

اثر تنش یخ‌زدگی بر گیاه قرنفل (*Dianthus barbatus*) در شرایط کنترل شده

ابراهیم ایزدی دربندی^۱، مریم یوسف ثانی^۲، احمد نظامی^{۱*}، محمد جواد موسوی^۱، فاطمه کیخا^۲، سمیه نظامی^۲

۱. عضو هیات علمی، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه فردوسی مشهد؛

۲. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه فردوسی مشهد

تاریخ دریافت: ۸۹/۱۰/۷؛ تاریخ پذیرش: ۹۱/۳/۱۷

چکیده

این مطالعه با هدف بررسی تحمل به دماهای پایین گیاه قرنفل در شرایط کنترل شده و به صورت طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. به این منظور گیاهان پس از کشت و رشد در خزانه در اواسط تابستان تا اوایل پاییز و خوسرمایی در شرایط طبیعی در طول پاییز، در مرحله ۷-۸ برگی در فریزر ترموگرادیان در معرض ۱۲ دمای یخ‌زدگی (صفر، ۲-، ۴-، ۶-، ۸-، ۱۰-، ۱۲-، ۱۴-، ۱۶-، ۱۸-، ۲۰-، ۲۲- درجه سانتی‌گراد) قرار داده شدند. پایداری غشاء سیتوپلاسمی پس از یخ‌زدگی به وسیله اندازه‌گیری نشت الکترولیت‌ها، و درصد بقاء و رشد مجدد گیاهان سه هفته پس از تیمارهای یخ‌زدگی و رشد آن‌ها در شاسی سرد به ترتیب از طریق شمارش تعداد بوته‌ها و تعیین نسبت آن‌ها به تعداد بوته قبل از تیمار یخ‌زدگی و اندازه‌گیری ویژگی‌هایی نظیر وزن خشک، ارتفاع و تعداد انشعابات جانبی تعیین گردید. نتایج نشان داد که اثر دماهای مختلف یخ‌زدگی روی همه خصوصیات بررسی شده، معنی‌دار بود. با کاهش دما درصد نشت الکترولیت‌ها به طور معنی‌داری ($P \leq 0/05$) افزایش یافت و در دمای ۲۲- درجه سانتی‌گراد به حداکثر رسید. درصد بقاء گیاهان تا دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد تغییری نکرد، ولی در دمای ۲۲- درجه سانتی‌گراد تمام گیاهان از بین رفتند. بر اساس نتایج حاصل، دمای کشنده ۵۰ درصد گیاهان (LT_{50}) بر اساس درصد نشت و درصد بقاء به ترتیب ۲۱- و ۲۰/۳- درجه سانتی‌گراد و دمای کاهنده ۵۰ درصد وزن خشک گیاهان ($RDMT_{50}$) ۱۶- درجه سانتی‌گراد تعیین شد.

واژه‌های کلیدی: خوسرمایی، درصد بقاء، نشت الکترولیت‌ها، وزن خشک

مقدمه

قرنفل^۱ گیاهی است دارویی-زینتی از تیره میخک که دارای گونه‌های یک‌ساله و دوساله می‌باشد (Majdari, 1982). این گیاه دارای گل‌های کوچک و مخملی به رنگ‌های صورتی، سفید، قرمز، صورتی، قرمز تیره، ابلق، خالدار و ... است که به صورت منفرد یا به تعداد زیاد در یک گل‌آذین چترمانند در اواخر بهار در گیاه ظاهر می‌شوند (Hashemi Esfahani, 2000). کاشت این گیاه به دو صورت انجام می‌شود. در کشت فروردین گل‌دهی در مردادماه و شهریورماه همان سال کشت انجام می‌گیرد. در حالت دیگر، می‌توان بذرها را در تیر و مرداد در خزانه کشت شده و گیاهچه‌ها در مهر و شهریور به محل اصلی منتقل کرد، که در این حالت گیاه سال بعد از کاشت گل‌های فراوانی تولید می‌کند. حداقل دمای قابل تحمل آن

۱۵- درجه سانتی‌گراد است و لذا قرنفل را جزو گیاهان نسبتاً متحمل به سرما می‌توان نام برد (Khalighi, 2000). شاخه‌های قرنفل را هم به صورت بریده و هم برای حاشیه‌کاری و کشت روی سنگ چین می‌توان مورد استفاده قرار داد، به طوری که به دلیل تنوع رنگ گل‌ها در این گیاه و به دلیل فراوانی تعداد گل‌ها در هر بوته، حاشیه‌های گل‌کاری شده با قرنفل یک پارچه و بسیار زیبا است و لذا کاربرد زیادی در فضاهای سبز دارد (Khalighi, 2000; Hashemi Esfahani, 2000).

موفقیت در رشد و نمو و کاشت گیاهان اهلی متأثر از عوامل متعددی از جمله تاریخ کاشت مناسب و توانایی تحمل به تنش‌های محیطی مرتبط می‌باشد. در مناطق معتدله‌ای مانند ایران، سرماهای زمستانه از مهم‌ترین پدیده‌های موثر بر رشد گیاهان است، از این رو تنش سرما

