نشریه بوم شناسی کشاورزی
جلد ۳، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۰، ص. ۳۸۲-۳۷۱

Journal of Agroecology
Vol. 3, No. 3, Fall 2011, p. 371-382

بررسی اثر تنش یخ‌زدگی بر میزان نشت الکترولیت‌ها در گیاه دارویی و صنعتی موسیر (*Alliumm altissimum* Regel.) تحت شرایط کنترل شده

شهرام رضوان بیدختی[1*]، احمد نظامی[2]، محمد کافی[3] و حمید رضا خزاعی[2]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۰۱/۳۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۰۴/۰۳

چکیده

این مطالعه با هدف بررسی اثر تنش یخ زدگی بر نشت الکترولیت‌های سه اکوتیپ موسیر (*Alliumm altissimum* Regel.) (شیروان، کلات و تندوره) در شرایط کنترل شده در آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهان زراعی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در پاییز سال ۱۳۸۸ به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. به منظور ایجاد خوسرمایی، گیاهان در محیط طبیعی رشد یافتند و سپس در دو مرحله سبز شدن و گیاهچه‌ای در فریزر ترموگرادیان در معرض شش دمای یخ زدگی (صفر، ۴-، ۸-، ۱۲-، ۱۶- و ۲۰- درجه سانتی‌گراد) قرار داده شدند. میزان پایداری غشاء سلولی با استفاده از شاخص نشت الکترولیت‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت و دمای کشنده برای ۵۰ درصد نمونه‌ها (LT_{50el}) بر اساس آن تعیین گردید. نتایج نشان داد که درصد نشت الکترولیت‌ها و LT_{50el} بطور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفتند. در تمامی اکوتیپ‌های مورد مطالعه با کاهش دما درصد نشت الکترولیت‌ها از برگ، پیاز و ریشه بطور معنی‌داری افزایش یافت. اندام ریشه و برگ در مرحله سبز شدن در تمامی تیمارهای یخ زدگی، به ترتیب بیشترین و کمترین درصد نشت الکترولیت‌ها را نشان دادند. ریشه‌های اکوتیپ شیروان دارای بیشترین درصد نشت الکترولیت‌ها در هر دو مرحله رشدی (مرحله سبز شدن و گیاهچه‌ای) بودند. اندام‌های ریشه و برگ در اکوتیپ شیروان در مقایسه با اکوتیپ‌های کلات و تندوره کمترین تحمل را نسبت به دماهای یخ‌زدگی نشان دادند. اکوتیپ‌های کلات و تندوره کمترین و اکوتیپ شیروان بیشترین مقدار LT_{50el} را نشان دادند. ریشه اکوتیپ شیروان در مرحله گیاهچه‌ای بیشترین میزان LT_{50el} را داشت و حساسیت بیشتری به دماهای یخ زدگی نسبت به اندام برگ و پیاز نشان داد. در بین سه اکوتیپ مورد مطالعه، اکوتیپ‌های کلات و تندوره از کمترین درصد نشت الکترولیت‌ها، کمترین LT_{50el} و بیشترین مقاومت نسبت به تنش یخ زدگی برخوردار بودند.

واژه‌های کلیدی: اکوتیپ، دمای کشنده ۵۰ درصد، مرحله رشد

مقدمه

موسیر (*Allium altissimum* Regel.) گیاهی چندساله از خانواده Alliaceae و یکی ازمهم‌ترین گونه‌های دارویی و صنعتی در ایران می‌باشد که بصورت خودرو و طبیعی در مناطق نسبتاً مرتفع بیش از ۱۰۰۰ متر از سطح دریا با اقلیم خیلی سرد تا نیمه سرد از جمله خراسان، لرستان و دیگر مناطق کشور در شیب‌های مختلف رشد می‌کند (Randle & Lancaster 2002; Ebrahimi et al., 2009). پیاز موسیر مانع از تکثیر سلول‌های سرطانی می شود و در درمان رماتیسم، زخم‌های سطحی، سنگ کلیه، فشار خون، اسهال کاربرد دارد. این گیاه اشتهاآور نیز بوده و در تقویت سیستم گوارش تأثیر دارد. همچنین موسیر به عنوان عطر و طعم‌دهنده در صنایع مورد استفاده قرار می‌گیرد (Amin et al., 2001; Block et al., 2001). پیازهای موسیر همزمان با خنک شدن هوا در پاییز شروع به جوانه زنی می‌کنند. با شروع فعالیت رویشی گیاه در پاییز ابتدا ریشه‌های اولیه از پیاز موسیر شروع به رشد می‌کنند، این در حالی است که سرعت رشد اندام‌های هوایی در فصل زمستان بسیار کند می‌باشد. با گرم‌تر شدن هوا در اواخر زمستان و اوایل بهار سرعت رشد اندام‌های هوایی افزایش می‌یابد و رشد برگ افزایش یافته و سپس گل آذین (با توجه به سن و وزن پیاز) ایجاد می‌شود. در نیمه دوم خرداد گیاه به مرحله پایانی زندگی خود رسیده و پیاز موسیر وارد مرحله خواب تابستانه می‌گردد (Kamenetsky, 1996).

در بیش از ۹۱ درصد از اراضی دنیا احتمال وقوع سرما وجود دارد که ۸۱ درصد از این مناطق در معرض یخبندان قرار دارند، همچنین

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی دانشگاه فردوسی مشهد (عضو هیئت علمی گروه زراعت، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان)، دانشیار و استاد دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد
(*- نویسنده مسئول: E-mail: S.Rezvan@damghaniau.ac.ir)

Archive of SID
www.SID.ir

در دو سوم کل زمین‌های دنیا متوسط سالانه حداقل دما کمتر از صفر درجه سانتی‌گراد است (Kafi et al., 2000; Nilsen & Orcutt, 1996). بنابراین تنش یخزدگی یکی از مهمترین تنش‌های محیطی است که تعیین کننده رشد، تولید و همچنین بقاء در بسیاری از گیاهان محسوب می‌شود (Nilsen & Orcutt, 1996).

در مناطق معتدله‌ای نظیر ایران گیاهان در معرض انواع تنش‌های زمستانه به ویژه تنش یخزدگی قرار می‌گیرند. در فرآیند یخ زدگی تشکیل یخ و خسارت‌های ناشی از آن تأثیر مخربی بر رشد گیاه دارند. بطوری که تشکیل بلورهای یخ در اطراف سلول‌های گیاه سبب تخریب غشاء، نشت الکترولیت‌ها و ایجاد لکه‌های نکروزه در گیاه می‌شود (Bagheri et al., 2000).

