

نشت الکتروولیتها به عنوان شاخصی از خسارت یخ زدگی در کلزا

احمد نظامی^۱، اعظم بروزی^۲، مریم جهانی^۲، مهدی عزیزی^۳، علی شریف^۱

چکیده

به منظور بررسی امکان استفاده از نشت الکتروولیت‌ها به عنوان شاخصی از خسارت یخ زدگی در کلزا (*Brassica napus* L.) آزمایشی در دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد، در قالب طرح کاملاً تصادفی به صورت آزمایش اسپلیت‌پلات فاکتوریل با دو تکرار به اجرا درآمد. ده ژنتیپ کلزا به نامهای لیکورد، الیت، SLMO46، اکایپ، سیمبل، کالورت، اپرا، اینیت و آلیس و زرفام همراه به پنج تیمار دمایی (۰، -۴، -۸، -۱۲ و -۱۶ درجه سانتی‌گراد) به صورت فاکتوریل در پلات‌های فرعی و تیمار خوسماً^۱ و عدم خوسماً^۲ در پلات‌های اصلی در نظر گرفته شدند. گیاهان تا مرحله ۳-۵ برگی در گلخانه رشد یافته و سپس گیاهان تیمار عدم خوسماً و گیاهان تیمار خوسماً پس از قرار داشتن در شرایط مذکور به مدت سه هفته، در فریزر ترمومگراییان در معرض تیمارهای دمایی قرار گرفتند. میزان پایداری غشاء سیتوپلاسمی ژنتیپ‌ها با استفاده از نشت الکتروولیتها مورد ارزیابی قرار گرفت، و سپس درجه حرارت کشنده برای ۵۰ درصد نمونه‌ها تعیین گردید. نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که اثرات اصلی خوسماً، ژنتیپ و دمای یخ زدگی بر میزان نشت الکتروولیتها و LT_{50} کلیه ارقام مورد بررسی معنی دار بود ($p < 0.05$). کاهش دما سبب افزایش میزان نشت الکتروولیتها در کلیه ارقام مورد بررسی گردید. تیمار خوسماً، درصد نشت مواد و LT_{50} را به طور معنی‌داری کاهش داد. نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که در شرایط عدم خوسماً ارقام SLMO46 و ابیت به ترتیب بیشترین و کمترین تحمل به یخ زدگی را داشتند، در صورتی که در شرایط خوسماً ارقام لیکورد و سیمبل دارای کمترین و بالاترین LT_{50} بودند.

واژه‌های کلیدی: یخ زدگی، خوسماً، نشت الکتروولیت‌ها، LT_{50}

مقدمه

را به تعویق می‌اندازد. بنابراین به نظر می‌رسد کاشت کلزا پاییزه به دلیل امکان استفاده از نزولات آسمانی و نیاز کمتر به آبیاری و عملکرد بالاتر، بیشتر مورد توجه قرار داشته باشد.^(۱)

در بیش از ۹۳ درصد از اراضی دنیا احتمال وقوع سرما وجود دارد و ۸۱ درصد از این مناطق در معرض یخبندان قرار دارند، بنابراین در اغلب مناطق معتدل کره زمین رشد و

کشت کلزا به عنوان یکی از مهم‌ترین گیاهان روغنی در کشور به طور روز افزون در حال افزایش است.^(۲) کلزا دارای دو تیپ بهاره و پاییزه می‌باشد. در مناطقی که ارقام بهاره کشت می‌شوند، عملکرد گیاه به دلیل دماهای بالای فصل رشد و مشکلات آفات محدود می‌شود. ضمن اینکه در برخی شرایط بروز سرمای دیررس بهاره کاشت محصول

۱- اعضای هیأت علمی دانشکده کشاورزی، ۲- دانشجویان دکتری زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ۳- عضو هیأت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی، خراسان رضوی.

