

## بررسی تغییرپذیری‌های ناشی از خشکی در نژادگان طبیعی مرکبات

رضا فیفائی<sup>۱\*</sup>، رضا فتوحی قزوینی<sup>۲</sup>، جواد فتاحی مقدم<sup>۱</sup> و معصومه کیااشکوریان<sup>۳</sup>  
۱ و ۳. استادیار و محقق مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی، پژوهشکده مرکبات و میوه‌های نیمه گرمسیری، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رامسر، ایران  
۲. استاد، دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان، رشت، ایران  
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۸/۱۰ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۰/۴)

### چکیده

درختان مرکبات دمای پایین و زهکشی ضعیف خاک را به‌خوبی تحمل نکرده و در صورت پرورش آن‌ها در مناطق گرم در معرض تأثیر زیانبار خشکی قرار می‌گیرند. این پژوهش، به‌منظور بررسی تأثیر خشکی بر محتوای نسبی آب برگ، نشت یونی، میزان تجمع مالون‌دآلدئید، کربوهیدرات محلول کل و عنصرهای پتاسیم و کلسیم در دانهال‌های نوسلار نژادگان (ژنوتیپ) طبیعی مرکبات به همراه دو پایه حساس و مقاوم به خشکی به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با سه تکرار در شرایط گلخانه‌ای انجام شد. عامل‌ها شامل ده نژادگان مختلف و تیمارهای آبیاری کامل (شاهد) و تنش شدید (قطع آبیاری) بودند. نتایج بررسی‌ها نشان داد، پونسیروس به دلیل نشت یونی پایین‌تر (۳۱/۸۵ درصد)، تجمع کمتر مالون‌دآلدئید (۱۳۴/۴ نانومول بر گرم وزن خشک برگ) و در نتیجه پراکسیداسیون کمتر چربی (لیپید)ها و میزان کلسیم بالاتر (۵۷ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک برگ) نسبت به دیگر نژادگان‌ها متحمل به خشکی و رافالمون به دلیل تجمع بیشتر مالون‌دآلدئید (۳۵۶/۹ نانومول بر گرم وزن خشک برگ) و در نتیجه پراکسیداسیون بیشتر چربی‌ها، نشت یونی بالا (۶۹/۴۳ درصد) و میزان پایین‌تر کلسیم (۳۲/۶۳ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک برگ) در مقایسه با دیگر نژادگان‌ها، حساس به خشکی هستند. همچنین نژادگان طبیعی شل‌محله به دلیل نشت یونی بالا (۷۷/۱۷ درصد) و تجمع پایین کربوهیدرات محلول کل (۴۸/۴۵ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک برگ)، پس از رافالمون در رتبه بعدی حساسیت قرار داشت. بنابراین با توجه به مقایسه میانگین‌ها و همبستگی خوب نشت یونی با دوره بقا، می‌توان آن را به‌عنوان نشانگر فیزیولوژی مناسب در مبحث تحمل به خشکی معرفی کرد.

واژه‌های کلیدی: قطع آبیاری، مالون‌دآلدئید، محتوای نسبی آب برگ، نژادگان ناشناخته، نشت یونی.

## Effects of drought on citrus natural genotypes

Reza Fifaei<sup>1\*</sup>, Reza Fotouhi Ghazvini<sup>2</sup>, Javad Fatahi Moghadam<sup>1</sup> and Masomeh Kiaeshkevarian<sup>3</sup>

1, 3. Assistant Professor and Researcher of Horticultural Science Research Institute, Citrus and Subtropical Fruits Research Center, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Ramsar, Iran

2. Professor, Faculty of Agriculture Science, University of Guilan, Rasht, Iran

(Received: Oct. 31, 2016 - Accepted: Dec. 24, 2016)

### ABSTRACT

Citrus tolerate low temperature and weak drainage. Growing citrus in warm regions, expose them to drought. This research was conducted to investigate drought effect on relative water content, ion leakage, malondialdehyde, soluble sugars, potassium and calcium nutrients in nucellar seedlings of *citrus* natural genotypes with two susceptible and tolerant rootstocks in factorial test based on randomized completely design with three replications in glasshouse conditions. Factors included commercial *Citrus* genotypes and two level of irrigation (optimum irrigation and withholding irrigation). The results showed that Poncirus because of lower ion leakage (31.85 %), lower malondealdehyde accumulation (134.4 nm/gdw) and higher calcium content (57 mg/gdw) compared with other genotypes was more tolerant to drought. Rough lemon because of higher malondealdehyde accumulation (356.9 nm/gdw), high ion leakage (69.43 %) and lower calcium content (32.63 mg/gdw) compared with other genotypes, was susceptible to drought. Genotype of Shelmahalleh because of high ion leakage (77.17 %) and slight total soluble carbohydrate accumulation was susceptible to drought after Rough lemon. Therefore, we could consider ion leakage as a proper physiological marker for drought tolerance with regard to means comparison and its good correlation to survival time.

**Keywords:** Ion leakage, leaf relative water content, malondialdehyde, unknown genotype, Withhold irrigation.

\* Corresponding author E-mail: rezafifaei@yahoo.com

### مقدمه

از نظر زیست‌شناختی (بیولوژی)، تنش نیرویی منفی است که بازدارنده عملکرد طبیعی یک سامانه زیستی می‌شود. تنش‌های محیطی که مهم‌ترین عامل کاهنده عملکرد محصولات کشاورزی در جهان هستند به دو بخش تنش‌های زنده و غیرزنده تقسیم می‌شوند. خشکی یا کم‌آبی، مهم‌ترین تنش غیرزنده است و هنگامی ایجاد می‌شود که میزان آب دریافتی گیاه کمتر از هدررفت آن باشد (Mahajan & Tuteja, 2005).

ایران جزو کشورهای خشک و نیمه‌خشک جهان با میانگین بارندگی درازمدت حدود ۲۵۰ میلی‌متر در سال است (گفته می‌شود میانگین بارندگی سال‌های اخیر کشور به ۲۲۸ میلی‌متر کاهش یافته است. ۶۶ درصد گستره کشور در اقلیم خشک و نیمه‌خشک با میزان بارندگی کمتر از ۲۰۰ میلی‌متر در سال قرار دارد، ناگزیر در معرض خشکی قرار می‌گیرد (Nasr-e-efshahi et al., 2008).

خشکی بر برخی ویژگی‌های ریخت‌شناختی (مرفولوژیکی)، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی درختان مرکبات تأثیر می‌گذارد. بررسی دانه‌های سه‌ماهه ده پایه مختلف مرکبات تحت رژیم‌های متفاوت آبیاری در گلخانه نشان داد، وزن خشک ریشه به شاخه در شرایط تنش افزایش یافت (Beniken et al., 2013). در بررسی تأثیر دو گونه قارچ قارچ‌ریشه‌ای (میکوریزا) بر برخی ویژگی‌های دانه‌های گل‌دانی و لکامریا تحت تیمارهای تنش خشکی، وزن خشک برگ، شاخه و ریشه در شرایط تنش، کاهش معنی‌داری در مقایسه با شاهد داشت (Haghighatnia et al., 2011). بررسی دو تیمار تنش آبی روی دانه‌های نارنگی تحت تأثیر پنج گونه قارچ قارچ‌ریشه‌ای نشان داد، وزن خشک شاخه و ریشه در شرایط خشکی بدون کاهش ولی وزن خشک کل گیاه کاهش معنی‌داری داشت (Wu et al., 2007). در بررسی دیگری وزن خشک شاخه و نسبت وزن خشک ریشه به شاخه در هلوی کاترینا روی چهار پایه با قطع آبیاری تا ۲۶ روز معنی‌دار نبود هرچند میزان آن‌ها نسبت به شاهد کاهش داشت (Jimenez et al., 2013). در رقم‌های زیتون نیز کاهش نسبت

