

تأثیر کاهش دما و کاهش میزان نیتروژن بر روی خصوصیات فیزیولوژیکی (رشد و فتوسنتز) گیاه گاهو (*Lactuca sativus*)

آتنا شیبانی راد^۱، مریم حقیقی^{۱*}، امیرحسین خوشگفتارمنش^۲

اگره علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان، گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

(تاریخ دریافت: ۹۲/۱۰/۰۵، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۳/۱۱/۱۸)

چکیده:

دمای مطلوب برای رشد ریشه و شاخساره با یکدیگر متفاوت است و معمولاً دمای ریشه کمتر از دمای اتمسفر می‌باشد با این حال در اکثر کشت و کارهای امروزی این دو بخش در یک دما قرار می‌گیرند. با توجه به این که جذب عناصر غذایی توسط ریشه در دامنه‌های دمایی مختلف متفاوت است این پژوهش به منظور بررسی اثر دمای پایین ناحیه ریشه در سطوح مختلف نیتروژن بر گاهو به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تکرار طرح ریزی شد. تیمارها شامل، سه سطح نیتروژن ($N_1 = 100$ ، $N_2 = 75$ و $N_3 = 50$ درصد محلول غذایی جانسون) و دو سطح دمایی (۱۵ درجه سانتی گراد = تنش دمایی پایین (T2) و ۲۵ درجه سانتی گراد = دمای بهینه ریشه (T1)) بود. نتایج نشان داد که با کاهش دما و همچنین سطوح نیتروژن میزان پرولین و فنول مترشحه از ریشه نیز در تیمار $T_2 \times N_3$ (پایین‌ترین سطح نیتروژن در دمای پایین) به ترتیب ۹۸ و ۸ درصد از تیمار شاهد بیش‌تر بود. علاوه بر این نرخ فتوسنتز با ۸۰ درصد و میزان هدایت روزنه‌ای با ۵۶ درصد کاهش در تیمار $T_2 \times N_3$ به حداقل مقدار خود رسید. به نظر می‌رسد که میزان فتوسنتز، کارایی مصرف آب فتوسنتزی، شاخص کلروفیل به ترتیب ۳۹، ۶۹ و ۷۰ درصد در تیمار تنش سرمایی نسبت به شاهد کاهش یافت. بر اساس نتایج به دست آمده تحت شرایط تنش دمای پایین ریشه فاکتورهای نرخ فتوسنتز، شدت تعرق، هدایت روزنه‌ای، فنول عصاره برگ و ساخت پرولین بیشتر از سایر خصوصیات تحت تاثیر قرار می‌گیرد. این گیاه با ساخت ترکیبات فنولی و پرولین به منظور حفظ بقای خود مقاومت نشان می‌دهد.

واژگان کلیدی: دمای ریشه، گیاه گاهو، کاهش نیترات، فنول مترشحه از ریشه، پرولین، فتوسنتز

مقدمه:

باشد (Pregitzer *et al.*, 2000). عمق نفوذ ریشه‌ها در خاک تحت شرایط دمای پایین نسبت به دماهای بالاتر بیشتر محدود می‌شود و همچنین بیشترین مقدار وزن تر ریشه در لایه‌های بالایی خاک مشاهده می‌شود (Alvarez-uria and Körner, 2007). ساخت ترکیبات آنتی اکسیدانی و فنولی نیز تحت تنش‌های دمایی تحریک می‌شود. به عنوان مثال ساخت ترکیبات آنتی اکسیدانی تحت تأثیر دمای پایین با افزایش فعالیت فنیل آلانین آمونیا لاز صورت می‌گیرد (Ling, 1996). ترکیبات فنولی، آمینواسیدها و پلی‌ساکاریدها از ترکیبات اصلی مترشحه از

امروزه کشت و کار سبزیجات در مناطق مختلف دنیا رواج یافته است که این گیاهان در مناطقی به جز خاستگاه اصلی آن‌ها کشت و کار می‌شوند و لازم است که به شرایط جدید سازگار شوند. سازگاری به دمای پایین نیازمند سازگاری به شرایط نوری پایین نیز می‌باشد زیرا معمولاً این دو عامل با یکدیگر همراه هستند (Huner *et al.*, 1993). در شرایطی که دمای قسمت هوایی مطلوب باشد دمای پایین ناحیه ریشه یکی از عوامل محدود کننده سیستم ریشه‌ای و رشد و نمو گیاه می

* نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: mhaghghi@cc.iut.ac.ir

متفاوتی می‌شوند که بسته به شدت و طول مدتی که در معرض دمای بالا قرار می‌گیرند تغییرات ساختاری و مرگ سلولی در گیاه دیده می‌شود (Hutchings et al., 2003). کاهو یکی از سبزی‌های پر طرفدار در امریکای شمالی، اروپا و آسیا می‌باشد. طول دوره رشد آن کوتاه در حد ۶۰ روز می‌باشد و در گذشته از کشت مستقیم بذر استفاده می‌شده است در گذشته دماهای دماهای متفاوتی برای پرورش و تولید محصول کاهو پیشنهاد شده است. دامنه دمایی ۱۷ تا ۲۸ درجه سانتی‌گراد برای پرورش کاهو را (Wurr et al., 1992) پیشنهاد کردند. Wein (۱۹۹۸) دما را به عنوان مهمترین عامل محدود کننده رشد دانه‌های کاهو در مراحل اولیه رشد دانسته است.

به منظور بررسی کاهش دمای ریشه (به طور مستقل از دمای قسمت اندام هوایی) در گیاه بر روی خصوصیات رشد، فتوسنتزی و ترکیبات درونی کاهو این تحقیق انجام گرفت.

مواد و روش‌ها:

این پژوهش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تکرار، تیمارهای کاهش میزان نیتروژن محلول غذایی جانسون (N1=۱۰۰، N2=۷۵ و N3=۵۰ درصد محلول غذایی) و دو سطح دمایی (۱۵ درجه سانتی‌گراد = تنش دمایی پایین (T2) و ۲۵ درجه سانتی‌گراد = دمای بهینه ریشه (T1)) در شرایط محیطی کنترل شده گلخانه با میانگین دمای روز و شب ۱۷/۲۵ در گلخانه‌های دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان (عرض جغرافیایی ۱۸°۲۳ شمالی، عرض جغرافیایی ۲°۵۳ شرقی) با ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی انجام شد. بذرهای کاهو *Lactuca sativa* رقم Great lakes 118 در بستر پیت و پرلایت در سینی نشاء کاشته شده و پس از ۴ هفته رشد به سیستم هیدروپونیک اصلی که حاوی محلول غذایی جانسون با‌های نیتروژن تعریف شده منتقل شدند شدند هر یک از ظروف حاوی یک لیتر محلول غذایی بودند در هر ساعت ۱۵ دقیقه هوادهی شدند و پس از ۷۲ ساعت محلول غذایی تعویض می‌گردید. میزان نیتروژن در محلول غذایی جاسون از طریق نمک‌های پتاسیم نترات، کلسیم نترات و آمونیوم فسفات تامین می‌گردد که منبع اصلی KNO_3 است و