ارزیابی سریع و مؤثر تحمل گیاهان به تنش یخ زدگی مورد توجه محققان زیادی می‌باشد و پژوهش‌های بسیاری برای یافتن روش‌های ارزیابی سریع و مؤثر انجام شده است تا بتوان مقاومت به سرمای گیاهان را پیش بینی نمود (Anderson & Gesick, 2004). در یکی از این روش‌ها مقدار نشت الکترولیت‌ها از سلول‌های گیاهی پس از اعمال تنش یخزدگی اندازه‌گیری می‌شود (Eugenia et al., 2003). 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 و در همین خصوص قوی‌ترین تئوری مطرح شده در مورد اثر تنش یخ زدگی، تئوری خسارت غشاء سلولی می‌باشد (Nezami et al., 2009; Mckersie & Leshem, 1994). بر طبق این تئوری سرما باعث تغییر حالت غشاء از فاز مایع به ژل می‌شود که با این تغییر فیزیکی، فعالیت غشاء مختل می‌گردد (Thomashow, 1998; Baek & Skinner, 2003). غشای پلاسمایی اولین مکانی است که در معرض تنش یخزدگی دچار خسارت می‌شود (Uemura et al., 2006). از این رو محققان اظهار داشته‌اند که تداوم انسجام غشاء پلاسما، از جمله عوامل اصلی بقای گیاه در شرایط تنش یخ زدگی است و هر گونه اختلال در ساختار غشاء، سبب بروز خسارت و حتی مرگ آن می‌شود (Mckersie & Leshem, 1994). به همین دلیل اندازه‌گیری میزان نشت الکترولیت‌ها از بافت‌های گیاهی به عنوان یک روش مناسب برای تخمین تراوایی غشاء و ارزیابی اثر تنش‌های محیطی بر ژنوتیپ‌های مختلف گیاهان مورد استفاده قرار گرفته و دمایی که سبب ۵۰ درصد نشت از سلول‌های گیاهی می‌شود به عنوان دمای ۵۰ درصد کشندگی[1] (LT_{50el}) پیشنهاد شده است (Nezami et al., 2007). با توجه به اینکه پراکنش گیاه موسیر در مناطق اکولوژیکی خاصی می‌باشد که وقوع نوسانات شدید دمایی، کاهش سریع دما و تنش یخ زدگی محتمل است و از طرفی اطلاعات چندانی در مورد تحمل به سرمای این گیاه در دسترس نیست، لذا هدف از این مطالعه بررسی مقاومت و تعیین تحمل به سرما در این گیاه می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در پاییز سال ۱۳۸۸ بصورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. عوامل آزمایش شامل سه اکوتیپ موسیر (شیروان، کلات و تندوره)، شش تیمار دمایی(۰، ۴-، ۸-، ۱۲-، ۱۶- و۲۰- درجه سانتی‌گراد)، سه اندام (برگ، پیاز و ریشه) و دو مرحله رشد گیاه (شامل مرحله سبز شدن و گیاهچه‌ای) بودند (شکل ۱).

در آذر ماه دو عدد پیاز موسیر (به وزن تقریبی ۱۵-۱۲ گرم) در گلدان‌های پلاستیکی به قطر ۲۵ سانتیمتر و ارتفاع ۲۳ سانتی متر در عمق هشت سانتی‌متری کشت شدند. خاک گلدان‌ها حاوی نسبت مساوی از شن، خاک برگ و خاک مزرعه بود. به منظور ایجاد خوسرمایی گیاهان در محیط طبیعی قرار داده شدند. سپس برای اعمال دماهای یخ زدگی، گیاهان در اواسط اسفند به فریزر ترموگرادیان منتقل شدند. در شروع آزمایش جهت ایجاد یکنواختی دمای فریزر به مدت ۱۰ ساعت ۵ درجه سانتی‌گراد بود و پس از قرار دادن نمونه‌ها با سرعت ۲- درجهٔ سانتی‌گراد در ساعت کاهش یافت. به منظور جلوگیری از پدیده فراسرما و ایجاد هستک یخ در گیاهچه‌ها، در دمای ۳- درجه سانتی‌گراد بر روی گیاهان، محلول باکتری‌های ایجاد کننده هستک یخ[2] به نحوی پاشیده شد که قشر نازکی از این محلول روی اندام هوایی گیاه را پوشاند. به منظور ایجاد تعادل در دمای محیط آزمایش، گیاهان در هر تیمار دمایی، به مدت یک ساعت نگه داشته و سپس از فریزر خارج شدند. به منظور کاهش سرعت ذوب، گلدان‌ها بلافاصله به اتاقک سرد با دمای ۱±۴ درجهٔ سانتی‌گراد منتقل و به مدت ۲۴ ساعت در آن نگهداری شدند.

سپس به منظور تعیین درصد نشت الکترولیت‌ها گیاهچه های مربوط به هر تیمار از گلدان‌ها خارج شده و با آب مقطر شسته شده و سپس گیاهچه‌ها به سه قسمت برگ، پیاز و ریشه تفکیک و مجدداً توسط آب مقطر شسته شده و بطور جداگانه درون ظرف شیشه ای حاوی ۷۵ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر شده قرار گرفتند. ویال‌ها به مدت شش ساعت بر روی شیکر قرار گرفته و سپس هدایت الکتریکی هر نمونه با استفاده از دستگاه EC متر مدل جنوی[3] اندازه‌گیری شد (EC1).

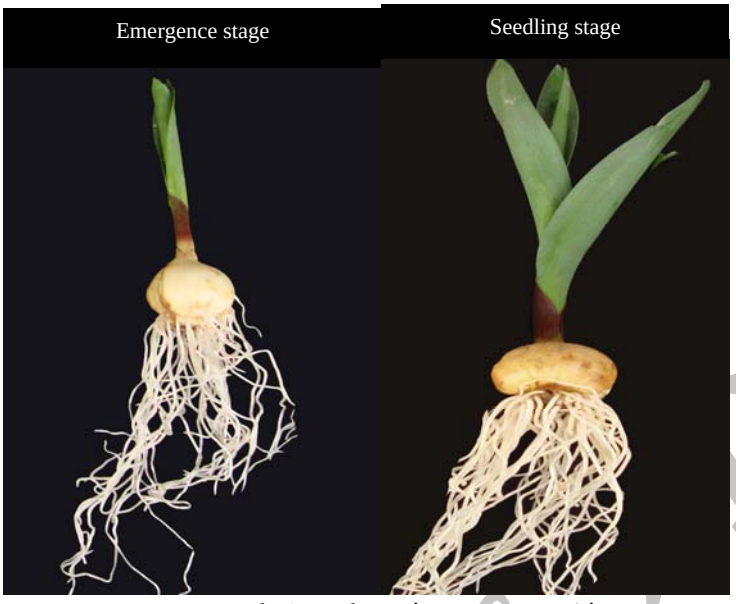
1- Lethal temperature 50 according to electrolyte leakage

2- Ice nucleation active bacteria

3- Genway

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱- مرحله سبز شدن و گیاهچه‌ای گیاه موسیر
Fig. 1- Emergence and seedling stages of Mooseer

برای اندازه‌گیری نشت کامل الکترولیت‌ها در اثر مرگ سلول، ویال‌ها در اتوکلاو با دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۲ بار به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفتند و پس از ۲۴ ساعت هدایت الکتریکی نمونه‌ها اندازه‌گیری شد (EC2). با استفاده از فرمول ۱۰۰ ×(EC1/ EC2)، درصد نشت الکترولیت‌های هر تیمار محاسبه گردید. درجه حرارت کشنده برای ۵۰ درصد نمونه‌ها بر اساس نشت الکترلیت‌ها ($LT50_{el}$) مطابق با روش اندرسون (Anderson, 1988) تعیین گردید (معادله ۱).

