

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه صنعتی شاهرود
دانشکده کشاورزی

گروه علوم باغبانی و گیاهپزشکی

پایان نامه کارشناسی ارشد

مهندسی علوم باغبانی (گرایش درختان میوه)

ارزیابی مقاومت به سرمازدگی زمستانه چند رقم زیتون

در شرایط کنترل شده دمایی

نگارنده:

مرضیه وفادار

استاد راهنما

دکتر مهدی رضایی

مهر ۱۴۰۰

تقدیم به

خانواده ام

به ویژه پدر و مادر مهربانم

به پاس تعبیر عظیم و انسانی شان از کلمه ایثار و از خودگذشتگی شان

به پاس حافظه سرشار و گرمای امید بخش وجودشان که در این سردترین روزگار ان بهترین پشتیبان است.

به پاس قلب های بزرگشان که فریادس است و سرگردانی و ترس در پناه شان به شجاعت می گراید.

به پاس محبت های بی دریغشان که هرگز فروکش نمی کند.

شکر و قدردانی

اکنون که با لطف و عنایت خداوند متان، نخواست این پایان نامه به پایان رسید بر خود لازم می دانم که از زحمات، حمایت و تشویق های افراد بزرگوار که در تحقق این امر مروری نمودند شکر نمایم. در ابتدای امر، خداوند را تسکرم که لطف او شامل حال من شد تا دریچه ای از علم بر من گشوده شود. پس از استاد عزیزم جناب آقای دکتر مهدی رضایی نهایت پاس و قدردانی را دارم که بی وقفه بر راهنمایی من تلاش نمودند. ایشان بر تمام مزاحمت های من صبری نمودند و بی دریغ پاسخ گوی پرسش های من در تمامی ایام سال و اوقات شبانه روز بودند. از خداوند برای ایشان بهترین جایگاه را خواستارم.

همچنین از سایر اساتید محترم گروه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود نهایت شکر را دارم هم اکنون فرصتی است معتنم تا از محبت و دلگرمی های تمامی دوستان که در این مدت بسیار من بوده اند به ویژه همکلاسی های خوبم و کلیه دوستانی که در این دوره تحصیلی افتخار آشنایی با ایشان را داشته ام شکر و قدردانی نمایم. بهواره روزیایی سرشار از سربلندی، موفقیت و سلامتی را برایشان آرزو مندم.

مرضیه وفادار

چکیده

یکی از عوامل محدودکننده کاشت درخت زیتون (*Olea europaea* L.) در مناطق معتدله و سردسیر، مقاومت کم به دمای پایین در فصل زمستان است. در سال های اخیر به علت افزایش تقاضا برای روغن و میوه زیتون، کاشت درخت زیتون در ایران گسترش یافته است. ارقام مختلف زیتون واکنش های متفاوتی نسبت به سرما دارند و بنابراین انتخاب ارقام مقاوم، موثرترین روش برای اجتناب از خسارات سرما به شمار می رود. در این پژوهش میزان مقاومت به سرما ۱۰ رقم زیتون (میشن، رشید، شنگه، ابوسطل، مانزانیلا، کاوی، درصلانی، زرد، روغنی و لوک) از طریق ارزیابی مزرعه ای درختان پس از سرمازدگی طبیعی و ارزیابی شاخه ها در حال رکود تحت شرایط دمایی کنترل شده مورد بررسی قرار گرفت. ارزیابی مزرعه ای پس از وقوع سرمای شدید (دمای ۱۰- درجه سانتی گراد) در آذر ماه ۱۳۹۵ در ۲۴ درخت از هر یک از ۱۰ رقم موجود در بخش باغ سازگاری مزرعه آستان قدس لاسجرد به صورت طرح بلوک تصادفی و سه تکرار انجام شد. ارزیابی در شرایط دمایی کنترل شده در غالب آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی اجرا شد. فاکتورها شامل ۱۰ رقم زیتون، سه مرحله رشدی قبل از رکود، زمان رکود و بعد از رکود منطبق با ماه های آذر، بهمن و اسفند و هشت تیمار سرما ۰، ۳-، ۶-، ۹-، ۱۲-، ۱۵-، ۱۸- و ۲۱- بود. در این بررسی، درختان بر اساس میزان خسارت وارده (میزان خسارت به تنه و رشد مجدد) امتیازدهی و طبقه بندی شدند. در نهایت نتایج نشان داد که رقم روغنی با کمترین میزان خسارت به تنه و بیشترین رشد مجدد، به عنوان مقاوم ترین رقم در بین ارقام مورد ارزیابی است. همچنین در روش ارزیابی در دمای کنترل شده مشخص گردید که رقم روغنی در ماه بهمن متحمل ترین و رقم ابوسطل در ماه آذر حساس ترین به تنش یخ زدگی بودند. بین پرولین برگ با پرولین ساقه و کربوهیدرات برگ و ساقه همبستگی معنی داری دیده شد. رقم زرد در برداشت ماه بهمن الگوی رفتاری مشابهی را برای صفت پرولین برگ و ساقه نشان داد. همچنین رقم زرد در برداشت ماه بهمن بیشترین کربوهیدرات ساقه و برگ را به خود اختصاص داد. نتایج سازگاری درختان نشان داد رقم روغنی حداکثر عملکرد میوه در بین ده رقم پس ۵ سال از سرمازدگی را دارد.

کلمات کلیدی: روغنی، میشن، پرولین، LT₅₀، تترازولیوم، نشت یونی، سرمازدگی

فهرست مطالب

۱	فصل ۱: مقدمه
۲	۱-۱ مقدمه
۵	فصل ۲ کلیات و بررسی منابع
۶	۲-۱ تاریخچه و منشأ زیتون
۶	۲-۲ گیاه‌شناسی زیتون
۸	۲-۳ سطح زیر کشت زیتون در ایران و جهان
۸	۲-۴ میزان تولید زیتون در ایران و جهان
۸	۲-۵ ارقام مهم تجاری زیتون در ایران
۹	۲-۶ مفهوم تنش
۱۱	۲-۷ تنش درجه حرارت های پایین
۱۲	۲-۸ انواع تنش در دماهای پایین
۱۳	۲-۹ اثرات دماهای پایین بر گیاهان
۱۶	۲-۱۰ مکانیسم های خسارت در دماهای پایین
۱۷	۲-۱۱ دمای انجماد
۱۹	۲-۱۳ مکانیسم های مقابله با سرما و یخ‌زدگی در گیاهان
۲۲	۲-۱۴ سازگاری به سرما در گیاهان
۲۲	۲-۱۵ تغییرات متابولیسمی طی سازگاری به سرما

۲-۱۶ ارزیابی خسارات ناشی از وقوع دماهای پایین ۲۳

۲-۱۶-۱ نشت یونی ۲۴

۲-۱۶-۲ کربوهیدرات های محلول ۲۵

۲-۱۶-۳ پرولین ۲۶

۱۷-۲ روش های مقابله با سرما و یخزدگی در گیاهان ۲۷

۲-۱۷-۱ روش های کوتاه مدت (فعال) ۲۸

۲-۱۷-۲ روش های بلندمدت (غیرفعال) ۳۰

۱۸-۲ مروری بر تحقیقات انجام شده ۳۲

فصل ۳ مواد و روش ها ۳۹

۱-۳ محل آزمایش ۴۰

۲-۳ ارزیابی شاخه ها در حالت رکود در شرایط کنترل شده دمایی ۴۲

۳-۳ فاکتورهای اندازه گیری شده : ۴۲

۱-۳-۳ اندازه گیری نشت یونی ۴۲

۲-۳-۳ سنجش میزان درصد بافت های مرده به روش تست تترازولیوم ۴۴

۳-۳-۳ میزان پرولین ۴۵

۳-۳-۴ اندازه گیری هیدرات کربن محلول به روش فنول سولفوریک اسید ۴۶

۴-۳ آنالیز آماری ۴۶

فصل ۴ نتایج و بحث ۴۷

۴-۱ نشت یونی (LT_{50}) ۴۸

۴-۲، LT_{50} تترازولیوم ۵۲

۳-۴	پرولین برگ و ساقه	۵۵
۴-۴	کربوهیدارت برگ و ساقه	۶۰
۵-۴	ارزیابی مزرعه ای	۶۵
۶-۴	درصد خسارت تنه	۶۶
۷-۴	رشد مجدد	۶۹
۸-۴	تعداد میوه	۷۲
۹-۴	وزن میوه	۷۳
۴-۱۰	عملکرد میوه	۷۴

فهرست شکل‌ها

صفحه

عنوان

- شکل ۱-۲- ویژگی‌های ظاهری برگ و گل در درخت زیتون ۸
- شکل ۲-۲: انواع تنش‌های محیطی (Levitt, 1980) ۱۱
- شکل ۲-۳: خصوصیات مختلف رشد، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی متأثر از درجه حرارت‌های پایین در گیاهان (Levitt, 1980) ۱۴
- شکل ۱-۴ موقعیت جغرافیایی باغ ۲۹۵ هکتاری زیتون ۴۱
- شکل ۱-۳ رنگ‌پذیری بافت آبکش نمونه‌ها در مجاورت تترازولیوم ۴۲
- شکل ۱-۴- میزان مقاومت به سرمای زمستانه بر اساس LT50 نشت یونی در ۱۰ رقم زیتون ۴۵
- شکل ۲-۴- میزان مقاومت به سرمای زمستانه بر اساس LT50 نشت یونی در ۱۰ رقم زیتون در ماه‌های سال ۵۲
- شکل ۳-۴- میزان مقاومت به سرمای زمستانه بر اساس LT50 تترازولیوم در ماه‌های سال ۵۲
- شکل ۴-۴- میزان مقاومت به سرمای زمستانه بر اساس LT50 تترازولیوم در ۱۰ رقم زیتون ۵۳
- شکل ۵-۴- میزان مقاومت به سرمای زمستانه بر اساس LT50 تترازولیوم در ۱۰ رقم زیتون در ماه‌های سال ۵۵
- شکل ۶-۴- مقایسه میانگین پرولین برگ زیتون در برداشت‌های مختلف ۵۵
- شکل ۷-۴- مقایسه میانگین پرولین برگ در ۱۰ رقم زیتون ۵۷
- شکل ۸-۴- مقایسه میانگین برهمکنش پرولین برگ ارقام زیتون در برداشت‌های مختلف ۵۹
- شکل ۹-۴- مقایسه میانگین پرولین ساقه زیتون در برداشت‌های مختلف ۵۹
- شکل ۱۰-۴- مقایسه میانگین پرولین ساقه در ۱۰ رقم زیتون ۶۰
- شکل ۱۱-۴- مقایسه میانگین برهمکنش پرولین ساقه ارقام زیتون در برداشت‌های مختلف ۶۰
- شکل ۱۲-۴- مقایسه میانگین کربوهیدرات برگ زیتون در برداشت‌های مختلف ۶۱
- شکل ۱۳-۴- مقایسه میانگین کربوهیدرات برگ در ۱۰ رقم زیتون ۶۳
- شکل ۱۴-۴- مقایسه میانگین میزان کربوهیدرات برگ ارقام زیتون در ماه‌های مختلف ۶۴
- شکل ۱۵-۴- مقایسه میانگین کربوهیدرات ساقه زیتون در برداشت‌های مختلف ۶۴

- شکل ۴-۱۶- مقایسه میانگین کربوهیدرات ساقه در ۱۰ رقم زیتون ۶۵
- شکل ۴-۱۷- مقایسه میانگین برهمکنش کربوهیدرات ساقه ارقام زیتون در برداشت های مختلف .. ۶۵
- شکل ۴-۱۸- نتایج ارزیابی درصد خسارت تنه در ۱۰ رقم زیتون پس از سرمازدگی زمستان ۱۳۹۵ در منطقه سرخه ۶۸
- شکل ۴-۱۹ و ۴-۲۰- ارقام روغنی و زرد با کمترین میزان خسارت تنه (عکس : نگارنده) ۶۹
- شکل ۴-۲۱- رقم کاوی بدون خسارت (عکس: نگارنده)..... ۷۰
- شکل ۴-۲۲ رقم روغنی (تصویر نگارنده) ۷۱
- شکل ۴-۲۴ رقم مانزانیلا (تصویر نگارنده) ۷۱
- شکل ۴-۲۲ مقایسه میانگین رشد مجدد تنه در ۱۰ رقم زیتون به صورت کیفی (کد دهی ۱ تا ۹: ... ۷۲
- شکل ۴-۲۳- ارقام میشن و لوک با خسارت ۱۰۰٪ (از بین رفتن تمام تنه، شاخه ها، برگ ها و ...) و ایجاد پاجوش در رشد مجدد (عکس: نگارنده) ۷۲
- شکل ۴-۲۴ مقایسه میانگین تعداد میوه در ۱۰ رقم زیتون ۷۴
- شکل ۴-۲۵ مقایسه میانگین وزن میوه در ۱۰ رقم زیتون ۷۵
- شکل ۴-۲۶ مقایسه میانگین عملکرد میوه در ۱۰ رقم زیتون ۷۶

فهرست جداول

عنوان

صفحه

جدول ۱-۴ نتایج تجزیه واریانس LT50 اثر سرمازدگی زمستانه بر ۱۰ رقم زیتون.....	۵۱
جدول ۲-۴ نتایج تجزیه واریانس پرولین و کربوهیدرات اثر سرمازدگی زمستانه بر ۱۰ رقم زیتون.....	۵۷
جدول ۳-۴ نتایج همبستگی پرولین، کربوهیدرات، نشت یونی و تترازولیوم اثر سرمازدگی زمستانه بر ۱۰ رقم زیتون.....	۶۶
جدول ۴-۴ نتایج تجزیه واریانس خسارت تنه و رشد مجدد در ۱۰ رقم زیتون.....	۶۷
جدول ۵-۴ نتایج تجزیه واریانس عملکرد و اجزای عملکرد در ۱۰ رقم زیتون.....	۷۳

فصل ۱ :مقدمه

کشت زیتون در ایران سابقه‌ای طولانی دارد و این گیاه به صورت باغ و یا پراکنده و تک‌درخت در مناطق متعددی از کشور یافت می‌شود (مقصودی، ۱۳۸۴). توسعه کشت زیتون در مناطقی از ایران که شرایط مناسب برای پرورش این گیاه را دارند، از جمله در استان‌های مازندران، قم، گلستان، ایلام، کهگیلویه، فارس، مرکزی، اصفهان و لرستان مورد توجه قرار گرفته است (مقصودی، ۱۳۸۴). یکی از عوامل مهم محدودکننده رشد و یا آسیب‌رسانی به درختان زیتون در حال رشد، درجه حرارت‌های پائین در پائیز، زمستان و اوایل بهار است. هنگامی که درجه حرارت در زمستان به ۱۰ - سانتی‌گراد می‌رسد آسیب وارده به بخش‌های هوایی باغ‌های زیتون بعضاً شدید و کاملاً قابل مشاهده است که برای تولیدکنندگان زیتون بسیار پرهزینه می‌باشد (Bartolozzi and fontanazza, 1999).

تحمل درخت زیتون به دمای پایین بسته به رقم و سن درخت متغیر است. نهال‌های جوان نسبت به درختان مسن و بارده به سرما بسیار حساس‌ترند، بطوری که این نهال‌ها در سرمای صفر درجه سانتی‌گراد بسیار آسیب می‌بینند، اما درختان مسن تا ۱۲ - درجه سانتی‌گراد مشروط بر اینکه طول دوره یخبندان زیاد نباشد مقاوم هستند (همتی، ۱۳۷۳). جهت جلوگیری از خسارات ناشی از تنش سرما انتخاب ارقام مقاوم و یا استفاده از روش‌های ایجاد مقاومت ضروری است (Bartolozzi and fontanazza, 1999). استفاده از ارقام مقاوم یکی از راهکارهای منطقی و کم‌هزینه برای تولید پایدار محصول می‌باشد. به همین دلیل غربالگری ارقام بر اساس مقاومت به سرما، شناخت مکانیسم‌های دخیل در آن و همچنین استفاده از روش‌های ایجاد مقاومت، اولویت‌های مهم در برنامه‌های به‌زراعی و به‌نژادی محصولات در مناطق سردسیر به شمار می‌آیند.

ارزش زیتون

برای زیتون خواص بسیاری در حوزه‌های مختلف تغذیه، اقتصاد، سلامت و بهداشت نقل شده اما به طور کلی اهمیت این محصول پر خاصیت را می توان در ۳ جمله خلاصه کرد

- نقش روغن زیتون در تامین امنیت سلامت جامعه
- ایجاد اشتغال مولد به صورت مستقیم و غیر مستقیم
- اهمیت در حفظ منابع آب و خاک و محیط زیست پایدار

به دلیل ارزش اقتصادی این محصول، در سال‌های اخیر توجه خاصی به افزایش سطح کشت، کیفیت میوه و روغن این محصول شده است.

ایران تا سال ۱۳۹۰ شمسی رتبه ۲۰ تا ۲۲ جهان در تولید این محصول را داشته که از سال ۱۳۹۲ به بعد مقام یازدهم را به خود اختصاص داد. در سال ۱۳۹۴ میزان تولید ۹۹۶۰۰ تن در هکتار بوده که این مقدار در سال ۱۳۹۵ به دلیل سرمای شدید در آذر ۱۳۹۵ و وقوع خسارت شدید در باغات زیتون به ۹۱۱۰۰ تن در هکتار کاهش یافت. همچنین سرمای سال ۱۳۹۵ منجر به ایجاد خسارت معادل ۱۹۰۰ میلیون ریال به تمامی باغات استان سمنان شد که سهم باغات زیتون در این سال معادل ۴۰ میلیارد ریال بود .

با توجه به ارزش غذایی بالای این محصول و سهم بالای این محصول و فراورده‌های آن در اقتصاد کشور، به کارگیری روش‌های پیشگیری از وقوع خسارت در این محصول لازم و ضروری به نظر می رسد

روش‌های متعدد ارزیابی تحمل به سرما از قبیل اندازه‌گیری نشت یونی، آزمون رنگ‌آمیزی تترازولیوم، آزمون سبز شدن جوانه و آزمون قهوه‌ای شدن اکسایشی برای تخمین صدمات وارد شده در اثر دمای پایین به برگ، جوانه و شاخه درختان میوه استفاده می‌شود (عبادی و همکاران، ۱۳۹۲) .

تحمل به یخزدگی در درختان میوه با استفاده از شاخص LT_{50} نیز تعیین می‌شود (Zabadal et al, 2007). پژوهش‌های متعددی در خصوص ارزیابی تحمل به سرمای برخی ارقام زیتون صورت گرفته است که از جمله آن‌ها می‌توان به Eris et al (2007) که با بررسی نشت یونی و اگزوترم دوازده رقم زیتون، سیم‌کش زاده و همکاران (۱۳۸۸) که با اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل و آسیب‌های ظاهری در پانزده رقم زیتون، Aslmoshtaghi et al (۲۰۰۹) با مطالعه نشت یونی و دمای انجماد کشنده در هفت رقم زیتون، محمدیان و همکاران (۱۳۹۱) با سنجش میزان پروتئین کل، پراکسیداسیون لیپید و محتوای کلروفیل در دو رقم زیتون Barranco et al (۲۰۰۵) با ارزیابی رابطه بین اطلاعات آزمایشگاهی تحمل به سرمای برگ‌های زیتون و مشاهدات مزرعه‌ای در شرایط یخزدگی طبیعی در هشت رقم زیتون، اشاره نمود.

علیرغم اهمیت سرما در رابطه با پرورش درختان زیتون، غالب پژوهش‌های انجام‌شده روی ارزیابی تحمل به سرما در ارقام تحت کشت و مقایسه آن‌ها با یکدیگر متمرکز شده و اطلاعات زیادی در خصوص استفاده از روش‌های ایجاد و یا افزایش تحمل به سرما در ارقام زیتون در دسترس نیست. روش‌های مختلفی برای کاهش یا کنترل خسارت سرمازدگی و یا ایجاد تحمل به سرما در گیاهان وجود دارد. یکی از روش‌های بسیار رایج، کم‌هزینه و آسان جهت حفاظت از گیاهان و باغات در برابر سرمازدگی استفاده با توجه به وجود ذخایر ژنتیکی غنی ارقام بومی زیتون در ایران و همچنین موفقیت کشت این ارقام در مقایسه با ارقام خارجی در سایر نقاط سردسیر، هدف از پژوهش حاضر، مقایسه توانایی مقاومتی ارقام بومی زیتون به تنش یخزدگی و نیز بررسی توانایی دو شاخص فیزیولوژیک فعال در تنش یخزدگی (نشت الکتروولیت و محتوای پرولین) در تفکیک ارقام حساس و مقاوم زیتون هستند.

فصل ۲ کلیات و بررسی منابع

۱-۲ تاریخچه و منشأ زیتون

درخت زیتون یکی از قدیمی‌ترین درختان میوه همیشه‌سبز کاشته شده در جهان است که هم‌زمان با دیگر درختان میوه قدیمی مانند انجیر، خرما و انار اهلی با روش‌های ساده تکثیر شده است (Fabbri, 2006). دوکاندول منشأ اصلی این گیاه را سوریه و ایران ذکر می‌کند، حال‌آنکه فلتیه مبدأ آن را آسیای صغیر و انتقالش به اروپا را مربوط به عهد فوسین‌ها (قومی بسیار قدیمی از یونانی‌ها که اولین کلنی خود را در بندر مارسی پیاده کردند) می‌داند. اما فرض قابل‌قبول همان گفته دوکاندول است که مبدأ پیدایش زیتون را سوریه و ایران و سیر گسترش آن را از شرق به غرب و در عرض حوزه مدیترانه دانسته است (درویشیان، ۱۳۷۶). بر اساس نظرات متعدد، کشت زیتون از حدود ۹۰۰ سال پیش در دره الیزه مربوط به توابع رودبار علیا آغاز شده و سپس در نواحی و بخش‌های طارم سفلی و علیا گسترش یافته است (طباطبائی، ۱۳۷۴). سابقه استفاده از زیتون در ایران به عهد ساسانیان بر می‌گردد که در آثار تاریخی شهر نیشابور به‌خوبی مشهود است. توسعه کشت زیتون در مناطقی از ایران که شرایط مناسب برای پرورش این گیاه را دارند، از جمله در استان‌های مازندران، قم، گلستان، ایلام، کهگیلویه، فارس، مرکزی، اصفهان و لرستان مورد توجه قرار گرفته است (مقصودی، ۱۳۸۴).

۲-۲ گیاه‌شناسی زیتون

زیتون بانام علمی *Olea europaea* L. از خانواده Oleaceae می‌باشد. این تیره دارای ۲۵ جنس بوده که از میان آن‌ها جنس *Olea* خود مرکب از ۳۰ گونه مختلف است که در سطح پنج قاره جهان منتشر شده‌اند (طباطبائی، ۱۳۷۴). این درخت متناسب با شرایط اقلیمی و حاصل‌خیزی خاک رشد متفاوتی نشان می‌دهد، به‌طوری که در حداقل شرایط به شکل درختچه و کوتاه و در شرایط مناسب درختی بزرگ و تنومند است (درویشیان، ۱۳۷۶). زیتون درختچه‌ای همیشه‌سبز است که به‌صورت وحشی ارتفاع آن تا پنج متر و در صورت مساعد بودن شرایط آب‌وهوایی ارتفاع آن به ۱۲ تا ۱۵ متر

می‌رسد. در درختان جوان پوست تنه صاف و به رنگ خاکستری مایل به سبز می‌باشد و در درختان مسن، تنه ناصاف و به هم پیچیده است و شکاف‌های نسبتاً عمیقی دارد (مقصودی، ۱۳۸۴). برگ‌ها چرمی، با دم‌برگ کوتاه و در حاشیه صاف، متقابل، ساده، سرنیزه‌ای، مستطیلی تا تخم‌مرغی، نوک‌باریک تا نوک‌سیخکی یا نوک‌منقاری، در سطح رویی به رنگ سبز تیره و در زیر به رنگ نقره‌ای تا متمایل به قهوه‌ای (مسی) با کرک‌های فلسی متراکم است. گل‌آذین زیتون به شکل خوشه مرکب و به صورت محوری یا انتهایی است (شکل ۱-۲). گل‌ها دوجنسی یا پلیگام هستند (طباطبائی، ۱۳۷۴). در صورت وجود شرایط مطلوب، باردهی درخت معمولاً شش سال بعد از کشت شروع می‌شود، اما در مناطقی که از درخت زیتون به‌درستی مراقبت نمی‌شود، ممکن است حتی بعد از ۲۰ سال درختان به بار ننشینند. درخت زیتون دارای سال آوری نیز می‌باشد (مقصودی، ۱۳۸۴).



شکل ۱-۲- ویژگی‌های ظاهری برگ و گل در درخت زیتون

۲-۳ سطح زیر کشت زیتون در ایران و جهان

بر اساس آمار سازمان کشاورزی و خواربار جهانی در سال ۲۰۱۹ سطح زیر کشت زیتون در دنیا ۱۱۰۰۰۰۰ هکتار بوده که ۹۵/۵ درصد آن در ده کشور مدیترانه‌ای قرار داشته است. سطح زیر کشت زیتون در ایران به ۱۰۲ هزار هکتار رسیده است (زینالو، ۱۳۹۱). مهم‌ترین استان‌های تولیدکننده زیتون در کشور به ترتیب گیلان، زنجان، کرمانشاه، مازندران و قزوین می‌باشند (بی‌نام، ۱۳۹۲). البته با آغاز طرح طوبی از سال ۱۳۷۱ در بیش از ۲۰ استان کشور ارقام مختلف زیتون کشت گردید تا راه را برای پیوستن ایران به کشورهای مهم تولیدکننده زیتون در جهان هموار کند، اما در برخی مناطق کشور، توسعه و احداث باغات زیتون به دلیل عدم رعایت نکات فنی احداث باغ و انتخاب ارقام نامناسب با مشکلات جدی مانند عدم باردهی، کیفیت نامطلوب و سرمازدگی سالیانه روبرو گردیده است.

۲-۴ میزان تولید زیتون در ایران و جهان

تولید جهانی زیتون در سال ۲۰۱۹ حدود ۳۴۲,۳۴۴,۲۰ تن بوده است که پنج کشور اسپانیا، ایتالیا، یونان، ترکیه و مراکش به ترتیب با تولید ۱۱۸۱,۱۶۷۶,۲۰۰,۳۰۲۲,۷۸۷۵ هزار تن، رتبه اول تا پنجم را به خود اختصاص داده‌اند. ایران در سال ۲۰۱۹ معادل ۳۶ هزار تن زیتون تولید کرده است (FAO, 2019).

۲-۵ ارقام مهم تجاری زیتون در ایران

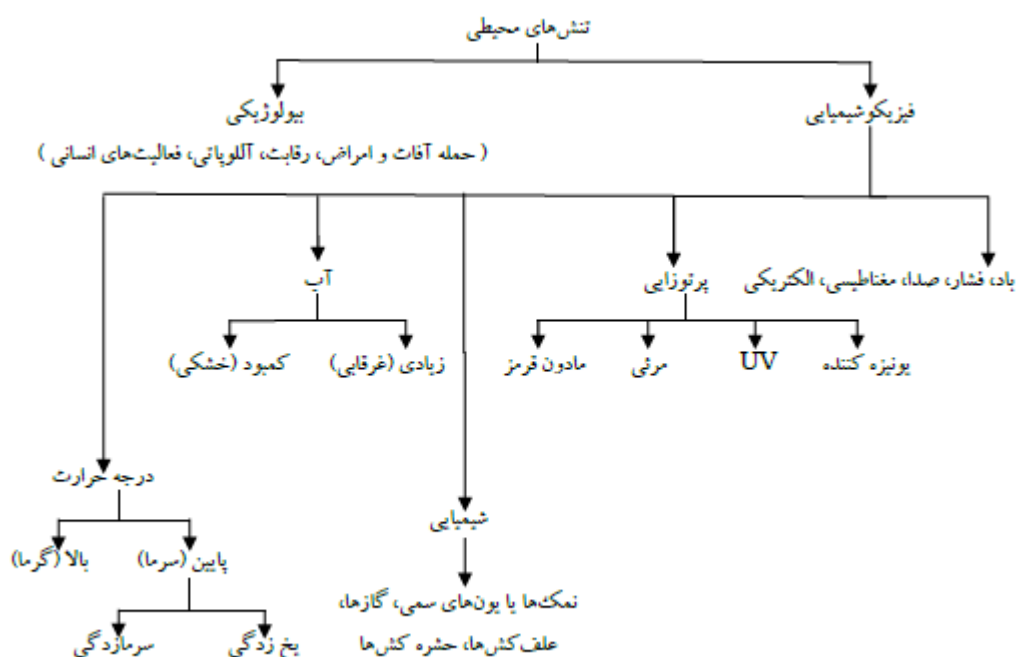
ارقام ایرانی زیتون شامل زرد، روغنی محلی، ماری، فیشمی، شنگه، روغنی گرگان، دزفول، بربر، دکل، زاهدی، خستاوی، سفید، سبز، سنگی، آبی، خرما زیتون و خرم‌آباد می‌باشد که بیشترین سطح کشت در مناطق زیتون‌کاری ایران به سه رقم اول اختصاص دارد (آزادی، ۱۳۸۳). دهه‌های اخیر تعدادی ارقام خارجی زیتون نیز وارد کشور شده و مورد کشت کار قرار گرفته‌اند که برخی از این ارقام

عبارتند از: آربکین، آمیگدالولیا، بلیدی، فرانتوئیو، میشن، میکسان، سیگویزآ، راووکو، مانزانیلا، پیشولین (پیکولین)، پیکوال، لچینو (لسینو)، کنسرولیا، شیملالی، اسفاک، کراتینا (راسیوپا) و کورنی کابر (مقصودی، ۱۳۸۴).

