به‌نژادی گیاهان زراعی و باغی
دوره ۳ ■ شماره ۲ ■ پاییز و زمستان ۱۳۹۴
صفحه‌های ۲۱۵-۲۲۸

غربال ارقام توت‌فرنگی متحمل به سرمای زمستانه براساس برخی شاخص‌های فیزیولوژیکی

فرهاد کرمی[۱]، منصور غلامی[۲]*، احمد ارشادی[۳] و عادل سی وسه مرده[۴]

۱. دانشجوی دکتری گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران
۲. استاد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران
۳. دانشیارگروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران
۴. دانشیار گروه علوم زراعی و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران

تاریخ وصول مقاله: ۱۳۹۴/۰۹/۰۸ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۱۰/۲۰

چکیده

به منظور بررسی تحمل به سرمای زمستانه هفت رقم توت‌فرنگی، آزمایشی به‌صورت آزمایش کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی، در دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا در سال ۱۳۹۳ انجام شد. بعد از اعمال تیمار دماهای پایین (۴+، ۵-، ۱۰-، ۱۵-، ۲۰- و ۲۵- درجه سانتی‌گراد)، درصد نشت یونی برگ، شاخص خسارت یخ‌زدگی، محتوی آب نسبی برگ، غلظت کلروفیل برگ و مقادیر نسبی پارامترهای فلورسنس کلروفیل سنجیده شد. اثر تیمار دمای پایین، رقم و برهم‌کنش آنها بر همه صفات مورد ارزیابی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد دامنه اختلاف ارقام برای صفات مورد ارزیابی در دمای ۲۵- درجه سانتی‌گراد بسیار بیشتر از سایر تیمارهای دمایی بود. همبستگی بالایی بین شاخص‌های ارزیابی میزان تحمل ارقام به دمای پایین وجود داشت. ارقام 'کارسنبرگ' و 'کویین الیزا' با کمترین مقادیر درصد نشت یونی و درصد خسارت یخ‌زدگی و بیشترین مقادیر کلروفیل و مؤلفه‌های فلورسنس کلروفیل در دمای ۲۵- درجه سانتی‌گراد، به‌ترتیب بیشترین تحمل به سرما را نشان دادند. کمترین تحمل به سرما، در ارقام 'چاندلر' و 'تنسی بیوتی' با بیشترین درصد نشت یونی و درصد خسارت یخ‌زدگی و کمترین مقادیر کلروفیل و مؤلفه‌های فلورسنس کلروفیل در دماهای پایین مشاهده شد.

کلیدواژه‌ها: توت‌فرنگی، خسارت یخ‌زدگی، غربال‌گری، فلورسنس کلروفیل، نشت یونی

* نویسنده مسئول
Email: man.gholami@gmail.com

مقدمه

آستانه تحمل به سرمای زمستان، عامل کلیدی در تعیین پراکنش جغرافیایی گیاهان است. توت‌فرنگی (*Fragaria* × *ananassa* Duch.) که به دلیل مزیت‌های نسبی فراوان، از مهمترین میوه‌های ریز در دنیا به شمار می‌رود، به دلیل ناپایداری پوشش برف به‌ویژه در شرایط متغیر سال‌های اخیر، به سرمای زمستان آسیب‌پذیر شده است [۱۹]. در مناطق معتدله فقدان مقاومت زمستانه و به دنبال آن، ناپایداری عملکرد از محدودیت‌های اصلی در تولید تجاری توت‌فرنگی می‌باشد [۲۹، ۳۵].

وقوع نامنظم سرما و شدت سرمای غیرقابل پیش‌بینی در زمستان‌های مورد آزمایش، گزینش‌های اصلاحی در شرایط طبیعی را محدود کرده است، لذا توسعه روش‌های آزمایشگاهی تحت شرایط کنترل شده به‌منظور دستیابی به برآوردهای قابل اعتمادی از خسارات نسبی وارده و امکان مقایسه بین ارقام، ضروری است [۳۶]. اندازه‌گیری نشت یونی بافت‌ها به‌طور گسترده‌ای برای تعیین درجه خسارت سرمازدگی در گیاهان مورد استفاده قرار گرفته است [۱۸]. ارزیابی نشت یونی براساس اصل افزایش نشت الکترولیت ها (عمدتاً پتاسیم) از سلول به‌دلیل آسیب‌های وارده به غشای سلولی است. غشای پلاسمایی اولین ناحیه از سلول‌های گیاهی است که تحت تأثیر آسیب‌های یخ‌زدگی قرار می‌گیرد [۲۶]. بنابراین اندازه‌گیری مقادیر نشت یونی، برآوردی از آسیب وارده به بافت است [۱۸]. نشت نسبی الکترولیت‌ها بیانگر درصدی از الکترولیت‌های نشت یافته از نمونه یخ‌زده در یک دمای مشخص نسبت به حداکثر (کل) نشت یونی نمونه بعد از اتوکلاو است [۲۵].

جدای از خسارت یخ‌زدگی، نشت یونی از بافت‌ها می‌تواند تحت تأثیر سایر عوامل نظیر شکل و اندازه و ساختار مورفولوژیکی نمونه، مدت زمان نشت و میزان صدمات وارده به نمونه قرار گیرد. بررسی‌های انجام گرفته در زمینه برآورد خسارت یخ‌زدگی براساس نشت یونی نشان می‌دهد، استفاده از شاخص تغییر یافته خسارت یخ‌زدگی، بسیاری از عوامل ایجاد خطا در ارزیابی میزان خسارت براساس آزمون نشت یونی را دقیق‌تر می‌سازد [۲۸].

دمای پایین به‌طور معمول موجب القای تنش آبی در گیاهان می‌شود. از دست رفتن آب بافت‌ها طی مرحله خوگیری به سرما، در بسیاری از گیاهان مشاهده شده است [۱۶، ۲۱]. پس از قرار گرفتن گیاهان در دمای پایین، پتانسیل آب برگ‌ها به‌طور قابل ملاحظه‌ای کاهش یافت [۳۱]. با افزایش درصد محتوی آب نسبی برگ، اتساع دیواره سلولی افزایش یافته و منجر به کاهش پایداری غشاء می‌گردد [۳۰].

محتوای کلروفیل برگ نیز یکی از مهم‌ترین شاخص‌های نشان‌دهنده میزان تنش‌های محیطی وارد بر گیاه شناخته شده است [۴]. میزان دوام فتوسنتز و حفظ کلروفیل برگ تحت شرایط تنش از جمله شاخص‌های فیزیولوژیکی مقاومت به تنش است[۳۳]. فلورسنس کلروفیل برگ به طور مستقیم با فعالیت کلروفیل برگ در مرکز واکنش فتوسیستم‌ها ارتباط دارد و تشکیل کلروفیل در برگ از شرایط دمای پایین محیط تأثیرپذیر است [۲۰]. مطالعات اخیر، ارتباط نزدیکی را بین فلورسانس کلروفیل با متابولیسم کربن فتوسنتزی و تبادلات گازی برگ نشان داده است و روش جدیدی برای بررسی روابط واکنش‌های نوری و تاریکی در درون برگ‌های متصل به گیاه را فراهم نموده است [۱۴، ۳۷]. مقدار فلورسنس کلروفیل به عنوان یک سیگنال گزارشگر به فرآیندهای وابسته به دما در غشاهای تیلاکوئیدی سیستم فتوسنتزی و متعاقباً سلامت غشاهای کلروپلاستی حساس می‌باشد [۱۲]. بر همین اساس، اندازه‌گیری شاخص فلورسنس یا حداکثر عملکرد فتوشیمیایی فتوسیستم II (F_V/F_M) به‌طور موفقیت‌آمیزی برای ارزیابی تحمل به سرمای بسیاری از گونه‌های گیاهی استفاده شده است [۳، ۹، ۲۷].

