

مطالعه تحمل گیاهان به تنش سرما با استفاده از شاخص نشت الکترولیت ها و بقاء در شرایط کنترل شده

علیرضا حسن فرد^{۱*}، احمد نظامی^۲، جعفر نباتی^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۲- استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۳- استادیار پژوهشکده علوم گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد

*alireza.hasanfard@yahoo.com

چکیده

گیاهان موجودات بی تحرکی هستند که قادر به گریز از عوامل نامساعد محیطی نیستند. از جمله عواملی که همواره هدف اصلی بررسی ها بوده است تنش های محیطی و به ویژه تنش های غیر زیستی می باشد. سرما یکی از تنش های غیر زیستی مهم است که همواره می تواند حیات گیاه را متاثر سازد، بطوری که اغلب گیاهان، بویژه گیاهان زراعی و اغلب مناطق در دنیا متاثر از تنش سرما می باشند. به منظور جلوگیری از مواجهه گیاه با خسارات ناشی از سرما باید میزان تحمل گیاهان را به سرما بررسی کرد تا مناطق مستعد کشت مشخص شود. پژوهشگران تحمل به سرما را در گیاهان با روش های مختلفی از جمله اعمال تیمار های یخ زدگی در شرایط کنترل شده و ارزیابی میزان نشت الکترولیت ها و دمای ۵۰ درصد کشندگی گیاهان براساس نشت الکترولیت ها (LT_{50el}) و همچنین بررسی میزان بقاء و دمای ۵۰ درصد کشندگی بر اساس بقاء (LT_{50su}) در گیاهان را مطالعه کرده اند. بطوری که نتایج حاصل حاکی از آن است که با کاهش دما میزان نشت الکترولیت ها افزایش و به دنبال آن درصد بقاء در گیاهان کاهش می یابد. شایان ذکر است که برای گیاهان مختلف و گونه های مختلف گیاهی و حتی اندام های مختلف گیاهی دمای ۵۰ درصد کشندگی متفاوت است. در هر حال ارزیابی تحمل به سرما در گیاهان نیازمند روش های متناسب با هدف آزمایش می باشد که درک محدودیت های هر کدام از روش ها امری ضروری است.

واژه های کلیدی: سرما، نشت الکترولیت ها، بقاء

مقدمه

دما به عنوان عامل محیطی مهم بر فرایند های ساختاری و فیزیولوژیکی سلول های گیاهی و همچنین توسعه سلول های گیاهی موثر است، بطوری که اثرات منفی افزایش یا کاهش غیر طبیعی دما می تواند در کلیه فرایندهای گیاهی از جمله ساختار سلول های گیاهی ظاهر شود. حساسیت گیاهان به دما به منشأ بومی آنها ارتباط دارد و گیاهان از طریق سازش به نوسانات دما توانایی بقاء در دماهای نامساعد محیطی را پیدا می کنند [۱].

October 2016, Tehran, Iran

اجرای روشی که در عین سرعت و اعتبار بالا، کم هزینه باشد و همچنین قابلیت تکرار داشته باشد می تواند به منظور ارزیابی تحمل به سرما در گیاهان مورد استفاده قرار گیرد. یکی از این روش ها اعمال تیمار یخ زدگی و مطالعه نشت الکترولیت ها و تعیین دمای ۵۰ درصد کشندگی بر اساس آن (LT_{50el})^۱ می باشد. نشت محلول های سلولی نظیر پتاسیم، کربوهیدرات ها و آمینواسیدها می تواند خسارت وارد بر غشای پلاسمایی را تعیین نماید [۲]. بررسی درصد بقاء و دمای ۵۰ درصد کشندگی بر اساس آن (LT_{50su})^۲ نیز از جمله روش های مناسب برای ارزیابی تحمل به یخ زدگی در گیاهان محسوب می شود [۳]. در این پژوهش به روش های ارزیابی تحمل به سرما (نشت الکترولیت ها و بقاء در گیاهان) و میزان تحمل به یخ زدگی در برخی از گیاهان می پردازیم.

سرما در گیاهان

در بیش از ۹۳ درصد از اراضی دنیا احتمال وقوع سرما وجود دارد و ۸۱ درصد از این مناطق در معرض یخبندان قرار دارند، بنابراین در اغلب مناطق معتدله کره زمین رشد و نمو گیاهان تحت تأثیر سرما قرار می گیرد [۴ و ۵]. دماهای پایین اغلب رشد و عملکرد محصولات زراعی را تحت تاثیر قرار می دهد و باعث تلفات قابل توجهی در این مورد می شود. حال آنکه تحمل گیاهان به سرمازدگی (دماهای صفر تا ۱۵ درجه سانتی گراد) و یخ زدگی (دماهای زیر صفر) متفاوت می باشد. البته گیاه با تغییر درجه عرض جغرافیایی تحمل به سرمای خود را می تواند افزایش دهد که این می توان ناشی از پدیده خوسرمایی^۳ در گیاهان باشد [۶]. پس با توجه به این مساله لزوم بررسی و مطالعه تحمل به تنش سرما در گیاهان امری ضروری به نظر می رسد .

