Plant Prod., 2025, 48(3), 469-487
https://plantproduction.scu.ac.ir/
ISSN (P): 2588-543X; **ISSN (E):** 2588-5979
Doi: 10.22055/ppd.2025.47275.2182
Received: 27 June 2024
Accepted: 19 April 2025

Plant Productions

Research Article

Effect of foliar application of *Bacillus subtlis*, sucrose, ethanol and silicon on the freezing tolerance of three olive cultivars

Shima Amirdehi[1], Hossein Sadeghi[2], Vahid Akbarpour[3*]

1. M. Sc graduate, Department of Horticultural Sciences and Engineering, Faculty of Crop Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran
2. Associate Professor, Department of Horticultural Sciences and Engineering, Faculty of Crop Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran
3. Assistant Professor, Department of Horticultural Sciences and Engineering, Faculty of Crop Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

Citation: Amirdehi, SH., Sadeghi, H., Akbarpour, V. (2025). Effect of foliar application of *Bacillus subtlis*, sucrose, ethanol and silicon on the freezing tolerance of three olive cultivars. *Plant Productions,* 48(3), 469 - 487.

Abstract

Introduction

Cold stress is a major environmental constraint affecting plant growth and productivity, with freezing temperatures (< -7°C) causing considerable damage to olive trees in temperate regions. Several approaches, such as foliar application of biotic and abiotic compounds, are explored to enhance plant tolerance to freezing.

Materials and Methods

This factorial experiment was conducted on potted seedlings of three olive cultivars _ Amigdalolia, Conservolea and Muharram _ at Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources from autumn 2017 to spring 2018. Seedlings were subjected to -10°C in a controlled environment, with foliar treatments consisting of *Bacillus subtilis*, sucrose, ethanol and potassium silicate. Three replications were performed for each treatment-cultivar combination. Various physiological and biochemical parameters were measured, including ion leakage, total chlorophyll content, proline concentration, soluble carbohydrates, and leaf abscission.

Results and Discussion

A significant interaction between cultivar and foliar treatment was observed for all measured traits ($P < 0.01$). The highest ion leakage occurred in Conservolea treated with potassium silicate (75.93 %), while the lowest was in Amigdalolia receiving potassium silicate (28.92 %). Sucrose increased total chlorophyll in Conservolea (7.41 mg. g^{-1} FW), whereas the lowest values were detected in untreated and low-concentration bacterial treatments in Amigdalolia. Ethanol treatment led to the highest proline content in Muharram (0.062 mg. g^{-1} FW), with the lowest in

* **Corresponding Author:** Vahid Akbarpour
E-mail: v.akbarpour@sanru.ac.ir

© 2025 The Author(s). Published by Shahid Chamran University of Ahvaz. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

control and low concentration bacterial treatments in Muharram and Conservolea cultivars. Maximum soluble carbohydrate content was recorded in Muharram with sucrose application (300.66 µg. g^{-1} of FW); the minimum was observed in untreated Amigdalolia (181.67 µg. g^{-1} FW). Leaf abscission ranged widely, from 100 % in Conservolea with all treatments to just 12.82 % in Amigdalolia with ethanol. Complete branch dying (100%) was most pronounced in Amigdalolia with high bacterial concentration and in Conservolea under all but control treatments.

Conclusion

Foliar application of antifreeze bacteria, sucrose, ethanol, and potassium silicate exerted cultivar-dependent effects on freezing tolerance in olive. *Bacillus subtilis* reduced leaf and branch loss in Muharram, but negatively impacted Conservolea and Amigdalolia. Sucrose, ethanol and silicon most effectively minimized damage in Amigdalolia, whereas no consistent protective effect was seen in Moharram and Conservolea. The response to foliar spraying under cold stress was therefore highly genotype-specific.

Keywords: Chlorophyll, Freezing, Ion leakage, Olive, Proline

تولیدات گیاهی، ۱۴۰۴، ۴۸(۳)، ۴۶۹ - ۴۸۷
https://plantproduction.scu.ac.ir/
ISSN (P): 2588-543X; **ISSN (E):** 2588-5979
Doi: 10.22055/ppd.2025.47275.2182
تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۴/۰۷
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۱/۳۰

تولیدات گیاهی
مقاله پژوهشی

اثر محلول‌پاشی باسیلوس سوبتیلیس، ساکارز، اتانول و سیلیسیوم بر تحمل تنش یخ‌زدگی نهال‌های سه رقم زیتون

شیما امیردهی[۱]، حسین صادقی[۲]، وحید اکبرپور[۳]*

۱- دانش‌آموختهٔ کارشناسی‌ارشد، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکدهٔ علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران
۲- دانشیار، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکدهٔ علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران
۳- استادیار، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکدهٔ علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

چکیده

تنش سرما، یکی از عوامل محدودکنندهٔ تولید و رشد و نمو گیاهان زراعی است. یخ‌زدگی یا کاهش دمای هوا به زیر نقطهٔ انجماد، پدیده‌ای است که در فصل سرد مناطق معتدله سبب ایجاد خسارت و آسیب به محصولات کشاورزی می‌شود. آسیب‌های ناشی از پدیدهٔ یخ‌زدگی در دماهای کمتر از ۷- درجهٔ سانتی‌گراد باعث کاهش تولید محصول زیتون می‌شود. روش‌های متعددی برای افزایش تحمل گیاهان به تنش یخ‌زدگی وجود دارد. محلول‌پاشی ترکیبات زیستی و غیرزیستی پیش از وقوع سرما، روشی سریع و کارآمد برای محافظت درختان در برابر سرما است. این آزمایش در پاییز و زمستان سال ۱۳۹۷ و بهار سال ۱۳۹۸ در سردخانهٔ دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری بر روی نهال‌های زیتون ارقام آمیگدال، کنسروالیا و محرم به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و دمای ۱۰- درجهٔ سانتی‌گراد اجرا شد. تیمارهای محلول‌پاشی شامل باسیلوس سوبتیلیس، ساکارز، اتانول و سیلیکات پتاسیم بود. نتایج نشان داد برهمکنش محلول‌پاشی و رقم بر تمامی صفات در سطح یک درصد معنی‌دار بود. بیشترین میزان نشت الکترولیت در تیمار سیلیکات پتاسیم رقم کنسروالیا (۷۵/۹۳ درصد) و پس از آن در تیمار اتانول همان رقم (۷۴/۵۴ درصد) مشاهده شد، در حالی‌که کمترین درصد نشت الکترولیت در رقم آمیگدال به ترتیب در تیمارهای سیلیکات پتاسیم (۲۸/۹۲ درصد) و اتانول (۳۲/۳۹ درصد) مشاهده شد. بیشترین میزان کلروفیل کل در تیمار ساکارز در رقم کنسروالیا (۷/۴۱ میلی‌گرم در گرم وزن تر) و کمترین مقدار در رقم آمیگدال به ترتیب در تیمارهای شاهد (۱/۴۲ میلی‌گرم در گرم وزن تر) و باکتری با غلظت ۰/۰۰۱ CFU (۱/۶ میلی‌گرم در گرم وزن تر) مشاهده گردید. بیشترین میزان غلظت پرولین در تیمار اتانول در رقم محرم (۰/۰۶۲ میلی‌گرم در گرم وزن تر) و کمترین مقدار در تیمار شاهد (۰/۰۱۵ میلی‌گرم در گرم وزن تر) و باکتری با غلظت ۰/۰۰۲ CFU (۰/۰۲۲ میلی‌گرم در گرم وزن تر) در رقم محرم و تیمار اتانول (۰/۰۲۲ میلی‌گرم در گرم وزن تر) در رقم کنسروالیا مشاهده گردید. بیشترین میزان قندهای کل محلول در تیمار ساکارز (۳۰۰/۶۶ میکروگرم بر گرم وزن تر) در نهال‌های رقم محرم و کمترین مقدار در تیمار شاهد رقم آمیگدال (۱۸۱/۶۷ میکروگرم بر گرم وزن تر) مشاهده شد. بیشترین درصد ریزش برگ در رقم کنسروالیا (۱۰۰ درصد) ضمن استفاده

نویسنده مسئول: وحید اکبرپور
رایانامه: v.akbarpour@sanru.ac.ir

از تیمارهای ساکارز، اتانول، سیلیکات پتاسیم و باکتری با غلظت ۰/۰۰۱ CFU و کمترین مقدار در رقم آمیگدال (۱۲/۸۲ درصد) در اثر کاربرد اتانول مشاهده شد. بیشترین درصد خشکیدگی سرشاخه در نهال‌های رقم آمیگدال (۱۰۰ درصد) در استفاده از باکتری با غلظت ۰/۰۰۲ CFU و در رقم کنسروالیا در نتیجه کاربرد ساکارز، اتانول، سیلیکات پتاسیم، باکتری با غلظت ۰/۰۰۱ CFU با خشکیدگی صددرصد سرشاخه‌ها مشاهده شد که تفاوتی با تیمار شاهد نداشت. تیمارهای محلول‌پاشی اثرات متفاوتی بر ارقام مختلف زیتون داشتند؛ به‌گونه‌ای که استفاده از باکتری ضدیخ در رقم محرم سبب کاهش ریزش برگ و خشکیدگی سرشاخه‌ها شد، اما در ارقام کنسروالیا و آمیگدال تأثیر منفی داشت. در مقابل، محلول‌پاشی با ساکارز، اتانول و سیلیکات پتاسیم در رقم آمیگدال باعث کاهش خسارت‌های ناشی از سرما شد، ولی در دو رقم دیگر اثری نداشت. در مجموع، واکنش ارقام زیتون به تیمارهای محلول‌پاشی تحت تنش سرمایی متفاوت بود.

