ارزیابی میزان تحمل به یخ زدگی کلم بنفش و کلم سفید در شرایط کنترل شده

کاظم معصومی [1*]، ابراهیم گنجی مقدم [2]، احمد اصغرزاده [3]

1- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم باغبانی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیروان. 2- عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات خراسان رضوی. 3- استادیار علوم باغبانی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیروان.

*نویسنده مسئول

چکیده

این مطالعه با هدف بررسی تحمل به یخ زدگی کلم بنفش(Brassica oleraceae purple rosette) و کلم سفید(Brassica oleraceae white rosette) در شرایط کنترل شده در آزمایشی با هفت سطح دمایی(0، 5-، 10-، 15-، 20-، 25-، 30- درجه سانتی گراد) در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با چهار تکرار اجرا گردید. نشت یونی ، پرولین و کلروفیل فلورسانس ، محتوی کلروفیل و LT50 جهت ارزیابی تحمل به یخ زدگی مورد بررسی قرار گرفتند. بیشترین مقدار نشت یونی در کلم بنفش در تیمار 10- درجه سانتی گراد و در کلم سفید در دمای 5- درجه سانتی گراد اندازه گیری شد. شاخص کلروفیل فلورسانس با کاهش دما کاهش یافت به گونه ای که بیشترین مقدار شاخص در هر دو نوع در شاهد مشاهده شد. با گذشت زمان محتوی کلروفیل برگ بطور معنی داری کاهش یاقت، همچنین مقایسه میانگین ها نشان داد که بیشترین مقادیرکلروفیل برگی در کلم بنفش و در تیمار شاهد مشاهده شد. مقادیر بیشتر پرولین کلم بنفش در بافت برگ نسبت به کلم سفید از عوامل تاثیر گذار بر تحمل بیشتر کلم بنفش به تنش دمای پایین است. با کاهش دما کاهش چشمگیری در رشد مجدد در هر دو نوع مشاهده شد بطوری که در کلم بنفش و کلم سفید به ترتیب در دمای 10- و 5- درجه سانتی گراد رشد مجددی مشاهده نشد بیشترین همبستگی بالا بین دما و Fv/Fm در کلم بنفش و کلم سفید به ترتیب با ** 0,929- و** 0,864- مشاهده شد.

کلمات کلیدی: کلروفیل فلورسانس، محتوی کلروفیل، LT50، نشت یونی، پرولین

مقدمه

گیاهان در طول حیات خود همواره با تنش های متعدد محیطی مواجه می باشند که از شایع ترین آنها می توان به تنش سرما اشاره داشت. افت ناگهانی دما قبل از سازگاری گیاه با سرما می تواند منجر به از بین رفتن گیاه گردد و علاوه بر آن کاهش شدید دما در طول زمستان به پایین تر از حد آستانه تحمل انجماد گیاه، می تواند صدمات شدید در پی داشته و منجر به افت عملکرد در واحد سطح گردد(28،29،30،31،32،48). دما یکی از مهمترین فاکتور های آب و هوایی تعیین کننده پراکنش گونه های مختلف گیاهی است. گیاهان دارای دامنه های دمایی مشخص برای رشد و نمو مناسب می باشد و در خارج از آن بعضی از مراحل فیزیولوژیکی آن ها ممکن است مختل یا کند شود. میزان تحمل گیاهان در چنین دمایی بستگی به مرحله نمو، نوع عضو، حداقل یا حداکثر دمایی دریافت کرده و طول دوره آن دما دارد(46،45،50). وقتی گیاه با تنش روبرو می شود، تغییرات فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مرفولوژیکی زیادی در جهت سازگار شدن و تحمل تنش حاصل می شود(27،59). راهکار های مختلف مقاومت و سازگاری گیاهان به تنش حاصل فعالیت تعداد زیادی از ژن ها و اثر متقابل آنها با محیط است(52). برخورد گیاهان با دمای پایین، توزیع جغرافیایی آنها را تحت تاثیر قرار داده و باعث کاهش چشم گیری در متابولیسیم گیاهان می گردد(46). تنش های سرما و یخ زدگی سبب اختلال در تولید کلروفیل می شوند و به کلروپلاست آسیب وارد می کنند.کلروفیل فلورسانس یک شاخص تهییج انرژی در ساختار های فتوسنتزی برگ و سیستم تشخیص سریع و غیر مخرب برای تعیین مقاومت گیاهان به تنش های محیطی است (57 ، 68). پرولین از اسیدی شدن جلوگیری کرده و تنش

سلولی را کاهش می دهد و تجمع آن در گیاهان ممکن است در پاسخ به تنش های زیستی و غیر زیستی ایجاد شود(27). در گیاه سویا فعالیت پرولین با کاهش دما، افزایش می یابد و بیشترین مقدار آن در زمستان بود(40). در ارزیابی تحمل به تنش سرما در چند گونه علف چمنی با استفاده از آزمون نشت الکترولیت ها، نتایج نشان داد که با کاهش دمای یخ زدگی، نشت الکترولیت ها از سلولهای برگ و طوقه بطور معنی داری افزایش یافت و بین علف های چمنی از این نظر اختلاف معنی داری وجود داشت.(15).این پژوهش با هدف ارزیابی تحمل به یخ زدگی دو رقم کلم زینتی (بنفش و سفید) به روش اندازه گیری شاخص های مهمی از قبیل میزان نشت الکترولیت ها، محتوی کلروفیل، فلورسانس کلروفیل، میزان کربوهیدرات، پرولین، LT50 مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

