نشریه پژوهشهای زراعی ایران
جلد ۱۵، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۶، ص. ۳۸۸-۳۸۰

Iranian Journal of Field Crops Research
Vol. 15, No. 2, Summer. 2017, p. 380-388

ارزیابی تحمل به سرمازدگی و یخزدگی گیاه مهاجم گل‌گندم (*Centaurea balsamita*) خوسرمایی شده با شرایط بهاره

عباس عباسیان[۱]- قربانعلی اسدی[۲*]- رضا قربانی[۳]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۸/۱۹
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۴/۱۵

چکیده

به‌منظور ارزیابی تحمل گیاه مهاجم گل‌گندم خوسرمایی شده با شرایط بهاره به تنش سرمازدگی و یخزدگی مطالعاتی به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی در آزمایشگاه تحقیقاتی علف‌های‌هرز دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۱۳۹۳ اجرا شدند. گیاه مهاجم گل‌گندم در معرض ده دمای سرمازدگی و یخزدگی (۴، ۲، ۰، ۲-، ۴-، ۶-، ۸-، ۱۰-، ۱۲- و ۱۴- درجه سانتی‌گراد) در دو مرحله رشدی (۲ تا ۴ برگی و ۴ تا ۸ برگی) قرار گرفتند. گیاهان تا مرحله ۲ تا ۴ برگی و نیز ۴ تا ۸ برگی در محیط طبیعی نگهداری شده و پس از گذرانیدن دوره خوسرمایی در فروردین ماه، با استفاده از فریز ترموگرادیان، تحت تیمارهای یخزدگی قرار گرفتند. میزان پایداری غشاء سیتوپلاسمی گل‌گندم مورد مطالعه با استفاده از آزمون نشت الکترولیت‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت، سپس دمای کشنده ۵۰ درصد نمونه‌ها بر اساس درصد نشت الکترولیت‌ها (LT_{50el}) تعیین گردید. درصد بقاء نیز با شمارش تعداد بوته زنده در هر گلدان مورد ارزیابی قرار گرفت. سپس دمای کشنده برای ۵۰ درصد بقاء (LT_{50su}) و دمای کاهنده ۵۰ درصد وزن خشک ($RDMT_{50}$) در پایان دوره بازیافت (سه هفته بعد از اعمال تیمار یخزدگی) تعیین شد. نتایج نشان داد کاهش دما از ۶- به ۸- $^{\circ}C$ سبب کاهش معنی‌دار ($P\leq ۰/۰۵$) زیست‌توده و درصد بقاء و همچنین افزایش معنی‌دار ($P\leq ۰/۰۵$) نشت الکترولیت‌ها در گل‌گندم شد. نتایج نشان داد تحمل به سرمای گل گندم در مرحله ۲ تا ۴ برگی کمتر از ۴ تا ۸ برگی بود. بر طبق نتایج آزمایش LT_{50el}، LT_{50su} و $RDMT_{50}$ گل‌گندم خوسرمایی شده با شرایط بهاره به‌ترتیب ۷/۰۵-، ۷/۶- و ۷/۱۵- $^{\circ}C$ تعیین شد.

واژه‌های کلیدی: بازیافت، دمای کاهنده ۵۰ درصد زیست توده، دمای کشنده ۵۰ درصد بقاء، دمای کشنده ۵۰ درصد نشت الکترولیت‌ها

مقدمه

گیاهان مهاجم یکی از مسائل مهم در شکل‌گیری آشفتگی‌های اکوسیستم و تهدیدی برای تنوع زیستی در قرن بیست و یکم می‌باشد. گونه‌های مهاجم به‌عنوان دومین تهدید بزرگ برای تنوع زیستی جهان پس از تخریب اکوسیستم به‌دست انسان شناخته می‌شوند. گونه‌های گیاهان مهاجم ساختار و کارکرد اکوسیستم را نیز تغییر می‌دهند و بر فراوانی و تنوع پوشش گیاهی بومی تأثیر می‌گذارند (Bethany *et al.*, 2010). گیاهان مهاجم به‌طور تصادفی یا عمدی به مناطق دیگر وارد و با تثبیت در محیط جدید باعث صدمه به اکوسیستم محلی و زیستگاه بومی می‌شوند. تأثیر گونه‌های بیگانه بر محیط زیست‌محلی شامل رقابت با گونه‌های محلی، تغییر فرآیندهای اکوسیستم، انقراض گونه‌های بومی باعث صدمه به اکولوژی محلی و ایجاد خسارت‌های اقتصادی می‌شود (Rife and Zeinali, 2003). گیاهان مهاجم اکوسیستم‌های طبیعی و مصنوعی کشاورزی و جنگل‌ها و مراتع را تهدید می‌کنند. در همین ارتباط میلیون‌ها هکتار از اراضی مجاور ایالات متحده آمریکا و هاوایی به‌وسیله گیاهان مهاجم به‌طور تغییرناپذیری دچار صدمه و تغییر شده‌اند، به‌طوری‌که طبق گزارشات در این ایالات‌ها بیش از ۱۲۰ بیلیون دلار در سال خسارت اقتصادی به‌وسیله گیاهان مهاجم وارد می‌شود (Carlson *et al.*, 2005).

گل‌گندم[۴]، گیاهی یکساله از خانواده آفتابگردان است که اراضی

۱- دانش‌آموخته دکتری، گروه زراعت (گرایش علوم علف‌های‌هرز)، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
۲- دانشیار، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
۳- استاد، گروه زراعت دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(*- نویسنده مسئول: (Email: Asadi@um.ac.ir
DOI: 10.22067/gsc.v15i2.51308

4- *Centaurea balsamita Syn. Stizolophus balsamita*

آیش و شیب‌دار را مورد تهاجم قرار می‌دهد. تکثیر این گیاه به‌وسیله بذر می‌باشد. این گیاه در کشورهای سوریه، ترکیه، ایران، افغانستان، آسیای مرکزی (ترکمنستان تا تیان‌شان) پراکنش دارد (Rechinger, Wagenitz, 2006; 1979).

