ارزیابی برخی پاسخ‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی هفت رقم زیتون در ارتباط با تحمل به یخزدگی

صفورا سعادتی، بهرام بانی نسب*، مصطفی مبلی و مهدیه غلامی

گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۸/۲۳، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۶/۱۲/۱۹)

چکیده

دما یکی از مهم‌ترین عوامل محدود کننده تولید و گسترش زیتون به شمار می‌رود. ارقام مختلف زیتون واکنش‌های متفاوتی نسبت به دمای پایین دارند. بنابراین گزینش و معرفی ارقام متحمل به یخزدگی، مؤثرترین روش برای اجتناب از خسارات یخزدگی به شمار می‌رود. هدف اصلی این پژوهش، مقایسه میزان تحمل به یخزدگی هفت رقم زیتون و بررسی رابطه بین تحمل به یخزدگی با حداکثر عملکرد کوانتومی فتوسیستم دو (F_v/F_m)، کربوهیدرات‌های محلول، مالون دی‌آلدهید، تراکم روزنه، چگالی برگ و محتوای نسبی آب برگ در مرحله سازگاری به سرما بود. پس از اندازه‌گیری حداکثر عملکرد کوانتومی فتوسیستم دو، نمونه‌های برگ از هر رقم جمع آوری و به دو گروه تقسیم شدند. گروه اول به منظور تعیین تحمل به یخزدگی به مدت ۱۲ ساعت در شرایط دمایی مختلف شامل (صفر، ۵-، ۱۰-، ۱۵-، ۲۰- و ۲۵- درجه سلسیوس) قرار گرفتند و گروه دوم نمونه‌ها برای اندازه‌گیری برخی صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی استفاده شدند. نتایج نشان داد اختلاف معنی‌داری بین تحمل به یخزدگی ارقام زیتون مورد مطالعه مشاهده شد. بیشترین تحمل به یخزدگی برآورد شده مربوط به رقم‌های آمفی سیس، شنگه و کنسروالیا (به ترتیب LT_{50} برابر با ۱۳/۱٤ °C-، ۱۱/۷۲- و ۱۱/۲۰-) و کم‌ترین تحمل مربوط به رقم رشید (LT_{50} برابر با ٦/۹۰ °C-) بود. شاخص F_v/F_m، کربوهیدرات‌های محلول و چگالی برگ در ارقام متحمل به یخزدگی از قبیل آمفی سیس، شنگه و کنسروالیا بیش از سایر ارقام بود که حاکی از ارتباط مثبت این پارامترها با تحمل به یخزدگی است. غلظت مالون دی آلدهید، تراکم روزنه-ای و محتوای نسبی آب برگ در ارقام متحمل به یخزدگی نظیر آمفی سیس، شنگه و کنسروالیا کمتر از رقم حساس به یخزدگی رشید بود.

واژه‌های کلیدی: تراکم روزنه، زیتون، کربوهیدرات‌های محلول، فلورسانس کلروفیل، تنش دمای پایین، نشت یونی

مقدمه

دما یکی از مهم‌ترین عوامل محیطی تعیین کننده پراکنش گونه‌های مختلف گیاهی است (Poirier *et al.*, 2010). احتمال وقوع سرما در بیش از ۹۳٪ اراضی دنیا وجود دارد که ۸۱٪ از این مناطق در معرض دماهای زیر نقطه انجماد قرار می‌گیرند (Steponkus *et al.*, 1993). تنش سرما یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی است که سبب کاهش عملکرد گیاه و یا حتی مرگ سلول‌ها می‌شود (Erikson and Webb, 2011). اگرچه گیاهان بسته به مرحله نموی، نوع اندام، سرعت و طول مدت کاهش دما تا حدودی قادر به تحمل دماهای تنش زا می‌باشند؛ اما حداکثر میزان رشد و نمو خود را در دامنه دمای بهینه انجام می‌دهند و انحراف از آن، موجب می‌شود نتوانند حداکثر

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

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.30.23.7]

پتانسیل ژنتیکی خود را بروز دهند (Mancuso, 2000).

درخت زیتون از جمله گیاهان همیشه سبز نیمه گرمسیری بوده که عموماً بین عرض‌های جغرافیایی ۳۰ تا ٤٥ درجه در هر دو نیمکره شمالی و جنوبی کشت می‌شود و محیط مناسب برای رشد آن‌ها، مناطق با آب و هوای مدیترانه‌ای است (Matteucci *et al.*, 2011). اما، در سال‌های اخیر به دلیل افزایش تقاضا برای روغن زیتون، کاشت درختان زیتون در مناطقی با عرض‌های جغرافیایی بالاتر در حال گسترش است. علاوه بر این در پاییزهای سرد که فرآیند بلوغ آرام‌تر صورت می‌گیرد، روغن زیتون از کیفیت بهتری برخوردار است (Mancuso, 2000). دمای ۷- درجه سلسیوس به بخش‌های هوایی درخت، صدمه وارد کرده که این صدمات عموماً با ریزش برگ و خشک شدن سر شاخه‌ها همراه است که در نتیجه آن، تولید محصول کاهش می‌یابد. درختان زیتون در دماهای زیر ۱۲- درجه سلسیوس دچار آسیب‌های بسیار شدیدی خواهد شد. در آزمایشات Barranco و همکاران (۲۰۰۵) و سیم کش زاده و همکاران (۱۳۸۹) مشخص شد که ارقام مختلف زیتون واکنش‌های متفاوتی نسبت به سرما دارند. بنابراین گزینش و معرفی ارقام متحمل به سرما مؤثرترین روش برای اجتناب از خسارات سرمازدگی به شمار می‌رود (Eris *et al.* 2007; Gomez-del-Campo and Barranco, 2005; Barranco *et al.*, 2005). این مسأله به خصوص در مناطقی مانند ایران که کشت زیتون در حال گسترش است از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است.

سازگاری به تنش سرما در نتیجه مکانیزم‌های پیچیده فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی است که منجر به تغییر در ساختار و ترکیبات لیپیدی غشا، محتوای نسبی آب سلول‌ها، افزایش قندهای محلول، تجمع پروتئین‌ها و افزایش مکانیسم‌ها ضد اکسیداسیون و غیره می‌شود (Poirier *et al.*, 2010). هم‌چنین تجمع مواد محلول سازگار در سیتوپلاسم منجر به برقراری تعادل ترمودینامیکی بین یخ خارج سلولی و آب داخل سلولی شده و بدین ترتیب تنش دهیدراسیون کاهش می‌یابد.

در پژوهشی Handley و همکاران (۱۹۹۳) تحمل به یخ‌زدگی در پروتوپلاست زیتون را در نتیجه تجمع ترکیبات ازته با وزن مولکولی پایین مانند اسیدهای آمینه و پرولین، پروتئین‌های محلول در آب و کربوهیدرات‌های محلول به ویژه الیگوساکاریدها دانستند. در مطالعه‌ای Gulen و همکاران (۲۰۰۹) به بررسی قندهای محلول در بافت برگ در مراحل سازگاری (دی ماه) و عدم سازگاری (تیرماه) به سرما در زیتون پرداختند. نتایج پژوهش آن‌ها نشان داد محتوای کل قندهای محلول، قندهای احیا و ساکارز در ارقام متحمل به سرما به طور معنی‌داری بیشتر از ارقام حساس به سرما بود. در پژوهشی دیگر Eris و همکاران (۲۰۰۷) با نمونه‌برداری ماهانه از درختان زیتون رقم Gemlik طی دو سال، غلظت قندهای محلول را تعیین کردند. نتایج پژوهش آن‌ها نشان داد که میزان تحمل به سرمای برگ و بافت پوست با افزایش غلظت قندهای محلول و کل پروتئین‌های محلول، در طی پاییز افزایش یافته و در زمستان به حداکثر مقدار خود می‌رسد سپس به تدریج در طی بهار کاهش یافته و در اواسط تابستان به حداقل مقدار ممکن می‌رسد.