تحمل سرمای زمستان خصوصیتی پیچیده است که دربرگیرنده جنبه‌های متعددی است و این ویژگی‌ها شدیداً به ژنوتیپ و نوع رقم وابسته است. بنابراین اصلاح و توسعه ارقام متحمل به سرما و شناسایی روشهای مؤثر غربال‌گری برای مقاومت به سرما امری لازم به نظر می‌رسد. هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی میزان تحمل به سرمای زمستانه هفت رقم توت‌فرنگی تحت شرایط کنترل شده و مقایسه کارآیی برخی صفات فیزیولوژیکی مرتبط با تحمل به سرما به‌منظور شناسایی روش‌های مؤثر و کارآمد در غربال ارقام توت‌فرنگی متحمل به سرمای زمستانه است.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و تیمارهای دمایی

این پژوهش در قالب آزمایش کرت‌های خرد شده بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا، در سال ۱۳۹۳ انجام گرفت. در هر تکرار، چهار بوته توت‌فرنگی از هر رقم برای هر سطح از تیمار دمایی مورد ارزیابی قرار گرفت. کرت اصلی شامل تیمار دمایی (۴+، ۵-، ۱۰-، ۱۵-، ۲۰- و ۲۵- درجه سانتی‌گراد) و کرت فرعی شامل هفت رقم توت‌فرنگی (ارقام 'کویین الیزا'[1]، 'کردستان'، 'بلک مور'[2]، 'یالوا'[3]، 'تنسی بیوتی'[4]، 'کارسنبرگ'[5] و 'چاندلر'[6]) بود. همه این ارقام روزکوتاه بوده و پس از ارزیابی مقدماتی تحمل یخزدگی زمستانه از بین ۲۱ رقم توت‌فرنگی در شرایط مزرعه‌ای انتخاب شدند.

در اوایل فروردین نشاهای مناسب از هر رقم که دارای قطر طوقه تقریباً یکسانی بودند، انتخاب و در گلدان‌های ۲ لیتری حاوی پرلیت، ورمی‌کمپوست و کوکوپیت به نسبت ۱۰:۳۰:۶۰ کشت شدند و تا زمان اعمال تیمارهای دمایی در فضای آزاد نگهداری شدند. در طی مدت نگهداری باتوجه به رشد مناسب بوته‌ها، نیازی به محلول‌پاشی عناصر غذایی نبود و بوته‌ها از رشد مطلوبی در مرحله خوگیری به سرما برخوردار بودند.

برای اعمال تیمارهای دمای پایین از یک اتاقک سرماساز ترموگرادیان (ساخت شرکت کیمیا ره‌آورد، ایران) استفاده شد. اعمال تیمارهای دمایی براساس میانگین دمای محیط و با درنظر گرفتن فرآیند سازگاری بوته‌ها به سرما و انطباق بیشتر با شرایط طبیعی، به‌صورت مرحله‌ای به شرح زیر اعمال شد: ۴+ درجه سانتی‌گراد (تیمار شاهد ۳۰ مهر)، ۵- درجه سانتی‌گراد (۳۰ آبان)، ۱۰- درجه سانتی‌گراد (۱۵ آذر)، ۱۵- درجه سانتی‌گراد (۳۰ آذر)، ۲۰- درجه سانتی‌گراد (۱۵ دی) و ۲۵- درجه سانتی‌گراد (۳۰ دی). قبل از اعمال تیمارهای سرما، برگ‌های بوته‌ها به‌منظور حذف آلودگی‌های سطحی به‌طور کامل با آب مقطر شستشو شدند. سپس در هر مرحله چهار گلدان از هر واحد آزمایشی در اتاقک سرماساز قابل برنامه‌ریزی قرار گرفته و کاهش دما به‌طور تدریجی با سرعت ۲ درجه سانتی‌گراد در ساعت تا رسیدن به دمای موردنظر انجام گرفت. پس از باقی ماندن نمونه‌ها به مدت ۷۵ دقیقه در تیمار دمایی مورد نظر، روند افزایش دما به طور تدریجی با سرعت ۲ درجه سانتی‌گراد در ساعت انجام گرفت و سپس گلدان‌ها از اتاقک سرماساز خارج و در دمای ۴+ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. نمونه‌های شاهد به مدت ۵ ساعت در دمای ۴+ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند تا نشت پایه ارقام اندازه‌گیری شده و در محاسبه درصد نشت یونی سایر تیمارهای دمایی لحاظ شود [۲۸].

1. Queen Elisa
2. Blakemore
3. Yalova
4. Tennessee beauty
5. Karssenberg
6. Chandler

اندازه‌گیری درصد نشت یونی و شاخص خسارت یخ‌زدگی

برای تعیین درصد نشت نسبی و درصد خسارت یخ‌زدگی در ارقام، بعد از اعمال تیمارهای سرمایی، از برگ‌های هر گلدان ۳ نمونه برگ به صورت دیسک‌هایی به قطر یک سانتی‌متر تهیه و در یک قوطی ۶۰ میلی‌لیتری قابل استریل درب دار، حاوی ۴۰ میلی‌لیتر آب مقطر غوطه‌ور شد [۱۸]. سپس قوطی‌های حاوی نمونه به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق روی شیکر قرار داده شدند و پس از آن نشت یونی اولیه با استفاده از دستگاه هدایت‌سنج مدل Cond 720 (ساخت آلمان)، اندازه‌گیری شد. به منظور آزاد شدن باقیمانده الکترولیت‌ها از بافت سلول، نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و پس از ۲۴ ساعت مرحله انکوباسیون، نشت یونی ثانویه اندازه‌گیری شد. سپس براساس رابطه ۱، درصد نشت یونی برگ (EL) در هر دما برای هر رقم محاسبه گردید [۲۸]:

$$EL\ (\%) = (EC_1 / EC_2) \times 100 \qquad (۱)$$

در این رابطه، EC_1 الکترولیت‌های نشت یافته از نمونه یخ‌زده و EC_2 حداکثر(کل) نشت یونی نمونه بعد از اتوکلاو است.

همچنین شاخص خسارت یخ‌زدگی (I_t) در هر دما برای هر رقم با استفاده از رابطه ۲ محاسبه گردید [۲۸]:

$$I_t\ (\%) = 100(R_t - R_0)/(R_f - R_0) \qquad (۲)$$

در این رابطه، R_t میزان نشت در دمای t، R_0 نشت نمونه یخ نزده (دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) و R_f نشت نمونه پس از اتوکلاو (دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد) می‌باشد.

محتوی آب نسبی برگ

به منظور اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ، از هر واحد آزمایشی پنج دیسک برگی به قطر یک سانتی‌متر تهیه شد و وزن تر نمونه‌ها تعیین گردید. در ادامه قطعه‌های برگی به مدت چهار ساعت و در شرایط تاریکی، در آب مقطر قرار داده شدند. بعد از این مدت، آب سطحی نمونه‌ها با دستمال کاغذی خشک شده و نمونه‌ها دوباره توزین شده و وزن تورژسانس محاسبه گردید. سپس نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد در آون قرار داده شدند و وزن خشک هر نمونه محاسبه گردید. محتوای نسبی آب برگ از طریق رابطه ۳ محاسبه گردید [۳۲]:

$$RWC\ (\%) = (FW - DW)/(TW - DW) \times 100 \qquad (۳)$$

در رابطه فوق، FW وزن تر نمونه برگی، DW وزن خشک و TW وزن تورژسانس نمونه برگی می‌باشد.