در این روش تحمل به یخ زدگی دو رقم کلم زینتی در شرایط کنترل شده مورد مطالعه قرار گرفت. جهت اعمال تیمارهای دمایی گلدانها در مرحله 10 برگی در اواخر آذر ماه به فریزر ترموگرادیان منتقل شدند. دمای فریزر در شروع آزمایش 10 درجه سانتیگراد بوده که پس از قرار دادن گلدان ها در آن دما با سرعت 2 درجه سانتیگراد در هر ساعت کاهش یافت. به منظور جلوگیری از پدیده فراسرما و ایجاد هستک یخ در گیاهان و اطمینان از اینکه مکانیزم از نوع تحمل است نه اجتناب اسپری آب 2 بار تقطیر برروی نمونه ها به نحوی انجام شد که سطح گیاه را بطور نسبی قشری از این مایع پوشانده و تقریبا خیس شدند و به منظور ایجاد دمای تعادل در دمای محیط گیاهچه ها در هر تیمار دمایی(صفر ، 5- ، 10- ، 15- ، 20- ، 25- ،30-) به مدت 1 ساعت از دمای فعلی به دمای جدید و 1 ساعت در دمای جدید نگه داشته و سپس نمونه ها و گیاهچه ها جهت جلوگیری از ذوب شدن سریع یخ گلدان ها به اتاقک سرد با دمای 5 درجه منتقل و بمدت 12 تا 24 ساعت در آن نگهداری شدند. بعد از اعمال تیمارها جهت ارزیابی میزان تحمل به یخ زدگی فاکتورهای زیر اندازه گیری شد.

نشت یونی

برای این منظور تعدادی برگ توسعه یافته از گلدان های هر تیمار انتخاب و پس از شستشوی نمونه ها و آبکشی با آب مقطر، 3 گرم برگ، توزین و داخل ظروف گذاشته شده و با آبپاشی با آب مقطر و نصب برچسب داخل اتاقک انجماد (فریزر تحقیقاتی تست تنش سرما ساخت شرکت طراحی مهندس گروک) قرار داده شدند. مقدار 15 سی سی آب مقطر درون ظروف اضافه گردید و به مدت 24 ساعت توسط شیکر (مدل 3005 مارک GFL) شیکر شدند. بعد از 24 ساعت EC آب حاوی نمونه اندازه گیری شد. بعد از آن نمونه توسط دستگاه اتوکلاو (مارک HIRAYAMA مدلHG- 80 ساخت کشور ژاپن) در دمای 121 درجه سانتیگراد به مدت 20 دقیقه اتوکلاو شدند و سپس به مدت 12 ساعت مجددا نمونه شیکر شدند و پس از گذشت 12 ساعت مجددا EC آب حاوی نمونه های اتوکلاو شده اندازه گیری شد. بر اساس فرمول نشت نسبی، میزان نشت یونی هر کدام از نمونه های تعیین شد(48).

$$\text{نشت نسبی} = \frac{\text{نشت اولیه}}{\text{نشت نهایی}} \times 100$$

پرولین

ابتدا نیم گرم از بافت برگ انتخاب و در هاون کاملاً له شد. سپس 5 میلی لیتر اتانول 95 درصد به آن اضافه و به لوله آزمایش منتقل و سپس به شدت تکان داده شد. قسمت روئی جدا و به لوله دیگری منتقل و سپس دو مرتبه و هر بار 5 میلی لیتر اتانول 70 درصد به بخش جامد باقی مانده اضافه و شسته شد. در مرحله بعد بخش مایع روئی به لوله ی آزمایش دیگری منتقل گردید. در نهایت 15 میلی لیتر از عصاره بدست آمده را با سانتریفیوژ 4500 دور در دقیقه سانتریفیوژ شده و فاز مایع بالائی به دقت جدا و به یخچال 4 درجه سانتی گراد منتقل گردید. یک میلی لیتر از عصاره الکلی انتخاب و به لوله ی آزمایش درب دار منتقل و 10 میلی لیتر آب دو بار تقطیر به آن اضافه

گردید. سپس پنج میلی لیتر نین هیدرین به نمونه ها اضافه شد. برای تهیه نین هیدرین به ازاء هر نمونه 0/125 گرم نین هیدرین را در دو میلی لیتر اسید فسفریک شش مولار و سه میلی لیتر اسید استیک گلاسیال حل کرده و به مدت 16 ساعت با همزن مگنت دار به هم می زنیم تا کاملاً حل گردد. در مرحله بعد پنج میلی لیتر اسید استیک گلاسیال به هر نمونه اضافه گردید و نمونه داخل حمام آب جوش یا بن ماری به مدت 45 دقیقه قرار داده شد. پس از این مرحله نمونه ها از بن ماری خارج و در دمای محیط خنک گردید. به هر نمونه 10 میلی لیتر تولوئن اضافه و به شدت تکان داده شد تا پرولین وارد فاز تولوئن گردد. نمونه ها به مدت 30 دقیقه به حال سکون قرار داده شدند و میزان جذب نور نمونه ها در طول موج 515 نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر قرائت گردید(59). منحنی کالیبراسیون با استفاده از استاندارد ال پرولین رسم و میزان پرولین آزاد نمونه ها بر اساس میکرومول بر گرم وزن تر برگ محاسبه شد.

محتوی کلروفیل

اندازه گیری محتوی کلروفیل با استفاده از دستگاه SPAD-502 در زمان های مختلف نمونه برداری انجام گردید. قسمت میانی پهنک جوان ترین برگ در بین گیره دستگاه قرار گرفت و با فشار دادن گیره، میران کلروفیل بر حسب واحد اسپاد اندازه گیری شد.

