

ارزیابی تحمل تنش یخ زدگی در گندم (*Triticum aestivum* L.) رقم سایونز

در مرحله‌ی ۴ تا ۶ برگی، تحت شرایط کنترل شده

محمد سیبی^۱ و همایون چگنی^{۲*}

(۱) دانشجوی دکتری دانشگاه فردوسی مشهد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، مشهد، ایران.

(۲) عضو هیات علمی دانشگاه پیام نور، گروه زراعت و اصلاح نباتات، ایران.

* نویسنده مسئول: H_chegeni@pnu.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۹۱/۱۲/۰۵

تاریخ دریافت: ۹۱/۰۹/۲۹

چکیده

به منظور بررسی اثر تنش یخ زدگی و ارزیابی تحمل به آن در گیاه گندم رقم سایونز در مرحله‌ی ۴ تا ۶ برگی، تحت شرایط کنترل شده، این آزمایش به صورت طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در دانشکده‌ی کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد اجرا گردید. شش سطح دمای یخ زدگی (صفر، ۴-، ۸-، ۱۲-، ۱۶- و ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد) به عنوان تیمارهای مورد بررسی در نظر گرفته شدند. به منظور القای خوسرمایی در گیاهان از زمان کاشت تا مرحله‌ی ۴-۶ برگی در شرایط طبیعی رشد یافتند. سپس برای اعمال تیمارهای یخ زدگی در فریزر ترموگرادین قرار گرفتند. جهت ارزیابی تحمل به دماهای یخ زدگی صفاتی چون نشت یونی اولیه، نشت یونی ثانویه، درصد نشت الکترولیت‌ها، درصد بقاء، تعداد برگ، سطح سبز برگ و وزن خشک بوته در نظر گرفته شد. نتایج نشان داد که اثر دماهای مختلف یخ زدگی بر صفات نشت یونی اولیه، درصد نشت الکترولیت‌ها، تعداد برگ، سطح سبز برگ و وزن خشک بوته در سطح آماری یک درصد و بر درصد بقاء در سطح آماری پنج درصد معنی‌دار بود. بر اساس نتایج به دست آمده بیش‌ترین و کم‌ترین میزان نشت الکترولیت سلول‌های گیاهی با میانگین‌های ۷۸/۷۳ و ۲۴/۵۶ درصد به ترتیب مربوط به دماهای ۲۰- و ۴- درجه‌ی سانتی‌گراد بود. همچنین دمای کاهنده‌ی ۵۰ درصد بقاء گیاهان (LT_{50su}) ۱۸/۱- درجه‌ی سانتی‌گراد به دست آمد.

واژه‌های کلیدی: درصد بقاء، نشت الکترولیت، سطح سبز برگ.

مقدمه

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 معتدله‌ی کره‌ی زمین رشد و نمو گیاهان تحت تأثیر دما قرار می‌گیرد (Nilsen and Orcutt, 1996; Steponkus et al., 1993). خطرپذیری آب و هوایی از جمله عواملی است که همواره در میزان تولید غلات در بسیاری از مناطق مؤثر بوده است. در نتیجه‌ی وقوع سرمای شدید در برخی سال‌ها، بقاء و رشد و نمو گیاهان زراعی زمستانه به‌ویژه غلات تحت تأثیر قرار گرفته و عملکرد آن‌ها کاهش می‌یابد (عزیزی، ۱۳۸۵). گزارش‌ها نشان می‌دهد که میزان زیان اقتصادی سرما و یخبندان بر محصولات زراعی کشور از جمله گندم و جو به مراتب بیش‌تر از زیان‌های سایر پدیده‌های مخرب جوی و حتی گاهی بیش‌تر از خسارت آفات و بیماری‌ها است (امیرقاسمی، ۱۳۸۱). در مناطق سردسیر و معتدله ایران گیاهان ممکن است در معرض انواع تنش‌های زمستانه به‌ویژه تنش یخ زدگی قرار گیرند. در فرآیند یخ زدگی تشکیل یخ و خسارت‌های ناشی از آن اثر جدی بر رشد گیاه دارند. به‌طوری‌که تشکیل بلورهای یخ در اطراف سلول‌های گیاه سبب تخریب غشاء، نشت الکتrolیت‌ها و ایجاد لکه‌های نکروزه در گیاه می‌شود (باقری و همکاران، ۱۳۷۹). با این وجود در مناطق مذکور هنگامی که گیاهان در پاییز با کاهش طول روز و دماهای کم‌تر از ۱۰ درجه‌ی سانتی‌گراد مواجه می‌شوند به سرما خو می‌گیرند. در این شرایط خوسرمایی سبب بهبود نسبی تحمل آن‌ها به شرایط زمستان خواهد شد و گیاهان قادر خواهند بود که بقای زمستانه‌ی نسبتاً خوبی داشته باشند (Griesbach and Berberich, 1995; Still et al., 1988). علی‌رغم این وضعیت، وقوع سرماهای شدید در برخی سال‌ها سبب بروز خسارات جبران‌ناپذیری به گیاهان شده و حتی در مواردی منجر به مرگ کامل گیاهان می‌شود (Warmund et al., 2008). به همین دلیل شناسایی ارقام متحمل به سرما و کاشت آن‌ها در مناطق تحت خطر تنش یخ زدگی از جمله راه‌کارهای مناسب جهت کاهش خسارت سرما می‌باشد (میرمحمدی‌میبدی، ۱۳۷۹). گندم به عنوان یکی از مهم‌ترین محصولات زراعی در اغلب مناطق معتدله در ایران به‌صورت پاییزه کشت می‌شود. در این شرایط، بروز سرمای شدید در زمستان ممکن است رشد و نمو گیاه را تحت تأثیر قرار داده و منجر به کاهش عملکرد شود (Fowler and Gusta, 1979; Petr, 1991). جهت موفقیت در تولید گندم پاییزه، تحمل به سرما در این گیاه امری ضروری است و ارقامی که قادر به تحمل شرایط سخت زمستان باشند از تولید و عملکرد بالاتری برخوردار خواهند بود (میرزایی‌اصل و همکاران، ۱۳۸۱; Gusta and Fowler, 1977). خوسرمایی یکی از عواملی است که بر تحمل به یخ زدگی گیاهان در کاشت پاییزه اثر بارزی دارد (نظامی، ۱۳۸۲). در حقیقت گیاهان از طریق قرار گرفتن در معرض دمای کم و فتوپریود کاهشی در پاییز خود را برای شرایط سخت زمستان مهیا کرده و در این حالت قادر خواهند بود که زمستان گذرانی مناسبی داشته باشند (Fowler and Gusta, 1977; Bridger et al., 1996). به

