

## تأثیر هگزاکونازول و پنکونازول بر تحمل به سرما در گیاه کوشیا (*Kochia scoparia*)

علی کمندی<sup>۱</sup> - احمد نظامی<sup>۲</sup> - محمد کافی<sup>۲</sup> - جعفر نباتی<sup>۳\*</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۲/۱۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۶/۲۸

### چکیده

در مناطق معتدله سرمای دیررس بهاره رشد و نمو گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد. این مطالعه با هدف بررسی اثر تریازول‌ها در بهبود تحمل به سرمای دیررس بهاره در گیاه کوشیا به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. غلظت‌های مختلف هگزاکونازول و پنکونازول (۰، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر) قبل از اعمال سرما روی گیاهان تیمار شد و سپس گیاهان در شرایط کنترل شده در معرض دماهای یخ‌زدگی (۰، -۲، -۴، -۶ و -۸ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفتند. پس از اعمال دماهای یخ‌زدگی پایداری غشاء سلولی از طریق اندازه‌گیری نشت الکترولیت‌ها (EL) و درجه حرارت کشنده برای ۵۰٪ نمونه‌ها براساس نشت الکترولیت‌ها ( $LT_{50el}$ ) تعیین شد. درجه حرارت کشنده برای ۵۰٪ گیاهان براساس درصد بقاء ( $LT_{50su}$ ) و رشد مجدد گیاهان نیز سه هفته پس از بازیابی گیاهان در شرایط طبیعی تعیین شد. نتایج نشان داد که کاهش دما تأثیر معنی‌داری بر نشت الکترولیت‌ها، درصد بقاء، ارتفاع بوته و وزن خشک آن داشت. افزایش غلظت تریازول‌ها به میزان ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر در مقایسه با تیمار شاهد سبب کاهش نشت الکترولیت‌ها شد، به طوری که سبب کاهش  $LT_{50el}$  از ۵/۹- به ۷/۲- گردید. کاربرد تریازول‌ها با غلظت‌های ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر وزن خشک و ارتفاع گیاه را کاهش داد، ولی تأثیری بر درصد بقاء گیاهان نداشت. به طور کلی نتایج نشان داد که کاربرد تریازول‌ها سبب کاهش نشت الکترولیت‌ها از گیاه شد، ولی بر درصد بقاء و صفات مرتبط با بازیافت گیاه تأثیری نداشت.

**واژه‌های کلیدی:** تریازول‌ها، درصد بقاء، سرمای دیررس بهاره، نشت الکترولیت‌ها

### مقدمه

بیوسنتزی گیاه را کاهش داده، مانع از کارکرد طبیعی فرآیندهای فیزیولوژیکی شده و ممکن است سبب بروز صدمات غیرقابل برگشت و در نهایت منجر به مرگ گیاه گردد. 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. 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 (۳۱).

مطالعات فراوانی به منظور یافتن روشی مؤثر و سریع در ارزیابی مقاومت به یخ‌زدگی گیاهان صورت گرفته است (۲۶). به منظور اندازه‌گیری تحمل به سرما فولر و گاستا (۱۱) شاخص بقاء مزرعه را معرفی نمودند. در این روش، بقاء گیاهان از طریق کاشت آنها در مزرعه و قرارگیری در معرض سرما و سپس مقایسه آنها با نمونه شاهد ارزیابی می‌گردد. از آنجایی که بقاء گیاهان در مزرعه تحت تأثیر سایر تنش‌ها مانند یخ‌زدگی، آب کشیدگی، پوشش یخ و برف، غرقاب

کوشیا (*Kochia scoparia*) گیاهی یک ساله و چهار کرنبه بوده و منشاء آن اوراسیا می‌باشد و به دلیل سازگاری مناسب با شرایط محیطی سخت گسترش زیادی در محیط‌های مختلف یافته است (۱۸). مطالعات مختلفی که در ارتباط با پتانسیل کوشیا به عنوان علوفه انجام گرفته است (۱۸) حاکی از توان بالای این گیاه در تولید علوفه مناسب است (۲۲). چنانچه این گیاه قادر باشد سرمای دیررس بهاره را تحمل نماید با کاشت زودتر کوشیا می‌توان با بهره‌گیری از نزولات جوی در مناطق خشک و نیمه خشک که منابع آب مناسب در آنها کم است زیست توده مناسبی تولید نمود.

دمای پایین یکی از مهم‌ترین عوامل غیرزیستی محدودکننده رشد، تولید و توزیع جغرافیایی گیاهان است. دمای پایین فعالیت‌های

۱- دانش‌آموخته دکتری زراعت دانشگاه فردوسی مشهد

۲- استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۳- استادیار پژوهشکده علوم گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد

\*- نویسنده مسئول: (Email: jafarnabati@ferdowsi.um.ac.ir)

(*Solanum lycopersicum*) (۳۲) تیمار شده با تریازول‌ها گزارش شده است.

این مطالعه با هدف بررسی تحمل به سرمای گیاه کوشیا تحت شرایط کنترل شده و امکان افزایش تحمل به سرمای دیررس بهاره گیاه در اثر کاربرد قارچ‌کش‌هایی مانند پنکونازول و هگزاکونازول طراحی و اجرا گردید.

### مواد و روش‌ها

این آزمایش در بهار سال ۱۳۸۸ به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد با سه تکرار اجرا شد. تعداد پنج بذر در گلدان‌های پلاستیکی به قطر ۱۰ سانتی‌متر و در عمق ۲-۱ سانتی‌متری خاک کشت شده و در محیط طبیعی رشد یافتند. توده کوشیا مورد استفاده در این آزمایش توده بومی سبزوار بود. سه هفته پس از کاشت که گیاهان در مرحله چهار تا شش برگی بودند محلول‌پاشی قارچ‌کش‌های پنکونازول و هگزاکونازول در دو غلظت ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر روی گیاهان انجام شد و عدم کاربرد قارچ‌کش (آب مقطر) نیز به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شد. بیست و چهار ساعت پس از اعمال تیمارها گلدان‌ها به فریزر ترموگرادیان منتقل و در معرض پنج دمای یخ‌زدگی (صفر، -۲، -۴، -۶ و -۸ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفتند. دمای فریزر در شروع آزمایش پنج درجه سانتی‌گراد بوده و پس از قرار دادن نمونه‌ها با سرعت دو 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 (۲۱). به منظور ایجاد هستک یخ در گیاهچه‌ها، در دمای -۳ درجه سانتی‌گراد محلول INAB روی گیاهان پاشیده شد و پس از آن دما با سرعت دو درجه سانتی‌گراد در ساعت کاهش یافت. به منظور ایجاد تعادل در دمای محیط، گیاهان در دمای مورد نظر به مدت یک ساعت نگه داشته شده و سپس گلدان‌ها به اتاقک سرد با دمای  $2 \pm 5$  درجه سانتی‌گراد منتقل و به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شدند. در مرحله بعد جوان‌ترین برگ توسعه یافته از هر بوته جدا شده و در لوله‌های آزمایش حاوی ۴۰ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر شده قرار گرفت. 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 بن‌ماری با دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۹۰ دقیقه قرار داده شدند و مجدداً پس از ۲۴ ساعت هدایت الکتریکی نمونه‌ها ثبت گردید ( $E_2$ ).

و عوامل بیماری‌زا قرار می‌گیرد، لذا در اغلب مواقع به دلیل بقاء کامل یا مرگ کامل گیاه تفاوت در بقاء گیاهان پس از سرما قابل اندازه‌گیری نخواهد بود. به همین علت جهت پرهیز از محدودیت‌های فوق آزمون یخبندان مصنوعی معرفی گردیده است (۵). در این روش گیاهان در شرایط کنترل شده در معرض دماهای یخ‌زدگی قرار گرفته و پس از اعمال یخ‌زدگی به گلخانه منتقل و پس از گذراندن یک دوره سه تا چهار هفته‌گی بازیابی، منحنی درصد بقاء آنها در برابر دماهای آزمایش ترسیم و دمایی که سبب ۵۰ درصد مرگ و میر نمونه‌های گیاهی می‌شود به‌عنوان  $LT_{50su}$  تعیین می‌گردد (۳).

از آنجایی که غشاء پلاسمایی نخستین مکانی است که تحت تأثیر تنش یخ‌زدگی قرار می‌گیرد لذا میزان خسارت وارده به گیاه را می‌توان از طریق اندازه‌گیری میزان نشت الکترولیت‌ها از بافت‌های آسیب دیده اندازه‌گیری نمود (۲۶). استفاده از آزمون نشت الکترولیت‌ها روشی آسان، سریع، قابل اعتماد و کم هزینه جهت ارزیابی تحمل به تنش یخ‌زدگی در مقایسه با سایر روش‌ها ذکر شده است (۲۶). نظامی و همکاران (۲۴) نشت الکترولیت‌ها را به‌عنوان شاخصی از خسارت یخ‌زدگی در کلزا (*Brassica napus*) بررسی و مشاهده نمودند که کاهش دما سبب افزایش میزان نشت الکترولیت‌ها در کلیه ارقام مورد بررسی گردید. همچنین مطالعه اثر تنش سرما بر گیاهچه‌های ۱۴ روزه نخود (*Cicer arietinum* L.) توسط نایار و همکاران (۲۳) نشان داد که با کاهش دما، نشت الکترولیت افزایش می‌یابد.

