

## اثر تنش خشکی بر خوسرمایی و تحمل به یخ زدگی نخود (*Cicer arietinum* L.)

نغمه مقیمی<sup>۱</sup>، احمد نظامی<sup>۲</sup> و جعفر نباتی<sup>۳</sup>

۱- دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهان زارعی دانشگاه فردوسی مشهد؛ ۲- عضو هیات علمی دانشکده کشاورزی و پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد؛ ۳- عضو هیات علمی پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد؛  
moghimi.naghmeh@stu.um.ac.ir

چکیده

این مطالعه به منظور بررسی احتمال بهبود خوسرمایی گیاهچه‌های نخود، در ۴۰ درصد ظرفیت زراعی، در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. آزمایش شامل تیمارهای عدم خوسرمایی و عدم خشکی، تنش خشکی به تنهایی، خوسرمایی به تنهایی و تنش خشکی و خوسرمایی بود که تحت تیمارهای دمای یخ‌زدگی (عدم انجماد، صفر، -۶ و -۱۲ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفتند. نتایج نشان داد که تیمار تنش خشکی و خوسرمایی که در دوره‌ی تطابق با تنش بیشتری همراه بود، تحمل به انجماد بالاتری نشان داد. کمترین میزان Fv/Fm در تیمار تنش خشکی و خوسرمایی در دوره‌ی تطابق حاصل شد. در مقایسه‌ی تیمار خشکی به تنهایی و خوسرمایی به تنهایی، تیمار خشکی به تنهایی باعث کاهش بیشتر Fv/Fm شد. در ارتباط با نشت الکترولیت‌ها، تیمار تنش خشکی و خوسرمایی، میزان نشت الکترولیت بیشتری در حالت عدم فریز، نسبت به سایر تیمارها داشت، اما علی‌رغم تنش شدیدتر وارد شده، این گیاهان توانایی پایداری غشاء بیشتری در دماهای یخ‌زدگی نشان دادند. به طور کلی مشاهده شد در تیمار تنش خشکی و خوسرمایی علی‌رغم اینکه در دوره‌ی تطابق، گیاه تحت تنش شدیدتری قرار گرفته بود، القای تحمل به انجماد بیشتر شد که در ادامه، بقای گیاه در مواجهه با تنش سرما را در پی داشت. کلمات کلیدی: تحمل انجماد، فلورسانس کلروفیل، نشت الکترولیت‌ها

مقدمه

در میان حبوبات، نخود (*Cicer arietinum* L.) به عنوان گیاهی مقاوم نسبت به تنش خشکی و دما شناخته می‌شود. کشت نخود در بسیاری از مناطق مرتفع ایران (مناطق سردسیر و نیمه خشک) در بهار انجام می‌گیرد. در این شرایط به دلیل اثر توأم خشکی و گرما، عملکرد به شدت کاهش می‌یابد. با توجه به موفقیت‌های حاصله در بهبود عملکرد نخود در کشت پاییزه- زمستانه در مناطق مدیترانه‌ای، مطالعات در زمینه‌ی کشت پاییزه نخود جهت بهبود عملکرد این گیاه در مناطق مرتفع ایران نیز در طی چند سال گذشته مورد توجه قرار گرفته است. با این وجود، در این سیستم کاشت گیاه در معرض انواع تنش‌های زمستانه قرار می‌گیرد و لذا وجود ارقام متحمل به سرما در این شرایط ضروری است. از سوی دیگر و با توجه به اینکه گیاه نخود غالباً بدون آبیاری کشت می‌شود، حتی در این سیستم کاشت نیز ممکن است گیاه در معرض تنش خشکی قرار گیرد، زیرا به دلیل تغییرات اقلیمی، میزان و پراکنش بارندگی در سال‌های اخیر تغییر کرده است. مواجهه با دمای پایین (بالاتر از دمای یخ زدگی) در گیاهان سرمادوست، از طریق القاء خوسرمایی باعث بهبود تحمل به یخ زدگی در آنها می‌شود. در برخی مطالعات نیز مشاهده شده است که تحمل به یخ زدگی می‌تواند از طریق تنش خشکی ملایم (بدون قرار گرفتن گیاه در معرض سرما) نیز ایجاد شود. بنابراین دو مؤلفه‌ی دمای کم (بین صفر و ۱۰ درجه سانتیگراد) و خشکی ملایم ممکن است در بهبود تحمل به یخ زدگی موثر باشند، اما نقش آنها به طور کامل شناخته نشده است. موضوع مهم‌تر این است که این دو عامل ممکن است به عنوان دو پیام جداگانه و به طور مستقل در القای تحمل به یخ زدگی در گیاهان عمل کنند.

