اثر پاکلوبوترازول و کلسیم در افزایش تحمل به سرمازدگی دانهال‌ها و درختان پسته

وحید مظفری*[۱]، زهره جعفری[۲]

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۱/۲۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۷/۲۴)

چکیده

به منظور ارزیابی اثر پاکلوبوترازول، کلسیم و دما بر مقاومت به سرمازدگی دانهال‌های پسته (رقم اکبری)، آزمایشی در شرایط گلخانه و باغی در قالب طرح کاملاً تصادفی به صورت فاکتوریل با سه تکرار انجام شد. تیمارها شامل پاکلوبوترازول (۰، ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر)، کلسیم (۰، ۳ و ۶ گرم بر لیتر از منبع کلات کلسیم) و دما (۰، ۲- و ۴- در گلخانه و ۰، ۲- و ۴+ درجه سلسیوس در باغ) بودند. نتایج نشان داد که با کاهش دما کلروفیل کل و کاروتنوئید کاهش یافت، ولی مصرف توأمان پاکلوبوترازول و کلسیم مقدار این پارامترها را نسبت به شاهد افزایش داد. هم‌چنین با کاهش دما میزان نشت یونی افزایش پیدا کرد در حالی که کاربرد پاکلوبوترازول و کلسیم میزان این پارامتر را نسبت به دانهال‌های شاهد کاهش داد. اندازه‌گیری پارامترهای تنظیم کننده اسمزی نشان داد، با کاهش دما غلظت نشاسته و پروتئین محلول در برگ کاهش یافت. لیکن با مصرف توأمان تیمارهای پاکلوبوترازول (۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) و کلسیم (۶ گرم بر لیتر) در دمای ۴- درجه سلسیوس، غلظت پرولین، فنل کل، قندهای محلول، نشاسته و پروتئین محلول به ترتیب ۱۱۲، ۲۸، ۲۰، ۸۰ و ۱۹۶ درصد نسب به شاهد افزایش یافت نتایج آزمایش باغی نیز نشان داد که با کاهش دما میزان نشت یونی در میوه‌های شاهد افزایش یافت. کاربرد تیمارهای پاکلوبوترازول و کلسیم سبب کاهش نشت یونی گردید، به گونه‌ای که کم‌ترین درصد نشت یونی در دمای ۴+، صفر و ۲- درجه سلسیوس زمانی مشاهده گردید که پاکلوبوترازول و کلسیم به صورت توأمان و در بالاترین سطوح استفاده شد و میزان نشت یونی به ترتیب ۲۷، ۱۲ و ۳۸ درصد نسبت به میوه‌های شاهد کاهش یافت. چنین استنباط می‌شود که کاربرد توامان کلسیم و پاکلوبوترازول می‌تواند خسارت ناشی از سرمازدگی را در دانهال ها و درختان پسته کاهش دهد.

واژه‌های کلیدی :کلروفیل a، کاروتنوئید، نشت یونی، پرولین، قندهای محلول

مظفری و.، جعفری ز. ۱۴۰۲. اثر پاکلوبوترازول و کلسیم در افزایش تحمل به سرمازدگی دانهال‌ها و درختان پسته. تحقیقات کاربردی خاک. جلد ۱۱، شماره ۲. صفحه: ۸۲-۹۴.

۱- استاد گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی دانشگاه ولی عصر(عج) رفسنجان (مکاتبه کننده)
۲-دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی دانشگاه ولی عصر(عج) رفسنجان
* پست الکترونیک: mozafari@vru.ac.ir

مقدمه

تنش‌ها یکی از مهمترین فاکتورهای محدودکننده رشد گیاهان می‌باشند (Bradford & Hsiao, 1982). گیاهان برای اینکه در بهترین حالت رشد خود قرار بگیرند به محدوده‌ی دمایی خاصی احتیاج دارند و خارج شدن از این محدوده بهعنوان تنش محسوب می‌شود. خسارت ناشی از دمای پایین در گیاهان به دو بخش سرمازدگی و یخزدگی تقسیم می‌شود. در حالت اول دما بالای نقطه انجماد (بیشتر از صفر درجه سلسیوس) و در حالت دوم دما کمتر از نقطه انجماد (کمتر از صفر درجه سلسیوس) است (Mahajan & Tureja, 2005). حساسیت بافت‌های گیاهی به آسیب‌دیدگی ناشی از سرما و یخزدگی متفاوت است. برگ‌ها توانایی سازگاری کمی دارند و ریشه‌ها کمتر از ساقه‌هایی که سرمای زمستانی را گذرانده‌اند به سرما مقاوم هستند. هم‌چنین جوانه‌های گل در حال خواب، بیشترین مقاومت را نسبت به سرما دارا هستند، در حالی‌که با تورم جوانه، مقاومت افت کرده و در گل‌های باز شده به حداقل می‌رسد (Westood, 1993).

افت دما در اوایل بهار و در نتیجه سرمازدگی درختان پسته (*Pistachio vera L.*) سبب شده که این محصول جزو محصولات خطر پذیر به شمار آید. براساس پژوهش‌های پوررجبی نژاد (Pourrajabi Neja, 2013) خسارات وارده بر پسته در اثر تنش سرما چشمگیر بوده است. رقم کله‌قوچی به دلیل زود گل بودن ، حساس‌ترین رقم به سرمای بهاره می‌باشد. حساس‌ترین مرحله رشد و نمو پسته به سرما، مرحله ظهور برگ هم زمان با گلدهی می‌باشد. مظفری و یزدانپناه (Mozafari & Yazdanpanah, 2018) بیان کردند که این مرحله معمولا در اواخر اسفند تا اوایل اردیبهشت رخ می‌دهد. در این زمان دما کمتر از ۴ و نزدیک به صفر درجه سلسیوس می‌باشد که سبب ایجاد خسارت به جوانه‌های گل پسته می‌شود و تولید محصول را با کاهش مواجه می‌سازد.

کاربرد مواد شیمیایی به عنوان یکی از روش‌های غیرفعال مقابله با تنش‌های محیطی از جایگاه ویژه‌ای برخوردار است (Marshner, 1995). ترکیبات تریازولی، گروهی از کندکننده‌ها و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی هستند که برخی از پژوهشگران آن را در مقاوم نمودن به سرما گزارش کرده‌اند (Mahmut Sinan *et al*., 2009). امروزه مشتقات تجاری تریازولی مانند پاکلوبوترازول در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری به عنوان کندکننده رشد گیاه استفاده می‌شوند (Srivastav *et al*., 2003).