از آن‌جایی که گسترش و توانایی رقابت گونه‌های مهاجم تحت تأثیر مستقیم عوامل اقلیمی و تنش‌های مربوطه است، ارزیابی تحمل نسبی گیاهان مهاجم به تنش‌ها، می‌تواند به‌عنوان شاخصی مهم در این ارتباط باشد. به همین جهت تنش سرما از مهم‌ترین تنش‌های غیرزیستی است که رشد و گسترش گیاهان مهاجم را تحت تأثیر قرار می‌دهد.

تحقیقات زیادی برای یافتن یک روش سریع و مؤثر جهت پیش‌بینی تحمل به سرمای گیاهان در شرایط مزرعه انجام شده است که با توجه به وجود نوسان در شرایط محیطی و خطاهای اجتناب ناپذیری از قبیل اثرات متقابل بیماری‌های گیاهی، پوسیدگی ناشی از رطوبت و پوشش برف و غیره، محققان از آزمون‌های یخزدگی در شرایط کنترل شده استفاده می‌کنند (Bridger *et al.*, 1996; Nezami *et al.*, 2007). در همین راستا گیاهان را در شرایط مزرعه و یا کنترل شده خوسرمایی[1] می‌کنند و سپس آنها را در معرض دماهای مختلف یخزدگی در آزمایشگاه قرار می‌دهند تا دمایی که سبب ۵۰ درصد مرگ و میر در گیاهان می‌شود را محاسبه نمایند (Bridger *et al.*, Azizi *et al.*, 2007; Anderson *et al.*, 1993; 1996; Nezami *et al.*, 2006).

غشای سیتوپلاسمی یکی از اولین محل‌های خسارت در اثر تنش یخزدگی است و میزان خسارت آن را می‌توان از طریق تراوش یونی بافت‌های خسارت دیده اندازه‌گیری کرد (Moorby, 1981)، لذا این صفت نیز به‌عنوان یکی از ملاک‌های ارزیابی تحمل به یخزدگی در گیاهان مورد استفاده قرار گرفته است و دمایی که سبب خروج ۵۰ درصد نشت الکترولیت‌ها از بافت‌های گیاهی می‌شود به‌عنوان دمای کشنده ۵۰ درصد گیاهان بر اساس نشت الکترولیت‌ها (LT_{50el}[2]) در نظر گرفته می‌شود. در این ارتباط گیاهانی که از حساسیت بیشتری به سرما برخوردار هستند خسارت بیشتری خواهند دید و تراوش یونی آن‌ها نیز معمولاً بیشتر خواهد بود (Nezami *et al.*, 2007). «شاخص بقاء مزرعه»[3] یکی از روش‌های مطالعه تحمل به سرما در گیاهان می‌باشد که توسط Fowler *et al,* (1981) ابداع گردید. در این روش با کاشت گیاهان مورد آزمایش در مزرعه و قرار دادن آنها در معرض سرما توانایی بقاء آنها را مورد ارزیابی قرار می‌دهند. تعیین دمایی که سبب ۵۰ درصد تلفات بقای گیاه شود (LT_{50su})[4] یکی از روش‌هایی است که توسط محققان مختلف به‌عنوان یک روش مناسب برای اندازه‌گیری مقاومت به سرما توصیه شده است. در این روش گیاهان در شرایط کنترل شده در معرض دماهای یخزدگی قرار می‌گیرند (Levitt, 1980) و بعد از اعمال یخزدگی به گلخانه منتقل شده و پس از گذراندن یک دوره بازیافت[5] که حدود ۳ تا ۴ هفته می‌باشد، منحنی درصد بقاء آن‌ها در برابر دماهای آزمایش ترسیم می‌شود و بر اساس دمایی که سبب ۵۰ درصد مرگ و میر در نمونه‌های گیاهی (Fowler *et al.*, 1981, Bridger *et al.*, 1996) و نیز دمایی که ۵۰ درصد بازدارندگی رشد ($RDMT_{50}$)[6] هر ژنوتیپ شده است تعیین می‌گردد (Nezami *et al.*, 2010; Rashed *et al.*, 2009).

با توجه به اینکه بر اساس بررسی‌های انجام شده در جهان تهدیدات ناشی از گیاهان مهاجم محرز شده است و از آنجایی که اغلب مطالعات مربوط به ارزیابی تحمل به یخزدگی و تنش سرما در گیاهان زراعی انجام شده است و اطلاعات اندکی در مورد بسیاری از گیاهان مهاجم موجود است، این بررسی به‌منظور ارزیابی تحمل گیاه مهاجم گل‌گندم خوسرمایی شده با شرایط بهاره به تنش سرمازدگی و یخزدگی با استفاده از آزمون بقاء انجام شد.

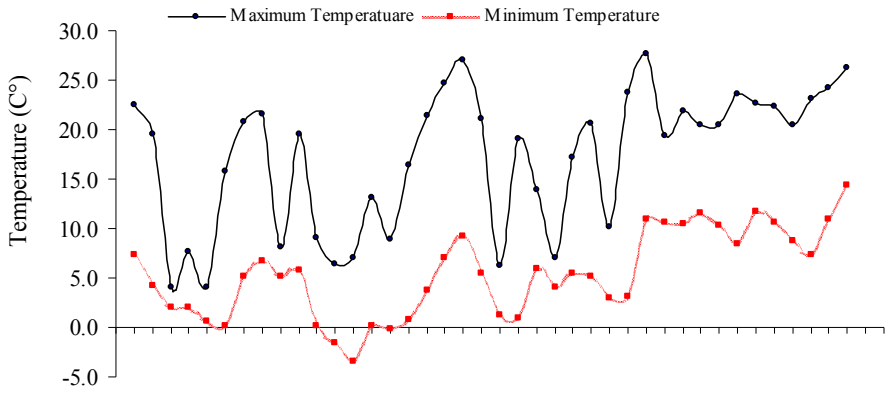
مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال ۱۳۹۳ در پردیس دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد اجرا شد. وضعیت درجه حرارت در طول دوره رشد گل‌گندم (از ۲۱ اسفند ۱۳۹۲ تا ۳۱ فروردین ۱۳۹۳) به‌صورت شکل ۱ بود.

