تنش‌های محیطی در علوم زراعی
Environmental Stresses in Crop Sciences
جلد دهم، شماره اول، بهار ۱۳۹۶
۱۵۱-۱۶۲
http://dx.doi.org/10.22077/escs.2017.538

تأثیر اکوتیپ و تاریخ کاشت بر تحمل به تنش یخ‌زدگی در گیاه دارویی سیر (*Allium sativum* L.) تحت شرایط کنترل‌شده

صفیه پذیره[1]، احمد نظامی[2*] ، محمد کافی[2]، مرتضی گلدانی[2]
۱. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد.
۲. اعضای هیئت‌علمی گروه زراعت و اصلاح نبات دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد.

تاریخ دریافت: ۹۴/۰۲/۱۸؛ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۲/۱۸

چکیده

دمای پایین ازجمله عوامل محیطی است که تأثیر زیادی بر رشد و بقای گیاه سیر دارد. به‌منظور ارزیابی واکنش اکوتیپ‌های سیر به تنش یخ‌زدگی با استفاده از شاخص نشت الکترولیت‌ها، آزمایشی در سال ۱۳۹۱ در دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار اجرا شد. فاکتورهای آزمایشی شامل دو تاریخ کاشت (۲۸ شهریور و ۳۰ مهر) و چهار اکوتیپ سیر (بجنورد، تربت‌حیدریه، خواف و نیشابور) بودند. گیاهان پس از رشد و خوسرمایی در شرایط طبیعی، در معرض هشت دمای یخ‌زدگی (دمای صفر (شاهد)، ۳-، ۶-، ۹-، ۱۲-، ۱۵-، ۱۸- و ۲۱- درجه سانتی‌گراد) در شرایط کنترل‌شده قرار گرفتند. پس از اعمال تنش یخ‌زدگی درصد نشت الکترولیت‌ها و سپس دمای کشنده ۵۰ درصد نمونه‌ها بر اساس درصد نشت الکترولیت‌ها تعیین شد. درصد بقای آن‌ها نیز پس از اعمال تنش یخ‌زدگی و ۲۱ روز رشد در گلخانه ارزیابی شد. با کاهش دمای یخ‌زدگی، نشت الکترولیت‌ها از سلول‌های برگ به‌طور معنی‌داری ($p\leq0.05$) افزایش یافت. درصد نشت الکترولیت‌ها در تاریخ کاشت دوم در مقایسه با تاریخ کاشت اول، تقریباً هفت درصد کمتر بود و دمای کشنده ۵۰ درصد نمونه‌ها بر اساس درصد نشت الکترولیت‌ها نیز در تاریخ کاشت دوم حدود یک درجه سانتی‌گراد کمتر از تاریخ کاشت اول بود. تمامی اکوتیپ‌های سیر در تاریخ کاشت مهرماه درصد نشت الکترولیت‌های کمتری نسبت به تاریخ کاشت شهریورماه داشتند، اما درصد کاهش در صفت مذکور برای اکوتیپ‌های خواف و نیشابور نسبت به اکوتیپ‌های بجنورد و تربت‌حیدریه بیشتر بود. اثر متقابل دمای یخ‌زدگی و تاریخ کاشت بر درصد نشت الکترولیت‌ها معنی‌دار ($p\leq0.05$) شد، به‌طوری‌که صفت مذکور در تاریخ کاشت اول در دمای ۲۱- درجه سانتی‌گراد ۱۷ درصد بیشتر از تاریخ کاشت دوم بود. اثر متقابل اکوتیپ و دمای یخ‌زدگی بر درصد نشت الکترولیت‌ها معنی‌دار ($p\leq0.05$) بود. درصد نشت الکترولیت‌ها در اکوتیپ‌های بجنورد و تربت‌حیدریه تا دمای ۱۵- درجه سانتی‌گراد تقریباً ثابت بود، اما اکوتیپ بجنورد در دمای ۲۱- درجه سانتی‌گراد نسبت به تیمار شاهد بیشترین درصد نشت الکترولیت‌ها را نسبت به سایر اکوتیپ‌ها دارا بود. در این آزمایش همبستگی منفی و معنی‌داری ($r=-0/70^*$) بین درصد نشت الکترولیت‌ها و درصد بقاء وجود داشت. این موضوع نشان‌دهنده کارایی و امکان جایگزینی هر یک از شاخص‌های مذکور در ارزیابی تحمل به تنش یخ‌زدگی سیر است، اما با توجه به سریع‌تر بودن روش نشت الکترولیت‌ها نسبت به ارزیابی بقاء، استفاده از آن مفید می‌باشد. تداوم این مطالعات برای شناسایی اکوتیپ‌های متحمل به سرمای سیر و واکنش خصوصیات رشدی و عملکرد آن‌ها به تنش سرما در شرایط کنترل‌شده و مزرعه ضروری به نظر می‌رسد.

واژه‌های کلیدی: تنش سرما، خوسرمایی، دمای ۵۰ درصد کشندگی، درصد بقاء، نشت الکترولیت‌ها.

مقدمه

سیر (*Allium sativum* L.) گیاهی تک‌لپه، علفی و یک‌ساله از خانواده Alliaceae می‌باشد (Brewester, 1994). برخی از محققان منشأ این گیاه را آسیای مرکزی (نزدیک مغولستان یا افغانستان) می‌دانند که توسط مهاجرین اولیه به شرق اروپا و آسیا منتقل شده است (Mollafilabi et al., 2005). سیر به‌صورت خام یا فرآوری

* نگارنده پاسخگو: احمد نظامی. پست الکترونیک: Nezami@um.ac.ir.

شده در طب سنتی یا مدرن صنعتی مورداستفاده و بهره‌برداری قرار می‌گیرد (Ghaderifar et al., 2011) به‌طوری‌که استفاده از آن برای کاهش کلسترول، تنظیم فشارخون، درمان ناراحتی‌های قلبی و عروقی و سرماخوردگی توصیه شده است (Shaidul Haque et al., 2002). سطح زیر کشت جهانی سیر حدود یک‌میلیون و ۴۶۵ هزار هکتار است و میانگین عملکرد آن نیز بیش از ۱۶ تن در هکتار ذکر شده است. در ایران سطح زیر کشت این گیاه ده هزار هکتار و عملکرد آن (۹ تن در هکتار) کمی بیشتر از ۵۰ درصد عملکرد جهانی می‌باشد (FAO, 2012).

