تنشهای محیطی در علوم زراعی
Environmental Stresses in Crop Sciences

مجله تنش های محیطی در علوم زراعی
جلد سوم، شماره اول، نیمه اول ۸۹
۲۲-۹

ارزیابی تحمل به یخ زدگی ارقام جو (*Hordeum vulgar* L.) در مرحله گیاهچه‌ای تحت شرایط کنترل شده

احمد نظامی[1*]، جعفر نباتی[2]، اعظم برزوئی[3]، علی کمندی[4]، علی معصومی[5]، معصومه صالحی[4]

۱. عضو هیات علمی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد؛ ۲. دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی؛
۳. عضو هیات علمی پژوهشکده کشاورزی، پزشکی و صنعتی هسته‌ای کرج؛ ۴. دانشجویان دکتری زراعت گرایش فیزیولوژی دانشگاه فردوسی مشهد؛
۵. عضو هیات علمی دانشگاه پیام نور خراسان رضوی

تاریخ دریافت: ۸۸/۷/۲۰؛ تاریخ پذیرش: ۸۹/۹/۲۰

چکیده

خطر پذیری آب و هوائی از جمله عواملی است که همواره در میزان تولید غلات در بسیاری از مناطق موثر بوده است. به منظور بررسی تحمل به یخزدگی ارقام جو در شرایط کنترل شده، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی و به صورت آزمایش فاکتوریل با سه تکرار در آزمایشگاه فیزیولوژی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد به اجراء در آمد. ترکیب ۵ رقم جو ماکوئی، کارون×کویر، لخت، ریحان و والفجر به همراه ۶ تیمار دمائی (۰، ۴-، ۸-، ۱۲-، ۱۶- و ۲۰- درجه سانتی‌گراد) به صورت فاکتوریل به عنوان تیمارهای مورد بررسی در نظر گرفته شدند. در این آزمایش گلدان‌ها از زمان کاشت تا مرحله ۶-۴ برگی جهت گذراندن دوره خوسرمائی در شرایط طبیعی قرار گرفتند و پس از آن جهت اعمال یخزدگی به فریزر ترموگرادیان منتقل شدند. میزان پایداری غشاء سیتوپلاسمی ژنوتیپ‌ها با استفاده از نشت الکترولیت‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت و سپس درجه حرارت کشنده برای ۵۰ درصد نمونه‌ها (LT_{50}) بر اساس نشت الکترولیت‌ها تعیین گردید. همچنین سه هفته بعد از زمان اعمال دماهای یخزدگی و رشد مجدد آنها در گلخانه، درصد بقاء، ارتفاع، وزن خشک، دمای کشنده ۵۰ درصد گیاهان (LT_{50}) بر اساس درصد بقاء و دمای کاهنده ۵۰ درصدوزن خشک گیاهان ($RDMT_{50}$) اندازه‌گیری و ثبت شد. نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که درصد نشت الکترولیت‌ها در نمونه‌های برگ و طوقه ارقام مورد بررسی دارای تفاوت معنی‌داری ($p<۰/۰۱$) بود، به نحوی که برگ رقم والفجر با ۶۹/۴ درصد و رقم کارون×کویر با ۵۸/۵ درصد به ترتیب از بیشترین و کمترین درصد نشت برخوردار بودند. در نمونه‌های طوقه رقم ریحان با ۷۸/۹ درصد بیشترین درصد نشت الکترولیت را داشت و ارقام ماکوئی، کارون×کویر، لخت و والفجر بدون تفاوت معنی‌دار کمترین درصد نشت را به خود اختصاص دادند. اندازه‌گیری صفاتی نظیر وزن خشک و ارتفاع بوته سه هفته پس از بازیافت اختلاف معنی‌داری را در بین رقم‌های مورد بررسی نشان داد، به عنوان مثال رقم کارون × کویر با ۹۷۸ میلی‌گرم بیشترین و رقم والفجر با ۴۸۰ میلی‌گرم کمترین وزن خشک تک بوته را داشتند. همچنین اغلب صفات مورد بررسی از تیمار دمائی ۱۲- درجه سانتی گراد به پائین کاهش معنی‌داری نسبت به شاهد (تیمار صفر درجه سانتی‌گراد) نشان دادند.

***واژه های کلیدی*: بقاء، خوسرمائی، دمای کاهنده ۵۰ درصد وزن خشک، دمای کشنده ۵۰ درصد گیاهان.**

مقدمه

خطرپذیری آب و هوائی از جمله عواملی است که همواره در میزان تولید غلات در بسیاری از مناطق موثر بوده است. در نتیجه وقوع سرمای شدید در برخی سال‌ها بقاء و رشد و نمو گیاهان زراعی زمستانه به ویژه غلات تحت تأثیر قرار گرفته و عملکرد آنها کاهش می‌یابد (Azizi, 2005). گزارش‌ها نشان می‌دهد که میزان زیان اقتصادی سرما و یخبندان بر محصولات زراعی کشور از جمله گندم و جو به مراتب بیشتر از زیان‌های سایر پدیده‌های مخرب جوی و حتی گاهی بیشتر از خسارت آفات و بیماری‌ها است (Amir ghasemi, 2002). در ایران، جو با سطح زیر کشت ۱۷۰۰ هزار هکتار (۱۳/۵٪ از کل اراضی زیر کشت سالانه محصولات کشور) و تولیدی برابر سه میلیون تن دومین رتبه سطح زیر کشت را بعد از گندم در کشور داراست (FAO, 2007).

توانایی گونه‌های گیاهی مختلف در تحمل دمای پایین بسیار متفاوت است. گونه‌های حساس به سرمازدگی نواحی گرمسیری، ممکن است حتی در دماهای بالاتر از صفر درجه سانتی‌گراد متحمل خسارات جبران‌ناپذیری گردند.

نگارنده پاسخگو: احمد نظامی. گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد. تلفن: ۲۰-۸۷۹۵۶۱۶ (۰۵۱۱). دورنگار: ۸۷۸۷۴۳۰ (۰۵۱۱). پست الکترونیک: nezamiahmad@yahoo.com

این خسارات ناشی از آسیب‌های وارده به فرآیندهای متابولیکی و سلولی و تغییر در ویژگی‌های غشاء می‌باشد. گیاهان مقاوم به سرمازدگی ولی حساس به یخزدگی قادرند دماهای اندکی پایین‌تر از صفر را تحمل نمایند ولی به شدت از تشکیل یخ در بافت‌ها آسیب می‌بینند (Boyer, 1982؛ Sakai and Larcher,1987). از سوی دیگر وجود مکانیسم‌های سازگار کننده جهت تضمین بقاء گیاهان در شرایط زمستان ضروری است و از جمله مهمترین مکانیسم‌های شناخته شده در این خصوص می‌توان به خوسرمایی[1] اشاره داشت. تکامل این مکانیسم در غلات پائیزه، آنها را قادر کرده است تا تحت تنش یخزدگی زنده بمانند. این مکانیسم توسط محدوده‌ای از دماهای پائین ولی بالای صفر (معمولاً زیر ۱۰ درجه سانتی‌گراد) القاء می‌شود و شواهد نشان می‌دهند که سیستم‌های ژنتیکی خاصی آن را کنترل می‌کنند (Mahfoozi, et al., 2000). طی انطباق با سرما تغییرات زیادی در پارامترهای فیزیولوژیکی و شیمیائی سلول‌های گیاهی رخ می‌دهد که منجر به حفظ سلول در مقابل آسیب‌های ناشی از سرما می‌شود (Darvishzade, 2000). بنابر گزارش Smallwood and Bowles (2002) ، دماهای پائین در ابتدا سبب ایجاد یکسری اختلالات موقت بیوشیمیائی می‌شوند که هر کدام از آنها نقطه عطفی برای آغاز فعالیت زنجیره‌های پیام رسانی بوده و منجر به بروز پاسخ‌های سازگاری به شرایط دمائی پائین می‌گردند. بعلاوه خو سرمائی بر روی فعالیت غشاء، پایداری ساختاری در DNA وRNA و فعالیت آنزیم‌های درگیر در فرایندهای حیاتی مانند ترجمه، نسخه‌برداری و همچنین فتوسنتز تأثیر مستقیم دارد. بیشتر این تغییرات بیوشیمیائی و فیزیولوژیکی از طریق تغییر در بیان ژن‌ها در اثر سرما ایجاد می‌شوند که در سال‌های اخیر تعداد زیادی از این ژن‌های القاء سرمائی[2] شناسائی شده‌اند (Mahfoozi et al., 2000). بنابراین پتانسیل ژنتیکی گونه‌ها و ارقام در مقاومت به یخزدگی و راهکارهای فیزیولوژیکی که آنها جهت اجتناب یا مقاومت به یخزدگی بکار می‌گیرند متفاوت است.