فلورسانس فتوسیستم II و نسبت Fv/Fm که حداکثر عملکرد کوانتومی واکنش فتوشیمیایی فتوسیستم II را نشان می‌دهد می‌تواند به عنوان یک معیار مهم در تعیین شدت تنش سرما به کار رود (۱). در دماهای پایین از سوخت و ساز برگ به شدت ممانعت به عمل می‌آید و خسارت نوری به فتوسیستم II زیاد است و اندازه گیری Fv/Fm می‌تواند به عنوان یک روش موفقیت آمیز در شناسایی تفاوت در تحمل به سرما به کار گرفته شود. با توجه به کمبود اطلاعات در این مورد آزمایش حاضر با هدف بررسی اثرات خوسرمایی و تنش ملایم خشکی در بهبود تحمل به تنش یخ زدگی در گیاه نخود طراحی و اجرا خواهد شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در گلخانه‌ی تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد، در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. آزمایش شامل چهار تیمار خوسرمایی همراه با اعمال تنش خشکی بود که تحت پنج تیمار دمای یخ زدگی قرار گرفت.

ابتدا بذرها ضدعفونی شده و چهار بذر در عمق ۳-۴ سانتی متری از سطح خاک در گلدان، کشت شد و در اتاقک رشد با دمای  $16/22 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد (روز/شب) و طول روز ۱۴ ساعت و شدت نور معادل ۴۰۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه در سطح پوشش گیاهان، قرار داده شد، گیاهان تا مرحله‌ی ۴-۶ برگگی در شرایط فوق نگهداری شدند.

برای اعمال خوسرمایی گیاهچه‌ها به مدت سه هفته تحت تیمار سرمایی به این شرح قرار گرفتند: هفت روز در دمای  $5/7 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد (روز/شب) با طول روز ۱۱ ساعت، هفت روز در دمای  $3/5 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد (روز/شب) با طول روز ۱۰ ساعت و هفت روز در دمای  $0/2 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد (روز/شب) با طول نه ساعت و شدت نور معادل ۴۰۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه در سطح پوشش گیاهان (۲).

به منظور اعمال تنش خشکی قبل از یخ زدگی چهار تیمار آبیاری مطلوب تحت شرایط عدم وجود خوسرمایی (T1)، تنش خشکی تحت شرایط عدم وجود خوسرمایی (T2)، آبیاری مطلوب تحت شرایط خوسرمایی (T3) و تنش خشکی تحت شرایط خوسرمایی (T4) اعمال شد. تیمارهای آبیاری مطلوب در تمام طول آزمایش در حالت ظرفیت زراعی نگهداری شده و تیمارهای تنش خشکی، تا حد ۴۰ درصد ظرفیت زراعی آبیاری شد.

