٦٦^{feg}	۱۰/۷٦۳^{ih}	۱٦/۱٤^{feg}	۸/٤۹۳^{ij}	۱۷/۱۲۳^{feg}	۱٤/۸٤^{fg}	۷/٤۷۳^{ij}	۸/۰۷٦^{ij}	۱۲/۵۳٤C
-۳°C		۳۲/۰۰٦^{a}	۱۷/٤۹^{feg}	۲۵/۷۸۷^{bcd}	۱۸/۲۳۳^{fe}	۲۷/۳۳^{bc}	۱۹/۲۱٦^{e}	۱۵/۹٦٦^{feg}	۱۸/٤٦۳^{e}	۲۱/۸۱۱A
-٦°C		۲۹/۱۷۳^{ba}	۱٦/۳۹٦^{feg}	۲۳/٤٤^{d}	۱٦/۹۸^{feg}	۲۵/۲۹۳^{cd}	۱۸/۰۳۳^{fe}	۱٤/۱۲۳^{hg}	۱٦/۵۸۳^{feg}	۲۰/۰۰۳B
	میانگین	۲۱/۸٦A	۱۳/۳٤٤D	۱۸/۳٦B	۱۲/۹۸٤D	۱۹/۵۰٤B	۱۵/۱٦۸C	۱۰/۹٦E	۱۲/۵۸۹D	

در هر ستون و ردیف میانگین‌های دارای حروف مشترک در سطح ۵٪ آزمون توکی اختلاف معنی‌دار ندارند (حروف کوچک برای اثرات متقابل و حروف بزرگ برای اثرات ساده)

پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) بیان‌گر آن بود که اثر ساده ژنوتیپ، دما و اثر متقابل آنها بر پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء معنی‌دار شد. در بررسی اثر متقابل دما و ژنوتیپ، کمترین مقدار این صفت در شاهد متحمل انشو (۰/۵۸۸ میکروگرم در گرم وزن‌تر برگ) ثبت گردید. در بین ژنوتیپ‌های بومی شبه لیمو مورد مطالعه نیز مشاهده گردید که مقدار کمتر پراکسیداسیون لیپید،۰/۷۸۱ میکروگرم در گرم وزن‌تر برگ بوده که در دمای ۳ درجه سانتی‌گراد در ژنوتیپ بومی شبه لیموی شماره ٦ ملاحظه شد (جدول ۵). در نقطه مقابل، بیشترین مقدار پراکسیداسیون لیپیدهای‌غشاءدر شاهد حساس پرشین‌لایم (۳/۳۲۷ میکروگرم در گرم وزن‌تر برگ) در دمای ٦- درجه‌سانتی‌گراد ثبت گردید. مقدار پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء در ژنوتیپ بومی شبه لیمو شماره دو، ۲/۷٤۲ میکروگرم در گرم وزن‌تر برگ بوده که از لحاظ آماری بعد از شاهد حساس قرار داشت که بیان‌گر حساسیت ژنوتیپ بومی مذکور نسبت به تنش یخبندان می‌باشد. در پژوهش‌های متعددی به ارتباط خسارت تنش دمای پایین و افزایش پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء اشاره شده که در این زمینه می‌توان به پژوهش‌های انجام شده روی ارقام انگور (ژانک وهمکاران،۲۰۱۲)، عناب (گائو و همکاران،۲۰۱۰) و قهوه (کلوز،۱۹۹۷) اشاره داشت.

جدول ۵- مقایسه میانگین اثرمتقابل دما و ژنوتیپ بر میزان لیپید پراکسیداسیون برگ (میکروگرم در گرم وزن‌تر برگ) ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در تنش دمای پایین

