نشریه بوم شناسی کشاورزی
جلد ۱۰، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۷، ص. ۱۲۲۷-۱۲۱۷

Journal of Agroecology
Vol. 10, No. 4, Winter 2019, p. 1217-1227

ارزیابی تحمل به یخزدگی برخی گونه‌های آویشن (*Thymus* spp.) جهت کشت در فضای‌سبز

حسن ملکی لجایر[۱]، هدایت زکی زاده[۲*]، یوسف حمیداوغلی[۳]، اسماعیل چمنی [٤] و محمد حسن بیگلوئی[۵]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۲/۳۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۹/۲۳

ملکی لجایر، ح.، زکی زاده، ه.، حمیداوغلی، ی.، چمنی، ا.، و بیگلوئی، م.ح. ۱۳۹۷. ارزیابی تحمل به یخزدگی برخی گونه‌های آویشن (*Thymus* spp.) جهت کشت در فضای‌سبز. بوم‌شناسی کشاورزی، ۱۰(۴): ۱۲۲۷-۱۲۱۷.

چکیده

به‌منظور ارزیابی تحمل به یخزدگی گونه‌های مختلف آویشن (*Thymus* spp.) دو آزمایش جداگانه در شرایط هوای آزاد و اتاقک انجماد در دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی انجام شد. این آزمایش‌ها به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در شرایط اتاقک انجماد و فاکتوریل در قالب بلوک‌های کامل تصادفی در شرایط هوای آزاد اجرا شد. فاکتور اول شامل دما (۱۰-، ۲۰- و ۳۰- درجه سانتی‌گراد) در شرایط اتاقک انجماد و زمان نمونه‌برداری (آخر خرداد، آخر آذر و آخر بهمن ماه) و فاکتور دوم گونه‌های آویشن (*Thymus kotschyanus* Boiss. and Hohen، *T. pubescence* Boiss & Kotschy ex Celak، *T. fedtschenkoi* Ronniger، *T. daenensis* Jalas، *T. vulgaris* L. و *T. sepyllum* L.) بود. درصد زنده‌مانی در شرایط اتاقک انجماد یک ماه بعد از قرار گرفتن در گلخانه و در هوای آزاد در ۱۵ فروردین هر سال اندازه‌گیری شد. در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد بیشترین درصد زنده‌مانی به ترتیب در گونه‌های *T. vulgaris* و *T. sepyllum* و کمترین آن در گونه *T. pubescence* مشاهده شد، ولی در ۱۰- و ۳۰- درجه سانتی‌گراد و شرایط هوای آزاد اختلاف معنی‌داری بین گونه‌ها مشاهده نشد. همچنین گونه‌های *T. kotschyanus*، *T. vulgaris* و *T. sepyllum* میزان نشت الکترولیت کمتر و گونه‌های *T. vulgaris* و *T. kotschyanus* میزان کلروفیل و پرولین برگ بیشتری را در بین گونه‌ها داشتند. از لحاظ فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسید دسموتاز و آسکوربات پراکسیداز تفاوت معنی‌داری بین گونه‌ها مشاهده نشد، درحالی‌که بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز در گونه‌های *T. kotschyanus* و *T. sepyllum* مشاهده شد. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده می‌توان استنباط کرد که گونه‌های *T. vulgaris*، *T. sepyllum* و *T. kotschyanus* تحمل بیشتری نسبت به تنش یخزدگی دارند.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، پرولین، کلروفیل، گیاهان بومی، نشت الکترولیت

مقدمه[۱*]

جنس آویشن (*Thymus* spp.) دارای ۲۱۵ گونه علفی چندساله است و منطقه مدیترانه مرکز تنوع این جنس معرفی شده است. گفته می‌شود در کشور ایران ۱۴ گونه از این جنس در بخش‌های جغرافیایی کشور به‌طور طبیعی وجود دارد که چهار گونه آن انحصاری ایران هستند (Pirbaluti et al., 2016). گونه‌های مختلف آویشن به‌عنوان مطبوع کننده، طعم‌دهنده، ضد سرفه، ضد نفخ، ضد میکروب و دهان‌شویه مورد استفاده قرار می‌گیرند (Zsuzsanna et al., 2016).

اخیراً به دلیل افزایش تنوع گیاهی در فضای‌سبز، حفظ ژرم‌پلاسم گیاهان دارویی، جبران بخشی از هزینه‌های نگهداری فضای سبز و تأمین اهداف آموزشی و تحقیقاتی استفاده از گیاهان دارویی و بومی توجه زیادی را به خود جلب کرده است. تحقیقات زیادی در زمینه بررسی سازگاری گیاهان دارویی و بومی در فضای سبز انجام شده است. سازگاری شش گونه بومادران (*Achillea* spp.)جهت کشت در فضای‌سبز بر اساس خصوصیات فنولوژیکی و مورفولوژیکی مورد ارزیابی قرار گرفت و مشخص شد که گونه *A. mellifolium* L.

۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم باغبانی، دانشگاه گیلان و استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی
۲ و ۳- به‌ترتیب استادیار و دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشگاه گیلان
۴- استاد گروه علوم باغبانی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی
۵- دانشیار گروه مهندسی آب، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان
(*- نویسنده مسئول: Email: Zakizadeh55@yahoo.com)
DOI:10.22067/jag.v10i4.63381