معادله (۱) $EL_p=EL_i + \{(EL_m - EL_i) /(1+e^{-B(T-Tm)})\}$

که در این معادله، EL_p: مقدار نشت الکترولیت پیش‌بینی شده، EL_i: حداقل مقدار نشت الکترولیت‌ها در دماهای مختلف، EL_m: حداکثر مقدار نشت الکترولیت‌ها در دماهای مختلف، B: سرعت افزایش شیب منحنی، T: دما، T_m نقطه عطف منحنی که عبارت است از نقطه میانی بین بخش پایینی و بالایی خط منحنی و نشان‌دهنده خروج ۵۰ درصد الکترولیت از سلول می‌باشد.

تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار Minitab صورت گرفت. برای رسم نمودارها و تعیین LT_{50} از نرم افزارهای Sigma Plot و Slide Write استفاده شد. میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد مقایسه شدند.

نتایج و بحث

درصد نشت الکترولیت: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که از نظر درصد نشت الکترولیت‌ها تفاوت معنی‌داری ($p\leq$ ۰/۰۱) بین اکوتیپ‌های موسیر و دماهای اعمال شده وجود دارد (جدول ۱). بیشترین درصد نشت الکترولیت در اکوتیپ شیروان مشاهده شد و اکوتیپ‌های کلات و تندوره بدون تفاوت معنی‌داری کمترین درصد نشت را به خود اختصاص دادند (شکل ۲-الف). بررسی محققین دیگر روی کلزا (*Brassica napus* L.) نیز بیانگر وجود تفاوت‌های ژنوتیپی از نظر میزان نشت الکترولیت‌ها در شرایط تنش یخزدگی می‌باشد (Nezami et al., 2007).

با کاهش دما نیز میزان نشت الکترولیت ها افزایش یافت بطوریکه در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد به حداکثر مقدار خود رسید (شکل ۲-ج). افزایش میزان نشت مواد با کاهش دما حاکی از آن است که در نتیجه اعمال یخزدگی، انسجام و فعالیت غشاء سلولی مختل شده و در نتیجه آن نشت مواد از درون سلول‌ها اتفاق افتاده است. این امر در مطالعات سایر پژوهشگران نیز مشاهده شده است (Nezami et al., 2007; Nayyar et al., 2005). تأثیر تنش سرما بر اختلال فعالیت غشاهای سلولی و به دنبال آن نشت الکترولیت‌ها بسته به تحمل به یخزدگی ارقام گیاهی متفاوت است (Cardona et al., 1997)، از اینرو، پایین‌تر بودن میزان نشت الکترولیت‌ها در اکوتیپ کلات و تندوره احتمالاً نشان‌دهنده تحمل بیشتر این اکوتیپ‌ها نسبت به تنش یخزدگی می‌باشد.

در بین اندام‌های مختلف موسیر نیز تفاوت معنی‌داری از نظر نشت الکترولیت‌ها وجود داشت و بیشترین درصد نشت الکترولیت‌ها

Archive of SID

www.SID.ir

در ریشه و کمترین آن در پیاز موسیر مشاهده شد (شکل ۲–ب) این وضعیت احتمالاً بیانگر حساسیت بیشتر غشاء سلول‌های ریشه در برابر تنش یخ زدگی در مقایسه با سایر اندام‌های مورد مطالعه می‌باشد. وانر و جونتیلا (Waner & Junttila, 1999) بیان نمودند که تحمل به یخزدگی در اندام‌های مختلف گیاه و حتی بافت‌های مختلف یک اندام نیز متفاوت بود. ایشان اظهار داشتند که رگبرگ‌های اصلی و دمبرگ‌ها نسبت به سایر بافت‌های برگ به تنش یخ زدگی حساس‌تر بودند و اغلب بعد از تیمار یخ زدگی مجدداً قادر به ایجاد آماس سلولی نبوده و زرد یا قهوه‌ای شدند. ریشه‌ها و کوتیلدون‌ها نیز تحمل کمتری به یخزدگی داشتند و بعد از قرار گرفتن در دمای مناسب، قادر به جبران اثر تنش یخ زدگی نبودند. همچنین لارچر و بائور (Larcher & Bauer, 1981) بیان نمودند که اندام‌های ریشه و ریزوم در گیاهان، دارای حساسیت بیشتری نسبت به تنش یخزدگی می‌باشند، بطوریکه در زمستان حتی در دمای ۵– درجه سانتی‌گراد نیز ممکن است تحت تأثیر تنش یخزدگی دچار خسارت شوند.

جدول ۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) درصد نشت الکترولیت‌ها از اندام‌های مختلف اکوتیپ‌های گیاه موسیر در دو مرحله رشدی تحت تأثیر دماهای یخزدگی در شرایط کنترل شده

Table 1- Analysis of variance (mean of squares) for electrolyte leakage percentage from different organs in Mooseers' ecotypes at two growth stages affected by freezing temperatures in controlled conditions

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	نشت الکترولیت‌ها Electrolyte leakage
تکرار Replication	2	6.9
اکوتیپ Ecotype	2	390.1**
دما Temperature	5	16019.8**
اکوتیپ × دما Ecotype×Temperature	10	152.4**
اندام Organ	2	2386.7**
اکوتیپ × اندام Ecotype×Organ	4	374.7**
دما × اندام Temperature×Organ	10	195.4**
اکوتیپ × دما × اندام Ecotype× Temperature×Organ	20	56.8**
مرحله رشد Growth stage	1	26.2ns
اکوتیپ × مرحله رشد Ecotype× Growth stage	2	181.3**
دما × مرحله رشد Temperature× Growth stage	5	267.7**
اکوتیپ × دما × مرحله رشد Ecotype× Temperature× Growth stage	10	93.6**
اندام × مرحله رشد Organ×Growth stage	2	514.4**
اکوتیپ × اندام × مرحله رشد Ecotype×Organ×Growth stage	4	90.4**
دما × اندام × مرحله رشد Temperature×Organ× Growth stage	10	189.6**
اکوتیپ × دما × اندام × مرحله رشد Ecotype× Temperature × Organ×Growth stage	20	81.5**
خطا Error	214	13.2
کل Total	323	-

ns و ** : به ترتیب عدم اختلاف معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد

Ns and **: non- significant and significant at the 1% probability levels, respectively.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل اکوتیپ و دما بر درصد نشت الکترولیت‌ها از اندام‌های مختلف اکوتیپ‌های گیاه موسیر تحت تأثیر دماهای یخزدگی در شرایط کنترل شده