به منظور کاهش اثرات تنش‌های محیطی از جمله سرما استفاده از برخی مواد شیمیایی نظیر تریازول‌ها گسترش وسیعی یافته است (۱۰). تریازول‌ها یک گروه بزرگ و مهم از ترکیبات سیستمیک هستند که در دهه ۱۹۶۰ برای کنترل بیماری‌های قارچی در گیاهان و حیوانات مورد استفاده قرار گرفتند. تریازول‌های تجاری دارای مشتقاتی مانند پنکونازول و هگزاکونازول هستند که به‌عنوان قارچ‌کش و تنظیم‌کننده رشد در گیاهان مورد استفاده قرار می‌گیرند (۲). از جمله اثرات آناتومیکی و مورفولوژیکی کاربرد تریازول می‌توان به کاهش طولی شدن اندام هوایی، افزایش کرک‌های گیاه، افزایش واکس اپیدرم، تولید کلروپلاست‌های بزرگ‌تر و افزایش رشد ریشه (۱۰) اشاره کرد. اثرات بیوشیمیایی تریازول شامل سمیت‌زدایی اکسیژن فعال (۱۹)، افزایش میزان پرولین، افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها (۲) و محتوای کلروفیل (۹) می‌باشد. تریازول‌ها با ایجاد تغییرات هورمونی مانند افزایش سیتوکینین، ممانعت از سنتز جیبرلین، افزایش آبسسیک اسید و کاهش اتیلن موجب تخفیف اثرات تنش می‌شوند (۲). افزایش تحمل به یخ‌زدگی در خیار (*Cucumis sativus*) (۳۴) و گوجه فرنگی

1- Lethal temperature 50 according to the plant survival percentage ( $LT_{50su}$ )

2- Ice Nucleation Active Bacteria

معنی‌داری از لحاظ درصد نشت در بین دماهای مختلف، ارقام شبدر و اثر متقابل دما و رقم وجود دارد. در آزمایش ایشان با کاهش دما تا ۱۸- درجه سانتی‌گراد درصد نشت ارقام مختلف شبدر حدود ۵/۷ برابر نسبت به دمای ۶- درجه سانتی‌گراد افزایش داشت.

تفاوت درصد نشت الکترولیت‌ها از برگ‌های کوشیا در شرایط کاربرد غلظت‌های مختلف تریازول‌ها معنی‌دار بود (جدول ۱) و با افزایش غلظت تریازول‌ها به ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نشت الکترولیت‌ها نسبت به تیمار شاهد (عدم مصرف تریازول‌ها) ۲۶ درصد کاهش یافت (شکل ۱ a).

درصد نشت الکترولیت‌ها از برگ‌های گیاه کوشیا در تیمارهای بدون کاربرد تریازول‌ها تا دمای ۴- درجه سانتی‌گراد نسبتاً اندک و ثابت بود و با کاهش بیشتر دما به شدت افزایش یافت. محلول‌پاشی ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر از تریازول‌ها باعث گردید درصد نشت الکترولیت‌ها تا دمای ۶- درجه سانتی‌گراد روند افزایشی نداشته باشد و نسبتاً ثابت باقی بماند. براساس این شاخص به نظر می‌رسد کاربرد غلظت‌های فوق سبب گردیده است تحمل به یخ‌زدگی کوشیا ۲- درجه سانتی‌گراد افزایش یابد (شکل ۲).

غشاء سلولی ساختار پویایی است که بسیاری از واکنش‌های بیوشیمیایی و بیوفیزیکی در سلول‌های گیاهی را هدایت و نقطه اثر اولیه تنش‌های محیطی می‌باشد (۱۶). تنش سرما سبب تغییر در فرآیندهای متابولیکی، کاهش فعالیت‌های آنزیمی، کاهش ظرفیت فتوسنتزی و تغییر در سیالیت غشاء می‌گردد (۷). تغییر وضعیت غشاء از حالت کریستال مایع به حالت جامد- ژل فعالیت غشاء را مختل نموده (۱۶) و سبب نشت الکترولیت‌ها از سلول می‌گردد، لذا اندازه‌گیری میزان نشت از بافت‌های تحت تنش می‌تواند معیار قابل قبولی برای سنجش مقاومت به تنش سرما باشد (۱۶ و ۲۵).

گوپی و همکاران (۱۳) گزارش نمودند که در هویج (*Daucus carota*) استفاده از تریازول‌ها منجر به کاهش نشت الکترولیت‌ها گردید. گیاهچه‌های گندم تیمار شده با پاکلوبوترازول در شرایط تنش دما استحکام غشاء بیشتری داشتند (۱۹) و تیمار یونیکونازول در سویا سبب کاهش نشت الکترولیت‌ها گردید (۲۰). در ذرت نیز پاکلوبوترازول سبب تغییر خصوصیات غشاء گردیده و بهبود نواحی خسارت دیده را سرعت بخشیده است (۲۷). از آنجایی که تریازول‌ها بیوستنز و ترکیب استرول‌ها در غشاء پلاسمایی را تغییر می‌دهند (۳۰)، لذا این تغییرات ممکن است سبب افزایش پایداری و پیوستگی غشاء و افزایش قدرت تطابق‌پذیری گیاه گردد، همان‌گونه که در صنوبر سفید نیز این تغییرات مشاهده شده است (۳۰).

نوع تریازول‌ها (پنکونازول، هگزاکونازول) تأثیر معنی‌داری بر درصد نشت الکترولیت‌ها از برگ کوشیا نداشت (شکل ۱ d)، به طوری که با کاهش دما تا ۶- درجه سانتی‌گراد تفاوت معنی‌داری در نشت الکترولیت‌ها بین دو تیمار فوق مشاهده نشد. با این وجود در

سپس درصد نشت الکترولیت‌ها با استفاده از معادله (۱) محاسبه شد.

$$(1) \quad (E1/E2) \times 100 = \text{درصد نشت الکترولیت}$$

سپس گلدان‌ها به محیط طبیعی منتقل شده و پس از سه هفته درصد بقاء و بازیافت گیاهان مورد ارزیابی قرار گرفت. درصد بقاء گیاهان از طریق شمارش تعداد بوته‌های زنده در هر گلدان و از طریق معادله (۲) محاسبه شد.

$$(2) \quad [100 \times (\text{تعداد گیاهان قبل از تیمار یخ‌زدگی}) / (\text{تعداد گیاهان زنده سه هفته پس از تیمار یخ‌زدگی})] = \text{درصد بقا}$$

درجه حرارت کشنده برای ۵۰ درصد نمونه‌ها براساس نشت الکترولیت‌ها ( $LT_{50el}$ ) و درصد بقاء ( $LT_{50su}$ ) به ترتیب با استفاده از رسم نمودار درصد نشت الکترولیت‌ها و درصد بقاء گیاهان در مقابل دماهای یخ‌زدگی تعیین گردید (۲۵).

به منظور تعیین بازیافت گیاهان، ارتفاع آنها اندازه‌گیری شد و سپس بوته‌ها برداشت شده و وزن خشک آنها پس از ۴۸ ساعت قرارگیری در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد تعیین شد. تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار MSTATC انجام گردید، جهت رسم نمودارها و تعیین  $LT_{50}$  از نرم افزار SlideWrite استفاده شد و مقایسه میانگین داده‌ها نیز با استفاده از آزمون LSD در سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام شد.

## نتایج و بحث

نشت الکترولیت‌ها: کاهش دما تأثیر معنی‌داری ( $P \leq 0.01$ ) بر درصد نشت الکترولیت‌های برگ کوشیا داشت (جدول ۱) و با کاهش دما، میزان نشت الکترولیت‌ها افزایش یافت (شکل ۱). در بررسی اثر دمای یخ‌زدگی بر میزان نشت الکترولیت‌های برگ کوشیا مشاهده می‌شود که شیب افزایش نشت الکترولیت‌ها تقریباً از دمای ۴- درجه سانتی‌گراد شروع و با کاهش دما افزایش پیدا کرده و در دمای ۸- درجه سانتی‌گراد به حداکثر رسید (شکل ۱ b). نشت الکترولیت‌ها از برگ‌ها در دماهای ۲- و ۴- تقریباً معادل با دمای صفر درجه سانتی‌گراد و در دماهای ۶- و ۸- در مقایسه با دمای صفر درجه سانتی‌گراد به ترتیب ۲/۶ و ۶/۴ برابر افزایش داشت. در بررسی نایار و همکاران (۲۳) روی اثر تنش سرما بر گیاهچه‌های دو هفته‌ای نخود نیز مشاهده شد که با کاهش دما، نشت الکترولیت‌ها افزایش یافت. ایوکینا و همکاران (۸) بیان کردند که روش نشت الکترولیت‌ها یک روش کاربردی و آسان برای به‌گزینی ژرم‌پلاسما‌های مقاوم به یخ‌زدگی در گیاه شبدر می‌باشد. ایشان در آزمایشی برگ‌های جوان ارقام مختلف شبدر را در دماهای مختلف یخ‌زدگی قرار دادند و سپس با محاسبه درصد نشت الکترولیت‌ها در آنها بیان کردند که تفاوت

1- Lethal temperature 50 according to the electrolyte leakage percentage ( $LT_{50el}$ )

دمای ۸- درجه سانتی‌گراد درصد نشت در تیمار محلول‌پاشی هگزاکونازول از پنکونازول مقداری کمتر بود و لذا به نظر می‌رسد تریازول‌ها تأثیر مشابهی بر افزایش نشت الکترولیت‌ها در این گیاه داشته‌اند. گاستا و همکاران (۱۴) دمایی را که سبب ۵۰ درصد نشت الکترولیت‌ها از بافت‌های گیاهی می‌شود، به‌عنوان دمای ۵۰ درصد کشندگی براساس درصد نشت الکترولیت‌ها ( $LT_{50el}$ ) پیشنهاد کردند. شاشیکومار و ناس (۳۳) با انجام آزمایشی روی هشت رقم پنجه مرغی (*Cynodon dactylon*) مشاهده نمودند که ارقام حساس‌تر به سرما،  $LT_{50el}$  بالاتری نسبت به ارقام مقاوم داشتند. در این مطالعه کاربرد غلظت‌های مختلف قارچ‌کش تأثیر معنی‌داری ( $P \leq 0.01$ ) بر