۲-۶ مفهوم تنش

برخی معتقدند که تنش واژه‌ای است که اولین بار توسط دانشمندان علوم زیستی در خصوص موجودات زنده به‌کاربرده شد و بعدها واژه‌ی مذکور وارد علم فیزیک گردید. طبق نظریه Levitt (۱۹۸۰) زیست‌شناس‌ها واژه تنش را به بسیاری از عوامل محیطی اطلاق می‌کنند که امکان بالقوه وارد آوردن صدمه به موجود زنده را دارند و واژه‌ی مقاومت به تنش در گیاه به توانایی گیاه اطلاق می‌شود که در حضور تنش زنده بماند و حتی رشد کند. تنش، نتیجه روند غیرعادی فرآیندهای فیزیولوژیکی است که از تأثیر یک یا ترکیبی از عوامل زیستی و محیطی حاصل می‌شود. همان‌طور که در تعریف آمده، تنش دارای توان آسیب‌رسانی می‌باشد که در نتیجه‌ی یک متابولیسم غیرعادی روی داده و ممکن است به‌صورت کاهش رشد، مرگ گیاه و یا مرگ بخشی از گیاه بروز کند (حکمت شعار، ۱۳۷۲).

تنش‌های محیطی را معمولاً به دودسته تقسیم می‌کنند: تنش‌های زیستی و تنش‌های فیزیکیوشیمیایی (۲-۲). تنش‌های زیستی ناشی از حمله آفات و امراض به گیاهان و برخی عوامل زنده دیگر می‌باشند. تنش‌های فیزیکیوشیمیایی خود به پنج گروه تقسیم می‌شوند که از بین آن‌ها، خسارات وارده به گیاهان در اثر تنش‌های خشکی، شوری و دما در سطح جهان گسترده‌تر بوده و به همین جهت بیشتر مورد توجه قرار گرفته‌اند (Levitt, 1980).



شکل ۲-۲: انواع تنش‌های محیطی (Levitt, 1980)

دو روش برای گیاهان وجود دارد که در مقابل تنش مقاومت نمایند

۱- چون گیاه نمی‌تواند تنش‌های موجود در محیط اطراف خود را تغییر دهد، لذا تلاش می‌کند تا از ورود تنش به بافت‌های خود جلوگیری کند یا آن را کاهش دهد. به این نوع مقاومت "اجتناب از تنش" اطلاق می‌شود. گیاه از طریق اجتناب قادر است تمامی یا بخشی از تنش را از طریق موانع فیزیکی که مانند عایقی سلول‌های زنده‌اش را در بر گرفته است از خود جدا نگه دارد و یا از طریق موانع شیمیایی و متابولیکی از آن دوری جوید.

۲- گیاه ممکن است علی‌رغم اجازه دادن به تنش در ورود به بافت‌هایش در مقابل آن مقاومت کند. این نوع مقاومت را "تحمل به تنش" می‌نامند. گیاه متحمل به تنش قادر به ممانعت، کاهش یا تعمیر (جبران) خسارت ناشی از تنش می‌باشد. محققین به‌طور عملی واژه پرتاقتی را بجای مقاومت به‌ویژه در موارد مربوط به مقاومت به یخ‌زدگی به‌کار برده‌اند. محققین علوم

باغبانی از واژه‌ی خو گرفتن به آب‌وهوا برای تطابق و سازگاری با تنش‌های محیطی به‌ویژه در موارد مربوط به تنش درجه حرارت پایین استفاده می‌نمایند (Levitt, 1980).

۷-۲ تنش درجه حرارت‌های پایین

در مناطق مختلف دنیا سالیانه میلیون‌ها تن محصول کشاورزی در اثر سرما (درجه حرارت های بالای یخ‌زدگی) و همچنین انجماد نابود می‌شوند. در وسعت قابل توجهی از سطح کره زمین نیز به لحاظ غالبیت درجه حرارت‌های پایین طی سال، کشاورزی امکان‌پذیر نیست. یکی از عوامل مهم محدودکننده رشد گیاهان خصوصاً گیاهان مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری تنش درجه حرارت‌های پایین گزارش شده است. وقوع دماهای پایین نتیجه موازنه گرمایی منفی در سطح زمین است. در عرض‌های جغرافیایی بالا و میانه تشعشع خالص با نزدیک شدن زمستان به دلیل زاویه کم تابش خورشید و طولانی شدن شب‌ها، خروج تشعشع گرمایی (موج بلند) به‌طور فزاینده‌ای منفی می‌شود. این پدیده باعث سرد شدن بیشتر و تجمع توده‌های هوای سرد می‌شود. این توده‌ها از طریق جریانات اتمسفری به عرض‌های جغرافیایی پایین‌تر منتقل می‌شوند. بنابراین وقتی تلفات گرما زیاد باشد و هوای سرد انتقال یابد سرد شدن عمومی و محلی رخ می‌دهد. یخبندان‌های زمستانه در مناطق معتدله و سرمای استثنایی در مناطق نیمه‌گرمسیری و گرمسیری نتیجه ورود هوای قطبی است (میرمحمدی میبیدی و ترکش اصفهانی، ۱۳۸۳). در سرما انرژی متابولیکی کمتری در دسترس گیاه می‌باشد، جذب آب و عناصر غذایی توسط آن‌ها محدود می‌شود، بیوسنتز کمتری حادث می‌گردد، اسیمیلایسیون کاهش می‌یابد و رشد متوقف می‌شود. به همین دلیل اکثر گیاهان خصوصاً گیاهان مناطق گرمسیری و معتدله وقتی در معرض دماهای بالای یخ‌زدگی (محدوده صفر تا ۱۵ درجه سانتی‌گراد) قرار می‌گیرند آسیب می‌بینند. بنابراین می‌توان گفت درجایی که نزولات آسمانی در فصل سرد حادث می‌شوند (بارندگی‌های زمستانه)، دمای پایین

ممکن است جوانه زدن، رشد و استقرار گیاهان را بخصوص در مراحل اولیه رشد کاهش دهد (کوچکی و همکاران، ۱۳۷۶).

۸-۲ انواع تنش در دماهای پایین

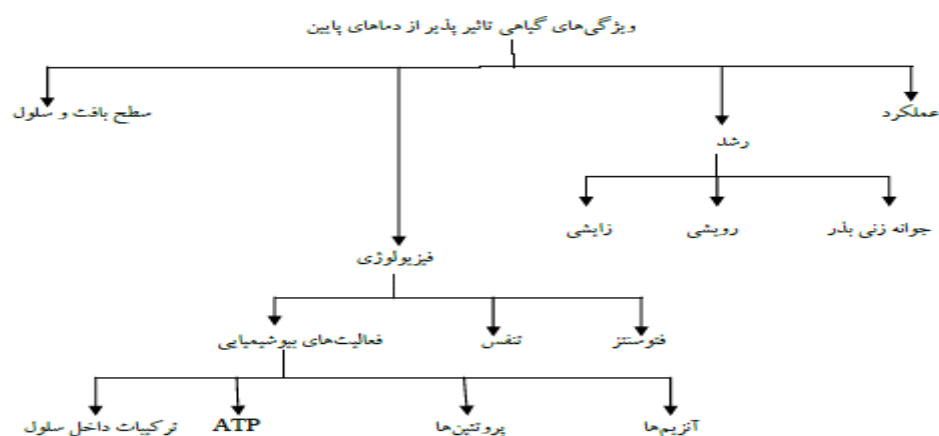
تنش در دماهای پایین شامل دودسته است: تنش سرمازدگی و تنش یخبندان. تنش سرمازدگی زمانی است که دما در حدود صفر تا ۱۵ درجه سانتیگراد باشد. در مطالعات مربوط به واکنش‌های گیاهان در مقابل عوامل محیطی، اصطلاح تنش سرما گاهی به مفهوم انحراف از رژیم دمای بهینه برای رشد گیاه به کار می‌رود. گاهی نیز اصطلاح تنش سرما برای هر آسیبی به بافت، سلول یا متابولیسم گیاه اطلاق می‌گردد که در نتیجه رویارویی مستقیم گیاه با دماهای کمتر از محدوده دمایی آستانه که بر اساس پتانسیل عملکرد ژنتیکی برای فعالیت‌های بهینه فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی و نمو مورفولوژیکی گیاه لازم است به وجود می‌آید (میرمحمدی میبدی و ترکش، ۱۳۸۳). یکی از بزرگ‌ترین عوامل محدودکننده کاشت درختان میوه نظیر بادام، انار و زیتون که در مناطق معتدله و نیمه گرمسیری پرورش می‌یابند، خسارت سرمازدگی زمستانه است که گاهی باعث آسیب‌های جبران‌ناپذیر به این درختان می‌شود.

تنش یخبندان زمانی ایجاد می‌شود که دما پایین‌تر از صفر برود، در این صورت اکثر درختان میوه مناطق معتدله و برخی درختان مناطق نیمه‌گرمسیری در معرض یخبندان زمستانه یا انجماد بهاره قرار می‌گیرند (Allen and ort, 2001). البته تعریف‌های دیگری برای تنش یخزدگی معادل آنچه گفته شد بیان گردیده است به‌طور مثال موسوی بایگی و همکاران (۱۳۸۹) اظهار نموده‌اند به‌طور کلی یخبندان به شرایطی اطلاق می‌شود که در آن دمای سطح محیط و اشیایی که در ارتباط با آن می‌باشند به کمتر از صفر درجه سانتیگراد برسد. در هواشناسی کشاورزی، یخبندان به وقوع

دماهای پایین در حدی که منجر به خسارت به بافت‌های گیاهی می‌شود، اطلاق می‌گردد و دماهای بحرانی بسته به نوع محصولات متفاوت‌اند (امیر قاسمی، ۱۳۸۱).

۹-۲ اثرات دماهای پایین بر گیاهان

اثرات دماهای پایین بر ویژگی‌های مختلف گیاهان به تفسیر در منابع مختلف مورد بررسی قرار گرفته و گزارش‌ها متنوعی در هر زمینه وجود دارد. آن دسته از ویژگی‌های گیاهی که تحت تأثیر دماهای بالای انجماد قرار می‌گیرند به صورت شماتیک در شکل ۲-۳ نشان داده شده‌اند.



شکل ۲-۳: خصوصیات مختلف رشد، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی متأثر از درجه حرارت‌های پایین در

گیاهان (Levitt, 1980)

اثرات تنش یخ‌زدگی و تغییرات ناشی از آن در سطوح سلولی و اندامک‌ها بروز می‌کنند و بازتاب آن‌ها در سطوح بالاتر در اندام‌های گیاهی مشاهده می‌شوند که بسته به اندام و بافت تغییر می‌کنند، اما در مورد خسارت ناشی از تنش یخ‌زدگی در سطح غشاها و اندامک‌های سلولی اتفاق نظر وجود دارد. از جمله واکنش‌های سلولی که گیاهان در مقابله با سرما از خود نشان می‌دهد عبارتند از: برهم خوردن

تبادل غشاء سیتوپلاسمی، کاهش جریان سیتوپلاسمی، تخریب غشاء تونوپلاستی و از دست رفتن فشار تورژسانس (Christansen, 1982).

علی‌خان (۱۹۸۸) گزارش کرد که تحت شرایط محیطی معمولاً خسارت یخ‌زدگی می‌تواند در پاییز، اواسط زمستان و بهار اتفاق افتد. اولین مرحله خسارت (پاییز) زمانی ایجاد می‌شود که گیاه هنوز نسبت به یخ‌بندان سازگار نشده است. مرحله بعدی خسارت (زمستان) موقعی است که دمای محیط بیش از محدوده تحمل گیاه بعد از سازگاری کاهش می‌یابد. درنهایت خسارت مرحله سوم (بهار) به‌طور غیرمعمول به دنبال از دست رفتن سازگاری و شروع رشد جوانه‌ها ایجاد می‌شود. علاوه بر این سه مرحله، خسارت ممکن است در هر زمان به علت افزایش دما و از دست رفتن سازگاری ایجاد شود (علی‌خان، ۱۹۸۸).

گیاهان چوبی بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی خاص در هرگونه و رقم علائم متفاوتی از یخ‌زدگی را نشان می‌دهند، باین‌حال در اکثر گیاهان خسارت یخ‌زدگی با علائمی مانند خشکیدگی نوک شاخه‌ها، قهوه‌ای شدن شاخه و برگ‌ها، آفتاب‌سوختگی زمستانه و شکاف خوردن تنه درختان همراه می‌باشد (بارک و همکاران، ۱۹۷۶).

در درختان و درختچه‌های خزان‌کننده، پوست درخت در معرض هوای سرد ممکن است ترک بردارد. ترک برداشتن تنه، در درختانی رخ می‌دهد که در فصول رشد (بهار و یا تابستان) پوست‌اندازی کرده‌اند. این‌گونه خسارت اغلب در گونه‌های پوست نازک مانند سیب، گیلان و افرا اتفاق می‌افتد. سرد شدن سریع باعث تورم و چروکیدگی پوست و چوب می‌شود که مجموع این واکنش‌ها منجر به تنش-های مکانیکی داخلی از جمله ترکیدگی و شکافتن هم‌زمان چوب، ترکیدگی پوست و لایه کامبیوم می‌شود (Sakai and Larcher., 1997).

آفتاب‌سوختگی زمستانه یکی دیگر از عارضه‌های خسارت یخ‌زدگی می‌باشد که معمولاً در سمت جنوب، جنوب غربی و غرب تنه درختان در زمستان دیده می‌شود. این عارضه در نتیجه تکرار سرد و گرم شدن هوا در روزهای اواسط زمستان اتفاق می‌افتد، که در نتیجه باعث خسارت به پوست درخت می‌شود. تغییرات دما در زمستان (گرم و سرد شدن) باعث ایجاد تنش بین پوست خارجی و چوب داخلی می‌شود که در نتیجه منجر به ترک‌یدگی پوست در جهت جنوب غربی درخت می‌شود. اگرچه مکانیسم این خسارت واضح نیست اما شاید به علت حساسیت و ناتوانی سلول‌ها در تطابق با تغییرات ناگهانی دما باشد (Omar bafil, 2005). وایزر (waizer, 1995) گزارش کرد، خسارت آفتاب‌سوختگی که در قسمت جنوب غربی تنه و شاخه‌گونه‌های مختلف درختان ایجاد می‌شود در اثر سرد شدن سریع و در نتیجه یخ‌زدگی درون‌سلولی می‌باشد. سیاه شدن مغز شاخه‌های نازک درختان و درختچه‌ها یکی دیگر از عوارض خسارت یخ‌زدگی می‌باشد. این عارضه در نتیجه از بین رفتن آوندهای مرکزی ساقه یا تنه به وجود می‌آید (Omar bafil, 2005).

از دیگر خسارت‌های یخ‌زدگی زمستانه می‌توان به از بین رفتن جوانه‌های گل و برگ اشاره کرد. تغییرات غیرمعمول دما مانند گرم شدن ناگهانی در زمستان می‌تواند باعث بیدار شدن جوانه‌ها شده که در چنین شرایطی وقوع سرما باعث مرگ جوانه‌ها می‌شود. علاوه بر این کاهش ناگهانی دما نیز می‌تواند به جوانه‌ها خسارت وارد کند که علائم این خسارت در درختان و درختچه‌های خزان‌کننده ممکن است با عدم گلدهی و برگ‌دهی در فصل بهار ظاهر شود. یکی دیگر از علائم یخ‌زدگی جوانه‌ها، خشکیدگی سرشاخه‌ها و یا شاخه‌دهی جانبی درختان در اوایل یا اواسط فصل رشد می‌باشد (Sakai and Larcher., 1997).

برای کاهش ایجاد و گسترش یخ، گیاهان به روش‌های مختلف واکنش نشان می‌دهند، مانند افزایش املاح سازگار (Zhang et al. 2012; Ershadi et al. 2016)، تغییرات در چربی غشا و ساختار دیواره سلولی (Steponkus 1984)، تغییر سنتز پروتئین (Salzman et al.).

1996)، تنظیم مواد رشد گیاه (Koussa *et al.*, 1998) و تغییرات در محتوای آب جوانه (Valle, 2002) به عنوان مثال، کربوهیدراتهای محلول با تجمع در گیاهان به عنوان کامپوزیت های محافظ سیتو عمل می کنند که می توانند تشکیل یخ را متوقف یا کند کنند (Karimi and Ershadi 2015). همچنین، در دمای پایین، گیاهان پرولین تجمع می دهند که باعث تنظیم اسمزی می شود، فشار تورژور را در سلولهای خشک کننده حفظ می کند و به گیاهان اجازه می دهد استرس را تحمل کنند (Zhang *et al.*, 2012) از این رو، استفاده از تغییرات در املاح سازگار در گیاهان تحت تنش انجماد به عنوان شاخص هایی برای ارزیابی تحمل انجماد در ارقام مختلف پسته، امکان پذیر است. آزمایشهای انجماد آزمایشگاهی کنترل شده برای ارزیابی آسیب انجماد در بافتهای گیاهی اعمال شده است (Karimi and Ershadi 2015). در این روش، قطعات ساقه معمولاً با سرعت ۲,۰ درجه سانتی گراد در ساعت خنک می شوند. متعاقباً، تحمل انجماد با تعیین دمایی که در آن ۵۰٪ نمونه ها کشته می شوند، LT50 نامیده می شود. در میان تکنیک های اندازه گیری تحمل انجماد، آزمایش های نشت الکتروولیت و قهوه ای شدن جوانه ها رایج تر است و تحمل انجماد که توسط این دو تکنیک ارزیابی شده است به خوبی مرتبط است (Karimi and Ershadi 2015).

۲-۱۰ مکانیسم های خسارت در دماهای پایین

دمای بالای انجماد

به طور کلی دماهای بالای انجماد به دو طریق به گیاه خسارت وارد می کنند:

الف) خسارت مستقیم

خسارت مستقیم معمولاً در نتیجه قرار گرفتن بافت یا گیاه به مدت چند ساعت در معرض سرما و یا چند دقیقه در سرمای ناگهانی ایجاد می شود. این تنش می تواند تغییرات وسیعی در رفتار غشاءها، چربی ها، آنزیم ها، رنگیزه ها و اسکلت سلولی گیاهان خصوصاً در گیاهان گرمسیری ایجاد نماید. بعضی از

تغییرات می‌توانند به‌عنوان اثرات اولیه‌ای تلقی شوند که منجر به عدم تعادل متابولیکی، تلفات آب، نشت یون و نهایتاً مرگ سلول می‌شود. ایجاد بافت‌های نکروزه، تجزیه بافت، کم شدن رشد و عدم قدرت جوانه‌زنی بذر نیز برخی موارد از اثرات مستقیم خسارت دماهای پایین است (میرمحمدی میبیدی و ترکش، ۱۳۸۳).

ب) خسارت غیرمستقیم

خسارت غیرمستقیم در گیاهانی رخ می‌دهد که به‌کندی به دماهای بالای انجماد پاسخ می‌دهند. این گروه از گیاهان بعد از قرار گرفتن در سرمای طولانی‌تر (مثلاً یک روز)، به‌طور طبیعی زنده باقی می‌مانند و علائم خسارت در آن‌ها بعد از چند روز یا چند هفته بروز می‌کند. این‌گونه خسارات به‌صورت نرم و پژمرده شدن گیاه بعد از ۵ تا ۶ روز ظاهر می‌شوند که با افزایش نشت یونی همراه است. بسیاری از درختان میوه در این گروه قرار دارند. خسارت غیرمستقیم سرما در گیاهان باعث کاهش دانه‌بندی، کاهش سرعت فتوسنتز و کاهش زمان رسیدن می‌شود و بر عملکرد آن‌ها اثر می‌گذارد (میرمحمدی میبیدی و ترکش، ۱۳۸۳).

۲-۱۱ دمای انجماد

یخ‌زدگی به دو طریق باعث صدمه به گیاهان می‌شود:

الف) انجماد درون سلولی

این نوع یخ‌زدگی خیلی سریع بوده و باعث تشکیل بلورهای یخ در داخل سلول می‌گردد. برای تشکیل یخ، دمای سلول باید در مدت‌زمانی کمتر از نیم ساعت از صفر به ۱۰- درجه سانتی‌گراد کاهش یابد (Ashworth and Abeles., 1992). سرمای فوق‌العاده باعث به وجود آمدن انجماد آنی و سریع خواهد شد و در شرایط معمول سرد شدن هوا، انجماد درون سلولی باعث مرگ سلول‌ها در پارانیشیم

شعاعی آوند چوبی درختان میوه می‌شود. پارانیشیم آوند چوبی یکی از حساس‌ترین بافت‌های درختان میوه نسبت به دماهای پایین در زمستان به شمار می‌آید.

ب) یخ‌زدگی برون سلولی

محققین عنوان کردند که انجماد برون سلولی عبارت‌اند از تشکیل یخ روی سطح سلول یا در فاصله میان پروتوپلاست و دیواره سلولی (انجماد خارج از پرتو پلاسما) می‌باشد (Yu and et al, 2017). انجماد برون سلولی بدین‌صورت رخ می‌دهد که آب داخل سلول از میان غشاء پلاسمایی به سمت یخ موجود در فضای بین سلولی حرکت کرده که گاهی ممکن است باعث پلاسمولیز شدن سلول‌ها شود. چنانچه پلاسمولیز شدن و از دست رفتن آب در سلول‌ها شدید نباشد، پس از ذوب شدن مجدد، سلول‌ها قادر به جذب آب بوده و در نتیجه مجدداً حالت آماس در آن‌ها به وجود می‌آید و به فعالیت متابولیکی معمول می‌رسند. بدیهی است که اگر حالت پلاسمولیز سلول‌ها شدید باشد، سلول‌های آسیب‌دیده در حالت اضمحلال باقی خواهند ماند (Yu and et al, 2017).

۲-۱۲ ارزیابی درختان در شرایط طبیعی پس از وقوع سرما

سرمازدگی بسته به شدت و مدت وقوع آن در درخت زیتون علائم مختلفی خواهد داشت که در زیر به برخی از آن‌ها اشاره می‌شود.

➤ زرد شدن و گاهی ریزش برگ‌ها، که نشانه آسیب به نوک شاخسارهای یک‌ساله و همچنین بخشی از جوانه‌های رویشی و زایشی است و زمانی رخ می‌دهد که میانگین حداقل دما بین ۲- تا ۶- درجه سانتی‌گراد به‌طور مستمر ۳ تا ۷ روز حادث گردد این آسیب در صورت مدیریت صحیح نظیر محلول‌پاشی با مواد غذایی و... قابل‌برگشت بوده و خسارت میوه سال بعد حداقل به ۲۵ درصد خواهد رسید.

➤ قهوه‌ای و لوله‌ای شدن و گاهی ریزش برگ‌ها که نشانه شکننده شدن سرشاخه‌ها و ایجاد

ترک‌های ریز پوستی در شاخساره های یک‌ساله و دوساله و همچنین از بین رفتن تمام جوانه‌های رویشی و زایشی است . (میانگین حداقل دما بین ۷- تا ۱۰- درجه سانتی‌گراد به‌طور مستمر ۳ تا ۷ روز) این آسیب حتی در صورت مدیریت صحیح قابل‌برگشت نبوده و میزان خسارت میوه در سال اول ۱۰۰ درصد و در سال دوم ۵۰ درصد خواهد بود.

➤ ترک پوستی عمیق و از بین رفتن لایه کامبیوم ، که نشانه آسیب بر روی بازوهای اصلی و شاخه‌های چندساله ، که در اثر میانگین حداقل دمای ۹- تا ۱۱- درجه سانیگراد به‌طور مستمر ۳ تا ۷ روز ایجاد و میزان خسارت میوه در ۴ سال آتی ۱۰۰ درصد خواهد بود.

➤ ترک پوستی عمیق و از بین رفتن لایه کامبیوم ، که نشانه آسیب بر روی تنه و طوقه بوده و در اثر میانگین حداقل دمای ۹- تا ۱۴- درجه سانتی‌گراد و پایین‌تر به‌طور مستمر ۳ تا ۷ رخ می‌دهد و خسارت میوه حداقل در ۶ سال ۱۰۰ درصد خواهد بود.

➤ و در نهایت آسیب بر روی ریشه زمانی که دمای محیط خاک اطراف ریشه به ۲- تا ۵- درجه سانتی‌گراد و به‌طور مستمر ۳ تا ۷ روز رخ می‌دهد . که در این صورت خسارت کلی به درخت وارد شده که قابلیت برگشت ندارد.

۲-۱۳ مکانیسم‌های مقابله با سرما و یخ‌زدگی در گیاهان

مقاومت به سرما به مفهوم توان مقابله با یک سلسله از صدمات و آسیب‌های ناشی از دمای پایین می‌باشد. به‌طور کلی مقاومت به سرما فرآیندی است که زمان‌بر آن کاملاً تأثیرگذار است و شامل مقاومت در چوب و پوست به‌صورت جداگانه است. یکی از عوامل مهمی که ممکن است باعث ایجاد خسارت در گیاهان خزان‌دار در طول پاییز و اوایل زمستان گردد این است که این گیاهان از نظر فیزیولوژیکی در برابر سرما مقاومت حاصل نکرده باشند. گیاهان توانایی مقاومت به سرما را از دو طریق تحمل و اجتناب به شرح ذیل کسب می‌کنند.

الف) تحمل

گیاهان مناطق معتدله که سرمای زمستانه و سرمای دیررس بهاره را تجربه می‌کنند، گیاهان مناطق کوهستانی که در طول فصل رشد در معرض سرما قرار می‌گیرند و گیاهان همیشه‌سبز که در مناطق سرد همچنان به حیات خود ادامه می‌دهند، همگی از طریق مکانیسم تحمل از سرما نجات می‌یابند. سرمازدگی بیانگر تغییرات فیزیکی و فیزیولوژیکی است که در نتیجه برخورد گیاه با سرما رخ می‌دهد. تنش سرما یکسری از مسیرهای سازشی را در گیاهان تحریک می‌کند و در نهایت باعث افزایش تحمل گیاه به سرما می‌گردد. تحمل به یخ‌زدگی عمدتاً از طریق تجزیه ماکرومولکول‌های درون سلول و تبدیل آن‌ها به مولکول‌های کوچک‌تر جهت غلیظ کردن شیر سلولی به وجود می‌آید. یکی از واکنش‌های معمول در سلول‌های گیاهی که در نتیجه افزایش تجمع محلول‌های آلی در سیتوپلاسم روی می‌دهد تنظیم اسمزی است، که به‌منظور موازنه تعدیل اسمزی واکوئلی در سیتوپلاسم و تعادل اسمزی بین سیتوپلاسم و اجزاء مختلف سلول انجام می‌شود (Lenz et al., 2013). تنظیم اسمزی در گیاهان از طریق تولید انواع مختلفی از محلول‌های آلی سازگار صورت می‌گیرد. این اسمولیت‌های سازگاری نظیر پلی‌اول‌ها، گلیسین بتائین و پرولین در افزایش تحمل به انواع تنش‌ها از جمله تنش سرما موثر هستند (Lenz et al., 2013). گیاهانی نظیر نخود، توت‌فرنگی و چاودار که با استرس یخبندان و یخ‌زدگی خاک مواجه می‌شوند، بایستی خود را از طریق تحمل نجات دهند. پوشش سخت گیاهان چندساله نیز عاملی برای نجات گیاه از طریق فرآیند تحمل است، اما جوانه‌های رویشی و زایشی گیاهان خود را از طریق هر دو مکانیسم تحمل و اجتناب نجات می‌دهند.