کلیدواژه‌ها: پرولین، زیتون، کلروفیل، نشت یونی، یخزدگی

مقدمه

زیتون (*Olea europaea* L.) از خانوادهٔ اولئاسه (Oleaceae)، گیاهی همیشه‌سبز است. این گیاه یکی از قدیمی‌ترین گیاهان حوزهٔ مدیترانه به‌ویژه خاورمیانه می‌باشد که از نظر اجتماعی و اقتصادی دارای اهمیت است (Baldoni *et al.*, 2009). درخت زیتون به‌طور وسیعی در مناطق مختلف دو نیمکرهٔ شمالی و جنوبی در شرایط اقلیمی مدیترانه‌ای و شبه‌مدیترانه‌ای با زمستان‌های مرطوب و ملایم و تابستان‌های گرم مشاهده می‌شود (Sadeghi, 2002). زیتون گیاهی متحمل به شوری و خشکی است اما در دماهای پایین تحمل کمی دارد (Rezaei *et al.*, 2013). طی سال‌های اخیر، کشت و کار زیتون در مناطق با عرض جغرافیایی بالاتر افزایش یافته است. عامل محدودکنندهٔ رشد زیتون در این مناطق، دماهای کم در زمستان و اوایل بهار می‌باشد (Simkeshzadeh *et al.*, 2011). یخزدگی یا کاهش دمای هوا به زیر نقطهٔ انجماد، پدیده‌ای است که در برخی مناطق معتدله در فصل سرد سبب ایجاد خسارت و آسیب به اندام‌های گیاهی و محصولات کشاورزی می‌گردد. از مهم‌ترین علائم یخزدگی می‌توان به شکافته شدن تنه درختان، خشکیدگی سرشاخه‌ها، ریزش جوانه گل قبل از باز شدن، ریزش میوه و سیاه شدن آوند چوبی اشاره نمود (Karlinsky, 2012). آسیب‌های ناشی از پدیده یخزدگی در دماهای کمتر از ۷- درجهٔ سانتی‌گراد در زیتون رخ می‌دهد و باعث کاهش تولید محصول می‌شود (Palliotti and Bongi, 1996;). طی پژوهشی با مطالعهٔ آسیب‌های ظاهری و فلورسانس کلروفیل، تحمل برخی ارقام زیتون به تنش سرما در دو دمای ۰ و ۵- درجه سانتی‌گراد را مورد بررسی قرار گرفت ونتایج نشان داد هیچ گونه تنشی به گیاه وارد نشده و همه ارقام در این دو دما تحمل نشان می‌دهند (Simkeshzadeh *et al.*, 2011). امروزه از روش‌هایی نظیر محلول‌پاشی برای کاهش خسارت‌های ناشی از تنش‌های محیطی و افزایش تحمل گیاهان استفاده می‌شود. تحقیقات مزرعه‌ای متعددی با استفاده از محلول‌پاشی ترکیبات مختلف انجام شده که سبب کاهش دمای سرمازدگی شده است (Francko *et al.*, 2011). تنش‌های غیرزیستی تأثیر منفی قابل توجهی بر بهره‌وری کشاورزی جهان دارد. استفاده از باکتری مفید محرک رشد گیاه *Bacillus subtilis* راهبردی پایدار و سازگار با محیط زیست برای مقابله با اثرات نامطلوب تنش‌های غیرزیستی بر گیاهان است. *B. subtilis* اثرات محرک رشد و محافظتی را بر روی گونه‌های مختلف گیاهی تحت تنش‌های محیطی مختلف از جمله خشکی، شوری، فلزات سنگین و غیره اعمال می‌کند. مؤثرترین باکتری در تقویت رشد و محافظت از گیاه در برابر تنش ممکن است باکتری اندوفی *B. subtilis* باشد که در داخل بافت‌های گیاهی زندگی می‌کند. آن‌ها نسبت به سویه‌های اپی‌فیتیک کمتر به عوامل محیطی خارجی وابسته هستند و محافظت طولانی مدت از گیاه میزبان را فراهم

می‌کنند که در کنار ارتقای رشد، از نظر اقتصادی نیز مفید است (Zubair *et al*., 2019). استفاده از باکتری‌های آنتاگونیست، برای ایجاد رقابت با باکتری‌های یخ‌ساز در گیاهان و کاهش ۱۰۰۰ برابری جمعیت این باکتری‌ها نیز از روش‌های بکارگرفته شده می‌باشد (Lindow, 1987). به‌دلیل جذب سریع این ماده توسط برگ‌ها، ساقه و ریشه در مدت زمان اندک، گیاهان شروع به فعالیت شدید متابولیکی کرده و محتویات آمینواسیدها، پروتئین‌ها، چربی‌ها، کربوهیدرات‌ها، ویتامین‌ها و مواد معدنی به‌ویژه پروتئین‌های ضدیخ در پیکرهٔ گیاه افزایش می‌یابد. طی پژوهشی کاربرد ضدیخ تیوفر سبب افزایش مادهٔ خشک غده عملکرد غدهٔ سیب‌زمینی شد. همچنین موجب افزایش ۱۹/۵ درصدی تجمع پرولین نسبت به شاهد شد و بیشترین عملکرد غده تحت تأثیر کاربرد ضدیخ مشاهده شد (Darini *et al.,* 2013). ساکارز به عنوان یک تنظیم‌کنندهٔ ذخیره قندها می‌تواند پیش ماده‌ای برای ساخت سایر ترکیبات باشد. این ترکیب می‌تواند به‌عنوان جایگزینی برای آب نیز باشد و از تغییرات ساختمانی فسفولیپیدهای غشا جلوگیری کند. افزایش میزان کربوهیدرات‌ها در شرایط تنش می‌تواند به عنوان یک سیگنال متابولیکی به تنش عمل نماید و در بروز پاسخ‌های دفاعی نقش داشته باشد (Niknam *et al.,* 2004). نتایج تحقیقات نشان داده که محافظت‌کننده‌های اسمزی به طور معنی‌داری تحمل به تنش دمای پایین را در گیاه برنج افزایش داده است و می‌توانند رشد ریشه و توسعهٔ اندام‌های هوایی را تا ۵۰ درصد در شرایط تنش دمای پایین (۱۶–۱۰ درجه سانتی‌گراد به ترتیب شب–روز) افزایش دهند (Naidu *et al.*, 2005). ساکارز می‌تواند گیاه را توانمند به مقابله با تنش‌های محیطی مانند تنش دمای پایین (Guy, 1990)، تنش آبی (Ramos *et al.,* 1999) و تنش شوری (Balibrea *et al.,* 1997) نماید. یکی از ترکیباتی که سبب افزایش تحمل گیاه می‌شود سیلیسیوم است. این ترکیب با رسوب در دیوارهٔ سلولی سبب کاهش خسارات ناشی از آسیب سلولی می‌شود. مطالعات اخیر نشان داده است که کاربرد سیلیسیوم نقش موثری بر کاهش اثرات تنش‌های زیستی و غیرزیستی دارد (Kiani Chalmardi *et al.,* 2013; Bandani and Abdolzadeh, 2007). سیلیسیوم با افزایش تحریک تولید برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی موجب افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های گیاهان می‌شود و آسیب ناشی از گونه‌های اکسیژن واکنش‌گر (ROS) تحریک‌شده توسط تنش‌های زیستی و غیر زیستی را کاهش می‌دهد (Liu *et al.,* 2009). دیوارهٔ سلول‌های اپیدرم توسط لایه‌های محکم سیلیسیوم آغشته شده و در برابر آب از دست‌دهی به واسطه تعرق کوتیکولی و نیز در برابر آلودگی‌های قارچی محافظت می‌شوند. علاوه بر دیواره‌های سلولی اپیدرم برگ‌ها، سیلیسیوم با تجمع بر روی دیواره‌های سلول آوند چوبی از فرو ریختن آوندها در شرایط تعرق زیاد جلوگیری می‌کند (Marschner, 1995). نتایج پژوهشی نشان داد تأثیر تیمارهای ضدتنش بر شاخص‌های مختلف کلم بروکلی متفاوت بود. بیشترین میزان عملکرد کوآنتوم خاموشی غیرفتوشیمیایی در تیمار شاهد و سیلیکات‌پتاسیم تنها و کمترین میزان آن در تیمار سیلیکات پتاسیم + بردوفیکس دیده شد. بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در تیمار ساکارز تنها (۵۰/۲۶ درصد مهار) دیده شد که تفاوت معنی‌داری با دو تیمار ساکارز+سیلیکات پتاسیم و بردوفیکس تنها نداشت، ولی هر سه این تیمارها نسبت به سایر تیمارهای به کارفته در این آزمایش از نظر آماری برتر بودند (Nickkhoo *et al.,* 2024). در میزان قند محلول نیز دو تیمار سیلیکات پتاسیم تنها و تیمار سه‌گانه، بهتر از شاهد بودند و سایر تیمارها در مقایسه با شاهد تفاوت معنی‌داری نشان ندادند. بیشترین میزان پرولین در تیمار ساکارز+سیلیکات پتاسیم دیده شد، که به‌طور معنی‌داری نسبت به همه تیمارهای دیگر برتر بود. پژوهش Niazbal *et al.,* (2021) برای ارزیابی تأثیر سیلیکات پتاسیم بر ویژگی‌های رشدی چمن شبدری تحت تنش آبی نشان داد که سیلیکات پتاسیم سبب افزایش محتوای کلروفیل در تیمارهای ۱۰۰ و ۶۶ درصد ظرفیت زراعی شد. آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز به ترتیب بیشترین فعالیت را در تیمار ۳۳ درصد ظرفیت زراعی و کاربرد سیلیکات پتاسیم و تیمار ۳۳ درصد ظرفیت زراعی و عدم استفاده از سیلیکات پتاسیم نشان دادند. در این پژوهش تیمار ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی مزرعه و سیلیکات پتاسیم به عنوان کارآمدترین