کلروفیل برگ

۰/۲۵ گرم از برگ هر نمونه در یک هاون چینی با ۵ میلی‌لیتر آب مقطر ساییده شد و به صورت توده یکنواختی درآمد (عمل ساییدن و له کردن بافت در محیط خنک و کم نور انجام گرفت). مخلوط حاصل با آب مقطر به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد. ۰/۵ میلی‌لیتر از مخلوط به‌دست آمده با ۴/۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد مخلوط و سپس به مدت ۱۰ دقیقه و با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس محلول رویی برداشته شد و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر، میزان جذب آن در طول موج‌های ۶۴۶ و ۶۶۳ نانومتر قرائت و غلظت کلروفیل کل با استفاده از رابطه ۴ محاسبه شد [۱۱]:

$$\text{کلروفیل کل (میلی‌گرم در لیتر)} = (A_{۶۴۶} \times ۲۰/۲) + (A_{۶۶۳} \times ۸/۰۲) \qquad (۴)$$

شاخص‌های فلورسنس کلروفیل

پارامترهای فلورسنس کلروفیل برگ شامل F_0 فلورسنس پایه، F_m حداکثر فلورسنس در اولین پالس اشباع نوری بعد از سازگاری به تاریکی، F_v تغییرات فلورسنس ($F_m - F_0$) و F_v/F_m شاخص حداکثر عملکرد کوانتومی فتوسیستم II، به‌وسیله دستگاه کلروفیل فلورومتر پرتابل مدل OS-30P

(Opti-Sciences Inc., USA) اندازه‌گیری شد. بدین‌منظور، پس از اعمال تیمارهای دمایی، از هر گلدان ۳ برگ مناسب انتخاب و با نصب کلیپ‌های مخصوص به مدت ۳۰ دقیقه در شرایط تاریکی قرار داده شدند. بعد از انطباق شرایط تاریکی، با اتصال سنسور فلورومتر به کلیپ‌ها، ارتباط قسمت برگی سازگار شده با تاریکی و منبع نور تنظیم شده فلورومتر برقرار گردید و پارامترهای فلورسنس کلروفیل قرائت شد [۲۲].

تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۹/۱) با کمک رویه GLM و مقایسه میانگین‌ها براساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال یک درصد انجام گرفت.

نتایج و بحث

اثرات دما، رقم و برهم‌کنش آنها بر درصد نشت یونی برگ، شاخص خسارت یخ‌زدگی، محتوی آب نسبی برگ، غلظت کلروفیل برگ و مقادیر نسبی پارامترهای فلورسنس کلروفیل، در سطح یک درصد معنی‌دار شد (جدول‌های ۱ و ۲). باتوجه به معنی‌دار شدن اثرات برهم‌کنش، نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در رابطه با صفات درصد نشت برگ و شاخص خسارت برگ، با کاهش هرقدر بیشتر دما، دامنه تفاوت بین ارقام بیشتر می‌شود و دامنه اختلاف ارقام برای این صفات در دمای ۲۵- درجه سانتی‌گراد بیشتر از سایر تیمارهای دمایی بود، درحالی‌که در دماهای ۴+ و ۵- درجه سانتی‌گراد، کمترین دامنه اختلاف بین ارقام مورد آزمایش مشاهده شد (جدول ۳).

جدول ۱. تجزیه واریانس اثر تیمارهای دما و رقم بر درصد نشت یونی، خسارت یخ‌زدگی، محتوی آب نسبی و کلروفیل

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		نشت نسبی برگ	خسارت نسبی یخ‌زدگی	محتوی آب نسبی برگ	کلروفیل
بلوک	۲	۱/۵۵	۹/۲۲	۱۱/۰۹	۰/۰۰۱
تیمار دمایی	۵	۵۰۸۰/۶۸**	۷۰۳۳/۶۰**	۲۶۷۲/۳۳**	۱/۷۲**
خطای a	۱۰	۵/۵۹	۵/۴۴	۷/۵۴	۰/۰۰۱
رقم	۶	۸۵۱/۹۲**	۸۴۱/۳۸**	۱۵۶/۰۷**	۰/۱۷**
دما × رقم	۳۰	۱۲۲/۵۵**	۱۸۰/۲۰**	۶۲/۹۳**	۰/۰۱**
خطای b	۷۲	۷/۰۶	۲/۵۷	۱۱/۰۹	۰/۰۰۱
ضریب تغییرات (٪)	-	۹/۲۸	۹/۷۳	۴/۷۸	۳/۳۲

** - بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۱ درصد

جدول ۲. تجزیه واریانس اثر تیمارهای دما و رقم بر مؤلفه‌های فلورسنس کلروفیل برگ

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		حداقل فلورسنس	حداکثر فلورسنس	فلورسنس متغیر	شاخص فلورسنس
بلوک	۲	۱۴/۶۷	۹۲۲/۱۳	۱۲۴۷/۶۴	۰/۰۰۰۳
تیمار دمایی	۵	۲۸۲۸/۱۲**	۵۲۵۰۹۵/۷۱**	۴۸۱۶۹۷/۷۱**	۰/۱۹۱**
خطای a	۱۰	۲۷/۰۶	۱۳۲۳/۹۲	۱۴۲۲/۲۸	۰/۰۰۰۴
رقم	۶	۵۷۹/۹۵**	۵۹۷۳۶/۹۳**	۵۹۰۴۳/۹۳**	۰/۰۳۲**
دما × رقم	۳۰	۳۷۲/۸۲**	۴۴۳۹/۹۷**	۳۱۷۳/۸۸**	۰/۰۰۴**
خطای b	۷۲	۱۴/۳۷	۹۳۸/۸۹	۹۵۰/۸۱	۰/۰۰۰۴
ضریب تغییرات (٪)	-	۳/۳۶	۶/۱۵	۷/۹۹	۲/۷۹

** - بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۱ درصد

جدول ۳. مقایسه میانگین صفات مورد ارزیابی در هفت رقم توت‌فرنگی تحت تیمار دماهای پایین