وزن خشک ریشه به تاج‌پوشش درختان در نتیجه تنش خشکی دیده شد (Metheney et al., 1994). در بررسی تنش شدید خشکی روی پایه فورنر آلکائید ۵ در مقایسه با والدینش یعنی کلتوپاتراماندارین و پونسیروس تریفولیاتا مشاهده کردند در هر سه پایه محتوای نسبی آب برگ کاهش یافت (Rodríguez-Gamir et al., 2010). بررسی دو پایه کاریزوسیترنج و کلتوپاتراماندارین نشان داد، محتوای نسبی آب برگ در دانه‌های تحت خشکی پایین‌تر از شاهد بود و این کاهش در کاریزوسیترنج بیشتر از کلتوپاتراماندارین دیده شد (García-Sancheza et al., 2007). بررسی دانه‌های سه‌ماهه ده پایه مختلف مرکبات تحت رژیم‌های متفاوت آبیاری در گلخانه نشان داد، با افزایش تنش خشکی کاهش معنی‌داری در محتوای نسبی آب برگ همه پایه‌ها مشاهده شد (Beniken et al., 2013). بررسی یک دوره یا چرخه (سیکل) خشکی در نهال‌های شش ماهه پرتقال نیوهال و تانگور الندیل در شرایط گلخانه‌ای کنترل‌شده نشان داد، در پایان دوره تنش، کاهش فراوانی در محتوای نسبی آب برگ در نهال‌های تانگور مشاهده شد (Save et al., 1995). تأثیر تنش خشکی بر نهال‌های گل‌دانی پرتقال والنسیا روی پایه‌های رانگ‌پورلایم دیپلوئیدی و تتراپلوئیدی در شرایط گلخانه‌ای نشان داد، سطوح پلوئیدی پایه‌ها، تأثیری بر محتوای نسبی آب برگ نداشت و تفاوتی بین والنسیا پیوندی روی رانگ‌پورلایم دیپلوئید و تتراپلوئید دیده نشد (Allario et al., 2012). بررسی واکنش پنج رقم انگور در چهار سطح پتانسیل آب خاک نشان داد، پایداری نسبی غشاء یاخته‌ای، با افزایش شدت تنش خشکی کاهش و در نتیجه نشت یونی افزایش یافت. درصد پایداری نسبی در ۱/۵- مگاپاسکال در رقم‌های انگور خوشناو، ساهانی و بیدانه سفید نسبت به بقیه به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (Ghaderi et al., 2010). بررسی تنش خشکی در رقم‌های سیب ویستا بلا و گلابی سانتا ماریا نشان داد، با افزایش سطوح تنش آبی، درصد نشت یونی در هر دو رقم روی پایه‌های مورد بررسی افزایش داشت. میزان این افزایش در گلابی رقم سانتا ماریا کمتر بود (Bollat et al., 2014).

میزان آن‌ها در بافت‌های برگ و ریشه به‌ویژه در شرایط تنش شدید افزایش یافت (Jimenez *et al.*, 2013). در رقم‌های انگور، زیتون، بادام، گلابی و سیب افزایش کربوهیدرات محلول کل در نتیجه تنش خشکی گزارش شده است (Ghaderi *et al.*, 2010; Rabiei, 2004; Yazdani *et al.*, 2007; Arji *et al.*, 2003; Rosban, 2009; Javadi, 2003; Alizadeh *et al.*, 2011).

بروز تنش خشکی باعث ایجاد تغییرهایی در میزان عنصرهای کانی نیز می‌شود. در آزمایش‌های انجام‌شده روی دو پایه کاریزوسیترنج و کلتوپاتراماندارین شش‌ماهه در شرایط تنش خشکی، غلظت کلسیم برگ در هر دو پایه افزایش یافت که میزان این افزایش در دانهال‌های کلتوپاتراماندارین بیشتر از کاریزوسیترنج بود. غلظت پتاسیم برگ نیز در شرایط خشکی در هر دو پایه افزایش معنی‌داری نداشت هرچند این افزایش در کلتوپاتراماندارین بیشتر بود (Garcia-Sanchez *et al.*, 2007). Cimo *et al.* (2013) با بررسی تأثیر تنش و حلقه‌برداری روی دانهال‌های دوساله سوئینگل سیتروملو و کلتوپاتراماندارین در شرایط گلخانه‌ای نتیجه گرفتند در شاهد میزان پتاسیم در کلتوپاتراماندارین کمتر از سوئینگل سیتروملو و میزان کلسیم بیشتر بود. با اعمال تنش میزان پتاسیم در هر دو پایه کاهش یافت که در سیتروملو این کاهش کمتر بود. میزان کلسیم نیز در کلتوپاترا کاهش ولی در سیتروملو افزایش یافت. Haghghatnia *et al.* (2011) دانهال‌های گلدانی ولکامریانا را همراه با دو گونه قارچ قارچ‌ریشه‌ای در معرض تنش خشکی قرار دادند. در این بررسی میزان پتاسیم با افزایش شدت تنش، کاهش معنی‌داری داشت و در تنش شدید به کمترین میزان رسید. همچنین میزان کلسیم در شاهد و تنش ملایم تغییری نداشت ولی در تنش شدید افزایش معنی‌داری یافت. قارچ‌ریشه در همه موارد باعث افزایش در میزان جذب کلسیم و پتاسیم شد.

هدف از انجام این پژوهش، بررسی نژادگان‌های طبیعی مرکبات از نظر تحمل به خشکی و مقایسه آن‌ها با دو نژادگان حساس و متحمل رافلمون و پونسیروس از لحاظ برخی شاخص‌های فیزیولوژی و بیوشیمیایی و دستیابی به یک شاخص مناسب است.

بررسی تأثیر قارچ‌ریشه و تنش خشکی پیش‌رونده در نهال‌های پرتقال نیوهال روی پایه پونسیروس نشان داد، میزان مالون‌دآلدید در برگ‌ها با افزایش شدت تنش افزایش یافت (Wu & Zou, 2009). بررسی تنش آبی در سوئینگل سیتروملو تراریخته در مقایسه با شاهد غیرتراریخته نشان داد، غلظت مالون‌دآلدید در شرایط آبیاری مناسب در گیاهان تراریخته و غیرتراریخته یکسان است ولی در تنش متوسط و شدید در تراریخته‌ها پایین‌تر است. در تنش متوسط افزایش معنی‌داری در گیاهان تراریخته مشاهده نشد، ولی در تنش شدید این افزایش معنی‌دار بود. در گیاهان غیرتراریخته نیز افزایش معنی‌داری در شرایط تنش متوسط و شدید در مقایسه با شاهد دیده شد (de Campos *et al.*, 2011). بررسی دو پایه حساس و مقاوم سیب به تنش خشکی مشاهده کردند میزان مالون‌دآلدید در پایه حساس افزایش بیشتری یافت (Wang *et al.*, 2011).