تیمار در بهبود ویژگی‌های رشدی چمن شبدری مشخص شد. در توت‌فرنگی، با افزایش شدت تنش آبی، میزان کلروفیل، فلورسانس، فتوسنتز و هدایت روزنه‌ای به‌طور معنی‌داری کاهش یافت، در حالی که کاربرد سیلیسیوم موجب افزایش کلروفیل، فلورسانس و فتوسنتز شد. همچنین، سیلیسیوم به‌طور قابل توجهی تعرق را کاهش داده و کلروفیل و کارایی مصرف آب را بهبود بخشید (Dehghani *et al.,* 2016). در پژوهشی اثرات ترکیبی آمینوکلات سیلیسیم و فسفر بر سبب بهبود شاخص‌های فتوسنتزی و ویژگی‌های کمی و کیفی توت فرنگی شد (Shabani *et al.,* 2025). به‌کارگیری سیلیکات پتاسیم و سولفات پتاسیم بر ویژگی‌های رشدی دانهال‌های پسته رقم بادامی در شرایط تنش شوری، نشان داد که شوری آب موجب کاهش محتوای آب نسبی برگ، کارایی استفاده از آب، مجموع پروتئین‌های محلول برگ و افزایش میزان نشت الکترولیت‌ها، پرولین، قندهای محلول و ترکیب‌های فنلی برگ شد. اما کاربرد سیلیکات پتاسیم و سولفات پتاسیم باعث افزایش معنی‌دار محتوای آب نسبی برگ، کارایی استفاده از آب، مجموع پروتئین‌های محلول، پرولین، قندهای محلول و ترکیب‌های فنلی برگ و کاهش میزان نشت الکترولیت‌های برگ در شرایط تنش شوری شدند (Ranjbar *et al.,* 2017). بررسی تأثیر تنش شوری بر برخی از ویژگی‌های فیزیولوژیک انگور تحت تأثیر محلول‌پاشی سیلیکات پتاسیم و سولفات روی در تعدیل اثرگذاری‌های شوری، نشان داد با افزایش شدت تنش شوری، محتوای نسبی آب برگ، فتوسنتز، تعرق، هدایت روزنه‌ای و کلروفیل کاهش پیدا کرد اما محلول‌پاشی با سطوح مختلف سیلیکات پتاسیم و سولفات روی موجب افزایش ویژگی‌های فیزیولوژیک انگور شد (Azizi *et al.,* 2017). یکی از راهکارهای افزایش غلظت دی‌اکسیدکربن در گیاهان به کارگیری ترکیبات الکلی مانند متانول، اتانول، پروپانول و بوتانول می‌باشد (Nonomura *et al.,* 1997). طی پژوهشی اثر محلول‌پاشی گلیسین بتائین و اتانول بر رشد و محصول گیاه اسپرس تحت تنش خشکی مورد ارزیابی قرار گرفت. محلول‌پاشی گلیسین بتائین و اتانول افزایش ۳۸۹ درصدی عملکرد علوفه تر کل و ۴۷ درصدی عملکرد علوفه خشک کل را نسبت به تیمار بدون محلول‌پاشی نشان داد. بالاترین میزان آب نسبی برگ چین دوم با میانگین ۶۵/۹۹ مربوط به تیمار با محلول‌پاشی گلیسین بتائین و اتانول و کم‌ترین میزان این صفت ۶۴/۳۸ مربوط به تیمار شاهد می‌باشد. همچنین محلول‌پاشی گلیسین بتائین و اتانول تأثیر مثبتی بر افزایش کلروفیل a و کارتنوئید داشت (Haji Ramezani *et al.,* 2017). در پژوهشی اثر محلول‌پاشی اتانول و متانول بر ویژگی‌های گیاه دارویی اسفرزه، اثر تیمارهای آزمایش بر طول، عرض، شاخص کلروفیل، وزن تر و خشک برگ معنی‌دار بود (Larz qadiri *et al.,* 2013). انتخاب ارقام متحمل به سرما مؤثرترین روش غیرمستقیم برای اجتناب از خسارات سرما به شمار می‌رود. محققان اظهار داشتند که رقم کنسروالیا در یونان رشد بالایی داشته و سرما به این رقم خسارت زیادی وارد می‌کند. رقم کرونانیکی شش درصد از سطح زیر کشت زیتون روغنی در یونان را تشکیل می‌دهد. این رقم پرمحصول اما حساس به سرما است (Barranco *et al.,* 2005). در مطالعهٔ ۱۳ درخت زیتون، ابتدا با استفاده از روش نشت یونی مقدار LT50 را در درختان محاسبه شد و سپس با نمونه‌برداری ماهانه از درختان طی دو سال مقدار قندهای محلول و فسفولیپیدهای آن‌ها تعیین شد و نتایج نشان داد که مقدار قندهای محلول در بافت‌های مورد آزمایش بسته به سطح مقاومت گیاه ابتدا افزایش و سپس کاهش یافت (Eris *et al.,* 2007). تاکنون پژوهش‌های متعددی به بررسی تأثیر ترکیبات محافظتی، از جمله سیلیسیوم، در مقابله با تنش‌های محیطی به ویژه خشکی، شوری و مسمومیت ناشی از عناصر سنگین پرداخته‌اند. در این مطالعه، اثر برخی از این ترکیبات بر میزان تحمل ارقام مختلف زیتون در برابر تنش سرما مورد ارزیابی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در پاییز و زمستان سال ۱۳۹۷ در سردخانهٔ دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری بر روی نهال‌های سه رقم زیتون شامل محرم، کنسروالیا و آمیگدال که ارتفاع نهال‌ها حدود یک متر و قطر آن‌ها ۱/۵ سانتی‌متر بود انجام شد. این آزمایش به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی

در سه تکرار (۵۴ نهال) انجام شد. فاکتورهای آزمایشی شامل سه رقم نهال (محرم (مقاوم به سرما)، کنسروالیا (نیمه حساس) و آمیگدال (مقاوم به سرما) و محلول‌پاشی با پنج مادهٔ آزمایشی شامل: ۱- لاکتوباسیلوس (غلظت محلول اصلی 10^8 CFU) در دو غلظت (۰/۰۰۱ و ۰/۰۰۲) ۲- سیلیکات پتاسیم با غلظت چهار درصد ۳- ساکارز با غلظت سه در هزار ۴- اتانول چهار درصد و ۵- تیمار شاهد (بدون محلول‌پاشی) بودند. محلول‌پاشی نهال‌ها یک هفته پیش از اعمال تیمارهای دمایی (آواخر پاییز) انجام شد. پس از محلول‌پاشی، نهال‌ها به سردخانه با شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی منتقل شدند. به‌منظور جلوگیری از بروز شوک دمایی و سازگاری تدریجی نهال‌ها با سرما، کاهش دما به صورت مرحله‌ای و طی چند روز و هر روز به میزان پنج درجه کاهش داده شد تا به سطح دمای مورد نظر ۱۰- درجهٔ سانتی‌گراد) برسد. نهال‌های محلول‌پاشی شده به مدت ۱۲ ساعت در دمای تعیین شده نگه‌داری شدند. پس از اتمام زمان نگه‌داری نهال‌ها در سرما، نمونه‌برداری برگی از تمامی نهال‌ها انجام شد. سپس افزایش دما نیز به‌صورت تدریجی، مشابه روند کاهش دما، انجام شد تا از بروز شوک حرارتی جلوگیری شود. صفات مورد اندازه‌گیری در این آزمایش شامل نشت الکترولیت (EL) بر اساس روش دکستر و همکاران (Dexter *et al.,* 1932)، غلظت کلروفیل کل بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر به روش آرنون (Arnon 1949)، مقدار پرولین بافت برگ بر اساس روش بیتس (Bates *et al.,* 1973)، مقدار قندهای کل محلول برگ به روش (McCready *et al.,* 1950) ، و درصد ریزش برگ و درصد خشکیدگی سرشاخه‌ها (دو هفته پس از تیمار) بر اساس رابطه های زیر بود.

$$\text{درصد ریزش برگ} = \frac{\text{تعداد برگ نهایی} - \text{تعداد برگ اولیه}}{\text{تعداد برگ اولیه}} \times ۱۰۰$$

$$\text{درصد خشکیدگی سرشاخه ها} = \frac{\text{تعداد سرشاخه های سالم} - \text{تعداد سرشاخه های اولیه}}{\text{تعداد سر شاخه های اولیه}} \times ۱۰۰$$

آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چنددامنه‌ای دانکن استفاده شد. همچنین نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel ترسیم شدند.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس داده‌های آزمایشی نشان داد برهمکنش محلول‌پاشی و رقم بر تمام صفات اندازه‌گیری شده در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱).

درصد نشت الکترولیت

بیشترین میزان نشت الکترولیت در تیمار سیلیکات پتاسیم در رقم کنسروالیا (۷۵/۹۳ درصد) و پس از آن در تیمار اتانول در رقم کنسروالیا مشاهده شد (۷۴/۵۴ درصد)، در حالی که کمترین درصد نشت الکترولیت در رقم آمیگدال به ترتیب در تیمارهای سیلیکات پتاسیم (۲۸/۹۲ درصد) و اتانول (۳۲/۳۹ درصد) به دست آمد.

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر محلول‌پاشی برگی باسیلوس سوبتیلیس، ساکارز، اتانول و سیلیسیوم بر برخی صفات زیتون

Table 1. Analysis of variance for the effects of foliar application of *Bacillus subtilis*, sucrose, ethanol, and silicon on selected olive characteristics

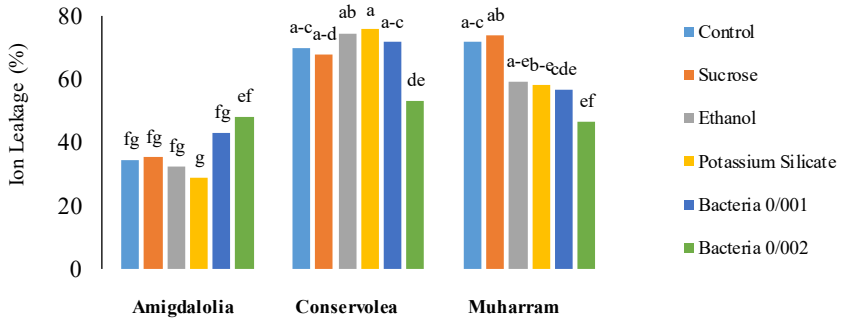
		میانگین مربعات Mean squares					
S.O.V.	Df	Ion leakage	Total chlorophyll content	Proline content	Total soluble carbohydrate content	Leaf abscission	Dry branch
Foliar spraying (A)	5	118.21^{ns}	5.17**	0.0004**	1276^{ns}	714**	0.36 ^{ns}
Cultivar (B)	2	4928**	50.9**	0.0001^{ns}	1907 ^{ns}	10038**	206**
A× B	10	275**	5.92**	0.0005**	2337**	2990**	59.7**
Error	36	76.9	1.02	0.0001	705	80.8	0.79
C.V. (%)	-	15.77	27.38	32.20	12.56	12.96	13.16

^{ns}، * و ** به ترتیب عدم تفاوت معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

^{ns}, * and **: non-significant difference and significant differences at the 5% and 1% probability levels, respectively

بیشترین میزان نشت الکترولیت در تیمار شاهد، در رقم محرم (۷۱/۶۲ درصد) و رقم کنسروالیا (۶۹/۸۸ درصد) مشاهده شد. نشت الکترولیت برگ نهال‌های محلول‌پاشی شده با ساکارز در رقم محرم (۷۳/۸ درصد) و رقم آمیگدال (۳۵/۲۱ درصد) کمی بیشتر از شاهد بود، اما در رقم کنسروالیا کاهش ۳/۱۱ درصدی نسبت به شاهد مشاهده شد. کاربرد اتانول سبب کاهش نشت الکترولیت نسبت به شاهد در دو رقم آمیگدال (۳۲/۳۹ درصد) و محرم (۵۹/۲۷ درصد) و افزایش آن در رقم کنسروالیا (۷۴/۵۴ درصد) شد که همین روند در محلول‌پاشی با سیلیکات پتاسیم در ارقام آمیگدال (۲۸/۹۲ درصد)، محرم (۵۸/۰۴ درصد) و کنسروالیا (۷۵/۹۳ درصد) مشاهده شد. کاربرد باکتری با غلظت ۰/۰۰۱ سبب افزایش نشت الکترولیت در نهال‌های آمیگدال (۴۳/۲۲ درصد) و کنسروالیا (۷۱/۶۶ درصد) و کاهش آن در نهال‌های محرم (۵۶/۷۷ درصد) نسبت به شاهد شد. کاربرد باکتری با غلظت ۰/۰۰۲ سبب افزایش نشت الکترولیت در نهال‌های آمیگدال (۴۸/۰۴ درصد) و کاهش آن در نهال‌های ارقام کنسروالیا (۵۳/۱۴ درصد) و محرم (۴۶/۴۳ درصد) نسبت به شاهد شد. کاربرد سیلیکات پتاسیم (۲۸/۹۲ درصد) در مقایسه با سایر ترکیبات در رقم آمیگدال کاهش ۱۶/۲۳ درصدی نشت الکترولیت را نسبت به نهال‌های شاهد (۳۴/۵۲ درصد) نشان داد اما اختلاف معنی‌داری نسبت به آن مشاهده نشد. در نهال‌های ارقام کنسروالیا و محرم، محلول‌پاشی باکتری با غلظت ۰/۰۰۲ سبب کاهش ۲۳/۹۶ درصدی نشت الکترولیت نسبت به نهال‌های شاهد رقم کنسروالیا (۶۹/۸۸ درصد) و شاهد رقم محرم (۷۱/۶۲ درصد) شد. این کاهش در رقم کنسروالیا نسبت به شاهد و سایر تیمارها، و در رقم محرم نسبت به شاهد، اختلاف معنی‌داری نشان داد (شکل ۱).