دما	ژنوتیپ	شاهد متحمل	شاهد حساس	شبه لیموی شماره ٦	شبه لیموی شماره ٥	شبه لیموی شماره ٤	شبه لیموی شماره ٣	شبه لیموی شماره ٢	شبه لیموی شماره ١	میانگین
۳°C		۰/۵۸۸^{h}	۰/۸۱۵^{hegf}	۰/۷۸۱^{hgf}	۰/۸۳۱^{hegf}	۰/۸۳٦^{hegf}	۰/۸۰٤^{hegf}	۰/۸۲۸^{hegf}	۰/۸۱٤^{hegf}	۰/۷۸۷C
۰°C		۰/٦۸۹^{hg}	۰/۹۷٦^{hegdf}	۰/۸۲۲^{hegf}	۰/۹۱۸^{hegdf}	۰/۸٤٤^{hegf}	۰/۸۹۱^{hegdf}	۱/۱۳۷^{egdf}	۰/۸۷۳^{hegdf}	۰/۸۹٤C
-۳°C		۰/۷۷۸^{hgf}	۲/۳۳۷۸^{cb}	۰/۸۸۰۹^{hegdf}	۱/۳۱۱٤^{ed}	۱/۰۰۰۱^{hegdf}	۱/۲۲۹۹^{edf}	۲/۲۱۱۸^{c}	۱/۱۱۷۵^{egdf}	۱/۳۵۸۲٦B
-٦°C		۰/۷۸۰^{hgf}	۳/۳۲۷^{a}	۱/۱۱۷^{egdf}	۲/۲۱٦^{c}	۱/۳٦۸^{d}	۲/۵٦۳^{cb}	۲/۷٤۲^{b}	۲/۱۸۹^{c}	۲/۰۳۷٦A
	میانگین	۰/۷۰۸D	۱/۸٦٤A	۰/۹DC	۱/۳۱۹B	۱/۰۱۲C	۱/۳۷۲B	۱/۷۳۰۸A	۱/۲٤۸B	

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون و ردیف در سطح ۵٪ آزمون توکی اختلاف معنی‌دار ندارند (حروف کوچک برای اثرات متقابل و حروف بزرگ برای اثرات ساده)

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی

تجزیه واریانس (جدول ۱) نمونه های مورد آزمایش نشان داد که عامل ساده دما و ژنوتیپ و اثر متقابل آن‌ها بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، اثر معنی‌داری داشته است. به طوری که در مقایسه میانگین داده‌های حاصل، بعد از نمونه متحمل شاهد (انشو با میانگین ۷۳/۳٦۳ درصد) در دمای ۳- درجه‌سانتی‌گراد، ژنوتیپ بومی شبه لیمو شماره ٤ با میانگین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ٦۷/٤۳۳٪ در دمای ۳- درجه‌سانتی‌گراد در رتبه دوم قرار داشت. در نقطه مقابل کمترین میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ۳۳/۵۱۷

Archive of SID

www.SID.ir

درصد بود که به ژنوتیپ بومی شبه لیموی شماره ۲ در دمای ۳ درجه سانتی‌گراد تعلق داشته است (جدول ٦).

همانطور که قبلاً اشاره شد یکی از اثرات مخرب تنش دمای پایین تجمع رادیکال‌های فعال اکسیژن است که افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی می‌تواند با خنثی‌سازی رادیکال‌های مربوطه، در محافظت گیاهان تحت تنش مؤثر باشد (تاجور و همکاران،a۱۳۹۰). در پژوهش اثرات تنش دمای پایین بر نهال زالزالک (کیراکوسیان و همکاران،۲۰۰۳) و میوه نارنگی انشو تحت تنش یخبندان (فتاحی مقدم و همکاران، ۱۳۹۱) افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گزارش شده که تایید کننده نتایج حاصل است.

جدول ٦- مقایسه میانگین اثرمتقابل دما و ژنوتیپ بر میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (درصد) ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در تنش دمای پایین

