تأثیر گلیسرول و سالیسیلیک اسید بر تحمل به تنش یخ‌زدگی گل اطلسی ایرانی (*Petunia hybrida* L.)

حسن بیات[1*] و مرتضی علیرضایی نقندر[2]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۲۶ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۱/۷)

چکیده

هدف از این پژوهش بررسی تأثیر گلیسرول و سالیسیلیک اسید بر تحمل به تنش یخ‌زدگی گیاه اطلسی ایرانی بود. بدین منظور، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار تحت شرایط کنترل شده انجام شد. فاکتور اول شامل دما (صفر و ۴- درجه سانتی‌گراد) و فاکتور دوم محلول‌پاشی با ترکیبات ضد تنش (۲۴ ساعت قبل از تیمار سرمایی) شامل شاهد (آب مقطر)، سالیسیلیک اسید (۷۵ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر)، گلیسرول (۰/۱، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ درصد) و تیمارهای ترکیبی ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر سالیسیلیک اسید+ گلیسرول ۰/۲۵ درصد، ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر سالیسیلیک اسید+ گلیسرول ۰/۵ درصد، ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر سالیسیلیک اسید+ گلیسرول ۰/۲۵ درصد و محلول تجاری ضد سرما با غلظت چهار درصد بود. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که در شرایط تنش یخ‌زدگی، محلول‌پاشی گیاهان با سالیسیلیک اسید و گلیسرول باعث کاهش درصد تخریب ظاهری و نشت الکترولیت و افزایش میزان پرولین، کربوهیدرات کل، فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در مقایسه با گیاهان شاهد شد. درصد تخریب گیاهان تیمارشده با ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر سالیسیلیک اسید+ ۰/۵ درصد گلیسرول در دمای ۴- درجه سانتی‌گراد ۳/۳۳ درصد بود، درحالی که درصد تخریب گیاهان شاهد و تیمار شده با ترکیب تجاری ضد سرما به‌ترتیب ۵۷/۶۱ و ۲۲/۸۸ درصد بود. بیشترین میزان پرولین از تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر سالیسیلیک اسید+ ۰/۲۵ درصد گلیسرول و دمای ۴- درجه سانتی‌گراد حاصل شد. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که استفاده از گلیسرول و سالیسیلیک اسید باعث کاهش خسارت‌های ناشی از یخ‌زدگی از طریق بهبود شاخص‌های فیزیولوژیکی در گیاه اطلسی شد.

واژه‌های کلیدی: پرولین، تخریب ظاهری، فریزر ترموگرادیان، محلول‌پاشی برگی

۱. استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران
۲. دانش‌آموخته دکتری،گروه تولیدات گیاهی، مجتمع آموزش عالی شیروان، شیروان، ایران
*: مسئول مکاتبات: پست الکترونیکی: hassanbayat@birjand.ac.ir

مقدمه

اطلسی (*Petunia spp.*) گیاهی یک‌ساله، گل‌دار و زینتی متعلق به خانواده سولاناسه (Solanaceae) است. این گیاه بومی آمریکای جنوبی (مکزیک و آرژانتین) است که دارای ارقام گلدانی و ارقام مناسب برای کاشت در فضای سبز است. نوع بومی آن در ایران که به اطلسی ایرانی (*Petunia hybrida* .L) معروف است از عطر دل‌پذیری برخوردار است. این گیاه مناسب کشت در فصول گرم سال است و به‌طور وسیعی در سطح فضای سبز کشت می‌شود و از مهم‌ترین گیاهان فصلی به‌شمار می‌آید (۱۳).

سالانه تعداد زیادی گل فصلی بهاره (حساس به سرما) در سطح شهر مشهد کشت می‌شود و با توجه به اینکه خطر بروز سرمازدگی بهاره هر سال وجود دارد، انتخاب راهکاری که بتواند خسارت ناشی از سرما و یخبندان را کاهش دهد و از طرفی کیفیت ظاهری گل‌ها را نیز در سطح شهر حفظ کند امری ضروری به نظر می‌رسد. یکی از این راهکارها استفاده از ترکیبات کاهش‌دهنده اثرات مخرب تنش سرما روی گیاهان است که قبل از بروز سرما به‌صورت محلول‌پاشی استفاده می‌شود و می‌تواند خسارات ناشی از سرمازدگی را در این گیاهان به‌شدت کاهش دهد و از تحمیل هزینه‌های واکاری این گیاهان جلوگیری کند. یکی از این مواد تخفیف دهنده تنش، سالیسیلیک اسید است. سالیسیلیک اسید یکی از مولکول‌های سیگنال دهنده مهم است که باعث عکس‌العمل گیاه در برابر تنش‌های محیطی می‌شود. این ماده همانند یک آنتی‌اکسیدان غیر آنزیمی نقش مهمی را در تنظیم فرایندهای فیزیولوژیکی در گیاه ایفا می‌کند (۲۸). سالیسیلیک اسید به‌عنوان یک هورمون گیاهی نیز تلقی می‌شود که اثرات گوناگونی بر تحمل به تنش‌های غیر زیستی و نیز کنترل رشدونمو گیاه دارد (۶ و ۳۴). در طی سال‌های اخیر، به‌دلیل نقش سالیسیلیک اسید در کاهش اثرات مخرب تنش‌های غیر زیستی مثل سرمازدگی، دمای بالا، خشکی، شوری و اشعه ماورا بنفش توجه زیادی شده است. استفاده از سالیسیلیک‌اسید در گیاهان گوجه‌فرنگی و لوبیا میزان مقاومت به تنش‌هایی همچون گرما، خشکی و سرما را افزایش می‌دهد (۳۰). علاوه بر این مطالعات زیادی نشان داده است که سالیسیلیک اسید باعث افزایش مقاومت به سرمازدگی در ذرت (۱۸)، گوجه‌فرنگی (۱۱)، گندم (۳۳)، زردآلو (۱۴)، انار (۲۹)، هلو (۸)، آنتوریوم (۲۷)، نخود (۲۰)، لیمو (۳۱) و کلزا (۲۳) شده است. مواد محافظ یخ‌زدگی (Cryoprotectant) ترکیباتی هستند که برای محافظت بافت‌های زیستی در برابر خسارت یخ‌زدگی استفاده می‌شوند. این ترکیبات از طریق افزایش غلظت سلول و اتصال به مولکول‌های آب باعث کاهش آب موجود در سلول شده و مانع یخ‌زدگی بافت‌ها می‌شوند (۲۵). گلیسرول یا گلیسرین یکی از مواد محافظ یخ‌زدگی است که ترکیبی پلیمری ساده، مایع، بی‌رنگ، بی‌بو و چسپناک است. این ترکیب از سه گروه هیدروکسیل تشکیل شده که به‌آسانی در آب حل می‌شود. گلیسرول ترکیبی غیر سمی، خوراکی، تجزیه‌پذیر و دوست‌دار محیط زیست است. این ماده ترکیبی غیر یونی است که پیوندهای هیدروژنی قوی با مولکول‌های آب تشکیل می‌دهد و با پیوندهای هیدروژنی مولکول‌های آب رقابت می‌کند. این پیوندها مانع تشکیل شبکه‌های بلورهای یخ می‌شوند (۳۵). از مواد محافظ یخ‌زدگی مانند گلیسرین و اتیلن گلیکول (۱) و دی‌ام‌اس‌او (DMSO) (۱۰) به‌صورت محلول‌پاشی روی گیاه برای محافظت از یخ‌زدگی استفاده شده است.

