نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۱، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۶، ص. ۷۵۰-۷۳۹
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

Journal of Horticultural Science
Vol. 31, No. 4, Winter 2018, P. 739-750
ISSN: 2008 - 4730

اثر دمای پایین بر خصوصیات فیزیولوژی و بیوشیمیایی برخی ژنوتیپ‌های شبه پرتقال در شمال کشور

صالح محمدی[1*]- حمیدرضا خزاعی[2]- احمد نظامی[3]- یحیی تاجور[4]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۰/۱۲
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۶/۰۸

چکیده

پرتقال از محصولات باغی حساس به تنش دمای پایین بوده، لذا در این مطالعه میزان آسیب‌پذیری به تنش دمای پایین در شرایط محیطی کنترل شده نسبت به سطوح تیمار دمای (۳، ۰، ۳- و ۶- درجه سیلسیوس) در شش ژنوتیپ بومی شبه پرتقال (شماره ۶-۱) رقم حساس (پرشین لایم) و رقم مقاوم (انشو) مورد بررسی قرار گرفت. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها بیانگر آن بود که تیمارهای دما، ژنوتیپ و اثر متقابل این دو در صفت‌های پراکسیداسیون لیپید، پرولین، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، نشت یونی، آبگزیدگی، کلروفیل a و کلروفیل کل معنی‌دار بوده است. این در حالی است که کربوهیدرات محلول تنها تحت تأثیر عامل ساده ژنوتیپ معنی‌دار شد. بر صفات رنگدانه‌های کلروفیل b و کارتنوئید نیز هیچ یک از تیمارهای اعمال شده تأثیر معنی‌دار نداشت. بیشترین مقدار آب‌گزیدگی (۹۹/۳۳ درصد)، نشت یونی (۹۱/۶۳ درصد) و واکنش پراکسیداسیون لیپید (با میانگین ۳/۳۳ میکروگرم درگرم وزن تر برگ) در شاهد حساس پرشین لایم در دمای ۶- درجه سیلسیوس ثبت گردید. در مقابل، بیشترین مقدار پرولین (۳۲/۰۱ میلی‌گرم در گرم وزن‌تر برگ) و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (۷۳/۳۶٪) نیز در شاهد متحمل انشو در دمای ۳- درجه سلسیوس ثبت گردید. در بین ژنوتیپ‌های بومی شبه پرتقال مورد بررسی در این پژوهش تحت شرایط تنش دمای پایین نیز واکنش‌های متفاوتی مشاهد شد. بر این اساس بعد از شاهد متحمل انشو، ژنوتیپ بومی شبه پرتقال شماره یک در مقابل کاهش دما پایداری بهتر داشت. این در حالی بود که در بین ژنوتیپ‌های شبه پرتقال مورد مطالعه، در اغلب صفات تخریبی اندازه‌گیری شده، ژنوتیپ بومی شبه پرتقال شماره ۶ در جایگاه آماری مشابه و یا نزدیک به شاهد حساس پرشین‌لایم قرار داشت. قرار گرفتن سرشاخه ژنوتیپ‌ها در معرض تنش سرما افزایش مالون دی آلدهید را به دنبال داشت. در این شرایط به دلیل افزایش فعالیت‌های اکسیداتیو تجمع ترکیبات آنتی اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز افزایش یافت.

واژه‌های کلیدی: پراکسیداسیون لیپید، پرولین، رادیکال آزاد، ژنوتیپ مرکبات، کلروفیل

مقدمه

یکی از مهم‌ترین محصولات باغبانی دنیا مرکبات است (۱۰) که در ایران نیز کشت و پرورش آن، جایگاه ویژه‌ای دارد. در بین استان‌های تولید کننده مرکبات در کشور، مازندران با عملکرد ۱/۸۸ میلیون تن، رتبه اول تولید را به خود اختصاص داده است (۲). مرکبات جزء محصولات مناطق نیمه گرمسیری و متعلق به خانواده روتاسه[5] بوده که اغلب گیاهان تجاری موجود در این خانواده به دلیل همیشه سبز بودن، حساس به تنش دمای پایین هستند (۲۹).

تنش دمای پایین جزء تنش‌های غیر زیستی است که از اثرات منفی آن بر گیاهان می‌توان به اختلال در فتوسنتز، تجمع رادیکال‌های آزاد اکسیژن، آسیب به غشاء سلولی، تخریب رنگدانه‌های گیاهی و اسیدهای نوکلوئیک، اشاره کرد (۲۸). یکی از اثرات منفی تنش دمای پایین، اختلال در فرآیند انتقال الکترون در عرض غشاء تیلاکوئید بوده که منجر به تجمع رادیکال‌های آزاد اکسیژن شده که می‌تواند، تخریب کلروفیل‌های گیاهی و پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی را به همراه داشته باشد (۱۶ و ۳۱).

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانشجوی دکتری و استادان گروه فیزیولوژی گیاهان زراعی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(*- نویسنده مسئول: Email: saleh.mohammadi92@yahoo.com)
۴- استادیار پژوهشی مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی، پژوهشکده مرکبات و میوه‌های نیمه‌گرمسیری، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رامسر
DOI: 10.22067/jhorts4.v31i4.59361

5- Rutacea

یکی از واکنش‌هایی که در حضور انواع رادیکال‌های فعال اکسیژن سرعت پیدا می‌کند پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی است که باعث تولید آلدئیدهایی مثل مالون‌دآلدئید (MDA) می‌شود (۲۴) رادیکال‌های فعال اکسیژن می‌توانند با گروه‌های متیل اسیدهای چرب غیر اشباع وارد واکنش شده و رادیکال‌های فعال اسید چرب تولید نمایند. رادیکال‌های شکل گرفته بسیار واکنش‌گر بوده که قادر به شروع واکنش‌های زنجیره‌ای پراکسیداسیون لیپید می‌باشند. تداوم این وضعیت موجب از هم گسیختگی ساختار غشاء و خروج آب و یون‌ها از سلول می‌شود (۶).مطالعه انجام گرفته بر روی برخی از ارقام تاک (۱۷) و انار (۲۷) مشخص کرد که با کاهش دما پراکسیداسیون غشا و نشت یونی افزایش یافت.

در شرایط ذکر شده برخی گیاهان سعی می‌کنند تا از طریق تغییراتی در فرایندهای فیزیولوژیکی و بکارگیری سیستم‌آنتی‌اکسیدانی، بقاء خویش را حفظ کنند (۲۹). یکی از مسائل مطرح سازگاری در زمان وقوع تنش یخبندان، حفظ محتوی آب و جلوگیری از انجماد سیتوپلاست بوده که عموماً گیاهان از طریق افزایش پرولین و کربوهیدرات سعی در مقابله با چالش ذکر شده می‌نمایند (۲۱). مقدار پرولین آزاد در بسیاری از گیاهان در واکنش به تنش های محیطی مانند تنش سرما و خشکی افزایش می یابد و این واکنش فیزیولوژی می‌تواند بر مقاومت ماده گیاهی تحت تنش تاثیرگذار باشد. در گزارش علمی نقش عمده پرولین در پایداری گیاهان تحت تنش را به تاثیر این اسیدآمینه بر پتانسل اسمزی مرتبط دانستند. افزایش مقاومت به سرما با مقدار کربوهیدرات‌های محلول نیز در ارتباط است (۱). بر این اساس در پژوهش‌های انجام شده در مدیریت کم‌آبیاری سیب انار و مرکبات (۳۱) این گونه عنوان شده است که مدیریت کم‌آبیاری با تاثیرگذاری بر افزایش تولید ترکیبات موثر بر پتانسیل اسمزی توانسته بر سازگاری بیشتر آنها نسبت به تنش دمای پایین، موثر باشد اینگونه گزارش شده است که تجمع کربوهیدرات‌های محلول و اسیدآمینه پرولین به سبب تلغیظ شیره سلولی، دمای انجماد را کاهش داده و باعث حفظ محتوای آب گیاهی و افزایش مقاومت به دمای پایین می‌شوند. سازگاری به سرما موجب تجمع ترکیبات فنولی می‌شود که این ترکیبات به‌طور مثبت با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه ارتباط دارد (۱۷).

