نشریه بوم شناسی کشاورزی
جلد ۳، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۰، ص. ۴۳۸-۴۳۰

Journal of Agroecology
Vol. 3, No. 4, Winter 2012, p. 430-438

اثر تنش یخزدگی بر گیاه بنفشه (*Viola gracilis* L.) تحت شرایط آزمایشگاهی

احمد نظامی[1*]، فاطمه کیخا آخر[2]، محمد جواد موسوی[3]، ابراهیم ایزدی[4]، سمیه نظامی[2] و مریم یوسف ثانی[2]

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۱۰/۰۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۰۳/۱۱

چکیده

این مطالعه با هدف بررسی تحمل به یخزدگی گیاه بنفشه (*Viola gracilis* L.) در شرایط کنترل شده و به صورت طرح کاملاً تصادفی با شش تکرار در دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۱۳۸۷ انجام شد. به این منظور گیاهان پس از کشت و رشد در خزانه در اواسط پاییز و خوسرمایی در شرایط طبیعی در طول پاییز، در مرحله ۵- ۷ برگی با قرار گرفتن در فریزر ترموگرادیان در معرض ۱۲ دمای یخزدگی (صفر، ۲-، ۴-، ۶-، ۸-، ۱۰-، ۱۲-، ۱۴-، ۱۶-، ۱۸-، ۲۰- و ۲۲- درجه سانتی‌گراد) قرار داده شدند. پایداری غشاء پلاسمایی پس از یخزدگی از طریق اندازه گیری نشت الکترولیت‌ها و درصد بقاء و رشد مجدد گیاهان پس از سه هفته رشد در شاسی سرد و به ترتیب از طریق شمارش تعداد بوته‌ها و تعیین نسبت آن‌ها به تعداد بوته قبل از تیمار یخزدگی و اندازه گیری صفاتی نظیر وزن خشک، ارتفاع گیاه، تعداد گل و تعداد شاخه جانبی تعیین شد. با کاهش دما درصد نشت الکترولیت‌ها به طور معنی‌داری افزایش یافت، به طوری‌که در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد به حداکثر رسید. درصد بقاء گیاهان تا دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد تحت تأثیر قرار نگرفت، ولی در دمای پایین‌تر، درصد بقاء کاهش معنی‌داری نشان داد. بر اساس نتایج حاصل، دمای کشنده ۵۰ درصد گیاهان (LT_{50}) بر اساس درصد نشت و درصد بقاء به ترتیب ۲۰- و ۱۹/۴- درجه سانتی‌گراد تعیین شد. کاهش دما به کمتر از ۱۸- درجه سانتی‌گراد سبب کاهش شدید وزن خشک گیاهان شد و دمای کاهنده ۵۰ درصد وزن خشک گیاهان ($RDMT_{50}$) ۱۹/۲- درجه سانتی‌گراد بود.

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

مقدمه

بنفشه (*Viola gracilis* L.) گیاهی یکساله و از خانواده Violaceae است (Khalighi, 2000). این گونه به صورت علفی و روزت (Edward & Howe, 1999) رشد می‌کند و مقاومت به سرمای نسبتاً مناسبی هم دارد (Khalighi, 2000). کاربرد بنفشه در فضای سبز، صنعت (Taylor & Waiter, 1998) و همچنین اثرات دارویی آن سبب شده تا این گیاه از اهمیت زیادی برخوردار باشد (Majdari, 1982; Taylor & Waiter, 1998). بنفشه معمولاً در تابستان به صورت خزانه کشت شده و در اوایل پائیز به زمین اصلی انتقال می‌یابد و با تولید گل‌های زیبا در طول پائیز، زمستان و بهار به صورت یک گیاه زینتی سرمادوست بسیار مهم در فضای سبز توسعه پیدا کرده است (Edward & Howe, 1999).

در مناطق معتدله، سرمای زمستان یکی از مخاطرات جدی برای گیاهان محسوب می‌شود، به طوریکه تنش سرما یکی از مهمترین عواملی است که رشد، تولید و پراکندگی آن‌ها را محدود می‌کند (Mirmohamadi Meibodi & Tarkeshe Esfahani, 2004). میزان خسارت سرما در گیاهان بسته به مدت و شدت سرما متفاوت است (Steponkus, 1984; Mirmohamadi Meibodi & Tarkeshe Esfahani, 2004) و تحمل نسبت به سرما در گیاهان (از جمله گیاهان زینتی و گل‌های سرمادوست) یکی از مهم‌ترین عوامل بقاء آنها در زمستان می‌باشد. به همین دلیل درصد بقاء گیاهان پس از قرار گرفتن آن‌ها در معرض سرما به عنوان یکی از شاخص-های تحمل به سرما معرفی شده است (Hafgard et al., 2003). با وجود این ارزیابی درصد بقاء گیاهان در شرایط مزرعه زمان‌بر بوده و ممکن است با مرگ گیاهان، ذخایر ژنتیکی موجود نیز از بین بروند، لذا محققان به دنبال آزمون‌هایی در شرایط کنترل شده هستند که ضمن سهولت انجام آزمایش، سرعت و اعتبار کافی را در تخمین تحمل به سرما داشته و قابل تکرار هم باشند (Blum, 1988). در آزمایش انجام شده بر روی دو اکوتیپ رازیانه (*Foeniculum vulgare* L.) (کرمان و خراسان) در شرایط کنترل شده، مشاهده شد که درصد بقاء گیاهان و تعداد گره در ساقه اصلی تا دمای ۶- درجه

۱، ۲، ۳ و ۴- به ترتیب دانشیار، دانشجوی کارشناسی ارشد، مربی و استادیار دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد
(* نویسنده مسئول: E-mail: ezamiahmad@yahoo.com)

Archive of SID
www.SID.ir

سانتی‌گراد کاهش چندانی نسبت به تیمار شاهد (عدم یخ زدگی) نداشت، ولی بعد از آن به طور معنی داری کاهش یافت (Rashed Mohassel et al., 2009).

