ارزیابی تحمل به انجماد در ژنوتیپ‌های عدس(*Lens culinaris* Medik.) در شرایط کنترل شده

احمد نظامی
دانشیار فیزیولوژی گیاهان زراعی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران
حمیدرضا خزاعی
دانشیار فیزیولوژی گیاهان زراعی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران
کوروش شجاعی نوفرست*
دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران
جواد رضایی
دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران

تاریخ دریافت: ۸۹/۹/۲۰ تاریخ پذیرش: ۹۰/۵/۲۵

Archive of SID

چکیده

به‌منظور ارزیابی تحمل به انجماد ژنوتیپ‌های عدس تحت شرایط کنترل شده، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار، در دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد اجرا شد. در این مطالعه اثر ۹ دمای انجماد (صفر، ۳-، ۶-، ۹-، ۱۲-، ۱۵-، ۱۸-، ۲۱- و ۲۴- درجه سانتی‌گراد) بر هفت نمونه عدس شامل ژنوتیپ‌های MLC-7، MLC-60، MLC-185، MLC-225، MLC-357، رباط و قزوین، مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که ژنوتیپ‌های MLC-60 و رباط با میانگین‌های ۵۱ و ۳۹ درصد به‌ترتیب بیشترین و کمترین درصد بقاء را داشتند. اثر دماهای آزمایشی بر درصد بقاء معنی‌دار ($P \leq ۰/۰۱$) بود. کلیه ژنوتیپ‌ها تا دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد قادر به بقاء بودند و در دماهای پایین‌تر از بین رفتند. ژنوتیپ‌های MLC-7 و MLC-60 دارای بیشترین وزن خشک ساقه، شاخه و وزن خشک کل اندام‌های هوایی و نیز طول ساقه و شاخه در پایان دوره بازیافت بودند. همبستگی بین درصد بقاء با وزن خشک کل گیاه ($r = ۰/۹۱^{**}$)، طول ساقه ($r = ۰/۸۹^{**}$) و وزن خشک شاخه پس از دوره بازیافت ($r = ۰/۸۸^{**}$) و همچنین LT_{50} ($r = -۰/۸۷^{**}$) نسبت به سایر صفات برتر بود. نتایج به طور کلی نشان‌دهنده تحمل بیشتر ژنوتیپ MLC-60 به تنش انجماد و خصوصیات بهتر رشدی آن در دوره بازیافت بود.

واژه‌های کلیدی: عدس، بقاء، رشد مجدد، LT_{50}، $RDMT_{50}$.

* نویسنده مسئول مکاتبات، koshojaei@yahoo.com

www.SID.ir

مقدمه

عدس (*Lens culinaris*Medik.) یکی از منابع ارزشمند پروتئین گیاهی است که توانایی رشد در اراضی نسبتاً فقیر را دارا می‌باشد. عملکرد جهانی عدس در طول ۵۰ سال گذشته بیش از ۹۰ درصد رشد داشته، این در حالی است که در همین دوره متوسط عملکرد این محصول در ایران، حدود ۲۷ درصد کاهش نشان می‌دهد، به طوری که در شرایط کنونی، میانگین عملکرد عدس در ایران تقریباً نصف میانگین عملکرد جهانی آن و برابر با ۵۱۱ کیلوگرم در هکتار می‌باشد (FAO. 2009). با توجه به عملکرد کم این گیاه و ارزش غذایی مناسب آن در تامین نیازهای پروتئینی جمعیت روبه افزایش کشور، توجه بیشتر به این محصول و بررسی محدودیت‌ها و مشکلات تولید آن، ضروری می‌باشد.

برخی تنش‌های غیرزیستی مانند گرما و انجماد به‌عنوان مهمترین محدودیت‌های تولید عدس در غرب آسیا از جمله ایران ذکر شده اند (Nezami *et al*., 2000; YazdiSamadi *et al*., 2004). در این مناطق کشت بهاره عدس به دلیل کشت بذر آن در خاک نسبتاً سرد اواخر زمستان تا اوایل بهار با خطر کاهش درصد سبز مواجه است (Kantar *et al*., 1994). علاوه بر این گرما و خشکی در اواسط بهار تا اوایل تابستان سبب برخورد مراحل رشد رویشی و زایشی گیاه با این تنش‌ها شده و سبب کوتاهی دوره رشد گیاه، کاهش بیوماس آن و در نهایت کاهش عملکرد گیاه می‌گردد (Nezami & Bagheri, 2005). در برخی از این مناطق کاشت پاییزه ارقام عدس متحمل به سرما، سبب بهبود عملکرد این گیاه شده است (Sakar *et al*., 1988; Stoddard *et al*., 2006). ضمن اینکه کشت پاییزه این گیاه، می‌تواند سبب افزایش راندمان مصرف آب، افزایش تثبیت بیولوژیکی نیتروژن، بهبود تولید ماده خشک و نیز پایداری تولید محصول شود (Ali *et al*., 1999). از این رو به نظر می‌رسد که در ایران نیز کشت پاییزه عدس بتواند تا حد زیادی مشکلات مربوط به کاشت بهاره را برطرف کند. با وجود این تنش انجماد مهمترین عامل محدودکننده کشت پاییزه این محصول در ایران ذکر شده است (YazdiSamadi *et al*., 2000; Hojjat *et al*., 2007). در همین راستا با وجود اینکه Hojjat *et al*. (2007) گزارش کردند، در کشت پاییزه عدس، به علت افزایش طول دوره رشد گیاه و نیز مواجه شدن دوره رشد زایشی با شرایط مناسب آب و هوایی عملکرد عدس نسبت به کشت بهاره آن بهبود یافت، ولی در کاشت پاییزه

Archive of SID

www.SID.ir

گیاهان با تنش انجماد مواجه می‌شوند و بنابراین جهت موفقیت کاشت پاییزه عدس نیاز به استفاده از ژنوتیپ‌های متحمل به تنش انجماد می‌باشد (YazdiSamadi *et al*., 2000).