از آنجائی که آشکارترین و معمول‌ترین نتیجه قابل مشاهده خسارات ناشی از سرما به غشاء پلاسمایی، افزایش نشت محلول‌های سلولی نظیر پتاسیم، آمینواسیدها، کربوهیدرات‌ها و در مجموع الکترولیت‌های مختلف به خارج از سلول می‌باشد، لذا این مسأله امکان ارزیابی خسارت نسبی سرما را با اندازه‌گیری مقدار نشت الکترولیت‌ها فراهم می‌نماید (Miller and Dickens, 1996). خسارت سرما بر غشاء به صورت اختلال در فعالیت بخش‌های ساختاری غشاء که جزء اصلی ساختمان غشاء محسوب می‌شوند (مانند اختلال در آنزیم‌هایی موجود در غشاء و یا اختلال در فعالیت‌هایی که به اثر متقابل بین غشاء و سیتوپلاسم مربوط می‌شود) بروز پیدا می‌کند.

برای اولین بار Dexter et al. (1932) وضعیت تحمل به سرمای طوقه گندم را در زمستان و در شرایط مزرعه با روش هدایت الکتریکی بررسی نمودند. نتایج نشان داد که بزرگی مقادیر هدایت الکتریکی با تراوش بیشتر از گونه‌های حساس‌تر همراه بود. Nezami et al. (2007) نشت الکترولیت‌ها را به عنوان شاخصی از خسارت یخزدگی در کلزا بررسی کرده و بیان نمودند که کاهش دما سبب افزایش میزان نشت الکترولیت‌ها در کلیه ارقام مورد بررسی گردید. ایشان همچنین با مطالعه منحنی‌های برازش داده شدهٔ نشت الکترولیت‌ها در ارقام کلزا ملاحظه کردند که شیب منحنی نشت الکترولیت برای کلیه ارقام مورد بررسی در شرایط خوسرمائی نسبت به عدم خوسرمائی ملایم‌تر است. این امر نشان می‌دهد که در شرایط تنش سرما ژنوتیپ‌های خو یافته در مقایسه با تیمار غیر خو سرمایی از سرعت نشت الکترولیت کمتری برخوردار هستند. Nayyar et al. (2005) اثر تنش سرما را بر گیاهچه‌های ۱۴روزه نخود از طریق روش نشت الکترولیت ها بررسی نمودند. نتایج بررسی این محققان نشان داد که با کاهش دما، نشت الکترولیت افزایش یافت. در این مطالعه نشت الکترولیت‌ها در گیاهچه‌های خو سرمائی۱۸/۴ درصد و درگیاهچه‌های عدم خو سرمائی ۷۹/۷ درصد بود. در مجموع محققان اظهار داشته‌اند که تداوم انسجام غشاء پلاسما، عامل اصلی بقای گیاه در شرایط تنش یخزدگی است و هر گونه اختلال در ساختار غشاء، سبب بروز خسارت و حتی مرگ آن می‌شود (Sulk et al., 1991; Steponkus et al., 1993).

از طرفی در شرایط مزرعه، اثرات متقابل یخزدگی با سایرتنش‌ها رخ می‌دهد و بنابراین عجیب نخواهد بود که تئوری‌های فراوانی که در مورد مقاومت به یخزدگی بیان شده‌اند، امروزه مورد تردید و بحث باشند Levitt (1980) و Fowler and Gusta (1979) معتقدند که بقاء گیاهان

1- Cold acclimation
2- Cold inducible genes

در مزرعه آزمون مناسبی است، ولی در اغلب مواقع تفاوت بقاء در بین آزمون‌های مزرعه‌ای به دلیل بقاء کامل و یا مرگ کامل گیاه در زمستان آشکار نمی‌شود. حتی وقتی که تفاوت در میزان بقاء نیز وجود دارد، تشخیص تفاوت‌های کوچک در بقاء زمستانه غالباً به دلیل شرایط ناهمگن مزرعه مانند پوشش برف و یخ، رطوبت خاک، حاصلخیزی خاک و اثرات پاتوژن‌ها مشکل می‌باشد. به همین علت انواع مختلفی از آزمون‌های یخبندان مصنوعی جهت پرهیز از بعضی محدودیت‌های اجتناب ناپذیر در ارزیابی‌های مزرعه‌ای ابداع شده است (Azizi et al., 2007; Nezami et al., 2007). این آزمون‌ها کنترل دما را امکان‌پذیر ساخته و به محقق این امکان را می‌دهند که تکرار در زمان را اعمال نماید. در این روش گیاهان در محیط طبیعی (Azizi et al., 2007) و یا شرایط کنترل شده (Nezami et al., 2007 ؛ Bridger et al., 1996)، با سرما خو گرفته و در مرحله بعد با قرار دادن آنها در معرض دماهای یخزدگی در شرایط کنترل شده، دمایی که سبب ۵۰٪ درصد تلفات (LT_{50})[1] گیاهی می‌شود، محاسبه می‌گردد. در بررسی Bridger et al. (1996) مشاهده شد که ژنوتیپ‌های زمستانه جو مقاوم‌تر از ژنوتیپ‌های بهاره بودند، ولی نسبت به ژنوتیپ‌های گندم زمستانه مقاومت کم‌تری داشتند. بین ژنوتیپ‌های تطابق یافته و تطابق نیافته گندم و جو از نظر مقادیر LT_{50} تفاوت وجود داشت. همچنین بین شاخص بقاء مزرعه[2] وLT_{50} گندم و جو تطابق یافته رابطه خوبی مشاهده شد.

اهداف این آزمایش بررسی امکان استفاده از نشت الکترولیت‌ها در ارزیابی خسارت یخزدگی در جو، بررسی درصد بقا و رشد مجدد ارقام جو پس از یخ زدگی و مقایسه روش نشت الکترولیت و تعیین در صد بقاء در ارزیابی میزان تحمل به یخزدگی ارقام جو بود.

مواد و روش‌ها

این مطالعه به صورت آزمایش فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهان زراعی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. پنج رقم جو (به نام‌های ماکوئی، کویر× کارون، لخت، ریحان و والفجر) و شش سطح دمای یخزدگی شامل (صفر، ۴- ، ۸- ، ۱۲- ، ۱۶- و ۲۰- درجه سانتی‌گراد) به عنوان تیمارهای مورد بررسی در نظر گرفته شدند. تعداد پنج بذر در گلدان‌های پلاستیکی به قطر ۱۰ سانتی متر و در عمق ۳-۲ سانتی متری خاک، که حاوی خاک زراعی، خاک برگ و ماسه شسته هر یک به نسبت یک سوم بود، کشت شدند. در این آزمایش به منظور القاء خو سرمائی در نتیجه کاهش دما و فتوپریود رایج در پائیز، گیاهان از زمان کاشت تا مرحله ۶-۴ برگی در خارج از گلخانه و در شرایط طبیعی رشد یافتند و سپس با گذاشتن آنها در فریزر ترموگرادیان در معرض دماهای یخزدگی قرار گرفتند. دمای فریزر در شروع آزمایش ۵ درجه سانتی‌گراد بوده و پس از قرار دادن نمونه‌ها با سرعت ۲ درجه سانتی‌گراد در ساعت کاهش یافت. این وضعیت شرایط را برای توزیع مجدد آب به بافت‌های گیاهی و جلوگیری از تشکیل یخ در داخل سلول‌ها که در طبیعت به ندرت اتفاق می‌افتد، فراهم می‌کند (Murry et al., 1988). به منظور ایجاد هستک یخ در گیاهچه‌ها، در دمای ۳- درجه سانتی‌گراد محلول INAB[3] بر روی گیاهان به نحوی پاشیده شد که سطح گیاهان را قشر نازکی از محلول فوق پوشاند. پس از آن دما با سرعت ۲ درجه سانتی‌گراد در ساعت کاهش یافت. به منظور ایجاد تعادل در دمای محیط، گیاهان در هر تیمار دمائی به مدت یک ساعت نگه داشته شده و سپس گلدان‌ها به اتاقک سرد با دمای ۱±۴ درجه سانتی‌گراد منتقل و به مدت ۲۴ ساعت در آنجا نگهداری شدند. سپس جهت اندازه‌گیری میزان نشت الکترولیت‌ها تعداد ۵ نمونه برگ و طوقه از ۵ گیاه مربوط به هر تیمار دمائی انتخاب و به طور جداگانه در لوله‌های آزمایش حاوی ۴۰ میلی لیتر آب دو بار تقطیر قرار داده و در شرایط آزمایشگاه نگهداری شدند. پس از گذشت ۲۴ ساعت هدایت الکتریکی هر نمونه با استفاده از دستگاه EC متر (مدل Jenway) اندازه‌گیری شد (E_1). به منظور اندازه‌گیری میزان کل نشت الکترولیت‌ها در اثر مرگ سلول، لوله‌های آزمایش در دستگاه بن ماری با دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۹۰ دقیقه قرار داده شدند و مجدداً پس از ۲۴ ساعت هدایت الکتریکی نمونه‌ها ثبت گردید (E_2). سپس درصد نشت الکترولیت‌ها با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (Teutonica et al., 1993):