همچنین پژوهشگران دریافته‌اند که ارتباط بین بهبود وضعیت تغذیه‌ای گیاه و افزایش تحمل به تنش سرما حائز اهمیت می‌باشد. به طوری‌که تغذیه مناسب و متعادل، به عنوان یکی از روش‌های بلندمدت محافظت گیاهان در برابر سرمازدگی بیان شده است که باعث کاهش خسارت سرمازدگی از طریق کاهش حساسیت گیاهان به دمای پایین می‌شود (Waraich *et al*., 2012) کلسیم یک کاتیون دو ظرفیتی (Ca^{2+}) و به عنوان عنصر ضروری گیاه شناخته شده است. تحقیقات نشان داده است که کلسیم در بهبود استحکام سلول گیاهی و تأخیر در فرایند پیری نقش مهمی را ایفا می‌کند (Ferguosen, 1984). با توجه به اهمیت اقصادی پسته و پدیده سرمازدگی که تولید این محصول را با مشکل مواجه می‌سازد، پژوهش در مورد کاهش و یا به حداقل رساندن اثرات سو ناشی از سرمازدگی زمینه را برای افزایش عملکرد فراهم می‌نماید. بنابراین تأثیر محلول‌پاشی پاکلوبوترازول و کلسیم هدف این پژوهش در کاهش اثرات سرمازدگی پسته می‌باشد.

مواد و روش‌ها

آزمایش گلخانه‌ای

خاک مورد استفاده در این طرح از منطقه کشکوئیه واقع در شهرستان رفسنجان از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری تهیه و پس از هوا خشک کردن و عبور از الک ۲ میلی متری، بعضی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آن از جمله pH در خیمر اشباع به وسیله الکترود شیشه ای (۷/۵۰) ، قابلیت هدایت الکتریکی عصاره اشباع با استفاده از دستگاه هدایت سنج (۰/۹۸ دسی‌زیمنس بر متر)، سیلت (۱۰/۰ درصد)، رس (۱۱/۵ درصد)، شن (۷۸/۵ درصد)، بافت خاک (لوم‌شنی)، ظرفیت زراعی(۲۰درصد)، کربنات کلسیم معادل به روش خنثی سازی و با اسیدکلریدریک (۱۷/۱۲ درصد)، فسفر قابل‌استفاده به روش اولسن (۸میلی‌گرم برکیلوگرم خاک)، غلظت پتاسیم عصاره گیری شده با استات آمونیوم (۱۷۱میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک)، و غلظت مس، روی، آهن و منگنز قابل استفاده به روش DTPA به ترتیب ۱/۵۲، ۰/۳۲، ۱/۳۴ و ۱/۶۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک تعیین گردید. در این آزمایش از پسته رقم تجاری کله قوچی استفاده گردید. بذور مورد نظر از پژوهشکده پسته تهیه و

پس از جوانه‌زدن، جهت کشت به گلدانهای پرشده از خاک منتقل شدند. به منظور بررسی اثر پاکلوبوترازول، کلسیم و هم‌چنین برهم‌کنش آن‌ها در دماهای مختلف، بر روی دانهال‌های پسته رقم کله‌قوچی، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در گلخانه دانشگاه ولی‌عصر(عج) رفسنجان انجام شد. تیمارها شامل پاکلوبوترازول (۰، ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر)، کلسیم (۰، ۳ و ۶ گرم بر لیتر از منبع کلات‌کلسیم) و دما (۰، ۲- و ۴- درجه سلسیوس) بودند. ۸۱گلدان پلاستیکی نیم کیلویی از خاک مورد نظر پر شد. سپس در هرگلدان ۳ عدد بذر جوانه زده در عمق ۲ سانتی‌متری کشت گردید. هفته دهم پس از کاشت، هنگامی که دانهال‌ها پسته در مرحله ۶ تا ۸ برگی بودند، تیمارها اعمال گردید. بدین صورت که در ۲ نوبت با فاصله ۳ روز، گلدان‌های تحت تیمار با کلسیم و پاکلوبوترازول تا مرحله آب‌چک محلول‌پاشی شدند (برای تیمار شاهد از آب مقطر استفاده شد). سپس بعد از گذشت ۷۲ ساعت از محلول پاشی دوم، دانهال‌ها با آب مقطر اسپری و جهت سرمازدگی مصنوعی، گلدان‌ها به مدت سه ساعت به اتاقک رشد در دماهای صفر، ۲- و ۴- درجه‌سلسیوس منتقل شدند. سپس برگ‌ها از ساقه‌های دانهال‌ها جدا و در دمای ۸۰- درجه سلسیوس نگه‌داری و برای مراحل مختلف آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند. برای اندازه‌گیری کلروفیل کل و کاروتنوئیدها از ۰/۲۵ گرم نمونه برگ تازه استفاده شد (Porra, 2002). برای اندازه‌گیری پایداری غشای سلولی برگ(نشت یونی)، میزان قابلیت هدایت الکتریکی برگ‌ها بعد از اعمال تیمار سرمادهی اندازه‌گیری شد (Lutts *et al*., 1996). پرولین (Paquin & Lechasseur, 1979)، ترکیبات فنلی (Isfendiyaroglu & Zeker, 2002)، قندهای محلول (Irigoyen *et al*., 1992)، پروتئین(Bradford, 1976) و نشاسته(Sene *et al*., 1997) نیز مورد سنجش قرار گرفت.

آزمایش باغی

به منظور بررسی تیمارها بر مقاومت به سرمازدگی میوه پسته رقم اکبری، آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در ۳ تکرار بر روی درختان اکبری باغ پسته دانشگاه ولی‌عصر(عج) رفسنجان انجام شد. درختان به صورت تصادفی انتخاب (۸۱درخت) و ۳ شاخه‌از هر درخت نشانه‌گذاری گردیدند. تیمارها شامل پاکلوبوترازول (صفر، ۷۵و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) و کلسیم (صفر، ۷۵و ۱۵۰گرم بر لیتر) و دما (۴+، ۰ و ۲- درجه سلسیوس) بودند. محلول-پاشی خوشه پسته در اواسط فروردین در صبح زود هنگامی که سرعت باد در حداقل و دمای هوا مناسب بود تا مرحله آبچک برای هر تیمار صورت گرفت. بعداز گذشت ۷۲ساعت از محلول پاشی دوم، میوه‌ها از درختان جدا و جهت سرمازدگی در دماهای صفر، ۴+ و ۲- درجه‌سلسیوس به داخل اتاقک‌رشد منتقل شدند. برای اندازه‌گیری نشت یونی میوه‌ها، میزان قابلیت هدایت الکتریکی آن‌ها بعد از اعمال تیمار سرمادهی انجام شد(Lutts *et al*., 1996).

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه آماری داده‌های حاصل از تیمارها با استفاده از نرم-افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. همچنین مقایسه میانگین با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن، در سطح ۵ درصد صورت گرفت. برای ترسیم نمودارها و جدول ها از نرم افزار Word و Excel استفاده شد.