تنش یخ‌زدگی باعث صدمه به غشای سلول و به‌دنبال آن نشت یون‌های مختلف می‌شود (۲۹). در شرایط تنش یخ‌زدگی، مولکول‌هایی با وزن مولکولی پایین مانند قندهای محلول و پرولین در گیاه تجمع پیدا کرده که به تثبیت غشای سلولی و اندامک‌ها در پسابیدگی ناشی از یخ‌زدگی کمک می‌کنند (۳). محتوای پرولین در بسیاری از گیاهان در واکنش به تنش‌های محیطی مانند سرما افزایش می‌یابد و از طریق پاک‌سازی ترکیبات با اکسیژن فعال (ROS) سبب استحکام غشا می‌شود (۲ و ۳). تنش یخ‌زدگی تولید ترکیبات ROS را در گیاه تحریک می‌کند که می‌توانند به پرتئین‌ها، لیپیدها، کربوهیدرات‌ها و اسیدهای نوکلئیک صدمه بزنند. گیاهان برای پاک‌سازی و سمیت‌زدایی این ترکیبات از سطح سلول، از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنولی استفاده می‌کنند. این

آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند ترکیبات ROS را حذف، خنثی و یا پاک کنند و به کاهش پراکسیداسیون چربی و حفظ پایداری غشای سلولی کمک کنند (۲۷).

تأثیر سالیسیلیک اسید و ترکیبات محافظ یخزدگی در کاهش اثرات تنش یخزدگی در برخی از محصولات توسط پژوهشگران گزارش شده است ولی تاکنون پژوهش جامعی که اثر این ترکیبات را به‌صورت مستقل و در ترکیب با یکدیگر روی گل اطلسی بررسی کند، مشاهده نشده است. این پژوهش با هدف بررسی تأثیر سالیسیلیک اسید و گلیسرول بر تحمل به تنش یخزدگی گل اطلسی انجام شده است.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و تیمارها

این آزمایش در گلخانه پژوهشاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در بهار سال ۱۳۹۲ انجام شد. بذر گل‌های اطلسی ایرانی در داخل سینی‌های حاوی کوکوپیت و پیت کشت شدند. پس از اینکه گیاهچه‌ها به مرحله ۵ تا ۶ برگی رسیدند به داخل گلدان‌های پلاستیکی با قطر دهانه ۱۲ سانتی‌متر منتقل شدند. بستر کاشت مورد استفاده ترکیبی از یک قسمت خاک لوم، یک قسمت خاکبرگ و یک قسمت ماسه بود. خاک مورد استفاده از نوع لومی شنی با اسیدیته ۷/۲ بود. گیاهان در داخل گلخانه‌ای با درجه حرارت روز به شب ۲۴ به ۱۸ درجه سانتی‌گراد، شدت نور $mmol/m^2/s^1$ ۸۵ و رطوبت نسبی ۶۵ درصد پرورش یافتند. آبیاری گلدان‌ها نیز به‌صورت یک روز در میان انجام شد.

پس از ۴۵ روز از انتقال گیاهان به داخل گلدان و قبل از اعمال تنش یخزدگی، تیمارهای محلول‌پاشی روی گل‌های اطلسی ایرانی انجام شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتور اول شامل دما (صفر و ۴- درجه سانتی‌گراد) و فاکتور دوم محلول‌پاشی با ترکیبات ضد تنش (۲۴ ساعت قبل از تیمار سرمایی) شامل شاهد (آب مقطر)، سالیسیلیک اسید (۷۵ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر)، گلیسرول (۰/۱، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ درصد) و تیمارهای ترکیبی ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر سالیسیلیک اسید+ گلیسرول ۰/۲۵ درصد، ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر سالیسیلیک اسید+ گلیسرول ۰/۵ درصد، ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر سالیسیلیک اسید+ گلیسرول ۰/۲۵ درصد و محلول تجاری ضد یخ کراپ‌ایـد (Cropaid Co, England) با غلظت چهار درصد بود. در مشخصات کراپ‌اید ذکر شده است که این محصول از مواد معدنی و باکتری‌های تیوباسیلوس تشکیل شده است. محلول‌پاشی گیاهان به‌نحوی انجام شد که سطح گیاه به‌طور کامل خیس شد (حدود ۲۰۰ میلی‌لیتر برای هر گلدان). ۲۴ ساعت پس از محلول‌پاشی با تیمارهای مختلف، گلدان‌ها برای اعمال تیمارهای یخزدگی در داخل دستگاه فریزر ترموگرادیان قرار گرفتند. نحوه اعمال تیمارهای یخزدگی به این صورت بود که دمای دستگاه از ۱۰ درجه سانتی‌گراد اولیه به‌صورت نزولی (دو درجه سانتی‌گراد کاهش در هر ساعت) کاهش پیدا کرد و به‌مدت سه ساعت در تیمارهای دمایی مدنظر (صفر و ۴- درجه سانتی‌گراد) قرار گرفتند. سپس برای جلوگیری از ذوب شدن سریع یخ، دما به‌تدریج تا ۱۰ درجه سانتی‌گراد (افزایش دو درجه سانتی‌گراد در هر ساعت) افزایش پیدا کرد (۲۶) و اندازه‌گیری صفات، ۲۴ ساعت بعد از اعمال تیمار یخزدگی انجام شد.