بررسی دانهال‌های دو ساله پرتقال نیوهال و نارنگی انشو یاماسیتاکا نشان داد، تنش خشکی می‌تواند باعث تجمع کربوهیدرات محلول کل در هر دو رقم شود (Xie *et al.*, 2012). در شرایط کم‌آبی، پایه فورنر آلکاید ۵ در مقایسه با والدینش مواد پرورده (آسیمیلات‌های) بیشتری دارد (Rodriguez-Gamir *et al.*, 2010). بررسی تنش خشکی ۹ روزه در کاریزوسیترنج و کلتوپاتراماندارین نشان داد، کربوهیدرات محلول کل در برگ‌ها و ریشه‌های هر دو نژادگان افزایش یافت (Garcia-Sanchez *et al.*, 2007). افزایش معنی‌دار کربوهیدرات محلول کل در برگ ده پایه مرکبات مورد آزمایش تحت رژیم‌های مختلف آبیاری دیده شد (Beniken *et al.*, 2013). بررسی تنش آبی و قارچ قارچ‌ریشه‌ای روی دانهال‌های نارنگی نشان داد، میزان کربوهیدرات محلول کل برگ در گیاهان تحت تنش، افزایش معنی‌داری در مقایسه با شاهد نداشت ولی همه گونه‌های قارچ‌ریشه در افزایش کربوهیدرات محلول کل مؤثر بودند (Wu *et al.*, 2007). بررسی تنش آبی پیش‌رونده در پایان ۱۶ و ۲۶ روز نشان داد، اثر متقابل خشکی و نژادگان بر میزان کربوهیدرات محلول کل برگ معنی‌دار نبود، هرچند

## مواد و روش‌ها

این پژوهش در گلخانه تحقیقاتی و آزمایشگاه‌های پژوهشکده مرکبات و میوه‌های نیمه‌گرمسیری کشور (رامسر) در سال ۱۳۹۳ انجام شد. بذره‌های هشت نژادگان طبیعی ناشناخته (۵-۵)، معلم‌کوه، شل‌محل، ۳-۳، ۶-۳، ۸-۴، آفتاپ و ۲-۵) به همراه دو پایه متحمل پونسیروس (*Poncirus trifoliata* Raf.) و حساس رافلمون (*Citrus jambhiri* Lush.) در آذرماه ۱۳۹۲ گردآوری و پس از آماده‌سازی و ضدعفونی با قارچ‌کش کاپتان (به غلظت دو در هزار) در ترکیب سترون‌شده (استریل) متشکل از پرلیت و ماسه اتوکلاو شده (به نسبت یکسان) کشت شدند. پس از سبز شدن بذرها، دانه‌های نوسلار تولیدی در مرحله دو تا سه برگی به گلدان‌های پلاستیکی ۲٫۵ لیتری محتوای ترکیب سترون‌شده کوکوپیت و ماسه به نسبت یکسان (اتوکلاو شده) منتقل و در گلخانه کنترل‌شده (با دمای ۲۶-۲۸ درجه سلسیوس در روز و ۲۰-۲۲ درجه در شب با رطوبت نسبی ۸۰-۸۵ درصد) قرار گرفتند. آبیاری در حد حفظ ظرفیت گلدانی و تغذیه با محلول هوگلند (هر هفت روز یک‌بار) انجام شد.

تحقیق به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با سه تکرار و دو دانه‌ال در هر واحد آزمایشی انجام شد. عامل‌ها شامل نژادگان‌های مختلف (۱۰ نژادگان) و تیمارهای آبیاری در دو سطح شامل آبیاری کامل (شاهد) و تنش شدید (قطع آبیاری) بودند. با توجه به اینکه دوره بقای نژادگان‌ها در آزمایش دیگری مشخص شده بود یک هفته پیش از این دوره برای هر کدام از نژادگان‌ها، پایان آزمایش به شمار آمده و نمونه‌برداری انجام شد (Rodriguez-Gamir et al., 2010).

رطوبت وزنی بستر محاسبه و با توجه به منحنی ویژگی‌های رطوبتی خاک، پتانسیل ماتریک بستر کشت به دست آمد که در تیمار شاهد ۰/۰۳- مگاپاسکال و در تیمار تنش شدید ۱/۵- مگاپاسکال بود. در تیمار تنش شدید، در آغاز آزمایش گلدان‌ها به‌طور کامل آبیاری شدند و پس از زهکشی کامل و خروج آب اضافی با کیسه پلاستیکی سیاه پوشیده و

قسمت پایین ساقه برای جلوگیری از تبخیر آب به‌کلی بسته شد (Rodriguez-Gamir et al., 2010). تنش روی دانه‌ال‌های یک‌ساله اعمال و یک هفته پیش از پایان دوره بقا، نمونه‌برداری از برگ‌های میانی دانه‌ال‌ها انجام شد.

### تعیین محتوای نسبی آب برگ (RWC)

برای تعیین محتوای نسبی آب برگ چهار برگ بالغ به‌طور کامل توسعه‌یافته یکنواخت از قسمت وسط ساقه هر کدام از تیمارها در هر تکرار (دو برگ از هر دانه‌ال) انتخاب و در پاکت پلاستیکی به آزمایشگاه منتقل و با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم (مدل KERN ALS 120-4 ساخت کشور آلمان)، وزن تر برگ‌ها اندازه‌گیری شد. سپس درون یک بشر محتوای آب مقطر و در محیط تاریک به مدت یک شبانه‌روز قرار گرفته و وزن اشباع یا آماس آن‌ها اندازه‌گیری شد. پس از آن، در آغاز برگ‌ها با دستمال کاغذی خشک‌شده، سپس در پاکت کاغذی گذاشته و درون آن ۸۰ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت قرار داده و وزن خشک آن‌ها تعیین شد (Morgan, 1984). محتوای نسبی آب برگ به‌صورت زیر بیان می‌شود:

$$RWC = [(FW-DW) / (TW-DW)] \times 100$$

که در آن FW وزن تر (گرم)، DW وزن خشک (گرم) و TW وزن برگ در حالت اشباع است.

### اندازه‌گیری نشت یونی

برای تعیین نشت یونی یا پایداری نسبی غشای یاخته‌ای، چهار برگ بالغ به‌طور کامل توسعه‌یافته یکنواخت از قسمت وسط ساقه هر کدام از تیمارها در هر تکرار (دو برگ از هر دانه‌ال) انتخاب و در پاکت پلاستیکی به آزمایشگاه منتقل شد. سپس سه مرتبه با آب مقطر و هر بار به مدت ۱۰ دقیقه شستشو و در محیط آزمایشگاه خشک شد. از هر برگ، چهار قطعه یکسان هر کدام به قطر تقریبی ۱ سانتی‌متر از دو طرف رگبرگ اصلی جدا کرده و در لوله آزمایش درپوش‌دار محتوای ۱۵ میلی‌لیتر آب مقطر قرار داده شد. نشت یونی اولیه پس از ۲۴ ساعت تکان تدریجی در دمای آزمایشگاه روی لرزا (شیکر) توسط دستگاه هدایت

سلسیوس قرار داده شد. پس از ۲۰ دقیقه (هنگامی که محلول به جوش آمد) نمونه‌ها با استفاده از کاغذ صافی واتمن صاف شدند. از عصاره صاف‌شده نمونه‌ها، ۲ میلی‌لیتر برداشته و به آن ۲ میلی‌لیتر سولفات مس اضافه شد. هر یک از نمونه‌ها ۸ تا ۱۰ دقیقه درون حمام آب گرم با دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس قرار گرفته و پس از آن درون یخ سرد شدند. پس از سرد شدن ۲ میلی‌لیتر محلول اسید فسفومولیدیک به نمونه‌ها اضافه شد. نمونه‌ها با آب دو بار تقطیر به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد و با استفاده از طیف‌سنج نوری مدل ND-1000 ساخت آمریکا، شدت جذب در طول موج ۶۰۰ نانومتر خوانده و با استفاده از منحنی استاندارد، غلظت کربوهیدرات محلول کل در نمونه‌ها محاسبه شد. قند مورد استفاده برای تهیه منحنی استاندارد گلوکز بوده است (Somogyi, 1952).

#### اندازه‌گیری غلظت عنصرهای کانی

پس از خشک کردن برگ‌ها، نمونه‌ها آسیاب و با الک شماره ۱ صاف شدند. سپس ۱ گرم برداشته و به مدت ۵ ساعت در کوره و در دمای ۵۵۰-۵۳۵ درجه سلسیوس قرار گرفت. پس از خروج از کوره، روی نمونه‌ها، ۱۰ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۲ نرمال ریخته و عصاره تهیه شد. برای اندازه‌گیری پتاسیم از دستگاه نورسنج شعله‌ای (فلیم‌فتومتر Jenway مدل PFP7 ساخت کشور انگلستان) استفاده شد. محلول استاندارد پتاسیم با غلظت‌های ۰، ۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر تهیه شد. غلظت پتاسیم نمونه‌های برگ برحسب میلی‌گرم در لیتر به دست آمد و میزان پتاسیم با استفاده از رابطه زیر برحسب درصد ماده خشک تعیین شد.

