



ارزیابی مقاومت به سرمای رشد ساقه‌چه در برخی از ارقام برنج در مرحله جوانه‌زنی

پ. شریفی^۱

۱- استادیار دانشگاه آزاد اسلامی، واحد رشت

تاریخ دریافت: ۹۰/۸/۳ تاریخ پذیرش: ۹۰/۱۱/۳۰

چکیده

در تحقیق حاضر تأثیر سرما روی رشد ساقه‌چه در ۱۸ ژنوتیپ برنج در قالب دو آزمایش جداگانه مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش اول به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار اجرا شد. در این آزمایش، دو فاکتور شامل ژنوتیپ در ۱۸ سطح و درجه حرارت در پنج سطح دمایی (۹، ۱۳، ۱۷، ۲۱ و ۲۵ C°) بود. در دمای ۹ C°، بذور ژنوتیپ‌ها جوانه نزدند. پس از پایان اعمال هر تیمار دمایی، طول ساقه‌چه در گیاهچه‌ها اندازه‌گیری شد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر دما، ژنوتیپ و اثر متقابل دو فاکتور بر طول ساقه‌چه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. اعمال تنش سرما موجب کاهش طول ساقه‌چه در ارقام مورد مطالعه شد. دو رقم تایچونگ و صدری بیشترین میزان طول ساقه‌چه را در سه درجه حرارت ۱۳، ۱۷ و ۲۱ C° نشان دادند. درصد کاهش طول ساقه‌چه از مقایسه طول ساقه‌چه تحت تأثیر دو تیمار دمایی ۱۳ و ۲۵ C° محاسبه شد. میزان کاهش طول ساقه‌چه در ارقام هاشمی، گرده و نعمت کمتر از ۱۰ درصد بود که نشان می‌دهد این ارقام جزء ارقام مقاوم به سرما بودند. آزمایش دوم به صورت طرح پایه بلوک کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد. در این آزمایش، بذور ابتدا به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۵ C° قرار داده شدند و سپس به مدت ۹۶ ساعت دما روی ۱۰ C° تنظیم شد. دما مجدداً به ۲۵ C° افزایش داده شد و به مدت ۷۲ ساعت تیمار دمایی ۲۵ C° روی گیاهچه‌ها اعمال گردید. طول ساقه‌چه‌ها در دو مرحله شامل پس از اعمال دمای ۱۰ C° به مدت ۹۶ ساعت (طول ۱) و اعمال دمای ۲۵ C° به مدت ۷۲ ساعت (طول ۲) اندازه‌گیری شد. اختلاف طول ساقه‌چه در دو مرحله محاسبه و تحت عنوان رشد مجدد ساقه‌چه نامیده شد. تجزیه واریانس نشان داد که اثر ژنوتیپ بر رشد مجدد ساقه‌چه معنی‌دار بود. بر اساس دو صفت کاهش طول ساقه‌چه و رشد مجدد ساقه‌چه، رقم گرده به عنوان رقم خیلی مقاوم تشخیص داده شد.

واژه‌های کلیدی: برنج، درجه حرارت، مقاومت به سرما، طول ساقه‌چه

مقدمه

برنج (*Oryza sativa* L.) یکی از گیاهان حساس به سرما است که منشأ آن مناطق گرم و نیمه گرم می باشد و معمولاً در شرایط دمایی پایین، عملکرد آن به طور چشمگیری کاهش می یابد. درجه حرارت پایین تر از 15°C در مراحل اولیه رشد و نمو برنج سبب کاهش جوانه زنی و استقرار گیاهچه ها می شود و در نتیجه در مراحل بلوغ و رسیدگی دانه در اواخر فصل رشد، غیر یکنواختی در مزرعه افزایش می یابد (۹). بنابراین، مقاومت به سرما در مرحله گیاهچه، یک صفت مفید برای تولید پایدار محصول برنج می باشد (۴). با استفاده از بررسی های آماری هواشناسی مشخص شده است که در نواحی شمال ایران در اواخر فروردین (مصادف با مراحل اولیه بذریابی و آماده نمودن نشاها در روش کشت نشایی) حداقل دما پایین تر از 15°C است (۱) و به عبارتی دیگر وجود استرس سرمایی برای این مناطق جدی می باشد. با توجه به اهمیت موضوع وجود تنش دمایی در مراحل اولیه رشد برنج، معرفی ارقام مقاوم به سرما یکی از کاراترین روش ها برای جلوگیری از خسارت سرما می باشد. برنامه های اصلاحی برای مقاومت به سرما با استفاده از والدین مقاوم به سرما از خواستگاه های متفاوت و از طریق روش های اصلاحی و غربالگری^۱ مناسب در آزمایشگاه، گلخانه و مزرعه امکان پذیر است. مطالعه مقاومت به سرما در مرحله جوانه زنی می تواند در دماهای کنترل شده از لحاظ شدت و