www.SID.ir

Archive of SID

می‌توانند گونه سازگار جهت کشت در فضای‌سبز باشند (Ghani et al., 2008). در مطالعه دیگری پتانسیل زینتی و کاربرد ۱۹ گونه پوششی بومی در فضای سبز ترکیه مورد ارزیابی قرار گرفت و گونه‌های سدوم (*Sedum spurium* Bieb.) و نوعی آویشن (*Thymus praecox*) به‌عنوان گونه‌های مناسب معرفی شدند (Acar et al., 2001). در مطالعه دیگری سازگاری ۱۰ گونه گیاه پوششی بومی جهت معرفی به مناطق مختلف جزیره کیش خصوصیات ویژگی‌های مرفولوژیکی مانند ارتفاع، سطح پوشش، تعداد برگ، سطح برگ، وزن تازه و خشک کل بوته، امتیازدهی دیداری و ویژگی‌های فیزیولوژیک آن‌ها یعنی میزان پرولین و کلروفیل اندازه‌گیری شد و گونه‌های دم‌عقربی (*Carpobroyus acinaciformis* L.)، فرانکنیا (*Ferankenia thymifolia* Dsef.) و ناز رونده (*Lampranthus spectabilis* Haw.) برای مناطق چهارگانه آن جزیره معرفی شدند (Shooshtarian et al., 2011). همچنین در بررسی سازگاری شش گونه پوششی در فضای‌سبز کویت از لحاظ تحمل تنش خشکی مشخص شد که گونه‌های بیابانرو (*Furcraea giganta* K. Koch) و اسفناج خاردار (*Rhagodia spinescens* R.Br.) گونه‌های سازگارتر هستند (Khalili et al., 2006).

از عوامل زیادی که در گزینش گیاهان برای فضای‌سبز مؤثر هستند، می‌توان به تحمل تنش‌ها، زیبایی، راحتی تکثیر و خواسته‌های افراد اشاره کرد. تنش یخزدگی از جمله تنش‌های غیر زیستی است که گسترش گیاهان را محدود می‌کند و مدارک مستدل زیادی مبنی بر وجود تفاوت بین گونه‌های گیاهی در مقاومت به تنش‌ها وجود دارد (Jeannine, 2007). آزمون تحمل به یخزدگی هم در شرایط کنترل شده و هم در شرایط هوای آزاد انجام می‌شود. در آزمایشی تحمل به یخزدگی ۶۹ جمعیت گندم (*Triticum aestivum* L.) با روش‌های مستقیم (قرار دادن بوته‌ها در دماهای مختلف) و غیرمستقیم (اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل در برگ‌های جدا شده) مورد ارزیابی قرار گرفت و نتایج با نتایج درصد زنده‌مانی بوته‌ها در شرایط هوای آزاد مورد مقایسه قرار گرفت. نتایج نشان داد که روش‌های غربالگری تحمل به یخزدگی نتایج مشابهی دارند ولی روش سازگاری کردن گونه‌ها بیشتر در تحمل به یخزدگی مؤثر هستند و سازگاری در شرایط هوای آزاد بهتر از سازگاری در شرایط کنترل شده است (Rapacz et al., 2015).

در تحقیقی تحمل به سرما و یخزدگی ارقام مختلف نوعی چمن گرمسیری (*Stenotaphrum secundatum* Walter)، گیاهان حاصل از کشت کالوس ابتدا به مدت یک هفته در دمای ۱۳ درجه سانتی‌گراد و یک هفته در دمای سه درجه سانتی‌گراد سازگار شدند و سپس در دمای ۳- و ۵- درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ ساعت نگهداری شدند و نتایج نشان داد که از بین کلون‌های بررسی شده، کلون Elm4 متحمل‌ترین ژرم‌پلاسم در برابر تنش سرما و یخزدگی است (Li et al., 2010).

پاسخ فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهان ۵ ماهه سرخارگل (*Echinea Purpurea* L.) نسبت به تنش یخزدگی در شرایط کنترل شده تحت شرایط محدوده دماهای ۴- تا ۲۰- سانتی‌گراد مورد ارزیابی قرار گرفت و دمای ۷- سانتی‌گراد به عنوان دمای ۵۰ درصد کشندگی معرفی شد (Asadi-Sanam et al., 2015). در ارزیابی مقاومت به یخزدگی اکوتیپ‌های گیاه رازیانه (*Foeniculum vulgare* Mill.) از دماهای مختلف یخزدگی در شرایط کنترل شده استفاده شد و گیاهان در معرض دماهای ۵-، ۷-، ۱۱-، ۱۴- و ۱۷- درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند، نتایج نشان داد که در دمای ۱۷- سانتی‌گراد هیچ گیاهی زنده نمانده ولی در دماهای ۵- و ۷- درجه سانتی‌گراد همه گیاهان زنده ماندند و در دمای ۱۱- درجه سانتی‌گراد فقط ۳۲ درصد گیاهان زنده ماندند، لذا از این تیمار برای مقایسه اکوتیپ‌ها استفاده شد (Rashed et al., 2009).

با توجه به این‌که تاکنون واکنش گونه‌های مختلف گیاه دارویی و بومی آویشن به دمای پایین در کشور گزارش نشده است و اطلاعاتی در مورد تغییرات بیوشیمیایی آن در شرایط تنش سرما وجود ندارد؛ پژوهش حاضر باهدف بررسی اثرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی تنش دمای پایین در مرحله رشد و نمو گیاه آویشن طراحی و اجرا شد تا گونه‌های سازگارتر این جنس جهت کاشت در فضای‌سبز معرفی شوند.

مواد و روش‌ها

موقعیت و محل آزمایش

این آزمایش از اوایل سال ۱۳۹۳ تا اواسط سال ۱۳۹۵ در دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی اجرا شد (جدول ۱).

جدول ۱- اطلاعات هواشناسی ایستگاه هواشناسی اردبیل در ماه‌های سرد در طی اجرای آزمایش

Table 1- Meteorological data of Ardabil station in cold months during the experiment

ماه Month	سال Years	تعداد روز یخبندان Freezing days No.	حداقل مطلق دما Absolute min. temp (°C)
نوامبر	2014	18	-5.8
November	2015	22	-10
دسامبر	2014	18	-13.8
December	2015	21	-11
ژانویه	2015	21	-8.8
January	2016	26	-16
فوریه	2015	26	-18.8
February	2016	14	-13.2

www.SID.ir

Archive of SID

تهیه بذر

بذر گونه‌های آویشن (*Thymus kotschyanus* Boiss. and Hohen, *T. fedtschenkoi* Ronniger and *T. pubescence* Boiss & Kotschy ex Celak, *T. daenensis* Jalas) از بانک ژن مؤسسه تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی تبریز، بذر گونه آویشن باغی (*T. vulgaris* L.) و گونه دنائی (*T. daenensis* Jalas) از شرکت مهر کاشت زاگرس و بذر گونه آویشن خزنده (*T. sepyllum* L.) از شرکت توسعه طبیعت سبز آینده تهیه شد.