علاوه بر شاخص‌های فیزیولوژیکی بیان شده، برخی صفات وجود داشته که می‌توانند به صورت مورفولوژی در ارزیابی میزان آسیب‌پذیری گیاهان تحت تنش یخبندان، مورد استفاده قرار گیرند (۲۹). از جمله این صفات در مرکبات می‌توان به آب‌گزیدگی برگ در زمان تنزل دما و یا تغییر رنگ این اندام بعد از وقوع تنش اشاره داشت (۳۰).

با توجه به وقوع دوره‌ای تنش یخبندان (سال ۱۳۸۶ و ۱۳۹۲) در شمال کشور و بروز چالش‌های فراوان اقتصادی و اجتماعی، ضرورت فعالیت در زمینه کاهش این خسارت الزامی به نظر می رسد. نظر به ماهیت ژنتیکی تحمل به تنش دمای پایین (پلی ژن بودن) این‌گونه به نظر می‌رسد غربالگری ارقام بومی بر اساس مقاومت به سرما و شناخت سازوکارهای درگیر در آن با هدف انتخاب ارقام مناسب یکی از اولویت‌های مهم در برنامه‌های به‌نژادی و به‌زراعی مرکبات در مناطق نیمه‌گرمسیری است. استفاده از ارقام مقاوم یکی از راهکردهای منطقی و کم‌هزینه برای تولید پایدار در هر منطقه است. که انتخاب ژنوتیپ متحمل و انجام فعالیت‌های به‌زراعی مناسب، می‌تواند در تعدیل این آسیب موثر واقع گردد. با توجه به وجود تنوع ژنوتیپ‌های بومی مرکبات در کشور، هدف از اجرای این پژوهش، شناسایی میزان تحمل‌پذیری ژنوتیپ‌های بومی پرتقال در مقابل تنش دمای پایین در شمال کشور است.

مواد و روش‌ها

این آزمایش سال طی سال‌های ۹۴ – ۱۳۹۳ در ایستگاه ستادی پژوهشکده مرکبات و میوه‌های نیمه‌گرمسیری شهر رامسر با هدف تعیین میزان تحمل به دمای پایین شش ژنوتیپ بومی شبه پرتقال در ۴ سطح دمایی (۳، ۰، ۳-، ۶-)، در مقایسه با شاهد متحمل انشو و حساس پرشین لایم (به تنش دمای پایین) اجرا شد. به این منظور مواد گیاهی با ویژگی‌های زیر از کلکسیون ذخائر ژرم پلاسم مرکبات شمال کشور که در شهرستان تنکابن (ایستگاه کترا) مستقر بوده، شاخه‌های یک‌ساله برگدار به طول ۳۰ سانتی‌متر طی سه مرحله در نیمه دوم آذر، دی و بهمن ماه تهیه و پس از علامت‌گذاری، درون دستگاه فریزر ترموگرادیان[1] قرار گرفته شد.

ژنوتیپ ۱یا شبه تامسون: عادت رشدی پخش و گسترده، شکل تاج کروی با شاخه‌های متراکم است و برگ‌ها ساده با پهنک بیضی شکل، حاشیه پهنک صاف، نوک باریک و دارای گوشوارک باریک و کشیده می‌باشند. میوه‌های این ژنوتیپ باوزن ۲۳۸/۳ گرم و طول ۷۳/۶۶ میلی‌متر و قطر ۸۲/۵۳ میلی‌متر دارای ۱۲ برچه بوده که بطور میانگین ۱۱ بذر دارند و رنگ گوشت در زمان رسیدن نارنجی می‌باشد.

ژنوتیپ ۲ یا شبه خونی: عادت رشدی پخش و گسترده، شکل تاج کروی با تراکم شاخه متوسط است. برگ‌ها ساده و پهنک بیضی شکل، حاشیه پهنک صاف، نوک باریک و بدون گوشوارک می‌باشند. وزن میوه‌های این ژنوتیپ ۲۸۸/۱۴ گرم و طول میوه ۴۹/۵۹ میلی‌متر و قطر آن ۵۴/۵۶ میلی‌متر می‌باشد. ۱۱ برچه بدون بذر در هر میوه وجود دارد و رنگ گوشت در زمان رسیدن نارنجی- قرمز است.

ژنوتیپ ۳ یا شبه پرتقال: عادت رشدی پخش و گسترده، شکل

1- Thermo gradient freezer

تاج پهن با تراکم شاخه کم است. برگ‌ها ساده و بیضی شکل با حاشیه صاف و دارای گوشوارک باریک و مثلثی شکل می‌باشند. وزن میوه ۱۴۰/۷ گرم و طول آنها ۷۱/۳۲ میلی‌متر و قطر ۷۰/۷۸ میلی‌متر می‌باشد. هر میوه ۱۰ برچه و تعداد ۴-۱ بذر دارد و رنگ گوشت در زمان رسیدن نارنجی است.

ژنوتیپ شماره ۴ یا شبه پرتقال محلی: عادت رشدی پخش و گسترده، شکل تاج پهن و تراکم شاخه متوسط است. برگ‌ها ساده و بیضی شکل با حاشیه صاف و نوک تیز همراه با گوشوارک باریک و کشیده می‌باشند. وزن میوه ۱۷۴/۴۲ گرم و طول ۶۴/۹۴ میلی‌متر و قطر ۷۳/۲۸ میلی‌متر می‌باشد که تعداد ۱۴-۱۰ برچه و ۱۹-۱۰ بذر در هر میوه وجود دارد و رنگ گوشت در زمان رسیدن نارنجی است.

ژنوتیپ شماره ۵ یا شبه خونی: عادت رشدی پخش و گسترده، شکل تاج پهن با تراکم شاخه کم است. برگ‌ها ساده و بیضی شکل، حاشیه صاف، نوک باریک و دارای گوشوارک با پهنای متوسط و مثلثی شکل می‌باشند. وزن میوه ۱۳۵/۸۶ گرم و طول ۶۴/۲۲ میلی متر و قطر ۶۵/۱۵ میلی‌متر است که ۱۴-۱۰ برچه و تعداد ۴-۱ بذر در هر میوه وجود دارد و رنگ گوشت در زمان رسیدن نارنجی- قرمز است.