= درصد پتاسیم

$100 \times \text{[وزن خشک نمونه مورد استفاده]} / \text{حجم}$

نهایی عصاره تهیه‌شده  $\times$  غلظت عنصر]

برای اندازه‌گیری کلسیم، میزان ۱ میلی‌لیتر از عصاره تهیه‌شده را در ارلن مایر ۵۰ میلی‌لیتری ریخته و به آن ۲۴ میلی‌لیتر آب دیونیزه اضافه شد تا حجم کل محلول به ۲۵ میلی‌لیتر رسید. سپس به محلول، ۱ میلی‌لیتر سود ۴ نرمال و ۰/۲ گرم پودر موروکسید اضافه شد تا رنگ محلول صورتی شود،

الکتریکی‌سنج (EC) متر اندازه‌گیری و سپس نمونه‌ها در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آبی قرار داده شدند و نشت یونی ثانویه پس از خنک شدن و رسیدن به دمای آزمایشگاه تعیین شد (Whitlow *et al.*, 1992). درصد نشت یونی (EL) به صورت زیر بیان می‌شود:

$$EL (\%) = (EL1/EL2) \times 100$$

که در آن نشت یونی اولیه و EL2 نشت یونی نهایی است.

#### اندازه‌گیری میزان تجمع مالون‌دی‌آلدید (MDA)

مالون‌دی‌آلدید فرآورده نهایی اکسید شدن اسیدهای چرب غیراشباع است که با تیوباربیتوریک اسید واکنش داده و تشکیل کمپلکس رنگی می‌دهد. به ۰/۲ گرم نمونه برگی پودر شده در نیتروژن مایع، ۵ میلی‌لیتر تری کلرو استیک اسید ۰/۱ درصد اضافه کرده و یک‌شب در محیط آزمایشگاه نگاه‌داشته شد. روز بعد نمونه‌ها را تکان (ورتکس) شدید داده و سپس سانتریفیوژ (۳ دقیقه در ۱۴۰۰۰ دور) شدند. در نهایت ۱ میلی‌لیتر عصاره رویی را برداشته و به آن ۴ میلی‌لیتر تری کلرو استیک اسید ۲۰ درصد محتوای ۰/۵ درصد تیوباربیتوریک اسید اضافه شد. نمونه‌ها ۳۰ دقیقه در بن ماری ۹۵ درجه قرار گرفتند و بی‌درنگ به یخ منتقل شدند و پس از سرد شدن به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفیوژ شدند و در پایان کار شدت جذب این کمپلکس با استفاده از طیف‌سنج نوری (اسپکتروفوتومتر) مدل ND-1000 ساخت آمریکا و در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. برای حذف تأثیر ترکیب‌های مزاحم، جذب نمونه‌ها در طول موج ۶۰۰ نانومتر از جذب نمونه در طول موج ۵۳۲ نانومتر کسر شد و غلظت کمپلکس محاسبه شد (Heath & Packer, 1968).

#### اندازه‌گیری میزان کربوهیدرات محلول کل

برای اندازه‌گیری میزان تجمع کربوهیدرات محلول کل، به ۰/۰۵ گرم بافت ساییده‌شده برگ در نیتروژن مایع، ۱۰ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر اضافه کرده و پس از تکان دادن، درون حمام آب گرم با دمای ۱۰۰ درجه

آفتاب، ۴-۸، پونسیروس، ۳-۶، رافلمون و شلمحله کاهش یابد و در مقایسه با شاهد به ترتیب ۳/۰، ۴۳۸/۰، ۴۳۹/۰، ۴۵۸/۰، ۴۸/۰، ۵۰/۰، ۵۲/۰، ۵۳۶/۰، ۵۸/۰ و ۶۶/۰ برابر شود. بنابراین بیشترین کاهش ناشی از خشکی در نژادگان ۳-۳ و کمترین کاهش در نژادگان شلمحله دیده شد. در این پژوهش، در همه نژادگان‌ها کاهش معنی‌دار محتوای نسبی آب برگ در مقایسه با شاهد در نتیجه تنش خشکی دیده شد. در شرایط تنش، نژادگان شلمحله بیشترین و نژادگان‌های ۳-۳ و ۵-۵ کمترین محتوای نسبی آب برگ را داشتند (جدول ۲).

این نتایج در تحقیق‌های انجام‌شده روی پایه فورنر آلکائید ۵ (Rodríguez-Gamir *et al.*, 2010)، پایه‌های کاریزوسیترنج و کلئوپاتراماندارین (García-Sanchez *et al.*, 2007)، دانه‌های سه‌ماهه ده پایه مختلف مرکبات (Beniken *et al.*, 2013)، نهال‌های شش ماهه پرتقال نیوهال و تانگور الندیل (Save *et al.*, 1995) و پرتقال والنسیا روی پایه‌های رانگ پورلایم دیپلوییدی و تتراپلوییدی (Allario *et al.*, 2012) نیز مشاهده شد.

#### نشت یونی

مقایسه میانگین اثر متقابل نژادگان و آبیاری بر درصد نشت یونی نشان داد، نژادگان ۳-۳ در وضعیت تنش با ۹۶/۶۳ درصد بیشترین و پونسیروس در وضعیت شاهد با ۹/۷۷۳ درصد کمترین درصد نشت یونی را داشتند. نژادگان‌های ۳-۳، ۵-۲، آفتاب و ۵-۵ در وضعیت تنش پس از نژادگان ۳-۳ تنش بیشترین و نژادگان‌های معلم‌کوه، ۵-۵، شلمحله، ۳-۳، ۶-۳، ۴-۸، آفتاب، ۵-۲ و رافلمون در وضعیت شاهد و ۴-۸ در وضعیت تنش کمترین درصد نشت یونی را پس از پونسیروس در وضعیت شاهد نشان دادند (جدول ۲).

تنش خشکی در همه نژادگان‌ها باعث افزایش معنی‌دار درصد نشت یونی در مقایسه با شاهد شد. خشکی باعث شد تا درصد نشت یونی در نژادگان‌های ۴-۸، پونسیروس، رافلمون، شلمحله، ۳-۳، معلم‌کوه، ۵-۲، ۵-۵، آفتاب و ۳-۳ افزایش و در مقایسه با شاهد به ترتیب ۱/۹، ۳/۲۶، ۴/۷۲، ۵/۰۹، ۵/۵۵، ۵/۶۲، ۶/۰۳، ۶/۲۱، ۶/۲۸ و ۶/۳۴ برابر شود. بیشترین افزایش نشت یونی ناشی از خشکی در نژادگان ۳-۳ و

آنگاه عمل عیارسنجی (تیتراسیون) با EDTA ۰/۰۱ نرمال با استفاده از بورت دیجیتالی تا ظهور رنگ ارغوانی ادامه یافت. در نهایت میزان یون‌های کلسیم با رابطه زیر بر حسب میلی‌اکی والان در لیتر محاسبه شد (Jones, 1993).

$$\text{Ca (meq/l)} = [(v1-v2)/v] \times N \times 1000$$

این پژوهش با بیست تیمار، سه تکرار و دو دانهال در هر واحد آزمایشی صورت گرفت. برای تجزیه آماری و تجزیه واریانس از نرم‌افزار SAS و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد.