غشای پلاسمایی اولین مکانی است که در معرض تنش یخزدگی دچار خسارت می‌شود و در طی خوسرمایی[1] تغییرات ساختاری، کارکردی و ترکیبی در آن روی می‌دهد (Uemura et al., 2006). از اینرو اظهار شده است که تداوم انسجام غشاء پلاسمایی، یکی از عوامل مهم در بقای گیاه در شرایط تنش یخزدگی است و هر گونه اختلال در ساختار غشاء، سبب بروز خسارت در گیاه و حتی مرگ آن‌ها می‌شود (Hana et al., 2004). در همین راستا، آزمون یخزدگی در شرایط کنترل شده (Nezami et al., 2005) و به دنبال آن ارزیابی خسارت از طریق اندازه‌گیری نشت الکترولیت‌ها نیز به عنوان یک روش مناسب مورد توجه محققان قرار گرفته است (Blum, 1988).

در آزمایشی پایداری غشاء پلاسمایی اندام‌های مختلف گیاهچه (ریشه، طوقه و برگ) دو اکوتیپ گیاه رازیانه (خراسان و کرمان) پس از اعمال تیمارهای دمایی مختلف (۰، ۳-، ۶-، ۹-، ۱۲- و ۱۵- درجه سانتی‌گراد) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که اکوتیپ خراسان درصد نشت الکترولیت بیشتری در مقایسه با اکوتیپ کرمان داشت. همچنین با کاهش دمای یخزدگی، درصد نشت الکترولیت‌ها در اندام‌های مختلف، به طور معنی‌داری تحت تأثیر قرار گرفت و بیشترین نشت الکترولیت در ریشه به میزان ۷۴/۷ درصد و کمترین آن در برگ به میزان ۶۶/۶ درصد مشاهده شد (Nezami et al., 2010). تنش یخزدگی همچنین سبب افزایش نشت الکترولیت‌ها، کاهش درصد بقاء و رشد مجدد گیاه زینتی مینای چمنی (*Bellis perennis* L.) شد. به طوری‌که درصد نشت الکترولیت‌ها در گستره‌ای از دمای صفر تا دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد نسبتاً ثابت بود، ولی بعد از آن افزایش یافت، در صورتی که درصد بقاء گیاهان تا دمای ۱۶- درجه سانتی‌گراد تحت تأثیر قرار نگرفت و بعد از آن به شدت کاهش یافت، به نحوی که در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد هیچ گیاهی زنده نماند (Javad Mousavi et al., 2011). در آزمایش دیگری تحمل به یخزدگی دو گونه *Gaura coccinea* و *Gaura drummondii* از طریق آزمون نشت الکترولیت‌ها از بافت‌های مختلف گیاه (طوقه، ساقه و ریزوم) و بازیافت و رشد مجدد گیاهان مورد بررسی قرار گرفت. بین دو گونه از نظر میزان رشد مجدد تفاوت‌هایی وجود داشت، به طوری که رشد مجدد گونه *coccinea G.* پس از اعمال دمای ۹- درجه سانتی‌گراد بلافاصله آغاز شد و در دماهای پایین‌تر به تأخیر افتاد، در حالیکه در گونه *G. drummondii* پس از اعمال دمای ۶- درجه سانتی‌گراد رشد مجدد بلافاصله آغاز شد و در دمای ۹- درجه سانتی‌گراد ۲-۱ هفته به تأخیر افتاد و حتی در دماهای پایین‌تر، رشدی مشاهده نشد. در هر دو گونه نیز از لحاظ نشت الکترولیت‌ها از بافت‌های مختلف گیاه تفاوت‌هایی وجود داشت، بطوری که کمترین و بیشترین درصد نشت الکترولیت‌ها به ترتیب در طوقه و ریزوم مشاهده شد (Pietsch et al., 2009). در بررسی نمودارهای برازش شده حاصل از نشت الکترولیت‌ها تحت تأثیر دماهای یخزدگی گیاه پاسپالوم (*Paspalum vaginatum* Swartz.) نیز مشاهده شد که درصد نشت الکترولیت‌ها با کاهش دما به صورت سیگموئیدی افزایش یافته و میزان نشت در نمونه‌های خوسرما شده در مقایسه با نمونه‌های غیر خوسرما نشده کمتر بوده است. در این آزمایش مشاهده شد که شیب نمودار نشت الکترولیت‌ها در نمونه‌ها خوسرما شده در مقایسه با نمونه‌های خوسرما نشده کمتر بوده است (Cardona et al., 1997).

این آزمایش با هدف ارزیابی تحمل به یخزدگی گیاه بنفشه در شرایط کنترل شده و همچنین بررسی امکان استفاده از نشت الکترولیت‌ها در ارزیابی تحمل به سرما در این گیاه طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

در این بررسی اثر ۱۲ دمای یخزدگی (صفر، ۲-، ۴-، ۶-، ۸-، ۱۰-، ۱۲-، ۱۴-، ۱۶-، ۱۸-، ۲۰- و ۲۲- درجه سانتی‌گراد) روی گیاه بنفشه، در قالب طرح کاملاً تصادفی با شش تکرار در دانشکده کشاورزی دانشکده فردوسی مشهد در سال ۱۳۸۷مورد مطالعه قرار گرفت. بذور بنفشه در اواسط تابستان در خزانه کشت و در اواسط آبان ماه تعداد پنج گیاهچه که دارای پنج تا هفت برگ بودند به گلدان‌هایی با قطر ۱۸ سانتی‌متر و ارتفاع ۲۳ سانتی‌متر حاوی مخلوطی به نسبت مساوی از خاک زراعی، خاک برگ و ماسه منتقل شدند. به منظور القای خوسرمایی در نمونه‌های گیاهی گلدان‌ها در محیط طبیعی قرار داده شدند (دمای حداقل و حداکثر پائیز و زمستان سال آزمایش در شکل ۱ نشان داده شده است) و برای اعمال دماهای یخزدگی، گلدان‌ها در اواخر بهمن ماه به فریزر ترموگرادیان منتقل شدند. دمای فریزر در شروع آزمایش پنج درجه سانتی‌گراد بود که پس از قرار دادن نمونه‌ها در آن دما به میزان دو درجه سانتی‌گراد در ساعت کاهش یافت. به منظور جلوگیری از پدیده فراسرما[2] و ایجاد هستک یخ در گیاهان (Lindow et al., 1982)، در دمای ۲/۵- درجه سانتی‌گراد اسپری INAB[3] بر روی نمونه‌ها به نحوی انجام شد که سطح گیاه کاملاً با قشری از این محلول پوشانده شد. به منظور ایجاد تعادل در دمای محیط، گیاهچه‌ها در هر تیمار دمایی به مدت یک ساعت نگهداری شدند و پس از خارج کردن آن‌ها از فریزر و جهت جلوگیری