باوجوداینکه کشور ما در گذشته به‌عنوان یکی از بزرگ‌ترین صادرکنندگان این گیاه در دنیا مطرح بوده است و سازگاری بالایی برای کاشت این گیاه در اکثر مناطق معتدل و خنک ایران را دارد، اما امروزه سایر کشورهای جهان با تولید بالا و ارائه به‌موقع این محصول به بازار جزء صادرکنندگان مهم آن می‌باشند (Omid Beygi, 1995). به نظر می‌رسد که عملکرد کم، قیمت پایین، نبود صنایع تبدیلی و واردات گسترده سیر از مهم‌ترین عوامل کاهش سطح زیر کشت این گیاه در کشور می‌باشد، ضمن اینکه عواملی مانند استفاده از سیرچه‌های بذری نامناسب، کشت بهاره آن و کمبود آب نیز ازجمله دلایل کاهش عملکرد سیر ذکر شده است (Abedi et al., 2008). کمبود آب و گرمای اواخر بهار و تابستان ازجمله دلایل عمده کاهش عملکرد برخی از محصولات زراعی در بهار می‌باشد، درحالی‌که برخی بررسی‌ها نشان داده است که در کاشت پاییزه به دلیل دوره رشد مناسب گیاهان (متحمل به سرما) و قرار گرفتن مراحل رشدی آن‌ها در شرایط رطوبتی بهتر و فرار از گرما (Kafi et al., 2000) عملکرد گیاه افزایش یافته است. در حقیقت با انتخاب تاریخ کاشت مطلوب می‌توان مراحل فنولوژی گیاه را با شرایط محیطی مناسب هر منطقه تطابق داد و از کاهش عملکرد جلوگیری کرد. در برخی از مناطق معتدله دنیا کشت پاییزه سیر رایج است و شواهدی مبنی بر بیشتر بودن عملکرد گیاه در کشت پاییزه نسبت به کشت بهاره آن ارائه شده است (Orlowski et al., 1994; Schmitz and Waterer, 1994). در ایران نیز برخی مطالعات نشان داده است که تاریخ کاشت مناسب سیر برای مناطق سردسیر کشور نظیر همدان ۳۰ مهرماه است (Khodadadi and Nosrati, 2011)، ولی ممکن است گاهی اوقات کاشت آن تا مدت‌های طولانی به تأخیر بیافتد و حتی شواهدی مبنی بر کاهش شدید عملکرد آن در کاشت بهاره نیز وجود دارد (Abedi et al., 2008).

هرچند سیر گیاهی است که تحمل نسبتاً زیادی به سرمای زمستانه داشته و می‌تواند دوره‌های طولانی سرمای زیر صفر را تحمل کند (Peyvast, 2000)، اما سرمای شدید پاییز و زمستان در مناطق مرتفع ازجمله عوامل مهم محیطی است که محدودکننده رشد و بقای گیاهان می‌باشد (Thomashow, 1999). ازاین‌رو به نظر می‌رسد که یکی از عوامل مهم موفقیت کاشت پاییزه گیاهان، شناسایی اکوتیپ‌های متحمل به سرما در این مناطق می‌باشد. برای ارزیابی و شناسایی گیاهان متحمل به سرما و جهت پرهیز از بعضی محدودیت‌های اجتناب‌ناپذیر در ارزیابی‌های مزرعه‌ای، انواع آزمون‌های یخبندان مصنوعی ابداع شده است (Arboui and Link, 2008). آزمون نشت الکترولیت‌ها یکی از این روش‌ها است که بسیار ساده، قابل تکرار، ارزان، کمّی و نسبتاً سریع می‌باشد و درجه آسیب غشای سلولی ناشی از اثر تنش را تعیین می‌کند (Arvin and Donnelly, 2008). به‌طورکلی هنگامی‌که بافت‌های گیاه در اثر سرما آسیب می‌بینند فعالیت غشاء مختل شده و الکترولیت‌های داخل سلول به خارج آن نشت می‌کنند (Hana and Bischofa, 2004). در همین راستا محققان (Campos et al., 2003; Uosofi, 2008) گزارش کرده‌اند که تنش سرما موجب افزایش نشت الکترولیت‌ها شده و از این صفت به‌عنوان ملاک ارزیابی تحمل به یخزدگی استفاده نموده‌اند. همچنین دمایی که سبب ۵۰ درصد نشت الکترولیت‌ها از سلول‌های گیاهی می‌شود به‌عنوان دمای ۵۰ درصد کشندگی و آستانه خسارت مورداستفاده قرار گرفته است (Vanae et al., 2012; Xuan et al., 2009).

تاکنون در پژوهش‌های مختلفی تحمل به تنش یخزدگی در طیف وسیعی از گیاهان با استفاده از شاخص نشت الکترولیت‌ها مورد ارزیابی قرار گرفته است. در تحقیقی ارزیابی میزان تحمل گیاه نارنج (*Citrus aurantifolia* L.) به تنش یخزدگی نشان داد درصد نشت الکترولیت‌ها در برگ‌هایی که در دماهای ۴-، ۶- و ۸- درجه سانتی‌گراد قرار داشتند، به‌طور معنی‌داری ($p\leq0.05$) بیشتر از دمای ۲- درجه سانتی‌گراد بود (Baghbanha et al., 2007). در تحقیق انجام‌شده بر روی شش رقم (شامل پنج رقم پاییزه به نام‌های K. W. 16، K. W. 6، K. W. 3، زرقان ۲۷۹ و لاین ۲۹۵ و یک رقم بهاره- پاییزه به نام IL- 111) گلرنگ

(*Cartamus tinctorius* L.) نیز مشاهده شد باوجوداینکه کاهش دما به کمتر از ۴- درجه سانتی‌گراد سبب افزایش درصد نشت الکترولیت‌ها در همه نمونه‌های موردبررسی گردید، ولی شیب منحنی درصد نشت الکترولیت‌ها در لاین ۲۷۵ و زرقان ۲۷۹ زودتر شروع شد و در دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد به حداکثر رسید اما در سایر ارقام حداکثر درصد نشت الکترولیت‌ها در دمای ۱۶- سانتی‌گراد مشاهده شد (Nezami and Naghedinia, 2011). گیاهان در تاریخ‌های کاشت مختلف، واکنش‌های متفاوتی نسبت به تنش سرما از خود نشان می‌دهند. نتایج آزمایشی بر روی رازیانه (*Foeniculum vulgare*) نشان داد که هرچند درصد نشت الکترولیت‌ها در هر دو تاریخ کاشت (۱۶ مهر و ۷ آبان) با کاهش دماهای یخزدگی در اندام‌های ریشه، برگ و طوقه افزایش یافت ولی این افزایش در تاریخ کاشت اول بیشتر بوده است (Nezami et al., 2010). افزون بر این به نظر می‌رسد که افزایش رشد گیاه و پیشرفت به سمت مراحل رویشی بالاتر، منجر به کاهش تحمل به سرما در گیاهان می‌شود. در همین راستا در پژوهشی بر روی تحمل به یخزدگی نخود سیاه (*Ciecer arietinum* L.) نیز گیاهان در مراحل پیشرفته رشد رویشی حساسیت بیشتری به سرما داشتند (Maleki Farahani and Chaichi, 2008).

هرچند سیر در برخی مناطق معتدله ایران در پاییز کشت می‌شود، ولی در مورد تحمل به سرمای اکوتیپ‌های رایج آن در استان‌های خراسان اطلاعات چندانی وجود ندارد، لذا آزمایش حاضر باهدف بررسی اثر تنش سرما بر ثبات و پایداری غشا سلولی و درصد بقای تعدادی از اکوتیپ‌های سیر تحت شرایط کنترل‌شده طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در پاییز سال ۱۳۹۱ به‌صورت آزمایش فاکتوریل و در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با چهار تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد اجرا شد. فاکتورهای آزمایشی شامل دو تاریخ کاشت (۲۸ شهریور و ۳۰ مهر)، چهار اکوتیپ سیر (بجنورد، تربت‌حیدریه، خواف و نیشابور)، همراه با هشت تیمار دمایی (شامل دماهای صفر، ۳-، ۶-، ۹-، ۱۲-، ۱۵-، ۱۸- و ۲۱- درجه سانتی‌گراد) بودند. ابتدا سیرچه‌هایی با قطر ۱۰-۸ میلی‌متر از پیازهای سالم و مطلوب جداشده و سپس در گلدان‌های پلاستیکی (حاوی نسبت برابری از خاک، ماسه و خاک‌برگ) با قطر ۱۲ سانتی‌متر در عمق پنج سانتی‌متری خاک کشت شدند. به‌منظور ایجاد خوسرمایی، گیاهچه‌ها در خارج گلخانه (با شرایط طبیعی) رشد کردند. در طول دوره خوسرمایی و در شب‌هایی که دما به کمتر از صفر درجه سانتی‌گراد می‌رسید (شکل ۱) گیاهان به شاسی سردی انتقال داده می‌شدند که دمای حداقل آن بالاتر از صفر درجه سانتی‌گراد بود.