¹. *Dianthus barbatus*

مرگ گیاه می‌شود. از این رو، بر اساس مطالعه انجام شده، رابطه مستقیمی بین میزان نشت الکترولیت‌های سلول و تحمل گیاهان به تنش یخ‌زدگی مشاهده شده است. گزارش شده است که بین درجه تحمل به سرمای گیاهان یونجه به روش هدایت الکتریکی با درصد بقای زمستانه در مزرعه همبستگی مثبتی وجود دارد (Salk, 1991). همچنین در بررسی اثر تنش یخ‌زدگی بر نشت الکترولیت‌ها در ده ژنوتیپ کلزا^۱ گزارش شد که کاهش دما سبب افزایش میزان نشت الکترولیت‌ها گردید (Nezami et al., 2007). محققین اثر خوسرمایی و عدم خوسرمایی را بر نشت الکترولیت از اندام‌های مختلف (ریشه، طوقه و برگ) سه اکوتیپ پاسپالوم^۲ مورد بررسی قرار داده و گزارش کردند که با کاهش دما نشت الکترولیت‌ها در اندام‌های مختلف هر سه اکوتیپ، روند افزایشی داشت (Cardona et al., 1997). در تحقیق دیگری بر روی گندم نیز گزارش شد که ژنوتیپ‌های متحمل، عموماً غشای سیتوپلاسمی پایدارتر و نشت الکترولیت‌های کمتری نسبت به ژنوتیپ‌های حساس داشتند (Miresghhi et al., 2002).

در آزمایشی پایداری غشاء سیتوپلاسمی اندام‌های مختلف گیاهچه (ریشه، طوقه و برگ) دو توده بومی گیاه رازیانه (خراسان و کرمان) پس از اعمال تیمارهای دمایی مختلف (۰، -۳، -۶، -۹، -۱۲، -۱۵)، مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد با کاهش دمای یخ‌زدگی، درصد نشت الکترولیت‌ها در اندام‌های مختلف، به طور معنی‌داری تحت تأثیر قرار گرفت، به طوری که بیشترین درصد نشت الکترولیت در ریشه به میزان ۷۴/۷ و کمترین آن در برگ و طوقه، به میزان ۶۶/۶ و ۶۹/۵ مشاهده شد (Nezami et al., 2011). در آزمایشی روی دو اکوتیپ رازیانه (کرمان و گناباد) در شرایط آزمایشگاهی، مشاهده شد که درصد بقاء گیاهان و تعداد گره در ساقه اصلی تا دمای -۶ درجه سانتی‌گراد کاهش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد (عدم یخ‌زدگی) نداشت، ولی بعد از آن به طور معنی‌داری (۰/۱) $P \leq$ کاهش یافت (Nezami et al., 2011). همچنین اثر تنش سرما بر سه رقم کلزا (Plainsman, Ceres, A112) بررسی و مشاهده شد طول دوره خوسرمایی اثر معنی‌داری بر تحمل به یخ‌زدگی ارقام گذاشت، به نحوی که تحمل به یخ‌زدگی هر سه رقم پس از سه هفته خوسرمایی حدود دو

و به ویژه تنش یخ‌زدگی از مهم‌ترین تنش‌هایی است که رشد و تولید گیاهان را در این مناطق محدود می‌کند. این تنش از طریق صدمات شدیدی که به سلول‌ها و بافت‌های گیاه وارد می‌کند، باعث خسارت‌های جبران‌ناپذیر و حتی گاهی نابودی کامل گیاه زراعی می‌شود (Mirmohamadi Meibodi, 2004)؛ لذا شناخت توده‌ها و ارقام متحمل به سرما در گیاهان نقش مهمی در موفقیت کشت‌وکار و بهره‌برداری از آن‌ها دارد.

از آنجایی که کنترل شدت سرما در شرایط طبیعی تقریباً ناممکن بوده و زمستان‌های مناسب برای به‌گزینی، هر چند سال یک‌بار اتفاق می‌افتد و نیز به دلیل تنوع مکانی و زمانی وقوع سرما در شرایط مزرعه، استفاده از روش‌های گلخانه‌ای و کنترل شده برای شناسایی ارقام مقاوم به سرما و یخبندان ضروری به نظر می‌رسد (Nazeri et al., 2006; Nezami et al., 2006). به همین دلیل محققین به دنبال اتخاذ روش‌ها و انجام آزمون‌هایی هستند که ضمن سهولت، سرعت و اعتبار کافی داشته و قابل تکرار نیز باشند (Blum, 1988; Nezami et al., 2006)؛ لذا آزمون‌های یخ‌زدگی در شرایط کنترل شده و به دنبال آن ارزیابی خسارت به گیاه از طریق اندازه‌گیری نشت الکترولیت‌های سلول‌ها، بقاء و بازیافت گیاهان به عنوان یک روش مناسب مورد توجه محققان قرار گرفته است (Nezami et al., 2007; Cardona et al., 1997). کاهش آماس سلولی و افزایش نشت الکترولیت‌ها از بافت‌های گیاهی به دنبال بروز تنش یخ‌زدگی، نقش غشاء سلولی را در حفاظت گیاه از خسارت تنش سرما به خوبی نشان داده است (Steponkus, 1984; Mckersie et al., 1994). بر اساس این تئوری سرما باعث تغییر حالت غشاء از فاز مایع به ژل می‌شود که با این تغییر فعالیت غشاء مختل می‌شود (Thomashow, 1998; Baek et al., 2003). غشای پلاسمایی اولین بخش از گیاه است که در شرایط تنش یخ‌زدگی دچار خسارت می‌شود (Uemura, 2006). در این راستا، تغییر در ساختار غشاء، ترکیب اسیدهای چرب، آمینواسیدها و کربوهیدرات‌ها، فعالیت متابولیکی و آنزیمی و در نهایت نشت الکترولیت‌های سلول از مهم‌ترین صدمات تنش یخ‌زدگی می‌باشند. بنابراین به نظر می‌رسد که تداوم انسجام غشاء پلاسمای یکی از عوامل مهم در بقای گیاهان در شرایط تنش یخ‌زدگی است و هر گونه اختلال در ساختار آن منجر به بروز خسارت و حتی

¹. *Brassica napus* L.