تحمل به یخ زدگی و نشت الکترولیت ها

بررسی میزان نشت الکترولیت ها در گیاهان پس از تنش یخ زدگی می تواند به عنوان روشی سریع برای ارزیابی میزان آسیب وارد شده به بافت های گیاهی مورد نظر باشد. در مطالعات مربوط به این صفت، گیاهان و اندام هایی با حساسیت بالا نشت الکترولیت های بیشتری خواهند داشت. بنابراین محققان با اندازه گیری هدایت الکتریکی در گیاهان پس از تنش یخ زدگی و محاسبه درصد نشت الکترولیت ها می توانند خسارات ناشی از یخ زدگی را در گیاهان ارزیابی کنند. دمایی که طی آن ۵۰ درصد نشت از سلول های گیاهی صورت گیرد به عنوان دمای ۵۰ درصد کشندگی (LT_{50})^۱ می باشد.

1. Lethal Temperature 50% of plants according to the electrolyte leakage percentage

2. Lethal Temperature 50 % of plants according to the survival percentage

3. Cold acclimation

مطالعه اثر دمای یخ زدگی بر میزان نشت الکترولیت ها بر روی شش رقم گلرنگ (*Carthamus tinctorius L.*) نشان داد که نشت الکترولیت ها از سلول های برگ گلرنگ از دمای ۴- درجه سانتی گراد شروع شده و با کاهش دما افزایش می یابد، که لاین ۲۹۵ بیشترین درصد نشت الکترولیت ها را داشت حال آنکه کمترین درصد نشت در رقم k.w.6 مشاهده شد. همچنین در این آزمایش اثرات دمای یخ زدگی و ژنوتیپ بر میزان نشت مواد و دمای کشنده ۵۰ درصد نمونه ها در ارقام مورد بررسی معنی دار بود [۷]. بررسی نشت الکترولیت ها در سه اکوتیپ از گیاه پاسپالوم (*Paspalum vaginatum Swartz*) روند تغییرات درصد نشت مواد را با کاهش دما در برگ، طوقه و ریشه نشان داده که شیب افزایش نشت الکترولیت ها در بخش طوقه کمتر از برگ و ریشه بوده است [۸]. پس حائز اهمیت است که میزان نشت الکترولیت ها در اندام های مختلف گیاهی می تواند متفاوت باشد. نتایج آزمایش نظامی و همکاران بر روی هفت ژنوتیپ عدس (*Lens culinaris Medik.*) نشان داد که تنش یخ زدگی باعث افزایش نشت الکترولیت ها در تمام ژنوتیپ های مورد بررسی می شود و تفاوت معنی داری بین ژنوتیپ های عدس از نظر میزان نشت الکترولیت ها وجود داشت [۹]. در اکوتیپ های مورد مطالعه گیاه دارویی موسیر (*Allium altissimum Regel.*) مشاهده شد با کاهش دما درصد نشت الکترولیت ها از برگ، پیاز و ریشه بطور معنی داری افزایش یافت [۱۰]، میزان نشت الکترولیت ها و تحمل در اکوتیپ های مختلف در این مطالعه (شیروان، کلات و تندوره) و اندام های مختلف به تنش یخ زدگی متفاوت بود. در آزمایشی دیگر بر روی چند گونه علف چمنی مشاهده شد با کاهش دما، میزان نشت الکترولیت ها از سلول های برگ و طوقه بطور معنی داری افزایش یافت بطوری که بین گونه های علف های چمنی از این نظر اختلاف معنی داری وجود داشت [۱۱].

در آزمایشات مختلف خوسرمایی به عنوان عامل مهمی در تحمل به یخ زدگی در گیاهان مطرح است. در واقع گیاه قبل از اینکه در معرض دما های یخ زدگی قرار گیرد تحت تاثیر دماهای خنک خود را به دماهای انجماد تا حدودی سازگار می کند. بطوری که در یک بررسی بر روی گیاه آرابیدوپسیس (*Arabidopsis.*) مشخص شد همه گیاهانی که خوسرما نشده بودند در دمای ۶- درجه سانتی گراد از بین رفتند این درحالی است که بسیاری از گیاهانی که به مدت هشت روز در دمای ۴- درجه سانتی گراد خوسرما شده بودند در دمای ۸- درجه سانتی گراد زنده ماندند [۱۲].