#### نتایج و بحث

نتایج بررسی طول دوره بقا نژادگان‌ها که در آزمایش دیگری انجام شده بود نشان داد، دوره بقا نژادگان‌های طبیعی ۵-۵، معلم‌کوه، شلمحله، ۳-۳، ۶-۳، ۴-۸، آفتاب، ۵-۲، پونسیروس و رافلمون به ترتیب ۵۵، ۶۱، ۵۱، ۶۴، ۵۳، ۶۶، ۵۹، ۵۲، ۱۲۵ و ۳۸ روز بود. نتایج تجزیه واریانس داده‌ها در این آزمایش نشان داد، اثر اصلی نژادگان، سطوح آبیاری و اثر متقابل نژادگان و سطوح آبیاری بر محتوای نسبی آب برگ، نشت یونی و میزان تجمع مالون‌دی‌آلدید در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱).

#### محتوای نسبی آب برگ

مقایسه میانگین اثر متقابل نژادگان و سطوح آبیاری بر محتوای نسبی آب برگ نشان داد، نژادگان آفتاب در وضعیت شاهد با ۹۵/۳۶ درصد بیشترین و نژادگان ۳-۳ در وضعیت تنش با ۲۴/۴۷ درصد کمترین محتوای نسبی آب برگ را داشتند. نژادگان‌های معلم‌کوه، ۳-۶، ۴-۸، ۵-۲، رافلمون، شلمحله، ۳-۳ و پونسیروس در وضعیت شاهد پس از نژادگان آفتاب شاهد بیشترین و نژادگان‌های ۵-۵، ۲-۵ و معلم‌کوه در وضعیت تنش کمترین محتوای نسبی آب برگ را پس از نژادگان ۳-۳ تنش نشان دادند (جدول ۲).

تنش خشکی در همه نژادگان‌ها باعث کاهش معنی‌دار محتوای نسبی آب برگ در مقایسه با شاهد شد. تنش خشکی باعث شد تا محتوای نسبی آب برگ به ترتیب در نژادگان‌های ۳-۳، ۵-۲، معلم‌کوه، ۵-۵،

شل محله با ۷۷/۱۷ درصد نشت یونی به دلیل تخریب بیشتر در شرایط تنش، حساس در برابر خشکی و پونسیروس نیز با ۳۱/۸۵ درصد به دلیل تخریب کمتر، متحمل به خشکی هستند (جدول ۲).

کمترین افزایش در نژادگان ۴-۸ دیده شد. در شرایط تنش نژادگان های ۳-۶، ۳-۳، ۲-۵، ۵-۵، آفتاپ و شل محله بیشترین و نژادگان های ۴-۸ و پونسیروس کمترین نشت یونی را داشتند. بنابراین نژادگان

جدول ۱. تجزیه واریانس محتوای نسبی آب برگ، نشت یونی و مالون دآلدیید در نژادگان های مرکبات

Table 1. ANOVA of Leaf relative water content, Ion leakage and Malondialdehyde in citrus genotypes

Source	Degree of Freedom	Mean of Squares		
		Relative water content	Ion leakage	Malondialdehyde
Rootstock	9	196.73**	891.52**	35233.22**
Irrigation levels	1	66385.4**	115892.08**	191764.43**
Rootstock × Irrigation levels	9	122.51**	598.44**	13333.5**
Error	40	34.83	35.13	2952.79
CV%		9.23	13.54	28.58

\*\* Significant difference at 1% of probability level.

\*\* اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد

تنش خشکی در نژادگان های ۵-۵، ۳-۳، ۳-۶، ۴-۸، آفتاپ و رافلمون باعث افزایش معنی دار میزان تجمع مالون دآلدیید در مقایسه با شاهد شد. خشکی باعث شد تا میزان تجمع مالون دآلدیید در نژادگان های ۴-۸، ۳-۶، ۵-۵، ۳-۳، آفتاپ و رافلمون افزایش یابد و در مقایسه با شاهد به ترتیب ۱/۴۸، ۱/۴۹، ۱/۶۵، ۲/۳، ۳/۵۲ و ۵/۶۱ برابر شود. بیشترین افزایش ناشی از خشکی در رافلمون و کمترین افزایش در نژادگان ۴-۸ دیده شد. در این پژوهش، در شماری از نژادگان ها افزایش معنی دار مالون دآلدیید در مقایسه با شاهد در نتیجه تنش خشکی دیده شد. در شرایط تنش، نژادگان های ۵-۵، ۳-۶، رافلمون، معلم کوه، ۳-۳ و آفتاپ بیشترین و نژادگان های ۵-۲ و پونسیروس کمترین میزان تجمع مالون دآلدیید را داشتند. بنابراین رافلمون با ۳۵۶/۹ نانومول بر گرم وزن خشک برگ تجمع مالون دآلدیید حساس در برابر خشکی و پونسیروس نیز با ۱۳۴/۴ نانومول بر گرم وزن خشک برگ تجمع مالون دآلدیید، متحمل به خشکی هستند (جدول ۲).

بررسی نهال های پرتقال نیوهال روی پونسیروس (Wu & Zou, 2009)، بررسی سوئینگل سیتروملو تاریخته (de Campos *et al.*, 2011) و بررسی دو پایه Wang *et al.* (2011) نشان داد، خشکی باعث افزایش مالون دآلدیید شد.

همچنین نتایج تجزیه واریانس داده ها نشان داد،

این نتایج در تحقیق انجام شده در زمینه بررسی واکنش های فیزیولوژی پنج رقم انگور در چهار سطح پتانسیل آب خاک نیز دیده شد که پایداری نسبی غشاء یاخته ای، با افزایش شدت تنش خشکی کاهش و در نتیجه نشت یونی افزایش یافت (Ghadery *et al.*, 2010). همچنین در بررسی تنش خشکی در رقم های سیب ویستا بلا و گلایی سانتا ماریا مشخص شد با افزایش سطوح تنش آبی، درصد نشت یونی در هر دو رقم روی پایه های مورد بررسی افزایش داشت. میزان این افزایش در گلایی رقم سانتا ماریا کمتر بود. بنابراین گلایی سانتا ماریا به عنوان مقاوم به خشکی شناخته شد (Bollat *et al.*, 2014).

#### مالون دی آلدیید

مقایسه میانگین اثر متقابل نژادگان و سطوح آبیاری بر میزان تجمع مالون دآلدیید نشان داد، نژادگان ۵-۵ در وضعیت تنش با ۴۱۶/۲ نانومول بر گرم وزن خشک برگ بیشترین میزان تجمع مالون دآلدیید داشت و نژادگان های ۳-۶، معلم کوه، رافلمون، ۳-۳، ۴-۸ و آفتاپ در وضعیت تنش پس از آن بیشتر از بقیه بودند. رافلمون در وضعیت شاهد با ۶۳/۶۷ نانومول بر گرم وزن خشک برگ کمترین میزان تجمع مالون دآلدیید را داشت و نژادگان های آفتاپ در وضعیت شاهد، ۵-۲ در وضعیت تنش و شاهد و پونسیروس در وضعیت تنش کمترین تجمع را پس از آن نشان دادند (جدول ۲).

نژادگان‌های ۳-۳، ۳-۶، آف‌تایپ، ۴-۸، ۵-۵، معلم‌کوه و ۵-۲ افزایش یابد و در مقایسه با شاهد به ترتیب ۱/۳۷۶، ۱/۵، ۱/۷۱، ۲/۲۵، ۴/۷۹، ۴/۸۹، ۸/۹۳ برابر و در رافلمون کاهش یافته و ۵/۰ برابر شود. بنابراین بیشترین افزایش ناشی از تنش خشکی در نژادگان ۵-۲ و کمترین افزایش در نژادگان ۳-۳ دیده شد. در شرایط تنش، نژادگان‌های ۴-۸ و ۵-۲ بیشترین و نژادگان شل‌محله کمترین میزان کربوهیدرات محلول کل را داشتند. بنابراین نژادگان شل‌محله با ۴۸/۴۵ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک برگ کربوهیدرات محلول کل به دلیل تنظیم اسمزی ضعیف‌تر در شرایط تنش خشکی، حساس به خشکی هستند (جدول ۴).