ژنوتیپ شماره ۶ یا شبه والنسیا: عادت رشدی پخش و گسترده، شکل تاج کروی و شاخه‌ها متراکم است. برگ‌ها ساده و بیضی شکل، حاشیه صاف، نوک باریک و دارای گوشوارک چسبیده و باریک و کشیده می‌باشند. وزن میوه ۱۴۶/۶۴ گرم و طول میوه ۶۶/۹۵ میلی‌متر و قطر ۶۸/۷۴ میلی‌متر است که ۱۲ برچه و ۱۱ بذر در هر میوه وجود دارد و رنگ گوشت در زمان رسیدن زرد است.

شروع کاهش دمای دستگاه از دمای ۶ درجه سلسیوس بود. کاهش دمای دستگاه یک درجه سلسیوس به ازای هر ساعت بود که پس از رسیدن به هر تیمار دمایی، نمونه‌ها به مدت ۳ ساعت در دماهای ذکر شده نگهداری و پس از اتمام این دوره زمانی (۳ ساعت) نمونه‌برداری برای اندازه‌گیری صفات انجام گردید. با توجه به ماهیت بروز علائمی هم‌چون نشت یونی و آب‌گزیدگی برگ، بلافاصله بعد از هر تیمار دمایی، شاخص‌های ذکر شده بررسی شدند. بر این اساس آب‌گزیدگی برگ با محاسبه سطح آب‌گزیده پشت برگ نسبت به سطح کل با استفاده از دستگاه سطح‌سنج برگ (مدل AM300 از انگلستان) بر اساس درصد محاسبه گردید (۲۶). سنجش نشت یونی نیز با استفاده از روش ارائه شده مکالم و مگ دونالد (۲۲) بررسی شد. به منظور اندازه‌گیری صفاتی همچون پرولین، کربوهیدرات محلول، رنگدانه‌های گیاهی و پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء در مراحل بعد از تنش، نمونه‌ها را سریعاً در ازت مایع، منجمد و سپس در فریزر۸۰- درجه سلسیوس نگهداری و سپس در مراحل بعدی مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند.

اسیدآمینه پرولین بر اساس روش بیتس و همکاران (۸) سنجش شد. پراکسیداسیون لیپیدهای غشا طبق روش کامپوز و همکاران، براساس غلظت مالون‌دی‌آلدهید تولید شده (در اثر آسیب به غشا) و سپس واکنش آن با تیوباربیوتیک اسید که ترکیب رنگی تیوباربیوتیک اسید- مالون‌دی‌آلدهید تشکیل می‌دهد، اندازه‌گیری گردید (۹). مقدار ظرفیت آنتی اکسیدانی مطابق روش فولکی و فرانسیس (۱۴) مورد بررسی قرار گرفت. استخراج و اندازه‌گیری قندهای محلول نیز با استفاده از روش اوموکولی (۲۳) انجام پذیرفت. سنجش میزان کلروفیل و کاروتنوئید مطابق روش آرنون (۴) اندازه‌گیری شد.

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

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) بیانگر آن بود که تیمارهای دما، ژنوتیپ و اثر متقابل این دو در صفت‌های پراکسیداسیون لیپید، پرولین، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، نشت یونی، آبگزیدگی، کلروفیل a و کلروفیل کل معنی‌دار بوده است. این در حالی است که کربوهیدرات محلول تنها تحت تأثیر عامل ساده ژنوتیپ معنی‌دار گردید. بر صفات رنگدانه‌های کلروفیل b و کارتنوئید نیز هیچ یک از تیمارهای اعمال شده تأثیر معنی‌دار نداشت.

مقایسه میانگین داده‌های حاصل از آب‌گزیدگی (جدول ۲) بیانگر آن بود که مقدار این صفت با توجه به نوع ژنوتیپ با تنزل دما افزایش داشت. به طوری‌که در دمای ۶- درجه سانتی‌گراد کمترین میزان آب‌گزیدگی برگ در شاهد انشو ثبت شد. در نقطه مقابل در دمای ذکر شده، بیشترین مقدار آب‌گزیدگی برگ در نمونه‌های شاهد حساس پرشین‌لایم مشاهده گردید. در بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در دمای ۶- درجه سانتی‌گراد نیز واکنش‌های متفاوتی ملاحظه شد به طوری که ژنوتیپ شماره ۱ با میانگین آب‌گزیدگی ۲۸/۲۷ درصد نسبت به سایر ژنوتیپ‌های بومی شبه پرتقال دیگر در این پژوهش، آب‌گزیدگی کمتر داشت. این در حالی بود که در ژنوتیپ‌های بومی شبه پرتقال‌های مورد بررسی در این پژوهش، بیشترین مقدار این صفت ۴۸/۲۷ درصد بود که در ژنوتیپ بومی شبه پرتقال شماره ۶ ثبت گردید (جدول ۲). گزارش مشابهی در خصوص تأثیر تنش یخبندان بر آب‌گزیدگی برگ گیاهچه بذری هلو (۲۰) و ارقام حساس مرکبات (۳۰) ارائه شده که مطابق نتایج این پژوهش است.

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر دمای پایین بر واکنش های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ژنوتیپ‌های بومی شبه پرتقال

Table 1- Analysis variance of the low temperature stress on biochemical and physiological reaction of like orange native genotypes

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی CF	میانگین مربعات Means of squares									
		آب‌گزیدگی Water soaking	نشت یونی Electrolyte leakage	لیپیدپراکسیداسیون Lipid peroxidation MDA	پرولین Proline	ظرفیت آنتی‌اکسیدانی Antioxidant Capacity	کربوهیدرات Carbohydrate	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل کل Total Chlorophyll	کارتنوئیدها Carotenoid
ژنوتیپ Genotype	7	1418.997*	782.570*	1.550*	179.654*	630.476*	116.079*	0.726*	0.106ns	0.852*	0.019ns
دما temperature	3	9137.640*	13110.620*	8.516*	614.375*	1190.448*	7.350ns	0.279*	0.093ns	0.588*	0.0026ns
ژنوتیپ و دما Temperature & Genotype	21	491.708*	477.253*	0.427*	22.876*	125.155*	10.019ns	0.088*	0.0090ns	0.103*	0.012ns
خطا Error	64	3.265	1.0821	0.016	0.482	5.688	6.641	0.038	0.008	0.059	0.020
CV%		12.162	4.503	9.926	5.418	5.794	9.737	10.683	18.144	10.399	25.104

**، * و ns به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد، ۵ درصد و غیر معنی‌دار

**, * and ns Significant at 1% level, 5% level and not significant, respectively

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل دما × ژنوتیپ بر درصد آب گزیدگی برگ ژنوتیپ‌های شبه پرتقال

Table 2- Interaction effect of temperature × getotype on water soaking percentage of semi-orange genotypes leaves

میانگین Mean	ژنوتیپ Genotype								دما Temperature (°C)
	1	2	3	4	5	6	شاهد حساس Sensitive Control	شاهد متحمل Resistant Control	
0.00D	0^{i}	0^{i}	0^{i}	0^{i}	0^{i}	0^{i}	0^{i}	0^{i}	3
2.60C	0^{i}	5.27^{hi}	0^{i}	0^{i}	5.27^{hi}	5.27^{hi}	5^{hi}	0^{i}	0
14.20B	5.27^{hi}	20.27^{f}	5.27^{hi}	5.27^{hi}	12.27^{g}	15.27^{fg}	50^{b}	0^{i}	-3
42.62A	28.27^{e}	42.27^{cd}	46.27^{bc}	32.27^{e}	38.27^{d}	48.27^{b}	99.33^{a}	6^{h}	-6
	8.39D	16.95B	12.89C	9.39D	13.95C	17.20B	38.58A	1.5E	میانگین Mean

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

Means in each column followed by the same letters are not significantly different at 5% level using Tukey test.