نتایج

نشت یونی

نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد، در شرایطی که هیچ گونه تیماری اعمال نگردید (شاهد)، با کاهش دما از صفر به ۲- و ۴- درجه سلسیوس، نشت یونی به ترتیب ۲۱ و ۵۴ درصد افزایش یافت، اما با مصرف ۳ گرم بر لیتر کلسیم در فقدان پاکلوبوترازول، درصد نشت یونی به ترتیب ۴، ۵ و ۱۰ درصد نسبت به دماهای یاد شده در تیمار شاهد، کاهش یافت. با مصرف بیشتر کلسیم (۶ گرم بر لیتر) و در فقدان پاکلوبوترازول، درصد نشت یونی به ترتیب ۹، ۱۲ و ۱۸ درصد نسبت به دماهای یاد شده در تیمار شاهد، کاهش یافت. همان‌گونه که مشاهده می‌شود تیمار ۶ گرم بر لیتر نسبت به ۳ گرم بر لیتر کلسیم درصد نشت یونی را نزدیک به دو برابر کاهش داده است، با اعمال به تنهایی ۱۵۰میلی‌گرم بر لیتر پاکلوبوترازول نیز این کاهش به ترتیب ۱۷، ۲۱ و ۳۳ درصد رسید، اما با مصرف توأمان پاکلوبوترازول (۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) و کلسیم (۶ گرم بر لیتر) درصد نشت یونی در دمای صفر درجه سلسیوس از ۴۲/۳ به ۲۰/۱ و در دمای ۲-و ۴-درجه‌سلسیوس به ترتیب از ۵۱/۲ و ۶۵/۲ به ۲۶/۰ و ۳۲/۷ درصد رسید، به‌عبارتی دیگر نزدیک به ۵۰ درصد، نشت یونی با کاهش مواجه شد. (جدول ۱).

جدول۱- مقایسه میانگین بر همکنش اثر پاکلوبوترازول و کلسیم بر درصد نشت یونی برگ دانهال‌های پسته رقم کله‌قوچی در شرایط تنش سرمایی

Table 1. Mean comparison of the interaction of Paclobotrazol and calcium on leaf ion leakage percentage of pistachio seedlings of Kaleguchi cultivar in cold stress conditions

Paclobotrazol (mg l^{-1})	Calcium (g l^{-1})	Cold stress (° C)		
		0	-2	-4
0	0	42.3^{gh}	51.2^{d}	65.2^{a}
0	3	40.8^{ij}	48.4^{e}	58.4^{b}
0	6	38.4^{im}	45.3^{f}	53.4^{c}
75	0	39.6^{k}	41.8^{hi}	50.8^{d}
75	3	36.0^{n}	38.3^{m}	48.7^{e}
75	6	34.7	30.3^{q}	45.6^{f}
150	0	35.3^{n}	40.4^{jk}	43.2^{g}
150	3	27.5^{r}	33.6^{p}	39.3^{ki}
150	6	20.1^{t}	26.0^{s}	32.7^{p}

میانگین‌های حداقل بایک حروف مشترک براساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Averages with same letters in each row or column are not significantly different at level of 5% according to Duncan test.

کلروفیل کل

همان گونه که در جدول مقایسه میانگین‌ها مشاهده می‌شود (جدول۲)، در دانهال‌های شاهد، با کاهش دما از صفر به ۴- درجه سلسیوس، میزان کلروفیل کل از ۱/۷۹ به ۰/۸۳ میلیگرم بر گرم وزن تر کاهش یافت. به عبارت دیگر غلظت کلروفیل کل حدود ۵۳ درصد کاهش یافت، این در حالی است که با کاربرد ۶ گرم بر لیتر کلسیم بدون حضور پاکلوبوترازول، با کاهش دما از صفر به ۲- و ۴- درجه سلسیوس میزان کلروفیل کل ۱۱، ۱۹ و ۹۱ درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت. هم‌چنین با استفاده از پاکلوبوترازول(۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) به تنهایی، کاهش معنی‌داری در غلظت کلروفیل کل دیده نشد. لیکن بیش‌ترین مقدار کلروفیل کل در مصرف توأمان بالاترین غلظت کلسیم و پاکلوبوترازول بوجود آمد و در دماهای صفر، ۲- و ۴- درجه سلسیوس باعث افزایش غلظت کلروفیل کل به ترتیب ۲۸، ۳۱ و ۱۴۵ درصد نسبت به شاهد شد.

کاروتنوئید

نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد با کاهش دما از صفر به ۲- و ۴- درجه سلسیوس، در شرایطی که هیچ‌گونه تیماری اعمال نشد، کاروتنوئید به ترتیب ۹ و ۴۳ درصد کاهش یافت. در حالی که محلول‌پاشی ۶ گرم بر لیتر کلسیم به تنهایی در دمای صفر درجه سلسیوس، موجب افزایش این پارامتر به میزان ۱۱ درصد نسبت به تیمار شاهد گردید. همچنین با کاهش دما به ۲- و ۴- درجه سلسیوس، میزان کاروتنوئید به ترتیب ۱۰و ۶۸ درصد نسبت به دانهال‌های شاهد افزایش یافت. لیکن با مصرف ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر پاکلوبوترازول و عدم حضور کلسیم، میزان کاروتنوئید به ترتیب در دماهای صفر، ۲-و ۴-درجه سلسیوس ۸، ۱۲ و ۱۷ درصد نسبت به شاهد افزایش داشت(جدول ۳).

پرولین

نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها بر میزان پرولین برگ نشان داد با کاهش دما از صفر به ۴- درجه سلسیوس در تیمار شاهد، غلظت پرولین افزایش یافت. به طوری که میزان پرولین از ۲۸/۲ در دمای صفر درجه سلسیوس به ۳۸/۱ میکروگرم بر گرم وزن تر در دمای ۴- درجه سلسیوس در تیمار شاهد رسید و افزایش ۳۵ درصدی را نسبت به شاهد نشان داد. با این حال بیشترین میزان پرولین در مصرف توأمان و بالاترین سطوح غلظت پاکلوبوترازول و کلسیم (به ترتیب ۱۵۰ میلی‌گرم و ۶ گرم بر لیتر) در دمای ۴- درجه سلسیوس رخ داده است(جدول ۴).

جدول۲- مقایسه میانگین بر همکنش اثر پاکلوبوترازول و کلسیم بر مقدارکلروفیل (میلی‌گرم برگرم وزن تر) برگ پسته در شرایط تنش سرمایی

Table 2. Mean comparison of interaction of Paclobotrazol and calcium on total chlorophyll content (mg g^{-1} FW) of pistachio leaf in cold stress conditions

Paclobotrazol (mg l^{-1})	Calcium (g l^{-1})	Cold stress (° C)		
		0	-2	-4
0	0	1.79^{h}	1.63^{i}	0.83^{k}
0	3	1.94^{f}	1.73^{h}	1.51^{j}
0	6	1.99^{ef}	1.94^{f}	1.59^{ij}
75	0	1.79^{h}	1.62^{i}	1.50^{j}
75	3	1.94^{f}	1.90^{f}	1.77^{h}
75	6	2.04^{de}	1.95^{fg}	1.95^{fg}
150	0	1.96^{fg}	1.91^{f}	1.90^{f}
150	3	2.10^{bc}	2.05^{cd}	2.08^{c}
150	6	2.30^{a}	2.14^{b}	2.04^{e}

میانگین‌های حداقل بایک حروف مشترک براساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Averages with same letters in each row or column are not significantly different at level of 5% according to Duncan test