ریشه‌ها در شرایط تنش‌زای محیطی می‌باشد. به ویژه در دمای پایین در گیاهان دارویی ترشح آنها تشدید شد. در دماهای نامناسب، شرایط شوری، خشکی، غرقابی و ازدیاد و کمبود مواد غذایی ترکیبات فنولی با وزن مولکولی پایین ترشح شده از ریشه به بقای گیاه تحت شرایط تنش کمک می‌کند (Behera et al., 2009). ریشه‌ها یکی از مهم‌ترین نقاط مصرف کربوهیدرات‌ها هستند و با فعالیت خود می‌توانند ساخت کربوهیدرات در بخش‌های هوایی را تحت تأثیر قرار دهند (Haung, 1992). دمای پایین در ناحیه ریشه رشد، اندازه و ساختار ظاهری را همانند عملکرد ریشه تحت تأثیر قرار می‌دهد. عملکرد ریشه در دمای پایین با تغییر گرانروی آب، فشار ریشه‌ای، هدایت هیدرولیکی، فعالیت‌های متابولیکی، تولید و حرکت رو به بالای هورمون‌های گیاهی و توانایی ریشه‌ها در جذب آب و مواد غذایی رشد و باروری گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Alfocea et al., 2010). هم چنین ریشه‌ها محل احیا نیتروژن و تبدیل آن به فرم قابل جذب گیاه می‌باشند (Guo et al., 2003) که خود تحت تأثیر میزان نیتروژن در دسترس و نوع منبع نیتروژنی است. در بسیاری از گونه‌های گیاهی دیده شده است که دمای ریشه در میزان رشد شاخساره مؤثر است و البته دمای بهینه برای رشد هر یک از این گونه‌ها با یکدیگر تفاوت دارد (Kessler et al., 1990). دمای ریشه‌ها عمدتاً از دمای بخش‌های هوایی در طول دوره رشد پایین تر است و هم چنین تغییرات دمای ریشه نسبت به بخش‌های هوایی کم‌تر است (Wein, 1998). وظیفه اصلی ریشه‌ها جذب آب و مواد غذایی و هم چنین ساخت هورمون‌های گیاهی می‌باشد و دمای ناحیه ریشه می‌تواند بر میزان جذب آب و مواد غذایی از جمله نیتروژن و فرآیندهای متابولیکی اثر گذاشته و در نهایت رشد گیاه را تغییر دهد (Alvarez-uria and Körner, 2007). علاوه بر این در میان تمام وظایف ریشه جذب مواد غذایی بیش‌تر از سایرین تحت تأثیر دما قرار می‌گیرد (Zhao et al., 1998). در دماهای بالاتر از ۳۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد نرخ فعالیت‌های متابولیکی با افزایش دما به صورت تصاعدی کاهش پیدا می‌کند. پایین‌تر از این آستانه بیش‌تر گیاهان معتدله دچار عوارض فیزیولوژیکی

برای اندازه‌گیری فنول مترشحه از ریشه و عصاره برگ به شیوه فولین سیو کالتو ۵ با دستگاه اسپکترو فتومتر در طول موج ۷۶۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکترو فتومتر (مدل-UV 600A ساخت کشور انگلستان) قرائت شد (Sing et al., 2002).

تجزیه و تحلیل نتایج توسط نرم افزار Statistix8 و مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون LSD در سطح ۵٪ انجام شد.

نتایج:

اثرات ساده نیتروژن بر خصوصیات رشد کاهو: وزن تر و خشک ریشه در تیمار شاهد دارای حداکثر مقدار و در تیمار N3 با حدود ۴۰ درصد کاهش به حداقل مقدار خود رسید. میزان وزن تر و خشک ساقه نیز با بیش از ۵۰ درصد کاهش در تیمار N3 حداقل مقدار و در حالت شاهد بیشترین مقدار خود را داشت. حجم ریشه در تیمار N3 به اندازه ۱۶/۵ درصد بیشتر از تیمار شاهد بود و تا ۵۰ درصد از تیمار N2 بیشتر بود (جدول ۱).

اثرات ساده سطوح نیتروژن بر خصوصیات فتوستزی کاهو:

میزان فتوستز در تیمار ۵۰ درصد نیتروژن به حداقل میزان خود رسید و تا ۳۹/۱ درصد از تیمار شاهد کم تر بود. در میزان شدت تعرق تفاوت معنی داری میان سطوح ۱۰۰ و ۷۵ درصد نیتروژن مشاهده نشد هر چند که در تیمار N2 نیز از لحاظ عددی ۲۰ درصد از حالت شاهد کمتر بود. در تیمار ۵۰ درصد نیتروژن تا ۷۲ درصد شدت تعرق از تیمار شاهد کمتر بود. میزان دی اکسید کربن زیر روزنه در تیمار ۷۵ درصد نیتروژن ۱۰ درصد از حالت شاهد بیشتر بود و بعد از آن تیمار N3 با ۵۴ درصد کاهش حداقل میزان کربن دی اکسید زیر روزنه را داشت. میزان دما در سطح برگ نیز که توسط دستگاه کلروفیل سنج تعیین می گردید در یک روند صعودی با کاهش میزان نیتروژن اعمال شده افزایش یافت. میزان هدایت زیر روزنه ای در یک روند نزولی با کاهش میزان نیتروژن کاهش یافت و در تیمار شاهد تا ۶۶ درصد بیشتر از سایر تیمارها بود (جدول ۲). هدایت مزوفیلی در میان تیمار های نیتروژنی اعمال شده

غلظت نیتروژن تأمین شده از طریق آن ۲۲۴ میلی گرم در لیتر می‌باشد. ظروف هیدروپونیک در حمام‌های آبی با دماهای ۲۵ و ۱۵ درجه سانتی گراد به منظور تأمین دمای مورد نیاز در ناحیه ریشه قرار گرفتند. پس از گذشت ۳ هفته از اعمال تیمارها، میزان فتوستز، تعرق، میزان CO₂ روزنه و هدایت روزنه توسط دستگاه اندازه گیری فتوستز مدل (LCi Prtable, photosynthesis system ساخت کشور انگلستان) و میزان فلورسنس فلورسانس کلروفیل توسط دستگاه فلورومتر (مدل OS-30 ساخت کشور انگلستان) و شاخص کلروفیل توسط دستگاه کلروفیل سنج (مدل CL-01 ساخت کشور انگلستان) اندازه گیری شد. میزان هدایت روزنه‌ای و کارایی مصرف آب از طریق فرمول‌های زیر محاسبه گردید:

(۱). هدایت مزوفیلی = میزان فتوستز / میزان کربن دی اکسید زیر روزنه

(۲). کارایی مصرف آب = میزان فتوستز / میزان هدایت زیر روزنه‌ای

سپس گیاهان جمع آوری شده و خصوصیات رویشی همانند وزن تر ساقه و ریشه، وزن خشک ساقه و ریشه اندازه گیری شد. حجم ریشه براساس قانون ارشمیدوس بدین صورت که ریشه‌ها وارد حجم مشخصی آب شده و میزان افزایش حجم آب برابر با حجم ریشه‌ها در نظر گرفته می‌شود. اندازه گیری پرولین به روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) و قرائت در طول موج ۵۲۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکترو فتومتر (مدل-UV 600A) انجام گرفت. به منظور اندازه گیری آنتی اکسیدان و فنول ابتدا از گیاهان خشک شده در آون عصاره گیری شد. برای عصاره‌گیری ۱۰ گرم از پودر برگ را با ۲۰ سی سی متانول ۸۰٪ ترکیب کرده روی شیکر ۱۵۰ دور برای ۲۴ ساعت در دمای محیط قرار می‌دهیم سپس محلول را صاف شد و عصاره برگ به دست آمد. برای اندازه گیری آنتی اکسیدان برگ به شیوه DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط دستگاه اسپکترو فتومتر (مدل-UV 600A ساخت کشور انگلستان) قرائت صورت گرفت و توسط فرمول شماره ۳ محاسبه شد (Yu et al., 2002).

(۳)

$$\text{جذب کنترلی} - \text{جذب نمونه} = \text{درصد ممانعت کنترلی} \\ \text{جذب کنترل}$$

جدول ۱- اثرات ساده سطوح نیتروژن بر خصوصیات رشد کاهو

تیمار	وزن تر ریشه (g)	وزن تر ساقه (gr)	وزن خشک ریشه (gr)	وزن خشک ساقه (gr)	حجم ریشه (mm ³)
N1	۴/۳۱ ^a	۳۱/۹۷ ^a	۰/۱ ^a	۱/۳۱ ^a	۲/۵۸ ^{ab}
N2	۲/۷۷ ^b	۱۶/۳۴ ^b	۰/۰۵ ^b	۰/۷۲ ^a	۱/۹۷ ^b
N3	۲/۴۴ ^b	۱۴/۹۵ ^b	۰/۰۶ ^b	۰/۶۴ ^b	۳/۰۹ ^a

میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حرف مشترکی هستند بر مبنای آزمون LSD در سطح خطای ۵٪ تفاوت معنی‌دار ندارند.
N1: نیتروژن ۱۰۰٪، N2: نیتروژن ۷۵٪، N3: نیتروژن ۵۰٪.