مقایسه میانگین نشت یونی (جدول۳) نشان داد که با توجه به نوع ژنوتیپ، بیشترین میزان این صفت در دمای ۶- سانتی‌گراد رخ داد. به طوری‌که در دمای ۶- درجه سانتی‌گراد کمترین میزان نشت یونی برگ (۱۳/۵۵ درصد) در شاهد انشو ثبت شد. در نقطه مقابل بیشترین مقدار نشت یونی برگ (۹۱/۶۳ درصد) در نمونه‌های شاهد حساس پرشین‌لایم ملاحظه گردید. در بین ژنوتیپ‌های بومی شبه پرتقال مورد مطالعه در دمای ۶- درجه نیز واکنش‌های متفاوتی مشاهد شد. به طوری‌که ژنوتیپ بومی شبه پرتقال شماره ۱ با ۴۱/۵۰ درصد نشت یونی نسبت به سایر ژنوتیپ‌های بومی شبه پرتقال مورد مطالعه در این پژوهش، نشت یونی کمتر داشت. این در حالی بود که در ژنوتیپ‌های بومی شبه پرتقال مورد بررسی در این پژوهش، بیشترین مقدار نشت یونی ۸۱/۱۱ درصد بود که در ژنوتیپ بومی شبه پرتقال شماره ۶ ثبت گردید (جدول ۳). در خصوص اثرات کاهش دما در افزایش نشت یونی گزارش‌های متعددی ارائه شده که می‌توان به مطالعات صورت گرفته روی گیاهچه مکزیکن لایم در مرکبات (۱۵) و درختان زیتون تحت شرایط کنترل شده تنش یخبندان (۷) اشاره داشت. در توجیه وقوع هم‌زمان نشت یونی و آب‌گزیدگی می‌توان این گونه استدلال داشت که احتمالاً وقوع یخبندان می‌تواند از طریق افزایش نشت یونی، موجب خروج آب از درون سلول به فضای بیرون شده که در چنین وضعیتی بروز پدیده آب‌گزیدگی برگ نیز قابل ملاحظه خواهد بود. بنابراین افزایش هم‌زمان نشت یونی و پدیده آب‌گزیدگی برگ نمونه‌های مورد مطالعه در این پژوهش نیز می‌تواند تأیید کننده این استدلال باشد.

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل دما و ژنوتیپ بر میزان نشت یونی (درصد) ژنوتیپ‌های شبه پرتقال

Table 3- Interaction effect of temperature × getotype on electrolyte leakage (percent) of of semi-orange genotypes

میانگین Mean	ژنوتیپ Genotype								دما Temperature (°C)
	1	2	3	4	5	6	شاهد حساس Sensitive Control	شاهد متحمل Resistant Control	
8.13D	8.39^{j-m}	8.60^{j-m}	8.07^{klm}	7.94^{klm}	7.63^{klm}	8.60^{j-m}	8.88^{j-m}	6.97^{m}	3
9.50C	8.72^{j-m}	10.62^{h-l}	9.01^{j-m}	8^{klm}	10.95^{h-k}	11.58^{hij}	9.75^{i-m}	7.42^{lm}	0
17.12B	11.74^{hij}	39.80^{e}	12.72^{hi}	11.50^{hij}	17.79^{f}	18.52^{f}	16.33^{fg}	8.56^{j-m}	-3
57.66A	41.50^{e}	68.52^{c}	71.83^{c}	45.29^{d}	47.85^{d}	81.11^{b}	91.63^{a}	13.55^{gh}	-6
	17.58E	31.88A	25.40C	18.18E	21.05D	29.95B	31.65A	9.12F	میانگین Mean

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

Means in each column followed by the same letters are not significantly different at 5% level using Tukey test.

پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء از علائم تخریب تنش دمای پایین است که در این پژوهش با توجه به نوع ژنوتیپ بیشترین پراکسیداسیون لیپید در دمای ۶- درجه سانتی‌گراد ثبت گردد. از این رو مقایسه میانگین داده‌های ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در این دما نشان داد که (جدول ۴) کمترین میزان واکنش (با ۰/۷۸ میکروگرم مالون‌دآلدئید درگرم در وزن تر برگ) مربوط به شاهد مقاوم انشو بود. بعد از شاهد متحمل انشو، ژنوتیپ بومی شبه پرتقال شماره ۱ با میانگین تولید ۱/۱۲ میکروگرم در گرم وزن تر برگ مالون‌دآلدئید در جایگاه بعدی قرار گرفت. بیشترین میزان این صفت نیز ۳/۳۳ میکروگرم در گرم وزن‌تر برگ مالون دآلدئید بود که در شاهد حساس

پرشین لایم ثبت شد. در بین ژنوتیپ‌های بومی شبه پرتقال نیز ملاحظه گردید میزان این صفت در ژنوتیپ شماره ۶، ۲/۵۶ میکروگرم در گرم وزن تر برگ بوده که از نظر رتبه آماری، قبل از شاهد حساس قرار گرفت. در پژوهش‌های متعددی به ارتباط خسارت تنش دمای پایین و افزایش پراکسیداسیون لیپیدهای‌غشاء اشاره شده که در این زمینه می‌توان به پژوهش‌های انجام شده روی ارقام انگور (۳۱)، عناب (۱۵) و قهوه (۹) اشاره داشت.

جدول ٤- مقایسه میانگین اثر متقابل دما × ژنوتیپ بر میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء (میکروگرم در گرم وزن تر برگ) ژنوتیپ‌های شبه پرتقال

Table 4- Interaction effect of temperature × getotype on lipid peroxidation of semi-orange genotypes

میانگین Mean	ژنوتیپ Genotype								دما Temprature(°C)
	1	2	3	4	5	6	شاهد حساس Sensitive Control	شاهد متحمل Resistant Control	
0.81C	0.83^{f-i}	0.82^{f-i}	0.86^{f-i}	0.87^{f-i}	0.88^{f-i}	0.86^{f-i}	0.81^{g-i}	0.59^{i}	3
0.89C	0.82^{f-i}	0.87^{f-i}	0.91^{f-i}	0.89^{f-i}	0.89^{f-i}	1.12^{e-h}	0.98^{e-i}	0.69^{i}	0
1.36B	0.93^{e-i}	1.20^{efg}	1.23^{ef}	1.33^{e}	1.22^{efg}	1.87^{d}	2.34^{bc}	0.78^{hi}	-3
2.11A	1.12^{e-h}	2.41^{bc}	2.45^{bc}	2.11^{cd}	2.15^{bcd}	2.56^{b}	3.33^{a}	0.78^{hi}	-6
	0.92D	1.32C	1.36C	1.3C	1.28C	1.60B	1.86A	0.71E	میانگین Mean