تنش انجماد می‌تواند سبب ایجاد خسارت‌های غیرقابل برگشت به سلول‌های گیاهی شود که این خسارت‌ها ناشی از فشارهای مکانیکی حاصله در اثر شکل‌گیری برون سلولی کریستال‌های یخ و نیز پسابیدگی سلول و افزایش غلظت نمک‌ها در آن است (Steponkus, 1984; Liang *et al*., 2008). بنابراین گیاهان متحمل به انجماد باید واجد ساختارهای سلولی و اجزای سلولی بوده که بتوانند هم فشار مکانیکی و هم تنش‌های اسمزی را تحمل کنند (Nagao *et al*., 2005)، همچنین سازوکارهای تحمل انجماد وابسته به تغییرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی مرتبط با خسارت انجماد است. اصلی‌ترین خسارت تنش انجماد، خسارت به غشاءهای سلولی است و اولین خسارت غشاء سلولی نیز به علت پسابیدگی آن است. تنش انجماد همچنین سطوح گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)[1] در سلول را افزایش می‌دهد و افزایش پراکسیداسیون چربی‌ها به‌عنوان اصلی‌ترین دلیل خسارت به غشاء در اثر افزایش گونه‌های فعال اکسیژن، تحت شرایط تنش انجماد می‌باشد (Wise & Naylor, 1987; Senaratna *et al*., 1988; Kenadal & McKersie, 1989; McKersie *et al*., 1993). تحمل تنش انجماد بین گونه‌ها و جنس‌های مختلف گیاهی و از منطقه‌ای به منطقه دیگر، متفاوت است (Li *et al*., 2005; Eujay *et al*., 1999). جهت ارزیابی تحمل به انجماد برخی گیاهان زراعی نظیر غلات سرما دوست (Bridger *et al*., 1996) و برخی حبوبات سرمادوست مانند عدس (Erskine *et al*., 1981) و نخود (Nezami & Bagheri, 2005) از آزمون‌های مزرعه‌ای استفاده شده است. اعتقاد بر این است که در این حالت به دلیل قرار گرفتن گیاهان در معرض زمستان واقعی، به گزینی به صورت مناسبی انجام خواهد شد، ولی علی‌رغم مزیت‌های آزمایش‌های مزرعه‌ای، واقعیت این است که به‌دلیل وجود تنوع در زمان، مکان، شدت و دوام سرما در این شرایط، مشکلات خاصی از جمله عدم بروز سرما و یا شدت زیاد سرما و از بین رفتن مواد آزمایشی، وجود دارد (Stoddard *et al*., 2006). علاوه بر این در شرایط مزرعه میزان بقاء گیاهان تحت تاثیر عوامل متعددی از جمله پوشش برف، دما، رطوبت خاک و سایر عوامل محیطی قرار می‌گیرد (Ali *et al*., 1999; Nezami *et al*., 2006) و بنابراین

[1]Reactive Oxygen Species

Archive of SID

www.SID.ir

آزمایش‌ها تحت شرایط کنترل‌شده که در آنها می‌توان بررسی‌ها را تحت شرایط یکنواخت‌تر و با سرعت بیشتر انجام داد، مورد توجه قرار گرفته‌اند. در همین راستا برخی از محققان، تحمل به سرمای ارقام نخود (Nezami *et al*., 2006)، عدس (Ali *et al*., 1999)، کلزا (Nezami *et al*., 2007)، جو (Koo *et al*., 2008) و گندم (Fowler *et al*., 1996; Liang *et al*., 2008)، را در شرایط کنترل‌شده، مورد ارزیابی قرار داده‌اند. نتایج آزمایشی که بر روی نخود فرنگی در شرایط مزرعه و کنترل شده انجام شد، نشان داد که بین نتایج هر دو آزمایش همبستگی قوی وجود دارد (Auld *et al*., 1983) و لذا به نظر می‌رسد که از آزمون‌های کنترل شده نیز بتوان جهت به‌گزینی برای تحمل به انجماد استفاده کرد.

با توجه به مطالب ذکر شده و کمبود اطلاعات در خصوص تحمل به انجماد عدس در شرایط کنترل شده، این تحقیق جهت ارزیابی تحمل به تنش انجماد چند ژنوتیپ عدس در شرایط کنترل شده اجرا شد.

مواد و روش‌ها

بذور پنج ژنوتیپ عدس (که در آزمایشات کشت پاییزه در شرایط مزرعه تحمل مناسبی را به انجماد نشان داده بودند (Hojjat *et al*., 2008)، شامل MLC[1]-7، MLC-60، MLC-185، MLC-225، MLC-357 و دو ژنوتیپ قزوین و رباط (از ژنوتیپ‌های رایج در کشور)، از بانک بذر دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد، انتخاب و با قرار دادن در اتانول ۷۵ درصد به مدت یک دقیقه ضدعفونی شدند. سپس در اول آبان ماه ۱۳۸۷ برای هر واحد آزمایشی تعداد ۸ بذر جوانه‌دار در گلدان‌های پلاستیکی با قطر ۱۰ سانتی‌متر حاوی مخلوطی از ماسه، خاک مزرعه و خاک برگ با نسبت‌های مساوی، در عمق دو سانتی‌متری کشت شدند. به‌منظور ایجاد خو سرمایی در شرایط طبیعی گیاهچه‌ها تا مرحله ۶-۴ برگی در محیط طبیعی رشد یافتند. گلدان‌ها، ۲۴ ساعت قبل از تیمار انجماد آبیاری و سپس به فریزر ترموگرادیان منتقل شدند.