آزمایش تحمل به تنش یخزدگی در شرایط هوای آزاد

بذر گونه‌های مختلف ابتدا در ظروفی با بستر با نسبت حجمی ۱:۱:۱ از خاک باغچه: کود دامی: ماسه در اواسط اسفند تحت شرایط گلخانه با دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد گلخانه کشت شدند. بعد از مساعد شدن شرایط محیطی (۱۵ فروردین) گیاهچه‌ها در شرایط هوای آزاد در کرت‌های با اندازه مساوی (۱/۵×۱/۵ متر) کشت شدند. برای این منظور قبل از کاشت، زمین تا عمق ۳۰ سانتی‌متری شخم زده شد و تمام اندام‌های تکثیر علف‌های هرز از خاک خارج شدند. مبارزه با علف‌های هرز به‌صورت وجین دستی انجام شد. عملیات آبیاری هر هفته یکبار و کوددهی موقع کشت بوته‌ها در زمین اصلی به مقدار ۹۰-۶۰-۹۰ کیلوگرم در هکتار با استفاده از کود N-P-K انجام شد. خاک مزرعه لومی- شنی و دارای pH برابر با ۷/۸ بود.

جهت بررسی تحمل به یخزدگی در هوای آزاد به گیاهان اجازه داده شد در شرایط هوای آزاد شهر اردبیل (جدول ۱) رشد کنند. درصد زنده‌مانی در سال اول و دوم آزمایش در ۱۵ فروردین مورد ارزیابی قرار گرفت. در سال دوم علاوه بر درصد زنده‌مانی، میزان کلروفیل، میزان پرولین و فعالیت آنزیم‌ها در ۳ مرحله (آخر خرداد، آخر آذر و آخر بهمن ماه) اندازه‌گیری شد. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۵ تکرار انجام شد. فاکتور اول گونه‌های مختلف آویشن و فاکتور دوم زمان‌های نمونه‌برداری بود.

آزمایش تحمل به تنش یخزدگی در شرایط کنترل‌شده

جهت اعمال تنش یخزدگی در شرایط کنترل‌شده بذر گونه‌ها در اول تیرماه در شرایط گلخانه‌ای با دمای ۲۴ درجه سانتیگراد کشت و در ۱۵ مرداد در شرایط مزرعه‌ای کشت شدند و به گیاهان اجازه داده شد تا به طور طبیعی نسبت به سرما سازش یابند. بعد از ریزش اولین برف همان سال (اواسط آبان ماه) گیاهان همراه با خاک اطراف به گلدان منتقل شده و در اتاقک انجماد، ۱۲ ساعت در دمای ۳ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پس‌ازآن هر ساعت دما ۲ درجه سانتی‌گراد کاهش داده شد و در دماهای مورد نظر (۱۰-، ۲۰- و ۳۰- درجه سانتی‌گراد) ۲ ساعت نگهداری شدند. سپس گلدان‌ها ۱۲ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و بعد به گلخانه منتقل شد. نشت الکترولیت، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، پرولین و درصد زنده‌مانی اندازه‌گیری شد (Folwer et al., 1981). نشت الکترولیت، فعالیت آنزیم‌ها و محتوی پرولین بلافاصله بعد از اعمال تنش ولی درصد زنده‌مانی یک ماه بعد از اعمال تنش و نگهداری گیاهان در گلخانه اندازه‌گیری شد. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با ۴ تکرار انجام شد. فاکتور اول گونه‌های مختلف آویشن و فاکتور دوم دما (۱۰-، ۲۰- و ۳۰- سانتی‌گراد) بود.

اندازه‌گیری شاخص‌ها

اندازه‌گیری کلروفیل: برای تعیین محتوی کلروفیل ۱۰۰ میلی‌گرم بافت برگ در داخل میکروتیوب ریخته و به ان ۱۲۰۰ مایکرولیتر استون ۸۰ درصد اضافه شد و به خوبی تکان داده شد بعد از قرار دادن در تاریکی به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجه با دور ۵۰۰۰ در دقیقه سانتریفیوژ شد. ۳۰۰ مایکرولیتر از فاز بالایی محلول را برداشته و به آن ۲۷۰۰ مایکرولیتر استون ۸۰ درصد اضافه شد و میزان جذب در طول موج‌های ۴۷۰، ۶۶۳/۲ و ۶۴۶/۸ با اسپکتروفتومتر قرائت شد. میزان کلروفیل کل با استفاده از معادله‌های ۱ تا ۳ محاسبه شد (Minguez-Mosquera & Perez-Galvez, 1998).

معادله (۱) $Chl\ a = 12.25\ A_{663.2} - 2.79A_{646.8}$

معادله (۲) $Chl\ b = 21.5\ A_{646.6} - 5.1\ A_{663.2}$

معادله (۳) $T\ Chl = Chl\ a + Chl\ b$

در این معادله، Chl a، Chl b و TChl: به‌ترتیب کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل می‌باشد.

اندازه‌گیری نشت الکترولیت (EI): برای اندازه‌گیری پایداری غشای سیتوپلاسمی از روش اندازه‌گیری نشت الکترولیت استفاده شد. برای این منظور ده عدد برگ از بوته‌های هر گلدان جدا و در داخل فالکون قرار داده شدند. مقدار ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر داخل آن ریخته شده و ۱۲ ساعت بعد از تهیه نمونه هدایت الکتریکی نمونه‌ها (EC_1) اندازه‌گیری شد. بعد از اندازه‌گیری نمونه‌ها نیم ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد جوشانده شده و پس از سرد شدن هدایت الکتریکی نمونه‌ها (EC_2) اندازه‌گیری شد. میزان نشت الکترولیت از تقسیم هدایت الکتریکی اولیه بر هدایت الکتریکی سلول‌های مرده (EC_1/EC_2) محاسبه شد (John, 1999).

