[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-08-21]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1394.5.16.8.9]

[DOI: 10.18869/acadpub.jcpp.5.16.85]

بررسی واکنش ارقام تجاری زیتون (*Olea europaea* L.) به تنش سرما با استفاده از روش نشت یونی و اندازه‌گیری کربوهیدرات محلول کل

ثریا موسوی[۱]، کاظم ارزانی[۲*]، مهدی حسینی مزینانی[۴] و عباس یدالهی[۳]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۵/۲۸ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۸/۸)

چکیده

شناسایی و مطالعه ارقام متحمل و حساس به تنش سرما درگیاهان زراعی و باغی لازم و ضروری است. در این راستا پژوهش حاضر با استفاده از روش نشت یونی و هم‌چنین اندازه‌گیری مقدار قندهای محلول کل در بافت‌های برگ و پوست در دو سال متوالی در ده رقم تجاری زیتون شامل، زرد، ماری، فدک ۱-۸۷، فدک ۵-۸۷، فدک ۸۶ ، فدک ۷۷، آربکینا، میشن، بلیدی و کوراتینا انجام شد. به این منظور شاخه‌های دوساله از درختان پنج ساله زیتون در فصل‌های تابستان و زمستان از یک باغ تجاری در شهرستان قم برداشت شدند و تحت تیمارهای سرمایی صفر، ۴ -، ۸ -، ۱۲- ۱۶- و ۲۰- درجه سلسیوس به‌مدت ۲۴ ساعت قرار گرفتند و سپس LT_{50} با استفاده از روش نشت یونی اندازه‌گیری شد. همراه با کاهش دما افزایش قابل ملاحظه‌ای (با کاهش LT_{50}) در میزان تحمل سرما در ارقام مورد مطالعه وجود داشت. تحمل سرما در بافت‌های برگ و پوست در زمستان بیشتر از تابستان بود و میزان تحمل بافت پوست در هر دو فصل بیشتر از بافت برگ بود. هم‌چنین مقدار قند محلول کل در فصل زمستان در بافت‌های برگ و پوست بیشتر از تابستان بود و بافت پوست در تمام ارقام میزان قند کل بیشتری از بافت برگ داشت. نتایج هم‌چنین نشان داد که ارقام متحمل به سرما شامل زرد، آربکینا و فدک ۵-۸۷ (با آستانه تحمل به‌ترتیب ۱۷/۳۴°C- ، ۱۷/۵°C- و ۱۷/۹۹° C-) در مقایسه با ارقام حساس، کوراتینا و ماری (با آستانه تحمل به‌ترتیب ۷/۱۸°C- و ۹/۱۳°C-)، مقدار قند کل بیشتری در بافت‌های مورد مطالعه در فصل زمستان و تابستان داشتند. با اینکه مکانیزم دقیق واکنش تنش سرما در درخت زیتون شناسایی نشده لیکن می‌توان از این آزمایش نتیجه گرفت که مقدار کربوهیدرات‌های محلول در ارتباط نزدیک با میزان مقاومت به تنش سرما در زیتون است.

واژه‌های کلیدی: الگوی تغییرات قند کل، تنش سرما، زیتون، نشت یونی

۱ و ۲ و ۳. به ترتیب دانشجوی فارغ التحصیل دکتری، استاد و استادیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه تربیت مدرس تهران. ایران

۴. دانشیار گروه زیست فن‌آوری، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فن‌آوری، تهران، ایران

*: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: arzani_k@modares.ac.ir

مقدمه

تنش سرما همراه با تنش‌های خشکی و شوری از مهم‌ترین عوامل محیطی محدود کننده تولید و گسترش گیاهان در کره زمین هستند (۲۰). عدم سازگاری به سرما حتی در برابر سرمای ملایم نیز باعث مرگ سلول‌های تعداد زیادی از اندام‌ها می‌شود (۷). زیتون به‌عنوان درختی همیشه سبز در طول‌های جغرافیایی ۳۰ – ۴۰ درجه سانتی‌گراد در دو نیمکره شمالی و جنوبی کشت می‌شود و محیط مناسب برای رشد آن، مناطق با آب و هوای مدیترانه‌ای است. (۱۸ و ۲۲). گیاه زیتون در دماهای کمتر از ۱۲°C- تا ۱۳°C- دچار آسیب‌های جدی خواهد شد و حیات گیاه مورد تهدید قرار می‌گیرد. در دمای ۷°C- آسیب سرما در بخش‌های هوایی درخت، باعث کاهش تولید محصول می‌گردد. با این وجود کشت زیتون در مناطقی با طول جغرافیایی بالاتر از حد معمول در حال افزایش است در نتیجه بهترین روش برای مبارزه با آسیب سرما معرفی ارقام متحمل می‌باشد. این مسأله به‌خصوص در مناطقی مانند ایران که کشت زیتون در حال گسترش است اهمیت ویژه‌ای دارد (۳، ۸، ۱۰، ۱۷، ۱۹ و ۲۲).