در اوایل بهمن‌ماه گیاهان در معرض دماهای یخزدگی قرار داده شدند. به این منظور گلدان‌ها، ۲۴ ساعت قبل از اعمال سرما، آبیاری و سپس به فریزر ترموگرادیان منتقل شدند. دمای فریزر در شروع آزمایش پنج درجه سانتی‌گراد بود و پس از قرار دادن نمونه‌ها با سرعت دو درجه سانتی‌گراد در ساعت کاهش یافت. به‌منظور ایجاد هستک یخ در گیاهچه‌ها، بر روی گیاهان در دمای ۳- درجه سانتی‌گراد محلول INAB[1] پاشیده شد و پس‌ازآن دما با سرعت دو درجه سانتی‌گراد در ساعت کاهش یافت. به‌منظور ایجاد تعادل در دمای محیط، گیاهان به مدت یک ساعت در دمای موردنظر نگه داشته شده و سپس از فریزر خارج شدند. در مرحله بعد و برای کاهش سرعت ذوب یخ در گیاه، نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت به اتاقک سرد گلخانه با دمای ۲±۵ درجه سانتی‌گراد منتقل و نگه‌داری شدند.

به‌منظور اندازه‌گیری درصد نشت الکترولیت‌ها، روز بعد از اعمال تنش یخزدگی، پنج قطعه از برگ (هرکدام به‌اندازه سه تا پنج سانتی‌متر) گیاهچه‌های مربوط به هر تیمار جدا و با آب مقطر شسته شده و سپس در ویال‌های حاوی ۷۵ میلی‌لیتر آب دو بار مقطر قرار گرفتند. ویال‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای آزمایشگاه قرار گرفته و سپس هدایت الکتریکی اولیه (EC_1)[2] هر نمونه با دستگاه EC متر مدل *Jenway* اندازه‌گیری گردید. به‌منظور اندازه‌گیری میزان کل نشت الکترولیت‌ها در اثر مرگ سلول، ویال‌های حاوی نمونه‌های گیاهی در اتوکلاو با دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۲ بار به مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شد و مجدداً پس از ۲۴ ساعت قرار گرفتن در آزمایشگاه هدایت الکتریکی نمونه‌ها ثبت گردید (EC_2). درصد نشت الکترولیت (EL)[3] با استفاده از معادله (۱) محاسبه شد:

[1]- Ice nucleation active bacteria
[2]- Electrical conductivity
[3]-Electrolyte leakage

$$EL\% = \frac{EC1}{EC2} \times 100 \qquad [۱]$$

برای تعیین درصد بقا، گیاهان پس از اعمال تنش یخزدگی به گلخانه منتقل شده و پس از ۲۱ روز صفت مذکور با استفاده از معادله (۲) تعیین شد:

$$SU\% = \frac{A}{B} \times 100 \qquad [۲]$$

که در آن A، B و SU%[1] به ترتیب تعداد بوته بعد و قبل از اعمال تنش یخزدگی و درصد بقاء می‌باشند.

جهت محاسبه دمای ۵۰ درصد کشندگی بر اساس درصد نشت الکترولیت‌ها از معادله ۲ استفاده شد.

$$ELP = ELi + \{(ELm - ELi)|(1 + e^{-B(T-Tm)})\} \qquad [۳]$$

که در آن ELp: مقدار نشت الکترولیت پیش‌بینی‌شده، ELi: حداقل مقدار نشت الکترولیت‌ها در دماهای موردبررسی، ELm: حداکثر مقدار نشت الکترولیت‌ها در دماهای موردمطالعه، B: سرعت افزایش شیب منحنی، T: دما، Tm: نقطه عطف منحنی که عبارت است از نقطه میانی بین بخش پایینی و بالایی منحنی نشت الکترولیت‌ها و نشان‌دهنده خروج ۵۰ درصد الکترولیت‌ها از سلول (LT_{50el})[2] می‌باشد (Cardona et al., 1997).

تجزیه‌وتحلیل داده‌ها به‌صورت فاکتوریل با استفاده از نرم‌افزارMinitab16 انجام شد و رسم شکل‌های مربوطه نیز توسط نرم‌افزار Excel و Slide write صورت گرفت. برای مقایسه میانگین‌ها نیز از آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

درصد نشت الکترولیت‌ها از برگ اکوتیپ‌های سیر به‌صورت معنی‌داری تحت تأثیر تاریخ کاشت قرار گرفت ($p\leq0.05$)، به‌طوری‌که مقدار آن در کاشت اول حدود ۷ درصد بیشتر از کاشت دوم بود (جدول ۱). اکوتیپ‌های موردبررسی نیز دارای تفاوت معنی‌داری ازنظر درصد نشت الکترولیت‌ها بودند ($p\leq0.05$)، به‌طوری‌که اکوتیپ نیشابور و تربت‌حیدریه به ترتیب از بیشترین و کمترین نشت برخوردار بودند (جدول ۱). یامادا و همکاران (Yamada et al., 2004) در آزمایشی بر روی گیاه چچم (*Lolium temulentum*) برای اندازه‌گیری نشت یونی گیاهان تحت تنش سرما گزارش نمودند که ژنوتیپ‌های حساس از نشت یونی بالایی برخوردار می‌باشند. بررسی‌ها نشان داده است که مقدار نشت الکترولیتی ارقام مختلف در پاسخ به تنش یخزدگی، یکسان نیست و اندازه‌گیری درصد نشت الکترولیت‌ها از بافت‌های گیاهی می‌تواند به‌عنوان یک روش مناسب برای ارزیابی اثر تنش بر ژنوتیپ‌های مختلف گیاهان مورداستفاده قرار بگیرد (Linden, 2002; Hana and Bischofa, 2004)؛ بنابراین انتظار می‌رود درصد نشت الکترولیت‌های کمتر نشان‌دهنده تحمل به سرمای مناسب‌تر در گیاهان باشد.