فلورسانس کلروفیل

جهت بررسی اثرات تنش سرما با استفاده از دستگاه فلورومتر، مدل Opti-Sciences میزان فلورسانس کلروفیل گیاهان شاهد و گیاهان تحت تنش اندازه گیری شد. بدین منظور بلافاصله بعد از اعمال سرما، گیره های دستگاه اندازه گیری کلروفیل فلورسانس به برگ ها وصل شدند. پس از نیم ساعت، دیود به گیره متصل شده و سپس دریچه گیره باز شده با فشار دادن کلید روی دیود، پارامتر های فلورسانس با شدت نور 1000 میکرو مول (فوتون) بر متر مربع در ثانیه ارزیابی و بر روی صفحه نمایش دستگاه ، ظاهر می شوند.(53)

$$\text{ØII} = (Fm- F0)/ Fm= Fv / Fm$$

آنالیز داده ها بر اساس آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با 4 تکرار انجام شد و مقایسه میانگین با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن و محاسبات آماری با استفاده از نرم افزار MSTATC و رسم شکل ها با نرم افزار Excel انجام گرفت.

نتایج و بحث

نشت یونی

نتایج نشان داد با کاهش دما از 0 تا 10- درجه سانتی گراد درصد نشت یونی افزایش یافت به گونه ای که بیشترین میانگین نشت یونی در دمای 10- درجه سانتی گراد با 97,00 درصد مشاهده شد. در مجموع از لحاظ آماری تفاوت معنی داری در میزان نشت یونی بین تیمارهای 15- تا 30- درجه سانتی گراد در سطح احتمال یک درصد مشاهده نشد(جدول 1). مقایسه میانگین در تیمار شاهد نشان می دهد که بیشترین میزان نشت یونی مربوط به کلم سفید می باشد که البته اختلاف معنی داری با نمونه مشابه با کلم بنفش نداشت. غشا سلولی اولین مکان خسارت در اثر سرما است و این امر منجر به تغییر وضعیت غشا از حالت کریستال مایع به حالت جامد-ژل می شود و به دنبال آن فعالیت غشا مختل می گردد، بنابراین اختلال در فعالیت غشاهای سلولی در اثر تنش سرما، سبب نشت یونی از سلول شده و اندازه گیری میزان نشت از بافت های تحت تنش می تواند معیار قابل قبولی برای سنجش مقاومت به تنش سرما باشد(22). در مطالعه روی اثر تنش یخ زدگی بر گیاه مینای چمنی گزارش شده است که با کاهش دما درصد نشت یونی به طور معنی داری($P<0,01$) افزایش یافت، به طوری که در دمای 18- درجه سانتی گراد به حداکثر رسید(15). با کاهش دما درصد نشت یونی در بنفشه زینتی نیز به

طور معنی داری($P<0,01$) افزایش یافت به طوری که در دمای 20- درجه سانتی گراد به حداکثر رسید و آزمون نشت یونی برای طبقه بندی چندین گونه متفاوت از بلوط نیز استفاده شد(14).

جدول 1- اثر تیمار های دمایی بر تغییرات نشت یونی نسبی برگ در کلم بنفش و سفید

نوع رقم	شاهد	0	-5	-10	-15	-20	-25	-30
بنفش	18,61 h	32,11 g	67,59 cde	97,00 a	86,06 b	82,94 b	84,19 b	83,93 b
سفید	21,4 h	51,92 f	81,66 b	73,92c	70,83 cd	63,40de	62,02e	62,39e

در هر ردیف و ستون میانگین هایی که حروف مشترک دارند ، در سطح یک درصد آزمون دانکن تفاوت معنی داری با هم ندارند.

کلروفیل فلورسانس

مقایسه میانگین های شاخص کلروفیل فلورسانس نشان داد که، بیشترین میزان در کلم بنفش و در تیمار شاهد مشاهده شد و به تدریج با کاهش دما مقادیر Fv/Fm نیز کاهش یافت(جدول 2).کاهش شدید Fv/Fm در کلم بنفش از دمای 10- درجه سانتی گراد به دماهای پایین تر نشان می دهد که حد مقاومت این گیاه به سرما در حدود 10- درجه سانتی گراد می باشددر کلم سفید نیز کاهش شدیدی از دمای 5- درجه سانتی گراد مشاهده شد که می توان حد مقاومت آنرا در حدود 5- درجه سانتی گراد را ارزیابی کرد . در بررسی میزان مقاومت به سرما در ارقام مختلف زیتون نیز با کاهش دما، Fv/Fm کاهش یافت که با نتایج بدست آمده مطابقت دارد. (11) همچنین در بررسی اثر خسارت یخ زدگی در مرحله گیاهچه ارقام مختلف چغندر قند نیز با افزایش تنش یخ زدگی، Fv/Fm کاهش نشان داد(4). سرما و یخ زدگی از شکستن آب و یا اکسیداسیون نوری در فتوسیستم || جلوگیری می کنند و موجب کاهش فلورسانس کلروفیل می شوند(56).

جدول 2- مقایسه اثر تیمار های دمایی بر تغییرات Fv/Fm نسبت به دما در کلم بنفش و سفید

نوع رقم	شاهد	0	-5	-10	-15	-20	-25	-30
بنفش	0,806a	0,778 b	0,748 c	0,490e	0,437h	0,443g	0,390j	0,378k
سفید	0,749 c	0,675d	0,464f	0,442 g	0,420i	0,389j	0,371l	0,372l

در هر ردیف و ستون میانگین هایی که حروف مشترک دارند ، در سطح یک درصد آزمون دانکن تفاوت معنی داری با هم ندارند.