Table 2- Mean comparisons of interaction between ecotype and temperature on electrolyte leakage percentage from different organs in Mooseers' ecotypes affected by freezing temperatures in controlled conditions

اکوتیپ Ecotype	دما Temperature	نشت الکترولیت‌ها (٪) Electrolyte leakage (%)		
		برگ Leaf	پیاز Bulb	ریشه Root
شیروان Shirvan	0	6	10	11
	-4	7	10	20
	-8	9	11	23
	-12	10	16	35
	-16	37	21	42
	-20	55	51	77
کلات Kalat	0	7	8	10
	-4	9	12	16
	-8	10	13	18
	-12	15	15	20
	-16	22	20	28
	-20	50	52	63
تندوره Tandoureh	0	8	8	10
	-4	11	9	14
	-8	13	14	21
	-12	15	16	22
	-16	36	22	29
	-20	45	51	52
LSD (0.01)= 5.44*				

* میانگین‌هایی که تفاوت بین آنها کمتر از میزان LSD می‌باشد، بر اساس آزمونLSD در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

* Means, that the difference between them is lower than the amount of LSD, are not significantly different at α =0.05 by LSD test.

اثر متقابل اکوتیپ، دما و اندام بر درصد نشت الکترولیت معنی‌دار (p≤۰/۰۱) بود (جدول ۱). بیشترین درصد نشت الکترولیت مربوط به ریشه‌های اکوتیپ شیروان در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد بود و کمترین میزان نشت در دمای صفر درجه سانتی‌گراد مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری بین اکوتیپ‌ها و اندام‌ها در این دما مشاهده نشد (جدول ۲). درصد نشت الکترولیت‌ها از برگ و پیاز اکوتیپ‌های مورد مطالعه با کاهش دما از صفر به ۸- درجه سانتی‌گراد افزایش معنی‌داری نشان نداد، این در حالی است که با کاهش دما از صفر به ۸- درجه سانتی‌گراد در ریشه اکوتیپ‌های شیروان، کلات و تندوره درصد نشت الکترولیت‌ها بطور معنی‌داری افزایش یافت. به نظر می رسد که اندام ریشه با کاهش جزئی دما به تیمارهای یخ زدگی واکنش نشان می‌دهد. در اکوتیپ‌های کلات و شیروان کاهش دما از صفر به ۴- درجه سانتی‌گراد تأثیر معنی‌داری بر درصد نشت الکترولیت‌ها از ریشه داشت، در حالیکه در اکوتیپ تندوره اختلاف معنی‌داری در دماهای مذکور مشاهده نشد که نشان‌دهنده تحمل بیشتر ریشه اکوتیپ تندوره در این محدوده دمایی در مقایسه با اکوتیپ شیروان و کلات می‌باشد (جدول ۲). افزایش درصد نشت الکترولیت‌ها از ریشه در اکوتیپ شیروان در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نسبت به دمای صفر درجه سانتی‌گراد حدود ۶۵/۹ درصد بود، در حالی که در اکوتیپ کلات و تندوره در دمای مذکور به ترتیب ۵۳/۱ و۴۲ درصد افزایش درصد نشت الکترولیت‌ها نسبت به دمای صفر درجه سانتی‌گراد مشاهده شد. درصد نشت الکترولیت‌ها از برگ در اکوتیپ شیروان در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نسبت به دمای صفر درجه سانتی‌گراد حدود ۴۸/۴ درصد افزایش یافت، در حالی که در اکوتیپ کلات و تندوره در دمای مذکور به ترتیب ۴۲/۲ و۳۷/۲ درصد افزایش درصد نشت الکترولیت‌ها نسبت به به دمای صفر درجه سانتی‌گراد مشاهده شد. به نظر می‌رسد که در اکوتیپ شیروان در مقایسه با اکوتیپ‌های کلات و تندوره اندام ریشه و برگ ازحساسیت بیشتری نسبت به دماهای یخ زدگی برخوردار می‌باشند، همچنین در اندام ریشه افزایش درصد نشت الکترولیت با تغییر دما از صفر درجه سانتی‌گراد به دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد بیشتر از اندام برگ و پیاز بود (جدول ۲).

اثرات متقابل دما و مرحله رشدی بر درصد نشت الکترولیت‌ها در اندام‌های مختلف موسیر نشان داد که اندام ریشه و برگ در مرحله سبز شدن در تمامی تیمارهای یخزدگی، به ترتیب بیشترین و کمترین درصد نشت الکترولیت را نشان دادند (جدول ۳). افزایش درصد نشت الکترولیت‌ها از برگ‌ها در مرحله سبز شدن در دمای ۲۰- درجه

Archive of SID

www.SID.ir

سانتی‌گراد نسبت به دمای صفر درجه سانتی گراد ۴۱/۹ درصد بود، در حالی که در مرحله گیاهچه‌ای در دمای مذکور ۵۱ درصد افزایش درصد نشت الکترولیت‌ها نسبت به دمای صفر درجه سانتی‌گراد مشاهده شد همچنین افزایش درصد نشت الکترولیت‌ها از ریشه‌ها در مرحله سبز شدن و گیاهچه‌ای در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نسبت به دمای صفر درجه سانتی‌گراد به ترتیب ۶۱/۴ و ۴۵/۸ درصد می‌باشد که در افزایش درصد نشت الکترولیت‌ها از ریشه در مرحله گیاهچه‌ای در مقایسه با اندام برگ در همین مرحله کاهش مشاهده می‌شود، این در حالی است که در مرحله سبز شدن افزایش درصد نشت الکترولیت‌ها از اندام برگ کمتر از ریشه می‌باشد. با توجه به نتایج فوق چنین به نظر می‌رسد که اندام‌های گیاه موسیر در مراحل مختلف رشد، حساسیت و تحمل متفاوتی به دماهای یخزدگی از خود نشان می‌دهند (جدول ۳).

در بین اکوتیپ و اندام‌های مورد مطالعه با وجود اینکه ریشه‌های اکوتیپ شیروان دارای بیشترین درصد نشت الکترولیت در هر دو مرحله رشد (مرحله سبز شدن و گیاهچه‌ای) بودند و تفاوت معنی داری بین این دو مرحله رشدی از این نظر مشاهده نشد، ولی در اکوتیپ‌های کلات و تندوره درصد نشت الکترولیت‌ها از ریشه در مرحله سبز شدن بطور معنی‌داری بیشتر از مرحله گیاهچه‌ای بود. نتایج متفاوتی در برگ‌های موسیر در اکوتیپ‌های شیروان و تندوره مشاهده شد، بطوریکه درصد نشت الکترولیت‌ها در مرحله گیاهچه‌ای در اکوتیپ های فوق بطور معنی‌داری بیشتر از مرحله سبز شدن بود (جدول ۴). مراحل مختلف رشدی تأثیر معنی‌داری بر درصد نشت الکترولیت‌ها از پیازهای موسیر در اکوتیپ‌های شیروان و تندوره نداشت، این در حالی است که در اکوتیپ کلات درصد نشت الکترولیت پیاز در مرحله گیاهچه‌ای بیشتر از مرحله سبز شدن می‌باشد. به نظر می‌رسد که حساسیت به یخزدگی پیازهای موسیر در اکوتیپ‌های شیروان و تندوره در مراحل مختلف رشدی کمتر تحت تأثیر دماهای یخ قرار می‌گیرند (جدول ۴).