مزروعه داشتند. نتایج نشان داده است که اولین مکان خسارت در اثر سرما غشاء سلولی است و سرما باعث تغییر حالت غشاء از حالت کریستال - مایع به حالت جامد - ژل می شود و با این تغییر فیزیکی فعالیت غشاء مختلف می شود (۷ و ۱۱). گاستا و همکاران (۱۰) نیز تغییر در ساختار غشاء، ترکیب اسیدهای چرب، تغییرات متabolیکی، تغییر در مقادیر پروتئین، فعالیتهای آنزیمی و نشت الکتروولیت‌های بین سلولی و آمنیو اسیدها را، جزء صدمات تنش یخ زدگی ذکر کرده اند. بنابراین به نظر می‌رسد با اندازه گیری میزان نشت الکتروولیت‌ها بتوان به معیار مناسبی جهت تعیین میزان خسارت واردہ بر غشاء دست یافت. سالک و همکاران (۱۷) گزارش کردنده که بین درجه تحمل به سرمای گیاهان یونجه به روش هدایت الکتریکی با درصد بقاء زمستانه در مزرعه همبستگی خوبی وجود داشت. میر عشقی و خلیل زاده (۵) نیز با انجام تحقیقی بر روی گندم گزارش کردنده که ژنتیکی‌های متحمل عموماً غشاء سیتوپلاسمی پایدارتر، نشت الکتروولیت کمتر و غاظت کلروفیل بیشتری نسبت به ژنتیکی‌های حساس داشتند. نتایج آزمایشات مختلف نشان داده است که خوسرمایی نیز، یکی از روشهای مقاومت به یخ زدگی در گیاهان می‌باشد. به عنوان مثال نایار و همکاران (۱۳) در هند، اثر تنش سرما بر گیاهچه‌های ۱۴ روزه نخود که به صورت هیدرопوئنیک کشت شده بودند، با آزمون نشت الکتروولیت بررسی نمودند. نتایج بررسی این محققین نشان داد که با کاهش دما، نشت الکتروولیت افزایش یافت. خسارت سرما بر اساس نشت الکتروولیت در گیاهچه‌های خو سرمایی $18/4$ درصد و در گیاهچه‌های عدم خو سرمایی $79/7$ درصد بود. با توجه به مطالب ذکر شده این بررسی به منظور امکان استفاده از شاخص نشت الکتروولیت در ارزیابی تحمل به یخ زدگی ارقام کلزا تحت شرایط خو سرمایی و عدم خو سرمایی طراحی و اجراء شد.

نمود گیاهان تحت تأثیر سرما قرار می‌گیرد (۱۴ و ۱۶). لذا به نظر می‌رسد که بقاء زمستانه^۱ به عنوان یک ویژگی مهم، جهت حصول حداکثر عملکرد دانه در گیاهان پائیزه لازم و ضروری است، در همین راستا تحمل به یخ زدگی^۲ به عنوان یکی از عوامل ضروری جهت بقاء در شرایط سخت زمستان ذکر شده است ضمن این که استقرار ضعیف گیاهچه‌ها، بافت خاک، خسارت بیماریها و آفات و همچنین فقدان پوشش برف به عنوان عواملی که بر روی بقاء زمستانه و تحمل یخ زدگی اثر منفی دارند، معرفی شده اند (۱۸). شاشیکومار و ناس (۱۵) آزمونهای مزرعه‌ای را به عنوان یک روش ارزیابی برای تحمل به سرما در گیاه پنجه مرغی (*Cynodon dactylon*) مفید دانسته اند. ایشان دستیابی به اطلاعات مناسب در رابطه با پاسخ به تنش سرما در شرایط مزرعه را از مزیتهای این روش ذکر کرده اند. میرزاپی اصل و همکاران (۴) نیز بیان نمودند که یکی از مشکلات اصلی در مطالعات مزرعه‌ای غیرقابل کنترل بودن شدت تنش سرما می‌باشد. به همین دلیل، تلفات کامل در زمستان (به دلیل کاهش شدید دما) یا عدم بروز هیچگونه خسارت (به دلیل عدم کاهش دما به حد مورد نظر)، در بیشتر آزمایش‌های مزرعه‌ای وجود دارد و بنابراین در این گونه آزمایش‌ها نیاز به صرف زمان زیادی می‌باشد (۸).

تاکنون پژوهش‌های بسیاری برای یافتن روش‌های ارزیابی سریع و موثر انجام شده است تا بتوان مقاومت به سرمای گیاهان را پیش‌بینی نمود (۱). فولر و همکاران (۹) به منظور بررسی روشهای ارزیابی مقاومت به سرما و تعیین سودمندی آنها، ۳۴ صفت فیزیولوژیک، مورفولوژیک و بیوشیمیائی را در یک آزمایش مزرعه‌ای سه ساله در رقم ۳۶ گندم زمستانه اندازه گیری نمودند. در میان این صفات، محتوای آب طوقه، محتوای آب برگ، ارتفاع گیاه، محتوای فسفر طوقة و محتوای کل قند طوقة همبستگی زیادی با شاخص بقاء در

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 (۱۲). به منظور ایجاد هستک یخ در گیاهچه‌ها، در دمای ۳- درجه سانتی گراد اسپری INAB^۱ بر روی گیاهان اسپری شد و پس از آن دما با سرعت ۲ درجه سانتی گراد در ساعت کاهش یافت. در این آزمایش پنج تیمار دمایی صفر، -۴، -۸، -۱۲ و -۱۶ درجه سانتی گراد در نظر گرفته شد.