درصد تخریب ظاهری

درصد تخریب ظاهری با توجه به علائمی مانند پژمردگی، نکروزه شدن و سیاه شدن برگ‌ها و گل‌های گیاه بررسی شد (۱۵).

نشت یونی

برای تعیین پایداری غشای سلول‌های برگی از شاخص نشت یونی استفاده شد. در این روش ابتدا قطعات برگی با اندازه دو سانتی‌متر تهیه شد. این قطعات پس از شستشو همراه با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر در لوله‌های آزمایش قرار گرفتند. سپس لوله‌های آزمایش به‌مدت ۱۷ تا ۱۸ ساعت به‌وسیله شیکر

(۱۶۰ دور در دقیقه) تکان داده شدند. در این مرحله مقدار هدایت الکتریکی نمونه‌های آزمایش (E۱) به‌وسیله دستگاه ECمتر مدل JENWAY اندازه‌گیری شد. سپس لوله‌های آزمایش به‌منظور کشته شدن سلول‌های برگی به اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۵ دقیقه انتقال داده شدند. بدین طریق اندازه‌گیری هدایت الکتریکی در این مرحله (E۲) نیز پس از سردشدن محتویات داخل لوله‌های آزمایش انجام گرفت. در نهایت مقادیر نشت یون‌ها از طریق رابطه زیر محاسبه شد (۲۱).

$$EL = (E۱/ E۲) \times ۱۰۰ \quad (۱)$$

پرولین

۰/۱ گرم برگ تازه را در هاون چینی همراه با ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالسیلیک ۳/۳ درصد ابتدا به‌خوبی سائیده و در مرحله بعد دو میلی‌لیتر از معرف ناین هیدرین (۱/۲۵ گرم ناین هیدرین + ۲۰ میلی‌لیتر اسید فسفریک شش مولار + ۳۰ میلی‌لیتر اسید استیک خالص) و دو میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال (خالص) به هریک از لوله‌های محتوی عصاره و یا استاندارد افزوده شد. لوله‌ها به‌مدت یک ساعت درحمام آب گرم (بن ماری) در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و سپس به‌منظور خنک شدن به داخل مخلوط آب و یخ منتقل شدند. در این مرحله و در زیر هود شش میلی‌لیتر تولوئن به هریک از لوله‌های آزمایش افزوده و به‌مدت ۱۵ تا ۲۰ ثانیه به‌شدت تکان داده شدند. درنهایت میزان جذب نور در طول موج ۵۲۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Jenway Model ۶۳۰۵, Germany) قرائت شد (۵).

قندهای کل محلول

برای اندازه‌گیری قندهای محلول، ۵۰۰ میلی‌گرم نمونه برگی توزین شد. سپس طی دو مرحله توسط ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد استخراج عصاره صورت پذیرفت. عصاره ها به‌مدت ۱۵ دقیقه در ۳۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شدند. سپس سه میلی‌لیتر معرف آنترون به نمونه‌ها اضافه شد. در نهایت پس از اعمال ۱۰ دقیقه دمای آب جوش، میزان جذب نور در ۶۳۰ نانومتر انجام گرفت. به‌منظور تهیه محلول استاندارد در این آزمایش از گلوکز خالص استفاده شد (۹).

فنل کل

مقدار فنل کل با استفاده از روش سینگلتون و رسی (۳۲) تعیین شد. بدین منظور ۵۰۰ میلی‌گرم از نمونه‌ها پس از توزین به‌وسیله ۲۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد، طی دو مرحله هموژنایز و عصاره‌گیری شد. سپس عصاره‌ها به‌مدت پنج دقیقه در ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. ۵۰۰ میکرولیتر از محلول رویی به ۲/۵ میلی‌لیتر معرف فولین سیکالتو اضافه شد. پس از گذشت پنج دقیقه، دو میلی‌لیتر کربنات سدیم ۷/۵ درصد به محلول اضافه شد. در نهایت پس از ۳۰ دقیقه جذب نور در ۷۶۵ نانومتر انجام شد.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی

برای اندازه‌گیری ظرفیت تخریب رادیکاهای فعال از روش (۷) استفاده شد. ۱۰۰ میلی‌گرم ماده برگی تازه را در نیتروژن مایع هموژنایز کرده و عصاره‌گیری با اتانول ۹۶ درصد انجام شد. برای جداسازی مواد جامد نامحلول به‌مدت پنج دقیقه سانتریفیوژ با ۳۵۰۰ دور انجام شد. مقدار مناسبی از محلول شفاف بالایی را با ۸۰۰ میکرولیتر از محلول نیم میلی‌مولار دی‌پی‌پی‌اچ (DPPH) مخلوط و میزان جذب پس از ۳۰ دقیقه در شرایط تاریکی در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت شد. ظرفیت تخریب رادیکال‌های فعال با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد.

$$\text{تخریب رادیکال‌های فعال (٪)} = \frac{\text{جذب نمونه شاهد} - \text{جذب نمونه مورد ارزیابی}}{\text{جذب نمونه شاهد}} \times ۱۰۰ \quad (۱)$$

تجزیه آماری

داده های به‌دست آمده از آزمایش با استفاده از نرم‌افزار JMP ۸ مورد تجزیه آماری قرار گرفتند. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون LSD و در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