غشای پلاسمایی به عنوان اولین بخش سلول که به تنش سرما پاسخ می‌دهد، ساختاری دینامیک داشته که از واکنش‌های بیوشیمیایی و بیوفیزیکی حمایت می‌کند. ترکیبات غشاء پلاسمایی از اواخر تابستان تا پاییز به شکل قابل توجهی تغییر می‌یابد، این تغییرات شامل افزایش نسبت اسیدهای چرب غیر اشباع به اشباع و مقدار فسفولیپیدها است که نتیجه آن محافظت از غشا در برابر دهیدراسیون، آسیب اکسیداسیون و دیگر فرآیندهای تحت تأثیر تنش سرما می‌باشد (Moellering *et al.*, 2010). یکی از اثرات عمده تنش سرما، پراکسیداسیون چربی‌های غشا در اثر گونه‌های اکسیژن فعال و تولید مالون دی آلدهید است؛ که سبب تغییر سیالیت، انسجام و نفوذپذیری غشا می‌شود. بدین ترتیب، سرما با تغییر در اسیدهای چرب غیراشباع، باعث نشت یون‌ها (عموماً K^+) به خارج از سلول و در نتیجه تسریع خسارت به گیاهان می‌شود (Gusta *et al.*, 1982). بنابراین سنجش مالون دی آلدهید (Malondialdehyde) به عنوان یک نشانگر بیوشیمیایی و هم‌چنین درصد نشت یونی که هر دو بیانگر آسیب به غشا

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.30.23.7]

هستند، به طور وسیعی برای بررسی تحمل ارقام به تنش سرما استفاده شده است (Campos *et al*., 2003). در مطالعه‌ای Barranco و همکاران (۲۰۰۵) هشت رقم زیتون را با استفاده از دو روش مشاهده مزرعه‌ای و نشت یونی مورد مقایسه قرار دادند. نتایج تحقیقات آن‌ها نشان داد که بین ارقام در میزان نشت یونی اختلاف معنی‌داری وجود داشت و روش نشت یونی روشی ساده، سریع و تکرار پذیر برای ارزیابی تحمل به سرما در ارقام زیتون می‌باشد. در پژوهشی دیگر Fiorino و Mancuso (۲۰۰۰)، چهار رقم زیتون که از نظر تحمل به سرما در سه سطح متحمل، نیمه متحمل و حساس قرار داشتند را با سه روش آنالیز تمایز دمایی (بر اساس حضور یا عدم حضور اگزوترم‌ها)، روش مشاهده‌ای در مزرعه و روش نشت یونی مورد مقایسه قرار دادند. مطالعات آن‌ها نشان داد که نتایج حاصل از هر سه روش مورد مطالعه در گروه بندی ارقام از نظر تحمل به سرما مشابه هم هستند.

یکی از اثرات آشکار تنش سرما در بخش هوایی گیاهان، اختلال در تولید کلروفیل و آسیب به عملکرد کلروپلاست است. اندازه‌گیری شاخص حداکثر عملکرد کوانتومی فتوسیستم دو (Maximum quantum yield of PSII) روشی سریع و غیرتخریبی است که برای ارزیابی نحوه سیستم عملکرد فتوسنتزی در شرایط تنش و پس از آن به کار می‌رود و اطلاعات حاصل از آن برای مشخص کردن سرعت انتقال الکترون و چگونگی فرو نشاندن الکترون برانگیخته به کار می‌رود (Percival and Henderson, 2003). شاخص F_v/F_m سلامت غشای تیلاکوئید و کارایی انتقال الکترون از فتوسیستم II به I را نشان می‌دهد (Maxwell and Johnson, 2000). مقدار F_v/F_m در بسیاری از گونه‌های گیاهی در شرایط بهینه و بدون تنش ۰/۸۳ است و به مفهوم کارایی بالا در استفاده از انرژی تحریک شده در مراحل فتوشیمیایی است. با وقوع تنش، فرآیند بازدارندگی نوری رخ داده و مقدار این شاخص در اثر آسیب به کمپلکس‌های فتوسیستم II کاهش می‌یابد. مقادیر کمتر از ۰/۷۵ به معنی کاهش کارایی نوری فتوسیستم II است. شاخص F_v/F_m در بسیاری پژوهش‌ها برای تعیین تحمل به شرایط تنش در گیاهان مورد استفاده قرار گرفته است (سیم‌کش زاده و همکاران، ۱۳۸۹؛ Lichten Thaler and Babani, 2000; Starck *et al*., 2000).

تعیین تراکم روزنه‌ای نیز می‌تواند به عنوان روشی برای تعیین تحمل به سرما مورد استفاده قرار گیرد (Popova *et al*., 2003). در درختان زیتون، اکثر روزنه‌ها (تقریباً ۹۵٪) در سطح زیرین برگ قرار دارند که با کرک‌های درخشان پوشیده شده اند. میزان تراکم روزنه‌ها فاکتوری است که به طور مستقیم بر روی تحمل به سرما اثر نمی‌گذارد. اما به هر حال به دلیل اینکه در شرایط وقوع تنش سرما، روزنه‌ها در وضعیت کاملاً باز باقی می‌مانند و منجر به هدر رفتن مقادیر زیادی آب و مواد غذایی می‌شود، از این رو تراکم روزنه‌ای پایین موجب جلوگیری از خشک شدن برگ‌ها در طی زمستان می‌گردد (Perez-Lopez1 *et al*., 2010). در پژوهشی McWilliam و همکاران (۱۹۸۲) گزارش کردند دهیدراسیون ناشی از تنش سرما در ارقام حساس به دلیل بسته شدن کمتر روزنه‌ها نسبت به ارقام متحمل است. در پژوهشی دیگر سلیمانی و همکاران (۲۰۰۳) به بررسی ارتباط بین تراکم روزنه و نشت الکترولیت‌ها به عنوان معیاری برای تحمل به سرما در زیتون پرداختند. نتایج آزمایشات آن‌ها نشان داد ارقام متحمل به سرما تراکم روزنه‌ای کمتری نسبت به ارقام نیمه متحمل و حساس داشتند؛ علاوه بر این ارتباط معنی‌داری بین تراکم روزنه‌ای و نشت الکترولیت‌ها وجود داشت.

درختان میوه به‌منظور رشد و نمو طبیعی خود، نیازمند آب می‌باشند، اما به دلیل اینکه صدمات ناشی از یخ‌زدگی در وهله اول در نتیجه دهیدراسیون سلولی است، بنابراین انتظار می‌رود که بافت‌هایی که دارای مقادیر بیشتر محتوای آب آزاد هستند، حساسیت بیشتری به یخ‌زدگی داشته باشند. در مطالعه‌ای Rosa وRallo (۲۰۰۰) گزارش کردند که در طی دوره رکود، کاهش محتوای آب سلولی (Relative Water Content) باعث افزایش تحمل به تنش سرما در درختان زیتون می‌شود. در پژوهشی Faust (۱۹۸۷) تحمل کمتر درختان هلو به تنش سرما نسبت به درختان سیب را به سطوح بالای آب میان بافتی آن‌ها مرتبط

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.30.23.7]

دانست. در پژوهشی Arias و همکاران (۲۰۱۵) به بررسی تحمل به سرما در پنج رقم زیتون یک‌ساله در مراحل سازگاری و عدم سازگاری به سرما پرداختند. نتایج نشان داد، سازگاری درختان زیتون به دماهای زیر صفر درجه سلسیوس در طی زمستان، به دلیل افزایش چگالی برگ و آب آپوپلاستی کمتر است.

بهبودی درخت (بازگشت به شادابی) پس از گذراندن دوره سرما و قرار گرفتن در معرض دمای بالا، نیز به عنوان معیاری برای تحمل به سرما است (Embree and McRae, 1991). در پژوهشی Pellett وHeleba (۱۹۹۸) پیشنهاد کردند که رشد کالوس روی قطعه‌های ساقه زخمی شده به عنوان معیاری برای تحمل به دمای پایین است. در مطالعه‌ای دیگر Sekozawa و همکاران (۲۰۰۳) از روش رشد مجدد جوانه‌ها و اندازه‌گیری نشت الکترولیت‌ها به عنوان روشی معتبر برای ارزیابی خسارات یخ زدگی گلابی استفاده کردند.

بنابراین با توجه به گزارش‌های سالانه مبنی بر خسارت سرمازدگی و کاهش تولید زیتون در برخی سال‌ها، پژوهش حاضر به منظور بررسی تحمل بـه تنش سرما در برخی از ارقام تجاری زیتون با اندازه‌گیری برخی پارامترهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی انجام گرفت. نتایج این پژوهش موجب شناخت آستانه تحمل ارقام زیتون مورد مطالعه نسبت به دمای پایین می‌شود که در نتیجه می‌توان با گزینش ارقام متحمل و ترویج توسعه کشت آن، از خسارت‌های کلی به این محصول با ارزش در اثر سرماهای فراگیر جلوگیری نمود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش روی ۷ رقم زیتون بالغ ۱۵ ساله، شامل: آمفی سیس، رشید، شنگه، کروناپکی، کنسروالیا، گرگان و مانزانیلا در باغ سازگاری دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان و در مرحله سازگاری به سرما (۱۵ دی ماه) انجام شد. میانگین دمای حداقل و حداکثر روزانه در طی شهریور ۱۳۹٤ تا مرداد ۱۳۹۵ در شکل ۱ نشان داده شده است.

ابتدا برای اندازه‌گیری شاخص *Fv/Fm* از دستگاه فلورومتر (fluorometer) مدل (Hansatech Instruments Ltd, UK) با توانایی اندازه‌گیری فلورسانس در دو حالت روشنایی و تاریکی، استفاده شد. از هر درخت سه برگ کاملاً بالغ و جوان انتخاب گردید و مؤلفه *Fv/Fm* (حداکثر عملکرد کوانتومی فتوسیستم دو) با استفاده از رابطه (۱) محاسبه شد.

$$m = Fv/F \quad \frac{Fm-F0}{Fm} \qquad \text{رابطه (۱)}$$

Fm= میزان فلورسانس حداکثر، بعد از تابیدن یک پالس نور اشباع بر روی گیاه سازگار شده به تاریکی.