ب) اجتناب

اجتناب در دماهای پایین از طریق مکانیسم‌های مختلفی در گیاهان صورت می‌گیرد که به شرح

ذیل‌اند

۱- افزایش نسبت آب پیوندی به آب آزاد که در این حالت به علت اینکه آب پیوندی در دماهای

خیلی پایین یخ می‌زند نوعی مکانیسم اجتناب از یخ‌زدگی محسوب می‌شود.

۲- ایجاد پوشش‌های عایق و حفاظتی نظیر چوب‌پنبه (سوبرین) که معمولاً در درختان دیده می‌-

شود. این لایه‌ها در درختان با ایجاد فاصله بین دمای خارج و درون گیاه، سرعت سرد شدن و

یخ‌زدن را کاهش می‌دهند. این نوع مکانیسم اجتناب از سرما در گیاهان علفی به دلیل فقدان

لایه‌های عایق وجود ندارد.

۳- افزایش دمای بافت در اثر افزایش تنفس و تولید گرما، که البته مکانیسم چندان مؤثری نبوده

و در درازمدت جواب نمی‌دهد.

۴- نوعی تأخیر در انجماد که فراسرد شدن نام دارد و عبارت است از توان گیاه برای نگهداری آب

در حالت مایع، زمانی که دما به زیر صفر درجه سانتی‌گراد می‌رسد. سوپرکولینگ از مقدماتی-

ترین موانعی است که برای نجات گیاه از سرما موثر است. در شرایط طبیعی تشکیل یخ در

گیاهان چوبی از ۱- تا ۴- درجه سانتی‌گراد آغاز می‌شود. در سوزنی‌برگان و مرکبات، گیاه

قادر است سوپرکولینگ را تا زیر دمای معمول یخ‌زدگی انجام دهد. در میان تمام جنبه‌های

مقاومت شاید سوپرکولینگ از همه پیچیده‌تر و سؤال برانگیزتر باشد (Wisniewski and

Arora., 2000). این فرآیند از مجموعه راهکارهایی است که گیاه تحت اقداماتی موسوم به

اجتناب از خود نشان می‌دهد. سیستم سوپرکولینگ اکثراً در گیاهان چوبی وجود داشته و در

بین گیاهان علفی دیده نمی‌شود. غالباً شاخه‌ها و آوندها خود را از طریق سوپرکولینگ یا فرار

از انجماد خود را از یخ‌زدگی نجات می‌دهند. سوپرکولینگ یک ویژگی وابسته به فصل بوده و

در اواسط زمستان به بیشترین ظرفیت خود می‌رسد.

۲-۱۴ سازگاری به سرما در گیاهان

گیاهان جهت مقابله با سرما و زمستان گذرانی باید در معرض کاهش تدریجی دما قرار گیرند تا به سرما سازگار گردند. این پدیده حتی در مورد گونه‌های مقاوم به سرما نیز صادق است. سازگاری سرما در گیاهان چوبی فرآیندی است که توسط عوامل مختلفی نظیر کوتاه شدن طول روز، کاهش دما، کاهش محتوای آب سلول‌ها و افزایش غلظت اسید آبسزیک کنترل می‌گردد. در ادامه فصل یعنی اواخر زمستان و اوایل بهار، هم‌زمان با افزایش طول روز و دما، گیاه به تدریج از حالت سازگاری به سرما خارج می‌شود (Wisniewski., 2003).

۲-۱۵ تغییرات متابولیسمی طی سازگاری به سرما

به هنگام رشد فعال در تابستان، تقریباً تمام متابولیت‌ها برای رشد استفاده می‌شوند (Levitt., 1980). اما بعد از توقف دوره رشد در فصل سرد و شروع سازگاری به سرما، کربوهیدرات‌ها و دیگر متابولیت‌ها تجمع می‌یابند. ارتباط بین مقدار قند و مقاومت به سرما در بسیاری از گونه‌های گیاهان چوبی گزارش شده است (Sauter and Ambrosius., 2017). افزایش مقاومت به سرما تحت تأثیر کاهش دما، با تبدیل نشاسته به قند همراه بوده (Alberdi et al., 2012) و از دست دادن مقاومت به سرما همراه با تبدیل قند به نشاسته می‌باشد (Siminovitch., 2010). قندها با افزایش غلظت محلول سیتوپلاسمی و در نتیجه کاهش نقطه انجماد سلول و پایداری غشاهای سلولی نقش مهمی به عنوان محافظت‌کننده ایفا می‌کنند (Hinesley, 2012؛ Steponkus, 2016). در حالیکه قندها، مشتق‌های قندی، برخی از اسیدهای آمینه و پلی پپتیدها نقش به‌سزایی در این زمینه دارند (Arvin and Donnelly., 2008). قندهای محلول مانند ساکارز، فروکتوز، رافینوز و سوربیتول محافظت‌کننده‌های اساسی هستند (Ayerza and Sibbett., 2001).

مقدار پروتئین‌های محلول در زمان مقاوم شدن در بافت‌های گیاهی افزایش می‌یابد و این افزایش در نتیجه تغییر در بیان ژن‌هاست (Barranco *et al.*, 2005). این تغییرات احتمالاً جز اولین و شاید بیشترین تغییراتی است که در زمان مقاومت به سرما در سطح بیان ژن اتفاق می‌افتد. دهیدرین یکی از پروتئین‌های آب‌دوست و پایدار در مقابل گرما می‌باشد که در زمان سازگاری به سرما در بافت‌های گیاه تجمع یافته و در زمان تنش سرما نقش مثبت خود را در افزایش مقاومت گیاه نشان می‌دهد (Vaioola., 2000). به هنگام وقوع تنش‌های محیطی از جمله کاهش دما، خشکی و شوری علاوه بر قندها، تجم، پرولین نیز در گیاهان اتفاق می‌افتد (Baek and Skinner., 2003).

۲-۱۶ ارزیابی خسارات ناشی از وقوع دماهای پایین

تاکنون پژوهش‌های بسیاری برای یافتن روش‌های ارزیابی سریع و موثر خسارات ناشی از وقوع دماهای پایین انجام شده است تا بتوان میزان مقاومت به سرما در گیاهان را ارزیابی نمود. البته انتخاب روش به عواملی از جمله هدف از مطالعه، فیزیولوژی و نوع گیاه مورد مطالعه و همچنین امکانات موجود بستگی دارد. روش‌های معمول عبارتند از اندازه‌گیری میزان نشت یونی، کربوهیدرات‌های محلول، پرولین، پروتئین، محتوای نسبی آب، آزمون تترازولیوم و روش اگزوترم. با توجه به کثرت گزارش‌ها در خصوص همبستگی قابل توجه میزان نشت الکترولیت‌ها، قندهای محلول و پرولین موجود در اندام‌های گیاهی با میزان تحمل آن‌ها به تنش درجه حرارت‌های پایین، در تحقیق حاضر روش‌های فوق‌الذکر بکار گرفته شدند.

این روش اولین بار توسط Dexter *et al.* (۱۹۳۰) استفاده شد. آزمایش نشت یونی بر این اصل استوار است که غشای سلول‌های سرما دیده به علت صدمات ناشی از تنش، عناصر داخل سلولی را آزاد می‌کنند که یکی از عمده‌ترین این عناصر، پتاسیم می‌باشد (Dibax *et al.*, 2010). مقدار نشت عناصر نشان‌دهنده میزان خسارت به سلول‌ها و غشاء آن‌هاست.

روش کار براساس اندازه‌گیری هدایت الکتریکی آب مقطری است که نمونه‌های سرما دیده در داخل آن قرار می‌گیرند. هر چه میزان هدایت الکتریکی بیشتر باشد، به این معنی است که مقدار عنصر بیشتری از سلول آزاد شده است و در نتیجه خسارت بیشتری به سلول وارد آمده است. از این شیوه معمولاً برای اندازه‌گیری میزان خسارت به برگ‌ها و شاخه‌ها استفاده می‌شود، اما می‌توان با آن صدمات ریشه و جوانه‌ها را نیز ارزیابی کرد (Khanizadeh *et al.*, 2008). از مزایای این روش می‌توان به آسان بودن اندازه‌گیری و نیاز به مقدار کم مواد گیاهی اشاره کرد. در این روش، داده‌های زیادی با استفاده از مقدار محدود نمونه آزمایشی به دست می‌آید (Dionne *et al.*, 2001). کامپوس و همکاران (۲۰۰۳)، با استفاده از این روش و اندازه‌گیری لیپدهای گیاه قهوه، توانستند ارتباط معنی‌داری بین نشت یونی و میزان لیپدها، در این گیاه پیدا کنند. با انتخاب دوازده رقم از زیتون‌های بومی مناطق مختلف ایتالیا و به‌کارگیری روش نشت یونی و اگزوترم به این نتیجه رسیدند که با استفاده از اگزوترم، نمی‌توان ارقام مقاوم را در این درختان شناسایی کرد، ولی نشت یونی به‌خوبی تفاوت در ارقام مقاوم و حساس را نشان داد (Eris *et al.*, 2007).

۲-۱۶-۲ کربوهیدرات‌های محلول

محققین گزارش دادند که با اضافه نمودن قندهای محلول در کشت سوسپانسیون سلول، تحمل به یخ-زدگی در برخی از گیاهان افزایش می‌یابد. آن‌ها همچنین اعلام کردند که با قرار دادن سلول‌ها به مدت ۱۴ ساعت در قندهای محلول به‌ویژه ساکارز، رافینوز، فروکتوز و مانیتول مقاومت سلول‌ها به یخ‌زدگی افزایش یافت. این چنین تطابق یافتگی در کشت‌های طولانی‌مدت در محیط‌های کشت غنی‌شده به‌وسیله مانیتول نیز مشاهده شده است (Einali and Valizadeh, 2017).

Palonen *et al* (۲۰۰۰) اظهار داشتند که رابطه مستقیمی بین میزان کربوهیدرات‌های محلول سلول-ها و LT_{50} آن‌ها وجود دارد که نشان‌دهنده تأثیر کربوهیدرات در مقاومت به دماهای پایین است. محققین گزارش کردند که محتوای قندهای محلول تأثیر مثبتی در نگهداری دیواره سلولی گیاهان در مقابله با تنش سرمایی دارد. آن‌ها همچنین اظهار داشتند که تجمع کربوهیدرات‌های محلول می‌تواند نقش مهمی در نگهداری دیواره سلولی از آسیب‌های ناشی از خسارت سرمازدگی در گیاهان ایفا کند (Yuanyuan *et al.*, 2009). Shao and Kang (۲۰۰۸) بیان داشتند که غلظت قندهای محلول سلول طی سرمادهی مصنوعی نیز افزایش یافت که یک نوع مکانیسم مقاومت به سرما به حساب می‌آید.

Cansev *et al* (۲۰۱۲) گزارش دادند که افزایش مقاومت به سرما با تجمع ترکیباتی مانند قندهای محلول و آمینواسیدها حاصل می‌شود. اثرات حفاظت سرمایی قندها هم در ژنوتیپ‌های حساس و هم تطابق یافته وقتی در معرض دمای پایین قرار می‌گیرند دیده شده است. قند مانیتول مؤثرترین کربوهیدرات محلول برای محافظت از سرما در درخت اکالیپتوس شناخته شده است (Cansev *et al.*, 2012). Palonen *et al.* (2000) ضمن بیان نقش مهم قندهای محلول و اثر متقابل آن‌ها با غشاء

فسفولیپیدی در تحمل به دماهای زیر صفر اعلام کردند که یکی از روش‌های تعیین مقاومت گیاهان به سرما، تعیین غلظت قندهای محلول می‌باشد. به اعتقاد آنان هر چه غلظت قند در گیاه بیشتر باشد، گیاه به سرما مقاوم‌تر است. Thomas *et al.* (۲۰۰۴) مقاومت به یخ‌زدگی در پروتوپلاست را نتیجه افزایش مقدار فسفولیپیدهای مقاوم به سرما در غشاهای تجمع ترکیبات ازته مانند اسیدهای آمینه و پرولین که دارای مولکول‌های کوچک هستند، تجمع پروتئین‌های محلول در آب و تجمع کربوهیدرات‌های محلول به‌ویژه الیگوساکاریدها دانست. ساز و کار محافظتی این مواد تا حدودی به‌این‌علت است که در نتیجه افزایش غلظت مواد محلول در پروتوپلاسم، تعادل ترمودینامیکی بین یخ خارج و آب داخل سلول بهتر برقرار شده و بدین ترتیب تنش آب کشیدگی کاهش می‌یابد. Guo *et al.* (۲۰۱۲) اعلام کردند که رابطه مستقیمی بین میزان افزایش مقاومت به سرما و میزان کربوهیدرات در درختان دانه‌دار و هسته‌دار وجود دارد. Patton *et al.* (۲۰۰۷) گزارش نمود که در گیاهچه کلم، میزان ساکارز، گلوکز و فروکتوز به تدریج طی تطابق با سرما افزایش یافت و مقدار این ترکیبات همبستگی مثبتی با مقاومت به یخ‌زدگی نشان دادند، اما نشاسته و اینوزیتول طی روند تطابق با سرما تغییر چندانی نداشتند. مقاومت به یخ‌زدگی یک روز بعد از قرار گرفتن گیاه در دمای بالا از بین می‌رود که این تغییر با کاهش شدید مقدار قند در ارتباط است (Ayse, 2006). مقادیر گلوکز، فروکتوز، رافینوز و استاکیوز در انگور به‌طور قابل توجهی با فرایند تطابق به سرما مرتبط بوده، به‌طوری‌که از ابتدای دوره تطابق (ماه آگوست) تا زمان حداکثر تطابق به سرما (دسامبر یا ژانویه) افزایش یافته است (Mills *et al.*, 2006).

۲-۱۶-۳ پرولین

سلول‌های گیاهی در شرایط تنش، برخی از اسیدهای آمینه مانند پرولین (شکل ۳-۲) را تولید می‌کند. پرولین از جمله ترکیبات آلی با وزن مولکولی کم است که به‌عنوان محافظ اسمزی از پروتئین‌های سلولی نگهداری می‌کند. با آنکه پرولین جزء اسیدهای آمینه بیست‌گانه محسوب می‌شود، اما

درواقع پرولین یک نوع ایمینواسید است. تولید این ترکیب در زمان کاهش محتوای آب سلول زیاد می- شود. در زمان تولید یخ در بافت‌های گیاه و در دماهای زیر صفر که تنش سرمایی شدید شود تولید پرولین افزایش می‌یابد (Seppanen., 2000).

پرولین در مقایسه با سایر اسمولیت‌های سازگاری متداول، به ویژه قندها و قندهای الکلی از کارآیی بالاتری برای حفاظت در برابر تنش‌ها برخوردار است. پرولین علاوه بر اثر مستقیم در ثبات بخشیدن به مولکول‌های درشت و لایه‌های هیدراسیون آن‌ها، به علت ویژگی آنتی‌اکسیدانی خود یک عمل حفاظتی غیرمستقیم نیز انجام می‌دهد. نقش آنتی‌اکسیدانی پرولین در توانایی آن برای غیرفعال کردن رادیکال‌های هیدروکسیل و سایر ترکیبات دارای فعالیت بالا که تحت شرایط تنش تولید شده و در انتقال الکترون در کلروپلاست و میتوکندری اختلال ایجاد می‌کنند تظاهر یافته و از این طریق پروتئین‌ها و غشاها را در برابر آسیب‌ها محافظت می‌کند (Norozi et al., 2019). مسیر اصلی سنتز پرولین که در سیتوپلاسم رخ می‌دهد مسیر گلوتامات است (Seppanen., 2000).

پرولین → پرولین ۵ کربوکسیلات → گلوتامات سمی آلدئید → گلوتامات

شواهد فراوانی در دست است که در شرایط تنش سرما، میزان پرولین افزایش می‌یابد و بین میزان پرولین تجمع یافته و تحمل به تنش سرما همبستگی بالایی وجود دارد (میرمحمدی و ترکش، ۱۳۸۳). در شرایط تنش سرما میزان پرولین، پروتئین و ترکیبات فنولی در فلفل افزایش می‌یابد (Seppanen., 2000).

۲-۱۷ روش‌های مقابله با سرما و یخ‌زدگی در گیاهان

بحث مقاومت به تنش سرما و مطالعات مربوط به آن بسیار گسترده است و موضوعات متنوعی نظیر هواشناسی، گیاهشناسی، زیست‌شناسی، خاک‌شناسی، آمار و احتمالات و توسعه روستایی را در برمی‌گیرد. روش‌های مقابله با دماهای پایین به دودسته کلی شامل :

۱. روش‌های کوتاه‌مدت (فعال)

۲. روش‌های بلندمدت (غیرفعال) تقسیم می‌شوند.

۲-۱۷-۱ روش‌های کوتاه‌مدت (فعال)

۲-۱۷-۱-۱ استفاده از بخاری

از بخاری‌ها می‌توان برای جبران گرمایی که از طریق تشعشع از دست می‌رود استفاده کرد. کاربرد بخاری بستگی به ارزیابی هزینه سوخت دارد. بخاری‌ها با ایجاد تشعشع مستقیم و از طریق به هم زدن هوا در لایه وارونگی دمایی، باعث حفاظت گیاهان موجود در باغ از خطر سرما و یخ‌زدگی می‌شوند (هاشمی، ۱۳۸۰).

۲-۱۷-۲ غرقاب کردن

آبیاری سطحی روشی است که معمولاً برای محافظت در برابر یخ‌زدگی از زمان‌های قدیم تاکنون در باغ‌ها و مزارع مورد استفاده قرار می‌گیرد. اساس این روش افزایش ظرفیت و هدایت گرمایی خاک و آزادسازی گرمای نهان آب در زمان یخ‌زدگی می‌باشد. ویژگی‌های فیزیکی منحصربه‌فرد آب در اشکال مایع و جامد این امکان را به زارعین و باغداران می‌دهد تا از آب برای گرم کردن باغ و مزرعه خود استفاده کنند. در آبیاری سطحی هدف انجماد آب نیست، بنابراین یخ زدن آب بسیار نامطلوب

است، زیرا تشکیل لایه یخ در بالای سطح آب مانع از انتقال گرما از آب گرم موجود در زیر سطح یخ-زده به سمت بالا می‌شود. استفاده از آب گرم نیز با در نظر گرفتن هزینه گرم کردن آب موجب حفاظت بیشتر گیاه می‌گردد (دهقانی، ۱۳۸۴).

۲-۱۷-۱-۳ آبیاری بارانی

آبیاری بارانی یکی از روش‌های حفاظت گیاهان چندساله در برابر سرما و یخ‌زدگی است که بیش از ۶۰ سال قدمت دارد و در باغات میوه، خزانه‌ها و گلخانه‌ها کاربرد دارد. این روش برای مقابله با سرمای دیررس بهار مورد استفاده قرار می‌گیرد و ارزش چندانی برای مقابله با سرمازدگی زمستانه ندارد (دهقانی، ۱۳۸۴).

۲-۱۷-۱-۴ استفاده از ماشین‌های مولد باد و بال‌گردها

ماشین‌های مولد باد بیشتر در باغات میوه و در شرایطی که سرعت باد کمتر از ۵ مایل در ساعت باشد مورد استفاده قرار می‌گیرند. به‌کارگیری توأم ماشین‌های مولد باد و بخاری‌ها در باغ موجب می‌شود که گرمای تولیدشده توسط بخاری در سطح باغ بهتر توزیع و پراکنده شود. به‌کارگیری توأم آبیاری بارانی و ماشین‌های مولد باد نیز در حفاظت گیاهان از یخ‌زدگی مفید می‌باشد. همچنین وقتی وارونگی دمایی شدید باشد کاربرد بالگردها مرسوم است. بال‌گردها در شرایط وارونگی دمایی، هوای گرم بالایی را به سطح زمین می‌رانند (امیر قاسمی، ۱۳۸۱).

۲-۱۷-۱-۵ استفاده از ساختمان‌های حفاظتی در برابر سرما

ساختمان‌های مخصوص حفاظتی در برابر سرما به‌منظور جلوگیری از خشک شدن گیاه، جلوگیری از یخ‌زدگی شدید، حفظ گرمای تأمین‌شده و صرفه‌جویی در مصرف انرژی کاربرد دارند. این‌گونه ساختمان‌ها باید به گونه‌هایی تعبیه شوند که در برابر بادهای شدید مقاومت داشته باشند و میزان هدر رفت انرژی گرمایی را به حداقل برسانند (امیر قاسمی، ۱۳۸۱).

۲-۱۷-۲ روش‌های بلندمدت (غیرفعال)

۲-۱۷-۲-۱ انتخاب ارقام و پایه‌های مقاوم

ارقام مختلف یک‌گونه از نظر میزان تحمل به سرما بسیار متفاوت‌اند. برخی از ارقام نیز با به-کارگیری روش‌های مرسوم اصلاحی جهت افزایش‌یافته به سرما اصلاح نژاد شده‌اند که از آن جمله می‌توان به‌گزینش ارقام مقاوم به سرما مانند گندم (میرفخرایی و همکاران، ۱۳۸۹؛ روستایی، ۱۳۷۶) و انگور (افتخارزاده، ۱۳۶۹) اشاره نمود. مطالعه هیبریدهای متحمل به یخ‌زدگی نشان داده است که از هیبریداسیون بین ارقام دارای شکل، دوره زندگی و تحمل به یخ‌زدگی مشابه، ارقام جدیدی ایجاد می‌شود که نسبت به والدین خود مقاومت بیشتری به یخ‌زدگی دارند (میرمحمدی و ترکش، ۱۳۸۳). عمل پیوند زدن گیاهان روی پایه‌های مقاوم نیز یکی از راه‌های موثر برای مقابله با سرما می‌باشد. برخی از گونه‌های مرکبات مانند نارنج سه برگ در مقابل سرما مقاوم بوده و از آن‌ها به‌عنوان پایه‌های مقاوم به سرما استفاده می‌شود (رادنیا، ۱۳۷۵). استفاده از پایه‌های مقاوم به سرما در درختان سیب،

گلایی (جلیلی مرندي، ۱۳۸۸) و گيلاس، آلو و هلو (رادنيا، ۱۳۷۵) باعث افزايش مقاومت به سرما در اين درختان گرديده است.

۲-۱۷-۲ انتخاب محل مناسب

با اختصاص محلی مناسب برای پرورش گیاهان دارای فصل رشد طولانی و حتی حساس‌ترین گیاهان به تنش دماهای پائین، می‌توان از صدمه سرما به آن‌ها جلوگیری نمود، لذا انتخاب بهترین مکان برای احداث باغ در جلوگیری از خسارت یخ‌زدگی گیاهان بسیار موثر است. جریان هوای سرد به دلیل سنگینی به سمت اراضی کم‌ارتفاع حرکت و در آنجا تجمع پیدا می‌کند، بنابراین درختان کشت‌شده در کف‌دره‌ها به مراتب بیشتر از درختان کشت‌شده در دامنه شیب‌ها در معرض آسیب یخ‌زدگی می‌باشند (میرمحمدی و ترکش، ۱۳۸۳).

۲-۱۷-۳ اجتناب از روش‌های مدیریتی غیر صحیح

کاربرد روش‌های مدیریتی و زراعی مانند تغذیه، هرس و آبیاری صحیح می‌تواند در ایجاد مقاومت به سرما درختان میوه نقش مهمی ایفا کند، درحالی‌که اعمال روش‌های مدیریتی نامناسب باعث کاهش این مقاومت‌ها می‌شود و لذا باید از آن‌ها اجتناب گردد. به‌عنوان مثال تغذیه با کودهای نیتروژنه و یا فسفره در اواخر تابستان و اوایل پاییز باعث افزایش تحریک رشد و در نتیجه افزایش حساسیت به سرمای زمستانه می‌شود (میرمحمدی و ترکش، ۱۳۸۳ به نقل از Gust et al., 1983). همچنین آبیاری و یا هرس دیر هنگام نیز می‌تواند خسارات ناشی از سرمای زمستانه را افزایش دهد.

مدیریت هسته یخ

یکسری از باکتری‌ها در گیاهان با ایجاد هسته یخ مکانیسم مقاومتی گیاهان در برابر کاهش دما را شکسته و باعث یخ زدن آب در دماهای بالاتر از معمول می‌شوند. این باکتری‌ها را باکتری‌های مولد هسته یخ می‌نامند که حداکثر ۱۰٪ باکتری‌های موجود در سطح گیاهان را تشکیل می‌دهند (Lindow., 1993). برای جلوگیری از خسارت‌های ناشی از این باکتری‌ها از بازدارنده‌های هسته یخ در اطراف درختان استفاده می‌شود تا از تشکیل کریستال‌های یخ در داخل اندام‌های گیاهی جلوگیری گردد. این روش یک روش جدید برای حفاظت از یخ‌زدگی بر اساس قابلیت فراسرد شدن در گیاهان است (Constantinidou *et al.*, 1991).

درختان بادام تیمار شده با بازدارنده‌های هسته یخ مانند اوره و کربنات سدیم تا ۱۰ روز بعد از مصرف، کاهش معنی‌داری در تعداد باکتری‌ها و تعداد هسته‌های یخ روی سطح خود نشان داده‌اند، ولی بعد از ۱۰ روز تعداد باکتری‌ها زیاد و تقریباً برابر گیاهان شاهد شده است (Lindow., 1993). کتابچی و همکاران (۱۳۸۵) اعلام کردند نوسان جمعیت این باکتری‌ها روی سطح درخت بادام به دمای محیط و دوره فنولوژی گیاه بستگی دارد. کاربرد باکتری‌های آنتاگونیست به علت در اختیار گرفتن مکان‌های اشغال‌شده توسط باکتری‌های هسته یخ، توانسته حدود ۱۰ تا ۱۰۰۰ بار فعالیت باکتری‌های مولد هسته یخ را کاهش دهد. استفاده از این روش در محافظت از یخ‌زدگی امیدبخش بوده و نیاز به بررسی‌های بیشتری دارد (صحرارگرد، ۱۳۸۶).

۱۸-۲ مروری بر تحقیقات انجام‌شده

اگرچه زیتون دارای تحمل به یخ‌زدگی متوسط هست، دماهای زیر آستانه تحمل زیتون (۷- درجه سانتی‌گراد) می‌تواند به گیاه آسیب برساند (Pallioti and Bongi., 1996) درحالی‌که دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد ممکن است برای آسیب‌رسانی جدی به درخت زیتون کافی باشد (Weiser.,)

(1970). این شرایط به طور متناوب در برخی از سال‌ها در برخی از مناطق کشور که زیتون کشت می‌شود رخ داده و باعث آسیب فراوان به باغ‌های احداث شده گردیده است. با این وجود، افزایش تقاضا برای روغن زیتون باعث گسترش سطح زیر کشت آن در مناطقی با اقلیم‌های سردتر که خطر سرمازدگی زمستانه درختان زیتون را تهدید می‌کند، گردیده است. علاوه بر آن، روغن به دست آمده در مناطقی با اقلیم سردتر دارای کیفیت بالاتر است (Pallioti and Bongi., 1996). دلیل بالا بودن کیفیت روغن به دست آمده در مناطق خنک ناشی از داشتن میزان بالای اسیدهای چرب غیراشباع نسبت به اسیدهای چرب اشباع در مقایسه با مناطق گرم که به ویژه در طول دوره بیوسنتز روغن دارای هوای گرم هستند (هاشم‌پور و همکاران، ۱۳۸۹). از آنجایی که می‌توان روغن زیتون با کیفیت بهتر از درختانی که در اقلیم‌های سردتر رشد می‌کنند به دست آورد، گسترش منطقه کشت به اقلیم‌های نسبتاً سرد اهمیت دارد. مؤثرترین راه برای اجتناب از این آسیب‌ها در مناطق مواجه با این شرایط اقلیمی، انتخاب ارقام با حداقل حساسیت است، ولی انتخاب روش صحیح جهت تعیین تحمل به سرما در ارقام مختلف زیتون کار مشکلی است (Azzarello *et al.*, 2009). از طرف دیگر، درختان زیتون همانند سایر درختانی که خواب فیزیولوژیک ندارند، هفته‌ها برای نشان دادن علائم سرمازدگی در سطح آناتومیکی زمان نیاز دارند. این علائم شامل تشکیل تیل در آوند چوبی (تیلوز)، مرگ سلول‌های کامبیوم، چوب‌پنبه‌ای (سوبرینی شدن) شدن و چوبی شدن دیواره سلولی است (D'angeli and Altamura., 2007). تعدادی از صفات مزرعه‌ای، اطلاعات تحمل به سرمای را برای ارقام زیتون فراهم می‌کنند (Fiorino and Mancuso., 2000 ؛ Barranco *et al.*, 2005). ولی بیشتر این مطالعات بر اساس مشاهدات ظاهری بوده است که منجر به یافته‌های متناقض می‌شود (Azzarello *et al.*, 2009). مشاهدات ظاهری اغلب وابسته به دیگر عوامل متغیر مانند باد، رطوبت هوا شدت سرما، شرایط سلامت و میزان آب گیاه است که آن‌ها در نظر گرفته نمی‌شوند، برای مثال آسیب‌هایی که می‌تواند در به همین دلایل، تشخیص روش‌های مورد نظر برای ارزیابی تحمل سرمای ارقام زیتون برای کشت

در مناطقی که دما می‌تواند به‌طور منفی تولید را تحت تأثیر قرار دهند دارای اهمیت است (Azzarello et al., 2009). روش‌های مختلفی برای ارزیابی آسیب دمای پایین مورد استفاده قرار می‌گیرند. بدین ترتیب استفاده از این روش‌ها به‌طور هم‌زمان در برآورد تحمل به سرما می‌تواند توجیه شود (Azzarello et al., 2009).