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

Means in each column followed by the same letters are not significantly different at 5% level using Tukey test

در پژوهش مذکور صفت پرولین نیز تحت تأثیر اثر متقابل ژنوتیپ و دمای پایین بود (جدول ۵). لذا مقایسه میانگین داده‌ها بیانگر آن است که با کاهش دما تا ۳- درجه سانتی‌گراد میزان این اسیدآمینه رو به افزایش نهاد و مجدداً در دمای ۶- درجه سانتی‌گراد میزان این اسیدآمینه قدری تنزل داشت. بر این اساس بیشترین پرولین، متعلق به شاهد متحمل انشو (۳۲/۰۱ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) در دمای ۳- درجه سانتی‌گراد بود. پس از آن ژنوتیپ بومی شبه پرتقال شماره ۱ با مقدار ۱۹/۶۲ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ پرولین در رتبه دوم قرار داشت. در دمای ۳ درجه سانتی‌گراد مقدار اسیدآمینه پرولین در تمامی نمونه‌ها در پایین‌ترین سطح بود. بر این اساس در بین نمونه‌های مورد مطالعه، ژنوتیپ بومی شبه پرتقال شماره ۲ با میانگین تولید پرولین ۵/۲۹ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ کمترین میزان این صفت را به خود اختصاص داد. به طوری‌که از نظر صفت ذکر شده شاهد حساس پرشین لایم (با میانگین تولید ۸/۷۳ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) در مقابل ژنوتیپ بومی شبه پرتقال شماره ۲ واکنش بهتری داشت. در گزارش‌های علمی ارائه شده این گونه عنوان شده است که تجمع پرولین آزاد می‌تواند با تأثیرگذاری بر تنظیمات اسمزی و در مواقعی خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد، نسبت به متحمل‌سازی گیاهان مؤثر گردد (۵ و ۱۸). 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 (۱).

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل دما و ژنوتیپ بر میزان پرولین(میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) ژنوتیپ‌های شبه پرتقال

Table 5- Interaction effect of temperature × getotype on proline of semi-orange genotypes

میانگین Mean	ژنوتیپ Genotype								دما Temperature (°C)
	1	2	3	4	5	6	شاهد حساس Sensitive Control	شاهد متحمل resistant Control	
7.33D	6.40^{pq}	5.29^{q}	7.27^{n-q}	7.17^{opq}	7.29^{n-q}	7.62^{nop}	8.73^{l-o}	8.89^{k-o}	3
9.83C	7.29^{n-q}	6.43^{pq}	9.44^{j-n}	9.93^{j-m}	8.25^{m-p}	9.17^{j-o}	10.76^{i-l}	17.37^{d}	0
18.01A	19.62^{c}	14.84^{e-h}	13.73^{fgh}	17.40^{dc}	16.27^{de}	12.73^{hi}	17.49^{dc}	32.01^{a}	-3
16.11B	17.40^{dc}	12.95^{ghi}	11.21^{ij}	15.51^{def}	15.11^{efg}	11.10^{ijk}	16.40^{de}	29.17^{b}	-6
	12.68 B	9.88D	10.41 D	12.50CB	11.73 C	10.16D	13.34 B	21.86 A	میانگین Mean

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

Means in each column followed by the same letters are not significantly different at 5% level using Tukey test.

مقایسه میانگین اثر متقابل تنش دمای پایین و ژنوتیپ بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (جدول ۶) نشان داد که با توجه به نوع ژنوتیپ، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی با تنزل دما افزایش یافت. به طوری که روند افزایش این صفت تا دمای ۳- درجه سانتی‌گراد ادامه داشت. از این رو بیشترین میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ۷۳/۳۶ درصد بود که در شاهد متحمل انشو در دمای ۳- درجه سانتی‌گراد ثبت گردید. بعد از آن ژنوتیپ بومی شبه پرتقال شماره ۱ با ۶۷/۵۱ درصد ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در رتبه بعدی قرار داشت. کمترین میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نیز ۳۸/۲۲ درصد بود که در ژنوتیپ بومی شبه پرتقال شماره ۶ ثبت شد که نسبت به نمونه شاهد حساس (پرشین لایم) نیز در رتبه آماری پایین‌تر قرار گرفت.

جدول ٦- مقایسه میانگین اثر متقابل دما و ژنوتیپ بر میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (درصد) ژنوتیپ‌های شبه پرتقال

Table 6- Interaction effect of temperature × getotype on antioxidant capacity of semi-orange genotypes

دما Temperature(°C)	شاهد متحمل Resistant Control	شاهد حساس Sensitive Control	6	5	4	3	2	1	میانگین Mean
	ژنوتیپ Genotype								
3	35.35^{e-h}	33.97^{fgh}	30.80^{h}	34.02^{fgh}	36.34^{d-h}	31.40^{gh}	33.38^{fgh}	36.13^{d-h}	33.92D
0	40.29^{c-f}	35.51^{e-h}	33.15^{fgh}	36.47^{d-h}	38.79^{c-g}	33.75^{fgh}	35.73^{e-h}	39.80^{c-f}	36.68C
-3	73.36^{a}	45.82^{c}	38.22^{c-h}	42.45^{cde}	44.77^{c}	38.82^{c-g}	40.80^{c-f}	67.51^{a}	48.97A
-6	69.63^{a}	43.71^{dc}	35.71^{e-h}	39.47^{c-f}	41.79^{cde}	36.31^{d-h}	38.29^{c-h}	55.81^{b}	45.09B
میانگین Mean	54.66A	39.75DC	34.47F	38.1DCE	40.42C	35.07FE	میانگین Mean	49.81B	

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

Means in each column followed by the same letters are not significantly different at 5% level using Tukey test.

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 دمای پایین مؤثر باشد (۲۵) به طوری که در پژوهش پایداری نهال زالزالک (۱۹) و میوه نارنگی انشو در مرکبات (۱۱) تحت تنش دمای پایین افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گزارش شده که تأیید کننده نتایج حاصل است.

صفت کلروفیل a تحت تأثیر سه عامل دما، ژنوتیپ و برهمکنش آنها معنی‌دار گردید. بر این اساس مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد (جدول ۷) که کمترین میزان این رنگدانه ۱/۲۷ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ بوده که در دمای ۶- درجه سانتی‌گراد در شاهد حساس پرشین لایم مشاهده شد. پس از آن در بین ژنوتیپ های بومی شبه پرتقال مورد مطالعه ژنوتیپ بومی شماره ۴ با ۱/۴۰ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ در دمای ۳- درجه سانتی‌گراد، مقدار کمتری از این صفت را به خود اختصاص داده بود که از نظر آماری در جایگاه ماقبل آخر (قبل از شاهد حساس پرشین لایم) قرار گرفت. در نقطه مقابل بیشترین میزان کلروفیل a در شاهد متحمل انشو در دمای ۳ درجه سانتی‌گراد ثبت شد. در بین ژنوتیپ بومی شبه پرتقال‌های مورد مطالعه نیز مشاهده گردید که بعد از شاهد متحمل انشو، ژنوتیپ بومی شبه پرتقال شماره ۱ در دمای ۶- درجه سانتی‌گراد (۲/۱۴ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) نسبت به سایر نمونه‌های مورد مطالعه، محتوی کلروفیل بالاتری داشت.