1- Cold acclimation

2- Super cooling

3- Ice nucleation active bacteria

Archive of SID

www.SID.ir

از ذوب شدن سریع یخ، گلدان‌ها به اتاقک سرد با دمای ۲±۴ منتقل شده و به مدت ۱۲ تا ۲۴ ساعت در آنجا قرار گرفتند.

برای تعیین پایداری غشا پلاسمایی از روش اندازه‌گیری نشت الکترولیت‌ها استفاده شد. به این منظور گیاهان از اتاقک سرد خارج شده و در شرایط آزمایشگاه از هر کدام از گیاهان مربوط به هر تیمار دمایی یک برگ کاملاً توسعه یافته (در مجموع پنج برگ) انتخاب و در شیشه‌های حاوی ۴۰ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر[1] قرار داده شدند. شیشه‌ها به مدت شش ساعت بر روی شیکر قرار گرفته و سپس هدایت الکتریکی هر نمونه با استفاده از دستگاه EC متر (مدل Jenway) اندازه‌گیری شد (EC_1). به منظور اندازه گیری میزان کل نشت الکترولیت‌ها در اثر مرگ سلول، شیشه‌ها به اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱۵ بار به مدت ۲۰ دقیقه منتقل شدند. پس از خارج کردن شیشه‌ها از اتوکلاو، نمونه‌ها مجدداً به مدت شش ساعت بر روی شیکر قرار گرفتند و پس از آن هدایت الکتریکی آن‌ها اندازه‌گیری شد (EC_2) و درصد نشت الکترولیت‌ها با استفاده از معادله (۱) محاسبه تعیین گردید (Xuan et al., 2009).

معادله (۱) $(EC_1/ EC_2) \times ۱۰۰$= درصد نشت الکترولیت

جهت تعیین درصد بقاء و بازیافت گیاهان، گلدان‌ها به شاسی سرد انتقال یافته و پس از سه هفته درصد بقای گیاهچه‌ها از طریق شمارش تعداد بوته زنده در هر گلدان و با استفاده از معادله (۲) تعیین شد (Cardona et al., 1997).

معادله (۲) (تعداد گیاهان قبل از یخ زدگی/ تعداد گیاهان زنده سه هفته بعد از یخ زدگی) ×۱۰۰ = درصد بقاء

همزمان با تعیین درصد بقاء گیاهان، صفات دیگری نظیر ارتفاع ساقه اصلی، تعداد شاخه جانبی، تعداد برگ، تعداد کل اجزای زایشی (غنچه و گل) و قطر گل اندازه‌گیری و ثبت شدند. وزن خشک نمونه‌ها نیز پس از ۴۸ ساعت قرار گرفتن در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد اندازه گیری شد.

درجه حرارت کشنده برای ۵۰ درصد نمونه‌ها بر اساس درصد نشت الکترولیت‌ها (LT_{50el})[2]، درصد بقاء (LT_{50su})[3] و دمای کاهنده ۵۰ درصد وزن خشک گیاهان ($RDMT_{50}$)[4] به ترتیب با استفاده از رسم نمودار داده‌های پروبیت برای هر کدام از صفات درصد نشت، درصد بقاء و وزن خشک گیاهان در مقابل دماهای یخزدگی تعیین شد (Moshtaghi et al., 2009)

محاسبات آماری و رسم نمودارها با استفاده از نرم افزارهای MiniTab و Curve Expert انجام گرفت. میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد مقایسه شدند.

نتایج و بحث

نتایج این تحقیق نشان داد که اثر دماهای یخزدگی بر میزان نشت الکترولیت‌ها در گیاه بنفشه معنی‌دار ($p\leq ۰/۰۵$) بود (جدول ۱)، به طوری‌که با کاهش دما، میزان نشت الکترولیت‌ها افزایش یافت. حداقل و حداکثر نشت الکترولیت‌ها به ترتیب در دمای صفر و ۲۲- درجه سانتی‌گراد مشاهده شد، به طوری که درصد نشت الکترولیتی در دمای ۲۲- درجه سانتی‌گراد نسبت به دمای صفر، ۶۷ درصد افزایش داشته است (شکل ۲).

از آنجا که تنش سرما سبب اختلال در غشای سلولی و به دنبال آن نشت الکترولیت‌ها از سلول می‌شود، لذا اندازه‌گیری میزان نشت از بافت‌های تحت تنش، معیار قابل قبولی برای مقاومت به تنش یخ-زدگی است (Mirmohamadi Meibodi & Tarkeshe Esfahani, 2004).

تحقیقات بر روی مینای چمنی نشان داده است که اعمال تیمار یخزدگی تا دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد تأثیر چندانی بر درصد نشت الکترولیت‌ها نداشت، ولی با افزایش شدت سرما و کاهش دما به کمتر از ۱۲- درجه سانتی‌گراد درصد نشت الکترولیت‌ها افزایش یافت و در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد به حداکثر رسید (Javad Mousavi et al., 2011). ارزیابی میزان مقاومت گیاه رازیانه به تنش یخزدگی از طریق اندازه‌گیری میزان نشت الکترولیت‌ها نیز نشان داد که با کاهش دمای یخزدگی، درصد نشت الکترولیت در اندام‌های مختلف، به طور معنی‌دار تحت تأثیر قرار گرفت و ریشه و برگ به ترتیب بیشترین و کمترین درصد نشت الکترولیت را داشتند (Nezami et al., 2010).