جدول ۲- اثرات ساده سطوح نیتروژن بر خصوصیات فتوسنتزی کاهو.

تیمار	نرخ فتوسنتز (μmol CO ₂ /m ² s)	تغرق (mmol/m ² s)	CO ₂ زیر روزنه (μmol)	دما سطح برگ (°C)	هدایت روزنه‌ای (m ² .s.mol)
N1	۲/۴۲ ^b	۰/۲۸ ^a	۷/۲ ^a	۲۹/۲۳ ^c	۲/۳۷ ^a
N2	۳/۰۵ ^a	۰/۲۵ ^a	۸ ^a	۲۹/۶۶ ^b	۱/۹ ^b
N3	۴/۲۱ ^c	۰/۰۸ ^b	۳/۷ ^a	۳۰/۲۲ ^a	۱/۵۸ ^c

میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حرف مشترکی هستند بر مبنای آزمون LSD در سطح خطای ۵٪ تفاوت معنی‌دار ندارند.
N1: نیتروژن ۱۰۰٪، N2: نیتروژن ۷۵٪، N3: نیتروژن ۵۰٪.

جدول ۳- اثرات ساده سطوح نیتروژن بر خصوصیات فتوسنتزی کاهو.

تیمار	هدایت مزوفیلی (mmol CO ₂ .s ⁻¹)	کارایی مصرف آب فتوسنتزی (μmol CO ₂ .mol H ₂ O ⁻¹)	شاخص کلروفیل (SPAD value)	کلروفیل فلورسانس (fv.fm ⁻¹)
N1	۰/۳۵ ^a	۰/۹۳ ^b	۱۱/۰۳ ^a	۰/۰۳ ^a
N2	۰/۴ ^a	۱/۵ ^a	۸/۲۹ ^b	۰/۰۱ ^b
N3	۰/۴۴ ^a	۰/۹۲ ^b	۴/۲۱ ^c	۰/۰۱ ^b

میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حرف مشترکی هستند بر مبنای آزمون LSD در سطح خطای ۵٪ تفاوت معنی‌دار ندارند.
N1: نیتروژن ۱۰۰٪، N2: نیتروژن ۷۵٪، N3: نیتروژن ۵۰٪.

از تیمار N2 کمتر بود. میزان پرولین یک روند صعودی را نشان داد و با کاهش سطوح نیتروژن میزان پرولین افزایش یافت و در تیمار N3 تا ۸۰ درصد از تیمار شاهد بیشتر بود. میزان ترکیبات آنتی اکسیدانی با کاهش میزان نیتروژن کاهش یافت (جدول ۴).

اثرات متقابل دما و سطوح نیتروژن بر فاکتورهای رویشی کاهو:

وزن تر شاخساره در هر دو دمای اعمال شده در شرایط حداکثر نیتروژن بیشترین مقدار را داشت و در تیمارهای T2×N2 و T1×N2 کاهش یافت اما در هر دو دمای اعمال شده تیمارهای T2×N3 و T1×N3 تفاوت معنی‌داری را از لحاظ آماری با یکدیگر نشان ندادند. میزان وزن تر شاخساره در حالت شاهد تا ۳۶ درصد نسبت به سایر تیمارها وزن بیشتری داشت از

تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. اما کارایی مصرف آب فتوسنتزی در تیمار N2 تا ۳۷ درصد از تیمار شاهد بیشتر بود و میان دو تیمار N1 و N3 تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. شاخص کلروفیل نیز یک روند نزولی را نشان داد و با کاهش سطوح نیتروژن اعمال شده میزان کلروفیل نیز کاهش یافت. شدت کلروفیل فلورسانس نیز با کاهش میزان نیتروژن کاهش یافت (جدول ۳).

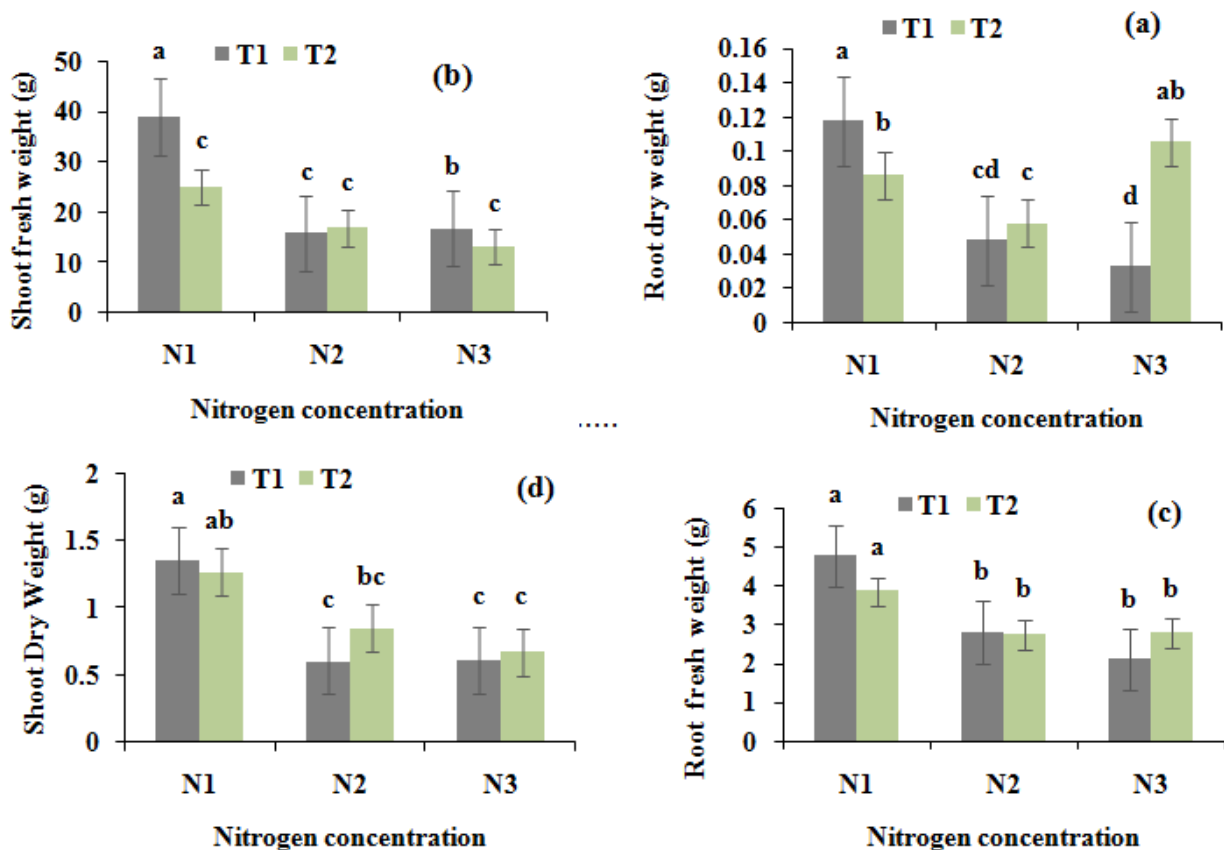
اثرات ساده نیتروژن بر خصوصیات فیزیولوژیکی کاهو:

میزان فنول مترشحه از ریشه تفاوت معنی‌داری را در میان تیمارهای اعمال شده نشان نداد اما میزان فنول کل عصاره برگ در تیمار شاهد از سایر تیمارها کمتر و در تیمار N2 به حداکثر میزان خود رسید و در تیمار N3 به اندازه ۸/۱۵ درصد

جدول ۴- اثرات ساده سطوح نیتروژن بر خصوصیات فیزیولوژیکی کاهو.

