Research Article

Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research DOI: 10.22092/ijrfpbgr.2024.365153.1459

Vol. 32, No. 1, Page 72-94 (2024)

The Investigation of Cold Resistance in Different Populations of Tezetta Daffodils (*Narcissus tazetta*).

M. Zabet[1]*, F. Najafi[2], Z. Alizadeh[3], and M. Khazaii[4]

1.Corresponding author, Assoc. Prof· Dept. Plant Production and Genetics, College of Agriculture, University of Birjand, Birjand, I.R.Iran, Email: mzabet@birjand.ac.ir

2. M.Sc graduate. Dept. Plant Production and Genetics, College of Agriculture, University of Birjand, Birjand, I.R.Iran.

3 Assist. Prof· Dept. Plant Production and Genetics, College of Agriculture, University of Birjand, Birjand, I.R.Iran.

4 Instructor, Dept. Plant Production and Genetics, College of Agriculture, University of Birjand, Birjand, I.R.Iran.

Received: 01.03.2024 Accepted: 01.08.2024

Extended Abstract

Background and Objectives

The flower market is a globally active industry that has experienced significant growth over the past few decades. *Narcissus tazetta* (Daffodils), a key flowering plant, thrives in tropical and semi-tropical regions. It is used both as a cut flower and for planting in pots and green spaces. It is cultivated in some parts of Iran, including South Khorasan province, the North, North-East, and much of southern Iran, primarily for cut flower production. Farmers in South Khorasan province have experienced cold damage in specific years due to sub-zero temperatures. Therefore, this study was conducted to evaluate the cold resistance and assess the extent of damage in various populations of *Narcissus tazetta* collected from different regions of Iran.

Materials and Methods

A factorial experiment was conducted in the greenhouse of the Plant Production and Genetics Group, Agriculture and Natural Resources Paradise, University of Birjand from 2018 to 2019. Factor A included 13 populations of Narcissus tazetta (Azadshahr, Shahlai Shomal, Shastpar Shomal, Shiraz 1, Shiraz 2, Yasouj, Yasouj small perfume, Tabase Golshan, Khusf 1, Khusf 2, Behbahan 1, Behbahan 2, and Gachsaran). Factor B consisted of four temperature levels: environmental temperature (control), +5°C, 0°C, and -5°C. Five leaves were collected from each pot and exposed to refrigeration at +5°C, 0°C, and -5°C for 5 hours. Traits measured included relative leaf water content (RWC), ion leakage, chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, carotenoid, chlorophyll a/total ratio, total chlorophyll/carotenoid ratio, and the percentage of chilling stress. Data analysis was carried out using SAS9.4 and SPSSv26 softwares and histograms were drawn using Excel 2010 software. Duncan's test was used to compare means. Pearson's correlation was applied to analyze correlations. Multivariate analysis (cluster analysis and principal component analysis) was conducted using all of the traits under both stress and normal conditions.

Results

Analysis of variance revealed significant differences of populations and cold stress treatments for all the traits except chlorophyll a. The population by clod stress interaction effect was significant for all

the traits, suggesting that populations responded differently to various temperatures. The highest and lowest ion leakage values were observed at -5°C and the control treatment (22°C), respectively. The highest values of RWC, chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, carotenoids, and the chlorophyll a/total ratio were observed at the control temperature, while the lowest values were observed at -5°C. Chilling stress was highest in February and lowest in December in the natural environment. As temperature decreased, ion leakage and chilling stress increased, while other traits declined. Correlation and regression analyses indicated that chlorophyll b and total chlorophyll were more strongly associated with chilling stress. Cluster analysis categorized the populations into three groups under both normal and stress conditions. The populations Yasouj, Tabase Golshan, Shiraz 1, small aromatic Yasouj, and Azadshahr formed the first cluster; Behbahan 2, Shiraz 2, Shahlai Shomal, Shastpar Shomal, Khusf 1, Khusf 2, Gachsaran, and Behbahan 1 formed the second and third clusters. The results showed no relationship between geographical proximity and chilling stress.

Conclusion

The study identified chlorophyll b and total chlorophyll as critical traits for assessing cold resistance. The populations Khusf 1, Khusf 2, Gachsaran, and Behbahan 1 were the most frost-resistant, while Yasouj, Tabase Golshan, Shiraz 1, and small aromatic Yasouj were the most frost-sensitive. Azadshahr, Behbahan 2, Shiraz 2, Shahlai Shomal, and Shastpar Shomal were intermediate in cold tolerance. Gachsaran was the most resistant, and Shiraz 1 was the most sensitive to chilling stress. The results showed significant diversity among populations regarding cold resistance, suggesting that researchers and farmers interested in Narcissus as an economic plant should focus on these frost-resistant populations.

Keywords: Carotenoid, Chlorophyll a, Chlorophyll b, Ion Leakage, Relative Water Content.

بررسی مقاومت به سرما در جمعیت‌های مختلف گل نرگس (*Narcissus tazetta*)

محمد ضابط[۱*]، فروغ نجفی[۲]، زهره علیزاده[۳] و مسعود خزاعی[۴]

۱*- نویسنده مسئول، دانشیار، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، پست‌الکترونیک: mzabet@birjand.ac.ir

۲- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد ژنتیک و به‌نژادی گیاهی، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران

۳- استادیار، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران

۴- مربی، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۲/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۵/۱۱

چکیده

سابقه و هدف

در حال حاضر صنعت گل و گیاه یک صنعت جهانی و پویا است که در طول چند دهه اخیر میزان رشد قابل توجهی داشته است. نرگس (*Narcissus tazetta*) یکی از مهمترین گیاهان گل‌دار زینتی است که در مناطق گرمسیر و نیمه‌گرمسیر کشور رشد می‌کند و به عنوان گل بریدنی، گیاهان گلدانی و فضای سبز کاربرد دارد. این گونه زینتی در مناطق مختلف ایران مانند خراسان جنوبی، شمال، شمال‌شرق و بیشتر مناطق جنوب ایران به صورت خودرو رویش داشته و برای تولید گل بریده پرورش داده می‌شود. کشاورزان خراسان جنوبی در بعضی از سال‌ها به علت سرمای زیرصفر درجه از خسارت سرما آسیب می‌بینند، ازاین‌رو این مطالعه با هدف ارزیابی مقاومت به سرمای جمعیت‌های مختلف جمع‌آوری شده از نقاط مختلف ایران انجام شد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق طی سال ۹۹-۱۳۹۸در آزمایشگاه اصلاح نباتات مولکولی و گلخانه‌ی گروه تولید و ژنتیک گیاهی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه بیرجند انجام شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتور A شامل ۱۳ جمعیت مختلف نرگس آزادشهر، شهلای شمال، شصت‌پر شمال، شیراز۱، شیراز۲، یاسوج، کوچک‌عطری یاسوج، طبس، خوسف۱، خوسف۲، بهبهان۱، بهبهان۲ و گچساران و فاکتور B شامل چهار سطح دمایی شاهد (دمای محیط)، ۵+، صفر و ۵- درجه سانتی‌گراد بود. تعداد پنج برگ از هر گلدان کنده شد و در دماهای ۵+، صفر و ۵- به مدت ۵ ساعت در یخچال قرار گرفتند. صفات محتوای نسبی آب برگ، نشت یونی (الکترولیت)، کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کارتنوئید، نسبت کلروفیلa به کلروفیل کل، نسبت کلروفیل کل به کارتنوئید و درصد سرمازدگی اندازه‌گیری شد. برای بررسی مقاومت به سرمای محیط طبیعی، نمونه‌های کشت‌شده در گلدان‌ها به محیط آزاد منتقل شدند و درصد سرمازدگی طی سه مرحله در ماه آذر، دی و بهمن ارزیابی گردید و از مقیاس ۰-۱۰۰ برای سرمازدگی استفاده شد. تجزیه داده‌ها با نرم‌افزارهای آماری SAS9.4 و رسم نمودارها در محیط Excel انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن، تجزیه همبستگی به روش پیرسون و تجزیه عامل‌ها و تجزیه خوشه‌ای با استفاده از میانگین صفات به تفکیک دو محیط تنش و نرمال انجام شد.

نتایج

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تفاوت بین جمعیت‌ها برای کلیّه صفات به غیر از کلروفیل a معنی‌دار بود. تفاوت بین تیمارهای دمایی برای کلیه صفات معنی‌دار بود. اثر متقابل جمعیت در تنش سرما برای کلیه صفات نیز در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود که نشان‌دهنده این است که جمعیت‌ها در دماهای مختلف پاسخ‌های متفاوتی داشته‌اند. بالاترین مقدار نشت یونی در دمای ۵- درجه سانتی‌گراد و کمترین مقدار نشت یونی در تیمار شاهد (دمای محیط، ۲۲ درجه سانتی‌گراد) مشاهده شد. بالاترین مقدار صفات محتوای نسبی آب، کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کارتنوئید و نسبت کلروفیل کل به کارتنوئیدها در تیمار شاهد (۲۲ درجه سانتی‌گراد) و کمترین مقدار آنها در دمای ۵- درجه سانتی‌گراد مشاهده گردید. در آزمایش انجام شده در محیط طبیعی، بیشترین سرمازدگی در طی بهمن‌ماه و کمترین سرمازدگی در آذرماه دیده شد. به عبارت دیگر، با کاهش دما مقدار نشت یونی و درصد سرمازدگی افزایش و سایر صفات کاهش نشان داد. نتایج تجزیه همبستگی و رگرسیون نشان داد که صفات میزان کلروفیل b و کلروفیل کل نسبت به سایر صفات روابط معنی‌داری با سرمازدگی داشتند. براساس تجزیه خوشه‌ای در دو شرایط نرمال (دمای محیط) و تنش (سه تیمار دمایی ۵+، صفر و ۵-) جمعیت‌ها در سه خوشه قرار گرفتند. در خوشه اول جمعیت‌های یاسوج، طبس‌گلشن، شیراز۱ و کوچک عطری یاسوج، در خوشه دوم جمعیت‌های آزادشهر، بهبهان۲، شیراز۲، شهلای شمال و شصت‌پر شمال و در خوشه سوم جمعیت‌های خوسف۲، گچساران، بهبهان۱ و خوسف۱ قرار گرفتند. بررسی خوشه‌ها نشان داد که جمعیت‌های مشابه از لحاظ سرمازدگی در یک خوشه قرار گرفتند و دوری و نزدیکی جغرافیایی ارتباطی با این موضوع نداشت.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه صفات میزان کلروفیل b و کلروفیل کل از اهمیت بیشتری برخوردار بودند. جمعیت‌های خوسف۱، خوسف۲، گچساران و بهبهان۱ به دلیل خصوصیات مطلوب از لحاظ مقاومت به سرما مقاوم‌ترین و جمعیت‌های یاسوج، طبس‌گلشن، شیراز۱ و کوچک عطری یاسوج حساس‌ترین جمعیت‌ها نسبت به سرمازدگی بودند. جمعیت‌های آزادشهر، بهبهان۲، شیراز۲، شهلای شمال و شصت‌پر شمال از لحاظ مقاومت به سرما به عنوان جمعیت‌های حدوسط شناخته شدند. در کل جمعیت گچساران به عنوان مقاوم‌ترین و شیراز۱ حساس‌ترین جمعیت نسبت به سرما بودند. بررسی جمعیت‌ها نشان داد که تنوع کافی در بین این جمعیت‌ها از لحاظ مقاومت به سرما وجود داشت و جمعیت‌های نواحی مختلف از لحاظ مقاومت به سرما متفاوت بودند. محققان و کشاورزانی که تمایل به تحقیق و یا کاشت گل نرگس به عنوان یک محصول اقتصادی دارند توصیه می‌شود از این جمعیت‌های مقاوم استفاده نمایند.

واژه‌های کلیدی: کارتنوئید، کلروفیل a، کلروفیل b، محتوای نسبی آب، نشت یونی.