اندازه‌گیری درصد زنده‌مانی: درصد زنده‌مانی (S) از تقسیم تعداد بوته‌های زنده مانده بعد از تنش (N2) به تعداد بوته‌های کشت شده (N1) ضرب در ۱۰۰ محاسبه شد (معادله ۴):

www.SID.ir

Archive of SID

$$S = \frac{N2}{N1} \times 100$$

معادله (۴)

اندازه‌گیری پرولین: برای این منظور ۰/۵ گرم بافت با نیتروژن مایع در داخل هاون آسیاب گردید و به آن ۱۰ میلی‌لیتر سولفوسالیسیلیک اسید ۱۰ درصد اضافه گردید. این مخلوط از کاغذ صافی واتمن شماره ۲ عبور داده شد. سپس به ۲ میلی‌لیتر از محلول صاف شده ۲ میلی‌لیتر از معرف ناین هیدرین (حاوی ۱/۲۵ گرم ناین هیدرین در ۳۰ میلی‌لیتر استیک اسید و ۳۰ میلی‌لیتر فسفریک اسید ۶ مولار) و ۲ میلی‌لیتر استیک اسید اضافه گردید. و به مدت ۱ ساعت در حمام آب گرم ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد. واکنش با گذاشتن داخل یخ متوقف شد. سپس ۴ میلی‌لیتر تولوئن به مخلوط اضافه گردید و به مدت ۲۰-۱۵ ثانیه ورتکس شد. جذب نوری محلول قرمز رنگ فاز رویی در طول موج ۵۲۰ نانومتر با اسپکترومتر قرائت گردید. تولوئن به عنوان بلانک استفاده شد (Bates., 1973).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز[1]، پراکسیداز[2] و آسکوربات پراکسیداز[3]: به‌منظور استخراج و اندازه‌گیری آنزیم‌ها، برگ‌های منجمد شده در هاون چینی ریخته و ازت مایع به آن اضافه گردید. سپس برگ‌ها به‌خوبی کوبیده شده تا کاملاً خرد شوند. به مقدار ۰/۵ گرم از پودر برگ آسیاب‌شده به میکروتیوب‌های ۲ میلی‌لیتری منتقل شد و با افزودن یک میلی‌لیتر از بافر استخراج نخست ورتکس شده و سپس به مدت ۱۵ دقیقه با دور rpm ۱۴۰۰۰ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، سانتریفیوژ شدند. پس از اتمام سانتریفیوژ عصاره رویی با استفاده از سمپلر برداشته و به میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی‌لیتری منتقل شدند و دوباره به مدت ۱۰ دقیقه با دور rpm ۱۴۰۰۰ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، سانتریفیوژ شدند. پس از اتمام سانتریفیوژ عصاره رویی با استفاده از سمپلر برداشته و به میکروتیوب‌های با همان حجم منتقل شدند؛ و از این عصاره برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌ها استفاده شد. فعالیت آنزیم SOD با اندازه‌گیری توانایی‌اش در جلوگیری از کاهش فتوشیمیایی نیترو بلو تترازولیوم (NBT[4]) تعیین می‌شود. مخلوط واکنش حاوی NBT، ریبوفلاوین، متیونین، اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (EDTA[5])، بافر فسفات و عصاره آنزیمی بود. میزان جذب در طول موج ۵۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (Giannopolitis, Ries, 1977): مخلوط واکنش برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم POD حاوی بافر فسفات، EDTA، پراکسید هیدروژن و عصاره آنزیمی بود و فعالیت آنزیم در طول موج ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (Nakano, Asada, 1981). سنجش فعالیت آنزیم APX از طریق اندازه‌گیری اکسید شدن آسکوربات توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۲۹۰ نانومتر برای مدت زمان ۱ دقیقه انجام شد، سرعت واکنش آنزیمی به‌صورت تغییرات جذب بر زمان (OD/min) ثبت گردید (Chance & Mahley, 2008). تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که در شرایط تنش یخزدگی کنترل شده در اتاقک انجماد بین گونه‌ها از لحاظ میزان پرولین، میزان نشت الکترولیت، فعالیت آنزیم POD و درصد زنده‌مانی تفاوت معنی‌دار وجود داشت. همچنین بین تیمارهای دمایی مختلف (تنش) نیز اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد در تمام صفات مورد مطالعه وجود داشت، اثر متقابل گونه در تنش فقط در فعالیت آنزیم POD و درصد زنده‌مانی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲).

در شرایط هوای آزاد نیز بین گونه‌های مورد مطالعه از لحاظ نشت الکترولیت، فعالیت آنزیم POD و نشت الکترولیت و محتوی کلروفیل اختلاف معنی‌دار وجود داشت. در بین زمان نمونه‌برداری (خرداد، آذر و بهمن) نیز اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد از لحاظ نشت الکترولیت، کلروفیل کل و فعالیت آنزیم‌های POD، APX و SOD وجود داشت. اثر متقابل تنش در گونه، از لحاظ فعالیت آنزیم POD و نشت الکترولیت معنی‌دار به ترتیب در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد بود (جدول ۳).