همین دلیل در اغلب آزمایش‌های انجام شده، خوسرمایی به عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل اثرگذار بر تحمل به یخ زدگی گیاهان مورد مطالعه قرار گرفته است. ارزیابی سریع و مؤثر تحمل گیاهان به تنش یخ زدگی مورد توجه محققان زیادی می‌باشد و پژوهش‌های بسیاری برای یافتن روش‌های ارزیابی سریع و مؤثر انجام شده است تا بتوان مقاومت به سرمای گیاهان را پیش بینی نمود (Anderson and Gesick, 2004). اعتقاد بر این است که اولین مکان خسارت در اثر سرما، غشای سلولی است و سرما باعث تغییر حالت غشای می‌شود و با این تغییر فعالیت غشاء مختل می‌گردد (Blum, 1988). بنابراین در یکی از این روش‌ها مقدار نشت الکترولیت‌ها از سلول‌های گیاهی پس از اعمال تنش یخ زدگی اندازه‌گیری می‌شود (Eugenia *et al.*, 2003). کاهش آماس سلولی و افزایش نشت الکترولیت‌ها از بافت‌های گیاهی به دنبال بروز تنش یخ زدگی، نقش غشای سلولی را در حفاظت گیاه از خسارت تنش سرما به خوبی نشان داده است و در همین خصوص قوی‌ترین تئوری مطرح شده در مورد اثر تنش یخ زدگی، تئوری خسارت غشای سلولی می‌باشد (نظامی و همکاران، ۱۳۸۸ ب؛ Mckersie and Leshem, 1994). غشای پلاسمایی اولین مکانی است که در معرض تنش یخ زدگی دچار خسارت می‌شود (Uemura *et al.*, 2006). از این رو محققان اظهار داشته‌اند که تداوم انسجام غشای پلاسمایی، از جمله عوامل اصلی بقای گیاه در شرایط تنش یخ زدگی است و هر گونه اختلال در ساختار غشاء سبب بروز خسارت و حتی مرگ آن می‌شود (Mckersie and Leshem, 1994). به همین دلیل اندازه‌گیری میزان نشت الکترولیت‌ها از بافت‌های گیاهی به عنوان یک روش مناسب برای تخمین تراوایی غشاء و ارزیابی اثر تنش‌های محیطی بر ژنوتیپ‌های مختلف گیاهان مورد استفاده قرار گرفته و دمایی که سبب ۵۰ درصد نشت از سلول‌های گیاهی می‌شود به عنوان دمای ۵۰ درصد کشندگی (LT_{50ei}) پیشنهاد شده است (نظامی و همکاران، ۱۳۸۶؛ Cardona *et al.*, 1997). در روشی دیگر گیاهان در شرایط کنترل شده در معرض دماهای یخ زدگی قرار می‌گیرند و پس از اعمال یخ زدگی به گل‌خانه منتقل شده و پس از گذراندن یک دوره‌ی بازیافت که حدود سه تا چهار هفته است، درصد بقای آن‌ها تعیین شده و بر اساس آن دمایی که سبب ۵۰ درصد مرگ در نمونه‌های گیاهی هر ژنوتیپ شده است، به عنوان LT_{50su} تعیین می‌گردد (عزیزی و همکاران، ۱۳۸۶؛ Gusta *et al.*, 1982). در بررسی اثر خوسرمایی بر گیاه نخود عنوان کردند که در شرایط کنترل شده خوسرمایی سبب بهبود درصد بقاء و کاهش LT_{50} شد (نظامی و همکاران، ۱۳۸۵). علاوه بر این بررسی وزن خشک گیاهان یونجه‌ی رشد یافته در شرایط خوسرمایی نشان داد که رشد مجدد و وزن خشک این گیاهان پس از قرار گرفتن در معرض دماهای یخ زدگی در مقایسه با گیاهان رشد یافته در شرایط عدم خوسرمایی بیش‌تر بود (Hekneby *et al.*, 2006). به نظر می‌رسد گیاهان در مرحله‌ی خوسرمایی از طریق کاهش میزان آب در بافت‌ها و افزایش ذخیره‌ی قندهای محلول تحمل خود را در شرایط سخت زمستان افزایش می‌دهند (Petr, 1991). با مطالعه‌ی تحمل به یخبندان ژنوتیپ‌های امیدبخش گندم به