دوره زمانی استرس سرمایی انجام شود و از آنجا که در این شرایط سایر فاکتورهای محیطی و غیرمحیطی مؤثر در شرایط مزرعه ای وجود ندارد، دقت این نوع آزمایش ها بالا می باشد (۳). در این راستا بنا به پیشنهاد برتین و همکاران (۲) می توان بذور ارقام مختلف را در دماهایی با دامنه ای از 10°C تا 25°C برای دوره های زمانی ۳ تا ۳۵ روز قرار داد و صفاتی مانند درصد و سرعت جوانه زنی، طول ریشه چه و ساقه چه را اندازه گیری نمود و به عنوان معیارهای مقاومت به سرما در مرحله جوانه زنی در نظر گرفت. از آنجا که برای انجام برنامه های اصلاحی، به مواد ژنتیکی مناسب نیاز است، استفاده از روش های مختلف برای ارزیابی ارقام مقاوم به سرما در مراحل مختلف رشد از اهمیت زیادی برخوردار است که می توانند برای شناسایی ارقام مقاوم و استفاده از آنها در کارهای پژوهشی به کار گرفته شوند. کشت برنج در مناطقی که استرس سرمایی عامل محدودکننده مهمی است، به اطلاعات زیادی از ارقام حساس و مقاوم به سرما نیاز دارد، چنین اطلاعاتی با استفاده از غربال کردن ارقام در شرایط کنترل شده بدست می آیند. در واریته های مختلف برنج، همبستگی بالایی از نظر مقاومت به سرما در مراحل مختلف رشد وجود دارد (۲ و ۱۴) در نتیجه امکان ارزیابی ارقام در طول مراحل اولیه رشد (با توجه به هزینه کمتر این نوع آزمایش ها) و استفاده از ارقام مقاوم به عنوان مواد ژنتیکی در مراحل پیشرفته تر رشدی وجود دارد و این شیوه

مواد و روشها

تحقیق حاضر در قالب دو آزمایش جداگانه انجام شد. در آزمایش اول تأثیر سرما بر جوانه‌زنی بذور مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور ۱۸ رقم برنج ایرانی و خارجی از نظر صفت طول ساقه‌چه تحت شرایط تنش سرمایی مورد ارزیابی قرار گرفتند. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. بلوک‌ها طبقات مختلف ژرمیناتور (ایران خودساز، مدل 1KH RH، ۸۵ لیتری و با قابلیت کنترل دما، نور و رطوبت) بودند. همچنین فاکتورهای آزمایش ارقام برنج در ۱۸ سطح و درجه حرارت در ۵ سطح دمایی (۹، ۱۳، ۱۷، ۲۱ و ۲۵ C°) بودند. ارزیابی ارقام از نظر مقاومت به سرما در آزمایشگاه گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت در سال ۱۳۸۹ انجام پذیرفت. قبل از شروع آزمایش بذور با استفاده از اتانول ۷۰٪ به مدت ۳۰ ثانیه شسته شدند و پس از آن به مدت ۲۰ دقیقه در هیپوکلریت سدیم ۵٪ قرار داده شدند و سپس ۳ مرتبه با آب مقطر استریل شستشو داده شدند. تعداد ۳۰ بذر از هر ژنوتیپ در پتری‌دیش روی کاغذ صافی مرطوب شده با آب مقطر استریل قرار داده شدند. طول ساقه‌چه با استفاده از روش کروز و همکاران (۵) اندازه‌گیری شد و برای تجزیه و تحلیل‌های

می‌تواند به عنوان یک روش مناسب برای ارزیابی ارقام در برنامه‌های مقاومت به سرما به کار گرفته شود. در این زمینه با مطالعاتی که روی ارقام مختلف برنج انجام گرفته است، مشخص گردیده است که در برنج دمای پایین‌تر از ۲۰ C° سرعت و درصد جوانه‌زنی را کاهش می‌دهد (۱۳). علاوه بر این با مطالعه تعدادی از ارقام برنج مشخص شده است که دمای پایین‌تر از ۱۵ C° سبب کاهش میزان جوانه‌زنی، رشد کلئوپتیل و رشد ریشه‌چه می‌شود (۱۱). میرتبار و همکاران (۱۰) در آزمایشی به بررسی اثرات تنش سرما بر خصوصیات جوانه‌زنی برنج و شناسایی ارقام مقاوم برنج پرداختند و نشان دادند اعمال تنش سرما موجب کاهش درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه و درصد بذورهای خسارت دیده می‌شود. همچنین در مطالعه‌ای دیگر قربانی و همکاران (۶) نشان دادند که تحت تنش سرمایی صفات وزن خشک، طول اندام هوایی و ریشه در دو رقم اوند و طارم دم‌سیاه کاهش معنی‌داری پیدا کردند.

هدف از مطالعه حاضر، ارزیابی تعدادی از ارقام برنج از نظر صفات مرتبط با جوانه‌زنی بذور شامل کاهش طول ساقه‌چه و رشد مجدد ساقه‌چه در مراحل اولیه رشد و شناسایی ارقام مقاوم و حساس به شرایط تنش سرمایی می‌باشد.

آماري مورد استفاده قرار گرفت.

آزمایش دوم به صورت طرح پایه بلوک کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد که در آن فاکتور رقم در ۱۸ سطح بود. در این آزمایش مطابق با روش کروز و میلچ (۵) بذور ۱۸ ژنوتیپ درون پتری دیش به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۵ C° قرار داده شدند و سپس به مدت ۹۶ ساعت دما روی ۱۰ C° تنظیم شد. پس از ۹۶ ساعت تیمار بذور با دمای ۱۰ C°، مجدداً دما به ۲۵ C° افزایش داده شد و به مدت ۷۲ ساعت تیمار دمایی ۲۵ C° روی گیاهچه‌ها اعمال گردید. این روش به منظور شبیه‌سازی شرایط محیطی استفاده شد. انتخاب بذور و مقدمات آزمایش از قبیل ضدعفونی بذور همانند آزمایش اول بود. طول ساقه‌چه در دو مرحله شامل پس از اعمال تیمار ۱۰ C° به مدت ۹۶ ساعت (طول ۱) و بعد از مرحله دوم اعمال دمای ۲۵ C° به مدت ۷۲ ساعت (طول ۲) اندازه‌گیری شد. مقاومت به سرما از طریق ارزیابی رشد ساقه‌چه تحت شرایط نرمال بعد از اعمال تنش سرما انجام گرفت که از

تفاوت بین اندازه‌گیری‌های اول و دوم طول ساقه‌چه‌ها به دست آمد و به عنوان رشد مجدد ساقه‌چه نامیده شد. کلیه تجزیه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS و ترسیم نمودارها به کمک نرم‌افزار EXCEL انجام پذیرفت.