دما	ژنوتیپ	شاهد متحمل	شاهد حساس	شبه لیموی شماره ٦	شبه لیموی شماره ٥	شبه لیموی شماره ٤	شبه لیموی شماره ۳	شبه لیموی شماره ۲	شبه لیموی شماره ۱	میانگین
۳°C		۳٥/٥۳٥^{nolm}	۳۳/۹۷۰^{no}	۳۷/٥۱۷$^{knjol m}$	۳٤/۷۸۰^{nom}	۳٦/٥٤۳$^{knol m}$	۳٦/۷۰۳$^{knol m}$	۳۳/٥۱۷^{o}	۳٥/۳۷۳^{nolm}	۳٥/٤٦۹٦ D
۰°C		٤۰/۲۸۷$^{ikhjl m}$	۳٥/٥۱۳$^{nol m}$	٤٦/۹۹۷^{feg}	۳۸/۷۹۷$^{iknjol m}$	٤۰/٥٦۷^{ikhjl}	۳۹/٤۷۳$^{iknjl m}$	۳٦/۳٥۷$^{knol m}$	۳۸/٥۹۰$^{iknjol m}$	۳۹/٥۷۲٥ C
-۳°C		۷۳/۳٦۳^{a}	٤٥/۸۲۰$^{fhe g}$	٦٥/٦۲۲^{bc}	٤۸/۸٤۷^{e}	٦۷/٤۳۳^{bc}	٤٥/٤۲۷^{fheg}	٤۱/۷۸۳^{ikhjg}	٤۸/۱۳۷^{fe}	٥٤/٥٥٤۲ A
-٦°C		٦۹/٦۳۳^{ba}	٤۳/۷۱۳$^{ifhe g}$	٦۲/٦۲۰^{dc}	٤٥/٦٤۰^{fheg}	٥۷/۲٦۷^{d}	٤۳/۰۱۷^{ifhjg}	۳۸/٤۱۰$^{iknjol m}$	٤٥/۸۷۷^{fheg}	٥۰/۷۷۲۱ B
	میانگین	٥٤/٦٥۹A	۳۹/۷٥٤D E	٥۳/۱۸۹A	٤۲/۰۱٦C	٥۰/٤٥۲B	٤۱/۱٥٥۰D C	۳۷/٥۱٦۷E	٤۱/۹۹٤۲D C	

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون و ردیف در سطح ٥٪ آزمون توکی اختلاف معنی‌دار ندارند (حروف کوچک برای اثرات متقابل و حروف بزرگ برای اثرات ساده)

کربوهیدرات محلول

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های (جدول ۱) این پژوهش نشان داد که صفت کربوهیدرات محلول برگ تحت تأثیر عامل ژنوتیپ تغییر معنی‌دار داشت. این در حالی است که عامل دما و اثر متقابل دما و ژنوتیپ بر محتوی کربوهیدرات محلول تأثیر معنی‌دار نداشته است. در مقایسه میانگین داده‌ها مشاهده گردید که به ترتیب بیشترین و کمترین محتوی کربوهیدرات محلول متعلق به شاهد متحمل (انشو) و حساس (پرشین لایم) بود. در بین ژنوتیپ‌های بومی شبه لیمو نیز مشاهده گردید که مقدار بیشتر (بعد از شاهد متحمل) و کمتر (قبل از شاهد حساس) محتوی کربوهیدرات محلول، به ترتیب متعلق به ژنوتیپ ٤(۲۸/۸۲۳ میلی‌گرم در گرم وزن تازه برگ) و ژنوتیپ بومی شماره ۳ (۲٤/۹٤۳ میلی‌گرم در گرم وزن تازه برگ) بوده است (جدول ۷).

تجمع قندهای محلول (ساکارز، گلوکز و فروکتوز) رابطه نزدیکی با مقاومت به تنش غیرزیستی در گیاهان دارد. به طوری که قندها با پروتئین‌ها و غشاءها از راه پیوند هیدروژنی اثر متقابل دارند، به همین دلیل از تخریب پروتئین‌ها جلوگیری می‌کنند. انباشت قندها تحت شرایط تنش دمای پایین را می‌توان به شدت تبدیل شدن نشاسته به قندهای محلول و یا نتیجه تقلیل مصرف آنها در اثر کاهش فرایندهای متابولیسمی مرتبط دانست. در اثر افزایش کربوهیدرات محلول، پتانسیل اسمزی گیاهان تحت تنش کاهش یافته که این واکنش فیزیولوژیکی می‌تواند بر حفظ آماس سلول و در نتیجه بهبود بقاء گیاهان متحمل، تاثیرگذارباشد (رضایی و همکارن،۱۳۸٦). در خصوص ارتباط این ترکیبات با مقاومت گیاهان به تنش‌های غیر زیستی گزارش‌های علمی متعددی ارائه شده است که در این زمینه می‌توان به سازگاری با تنش دمای پایین در زردآلو (افشاری و همکاران،۱۳۹۳) و پرتقال والنسیا (یلنوسکی،۱۹۷۹) همراه با افزایش کربوهیدرات محلول، اشاره داشت.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۷- مقایسه میانگین اثر ژنوتیپ بر محتوی کربوهیدرات، کلروفیل a و کل (میلی‌گرم در گرم وزن تازه برگ)

