



## تأثیر تنش یخ‌زدگی بر نشت الکتrolیت‌ها و بقاء گیاهچه‌های ارقام گندم (*Triticum aestivum* L.) در شرایط کنترل شده

احمدی محمدجواد<sup>۱\*</sup>، جانعلی‌زاده مریم<sup>۱</sup>، برجسته علیرضا<sup>۱</sup>، کریم‌زاده هدایت‌الله<sup>۱</sup>، گلدانی مرتضی<sup>۲</sup> و نظامی احمد<sup>۲</sup>  
<sup>۱</sup> دانشجوی دکتری، گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه فردوسی مشهد، <sup>۲</sup> عضو هیئت علمی گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه فردوسی مشهد،

\*mj.Ahmadi@stu.um.ac.ir

به منظور بررسی تأثیر تنش یخ‌زدگی بر میزان نشت الکتrolیت‌ها و تعیین پایداری غشای سلولی ارقام گندم، پژوهشی در شرایط کنترل شده و به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۱۳۹۱ انجام شد. فاکتور اول شامل سه رقم گندم (سایونز، گاسکوژن و بم) و فاکتور دوم شامل شش دمای یخ‌زدگی شامل دماهای (صفر، -۴، -۸، -۱۲، -۱۶ و -۲۰ درجه سانتی‌گراد) بودند. میزان پایداری غشای سیتوپلاسمی با محاسبه میزان نشت الکتrolیت‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت و سپس دمای کشنده برای ۵۰ درصد نمونه‌ها (LT<sub>50</sub>) براساس درصد نشت الکتrolیت‌ها تعیین گردید. نتایج پژوهش نشان داد که اثرات دماهای یخ‌زدگی و رقم بر میزان نشت مواد و LT<sub>50</sub> ارقام مورد بررسی معنی‌دار بود. کاهش دما به کمتر از -۴ درجه سانتی‌گراد باعث افزایش میزان نشت الکتrolیت‌ها در همه ارقام مورد مطالعه شد. کاهش دما به کمتر از -۱۲ درجه سانتی‌گراد باعث کاهش معنی‌دار درصد بقاء، تعداد و سطح برگ و وزن خشک بوته‌ها شد. رقم بم بیشترین و رقم سایونز کمترین میزان نشت الکتrolیت‌ها در اثر کاهش دما را نشان دادند. در همه ارقام، دمای -۱۲ درجه سانتی‌گراد به عنوان دمای افزایش سریع میزان نشت الکتrolیت‌ها بود که در این بین، نشت الکتrolیت‌ها در رقم گاسکوژن با سرعت بیشتری افزایش یافت، هر چند که میزان نهایی آن در مقایسه با سایر ارقام کمتر بود. از نظر شاخص LT<sub>50</sub> نیز بیشترین و کمترین تحمل به یخ‌زدگی به ترتیب در ارقام سایونز و بم مشاهده شد. به نظر می‌رسد به دلیل اینکه تنش سرما باعث آسیب به غشای سلولی و در پی آن، باعث نشت الکتrolیت‌ها از سلول می‌شود، لذا، اندازه‌گیری میزان نشت الکتrolیت از بافت‌های گیاهی تحت تنش، می‌تواند معیار مناسبی از مقاوت به یخ‌زدگی و پایداری غشاها باشد.

واژه‌گان کلیدی: پایداری غشاء سلولی، درصد بقاء گیاه، وزن خشک، LT<sub>50</sub>، RDMT<sub>50</sub>.

### Effect of freezing stress on electrolyte leakage and survival of wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.) under controlled conditions

Ahmadi, M.J.<sup>1\*</sup>, Janalizadeh, M.<sup>1</sup>, Barjasteh, A.R.<sup>1</sup>, Karimzadeh, H.<sup>1</sup>, Goldani, M.<sup>2</sup>, Nezami, A.<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Ph.D. Student, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, <sup>2</sup> Professor, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad,

\*mj.Ahmadi@stu.um.ac.ir.

In order to evaluation of the effect of freezing stress on electrolyte leakage (EL) and determination of cellular membrane stability of wheat cultivars, a trial was carried out under controlled environment, at Ferdowsi University, College of Agriculture, during autumn 2012 in a factorial arrangement based on CRD design with three replications. Three wheat cultivars (Sayons, Gaskogen and Bam) were assigned to first variables and six freezing temperature (zero, -4, -8, -12, -16, -20) were assigned to second variables. Cytoplasmic membrane stability was determined by measuring the EL ratio and afterward, LT<sub>50</sub> was determined based on EL percentage. Based on the results, the effects of freezing temperatures and cultivars on EL and LT<sub>50</sub> were significant. Decreasing of temperature to less than -4°C led to increase in EL of all cultivars. Decreasing of temperature to less than -12°C caused significant decrease in survival percentage, leaf number, leaf area and leaf dry weight of seedlings. The most and the least EL was observed in Cvs. Bam and Sayons, respectively. Temperature -12°C was identified as the temperature in which electrolytes started to leakage with high rate at all cultivars. Cv. Gaskogen showed higher rate of EL, but, the final EL of this Cv. was less than others. From the point of LT<sub>50</sub> index view, the most and the least resistance to freezing stress was observed in Cvs. Sayons and Bam, respectively. It seems that because the freezing stress leads to cellular membrane damage and afterwards, leads to EL, hence, EL measurement from plants tissues under stress might be a suitable index of freezing resistance and membrane stability.