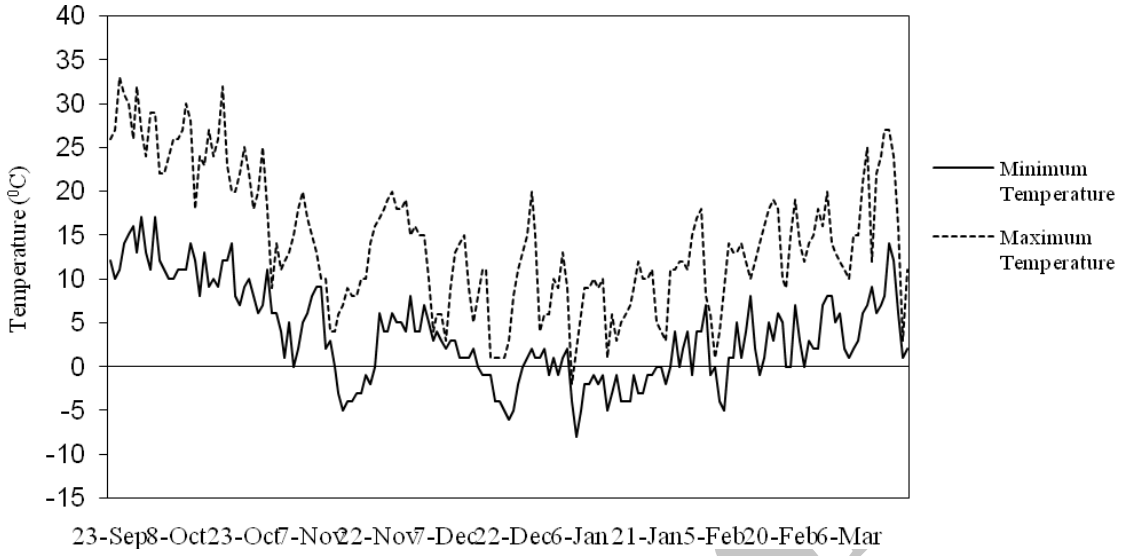
شیب منحنی نشت الکترولیت‌ها به عنوان یکی از مهم‌ترین نشانه‌های خسارت تنش سرما در گیاهان مد نظر قرار گرفته و مشاهده شده است که نمودار نشت الکترولیت‌ها در گونه‌های خوسرما شده از شیب کمتری برخوردار است (Cardona et al., 1997). بنابراین شیب کمتر در منحنی نشت الکترولیت‌ها، احتمالاً نشان دهنده تحمل بیشتر گیاه نسبت به شرایط یخزدگی است. بر این اساس، 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- تا۵/۲- درجه سانتی‌گراد تعیین شد (Cardona et al., 1997). در مطالعه حاضر دمای کشنده ۵۰ درصد گیاهان بنفشه بر اساس درصد نشت الکترولیت‌ها، ۲۰- درجه سانتی‌گراد بوده است.

درصد بقای گیاهان بنفشه در پایان دوره بازیافت به طور معنی-داری ($p\leq ۰/۰۵$) تحت تأثیر تنش یخزدگی قرار گرفت (جدول ۱).

1- Double distilled water
2- Lethal temperature 50 according to the electrolyte leakage percentage
3- Lethal temperature 50 according to the plant survival percentage
4- Reduced dry matter temperature 50 percentage

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱- تغییرات دمای حداقل و حداکثر روزانه در پاییز و زمستان سال ۱۳۸۷

Fig. 1- Variation of daily minimum and maximum temperature during autumn and winter, 2008-2009

جدول ۱- میانگین مربعات صفات مختلف گیاه بنفشه ۲۱ روز پس از اعمال تیمارهای یخزدگی

Table 1- Mean squares of different characteristics in viola, 21 days after freezing

تیمار Treatment	درجه آزادی df	نشت الکترولیت Electrolyte leakage	درصد بقا Survival percentage	وزن خشک Dry weight	ارتفاع ساقه Height of stem	تعداد برگ No. of leaves	تعداد شاخه جانبی No. of branches	تعداد کل اجزای زایشی No. of total reproductive component	تعداد گل No. of flower	تعداد غنچه No. of buds	قطر گل Diameter of flower
یخزدگی Freezing	11	284.54*	6616.16*	6.06*	132.25*	145.416*	4.69*	51.789*	5.55*	14.377*	18.32*
خطا Error	60	79.26	88.88	0.39	7.16	6.688	1.42	21.725	1.95	3.463	1.75

* معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد

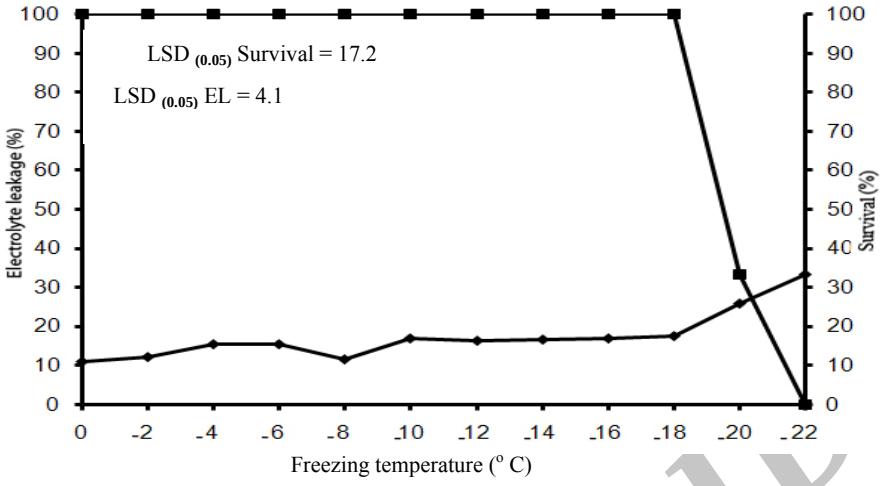
*is significant in 5% probability level.