تغییرات دمای محیط تأثیر قابل توجهی بر فعالیت‌های متابولیکی گیاهان دارد و سبب تغییر در فعالیت آنزیم‌ها می‌شود. نتایج پژوهش‌های متعددی نشان داده است که تنش سرمایی با افزایش غلظت اسمولیت‌های آلی در واکوئل، از جمله پرولین و قندهایی مانند تروهالوز، فروکتوزان و سایر قندهای تنظیم‌کننده اسمزی همراه است. این ترکیبات با حفظ پایداری غشای سلولی، اندامک‌های سلولی، پتانسیل اسمزی سلولی، پشتیبانی از مسیرهای زیستی و سیستم فتوسنتزی و سیستم‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی از متابولیسم سلولی محافظت می‌کنند. علاوه بر این، برخی ترکیبات درون‌سلولی نیز با توجه به ساختار و عملکردهایی که دارند به گونه‌ای تحت تنش سرمایی قرار می‌گیرند.



شکل ۱- برهمکنش محلول‌پاشی برگی و رقم بر نشت یونی

Figure 1. Interaction effect of foliar application and cultivar on ion leakage

تنش‌های سرمایی با تأثیر بر این مولکول‌ها سبب اختلالات برگشت‌ناپذیری در نفوذپذیری غشا و تبدیل فاز لیپیدی غشاها از حالت سیال – کریستاله به حالت ژل مانند می‌شوند که در نتیجه سبب کاهش نفوذپذیری غشا در شرایط سرما می‌شود. در این شرایط مبادله متابولیت‌ها و یون‌ها به‌صورت کنترل نشده میان بخش‌های مختلف سلول موجب نشت محتویات سلولی به فضای بیرون از سلول می‌شود (Larcher, 2003). نشت الکتریکی بافت‌های گیاهی به‌عنوان شاخص ارزیابی آسیب‌های غشای سلولی و فرآیندهای فیزیولوژیکی مؤثر بر نفوذپذیری غشای سلولی تحت تنش مورد استفاده قرار می‌گیرد (Whitlow, 1992). غشای سلولی اولین بخشی از سلول است که تحت تنش سرمایی آسیب می‌بیند و سبب افزایش تدریجی یون‌های آلی در واکوئل سلول‌های گیاهی می‌شود. در نهایت سبب افزایش نشت یون‌های آلی خواهد شد (Bajji *et al.*, 2002). با افزایش نشت الکترولیت از سلول، حساسیت سلول‌های گیاهی به سرما افزایش می‌یابد و باعث مرگ آن می‌گردد (Shoor *et al.*, 2010). کمترین درصد نشت الکترولیت در نهال‌های رقم آمیگدال و بیشترین مقدار در نهال‌های رقم کنسروالیا مشاهده شد. افزایش نشت الکترولیت به دلیل آسیب دیدن غشای سلول است و با شدت یافتن تنفس و مرگ سلول میزان نشت الکترولیت کاهش می‌شود. نتایج این بررسی نشان داد کاربرد ترکیبات محافظتی تأثیرات متفاوتی در ارقام مختلف زیتون نشان داد، به طوری که سیلیکات پتاسیم سبب کاهش نشت الکترولیت نسبت به شاهد و سایر تیمارها شد، اما کاربرد این ترکیب در نهال‌های رقم کنسروالیا بیشترین نشت الکترولیت را به همراه داشت. وجود پتاسیم در نگهداری آب بافت‌ها نقش دارد. با افزایش شدت تنش، میزان جذب پتاسیم کاهش پیدا می‌کند و باز و بسته شدن روزنه‌ها نیز دچار اختلال می‌شود. لذا رساندن پتاسیم به بافت برگ‌ها موجب کاهش تأثیر تنش از جمله افزایش محتوای نسبی آب برگ می‌شود (Marschner, 1995). بررسی تیمارهای شاهد این ارقام نشان داد که رقم آمیگدال کمترین نشت یونی را در شرایط سرما داشت. با این وجود کاربرد سیلیکات پتاسیم در این رقم سبب کاهش نشت الکترولیت شد که می‌تواند در حفظ پایداری غشا مؤثر باشد.

غلظت کلروفیل کل

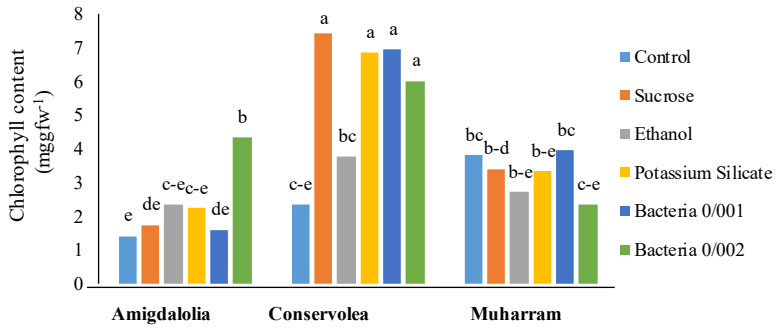
بیشترین میزان کلروفیل کل در رقم کنسروالیا به ترتیب در تیمار ساکارز (۷/۴۱ میلی‌گرم در گرم وزن تر) و تیمار باکتری با غلظت ۰/۰۰۱ (۶/۹۴ میلی‌گرم در گرم وزن تر) مشاهده شد. کمترین میزان نیز مربوط به رقم آمیگدال به ترتیب در تیمارهای شاهد (۱/۴۲ میلی‌گرم در گرم وزن تر) و باکتری با غلظت ۰/۰۰۱ (۱/۶ میلی‌گرم در گرم وزن تر) بود. کلروفیل کل برگ نهال‌های محلول‌پاشی شده با ساکارز در رقم محرم (۳/۴ میلی‌گرم در گرم وزن تر) و رقم آمیگدال (۱/۷۵ میلی‌گرم در گرم وزن تر) کمی بیشتر از شاهد بود، اما در رقم کنسروالیا (۷/۴۱ میلی‌گرم در گرم وزن تر) افزایش قابل ملاحظه‌ای نسبت به شاهد (۲/۳۴ میلی‌گرم در گرم وزن تر) مشاهده شد. کاربرد اتانول سبب کاهش کلروفیل کل در رقم محرم (۲/۷۱ میلی‌گرم در گرم وزن تر) نسبت به شاهد شد اما در دو رقم آمیگدال (۲/۳۵ میلی‌گرم در گرم وزن تر) و کنسروالیا (۳/۷۶ میلی‌گرم در گرم وزن تر) سبب افزایش آن نسبت به نهال‌های شاهد این ارقام شد، اما اختلاف معنی‌داری نشان نداد. همین روند در محلول‌پاشی با سیلیکات پتاسیم در ارقام آمیگدال (۲/۲۳ میلی‌گرم در گرم وزن تر)، کنسروالیا (۶/۸۵ میلی‌گرم در گرم وزن تر) و محرم (۳/۳۲ میلی‌گرم در گرم وزن تر) هم مشاهده شد، به گونه‌ای که دو رقم آمیگدال و کنسروالیا روند افزایشی اما رقم محرم روند کاهشی نسبت به شاهد نشان داد. کاربرد باکتری با غلظت ۰/۰۰۱ سبب افزایش کلروفیل کل در

نهال‌های آمیگدال (۱/۶ میلی‌گرم در گرم وزن تر)، کنسروالیا (۶/۹۴ میلی‌گرم در گرم وزن تر) و محرم (۳/۹۵ میلی‌گرم در گرم وزن تر) نسبت به شاهد شد به گونه‌ای که اختلاف معنی‌دار نسبتاً زیادی در نهال‌های کنسروالیا نسبت به شاهد مشاهده شد. کاربرد باکتری با غلظت ۰/۰۰۲ سبب افزایش کلروفیل کل در نهال‌های آمیگدال (۴/۳۲ میلی‌گرم در گرم وزن تر) و نهال‌های رقم کنسروالیا (۶/۰۲ میلی‌گرم در گرم وزن تر) و کاهش کلروفیل کل در نهال‌های رقم محرم (۲/۳۵ میلی‌گرم در گرم وزن تر) نسبت به شاهد شد. کاربرد باکتری با غلظت ۰/۰۰۲ (۴/۳۲ میلی‌گرم در گرم وزن تر) در مقایسه با سایر ترکیبات در رقم آمیگدال افزایش قابل ملاحظه‌ای نسبت به نهال‌های شاهد (۱/۴۲ میلی‌گرم در گرم وزن تر) نشان داد. همچنین در نهال‌های کنسروالیا محلول‌پاشی ساکارز بیشترین کلروفیل کل (۶/۰۲ میلی‌گرم در گرم وزن تر) را نسبت به شاهد و سایر ترکیبات نشان داد. (شکل ۲). در این آزمایش بیشترین مقدار کلروفیل کل در رقم کنسروالیا در تیمارهای محلول‌پاشی ساکارز، سیلیکات پتاسیم و باکتری به‌دست آمد و افزایش قابل توجهی نسبت به شاهد داشت. کمترین مقدار کلروفیل در تیمارهای محلول‌پاشی رقم آمیگدال مشاهده شد. کاهش دما با افزایش گونه‌های اکسیژن واکنش‌گر سبب آسیب سیستم فتوسنتزی، کاهش ظرفیت فتوسنتزی و کاهش محتوای کلروفیل می‌شود (Li *et al.*, 2018). تنش سرمایی با توقف چرخهٔ کالوین منجر به تولید بیش از حد گونه‌های اکسیژن واکنش‌گر در پلاستیدها، پراکسی‌زوم‌ها، میتوکندری، سیتوسول و آپوپلاست سلول گیاهی خواهد شد و در نتیجه سبب ایجاد تنش اکسیداتیو سلول گیاهی می‌شود (Tripathy and Oelmuller, 2012). در نتیجه سبب کاهش ظرفیت فتوسنتزی و غلظت کلروفیل خواهد شد. به نظر می‌رسد تجمع قندهای محلول در ارقام آمیگدال و محرم در مقایسه با رقم کنسروالیا سبب تولید و تجمع گونه‌های اکسیژن واکنش‌گر در سلول‌های گیاهی شده است و در پی آن با بروز تنش اکسیداتیو، روند کاهشی در محتوای کلروفیل کل نیز صورت گرفته است.