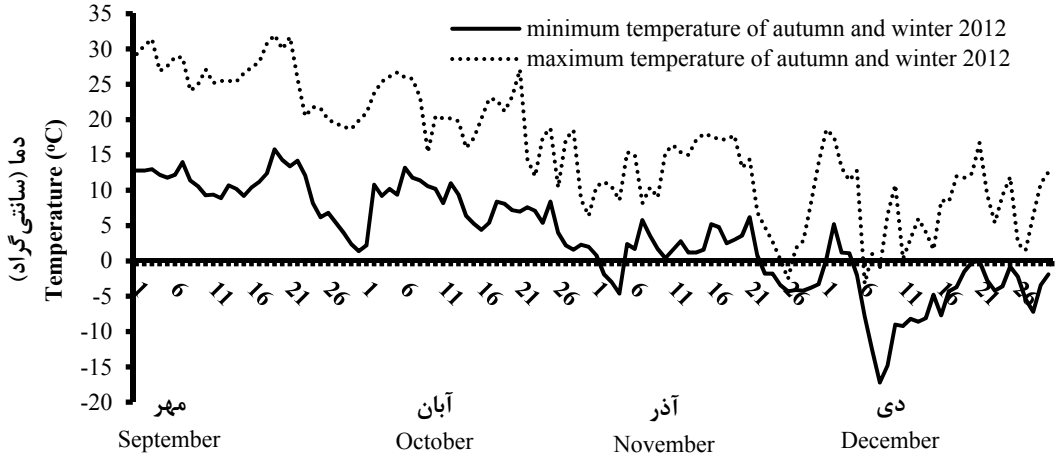
دمای یخزدگی اثر معنی‌داری ($p\leq0.05$) بر درصد نشت الکترولیت‌ها داشت و با کاهش دما به کمتر از ۱۵- درجه سانتی‌گراد میزان نشت الکترولیت‌ها افزایش یافت، به صورتی که درصد نشت الکترولیت‌ها در دمای ۱۸- و ۲۱- درجه سانتی‌گراد به ترتیب ۷۰ و ۷۳ درصد بیشتر از دمای صفر درجه سانتی‌گراد بود (جدول ۱). بررسی تحمل به یخزدگی موسیر (*Allium altissimum* Regel) نیز نشان داده است که با کاهش دما، نشت الکترولیت‌ها افزایش می‌یابد (Rezwan Bidokhti et al., 2011). این موضوع بیانگر این است که در اثر تنش یخزدگی، انسجام و فعالیت غشاء سلولی مختل شده و درنتیجه باعث نشت مواد از داخل سلول‌ها گردیده است.

اثر تاریخ کاشت بر درصد نشت الکترولیت‌ها از اکوتیپ‌های سیر به‌طور معنی‌داری ($p\leq0.05$) متفاوت بود. باوجوداینکه درصد نشت الکترولیت‌ها در هر چهار اکوتیپ سیر در کاشت دوم نسبت به کاشت اول کاهش یافت، ولی بیشترین کاهش در اکوتیپ خواف (۱۱/۳ درصد) مشاهده شد، درصورتی‌که در اکوتیپ تربت‌حیدریه این کاهش ۱/۱ درصد بود (شکل ۲). در بررسی نظامی و همکاران (Nezami et al., 2010) بر روی دو اکوتیپ رازیانه (خراسان و کرمان) نیز مشاهده شد که درصد نشت الکترولیت‌ها در برگ اکوتیپ خراسان در کاشت اول بیشتر از کاشت دوم بود، درحالی‌که در اکوتیپ کرمان درصد نشت الکترولیت‌ها در کاشت دوم افزایش یافت.

---

[1]-Survival percentage

[2]- Lethal Temperature 50% of plants according to the electrolyte leakage percentage



شکل ۱. دماهای حداقل و حداکثر (درجه سانتی‌گراد) روزانه طی پاییز و زمستان سال ۱۳۹۱.

Fig. 1. Daily minimum and maximum temperatures (ºC) during autumn and winter, 2012.

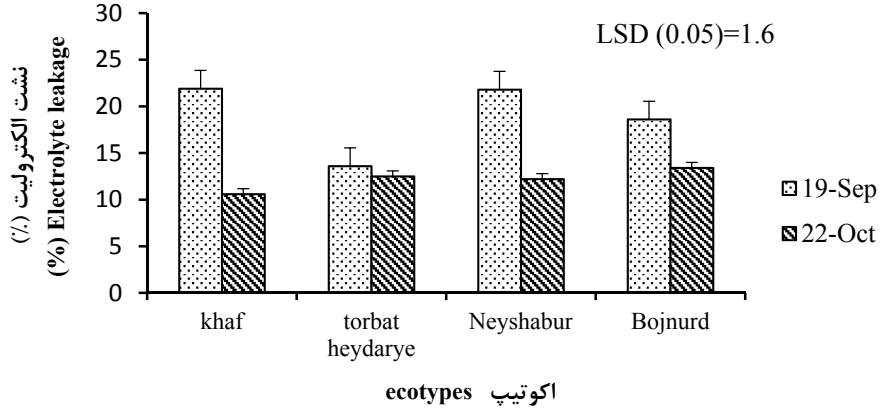
جدول ۱. اثر تاریخ کاشت، اکوتیپ و دماهای یخزدگی بر درصد نشت الکترولیت‌ها از برگ سیر پس از اعمال تنش یخزدگی تحت شرایط کنترل‌شده.

Table 1 Effect of planting date, ecotype and freezing temperatures on electrolyte leakage percentage from garlic plant after freezing in controlled conditions.

Treatment	تیمار	نشت الکترولیت (٪) Electrolyte Leakage (%)
Planting date	**تاریخ کاشت**	
19 September	۲۸ شهریور	19.0
22 October	۳۰ مهر	12.2
LSD (0.05)		0.82
Ecotype	**اکوتیپ**	
Bojnurd	بجنورد	16.6
Torbat-heydarye	تربت‌حیدریه	13.0
Neyshabur	نیشابور	17.0
Khaf	خواف	16.2
LSD (0.05)		1.1
Freezing temperature	**دماهای یخزدگی**	
0	0	8.6
-3	-3	6.2
-6	-6	9.8
-9	-9	9.0
-12	-12	10.2
-15	-15	11.3
-18	-18	28.9
-21	-21	40.4
LSD (0.05)		1.6

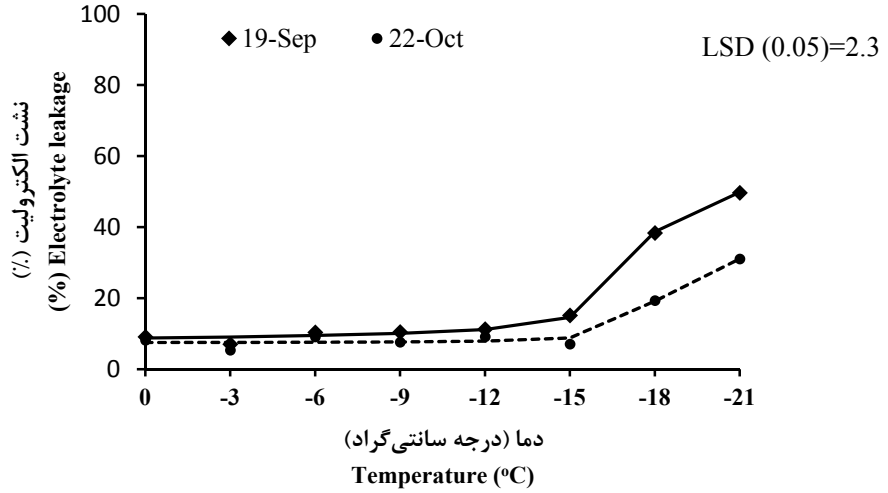
درصد نشت الکترولیت‌ها به‌طور معنی‌داری ($p \leq 0.05$) تحت تأثیر اثر متقابل تاریخ کاشت و دما قرار گرفت. هرچند در هر دو تاریخ کاشت نشت الکترولیت‌ها تا دمای ۱۵- درجه سانتی‌گراد تقریباً ثابت بود و در دماهای کمتر از آن روندی افزایشی داشت، اما این افزایش در گیاهان کاشت اول نسبت به گیاهان کاشت دوم بیشتر بود، به‌طوری‌که با