تا به حال، روش‌های آزمایشگاهی برای تمایز بین ارقام حساس و متحمل زیتون بر اساس اندازه-گیری مقاومت الکتریکی بوسیله اسپکتروسکوپی مقاومت در برابر جریان الکتریکی (Mancuso, 2000). بوسیله آنالیز دمایی تمایزی (Fiorino and Mancuso., 2000)، بوسیله آزاد شدن ترکیبات فنلی و قهوه‌ای شدن بافت برگ (Roselli et al., 1989)، بوسیله نشت یونی (Eris et al., 2007)، Ershadi and et al., 2016؛ Bafeel., 2005) بوده است. این روش‌ها همیشه موثر نبوده و در تمایز ارقام، زیاد موفقیت آمیز نبوده اند. در طی مطالعه‌ای یخبندان زمستان ۱۳۸۶ تحمل به سرمای تعدادی از ارقام بومی منطقه طارم سفلی قزوین شامل ارقام زرد، روغنی، ماری، چرچنگی و شنگه را ارزیابی شد و نتایج آن‌ها نشان داد که هیچ کدام از این ارقام بومی در برابر یخبندان زمستانه مقاوم نبودند، ولی در بین آن‌ها ارقام بومی چرچنگی و شنگه دارای مقاومت نسبی به سرمای زمستانه بودند (گلمحمدی و رسولی، ۱۳۸۶). در پژوهشی دیگر به‌وسیله فریدونی و همکاران (۱۳۸۸) خسارت سرمازدگی ۲۵ رقم و ژنوتیپ زیتون ارزیابی شد. بر اساس نتایج به‌دست آمده کم‌ترین خسارت برگ و شاخه بر اساس شاخص‌های مرفولوژیکی در رقم آمیگدالیا مشاهده شد. ارقام کرونايیکي، مانزانیلا، آسکولانا، بلیدی، لچینو، فرانسیو و کالاماتا بیش‌ترین حساسیت را نسبت به یخبندان نشان دادند. سیم کش زاده و همکاران (۱۳۸۹) تحمل به سرمای ۱۵ رقم زیتون را با استفاده از اندازه‌گیری فلوروسانس کلروفیل و ارزیابی ظاهری بررسی نمودند. نتایج ارزیابی ظاهری روی گیاهان ۷ تا ۱۵ ساله (با استفاده از ارزیابی درصد خشکیدگی درختان و ریزش برگ‌ها) در طی سرمازدگی سال ۸۵ و ۸۶ نشان داد که ارقام آمفیسیس، گرگان و شنگه به ترتیب به‌عنوان مقاوم‌ترین ارقام و کرونايیکي و رشید به‌عنوان

حساس‌ترین بودند. در روش اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل بر روی برگ‌های جدا شده در تیرماه در دماهای مختلف (تا ۲۰- درجه) به مدت یک ساعت نتایج نشان داد که ارقام شنگه، گرگان، آمفی سیس به‌عنوان ارقام مقاوم تر و رشید، اسپانیا، مانزانایلا و کرونایکی به‌عنوان ارقام حساس معرفی گردیدند.

سلیمانی و همکاران (۱۳۸۴) در طی آزمایشی اثر تنش سرما بر روی نهال‌های یک ساله ارقام زرد، روغنی و میشن و کرونایکی در دو مرحله سازگاری و عدم سازگاری به سرما ارزیابی کردند، نتایج مربوط به تأثیر سرما روی شاخص‌های رشدی نشان داد که ارقام مختلف زیتون واکنش‌های متفاوتی را در پاسخ به شرایط سرمای طبیعی نشان داده و رقم کرونایکی با بیشترین درصد رشد طولی در طی پاییز، بیشترین خسارت شاخساره را در اثر سرما نشان داد. ارقام بومی ایران (زرد و روغنی) به ترتیب خیلی مقاوم و مقاوم به سرما تلقی شدند (سلیمانی، ۱۳۸۱). تأثیر تنش سرما بر میزان پروتئین کل، پراکسیداسیون لیپید و محتوای کلروفیل نهال‌های یک ساله سویلانا و فرانتوئو نشان داد که رقم فرانتوئو حتی تا دمای ۱۵- درجه سانتی‌گراد قادر به حفظ ساختار فتوسنتزی خود بود و میزان پراکسیداسیون لیپید نیز در آن افزایش چندانی در مقایسه با شاهد نداشت. هم‌چنین میزان پروتئین کل در فرانتوئو از دمای ۱۰- درجه سانتی‌گراد به پایین کاهش معنی‌داری را نشان داد، اما رقم سویلانا این کاهش از ۵- درجه سانتی‌گراد به پایین دیده شد (افشار محمدیان و همکاران، ۱۳۹۱).

محققین گزارش کردند که در طی یخ‌زدگی سال ۱۹۹۰ در مناطق زیتون‌کاری کالیفرنیا رقم‌های آسکولانا و میشن متحمل‌تر بودند درحالی‌که رقم مانزانایلا طی این دوره به شدت خسارت دیدند (Denney et al., 1993). هم‌چنین Gomez-del-Campo and Barranco (۲۰۰۵) نهال‌های یک‌ساله ۱۰ رقم زیتون را طی یخ‌زدگی زمستان ۲۰۰۱ در باغ‌های زیتون اسپانیا بر اساس مشاهدات ظاهری آسیب یخ‌زدگی به منظور تعیین ارقام مقاوم مطالعه کردند. نتایج این مطالعه نشان داد که ارقام کارنیکابرا و آربکین کمترین خسارت ناشی از یخ‌زدگی در شاخه‌ها و بیشترین رشد جوانه‌ها پس از

هرس قسمت‌های آسیب‌دیده ناشی از یخ‌زدگی را نشان دادند. در پژوهشی دیگر، رابطه بین داده‌های مقاومت به یخ‌زدگی در شرایط آزمایشگاهی برای برگ‌های ۸ رقم زیتون و مقاومت مزرعه‌ای مشاهده شده در ژنوتیپ‌های مشابه تحت آسیب یخ‌زدگی طبیعی بررسی شد (Barranco *et al.*, 2005). دمای یخ‌زدگی کشنده برای هر رقم بوسیله اندازه‌گیری نشت یونی بافت‌های برگ تعیین شد و نشان داد مقدار نشت یونی با درصد آسیب دیدگی بافت در مزرعه همبستگی داشته است. متحمل‌ترین ارقام به یخ‌زدگی کارنیکابرا، آربکین و پیکوال بودند که کم‌ترین آسیب یخ‌زدگی شاخه و کم‌ترین LT_{50} را نشان دادند. درحالی‌که حساس‌ترین رقم، بیشترین آسیب یخ‌زدگی شاخه (۱۰۰ درصد) و بالاترین میزان LT_{50} (کم‌ترین تحمل) را نشان داد. نتایج انتخاب ارقام متحمل زیتون به تنش یخ‌زدگی بر اساس نشت یونی و آنالیز دمایی تمایزی به همراه برآوردهای ظاهری آسیب یخ‌زدگی نشان داد که استفاده از روش آنالیز دمایی تمایزی بر خلاف روش نشت یونی قادر به تشخیص ارقام بر اساس نتایج نشت یونی و مشاهدات متحمل نسبت به ارقام حساس نیست (Eris *et al.*, 2007). بر اساس نتایج نشت یونی و مشاهدات ظاهری ارقام بوتیلان (رقم فرانسوی) و رقم نوستراله دی ریجالی (ایتالیایی) مقاوم به یخ‌زدگی و رقم بورسیون حساس‌ترین رقم تشخیص داده شد (Eris *et al.*, 2007).

محققین نشان دادند که تغییرات در الگوهای سالانه قندهای و پروتئین‌های محلول کل با فرایند سازگاری به سرمای زیتون رقم جملیک مرتبط است (Eris *et al.*, 2007). علاوه بر این، تغییرات در ترکیبات کربوهیدرات‌ها و فسفولیپیدها مرتبط با تحمل به دمای کم برخی ارقام زیتون به وسیله Gulen *et al.* (۲۰۰۹) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این مطالعه نشان داد که ارقام مقاوم مانند دومات، لکنویس، هوجی بلانکا، جملیک و آسکولانا در مرحله سازگاری به سرما با افزایش در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و بیان پروتئین‌ها دهیدرین باعث پایداری غشاهای سلولی تحت دماهای پایین شدند (Cansev *et al.*, 2009). نتایج بررسی ارتباط آسیب دیدگی به دمای پایین برگ و شاخه‌های زیتون رقم جملیک و فعالیت آنزیم‌های CAT و APX تحت دماهای پایین مصنوعی نشان

داد که فعالیت APX برای حفظ تحمل به سرمای زیتون مهم‌تر از آنزیم CAT است (کانسو و همکاران، 2012). همچنین گزارش شد که سازگاری به سرما تجمع فنل کل را القا می‌کند. تیمار سرمایی باعث تغییرات معنی‌دار در فنل کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی شد، ولی در دماهای ۱۰- و ۲۰- درجه سانتی‌گراد کاهش نشان دادند (Cansev *et al.*, 2012). افزایش در مقدار مانیتول در گیاهان زیتون تحت تنش سرما در مقایسه با گیاهان شاهد مشاهده شد، در حالی که مقدار ساکارز تغییر نکرد. در همه تیمارهای سرمایی افزایش مقدار کل کربوهیدرات‌های خانواده رافینوز مشاهده شد (Rejskova *et al.*, 2007).

D'Angeli *et al.* (۲۰۰۳) پیشنهاد دادند که پیام‌رسانی کلسیم می‌تواند به‌عنوان یک نشانگر بیوشیمیایی اولیه برای انتخاب ژنوتیپ‌ها متحمل به سرمای زیتون که تاکنون نشانگر اختصاصی برای آن یافت نشده است، باشد. علاوه بر این بیان ژن اسموتین (پروتئین ضد یخ) توتون در زیتون نیز همبستگی مثبتی با پیام‌رسانی کلسیم و همچنین در تحت تأثیر قرار دادن ساختار سلولی در پاسخ به تحریک سرما دارد (D'angeli and Altamura., 2007). همچنین این مطالعه نشان داد که سلول‌های درختان زیتون به کاهش‌های سریع درجه حرارت با افزایش‌های گذرا (موقت) در کلسیم پاسخ می‌دهند (D'angeli and Altamura., 2007).

Ortega-García and Peragón (۲۰۰۹) فعالیت آنزیم PAL، PPO و غلظت‌های ترکیبات فنولی هیدروکسی تیروزول، تیروزول و ال‌توروپین را در برگ‌های درختان زیتون رقم پیکوال قبل و بعد از تنش دمای پایین ارزیابی کردند و نشان دادند که فعالیت آنزیم PAL ممکن است بخشی از فرایند بهبود برگ زیتون در برابر تنش یخ‌زدگی باشد، در حالیکه پاسخ PPO و ال‌توروپین ممکن است بخشی از مکانیسم حفاظتی آنتی‌اکسیدانی باشد. بررسی پاسخ مولکولی درختان زیتون به دمای پایین بیشتر بر روی میوه‌ها این درخت به دلیل اهمیت کیفیت روغن تولیدی تحت شرایط مختلف دمایی، انجام‌شده است (Hernandez *et al.*, 2011).

سرمازدگی با یخ زدگی فرق دارد

در مورد آسیب رسیدن به گیاهان با دو واژه سرمازدگی و یخ زدگی مواجه هستیم که این دو با یکدیگر تفاوت دارند. اگرچه هر دوی این شرایط در دمای زیر صفر پدیدار می شوند اما با یکدیگر تفاوت دارند. زمانی که گیاه دچار یخ زدگی می شود یعنی آب درون سلولهای آن تبدیل به کریستالهای یخ شده است و این کریستالها به دیوار سلول آسیب می زنند و موجب از هم گسیختگی آنان می شوند و یخ زدگی می تواند به این دلیل موجب پایان عمر بافت گیاه شود. این مسئله در گیاهان معمولاً زمانی روی می دهد که دمای محیط به زیر ۱/۱ درجه سانتیگراد نزول کند. سرمازدگی فقط سطح روپین گیاه را تحت تاثیر قرار می دهد و به عمق نفوذ نمی کند. یعنی دمای هوا هنوز آنقدر افت نکرده است که موجب تشکیل کریستالهای یخ در درون سلولهای گیاهی شود و فقط این اتفاق در سطح برگ می افتد بنابراین سرمازدگی می توان به سطح برگ و همچنین جوانه های برگ و گل آسیب وارد کند اما به ندرت گیاه از از پای در می آورد. اما نباید فراموش کرد که ادامه چنین هوایی نیز می تواند بسیار به ضرر گیاه باشد بخصوص اگر با وزش باد همراه باشد زیرا وزش هوای سرد مرتباً رطوبت را از هوای اطراف برگها دور می کند و مجدداً رطوبت از داخل گیاه جایگزین رطوبت از دست رفته هوای اطراف برگها می شود اما به دلیل نامساعد بودن هوا و سرد بودن آن و به دلیل غیرفعال بودن ریشه ها در چنین شرایطی، ریشه ها نمی توانند این رطوبت را به موقع از خاک اطراف جذب کرده و در اختیار گیاه قرار دهند. این مسئله ابتدا موجب قهوه ای شدن نوک و حاشیه برگها می شود و اگر این شرایط ادامه یابد امکان از بین رفتن کل برگ نیز وجود دارد (حیدری، ۱۳۹۲).

فصل ۳ مواد و روش ها

۳-۱ محل آزمایش

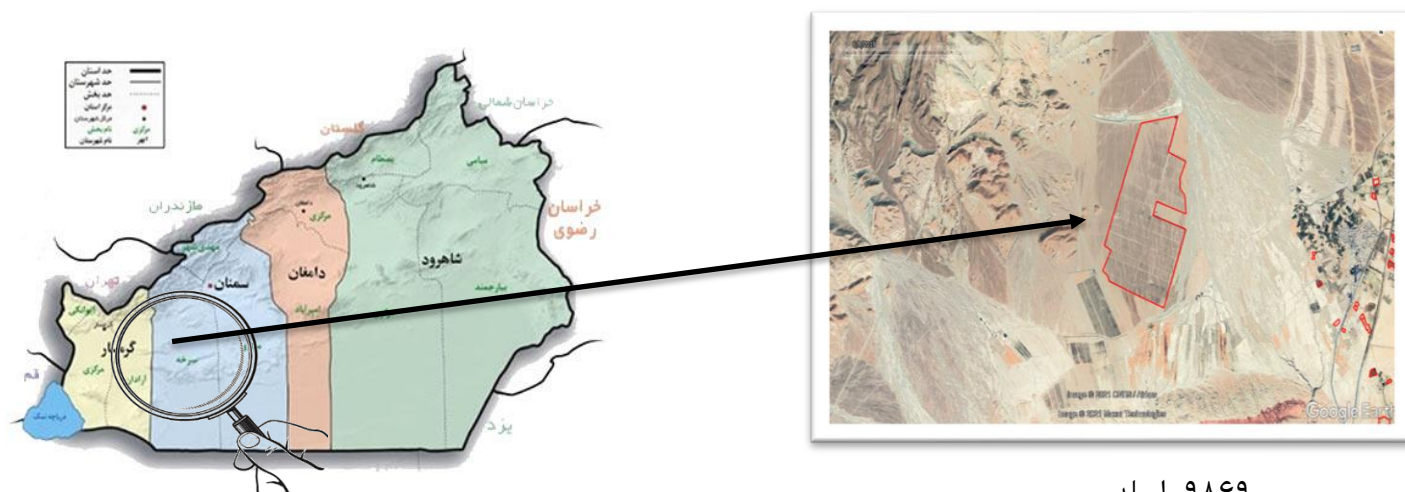
این پژوهش روی ۱۰ رقم از ارقام زیتون موجود در باغ زیتون شرکت کشاورزی رضوی واقع در غرب لاسجرد (توابع شهرستان سرخه، استان سمنان) به طول و عرض جغرافیایی (35 24 59.20 N و 53 2 59.23 E) مساحت ۲۹۵ هکتار که ۱۵۵ هکتار از آن دارای باردهی اقتصادی است و شامل ارقام زیر است انجام شد .

تعداد کل درختان باغ: ۳۰۵۹۱ اصله

رقم روغنی: ۹۷۱۰ اصله

رقم زرد: ۱۱۰۱۲ اصله

سایر ارقام شامل : میشن، رشید، سنگه، ابوسطل، مانزایلا، کاوی، درصلائی، لوک و ... در مجموع



۹۸۶۹ اصله

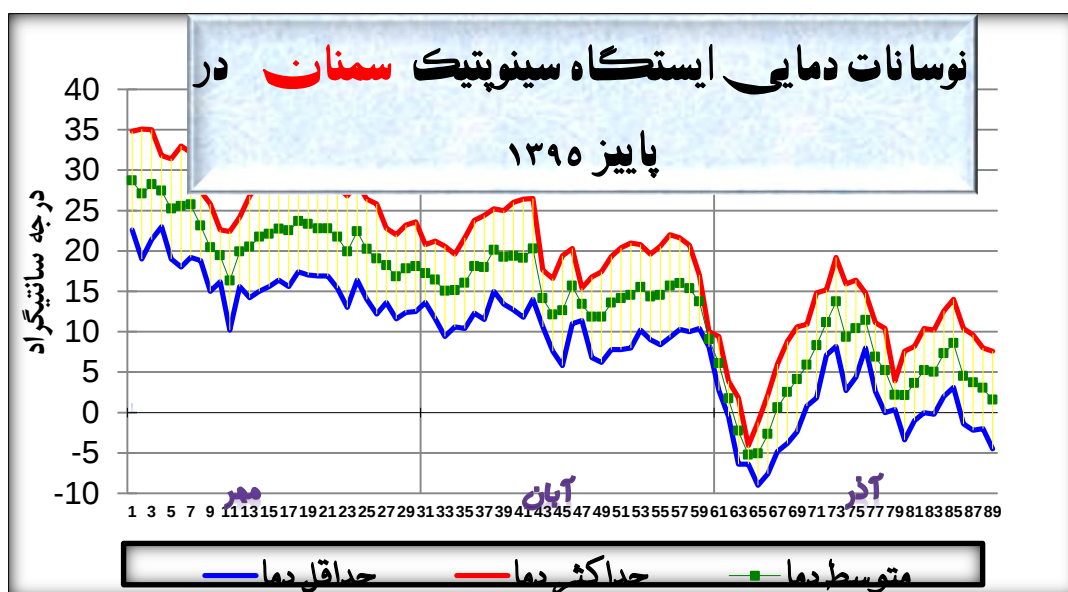
شکل ۴-۱ موقعیت جغرافیایی باغ ۲۹۵ هکتاری زیتون

سنجش میزان مقاومت به سرمازدگی زمستانه در این تحقیق به ۲ روش زیر انجام شد .

۱- ارزیابی درختان در شرایط طبیعی پس از وقوع سرما

۲- ارزیابی شاخه‌ها در حالت رکود در شرایط کنترل‌شده دمایی

در باغ مورد مطالعه در ۲۹ آبان تا ۵ آذر ۱۳۹۵ در مدت ۸ روز درجه حرارت از ۱۰ درجه سانتی‌گراد به ۹- درجه سانتی‌گراد طبق آمار هواشناسی تغییر کرد. همچنین از دوم آذر تا ۱۰ آذر به مدت ۹ روز طبق اطلاعات نزدیکترین ایستگاه سینوپتیک درجه حرارت زیر صفر بود (نمودار ۱-۳). با توجه به اختلاف ارتفاع بین ایستگاه سینوپتیک و محل باغ (حدود ۴۰۰ متر) درجه حرارت در محل باغ در سردترین روز معادل ۱۳- سانتی‌گراد بود. (با علم به این موضوع که به ازای هر ۱۰۰ متر افزایش در ارتفاع، درجه حرارت ۱ درجه کاهش خواهد داشت).



نمودار ۱-۳ نوسانات دمایی ثبت شده در ایستگاه سینوپتیک سمنان در سال ۱۳۹۵

در بخش اول این پژوهش پس از وقوع سرمای زودرس زمستانه در آذر ۹۵ ارقام زیتون مورد بررسی قرار گرفتند. در این بررسی درصد خسارت وارد بر برگ، شاخه‌های یک‌ساله، دوساله و تنه هر یک از ارقام اندازه‌گیری شد. همچنین میزان و سرعت رشد مجدد (باز رویشی) هر یک از ارقام فوق (پس از شروع رشد مجدد، ۲ سال بعد از وقوع خسارت (۱۳۹۷)) مورد بررسی قرار گرفت.

و در پنج گروه خیلی ضعیف (۱)، ضعیف (۳)، متوسط (۵)، خوب (۷) و خیلی خوب (۹) دسته بندی شد.

وزن میوه و میزان عملکرد در هکتار هر یک از ارقام (۶ سال بعد از وقوع خسارت) اندازه‌گیری و با هم مقایسه شد.

۳-۲ ارزیابی شاخه‌ها در حالت رکود در شرایط کنترل شده دمایی

مطالعه در قالب آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی اجرا شد. فاکتورها شامل رقم زیتون (۱۰ رقم: میشن، رشید، شنگه، ابوسطل، مانزانیلا، کاوی، درصلانی، زرد، روغنی و لوک)، زمان برداشت (۳ زمان: قبل از رکود، زمان رکود و بعد از رکود منطبق با ماه‌های آذر، بهمن و اسفند)، در ۳ تکرار انجام شد.

در این بخش شاخه‌های هم‌قطر دوساله از هر یک از ارقام ذکر شده به طول ۳۰ سانتی‌متر از درخت جدا و بلافاصله به آزمایشگاه انتقال داده شد.

۳-۳ فاکتورهای اندازه‌گیری شده :

۳-۳-۱ اندازه‌گیری LT50 نشت یونی

پس از جدا کردن برگ‌ها و شستشوی شاخه‌ها با آب مقطر هر یک از شاخه‌ها به قطعات کوچک‌تر به طول ۱ سانتی‌متر از فواصل میان گره‌ها تقسیم‌شده و به مدت ۳ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس نمونه‌ها در دستگاه تست سرمازدگی (کیمیا ره‌آورد ایرانیان) بین ۰ تا ۲۱- درجه سانتی‌گراد (۰، ۳-، ۶-، ۹-، ۱۲-، ۱۵-، ۱۸- و ۲۱-) به گونه‌ای قرار گرفتند که هر ۲ ساعت درجه حرارت به میزان ۳ درجه کاهش داشت و به مدت حداقل یک ساعت در درجه حرارت مذکور بمانند. در هر مرحله (پس از اعمال تیمار سرما) نمونه‌ها از یخچال برداشت و جهت اندازه‌گیری میزان نشت یونی و تست تترازولیوم به ظروف مناسب انتقال داده شدند.

میزان خسارت غشاء با استفاده از روش نشت یونی و بر اساس روش Dexter *et al* (۱۹۳۰) و (۱۹۳۲) ارزیابی شد. در این قسمت نمونه‌های ساقه که به روش بالا سرمادهی شده، در هر مرحله، از دستگاه سرماساز استخراج و در ظروف حاوی ۴۰ میلی لیتر آب مقطر در دمای معمولی به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد. سپس میزان نشت یونی نمونه‌ها توسط دستگاه EC متر اندازه‌گیری شد. (EC_1) در مرحله بعد نمونه‌ها در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت اتوکلاو و پس از خنک شدن در دمای آزمایشگاه، میزان نشت یونی آن‌ها توسط EC متر اندازه‌گیری شد.

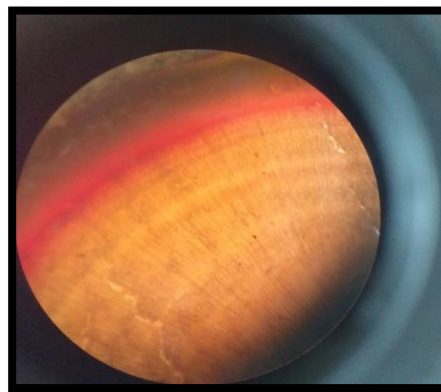
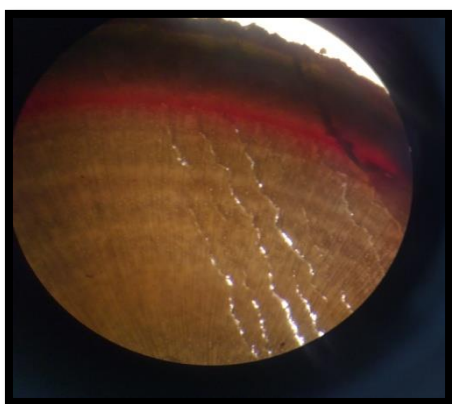
(EC_2) در نهایت درصد نشت یونی توسط فرمول زیر محاسبه شد.

$$REL = EC_1/EC_2 \times 100 \quad (1-3)$$

سپس LT_{50} نمونه‌ها بر اساس درصد نشت یونی آن‌ها با استفاده از رسم نمودار در سایت <https://www.aatbio.com/tools/lc50-calculator> محاسبه شد.

۳-۲-۱ سنجش LT50 تست تترازولیوم

جهت اندازه‌گیری درصد بافت‌های مرده از روش رنگ‌پذیری نمونه‌ها در مجاورت تترازولیوم استفاده شد (شکل ۳-۱). پس از سرمادهی، هر یک از نمونه‌ها از دستگاه سرماساز استخراج و درون فالكون قرار داده شد به هر یک از فالكن‌ها ۵ میلی لیتر محلول ۵-۳-۲ تری فنیل تترازولیوم کلراید ۱٪ اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای معمولی و در محل تاریک قرار داده شد بعد از برش نمونه‌ها توسط دستگاه (cut 4055, micro tec) به صفحات نازک آن‌ها را زیر میکروسکوپ مشاهده و میزان تلفات (بافت‌های مرده) از رابطه تعداد بافت تلف‌شده به کل نمونه محاسبه و درنهایت LT₅₀ نمونه‌ها بر اساس درصد بافت‌های از بین رفته با استفاده از رسم نمودار در <https://www.aatbio.com/tools/lc50-calculator> محاسبه شد.



شکل ۳-۱ رنگ‌پذیری بافت آبکش نمونه‌ها در مجاورت تترازولیوم

۳-۲-۲ میزان پرولین

میزان پرولین ساقه و برگ کلیه نمونه‌ها به روش بیتس (۱۹۷۳) اندازه‌گیری شد. ابتدا ۵/۰ گرم از ساقه و برگ در مجاورت ازت مایع در هاون چینی خرد و به همراه ۱۰ میلی لیتر اسید سولفوسالسیلیک ۳٪ کاملاً ساییده شد. نمونه‌ها به فالكون منتقل و به مدت ۱۰ دقیقه در حمام یخ قرار داده شد. سپس نمونه‌ها در سانتریفیوژ (UNIVERSAL 320R) به مدت ۳۰ دقیقه و با دور ۴۰۰۰ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. محلول را صاف کرده و مقدار ۲ میلی لیتر از محلول را به همراه ۲ میلی لیتر معرف نین هیدرین (شامل: ۰/۶۲۵ گرم نین هیدرین، ۱۵ میلی لیتر اسید استیک گلاسیال و ۲۲/۲۳ سی سی اسید فسفریک ۶ مولار) و ۲ میلی لیتر اسید استیک گلاسیال زیر هود لامینار درون فالكون ریخته شد سپس نمونه‌ها به مدت ۱ ساعت در حمام بن ماری با درجه حرارت ۹۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در حمام یخ خنک شده و به هر نمونه در زیر هود لامینار به مقدار ۴ میلی لیتر تولوئن اضافه و نمونه‌ها ورتکس شدند. در ادامه جهت اندازه‌گیری میزان پرولین نمونه‌ها از دستگاه اسپکتوفتومتر (استابیلایزر فاراتل مدل STB25R) استفاده شد.

