نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۲۵، شماره ۲، خرداد – تیر ۱۳۹۰، ص. ۳۸۸-۳۸۰

Journal of Water and Soil
Vol. 25, No.2, May-Jun 2011, p. 380-388

مطالعه اثرات تنش یخ زدگی بر گیاه مینای چمنی (*Bellis perennis*) در شرایط کنترل شده

محمد جواد موسوی[۱]- سمیه نظامی[۲]- ابراهیم ایزدی دربندی[۳]- احمد نظامی[۴*]- مریم یوسف ثانی[۵]- فاطمه کیخاآخر[۶]

تاریخ دریافت:۸۹/۵/۲۳
تاریخ پذیرش:۸۹/۹/۲۸

چکیده

این مطالعه با هدف بررسی تحمل به یخ زدگی گیاه مینای چمنی در شرایط کنترل شده و به صورت طرح کاملا 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 ۸-۷ برگی با قرار گرفتن در فریزر ترموگرادیان در معرض ۱۲ دمای یخ زدگی (صفر، ۲-، ۴-، ۶-، ۸-، ۱۰-، ۱۲-، ۱۴-، ۱۶-، ۱۸-، ۲۰-،۲۲- درجه سانتیگراد) قرار داده شدند. پایداری غشاء سیتوپلاسمی پس از یخ زدگی از طریق اندازه گیری نشت الکترولیت ها و درصد بقاء و رشد مجدد گیاهان پس از سه هفته رشد در شاسی سرد و به ترتیب از طریق شمارش تعداد بوته ها و تعیین نسبت انها به تعداد بوته قبل از تیمار یخ زدگی و اندازه گیری صفاتی نظیر وزن خشک، تعداد گل و برگ کاملا توسعه یافته تعیین شد. با کاهش دما درصد نشت الکترولیت ها به طور معنی داری ($P<0.01$) افزایش یافت، به طوری که در دمای ۱۸- درجه سانتی گراد به حداکثر رسید. درصد بقاء گیاهان تا دمای ۱۶- درجه سانتی گراد تحت تاثیر قرار نگرفت، ولی در یخ زدگی شدیدتر از آن تمام گیاهان از بین رفتند. با کاهش دما از ۶- درجه سانتی گراد به پایین نیز وزن خشک گیاهان به طور معنی داری ($P<0.01$) کاهش یافت. براساس نتایج حاصله دمای کشنده ۵۰ درصد گیاهان (LT_{50}) بر اساس درصد نشت و درصد بقاء به ترتیب ۱۵/۲- و ۱۷/۰- درجه سانتی گراد تعیین شد.

واژه های کلیدی: خوسرمایی، درصد بقاء، نشت الکترولیت ها، وزن خشک

مقدمه

مینای چمنی (*Bellis perennis*) گیاهی چندساله و پاییزه است، که در اروپا و غرب آسیا به صورت وحشی در چمنزارها، زمین های مرطوب و مناطق جنگلی (۱۰) تا ارتفاع۲۰۰۰-۱۸۰۰ متری رشد می کند (۴). سهولت کاشت، عدم مراقبت زیاد و همچنین گل های فراوان، از جمله ویژگی های این گیاه ذکر شده است (۱۰). این گیاه با داشتن گل هایی به رنگ قرمز تا سفید، یکی از بهترین گیاهان برای باغ های صخره ای، حاشیه باغچه ها و گلدان های پشت پنجره می باشد. طول ساقه گل دهنده آن ۱۰-۲ سانتیمتر و قطر گل های آن نیز ۷/۵-۲/۵ سانتیمتر است (۲۱ و ۲۴) که در روزهای آفتابی به طور محسوسی از حرکت خورشید (شرق به غرب) تبعیت می کند (۴). مینا چمنی دارویی نیز می باشد و قسمت های مورد استفاده وداورویی آن برگ ها و سایر اندام های آن است. این گیاه به عنوان تصفیه کننده خون، ملین ملایم، از بین برنده التهاب ها، آرام کننده، مقوی، معرق، خلط آور و بطور خفیف مدر بوده و در درمان رماتیسم نیز کاربرد دارد (۴ و ۱۹). بر اساس مطالعات ۱۲ ساپونین ترپنوییدی در مینا وجود دارد که نیمی از آنها در ریشه هستند (۱۹). ازدیاد مینای چمنی هم از طریق بذر و هم از طریق تقسیم بوته در اوایل بهار انجام می شود (۲۴). بذر آن در اواخر مرداد ماه در خزانه کشت شده و در مهر و یا آبان در محل اصلی نشاکاری می شود و نظیر سایر گل های زمستانه از جمله گل بنفشه زمستان گذرانی داشته و در اوایل بهار رشد و نمو خود را مجددا آغاز می کند (۳ و ۶).

در مناطق معتدله ای نظیر ایران گیاهان در معرض انواع تنش های زمستانه به ویژه تنش یخ زدگی قرار می گیرند. در فرآیند یخ زدگی تشکیل یخ و خسارت های ناشی از آن تاثیر جدی بر رشد گیاه دارند. بطوری که تشکیل بلورهای یخ در اطراف سلول های گیاه سبب تخریب غشا، نشت الکترولیت ها و ایجاد لکه های نکروزه در گیاه می شود (۱). با این وجود در مناطق مذکور هنگامی که گیاهان

۱و۲- مربی و دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
۳،۴و۵- به ترتیب استادیار، دانشیار و دانشجوی کارشناسی ارشد گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(*- نویسنده مسئول: Email: nezamiahmad@yahoo.com)
۶- دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

در پاییز با کاهش طول روز و دماهای کمتر از ۱۰ درجه سانتیگراد مواجه می شوند، به سرما خو می گیرند. در این شرایط خوسرمایی سبب بهبود نسبی تحمل آن ها به شرایط زمستان خواهد شد و گیاهان قادر خواهند بود که بقاء زمستانه ی نسبتا خوبی داشته باشند. (۱۶ و ۲۳). علیرغم این وضعیت، وقوع سرماهای شدید در برخی سال ها سبب بروز خسارات جبران ناپذیری به گیاهان شده و حتی در مواردی منجر به مرگ کامل گیاهان می شود (۲۷). به همین دلیل شناسایی گیاهان متحمل به سرما و کاشت آن ها در مناطق تحت خطر تنش یخ زدگی از جمله راه کارهای مناسب جهت کاهش خسارت سرما می باشد (۷).