جدول۳- مقایسه میانگین بر همکنش اثر پاکلوبوترازول و کلسیم بر مقدارکاروتنوئید (میلی‌گرم بر گرم وزن تر) برگ پسته در شرایط تنش سرمایی

Table 3. Mean comparison of interaction of Paclobotrazol and calcium on carotenoid content (mg g^{-1} FW) of pistachio leaf in cold stress conditions

Paclobotrazol (mg l^{-1})	Calcium (g l^{-1})	Cold stress (° C)		
		0	-2	-4
0	0	0.60^{f}	0.55^{gh}	0.34^{k}
0	3	0.62^{d}	0.59^{fg}	0.46^{cd}
0	6	0.67^{bc}	0.61^{de}	0.60^{f}
75	0	0.59^{fg}	0.49^{hi}	0.41^{j}
75	3	0.61^{de}	0.60^{f}	0.45^{ij}
75	6	0.62^{d}	0.61^{de}	0.55^{gh}
150	0	0.65^{bc}	0.62^{d}	0.40^{j}
150	3	0.68^{bc}	0.75^{b}	0.42^{j}
150	6	0.87^{a}	0.82^{a}	0.59^{fg}

میانگین‌های حداقل بایک حروف مشترک براساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Averages with same letters in each row or column are not significantly different at level of 5% according to Duncan test

فنل کل

با توجه به نتایج مقایسه میانگین‌ها با کاهش دما میزان فنل برگ افزایش یافت. در شرایطی که تنش سرما (دمای۲- و ۴- درجه سلسیوس)، بدون کاربرد پاکلوبوترازول و کلسیم اعمال شد، میزان فنل کل به ترتیب ۱۰ و ۶ درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت. این در حالی است که مصرف ۶ گرم بر لیتر کلسیم و عدم مصرف پاکلوبوترازول، موجب افزایش معنی‌دار محتوای ترکیبات فنلی به میزان۹، ۱۰ و ۲۲ درصد به ترتیب در دمای صفر، ۲- و۴- درجه سلسیوس نسبت به تیمارهای شاهد شد. همچنین با مصرف ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر پاکلوبوترازول در نبود کلسیم، با کاهش دما از صفر به ۴- درجه سلسیوس به ترتیب به میزان ۱۱ و ۱۶ درصد محتوای ترکیبات فنل نسبت به تیمارهای شاهد افزایش یافت. با این وجود بیش‌ترین غلظت ترکیبات فنل مربوط به مصرف توأمان این دو تیمار(۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر پاکلوبوترازول و ۶ گرم بر لیتر کلسیم) در دمای ۴- درجه- سلسیوس بود و سبب افزایش ۲۸ درصدی این پارامتر نسبت به تیمار شاهد شده است(جدول ۵).

جدول ۴- مقایسه میانگین برهمکنش اثر پاکلوبوترازول و کلسیم بر مقدار پرولین(میکروگرم بر گرم وزن تر) برگ پسته در شرایط تنش سرمایی

Table 4. Mean comparison of interaction of Paclobotrazol and calcium on proline content (µg g^{-1} FW) of pistachio leaf in cold stress conditions

Paclobotrazol (mg l^{-1})	Calcium (g l^{-1})	Cold stress (° C)		
		0	-2	-4
0	0	28.2^{m}	36.4^{l}	38.1^{kl}
0	3	32.6^{lm}	39.1^{k}	51.2^{gh}
0	6	34.4^{l}	46.5^{hi}	68.2^{b}
75	0	33.5^{lm}	27.8^{m}	49.4^{h}
75	3	33.1^{lm}	43.0^{jk}	52.0^{g}
75	6	46.2^{ij}	75.2^{g}	57.4^{d-f}
150	0	34.5^{l}	52.7^{g}	53.5^{fg}
150	3	29.8^{nm}	58.3^{de}	62.3^{cd}
150	6	53.6^{f}	67.4^{bc}	80.9^{a}

میانگین‌های حداقل بایک حروف مشترک براساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Averages with same letters in each row or column are not significantly different at level of 5% according to Duncan test

قندهای محلول

براساس نتایج مقایسه میانگین‌ها در شرایطی که هیچ گونه تیماری اعمال نشد (شاهد)، با کاهش دما از صفر به ۴- درجه سلسیوس، قندهای محلول ۲۴ درصد افزایش یافت، لیکن با مصرف ۶ میلی‌گرم بر لیتر کلسیم افزایش ۲۵ و ۱۱ درصدی این پارامتر نسبت به تیمار شاهد به ترتیب در دمای صفر و ۴- درجه سلسیوس مشاهده گردید. اما مصرف ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر پاکلوبوترازول به تنهایی، موجب افزایش قندهای محلول به میزان ۳۰ و ۱۲ درصد به ترتیب در دمای صفر و ۴- درجه سلسیوس نسبت به تیمار شاهد گردید. هم‌چنین بیشترین غلظت قندهای محلول برگ در بالاترین سطح مصرف پاکلوبوترازول و کلسیم در دمای ۴- درجه سلسیوس رخ داد(جدول ۶).

نشاسته

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد، باکاهش دما از صفر به ۴- درجه‌سلسیوس و بدون اعمال سطوح تیماری میزان نشاسته ۲۳ درصد کاهش یافت، لیکن با مصرف فقط ۶ گرم بر لیتر کلسیم یا ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر پاکلوبوترازول نه تنها مقدار نشاسته کاهش نیافت بلکه ۱۶ و ۱۳ درصد افزایش یافت. لیکن مصرف توامان این دو سطوح تیماری این افزایش به ۳۹ درصد رسید(جدول ۷).

پروتئین محلول

نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد، با کاهش دما از صفر به ۴- درجه سلسیوس در تیمار شاهد، میزان پروتئین ۷۴ درصد کاهش یافت، اما کاربرد ۶ گرم بر لیتر کلسیم در فقدان پاکلوبوترازول، میزان پروتئین از دمای صفر تا ۴- درجه سلسیوس ۳۹ درصد کاهش داشت. نتایج آزمایش همچنین نشان داد که با کاربرد ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر پاکلوبوترازول و بدون مصرف کلسیم میزان پروتئین از دمای صفر تا ۴- درجه سلسیوس ۱۸ درصد کاهش داشت. لیکن با مصرف به تنهایی ۱۵۰ میلی‌گرم پاکلوبوترازول بر لیتر کاهش معنی‌داری در مقدار پروتئین‌های محلول دیده نشد. با این حال بیش‌ترین مقدار پروتئین‌های محلول با مصرف توأمان بالاترین سطوح پاکلوبوترازول و کلسیم ایجاد شد و نسبت به شاهد در همان دماهای صفر، ۲- و ۴- درجه سلسیوس به ترتیب ۴۳، ۱۱۷ و ۱۹۶ درصد افزایش یافت(جدول ۸).

