



تأثیر تنفس یخ زدگی بر نشت الکتروولیت ها و بقاء گیاهچه های ارقام گندم (*Triticum aestivum L.*) در شرایط کنترل شده

احمدی محمدجواد^{*}, جانعلیزاده مریم^۱, برجسته علیرضا^۱, کریم زاده هدایت الله^۱, گلدانی مرتضی^۲ و نظامی احمد^۲

^۱ دانشجوی دکتری, گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه فردوسی مشهد, ^۲ عضو هیئت علمی گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه فردوسی مشهد,

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

به منظور بررسی تاثیر تنفس یخ زدگی بر میزان نشت الکتروولیت ها و تعیین پایداری غشاء 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 (سايونز، گاسکوژن و بم) و فاکتور دوم شامل شش دمای یخ زدگی شامل دماهای (صفر، -۴، -۸، -۱۲، -۱۶ و -۲۰ درجه سانتی گراد) بودند. میزان پایداری غشاء سیتوپلاسمی با محاسبه میزان نشت الکتروولیت ها مورد ارزیابی قرار گرفت و سپس دمای کشنده برای ۵۰ درصد نمونه ها (LT₅₀) براساس درصد نشت الکتروولیت ها تعیین گردید. نتایج پژوهش نشان داد که اثرات دماهای یخ زدگی و رقم بر میزان نشت مواد و LT₅₀ ارقام مورد بررسی معنی دار بود. کاهش دما به کمتر از -۴ درجه سانتی گراد باعث افزایش میزان نشت الکتروولیت ها در همه ارقام مورد مطالعه شد. کاهش دما به کمتر از -۱۲ درجه سانتی گراد باعث کاهش معنی دار درصد بقاء، تعداد و سطح برگ و وزن خشک بوته ها شد. رقم بم بیشترین و رقم سایونز کمترین میزان نشت الکتروولیت ها در اثر کاهش دما را نشان دادند. در همه ارقام، دمای -۱۲ درجه سانتی گراد به عنوان دمای افزایش سریع میزان نشت الکتروولیت ها بود که در این بین، نشت الکتروولیت ها در رقم گاسکوژن با سرعت بیشتری افزایش یافت، هر چند که میزان نهایی آن در مقایسه با سایر ارقام کمتر بود. از نظر شاخص LT₅₀ نیز بیشترین و کمترین تحمل به یخ زدگی به ترتیب در ارقام سایونز و بم مشاهده شد. به نظر می رسد به دلیل اینکه نتش سرما باعث آسیب به غشاء سلولی و در پی آن، باعث نشت الکتروولیت ها از سلول می شود، لذا، اندازه گیری میزان نشت الکتروولیت از بافت های گیاهی تحت تنفس، می تواند معیار مناسبی از مقاومت به یخ زدگی و پایداری غشاها باشد.

واژه گان کلیدی: پایداری غشاء سلولی، درصد بقاء گیاه، وزن خشک، LT₅₀, RDMT₅₀

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

Ahmadi, M.J^{1*}, Janalizadeh, M¹, Barjasteh, A.R¹, Karimzadeh, H¹, Goldani, M², Nezami, A².

¹ Ph.D. Student, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, ² 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, LT₅₀ was determined based on EL percentage. Based on the results, the effects of freezing temperatures and cultivars on EL and LT₅₀ 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 LT₅₀ 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, LT₅₀, RDMT₅₀, Survival percentage.



غلالت مهمترین گیاهان غذایی کره‌ی زمین و تأمین کننده‌ی ۷۰ درصد غذای مردم کره‌ی زمین می‌باشدند (امام، ۱۳۹۰). در مناطق معتدل، سردی زمستان یکی از تهدیدات جدی برای گیاهان محسوب می‌شود، به طوری که، تنفس 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).