نتایج و بحث

در آزمایش اول در دمای ۹ C° بذور هیچکدام از ژنوتیپ‌ها جوانه نزدند، بنابراین تیمار ۹ C° از تجزیه واریانس داده‌ها حذف شد و منبع تغییر درجه حرارت براساس چهار سطح فاکتور دمایی بود. نتیجه تجزیه واریانس حاکی از اثر معنی‌دار ژنوتیپ، درجه حرارت و اثر متقابل ژنوتیپ × درجه حرارت بر صفت طول ساقه‌چه بود (جدول ۱). با توجه به معنی‌دار شدن اثر متقابل ژنوتیپ × درجه حرارت، در مقایسه میانگین‌ها بررسی اثرات اصلی مجاز نمی‌باشد و لذا اقدام به بررسی اثرات ساده ژنوتیپ‌ها در هر کدام از سطوح درجه حرارت و اثرات ساده درجه حرارت در هر کدام از سطوح ژنوتیپ گردید (۲).

جدول ۱- تجزیه واریانس صفت طول ساقه‌چه در دماهای مختلف برای ارقام برنج مورد بررسی

منابع تغییرات	درجه آزادی	طول ساقه‌چه (cm)
تکرار	۲	۰/۱۷۹
ژنوتیپ	۱۷	۱۴/۹۷**
درجه حرارت	۳	۵۱/۹۷**
ژنوتیپ × درجه حرارت	۵۱	۲/۶۵**
خطای آزمایشی	۱۴۲	۰/۶۹۹
ضریب تغییرات		٪۳۰/۱۵

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪.

نتایج تجزیه واریانس اثرات ساده ژنوتیپ در هر کدام از سطوح درجه حرارت، نشان‌دهنده اثر معنی‌دار ژنوتیپ بود. بررسی اثرات درجه حرارت در هر کدام از سطوح ژنوتیپ نیز نشان‌دهنده معنی‌دار شدن اثر دما در بیشتر ژنوتیپ‌ها بود و اثر این فاکتور فقط در ژنوتیپ‌های عنبربو، تایچونگ، دمسیاه و علی کاظمی معنی‌دار نبود (با توجه به تعداد زیاد جداول، این جداول ارائه نشده‌اند).

در دمای 13°C رقم تایچونگ بیشترین میزان طول ساقه‌چه را به خود اختصاص داد و

حال آنکه در این دما کمترین طول ساقه‌چه مربوط به رقم IR36 بود. در دو دمای 17°C و 21°C نیز رقم محلی صدری بیشترین میزان طول ساقه‌چه را دارا بود. در شرایط دمایی 17°C ، نیز رقم IR36 کمترین میزان طول ساقه‌چه را داشت. در دمای 21°C کمترین طول ساقه‌چه مربوط به رقم حسن‌سرایبی بود. از نظر طول ساقه‌چه می‌توان ارقام صدری و تایچونگ را به عنوان ارقام متحمل به سرما و ارقام IR36، دولا و حسن‌سرایبی را جزء ارقام حساس قلمداد نمود (جدول ۲).

جدول ۲- میانگین صفت طول ساقه‌چه در دماهای مختلف برای ارقام برنج مورد بررسی

ژنوتیپ دما	طول ساقه‌چه (cm)			
	13°C	17°C	21°C	25°C
۱) IR36	۰/۱۲	۰/۸۷	۱/۵۴	۲/۶۱
۲) خزر	۲/۸۲	۵/۳۹	۴/۶۶	۵/۴۰
۳) بینام	۱/۵	۴/۳۹	۳/۸۳	۳/۱۱
۴) عنبربو	۲/۷۵	۱/۵۳	۲/۲	۲/۳۴
۵) تایچونگ	۴/۰۴	۳/۳۲	۴/۲۸	۴/۹۴
۶) دولا	۰/۸۱	۱/۱۲	۱/۸۲	۱/۸۸
۷) کانتو (۵)	۲/۲۳	۳/۲۸	۲/۶۴	۵/۵۹
۸) هاشمی	۰/۱۸	۱/۸۶	۳/۴۳	۴/۴۲
۹) دمسیاه	۱/۴۲	۱/۲۹	۱/۶۴	۲/۲۳
۱۰) حسن‌سرایبی	۰/۴۷	۱/۸۱	۰/۹۱	۳/۴۸
۱۱) حسنی	۲/۵۴	۲/۲۴	۴/۸۶	۳/۳۳
۱۲) نعمت	۰/۱۵	۱/۴۱	۱/۶۶	۱/۸۱
۱۳) علی کاظمی	۱/۸۷	۱/۹۷	۳/۶۸	۲/۳۳
۱۴) طارم	۲/۱۱	۲/۲۱	۲/۸۰	۴/۸۶
۱۵) صدری	۳/۶۲	۶/۰۸	۵/۱۲	۵/۴۷
۱۶) گرده	۰/۴۴	۱/۹۰	۳/۴۴	۵/۷۷
۱۷) صالح	۰/۵۶	۲/۹۸	۲/۱۹	۴/۳۳
۱۸) بهار (۱)	۰/۴۰	۳/۰۳	۳/۸۰	۶/۶۰
LSD5%	۰/۶۵	۰/۸۹	۱/۶۷	۱/۹۷

همانطور که ذکر گردید یکی از تیمارهای آزمایش اول اعمال تیمار سرمایی 9°C بود. در این قسمت از آزمایش، پس از قرار دادن بذور به مدت ۳ هفته در دمای 9°C و عدم جوانه‌زنی هیچکدام از بذور، دمای ژرمیناتور روی 25°C

تنظیم گردید و پس از یک هفته صفت طول ساقه‌چه اندازه‌گیری شد. تجزیه واریانس روی داده‌های حاصله انجام گرفت که نتایج حاکی از معنی‌دار بودن اثر ژنوتیپ و تیمار سرمایی بر طول ساقه‌چه بود (جدول ۳).