تیمار	فنول مترشح از ریشه (ppm)	فنول عصاره شاخساره (ppm)	پرولین (μg/g)	آنتی اکسیدان (ppm)
N1	۱۶/۴۵ ^a	۱۲/۵۲ ^c	۵۶/۴۴ ^c	۱۰/۱۳ ^a
N2	۱۷/۵۱ ^a	۲۹/۱۹ ^a	۲۱۱/۵۳ ^b	۶/۴۷ ^b
N3	۱۵/۶۶ ^a	۲۳/۸۱ ^b	۲۷۷/۶۵ ^a	۳/۰۵ ^c

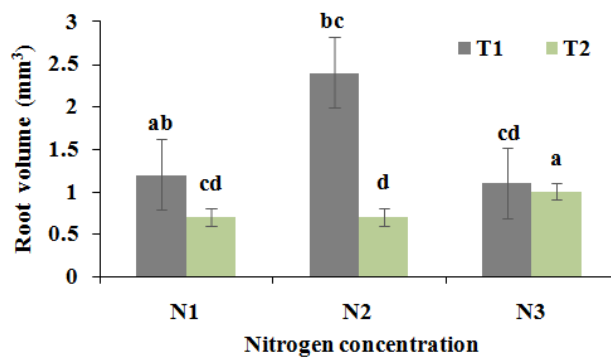
میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حرف مشترکی هستند بر مبنای آزمون LSD در سطح خطای ۵٪ تفاوت معنی‌دار ندارند.
N1: نیتروژن ۱۰۰٪، N2: نیتروژن ۷۵٪، N3: نیتروژن ۵۰٪.



شکل ۱- اثرات متقابل دما و سطوح نیتروژن بر خصوصیات رشدی کاهو. ستون‌های دارای حرف مشترک بر مبنای آزمون LSD در سطح خطای ۵٪ تفاوت معنی‌دار ندارند. T1: ۲۵ درجه سانتی‌گراد، T2: ۱۵ درجه سانتی‌گراد. N1: نیتروژن ۱۰۰٪، N2: نیتروژن ۷۵٪، N3: نیتروژن ۵۰٪.

مشابه با وزن تر و خشک شاخساره داشتند و در حالت شاهد بیشترین مقدار مشاهده شد اما در تیمار T2×N3 افزایشی ۱۷ درصدی نسبت به شاهد مشاهده گردید (شکل ۱- c و d). حجم ریشه در تیمار T2×N3 دارای بیشترین مقدار خود بود و شرایط نیتروژن کامل و دمای بهینه با ۱۸ درصد کاهش نسبت به تیمار T2×N3 تفاوت معنی‌داری نداشت. در سایر تیمارها حجم ریشه کاهش یافت و در تیمار T2×N2 به حداقل میزان خود رسید (شکل ۲).

لحاظ عددی با کاهش مقدار نیتروژن و دما از میزان وزن تر شاخساره کاسته شد اما تیمارها تفاوت معنی‌داری را از خود نشان ندادند (شکل ۱- a). وزن خشک شاخساره نیز در شرایط حداکثر میزان نیتروژن در هر دو دمای اعمال شده بیشتر از تیمارهای T1×N3 و T2×N3 بود. در تیمار دمای پایین بین تیمار T2×N1 و T2×N3 نیز تفاوت معنی‌دار مشاهده شد و وزن خشک شاخساره در تیمار T2×N3 تا ۴۲ درصد کمتر از T2×N1 بود (شکل ۱- b). وزن تر و خشک ریشه نیز روندی



شکل ۲- اثرات متقابل دما و سطوح نیتروژن بر حجم ریشه کاهو. ستون‌های دارای حرف مشترک بر مبنای آزمون LSD در سطح خطای ۵٪ تفاوت معنی‌دار ندارند. T1: ۲۵ درجه سانتی‌گراد، T2: ۱۵ درجه سانتی‌گراد. N1: نیتروژن ۱۰۰٪، N2: نیتروژن ۷۵٪، N3: نیتروژن ۵۰٪.

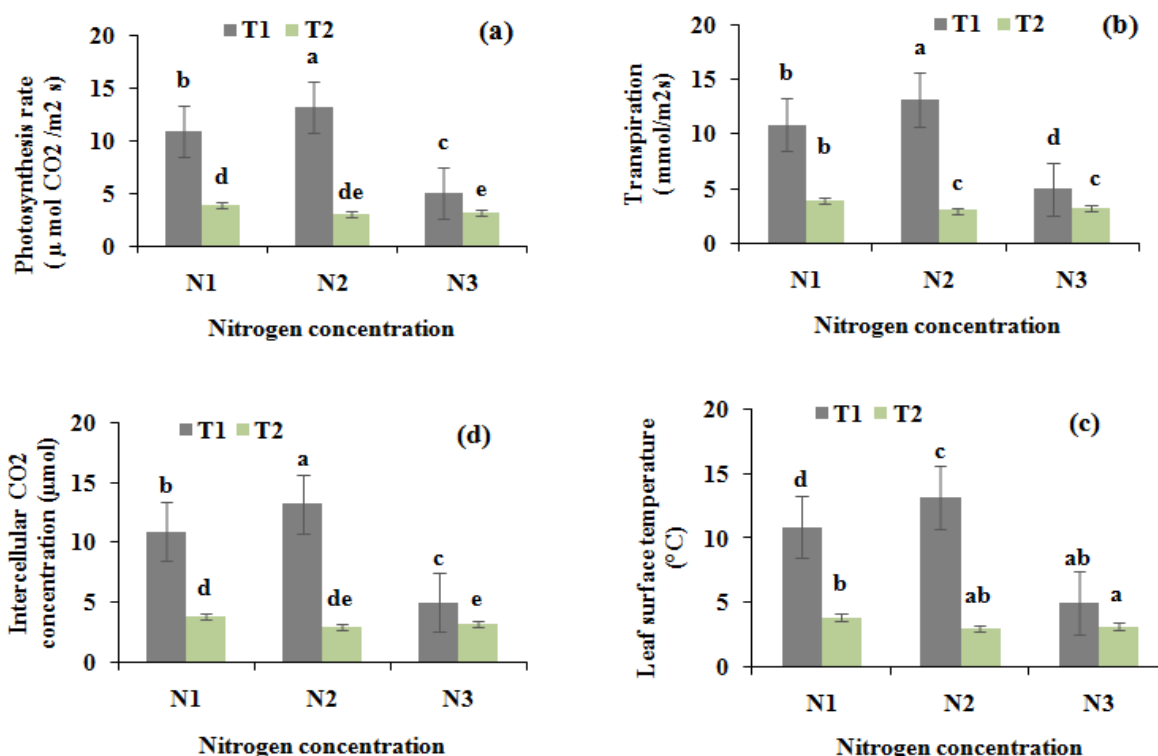
هدایت مزوفیلی با کاهش سطوح نیتروژن در سایر تیمارها نیز افزایش می‌یابد اما از لحاظ آماری این تفاوت معنی‌دار نبوده است (شکل ۴-ب). کارایی آب فتوسنتزی در تیمار T1×N2 دارای حداکثر مقدار خود بود اما با کاهش دما و میزان نیتروژن از مقدار آن تا ۷۰ درصد کاسته شد (شکل ۴-ج). شاخص کلروفیل در تیمار نیتروژن کامل در هر دو تیمار دمایی دارای بیشترین مقدار اما با کاهش سطح نیتروژن و کاهش دما با بیش از ۷۰ درصد کاهش به حداقل مقدار خود در تیمار T2×N3 رسید (شکل ۴-د).

شدت کلروفیل فلورسنسی در همه تیمارهای اعمال شده نسبت به شاهد کاهش یافت و در تیمار T2×N3 به کمترین مقدار رسید (شکل ۵).