غلظت پرولین

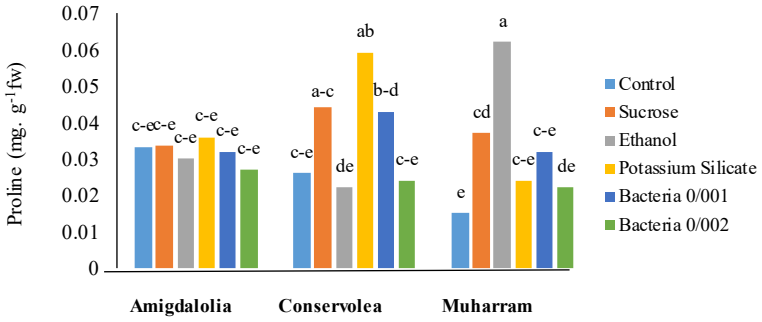
بیشترین غلظت پرولین در تیمار اتانول در رقم محرم (۰/۰۶۲ میلی‌گرم در گرم وزن تر) و پس از آن در تیمار سیلیکات پتاسیم در رقم کنسروالیا (۰/۰۵۹ میلی‌گرم در گرم وزن تر) مشاهده گردید، در حالی که کمترین مقدار در تیمار شاهد (۰/۰۱۵ میلی‌گرم در گرم وزن تر) و باکتری با غلظت ۰/۰۰۲ (۰/۰۲۲ میلی‌گرم در گرم وزن تر) در رقم محرم و تیمار اتانول (۰/۰۲۲ میلی‌گرم در گرم وزن تر) در رقم کنسروالیا مشاهده گردید. بیشترین غلظت پرولین در برگ گیاهان شاهد، در رقم آمیگدال (۰/۰۳۳ میلی‌گرم در گرم وزن تر) و سپس رقم کنسروالیا (۰/۰۲۶ میلی‌گرم در گرم وزن تر) دیده شد که اختلاف معنی‌داری در میان نهال‌های شاهد نداشت. غلظت پرولین برگ نهال‌های محلول‌پاشی شده با ساکارز در رقم آمیگدال (۰/۰۳۳ میلی‌گرم در گرم وزن تر)، کنسروالیا (۰/۰۴۴ میلی‌گرم در گرم وزن تر) و رقم محرم (۰/۰۳۷ میلی‌گرم در گرم وزن تر) بود اما اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نشان نداد. کاربرد اتانول در رقم‌های آمیگدال (۰/۰۳ میلی‌گرم در گرم وزن تر) و کنسروالیا (۰/۰۲۲ میلی‌گرم در گرم وزن تر) نسبت به شاهد این ارقام اختلاف معنی‌داری نشان نداد اما در رقم محرم (۰/۰۶۲ میلی‌گرم در گرم وزن تر) سبب افزایش معنی‌دار غلظت پرولین شد. کاربرد باکتری با غلظت ۰/۰۰۱ سبب افزایش غلظت پرولین در نهال‌های کنسروالیا (۰/۰۴۳ میلی‌گرم در گرم وزن تر) و محرم (۰/۰۳۲ میلی‌گرم در گرم وزن تر) شد اما تغییر چندانی در نهال‌های آمیگدال (۰/۰۳۲ میلی‌گرم در گرم وزن تر) نسبت به شاهد مشاهده نشد. کاربرد باکتری با غلظت ۰/۰۰۲ سبب کاهش غلظت پرولین در نهال‌های آمیگدال (۰/۰۲۷ میلی‌گرم در گرم وزن تر) و نهال‌های ارقام کنسروالیا (۰/۰۲۴ میلی‌گرم در گرم وزن تر) و افزایش غلظت پرولین در نهال‌های ارقام

محرم (۰/۰۲۲ میلی‌گرم در گرم وزن تر) نسبت به شاهد شد. کاربرد ترکیبات ضدیخ در رقم آمیگدال تفاوت عددی و معنی‌داری در نهال‌ها نسبت به تیمار شاهد نشان نداد و تنها کاربرد باکتری با غلظت ۰/۰۰۲ سبب کاهش ۱۸/۱۹ درصدی غلظت پرولین نسبت به نهال‌های شاهد (۰/۰۳۳ میلی‌گرم در گرم وزن تر) شد. در نهال‌های کنسروالیا بیشترین و کمترین غلظت پرولین در تیمار سیلیکات پتاسیم (۰/۰۵۹ میلی‌گرم در گرم وزن تر) و تیمار اتانول (۰/۰۲۲ میلی‌گرم در گرم وزن تر) مشاهده شد. در نهال‌های رقم محرم کاربرد ترکیبات ضدیخ سبب افزایش غلظت پرولین نسبت به شاهد در نهال‌ها شد (شکل ۳). پرولین نوعی اسیدآمینه است که در ساخت پروتئین‌ها نقش دارد. تجمع پرولین در گیاهان یک پاسخ فیزیولوژیک در مقابل تنش‌های زیستی و غیر زیستی است (Verbruggen and Hermans, 2008). پرولین بر تکثیر و مرگ سلول اثر دارد و باعث بیان ژن‌های خاصی که در بهبود وضعیت گیاه در شرایط تنش ضروری هستند، می‌شود (Szabados and Savoure, 2010). ارتباط مستقیمی بین تجمع پرولین و تحمل تنش‌های محیطی در گیاه مشاهده شده است (Verbruggen and Hermans, 2008). زیرا پرولین علاوه بر این که در شرایط تنش به‌عنوان اسمولیت عمل می‌کند، به‌عنوان لیگاندهای ارگانیک و مولکول‌های حفاظتی آنتی‌اکسیدانی نیز شناخته شده است. افزایش غلظت پرولین در گیاه سبب تحمل تنش سرمایی شده که با حفظ تعادل اسمزی، تثبیت غشا و جلوگیری از نشت الکترولیت و کاهش غلظت گونه‌های اکسیژن واکنش‌گر از تنش اکسیداتیو جلوگیری می‌کند (Shamsul Hayat *et al.*, 2012). در این آزمایش میزان پرولین تحت تأثیر برهمکنش رقم و محلول‌پاشی قرار گرفت. محلول‌پاشی تأثیر معنی‌داری بر غلظت پرولین برگ‌های نهال داشت. نهال‌های رقم آمیگدال واکنش مشابهی نسبت به تیمارهای محلول‌پاشی داشتند، اما نهال‌های کنسروالیا و محرم واکنش متفاوتی به محلول‌پاشی داشتند. در رقم کنسروالیا محلول‌پاشی ساکارز، سیلیکات پتاسیم و باکتری با غلظت ۰/۰۰۱ سبب افزایش تولید پرولین شد. در رقم محرم محلول‌پاشی اتانول، ساکارز و باکتری با غلظت ۰/۰۰۱ سبب افزایش تولید پرولین شد. تنش سرمایی سبب تجمع پرولین و کاهش غلظت کلروفیل در کلروپلاست سلول‌های برگ می‌گردد (Aghaee *et al.*, 2010). غلظت بالای پرولین باعث آسیب به ساختار کلروپلاست و میتوکندری می‌شود که ناشی از دخالت پرولین در سیستم انتقال الکترون است به گونه‌ای که پرولین مانع از انعطاف‌پذیری گیرندهٔ الکترونی در فتوسیستم دستگاه فتوسنتزی می‌شود (Borgo *et al.*, 2015). در نتیجه سبب افزایش میزان کلروفیل در فضای خارج از کلروپلاست می‌شود.



شکل ۲- برهمکنش محلول‌پاشی برگی و رقم بر غلظت کلروفیل کل

Figure 2. Interaction effect of foliar application and cultivar on total chlorophyll concentration



شکل ۳- برهمکنش محلول‌پاشی برگی و رقم بر غلظت پرولین

Figure 3. Interaction effect of foliar application and cultivar on proline concentration