با وجود اینکه هیچ‌گونه مرگ و میری در گیاهان تا دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد مشاهده نشد، ولی با کاهش دما به کمتر از ۱۸- درجه سانتی‌گراد، درصد بقاء کاهش یافته و در دمای ۲۲- درجه سانتی‌گراد هیچ گیاهی زنده نماند (شکل ۲)، به طوری که دمای کاهنده ۵۰ درصد گیاهان بر اساس درصد بقاء نیز حدود ۱۹/۴- درجه سانتی‌گراد بود. مطالعه اثر دمای یخزدگی بر درصد بقاء گیاهان رازیانه نیز نشان داد که با افزایش شدت یخ زدگی، درصد بقاء 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 (*Chrysanthemum morifolium* L.) 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 & Anderson, 2006).

در این مطالعه همبستگی بسیار معنی‌داری ($r= -۰/۸۰^{**}$) بین درصد نشت الکترولیت‌ها و درصد بقاء گیاهان وجود داشت (جدول ۲). به عبارت دیگر با افزایش درصد نشت الکترولیت‌ها، درصد بقاء گیاهان کاهش یافته است. با وجود اینکه در مطالعه حاضر جهت ارزیابی نشت الکترولیت‌ها از برگ گیاهان ۲۴ ساعت پس از یخ زدگی استفاده شد و بقاء گیاهان پس از سه هفته مورد ارزیابی قرار گرفت، ولی همبستگی بین دو پارامتر مورد مطالعه نشان دهنده این است که احتمالاً استفاده از شاخص نشت الکترولیت‌ها در تخمین تحمل به یخزدگی این گیاه از اعتبار نسبتاً مناسبی برخوردار باشد، زیرا تفاوت تخمین در دمای کشنده گیاهان بر اساس درصد نشت الکترولیت‌ها و درصد بقاء حدود نیم درجه سانتی‌گراد بوده است.

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۲- درصد نشت الکترولیت (♦) و درصد بقاء (■) گیاه بنفشه تحت تأثیر دماهای یخ زدگی در شرایط کنترل شده

Fig. 2- Electrolyte leakage (♦) and survival percentage (■) in viola affected by freezing temperature in controlled conditions

اثر دمای یخزدگی بر وزن خشک گیاه در پایان دوره بازیافت معنی‌دار (p≤۰/۰۵) بود (جدول ۱). همانطور که در شکل ۳-الف مشاهده می‌شود کاهش دما به ۲۰- درجه سانتی‌گراد سبب کاهش شدید وزن خشک گیاهان شده است. با اعمال تیمارهای یخزدگی در شرایط کنترل شده بر روی گندم (*Triticum aestivum* L.) مشاهده شد که کاهش دمای یخزدگی از ۵- به ۱۰- درجه سانتی‌گراد سبب کاهش ۲۰ درصدی رشد مجدد اندام‌های هوایی گیاهان (رشد یافته در گلدان به مدت سه هفته پس از اعمال تیمار یخزدگی) نسبت به تیمار شاهد (عدم یخزدگی) شد. در صورتی‌که در تیمارهای یخزدگی ۱۵- و ۲۰- درجه سانتی‌گراد رشد مجدد اندام‌های هوایی گندم نسبت به شاهد به ترتیب ۶۰ و ۸۰ درصد کاهش یافت (Chen et al., 1983). وزن خشک گیاهان پس از اتمام دوره بازیافت همبستگی منفی و بسیار معنی‌داری ($r=-0/60^{**}$) با درصد نشت الکترولیت‌ها داشته است (جدول ۲)، لذا به نظر می‌رسد که افزایش نشت الکترولیت‌ها سبب کاهش وزن خشک گیاه در پایان بازیافت شده است. دمای کاهنده ۵۰ درصد وزن خشک گیاهان بنفشه نیز ۱۹/۲- درجه سانتی‌گراد تعیین شد. به عبارت دیگر، دمای ۱۹/۲- درجه سانتی‌گراد سبب کاهش ۵۰ درصدی وزن خشک گیاهان نسبت به تیمار شاهد شده است. بررسی دمای کاهنده ۵۰ درصد وزن خشک گیاهان در دو اکوتیپ رازیانه نشان داد که مقدار $RDMT_{50}$ در اکوتیپ خراسان کمتر از $RDMT_{50}$ اکوتیپ کرمان بوده است که نشان دهنده رشد مجدد و مناسب‌تر اکوتیپ خراسان نسبت به اکوتیپ کرمان پس از اعمال تیمارهای یخ زدگی بوده است (Nezami et al., 2010).

تأثیر تیمارهای دمایی بر ارتفاع گیاه، تعداد برگ و تعداد شاخه جانبی معنی‌دار (p≤۰/۰۵) بود (جدول ۱). با وجود اینکه در گستره دمایی صفر تا ۱۸- درجه سانتی‌گراد صفات مذکور روند نسبتاً یکنواختی داشته‌اند، ولی کاهش دما به ۲۰- درجه سانتی‌گراد به ترتیب سبب کاهش ۳۷، ۴۹ و ۹۰ درصدی این سه صفت نسبت به دمای صفر درجه سانتی‌گراد شده است (شکل ۳- ب، پ و ت). به نظر می‌رسد که با افزایش شدت تنش یخزدگی، در رشد گیاه اختلال ایجاد شده و در نتیجه ارتفاع گیاه و تعداد برگ آن کاهش یافته است. افزایش شدت یخزدگی در گیاه رازیانه نیز منجر به کاهش ارتفاع گیاه شده است (Nezami et al., 2011). همچنین بررسی اثر تنش یخ-زدگی بر ارتفاع گیاه تریتیکاله نشان داد که بیشترین و کمترین ارتفاع گیاه در پایان دوره بازیافت (سه هفته پس از یخزدگی) به ترتیب متعلق به دمای صفر و ۱۲- درجه سانتی‌گراد بود. در مطالعه مذکور تعداد برگ گیاهان تریتیکاله نیز در تیمارهای دمایی ۴-، ۸- و ۱۲- در جه سانتی‌گراد به ترتیب ۶/۲، ۱۰/۴ و ۲۲/۹ درصد نسبت به شاهد کاهش پیدا کرد (Nezami et al., 2010).