درصد تخریب ظاهری و نشت یونی

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که اثرات ساده محلول‌پاشی با ترکیبات ضد تنش، دما و برهم‌کنش آنها بر درصد تخریب گیاهان اطلسی معنی‌دار بود (جدول ۱). میانگین درصد تخریب ظاهری در دمای صفر و ۴- درجه سانتی‌گراد به‌ترتیب ۵/۳۰ و ۲۰/۰۴ درصد بود (جدول ۲). در بین تیمارهای محلول‌پاشی، کمترین درصد تخریب در تیمار ترکیبی ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر سالیسیلیک اسید + ۰/۵ درصد گلیسرول مشاهده شد (جدول ۱). در شرایط تنش سرمایی، گیاهان تیمار شده با ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر سالیسیلیک اسید + ۰/۵ درصد گلیسرول در دمای صفر درجه سانتی‌گراد کاملاً سالم بودند و درصد تخریب آنها صفر بود و با کاهش دما به ۴- درجه سانتی‌گراد درصد تخریب به ۳/۳۳ درصد افزایش یافت که بسیار اندک بود (جدول ۲). همچنین بیشترین درصد تخریب (۵۷/۶۱ درصد) در گیاهان شاهد و دمای ۴- درجه سانتی‌گراد مشاهده شد (جدول ۲). اثرهای دما، ترکیب‌های ضد تنش و برهم‌کنش آنها بر نشت یونی برگ گیاهان اطلسی معنی‌دار بود (جدول ۱). با افزایش دما از صفر به ۴- درجه سانتی‌گراد، میزان نشت یونی از ۲۲/۳۹ به ۳۵/۳۴ درصد افزایش یافت (جدول ۱). کمترین (۱۶/۶۸ درصد) و بیشترین (۵۸/۱۱ درصد) نشت یونی به‌ترتیب از تیمارهای ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر سالیسیلیک اسید + ۰/۵ درصد گلیسرول و شاهد به‌دست آمد. (جدول ۱). تحت شرایط تنش یخزدگی، کمترین درصد نشت یونی در دماهای صفر و ۴- درجه سانتی‌گراد از تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر سالیسیلیک اسید + ۰/۵ درصد گلیسرول حاصل شد (جدول ۲). همچنین در دمای ۴- درجه سانتی‌گراد، میزان نشت یونی در تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر سالیسیلیک اسید+ ۰/۵ درصد گلیسرول در مقایسه با تیمار شاهد و ترکیب تجاری ضد سرما به‌ترتیب ۷۵ و ۵۶ درصد کمتر بود (جدول ۲). به دلیل اینکه تنش یخزدگی سبب اختلال در غشای سلول و به‌دنبال آن نشت یونی از سلول‌ها می‌شود، لذا اندازه‌گیری میزان نشت از بافت‌های تحت تنش، معیار قابل قبولی برای مقاومت به تنش یخزدگی است (۲۶). موسوی و همکاران (۲۴) گزارش کردند که اعمال تیمار یخزدگی بر گیاه مینا چمنی باعث افزایش درصد نشت یونی سلول‌ها شد. ارزیابی میزان مقاومت گیاه رازیانه به تنش یخزدگی از طریق اندازه‌گیری میزان نشت یون‌ها نیز نشان داد که با کاهش دمای یخزدگی، درصد نشت یونی در اندام‌های مختلف به‌طور معنی‌داری افزایش یافت و ریشه و برگ به‌ترتیب بیشترین و کمترین درصد نشت یونی را داشتند (۲۶). سالیسیلیک اسید از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، گیاه را از صدمات حاصل از واکنش‌های اکسیداتیو حفظ می‌کند (۲۳). علاوه‌بر این آلبرت و همکاران (۱) گزارش کردند که گلیسرول خسارت سرمازدگی در گل‌های سیب را کاهش می‌دهد. همچنین موراتیل و همکاران (۲۵) گزارش کردند که کاربرد گلیسرول خسارت یخزدگی در گیاه گوجه‌فرنگی را کاهش داد که با نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت داشت. گلیسرول ترکیبی غیر یونی است که پیوندهای هیدروژنی قوی با مولکول‌های آب تشکیل می‌دهد که با پیوندهای هیدروژنی مولکول‌های آب رقابت می‌کند. این پیوندها مانع تشکیل شبکه‌های بلورهای یخ می‌شوند. این ترکیب همچنین از طریق افزایش غلظت سلول مانع یخزدگی بافت‌ها می‌شود. همچنین این ترکیب از طریق اتصال به آب باعث کاهش آب موجود در سلول شده و میزان یخزدگی را کاهش می‌دهد (۳۵).

قندهای محلول کل

نتایج نشان داد که اثرات دما و محلول‌پاشی با ترکیبات ضد تنش و اثر متقابل آنها بر میزان قندهای محلول معنی‌دار بود (جدول ۱). با کاهش دما از صفر به ۴- درجه سانتی‌گراد، میزان قندهای محلول کل افزایش یافت به‌طوری که مقدار آن از ۰/۳۹۳ به ۰/۴۴۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر رسید. همه ترکیبات ضدتنش میزان قندهای محلول را نسبت به شاهد افزایش دادند به‌طوری که بیشترین میزان قندهای محلول از تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر سالیسیلیک اسید + ۰/۵ درصد گلیسرول حاصل شد که به‌ترتیب ۲/۳ برابر و ۶۴ درصد بیشتر از تیمارهای شاهد و

جدول ۱. تأثیر دماهای یخزدگی و ترکیبات ضد تنش بر درصد تخریب و صفات فیزیولوژیکی مورد بررسی اطلسی ایرانی

تیمار	درصد تخریب	فعالیت آنتی‌اکسیدانی	نشت یونی	قندهای کل محلول	فنل کل	پرولین
		(٪)		(mg/g FW)		(µmol/g FW)
دماهای یخزدگی (درجه سانتی‌گراد)						
۰	۵/۳۰^{b}	۵۳/۲۴۱^{a}	۲۲/۳۹^{b}	۰/۳۹۳^{b}	۰/۲۰۹^{b}	۲/۳۰۹^{b}
-۴	۲۰/۰۴^{a}	۵۴/۸۳۶^{a}	۳۵/۳۴^{a}	۰/۴۴۳^{a}	۰/۲۵۱^{a}	۲/۸۷۱^{a}
تیمار ضدتنش						
†۱	۱۶/۶۶^{c}	۵۲/۵۶^{d}	۳۳/۲۹^{c}	۰/۳۲۵^{cd}	۰/۱۹۶$^{c-e}$	۱/۳۵^{f}
۲	۵/۸۳^{f}	۵۶/۳۰$^{b-d}$	۲۲/۵۵^{e}	۰/۵۵۱^{ab}	۰/۲۷۷$^{a-c}$	۳/۹۷^{c}
۳	۳/۳۳^{gh}	۵۸/۴۶$^{b-d}$	۱۹/۳۴^{f}	۰/۵۶۸^{ab}	۰/۲۸۷^{ab}	۴/۱۱^{c}
۴	۳۲/۵۰^{b}	۳۹/۵۱^{e}	۴۱/۰۷^{b}	۰/۲۹۳^{cd}	۰/۱۷۴$^{d-f}$	۰/۳۵^{g}
۵	۱۴/۵۰^{d}	۵۲/۵۶^{d}	۳۰/۴۱^{d}	۰/۳۵۱^{cd}	۰/۱۴۲^{ef}	۱/۳۰^{f}
۶	۹/۵۸^{e}	۵۴/۶۶^{cd}	۲۳/۲۲^{e}	۰/۳۶۹^{bc}	۰/۲۴۲$^{b-d}$	۲/۳۸^{d}
۷	۲/۴۱^{hi}	۶۵/۸۷^{a}	۱۷/۳۷^{g}	۰/۵۶۱^{ab}	۰/۳۴۲^{a}	۵/۳۳^{a}
۸	۱/۶۶^{i}	۶۱/۸۶^{ab}	۱۶/۶۸^{g}	۰/۵۹۵^{ab}	۰/۳۲۰^{ab}	۴/۵۴^{b}
۹	۳/۷۵^{g}	۶۰/۴۰$^{a-c}$	۲۰/۶۵^{f}	۰/۴۴۶$^{a-c}$	۰/۲۵۸$^{a-d}$	۳/۹۵^{c}
۱۰	۱۶/۶۶^{c}	۵۴/۱۹^{cd}	۳۴/۸۶^{c}	۰/۳۶۱^{cd}	۰/۱۹۵$^{c-e}$	۱/۹۴^{e}
۱۱	۴۰/۰۴^{a}	۳۸/۰۰^{e}	۵۸/۱۱^{a}	۰/۱۸۱^{d}	۰/۱۰۱^{f}	۰/۳۲^{g}
دما	**	ns	**	*	*	**
تیمار ضدتنش	**	**	**	**	**	**
دما × تیمار ضدتنش	**	**	**	**	*	*