به منظور ایجاد تعادل در دمای محیط، گیاهان در دمای مورد نظر به مدت یک ساعت نگه داشته شده و سپس گلدان‌ها به اتاقک با دمای 4 ± 1 درجه سانتی گراد منتقل و به مدت ۲۴ ساعت در آنجا نگهداری شدند. در مرحله بعد جوان ترین برگ توسعه یافته از هر بوته جدا شده و در لوله‌های آزمایش حاوی 40 میلی لیتر آب دوبار تقطیر شده قرار گرفت. پس از گذشت ۲۴ ساعت هدایت الکتریکی هر نمونه با استفاده از دستگاه EC متر (مدل-Jenway) اندازه گیری شد (E_1). به منظور اندازه گیری میزان کل نشت الکتروولیت‌ها در اثر مرگ سلول، لوله‌های آزمایش در دستگاه بن ماری با دمای 75 درجه به مدت 90 دقیقه قرار داده شدند و مجدداً پس از ۲۴ ساعت هدایت الکتریکی استفاده از فرمول $(E_1 \times 100) / E_2 =$ درصد نشت الکتروولیت (محاسبه شد (۱۸).. درجه حرارت کشنده برای 50 درصد نمونه‌ها $(LT_{50})^2$ بر اساس نشت الکتروولیت‌ها و با استفاده از رسم نمودار درصد نشت الکتروولیت‌های هر تیمار در مقابل دمای یخ زدگی تعیین شد (۱۰). به منظور تجزیه آماری داده‌ها از نرم‌افزارهای MSTAT-C و MS-Excel و SlideWrite برای رسم نمودارها و تعیین LT_{50} از نرم افزار LSD استفاده شد. میانگین‌ها با استفاده از آزمون مقایسه شدند.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به صورت آزمایش اسپلیت پلات فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو تکرار اجرا شد. فاکتورهای آزمایشی عبارت بودند از، خو سرمایی (در ۲ سطح شامل خو سرمایی و عدم خو سرمایی) به عنوان فاکتور اصلی و ارقام کلزا (شامل ۱۰ رقم) و دمای یخ زدگی (شامل ۵ تیمار صفر، -۴، -۸، -۱۲ و -۱۶ درجه سانتی گراد) که به صورت فاکتوریل به عنوان فاکتورهای فرعی در نظر گرفته شدند. در این مطالعه از ۹ رقم کلزا پائیزه و به نامهای لیکورد، الیت، SLMO46، اکاپی، سیمبل، کالورت، اپرا، ابینیت و آلیس و همچنین رقم زرفام (بهاره - پائیزه) استفاده شد. تعداد ۵ بذر در گلدان‌های پلاستیکی به قطر ۱۰ سانتی‌متر و در عمق ۱-۲ سانتی‌متری خاک کشت شدند. دمای گلخانه $23/17 \pm 2$ درجه سانتی گراد تنظیم و فتوپریود طبیعی نیز اعمال شد. گیاهان تا مرحله ۳-۵ برگی در شرایط فوق نگهداری شدند. پس از این مرحله، گیاهان یا بلافاصله تحت تیمار یخ زدگی قرار گرفتند (تیمار عدم خو سرمایی) و یا به شرایط خو سرمایی منتقل شدند. شرایط خو سرمایی در طول سه هفته و به صورت زیر اعمال شد، هفته اول ۱۱/۱۳ ساعت تناوب نوری و تاریکی و دمای روز و شب $8/5 \pm 1$ درجه سانتی گراد، هفته دوم ۱۰/۱۴ ساعت تناوب نوری و تاریکی و دمای روز و شب $6/4 \pm 1$ درجه سانتی گراد و هفته سوم ۹/۱۵ ساعت تناوب نوری و تاریکی و گراد و هفته نور لامپ فلورسنت ۴۰ وات و تنگستن ۱۰۰ وات به طریق نور لامپ فلورسنت ۴۰ وات و تنگستن ۱۰۰ وات به نسبت سه به یک و شدت 250 ± 30 میکرومول بر متر مربع بر ثانیه تأمین شد و گیاهان در موقع نیاز آبیاری می‌شدند. ۲۴ ساعت قبل از تیمار یخ زدگی نیز بوته‌ها آبیاری شدند. در مرحله بعد گلدان‌ها به فریزر ترموگرadiان منتقل شدند. دمای فریزر در شروع آزمایش 5 درجه سانتی گراد بوده و پس از قرار دادن نمونه‌ها با سرعت 2 درجه سانتی گراد در ساعت

بررسی نمودارهای برازش شده حاصل از نشت الکتروولیت در سه اکوتیپ از گیاه *Paspalum vaginatum* Swartz روند تغییرات درصد نشت مواد را با کاهش دما در برگ‌ها، طوفه و ریشه به صورت سیگموئیدی گزارش کرده و مشاهده نمودند که میزان نشت الکتروولیتها در بخش‌های تطابق یافته دو اکوتیپ گونه مذکور در مقایسه با بخش‌های غیر تطابق یافته کمتر بوده است. این محققین شبی منحنی نشت الکتروولیتها را به عنوان یکی از مهم‌ترین نشانه‌های احتمال مرگ ناشی از تنفس سرما در گیاه معرفی و خاطر نشان کردند که نمودار نشت الکتروولیتها در گونه‌های سازگار با تنفس سرما از شبی کمتری برخوردار است و در مقابل در گونه‌های حساس به تنفس سرما، این شبی تندتر است. نایار و همکاران (۱۳) نیز اثر تنفس سرما را بر گیاهچه‌های ۱۴ روزه نخود کشت شده به صورت هیدروپوئنیک، با آزمون نشت الکتروولیت بررسی نمودند. نتایج این آزمایش حاکی از آن بود که با کاهش دما، نشت الکتروولیت افزایش می‌یابد و خسارت سرما بر اساس میزان نشت مواد در گیاهچه‌های خو یافته ۱۸٪ و در گیاهچه‌های خو نیافته ۷۹٪ بود. به نظر می‌رسد تیمار خو سرمایی شدت خسارت ناشی از تنفس یخ زدگی را بر غشاء‌های سلولی کاهش داده و در نتیجه منجر به کاهش میزان نشت مواد درون سلولی شده است.