در مورد میزان کلروفیل کل نیز مشاهده گردید که شاهد متحمل انشو در دمای صفر درجه سانتی‌گراد بیشترین مقدار این صفت را به خود اختصاص داده بود. پس از آن ژنوتیپ بومی شبه پرتقال شماره ۱ با میانگین کلروفیل کل ۲/۶۵ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ در جایگاه دوم قرار داشت. در نقطه مقابل کمترین میزان کلروفیل کل۱/۶۹ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ بود که در شاهد حساس پرشین لایم در دمای ۶- درجه سانتی‌گراد مشاهده شد. در بین ژنوتیپ‌های بومی شبه پرتقال مورد مطالعه نیز ملاحظه گردید که کمترین مقدار کلروفیل کل (۱/۷۹ میکروگرم در گرم وزن تر برگ) در ژنوتیپ بومی شبه پرتقال شماره ۶ در دمای ۶- درجه سانتی‌گراد ثبت شد که از لحاظ آماری در جایگاه قبل از شاهد حساس پرشین لایم قرار گرفت (جدول ۸).

احتمالاً کاهش کلروفیل a و کل در ژنوتیپ‌های مورد نظر می تواند ناشی از اکسیداسیون این رنگدانه‌ها در غشاء تیلاکوئید باشند (۱۲). به عبارت دیگر افزایش پراکسیداسیون‌لیپید (ناشی از افزایش تجمع رادیکال‌های فعال اکسیژن) به موازات کاهش رنگدانه‌های کلروفیل می‌تواند توجیه کننده تفسیر فوق باشد. در ارزیابی واکنش دانهال‌های لیمو آب در مواجهه با تنش یخبندان، تخریب رنگدانه‌های کلروفیل اشاره شده که با نتایج این آزمایش هماهنگی دارد (۱۳).

جدول ۷- مقایسه میانگین اثر متقابل دما و ژنوتیپ بر میزان کلروفیل a (میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) ژنوتیپ‌های شبه پرتقال

Table 7- Interaction effect of temperature × getotype on chlorophyll a of semi-orange genotypes

میانگین Mean	ژنوتیپ Genotype								دما Temperature (°C)
	1	2	3	4	5	6	شاهد حساس Sensitive Control	شاهد متحمل resistant Control	
1.97A	2.03^{a-e}	1.98^{a-e}	1.96^{a-e}	1.70^{c-f}	1.78^{b-f}	2.01^{a-e}	1.89^{a-f}	2.45^{a}	3
1.86BA	1.89^{a-f}	1.91^{a-e}	1.88^{a-f}	1.55^{def}	1.63^{def}	2^{a-e}	1.66^{def}	2.33^{abc}	0
1.74B	1.73^{b-f}	1.76^{b-f}	1.74^{b-f}	1.40^{ef}	1.48^{ef}	1.99^{ae}	1.52^{def}	2.34^{ab}	-3
1.75B	2.14^{a-d}	1.57^{def}	1.55^{def}	1.81^{b-f}	1.88^{a-f}	1.47^{ef}	1.27^{f}	2.32^{abc}	-6
	1.95B	1.81CBD	1.78CBD	1.61D	1.69CD	1.87CB	1.58D	2.36A	میانگین Mean

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

Means in each column followed by the same letters are not significantly different at 5% level using Tukey test.

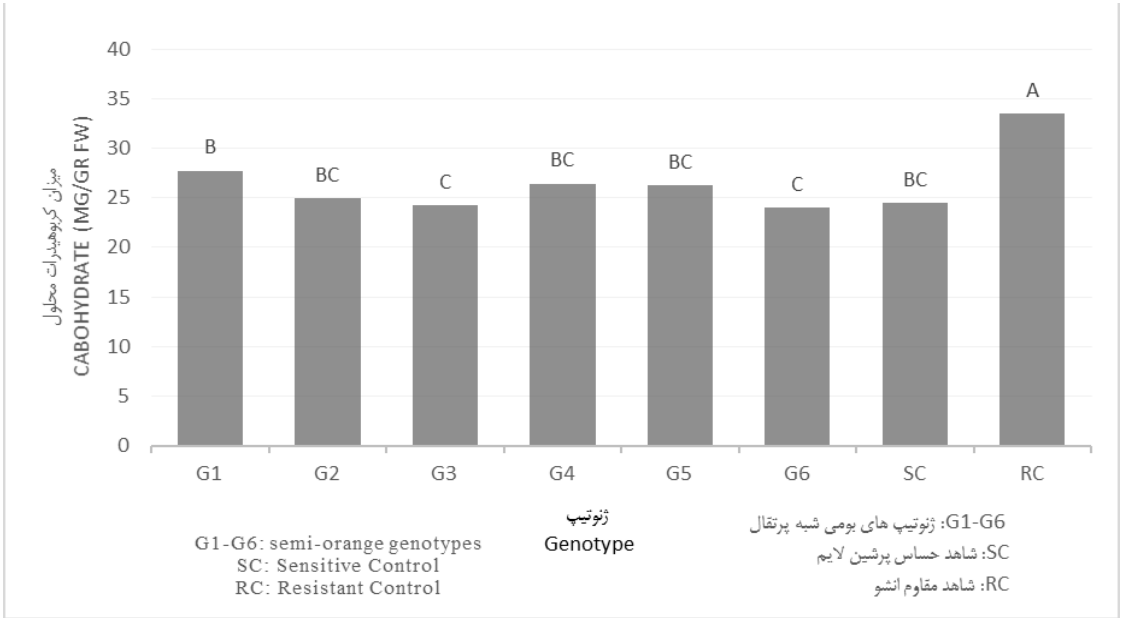
جدول ۸- مقایسه میانگین اثر متقابل دما و ژنوتیپ بر میزان کلروفیل کل (میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) ژنوتیپ‌های شبه پرتقال

Table 8- Interaction effect of temperature × getotype on total chlorophyll of semi-orange genotypes

میانگین Mean	ژنوتیپ Genotype								دما Temperature(°C)
	1	2	3	4	5	6	شاهد حساس Sensitive Control	شاهد متحمل resistant Control	
2.51A	2.63^{a-d}	2.47^{a-f}	2.44^{a-f}	2.26^{a-f}	2.32^{a-f}	2.47^{a-f}	2.55^{a-e}	2.93^{ab}	3
2.43A	2.54^{a-e}	2.38^{a-f}	2.34^{a-f}	2.17^{b-f}	2.23^{a-f}	2.44^{a-f}	2.41^{a-f}	2.97^{a}	0
2.32B	2.32^{a-f}	2.11^{c-f}	2.08^{def}	1.95^{def}	2.01^{def}	2.31^{a-f}	2.17^{b-f}	2.89^{abc}	-3
2.19B	2.65^{a-d}	1.92^{def}	1.89^{def}	2.27^{a-f}	2.34^{a-f}	1.79^{ef}	1.69^{f}	2.94^{ab}	-6
	2.53B	2.22C	2.19C	2.16C	2.22C	2.25CB	2.20C	2.93A	میانگین Mean

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

Means in each column followed by the same letters are not significantly different at 5% level using Tukey test



شکل ۱- اثر ژنوتیپ‌های شبه پرتقال بر میزان کربوهیدرات محلول میوه

Figure 1- Effect of semi-orange genotype on fruit solution carbohydrate

همان‌طور که گفته شد، صفت کربوهیدرات تنها تحت تأثیر ژنوتیپ معنی‌دار گردید. لذا مقایسه مقایسه میانگین داده‌ها بیانگر آن بود که بیشترین میزان کربوهیدرات محلول ۳۳/۴۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ بودکه در شاهد مقاوم انشو مشاهده شد. پس از آن بیشترین محتوی کربوهیدرات ۲۷/۷۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ بود که در ژنوتیپ بومی شبه پرتقال شماره ۱ ثبت گردید. کمترین میزان این صفت نیز ۲۴/۰۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه برگ بود که در ژنوتیپ بومی شبه پرتقال شماره ۶ ثبت گردید.