دما (°C)	رقم	نشت نسبی برگ (٪)	خسارت یخ‌زدگی (٪)	محتوی آب نسبی (٪)	کلروفیل (mg/gfw)	حداقل فلورسنس	حداکثر فلورسنس	فلورسنس متغیر	کارآیی کوانتومی فتوسیستم II
+۴	تنسی بیوتی	۱۵/۰۶ qrs	۰/۰۰ r	۷۵/۸۲ c-i	۱/۳۴ b-f	۱۱۸ d-j	۵۸۵/۶۷ e-j	۴۶۷/۶۷ d-i	۰/۷۹۸ b-h
	بلک مور	۱۲/۲۴ s	۰/۰۰ r	۸۲/۶۲ abc	۱/۳۱ d-g	۱۰۴/۶۷ m-r	۵۶۸/۳۳ f-k	۴۶۳/۶۷ d-i	۰/۸۱۷ b-f
	کردستان	۱۳/۰۴ rs	۰/۰۰ r	۸۵/۴۰ ab	۱/۴۴ a	۱۰۱/۶۷ o-s	۶۷۸ bcd	۵۷۶/۳۳ bc	۰/۸۵۰ ab
	کویین الیزا	۱۳/۲۰ rs	۰/۰۰ r	۸۱/۵۴ a-d	۱/۴۲ ab	۱۰۴ n-r	۷۹۳/۶۷ a	۶۸۹/۶۷ a	۰/۸۶۹ a
	چاندلر	۱۹/۱۱ n-r	۰/۰۰ r	۸۴/۶۵ ab	۱/۲۸ f-i	۱۲۵ a-e	۵۸۲/۳۳ e-j	۴۵۷/۳۳ e-i	۰/۷۸۳ e-i
	کارسنبرگ	۱۴/۹۲ qrs	۰/۰۰ r	۸۲/۴۴ abc	۱/۳۸ a-e	۱۱۴/۳۳ g-l	۷۱۹ b	۶۰۴/۶۷ b	۰/۸۴۱ a-d
	یالوا	۱۴/۸۰ qrs	۰/۰۰ r	۸۷/۷۳ a	۱/۴۰ abc	۱۱۶/۳۳ e-k	۶۸۴ bc	۵۶۷/۶۷ bc	۰/۸۳۰ a-e
-۵	تنسی بیوتی	۱۷/۳۱ n-s	۲/۶۱ o-r	۷۳/۴۰ d-j	۱/۲۳ g-k	۱۲۵ a-e	۵۹۲/۳۳ e-j	۴۶۷/۳۳ d-i	۰/۷۸۸ d-i
	بلک مور	۱۵/۵۸ p-s	۳/۸۰ o-r	۷۹/۱۰ b-f	۱/۲۰ i-l	۱۱۲/۶۷ i-n	۵۸۲/۶۷ e-j	۴۷۰ d-i	۰/۸۰۷ b-g
	کردستان	۱۴/۳۳ rs	۱/۴۷ pqr	۸۰/۴۵ a-e	۱/۳۲ c-f	۱۰۰ p-s	۶۱۹/۳۳ c-h	۵۱۹/۳۳ cde	۰/۸۳۹ a-d
	کویین الیزا	۱۳/۹۵ rs	۰/۸۷ qr	۷۰/۵۷ g-k	۱/۳۸ a-d	۱۰۶ l-q	۶۸۴ bc	۵۷۸ bc	۰/۸۴۳ abc
	چاندلر	۲۱/۸۷ m-p	۳/۴۲ o-r	۸۱/۷۷ a-d	۱/۱۵ klm	۱۲۳/۳۳ a-f	۵۷۷/۶۷ e-k	۴۵۴/۳۳ e-j	۰/۷۸۵ e-i
	کارسنبرگ	۱۶/۵۲ o-s	۱/۸۹ o-r	۷۹/۵۶ a-f	۱/۲۷ f-i	۱۱۶/۳۳ e-k	۶۵۱/۶۷ b-e	۵۳۵/۳۳ bcd	۰/۸۲۱ a-f
	یالوا	۱۶/۴۸ o-s	۱/۹۸ o-r	۸۰/۱۹ a-e	۱/۳۰ e-h	۱۲۲/۶۷ a-h	۶۲۹/۳۳ c-f	۵۰۶/۶۷ c-f	۰/۸۰۵ b-h
-۱۰	تنسی بیوتی	۱۹/۸۱ n-r	۵/۵۷ no	۷۲/۳۷ e-j	۱/۰۹ mn	۱۲۴/۶۷ a-e	۵۴۵/۶۷ h-m	۴۲۱ g-l	۰/۷۷۱ f-j
	بلک مور	۱۶/۶۳ o-s	۴/۹۹ op	۷۷/۵۷ b-g	۱/۱۵ klm	۱۱۴/۳۳ g-l	۵۳۴ j-m	۴۱۹/۶۷ g-l	۰/۷۸۶ e-i
	کردستان	۱۵/۵۱ p-s	۲/۸۴ o-r	۷۵/۱۳ c-i	۱/۲۸ f-i	۱۰۵/۶۷ l-r	۵۶۰ f-l	۴۵۴/۳۳ e-j	۰/۸۱۱ b-g
	کویین الیزا	۱۵/۷۰ p-s	۲/۸۹ o-r	۶۷/۶۱ i-l	۱/۳۲ c-f	۱۰۷/۶۷ k-p	۶۲۴ c-g	۵۱۶/۳۳ cde	۰/۸۲۷ a-e
	چاندلر	۲۲/۷۳ mno	۴/۴۹ opq	۷۹/۵۲ a-f	۱/۰۲ no	۱۲۸/۳۳ abc	۵۳۳/۳۳ j-m	۴۰۵ i-l	۰/۷۵۹ g-k
	کارسنبرگ	۱۶/۳۳ o-s	۱/۶۶ o-r	۷۷/۰۲ b-h	۱/۲۳ g-j	۱۱۹ c-j	۶۰۶/۶۷ d-j	۴۸۷/۶۷ d-h	۰/۸۰۴ b-h
	یالوا	۱۷/۳۹ n-s	۳/۰۵ o-r	۶۹/۳۹ g-l	۱/۲۷ f-i	۱۲۴/۳۳ a-f	۶۱۷/۶۷ c-i	۴۹۳/۳۳ d-g	۰/۷۹۹ b-h

ادامه جدول ۳. مقایسه میانگین صفات مورد ارزیابی در هفت رقم توت‌فرنگی تحت تیمار دماهای پایین

دما (°C)	رقم	نشت نسبی برگ (٪)	خسارت یخ‌زدگی (٪)	محتوی آب نسبی (٪)	کلروفیل (mg/gfw)	حداقل فلورسنس	حداکثر فلورسنس	فلورسنس متغیر	کارآیی کوانتومی فتوسیستم II
-۱۵	تنسی بیوتی	۴۰/۶۵ gh	۳۰/۱۳ h	۷۱/۴۱ f-k	۰/۹۱ pq	۱۲۵/۳۳ a-e	۴۵۱/۳۳ nop	۳۲۶ mno	۰/۷۲۲ j-m
	بلک مور	۳۳/۵۴ ij	۲۴/۲۵ i	۶۹/۰۷ h-l	۰/۹۸ op	۱۱۶/۶۷ e-k	۴۷۲/۳۳ m-p	۳۵۵/۶۷ lmn	۰/۷۵۳ h-k
	کردستان	۲۳/۹۱ lmn	۱۲/۵۱ lm	۶۷/۷۹ i-l	۱/۰۹ mn	۱۱۴ g-m	۴۷۹/۳۳ mno	۳۶۵/۳۳ klm	۰/۷۶۲ g-k
	کریمن الیزا	۲۱/۵۴ m-q	۹/۶۱ m	۶۵/۸۵ j-m	۱/۲۲ h-l	۱۱۰/۳۳ j-o	۵۴۶/۳۳ g-m	۴۳۶ f-k	۰/۷۹۶ c-h
	چاندلر	۴۴/۵۲ fgh	۳۱/۴۱ h	۷۰/۴۹ g-k	۰/۸۷ q	۱۲۷/۳۳ a-d	۴۹۱/۶۷ lmn	۳۶۴/۳۳ klm	۰/۷۴۱ i-l
	کارسنبرگ	۲۲/۴۸ mno	۸/۸۹ mn	۷۵/۲۷ c-i	۱/۱۷ j-m	۱۲۱ b-i	۵۶۳/۳۳ f-l	۴۴۲/۳۳ e-j	۰/۷۸۵ e-i
	یالوا	۲۳/۸۵ lmn	۱۰/۶۴ m	۶۳/۱۹ k-n	۱/۱۴ lm	۱۲۸/۶۷ ab	۵۴۰/۶۷ i-m	۴۱۲ h-l	۰/۷۶۱ g-k
-۲۰	تنسی بیوتی	۵۱/۴۶ e	۴۲/۸۴ f	۶۸/۵۵ i-l	۰/۶۲ uvw	۱۲۵ a-e	۳۱۲/۳۳ st	۱۸۷/۳۳ rst	۰/۶۰۰ st
	بلک مور	۴۶/۲۰ efg	۳۸/۷۱ g	۶۲/۶۵ k-n	۰/۷۳ st	۱۱۶/۶۷ e-k	۳۵۲/۳۳ rs	۲۳۵/۶۷ pqr	۰/۶۶۹ n-q
	کردستان	۲۹/۵۳ jkl	۱۸/۹۷ jk	۵۲/۸۳ pqr	۰/۸۰ rs	۱۱۳/۳۳ i-m	۳۷۷/۶۷ qrs	۲۶۴/۳۳ op-q	۰/۶۹۹ l-o
	کریمن الیزا	۲۶/۸۶ klm	۱۵/۷۴ kl	۵۷/۳۲ nop	۰/۹۷ op	۱۱۳/۶۷ g-m	۴۴۲/۳۳ n-q	۳۲۸/۶۷ mno	۰/۷۴۲ i-l
	چاندلر	۵۷/۲۷ d	۴۷/۱۹ e	۶۶/۵۱ j-m	۰/۶۶ tuv	۱۲۹ ab	۳۵۶/۶۷ rs	۲۲۷/۶۷ p-s	۰/۶۳۸ p-s
	کارسنبرگ	۲۷/۴۱ j-m	۱۴/۷۱ l	۶۵/۴۸ j-m	۱/۰۲ no	۱۲۳/۳۳ a-g	۵۰۲/۶۷ k-n	۳۷۹/۳۳ j-m	۰/۷۵۳ h-k
	یالوا	۳۲/۷۱ jk	۲۱/۰۳ ij	۶۱/۱۸ l-o	۰/۸۶ qr	۱۳۱ a	۴۰۹/۶۷ o-r	۲۷۸/۶۷ op	۰/۶۸۰ m-p
	تنسی بیوتی	۶۶/۵۵ ab	۶۰/۵۹ b	۶۱/۲۴ l-o	۰/۵۰ x	۵۲/۳۳ u	۸۷/۶۷ v	۳۵/۳۳ u	۰/۴۰۳ v
	بلک مور	۵۸/۴۸ cd	۵۲/۶۷ d	۵۵/۱۳ opq	۰/۶۰ uvw	۹۳/۶۷ s	۲۵۲/۳۳ tu	۱۵۸/۶۷ st	۰/۶۲۸ qrs
	کردستان	۴۶/۸۴ ef	۳۸/۸۷ g	۳۸/۸۵ s	۰/۶۲ uvw	۹۶/۶۷ rs	۲۵۴ tu	۱۵۷/۳۳ st	۰/۶۲۰ rs
-۲۵	کریمن الیزا	۳۸/۷۶ hi	۲۹/۴۴ h	۴۷/۲۶ r	۰/۶۸ tu	۱۰۶/۳۳ l-q	۳۰۹ st	۲۰۲/۶۷ q-t	۰/۶۵۶ o-r
	چاندلر	۷۱/۶۱ a	۶۴/۹۲ a	۵۹/۰۴ m-p	۰/۵۵ wx	۷۰/۳۳ t	۱۳۰/۳۳ v	۶۰ u	۰/۴۶۱ u
	کارسنبرگ	۳۲/۴۵ jk	۲۰/۶۸ ij	۴۸/۰۸ qr	۰/۸۱ rs	۱۱۵ f-l	۴۰۳/۶۷ pqr	۲۸۸/۶۷ nop	۰/۷۱۴ k-n
	یالوا	۶۳/۴۱ bc	۵۷/۰۹ c	۵۳/۰۸ pqr	۰/۵۸ vwx	۹۸ qrs	۲۲۹/۶۷ u	۱۳۱/۶۷ t	۰/۵۶۳ t