غلظت قندهای کل محلول

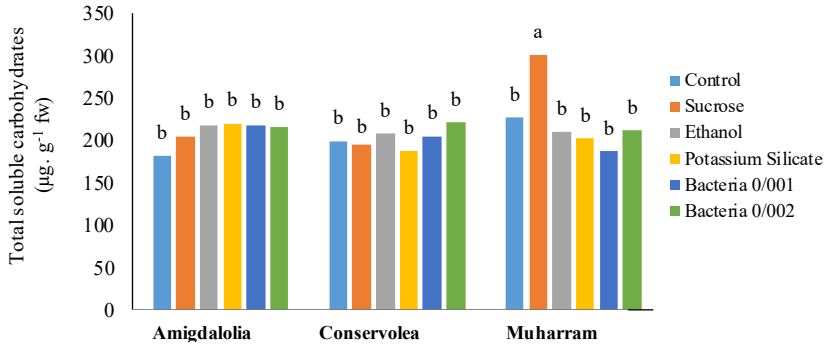
بیشترین میزان قندهای کل محلول در تیمار ساکارز (۳۰۰ میکروگرم بر گرم وزن تر) در نهال‌های رقم محرم مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با تمامی تیمارها داشت. کمترین میزان نیز در تیمار شاهد رقم آمیگدال (۱۸۱ میکروگرم بر گرم وزن تر) مشاهده شد. بیشترین غلظت قندهای کل محلول در گیاهان شاهد، در رقم محرم (۲۲۶ میکروگرم بر گرم وزن تر) و کمترین آن در رقم آمیگدال (۱۸۱ میکروگرم بر گرم وزن تر) مشاهده گردید، اما تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشت. غلظت قندهای کل محلول با کاربرد ساکارز در ارقام آمیگدال (۲۰۳ میکروگرم بر گرم وزن تر) و محرم (۳۰۰ میکروگرم بر گرم وزن تر) روند افزایشی نسبت به تیمارهای شاهد این ارقام نشان داد، اما در رقم کنسروالیا (۱۹۴ میکروگرم بر گرم وزن تر) روند کاهشی داشت. کاربرد اتانول سبب افزایش ۲۰/۱۲ درصدی غلظت قندهای محلول کل در رقم آمیگدال و افزایش ۴/۶۱ درصدی در رقم کنسروالیا شد، اما در رقم محرم روند کاهشی داشت و سبب کاهش ۷/۳۹ درصدی غلظت قندهای محلول کل با اتانول شد. کاربرد سیلیکات پتاسیم سبب کاهش غلظت قندهای کل محلول در رقم‌های کنسروالیا (۱۸۷ میکروگرم بر گرم وزن تر) و محرم (۲۰۱ میکروگرم بر گرم وزن تر) شده است، اما تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد کنسروالیا (۱۹۸ میکروگرم بر گرم وزن تر) و تیمار شاهد محرم (۲۲۶ میکروگرم بر گرم وزن تر) نداشته است. کاربرد سیلیکات پتاسیم در رقم آمیگدال (۲۲۰ میکروگرم بر گرم وزن تر) سبب افزایش غلظت قندهای کل نسبت به شاهد شده است. کاربرد باکتری با غلظت ۰/۰۰۱ سبب افزایش غلظت قندهای محلول کل در نهال‌های آمیگدال (۲۱۷ میکروگرم بر گرم وزن تر) و کنسروالیا (۲۰۴ میکروگرم بر گرم وزن تر) شد اما در رقم محرم (۱۸۶ میکروگرم بر گرم وزن تر) سبب کاهش غلظت قندهای محلول کل نسبت به شاهد شد. به همین ترتیب کاربرد باکتری با غلظت ۰/۰۰۲ سبب افزایش غلظت قندهای محلول کل در مقایسه با شاهد در ارقام آمیگدال (۲۱۵ میکروگرم بر گرم وزن تر) و کنسروالیا (۲۲۰ میکروگرم بر گرم وزن تر) شد اما در رقم محرم (۲۱۱ میکروگرم بر گرم وزن تر) روند نزولی داشت. کاربرد ترکیبات ضدیخ در رقم آمیگدال سبب افزایش غلظت قندهای محلول کل در نهال‌ها شد، اما تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد نداشت. در نهال‌های کنسروالیا بیشترین و کمترین غلظت قندهای محلول در تیمار باکتری با غلظت ۰/۰۰۲ (۲۲۰ میکروگرم بر گرم وزن تر) و تیمار سیلیکات پتاسیم (۱۸۷ میکروگرم بر گرم وزن تر) مشاهده شد. در مجموع کاربرد تیمارهای ساکارز، اتانول و باکتری سبب افزایش غلظت قندهای محلول کل شد. در نهال‌های رقم محرم کاربرد ترکیب ساکارز بهترین عملکرد را نشان داد

(شکل ۴). بین تحمل به انجماد و غلظت قندهای محلول رابطه مثبتی وجود داشت، به‌طوری‌که با کاهش دما غلظت قندهای محلول (به جز نشاسته و مینوزیتول) گلوکز، ساکارز و فروکتوز افزایش می‌یابد (Sasaki *et al.*, 1996). در این آزمایش غلظت قندهای محلول تحت تأثیر برهمکنش رقم و محلول‌پاشی قرار گرفت. با این حال تفاوت چندانی میان تیمارها از نظر تولید قند محلول مشاهده نشد بجز در تیمار محلول‌پاشی ساکارز در رقم محرم که نسبت به شاهد افزایش زیادی داشت. کاهش قندهای محلول با کاهش دما به دلیل مصرف قند در سنتز متابولیت‌هایی چون پرولین در اندام هوایی است، زیرا کاهش یکی از محافظت‌کننده‌های اسمزی، ناشی از سنتز و افزایش دیگر متابولیت و محافظت‌کننده اسمزی در شرایط تنش است (Hasibi *et al.*, 2010). قندهای مختلف با اتصال به گروه فسفات در ساختار غشای سلولی، سبب پایداری غشای دولایه سلولی طی انجماد می‌شوند و با تأثیر بر ساختار آب سبب ثبات لایه فسفولیپیدی و کاهش نفوذپذیری غشا می‌شوند. افزایش نشت یونی ناشی از آسیب به ساختار غشا است که رابطهٔ معکوسی با غلظت قندهای محلول در سلول گیاهی دارد. افزایش غلظت قندهای محلول در آپوپلاست گیاهان مقاوم به سرما نقش مهمی در حفاظت از غشای پلاسمایی با تثبیت غشا به‌طور مستقیم یا با تحریک محافظت‌کننده‌های غشا به‌طور غیرمستقیم دارد (Valluru *et al.*, 2008). گیاهان توانایی تحمل انجماد را به‌تدریج در دمای پایین و سرما دارند و قندهای محلول در طی این فرآیند نقش مهمی داشته و تأثیر مثبتی در حافظت از سلول‌های گیاهی در برابر آسیب‌های تنش سرمایی از راه‌های مختلفی دارند (Yuanyuan *et al.*, 2009). افزایش غلظت قندهای کل محلول سبب افزایش تحمل به انجماد خواهد شد و در نتیجه سبب کاهش خسارات سرما و یخبندان خواهد شد (Rutten and Santarius, 1992).

درصد ریزش برگ

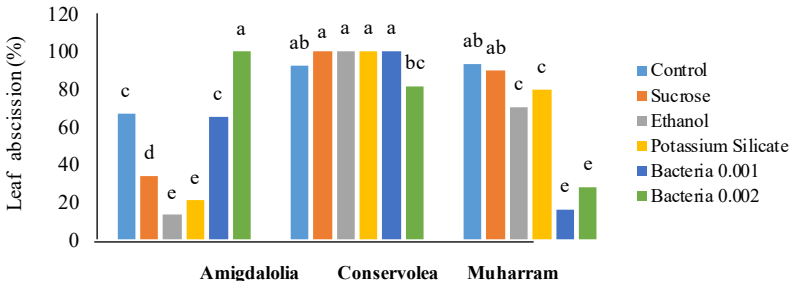
بیشترین ریزش برگ در رقم کنسروالیا در تیمارهای ساکارز، اتانول، سیلیکات پتاسیم و باکتری با غلظت ۰/۰۰۱ (۱۰۰ درصد) و کمترین ریزش برگ در رقم آمیگدال در تیمار اتانول (۱۲/۸۲ درصد) مشاهده شد. بیشترین درصد ریزش برگ در گیاهان شاهد، در رقم محرم (۹۳/۲۵ درصد) مشاهده شده که اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد رقم کنسروالیا (۹۲/۰۳ درصد) نداشته، اما با گیاهان شاهد در رقم آمیگدال تفاوت معنی‌داری داشته است.

درصد ریزش برگ در نهال‌های محلول‌پاشی‌شده با ساکارز در رقم محرم (۵۷/۸۹ درصد) کمی کمتر از رقم کنسروالیا (۱۰۰ درصد) بود، اما این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبود. با این حال، اختلاف آن با رقم آمیگدال (۹۲/۳۳ درصد) از نظر آماری معنی‌دار بود. کاربرد اتانول به ترتیب سبب کاهش ۸۰/۷۶ درصدی و ۲۴/۵۵ درصدی ریزش برگ در نهال‌های آمیگدال (۱۲/۸۲ درصد) و محرم (۷۰/۳۶ درصد) نسبت به نهال‌های شاهد این ارقام شد اما ریزش کامل برگ‌ها در نهال‌های رقم کنسروالیا ضمن کاربرد اتانول مشاهده شد. کاربرد سیلیکات پتاسیم در ارقام زیتون عملکردی مشابه کاربرد اتانول نشان داد، به گونه‌ای که سبب کاهش ۶۹/۳۱ درصدی ریزش برگ نهال‌های آمیگدال (۲۰/۴۵ درصد) نسب به شاهد (۶۶/۶۳ درصد) و کاهش ۱۴/۹۹ درصدی ریزش برگ نهال‌های محرم (۷۹/۲۸ درصد) نسبت به شاهد (۹۳/۲۵ درصد) شد، اما سبب ریزش کامل برگ‌ها در رقم کنسروالیا شد.



شکل ۴- برهمکنش محلول‌پاشی برگی و رقم بر غلظت کل کربوهیدرات‌های محلول

Figure 4. Interaction effect of foliar application and cultivar on total soluble carbohydrate concentrations



شکل ۵- برهمکنش محلول‌پاشی برگی و رقم بر درصد ریزش برگ

Figure 5. Interaction of foliar application and cultivar on leaf abscission percentage

در تیمار محلول‌پاشی نهال‌ها با باکتری ۰/۰۰۱ ریزش ۶۵/۰۵ درصد از برگ‌های نهال‌های آمیگدال، ریزش ۱۰۰ درصد برگ‌های رقم کنسروالیا و ۱۶/۱ درصد برگ‌های رقم محرم مشاهده شد که در رقم محرم کاهش قابل توجهی داشت. در تیمار باکتری با غلظت ۰/۰۰۲ ریزش ۹۹/۸۱ درصد از برگ‌های رقم آمیگدال، ریزش ۸۱/۵۳ درصد از برگ‌های رقم کنسروالیا و ۲۷/۸۵ درصد از برگ‌های نهال محرم مشاهده شد که با یکدیگر اختلاف معنی‌داری داشتند. همچنین کاربرد باکتری با غلظت ۰/۰۰۲ در رقم محرم کاهش قابل ملاحظه‌ای نسبت به شاهد نشان داد (شکل ۵). تحمل به سرما و یخزدگی در قسمت‌های مختلف درختان متفاوت است. تحمل میوه‌ها از برگ‌ها کمتر و برگ‌ها هم تحمل کمی نسبت به سرما دارند (Hendershott, 1962).