دمای فریزر در شروع آزمایش ۵°C بود و پس از قرار دادن نمونه‌ها با سرعت دو درجهٔ سانتی‌گراد در ساعت کاهش یافت. به‌منظور جلوگیری از پدیده فراسرمایی و ایجاد هستک یخ در گیاهچه‌ها و اطمینان از اینکه مکانیزم از نوع تحمل است و نه اجتناب از تنش، در دمای ۳- درجه سانتی‌گراد بر روی گیاهان، محلول

[1] Mashhad Lentil Collection

Archive of SID

www.SID.ir

باکتری‌های ایجاد کننده هستک یخ[1] به نحوی پاشیده شد که قشر نازکی از این محلول روی برگ‌ها را پوشاند. برای اعمال تیمار انجماد گیاهان تحت ۹ تیمار دمایی (صفر، ۳-، ۶-، ۹-، ۱۲-، ۱۵-، ۱۸-، ۲۱- و ۲۴- درجه سانتی‌گراد) قرار گرفتند. به‌منظور ایجاد تعادل در دمای محیط آزمایش، گیاهان در هر تیمار دمایی، به مدت یک ساعت نگه‌داشته شده و سپس از فریزر خارج و جهت کاهش سرعت ذوب آنها، بلافاصله به اتاقک با دمای ۱±۴ درجهٔ سانتی‌گراد منتقل و به مدت ۲۴ ساعت در آن جا نگهداری و سپس به گلخانه منتقل شده و پس از ۲۱ روز، درصد بقاء گیاهان و رشد مجدد آنها مورد ارزیابی قرار گرفت. درصد بقاء از طریق نسبت تعداد گیاهان زنده در ۲۱ روز پس از اعمال تیمار یخ‌زدگی به تعداد گیاهان قبل از تیمار یخ‌زدگی ضربدر ۱۰۰ محاسبه شد.

به‌منظور ارزیابی رشد مجدد گیاهان، میانگین طول و وزن خشک ساقه و شاخه‌ها و نیز تعداد گره در ساقه اندازه‌گیری شدند.

جهت تعیین دمای کشنده ۵۰ درصد گیاهان (LT_{50})[2] و دمای کاهنده ۵۰ درصد وزن خشک گیاهان ($RDMT_{50}$)[3]، به‌ترتیب درصد بقاء و وزن خشک به‌عنوان متغیر وابسته و دمای انجماد به‌عنوان متغیر مستقل در نظر گرفته شده و معادله لجستیک زیر برای داده‌های هر یک از ژنوتیپ‌ها در دماهای مختلف، با استفاده از برنامه کامپیوتری اسلایدرایت[4] برازش داده شد (Eizenberg *et al.*, 2005).

$$Y=\frac{a}{1+\left(\frac{x}{x0}\right)^{b}}$$

در این معادله، Y نشان‌دهنده درصد بقاء و یا وزن خشک، x دمای انجماد، a یکی از ضرایب معادله و نشان‌دهنده حداکثر درصد بقاء، b یکی دیگر از ضرایب معادله و نشان‌دهنده شیب منحنی در نقطه x_0 و x_0 نشان‌دهنده نقطه‌ای از x که در آن Y برابر ۵۰ درصد مقدار حداکثر خود است (LT_{50} یا $RDMT_{50}$)، می‌باشند. جهت تعیین ضرایب معادله، پس از تعیین LT_{50} و $RDMT_{50}$ برای هر یک از ژنوتیپ‌ها، داده‌های مربوطه با استفاده از طرح بلوک‌های کامل تصادفی، آنالیز شدند.

تجزیه واریانس داده‌های آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار، با استفاده از نرم‌افزار مینی‌تب[5] و برازش داده‌ها با استفاده از برنامه اسلایدرایت انجام گرفت. جهت مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون چنددامنه‌ای دانکن استفاده شد.

[2] Ice Nucleation Active Bacteria
[1] Temperature 50 Lethal
[2] Reduced dry matter temperature 50

[3] SLIDEWRITE
[4] MINITAB

Archive of SID

www.SID.ir

نتایج و بحث

نتایج نشان داد که میانگین درصد بقاء گیاهان در پایان دوره بازیافت به طور معنی‌داری (P<۰/۰۱)، تحت تاثیر ژنوتیپ و دمای انجماد قرار گرفت (جدول ۱).

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) برای برخی صفات مورد بررسی در ژنوتیپ‌های عدس تحت تاثیر دماهای انجماد در شرایط کنترل شده

منابع تغییرات	درجه آزادی	درصد بقاء	طول در گیاه (سانتی‌متر)		تعداد گره تولید شده در	وزن خشک در گیاه (میلی‌گرم)		
			ساقه	شاخه	دوره بازیافت	ساقه	شاخه	کل گیاه
تکرار	۲	۱۳۱۵/۱ **	۸/۱ *	۱۰/۱ **	۰/۸ ns	۱۲۳/ ns	۸۵/۴ ns	۳۴۱/۷ ns
ژنوتیپ	۶	۵۷۵/۳ **	۱۰/۹ **	۷/۰ **	۱/۵ *	۱۴۶/۵ **	۷۲۷/۵ **	۱۲۶۳/۱ **
دما	۸	۴۴۵۶۵/۱ **	۲۲۷/۹ **	۱۸۵/۱ **	۲۸/۷ *	۶۷۱۷/۱ **	۱۶۲۲۵/۶ **	۴۳۸۲۵/۷ **
ژنوتیپ × دما	۴۸	۲۲۰/۳ ns	۲/۲ ns	۱/۷ ns	۱/۱ ns	۳۳/۰ ns	۱۲۱/۱ ns	۲۰۴/۷ ns

*، ** و ns: به ترتیب معنی‌دار در سطوح ۵ و یک درصد و عدم معنی‌دار.