جدول ۵- مقایسه میانگین برهمکنش اثر پاکلوبوترازول و کلسیم بر مقدار فنل کل (میکرو گرم بر گرم وزن تر) برگ پسته در شرایط تنش سرمایی

Table 5. Mean comparison of interaction of Paclobotrazol and calcium on total phenol content (µg g^{-1} FW) of pistachio leaf in cold stress conditions

Paclobotrazol (mg l^{-1})	Calcium (g l^{-1})	Cold stress (° C)		
		0	-2	-4
0	0	53.4^{l}	58.2^{gh}	56.6^{j}
0	3	55.2^{k}	59.3^{gh}	58.2^{gh}
0	6	58.7^{h}	64.2^{ef}	69.5^{b}
75	0	51.6^{op}	52.9^{mn}	60.3^{fg}
75	3	52.2^{n}	60.8^{f}	61.5^{f}
75	6	54.3^{k}	65.2^{e}	65.2^{e}
150	0	47.2^{q}	51.8^{n}	66.2^{cd}
150	3	50.3^{p}	33.7^{i}	39.2^{c}
150	6	51.2^{op}	26.2^{ef}	32.9^{a}

میانگین‌های حداقل بایک حروف مشترک براساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Averages with same letters in each row or column are not significantly different at level of 5% according to Duncan test

جدول۶- مقایسه میانگین بر همکنش اثر پاکلوبوترازول و کلسیم بر مقدار قندهای محلول (میلی‌گرم بر گرم وزن تر) برگ پسته در شرایط تنش سرمایی

Table 6. Mean comparison of interaction of Paclobotrazol and calcium on the soluble sugars content (mg g^{-1} FW) of pistachio leaf in cold stress conditions

Paclobotrazol (mg l^{-1})	Calcium (g l^{-1})	Cold stress (° C)		
		0	-2	-4
0	0	12.5^{p}	13.5^{o}	15.5^{k}
0	3	13.7^{o}	14.4^{n}	16.5^{h}
0	6	15.7^{jk}	14.4^{n}	17.2^{f}
75	0	14.9^{m}	15.1^{lm}	16.5^{h}
75	3	16.0^{j}	16.2^{i}	17.0^{f}
75	6	16.3^{hi}	16.7^{fgh}	18.2^{b}
150	0	16.2^{i}	17.1^{ef}	17.4^{cde}
150	3	16.4^{h}	17.3^{de}	17.9^{bc}
150	6	17.5^{cd}	17.8^{c}	18.7^{a}

میانگین‌های حداقل بایک حروف مشترک براساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Averages with same letters in each row or column are not significantly different at level of 5% according to Duncan test

جدول ۷- مقایسه میانگین برهمکنش اثر پاکلوبوترازول و کلسیم بر مقدار نشاسته (میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) پسته در شرایط تنش سرمایی

Table 7. Mean comparison of interaction of Paclobotrazol and calcium on starch content (mg g^{-1} DW) of pistachio leaf in cold stress conditions

Paclobotrazol (mg l^{-1})	Calcium (g l^{-1})	Cold stress (° C)		
		0	-2	-4
0	0	80.4^{o}	71.3^{p}	62.2^{r}
0	3	93.5^{l}	78.2^{q}	75.0^{pq}
0	6	123.4^{c}	89.3^{n}	93.2^{l}
75	0	97.3^{jik}	85.7^{n}	85.1^{n}
75	3	103.2^{g}	91.4^{m}	98.3^{jk}
75	6	124.8^{c}	107.7^{fg}	102.3^{h}
150	0	120.1^{d}	96.4^{k}	90.7^{m}
150	3	134.1^{b}	115.7^{de}	101.4^{hj}
150	6	176.4^{a}	122.2^{c}	112.1^{e}

میانگین‌های حداقل بایک حروف مشترک براساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Averages with same letters in each row or column are not significantly different at level of 5% according to Duncan test

نشت یونی میوه‌های پسته(نتایج باغ)

بر طبق جدول مقایسه میانگین‌ها، با کاهش دما از صفر به ۲- درجه سلسیوس، میزان نشت یونی از۲۳/۷ به ۴۶/۶ درصد رسید. به‌عبارتی با کاهش دما، میزان نشت یونی ۹۰ درصد افزایش یافت. باکاربرد ۶ گرم بر لیتر کلسیم به تنهایی، با کاهش دما از ۴+ به صفر و ۲- درجه سلسیوس، میزان نشت یونی به ترتیب ۱۰، ۶ و ۲۳ درصد نسبت به تیمارهای شاهد کاهش یافت. با استفاده از ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر پاکلوبوترازول به تنهایی، درصد نشت یونی با کاهش دما از ۴+ به صفر و ۲- درجه سلسیوس، به ترتیب ۹، ۴ و ۲۳ نسبت به شاهد کاهش یافت. با این وجود تأثیر برهم-کنش ۶ گرم بر لیتر کلسیم و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر بر کاهش میزان نشت یونی در هر سه تنش سرمایی، مخصوصاً تنش ۲- درجه سلسیوس چشمگیر بود، به صورتی که نشت یونی میوه‌های پسته را از ۴۶/۶ به ۲۸/۶ درصد رساند و این پارامتر در حدود ۴۰ درصد کاهش نشان داد(جدول ۹).

جدول۸- مقایسه میانگین بر همکنش اثر پاکلوبوترازول و کلسیم بر مقدارپروتئین‌های محلول برگ (میلی‌گرم بر گرم وزن تر) پسته در شرایط تنش سرمایی

Table 8. Mean comparison of interaction of Paclobotrazol and calcium on soluble proteins content (mg g^{-1} fw) of pistachio leaf in cold stress conditions

Paclobotrazol (mg l^{-1})	Calcium (g l^{-1})	Cold stress (° C)		
		0	-2	-4
0	0	0.104^{ij}	0.068^{n}	0.027^{p}
0	3	0.114^{f}	0.075^{m}	0.051^{o}
0	6	0.120^{e-h}	0.083^{mn}	0.073^{m}
75	0	0.107^{hi}	0.092^{j}	0.088^{klm}
75	3	0.112^{gi}	0.108^{hi}	0.117^{ef}
75	6	0.131^{bc}	0.123^{d-g}	0.120^{e-f}
150	0	0.131^{bc}	0.130^{bc}	0.129^{cde}
150	3	0.138^{b}	0.144^{ab}	0.109^{gh}
150	6	0.149^{a}	0.148^{a}	0.079^{m}

میانگین‌های حداقل بایک حروف مشترک براساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Averages with same letters in each row or column are not significantly different at level of 5% according to Duncan test

جدول۹- مقایسه میانگین بر همکنش اثر پاکلوبوترازول و کلسیم بر مقدار درصد نشت‌یونی میوه پسته رقم اکبری تحت تنش سرما

Table 9. Mean comparison of the interaction of Paclobotrazol and calcium on leaf ion leakage percentage of pistachio fruit of Akbari cultivar in cold stress condition