مطالعه به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار انجام شد که عوامل مورد بررسی در آن شامل دما در ۱۰ سطح شامل (۴، ۲، صفر، ۲-، ۴-، ۶-، ۸-، ۱۰-، ۱۲- و ۱۴- درجه سانتی‌گراد) و مرحله رشدی در دو سطح ۲ تا ۴ برگی و ۴ تا ۸ برگی بودند. ابتدا بذور توسط محلول هیپوکلریت سدیم ۳٪ ضدعفونی و سپس به مدت ۳ روز در پتری دیش قرار داده شد تا جوانه‌دار شدند در مرحله بعد بذور جوانه‌دار شده درگلدان‌های پلاستیکی با قطر ۱۰ سانتی‌متر کشت و برای تطابق با سرما این گلدان‌ها تا مرحله ۲ تا ۴ و نیز ۴ تا ۸ برگی در شرایط طبیعی از ۲۱ اسفند ۱۳۹۲ تا ۳۰ فروردین ۱۳۹۳ نگهداری شده و پس از سپری شدن دوره خوسرمایی در این شرایط، با استفاده از فریزر ترموگرادیان، تحت تیمار یخزدگی قرار

1- Cold Acclimation
2- Lethal Temperature 50 according to the electrolyte leakage (LT50el)
3- Field Survival Index (FSI)
4- Lethal Temperature 50 according to Survival (LT50su)
5- Recovery
6- Reduced Dry Matter Temperature 50 (RDMT50)

گرفتند.



شکل۱- درجه حرارت حداقل و حداکثر روزانه طی دوره رشد گل‌گندم

Figure 1- The minimum and maximum daily temperature during growth stage of (*Centaurea balsamita)*

دمای فریزر در شروع آزمایش ۵ °C بود و پس از آن با ۲ °C در ساعت کاهش یافت تا به دمای مورد نظر در تیمارهای آزمایش رسید. پس از رسیدن به دمای مورد نظر نمونه‌ها به مدت یک ساعت در این دما نگهداری و سپس از فریزر خارج شده و به محیطی با دمای ۴ °C منتقل و به مدت ۲۴ ساعت در آنجا نگهداری شدند. به‌منظور ایجاد هستک یخ[1] در گیاهچه‌ها، در دمای ۳- °C محلول حاوی هستک یخ بر روی گیاهان به‌نحوی پاشیده شد که قشر نازکی از این محلول سطح گیاهان را بپوشاند.

برای اندازه‌گیری میزان نشت الکترولیت‌ها از هر گلدان در هر تیمار دمایی اندام‌های هوایی سه بوته گل گندم به‌همراه طوقه آنها به فاصله یک سانتی‌متری زیر طوقه جدا و پس از شستشو و جدا کردن خاک ریشه داخل ویال‌های حاوی ۱۰۰ میلی لیتر آب دو بار تقطیر شده قرار گرفته و به مدت شش ساعت در روی شیکر قرار داده شدند. پس از آن هدایت الکتریکی هر نمونه (میزان نشت الکترولیت‌ها) با استفاده از دستگاه EC متر اندازه‌گیری شد (EC_1). به‌منظور تعیین میزان کل نشت الکترولیت‌ها در اثر مرگ سلول، ویال‌ها به اتوکلاو با دمای ۱۱۰ °C و فشار ۱/۲ اتمسفر انتقال و به مدت ۳۰ دقیقه نگهداری شدند و پس از آن به مدت شش ساعت در روی شیکر قرارگرفته و هدایت الکتریکی آنها مجدداً اندازه‌گیری شد (EC_2). سپس درصد نشت الکترولیت‌ها با استفاده از معادله (۱) محاسبه شد.

(۱) درصد نشت الکترولیت‌ها = $(EC_1/EC_2)\times 100$

برای تعیین درصد بقا، بازیافت و رشد مجدد، پس از انتقال گیاهان تیمار شده به شاسی سرد دارای متوسط درجه حرارت ۲۵ °C منتقل و پس از سه هفته درصد بقاء و بازیافت آنها مورد ارزیابی قرار گرفت. برای تعیین درصد بقاء گیاهان از معادله (۲) (Nezami *et al.*, 2007) استفاده شد.

(۲)

درصد بقاء= [(تعداد گیاهان زنده سه هفته پس از تیمار یخزدگی) / (تعداد گیاهان قبل از تیمار یخزدگی) ×۱۰۰]

برای تعیین بازیافت و رشد مجدد گیاهان وزن خشک گیاه اندازه‌گیری و ثبت شدند. درجه حرارت کشنده برای ۵۰ درصد نمونه‌ها LT_{50el}، LT_{50su} و $RDMT_{50}$ با استفاده از رسم نمودار درصد نشت الکترولیت‌ها، درصد بقاء و وزن خشک نمونه‌ها در مقابل دماهای یخزدگی تعیین شد. تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای MSTATC صورت گرفت. برای رسم نمودارها و تعیین LT_{50su} از نرم‌افزارهای EXCEL و Sigmaplot استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج نشان دادند تأثیر دماهای یخزدگی بر درصد نشت الکترولیت‌های گل‌گندم معنی‌دار ($P\leq$ ۰/۰۵) بود (جدول۱). کمترین و بیشترین درصد نشت الکترولیت‌ها به‌ترتیب در دماهای ۴ °C و ۱۴°C- مشاهده شد (شکل ۲). همچنین کاهش دما از ۶- °C به ۸- °C سبب افزایش معنی‌دار میزان نشت الکترولیت‌ها در گل گندم شد. از آنجا که غشاء سلولی خارجی‌ترین بخش زنده سلول است که