واکنش گیاهان به سرما را می‌توان به سه مرحله تقسیم کرد: اولین مرحله سازگاری به سرما (Pre-hardening) که در دماهای بالای صفر ایجاد می‌شود، مرحله دوم مقاوم سازی (Hardening) که بیشترین مقدار تحمل به تنش سرما در گیاه ایجاد می‌شود و در دمای زیر صفر اتفاق می‌افتد و مرحله نهایی بازگشت گیاه از تنش در پایان زمستان است (۱۵). سازگاری به تنش سرما در نتیجه مکانیزم‌های پیچیده بیوشیمیایی است که منجر به افزایش تجمع پروتئین‌های پاسخ دهنده به تنش (پروتئین‌های دهیدرین)، افزایش قندهای محلول، افزایش مکانیزم‌های ضد اکسیداسیون، تغییر در ترکیبات لیپیدی غشاء و مانند آن است (۲۰). هم‌چنین قندها نقش مهمی در فرآیند اسمزی یا حفاظت از ماکرومولکول‌های خاص در هنگام از دست دادن آب (پسابیدگی یا دهیدراسیون) دارند. اما همیشه ارتباط مستقیم بین تجمع کربوهیدرات و تحمل به سرما وجود ندارد. (۱۱ و ۲۳). غشاءهای گیاهی به‌خصوص غشاء پلاسمایی، حساس‌ترین بخش در برابر سرما هستند. ترکیبات غشاء پلاسمایی از اواخر تابستان تا پاییز به شکل قابل توجهی تغییر می‌یابد، نتیجه این تغییرات حفاظت در برابر از دست دادن آب (دهیدراسیون)، آسیب اکسیداسیون و دیگر فرآیندهای تحت تأثیر تنش می‌باشد. یکی از مکانیزم‌های اولیه در برابر تنش سرما، انتقال یون‌ها در بین غشاءهای سلولی است که به‌دلیل ایجاد اختلال در سیستم انتقال H^+ و K^+ اتفاق می‌افتد (۵، ۱۲ و ۲۵). اولین آسیب دماهای زیر صفر تشکیل بلورهای یخ در آوندهای گیاه است. این بلورها به سرعت تمام شاخه‌های گیاه را در بر می‌گیرند، سپس یخ به فضای بین سلولی نفوذ کرده و باعث ایجاد تفاوت در فشار اسمزی درون و بیرون سلول می‌گردد و منجر به نشت آب از سلول می‌شود. فرآیند بازگشت از یخ‌زدگی (Freeze-thaw) در کنار تشکیل حباب‌های هوا در بافت آوندی به شکل قابل توجهی باعث ایجاد آسیب و از بین رفتن بخش هوایی گیاه می‌گردد (۲۳). دهیدراسیون یکی از مهم‌ترین تنش‌ها در سلول‌های یخ زده است که به‌دنبال آن افزایش غلظت مواد درون سلولی بیشتر از حد سمیت، رسوب پروتئین و تغییر در نفوذپذیری غشاء باعث کاهش حجم سلول و تغییر در pH آن می‌شود (۱۰).

درختان زیتون در مواجهه با سرما به دو روش اجتناب از تشکیل یخ در بافت‌ها (سوپرکولینگ) (Super-cooling) یا افزایش تحمل به سرما (مقاومت به سرما) عمل می‌کنند. سوپرکولینگ به‌عنوان یک مکانیزم مقاومت به سرما در بافت گیاهان مانند آوند چوبی، پارانشیم، جوانه برگ و گل اتفاق می‌افتد. در مقایسه با اکثر گیاهان در زیتون اغلب اندام‌ها از برگ تا ریشه از مکانیزم سوپرکولینگ برای مقاومت به سرما استفاده می‌کند (۹). اندام‌های زیتون مقاومت متفاوتی به سرما دارند. در مطالعات آزمایشگاهی مشخص شده است که مقاومت به سرما در اندام‌های مختلف زیتون از بیشترین به کمترین شامل، ریشه‌ها، برگ‌ها، شاخه‌ها و جوانه‌ها است. عوامل مختلفی در مقاومت به سرما دخالت دارند که شامل، زمان شروع رکود،

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-08-21]
[DOR: 20.1001.1.22518517.1394.5.16.8.9]
[DOI: 10.18869/acadpub.jcpp.5.16.85]

مقاومت جوانه‌ها به سرما، مقاومت ریشه، ارتباط بین مقاومت به سرما در سال جاری و فصل رشدی قبل، تأثیر مقدار محصول بر مقاومت به سرما، اثر مدیریت کشت و اسید آبسزیک در شروع مقاومت به سرما، می‌باشد (۱۰). مهم‌ترین علائم آسیب سرما شامل، نوک سوختگی شاخه‌ها و نوک برگ‌ها، کلروز و ریزش برگ‌ها، جدا شدن پوست روی شاخه‌ها و آسیب به جوانه‌ها و میوه‌ها است (۳).

چندین روش برای انتخاب ژنوتیپ‌های مقاوم استفاده می‌شود که شامل، بررسی تراکم روزنه‌ای، فعالیت فتوسنتزی، اندازه روزنه‌ها، آزادسازی ترکیبات فنولی، آنالیز تمایز دمایی و نشت یونی هستند (۲). فیورینو و مانکوزو (۹) چهار رقم زیتون را که از نظر مقاومت به سرما در سه سطح مقاوم، نیمه مقاوم و حساس قرار داشتند را با سه روش آنالیز تمایز دمایی، روش مشاهده‌ای در مزرعه و روش نشت یونی مورد مقایسه قرار دادند. مطالعات آنها نشان داد که نتایج حاصل از سه روش مورد مطالعه در سطح‌بندی ارقام از نظر مقاومت به سرما مشابه هم هستند. هم‌چنین تعیین متابولیزم کربوهیدرات و نشاسته به‌عنوان نشانگر مقاومت به سرما مورد بررسی قرار می‌گیرند. آزارلو و همکاران (۲) در آزمایشی ۲۱ رقم زیتون را از نظر مقاومت به سرما با سه روش Fractal analysis، Impedance spectroscopy و نشت یونی مورد بررسی قرار دادند. مقایسه این سه روش همبستگی خوبی در نتایج نشان داد زیرا هر سه روش ارقام را به یک شکل از نظر مقاومت به سرما تفکیک می‌کردند. اندازه‌گیری نشت یونی روشی ساده، سریع و تکرار پذیر در انتخاب ژنوتیپ‌های متحمل به سرما در زیتون می‌باشد (۳، ۴، ۹، ۱۶ و ۱۷) بارانکو و رویز (۳) هشت رقم زیتون را با استفاده از دو روش مشاهده مزرعه‌ای و نشت یونی مورد مقایسه قرار دادند. نتایج تحقیقات آنها نشان داد که روش نشت یونی یک روش معتبر برای ارزیابی تحمل به سرما در ارقام زیتون می‌باشد. اریس و همکاران (۸) در تحقیقات خود بر روی ۱۳ درخت زیتون، ابتدا با استفاده از روش نشت یونی مقدار LT50 را در درختان محاسبه کردند و سپس با نمونه‌برداری ماهانه از درختان طی دو سال مقدار قندهای محلول و فسفولیپیدهای آنها را تعیین کردند. نتایج تحقیقات آنها نشان داد که مقدار قندهای محلول در بافت‌های مورد آزمایش بسته به سطح مقاومت گیاه ابتدا افزایش و سپس کاهش یافته است.

