مطالعه واکنش‌های فیزیولوژیکی برخی پایه‌های مرکبات تحت تنش دمای پایین

یحیی تاجور* ، رضا فیفایی و مالک قاسمی

موسسه تحقیقات مرکبات کشور-رامسر

* نویسنده مسئول: یحیی تاجور – ytajvar@ yahoo.com

آدرس: ایران- رامسر- موسسه تحقیقات مرکبات کشور- صندوق پستی ۳۳۵-۴۶۹۱۵

چکیده

تنش سرما و یخبندان موجب تغییر در فرایندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه می‌گردد. به منظور بررسی ارتباط صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی پایه‌های مرکبات نسبت به تنش دمای پایین (در محیط کنترل شده)، پژوهشی بصورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا گردید. عامل دما در هفت سطح شامل دمای ۹، ۶، ۳، ۰، ۳-، ۶- و °C ۲ ± ۲۵ (به عنوان شاهد) و پایه در سه سطح نارنج، سیترنج و پونسیروس انتخاب شدند. نتایج نشان داد که در دمای پایین کلروفیل a، b و کل کاهش و کربوهیدرات محلول و فعالیت آنزیم سوپراکسایددیسموتاز افزایش معنی‌دار داشت. عامل پایه، میزان پراکسیداسیون‌لیپید را تا ۰/۸۹۳ مایکرومول مالون‌دآلدئید در گرم وزن‌تر برگ کاهش داد. اثر متقابل پایه و دما نیز بر نشت یونی و محتوی پرولین برگ معنی‌دار بود. بطوریکه بیشترین نشت یونی تا میانگین ۴۳/۷۸ ٪ در پایه نارنج در °C ۶- و محتوی پرولین تا میانگین ۳۶/۴۸ میلی‌گرم در گرم وزن‌تر برگ در ژنوتیپ پونسیروس در صفر درجه سانتیگراد ثبت شد. با توجه به شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی اینگونه به نظر می‌رسد که ژنوتیپ پونسیروس در مقایسه با پایه‌های سیترنج و نارنج، دمای یخبندان را بهتر تحمل می‌نماید.

واژگان کلیدی: مرکبات، پایه، تنش، پرولین

مقدمه

مرکبات جزء محصولات گرمسیر و نیمه گرمسیر حساس به تنش دمای پایین می‌باشد (فتوحی‌قزوینی و فتاحی-مقدم، ۱۳۸۹). گیاهان در مقابل تنش‌های محیطی از قبیل سرما و یخبندان در مرحله سازگاری با ذخیره مواد تنظیم کننده اسمزی اقدام به بهبود بقاء خویش می‌نمایند. در تنش دمای پایین به علت تولید انواع گونه‌های فعال اکسیژن در محیط سلول، احتمال وقوع تنش اکسیداتیو (به عنوان تنش ثانویه) وجود دارد (Molla *et al.,* 2006). یکی از واکنش‌های که در حضور اکسیژن فعال سرعت بیشتری پیدا نموده و اثر تخریبی بجا می‌گذارد، پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء است (Nayyar *et al*., 2005). از اثرات دیگر تجمع رادیکالهای فعال اکسیژن تخریب کلروفیل و کاهش فتوسنتز گیاه می-باشد(Campos *et al.*, 2003). عموماً گیاهان از طریق فعال سازی سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیم و غیر آنزیمی،

سازگاری خویش به تنش دمای پایین را افزایش می‌دهند (Chen *et al.,* 2006). در بین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، ایزوآنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز به دلیل خنثی سازی رادیکال سوپراکساید، جزء اولین و مهمترین سیستم دفاعی آنزیمی (در مقابل رادیکالهای فعال اکسیژن) محسوب می‌شود (Huang *et al.,* 2008). از اثرات دیگر تنش دمای پایین کاهش سیالیت غشاء بوده که در کنار پراکسیداسیون‌لیپید موجب تخریب غشاء و در نتیجه افزایش نشت یونی می‌گردد (Campos *et al.*, 2003). با توجه به استقبال باغداران به کشت و توسعه مرکبات در مناطق نیمه گرمسیر و بروز دوره-ای تنش یخبندان در این مناطق و کمبود اطلاعات علمی و کاربردی کافی در این زمینه، پروژه مذکور ارائه و اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

