به‌زراعی کشاورزی

دوره ۱۷ ■ شماره ۴ ■ زمستان ۱۳۹۴

صفحه‌های ۹۳۹-۹۵۲

اثر تنش خشکی بر مقدار پرولین، قندهای محلول، مالون دی‌آلدئید و رنگدانه‌ها در پایه‌های تجاری مرکبات شمال کشور

رضا فیفائی[۱]*، رضا فتوحی قزوینی[۲]، بهروز گلعین[۳]، یوسف حمیداوغلی[۴]

۱. دانشجوی دکتری، گروه علوم باغبانی، دانشکدهٔ علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت و عضو هیأت علمی، بخش نهال و بذر، مؤسسهٔ تحقیقات علوم باغبانی، پژوهشکدهٔ مرکبات و میوه‌های نیمه‌گرمسیری، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رامسر، ایران

۲. استاد، گروه علوم باغبانی، دانشکدهٔ علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

۳. دانشیار، بخش نهال و بذر، مؤسسهٔ تحقیقات علوم باغبانی، پژوهشکدهٔ مرکبات و میوه‌های نیمه‌گرمسیری، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رامسر، ایران

۴. دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکدهٔ علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

تاریخ وصول مقاله: ۱۳۹۳/۰۹/۱۸ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۰۱/۳۱

چکیده

به‌منظور بررسی اثر خشکی بر مقدار برخی ترکیبات در دانهال‌های نوسلار شش‌ماههٔ پونسیروس (*Poncirus trifoliata* Raf.)، ترویرسیترنج (*Citrus sinensis* Osbec. × *Poncirus trifoliata* Raf.)، نارنج (*Citrus aurantium* L.)، سیتروملو (*Citrus paradisi* M. × *Citrus sinensis* Osbec.) و نارنگی کلئوپاترا (*Citrus reshni* L.)، آزمایشی در مؤسسهٔ تحقیقات مرکبات رامسر، در سال ۱۳۹۳ انجام گرفت. این پژوهش، به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در بستر کوکوپیت و ماسه تحت شرایط گلخانه‌ای انجام گرفت. فاکتورها شامل پایه‌های تجاری مرکبات و سطوح آبیاری بودند. نتایج نشان داد پرولین، کل قندهای محلول، مالون‌دی‌آلدئید و کاروتنوئید در شرایط تنش خشکی افزایش یافتند، درحالی که مقدار کلروفیل a، b و کل کاهش یافت. در اثر خشکی، بیشترین تجمع پرولین در پایه‌های نارنج و نارنگی کلئوپاترا (به‌ترتیب با ۳۰۶/۴۱ و ۲۸۱/۶۵ میکرومول بر گرم وزن خشک) و همچنین بیشترین تجمع قندهای محلول در پایه‌های نارنج و نارنگی کلئوپاترا (به‌ترتیب با ۲۳۳/۷۹ و ۱۳۷/۹ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) و کمترین مقدار تجمع مالون‌دی‌آلدئید نیز در پایه‌های نارنج و نارنگی کلئوپاترا (به‌ترتیب با ۱۷۹/۲۱ و ۲۰۴/۱ میکرومول بر گرم وزن خشک) مشاهده شد. میزان کاهش کلروفیل a و کلروفیل کل در نارنگی کلئوپاترا و کلروفیل b در نارنج بیشترین و میزان کاهش کلروفیل a، b و کل در سیتروملو کمترین بود. همچنین بیشترین افزایش کاروتنوئید در نارنج و نارنگی کلئوپاترا و کمترین آن در پونسیروس مشاهده شد. ازاین‌رو، پایه‌های سه‌برگچه‌ای بترتیب پونسیروس، ترویرسیترنج و سیتروملو تحمل بیشتری به خشکی نشان دادند.

کلیدواژه‌ها: آنتی‌اکسیدانت، بیوشیمیایی، تنظیم اسمزی، کاروتنوئید، کلروفیل.

* نویسنده مسئول

Email: r.fifaei@areo.ir

۱. مقدمه

منشأ مرکبات و جنس‌های خویشاوند آن را مناطق گرمسیر و نیمه‌گرمسیر جنوب شرقی آسیا، مناطق شمال شرقی هند، جنوب چین و جزایر مالزی دانسته‌اند [۲۹]. براساس آمار سازمان خواربار جهانی در سال ۲۰۱۲، مرکبات در ۳۳ کشور جهان با سطح کشتی بالغ بر ۸/۷ میلیون هکتار و محصولی حدود ۱۲۵ میلیون تن تولید می‌شود. سطح زیرکشت مرکبات ایران در سال ۱۳۹۱، ۲۸۹ هزار هکتار و مقدار تولید آن حدود ۴/۵ میلیون تن بود که از نظر سطح زیر کشت در رتبهٔ سوم و از لحاظ مقدار تولید در رتبهٔ اول بین محصولات باغی قرار داشت [۱].

تنش خشکی یا کم‌آبی، مهم‌ترین تنش غیرزنده است. تنش آب زمانی در گیاه ایجاد می‌شود که مقدار آب دریافتی گیاه کمتر از تلفات آن باشد. این امر ممکن است به‌دلیل اتلاف بیش از حد آب، کاهش جذب آب یا هر دو باشد [۱۰ ، ۸]. درختان مرکبات دماهای پایین و زهکشی ضعیف خاک را به‌خوبی تحمل نمی‌کنند و بیشتر آنها در مناطق گرم با خاک‌های دارای ظرفیت نگهداری آب پایین پرورش داده می‌شوند و درنتیجه خشکی‌های دوره‌ای را تجربه می‌کنند [۲۰].

کم‌آبی موجب بروز دامنهٔ وسیعی از تغییرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی می‌شود که شروع آن با کاهش پتانسیل اسمزی در سطح سلولی همراه است [۱۴]. بسیاری از گیاهان با تجمع ترکیبات آلی نظیر اسید آمینهٔ پرولین به تنش کم‌آبی پاسخ می‌دهند [۳۶ ، ۳۴]. گیاهان با تجمع پرولین در سلول‌ها، موجب کاهش پتانسیل اسمزی می‌شوند که این کاهش و به‌دنبال آن حفظ خاصیت جذب آب سلول و حفظ پتانسیل فشاری سبب ادامهٔ مراحل فیزیولوژیکی نظیر باز شدن روزنه‌ها، فتوسنتز، رشد و توسعهٔ سلولی می‌شود [۱۸ ، ۱۷]. علاوه‌بر آن، پرولین در حفاظت از ساختار سلولی در برابر خسارت اکسایشی گونه‌های فعال اکسیژن و رادیکال‌های آزاد مؤثر است [۳۸] و همچنین به‌عنوان منبع ذخیرهٔ کربن و نیتروژن برای رشد گیاه بعد از رهایی از تنش مطرح است [۲۲]. مطالعهٔ ۵۵ گونهٔ وحشی و اهلی متعلق به خانوادهٔ روتاسه (Rutaceae) نشان داد مقدار پرولین بین ۲۰ تا ۱۰۰ میکرومول بر گرم وزن خشک در نوسان است [۳۰]. دانهال‌های دوسالهٔ پرتقال ‘نیوهال’ (*Citrus sinensis* cv. Newhall Osbec.) و نارنگی انشو ‘یاماسیتاکا’ (*Citrus unshiu* cv. Yamasitaka L.) تحت تنش کم‌آبی قرار گرفتند و تیمارهای شاهد، ۲۱، ۱۴ و ۷ درصد رطوبت خاک روی آنها اعمال شد. در پرتقال ‘نیوهال’ مقدار پرولین از ۴۰۰ تا ۱۰۰۰ میکروگرم بر گرم وزن تازه به‌ترتیب از شاهد به ۷ درصد رطوبت خاک افزایش یافت، درحالی که تغییرات در نارنگی ‘انشو’ از ۷۱۵ تا ۱۲۳۰ میکروگرم بر گرم وزن تازه بود [۴۰].