1- Lethal Temperature 50 (LT50).
2- Field Survival Index
3- Ice Nucleation Active Bacteria

(درصد نشت الکترولیت = (E_1/E_2) ×۱۰۰)

درجه حرارت کشنده برای ۵۰ درصد نمونه‌ها (LT_{50}) بر اساس نشت الکترولیت‌ها مطابق با روش Gusta et al., (1982) و با استفاده از رسم نمودارِ درصد نشت الکترولیت‌ها (مربوط به نمونه‌های برگ و طوقهٔ هر تیمار) در مقابل دمای یخزدگی تعیین شد. سایر گیاهان موجود در گلدان‌ها به گلخانه در دمای ۲۵ تا ۳۰ درجه سانتی گراد منتقل شده و پس از ۲۱ روز درصد بقاء و بازیافت گیاهان مورد ارزیابی قرار گرفت. درصد بقاء گیاهان از طریق شمارش تعداد بوته زنده در هر گلدان و از طریق فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{درصد بقاء گیاهان} = \frac{\text{تعداد گیاهان زنده سه هفته پس از تیمار یخ زدگی}}{\text{تعداد گیاهان زنده قبل از تیمار یخ زدگی}} \times ۱۰۰$$

همزمان صفات دیگری نظیر ارتفاع بوته و وزن خشک (پس از ۴۸ ساعت قرار گرفتن نمونه‌ها در آون دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد) آنها اندازه‌گیری و ثبت شد. LT_{50} بقاء و دمای کاهنده ۵۰ درصد وزن خشک گیاهان[1] ($RDMT_{50}$) نیز با استفاده از رسم نمودار درصد بقاء و وزن خشک نمونه‌ها در مقابل دماهای یخزدگی تعیین شد. محاسبات آماری با استفاده از نرم افزار MSTAT-C انجام گرفت و جهت مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون LSD استفاده شد.

نتایج و بحث

درصد نشت الکترولیت‌ها در نمونه‌های برگ و طوقه ارقام مورد بررسی دارای تفاوت معنی‌داری (به ترتیب $p<۰/۰۵$ و $p<۰/۰۱$) بود (جدول ۱)، به نحوی که برگ رقم والفجر و رقم کارون×کویر به ترتیب از بیشترین و کمترین درصد نشت برخوردار بودند (جدول۲). در نمونه‌های طوقه، رقم ریحان بیشترین درصد نشت الکترولیت را دارا بود و ارقام ماکوئی، کارون×کویر، لخت و والفجر بدون تفاوت معنی‌دار کمترین درصد نشت را به خود اختصاص دادند. همچنین مقایسه میانگین داده‌های حاصل از نشت الکترولیت در طوقه و برگ نشان می‌دهد که رقم کارون×کویر که از پائین‌ترین میزان نشت طوقه برخوردار بود، در نمونه‌های برگی نیز کمترین درصد نشت را به خود اختصاص داد (جدول۲). برخی محققان اظهار داشته‌اند که غشاء سلولی اولین مکان خسارت در اثر سرما است و این امر منجر به تغییر وضعیت غشاء از حالت کریستال مایع به حالت جامد-ژل می‌شود و با این تغییر فیزیکی فعالیت غشاء مختل می‌گردد. بنابراین اختلال در فعالیت غشاءهای سلولی در اثر تنش سرما، سبب نشت الکترولیت‌ها از سلول شده و اندازه‌گیری میزان نشت از بافت‌های تحت تنش می‌تواند معیار قابل قبولی برای سنجش مقاومت به تنش سرما باشد (Cardona et al., 1997; Baeka and Skinner, 2003; Hana and Bischofa, 2004) نیز با بررسی نمودارهای برازش شده حاصل از نشت الکترولیت در سه اکوتیپ از گیاه *Paspalum vaginatum* Swartz. روند تغییرات درصد نشت مواد را با کاهش دما در برگ‌ها، طوقه و ریشه به صورت سیگموئیدی گزارش کرده و شیب منحنی نشت الکترولیت‌ها را به عنوان یکی از مهم‌ترین نشانه‌های خسارت ناشی از تنش سرما در گیاه پیشنهاد نمودند و خاطر نشان کردند که نمودار نشت الکترولیت‌ها در گونه-های سازگار با تنش سرما از شیب کمتری برخوردار است و در مقابل در گونه‌های حساس به تنش سرما، این شیب تندتر است. لذا شاید بتوان پائین‌تر بودن درصد نشت الکترولیت، در نمونه‌های برگ و طوقهٔ رقم کارون×کویر را به توانائی بیشتر این رقم، جهت تحمل شرایط تنش یخزدگی مربوط دانست.

کلیه ارقام مورد بررسی از نظر درصد نشت مواد در دو بافت برگ و طوقه دارای اختلاف کمی بودند (جدول ۲). به نظر می‌رسد قرار گرفتن گیاهان در معرض دماهای پائین قبل از مواجه شدن با تنش یخزدگی، شرایط را برای بهبود تحمل به تنش در گیاه فراهم کرده است. Dionne et al. (2001) گزارش نموده‌اند که در طبیعت خوسرمائی با کاهش دما در پائیز آغاز می‌شود. در این شرایط مسیرهای متابولیکی خاصی در گیاه با دریافت محرک‌های ویژه‌ای از محیط فعال شده که آن را برای تحمل دماهای پائین آماده‌تر می‌سازد. در این آزمایش نیز اختلاف کم درصد نشت مواد در نمونه‌های طوقه و برگ، حاکی از خو گرفتن کلیه ارقام مورد بررسی با دماهای پائین در شرایط طبیعی (در پائیز) است و با گزارش محققین فوق مطابقت دارد.

تیمار دمائی بر درصد نشت الکترولیت‌ها در طوقه و برگ تأثیر معنی‌داری ($p\leq۰/۰۱$) داشت (جدول۱). میانگین این صفت در بافت‌های مذکور (برگ‌ها و طوقه) با کاهش دما به کمتر از ۸- درجه سانتی‌گراد افزایش معنی‌داری یافت (جدول۲). درصد نشت الکترولیت‌ها در نمونه‌های برگ در

1- Reduced Dry Matter Temperature 50 (RDMT50)

دمای ۴- و ۸- درجه سانتی‌گراد کمتر از درصد نشت الکترولیت‌ها در نمونه‌های طوقه بود، در حالی که اثر دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد، بر روی نمونه‌های برگ شدیدتر از بافت طوقه بوده است. این امر بیان کننده این مطلب است که بافت‌های مختلف یک گیاه در دماهای مختلف دارای درجه تحمل به یخزدگی متفاوتی هستند. Meibodi (2000) اظهار داشته است که بخش‌های مختلف غلات زمستانه از نظر توانائی تحمل به یخزدگی با هم متفاوت هستند. در گیاهی که به طور کامل به سرما سازگار شده است، ریشه از رطوبت بالاتری برخوردار بوده و کم تحمل‌ترین بافت به حساب می‌آید، شاخه و برگ در درجه بعدی و طوقه نیز به عنوان مقاوم‌ترین بخش گیاه می‌باشد. همچنین یکی از اولین وقایعی که در طول دوره خو سرمائی غلات زمستانه رخ می‌دهد، کاهش میزان رطوبت طوقه می‌باشد که این کاهش سطوحی از تحمل به یخزدگی را در چاودار و گندم ایجاد می‌کند.