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه در هر ستون، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد ندارند.

در مورد سایر صفات مورد ارزیابی نیز با کاهش دما، دامنه تفاوت ارقام به‌ویژه در دمای ۲۵- درجه سانتی‌گراد افزایش قابل توجهی نشان داد (جدول ۳).

نکته حایز اهمیت دیگر، واکنش متفاوت ارقام به دماهای پایین بود. روند تغییرات صفات در برخی ارقام کاملاً متفاوت از روند تغییر آن صفات در ارقام دیگر تحت دماهای پایین می‌باشد. بررسی روند تغییر صفات مورد ارزیابی در رقم 'یالوا' در دماهای ۲۰- و ۲۵- درجه سانتی‌گراد در مقایسه با سایر ارقام، مؤید این نکته می‌باشد (جدول ۳).

درصد نشت یونی برگ

در تیمارهای دمایی ۴+، ۵- و ۱۰- درجه سانتی‌گراد، درصد نشت نسبی برگ در ارقام مورد آزمایش تقریباً یکسان بود، اما با کاهش دما به ۱۵- درجه سانتی‌گراد، درصد نشت یونی برگ در ارقام 'چاندلر'، 'تنسی بیوتی' و 'بلک مور' افزایش قابل توجهی نشان داد به‌ویژه در ارقام 'چاندلر' و 'تنسی بیوتی' که درصد نشت یونی برگ به بیش از ۴۰ درصد رسید. در دمای ۲۰- درجه سانتی-گراد، درصد نشت نسبی برگ در ارقام فوق‌الذکر افزایش بیشتری در مقایسه با سایر ارقام مورد آزمایش نشان داد که بیانگر حساسیت بیشتر این ارقام به دماهای پایین در مقایسه با سایر ارقام مورد آزمایش است. در دمای ۲۵- درجه سانتی‌گراد، بیشترین درصد نشت یونی (۷۱/۶۱ درصد) مربوط به رقم 'چاندلر' و کمترین درصد نشت یونی (۳۲/۴۵ درصد) مربوط به رقم 'کارسنبرگ' بود (جدول ۳). رقم 'یالوا' تا دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد، نشت یونی نسبتاً کمی داشت اما با کاهش بیشتر دما به ۲۵- درجه سانتی‌گراد، درصد نشت نسبی برگ در این رقم شدیداً افزایش یافت. چنین افزایش شدیدی در سایر ارقام مشاهده نشد و نشان می‌دهد رقم 'یالوا' تا دمای ۲۰- درجه تحمل نسبتاً خوبی در برابر سرما دارد، اما با کاهش بیشتر دما، میزان تحمل این رقم به سرما شدیداً کاهش یافت.

به احتمال قوی، غشاهای سلولی اولین نواحی هستند که تحت تأثیر آسیب‌های یخ‌زدگی قرار می‌گیرند. تنش دمای پایین باعث کاهش سیالیت غشاء شده که در کنار پراکسیداسیون لیپیدها موجب تخریب غشاء و درنتیجه افزایش نشت یونی می‌گردد [۷]. در پژوهشی بر روی نهال‌های زیتون، تنش یخ‌زدگی موجب تسریع تخریب غشاء و درنتیجه، افزایش نشت یونی شد [۲]. نشت یونی کمتر در ارقام متحمل می‌تواند به دلیل پایداری بیشتر خصوصیات فیزیکی و شیمیایی غشای پلاسمایی باشد. از آنجا که مقدار قابل توجهی از الکترولیت‌ها از نمونه‌های شاهد منجمد نشده خارج می‌شوند، شاخص خسارت یخ-زدگی که در آن نشت یونی نمونه یخ نزده و نشت یونی نمونه‌های کاملاً آسیب دیده در دمای ۱۲۱ درجه سانتی-گراد نیز در محاسبات مدنظر قرار می‌گیرد، بسیاری از عوامل ایجاد خطا در ارزیابی میزان خسارت سرمازدگی را حذف نموده و آزمون نشت یونی را دقیق‌تر می‌سازد [۲۸].

درصد خسارت یخ‌زدگی

درصد خسارت نسبی برگ در همه ارقام در دمای ۴+ درجه سانتی‌گراد معادل صفر می‌باشد، اما با کاهش شدید دما، مقادیر این شاخص بسته به نوع رقم، افزایش یافت (جدول ۳). از آنجا که محاسبه شاخص خسارت یخ‌زدگی (I_t)، مبتنی بر تصحیح درصد نشت یونی از برگ‌ها در دماهای مختلف می‌باشد، می‌توان نتیجه گرفت که الگوی تغییرات این شاخص در ارقام مورد آزمایش همانند الگوی تغییر درصد نشت یونی برگ در این ارقام باشد. براساس نتایج تحقیق حاضر، با کاهش دما به ۱۵- درجه سانتی‌گراد، درصد خسارت ناشی از یخ‌زدگی در ارقام 'چاندلر'،

'تنسی بیوتی' و 'بلک مور' در مقایسه با سایر ارقام، افزایش قابل توجهی یافته درحالی‌که در دمای ۲۵- درجه سانتی‌گراد، ارقام 'کارسنبرگ'، 'کویین الیزا' و 'کردستان' به ترتیب کمترین درصد خسارت برگ را داشتند (بین ۳۹-۲۱ درصد) و با چهار رقم دیگر که خسارت نسبی برگ در آنها بین ۶۵-۵۳ درصد می‌باشد، اختلاف قابل‌توجهی نشان دادند (جدول ۳). شاخص خسارت یخزدگی (I_t) روش برآورد خسارت از طریق نشت یونی را دقیق‌تر ساخته است [۲۸].

درجه خسارت به بافت با خسارت وارده به غشای پلاسمایی سلول‌های مزوفیل همبستگی دارد [۳۴]. بیشترین خسارت ناشی از تنش یخزدگی به یخزدگی درون‌سلولی مربوط می‌باشد. گیاهان متحمل به یخزدگی، می‌توانند یخ-زدگی برون‌سلولی را بدون پذیرش خسارت تحمل کنند، اما قادر به تحمل یخزدگی درون‌سلولی نمی‌باشند [۱].