جدول ۳- تجزیه واریانس صفت طول ساقه‌چه در دو تیمار سرمایی (۳ هفته دمای 9°C و ۱ هفته 25°C) و عدم اعمال تنش

منابع تغییرات	درجه آزادی	طول ساقه‌چه (mm)
تکرار	۲	۹۸
ژنوتیپ	۱۷	۵۹۳/۱**
تیمار سرمایی	۱	۲۰۵۶۳/۶**
ژنوتیپ × تیمار سرمایی	۱۷	۳۴۱/۱**
خطای آزمایشی	۷۰	۱۱۵/۱

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪.

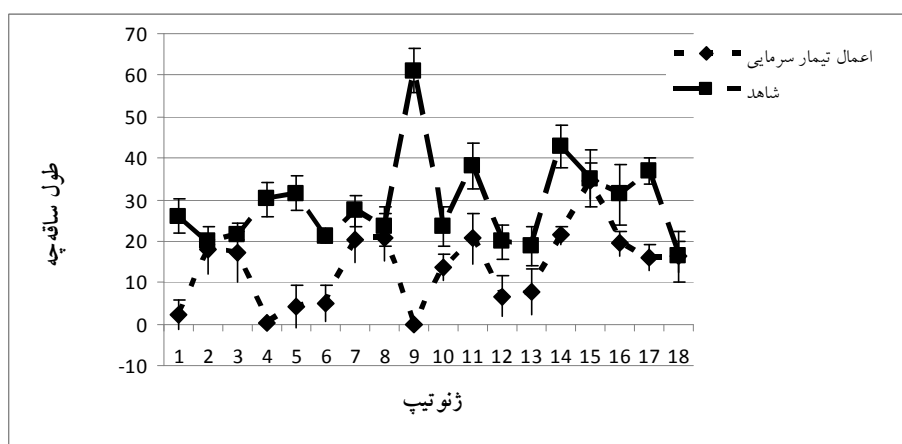
برای صفت طول ساقه‌چه در بین ۱۸ ژنوتیپ تنوع قابل توجهی وجود دارد، در ارقامی مانند IR36 و سالاری کمترین میزان طول ساقه‌چه مشاهده شد. در تعدادی از ارقام تفاوت قابل ملاحظه‌ای بین طول ساقه‌چه در دو شرایط اعمال تیمار سرمایی و شاهد وجود نداشت، اما بیشترین میزان طول ساقه‌چه مربوط به رقم گرده بود که در آن طول ساقه‌چه در هر دو تیمار بالا و تقریباً برابر با ۳۵ میلی‌متر بود (شکل ۱). این نتیجه نشان می‌دهد که بذور رقم گرده پس از قرار گرفتن به مدت طولانی در دمای پایین (9°C) و سپس قرار دادن در شرایط مساعد، قدرت جوانه‌زنی بالایی دارند و همچنین پتانسیل طول ساقه‌چه خود را حفظ می‌نمایند و طول ساقه‌چه در آنها در دو شرایط تفاوتی با یکدیگر ندارد. از این قسمت از آزمایش می‌توان دریافت

که میزان طول ساقه‌چه در ارقام مورد مطالعه پس از قرار گرفتن در شرایط استرس سرمایی به مدت طولانی نسبت به شاهد (25°C) بسیار پایین بود. در بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه IR36 و سالاری کمترین میزان طول ساقه‌چه را پس از قرار گرفتن به مدت طولانی در دمای پایین و سپس بازگرداندن به دمای عادی دارا بودند، از طرف دیگر در رقم گرده میزان طول ساقه‌چه در مقایسه با سایر ژنوتیپ‌ها بیشتر بود و به عبارتی در بین ارقام مورد مطالعه، رقم گرده بیشترین میزان تحمل طولانی‌مدت بذر در شرایط دمای پایین و سپس بازگرداندن به دمای عادی را داشت.

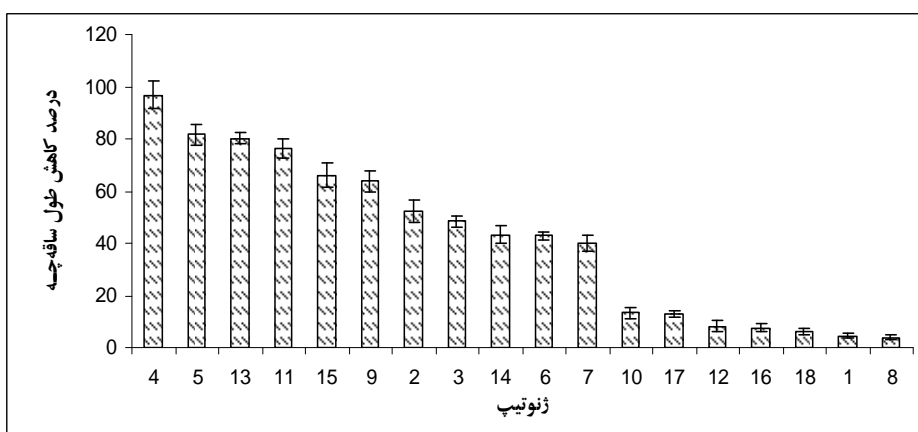
درصد کاهش طول ساقه‌چه از مقایسه طول ساقه‌چه تحت تأثیر دو تیمار دمای 13°C و 25°C محاسبه شد. این صفت دارای دامنه‌ای از ۳/۹۶٪

بیشتری داشته است و مقاومت آنها به سرما کمتر بوده است. درصد کاهش طول ساقه‌چه در ارقام هاشمی، گرده و نعمت کمتر از ۱۰ درصد بود و به عبارتی جزء ارقام مقاوم از لحاظ این صفت بودند (شکل ۲).