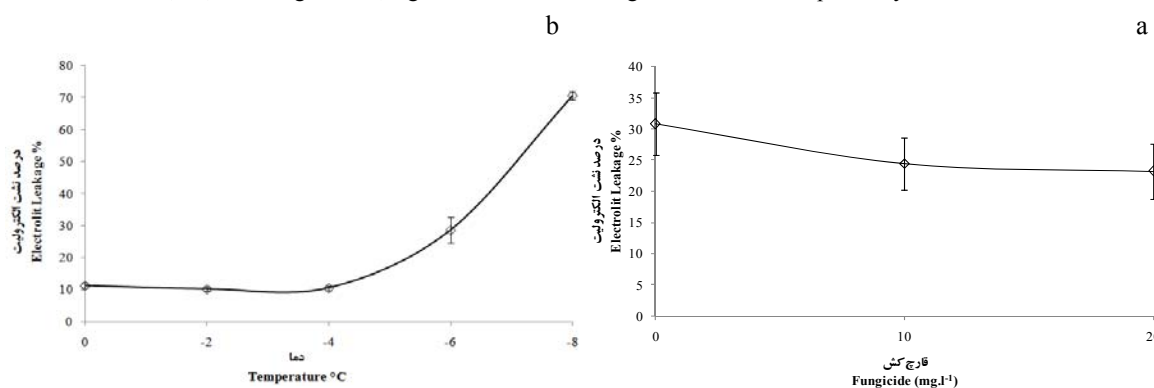
داشت و افزایش غلظت قارچ‌کش به ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر نسبت به عدم کاربرد آن موجب شد تا  $LT_{50el}$  از ۵/۹- به ۷/۲- درجه سانتی‌گراد برسد (شکل ۴). از سوی دیگر و هرچند کاربرد قارچ‌کش‌ها نسبت به عدم کاربرد آنها موجب بهبود  $LT_{50el}$  شده است، ولی محلول‌پاشی گیاهچه‌های کوشیا با غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر قارچ‌کش هگزاکونازول نسبت به کاربرد ۲۰ میلی‌گرم در لیتر از همین قارچ‌کش،  $LT_{50el}$  را بیشتر کاهش داده است، در حالی که در قارچ‌کش پنکونازول در غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر،  $LT_{50el}$  کاهش بیشتری نسبت به غلظت کمتر این ماده داشته است (شکل ۴).

جدول ۱- منابع تغییرات، درجه آزادی و میانگین مربعات اثر تریازول‌ها، غلظت آنها و دما بر درصد نشت الکترولیت‌ها، درصد بقاء، ارتفاع و وزن خشک گیاه کوشیا در شرایط کنترل شده

Table 1- Source of variation, degrees of freedom, and mean squares of effect of triazole concentration and temperature on the electrolytes leakage, survival percentage, height plant and dry weight of kochia under controlled conditions

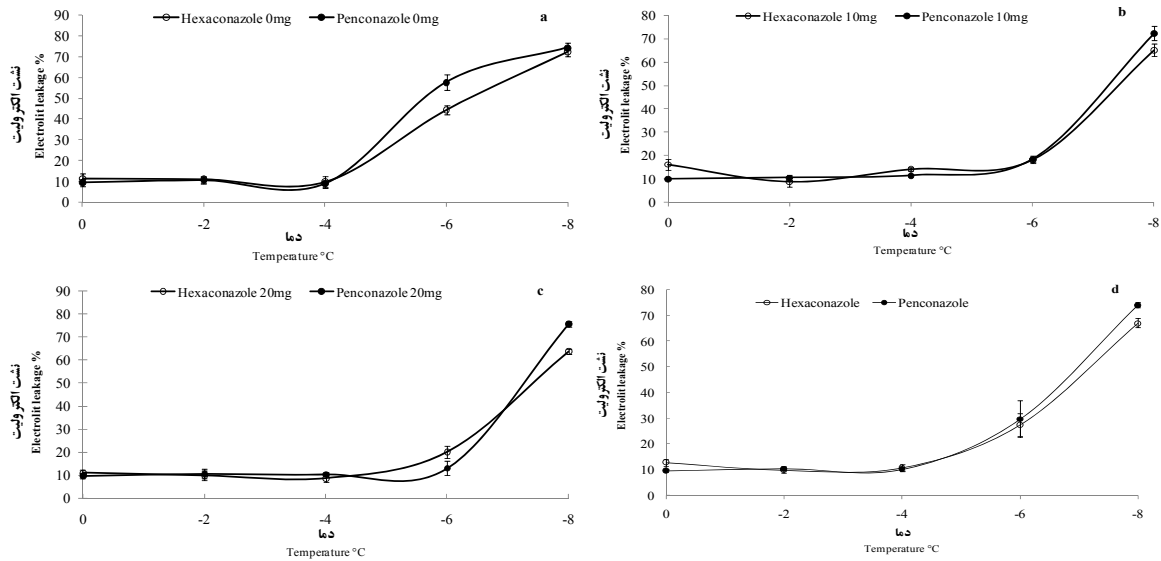
منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی DF	نشت الکترولیت‌ها Electrolyte leakage	درصد بقاء % Survival	ارتفاع بوته High plant	وزن خشک Dry weight
قارچ‌کش (Fungicide)	1	37 <sup>ns</sup>	7 <sup>ns</sup>	35 <sup>ns</sup>	0.1 <sup>ns</sup>
غلظت (Concentration)	2	497 <sup>**</sup>	149 <sup>ns</sup>	112 <sup>*</sup>	0.7 <sup>**</sup>
قارچ‌کش × غلظت (Fungicide × Concentration)	2	10 <sup>ns</sup>	424 <sup>ns</sup>	67 <sup>ns</sup>	0.4 <sup>**</sup>
دما (Temperature)	4	12168 <sup>**</sup>	33896 <sup>**</sup>	1826 <sup>**</sup>	4.0 <sup>**</sup>
قارچ‌کش × دما (Fungicide × Temperature)	4	65 <sup>**</sup>	285 <sup>*</sup>	55 <sup>*</sup>	0.1 <sup>*</sup>
غلظت × دما (Concentration × Temperature)	8	459 <sup>**</sup>	250 <sup>*</sup>	36 <sup>*</sup>	0.1 <sup>*</sup>
قارچ‌کش × غلظت × دما (Fungicide × Concentration × Temperature)	8	52 <sup>**</sup>	181 <sup>ns</sup>	21 <sup>ns</sup>	0.1 <sup>ns</sup>
خطا (Error)	60	12	229	25	0.1
ضریب تغییرات % (C.V)		13.05	9.53	7.22	13.56

ns, \*\*, \* به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵ و ۰/۰۱ و ۰/۰۵، ns, \*\*, \* non significant, significant at 0.01 and significant at 0.05 respectively



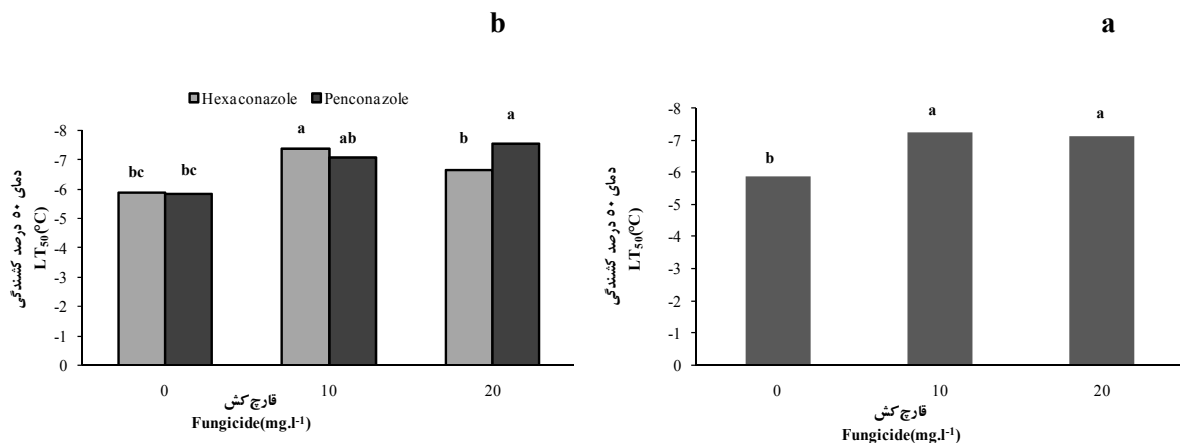
شکل ۱- اثر غلظت‌های مختلف تریازول‌ها (الف) و دما (ب) بر میزان نشت الکترولیت‌ها در کوشیا. خطوط عمودی مقادیر خطای استاندارد را نشان می‌دهند

Figure 1- Effect of different concentration of triazols (a) and temperature (b) on electrolyte leakage in kochia. Vertical lines indicate the standard error values



شکل ۲- تأثیر کاهش دما بر درصد نشت مواد در کوشیا (الف) بدون محلول پاشی، (ب) محلول پاشی با غلظت ۱۰ میلی گرم در لیتر، (ج) محلول پاشی با غلظت ۲۰ میلی گرم در لیتر و (د) کل تریازولها. خطوط عمودی نشان دهنده میانگین  $\pm$  خطای استاندارد است

Figure 2- Effect of low temperature electrolytes leakage in Kochia (a) no application, (b) sprayed at a concentration of 10 mg per liter, (c) sprayed at a concentration of 20 milligrams per liter, and (d) total. Vertical lines indicate the standard error values



شکل ۳- دمای ۵۰ درصد کشندگی ( $LT_{50el}$ ) تحت تأثیر غلظت‌های مختلف قارچ کش (الف) و اثر متقابل قارچ کش و غلظت (ب). براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪

Figure 3-  $LT_{50el}$  under different fungicides concentration (a) and interaction between fungicides and concentration (b) according to Duncan test at 5%