نتیجه‌گیری کلی

قرار گرفتن سرشاخه ژنوتیپ‌ها در معرض تنش سرما در شرایط فریزر ترموگرادیان، منجر به اختلال در فعالیت‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک آنها شد وافزایش مقادیر مالون دی آلدهید را به دنبال داشت. در این حالت و احتمالا به دلیل افزایش فعالیت‌های اکسیداتیو تجمع ترکیبات آنتی اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز افزایش یافت. در این پژوهش اثر متقابل دما و ژنوتیپ بر پراکسیداسیون لیپید، پرولین، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، نشت یونی، آبگزیدگی، کلروفیل a و کلروفیل کل معنی‌دار بود. این در حالی است که کربوهیدرات محلول تنها تحت تأثیر عامل ساده ژنوتیپ معنی‌دار گردید. بر صفات رنگدانه‌های کلروفیل b و کارتنوئید نیز هیچ یک از تیمارهای اعمال شده تأثیر معنی‌دار نداشت. در بین ژنوتیپ‌های بومی شبه پرتقال مورد بررسی در این پژوهش تحت شرایط تنش دمای پایین نیز واکنش‌های متفاوتی مشاهد شد. بر این اساس بعد از شاهد متحمل انشو، ژنوتیپ بومی شبه پرتقال شماره یک در مقابل کاهش دما پایداری بهتر داشت. این در حالی بود که در بین ژنوتیپ‌های شبه پرتقال مورد مطالعه، در اغلب صفات تخریبی اندازه‌گیری شده، ژنوتیپ بومی شبه پرتقال شماره ۶ در جایگاه آماری مشابه و یا نزدیک به شاهد حساس پرشین‌لایم قرار داشت. تنش سرما باعث افزایش نشت الکترولیت‌ها شد و مقادیر کلروفیل گیاه را در مراحل ابتدایی پس از اعمال تنش کاهش داد.

منابع

1- Afshary H., Zahedy R., Parvaneh T., and ZadeBaghery M. 2014. Effect of salicylic acid on proline soluble sugar and electrolyte leakage in two apricot' cultivar under cold stress. Journal of Crops Improvement (Journal of agriculture). 16:127-138 (in Persian).
2- Annual statistics. Horticultural Crops. 2014. Ministry of Jahad-Keshavarzi Iran. (In Persian)
3- Arji. E., Hasani B., and Ghamarniya H. 2015. Effecs of deficit irrigation on growth characteristics and the quantity and quality of Golden Delicious apples. Journal of Horticulture Science. 29:610-620 (in Persian).
4- Arnon A.N. 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. Agronomy Journal. 23:112-121.
5- 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.
6- Bandyopadhyay U., Das D., and Banerjee R.K. 1999. Reactive oxygen species: Oxidative damage and pathogenesis. Curr. Sci. India. 77:658-666.
7- Bartolozzi F., Mencuccini M., and Fontanazza G. 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.
8- Bates l S., Waldren R.P., and Tears I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil, 39:205-207.
9- Campos P., Quartin V., Ramalho J.C., and Nunes M.A. 2003. Electrolyte leakage and lipid degradation account for cold sensitivity inleaves of *Coffea* sp. Plants journal of Plant Physiology. 160: 238-292.
10- Close TJ. 1997. Dehydrins: a commonalty in the response of plantsto dehydration and low temperature. Physiology of Plant. 100: 291-296.
11- Fatahimoghadam J., Kiaeshkevarian M., and Tajvar Y. 2012. Investigation of Naringin Content and Antioxidant Activity in 14 Citrus Fruit Varieties in Response to Freezing Stress, Plant Production Technology,12:11-25. (in Persian with English abstract).
12- Flexas J., Badger M., Chow W.S., Medrano H., and Osmond C.B. 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.
13- Fotouhi Ghazvini R., Baghbanha M.R., Hatamzadeh A., and Heidari M. 2008. Effect of water stress on freezing tolerance of Mexican lime (*Citrus aurantifolia* L.) seedling. Hort. Environ. Botechnol. 49:267-280.
14- Fuleki F., and Francis J.F. 1986. Quantitative method for anthocyanin determination of total anthocyanin and degradation index for cranberry Juice. Journal of Food Science. 33: 78-83.
15- Gao J.C., Wang H. X., and Li X. X. 2010. Relationship between soluble proteins, MDA, andjujube *(Ziziphus*