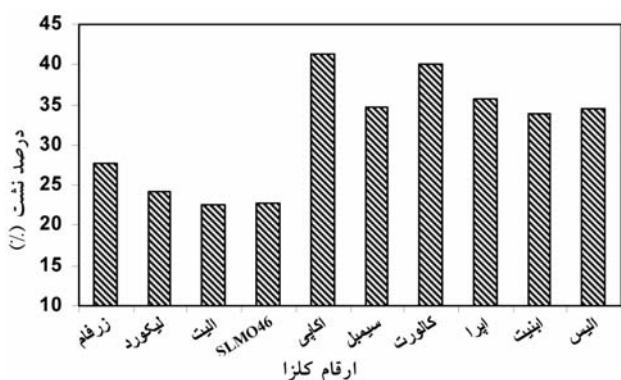
نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد، تأثیر دمایی یخ زدگی بر درصد نشت مواد معنی دار بود (شکل ۳). با کاهش دما به کمتر از ۴- درجه سانتی گراد درصد نشت الکتروولیتها در هر دو تیمار خو سرمایی و عدم خو سرمایی به طور معنی داری افزایش یافت. بطوریکه درصد نشت مواد در شرایط عدم خو سرمایی در دمای ۱۶- درجه با ۵٪ افزایش در مقایسه با تیمار شاهد (دمای صفر درجه سانتی گراد)، به بیشترین مقدار خود رسید (شکل ۳).

توتونیکا و همکاران (۱۸) نیز گزارش کردند که تحت هر دو شرایط خو سرمایی و عدم خو سرمایی، درصد نشت الکتروولیتها در دو رقم کلزای زمستانه با کاهش دما به کمتر از ۲- درجه سانتی گراد افزایش یافت.