1- Ice Nucleution Active Bactera

نقش اصلی را در تبادل انتخابی مواد بر عهده دارد و از طرفی اولین مکان خسارت در اثر سرما و یخزدگی است، لذا تنش سرما ضمن اینکه منجر به تغییر وضعیت غشاء از حالت کریستال مایع به حالت جامد- ژل می‌شود، فعالیت آن را نیز مختل می‌کند. از این رو اختلال در فعالیت و انسجام غشاءهای سلولی در اثر تنش سرما، نشت الکترولیت‌ها از سلول را در پی‌خواهد داشت (Baeka and Skinner, 2003). محققان افزایش نشت الکترولیت‌ها از سلول را شاخص مناسبی در ارزیابی حساسیت گیاهان به تنش سرما و یخزدگی گزارش کرده‌اند (Cardona *et al.*, 1997). Perras and Sarhan (1998) گزارش کردند که میزان مقاومت به یخ زدگی در برگ‌ها، طوقه‌ها و ریشه‌های گندم از طریق آزمون نشت الکترولیت‌ها قابل ارزیابی است. Paull (1981) اظهار داشت تغییر در ساختار غشاء در اثرسرما سبب افزایش نشت الکترولیت‌های سلولی دراندام‌های حساس به سرما می‌شود. Eugenia *et al,* (2003) نیز در ارزیابی تحمل گیاه *Trifolium hirtum* به تنش یخزدگی از طریق اندازه‌گیری میزان نشت الکترولیت‌ها نشان دادند که با کاهش دما از ۶°C- به ۱۴ °C-، میزان نشت مواد در برگ‌های این گیاه افزایش یافته است. با توجه به نتایج این آزمایش نیز به‌نظر می‌رسد با کاهش دما خسارت ناشی از تنش یخزدگی بر غشاهای سلولی زیاد شده و این مهم منجر به اختلال فعالیت غشاء سلولی گل‌گندم و به دنبال آن افزایش میزان نشت مواد درون سلولی شده است.

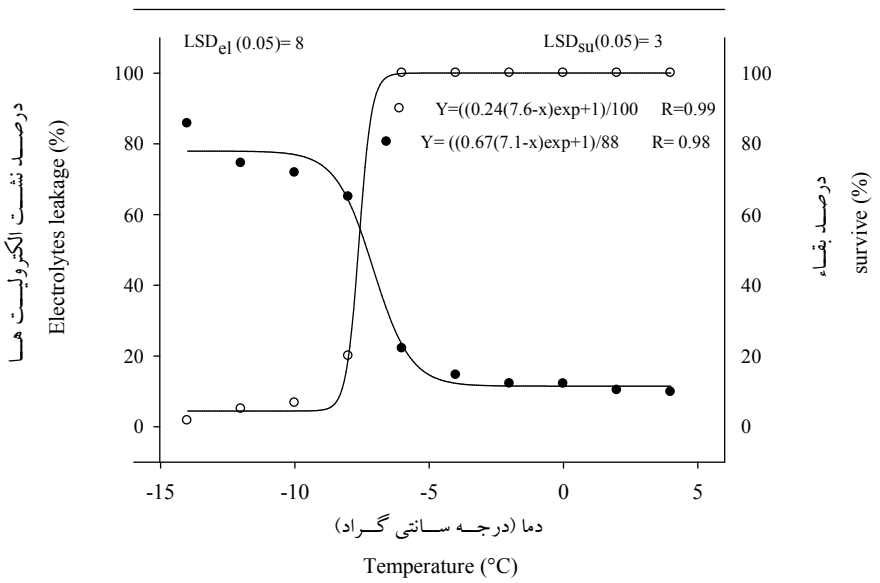
بر اساس نتایج تأثیر دماهای یخزدگی بر درصد بقاء گل‌گندم معنی‌دار ($P\leq$ ۰/۰۵) بود (جدول ۱). در همین ارتباط کمترین و بیشترین درصد بقاء به ترتیب در دماهای ۴°C و ۱۴°C- مشاهده شد (شکل ۲). همچنین کاهش دما به کمتر از ۶°C- به ۸°C- سبب کاهش معنی‌دار درصد بقاء در گل‌گندم شد. در آزمایش Azizi *et al,* (2007) نیز اثر تیمارهای دمایی بر درصد بقاء گندم معنی‌دار بود، به‌طوری که با کاهش دما درصد بقاء آن کاهش یافت. بر اساس گزارش ایشان بیشترین درصد بقاء در تیمار شاهد (صفر درجه سانتی‌گراد) (۹۹/۵ درصد) و کمترین آن در دمای ۲۰°C- (صفر درصد) مشاهده شد. در آزمایش دیگری که توسط Rife and Zeinali (2003) بر روی سه رقم کلزا انجام شد، مشاهده گردید که درصد بقاء گیاه در دماهای ۶-، ۸-، ۱۰- و ۱۲- به‌ترتیب ۶۴، ۲۷، ۹ و ۷ درصد بود. در آزمایش Izadi *et al,* (2013) نیز کاهش دما به کمتر از ۱۲ °C- سبب مرگ کلیه ژنوتیپ‌های یولاف‌وحشی مورد بررسی شد.

با ترسیم روند منحنی بقاء مراحل رشدی تحت تأثیر دماهای یخزدگی (شکل ۳) مشاهده شد که علی‌رغم مشابهت کلی در روند مذکور، درصد بقاء دو مرحله رشدی تا قبل از دمای ۶°C- اختلاف معنی‌داری ($P\leq$۰/۰۵) با هم نداشتند، ولی با کاهش دما از ۸°C- به ۱۰°C- شیب افزایش منحنی درصد بقاء تحت تأثیر دماهای یخزدگی شد. بر اساس نتایج در مرحله ۲ تا ۴ برگی نسبت به مرحله ۴ تا ۸ برگی، شیب منحنی درصد بقاء تحت تأثیر دماهای سرمازدگی و یخزدگی، به میزان ۸ درصد بیشتر و شیب کاهش منحنی نشت الکترولیت‌ها به میزان ۵۰ درصد کمتر بود. محققان شیب منحنی بقاء و نشت الکترولیت‌ها را به‌عنوان یکی از نشانه‌های خسارت ناشی از تنش سرما در گیاهان معرفی کردند. در بررسی سایر محققان نیز مشاهده شده است که شیب منحنی بقاء در مقابل دمای یخزدگی در گیاهان متحمل به سرما کمتر از گیاهان حساس به سرما و شیب منحنی نشت الکترولیت‌ها گیاهان متحمل به سرما بیشتر از حساس به سرما می‌باشد. بر اساس این نتایج به‌نظر می‌رسد گل‌گندم در مرحله ۴ تا ۸ برگی تحمل بیشتری به یخ زدگی نسبت به مرحله ۲ تا ۴ برگی داشته است.