مقدمه

در حال حاضر صنعت گل و گیاه یک صنعت جهانی و پویا است که در طول چند دهه اخیر میزان رشد قابل توجهی داشته است (Masoumi Aladozgeh *et al*., 2014). کشور ایران با برخورداری از شرایط آب و هوایی مناسب، متنوع و آفتاب درخشان، همچنین برخورداری از منابع ژنتیکی بسیاری از گیاهان زینتی، یکی از مستعدترین مناطق جهان برای تولید محصولات زینتی و گلخانه‌ای می‌باشد (Shafiei & Azadi, 2019). نرگس با نام علمی *Narcissus tazetta* یکی از مهمترین گیاهان گل‌دار است که در مناطق گرمسیر رشد می‌کند و به عنوان گل بریدنی، گیاهان گلدانی و فضای سبز کاربرد دارد (Soleimani *et al*., 2007). این گونه زینتی در مناطق مختلف ایران مانند خراسان جنوبی، شمال، شمال‌شرق و بیشتر مناطق جنوب ایران به صورت خودرو رویش داشته و برای تولید گل بریده پرورش داده می‌شود (Poyan, 1989). زمان گلدهی این گیاه پاییز و زمستان است (Khalighi, 2010) و به‌دلیل دارا بودن خواص دارویی و عطرسازی بسیار مورد توجه است (Van Dort *et al*., 1993). عدد پایه کروموزومی در *N. tazetta* و گونه‌های نزدیک به آن یعنی *N. broussonetii* و *N. elegans*

عدد ۱۰ و یا ۱۱ می‌باشد (Wylie, 1952). کل سطح زیرکشت گل نرگس در جهان ۶ هزار و ۱۰۰ هکتار با تولید ۲۹ میلیارد شاخه در سال است. کشورهای انگلیس، هلند، ایران، آمریکا، کانادا، اسپانیا و پرتغال ازجمله تولیدکنندگان گل نرگس در جهان هستند. کل سطح زیرکشت گل نرگس در ایران ۹۶۹ هکتار است و پس از انگلستان و هلند رتبه سوم را در جهان دارد. همچنین ایران با تولید ۶۷۰ میلیون شاخه گل پس از کشورهای انگلستان، هلند و آمریکا رتبه چهارم را به خود اختصاص داده است. خراسان، فارس، خوزستان، گلستان، مازندران، لرستان، سمنان، البرز، ایلام، کرمان، تهران و بخش‌هایی از همدان و مرکزی ازجمله استان‌هایی هستند که گل نرگس در آنها کشت می‌شود. استان خراسان جنوبی با سطح زیر کشت ۴۰ هکتار رتبه پنجم را در کشور به خود اختصاص داده و شهرستان خوسف با ۲۵ هکتار رتبه اول را در این استان دارد (SKAJO, 2023).

سرما یکی از تنش‌های غیرزیستی است که بر رشد و عملکرد محصولات کشاورزی تأثیر منفی دارد (Sanghera *et al*., 2011). سرما به عنوان یک تنش اسمزی، جذب آب از ریشه گیاه را محدود کرده و باعث افت ظرفیت آب می‌شود که کم آبی شدیدی را به دنبال خواهد داشت (Thomas, 1990). تنش سرما به دو صورت سرمازدگی (بالای صفر درجه سانتی‌گراد) و یخزدگی (کمتر از صفر درجه سانتی‌گراد) حادث می‌شود (Mckersie & Lesheim, 2010). سرما باعث تغییر حالت غشاء از حالت کریستال مایع به حالت جامد می‌شود و با این تغییر فیزیکی، فعالیت غشاء مختل می‌شود (Baek & Skinner, 2003). نرگس به سرما مقاوم است و در مقایسه با زنبق، حساسیت کمتری به یخبندان دارد ولی نسبت به سنبل و لاله حساس‌تر است. گونه‌های نرگس را می‌توان به دو گروه مختلف بوم‌فیزیولوژیکی مقاوم و غیرمقاوم تقسیم کرد. چرخه رشد سالانه *N. tazetta*، یکی از اعضای گروه دوم، به‌طور طبیعی با شرایط محیطی در منطقه مدیترانه سازگار است. پیازهای نرگس طی مهر تا آبان، زمانی که دمای خاک کاهش می‌یابد، جوانه می‌زنند و پس از گلدهی در آذر تا دی، در طول زمستان رشد می‌کنند و دوره سکون در اواخر بهار آغاز می‌شود (Hanks, 2002). شروع گلدهی و تولیدمثل در *N. tazetta* توسط دماهای بالا با بهینه ۲۵ درجه سانتیگراد تحریک می‌شود. دماهای زیر و فوق بهینه (۲۰ و ۳۰ درجه سانتی‌گراد) تمایز را به تأخیر می‌اندازد، در حالی که دماهای پایین‌تر (۱۲ درجه سانتی‌گراد) گل‌انگیزی را به‌طور کامل مهار می‌کند (Noy-Porat *et al*., 2009).

تنش سرما همراه با تنش‌های خشکی و شوری از مهمترین عوامل محیطی محدودکننده تولید و گسترش گیاهان در کره زمین هستند و عدم سازگاری به سرما باعث مرگ سلول‌های تعداد زیادی از اندام‌ها می‌شود (Erikson & Webb, 2011). سرما با تأثیر بر بخش‌های مختلف اندام‌های فتوسنتزی گیاه باعث می‌شود تا انرژی نورانی جذب‌شده توسط رنگیزه‌ها نتواند در واکنش‌های فتوسنتزی استفاده شود. این انرژی نورانی جذب‌شده باعث واکنش‌های اکسیداسیون نوری می‌شود که منجر به از دست رفتن رنگیزه‌ها، لیپیدها و اسیدهای چرب به‌ویژه در غشاهای تیلاکوئیدی می‌گردد (Baker & Patrick, 1986). اثر درجه حرارت‌های پایین روی کاهش فتوسنتز ممکن است به دلیل آشفتگی در تولید کلروفیل و به هم خوردن کلروپلاست باشد و این حالت زمانی بروز می‌کند که رنگ سبز برگ‌ها تحت شرایط تنش از بین می‌رود (Mirmohammadi Meibodi & Turkesh Esfahani, 2004). سنتز کلروفیل به عنوان روش کمی برای اندازه‌گیری حساسیت به سرما در گونه‌های مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد (Colom & Vazzana, 2001). در گوجه فرنگی، تنش سرما باعث کاهش فتوسنتز خالص و هدایت روزنه‌ای به‌ویژه در گیاهان دارای کمبود عناصر غذایی می‌شود (Starck *et al*., 2000). در برنج دمای پایین مراحل رشد و فتوسنتز را تحت تأثیر قرار داده و با کاهش کربوهیدرات‌ها رشد آن را کاهش و به‌طور غیرمستقیم باعث کاهش عملکرد آن گردید (Hasibi *et al*., 2010).

کارتنوئیدها گروه بزرگی از مولکول‌های ایزوپرونوئید هستند که توسط اندام‌های فتوسنتزی و بسیاری از اندام‌های غیرفتوسنتزی ساخته می‌شوند (Andrew *et al*., 2008). کارتنوئیدها یک رنگیزه کلیدی و مهم در سیستم آنتی‌اکسیدانی

گیاهان به‌شمار می‌روند، اما به تخریب اکسیداتیو بسیار حساس می‌باشند. بتاکاروتن نیز در تمامی گیاهان سبز وجود دارد و به فتوسیستم I و II متصل می‌باشد. بنابراین، حفاظت در مقابل صدمات رادیکال‌های اکسیژن فعال در این محل برای کلروپلاست‌ها حیاتی است. در این محل، بتاکاروتن علاوه بر اینکه به‌عنوان رنگدانه کمکی عمل می‌کند، به‌عنوان آنتی‌اکسیدان مؤثر در حفاظت از فرایندهای فتوشیمیایی و پایداری آنها نقش دارد (Havaux ,1998).

غشای پلاسمایی حساس‌ترین بخش در برابر سرماست. ترکیبات غشای پلاسمایی از اواخر تابستان تا پاییز به شکل قابل توجهی تغییر می‌کند، نتیجه این تغییرات حفاظت در برابر از دست دادن آب (دهیدراسیون)، آسیب اکسیداسیون و دیگر فرایندهای تحت تأثیر تنش می‌باشد (Gusta & Wisniewski, 2013). هنگامی که بافت‌های گیاه در اثر سرما آسیب می‌بینند فعالیت غشاء مختل شده و الکترولیت‌های داخل سلول به خارج سلول نشت می‌کند (Hana & Bischofa 2004). ثبت مقدار مواد نشت‌شده می‌تواند تخمینی از آسیب به بافت را فراهم کند، بنابراین ارتباط خوبی بین میزان نشت الکترولیت‌ها از سلول و تحمل گیاهان به تنش یخزدگی مشاهده شده است. بررسی پایداری غشای پلاسمایی اندام‌های مختلف گیاهچه دو اکوتیپ رازیانه (خراسان و کرمان) پس از اعمال تیمارهای دمایی مختلف نشان داد که اکوتیپ خراسان درصد نشت الکترولیت بیشتری در مقایسه با اکوتیپ کرمان داشت. همچنین با کاهش دمای یخزدگی، درصد نشت الکترولیت‌ها در اندام‌های مختلف، به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر قرار گرفت (Nezami *et al*., 2010). کاهش محتوای آب بافت‌های گیاهی و افزایش مواد محلول در پاسخ به وقوع فرایندهای سازگاری و خوگیری به سرما گزارش شده است. اندازه‌گیری درصد نشت یونی و درصد خسارت قابل مشاهده نشان داد که میزان هدایت الکتریکی و نیز خسارت قابل مشاهده، در ارقام سازگار شده به سرما بیشتر از حالت سازگار نشده به سرما می‌باشد (Cao *et al*., 2014). آنچه مسلم است این است که سرما بر سایر خصوصیات فیزیولوژیکی، کمی، بیوشیمیایی و آنزیمی نیز تأثیرگذار است. اعمال تیمار سرما همیشه تأثیر منفی ندارد، به عنوان مثال اعمال تیمار سرما در یک مرحله ۱۵ روزه بر صفات مختلف مرتبط با جوانه‌زنی پنج اکوتیپ فستوکای پابلند در شرایط اتاقک رشد نشان داد که میانگین کل سطح برگ، تعداد پنجه، طول گیاهچه و شاخص بنیه در مقایسه با شاهد دارای افزایش بود (Alizadeh, 2010).

به‌طورکلی مطالعات اندکی در زمینه‌های گوناگون بر روی گل نرگس انجام شده است. تنش سرما یکی از مهمترین تنش‌ها بوده که هر ساله خسارت‌های زیادی به محصولات مختلف گیاهی وارد می‌کند و به عنوان تهدیدی برای تولید پایدار محصولات گیاهی می‌باشد. بهترین راهبرد برای دستیابی به گیاه مقاوم، بررسی و جستجوی خزانه ژنتیکی پیرامون گیاه متحمل به سرماست. با توجه به این موضوع، مقاومت به سرما، تأثیر تنش سرما بر میزان کلروفیل، کارتنوئیدها، نشت‌یونی و محتوای نسبی آب جمعیت‌های مختلف گل نرگس و در نهایت ارتباط بین مقاومت به سرما و صفات اندازه‌گیری شده بررسی گردید.

مواد و روش‌ها

این تحقیق طی سال ۹۹-۱۳۹۸ در گلخانه و آزمایشگاه اصلاح نباتات مولکولی گروه تولید و ژنتیک گیاهی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه بیرجند واقع در کیلومتر ۵ جاده بیرجند- کرمان با عرض جغرافیایی ´۵۶ °۳۲ شمالی، طول جغرافیایی ´۱۳ °۵۹ شرقی و ارتفاع ۱۴۸۰ متر از سطح دریا انجام شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد که فاکتور A شامل ۱۳ جمعیت مختلف شامل نرگس آزادشهر، شهلای شمال، شصت‌پر شمال، شیراز۱، شیراز۲، یاسوج، کوچک‌عطری یاسوج، طبس، خوسف۱، خوسف۲، بهبهان۱، بهبهان۲ و گچساران و فاکتور B شامل چهار سطح دمایی شاهد (دمای محیط)، ۵+، صفر و ۵- درجه سانتی‌گراد بود. سه عدد سوخ (پیاز) نرگس به تاریخ ۱۳۹۸ /۸/۱ درون گلدان‌هایی با اندازه دهانه ۲۳ و ارتفاع ۲۱/۵ سانتی‌متر کشت شدند و به‌مدت ۴ هفته برای رشد اولیه و استقرار خوب گیاه، از آب شرب با

EC برابر با ۱/۱ دسی‌زیمنس و pH برابر با ۷/۷۹ آبیاری گردیدند. از خاک مزرعه به همراه ورمی‌کمپوست به نسبت ۱: ۱ به عنوان خاک گلدان‌ها استفاده شد. به منظور ایجاد تنش سرمایی پس از حدود ۳۰ تا ۴۰ روز، با توجه به جمعیت مورد نظر و رسیدن به مرحله ۴ برگی، نمونه‌های برگی انتخاب و تیمارهای مورد نظر بر روی برگ‌های جداشده از گیاه اعمال شد. برای هریک از تیمارهای ۵+، ۵- و صفر درجه سانتی‌گراد نمونه‌های برگی به مدت ۵ ساعت در دماهای مدنظر قرار گرفتند و پس از گذشت زمان مورد نظر اندازه‌گیری‌ها انجام شد.

در تیمار شاهد بعد از نمونه‌گیری مستقیم، اندازه‌گیری صفات مدنظر انجام شد. صفات اندازه‌گیری شده شامل محتوای نسبی آب برگ، نشت یونی (الکترولیت)، رنگدانه های کلروفیلی از قبیل میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کارتنوئید (میلی‌گرم/گرم وزن تر mg/gFW) اندازه گیری شدند. علاوه براین، نسبت کلروفیلa به کلروفیل کل، نسبت کلروفیل کل به کارتنوئید و درصد سرمازدگی محاسبه شد.

محتوای نسبی آب برگ (RWC) به روش Mahmood و همکاران (۲۰۰۳) محاسبه گردید (رابطه ۱). مقدار یک گرم از برگ جدا و وزن تر آنها محاسبه شد. برای اندازه‌گیری وزن برگ در حالت آماس، برگ‌ها در ظروف دربسته حاوی آب مقطر به مدت ۱۲ ساعت در دمای اتاق قرار داده شد و وزن نمونه‌های آماسیده با ترازوی با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه‌گیری گردید. برای تعیین وزن خشک، نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک و وزن خشک محاسبه گردید.