ژنوتیپ‌های MLC-60 و رباط به ترتیب بیشترین و کمترین درصد بقاء را داشتند، به طوری که درصد بقای ژنوتیپ MLC-60 حدود ۳۱ درصد بیشتر از ژنوتیپ رباط بود (جدول ۲). میانگین درصد بقاء گیاهان در گستره دمایی صفر تا ۶- درجه سانتی‌گراد بیش از ۹۰ درصد بود، اما تنزل دما به دماهای ۹- و ۱۲- درجه سانتی‌گراد سبب کاهش معنی‌دار درصد بقاء (به‌ترتیب به میزان ۲۰ و ۵۲ درصد نسبت به دمای صفر درجه سانتی‌گراد) شد (جدول ۲).

میانگین طول ساقه و شاخه به طور معنی‌داری (P< ۰/۰۱) تحت تاثیر ژنوتیپ و دماهای انجماد قرار گرفتند، اما برهم کنش ژنوتیپ و دما بر این صفات معنی‌دار نبود (جدول ۱).

ژنوتیپ MLC-60 دارای بیشترین طول ساقه و شاخه بود و ژنوتیپ‌های قزوین و رباط کمترین طول ساقه و شاخه را داشتند، به طوری که طول ساقه و شاخه در ژنوتیپ MLC-60 به ترتیب ۶۵ و ۵۴ درصد بیشتر از طول ساقه و شاخه در ژنوتیپ رباط بود (جدول ۲). بر خلاف درصد بقاء که از دمای ۶- درجه سانتی‌گراد به پایین کاهش معنی‌دار داشت،کاهش دما تا ۹- درجه سانتی‌گراد تاثیر معنی‌داری بر میانگین طول ساقه و شاخه‌ها نداشت، اما تنزل دما به ۱۲- درجه سانتی‌گراد سبب کاهش معنی‌دار(P< ۰/۰۱) این صفات گردید

Archive of SID

www.SID.ir

(جدول ۲). در بررسی Nezami *et al.* (2006) بر روی نخود نیز کاهش دما به ۱۲- درجه سانتی‌گراد سبب ۶۶ درصد کاهش ارتفاع گیاهان نخود در پایان دوره بازیافت نسبت به تیمار صفر درجه سانتی‌گراد شد.

میانگین وزن خشک ساقه، شاخه‌ها و وزن خشک کل اندام‌های هوایی پس از طی دوره بازیافت، نیز تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفتند، اما برهم کنش تیمارها بر این صفت‌ها معنی‌دار نبود (جدول ۱). ژنوتیپ‌های MLC-7 و MLC-60 دارای بیشترین وزن خشک ساقه، شاخه و وزن خشک کل اندام‌های هوایی بودند. درحالی‌که ژنوتیپ‌های رباط و قزوین کمترین وزن خشک اندام‌های هوایی را پس از ۲۱ روز رشد مجدد داشتند (جدول ۲). در ژنوتیپ MLC-7 وزن خشک ساقه، شاخه‌ها و کل بوته به ترتیب حدود ۲۵، ۶۶ و ۴۸ درصد بیشتر از ژنوتیپ رباط بود.

کاهش دما نیز سبب کاهش معنی‌دار وزن خشک گیاه گردید، به نحوی که کاهش دما از صفر به ۱۲- درجه سانتی‌گراد سبب حدود ۵۷ درصد کاهش در این صفت و تنزل بیشتر دما و رسیدن آن به ۱۵- درجه سانتی‌گراد سبب از بین رفتن کل گیاهان شد (جدول ۲). در مطالعه Azizi *et al.* (2007) بر روی گندم با افزایش شدت انجماد، رشد گیاه در دوره بازیافت شدیداً کاهش یافت. Nezami *et al.* (2006) نیز در بررسی اثر تنش انجماد بر روی نخود مشاهده کردند که کاهش دما به ۱۲- درجه سانتی‌گراد، وزن خشک گیاه را به میزان ۶۳ درصد نسبت به تیمار دمای صفر درجه سانتی‌گراد کاهش داد.

تعداد گره تولید شده در دوره بازیافت در ژنوتیپ‌های مختلف دارای تفاوت معنی‌دار ($P<۰/۰۵$) بود (جدول ۱)، و در این ارتباط ژنوتیپ MLC-60 بیشترین (۱/۶ گره) و ژنوتیپ‌های MLC-357، MLC-185 و MLC-225، کمترین تعداد گره (به‌ترتیب ۰/۹، ۱/۰ و ۱/۱ گره) را در دوره بازیافت تولید کردند (جدول۲).