بررسی اثر تنش سرما بر درصد نشت الکترولیت‌ها از اندام اکوتیپ‌های موسیر (برگ، پیاز و ریشه) در مراحل مختلف رشدی نشان داد که با کاهش دما نشت الکترولیت در هر سه اکوتیپ افزایش یافت (شکل ۳). با وجود این در بررسی منحنی نشت الکترولیت‌ها از اندام‌های مختلف موسیر مشاهده شد که در برگ‌های دو اکوتیپ شیروان و تندوره با کاهش دما میزان نشت الکترولیت‌ها در مرحله گیاهچه‌ای بیشتر از مرحله سبز شدن افزایش یافته است، این در حالی است که میزان نشت مواد در پیاز و ریشه‌های موسیر در اثر تنش سرما در مرحله سبز شدن بیشتر از مرحله گیاهچه‌ای می‌باشد (شکل ۳). به نظر می‌رسد که ریشه و پیاز موسیر با گذشت زمان و به دلیل فعال شدن بخش فتوسنتزی و انتقال مواد فتوسنتزی از برگ‌ها به سمت اندام‌های زیرزمینی تحمل بیشتری را نسبت به تنش سرما از خود نشان می‌دهند.

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل دما و مرحله رشدی بر درصد نشت الکترولیت‌ها از اندام‌های مختلف گیاه موسیر تحت تأثیر دماهای یخزدگی در شرایط کنترل شده

Table 3- Mean comparisons of interaction between temperature and growth stage on electrolyte leakage percentage from different organs in Mooseers' ecotypes affected by freezing temperatures in controlled conditions

مرحله رشد Growth stage	دما Temperature	نشت الکترولیت‌ها (٪) Electrolyte leakage (%)		
		برگ Leaf	پیاز Bulb	ریشه Root
سبز شدن Emergence	0	8	10	10
	-4	10	12	20
	-8	12	14	26
	-12	14	16	26
	-16	24	21	29
	-20	50	53	71
گیاهچه ای Seedling	0	7	7	11
	-4	9	10	14
	-8	9	11	15
	-12	13	15	25
	-16	39	22	36
	-20	58	50	57
LSD (0.01)= 4.44*				

* میانگین‌هایی که تفاوت بین آنها کمتر از میزان LSD می‌باشد، بر اساس آزمونLSD در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

* Means, that the difference between them is lower than the amount of LSD, are not significantly different at α =0.05 by LSD test.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ٤- مقایسه میانگین اثر متقابل اکوتیپ و مرحله رشدی بر درصد نشت الکترولیت‌ها از اندام‌های مختلف گیاه موسیر تحت تأثیر دماهای یخ-زدگی در شرایط کنترل شده

Table 4- Mean comparisons of interaction between ecotype and growth stage on electrolyte leakage percentage from different organs in Mooseers' ecotypes affected by freezing temperatures in controlled conditions

اکوتیپ Ecotype	مرحله رشد Growth stage	نشت الکترولیت‌ها (٪) Electrolyte leakage (%)		
		برگ Leaf	پیاز Bulb	ریشه Root
شیروان Shirvan	سبز شدن Emergence	19	20	34
	گیاهچه ای Seedling	23	20	34
کلات Kalat	سبز شدن Emergence	19	22	29
	گیاهچه ای Seedling	19	18	22
تندوره Tandoureh	سبز شدن Emergence	17	21	28
	گیاهچه ای Seedling	26	19	21
LSD (0.01)= 3.14*				

* میانگین‌هایی که تفاوت بین آنها کمتر از میزان LSD می‌باشد، بر اساس آزمونLSD در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

* Means, that the difference between them is lower than the amount of LSD, are not significantly different at α =0.05 by LSD test.

دمای کشنده برای ۵۰ درصد نمونه‌ها ($LT50_{el}$)

از نظر $LT50_{el}$ بین اکوتیپ‌های موسیر، اندام‌های متفاوت آن و مراحل مختلف رشدی آن تفاوت معنی‌داری وجود داشت (جدول ۵). بطوریکه اکوتیپ‌های تندوره و کلات کمترین (متحمل‌ترین اکوتیپ‌ها به دماهای یخ زدگی) و اکوتیپ شیروان بیشترین مقدار $LT50_{el}$ (حساسترین اکوتیپ به دماهای یخزدگی) را داشتند (شکل۴-الف). در مقایسه اندام‌های مختلف نیز اندام ریشه بیشترین میزان $LT50_{el}$ را داشت و حساسیت بیشتری به دماهای یخزدگی نسبت به دو اندام دیگر نشان داد (شکل۴-ب). نتایج حاصل از اثر متقابل اکوتیپ، اندام و مراحل مختلف رشد موسیر بر دمای ۵۰ درصد کشندگی نشان داد که ریشه‌های اکوتیپ شیروان در مرحله گیاهچه‌ای بیشترین میزان $LT50_{el}$ (کمترین تحمل به دماهای یخزدگی) را داشتند، این درحالی است که در اکوتیپ مذکور نیز ریشه‌ها دارای بیشترین درصد نشت الکترولیت بودند (جدول ۶). کمترین میزان $LT50_{el}$ نیز مربوط به برگ‌های اکوتیپ تندوره و کلات در مرحله سبز شدن بود که دارای کمترین درصد نشت الکترولیت نیز بودند (جدول ۶).

برخی از محققین دمایی را که سبب ۵۰ درصد نشت الکترولیت‌ها از بافت‌های گیاهی می‌شود به عنوان دمای ۵۰ درصد کشندگی ($LT50_{el}$) پیشنهاد کرده‌اند (Nezami et al., 2009; Cardona et al., 1997). در همین رابطه شاشیکومار و نیوس (Shashikumar & Nus, 1993) با انجام آزمایشی بر روی هشت رقم پنجه مرغی (*Cynodon dactylon* L.) گزارش کردند که ارقام مقاوم به سرما $LT50_{el}$ کمتری نسبت به ارقام حساس داشتند. اندرسون و همکاران (Anderson et al., 1993) نیز با بررسی $LT50_{el}$ و همچنین رشد مجدد در ارقام مختلف برمودا گراس (*Cynodon dactylon* L.) به این نتیجه رسیدند که بین ارقام مختلف تفاوت معنی‌داری از این نظر وجود دارد و $LT50_{el}$ ارقام مورد مطالعه بین دماهای ۷- تا ۱۱- درجه سانتی‌گراد متغیر بود.