آسیب یخبندان در اثر تشکیل و گسترش کریستال یخ در بافت‌ها و از هم گسیختگی غشای سلولی اتفاق می‌افتد که تمام قسمت‌های درخت به‌طور یکسان تحت تأثیر قرار نمی‌گیرد. آسیب به برگ‌ها معمولاً چند روز پس از وقوع انجماد اتفاق می‌افتد و مرگ برگ‌ها ممکن است تا چند هفته پس از سرمازدگی شدید ظاهر شود. تشکیل بلورهای یخ در سطح برگ به صورت نواحی تیره و آب‌گزیده مشاهده می‌شود که به‌تدریج به رنگ قهوه‌ای، قهوه‌ای مایل به زرد و در برخی موارد سیاه تغییر یافته و در نهایت منجر به مرگ بافت می‌گردد. در این پژوهش بیشترین درصد ریزش برگ‌ها به ترتیب در ارقام کنسروالیا، محرم و آمیگدال مشاهده شد. محلول‌پاشی ساکارز، اتانول و سیلیکات پتاسیم در رقم آمیگدال سبب کاهش درصد ریزش برگ نسبت به شاهد شد، در

حالی‌که کاربرد باکتری در این رقم سبب افزایش ریزش برگ شد. بیشترین درصد ریزش برگ مربوط به رقم کنسروالیا بود. بیش از ۸۰ درصد برگ‌های این رقم تحت تیمارهای مختلف دچار ریزش شد. کاربرد باکتری‌های ضدیخ در ارقام آمیگدال و کنسروالیا تأثیری بر کاهش ریزش برگ نداشت، اما در رقم محرم درصد ریزش برگ را به طور چشمگیری کاهش داد. افزایش ریزش برگ با کاهش دما ناشی از آب گز شدن، افزایش نشت یونی و کاهش محتوا و پتانسیل آب برگ بوده است (Bartolozzi and Fontanazza, 1999; Antognozzi *et al.*, 1993).

درصد خشکیدگی سرشاخه

بیشترین درصد خشکیدگی سرشاخه در نهال‌های رقم آمیگدال در نتیجه استفاده از باکتری (۱۰۰ درصد) با غلظت ۰/۰۰۲ و در رقم کنسروالیا در نتیجه کاربرد ساکارز، اتانول، سیلیکات پتاسیم، باکتری با غلظت ۰/۰۰۱ با خشکیدگی صددرصد سرشاخه‌ها مشاهده شد که تفاوتی با تیمار شاهد (۱۰۰ درصد) نداشت. کمترین درصد خشکیدگی سرشاخه در تیمار شاهد و کاربرد ساکارز، اتانول و سیلیکات پتاسیم در نهال‌های آمیگدال و باکتری با غلظت ۰/۰۰۲ در نهال‌های رقم محرم بود، به طوری‌که تمامی سرشاخه‌ها سالم بودند. بیشترین درصد خشکیدگی سرشاخه‌ها در گیاهان شاهد، در رقم کنسروالیا (۱۰۰ درصد) و رقم محرم (۹۱/۹۹ درصد) مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با گیاهان شاهد در رقم آمیگدال (صفر درصد) داشتند. کاربرد ساکارز در نهال‌های رقم آمیگدال سبب کاهش خشکیدگی سرشاخه‌ها شد به طوری که خشکیدگی سرشاخه‌ها مشاهده نشد، اما در نهال‌های رقم کنسروالیا مانع از خشکیدگی نشد و تمامی سرشاخه‌ها خشک یافت (۱۰۰ درصد). همچنین ضمن کاربرد ساکارز در نهال‌های رقم محرم، ۷۰/۷۲ درصد سرشاخه‌ها دچار خشکیدگی شدند. همین روند در کاربرد اتانول و سیلیکات پتاسیم نیز مشاهده شد به گونه‌ای که در رقم آمیگدال خشکیدگی مشاهده نشد، اما تمامی سرشاخه‌ها در نهال‌های رقم کنسروالیا دچار خشکیدگی شدند. در نهال‌های رقم محرم ضمن کاربرد اتانول و سیلیکات پتاسیم به ترتیب ۶۵/۹۵ درصد و ۸۲/۲۳ درصد سرشاخه‌ها دچار خشکیدگی شدند، با این وجود کاربرد باکتری عملکردی متفاوت را در ارقام زیتون نشان داد به طوری که کاربرد باکتری با غلظت ۰/۰۰۱ سبب افزایش خشکیدگی سرشاخه‌ها در نهال‌های آمیگدال (۶۲/۸۶ درصد) نسبت به شاهد (۰ درصد) شد. این روند خشکیدگی سرشاخه‌ها در نهال‌های محلول‌پاشی شده با باکتری با غلظت ۰/۰۰۲ نیز مشاهده شده است، به طوری که در نهال‌های رقم آمیگدال تمامی سرشاخه‌ها دچار خشکیدگی شدند و در نهال‌های رقم محرم سرشاخه‌ها سالم ماندند. کاربرد باکتری با غلظت ۰/۰۰۲ در نهال‌های کنسروالیا (۷۲/۲۲ درصد) کاهش ۲۷/۷۸ درصدی نسبت به شاهد (۱۰۰ درصد) نشان داد. سرشاخه‌ها و شاخه‌های جوان به سرما و یخبندان بسیار حساس هستند که بافت‌های آن بر اثر سرما تغییر رنگ می‌دهند. اگر شدت سرما و یخبندان زیاد باشد سبب خشک شدن سرشاخه‌ها می‌گردد. برهمکنش تیمارها بر درصد خشکیدگی سرشاخه تأثیر معنی داری داشته است. بیشترین درصد خشکیدگی سرشاخه‌ها در رقم کنسروالیا و کمترین خشکیدگی سرشاخه‌ها در رقم آمیگدال مشاهده شده که اختلاف معنی داری با یکدیگر داشتند. کاربرد باکتری‌های ضدیخ در رقم آمیگدال سبب افزایش درصد خشکیدگی سرشاخه‌ها شد، اما در رقم محرم کاهش چشمگیری داشت.

نتیجه‌گیری

ارقام زیتون مورد بررسی در این آزمایش تحت تأثیر دمای پایین ۱۰- درجهٔ سانتی‌گراد قرار گرفتند. با کاهش دما آسیب‌های ناشی از یخزدگی افزایش می‌یابد. آثار یخزدگی به شکل ریزش برگ و خشکیدگی سرشاخه‌ها در نهال‌های کنسروالیا و برخی تیمارهای مورد آزمایش در ارقام محرم و آمیگدال مشاهده شد. تیمارهای

آزمایشی در این پژوهش اثرات یکسانی بر ارقام زیتون و حفظ نهال‌ها نداشت، به‌گونه‌ای که کاربرد باکتری ضدیخ در رقم محرم سبب کاهش ریزش برگ و خشکیدگی سرشاخه‌ها شد، اما در نهال‌های ارقام کنسروالیا و آمیگدال تأثیر منفی داشت. در مقابل کاربرد ترکیبات ساکارز، اتانول و سیلیکات پتاسیم در رقم آمیگدال درصد ریزش برگ و خشکیدگی سرشاخه‌ها را کاهش داد و در ارقام محرم و کنسروالیا تأثیری بر کاهش درصد ریزش برگ و خشکیدگی سرشاخه‌ها نداشت. کمترین میزان نشت یونی و محتوی کلروفیل کل در رقم آمیگدال، بیشترین محتوی کلروفیل کل در رقم کنسروالیا مشاهده شد. تغییرات محتوی پرولین روند ثابتی در ارقام مورد بررسی نشان نداد. محلول پاشی ساکارز سبب افزایش محتوی قندهای کل محلول در رقم محرم شد. بیشترین درصد ریزش برگ و خشکیدگی سرشاخه‌ها در رقم کنسروالیا مشاهده شد. در مجموع محلول‌پاشی ارقام زیتون در شرایط تنش سرمایی نتایج مشابهی نداشت و بسته به نوع رقم پاسخ‌های متفاوتی به همراه داشت.

سپاس‌گزاری

به‌این‌وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری بابت تأمین بخشی از هزینه‌های اجرای این پایان‌نامه تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

Aghaee, A., Moradi, F., Zare-Maivan, H., Zarinkamar, F., Irandoost, H. P., & Sharifi, P. (2011). Physiological responses of two rice (*Oryza sativa* L.) genotypes to chilling stress at seedling stage. *African Journal of Biotechnology*, 10(39), 7617-7621. https://doi.org/10.5897/AJB11.069

Antognozzi, E., Famiani, F., Proietti, P., Pannelli, G., & Alfei, B. (1993). Frost resistance of some olive cultivars during the winter. *International Symposium on Olive Growing*, 356, 152-155. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1994.356.32

Arnon, D. I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. *Plant physiology*, 24(1), 1. https://doi.org/10.1104/pp.24.1.1

Azizi, H., Hassani, A., Sadaghiani, M. H. R., Abbaspour, N., & Baneh, H. D. (2017). Effect of foliar application of potassium silicate and zinc sulphate on some physiological parameters of two grapevine cultivars under salt stress conditions. https://ijhs.ut.ac.ir/article_61223_f6a4e58b5e247049a45d026042ffa6b7.pdf

Bajji, M., Kinet, J. M., & Lutts, S. (2002). The use of the electrolyte leakage method for assessing cell membrane stability as a water stress tolerance test in durum wheat. *Plant Growth Regulation*, 36, 61-70. https://doi.org/10.1023/A:1014732714549

Baldoni, L., Cultrera, N. G., Mariotti, R., Ricciolini, C., Arcioni, S., Vendramin, G. G., Buonamici, A., Porceddu, A., Sarri, V., Ojeda M.A., Trujillo I., Rallo, L., Belaj, A., Perri, E., Salimonti, A., Muzzalupo, I., Casagrande, A., Lain, O., Messina, R., & Testolin, R. (2009). A consensus list of microsatellite markers for olive genotyping. *Molecular Breeding*. 24, 213–231. https://doi.org/10.1016/j.crvi.2017.03.003

Balibrea, M. E., Rus-Alvarez, A. M., Bolarin, M. C., & Perez-Alfocea, F. (1997). Fast changes in soluble carbohydrates and proline contents in tomato seedlings in response to ionic and non-ionic iso-osmotic stresses. *Journal of Plant Physiology*, 151(2), 221-226. https://doi.org/10.1016/S0176-1617(97)80156-3

Bandani, M., & Abdolzadeh, A. (2007). Effects of silicon nutrition on salinity tolerance of *Puccinellia distans* (jacq.) parl. https://doi.org/10.1007/s12633-018-9960-7 [In Persian].

Barranco Navero, D., Ruiz, N., & Gómez-del-Campo, M. (2005). Frost tolerance of eight olive cultivars. *HortScience*, 40(3), 558-560. https://doi.org/10.21273/HORTSCI.40.3.558

Bartolozzi, F., & Fontanazza, G. (1999). Assessment of frost tolerance in olive (*Olea europaea* L.). *Scientia Horticulturae*, 81(3), 309-319. https://doi.org/10.1016/S0304-4238(99)00019-9

Bates, L. S., Waldren, R.P., & Teare, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil,* 39, 205–207. https://doi.org/10.1007/BF00018060

Borgo, L., Marur, C. J., & Vieira, L. G. E. (2015). Effects of high proline accumulation on chloroplast and mitochondrial ultrastructure and on osmotic adjustment in tobacco plants. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 37, 191-199. https://doi.org/10.4025/actasciagron.v37i2.19097

Darini, A., Fathi, G., Gharineh, M. H., Alami-Saeid, K., Khodadadi, M., & Siadat, S. A. (2013). Effect of Planting Date and Application of Anti-Freeze on Tuber Yield and Some Physiological Traits of Potato Cultivars in Autumn Planting in Jiroft Region of Iran. *Seed and Plant Production Journal*, 29(4), 443-459. https://doi.org/10.22092/sppj.2017.110524 [In Persian].