نشست الکتروولیت در قطعات برگ به طور گسترشده‌ای به عنوان پارامتری خوب برای تخمین خسارت تنفس در گیاهان مورد استفاده قرار می‌گیرد (تساروهاس و همکاران، ۲۰۰۰). تداوم انسجام غشای پلاسمایی، یکی از مهم‌ترین عوامل بقاء گیاه در شرایط تنفس یخ‌زدگی عنوان شده است و هرگونه اختلال در ساختار غشاء، سبب بروز خسارت در گیاه و حتی مرگ آن می‌شود (هانا و بیشوفا، ۲۰۰۴). در همین راستا، آزمون یخ‌زدگی در شرایط کنترل شده (نیتر و همکاران، ۲۰۰۵) و به دنبال آن، ارزیابی خسارت از طریق اندازه‌گیری نشت الکتروولیت 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 الکتروولیت‌ها 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 (سايونز، گاسکوئن و بم) انجام شد. بذرهای ارقام گندم در اوایل مهرماه در گلدان‌های پلاستیکی یک کیلویی که حاوی خاکی به نسبت یک به یک شن و رس بود کشت شدند. به منظور القای خوسمرمایی در نمونه‌های گیاهی، گلدان‌ها در فضای باز و محیط طبیعی و برای اعمال دماهای یخ‌زدگی، گلدان‌ها در اوایل دی‌ماه و در مرحله پنجه‌زنی به فریزر ترمومگرادیان منتقل شدند. برای تعیین پایداری غشای پلاسمایی از روش اندازه‌گیری نشت الکتروولیت استفاده شد. هدایت الکتریکی محلول هر نمونه با استفاده از دستگاه EC متر (مدل Jenway EC1) اندازه‌گیری شد (EC1). برای اندازه‌گیری محتوای کل الکتروولیت‌ها در اثر مرگ کامل سلول، نمونه‌ها اتوکلاو شدند و مجدداً هدایت الکتریکی نمونه‌ها اندازه‌گیری شد (EC2). درصد نشت الکتروولیت از طریق رابطه زیر محاسبه شد:

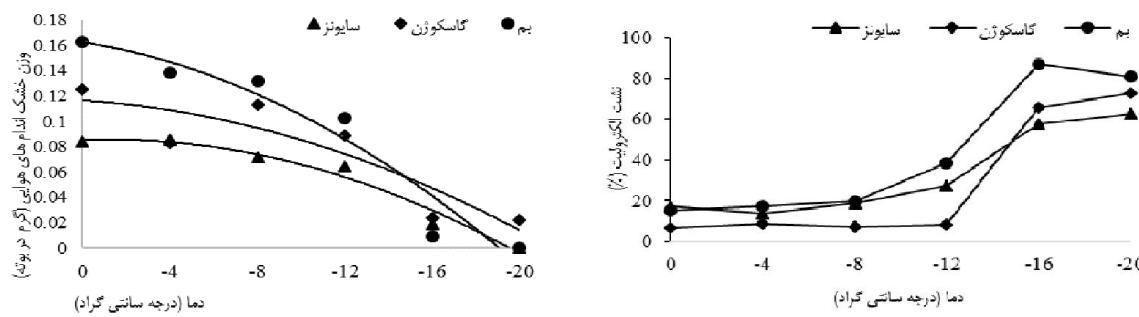
$$\%EL = \frac{(EL1-EL0)}{(EL2-EL0)} * 100 \quad (1)$$

$E0$ =هدایت الکتریکی آب مقطر، $E1$ =هدایت الکتریکی محلول پس از اعمال تیمار سرما، $E2$ =هدایت الکتریکی محلول پس از اتوکلاو.
و دمای کاهنده ۵۰ درصد وزن خشک (RDMT₅₀) گیاهان به ترتیب با استفاده از نمودارهای ترسیم شده درصد نشت LT₅₀ و وزن خشک گیاهان در مقابل دماهای یخ‌زدگی 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