در بررسی دانهال‌های دو ساله پرتقال نیوهال و نارنگی انشو یاماسیتاکا (Xie et al., 2012)، بررسی پایه فورنر آلکائید ۵ (Rodriguez-Gamir et al., 2010)، بررسی تنش خشکی در کاریزوسیترنج و کلئوپاتراماندارین (Garcia-Sancheza et al., 2007)، بررسی ده پایه مرکبات (Beniken et al., 2013)، بررسی تنش آبی پیش‌رونده در هلو (Jimenez et al., 2013) و بررسی رقم‌های انگور، زیتون، بادام، گلایی و سیب (Ghaderi et al., 2010; Rabiei, 2004; Yazdani et al., 2007; Arji et al., 2003; Rosban, 2009; Javadi, 2003; Alizadeh et al., 2011) افزایش کل کربوهیدرات محلول در نتیجه تنش خشکی دیده شد.

اثر اصلی نژادگان، سطوح آبیاری و اثر متقابل نژادگان و سطوح آبیاری بر میزان کل کربوهیدرات محلول در سطح احتمال ۱ درصد، اثر اصلی نژادگان بر میزان پتاسیم و کلسیم در سطح ۱ درصد و اثر اصلی سطوح آبیاری بر میزان پتاسیم در سطح ۵ درصد و بر میزان کلسیم در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود. اثر متقابل نژادگان و سطوح آبیاری بر میزان عنصرهای اختلاف معنی‌داری ایجاد نکرد (جدول ۳).

### کربوهیدرات محلول کل

مقایسه میانگین اثر متقابل نژادگان و سطوح آبیاری بر میزان کربوهیدرات محلول کل نشان داد، نژادگان‌های ۴-۸ و ۵-۲ در وضعیت تنش به ترتیب با ۱۶۴/۶ و ۱۶۳/۱ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک برگ بیشترین و نژادگان ۵-۵ شاهد با ۹/۴۹۷ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک برگ کمترین میزان کربوهیدرات محلول کل را داشتند. رافلمون در وضعیت تنش پس از نژادگان‌های ۴-۸ و ۵-۲ تنش بیشترین و نژادگان‌های معلم‌کوه و ۵-۲ در وضعیت شاهد کمترین میزان کربوهیدرات محلول کل را پس از نژادگان ۵-۵ شاهد نشان دادند (جدول ۴).

تنش خشکی در ۱۵ نژادگان باعث افزایش معنی‌دار و تنها در یک نژادگان سبب کاهش معنی‌دار کربوهیدرات محلول کل در مقایسه با شاهد شد. تنش خشکی باعث شد تا میزان کربوهیدرات محلول کل در

جدول ۲. مقایسه میانگین اثر متقابل نژادگان‌های مرکبات و سطح آبیاری بر برخی صفات فیزیولوژی و بیوشیمیایی  
Table 2. Mean comparisons of interaction between citrus genotype and irrigation level on some physiological and biochemical characteristics

Genotype	Irrigation	Relative water content (%)	Ion leakage (%)	Malondialdehyde (nm/g dw)
5-5	Control	70.14 <sup>de</sup>	14.21 <sup>nop</sup>	253 <sup>e-j</sup>
5-5	Stress	32.13 <sup>mn</sup>	88.19 <sup>a-e</sup>	416.2 <sup>a</sup>
Moalemkooh	Control	85.94 <sup>abc</sup>	12.38 <sup>op</sup>	266 <sup>b-h</sup>
Moalemkooh	Stress	37.7 <sup>klm</sup>	69.54 <sup>ghi</sup>	356.9 <sup>abc</sup>
Shelmahalleh	Control	83.59 <sup>bc</sup>	15.15 <sup>nop</sup>	276.7 <sup>b-f</sup>
Shelmahalleh	Stress	55.34 <sup>lgh</sup>	77.17 <sup>e-h</sup>	206.4 <sup>e-n</sup>
3-3	Control	81.18 <sup>bc</sup>	16.87 <sup>nop</sup>	149.3 <sup>j-p</sup>
3-3	Stress	24.47 <sup>n</sup>	93.57 <sup>abc</sup>	343.5 <sup>a-d</sup>
6-3	Control	85.18 <sup>abc</sup>	15.23 <sup>nop</sup>	245.1 <sup>d-k</sup>
6-3	Stress	45.62 <sup>h-i</sup>	96.63 <sup>a</sup>	364.8 <sup>ab</sup>
8-4	Control	84.72 <sup>abc</sup>	12.87 <sup>nop</sup>	230.4 <sup>e-l</sup>
8-4	Stress	42.07 <sup>i-m</sup>	24.48 <sup>mn</sup>	341.6 <sup>a-d</sup>
Off-type	Control	95.36 <sup>a</sup>	13.87 <sup>nop</sup>	84.89 <sup>op</sup>
Off-type	Stress	46.22 <sup>h-k</sup>	87.08 <sup>a-e</sup>	299.2 <sup>b-e</sup>
2-5	Control	85.84 <sup>abc</sup>	14.79 <sup>nop</sup>	119.5 <sup>m-p</sup>
2-5	Stress	37.58 <sup>klm</sup>	89.15 <sup>a-d</sup>	100.8 <sup>nop</sup>
Poncirus	Control	81.07 <sup>bc</sup>	9.77 <sup>p</sup>	142.3 <sup>k-p</sup>
Poncirus	Stress	42.17 <sup>i-m</sup>	31.85 <sup>lm</sup>	134.4 <sup>l-p</sup>
Rough lemon	Control	85.13 <sup>abc</sup>	14.7 <sup>nop</sup>	63.67 <sup>p</sup>
Rough lemon	Stress	49.42 <sup>g-j</sup>	69.43 <sup>ghi</sup>	356.9 <sup>abc</sup>

میانگین‌های دارای حرف‌های مشترک در هر ستون، اختلاف معنی‌دار در سطح ۱ درصد نداشتند.

The means with similar letter in each column didn't have significant difference at 1 % level.



جدول ۳. تجزیه واریانس میزان کربوهیدرات محلول کل، پتاسیم و کلسیم در نژادگانها

Table 1. ANOVA of Total soluble carbohydrate content, Potassium and Calcium in genotypes

Source	Degree of Freedom	Mean of Squares		
		Total Soluble carbohydrate	Potassium	Calcium
Rootstock	9	3666.95**	30.49**	457.83**
Irrigation levels	1	34775.87**	105.38*	1928.9**
Rootstock × Irrigation levels	9	2726.41**	9.66 ns	151.89 ns
Error	40	116.4	7.56	0.026
CV%		16.12	16.54	10.53

\*\*\*, \*\*, \* و ns: اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و بدون اختلاف معنی دار.

\*\*\*, \*, ns: Significant differences at 1 and 5% of probability levels, and non-significant differences, respectively.