Paclobotrazol (mg l^{-1})	Calcium (g l^{-1})	Cold stress (° C)		
		+4	0	-2
0	0	23.7^{i}	24.6^{h}	46.6^{a}
0	3	21.6^{m}	23.4^{ij}	43.7^{b}
0	6	21.5^{mn}	23.3^{ij}	35.7^{e}
75	0	23.3^{ij}	24.5^{h}	43.7^{b}
75	3	19.4^{p}	23.5^{i}	41.2^{cd}
75	6	19.8^{o}	21.2^{n}	38.9^{de}
150	0	21.7^{m}	23.7^{i}	35.5^{ef}
150	3	19.6^{op}	23.1^{j}	31.4^{f}
150	6	17.3^{q}	21.5^{mn}	28.6^{g}

میانگین‌های حداقل بایک حروف مشترک براساس آزمون دانکن در سطح پنج درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Averages with same letters in each row or column are not significantly different at level of 5% according to Duncan test

بحث

هنگامی که بافت‌های گیاهی تحت تنش سرما قرار می‌گیرند سبب آسیب رسیدن به غشای سلولی و افزایش نشت الکترولیت داخل سلول به خارج سلول می‌شود. بر طبق پژوهش‌ها، در تنش سرما، اولین قسمت آسیب دیده یک سلول، غشای آن می‌باشد. در اثر تخریب لایه‌های فسفولیپیدی غشای سلولی، موادی از جمله اسیدهای آمینه، کربوهیدرات‌ها و پتاسیم به خارج از سلول نشت می‌کنند

(Levit, 1980). پژوهشگران (Kafi & Mahdavi Damghani, 2002) بیان کردند که با افزایش تنش سرما، نشت یونی افزایش می‌یابد و از آن به‌عنوان شاخصی برای ارزیابی تحمل به سرما استفاده کرده‌اند.

در مطالعه حاضر، تنش سرما باعث افزایش نشت یونی برگ دانهال‌های پسته شده است که نشان دهنده آسیب به غشای سلولی بافت‌های گیاهی می‌باشد. این نتایج با پژوهش‌های انجام شده بر روی سیب (Khanizadeh *et al*, 2000)، زیتون (AslMoshtaghi *et al*., 2009) گلابی (McKellar *et al*., 1992) و پسته (Mozafari & Yazdanpanah, 2018) مطابقت دارد. همچنین محلول‌پاشی پاکلوبوترازول باعث کاهش میزان نشت یونی شد. احتمالا پاکلوبوترازول با مهار اکسیداسیون غشای پلاسمایی سلول که توسط رادیکال‌های آزاد انجام می‌گیرد، سبب محافظت از غشای سلول شده و نشت یونی را کاهش میدهد. بر طبق پژوهش انجام شده بر روی درختان سیب، کاربرد پاکلوبوترازول طی ۴ ماه سبب کاهش نشت یونی و افزایش مقاومت به سرما در درختان شده است (Colombo, 1994). در پژوهشی مشخص شد که در صورت عدم کاربرد پاکلوبوترازول، تنش سرما موجب افزایش نشت یونی در خیار گردید، اما با کاربرد پاکلوبوترازول به میزان قابل توجهی نشت یونی کاهش یافت (Ramin, 2009). سنتز کلروفیل یکی ازفرآیندهای حساس به تغییرات دمایی می‌باشد و به‌عنوان یک روش کمی برای اندازه‌گیری میزان حساسیت گونه‌های مختلف به سرمازدگی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Colom &Vazzana, 2001). مهم‌ترین واکنش گیاهان حساس به سرمازدگی، افزایش سریع بازداری فتوسنتز است. در پژوهش حاضر نیز با کاهش دما، میزان کلروفیل کل با کاهش مواجه شد، لیکن کاربرد پاکلوبوترازول از کاهش کلروفیل جلوگیری نمود. احتمالا پاکلوبوترازول با تاثیر بر بیوسنتز هورمونهای محرک رشد گیاه بر نحوه‌ی توزیع مواد حاصل از فتوسنتز گیاه را در مقابل با تنش سرمایی محافظت می‌کند. نتایج پژوهش کشاورز و همکاران (Keshavarz *et al*.,2015) انجام شده بر روی دو رقم کلزا نشان داد که سرما باعث کاهش میزان کلروفیل کل گردید. مظفری و یزدانپناه (Mozafari & Yazdanpanah, 2018) گزارش کردند که در پسته نیز با کاهش دما میزان کلروفیل کاهش یافت. پژوهشگران با مطالعه بر روی نارنگی گزارش کردند که پاکلوبوترازول با افزایش فعالیت آسکوربات پراکسیداز و گوایاکول پراکسیداز، فعالیت برخی از آنزیم های آنتی‌اکسیدانت مثل سوپراکسید دسموتاز و کاتالاز را افزایش دهند که این عمل باعث کاهش اثر منفی تنش سرما روی رنگیزه‌ها می‌گردد (Jafari *et al*., 2006). کاروتنوئید به‌عنوان حامی‌رنگیزه‌های فتوسنتزی و غیرفتوسنتزی شناخته شده‌اند که انرژی نورانی را مهار می‌کنند. نتایج پژوهش مظفری و یزدانپناه (Mozafari &Yazdanpanah, 2018) بر روی پسته رقم کله قوچی نشان داد کاهش دما سبب کاهش کاروتنوئید گردید. در تنش‌های مختلف محیطی از جمله تنش سرما، تجمع پرولین با میزان مقاومت گیاهان رابطه مستقیم دارد (Ranney *et al*., 1991). به نظر می‌رسد پاکلوبوترازول بیان ژن‌های به‌خصوصی را فعال می‌کند که این خود باعث می‌شود، تقسیم سلولی، رونویسی DNA، رونویسی و سنتز پروتئین‌ها در سلول‌ها افزایش یابد. پاکلوبوترازول با ایجاد یک قدرت مخزن قوی، سبب انتقال یون ها و کربوهیدرات ها به سمت سلول می‌گردد. (Fletcher *et al*., 2000). در جوانه‌های تاک تحت تنش سرما، بین غلظت پرولین تجمع یافته و تحمل به سرمازدگی همبستگی وجود داشته است (Zhung *et al*., 2012). پژوهشگران با کاربرد پاکلوبوترازول به ویژه در غلظت‌های ۱۲۵و ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر بر روی نهال‌های انار ساوه که تحت تنش سرما قرار گرفتند، متوجه افزایش غلظت پرولین شدند (Ghasemi Soluklui *et al*.,2014). نتایج این پژوهش نشان داد، با کاهش دما میزان ترکیبات فنول افزایش یافت که نتایج با پژوهش‌های انجام شده بر روی پسته (Pakkish *et al*., 2009) مطابقت دارد.

با افزایش قند در سلول‌ها و بافت‌ها، تشکیل یخ کم می‌شود و از آبگیری القا شده توسط یخ جلوگیری می‌کند (Akca & sen, 1999). در پژوهش حاضر، بیشترین غلظت قندهای محلول برگ در بالاترین سطح مصرف پاکلوبوترازول و کلسیم در دمای ۴- درجه سلسیوس رخ داد. قندهای محلول از جمله ترکیبات سازگاری هستند که در داخل سلول و در هنگام تنش سرما ایجاد می‌شود. اثر پاکلوبوترازول در ایجاد مقاومت در برابر سرمازدگی بر روی گیاهان انار (Moradi *et al*., 2017)، کیوی (Tafazoli & Beyl, 1993) و سیب (Coleman *et al*., 1992) گزارش شده است.