جدول۱. میانگین مربعات درصد نشت الکترولیت‌ها از بافت‌های برگ و طوقه پس از اعمال یخزدگی و درصد بقاء، وزن خشک و ارتفاع در ارقام جو پس از سه هفته رشد مجدد در شرایط گلخانه.

Table1. Mean Square of electrolyte leakage from leaf and crown tissues after freezing and dry weight and height after three weeks recovery period in the greenhouse.

منبع تغییر S.O.V	درجه آزادی	نشت الکترولیت (Electrolyte leakage)		درصد بقاء Survival	وزن خشک Dry weight	ارتفاع Height
		برگ Leaf	طوقه Crown			
رقم (Cultivar)	4	291.6^{*}	445.9^{**}	54.8^{ns}	0.7^{**}	236.1^{**}
دما (Temperature)	5	17758.8^{**}	8066.1^{**}	24064.5^{**}	2.4^{**}	144.6^{**}
دما × رقم (Cultivar × Temperature)	20	135.8^{ns}	219.1^{**}	54.8^{ns}	0.2^{**}	14.7^{**}
خطا (Error)	60	104.6	87.2	263.0	0.1	7.7
کل (Total)	89					

^{ns}: non- significant ، * :Significant ($P\leq 0.05$)، ** :Significant ($P\leq 0.01$)

نتایج حاصل از اثر متقابل رقم و دماهای یخزدگی بر درصد نشت الکترولیت طوقه نشان داد که میانگین صفت مذکور در ارقام کارون×کویر، ماکویی، لخت و والفجر تا دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد تحت تأثیر قرار نگرفت، ولی تیمار دمائی ۱۶- درجه سانتی‌گراد به ترتیب سبب ۶۳، ۶۳، ۴۹ و ۷۴ درصد افزایش نشت نسبت به دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد در این ارقام گردید، در حالی که در رقم ریحان افزایش معنی‌دار نشت الکترولیت در بافت طوقه از دمای ۸- آغاز شده و در دمای ۱۲- به حداکثر رسیده است (جدول۳).

بین رقم‌های مورد بررسی اختلاف معنی‌داری از لحاظ LT_{50} بر اساس نشت طوقه وجود داشت، به نحوی که ارقام لخت، کارون×کویر، والفجر و ماکوئی به ترتیب و بدون تفاوت معنی‌دار از کمترین و رقم ریحان از بالاترین میزان LT_{50} برخوردار بودند (شکل۱). نتایج آزمایش Dionne et al. (2001) بر روی سه اکوتیپ از چمن‌های یکساله (*Poa annua* L.) نشان داد که قرار دادن آنها در شرایط طبیعی موجب افزایش تحمل به سرمای گونه‌های مذکور در پائیز و زمستان گردید. ایشان گزارش کردند که LT_{50} اکوتیپ‌های مورد بررسی از ۹- درجه سانتی‌گراد در زمان انتقال به شرایط طبیعی و در ماه اکتبر به حدود ۲۳- الی ۲۷- در ماه دسامبر رسید. در آزمایش Azizi et al., (2007) نیز تحمل به سرمای ۱۴ رقم گندم در شرایط مزرعه و کنترل شده مورد بررسی قرار گرفت و نتایج آزمایش نشان داد که رقم گلنسون با LT_{50} معادل ۱۵/۸- درجه سانتی‌گراد مقاوم‌ترین و مارون با LT_{50} معادل ۳/۷-

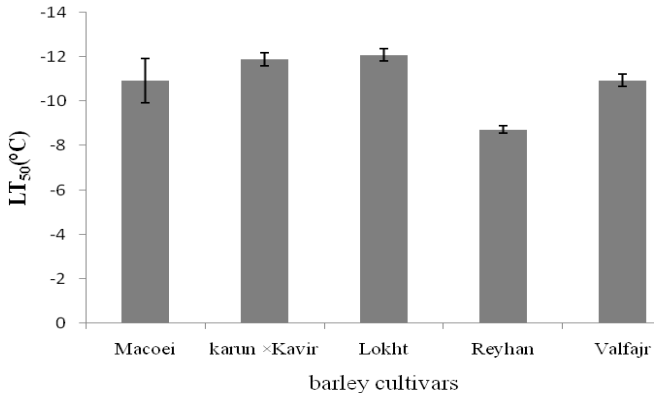
درجه سانتی‌گراد حساس‌ترین رقم بودند. Fowler et al., (1996) نیز در آزمایش خود بر روی ۱۵ رقم گندم و جو مشاهده نمودند که ارقام مختلف گندم اختلاف معنی‌داری از نظر درصد بقاء و LT_{50} داشتند و دامنه LT_{50} در این ارقام از ۵/۷- درجه سانتی‌گراد در رقم گلنلیا تا ۲۰/۸- درجه سانتی‌گراد در رقم نورستار متفاوت بود.

جدول۲- اثر رقم و دمای یخ‌زدگی بر درصد نشت الکترولیت از بافت‌های برگ و طوقه، درصد بقاء، وزن خشک تک بوته و ارتفاع گیاه جو.

Table2. Effect of cultivar and freezing temperatures on electrolyte leakage from leaf and crown tissues, survival percentage, dry weight and height of barley plant.

ارتفاع (سانتیمتر) Height (cm)	وزن خشک (میلی گرم) Dry weight (mg)	بقاء (٪) Survival (%)	نشت الکترولیت (٪) Electrolyte leakage (%)		تیمار Treatment
			طوقه (Crown)	برگ (leaf)	
					رقم (Cultivar)
2.4	592.8	78.1	68.2	62.8	ماکوئی (Macoei)
8.9	978.1	81.4	65.7	58.5	کارون× کویر (Karun×Kavir)
5.1	542.5	80.6	70.8	62.1	لخت (Lokht)
10.2	781.8	77.8	78.9	65.2	ریحان (Reyhan)
2.4	480.1	77.8	70.1	69.4	والفجر (Valfajr)
1.8	175.1	10.8	6.2	6.8	LSD (0.05)
					دمای یخزدگی (درجه سانتیگراد) Freezing temperature (°C)
6.2	1034	100	55.8	27.4	0
7.3	966.7	100	49.2	31.1	-4
8.0	936.3	100	52.8	39.3	-8
8.4	701.3	100	67.4	87.8	-12
5.0	411.7	75	100	96.4	-16
0	0	0	98.4	99.7	-20
2.0	191.9	11.8	6.8	7.5	LSD (0.05)

با بررسی منحنی برازش داده شدهٔ نشت الکترولیت‌ها در ارقام جو و در بافت‌های برگ و طوقه ملاحظه می‌شود که شیب منحنی نشت الکترولیت برای اغلب ارقام مورد بررسی در بافت طوقه ملایم‌تر از بافت برگ است (شکل ۲) . این امر نشان می‌دهد که در شرایط تنش سرما بافت طوقه در مقایسه با بافت برگ از سرعت نشت الکترولیت کمتری برخوردار می‌باشد. Cardona et al. (1997) نیز با بررسی نمودارهای برازش شده حاصل از نشت الکترولیت در سه اکوتیپ از گیاه *Paspalum vaginatum* Swartz روند تغییرات درصد نشت مواد را با کاهش دما در برگ‌ها ، طوقه و ریشه به صورت سیگموئیدی گزارش کرده و مشاهده نمودند که شیب افزایش نشت الکترولیت‌ها در بخش طوقه کمتر از برگ و ریشه بوده است. Mirzaei Asl et al. (2002) گزارش کرده‌اند که بهترین روش برآورد ماندگاری غلات در مزرعه تعیین LT_{50} بر اساس بافت طوقه می‌باشد، زیرا طوقه در غلات حساس‌ترین قسمت گیاه بوده و رشد مجدد آن پس از تنش سرما نقش حیاتی در زنده ماندن گیاه دارد.