محتوی کلروفیل

بررسی روند تغییرات محتوی کلروفیل در طی تیمار های اندازه گیری نشان داد که با گذشت زمان محتوی کلروفیل برگ بطور معنی داری کاهش یاقت (جدول 3) همچنین مقایسه میانگین ها نشان داد که بیشترین مقادیرکلروفیل برگی در کلم بنفش و در تیمار شاهد مشاهده شد (جدول 3). در هر دو گونه کلم بنفش و کلم سفید کاهش شدیدی از دمای 10- درجه سانتی گراد در کلم بنفش و از دمای 5- درجه سانتی گراد در کلم سفید مشاهده شد که حد مقاومت به سرما را در این دو گونه مشخص می کند این خسارت ها ممکن است که در نتیجه اختلال در واکنش های نوری و زنجیره انتقال الکترون در فتوسیستم باشد که در نتیجه باعث تولید گونه های فعال اکسیژن می شود و این مولکول باعث واکنش فتواکسیداتیو در کلروپلاست و همچنین باعث اکسیداسیون کارتنوئید . پروتئین ها می شود ، در نتیجه باعث کاهش راندمان کوانتومی فتوسیستم || می شود (44،43) بررسی قبلی محققین نشان می دهد تنش دمای پایین موجب کاهش

شدید فعالیت آنریم پورفوبیلینوژن دی آمیناز شده و از این طر یق سنتز پروتوپورفین IX (بعنوان یکی از حد واسط های مهم در مرحله دوم سنتز کلروفیل) را کاهش می دهد و همچنین با بازداری آنزیم های منیزیم - شلتاز و منیزیم– پورتوپورفین IX منواستر سیکلاز در نهایت موجب کاهش محتوای کلروفیل در برگ می شود (تیواری و تری پاتی، 1998)

جدول 3- اثر تیمار های دمایی بر محتوی کلروفیل در کلم بنفش و سفید

نوع رقم	شاهد	0	-5	-10	-15	-20	-25	-30
بنفش	89,51a	79,53b	66,54 c	40,91f	36,44g	31,15 h	29,86hi	29,48hi
سفید	51,53 d	45,11e	29,01hi	25,86ij	22,27 jk	22,93jk	19,70k	21,98jk

در هر ردیف میانگین هایی که حروف مشترک دارند ، در سطح یک درصد آزمون دانکن تفاوت معنی داری با هم ندارند.

پرولین

بیشترین میزان پرولین در تیمار (10-) در گونه کلم بنفش (212,1 میکرومول بر گرم) مشاهده شد و تا دمای 30- درجه سانتی گراد تقریبا تفاوت معنی داری بین دماهای مختلف مشاهده نشد. مقدار پرولین از ابتدا(شاهد) در کلم سفید کمتر از میزان پرولین در کلم بنفش بود، که این میزان پرولین با اولین تیمار سرمایی در هر دو گونه افزایش یافت این افزایش تقریبا تا دمای 10- درجه سانتی گراد در کلم بنفش و تا 5- درجه سانتی گراد در کلم سفید ادامه و سپس با اندکی کاهش تا دما ی 30- درجه سانتی گراد ثابت بود و بین تیمارهای دمایی اختلاف معنی داری در سطح احتمال پنج درصد مشاهده نشد(جدول 4). به نظر می رسد کلم سفید با افزایش اسیدآمینه پرولین، سعی در حفظ پتانسیل آب بافت هایش دارد و در یک مقایسه می توان چنین گفت که نسبت به تنش سرما حساس تر باشد.ولی گونه کلم بنفش میزان اسیدآمینه را در حد بالایی دارا می باشد که به نظر می رسد می تواند مقاوم تر از کلم سفید باشد. این نتایج با مطالعه روی ارقام پسته مطابقت دارد، ارقام اکبری و احمدآقایی تحت تنش سرما با افزایش اسیدآمینه پرولین، سعی در حفظ پتانسیل آب بافت هایشان ولی رقم کله قوچی و اوحدی نسبت کمتری از این اسیدآمینه را دارا هستند و احتمالا به سرما حساس تر باشند.می توان چنین گفت که کاهش پرولین در تیمارهای دمایی 15- تا 30- درجه سانتی گراد در کلم بنفش به علت اکسیداسیون پرولین و به علت به هم ریختن غشای میتوکندری ها و اختلال در سنتز پروتئین است که این کاهش در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی داری نداشته است (61)(جدول 4).

جدول 4- اثر تیمارهای دمایی بر تغییرات میکرو مول بر گرم پرولین کلم بنفش و سفید

نوع رقم	شاهد	0	-5	-10	-15	-20	-25	-30
بنفش	149,9h	157,5gh	173,3ef	212,1a	196,1b	186,6bc	170,9cde	167,3cd
سفید	119,2j	138,0i	189,2bc	170,5ef	174,6def	180,9cde	168,9f	167,3fg

در هر ردیف و ستون میانگین هایی که حروف مشترک دارند ، در سطح یک درصد آزمون دانکن تفاوت معنی داری با هم ندارند.