نتیجه‌گیری

تخمین خسارت ناشی از تنش سرما با استفاده از روش‌های اندازه‌گیری نشت الکترولیت می‌تواند معیارهای نسبتاً قابل قبولی را فراهم سازد، با این وجود نشت الکترولیت‌ها الزاماً نشان‌دهنده خسارت غیرقابل برگشت به سلول‌ها نیست و به همین جهت اندازه‌گیری هدایت الکتریکی و تعیین درجه حرارت کشنده بر اساس صفت مذکور می‌تواند برای ارزیابی مراحل ابتدائی خسارت ناشی از یخزدگی مفید باشد (Palta, 1994). نتایج این بررسی نشان داد که در اکوتیپ‌های موسیر مورد مطالعه با کاهش دمای یخ زدگی، درصد نشت الکترولیت-ها از سلول‌های برگ، پیاز و ریشه بطور معنی‌داری افزایش یافت و بین اکوتیپ‌های مورد مطالعه از این نظر تفاوت معنی‌دار وجود داشت.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۵- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) دمای کشنده ۵۰ درصد نمونه‌ها بر اساس نشت الکترولیت‌ها ($LT50_{el}$) اندام‌های مختلف اکوتیپ‌های گیاه موسیر در دو مرحله رشدی تحت تأثیر دماهای یخزدگی در شرایط کنترل شده

Table 5- Analysis of variance (mean of squares) lethal temperature of 50% samples based on electrolyte leakage ($LT50_{el}$) from different organs in Mooseers' ecotypes in two growth stages affected by freezing temperatures in controlled conditions

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	دمای کشنده ۵۰ درصد نمونه‌ها (٪) $LT50_{el}$ percentage
تکرار Replication	2	0.3
اکوتیپ Ecotype	2	18.6**
اندام Organ	2	7.9**
اکوتیپ × اندام Ecotype×Organ	4	4.7*
مرحله رشد Growth stage	1	31.2**
اکوتیپ × مرحله رشد Ecotype×Growth stage	2	10.9**
اندام × مرحله رشد Organ×Growth stage	2	28**
اکوتیپ × اندام × مرحله رشد Ecotype×Organ×Growth stage	4	14.5**
خطا Error	34	1.6
کل Total	53	-

**: معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد

** is significant at 1% probability level.

جدول ٦- مقایسه میانگین اثر متقابل اکوتیپ و مرحله رشدی بر دمای کشنده ۵۰ درصد نمونه‌ها بر اساس نشت الکترولیت‌ها ($LT50_{el}$) در اندام-های مختلف اکوتیپ‌های گیاه موسیر تحت تأثیر دماهای یخزدگی در شرایط کنترل شده

Table 6- Mean comparisons of interaction effects of ecotype and growth stage on lethal temperature of 50% samples based on electrolyte leakage ($LT50_{el}$) from different organs in Mooseers' ecotypes affected by freezing temperatures in controlled conditions

		دمای کشنده ۵۰ درصد نمونه‌ها lethal temperature of 50% samples		
اکوتیپ Ecotype	مرحله رشد Growth stage	برگ Leaf	پیاز Bulb	ریشه Root
شیروان Shirvan	سبز شدن Emergence	-19	-19	-18
	گیاهچه ای Seedling	-17	-20	-15
کلات Kalat	سبز شدن Emergence	-20	-19	-19
	گیاهچه ای Seedling	-19	-20	-20
تندوره Tandoureh	سبز شدن Emergence	-20	-20	-19
	گیاهچه ای Seedling	-15	-20	-20
LSD (0.01)= 2.84*				

* میانگین‌هایی که تفاوت بین آنها کمتر از میزان LSD می‌باشد، بر اساس آزمونLSD در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

* Means, that the difference between them is lower than the amount of LSD, are not significantly different at α =0.05 by LSD test.

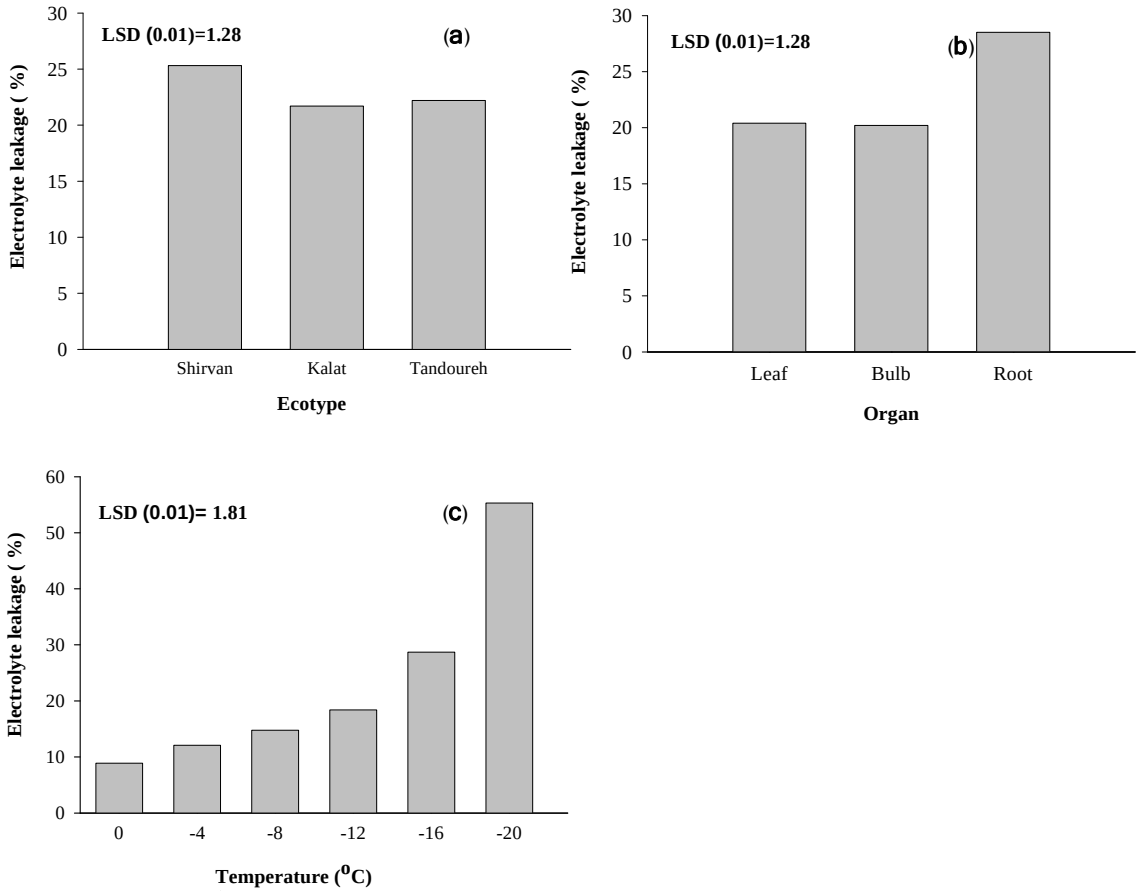
*: پایین‌ترین دمای ارزیابی شده در آزمایش ۲۰- درجه سانتی‌گراد بود.