ارزیابی سریع و موثر تحمل گیاهان تنش به یخ زدگی مورد توجه محققان زیادی می باشد و برخی از آن ها شاخص بقاء زمستانه را برای تعیین میزان تحمل به سرما در گیاهان زراعی (۱۵) و باغی (۱۱) پیشنهاد کرده اند. در این روش توانایی بقاء گیاهان مورد آزمایش با کاشت آن ها در طبیعت و قرار گرفتن در معرض سرمای طبیعی و مقایسه با نمونه شاهد ارزیابی می شود. با وجود اینکه شاخص بقاء زمستانه آزمون مناسبی به نظر می رسد، ولی به دلیل نوسان در شدت سرما در طول سال های آزمایش ممکن است تفاوت بقاء در ژنوتیپ های حساس و متحمل به سرما در طول زمستان آشکار نشود و عوامل متعددی نظیر پوشش برف، دوره های ذوب-یخ، آلودگی به عوامل بیماری زا و ... یکنواختی شرایط آزمایش را کاهش دهد (۲۵ و ۲۶). به همین دلیل جهت ارزیابی تحمل به یخ زدگی انواع آزمون ها در شرایط کنترل شده مورد بررسی قرار گرفته است. در یکی از این روش ها نشت الکترولیت ها از سلول های گیاهی پس از اعمال تنش یخ زدگی اندازه گیری می شود (۱۴). اعتقاد بر این است که اولین مکان خسارت در اثر سرما، غشا سلولی است و سرما باعث تغییر حالت غشا از کریستال- مایع بحالت جامد- ژل می شود و با این تغییر فعالیت غشا مختل می گردد (۱۲). به همین دلیل اندازه گیری میزان نشت الکترولیت ها از بافت های گیاهی به عنوان یک روش مناسب برای تخمین تراوایی غشا و ارزیابی اثر تنش های محیطی بر ژنوتیپ های مختلف گیاهان مورد استفاده قرار گرفته و دمایی که سبب ۵۰ درصد نشت از سلول های گیاهی می شود به عنوان دمای ۵۰ درصد کشندگی (LT_{50el}[1]) پیشنهاد شده است (۸ و ۱۳). در روشی دیگر گیاهان در شرایط کنترل شده در معرض دماهای یخ زدگی قرار می گیرند و پس از اعمال یخ زدگی به گلخانه منتقل شده و پس از گذراندن یک دوره بازیافت که حدود سه تا چهار هفته است، درصد بقاء آن ها تعیین شده و بر اساس آن دمایی که سبب ۵۰ درصد مرگ در نمونه های گیاهی هر ژنوتیپ شده است، به عنوان LT_{50su}[2] تعیین می گردد (۵ و ۱۷). در ایران تحمل به یخ زدگی اغلب گیاهان زینتی به روش تجربی مورد ارزیابی قرار گرفته است و در خصوص مکانیزم اثرات تنش یخ زدگی بر این گونه گیاهان و نحوه ی بروز خسارت سرما و به دنبال آن مرگ یا بقاء و رشد مجدد آن ها اطلاعات اندکی در دسترس است. به همین دلیل در تحقیق حاضر اثرات تنش یخ زدگی بر گیاه مینای چمنی در شرایط کنترل شده مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

در این آزمایش تحمل به یخ زدگی گیاه مینا چمنی در شرایط کنترل شده مورد مطالعه قرار گرفت. به این منظور، ابتدا بذرها در اواسط تابستان در خزانه کشت شده و هنگامی که گیاهان به مرحله شش تا هشت برگی رسیدند، در اواسط آبان به گلدان هایی با قطر ۱۸ سانتیمتر منتقل شدند. پس از قرار دادن ۵ گیاهچه در هر گلدان، انها به محیط طبیعی جهت رشد انتقال یافتند. جهت اعمال دماهای یخ زدگی گلدان ها در اواخر بهمن ماه به فریزر ترموگرادیان منتقل شدند. دمای فریزر در شروع آزمایش، ۵ درجه سانتیگراد بوده که پس از قرار دادن نمونه ها در آن دما 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 ۲/۵- درجه سانتیگراد اسپری INBA[3] بر روی نمونه ها به نحوی انجام شد که سطح گیاه را بطور نسبی قشری از این محلول پوشانده و تقریبا خیس شدند. به منظور ایجاد تعادل در دمای محیط، گیاهچه ها 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 جهت جلوگیری از ذوب شدن سریع یخ، گلدان ها به اتاقک سرد با دمای ۲± ۴ منتقل و بمدت ۱۲ تا ۲۴ ساعت در آنجا نگهداری شدند.