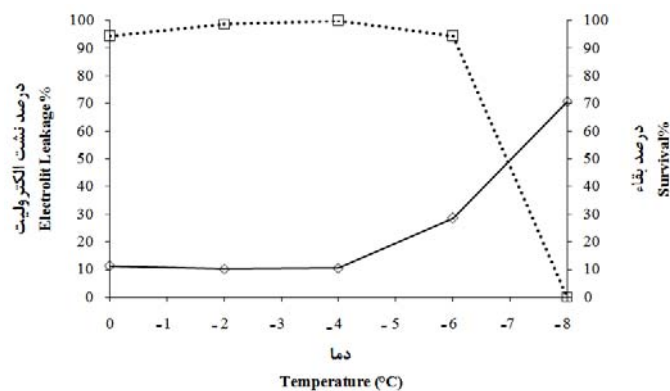
خط تندتری روند نزولی پیدا کرد و در دمای ۷- درجه سانتی گراد که نقطه تلاقی این دو صفت بود ۵۰ درصد نشت الکترولیت‌ها و بقاء مشاهده گردید و در دمای ۸- درجه سانتی گراد با رسیدن میزان نشت الکترولیت‌ها به ۷۰ درصد میزان بقاء گیاهان به صفر رسید (شکل ۵). در این مطالعه همبستگی بسیار معنی داری بین درصد نشت الکترولیت‌ها و درصد بقاء گیاهان وجود داشت ( $r = -0.84^{**}$ ) (جدول ۶). به عبارت دیگر با افزایش درصد نشت الکترولیت‌ها، درصد بقاء

**درصد بقاء و بازیافت:** اثر تیمارهای دمایی بر درصد بقاء گیاهان معنی دار ( $P \leq 0.01$ ) بود و هرچند گیاهان در شرایط اعمال تیمارهای دمایی ۲- و ۴- کاملاً زنده مانده بودند ولی با کاهش دما به کمتر از ۶- درجه سانتی گراد تمامی گیاهان از بین رفتند (جدول ۲). بررسی رابطه بین میزان نشت الکترولیت‌ها و درصد بقاء در شکل ۴ نشان می‌دهد که در دمای ۶- درجه سانتی گراد میزان نشت الکترولیت‌ها به شدت افزایش یافت و در همین دما میزان بقاء با شیب

دما درصد بقاء گیاهان کاهش یافت. در آزمایش ایشان بیشترین درصد بقاء در تیمار شاهد (صفر درجه سانتی‌گراد) و کمترین آن در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد مشاهده شد.

اثر تیمارهای دمایی بر ارتفاع گیاه معنی‌دار ( $P \leq 0.05$ ) بود. ارتفاع بوته‌های کوشیا با کاهش دما به کمتر از ۴- درجه سانتی‌گراد کاهش یافت (جدول ۲) و در دمای ۶- درجه سانتی‌گراد ۲۴/۶ درصد کمتر از دمای صفر درجه سانتی‌گراد بود. عزیزی و همکاران (۳) با بررسی ارتفاع ارقام گندم در شرایط تنش یخ‌زدگی گزارش کردند که ارتفاع بوته با کاهش دما کاهش می‌یابد. همچنین نظامی و همکاران (۲۵) نیز با بررسی تحمل به یخ‌زدگی ارقام جو (*Hordeum vulgare*) نتایج مشابهی گزارش کردند.

گیاهان کاهش یافته است. با وجود این بررسی شکل ۵ نشان می‌دهد که حداکثر نشت برای مرگ گیاهان ۷۰ درصد بوده لذا ۵۰ درصد آن ۳۵ درصد می‌شود که گیاهان در این درصد نشت (یعنی ۳۵ درصد) هنوز ۹۰ درصد بقاء داشته‌اند. در حقیقت نشت حدوداً ۴۰ درصد الکترولیت‌ها از برگ‌ها سبب ۵۰ درصد مرگ گیاهان براساس درصد بقاء شده است. محققان معتقدند که یک روش ارزیابی می‌بایست ساده، قابل تکرار و غیر تخریبی باشد (۱۵) و لذا جهت بررسی نشت الکترولیت‌ها غالباً از برگ‌های گیاهان استفاده می‌شود (۲۴) زیرا در این حالت می‌توان بقاء گیاهان را نیز مورد بررسی قرار داد. عزیزی و همکاران (۳) در بررسی تحمل به یخ‌زدگی ارقام گندم مشاهده نمودند که اثر تیمارهای دمایی بر درصد بقاء گیاهان معنی‌دار بود و با کاهش



شکل ۴- منحنی درصد بقاء و نشت الکترولیت‌های کوشیا تحت تأثیر دماهای یخ‌زدگی در شرایط کنترل شده (بقا □ و نشت الکترولیت ◇)

Figure 4- Curve of survival and electrolyte leakage of kochia under freezing temperatures at controlled conditions (survival □ and leak leakage ◇)

جدول ۲- اثر قارچ‌کش، غلظت آن و دما بر درصد بقاء، ارتفاع بوته و وزن خشک بوته کوشیا سه هفته پس از بازیافت

Table 2- Effect of fungicides, concentration and temperature on survival, plant height and plant dry weight of Kochia three weeks after recovery

تیمار Treat	درصد بقاء % Survival	ارتفاع بوته High plant (cm)	وزن خشک Dry weight (g.plant <sup>-1</sup> )
قارچ‌کش Fungicide			
هگزاکونازول Hexaconaz	77.2 <sup>a</sup>	17.7 <sup>a</sup>	0.8 <sup>a</sup>
پنکونازول Penconazol	77.7 <sup>a</sup>	16.4 <sup>a</sup>	0.8 <sup>a</sup>
غلظت (mg.l <sup>-1</sup> ) Concentration			
0	80.0 <sup>a</sup>	19.1 <sup>a</sup>	1.0 <sup>a</sup>
10	76.6 <sup>a</sup>	16.8 <sup>ab</sup>	0.7 <sup>b</sup>
20	75.8 <sup>a</sup>	15.2 <sup>b</sup>	0.7 <sup>b</sup>
دما °C Temperature			
0	94.4 <sup>a</sup>	21.5 <sup>a</sup>	1.1 <sup>a</sup>
-2	98.6 <sup>a</sup>	24.4 <sup>a</sup>	1.0 <sup>ab</sup>
-4	100.0 <sup>a</sup>	23.3 <sup>a</sup>	1.1 <sup>a</sup>
-6	94.4 <sup>a</sup>	16.2 <sup>b</sup>	0.8 <sup>b</sup>
-8	00.0 <sup>b</sup>	0.0 <sup>c</sup>	0.0 <sup>c</sup>

میانگین‌های دارای حروف مشابه مربوط به هر تیمار در هر ستون، براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means with the same letters of each group in each column, according to Duncan test at 5%, no significant difference

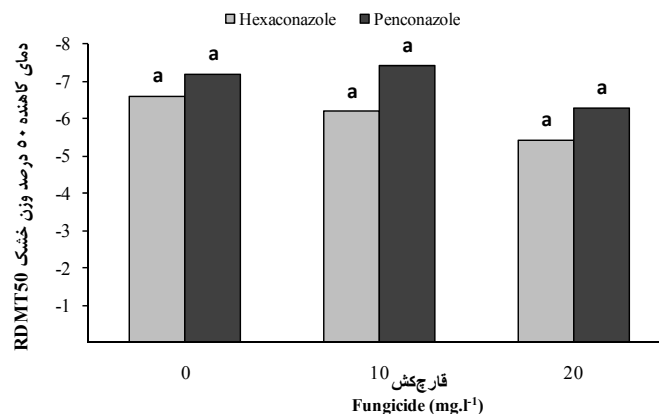
ارتفاع گیاه در تیمار قارچ کش پنکونازول در دمای ۴- درجه سانتی گراد مشاهده شد (جدول ۳). اثر متقابل غلظت قارچ کش و دما نیز بر ارتفاع گیاهان معنی دار ( $P \leq 0.05$ ) بود و بیشترین ارتفاع بوته را در غلظت ۱۰ میلی گرم در لیتر گیاهان در دمای ۴- درجه سانتی گراد داشتند، در حالی که بیشترین ارتفاع بوته در غلظت ۲۰ میلی گرم در لیتر، در دمای صفر درجه سانتی گراد مشاهده شد.

اثر تیمارهای دمایی بر وزن خشک گیاه در پایان دوره بازیافت معنی دار ( $P \leq 0.05$ ) بود و به استثنای دمای ۸- درجه سانتی گراد که گیاهچه‌های کوشیا از بین رفتند، وزن خشک بوته‌های کوشیا با کاهش دما به کمتر از ۶- درجه سانتی گراد، ۲۷/۳ درصد کمتر از دمای صفر درجه سانتی گراد بود (جدول ۲). این کاهش احتمالاً ناشی از خسارت یخزدگی بر توانایی رشد مجدد اندام‌های گیاهی در مرحله بازیافت بوده است. نظامی و همکاران (۲۵) با بررسی وزن خشک ارقام جو در شرایط تنش یخزدگی گزارش کردند که وزن خشک گیاه در تیمار دمایی ۴- درجه سانتی گراد ۶/۵ درصد کمتر از تیمار شاهد بود، در صورتی که در تیمار دمایی ۱۶- درجه سانتی گراد به کمتر از ۶۰ درصد تیمار شاهد (عدم یخزدگی) رسید.

هرچند ارتفاع بوته گیاهچه‌های کوشیا در پایان دوره بازیافت تحت تأثیر نوع قارچ کش مورد استفاده قرار نگرفت (جدول ۲) ولی غلظت‌های مختلف قارچ کش‌ها تأثیر معنی داری ( $P \leq 0.01$ ) بر ارتفاع گیاهچه‌های کوشیا داشتند (جدول ۲) و با افزایش غلظت قارچ کش‌ها از صفر به ۱۰ و ۲۰ میلی گرم در لیتر ارتفاع بوته به ترتیب ۱۱/۷ و ۲۰/۱ درصد کاهش یافت (جدول ۲).

تریازول‌ها سبب تحریک گروهی از واکنش‌های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در گیاهان می‌گردند. برخی از این واکنش‌ها شامل کاهش طول شدن ساقه، تحریک رشد ریشه و افزایش محتوی کلروفیل می‌باشد. این ترکیبات همچنین سبب تغییر در بیوسنتز جیبرلین و وضعیت کربوهیدرات‌ها در گیاهان گردیده و مقاومت به تنش‌ها را افزایش می‌دهند. آنها همچنین سبب تأخیر در پیری، افزایش سنتز سیتوکینین و افزایش موقت سنتز اسید آبسزیک می‌گردند (۲).