F0= میزان فلورسانس بعد از آنکه روی گیاه سازگار شده به تاریکی یک پرتو تعدیل شده و ضعیف تابیده شد.

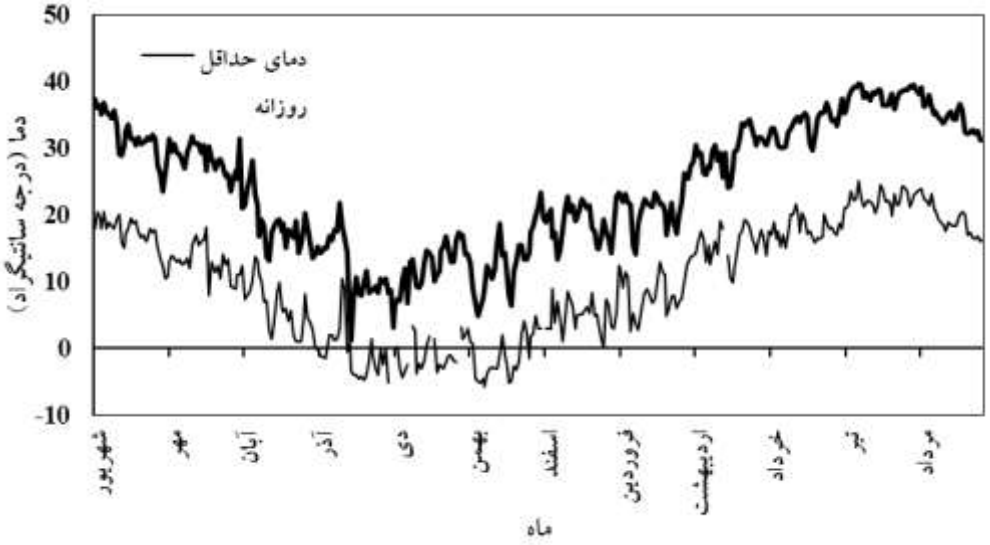
Fv= شدت فلورسانس پایه یا لحظه‌ای.

سپس شاخه‌های یک‌ساله از درختان سالم و با رشد یکنواخت برداشت شده و بلافاصله در جعبه‌های یخ قرار گرفتند و برای ارزیابی‌های بعدی به آزمایشگاه باغبانی دانشگاه صنعتی اصفهان منتقل شدند. بر حسب نوع اندازه‌گیری نمونه‌ها به دو گروه تقسیم شدند: گروه اول برای اندازه‌گیری میزان نشت یونی با استفاده از روش Cansev و همکاران (۲۰۰۹) با کمی تغییر مورد استفاده قرار گرفت. گروه دوم نمونه‌ها برای اندازه‌گیری کربوهیدارت‌های محلول، میزان مالون دی آلدهید، تراکم روزنه‌ها، چگالی برگ و محتوای نسبی آب برگ مورد استفاده قرار گرفت.

اندازه‌گیری نشت یونی: به این منظور برگ‌های قسمت میانی شاخه جدا گردید و پس از شستشو در کاغذ مرطوب و سپس فویل آلومینیمی پیچیده شده و در معرض تیمارهای دمایی شامل صفر، ۵–، ۱۰–، ۱۵–، ۲۰– و ۲۵– درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. نمونه‌ها در هر دما به مدت ۱۲ساعت نگه داشته شدند و پس از هر تیمار دمایی به مدت ۲٤ ساعت به یخچال با دمای ٤ °C منتقل شده تا بازگشت از تنش به آرامی در سلول‌ها انجام شود. پس از آن میزان نشت یونی به روش Lutts و همکاران (۱۹۹٦) انجام شد. به این منظور از برگ‌های برداشت شده از هر تیمار یخ‌زدگی، دیسک‌های برگی تهیه و به آرامی در آب مقطر غوطه ور شده و با دستمال خشک شدند. پنج دیسک برگی درون لوله‌های آزمایش حاوی ۲۰ میلی

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.30.23.7]



شکل ۱- میانگین دمای حداقل و حداکثر روزانه در طی شهریور ۱۳۹٤ تا مرداد ۱۳۹۵.

لیتر آب مقطر دیونیزه قرار داده شدند. لوله‌های آزمایش در دمای محیط و به مدت ۲٤ ساعت توسط یک شیکر تکان داده شد. سپس هدایت الکتریکی محلول توسط دستگاه سنجش هدایت الکتریکی ساخت کشور سوییس مدل (Adventurer Pro AV114) اندازه‌گیری شد (EC_1). سپس نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۰ درجه سلسیوس اتوکلاو شدند و در نهایت هدایت الکتریکی بعد از به تعادل ر سیدن با دمای محیط مجددا اندازه گیری شد (EC_2). نشت یونی هر نمونه از طریق رابطه (۲) محاسبه شد.

$$\text{درصد نشت یونی} = \frac{EC_1}{EC_2} \times 100 \qquad \text{رابطه (۲)}$$

LT_{50} بر اساس روش نشت یونی (دمایی که در آن ۵۰ درصد نشت یونی کامل اتفاق می‌افتد)، با استفاده از نرم افزار Excel تعیین شد.

اندازه‌گیری کربوهیدارت‌های محلول: کربوهیدرات‌های محلول به روش Irigoyen و همکاران (۱۹۹۲) تعیین شد. ۰/۵ گرم نمونه برگ منجمد شده با ۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵٪ در هاون چینی له گردید. محلول رویی از عصاره به دست آمده جمع آوری شد و عملیات استخراج بر روی رسوبات برگی باقیمانده طی دو مرحله شستشو با اتانول ۷۰٪ ادامه یافت. عصاره‌های الکلی جمع آوری شده به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ٤ درجه سلسیوس و سرعت ۳۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره‌های الکلی تهیه شده در لوله‌های آزمایش ریخته شد و ۳ میلی‌لیتر معرف آنترون تازه (۱۵۰ میلی‌گرم آنترون خالص در ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۷۲٪ به آرامی و در گرمای ملایم)، به آن اضافه شد. سپس لوله‌های آزمایش به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار داده شدند. پس از خنک شدن لوله‌های آزمایش، جذب نمونه‌ها (و استانداردها) در طول موج ٦۲۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (Shimadzu UV160) ساخت کشور ژاپن قرائت شد.

اندازه‌گیری میزان مالون دی آلدهید (MDA): تجمع مالون دی آلدهید در برگ به روش Buege و Aust (۱۹۷۸) تعیین شد. ۱۰۰ میلی‌گرم نمونه برگی با ۲ میلی‌لیتر بافر استخراج تری کلرو استیک اسید(TCA) یک درصد هموژنه شده و به مدت ۱۵ دقیقه در سانتریفیوژ با سرعت۱۰۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد. یک میلی‌لیتر از محلول رویی به دست آمده با ٤ میلی‌لیتر محلول تیوباربیتوریک اسید (TBA) ۰/۵ درصد حاوی TCA ۲۰ درصد مخلوط و در حمام آب جوش (۹۵ درجه سانتی‌گراد) به‌مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شد. سپس سریعاً سرد و مجدداً به‌مدت ده دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. برای حذف اثر ترکیبات مزاحم، جذب

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.30.23.7]

نمونه‌ها در طول موج ۶۰۰ نانومتر (A_{600}) قرائت شده و از مقدار جذب آنها در طول موج ۵۳۲ نانومتر (A_{532}) کم شد. غلظت نهایی مالون دی آلدهید با استفاده از ضریب خاموشی $155\ mmol^{-1}cm^{-1}$ محاسبه و بر حسب نانومول بر گرم وزن تر بیان شد.

اندازه‌گیری تراکم روزنه‌ها: ابتدا به منظور حذف پرزهای موجود بر سطح زیرین برگ یا هر گونه آلودگی احتمالی، نمونه‌های برگ روی صفحه‌ای تمیز به طور معکوس قرار داده شد و یک لایه چسب نواری معمولی روی سطح زیرین برگ چسبانده و اندکی فشار داده شد تا کاملاً با هم در تماس باشند، و پس از آن نوار چسب به آرامی از پشت برگ جدا شد. سپس سطح زیرین برگ با یک لایه بسیار نازک لاک ناخن بدون رنگ پوشانده و اجازه داده شد تا خشک شود. در ادامه، با استفاده از چسب نواری با رنگ روشن، لایه برق ناخن از سطح زیرین برگ جدا شد و بر روی لام چسبانده شد. شمارش تعداد روزنه در سه نقطه برگ (نوک، میانه و قاعده) در زیر میکروسکوپ با بزرگنمایی ۴۰ انجام شد.