ژنوتیپ‌های عدس دارای اختلاف معنی‌داری ($P<۰/۰۱$) از نظر دمای کشنده ۵۰ درصد گیاهان (LT_{50}) بودند (جدول ۳) و از این نظر ژنوتیپ MLC-60 متحمل‌ترین و ژنوتیپ رباط حساس‌ترین ژنوتیپ به انجماد بودند، به نحوی که میزان LT_{50} ژنوتیپ متحمل (MLC-60) حدود ۳۹ درصد کمتر از ژنوتیپ حساس (رباط) شد (جدول ۴). ژنوتیپ‌های عدس از نظر $RDMT_{50}$ نیز تفاوت معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) داشتند.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲- مقایسات میانگین درصد بقاء و صفات مربوط به رشد مجدد ژنوتیپ‌های در دماهای انجماد مختلف

	درصد بقاء		طول (سانتی متر)			تعداد گره	وزن خشک (میلی گرم در گیاه)			
			شاخه		ساقه	تولید شده در دوره بازیافت	ساقه		شاخه	کل گیاه
MLC-۷	۴۹/۹	ab	۳/۲	ab	۳/۹	۱/۳	b	۱۹/۸	a	۵۴/۶ a
MLC-۶۰	۵۰/۹	a	۴/۰	a	۴/۳	۱/۶	a	۲۰/۳	a	۵۳/۱ ab
MLC-۱۸۵	۴۸/۴	abc	۳/۱	ab	۳/۱	۱/۰	c	۱۵/۶	ab	۴۵/۵ abc
MLC-۲۲۵	۴۶/۱	abc	۳/۱	ab	۳/۷	۱/۱	c	۱۹/۶	ab	۴۳/۷ bc
MLC-۳۵۷	۴۷/۳	abc	۲/۹	b	۳/۵	۰/۹	c	۱۷/۳	ab	۴۳/۱ bc
قزوین	۴۰/۴	bc	۲/۶	b	۲/۶	۱/۳	b	۱۴/۶	b	۳۷/۹ c
ریاط	۳۸/۹	c	۲/۶	b	۲/۶	۱/۳	b	۱۵/۹	ab	۳۶/۹ c
صفر	۱۰۰/۰	a	۵/۳	a	۶/۱	۲/۶	a	۴۳/۲	a	۱۰۶/۵ a
-۳	۹۴/۰	a	۶/۰	a	۶/۸	۲/۰	ab	۳۶/۳	b	۹۴/۰ b
-۶	۹۲/۱	ab	۶/۵	a	۷/۱	۲/۲	ab	۳۱/۵	bc	۸۵/۴ b
-۹	۸۰/۲	b	۵/۸	a	۶/۱	۲/۳	ab	۲۸/۵	c	۷۲/۸ c
-۱۲	۴۷/۷	c	۴/۰	b	۴/۴	۱/۶	b	۱۸/۷	d	۴۶/۰ d
-۱۵	۰/۰	e	۰/۰	c	۰/۰	۰/۰	c	۰/۰	e	۰/۰ e
-۱۸	۰/۰	e	۰/۰	c	۰/۰	۰/۰	c	۰/۰	e	۰/۰ e
-۲۱	۰/۰	e	۰/۰	c	۰/۰	۰/۰	c	۰/۰	e	۰/۰ e
-۲۴	۰/۰	e	۰/۰	c	۰/۰	۰/۰	c	۰/۰	e	۰/۰ e

در هر ستون اعداد مربوط به هر عامل که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، بر اساس آزمون دانکن فاقد تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند.

www.SID.ir

(جدول ۳) و ژنوتیپ MLC-60 متحمل‌ترین و ژنوتیپ رباط حساس‌ترین ژنوتیپ از این نظر شناخته شدند (جدول ۴). سایر محققان نیز از دمای کشنده ۵۰ درصد گیاهان (Fowler *et al*., 1996; Mahfoozi *et al*., 2006) و دمای کاهنده ۵۰ درصد وزن خشک (Nezami *et al*., 2006; Azizi *et al*., 2007; RashedMohassel *et al*., 2009) به‌عنوان شاخص‌هایی جهت مقایسه تحمل گیاهان مختلف به تنش انجماد استفاده کرده‌اند. Azizi *et al*. (2007) در ارزیابی تحمل به انجماد ارقام گندم، حدود ۱۲ درجه سانتی‌گراد اختلاف در LT_{50} ارقام متحمل و حساس گندم مشاهده کردند. Nezami *et al*. (2007) نیز گزارش کردند که LT_{50} ارقام متحمل نخود کمتر از ارقام حساس به تنش انجماد می‌باشد.

جدول ۳- تجزیه واریانس دمای کشنده ۵۰ درصد گیاهان (LT50) و دمای کاهنده ۵۰ درصد وزن خشک (RDMT50) ژنوتیپ‌های عدس تحت تاثیر دماهای انجماد در شرایط کنترل شده

منابع تغییر	درجه آزادی	LT_{50}	$RDMT_{50}$		
			ساقه	شاخه	کل گیاه
تکرار	۲	۶/۶**	۱۳/۶**	۸/۷*	۱۳/۱**
ژنوتیپ	۶	۳/۷**	۰/۵^{ns}	۰/۶^{ns}	۰/۴۶*

*، ** و ^{ns}: به ترتیب معنی‌دار در سطوح ۵ و یک درصد و عدم معنی‌دار.