روش یخبندان طوقه مشاهده کردند که اثرات ژنوتیپ بر درصد بقاء پس از یخبندان بسیار معنی‌دار بود (ناظری و همکاران، ۱۳۸۵). نتایج آزمایشی بر گیاه گندم نشان داد که در شرایط خوسرمایی تمام ژنوتیپ‌های مورد بررسی قادر به تحمل دمای یخ زدگی تا حدود ۸- درجه‌ی سانتی‌گراد بودند و بعد از آن واکنش متفاوتی به یخ زدگی شدیدتر نشان دادند (نظامی و همکاران، ۱۳۸۸ الف). میرمحمدی‌میبدی (۱۳۷۹) گزارش داد که بخش‌های مختلف غلات زمستانه از نظر توانایی تحمل به یخ‌زدگی با هم متفاوت هستند. در گیاهی که به‌طور کامل به سرما سازگار شده است، ریشه از رطوبت بالاتری برخوردار بوده و کم‌تحمل‌ترین بافت به حساب می‌آید، شاخه و برگ در درجه‌ی بعدی و طوقه نیز به عنوان مقاوم‌ترین بخش گیاه می‌باشد. بهترین روش برآورد ماندگاری غلات در مزرعه تعیین LT_{50} بر اساس بافت طوقه می‌باشد، زیرا طوقه در غلات مقاوم‌ترین قسمت گیاه بوده و رشد مجدد آن پس از تنش سرما نقش حیاتی در زنده ماندن گیاه دارد (میرزایی‌اصل و همکاران، ۱۳۸۱). در یک بررسی بر گیاه جو، اثر تیمارهای دمایی بر درصد بقای گیاهان معنی‌دار ($P < 0.01$) بود به نحوی که با کاهش دما به کم‌تر از ۱۲- درجه‌ی سانتی‌گراد درصد بقای گیاهان کاهش یافت (نظامی و همکاران، ۱۳۸۹). هدف از این آزمایش، بررسی برخی ویژگی‌های گیاه گندم بعد از اعمال خوسرمایی در شرایط طبیعی و اثر دماهای یخ زدگی بر آن در شرایط کنترل شده می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه به‌صورت طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهان زراعی دانشکده‌ی کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. شش سطح دمای یخ زدگی (صفر، ۴-، ۸-، ۱۲-، ۱۶- و ۲۰- درجه سانتی‌گراد) به عنوان تیمارهای مورد بررسی در نظر گرفته شدند. تعداد ۱۰ بذر در گلدان‌های پلاستیکی به قطر ۱۰ سانتی‌متر و در عمق ۲-۳ سانتی‌متری خاک، که حاوی خاک زراعی، خاک برگ و ماسه‌ی شسته، هریک به نسبت یک سوم بود، کشت شدند. در این آزمایش به‌منظور القاء خوسرمایی در نتیجه‌ی کاهش دما و فتوپریود رایج در پاییز، گیاهان از زمان کاشت تا مرحله‌ی ۴-۶ برگی در خارج از گل‌خانه و در شرایط طبیعی رشد یافتند و سپس با قرار دادن آن‌ها در فریزر ترموگرادپان در معرض دماهای یخ زدگی قرار گرفتند. دمای فریزر در شروع آزمایش پنج درجه‌ی سانتی‌گراد بود و پس از قرار دادن نمونه‌ها در دستگاه دما با سرعت دو درجه‌ی سانتی‌گراد در ساعت کاهش یافت. این وضعیت شرایط را برای توزیع مجدد آب به بافت‌های گیاهی و جلوگیری از تشکیل یخ در داخل سلول‌ها که در طبیعت به ندرت اتفاق می‌افتد، فراهم می‌کند (Murry et al., 1988). به‌منظور ایجاد هستک یخ در گیاهچه‌ها (Lindow et al., 1982)، در دمای ۳- درجه‌ی سانتی‌گراد، محلول باکتری‌های تبلور یخ بر گیاهان به نحوی پاشیده شد که سطح گیاهان را قشر نازکی از محلول فوق بیوشاند. پس از آن دما با سرعت ۲ درجه‌ی سانتی‌گراد در ساعت کاهش یافت. به‌منظور ایجاد تعادل در دمای محیط، گیاهان در هر تیمار

دمایی به مدت یک ساعت نگه داشته شد و سپس گلدهاها به اتاقک سرد با دمای 4 ± 1 درجه‌ی سانتی‌گراد منتقل و به مدت ۲۴ ساعت در آنجا نگهداری شدند (Auld et al., 1983; Bridger et al., 1996). سپس جهت اندازه‌گیری میزان نشت الکترولیت‌ها تعداد ۵ نمونه برگ و طوقه از گیاه مربوط به هر تیمار دمایی انتخاب و به‌طور جداگانه در ویال‌های حاوی ۴۰ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر قرار داده و در شرایط آزمایشگاه نگهداری شدند. پس از گذشت ۲۴ ساعت هدایت الکتریکی هر نمونه با استفاده از دستگاه EC متر، مدل Jenway اندازه‌گیری شد (E_1). به‌منظور اندازه‌گیری میزان کل نشت الکترولیت‌ها در اثر مرگ سلول، ویال‌ها در دستگاه اتوکلاو با دمای ۱۲۰ درجه‌ی سانتی‌گراد و فشار ۱۵ بار به مدت ۲۰ دقیقه قرار داده شدند. بعد از آن مجدداً نمونه‌ها به شرایط آزمایشگاه منتقل شده، پس از ۲۴ ساعت هدایت الکتریکی نمونه‌ها ثبت گردید (E_2). سپس درصد نشت الکترولیت‌ها با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (Teutonica et al., 1993):

$$\text{درصد نشت الکترولیت} = \{(E_1/E_2) \times 100\}$$

دمای کشنده برای ۵۰ درصد نمونه‌ها (LT_{50}) بر اساس نشت الکترولیت‌ها مطابق با روش Gusta و همکاران (۱۹۸۲) و با استفاده از رسم نمودار درصد نشت الکترولیت‌ها (مربوط به نمونه‌های برگ و طوقه‌ی هر تیمار) در مقابل دمای یخ زدگی تعیین شد. سایر گیاهان موجود در گلدهاها به شرایط طبیعی منتقل شد و پس از ۲۱ روز درصد بقاء و بازیافت گیاهان مورد ارزیابی قرار گرفت. درصد بقای گیاهان از طریق شمارش تعداد بوته‌ی زنده در هر گلدها و از طریق فرمول زیر محاسبه شد (Cardona et al., 1997):

$$\{100 \times (\text{تعداد گیاهان زنده قبل از تیمار یخ زدگی} / \text{تعداد گیاهان زنده ۳ هفته پس از تیمار یخ زدگی}) = \text{درصد بقای گیاهان}\}$$

هم‌زمان با تعیین درصد بقای گیاهان، صفات دیگری نظیر تعداد برگ و سطح سبز برگ اندازه‌گیری و ثبت شد. وزن خشک نمونه‌ها نیز پس از ۴۸ ساعت قرار گرفتن در آون با دمای ۷۰ درجه‌ی سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد. دمای کشنده برای ۵۰ درصد نمونه‌ها بر اساس درصد نشت الکترولیت‌ها^۱ (LT_{50el})، درصد بقاء^۲ (LT_{50su})، سطح سبز برگ^۳ (RLA_{50})، تعداد برگ^۴ (RLN_{50}) و دمای کاهنده‌ی ۵۰ درصد وزن خشک گیاهان^۵ ($RDMT_{50}$) با استفاده از رسم نمودار داده‌های پروبیت برای هر کدام از صفات درصد نشت، درصد بقاء، سطح سبز برگ، تعداد برگ و وزن خشک گیاهان در مقابل دماهای یخ

¹ Lethal Temperature 50 according to the electrolyte leakage percentage (LT_{50el})

² Lethal Temperature 50 according to the plant survival percentage (LT_{50su})

³ Reduced Green Leaf Area 50 according to the percentage (RLA_{50})

⁴ Reduced Leaf Number 50 according to the percentage (RLN_{50})

⁵ Reduced Dry Matter Temperature 50 percentage ($RDMT_{50}$)

زدگی تعیین شد (مشتاقی و همکاران، ۱۳۸۸). محاسبه‌های آماری توسط نرم‌افزار SAS.9.1.3 و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام گرفت. میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد مقایسه شدند.