جدول ۱- میانگین مربعات درصد نشت الکترولیت‌ها، زیست‌توده و درصد بقاء گیاه مهاجم گل‌گندم تحت تأثیر دماهای سرمازدگی و یخزدگی

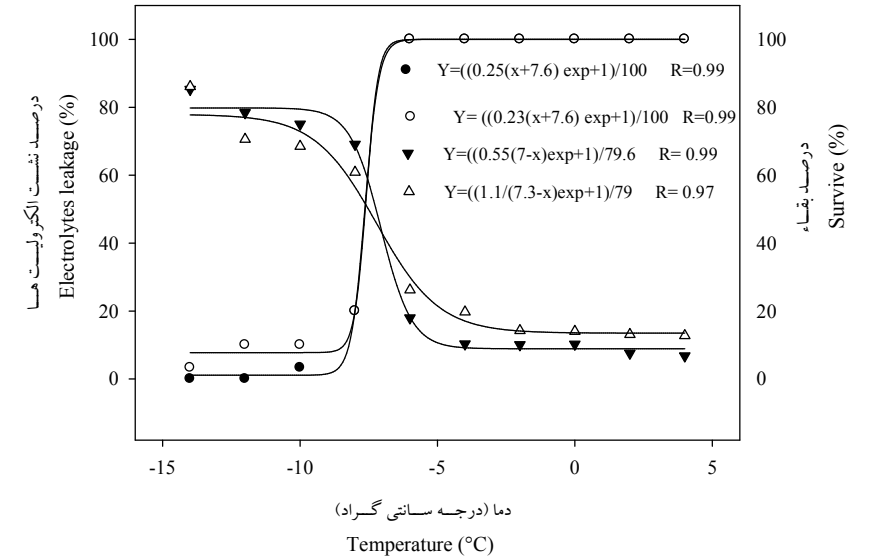
Table 1- Mean squares of electrolyte leakages, biomass and survival percentage in *Centaurea balsamita* influenced to chilling and freezing temperatures

منابع تغییر Source of variations	درجه آزادی df	نشت الکترولیت‌ها Electrolytes leakages	زیست توده Biomass	بقاء Survive
دما Temperture	9	33**	932756**	60**
مرحله رشدی Growth Stage	1	6120*	1017940**	13574**
مرحله رشدی× دما Temperture × Growth Stage	9	66**	**45062	19**
خطا Eror	40	24	68196	3.3
کل Total	59			



شکل ۲- اثر دماهای سرمازدگی و یخزدگی بر نشت الکترولیت‌ها (●) و بقاء (○) گیاه مهاجم گل گندم در شرایط کنترل شده.

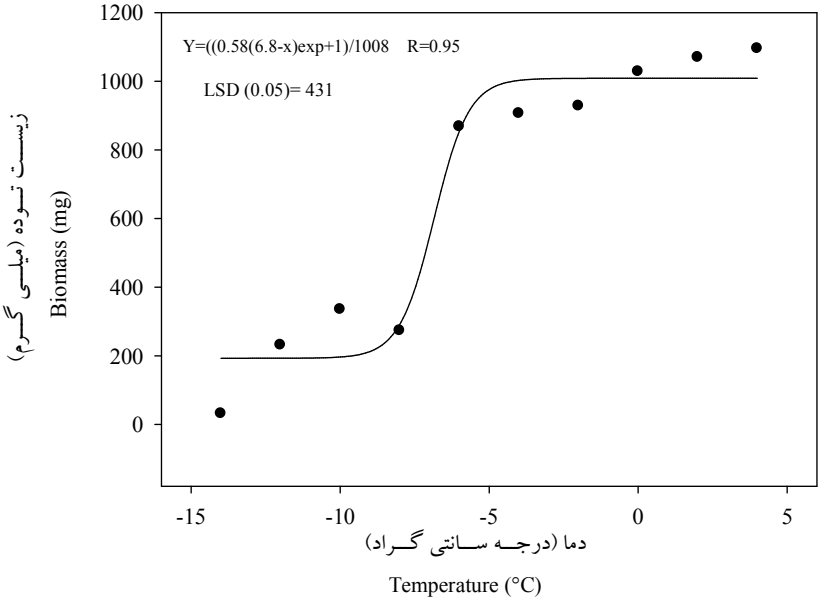
Figure 2- Effect of chilling and freezing temperatures on survival percentage (○) and electrolytes leakage percentage (●) of *Centaurea balsamita*



شکل۳- تأثیر دماهای یخزدگی بر نشت الکترولیت‌ها (۲ تا ٤ برگی (▼) و ٤ تا ۸ برگی (Δ)) و بقاء (۲ تا ٤ برگی (●) و ٤ تا ۸ برگی (○)) گیاه مهاجم گل‌گندم در شرایط کنترل شده

Figure 3- Effect of chilling and freezing temperatures on survival percentage (2 to 4 leaflet (▼) and 4 to 8 leaflet (Δ)) and electrolytes leakage percentage (2 to 4 leaflet (●) and 4 to 8 leaflet (○))of *Centaurea balsamita*