mauritiana) tree cold hardiness. Beifang Yuanyi (Northern Horticulture). 23: 18-20.
16- Hincha DK., and Schmitt JM. 1992. Freeze-thaw injury and cryoprotectionof thylakoid membranes. In *Water and Life* Edited by: Somero GN, Osmond CB, Bolis CL. Berlin: Springer: 1992:316-337.
17- Karimi R., Ershadi A., Asnaashari M., and Mashhadiakbarboojar M. 2015. Seasonal variation in the content of soluble protein, total phenol and MDA and Their relationship with cold tolerance of vine varieties. Agriculture Crops Management. 16:999-1013. (in Persian).
18- Kavikishore P.B., Sangam S., Amrutha R.N., Laxmi P.S., Naidu K.R., Rao S., Reddy K.J., Therianppan P., and Sreenivasulu N. 2005. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: Its implications in plant growth.Curr.Sci.88:424-438.
19- Kirakosyan A., Seymour E., Kaufman P.B., Warber S., Bolling S., and Chang S.C. 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.
20- Leng P., and Qi J.X. 2003. Effect of anthocyanin on David peach (*Prunus davidiana Franch*) under low temperature stress. Sci. Hortic-Amsterdam. 97: 27-39
21- Mashayekhy K., Sadeghy H., Akbarpoor V., Atashy S., Ghasemy Y., and Moosavy Zadeh S. 2014. Changes in leaf carbohydrates and fruit throughout the growing season in the nectarines Redgold the weather conditions .Gorgan, Journal of Horticultural Science (agricultural science and technology). 9.28:1-9. (in Persian)
22- McCollum T.G., and McDonald R.E. 1991. Electrolyte leakage, respiration and ethylene production as indices of chilling injury in grapefruit. Horticulture Science, 26: 1191-1192.
23- Omokolo N.D., Tsala N.G., and Djocgoue P.F. 1996. Changes in carbohydrate, amino acid and phenol content in cocoa pods from three clones after infection with *Phythphthora megakarya* Bra. and Grif. Annals of Botany.77:153–158.
24- Qiujie D., Bin Y.S., Xiao Z., and Wang Z. 1996. Flooding induce membrane damage, lipid oxidation and activated oxygen generation in Corn leaves. Plant Soil. 179: 261-268
25- Ranney T.G., Bassuk and Whitlow T.H. 1991. Osmotic adjustment and solute constituents in leaves and roots of-waterstressed cherry trees. Am. Hort. Sci. 116: 684-688.
26- Sala J.M., and Lafuente M.T. 2000. Catalase enzyme activity is related to tolerance of mandarin. Fruits to chilling. Postharvest Biol. Tec. 20: 81–89.
27- Salahvarzi Y., Davarinezhad GH., Tehranifar A., Nemati H., and Nezami A. 2010. Physiochemical responses of six pomegranate cultivars from Razavi Khorasan under freezing stress. Iranian Journal of Horticultural Science and Technology.11: 217-230.(in Persian).
28- Shanker A.K., and Venkateswarlu B. 2011. Abiotic Stress in Plants Mechanisms and Adaptations. InTech Croatia 428 p.
29- Tajvar Y., Fotouhi Ghazvini R., HamidOughly Y., and HassanSajedi R. 2011. Physiological and biochemical responses of Page mandarin on citrange rootstock to low temperature stress. Plant Biology. 3.9:1-12 (in Persian with English abstract).
30- Tajvar Y., FotouhiGhazvini R., HamidOughly Y., and Hasan Sajed R. 2012. A Study of Rootstock and Low Temperature Effects on Antioxidant Reaction of Page Mandarin. Iranian Journal of Horticultural Science and Technology. 12.3:307-316. (in Persian)
31- Zhang J., Wu X., Niu R., Liu Y., Liu N., Xu W., and Wang Y. 2012.Cold resistance evaluation in 25 wild grape species.Vitis. 51(4): 153-160.

Journal of Horticultural Science
Vol. 31, No. 4, Winter 2018, P. 739-750
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۱، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۶، ص. ۷۵۰-۷۳۹
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

The Effect of Low Temperature on some Physiological and Biochemical Trait of some Semi-orange Genotype in the North Iran

S. Mohammadi[1*]- H. R. Khazaie[2]- A. Nezami[3]- Y. Tajvar[4]

Received: 01-01-2017
Accepted: 30-08-2017

Introduction: Among citrus producing provinces in the country, Mazandaran province ranks first with 1.88 million tons yields. Orange is one of the horticulture crop which is sensitive to low temperature stress. Low temperature stress is one of the abiotic stresses that its negative effects is the disruption of the electron transfer process through the thylacoid membrane. Actived oxygen radicals can be reacted with methyl unsaturated fatty acid groups and produce active fatty acid radicals. Very reactive formed radicals are capable of initiating lipid peroxidation chain reactions, which leads to the accumulation of free oxygen radicals that can lead to degradation of plant chlorophylls and membrane peroxidation and disruption of photosynthesis, accumulation of ROS, damage to cell membranes, destruction of plant pigments and nucleic acids. Plants can resist against low temperature stress by water saving and utilization of antioxidant system. The amount of free proline in many plants increases in response to environmental stresses such as cold and drought stress, and this physiological response can affect the resistance of the herbal substance under stress. Due to the diversity of citrus native genotypes in the country, the aim of this study was to determine the tolerance of native genotypes against low temperature stress in north of the country.

Materials and Methods: This experiment was conducted during the years 2015_2016 at the Citrus and Semi-Traditional Fruit Research Center in Ramsar with the aim of determining the low temperature tolerance of six native pseudo orange genotypes at 4 temperature levels (3, 0,- 3,- 6), compared to The test was carried out by Unsho and Sensitive Persian Lime (low temperature stress). Therefore, in this study, the vulnerability to low-stress conditions in controlled environmental conditions was compared with that of temperature treatments (3, 0, _3 and -6 degrees Celsius) in six genotypes of native pseudo-orange (number 1-6) sensitive cultivar (Persian lime) and resistant cultivars (Unsho) were investigated. This experiment was conducted as a factorial in a completely randomized design. The results of analysis of variance showed that temperature, genotype and interaction of these two treatments were significant in lipid peroxidation, proline, antioxidant capacity, ion leakage, hydroxylation, chlorophyll a and chlorophyll content. The temperature of the device began to decrease at a temperature of 6 ° C. The temperature of the device was 1 ° C / hour, after which the samples were kept at the specified temperatures for 3 hours and at the end of this period (3 Clock) sampling was performed to measure the traits. Accordingly, the leaf aquaculture was calculated by calculating the leaf area using a leaf surface gauge device. Ionic leakage measurements were also investigated using the method of the conversation and Meg Donald method. The presence of genotypes under cold stress led to an increase in malondialdehyde. In these conditions, due to increased oxidative activity, the accumulation of antioxidant compounds such as superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase increased. The data obtained from this research were based on factorial experiment in a completely randomized design with three replications of analysis of variance and then averages were compared by Tukey test at 5% level using SAS software.

Results: Orange is a low temperature stress sensitive horticultural plant. Therefore, in this study, the vulnerability to low temperature stress in controlled environment (3, 0, 3- and -6 degrees Celsius) in six native poderotal genotypes (No.1-6) sensitive cultivars (Persian Liam) and resistant cultivars (Unsho) were studied. This experiment was conducted as a factorial in a completely randomized design. The results of analysis of variance showed that temperature, genotype and interaction of these two treatments were significant in lipid peroxidation, proline, antioxidant capacity, ion leakage, hydroxylation, chlorophyll a and chlorophyll content. Meanwhile, soluble carbohydrate was only affected by the simple factor of genotype. No effects on chlorophyll b and carotenoid pigments were significant. The highest incidences (99.33%), ion leakage (91.63%) and lipid peroxidation reaction (with a mean of 3.33 µg / kg of fresh leaf weight) were recorded in sensitive lambspeed control at 6 °C. In contrast, the highest amount of proline (32.01 mg / g leaf weight) and antioxidant capacity (73.36%) was recorded in the control group at 3 °C. Among the native pseudo-orange

1, 2 and 3- Ph.D. Student and Professors of Department of Agronomy, Faculty of Agriculture Ferdowsi University Of Mashhad, Iran, Respectively
(*-Corresponding Author Email: saleh.mohammadi92@yahoo.com)
4- Assistant Professor of Horticultural Science Research Institute, Citrus and Subtropical Fruits Research Center, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Ramsar, Iran

genotypes, in this study, different reactions were also observed under low-temperature stress conditions. Accordingly, after the control of the bird, the native pseudo-orange genotype number one was better than the one under temperature decrease. However, in most of the studied orange genotypes, in most of the destructive traits, the native pseudo-orange genotype number 6 was in the same statistical position or close to the sensitive Peninsula. The presence of genotypes under cold stress led to an increase in malondialdehyde. In these conditions, due to increased oxidative activity, the accumulation of antioxidant compounds such as superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase increased.

Keywords: Citrus genotype, Chlorophyll, Free radical, Lipid peroxidation