کاهش دما از ۱۵- درجه سانتی‌گراد به ۲۱- درجه سانتی‌گراد درصد نشت الکترولیت‌ها در گیاهان کاشت اول و دوم به ترتیب حدود ۳۴ و ۲۴ درصد افزایش داشت (شکل ۳). درواقع درصد نشت الکترولیت‌ها در تاریخ کاشت اول در دمای مذکور، ۱۰ درصد بیشتر از کاشت دوم بود. یکی از دلایل احتمالی افزایش درصد نشت در گیاهان کاشت اول می‌تواند به دلیل تأثیر تاریخ کاشت بر رشد بوته‌ها و اندازه آن‌ها باشد. همچنین در زمان اعمال تنش یخزدگی غالب گیاهان کاشته شده در شهریورماه، در مرحله ۴ برگی و غالب گیاهان کشت‌شده در مهرماه در مرحله ۲ برگی بودند. هرچند که گیاهان کاشت اول مدت بیشتری تحت شرایط طبیعی و درنتیجه خوسرمایی قرار داشتند اما درصد نشت الکترولیت در آن‌ها بیشتر بود. این موضوع ممکن است به دلیل ذخیره غذایی بیشتر گیاهان کاشت دوم باشد. وقتی‌که این گیاهان در مرحله رشدی پایین‌تری نسبت به کاشت شهریور باشند درنتیجه مواد غذایی کمتری از سیرچه‌های داخل خاک مصرف‌شده و در هنگام اعمال تنش از ذخایر غذایی بیشتری برخوردار بوده‌اند.



شکل ۲. اثر متقابل تاریخ کاشت و اکوتیپ بر درصد نشت الکترولیت‌ها از گیاه سیر پس از اعمال تنش یخزدگی تحت شرایط کنترل‌شده.

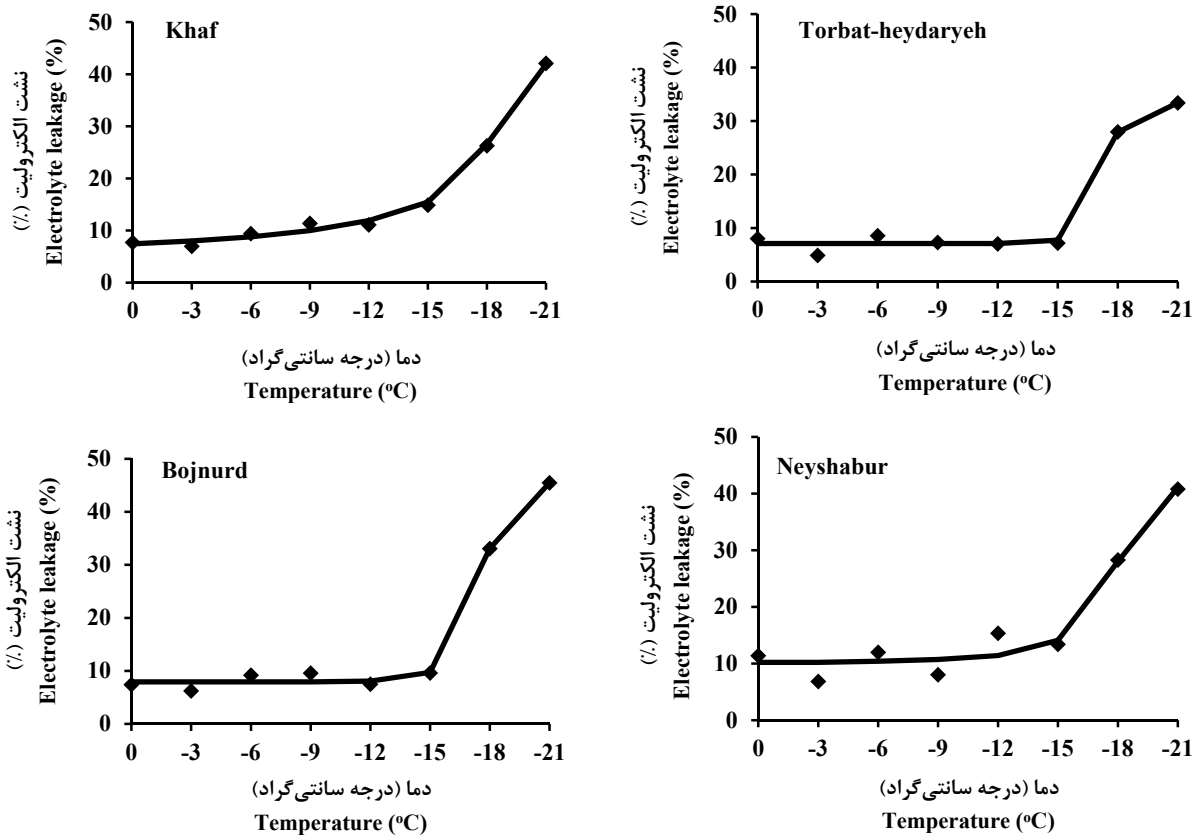
Fig. 2. Intraction of planting date and ecotype on percentage electrolyte leakage from garlic plant after freezing in controlled conditions.



شکل ۳. اثر متقابل تاریخ کاشت و دماهای یخزدگی بر درصد نشت الکترولیت‌ها از گیاه سیر پس از اعمال تنش یخزدگی تحت شرایط کنترل‌شده.

Fig. 3. Interaction of planting date and freezing temperatures on percentage electrolyte leakage from garlic plant after freezing in controlled conditions.