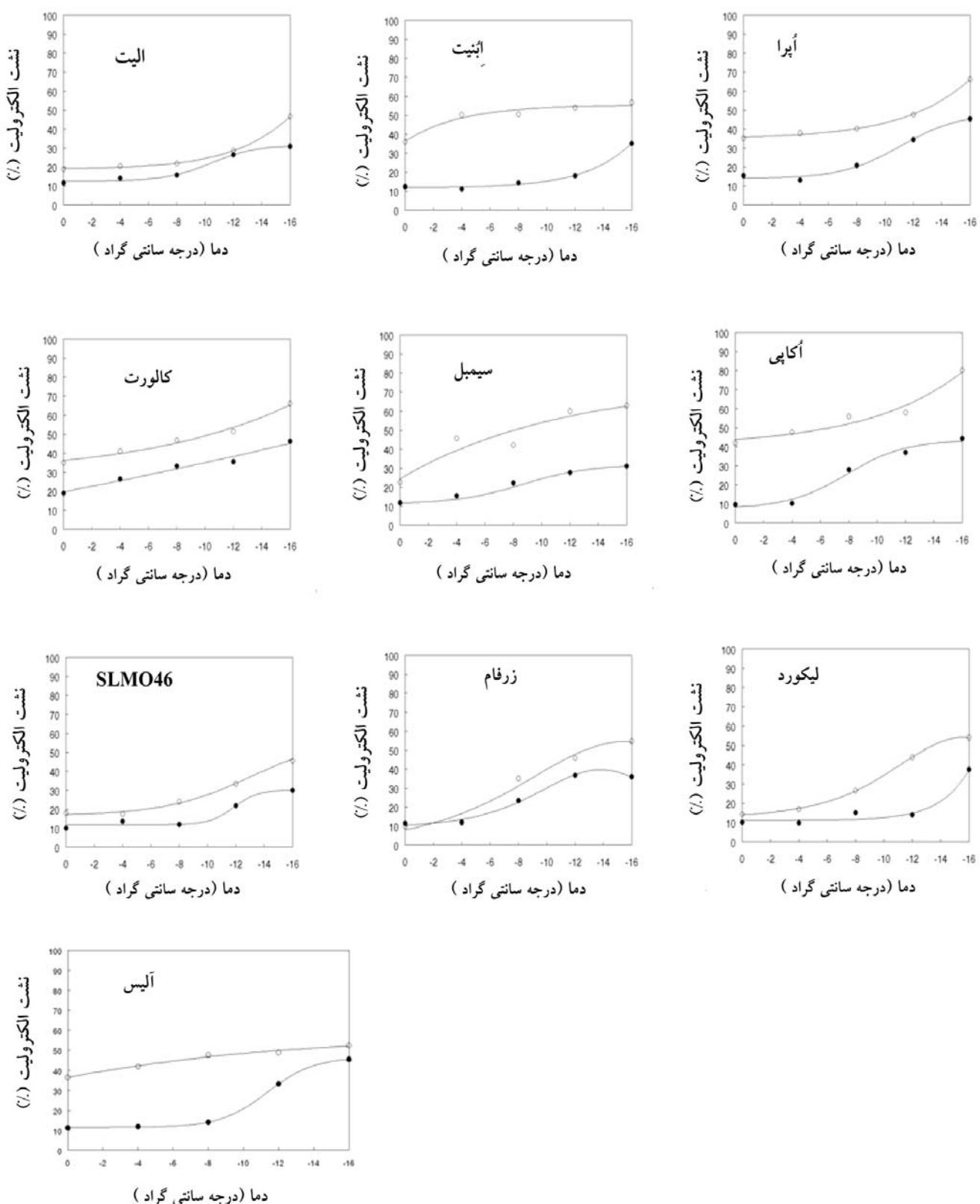
نتایج و بحث

تفاوت درصد نشت الکتروولیتها بین ارقام مختلف کلزا معنی دار بود (شکل ۱). بیشترین درصد نشت را ارقام آکاپی، کالورت، اپرا، سیمبل، الیس و ابونیت داشتند و ژنوتیپهای لیکورد، SLMO46 و الیت بدون تفاوت معنی دار، از کمترین درصد نشت الکتروولیت برخوردار بودند (شکل ۱). محققین اظهار داشته اند که تفاوت‌های موجود در میزان نشت الکتروولیتها از نمونه‌های برگ گیاهانی نظیر برنج و گوجه فرنگی تحت تنفس سرمادگی با مقادیر مقاومت به سرما در این گیاهان همبستگی دارد. این نتایج گویای این مطلب است که چون تنفس سرما باعث اختلال در غشاء‌های سلولی و به دنبال آن نشت الکتروولیتها از سلول می‌شود، لذا اندازه گیری میزان نشت از بافهای تحت تنفس سرما معیار قابل قبولی برای مقاومت به تنفس سرما است (۶).

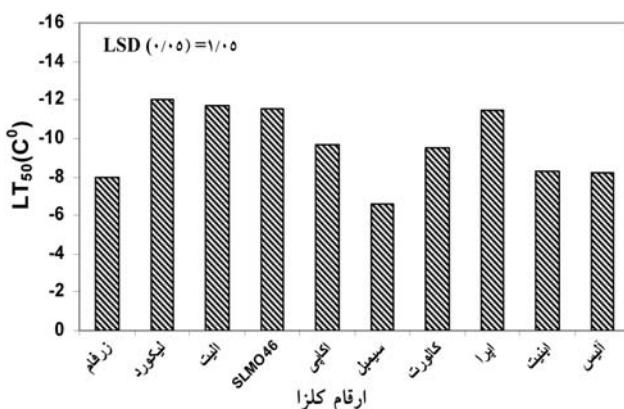
بنابراین به نظر می‌رسد که پائین‌تر بودن درصد نشت مواد در ارقام لیکورد، الیت و SLMO46 احتمالاً نشان دهنده تحمل بیشتر این ارقام نسبت به شرایط تنفس یخ‌زدگی می‌باشد. در بررسی منحنی برازش داده شده نشت الکتروولیتها در ارقام کلزا ملاحظه می‌شود که شبی منحنی نشت الکتروولیت برای کلیه ارقام مورد بررسی در شرایط خو سرمایی نسبت به عدم خو سرمایی ملایم‌تر است (شکل ۲). این امر نشان می‌دهد که در شرایط تنفس سرما ژنوتیپهای خو یافته در مقایسه با تیمار غیر خو یافته از سرعت نشت الکتروولیت کمتری برخوردار هستند. کاردونا و همکاران (۸) نیز با



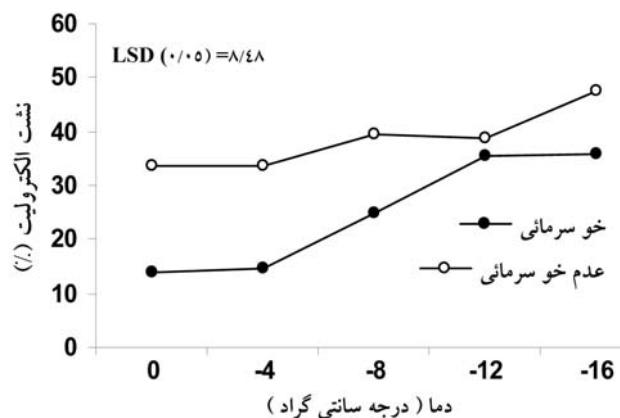
شکل ۱: درصد نشت الکتروولیت ارقام کلزا تحت تأثیر تیمار یخ‌زدگی