جدول ۴. مقایسه میانگین اثر متقابل نژادگان و سطح آبیاری بر برخی صفات بیوشیمیایی

Table 4. Mean comparisons of interaction between genotype and irrigation level on some biochemical characteristics

Genotype	Irrigation	Total soluble carbohydrate (mg/g dw)	Potassium (mg/g dw)	Calcium (mg/g dw)
5-5	Control	10.85 <sup>st</sup>	17.71 <sup>b-g</sup>	33.92 <sup>a-h</sup>
5-5	Stress	52.01 <sup>mno</sup>	14.28 <sup>d-i</sup>	55.17 <sup>abc</sup>
Moalemkooh	Control	19.65 <sup>rst</sup>	16.3 <sup>c-g</sup>	40.55 <sup>a-h</sup>
Moalemkooh	Stress	96.02 <sup>d-g</sup>	17.09 <sup>c-g</sup>	57.03 <sup>ab</sup>
Shelmahalleh	Control	43.86 <sup>m-q</sup>	17.55 <sup>b-g</sup>	33.53 <sup>a-h</sup>
Shelmahalleh	Stress	48.45 <sup>m-p</sup>	16.07 <sup>c-h</sup>	44.57 <sup>a-h</sup>
3-3	Control	53.77 <sup>l-o</sup>	14.12 <sup>e-i</sup>	50 <sup>a-e</sup>
3-3	Stress	74.32 <sup>h-k</sup>	19.35 <sup>a-e</sup>	52.6 <sup>a-d</sup>
6-3	Control	50.72 <sup>m-p</sup>	14.2 <sup>d-i</sup>	33.23 <sup>a-h</sup>
6-3	Stress	75.83 <sup>g-k</sup>	17.87 <sup>b-g</sup>	35.43 <sup>a-h</sup>
8-4	Control	73.1 <sup>h-l</sup>	14.59 <sup>d-i</sup>	14.3 <sup>l</sup>
8-4	Stress	164.6 <sup>a</sup>	19.66 <sup>a-e</sup>	46.8 <sup>a-f</sup>
Off-type	Control	48.31 <sup>m-p</sup>	17.71 <sup>b-g</sup>	45.15 <sup>ab</sup>
Off-type	Stress	82.65 <sup>f-j</sup>	19.66 <sup>a-e</sup>	45.2 <sup>a-h</sup>
2-5	Control	18.27 <sup>rst</sup>	16.38 <sup>c-g</sup>	51.07 <sup>a-d</sup>
2-5	Stress	163.1 <sup>a</sup>	14.67 <sup>d-i</sup>	51.73 <sup>a-e</sup>
Poncirus	Control	80.46 <sup>t-k</sup>	18.18 <sup>b-f</sup>	35.13 <sup>a-h</sup>
Poncirus	Stress	64.49 <sup>h-n</sup>	17.32 <sup>b-g</sup>	57 <sup>ab</sup>
Rough lemon	Control	105 <sup>cde</sup>	16.85 <sup>c-g</sup>	32.5 <sup>a-i</sup>
Rough lemon	Stress	51.57 <sup>mno</sup>	17.79 <sup>b-g</sup>	32.63 <sup>a-h</sup>

میانگین‌های دارای حرف‌های مشترک در هر ستون، اختلاف معنی دار در سطح ۱ درصد نداشتند.

The means with similar letter in each column didn't have significant difference at 1 % level.

### پتاسیم و کلسیم

برگ بیشترین و نژادگان ۴-۸ در وضعیت شاهد با ۱۴/۳ میلی‌گرم بر گرم بر گرم وزن خشک برگ کمترین میزان کلسیم را داشتند. نژادگان‌های پونسیروس، ۵-۵، ۳-۳ و ۲-۵ در وضعیت تنش و ۲-۵ در وضعیت شاهد پس از نژادگان معلم‌کوه در وضعیت تنش بیشترین و نژادگان‌های رافلمون و ۳-۶ در وضعیت شاهد، رافلمون در وضعیت تنش، شلم‌حله و ۵-۵ در وضعیت شاهد کمترین میزان کلسیم را پس از نژادگان ۴-۸ در وضعیت شاهد نشان دادند. همچنین خشکی باعث شد تا میزان کلسیم در نژادگان ۴-۸ افزایش یابد و در مقایسه با شاهد ۳/۲۷ برابر شود (جدول ۴).

در شرایط تنش، نژادگان‌های معلم‌کوه، پونسیروس، ۵-۵، ۳-۳ و ۲-۵ بیشترین و رافلمون کمترین میزان کلسیم را داشتند. بنابراین پونسیروس با ۵۷ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک برگ، متحمل و رافلمون با ۳۲/۶۳ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک برگ حساس در برابر خشکی هستند (جدول ۴).

مقایسه میانگین اثر متقابل نژادگان و سطوح آبیاری بر میزان پتاسیم نشان داد، نژادگان ۳-۳ در وضعیت تنش با ۱۹/۳۵ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک برگ بیشترین و نژادگان ۳-۳ در وضعیت شاهد با ۱۴/۱۲ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک برگ کمترین میزان پتاسیم را داشتند. نژادگان‌های ۴-۸ و آفاتاپ در وضعیت تنش پس از نژادگان ۳-۳ تنش بیشترین و نژادگان‌های ۳-۶ در وضعیت شاهد، ۵-۵ در وضعیت تنش، ۴-۸ در وضعیت شاهد و ۲-۵ در وضعیت تنش کمترین میزان پتاسیم را پس از نژادگان ۳-۳ در وضعیت شاهد نشان دادند. در شرایط تنش، نژادگان‌های آفاتاپ، ۴-۸ و ۳-۳ بیشترین و نژادگان‌های ۱ و ۹ کمترین میزان پتاسیم را داشتند (جدول ۴).

مقایسه میانگین اثر متقابل نژادگان و سطوح آبیاری بر میزان کلسیم نیز نشان داد، نژادگان معلم‌کوه در وضعیت تنش با ۵۷/۰۳ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک

شدید به کمترین میزان رسید ولی میزان کلسیم در شاهد و تنش ملایم تغییری نداشت و در تنش شدید افزایش معنی‌داری یافت.

#### همبستگی صفات

آزمون همبستگی صفات با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام و همبستگی بین صفات مورد بررسی تعیین شد. نتایج به‌دست‌آمده از همبستگی بین دوره بقا با صفات نشان داد، دوره بقا تنها با نشت یونی در سطح احتمال ۱ درصد همبستگی معنی‌داری داشته است. دوره بقا با نشت یونی همبستگی منفی نشان داد و در واقع نژادگان‌هایی که نشت یونی بالاتری داشتند تخریب بیشتری در آن‌ها صورت گرفت و دوره بقا کوتاه‌تری نشان دادند (جدول ۵).

نتایج به‌دست‌آمده از این تحقیق در زمینه عنصرهای کانی با نتایج بررسی‌های دیگر محققان همخوانی داشت. Garcia-Sanchez *et al.* (2007) با بررسی دو پایه کاریزوسیترنج و کلئوپاتراماندارین تحت تنش خشکی (قطع آبیاری به مدت نه روز) نتیجه گرفتند، خشکی باعث افزایش غلظت کلسیم برگ در هر دو پایه شد ولی بر غلظت پتاسیم تأثیری نداشت. Cimo *et al.* (2013) نیز در سوئینگل سیتروملو و کلئوپاتراماندارین مشاهده کردند، با اعمال تنش، میزان پتاسیم در هر دو پایه و میزان کلسیم در کلئوپاترا کاهش ولی در سیتروملو افزایش یافت. Haghghatnia *et al.* (2011) با بررسی دو گونه قارچ قارچ‌پیشه‌ای در ولکامریانا نتیجه گرفتند، میزان پتاسیم با افزایش شدت تنش، کاهش معنی‌داری داشت و در تنش

جدول ۵. همبستگی دوره بقا با صفات فیزیولوژی و بیوشیمیایی

Table 5. Correlation between survival time and physiological and biochemical characteristics

	RWC	Ion leakage	Malondialdehyde	Total soluble carbohydrate	Potassium	Calcium
Survival time	0.171	-0.525*	-0.114	-0.058	-0.031	0.135

\*\* Significantly differences at 1% of probability level.

\*\* اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد.

شل‌محله نیز به دلیل نشت یونی بالا و تجمع پایین کربوهیدرات محلول کل پس از رافلومون در رتبه بعدی حساسیت قرار داشت. بنابراین با توجه به مقایسه میانگین‌ها و همبستگی خوب نشت یونی با دوره بقا، می‌توان آن را به‌عنوان نشانگر فیزیولوژی مناسب در مبحث تحمل به خشکی معرفی کرد.

#### سپاسگزاری

این مقاله از پروژه تحقیقاتی پایان‌یافته با شماره مصوب ۹۲۱۱۶-۱۷-۱۷-۲ پژوهشکده مرکبات و میوه‌های نیمه گرمسیری است که از حمایت مالی آن مجموعه، تشکر و قدردانی می‌گردد.

