دانشکده علوم کشاورزی
گروه علوم باغبانی
گرایش میوه کاری

عنوان

بررسی کاربرد پلی‌آمین وکلسیم بر مقاومت به دمای پایین در گیاهچه‌های لیموآب (***Citrus aurantifolia***)

از:
منصوره نجف‌زاده

استادان راهنما:
دکتررضا فتوحی قزوینی
دکتر یوسف حمیداوغلی

استاد مشاور:
وهب جعفریان

شهریور ۸۹

تقدیم به

پدرو مادر عزیزم

حمد و سپاس پروردگار مهربان را که بی لطف و حمایت او، هیچ کس را یارای انجام کاری نیست. اینک که به یاری آفریدگار مهر، در مسیر آموختن گام نهادم، شایسته است تمام کسانی را که در این راه یاریم نمودند، گرامی بدارم.
در آغاز از خانواده عزیزم، که در تمام مراحل زندگی پشتیبان و همراهم بودند سپاسگزارم و شادی و بهروزیشان را از درگاه پروردگار یگانه خواستارم.
از استاد راهنمای ارجمندم جناب آقای دکتر رضا فتوحی که در تمام مراحل انجام این پژوهش با بردباری و مهربانی راهنما و راهگشایم بودند کمال قدردانی و تشکر را دارم و برای ایشان از درگاه حق سعادت و موفقیت آرزومندم.
از استاد مشاور محترمم، جناب آقای دکتر وهب جعفریان به خاطر راهنمایی‌های ارزنده‌شان قدردانی می‌نمایم.
از تمامی اساتید بزرگوار گروه علوم باغبانی که افتخار شاگردی در محضرشان را داشتم متواضعانه سپاسگزارم. از مسئول محترم آزمایشگاه مرکزی خانم مهندس اخگری سپاسگزارم.
در پایان از دوستان و هم کلاسی‌های خوبم تشکر کرده و برایشان آرزوی موفقیت می‌کنم.

منصوره نجف زاده

شهریور ۸۹

عنوان صفحه

چکیده فارسی.....خ
چکیده انگلیسی.....د

فصل اول: کلیات و مرور منابع
مقدمه ۵
۱-۱- تاریخچه ۷
۱-۲- تولید مرکبات در سطح جهانی ۷
۱-۲-۱-تولید مرکبات در ایران ۹
۱-۳-مشخصات گیاه شناسی مرکبات ۱۱
۱-۳-۱- مکزیکن لایم ۱۱
۱-٤ - تنشهای محیطی گیاهان ۱۲
۱-٤-۱- تنش دمای پائین ۱۳
۱-٤-۱- ۱- سرمازدگی ۱۳
۱-٤-۱-۲- یخ زدگی ۱٤
۱-٤-۱-۳- فرآیند انجماد و یخ زدگی ۱٤
۱-۵- مرکبات و تنش دمای پائین ۱۵
۱-۵-۱- مکانیسم‌های حفاظتی در برابر دمای پائین ۱۵
۱-۵-۱-۱- نقش عوامل ژنتیکی در مقاومت سرمایی ۱٦
۱-۵-۱-۲- مکانیسمهای سازگاری به سرما ۱٦
۱-٦-اثرات و تغییرات ناشی از سرما ۱۸
۱-٦-۱- ۱- تغییر اسید های چرب و لیپیدهای غشاء ۱۸
۱-٦-۱-۲- تغییر در میزان کربوهیدرات‌ها و قندها ۱۸
۱-٦-۱-۳- تغییر در میزان پروتئین ها ۱۹
۱-۷- تنش دما و نقش یون کلسیم ۱۹
۱-۸- پلی‌آمین ها و تنش‌ها ۲۲
۱-۸-۱- تغییر در پلی‌آمین ها در واکنش به تنش ها ۲٤
۱-۸-۲- نقش حمایت کننده پلی‌آمین‌ها در واکنش به تنش‌ها ۲٤
۱-۸-۳- مکانیسم های اثر پلی‌آمین ها ۲۵
۱-۹- تنش اکسی داتیو ۲٦
۱-۹- ۱- سرما و تنش اکسیداتیو ۲۷
۱-۹-۲- نحوه تشکیل اکسیژن های فعال**(ROS)** ۲۸
۱-۹-۳- مکان‌های تولید اکسیژن فعال ۲۸
۱-۹-٤- آسیب های بیولوژیکی رادیکال های فعال ۲۹
۱-۹-۵- انواع سیستم های آنتی‌اکسیدانی ۳۰