تحقیق حاضر به‌منظور بررسی مقاومت به تنش سرما در برخی از ارقام تجاری زیتون با استفاده از اندازه‌گیری میزان نشت یونی و هم‌چنین مقدار کل قندهای محلول در بافت‌های برگ و پوست انجام شد. با توجه به سرمازدگی وسیع باغات زیتون در سال ۱۳۸۶ برخی از درختان زیتون در مزرعه فدک قم پس از آسیب سرما زنده ماندند. در این آزمایش این ارقام (فدک ۱-۸۷، فدک ۵-۸۷، فدک ۸۶ ، فدک ۷۷) در کنار سایر ارقام تجاری جهت تعیین میزان مقاومت آنها به سرما مورد آزمایش قرار گرفتند. نتایج این تحقیق منجر به تعیین حداقل دمای قابل تحمل برای ارقام مورد مطالعه و تعیین مناطق مناسب برای کشت آنها خواهد بود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

شاخه‌های دو ساله از ۱۰ رقم زیتون تجاری: زرد، ماری، فدک ۱-۸۷، فدک ۵-۸۷، فدک ۸۶ ، فدک ۷۷، آربکینا (Arbequina)، میشن (Mission)، بلیدی (Blady) و کوراتینا (Coratina) در دو سال متوالی (۱۳۹۰ و ۱۳۹۱) از درختان ۵ ساله در مزرعه فدک در جنوب شرقی شهر قم (طول جغرافیایی ۵۰ درجه و۵۵ دقیقه و عرض جغرافیایی ۳۴ درجه و ۳۵ دقیقه) برداشت شدند. نمونه‌برداری در دو فصل تابستان با میانگین حداکثر دمای $36^{\circ}C$ و زمستان با میانگین حداقل دمای $-3^{\circ}C$، در شرایط عدم سازگاری و سازگاری به سرما انجام شد. تجزیه داده‌های حاصل از اندازه‌گیری نشت یونی و قندهای محلول کل به‌صورت طرح فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی برای هر فصل به‌طور جداگانه انجام شد و سپس تجزیه مرکب برای چهار فصل صورت گرفت. جهت تعیین میزان نشت یونی از هر رقم

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-08-21]
[DOR: 20.1001.1.22518517.1394.5.16.8.9]
[DOI: 10.18869/acadpub.jcpp.5.16.85]

۴ درخت و ۳ شاخه در هر تیمار سرمایی انتخاب شد (یک درخت به‌عنوان شاهد) و جهت اندازه‌گیری قندهای محلول کل نیز از درختان مشابه (۳ درخت) نمونه‌برداری شد و شاخه‌ها پس از برداشت بلافاصله در جعبه‌های یخ قرار گرفتند و به آزمایشگاه منتقل شدند. جهت اندازه‌گیری قند کل، نمونه‌ها تا زمان آزمایش در دمای ۴°C نگهداری شدند.

روش انجام آزمایش

اندازه‌گیری نشت یونی

اندازه‌گیری میزان نشت یونی با استفاده از روش آرورا و همکاران (۱) با کمی تغییر انجام شد. قسمت میانی شاخه‌های دوساله به طول ۱۰–۱۵ cm، ابتدا در کاغذ مرطوب و سپس در ورق آلومینیومی پیچیده شدند و در فریزر با دمای قابل کنترل قرار گرفتند. دمای بافت گیاهی توسط ترموکوپل که در داخل ورق آلومینیوم قرار گرفته بود، اندازه‌گیری شد. تیمارهای دمایی شامل ۰، ۴–، ۸–، ۱۲–، ۱۶– و ۲۰– درجه سلسیوس بودند و هر۳ ساعت دما ۴ درجه سلسیوس کاهش می‌یافت. نمونه‌ها پس از هر تیمار سرمایی به یخچال با دمای ۴°C به‌مدت ۲۴ ساعت منتقل شدند تا بازگشت از تنش به آرامی در سلول‌ها انجام شود.

به‌منظور تعیین آسیب سرما در بافت‌های پوست و برگ، دیسک‌های برگی (به قطر ۱cm) از برگ‌های بالغ هر ۳ شاخه (تکرار) در هر تیمار سرمایی تهیه شدند. نمونه‌های پوست از قسمت میان‌گره شاخه‌ها (۱cm × ۱cm) از هر ۳ شاخه (تکرار) در هر تیمار سرمایی برداشت شدند. سپس دیسک‌های برگی و نمونه‌های پوست به آرامی در آب مقطر غوطه‌ور شده و با دستمال خشک شدند. سه دیسک برگی و سه نمونه پوست به‌طور جداگانه در فالکون‌های دردار قرار گرفتند و ۲۰ml آب مقطر به آنها اضافه شد. فالکون‌ها به‌مدت ۴ ساعت با دور ۲۵۰rpm روی شیکر قرار گرفتند، سپس هدایت الکتریکی اولیه محلول با استفاده از Conductivity Meter (Consort C860) اندازه‌گیری شد. دیسک‌های برگی و نمونه‌های پوست با استفاده از اتوکلاو در دمای ۱۲۰ درجه سلسیوس به‌مدت ۲۰ دقیقه کشته شدند و هدایت الکتریکی کل محلول پس از رسیدن به دمای اتاق اندازه‌گیری شد (تمام اندازه‌گیری‌ها ۳ بار تکرار شد). درصد آسیب سرما در هر تیمار سرمایی با استفاده از داده‌های حاصل از نشت یونی و فرمول زیر محاسبه شد (۱).

$$\% LT_{50} = [(\%L_{(t)} - \%L_{(C)} / (100 - \%L_{(C)}] \times 100$$

%L(t) و %L(c) به‌ترتیب درصد نشت یونی در نمونه‌های تحت تیمار و نمونه شاهد هستند. مقاومت به سرما که با LT50 معرفی می‌شود، دمای زیر صفر درجه است که در آن ۵۰٪ از آسیب سرما اتفاق می‌افتد.