². *Paspalum vaginatum*

گلدان‌های مربوط به هر تیمار دمایی پنج برگ کاملاً توسعه یافته از پنج گیاه انتخاب شد و در ویال‌های حاوی ۴۰ میلی لیتر آب دو بار تقطیر، قرار داده شدند. سپس نمونه‌ها روی شیکر قرار گرفته و بعد از شش ساعت، نشت الکترولیت‌ها با استفاده از دستگاه EC متر (مدل Jenway) اندازه‌گیری شد (EC_1). به منظور اندازه‌گیری میزان نشت کل الکترولیت‌ها در اثر مرگ سلول، ویال‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در اتوکلاو (با فشار ۱۵ بار و دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد) قرار داده شدند. سپس نمونه‌ها به محیط آزمایشگاه منتقل شده و مجدداً به مدت شش ساعت روی شیکر قرار گرفته و پس از آن مجدداً نشت الکترولیت‌ها (EC_2) اندازه‌گیری شد و درصد نشت الکترولیت‌ها با استفاده از فرمول $(EC_1/EC_2) \times 100 =$ درصد نشت الکترولیت‌ها) محاسبه شد. برای تعیین درصد بقاء و بازیافت گیاهان، گلدان‌ها به شاسی سرد انتقال یافتند و پس از ۲۱ روز درصد بقاء و رشد مجدد آن‌ها ارزیابی شد. درصد بقاء گیاهان از طریق شمارش تعداد بوته زنده در هر گلدان و از طریق فرمول $[100 \times (\text{تعداد گیاهان قبل از یخ‌زدگی} / \text{تعداد گیاهان زنده سه هفته بعد از یخ‌زدگی})]$ محاسبه گردید. همزمان ویژگی‌های دیگری نظیر ارتفاع ساقه اصلی، تعداد انشعاب جانبی، تعداد گره و تعداد برگ در بوته اندازه‌گیری و ثبت شدند. وزن خشک نمونه‌ها پس از ۴۸ ساعت قرار دادن آن‌ها در آون ۷۰ درجه سانتی‌گراد، به وسیله ترازوی دیجیتالی اندازه‌گیری و ثبت شد. تجزیه داده‌هایی که به صورت درصد (بین صفر تا ۳۰ و ۷۰ تا ۱۰۰ درصد) بودند، پس از تبدیل زاویه ای انجام شد. به منظور تعیین LT_{50el} ، LT_{50su} و دمای کاهنده ۵۰ درصد وزن خشک^۲ ($RDMT_{50}$) گیاهان، ابتدا نمودار هر کدام از صفات درصد نشت و درصد بقاء و وزن خشک گیاهان به تفکیک ترسیم شد و سپس دمایی که سبب افزایش (درصد نشت) و یا کاهش (درصد بقاء و وزن خشک) ۵۰ درصدی نسبت به دمای شاهد (صفر درجه سانتی‌گراد) شده بود به عنوان دمای کشنده ۵۰ درصد (نشت و بقاء) و یا دمای کاهنده ۵۰ درصد وزن خشک در نظر گرفته شد. محاسبات آماری و رسم نمودارها با استفاده از نرم افزارهای MiniTab

درجه سانتی‌گراد بیشتر از تیمار چهار هفته خوسرمایی شد (Rife and Zeinali, 2003).

از آنجا که قرنفل یکی از گیاهان زینتی مورد استفاده در فضای سبز شهری است و در ارتباط با تحمل به سرمای آن اطلاعات چندانی در اختیار نیست، لذا این بررسی با هدف ارزیابی تحمل به یخ‌زدگی این گیاه در شرایط کنترل شده انجام شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال ۱۳۸۷ در آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهان زراعی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد که در آن اثر ۱۲ دمای یخ‌زدگی (شامل دماهای صفر، ۲-، ۴-، ۶-، ۸-، ۱۰-، ۱۲-، ۱۴-، ۱۶-، ۱۸-، ۲۰-، ۲۲-) بر روی گیاه قرنفل مورد مطالعه قرار گرفت. برای انجام آزمایش، ابتدا بذرها در اواسط تابستان در خزانه کشت شدند و زمانی که گیاهان به مرحله شش تا هشت برگ رسیده، در اواسط آبان به گلدان‌هایی با قطر ۱۸ سانتیمتر منتقل شدند. در هر گلدان ۵ گیاهچه قرار داده شد و سپس برای رشد به محیط طبیعی انتقال یافتند. به منظور اعمال دماهای یخ‌زدگی، گلدان‌ها در اواخر بهمن ماه به فریزر ترموگرادیان منتقل شدند. دمای فریزر در شروع آزمایش ۵ درجه سانتی‌گراد بود که پس از قرار دادن نمونه‌ها در آن با سرعت ۲ درجه سانتی‌گراد در ساعت کاهش یافت. به منظور جلوگیری از پدیده فراسرما و ایجاد هستک یخ در گیاهان و اطمینان از اینکه مکانیزم از نوع تحمل است و نه اجتناب، در دمای ۲- درجه سانتی‌گراد اسپری^۱ INBA روی نمونه‌ها به نحوی انجام شد که سطح گیاهان به صورت قشری از این محلول پوشانده و خیس شود. به منظور ایجاد تعادل در دمای محیط، گیاهچه‌ها در هر تیمار دمایی (شامل دماهای صفر، ۲-، ۴-، ۶-، ۸-، ۱۰-، ۱۲-، ۱۴-، ۱۶-، ۱۸-، ۲۰-، ۲۲-) به مدت یک ساعت نگه داشته و سپس برداشت شده و برای جلوگیری از ذوب شدن سریع یخ، گلدان‌ها به اتاقک سرد با دمای 4 ± 2 درجه سانتی‌گراد منتقل و به مدت ۱۲ تا ۲۴ ساعت نگهداری شدند.