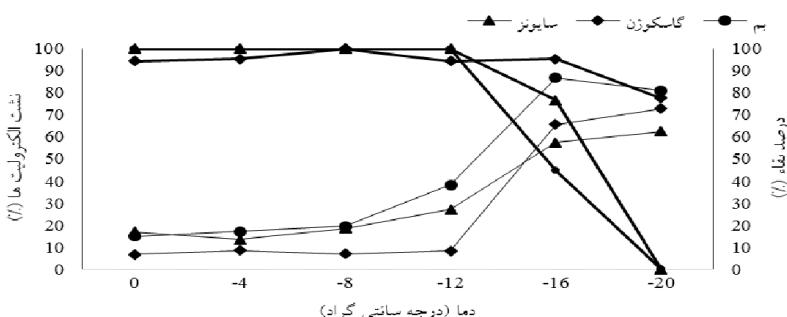
نتایج تجزیه واریانس نشان داد که دماهای یخزدگی تاثیر بسیار معنی داری ($p \leq 0.01$) بر میزان نشت الکتروولیت ها در گیاه گندم داشت، به طوری که با کاهش دما، میزان نشت الکتروولیت ها افزایش یافت (شکل ۱). به نظر می رسد، با کاهش دما خسارت ناشی از تنفس یخزدگی بر غشای سلولی زیاد شده و منجر به افزایش میزان نشت مواد از سلول می شود (نظمی 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 ۱۲- درجه سانتی گراد افزایش شدیدی در میزان نشت الکتروولیت ها مشاهده شد. با وجود اینکه درصد نشت الکتروولیت ها در رقم گاسکوئن تا دمای ۱۲- درجه سانتی گراد تقریباً روند ثابتی نشان داد، لیکن، شب افزایش نشت پس از این دما بسیار زیاد بود.



شکل ۱- تاثیر دماهای یخ زدگی بر میزان نشت الکتروولیت 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 تنفس یخزدگی قرار گرفت (شکل ۳). با وجود اینکه هیچ گونه تلفاتی در ارقام سایونز و بم تا دمای ۱۲- درجه سانتی گراد مشاهده نشد، ولی با کاهش هرچه بیشتر دما از ۱۲- درجه سانتی گراد، درصد بقاء کاهش یافت، به طوری که، در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد هیچ گیاهی زنده نماند (شکل ۳). اما رقم گاسکوئن از این لحاظ بهتر عمل کرده و دمای یخ زدگی تاثیر معنی داری بر درصد بقاء این رقم نداشت و گیاهان تا دمای ۲۰- درجه را بخوبی (۷۷/۸ 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 تنفس 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 ۱۲- درجه سانتی گراد باعث کاهش شدید وزن خشک بوته شد. کمترین و بیشترین دمای کاهنده ۵۰ درصدی وزن خشک گیاهان در زمان رشد مجدد (RD_{50} MT)، به ترتیب در ارقام بم با ۱۲/۵ و سایونز با ۱۴/۷- درجه سانتی گراد تعیین شد (شکل ۲). در پژوهشی مشاهده شد که RD_{50} MT با رشد مجدد بهتر گیاه رازیانه همراه بوده است (نظمی و همکاران، ۱۳۸۹).

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



شکل ۳- درصد نشت الکتروولیت و درصد بقاء ارقام گندم تحت تاثیر دماهای بخ‌زدگی

منابع

- امام، ی. (۱۳۹۰). زراعت غلات چاپ چهارم. انتشارات دانشگاه شیراز. ۱۹۰ صفحه.
- میرمحمدی میدی، ع. و ترکش اصفهانی، س. (۱۳۷۹). جنبه‌های فیزیولوژی و بهترادی تنفس‌های سرما و بخ‌زدگی گیاهان زراعی. انتشارات گلبن، اصفهان. ۲۲۳ ص.
- نظامی، ا. عزیزی، ک.، سیاهمرگوبی، ا. و ع. ا. محمدآبادی. (۱۳۸۹). اثر تنفس بخ‌زدگی بر نشت الکتروولیت‌ها در گیاه رازیانه. مجله پژوهش‌های زراعی ایران، ۸ (۴): ۵۸۷-۵۹۳.
- نظامی، ا. و ناقدی نیا، ن. (۱۳۸۹). اثر تنفس بخ‌زدگی بر نشت الکتروولیتها در شش رقم گلنگ. نشریه پژوهش‌های زراعی ایران، ۸ (۶): ۸۹۱-۸۹۶.

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.