اندازه‌گیری چگالی برگ: چگالی برگ مطابق با روش Scholz و همکاران (۲۰۰۷) با ۱۰ برگ از هر درخت موجود در هر رقم مطابق با رابطه (۳) انجام شد:

$$\text{چگالی برگ } (\delta) = \frac{\text{وزن خشک برگ } (g)}{\text{حجم تر برگ } (cm^3)} \quad \text{رابطه (۳)}$$

اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ: برای اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ از روش Weatherley (۱۹۵۰) استفاده شد. بدین منظور قطعات برگی ابتدا با ترازوی حساس وزن شد (FW). سپس برگها به مدت ۲۴ ساعت درون پتری دیش حاوی آب مقطر قرار داده شد و وزن نمونه‌ها به عنوان وزن تورژسانس در نظر گرفته شد (TW). در مرحله بعد نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت درون آون با دمای ۷۰ درجه سلسیوس قرار گرفت و وزن حاصل از آنها به عنوان وزن خشک (DW) اندازه گیری شد. میزان محتوای نسبی آب از طریق رابطه (۴) محاسبه شد:

$$RWC = \frac{FW-DW}{TW-DW} \times 100 \quad \text{رابطه (۴)}$$

اندازه‌گیری خسارت ظاهری: در نیمه دوم فروردین ۱۳۹۵، تعیین درصد خسارت ظاهری یخزدگی به درختان با دقت تخمین زده شد. در این روش برای تعیین مقدار نسبی خسارت یخزدگی به گیاهان بر اساس ظاهر کلی درخت، میزان خشکی شاخه‌ها و برگ‌ها اعدادی از صفر تا صد (صفر به معنای هیچ گونه خسارت یخزدگی به درخت وارد نشده است و صد به معنای خسارت ظاهری کامل در اثر یخزدگی است) داده شد (سیم کش زاده و همکاران، ۱۳۸۹). درصد بهبودی درختان نیز، با استفاده از تفاوت درصد خشکی درخت در خرداد و فروردین ماه ۱۳۹۵، محاسبه شد (Bartolozzi and Fontanazza, 1999، شور و همکاران، ۱۳۸۸؛ سیم کش زاده و همکاران، ۱۳۸۹).

آنالیز آماری: این پژوهش در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با سه تکرار و سه درخت در هر تکرار انجام شد. داده‌های حاصل با کمک نرم افزار SAS آنالیز و مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت.

نتایج و بحث

LT_{50}: تحمل به یخزدگی (با کاهش LT_{50}) برآورد شده در جدول ۱ نشان داده شده است. نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که ارقام از نظر LT_{50}، اختلاف معنی‌داری ($P \leq ۰/۰۰۱$) دارند. بر اساس مقادیر LT_{50} برآورد شده، بیشترین تحمل به یخزدگی، به ترتیب در ارقام آمفی سیس (۱۳/۱۴ °C-)، شنگه (۱۱/۷۲ °C-) و کنسروالیا (۱۱/۲۰ °C-) مشاهده شد، در حالی که رقم رشید (۶/۹۰ °C-) به عنوان حساس‌ترین رقم شناخته شد و ارقام گرگان، کرونایکی و مانزانیلا تحمل متوسطی به یخزدگی نشان دادند (جدول ۲).

در این پژوهش تحمل به یخزدگی در ارقام زیتون مورد مطالعه به شکل قابل توجهی بالا بود، که این نتایج بیانگر این است که توقف در رشد گیاه، نیاز قطعی برای سازگاری به سرما نیست، هم‌چنین نتایج نشان می‌دهد که درخت زیتون مانند دیگر درختان چوبی قادر به تحمل حداکثر سرما (Super-cooling) است به این معنی که دارای مکانیسم اجتناب از یخ

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.30.23.7]

جدول ۱- تجزیه واریانس LT_{50}، کربوهیدرات‌های محلول، مالون دی آلدهید، *Fv/Fm*، تراکم روزنه، چگالی برگ، RWC، درصد خشکیدگی و بهبودی درخت زیتون.

منابع تغییرات	درجه آزادی	LT_{50}	کربوهیدرات های محلول	مالون دی آلدهید	*Fv/Fm*	تراکم روزنه	چگالی برگ	RWC	خشکیدگی درخت	بهبودی درخت
بلوک	۲	۰/۰۰ ns	۲۵/۳۰ ns	۰/۹۷ ns	۳/۷۱ ns	۱۳۷۵/۷ ns	۰/۰۳ ns	۱۶/۱۱ ns	۰/۸۱ ns	٤٦/۲۲ ns
رقم	٦	۰/۰۱ ***	۳۵۷/٦ ***	۱۸۳/٤ ***	۱۱/۱۰ *	۲۲۰۰۰/۵ ***	۰/۰۱ **	۱۹۸/۱ ***	۱۸۷/۱ ***	۸۰۰/٦ ***
خطا	۱۲	۰/۰۰	۳۵/۵٤	۵/۰۵	٤/۵٤	٦٤۰/۰۷	۰/۰۲	۸/۲۷	۱/۵۷	۲۵/۱٦
ضریب تغییرات		٦/۹۸	۱۰/۳٦	۱۳/۲۱	۲۰/۱۹	۷/۲۱	۸/۷۵	۳/۹۱	۸/۲۱	۷/۸۲

*****، ** و * به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال۰/۰۰۱، ۰/۰۱ و ۰/۰۵ و ns بیانگر عدم معنی‌داری می‌باشند.**

زدگی است (Bartolozzi and Fontanazza, 1999). با اینکه درخت زیتون بیشترین میزان تحمل به سرما را در بین درختان نیمه گرمسیری دارا است، اما میزان تحمل به یخزدگی بین ارقام زیتون متفاوت است که این امر می‌تواند ناشی از تفاوت‌های ژنتیکی مرتبط با تحمل به یخزدگی بین آنها باشد (موسوی و همکاران، ۱۳۹٤؛ افشار محمدیان و همکاران، ۱۳۹۱؛ Arias *et al*., 2015; Fiorino and Mancuso, 2000). نتایج به دست آمده از این پژوهش، تا حدودی با یافته‌های هاشم پور و همکاران (۲۰۱٤) مطابقت داشت؛ آنها گزارش کردند که ارقام شنگه (۱۳ °C-) و مانزانیلا (۱۰/٦ °C-) به ترتیب متحمل‌ترین و حساس‌ترین ارقام به یخزدگی بودند. علاوه بر این در مطالعات انجام شده توسط سیم‌کش زاده و همکاران (۱۳۸۹) ارقام رشید و کرونایکی به عنوان ارقام حساس به یخزدگی و رقم آمفی سیس به عنوان رقم متحمل به یخزدگی گزارش شد. مطالعات نشان می‌دهد که تنش دمای پایین با تولید گونه‌های اکسیژن فعال (Reactive oxygen species)، موجب القای فرآیندهای اکسیداتیو در سلول‌های گیاهی می‌شود. گونه‌های اکسیژن فعال در اثر عدم توازن چرخه‌های الکترونی در اندامک‌های سلولی مانند میتوکندری و کلروپلاست تولید می‌شوند و واکنش‌پذیری زیادی با ماکرومولکول‌های سلولی مانند پروتئین‌ها، چربی‌ها و DNA دارد. بنابراین تنش دمای پایین با ایجاد تغییر در ترکیبات غشای پلاسمایی، فعالیت آن را مختل کرده و مقدار نشت یون‌ها را افزایش می‌دهد (کاظمی و همکاران، ۱۳۹۰). پژوهش‌های انجام شده بر روی زیتون نشان داده است که ارقام متحمل به یخزدگی عموماً غشا سیتوپلاسمی پایدارتر و نشت الکترولیت کمتری نسبت به ارقام حساس دارند (Barranco *et al*., 2005; Moellering *et al*., 2010).

کربوهیدارت‌های محلول: بین مقدار کربوهیدرات‌های محلول برگ ارقام زیتون مورد مطالعه، اختلاف معنی‌داری ($P \leq$۰/۰۰۱) مشاهده شد (جدول ۱). بیشترین مقدار کربوهیدرات‌های محلول برگ در ارقام آمفی سیس (۷۳/۲۹ mg g^{-1} FW)، شنگه (٦٦/٦۸ mg g^{-1} FW) و گرگان (٦۲/۱۰ mg g^{-1} FW) مشاهده شد، در حالی که رقم رشید (۳۹/٤٤ mg g^{-1} FW) کم‌ترین مقدار کربوهیدرات محلول برگ را داشت (جدول ۲). همبستگی بالایی بین مقادیر LT_{50} و کربوهیدرات های محلول (r = -۰/٦۲) مشاهده شد (جدول ۳).

قندهای محلول به عنوان ترکیبات اصلی در افزایش تحمل به یخزدگی شناخته می‌شوند. افزایش در مقدار قندهای محلول در زمستان بخشی از مکانیسم سازگاری گیاه به یخزدگی است (Bartolozzi *et al*., 2001; Eris *et al*., 2007). در پژوهشی Jacobsen و همکاران (۱۹۹۲) گزارش کردند که تنوع در میزان تحمل به یخزدگی به دلیل اختلاف در مقدار قندهای محلول است زیرا این ترکیبات باعث حفاظت از ساختار سلولی در مواجهه با تنش یخزدگی می‌شوند.