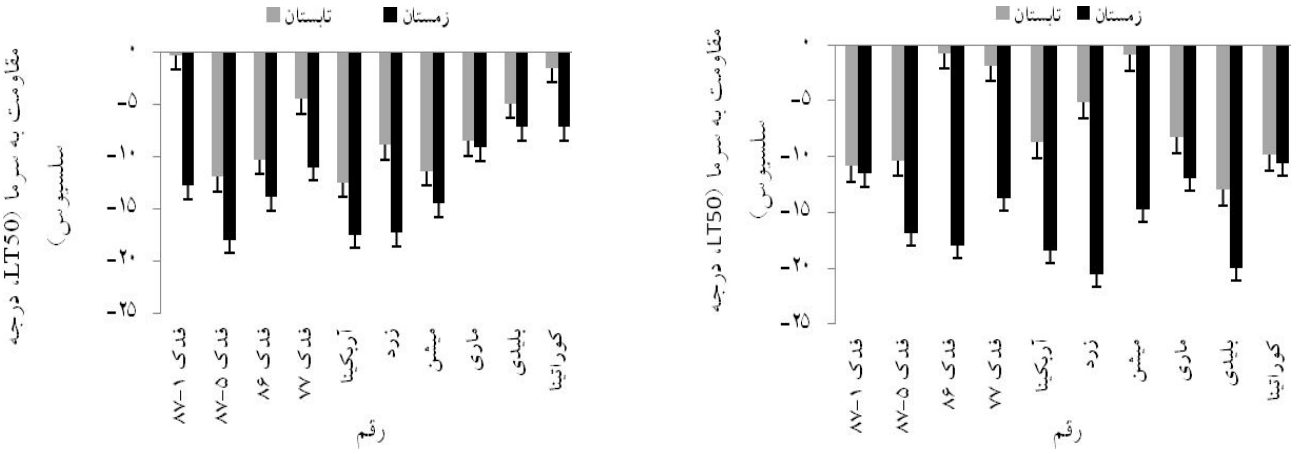
استخراج عصاره برای اندازه‌گیری قندهای محلول کل

۰/۵ گرم نمونه برگ منجمد شده با ۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵٪ در هاون چینی له گردید. محلول رویی از عصاره به‌دست آمده جمع‌آوری شد و عملیات استخراج بر روی رسوبات برگی باقی‌مانده طی دو مرحله شستشو با اتانول ۷۰٪ ادامه یافت. عصاره های الکلی جمع‌آوری شده به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴°C و سرعت ۳۵۰۰ rpm سانتریفیوژ گردید و تا زمان تعیین قندهای محلول کل، داخل لوله آزمایش درپوش‌دار در دمای ۴°C نگهداری شدند (۱۳).

استخراج میزان کربوهیدرات‌های محلول کل و تعیین میزان قند

۱۰۰ میکرولیتر از عصاره الکلی تهیه شده در لوله‌های آزمایش درپوش‌دار ۱۵ میلی‌لیتری ریخته شد و ۳ میلی‌لیتر معرف آنترون تازه (۱۵۰ میلی‌گرم آنترون خالص در ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۷۲٪ (w/w) به آرامی و در گرمای ملایم) آماده شده، به آن اضافه شد. سپس لوله‌های آزمایش به‌مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار داده شدند. پس از خنک شدن لوله‌های آزمایش، جذب نمونه‌ها (و استانداردها) در طول موج ۶۲۵ nm با دستگاه طیف سنج مرئی فرابنفش (Smart spect 3000, bio-rad company) قرائت گردید (۱۳).

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-08-21]
[DOR: 20.1001.1.22518517.1394.5.16.8.9]
[DOI: 10.18869/acadpub.jcpp.5.16.85]



شکل ۱. مقاومت به سرما (LT_{50}) در ده رقم زیتون مورد مطالعه در بافت های برگ (نمودار چپ) و پوست (نمودار راست) در دو سال متوالی. میله‌های روی هیستوگرام نشان‌دهنده SEM ± است.

تجزیه آماری با استفاده از نرم افزار SAS 9.1 و مقایسه میانگین توسط آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ با استفاده از نرم افزار MSTATC انجام شد.

نتایج و بحث

الگوی سالانه مقاومت به سرما

برگ: تغییرات سالانه مقاومت به سرما که به‌صورت LT50 معرفی می‌شود در ده رقم زیتون مورد مطالعه در شکل ۱ نمودار چپ، نشان داده شده است. مقاومت به سرما در برگ تمام ارقام مورد مطالعه در هر دو سال آزمایش در زمستان افزایش و در تابستان کاهش یافت (شکل ۱، نمودار چپ). اریس و همکاران (۸) در بررسی مقاومت به سرما در رقم *Olea europaea* L. Gemlik نشان دادند که مقدار LT50 حاصل از نشت یونی در فصل زمستان افزایش و در تابستان کاهش یافت. هم‌چنین در پژوهش دیگری در بررسی میزان مقاومت به سرما در ۹ رقم زیتون با استفاده از روش نشت یونی مشخص شد که مقدار LT50 در تمام ارقام مورد مطالعه در بافت برگ در فصل زمستان بیشتر از تابستان بود (۶). در تحقیق حاضر سازگاری به سرما باعث افزایش مقاومت (با کاهش LT50) در برگ تمام ارقام مورد مطالعه شد به‌طوری‌که ارقام زرد، فدک ۵-۸۷ و آربکینا بیشترین مقاومت (به‌ترتیب ۱۷/۳۴°C-، ۱۷/۹۹°C- و ۱۷/۵°C-) را در بین ارقام مورد مطالعه داشتند و بلیدی و کوراتینا کمترین مقاومت (به‌ترتیب ۷/۱۹°C- و ۷/۱۸°C-) را داشتند. در مقابل در فصل تابستان در هر دو سال آزمایش با توجه به عدم سازگاری ارقام به شرایط دمای پایین ارقام فدک ۵-۸۷، آربکینا و میشن بیشترین مقاومت (به‌ترتیب ۱۱/۹۷°C-، ۱۲/۵۶°C- و ۱۱/۴۱°C-) را داشتند و ارقام کوراتینا و فدک ۱-۸۷ کمترین مقاومت (به ترتیب ۰/۳۷°C- و ۱/۵۸°C-) را در این شرایط داشتند (شکل 1a). تأثیر سال بر LT50 بافت برگ در جدول ۱ نشان داده شده است.