۱-۹-٦- آنتی‌اکسیدان های آنزیمی ۳۰
۱-۹-٦-۱- سوپراکسید دسیموتاز **(SOD)** ۳۰
۱-۹-٦- ۲- کاتالاز ها ۳۱
۱-۱۰ اهداف حقیق ۳۲
فصل دوم: مواد و روش ها
۲-۱- مواد گیاهی ۳٤
۲-۲- مواد شیمیایی ۳٤
۲-۳- تجهیزات ۳۵
۲-٤- ابزار و لوازم مصرفی ۳۵
۲-۵- نحوه اعمال تیمارها و طرح آزمایشی ۳۵
۲-٦- شاخص های ارزیابی شده ۳٦
۲-۷- سنجش آنزیمی ۳٦
۲-۷-۱- روش عصاره گیری از نمونه ها ۳٦
۲-۷-۲- روش تهیه بافراستخراج آنزیم ها ۳٦
۲-۷-۳- اندازه گیری میزان پراکسیداسیون لیپیدها ۳۷
۲-۷-٤- سنجش غلظت مالون‌دی‌آلدئید ۳۷
۲-۷-۵- اندازه گیری پروتئین ۳۸
۲-۷-۵-۱- تهیه محلول بردفورد ۳۸
۲-۷-٦- تعیین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز ۳۸
۲-۷-٦-۱- روش سنجش فعایت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بر پایه خاصیت احیا نیتروبلوتترازولیوم ۳۹
۲-۷-٦-۲- تعریف واحد فعالیت سوپراکسید دیسموتاز ٤۰
۲-۷-٦-۳- تعیین فعالیت مخصوص آنزیم سوپراکسیددیسموتاز ٤۰
۲-۷- ۷-۱- سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز ٤۰
۲-۷-۸- آنزیم کاتالاز ٤۱
۲-۷-۸-۱- سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز ٤۱
۲-۷-۹- اندازه گیری پرولین ٤۲
۲-۷-۱۰- اندازه گیری نشت یونی ٤۲
فصل سوم: نتایج و بحث
۳-۱- اثر ساده تیمار کلسیم بر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز ٤٤
۳-۲- اثر ساده تیمار اسپرمین بر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز ٤٤
۳-۳- اثر ساده تیمار دمای پایین بر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز ٤٤
۳-٤- اثرات متقابل دمای پایین، کلسیم و اسپرمین بر فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز ٤٤
۳-۵- اثر ساده تیمار کلسیم بر میزان فعالیت آنزیم های آنزیم های پراکسیداز و کاتالاز ٤٦
۳-٦- اثر ساده تیمار اسپرمین بر میزان فعالیت آنزیم های آنزیم های پراکسیداز و کاتالاز ٤۷

۳-۷- اثر ساده تیمار دمای پایین بر میزان فعالیت آنزیم های آنزیم های پراکسیداز و کاتالاز ٤٧
۳-۸- اثرات متقابل دمای پایین، کلسیم واسپرمین بر فعالیت آنزیم های پراکسیداز و کاتالاز ٤٧
۳-۹- اثرات تنش دمای پایین، کلسیم و اسپرمین بر فعالیت آنزیم های سوپراکسیددیسموتاز، پراکسیداز و کاتالاز ٤٩
۳-۱۰- اثر ساده تیمار کلسیم بر میزان پروتئین کل ٥٠
۳-۱۱- اثر ساده تیمار اسپرمین بر میزان پروتئین کل ٥٠
۳-۱۲- اثر ساده تیمار دمای پایین بر میزان پروتئین کل ٥٠
۳-۱۳- اثرات متقابل دمای پایین، کلسیم واسپرمین برمیزان پروتئین کل ٥١
۳-۱٤- اثرات تنش دمای پایین، کلسیم واسپرمین بر میزان پروتئین کل ٥٣
۳-۱٥- اثر ساده تیمار کلسیم بر میزان لیپیدپراکسیداسیون ٥٣
۳-۱٦- اثر ساده تیمار اسپرمین بر میزان لیپیدپراکسیداسیون ٥٣
۳-۱۷- اثر ساده تیمار دمای پایین بر میزان لیپیدپراکسیداسیون ٥٣
۳-۱۸- اثرات متقابل دمای پایین، کلسیم واسپرمین برمیزان لیپیدپراکسیداسیون ٥٤
۳-۱۹- اثرات تنش دمای پایین، کلسیم واسپرمین بر میزان لیپیدپراکسیداسیون ٥٤
۳-۲۰- اثر ساده تیمار کلسیم بر میزان نشت یونی ٥٧
۳-۲۱- اثر ساده تیمار اسپرمبن بر میزان نشت یونی ٥٧
۳-۲۲- اثر ساده تیمار دمای پایین بر میزان نشت یونی. ٥٧
۳-۲۳-.اثرات متقابل دمای پایین کلسیم و اسپرمین برمیزان نشت یونی ٥٨
۳-۲٤- اثرات تنش دمای پایین، کلسیم و اسپرمین بر میزان نشت یونی ٦٠
۳-۲٥- اثر ساده تیمار کلسیم بر میزان پرولین ٦٠
۳-۲٦- اثرساده تیمار اسپرمین بر میزان پرولین ٦١
۳-۲۷- اثر ساده تیمار دمای پایین بر میزان پرولین ٦١
۳-۲۸- اثرات متقابل دمای پایین، کلسیم و اسپرمین برمیزان پرولین ٦١
۳-۲۹- اثرات تنش دمای پایین، کلسیم و اسپرمین بر میزان پرولین ٦٣
۳-۳۰-بررسی همبستگی بین صفات ارزیابی شده ٦٣
۳-۳۱- نتیجه‌گیری کلی ٦٤
۳-۳۲- پیشنهادات ٦٤
فهرست منابع ۷۳
ضمائم ۸۷