در رقم هاشمی تا بالای ۹۰٪ در ارقامی مانند عنبربو، تایجونگ، علی کاظمی، حسنی و صدری بود. درصد کاهش طول ساقه‌چه رابطه معکوس با مقاومت به سرما دارد. به عبارتی ژنوتیپ‌هایی که کاهش میزان طول ساقه‌چه در آنها بیشتر است، طول ساقه‌چه آنها تحت تأثیر سرما کاهش



شکل ۱- مقایسه میزان طول ساقه‌چه تحت تأثیر اعمال تیمار سرمایی و شاهد (شماره ارقام مطابق با جدول ۲ می‌باشد).



شکل ۲- درصد کاهش طول ساقه‌چه در مقایسه میزان جوانه‌زنی در شرایط دمایی پایین (13°C به مدت ۲۸ روز) و دمایی طبیعی (25°C به مدت ۷ روز) (شماره ارقام مطابق با جدول ۲ می‌باشد).

مطالعه بود که نشان می‌داد بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از نظر تفاوت بین طول ساقه‌چه پس از اعمال تیمار سرمایی و تیمار مجدد 25°C (رشد مجدد ساقه‌چه) تنوع زیادی وجود داشت (جدول ۴).

در آزمایش دوم تجزیه واریانس روی داده‌های حاصل از اختلاف طول ۱ (پس از اعمال تیمار 10°C به مدت ۹۶ ساعت) و طول ۲ (بعد از مرحله دوم اعمال دمای 25°C به مدت ۷۲ ساعت) ساقه‌چه انجام شد. نتیجه تجزیه واریانس حاکی از اختلاف معنی‌دار بین ژنوتیپ‌های مورد

جدول ۴- تجزیه واریانس صفت رشد مجدد ساقه‌چه

منابع تغییرات	درجه آزادی	تفاوت طول ساقه‌چه
تکرار	۲	۲۱/۱۶
ژنوتیپ	۱۷	۱۲۶/۹۳**
خطای آزمایشی	۳۴	۱۴/۱۳
ضریب تغییرات		٪۲۹

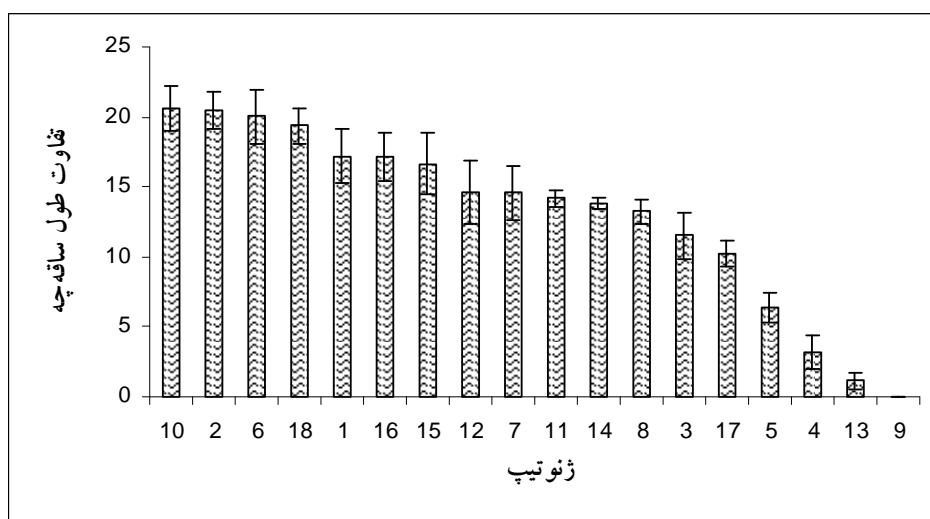
** معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪.

$20/63$ میلی‌متر تا $1/17$ میلی‌متر متفاوت بود که نشان می‌دهد فرآیند جوانه‌زنی بعد از دوره سرمایی اثرات متفاوتی روی ژنوتیپ‌ها می‌گذارد. ارقامی مانند گرده، حسن‌سرایبی، خزر و یوسن گروهی را تشکیل می‌دادند که در آنها رشد مجدد ساقه‌چه بیشتر از 20 میلی‌متر بود و از نظر این صفت جزء ارقام مقاوم محسوب می‌شدند، اما بیشتر ژنوتیپ‌ها از نظر این صفت در دامنه 10 تا 20 میلی‌متر قرار داشتند که جزء ارقام نیمه‌حساس بودند. سه ژنوتیپ کانتو ۵۱، تایچونگ و علی‌کاظمی کمترین میزان رشد مجدد ساقه‌چه را نشان دادند. رقم سالاری نیز که در شرایط استرس سرمایی هیچ‌گونه جوانه‌زنی را نشان نداد، حساسترین رقم از نظر این صفت بود. صفت اخیر به عنوان یک معیار از

ژنوتیپ‌ها از نظر صفت رشد مجدد ساقه‌چه که از تفاوت طول ساقه‌چه در دو شرایط اعمال تیمار سرمایی و تیمار مجدد 25°C اندازه‌گیری شده است، اختلاف معنی‌داری با یکدیگر داشتند و تفاوت طول ساقه‌چه در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در شکل ۳ نشان داده شده است.

همانطور که گفته شد آزمایش اخیر برای شبیه‌سازی شرایط محیطی انجام شد و ارزیابی مقاومت به سرما در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از طریق بررسی رشد مجدد ساقه‌چه انجام شد که دربرگیرنده اختلاف طول ساقه‌چه در دو مرحله اندازه‌گیری می‌باشد. این شاخص نشان می‌دهد که طول ساقه‌چه در شرایط نرمال پس از اعمال تیمار سرمایی به چه میزان رشد می‌کند. داده‌های مرتبط با رشد مجدد طول ساقه‌چه از

بازیابی پروسه جوانه‌زنی بعد از یک دوره سرمایی می‌باشد و درجات مختلفی از مقاومت به سرما را نشان داد.