در این پژوهش نیز افزایش تحمل به یخزدگی همراه با افزایش در میزان کربوهیدرات‌های محلول بود و تفاوت در میزان تحمل به یخزدگی در ارقام مختلف در ارتباط با تفاوت توانایی این ارقام در تجمع کربوهیدرات‌های محلول بود. به طوری که ارقام با میزان تحمل به یخزدگی بالاتر از قبیل 'آمفی سیس'، شنگه و گرگان در مقایسه با رقم حساس به یخزدگی

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.30.23.7]

جدول ۲- مقایسه میانگین LT_{50}، کربوهیدرات‌های محلول، مالون دی آلدهید، *Fv/Fm* ، تراکم روزنه، چگالی برگ، RWC، درصد خشکیدگی و بهبودی درخت زیتون

ارقام	LT_{50} (°C)	کربوهیدرات‌های **محلول** (mg g^{-1} FW)	**مالون دی** آلدهید (nmol g^{-1} FW)	*Fv/Fm*
'آمفی سیس'	- ۱۳/۱٤ a	۷۳/۲۹ a	۸/۷۳ e	۰/٦٤ a
رشید	- ٦/۹ b	۳۹/٤٤ d	۲۹/٦۷ a	۰/٤۳ c
شنگه	- ۱۱/۷۲ a	٦٦/٦۸ ab	۹/۰۸ e	۰/٦۲ a
'کرونایکی'	- ۱۰/۰۷ ab	۵۷/۷۹ bc	۲٤/٦۵ b	۰/٤۷ c
کنسروالیا	- ۱۱/۲۰ a	۵۱/۲۸ c	۱۵/۷۰ cd	۰/۵۹ ab
گرگان	- ۱۰/٦۹ ab	٦۲/۱۰ a-c	۱۳/۲۸ d	۰/۵۳ bc
'مانزانیلا'	- ۱۰/۱۷ ab	۵۷/٦٤ bc	۱۷/۹۷ c	۰/۵۳ bc

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن اختلاف معنی‌دار ندارند.

ادامه جدول ۲-

ارقام	تراکم روزنه (mm^{-2})	چگالی برگ (g/cm^{-3})	RWC (٪)	خشکیدگی درخت (٪)	بهبودی درخت (٪)
'آمفی سیس'	۲۸۰/۱۳ c	۰/٦۲ a	٦۳/۷۳ c	٦/٤۳ f	٦۱/۰۹ d
رشید	٤۸۹/۸۸ a	۰/۵۱ b	۸٦/٤۰ a	۲۸/۲۰ a	٦۸/۰۰ cd
شنگه	۲۷٤/۰۳ c	۰/٦٤ a	٦٦/۰۹ c	۷/۷۳ f	٤۰/۸۰ e
'کرونایکی'	۳۳٦/۹۳ b	۰/٤۸ b	۸۰/۱۱ b	۲۲/۵۷ b	۸۱/۹۷ a
کنسروالیا	۳۱٦/۸۳ bc	۰/۵۵ ab	۷۵/۱۵ b	۱٤/۰٦ d	۷۱/۷۹ bc
گرگان	۳۰٦/۵۰ bc	۰/٦۰ a	٦۸/۱۲ c	۱۱/۲٦ e	٤٤/٦۰ e
'مانزانیلا'	٤۵۳/۰۸ a	۰/۵۰ b	۷۵/۳۰ b	۱٦/٤۰ c	۸۰/٦۸ ab

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن اختلاف معنی‌دار ندارند.

رشید مقدار کربوهیدرات محلول بیشتری در بافت برگ داشتند.

مالون دی آلدهید: اختلاف معنی‌داری ($P \leq$ ۰/۰۰۱) بین هفت رقم زیتون مورد بررسی در تولید مالون دی آلدهید مشاهده شد (جدول ۱). ارقام رشید و کرونایکی بیشترین مقدار مالون دی آلدهید (به ترتیب ۲۹/٦۷ nmol g^{-1} FW و ۲٤/٦۵) را داشتند؛ ولی این مشخصه در ارقام 'آمفی سیس' و شنگه (به ترتیب ۸/۷۳ nmol g^{-1} FW و ۹/۰۸) کم‌ترین میزان بود (جدول ۲). بین مقدار مالون دی آلدهید تولید شده و تحمل به یخزدگی در ارقام زیتون همبستگی معنی‌داری (r=۰/٦۷) مشاهده شد (جدول ۳).

افزایش مالون دی آلدهید در شرایط تنش دمای پایین را می‌توان از یک طرف ناشی از تشکیل رادیکال‌های فعال اکسیژن و از طرف دیگر کافی نبودن قدرت دفاعی آنتی اکسیدانی از جمله آنزیمی و غیرآنزیمی برای حذف این رادیکال‌ها دانست (Allen and Ort, 2001). در این راستا Saleh (۲۰۰۷) در گیاهچه‌های ماش و Liang و همکاران (۲۰۰۸) در ژنوتیپ‌های گندم به افزایش میزان MDA تحت تنش دمای پایین اشاره کردند و بیان داشتند که رابطه مستقیمی بین مکانیسم آنتی اکسیدانی کاراتر و تأخیر در شروع انباشت MDA می‌تواند وجود داشته باشد.

توانایی یک رقم برای ایجاد تعادل بین آنزیم‌های تبدیل کننده اسیدهای چرب اشباع به نوع غیراشباع آن و آنزیم‌های اکسید کننده اسیدهای چرب غیر اشباع، عامل مهمی در کاهش پراکسیداسیون لیپیدهای غشا و در نتیجه افزایش تحمل به یخ

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.30.23.7]

جدول ۳- همبستگی بین LT_{50}، کربوهیدرات‌های محلول، مالون دی آلدهید، *Fv/Fm*، تراکم روزنه، چگالی برگ، RWC، درصد خشکیدگی و بهبودی درخت زیتون.

		۱	۲	۳	٤	٥	٦	۷	۸	۹
۱	LT_{50}	۱								
۲	کربوهیدرات‌های محلول	$-۰/٦۲^{**}$	۱							
۳	مالون دی آلدهید	$۰/٦۷^{*}$	$-۰/٦٤^{***}$	۱						
٤	*Fv/Fm*	$-۰/٤۸^{*}$	$۰/٥٦^{**}$	$-۰/۷٥^{**}$	۱					
٥	تراکم روزنه	$۰/٥۷^{**}$	$-۰/۷۰^{**}$	$۰/٥٥^{**}$	$-۰/٦۱^{**}$	۱				
٦	چگالی برگ	$-۰/٤۱^{*}$	$۰/٥۲^{*}$	$-۰/٦٤^{**}$	$۰/٦۱^{**}$	$-۰/٦۷^{***}$	۱			
۷	RWC	$۰/٦۲^{**}$	$-۰/۸۲^{***}$	$۰/۸٥^{***}$	$-۰/٦۸^{***}$	$۰/۷۷^{***}$	$-۰/۷۱^{***}$	۱		
۸	خشکیدگی درخت	$۰/٦٤^{**}$	$-۰/۷۷^{***}$	$۰/۹۰^{***}$	$-۰/۸۰^{***}$	$۰/۷٦^{***}$	$-۰/۷۱^{***}$	$۰/۹۰^{***}$	۱	
۹	بهبودی درخت	$۰/۱۱^{ns}$	$-۰/۱۰^{ns}$	$۰/۱۲^{ns}$	$-۰/۳۱^{ns}$	$۰/۰۷^{ns}$	$-۰/۱۹^{ns}$	$۰/۱٤^{ns}$	$۰/۱۱^{ns}$	۱

***، ** و * به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال۰/۰۰۱، ۰/۰۱ و ۰/۰۵ و ns بیانگر عدم معنی‌داری می‌باشند.

زدگی آن رقم است. افزایش فعالیت آنزیم لیپوکسی‌ژناز و پراکسیداسیون لیپیدها در برگ‌های ذرت در شرایط دمای پایین، بیانگر پراکسیداسیون لیپیدهای غشا توسط فعالیت آنزیم لیپوکسی‌ژناز بود (Fryer *et al.*, 1998). ارتباط بین تحمل به یخ زدگی و تولید مقادیر کمتر مالون دی آلدهید طی مواجهه با یخ زدگی در ارقام وحشی انگور (Zhang *et al.*, 2012)، زیتون (افشار محمدیان و همکاران، ۱۳۹۱) و عناب (Gao *et al.*, 2010) نیز گزارش شده است که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد.