یکی دیگر از ترکیباتی که در اثر تنش خشکی در گیاهان تغییر یافت و می‌تواند به تنظیم اسمزی کمک کند، قندهای محلول است. در دانهال‌های دوسالهٔ پرتقال ‘نیوهال’ و نارنگی انشو ‘یاماسیتاکا’ که تحت تنش کم‌آبی قرار گرفتند. تنش خشکی می‌تواند موجب تجمع قند در هر دو رقم شود که در تنش ۷ درصد رطوبت خاک، به حداکثر می‌رسد [۴۰]. در بررسی تحمل پایهٔ فورنر آلکائید پنج که یکی از پایه‌های مرکبات است، در مقایسه با والدینش نسبت به تنش خشکی مشخص شد این پایه دارای مواد تولیدی فتوسنتزی بیشتری است. همچنین پرتقال ‘والنسیا’ روی این پایه نیز متحمل است و تنظیم اسمزی بهتری را انجام می‌دهد [۳۵]. مطالعهٔ تنش خشکی نه‌روزه بدون آبیاری در پایه‌های شش‌ماههٔ کاریزوسیترنج و نارنگی کلئوپاترا نشان داد خشکی سبب افزایش قندهای محلول در برگ‌ها و ریشه‌های هر دو ژنوتیپ شد. تولید مواد فتوسنتزی خالص در برگ‌های کاریزوسیترنج در چنین شرایطی کمتر بود [۲۱].

از نتایج تنش اکسایشی، پراکسیداسیون لیپیدهاست. اسیدهای چرب غیراشباع حساس‌ترین بخش غشا به اکسیداسیون و تخریب توسط تنش اکسایشی هستند. تجزیهٔ این اسیدها توسط اکسیژن‌های فعال، ترکیباتی نظیر مالون‌دی‌آلدئید تولید می‌کند که برای سلول مسمومیت‌زاست. مالون‌دی‌آلدئید، نوعی آلدئید فعال و ترکیبی الکترون‌دوست است که به‌طورمعمول به‌شکل خالص دیده نمی‌شود [۳۲، ۲۸ ، ۱۹]. تجمع مالون‌دی‌آلدئید، در شرایط تنش سبب افزایش نفوذپذیری غشای پلاسمایی می‌شود و نشت یونی افزایش می‌یابد [۳۳]. در مطالعه‌ای، مقدار رنگدانه‌ها در گونه‌های مختلف مرکبات تعیین شد که در لیموترش‌ها مقدار کلروفیل a، b و کلروفیل کل به‌ترتیب ۰/۳۱۴، ۰/۰۶۶ و ۰/۳۸، در پرتقال‌ها ۰/۲۷۹، ۰/۱۳۳ و ۰/۴۱۲ و در تانجلوها ۰/۴۶۸، ۰/۳۵۵ و ۰/۸۲۳ بود [۲۶].

هدف پژوهش حاضر، بررسی اثر پایه و آبیاری بر مقدار تجمع ترکیبات بیوشیمیایی نظیر پرولین، قندهای محلول، مالون‌دی‌آلدئید و مقدار رنگدانه‌های کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید در پایه‌های تجاری مرکبات شمال کشور به‌منظور دستیابی به پایه‌های متحمل به خشکی با استفاده از نشانگرهای بیوشیمیایی است.

۲. مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در گلخانهٔ تحقیقاتی و آزمایشگاه‌های مؤسسهٔ تحقیقات مرکبات کشور واقع در شهر رامسر طی سال‌های ۹۳-۱۳۹۲ انجام گرفت. بذور پایه‌های پونسیروس (*Poncirus trifoliate* Raf.)، ترویرسیترنج (*Citrus sinensis* Osbec. × *Poncirus trifoliata* Raf.)، نارنج (*Citrus aurantium* L.)، سیتروملو (*Citrus paradisi* M. × *Citrus sinensis* Osbec.) و نارنگی کلئوپاترا (*Citrus reshni* L.) در آذر ماه ۱۳۹۲ جمع‌آوری شد و پس از آماده‌سازی و ضدعفونی با قارچ‌کش کاپتان (به غلظت دو در هزار) در یک ترکیب سترون متشکل از پرلیت و ماسهٔ اتوکلاوشده (به‌نسبت مساوی) کشت شد. بعد از سبز شدن بذور، دانهال‌های نوسلار تولیدی در مرحلهٔ دو تا سه‌برگی به گلدان‌های پلاستیکی ۲/۵ لیتری محتوی ترکیب سترون کوکوپیت و ماسه به‌نسبت مساوی (اتوکلاو شده) منتقل شدند و در گلخانهٔ کنترل‌شده (با دمای ۲۸-۲۶ درجهٔ سانتی‌گراد در روز و ۲۲-۲۰ درجهٔ در شب با رطوبت نسبی ۸۵-۸۰ درصد) قرار گرفتند. آبیاری در حد حفظ ظرفیت گلدانی و تغذیه با محلول هوگلند (هر هفت روز یک‌بار) انجام گرفت.

تحقیق به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و دو دانهال در هر واحد آزمایشی انجام گرفت. فاکتورها شامل پایه‌های مختلف و تیمارهای آبیاری شامل آبیاری کامل (شاهد) و تنش شدید (قطع آبیاری به مدت شش هفته) بودند. رطوبت وزنی بستر محاسبه شد و با توجه به منحنی خصوصیات رطوبتی خاک، پتانسیل ماتریک بستر کشت به‌دست آمد که در تیمار شاهد ۰/۰۳- و در تیمار تنش شدید ۱/۵- مگاپاسکال بود. در تیمار تنش، در شروع آزمایش گلدان‌ها به‌طور کامل آبیاری شده و بعد از زهکشی کامل و خروج آب اضافی با کیسهٔ پلاستیکی سیاه پوشیده شدند و قسمت پایین ساقه به‌منظور ممانعت از تبخیر و از دست‌دهی آب کاملاً بسته شد تا تبخیر از سطح گلدان‌ها انجام نگیرد و یکنواختی بیشتری ایجاد شود [۳۵]. در این آزمایش، از دانهال‌های شش‌ماهه استفاده شد و نمونه‌ها از برگ‌های میانی شاخه برداشت شدند.