نتایج و بحث

نشت یونی اولیه

نتایج جدول ۱ نشان داد که اثر تیمارهای مختلف دمایی بر نشت یونی اولیه‌ی سلول‌های گیاهی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. بیش‌ترین نشت یونی اولیه‌ی سلول‌های گیاهی با میانگین ۶۳/۶۶ میکروزیمنس بر سانتی‌متر مربوط به دمای ۱۶- درجه‌ی سانتی‌گراد و کم‌ترین آن با میانگین ۲۰/۴۳ میکروزیمنس بر سانتی‌متر از تیمار ۴- درجه‌ی سانتی‌گراد حاصل شد (جدول ۲). لازم به ذکر است که تیمارهای دمایی ۱۶- و ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد از لحاظ آماری در یک گروه قرار داشتند. این موضوع نشان دهنده‌ی آن است که هرچه شدت تنش سرما بیش‌تر شود به عبارت دیگر هر چه دما منفی‌تر شود نشت یونی اولیه‌ی سلول‌های گیاهی نیز افزایش می‌یابد و از دمای ۱۶- درجه‌ی سانتی‌گراد به پایین گیاه توانایی مقابله با شرایط سخت را ندارد.

جدول ۱: تجزیه واریانس اثر تنش یخ زدگی و ارزیابی تحمل به آن در گیاه گندم، تحت شرایط کنترل شده

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		نشت یونی اولیه (EL ₁)	نشت یونی ثانویه (EL ₂)	درصد نشت الکترولیت‌ها	درصد بقاء	تعداد برگ
دما (T)	۵	۹۶۹/۷۳**	۲۱۵/۲۴ ^{ns}	۱۶۱۹/۱۷**	۱۹۸۲/۲۳*	۵/۶۷**
خطا	۱۲	۵۵/۰۴	۴۴۲/۷۳	۲۲/۱۸	۴۵۰/۰۰	۰/۱۹
ضریب تغییرات (درصد)		۱۹/۶۱	۲۶/۳۶	۹/۸۲	۲۷/۲۷	۲۴/۴۲
وزن خشک بوته						۱۸۷/۳۶**
سطح سبز برگ						۱/۳۱
وزن خشک بوته						۶۴۳/۹۸**

ns، * و **: به ترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد می‌باشند.

جدول ۲: مقایسه میانگین اثر تنش یخ زدگی و ارزیابی تحمل به آن در گیاه گندم، تحت شرایط کنترل شده

تیمار	نشت یونی اولیه (میکروزیمنس بر سانتی‌متر)	نشت یونی ثانویه (میکروزیمنس بر سانتی‌متر)	درصد نشت الکترولیت‌ها	درصد بقاء	تعداد برگ در یک بوته	سطح سبز برگ (سانتی‌متر مربع در یک بوته)	وزن خشک بوته (میلی‌گرم در بوته)
دما (T)							
T ₁	۲۲/۵۰	۶۹/۹۰	۳۲/۰۹	۹۶/۶۷	۲/۲۱	۱۷/۰۹	۲۲/۶۵
T ₂	۲۰/۴۳	۸۱/۸۰	۲۴/۵۶	۸۳/۳۳	۳/۱۰	۱۷/۴۱	۳۷/۰۲
T ₃	۲۹/۰۳	۷۹/۲۷	۳۸/۰۰	۱۰۰/۰۰	۲/۵۰	۷/۶۰	۲۲/۵۶
T ₄	۳۵/۴۰	۹۲/۴۳	۳۸/۶۰	۸۶/۶۷	۲/۸۳	۴/۳۶	۲۲/۷۳
T ₅	۶۳/۶۶	۸۴/۴۰	۷۵/۶۳	۷۰/۰۰	۰/۱۳	۰/۰۰	۰/۰۰
T ₆	۵۵/۹۳	۷۱/۱۰	۷۸/۷۳	۳۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰
LSD	۱۳/۱۹	۳۷/۴۳	۸/۳۸	۳۷/۷۳	۰/۷۸	۲/۰۳	۶/۳۶

دما (T): T₁ = دمای صفر درجه‌ی سانتی‌گراد، T₂ = دمای ۴- درجه‌ی سانتی‌گراد، T₃ = دمای ۸- درجه‌ی سانتی‌گراد

و T₄ = دمای ۱۲- درجه‌ی سانتی‌گراد.

نشت یونی ثانویه

اثر تیمارهای آزمایشی بر صفات نشت یونی ثانویه سلول‌های گیاهی معنی‌دار نبود (جدول ۲). جدول ۲ نشان داد که مقدار نتایج حاصل از نشت یونی ثانویه سلول‌های گیاهی نسبت به نشت یونی اولیه بیش‌تر بوده ولی از لحاظ آماری همگی در یک گروه قرار داشتند. به نظر می‌رسد در رقم گندم (سایونز) مورد استفاده در این آزمایش، گیاه در اندازه‌گیری اولیه نشت یونی بخشی از محتویات سلولی آن به بیرون تراوش کرده و همین مسئله می‌تواند به عنوان ملاک مناسبی برای تشخیص نشت الکترولیت‌های گیاهی باشد که در مقابل دماهای مختلف زیر صفر درجه‌ی سانتی‌گراد، واکنش گیاه به چه صورت خواهد بود.

درصد نشت الکترولیت‌ها

اثر دماهای مختلف بر درصد نشت الکترولیت‌ها در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). با افزایش شدت تنش سرما میزان نشت الکترولیت‌ها در گیاه گندم افزایش یافت به نحوی که بیش‌ترین درصد نشت با متوسط $78/73$ درصد از تیمار دمایی 20 - درجه‌ی سانتی‌گراد و کم‌ترین آن با میانگین $24/56$ درصد از تیمار دمایی 4 - درجه‌ی سانتی‌گراد حاصل شد. در این آزمایش دماهای 16 - و 20 - درجه‌ی سانتی‌گراد از نظر درصد نشت الکترولیت سلول‌های گیاهی از لحاظ آماری در یک گروه قرار داشتند (جدول ۲). در پژوهشی بر گیاه جو عنوان شد که درصد نشت الکترولیت‌ها در نمونه‌های برگ و طوقه دارای تفاوت معنی‌داری (به ترتیب $P < 0/05$ و $P < 0/01$) بود (نظامی و همکاران، ۱۳۸۹). ارزیابی میزان تحمل گیاه رازیانه به تنش یخ زدگی از طریق اندازه‌گیری میزان نشت الکترولیت‌ها نیز نشان داد که با کاهش دمای یخ زدگی، درصد نشت الکترولیت در اندام‌های مختلف، به‌طورمعنی‌داری تحت تأثیر قرار گرفت و ریشه و برگ به ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین درصد نشت الکترولیت را داشتند (Nezami et al., 2010). به نظر می‌رسد که گیاه از دمای 16 - درجه‌ی سانتی‌گراد به پایین سلول‌های آن به دلیل وارد شدن فشار زیاد توسط دماهای زیر صفر (یخ زدگی)، غشای پلاسمایی سلول‌های آن توانایی کنترل شیره‌ی سلولی و مواد درون سلولی را نداشته و به راحتی اجازته‌ی خارج شدن آن‌ها به بیرون از سلول را می‌دهد و همین امر موجب از بین رفتن گیاه خواهد شد. در این بررسی میزان LT_{50el} گیاه گندم، معادل $13/55$ - درجه‌ی سانتی‌گراد تعیین شد (شکل ۱- الف). به عبارتی دیگر در این دما 50 درصد الکترولیت‌ها به خارج از سلول نشت می‌کنند. میزان LT_{50el} با درصد آب برگ همبستگی مثبت و معنی‌داری داشت (جدول ۳). این موضوع بیانگر آن است که هرچه درصد آب برگ گیاه بیش‌تر باشد در مواجهه‌ی گیاه با شرایط سخت محیطی (سرما) میزان نشت الکترولیت سلول‌های آن بیش‌تر خواهد بود و هرچه گیاه آب بیش‌تری در اندام‌های خود ذخیره داشته باشد زودتر نیز آن را از دست خواهد داد.