چکیده

بررسی کاربرد پلی‌آمین وکلسیم بر مقاومت به دمای پایین در گیاهچه‌های لیمو آب (*Citrus aurantifolia*)

منصوره نجف زاده

تنش دمای پایین یکی از عوامل محدودکننده تولید مرکبات در کشور است. لیموآب شیراز یکی از حساسترین گونه-های مرکبات به دمای پایین محسوب می‌شود. در این پژوهش تاثیر تیمارکلسیم در ٤ سطح (٠، ٠/٥، ١و ١/٥ میلی گرم در لیتر) و پلی‌آمین (اسپرمین) در ٤ سطح (٠، ٠/٤، ٠/٨ و ١/٢ میلی‌مولار در لیتر) بر تنش دمای پایین در دماهای (٠، ٣-، ٦- و ٩- درجه سلسیوس) به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در سه تکرار بررسی شد. شاخص‌های میزان فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز، پراکسیداز، کاتالاز، لیپیدپراکسیداسیون، پروتئین کل، میزان پرولین و نشت یونی به منظور تعیین سطح مقاومت پس از تنش دمای پائین، اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که اسپرمین و کلسیم با اثر حفاظتی برترکیبات غشاء سبب کاهش لیپیدپراکسیداسیون و نشت یونی گردید. به علاوه فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز پس از تیمار با اسپرمین و کلسیم افزایش یافت. نتایج این آزمایش نشان داد که تیمارهای اسپرمین و کلسیم بطور معنی‌داری موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز شد. میزان پروتئین وپرولین در دانهال های تیمار شده با کلسیم و اسپرمین افزایش معنی داری را نشان داد. بنابر تاثیر قابل‌ملاحظه‌ای که تیمارها بر شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی داشته اند می توان نتیجه گرفت کاربرد اسپرمین و کلسیم مانع از اثرات سوء تنش سرمایی بر لیموآب بوده است.

کلید واژه‌ها: اسپرمین، دمای پایین، تنش اکسیداتیو، کلسیم، لیموآب

bstract

Study of exogenous polyamine and calcium applications on low temperature resistance of Mexican Lime seedlings (*Citrus aurantifolia*)

Mansooreh Najafzadeh

Low temperature stress is one of the limited factors of citrus production in Iran. Mexican lime is the most sensitive citrus plant to low temperature. In this study, effects of calcium treatments (0, 0.5, 1, 1.5 mg l^{-1}) and spermine at four levels (0, 0.4, 0.8, 1.2 Mm l^{-1}) were investigated on Mexican lime seedlings after exposed to low temperatures (0, -3, -6, -9 □c). The experiment was conducted under complete randomizeddesign with three replications in factorial design. Measurement of SOD, POD, CAT activity enzymes shoewd that polyamine and calcium treatments increased the levels such antioxidants. In addition, lipid peroxidation and membrane leakage decreased due to both protective treatments, whereas total proteins and prolin amounts increased significantly. Therefore, concerning with spermine and calsium treatments, Mexican limes seedlings have been protected against low temperatures and many inhibited the oxidative stress.

Key word: Spermine, Low temprature, Oxidative stress, Ca^{+2}, Mexican Lime

مقدمه

مرکبات به عنوان یکی از مهمترین میوه‌های تولید شده در جهان محسوب می‌شود. بسیاری از انواع مرکبات در مناطقی رشد و پرورش می‌یابند که درآن مناطق خطر دمای پایین و یخزدگی وجود دارد [۱۲۱]. مناسب‌ترین منطقه کشت مرکبات مناطق نیمه‌گرمسیری است که دمای زمستان به ندرت به زیر صفر درجه سانتی‌گراد می‌رسد. بروز سرما و یخبندان در اغلب مناطق کشت و کار مرکبات جهان بروز می‌کند. بنابراین همه ساله پدیده سرمازدگی و یخبندان مرکبات و خسارت‌های ناشی از آن در اغلب کشورهای مرکبات‌خیز دنیا مشهود است [۱۰]. سرمازدگی یکی از پدیده های جوی است که در اثر کاهش تدریجی و یا ناگهانی دما در زمان رکود و یا فصل رشد گیاه رخ می‌دهد. سالانه ۱۵-۵٪ از تولیدات کشاورزی جهان در اثر یخزدگی ازبین می‌رود. تنها حدود ۱۰٪ از کل زمینهای کشاورزی دنیا ممکن است بدون تنش سرمازدگی باشند. سرما به شکل های مختلف آسیب وارد می کند که بعضی از آنها عبارتند از: آفتاب سوختگی زمستانه، از بین رفتن جوانه های گل در حال رکود در فصل زمستان، مرگ لایه زاینده در شاخه ها و تنه، آسیب در زمان گرده افشانی و آسیب به گل و میوهها در بهار و پاییز [۸].