اثر دماهای یخزدگی بر زیست‌توده گل‌گندم پس از دوره بازیافت (۲۱ روز پس از اعمال تیمار یخزدگی) معنی‌دار (P≤ ۰/۰۵) شد (جدول ۲ و شکل ۴). بیشترین و کمترین وزن خشک مربوط به تیمارهای دمایی ۴ °C و ۱۴- °C بود (شکل ۴). کاهش دما به کمتر از ۶- °C سبب کاهش معنی‌دار میزان زیست‌توده در گل‌گندم شد. کاهش وزن خشک تک بوته با کاهش دما احتمالاً به دلیل اثر خسارت ناشی از یخزدگی بر توانایی رشد مجدد اندام‌های گیاهی در مرحله بازیافت بوده است. در بررسی Azizi *et al,* (2007) اثر دما بر وزن خشک گیاه گندم در پایان دوره بازیافت معنی‌دار بود و با کاهش دما به کمتر از صفر درجه سانتی‌گراد وزن خشک گیاه کاهش یافت. در آزمایش ایشان وزن خشک گیاه در تیمار دمایی ۸- °C، ۵۰ درصد، در ۱۲- °C، ۸۱ درصد و ۱۶- °C، ۹۵ درصد نسبت به شاهدکاهش یافت و در دمای ۲۰- °C به صفر رسید. Chen *et al,* (1983) با اعمال تیمار یخزدگی در شرایط کنترل شده بر روی گندم مشاهده کردند که کاهش دمای یخزدگی از ۵- °C به ۱۰- °C سبب کاهش ۲۰ درصدی رشد مجدد اندام هوایی گندم نسبت به تیمار شاهد (صفر درجه سانتی‌گراد) شد. در صورتی که در تیمارهای یخزدگی ۱۵- °C و ۲۰- °C رشد مجدد اندام هوایی گندم نسبت به شاهد به‌ترتیب ۶۰ و ۸۰ درصد کاهش یافت. Griffith and McIntyre (1993) اظهار داشتند که بخش هوایی گیاه چاودار در دمای کم ماده خشک کمتری در خود تولید می‌کند. Hekneby *et al,* (2006) در بررسی تحمل به یخزدگی چند رقم یونجه و شبدر یکساله مشاهده نمودند که با کاهش دما از ۱- °C تا ۱۳- °C ماده خشک گیاه کاهش معنی‌داری نشان داد. Izadi *et al,* (2013) نیز با بررسی اثر دماهای یخزدگی بر وزن خشک یولاف وحشی مشاهده نمودند که کاهش دما از ۳- °C به ۲۱- °C باعث ۱۰۰ درصد کاهش در وزن خشک یولاف وحشی شده است.



شکل ٤- اثر دماهای سرمازدگی و یخزدگی بر زیست توده گیاه گل‌گندم پس از یخزدگی در شرایط کنترل شده سه هفته پس از یخزدگی
Figure 4- Effect of chilling and freezing temperatures on biomass of (*Centaurea balsamita*)

نتایج حاصل از همبستگی بین صفات نشان داد که بین درصد نشت و درصد بقاء همبستگی منفی (r= -۰/۹۸) و معنی‌داری (P≤۰/۰۱) وجود داشت، به‌عبارت دیگر با افزایش درصد نشت الکترولیت‌ها، درصد بقاء گیاهان کاهش یافته است. همچنین درصد نشت الکترولیت‌ها و زیست‌توده همبستگی منفی (r=-۰/۸۲) و معنی‌داری (P≤۰/۰۱) را نشان دادند به‌صورتی که با افزایش نشت الکترولیت‌ها، زیست توده گیاه نیز کاهش یافته است. بین درصد بقاء و زیست توده نیز همبستگی معنی‌دار (P≤ ۰/۰۱) ولی مثبت (r=۰/۸۱) وجود داشت. در همین ارتباط نتایج مشابهی از همبستگی منفی بین صفات مذکور در چغندرقند و تریتیکاله مشاهده شده است (Nezami *et al,* 2013; Nezami *et al,* 2010).

جدول ۲- ضرایب همبستگی بین درصد نشت الکترولیت‌ها، درصد بقاء، وزن خشک، گیاه مهاجم گل گندم قرار گرفته در معرض تنش سرمازدگی و یخزدگی تحت شرایط کنترل شده

Table 2- Coefficients of correlation between electrolyte dry weight, in) leakage percentage, survival percentage, affected by freezing temperatures) *Centaurea balsamita* under controlled condition

	1	2	3
۱- درصد نشت الکترولیت‌ها electrolyte leakage percentage	1		
۲- درصد بقاء survival percentage	−0.98**	1	
۳- وزن خشک dry weight	−0.82**	0.81**	1

* و ** معنی‌داری به‌ترتیب در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد

* and **: significant in %5 and %1 probability levels, respectively.

بر اساس نتایج LT_{50el}، LT_{50su} و $RDMT_{50}$ گل گندم خوسرمایی شده با شرایط بهاره در آزمایش حاضر به‌ترتیب ۷/۰۵°C، ۷/۶°C- و ۷/۱۵°C- تعیین شد. محققان بیان کردند که گیاهان متحمل‌تر به سرما دارای LT_{50el}، LT_{50su} و $RDMT_{50}$ کمتری هستند. Shashikumar and Nus (1993) با انجام آزمایشی بر روی ۸ رقم پنجه مرغی گزارش کردند که بیوتیپ‌های حساس‌تر به سرما LT_{50el} بیشتر نسبت به بیوتیپ‌های مقاوم داشتند. در بررسی Nezami *et al,* (2007) نیز مشاهده شد که LT_{50el} کمتر در ارقام متحمل به سرمای کلزا با نشت سلولی کمتر نسبت به سایر ارقام مورد مطالعه همراه بود. در یک مطالعه، LT_{50el} در اکوتیپ‌های پاسپالوم خوسرما شده بین ۵/۲°C- تا ۹/۵°C- و برای گیاهان خوسرما نشده بین ۲/۵°C- تا ۵/۲°C- تعیین شد (Cardona *et al.,* 1997). Anderson *et al*, (1993) نیز با بررسی LT_{50el} و همچنین رشد مجدد در ارقام مختلف برمودا‌گراس به این نتیجه رسیدند که LT_{50el} ارقام بین دماهای ۷°C- تا ۱۱°C- متغیر بود. در آزمایش حاضر با بررسی $RDMT_{50}$، LT_{50su} و LT_{50el} مشخص شد که مقدار این سه شاخص با یکدیگر بسیار نزدیک است که نشان‌دهنده کارایی این شاخص‌ها در تخمین میزان خسارت سرما به گیاه می‌باشد. بنابراین از این شاخص‌ها می‌توان برای ارزیابی میزان خسارت سرما به گیاه و بازیافت و رشد مجدد آن استفاده کرد.