برای اندازه‌گیری پرولین برگ، به ۰/۵ گرم برگ پودرشده در ازت مایع، ۱۰ میلی‌لیتر محلول سولفوسالیسیلیک اسید ۱۰ درصد اضافه شد و به‌صورت یکنواخت درآورده شد و پس از ورتکس با استفاده از

دستگاه SIGMA 1-140 ساخت کشور آلمان سانتریفیوژ شد. سپس، ۲ میلی‌لیتر از عصارهٔ بالایی با ۲ میلی‌لیتر معرف ناین‌هیدرین اسید و ۲ میلی‌لیتر گلاسیال استیک اسید در یک لولهٔ آزمایش و به‌مدت یک ساعت در حمام آب گرم ۱۰۰ درجهٔ سانتی‌گراد قرار داده شد و پس از آن در یخ قرار گرفت تا واکنش خاتمه یابد. سپس ۴ میلی‌لیتر تولوئن به مخلوط واکنش اضافه و به‌مدت ۲۰-۱۵ ثانیه به‌شدت ورتکس شد. محلول قرمز فاز رویی برای قرائت جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۲۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر مدل ND-1000 ساخت آمریکا استفاده شد. از تولوئن به‌عنوان شاهد استفاده شد و استانداردهای پرولین تهیه و مقدار پرولین محاسبه شد [۱۶].

برای اندازه‌گیری مقدار کل قندهای محلول، به ۰/۰۵ گرم بافت ساییده‌شدهٔ برگ در ازت مایع، ۱۰ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر اضافه شد و پس از ورتکس، درون حمام آب گرم با دمای ۱۰۰ درجهٔ سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از ۲۰ دقیقه (زمانی‌که محلول به‌جوش آمد) نمونه‌ها با استفاده از کاغذ صافی واتمن صاف شدند. از عصارهٔ صاف‌شدهٔ نمونه‌ها، ۲ میلی‌لیتر برداشته و به آن ۲ میلی‌لیتر سولفات مس اضافه شد. هر یک از نمونه‌ها ۸ تا ۱۰ دقیقه درون حمام آب گرم با دمای ۱۰۰ درجه قرار گرفتند و پس از آن درون یخ سرد شدند. پس از سرد شدن ۲ میلی‌لیتر محلول اسید فسفومولیبدیک به نمونه‌ها اضافه شد. نمونه‌ها با آب دو بار تقطیر به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شدند و با استفاده از اسپکتروفتومتر مدل ND-1000 ساخت آمریکا، شدت جذب در طول موج ۶۰۰ نانومتر قرائت و با استفاده از منحنی استاندارد، غلظت قند نمونه‌ها محاسبه شد [۳۷].

مالون‌دی‌آلدئید (MDA) محصول نهایی اکسیدشدن اسیدهای چرب غیراشباع است که با تیوباربیتوریک اسید واکنش داده و تشکیل کمپلکس رنگی می‌دهد. به ۰/۲ گرم نمونه برگی پودرشده در ازت مایع، ۵ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید ۰/۱ درصد اضافه شد و یک شب در محیط آزمایشگاه نگه داشته و در روز بعد ورتکس شدید شد و با استفاده از دستگاه SIGMA 1-140 ساخت آلمان سانتریفیوژ (۳ دقیقه در ۱۴۰۰۰ دور) صورت گرفت. ۱ میلی‌لیتر عصارهٔ بالایی برداشته و ۴ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید ۲۰ درصد محتوی ۰/۵ درصد تیوباربیتوریک اسید اضافه شد و ۳۰ دقیقه در بن‌ماری ۹۵ درجه قرار گرفت. سپس بلافاصله به یخ منتقل شد و پس از سرد شدن سانتریفیوژ (۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور) انجام گرفت و درنهایت شدت جذب این کمپلکس با استفاده از اسپکتروفتومتر مدل ND-1000 ساخت آمریکا و در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. برای حذف اثر ترکیبات مزاحم، جذب نمونه‌ها در طول موج ۶۰۰ نانومتر از جذب نمونه در طول موج ۵۳۲ نانومتر کسر شد و غلظت کمپلکس محاسبه شد [۲۳].

برای اندازه‌گیری کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید، به ۰/۲ گرم نمونه برگی، ۱۰ میلی‌لیتر استن ۸۰ درصد خنک اضافه و سپس ورتکس شد و پس از آن به‌مدت پنج دقیقه در ۱۴۸۰۰ دور در دقیقه با استفاده از دستگاه SIGMA 1-140 ساخت آلمان سانتریفیوژ شد. پس از افزودن ۵ میلی‌لیتر استن به محلول بالایی، با آب دو بار تقطیر به حجم ۲۰ میلی‌لیتر رسانده شد و با استفاده از اسپکتروفتومتر مدل ND-1000 ساخت آمریکا، جذب در طول موج‌های ۴۸۰، ۶۴۵ و ۶۶۳ قرائت و مقدار رنگدانه‌ها محاسبه شد [۱۳].

این پژوهش با ۱۰ تیمار، سه تکرار و دو دانهال در هر واحد آزمایشی صورت گرفت. برای تجزیهٔ آماری و آنالیز واریانس از نرم‌افزار آماری SAS و برای مقایسهٔ میانگین‌ها از آزمون چنددامنه‌ای دانکن استفاده شد.

۳. نتایج و بحث

۳. ۱. پرولین

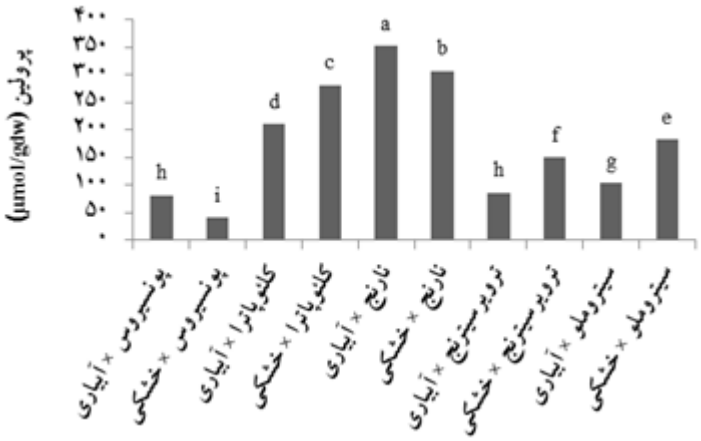
نتایج تجزیهٔ واریانس داده‌ها نشان داد تنش خشکی اثر معناداری در سطح احتمال ۱ درصد بر مقدار پرولین برگ پایه‌های مختلف مرکبات داشت. اثر متقابل پایه و سطوح آبیاری نیز بر مقدار تجمع پرولین معنادار بود (جدول ۱).

براساس نتایج، در تنش خشکی مقدار پرولین در پایه‌ها افزایش یافت. تنها در پونسیروس و نارنج مقداری کاهش دیده شد که می‌توان آن را ناشی از مصرف پرولین به‌عنوان یک منبع ذخیرهٔ نیتروژنی در اثر تنش در این پایه‌ها دانست. بیشترین پرولین برگ از تیمار نارنج با آبیاری کامل به مقدار ۳۵۲/۳۲ میکرومول بر گرم وزن خشک برگ و کمترین آن از تیمار پونسیروس و تنش خشکی به مقدار ۴۱/۳۶ میکرومول بر گرم وزن خشک برگ به‌دست آمد (شکل ۱).