جهت اعمال دماهای یخ زدگی، گیاهان بعد از اتمام دوره‌ی خوسرمایی، به فریزر ترموگرادیان منتقل شدند. دمای فریزر در شروع آزمایش پنج درجه سانتی‌گراد بود و به تدریج با سرعت دو درجه سانتی‌گراد در ساعت دما کاهش یافت. به منظور ایجاد هستک یخ در گیاه و اجتناب از بروز پدیده فرا سرما، در دمای ۲- درجه سانتی‌گراد اسپری باکترهای ایجاد کننده هستک یخ (INAB<sup>1</sup>) روی گیاهان انجام شد، گیاهان در معرض دماهای یخ زدگی (عدم انجماد، صفر، ۶- و ۱۲- درجه سانتی‌گراد) قرار گرفتند. نمونه‌های گیاهی در هر دما به مدت یک ساعت باقی‌مانده و پس از اعمال تیمار یخ زدگی، گیاهان از فریزر خارج شده پس از آن جهت کاهش سرعت ذوب بلافاصله به داخل اتاقک‌های رشد با دمای  $5 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد انتقال یافته و به مدت ۲۴ ساعت نگه‌داری شدند. پس از طی این مدت، بوته‌ها به اتاقک رشد با دمای قبل از اعمال خوسرمایی منتقل شدند. حداکثر کارایی فتوسیستم II به وسیله دستگاه فلورومتر (OS1-FL Chlorophyll Fluorometer) روی جوان‌ترین برگ کاملاً توسعه یافته، اندازه‌گیری شد. به منظور تعیین درصد نشت الکترولیت ابتدا جوان‌ترین دو برگ کاملاً توسعه یافته از هر بوته جدا شد و درصد نشت الکترولیت با استفاده از دستگاه اندازه‌گیری هدایت الکتریکی تعیین شد سپس میزان نشت الکترولیت‌ها



دانشگاه گیلان

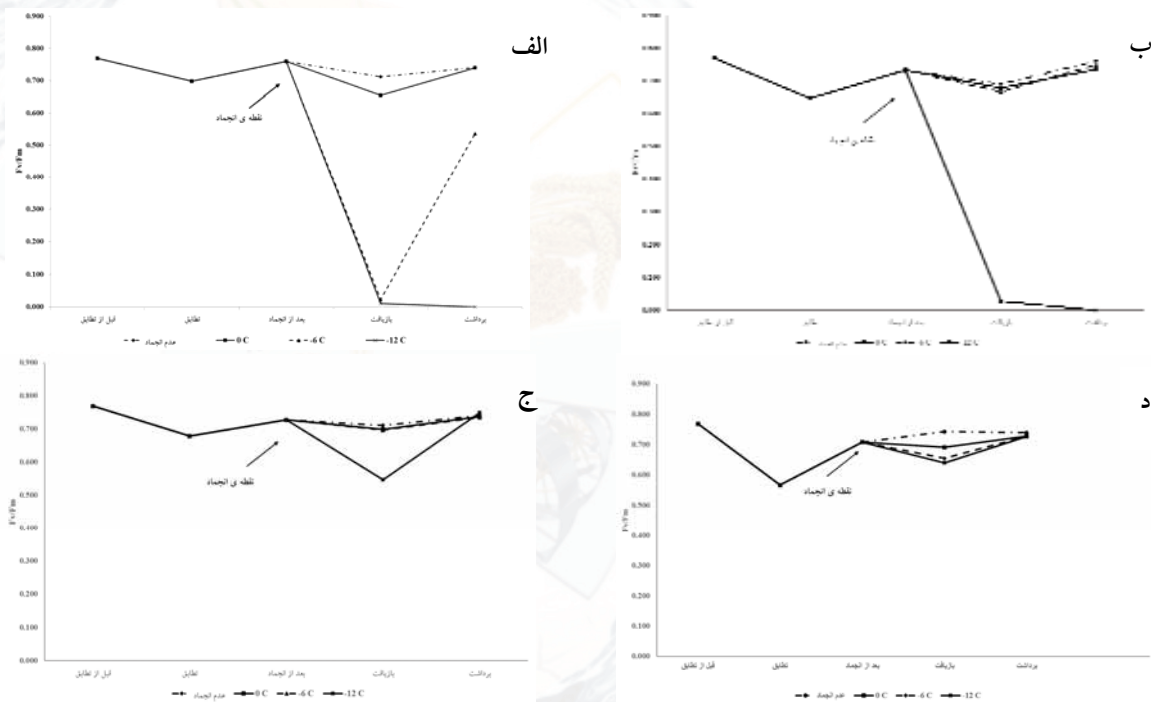
<sup>1</sup> Ice Nucleation Active Bacteria