صفات	ژنوتیپ	شاهد متحمل	شاهد حساس	شبه لیموی شماره ٦	شبه لیموی شماره ٥	شبه لیموی شماره ٤	شبه لیموی شماره ٣	شبه لیموی شماره ٢	شبه لیموی شماره ١
کربوهیدرات (میلی‌گرم در گرم وزن تازه برگ)		٣٣/٤٨٦^{a}	٢٤/٥٢٢^{b}	٢٧/٦٦٦^{b}	٢٧/٣٩٧^{b}	٢٨/٨٢٣^{b}	٢٤/٩٤٣^{b}	٢٥/٨٨٥^{b}	٢٧/٢٦٩^{b}
کلروفیل a (میلی‌گرم در گرم وزن تازه برگ)		٢/٣٥٩٥^{a}	١/٥٨٣٦^{c}	٢/٢٣٣٧^{ab}	٢/٠٦٠٥^{abc}	٢/٠٣٧٦^{abc}	١/٩٠٢٢^{abc}	١/٩٦٧٩^{abc}	١/٧٩٦٥^{bc}
کلروفیل کل (میلی‌گرم در گرم وزن تازه برگ)		٢/٩٣٢٩^{a}	٢/٢٠٧٩^{b}	٢/٧٤٩٧^{ab}	٢/٧٠٣٢^{ab}	٢/٦٢٣٧^{ab}	٢/٤٣٠٩^{ab}	٢/٦٠٢٤^{ab}	٢/٣٧٤٩^{ab}

در هر ردیف میانگین‌های دارای حروف مشترک در سطح ٥٪ آزمون توکی اختلاف معنی‌دار ندارند

رنگدانه‌های گیاهی

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ١) بیانگر آن بود که صفات کلروفیل a و کل فقط تحت تأثیر عامل ژنوتیپ، قرار گرفت و دما و اثر متقابل دما و ژنوتیپ بر صفات ذکر شده تأثیرگذار نبود. در بررسی اثر تیمارهای دما، ژنوتیپ و اثرمتقابل آنها بر رنگدانه‌های کلروفیل b و کارتنوئیدها نیز تغییر معنی‌داری مشاهده نشد.

در مقایسه میانگین محتوی کلروفیل a(جدول ٧) مشاهده شد که بیشترین مقدار این صفت در نمونه‌های شاهد متحمل انشو (٢/٣٥٩ میلی‌گرم در گرم وزن تازه برگ) بود که بعد از آن ژنوتیپ بومی شبه لیموی شماره ٦ با میانگین ٢/٢٣٣ میلی‌گرم در گرم وزن تازه برگ در رتبه دوم قرار داشت. در مقابل، کمترین مقدار کلروفیل a، ١/٥٨٣ میلی‌گرم در گرم وزن تازه برگ بود که در شاهد حساس پرشین لایم ثبت گردید. با نگاهی به جدول مقایسه میانگین در می‌یابیم که در بین ژنوتیپ‌های بومی شبه لیمو مورد مطالعه نیز مقدار این صفت در ژنوتیپ بومی شماره یک،١/٧٩٦ میلی‌گرم در گرم وزن تازه برگ بوده که از لحاظ رتبه در جایگاه آماری یکی مانده به آخر (قبل از شاهد حساس پرشین لایم) قرار داشت. بیشترین محتوی کلروفیل کل نیز ٢/٩٣٢ میلی‌گرم در گرم وزن تازه برگ بوده که در شاهد متحمل انشو، ملاحظه گردید. بعد از انشو، ژنوتیپ بومی شبه لیموی شماره ٦ با کلروفیل کل ٢/٧٤٩ میلی‌گرم در گرم وزن تازه برگ از لحاظ تحمل در جایگاه دوم قرار داشت. این در حالی است که کمترین مقدار کلروفیل کل ٢/٢٠٧ میلی‌گرم در گرم وزن تازه برگ بود که در شاهد حساس پرشین‌لایم ثبت گردید. در بین ژنوتیپ‌های بومی شبه لیموی مورد بررسی، ژنوتیپ بومی شماره ١ با میانگین کلروفیل کل ٢/٣٧٤ میلی‌گرم در گرم وزن تازه برگ، در جایگاه آماری قبل از شاهد پرشین لایم قرار داشته (جدول ٨) که بیانگر حساس بودن (نسبت به تنش دمای پایین) ژنوتیپ بومی شبه لیموی مورد نظر بود.