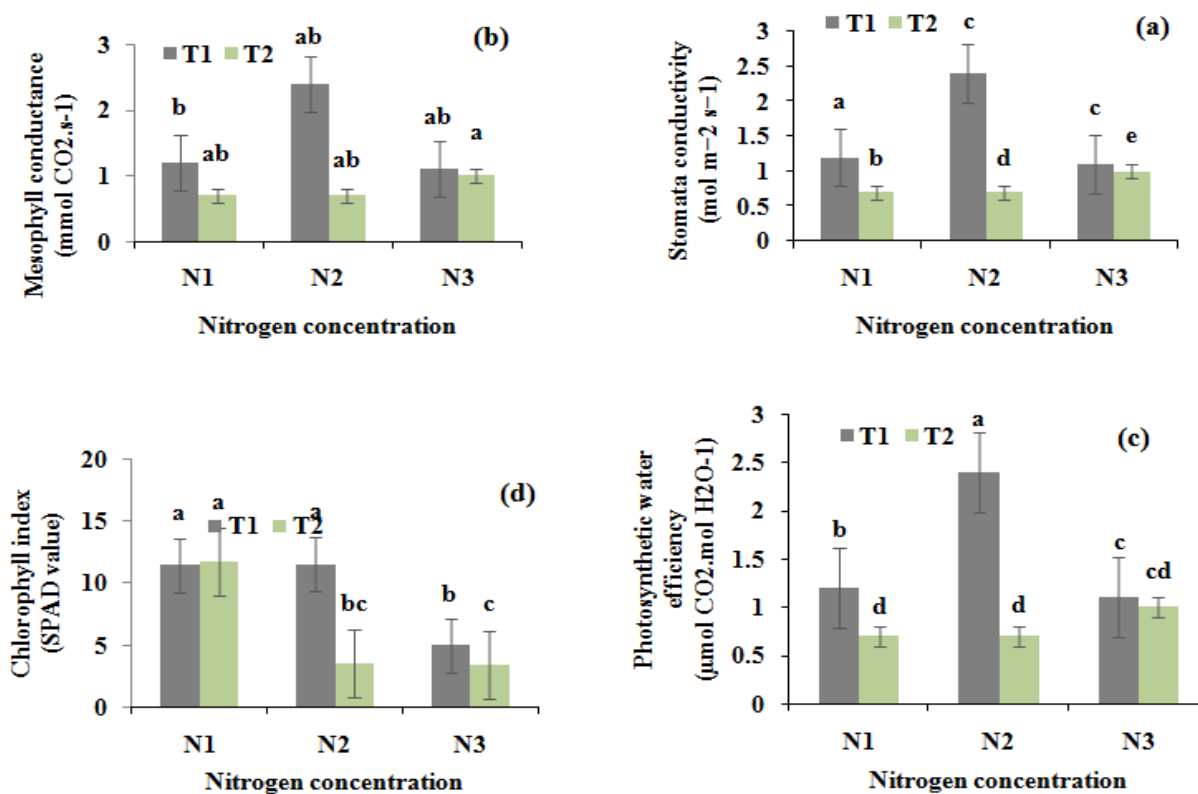
اثرات متقابل دما و سطوح نیتروژن در خصوصیات فیزیولوژیکی کاهو: میزان فنول مترشحه از ریشه در شرایط شاهد دارای کمترین مقدار و در تیمارهای T2×N2 و T2×N1 بیشترین میزان آن با ۳۲ و ۱۷ درصد افزایش نسبت به شاهد مشاهده شد (شکل ۶-ا). فنول عصاره برگ نیز در تیمار شاهد دارای کمترین مقدار بود و در تیمار T2×N2 ۷۶ درصد نسبت به شاهد مقدار بیشتری داشت (شکل ۶-ب). محتوای پروتئین با کاهش دما و میزان نیتروژن در تمام تیمارها یک روند صعودی معنی‌دار را نشان داد و در تیمار T2×N3 نسبت به حالت شاهد بیش از ۹۸ درصد افزایش را نشان داد (شکل ۶-ج). محتوای آنتی‌اکسیدان عصاره برگ در تیمار شاهد بیشترین مقدار را داشت و با کاهش سطوح نیتروژن در هر دو

اثرات متقابل دما و سطوح نیتروژن اعمال شده بر خصوصیات فتوسنتزی کاهو: حداکثر میزان نرخ فتوسنتز در تیمار T2×N3 با ۳۱/۵ درصد افزایش از تیمار شاهد دیده شد. در شرایط دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد میزان فتوسنتز یک روند نزولی را نشان داد و حداقل مقدار آن در تیمار T2×N3 با ۸۰ درصد کاهش نسبت به حالت حداکثر مشاهده شد (شکل ۳-ا). در بررسی اثرات متقابل دما و سطوح نیتروژن بیشترین مقدار تعرق در تیمار T2×N3 و در رده دوم با ۶۷/۷ درصد کاهش در تیمار T1×N1 و T2×N1 در نهایت حداقل مقدار آن در تیمار T1×N3 مشاهده گردید (شکل ۳-ب). میزان دی‌اکسید کربن زیر روزنه نیز در تیمار T1×N2 دارای بیشترین مقدار و بعد از آن در یک روند نزولی با کاهش دما و سطوح نیتروژن اعمال شده به حداقل مقدار خود در تیمار N3×T2 رسید (شکل ۳-ج). دمای سطح برگ در شرایط حداقل نیتروژن و دمای پایین T2×N3 دارای بیشترین مقدار در حالی که در تیمار شاهد به حداقل مقدار خود رسید. همچنین با افزایش سطوح نیتروژن و دما میزان دما در سطح برگ کاهش می‌یابد (شکل ۳-د).

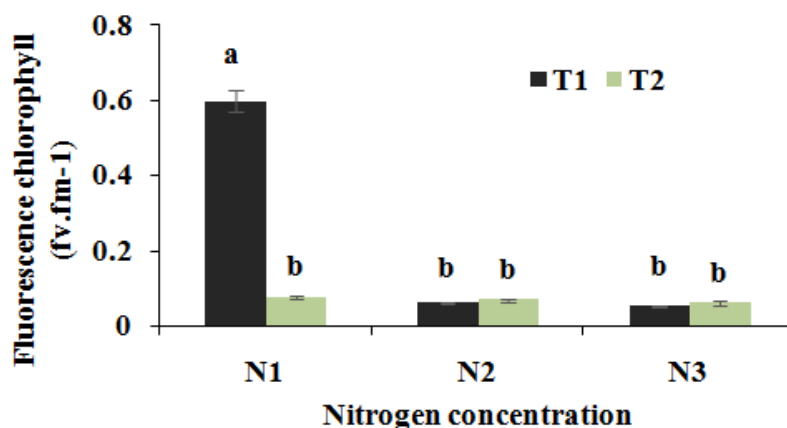
هدایت روزنه‌ای تحت شرایط تنش دمایی و تغذیه‌ای نسبت به حالت شاهد یک روند نزولی را طی می‌کند و در تیمار T2×N3 با ۵۵ درصد کاهش به حداقل مقدار خود رسید (شکل ۴-ا). از لحاظ آماری در میزان هدایت مزوفیلی تنها در میان تیمار T2×N3 و تیمار شاهد تفاوت معنی‌دار مشاهده شد و از لحاظ آماری در تیمار T2×N3 تا ۴۲ درصد هدایت مزوفیلی از حالت شاهد بیش‌تر بود هرچند که از لحاظ عددی