Dexter, S. T., Tottingham, W. E., & Graber, L. F. (1932). Investigations of the hardiness of plants by measurement of electrical conductivity. *Plant Physiology*, 7(1), 63. https://doi.org/10.1104/pp.7.1.63

Eris, A., Gulen, H., Barut, E., & Cansev, A. S. U. M. A. N. (2007). Annual patterns of total soluble sugars and proteins related to coldhardiness in olive (*Olea europaea* L. 'Gemlik'). *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 82(4), 597-604. https://doi.org/10.1080/14620316.2007.11512279

Francko, D. A., Wilson, K. G., Li, Q. Q., & Equiza, M. A. (2011). A topical spray to enhance plant resistance to cold injury and mortality. *Hort Technology*, 21(1), 109-118. https://doi.org/10.21273/HORTTECH.21.1.109

Gomez-del-Campo, M., & Barranco, D. (2005). Field evaluation of frost tolerance in 10 olive cultivars. *Plant Genetic Resources*, 3(3), 385-390. https://doi.org/10.1079/PGR200592

Guy, C. L. (1990). Cold acclimation and freezing stress tolerance: role of protein metabolism. *Annual Review of Plant Biology*, 41(1), 187-223. https://doi.org/10.1146/annurev.pp.41.060190.001155

Haji Ramezani, F., Barmaki, M., Khomari, S., & Dehghanian, H. (2017). Studying the effect of foliar spraying of glycine betaine and ethanol on the growth and yield of spruce under drought stress. Master's thesis in agricultural engineering. 116 p. [In Persian].

Hasibi, P., Nabipour, M., & Moradi, F. (2010). Study of some cryoprotectives role to induce low temperature tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. *Electronic Journal of Crop Production*, 3(1), 39-56. https://doi.org/20.1001.1.2008739.1389.3.1.3.8 [In Persian].

Hendershott, C. H. (1962). The responses of orange trees and fruits to freezing temperatures. https://doi.org/10.1016/S0011-2240(69)80070-2

Karlinsky, N. (2012). California dreaming: ideology, society, and technology in the citrus industry of Palestine, 1890-1939. State University of New York Press. https://doi.org/10.1353/BOOK4972

Kiani Chalmardi, Z., Abdolzadeh, A., & Sadeghipour, H. R. (2013). Evaluation of the effects of silicon nutrition on alleviation of iron deficiency in rice plants (*Oriza sativa* L.) with emphasis on growth and antioxidant enzymes activity. *Iranian Journal of Plant Biology*, 4(14), 61-74. https://doi.org/20.1001.1.20088264.1391.4.14.7.4 [In Persian].

Larcher, W. (2003). Physiological plant ecology: ecophysiology and stress physiology of functional groups. *Springer Science & Business Media*. http://doi.org/10.1007/978-3-662-05214-3

Larz qadiri, M., Mehrafarin, A., Naqdibadi, H. A., & Khaliqisigaroodi, F. (2013). The effect of different concentrations of methanol and ethanol on some characteristics of *Plantago psyllium*. In *Proceedings of the First National Conference of Medicinal Plants and Sustainable Agriculture. Hamedan, Iran*. [In Persian].

Li, X., Wei, J. P., Scott, E. R., Liu, J. W., Guo, S., Li, Y., & Han, W. Y. (2018). Exogenous melatonin alleviates cold stress by promoting antioxidant defense and redox homeostasis in *Camellia sinensis* L. *Molecules*, 23(1), 165. https://doi.org/10.3390/molecules23010165

Lindow, S. E. (1987). Competitive exclusion of epiphytic bacteria by Ice− Pseudomonas syringae mutants. *Applied and Environmental Microbiology*, 53(10), 2520-2527.

Liu, J. J., Lin, S. H., Xu, P. L., Wang, X. J., & Bal, J. G. (2009). Effects of exogenous silicon on the activities of antioxidant enzymes and lipid peroxidation in chilling-stressed cucumber leaves. *Agricultural Sciences in China*, 8(9), 1075-1086. https://doi.org/10.1016/S1671-2927(08)60315-6

Marschner, H. (1995). Mineral nutrition of higher plant Academic Press Limited.

McCready, R. M., Guggolz, J., Silviera, V., & Owens, H. S. (1950). Determination of starch and amylose in vegetables. *Analytical Chemistry*, 22(9), 1156-1158.

Naidu, B. P., Fukai, S., & Gunawardena, T. (2005). Increasing cold tolerance in rice: by selecting for high polyamine and gibberellic acid content: a report for the rural industries research and development corporation. *Rural Industries Research and Development Corporation*, 21.

Niazbal, M., Kalatejari, S., Fatehi, F., & Diyanat, M. (2023). Effects of potassium silicate on some morphological and physiological traits of dichondra (*Dichondra repens*) cover plant grown under water deficit. *Plant Productions*, 45(4), 505-517. https://doi.org/10.22055/ppd.2023.38291.2061 [In Persian].

Nickkhoo, A., Ghasemi, K., & Akbarpour, V. (2024). Evaluation the morphological and phytochemical response of broccoli seedling to the application of sucrose, Bordeaux mixture and potassium silicate under sudden cold stress. *Plant Productions*. https://doi.org/10.22055/ppd.2024.44617.2120 [in Persian].

Niknam, V., Bagherzadeh, M., Ebrahimzadeh, H., & Sokhansanj, A. (2004). Effect of NaCl on biomass and contents of sugars, proline and proteins in seedlings and leaf explants of *Nicotiana tabacum* grown in vitro. *Biologia Plantarum*, 48, 613-615. https://doi.org/10.1023/B:BIOP.0000047163.70240.69

Nonomura, A., & Benson, A. A. (1997). Methods and compositions for enhancing carbon fixation in plants. *Biotechnology Advances*, 15(3-4), 795-795.

Palliotti, A., & Bongi, G. (1996). Freezing injury in the olive leaf and effects of mefluidide treatment. *Journal of Horticultural Science*, 71(1), 57-63.

Ramos, M. L. G., Gordon, A. J., Minchin, F. R., Sprent, J. I., & Parsons, R. (1999). Effect of water stress on nodule physiology and biochemistry of a drought tolerant cultivar of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Annals of Botany*, 83(1), 57-63.

Ranjbar, M., Esmaeilizadeh, M., Karimi, H. R., & Shamshiri, M. H. (2017). Study of foliar application effect of silicon and potassium elements on some biochemical and ecophysiological traits of Pistachio seedlings cv. Badami E-Riz Zarand Kerman under salinity stress. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 47(4), 739-752. https://doi.org/10.22059/ijhs.2017.119814.734

Rezaei, S., Afshar Mohammadian, M., & Ramezani Malekroudi, M. (2013). The impact of cold stress on two olive cultivars. *Journal of Plant Process and Function*, 1(2), 1-11. http://jispp.iut.ac.ir/article-1-31-en.html [In Persian].

Rutten, D., & Santarius, K. A. (1992). Relationship between frost tolerance and sugar concentration of various bryophytes in summer and winter. *Oecologia*, 91, 260-265.

Sasaki. H., Ichimura, K., & Oda, M. (1996). Changes in sugar content during cold acclimation and deacclimation of cabbage seedlings. *Annals of Botany*, 78(3), 365-369.

Shabani, E., Zivdar, S., Rahnama Ghahfarokhi, A., Danaeifar, A. و & Davoudi Arshad, M. (2025). Combined effects of silicon aminochelate and phosphorus on photosynthetic indices and the quantitative and qualitative characteristics of strawberry (*Fragaria ananassa* cv. Paros) in greenhouse soil culture. *Plant Productions,* 48(2), 227-245. https://doi.org/10.22055/ppd.2025.48281.2225

Hayat, S., Hayat, Q., Alyemeni, M. N., Wani, A. S., Pichtel, J., & Ahmad, A. (2012). Role of proline under changing environments: A review. *Plant Signaling & Behavior,* 7(11), 1456–1466. https://doi.org/10.4161/psb.21949

Shoor, M., Tehranifar, A., Nematy, S. H., Salahvarzy, Y., Mokhtarian, A., & Rahmaty, M. (2010). Evaluation and determination of chilling and freezing resistance in three commercial grape cultivars (*Vitis vinifera* L.) in north of Khorasan. *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 2(2), 159-169. https://10.22077/escs.2010.75

Simkeshzadeh, N., Mobli, M., Etemadi, N., & Baninasab, B. (2011). Assessment of the frost resistance in some olive cultivars using visual injuries and chlorophyll fluorescence. *Journal of Horticultural Science*, 24(2). https://doi.org/10.22067/jhorts4.v1389i2.7992 [In Persian].

Szabados, L., & Savouré, A. (2010). Proline: a multifunctional amino acid. *Trends in Plant Science*, 15(2), 89-97. https://10.1016/j.tplants.2009.11.009

Tripathy, B. C., & Oelmuller, R. (2012). Reactive oxygen species generation and signaling in plants. *Plant Signaling & Behavior*, 7(12), 1621-1633. https://10.4161/psb.22455

Valluru, R., Lammens, W., Claupein, W., & Van den Ende, W. (2008). Freezing tolerance by vesicle-mediated fructan transport. *Trends in Plant Science*, 13(8), 409-414. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2008.05.008

Verbruggen, N., & Hermans, C. (2008). Proline accumulation in plants: a review. *Amino Acids,* 35, 753-759. https://doi.org/10.1007/s00726-008-0061-6

Whitlow, T. H., Bassuk, N. L., Ranney, T. G., & Reichert, D. L. (1992). An improved method for using electrolyte leakage to assess membrane competence in plant tissues. *Plant Physiology*, 98(1), 198-205.

Yuanyuan, M., Yali, Z., Jiang, L., & Hongbo, S. (2009). Roles of plant soluble sugars and their responses to plant cold stress. *African Journal of Biotechnology*, 8(10).

Zubair, M., Hanif, A., Farzand, A., Sheikh, T. M. M., Khan, A. R., Suleman, M., & Gao, X. (2019). Genetic screening and expression analysis of psychrophilic Bacillus spp. reveal their potential to alleviate cold stress and modulate phytohormones in wheat. *Microorganisms*, 7(9), 337. https://doi.org/10.3390/microorganisms7090337