جدول ۱. تجزیهٔ واریانس صفات بیوشیمیایی پایه‌های مرکبات تحت تأثیر تنش خشکی در شرایط گلخانه

منابع تغییرات	درجهٔ آزادی	میانگین مربعات						
		پرولین	قند محلول	مالون‌دی‌آلدئید	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کاروتنوئید
پایه	۴	۶۸۸۳۷**	۱۶۸۷۵**	۶۱۹۵**	۰/۰۲**	۰/۰۰۱**	۰/۰۲**	۰/۰۰۳**
آبیاری	۱	۴۹۵۵**	۲۸۲۱۸**	۲۲۴۳۸۹**	۰/۰۷**	۰/۴۶**	۰/۸۸**	۰/۰۵۲**
پایه × آبیاری	۴	۵۹۸۲**	۴۸۲۵**	۱۷۷۸**	۰/۰۱**	۰/۰۱**	۰/۰۳**	۰/۰۰۲**
خطا	۲۰	۴۶/۲۲	۱۴/۵۵	۳۸۷/۱۸	۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۰۴	۰/۰۰۰۰۷
ضریب تغییرات (٪)	۳/۸	۵	۱۴/۱	۳/۳	۴/۶	۳/۱	۷/۷	۳/۸

** : اختلاف معنادار در سطح احتمال ۱ درصد.



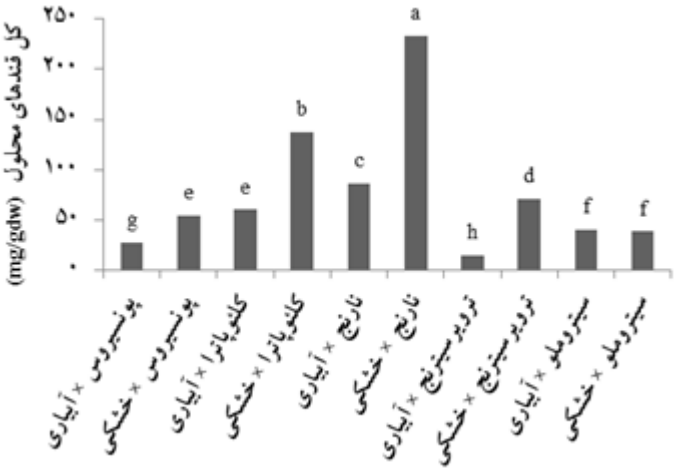
شکل ۱. اثر متقابل پایه و سطح آبیاری بر مقدار تجمع پرولین در برگ‌های مرکبات

ستون‌های دارای یک حرف مشترک براساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن، در سطح احتمال ۱ درصد تفاوت معناداری ندارند.

مقدار پرولین در نارنج در سطح بالایی قرار دارد که این مسئله ناشی از خصوصیات این ژنوتیپ است. هرچند که بروز خشکی موجب مقداری کاهش در مقدار پرولین شد که می‌تواند ناشی از مصرف آن در سنتز پروتئین یا کاهش تجزیهٔ پروتئین باشد. در پونسیروس نیز مقداری کاهش در مقدار پرولین مشاهده شد، ولی در سایر پایه‌ها تنش خشکی موجب افزایش پرولین و تنظیم اسمزی بهتر در شرایط تنش خشکی شد. در مطالعهٔ دانهال‌های دوسالهٔ پرتقال 'نیوهال' و نارنگی انشو 'یاماسیتاکا' تحت تنش کم‌آبی، مشخص شد که مقدار پرولین در پرتقال 'نیوهال' از ۴۰۰ تا ۱۰۰۰ میکروگرم بر گرم وزن تازه به‌ترتیب از شاهد به ۷ درصد رطوبت خاک افزایش یافت، درحالی که تغییرات در نارنگی 'انشو' از ۷۱۵ تا ۱۲۳۰ میکروگرم بر گرم وزن تازه بود [۴۰]. تنش خشکی موجب افزایش پرولین در برگ‌های کاریزوسیترنج و کلئوپاتراماندارین شد [۲۱]. این نتایج در تحقیقات دیگری با مطالعهٔ دو تیمار رطوبتی (آبیاری کامل و ۱۵ روز بدون آبیاری) روی کاریزوسیترنج تراریخته که قابلیت زیادی در تولید و تجمع پرولین و تنظیم اسمزی بهتر داشت نیز در مقایسه با شاهد مشاهده شد [۲۷]. در غربالگری ۲۰ ژنوتیپ بادام مشاهده شد مقدار پرولین، تحت تنش شدید خشکی افزایش چشمگیری یافت، ولی این افزایش در بین ژنوتیپ‌ها متفاوت بود [۳]. مطالعهٔ چهار سطح پتانسیل آب خاک (۰/۲-، ۰/۶-، ۱- و ۱/۵- مگاپاسکال) در شش رقم زیتون نیز نشان داد مقدار پرولین برگ در همهٔ ارقام تحت تنش افزایش یافت و در رقم مقاوم بیشتر بود [۷]. از بررسی دو سطح تنش خشکی شامل شاهد (۷ لیتر آب به نهال‌ها داده شد) و خشکی روی چهار رقم انگور مشخص شد مقدار پرولین در اثر تنش خشکی افزایش یافت [۵]. افزایش پرولین در اثر خشکی در نتایج سایر محققان با تأثیر تنش خشکی (۱۰۰ و ۴۰ درصد تبخیر و تعرق) روی دو رقم زیتون نیز مشاهده شد [۱۱ ، ۲].

۲.۳. قندهای محلول

تأثیر پایه‌های مختلف مرکبات، سطوح آبیاری و اثر متقابل آن‌ها بر مقدار کل قندهای محلول در سطح احتمال ۱ درصد معنادار بود (جدول ۱). بیشترین مقدار کل قندهای محلول برگ از تیمار قطع آبیاری و پایهٔ نارنج به مقدار ۲۳۳/۷۹ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک برگ و کمترین آن از تیمار آبیاری کامل در حد ظرفیت گلدانی و ترویرسیترنج به مقدار ۱۴/۸۹ میلی‌گرم در گرم وزن خشک برگ به‌دست آمد (شکل ۲).



شکل ۲. اثر متقابل پایه و سطح آبیاری بر مقدار کل قندهای محلول در برگ‌های مرکبات

ستون‌های دارای یک حرف مشترک براساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن، در سطح احتمال ۱ درصد تفاوت معناداری ندارند.