شکل ۳- تفاوت طول ساقه‌چه اندازه‌گیری شده پس از اعمال تیمار سرمایی و تیمار مجدد ۲۵ درجه سانتی‌گراد (۱)، IR36، ۲، خزر، ۳، بینام، ۴، تایچونگ، ۵، کانتو-۵۱، ۶، یوسن، ۷، هاشمی، ۸، دمسیاه، ۹، سالاری، ۱۰، حسن‌سرابی، ۱۱، حسنی، ۱۲، نعمت، ۱۳، علی‌کاظمی، ۱۴، صدری، ۱۵، گرده، ۱۶، صالح، ۱۷، هیبرید بهار ۱، ۱۸، هیبرید).

این جدول ۵ گروه برای واکنش به سرما ارائه شده است که بوسیله ترکیبات مختلف دو صفت کاهش طول ساقه‌چه و رشد مجدد ساقه‌چه مشخص می‌شود. براساس ترکیب دو صفت فوق، رقم گرده به عنوان رقم خیلی مقاوم و علی‌کاظمی به عنوان یک رقم خیلی حساس تشخیص داده می‌شود.

کروز و میلاچ (۴) با توجه به تنوع موجود برای دو صفت کاهش طول ساقه‌چه در نتیجه استرس سرمایی در مقایسه با شرایط طبیعی و رشد مجدد ساقه‌چه پس از اعمال تیمار سرمایی جدولی ارائه داده‌اند که برای ارزیابی ژنوتیپ‌ها از لحاظ مقاومت به سرما بر پایه دو صفت اخیر در مرحله جوانه‌زنی مناسب می‌باشد (جدول ۵).

جدول ۵- معیارهای پیشنهادی برای خصوصیات ژنوتیپ‌های برنج برای مقاومت به سرما در مرحله جوانه‌زنی توسط کاهش طول ساقه‌چه و رشد مجدد ساقه‌چه

واکنش سرمایی	کاهش طول ساقه‌چه (%)	رشد مجدد ساقه‌چه (mm)
خیلی مقاوم	برابر یا کمتر از ۲۵	برابر یا بیشتر از ۲۰
مقاوم	بین ۲۵ و ۵۰	برابر یا بیشتر از ۲۰
متوسط	بین ۲۵ و ۵۰	بین ۸ و ۲۰
حساس	برابر یا بیشتر از ۵۰	برابر یا کمتر از ۸
بسیار حساس	برابر یا بیشتر از ۵۰	برابر یا بیشتر از ۲۰
	برابر یا بیشتر از ۵۰	بین ۸ و ۲۰
	برابر یا بیشتر از ۵۰	برابر یا کمتر از ۸

جوانه‌زنی منجر به استقرار ضعیف گیاهچه‌ها و مرگ و میر آنها می‌شود و درجه حرارت مطلوب برای جوانه‌زنی بذور معمولاً دمای بالاتر از 20°C می‌باشد (۴، ۷ و ۱۲).

در آزمایش اعمال تیمار سرمایی به مدت طولانی (سه هفته) و سپس قرار دادن آنها در دمای عادی (25°C) به مدت یک هفته میزان طول ساقه‌چه در ارقام مورد مطالعه بسیار پایین بود. در بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، رقم گرده بیشترین میزان تحمل طولانی‌مدت بذر در شرایط دمای پایین و پس از آن جوانه‌زنی را داشت. بنابراین رقم گرده از جهت میزان جوانه‌زنی در دماهای پایین و همچنین حفظ قوه نامیه خود پس از قرار گرفتن در دمای پایین به مدت طولانی (سه هفته) نسبت به سایر ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از مقاومت بیشتری برخوردار بود. همچنین براساس صفت درصد کاهش طول ساقه‌چه (حاصل از مقایسه طول

بررسی تأثیر سرما بر جوانه‌زنی بذور نشان داد که صفات مرتبط با جوانه‌زنی در مراحل اولیه رشد گیاهچه در ارقام مورد مطالعه تا حد زیادی تحت تأثیر تنش دمای پایین قرار داشتند، با این وجود پاسخ ارقام به دمای پایین متفاوت بود. تیمار بذور با دمای پایین سبب کاهش طول ساقه‌چه در گیاهچه‌های اولیه گردید و با افزایش دما رشد گیاهچه بطور معنی‌داری افزایش یافت. تنوع میان ارقام از لحاظ واکنش‌های متفاوت به تنش سرمایی با توجه به منشأ متفاوت آنها مورد انتظار می‌باشد. وجود چنین تنوعی به به‌نژادگران اجازه می‌دهد تا از ارقام متحمل به عنوان والدین تلاقی‌ها استفاده نمایند و صفات مطلوب را از ارقام متحمل به ارقام سازگار شده بومی انتقال دهند (۸). اثرات منفی دمای پایین که در این مطالعه مشاهده شد، در تطابق با نتایج محققان دیگری می‌باشد که اظهار داشته‌اند، تنش سرمایی پایین‌تر از 15°C در مرحله

آن دو همبستگی $-0/54$ - مشاهده شد. این همبستگی منفی نشان می‌دهد که بعضی از ژنوتیپ‌ها که براساس یک صفت مقاوم تشخیص داده می‌شوند ممکن است براساس صفت دیگر حساس باشند و برعکس. همبستگی منفی بین دو صفت کاهش طول ساقه‌چه و رشد مجدد ساقه‌چه ناشی از این است که این دو صفت با مکانیزم‌های متفاوتی از مقاومت به سرما در دوره جوانه‌زنی مرتبط می‌باشند و نتایج آن‌ها در ارزیابی مقاومت به سرما مکمل یکدیگر می‌باشد. بنابراین، خصوصیات ژنوتیپ‌ها برای مقاومت به سرما در مرحله جوانه‌زنی بایستی به طور همزمان با استفاده از هر دو صفت بررسی شود. براساس ترکیب دو صفت رقم گرده به عنوان رقم خیلی مقاوم و علی کاظمی به عنوان یک رقم خیلی حساس تشخیص داده می‌شود.