برای مقابله با تنش دمای پائین، به روش‌های مختلف تلاش بر کاهش خسارت و بهبود تولید باغات مرکبات است. استفاده از موادی که بطور طبیعی هنگام مقاومت به تنش در گیاهان ممکن است تولید شود یکی از روش‌های مؤثر محافظت از محصول شناخته شده است که اساس این مطالعه را تشکیل می‌دهد.

هدف از پژوهش حاضر کاربرد پلی‌آمین و کلسیم در تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی در دانهال‌های لیموآب و شناسایی الگوی تغییرات بیوشیمیایی در حین تنش دمای پایین می‌باشد.

فصل اول

کلیات و مرور منابع

۱-۱-تاریخچه

با اینکه محل پیدایش مرکبات را نمی‌توان دقیقا مشخص نمود، با این حال پژوهشگران معتقدند که گونه‌های مرکبات در حدود ٤ هزار سال پیش از میلاد مسیح در آسیای جنوب‌شرقی بوجود آمده‌اند. مرکبات از این ناحیه به وسیله مهاجرت اقوام و فعالیت‌های بازرگانی تا شمال آفریقا توسعه یافتند. بر اساس سایر منابع منشا مرکبات را آسیای جنوب‌شرقی و شمال شرق هند و چین دانسته‌اند [۱۳].

۱-۲-تولید مرکبات در سطح جهانی

امروزه مرکبات در ۵ قاره جهان در کلیه نقاطی که بین ٤۰ درجه عرض شمالی و جنوبی نسبت به خط استوا قرار دارند و اصطلاحا کمربند مرکبات نامیده می‌شوند، کشت و کار می‌گردند. از ویژگی‌های این مناطق می‌توان به رطوبت کافی و عدم بروز یخبندان اشاره نمود. مراکز عمده تولید مرکبات و صنعت مرکبات‌کاری، در کمربندی بین ۲۰ تا ٤۰ درجه عرض جغرافیایی شمالی و جنوبی که دارای آب و هوای نیمه گرمسیری تا گرمسیری هستند واقع شده است [۷].

بر اساس آمار سازمان کشاورزی و غذای ملل متحد، سطح کشت بارور مرکبات در سطح جهان در سال ۲۰۰۸ میلادی۷ میلیون و۳۸٤ هزارهکتار، و حجم بازار تجارت جهانی مرکبات بیش از ۱۱میلیون و٥٦٥ هزار تن بوده است. بر اساس این گزارش، ایران با تولید بیش از ۳/۷ میلیون تن انواع مرکبات مقام هشتم تولید مرکبات جهان را به خود اختصاص داده است. طبق آمار سازمان خواربارجهانی در سال ۲۰۰۸ میزان تولیدجهانی پرتقال ٦۳۹۰٦٦٤ تن، نارنگی ۲٦٥۱۳۹۸٦ تن، لیمو و لایم ۱۳۰۳۲۳۸۸ تن و گریپ‌فروت ٥۰٦۱۰۲۳ تن بوده است (جدول ۱-۱) [٦٥].

جدول ۱-۱. میزان عملکرد انواع مرکبات در ده کشور برتر تولید کننده مرکبات در سال ۲۰۰۷ (تن)

کشور	گریپ‌فروت	نارنگی ها	پرتقال	لیموها	سایر مرکبات	کل
چین	٥٦٧٥٤٦	١٥٦٢٢٥٩٣	٣٤٥٤١٢٥	٩١٧١٦٦	١٤٥٧٧٢٦	٢٢٠١٩١٦٥
برزیل	٧٢٠٠٠	١٢٧١٠٠٠	١٨٢٧٩٣٠٩	١٠٤٠٠٠٠	-	٢٠٦٦٢٣٠٩
ایالات متحده	١٤٠٧٩٥٠	٤٧٨٠٩٠	٩١٣٨٩٨٠	٦٣٧٧٥٠	٣٠٠٠٠	١١٦٩٢٧٧٠
مکزیک	٣٩٤٨٦٥	٤٦٩٠٣٧	٤٣٠٦٦٣٣	٢٢٢٤٣٨٢	١٠٨٠٠٠	٧٥٠٢٩١٧
هند	١٨٧٠٠٠	-	٤٣٩٦٧٠٠	٢٤٢٩٠٠٠	١٥٦٠٠٠	٧١٦٨٧٠٠
اسپانیا	٥٠٠٠٠	١٩٧٣٨٠٠	٣٣٦٧٠٠٠	٤٩٨٨٠٠	٢٢٠٠٠	٥٩١١٦٠٠
ایتالیا	٧٠٠٠	٧٨٦١١٩	٢٥٢٧٤٥٣	٥٥٠٠٠٠	٣٠٠٠٠	٣٩٠٠٥٧٢
ایران	٥٤٠٠٠	٧٠٢٠٠٠	٢٣٠٠٠٠٠	٦٢٠٠٠٠	٨٠٠٠٠	٣٧٥٦٠٠٠
نیجریه	-	-	-	-	٣٤٠٠٠٠٠	٣٤٠٠٠٠٠
ترکیه	١٦٧٧٦٥	٧٥٦٤٧٣	١٤٢٧١٦٠	٦٧٢٤٥٢	٣٠٩٠	٣٠٢٦٩٤٠
کل جهان	٥٠٦١٠٢٣	٢٦٥١٣٩٨٦	٦٣٩٠٦٦٤	١٣٠٣٢٣٨٨	٧١٣٧٠٨٤	١١٥٦٥٠٥٤٥