درصد بقاء

نتایج جدول ۱ نشان داد که اثر دماهای مورد مطالعه بر درصد بقاء در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شد. با افزایش شدت تنش یخ زدگی درصد بقای گندم روندی کاهشی داشت به طوری که کم‌ترین درصد بقاء با متوسط ۳۰ درصد از تیمار دمایی ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد و بیش‌ترین درصد بقاء از تیمار دمایی ۸- درجه‌ی سانتی‌گراد حاصل شد. جدول ۲ نشان داد که پنج تیمار دمایی صفر، ۴-، ۸-، ۱۲- و ۱۶- درجه‌ی سانتی‌گراد از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند و در یک گروه آماری قرار گرفتند. در یک بررسی بر روی گیاه جو، اثر تیمارهای دمایی بر درصد بقاء گیاهان معنی‌دار ($P < 0/01$) بود به نحوی که با کاهش دما به کم‌تر از ۱۲- درجه‌ی سانتی‌گراد درصد بقاء گیاهان کاهش یافت (نظامی و همکاران، ۱۳۸۹). در این بررسی دمای کشنده‌ی ۵۰ درصد گیاهان (LT_{50su}) ۱۸/۱- درجه‌ی سانتی‌گراد بود (شکل ۱-ب). که با درصد آب طوقه همبستگی مثبت و معنی‌داری ($r=1/00^*$) داشت (جدول ۳). به نظر می‌رسد چون طوقه در گیاه گندم مقاوم‌ترین قسمت در برابر تنش سرما می‌باشد، هرچه مقدار آب در داخل آن بیش‌تر باشد می‌تواند ضامن خوبی برای بقای گیاه باشد و درصد بقاء گیاه نیز افزایش می‌یابد. لازم به ذکر است که وجود قندها، آنتی‌اکسیدانت‌ها و سایر فعالیت‌های متابولیسمی و بیوشیمیایی که برای مقاومت در برابر تنش‌های محیطی (تنش سرما) در گیاه رخ می‌دهد قابل تأمل بوده و نیاز به بررسی بیش‌تری در این زمینه می‌باشد. در پژوهشی درصد بقاء مینای چمنی در پایان دوره‌ی بازیافت تحت تأثیر دماهای آزمایش قرار گرفت و علی‌رغم اینکه تا دمای ۱۶- درجه‌ی سانتی‌گراد را به خوبی تحمل کرد (۱۰۰ درصد بقاء)، اما در دماهای پایین‌تر به کلی از بین رفتند (موسوی و همکاران، ۱۳۹۰). گزارش شده است که اثر دما بر درصد بقاء ارقام گندم معنی‌دار بود، به نحوی که با کاهش دما به کم‌تر از صفر درجه‌ی سانتی‌گراد درصد بقاء گندم کاهش یافت (عزیزی و همکاران، ۱۳۸۶). بر اساس نتایج حاصله با وجود اینکه نشت ۵۰ درصد الکترولیت‌ها از سلول‌های برگ گیاه گندم در دمای ۱۳/۵۵- درجه‌ی سانتی‌گراد حاصل شد ولی مرگ ۵۰ درصد گیاهان از دمای ۱۸/۱- درجه‌ی سانتی‌گراد اتفاق افتاده است. به نظر می‌رسد که نشت الکترولیت‌ها از بافت‌های گیاهی الزاماً به معنی ۵۰ درصد مرگ گیاهان نیست که در تأیید این موضوع موسوی و همکاران (۱۳۹۰) بر روی گیاه مینای چمنی به نتایج مشابهی دست یافتند. در مطالعه‌ی اثر دمای یخ زدگی بر درصد بقاء گیاه رازیانه مشاهده شد که با افزایش شدت یخ زدگی درصد بقاء کاهش یافت به طوری که در دمای ۱۲- درجه‌ی سانتی‌گراد تنها ۱۵ درصد گیاهان زنده ماندند (Rashed Mohassel *et al.*, 2009).