برای تعیین پایداری غشاء سیتوپلاسمی از روش اندازه گیری نشت الکترولیت ها استفاده شد. به این منظور از گلدان های مربوط به هر تیمار دمایی پنج برگ کاملا توسعه یافته از پنج گیاه انتخاب و در ویال های حاوی ۴۰ میلی لیتر آب دوبار تقطیر شده قرار داده شدند. سپس نمونه ها روی شیکر قرار گرفته و بعد از شش ساعت نشت الکترولیت ها با استفاده از دستگاه EC متر (مدل- Jenway) اندازه گیری شد (EC_1). به منظور اندازه گیری میزان کل نشت الکترولیت‌ها در اثر مرگ سلول، ویال ها بمدت ۲۰ دقیقه در اتوکلاو (با فشار ۱۵ بار و دمای ۱۲۰ درجه سانتیگراد) قرار داده شدند. سپس نمونه ها به

1- Lethal temperature 50 according to electrolyte leakage

2- Lethal temperature 50 according to the plant survival

3- Ice Nucleation Active Bacteria

محیط آزمایشگاه منتقل شده و مجددا به مدت شش ساعت روی شیکر قرار گرفته و پس از آن نشت الکترولیت ها (EC_2) اندازه گیری شد. درصد نشت الکترولیت ها با استفاده از فرمول (۱۰۰× (E_1/E_2) = درصد نشت الکترولیت) محاسبه شد. جهت تعیین درصد بقاء و بازیافت گیاهان، گلدان ها به شاسی سرد منتقل شده و پس از ۲۱ روز درصد بقاء و رشد مجدد آن ها ارزیابی شد. درصد بقاء گیاهان از طریق شمارش تعداد بوته زنده در هر گلدان و از طریق فرمول [۱۰۰× (تعداد گیاهان قبل از یخ زدگی/تعداد گیاهان زنده سه هفته بعد از یخ زدگی)] محاسبه شد. همزمان صفات دیگری نظیر تعداد پنجه و تعداد برگ در گیاه، تعداد گل و غنچه و قطر گل شمارش و یا اندازه گیری و ثبت شدند. وزن خشک نمونه ها پس از ۴۸ ساعت قرار گرفتن در آون ۷۰ درجه سانتیگراد اندازه گیری و ثبت شد.

آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار اجرا شد که در آن اثر۱۲ دمای یخ زدگی (شامل دماهای ذکر شده) بر روی گیاه مینای چمنی مورد مطالعه قرار گرفت. تجزیه داده هایی که به صورت درصد (بین صفر تا ۳۰ و ۷۰ تا ۱۰۰ درصد) بودند، پس از تبدیل زاویه ای انجام شد. LT_{50el} ، LT_{50su} و دمای کاهنده ۵۰ درصد وزن خشک ($RDMT_{50}$[1]) گیاهان به ترتیب با استفاده نمودارهای ترسیم شده ی درصد نشت و درصد بقاء و وزن خشک گیاهان در مقابل دماهای یخ زدگی تعیین شد. محاسبات آماری و رسم نمودارها با استفاده از نرم افزارهای Minitab و Excel انجام گرفت.

نتایج و بحث

تیمارهای دمایی از نظر درصد نشت الکترولیت ها با هم تفاوت معنی داری ($P\leq$۰/۰۱) داشتند (جدول۱). اعمال تیمار یخ زدگی تا دمای ۱۲- درجه سانتیگراد تاثیر چندانی بر درصد نشت الکترولیت ها نداشت، ولی با افزایش شدت سرما و کاهش دما به کمتر از ۱۲- درجه سانتیگراد درصد نشت الکترولیت ها افزایش یافت و در دمای ۱۸- درجه سانتیگراد به حداکثر رسید (شکل ۱). در سایر مطالعات بر روی گیاهان پاسپالوم (۱۳)، شبدر (۱۴) و چغندر قند (۲) نیز مشاهده شده است که با افزایش شدت سرما نشت الکترولیت ها از بافت های گیاهی افزایش یافته است. غشا سلولی اولین مکان خسارت در اثر سرما است و این امر منجر به تغییر وضعیت غشا از حالت کریستال مایع به حالت جامد-ژل می شود و به دنبال آن فعالیت غشا مختل می گردد. بنابراین اختلال در فعالیت غشاهای سلولی در اثر تنش سرما، سبب نشت الکترولیت ها از سلول شده و اندازه گیری میزان نشت از بافت های تحت تنش می تواند معیار قابل قبولی برای سنجش مقاومت به تنش سرما باشد (۸ و ۱۳). گاستا و همکاران (۱۷) دمایی را که در آن ۵۰ درصد نشت الکترولیت ها اتفاق می افتد، به عنوان دمای ۵۰ درصد کشندگی پیشنهاد کرده اند. بر این اساس در بررسی حاضر LT_{50el} گیاه مینای چمنی معادل ۱۵/۲- درجه سانتیگراد تعیین شد. به عبارت دیگر در این دما ۵۰ درصد الکترولیت ها به خارج از سلول ها نشت کرده است. در مطالعه ی کاردونا و همکاران (۱۳) بر روی سه اکوتیپ پاسپالوم (*Paspalum vaginatum*) و گیاه برمودا‌گراس (*Cynodon dactylon*) مشاهده شد که میزان LT_{50el} در برمودا‌گراس به طور معنی داری کم تر از اکوتیپ های پاسپالوم بود. در بررسی حاج محمد نیا و همکاران (۲) نیز بر روی هشت رقم چغندرقند LT_{50el} آن ها بین ۵- تا ۹- درجه سانتیگراد گزارش شده است.

درصد بقاء گیاهان مینای چمنی در پایان دوره بازیافت تحت تاثیر دماهای آزمایش قرار گرفت و علی رغم اینکه تا دمای ۱۶- درجه سانتیگراد را به خوبی تحمل کرد (۱۰۰ درصد بقاء)، اما در دماهای پایین تر به کلی از بین رفتند (شکل ۱). دمای کشنده ۵۰ درصد گیاهان (LT_{50su}) نیز ۱۷- درجه سانتیگراد بود. زرگری (۴) نیز گزارش کرد که گیاه مینا چمنی قادر است در شرایط طبیعی سرما را تا حد ۱۷- درجه سانتیگراد بدون پوشش برف را تحمل کند. عزیزی و همکاران (۵) بیان کردند که اثر دما بر درصد بقاء ارقام گندم معنی دار بود، به نحوی که با کاهش دما به کم تر از صفر درجه سانتیگراد درصد بقاء گندم کاهش یافت. مطالعه راشد و همکاران (۲۲) بر روی دو اکوتیپ رازیانه نشان داد که با کاهش دما به کم تر از ۹- درجه سانتیگراد درصد بقاء گیاهان کاهش یافته است.