اثر متقابل قارچ کش و دما بر ارتفاع گیاه معنی دار ( $P \leq 0.05$ ) بود. در شرایط کاربرد قارچ کش هگزاکونازول بیشترین ارتفاع بوته را گیاهان در دمای ۲- درجه سانتی گراد داشتند، در حالی که بیشترین



شکل ۵- اثر تریازول‌ها بر دمای کاهشدهنده ۵۰ درصد وزن خشک (RDMT<sub>50</sub>) گیاه کوشیا. براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪  
Figure 5- Triazoles effect on temperature decreasing at 50% dry matter (RDMT<sub>50</sub>) kochia plants. According to Duncan test at 5%

کوشیا مشاهده شد که استفاده از ۱۰ میلی گرم در لیتر هگزاکونازول سبب کاهش ۱۹/۳ درصدی وزن خشک گیاه نسبت به تیمار شاهد شد، در حالی که استفاده از ۱۰ میلی گرم در لیتر قارچ کش پنکونازول سبب کاهش ۲۶/۴ درصدی وزن خشک کوشیا شده است. نکته قابل توجه این است که کمترین وزن خشک گیاه در تیمار هگزاکونازول در غلظت ۱۰ میلی گرم در لیتر و در تیمار پنکونازول در تیمار ۲۰ میلی گرم در لیتر حاصل شده است (جدول ۳). اثر متقابل غلظت

میزان ماده خشک تولیدی سه هفته پس از بازیافت تحت تأثیر غلظت قارچ کش‌های مورد استفاده قرار گرفت (جدول ۲). بیشترین مقدار ماده خشک تولیدی در تیمار محلول پاشی بدون قارچ کش به دست آمد که اختلاف معنی داری ( $P \leq 0.01$ ) با غلظت‌های ۱۰ و ۲۰ میلی گرم در لیتر داشت، به طوری که میزان کاهش ماده خشک تولیدی در تیمارهای کاربرد قارچ کش ۳۰ درصد کمتر از شاهد بود (جدول ۲). در بررسی اثر متقابل نوع قارچ کش و غلظت آن بر وزن خشک

نتایج تحقیقات روی تریازول ها نشان داده است که این ترکیبات از فعالیت کاتورن اکسیداز جلوگیری می کنند، که این ماده نیز در مسیر سنتز جیبرلین موجب تبدیل آنت کاتورن به کائورونیک اسید می شود، بنابراین ترکیبات تریازول بیوسنتز جیبرلین را کاهش می دهند. همچنین تریازول ها با جلوگیری از بیوسنتز جیبرلین موجب افزایش بیوسنتز آبسسیک اسید می شوند که در نهایت کاهش رشد را در پی دارند (۲). این کاهش رشد در شرایط تنش سرما باعث می شود که سطح تماس گیاه با توده ی هوای سرد کاهش یابد و همچنین غلظت ترکیبات گیاه در حجم کمتری تجمع یابد که در نهایت افزایش تحمل به دماهایی پایین را افزایش می دهد.

قارچ کش و دما بر وزن خشک گیاهان معنی دار ( $P \leq 0.05$ ) بود. در گیاهان زنده کمترین وزن خشک گیاه در غلظت ۱۰ میلی گرم در لیتر، در دمای ۶- درجه سانتی گراد مشاهده شد که ۱۷/۱ درصد کمتر از تیمار شاهد بود، در حالی که کمترین وزن خشک گیاه در غلظت ۲۰ میلی گرم در لیتر، در دمای ۸- درجه سانتی گراد مشاهده شد که ۴۱/۹ درصد کمتر از تیمار شاهد بود. اثر کاربرد غلظت های مختلف قارچ کش هگزاکونازول و پنکونازول بر دمای کاهنده ۵۰ درصد وزن خشک معنی داری ( $P \leq 0.05$ ) نبود، با این وجود در تمامی غلظت های مورد استفاده، قارچ کش پنکونازول دمای کاهنده ۵۰ درصد وزن خشک کمتری نسبت به قارچ کش هگزاکونازول داشت (شکل ۶).

جدول ۳- اثر متقابل قارچ کش در غلظت و قارچ کش در دما بر درصد بقاء، ارتفاع و وزن خشک بوته کوشیا سه هفته پس از بازیافت

Table 3- The interaction of concentration in fungicides and fungicide in temperature on survival, height and plant dry weight kochia three weeks after recovery

قارچ کش Fungicide	غلظت Concentration (mg l <sup>-1</sup> )	وزن خشک Dry weight (g Plant <sup>-1</sup> )	ارتفاع بوته High plant (cm)	درصد بقاء Survival%
هگزاکونازول Hexaconazole	0	0.93 <sup>ab</sup>	18.6 <sup>a</sup>	80.0 <sup>a</sup>
	10	0.75 <sup>bc</sup>	17.1 <sup>a</sup>	80.0 <sup>a</sup>
	20	0.87 <sup>ab</sup>	17.6 <sup>a</sup>	71.6 <sup>a</sup>
پنکونازول Penconazole	0	1.06 <sup>a</sup>	19.7 <sup>a</sup>	80.0 <sup>a</sup>
	10	0.78 <sup>b</sup>	16.7 <sup>a</sup>	73.3 <sup>a</sup>
	20	0.55 <sup>c</sup>	13.0 <sup>a</sup>	80.0 <sup>a</sup>
دما (°C) Temperature				
هگزاکونازول Hexaconazole	0	1.20 <sup>a</sup>	22.6 <sup>a</sup>	100.0 <sup>a</sup>
	-2	1.03 <sup>a</sup>	27.7 <sup>a</sup>	97.2 <sup>a</sup>
	-4	1.21 <sup>a</sup>	23.6 <sup>a</sup>	100.0 <sup>a</sup>
	-6	0.80 <sup>a</sup>	14.7 <sup>a</sup>	88.9 <sup>a</sup>
	-8	0.00 <sup>b</sup>	0.0 <sup>b</sup>	0.00 <sup>b</sup>
پنکونازول Penconazole	0	1.01 <sup>a</sup>	20.4 <sup>a</sup>	88.9 <sup>a</sup>
	-2	1.02 <sup>a</sup>	21.2 <sup>a</sup>	100.0 <sup>a</sup>
	-4	1.05 <sup>a</sup>	23.1 <sup>a</sup>	100.0 <sup>a</sup>
	-6	0.91 <sup>a</sup>	17.7 <sup>a</sup>	100.0 <sup>a</sup>
	-8	0.00 <sup>b</sup>	0.0 <sup>b</sup>	0.0 <sup>b</sup>

میانگین های دارای حروف مشابه مربوط به هر تیمار در هر ستون، براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی داری ندارند.

Means with the same letters of each group in each column, according to Duncan test at 5%, no significant difference

غلظت کارتنوئیدها در برگ کوشیا می شود (شکل ۷).

اثر غلظت های مختلف قارچ کش های هگزاکونازول و پنکونازول بر کل رنگدانه های فتوسنتزی حاکی از عدم تأثیر معنی دار این تیمارها بود با این وجود میزان کل رنگدانه ها در قارچ کش هگزاکونازول بیشتر از پنکونازول بود (جدول ۲، ۴، ۵ و شکل ۱۱).

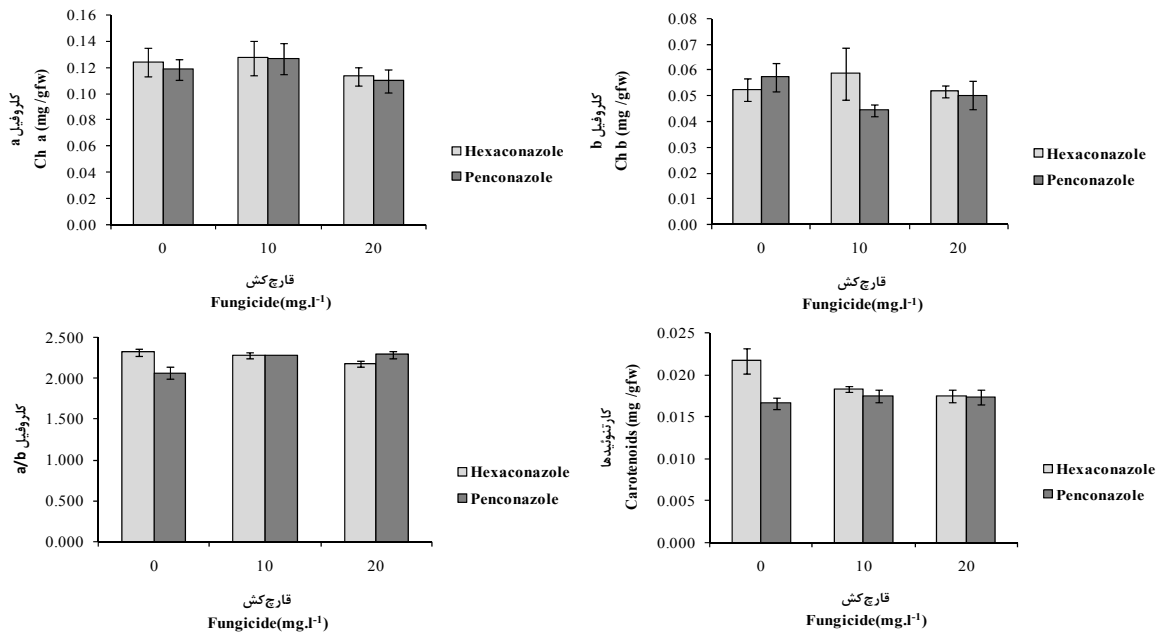
نتایج مطالعات پیشین حاکی از افزایش میزان رنگدانه ها مانند کلروفیل، کارتنوئیدها، زانتوفیل ها و آنتوسیانین ها در نتیجه کاربرد تریازول ها از جمله هگزاکونازول بود (۱ و ۹)، از طرف دیگر کاهش میزان فتوسنتز و رشد در نتیجه کاربرد تریازول ها گزارش شده است (۴). در این آزمایش تنها نسبت کلروفیل a به کلروفیل b و مقدار کارتنوئیدها تحت تأثیر قارچ کش های هگزاکونازول و پنکونازول قرار گرفت و احتمالاً همانند نتایج بیشت و همکاران (۴) کاهش میزان