رابطه ۱: $$RWC = \frac{Fw - Dw}{Sw - Dw} \times 100$$

که در آن، Fw: وزن تر برگ بلافاصله بعد از نمونه‌برداری، Dw: وزن خشک برگ بعد از قرار گرفتن در آون و Sw: وزن اشباع برگ بعد از قرار گرفتن در آب مقطر می‌باشد.

میزان نشت الکترولیت به روش Shi و همکاران (۲۰۰۶) محاسبه گردید (رابطه ۲). یک گرم از نمونه‌های برگی به طول یک سانتی‌متر جدا و بعد با آب مقطر شستشو داده شد و مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق در ظروف شیشه‌ای همراه با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر نگهداری گردید. هدایت الکتریکی محلول با استفاده از دستگاه سنجش هدایت الکتریکی تعیین گردید (EC1) و پس از آن ظروف حاوی نمونه به مدت یک ساعت در بن‌ماری در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و پس از سرد شدن، دوباره هدایت الکتریکی آن تعیین گردید (EC2).

رابطه ۲ $$\text{LE}\% = \frac{\text{EC1}}{\text{EC2}} \times 100$$

که در آن، EC1 میزان هدایت الکتریکی آب مقطر همراه نمونه به عنوان نشت اولیه و EC2 هدایت الکتریکی نمونه‌ها پس از حرارت به عنوان نشت ثانویه می‌باشد.

میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و میزان کارتنوئید به روش Arnon (۱۹۶۷) با استفاده از رابطه‌های ۳، ۴، ۵ و ۶ محاسبه شد. ۰/۵ گرم از برگ تر نمونه‌های گیاهی در هاون چینی با استفاده از نیتروژن مایع خرد گردید. ۲۰ میلی‌لیتر استون ۸۰٪ به نمونه اضافه و با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ و میزان جذب در طول موج‌های ۶۴۵ نانومتر (A645) برای کلروفیل a، ۶۶۳ نانومتر (A663) برای کلروفیل b و ۴۷۰ نانومتر (A470) برای کارتنوئید با استفاده از اسپکتروفتومتر (مدل Unico 2100 ساخت چین) قرائت شد.

$$\text{Chl. a } (mg/gFW) = (12.7\ \text{A663} - 2.69\ \text{A645}) \times \frac{\text{V}}{1000\text{W}} \qquad (3)$$

$$\text{Chl. b } (mg/gFW) = (22.9\ \text{A645} - 4.68\ \text{A663}) \times \frac{\text{V}}{1000\text{W}} \qquad (4)$$

$$\text{Total Chl.}\,(mg/gFW) = (20.2\,A645 + 8.02\,A663) \times \frac{V}{1000W} \quad (5)$$

$$\text{Carotenoids}\,(mg/gFW) = 1000\,A470 - 2.27\text{chl a} - 81.4\,\text{chl.}\frac{b}{227} \times \frac{V}{1000W} \quad (6)$$

در فرمول‌های بالا V حجم محلول صاف شده (محلول فوقانی حاصل از سانتریفوژ)، A جذب نور در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر و W وزن تر نمونه برحسب گرم می‌باشد. از تقسیم میزان کلروفیل a بر میزان کلروفیل کل و تقسیم میزان کلروفیل کل بر میزان کارتنوئید، صفات نسبت کلروفیل a به کلروفیل کل و نسبت کلروفیل کل به کارتنوئید به‌دست آمد.

برای بررسی مقاومت به سرما مشابه با شرایط محلی، نمونه‌های کشت‌شده در گلدان‌ها به محیط آزاد منتقل شدند و درصد سرمازدگی طی سه مرحله در ماه‌های آذر، دی و بهمن ارزیابی گردید و از مقیاس ۱۰۰-۰ برای سرمازدگی استفاده شد. به نمونه‌های با سرمازدگی کامل عدد ۱۰۰ و به نمونه‌هایی که سرمازدگی در آنها رؤیت نشد، عدد صفر و به سایر نمونه‌ها برحسب مقدار سرمازدگی عددی بین ۰ تا ۱۰۰ داده شد. برای هر جمعیت سه تکرار (سه گلدان) در نظر گرفته شد. با توجه به تعداد جمعیت‌ها، در مجموع ۳۹ گلدان ارزیابی گردید. میزان سرمازدگی در اوخر هر ماه بر روی سه تکرار اندازه‌گیری شد. میانگین دمای حداقلی، حداکثری و میانگین شبانه‌روز در طی سه ماه آذر، دی و بهمن در جدول ۱ آمده است. یادآوری می‌شود که تعداد روزهای زیر صفر درجه در ماه آذر ۱۴ روز، دی ۲۲ روز و بهمن ۱۹ روز بود.

با توجه به اینکه کشت و کار نرگس در منطقه خوسف هم به صورت زراعی و هم در باغ‌ها و در بین درختان به عنوان یک محصول ثانویه انجام می‌شود، ازاین‌رو هدف از قرار دادن گلدان‌ها در شرایط آزاد بدون اعمال تنش در واقع شبیه‌سازی شرایط کشت و کار کشاورزان بود تا از این طریق متوجه میزان خسارتی که به‌طور عادی هرساله به کشاورزان تحمیل می‌شود، برآورد گردد. اعمال تنش واقعی بر روی برگ‌های جدا شده و اعمال تیمارهای مختلف بود. برای اندازه‌گیری درصد سرمازدگی، میزان زردشدن و در نهایت نکروزشدن برگ‌ها، پژمردگی برگ‌ها و دمگل‌ها و میزان آبدارشدن سطح برگ‌ها مورد توجه قرار گرفت و در این زمینه از افراد خبره محلی نیز کمک گرفته شد.

تجزیه داده‌ها با نرم‌افزارهای آماری SAS9.4 و SPSS انجام شد و نمودارها در محیط Excel رسم شدند. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن، تجزیه همبستگی به روش پیرسون و تجزیه خوشه‌ای با استفاده از میانگین صفات در دو محیط تنش و نرمال انجام شد. در تجزیه رگرسیون درصد سرمازدگی به عنوان صفت وابسته و سایر صفات به عنوان صفات مستقل در نظر گرفته شد. یادآوری می‌شود که تیمارهای سه گانه ۵+، صفر و ۵- به عنوان تنش و ۲۲+ به‌عنوان شاهد (دمای محیط نرمال) در نظر گرفته شد.

جدول ۱- حداقل، حداکثر و میانگین دمای ماهانه ایستگاه هواشناسی بیرجند در سال ۱۴۰۲

Table 1- The minimum, maximum, and average monthly temperature of Birjand meteorological station in winter 2023

Month	Average minimum Temperature °C	Average maximum Temperature °C	Average annual Temperature °C
November	1.36	14.27	7.81
December	-1.99	11.09	4.55
January	-0.68	14.59	6.95

نتایج

تجزیه واریانس

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تفاوت بین جمعیت‌ها برای کلیّه صفات به غیر از کلروفیل a معنی‌دار بود. دما بر تمامی صفات اثر معنی‌داری داشت و اثرهای متقابل جمعیت × دما بر تمامی صفات به غیر از صفات کلروفیل a معنی‌دار بود. بررسی مقادیر ضریب تغییرات نشان داد که جمعیت‌های مختلف دارای ضریب تغییرات نسبتاً بالایی در بیشتر صفات بودند، ازاین‌رو از تنوع لازم برای مقاومت به سرما برخوردار بودند. برای صفات میزان کلروفیل b و نسبت کلروفیل کل به کارتنوئید بالاترین تنوع وجود داشت و کمترین ضریب تغییرات در صفت محتوای نسبی آب مشاهده شد (جدول‌های ۲ و ۳).

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات مختلف در جمعیت‌های گل نرگس در سه دمای سرمایی در مقایسه با شاهد

Table 2. Analysis of variance of different traits in narcissus populations in three cold temperature

S.O.V	DF	MS							
		RWC#	Ion leakage	Chl. a	Chl. b	Chl. total	Carotenoid	Chl. a/total	Chl. total/ Carotenoid
Population (P)	12	17.64**	73.16*	0.009	0.03**	0.04**	145.07**	0.03**	0.001
Temperature(T)	3	5163.1**	30488**	2.23**	0.25**	3.98**	9960.7**	0.03**	0.018**
P×T	36	11.78**	60.48*	0.01	0.01**	0.02**	139.16**	0.02**	0.002*
Error	104	6.06	33.41	0.007	0.004	0.008	59.87	0.006	0.001
CV		3.86	11.08	16.70	32.27	12.79	14.13	11.04	28.36

*, **: significant at 5% and 1% probability levels, respectively.

*و**به ترتیب معنی داردرسطح احتمال۵ درصدو۱ درصد

RWC= Relative water content, Chl. = Chlorophyll

جدول ۳- تجزیه واریانس صفت درصد سرمازدگی در جمعیت‌های گل نرگس

Table 3. Analysis of variance of chilling stress in narcissus populations

S.O.V	D.F	MS
Population (A)	12	728.42**
Month (B)	2	11453.8**
A ×B	24	72.61**
Error	78	19.25
CV%		19.55

*و**: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد

*and**=significant at 5% and 1% probability levels, respectively.

مقایسه میانگین جمعیت‌ها

مقایسه میانگین جمعیت‌های مختلف نرگس نشان داد که بین جمعیت‌ها تفاوت معنی‌داری وجود داشت (جدول ۴). بالاترین نشت یونی را جمعیت بهبهان۱ و کمترین نشت یونی را جمعیت خوسف۱، بالاترین محتوای نسبی آب را جمعیت بهبهان۲ و کمترین محتوای نسبی آب را جمعیت شیراز۲، بالاترین کلروفیل a را جمعیت آزادشهر و کمترین کلروفیل a را جمعیت شیراز۲، بالاترین کلروفیل b را جمعیت گچساران و کمترین کلروفیل b را جمعیت شیراز۱، بالاترین کلروفیل کل را جمعیت شیراز۱، بالاترین کارتنوئید را جمعیت بهبهان۲ و کمترین کارتنوئید را جمعیت شیراز۱، بالاترین نسبت کلروفیل a به کلروفیل کل را جمعیت آزادشهر و کمترین نسبت کلروفیل a به کلروفیل کل را جمعیت بهبهان۲، بالاترین نسبت کلروفیل کل به کارتنوئیدها را جمعیت بهبهان۱ و کمترین نسبت کلروفیل کل به کارتنوئیدها را جمعیت کوچک عطری یاسوج داشت.

بالاترین درصد سرمازدگی را جمعیت طبس‌گلشن و کمترین درصد سرمازدگی را جمعیت گچساران به خود اختصاص دادند. آنچه از مجموع این قسمت برمی‌آید این است که جمعیت‌های شیراز۱، شیراز۲، بهبهان۱، بهبهان۲ و گچساران، جمعیت‌های شاخص‌تری از لحاظ صفات مختلف می‌باشند، اما برای قضاوت نهایی بایستی سایر معیارها را نیز در نظر گرفت (جدول ۴).

جدول ۴- مقایسه میانگین جمعیت‌های مختلف گل نرگس

Table4. Mean comparison of different populations of narcissus

Populations	RWC# (%)	Ion Leakage(%)	Chl. a	Chl. b	Chl. total	carotenoid	Chl.A/T ratio	Chl.T/C ratio	Chilling Stress(%)
			mg/gFW						
Shehlai North	65.01^{a}	54.76^{ab}	0.48^{abc}	0.18^{cde}	0.66^{cd}	51.92^{abc}	0.72^{abc}	0.0117^{ab}	20.66^{cd}
Shastpar North	65.13^{a}	54.55^{ab}	0.52^{abc}	0.18^{cde}	0.71^{bc}	51.52^{bc}	0.73^{abc}	0.0117^{ab}	24.00^{d}
Azadshahr	63.63^{abc}	53.24^{ab}	0.55^{a}	0.15^{de}	0.70^{bc}	56.63^{ab}	0.78 ^{a}	0.0133^{ab}	24.00^{d}
Shiraz 1	62.55^{bc}	54.33^{ab}	0.48^{abc}	0.13^{e}	0.61^{d}	47.67^{c}	0.76^{ab}	0.0125^{ab}	29.33^{c}
Shiraz 2	61.78^{c}	49.09^{bc}	0.46^{c}	0.25^{ab}	0.72^{abc}	60.15^{a}	0.65^{de}	0.0108^{ab}	21.00^{cd}
Small Fragrant	63.38^{abc}	51.89^{abc}	0.51^{abc}	0.15^{de}	0.66^{cd}	55.13^{ab}	0.75^{abc}	0.0100^{b}	28.66^{c}
Yasouj	63.12^{abc}	49.55^{bc}	0.52^{abc}	0.18^{cde}	0.69^{bc}	51.64^{bc}	0.72^{abcd}	0.0133^{ab}	34.33^{b}
Tabase Golshan	64.53^{ab}	49.33^{bc}	0.54^{ab}	0.14^{e}	0.69^{bc}	54.59^{abc}	0.78^{ab}	0.0125^{ab}	39.00^{a}
Khusf 1	62.19^{c}	47.50^{c}	0.52^{abc}	0.21^{bc}	0.73^{abc}	53.71^{abc}	0.71^{bcd}	0.0125^{ab}	10.66^{gh}
Khusf 2	63.29^{abc}	52.24^{abc}	0.47^{bc}	0.18^{cde}	0.65^{cd}	56.16^{ab}	0.69^{cde}	0.0108^{ab}	17.55^{ef}
Behbahan 1	65.18^{a}	55.23^{a}	0.53^{abc}	0.23^{ab}	0.76^{ab}	54.37^{abc}	0.70^{bcde}	0.0142^{a}	14.33^{fg}
Behbahan 2	65.29^{a}	53.79^{ab}	0.51^{abc}	0.28^{a}	0.79^{a}	60.23^{a}	0.64^{e}	0.0133^{ab}	20.77^{cd}
Gachsaran	64.56^{ab}	51.79^{abc}	0.51^{abc}	0.28^{a}	0.80^{a}	57.08^{ab}	0.65^{de}	0.0133^{ab}	7.33^{h}

میانگین صفات در ستون‌ها که دارای حروف مشترک هستند براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌داری باهم ندارند.