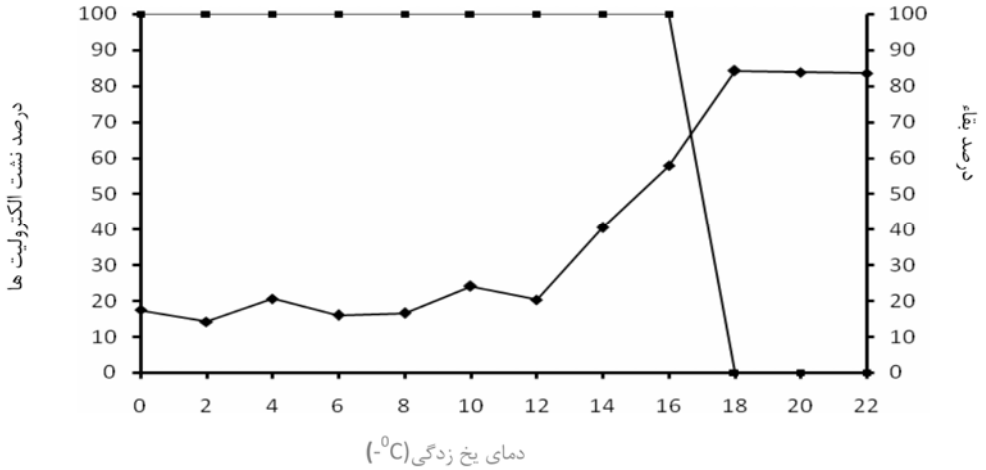
در این مطالعه همبستگی بسیار معنی داری (r = -۰/۹۱***) بین درصد نشت الکترولیت ها و درصد بقاء گیاهان وجود داشت (جدول۲). به عبارت دیگر با افزایش درصد نشت الکترولیت ها، درصد بقاء گیاهان کاهش یافته است. با وجود این بررسی شکل یک نشان می دهد در شرایطی که درصد نشت الکترولیت ها از گیاهان حدود ۵۰ درصد بوده است گیاهان کاملا زنده بوده اند و هیچگونه مرگ و میری در آن ها اتفاق نیفتاده است، در حالی که نشت الکترولیت ها به میزان ۷۸ درصد سبب مرگ ۵۰ درصد گیاهان شده است. محققان معتقدند که یک روش ارزیابی می بایست ساده، قابل تکرار و غیر تخریبی باشد (۱۸) و لذا جهت بررسی نشت الکترولیت ها غالبا از برگ های گیاهان استفاده می شود (۸ و ۱۳) زیرا در این حالت می توان بقاء گیاهان را (۹) نیز مورد بررسی قرار داد. در مطالعه حاضر نیز جهت ارزیابی میزان نشت الکترولیت ها از برگ گیاهان (۲۴ ساعت پس از یخ زدگی) استفاده شد و بقاء گیاهان پس از سه هفته مورد ارزیابی قرار گرفت. بر اساس نتایج حاصله و با وجود اینکه نشت ۵۰ درصد الکترولیت ها از سلول های برگ گیاهان مورد بررسی در دمای ۱۵/۲- درجه سانتیگراد حادث شده است ولی مرگ ۵۰ درصد گیاهان از دمای ۱۷- درجه سانتیگراد اتفاق افتاده است و لذا به نظر می رسد که در استفاده از شاخص LT_{50el} می بایست به چند نکته توجه داشت.

1- Reduced Dry Matter Temperature 50

جدول۱- میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس صفات درصد نشت الکترولیت ها پس از تنش یخ زدگی و درصد بقاء، وزن خشک، تعداد پنجه، تعداد برگ، تعداد گل و غنچه و قطر گل، در گیاه مینای چمنی ۲۱ روز پس از اعمال تیمار های یخ زدگی و رشد مجدد

تیمار	درجه آزادی	نشت الکترولیت	درصد بقاء	وزن خشک	تعداد پنجه	تعدادبرگ	تعداد گل و غنچه	تعداد گل	تعداد غنچه	قطر گل
یخ زدگی	۱۱	۲۵۶۴/۷**	۶۱۳۶	۰/۹۶**	۷/۴۰**	۳۰۹/۸۷**	۹/۷۶**	۰/۴۶**	۶/۱۲**	۵/۸۸**
خطا	۲۴	۵۵/۰	– [§]	۰/۱۰	۰/۶۵	۲۶/۵۳	۰/۱۷	۰/۰۷	۰/۳۶	۰/۳۳

[§] امکان تجزیه واریانس داده ها وجود نداشت.



شکل ۱- درصد نشت (◆) و درصد بقاء (■)گیاهان مینای چمنی تحت تاثیر دماهای یخ زدگی در شرایط کنترل شده