پوست: تغییرات سالانه مقاومت به سرما (LT50) در بافت پوست ارقام مورد مطالعه در شکل ۱ نمودار راست، نشان داده شده است. مقاومت به سرما در بافت پوست در تمام ارقام مورد مطالعه در هر دو سال آزمایش در فصل زمستان بیشتر از تابستان بود. به‌طوری‌که ارقام زرد و بلیدی بیشترین مقاومت (به‌ترتیب ۲۰/۵°C- و ۲۰°C-) را داشتند و ارقام فدک ۱-۸۷ و کوراتینا کمترین مقاومت (به‌ترتیب ۱۱/۵۴°C- و ۱۰/۵۹°C-) را در فصل زمستان داشتند. در شرایط عدم سازگاری (تابستان) بیشترین مقاومت مربوط به رقم بلیدی (۱۲/۹۹-) و کمترین

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-08-21]
[DOR: 20.1001.1.22518517.1394.5.16.8.9]
[DOI: 10.18869/acadpub.jcpp.5.16.85]

جدول ۱. تجزیه مرکب ارقام زیتون در فصل زمستان و تابستان در سال‌های ۱۳۹۰ و۱۳۹۱ از نظر مقاومت به سرما (LT50)

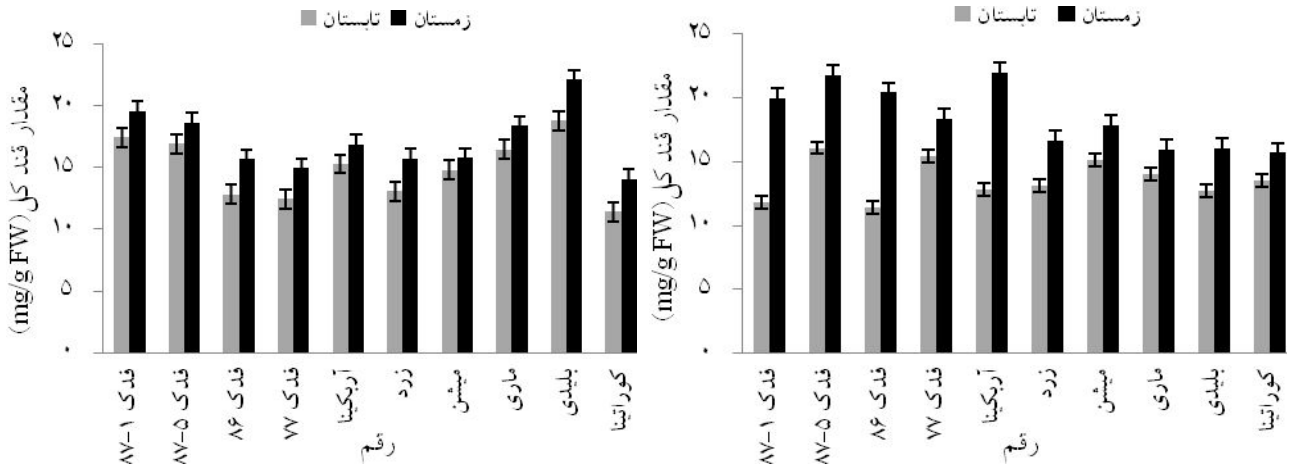
منابع تغییرات	درجه آزادی	پوست	برگ
سال	۱	۱۱/۵ ns	۱۰۰۰۰**
سال × تکرار	۴	۱۰۱ ns	۷۴/۱ ns
تیمار سرمایی	۵	۱۰۵۶۵**	۳۷۳۴۰**
سال × تیمار سرمایی	۵	۶۶۴**	۱۲۲۴**
رقم	۹	۱۱۳۹**	۱۳۲۱**
سال × رقم	۹	۲۴۵۳**	۱۶۹۶**
تیمار سرمایی × رقم	۴۵	۱۱۸ ns	۲۷۹**
سال × تیمار سرمایی × رقم	۴۵	۷۲/۱ ns	۲۵۴ ns
خطا	۵۹۶	۱۹۵	۲۳۴

**، * و ns: به‌ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال ۱٪ و ۵٪ و غیرمعنی‌دار

مقاومت مربوط به ارقام میشن و فدک ۸۶ (به‌ترتیب °C ۰/۹- و °C ۰/۷۱-) بود. تأثیر سال بر LT50 بافت پوست در فصول تابستان و زمستان در جدول ۱ نشان داده شده است.