در تفسیر این نتایج می‌توان اینگونه استنباط داشت که در ژنوتیپ‌های بومی شبه لیمو کاهش میزان کلروفیل aو کل می‌تواند ناشی از اکسیداسیون این رنگدانه‌ها در غشاء تیلاکوئید (موجود در اندامک کلروپلاست) باشد (فلکاس و همکاران، ١٩٩٩) که با توجه به نوع ژنوتیپ این واکنش تخریبی (اکسیداسیون رنگدانه) متفاوت بود؛ به عبارت دیگر، افزایش پراکسیداسیون‌لیپید (ناشی از افزایش تجمع رادیکال‌های فعال اکسیژن) به موازات کاهش رنگدانه‌های کلروفیل می‌تواند توجیه کننده تفسیر فوق باشد.

نتیجه‌گیری

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که با کاهش دما، شاخص‌های نشت یونی، آب‌گزیدگی برگ و پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء با توجه به نوع ژنوتیپ، افزایش نشان داد. در بین ژنوتیپ‌های بومی شبه لیموی مورد مطالعه (بدون در نظر گرفتن شاهد متحمل انشو و حساس پرشین لایم)، ژنوتیپ شماره ٦، نسبت به تنش دمای پایین علائم تخریبی کمتری داشته که می‌تواند به عنوان ماده گیاهی متحمل، در پژوهش‌های بعدی مورد استفاده قرار گیرد. این در حالی است که ژنوتیپ بومی شبه لیموی شماره ٢ در مقابل تنش دمای پایین خسارت بیشتری نشان داد که بیانگر حساسیت این گیاه به تنش مذکور می‌باشد.

Archive of SID

www.SID.ir

منابع

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

آرین پویا، ز.، غ. داوری نژاد و ش. عطار. ۱۳۸۸. بررسی آسیب سرمای زمستانه ۱۳۸۶ در برخی ارقام هلو و شلیل در شرایط مشهد. ششمین کنگره علوم باغبانی. ۲۵-۲۲ تیر. گیلان- رشت.

آمارنامه سالیانه محصولات باغبانی. ۱۳۹۳. وزارت جهاد کشاورزی ایران.

تاجور، ی.، م. قاسمی و ر. فیفایی. ۱۳۹۲. سرمازدگی در مرکبات و راه‌های کنترل آن. انتشارات موسسه تحقیقات مرکبات کشور. نشریه فنی به شماره ثبت ٤٣٥٦١.

تاجور، ی.، ر. فتوحی قزوینی، ی. حمید اوغلی و ر. حسن ساجدی. ۱۳۹۰a. ارزیابی برخی جنبه های فیزیولوژیکی پرتقال تامسون (*Citrus aurantium*) نسبت به تنش دمای پایین. مجله علوم و فنون باغبانی ایران، جلد ۱۲، شماره ۳: ۳۱۶-۳۰۷.

تاجور، ی.، ر. فتوحی قزوینی، ی. حمید اوغلی و ر. حسن ساجدی. ۱۳۹۰b. پاسخ‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی نارنگی پیج روی پایه سیترنج تحت تنش دمای پایین. مجله زیست شناسی گیاهی، سال ۳، شماره ۹: ۱۲-۱.

رضایی، ط.، م. غلامی، ا. ارشادی و م. ح. مصدقی. ۱۳۸٦. اثر تنش کم آبی بر خصوصیات رشدی و فیزیولوژیکی پنج رقم انگور (*Vitis vinifera* L.). پژوهش کشاورزی: آب، خاک و گیاه در کشاورزی. جلد ۷، شماره ٤: ۲۱۰-۱۱۹.

فتاحی مقدم، ج.، م. کیااشکوریان و ی. تاجور. ۱۳۹۱. بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی و میزان نارنجین در میوه‌ی ١٤ رقم مرکبات در واکنش به تنش یخزدگی. فنآوری تولیدات گیاهی. جلد ۱۲، شماره ۲: ۲۵-۱۱.