یکی از رایج‌ترین واکنش‌هایی که گیاهان در برابر انواع تنش‌های زیستی و محیطی از خود نشان می‌دهند، تنظیم

اسمزی است. کاهش نشاسته به حداقل و افزایش قندهای محلول به حداکثر، باعث افزایش سازش‌پذیری درختان به سرمای پاییز و زمستان می‌شود (Xavier & Ameglio, 2007). تغییرات نشاسته و کاهش آن و افزایش قندهای محلول تحت تنش سرما، بر روی سیب (Ameglio *et al*., 2006) گزارش شد. اساسا تنش سرما باعث افزایش تنش اکسیداتیو در بافت‌های گیاهی می‌شود و گیاهان غالبا برای مقابله با اثرات تنش اکسیداتیو، فعالیت آنزیم‌های اکسیدانی خود را افزایش می‌دهند (Habibi & Hajiboland, 2011). طی تنش، پروتئین‌های جدیدی ساخته می‌شود یا پروتئین-های موجود افزایش بیان می‌یابند. براساس نتایج پوررجبی-نژاد (Pourrajabi, 2013)، بر روی پسته رقم کله‌قوچی، با کاهش دما از ۴+ تا ۴- درجه سلسیوس میزان پروتئین محلول کاهش یافت. در پژوهش حاضر با کاهش دما از صفر به ۴- درجه سلیوس، میزان پروتئین در دانهال‌های شاهد پسته کاهش یافت. براساس پژوهش‌های مظفری و یزدانپناه (Mozafari & Yazdanpanah, 2018) بر روی پسته رقم کله قوچی، با مصرف کلسیم میزان پروتئین نسبت به دانهال‌های شاهد افزایش یافت. که با نتایج این پژوهش با مصرف ۶ گرم بر لیتر کلسیم به تنهایی مطابقت دارد.

نتیجه‌گیری کلی

همانگونه که مشخص گردید از طریق اندازه گیری نشت یونی و تنظیم کننده های اسمزی می‌توان شدت تحمل گیاهان به تنش سرما و یخزدگی را تعیین نمود. نتایج این پژوهش نشان داد که تنش سرما موجب افزایش معنی‌دار نشت یونی گردید که با کاربرد توامان ۶ گرم بر لیتر کلسیم و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر پاکلوبوترازول، درصد نشت یونی کاهش یافت. همچنین نتایج این پژوهش نشان داد که در اثر تنش سرما پرولین، قندهای محلول و ترکیبات فنلی افزایش یافتند ولی با مصرف پاکلوبوترازول و کلسیم میزان این پارامترهای تنظیم‌کننده نسبت به شاهد افزایش یافت. در این پژوهش شاخص پروتئین محلول، کلروفیلa، کلروفیل کل و نشاسته در اثر تنش سرما کاهش یافتند، لیکن کاربرد کلسیم و پاکلوبوترازول (۶ گرم بر لیتر کلسیم و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر پاکلوبوترازول) سبب افزایش این پارامترها نسبت به شاهد گردید. در پژوهش باغی انجام شده نیز مصرف کلسیم و پاکلوبوترازول درصد نشت یونی میوه‌ها را نسبت به تیمار کاهش دادند. در نهایت نتایج این پژوهش نشان داد که کاربرد توأمان کلسیم و پاکلوبوترازول می‌تواند خسارات ناشی از سرمازدگی را در دانهال‌ها و درختان پسته کاهش دهد.

References

Afshari H., Zahedi R., Parvaneh T., and Zadehbagheri M. 2014. Effect of salicylic acid on the proline, soluble sugars and ion leakage in two apricot cultivars under cold stress. *Journal of Agriculture*,16 (1): 127-138.(In Persian)

Akca Y., and Sen S. M. 2001. A study on the genetic variability and selection of superior walnut (Juglans regia L.) trees withing seedling population of around of van lake. *Journal of Acta Horticulturae*, 544.

Ameglio T., Alves G., Decurteix M., Poirer M., Bonhome M., Guiliot A., and Sake S. 2006. Winter biology in walnut tree: Freezing tolerance by cold acclimation and embolism repair. *Journal of Acta Horticulturae*, 241-250.

Asl Moshtaghi E., Shahsavar A. R., and Taslimpour M. R. 2009. Ionic leakage as indicators of cold hardiness in Olive *(Olea europaea L.). Journal of World Applied Sciences*, 7 (10): 1308-1310.

Bradford K.J, and Hsiao T.C. 1982. Physiologcal respose to moderate stress, *Springer*, 263-324.

Bradford M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein- dye binding. *Journal of Anlytical Biochemistry*, 72: 248-254.

Coleman W. K., Estabrooks E. N., Embleton J., and King R. R. 1992. Seasonal changes in cold hardiness, sucrose and sorbitol in apple trees treated with paclobutrazol. *Journal of Plant Growth Regolutor*, 67: 429-435.

Colom M. R., and Vazzana C. 2001. Drought stress effects on three cultivars of Eragrostis curvula: photosynthesis and water relations. *Journal of Plant Growth Regulation*, 34: 195-202.

Colombo S. J. 1994. Timing of cold temperature exposure affects root and shoot frost hardiness of apple seedling.Journal *of Scandinavian Research*, 9: 52-59.

Ferguson IB. 1984. Calcium in plant senescence and fruit ripening. *Journal of Plant Cell and Environment*, 7:477-489.

Fletcher, R., Gilley, A., Davis, T. and Sankhla, N. 2000. Triazoles as plant growth regulators and stress protectants. Journal of Horticulture Reviwe, 24: 55-138.

Ghasemi Soluklui A. A., Ershadi A., Tabatabae z., and Fallahi E. 2014 Paclobutrazol-Induced biochemical changes in pomegranate (*Punica granatum* L.) cv. 'Malas Saveh' under freezing stress. *Journal of Horticultural Science and Technology*, 2:181-190.

Irigoyen J., Einerich D., and Sanchez-Diaz M. 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated *alfalfa* plants.*Journal of Physiologia Plantarum*, 84: 55-60.

Isfendiyaroglu M., and Zeker E. 2002. The relation between phenolic compound and seed dormancy in Pistacia spp. In AKB. E. (Ed). 11 *Grema Serr Pistachios and Almond. Chieres optins Mediterraneens*, pp: 232-277.

Kafi M., and Mahdavi Damghani A. 2002. Mechanisms of Environmental Stress Resistance in Plant (Translated). Published by Ferdowsi University Mashhad. Mashhad, 472p.(In Persian)

Keshavarz H., and Modarres Sanavy S.A.M. 2015. Effect of salicylic acid on chlorophyll, some growth characteristics and yield of two canola varieties. *Journal of Crop Production*,7(4): 167-178.(In Persian)

Khanizadeh S., Buszard D., Fanous M. A., and Zarkadas C. G.1989. Effect of crop load on seasonal variation in chemical composition and spring frost hardiness of apple flower buds. J*ournal of Plant Science*, 69: 1277-1284.