حداکثر عملکرد کوانتومی فتوسیستم II (*Fv/Fm*): بین ارقام مختلف زیتون اختلاف معنی‌داری ($P \leq ۰/۰٥$) در شاخص *Fv/Fm* مشاهده شد (جدول ۱). بر این اساس بیشترین مقدار *Fv/Fm* مربوط به ارقام آمفی سیس و شنگه (به ترتیب ۰/٦٤ و ۰/٦۲) و کم‌ترین مقدار این شاخص مربوط به ارقام رشید و کرونایکی (به ترتیب به میزان ۰/٤۳ و ۰/٤۷) بود (جدول ۲). این نتایج با یافته‌های سیم کش زاده و همکاران (۱۳۸۹) روی زیتون و روستا و سجادی نیا (۱۳۸۹) روی گوجه فرنگی و ریحان مطابقت داشت. در پژوهشی Oliveira و Penuelas (۲۰۰۰) نیز نشان دادند که در شرایط تنش دمای پایین در درختان چوبی مدیترانه‌ای، فرآیند بازدارندگی نوری رخ داده و مقدار این بازدارندگی در روزهای سردتر افزایش یافته که همین امر باعث کاهش شاخص *Fv/Fm* می‌شود.

به طور کلی، یکی از فاکتورهای اصلی حساسیت به تنش دمای پایین آسیب وارده به فتوسنتز گیاه است (Hu *et al.*, 2006). در شرایط تنش گیاه قادر نیست انرژی بیش از حد خورشید را فلورسانس کند، این انرژی از طریق کلروفیل به اکسیژن منتقل و منجر به خسارت فتواکسیداتیو می‌شود. علائم اولیه چنین خسارتی در پروتئین D1در سیستم نوری II ظاهر می‌شود، خسارت بیش از حد منجر به تخریب غشاها و اکسیداسیون کلروفیل می‌شود. بنابراین اندازه‌گیری مقدار *Fv/Fm* به درک بهتر فرآیندهای مرتبط با فتوسنتز در گیاهان کمک می‌کند (روستا و سجادی نیا، ۱۳۸۹).

در این پژوهش همبستگی معنی‌داری بین *Fv/Fm* و میزان تحمل به یخ‌زدگی (r= -۰/٤۸) وجود داشت. هم‌چنین همبستگی مثبت و معنی‌داری بین *Fv/Fm* و کربوهیدرات‌های محلول برگ (r=۰/٥٦) وجود داشت (جدول ۳)،. بنابراین می‌توان گفت ارقامی که دارای *Fv/Fm* بالاتری هستند، به دلیل دارا بودن توان فتوسنتزی بالاتر، سنتز ترکیبات فتوسنتزی از جمله کربوهیدرات‌های محلول بیشتری داشته و در نتیجه قادر به حفظ تعادل اسمزی و حفاظت از ماکرومولکول‌ها در مواجهه با تنش یخ‌زدگی می‌باشند.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.30.23.7]

تراکم روزنه‌ها: براساس تجزیهٔ واریانس نتایج حاصل از روش بررسی تراکم روزنه‌ها، اختلاف معنی‌داری بین ارقام زیتون ($P \leq$۰/۰۰۱) مشاهده شد (جدول ۱). بیشترین میزان تراکم روزنه‌ها در برگ ارقام رشید و مانزانیلا و کم‌ترین مقدار آن در ارقام شنگه و آمفی سیس مشاهده شد. ارقام کرونایکی،شنگه، گرگان و کنسروالیا تراکم روزنه متوسطی را دارا بودند. همبستگی بالایی (r = ۰/۵۷) بین LT_{50} و تراکم روزنه‌ها وجود داشت (جدول ۳). در پژوهش‌های انجام شده توسط راحمی و همکاران (۲۰۱٦) و سلیمانی و همکاران (۲۰۰۳) مشخص شد که ارقام متحمل به یخزدگی زیتون، تراکم روزنه‌ای پایینی داشتند که با نتایج این پژوهش سازگار است.

تراکم روزنه‌ها فاکتوری است که شدیداً تحت تأثیر محیط قرار می‌گیرد، بنابراین ارزیابی ارقام باید در یک محیط معین صورت بگیرد (Hetherington and Woodward, 2003)؛ سن درخت نیز بر روی میزان تراکم روزنه‌ها اثر می‌گذارد، به گونه‌ای که با افزایش سن میزان تراکم روزنه ها نیز افزایش می‌یابد. برای مثال میزان تراکم روزنه‌ها در گیاهان یک‌ساله رقم کرونیکی ۱۱۰ mm^{-2} (Soleimani *et al.*, 2003) در حالی که در درختان ٤-۳ ساله‌ی آن به میزان ٤۰۰-۳۸۰ mm^{-2} (Hagidimitriou and Pontikis, 2005) گزارش شده است. بنابراین تراکم روزنه‌ای کامل در درختان بالغ ممکن است، بیان کننده میزان تحمل به یخزدگی در درختان نباشد.

چگالی برگ: بین چگالی برگ اندازه‌گیری شده در هفت رقم مورد بررسی اختلاف معنی‌داری ($P \leq$۰/۰۱) مشاهده شد (جدول ۱). ارقام شنگه، آمفی سیس و گرگان بیشترین مقدار چگالی برگ (به ترتیب ۰/٦٤ g/cm^3، ۰/٦۲ و ۰/٦۰) را داشتند، ولی این مشخصه در ارقام رشید، کرونایکی و مانزانیلا (به ترتیب ۰/۵۱ g/cm^3، ۰/٤۸ و ۰/۵۰) کم‌ترین میزان بود (جدول ۲). در پژوهشی Arias و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند، سازگاری درختان زیتون به دماهای زیر صفر درجه سلسیوس در طی زمستان، به دلیل افزایش چگالی برگ و تمامیت دیواره سلول است، که با یافته‌های این پژوهش مطابقت داشت.

در این پژوهش همبستگی معنی‌داری (r = -۰/٤۱) بین چگالی برگ با LT_{50} مشاهده شد (جدول ۳). علاوه بر این بین مقدار محتوای نسبی آب برگ و چگالی برگ همبستگی منفی معنی‌داری (r= -۰/۷۱) مشاهده شد؛ بنابراین می‌توان گفت، کاهش محتوای نسبی آب برگ، موجب کاهش حجم سلول‌ها شده و این سلول‌های کوچک به طور محکم و چسبیده به هم در داخل بافت قرار گرفته و فضای آپوپلاستی کمی را به وجود می‌آورند، با کاهش فضای بین سلولی، میزان آب کمتری در این فضای باقی می‌ماند و در نتیجه ظرفیت سوپرکولینگ بافت‌ها افزایش می‌یابد (Arias *et al.*, 2015).

محتوای نسبی آب برگ: بین محتوای نسبی آب برگ ارقام زیتون مورد مطالعه، اختلاف معنی‌داری ($P \leq$۰/۰۰۱) مشاهده شد (جدول ۱). بیشترین محتوای نسبی آب برگ در رقم رشید (٪ ۸٦/٤۰) و کم‌ترین مقدار آن در ارقام آمفی سیس، شنگه و گرگان (به ترتیب ٪ ٦۳/۷۳، ٦٦/۰۹ و ٦۸/۱۲) مشاهده شد (جدول ۲). همبستگی بالایی بین مقادیر LT_{50} و محتوای نسبی آب برگ (r = ۰/٦۲) مشاهده شد (جدول ۳).

محتوای نسبی آب برگ یکی از پارامترهای فیزیولوژیکی مهم است که همبستگی خوبی با تحمل به تنش یخزدگی نشان داده است. به طور کلی با افزایش محتوای نسبی آب برگ، فشار درون سلول برای رشد و در نهایت اتساع دیواره سلول افزایش می‌یابد و همین امر باعث کاهش پایداری غشا سلولی و افزایش میزان نشت سلولی می‌شود. در همین رابطه پور موسوی و همکاران (۲۰۰۷) در پژوهشی روی سویا نشان دادند که افزایش درصد محتوای نسبی آب برگ با کاهش میزان پایداری غشا همراه بود.

علاوه بر این آسیب به گیاه با یخ زدن آب بین سلولی و حرکت آب از پروتوپلاسم به فضای بین سلولی و تشکیل کریستال‌های یخ در داخل پروتوپلاسم صورت می‌گیرد. اما اغلب خسارت یخزدگی به دلیل دهیدراسیون ناشی از یخزدگی است (نصیری محلائی و همکاران، ۱۳۹٤). بنابراین تحمل به یخزدگی بالای ارقامی که دارای محتوای نسبی آب کمتری هستند هم به دلیل افزایش غلظت شیره سلولی و حفظ تعادل اسمزی و هم به دلیل پیوند محکم آب با ماکرومولکول‌های

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.30.23.7]

داخل سلول و عدم خروج به فضای بین سلولی است. مطابق با یافته‌های این پژوهش، Arias و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که برگ‌های ارقام زیتون سازگار شده به سرما در طی زمستان، دارای محتوای آب آپوپلاستی و LT_{50} کمتر و ظرفیت سوپرکولینگ بیشتری بودند.