مشایخی، ک.، ح. صادقی؛ و. اکبرپور. ص. آتشی و س. ج. موسوی زاده. ۱۳۹۳. تغییرات کربوهیدرات برگ و میوه شلیل رقم ردگلد در طول فصل رشد در شرایط آب و هوایی گرگان. نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی). جلد ۹، شماره ۲۸: ۹-۱ .

Ashraf, M. and foolad, M. R. 2007. Role of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Enviro. Exp. Bot. 59:206-216.

Bartolozzi, F., M. Mencuccini and G. Fontanazza. 2001. Enhancement of frost tolerance in olive shoots in vitro by cold acclimation and sucrose increase in the culture medium. Biomed. Life. Sci. 67:299-302.

Bates, l.S., R.P. Waldren and I.D. Tears. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant. Soil. 39: 205-207.

Campos, P.S., V. Quartin, J.C. Ramalho and M.A. Nunes. 2003. Electrolyte leakage and lipid degradation account for cold sensitivity in leaves of *Coffea sp.* Plants. J.Plant Physiol. 160:283–292.

Close, T. J.1997. Dehydrins: a commonalty in the response of plantsto dehydration and low temperature. Physiol. Plant. 100: 291-296.

Flexas, J., M. Badger, W.S. Chow, H. Medrano and C.B. Osmond. 1999. Analysis of the relative increase in photosynthetic O_2 uptake when photosynthesis in grapevine leaves is inhibited following low night temperatures and/or water stress. Plant. Physiol. 121:675-684.

Gao, J .C., H. X. Wang and X. X. Li .2010. Relationship between soluble protein, MDA, andjujube (*Ziziphus mauritiana*) tree cold hardiness. Beifang Yuanyi (Northern Horticulture). 23: 18-20.

Gill, S. S. and Tuteja N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinary in abiotic stress tolerant in crop plants. Plant. Physiol. Biochem. 48: 909-930.

Gulen, H., C. Cetinkaya ., M. Kadlonglu, M. kesici,A Cansev and A. Eris.2008. Peroxidase activity and lipid peroxidation in strawberry (*Fragaria ananassa*) plants under Low temperature. J. Biol. Environ. Sci. 2.6: 95-100.

Hincha, D.K., Schmitt JM: Freeze-thaw injury and cryoprotectionof thylakoid membranes. In *Water and Life* Edited by: Somero GN, Osmond CB, Bolis CL. Berlin: Springer; 1992:316-337.

Hincha, D.K., F .Sieg, I. Bakaltcheva, H. Köth,J. M. Schmitt. 1996. Freeze-thaw damage to thylakoid membranes: specific protection by sugars and proteins. In *Advances in Low-Temperature Biology Volume 3*. Edited by: Steponkus PL. London: JAI Press:141-183.

Kavikishore,P.B.,S.sangam,R.N.Amrutha,P.S.Laxmi,K.R.Naidu,Rao,S.Reddy,k.J.,Therianppan,P.and N,Sreenivasulu .2005.Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants:Its implications in plant growth.Curr.Sci.88:424-438

Kirakosyan, A., E. Seymour, P.B. Kaufman, S. Warber, S. Bolling and S.C. Chang. 2003. Antioxidant Capacity of Polyphenolic Extracts from Leaves of *Crataegus laevigata* and *Crataegus monogyna* (Hawthorn) Subjected to Drought and Cold Stress. J. Agric. Food Chem. 51(14): 3973–3976.

Archive of SID

www.SID.ir

Leng, P. and J.X. Qi. 2003. Effect of anthocyanin on David peach (*Prunus davidiana Franch*) under low temperature stress. Sci. Hortic-Amsterdam. 97: 27-39.

Mirdehghan S.H, Rahemi, M., Martinez-Romero, D., Guillen, F., Valverede, J.M., Zapata, P.J., SerranoM. & Valero, D. (2006) Reduction of pomegranate chilling injury during storage after heat temperature.Postharvest. Biol. Tec, 44: 19-25. (in Persian)

Pietrini, F., D. Chaudhuri, A.P. Thapliyal. and A. Massacci. 2005. Analysis of chlorophyll fluorescence transients in mandarin leaves during a photo-oxidative cold shock and recovery. Agricult. Ecosys. Environ. 106: 189–198

Ranney, T.G., Bassuk and T.H. Whitlow. 1991. Osmotic adjustment and soluteconstituents in leaves and rootsof- waterstressedcherry trees. Am. Hort. Sci. 116: 684-688.