شکل۱- مقایسه ارقام جو از نظر LT_{50} (بر اساس نشت الکترولیت طوقه) در مرحله گیاهچه‌ای.

Fig. 1. Means comparisons of barley cultivars according to LT_{50} (based on electrolyte leakage from crown) in the seedling stage.

اثر تیمارهای دمائی بر درصد بقاء گیاهان معنی‌دار (p≤۰/۰۱) بود (جدول ۱)، به نحوی که با کاهش دما به کمتر از ۱۲- درجه سانتی‌گراد درصد بقاء گیاهان کاهش یافت (جدول۲). Azizi (2005) گزارش کرده است زمانی که غلات زمستانه در معرض دماهای زیر ۱۰ درجه سانتی‌گراد و بالای صفر قرار می‌گیرند، قادر به خوسرمایی هستند. همچنین مشخص شده است این گروه از گیاهان (غلات زمستانه) مکانیسم های فیزیولوژیکی و بیوشیمیائی بسیاری دارند که به آنها این امکان را می‌دهد تا در دماهای پائین (۱۵- تا ۲۰- درجه سانتی‌گراد) بقاء داشته باشند. ازجمله این مکانیسم‌ها تغییر در متابولیسم چربی و فسفو لیپید، افزایش اسیدهای چرب غیر اشباع و افزایش قندها می باشد (Yoshida et al., 1998). نقش این مواد تنظیم فرایند تحمل به یخزدگی در گیاهان و پایداری و حفاظت غشاهای سلولی است (Murata and Los, 1997). در این آزمایش نیز قرار دادن گیاهان در معرض دماهای پائین (تحت شرایط طبیعی) سبب گردید که گیاهان از طریق خوسرمایی قادر به تحمل دماهای یخزدگی تا ۱۲- درجه سانتی‌گراد شوند و به دنبال آن تلفات گیاهی با کاهش دما از ۱۲- درجه سانتی‌گراد به پائین افزایش یابد. ارقام جو از نظر وزن خشک در سه هفته پس از اعمال تیمار یخزدگی تفاوت معنی‌داری (p≤۰/۰۱) داشتند (جدول ۱)، به طوری که رقم کارون×کویر از بیشترین وزن خشک و ارقام والفجر، لخت و ماکوئی از کمترین وزن خشک برخوردار بودند (جدول۲).

تیمار دمائی نیز به نحو معنی‌داری (p≤۰/۰۱) میانگین وزن خشک گیاه را تحت تأثیر قرار داد (جدول ۱). بیشترین وزن خشک گیاه در دماهای صفر و ۴- درجه سانتی‌گراد بدست آمد و از این نظر اختلاف معنی‌داری با دمای ۸- درجه سانتی‌گراد مشاهده نشد (جدول۲). درحالی که وزن خشک گیاه در تیمارهای دمائی ۱۲- و ۱۶- درجه سانتی‌گراد به ترتیب ۳۲/۲ و ۶۰/۲ درصد نسبت به تیمار شاهد (عدم یخزدگی) کاهش یافت و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد به صفر رسید. نتایج حاصل از اثرات متقابل رقم و دما نشان داد که در گیاهان زنده بیشترین وزن خشک در رقم کارون×کویر و در دمای ۴- درجه سانتی‌گراد (۱۶۷۷ میلی‌گرم) به دست آمد و کمترین وزن خشک گیاه نیز در رقم ماکوئی و در دمای ۱۶- درجه سانتی‌گراد (۱۳۵ میلی‌گرم) حاصل شد. Chen et al. (1983) با اعمال تیمارهای یخزدگی در شرایط کنترل شده بر روی گندم مشاهده کردند که کاهش دمای یخزدگی از ۵- به ۱۰- درجه سانتی‌گراد سبب کاهش ۲۰ درصدی رشد مجدد اندام‌های هوائی گندم (رشد یافته در گلدان به مدت سه هفته پس از اعمال تیمار یخزدگی) نسبت به تیمار شاهد عدم یخزدگی شد. در صورتی که در تیمارهای یخزدگی ۱۵- و ۲۰- درجه سانتی‌گراد رشد مجدد اندام‌های هوائی گندم نسبت به شاهد به ترتیب ۶۰ و ۸۰ درصد کاهش یافت.

همان‌گونه که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، بین رقم‌های مورد بررسی اختلاف معنی‌داری (p≤۰ /۰۱) از

لحاظ ارتفاع بوته در پایان دوره رشد مجدد (سه هفته پس از اعمال تیمار یخزدگی) وجود داشت، به نحوی که رقم‌های ریحان و کارون×کویر از بیشترین ارتفاع برخوردار بودند درحالی که کمترین ارتفاع گیاه در ارقام ماکوئی و والفجر مشاهده شد (جدول ۲). نتایج آزمایش حاکی از آن است که از نظر ارتفاع گیاه اختلاف معنی‌داری ($p\leq$ ۰/۰۱) بین دماهای مختلف یخزدگی وجود دارد، به طوری که کاهش دما به کمتر از ۱۶- درجه سانتی‌گراد سبب کاهش معنی‌دار ارتفاع گیاه نسبت به تیمار عدم یخزدگی شد، ضمن اینکه تیمار دمائی ۱۶- درجه سانتی‌گراد از نظر صفت مذکور اختلاف معنی‌داری با شاهد نداشت و کمترین ارتفاع در تیمار دمائی ۲۰- درجه سانتی‌گراد حاصل شد. Azizi et al. (2007) اظهار داشتند که روند تغییرات ارتفاع در ارقام گندم با کاهش دما از صفر به ۲۰- درجه سانتی‌گراد به صورت کاهشی بود و بیشترین ارتفاع در تیمار شاهد (عدم یخزدگی) و کمترین آن در تیمار دمائی ۲۰- درجه سانتی‌گراد حاصل شد. در آزمایش ایشان تیمار دمائی۴- درجه سانتی‌گراد از نظر ارتفاع گیاه اختلاف معنی‌داری با شاهد نداشت.

جدول۳- میانگین نشت الکترولیت از طوقه ارقام جو پس از اعمال دماهای یخزدگی و وزن خشک و ارتفاع بوته سه هفته بعد از بازیافت در شرایط گلخانه.

Table3- Means of electrolyte leakage from crown of barley cultivars after freezing temperatures and dry weight and plant height after three weeks recovery period in the greenhouse.

ارتفاع(سانتی‌گراد) Plant height (cm)	وزن خشک (میلی گرم) dry weight (mg)	نشت الکترولیت طوقه (٪) Crown electrolyte leakage	تیمار (Treatment)	
			درجه‌حرارت temperature	رقم cultivar
2.8	586.3	65.1	0	ماکوئی (Macoei)
4.2	889.3	43.5	-4	
3.2	858.7	51.4	-8	
4.0	108.7	57.3	-12	
0.5	135.3	93.6	-16	
0.0	0.0	98.5	-20	
10.7	940.3	49.6	0	کارون×کویر (Karun ×Kavir)
13.7	1677.0	43.4	-4	
11.0	1583.0	47.2	-8	
10.8	1112.0	58.9	-12	
7.5	556.3	96.3	-16	
0.0	0.0	98.5	-20	
5.0	649.7	56.0	0	لخت (Lokht)
8.2	960.0	51.9	-4	
7.7	782.0	54.6	-8	
4.8	483.7	65.5	-12	
5.2	379.7	97.6	-16	
0.0	0.0	99.0	-20	
9.7	807.7	52.4	0	ریحان (Reyhan)
16.0	1345.0	47.2	-4	
14.3	1243.0	59.2	-8	
10.3	563.6	98.7	-12	
10.7	731.3	100.0	-16	
0.0	0.0	98.0	-20	
2.7	522.5	55.9	0	والفجر (Valfajr)
3.7	871.0	59.8	-4	
3.2	659.7	51.5	-8	
3.5	571.3	56.8	-12	
1.2	256.0	98.6	-16	
0.0	0.0	97.9	-20	
4.5	429.0	15.2		LSD (0.01)

جدول۴- درجه حرارت کشنده (LT_{50} بقاء) و دمای کاهنده ۵۰ درصد وزن خشک ($RDMT_{50}$) در ارقام جو.