Lt50

اختلال در فعالیت غشا های سلولی در اثر تنش سرما، سبب نشت الکترولیت ها از سلول شده و اندازه گیری میزان نشت از بافت های تحت تنش می تواند معیار قابل قبولی برای سنجش مقاومت به تنش سرما باشد (25،17) دمایی را که در آن 50 درصد نشت الکترولیت ها اتفاق می افتد، به عنوان دمای 50 درصد کشندگی پیشنهاد شده است(37). بر این اساس در بررسی حاضر LT50el برای کلم بنفش در حدود 5- و در کلم سفید صفر درجه سانتی گراد تعیین شد. به عبارت دیگر در این دو دما 50 درصد الکترولیت ها به خارج از سلول نشت کرده است. در مطالعه کاردونا و همکاران بر روی سه اکوتیپ پاسپالوم (vaginatum paspalum) و گیاه برموداگراس (Cyndon doctylom) مشاهده شد که میزان LT50el در برموداگراس به طور معنی داری کم تر از اکوتیپ های پاسپالوم بود(25) در بررسی حاج محمد نیا و همکاران نیز بر روی هشت رقم چغندر قند LT50el آن ها بین 5- تا 9- درجه سانتی گراد گزارش شده است(6).درصد بقا گیاه کلم بنفش در پایان دوره بازیافت تحت تاثیر دماهای آزمایش قرار گرفت و علی رغم اینکه تا دمای 10- درجه سانتی گراد را به خوبی تحمل کرد (75 درصد) اما در دماهای پایین تر به کلی از بین رفتند (شکل) دمای کشنده 50 درصد گیاهان (LT50su) نیز در کلم بنفش حدودا 12,5- درجه سانتی گراد و در کلم سفید 5- درجه سانتی گراد بود. زرگری نیز گزارش کرد که گیاه مینا چمنی قادر است در شرایط طبیعی سرما را تا حد 17- درجه سانتی گراد بدون پوشش برف را تحمل کند(9). در این مطالعه همبستگی معنی داری در کلم بنفش و کلم سفید (**0,666- و **0,644-) بین درصد نشت الکترولیت ها و درصد بقا گیاهان وجود داشت (جدول6) به عبارت دیگر با افزایش درصد نشت الکترولیت ها درصد بقا گیاهان کاهش یافته است با وجود این بررسی (جدول 5) نشان می دهد در شرایطی که درصد نشت الکترولیت ها از گیاهان به میزان 75 درصد بوده است سبب مرگ 25 درصد گیاهان در کلم بنفش و در کلم سقید سبب 100 درصد مرگ شده است . محققان معتقد هستند که این روش ارزیابی می بایست ساده قابل تکرار و غیر تخریبی باشد(38) و لذا جهت بررسی نشت الکترولیت ها غالبا از برگ های گیاهان استفاده می شود (23-33) زیرا در این حالت می توان بقا گیاهان را نیز مورد بررسی قرار داد(16) .

جدول 5- اثر تیمار های دمایی بر تغییرات LT50 کلم بنفش و سفید

نوع رقم	شاهد	0	-5	-10	-15	-20	-25	-30
بنفش	100a	100a	100a	75b	0d	0d	0d	0d
سفید	100a	100a	50c	0d	0d	0d	0d	0d

در هر ردیف و ستون میانگین هایی که حروف مشترک دارند ، در سطح یک درصد آزمون دانکن تفاوت معنی داری با هم ندارند.

همبستگی صفات مورد بررسی

بیشترین میزان همبستگی بین محتوی کلروفیل و دما مشاهده شد. در کلم بنفش و سفید همبستگی منفی (**0,929- و **0,864-) معنی داری در سطح احتمال یک درصد مشاهده شد. این نتایج نشان می دهد با کاهش دما میزان محتوی کلروفیل ، کاهش پیدا می کند (جدول 6)،بین دما و کلروفیل فلورسانس (Fv/Fm) نیز همبستگی منفی و معنی داری در کلم بنفش (**0,925-) در سطح احتمال یک درصد مشاهده شد که نشان می دهد با کاهش دما میزان کلروفیل فلورسانس (Fv/Fm) کاهش می یابد (جدول 6). نتایج با یافته در مطالعه تنش سرما بر روی چند رقم گندم که تنش سرمایی باعث افزایش محتوی کلروفیل در برگ های سرما دیده رقم مقاوم شایان شده بود ، مطابقت دارد(13)بین دما و نشت یونی همبستگی مثبت معنی داری (**0,756) در سطح احتمال یک درصد در کلم بنفش

مشاهده شد که نشان می هد با کاهش دما میزان نشت یونی برگ افزایش می یابد در کلم سفید نیز همبستگی مثبت معنی داری (*0,441) در سطح احتمال پنج درصد مشاهد شد که نشان می دهد با کاهش دما میزان نشت یونی در برگ افزایش پیدا می کند. در مطالعه اثر تنش یخ زدگی روی مینای چمنی نیز همبستگی بسیار معنی داری بین درصد بقاء گیاهان و درصد نشت الکترولیت ها وجود داشت به طوری که با افزایش نشت الکترولیتی، درصد بقاء کاهش معنی داری نشان داد(15).همبستگی مثبت و معنی داری بین مقادیر پرولین و تیمار های دمایی در کلم بنفش و سفید (**0,549 و **0,573) در سطح یک درصد مشاهده شد (جدول 6) همان گونه که نتایج مقایسه میانگین تغییرات پرولین نشان می دهد با کاهش دما میزان پرولین در هر دو گونه افزایش می یابد.بین دما و LT50 همبستگی منفی معنی داری در سطح احتمال یک درصد مشاهد شد این نتایج نشان می دهد با کاهش دما درصد زنده مانی بوته ها رو به کاهش می رود(جدول 6). در مطالعه اثر تنش یخ زدگی روی مینای چمنی نیز همبستگی بسیار معنی داری بین درصد بقاء گیاهان و LT50 وجود داشت به طوری که با کاهش سرما، درصد بقاء کاهش معنی داری نشان داد(15).