† ۱، ۲، ۳ و ۴ به‌ترتیب ۰/۱، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ درصد گلیسرول؛ ۵ و ۶ به‌ترتیب ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر سالیسیلیک اسید؛ ۷: ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر سالیسیلیک اسید + ۰/۲۵ درصد گلیسرول؛ ۸: ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر سالیسیلیک اسید + ۰/۵ درصد گلیسرول؛ ۹: ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر سالیسیلیک اسید + ۰/۲۵ درصد گلیسرول؛ ۱۰: محلول تجاری یک درصد و ۱۱: شاهد. ns، * و ** به‌ترتیب عدم معنی‌داری، معنی‌داری در سطح پنج و یک درصد. میانگین‌هایی که در یک ستون و برای هر عامل، حداقل دارای یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد با هم تفاوت معنی‌داری ندارند.

محلول تجاری ضد سرما بود (جدول ۲). در شرایط یخزدگی، بیشترین میزان قندهای محلول از تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر سالیسیلیک اسید + ۰/۵ درصد گلیسرول در دمای۴- درجه سانتی‌گراد حاصل شد (جدول ۲). باغبان‌ها و همکاران (۴) گزارش کردند که در گیاه لیمو میزان قندهای محلول پس از تیمار سرمایی افزایش یافت. سالیسیلیک اسید

جدول ۲. تأثیر برهم‌کنش دماهای یخزدگی و تیمارهای ضد تنش بر درصد تخریب و صفات فیزیولوژیکی اطلسی ایرانی

تیمار ضد تنش	دماهای یخزدگی	درصد تخریب	نشت یونی	فعالیت آنتی‌اکسیدانی	قندهای محلول کل	فنل کل	پرولین
	(درجه سانتی‌گراد)		(درصد)		(mg/g FW)		(µmol/g FW)
†۱	۰	۳/۳۱^{i}	۲۰/۳۳$^{g-i}$	۵۰/۸۱$^{c-e}$	۰/۳۱۶^{de}	۰/۱۸۶$^{c-g}$	۱/۴۹^{ij}
	-۴	۳۰/۰۰^{c}	۴۶/۲۴^{c}	۵۴/۳۰$^{c-e}$	۰/۳۳۴^{de}	۰/۲۰۷$^{b-g}$	۱/۲۲^{jk}
۲	۰	۱/۶۷^{j}	۱۶/۵۷$^{j-l}$	۵۳/۹۶$^{c-e}$	۰/۴۴۷$^{b-d}$	۰/۲۵۰$^{b-d}$	۳/۶۲^{e}
	-۴	۱۰/۰۰^{g}	۲۸/۵۴^{f}	۵۸/۶۴$^{b-d}$	۰/۶۵۴^{b}	۰/۳۰۴$^{a-c}$	۴/۳۲^{c}
۳	۰	۱/۶۰^{j}	۱۸/۴۴$^{i-k}$	۵۸/۲۷$^{b-d}$	۰/۴۸۳$^{a-d}$	۰/۲۷۰$^{a-d}$	۳/۹۱$^{c-e}$
	-۴	۵/۰۷^{h}	۲۰/۲۵$^{g-i}$	۵۸/۶۵$^{b-d}$	۰/۶۵۲^{b}	۰/۳۰۲$^{a-c}$	۴/۳۷^{c}
۴	۰	۱۰/۰۰^{g}	۲۷/۳۱^{f}	۴۵/۳۹^{e}	۰/۲۸۵^{de}	۰/۱۲۳$^{e-g}$	۰/۲۲^{l}
	-۴	۴۰/۰۰^{b}	۵۴/۸۴^{b}	۳۳/۶۳^{f}	۰/۳۰۲^{de}	۰/۲۲۴$^{b-f}$	۰/۴۷^{l}
۵	۰	۳/۳۳^{i}	۲۲/۳۷^{g}	۵۰/۸۱$^{c-e}$	۰/۳۴۵^{de}	۰/۱۱۲$^{e-g}$	۰/۹۳^{k}
	-۴	۲۵/۶۷^{d}	۳۸/۴۶^{e}	۵۴/۳۰$^{c-e}$	۰/۳۵۶^{de}	۰/۱۷۲$^{d-g}$	۱/۶۶^{hi}
۶	۰	۱/۶۰^{j}	۱۷/۹۷$^{i-k}$	۵۲/۲۰$^{c-e}$	۰/۳۵۹^{de}	۰/۲۰۸$^{b-g}$	۲/۱۸^{fg}
	-۴	۱۷/۵۰^{f}	۲۸/۴۸^{f}	۵۷/۱۲$^{b-d}$	۰/۳۸۰^{de}	۰/۲۷۷$^{a-d}$	۲/۵۸^{f}
۷	۰	۱/۴۷^{jk}	۱۸/۹۱$^{i-j}$	۵۹/۱۰^{bc}	۰/۶۴۷$^{a-c}$	۰/۳۰۸^{ab}	۵/۰۴^{b}
	-۴	۳/۳۳^{I}	۱۵/۸۳^{kl}	۷۲/۶۴^{a}	۰/۴۷۴$^{a-d}$	۰/۳۷۶^{a}	۵/۶۲^{a}
۸	۰	۰/۰۰^{k}	۱۴/۹۸^{l}	۵۸/۷۰$^{b-d}$	۰/۴۵۵$^{a-d}$	۰/۳۲۰^{ab}	۴/۲۲^{cd}
	-۴	۳/۳۳^{i}	۱۸/۴۰$^{i-k}$	۶۵/۰۳^{ab}	۰/۷۳۵^{a}	۰/۳۲۱^{ab}	۴/۸۶^{b}
۹	۰	۲/۵۲^{ij}	۲۱/۶۷^{gh}	۵۵/۶۸$^{b-d}$	۰/۴۷۶$^{a-d}$	۰/۲۳۱$^{b-e}$	۳/۸۷^{de}
	-۴	۵/۰۳^{h}	۱۹/۶۴^{hi}	۶۵/۱۲^{ab}	۰/۴۱۷$^{b-e}$	۰/۲۸۵$^{a-d}$	۴/۰۳$^{c-e}$
۱۰	۰	۱۰/۴۵^{g}	۲۷/۶۳^{f}	۵۱/۴۴$^{c-e}$	۰/۳۳۵^{de}	۰/۱۸۶$^{c-g}$	۱/۸۰$^{g-i}$
	-۴	۲۲/۸۸^{e}	۴۲/۱۰^{d}	۵۶/۹۵$^{b-d}$	۰/۳۸۶$^{c-e}$	۰/۲۰۴$^{b-g}$	۲/۰۸^{gh}
۱۱	۰	۲۲/۳۹^{e}	۴۰/۱۹^{de}	۴۹/۲۴^{de}	۰/۱۸۰^{e}	۰/۱۱۰^{fg}	۰/۲۷^{l}
	-۴	۵۷/۶۱^{a}	۷۶/۰۴^{a}	۲۶/۷۶^{f}	۰/۱۸۲^{e}	۰/۰۹۱^{g}	۰/۳۸^{l}