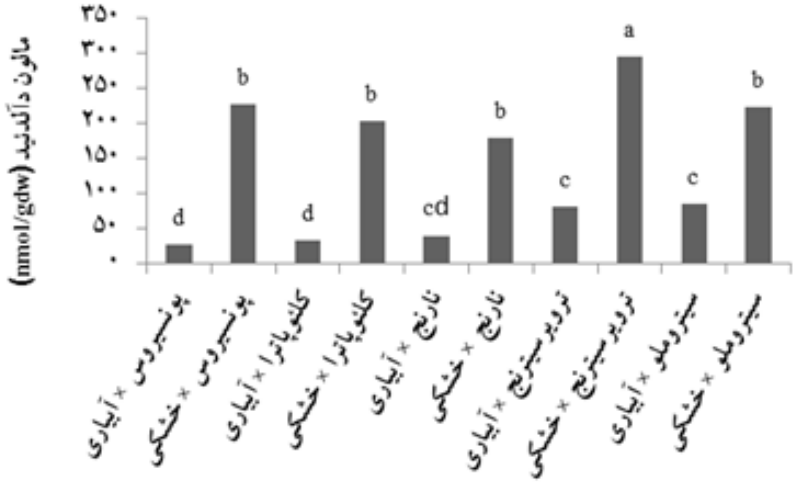
نتایج پژوهش حاضر نشان داد به‌غیر از پایهٔ سیتروملو در سایر پایه‌ها، قندهای محلول در اثر تنش خشکی افزایش یافت که در آزمایش‌های متعددی این افزایش تحت شرایط تنش خشکی در گیاهان مختلف مشاهده شده است. در دانهال‌های دوسالهٔ پرتقال 'نیوهال' و نارنگی انشو 'یاماسیتاکا' که تحت تنش کم‌آبی قرار گرفتند، تنش خشکی توانست سبب تجمع قند در هر دو رقم شود که در تنش ۷ درصد رطوبت خاک به حداکثر رسید [۴۰]. در بررسی تحمل پایهٔ فورنر آلکائید پنج در مقایسه با والدینش نسبت به تنش خشکی مشخص شد این پایه دارای مواد تولیدی فتوسنتزی بیشتری است. همچنین پرتقال 'والنسیا' روی این پایه نیز متحمل است و تنظیم اسمزی بهتری انجام می‌دهد [۳۵]. مطالعهٔ تنش خشکی نه‌روزه بدون آبیاری در پایه‌های شش‌ماههٔ کاریزوسیترنج و کلئوپاتراماندارین نشان داد تنش خشکی موجب افزایش قندهای محلول در برگ‌ها و ریشه‌های هر دو ژنوتیپ شد. مقدار تولید مواد فتوسنتزی خالص در برگ‌های کاریزوسیترنج کاهش بیشتری داشت [۲۱]. تفاوت معناداری در شدت فتوسنتزی کاریزو سیترنج تراریخته در شرایط آبیاری کامل با گیاهان شاهد غیرتراریخته مشاهده نشد، درحالی که در شرایط تنش آبی، گیاهان تراریخته دارای شدت فتوسنتزی بالاتری از گیاهان شاهد غیرتراریخته بودند [۲۷].

بررسی واکنش پنج رقم انگور در چهار سطح پتانسیل آب خاک نشان داد در شرایط تنش شدید خشکی، کربوهیدرات‌های محلول بیشتری در ارقام 'خوشناو' و 'ساهانی' تجمع یافتند [۹]. در مطالعهٔ برخی ارقام انگور در برابر دو سطح تنش خشکی مشخص شد تنش خشکی موجب کاهش قندهای نامحلول و افزایش قندهای محلول می‌شود [۵]. مطالعهٔ تأثیر تنش خشکی بر سه پایهٔ دانهالی پسته نشان داد پایهٔ بادامی مقاوم‌ترین پایه به تنش خشکی است [۶]. مطالعهٔ واکنش‌های شش رقم زیتون تحت تنش شدید خشکی نشان داد مقدار نشاسته در کلیهٔ ارقام تحت تنش خشکی کاهش پیدا کرد، درحالی که مقدار ساکارز افزایش یافت [۷]. مطالعهٔ تأثیر تنش خشکی بر دو رقم زیتون نشان داد اعمال تنش موجب افزایش غلظت کربوهیدرات‌های محلول می‌شود [۱۱] که با نتایج پژوهش‌های دیگری روی ارقام زیتون و ۱۰ ژنوتیپ گلابی مطابقت داشت [۴ ، ۲]. مطالعهٔ پاسخ هلوی رقم 'کاترینا' به تنش خشکی نشان داد مقدار قندهای محلول در بافت‌های برگ و ریشه به‌خصوص در شرایط تنش شدید تغییر یافت [۲۵]. مطالعهٔ تنش خشکی روی پایه‌های پاکوتاه سیب در سه سطح تنش نیز نشان‌دهندهٔ افزایش مقدار قندهای محلول بود [۱۲].

تجمع قندهای محلول در اثر تغییر شکل بیشتر نشاسته یا سایر شکل‌های ذخیره‌ای به قند، تجزیهٔ پلی‌ساکاریدهای دیوارهٔ سلولی، تغییر در مقدار انتقال قندها یا مصرف کمتر کربوهیدرات‌ها توسط بافت‌ها به‌دلیل اختلال در فرایندهای سلولی و کاهش رشد توجیه‌پذیر است که مورد آخر شاید دلیل اصلی افزایش قندها باشد. نبود اختلاف معنادار در پایهٔ سیتروملو ممکن است ناشی از وضعیت بهتر رشدی این پایه و درنتیجه مصرف بیشتر قند باشد.

۳.۳. مالون‌دی‌آلدئید

نتایج تجزیهٔ واریانس نشان داد سطوح آبیاری، پایه و همچنین اثر متقابل آنها اثر معناداری در سطح احتمال ۱ درصد بر مقدار مالون‌دی‌آلدئید داشت (جدول ۱). نتایج اثر متقابل سطوح آبیاری و پایه نشان داد بیشترین مقدار مالون‌دی‌آلدئید از تیمار تنش خشکی و پایهٔ ترویرسیترنج به مقدار ۲۹۵/۷۰ نانومول بر گرم وزن خشک برگ و کمترین مقدار آن از تیمار آبیاری کامل در حد ظرفیت گلدانی و پونسیروس به مقدار ۲۶/۸۸ نانومول بر گرم وزن خشک برگ به‌دست آمد (شکل ۳).



شکل ۳. اثر متقابل پایه و سطح آبیاری بر مقدار تجمع مالون‌دی‌آلدئید در برگ‌های مرکبات

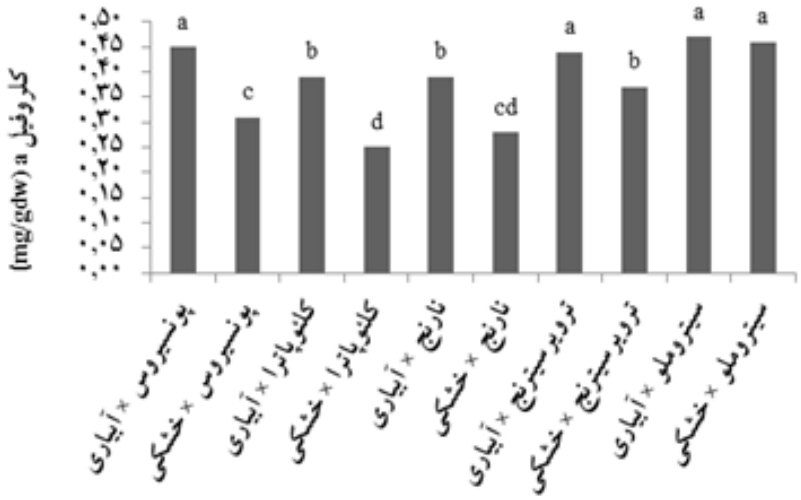
ستون‌های دارای یک حرف مشترک براساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن، در سطح احتمال ۱ درصد تفاوت معناداری ندارند.