جدول 6-ضرایب همبستگی پارامتر های مورد بررسی

	1	2	3	4	5	6
1- دما	1					
2- محتوی کلروفیل	**0,929 -	1				
3- کلروفیل فلورسانس	**0,925-	**0,970	1			
4- نشت یونی	**0,756	**0,910-	**0,840-	1		
5- پرولین	**0,549	**0,778-	**0,737-	**0,894	1	
6-lt50	**0,905-	**0,888	**0,913	**0,666-	**0,493-	1
1- دما	1					
2- محتوی کلروفیل	**0,864-	1				
3- کلروفیل فلورسانس	**0,880-	**0,984	1			
4- نشت یونی	*0,441	**0,764-	**0,766-	1		
5- پرولین	**0,573	**0,834-	**0,857-	**0,897	1	
6- LT50	**0,859-	**0,952	**0,945	**0,644-	**0,745-	1

**، *: به ترتیب معنی دار در سطوح یک و پنج درصد

نتیجه گیری

وجود همبستگی بالای محتوی کلروفیل با دما(در سطح احتمال یک درصد) در هر دو گونه می تواند محتوی کلروفیل را شاخصی مناسب برای تعیین حد تحمل گیاه به تنش سرما معرفی کند ضمن آنکه این روش نسبت به روش های دیگر سریعتر و کم هزینه تر می باشد. همان گونه که نتایج نشان می دهد تجمع بیشتر اسیدآمینه پرولین در کلم بنفش حاکی از مقاومت بیشتر این گونه نسبت به کلم سفید است.همچنین نتایج مربوط به LT50 هم نشان می دهد که کلم بنفش نسبت به کلم سفید مقاومت بیشتری نسبت به سرما و بالاترین مقاوت را به سرما در دمای 10- درجه سانتی گراد با 75 درصد زنده مانی بوته در مقابل درصد صفر در کلم سفید داشته است.

پیشنهادها

انجام تحقیقات روی سایر ارقام و مقایسه گروهی آنها

استفاده از تیمار های دمایی با اختلاف کمتروتیمار زمانی طولانی تر

مطالعه یخ زدگی سرمای طبیعی در مزرعه ومقایسه ومشاهدات ظاهری پس از سرما

استفاده از ارقام مقاوم به سرما در مکان هایی بااحتمال بروز سرما و یخبندان

اجتناب از کاشت کلم زینتی در مکان هایی که خطر بروز یخبندان وجود دارد

منابع

1- احمدلو ف.، طبری م. رحمانی ا. و یوسف زاده ح(1388) اثر ترکیبات خاک بر رشد و راندمان نهال های سرو نقره ای و زربین در نهالستان. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی. 13(48): 447-437.

2- امام م (1382) تکثیر درون شیشه ای درخت نوش(Thuja orientalis L) از طریق سرشاخه های آن. تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران. 11(1): 15-1.

3- پورعسگری ع. م. و پورلزرجانی ه (1384) راهنمای تولید نهال، درخت کاری و معرفی تعدادی از درختان و درختچه های جنگلی. موسسه‌ی تحقیقات جنگل ها و مراتع کشور. تهران. 138 صفحه.

4- جلیلیان ع.، مظاهری د. توکل افشاری ر. عبدالهیان نوقابی م. رحیمیان مشهدی ح. و احمدی ع (1387) اثر خسارت یخ زدگی در مرحله گیاهچه ی ارقام مختلف چغندر قند. مجله علوم زراعی ایران. 10(4): 415-400.

5- حاج محمد نیا قالیباف ک.، نظامی ا. و کمندی ع (1389) بررسی امکان استفاده از شاخص نشت الکترولیت ها در ارزیابی تحمل به سرما در چقندر قند.مجله پژوهش های زراعی ایران. (8)2: 472-465

6- حسینی س. م.، علی عرب ع. ر. اکبری نیا م. جلالی س. غ. طبری م. علمی م. ر. و رسولی اکردی ی. د (1385) اثر تیمارهای مختلف شدت نور بر رشد ارتفاعی، شادابی و زنده مانی نهال های سرو نقره ای در نهالستان. مجله پژوهش و سازندگی. 72: 31-25.

7- داوری نژاد غ. ح.، منصوری ده شعیبی ر. حکم آبادی ح. و تهرانی فر ع (1390) ارزیابی تغییرات پرولین، پروتئین کل و قندهای محلول در طی مراحل فنولوژی جوانه گل ارقام پسته. علوم باغبانی. 25(2):121-116.

8- زرگری ع (1368) گیاهان دارویی، جلد 3 - چاپ 1. انتشارات دانشگاه تهران. 849 صفحه

9- سلطانی ا (1376) طبقه بندی پارک ها و مناطق حفاظت شده ایران از نظر گونه های شاخص گیاهی و جانوری. دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران. تهران. پایان نامه کارشناسی ارشد.

10- سیم کش زاده ن.، مبلی م. اعتمادی ن. ا. و بانی نسب ب (1389) ارزیابی میزان مقاومت به سرما در برخی از ارقام زیتون با اندازه گیری فلورسانس کلروفیل و آسیب های ظاهری. علوم باغبانی. 24(2): 169-163.

11- طباطبایی م (1374) زیتون و روغن آن. وزارت کشاورزی، صندوق مطالعاتی توسعه کشت زیتون، تهران.400صفحه.

12- عابدی ب.، تفضلی ع. ا. راحمی م. خلد برین ب. و گنجی مقدم ا (1389) تغییرات قندها، نشاسته، پرولین و آب میان بافتی در مواجهه با سرما در برخی از ارقام زردآلو(.Prunus armeniaca L). مجله علوم باغبانی. 41(4): 382-375.

13-عزیزی ه.، نظامی ا. نصیری محلاتی م. خزاعی ح. ر (1386) ارزیابی تحمل به یخ زدگی ارقام گندم تحت شرایط کنترل شده. مجله پژوهش های زراعی ایران. (6)1: 120-109

14- میر محمدی میبدی ع. و اصفهانی س (1379) جنبه های فیزیولوژی و بهنژادی تنش های سرما و یخ زدگی گیاهان زراعی. انتشارات گلبن اصفهان.336 صفحه

15- نظامی ا.، موسوی م ج. نظامی س. ایزدی دربندی ا. یوسف ثانی م. و کیخاآخر ف(1390) مطالعه اثرات تنش یخ زدگی بر گیاه مینای چمنی (Bellis perennis) در شرایط کنترل شده. نشریه آب و خاک. 2(25): 388-380.