۱-۲-۱-تولید مرکبات در ایران

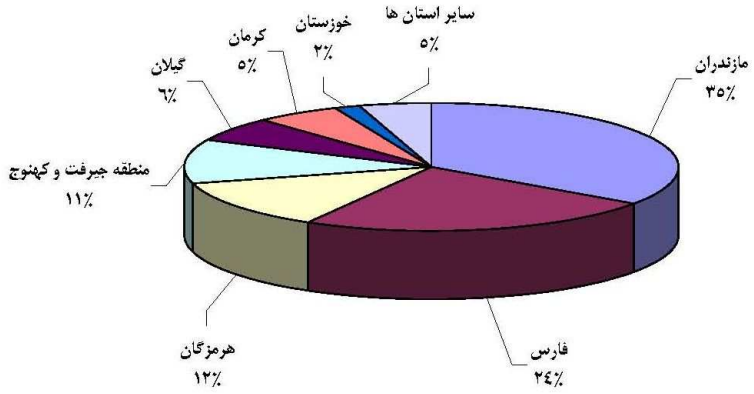
کشت مرکبات در ایران از ۳۰۰ سال پیش از میلاد مسیح (ع) رایج بوده ولی تولید اقتصادی مرکبات در ایران با ورود نخستین رقم‌های نهال بارور مرکبات از ترکیه، لبنان و ایتالیا در سال ۱۳۰۹ شروع و پیوند درختان مرکبات معمول شد. بر اساس گزارش رسمی وزارت جهادکشاورزی، بررسی روند تولید مرکبات در ایران از سال‌های ۸۲ -۱۳۷۰ نشان می‌دهد که تولید مرکبات از ۲میلیون و ٤۳۸هزار تن در سال ۷۰ به ۳ میلیون و ۸۸۱ هزار تن در سال ۸۲ و ٤میلیون و ۳۵۰ هزار تن در سال ۸۳ افزایش یافته‌است که این روند نشانگر رشد میانگین ٤/٤ درصدی سالیانه است. براساس این گزارش، عملکرد تولید مرکبات در ایران از ۱۳هزار و ٦۰۵ کیلوگرم در هکتار در سال ۱۳۷۰ با رشد سالانه ۲/۱درصدی به ۱۷هزار و ۳۲۲ کیلوگرم در هکتار در سال ۱۳۸۲ افزایش یافته‌است. بر اساس این گزارش، سطح زیرکشت مرکبات ایران از ۲۱٤هزار هکتار سال ۱۳۷۰ به ۲۵۷/۱هزار هکتاررسیده است که نشان می‌دهد سالانه ۱/۵درصد به سطح کشت باغ‌های مرکبات افزوده شده است [۲].

براساس آمار سازمان خواربار و کشاورزی ملل متحد (سال ۲۰۰۸)، ایران با تولید حدود ٤ میلیون تن مرکبات، ٤/۱درصد از تولید ۱۰۳میلیون و ۸۳۱ هزار تن مرکبات جهان را به خود اختصاص داده است. مناطق کاشت مرکبات در ایران به ۲ منطقه کاملا مجزا تقسیم می‌شود [۲].

۱- منطقه شمالی: شامل سواحل دریای خزر در استان‌های گیلان، مازندران و گلستان که از آستارا تا گرگان در شمال کوه های البرز و در ۳۷ درجه عرض شمالی قرار دارند. سطح زیر کشت مرکبات در این منطقه بیش از ۳۰ هزار هکتار است که قسمت اعظم آن را پرتقال شامل می‌شود. در این منطقه با توجه به نزولات آسمانی فراوان مرکبات کاشته شده اغلب بصورت دیم می‌باشد.