برای تعیین پایداری غشاء سیتوپلاسمی از روش اندازه‌گیری نشت الکترولیت‌ها استفاده شد. برای این منظور، از

2. lethal temperature 50 according to electrolyte leakage

3. lethal temperature 50 according to the plant survival

4. reduced dry matter temperature 50

1. ice nucleation active bacteria

مقاومت گیاه *Trifolium hirtum* به تنش یخزدگی از طریق اندازه‌گیری میزان نشت الکترولیت‌ها نیز نشان داد که با کاهش دما از ۶- به ۱۴- درجه سانتی‌گراد، میزان نشت مواد در برگ‌های این گیاه افزایش یافته است (Eugenia et al., 2003). در بررسی اثر تنش یخزدگی بر نشت الکترولیت‌های ۱۰ رقم کلزا گزارش شد که با کاهش دما به کمتر از ۴- درجه سانتی‌گراد درصد نشت الکترولیت‌ها به طور معنی‌داری افزایش یافت. در بین ارقام کلزای مورد بررسی از نظر LT_{50} نیز تفاوت معنی‌داری مشاهده شد. با توجه به نتایج حاصل به نظر می‌رسد بتوان با اندازه‌گیری میزان نشت الکترولیت‌ها، به معیار مناسبی جهت تعیین شدت خسارت وارد شده بر غشاء سلولی تحت تأثیر تنش یخزدگی دست یافت (Nezami et al., 2007). بر اساس نتایج حاصل از این آزمایش LT_{50el} گیاه قرنفل ۲۱- درجه سانتی‌گراد بود که بر اساس آن به نظر می‌رسد قرنفل از گیاهان بسیار متحمل به تنش یخزدگی می‌باشد. در یک مطالعه، دمای کشنده ۵۰ درصد نمونه‌های گیاهی بر اساس نشت الکترولیت‌ها در اکوتیپ‌های پاسپالوم خوسرما شده بین ۵/۲- تا ۹/۵- درجه سانتی‌گراد و برای گیاهان خوسرما نشده بین ۲/۵- تا ۵/۲- درجه سانتی‌گراد تعیین شد (Cardona et al., 1997). در بررسی انجام شده روی هشت رقم چغندر قند LT_{50el} آن‌ها بین ۵- تا ۹- درجه سانتی‌گراد گزارش شده است (Hajmohammadnia Ghalibaf et al., 2010).

Curve Expert و Excel انجام گرفت. میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح پنج درصد مقایسه شدند.

نتایج و بحث

نتایج نشان دادند که دماهای یخزدگی تأثیر معنی‌داری ($P \leq 0.05$) بر میزان نشت الکترولیت‌های گیاه قرنفل داشت (جدول ۱). اعمال تیمار یخزدگی تا دمای ۱۶- درجه سانتی‌گراد تأثیر چندانی بر درصد نشت الکترولیت‌ها نداشت، ولی با افزایش شدت سرما و کاهش دما به کمتر از ۱۶- درجه سانتی‌گراد، درصد نشت الکترولیت‌ها افزایش یافت (شکل ۱). به طوری که بیشترین آن در دمای ۲۲- درجه سانتی‌گراد مشاهده شد. محققین بیان نمودند که میزان مقاومت به یخزدگی در برگ، طوقه و ریشه گندم از طریق آزمون نشت الکترولیت‌ها قابل ارزیابی است. زیرا هنگامی که بافت‌های گیاه در اثر سرما آسیب می‌بینند، فعالیت غشاء مختل شده و الکترولیت‌های داخل سلول به خارج از آن نشت می‌کنند و میزان نشت الکترولیت‌ها بیانگر درجه خسارت گیاه به تنش یخزدگی است (Perras et al., 1988; Hana et al., 2004). بررسی دیگری روی گندم نیز نشان داد که ژنوتیپ‌های متحمل به سرما عموماً غشاء سیتوپلاسمی پایدارتر و نشت الکترولیتی کمتر و غلظت کلروفیل بیشتری نسبت به ژنوتیپ‌های حساس داشته‌اند (Miresghhi et al., 2002). تغییر در ساختار غشاء در اثر سرما سبب افزایش نشت الکترولیت‌های سلولی در اندام‌های حساس به سرما می‌شود (Paull, 1981). ارزیابی میزان

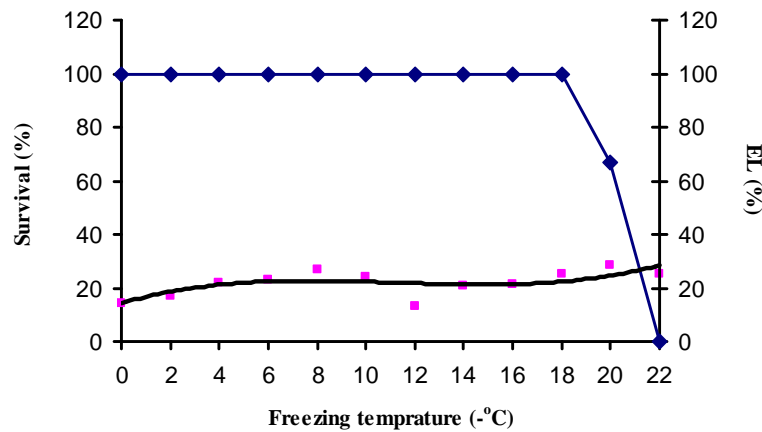
جدول ۱. میانگین مربعات ویژگی‌های درصد نشت الکترولیت‌ها پس از اعمال تنش یخزدگی و درصد بقاء، وزن خشک، تعداد گره در ساقه، تعداد برگ، تعداد شاخه و ارتفاع ساقه در گیاه قرنفل ۲۱ روز پس از اعمال تیمارهای یخزدگی و رشد مجدد.