**Keywords:** Cellular membrane stability, Dry matter, LT<sub>50</sub>, RDMT<sub>50</sub>, Survival percentage.

## مقدمه

غلات مهمترین گیاهان غذایی کره‌ی زمین و تأمین کننده‌ی ۷۰ درصد غذای مردم کره‌ی زمین می‌باشند (امام، ۱۳۹۰). در مناطق معتدله، سردی زمستان یکی از تهدیدات جدی برای گیاهان محسوب می‌شود، به طوری که، تنش سرما یکی از مهم‌ترین عواملی است که رشد، تولید و پراکندگی آنها را محدود می‌کند (میرمحمدی‌میبدی و ترکش اصفهانی، ۱۳۷۹). میزان خسارت سرما بستگی به مدت و شدت سرما دارد و تحمل نسبت به سرما یکی از عوامل بقاء آنها در زمستان می‌باشد. به همین دلیل، درصد بقاء گیاهان پس از قرار گرفتن آنها در معرض سرما به عنوان یکی از شاخص‌های تحمل به سرما معرفی شده است (هافگارد و همکاران، ۲۰۰۳).

نشت الکترولیت در قطعات برگ به طور گسترده‌ای به عنوان پارامتری خوب برای تخمین خسارت تنش در گیاهان مورد استفاده قرار می‌گیرد (تساروهاس و همکاران، ۲۰۰۰). تداوم انسجام غشای پلاسمایی، یکی از مهم‌ترین عوامل بقای گیاه در شرایط تنش یخزدگی عنوان شده است و هرگونه اختلال در ساختار غشاء، سبب بروز خسارت در گیاه و حتی مرگ آن می‌شود (هانا و بیسوا، ۲۰۰۴). در همین راستا، آزمون یخزدگی در شرایط کنترل شده (نبیر و همکاران، ۲۰۰۵) و به دنبال آن، ارزیابی خسارت از طریق اندازه‌گیری نشت الکترولیت نیز به عنوان روشی مناسب توسط پژوهشگران مورد توجه قرار گرفته است. این آزمایش با هدف ارزیابی مقاومت به یخزدگی ارقام گندم در شرایط کنترل شده و همچنین، بررسی امکان استفاده از نشت الکترولیت‌ها در ارزیابی تحمل این ارقام به سرما انجام شد.

## مواد و روش‌ها

این آزمایش در پاییز سال ۱۳۹۱ به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار، در دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد، به منظور بررسی اثر ۶ دمای یخزدگی (صفر، ۴-، ۸-، ۱۲-، ۱۶- و ۲۰-) روی سه رقم گندم (سایونز، گاسکوژن و بم) انجام شد. بذرهای ارقام گندم در اواخر مهرماه در گلدان‌های پلاستیکی یک کیلویی که حاوی خاکی به نسبت یک به یک به یک شن و رس بود کشت شدند. به منظور القای خوسرمایی در نمونه‌های گیاهی، گلدان‌ها در فضای باز و محیط طبیعی و برای اعمال دماهای یخزدگی، گلدان‌ها در اواخر دی‌ماه و در مرحله پنجه‌زنی به فریزر ترموگرادیان منتقل شدند. برای تعیین پایداری غشای پلاسمایی از روش اندازه‌گیری نشت الکترولیت استفاده شد. هدایت الکتریکی محلول هر نمونه با استفاده از دستگاه EC متر (مدل Jenway) اندازه‌گیری شد (EC1). برای اندازه‌گیری محتوای کل الکترولیت‌ها در اثر مرگ کامل سلول، نمونه‌ها اتوکلاو شدند و مجدداً هدایت الکتریکی نمونه‌ها اندازه‌گیری شد (EC2). درصد نشت الکترولیت از طریق رابطه زیر محاسبه شد:

$$\%EL = (EL1 - EL0) / (EL2 - EL0) * 100 \quad (1)$$

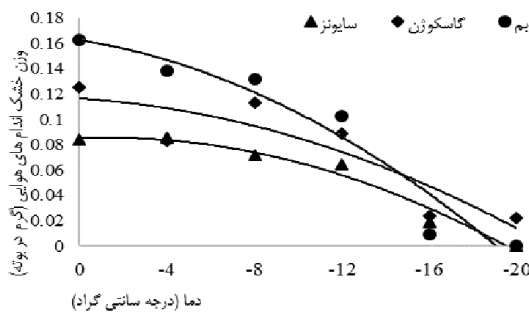
$EL0$  = هدایت الکتریکی آب مقطر،  $EL1$  = هدایت الکتریکی محلول پس از اعمال تیمار سرما،  $EL2$  = هدایت الکتریکی محلول پس از اتوکلاو.  $LT_{50\%}$  و دمای کاهنده ۵۰ درصد وزن خشک ( $RDMT_{50}$ ) گیاهان به ترتیب با استفاده از نمودارهای ترسیم شده‌ی درصد نشت و وزن خشک گیاهان در مقابل دماهای یخ زدگی تعیین شد. درصد بقاء از رابطه زیر تعیین شد:

$$100 \times (\text{تعداد گیاهان قبل از یخ‌زدگی} / \text{تعداد گیاهان زنده سه هفته پس از یخ‌زدگی}) = \text{درصد بقاء}$$

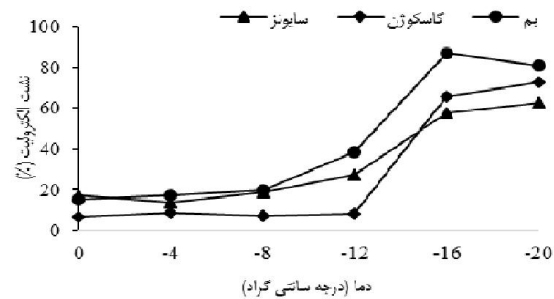
علاوه بر تعیین درصد بقاء گیاهان، وزن خشک بوته‌ها نیز محاسبه شد. محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS v.9.13 و رسم نمودارها به کمک نرم‌افزار MS Excel انجام شد. میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون LSD در سطح پنج درصد مقایسه شدند.

## نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که دماهای یخزدگی تاثیر بسیار معنی داری ( $p \leq 0/01$ ) بر میزان نشت الکترولیت ها در گیاه گندم داشت، به طوری که با کاهش دما، میزان نشت الکترولیت ها افزایش یافت (شکل ۱). به نظر می رسد، با کاهش دما خسارت ناشی از تنش یخزدگی بر غشای سلولی زیاد شده و منجر به افزایش میزان نشت مواد از سلول می شود (نظامی و ناقدی نیا، ۱۳۸۹). در بین ارقام نیز از نظر صفات مورد بررسی اختلاف معنی داری مشاهده شد، هرچند که روند تغییرات در همه ارقام مشابه بود. بیشترین درصد نشت در رقم بم و کمترین آن در رقم سایونز مشاهده شد (شکل ۱). از نظر شاخص  $LT_{50}$  نیز بیشترین و کمترین تحمل به یخ زدگی به ترتیب در ارقام سایونز و بم مشاهده شد. در همه ارقام از دمای  $-12$  - درجه سانتی-گراد افزایش شدیدی در میزان نشت الکترولیت ها مشاهده شد. با وجود اینکه درصد نشت الکترولیت ها در رقم گاسکوژن تا دمای  $-12$  - درجه سانتی-گراد تقریباً روند ثابتی نشان داد، لیکن، شیب افزایش نشت پس از این دما بسیار زیاد بود.



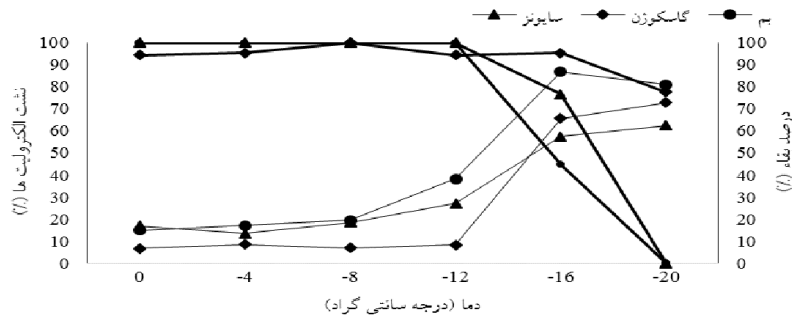
شکل ۲- وزن خشک اندام های هوایی تک بوته ارقام گندم تحت تاثیر دماهای یخ زدگی در شرایط کنترل شده



شکل ۱- تاثیر دماهای یخ زدگی بر میزان نشت الکترولیت ها در ارقام مختلف گندم در شرایط کنترل شده