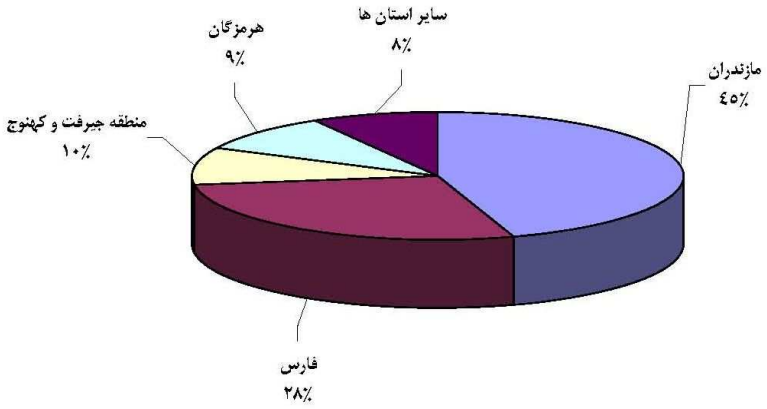
۲- منطقه جنوبی: در این منطقه باغات مرکبات در استان‌های فارس، خوزستان، کرمان، سیستان و بلوچستان و هرمزگان وجود دارد. مراکز عمده تولید شهرهای جهرم، کازرون، داراب، دزفول، جیرفت و میناب می‌باشند.

بخش عمده تولیدات ایران به صورت تازه و مقدار ناچیزی به صورت آب میوه به مصرف داخلی می‌رسد. شکل ۱-۱ سطح زیر کشت مرکبات را در استان‌های مختلف نشان می‌دهد.



شکل ۱-۱. سطح زیر کشت مرکبات در ایران به تفکیک استان ها [۳].

از ۲۹۱ هزار هکتار سطح بارور، ٤ میلیون تن مرکبات حاصل می‌گردد که از این مقدار تولید، ٤٥ درصد سهم منطقه مازندران بوده که در مقام اول قرار دارد. سه استان فارس، کرمان (کهنوج و جیرفت) و هرمزگان به ترتیب با ۲۸، ۱۰، و ۹ درصد مقام های دوم تا چهارم را دارند(شکل ۲-۱).



شکل ۱-۲. میزان تولید مرکبات در ایران به تفکیک استان ها[۳].

۱-۳-مشخصات گیاه شناسی مرکبات

مرکبات از گیاهان دولپه و به خانواده Rutaceae تعلق دارد. *Citrus*، *Fortunella* و *Poncirus* از جنس‌های مهم آن هستند. غیراز این۳ جنس، جنس‌های دیگر شامل درختان وحشی بوده و ارزش اقتصادی ندارند در بعضی نقاط به صورت درختچه‌های کوچک یافت می‌شود. تمامی مرکبات، درخت یا درختچه‌های بلندی هستند که حالت پهن‌شونده و همیشه سبز دارند. درختان گریپ‌فروت، بلندترین و لیموآب، کوچک‌ترین اعضای این گروه هستند [۵].

۱-۳-۱-مکزیکن لایم[1]

مکزیکن‌لایم(*Citrus arurantifolia* L.) یکی از گونه‌های حساس به سرما و شوری است. گونه لایم چون بومی مناطق گرمسیری است، لذا کشت آن به مناطق گرم و نیمه‌گرمسیر مرطوبی که دمای محیط پایین‌تر از ۲- تا ۳- درجه سانتی‌گراد کاهش نیابد، محدود می‌شود. رقم لایم مکزیکی را در ایران لیموآب شیراز، لیموشیشه و لیموعمانی می‌نامند [۷]. این گونه بومی هندوستان بوده و به صورت درختچه یا درخت کوچک با تاج نامنظم می‌باشد و شاخه‌های آن دارای خارهای کوتاه بی‌شمار است. برگ‌های این گونه کشیده، کمی دندانه دار و دمبرگ نازک با حاشیه باریک می‌باشد. گل‌ها کوچک و سفید و به تعداد ۳ تا ۱۰ عدد در یک خوشه کنار برگ‌ها ظاهر می‌شود. میوه کشیده و گاهی گرد و به رنگ زرد و به طور نامنظم در طول سال روی درخت ظاهر می‌گردد. پوست میوه آن نازک، رنگ بخش خوراکی سبز و ترش مزه است[٦].

سرمازدگی یکی از پدیده‌های جوی است که در اثر کاهش تدریجی و یا ناگهانی دما در زمان رکود و یا فصل رشد گیاه رخ می‌دهد. سالانه ۱۵-۵٪ از تولیدات کشاورزی جهان در اثر یخزدگی ازبین می‌رود. تنها حدود ۱۰٪ از کل زمین‌های کشاورزی دنیا ممکن است بدون تنش سرمازدگی باشند. سرما به شکل‌های مختلف آسیب وارد می کند که بعضی از آنها عبارتند از: آفتاب سوختگی زمستانه، از بین رفتن جوانه‌های گل در حال رکود در فصل زمستان، مرگ لایه‌زاینده در شاخه‌ها و تنه، آسیب در زمان گرده‌افشانی و آسیب به گل و میوه‌ها در بهار و پاییز [۸].