Means followed by the same letter within a column are not significantly different according to DMRT at 5% probability

RWC= Relative water content, Chl. = Chlorophyll

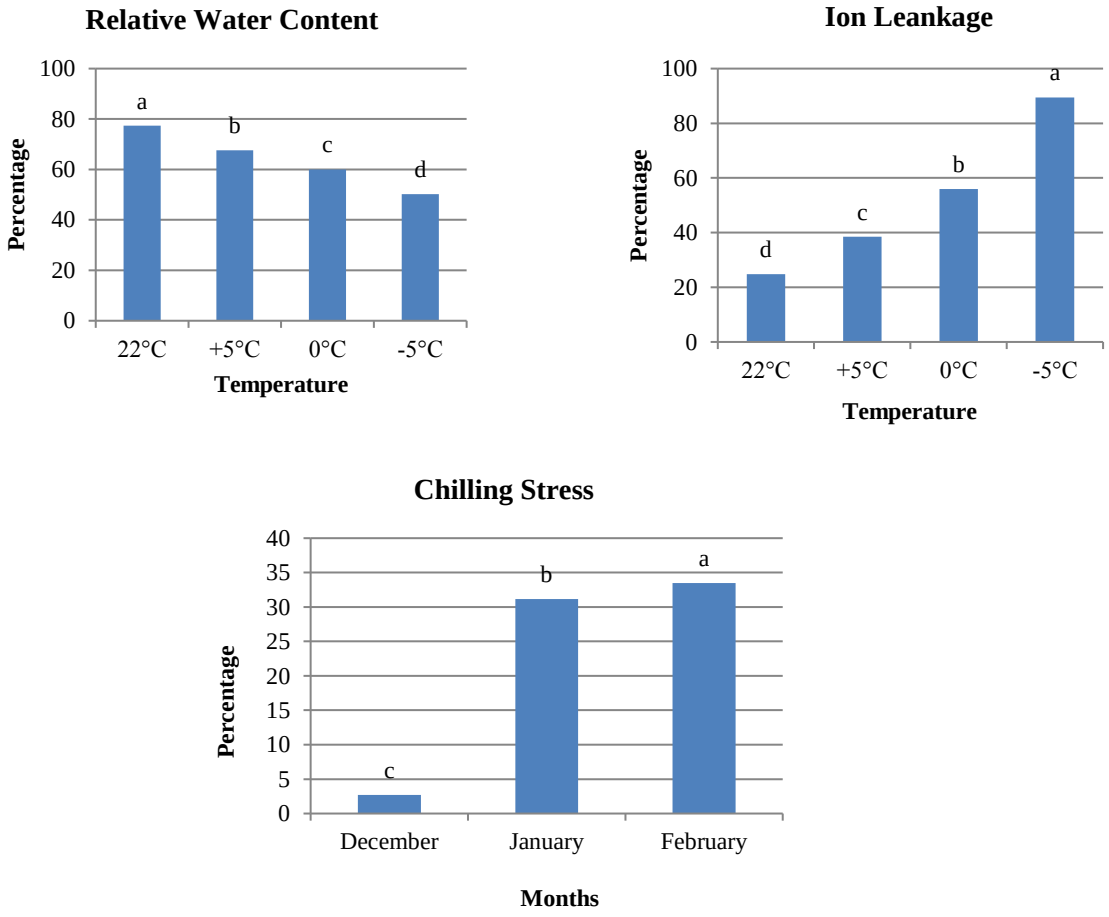
مقایسه میانگین صفات در دماهای مختلف

مقایسه میانگین تیمارهای دمایی نشان داد که در کلیّه صفات بین دماها تفاوت معنی‌داری وجود داشت. بالاترین مقدار نشت یونی در تیمار ۵- درجه سانتی‌گراد و کمترین مقدار نشت یونی در تیمار شاهد (دمای محیط، ۲۲ درجه سانتی‌گراد) مشاهده شد. به عبارت دیگر، با کاهش دما نشت یونی افزایش یافت، به‌طوری‌که بالاترین نشت یونی در دمای ۵- درجه سانتی‌گراد و کمترین مقدار این صفت در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد یا تیمار شاهد (دمای محیط) دیده شد (شکل ۱). برای صفت محتوای نسبی آب بالاترین مقدار در تیمار شاهد (دمای محیط، ۲۲ درجه سانتی‌گراد) و کمترین مقدار این صفات در دمای ۵- درجه سانتی‌گراد مشاهده شد. به عبارت بهتر، با کاهش دما این صفات کاهش یافت، به‌طوری‌که بالاترین محتوای نسبی آب، در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد یا تیمار شاهد (دمای محیط) و کمترین مقدار این صفات در دمای ۵- درجه سانتی‌گراد دیده شد (شکل ۱).

برای صفت درصد سرمازدگی میانگین درصد سرمازدگی در ماه‌های آذر، دی و بهمن به ترتیب ۲/۹۶، ۳۱/۱۵ و ۳۳/۴۶ درصد بود. به عبارت دیگر، در محیط طبیعی نیز با کاهش دما درصد سرمازدگی افزایش یافت (شکل ۱).

برای صفات رنگدانه‌های کلروفیلی، کارتنوئید و نسبت کلروفیل کل به کارتنوئید، بالاترین مقدار این صفات در تیمار شاهد (دمای محیط، ۲۲ درجه سانتی‌گراد) و کمترین مقدار

این صفات در دمای ۵- درجه سانتی‌گراد مشاهده شد. به عبارت بهتر، با کاهش دما این صفات کاهش یافت، به‌طوری‌که بالاترین میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کارتنوئید و نسبت کلروفیل کل به کارتنوئیدها در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد یا تیمار شاهد (دمای محیط) و کمترین مقدار این صفات در دمای ۵- درجه سانتی‌گراد دیده شد (شکل۲). برای صفت نسبت کلروفیل a به کلروفیل کل بالاترین مقدار در تیمارهای شاهد، ۵+ و صفر درجه سانتی‌گراد و کمترین مقدار در تیمار سرمای ۵- درجه سانتی‌گراد مشاهده شد. در این صفت نیز با کاهش دما روند کاهشی مشاهده شد (شکل ۲).

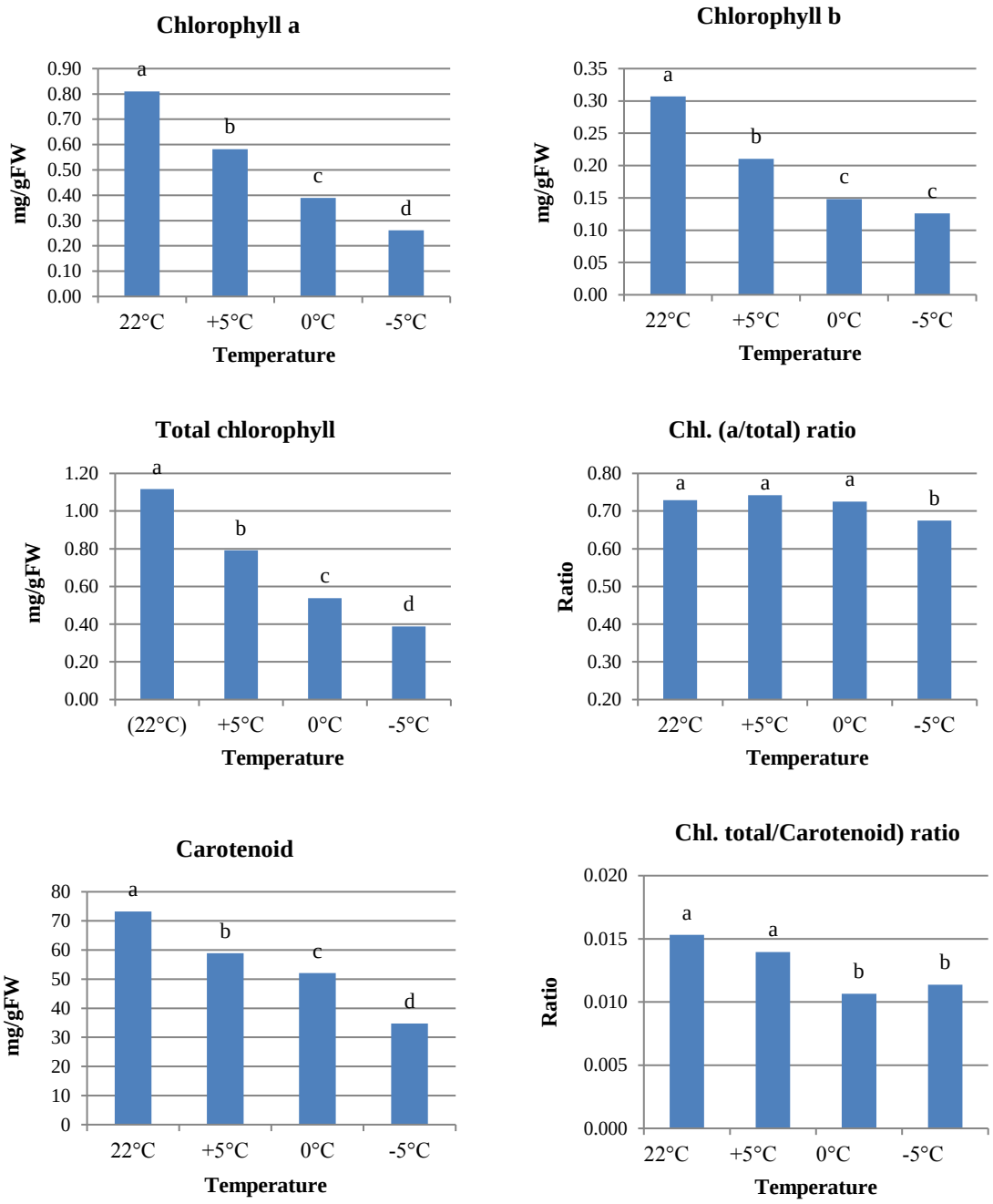


شکل ۱- روند تغییرات صفات نشت یونی محتوای نسبی آب و درصد سرمازدگی جمعیت‌های گل نرگس با تغییر دما

Figure1. The means of relative water content, Ion linkage and chilling stress by temperature changes

میانگین صفات در ستون‌ها که دارای حروف مشترک هستند براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌داری باهم ندارند.

Means followed by the same letter within a column are not significantly different according to DMRT at 5% probability



شکل ۲- روند تغییرات صفات رنگدانه‌های کلروفیلی و کاروتنوئید در جمعیت‌های گل نرگس با تغییر دما

Figure1. The means of chlorophyll pigments and carotenoid by temperature changes

میانگین صفات در ستون‌ها که دارای حروف مشترک هستند براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌داری باهم ندارند.

Means followed by the same letter within a column are not significantly different according to DMRT at 5% probability level.

مقایسه میانگین اثرهای متقابل جمعیت در سرما

با توجه به معنی‌دار بودن اثرهای متقابل جمعیت در سرما برای کلیه صفات بجز کلروفیل a (جدول‌های ۲ و ۳)، مقایسه میانگین ژنوتیپ‌ها به تفکیک دماهای مختلف سرمایی در مقایسه با شاهد انجام و نتایج در جدول‌های ۵ تا ۸ درج شد و اثرهای سرما در دو تیمار دمایی ۵- و صفر درجه واکاوی گردید.

در دمای ۵- درجه بالاترین محتوای نسبی آب را جمعیت بهبهان۱ و کمترین مقدار را جمعیت یاسوج و شیراز۲ و در دمای صفر درجه جمعیت‌های کوچک عطری و خوسف۱ به ترتیب بیشترین و کمترین مقدار را به خود اختصاص دادند (جدول ۵).

برای نشت یونی در دمای ۵- درجه بالاترین مقدار را جمعیت خوسف۲، شهلای شمال و کمترین مقدار را جمعیت یاسوج و در دمای صفر درجه جمعیت‌های شصت‌پر شمال و خوسف۲ به ترتیب بیشترین و کمترین مقدار را جمعیت به خود اختصاص دادند (جدول ۵).