از نتایج تنش اکسیداتیو، پراکسیداسیون لیپیدهاست. اسیدهای چرب غیراشباع حساس‌ترین بخش غشا به اکسید شدن و تخریب توسط تنش اکسیداتیو هستند. در اثر تجزیهٔ این اسیدها به‌وسیلهٔ اکسیژن واکنش‌گر، ترکیباتی نظیر مالون دی‌آلدئید (MDA) تولید می‌شود که برای سلول مسمومیت ایجاد می‌کند. مالون‌دی‌آلدئید یک آلدئیدی فعال و الکترون‌دوست است که به‌طور معمول به‌شکل خالص دیده نمی‌شود و اغلب یک نشانگر زیستی برای پراکسیداسیون لیپیدهای غشا که در اثر تنش اکسیداتیو ایجاد می‌شود، به‌شمار می‌آید. تجمع آن در شرایط تنش موجب افزایش نفوذپذیری غشای پلاسمایی می‌شود و نشت یونی افزایش می‌یابد [۳۲]. در این تحقیق، افزایش مالون دی‌آلدئید در اثر تنش خشکی به‌دست آمد که با یافته‌های دیگر محققان مطابقت دارد. بررسی واکنش‌های بیوشیمیایی پنج رقم انگور در چهار سطح پتانسیل آب خاک نشان داد پایداری نسبی غشای سلولی، با افزایش شدت تنش خشکی کاهش یافت [۹]. در مطالعه‌ای، دو پایهٔ حساس و مقاوم سیب به تنش خشکی بررسی شد و نتایج نشان داد در اثر تنش خشکی مقدار مالون‌دی‌آلدئید در پایهٔ حساس افزایش بیشتری یافت [۳۹].

۴.۳. کلروفیل a

تأثیر پایه‌ها، سطوح آبیاری و اثرات متقابل آن‌ها بر مقدار کلروفیل a در سطح احتمال ۱ درصد معنادار بود (جدول ۱). نتایج این آزمایش نشان داد بیشترین کلروفیل a در تیمار آبیاری بهینه با پایهٔ سیترومیلو به مقدار ۰/۴۷ و کمترین آن، در تیمار قطع آبیاری در پایهٔ کلئوپاترا به مقدار ۰/۲۵ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک برگ به‌دست آمد (شکل ۴).

مطالعهٔ واکنش‌های شش رقم زیتون تحت تنش شدید خشکی (۱/۵- مگاپاسکال) نشان داد مقدار کلروفیل a و b و کلروفیل کل در کلیهٔ ارقام تحت تنش خشکی کاهش یافت [۷]. در دیگر تحقیقات، کاهش مقدار کلروفیل a و b، کل و کاروتنوئید در زیتون و گلابی در اثر تنش خشکی دیده شد [۱۱، ۴ ، ۲].



شکل ۴. اثر متقابل پایه و سطح آبیاری بر مقدار کلروفیل a در برگ‌های مرکبات

ستون‌های دارای یک حرف مشترک براساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن، در سطح احتمال ۱ درصد تفاوت معناداری ندارند.

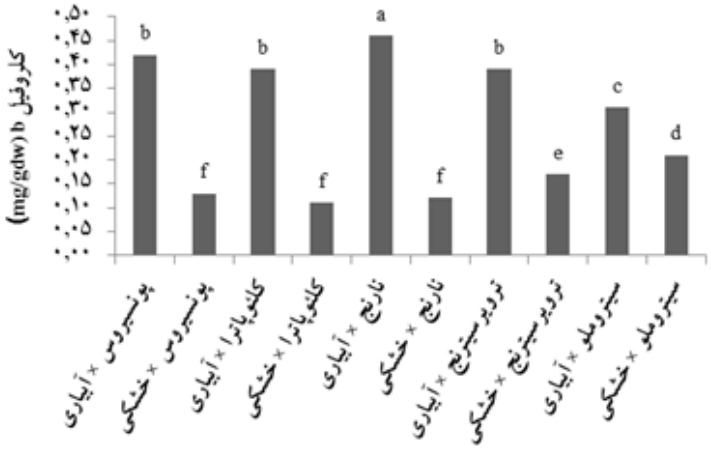
افزایش فعالیت کلروفیلاز و پراکسیداز در شرایط تنش خشکی، از عوامل مؤثر در کاهش کلروفیل است، هرچند که کاهش جریان ازت در تنش طولانی‌مدت نیز موجب کاهش کلروفیل می‌شود، زیرا ازت بخشی از مولکول کلروفیل است. نبود اختلاف معنادار در پایهٔ سیتروملو نیز ممکن است ناشی از وضعیت بهتر رشدی این پایه و تخریب کمتر کلروفیل باشد.

۵.۳. کلروفیل b

نتایج تجزیهٔ واریانس نشان داد سطوح آبیاری و پایه‌ها اثر معناداری در سطح احتمال ۱ درصد بر مقدار کلروفیل b داشت. همچنین اثر متقابل آنها نیز بر صفت مزبور در سطح آماری ۱ درصد معنادار بود (جدول ۱)، به‌طوری که بیشترین کلروفیل b از تیمار آبیاری کامل در حد ظرفیت گلدانی در پایهٔ نارنج به مقدار ۰/۴۶ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک برگ و کمترین آن از تیمار قطع آبیاری با پایهٔ کلئوپاترا به مقدار ۰/۱۱ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک برگ به‌دست آمد (شکل ۵). کاهش مقدار کلروفیل b در اثر تنش خشکی از نتایج این پژوهش است که با نتایج دیگر تحقیقات در زمینهٔ مرکبات، انگور و زیتون مطابقت دارد [۱۲، ۱۱، ۷، ۵، ۴ ، ۲].

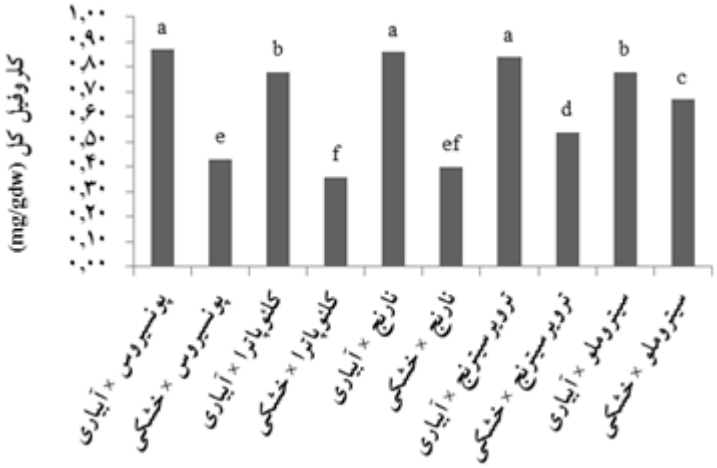
۶.۳. کلروفیل کل

تأثیر پایه‌های مختلف مرکبات، سطوح آبیاری و اثر متقابل آنها بر مقدار کلروفیل کل در سطح احتمال ۱ درصد معنادار بود (جدول ۱). بیشترین کلروفیل کل در تیمار آبیاری کامل در حد ظرفیت گلدانی در پایهٔ پونسیروس به مقدار ۰/۸۷ و کمترین آن، در تیمار قطع آبیاری در پایهٔ کلئوپاترا به‌مقدار ۰/۳۶ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک برگ به‌دست آمد که با نتایج دیگر تحقیقات دربارهٔ انگور، سیب و گونه‌های درختچه‌ای نیمه‌خزان‌کننده، درختان پهن‌برگ مدیترانه‌ای و کاج‌ها مطابقت دارد (شکل ۶) [۳۱، ۲۴، ۱۵، ۱۲ ، ۵].