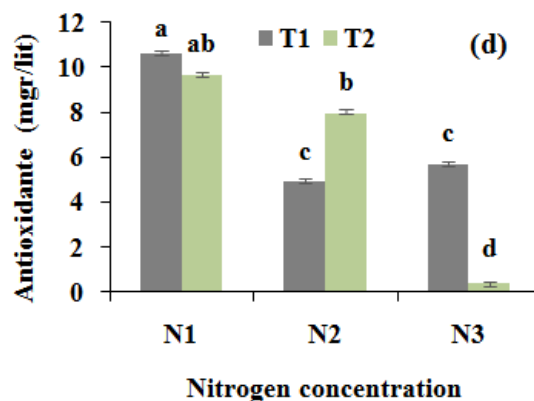
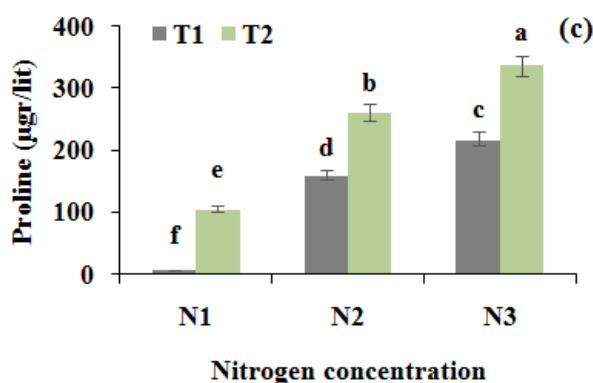
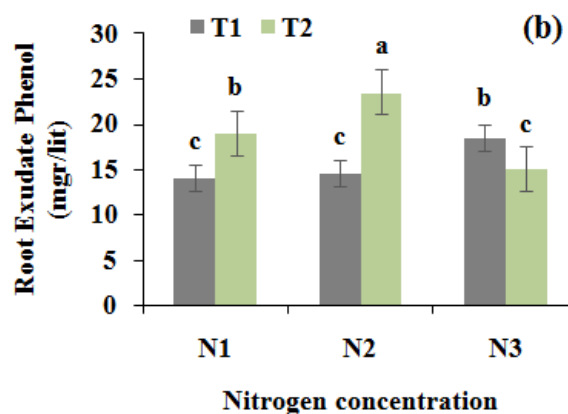
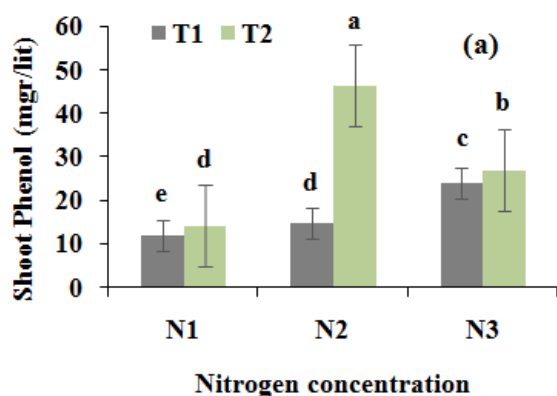
شکل ۳- اثرات متقابل دما و سطوح نیتروژن بر خصوصیات فتوسنتزی کاهو. ستون‌های دارای حرف مشترک بر مبنای آزمون LSD در سطح خطای ۵٪ تفاوت معنی‌دار ندارند. T1: ۲۵ درجه سانتی گراد، T2: ۱۵ درجه سانتی گراد. N1: نیتروژن ۱۰۰٪، N2: نیتروژن ۷۵٪، N3: نیتروژن ۵۰٪.



شکل ۴- اثرات متقابل دما و سطوح نیتروژن بر خصوصیات فتوسنتزی کاهو. ستون‌های دارای حرف مشترک بر مبنای آزمون LSD در سطح خطای ۵٪ تفاوت معنی‌دار ندارند. T1: ۲۵ درجه سانتی گراد، T2: ۱۵ درجه سانتی گراد. N1: نیتروژن ۱۰۰٪، N2: نیتروژن ۷۵٪، N3: نیتروژن ۵۰٪.



شکل ۵- اثرات متقابل دما و سطوح نیتروژن بر میزان کلروفیل فلورسنسی. ستون‌های دارای حرف مشترک بر مبنای آزمون LSD در سطح خطای ۵٪ تفاوت معنی‌دار ندارند. T1: ۲۵ درجه سانتی‌گراد، T2: ۱۵ درجه سانتی‌گراد. N1: نیتروژن ۱۰۰٪، N2: نیتروژن ۷۵٪، N3: نیتروژن ۵۰٪.



شکل ۶- اثرات متقابل دما و سطوح نیتروژن بر خصوصیات فیزیولوژیکی کاهو. ستون‌های دارای حرف مشترک بر مبنای آزمون LSD در سطح خطای ۵٪ تفاوت معنی‌دار ندارند. T1: ۲۵ درجه سانتی‌گراد، T2: ۱۵ درجه سانتی‌گراد. N1: نیتروژن ۱۰۰٪، N2: نیتروژن ۷۵٪، N3: نیتروژن ۵۰٪.

بحث:

دمای اعمال شده از مقدار آن کاسته و در تیمار T2×N3 حداقل

در این آزمایش رشد ریشه‌ها محدود شد اما در شرایطی

مقدار را نشان داد (شکل ۶-d).

حرارت در ناحیه ریشه رشد ریشه‌ها هم از لحاظ طول و هم از لحاظ قطر محدود گردید و در دماهای بالای ۲۱ درجه سانتی‌گراد اثر معنی‌داری بر رشد قسمت هوایی نداشته است اما در دماهای زیر ۱۵ درجه سانتی‌گراد همانند نتایج به دست آمده از این تحقیق حاضر، در دمای پایین رشد شاخساره محدود شد و (Alvarez-uriaand Körner, 2007). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که میزان فتوسنتز در تیمار ۵۰ درصد نیتروژن به حداقل میزان خود رسید و تا ۳۹/۱۲ درصد از تیمار شاهد کم تر بود. Zhao و Oosterhuis (۱۹۹۸) بر روی گیاه کتان (*Gossypium hirsutum L.*) نشان دادند که میزان پایین و بالای نیتروژن در ابتدای رشد برای کوتاه مدت اثر مستقیمی بر میزان فتوسنتز و غلظت کلروفیل نداشت اما همانند نتایج این پژوهش با کاهش میزان نیتروژن برای مدت طولانی در سراسر رشد گیاه شدت فتوسنتز و میزان کلروفیل کاهش یافت. علاوه بر این میزان ساکارز کمتر، نشاسته بیشتر و کربوهیدرات‌های غیر ساختاری کمتری در غلظت‌های پایین نیتروژن مشاهده شد (Zhao and Oosterhuis, 1998). در نتایج این آزمایش میزان شدت تعرق تفاوت معنی‌داری میان سطوح ۱۰۰ و ۷۵ درصد نیتروژن مشاهده نشد اما در تیمار ۵۰ درصد نیتروژن تا ۷۲ درصد شدت تعرق از دو تیمار دیگر کمتر بود همانند نتایج این آزمایش با کاهش میزان تعرق عملکرد کمتری نیز در گیاه کتان مشاهده گردید (Gerik et al., 1994). همچنین در پژوهشی که توسط عارفی و همکاران (۱۳۹۳) انجام گرفت نشان داد که در سطوح بالاتر نیتروژن در پیاز شاخص کلروفیل و به ویژه کلروفیل b بیشتر بود و همانند نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر با کاهش میزان نیتروژن در دسترس گیاه از میزان عملکرد و شاخص کلروفیل کاسته شد. مانند نتایج حاصله از پژوهش حاضر در گیاه گندم *Triticum aestivum L. cv Yecora 70* نیز با کاهش میزان نیتروژن در دسترس گیاه مقدار تثبیت CO₂، میزان کلروفیل و علاوه بر آن‌ها شدت فعالیت آنزیم روبیسکو نیز کاهش یافت (Evans, 1983). کاهش محتوای کلروفیل نیز در گندم تحت شرایط تنش و به ویژه کلروفیل b مشاهده شده است (Behra et al., 2002; Castrillo et al., 1989)