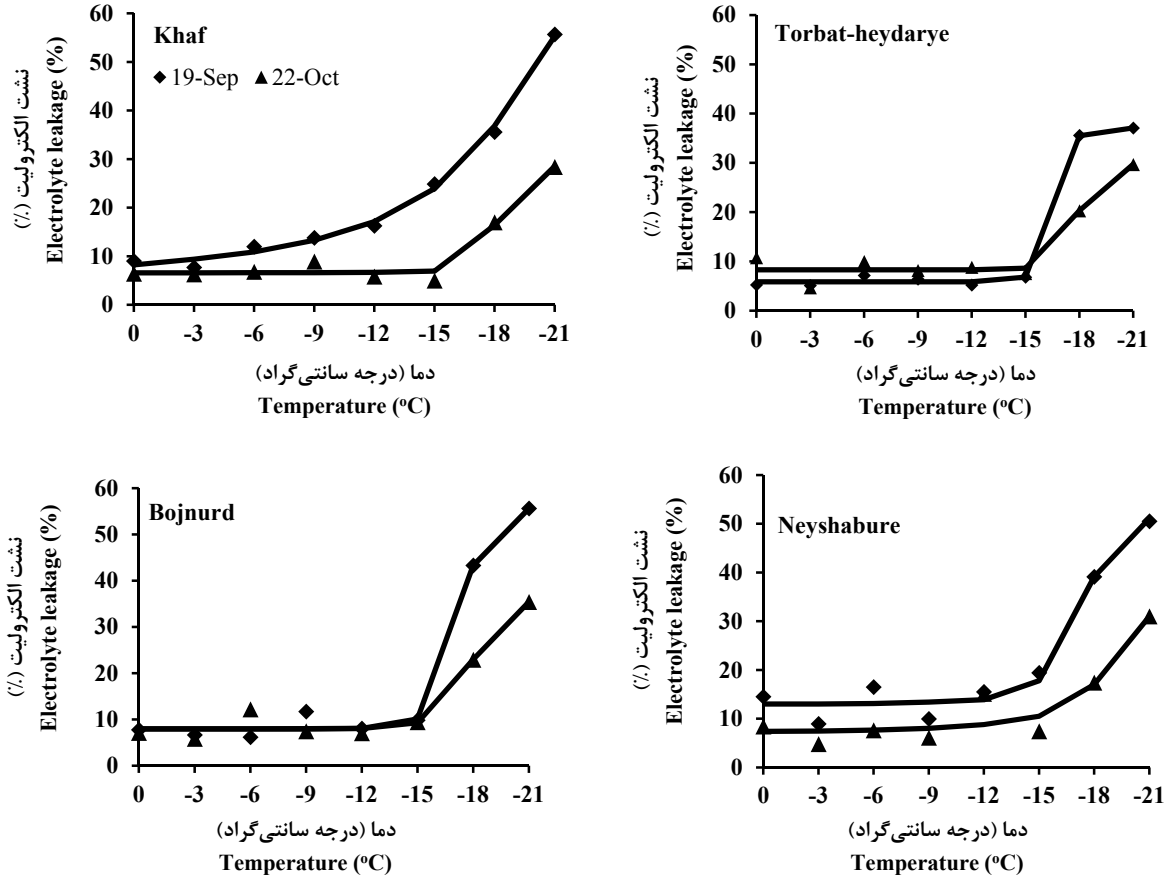
درصد نشت الکترولیت‌ها تحت تأثیر دماهای یخزدگی در اکوتیپ‌های سیر نیز معنی‌دار ($p \leq 0.05$) بود. اگرچه با کاهش دما از ۱۵- درجه سانتی‌گراد درصد نشت الکترولیت‌ها در هر چهار اکوتیپ افزایش یافت، اما این افزایش در اکوتیپ‌های بجنورد و خواف شدیدتر از دو اکوتیپ دیگر بود. اکوتیپ تربت‌حیدریه نیز در این شرایط از کمترین درصد نشت الکترولیت‌ها نسبت به سه اکوتیپ دیگر برخوردار بود (شکل ۴)؛ اما در دماهای بالاتر از ۱۵- درجه سانتی‌گراد دو اکوتیپ بجنورد و تربت‌حیدریه از درصد نشت کمتری برخوردار بودند. در مطالعه ایوگنیا و همکاران (Eugenia et al., 2003) نیز کاهش دما سبب افزایش نشت الکترولیت‌ها در ارقام گیاه شبدر (*Trifolium hirtum*) شد. باوجوداین و هرچند که در دمای ۱۰- درجه سانتی‌گراد افزایش شدیدی در درصد نشت الکترولیت هر سه رقم شبدر مشاهده شد، اما این افزایش در رقم Overton R18 کمتر بود. ازآنجایی‌که اکوتیپ‌های بجنورد و تربت‌حیدریه دارای برگ‌های جوان‌تری نسبت به دو اکوتیپ دیگر بودند لذا به نظر می‌رسد برگ‌های جوان‌تر نسبت به برگ‌های مسن تحمل بیشتری نسبت به دمای پایین داشته‌اند که این مطلب توسط محققان دیگر نیز (Eugenia et al., 2003) گزارش شده است.



شکل ۴. اثر متقابل اکوتیپ و دماهای یخزدگی بر درصد نشت الکترولیت‌ها از گیاه سیر پس از اعمال تنش یخزدگی تحت شرایط کنترل‌شده. مقدار حداقل تفاوت معنی‌دار ۳/۲ می‌باشد.

Fig. 4. Intraction of ecotype and freezing temperature on percentage electrolyte leakage from garlic plant after freezing in controlled conditions. LSD value is 3.2.

بررسی‌ها نشان داده است که شیب منحنی نشت الکترولیت‌ها در مقابل دماهای یخ‌زدگی در گیاهان متحمل به سرما کمتر از گیاهان حساس به سرما است. کاردونا و همکاران (Cardona et al., 1997) با بررسی نمودارهای برازش شده حاصل از نشت الکترولیت‌ها در سه اکوتیپ از گیاه پاسپالم (*Paspalum vaginatum* Swartz) روند تغییرات درصد نشت مواد را با کاهش دما به‌صورت سیگموئیدی گزارش کرده و شیب منحنی نشت الکترولیت‌ها را به‌عنوان یکی از مهم‌ترین نشانه‌های خسارت ناشی از تنش سرما در گیاه پیشنهاد کرده‌اند. در بررسی منحنی برازش داده‌شده نشت الکترولیت‌ها در ارقام کلزا (*Brassica napus*) مشاهده شد که شیب منحنی نشت الکترولیت برای کلیه ارقام موردبررسی در شرایط خوسرمایی نسبت به عدم خوسرمایی ملایم‌تر بوده است (Nezami et al., 2007). در این مطالعه افزایش شیب منحنی درصد نشت الکترولیت‌ها در اکوتیپ خواف زودتر از بقیه اکوتیپ‌ها و از دمای ۶- درجه سانتی‌گراد شروع شد، درحالی‌که در سایر اکوتیپ‌ها درصد نشت الکترولیت‌ها از دمای کمتری آغاز شد. در هر چهار اکوتیپ رسیدن به حداکثر نشت الکترولیت در دمای ۲۱- درجه سانتی‌گراد اتفاق افتاد بااین‌حال شیب منحنی در اکوتیپ تربت‌حیدریه ملایم‌تر بود و این وضعیت احتمالاً بیانگر تحمل بهتر اکوتیپ مذکور به تنش سرما می‌باشد (شکل ۴).



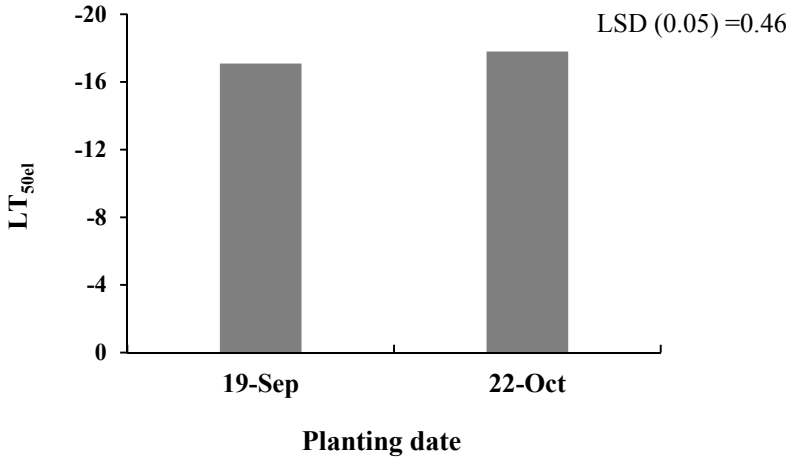
شکل ۵. اثر متقابل تاریخ کاشت، اکوتیپ و دماهای یخ‌زدگی بر درصد نشت الکترولیت‌ها از گیاه سیر پس از اعمال تنش یخ‌زدگی تحت شرایط کنترل‌شده. مقدار حداقل تفاوت معنی‌دار ۴/۶ می‌باشد.

Fig. 5. Intraction of planting date, ecotype and freezing temperature on percentage electrolyte leakage from garlic plant after freezing in controlled conditions. LSD value is 4.6.