تحمل به یخ زدگی و بقاء در گیاهان

ارزیابی بقاء در گیاهان پس از تنش یخ زدگی نیز می تواند به عنوان روش مناسبی برای تحمل گیاهان به یخ زدگی مورد نظر باشد. بنابراین با بررسی تعداد گیاهان قبل و بعد از تنش یخ زدگی می توان در صد بقاء در گیاهان را بدست آورد که روشی مناسب برای انتخاب گیاهان متحمل به سرما تلقی می شود. مطالعه دمای ۵۰ درصد کشندگی بر اساس بقاء نیز معیار مناسبی برای به گزینی گیاهان متحمل به سرماست. بطوری که بالاترین LT_{50su} نشان دهنده حساسیت بالای نمونه مورد بررسی می باشد.

October 2016, Tehran, Iran

در مطالعه نظامی و همکاران بر روی سه اکوتیپ زعفران (*Crocus sativus* L.) مشاهده شد هر سه اکوتیپ (قائن، کاشمر و تربیت حیدریه) تا دمای ۱۲- درجه سانتی گراد ۱۰۰ درصد بقاء خود را حفظ کردند ولی با کاهش بیشتر دما درصد بقاء کاهش یافت بطوری که کمترین درصد بقاء در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد مشاهده شد [۱۳]. همچنین بررسی چند ژنوتیپ از گیاه جو در شرایط کنترل شده نشان داد، ژنوتیپ ماکوئی دارای کمترین LT_{50su} بوده که بعنوان مقاوم ترین ژنوتیپ نیز شناخته شد [۱۴]. در آزمایشی بر روی گیاه زویسیاگراس (*Zoysia spp.*) ژوان و همکاران پی بردند که نمونه های متحمل تا دمای ۱۴- درجه سانتی گراد را تحمل کردند در صورتی که در سایر نمونه ها درصد بقاء در همین دما صفر گزارش شد [۱۵]. تحمل به سرما در گیاهان در نتیجه مکانیسم های پیچیده فیزیولوژیکی است. مطالعات گذشته نشان داده اند که کنترل ژنتیکی تحمل به سرما پیچیده است و می تواند این کنترل چندژنی در نظر گرفته شود، حال آنکه نحوه کنترل مقاوت به سرما از طریق این ژن ها بخوبی مشخص نشده است [۱۶].

نتیجه گیری

به منظور شناسایی دقیق تر و همچنین به گزینی گونه های مختلف گیاهی برای مقاومت در برابر تنش های محیطی، آزمایش ها و مطالعات بسیاری انجام گرفته است. نتایج حاصل از این آزمایش ها حاکی از آن است که بشر روش های بهتری برای این منظور یافته است که می تواند در سریع ترین زمان و با صرف هزینه ای کم آزمایشی دلخواه طراحی کند و ارقام و ژنوتیپ های مناسب را شناسایی و معرفی کند. در گذشته پژوهشگران با مشاهده در ظاهر گیاه پس از تنش سرما به وضعیت حیاتی آن پی می بردند. و از این طریق ژنوتیپ برتر تعیین و معرفی می شد. اما به تدریج شناخت بشر از غشاهای سلولی به عنوان اولین مکانی که تنش سرما در آن اتفاق می افتد بیشتر شد. امروزه بشر برای شناسایی گیاهان متحمل به سرما به روشی نیاز دارد که محدودیت های کشت در مزرعه را نداشته باشد. در روش های ارزیابی مزرعه ای شدت تنش سرما قابل کنترل نیست. علاوه بر این نوسانات دما در سال های مختلف پژوهشگر را به لحاظ کسب نتایج مناسب بی بهره می سازد. بنابراین آزمون های انجماد کنترل شده می تواند جایگزین نسبتاً بهتری برای آزمایش های مزرعه ای باشد چرا که علاوه بر سریع تر و کم هزینه تر بودن آن، فرصت تکرار بیشتر را فراهم می سازد. هرچند که روش های کنترل شده نیز بدون خطا نیست و مشکلات خاص خود را دارد.

به هر حال آزمون های انجماد کنترل شده به سبب مزیت های خود در پژوهش ها مورد استفاده قرار می گیرد. همچنین پس از قرار گیری گیاه در معرض تنش سرما، وضعیت گیاه به روش های مختلفی که بشر در طی درک و شناخت بهتر از عوامل محیطی و گیاه به آنها پی برده است، ارزیابی می شود. برخی از این روش ها عبارت اند از اندازه گیری پارامتر های فلورسانس کلروفیل، شاخص ۵۰ درصد سطح کل غشاء سلول، آزمون نشت الکترولیت ها و درصد بقاء و رشد مجدد گیاه. به هر حال به منظور ارزیابی تحمل به سرما در گیاهان، باید روش مناسب با هدف آزمایش را انتخاب کرد و ضمن درک محدودیت های هر کدام از روش ها، بقاء و رشد مجدد گیاهان پس از تنش سرما، به عنوان اصل در نظر گرفته شود.