برای رنگدانه‌های کلروفیلی، در دمای ۵- درجه بیشترین و کمترین مقدار کلروفیل b را به ترتیب جمعیت‌های یاسوج و شیراز۱ داشتند. در دمای صفر درجه بیشترین مقدار را جمعیت بهبهان۲ و کمترین مقدار را جمعیت‌های آزادشهر، کوچک عطری و خوسف۱ به خود اختصاص دادند. برای صفت کلروفیل کل در دمای ۵- درجه بیشترین و کمترین مقدار را به ترتیب جمعیت‌های شصت‌پر شمال و شیراز۱ داشتند ولی در دمای صفر درجه تفاوت معنی‌داری بین جمعیت‌ها مشاهده نشد (جدول ۶).

برای صفت کارتنوئید در دمای ۵- درجه کمترین مقدار را جمعیت شیراز۱ به خود اختصاص داد و بقیه جمعیت‌ها تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نشان ندادند. در دمای صفر درجه نیز کمترین مقدار را جمعیت یاسوج به خود اختصاص داد و بقیه جمعیت‌ها تفاوت معنی‌داری نداشتند. از لحاظ نسبت کلروفیلa به کلروفیل کل در دمای ۵- درجه، جمعیت‌های شهلای شمال و خوسف۲ به‌ترتیب بیشترین و کمترین نسبت را به خود اختصاص دادند. در دمای صفر درجه، جمعیت‌های آزادشهر و کوچک عطری بیشترین و بهبهان۲ کمترین نسبت را به خود اختصاص دادند (جدول ۷). برای صفت نسبت کلروفیل کل به کارتنوئید در دمای ۵- درجه، بالاترین مقدار را جمعیت شیراز۱ به خود اختصاص داد و سایر جمعیت‌ها تفاوت معنی‌داری نداشتند. در دمای صفر درجه بالاترین مقدار را جمعیت‌های یاسوج و گچساران به خود اختصاص دادند و در بقیه جمعیت‌ها تفاوتی دیده نشد.

در مقایسه بین جمعیت‌ها برای درصد سرمازدگی در ماه دی و بهمن، بیشترین و کمترین درصد سرمازدگی به ترتیب در جمعیت‌های طبس‌گلشن و گچساران مشاهده شد (جدول ۸).

نتایج بررسی صفات مختلف نشان داد که جمعیت‌ها از لحاظ صفات مذکور روندهای یکسانی نداشتند. ولی در مجموع جمعیت‌های بهبهان۱، بهبهان۲ و گچساران، جمعیت‌های شاخص‌تری از لحاظ صفات مختلف بودند. آنچه مسلّم است این است که بدون در نظر گرفتن رابطه و همبستگی این صفات با درصد سرمازدگی، نمی‌توان قضاوت منصفانه‌ای در مورد بهترین و یا بدترین جمعیت ارائه کرد، ازاین‌رو در ادامه مبحث همبستگی صفات و سایر تجزیه‌ها بررسی شدند تا بتوان نتیجه منطقی‌تری براساس کلّیه صفات ارائه نمود.

جدول ۵– مقایسه میانگین اثرهای متقابل جمعیت در سرما برای صفات محتوای نسبی آب و نشت یونی

Table 5. The mean of population ×chilling interaction effects for RWC and ion leakage

Populations	Relative water content %				Ion Leakage%			
	22°C	+5°C	0°C	-5°C	22°C	+5°C	0°C	-5°C
Shehlai North	81.01^{a}	66.86^{a}	61.56^{abc}	50.62^{abcd}	18.63^{cd}	46.01^{a}	59.28^{abc}	95.11^{a}
Shastpar North	81.48^{a}	69.16^{a}	59.92^{bcde}	49.95^{bcd}	24.78^{bc}	41.93^{ab}	64.15^{a}	87.33^{ab}
Azadshahr	77.55^{abc}	65.53^{a}	61.22^{abc}	50.24^{bcd}	23.00^{bc}	35.13^{ab}	62.74^{ab}	92.09^{ab}
Shiraz 1	74.94^{bc}	65.98^{a}	60.62^{abcd}	48.66^{cd}	33.70^{a}	38.13^{ab}	55.52^{abcd}	90.00^{ab}
Shiraz 2	74.03^{bc}	68.82^{a}	57.36^{ef}	46.90^{d}	22.64^{bc}	32.44^{b}	52.17^{bcd}	91.52^{ab}
Small Fragrant	73.56^{c}	66.10^{a}	63.06^{a}	50.80^{abcd}	27.95^{ab}	42.64^{ab}	55.80^{abcd}	81.17^{b}
Yasouj	77.64^{abc}	66.87^{a}	60.26^{bcd}	47.69^{d}	22.67^{bc}	35.50^{ab}	57.00^{abcd}	83.04^{ab}
Tabase Golshan	79.36^{ab}	69.28^{a}	58.88^{cdef}	50.61^{abcd}	22.70^{bc}	37.60^{ab}	49.34^{cd}	87.69^{ab}
Khusf 1	76.41^{bc}	65.62^{a}	56.78^{f}	49.93^{bcd}	13.82^{d}	39.66^{ab}	49.66^{cd}	86.91^{ab}
Khusf 2	77.18^{abc}	68.36^{a}	58.92^{cdef}	48.69^{cd}	27.62^{ab}	37.56^{ab}	48.26^{d}	95.53^{a}
Behbahan 1	81.01^{a}	67.58^{a}	58.03^{def}	54.08^{a}	30.29^{ab}	38.44^{ab}	58.70^{abcd}	93.49^{ab}
Behbahan 2	78.02^{abc}	69.04^{a}	61.83^{abc}	52.28^{abc}	24.50^{bc}	39.31^{ab}	59.53^{abc}	91.83^{ab}
Gachsaran	74.01^{bc}	69.43^{a}	62.04^{ab}	52.76^{ab}	29.77^{ab}	35.30^{ab}	54.56^{abcd}	87.55^{ab}

میانگین صفات در ستون‌ها که دارای حروف مشترک هستند براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌داری باهم ندارند.

Means followed by the same letter within a column are not significantly different according to DMRT at 5% probability level.

جدول ۶– مقایسه میانگین اثرهای متقابل جمعیت × سرما برای صفات کلروفیل b و کلروفیل کل

Table 6. Mean of population × chilling interaction effects for chlorophyll b and total chlorophyll

Populations	Chlorophyll b (mg/gFW)				Chlorophyll total (mg/gFW)			
	22°C	+5°C	0°C	-5°C	22°C	+5°C	0°C	-5°C
Shehlai North	0.26^{bc}	0.25^{cde}	0.14^{bc}	0.08^{cd}	1.04^{bc}	0.72^{bc}	0.51^{a}	0.38^{b}
Shastpar North	0.29^{abc}	0.15^{def}	0.13^{bc}	0.16^{abc}	1.05^{bc}	0.68^{c}	0.55 ^{a}	0.57^{a}
Azadshahr	0.32^{abcd}	0.05^{f}	0.11^{c}	0.13^{abcd}	1.18^{abc}	0.70^{c}	0.55 ^{a}	0.39^{b}
Shiraz 1	0.27^{abc}	0.05^{f}	0.15^{abc}	0.05^{d}	1.03^{bc}	0.75^{bc}	0.50 ^{a}	0.17^{c}
Shiraz 2	0.35^{abc}	0.37^{abc}	0.18^{abc}	0.12^{abcd}	1.12^{abc}	0.84^{abc}	0.55 ^{a}	0.37^{b}
Small Fragrant	0.21^{c}	0.17^{def}	0.11^{c}	0.12^{abcd}	1.00^{c}	0.71^{bc}	0.55 ^{a}	0.39^{b}
Yasouj	0.27^{abc}	0.11^{ef}	0.14^{abc}	0.19^{a}	1.08^{bc}	0.72^{bc}	0.57 ^{a}	0.42^{ab}
Tabase Golshan	0.28^{abc}	0.07^{f}	0.13^{bc}	0.11^{abcd}	1.07^{bc}	0.78^{bc}	0.51 ^{a}	0.42^{ab}
Khusf 1	0.30^{abc}	0.27^{bcd}	0.11^{c}	0.16^{abc}	1.12^{abc}	0.88^{ab}	0.52 ^{a}	0.43^{ab}
Khusf 2	0.26^{abc}	0.15^{def}	0.15^{abc}	0.17^{ab}	1.07^{bc}	0.71^{bc}	0.49 ^{a}	0.33^{b}
Behbahan 1	0.42^{a}	0.26^{cd}	0.15^{abc}	0.10^{bcd}	1.29^{a}	0.88^{ab}	0.51 ^{a}	0.36^{b}
Behbahan 2	0.37^{abc}	0.41^{ab}	0.23^{a}	0.13^{abcd}	1.23^{ab}	0.97^{a}	0.59 ^{a}	0.39^{b}
Gachsaran	0.39^{ab}	0.43^{a}	0.20^{ab}	0.12^{abcd}	1.23^{ab}	0.96^{a}	0.60 ^{a}	0.42^{ab}

میانگین صفات در ستون‌ها که دارای حروف مشترک هستند براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌داری باهم ندارند.

Means followed by the same letter within a column are not significantly different according to DMRT at 5% probability level.

جدول ۷- مقایسه میانگین اثرهای متقابل جمعیت × سرما برای صفات کارتنوئید و نسبت کلروفیل a به کلروفیل کل

Table7. Mean comparison of population × cold interaction effects for carotenoid and chl.a/ total ratio.

Populations	Carotenoid (mg/gFW)				Chlorophyll a/total ratio			
	22°C	+5°C	0°C	-5°C	22°C	+5°C	0°C	-5°C
Shehlai North	71.28^{ab}	54.15^{bcd}	54.95^{a}	31.31^{a}	0.75^{a}	0.64^{cde}	0.72^{abc}	0.79^{a}
Shastpar North	64.89^{b}	43.99^{d}	55.33^{a}	41.89^{a}	0.72^{a}	0.78^{abc}	0.75^{abc}	0.71^{ab}
Azadshahr	75.30^{ab}	58.23^{abcd}	49.85^{ab}	43.12^{a}	0.73^{a}	0.93^{a}	0.79^{a}	0.67^{abc}
Shiraz 1	72.06^{ab}	48.36^{cd}	57.63^{a}	12.63^{b}	0.74^{a}	0.93^{a}	0.69^{abc}	0.69^{ab}
Shiraz 2	77.56^{a}	74.26^{a}	53.95^{a}	34.83^{a}	0.69^{a}	0.56^{de}	0.68^{abc}	0.67^{abc}
Small Fragrant	75.41^{ab}	58.08^{abcd}	46.55^{ab}	40.51^{a}	0.79^{a}	0.76^{abcd}	0.80^{a}	0.68^{abc}
Yasouj	71.58^{ab}	61.18^{abcd}	38.36^{b}	35.44^{a}	0.75^{a}	0.84^{ab}	0.75^{abc}	0.55^{cd}
Tabase Golshan	72.39^{ab}	49.73^{cd}	55.87^{a}	40.37^{a}	0.74^{a}	0.89^{ab}	0.75^{abc}	0.73^{ab}
Khusf 1	75.44^{ab}	54.93^{bcd}	50.79^{ab}	33.69^{a}	0.73^{a}	0.69^{bcde}	0.78^{ab}	0.63^{bcd}
Khusf 2	75.46^{ab}	65.67^{abc}	54.73^{a}	28.76^{a}	0.76^{a}	0.77^{abc}	0.70^{abc}	0.53^{d}
Behbahan 1	75.21^{ab}	58.07^{abcd}	53.54^{a}	30.67^{a}	0.68^{a}	0.71^{bcde}	0.72^{abc}	0.73^{ab}
Behbahan 2	72.29^{ab}	69.18^{ab}	58.54^{a}	40.92^{a}	0.70^{a}	0.58^{cde}	0.62^{c}	0.66^{abc}
Gachsaran	73.71^{ab}	69.76^{ab}	46.84^{ab}	38.02^{a}	0.68^{a}	0.55^{e}	0.66^{bc}	0.72^{ab}

میانگین صفات در ستون‌ها که دارای حروف مشترک هستند براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌داری باهم ندارند.

Means followed by the same letter within a column are not significantly different according to DMRT at 5% probability level.