شکل ۵. اثر متقابل پایه و سطح آبیاری بر مقدار کلروفیل b در برگ‌های مرکبات

ستون‌های دارای یک حرف مشترک براساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن، در سطح احتمال ۱ درصد تفاوت معناداری ندارند.

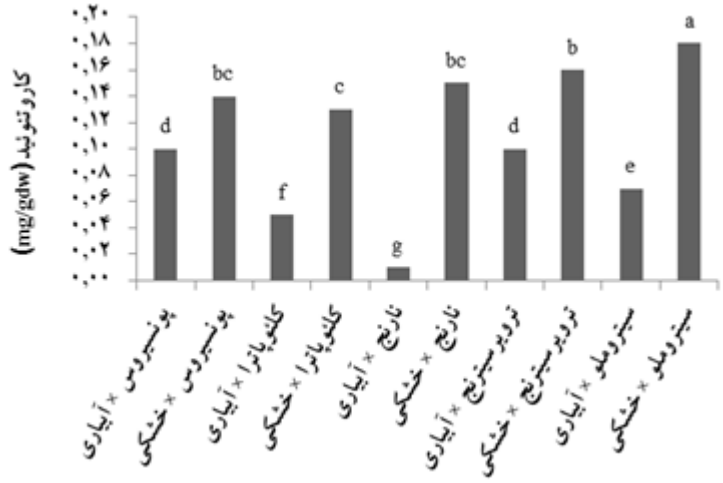


شکل ۶. اثر متقابل پایه و سطح آبیاری بر مقدار کلروفیل کل در برگ‌های مرکبات

ستون‌های دارای یک حرف مشترک براساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن، در سطح احتمال ۱ درصد تفاوت معناداری ندارند.

۳.۷. کاروتنوئید

نتایج تجزیهٔ واریانس نشان داد سطوح آبیاری، پایه‌ها و همچنین اثر متقابل آنها اثر معناداری در سطح احتمال ۱ درصد بر مقدار کاروتنوئید داشت (جدول ۱)، به‌طوری که بیشترین کاروتنوئید از تیمار قطع آبیاری در پایهٔ سیتروملو به مقدار ۰/۱۸ و کمترین آن، از تیمار آبیاری بهینه با پایهٔ نارنج به مقدار ۰/۰۱ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک برگ به‌دست آمد (شکل ۷). افزایش کاروتنوئید در اثر خشکی از نتایج این پژوهش است که با دیگر گزارش‌ها در زمینهٔ مرکبات، انگور و زیتون مطابقت دارد [۱۲، ۱۱، ۷، ۵، ۴ ، ۲]. افزایش کاروتنوئید به‌عنوان آنتی‌اکسیدانت غیرآنزیمی در تنش خشکی، به‌دلیل مقابله با رادیکال‌های آزاد توجیه‌پذیر است.



شکل ۷. اثر متقابل پایه و سطح آبیاری بر مقدار کاروتنوئید کل در برگ‌های مرکبات

ستون‌های دارای یک حرف مشترک براساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن، در سطح احتمال ۱ درصد تفاوت معناداری ندارند.

۴. نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان داد در اغلب پایه‌های بررسی‌شده، مقدار پرولین و قندهای محلول در اثر تنش خشکی افزایش یافت، هرچند که میزان تغییر در پایه‌های مختلف، متفاوت بود. در پژوهش حاضر، مقدار پرولین در نارنگی کلئوپاترا و مقدار قندهای محلول در نارنج و نارنگی کلئوپاترا در اثر خشکی افزایش یافت. بررسی مقدار کاروتنوئید نیز مبین افزایش آن به‌عنوان آنتی‌اکسیدانت در این پایه‌ها بود که همهٔ این موارد نشان می‌دهد نارنج با افزایش قندهای محلول و کاروتنوئید و نارنگی کلئوپاترا با افزایش پرولین، قندهای محلول و کاروتنوئید به تنش خشکی واکنش نشان می‌دهند، اما با توجه به اینکه پایه‌های سه‌برگچه‌ای (پونسیروس، ترویرسیترنج و سیترومیلو) تحمل بیشتری نسبت به خشکی از خود نشان دادند، درحالی که مقدار پرولین و قندهای محلول آنها در سطح پایین و مقدار کاروتنوئید آنها در سطح بالاتری نسبت به بقیه قرار داشت، احتمالاً کاروتنوئیدها نقش مؤثرتری نسبت به سایر ترکیبات در تحمل به خشکی دارند. البته تأثیر عوامل دیگری نظیر سطح برگ و میزان تعرق را نیز نباید از نظر دور داشت که در سه‌برگچه‌ای‌ها حداقل است.

منابع

۱. آمارنامه کشاورزی (۱۳۹۱) دفتر آمار و فناوری اطلاعات معاونت امور برنامه‌ریزی و اقتصادی وزارت جهاد کشاورزی، انتشارات وزارت جهاد کشاورزی. تهران. صص. ۷۶-۴۸.

۲. ارجی ع، ارزانی ک و ابراهیم‌زاده ح (۱۳۸۲) مطالعهٔ کمی پرولین و کربوهیدرات‌های محلول در پنج رقم زیتون تحت تنش خشکی. زیست‌شناسی ایران. ۱۶(۴): ۵۹-۴۷.

۳. برزگر ک (۱۳۹۰) بررسی خصوصیات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی برخی ژنوتیپ‌ها و ارقام امیدبخش بادام در ارتباط با خشکی. دانشگاه تربیت مدرس. تهران. پایان‌نامهٔ کارشناسی ارشد. صص. ۷۵-۵۰.

۴. جوادی ت (۱۳۸۲) اثر تنش خشکی بر خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی نه ژنوتیپ گلابی آسیایی (*Pyrus serotna* Rehd.). دانشگاه تربیت مدرس. تهران. رسالهٔ دکتری. صص. ۱۲۳-۱۱۴.

۵. ربیعی و (۱۳۸۳) بررسی واکنش های فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی برخی ارقام انگور به تنش خشکی. دانشگاه تهران. تهران. رسالهٔ دکتری. صص. ۱۴۴-۱۰۵.

۶. روزبان م (۱۳۸۸) بررسی مکانیسم‌های فیزیولوژیکی تحمل به خشکی در سه پایهٔ دانهالی پسته. دانشگاه تربیت مدرس. تهران. رسالهٔ دکتری. صص. ۷۷-۷۲.