† ۱، ۲، ۳ و ۴ به‌ترتیب ۰/۱، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ درصد گلیسرول؛ ۵ و ۶ به‌ترتیب ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر سالیسیلیک اسید؛ ۷: ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر سالیسیلیک اسید + ۰/۲۵ درصد گلیسرول؛ ۸: ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر سالیسیلیک اسید + ۰/۵ درصد گلیسرول؛ ۹: ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر سالیسیلیک اسید + ۰/۲۵ درصد گلیسرول؛ ۱۰: محلول تجاری ۱ درصد و ۱۱: شاهد. میانگین‌هایی که در هر ستون حداقل دارای یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد باهم تفاوت معنی‌داری ندارند.

سبب تحریک تجزیه قندهای نامحلول یا پروتئین‌ها می‌شود و با ایجاد منبع اسمزی سبب کاهش خسارت یخزدگی می‌شود. قندها در کاهش دمای انجماد آب سلولی، تأمین انرژی قابل دسترس و محافظت از ساختمان و نحوه عمل پروتئین‌ها در ایجاد مقاومت به سرما نقش عمده‌ای دارند (۱۷). همچنین قندهای محلول باعث ثبات پروتئین‌ها و غشاها می‌شوند و با ایجاد پیوند هیدروژنی با دنباله‌های قطبی پلی‌پپتیدها و گروه‌های فسفولیپیدی از تخریب پروتئین‌ها جلوگیری می‌کنند (۳). همچنین گزارش شده است که گلیسرول باعث افزایش میزان سالیسیلیک اسید درونی گیاه می‌شود (۱۶) که به نظر می‌رسد گلیسرول از طریق افزایش سالیسیلیک اسید باعث افزایش میزان قندهای محلول در گیاه می‌شود.

فنل کل

اثرات دما و ترکیبات ضد تنش و اثر متقابل آنها بر میزان فنل کل معنی‌دار بود (جدول ۱). کاهش دما از صفر به ۴- درجه سانتی‌گراد باعث افزایش فنل کل شد (جدول ۱). همه ترکیبات ضدتنش میزان فنل کل را افزایش دادند به‌طوری که کمترین و بیشترین میزان فنل کل به‌ترتیب از تیمارهای شاهد و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر سالیسیلیک اسید+ ۰/۲۵ درصد گلیسرول به‌دست آمد (جدول ۱). در شرایط تنش یخ‌زدگی، کمترین و بیشترین میزان فنل کل به‌ترتیب از تیمارهای شاهد و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر سالیسیلیک اسید + ۰/۲۵ درصد گلیسرول و دمای ۴- درجه سانتی‌گراد حاصل شد (جدول ۲). یکی از مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاهان تحت شرایط تنش یخ‌زدگی، افزایش میزان ترکیبات فنلی است، چرا که این ترکیبات سرشار از گروه CO – هستند که به‌عنوان پاک‌کننده رادیکال‌های آزاد به‌وجود آمده در اثر تنش یخ‌زدگی عمل کرده و درنتیجه سبب ثبات غشای سلول و مانع از پراکسیداسیون لیپیدها می‌شوند (۱۲).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی

اثر دما بر درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ گیاهان اطلسی معنی‌دار نشد ولی اثرات محلول‌پاشی با ترکیبات ضد تنش و اثر متقابل آنها معنی‌دار بود (جدول ۱). همه ترکیبات ضد تنش میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی را نسبت به شاهد افزایش دادند. کاربرد تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر سالیسیلیک اسید + ۰/۲۵ درصد گلیسرول میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی را به‌ترتیب ۲/۳۸ برابر و ۷۵ درصد در مقایسه با تیمار شاهد و محلول تجاری ضد سرما افزایش داد (جدول ۱). کمترین (۲۶/۷۶ درصد) و بیشترین (۷۲/۶۴ درصد) فعالیت آنتی‌اکسیدانی در دماهای یخ‌زدگی به‌ترتیب از تیمارهای شاهد و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر سالیسیلیک اسید + ۰/۲۵ درصد گلیسرول در دمای ۴- درجه سانتی‌گراد به‌دست آمد (جدول ۲). افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی تحت شرایط تنش یخ‌زدگی توسط سایر پژوهشگران گزارش شده است (۲۳ و ۳۱). افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در اثر تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، یکی از مکانیسم‌های دفاعی بر علیه تنش‌های مختلف است. هنگامی که گیاهان در معرض تنش یخ‌زدگی قرار می‌گیرند سطوح رادیکال‌های آزاد افزایش می‌یابد و به‌دنبال آن بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدانی و فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها برای حذف این ترکیبات بیشتر شده و سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی بهبود می‌یابد که باعث افزایش تحمل گیاه نسبت به تنش یخ‌زدگی می‌شود (۱۹). گزارش‌های متعددی وجود دارد که نشان می‌دهند سالیسیلیک اسید باعث افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌شود و از این طریق باعث کاهش خسارت یخ‌زدگی می‌شود (۲۳ و ۳۱).