**رنگدانه های فتوسنتزی:** کاربرد قارچ کش های هگزاکونازول و

پنکونازول و همچنین غلظت های مختلف آنها بر رنگدانه های فتوسنتزی کوشیا حاکی از عدم تأثیر معنی دار آنها بر میزان کلروفیل a و کلروفیل b بود (جدول ۴). با این وجود غلظت کلروفیل a و b در شرایط کاربرد قارچ کش هگزاکونازول بیشتر از پنکونازول بود (جدول ۵، شکل ۷). نسبت کلروفیل a به کلروفیل b در دو قارچ کش مورد استفاده رفتار متفاوتی نشان داد، به طوری که با افزایش غلظت کاربرد قارچ کش هگزاکونازول این نسبت کاهش و در مقابل با افزایش غلظت کاربرد قارچ کش پنکونازول این نسبت افزایش یافت (شکل ۷). بررسی اثر نوع و غلظت قارچ کش ها از نظر غلظت کارتنوئیدها نشان داد که افزایش غلظت هر دو قارچ کش موجب کاهش معنی دار

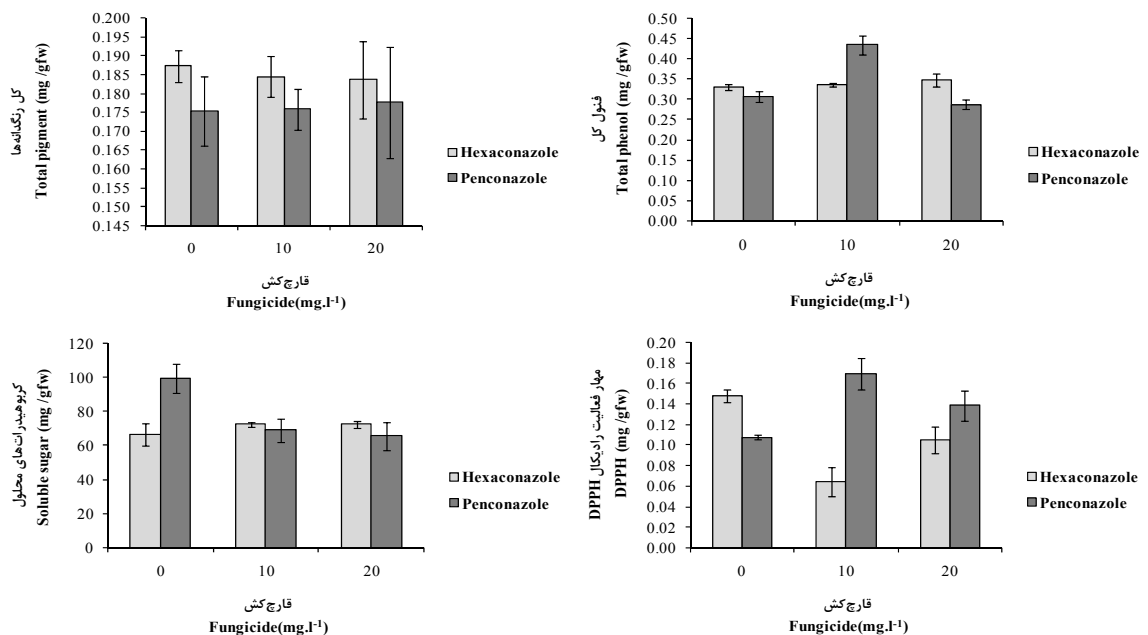


فتوستتز موجب کاهش ماده خشک تولیدی شده است.



شکل ۶- اثر غلظت‌های مختلف هگزاکونازول و پنکونازول بر میزان کلروفیل a، کلروفیل b، نسبت کلروفیل a/b و مقدار کارتنوئیدها در کوشیا. خطوط عمودی نشان‌دهنده میانگین  $\pm$  خطای استاندارد است

Figure 6- The effect of different concentrations of hexaconazole and penconazole on chlorophyll a, chlorophyll b, a/b and carotenoids content in Kochia. Vertical lines indicate the standard error values



شکل ۷- اثر غلظت‌های مختلف قارچ‌کش‌های هگزاکونازول و پنکونازول بر کل رنگدانه‌های فتوسنتزی، میزان فنل، کربوهیدرات‌های محلول و فعالیت مهار رادیکال DPPH کوشیا. خطوط عمودی نشان‌دهنده میانگین  $\pm$  خطای استاندارد است

Figure 7- The effect of hexaconazole and penconazole on total photosynthetic pigments, phenol, soluble sugar and DPPH in Kochia. Vertical lines indicate the standard error values



نمود، اما کاهش دما به پایین تر از ۴- درجه سانتی‌گراد سبب افزایش شدیدی در درصد نشت الکترولیت‌ها گردید. همچنین افزایش غلظت قارچ‌کش‌های هگزاکونازول و پنکونازول از صفر به ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر موجب کاهش میزان نشت الکترولیت‌ها شد. همچنین محلول‌پاشی ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر از قارچ‌کش‌های پنکونازول و هگزاکونازول موجب شد که درصد نشت الکترولیت‌ها با کاهش دما تا ۶- درجه سانتی‌گراد روند افزایشی نداشته باشد. بنابراین کاربرد این قارچ‌کش‌ها به صورت محلول‌پاشی قبل از وقوع تنش یخ‌زدگی موجب افزایش ۲- درجه سانتی‌گراد در تحمل به یخ‌زدگی کوشیا (از نظر شاخص نشت الکترولیت‌ها) شده است. بررسی همبستگی بین نشت الکترولیت‌ها با سایر صفات حاکی از رابطه منفی و معنی‌دار ( $P \leq 0.01$ ) بین این خصوصیت با وزن خشک و ارتفاع بوته بود (جدول ۶). افزایش نشت الکترولیت‌ها از غشاء سلول موجب مختل شدن فیزیولوژی رشد گیاه شده و امکان رشد طبیعی و تولید زیست توده را از گیاه سلب می‌کند (۳۵). در این آزمایش مشاهده شد که رابطه نشت الکترولیت‌ها تحت تأثیر دماهای یخ‌زدگی با میزان کارتنوئیدها در کوشیا مثبت و معنی‌دار ( $P \leq 0.01$ ) بود (جدول ۶). تولید کارتنوئید در شرایط تنش‌های محیطی به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدانت می‌تواند گیاه را در برابر صدمات احتمالی تا حدی محافظت کند (۲۸).

دماهای یخ‌زدگی تأثیر معنی‌داری بر درصد بقاء، ارتفاع و وزن خشک گیاهان داشتند و کاهش دما منجر به کاهش صفات فوق شد. ارتفاع و وزن خشک گیاهان نیز تحت تأثیر غلظت قارچ‌کش قرار گرفت و با افزایش غلظت قارچ‌کش این صفات کاهش یافتند. در این مطالعه همبستگی منفی و معنی‌داری ( $P \leq 0.01$ ) بین درصد نشت الکترولیت‌ها و درصد بقاء گیاهان وجود داشت (جدول ۶). به عبارت دیگر با افزایش درصد نشت الکترولیت‌ها، درصد بقاء گیاهان کاهش یافته است. با وجود این و هرچند محلول‌پاشی تریازول‌ها قبل از تنش یخ‌زدگی سبب کاهش  $LT_{50}$  گردید ولی درصد بقاء تحت تأثیر تریازول‌ها قرار نگرفت. همبستگی تریازول‌ها با پایداری غشاء در آزمایش‌های پیشین توسط فلتچر و همکاران (۱۰) گزارش شده بود. همچنین گیی و همکاران (۱۳) گزارش کردند که تیمار بوته‌های هویج با تریازول‌ها مخصوصاً هگزاکونازول و پاکلوبوترازول نشت الکترولیت‌ها را حدود ۲۰ درصد کاهش می‌دهد. تریازول‌ها بیوسنتز استرول را دگرگون کرده و تجمع آن را در غشاء پلاسمایی تغییر می‌دهد (۳۰). این تغییر در تجمع استرول تغییرات زیادی در غشاء سلول ایجاد کند که ممکن است نتیجه آن افزایش پایداری غشاء باشد (۳۰). در مطالعه حاضر نشت الکترولیت‌ها بلافاصله پس از اعمال تنش یخ‌زدگی و درصد بقاء سه هفته پس از بروز تنش یخ‌زدگی اندازه‌گیری شد و لذا هرچند ممکن است کاربرد تریازول‌ها در ابتدا بر کاهش درصد نشت الکترولیت‌ها تأثیر مثبت داشته است، ولی درصد

بررسی غلظت ترکیبات فنلی در کوشیا نشان داد مقدار این ترکیبات با افزایش غلظت قارچ‌کش هگزاکونازول افزایش یافت اما این افزایش از نظر آماری معنی‌داری نبود. در مقابل تیمار کاربرد قارچ‌کش پنکونازول در غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر بیشترین میزان ترکیبات فنلی را تولید کرد (شکل ۸).

ترکیبات فنل‌ها در برابر تنش‌های محیطی سرما و گرما مکانیزم‌های حفاظتی برای گیاهان ایجاد می‌کنند این ترکیبات دسته‌ای از مواد آنتی‌اکسیدانتی هستند که در کاهش اثرات تنش‌های محیطی در سلول نقش دارند (۲۹). افزایش این ترکیبات با کاربرد تریازول‌ها می‌تواند در بهبود مکانیزم‌های تحمل به دمای گیاهان مؤثر باشد.

میزان کربوهیدرات‌های محلول با افزایش غلظت قارچ‌کش هگزاکونازول روند صعودی داشت، با این وجود اختلاف بین غلظت‌های مختلف در این قارچ‌کش معنی‌دار نبود، در مقابل میزان کربوهیدرات‌های محلول در تیمار کاربرد قارچ‌کش پنکونازول روند نزولی نشان داد، به طوری که این صفت در تیمار عدم کاربرد قارچ‌کش پنکونازول نسبت به تیمارهای ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر ۳۰ و ۳۴ درصد کاهش یافت (جدول ۵ و شکل ۸).