این پژوهش بصورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی است که ژنوتیپ پایه در سه سطح شامل نهال-های بذری ۱۸ ماهه نارنج (*Citrus aurantium*)، سیترنج (*Citrus Sinensis*×*Poncirus trifoliate*) و پونسیروس (*Poncirus trifoliate*) بوده که واکنش‌های آنها در تیمار دمای ۹، ۶، ۳، ۰، ۳- و ۶- °C (در شرایط کنترل شده اتاق رشد) با نمونه‌های شاهد مستقر در گلخانه (۲۵ ± ۲°C)، مورد مقایسه قرار گرفت. برای سنجش پرولین، ۲ میلی‌لیتر از عصاره گیاهی با ۲ میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک مخلوط و به حمام آب گرم°C ۱۰۰(به مدت یک ساعت) منتقل شدند. بعد از سرد شدن، به هر یک ۴ میلی‌لیتر تولوئن اضافه شد که بعد از ورتکس، جذب فاز رویی در طول موج ۵۲۰ نانومتر ثبت و با استفاده از منحنی استاندارد، غلظت پرولین محاسبه شد (Fotouhi *et al.,* 2008). اندازه‌گیری کربوهیدرات برگ بر مبنای روش فنل‌سولفوریک (مبتنی بر آبگیری قندهای محلول و تشکیل ترکیب فورفورال) انجام پذیرفت (قربانلی و همکاران، ۱۳۸۰). فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز از طریق بررسی توانایی این آنزیم در جلوگیری از کاهش فتوشیمیایی نیتروبلوتترازولیوم بوده که در طول موج ۵۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (Huang *et al.,* 2008). برای اندازه‌گیری شاخص پراکسیداسیون‌لیپیدها، غلظت مالون‌دآلدئید (محصول واکنش پراکسیداسیون-لیپیدها) مورد ارزیابی قرار گرفت (Azzarello *et al.,* 2009). شاخص‌هایی همچون نشت یونی (بلافاصله بعد از اعمال تیمار) با استفاده از روش Campos و همکاران (۲۰۰۳) و رنگدانه‌های کلروفیل نیز از طریق روش Fotouhi و همکاران (۲۰۰۸) ارزیابی شد. تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار MSTATC و مقایسه میانگین‌ها نیز از طریق آزمون توکی در سطح احتمال ۵٪ بررسی شد.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که شاخص‌های پرولین و نشت یونی برگ تحت تاثیر اثر متقابل دما و ژنوتیپ تغییر معنی‌دار داشت. ولیکن تغییرات لیپید پراکسیداسیون، کلروفیل a، b و کل برگ متاثر از عوامل دما و پایه بود. در اثر

کاهش دما نیز افزایش کربوهیدرات محلول و فعالیت آنزیم سوپراکسایددیسموتاز ثبت شد. نتایج حاصل از مقایسه میانگین برهمکنش اثرات پایه و دما برنشت یونی نشان داد که هر سه پایه نارنج، سیترنج و پونسیروس در دمای ۶- °C افزایش نشت یونی داشتند. بطوریکه در این دما بیشترین مقدار نشت یونی، مربوط به نارنج با میانگین ۴۳/۷۸ ٪ بوده و در رده بعدی پایه سیترنج (۲۶/۴۵ ٪) و پونسیروس (۱۶/۸۹ ٪) قرار داشتند. افزایش نشت یونی تحت تنش دمای پایین در برگ نهالهای قهوه (Campos *et al*., 2003) نیز گزارش شد. احتمالاً افزایش نشت یونی غشاء می‌تواند مرتبط با پراکسیداسیون‌لیپیدها و آسیب‌های مکانیکی ناشی از کریستال‌های یخ باشد (Azzarello *et al*., 2009).