Table 1. Mean square of electrolyte leakage after freezing stress and survival percentage, dry weight, number of nodes in stem, number of leaves, number of branches and height of stem in Sweet William, 21 days after freezing and regrowth.

منابع تغییرات	درجه آزادی	نشت الکترولیت‌ها electrolyte leakage	درصد بقاء survival percentage	وزن خشک dry weight	تعداد گره در ساقه node No. in stem	تعداد برگ leaves No.	تعداد شاخه branches No.	ارتفاع ساقه stem height
S.O.V	df							
یخزدگی Freezing	11	54.38**	2626.26**	1.023*	9.35*	341.8*	5.407*	26.677*
خطا Error	24	6.167	0	0.2708	0.82	153.1	1.528	0.943

* و ** به ترتیب معنی‌داری در سطح ۵ و ۱ درصد

* and ** are significant in %5 and 1% levels, respectively.



شکل ۱. درصد نشت و درصد بقاء گیاهان قرنفل تحت تأثیر دماهای یخ‌زدگی در شرایط کنترل شده (هر نقطه، میانگین سه عدد است).

Fig 1. Survival percentage (◆) and electrolyte leakage percentage (■) in Sweet William affected by freezing temperature in controlled conditions (each point is mean of three data).

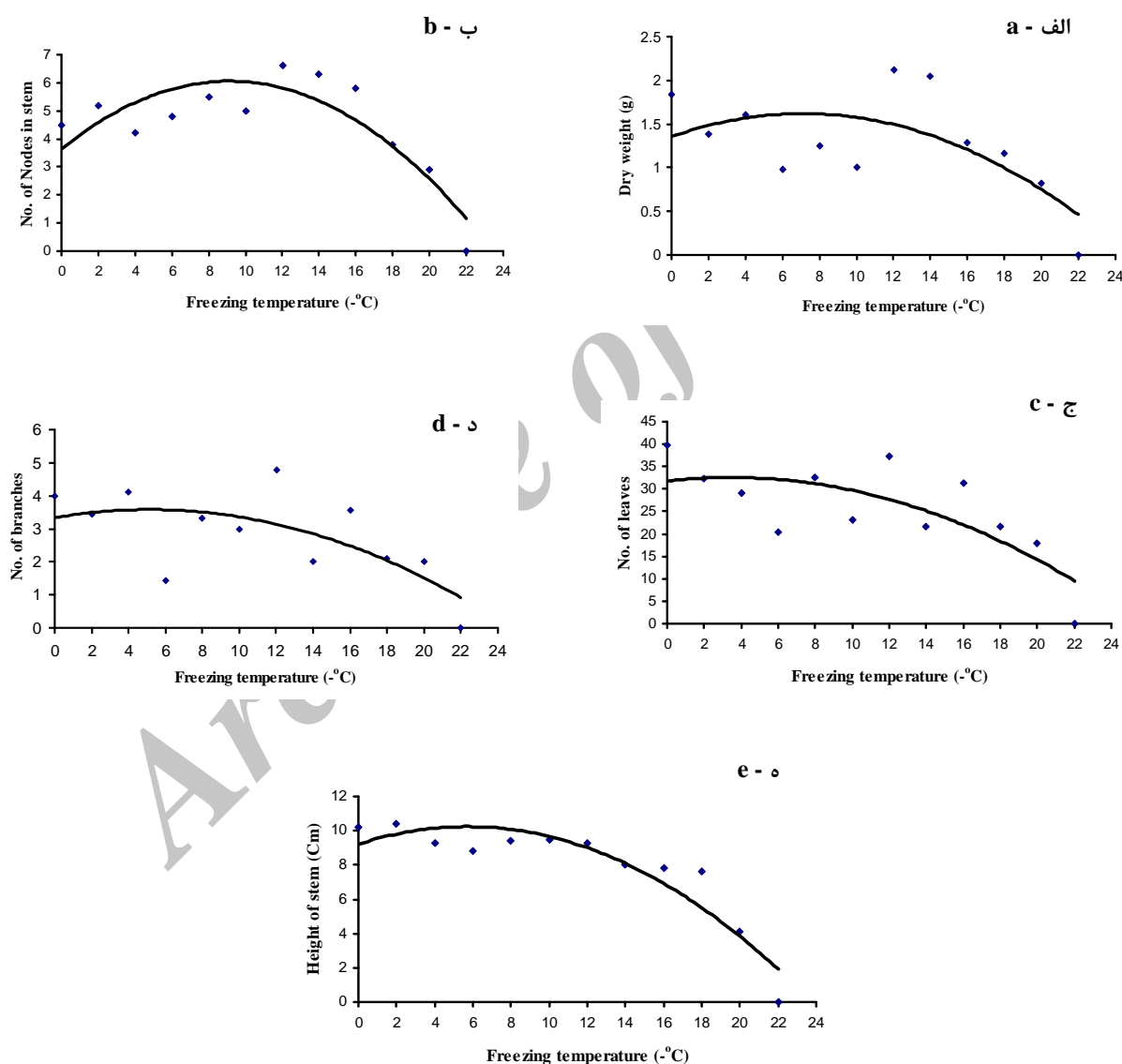
نشت الکترولیت‌ها، درصد بقاء گیاهان کاهش یافت (Rife and Zeinali, 2003).