علی‌رغم اینکه جذب به عنوان حساسترین مرحله در جوانه‌زنی مطرح شده است، یوشیدا (۱۵) گزارش داد که بیشترین تأثیر درجه حرارت روی جوانه‌زنی در مراحل انتهایی فعال‌سازی و رشد ساقه‌چه اتفاق می‌افتد. کاهش طول ساقه‌چه در این مرحله به اثر مستقیم سرما روی طویل شدن و تقسیم سلولی و همچنین اثر غیرمستقیم آن که ناشی از عدم تعادل متابولیکی است، نسبت داده می‌شود (۵). این مراحل در هر دو صفت کاهش طول ساقه‌چه و رشد مجدد ساقه‌چه تأثیر می‌گذارند، اما در مورد صفت کاهش طول ساقه‌چه تنش سرمایی در تمام دوره ۲۸ روزه ثابت است، در حالیکه برای

ساقه‌چه در دو دمای ۱۳ و $25^{\circ}C$ ارقام هاشمی، گرده و نعمت در بین ارقام مورد مطالعه جزء ارقام مقاوم محسوب شدند.

ارزیابی صفت رشد مجدد ساقه‌چه نشان داد که بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری از نظر این صفت وجود داشت. این آزمایش برای شبیه‌سازی شرایط محیطی استفاده شد و نتایج نشان داد فرآیند جوانه‌زنی بعد از دوره سرمایی در ژنوتیپ‌های مختلف متفاوت است. ارقامی مانند گرده، حسن‌سرایبی، خزر و یوسن که رشد مجدد گیاهچه در آنها بیشتر از ۲۰ میلی‌متر بود، جزء ارقام مقاوم از نظر این صفت محسوب می‌شدند، اما بیشتر ژنوتیپ‌ها در دامنه ۱۰ تا ۲۰ میلی‌متر قرار داشتند که از نظر این صفت جزء ارقام نیمه‌حساس بودند.

جوانه‌زنی به سه مرحله شامل جذب^۱، فعال‌سازی^۲ و رشد پس از جوانه‌زنی^۳ تقسیم می‌شود (۱۵) و مشخص شده است که بیشترین تأثیر تیمار سرما در طول جوانه‌زنی در مرحله جذب اتفاق می‌افتد (۳). سرما در این مرحله سبب می‌شود که مواد محلول در خاک مانند اسیدهای آمینه و کربوهیدرات‌ها از دسترس بذور خارج شوند. این عمل از طریق اختلال در احیاء مرحله جذب انجام می‌شود. رفتار متفاوت ژنوتیپ‌ها برای دو صفت کاهش طول ساقه‌چه و رشد مجدد ساقه‌چه وابسته به مرحله جذب است. هر دو صفت فوق برای ارزیابی مقاومت به سرما استفاده می‌شوند و در مطالعه حاضر بین

ترکیب‌پذیری عمومی و خصوصی والدین تلاقی‌ها از طریق میانگین نسل F_1 استفاده نمود. از صفت رشد مجدد ساقه‌چه می‌توان به عنوان یک شاخص در هر کدام از نسل‌های در حال تفرق و بدون هیچ محدودیتی استفاده نمود، زیرا یک بذر ابتدا تحت تنش سرمایی قرار می‌گیرد و سپس همان بذر به دمای طبیعی انتقال داده می‌شود. همچنین مزیت این روش این است که نیاز به فضا و زمان محدودی برای ارزیابی تعداد زیادی گیاه در یک زمان دارد. در نسل‌های در حال تفرق توصیه اینکه کدام یک از نسل‌ها انتخاب شوند، وابسته به تشخیص توارث و وراثت‌پذیری صفات در ژنوتیپ‌های مقاوم می‌باشد. بنابراین در نسل‌های در حال تفرق می‌توان از صفت رشد مجدد ساقه‌چه در شرایط دمای طبیعی پس از اعمال تنش سرمایی به عنوان شاخصی برای شناسایی ژنوتیپ‌های مقاوم به سرما استفاده نمود.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر بخشی از طرح تحقیقاتی نویسنده اول با مجوز شماره ۲۰۷۲-۵-۱۶-۰۳ مصوب به تاریخ ۸۹/۲/۲۶ می‌باشد که با مساعدت دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت اجرا شده است.

صفت رشد مجدد ساقه‌چه تنش فقط به ۴ روز محدود می‌شود. از طرف دیگر، هرکدام از صفات فوق جنبه‌های مختلفی را مورد ارزیابی قرار می‌دهند، بطوریکه صفت کاهش طول ساقه‌چه ظرفیت و پتانسیل ساقه‌چه برای رشد تحت سرمای ثابت را اندازه‌گیری می‌کند. در حالیکه رشد مجدد ساقه‌چه برآوردی از پتانسیل رشد ساقه‌چه تحت شرایط دمای ثابت و طبیعی پس از اعمال تنش سرمایی می‌باشد.