پرولین

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که اثرات دما، ترکیبات ضد تنش و اثر متقابل آنها بر میزان پرولین برگ‌های گیاهان اطلسی معنی‌دار بود (جدول ۱). میزان پرولین با کاهش دما از صفر به ۴- درجه سانتی‌گراد، ۲۴ درصد افزایش یافت (جدول ۱). میزان پرولین با کاربرد ترکیبات ضد تنش در مقایسه با شاهد افزایش یافت به‌طوری که تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر سالیسیلیک اسید + ۰/۲۵ درصد گلیسرول میزان پرولین را به‌ترتیب ۱۵/۶ و ۱/۷ برابر نسبت به گیاهان شاهد و تیمار شده با محلول تجاری ضد سرما افزایش داد (جدول ۱). در شرایط یخ‌زدگی، بیشترین میزان پرولین از تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر سالیسیلیک اسید + ۰/۲۵ درصد گلیسرول و دمای ۴- درجه سانتی‌گراد حاصل شد (جدول ۲). محتوای پرولین در بسیاری از گیاهان در واکنش به تنش‌های محیطی مانند سرما افزایش می‌یابد (۲ و ۳). پرولین در شرایط تنش سبب تنظیم پتانسیل اسمزی، پایداری ساختارهای سلولی از جمله غشاهای سلولی و پروتئین‌ها از طریق پاک‌سازی ترکیبات ROS و خنثی کردن پتانسیل اکسیداسیون احیای سلولی می‌شود (۳). تجمع پرولین تحت شرایط تنش به‌علت فعال‌سازی آنزیم‌های بیوسنتزی پرولین، کاهش اکسیداسیون و کاهش استفاده از پرولین در سنتز پروتئین‌هاست (۲۲).

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش می‌توان اظهار کرد که استفاده از گلیسرول، سالیسلیک اسید و تیمارهای ترکیبی گلیسرول و سالیسلیک اسید، میزان خسارت یخزدگی در گیاه اطلسی را از طریق بهبود شاخص‌های ظاهری و فیزیولوژیکی کاهش داد. نتایج نشان داد که کاربرد تیمار ترکیبی سالیسیلیک اسید و گلیسرول در مقایسه با کاربرد سالیسیلیک اسید و گلیسیرین تأثیر بیشتری در تخفیف اثرات مخرب تنش یخزدگی در گیاه اطلسی داشته است. در بین تیمارهای مورد استفاده، تیمار ترکیبی سالیسیلیک اسید و گلیسرول (۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر سالیسیلیک اسید + ۰/۵درصد گلیسرول) در ۲۴ ساعت قبل از سرما بیشترین تأثیر را در کاهش اثرات مخرب سرمازدگی داشت که قابل توصیه است.

منابع مورد استفاده

1. Albrecht, E., M. Schimitz-Eibenger, M. Brauckmann, W. Rademacher and G. Noga. 2004. Use of prohexa-dione-calcium, vitamin E, and glycerine for the reduction of frost injury in apple (*Malus domestica*) flowers and leaves. *European Journal of Horticultural Science* 69: 59–65.
2. Apostolova, P., R. Yordanova and L. Popova. 2008. Response of antioixidative defense system to low temperature stress in two wheat cultivar. *General and Applied Plant Physiology* 34: 281-294.
3. Ashraf, M. and M. R. Foolad. 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany* 59: 206-216.
4. Baghbanha, M., R. Fotuhi Ghazvini, A. Hatamzadeh and M. Heidari. 2007. Effect of salicylic acid on freezing tolerance of Mexican lime seedling (*Citrus aurantifolia* L.). *Journal of Horticultural Science and Technology* 8: 185-198. (In Farsi).
5. Bates, L. S., R. P. Waldern and I. D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil* 39(1): 205–207.
6. Bergmann, H. L., V. Maachelett and B. Gerbel. 1994. Increase of stress resistance in crop plants by using phenolic compounds. *Acta Horticulture* 381: 390-395.
7. Burits, M. and F. Bucar. 2000. Antioxidant activity of Nigella sativa essential oil. *Phytotherapy Research* 14: 323-328.
8. Cao, S., Z. Hu, Y. Zheng and B. Lu. 2010. Synergistic effect of heat treatment and salicylic acid on alleviating internal browning in cold-stored peach fruit. *Postharvest Biology and Technology* 58: 93-97.
9. Carrol, H. V., R. W. Longley and J. H. Roe. 1956. The determination of glycogen in liver and muscle by use of anthrone reagent. *Journal of Biological Chemistry* 220(2): 583-593.
10. Dhawan, A. K., A. Hooda and R. K. Goyal. 1986. Effect of Low temperature, short days, water stress and Dimethyl Sulphoxide on frost tolerance of Brassies. Juncea, Coss and Czen Var. Prakash. *Annals of Botany* 58: 267–271.
11. Ding, C. K., C. Y. Wang, K. C. Gross and D. L. Smith. 2002. Jasmonate and salicylate induce the expression of pathogenesis related-protein genes and increase resistance to chilling injury in tomato fruit. *Planta* 214: 895-901.
12. Dixon, R. A. and N. L. Paiva. 1995. Stress-induced phenyl-propanoid metabolism. *Plant Cell* 7: 1085–1097.
13. Dole, J. M. and H. F. Wilkins. 2005. Floriculture: Principles and Species. Upper Saddle River, Prentice Hall.
14. Guo, S. H., Q. Yang, X. L. Yang, Y. F. Liu, J. C. Qi and Y. M. Bi. 2007. Effects of salicylic acid on cold resistance during flowering period and fruit sitting rate in apricot. *Nonwood Forest Research* 25: 24-27.
15. Jalilian, A., D. Mzaheri, R. Tavakkol Afshari, M. Abdollahian-Noghabi, H. Rahimian and A. Ahmadi. 2009. Effect of freezing damage at seedling stage in different sugar beet cultivars. *Iranian Journal of Crop Science* 10: 400-415. (In Farsi).
16. Kachroo, A., L. Lapchyk, H. Fukushige, D. Hildebrand, D. Klessig and P. Kachroo. 2003. Plastidial fatty acid signaling modulates salicylic acid- and jasmonic acid-mediated defense pathways in the Arabidopsis ssi2 mutant. *Plant Cell* 15: 2952–2965.
17. Kafi, M. and A. Mahdavi Damghani, 2002. Mechanisms of Environmental Stress Resistance in Plants. Ferdowsi University of Mashhad Press, Mashhad. (In Farsi).
18. Kang, G., G. Li and T. Guo. 2014. Molecular mechanism of salicylic acid-induced abiotic stress tolerance in higher plants. *Acta Physiologiae Plantarum* 36: 2287–2297.
19. Kang, H. M. and M. E. Saltveit. 2002. Chilling tolerance of maize, cucumber and rice seedling leaves and roots are differentially affected by salicylic acid. *Physiologia Plantarum* 115: 571-576.