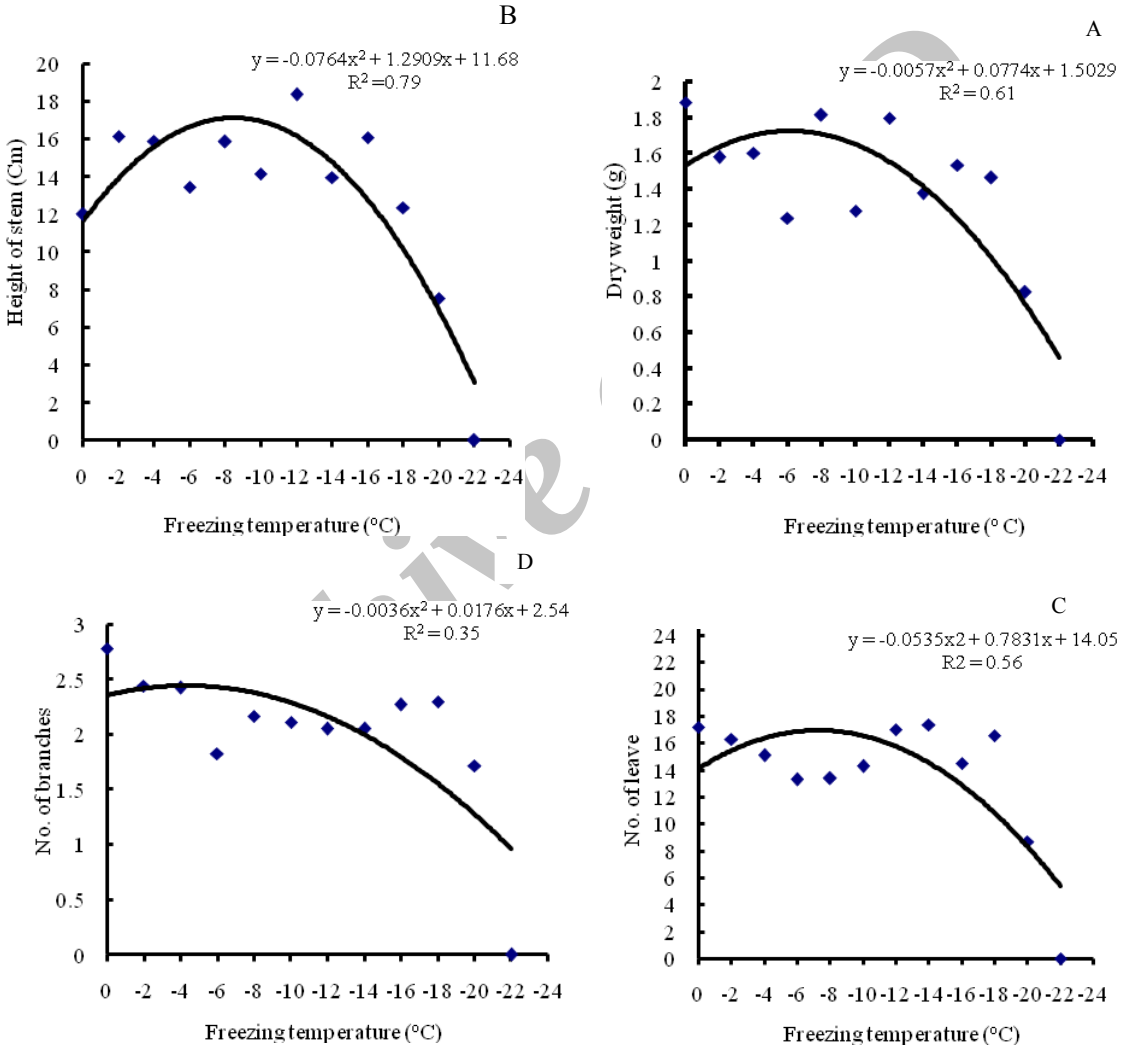
اجزای زایشی گیاه (تعداد گل و غنچه) به طور معنی‌داری (p≤۰/۰۵) تحت تأثیر دماهای یخزدگی قرار گرفتند (جدول ۱). تعداد کل اجزای زایشی (مجموع گل و غنچه) و تعداد گل در تیمارهای یخ-زدگی تا دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد روند تقریباً یکنواختی داشتند و با افزایش شدت تنش یخزدگی تعداد آن‌ها کاهش یافت، به طوری که در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تعداد کل اجزای زایشی و تعداد گل به ترتیب ۲۱ و ۱۴ درصد نسبت به دمای صفر درجه کاهش یافت (شکل۴- الف و ب). تعداد غنچه در گستره دمایی ۲- تا ۶- درجه سانتی‌گراد روندی کاهشی داشته است، ولی در گستره دمایی ۸- تا

Archive of SID

www.SID.ir

۱۶- درجه سانتی‌گراد تعداد آن‌ها افزایش یافته است. با وجود این یخ-زدگی‌های شدیدتر سبب کاهش تعداد غنچه در گیاه شد (شکل۴-پ). دلیل افزایش تعداد غنچه در گستره دمایی ۸- تا ۱۶- درجه سانتی‌گراد نسبت به دماهای بالاتر برای نگارندگان مشخص نمی-باشد. قطر گل نیز در گستره دمایی صفر تا ۱۸- درجه سانتی‌گراد تحت تأثیر دما قرار نگرفت و افزایش شدت یخزدگی بعد از آن منجر به کاهش شدید قطر گل شد (شکل۴-ت). بررسی اجزای گیاه مینای چمنی تحت تأثیر تنش یخزدگی نیز نشان داد که کاهش دما در گستره دمای صفر تا دمای ۱۴- درجه سانتی‌گراد تأثیر چندانی بر صفات مذکور نداشته است، ولی دمای ۱۶- درجه سانتی‌گراد سبب کاهش به ترتیب ۳۲ و ۱۰۰ درصدی تعداد غنچه و گل در گیاه نسبت به تیمار شاهد شد (Javad Mousavi et al., 2011).