Table4. Survival LT_{50} and $RDMT_{50}$ of barley cultivars.

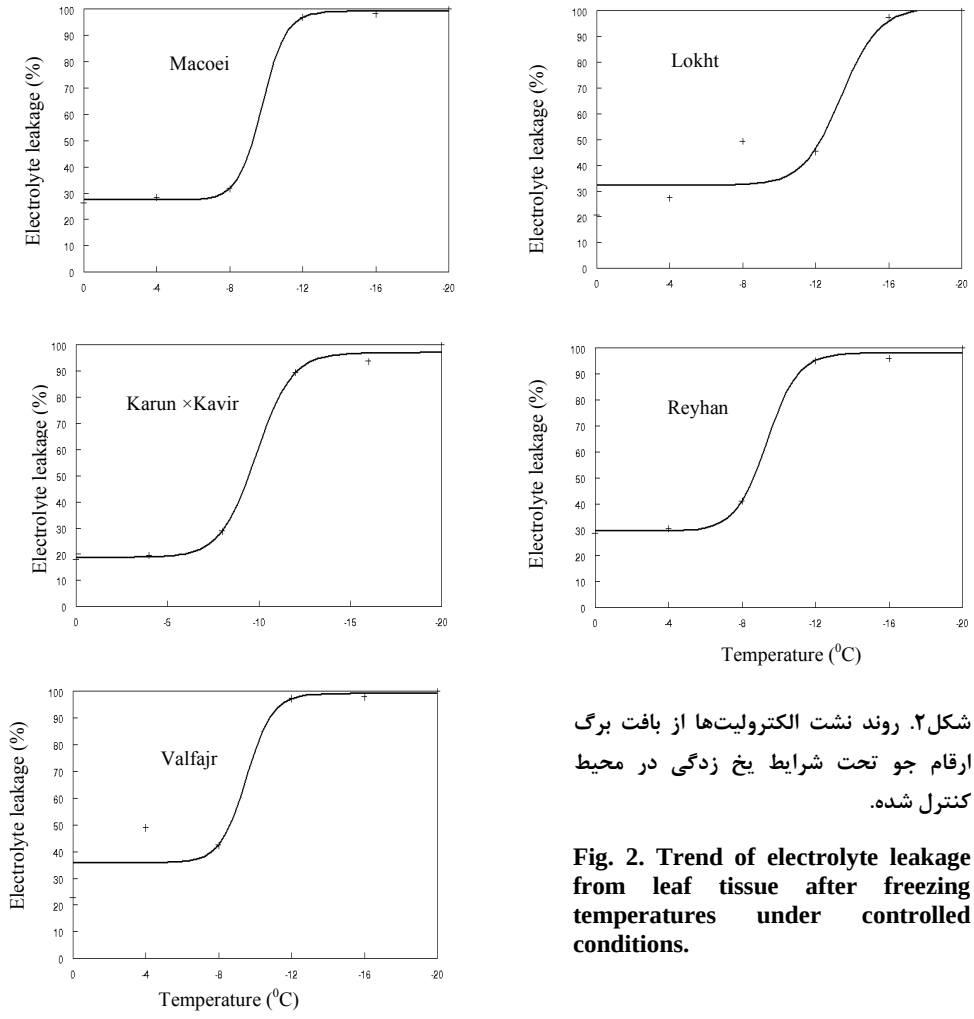
Survival LT_{50}	$RDMT_{50}$	رقم Cultivar	
-17.2	-12.2	(Macoei)	ماکوئی
-18.0	-14.3	(Karun ×Kavir)	کارون×کویر
-17.6	-11.9	(Lokht)	لخت
-17.8	-11.9	(Reyhan)	ریحان
-17.8	-13.5	(Valfajr)	والفجر
4.7	5.2	LSD (0.01)	

بررسی تأثیر دماهای یخزدگی بر ارتفاع ساقه ارقام مورد بررسی نشان داد که در بین گیاهان زنده بیشترین ارتفاع گیاه در ارقام ریحان و کارون× کویر در دمای ۴- درجه سانتی‌گراد بدست آمد و کمترین آن در دمای ۱۶- درجه سانتی‌گراد و در رقم ماکوئی حاصل شد (جدول ۳). ارقام جو از نظر دمای کاهنده ۵۰ درصد وزن خشک گیاه ($RDMT_{50}$) تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند (جدول ۴). به نظر می‌رسد قرار گرفتن گیاهان در شرایط خنک پائیز سبب بهبود تحمل به یخزدگی و به دنبال آن رشد مجدد نسبتا مشابه در تمام ژنوتیپ‌های مورد بررسی گردیده است. در بررسی بازیافت و رشد گیاهان پس از اعمال تیمار یخزدگی مشاهده شد، رقم کارون×کویر که بیشترین وزن خشک و درصد بقاء را داشت (جدول ۲)، پائین‌ترین دمای کاهنده ۵۰ درصد وزن خشک را نیز به خود اختصاص داده است (جدول ۴). در همین راستا نتایج آزمایش حاکی از پائین‌تر بودن درصد نشت الکترولیت‌ها در بافت‌های برگ و طوقه در رقم مذکور نسبت به سایر ارقام نیز می‌باشد (جدول ۲). بررسی دمای کشنده ۵۰ درصد گیاهان (LT_{50}) بر اساس بقاء نیز نشان داد که بین ارقام مورد بررسی اختلاف معنی‌داری از لحاظ صفت مذکور وجود نداشت، هر چند که پائین‌ترین $RDMT_{50}$ و LT_{50} به رقم کارون×کویراختصاص داشته است (جدول۴).

اختلاف کم ارقام جو مورد بررسی از نظر شاخص مذکور ($RDMT_{50}$) و همچنین LT_{50} بر اساس بقاء را احتمالا بتوان به تأثیر مشابه شرایط خوسرمائی بر روی آنها مرتبط دانست. در غلات زمستانه مقاومت به یخزدگی وابسته به سیستم بسیار هماهنگی از ژن‌های ساختاری، تنظیم کننده و نموی می‌باشد و افزایش مقاومت به یخزدگی تحت تاثیر ورنالیزاسیون و نیاز فتوپریودی است. دوره نوری کوتاه مانع تغییر نموی از مرحله رویشی به زایشی می‌گردد و بدین وسیله بیان ژن‌های موثر در تحمل به سرما به میزان بالاتری حفظ می‌گردد (Mahfoozi et al., 2001; Fowler et al., 2000). در آزمایش Fowler et al. (1996) که اثرات دماهای پائین بر روی افزایش مقاومت به یخزدگی بوته های گندم مورد ارزیابی قرار گرفت، مشاهده شد که گیاهان در اوایل دسامبر حداکثر مقاومت به یخزدگی را دارا بودند، بطوری که در دمای ۲۲- درجه سانتی‌گراد زنده ماندند. این پژوهشگران خاطر نشان کردند با توجه به اینکه درشرایط مزرعه هر ساله تغییرات قابل توجهی رخ می‌دهد، حداکثر مقاومت به یخزدگی در دامنه دمائی ۱۶- تا ۲۴- درجه سانتی‌گراد قابل تغییر است.