وزن خشک قرنفل به طور معنی‌داری ($P \leq 0.05$) تحت تأثیر دماهای یخ‌زدگی قرار گرفت و به طور کلی با تنزل دما کاهش یافت، به طوری که در دمای ۲۲- درجه سانتی‌گراد به صفر رسید (شکل ۲). وزن خشک گیاهان در پایان دوره بازیافت با درصد نشت الکترولیت‌ها همبستگی معنی‌داری ($R = -0.37^*$) داشت (جدول ۲) و لذا با افزایش نشت الکترولیت‌ها، وزن خشک گیاه کاهش یافت. در این بررسی، دمای کاهنده ۵۰ درصد وزن خشک ($RDMT_{50}$) گیاهان قرنفل حدود ۱۶- درجه سانتی‌گراد تعیین شد. کاهش وزن خشک گیاهان در دوره بازیافت را به دلیل اثر خسارت ناشی از یخ‌زدگی و کاهش توانایی رشد مجدد اندام‌های هوایی می‌تواند باشد (Azizi et al., 2007). در مطالعه اثر دما بر وزن خشک گیاه رازیانه نیز مشاهده شد که با کم شدن دما، وزن خشک گیاه کاهش یافت، به طوری که در دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد وزن گیاهان معادل ۱۴ درصد وزن خشک گیاهان شاهد بود. از طرفی $RDMT_{50}$ ژنوتیپ‌های رازیانه در شرایط عدم خوسرمایی ۶/۸- درجه سانتی‌گراد بود در حالی که در گیاهان تحت تیمار خوسرمایی ۱۰- درجه سانتی‌گراد تعیین شد (Rashed Mohassel et al., 2009). با اعمال تیمارهای یخ‌زدگی در شرایط کنترل شده روی گندم مشاهده شد که کاهش

بقای گیاهان قرنفل نیز تحت تأثیر دماهای یخ‌زدگی قرار گرفت، به طوری که با کاهش دما، درصد بقاء گیاهان کاهش معنی‌داری ($P \leq 0.05$) داشت (جدول ۱). درصد بقاء گیاهان تا دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد تحت تأثیر قرار نگرفت و با کاهش دما به کمتر از آن، درصد بقاء کاهش یافت، و در دمای ۲۲- درجه سانتی‌گراد به صفر رسید (شکل ۱). با توجه به نتایج آزمایش LT_{50su} گیاه قرنفل نیز معادل ۲۰/۳- درجه سانتی‌گراد تعیین شد. مطالعه اثر دمای یخ‌زدگی بر درصد بقاء گیاهان رازیانه نشان داد که با افزایش شدت یخ‌زدگی، درصد بقاء آن‌ها کاهش یافت، به طوری که در دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد، تنها ۱۵ درصد گیاهان زنده ماندند (Rashed Mohassel et al., 2009). در بررسی اثر دمای یخ‌زدگی روی گیاه زینتی گل داوودی نیز مشاهده شد که با کاهش دما از صفر به ۱۲- درجه سانتی‌گراد مرگ و میر گیاهان افزایش یافت به طوری که در دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد اغلب گیاهان از بین رفته و قادر به رشد مجدد نبودند (Kim and Anderson, 2006). آزمایشی بر روی سه رقم کلزا نشان داد درصد بقاء کلزا در دماهای ۶-، ۸-، ۱۰- و ۱۲- به ترتیب ۶۴، ۲۷، ۹ و ۷ درصد بود و همبستگی خوبی نیز بین درصد نشت الکترولیت‌های کلزا و درصد بقاء آن‌ها وجود داشت، به طوری که بر اساس نتایج آزمایش فوق با افزایش درصد

شاهد به ترتیب ۶۰ و ۸۰ درصد کاهش یافت (Chen et al., 1983). در مجموع به نظر می‌رسد هنگام مواجهه گیاه با تنش سرما، به دلیل آسیب بیشتر بافت‌ها در دمای پایین، میزان وزن خشک گیاه کاهش می‌یابد.

دمای یخزدگی از ۵- به ۱۰- درجه سانتی‌گراد سبب کاهش ۲۰ درصدی رشد مجدد اندام‌های هوایی گندم (رشد یافته در گلدان به مدت سه هفته پس از اعمال تیمار یخزدگی) نسبت به تیمار شاهد (عدم یخزدگی) شد. در صورتی که در تیمارهای یخزدگی ۱۵- و ۲۰- درجه سانتی‌گراد رشد مجدد اندام‌های هوایی گندم نسبت به



شکل ۲. اثر دمای یخزدگی بر (الف) وزن خشک، (ب) تعداد گره در ساقه، (ج) تعداد برگ، (د) تعداد شاخه و (ه) ارتفاع ساقه گیاهان قرنفل در شرایط کنترل شده (هر نقطه، میانگین سه عدد است).

Fig 2. a) Dry weight, b) No. of nodes in stem, c) No. of leaves, d) No. of branches, and e) height of stem in Sweet William affected by freezing temperatures in controlled condition (each point is mean of three data).