برهمکنش اثرات دما و پایه بر شاخص پرولین بیانگر آن بود که بیشترین مقدار پرولین با میانگین ۳۶/۴۸ میلی‌گرم در گرم وزن‌تر برگ متعلق به پونسیروس در دمای صفر درجه سانتیگراد بود. در حالیکه در دمای مذکور به ترتیب پایه-های سیترنج و نارنج با محتوی پرولین ۲۵/۵۶ و ۱۹/۷۸ میلی‌گرم در گرم وزن‌تر برگ در رده‌های بعدی قرار داشتند. این نتایج در مشابهت با گزارش کرمی و همکاران (۱۳۸۸) روی درخت زردآلو است. اینگونه به نظر می‌رسد که تجمع پرولین با تاثیرگذاری بر تعادل اسمزی می‌تواند در افزایش سازگاری تاثیرگذار باشد (Nayyar *et al*., 2005).

تغییرات پراکسیداسیون‌لیپید تحت تاثیر پایه نشان داد که به ترتیب بیشترین و کمترین مقدار پراکسیداسیون‌لیپید برگ با میانگین ۱/۷۲۱ و ۰/۸۹۳ مایکرومول‌مالون‌دآلدئید در گرم وزن‌تر برگ در پایه‌های نارنج و پونسیروس بود. از لحاظ تاثیر دما بر پراکسیداسیون‌لیپید نیز، بیشترین مقدار پراکسیداسیون‌لیپید با میانگین ۲/۰۳۴ مایکرومول‌مالون‌دآلدئید در گرم وزن‌تر برگ در تیمار ۳- °C ثبت گردید. در برگ زیتون تحت تنش یخبندان نیز افزایش پراکسیداسیون‌لیپید گزارش شد (Azzarello *et al*., 2009). احتمالاً افزایش پراکسیداسیون‌لیپیدهای برگ پایه‌های تحت تنش می‌تواند ناشی از تجمع رادیکال‌های فعال اکسیژن و در نتیجه تخریب لیپیدهای غشاء باشد (Chen *et al.,* 2006).

تحت تاثیر پایه به ترتیب، بیشترین و کمترین مقدار رنگدانه کلروفیل a با میانگین۲ و۱/۵۲۲، کلروفیل b با میانگین۰/۷۰۸۶و ۰/۵۱۳۳ و کلروفیل کل با میانگین۲/۷۰۸۶ و ۲/۰۳۵ میلی‌گرم در گرم وزن‌تر برگ در پایه‌های پونسیروس و نارنج مشاهده شد. از نظر دما نیز کمترین مقدار کلروفیل a ، b و کلروفیل کل به ترتیب با میانگین ۱/۰۱، ۰/۴۴ و ۱/۳۵۲ میلی‌گرم در گرم وزن‌تر برگ در تیمار دمایی ۶- °C ثبت شد. نتایج این پژوهش مشابه ,واکنش گیاهچه-های بذری لیمو آب شیراز تحت تنش یخبندان است (Fotouhi *et al*., 2008). احتمالاً کاهش رنگیزه‌های کلروفیل مرتبط با اکسیداسیون این رنگدانه‌ها تحت تنش دمای پایین است (Chen *et al.,* 2006).

شاخص کربوهیدرات محلول و فعالیت آنزیم سوپراکسایددیسموتاز فقط تحت تاثیر دما افزایش زنگوله‌ای داشته، بطوریکه به ترتیب بیشترین میزان کربوهیدرات محلول و فعالیت آنزیم سوپراکسادیددیسموتاز با میانگین ۶۵/۴۳ میلی-گرم در گرم وزن‌تر برگ و ۵۲/۴۱ واحد آنزیمی در میلی‌گرم وزن‌تر برگ در دقیقه در تیمار دمایی صفر درجه مشاهده شد. در تایید این نتایج می‌توان به افزایش کربوهیدرات محلول در نهال بلوط (Molla *et al*., 2006) و فعالیت آنزیم سوپراکسادیددیسموتازدر نهال هلو (Leng & Qi., 2003)، تحت تنش دمای پایین اشاره داشت که مشابه نتایج این پژوهش است. در توجیه این نتایج می‌توان اینگونه استنباط داشت که کربوهیدرات محلول با تاثیر گذاری بر فشار

اسمزی (Molla *et al*., 2006) و آنزیم سوپراکسایددیسموتاز نیز از طریق خنثی سازی رادیکال سوپراکساید (Huang *et al.,* 2008) توانسته در سازگاری گیاهان مربوطه نسبت به تنش دمای پایین تاثیرگذار باشند.