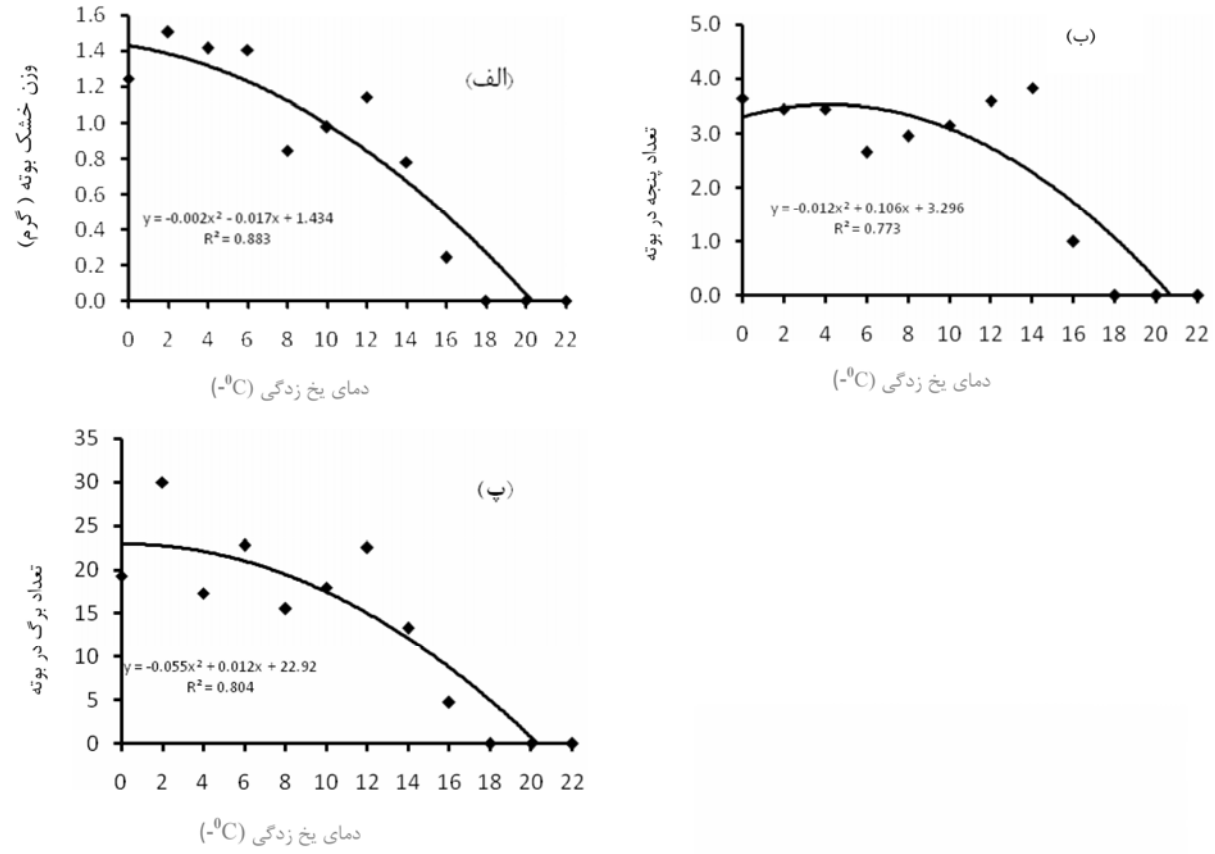
اول اینکه نشت ۵۰ درصد الکترولیت ها از بافت های گیاهی غیر موثر در بقاء گیاه (مثلا برگ ها در مقایسه با مریستم ها) الزاما به معنی ۵۰ درصد مرگ گیاهان نمی باشد و دوم اینکه جهت استفاده از شاخص نشت الکترولیت ها احتمالا استفاده از بافت های گیاهی موثر در بقاء گیاه و یا استفاده از کل گیاه در تعیین میزان نشت موثر تر خواهد بود. البته مورد اخیر در خصوص گیاهچه ها و خصوصا در مواردی که بذر و یا نمونه گیاهی به اندازه کافی در دسترس باشد، قابل استفاده است و گرنه در غیر این صورت استفاده از برگ های گیاهان غیر قابل اجتناب خواهد بود. به همین دلیل در بررسی محققان دیگر نیز مشاهده می شود که جهت اندازه گیری نشت الکترولیت ها از برگ گیاهان استفاده شده است (۱۴).

تاثیر تیمارهای دمایی بر وزن خشک گیاهان مینای چمنی در پایان دوره بازیافت (سه هفته بعد از تنش یخ زدگی) معنی دار ($P\leq$۰/۰۱) بود (جدول ۱)، به طوری که با کاهش دما وزن خشک گیاهان نیز کاهش یافت. همانطور که در شکل ۲- الف مشاهده می شود وزن خشک گیاهان تا دمای ۶- درجه سانتیگراد چندان تحت تاثیر تنش یخ زدگی قرار نداشته ولی بعد از آن با شیب نسبتا تندی کاهش یافته است، به صورتی که میزان وزن خشک گیاهان در دماهای ۱۴- و ۱۶- درجه سانتیگراد به ترتیب ۲۶ و ۷۸ درصد کم تر از تیمار شاهد بوده است. وزن خشک گیاهان در پایان دوره بازیافت با درصد نشت الکترولیت ها همبستگی بسیار معنی داری ($r=$-۰/۹۵***) داشت (جدول ۲). به صورتی که با افزایش نشت الکترولیت ها، وزن خشک گیاه نیز کاهش یافته است. در این مطالعه دمای کاهنده ۵۰ درصد وزن خشک ($RDMT_{50}$) گیاهان مینای چمنی حدود ۱۴- درجه سانتیگراد تعیین شد. به عبارت دیگر دمای ۱۴- درجه سانتیگراد سبب کاهش ۵۰ درصدی وزن خشک گیاهان نسبت به تیمار شاهد شده است. در بررسی اثر دما بر وزن خشک گیاهان رازیانه نیز مشاهده شد که با کاهش دما وزن خشک گیاه کم شد، به صورتی که در دمای ۱۲- درجه سانتیگراد ۱۴ درصد شاهد بود. از طرفی DMT_{50} اکوتیپ های رازیانه در شرایط عدم خوسرمایی ۶/۸- درجه سانتیگراد بود در حالیکه در گیاهان تحت تیمار خوسرمایی ۱۰- درجه سانتیگراد تعیین شد (۲۲). عزیزی و همکاران (۵) کاهش وزن خشک گیاهان در دوره بازیافت را بدلیل اثر خسارت ناشی از یخ زدگی و کاهش توانایی رشد مجدد اندام های هوایی دانسته اند.