همبستگی مثبت و معنی‌داری ($r = ۰/۹۹^{**}$) بین درصد نشت یونی و درصد خسارت یخزدگی وجود دارد که باتوجه به محاسبه درصد خسارت براساس درصد نشت یونی، چنین همبستگی قابل توجیه است. این دو صفت نیز همبستگی منفی و معنی‌داری در سطح یک درصد با سایر صفات مورد ارزیابی نشان دادند (جدول ۴).

جدول ۴. ضرایب همبستگی بین صفات مورد ارزیابی در شرایط دمای پایین

صفات	نشت یونی	خسارت یخزدگی	محتوی نسبی آب برگ	کلروفیل	فلورسنس پایه	حداکثر فلورسنس	فلورسنس متغیر	شاخص فلورسنس
نشت یونی	۱							
خسارت یخزدگی	۰/۹۹۰**	۱						
محتوی نسبی آب	-۰/۶۲۸**	-۰/۶۵۹**	۱					
کلروفیل	-۰/۹۲۴**	-۰/۹۳۳**	۰/۷۵۲**	۱				
فلورسنس پایه	-۰/۴۱۹**	-۰/۴۵۹**	۰/۲۷۱**	۰/۳۱۳**	۱			
حداکثر فلورسنس	-۰/۹۰۷**	-۰/۹۱۷**	۰/۷۳۹**	۰/۹۴۱**	۰/۴۶۱**	۱		
فلورسنس متغیر	-۰/۹۰۳**	-۰/۹۱۰**	۰/۷۴۳**	۰/۹۵۰**	۰/۳۷۹**	۰/۹۹۶**	۱	
شاخص فلورسنس	-۰/۹۲۶**	-۰/۹۲۷**	۰/۶۴۴**	۰/۹۰۸**	۰/۵۰۲**	۰/۹۵۶**	۰/۹۴۶**	۱

** - بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۱ درصد

محتوی آب نسبی برگ

با کاهش دما، در همه ارقام مورد آزمایش، محتوی آب نسبی برگ نیز کاهش یافت، اما واکنش ارقام به دماهای پایین متفاوت بود (جدول ۳). رقم 'تنسی بیوتی' که در دمای ۴+ درجه سانتی‌گراد کمترین محتوی آب نسبی برگ را در مقایسه با سایر ارقام داشت، در دمای ۲۵- درجه، بیشترین محتوی آب نسبی برگ را در مقایسه با سایر ارقام دارا بود. این امر در حالی است که رقم 'کردستان' در دمای ۴+ درجه سانتی‌گراد در مقایسه با سایر ارقام، محتوی آب نسبی برگ بالایی داشت، اما در دمای ۲۵- درجه سانتی‌گراد کمترین محتوی آب نسبی برگ را در مقایسه با سایر ارقام دارا بود (جدول ۳). از دست رفتن آب بافت‌ها

طی مرحله سازگاری به سرما، در بسیاری از گیاهان مشاهده شده است [۱۶، ۲۱]. کاهش نسبی آب برگ، قسمتی از فرآیند سازگاری به سرما و برای القای تحمل کامل به یخزدگی در توت‌فرنگی ضروری است [۳۱]. دمای پایین به‌طور معمول موجب القای تنش آبی در گیاهان می‌شود. پس از قرار گرفتن گیاهان در دمای ۳/۱ درجه سانتی‌گراد (دمای شب/روز)، پتانسیل آب برگ‌ها به‌طور قابل ملاحظه‌ای به ۱/۶- مگاپاسکال کاهش یافت. به نظر می‌رسد تنش آبی نقش اصلی را در القای تحمل به یخ‌زدگی بازی می‌کند [۳۱].

همبستگی مثبت و معنی‌داری بین محتوی آب نسبی برگ با میزان کلروفیل و پارامترهای فلورسنس کلروفیل مشاهده شد (جدول ۴). سرعت کاهش آب از برگ در ارقام مقاوم نظیر 'کویین الیزا'، 'کارسنبرگ' و 'کردستان' تحت تیمار تنش سرما بیشتر از سرعت کاهش آب در ارقام حساس مانند 'چاندلر'، 'تنسی بیوتی' و 'بلک مور' است (جدول ۳). به نظر می‌رسد کاهش شدیدتر آب از برگ در ارقام مقاوم به واسطه باز بودن روزنه‌ها باعث حفظ امکان ورود CO_2 و با رفع مقاومت روزنه‌ای در فتوسنتز همراه است. پایین بودن محتوی آب نسبی برگ در دماهای پایین در ارقام مقاوم می‌تواند ناشی از شکستن مولکول‌های درشت مانند پلی‌ساکاریدها و تولید قندهای ساده‌تر باشد که منجر به افزایش پتانسیل اسمزی و کاهش محتوی آب نسبی می‌گردد.

غلظت کلروفیل

کاهش دما موجب کاهش کلروفیل کل در تمام ارقام گردید (جدول ۳). واکنش ارقام مختلف به کاهش دما تقریباً از روند یکسانی تبعیت کرد با این تفاوت که رقم 'کارسنبرگ' توانایی بیشتری در حفظ کلروفیل در دماهای ۲۰- و ۲۵- درجه سانتی‌گراد نشان داد. رقم 'کویین الیزا' تا دمای ۱۵- درجه سانتی‌گراد، بیشترین کلروفیل برگ را در مقایسه با سایر ارقام مورد آزمایش دارا بود، اما با کاهش دما به ۲۰- درجه سانتی‌گراد، برخلاف رقم 'کارسنبرگ'، کاهش کلروفیل برگ در این رقم همانند سایر ارقام قابل ملاحظه بود (جدول ۳).

تحت دماهای پایین، میزان پراکسیداسیون در غشای کلروپلاست‌ها و تیلاکوئیدها افزایش یافته و به کاهش میزان رنگیزه‌ها منتهی می‌گردد [۸]. یکی از مهم‌ترین دلایل کاهش کلروفیل‌ها تخریب آنها به وسیله گونه‌های فعال اکسیژن می‌باشد [۲۴]. نتایج آزمایشی با بررسی اثر تنش سرما روی گیاه فلفل نشان داد که کاهش کلروفیل می‌تواند یک علامت مشخص از تنش اکسیداتیو باشد [۱۰]. به نظر می‌رسد ارقام مقاوم نسبت به ارقام حساس با استفاده از مکانیسم دفاعی بهتری، از تولید و اثرات منفی اکسیژن فعال جلوگیری کرده، میزان کلروفیل خود را بیشتر حفظ نموده و با داشتن فتوسنتز و انرژی بیشتر باعث افزایش تحمل به تنش سرما می‌شوند.

همبستگی منفی و معنی‌داری بین میزان کلروفیل برگ با درصد نشت یونی و درصد خسارت یخزدگی مشاهده گردید که نتایج فوق را تأیید می‌نماید (جدول ۴). همچنین همبستگی مثبت و معنی‌دار بین میزان کلروفیل و شاخص فلورسنس کلروفیل نشان می‌دهد در ارقام مقاوم، کلروفیل موجود در مراکز واکنش در دماهای پایین تخریب نشده، لذا در این ارقام، کارآیی کوانتومی فتوسیستم II تحت شرایط تنش بیشتر از ارقام حساس به دمای پایین است.

فلورسنس کلروفیل برگ

نتایج تحقیق حاضر نشان داد مؤلفه حداقل فلورسنس کلروفیل برگ (F_0) با کاهش دما تا ۲۰- درجه سانتی‌گراد در همه ارقام روند افزایشی نشان داد، اما با کاهش بیشتر دما به ۲۵- درجه سانتی‌گراد، F_0 در تمام ارقام به‌طور قابل

ملاحظه‌ای کاهش یافت. واکنش متفاوت ارقام بـه دماهـای پایین نیز در اینجا کاملاً مشهود بود (جدول ۳).