توقف در رشد گیاه پیش نیاز سازگاری به سرما در گیاهان چوبی چند ساله است و بیشترین مقاومت به سرما در مرحله خواب درونی اتفاق می‌افتد. آرورا و همکاران (۱) گزارش کردند که حداکثر مقاومت به سرما در درختان همیشه سبز هلو که مرحله اندودورمانسی واقعی در آنها اتفاق نمی‌افتد، مشابه ارقام خزان‌دار هلو نمی‌باشد. از آنجا که در تحقیق حاضر مقاومت به سرما در ارقام زیتون مورد مطالعه به شکل قابل توجهی بالا بود، نشان می‌دهد که توقف در رشد نیاز قطعی برای سازگاری به سرما نیست، این نتایج مشابه با نتایج اریس و همکاران (۸) می‌باشد. هم‌چنین نتایج نشان می‌دهد که درخت زیتون مانند دیگر درختان چوبی قادر به تحمل حداکثر سرما (Super-cooling) است به این معنی که دارای مکانیزم اجتناب از یخ‌زدگی می‌باشد. با اینکه درخت زیتون بیشترین میزان مقاومت به سرما را در بین درختان نیمه گرمسیری دارا است اما ارقام مختلف آن به‌دلیل مقاومت متفاوت بافت‌ها و اندام‌ها، از نظر مقاومت به سرما واکنش متفاوتی دارند (۴). آزارلو و همکاران (۲) در تحقیق خود بر روی برخی ارقام زیتون از جمله فرانتویو (Frantoio)، لچینو (Leccino)، مورایولو (Moraiolo) و کوراتینا، نشان دادند که با کاهش دما در زمستان مقدار آسیب به بافت برگ و شاخه افزایش یافت. هم‌چنین درختان سازگارشده به دمای پایین نسبت به درختان ناسازگار تحمل بیشتری به سرما داشتند و مقدار LT50 شاخه‌ها کمتر از برگ‌ها بود. رقم کوراتینا با LT50 °C ۸/۱- حساس‌ترین رقم بود. مشتاقی و همکاران (۱۹) در آزمایشی ارقام دزفول، روغنی ریز، روغنی، تخم کبکی، درک، دهقان و زرد را تحت تنش سرما قرار دادند. نتایج حاصل از نشت یونی نشان داد که ارقام زرد و دهقان بیشترین مقاومت (به‌ترتیب °C ۸/۷- و °C ۱۲/۳-) را در بین ارقام مورد مطالعه داشتند. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که ارقام زرد، فدک ۵-۸۷ و آربکینا بیشترین مقاومت را در بافت‌های برگ و پوست در فصل زمستان در هر دو سال آزمایش داشتند، درحالی‌که ارقام کوراتینا و ماری کمترین مقاومت را در بافت‌های برگ و پوست در فصل زمستان در هر دو سال آزمایش نشان دادند (شکل ۱). فیورینو و مانکوزو (۹) در تحقیق خود نشان دادند که مقاومت به سرما در بافت‌های مختلف زیتون متفاوت است. هم‌چنین رقم کوراتینا با LT50 °C ۱۱/۲-، حساس‌ترین رقم نسبت به ارقام فرانتویو، لچینو و آسکولانا (Ascolana) بود. در آزمایش دیگری بر روی هشت

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-08-21]
[DOR: 20.1001.1.22518517.1394.5.16.8.9]
[DOI: 10.18869/acadpub.jcpp.5.16.85]



شکل ۲. میزان کربوهیدرات کل در ده رقم زیتون مورد مطالعه در بافت‌های برگ (نمودار چپ) و پوست (نمودار راست) در دو سال متوالی. میله‌های روی هیستوگرام نشان‌دهنده SEM ± است.

رقم زیتون مشخص شد که رقم آربکینا با LT50 ۱۱/۸°C- همراه با ارقام کورنیکابرا (Cornicabra) و پیکوآل (Picual) بیشترین مقاومت را به سرما نشان دادند. در تحقیق حاضر نیز رقم آربکینا به همراه رقم فدک ۵-۸۷، بیشترین مقاومت را از نظر بافت برگ در زمستان در دو سال آزمایش نشان دادند و رقم فدک ۵-۸۷ در فصل تابستان نیز بیشترین مقاومت را در بین ارقام مورد مطالعه داشت. با توجه به بالا بودن میزان مقاومت بافت برگ و پوست در فصل زمستان نسبت به فصل تابستان، می‌توان نتیجه گرفت که در ارقام مورد مطالعه مقاومت غشاءهای سلولی هم‌زمان با افزایش سازگاری به سرما، افزایش می‌یابد. اومورا و همکاران (۲۴) نشان دادند که هم‌زمان با افزایش سازگاری به سرما در شرایط طبیعی و آزمایشگاهی، حالات، ترکیبات، ساختار و عکس‌العمل غشاء پلاسمایی به‌منظور افزایش پایداری در برابر سرما، تغییر می‌یابد.

الگوی سالانه تغییرات قند کل

برگ: الگوی سالانه تغییرات قند کل در بافت برگ ده رقم زیتون مورد مطالعه در شکل ۲ نمودار چپ نشان داده شده است. مقدار قند کل در بافت برگ تمام ارقام مورد مطالعه در فصل زمستان بیشتر از تابستان بود (شکل ۲، نمودار چپ). گولن و همکاران (۱۱) در بررسی تغییرات الگوی کربوهیدرات در نه رقم زیتون نشان دادند که مقدار قند کل در بافت برگ در فصل تابستان در تمام ارقام کمتر از فصل زمستان بود. در تحقیق حاضر در فصل زمستان بیشترین مقدار قند کل مربوط به ارقام بلیدی، فدک ۱-۸۷ و فدک ۵- ۸۷ (به‌ترتیب ۲۲/۱mg/g، ۱۹/۵۷ و ۱۸/۶۶) بود. در فصل تابستان نیز بیشترین مقدار قند کل در بافت برگ مربوط به ارقام بلیدی، فدک ۱-۸۷ و فدک ۵-۸۷ و هم‌چنین رقم ماری با کمی اختلاف (۱۰۰ به‌ترتیب، ۱۸/۷۷mg/g، ۱۷/۴۳، ۱۶/۹ و ۱۶/۴۶) بود. کمترین مقدار قند کل در فصل زمستان و تابستان مربوط به ارقام کوراتینا، فدک ۷۷ و فدک ۸۶ بود(شکل ۲، نمودار چپ). تأثیر سال بر مقدار قند کل بافت برگ در ارقام مورد مطالعه در فصل زمستان و تابستان در جدول ۲ نشان داده شده است.