جدول ۸- مقایسه میانگین اثرهای متقابل جمعیت × سرما برای صفات مقاومت به سرما و نسبت کلروفیل کل به کارتنوئید

Table8. Mean comparison of population × cold interaction effects for chilling stress and total chlorophyll/carotenoid ratio traits

Populations	Chlorophyll total /Carotenoid ratio				Chilling Stress (%)		
	22°C	+5°C	0°C	-5°C	December	January	February
Shehlai North	0.013^{ab}	0.013^{a}	0.010^{b}	0.010^{b}	0.00^{c}	30.00^{de}	32.00^{cd}
Shastpar North	0.013^{ab}	0.013^{a}	0.010^{b}	0.010^{b}	0.00^{c}	35.00^{cd}	37.00^{bcd}
Azadshahr	0.020^{a}	0.013^{a}	0.010^{b}	0.010^{b}	0.00^{c}	35.00^{cd}	37.00^{bcd}
Shiraz 1	0.010^{b}	0.017^{a}	0.010^{b}	0.013^{a}	5.00^{c}	40.00^{bc}	43.00^{abc}
Shiraz 2	0.013^{ab}	0.010^{a}	0.010^{b}	0.010^{b}	0.00^{c}	30.00^{de}	33.00^{cd}
Small Fragrant	0.010^{b}	0.010^{a}	0.010^{b}	0.010^{b}	5.00^{c}	40.00^{bc}	41.00^{abc}
Yasouj	0.013^{ab}	0.013^{a}	0.017^{a}	0.010^{b}	10.00^{b}	45.00^{ab}	48.00^{ab}
Tabase Golshan	0.013^{ab}	0.017^{a}	0.010^{b}	0.010^{b}	15.00^{a}	50.00^{a}	52.00^{a}
Khusf 1	0.013^{ab}	0.017^{a}	0.010^{b}	0.010^{b}	0.00^{c}	15.00^{gh}	17.00^{fg}
Khusf 2	0.013^{ab}	0.010^{a}	0.010^{b}	0.010^{b}	0.00^{c}	25.00^{ef}	27.00^{de}
Behbahan 1	0.020^{a}	0.017^{a}	0.010^{b}	0.010^{b}	0.00^{c}	20.00^{fg}	23.00^{ef}
Behbahan 2	0.020^{a}	0.013^{a}	0.010^{b}	0.010^{b}	0.00^{c}	30.00^{de}	32.00^{cd}
Gachsaran	0.020^{a}	0.010^{a}	0.013^{ab}	0.010^{b}	0.00^{c}	10.00^{h}	12.00^{h}

میانگین صفات در ستون‌ها که دارای حروف مشترک هستند براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌داری باهم ندارند.

Means followed by the same letter within a column are not significantly different according to DMRT at 5% probability level.

تجزیه همبستگی و رگرسیون

تجزیه همبستگی بین صفات مختلف در هر دو شرایط نرمال و تنش سرما، نشان داد که همبستگی قوی مثبت و معنی‌داری بین رنگدانه‌ها (کلروفیل a، کلروفیل b، کارتنوئید و کلروفیل کل و نسبت کلروفیل کل به کارتنوئید) وجود دارد (جدول ۹).

در شرایط نرمال (شاهد) همبستگی بین درصد سرمازدگی با صفات (میزان کلروفیل b، کلروفیل کل و کلروفیل کل به کارتنوئید) منفی و معنی‌دار بود و همبستگی بین سرمازدگی با نسبت کلروفیل a به کلروفیل کل مثبت معنی‌دار بود.

در شرایط تنش (سه تیمار دمایی ۵+، صفر و ۵−)، همبستگی بین درصد سرمازدگی با کلروفیل b، کارتنوئید، کلروفیل کل و محتوای نسبی آب منفی و معنی‌دار بود و همبستگی بین سرمازدگی با نشت یونی مثبت و معنی‌دار بود. این موضوع نشان می‌دهد که در شرایط تنش سرما با کاهش میزان رنگدانه‌های کلروفیلی و کاهش محتوای نسبی آب برگ، درصد سرمازدگی افزایش می‌یابد (جدول ۹).

محتوای نسبی آب برگ در شرایط تنش سرما، با رنگدانه‌ها (کلروفیل a، کلروفیل b، کارتنوئید و کلروفیل کل و نسبت کلروفیل کل به کارتنوئید) همبستگی مثبت و معنی‌دار داشت ولی در شرایط نرمال همبستگی بین آنها ضعیف و غیرمعنی‌دار بود. در مقابل، نشت یونی در شرایط تنش سرما، با رنگدانه‌ها (کلروفیل a، کلروفیل b، کارتنوئید و کلروفیل کل و نسبت کلروفیل کل به کارتنوئید) همبستگی منفی و معنی‌دار داشت ولی در شرایط نرمال همبستگی ضعیف و غیرمعنی‌دار بود. این نتایج نشان‌دهنده این است که در فصل سرما با افزایش رنگدانه‌ها محتوای آب نسبی برگ افزایش می‌یابد و مقدار نشت یونی کاهش می‌یابد و گیاه بهتر می‌تواند تنش سرما را تحمل کند (جدول ۹). در شرایط تنش سرما همبستگی منفی و معنی‌داری بین نشت یونی و محتوای آب نسبی برگ مشاهده شد.

در تجزیه رگرسیون که درصد سرمازدگی به عنوان تابع در نظر گرفته شد. در شرایط نرمال، میزان کلروفیل کل با علامت منفی وارد مدل گردید. در شرایط تنش سرما نیز تنها صفت میزان کلروفیل b با علامت منفی وارد مدل گردید، ازاین‌رو میزان کلروفیل b به‌عنوان مهمترین صفت مؤثر بر سرمازدگی در شرایط تنش سرمایی شناخته شد (جدول ۱۰).

جدول ۹- تجزیه همبستگی صفات مختلف جمعیت‌های گل نرگس در شرایط نرمال و تنش سرما

Table9. Correlation analysis of different traits in narcissus populations in normal and chilling stress conditions

Traits	Condition	Chl. a	Chl. b	Cart	Chl. total	RWC	Ion leakage	Chl.A/T ratio	Chl.T/C ratio
Chl. b	Normal	0.23							
	Chilling	0.21							
Carotenoid	Normal	0.62**	0.09						
	Chilling	0.68**	0.58**						
Chl. total	Normal	0.72**	0.84**	0.41*					
	Chilling	0.89**	0.64**	0.81**					
RWC	Normal	-0.17	0.07	-0.32*	-0.05				
	Chilling	0.88**	0.42**	0.79**	0.89**				
Ion leakage	Normal	0.03	0.11	0.01	0.09	-0.07			
	Chilling	-0.86**	-0.38*	-0.82**	-0.86**	-0.94**			
Chl. a/total.	Normal	0.11	-0.94**	0.14	-0.60**	-0.13	-0.07		
	Chilling	0.52**	-0.69**	0.02	0.08	0.28	-0.29		
Chl. T/Cart.	Normal	0.46**	0.68**	-0.04	0.75**	0.08	0.01	-0.54**	
	Chilling	0.59**	0.20	-0.01	0.56**	0.45**	-0.38*	0.20	
Chilling	Normal	-0.16	-0.43**	-0.16	-0.40*	0.07	-0.04	0.35**	-0.35**
	Chilling	-0.24	-0.50**	-0.36*	-0.43**	-0.36*	0.32*	0.23	-0.26

RWC= Relative water content, Chl. = Chlorophyll

*, **=significant at 5% and 1% probability levels, respectively *و**: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد

جدول ۱۰- تجزیه رگرسیون درصد سرمازدگی به عنوان تابع و سایر صفات بعنوان مستقل در جمعیت‌های گل نرگس در شرایط نرمال و تنش سرما

Table10. Regression analysis of cold resistance as a dependant and other traits as independents in narcissus populations in normal and chilling stress conditions

Condition	Model	B	Std. Error	Beta	T value	Sig.
Normal temperature	Constant	115.72	35.16		3.29	0.00
	Total chlorophyll	-75.77	31.41	-0.59	-2.41	0.03
Chilling stress	Constant	53.53	8.35		6.41	0.00
	Chlorophyll b	-137.86	48.96	-0.65	-2.82	0.02

تجزیه عاملی

تجزیه به مؤلفه‌های اصلی نشان داد که در شرایط نرمال (شاهد) در مجموع سه مؤلفه درصد بالایی از واریانس داده‌ها (۷۳/۷۱ درصد) را توجیه کردند. تجزیه عاملی نشان داد که عامل اول با صفات میزان کلروفیل b، کلروفیل کل و نسبت کلروفیل کل به کارتنوئیدها همبستگی مثبت و با صفات نسبت کلروفیل a به کلروفیل کل و درصد سرمازدگی همبستگی منفی داشت. عامل دوم با صفات میزان کلروفیل a و کارتنوئید و عامل سوم با صفات محتوای نسبی آب همبستگی مثبت و نشت یونی همبستگی منفی داشت. با در نظر گرفتن همبستگی عامل‌ها با صفات مورد نظر، عامل اول عامل سبزینه‌ای و سرمازدگی، عامل دوم عامل کارتنوئیدی و عامل سوم عامل پایداری غشاء سلولی نام‌گذاری شد (جدول ۱۱).

در شرایط تنش (سه تیمار دمایی) در مجموع سه عامل اول درصد بالایی از واریانس داده‌ها (۹۰/۴۶ درصد) را توجیه کردند. تجزیه عاملی نشان داد که عامل اول با صفات میزان کلروفیل a، کارتنوئید، کلروفیل کل و محتوای نسبی آب برگ همبستگی مثبت و با صفت نشت یونی همبستگی منفی، عامل دوم با صفات نسبت (کلروفیل a به کلروفیل کل) و درصد سرمازدگی همبستگی مثبت و با صفت میزان کلروفیل b همبستگی منفی داشت. عامل سوم با صفت نسبت (کلروفیل کل به کارتنوئیدها) همبستگی مثبت بالایی داشت. با در نظر گرفتن همبستگی عامل‌ها با صفات مورد نظر، عامل اول عامل سبزینه‌ای و پایداری غشاء سلولی، عامل دوم عامل سرمازدگی و عامل سوم عامل نسبت کلروفیلی به کارتنوئیدی نام‌گذاری شد (جدول ۱۱).

جدول ۱۱- تجزیه عاملی در شرایط نرمال و تنش سرما در جمعیت‌های گل نرگس

Table11. Factor analysis in normal and chilling stress conditions in narcissus populations

Traits	Normal temperature			Chilling stress		
	F1	F2	F3	F1	F2	F3
Chlorophyll a	0.27	**0.88**	0.12	**0.87**	0.16	0.44
Carotenoid	0.00	**0.85**	-0.14	**0.93**	-0.28	-0.21
Relative water content	0.14	-0.44	**0.53**	**0.92**	-0.07	0.27
Ion leakage	0.13	-0.08	**-0.82**	**-0.94**	0.04	-0.19
Total chlorophyll	**0.84**	0.51	0.04	**0.86**	-0.29	0.37
Chlorophyll b	**0.97**	0.02	-0.04	0.37	**-0.90**	0.06
Chlorophyll a/Total	**-0.89**	0.29	0.05	0.32	**0.89**	0.22
Chilling stress	**-0.53**	-0.14	0.18	-0.25	**0.60**	-0.33
Total chlorophyll/Carotenoid	**0.81**	0.18	0.20	0.20	-0.04	**0.96**
Eigenvalue	3.47	2.09	1.07	4.44	2.15	1.56
Variance%	38.56	23.27	11.88	49.27	23.84	17.35
Cumulative Variance%	38.56	61.83	73.71	49.27	73.11	90.46

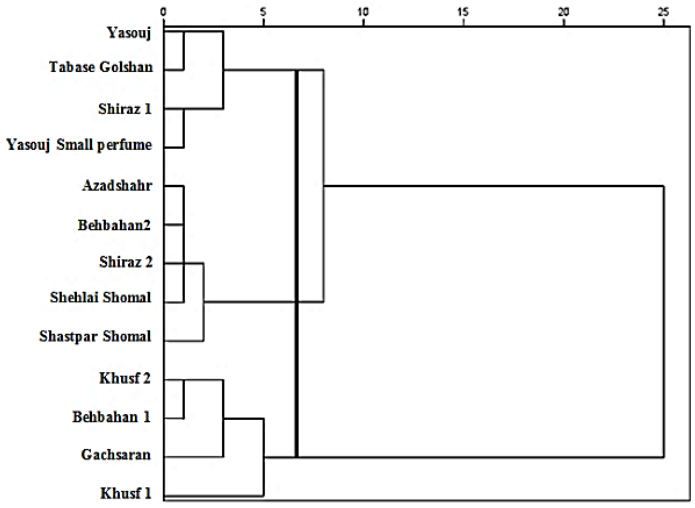
The bold and underlined coefficients are significant

ضرایب عاملی با قلم درشت دارای همبستگی معنی‌دار است.

تجزیه خوشه‌ای

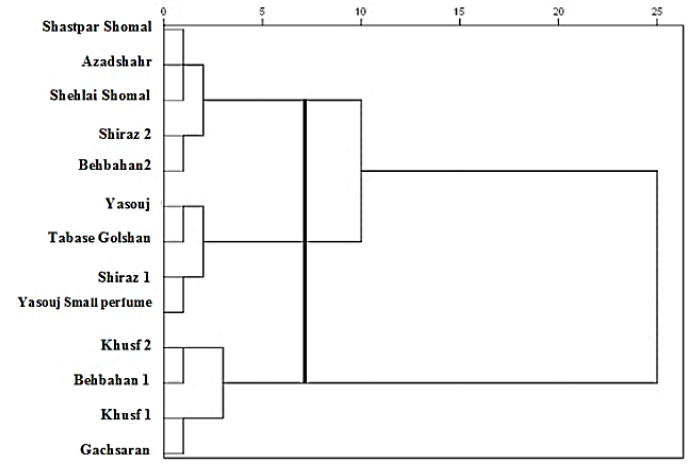
براساس تجزیه خوشه‌ای در شرایط نرمال، جمعیت‌ها در سه خوشه قرار گرفتند. در خوشه اول جمعیت‌های یاسوج، طبس‌گلشن، شیراز۱ و کوچک عطری یاسوج، در خوشه دوم جمعیت‌های آزادشهر، بهبهان۲، شیراز۲، شهلای شمال و شصت‌پر شمال و در خوشه سوم جمعیت‌های خوسف۲، گچساران، بهبهان۱ و خوسف۱ بودند (شکل ۳). در شرایط تنش نیز جمعیت‌ها در سه خوشه قرار گرفتند. در خوشه اول جمعیت‌های شصت‌پر شمال، آزادشهر، شهلای شمال، شیراز۲ و بهبهان۲، در خوشه دوم جمعیت‌های یاسوج، طبس‌گلشن، شیراز۱ و کوچک عطری یاسوج و در خوشه سوم جمعیت‌های خوسف۲، خوسف۱، بهبهان۱ و گچساران قرار گرفتند (شکل ۴).