برخلاف روند تغییر پارامتر F_0 تحـت دماهـای پـایین، روند تغییرات سایر مؤلفه‌های فلورسنس کلروفیـل (F_m، F_v و F_v/F_m) نسبتاً مشابه بود و بـا کـاهش دمـا، مقـادیر ایـن شاخص‌ها کاهش یافت. با کاهش دما به ۵- درجه سـانتی‌گراد، مقادیر حداکثر فلورسنس کلروفیل (F_m) و فلورسنس متغیر (F_v) کاهش قابل ملاحظه‌ای نشـان داد. کـاهش قابـل ملاحظه دیگری نیز در دماهای ۲۰- و ۲۵- درجـه سـانتی‌گراد برای کلیـه مؤلفـه‌هـای فلورسـنس کلروفیـل مشـاهده گردید. به‌طورکلی، دامنه اخـتلاف ارقـام بـرای مؤلفـه‌هـای فلورسنس کلروفیل در دمای ۲۵- درجه سانتی‌گـراد بیشـتر از سـایر تیمارهـای دمـایی بـود (جـدول ۳). در آزمـایش مشابهی بر روی گیاه آرابیدوپسیس، اندازه‌گیری مؤلفه‌هـای فلورسنس کلروفیل، نمونه‌ها را از نظر تحمل بـه سـرما بـه سه گروه تقسیم کرد که تمایز و اختلاف گروه‌ها همـراه بـا تداوم کاهش دما، بیشتر شد [۲۳].

در دماهـای پـایین، کمتـرین مقـدار کـارایی کوانتـومی فتوسیستم II (F_v/F_m)، در ارقام 'چاندلر' و 'تنسی بیـوتی' مشـاهده شـد. کـاهش مقـدار کلروفیـل بـرگ و رانـدمان کوآنتومی فتوسیستم II در ارقام حساس درنتیجـه خسـارت به غشای کلروپلاست طی تـنش سـرما مـی‌باشـد [۳۸]. در آزمایشی بر روی گیاه آرابیدوپسیس، با تداوم کـاهش دمـا، حداقل انتشار فلورسـنس کلروفیـل بـه‌طـور قابـل تـوجهی افزایش یافت و این افزایش بـه‌طـور معنـی‌داری بـه میـزان تحمل به سرمای نمونه‌ها بستگی داشت.

افزایش F_0 در دماهای پـایین ممکـن اسـت بـه خـاطر محدودیت در انتقال الکترون ناشی از محـدودیت حرکـت مولکول‌های حامل نظیر پلاستوکوئینون‌هـا و یـا بـه خـاطر آسیب‌های برگشت‌پـذیر در فتوسیسـتم II باشـد [۲۳]. در آزمایشی که از مؤلفه‌های فلورسنس کلروفیل بـرای غربـال ارقام توت‌فرنگی متحمل به سرمازدگی بهاره اسـتفاده شـد، نتـایج نشـان داد زمـانی‌کـه گـل‌هـا در دمـای ۳- درجـه سانتی‌گراد نگهداری شدند، فلورسنس متغیر (Fv) در تمـام ارقام با گذشت زمان کاهش یافت اما میزان کاهش در ارقام مختلف، متفاوت بود. کـاهش فلورسـنس متغیـر در بیشـتر ارقام متحمل به سرما معنی‌دار نبـود، درحـالی‌کـه در ارقـام حساس به یـخ‌زدگـی، رونـد کـاهش معنـی‌داری مشـاهده گردید [۱۵].

در اکثر گیاهان در شرایط طبیعی نسبت F_v/F_m در دامنه بین ۰/۸۵–۰/۷۵ است کـه متناسـب بـا عملکـرد کوانتـومی فتوشیمی بوده و همبسـتگی بـالایی بـا عملکـرد کوانتـومی فتوسنتز خالص برگ سالم دارد [۶]. خسارت‌های وارده بـه ساختار کلروپلاست، ظرفیت فتوسنتزی آن‌را مختل می‌کنـد [۲۶]. کاهش F_v/F_m، شاخص خـوبی بـرای تعیـین صـدمه بازدارندگی نوری حاصـل از دامنـه وسـیعی از تـنش‌هـای محیطی وارده به گیاه نظیر سرمازدگی، یخ‌زدگی، خشـکی و آلودگی هوا است [۳، ۵، ۱۷]. بـه نظـر مـی‌رسـد خسـارت شدید به برگ در دمای ۲۵- درجه سانتی‌گراد سبب از بـین رفتن مراکـز واکـنش در فتوسیسـتم II شـده و عمـلاً هـیچ واکنشی توسط گیرنده‌های نوری واقع و انتقـال داده نمـی‌شود، به‌همین دلیل همه مؤلفه‌های فلورسـنس کلروفیـل در این دما، کاهش قابل توجهی نشان دادند.

توت‌فرنگی رقم 'چاندلر' از ارقام مهم اسپانیا و نواحی ساحلی جنوب آمریکا می‌باشد و مناسب منـاطق گـرم و یـا کشت‌های گلخانه‌ای است [۱۳]. این رقم برای منـاطقی بـا زمستان های سرد مناسب نبوده و از تحمل کمـی در برابـر دماهای پایین برخوردار است. ارقام 'تنسی بیوتی' و 'بلک مور' نیز که از ارقام اصلاحی در ایالت کالیفرنیا مـی‌باشـند، تحمـل چنـدانی در برابـر دماهـای پـایین نشـان ندادنـد، درحالی‌که رقم 'کارسنبرگ' (که منشـاء آن نـواحی شـمال اروپاست) با کمترین درصد نشت یونی و بیشترین ظرفیـت

فتوسنتزی (براساس مقدار کلروفیل برگ و مؤلفه‌های فلورسنس کلروفیل) از ارقام متحمل به دمای ۲۵- درجه سانتی‌گراد بود، لذا به نظر می‌رسد منشای ارقام در میزان تحمل آنها به سرما نقش داشته باشد. در آزمایشی، توانایی سازگاری به دمای پایین در نمونه‌هایی از آرابیدوپسیس که از مناطق گرم و سرد منشاء گرفته‌اند، با یکدیگرتفاوت زیادی نشان دادند که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد [۲۳].

نتیجه‌گیری

براساس نتایج تحقیق حاضر، رقم 'کارسنبرگ' به عنوان متحمل‌ترین رقم به دماهای پایین در مقایسه با سایر ارقام مورد آزمایش انتخاب و معرفی می‌گردد. ارقام 'کویین الیزا' و 'کردستان' به‌ترتیب در مقام دوم و سوم از نظر تحمل به یخزدگی قرار گرفتند، درحالی‌که ارقام 'چاندلر' و 'تنسی بیوتی' با بیشترین درصد نشت یونی برگ و بیشترین خسارت یخزدگی در مقایسه با سایر ارقام و کمترین مقدار کلروفیل برگ و همچنین کمترین مقدار نسبی مؤلفه‌های فلورسنس کلروفیل به عنوان ارقام حساس به دماهای پایین شناسایی شدند. رقم 'یالوا' که از ارقام اصلاح شده از کشور ترکیه است برخلاف سایر ارقام حساس، تا دمای ۲۰- درجه تحمل بسیار خوبی در برابر سرما نشان داد اما با کاهش دما به ۲۵- درجه سانتی‌گراد، خسارت یخزدگی در این رقم به‌طور قابل توجهی افزایش یافت و به‌طورکلی پاسخ این رقم به دماهای پایین بسیار متفاوت از سایر ارقام بود. ارقامی که تحمل بیشتری به سرما داشتند، می‌توانند در برنامه‌های اصلاحی تولید ارقام جدید به‌عنوان والد به‌کار گرفته شوند. هم‌چنین این ارقام منابع ارزشمندی برای پژوهش در زمینه مکانیسم‌های فیزیولوژیکی مقاومت به تنش سرما می‌باشند. نتایج پژوهش حاضر نشان داد شاخص فلورسنس کلروفیل به عنوان یک تکنیک مزرعه‌ای کارآمد و غیرتخریبی، کارآیی قابل توجهی در تجزیه و تحلیل فرآیندهای فتوسنتزی و ارزیابی سریع آسیب‌های غیرقابل مشاهده در برگ‌ها دارد و غربال ارقام توت‌فرنگی متحمل به سرمای زمستانه با این روش، به آسانی و در عین حال، با اطمینان و دقت خاصی امکان‌پذیر است.