[1]- Mexican lime

۱- ٤-تنش‌های محیطی گیاهان

تنش در واقع شرایطی است که از رشد مطلوب موجود زنده جلوگیری شده و تغییرات و واکنش‌هایی در تمام فعالیت های موجود زنده ایجاد می‌شود [۱۲۹]. تنش‌های محیطی باعث بروز دامنه وسیعی از واکنش‌ها در گیاهان ار تغییر بیان ژن و متابولیسم سلول، تا تغییر در سرعت رشد و عملکرد محصولات می‌شوند [۱۰۲].

تنش‌ها شامل انواع تنش‌های زنده[1] و یا تنش‌های غیرزنده [2]می‌باشد و تغییرات و واکنش‌های موجود زنده می‌تواند فیزیکی و یا شیمیایی و یا تلفیقی از هردو باشد. گیاهان غالبا با تنش‌های‌دمای‌پایین، شوری، خشکی، غرقاب، گرما، سمیت فلزات‌سنگین و تنش‌های اکسیداتیو مواجه هستند [۹۳].

تنش‌های محیطی موجب برانگیختن پاسخهای پیچیده درون سلولی، فیزیولوژیکی و نموی در گیاهان می‌شود. ترکیبات مختلفی از قبیل محلولهای سازگار مانند اسیدهای‌آمینه، پلی‌آمین‌ها وکربوهیدراتها در ایجاد مکانیسم‌های مقاومت موثرمی‌باشند [۲۱۱]. در طول سازگاری به سرما، تغییرات متابولیکی زیادی از جمله تغییر در سطوح متابولیت‌های گیاهی و فعالیت آنزیم‌ها صورت می‌گیرد [٤۰].

تنش‌های محیطی منجر به تغییراتی در گیاهان می‌شوند [۱۹۹]. پاسخهای سلولی اصولا بوسیله اثر متقابل مواد بیرون سلولی با یک گیرنده پروتئینی روی غشاء پلاسمایی آغاز می‌شود، سپس با انتقال سیگنال منجر به تحریک پیغام‌برهای ثانویه مانندکلسیم، انواع اکسیژن فعال(ROS) و فسفات‌های اینوزیتول می‌شود. این پیغامبرهای ثانویه مثل فسفات‌های اینوزیتول بیشتر سطح کلسیم درون سلولی را تنظیم می‌کنند. این اختلال در سطح کلسیم سیتوزلی بوسیله پروتئین‌های متصل به کلسیم احساس می‌شود. این پروتئین‌های حساس، ژنهای اصلی مسوول تنش یا عوامل نسخه برداری کنترل‌کننده این ژنها را تحریک می‌کنند [۱۲۹]. فرآورده‌های این ژنهای تنشی سرانجام منجر به سازگاری گیاهان شده و به بقا و فائق آمدن به شرایط نامساعد کمک می‌کنند. بنابراین گیاهان به تنش‌ها بصورت یک سلول منفرد و در سطح بالاتر بصورت یک ارگانیزم کامل پاسخ می‌دهند [۱۲۱].

[1] - biotic
[2] - abiotic

۱-٤-۱-تنش دمای پائین

دما به عنوان یکی از فاکتورهای مهم و موثر در رشد و نمو گیاهان است. تعداد زیادی از گونه‌های گیاهی به دمای پایین حساس بوده و رشد گیاه در اثر دمای پایین کاهش می‌یابد. دمای پایین به عنوان یکی از انواع تنش‌های محیطی است که موجب کاهش ارزش اقتصادی محصولات و گیاهان می‌شود [۱۲۱]. به‌علاوه دمای پایین به عنوان یکی از فاکتورهای محیطی است که پراکنش جغرافیایی و فصل رشد گیاهان را محدود می‌کند [۲۳۵].

بعضی از اثرات ظاهری و فنوتیپی مربوط به دمای پایین عبارت است از کاهش سطح برگ، پژمردگی، کلروز(زرد شدن برگها)که در نهایت به نکروزه شدن(مرگ بافت) می‌انجامد. اختلال در غشاء سلول به عنوان اولین خسارتی است که دمای پایین به گیاه وارد می‌کند و در صورت تشکیل یخ منجر به خشکی[1] می‌شود [۱۰۲].

پروسه فرایند سازگاری به سرما به گیاهان این امکان را می‌دهد که بتوانند نسبت به یخبندان هم مقاومت و سازگاری پیدا کنند. در طول مدت زمانی که گیاه در معرض دمای پایین قراردارد تغییرات متعدد بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی و متابولیکی در گیاهان صورت‌می‌گیرد. درواقع زمانی که گیاه در معرض دمای پایین قرارمی‌گیرد سطح بیان‌ژن‌ها به طور چشمگیری تغییر می‌کند. مقاومت به سرما صفتی‌چندژنی است که دستیابی ژنتیکی به آن نیاز به برنامه‌ریزی‌های گسترده دارد [۱٤۲].