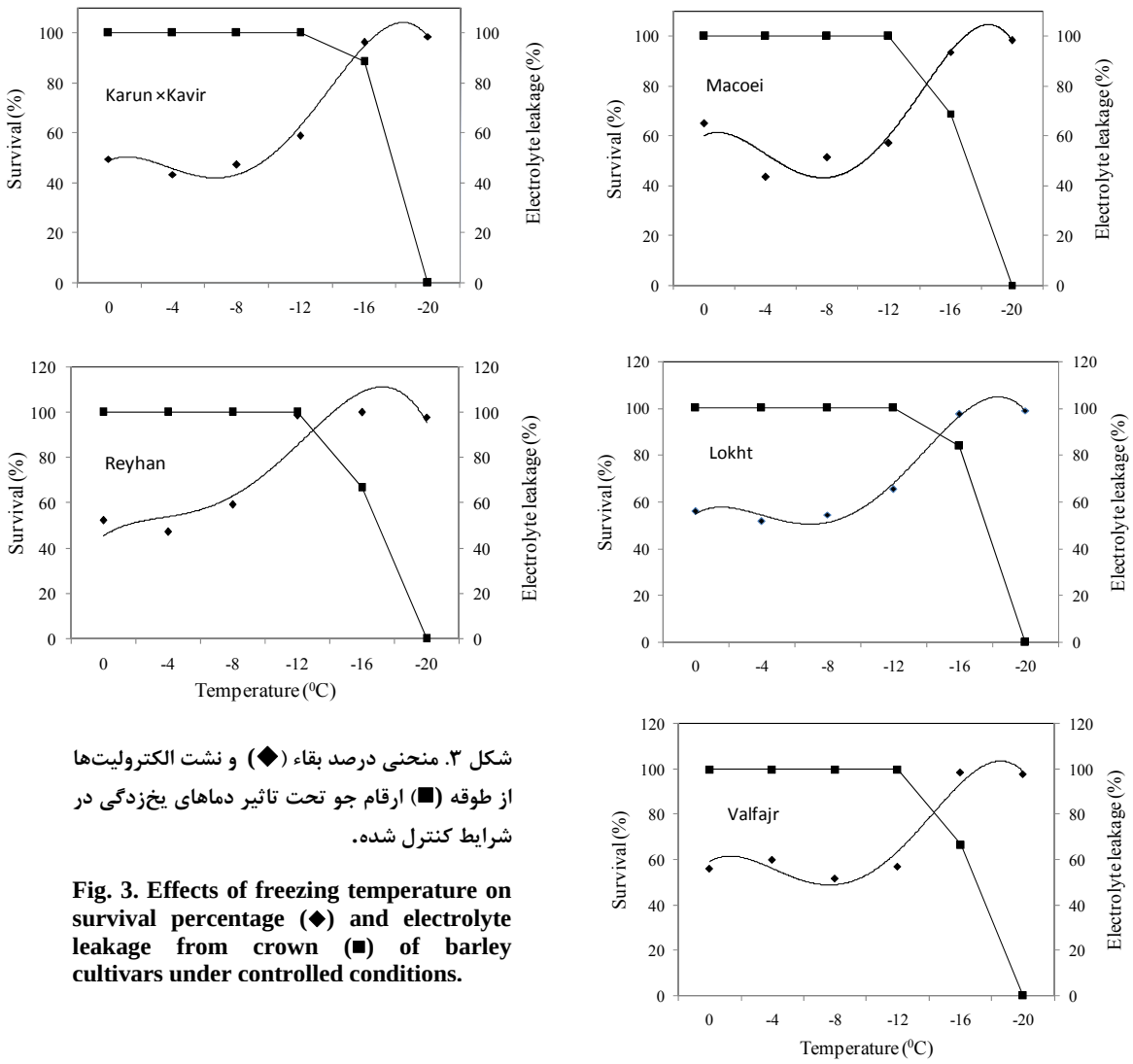
بطور کلی نتایج حاصل از این آزمایش نشان می‌دهد که تخمین خسارت ناشی از تنش سرما با استفاده از روش‌های اندازه‌گیری نشت الکترولیت و درصد بقاء می‌تواند معیارهای نسبتا قابل قبولی را فراهم سازد، با این وجود نشت الکترولیت‌ها الزاماً نشان دهنده خسارت غیر قابل برگشت به سلول‌ها نیست و به همین جهت اندازه‌گیری هدایت الکتریکی و تعیین درجه حرارت کشنده براساس صفت مذکور می‌تواند برای ارزیابی مراحل ابتدائی خسارت ناشی از یخزدگی مفید باشد (Palta et al., 1994). برعکس صفت فوق، تعداد بوته‌های باقی

مانده پس از تیمار یخزدگی نشان دهنده خسارت گسترده به اجزای سلولی و در نتیجه بقای کل گیاه می‌باشد. بر همین اساس در شکل ۳ مشاهده می‌شود که شیب منحنی‌های نشت الکترولیت و درصد بقاء در دماهای یکسان با یکدیگر متفاوت است، بطوریکه با کاهش دما، شیب منحنی نشت الکترولیت افزایش یافته، در حالیکه درصد بقاء تا دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد ثابت می‌باشد و بعد از آن به طور شدیدی کاهش می‌یابد و به همین دلیل LT_{50} حاصل از نشت و بقاء در بین ارقام مورد مطالعه تشابه چندانی نداشته‌اند (جدول ۴ و شکل ۱). در آزمایش انجام شده توسط Cardona et al. (1997) نیز وضعیتی مشابه دیده شد و LT_{50} حاصل از روش نشت الکترولیت‌ها با LT_{50} حاصل از روش بقاء مشابه نبوده است (جدول ۵ و شکل ۱). به نظر می‌رسد با وجود اینکه قرار دادن گیاهان در معرض دماهای پائین و سازگار شدن آنها به سرما، خسارت ناشی از تنش یخزدگی را به حداقل می‌رساند و در این شرایط اندازه‌گیری نشت مواد درون سلولی در اثر تنش یخزدگی می‌تواند بیانگر تفاوت‌های موجود در تحمل به سرما بین ارقام در مرحله اولیه پس از تیمار یخزدگی باشد (به عبارت دیگر معنی‌دار بودن اختلاف بین ارقام از لحاظ درصد نشت الکترولیت‌ها و LT_{50} حاصل از آن موید تنوع ارقام از نظر پایداری غشاء در مرحله اولیه پس از قرار گرفتن در شرایط یخزدگی می‌باشد) ولی تعیین LT_{50} ارقام از طریق بررسی رشد مجدد آنها نتایج معتبرتری را فراهم می‌سازد. با این وجود به دلیل هزینه‌بر و وقت‌گیر بودن این گونه آزمایشات تعیین شاخص مناسبی که با هزینه و زمان کمتری بتوان تحمل به یخزدگی گیاهان را مشخص کند، مفید خواهد بود.



شکل۲. روند نشت الکترولیت‌ها از بافت برگ ارقام جو تحت شرایط یخ زدگی در محیط کنترل شده.

Fig. 2. Trend of electrolyte leakage from leaf tissue after freezing temperatures under controlled conditions.



شکل ۳. منحنی درصد بقاء (◆) و نشت الکترولیت‌ها از طوقه (■) ارقام جو تحت تاثیر دماهای یخزدگی در شرایط کنترل شده.

Fig. 3. Effects of freezing temperature on survival percentage (◆) and electrolyte leakage from crown (■) of barley cultivars under controlled conditions.

قدردانی

بودجه این تحقیق از محل اعتبارات معاونت محترم پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد، با کد ۵۴۲ پ مورخ ۱۳۸۷/۶/۶ تامین شده است که بدینوسیله سپاسگذاری می‌گردد.

منابع

Amir Ghasemi, T., 2002. Freezing in Plants (frost, prediction and protection). Nashre Ayandegan Publications. 123p. [In Persian]

Azizi, H., 2005. Evaluation of cold tolerance in wheat under field and controlled conditions. M.Sc. Thesis. Agriculture Faculty, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran. [In Persian]

Azizi, H., Nezami, A., Khazaee, H.R., Nassiri, M., 2007. Evaluation of cold tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars under field conditions. Iranian J. Field Crop Res. 1, 109-120. [In Persian with English summary]

Baeka, K.H., Skinner, D.Z., 2003. Alteration of antioxidant enzyme gene expression during cold acclimation of near-isogenic wheat lines. Plant Sci. 165, 1221-1227.

Boyer, J.S., 1982. Plant productivity and environment. Science. 218, 443-448

Bridger, G.M., Falk, D.E., Mckersie, B.D., Smith, D.L., 1996. Crown freezing tolerance and field winter survival of winter cereals in Eastern Canada. Crop Sci. 36,150-157.

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

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

Darvish Zadeh, R., 2000. Qualitative and quantitative changes of soluble proteins fall and spring barley in response to cold stress. M.Sc. Thesis in Plant Breeding. Tarbiat Modarres University, College of Agriculture. [In Persian]

Dexter, S.T., Tottingham, W.E., Graber, L.F., 1932. Investigations of the hardiness of plants by measurement of electrical conductivity. Plant Physiol. 7, 63-78.