نتیجه‌گیری

به‌طورکلی نتایج این آزمایش نشان داد که در گل‌گندم با کاهش دما درصد بقاء و زیست‌توده کل کاهش و درصد نشت الکترولیت‌ها افزایش یافت. این بررسی نشان داد در گیاهان مهاجمی از جمله گل‌گندم، استفاده از آزمون‌های نشت الکترولیت‌ها و بقاء می‌تواند به‌عنوان روش‌های نسبتاً مناسب در ارزیابی و شناخت گیاهان مهاجم متحمل به سرما مورد استفاده قرار گیرد و در شناخت تحمل به سرمای گیاهان مهاجم به پیش‌بینی نحوه پراکنش و تهاجم آن‌ها کمک می‌نماید. با در نظر گرفتن این نکته که دمای فروردین ماه مشهد در ۲۰ سال اخیر (۱۳۷۳ تا ۱۳۹۴) به پایین‌تر از ۵/۴°C- نرسیده است و LT_{50el}، LT_{50su} و $RDMT_{50}$ گل گندم خوسرمایی شده با شرایط بهاره در آزمایش حاضر به‌ترتیب ۷/۰۵°C-، ۷/۶°C- و ۷/۱۵°C- است، می‌توان پیش‌بینی کرد که گسترش و تثبیت این گیاه مهاجم در شرایط مشهد امکان‌پذیر و با سرمازدگی و یخزدگی مواجه نخواهد شد، ولی برای اطمینان بیشتر از تحمل به سرمای این گیاه مهاجم، توصیه می‌شود این گیاه در مناطق با ارتفاع بیشتر و سردتر از مشهد خوسرمایی شده تا ارزیابی دقیق‌تر از جهت تحمل به سرما صورت پذیرد. همچنین با توجه به اینکه گیاهان مهاجم گل گندم قادر به جوانه‌زنی در شرایط پاییزه نیز می‌باشد خوسرمایی این گیاه در شرایط پاییزه در جهت ارزیابی دقیق‌تر و جامع‌تر از میزان تحمل به سرما ضروری به‌نظر می‌رسد. به هر صورت با توجه به LT_{50su} پایین این گیاه در صورت پراکنش بذر آن، امکان مهاجرت این گیاه مهاجم به مزارع گندم، جو و مراتع بسیار محتمل است.

References

1. Anderson, J. A., Taliaferro, C. M., and Martin, D. L. 1993. Evaluating freeze tolerance of Bermuda grass in a controlled environment. Horticulture Sciences 28: 955.
2. Azizi, H., Nezami, A., Nassiri, 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 5: 109-121. (in Persian with English abstract).
3. Baeka, K.H., and Skinner, D.Z. 2003. Alteration of antioxidant enzyme gene expression during cold acclimation of near-isogenic Wheat lines. Plant Sciences 165: 1221-1227.
4. Bethany, A., Bradley. D. S., and Oppenheimer. M. 2010. Climate change increases risk of plant invasion in the Eastern United States. Biology Invasions 12: 1855-1872.
5. Bridger, G.M., Falk, D.E. Mckersie, B.D., and Smith, D.L. 1996. Crown freezing tolerance and field winter survival of winter cereals in eastern Canada. Crop Sciences 36: 150-157.
6. Cardona, C.A., Duncan, R.R., and Lindstorm, O. 1997. Low temperature tolerance assessment in paspalm. Crop

Sciences 37: 1283-1291.
7. Carlson, M,. Heys, J., Shephard, M., and Snyder, J. 2005. Invasive Plants of Alaska. Conservation Districts Publication.
8. Chen, T.H., Gusta, L.V., and Fowler, D.B. 1983. Freezing injury and root development in winter cereals. Plant Physiology 73: 773-777.
9. Eugenia, M., Nunes, S., and Ray Smith, G. 2003. Electrolyte leakage assay capable of quantifying freezing resistance in Rose Clover. Crop Sciences 43: 1349-1357.
10. Fowler D.B., Gusta L.V., and Tyler N.J. 1981. Selection for winter hardiness in wheat. III. Screening methods. Crop Science 21: 896-901.
11. Griffith, M., and McIntyre, C.H. 1993. The interrelationship of growth and frost tolerance in winter rye. Plant Physiology 87: 335-344.
12. Hekneby, M., Antolin, M.C., and Sanchez-Diaz, M. 2006. Frost resistance and biochemical changes during cold acclimation in different annual legumes. Environmental and Experimental Botany 55: 305-314.
13. Izadi, E., Nezami, A., Abbassian, A., and Haydari, M. 2013 Investigation of wild oat fitness to freezing stress using of electrolyte leakage Index. environmental stress in crop Sciences 5 (1): 81-94. (in Persian with English abstract).
14. Levitt J. 1980. Chilling injury and resistance. In Kozlowsky, T.T. (eds.) Chilling, Freezing and High Temperature Stresses. Responses of Plants to Environmental Stresses. Academic Press, New York. 1: 23-64.
15. Moorby, J. 1981. Transport systems in plant. Longman Pub. New York.
16. Murata N., and Los D. A. 1997. Membrane fluidity and temperature perception. Plant Physiology 115: 875-879.
17. Nezami, A., Bagheri, A., Rahimian, H., Kafi, and Nasiri, M. 2006. Evaluation of freezing tolerance of Chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes under controlled conditions. Journal of Sciences and Technology of Agriculture and Natural Resources 10 (4): 257-269. (in Persian with English abstract).
18. Nezami, A., Borzooei, A., Jahani, M., and Azizi, M. 2007. Evaluation of freezing tolerance in Canola (*Brassica napus* L.) cultivars under controlled conditions. Iranian Journal of Field Crops Research 5 (1): 167-175. (in Persian with English abstract).
19. Nezami, A., Hajmohammad nia Ghalibaf, K., and Kamandi, A. 2010. Evaluation of freezing tolerance in sugar beet (*Beta vulgaris*) cultivars under controlled condition. Environmental Stresses in Agricultural Sciences 3(2).
20. Nezami, A., Khazaei, H., Dashti, M., Mehrabadi, H.R., Eyshi Rezaee, E., and Ahmadi, M. 2013. Evaluation of Morpho-physiological indices in autumn sugar beet (*Beta vulgaris* L.) cultivars under freezing stress at seedling stage. Journal of Sugar beet 29 (1): 15-31.
21. Nezami, A., Soleimani, M. R., Ziaee, M., Ghodsi, M., and Bannayan, M. 2010. Evaluation of Freezing Tolerance of Hexaploid Triticale Genotypes under Controlled Conditions. Notulae Scientia Biologicae 114-120.
22. Paull, R.E. 1981. Temperature induced leakage from chilling–sensitive and chilling-resistant plant. Plant Physiology 68: 149-153.
23. Perras, M., and Sarhan, F. 1988. Synthesis of freezing tolerance proteins in leaves, crown and roots during cold acclimation of Wheat. Plant Physiology 89: 577-585.
24. Rashed, M.H., Nezami, A., Bagheri, A., Haj mohammadnia, K., and Bannayan, M. 2009. Evaluation of freezing tolerance of two fennel *(Foeniculum vulgar* L.) ecotypes under controlled conditions. Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants 15: 131-140.
25. Rechinger, Kh. 1979: Compositae-Cynareae. In: Rechinger KH, editor. Flora Iranica., Akademische Druckund Verlagsanstalt 139: 331-333.
26. Rife, C.L., and Zeinali, H. 2003. Cold tolerance in oilseed rape over varying acclimation durations. Crop Science 43: 96-100.
27. Shashikumar, K., and Nus, J.L. 1993. Cultivar and winter cover effects on bermudagrass cold acclimation and crown moisture content. Crop Sciences 33: 813-817.
28. Wagenitz, G. 2006. A Revision of Centaurea (Compositae-Cardueae) in The Flora of Iraq. Rostaniha 7 (2): 390-391.
29. Ya Li, H. D., and Gan Yao, Q. W. 2011. Impacts of Invasive Plants on Ecosystems in Natural Reserves in Jiangsu of China. Russian Journal of Ecology 42 (2): 133-137.