شکل ۲: منحنی های برآش شده در صد نیت مواد در ارقام مختلف کلزا تحت شرایط خوب سرمائی (○) و عدم خوب سرمائی (●)



شکل ۴: دمای ۵۰ درصد کشنندگی (LT_{50}) در ارقام کلزا



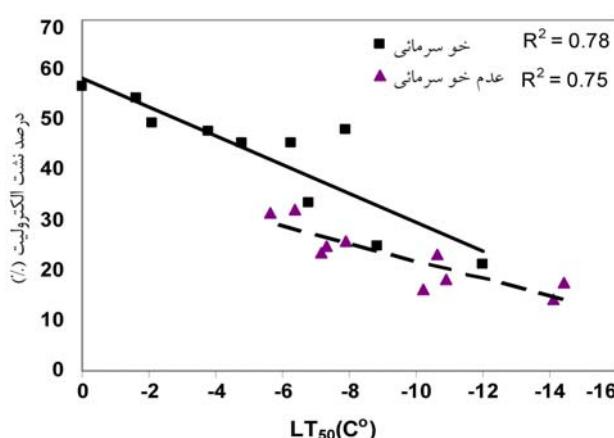
شکل ۳: تأثیر کاهش دما بر میزان نشت مواد ارقام کلزا تحت شرایط خو سرمائی و عدم خو سرمائی

SLMO46، الیت و لیکورد با نشت سلولی کمتر این ارقام نسبت به سایر ارقام در شرایط تنش بخ زدگی همراه بوده است، در مقابل رقم سیمبل که از LT_{50} بالاتری برخوردار بود، تحت تیمارهای دمایی مختلف غالباً درصد نشت مواد بیشتری داشت (شکل ۲).

بررسی همبستگی بین درصد نشت الکتروولیتها و LT_{50} ارقام مختلف کلزا نیز نشان داد که با کاهش درصد نشت الکتروولیتها، دمای ۵۰ درصد کشنندگی در هر دو تیمار خو سرمائی و عدم خو سرمائی کاهش یافت (شکل ۵). همان‌طور که در شکل ۵ ملاحظه می‌شود پایین ترین و بالاترین LT_{50} در تیمار خو سرمائی کمتر از تیمار عدم خو

در تمام دماهای بخ زدگی درصد نشت الکتروولیتها در تیمار خو سرمائی کمتر از درصد نشت مواد در شرایط عدم خو سرمائی بود (شکل ۳). قابل ذکر است که اختلاف میان شبیب نمودارهای حاصل از نشت الکتروولیتها در دو شرایط خو سرمائی و عدم خو سرمائی نشان می‌دهد که تطابق سرمائی بر روی میزان نشت مواد در دماهای مختلف نیز تاثیر گذار است. کاردونا و همکاران (۸) نیز با بررسی اثر تطابق سرمائی در مقابل عدم تطابق بر روی بقاء گیاه *Paspalum* مشاهده کردند که با کاهش دما به کمتر از -۳ درجه سانتی گراد درصد نشت مواد افزایش پیدا کرد. ایشان همچنین اظهار نمودند که تحت تیمارهای دمایی یکسان، تطابق سرمائی موجب کاهش میزان نشت الکتروولیتها در ارقام مختلف در مقایسه با شرایط عدم تطابق سرمائی شد.

برخی محققین دمایی را که سبب ۵۰٪ نشت الکتروولیت می‌شود به عنوان دمای ۵۰ درصد کشنندگی (LT_{50}) پیشنهاد کرده‌اند (۱۰ و ۱۵). در آزمایش حاضر LT_{50} ارقام کلزا مطابق با روش محققین مذکور محاسبه و مشخص شد که بین ارقام مورد بررسی از نظر این صفت تفاوت معنی داری وجود دارد. به طوری که ارقام SLMO46، الیت و لیکورد به ترتیب کمترین و رقم سیمبل بالاترین LT_{50} را داشتند (شکل ۴). قابل ذکر است که پائین تر بودن LT_{50} در ارقام



شکل ۵: رابطه بین درصد نشت الکتروولیت ها با LT_{50} ارقام کلزا

برای گیاهان تطابق نیافته به سرما بین ۲/۵-۵/۲-تا ۵/۲ درجه سانتی گراد ذکر کردند. بدین لحاظ نتایج مطالعه حاضر با گزارشات محققین مبنی بر تأثیر خوسرمایی در افزایش تحمل به شرایط سخت زمستان مطابقت دارد (۸ و ۱۹). وری (۱۹) نیز اظهار داشت که در شرایط کشت زمستانه جویبات سرما دوست، خوسرمایی ضروری است و سبب بهبود تحمل به سرما در گیاه می‌گردد.

نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که که در شرایط عدم خوسرمایی ارقام SLMO46 و ابنتی به ترتیب بیشترین و کمترین تحمل به یخ زدگی را داشتند (جدول ۱)، در صورتی که در شرایط خو سرمایی ارقام لیکورد و سیمبل دارای کمترین و بالاترین LT₅₀ بودند. با وجود این تداوم این گونه آزمایش‌ها جهت تعیین همبستگی میزان نشت الکتروولیت‌ها با درصد بقاء ارقام در شرایط شوک یخ زدگی (شرایط کنترل شده) و همچنین در شرایط مزرعه و تعیین روابط مربوطه می‌تواند مفید بودن این شاخص را در سطح کاربردی تعیین نماید.

سرمایی بود. در این رابطه بیرامی زاده و همکاران (۲) با مطالعه پایداری غشاء سیتوپلاسمی بر اساس روش هدایت الکترویکی، همبستگی بالایی را بین میزان نشت الکتروولیت‌ها و LT₅₀ گزارش کردند و خاطر نشان نمودند که این همبستگی نشان دهنده کارایی این روش در ارزیابی مقاومت به سرما است که این نتایج با گزارشات حاصل از این آزمایش مطابقت دارد.

خوسرمایی در مرحله ۳-۵ برگی تأثیر قابل توجهی را بر روی LT₅₀ ارقام مورد بررسی داشت. به طوریکه در کلیه ژنوتیپهای مورد مطالعه، خوسرمایی موجب کاهش دمای ۵۰ درصد کشنده‌گی گردید (جدول ۱).

کاردونا و همکاران (۸) گزارش نمودند که خو سرمایی موجب کاهش میزان نشت مواد و کاهش دمای ۵۰ درصد کشنده‌گی در اکوتیپ‌های پاسپالم (*Paspalum virginatum*) می‌شود. این محققین بر اساس آزمون نشت الکتروولیت دمای کشنده برای ۵۰ درصد نمونه‌های گیاهی را در اکوتیپهای تطابق یافته با سرما بین ۵/۲-۵/۵-تا ۹/۵ درجه سانتی گراد و

جدول ۱: اثر خو سرمایی بر درصد نشت مواد و دمای ۵۰ درصد کشنده‌گی ارقام مختلف کلزا

عدم خو سرمائی		خو سرمائی		
LT ₅₀	درصد نشت	LT ₅₀	درصد نشت	رقم
-۷/۸	۳۱/۶۳	-۸/۱	۲۳/۹۷	زرفام
-۸/۷	۲۰/۶۱	-۱۰/۲	۲۷/۸۹	لیکورد
-۱۰/۲	۲۴/۸۶	-۱۳/۳	۲۰/۲۶	الیت
-۱۱/۷	۱۹/۳۴	-۱۱/۳	۲۶/۳۲	SLMO46
-۸/۲	۵۴/۵۵	-۱۱/۲	۲۸/۰۲	اکاپی
-۵/۱	۴۶/۷۳	-۷/۹	۲۲/۶۹	سیمبل
-۸/۳	۴۸/۱۲	-۱۰/۶	۳۲/۱۷	کالورت
-۱۰/۱	۴۵/۵	-۱۲/۸	۲۰/۹۱	اپرا
-۲/۸	۴۹/۵۵	-۱۳/۹	۱۸/۳۰	ابنتی
-۵/۲	۴۵/۵۴	-۱۱/۲	۲۳/۳۱	آلیس
LSD (۰/۰۵): ۱/۴۹		LSD (۰/۰۵): ۱۱/۹۹		LSD (۰/۰۵): ۱۱/۹۹