درصد زنده‌مانی: در شرایط آب و هوایی اردبیل همه گونه‌ها به میزان ۱۰۰ درصد زنده ماندند و اختلاف معنی‌داری بین گونه‌ها از لحاظ درصد زنده‌مانی مشاهده نشد. در شرایط تنش یخزدگی در اتاقک انجماد، بیشترین درصد زنده‌مانی در گیاهان تیمار شده با دمای ۱۰- درجه سانتی‌گراد مشاهده شد که همه گونه‌ها به‌طور کامل زنده ماندند، درحالی‌که در گیاهان تیمار شده با دمای ۳۰- درجه سانتی‌گراد هیچ یک از گونه‌ها زنده نماندند. در شرایط تیمار دمایی ۲۰- درجه سانتی‌گراد اختلاف معنی‌داری بین گونه‌ها مشاهده شد و گونه‌های *T. sepyllum* و *T. vulgaris* با ۷۰ درصد زنده‌مانی بیشترین و گونه *T. pubescence* با ۵۰ درصد، کمترین درصد زنده‌مانی را داشتند. درصد زنده‌مانی سایر گونه‌ها حدود ۶۰ درصد بود (جدول ۴). آزمون تحمل به یخزدگی اکوتیپ‌های بارهنگ سرنیزه‌ای در شرایط کنترل شده نیز نشان داد که اکوتیپ‌های مشهد بیشترین و اکوتیپ بیرجند کمترین درصد بقا را دارند. درصد زنده‌مانی از شاخص‌های مهم ارزیابی تحمل به تنش یخزدگی بعد از قرار گرفتن در شرایط تنش می

1- Super oxide dismutase
2- Peroxidase
3- Ascorbate peroxidase
4- Nitroblue tetrazolium
5- Ethylene diamine tetra acetic acid

www.SID.ir

Archive of SID

باشد (Ganalizadeh et al., 2013).

نشت الکترولیت: بیشترین درصد نشت الکترولیت در اتاقک انجماد درگونه‌های *T. pubescence* و کمترین میزان آن در گونه‌های *T. vulgaris* و *T. sepyllum* مشاهده شد (شکل ۱) و با افزایش شدت تنش از ۱۰- به ۳۰- درجه سانتی‌گراد میزان نشت الکترولیت افزایش یافت. درحالی‌که در شرایط هوای آزاد بیشترین میزان نشت الکترولیت در نمونه‌های برداشت شده در خرداد ماه مشاهده شد. در همه گونه‌های مورد مطالعه میزان نشت الکترولیت در خرداد ماه حدود دو برابر نمونه‌های برداشت شده در آذر و بهمن ماه بود (جدول ۴)، حتی EC اولیه نمونه‌های خرداد ماه بیش از دوبرابر EC ثانویه نمونه‌های بهمن ماه بود. بالا بودن میزان نشت الکترولیت در خرداد ماه نسبت به آذر و بهمن ماه را می‌توان به رشد فعال گیاه و در نتیجه جذب یون‌های بیشتر توسط ریشه یا شستشوی یون‌ها از برگ در اثر بارندگی زیاد در آذر و بهمن و همچنین انتقال یون‌ها از برگ‌ها به قسمت‌های پایین گیاه جهت خوگیری به سرما نسبت داد. در خرداد ماه که گیاهان در شرایط رشدی نرمال و بدون تنش بودند بیشترین نشت الکترولیت (۷۰ درصد) در گونه *T. fedtschenkoi* L. و کمترین میزان نشت الکترولیت (۵۷ درصد) در گونه *T. vulgaris* مشاهده شد. در آذر ماه نیز گونه *T. fedtschenkoi* L. با داشتن بیشترین میزان نشت الکترولیت با سایر گونه‌ها به‌جز گونه *T. pubescence* L. اختلاف معنی‌داری داشت. در بهمن ماه گونه‌های *T. pubescence* L. و *T. fedtschenkoi* L. دارای بیشترین میزان نشت الکترولیت بودند و با همه گونه‌ها اختلاف معنی‌داری داشتند (جدول ۵). نشت الکترولیت بالا نشان‌دهنده عدم توانایی دیواره سلول در حفظ ترکیبات درون‌سلولی، اختلال در فعالیت دیواره سلول و خروج بیشتر یون‌ها از دیواره سلول می‌شود (Hana et al., 2004). دمای کم سبب تغییر در سیالیت اسیدهای چرب غیراشباع موجود در دیواره سلول می‌شود و به دنبال آن، فعالیت دیواره مختل شده و مقدار نشت یون‌ها از دیواره افزایش می‌یابد. لذا گونه‌هایی که در مقابل این تغییرات پایداری نشان می‌دهند، نشت الکترولیت کمتری داشته و نسبت به یخزدگی متحمل‌تر هستند. افزایش نشت الکترولیت در شرایط تنش یخزدگی در گیاهان منداب (*Eruca sativa* Mill.) (Nezami et al., 2007)، زیتون (*Olea* sp.) (Barranco & Ruiz, 2005) و چغندرقند (Haj-Mohammadnia et al., 2010) نیز گزارش شده است.

جدول ۲- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر گونه‌های آویشن، تنش یخزدگی و گونه بر برخی صفات در اتاقک انجماد.

Table 2- Analysis of variance of the effect of thyme species, freezing stress and species ×stress on some traits in freezing chamber

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	زنده‌مانی Survival	آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase	پراکسیداز Peroxidase	سوپراکسید دسموتاز Superoxide dismutase	نشت الکترولیت Electrolyte leakage	پرولین Proline
گونه (G) Species(G)	5	94.4*	8.2ns	165**	13.56ns	12**	0.77*
تنش (S) Stress (S)	2	76361**	57**	39*	2851**	44.9**	11.2**
گونه×تنش G×S	10	94.4**	2.8ns	35.4**	8.6ns	1.9ns	0.31ns
خطا Error	54	16.6	1.6	7	7.56	0.83	0.13
ضریب تغییرات C.V (%)		7.43	19.3	25	23.6	13.3	23.5

ns، * و** به ترتیب عدم تفاوت معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد.

ns, * and **: Non-significant and significant at the 5 and 1% levels of probability, respectively.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر گونه‌های آویشن، تنش یخ‌زدگی (زمان نمونه‌برداری) و گونه در تنش بر برخی صفات در شرایط هوای آزاد

Table 3- Analysis of variance of the effect of thyme species, freezing stress (sampling time) and species ×stress on some traits under outdoor condition