ابتدا به منظور تنظیم دستگاه و دستیابی به فرمول به کار برده شده در تمام اندازه‌گیری‌ها، با استفاده از پرولین خالص نمونه‌های استاندارد در غلظت‌های ۰، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ میکرومولار تهیه و توسط دستگاه قرائت گردید. در ادامه فاز رویی تشکیل شده در نمونه‌ها جدا و توسط دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت شد.

$$\text{محتوای پرولین} = \frac{\left[\frac{\text{تولوئن (میلی لیتر)} * \text{پرولین (میکروگرم)}}{\text{میلی لیتر}} \right]}{\frac{\text{میکروگرم}}{\text{میکرومول}} \cdot \frac{115}{5}} \quad (۲-۳)$$

وزن نمونه (گرم)
5

۳-۲-۳ اندازه‌گیری هیدرات کربن محلول به روش فنول سولفوریک اسید

به منظور اندازه‌گیری هیدرات‌های کربن محلول از روش فنول سولفوریک اسید استفاده شد. برای این منظور مقدار ۰/۱ گرم از نمونه خشک گیاهی (ساقه و برگ هر کدام از ارقام) توزین و پس از پودر شدن به کمک آسیاب و عبور از الک، در فالكون ریخته شد سپس مقدار ۴۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه و به شدت ورتکس شد. مقدار پنج میلی‌لیتر از محلول ۵٪ سولفات روی و ۴/۷ میلی‌لیتر از محلول هیدروکسید باریوم ۳٪ به نمونه‌ها اضافه و مجدد ورتکس شدند. نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه و با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ (UNIVERSAL 320R) شد. مقدار دو میلی‌لیتر از محلول شناور به فالكون دیگر منتقل شد و به آن مقدار یک میلی‌متر محلول ۵٪ فنل زیر هود اضافه شد و به شدت تکان داده شد تا محلول کف کند. یک تیوپ به عنوان شاهد با محتویات فوق نیز تهیه شد. سپس در زیر هود به کمک پیپت مقدار پنج میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۹۸٪ به هر نمونه اضافه و پس از تثبیت رنگ از قهوه‌ای تیره به زرد میزان جذب نور با دستگاه اسپکتوفنومتر (استابیلایزر فاراتل مدل STB25R) در طول موج ۴۸۵ نانومتر قرائت شد (Dubois et al., 1956).

۳-۳ آنالیز آماری

داده‌ها پس از تست نرمال بودن با نرم افزار SAS9.4 آنالیز شدند. برای مقایسه میانگین از آزمون LSD استفاده شده و نمودارها با نرم افزار Excel 2013 رسم گردید.

فصل ۴ نتایج و بحث

۴-۱ نشت یونی (LT_{50})

LT_{50} نشت یونی نشان دهنده حداقل دمایی که باعث نشت یونی (تخریب بافت) ۵۰ درصد بافت مورد ارزیابی شده است. نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به تحمل به یخ‌زدگی که به صورت LT_{50} بیان می‌شود، نشان داد که اثر ساده زمان، معنی‌دار نبود. اما اثر اصلی رقم و اثر متقابل زمان در رقم در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شدند (جدول ۴-۱). نتایج مقایسه میانگین نشت یونی در ۱۰ رقم زیتون نشان داد که تحمل به یخ‌زدگی رقم روغنی در بیشترین مقدار خود ($LT_{50} = -۷/۴۱$) بوده است که به این معنی خواهد بود که نسبت به سایر ارقام حساسیت کمتری به یخ‌زدگی داشته است. قابل ذکر است که رقم روغنی به لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری با رقم کاوی ($LT_{50} = -۶/۸۸$) نداشت و هر دو در یک گروه آماری قرار گرفتند و پس از آن‌ها ارقام زرد ($LT_{50} = -۶/۷۱$)، درصلانی ($LT_{50} = -۵/۵۱$)، شنگه ($LT_{50} = -۴/۹۶$)، لوک ($LT_{50} = -۴/۳۹$)، میشن ($LT_{50} = -۴/۲۵$)، مانزانایلا ($LT_{50} = -۴/۱۵$) و رشید ($LT_{50} = -۴/۰۴$) به ترتیب میزان تحمل متوسطی به دمای پایین را نشان دادند. هم چنین رقم ابوسطل ($LT_{50} = -۳/۹۱$) دارای کمترین میزان تحمل به دمای پایین بود، هرچند که به لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری با ارقام لوک، رشید، میشن و مانزانایلا نداشت (شکل ۴-۱). نتایج مقایسه میانگین مقاومت به سرمای زمستانه در ۱۰ رقم زیتون در ماه‌های سال نشان داد که رقم روغنی در آذر ماه، بیشترین مقاومت به سرمای زمستانه ($LT_{50} = -۸/۳۸$) را دارد. هرچند که به لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری با ارقام زرد در اسفند ماه با $LT_{50} = -۸/۰۷$ ، رقم روغنی و اسفند ماه ($LT_{50} = -۷/۴۶$)، رقم کاوی و برداشت ماه بهمن ($LT_{50} = -۷/۴۹$)، رقم زرد آذر ماه ($LT_{50} = -۷/۲۰$) و

رقم کاوی و برداشت ماه اسفند ($LT_{50} = -6/83$) نداشت و همگی در یک گروه آماری قرار گرفتند (شکل ۴-۲).

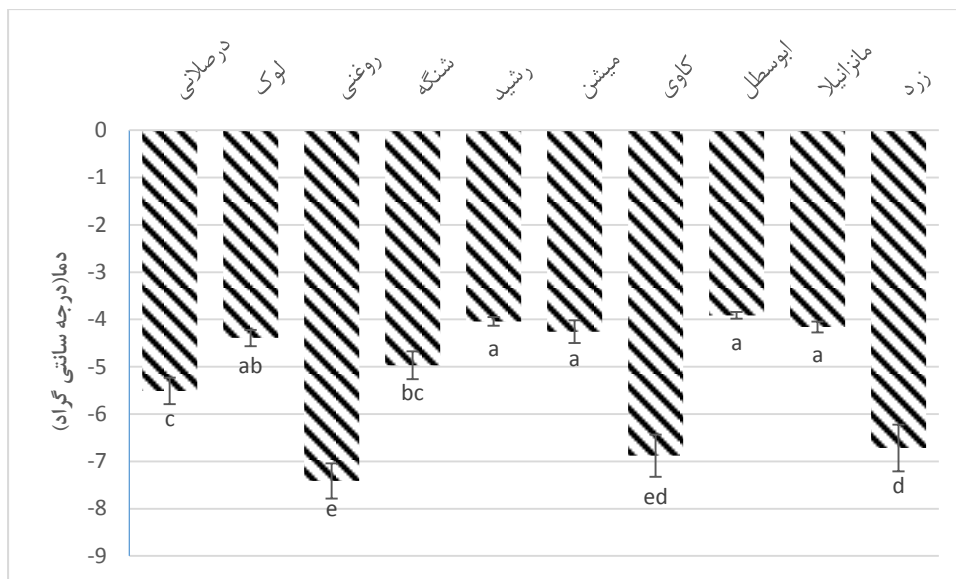
تفاوت در تحمل به یخزدگی (LT_{50}) رقم‌های زیتون به وسیله سایر پژوهشگرها گزارش شده است (بارانکو و همکاران، ۲۰۰۵؛ کانسو و همکاران، ۲۰۰۹؛ اصل مشتاقی و همکاران، ۲۰۰۹). *Asl* *Moshtaghi et al* (۲۰۰۹) گزارش کردند که تحمل به دمای پایین ارقام زرد ($LT_{50} = -8/7$) و روغنی ($LT_{50} = -8$) در مقایسه با رقم دهقان ($LT_{50} = -12/3$) کمتر است و این ارقام نسبت به رقم دهقان به یخزدگی حساس تر هستند. در دیگر مطالعات گزارش گردید که رقم مانزانیلا رقمی حساس به دمای پایین است (Barranco et al., 2005؛ Cansev et al., 2007). سیمکش و همکاران (۱۳۸۹) با استفاده از اندازه‌گیری روش فلورسانس کلروفیل روی برگ جدا شده در شرایط عدم سازگاری (در ماه تیر) در دماهای مختلف به مدت یک ساعت نشان دادند که ارقام شنگه، گرگان و آملی سیس به عنوان ارقام مقاوم‌تر و رقم رشید، اسپانیا، مانزانیلا و کرونایکی به عنوان ارقام حساس معرفی شدند. با این وجود سلیمانی (۱۳۸۱) مقاومت به سرما را در برخی از ارقام زیتون محلی (زرد، روغنی) و خارجی (کرونایکی و میشن) مطالعه کردند و گزارش کردند ارقام بومی ایران زرد و روغنی به ترتیب خیلی مقاوم و مقاوم به سرما تلقی می‌گردند، زیرا قابلیت سازگاری زیادی نسبت به سرما در مقایسه با ارقام خارجی از خود نشان می‌دهند. گزارش شده است تفاوت در LT_{50} زیتون می‌تواند به تفاوت ژنتیکی و ظرفیت پاسخ‌های دفاع متابولیکی (مانند آنتی اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی و ترکیب لیپیدهای غشایی) ارقام زیتون ناشی شود (Cyril et al., 2002؛ Zhang and Ervin., 2008). همچنین مطالعات متعدد نشان داده‌اند نشت الکترولیت‌ها یک شاخص قابل اعتماد برای ارزیابی میزان حساسیت و یا تحمل گونه‌ها و ارقام مختلف گیاهان در مقابل تنش‌های محیطی به ویژه تنش سرما است. به عنوان مثال Patterson et al (1976) در گل ساعتی، *Stone and et al* (1993) در گونه‌های

جنس سیب زمینی، Atici and Nalbantoğlu (2003) و Khanizadeh and *et al* (2000) در سیب، *et al* Sekozawa (2003) در گلابی، *et al* Mc Kellar (1992) در آووکادو، Nunes and Smith (2003) در گونه‌هایی از شبدر، Barka and Audran (1997) و Liu *et al* (2008) در ارقام انگور چنین گزارش کردند که با افزایش تنش سرما میزان نشت الکترولیت اندام‌ها بالا رفته و از آن به عنوان شاخصی برای ارزیابی تحمل به سرما در گیاهان فوق‌الذکر استفاده کرده‌اند.

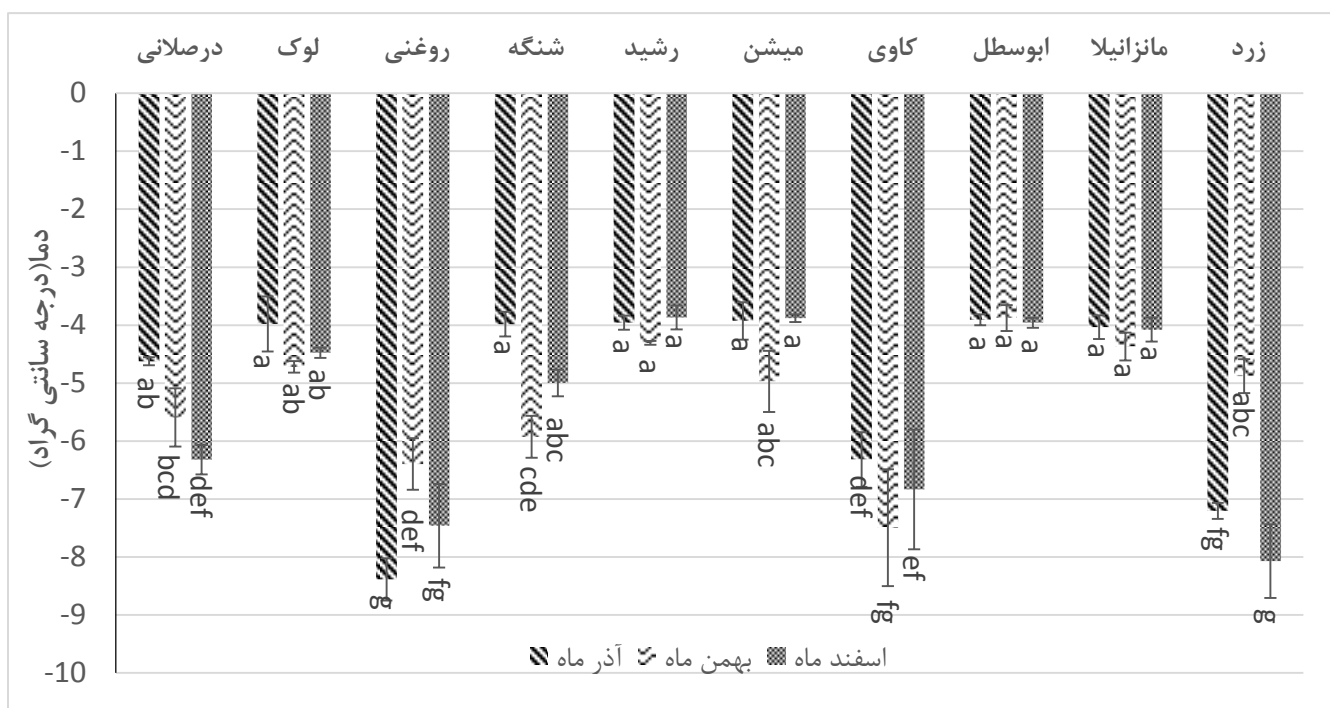
جدول ۴-۱ نتایج تجزیه واریانس LT₅₀ اثر سرمازدگی زمستانه بر ۱۰ رقم زیتون

میانگین مربعات		درجه آزادی	منابع تغییرات
LT ₅₀	LT ₅₀		
تترازولیوم	نشت یونی		
۹۲/۸۶ ^{**}	۱ ^{ns}	۲	زمان
۳۲/۶۰ ^{**}	۱۵/۷۸ ^{**}	۹	رقم
۳۱/۱۲ ^{**}	۲ ^{**}	۱۸	زمان در رقم
۰/۴۵	۰/۵۱	۶۰	خطا
۷/۳۹	۱۳/۶۶		CV%

*, **, ns: به ترتیب معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد، سطح احتمال ۱ درصد و معنی دار نیست.



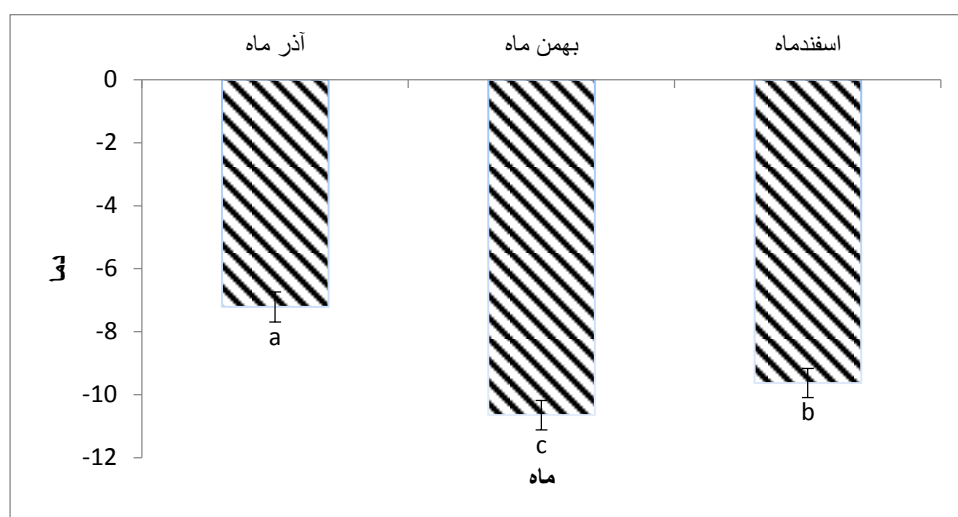
شکل ۴-۱- میزان مقاومت به سرمای زمستانه بر اساس LT50 نشت یونی در ۱۰ رقم زیتون



شکل ۴-۲- میزان مقاومت به سرمای زمستانه بر اساس LT50 نشت یونی در ۱۰ رقم زیتون در ماه های سال

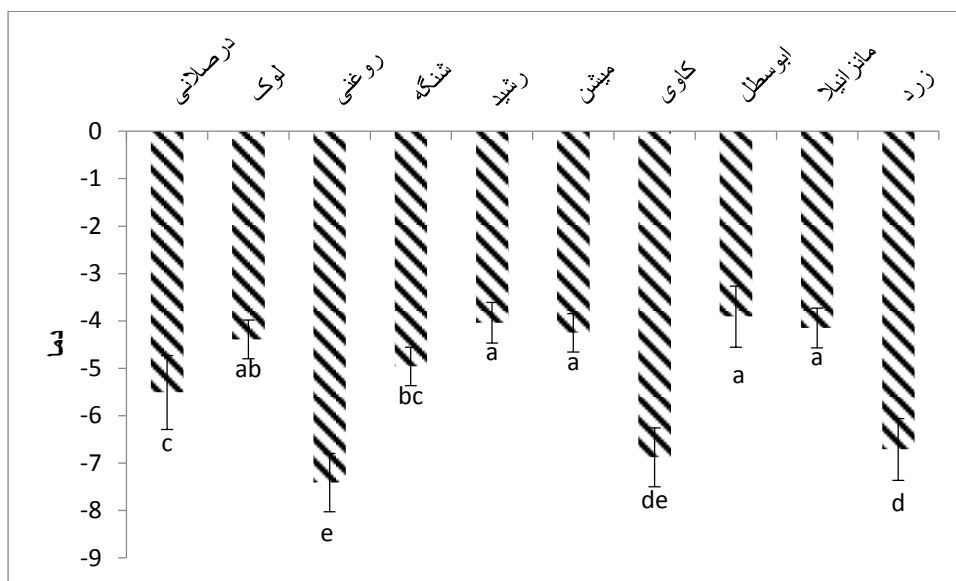
۲-۴ LT₅₀ تترازولیوم

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات اصلی زمان و رقم و همچنین اثر متقابل رقم در زمان در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شده است (جدول ۴-۱). مقایسه میانگین LT₅₀ تترازولیوم در ماه‌های سال نشان داد که نمونه برداری ماه بهمن بیشترین مقاومت به سرمای زمستان (۱۰/۶۵ - LT₅₀ =) را دارا بود و کمترین مقاومت به سرما مربوط به برداشت ماه آذر (LT₅₀ = -۷/۲۲) بود. همچنین برداشت ماه اسفند مقاومت به سرمای متوسطی (LT₅₀ = -۹/۶۳) را ایجاد کرد (شکل ۴-۳). همچنین مقایسه میانگین مقاومت به سرمای زمستانه بر اساس LT₅₀ تترازولیوم در ۱۰ رقم زیتون نشان داد که تحمل به یخ‌زدگی رقم روغنی در بیشترین مقدار خود (LT₅₀ = -۷/۴۱) بوده است، هر چند که به لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری با رقم کاوی (LT₅₀ = -۶/۸۸) نداشت و هر دو در یک گروه آماری قرار گرفتند.

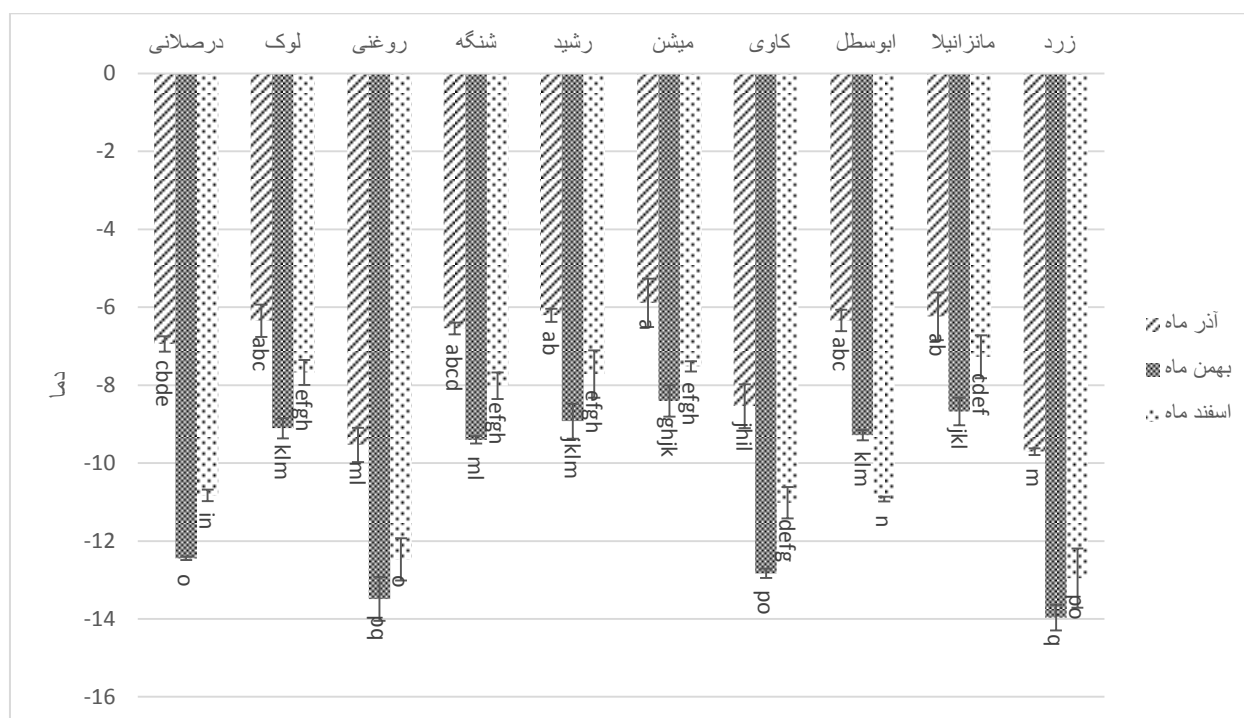


شکل ۴-۳- میزان مقاومت به سرمای زمستانه بر اساس LT₅₀ تترازولیوم در ماه‌های سال

ارقام لوک ($LT_{50} = -4/39$)، میشن ($LT_{50} = -4/25$)، مانزانیلا ($LT_{50} = -4/15$) و رشید ($LT_{50} = -4/04$) به ترتیب میزان تحمل متوسطی به دمای پایین را نشان دادند. هم‌چنین رقم ابوسطل ($LT_{50} = -3/91$) در این گروه دارای کمترین میزان تحمل به دمای پایین بود (شکل ۴-۴). مقایسه میانگین مقاومت به سرمای زمستانه بر اساس LT_{50} تترازولیوم در ۱۰ رقم زیتون در ماه‌های سال نیز نشان داد که بیشترین مقاومت به سرمای زمستانه مربوط به رقم زرد ($LT_{50} = -13/97$) و رقم روغنی ($LT_{50} = -13/48$) در برداشت ماه بهمن بود. رقم میشن ($LT_{50} = -5/89$) در برداشت ماه آذر نیز دارای کمترین مقاومت به سرمای زمستانه بود، و بعد از آن ارقام رشید، مانزانیلا، ابوسطل، لوک و شنگه دارای کمترین میزان مقاومت به سرمای زمستانه بودند. (شکل ۴-۵). به طور کلی زیتون دارای تحمل متوسط به یخ‌زدگی است، دماهای زیر آستانه مشخص (۷- درجه سانتی‌گراد) می‌تواند به گیاه آسیب برساند (Pallioti and Bongi, 1996). در حالی که در دمای ۱۲- سانتی‌گراد ممکن است آسیب به اندازه کافی جدی برای تهدید زندگی درخت باشد (Larcher, 1970). بنابراین تعیین آستانه تحمل به دمای پایین ارقام زیتون به ویژه برای مناطقی که خطر یخ‌زدگی وجود دارد، ضروری است.



شکل ۴-۴- میزان مقاومت به سرمای زمستانه بر اساس LT50 تترازیلیوم در ۱۰ رقم زیتون



شکل ۴-۵- میزان مقاومت به سرمای زمستانه بر اساس LT50 تترازیلیوم در ۱۰ رقم زیتون در ماه های سال

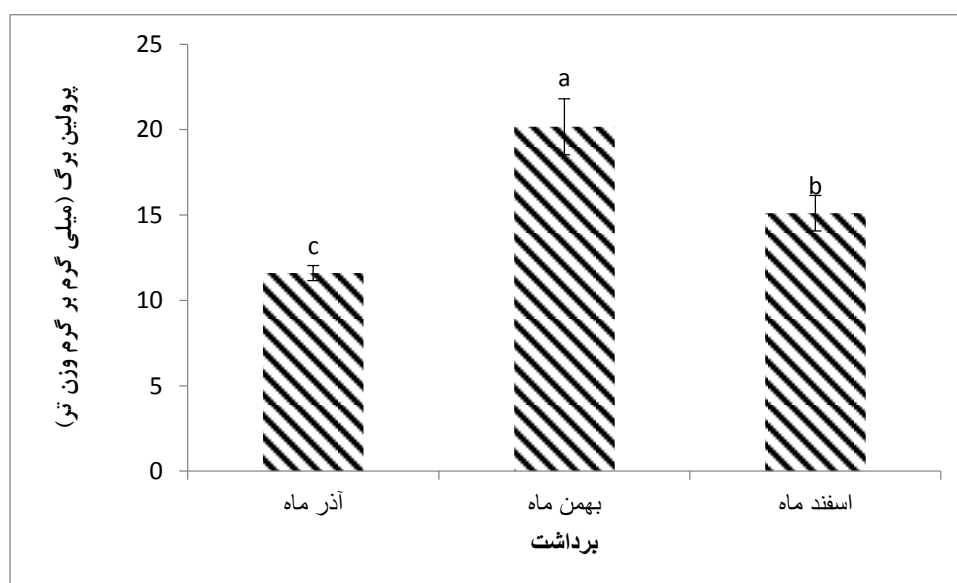
۳-۴ پرولین برگ و ساقه

بر اساس نتایج تجزیه واریانس پرولین برگ، اثرات اصلی زمان، رقم و همچنین اثر متقابل رقم در زمان در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شدند (جدول ۴-۲). نتایج مقایسه میانگین پرولین برگ در برداشت‌های مختلف نشان داد که میزان پرولین برگ در برداشت ماه بهمن در بیشترین میزان خود بوده است (۲۰/۱۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر)، بطوریکه نسبت به سایر ماه‌ها اختلاف معنی‌داری از خود نشان داد (شکل ۴-۶). مقایسه میانگین پرولین برگ در ارقام زیتون نیز نشان داد که رقم زرد، بیشترین میزان پرولین برگ (۲۵/۴۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) را ایجاد کرد، هر چند که به لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری با رقم روغنی (۲۵/۰۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) نداشت و هر دو در یک گروه آماری قرار گرفتند (شکل ۴-۷). مقایسه میانگین پرولین برگ در اثر متقابل رقم در زمان نیز نشان داد که رقم زرد، مربوط به برداشت ماه بهمن بیشترین پرولین برگ (۳۵/۷۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) را به خود اختصاص داد، هر چند که به لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری با رقم روغنی، برداشت بهمن ماه (۳۴/۸۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) نداشت و هر دو در یک گروه آماری قرار گرفتند (شکل ۴-۸). نتایج تجزیه واریانس پرولین ساقه نشان داد که اثرات اصلی زمان، رقم و اثر متقابل رقم در زمان در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۴-۲). مقایسه میانگین پرولین ساقه نشان داد که بیشترین مقدار پرولین ساقه (۱۷/۸۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در برداشت ماه بهمن ایجاد شد که نسبت به سایر ماه‌ها اختلاف معنی‌داری دارد (شکل ۴-۹). همچنین با مقایسه میانگین پرولین ساقه در رقم مشخص شد که بیشترین پرولین ساقه در گیاه زیتون مربوط به رقم زرد (۲۱/۶۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) است که اختلاف معنی‌داری با سایر ارقام دارد (شکل ۴-۱۰). نتایج مقایسه میانگین رقم در زمان نیز حاکی از آن بود که پرولین ساقه در رقم زرد و نمونه برداری ماه بهمن در بیشترین (۳۳/۲۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) حد خود بوده است، و بعد از آن رقم روغنی، (۳۲/۲۰ میلی‌گرم بر گرم وزن

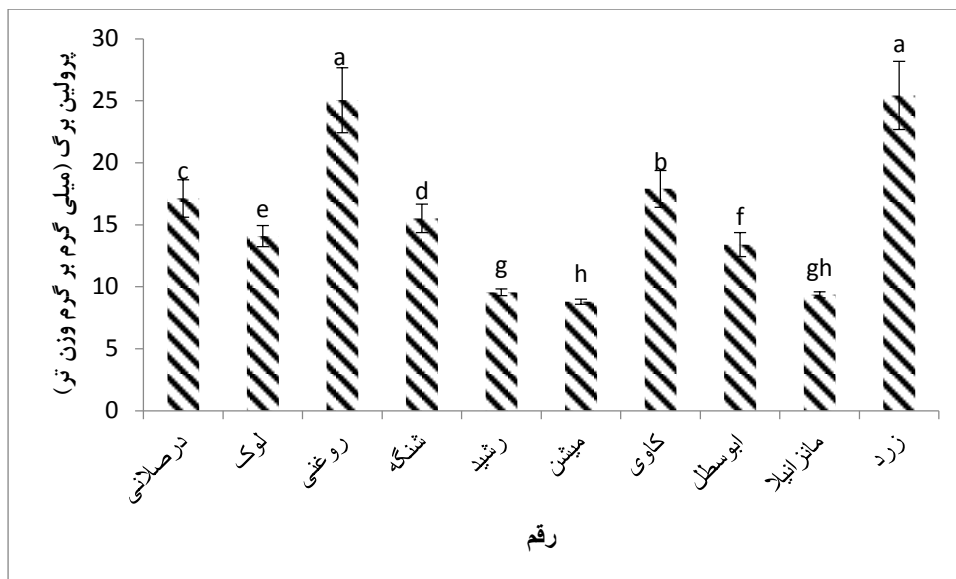
تر) نمونه برداری ماه بهمن دارای بیشترین میزان پرولین ساقه نسبت به سایر ارقام در این پژوهش است. (شکل ۴-۱۱).