محاسبه شد. اندازه گیری فلورسانس کلروفیل در پنج مرحله؛ قبل از اعمال خوسرمایی، خوسرمایی، بلافاصله بعد از انجام، دوره بازیافت و زمان برداشت، انجام شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS 9.1 انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج نشان داد کمترین میزان Fv/Fm در تیمار تنش خشکی و خوسرمایی در دوره تطابق، حاصل شد که نشان دهنده شدت تنش وارده به گیاه است. مقایسه‌ی تیمار خشکی به تنهایی و خوسرمایی به تنهایی، نیز تیمار خشکی به تنهایی باعث کاهش بیشتر Fv/Fm شد. اما میزان Fv/Fm در تیمار خوسرمایی به تنهایی به تیمار عدم خوسرمایی و عدم خشکی نزدیک بود. در بررسی سلامت گیاه بعد از انجام مشاهده شد که در تیمار تنش خشکی و خوسرمایی که دوره تطابق با تنش بیشتری همراه بود، تحمل به انجام بالاتری نشان داد. که احتمالاً علت آن تجمع قندهای محلول و اسمولیت‌های بیشتر در این تیمار باشد (شکل ۱).

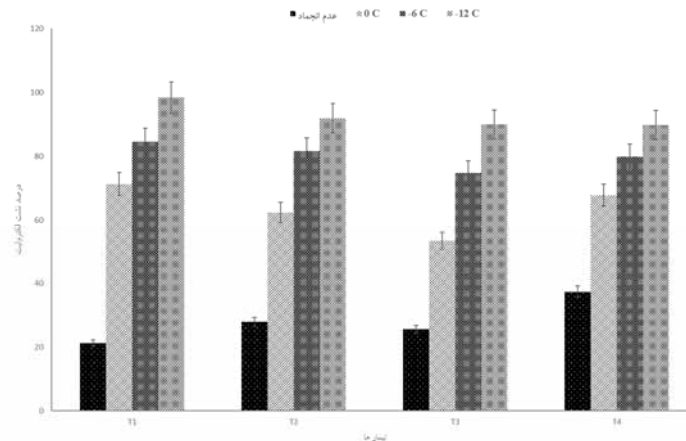
در تیمار خشکی به تنهایی در دوره تطابق، سلامت گیاه کاهش یافته و همانطور که مشاهده می‌شود، دمای انجام ۱۲- درجه سانتی‌گراد باعث مرگ گیاه شد، در صورتی که در تیمار خوسرمایی به تنهایی، گیاهان دمای انجام ۱۲- درجه سانتی‌گراد را نیز تحمل کردند. در تیمار عدم خوسرمایی و عدم خشکی، دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد باعث مرگ گیاه شده و در دمای ۶- درجه سانتی‌گراد نیز، گیاه بعد از انجام آسیب دیده است اما بعد از آن، در دوره بازیافت، برگ‌های جدید تولید شده و بقای گیاه ادامه یافت، گرچه در زمان برداشت، نسبت به سایر بوته‌ها ضعیف‌تر بود (شکل ۱).



شکل ۱- میزان Fv/Fm تیمارهای عدم خوسرمایی و عدم خشکی (الف)، تنش خشکی به تنهایی (ب)، خوسرمایی به تنهایی (ج) و تنش خشکی و خوسرمایی (د) در دماهای عدم انجام، صفر، ۶- و ۱۲- درجه سانتی‌گراد، در مراحل مختلف (قبل از تطابق، دوره تطابق، بلافاصله بعد از انجام، دوره بازیافت و برداشت).