Sala, J.M., M.T. Lafuente. 2000. Catalase enzyme activity is related to tolerance of mandarin. fruits to chilling. Postharvest. Biol. Tec. 20: 81–89.

Shanker A .K. and B. Venkateswarlu . 2011. Abiotic Stress in Plants– Mechanisms & Adaptations. InTech Croatia .428 p.

Sullivan, C.Y and Ross, W.M., 1979. Selecting for drought and heat resistance in grain sorghum. In: stress physiology in crop plants (eds H. Mussel and R.C. Staples), Wiley Interscience, New York, pp.263-281.

Yelenosky, G. 1979. Accumulation of freeproline in citrus leaves during cold hardening ofyoung tree in controlled temperature regimes.Plant. Physiol. 64: 425-427.

Zhang, J., X. Wu., R. Niu, Y. Liu, N. Liu, W. Xu and Y. Wang .2012. Cold resistance evaluation in 25 wild grape species.Vitis. 51.4: 153-160.

Archive of SID

www.SID.ir

Effect of low temperature stress on biochemical and physiological characteristics of some native genotypes of like-lime in north of Iran

S. Mohammadi[1], H.R. Khazaie[2], A .nezami[3], Y. Tajvar[4]

Received: 2015-12-16 Accepted: 2016-2-24

Abstract

Citrus is one of the subtropical evergreen trees that are sensitive to freezing stress. Therefore, in this study, the vulnerability of six native genotypes of like-lime (1-6 number) in compare with control tolerant variety of Unshiu and sensitive variety of Persian lime (to low temperature) were studied under controlled condition to low temperature stress (3, 0, -3 and -6˚C). Experiment was done through factorial in a completely randomized design. Analysis of variance showed that interaction between genotype and temperature, leaf water soaking, electrolyte leakage, lipid peroxidation, proline content and antioxidant capacity were significant. It was while that, total carbohydrates, chlorophyll a, b, total and carotenoids have not significant differences. Therefore, the highest leaf water soaking (91.628%), electrolyte leakage (99.3%) and lipid peroxidation (3.32 µgr/gr FW) were recorded in control sensitive plant (Persian lime) at-6˚C temperature. While, the highest proline content (32.006 $mg.gr^{-1}$ leaf fresh weight) and antioxidant capacity (73.36%) were observed in control tolerant plant (Unshiu) at -3˚C temperature. Total carbohydrate, chlorophyll a and total chlorophyll, were significantly different only under the influence of genotype factor. Maximum amount of chlorophyll a (2.359 $mg.gr^{-1}$ leaf fresh weight), total chlorophyll (2.932 $mg.gr^{-1}$ leaf fresh weight) and total carbohydrate (33.486 $mg.gr^{-1}$ leaf fresh weight) were measured in control tolerant plant (Unshiu). Among the six native genotypes of like-lime studied, different reactions were recorded in low temperature stress. So that, after control tolerant plant (Unshiu), native genotypes like-lime No. 6 showed better resistance against low temperature stress. In contrast, native genotype like-lime No 2 in often destructive characteristics in this study, were at the same statistical rank or close to control sensitive plant (Persian lime). Thus native genotype like-lime No 2, compared to 5 native genotype like-limes, more sensitive to low temperature stress.

Keywords: Citrus, freezing, free radical, proline, antioxidant capacity

1- Ph.D. Student, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture Ferdowsi University Of Mashhad, Mashhad, Iran
2- Professor of Department of Agronomy, Faculty of Agriculture Ferdowsi University Of Mashhad, Mashhad, Iran
3- Professor of Department of Agronomy, Faculty of Agriculture Ferdowsi University Of Mashhad, Mashhad, Iran
4- Assistant Professor of Horticultural Science Research Institute, Citrus and Subtropical Fruits Research Center, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Ramsar, Iran

Archive of SID

www.SID.ir