جدول ۴-۲ نتایج تجزیه واریانس پرولین و کربوهیدرات اثر سرمازدگی زمستانه بر ۱۰ رقم زیتون

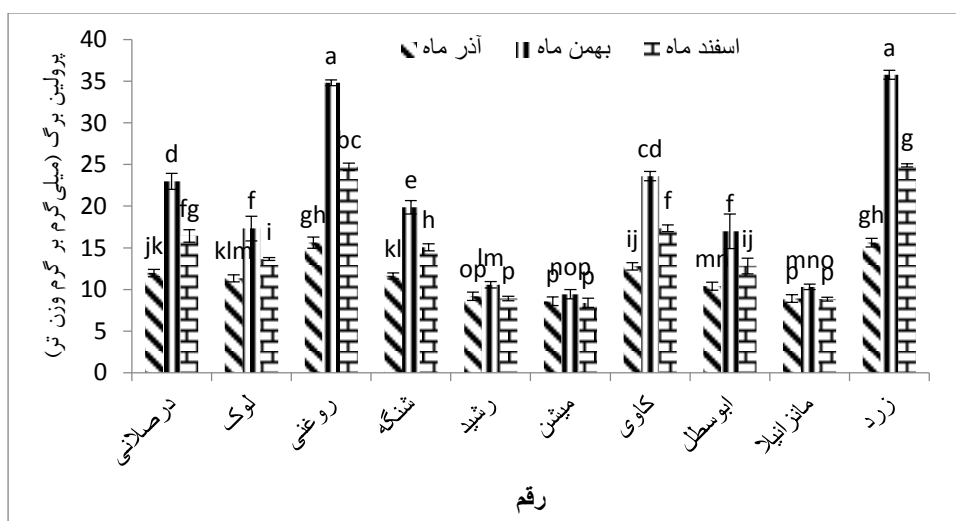
منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		پرولین برگ	پرولین ساقه	کربوهیدرات برگ	کربوهیدرات ساقه
زمان	۲	۵۵۶/۰۸**	۱۰۸۱/۱۵**	۸۹۸/۸۷**	۲۰۹۶/۸۷**
رقم	۹	۳۲۲/۴۰**	۲۹۴/۷۱**	۵۴۶/۸۶**	۵۹۹/۰۵**
زمان در رقم	۱۸	۳۵/۹۲**	۲۷/۴۵**	۷۱/۶۲**	۴۶/۴۳**
خطا	۶۰	۰/۴۷	۰/۵۳	۲/۷۰	۰/۵۵
CV%		۴/۳۹	۶/۳۳	۶/۶۱	۳/۶۴



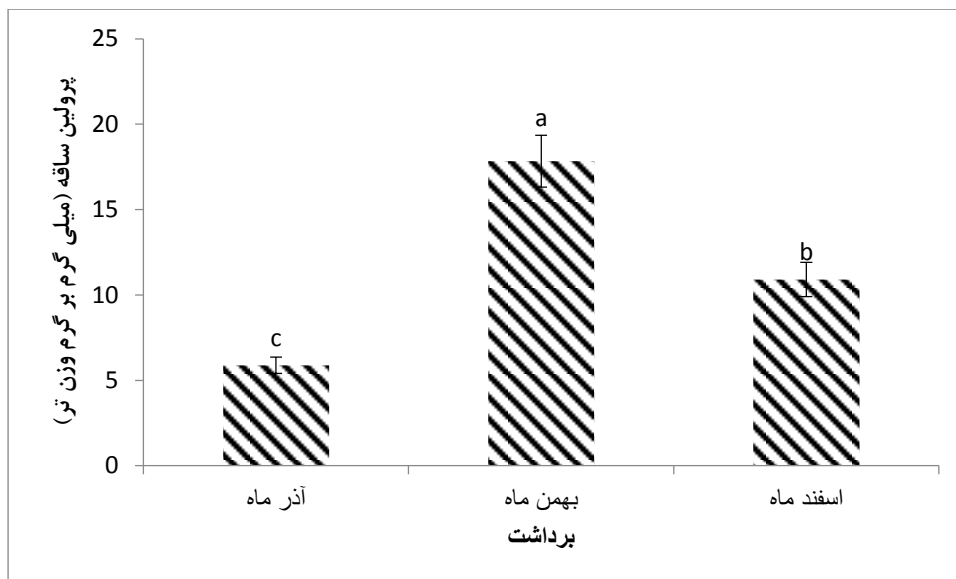
پرولین چندین نقش را در تحمل تنش گیاهان به عنوان تعدیل‌کننده تنظیم اسمزی، پایدار کننده پروتئین‌ها و غشاهای، القا کننده ژن‌ها مرتبط با تنش اسمزی و به عنوان گیرنده ROS ایفا می‌کند (Verbruggen and Hermans., 2008؛ Szabados and Savoure., 2010؛ Theocharis *et al*., 2011). مهم‌ترین نقش‌های احتمالی پرولین شامل تنظیم اسیدپتیک سیتوسول، افزایش فعالیت فتوشیمیایی فتوسیستم دو در غشای تیلاکوئیدی و کاهش پراکسیداسیون لیپیدها است (Kishor *et al*., 2005). اگر چه برخی از پژوهشگران افزایش سنتز پرولین در برگ گیاهانی که در معرض تنش‌های محیطی به ویژه در معرض تنش سرما قرار گرفتند را صرفاً نوعی سازگاری و عکس‌العمل طبیعی گیاه در شرایط تنش ذکر کرده‌اند و عقیده دارند که انباشت پرولین نمی‌تواند به عنوان معیاری برای ارزیابی حساسیت یا تحمل گیاه در مقابل تنش مد نظر قرار گیرد (میر محمد میبدی، ۱۳۷۹). اما تعداد زیادی از محققین با انجام آزمایشات و مطالعات گسترده نشان دادند که چون میزان سنتز پرولین رابطه و همبستگی تنگاتنگی با میزان حساسیت و یا تحمل گیاه در مقابل تنش‌های محیطی و به ویژه سرما دارند لذا از این پتانسیل گیاه می‌توان به عنوان شاخصی برای ارزیابی میزان حساسیت یا تحمل گیاه در مقابل درجه حرارت‌های پایین استفاده کرد (Ashraf and Rosa and Rallo., 2000؛ Foolad., 2000).



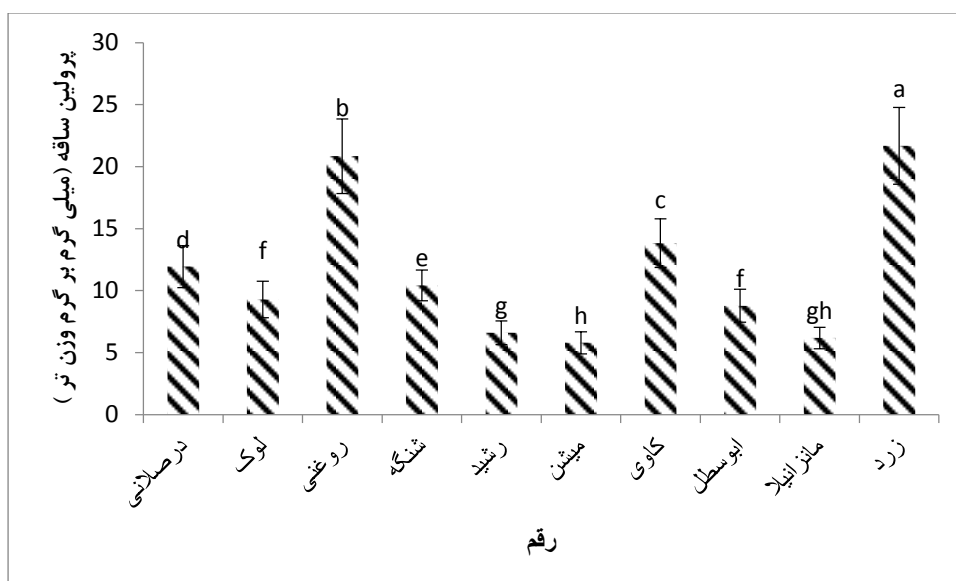
شکل ۴-۷- مقایسه میانگین پروکسید بر گرم وزن تر ۱۰ رقم زیتون



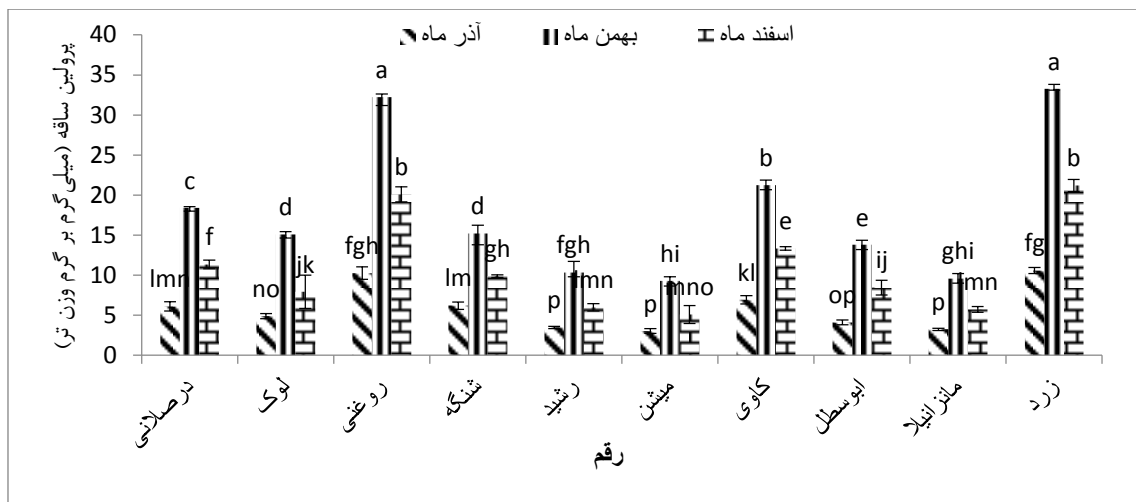
شکل ۴-۸- مقایسه میانگین برهمکنش پروکسید بر گرم وزن تر ارقام زیتون در برداشت‌های مختلف



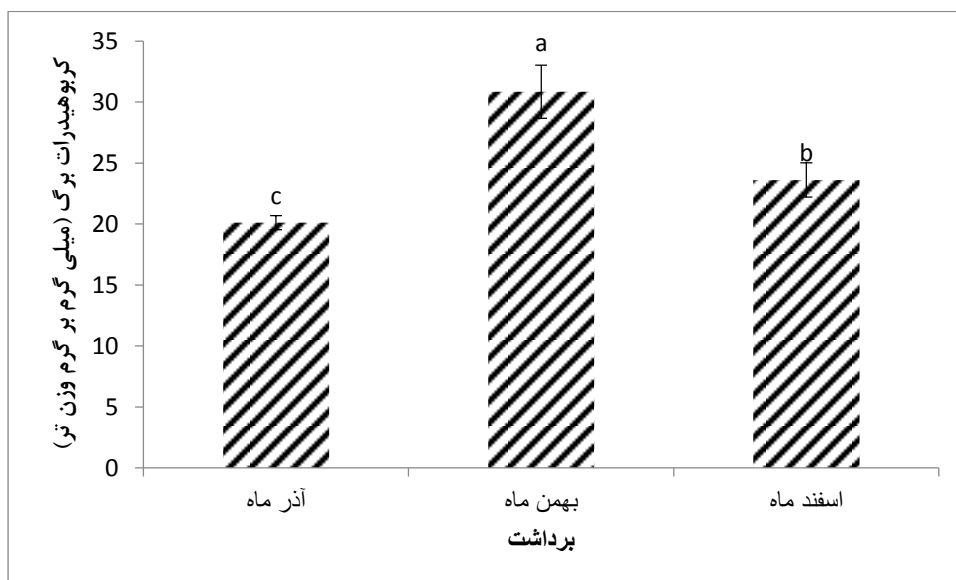
شکل ۴-۹- مقایسه میانگین پرویلین ساقه زیتون در برداشت‌های مختلف



شکل ۴-۱۰- مقایسه میانگین پرویلین ساقه در ۱۰ رقم زیتون



شکل ۴-۱۱- مقایسه میانگین برهمکنش پرولین ساقه ارقام زیتون در برداشت‌های مختلف



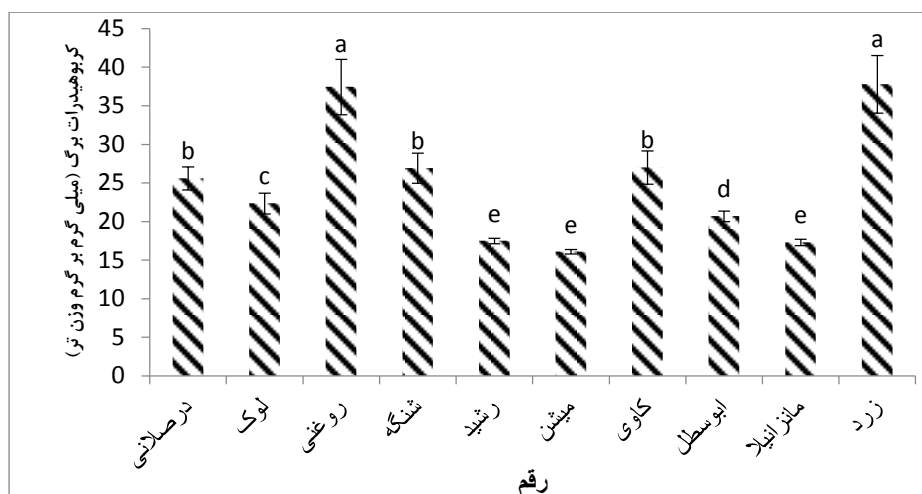
شکل ۴-۱۲- مقایسه میانگین کربوهیدرات برگ زیتون در برداشت‌های مختلف

۴-۴ کربوهیدرات برگ و ساقه

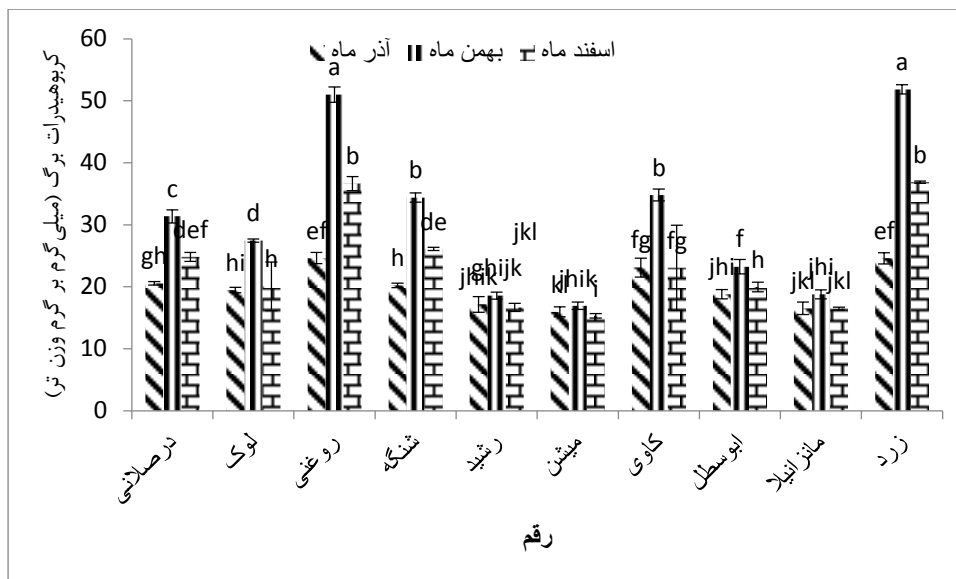
نتایج تجزیه واریانس کربوهیدرات برگ و ساقه نشان داد که اثرات اصلی رقم، زمان و اثر متقابل رقم در زمان در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شده است (جدول ۴-۲). نتایج مقایسه میانگین کربوهیدرات برگ زیتون و ماه برداشت نشان داد که بیشترین میزان کربوهیدرات برگ (۳۰/۸۸۴)

میلی گرم بر گرم وزن تر) مربوط به برداشت ماه بهمن بوده است که نسبت به سایر ماه‌ها تفاوت معنی‌داری ایجاد کرده است (شکل ۴-۱۲). همچنین نتایج مقایسه میانگین کربوهیدرات برگ در رقم نشان داد که ارقام زرد و روغنی دارای بیشترین مقدار کربوهیدرات برگ (به ترتیب ۳۷/۷۷ و ۳۷/۴۲ میلی گرم بر گرم وزن تر) نسبت به سایر ارقام در این پژوهش هستند (شکل ۴-۱۳). نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل رقم در زمان نشان داد که ارقام زرد و روغنی در نمونه برداری ماه بهمن دارای بیشترین کربوهیدرات برگ (به ترتیب ۵۱/۸۳ و ۵۱ میلی گرم بر گرم وزن تر) نسبت به سایر ارقام در این پژوهش هستند (شکل ۴-۱۴). نتایج مقایسه میانگین کربوهیدرات ساقه نشان داد که بیشترین میزان این صفت (۲۹/۳۲ میلی گرم بر گرم وزن تر) مربوط به برداشت در ماه بهمن بوده است که نسبت به سایر ماه‌ها اختلاف معنی‌داری داشت (شکل ۴-۱۵). از نتایج مقایسه میانگین کربوهیدرات ساقه در رقم این‌گونه حاصل شد که رقم زرد بیشترین مقدار کربوهیدرات ساقه (۳۴/۴۷ میلی گرم بر گرم وزن تر) شد که نسبت به سایر ارقام تفاوت معنی‌داری دارد (شکل ۴-۱۶). همچنین نتایج مقایسه میانگین کربوهیدرات ساقه در رقم و زمان نشان داد که بیشترین مقدار کربوهیدرات ساقه مربوط به رقم زرد و برداشت ماه بهمن (۵۰/۳۳ میلی گرم بر گرم وزن تر) است که نسبت به سایر ارقام و ماه‌ها تفاوت معنی‌داری ایجاد کرد (شکل ۴-۱۷). به طوری که رقم زرد، کربوهیدرات بیشتری نسبت به رقم روغنی نشان داد. از آن جا که رقم زرد در مقایسه با ارقام دیگر به عنوان یک رقم محتمل تر به تنش سرما شناخته شد، به نظر می‌رسد میزان قند ذخیره شده در برگ و ساقه این رقم نسبت به سایر ارقام توجیه کننده تحمل بالاتر آن در مواجهه با درجه حرارت‌های پائین باشد. هیدرات‌های کربن به هنگام مواجهه گیاه با تنش‌های محیطی و به ویژه تنش سرما در اندام‌های مختلف بالاخص در برگ‌ها و ساقه‌ها تجمع می‌یابند (Shao and Kang., 2008). میزان قند موجود در نمونه برگ نسبت به ساقه آنها بیشتر بود. این مطلب می‌تواند نشانگر جریان بالای قند در داخل آوندهای برگ در مقایسه با ساقه و به دنبال آن تحمل بیشتر برگ نسبت به ساقه در مقابل تنش سرما باشد. محققینی بودند که نتایج عکس را

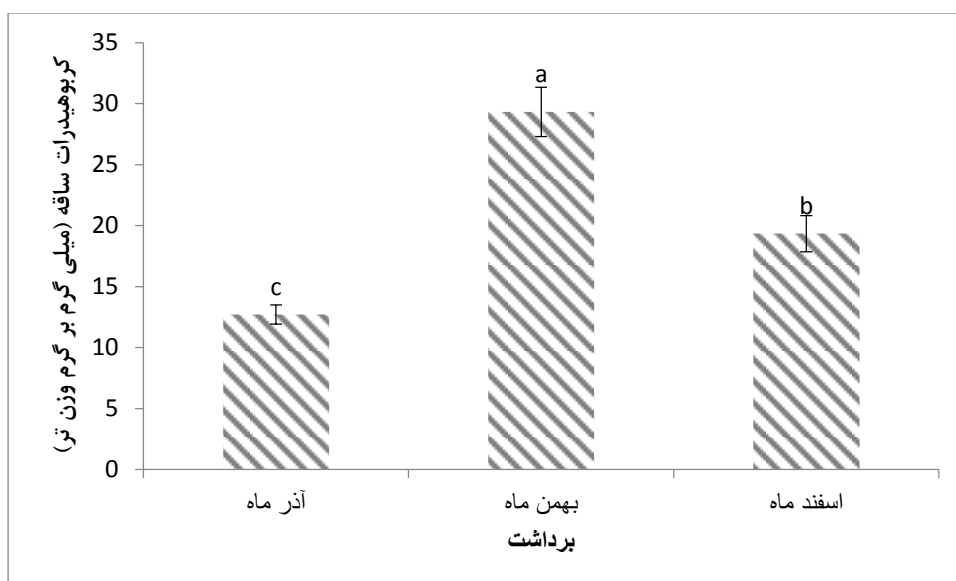
گزارش کردند، آنها در طی مطالعات خود نشان دادند که به دلایل فیزیولوژیکی بافت‌های ساقه قابلیت بیشتری در تجمع قند نسبت به برگ دارند و لذا در مقابل یخ زدگی تحمل بیشتری از خود نشان می‌دهند (کافی و مهدوی دامغانی، ۱۳۷۹). لذا در نتیجه همیشه ارتباط مستقیم بین تجمع کربوهیدرات و تحمل به سرما وجود ندارد (Gulen et al., 2009 : Schreiber et al., 2013). یافته‌های این مطالعه نشانگر تجمع بیشتر قند در برگ نسبت به ساقه است که با یافته‌های پژوهشگران اشاره شده مطابقت ندارد. لذا این نتیجه گیری قابل استنباط است که درختان زیتون مورد مطالعه از طریق افزایش کربوهیدرات توانستند دیواره پلاسماهای سلول‌ها را محافظت و از نشت یونی سلول جلوگیری به عمل آورند و نهایتاً اینکه گیاه را در مقابل تنش سرما حفظ کنند.



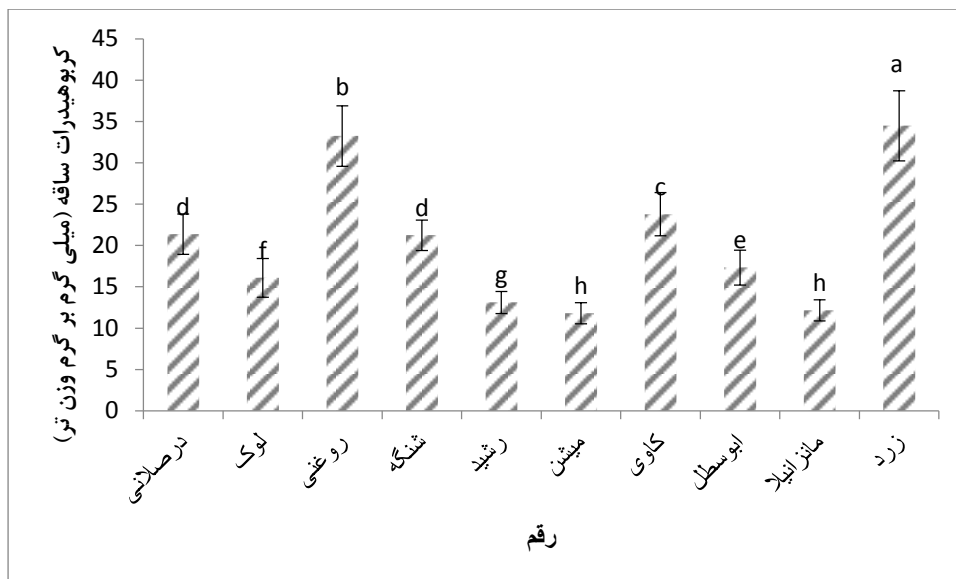
شکل ۴-۱۳- مقایسه میانگین کربوهیدرات برگ در ۱۰ رقم زیتون



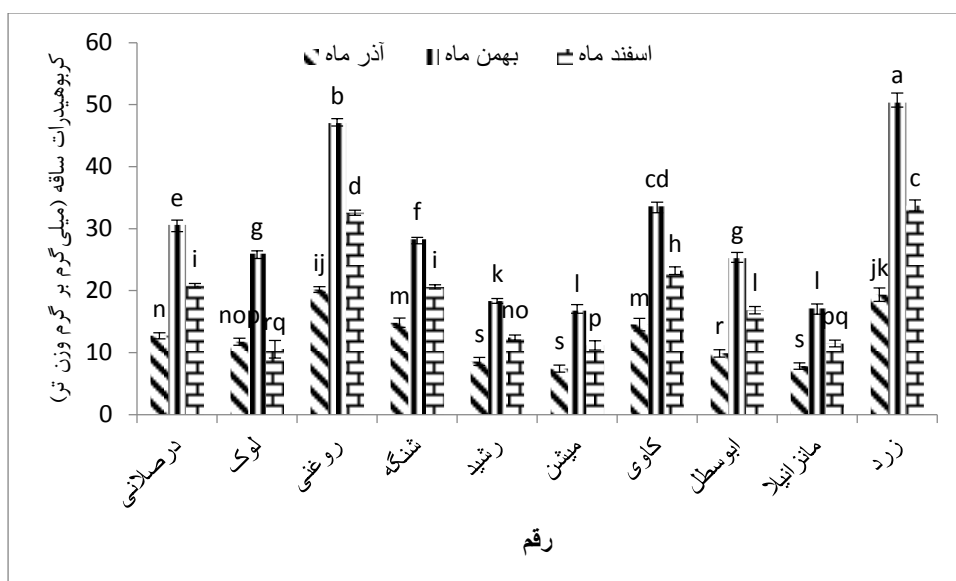
شکل ۴-۱۴- مقایسه میانگین میزان کربوهیدرات برگ ارقام زیتون در ماه های مختلف



شکل ۴-۱۵- مقایسه میانگین کربوهیدرات ساقه زیتون در برداشت های مختلف



شکل ۴-۱۶- مقایسه میانگین کربوهیدرات ساقه در ۱۰ رقم زیتون



شکل ۴-۱۷- مقایسه میانگین برهمکنش کربوهیدرات ساقه ارقام زیتون در برداشت‌های مختلف

آنالیز همبستگی

نتایج همبستگی نشان داد که پرولین برگ با پرولین ساقه و کربوهیدرات ساقه و برگ (به ترتیب ۰/۹۶۸، ۰/۹۷۵ و ۰/۹۶۵) مثبت و در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود، پرولین ساقه نیز با کربوهیدرات ساقه و برگ (به ترتیب ۰/۹۴۹ و ۰/۹۸۷) مثبت و در سطح احتمال یک درصد معنی - دار بود. میزان مقاومت به سرمای زمستانه بر اساس LT₅₀ نشت یونی با تترازولیوم نیز مثبت و در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول ۳-۴). میزان کربوهیدرات و پرولین ضریب همبستگی بالاتری با LT₅₀ تترازولیوم نشان داد.