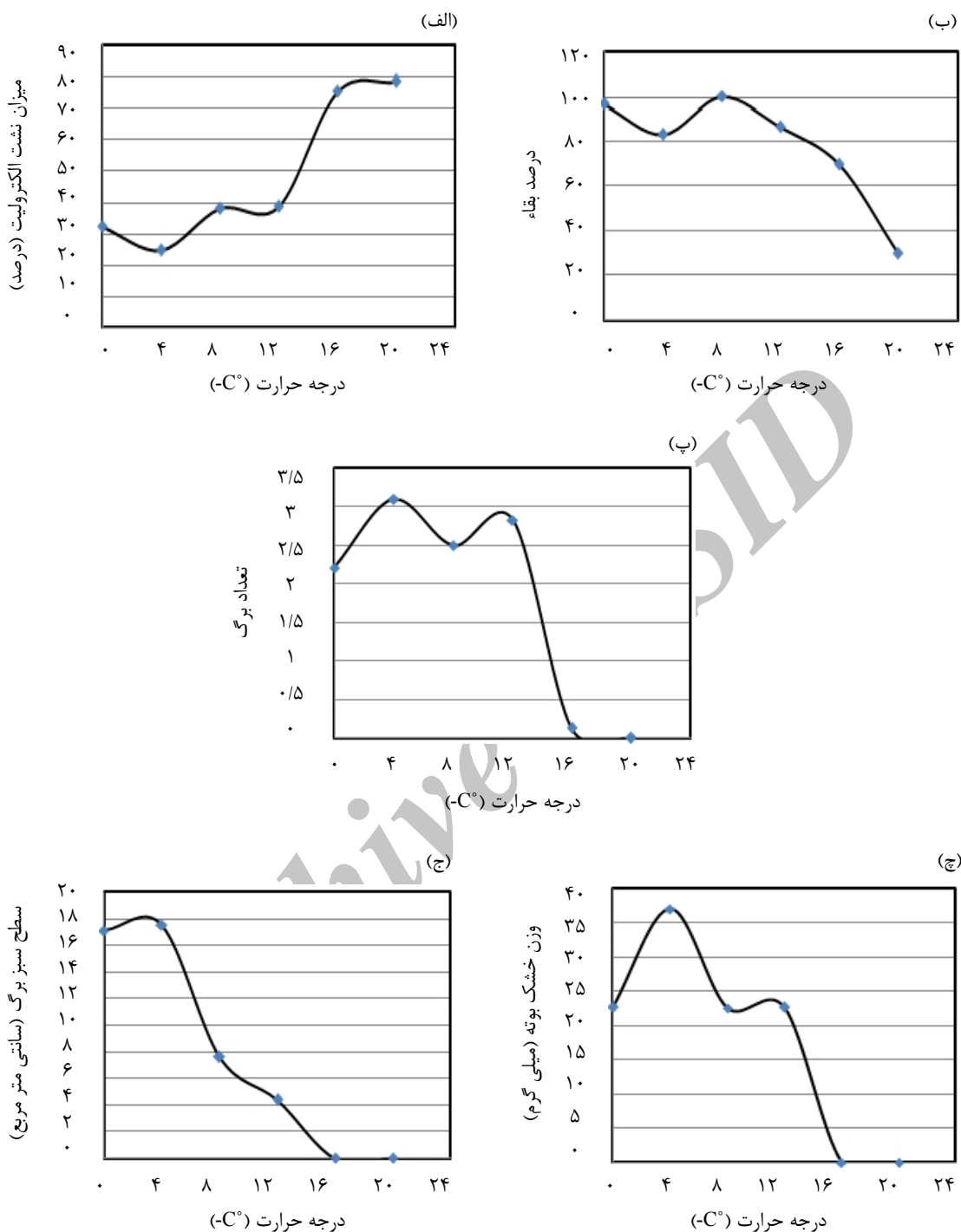
تعداد برگ

نتایج جدول ۱ نشان داد که تیمارهای مختلف دمایی تأثیر بسیار معنی‌داری ($P < 0/01$) بر تعداد برگ داشتند. با افزایش شدت تنش سرما از تعداد برگ‌های گیاه کاسته شد به طوری که تیمار دمایی ۴- درجه‌ی سانتی‌گراد بیش‌ترین

تعداد برگ را به خود اختصاص داد که میانگین آن برابر با ۳/۱۰ عدد بود و در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد تمامی برگ‌های گیاه از بین رفتند (جدول ۲). دمای کاهنده‌ی ۵۰ درصد تعداد برگ (RLN₅₀) گیاه گندم ۱۳/۴۵- درجه‌ی سانتی‌گراد بود (شکل ۱- پ). این موضوع بیانگر این می‌تواند باشد، گیاهانی که در معرض خوسرمایی قرار گرفته‌اند بهتر می‌توانند دماهای زیر صفر درجه‌ی سانتی‌گراد را تحمل کنند و قادر به حفظ اندام هوایی خود در این دماها خواهند بود، به‌طوری‌که در این آزمایش از دمای صفر تا دمای کاهنده برای ۵۰ درصد تعداد برگ‌ها (RLN₅₀) که ۱۳/۴۵- درجه‌ی سانتی‌گراد بود قادر به تشکیل برگ به مقدار مطلوب برای زنده ماندن گیاه هستند و از این دما به بعد گیاه دچار مشکل خواهد شد و توانایی تولید برگ خود را از دست خواهد داد.

سطح سبز برگ

سطح سبز برگ تحت تأثیر تیمارهای مختلف دمایی قرار گرفت و در سطح آماری یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). با افزایش شدت تنش یخ زدگی سطح سبز برگ در گیاه گندم روندی کاهشی داشت به‌طوری‌که بیش‌ترین سطح سبز برگ با متوسط ۱۷/۴۱ سانتی‌مترمربع از تیمار دمایی ۴- درجه‌ی سانتی‌گراد به‌دست آمد که با دمای صفر درجه‌ی سانتی‌گراد از نظر آماری در یک گروه قرار داشتند و در دماهای ۱۶- و ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد گیاه فاقد سطح سبز برگ بود (جدول ۲). به نظر می‌رسد رابطه‌ی مستقیمی بین نشت الکترولیت‌ها، درصد بقاء، تعداد برگ و سطح سبز برگ وجود دارد. هرچه نشت الکترولیت گیاه کم‌تر باشد به تبع درصد بقاء بهتری داشته و توانایی تولید تعداد برگ بیش‌تری را خواهد داشت. همین امر موجب افزایش سطح سبز برگ در گیاه خواهد شد. پس هنگامی که شدت تنش یخ زدگی در گیاه افزایش می‌یابد نشت الکترولیت‌ها نیز افزایش پیدا کرده و در مقابل درصد بقاء، تعداد برگ و سطح سبز برگ در دماهای پایین‌تر (۱۶- و ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد) کاهش می‌یابند و عملاً گیاه فاقد سطح سبز برگ خواهد بود؛ چون کاهش سطح سبز برگ نتیجه‌ی تجزیه‌ی کلروفیل از یک سو و عدم ساخت آن از سوی دیگر است. گزارش شده است که روند تغییرات سطح برگ ارقام مختلف گندم با کاهش دما از صفر به ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد به‌صورت کاهشی بود و بیش‌ترین سطح سبز برگ در تیمار شاهد (عدم یخ زدگی) و کم‌ترین آن در تیمار دمایی ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد حاصل شد (عزیزی و همکاران، ۱۳۸۶). در این آزمایش دمای کاهنده‌ی ۵۰ درصد سطح سبز برگ (RLA₅₀) گیاه گندم ۷/۵- درجه‌ی سانتی‌گراد بود (شکل ۱- ج). به نظر می‌رسد که هرچه شدت تنش یخ زدگی افزایش پیدا می‌کند مقدار کلروفیل موجود در برگ‌های گیاه دچار خسارت شده و آسیب می‌بینند و به مرور هرچه شدت تنش افزایش یابد از مقدار کلروفیل و در نهایت سطح سبز برگ گیاهان کاسته خواهد شد. با وجود اینکه گیاه قادر به حفظ خود در دماهای شدیدتر خواهد بود ولی اندام‌های رویشی نسبت به اندام طوقه‌ی گیاه حساسیت بیش‌تری به سرما دارند و همین امر بر مولکول‌های کلروفیل موجود در برگ اثر



شکل ۱: منحنی‌های میزان نشت الکتروولت (الف)، درصد بقاء (ب)، تعداد برگ (پ)، سطح سبز برگ (ج)، وزن خشک بوته (د) تحت تأثیر دماهای یخ زدگی در شرایط کنترل شده.