در این پژوهش بین میزان کربوهیدرات‌های محلول و محتوای نسبی آب برگ همبستگی منفی و معنی‌داری (r= −۰/۸۲) مشاهده شد (جدول ۳)؛ که بیانگر این است که گیاه با از دست دادن تدریجی آب، غلظت مواد درون سلول از جمله میزان کربوهیدرات‌های محلول را افزایش داده و به این ترتیب از آسیب حاصل از تنش یخزدگی جلوگیری می‌کند.

خسارت ظاهری یخزدگی: اختلاف معنی‌داری ($P \leq$۰/۰۰۱) بین درصد خشکیدگی و درصد بهبودی درخت در هفت رقم زیتون مورد بررسی تحت تأثیر دمای محیط مشاهده شد (جدول ۱). برآورد درصد خشکی سرشاخه‌های درختان، ناشی از یخزدگی زمستان ۱۳۹٤ اندازه‌گیری شده در نیمه دوم فروردین ۱۳۹۵ نشان داد که رقم رشید با ٪۲۸/۲ بیشترین میزان خسارت یخزدگی و ارقام آمفی سیس و گرگان به ترتیب با ٪٦/٤۳ و ۷/۷۳ کمترین خسارت یخزدگی را در بین ارقام مورد مطالعه به خود اختصاص دادند (جدول ۲). همبستگی معنی‌داری بین تحمل به یخزدگی و درصد خشکیدگی درخت (r = ۰/٦٤) مشاهده شد (جدول ۳). دومین برآورد درصد خشکی درختان که در خرداد ماه ۱۳۹۵ به منظور مشاهده روند بهبودی درختان انجام شد نشان داد که ارقام شنگه و گرگان به ترتیب با ٪٤۰/۸۰ و ٤٤/٦۰ کم‌ترین درصد بهبودی را دارا بودند، در حالی‌که رقم کرونایکی و مانزانیلا بیشترین درصد بهبودی (به ترتیب ٪۸۱/۹۷ و ۸۰/٦۸) را نشان دادند (جدول ۲). بین میزان بهبودی درخت و تحمل به یخزدگی همبستگی وجود نداشت (جدول ۳). این نتایج با یافته‌های سیم کش زاده و همکاران (۱۳۸۹) تا حدودی مطابقت داشت.

نتیجه‌گیری کلی

بر اساس مقادیر LT_{50} محاسبه شده با روش نشت یونی، ارقام به سه دسته متحمل، نیمه متحمل و حساس به یخزدگی تقسیم بندی شدند. بین تحمل به یخزدگی ارقام زیتون با مقادیر کربوهیدرات محلول، فلورسانس کلروفیل و چگالی برگ ارتباط مثبت و معنی‌داری مشاهده شد، به طوری که ارقام با کربوهیدرات محلول، فلورسانس کلروفیل و چگالی برگ بیشتر، LT_{50} کمتر و تحمل به یخزدگی بالاتری داشتند. برعکس، بین تحمل به یخزدگی ارقام زیتون با مقدار مالون دی آلدهید، تراکم روزنه‌ها، محتوای نسبی آب برگ و درصد خشکیدگی ارتباط منفی و معنی‌داری مشاهده شد. به طوری که ارقام با مالون دی آلدهید، تراکم روزنه‌ها، محتوای نسبی آب برگ و درصد خشکیدگی کمتر، LT_{50} کمتر و تحمل به یخزدگی بیشتری داشتند. به طور کلی ارقام شنگه و آمفی سیس تحمل به یخزدگی بیشتری نسبت به سایر ارقام نشان دادند که می‌توان از پتانسیل این ارقام برای احداث باغ‌های زیتون در مناطق سردسیر، یا در برنامه‌های اصلاحی برای افزایش تحمل به یخزدگی استفاده کرد. علاوه بر این، با توجه به این‌که ایران دارای منابع غنی از ژرم پلاسم زیتون است، پیشنهاد می‌شود که پتانسیل تحمل به یخزدگی ارقام دیگر نیز در طی مراحل فنولوژیک و در مکان‌های مختلف بررسی شود.

سپاسگزاری

امکانات مالی و تجهیزات لازم برای انجام این پژوهش توسط دانشگاه صنعتی اصفهان فراهم شده است که بدین وسیله مراتب تشکر و قدردانی اعلام می‌شود.

منابع

افشار محمدیان، م.، رضایی، ش. و رمضانی ملک رودی، م. (۱۳۹۱) بررسی مقاومت دو رقم زیتون به تنش سرما، فرآیند و کارکرد گیاهی ۱: ۱۱-۱.

روستا، ح. ر. و سجادی نیا، ع. ر. (۱۳۸۹) بررسی اثرات تنش سرما بر ریحان سبز، ریحان بنفش، گوجه فرنگی و کاهو با استفاده از

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.30.23.7]

تکنیک فلورسانس کلروفیل، مجله تنش های محیطی در علوم زراعی ۳: ۸-۱.

سیم کش زاده، ن.، مبلی، م. اعتمادی، ن. و بانی نسب، ب. (۱۳۸۹) ارزیابی میزان مقاومت به سرما در برخی از ارقام زیتون با اندازه گیری فلورسانس کلروفیل و آسیب‌های ظاهری. نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی) ۲٤: ۱٦۳-۱٦۹.

شور، م.، تهرانی فر، ع.، نعمتی، س. ح.، سلاح ورزی، ی.، مختاریان، ع. و رحمتی، م. (۱۳۸۸) بررسی و تعیین مقاومت به سرما ویخ زدگی سه رقم تجاری انگور در شمال خراسان، مجله تنش‌های محیطی در علوم کشاورزی ۲: ۱٦۹-۱۵۹.

کاظمی شاهاندشتی، س. ص.، معالی امیری، ر. و زینالی خانقاه، ح. (۱۳۹۰) بررسی برخی شاخص‌های خسارت سلولی تحت تنش سرما در نخود جم، ژنتیک نوین ٦: ۷۷-۷۰.

موسوی، ث.، ارزانی، ک.، حسینی مزینانی، م. و یدالهی، ع. (۱۳۹٤) بررسی واکنش ارقام تجاری زیتون (*Olea europaea* L.) به تنش سرما با استفاده از روش نشت یونی و اندازه‌گیری کربوهیدرات محلول کل، نشریه تولید و فرآوری محصولات زراعی و باغی ۵ : ۹٤-۸۵.

نصیری محلائی، م.، کوچکی، ع. ر.، رضوانی، پ. و بهشتی، ع. ر. (۱۳۹٤). اگرواکولوژی. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد.

Allen, D. J. and Ort, D. R. (2001) Impacts of chilling temperatures on photosynthesis in warm-climate plants. Trends in Plant Science 6: 36-41.

Arias, N. S., Bucci1, S. J., Scholz, F. G. and Goldstein, G. (2015) Freezing avoidance by supercooling in *Olea europaea* cultivars: the role of apoplastic water, solute content and cell wall rigidity. Plant, Cell and Environment 1-10.

Barranco, D., Ruiz, N. and Gomez-del-Campo, M. (2005) Frost tolerance of eight olive cultivars. HortScience 40: 558-560.

Bartolozzi, F. and Fontanazza, G. (1999) Assessment of frost tolerance in olive (*Olea europaea* L.). Scientia Horticulturae 81: 309-319.

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. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 67: 299-302.

Buege, J. A. and Aust, S. D. (1978) Microsomal lipid peroxidation. Methods of Enzymology. 52: 302-310.

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

Cansev, A., Gulen, H. and Eris, A. (2009) Cold-hardiness of olive (*Olea europaea* L.) cultivars in cold-acclimated and non-acclimated stages: seasonal alteration of anti-oxidative enzymes and dehydrin-like proteins. The Journal of Agricultural Science 147: 51-61.

Embree, C. G. and McRae, K. B. (1991) An exploratory study of reciprocal apple rootstock and scion hardiness with two methods of assessment. HortScience 26: 1523-1525.

Erikson, M. E. and Webb, A. A. R. (2011) Plant cell responses to cold are all about timing. Plant Biology 14: 731-737.

Eris, A., Gulen, H., Barut, E. and Cansev, A. (2007) Annual patterns of total soluble sugars and proteins related to cold hardiness in olive (*Olea europaea* L. Gemlik). The Journal of Horticultural Science and Biotechnology 82: 597-604.

Faust, M. (1987) Physiology of Temprate Zone Fruit Trees. John Wileg and Sons, New York.

Fiorino, P. and Mancuso, S. (2000) Differential thermal analysis, supercooling and cell viability in organs of *Olea europaea* at subzero temperatures. Advances in Horticultural Science 14: 23-27.

Fryer, M. J., Andrews, J. R., Oxborough, K. D., Blowers, A. and Baker, N. R. (1998) Relationship between CO_2 assimilation, photosynthetic electron transport and active O_2 metabolism in leaves of maize in the field during periods of low temperature. Plant Physiology 116: 571-580.

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

Gomez-del-Campo, M. and Barranco, D. (2005) Field evaluation of frost tolerance in 10 olive cultivars. Plant Genetic Resources 3: 385-390.