مراجع

۱. قاسمی گلعدانی، ک، و لطفی، ر. (۱۳۹۳). "تنش سرما در گیاهان". انتشارات دانشگاه تبریز.
۲. جانعلی زاده قزوینی، م.، نظامی، ا.، ایزدی دربندی، ا. و پارسا، م. (۱۳۹۴). "ارزیابی تحمل به یخ زدگی بارهنگ سرنیزه ای (*Plantago lanceolata* L.) با استفاده از شاخص نشت الکترولیت ها،" مجله تنش های محیطی در علوم زراعی. ۸ (۱): ۱۰۹-۱۲۰.
۳. برومند رضازاده، ز.، نظامی، ا. و نظامی، س. (۱۳۹۲). "ارزیابی تحمل به یخ زدگی سه اکوتیپ زنیان *Trachyspermum ammi* (Linn). Sprague در شرایط کنترل شده،" نشریه پژوهشهای زراعی ایران. ۱۱ (۱): ۱۳۰-۱۲۱.
4. Nilsen, E. T. and D. M. Orcutt. (1996), "Physiology of Plants under Stress (Abiotic Factors)," John Willey and Sons. New York.
5. Steponkus, P. L., M. Uemura and M. S. Webb. (1993), "Redesigning crops for increased tolerance to freezing stress," *Interacting Stresses on Plants in a Changing Climate*. 16. 697-714.
6. Sanghera, G., Wani, Sh., Hussain, W, and Singh, N. (2011), "Engineering cold stress tolerance in crop plants," *Current Genomics*. 12. 30-43.
۷. نظامی، ا. و ناقدی نیا، ن. (۱۳۸۹). "اثر تنش یخ زدگی بر نشت الکترولیت ها در شش رقم گلرنگ،" نشریه پژوهشهای زراعی ایران. ۸ (۶): ۸۹۱-۸۹۶.
8. Cardona, C.A., Duncan, R.R, and Lindstrom, O. (1997). "Low temperature tolerance assessment in *paspalum*," *Crop Science*. 37. 1283-1291.
۹. نظامی، ا.، خزاعی، ح.ر.، پناهی، ف. و کاخکی، ف. (۱۳۹۲). "ارزیابی میزان تحمل به سرما در ژنوتیپ های عدس با بهره گیری از شاخص نشت الکترولیت ها،" نشریه پژوهش های زراعی ایران. ۱۱ (۱): ۳۰-۲۳.
۱۰. رضوان بیدختی، ش.، نظامی، ا.، کافی، م. و خزایی، ح.ر. (۱۳۹۰). "بررسی اثر تنش یخ زدگی بر میزان نشت الکترولیت ها در گیاه دارویی و صنعتی موسیر (*Allium altissimum* Regel.) تحت شرایط کنترل شده،" نشریه بوم شناسی کشاورزی. ۳ (۳): ۳۸۲-۳۷۱.
۱۱. نظامی، ا.، رضایی، ج. و علیزاده، ب. (۱۳۸۹). "ارزیابی تحمل به تنش سرما در چند گونه علف چمنی با استفاده از آزمون نشت الکترولیت ها،" نشریه آب و خاک. ۲۴ (۵): ۱۰۱۹-۱۰۲۶.

12. Ruelland, E., Vaultier., M., Zachowski, A, and Hurry, V.(2009), "Cold Signalling and Cold Acclimation in Plants," *Advances in Botanical Research*. 49. 35- 150.

۱۳. نظامی، ا.، رضوان بیدختی، ش، و سنجانی، س، (۱۳۹۵)، "واکنش گیاه زعفران (*Crocus sativus* L.) به تنش یخ زدگی در شرایط کنترل شده،" *مجله تنش های محیطی در علوم زراعی*. ۹ (۱): ۸۶-۷۵.

۱۴. بهی، م.، سفالیان، ا.، شکر پور، م.، اصغری، ع.، خماری، س، و فیروزی، ب، (۱۳۹۲)، "ارزیابی ارتباط بین مقاومت به یخ زدگی با نشانگرهای پروتئین های ذخیره ای و برخی صفات فیزیولوژی در جو زراعی (*Hordeum vulgare* L.)"، *به نژادی گیاهان زراعی و باغی*. ۱ (۱): ۱-۱۰.

15. Xuan, J., Liu, J., Gao, H., Hu, H, and Cheng, X. (2009), "Evaluation of low- temperature tolerance of *Zoysia* grass," *Tropical Grasslands*. 43. 118- 124.

16. Snape, J.W., Semokhoskii, A., Fish, L., Sarma, R.N., Quarrie, S.A., Galiba, G, and Sutka, J. (1997), "Mapping frost tolerance loci in wheat and comparative mapping with other cereals," *Acta Agronomica Hungarica*. 45. 265- 270.