نتیجه‌گیری

نتایج این بررسی نشان داد که اکثر صفات گیاه گندم تحت تأثیر دماهای مختلف یخ زدگی قرار گرفت و با افزایش شدت آن رشد گیاه نیز روندی کاهشی نشان داد. به نظر می‌رسد محاسبه‌ی نشت یونی اولیه که سه هفته بعد از اعمال

تنش یخ زدگی اندازه‌گیری شده است می‌تواند روش مناسبی برای تشخیص نشت الکترولیت سلول‌های گیاه گندم باشد. البته باید یکساله بودن این آزمایش را مدنظر قرار داد و نمی‌توان این نتیجه را به‌طور قطع برای تمامی مناطق و ارقام گندم تعمیم داد. در کل در این آزمایش اکثر صفات مورد بررسی بعد از اعمال دماهای یخ‌زدگی تا دمای ۱۲- درجه‌ی سانتی‌گراد را نسبتاً تحمل کرده و می‌توانند رشد داشته باشند ولی از دمای ۱۶- درجه‌ی سانتی‌گراد به بعد عملاً گیاه توانایی مقابله با شرایط سرمای زیاد را نداشته و از بین می‌رود. استفاده از آزمون‌های دمای کشته برای ۵۰ درصد نمونه‌ها، دمای کاهنده‌ی ۵۰ درصد تعداد برگ و دمای کاهنده‌ی ۵۰ درصد وزن خشک گیاه نشان داد که گیاه توانایی تحمل دمای بین ۱۳- تا ۱۴- درجه‌ی سانتی‌گراد را دارد ولی به این معنی نیست که گیاه در این بازه‌ی زمانی (۱۳- تا ۱۴- درجه‌ی سانتی‌گراد) از بین خواهد رفت، چون با استفاده از آزمون دمای کاهنده‌ی ۵۰ درصد بقاء (LT_{50su}) نتایج نشان داد که گیاه تا دمای ۱۸/۱- درجه‌ی سانتی‌گراد را تحمل کرده و بقاء خود را در این دما نشان داده است. در این بررسی اکثر صفات مورد مطالعه در دمای ۴- درجه‌ی سانتی‌گراد در حداکثر میزان خود قرار داشتند. همچنین نشت الکترولیت‌ها نیز در این دما (۴- درجه‌ی سانتی‌گراد) کم‌ترین میزان را داشت. به نظر می‌رسد که دماهای زیر صفر تا حد معینی همانند نتایج این آزمایش برای رشد گیاه گندم مطلوب بوده به‌طوری‌که حتی در دمای ۴- درجه‌ی سانتی‌گراد مواد درون سلولی بهتر در جریان بوده و کم‌ترین نشت را به فضای برون سلولی داشته‌اند و همین امر موجب رشد بهتر برگ‌ها، تولید کلروفیل و فتوسنتز بهتر و در نهایت درصد بقاء بیش‌تر گیاه در دمای زیر صفر شده است. البته لازم به ذکر است که نتایج این آزمایش برای تمامی ارقام گیاه گندم قابل تعمیم نیست چرا که تیپ‌های مختلف گندم نیاز دمایی متفاوتی دارند و برای پی بردن به این مسأله نیازمند تحقیقات بیش‌تری در این زمینه می‌باشیم.

منابع

- امیرقاسمی، ت. ۱۳۸۱. سرمازدگی گیاهان (یخ‌بندان، صدمات و پیشگیری). نشر آبنندگان. ۱۲۳ص.
- باقری، ع.، نظامی، ا.، و سلطانی، م. ۱۳۷۹. اصلاح حبوبات سرمادوست برای تحمل به تنش‌ها (ترجمه). سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی. ۴۴۶ص.
- عزیزی، ه.، نظامی، ا.، نصیری‌محلاتی، م. و خزاعی، ح.ر. ۱۳۸۶. ارزیابی تحمل به یخ زدگی ارقام گندم تحت شرایط کنترل شده. مجله پژوهش‌های زراعی ایران. ۶(۱): ۱۱۹-۱۰۹.
- عزیزی، ه. ۱۳۸۵. ارزیابی تحمل به سرمای گندم در شرایط مزرعه و کنترل شده. پایان‌نامه کارشناسی ارشد زراعت، دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد. مشهد. ایران. ۱۲۵ص.
- مشتاقی، ن.، باقری، ع. ا. ر.، نظامی، ا.، و مشتاقی، س. ۱۳۸۸. بررسی تأثیر اسپری بتائین بر تحمل به یخ زدگی نخود (*Cicer arietinum* L.) در شرایط کنترل شده. مجله پژوهش‌های زراعی ایران. ۷(۲): ۶۵۶-۶۴۷.