#### نتیجه‌گیری کلی

بنابر نتایج به‌دست‌آمده از این تحقیق، تحمل یا حساسیت به تنش خشکی در نژادگان‌ها به برخی صفات و دلایل زیر مربوط بوده است. پونسیروس به دلیل نشت یونی پایین‌تر، تجمع کمتر مالون‌دآلدید و در نتیجه پراکسیداسیون کمتر چربی‌ها و میزان کلسیم بالاتر نسبت به دیگر نژادگان‌ها، در برابر خشکی متحمل بود. رافلومون به دلیل تجمع بیشتر مالون‌دآلدید و در نتیجه پراکسیداسیون بیشتر چربی‌ها، نشت یونی بالاتر و میزان پایین‌تر کلسیم در مقایسه با دیگر نژادگان‌ها، دوره بقای کمتری در برابر خشکی داشت و حساس‌تر بود. نژادگان طبیعی

#### REFERENCES

1. Alizadeh, A., Alizadeh, V., Nassery, L. & Eivazi, A. (2011). Effect of drought stress on apple dwarf rootstocks. *Technical Journal of Engineering and Applied Science*, 3, 86-94.
2. Allario, Th., Brumos, J., Colmenero-Flores, J. M., Pina, J. A., Navarro, L., Talon, M., Ollitrault, P. & Morillon, R. (2012). Tetraploid rangpur lime rootstock increases drought tolerance via enhanced constitutive root abscisic acid production. *Plant, Cell and Environment*, 36(4), 856-868.
3. Arji, E., Arzani, K. & Ebrahimzadeh, H. (2003). Accumulation of proline and total soluble sugars in five cultivars *olea europaea* L. exposed to drought stress. *Iran Biology Journal*, 16 (4), 47-59. (in Farsi)
4. Beniken, L., Omari, F. E., Dahan, R., Van Damme, P., Benkirane R. & Benyahia, H. (2013). Screening of ten citrus rootstocks to drought stress. In *1<sup>st</sup> International Plant Breeding congress*, 19.

5. Bollat, I., Dikilitas, M., Ercisli, S., Ikinici, A. & Tonkaz, T. (2014). The effect of water stress on some morphological, physiological and biochemical characteristics and bud success on apple and quince rootstocks. *Scientific World Journal*, Article ID 769732, 1-8.
6. Cimo, G., Lo Bianco, R., Gonzalez, P., Bandaranayake, W., Etxeberria, E. & Syvertsen, J. P. (2013). Carbohydrate and Nutritional Responses to Stem Girdling and Drought Stress with Respect to Understanding Symptoms of huanglongbing in Citrus. *Hortscience*, 48(7), 920-928.
7. De Campos, M. K. F., de Carvalho, K., de Souza, F. S., Marur, C. J., Pereira, L. F. P., Filho, J. C. B. & Vieira, L. G. E. (2011). Drought tolerance and antioxidant enzymatic activity in transgenic 'Swingle' citrumelo plants over-accumulating proline. *Environmental and Experimental Botany*, 72, 242-250.
8. Garcia-Sancheza, F., Syvertsen, J. P., Gimenez, V., Botlab, P. & Perez-Perez, J. G. (2007). Responses to flooding and drought stress by two citrus rootstock seedlings with different water-use efficiency. *Physiologia Plantarum*, 130, 532-542.
9. Ghaderi, N., Talaei, E., Ebadi, E. & Lesani, H. (2010). Effect of drought stress and renewable irrigation on some of the physiological characteristics in three Vitis cultivar included sahani, farokhi and white seedless. *Iran Horticultural Science Journal*, 41(2), 179-188. (in Farsi)
10. Haghghatnia, H., Nadian, H. A. & Rejali, F. (2011). Effects of mycorrhizal colonization of growth, nutrients uptake and some other characteristics of *Citrus Volkameriana* rootstock under drought stress. *World Applied Science Journal*, 13(5), 1077-1084.
11. Heath, R. L. & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives. Biochemistry and Biophysics*, 125, 189-198.
12. Javadi, T., Arzani, K. & Ebrahimzadeh, H. (2003). Investigation of soluble sugars and proline content in 9 genotypes *pyrus serotna* under drought stress. *Iran Biology Journal*, 17(4), 369-387. (in Farsi)
13. Jimenez, S., Dridi, J., Gutierrez, D., Moret, D., Jrigoyen, J. J., Moreno, M. A. & Gogorcena, Y. (2013). Physiological, biochemical and molecular responses in four prunus rootstocks submitted to drought stress. *Tree Physiology*, 33(10), 1061-1075.
14. Jones, H. G. (1993). Drought Tolerance and Water-Use Efficiency. In: J. A.C. Smith & H. Griffiths (Eds.), *Water Deficits Plant Responses from Cell to Community* (pp. 193-203). Bios Science Ltd. Oxford.
15. Metheney, P. D., Ferguson, L., Goldhamer, D. A. & Dunai, J. (1994). Effects of irrigation on Manzanillo olive flowering and shoot growth. *Acta Horticulturae*, 356, 168-171.
16. Mahajan, S. & Tuteja, N. (2005). Cold, salinity and drought stresses: An overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 444, 139-158.
17. Morgan, J. M. (1984). Osmoregulation and water stress in higher plants. *Annual Review Plant Physiology*, 35, 299-319.
18. Nasr-e-esfahani, A. & Golchin, N. (2008). *Estimating of water use efficiency of farm crops in Esfahan, Gorgan and Gonbad regions*. Planning Economic & rural Development Research Institute, pp. 25-34. (in Farsi)
19. Rabiei, V., Talaei, A. R., Peterlonger, E., Ebadi, A. & Ahmadi, A. (2004). Effect of deficit irrigation on vitis fruit compounds in cultivar merlot at late season. *Journal of Iran Agricultural Sciences*, 34(4), 961-968. (in Farsi)
20. Rodríguez-Gamir, J., Primo-Millo, E., Forner, J. B. & Forner-Giner, M. A. (2010). Citrus rootstock responses to water stress. *Scientia Horticulturae*, 126, 95-102.
21. Rosban, M. R. (2009). *Investigation of physiological mechanisms of drought tolerant in seedling rootstock of Pistacia*. Doctora of science thesis, pp. 158-264. (in Farsi)
22. Save, R., Biel, C., Domingo, R., Ruiz-Sanchez, M. C. & Torrecillas A. (1995). Some physiological and morphological characteristics of Citrus plants for drought resistance. *Plant Science*, 110, 167-172.
23. Somogyi, M. (1952). Note on sugar determination. *Journal of Biological and Biochemistry*, 195, 19-23.
24. Wang, S., Liang, D., Li, C., Hao, Y., Ma, F. & Shu, H. (2011). Influence of drought stress on the cellular ultrastructure and antioxidant system in leaves of drought tolerant and drought sensitive apple rootstocks. *Plant Physiology and Biochemistry*, 51, 81-89.
25. Whitlow, T. H., Bassuk, N. L., Ranney, T. G. & Reichert, L. D. (1992). An improved method for using electrolyte leakage to assess membrane competence in plant tissues. *Plant Physiology*, 98, 198-205.
26. Wu, Q. Sh., Zou, Y. N., Xia, R. X. & Wang, M. Y. (2007). Five *Glomus* species affect water relations of *Citrus tangerine* during drought stress. *Botanical Studies*, 48, 147-154.
27. Xie, S. X., Lu, X. P., Ni, Q. & Zhao, X. L. (2012). The effect of water stress on ABA, Jaand physiological characteristic of Citrus. In: *XII International Citrus Congress*, 125.
28. Yazdani, N., Arzani, K. & Arji, E. (2007). Modulation of drought stress with Paclobutrazol application in two Olea cultivars (Blaidi and Meision). *Iran Agricultural Science Journal*, 38. (in Farsi)