نتایج محاسبه ضرایب همبستگی بین صفات مورد مطالعه نشان داد که صفاتی مانند وزن خشک کل گیاه ($r = ۰/۹۱^{**}$)، طول ساقه ($r = ۰/۸۹^{**}$) و وزن خشک شاخه پس از دوره بازیافت ($r = ۰/۸۸^{**}$) و LT_{50} ($r = -۰/۸۷^{**}$) بالاترین همبستگی را با درصد بقاء گیاهان داشتند (جدول ۵). وزن خشک کل گیاه از دو جزء وزن خشک ساقه و وزن خشک شاخه تشکیل شده و بررسی میزان ارتباط وزن خشک کل گیاه با این اجزاء، نشان‌دهنده ارتباط بیشتر وزن خشک کل با وزن خشک شاخه بود ($r = ۰/۹۶^{**}$). این موضوع نشان‌دهنده نقش بیشتر شاخه در بازیافت گیاه پس از دوره انجماد می‌باشد و لذا ژنوتیپ‌هایی که پس از تنش انجماد توانایی بهتری را در تولید شاخه داشته باشند، در دوره بازیافت احتمالاً از وضعیت رشدی مناسب‌تری برخوردار خواهند بود. از طرفی در زمان اعمال تیمارهای تنش انجماد در شرایط

Archive of SID

www.SID.ir

کنترل‌شده، شاخه‌ها توسعه زیادی نیافته بودند و ساقه اصلی و برگ‌های آنها بیشترین بخش اندام‌های هوایی گیاهان را تشکیل می‌دادند (داده‌ها نشان داده نشده‌اند) و لذا ساقه‌ها و برگ‌ها بیشترین خسارت را متحمل شده‌اند.

بنابراین به نظر می‌رسد که هر چند توانایی ساقه اصلی در حفظ بقاء خود در مواجه با تنش انجماد می‌تواند بقاء گیاه را در این شرایط بهبود بخشد، اما تولید شاخه‌های جانبی احتمالاً تضمین مناسبی جهت رشد گیاه در دوره بازیافت باشد. Nezami *et al.* (2006) نیز در ارزیابی تحمل به تنش انجماد در نخود گزارش کردند که با افزایش شدت انجماد سهم انشعابات جانبی در بازیافت گیاه و رشد مجدد آن افزایش می‌یابد.

جدول ۴- میانگین دمای کشنده ۵۰ درصد گیاهان (LT50) و دمای کاهنده ۵۰ درصد وزن خشک (RDMT50) ژنوتیپ‌های عدس تحت تاثیر دماهای انجماد در شرایط کنترل شده

		LT50	RDMT50					
			ساقه		شاخه		کل گیاه	
ژنوتیپ	MLC-7	-۱۱/۳ c	-۱۰/۸	a	-۱۱/۱	a	-۱۰/۹	d
	MLC-60	-۱۲/۶ a	-۱۱/۹	a	-۱۲/۳	a	-۱۱/۷	a
	MLC-185	-۱۱/۸ a b	-۱۱/۴	a	-۱۱/۳	a	-۱۱/۵	b
	MLC-225	-۱۱/۷ b c	-۱۱/۴	a	-۱۲/۰	a	-۱۱/۱	c
	MLC-357	-۱۱/۳ c	-۱۱/۴	a	-۱۲/۱	a	-۱۱/۴	b
	قزوین	-۱۱/۴ c	-۱۱/۳	a	-۱۲/۰	a	-۱۱/۵	a b
	رباط	-۸/۸ d	-۱۰/۷	a	-۱۲/۱	a	-۱۰/۶	e

در هر ستون اعداد مربوط به هر عامل که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، بر اساس آزمون دانکن فاقد تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند.

بررسی‌ها نشان داده‌اند که هر چند درصد بقاء و تعیین LT_{50} بر اساس آن به‌عنوان یک شاخص مناسب جهت ارزیابی تحمل گیاهان به تنش انجماد کاربرد دارد، ولی در برخی شرایط تنش انجماد ممکن است سبب مرگ برخی ژنوتیپ‌ها نشود، ولی رشد مجدد آنها به شدت تحت تاثیر قرار گیرد و قادر به تولید گیاهان مناسبی نباشند (Nezami & Bagheri, 2005; Hekneby *et al.*, 2006)، در این شرایط شاخص دمای کاهنده ۵۰ درصد وزن خشک گیاهان ($RDMT_{50}$) قادر به چنین تمایزی بین

Archive of SID

www.SID.ir

ژنوتیپ‌های حساس و متحمل از نظر رشد مجدد خواهد بود و از استنباط اشتباهی که ممکن است به دلیل درصد بقاء مشابه آنها ایجاد شود، اجتناب می‌گردد. Nezami *et al.* (2006) همبستگی بالایی میان LT_{50}و $RDMT_{50}$ مشاهده کردند، این محققان گزارش کردند که $RDMT_{50}$ ژنوتیپ‌های متحمل به تنش انجماد نخود کمتر از ژنوتیپ‌های حساس می‌باشد.

RashedMohassel *et al.*(2009) نیز گزارش کردند که $RDMT_{50}$ اکوتیپ‌های متحمل به انجماد رازیانه کمتر از اکوتیپ حساس بوده و اظهار داشتند که اکوتیپ‌های با $RDMT_{50}$ کمتر در دوره بازیافت رشد بهتری نسبت به اکوتیپ‌های با $RDMT_{50}$ بیشتر داشته است. مطالعه Perry & Herrick (1996) بر روی سه گونه علفی نشان داد که گونه دیانتوس دلتوئیدس[1] با کاهش دما تا ۱۴- درجه سانتی‌گراد رشد مجدد بهتری نسبت به گونه آگوئیلژیا[2] و گونه لاواندولا[3] داشت.