Dionne, J., Castonguay, Y., Nadeau, P., Desjardins, Y., 2001. Freezing tolerance and carbohydrate changes during cold acclimation of green-type annual bluegrass (*Poa annua* L.) ecotypes. Crop Sci. 41, 443–451

FAO. 2007. Faostat. Retrieved from http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor.

Fowler, D.B., Limin, A.E., Wang, S.Y., Ward, R.W., 1996. Relationship between low-temperature tolerance and vernalization response in wheat and rye. Can. J. Plant Sci. 76, 37-42

Fowler, D.B., Gusta, L.V., 1979. Selection for winter hardiness in wheat. I. Identification of genotypic variability. Crop Sci. 19, 769-772

Fowler, D.B., Breton, G., Limin, A.E., Mahfoozi S., Sarhan, F., 2001. Photoperiod and temperature interactions regulate low-temperature-induced gene expression in barley. Plant Physiol. 127, 1676-1681.

Gusta, L.V., Fowler, D.B., Tyler, N.J., 1982. Factors influencing hardening and survival in winter wheat. In: Li, P.H., Sakai, A. (Eds.), Plant Cold Hardiness and Freezing Stress. Mechanisms and Crop Implications. Vol. 2. Academic Press, London. pp. 23-40.

Hana, B., Bischofa, J.C., 2004. Direct cell injury associated with eutectic crystallization during freezing. Cryo Bio. 48, 8-21.

Levitt, J. 1980. Chilling injury and resistance. In: Kozlowsky, T.T. (Ed.), Chilling, Freezing and High Temperature Stresses. Vol.1., Responses of Plants to Environmental Stresse. Academic Press, New York. pp. 23-64

Mahfoozi, S., Limin, A.E., Hayes, P.M., Hucl, P., Fowler, D.B., 2000. Influence of photoperiod response on the expression of cold hardiness in wheat and barley. Can. J. Plant. Sci. 80, 721-724

Miller, G.L., Dickens, R., 1996. Potassium fertilization related to cold resistance in bermudagrass. Crop Sci. 36, 1290-1295.

Mirmohammad Meybodi, A.M., 2000. Physiology and Breeding Aspects of Cold Stress in Crops. Golbon Publications, Isfahan, Iran. [In Persian]

Mirzaei Asl, A., Yazdi Samadi, B., Zali, A., Sadeghian Motahar, Y., 2002. Evaluation of wheat resistance to cold laboratory methods. J. Sci. Technol. Agric. Natural Res. 6, 177-186. [In Persian with English summary]

Murata, N., Los, D.A., 1997. Membrane fluidity and temperature perception. Plant Physiol. 115, 875-879.

Murry, G.A., Eser, D., Gusta, L.V., Eteve, G., 1988. Winter hardiness in pea, lentil, faba bean and chickpea. In Summerfield, R.J. (Ed.), World Crops Cool Season Food Legumes. Kluwer Academic Publishers. The Netherlands. pp. 831-843.

Nayyar, H., Bains, T.S., Kumar, S., 2005. Chilling stressed chickpea seedlings: effect of cold acclimation, calcium and abscisic acid on cryoprotective solutes and oxidative damage. Enviro. Exp. Bot. 54, 275-285.

Nezami, A., 2001. Evaluation of chickpea (*Cicer arietinum* L.) for autumn planting in highlands. Ph.D. Thesis. Ferdowsi University of Mashhad, Iran. [In Persian]

Nezami, A., Bagheri, A., Rahimian, H., Kafi, M., Nassiri Mahalati, M., 2006. Evaluation of chickpea genotypes tolerant to freezing (*Cicer arietinum* L.) in controlled conditions. J. Sci. Technol. Agric. Natural Res. 4, 257-271. [In Persian with English summary]

Nezami, A., Borzooei, A., Jahani, M., Azizi, M., Sharif, A., 2007. Electrolyte leakage as an indicator of freezing injury in colza (*Brassica napus* L.). Iranian J. Field Crop Res. 1, 167-175. [In Persian with English summary]

Palta, J.A., Kobata, T., Turner, N.C., Fillery, I.R., 1994. Remobilization of carbon and nitrogen in wheat as influenced by postanthesis water deficits. Crop Sci. 34, 118-124.

Sakai, A., Larcher, W., 1987. Frost Survival of Plants: Responses and Adaptation to Freezing Stress. Springer-Verlag, Berlin.

Smallwood, M., Bowles, D.J., 2002. Plants in a cold climate. Phil. Trans. R. Soc. Lond. B. 357, 831-847

Steponkus, P.L., Uemura, M., Webb, M.S., 1993. Redesigning crops for increased tolerance to freezing stress. In: Jackson, M.B., Black, C.R., (Eds.), Interacting Stresses on Plants in a Changing Climate. Springer-Verlag, Berlin. pp. 697-714

Sulk, R.M., Albrecht, K.A., Duke, S.H., 1991. Leakage of intracellular substances as an indicator of freezing injury in alfalfa. Crop Sci. 31, 430-435.

Teutonica, R.A., Palta, J.P., Osborn, T.C., 1993. In vitro freezing tolerance in relation to winter survival of rapeseed cultivars. Crop Sci. 33, 103-107.

Yoshida, M., Abe, J., Moriyama, M., Kuwabara, T., 1998. Carbohydrate levels among winter wheat cultivars varying in freezing tolerance and snow mold resistance during autumn and winter. Physiol. Plant. 103: 8-16.

The University of Birjand
Faculty of Agriculture

Environmental Stresses in Crop Sciences (ESCS) Vol. 3(1): 9-22 (2010)

تنشهای محیطی در علوم زراعی
Environmental Stresses in Crop Sciences

Evaluation of freezing tolerance in barley (*Hordeum vulgar* L.) cultivars at seedling stage under controlled conditions

A. Nezami[1*], J. Nabati[2], A. Borzooei[3], A. Kamandi[4], A. Masomi[5], M. Salehi[4]

1. Associate Professor, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad; 2. PhD in Crop Physiology; 3. Agricultural, Medical and Industrial Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute, Atomic Energy Organization of Iran, Karaj, Iran; 4. PhD students of Agronomy and Plant Breeding Department, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad; 5. Member of Staff, Payame Noor University of Khorasan Razavi.

Abstract

Risk of weather variability is amongst factors that always affect the cereal production in many areas. In order to determine the freezing tolerance of five barley (*Hordeum vulgar* L.) cultivars under controlled conditions, a factorial experiment based on CRD carried out with three replications at the crop physiology Laboratory of College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad. Treatments were barley genotype with five levels, including Makouei, Karun×Kavir, lokht, Reyhan and Valfajr, and temperature in six levels (0, -4, -8, -12, -16 and -20 °C). Plants were kept under natural conditions until 4-6 leaf stage to provide the acclimation period and then were transferred to a thermo-gradient freezer to apply freezing stress. The cell membrane stability of genotypes was measured through electrolyte leakage (EL) and the LT_{50el} (temperature for killing 50% of samples according to the electrolyte leakage) was also determined. Furthermore, survival percentage, plant height, dry weight, LT_{50su} (temperature for killing 50% of samples according to survival) and $RDMT_{50}$ (reduced dry matter temperature) were determined after three weeks recovery in the glasshouse. Results showed that leakage percentage from leaf and crown after freezing was significantly different ($P<0.01$) amongst cultivars. The greatest (69.4) and the lowest (58.5) leakage percentage from leaf samples were observed in Valfajr and Karun×Kavir cultivars, respectively. Reyhan cultivar showed the highest (78.9) and Makouei, Karun×Kavir, lokht and Valfajr cultivars showed the lowest leakage percentage from crown samples. Plant height, dry weight and LT_{50su} of cultivars were significantly different after freezing. For instance, the dry weight of plants after three weeks recovery was 978 and 480 mg/plant for Karun×Kavir and Valfajr cultivars, respectively. Most studied traits were significantly reduced under temperatures lower than -12^{o}C compared to the control.

***Keywords*:** survival, acclimation, LT_{50}, $RDMT_{50}$.

[*] Correspondent author: Ahmad Nezami, Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran. Tel: +98 (511) 8795615-20; Fax: +98 (511) 8787430; E-Mail: nezamiahmad@yahoo.com