16- نظامی ا.، برزویی ا.، جهانی م.، عزیزی م .و شریف ع .1386 . نشت الکترولیتها به عنوان شاخصی از خسارت یخ زدگی در کلزا . مجله پژوهشهای زراعی ایران ، (5) 1: 175-167

17- نظامی ا.، برزوئی ا.، جهانی م.، عزیزی م.، و جواد موسوی م .1388 . ارزیابی تحمل به یخ زدگی ارقام کلزا پس از خوسرمایی در شرایط کنترل شده . مجله پژوهش های زراعی ایران ، جلد 7 (2) : 722-711.

18- نوری ش(1374) بررسی سوزنی برگان در جنگل کاری های شمال کشور. دفتر جنگل کاری و پارک های سازمان جنگل ها و مراتع کشور. 84 صفحه.

19- Aaron J, Suzanne M, Volenec J and Zachary J(2007) Differences in freeze tolerance of Zoysiagrasses. II. Carbohydrate and proline accumulation. Crop Science. 47: 2170-2181.

20- Aspinall, D., and Paleg, L.G. 1981. Proline accumulation: Physiological aspects. In 'The Physiology and Biochemistry of Drought Resistance in Plants'. (ed. Paleg LG, Aspinall D) pp. 205-241.

21- Blum A(1988) Plant breeding for stress environments. CRC Press, Inc., Boca Raton, FL.223 pages

22- Boorse G C(1998) Comparative methods of estimating freezing temperatures and freezing injury in leaves of chaparral shrubs. Intl. J.Plant Sci. 159: 513-521.

23- Bradford KJ and Hsiao TC(1982) Physiological response to moderate stress. In: Lange OL. Nobel PS. Osmond CB and Ziegler H (Eds), Encyclopedia of plant physiology. Physiological plant ecology. New York. pp. 263-324.

24- Cardona CA, Duncan RR and Lindstrom O(1997) Low temperature tolerance assessment in paspalm. Crop Science. 37: 1283-1291.

25- Chow, W.S. 1994. Photoprotection and photoinhibitory damage. In: E.E. Bittar. And J. Barber. (eds.), Advances in Molecular and Cell Biology, Vol. 10, Molecular Processes in Photosynthesis. JAI Press, Greenwich, UK. 151–196

26- Dexter S T, Tottingham W E and Graber L F(1932) Investigation of the hardiness of plants by measurement of electrical conductivity. Plant Phys. 7: 63-78.

27- Ehdaie, B., A. E. Hall, G. D. Farquhar, H. T. Ngvyens & J. G.Waines. 1991.Water use efficiency and carbon isotope discrimination in wheat. Crop.Sci 31:1282-88

28- 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.

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

30- Fowler, D.B. 2008. Cold acclimation threshold induction temperatures in cereals.

31- Fowler, D.B. and Limin, A.E. 2004. Interactions among factors regulating phenological development and acclimation rate determine low-temperature tolerance in wheat. Ann Bot. 94: 717 - 724

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

33- Greaves JA and Wilson JM(1987) Chlorophyll fluorescence analysis – an aid to plant breeders. Biologist. 34: 209-214.

34- Griesbach RJ and Berberich SM(1995) The early history of research on ornamental plants at the US. Department of agriculture from 1862 to 1940. HortScience. 30: 421-425.

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

36- 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 ofPlant Science. 81:241-246

37- Hakam P, Khanizade S, Deell JR and Richr C(2000) Assessing chilling tolerance in roses using chlorophyll fluorescence. HortScience. 35: 184-186.

38- Hidekazu S, Kazuo I and Masayuki O(1996) Changes in sugar content during cold acclimation and deacclimation of cabbage seedlings. Annals of Botany. 78: 365-369.

39- Irigoyen J J, Emerich D W and Sanchez-Diaz M(1992) Water stress induced changes in concentrations of prolin and total soluble sugars in nodulated alfalfa(Medicago sativa) plants. Physiologia Plantarun. 84: 55-60.

40- Koocheki A, Zand A, Rezvani Moghaddam P, Mahdavi Damghani A, Jami AL-Ahmadi M and Vesal S(2005) Plant Ecophysiology. Ferdowsi University of Mashhad Publication. 445p. [In Persian].

41- Kudoh, H., and Sonoike, K. 2002. Irreversible damage to photosystem I by chilling in the light: cause of the degradation of chlorophyll after returning to normal growth temperature. Planta, 215: 541-548

42- Larcher W(2001) Okophysiologie de Pflanzen(Stuttgart: Eugen ulmer) ISBN-B978-382528074 p.302.

43- Levitt J. 2001. Handbook of Plant and Crop Physiology. ISBN: 0-8247-0546-7 p.175

44- Levitt, J. 1980. Responses of Plants to Environmental Stresses. Vol. 1. Chilling Freezing and High Temperature Stresses. Academic Press: New York, USA. 497 pages

45- Linden L(2002) Measuring cold hardiness in woody plants. PhD. Thesis. Helsinki Univ. Pub. ISBN: 9521005254. P.57

46- could we breed for?.Key article. The 10th Iran Crop Sci Con. Aug 18-20, 2008. Seed. Plant Improvement Institute of Karaj.

47- Mahfoozi, S., Limin, A.E., Ahakpaz, F., and Fowler, D.B. 2006. Phonological development and expression of freezing resistance in spring and winter wheat under field conditions in north-west Iran. Field Crop Res. 97: 182-187

48- Mancuso S. 2000. Electrical resistance changes during exposure to low temperature measure chilling. Plant, cell and Environment (2000) 23, 291-299

49- Maxwell K and Johnson GN(2000) Chlorophyll fluorescence a practical guide. J . Expt. Bot. 51: 659-668.