تنش یخزدگی سبب افزایش نشت الکترولیت‌ها، کاهش درصد بقاء و رشد مجدد گیاه بنفشه شد. با وجود اینکه در گستره دمایی صفر تا ۱۸- درجه سانتی‌گراد روند نسبتاً یکسانی در اغلب صفات مورد مطالعه مشاهده شد، ولی دماهای کمتر سبب افزایش درصد نشت الکترولیت‌ها و کاهش شدید درصد بقاء و رشد مجدد گیاه شدند.



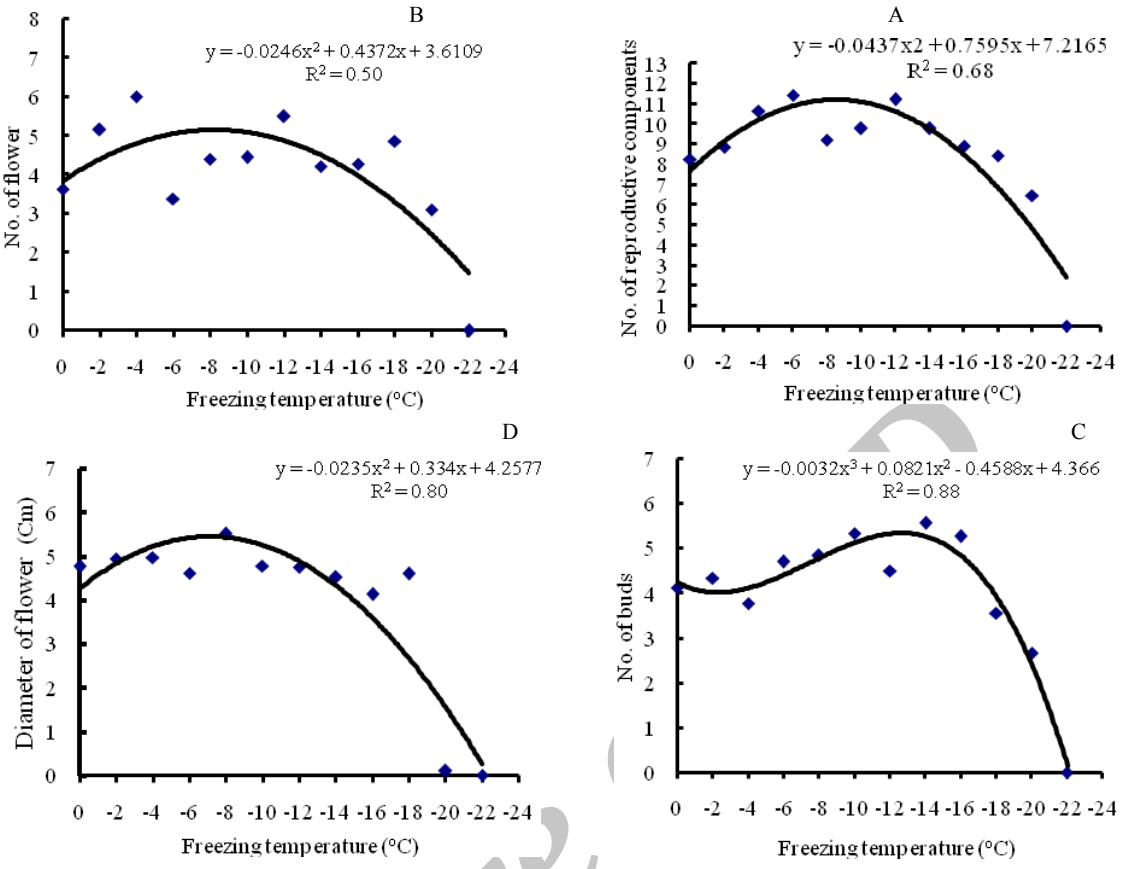
شکل ۳- (الف) وزن خشک، (ب) ارتفاع ساقه اصلی، (پ) تعداد برگ و (ت) تعداد شاخه جانبی گیاه بنفشه تحت تأثیر دماهای یخزدگی در شرایط کنترل شده

(هر نقطه میانگین شش عدد است).

Fig. 3- (A) dry weight, (B) height of stem, (C) No. of leaves and (D) No. of branches in viola affected by freezing temperatures in controlled conditions

(Each point is mean of six data).

www.SID.ir



شکل ٤- (الف) تعداد کل اجزای زایشی، (ب) تعداد گل، (پ) تعداد غنچه و (ت) قطر گل ساقه اصلی گیاه بنفشه تحت تأثیر دماهای یخزدگی در شرایط کنترل شده

(هر نقطه میانگین شش عدد است).

Fig.4- (A) No. of reproductive components, (B) No. of flower, (C) No. of bud and (D) diameter of flower in viola affected by freezing temperatures in controlled condition

(Each point is mean of six data).

LT_{50el} و LT_{50su} گیاه بنفشه بـه ترتیـب معـادل ۲۰- و ۱۹/۴- درجه سانتی‌گراد تعیین شد و با وجود اینکه همبستگی خوبی بـین دو صفت مذکور وجود داشت، ولی نشت ۵۰ درصد الکترولیت‌ها از سلول منجر به مرگ ۵۰ درصـد گیاهـان نشـد، بلکـه مـرگ ۵۰ درصـدی گیاهان هنگامی حادث شد که ۲۵ درصد الکترولیت‌ها از بافـت‌هـای برگ گیاه به خارج از آن نشت کردند (شکل ۲).

در بررسـی کارادونـا و همکـاران (Cardona et al., 1997) LT_{50el} در دو اکوتیپ پاسپالوم خوسرما شده زمانی حاصل شد که ۳۲ درصد الکترولیت‌های آن‌ها نشـت کردنـد. مطالعـه پـیچ و همکـاران (Pietsch et al., 2009) نیز نشان داد که LT_{50el} در بافت ریـزوم و ساقه گیاه خوسرما شده *G. drummondii* هنگامی حاصل شد که از بافت‌های مذکور به ترتیب ۴۴/۵ و ۳۱/۹ درصد الکترولیت‌هـا نشـت کردند.