که میزان نیتروژن توام با دما کاهش یافتند ریشه‌ها رشد بیشتری نمودند. در برخی شرایط دمای خاک نیازهای رشد و تشکیل ریشه‌ها را فراهم نمی‌کند و دماهای پایین رشد ریشه‌ها را به طور مشخصی محدود می‌کند (Körner, 1998; Körner et al., 2003). همچنین گزارش شده است که دمای ناحیه ریشه یکی از عوامل محدودکننده اصلی رشد ریشه‌ها و تنفس آن‌ها می‌باشد (Lawrence, 1983; Barber, 1998; Misra, 1999; Gavito et al., 2001) و ممکن است از عوامل محدودیت رشد ریشه‌ها در این تحقیق نیز باشد. Junttila (۱۹۸۶) گزارش کرده است که توسعه شاخساره‌ها در *Pinus sylestris L.* در دماهای ۹ تا ۱۵ درجه سانتی‌گراد به صورت خطی کاهش یافت و طول نهایی ساقه نیز تحت اثر دمای پایین محدود شد بود و در نهایت دمای بهینه برای پرورش این گیاه را ۱۸ تا ۲۰ درجه سانتی‌گراد تشخیص داد. همچنین در نتایج این پژوهش مشاهده شده است که با کاهش توام دما و نیتروژن رشد شاخساره محدود و از میزان وزن و تر خشک آن کاسته شد. علاوه بر این از نظر خصوصیات ظاهری Dale (۱۹۶۵) گزارش کرد که برگ‌های سبزتر، ضخیم‌تر و چرمی‌تری را در کاهو‌های رشد کرده در دمای ۱۵ درجه نسبت به ۲۵ درجه سانتی‌گراد دیده شد. همچنین مشاهده نمودند که در دمای پایین جذب آب و رشد و توسعه برگ‌ها در کاهو به سرعت محدود می‌شود (Berry and Raison, 1981) و احتمالاً به همین دلیل در دمای پایین رشد سبزینه‌ای در این آزمایش نیز محدود گردید. Jensen و Malter (۱۹۹۵). برخلاف نتایج این آزمایش دمای پایین ۱۸ تا ۲۲ درجه سانتی‌گراد در *Brassica napus* رشد گیاه را محدود نمی‌کند (Oadri et al., 2006). در اثر دمای پایین بیان ژن‌ها و به دنبال آن متابولیسم کربوهیدرات‌ها افزایش می‌یابد در پژوهشی که بر روی گیاه گازانیا *Gazania spp.* انجام گرفت همه گیاهانی که با دمای زیر صفر تیمار شده بودند از بین رفتند و تنها گیاهان بالای صفر زنده باقی ماندند (Noroozi et al., 2009) اما در این آزمایش دمای پایین اعمال شده بالای صفر بود و گیاهان هرچند کاهش رشد را نشان دادند اما به بقای خود ادامه دادند. در گیاهان چوبی با کاهش درجه

اسمزی برگ کمک می‌کند که ممکن است با مقادیر بالاتر محتوای نسبی آب برگ همراه باشد در نتیجه همانند نتایج به دست آمده میزان پرولین می‌تواند بر میزان مقاومت گیاه به شرایط تنش تأثیر گذار باشد (Morgan, 1984). در این آزمایش فنول مترشحه از ریشه افزایش یافت و همچنین در گندم زمستانه که در دمای پایین رشد کرده بودند مقاومت بیشتری نسبت یخبندان داشتند افزایش میزان ترکیبات قندی و فنولی در ریشه گیاهانی که در معرض دمای پایین بودند نیز مشاهده گردید (Windt and Hsselt, 1999). همچنین گزارش شده است که ارقام مقاوم به تنش میزان پرولین بیشتری از ارقام حساس تولید نمودند (Siose mardeh *et al.*, 2003). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که میزان آنتی اکسیدان در تیمارهایی که شرایط تنشی کمتری را تحمل می‌نمودند در بالاترین حد قرار گرفت و همچنین در شرایطی که بیشترین مقدار نیتروژن در اختیار گیاه بود میزان آنتی اکسیدان بیشتر از سایر تیمارها بوده است. علاوه بر نتایج به دست آمده از این آزمایش در برخی تحقیقات دیگر گزارش شده است که خنک کردن محلول غذایی به طور معنی‌داری میزان گلدهی پیش از موعد و بیماری‌های قارچی همانند پیتیوم را در کاهو محدود می‌کند (Berry and Raison, 1981). عملکرد گیاهان وابسته به منابع در دسترس ریشه است و همچنین یک سری عوامل بیماری‌زا می‌باشد و دمای ناحیه ریشه بر میزان آب و مواد غذایی در دسترس ریشه را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Gourdriaan and Zadoks, 1995).

نتیجه‌گیری:

نتایج تحقیق ما نشان می‌دهد که ریشه‌های گیاه کاهو در معرض دمای پایین و سطوح نیتروژن کمتر میزان کل ترکیبات فنولی بیشتر و پرولین بیشتری ترشح می‌کنند که این امر باعث افزایش مقاومت آنها نسبت به تنش می‌شود. همچنین میزان فتوسنتز و تعرق نیز تحت شرایط تنش کاهش می‌یابد و برای رشد بهینه بهتر است که شرایط دمایی و تغذیه‌ای متناسب با نیاز گیاه فراهم شود.

بر روی گندم انجام گرفته است تحت شرایط تنش همانند نتایج به دست آمده میزان هدایت روزنه‌ای کاهش و میزان دی اکسید کربن زیر روزنه ای افزایش یافت و برخلاف نتایج این آزمایش که کارایی مصرف آب فتوسنتزی افزایش یافت در تحقیق حاضر کاهش یافت. این امر نشان دهنده آن است که تحت شرایط تنش میزان دی اکسید کربن وارد شده به برگ به طور کامل در فتوسنتز مورد استفاده قرار نمی‌گیرد. علاوه بر این در ارقامی که میزان کلروفیل بیشتری داشتند هدایت مزوفیلی در حد بالاتر و میزان کربن دی اکسید داخل روزنه کمتر از سایر ارقام بوده است (Siose mardeh *et al.*, 2003). علاوه بر این گزارش شده است که عامل اصلی محدودکننده فتوسنتز، کاهش هدایت مزوفیلی است (Fischer *et al.*, 1998) میزان تحت تأثیر قرار گرفتن فتوسنتز گیاهان به پیشینه برگ‌ها و مدت زمان قرارگیری تحت شرایط تنش بستگی دارد و میزان تثبیت کربن در غلات تحت شرایط دمای پایین محدود می‌شود (Huner *et al.*, 1993) همانند نتایج این پژوهش که با کاهش دما از فتوسنتز کاسته شد و به دنبال آن از توسعه شاخساره نیز جلوگیری به عمل آمد. تنش دمای پایین میزان فتوسنتز را کاهش می‌دهد که به تحریب غشا تیلاکوئیدها و به هم ریختن ساختمان کلروفیل را باعث می‌شود و ممکن است کاهش نرخ فتوسنتز در این آزمایش نیز به این دلیل باشد (احمدی و همکاران، ۱۳۷۹). با توجه به اینکه محصول به دست آمده از فتوسنتز نزدیک به ۹۰ درصد ماده خشک گیاه را تشکیل می‌دهد، بنابراین تغییر در میزان فتوسنتز می‌تواند موجب تغییرات زیاد در عملکرد گیاه گردد و به عنوان یک فاکتور مهم مورد بررسی قرار می‌گیرد (پوستینی و همکاران، ۱۳۷۳) همان گونه که در پژوهش حاضر باعث تغییر در عملکرد گردید. نتایج این پژوهش در بررسی خصوصیات فیزیولوژیکی نشان داد که ترکیبات درون زاد همانند میزان فنول مترشحه از ریشه و فنول عصاره برگ و هم چنین میزان پرولین با افزایش شرایط تنش دمایی و تغذیه ای افزایش می‌یابد. برخی تحقیقات نشان دادند که افزایش تجمع پرولین به تنظیم

منابع:

- progress associated with higher stomatal conductance and photosynthetic rate, and cooler canopies. *Crop Science* 38: 1467-1475.
- Gavito, M. E., Curtis, P. S. and Mikkelsen, T. N. (2001) Interactive effects of soil temperature, atmospheric carbon dioxide and soil N on root development, biomass and nutrient uptake of winter wheat during vegetative growth. *Experimental Botany* 52: 1913-1923.
- Gerik, T. J., Jackson, B. S. Stockle, C.O., Rosenthal, W. D. (1994) Plant nutrition status and boll load of cotton. *Agronomy journal* 86: 514-518.
- Goudriaan, J., and Zadoks J. C. (1995) Global climate change: modeling the potential response of agroecosystems with special reference to crop protection. *Environmental Pollution* 87: 215-224.
- Guo, P and Al-Khatib, K. (2003) Temperature effects on germination and growth of redroot pigweed (*Amaranthus retroflexus*) Palmer amaranth (*A. almeri*), and common waterhemp (*A. rudis*). *Weed Science* 51: 869-875.
- Huner, N. P. A., Oquist, G., Hurry, V. M., Krol, M., Falk, S., Griffith, M. (1993) Photosynthesis, photoinhibition and low temperature acclimation in cold tolerant plants. *Photosynthesis Research* 37: 19-39.
- Huang J. W. and Grunes D. L. (1992) Effects of root temperature and nitrogen form on magnesium uptake and translocation by wheat seedlings. *Journal of Plant Nutrition* 15: 991-1005.
- Hutchings, M. J. and John, E. A. (2003) Distribution of roots in soil, and root foraging activity. In: *Root ecology, ecological studies* 168 (Eds Kroon, H. and E. J. W. Visser), Pp. 33-60. Springer, Berlin, Heidelberg, New York.
- Jensen, M. H. and Malter, A. J. (1995) Protected agriculture. A global review. World Bank Tech. Paper No. 253. The World Bank, Washington D. C.
- Junttila, Olavy. (1986) Effect of temperature on shoot growth in northern provenances of *Pinus sylestris* L. *Tree Physiology* 1: 185-192.
- Kessler, W., Boiler, B. C. and Nosberger, J (1990) Distinct influences of root and shoot temperature on nitrogen fixation by white clover. *Annals of Botany* 65: 341-346.
- Körner, Ch. (1998) A re-assessment of high elevation treeline positions and their explanation. *Oecologia* 115: 445-459.
- Körner, Ch, Paulsen, J. and Pelaez-Riedl, S. (2003) A bioclimatic characterisation of Europe's alpine areas. *Alpine Biodiversity in Europe* (eds Nagy, L. Grabherr, G., Körner, C. and Thompson, D. B. A.), pp. 13-28.
- Lawrence W. T. and Oechel, W. C. (1983) Effects of soil temperature on the carbon exchange of taiga seedlings I. Root respiration. *Canadian Journal of Forest Research* 13: 840-849.
- Ling, G. N. (1967) Effects of temperature on the states of water in the living cell. In *Thermobiology* 3: 5-24.
- احمدی، ع. و بیکر، د. آ (۱۳۷۹) عوامل روزنه ای و غیر روزنه ای محدود کننده فتوسنتز درگندم در شرایط تنش خشکی. *مجله علوم کشاورزی ایران* ۳۱: ۸۱۳-۸۲۵.
- پوستینی، ک. و بیکر، د. آ. (۱۳۷۳) واکنش فتوسنتزی دو رقم گندم نسبت به شوری. *مجله علوم کشاورزی ایران* ۲۵: ۱۶-۶۹.
- عارفی، ا. کافی، م. خراعی، ح. بنایان اول، م. (۱۳۹۳) بررسی اثر سطوح مختلف نیتروژن، فسفر و پتاسیم بر عملکرد، فتوسنتز و پیگمانت‌های فتوسنتزی، کلروفیل و غلظت نیتروژن اجزای گیاه دارویی و صنعتی موسیر (*Allium altissimum Regel.*) نشریه بوم شناسی کشاورزی، ۴: ۲۰۷-۲۱۴.
- Alfocea, F., A. Albacete, Ghanem, M. E. and Dodd, I. A (2010) Hormonal regulation of source-sink relations to maintain crop productivity under salinity: a case study of root-to-shoot signalling in tomato. *Functional Plant Biology* 37: 592-603.
- Alvarez-uria, P. and Körner, C. (2007) Low temperature limits of root growth in deciduous and evergreen temperate tree species. *Functional Ecology* 21: 211-218.
- Bates, L., Waldren, R. P. and Teare, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-207
- Behera, R. K., Mishra, P. C. and Choudhury, N. K. (2002) High irradiance and water stress induce alterations in pigment composition and chloroplast activities of primary wheat leaves. *Plant Physiology* 159: 967-973
- Barber, S. A., Mackay, A. D. and Kuchenbuch, R. O. (1988) Effects of soil temperature and water on maize root growth. *Plant and Soil* 111: 267-269.
- Berry, J. A. and Raison, J. K. (1981) Response of macrophytes to temperature. *Physiological Plant Ecology* 12: 227-338.
- Castrillo, M. and Calcargo, A. M. (1989) Effects of water stress and rewatering on ribulose-I, 5-bisphosphate carboxylase activity, chlorophyll and protein contents in two cultivars of tomato. *Horticultural Science* 64: 717-724.
- Dale, J. E. (1965) Leaf growth in *Phaseolus vulgaris* II. Temperature effects and the light factor. *Annals Botany* 114: 293-307.
- Evans, R. J. (1983) Nitrogen and Photosynthesis in the Flag Leaf of Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Physiology* 72: 297-302.
- Fischer, R. A., D. Rees, K. D. Sayre, Z. M. Lu, A. G. Candon, and A. L. Saavedra. (1998) Wheat yield

- Siose mardeh, A., Ahmadi, A., Pustini, K. and Ebrahimzade, H. (2003) Stomatal and Nonstomatal Limitations to Photosynthesis and Their Relationship with Drought Resistance in Wheat Cultivars. *Iranian journal of agricultural science* 34:93-106.
- Yu, L., Haley, S., Perret, J., Harris, M., Wilson, J., Qian, M. (2002). Free radical scavenging properties of wheat extracts. *Agricultural and Food Chemistry* 50:1619-1624.
- Wein, H. C. (1998) Lettuce. In: *Vegetable Crop physiology* (Ed H. C. Wein). Pp. 490-504. CAB International.
- Windt, C. W. and Hsselt, P. R. (1999) Development of frost tolerance in winter wheat as modulated by differential root and shoot temperature. *Plant biology* 1: 573-580.
- Wurr, D. C. E., Fellows, J. R. and Hambidge, A. J. (1992) Environmental factors influencing head density and diameter of crisp lettuce cv. *Saladian*. *Horticultural science* 67: 395-401.
- Zhao, D. and Oosterhuis, D. M. (1998) Cotton responses to shade at different growth stages: Nonstructural carbohydrate composition. *Crop Science* 38:1196-1203.
- Misra, R. K. (1999) Root and shoot elongation of rhizotron-grown seedlings of *Eucalyptus nitens* and *Eucalyptus globulus* in relation to temperature. *Plant and Soil* 206: 37-46.
- Morgan, J. M. (1984) Osmoregulation and water stress in higher plants. *Annual Reviews Plant Physiology* 35: 299-319.
- Noroozi, A., Amani Beni, M. and Fotuhi, R. (2009) Effect of drought, salinity and low temperature stresses on growth indexes of *Gazania rigens* L.) plant. *Horticultural congress Iran sixth*: 1078-1080.
- Oadreri, M. M., Kurepin, L. V. and Reid, D. M. (2006) Growth and physiological responses of canola (*Brassica napus*) to three components of global climate change: temperature, carbon dioxide and drought. *Physiologia Plantarum* 128: 710-721.
- Pregitzer, K. S., King, J. S., Andrew, J. B. and Brown, E. (2000) Responses of tree fine roots to temperature. *New Phytologist* 147: 105-115.
- Sing, R. P., Chidambara Murthy, K. N., Jayaprakash, G. K. (2002) Studies on the antioxidant activity of pomegranate peel and seed extracts using in vitro models. *Agricultural and Food Chemistry* 50: 81-86.