که بیشترین و کمترین ارتفاع ساقه به ترتیب در دماهای صفر و ۲۰- درجه سانتی گراد مشاهده شد (شکل ۲-ه). تنش یخزدگی با تاثیر بر فرایندهای فیزیولوژیک گیاه در رشد و نمو گیاه اختلال ایجاد کرده و در نتیجه ارتفاع بوته کاهش یافته است. در این ارتباط نتایج مشابهی در گیاه رازیانه گزارش شده است، به طوری که افزایش شدت یخ زدگی پس از تیمار دمایی ۳- درجه سانتی گراد سبب کاهش معنی دار ارتفاع آن شد (Rashed Mohassel et al., 2009). روند تغییرات ارتفاع در ارقام گندم با کاهش دما از صفر به ۲۰- درجه سانتی گراد به صورت کاهشی بود و بیشترین ارتفاع در تیمار شاهد (عدم یخزدگی) و کمترین آن در تیمار دمایی ۲۰- درجه سانتی گراد حاصل شد (Azizi et al., 2007). در بررسی انجام شده روی گیاه نخود نیز ارتفاع بوته در تیمار دمایی ۱۲- درجه سانتی گراد، ۴۵ درصد نسبت به تیمار شاهد (صفر درجه سانتی گراد) کاهش نشان داد (Nezami, 2002).

اثر دماهای یخزدگی بر تعداد گره در ساقه و تعداد برگ در بوته قرنفل نیز معنی دار ($P \leq 0.05$) بود (جدول ۱)، به طور کلی تا دمای ۱۶- درجه سانتی گراد، صفات ذکر شده (شکل ۲-ج و د) تحت تأثیر دماهای یخزدگی قرار نداشتند ولی با افزایش شدت سرما تعداد گره در ساقه و برگ در بوته کاهش یافت. نتایج تحقیقی در بررسی تحمل به یخزدگی تریپتیکاله، نشان داد که دمای یخزدگی تأثیر معنی داری را بر تعداد برگ در بوته داشت، به طوری که تعداد برگ در تیمارهای دمایی ۴-، ۸- و ۱۲- درجه سانتی گراد به ترتیب ۶/۲، ۱۰/۴ و ۲۲/۹ درصد نسبت به شاهد کاهش داشت (Nezami et al., 2010).

اثر دماهای یخزدگی بر تعداد شاخه و ارتفاع ساقه قرنفل نیز معنی دار ($P \leq 0.05$) بود (جدول ۱)، به طوری که تعداد شاخه در بوته‌های قرار گرفته در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد معادل ۵۰ درصد تعداد آن در مقایسه با گیاهان تیمار شاهد (صفر درجه سانتی گراد) بود (شکل ۲-ب). با کاهش دما، میزان ارتفاع ساقه نیز کاهش یافت، به طوری -

جدول ۲. ضرایب همبستگی بین درصد نشت الکترولیت ها، درصد بقاء، وزن خشک، تعداد گره، تعداد برگ، تعداد شاخه و ارتفاع ساقه در گیاهان قرنفل قرار گرفته در معرض تنش یخزدگی تحت شرایط کنترل شده.

Table 2. Coefficients of correlation between electrolyte leakage percentage, survival percentage, dry weight, number of nodes in stem, number of leaves, number of branches and height of stem in Sweet William affected by freezing temperatures under controlled condition.

traits	صفات (traits)						
	1	2	3	4	5	6	7
۱- درصد نشت الکترولیت ها 1. electrolyte leakage percentage	1						
۲- درصد بقاء 2. survival percentage	-0.33*	1					
۳- وزن خشک 3. dry weight	-0.37*	0.65*	1				
۴- تعداد گره 4. nodes No. per stem	-0.34*	0.79**	0.76**	1			
۵- تعداد برگ 5. leaves No.	-0.43*	0.65*	0.76**	0.66*	1		
۶- تعداد شاخه 6. branches No.	-0.39*	0.64*	0.76**	0.61*	0.77**	1	
۷- ارتفاع ساقه 7. stem height	-0.39*	0.86**	0.64*	0.76**	0.77**	0.67*	1

* و ** معنی داری به ترتیب در سطوح ۵ و ۱ درصد

* and **: significant in %5 and %1 levels, respectively.

نتیجه گیری

درجه سانتی‌گراد هیچ گیاهی زنده نماند. وزن خشک گیاه، ارتفاع، تعداد گره در ساقه اصلی، تعداد انشعاب جانبی و تعداد برگ کل گیاهان نیز تا دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد تقریباً ثابت بودند و پس از آن به شدت کاهش یافتند. نتایج این آزمایش نشان داد که تحمل گیاه قرنفل به دمای پایین در شرایط کنترل شده نسبتاً خوب است، با وجود این، تحقیقات بیشتر در خصوص ارزیابی تحمل به یخ‌زدگی این گیاه در شرایط طبیعی و تعیین روابط همبستگی بین نتایج، در شرایط کنترل شده و طبیعی مفید خواهد بود.

به طور کلی، تنش یخ‌زدگی موجب افزایش نشت الکترولیت‌ها، کاهش درصد بقاء و بازیافت گیاه قرنفل شد. البته واکنش ویژگی‌های مورد مطالعه، بسته به شدت تنش، متفاوت بود. به عنوان مثال، درصد نشت الکترولیت‌ها تا دمای ۱۶- درجه سانتی‌گراد تقریباً ثابت بود ولی پس از آن به تدریج افزایش یافت و در دمای ۲۲- درجه سانتی‌گراد به حداکثر رسید، در صورتی که درصد بقاء گیاهان تا دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد تحت تأثیر قرار نگرفت و پس از آن با شیب تندی کاهش یافت به طوری که در دمای ۲۲-