منابع

۱. میرمحمدی میبدی ع م و ترکش اصفهانی س (۱۳۸۳) مدیریت تنش‌های سرما و یخزدگی گیاهان زراعی و باغی. انتشارات جهاد دانشگاهی واحد صنعتی اصفهان. اصفهان. ۳۱۲ ص.

2. Azzarello E, Mugnai S, Pandolfi C, Masi E, Marone E and Mancuso S (2009) Comparing image (fractal analysis) and electrochemical (impedance spectroscopy and electrolyte leakage) techniques for the assessment of the freezing tolerance in olive. Trees. 23(1): 159-167.

3. Baker NR and Rosenqvist E (2004) Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. Journal of Experimental Botany. 55(403): 1607-1621.

4. Berova M, Zlatev Z and Stoeva N (2002) Effect of paclobutrazol on wheat seedlings under low temperature stress. Bulg. Plant Physiol. 28(1-2): 75-84.

5. Bilger W, Schreiber U and Lange O (1987) Chlorophyll fluorescence as an indicator of heat induced limitation of photosynthesis in *Arbutus unedo* L. Plant Response to Stress. Pp. 391-399.

6. Björkman O and Demmig B (1987) Photon yield of O_2 evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. Planta. 170(4): 489-504.

7. Campos PS, Quartin V, Ramalho J and Nunes MA (2003) Electrolyte leakage and lipid degradation account for cold sensitivity in leaves of Coffea sp. plants. Journal of Plant Physiology. 160(3): 283-292.

8. Oliveira JG, Alves PL and Vitória AP (2009) Alterations in chlorophyll a fluorescence, pigment concentrations and lipid peroxidation to chillingtemperature in coffee seedlings. Environmental and Experimental Botany. 67(1): 71-76.

9. Ehlert B and Hincha DK (2008) Chlorophyll fluorescence imaging accurately quantifies freezing damage and cold acclimation responses in Arabidopsis leaves. Plant Methods. 4(1): 1-7.

10. Esra K, İŞLEK C and Üstün AS (2010) Effect of cold on protein, proline, phenolic compounds and chlorophyll content of two pepper (*Capsicum annuum* L.) varieties. Gazi University Journal of Science. 23(1): 1-6.

11. Gross J (1991) Pigments in vegetables: chlorophylls and carotenoids. Van Nostrand Reinhold. New York.

12. Hincha D, Sieg F, Bakaltcheva I, Koth H and Schmitt J (1996) Freeze-thaw damage to thylakoid membranes: specific protection by sugars and proteins. Advances in low-temperature biology (ed. PL Steponkus): 141-183.

13. Hokanson SC and Finn CE (2000) Strawberry cultivar use in North America. HortTechnology. 10(1): 94-106.

14. Ireland C, Baker N and Long S (1985) The role of carbon dioxide and oxygen in determining chlorophyll fluorescence quenching during leaf development. Planta. 165(4): 477-485.

15. Khanizadeh S and Deell J (2001) Chlorophyll fluorescence: a new technique to screen for tolerance of strawberry flowers to spring frost. Small Fruits Review. 1(3): 61-67.

16. Lang V, Mantyla E, Welin B, Sundberg B and Palva ET (1994) Alterations in water status, endogenous abscisic acid content, and expression of rab18 gene during the development of freezing tolerance in Arabidopsis thaliana. Plant Physiology. 104(4): 1341-1349.

17. Lichtenthaler HK and Rinderle U (1988) The role of chlorophyll fluorescence in the detection of stress conditions in plants. CRC Critical Reviews in Analytical Chemistry. 19(sup1): S29-S85.

18. Linden L, Palonen P and Hytönen T (2000) Evaluation of three methods to assess winter-hardiness of strawberry genotypes. Paper presented at the IV International Strawberry Symposium. P. 567.

19. Lukoševičiūtė V, Rugienius R, Baniulis D, Savickienė N, Brazaitytė A, Ruzgas V and Šlepetienė A (2014). Characterization of cold acclimation and cold hardiness of strawberry *in vitro* and *in vivo*. (Doctora Thesis), Aleksandro Stulginskio universitetas. Akademija, Lietuva.

20. Maxwell K and Johnson GN (2000) Chlorophyll fluorescence, a practical guide. Journal of Experimental Botany. 51(345): 659-668.

21. McKenzie J, Weiser C and Burke M (1974) Effects of Red and Far Red Light on the Initiation of Cold Acclimation in *Cornus stolonifera* Michx. Plant Physiology. 53(6): 783-789.

22. Miralles-Crespo J, Martínez-López JA, Franco-Leemhuis JA and Bañón-Arias S (2011) Determining freezing injury from changes in chlorophyll fluorescence in potted oleander plants. HortScience. 46(6): 895-900.

23. Mishra A, Mishra KB, HöermillerII, Heyer AG and Nedbal L (2011) Chlorophyll fluorescence

emission as a reporter on cold tolerance in *Arabidopsis thaliana* accessions. Plant Signaling and Behavior. 6(2): 301-310.

24. Navari-Izzo F, Quartacci MF, Pinzino C, Vecchia FD and Sgherri CL (1998) Thylakoid-bound and stromal antioxidative enzymes in wheat treated with excess copper. Physiologia Plantarum. 104(4): 630-638.
25. Nunes MES and Smith G (2003) Electrolyte leakage assay capable of quantifying freezing resistance in rose clover. Crop Science. 43(4): 1349-1357.
26. Ouellet F and Charron JB (2013) Cold acclimation and freezing tolerance in plants. eLS, John Wiley & Sons, Ltd. www.els.net: 1-6.
27. Peguero-Pina JJ, Morales F and Gil-Pelegrín E (2008) Frost damage in *Pinus sylvestris* L. stems assessed by chlorophyll fluorescence in cortical bark chlorenchyma. Annals of Forest Science. 65(8): 1.
28. Prášil I and Zámečník J (1998) The use of a conductivity measurement method for assessing freezinginjury: I. Influence of leakage time, segment number, size and shape in a sample on evaluation of the degree of injury. Environmental and Experimental Botany. 40(1): 1-10.
29. Pritts M, Worden K and Eames-Sheavly M (1989) Rowcover material and time ofapplication and removal affect ripening and yield of strawberries. Journal of the American Society for Horticultural Science. USA.
30. Rahbarian P, Afsharmanesh G and Shirzadi M (2010) Effects of drought stress and manure on relative water content and cell membrane stability in dragonhead (*Dracocephalum moldavica*). Plant Echophysiology. 2(1): 13-19.
31. Rajashekar CB and Panda M (2014) Water stress is a component of cold acclimation process essential for inducing full freezing tolerance in strawberry. Scientia Horticulturae. 174: 54-59.
32. Ritchie SW, Nguyen HT and Holaday AS (1990) Leaf water content and gas-exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. Crop Science. 30(1): 105-111.
33. Sairam R, Deshmukh P and Saxena D (1998) Role of antioxidant systems in wheat genotypes tolerance to water stress. Biologia Plantarum. 41(3): 387-394.
34. Steponkus PL (1984) Role of the plasma membrane in freezing injury and cold acclimation. Annual Review of Plant Physiology. 35(1): 543-584.
35. Turner J, Tanino K and Stushnoff C (1993) Evaluation of low temperature hardiness of strawberry plants under field and controlled conditions. Canadian Journal of Plant Science. 73(4): 1123-1125.
36. Wagner I (1992) Measurement of frost resistance in Rhododendron-hybrids. V International Rhododendron Conference. 364.
37. Walker DA, Sivak MN, Prinsley RT and Cheesbrough JK (1983) Simultaneous measurement of oscillations in oxygen evolution and chlorophyll a fluorescence in leaf pieces. Plant Physiology. 73(3): 542-549.
38. Yang C, Horn R and Paulsen H (2003) The light-harvesting chlorophyll a/b complex can be reconstituted *in vitro* from its completely unfolded apoprotein. Biochemistry. 42(15): 4527-4533.