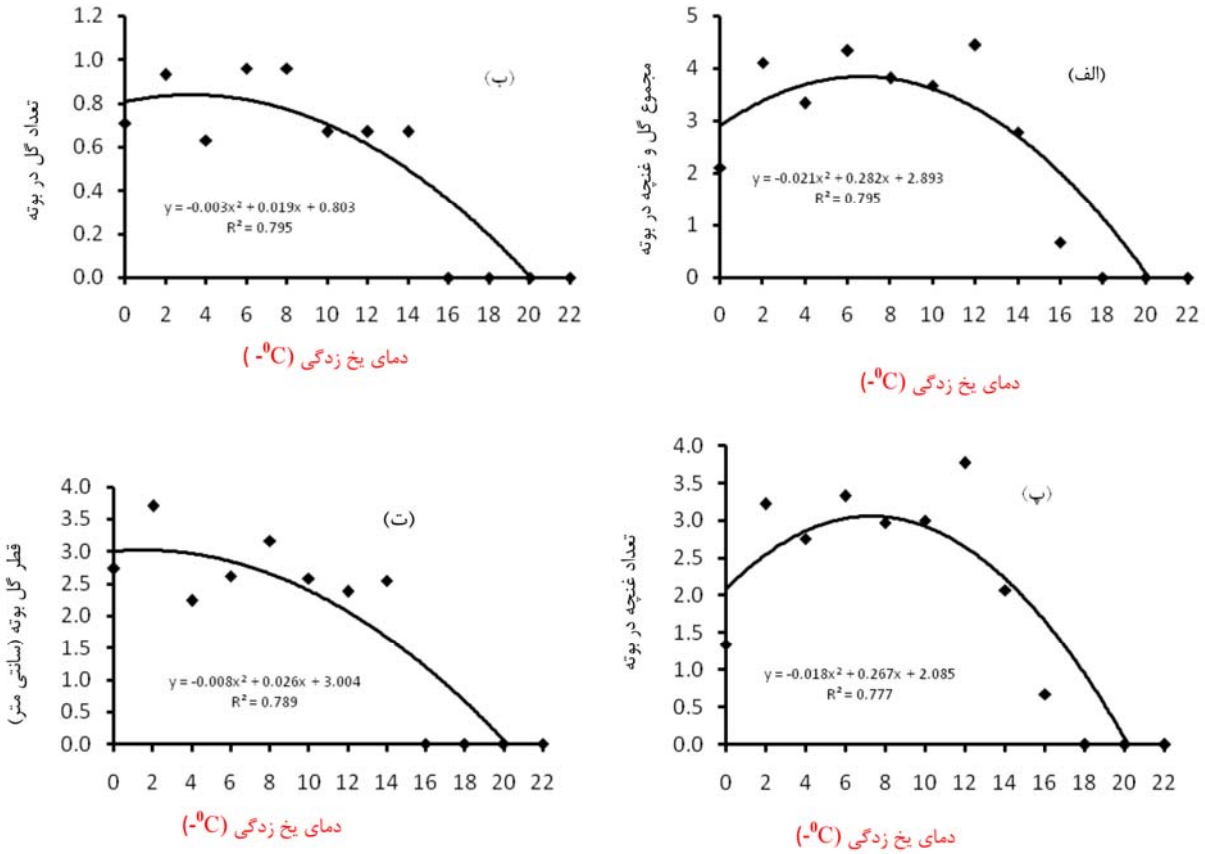
اثر دماهای یخ زدگی بر تعداد پنجه و برگ گیاهان مینای چمنی معنی دار ($P \leq ۰/۰۱$) بود، به نحوی که با کاهش دما تعداد آن ها نیز کاهش یافت (شکل ۲- ب و پ). در گستره دمایی ۲- تا ۱۴- درجه سانتیگراد تفاوت زیادی از نظر تعداد پنجه یا برگ بین تیمارهای دمایی مشاهده نشد، ولی در دمای ۱۶- درجه سانتیگراد این دو صفت شدیدا کم تر شدند، به طوریکه تعداد آن ها در دمای ۱۶- درجه سانتیگراد نسبت به تیمار شاهد حدود ۷۵ درصد کم تر بود. در بررسی بر روی تحمل به یخ زدگی تریتیکاله اثر دما بر تعداد برگ نیز معنی دار بود بطوریکه تعداد برگ در تیمارهای دمایی ۴- ، ۸- و ۱۲- درجه سانتیگراد به ترتیب ۶/۲ ، ۱۰/۴ و ۲۲/۹ درصد نسبت به شاهد کاهش پیدا کرد (۲۰).

دماهای یخ زدگی اثر معنی داری ($P \leq ۰/۰۱$) بر اجزا زایشی گیاه (تعداد گل و غنچه) داشتند (جدول۱). با وجود اینکه تا دمای ۱۴- درجه سانتیگراد تیمارهای دمایی تاثیر چندانی بر این صفات نداشتند (شکل ۳ الف)، ولی دمای ۱۶- درجه سانتیگراد سبب کاهش ۳۲ درصدی تعداد غنچه در گیاه نسبت به تیمار شاهد شد و با وجود زنده ماندن گیاهان تا دمای مذکور (۱۶- درجه سانتی گراد) بدلیل شدت خسارت یخ زدگی هیچگونه گلی دیده نشد. نکته قابل توجه در این مطالعه کم تر بودن تعداد اجزاء زایشی (به ویژه تعداد غنچه) در تیمار دمایی شاهد (صفر درجه سانتیگراد) نسبت به تیمارهای دمایی ۲- تا ۱۴- درجه سانتیگراد بود. به نظر می رسد که اعمال تیمارهای یخ زدگی در این گیاه احتمالا باعث تحریک و تشکیل جوانه های گل و افزایش تعداد قطر گل نیز تا دمای ۱۴- درجه سانتیگراد چندان تحت تاثیر تیمارهای دمایی قرار نگرفت و در یخ زدگی های شدید تر از آن نیز هیچ گونه گلی مشاهده نشد (شکل ۳-ت).