پوست: الگوی سالانه تغییرات قند کل در بافت پوست ارقام مورد مطالعه در شکل ۲، نمودار راست، نشان داده شده است. به‌طورکلی مقدار قند کل در بافت پوست ده رقم مورد مطالعه در فصل زمستان بیشتر از تابستان بود. در تحقیقی که توسط اریس و همکاران(۸) در رقم *Olea Europaea* L. Gemlik انجام شد، مقدار قند کل در بافت برگ و پوست در فصل

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-08-21]
[DOR: 20.1001.1.22518517.1394.5.16.8.9]
[DOI: 10.18869/acadpub.jcpp.5.16.85]

جدول ۲. تجزیه مرکب ارقام زیتون در فصل زمستان و تابستان در سال‌های ۱۳۹۰ و۱۳۹۱ از نظر مقدار کربوهیدرات کل

منابع تغییرات	درجه آزادی	پوست	برگ
سال	۱	۳۰۶**	۲۸۷**
سال × تکرار	۴	۳۱/۸۳ns	۳۲/۷۹ns
رقم	۹	۲۴/۲۹ns	۲۶/۷۵ns
سال × رقم	۹	۳۳/۸۱ns	۲۴/۰۴ns
خطا	۹۶	۳۱/۳۶	۲۲/۱۸

** و ns: به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ و غیرمعنی‌دار

زمستان بیشتر از تابستان بود اما بافت پوست نسبت به بافت برگ تفاوت قابل توجهی از نظر مقدار قند کل نداشت. در این تحقیق ارقام آربکینا، فدک ۵-۸۷ و فدک ۱-۸۷ بیشترین مقدار (به‌ترتیب ۲۱/۹۹mg/g، ۲۱/۷۵ و ۱۹/۹۹) قند کل را در فصل زمستان داشتند. درحالی‌که ارقام کوراتینا، ماری و بلیدی (به‌ترتیب mg/g ۱۵/۶۹، ۱۵/۹۶ و ۱۶/۰۸) کمترین مقدار قند کل را در فصل تابستان داشتند (شکل ۲، نمودار راست). در فصل تابستان بیشترین مقدار قند کل در بافت پوست مربوط به ارقام فدک ۵-۸۷، فدک۷۷ و میشن (به‌ترتیب mg/g ۱۶/۰۸، ۱۵/۴۴ و ۱۵/۰۹) بود. درحالی‌که ارقام فدک ۸۶، فدک ۱-۸۷ و بلیدی (به‌ترتیب ۱۱/۴۲mg/g، ۱۱/۷۸ و ۱۲/۷۳) کمترین مقدار قند کل را در فصل تابستان دارا بودند (شکل ۲، نمودار راست). اثر سال بر مقدار قندکل در بافت پوست در جدول ۲ نشان داده شده است.

قندهای محلول به‌عنوان ترکیبات اصلی در افزایش مقاومت به سرما شناخته می‌شوند. افزایش در مقدار قندهای محلول در زمستان بخشی از مکانیزم سازگاری گیاه به سرما است (۵، ۸ و ۲۱). بارتولوزی و همکاران (۵) در تحقیقی غلظت‌های مختلف کربوهیدرات را در دو حالت مختلف سازگاری و عدم سازگاری به سرما در رقم مورایولو مورد استفاده قرار دادند. نتایج تحقیق آنها نشان داد که مقدار ساکارز در نمونه‌های سازگار شده به سرما بیشتر از نمونه‌های ناسازگار بود، هم‌چنین نمونه‌های مقاوم مقدار قند بیشتری از نمونه‌های حساس داشتند. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که رقم فدک ۵-۸۷ بیشترین مقدار قند کل را در بافت‌های برگ و پوست در فصول تابستان و زمستان در هر دو سال آزمایش داشت. هم‌چنین رقم آربکینا نیز از نظر مقدار قند کل در فصل زمستان در دو سال آزمایش در بین ارقامی با مقدار قند بالا قرار گرفت، اما رقم زرد جزء ارقام با مقدار قند کل متوسط بود. رقم کوراتینا از این نظر جزء ارقام با مقدار قند کم و متوسط از نظر بافت برگ و پوست بود و رقم ماری در بین ارقام با مقدار قند متوسط قرار داشت (شکل ۲). جاکوبسن و همکاران (۱۴) گزارش کردند که تنوع در میزان تحمل به سرما به دلیل اختلاف در مقدار قندهای محلول است زیرا این ترکیبات باعث حفاظت از ساختار سلولی در مواجهه با تنش سرما می‌شوند. در این تحقیق نیز افزایش مقاومت به سرما همراه با افزایش در میزان قند کل بود و تفاوت در میزان مقاومت به سرما در ارقام مختلف در ارتباط با تفاوت توانایی این ارقام در تجمع قندهای محلول بود. به‌طوری‌که ارقام با میزان مقاومت بالاتر (زرد، فدک۵-۸۷ و آربکینا) مقدار قند کل بیشتری در مقایسه با ارقام حساس (کوراتینا و ماری) در بافت‌های پوست و برگ داشتند.

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج دو آزمایش نشت یونی و اندازه‌گیری مقدار کربوهیدرات محلول کل می‌توان ارقام مورد مطالعه را به سه گروه از نظر مقاومت به سرما تقسیم کرد: ارقام متحمل به سرما، زرد، فدک۵-۸۷ و آربکینا؛ ارقام نیمه متحمل، فدک۱-۸۷، فدک۸۶، فدک۷۷، میشن و بلیدی؛ ارقام حساس به سرما،

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-08-21]
[DOR: 20.1001.1.22518517.1394.5.16.8.9]
[DOI: 10.18869/acadpub.jcpp.5.16.85]

کوراتینا و ماری. نتایج این آزمایش نشان داد که ارقام فدک ۱-۸۷، فدک۵-۸۷، فدک۸۶، فدک۷۷ که در زمستان سال ۱۳۸۶ به سرما مقاومت نشان دادند در این آزمایش نیز از جمله ارقام متحمل و نیمه متحمل بودند. با بررسی الگوی تغییرات سالانه حداقل دما در مناطق مناسب برای کاشت زیتون در کشور و با توجه به انتظاری که از رقم مورد کشت داریم، می‌توان این ارقام را جهت کاشت در مناطق مختلف کشور توصیه کرد. هم‌چنین لازم است که بررسی میزان مقاومت به سرما در دیگر ارقام مهم تجاری کشور نیز انجام شود. با استفاده از روش‌های مولکولی و بررسی ژن‌های مقاومت به سرما در ارقام مورد مطالعه، می‌توان روشی سریع را برای غربال ارقام زیتون از نظر مقاومت به سرما یافت.