سپاسگزاری

هزینه اجرای این طرح از محل اعتبارات معاونت پژوهشی با کـد طـرح ۵۰۰ پ مـورخ ۱۳۸۸/۱/۱۷ دانشـکده کشـاورزی، دانشـگاه فردوسی مشهد تأمین شده است که بدینوسیله سپاسگزاری می‌شود.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول۲- ضرایب همبستگی بین صفات مختلف گیاه بنفشه قرار گرفته در معرض تنش یخزدگی تحت شرایط کنترل شده

Table 2- Correlation coefficients between different characteristics in viola affected by freezing temperatures, under controlled conditions

10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	
									1	۱- درصد نشت الکترولیت‌ها 1- Electrolyte leakage percentage
								1	−0.80**	۲- درصد بقا 2- Survival percentage
							1	0.62**	−0.60**	۳- وزن خشک 3- Dry weight
						1	0.68**	0.78**	−0.71**	٤- ارتفاع ساقه 4- Height of stem
					1	0.77**	0.65**	0.79**	−0.68**	٥- تعداد برگ 5- No. of leaves
				1	0.55**	0.40**	0.39**	0.50**	−0.54**	٦- تعداد شاخه جانبی 6- No. of branches
			1	0.34**	0.53**	0.46**	0.31**	0.51**	−0.43**	۷- تعداد غنچه 7- No. of bud
		1	0.44**	0.28*	0.21ns	0.24*	0.11ns	0.34**	−0.29**	۸- تعداد گل 8- No. of flower
	1	0.88**	0.72**	0.32**	0.35**	0.35**	0.14ns	0.45**	−0.39**	۹- تعداد کل اجزای زایشی 9- No. of total reproductive components
1	0.46**	0.40**	0.48**	0.43**	0.72**	0.78**	0.59**	0.86**	−0.79**	۱۰- قطر گل 10- Flower diameter

ns، * و ** غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

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

منابع

1- Blum, A. 1988. Plant Breeding for Stress Environment. CRC Press. 223 pp.

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

3- Chen, T.H., Gusta, L.V., and Fowler, D.B. 1983. Freezing injury and root development in winter cereals. Plant Physiology 73: 773-777.

4- Edward, F., and Howe, T. 1999. Viola. University of Florida. Cooperative Service by Institute of Food and Agriculture Science.

5- Hana, B., and Bischofa, J.C. 2004. Direct cell injury associated with eutectic crystallization during freezing. Cryobiology 48: 8-21.

6- 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.

7- Javad Mousavi, M., Nezami, S., Izadi, E., Nezami, A., Yousef Sani, M., and 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)

8- Khalighi, A. 2000. Floriculture: Breeding of Ornamental Plants. Golshan Publications. Tehran, Iran. 392 pp. (In Persian)

9- Kim, D.C., and 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*). Scientia Horticulture 109: 345-352.

10- Lindow, S.E., Arny, D.C., and Upper, C.D. 1982. Bacterial ice nucleation: a factor in frost injury to plants. Plant Physiology 70: 1084-1089.

11- Majdari, A. 1982. Planting and nurturing flowers. Mir Publication, Tehran, Iran 285 pp. (In Persian)

12- Mireshghi, A., and Khalilzade, G.R. 2002. Evaluation of some physiological traits related to cold in 22 genotypes of bread wheat. Proceeding of Third Conference of Crop Losses due to Frost and Country Garden, Iranian Deputy of Agriculture Organization Plant Protection, Iran 65 pp. (In Persian)

13- Mirmohamadi Meibodi, A., and Tarkeshe Esfahani, C. 2004. Aspects of Physiology and Breeding for Cold and Freezing in Crops. Golbon Publication, Isfahan, Iran 223 pp. (In Persian)

14- Moshtaghi, N., Bagheri, A.R., Nezami, A., and Moshtaghi, S. 2009. Investigation of betaine spray on freezing tolerance of chickpea (*Cicer arietinum* L.) in controlled conditions. Iranian Journal of Field Crops Research 7: 647-656. (In Persian with English Summary)

15- Nezami, A., Bagheri, A.R., Rahimian, H., Kafi, M., and Nasiri Mahalati, M. 2005. Evaluation of freezing tolerance chickpea genotypes under controlled condition. Journal of Agricultural and Natural Research 10: 257-269. (In Persian with English Summary)

Archive of SID

www.SID.ir

16- Nezami, A., Soleimani, M.R., Ziaee, M., Ghodsi, M., and Bannayan Aval, M. 2010. Evaluation of freezing tolerance of hexaploid Triticale genotypes under controlled conditions. Notulae Scientia Biologicae 2: 114-120.
17- Nezami, A., Azizi, G., Siahmarghooee, A., and Mohamadabadi, A.A. 2010. Effects of freezing stress on electrolyte leakage of fennel (*Foeniculum vulgare*). Iranian Journal of Field Crops Research 8: 587-593. (In Persian with English Summary)
18- Pietsch, G., Anderson, N.O., and Li, P.H. 2009. Cold tolerance and short day acclimation in perennial *Gaura coccinea* and *Gaura drummomdii*. Scientia Horticulture 120: 418-425.
19- Rashed Mohassel, M.H., Nezami, A., Bagheri, A., Hajmohammadnia, K., and Bannayan, M. 2009. Evaluation of freezing tolerance of two fennel *(Foeniculum vulgar* L.) ecotypes under controlled conditions. Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants 15:131–140.
20- Rife, G.L., and Zeinali, H. 2003. Cold tolerance in oilseed rape over varying acclimation durations. Crop Science 43: 96-100.
21- Steponkus, P.L. 1984. The role of the plasma membrane in freezing injury and cold acclimation. Annual Review of Plant Physiology 35: 543-584.
22- Taylor, S., and Waiter, K. 1998. Florida Wild Flowers in their Natural Communities. University Press of Florida: Gainesville, FL.
23- 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.
24- Xuan, J., Liu, J., Gao, H., Hu, H., and Cheng, X. 2009. Evaluation of low-temperature tolerance of Zoysia grass. Tropical Grasslands 43: 118-124.

Archive of SID

www.SID.ir