مطالعات نشان می‌دهد که گیاهانی که مقاومت بیشتری به سرما دارند مقدار بیشتری اسیدهای چرب غیراشباع در غشاء سلولی‌دارند [۱۲۱] و آنزیمهایی که جهت هیدرولیز شدن اسیدهای چرب در زمان سرما نیازاست بیشتر فعال‌می‌شوند [۲۰٤ و ۲۰٦].

تنش دمایی شامل دو نوع است. یکی سرمازدگی[2] و دیگری یخزدگی[3]، که بین این دو فرآیند تفاوت‌هایی وجوددارد. بین آسیب در اثر سرما و آسیب در اثر یخزدگی باید تفاوت قائل شد. آسیب در اثر سرما همراه با یخزدگی بافت گیاهی نیست [۸].

۱-٤-۱-۱-سرمازدگی

بسیاری از گونه‌های گیاهی به ویژه گونه‌های مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری زمانی که در معرض دماهای پایین‌تر از ۱۵ درجه سانتی‌گراد قرار می‌گیرند خسارت می‌بینند. این حالت سرمازدگی نامیده می‌شود [۹].

[1]-dehydration
[2] -chilling
[3] - freezing

١-٤-١- ٢-یخ زدگی

وقتی گیاهان در معرض دماهای پایین تر از صفر قرار می‌گیرند، دچار یخزدگی می‌شوند که این دما برای گیاهان مختلف که در عرض‌های جغرافیایی متفاوت رشد می‌کنند متفاوت است [٨]. تنش یخزدگی در نتیجه کاهش دما به نقطه انجماد و یا پایین‌تر از آن روی می‌دهد. درک مکانیزم سرمازدگی و اثر مخرب آن روی گیاه زمینه انتخاب و توسعه گیاهان متحمل به سرما را فراهم می‌کند. از طرف دیگر خسارت یخبندان به گیاهان، ناشی از تشکیل یخ در دماهای پائین است. تشکیل یخ در گیاهان از فضای آپوپلاستی شروع می‌شود، زیرا غلظت مواد محلول در فضای آپوپلاستی کمتر از مواد محلول درون سلولی است. تشکیل یخ در آپوپلاست یک شیب فشار بخار را بین آپوپلاست و سلولهای اطراف ایجاد می‌کند در نتیجه آب سیتوپلاسمی که منجمد نشده به طرف شیب کمتر یعنی از سیتوزول سلول به آپوپلاست حرکت می‌کند که این امر منجربه بزرگ‌شدن کریستالهای یخ موجود می‌شود و موجب ایجاد فشار مکانیکی روی دیواره سلولی و غشا پلاسمایی و از هم پاشیدگی سلول می‌شود [٤٦و ٢٢٧].

١-٤-١-٣-فرآیند انجماد و یخ زدگی

در طبیعت اختلاف دما بین سلول‌های گیاهی و هوای اطراف آن بیش از چند درجه نمی‌باشد، بنابراین یخزدگی همیشه در فضاهای بین سلولی اتفاق می‌افتد، بخارخالص موجود در فضاهای بین سلولی متراکم شده و یخ می‌بندد. به دلیل خالص بودن، این بخارنقطه یخبندان بالاتری نسبت به آب سلولی داشته در نتیجه زودتر از آن یخ می‌بندد. یخ بستن آب بین سلولی منجربه ایجاد یک شیب فشار بخار بین آب سلولی(واکوئل) و فضاهای بین سلولی می‌شود، در نتیجه آب از واکوئل‌ها به سمت یخ خارج سلولی حرکت‌کرده و بر روی هسته‌های یخ تشکیل شده در فضای بین سلولی متراکم می‌شود. این امر منجر به تشکیل توده‌های یخ بزرگ‌تر از سلول شده و به دنبال آن سلول از هم گسیخته می‌شود [٨]. گیاهان به دو طریق می توانند نسبت به یخزدگی مقاومت ایجادکنند. یکی‌حالت فراسرد[1] که در این حالت گیاهان با حفظ آب سلولی در یک حالت فراسرد یا تعادل فوق پایدار از تشکیل یخ در داخل سلولها جلوگیری‌می‌کنند. این نوع واکنش در مقابل یخزدگی فراسردشدن نامیده می‌شود. روش دیگر یخزدگی خارج سلولی[2] است که در این حالت گیاهان با ازدست دادن آب سلولی و درنتیجه تشکیل یخ درخارج از سلول، از تشکیل یخ در داخل سلول جلوگیری می‌کنند. این نوع واکنش در مقابل یخزدگی، مقاومت به یخزدگی خارج‌سلولی نامیده می‌شود. در هرحال میزان فراسرد شدن آب سلولی محدوداست [٩].

1- supercooling
2-extracellular freezing