اثر متقابل تاریخ کاشت، اکوتیپ و دماهای یخزدگی بر درصد نشت الکترولیت‌ها معنی‌دار ($p\leq0.05$) بود. درصد نشت الکترولیت‌ها در اکوتیپ‌های تربت‌حیدریه و بجنورد در هر دو تاریخ کاشت تا دمای ۱۵- درجه سانتی‌گراد ثابت بود و بعدازآن با کاهش دما افزایش داشت، درحالی‌که در اکوتیپ‌های خواف و نیشابور در کاشت اول کاهش دما به ترتیب از دمای ۶- و ۱۲- درجه سانتی‌گراد سبب افزایش درصد نشت الکترولیت‌ها شد. باوجوداین در دو اکوتیپ اخیر (خواف و نیشابور) در کاشت دوم تا دمای ۱۵- درجه درصد نشت الکترولیت‌ها نسبتاً ثابت بود و در دماهای پایین‌تر درصد نشت الکترولیت‌ها افزایش داشت. به نظر می‌رسد رشد بیشتر گیاه و پیشرفت به سمت مراحل رویشی بالاتر منجر به تحمل کمتر گیاهان کاشت اول شده باشد. این موضوع توسط سایر محققین نیز موردبررسی قرار گرفته است (Gusta et al., 1982; Nezami et al., 2010). با توجه به نتایج به نظر می‌رسد دو اکوتیپ بجنورد و تربت‌حیدریه در کاشت شهریورماه در شرایط سرما پایداری غشای بیشتری نشان داده‌اند (شکل ۵). درحالی‌که در هر چهار اکوتیپ تأخیر در کاشت سبب افزایش پایداری غشا برگ‌ها تا دمای ۱۵- درجه سانتی‌گراد شده است.

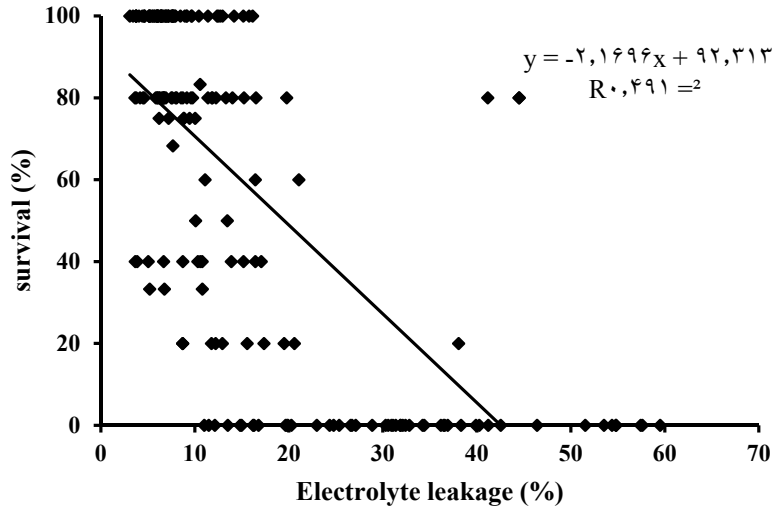
در این بررسی اثر اکوتیپ و همچنین اثر متقابل اکوتیپ و تاریخ کاشت بر دمای ۵۰ درصد کشندگی بر اساس درصد نشت الکترولیت‌ها معنی‌دار نبود اما تاریخ کاشت اثر معنی‌داری ($p\leq0.05$) بر آن داشت، به‌طوری‌که گیاهان کاشت دوم از LT_{50el} پایین‌تری نسبت به کاشت اول برخوردار بودند (شکل ۶). محققان دمایی را که سبب ۵۰ درصد نشت الکترولیت‌ها از بافت‌های گیاهی (دمای ۵۰ درصد کشندگی) می‌شود، به‌عنوان شاخصی برای ارزیابی میزان تحمل به سرما پیشنهاد کرده‌اند (Prasil et al., 2007; Javad Mousavi et al., 2011). بر اساس این شاخص، مقادیر کمتر دمای ۵۰ درصد کشندگی بر اساس نشت الکترولیت‌ها نشان‌دهنده تحمل به سرمای بیشتر می‌باشد. ازآنجایی‌که میزان این شاخص در کاشت مهرماه کمتر می‌باشد می‌توان نتیجه گرفت که کاشت زودتر سیر (۲۸ شهریورماه) احتمالاً سبب افزایش حساسیت گیاه به سرما شده است.

در این آزمایش همبستگی منفی و معنی‌داری بین درصد نشت الکترولیت‌ها و درصد بقاء (r=-۰/۷۰*) مشاهده شد (شکل ۷). به عبارتی با افزایش درصد نشت الکترولیت‌ها از درصد بقاء گیاهان کاسته شد. در بررسی دیگری نیز بین درصد نشت الکترولیت‌ها و درصد بقاء گیاه مینای چمنی (*Bellis perennis*) همبستگی منفی و بسیار معنی‌داری (r= -۰/۹۱*) گزارش شد (Javad Mousavi et al., 2011). همبستگی این دو پارامتر حاکی از این است که احتمالاً استفاده از شاخص نشت الکترولیت‌ها در تخمین تحمل به یخزدگی این گیاه از اعتبار مناسبی برخوردار است.



شکل ۶. اثر تاریخ کاشت بر دمای ۵۰ درصد کشندگی بر اساس درصد نشت الکترولیت‌ها در گیاه سیر.

Fig. 6. Effect of planting date on Lethal Temperature 50% according to the electrolyte leakage percentage in garlic plant.



شکل ۷. رابطه بین درصد بقا با درصد نشت الکترولیت‌ها در اکوتیپ‌های سیر.

Fig. 7. Relationship between survival percent with electrolyte leakage percentage in garlic ecotypes.

در تاریخ کاشت اول (۲۸ شهریور) درصد نشت الکترولیت‌های اکوتیپ‌های خواف و نیشابور به ترتیب با قرار گرفتن در معرض دماهای ۶- و ۹- درجه سانتی‌گراد روند افزایشی پیدا کرد، درصورتی‌که در دو اکوتیپ دیگر این وضعیت از دمای ۱۵- درجه سانتی‌گراد شروع شد. این در حالی بود که در کاشت دوم در هر چهار اکوتیپ این روند از دمای ۱۵- درجه سانتی‌گراد آغاز شد. عکس‌العمل متفاوت اکوتیپ‌ها به تنش یخ‌زدگی به‌ویژه در کاشت اول احتمالاً به دلیل خصوصیات ژنتیکی و منشأ جغرافیایی آن‌ها می‌باشد. مرحله رشدی نیز در تحمل به سرمای گیاهان مؤثر بود، به‌طوری‌که اکوتیپ‌های خواف و نیشابور در مراحل رشدی پایین‌تر (گیاهان کاشت دوم) تحمل به یخ‌زدگی بالاتری نسبت به مراحل رویشی پیشرفته از خود نشان دادند و لذا به نظر می‌رسد که دو اکوتیپ مذکور در کاشت دیرتر تحمل به سرمای بیشتری نسبت به کاشت اول دارند. درصورتی‌که دو اکوتیپ تربت‌حیدریه و بجنورد در هر دو تاریخ کاشت ازنظر تحمل به سرما واکنش مشابهی را نشان دادند. بین درصد نشت الکترولیت‌ها و بقاء گیاهان نیز همبستگی معنی‌داری مشاهده شد که نشان‌دهنده سودمندی شاخص نشت الکترولیت‌ها در ارزیابی تحمل به یخ‌زدگی سیر می‌باشد. درمجموع اکوتیپ‌های تربت‌حیدریه و بجنورد ازنظر پایداری غشا تحت تنش سرما در هر دو کاشت پاییزه واکنش مناسب‌تری نشان دادند، باوجوداین تداوم این مطالعات در شرایط کنترل‌شده و مزرعه اطلاعات بیشتری را در خصوص مکانیسم تحمل به سرمای این گیاه در شرایط زمستان واقعی فراهم خواهد ساخت.