تریازول‌ها موجب افزایش سنتز نشاسته و دیگر کربوهیدرات‌ها شده و آنزیم‌های متابولیسم کربوهیدرات‌ها را فعال می‌کنند به طوری که می‌توان با استفاده از تریازول‌ها به‌طور معنی‌داری میزان تولید و کیفیت غده را در گیاهان غده‌ای مانند کاساوا افزایش داد (۱۲). با توجه به اینکه گزارش شده است که وظایف کربوهیدرات‌ها در گیاه شامل، حفاظت اسمزی و بعضی از آنها مانند قندهای الکلی مهار صدمات ناشی از رادیکال‌های فعال اکسیژن مانند رادیکال‌های سوپر اکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های هیدروکسیل به پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و غشاء لیپیدها می‌باشد (۱۷)، بنابراین کاربرد تریازول‌ها می‌تواند موجب کاهش خسارات ذکر شده ناشی از سرما باشد.

میزان فعالیت مهار رادیکال DPPH در گیاهان تیمار شده با قارچ‌کش پنکونازول ۲۴ درصد بیشتر از قارچ‌کش هگزاکونازول بود و اختلاف آنها معنی‌داری بود (جدول ۵). برهمکنش قارچ‌کش‌های هگزاکونازول و پنکونازول در غلظت‌های مختلف نشان داد که کاربرد غلظت‌های مختلف قارچ‌کش‌ها موجب تغییر معنی‌دار فعالیت مهار رادیکال DPPH شد. فعالیت مهار رادیکال DPPH در این قارچ‌کش‌ها کاملاً متفاوت بود به طوری که بیشترین و کمترین فعالیت مهار رادیکال DPPH به ترتیب در قارچ‌کش پنکونازول و هگزاکونازول در غلظت ۱۰ میلی‌گرم مشاهده شد (شکل ۸).

به‌طور کلی نتایج این آزمایش نشان داد که تغییرات درصد نشت الکترولیت‌ها با کاهش دما از صفر تا ۴- درجه سانتی‌گراد معنی‌داری

بقاء و صفات مرتبط با رشد مجدد را تحت تأثیر قرار نداده است.

جدول ۶- ضرایب همبستگی صفات انداز: گیری در گیاه کوشیا تحت تأثیر غلظت‌های مختلف قارچ‌کش‌های هگزاکونازول و پنکونازول  
Table 6- Correlation coefficient of hexaconazole and penconazole

	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1
1. ارتفاع بوته High plant	0.02	0.11	0.01	** -0.69	** -0.69	-0.08	0.09	0.09	-0.13	-0.03	** 0.87	0.12	** -0.80	** -0.80	1
2. وزن خشک Dry weight	0.05	0.10	0.01	-0.63**	-0.63**	-0.02	-0.04	-0.07	-0.10	-0.09	** 0.78	0.26**	0.71**	1	
3. نشت الکترولیتها Electrolyte leakage	0.02	0.04	-0.04	0.79**	0.79**	-0.06	0.04	0.02	-0.06	0.02	0.84**	0.12	1		
4. $LT_{50 Le}$	0.25*	0.13	-0.03	0.01	0.01	-0.20	0.05	-0.07	-0.12	-0.20	0.01	1			
5. بقاء Survival	-0.04	0.04	-0.07	-0.66**	-0.66**	-0.03	0.03	0.03	-0.06	0.01	1				
6. $LT_{50 su}$	0.25*	0.09	-0.08	0.01	0.01	-0.04	0.06	0.05	-0.10	1					
7. RDMT50	-0.01	-0.45**	0.05	0.01	0.01	0.08	-0.02	0.02	1						
8. کلروفیل a Cha a	-0.28**	-0.25*	-0.09	0.02	0.01	-0.70**	0.95**	1							
9. کلروفیل b Chb b	-0.019	-0.38**	-0.05	0.02	0.01	-0.88**	1								
10. کلروفیل a/b Cha/Chb a/b	0.02	0.45**	0.03	-0.01	0.01	1									
11. کاروتنوئیدها Carotenoids	0.01	0.01	0.01	1.00**	1										
12. مجموع رنگدانه‌ها Total pigment	0.01	-0.01	0.01	1											
13. فنل کل Total phenol	0.53**	-0.18	1												
14. کربوهیدراتها Soluble sugar	-0.27**	1													
15. DPPH	1														

\* and \*\* significant at 0.05 and significant at 0.01 respectively

\*\* و \*\*\* به ترتیب معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ و ۰/۰۱

گیاهان طیف وسیعی از تنش‌های محیطی را که نهایتاً منجر به بروز تنش اکسیداتیو می‌شود را درک می‌کنند. مکانیسم تحمل در برخی از تنش‌ها به صورت یک ارتباط درونی و نتیجه یک برنامه‌ریزی هماهنگ و پیچیده است. در شرایط تنش عدم توازن بین فرآیند جذب انرژی و مصرف آن توسط اندام فتوسنتزی باعث تولید گونه‌های اکسیژن فعال و ناتوانی گیاه در مهار آن می‌گردد که در نهایت منجر به بروز تنش در غشاهای سلول و بروز علائم ناشی از صدمات اکسیداتیو می‌شود (۶). افزایش میزان رادیکال‌های فعال اکسیژن در گیاه باعث می‌شود که برای کاهش اثرات سمی تنش اکسیداتیو ناشی از تنش‌های محیطی، مکانیسم‌های متنوعی در گیاه فعال شود. در این شرایط میزان آنتی‌اکسیدانت‌ها افزایش یافته و آنزیم‌های مهارکننده گونه‌های اکسیژن فعال در جهت کاهش اثرات ناشی از تنش اکسیداتیو حاصل از تنش‌های محیطی، افزایش پیدا می‌کنند. در این مطالعه بین آنتی‌اکسیدان مهار فعالیت رادیکال DPPH و  $LT50_{Le}$  و

این مطلب می‌تواند بیان‌کننده این واقعیت باشد که دماهای یخ‌زدگی در گیاه کوشیا، افزایش میزان نشت الکترولیت‌ها را در پی دارد و متعاقب آن در نتیجه تولید رادیکال‌های آزاد در اثر نشت الکترولیت‌ها، گیاه مجبور به واکنش شده و میزان آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند مهار فعالیت رادیکال DPPH را افزایش می‌دهد. در ارتباط با اثر تریازول‌ها بر کاهش اثر اکسیدکننده‌ها گزارشات متعددی موجود می‌باشد (۱۹) و (۳۲). در این مطالعه تنها کاربرد قارچ‌کش پنکونازول (با افزایش غلظت کاربرد آن) سبب افزایش میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانتی در گیاه شده است. بنابراین در صورت کاربرد این ترکیبات قبل از وقوع تنش‌هایی مانند سرما می‌توان انتظار داشت که گیاهان نسبت به تنش اکسیداتیو که معمولاً بعد از تنش سرما اتفاق می‌افتد متحمل شوند.

## References

1. Abdul Jaleel, C., Gopi, R., and Panneerselvam, R. 2008. Growth and photosynthetic pigments responses of two varieties of *Catharanthus roseus* to triadimefon treatment. *Comptes Rendus Biologies* 331: 272-277.
2. Abdul Jaleel, C., Manivannan, P., Sankar, B., Kishorekumar, C. A., Gopi, R., Somasundaram, R., and Panneerselvam, R. 2007. Induction of drought stress tolerance by ketoconazole in *Catharanthus roseus* is mediated by enhanced antioxidant potentials and secondary metabolite accumulation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 60: 201-206.
3. Azizi, H., Nezami, A., Nasiri Mahalati, M., and Khazaie, H. R. 2007. Evaluation of cold tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars under controlled conditions. *Iranian Journal of Field Crops Research* 1: 1-12. (in Persian with English abstract).
4. Bisht, R., Singariya, P., Mathur, N., and Bohra, S. P. 2007. Triazoles: Their effects on net photosynthetic rate, transpiration rate and stomatal resistance in *Setaria italica* plants grown *in vivo*. *Asian Journal of Experimental Sciences* 21: 271-276.
5. Blum, A. 1988. *Plant breeding for stress environments*. CRC Press, Inc., Boca Raton, FL.
6. Boughanmi, N., Michonneau, P., Verdus, M. C., Piton, F., Ferjani, E., Bizid, E., and Fleurat-Lessard, P. 2003. Structural changes induced by NaCl in companion and transfer cells of *Medicago sativa* blades. *Protoplasma* 220: 179-187.
7. Dubey, R. S. 1997. Photosynthesis in plants under stressful conditions. In: Pessaraki, M (Eds.) *Hand book of Photosynthesis*. Marcel Dekker Inc, New York.
8. 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.
9. Fletcher, R., and Hofstra, G. 1988. Triazoles as potential plant protectants. In: *Sterol synthesis inhibitors in plant protection*. Eds D. Berg, M. Plempel, Cambridge, Ellis Horwood Ltd, 321-331.
10. Fletcher, R. A., Gilley, A., Davis, T. D., and Sankhla, N. 2000. Triazoles as plant growth regulators and stress protectants. *Horticultural Reviews* 24: 55-138.
11. Fowler, D. B., and Gusta, L. V. 1979. Selection for winter hardiness in wheat. I. Identification of genotypic variability. *Crop Science* 19: 769-772.
12. Gomathinayagam, M., Jaleel, C. A., Lakshmanan, G. M. A., and Panneerselvam, R. 2007. Changes in carbohydrate metabolism by triazole growth regulators in cassava (*Manihot esculenta* Crantz); effects on tuber production and quality. *Comptes Rendus Biologies* 330: 644-655.
13. Gopi, R., Jaleel, C. A., Sairam, R., Lakshmanan, G. M. A., Gomathinayagam, M., and Panneerselvam, R. 2007. Differential effects of hexaconazole and paclobutrazol on biomass, electrolyte leakage, lipid peroxidation and antioxidant potential of *Daucus carota* L. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 60: 180-186.
14. Gusta, L. V., Fowler, D. B., and Tyler, N. J. 1982. Factors influencing hardening and survival in winter wheat. In: *Plant cold hardiness and freezing stress - mechanisms and crop implications*, Vol. 2, In. Li P.H. and Sakai A.