50- Naidu, B., Thusitha, G., and Fukai, S. 2005. Increasing cold Tolerance in Rice by selecting for high polyamine and gibberellic acid content. Aust J. Plant Physiol. 25: 793-800

51- Paleg, L. and Spinal, D. (1981) The physiology and biochemistry of drought resistance in plant. Academic Press 89-101.

52- Paolo B, Luca P, Ari M, Hietala and Nicola La P(2011) Cold tolerance in cypress (Cupressus sempervirens L.): a physiological and molecular study. Tree Genetics & Genomes. 7: 79-90.

53- Percival G and Henderson A(2003) An assessment of the freezing tolerance of urban trees using chlorophyll fluorescence. Hortic. Biotech. 78: 254-260.

54-Pocock, T.H., Hurry, V., Savitch, L.V., and Huner, N.P.A. 2001. Susceptibility to low-temperature photoinhibition and the acquisition of freezing tolerance in winter and spring wheat: the role of growth temperature and irradiance. Plant Physiology, 113: 499-506

55- Pquine R and Lechasseur P(1979) Observations sur une mathode dosage la libre dans les de plantes. Canadian Journal of Botany. 57: 1851-1854.

56- Rajendra, P. & Kandpal, C. S. (1981). Alternations in the activities of the enzymes of proline metabolism in Ragi leaves during water stress. Journal Biology Science, 3, 361-370.

57- Ramzi, B. and Morales, F. (1994) Chlorophyll flourescens as a possible tool for salinity tolerance screening in barley. Plant Physiology 104: 667-673

58- Sakai A and Yoshida S(1968) The role of sugar and related compounds in variations of freezing resistance. Cryobiology. 5:160-174.

59-Savitch, L.V., Harney, T., and Huner, N.P.A. 2000. Sucrose metabolism in spring and winter wheat in response to high irradiance, cold stress and cold acclimation. Plant Physiology, 108: 278

60- Seppanen MM(2000) Characterize of freezing tolerance in Solanum commersonii(dun.) with special reference of the relationship between and oxidative stress. University of Helsinki, Department of production, section of crop Husbandry. 56: 4-44.

61- Smillie RM and Hethrington SE(1983) Stress tolerance and stress induced injury in crop plants measured by chlorophyll fluorescence in vivo. Plant Physiology. 72: 1043-1050.

62- Still S, Disabato A and Brenneman G(1988) Cold hardiness of herbaceous perennials. Proceeding International Plant Propagation Society. 37: 386-392.

63- Stribet AD and Strosser RJ(1998) Frost recording of chlorophylla fluorescence modeling and numerical simulation as a tool to probe the interaction of living system within our plant. In: Coaction between living systems and the plant(Greppin, H. and C. Panel, Eds). University of Geneva. 101-115.

64- Temprature Stresses, Academic Press., New York Vines R A(1960) Trees, Shrubs and woody vines of the southnest. Austin. University of texas Press. 1104 p.

65- Tewari, A.K., and Tripathy, B.C. 1998. Temperature-stress- induced impairment of chlorophyll biosynthetic reactions in cucumber and wheat. Plant Physiol. 117:
851-858

66- Warmund RM, Guinan P and Fernandez G(2008) Temperatures and cold damage to small fruit crops across the eastern united states associated with the aprill 2007 freeze. Horticultural Science. 43: 1643-1647.

67- Yamada M, Hidaka T and Fukamachi H(1996) Heat tolerance in leaves of tropical fruit crop as measured by chlorophyll fluorescence. Horticultural Science. 67: 39-48.

68- Yelonsky G(1979) Accumulation of free proline in citrus leaves during cold hardening of young tree in controlled temperature regimes. Plant Physiology. 64: 425-427.

69- Yong, I.J.S., Nilda, R., Tay, E., Oksoo, H., Baik, S., and Ock, G. 2003. Antioxidative enzyme offer protection from chilling damage in rice plants. Crop Science, 43: 2109-2117.

.

Evaluation of Freezing Tolerance of Brassica oleraceae purple rosetteand Brassica oleraceae white rosette under Controlled Conditions

K.masoumi1, E.ganji moghadam2, A.asgharzadeh3

1-Dept. of Horticulture Sciences, Islamic Azad uinivercity of shirvan 2-Dept. of Horticulture Sciences razavi khorasan 3- Dept. of Horticulture Sciences, Islamic Azad uinivercity of shirvan

*Corresponding author

Abstract

This study was conducted to determine freezing tolerance of Brassica oleraceae purple rosette(P.r) and Brassica oleraceae white rosette(W.r) under controlled condition during 2011-2012 as a factorial complete randomized block design (RCBD) with four replications and 7 freezing temperatures (0, -5, -10, -15, -20, -25, -30 Co).Electrolyte leakages(EL), Chlorophyll fluorescence, chlorophyll content (SPAD), proline and survival percentage were

measured.In both speacies maximum EL were measured in P.R in -10 oC and in P.W in -5 oC By lowering the temperature chlorophyll fluorescence and chlorophyll content index decreased and on two spices maximum index exposed on control (0,806 , 0749)in P.r and (89,51, 51,53) in W.r.Maximum proline average in -10o C (212,1 mmol/g) and in -5oC (189,2 mmol/g) exposed on Brassica oleraceae purple rosette and Brassica oleraceae white rosette. There was no any survival on -15 oC and -10 oC on P.r and W.r respectively. There was a very significant negative correlation (at the 0,01 level) on Brassica oleraceae purple rosette and Brassica oleraceae white rosette between temperature and Fv/Fm in both specious (-0,929**,-0,864**).

Keywords: Chlorophyll content, Chlorophyll fluorescence, freezing tolerance, electrolyte leakage, Proline , LT50