Gulen, H., Cansev, A. and Eris, A. (2009) Cold hardiness of olive (*Olea europaea* L.) cultivars in cold-acclimated and non-acclimated stages: seasonal alteration of soluble sugars and phospholipids. The Journal of Agricultural Science 147: 459-467.

Gusta, L., Tyler, N. J. and Chen, T. H. H. (1982) Deep undercooling in woody taxa growing north of the -40ºC isotherm. Plant Physiology 72: 122-128.

Hagidimitriou, M. and Pontikis, C. A. (2005) Seasonal changes in CO_2 assimilation in leaves of five major Greek olive cultivars. Scientia Horticulturae 104: 11-24.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.30.23.7]

Handley, L. W., Pharr D. M. and Mcfeeters. R. F. (1993) Relationship between galactiol synthase activity and suger composition ln leaves and seeds of sevral crop species. HortScince 108: 600-605.

Hetherington, A. M. and Woodward, F. I. (2003) The role of stomata in sensing and driving environmental change. Nature 424: 901-908.

Hu, W. H., Zhou, Y. H., Yao Shun Dua, Y. S., Xia, X. J. and Yua, J. Q. (2006) Differential response of photosynthesis in greenhouse- and field-ecotypes of tomato to long-term chilling under low light. Journal of Plant Physiology 163: 1238-1246.

Irigoyen, J. J., Emerich, D. W. and Sanchez-Diaz, M. (1992) Water stress induced changes in concentration of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. Physiologia Plantarum 84: 55-60.

Jacobsen, S. E., Huber, J. L. and Huber. S. C. (1992) Sucrose phosphate synthase and sucrose accumulation at low temperature. Plant Physiology 100: 502-508.

Liang, Y., Zhu, J., Li, Z., Chu, G., Ding, Y., Zhang, J. and Sun, W. (2008) Role of silicon in enhancing resistance to freezing stress in two contrasting winter wheat cultivars. Environmental and Experimental Botany 64: 286–294.

Lichten Thaler, H. K. and Babani, F. (2000) Detection of photosynthetic activity and water stress by imaging the red chlorophyll fluorescence. Plant Physiology and Biochemistry38: 889-895.

Lutts, S., Kinet, J. M. and Bouharmon, J. (1996) NaCl-induced senescence in leave of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. Annals of Botany 78: 389-398.

Mancuso, S. (2000) Electrical resistance changes during exposure to low temperature measure and freezing tolerance in olive tree (*Olea europaea* L.) plants. Plant, Cell and Environment 23: 291-299.

Matteucci, M., Angeli, S. D., Errico, S., Lamanna, R., Perrotta G. and Altamura. M. M. (2011) Cold affects the transcription of fatty acid desaturases and oil quality in the fruit of *Olea europaea* L. genotypes with different cold hardiness. Journal of Experimental Botany 62: 3403-3420.

Maxwell, K. and Johnson, G. N. (2000) Chlorophyll fluorescence a practical guide. Journal of Experimental Botany 51: 659-668.

McWilliam, J. R., Kramer, J. R. and Musser, R. L. (1982) Temperature-induced water stress in chilling-sensitive plants. Australian Journal of Plant Physiology 9: 343-352.

Moellering, E. R., Muthan, B. and Benning, C. (2010) Freezing tolerance in plants requires lipid remodeling at the outer chloroplast membrane. Science 330:227–230

Oliveira, G. and Penuelas, J. (2000) Comparative photochemical and phenomorphological responses to winter stress of an evergreen (*Quercus ilex* L.) and a semi-deciduous (*Cistus albidus* L.) Mediterranean woody species. Acta Oecologica 21: 97-107.

Pellett, N. E. and Heleba, D. A. (1998) Comparing callus growth with discoloration and electrical conductivity as measures of stem injury after freezing woody plants. Journal of the American Society for Horticultural Science 123: 826-831.

Percival, G. and Henderson, A. (2003) An assessment of the freezing tolerance of urban trees using chlorophyll fluorescence. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology 78: 225-260.

Perez-Lopez1, D., Gijon1, M. C., Marino J. and Moriana, A. (2010) Water relation response to soil chilling of six olives (*Olea europaea* L.) cultivars with different frost resistance. Spanish Journal of Agricultural Research 8: 780-789.

Poirier, M., Lacointe, A. and Ameglio, T. (2010) A semi-physiological model of cold hardening and dehardening in walnut stem. Tree Physiology 30: 1555-1569.

Poormosavi, S. M., Golwi, M., Daneshiyan, J., Ghanbari, A. and Basirani, N. (2007) Study of stress drought and manure fertilizer effect on moisture content, electrolyte leakage and leaf chlorophyll content of soybean. Journal of Agriculture Science and Natural Resources 14: 65-77.

Popova, L., Ananieva, E., Hristova, V., Christov, K., Georgieva, K., Alexieva, V. and Stoinova, Zh. (2003) Salicylic Acid and Methyl Jasmonte induced protection on photosynthesis to paraquat oxidative stress. Bulgarian Journal of Plant Physiology 133: 152.

Rahemi, M., Yazdani, F. and Sedaghat, S. (2016) Evaluation of freezing tolerance in olive cultivars by stomatal density and freezing stress. International Journal of Horticultural Science and Technology 3: 145-153.

Rosa, R. D. and Rallo, L. (2000) Olive flora bud growth and starch content during winter rest and spring bud-break. HortScience 35: 1223-1227.

Saleh, A. A. H. (2007) Amelioration of chilling injuries in mung bean seedlings by paclobutrazol, abscisic acid and hydrogen peroxide. American Journal of Plant Physiology 2: 318-332.

Scholz, F. G., Bucci, S. J., Goldstein, G., Meinzer, F., Franco, A. C. and Miralles-Wilhelm, F. (2007) Biophysical properties and functional significance of stem water storage tissues in Neotropical savanna trees. Plant, Cell and Environment 30: 236-248.

Sekozawa, Y., Sugaya, S., Gemma, H. and Iwahori, S. (2003) Cold tolerance in "Kousui" Japanese pear and possibility for avoiding frost injury by treatment with N-Propyl Dihydrojasmonate. HortScience 38: 288-292.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.30.23.7]

Soleimani, A., Lessani, H. and Talaie, A. (2003) Relationship between stomatal density and ionic leakage as indicators of cold hardiness in olive (*Olea europaea* L.). Acta Horticulturae 618: 521-525.

Starck, Z., Niemyska, B., Bogdon, J. and Tawalbeh, R. N. A. (2000) Response of tomato plants to chilling stress in association with nutrient or phosphorus starvation. Plant and Soil 226: 99-106.

Steponkus, P. L. Uemura, M. and Webb, M. S. (1993) Redesigning crops for increased tolerance to freezing stress. Acta Horticulturae 24: 2185-2190.

Weatherley, P. (1950) Studies in the water relations of the cotton plant. The field measurement of water deficit in leaves. New Phytologist 49: 81-97.

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: 153-160.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.30.23.7]

Evaluation of Biochemical and Physiological Responses of Seven Olive Cultivars in Relation to Freezing Tolerance

Safoora Saadati[1], Bahram Baninasab[1], Mostafa Mobli[1] and Mahdiyeh Gholami[1]

[1] Department of Horticulture, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

(Received: 14/11/2017, Accepted: 10/03/2018)

Abstract:

Temperature is one of the most important factors limiting the production and distribution of olive. Different olive cultivars show diverse responses to low temperature and so, the selection of cold tolerant cultivars is the most effective method to avoid frost damages. The main purpose of this study was to compare freezing tolerance of seven olive cultivars and to investigate the relationship between freezing tolerance and maximum quantum yield of PSII, soluble carbohydrates, malondialdehyde, stomatal density, leaf tissue density and leaf relative water content during cold acclimation. After measuring the chlorophyll fluorescence, leaf samples from each cultivar were collected and were divided into two groups. The first group was subjected into different freezing temperatures (0, -5, -10, -15, -20 and -25 °C) for 12 hrs., in order to determine their freezing tolerance. The second group was used for some biochemical and physiological parameters analysis. The results showed that there was a significant difference among olive cultivars with respect to freezing tolerance. The highest freezing tolerance was related to 'Amphisis', 'Shengeh' and 'Conservallia' cultivars (LT_{50} -13.14, -11.72 and -11.20 °C, respectively) and the lowest tolerance to the 'Rashid' (LT_{50} - 6.90 °C). In freezing tolerant cultivars, F_v/F_m, soluble carbohydrates and leaf density were higher than other cultivars, indicating a positive relationship with freezing tolerance. The concentration of malondialdehyde, stomatal density and relative leaf water content in freezing tolerance cultivars such as 'Amphisis', 'Shengeh' and 'Conservallia' were less than freezing sensitive cultivar of 'Rashid'.

Keywords: Stomatal density, Olive, Soluble carbohydrates, Chlorophyll fluorescence, Low temperature stress, Ion leakage.

Corresponding author, Email: bbanin@cc.iut.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.30.23.7]