جدول ۳-۴ نتایج همبستگی پرولین، کربوهیدرات، نشت یونی و تترازولیوم اثر سرمازدگی زمستانه بر ۱۰ رقم زیتون

تترازولیوم	نشت یونی	کربوهیدرات ساقه	کربوهیدرات برگ	پرولین ساقه	پرولین برگ	صفات
پرولین برگ				۱		
پرولین ساقه			۱	۰/۹۶۸**		
کربوهیدرات برگ			۱	۰/۹۴۹**	۰/۹۷۵**	
کربوهیدرات ساقه		۱	۰/۹۴۸**	۰/۹۸۷**	۰/۹۶۵**	
نشت یونی	۱	۰/۴۹۶**	۰/۴۸۱**	۰/۴۸۱**	۰/۵۱۱**	
تترازولیوم	۰/۵۸۶**	۰/۸۸۶**	۰/۸۱۶**	۰/۸۸۰**	۰/۸۵۹**	

** : معنی داری سطح احتمال ۱ درصد.

۴-۵ ارزیابی مزرعه ای

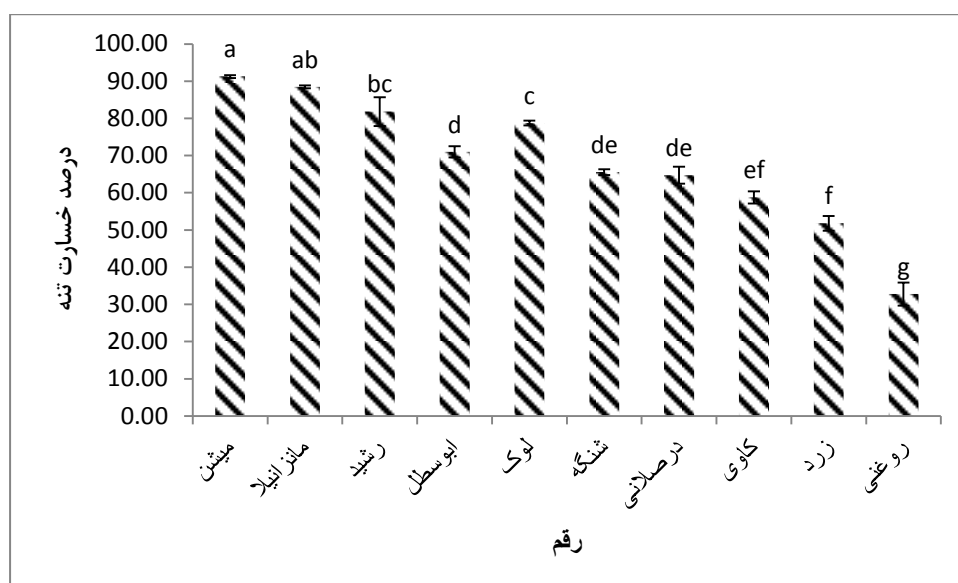
در ارزیابی مزرعه مشخص شد که در سرمای سال ۱۳۹۵ تمام برگ ها، شاخه های یک ساله، دو ساله و شاخه اصلی کلیه ارقام باغ به طور ۱۰۰ درصد از بین رفتند. تنها به لحاظ خسارت به تنه درختان اختلاتی در ارقام مشاهده شد و ثبت گردید.

۴-۶ درصد خسارت تنه

نتایج تجزیه واریانس درصد خسارت به تنه نشان داد که ارقام در سطح احتمال یک درصد معنی دار هستند (جدول ۴-۴). همچنین نتایج مقایسه میانگین درصد خسارت تنه در ارقام نشان داد بیشترین درصد خسارت تنه در رقم میشین (۹۱/۲۵ درصد) مشاهده شد که البته به لحاظ آماری تفاوت معنی داری با رقم مانزانیلا (۸۸/۴۷ درصد) نداشت و هر دو حروف مشترک a را به خود اختصاص دادند در مقابل رقم روغنی کمترین خسارت تنه را با میانگین ۲۳/۷۸ درصد به خود اختصاص داد و به طور کلی روند درصد خسارت در ارقام از بیشترین میزان خسارت تنه به کمترین به ترتیب میشین، مانزانیلا، رشید، لوک، ابوسطل، شنگه، درصلانی، کاوی، زرد و روغنی بود (شکل ۴-۱۸) و (شکل ۴-۱۹ و ۴-۲۰). همچنین نتایج مقایسه میانگین نشت یونی در شکل (۴-۱) نیز در ۱۰ رقم زیتون نشان داد که تحمل به یخ زدگی رقم روغنی در بیشترین مقدار است که این موضوع نشان دهنده وجود همبستگی و همسویی مورفولوژی و فیزیولوژیک در مقاومت این رقم به سرما می باشد.

جدول ۴-۴ نتایج تجزیه واریانس خسارت تنه و رشد مجدد در ۱۰ رقم زیتون			
میانگین مربعات		درجه آزادی	منابع تغییرات
درصد خسارت تنه	رشد مجدد		
۸/۸۲	۰/۱۵	۲	تکرار
۹۵۹/۰۹**	۱۴/۶۱**	۹	رقم

خطا	۱۸	۱۸/۸۱	۰/۱۶
CV%	۶/۳۳	۹/۸۴	



شکل ۴-۱۸ نتایج ارزیابی درصد خسارت تنه در ۱۰ رقم زیتون پس از سرمازدگی زمستان ۱۳۹۵ در منطقه

سرخه



شکل ۴-۱۹ و ۴-۲۰- ارقام روغنی و زرد با کمترین میزان خسارت تنه (عکس : نگارنده)



شکل ۴-۲۱- رقم کاوی بدون خسارت (عکس: نگارنده)

این درخت تنها به دلیل قطع آبیاری به مدت یک ماه قبل از وقوع سرما (به صورت تصادفی) از خسارت مصون باقی مانده است.

سایر درختان رقم کاوی وضعیتی نزدیک به ارقام زرد و روغنی داشتند.

۴-۷ رشد مجدد پس از سرمازدگی

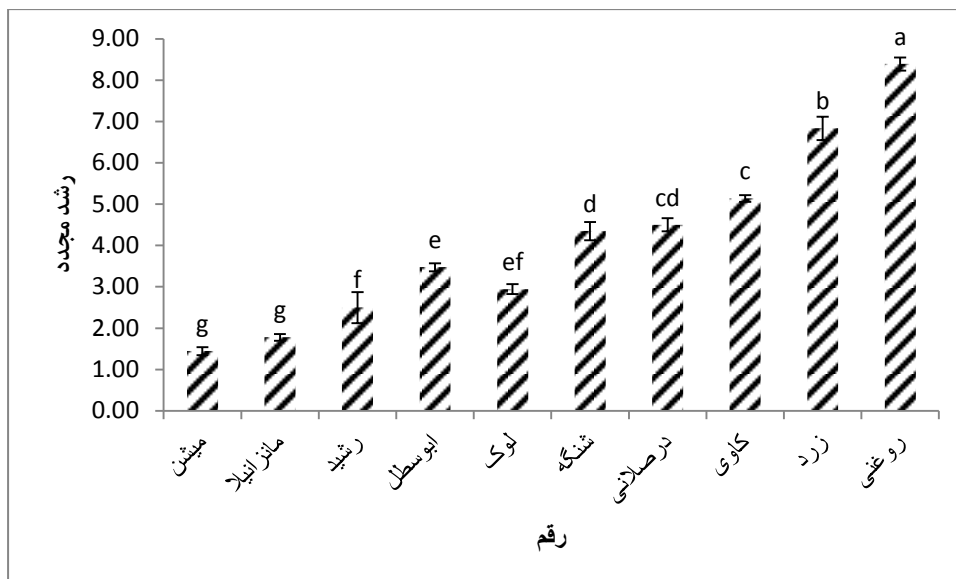
نتایج تجزیه واریانس رشد مجدد نشان داد که رقم در سطح احتمال یک درصد معنی دار شده است (جدول ۴-۴). نتایج مقایسه میانگین رشد مجدد که به صورت کیفی انجام شده بود و در پنج گروه خیلی ضعیف (۱)، ضعیف (۳)، متوسط (۵)، خوب (۷) و خیلی خوب (۹) دسته بندی شده بود نشان داد که رقم روغنی بیشترین رشد مجدد را نشان داد و در گروه خوب قرار گرفت و رقم میشین و مانزانیلا با کمترین رشد مجدد در گروه ضعیف قرار گرفتند (شکل ۴-۲۲) و (شکل ۴-۲۳).



شکل ۴-۲۲ رقم روغنی (تصویر نگارنده)



شکل ۴-۲۴ رقم مانزانیلا (تصویر نگارنده)



شکل ۴-۲۲ مقایسه میانگین رشد مجدد تنه در ۱۰ رقم زیتون به صورت کیفی (کد دهی ۱ تا ۹: خیلی ضعیف تا خوب)



شکل ۴-۲۳ ارقام میشن و لوك با خسارت ۱۰٪ (از بین رفتن تمام تنه، شاخه‌ها، برگ‌ها و ...) و ایجاد پاجوش در رشد مجدد

(عکس: نگارنده)

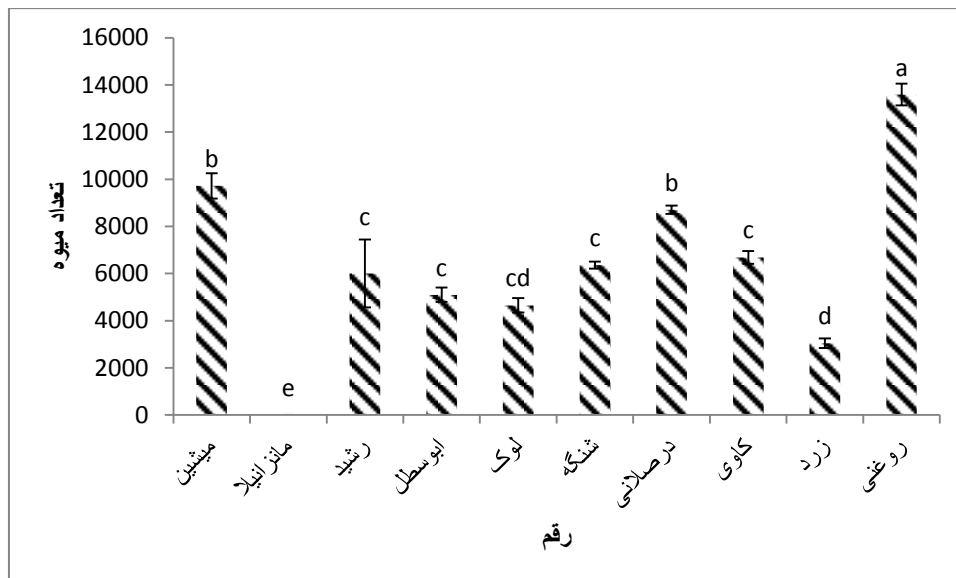
جدول ۴-۵ نتایج تجزیه واریانس عملکرد و اجزای عملکرد در ۱۰ رقم زیتون

منابع	درجه	میانگین مربعات	
تغییرات	آزادی	تعداد میوه	وزن میوه
تکرار	۲	۲۲۱۳۳۷۳	۰/۰۳
رقم	۹	۴۱۷۲۷۸۷۵/۴ ^{**}	۸/۶۸ ^{**}
خطا	۱۸	۱۱۷۸۶۶۶/۱	۰/۰۲
CV%		۱۷/۰۰	۴/۸۲
			۱۴/۴۵

۴-۸ تعداد میوه

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر اصلی رقم در سطح احتمال یک درصد برای تعداد میوه معنی‌دار شده است (جدول ۴-۵). بر اساس نتایج مقایسه میانگین، بیشترین تعداد میوه مربوط به رقم روغنی (۱۳۵۸۵/۳) بود که به لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری با سایر ارقام داشت (شکل ۴-۲۴). درختان زیتون در مواجهه با سرما به دو روش اجتناب از تشکیل یخ در بافت‌ها یا افزایش تحمل به سرما عمل می‌کنند. روش اجتناب 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 اجتناب برای مقاومت به سرما استفاده می‌کند (Fiorino and Mancuso., 2000). 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، مقاومت جوانه‌ها به سرما، مقاومت ریشه، ارتباط بین مقاومت به سرما در سال جاری و فصل رشدی

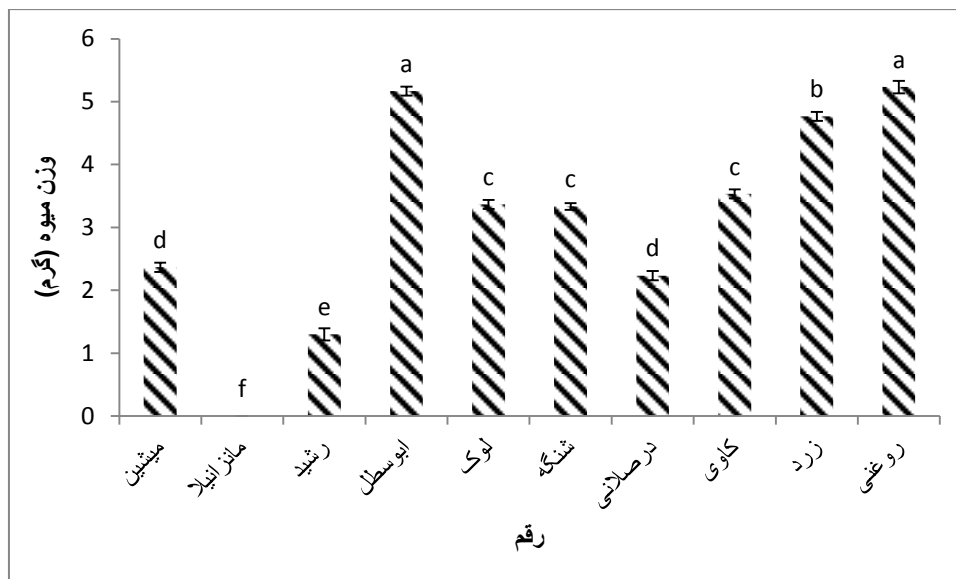
قبل، تأثیر مقدار محصول بر مقاومت به سرما، اثر مدیریت کشت و اسید آسزیک در شروع مقاومت به سرما، می باشد (Gomez-del-Campo and Barranco., 2005). مهم ترین علائم آسیب سرما شامل، نوک سوختگی شاخه ها و نوک برگ ها، کلروز و ریزش برگ ها، جدا شدن پوست روی شاخه ها و آسیب به جوانه ها و میوه ها است (Barranco, 2005).



شکل ۴-۲۴ مقایسه میانگین تعداد میوه در ۱۰ رقم زیتون

۹-۴ وزن میوه

آنالیز تجزیه واریانس داده ها نشان داد که اثر اصلی رقم برای وزن میوه در سطح احتمال یک درصد معنی دار شد (جدول ۴-۵). همچنین نتایج مقایسه میانگین وزن میوه بیانگر این موضوع بود که ارقام روغنی و ابوسطل دارای بیشترین وزن میوه (به ترتیب ۵/۲۳۳۳ و ۵/۱۶۶۷ گرم) بودند. (شکل ۴-۲۵).

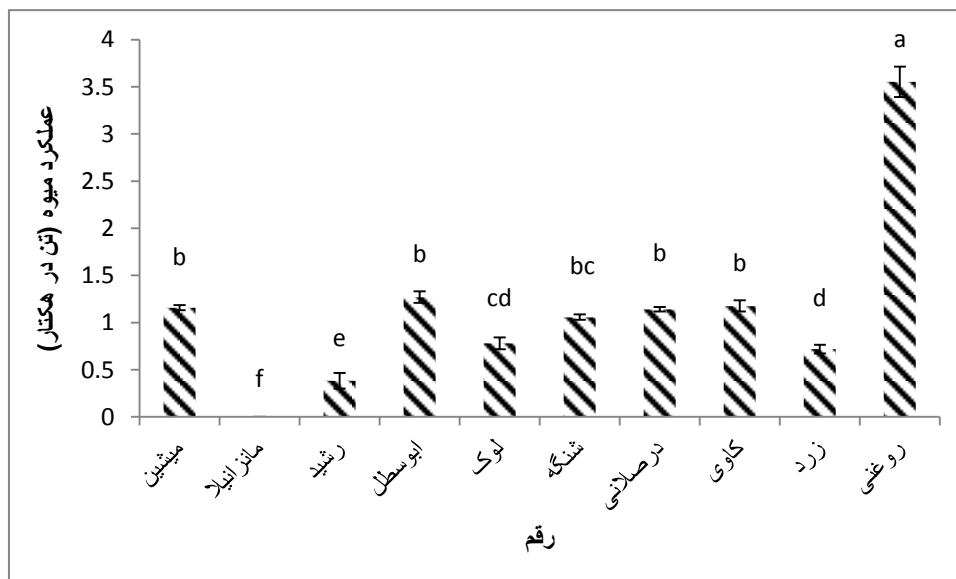


شکل ۴-۲۵ مقایسه میانگین وزن میوه در ۱۰ رقم زیتون

۴-۱۰ عملکرد میوه

از نتایج تجزیه واریانس عملکرد میوه این نتیجه حاصل شد که اثر اصلی رقم در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شد (جدول ۴-۵). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که بیشترین عملکرد میوه (۳/۵۵۳۳) تن در هکتار) مربوط به رقم روغنی بود که نسبت به سایر ارقام تفاوت معنی‌داری داشت (شکل ۴-۲۶). تحمل درختان به سرما علاوه بر خصوصیات ژنتیکی رقم به شرایط آب و هوایی و شیوه‌های مدیریت عملیات باغبانی نیز بستگی دارد (Arias *et al.*, 2015). مطالعات نشان داده است افزایش سطح قندهای محلول و فسفولیپیدها در توانایی ایستادگی ارقام زیتون در برابر سرما نقش مهمی دارد (Gulen *et al.*, 2009). در حقیقت در شرایط سرما، روابط آبی گیاه با کنترل هدایت روزنه‌ای کاهش می‌یابد و میزان فتوسنتز با تغییر در ترکیب رنگدانه‌ها و مختل شدن نمو کلروپلاستی تنزل می‌یابد (Miura and Furumoto., 2013). کاهش میزان تعرق (همانند فتوسنتز) می‌تواند به کاهش هدایت روزنه‌ای و اختلال تأمین دی اکسید کربن نسبت داده شود (Bonfil *et al.*, 2004). هدایت روزنه‌ای به تدریج با مدت استرس انجماد کاهش می‌یابد، که نشان می‌دهد بسته شدن روزنه ناشی از انجماد،

ورود CO₂ را از میان روزنه محدود و در نتیجه قابلیت استفاده CO₂ درون سلولی را برای عملکرد فتوسنتز کاهش می‌دهد (Li et al., 2018).



شکل ۴-۲۶ مقایسه میانگین عملکرد میوه در ۱۰ رقم زیتون

نتیجه گیری

نیاز سرمایی برای نمو گل در گیاه زیتون، عاملی حیاتی است و نوعی بهاره‌شدن (vernalization) تلقی می‌شود؛ به طوری که هرگاه سرمای زمستانی در مناطق زیر کشت این گیاه وجود نداشته باشد، گل‌دهی زیتون هرگز انجام نخواهد شد؛ ولی برای رشد رویشی جوانه‌ها به سرما نیازی نیست؛ با وجود این، آمارهای متفاوتی برای آستانه تحمل درخت زیتون نسبت به دماهای کم ارائه شده‌اند. براساس گزارش‌های منتشرشده، دماهای بحرانی ۸- تا ۱۰- درجه سانتی‌گراد به آسیب اندک و دماهای ۱۷- تا ۲۲- درجه سانتی‌گراد به نابودی کامل درخت زیتون منجر می‌شود. با توجه به کاربرد زیتون، گیاهی چند منظوره، در صنایع غذایی، دارویی و همچنین فضای سبز و افزایش سطح زیر کشت این گیاه در ایران به‌ویژه در مناطق معتدله از جمله استان مرکزی با زمستان‌های سرد (کاهش دما تا ۱۸- درجه سانتی‌گراد)، استفاده از ارقام مقاوم به تنش یخ‌زدگی راهکاری مهم و کارآمد در افزایش سطح زیر

کشت شناخته شده است. از سوی دیگر، کارایی شاخص‌های فیزیولوژیک از جمله میزان پرولین و نشت الکترولیت‌ها در شناسایی و تفکیک ارقام حساس و مقاوم در تنش یخ‌زدگی در بسیاری از پژوهش‌ها به اثبات رسیده است؛ از این رو، نتایج بررسی حاضر نشان دادند پرولین که اسمولیت آلی است و نشت الکترولیت‌ها که شاخصی از میزان خسارت به غشای سیتوپلاسمی به شمار می‌رود، در تنش یخ‌زدگی در تفکیک ارقام مقاوم و حساس، کارایی خوبی دارند؛ با این وجود بر اساس نتایج این تحقیق که روند افزایشی در LT_{50} با کاهش دما مشاهده شده، به نظر می‌رسد نشت الکترولیت در مقایسه با شاخص فیزیولوژیک پرولین در تفکیک ارقام مقاوم و حساس کارآمدتر بوده است. از سوی دیگر، نتایج نشان داد که رقم روغنی و ابوسطل به ترتیب مقاوم‌ترین و حساس‌ترین ارقام به تنش یخ‌زدگی براساس صفات بررسی‌شده معرفی می‌شوند. بین ارقام بررسی‌شده، رقم روغنی در مقایسه با سایر ارقام، واکنش ویژه‌ای در شرایط یخ‌زدگی نشان داد؛ به طوری که اولاً در دمای یادشده (دمای $8/38^{\circ}\text{C}$ - درجه سانتی‌گراد) و برداشت ماه آذر در مقایسه با سایر ارقام، کمترین میزان نشت الکترولیت‌ها و رقم زرد بیشترین میزان پرولین را دارد. که این مسئله احتمالاً از توانایی ویژه این رقم در مقابله با تنش یخ‌زدگی ناشی می‌شود. در مجموع، احتمالاً رقم روغنی، رقمی با توانایی ویژه برای کشت در مناطق در معرض تنش یخ‌زدگی است و برای بررسی‌های تکمیلی از جمله ارزیابی درصد بقای نهال در شرایط طبیعی یا مصنوعی پیشنهاد می‌شود.

پیشنهادهای

۱. بررسی اثر سرما در نهال‌های زیتون (همراه با شاخساره و برگ) برای درک اثر سرما بر شاخه

های یک ساله و برگ

۲. بررسی قطع زمان آبیاری پاییزه و اثر آن بر سرمازدگی زمستانه و رشد مجدد بهاره

۳. بررسی مقاومت به سرمای سایر ارقام موجود در کشور

۴. بررسی ترکیبات فنلی و آنتی اکسیدانها در برگ و ساقه تحت تنش سرما و بیان ژن های

مرتبط به مقاومت به سرما در گونه های حساس و مقاوم

مراجع

- افتخار زاده، محمد صادق. ۱۳۶۹. تعیین حدود مقاومت به سرما در شاخه‌های چند واریته انگور. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه تبریز. ۱۰۶ ص.
- افشارمحمدیان.م. ش. رضایی و م رضایی ملک رودی. ۱۳۹۱. بررسی مقاومت دو رقم زیتون به تنش سرما. فرآیند و کارکرد گیاهی. جلد ۱. شماره ۲. ص ۱-۱۱
- امیر قاسمی، تراب. ۱۳۸۱. سرما زدگی گیاهان. (یخبندان. صدمات. پیش گیری). انتشارات موسسه فرهنگی نشر آیندگان. ۱۲۴ ص.
- آزادی، رحمان. ۱۳۸۳. فلور ایران. شماره ۴۸. تیره زیتون (*Olea europaea* L). ویراستاران اسدی. مصطفی جم زاده، زیبا. انتشارات موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع.
- بی نام. ۱۳۹۲. نتایج طرح آمارگیری نمونه گیری محصولات باغی. دفتر آمار و فناوری اطلاعات جهاد کشاورزی.
- جلیلی مرندی، رسول. ۱۳۸۸. پرورش میوه‌های مناطق معتدله. انتشارات جهاد دانشگاهی آذربایجان غربی. ۳۶۲ ص.
- حکمت شعار، ح. ۱۳۷۲. فیزیولوژی گیاهان در شرایط دشوار. ترجمه. انتشارات نیک نام تبریز. ۲۵۱ ص.
- درویشیان، محمود. ۱۳۷۶. زیتون. ترجمه. نشر آموزش کشاورزی کرج. ۲۹۵ ص.
- دهقانی، محمد مهدی. ۱۳۸۴. نقش سیستم های بارانی و غرقابی در افزایش گرما در گیاهان. مجموعه مقالات راه های کاربردی مقابله با سرمازدگی در گیاهان. یزد. ۳۶۵ ص.
- رادنیا، حسین. ۱۳۷۵. پایه های درختان میوه. ترجمه. نشر آموزش کشاورزی. ۶۳۷ ص.
- زینالو، ع. ۱۳۹۱. پیش بینی توسعه ۸۵۰۰۰ هکتار سطح باغات زیتون در برنامه پنجم توسعه. مجله

پیام جهاد کشاورزی. شماره ۱۱۲.

سلیمانی. ع. ۱۳۸۱. بررسی مقدماتی مقاومت به سرما در برخی از ارقام زیتون محلی و خارجی.

کارشناسی ارشد. دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه تهران.

سلیمانی. ع. ح. لسانی و س. ر. طبایی عقدایی. ۱۳۸۴. مطالعه سرمای طبیعی و مصنوعی بر برخی

شاخص های مورفولوژیک ارقام زیتون. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. جلد ۲۱. شماره ۲.

ص ۱۵۰-۱۵۹

سیم کش زاده، نگار. مبلی. مصطفی. اعتمادی، نعمت الله. بانی نسب، بهرام. ۱۳۸۸. ارزیابی میزان

مقاومت به سرما در برخی از ارقام زیتون با اندازه گیری فلورسانس کلروفیل و آسیب های ظاهری.

نشریه علوم باغبانی. ۲۴، (۲). ۱۶۳-۱۶۹.

سیم کش زاده، ن. م. مبلی، ن. اعتمادی، و ب. بانی نسب. ۱۳۸۹. ارزیابی میزان مقاومت به سرما در

برخی از ارقام مختلف زیتون با اندازه گیری فلورسانس کلروفیل و آسیب های ظاهری. مجله علوم

باغبانی، جلد ۲، شماره ۲، ص. ۱۶۳-۱۶۹

صحرا گرد. ناصر. ۱۳۸۶. سرمازدگی و باکتری های مولد هسته یخ. سازمان تحقیقات و آموزش

کشاورزی. ۱۱۸ ص.

طباطبایی، محمد. ۱۳۷۴. زیتون و روغن آن. انتشارات صندوق مطالعاتی توسعه کشت زیتون. ۴۰۰ ص.

عبادی، علی. سلامی، علیرضا. موسوی، امیر. کریمی، مریم. هراتی، ایمان و پيله فروش، مهناز. ۱۳۹۲.

بررسی فیزیولوژیکی مولکولی مقاومت به سرما در انگور. هشتمین کنگره علوم باغبانی ایران.

شهریور ۱۳۹۲. دانشگاه بوعلی سینا، همدان.

فریدونی. ح. غ. خادمی. ع. ا. تمسکنی. ع. ا. زینانلو و م. باقری. ۱۳۸۸. ارزیابی خسارت سرما و انتخاب

ارقام و ژنوتیپ های متحمل به سرمای زیتون در استان گلستان. مجموعه مقالات ششمین کنگره

علوم باغبانی ایران. ۲۲ تا ۲۵ تیرماه. دانشگاه گیلان.