بررسی خوشه‌ها نشان داد که در هر دو شرایط خوشه‌ها تقریباً مشابه بودند و تنها نزدیکی و دوری جمعیت‌ها کمی تغییر کرده است. به عنوان مثال، در شرایط نرمال جمعیت شصت‌پر شمال در فاصله کمی دورتر به سایر جمعیت‌های آزادشهر پیوسته است، در حالی که در شرایط تنش در فاصله بسیار نزدیکی در یک خوشه قرار گرفته‌اند. به هر حال خوشه‌ها در هر دو شرایط تغییر چندانی نکرده است. آنچه مسلم است این است که قرارگیری جمعیت‌ها در خوشه‌ها براساس دوری و یا نزدکی جغرافیایی نبوده است، براساس میزان مقاومت به سرما در یک خوشه و یا در دو خوشه متفاوت قرار گرفته‌اند. به عنوان مثال، قرارگیری جمعیت‌های مختلف با فاصله جغرافیایی دور، مثلاً خوسف۲ (از خراسان جنوبی) با گچساران (کهگیلویه و بویراحمد) و بهبهان۲ (خوزستان) با آزادشهر (گلستان) در یک خوشه و قرارگیری جمعیت‌های با فاصله جغرافیایی نزدیک مانند طبس گلشن و خوسف (هر دو نمونه از خراسان جنوبی) در دو خوشه متفاوت نشان از آن دارد که تنوع ژنتیکی از تنوع جغرافیایی تبعیت نمی‌کند. قرارگیری جمعیت‌های طبس‌گلشن با یاسوج در یک خوشه مبین این است که جمعیت‌های هر دو ناحیه حساس به سرما بوده و بر این اساس در یک گروه قرار گرفته‌اند. بررسی وضعیت دمایی خوشه‌های متفاوت نشان داد که جمعیت‌های با مبدأ دمایی متفاوت در یک گروه قرار گرفته‌اند. به عنوان مثال، قرارگرفتن جمعیت‌های یاسوج، طبس‌گلشن و شیراز در یک گروه نشان از این دارد که جمعیت مربوط به منطقه گرم (طبس‌گلشن) با جمعیت مربوط به منطقه سرد (یاسوج) از لحاظ سرمازدگی و سایر صفات مرتبط با سرمازدگی مشابهت داشته و به دلیل این شباهت در یک گروه قرار گرفته‌اند که موضوعی خلاف معمول به نظر می‌رسد. علت این موضوع می‌تواند این باشد که شاید جمعیت‌های مختلف در ابتدا از یک منطقه سرچشمه گرفته و بعد در نقاط مختلف پراکنده شده‌اند. دلیل دیگری که می‌توان ذکر نمود این است که شاید مناطق کشت نرگس روستاهایی باشد که میانگین دمایی پایین‌تر یا بالاتری نسبت به نام قرارگرفته بر روی جمعیت دارند. به عنوان مثال، مناطق کشت نرگس در طبس‌گلشن روستاهایی ییلاقی (کریت، پیرحاجات، ازمیغان و خرو) می‌باشد که نسبت به مرکز شهر سردتر بوده (اگرچه آمار دمایی دقیقی از این نقاط در دست نیست تا بتوان به آن استناد کرد) و با درنظرگرفتن این نکات، درک قرارگیری جمعیت‌های مختلف یاسوج، شیراز و طبس گلشن در یک خوشه بیشتر قابل لمس است. بررسی سایر خوشه‌ها از لحاظ دمایی نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین این مناطق نیست و به عنوان مثال گچساران با بیشینه دمای ۳۲/۷ و خوسف با بیشینه دمای ۲۷/۱ تقریباً مشابه می‌باشند و قرارگیری این دو جمعیت در یک خوشه با مبدأ دمایی آنها تقریباً مطابقت دارد.



شکل ۳- تجزیه خوشه ای بین جمعیت‌های گل نرگس در شرایط نرمال

Figure3. Cluster analysis of narcissus populations in normal condition



شکل ۴- تجزیه خوشه‌ای بین جمعیت‌های گل نرگس در شرایط تنش سرما

Figure4. Cluster analysis of narcissus populations in cold stress condition

بحث و نتیجه‌گیری

طی این مطالعه با کاهش دما محتوای نسبی آب کاهش یافت. اندازه‌گیری وضعییت آب گیاه به‌عنوان یک شاخص مهم در شناسایی پاسخ گیاه به تنش مطرح است. یکی از شاخص‌های نشان‌دهنده وضعیت آب گیاه، محتوای نسبی آب بافت گیاهی می‌باشد. در هنگام تنش سرما گیاه دچار تنش آبی نیز می‌شود که با کاهش شدید در ظرفیت آب و آماس برگ انجام می‌شود (Joshi *et al.*, 2007). در تحقیقی، Bazl و همکاران (۲۰۱۵) اعلام کردند که تنش سرما سبب کاهش محتوای نسبی آب و افزایش نشت یونی برگ-های خیار نگین شد و کاربرد متیل جاسمونات باعث کاهش نشت یونی و تسریع در کاهش محتوای نسبی آب شد که سبب افزایش تحمل به سرما در دانهال‌ها گردید. Cao و همکاران (۲۰۱۴) نیز کاهش محتوای آب بافت‌های گیاهی و افزایش مواد محلول در پاسخ به وقوع فرایندهای سازگاری و خوگیری به سرما را گزارش کرده‌اند.

در مطالعه کنونی سرما باعث افزایش نشت یونی در گل نرگس گردید. در بیشتر مطالعات انجام شده کاهش دما باعث

افزایش نشت یونی گردیده است. به عنوان مثال، در بررسی اثر تنش یخزدگی بر میزان نشت الکترولیت‌ها در گیاه دارویی موسیر مشاهده شد که با کاهش دما نشت الکترولیت‌ها افزایش یافت و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد به حداکثر رسید. در مطالعه مذکور جمعیت‌های با کمترین درصد نشت یونی از تحمل به یخزدگی بهتری نسبت به دیگر جمعیت‌ها برخوردار بودند (Rezvan Beydokhti *et al*., 2011). در مطالعه‌ای دیگر تنش دمای پایین تأثیر بسیار معنی‌داری بر مقدار نشت یونی در گیاه سرخارگل نشان داد. بیشترین مقدار نشت یونی در تیمار دمایی ۴- درجه سانتی‌گراد و کمترین مقدار آن در تیمار شاهد (۲۳ درجه سانتی‌گراد) به‌دست آمد (Asadi-Sanam *et al*., 2015). در بررسی پاسخ‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی دو رقم توت‌فرنگی به تنش سرما نتایج نشان داد که با کاهش دما نشت یونی افزایش یافت و این کاهش در رقم کوئین الیزا بیشتر از سلوا بود (Mohamadi nezhad *et al*., 2020). نتایج آزمایش کنونی حکایت از آن دارد که میزان خسارت به غشای سلولی به عنوان اولین محل خسارت در اثر سرما به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر دما قرار گرفت. با کاهش دما مقدار نشت یونی افزایش پیدا کرد که این افزایش در دمای ۵- درجه به حداکثر مقدار خود رسید. مقادیر بالای نشت یونی نشان‌دهنده عدم توانایی غشاء در حفظ ترکیبات درون سلولی، اختلال در فعالیت و انسجام غشاهای سلولی و خروج بیشتر الکترولیت‌ها از غشاء می‌باشد (Cao *et al*., 2014).

نتایج نشان داد در اثر تنش سرما میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، نسبت کلروفیل a به کل و نسبت کلروفیل کل به کارتنوئیدها کاهش یافت. تولید کلروفیل یکی از فرایندهای حساس وابسته به دما می‌باشد و با اندازه‌گیری آن می‌توان میزان حساسیت و یا مقاومت به تنش سرما را تخمین زد (Mirmohammadi Meibodi & Turkesh Esfahani, 2004). تنش سرما سبب اختلال در تولید کلروفیل می‌شود و به کلروپلاست آسیب وارد می‌کند. کاهش فتوسنتز ممکن است به علت اختلال در تولید کلروفیل و از بین رفتن ساختار کلروپلاست‌ها باشد. با نزول دما فرایند ساخت کلروفیل متوقف می‌شود و رنگ برگ‌ها به زردی می‌گراید که نشان‌دهنده کمبود کلروفیل است (Soltani, 2014). در بررسی گیاه گوجه فرنگی (Jafari *et al*., 2007) محتوای کلروفیل گیاه در شرایط تنش سرما کاهش پیدا کرد. در مطالعه دیگری به منظور بررسی اثر تنش سرما بر روی ارقام برنج معلوم شد که در اثر تنش سرما، کلروفیل در ارقام حساس به مقدار زیادی کاهش پیدا کرد، ولی در رقم‌های مقاوم کاهش کمتری داشت (Hasibi *et al*., 2010). اختلال در تولید کلروفیل و آسیب به کلروپلاست از دیگر آسیب‌های ROS تحت تنش دمای پایین است، ازاین‌رو اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل یکی از شیوه‌هایی است که به‌طور گسترده برای تعیین وضعیت فیزیولوژیک گیاه، تحمل آن به تنش‌های محیطی و میزان آسیب وارده به دستگاه فتوسنتزی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Soltani, 2014). تنش دمای پایین از تجزیه مولکول آب و یا اکسیداسیون نوری در PSII ممانعت می‌کند و موجب کاهش فلورسانس کلروفیل می‌شود. با توجه به این موضوع، افزایش تنش سرما به ۴- درجه سانتی‌گراد سبب کاهش کلروفیل در برگ‌های گل نرگس شد. مطالعه استویا نشان داد که پس از ۱۶ روز تنش سرما، کلروفیل a (۱۸ تا ۹۱)، کلروفیل b (۱۶ تا ۷۶)، کلروفیل کل (۱۷ تا ۸۶)، نسبت نسبت کلروفیلa به b (۱ تا ۶۰) و کاروتنوئیدها (۱۶ تا ۹۱) نسبت به شاهد کاهش نشان دادند و این کاهش در شدت نور پایین بیشتر بود (Imamian Tabarestani *et al*., 2019). نتایج این مطالعه با مطالعات ذکرشده همخوانی دارد و نشان داد که در شرایط تنش سرما میزان کلروفیل کاهش می‌یابد. در مطالعه کنونی میزان کلروفیل b نسبت به کلروفیل a به دمای پایین حساسیت بیشتری داشت، زیرا از لحاظ میزان کلروفیل a بین جمعیت‌ها تفاوت معنی‌داری دیده نشد، اما تفاوت بین جمعیت‌ها از لحاظ میزان کلروفیل b معنی‌دار بود. Jafari و همکاران (۲۰۰۷) در بررسی اثر سرما بر نهال‌های گوجه فرنگی، دقیقاً چنین موردی را گزارش کردند.

نتایج این تحقیق نشان داد که با کاهش دما، کارتنوئیدها کاهش یافت. مشابه تحقیق ما Lidon و همکاران (۲۰۰۱) دریافتند که دمای ۱۰- درجه سانتی‌گراد باعث کاهش

کارتنوئید در گیاه ذرت می‌شود. Oliveira و Alves (۲۰۰۹) با بررسی اثر سرما بر روی گیاهچه‌های قهوه، بیان کردند که دمای پایین روی متابولیسم اثر می‌گذارد و با افزایش رادیکال‌های آزاد بر روی غشاء کلروپلاست اثر منفی دارد و در این مورد نقش کاروتنوئیدها در کاهش میزان آسیب و پراکسیداسیون لیپید مهم است. Jafari و همکاران (۲۰۰۷) نیز در بررسی گوجه فرنگی تحت تنش سرما دریافتند که با کاهش دما میزان کارتنوئید کاهش می‌یابد. نتایج این مطالعه هم با گزارش‌های ذکرشده مطابقت دارد.