Levit J. 1980. Response of plant to environment stresses chilling, freezing, and high temperature stresses. Academic press: 497p

Lutts S., Kinet J., and Bouharmont J. 1996. NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance.*Journal of Annals of Botany*, 78: 389-398.

Mahajan S., and Tutejan N. 2005. Cold, salinity and drought stresses: An overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics,* 444: 139-158.

Mahmut Sinan T., Rahmi D., and Guleray A. 2009. Determination of effects of some plant growth regulators (PGPRS) on changes of some isoenzymes in bean at chilling temperatures: in gel enzyme assays. *Journal of Biotechnological Letters*, 14(6): 4858-4869.

Marschner H. 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants. 2nd Ed. Academic Press, London, 889p

Mckellar M. A., Buchanan D. W., Ingram D. L., and Cambell C. W. 1992. Freezing tolerance of avocado leaves. Journal *of Horticulture Science*, 27: 341-343.

Moradi S., Baninasab B., Gholami M., and Ghobadi C. 2017. Paclobutrazol application enhances antioxidant enzyme activities in pomegranate plants affected by cold stress. *Journal of Horticutlurae Science and Biotechnology*, 92:65-71.

Mozafari V., and Yazdanpanah M. 2020. Effect of Salicylic Acid and Calcium on Chilling Resistance of Pistachios Seedlings, cv. Kaleghochi. *Applied Soil Research*,7(4): 47-61. (In Persian)

Pakkish Z., Rahemi M., and Baghizadeh A. 2009. Seasonal changes of peroxidase, polyphenol oxidase enzyme activity and phenol content during and after rest in pistachio (*pistacia vera* L.) flower buds. *Journal of World App Science*, 6; 1193-119.

Paquin R. and Lechasserur P. 1979. Observations sur une method de dosage de la proline liber dans les extraits de plantes. *Journal of Botany*, 57:1851-1854.

Porra R. J. 2002. The chequered history of the development and use of simultaneousequations for the accurate determination of chlorophyIIs a and b. *Photosynthesis Research*, 73: 149-156.

Pourrajabi Nejad M.H. 2012. Effects of BA and water stress in winter on nut qualitative and quantitative traits and spring frosthardening of pistachio cv. Kaleh-Ghoochi.Horticulture Department, Agriculture College, Vali-e-Asr University, Rafsanjan, Iran. 145p. (In Persian)

Ramin A. A. 2009. Improving germination performance and chilling tolerance in cucumber with paclobutrazol. *Journal of vegetable science*.15:173-184

Ranney T. G., Bassuk N. L., and Whitlow T. H. 1991. Osmotic adjustment and solute contituents in leaves and roots of water-stressed cherry (*prunus*) trees. *Journal of American Society for Horticultural Science*, 116: 684-688.

Sene M., Thevenot C., and Prioul J.L. 1997. Simultaneous spectrophotometric determination of amylose and amylopectin in starch from maize kernel by multi-wavelength analysis. *Journal on Cereal Science*, 26: 211-221.

Srivastav M., Kishor A., Anil D., and Sharma R. R. 2010. Effect of paclobutrazol and salinity onion leakage, proline content and activities of antioxidant enzymes in Mango. *Journal of Horticulture Scientia*, 125:785-788.

Tafazoli E. A., and Beyl C. 1993. Changes in endogenous abscisic acid and cold hardiness in Actinidia treated with triazol growth retardants. *Journal of Plant Growth Regloutor*, 12: 79-83.

Waraich, E. A., Ahmad, R., Halim, A. and Aziz, T. 2012. Temperature stress by nutrient management in crop plant: a review. Journal of Soil Science Plant Nutrition, 12(2): 221-244.

Westwood M.N. 1993. Temprature zone pomology. Cold resistance and acclimation in woody plants. *Horticulture Science*, 5:403-408.

Xavier M., and Ameglio, T. 2007. Variation in cold hardiness and carbohydrate concentration from dormancy induction to bud bud burst among provenances of three European oak species. *Journal of Tree Physiology*, 27; 817-825.

Zhang Y., and Dami I.E. 2012. Foliar application of abscisic acid increases freezing tolerance of field-grown visits vinifera cabernet franc grapevines. *Journal of Enology and Viticulture*, 63: 377-384

.

Effect of Paclobutrazol and Calcium on Increasing of Chilling Tolerance of Pistachio Seedlings and Trees

Vahid Mozafari[*1] , Zohre Jafari[2]

(Received: April, 2021 Accepted: October, 2022)

Abstract

To investigate the effects of paclobutrazol, calcium (Ca), and temperature treatment (cold) on resistance to chilling of pistachios seedlings (Akbari cultivar), a factorial greenhouse experiment was carried out in a completely randomized design with three replications. The treatments included paclobutrazol (0, 75, and 150 $mg.^{-1}$), Ca (0, 3, and 6 $g.l^{-1}$ of calcium chelate source) and temperature (0,-2, and -4 in the greenhouse and 0, -2, and +4 °C in the garden). The results showed that with decreasing temperature, total chlorophyll, carotenoids decreased, but the combined use of paclobutrazol and Ca increased the amount of these parameters compared to the control. Also, with decreasing temperature, the amount of electrolyte leakage increased, while using of paclobutrazol and Ca reduced the amount of this parameter compared to control seedlings. Measurement of osmotic regulatory parameters showed that the concentration of starch and soluble protein in leaves decreased with decreasing temperature. However, with the combined use of paclobutrazol (150 $mg.l^{-1}$) and Ca (6 g.l-1) at -4 ° C, the concentration of proline, total phenol, soluble sugars, starch and soluble protein were increased compared to the control by 112, 28, 20, 80, and 196% respectively. The results of the garden experiment also showed that with decreasing temperature, the amount of ion leakage, in the control fruits increased. Application of paclobutrazol and Ca treatments reduced electrolyte leakage, so that the lowest percentage of electrolyte leakage was observed at -4, 0, and -2 °C when paclobutrazol and Ca were used simultaneously and at the highest levels and the electrolyte leakage rate decreased by 27, 12, and 38% compared to control fruits, respectively. Finally, the results of this study showed that the combined use of Ca and paclobutrazol can reduce the damage caused by chilling in seedlings and pistachio trees.

Kewords: Chorophyll a, Cartonoids, electrolyte leakage, Porolin, Soluble sugars

Mozafari V., Jafari Z. 2023. Effect of paclobutrazol and calcium on increasing of chilling tolerance of pistachio seedlings and trees. *Applied Soil Research*.11(2): 82-94.

۱. Professor, Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Vali-e- Asr University of Rafsanjan

۱. Former MSc Student, Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Vali-e- Asr University of Rafsanjan

* Corresponding Author Email: mazafari@vru.ac.ir