*: The lowest evaluated temperature in experiment was -20ºC.

Archive of SID

www.SID.ir

در بین اکوتیپ و اندام‌های مورد مطالعه انـدام ریشـه در اکوتیـپ شیروان در مرحلـه سـبز شـدن بیشـترین درصـد نشـت الکترولیـت و حساسیت را نسبت به کاهش دما نشان دادند، بطوریکه افزایش درصد نشت الکترولیت ریشه در اکوتیپ شیروان در دمای ۲۰- درجه سانتی-گراد حدود ۶۵/۹ درصد نسبت به دمای صفر درجه سانتی‌گراد بود، در حالی که در اکوتیپ کلات و تندوره در دمای مذکور بـه ترتیـب ۵۳/۱ و۴۲ درصد افزایش درصد نشت الکترولیت نسبت به به دمـای صـفر درجه سانتی‌گراد مشـاهده شـد. در بـین سـه اکوتیـپ مـورد مطالعـه، اکوتیپ شیروان از بالاترین درصد نشت الکترولیت و بالاترین LT_{50} و بیشترین حساسیت نسبت به تنش یخزدگی برخوردار بـود، در حالیکـه اکوتیپ‌های کلات و تندوره تحمل بیشتری را نسبت به تنش یخزدگی از خود نشان دادند.



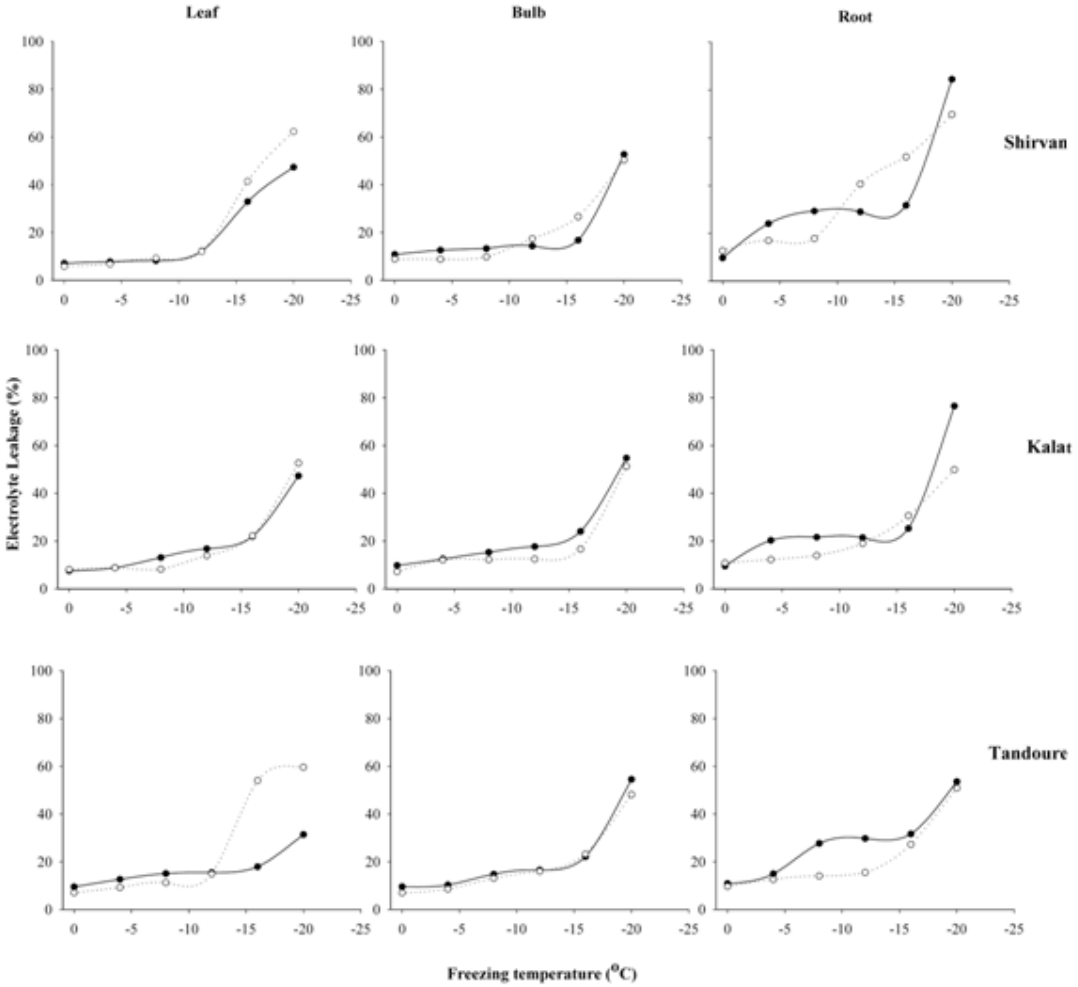
شکل ۲- درصد نشت الکترولیت‌ها از گیاه موسیر تحت تأثیر دماهای یخ زدگی در شرایط کنترل شده در اکوتیپ‌ها (a)، اندام گیاهی (b) و دما (c)

Fig. 2- Electrolyte leakage percentage from Mooseers' affected by freezing temperatures in controlled conditions in ecotypes (a), plant organ (b) and temperature (c)

میانگین‌هایی که تفاوت بین آنها کمتر از میزان LSD می‌باشد، بر اساس آزمونLSD در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

Means, that the difference between them is lower than the amount of LSD, are not significantly different at α =0.05 by LSD test.

www.SID.ir

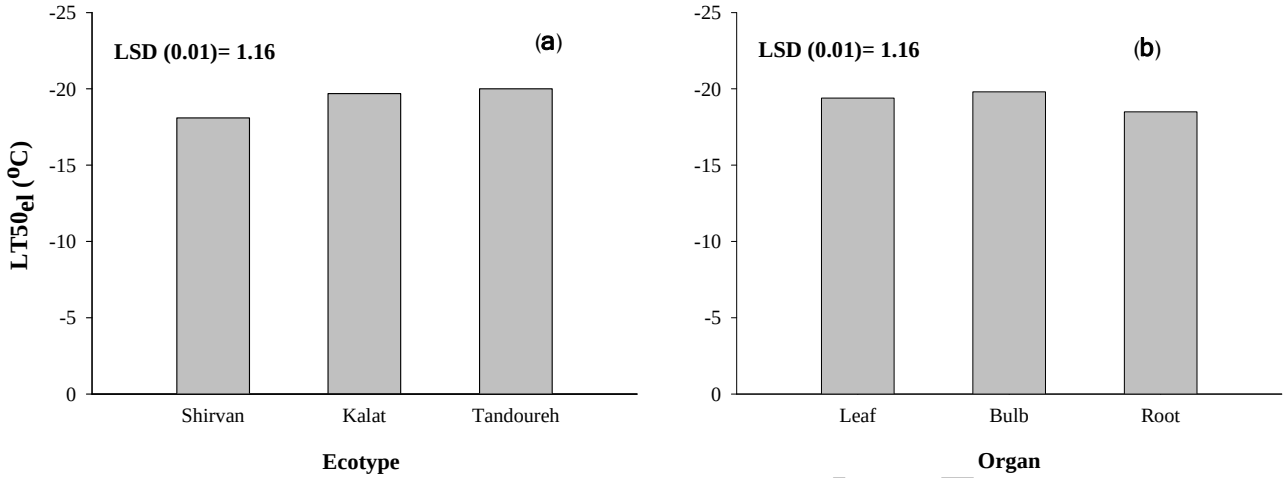


شکل ۳- درصد نشت الکترولیت‌ها از اندام‌های مختلف اکوتیپ‌های موسیر در مراحل سبز شدن (●) و گیاهچه‌ای (○) تحت تأثیر دماهای یخزدگی در شرایط کنترل شده