درصد بقای گیاهچه های گندم پس از دوره بازیافت به طور معنی داری ( $p \leq 0/01$ ) تحت تاثیر تنش یخزدگی قرار گرفت (شکل ۳). با وجود اینکه هیچ گونه تلفاتی در ارقام سایونز و بم تا دمای  $-12$  - درجه سانتی-گراد مشاهده نشد، ولی با کاهش هرچه بیشتر دما از  $-12$  - درجه سانتی-گراد، درصد بقاء کاهش یافت، به طوری که، در دمای  $-20$  - درجه سانتی-گراد هیچ گیاهی زنده نماند (شکل ۳). اما رقم گاسکوژن از این لحاظ بهتر عمل کرده و دمای یخ زدگی تاثیر معنی داری بر درصد بقا این رقم نداشت و گیاهان تا دمای  $-20$  - درجه را بخوبی ( $77/8$  درصد) تحمل کردند، که نشان دهنده ترمیم شدن غشاء در طی دوره بازیافت بوده است (شکل ۳). در پژوهشی اثر دماهای یخزدگی بر درصد بقاء رازیانه مورد بررسی قرار گرفت و مشاهده شده که با کاهش دما، درصد بقاء گیاهان به طور چشمگیری کاهش یافت (راشد محصل و همکاران، ۲۰۰۹). اثر تنش یخزدگی بر وزن خشک گیاهان پس از دوره بازیافت نیز بسیار معنی دار ( $p \leq 0/01$ ) بود (شکل ۲). همانطور که در مشاهده می شود، کاهش دما به کمتر از  $-12$  - درجه سانتی-گراد باعث کاهش شدید وزن خشک بوته شد. کمترین و بیشترین دمای کاهنده  $50$  درصدی وزن خشک گیاهان در زمان رشد مجدد ( $RDMT_{50}$ )، به ترتیب در ارقام بم با  $-12/5$  - و سایونز با  $-14/7$  - درجه سانتی-گراد تعیین شد (شکل ۲). در پژوهشی مشاهده شد که  $RDMT_{50}$  کمتر با رشد مجدد بهتر گیاه رازیانه همراه بوده است (نظامی و همکاران، ۱۳۸۹).

در مجموع، به نظر می‌رسد، به دلیل اینکه تنش سرما باعث آسیب به غشای سلولی و در پی آن، باعث نشت الکترولیت‌ها از سلول می‌شود، لذا اندازه‌گیری میزان نشت الکترولیت از بافت‌های گیاهی تحت تنش، می‌تواند معیار مناسبی از مقاومت به یخ‌زدگی و پایداری غشاها باشد.



شکل ۳- درصد نشت الکترولیت و درصد بقاء ارقام گندم تحت تاثیر دماهای یخ‌زدگی

### منابع

- امام، ی. (۱۳۹۰). زراعت غلات چاپ چهارم. انتشارات دانشگاه شیراز. ۱۹۰ صفحه.
- میرمحمدی‌میبدی، ع. و ترکش‌اصفهانی، س. (۱۳۷۹). جنبه‌های فیزیولوژی و به‌نژادی تنش‌های سرما و یخ‌زدگی گیاهان زراعی. انتشارات گلبن، اصفهان. ۲۲۳ص.
- نظامی، ا. عزیز، ک.، سیاهمرگویی، ا. و ع. ا. محمدآبادی. (۱۳۸۹). اثر تنش یخ‌زدگی بر نشت الکترولیت‌ها در گیاه رازیانه. مجله پژوهش‌های زراعی ایران، ۸ (۴): ۵۹۳-۵۸۷.
- نظامی، ا. و ناقدی‌نیا، ن. (۱۳۸۹). اثر تنش یخ‌زدگی بر نشت الکترولیت‌ها در شش رقم گلرنگ. نشریه پژوهش‌های زراعی ایران، ۸ (۶): ۸۹۶-۸۹۱.

- Hana, B., and Bischofa, J.C. (2004). Direct cell injury associated with eutectic crystallization during freezing.
- Hofgard, I.S., Vollsnes, A.V., Marum, P., Larsen, A., and Tronsmo, A.M. (2003). Variation in resistance to different winter stress factors within a full-sub family of perennial ryegrass. *Euphytica* 134: 61-75.
- Nayyar, H., T.S. Bains, and S. Kumar. (2005). Chilling stressed chickpea seedling: effect of cold acclimation, calcium and abscisic acid on cryoprotective solutes and oxidative damage. *Environ. Exp. Bot.* 54:275-285.
- Rashed Mohassel, M.H., Nezami, A., Bagheri, A., Hajmohammadnia, K., and Bannayan, M. (2009). Evaluation of freezing tolerance of two fennel (*Foeniculum vulgare* L.) ecotypes under controlled conditions. *Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants* 15:131-140.
- Tsarouhas, V., Kenney, W.A. and Zsuffa, L. (2000). Application of two electrical methods for the rapid assessment of freezing resistance in *Salix eriocephala*. *Biomass and Bioenergy*. 19: 165-175.