در برنامه‌های اصلاحی برای مقاومت به سرما، در مرحله جوانه‌زنی، ارزیابی درصد کاهش طول ساقه‌چه و رشد مجدد ساقه‌چه برای تشخیص ژنوتیپ‌های مقاوم به سرما و استفاده از آنها به عنوان والدین تلاقی‌ها مناسب می‌باشد. درصد کاهش طول ساقه‌چه صفت مناسبی برای ارزیابی ارقام برنج از نظر مقاومت به سرما می‌باشد، اما این صفت به عنوان یک معیار و شاخص مناسب برای ارزیابی ژنوتیپ‌های برنج در مرحله جوانه‌زنی در نسل‌های در حال تفرق پس از تلاقی‌ها نمی‌باشد، زیرا برای ارزیابی این صفت نیاز به قرار دادن ژنوتیپ‌های یکسان در دو موقعیت دمایی متفاوت سرما و شاهد است و حال آنکه در نسل‌های در حال تفرق دو بذر را نمی‌توان از لحاظ ژنتیکی یکسان در نظر گرفت. اما از این صفت می‌توان برای تشخیص قابلیت

منابع

1. Anonymous. 2006. I.R. of Iran Meteorological Organization (IRIMO).
2. Bertin, P., J.M. Kinte and J. Bouharmont. 1996. Evaluation of chilling sensitivity in different rice varieties: Relationship between screening procedures applied during germination and vegetative growth. *Euphytica*. 89: 201-210.
3. Blum, A. 1988. Plant breeding for stress environments. Boca Raton: CRC., cap.5, pp: 99-132: Cold Resistance.
4. Cruz, R.P. and S.C.K. Milach. 2004. Cold tolerance at the germination stage of rice: Methods of evaluation and characterization of genotypes. *Scientia Agricola*. 61: 1-8.
5. Cruz, R.P., S.C.K. Milach and C.F. Luiz. 2006. Inheritance of rice cold tolerance at the germination stage. *Genetics and Molecular Biology*. 29: 314-320.
6. Ghorbani, A., F. Zarinkamar and A. Fallah. 2009. The Effect of Cold Stress on the Morphologic and Physiologic Characters of Two Rice Varieties in Seedling Stage. *Journal of Crop Breeding*. 1: 50-66.
7. Jiang, L., M.M. Xun, J.L. Wang and J.M. Wan. 2008. QTL analysis of cold tolerance at seedling stage in rice (*Oryza sativa* L.) using recombination inbred lines. *Cereal Science*. 48: 173-179.
8. Kubo, T. and A. Yoshimura. 1999. Complementary genes causing F₂ sterility in japonica/indica cross of rice. *Rice Genetic Newsletter*. 16: 68-70.
9. Lou, Q., L. Chen, Z. Sun, Y. Xing, J. Li, X. Xu, H. Mei and L. Luo. 2007. A major QTL associated with cold tolerance at seedling stage in rice (*Oryza sativa* L.). *Euphytica*. 158: 87-94.
10. Mirtabar, M., H. Pirdashti, M.T. Karbalaei and F. Moradi. 2009. Cold Stress Effects on Different Iranian Rice Cultivars at Germination Stage. *Journal of Crop Breeding*. 1: 66-81.
11. Sharifi, P. 2009. Inheritance of Cold Resistance and estimation of genetic parameters in rice at the germination stage. *Electronic Journal of Crop Production*. 2(3): 37-54.
12. Sharifi, P. 2010. Evaluation on sixty eight rice germplasms in Cold Tolerance at Germination Stage. *Rice Science*. 17: 77-81. 39
13. Xu, L.M., L. Zhou, Y.W. Zeng, F.M. Wang, H.L. Zhang, S.Q. Shen and Z.C. Li. 2008. Identification and mapping of quantitative trait loci for cold tolerance at the booting stage in a japonica rice near-isogenic line. *Plant Science*. 174: 340-347.
14. Ye, C., S. Fukai, I. Godwin, R. Reinker, P. Snell, J. Schiller and J. Basnayake. 2009. Cold tolerance in rice varieties at different growth stages. *Crop and pasture science*. 60: 328-338.
15. Yoshida, S. 1981. Fundamentals of rice crop science. Los Baños: IRRI. 543 pp.

Evaluation of Cold Tolerance of Coleoptile Growth In Some of Rice Cultivars at Germination Stage

P. Sharifi¹

1- Assistant Professor, Islamic Azad University, Rasht Branch

Abstract

In this research the effects of cold were evaluated on coleoptile growth of 18 rice genotypes in two separate experiments. The first experiment was carried out as factorial based on randomized complete block design with three replications. In this experiment, two factors were including genotypes at 18 levels and temperature at 5 levels (9, 13, 17, 21 and 25 C°). The seeds of genotypes don't germinate at 9 C°. The length of coleoptile was measured in plantlets at the end of using of each temperature factor. Analysis of variance revealed that the effect of temperature, genotype and interaction effects of two factors were significant on length of coleoptile at 1% probability levels. The low temperature treatments decreased the growth of coleoptile in all of the studied cultivars. Taichung and Sadri showed a significantly bigger coleoptile length at the three low temperature treatments including 13, 17, 21 and 25 C°. The percentage of coleoptile reduction was calculated form comparison of the length of coleoptile at 13 and 25 C°. The coleoptile reduction rate was lower than 10 percentages in Hashemi, Gerde and Neamat, indicating these varieties as tolerant varieties to cold stress. Second experiment was carried out on randomized complete block design with three replications. In this experiment, the seeds were placed in 25 C° for 72 h and then the temperature was adjusted to 10 C° for 96 hr. Temperature was further increased to 25 C° and treated plantlets to this temperature for 72 h. The length of coleoptile was measured in two stage contain after 10 C° for 96 hr (length 1) and 25 C° for 72 hr (length 1). The difference between these two lengths were calculated and called coleoptile regrowth. Analysis of variance indicated that the effect of genotype were significant on coleoptile regrowth. Gerde was as a tolerant variety due to percentage of reduction in coleoptile length and coleoptile regrowth.

Keywords: Rice, Temperature, Cold tolerance, Coleoptile length