Iranian Journal of Field Crops Research
Vol. 15, No. 2, Summer. 2017, p. 380-388

نشریه پژوهشهای زراعی ایران
جلد ۱۵، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۶، ص. ۳۸۸-۳۸۰

Evaluation of Invasive Plant *Centaurea balsamita* Cold Acclimated in the Spring to Chilling and Freezing Stress

A. Abbasian[1]- Gh. Asadi[2*]- R. Ghorbani[3]

Received: 10-11-2015
Accepted: 05-07-2016

Introduction: Invasive plants threaten the ecosystems of agriculture, forests and rangelands. In this regard, Centaurea balsamita is an annual plant of asteraceae family that invades the fallow and slope lands. This plant is reproduced by seed and distributed in Syria, Turkey, Iran, Afghanistan and Central Asia (Turkmenistan to Tian Shan). Given that, according to studies accomplished in the world, threats of invasive plants are widely known, and since most studies related to freezing and cold stress tolerance are conducted on crop plants and there is little information about invasive plants, and considering that the precise identification of problematic invasive species. This study was performed to evaluate invasive plant Centaurea balsamita cold acclimated in spring to chill and freezing stress.

Materials and Methods: The experiments were conducted at Ferdowsi University of Mashhad, Faculty of Agriculture, in 2014 in a completely randomized design. In this experiment *Centaurea balsamita* in 2 to 4 and 4 to 6 leaf stage after the period of cold acclimation in the spring exposed to ten chilling and freezing temperatures (4, 2, 0, -2, -4,-6, -8, -10, -12 and -14 °C). In the experiment the pots were kept in the nursery from March 12, 2014 to April 19, 2014 and after cold acclimation period under these conditions, they were exposed to Chilling and freezing temperatures using thermogradient freezer. Freezer temperature was 8 °C at the beginning of the experiment and after placing the samples inside, the temperature decreased with the speed of 8 °C per hour. The cytoplasm membrane stability of *Centaurea balsamita* was evaluated using electrolyte leakage; then the lethal temperature of 50% of samples was determined based on leakage percentage (LT_{50el}). Survival percentage was evaluated by counting the number of live plants in each pot. Then, at the end of the recovery period, the lethal temperature for 50% of survival percentage (LT_{50su}) and reduction temperature for 50% of dry weight ($RDMT_{50}$) were determined (three weeks after the application of freezing treatment).

Results and Discussion: The lowest and highest percentage of electrolyte leakage in cold acclimated *Centaurea balsamita*, with spring conditions influenced by chilling and freezing temperatures were at 4 °C and -14 °C, respectively. Temperature reduction from -6 °C to -8 °C caused significant increase ($P \leq 0.05$) in electrolyte leakage in *Centaurea balsamita*. In addition, the lowest and highest percentage of survival in cold acclimated *Centaurea balsamita*, with spring conditions influenced by chilling and freezing temperatures were observed at 4 °C and -14 °C, respectively. Temperature reduction from -6 °C to -8 °C caused significant decrease ($P \leq 0.05$) in survival percentage in *Centaurea balsamita*. The highest and lowest dry weight in cold acclimated *Centaurea balsamita*, with spring conditions influenced by freezing temperatures, after the recovery period (21 days after application of freezing treatment) were observed at 4 °C and -14 °C, respectively. Temperature reduction to below -6 °C caused significant decrease ($P \leq 0.05$) in biomass of *Centaurea balsamita*. According to the results of the present experiment, LT_{50el}, LT_{50su} and $RDMT_{50}$ for acclimated *Centaurea balsamita* with spring conditions are -7.05 °C, -7.6 °C and -7.15 °C, respectively. Researchers reported that the plants with more tolerant to cold have less LT_{50el}, LT_{50su} and $RDMT_{50}$.

Conclusions: This study showed that in invasive plants such as *Centaurea balsamita*, using electrolyte leakage and survival tests can be relatively good methods in assessing and identifying invasive plants tolerant to cold, and help to identify invasive plant cold tolerance, predict their distribution and invasion. However, to ensure more about the cold tolerance of this invasive plant, it is recommended to cold acclimate this plant in areas with higher elevation and colder than Mashhad to achieve more accurate assessment of cold tolerance. Yet, due to low LT_{50su} of this plant when distributed, migration this invasive plant to wheat, barley and rangelands is highly plausible.

Keywords: LT_{50el}, LT_{50su}, $RDMT_{50}$, Recovery

1- PhD of Weed Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad
2- Associate Professor, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad
3- Professor, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad
(*- Corresponding Author Email: Asadi@um.ac.ir)