Fig. 3- Electrolyte leakage percentage from different organs in Mooseers' ecotypes in emergence and seedling stages affected by freezing temperatures in controlled conditions

Archive

www.SID.ir



شکل ٤- مقایسه میانگین دمای کشنده ۵۰ درصد نمونه‌ها بر اساس نشت الکترولیت‌ها ($LT50_{el}$) در اکوتیپ‌ها (a) و اندام‌های مختلف (b) موسیر تحت تأثیر دماهای یخزدگی در شرایط کنترل شده

Fig. 4- Comparison of mean for lethal temperature of 50% samples based on electrolyte leakage ($LT50_{el}$) in ecotypes (a) and different organ (b) in Mooseers' affected by freezing temperatures in controlled conditions

میانگین‌هایی که تفاوت بین آنها کمتر از میزان LSD می‌باشد بر اساس آزمونLSD در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

Means, that the difference between them is lower than the amount of LSD, are not significantly different at α =0.05 by LSD test.

منابع

1- Amin, M., Koushapoor, H., and Polzadeh, M. 2001. The effect of Mooseer's liquid extract on infection of *Pesodomonas aierozhinoza* subsequent to burn in mouse . In: Proceeding of the 4th Conference of Microbiology, Shahed University, Tehran, Iran p. 195-216. (In Persian)

2- Anderson, N.O., and Gesick, E. 2004. Phenotypic markers for selection of winter hardy garden chrysanthemums (*Dendranthema grandiflora* Tzvelv). Scientia Horticulturae 101: 153–167.

3- Anderson, J.A., Michael, P., and Taliaferro, C.M. 1988. Cold hardiness of Midiron and Tifgreen. Horticulture Science 23: 748-750.

4- Anderson, J.A., Taliaferro, C.M., and Martin, D.L. 1993. Evaluating freeze tolerance of bermudagrass in a controlled environment. Horticulture Science 28: 955.

5- Baek, K.H., and Skinner, D.Z. 2003. Alteration of antioxidant enzyme gene expression during cold acclimation of near-isogenic wheat lines. Plant Science 165: 1221-1227.

6- Bagheri, A., Nezami, A., and Soltani, M. 2000. The breeding of pulse for stress tolerance. Ministry of Agriculture.

7- Block, E., Birringer, M., Jiang, W., Nakahodo, T., Thompson, H.J., Toscano, P.J., Uzar, H., Zhang, X., and Zhu, Z. 2001. *Allium* chemistry: synthesis, natural occurrence, biological activity and chemistry of se-alk (en) ylselenocysteines and their g-glutamyl derivatives and oxidation products. Journal of Agriculture Food Chemistry 49: 458-470.

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

9- Ebrahimi, R., Zmani, Z., and Kashi, A. 2009. Genetic diversity evaluation of wild Persian shallot (*Allium hirtifolium* Boiss) using morphological and RAPD markers. Scientia Horticulture 119: 345-351

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

11- Kafi, M., Ganjali, A., Nezami, A., and Shariatmadar, F. 2000. Weather and Crop yield. Jehad-Daneshgahi Press, Iran 311 pp.

12- Kamenetsky, R. 1996. Life cycle and morphological features of *Allium* L. species in connection with geographical distribution. Bocconea 5: 251-257.

Archive of SID

www.SID.ir

13- Lang, D.L., Nobel, P.S., Osmond, C.B., and Ziegher, H. 1981. Physiological Plant Ecology. In: Larcher, W. and Bauer, H. (ed). Ecological significant of resistance to low temperature. 13rd edn. Springer-verlag. Berlon. pp: 406-407.
14- Mckersie, B.D., and Leshem, Y.Y. 1994. Stress and Stress Coping in Cultivated Plants. Kluwer Academic Publishers. The Netherlands.
15- Nezami, A., Bagheri, A., Rahimiyan, H., Kafi, M., and Nassiri Mahalati, M. 2006. The evaluation of freezing tolerance in chickpea genotypes. Science and Techniques of Agriculture and Natural Resources 10: 257-269.
16- Nezami, A., Borzooei, A., Jahani, M., Azizi, M., and Moosavi, J. 2009. Evaluation of cold tolerance in colza (*Brassica napus* L.) cultivars under controlled conditions. Iranian Journal of Field Crops Research 7: 711-722. (In Persian with English Summary)
17- Nezami, A., Borzooei, A., Jahani, M., Azizi, M., and Sharif, A. 2007. Electrolyte leakage as an indicator of freezing injury in colza (*Brassica napus* L.). Iranian Journal of Field Crops Research 1: 167-175. (In Persian with English Summary)
18- Nayyar, H., Bains, T.S., and Kumar, S. 2005. Chilling stressed chickpea seedling: effect of cold acclimation, calcium and abscisic acid on cryoprotective solutes and oxidative damage. Environmental and Experimental Botany 54: 275-285.
19- Nilsen, E.T., and Orcutt, D.M. 1996. Physiology of Plants under Stress (Abiotic Factors). John Willey and Sons. New York 683 pp.
20- Palta, J.A., Kobata, T., Turner, N.C., and Fillery, I.R. 1994. Remobilization of carbon and nitrogen in wheat as influenced by postanthesis water deficits. Crop Science 34: 118-124.
21- Randle, W.M., and Lancaster, J.E. 2002. Sulphur compounds in alliums in relation to flavor quality. p. 329-356. In: Rabinowitch, H.D., and Currah, L. (Eds.). *Allium* crop science: recent advances. CAB Int., Wallingford, U.K.
22- Shashikumar, K., and Nus, J.L. 1993. Cultivar and winter cover effects on Bermuda grass cold acclimation and crown moisture content. Crop Science 33: 813-817
23- Thomashow, M.F. 1998. Role of cold-responsive genes in plant freezing tolerance. Plant Physiology 118: 1-8.
24- Uemura, M., Tominaga, Y., Nakagawara, C., Shigematsu, S., Minami, A., and Kawamura, Y. 2006. Responses of plasma membrane to low temperature. Physiologia Plantarum 126: 81-89.
25- Waner, L.A., and Junttila, O. 1999. Cold-induced freezing tolerance in *Arobidopsis*. Plant Physiology 120: 391-399.

Archive of SID

www.SID.ir