منابع

- ۱- باقری، ع.، ا. نظامی و م. سلطانی. ۱۳۷۹. اصلاح جبویات سرما دوست برای تحمل به تنش‌ها. (ترجمه). سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی. ۴۴۵ ص.
- ۲- بیرامی زاده، ا.، ای. ارشد، ب. یزدی صمدی و م. ر. فنادها. ۱۳۸۱. بررسی ژنتیک پایداری غشای سیتوپلاسمی در گندم. چکیده مقالات سومین همایش کاهش ضایعات ناشی از سرما و یخ‌زدگی گیاهان زراعی و باغی کشور. ص. ۶۵. معاونت زراعت سازمان حفظ نباتات.
- ۳- شریعتی، ش. و پ. قاضی شهنی زاده. ۱۳۷۹. کلزا. اداره کل آمار و اطلاعات در امر کشاورزی.
- ۴- میرزابی اصل، ا.، ب. یزدی صمدی، ع. زالی، وی. صادقیان مطهر. ۱۳۸۱. بررسی مقاومت گندم به سرما با روش‌های آزمایشگاهی. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی. ۶ (۱): ۱۷۷-۱۸۶.
- ۵- میرعشقی، ا. وغ. ر. خلیل زاده. ۱۳۸۱. ارزیابی برخی از صفات فیزیولوژیک مرتبط با مقاومت به سرما در ۲۲ ژنوتیپ گندم نان. چکیده مقالات سومین همایش کاهش ضایعات ناشی از سرما و یخ‌زدگی گیاهان زراعی و باغی کشور. ص. ۶۱. معاونت زراعت سازمان حفظ نباتات.
- ۶- میرمحمدی میدی، ع. م. ۱۳۷۹. جنبه‌های فیزیولوژی و بهترزایی تنش‌های سرما و یخ‌زدگی گیاهان زراعی. انتشارات گلین، اصفهان. ۲۲۳ ص.
- 7- Baeka, K. H. and D. Z. Skinner. 2003. Alteration of antioxidant enzyme gene expression during cold acclimation of near-isogenic wheat lines. *Plant Sci.* 165: 1221-1227.
- 8- Cardona, C. A., R. R. Duncan and O. Lindstrom. 1997. Low temperature tolerance assessment in paspalm. *Crop Sci.* 37: 1283-1291.
- 9- Fowler, D. B., L.V. Gusta and N. J. Tyler. 1981. Selection for winter hardiness in wheat. III. Screening methods. *Crop Sci.* 21: 896-901.
- 10- Gusta, L. V., D. B. Fowler and N. J. Tyler. 1982. Factors influencing hardening and survival in winter wheat. In: Li, P. H. and A. Sakai. (Eds.). *Plant Cold Hardiness and Freezing Stress. Mechanisms and Crop Implications.* Vol. 2. pp. 23-40. Academic Press, London.
- 11- Hana, B. and J. C. Bischofa. 2004. Direct cell injury associated with eutectic crystallization during freezing. *Cryobio.* 48: 8-21.
- 12- Murry, G. A., D. Eser, L. V. Gusta and G. Eteve. 1988. Winter hardiness in pea, lentil, faba bean and chickpea. P. 831-843. In: Summerfield, R. J. (Ed.). *World Crops: Cool Season Food Legumes.* Kluwer Academic Publishers. The Netherlands.
- 13- Nayyar, H., T. S. Bains, S. Kumar. 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.
- 14- Nilsen, E. T. and D. M. Orcutt. 1996. *Physiology of Plants under Stress (Abiotic Factors).* John Wiley and Sons. New York.
- 15- Shashikumar, K. and J. L. Nus. 1993. Cultivar and winter cover effects on bermudagrass cold acclimation and crown moisture content. *Crop Sci.* 33: 813-817.
- 16- Steponkus, P. L., M. Uemura and M. S. Webb. 1993. Redesigning crops for increased tolerance to freezing stress. In: Jackson, M. B. and C. R. Black. (Eds.). *Interacting Stresses on Plants in a Changing Climate.* pp. 697-714. Springer-Verlag, Berlin.
- 17- Sulk, R. M., K. A. Albrecht and S. H. Duke. 1991. Leakage of intracellular substances as an indicator of freezing injury in alfalfa. *Crop Sci.* 31: 430-435.
- 18- Teutonica, R. A., J. P. Palta and T. C. Osborn. 1993. In vitro freezing tolerance in relation to winter survival of rapeseed cultivars. *Crop Sci.* 33: 103-107.
- 19- Wery, J. 1990. Adaptation to frost and drought stress in chickpea and implication in plant breeding. P. 77-85. In: Saxena, M. C., J. I. Cubero and J. Wery. (Eds.). *Present Status and Future Prospects of Chickpea Crop Production and Improvement in the Mediterranean Countries. Options Mediterranean, series A: semiaries Mediterranean.* No. 9. CIHEM, Zaragoza, Spain.

Electrolyte leakage as an indicator of freezing injury in colza (*Brassica napus L.*)

A. Nezami, A. Borzooei, M. Jahani, M. Azizi, A. Sharif¹

Abstract

In order to evaluate the electrolyte leakage as an indicator of freezing injury in colza (*Brassica napus L.*) genotypes under controlled conditions, a trial carried out at the greenhouse of College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad. In this study 10 rapeseed genotypes, with 5 temperatures (0, -4, -8, -12 and -16 °C) on subplot and acclimation and non acclimation on main plot were evaluated on RCD factorial split plot with two replications. Plants were kept until 3-5 leaf stage in greenhouse condition with $23/16 \pm 2$ °C (day/night) and natural photoperiod. Pots were subjected to acclimation (for three weeks) or non acclimation that plants immediately frozen. For acclimation treatment after three weeks freezing was done in thermogradient freezer. The cell membrane integrity was measured through electrolyte leakage and the lethal temperature 50 (LT₅₀) of samples also were determined. There were significant differences ($p < 0.05$) among acclimation, genotypes and freezing temperatures. As temperature decreased, electrolyte leakage of all genotypes were increased. Acclimation decreased the LT₅₀ of all genotypes. In non acclimation SLMO46 and Symbol genotypes showed the highest and the lowest freezing tolerance, respectively. On the other hand in acclimation treatment Licord and Okapi had the lowest and the highest LT₅₀, respectively.

Key word: Freezing, acclimation, electrolyte, leakage, LT₅₀.

¹ Contribution from College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, and Khorasan Agricultural and Natural Resources Research Center.