۷. ضرابی م، طلایی م، سلیمانی ع و حداد ر (۱۳۸۹) نقش فیزیولوژیکی و تغییرات بیوشیمیایی شش رقم زیتون در برابر تنش خشکی. علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی). ۲۴(۲): ۲۴۴-۲۳۳.

۸. فتوحی قزوینی ر، حیدری م و هاشم‌پور ا (۱۳۹۰) فیزیولوژی و بیولوژی مولکولی تحمل تنش در گیاهان. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد، مشهد. صص. ۵۷-۳۹.

۹. قادری ن، طلایی ع، عبادی ع و لسانی ح (۱۳۸۹) تأثیر تنش خشکی و آبیاری مجدد بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی سه رقم انگور ساهانی، فرخی و بیدانه سفید. علوم باغبانی ایران. ۴۱(۲): ۱۸۸-۱۷۹.

۱۰. نصراصفهانی ا و گلجین ن (۱۳۸۷) برآورد کارایی مصرف آب محصولات زراعی در دشت برخوار اصفهان و دشت گرگان و گنبد. وزارت جهاد کشاورزی. معاونت برنامه‌ریزی و اقتصادی. مؤسسهٔ پژوهش‌های برنامه‌ریزی و اقتصاد کشاورزی. صص. ۳۵-۱۸.

۱۱. یزدانی ن، ارزانی ک و ارجی ع (۱۳۸۶) تعدیل تنش خشکی با کاربرد پاکلوبوترازول در دو رقم زیتون (بلیدی و میشن). علوم کشاورزی ایران. ۳۸(۳): ۶۰-۵۴.

12. Alizadeh A, Alizadeh V, Nassery L and Eivazi A (2011) Effect of drought stress on apple dwarf rootstocks. Technical Journal of Engineering and Applied Science. 3: 86-94.

13. Arnon DI (1949) Copper enzymes in isolated chloroplast polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiology. 24: 1-15.

14. Bajaj S, Jayaprakash T, Li-Frei L, Ho THD and Wu R (1999) Transgenic approaches to increase dehydration-stress tolerance in plants. Molecular Breeding. 5: 493-503.

15. Balaguer L, Pugnaire FL, Martinez-Ferri E, Armas C, Valladares F and Manrique E (2002) Ecophysiological significance of chlorophyll loss and reduced photochemical efficiency under extreme aridity in *Stipa tenacissima* L. Plant and Soil. 240: 343-352.

16. Bates LS, Waldron RP and Teare ID (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil. 39: 205-208.

17. Blum A (1996) Crop responses to drought and the interpretation of adaptation. Plant Growth Regulation. 20: 33-45.

18. Delauney AJ and Verma DPS (1993) Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. The Plant Journal. 4: 215-223.

19. Elkahoui S, Hernandez JA, Abdelly Ch, Ghrir R and Limam F (2005) Effects of salt on lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities of *Catharanthus roseus* suspension cells. Plant Science. 168: 607-613.

20. Fereres E and Soriano MA (2007) Deficit irrigation for reducing agricultural water use. Experimental Botany. 58: 147-159.

21. Garcıa-Sancheza F, Syvertsena JP, Gimenoc V, Botlab P and Perez-Perezb JG (2007) Responses to flooding and drought stress by two citrus rootstock seedlings with different water-use efficiency. Physiologia Plantarum. 130: 532-42.

22. Hare PD, Cress WA and Standen J (1998) Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. Plant Cell Environment. 21: 535-553.

23. Heath RL and Packer L (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplasts. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives. Biochemistry and Biophysics. 125: 189-198.

24. Iannucci A, Russo M, Arena L, Di Fonzo N and Martiniello P (2002) Water deficit effects on osmotic adjustment and solute accumulation in leaves of annual clovers. European Journal of Agronomy. 16: 111-122.

25. Jimenez S, Dridi J, Gutierrez D, Moret D, Jrigoyen JJ, Moreno MA and Gogorcena Y (2013) Physiological, biochemical and molecular responses in four prunus rootstocks submitted to drought stress. Tree Physiology. 33: 1061-75.

26. Khan MA, Idrees M and Shahab D (2007) Chlorophyll content in some Citrus species. Vejetos. 20(2): 7-8.

27. Molinari HBC, Marur CJ, Filho JCB, Kobayashi AK, Pileggi M, Leite Junior RP, Pereira LFP and Vieira LGE (2004) Osmotic adjustment in transgenic citrus rootstock Carrizo citrange (*Citrus sinensis* Osb. X *Poncirus trifoliata* Raf.) overproducing proline. Plant Science. 167: 1375-1381.

28. Nair V, O'neil CL and Wang PG (2008) "Malondialdehyde" encyclopedia of reagents for organic synthesis. John wiley and Sons. New York. Pp. 66-77.

29. Nicolosi E (2007) Origin and Taxonomy. In Khan, I. A. (ed.) Citrus Genetics, Breeding and Biotechnology. CABI. Pp. 370.

30. Nolte KD, Hanson AD and Gage AD (1997) Prolin accumulation and methylation to prolin betaine in Citrus: implication for genetic engineering of stress resistance. American Society Horticultural Science. 122(1): 8-13.

31. Pavlousek P (2011) Evaluation of drought tolerance of new grapevine rootstock hybrids. Environment Biology. 32: 543-549.

32. Pryor WA and Stanley JP (1975) A suggested mechanism for the production of malonaldehyde during the antioxidation of polyunsaturated fatty acids, nonenzymatic production of prostaglandin endoperoxides during autoxidation. Organells. 40(24): 3615-3617.

33. Reezi S, Babalar M and Kalantari S (2009) Silicon alleviates salt stress, decreases malondialdehyde content and effects petal color of salt-stressed cut rose (*Rosa* X *hybrida* L.) 'Hot lady'. African Journal Biotechnology. 8(8): 1502-1508.

34. Rhodes D and Samaras Y (1994) Genetic control of osmoregulation in plants. In book: Cellular and Molecular Physiology of Cell Volume Regulation CRC Press, Boca Raton, Fla. Pp. 347-361.

35. Rodríguez-Gamir J, Primo-Millo E, Forner JB and Forner-Giner MA (2010) Citrus rootstock responses to water stress. Scientia Horticulturae. 126: 95-102.

36. Siripornadulsil S, Traina S, Verma DPS and Sayre RT (2002) Molecular mechanisms of proline-mediated to toxic heavy metals in transgenic microalgae. Plant Cell. 14: 2837-2847.

37. Somogyi M (1952) Note on sugar determination. Journal of Biology and Chemistry. 195: 19-23.

38. Tsugane K, Kobayashi K, Niwa Y, Ohba Y, Wada K and Kobayashi H (1999) A recessive Arabidopsis mutant that grows photoautotrophically under salt stress shows enhanced active oxygen detoxification. Plant Cell. 11: 1195-1206.

39. Wang S, Liang D, Li C, Hao Y, Ma F and Shu H (2011) Influence of drought stress on the cellular ultrastructure and antioxidant system in leaves of drought tolerant and drought sensitive apple rootstocks. Plant Physiology and Biochemistry. 51: 81-89.

40. Xie SX, Lu XP, Ni Q and Zhao XL (2012) The effect of water stress on ABA, Jaand physiological characteristic of Citrus. XII International *Citrus* Congress. Pp. 138-145.