در ارتباط با نشت الکترولیت‌های برگ نیز، همانطور که در شکل (۲) مشاهده می‌شود، در تیمار عدم خوسرمایی و عدم خشکی، با افزایش دمای انجام، میزان نشت الکترولیت‌ها نیز افزایش یافت و در تیمار خشکی به تنهایی، نیز مشاهده شد که در حالت عدم فریز، به علت تنش خشکی که در زمان تطابق به گیاه وارد شده، میزان نشت الکترولیت‌ها نسبت به تیمار عدم

خوسرمایی و عدم خشکی، بیشتر بود. نشت الکترولیت‌های برگ در تیمار خوسرمایی به تنهایی نسبت به تیمار خشکی به تنهایی، در حالت عدم فریز، کمتر بود که نشان از آسیب واردهی کمتر به گیاه در حالت تیمار خوسرمایی به تنهایی نسبت به تیمار خشکی به تنهایی می‌باشد. در تیمار تنش خشکی و خوسرمایی به دلیل اینکه گیاه با تنش توأم خشکی و خوسرمایی مواجه بوده است، در نتیجه نشت الکترولیت‌ها در حالت عدم فریز، نسبت به سایر تیمارها بالاتر بود، اما علی‌رغم تنش شدیدتر وارد شده، این گیاهان توانایی پایداری غشاء در دماهای انجماد بالاتر را داشتند (شکل ۲).



شکل ۲: نشت الکترولیت‌هایی برگ نخود در تیمارهای عدم خوسرمایی و عدم خشکی (T1)، تنش خشکی به تنهایی (T2)، خوسرمایی به تنهایی (T3) و تنش خشکی و خوسرمایی (T4) در دماهای عدم انجماد، صفر، ۶- و ۱۲- درجه سانتی گراد به طور کلی مشاهده شد در تیمار تنش خشکی و خوسرمایی علی‌رغم اینکه در دوره‌ی تطابق، گیاه تحت تنش شدیدتری قرار گرفت، اما بقای گیاه در مواجهه با تنش سرما افزایش یافت. در این آزمایش رابطه‌ی مستقیمی بین نشت و میزان  $F_v/F_m$  مشاهده شد، در نتیجه می‌توان از فلورسانس کلروفیل برای تشخیص تحمل گیاه به تنش سرما و کمی کردن میزان تنش وارده در گیاه مورد مطالعه، استفاده کرد.

منابع

1. Baker, N., and Rosenqvist, E., 2004. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *Journal of Experimental Botany*, 55: 1607-1621.
2. Nezami, A., Bandara, M.S., Gusta, L.V., 2012. An evaluation of freezing tolerance of winter chickpea (*Cicer arietinum* L.) using controlled freeze tests. *Canadian Journal of Plant Science* 92: 155-161.

### Evaluation of drought stress on cold acclimation and freezing tolerance of chickpea (*Cicer arietinum*)

Naghmeh Moghimi<sup>1</sup>, Ahmad Nezami<sup>2</sup>, Mohammad Khajehosseini salehabad<sup>2</sup>, Hamidreza Khazaie<sup>2</sup>

<sup>1</sup>PhD student and <sup>2</sup>Professors of Ferdowsi university of Mashhad, [nezami@um.ac.ir](mailto:nezami@um.ac.ir)

#### Abstract

This study was conducted on randomized complete block design with three replications to investigate the possibility of improving acclimation of chickpea. The experiment consisted four acclimation treatments and four freezing temperatures. The result shows T4, acclimation was associates with more stress, have greater tolerance to freezing. The least amount of  $F_v/F_m$  was achieved in T4 in a period of acclimation. In comparison of T2 and T3, T2 was reduced  $F_v/F_m$  more than T3. In case of electrolyte leakage, T4, faced with both cold and drought acclimation, resulting higher ability to maintain membrane uniformity. Generally, it is observed that in T4, the occurrence of drought and cold acclimation, will further induced freezing tolerance, and lead to plant survival under freezing stress.

Key Words: Freezing tolerance, Chlorophyll fluorescence, Electrolyte leakage.