منابع

Arvin, M.J., Donnelly, D.J., 2008. Screening potato cultivars and wild species to abiotic stresses using an electrolyte leakage bioassay. Journal of Agriculture Science and Technology. 10, 33-42.

Baghbanha, M. R., Ghazvini, R., Hatam Zadeh, A., Heydari, M., 2007. Effect of salicylic acid on freezing tolerance of Mexican lime seedlings (*Citrus aurantifolia* L.). Iranian

Abdolvahabi, Abedi, M., Bayat, F., Nosrati, A., 2008. Garlic cultivation. Journal of Sabzineh, 3(25), 21-23. [In Persian].

Arbaoui, M., Link, W., 2008. Effect of hardening on frost tolerance and fatty acid composition of leaves and stems of a set of faba bean (*Vicia faba* L.) genotypes. Euphytica.162, 211–219.

Journal of Horticultural Science and Technology. 8(3), 185-198. [In Persian with English Summary].

Brewester, J.L., 1994. Onion and other vegetable: Alliums. University Press Cambridge. 236p.

Campos, P.S., Quartin, V., Ramalho, J.C., Nunes, M.A., 2003. Electrolyte leakage and lipid degradation account for cold sensitivity in leaves of *Coffea* sp. plants. Journal of Plant Physiology. 160, 283-292.

Cardona, C.A., Duncan, R.R., Lindstrom, O., 1997. Low temperature tolerance assessment in paspalum. Crop Science. 37, 1283-1291.

Eugenia, M., Nunes, S., Ray Smith, G., 2003. Electrolyte leakage assay capable of quantifying freezing resistance in rose clover. Crop Science. 43, 1349-1357.

FAO STAT. 2012. http://faostat.fao.org./ site/340/default. aspx.

Ghaderifar, F., Akbarpour, W., Khavari, F., Ehteshamnia, A., 2012. Determination of salinity tolerance threshold in six medicinal plants. Journal of Plant Production. 18(4), 15-24. [In Persian with English Summary].

Gusta, L.V., Fowler, D.B., Tyler, N.J., 1982. Factors influencing hardening and survival in winter wheat. In: Plant cold hardiness and freezing stress mechanisms and crop implications. Vol. 2, Li P.H. and Sakai A. (Eds.). Academic Press, New York, pp23-40.

Hana, B., Bischofa, J.C., 2004. Direct cell injury associated with eutectic crystallization during freezing. Cryobiology. 8-21.

Javad Mousavi, M., Nezami, S., Izadi, E., Nezami, A., Yousef Sani, M., Keykha Akhar, F., 2011. Evaluation of freezing tolerance of English daisy (*Bellis perennis*) under controlled conditions. Journal of Water and Soil. 25(2), 380-388. [In Persian with English Summary].

Kafi, M., Damghani Mahdavi, M., 2000. Resistance mechanisms of environmental stresses in plants. Ferdowsi University of Mashhad press. [In Persion].

Khodadadi, M., Nosrati, A.E., 2011. Effects of planting date and planting density on yield and yield components in Hamedan white garlic. Seed and Plant Productiomn Journal. 27(4), 491-501. [In Persian with English Summary].

Linden, L. 2002. Measuring cold hardiness in woody plants. PhD Thesis. Helsinki University.

Maleki Farahani, S., Chaichi, M. R., 2008. Evaluation of freezing stress effect on Black Chiclpea (*Cicer arietinum* L.) ecotypes (Desi type) in greenhouse conditions. Journal of Agronomy Sciences. 1(2), 27- 34. [In Persian with English Summary].

Mollafilabi, A., Hosseini, M., Moosapour, S., 2005. Garlic Agronomy (*Allium sativum* L.). Didactic Issue of Jihad, Iran. [In Persian].

Nezami, A., Borzooee A., Jahani Kondori, M., Azizi, M., Sharif, A., 2007. Elctrolyte Leakage as an index of freezing damage in canola (*Brassica napus L.*). Iranian Journal of Field Crops Research. 5(1), 167-175. [In Persian with English Summary].

Nezami, A., Azizi, G., Siahmarghooee, A., Mohammadabadi, A. A., 2010. Effects of freezing stress on electrolyte leakage of fennel (*Foeniculum vulgare*). Iranian Journal of Field Crops Research. 8, 587-593. [In Persion with English Summary].

Nezami, A., Naghedinia, N., 2011.Effect of freezing stress on electrolyte leakage in six cultivars Safflower (*Carthamus tinctorius* L.). Iranian Journal of Field Crop Research. 8(6), 891-896. [In Persian with English Summary].

Omid Beygi, R., 1995. Approaches for Production and Processing of Medicinal Plants. Vol1. Tarrahan Nasr Publication. Iran. 424p. [In Persion].

Orlowski, M., Rekwska, E., Dobrmilska, R., 1994. The effect on the yield of garlic of autumn and spring planting using different method of seed stalk trimming. Folia Horticulture. 6, 79-89.

Peyvast, Gh. 2000. Special Olericulture. First Edition, Agriculture Sciences Press. 384 pp. [In Persion].

Prasil, L.T., Prasilova, P., Marik, P., 2007. Comparative study of direct and indirect evaluations of frost tolerance in barley. Field Crop Research. 102, 1-8.

Rezwan Bidokhti, Sh., Nezami, A., Kafi, M. Khazaie, H.R., 2011. Evaluation of Freezing stress effect on electrolyte leakage in medicinal and industrial Shallot (*Alliumm altissimum* Regel.) plant under controlled

conditions. Journal of Agroecology. 3(3), 371-382. [In Persian with English Summary].

Schmitz, D., Waterer D., 1994. Influence of variety and cultural practices on garlic yield in Saskatchewan. Canadian Journal of Plant Science. 74(3), 611-614.

Shaidul Haque, M.D., Sattar, A., Pramanik, M.H.R., 2002. Dry matter accumulation and partitioning and growth of garlic as influenced by land configuration and cultivars. Pakistan Journal of Biological Sciences. 5(10), 1028-1031.

Thomashow, M.F., 1999. Plant cold acclimation: freezing tolerance genes and regulatory mechanisms. Annual review of plant physiology and plant molecular biology. 50, 571–599.

Uosofi, M. 2008. Effect of freezing stress on electrolyte leakage of ten cultivars and one wild almond speices in Esfahan. Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources. 12 (45), 1-9. [In Persian with English Summary].

Xuan J., Liu J., Gao H., Huaguabghu H., Cheng X., 2009. Evaluation of low-temperature tolerance of zoysia grass. Tropical Grasslands. 43, 118–124.

Yamada, T., Jones, E. S., Cogan, N. O. I., Vecchies, A. C., Nomura, T., Hisano, H., Shimamoto, Y., Smith, K. F., Hayward, M. D., Forster, J. W., 2004. QTL analysis of morphological, developmental and winter hardiness associated traits in perennial ryegrass. Crop Science. 44, 925-9359.

Vanae, S., Siyosemardeh, A., Heydari, G. R., 2011. Effects of cold stress at germination and seedling stage on the activities of antioxidant enzymes and physiological characteristics in Chickpea (*Cicer arietinum*). Iranian Journal of Field Crops Research. 9(3), 514-524. [In Persian with English Summary].