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase	پراکسیداز Peroxidase	کلروفیل Chlorophyll	سوپراکسید دسموتاز SOD	نشت الکترولیت Electrolyte leakage	پرولین Proline
بلوک Block	4	0.2^{ns}	1.9^{ns}	9^{ns}	17^{ns}	37.9^{ns}	0.17^{ns}
گونه (G) Species(G)	5	1.97^{ns}	159^{**}	8.9^{*}	22.7^{ns}	430^{**}	0.53^{ns}
تنش (S) Stress (S)	2	48^{**}	707.7^{**}	803^{**}	375.5^{**}	12508^{**}	1.55^{ns}
گونه×تنش G×S	10	5^{ns}	46^{**}	4.3^{ns}	24.5^{ns}	111^{*}	0.47^{ns}
خطا Error	68	1.35	5	3.35	10	50.4	0.19
ضریب تغییرات C.V (%)		19.8	28.8	19	28	17.3	25

ns، * و**: به ترتیب عدم تفاوت معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد.

ns, * and **: Non-significant and significant at the 5 and 1% levels of probability, respectively.

جدول ٤- مقایسه میانگین اثر تیمار دمایی و زمان نمونه‌برداری بر برخی صفات در شرایط اتاقک انجماد و هوای آزاد

Table 4- Mean comparison of the effects of temperature and sampling time on some traits under freezing chamber and outdoor condition

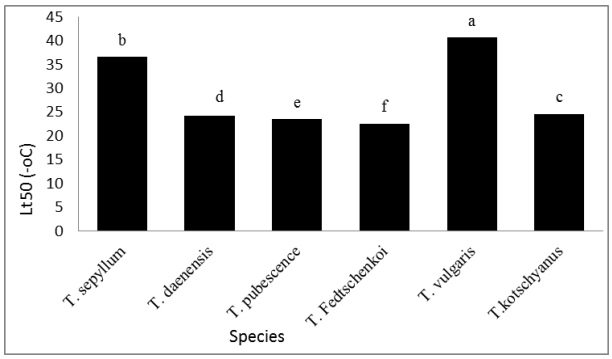
تیمار Treatment	کلروفیل (ملی‌گرم در میلی لیتر) Chlorophyll ($mg.ml^{-1}$)	زنده‌مانی (درصد) Survival (%)	آسکوربات پراکسیداز (میکرومول در گرم وزن تر) APX (µMol/g FW.min)	سوپراکسید دسموتاز (میکرومول در گرم وزن تر) SOD (µMol/g FW.min)	پراکسیداز (میکرومول در گرم وزن تر) POD (µMol/g FW.min)	پرولین (میکرومول در گرم وزن تر) Proline (µMol/g FW)	نشت الکترولیت (درصد) Electrolyte leakage (%)
درجه حرارت (°C) Temperature (°C)				اتاقک انجماد Freezing chamber			
-10	....	100a*	4.9b	5.5c	7.4ab	0.86c	25c
-20	.....	62b	7.83a	9b	8.7a	2a	36b
-30	....	0c	7.22a	20.2a	6.15b	1.72b	54.7a
زمان نمونه برداری Sampling time				هوای آزاد Outdoor			
ژانویه June	15.4a	100a	4.24b	15.8a	1.96c	1.66b	64a
دسامبر December	7.6b	100a	6.4a	12.5b	8.8b	2a	28.3b
فوریه February	5.6c	100a	6.9a	8.6b	12.7a	1.58b	28.5b

* میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون و برای هر جزء تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن ندارند.

* Means with with same letters in each column and each sections have no significant difference at 5% based on Duncan multiple range test.

www.SID.ir

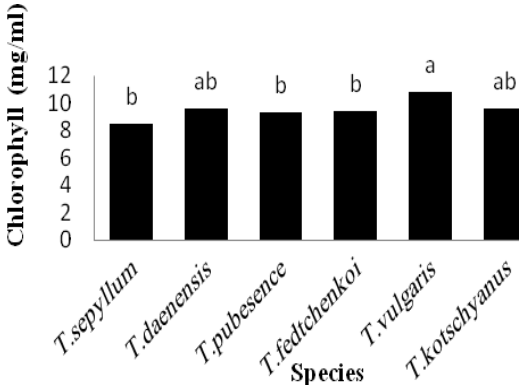
Archive of SID



شکل ۱- مقایسه میانگین میزان نشت الکترولیت گونه‌های مختلف آویشن در شرایط تنش یخزدگی در اتاقک انجماد

Fig. 1- Mean comparison of electrolyte leakage of different thyme species under freezing stress in freezing chamber

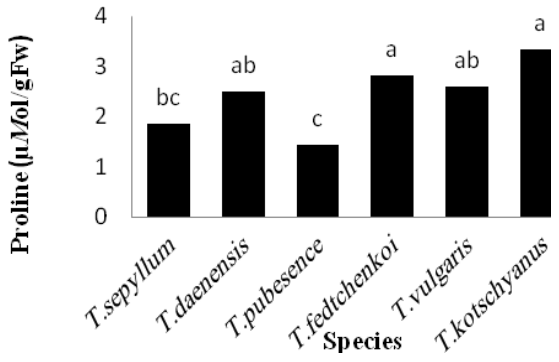
کلروفیل: با سرد شدن هوا از میزان کلروفیل گونه‌ها کاسته شد و میزان کلروفیل در خرداد ماه حدود ۲ برابر آذر ماه و ۳ برابر بهمن ماه بود (جدول ۴). گونه *T. vulgaris* L. با داشتن میزان کلروفیل بالا اختلاف معنی‌داری با گونه‌های *T. Sepyllum* L.، *T. fedtschenkoi* L. و *T. pubescence* L. در شرایط هوای آزاد داشت (شکل ۲). برگ‌های این گونه نسبت به سایر گونه‌ها کوچک‌تر و خیلی در مقابل تنش‌ها مقاوم است به‌طوری‌که در فصول سرد و خشک سال ریزش برگ در طی ۲ سال مشاهده نشد، درحالی‌که سایر گونه‌ها با آمدن فصل خشک و سرد قسمتی از برگ‌های خود را می‌ریزند. کاهش محتوی کلروفیل برگ در شرایط تنش یخزدگی در گیاه سرخارگل نیز گزارش شده است (Asadi-Sanam et al., 2015).