همچنین مطالعه Hekneby *et al.* (2006) بر روی تحمل به انجماد چندین گونه از لگوم‌های علوفه‌ای نیز نشان داد که پس از اعمال تنش انجماد، گونه‌های متحمل رشد مجدد بهتری نسبت به گونه‌های حساس داشتند و همبستگی معنی‌داری بین LT50 و میزان رشد مجدد پس از تنش انجماد گزارش شد. در مجموع نتایج این آزمایش نشان داد که بین ژنوتیپ‌های عدس از نظر تحمل به تنش انجماد و خصوصیات رشدی آنها تفاوت وجود دارد. در بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی، ژنوتیپ MLC-60 به دلیل داشتن درصد بقاء بیشتر در گستره دمایی صفر تا ۱۲- درجه سانتی‌گراد از LT_{50} کمتر و خصوصیات رشدی مطلوب‌تر در دوره بازیافت برخوردار بود. نتایج این آزمایش همچنین نشان‌دهنده ارتباط خوب درصد بقاء با LT_{50} بود. با وجود این شاخص‌های LT_{50} و $RDMT_{50}$ و درصد بقاء از عوامل موثر در تعیین تحمل گیاه عدس به تنش انجماد هستند.

[1] *Dianthus deltoides*
[2] *Aquilegia*
[3] *Lavandulaangustifolia*

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۵- ضرایب همبستگی بین درصد بقاء و صفات مربوط به رشد مجدد ژنوتیپ‌های عدس پس ازاعمال تیمار انجماد در شرایط کنترل شده

	درصد بقاء	طول ساقه	طول شاخه	وزن خشک ساقه	وزن خشک شاخه	وزن خشک گیاه	گره تولیدی در دوره بازیافت	LT_{50}	$RDMT_{50}$ کل گیاه	$RDMT_{50}$ ساقه	MT_{50} شاخه
درصد بقاء	۱/۰۰										
طول ساقه	۰/۸۹†	۱/۰۰									
طول شاخه	۰/۸۲	۰/۹۱	۱/۰۰								
وزن خشک ساقه	۰/۷۱	۰/۹۳	۰/۷۹	۱/۰۰							
وزن خشک شاخه	۰/۸۸	۰/۷۴	۰/۷۵	۰/۶۰	۱/۰۰						
وزن خشک کل گیاه	۰/۹۱	۰/۸۸	۰/۸۴	۰/۷۹	۰/۹۶	۱/۰۰					
تعداد گره تولیدی در دوره بازیافت	۰/۰۳۰	۰/۲۸	۰/۴۹	۰/۳۲	۰/۳۱	۰/۳۵	۱/۰۰				
LT_{50}	-۰/۸۷	-۰/۷۶	-۰/۷۷	-۰/۵۴	-۰/۶۷	-۰/۶۹	۰/۰۲	۱/۰۰			
کل گیا $RDMT_{50}$	-۰/۳۶	-۰/۶۸	-۰/۶۸	-۰/۸۵	-۰/۴۰	-۰/۶۰	-۰/۶۵	۰/۲۰	۱/۰۰		
ساق $RDMT_{50}$	-۰/۳۵	-۰/۶۷	-۰/۶۹	-۰/۸۴	-۰/۳۳	-۰/۵۴	-۰/۶۱	۰/۲۳	۰/۹۹	۱/۰۰	
شاخه $RDMT_{50}$	-۰/۲۶	-۰/۶۲	-۰/۵۸	-۰/۸۳	-۰/۲۲	-۰/۴۵	-۰/۵۰	۰/۱۲	۰/۹۷	۰/۹۸	۱/۰۰

†: ضرایب همبستگی مثبت یا منفی با قدر مطلق کوچکتر از ۰/۷۵۰ فاقد اختلاف معنی دار آماری در سطح ۵ درصد هستند

سپاسگزاری

این مقاله از طرح شماره ۱۲۸۴ پ مورخ ۸۷/۱۰/۲۹ معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد، استخراج گردیده است. بدین‌وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد و دانشجویان دکتری

www.SID.ir

فیزیولوژی گیاهان زراعی ورودی ۱۳۸۷، آقایان حمیدرضا عشقی‌زاده، شهرام ریاحی‌نیا و فاضل فاضلی و نیز مدیریت و پرسنل محترم گلخانه تحقیقاتی، جهت مساعدت در اجرای این مطالعه تشکر و قدردانی می‌گردد.