- موسوی، م.ج.، نظامی، س.، ایزدی دربندی، ا.، نظامی، ا.، یوسف ثانی، م. و کیخاآخر، ف. ۱۳۹۰. مطالعه‌ی اثرات تنش یخ زدگی بر گیاه مینای چمنی (*Bellis perennis*) در شرایط کنترل شده. نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی). ۲۵ (۲): ۳۸۰-۳۸۸.
- میرزایی اصل، ا.، یزدی صمدی، ب.، زالی، ع.، و صادقیان مطهر، س. ی. ۱۳۸۱. بررسی مقاومت گندم به سرما با روش‌های آزمایشگاهی. مجله علوم آب و خاک (علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی). ۶ (۱): ۱۷۷-۱۸۸.
- میرمحمدی میبیدی، ع.م. ۱۳۷۹. جنبه‌های فیزیولوژیکی و به‌نژادی تنش‌های سرما و یخ زدگی گیاهان زراعی. انتشارات گلبن اصفهان. ۲۲۰ ص.
- ناظری، م.، احمدی، ع.، تابعی، م.، و کوهستانی، ب. ۱۳۸۵. تحمل به یخبندان ژنوتیپ‌های امیدبخش گندم به روش یخبندان طوقه (*Crown freezing*). مجله پژوهش‌های زراعی ایران. ۴ (۱): ۱۶۸-۱۵۵.
- نظامی، ا. ۱۳۸۲. ارزیابی تحمل به سرما در نخود (*Cicer arietinum* L.) برای کاشت در مناطق کم ارتفاع. رساله‌ی دکتری زراعت، دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد. مشهد. ایران. ۱۸۷ ص.
- نظامی، ا.، باقری، ع. ا. ر.، کافی، م.، نصیری محلاتی، م.، و رحیمیان مشهدی، ح. ۱۳۸۵. ارزیابی تحمل به یخ زدگی ژنوتیپ‌های نخود (*Cicer arietinum* L.) در شرایط کنترل شده. مجله علوم آب و خاک (علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی). ۱۰ (۴): ۲۹۶-۲۵۷.
- نظامی، ا.، برزویی، ا.، جهانی، م.، عزیزی، م. و شریف، ع. ۱۳۸۶. نشت الکترولیت‌ها به عنوان شاخصی از خسارت یخ زدگی در کلزا. مجله پژوهش‌های زراعی ایران. ۵ (۱): ۱۶۷-۱۷۵.
- نظامی، ا.، خزاعی، ح. ر.، عزیزی، ه. و نجیب‌نیا، س. ۱۳۸۸ الف. اثرات خوسرمایی بر تحمل به سرمای گندم (*Triticum aestivum*) تحت شرایط آزمایشگاهی. مجله الکترونیک تولید گیاهان زراعی. ۲ (۴): ۷۰-۵۵.
- نظامی، ا.، برزویی، ا.، جهانی، م.، عزیزی، م. و موسوی، م.ج. ۱۳۸۸ ب. ارزیابی تحمل به یخ زدگی ارقام کلزا (*Brassica napus*) پس از خوسرمایی در شرایط کنترل شده. مجله‌ی پژوهش‌های زراعی ایران. ۷ (۲): ۷۱۱-۷۲۲.
- نظامی، ا.، نباتی، ج.، برزوئی، ا.، کمندی، ع.، معصومی، ع. و صالحی، م. ۱۳۸۹. ارزیابی تحمل به یخ زدگی ارقام جو (*Hordeum vulgare* L.) در مرحله‌ی گیاهچه‌ای تحت شرایط کنترل شده. مجله‌ی تنش‌های محیطی در علوم زراعی. ۳ (۱): ۲۲-۹.

Anderson, N.O., and Gesick, E. 2004. Phenotypic markers for selection of winter hardy garden chrysanthemums (*Dendranthema grandiflora* Tzvelv). *Scientia Horticulturae* 101: 153-167.

- Auld, D.L., Ditterline, R.L., Murray, G.A. and Swensen, J.B. 1983.** Screening peas for winter hardiness under field and laboratory conditions. *Crop Science* 23: 85-88.
- Blum, A. 1988.** *Plant Breeding for Stress Environment*. CRC Press. 223 pp.
- 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 Science* 36: 150-157.
- Cardona C.A., Duncan R.R. and Lindstrom, O. 1997.** Low temperature tolerance assessment in *Paspalum*. *Crop Science* 37:1283-1291.
- 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.
- Fowler, D.B. and Gusta, L.V. 1977.** Dehardening of winter wheat and rye under spring field conditions. *Canadian Journal of Plant Science* 57(4): 1049-1054.
- Fowler, D.B. and Gusta, L.V. 1979.** Selection for winterhardiness in wheat. I. Identification of genotypic variability. *Crop Science* 19: 769-772.
- Gusta, L.V. and Fowler, D.B. 1977.** Cold resistance and injury in winter cereals. pp. 159-178. In H. Mussel and R. C. Staples (eds.) *Stress physiology in crop plants*. John Wiley & Sons. New York.
- Griesbach, R.J. and Berberich, S.M. 1995.** The early history of research on ornamental plants at the U.S. Department of Agriculture from 1862 to 1940. *Horticultural Science* 30: 421-425.
- 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.
- 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.
- Lindow, S.E., Army, D.C. and Upper, C.D. 1982.** Bacterial ice nucleation: a factor in frost injury to plants. *Plant Physiology* 70: 1084-1089.
- Mckersie, B.D. and Leshem, Y.Y. 1994.** *Stress and Stress Coping in Cultivated Plants*. Kluwer Academic Publishers. The Netherlands.
- Murry, G.A., Eser, D., Gusta, L.V. and Eteve, G. 1988.** Winter hardiness in pea, lentil, faba bean and chickpea. P. 831-843. In: R.J. Summerfield (ed.) *World Crops: Cool Season Food Legumes*. Kluwer Academic Publishers. The Netherlands.
- Nezami, A., Soleimani, M.R., Ziaee, M., Ghodsi, M. and Bannayan Avval, M. 2010.** Evaluation of freezing tolerance of hexaploid Triticale genotypes under controlled conditions. *Notulae Scientia Biologicae* 2: 114-120.
- Nilsen, E.T. and Orcutt, D.M. 1996.** *Physiology of Plants under Stress (Abiotic Factors)*. John Wiley and Sons. New York 683 pp.

Petr, J. 1991. Weather and yield, developments in crop science. Elsevier, Amsterdam and NewYork, 311p.

Rashed Mohassel, M.H., Nezami, A., Bagheri, A., Hajmohammadnia, K., and Bannayan, M. 2009. Evaluation of freezing tolerance of two fennel (*Foeniculum vulgare* L.) ecotypes under controlled conditions. Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants 15:131-140.

Steponkus, P.L., Uemura, M. and Webb, M.S. 1993. Redesigning crops for increased tolerance to freezing stress. PP. 697-714. In: M.B. Jackson and C.R. Black (eds.) "Interacting Stresses on Plants in a Changing Climate". Springer-Verlag, Berlin.

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

Teutonica, R. A., Palta, J.P. and Osborn, T. C. 1993. In vitro freezing tolerance in relation to winter survival of rapeseed cultivars. Crop Science 33: 103-107.

Uemura, M., Tominaga, Y., Nakagawara, C., Shigematsu, S., Minami, A., and Kawamura, Y. 2006. Responses of plasma membrane to low temperature. Physiologia Plantarum 126: 81-89.

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

Archive of SID