شکل ۲- مقایسه میانگین محتوی کلروفیل گونه‌های مختلف آویشن در شرایط تنش یخزدگی در هوای آزاد

Fig. 2- Mean comparison and chlorophyll content of different thyme species under outdoor freezing condition

پرولین: در شرایط اتاقک انجماد با افزایش شدت تنش یخزدگی تا ۲۰- درجه سانتی‌گراد میزان پرولین در گونه‌های آویشن افزایش یافت ولی در دمای ۳۰- درجه سانتی‌گراد روند نزولی از خود نشان داد، هرچند میزان پرولین در این دما نیز بیشتر از دمای ۱۰- درجه سانتی‌گراد بود. در شرایط هوای آزاد نیز بیشترین میزان تجمع پرولین در آذر ماه مشاهده شد (جدول ۴). بین گونه‌های مورد مطالعه و بین زمان نمونه‌برداری از لحاظ میزان تجمع اسید آمینه پرولین در شرایط هوای آزاد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. در شرایط اتاقک انجماد گونه‌های *T. kotschyanus* L. و *T. fedtschenkoi* L. بیشترین مقدار پرولین را داشتند و با گونه *T. pubescence* L. اختلاف معنی‌داری را نشان دادند (شکل ۳). پرولین می‌تواند سلامت پروتئین‌ها را حفظ کرده و فعالیت آنزیم‌های مختلف را افزایش دهد. مطالعات همچنین نشان داده‌اند که این ماده به‌عنوان جمع‌آوری کننده ROS نیز عمل می‌کند (Szabados, Savoure, 2009). لذا گونه‌هایی که پرولین بیشتری را در شرایط تنش تولید می‌کنند، تحمل بیشتری نسبت به تنش‌ها خواهند داشت.



شکل ۳- مقایسه میانگین محتوی پرولین درگونه‌های مختلف آویشن در شرایط تنش یخزدگی در اتاقک انجماد

Fig. 3-Mean comparison of proline content in different thyme species under freezing stress in freezing chamber

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان: در شرایط اتاقک انجماد و هوای آزاد بین گونه‌ها از لحاظ فعالیت آنزیم‌های SOD و APX اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد، ولی در شرایط کنترل شده بیشترین میزان فعالیت آنزیم POD در گونه‌های *T. pubescence* L. و *T. fedtschenkoi* L. در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد مشاهده شد. در شرایط هوای آزاد در خرداد ماه بین گونه‌ها از لحاظ فعالیت آنزیم POD اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد، درحالی‌که بیشترین فعالیت آنزیم POD در گونه‌های *T. kotschyanus* L. و *T. sepyllum* L. در بهمن ماه و در سایر گونه‌ها در آذر ماه مشاهده شد (جدول ۵). این روند نشان می‌دهد که گونه‌های *T. sepyllum* L. و *T. kotschyanus* L. در شرایط تنش شدید نیز دارای رشد و فعال و فعالیت آنزیمی بالایی هستند. بین تیمارهای دمایی (۱۰-، ۲۰- و

www.SID.ir

Archive of SID

۳۰- درجه سانتی‌گراد) و همچنین بین زمانه‌ای نمونه‌برداری (خرداد، آذر و بهمن ماه) اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (جدول ۴). بیشترین فعالیت آنزیم POD در شرایط کنترل شده و هوای آزاد به ترتیب در ۲۰- درجه سانتی‌گراد و بهمن ماه مشاهده شد، میزان فعالیت این آنزیم تا دمای ۲۰- درجه افزایش و با کاهش دما تا ۳۰- درجه سانتی‌گراد کاهش یافت. فعالیت آنزیم SOD با افزایش شدت تنش تا ۳۰- درجه سانتی‌گراد روند صعودی داشت ولی در شرایط مزرعه در خرداد ماه بیشترین فعالیت آنزیمی مشاهده شد. بیشترین فعالیت آنزیم APX نیز در شرایط کنترل شده در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد و در شرایط هوای آزاد در آذر و بهمن اتفاق افتاد (جدول ۴). این نتایج با نتایج برخی از محققین مبنی بر افزایش فعالیت برخی آنزیم‌ها در شرایط تنش متوسط و کاهش فعالیت آن‌ها در تنش‌های خیلی شدید همخوانی دارد (Asadi-Sanam et al., 2015; Jing-Huaet al., 2008).

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر زمان نمونه‌برداری بر میزان نشت الکترولیت و فعالیت آنزیم پراکسیداز (POD) در شرایط تنش یخزدگی در هوای آزاد و اثر دماهای یخزدگی بر زنده‌مانی و فعالیت آنزیم پراکسیداز (POD) در اتاقک انجماد در گونه‌های مختلف آویشن

Table 5- Mean comparisons of sampling time on electrolyte leakage and POD enzyme activity under outdoor freezing condition and freezing temperatures on survival rate and POD enzyme activity in freezing chamber in different thyme species

	گونه Species	زمان نمونه برداری Sampling Time	نشت الکترولیت (درصد) Electrolyte leakage (%)	پراکسیداز (میکرومول در گرم وزن تر) POD (µMol/g FW.min)		دما (سانتی-گراد) Temp. (°C)	زنده‌مانی (درصد) Survival (%)	پراکسیداز (میکرومول در گرم وزن تر) POD (µMol/g W.min)
هوای آزاد Outdoor	*T. sepyllum* L.	June	60ab	2.4e	اتاقک انجماد Freezing Chamber	-10	100a	3.5hg
		December	26de	5.8d		-20	70b	3.4fgh
		February	19.7e	6.4d		-30	0e	3.6fgh
	T. daenensis Jalas.	June	63.6ab	1.2e		-10	100a	11.7abc
		December	22.8de	3.6de		-20	62bc	9.21cde
		February	28.6de	10.5c		-30	0e	11.4bcd
	T. pubescence Boiss & Kotschy ex Celak.	June	63ab	2e		-10	100a	10.2b-e
		December	33dc	10.8c		-20	50d	14.2ab
		February	41c	10.6c		-30	0e	2.8gh
	T. fedtschenkoi Ronniger.	June	70a	2.2e		-10	100a	6.9efg
		December	40c	17ab		-20	60c	14.9a
		February	34c	17.8a		-30	0e	9.8cde
	T. vulgaris L.	June	57b	1.7e		-10	100a	1.9h
		December	26de	10c		-20	70b	2h
		February	27de	10c		-30	0e	2.1h
	T. kotschyanus Boiss. and Hohen	June	64ab	2.1e		-10	100a	10b-e
		December	23.2de	3.8de		-20	60c	8.4cde
		February	24.5de	10c		-30	0e	7.17def

*: میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون و جزء تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن ندارند.