آنچه از مجموع مطالعه صفات برمی‌آید این است که با در نظر گرفتن نتایج تجزیه همبستگی، رگرسیون و تجزیه عامل‌ها، صفات میزان کلروفیل b و کلروفیل کل از اهمیت بیشتری در این مطالعه برخوردار بود، با توجه به همبستگی منفی این صفات با درصد سرمازدگی این مفهوم را می‌رساند که با افزایش این صفات سرمازدگی کاهش و یا به عبارت دیگر مقاومت به سرما افزایش می‌یابد. با توجه به اینکه بالاترین میزان کلروفیل b و کلروفیل کل را جمعیت ۱۳ (گچساران) به خود اختصاص داد، ازاین‌رو جمعیت گچساران به عنوان مقاوم‌ترین جمعیت نسبت به سرما شناخته شد. این جمعیت دارای بالاترین محتوای نسبی آب نیز بود، ازاین‌رو تأییدی بر مقاوم بودن این جمعیت می‌باشد. بررسی خوشه‌ها نیز مبیّن این مطلب می‌باشد که جمعیت‌های خوسف۱، خوسف۲، گچساران و بهبهان۱ به دلیل خصوصیات مطلوب از لحاظ مقاومت به سرما در یک خوشه قرار گرفتند و به‌عنوان مقاوم‌ترین جمعیت‌ها شناسایی شدند. بعکس موارد ذکر شده در بالا جمعیت‌های یاسوج، طبس‌گلشن، شیراز۱ و کوچک عطری یاسوج دارای خصوصیات نامطلوبی از لحاظ مقاومت به سرما بودند و در حقیقت حساس‌ترین جمعیت‌ها نسبت به سرمازدگی شناخته شدند. سایر جمعیت‌ها شامل آزادشهر، بهبهان۲، شیراز۲، شهلای شمال و شصت‌پر شمال حدوسط دو گروه ذکرشده بودند و از لحاظ مقاومت به سرما این جمعیت‌ها به عنوان جمعیت‌های حدوسط شناخته شدند. قرارگرفتن بیشتر جمعیت‌ها در کنار یکدیگر و در یک خوشه تقریباً با میانگین دمای منطقه تهیه پیازهای نرگس هم‌خوانی دارد و تنها دو جمعیت یاسوج (منطقه سرد) و طبس‌گلشن (منطقه گرم) استثنایی بودند که نمی‌توان بدون تفسیر از کنار آنها گذشت. یکی از مناطق نرگس‌خیز یاسوج دهستان گرمسیری بی‌بی حکیمه (بخش مرکزی گچساران) به‌ویژه مناطقی مانند باباکلان، بن‌پیر، گودگل و کوه‌گل می‌باشد که نسبت به مرکز یاسوج گرم‌تر است. چنانچه نرگس‌های تهیه‌شده از یاسوج از این مناطق سرچشمه گرفته باشند و به سایر مناطق و مرکز استان راه یافته باشند و از سوی دیگر نرگس‌های طبس‌گلشن از روستاهای ییلاقی کریت، پیرحاجات، ازمیغان و خَرو (سردتر از طبس‌گلشن) منشأ گرفته باشند، قرارگیری این دو جمعیت (یاسوج و طبس گلشن) در یک خوشه به لحاظ نزدیک‌تر بودن دماهای این مناطق روستایی قابل درک می‌گردد. یادآوری می‌شود که منشأ نرگس اروپای جنوبی و شمال آفریقا است و این مطلب نشان می‌دهد که چنانچه نرگس از اروپا به ایران راه یافته باشد، این موضوع، درک قرارگرفتن جمعیت‌های مختلف را در یک خوشه به لحاظ مبدأ اولیه تسهیل می‌کند.

آنچه از مجموع نتایج این مقاله برمی‌آید این است که برای اندازه‌گیری مقاومت به سرما، صفات کلروفیل b و کلروفیل کل صفات قابل اعتمادی هستند و محققان می‌توانند این صفات را در مطالعات آینده مدنظر داشته باشند. نکته قابل ذکر دیگر، این است که جمعیت‌های خوسف۱، خوسف۲، گچساران و بهبهان۱ مقاوم‌ترین جمعیت‌ها از لحاظ مقاومت به سرما بودند و محققان و کشاورزانی که تمایل به کاشت گل نرگس به عنوان یک محصول اقتصادی دارند حتماً به این جمعیت‌ها توجه داشته باشند. یادآوری می‌شود که بررسی جمعیت‌ها نشان داد که تنوع کافی در بین این جمعیت‌ها از لحاظ مقاومت به سرما وجود دارد و جمعیت‌های نواحی مختلف از لحاظ مقاومت به سرما متفاوت هستند. در پایان با توجه به اهمیت روزافزون گل‌های زینتی و تنوع آب‌وهوایی کشور، توصیه می‌گردد که این آزمایش در سال‌ها و محیط‌های مختلف در سطوح دمایی پایین‌تر برای تعیین جمعیت برتر انجام شود تا بتوان در نهایت یک ژنوتیپ را به عنوان مقاوم‌ترین ژنوتیپ گل نرگس نسبت به سرما معرفی کرد.

References

- Alizadeh, M.A., 2010. Evaluation of seed germination characteristics and seedling growth on five ecotypes of *Festuca arundinacea* in response to cold treatment. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 18 (1):133-142. (In Persian).
- Andrew, J.S., Moreau, H., Kuntz, M., Pagny, G., Lin, C., Tanksley, S., and McCarthy, J., 2008. An investigation of carotenoid biosynthesis in *Coffea canephora* and *Coffea arabica*. Journal of Plant Physiology, 165: 1087-1106.
- Arnon, A.N., 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. Agronomy Journal, 23:112-121.
- Asadi-Sanam, S., Zavareh, M., Pirdashti, H., sefidcan, F., and Nematzadeh, G., 2015. Evaluation of biochemical and physiological responses of purple coneflower (*Echinacea purpurea* L.) medicinal plant to low-temperature stress. Plant Process and Function, 4 (12):11-28. (In Persian).
- Baek, K.H., and Skinner, D.Z., 2003. Alteration of antioxidant enzyme gene expression during cold acclimation of near-isogenic wheat lines. Plant Science, 165(6): 1221-1227.
- Baker, N.R., and Patrick, S.L., 1986. Photosynthesis in Contrasting Environments. Elsevier Publications, 423 p.
- Bazl, SH., Karimi, R., Ershadi, A., Shahbodaghlo, A., and Rasouli., M., 2015. Effect of foliar application of methyl jasmonate in cold tolerance improvement of greenhouse-grown cucumber cv. 'Negin' seedlings. Journal of Crops Improvement, 17 (2): 441-455. (In Persian).
- Cao, Y.Y., Tao Yang, M., Li, X., Qing, Z., Juan, X., Ji, W. and Bai, G., 2014. Exogenous sucrose increases chilling tolerance in cucumber seedlings by modulating antioxidant enzyme activity and regulating Proline and soluble sugar contents. Scientia Horticulturae, 179:67-77.
- Colom, M.R., and Vazzana, C., 2001. Drought stress effects on three cultivars of *Eragrostis curvula*: photosynthesis and water relations. Plant Growth Regulation, 34: 195-202.
- Erikson, M.E. and Webb, A.A.R., 2011. Plant cell responses to cold are all about timing. Plant Biology, 14: 731-737.
- Gusta, L. V., and Wisniewski, M., 2013. Understanding plant cold hardiness: an opinion. Physiologia Plantarum, 147: 4-14.
- Hana, B., and Bischofa, J.C., 2004. Direct cell injury associated with eutectic crystallization during freezing. Cryobiology, 48 (1): 8-21.
- Hanks, G. R., 2002. Narcissus and Daffodil: The Genus Narcissus. CRC Press, London, 452 p.
- Hasibi, P., Nabipour, M., and Moradi, F., 2010. Study of some cryoprotective role to induce low-temperature tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. Journal of Crop Production, 3(1): 39-56. (In Persian).
- Havaux M., 1998. Carotenoids as membrane stabilizers in chloroplasts. Trends in Plant Science, 3(4): 147–151.
- Imamian Tabarestani, M., Farahmandfar, E., Pirdashti, H., and Yagoubian, Y., 2019. Effect of light intensity in response to cold stress on morphological and physiological traits of stevia (*Stevia rebaudiana* B) medicinal plant. Journal of Plant Production Research, 26(3: 1-20. (In Persian).
- Jafari, S.R., Manoochehri Kalantari, KH., and Ahmadi Mosave. E.S., 2007. The role of paclobutrazol on the accumulation of antioxidants in tomato plants (*Lycopersicum esculentom* L.) under cold stress. Iranian Journal of Biology, 20(3): 206-218. (In Persian).
- Joshi, S.C., Chandra, S., and Palni, L.M.S., 2007. Differences in photosynthetic characteristics and accumulation of osmoprotectants in saplings of evergreen plants grown inside and outside a glasshouse during the winter season. Photosynthetica, 45(4): 594-600.
- Khalighi, A., 2010. Floriculture: Cultivation of Iranian Ornamental Plants. Rozbahan Publications, Tehran, Iran, 392 p (In Persian).
- Lidon, F. C., Loureiro, A. S., Vieira, D. E., Bilho, E. A., Nobre, P. and Costa, R., 2001. Photoinhibition in chilling stressed wheat and maize. Photosynthetica, 39(2): 161166.
- Mahmood, S., Iram, S., and Athar, H.R., 2003. Intra-specific variability in sesame (*Sesamun Indicum* L.) for various quantitative and qualitative attributes under differential salt regimes. Journal of Research Science, 14(2): 177.
- Masoumi Aladozgeh, F., Jaafarkhani Kermani, M., and Dabir Ashrafi, A., 2014. Trade of flowers and ornamental plants in global markets. The First National Congress of Flowers and Ornamental Plants of Iran, National Research Institute of Flowers and Ornamental Plants, Karaj, Iran, 20 October. (In Persian).
- Mckersie, B.D., and Lesheim, Y., 2010. Stress and Stress Coping in Cultivated Plants. Springer Netherlands Publications, 256 p.
- Mirmohammadi Meibodi, A. and Turkesh Esfahani, S., 2004. Physiological and Breeding Aspects of Chilling and Freezing Stress in Crops. Golbon Publications, Esfahan, Iran, 336 p. (In Persian).
- Mohamadi nezhad, SH., Gholami, M., and sarikhani, H., 2020. Investigation of physiological and biochemical responses of two strawberry cultivars

(*Fragaria ananassa* D) to cold stress. Journal of Plant Process and Function, 9 (38): 327-347. (In Persian).
- Nezami, A., Azizi, G., Siahmarguee, A. and Mohammadabadi, A., 2010. Effect of freezing stress on electrolyte leakage of Fennel (*Foeniculum vulgare*). Iranian Journal of Field Crop Science, 8(4): 587-593. (In Persian).
- Noy-Porat, T., Flaishman, M.A., Eshel, A., Sandler-Ziv, D. and Kamenetsky, R., 2009. Florogenesis of the Mediterranean geophyte *Narcissus tazetta* and temperature requirements for flower initiation and differentiation. Scientia Horticulturae, 120 (1, 3): 138-142.
- Oliveira, D., and Alves, V., 2009. Alterations in chlorophyll fluorescence, pigment concentrations and lipid peroxidation to chilling temperate in coffee seedlings. Environmental and Experimental Botany, 67: 71-76.
- Poyan, M., 1989. Medicinal Plants of South Khorasan. Danesh Publications, Tehran, Iran, 126 p. (In Persian).
- Rezvan Beydokhti, SH., Nezami, A., Kafi, M., and Khazaei, H. R., 2011. Effects of freezing stress on electrolyte leakage of Persian shallot (*Allium altissimum*) under controlled conditions. Journal of Agroecology, 3 (3): 371-382. (In Persian).
- Sanghera, G.S., Wani, S.H., Hussain, W. and Singh, N.B., 2011. Engineering cold stress tolerance in crop plants. Current genomics, 12(1): 30-43.
- Shafiei, M.R., and Azadi, P., 2019. Collection of World Experience Publications in the Field of Agriculture and Natural Resources; Comparison of Flowers and Ornamental Plants in Iran with other Countries (No. 9). Agricultural Education Publishing House, Tehran, Iran, 40 p. (In Persian).
- Shi, Q., Bao, Z., Zhu, Z., Ying, Q. and Qian, Q., 2006. Effects of different treatments of salicylic acid on heat tolerance, chlorophyll fluorescence, and antioxidant enzyme activity in seedlings of *Cucumis sativa* L. Plant growth regulation, 48(2): 127-135.
- SKAJO. 2023. South Khorasan Agricultural Jihad Organization. Available at: www. https://kj-agrijahad.ir/pr/index.php (In Persian).
- Soleimani, S., Bernard, F., Amini, M., and Khavari-nezhad, R., 2007. Alkaloids from *Narcissus tazetta* L. Journal of Medicinal Plants, 4(24): 58-63. (In Persian).
- Soltani, A., 2014. The relationship between soil water and plants. Jahad Daneshgahi of Mashhad Publications, 243 p. (In Persian).
- Starck, Z., Niemyska, B., Bogdan, J. and Tawalbeh, R.A., 2000. Response of tomato plants to chilling stress in association with nutrient or phosphorus starvation. Plant and soil, 226(1): 99-106.
- Thomas, H., 1990. Osmotic adjustment in *lolium perenne*: its heritability and the nature of solute accumulation. Annals of Botany, 66: 521-530.
- Van Dort, H. M., Jagers, P. P., Heide, R.T, and Van Der Weerdt, A. J.A., 1993. *Narcissus trevithian* and *Narcissus geranium*: analysis and synthesis of compounds. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 41(11): 2063-2075.
- Wylie, A.P., 1952. The history of the garden narcissi. Heredity, 6:137-156.