نتیجه‌گیری کلی

شروع اغلب تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی هر سه پایه از تیمار دمایی ۳ و صفر درجه سانتیگراد بود. لکن در تیمار دمایی ۶- درجه سانتیگراد آسیب تنش و بروز علائم خسارت همچون افزایش نشت یونی شدید بود. با توجه به شاخص‌های مورد ارزیابی اینگونه به نظر می‌رسد در بین پایه‌های مورد مطالعه پایه پونسیروس نسبت به تنش دمای پایین تحمل‌پذیری مناسبی داشته که می‌تواند به عنوان پایه در توسعه کشت مرکبات در مناطق نیمه گرمسیر که احتمال بروز تنش یخبندان وجود دارد توصیه گردد.

منابع

۱. فتوحی قزوینی ر. فتاحی مقدم ج. ۱۳۸۹. پرورش مرکبات در ایران. انتشارات دانشگاه گیلان.۳۰۵ صفحه.

۲. کرمی ف.، سی و سه مرده ع. ، جوادی ت. وفایی ی. ۱۳۸۸. ارزیابی شاخص‌های فیزیولوژیکی مقاومت به سرما و خصوصیات باردهی در ارقام زردآلو. ششمین کنگره علوم باغبانی. ۲۵-۲۲ تیر. گیلان- رشت.

3. Azzarello E, Mugnai S, Pandolfi C, Masi E, Marone E and Mancuso S. 2009. Comparing image (fractal analysis) and electrochemical (impedance spectroscopy and electrolyte leakage) techniques for the assessment of the freezing tolerance in olive. Trees 23:159–167.
4. Campos PS, Quartin V, Ramalho JC, and Nunes MA. 2003. Electrolyte leakage and lipid degradation account for cold sensitivity in leaves of Coffea sp. Plants. Journal of plant physiolology, 160::283–292.

A Study of Physiological Responses of some Citrus Rootstocks in Low Temperature stress

Yahya Tajvar*, Reza. Fifaei & Malek. Ghasemi
Citrus Research Institute, Ramsar-Iran
*Corresponding Author E-mail: ytajvar@yahoo.com
Address: Iran Citrus Research institute – Ramsar – Iran
P.O.BOX: 46915-335

Abstract

Low temperature stress, change many physiological and biochemical process in plants. In order to study the relationship between physiological and biochemical traits of

citrus rootstocks to Low temperature stress (in controlled climate), an experiment was conducted in a factorial plan based on completely randomized design. Treatment of temperatures were at seven levels include 9, 6, 3, 0.-3,-6 °C and 25 ± 2 °C (as control) and rootstocks were Sour orange (*Citrus aurantium*), Citrange (*Citrus Sinensis*×*Poncirus trifoliate*) and Trifoliate orange (*Poncirus trifoliate*). Results showed that, in low temperatures chlorophyll a, b and total were reduced, while carbohydrate and SOD enzyme activity were increased. Due to effects of rootstocks, lipid proxidation was reduced to 0.893 MDA µmol/g leaf FW. Interaction effect of factors was significant on, electrolyte leakage and proline content of leaf. Therefore maximum electrolyte leakage to 43.78% and proline content to 36.48 mg/g leaf FW were observed in sour orange in 6°C and Trifoliate orange rootstocks in 0°C respectively. The biochemical and physiological indexes showed that Trifoliate orange genotype compared with Sour orange and Citrange rootstocks had best tolerance to freezing stress.

Keywords: Citrus, Rootstock, Stress, Proline