همبستگی بسیار معنی داری ($P \leq ۰/۰۰۱$) بین صفات زایشی و صفات رویشی مشاهده شد (جدول ۲)، به عنوان مثال همبستگی بین تعداد گل و غنچه با تعداد پنجه و تعداد برگ به ترتیب حدود ۸۸ و ۹۳ درصد بوده است. بهبود وزن خشک گیاه نیز منجر به افزایش اجزا زایشی گیاه شده است به طوری که همبستگی بین وزن خشک گیاه با تعداد اجزاء زایشی حدود ۹۰ درصد بود.



شکل ۲- وزن خشک (الف)، تعداد پنجه (ب)، تعداد برگ (پ) گیاهان مینای چمنی تحت تاثیر دماهای یخ زدگی در شرایط کنترل شده (هر نقطه میانگین سه عدد است)



شکل ۳- مجموع گل و غنچه (الف)، تعداد گل (ب)، تعداد غنچه (پ)، قطر گل (ت) گیاهان مینای چمنی تحت تاثیر دماهای یخ زدگی در شرایط کنترل شده (هر نقطه میانگین سه عدد است)

جدول ۲- ضرایب همبستگی بین درصد نشت الکترولیت ها، درصد بقاء، وزن خشک بوته، تعداد پنجه و برگ در بوته، مجموع گل و غنچه، تعداد گل، تعداد غنچه و قطر گل در گیاهان مینای چمنی تحت شرایط کنترل شده

	۱	۲	۳	٤	٥	٦	۷	۸
۱- درصد نشت الکترولیت ها	۱							
۲- درصد بقاء	-۰/۹۱***	۱						
۳- وزن خشک	-۰/۹۵***	۰/۸۱***	۱					
۴- تعداد پنجه	-۰/۹۳***	۰/۸۹***	۰/۹۰***	۱				
۵- تعداد برگ	-۰/۹۳***	۰/۸۰***	۰/۹۵***	۰/۸۸***	۱			
۶- تعداد گل و غنچه	-۰/۹۳***	۰/۸۲***	۰/۹۰***	۰/۸۸***	۰/۹۳***	۱		
۷- تعداد گل	-۰/۹۴***	۰/۷۹***	۰/۹۱***	۰/۸۸***	۰/۹۰***	۰/۹۴***	۱	
۸- تعداد غنچه	-۰/۹۱***	۰/۸۰***	۰/۸۸***	۰/۸۵***	۰/۹۱***	۰/۹۹***	۰/۹۰***	۱
۹- قطر گل	-۰/۹۴***	۰/۷۹***	۰/۹۱***	۰/۹۲***	۰/۹۲***	۰/۹۱***	۰/۹۸***	۰/۸۷**

*** و ** به ترتیب معنی دار در سطوح ۰/۱ و ۱ درصد

نتیجه گیری

تنش یخ زدگی سبب افزایش نشت الکترولیت ها، کاهش درصد بقاء و رشد مجدد گیاه مینای چمنی شد. با وجود این بسته به شدت تنش واکنش صفات مورد مطالعه متفاوت بود، به عنوان مثال درصد نشت الکترولیت ها تا دمای ۱۲- درجه سانتیگراد نسبتا ثابت بود ولی بعد از آن افزایش یافت، در صورتی که درصد بقاء گیاهان تا دمای

۱۶- درجه سانتیگراد تحت تاثیر قرار نگرفت و بعد از آن به شدت کاهش یافت، به نحوی که در دمای ۱۸- درجه سانتیگراد هیچ گیاهی زنده نماند. وزن خشک گیاه مینای چمنی تحت تاثیر دماهای کم تر از ۸- درجه سانتیگراد به شدت کاهش یافت، در صورتی که تعداد برگ در گیاه تا دمای ۱۴- درجه سانتیگراد و تعداد پنجه و اجزاء زایشی گیاه تا دمای ۱۶- درجه سانتیگراد روند نسبتا ثابتی داشتند و بعد از آن کم تر شدند.

LT_{50el} و LT_{50su} به ترتیب معادل ۱۵/۲- و ۱۷- درجه سانتیگراد تعیین شد و با وجود اینکه همبستگی خوبی بین دو صفت مذکور وجود داشت ولی نشت ۵۰ درصد الکترولیت ها از سلول منجر به مرگ ۵۰ درصد گیاهان نشد، بلکه مرگ ۵۰ درصدی گیاهان هنگامی حادث شد که ۷۸ درصد الکترولیت ها از بافت های برگ گیاه خارج شدند.

سپاسگزاری

بودجه این تحقیق از محل اعتبارات معاونت محترم پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد، با کد ۰۵پ تامین شده است که بدینوسیله تشکر و قدردانی می گردد.

منابع

۱- باقری ع.، نظامی ا.، سلطانی م. ۱۳۷۹. اصلاح حبوبات سرمادوست برای تحمل به تنش ها. وزارت کشاورزی.

۲- حاج محمدنیا قالیباف ک.، نظامی ا. و کمندی ع. ۱۳۸۹. بررسی امکان استفاده از شاخص نشت الکترولیت ها در ارزیابی تحمل به سرما در چغندر قند. مجله پژوهشهای زراعی ایران، جلد ۸ (۲).

۳- خلیقی ا. ۱۳۷۶. گلکاری. انتشارات گلشن.

۴- زرگری ع. ۱۳۶۸. گیاهان دارویی. انتشارات دانشگاه تهران.