سپاسگزاری

مواد گیاهی مورد استفاده در این پژوهش از مزرعه فدک واقع در استان قم تأمین شد که بدین‌وسیله از ایشان تشکر می‌شود. از دانشگاه تربیت مدرس جهت فراهم سازی تسهیلات آزمایش و هم‌چنین از کمک‌های علمی و فنی آقایان مهندس دهقانی و خالقی دانشجویان سابق دکتری گروه علوم باغبانی دانشگاه تربیت مدرس، تشکر می‌شود.

منابع مورد استفاده

1. Arrora, R., M. E. Wisniewski, R. Scorza. 1992. Cold acclimation in genetically related (sibling) deciduous and evergreen peach (*Prunus persica* [L.] Batsch). *Plant Physiology* 99: 1562-1568.
2. Azzarello, E., S. Mugnai, C. Pandolfi, E. Masi, E. Marone, S. Mancuso. 2009. Comparing image (fractal analysis) and electrochemical (impedence spectroscopy and electrolyte leakage) techniques for the assessment of the freezing tolerance in olive. *Trees* 23: 159-167.
3. Barranco, D., N. Ruiz, M. Gomez-del-Campo. 2005. Frost tolerance of eight olive cultivars. *Horticultural Science* 40: 558-560.
4. Bartolozzi, F. and G. Fontanazza. 1999. Assessment of frost tolerance in olive (*Olea europaea* L.). *Science Horticulturae-Amsterdam* 81: 309-319.
5. Bartolozzi, F., M. Mencuccini, G. Fontanazza. 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.
6. Cansev, A. and A. Gulen Hand Eris. 2009. Cold-hardiness of olive (*Olea europaea* L.) cultivars in cold-acclimated and non-acclimated stages: seasonal alteration of antioxidative enzymes and dehydrin-like proteins. *Journal of Agricultural Science* 147: 51-61.
7. Erikson, M. E. and A. A. R. Webb. 2011. Plant cell responses to cold are all about timing. *Plant Biology* 14: 731-737.
8. Eris, A., H. Gulen, E. Barut, A. Cansev. 2007. Annual patterns of total soluble sugars and proteins related to cold-hardiness in olive (*Olea europaea* L. 'Gemlik'). *Journal of Horticultural Science & Biotechnology* 82: 597-604.
9. Fiorino, P. and S. Mancuso. 2000. Differential thermal analysis, supercooling and cell viability in organs of *Olea europaea* at subzero temperatures. *Advances in Horticultural Science* 14: 23-27.
10. Gomez-del-Campo, M. and D. Barranco. 2005. Field evaluation of frost tolerance in 10 olive cultivars. *Plant Genetic Resources* 3: 385-390.
11. Gulen, H., A. Cansev, A. Eris. 2009. Cold hardiness of olive (*Olea europaea* L.) cultivars in cold-acclimated and non-acclimated stages: seasonal alteration of soluble sugars and phospholipids. *Journal of Agricultural Science* 147: 459-467.
12. Gusta, L. V. and M. Wisniewski. 2013. Understanding plant cold hardiness: an opinion. *Physiologia Plantarum* 147: 4-14.
13. Irigoyen J. J., D. W. Emerich, M. Sanchez-Diaz. 1992. Water stress induced changes in concentration of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Physiologia Plantarum* 84: 55-60.
14. Jacobsen, S. E., J. L. Huber, S. C. Huber. 1992. Sucrose phosphate synthase and sucrose accumulation at low temperature. *Plant Physiology* 100: 502-508.
15. Janska, A., P. Marsil, S. Zelenkova, J. Ovesna. 2010. Cold stress and acclimation-what is important for metabolic adjustment? *Plant Biology* 12: 395-405.
16. La Porta, N., M. Zacchini, S. Bartolini, R. Viti, G. Roselli. 1994. The frost hardiness of some clones of olive cv. Leccino. *Journal of Horticultural Science* 69: 433-435.

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-08-21]
[DOR: 20.1001.1.22518517.1394.5.16.8.9]
[DOI: 10.18869/acadpub.jcpp.5.16.85]

17. 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.
18. Matteucci, M., S. D´ Angeli, S. Errico, R. Lamanna, G. Perrotta, M. M. Altamura. 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.
19. Moshtaghi, E. A., A. R. Shahsavar, M. R. Taslimpour. 2009. Ionic leakage as indicators of cold hardiness in olive (*Olea europaea* L.). *World Applied Science Journal* 7: 1308-1310.
20. Poirier, M., A. Lacointe, T. Ameglio. 2010. A semi-physiological model of cold hardening and dehardening in walnut stem. *Tree Physiology* 30: 1555-1569.
21. Proietti, P. and F. Famiani. 2002. Diurnal and seasonal changes in photosynthetic characteristics in different olive (*Olea europaea* L.) cultivars. *Photosynthetica* 40: 171-176.
22. Ruiz, N., D. Barranco, H. F. Rapoport. 2006. Anatomical response of olive (*Olea europaea* L.) to freezing temperatures. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology* 81: 783-790.
23. Schreiber, S. G., A. Hamann, U. G. Hacke, B. R. Thomas. 2013. Sixteen years of winter stress: an assessment of cold hardiness, growth performance and survival of hybrid poplar clones at a boreal planting site. *Plant, Cell and Environment* 36: 419-429.
24. Uemura, M., Y. Tominaga, C. Nakagawara, S. Shigematsu, A. Minami, Y. Kawamura. 2006. Responses of the plasma membrane to low temperatures. *Physiologia Plantarum* 126: 81-89.
25. Uemura, M. and J. F. Hausman. 2013. Plant strategies for survival in changing environment. *Physiologia Plantarum* 147: 1-3.

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-08-21]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1394.5.16.8.9]

[DOI: 10.18869/acadpub.jcpp.5.16.85]