- کافی، محمد. مهدویدامغانی، عبدالمجید. (۱۳۷۹) "مکانیسمهای مقاومت گیاهان به تنشهای محیطی. موسسه چاپ و انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد. ۴۶۷ ص.
- کتابچی، ساغر. حسن زاده، نادر. محمدی، مجتبی. عزیزاده، علی و سعادت. یوسفعلی. ۱۳۸۵. شناسایی و بررسی نوسان جمعیت باکتریهای مولد هسته یخ بر روی ژنوتیپ های مختلف بادام منطقه زرقان استان فارس. مجله علوم کشاورزی . شماره اول. ۱۸۸-۱۹۸.
- کوچکی، عوض. سلطانی، علی. ۱۳۷۶. اکوفیزیولوژی گیاهی. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد.
- گلمحمدی. م. و رسولی. ۱۳۸۸. ارزیابی تحمل به سرمای زمستانه در ارقام بومی زیتون منطقه طارم سفلی قزوین. مجموعه مقالات ششمین کنگره علوم باغبانی ایران. ۲۲ تا ۲۵ تیرماه. دانشگاه گیلان.
- محمدیان، منصور، رضایی. شیوا. رضانی، محمد. ۱۳۹۱. بررسی مقاومت دو رقم زیتون به تنش سرما. فرآیند و کارکرد گیاهی. جلد ۱. شماره ۲.
- مقصودی، شهرام. ۱۳۸۴. تکنولوژی زیتون و فرآورده های آن. نشر علوم کشاورزی. ۲۸۶ ص.
- موسوی بایگی، بتول. اشرف. محمد. نظامی، احمد. ۱۳۸۹. تعیین چرخه های یخ و ذوب و پهنه بندی مناطق مستعد ان با GIS در استان خراسان رضوی. نشریه آب و خاک . ۲۴. (۵). ۸۷۴-۸۸۳.
- میر محمد میدی، سید علی و ترکش سعید. ۱۳۸۳. جنبه های فیزیولوژیک . بهنژادی تنش های سرما و یخ زدگی گیاهان زراعی . ویرایش دوم . انتشارات گلبن. ۳۲۵ ص.
- میر منصوری، احمد. ۱۳۷۶. آشنایی با زیتون. ناشر معاونت ترویج سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی. دفتر تولید برنامه های ترویجی و انتشارات فنی. ۱۰۷ ص.
- میرفخرایی، رضا قلی. مردی. محسن. طالعی. علیرضا. محفوظی. سیروس و زالی. عباسعلی. ۱۳۸۹. شناسایی ژن های کمی مرتبط با تحمل به سرما در گندم زمستانه. مجله علوم گیاهی زراعی ایران. ۱۰۵-۱۱۲. ۱.

میرمحمدی میبدی، سیدعلی و ترکش، سعید (۱۳۷۹) " جنبه‌های فیزیولوژیک و به‌نژادی تنش‌های سرما و یخ زدگی گیاهان زراعی " انتشارات گلبن اصفهان. ۲۲۳ ص.

هاشم پور، ا.ر. فتوحی قزوینی. د. بخشی. ۱۳۸۹. تاثیر دو اقلیم متفاوت قم و رودبار بر کیفیت روغن سه رقم زیتون (*Olea europaea* L). ایران . مجله علوم و فنون باغبانی ایران. جلد ۱۱. شماره ۴. صفحه ۲۹۵-۳۰۸.

هاشمی، فریدون. ۱۳۸۰. محافظت مرکبات ایران از سرما با استفاده از بخاری های باغی. انتشارات سازمان هواشناسی کشور. ۳۵۰ ص.

همتی، خدایار. ۱۳۷۳. مبدا و شرایط اکولوژیکی زیتون. برگزیده مقالات اولین گردهمایی سراسری بررسی مسائل زیتون. ۳۰۶ ص.

Alberdi, M., Meza-Basso, L. Fernandez, J., Rois, D. and Romero, M. (2012) "Seasonal changes in carbohydrate content and frost resistance of leaves of *Nothofagus* species". *Phytochemistry*. 28:759-763

Ali Khan, Liaquat. (1998) "Effects of growth regulators on cold hardiness of pectin, carboxyllonesis (Wangenh.) ckocharious temperatures". P.h.D Thesis. Mississippi State University. PP:67.

Allen, D.J. and Ort, D. (2001) "Impacts of chilling temperatures on photosynthesis in warm climate Plants". *Plant Science*, 6(1):36-41.

Anchordoguy, T.J., Rudolph, A. S. Carpenter, J.F. and Crowe, J.H. (2014) "Moders of intraction of cryoprotectants". *Acta Horticulturae*, 24:324-331.

Anisko, T. and Lindstrom, O.M. (2012) "Applying the Richards function in freezing tolerance determination white electrolyte and phenolic leakage techniques". *Physiologia Plantarum*. 95:281-287.

- Arias N.S., Bucci 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 & Environment*, 38: 2061– 2070.
- Arvin, M. J. and Donnelly, D. J. (2008) Screening potato cultivars and wild species to abiotic stresses using an electrolyte leakage bioassay. *Journal of Agricultural Science and Technology* 10: 33-42
- Ashraf, M., and Foolad, M.R. (2007) "Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance". *Environmental Botanic*. 59:206-216.
- Ashworth, E.N. and Abeles, F.B. (1992) "Freezing behavior of water in small pores and the possible role in the freezing of plant tissue". *Plant Physiology*, 76:201-204.
- Asl Moshtaghi, E., A.R. Shahsavari. and M.R. Taslimpour. 2009. Ionic leakage as indicators of cold hardiness in Olive (*Olea europaea* L.). *World Appl. Sci J*. 7: 1308-1310.
- Atici O, Nalbantoğlu B (2003) Antifreeze proteins in higher plants. *Phytochemistry* 64:1187–1196.
- Ayerza, R. and Sibbett, G. S. (2001) Thermal adaptability of olive (*Olea europaea* L.) to the arid chaco of Argentina. *Agriculture, Ecosystem and Environment* 84: 277-285.
- Aysel, S. (2006) "Seasonal changes of total carbohydrate contents in three varieties of apple (*Malus sylvestris* Miller) stem cuttings". *Scintia Horticulturae*. 109:234-237.
- Azzarello, E., S. Mugnai, C. Pandolfi, E. Masi, E. Marone. and S. Mancuso. 2009. Comparing image (fractal analysis) and electrochemical (impedance spectroscopy and electrolyte leakage) techniques for the assessment of the freezing tolerance in olive. *Trees*. 23:159–167.

- Baek, K. H. and Skinner, D. Z. (2003) Alteration of antioxidant enzyme gene expression during cold acclimation of near-isogenic wheat lines. *Plant Science* 165: 1221-1227
- Bafeel SO (2005) Fatty acid composition and cold hardiness of pecan cultivars. Mississippi State University, Department of Plant and Soil Sciences, Starkville Mississippi State, MS
- Barka, E.A and Audran, J.C. (1997) “ Response of champenoise grapevine to low temperature: changes of shoot and bud proline concentrations in response to low temperature and correlations whit freezing tolerance“ . *Journal of Horticulture Science*. 72(4):557- 582.
- Barranco, D., Ruiz, N. and Gómez-del Campo, M. (2005) Frost tolerance of eight olive cultivars. *Horticultural Science* 40: 558-560.
- Barranco, D., N. Ruiz, M. Gomez-del-Campo. 2005. Frost tolerance of eight olive cultivars. *Horticultural Science* 40: 558-560
- Barranco, D., N. Ruiz. and M.G. Campo. 2005. Frost tolerance of eight olive cultivars. *Hort Sci*. 40: 558–560.
- Bartolozzi, F. and Fontanazza, G. (2018)"A sssessment of f r ost tolera nce in oliv e (*Olea eur opa ea* L.). *Scientia Horticulturae* 81:309-319.
- Bartolozzi, F., P. Rocchi, F. Camerini. and G. Fontanazza. 2018. Changes of biochemical parameters in olive (*Olea europaea* L.) leaves during an entire vegetative season, and their correlation with frost resistance. *Acta Hort*. 474: 435–440
- Bates, I. S., R. P. Waldern, & I. D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*. 39:205-207.
- Bonfil, C., Cortés, P., Espelta, J. M. and Retana, J. (2004). The role of disturbance in the co- existence of the evergreen *Quercus ilex* and the deciduous *Quercus cerrioides*. *Journal of Vegetation Science*. 15(3): 423-430.

- Burke, M.J., Gusta, L.V. Quamme, H.A., Weiser, C.J. and Li, P.H. (1976) "Freezing injury of plants". Annual Reviews in Plant Physiology. 27:507-528.
- Campus, P.S., Quatrin. V., Ramulho, J.C. and Nunes, M.A. (2003) "Electrolyte leakage and lipid degradation account for cold sensitivity in leaves of coffee spp plants". Plant Physiology. 160:285-292.
- Cansev A, Gulen H, Celik G, Eris A (2012) Alteration in total phenolic content and antioxidant capacity in response to low temperatures in olive (*Olea europaea* L. Gemlik). Plant Arch 12:489–494
- Cansev, A., H. Gulen. and A. 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. J. Agric. Sci. 147: 51–61.
- Cansev, A., H. Gulen. and A. Eris. 2011. The activities of catalase and ascorbate peroxidase in olive (*Olea europaea* L. cv. Gemlik) under low temperature stress. Hort. Environ. Biotech. 52:113-120.
- Cansev, A., H. Gulen. and A. Eris. 2012. The activities of catalase and ascorbate peroxidase in olive (*Olea europaea* L. cv. Gemlik) under low temperature stress. Hort. Environ. Biotech. 52:113-120.
- Christansen, M.N. (2018) "Temperature stress and membrane lipid modifications". Advances in Phytochemistry. 177pp.
- Constantinidou, H. A., Menkissoglu. O., and Stergiadou, H. C. (1991) "The role of ice nucleation active bacteria in super cooling of citrus tissue". Plant Physiology. 81: 548-554.
- Cyril. J., G.L. Powell, R.R. Duncan. and W.V. Baird. 2002. Changes in membrane polar lipid fatty acids of seashore paspalum in response to low temperature exposure. Crop Sci. 42: 2031–2037.

- D'angeli, S. and M.M. Altamura. 2007. Osmatin induces cold protection in olive trees by affecting programmed cell death and cytoskeleton organization. *Planta*. 225:1147-1163.
- D'angeli, S. and M.M. Altamura. 2007. Osmatin induces cold protection in olive trees by affecting programmed cell death and cytoskeleton organization. *Planta*. 225:1147-1163.
- D'Angeli, S., R. Malhóh. and M. Altamura. 2003. Low-temperature sensing in olive tree: calcium signaling and cold acclimation. *Plant Sci*. 165: 1303–1313.
- Denney, J.O., D.O. Ketchie, J.W. Osgood, G.C. Martin, J.H. Connell and G.S. Sibbett. 1993. Freeze damage and cold hardiness in olive: findings from the 1990 freeze. *Calif Agric*. 47:1–12.
- Dexter, S, T., Tottingham W. E. and Graber, L.F. (1930) " Preliminary result in measuring the hardiness of plants". *Plant Physiology*. 5:215-223.
- Dexter, S. T., Tottingham, W. E. and Graber, L. F. 1930. Preliminary results in measuring the hardiness of plants. *Journal of Plant Physiology*, 5: 215-223.
- Dexter, S. T., Tottingham, W. E. and Graber, L. F. 1932. Investigations of the hardiness of plants by measurement of electrical conductivity. *Journal of Plant Physiology*, 7: 63-78
- Dibax, R., Deschamps, C., Bessalho Filho, J., Vieira, L. G. E., Molinari, H. B.C., De-Campos, M. K. F. and Quoirin, M. (2010) Organogenesis and *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of *Eucalyptus saligna* winter wheat leaves in relation to variety- specific differences in freezing resistance. *Journal of Agronomy and Crop Science* 165: 230-239.
- Dionne J, Castonguay Y, Nadeau P, Desjardins Y (2001) Freezing tolerance and carbohydrate changes during cold acclimation of greentype annual bluegrass (*Poa annua* L.) ecotypes. *Crop Sci* 41:443–451

- Dubois, M., K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers and F. Smith. 1956. Colorimetric method of determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28: 350–356.
- Einali A, Valizadeh J (2017) Storage reserve mobilization, gluconeogenesis, and oxidative pattern in dormant pistachio (*Pistacia vera*L.) seeds during cold stratification. *Trees* 31:659–671.
- Eris A, Gulen H, Barut E, Cansev A (2007) Annual patterns of total soluble sugars and proteins related to cold-hardiness in olive (*Olea europaea*L. ‘Gemlik’). *J Hort Sci Biotechnol* 82:597–604
- Eris, A., H. Gulen, E. Barut. and A. Cansev. 2007. Annual patterns of total soluble sugars and proteins related to cold-hardiness in olive (*Olea europaea*L. ‘Gemlik’). *J. Hort. Sci. Biotech.* 82,597–604.
- Ershadi A, Karimi R, Mahdei KN (2016) Freezing tolerance and its relationship with soluble carbohydrates, proline and water content in 12grapevine cultivars. *Acta Physiol Plant* 38:1–10
- Fabbri, A. (2006) “ Olive propagation new challenges and scientific research”. *Olive biotech.* Vol11. pp, 411-421.
- FAO (2019) *FAO Stat.* FAO Org., Assessed Data, January.
- Fiorino, P. and S. Mancuso. 2000. Differential thermal analysis, deep supercooling and cell viability in organs of *Olea europaea* L. at subzero temperatures. *Adv Hort Sci.* 14:23–27.
- 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.
- Gomez del Campo, M. and D. Barranco. 2005. Field evaluation of frost tolerance in 10 olive cultivars. *Plant Gen Res.* 3:385-390.

- Gomez-del-Campo, M. and D. Barranco. 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, *Journal of Agricultural Science*, 147:459–467
- Gulen, H., A. Cansev. and 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. *J. Agric. Sci.* 147: 459–467.
- Guo WL, Chen RG, Gong ZH, Yin YX, Ahmed SS, He YM (2012)Exogenous abscisic acid increases antioxidant enzymes and related gene expression in pepper (*Capsicum annuum*)leavessubjectedto chilling stress. *Genet Mol Res* 11:4063–4080
- Gusta, L., N.J. Tyler. and T.H.H. Chen. 1983. Deep undercooling in woody taxa growing north of the -40°C isotherm. *Plant Physiol.* 72: 122-128.
- Guy, C.L. (2017) “ Cold acclimation and freezing stress tolerance: role of protein metabolism ” . *Annual Reviews in Plantphysiology and plant Molecular Biology.* 41:187-223.
- Handley, L. W., Pharr, D.M., and. Mcfeeters, R.F. (2015) "Relationship between glycolysis activity and sugar composition in leaves and seeds of several crop species".*Hortscience.*108:600-605.
- Hare, D.P. and Cress, W.A. (2015) “Metabolic implications of stress- induced proline accumulation in plants”. *Plant Growth Regulation*, 21:79-102.
- Hernandez, M.L., M.N. Padilla, M.D.Sicardo, M. Mancha. and M.J. Martinez-Rivas. 2011. Effect of different environmental stresses on the expression of oleate desaturase genes and fatty acid composition in olive fruit. *Phytochem.* 72 178–187.
- Hinesley, L.E., Pharr, D.M., Snelling, L.K. and Funderburk, S.R. (2012) “ Fiarraffinose and sucrose in four conifer species: relationship to seasonal

- temperatures". Journal of the American Society for Horticultural Science. 117:852-855.
- Khanizadeh, S., Brodeur, C., Granger, R. and Buszard, D. (2000) "Factors associated with winter injury to apple trees". Acta Horticulture, 514:179-192.
- Khanizadeh, S., Buszard, D., Fanous M. A. And Zarkadas C. G. (1992) "Effect Of Crop Load On Seasonal Variation In Chemical Composition And Spring Frost Hardiness Of Apple Flower Buds". Can. J. Plant Sci. 69: 1277-1284.
- Khanizadeh, S., D. Buszard, M.A. Fanous. and C.G. Zarkadas. 2008. Effect of crop load on seasonal variation in chemical composition and spring frost hardiness of apple flower buds. Can. J. Plant Sci. 69: 1277-1284.
- Kishor, P.B.K., S. Sangam, R.N. Amrutha, P.S. Laxmi, K.R. Naidu, K. Rao, S. Rao, K.J. Reddy, P. Theriappan. and N. Sreenivasulu. 2005. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher.
- Kuznetsov, V.I., N.I. Shevyakova, (2019) "Proline under stress: biological role, metabolism, and regulation". Russ. J. Plant Physiol., 46, 274-289.
- La Porta, N., M. Zacchini, S. Bartolini, R. Viti. and G. Roselli. 1994. The frost hardiness of some clones of olive cv Leccino. J Hort Sci. 69:433-435.
- Larcher, W. 1970. Karteresistenz und überwinterungsvermögen mediterraner Holzpflanzen. Oecol Plant. 5: 267–286
- Leborgne, N., Teulier, C., Travers, S., Rols, M.P., Teissie, J. and Boudet, A.M. (2014) "Introduction of specific carbohydrates into Eucalyptus gunnii cells increases their freezing tolerance". European Journal of Biochemistry.
- Lenz A, Hoch G, Vitasse Y, Körner C (2013) European deciduous trees exhibit similar safety margins against damage by spring freeze events along elevational gradients. New Phytol 200(4):1166–1175.
- Levitt, J. (1980) "Responses of plants to environmental stresses chilling freezing and high temperatures". I. New York: Academic press, U.S.A

- Li, X., Ahammed, G. J., Li, Z. X., Zhang, L., Wei, J. P., Yan, P. and Han, W. Y. (2018). Freezing stress deteriorates tea quality of new flush by inducing photosynthetic inhibition and oxidative stress in mature leaves. *Scientia Horticulturae*. 230: 155-160.
- Lindow, S.E. (1993) "The role of bacterial ice nucleation in frost injury to plants". *Annual Phytopathology*. 21:363-384.
- Liu, Y.Zhang, J.Liu, H. and Huang, W. (2008) "Salicylic acid or heat acclimation pretreatment enhances the plasma membrane-associated ATPase activities in young grape plants". *Science Horticulturae*, 119:21-27.
- Mancuso, S. 2000. Electrical resistance changes during exposure to low temperature measure chilling and freezing tolerance in olive tree (*Olea europaea* L.) plants. *Plant Cell. Environ.* 23: 291–299.
- Mc Kellar, M.A., Buchanan, D.W., Ingram, D.L. and Campbell, C.W. (1992) "Freezing tolerance of Avocado leaves". *HortScience*. 27:341-343.
- Mills, L. J., Fregusen, C., Keller, M. (2006) "Cold hardiness evaluation of grape buds and cane tissue". *Amj. Enol. Vitic.* 57:194-200.
- Miura, K., and Furumoto, T. (2013). Cold signaling and cold response in plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(3): 5312-5337.
- Norozi M, ValizadehKaji B, Karimi R, Nikoogoftar Sedghi M (2019) Effects of foliar application of potassium and zinc on pistachio (*Pistacia vera* L.) fruit yield. *Int J Hortic Sci Tech* 6:113–123.
- Nunes, M.E.S. and Smith, G.R. (2003) "Electrolyte leakage assay capable of quantifying freezing resistance in Rose clover". *Crop Science*, 43:1349-1357.
- Omar Bafeel, Sameera. (2005) "Fatty acid composition and cold hardiness of pecan Cultivars". Thesis P.H.D. Mississippi State University. 134pp.

- Ortega-García, F. and J. Peragón. 2009. The response of phenylalanine ammonia-lyase, polyphenol oxidase and phenols to cold stress in the olive tree (*Olea europaea* L. cv. Picual). *J. Sci. Food Agric.* 89: 1565–1573.
- Pakonen, T., Saari, E., Laine, K., Havas, P., Lhdesma and ki, P., (1991) "How do seasonal changes in carbohydrate concentrations in tissues of the bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) reflect carbon resource allocation patterns". *Acta Oecol.* 12:249–259.
- Pallioti, A. and G. Bongi. 1996. Freezing injury in the olive leaf and effects of mefluidide treatment. *J. Hortic. Sci.* 71: 57–63.
- Palonen P, Buszard D, Donnelly D (2000) Changes in carbohydrates and freezing tolerance during cold acclimation of red raspberry cultivars grown in vitro and in vivo. *Physiol Plant* 110:393–401
- Palonen, P. and Buszard, D. (2016) "In vitro screening for cold hardiness of raspberry cultivars". *Plant Cell Tissue and Organ Culture.* 53:213-216.
- Palonen, P., Buszard, D., and Donnelly, D. (2000) "Changes in carbohydrates and freezing during cold acclimation of red raspberry cultivars grown in vitro and in vivo". *Plant physiology.* 110:393–401.
- Patterson, B.D., Murata, T. and Graham, D. (1976) "Electrolyte leakage induced by chilling *Passiflora* species tolerant to different climates". *Journal of Plant Physiology*, 3:435-
- Patton AJ, Cunningham SM, Volenec JJ, Reicher ZJ (2007) Differences in freeze tolerance of *Zoysiagrasses*: II carbohydrate and proline accumulation. *Crop Sci* 47:5.
- Pukacki, P and Pukacka, S. (2017) "Freezing stress and membrane injury of Norway spruce (*Picea abies*) tissues". *Physiologia Plantarum.* 69:156-160

- Rejskova, A., L. Patkova, E. Stodulkova. AND H. Lipavska. 2007. The effect of abiotic stresses on carbohydrate status of olive shoots (*Olea europaea* L.) under in vitro conditions. *J. Plant Physiol.* 164: 174-184.
- Rhodes, D., and Hanson, A.D. (2014) "Quaternary ammonium and tertiary sulfonium Compounds in higher -plants". *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology.* 44: 357-384.
- Rosa, R. D., and Rallo, L. (2000) "Olive flora bud growth and starch content during winter rest and spring bud-break". *Hort Science.* 35(7):1223-1227.
- Roselli, G., Benelli, G. and D. Morelli. 1989. Relationship between stomatal density and winter hardiness in olive (*Olea europaea* L.). *J. Hort. Sci.* 64: 199–203.
- Sakai, and Larcher, W. (2015) "Frost survival of plants: Responses and adaptation to freezing stress". Berlin springer-verlag, 321 P.
- Santarius, K.A. (2013) "The mechanism of cryoprotection of biomembrance systems by carbohydrates". In: *Plant Cold Hardiness and Freezing Stress*, Volume 9. (Eds. P.H.Li and A. Sakai). Academic Press, New York. Pp.
- Sasaki, T. (2017) "Studies on germination ability under low temperature condition of rice varieties". *Kamikawa Agricultural.* 24:1-90.
- Sauter, J.J. and Ambrosius, T. (2017) "Changes in the partitioning of carbohydrates in the wood during bud in *Betula pendula* Roth". *Plant Physiology.* 124_31-43.
- Schreiber S.G., Hamann A., Hacke U.G., and Thomas B.R. 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.
- 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 .

- 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(2):288-292.
- Seppanen, M. M. (2000) "Characterization of freezing tolerance in solanum commersonii with special reference of the relationship between oxidative stress". *Current Science*. 56:40-44.
- Shao, H. B., and Kang. C. (2008) "Primary antioxidant free radical scavenging and redox signaling pathway in higher plant cells". *Journal Biology Science*.4:8-14.
- Shao, H. B., and Kang. C. (2008) "Primary antioxidants free radical scavenging and redox signaling pathway in higher plant cells". *Journal Biology Science*.4:8-14.
- Siminovich, D.(2010) "Common and disparate elements in the processes of adaptation of herbaceous and woody plants to freezing perspective". *Cryobiology*. 18:166-185.
- Steponkus, O.L., Uemura, M. and Webb, M.S. (2016)"Redesigning crops for increased tolerance to freezing stress" *Acta Horticulturae*, 24:2185-2190
- Stone, J.M., Palta, J.P., Bamberg. J.B. and Weiss, L.S. (1993) "Freezing tolerance and capacity to acclimate are conferred by different genes in Solanum species". *Proceeding of the National Academy of Science*, 90:7869-7873.
- Szabados, L and A. Savoure. 2010. Proline: a multifunctional amino acid. *Trends Plant Sci*. 15:89-97.
- Teravert, S., Valerio, L., Fouraste, I., Boudet, A. M., and Teulieres, A. (2011) "Enrichment in specific soluble sugars of two eucalyptus cell suspension cultures by various treatments enhances their frost tolerance via a noncolligative mechanism". *Plant physiology*. 114:1433-1442.
- Theocharis, A., S. Bordiec, O. Fernandez, S. Paquis, S. Dhondt-Cordelier, F. Baillieul, C. Clement. and E. Ait Barka. 2011. Burkholderia phytofirmans strain PsJN primes

- Vitis vinifera* L. and confers a better tolerance to low non-freezing temperatures. *Mol Plant Microbe Interact.* 25:241–249.
- Thomas FM, Meyer G, Popp M (2004) Effects of defoliation on the frost hardiness and the concentrations of soluble sugars and cyclitols in the bark tissue of pedunculate oak (*Quercus robur* L.). *Ann For Sci* 61:455–463
- Vaioola, A. (2000) “Genetic and physiological aspects of cold hardiness in *Rhododendron*”. University of Helsinki. 47 pp. Vol. 1, No. 2, pp 181-190.
- Verbruggen, N. and C. Hermans. 2008. Proline accumulation in plants: a review. *Amino Acids.* 35:753–759.
- Weiser, C.J. (1970) “Cold resistance and acclimation in woody plants”. *Hort Science*, 5:403-8.
- Wisniewski, M., and Arora, R. (2000) “Structural and biochemical aspects of cold hardiness in woody plants”. In: Jain, S.M. and Minocha, S.C. (eds). “Adaptation and Response of Woody Plant to Environmental Stresses”. Haworth Press, pp:86.
- Wisniewski, M., Bassett, C. and Gusta, L. V. (2003) “An overview of cold hardiness in woody plants: seeing the forest through the tree”. *Hortscience*, 38:925-959.
- Yu DJ, Hwang JY, Chung SW, Oh HD, Yun S, Lee HJ (2017) Changes in cold hardiness and carbohydrate content in peach (*Prunus persica*) trunk bark and wood tissues during cold acclimation and deacclimation. *Sci Hortic* 219:45–52. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.02.038>.
- Yuanyuan, M., Yali, Jiang, L., and Hongbo, SH. (2009) "Roles of plant soluble sugars and their responses to plant cold stress". *African Journal of Biotechnology.* 10:2004-2010.

- Zabadal, T. J., Dami, I.E., Goffinet, M.C., Martinson, T.E. and Chien, M.L. (2007) “ Winter injury to grapevines and methods of protection”. Michigan State University Extension, MSU Bulletin, 2930.
- Zhang Y, Mechlin T, Dami I (2011) Foliar application of abscisic acid induces dormancy responses in greenhouse-grown grapevines. HortScience 46:1271
- Zhang, X. and E.H. Ervin. 2008. Metabolic defense responses of bermudagrass during acclimation to freezing stress-A review. Acta Hort. 783: 181–194.

Abstract

One of the limiting factors of planting olive tree (*Olea europaea* L.) in temperate and cold regions is sensitivity to low temperatures in winter. In recent years, due to increasing demand for olive oil and fruit, olive tree planting has expanded in Iran. Different olive cultivars have different reactions to cold and therefore selecting resistant cultivars is the most effective way to avoid cold damage. In this study, the resistance to cold of 10 olive cultivars (Mishn, Rashid, Shengeh, Abu Satl, Manzanilla, Kavi, Darsalani, Zard, Roghani and Luk) was evaluated after natural frost in field and under controlled temperature conditions at library. Field evaluation after the onset of severe cold (temperature -10°C) in December 2016, 24 trees from each of the 10 cultivars in the garden section of Astan Quds Lasjerd farm were adapted as a randomized block design with 3 replications. The evaluation under controlled temperature conditions was performed in a factorial experiment based on a completely randomized design. Factors include 10 olive cultivars, three growth seasons according before rest, rest time and after rest corresponding to December, February and March and eight cold treatments 0, -3, -6, -9, -12, -15, -18 And was -21. In this study, trees were scored and classified based on the amount of damage (the amount of damage to the trunk and regrowth). The field results showed that Roghani cultivar with the least amount of damage to the trunk and the high regrowth, is engaged as the most resistant cultivar among the cultivars. Also, in the evaluation method at controlled temperature, it was found that Roghani cultivar was the most tolerant in February and Abu Satal cultivar was the most sensitive to freezing stress in December. There was a significant correlation between leaf proline and stem proline and leaf and stem carbohydrates. Zard cultivar in February have highest leaf and stem proline. Also, the yellow cultivar in February harvest had the most carbohydrates of stems and leaves. The Roghani cultivar have to the highest fruit number and yield in five year after severe cold 2016 among 10 olive cultivars.

Keywords : Roghuni, Mission, Proline, LT_{50} , Tetrazolium, Ion leakage, Cold



Shahrood University of
Technology

Faculty of Agriculture
Department of Horticulture and Plant Protection

Horticultural Science Engineering (Fruit Trees Orientation)

Cold Hardiness Assessment in Some Olive Cultivars under Control Temperatue Condition

By:

Marzieh vafadar

Supervisor:

Dr. Mehdi Rezaei

Month, 2021