۵- عزیزی ه.، نظامی ا.، نصیری محلاتی م. و خزاعی ح.ر. ۱۳۸۶. ارزیابی تحمل به یخ زدگی ارقام گندم تحت شرایط کنترل شده. مجله پژوهشهای زراعی ایران، (۶) ۱.

۶- مجدری ع. ۱۳۶۱. کشت و پرورش گل ها. انتشارات میر (گوتنبرگ).

۷- میر محمدی میبدی ع. و اصفهانی س. ۱۳۷۹. جنبه های فیزیولوژی و بهنژادی تنش های سرما و یخ زدگی گیاهان زراعی. انتشارات گلبن.

۸- نظامی ا.، برزویی ا.، جهانی م.، عزیزی م. و شریف ع. ۱۳۸۶. نشت الکترولیتها به عنوان شاخصی از خسارت یخ زدگی در کلزا. مجله پژوهشهای زراعی ایران، (۵) ۱: ۱۷۵-۱۶۷.

۹- نظامی ا.، برزوئی ا.، جهانی م.، عزیزی م.، و جواد موسوی م. ۱۳۸۸. ارزیابی تحمل به یخ زدگی ارقام کلزا پس از خوسرمایی در شرایط کنترل شده. مجله پژوهشهای زراعی ایران، جلد ۷ (۲): ۷۲۲-۷۱۱.

۱۰-وزیری الهی غ. ۱۳۶۶. گلکاری عملی. انتشارات روزبهان.

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

12- Blum A. 1988. Plant Breeding for Stress Environments. CRC Press, Inc., Boca Raton, FL.

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

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

15- Fowler D.B., and Gusta L.V. 1979. Selection for winterhardiness in wheat. I. Identification of genotypic variability. Crop Science. 19: 769-772.

16- Griesbach R.J., and Berberich S.M. 1995. The early history of research on ornamental plants at the U S. Department of Agriculture from 1862 to 1940. HortScience. 30: 421–425.

17- Gusta L.V., Fowler D.B., and Tyler N.J. 1982. Factors influencing hardening and survival in winter wheat. In: Li, P. H. and A. Sakai, eds. Plant cold hardiness and freezing stress, mechanisms and crop implications. Vol. 2. Academic Press, London. pp. 23–40.

18- Gusta L.V., O'Connor B.J., Gao Y.P., and Jana S. 2001. A re-evaluation of controlled freeze-test and controlled environment hardening conditions to estimate the winter survival potential of winter wheats. Canadian Journal of Plant Science. 81:241-246.

19- Li W., Asada Y., Koike K., Nikaido T., and Furuya T. 2005. Bellisosides A-F, six novel acylated triterpenoid saponins from *Bellis perennis* (compositae). Tetrahedron. 61: 2921-2929.

20- 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(2): 114-120.
21- Phillips R., and Rix M. 2002. Annuals & Biennials. Firefly Books.
22- Rashed Mohasel 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 & Medicinal Plants, 15:131–140.
23- Still S., Disabato A., Brenneman G. 1988. Cold hardiness of herbaceous perennials. Proceeding International Plant Propagation Society. 37: 386–392.
24- Swarup V. 1997. Garden flowers. National Book Trust.
25- Tcacenco F.A., Eagles C.F., Tyler B.F. 1989. Evaluation of winter hardiness in Romanian introductions of *Lolium perenne*. Journal of Agricultural Science. 112: 249–255.
26- Walker M.D., Ingersoll R.C., and Webber P.J. 1995. Effects of interannual climate variation on phenology and growth of two alpine forbs. Ecology. 76 (4): 1067–1083.
27- Warmund R.M., Guinan P., and Fernandez G. 2008. Temperatures and cold damage to small fruit crops across the eastern united states associated with the april 2007 freeze. Horticultural Science. 43: 1643-1647.

Journal of Water and Soil
Vol. 25, No.2, May-Jun 2011, p. 380-388

نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۲۵، شماره ۲، خرداد – تیر ۱۳۹۰، ص. ۳۸۸-۳۸۰

Evaluation of Freezing Tolerance of English Daisy (*Bellis perennis)* under Controlled Conditions

M.J. Moosavi[1]- S. Nezami[2]- E. Izadi Darbandi[3]-A. Nezami[4*]- M. Yousefsani[5]- F. Keykha Akhar[6]

Received:14-08-2010
Accepted:19-12-2010

Abstract

The aim of this experiment was the study of freezing tolerance of *Bellis perennis* under controlled conditions and were arranged in a completely randomized design with three replications. Plants after sowing and grow in the bed, at the middle of autumn (after hardening in natural conditions), in the 7-8 leaf stage put on the thermogradiant freezer with the 12 freezing temperatures (0,-2,-4,-6,-8,-10,-12,-14,-16,-18,-20,-22 ^{o}C). Cell membrane stability was measured through electrolyte leakage (EL) and survival percentage and regrowth of the plants after 3 weeks in cold frame were measured, by counting the number of plants and determining their proportional with the number of plants before freezing and measuring the dry matter, number of flowers and fully developed leaves. With decreasing the temperature EL increased significantly ($P<0.05$) and reach to the maximum at -18^{0}C. Survival percentage of plants did not affect until -16 but all the plants were died in other sever freezing. Dry matter of the plants was significantly ($P<0.05$) decreased by lowering the temperature from -6^{0}C. Lethal temperature 50 (LT_{50}) of samples according to the EL and survival were -15.2 and -17.0, respectively.

Keywords: Hardening, Survival percentage, Electrolyte leakage, Dry matter

1,2- Lecture and MSc Student, Department of Horticulture Sciences, Faculty of Agricultural, Ferdowsi University of Mashhad
3,4,5- Assistant Professor, Associate Professor and MSc Student, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agricultural, Ferdowsi University of Mashhad, Respectively
(*-Corresponding Author Email:nezamiahmad@yahoo.com)
6- MSc Student of Biotechnology, Faculty of Agricultural, Ferdowsi University of Mashhad