Refrences

1. Ali, A., Johnson, D. L., and Stushnoff, C. 1999. Screening lentil (*Lens culinaris*) for cold hardiness under controlled conditions. J. of Agric.Sci.,Camb., 133: 313-319.
2. Auld, D. L., Ditterline, R. L., Murray, G. A., and Swensen, J. B. 1983. Screening peas for winter hardiness under field and laboratory conditions. Crop Sci. 23: 85-88.
3. Azizi, H., Nezami, A., NassiriMahallati, M., and Khazaie, H. R. 2007. Evaluation of cold tolerance in wheat (*Triticumaestivum* L.) cultivars under controlled conditions. J. of Iranian Field Crops Res., 5(1): 109-120.
4. Bagheri A. R., Nezami, A., and Soltani, M. 2000. Breeding for stress tolerance in cool season food legumes. Agricultural research, Education & Extension Organization press. (Translated in Persian).
5. Bridger, G. M., Falk, D. E., Mckersie, B. D., and Smith, D. L. 1996. Crown freezing tolerance and field winter survival of winter cereals in eastern Canada. Crop Sci., 36: 150-157.
6. Eizenberg, H., Colquhoun, J., and Mallory-Smith, C. 2005. A predictive degree-day model for small broomrape (*Orobanche minor*) parasitism in red clover in Oregon. Weed Sci., 40: 37-40.
7. Erskine, W., Meyveci, K., and Izgin, N. 1981. Screening of world lentil collection for cold tolerance. Int. Lens News., 8: 5-9.
8. Eujay, I., Erskine, W., Baum, M., and Pehu, E. 1999. Inheritance and linkage analysis of frost injury in lentil. Crop Sci., 39: 639-642.
9. FAO. 2009. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Food Outlook, Global market analysis. Statistical appendix.
10. Fowler, D. B., Limin, A. E., Wang, S. Y., and Ward, R.W. 1996. Relationship between low-temperature tolerance and vernalization response in wheat and rye. Can. J. Plant Sci., 76: 37-42.
11. Hekneby, M., Carmen, M., Antolia, M., and Sanchez-Diaz, M. 2006. Frost resistance and biochemical changes during cold acclimation in different annual legumes. Environ. And Exp. Bot., 55: 305-314.
12. Hojjat, S. S., Bagheri, A., and Nezami, A. 2007. Evaluation of lentil germplasm for cold tolerance in order to fall in highlands of Iran. J. Agri. Sci., 5(1): 143-155.
13. Kantar, F., Hebblethwaite, P. D., and Pilbeam, C. J. 1994. Studies on the establishment of white-flowered faba bean (*Viciafaba*). J. Agric. Sci. Camb., 123: 341–348.
14. Kenadal, E. J., and McKersie, B. D. 1989. Free radical and freezing injury to cell membranes of winter wheat. Physiol. Plant., 76: 86–94.
15. Koo, B. C., Bushman, B. S., and Mott, I. W. 2008. Transcripts associated with non-acclimated freezing response in two barley cultivars. Plant genome., 1: 21−32.
16. Li, C., Yang, Y., OlaviJunttila, O., and Palva, E. T. 2005. Sexual differences in cold acclimation and freezing tolerance development in sea buckthorn (*Hippophaerhamnoides* L.) ecotypes. Plant Sci., 168: 1365–1370.
17. Liang, Y., Zhu, J., Li, Z., Chu, G., Ding, Y., Zhang, J., and Sun, W. 2008. Role of silicon in enhancing resistance to freezing stress in two contrasting winter wheat cultivars. Environ. & Exp. Bot., 64: 286–294.
18. Mahfoozi, S., Limin, A. E., Ahakpaz, F., and Fowler, D. B. 2006.

Archive of SID

www.SID.ir

Phenological development and expression of freezing resistance in spring and winter wheat under field conditions in north-west Iran. Field Crops Res., 97: 182- 187.

19. McKersie, B. D., Chen, Y., De Beus, M., Bowley, S. R., and Bowler, C. 1993. Superoxide dismutase enhances tolerance of freezing stress in transgenic alfalfa (*Medicago sativa* L.). Plant Physiol., 103: 1155–1163.
20. Nagao, M., Minami, A., Arakawa, K., Fujikawa, S., and Takezawa, D. 2005. Rapid degradation of starch in chloroplasts and concomitant accumulation of soluble sugars associated with ABA-induced freezing tolerance in the moss Physcomitrella patens. J. Plant Physiol., 162: 169–180.
21. Nezami, A., and Bagheri, A. R. 2005. Responsiveness of cold tolerant chickpea characteristics in fall and spring planting: I- phenology and morphology. J. of Iranian Field Crops Res., 1(1): 143-155.
22. Nezami, A., Bagheri, A., Rahimian, H., Kafi, M., and Nasiri, M. 2006. Evaluation of freezing tolerance of chickpea (*Cicerarietin*um L.) genotypes under controlled conditions. J. of Sci. and Tech. of Agric. and N. Reso., 10 (4): 257-268.
23. 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.) J. of Iranian Field Crops Res., 5(1): 167-175.
24. Nezami, A., Khamadi, N., Khajehosiny, M., and Bagheri. 2000. Evaluation of drought tolerance in cold Hardy Lentils (*Lens culinaris*medik.) at Germination Stage. J. of Iranian Field Crops Res., 8(1): 1-10.
25. Perry L. P., and Herrick, T. 1996. Freezing data and duration effects on regrowth of three species of container – grown Herbaceous perennials. J. Environ. Hort., 14(4): 214-216.
26. RashedMohassel, 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. J. of Herbs, Spices & Medicinal Plants, 15: 131–140.
27. Sakar, D., Durutan, D., and Meyveci, K. 1988. Factors which limit the productivity of cool season food legumes. Kluwer Academic publishers, The Netherlands.
28. Senaratna, T., Mackay, C. E., McKersie, B. D., and Fletcher, R. A. 1988. Uniconazole-induced chilling tolerance in tomato and its relationship to antioxidant content. J. Plant Physiol., 133: 56–61.
29. Steponkus, P. L. 1984. Role of the plasma membrane in freezing injury and cold acclimation. Ann. Rev. Plant Physiol., 35: 543–584.
30. Stoddard, F. L., Balko, C., Erskine, W., Khan, H. R., Link, W., and Sarker, A. 2006. Screening techniques and sources of resistance to abiotic stresses in cool-season food legumes. Euphytica, 147: 167–186.
31. Wise, R. R., and Naylor, A. W., 1987. Chilling-enhanced photooxidation. Evidence for the role of singlet oxygen and superoxide in the breakdownof pigments and endogenous antioxidants. Plant Physiol., 83: 278–282.
32. YazdiSamadi, B., Majnoon-Hoseyni, N., and Peygambari, S. A., 2004. Evaluation of cold hardiness in lentil genotypes (*Lens culinaris*Medik). Seed and Plant J., 20(1): 23-37.

Archive of SID

www.SID.ir