- (Eds.). Academic Press, New York, 23-40.
15. 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.
  16. Hana, B., and Bischofa, J. C., 2004. Direct cell injury associated with eutectic crystallization during freezing. *Cryobiology* 48: 8-21.
  17. Hasegawa, P. M., Bressan, R. A., Zhu, J. K., and Bohnert, H. J. 2000. Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 51: 463-499.
  18. Jami Al Ahmadi, M., and Kafi, M. 2008. *Kochia (Kochia scoparia)*: To be or not to be? In: Crop and forage production using saline waters, In: Kafi M. and Khan M.A. (Eds.). NAM S&T Centre. Daya Publisher, New Delhi.
  19. Kraus, T.E., and Fletcher, R. A. 1994. Paclobutrazol protects wheat seedlings from heat and paraquat injury. Is detoxification of active oxygen involved? *Plant Cell Physiology* 35: 45-52.
  20. Kraus, T. E., Evans, R. C., Fletcher, R. A., and Pauls, K. P. 1995. Paclobutrazol enhances tolerance to increased levels of UV-B radiation in soybean (*Glycine max*) seedlings. *Canadian Journal of Botany* 73: 797-806.
  21. Murry, G. A., Eser, D., Gusta, L. V., and Eteve, G. 1988. Winter hardiness in pea, lentil, faba bean and chickpea. In Summerfield, R.J. (Eds.), *World Crops Cool Season Food Legumes*. Kluwer Academic Publishers. The Netherlands. pp. 831-843.
  22. Nabati, J. 2009. Effect of salinity on physiological characteristics and qualitative and quantitative traits of forage *Kochia (Kochia scoparia)*. PhD Thesis. Ferdowsi University of Mashhad. (in Persian with English abstract).
  23. Nayyar, H., Bains, T. S., and Kumar, S. 2005. Chilling stressed chickpea seedlings: effect of cold acclimation, calcium and abscisic acid on cryoprotective solutes and oxidative damage. *Environmental and Experimental Botany* 54: 275-285.
  24. Nezami, A., Borzooei, A., Jahani, M., Azizi, M., and Sharif, A. 2007. Electrolyte leakage as an indicator of freezing injury in colza (*Brassica napus* L.). *Iranian Journal of Field Crops Research* 5: 167-175. (in Persian with English abstract).
  25. Nezami, A., Nabati, J., Borzooei, A., Kamandi, A., Masomi, A., and Salehi, M. 2010. Evaluation of freezing tolerance in barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars at seedling stage under controlled conditions. *Environmental Stresses in Crop Sciences* 3: 9-22. (in Persian with English abstract).
  26. Nezami, A., Solimani, M. R., Ziaee, M., Ghodsi, M., and Bannayan Aval, M. 2010. Evaluation of freezing tolerance of hexaploid triticale genotypes under controlled conditions. *Notulae Scientia Biologicae* 2: 114-120.
  27. Paliyath, G., and Fletcher, R. A. 1995. Paclobutrazol treatment alters peroxidase and catalase activities in heat-stressed maize coleoptiles. *Physiology and Molecular Biology of Plants* 1: 171-178.
  28. Rainha, N., Lima, E., Baptista, J., and Rodrigues, C. 2011. Antioxidant properties, total phenolic, total carotenoid and chlorophyll content of anatomical parts of *Hypericum foliosum*. *Journal of Medicinal Plant Research* 5: 1930-1940.
  29. Rivero, R. M., Ruiz, J. M., Garcia, P. C., Lopez-Lefebvre, L. R., Sanchez, E., and Romero, L. 2001. Resistance to cold and heat stress: Accumulation of phenolic compounds in tomato and watermelon plants. *Plant Science* 160: 315-321.
  30. Sailerova, E., and Zwiazek, J. J. 1997. Early effect of triadimefon on water relations, sterol composition and plasma membrane ATPase activity in white spruce (*Picea glauca*) needles. *Physiologia Plantarum* 97: 747-753.
  31. Sakai, A., and Larcher, W. 1987. Frost survival of plants: Responses and adaptation to freezing stress. Springer-Verlag, Berlin.
  32. Senaratna, T., Mackay, C., McKersie, B., and Fletcher, R. 1988. Uniconazole-induced chilling tolerance in tomato and its relationship to antioxidant content. *Journal of Plant Physiology* 133: 56-61.
  33. Shashikumar, K., and Nus, J. L. 1993. Cultivar and winter cover effects on Bermudagrass cold acclimation and crown moisture content. *Crop Science* 33: 813-817.
  34. Upadhyaya, A., Davis, T., Walser, R., Galbraith, A., and Sankhla, N. 1989. Uniconazole-induced alleviation of low temperature damage in relation to antioxidant activity. *Horticultural Science* 24: 955-957.
  35. Zhang, Q., Fry J., Rajashekar, C., and Bremer, D. 2009. Membrane polar lipid changes in *Zoysiagrass rhizomes* and their potential role in freezing tolerance. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 134:322-328.



## Effect of Hexaconazole and Penconazole on Kochia (*Kochia scoparia*) Freezing Tolerance

A. Kamandi<sup>1</sup>- M. Kafi<sup>2</sup>- A. Nezami<sup>2</sup>- J. Nabati<sup>3\*</sup>

Received: 06-05-2013

Accepted: 19-09-2015

### Introduction

Cold and freezing are the most important limiting factors on development of sensitive plants. When the ambient temperature deviates from optimal, physiological, and biochemical, metabolic and molecular changes will occur within plants. This is an effort of plants to maximize growth and developmental processes and to maintain cellular homeostasis during such adverse conditions. At the extremes of the natural temperature range of plant, the degree of physiological, cellular, metabolic and molecular dysfunction becomes so severe that it leads to death. Triazoles are the most potent groups of growth retardants with multiple effects. Plant growing with paclobutrazol generally has little effect on rates of net photosynthetic rate. However, because the compound reduces leaf area, net photosynthesis on a per plant basis is probably reduced. They have exhibited growth regulating, fungicidal, herbicidal, apicidal and antibacterial activities. More recently, it was found that triazole compounds are able to increase tolerance of plants to cold and freezing stress. Kochia (*Kochia scoparia* (L.) Schrad.), an out crossing species whose pollen move between plants in windy areas, has recently been considered as a forage or fodder crop in marginal lands. Steppuhn and Wall (1993) claimed that Kochia offers great potential as a crop that can be grown on saline soils, yielding fodder in quantities approaching that produced by alfalfa (*Medicago sativa* L.). Shamsutdinov *et al.* (1996) also reported more than 15 Mg ha<sup>-1</sup> dry-matter production for Kochia under saline conditions and concluded that it is a good candidate for forage hay. Thus, the aim of the present study was to determine whether the triazole compounds could increase tolerance of kochia against freezing stress.

### Materials and Methods

An experiment was carried out with hexaconazole and penconazole in 0, 10 and 20 mg.L<sup>-1</sup> and freezing temperatures 0, -2, -4, -6 and -8 degree centigrade in factorial based on CRBD with three replications at research greenhouse of college of agriculture, Ferdowsi University of Mashhad in 2009. Plants were kept in natural condition until three weeks after planting, which in this stage they had three leaves, and then treated with fungicide. After 24 hours plants were frozen in thermo gradient freezer, in the dark. At first, the temperature of thermo gradient freezer was five degrees centigrade, and then temperature decreased two degree centigrade per hour. In order to make ice nucleation in plant at -3-degree centigrade ice nucleation active bacteria was sprayed. Plants were keeping an hour in each temperature treatment. In order to balance the ambient temperature, the plants are kept at the desired temperature for one hour and then the pots transport in a cold chamber at a temperature of 5 ± 2°C for 24 hours. The cell membrane stability was measured through electrolyte leakage (EL) and the lethal temperature 50 (LT<sub>50el</sub>) (according to EL) also were determined in the youngest developed leaf from each plant. The electrolyte leakage in the solution was measured after 24 h of floating at room temperature using a conductivity meter. Total conductivity was obtained after keeping the flasks in an oven (75°C) for 90 minutes. Results were expressed as percentage of total conductivity. Survival percentage, plant height, dry weight and (LT<sub>50su</sub>) (according to survival) were determined after three weeks recovery in the natural condition. The data were analyzed statistically using a two-way ANOVA, applied to the various measured and calculated parameters, followed by a Duncan test for mean comparison between treatments at a 95 % confidence level by MSTAT-C program.

### Results and Discussion

The results showed that increase of fungicide concentration by 10 and 20 mg.L<sup>-1</sup> higher than control decreased electrolyte leakage but, electrolyte leakage build-up with decrease freezing temperature. Fungicide application increased -2 °C freezing tolerance in kochia. Increasing fungicide concentration in 10 and 20 mg.L<sup>-1</sup>

1- Ph.D. in agronomy Ferdowsi University of Mashhad

2- Professor, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad

3- Assistant Professor, Research Center for Plant Sciences, Ferdowsi University of Mashhad

(\*- Corresponding Author Email: jafarnabati@ferdowsi.um.ac.ir)

than control causes decreased  $LT_{50_{el}}$  from -5.9 to -7.2. Application of triazoles responsible of reduced electrolyte leakage but they did not effect on survival. The use of different concentrations of fungicides hexaconazole and penconazole of photosynthetic pigments in Kochia showed no significant effect. However, the concentration of chlorophyll a and b in the use of fungicides hexaconazole was more than penconazole.

### **Conclusions**

Triazole application initially had a positive effect on the reduction of electrolyte leakage, but survival and re-growth did not affect. Generally, the use of Triazoles compounds prior to stresses such as cold, could expect the plants can tolerate oxidative stress, which usually occurs after cold stress.

**Keywords:** Cold, Electrolyte leakage, Lethal temperature 50, Triazole