20. Kazemi-Shahandashti, S. S., R. Maali-Amiri, H. Zeinali, M. Khazaei, A. Talei and S. S. Ramezanpour. 2014. Effect of short-term cold stress on oxidative damage and transcript accumulation of defense-related genes in chickpea seedlings. *Journal of Plant Physiology* 171: 1106–1116.
21. Lutts, S., J. M. Kinet and J. Bouharmont. 1996. NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Annals of Botany* 8: 389-398.
22. Maggio, A., S. Miyazaki, P. Veronese, T. Fujita, J. I. Ibeas, B. Damsz, M. L. Narasimhan, P. M. Hasegawa, R. J. Joly and R. A. Bressan. 2002. Does proline accumulation play an active role in stress-induced growth reduction? *The Plant Journal* 31(6): 699-712.
23. Mellouk, Z., I. Benammar and Y. Hernandez. 2016. Effects of foliar application with salicylic acid on the biochemical parameters and redox status in two canola plant varieties exposed to cold stress. *International Journal of Agronomy and Agricultural Research* 8: 77-87.
24. Moosavi, M. J., S. Nezami, E. Izadi Darbandi, A. Nezami, M. Yousefsani and F. Keykha Akhar.2011. Evaluation of freezing tolerance of English daisy (*Bellis perennis*) under Controlled Conditions. *Journal of Water and Soil* 25: 380-388. (In Farsi).
25. Moratiel, R., J. M. Durán and R. L. Snyder. 2011. Freezing resistance in tomato (*Lycopersicum esculentum* Mill.) using potential cryoprotectors. *European Journal of Horticultural Science* 76(1): 12–17.
26. Nezami, A., A. Azizi, A. Siah Merguie and A. A. Mohammad Abadi. 2010. Effect of freezing stress on electrolyte leakage in fennel (*Foeniculum vulgare*). *Iranian Journal of Field Crops Research* 8: 587-593. (In Farsi).
27. Promyoua, S., S. Ketsab and W. G. Van Doorn. 2012. Salicylic acid alleviates chilling injury in anthurium (*Anthurium andraeanum* L.) flowers. *Postharvest Biology and Technology* 64: 104-110.
28. Raskin, I. 1992. Role of salicylic acid in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 43: 439-463.
29. Sayyari, M., M. Babalar, S. Kalantari, M. Serrano and D. Valero. 2009. Effect of salicylic acid treatment on reducing chilling injury in stored pomegranates. *Postharvest Biology and Technology* 53: 152-154.
30. Senaratna, T., D. Touchell, E. Bunn and K. Dixon. 2000. Acetyl salicylic acid (aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. *Plant Growth Regulation* 30: 157-161.
31. Siboza, X. I., I. Bertling and A. O. Odindo. 2014. Salicylic acid and methyl jasmonate improve chilling tolerance in cold-stored lemon fruit (*Citrus limon*). *Journal of Plant Physiology* 171: 1722–1731.
32. Singelton, V. R., R. Orthifer and R. M. Lamuela-Raventos. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology* 299: 152-178.
33. Tasgin, E., O. Atici and B. Nalbantoglu. 2003. Effects of salicylic acid and cold on freezing tolerance in winter wheat leaves. *Plant Growth Regulation* 41: 231-236.
34. Van Breusegem, F., E. Vraneva and J. F. Dat. 2001. The role of active oxygen species in plant signal transduction. *Plant Science* 161: 405-414.
35. Volk, G. M., J. L. Harris and K. E. Rotindo. 2006. Survival of mint shoot tips after exposure to cryoprotectant solution components. *Cryobiology* 52: 305–308.

Journal of Crop Production and Processing
Vol. 9, No. 3, Fall 2019, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.

Effects of Glycerol and Salicylic Acid on Freezing Tolerance of Iranian Petunia (*Petunia hybrida* L.)

H. Bayat[1]* and M. Alirezaie Noghondar[2]

(Received: February 14-2017; Accepted: January 27-2019)

Abstract

The aim of this study was to investigate the effects of glycerol (GL) and salicylic acid (SA) on freezing tolerance of Iranian Petunia (*Petunia hybrida*). For this purpose, a factorial experiment based on completely randomized design with three replications was conducted under controlled conditions. The first factor was temperature (0 and -4 °C) and the second factor was spraying with anti-stress compounds (24 hours prior to freezing) consisting of control (distilled water), salicylic acid (75 and 150 mg per liter), glycerol (0.1, 0.25, 0.5 and 1 percent) and the combined treatment of 150 mg/l SA+ 0.25% GL, 150 mg/l SA+ 0.5% GL, 200 mg/l SA+ 0.25% GL and anti-frost trade agent with concentration of 4 percent. The results of this study showed that under freezing stress conditions, SA and GL reduced the percentage of visual damage and electrolyte leakage and increased concentration of proline, and total carbohydrates, total phenols and antioxidant activity as compared to control plants. The percentage of visual damage in plants treated with 150 mg/l of SA + 0.5% GL at -4 °C was 3.33%, while the percentage of visual damage of control plants and those treated with anti-frost trade agent were 57.61 and 22.88 percent, respectively. The highest proline concentration was obtained from application of 150 mg/l of SA + 0.25% GL at -4 °C temperature. The results of this study showed that the use of SA and GL reduced the freezing-induced damage in Iranian Petunia through the improvement of physiological indices.

Keywords: Proline, Visual damage, Thermogradient freezer, Foliar spray

1. Assistant Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Birjand, Iran.
2. Graduated PhD., Department of Plant Production, Higher Educational Institute of Shirvan, Shirvan, Iran.
*: Corresponding Author, Email: hassanbayat@birjand.ac.ir