منابع

- Azizi, H., Nezami, A., Nasiri Mahalati, M., Khazaee, H.R., 2007. Evaluation of freezing tolerance of wheat cultivars under controlled conditions. *J. Iranian Field Crops Res.* 6(1), 109-119. [In Persian with English Summary].
- Baek, K.H., Skinner, D.Z., 2003. Alteration of antioxidant enzyme gene expression during cold acclimation of near-isogenic wheat lines. *Plant Sci.* 165, 1221-1227.
- Blum, A., 1988. *Plant Breeding for Environmental Stress*. CRC press.
- Cardona, C.A., Duncan, R.R., Lindstrom, O., 1997. Low temperature tolerance assessment in *paspalum*. *Crop Sci.* 37, 1283-1291.
- Chen, T.H., Gusta, L.V., Fowler, D.B., 1983. Freezing injury and root development in winter cereals. *Plant Physiol.* 73, 773-777.
- Eugenia, M., Nunes, S., Ray Smith, G. 2003. Electrolyte leakage assay capable of quantifying freezing resistance in rose clover. *Crop Sci.* 43, 1349-1357.
- Hajmohammadnia Ghalibaf, K., Nezami, A., Kamandi, A. 2010. Study the possibility of using the electrolyte leakage index for evaluation of cold tolerance in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) cultivars. *J. Iranian Field Crops Res.* 8(3), 465-472. [In Persian with English Summary].
- Hana, B., Bischofa, J.C., 2004. Direct cell injury associated with eutectic crystallization during freezing. *Cryobiol.* 48, 8-21.
- Hashemi Esfahani, A., 2000. *Promotion of Modern Floriculture*. Nasagh Publications. [In Persian].
- Khalighi, A., 2000. *Floriculture: Breeding of Ornamental Plants*. Golshan Publications, Tehran. [In Persian].
- Kim, D.C., Anderson, N.O., 2006. Comparative analysis of laboratory freezing methods to establish cold tolerance of detached rhizomes and intact crowns in garden chrysanthemums (*Dendranthema X grandiflora* Tzvelv). *Sci. Hort.* 109, 345-352.
- Majdari, A. 1982. *Planting and nurturing flowers*. Mir Publications. Tehran. [In Persian].
- Mckersie, B.D., Leshem, Y.Y., 1994. *Stress and Stress Coping in Cultivated Plants*. Kluwer Academic Publishers. The Netherlands.

- Miresghhi, A., Khalilzade, G.H.R., 2002. Evaluation of some physiological traits related to cold in 22 genotypes of bread wheat. Proceedings of the Third Iranian Conference for Reduce Crop and Horticultural Products Losses Due to Cold. pp 65. [In Persian].
- Mirmohamadi Meibodi, A., Tarkeshe Esfahani, C., 2004. Aspects of Physiology and Breeding for Cold and Freezing in Crops. Golbon Publication. Isfahan. [In Persian].
- Nazeri, M., Ahmadi, A., Tabei, M., Koohestani, B., 2006. Freezing tolerance of promising genotype of wheat with puteal freezing method. J. Iranian Field Crops Res, 4(1), 155-168.
- Nezami, A., 2002. Evaluation of freezing tolerance in chickpea (*Cicer arietinum* L.) for autumnal cultivation in high areas. PhD dissertation. Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran. [In Persian with English Summary].
- Nezami, A., Bagheri, A.R., Rahimian, H., Kafi, M., Nasiri Mahalati, M., 2006. Evaluation of freezing tolerance chickpea genotypes under controlled condition. Iranian J. Sci. Tech. Agric. Natural Res. 10(4), 257-269. [In Persian with English Summary].
- Nezami, A., Borzooee A., Jahani Kondori, M., Azizi, M., Sharif, A., 2007. Electrolyte Leakage as an index of freezing damage in canola (*Brassica napus* L.). Iranian J. Field Crops Res. 5(1), 167-175.
- Nezami, A., Soleimani, M.R., Ziaee, M., Ghodsi, M., Bannayan Aval, M., 2010. Evaluation of freezing tolerance of hexaploid triticale genotypes under controlled conditions. Not. Sci. Biol, 2, 114-120.
- Nezami, A., Azizi, G., Siahmarghooee, A., Sharifiee Noori, M., Mohamadabadi, A.A., 2011. Effects of freezing stress on Electrolyte Leakage of fennel (*Foeniculum vulgare*). Iranian J. Field Crops Res. 8(4), 587-593. [In Persian with English Summary].
- Paull, R.E., 1981. Temperature induced leakage from chilling-sensitive and chilling-resistant plant. Plant Physiol. 68,149-153.
- Perras, M., Sarhan, F., 1988. Synthesis of freezing tolerance proteins in leaves, crown and roots during cold acclimation of wheat. Plant Physiol. 89, 577-585.
- Rashed Mohassel, M.H., Nezami, A., Bagheri, A., Haj Mohammadnia, K., Bannayan, M., 2009. Evaluation of freezing tolerance of two fennel ecotypes under controlled conditions. J. Herbs Spices Med. Plants. 15, 131-140.
- Rife, C.L., Zeinali, H. 2003. Cold tolerance in oilseed rape over varying acclimation durations. Crop Sci. 43, 96-100.
- Salk, R. M., Albrecht, K. A. and Duke, S. H. 1991. Leakage of intracellular substances as an indicator of freezing injury in alfalfa. Crop Sci. 31,430-435.
- Steponkus P.L., 1984. The role of the plasma membrane in freezing injury and cold acclimation. Annu. Rev. Plant Physiol. 35, 543-584.
- Thomashow, M.F., 1998. Role of cold-responsive genes in plant freezing tolerance. Plant Physiol. 118, 1-8.
- Uemura, M., Tominaga, Y., Nakagawara, C., Shigematsu, S., Minami, A. Kawamura, Y., 2006. Responses of plasma membrane to low temperature. Physiol. Plantarum. 126, 81-89.