* Means with with same letters in each column and sections have no significant difference at 5% based on Duncan multiple range test.

نتیجه‌گیری

در این تحقیق تفاوت معنی‌داری بین گونه‌های مورد مطالعه از لحاظ صفات مورد مطالعه جهت ارزیابی تحمل به یخزدگی مطالعه وجود داشت. به‌طوری‌که گونه‌های *T. vulgaris* L.، *T. sepyllum* L. و *T. kotschyanus* L. نسبت به گونه‌های *T. fedtschenkoi* L.، *T. pubescence* L. و *T. daenensis* L. متحمل‌تر بودند. البته با توجه به اینکه تمام گونه‌ها قابلیت زنده‌مانی خود را در شرایط اردبیل توانستند حفظ کنند و همچنین در داخل گلدان در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد زنده ماندند همه این گونه‌ها می‌توانند به‌عنوان گیاه زینتی متحمل در فضای‌سبز اردبیل مورد استفاده قرار گیرند هرچند نیازمند تحقیقات بعدی در مورد قابلیت زینتی و تحمل به سایر تنش‌ها است.

www.SID.ir

Archive of SID

منابع

Acar, C., and Var, M. 2001. A study on the adaptations of some natural ground cover plants and on their implications in landscape architecture in the ecological conditions of Trabzon. Turkish Journal of Agriculture and Forestry 25: 235-245.

Asadi-Sanam, S., Zavareh, M., Pirdashti, H., Sefidkon, F., and Nematzadeh, G. 2015. Biochemical and physiological response of *Echinacea purpurea* to freezing stress. Russina Journal of Plant Physiology 62: 515-523.

Barranco. D., and Ruiz, N. 2005. Frost tolerance of eight olive cultivars. Hortscience 40: 558-560.

Bates, L.S., Waldren, R.P., and Teare, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress study. Plant and Soil 39: 205-207.

Chance, B., and Maehly, C. 1955. Assay of catalase and peroxidase. Methods in Enzymology 211: 764–775.

Folwer, D.B., Gusta, L., and Tyler, N.J. 1981. Selection for winter hardiness in wheat. Identification of genotypic variability. Crop Science 21: 896-901.

Ganalizadeh, M., Nezami, A., Izadi, A., and Parsa, M. 2013. Evaluation of freeze tolerance in Planation under controlled condition. Iranian Journal of Field Crops Research 13: 754-765. (In Persian with English Summery)

Ghani, A., Azizi, M., and Tehranifar, A. 2008. Evaluation of ornamental potential of *Achilea* Spp. In Mashhad Climate. Journal of Horticultural Science 23: 21-25. (In Persian with English Summery)

Giannopolitis, C.N., and Reis, S.K. 1997. Superoxide dismutase I. Occurrence in higher plants. Plant Physiology 59: 309-314.

Haj-Mohammadnia, K., Nezami, A., and Kamandi, A. 2010. Evaluation the possibility of using electrolyte leakage in assessment of beet root plant tolerance to low temperature. Iranian Journal of Field Crop Research 8: 135-141. (In Persian with English Summery)

Hana, B., and Bischofa, J.C. 2004. Direct cell injury associated with eutectic crystallization during freezing. Cryobiology 48: 8-21.

Jing-Hua, Y., Gao, Y., Li, Y.M., Qi, X.H., and Zhang, M.F. 2008. Salicylic acid-induced enhancement of cold tolerance through activation of antioxidative capacity in watermelon. Scientia Horticulturae 118: 200–205.

Jeannine, C. 2007. Chilling and freezing stress in live oaks intra- and inter-specific variation in PS II sensitivity corresponds to latitude of origin. DOI 10.1007/s11120-007-9215-8.

John, C. 1999. Low temperature tolerance of blackcurrant flower. Hort Science 34: 855–859.

Khalil, M., Bhat, N.R., Abdal, M.S., Grina, R., Al-Mula, L., Aldusary, S., Bellen, R., Cruz, R., D' Cruz, G., George, J., and Christopher, A. 2006. Evaluating the suitability of groundcovers in the arid environment of Kuwait. European Journal of Scientific Research 15: 412-419.

Li, R., Qu, R., Bauneau, A., and Livingston, H. 2010. Selection for freezing tolerance in St. *Agostingrass* through somacolonal variation germplasm evaluation. Plant Breeding 129: 417-421.

Minguez-Mosquera, M.I., and Perez-Galvez, A. 1998. Color quality in *Paprika oleoresins*. Journal of Agricultural and Food Chemistry 46: 5124-5127.

Nakano, Y., and Asada, K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant Cell Physiology 22: 867-880.

Nezami, A., Borzooei, A., Jahani, M., Azizi, M., and Sharif, A. 2007. Electrolyte leakage as an indicator of freezing damage to Rapeseed. Iranian Journal of Field Crop Research 5:167-175. (In Persian with English Summery)

Pirbalouti, A.G., Bistghani, Z.E., and Malekpoor F. 2015. An overview on genus *Thymus*. Journal of Herbal Drug 6: 93-100.

Rapacz, M., Sasal, M., and Wo´jcik-Jagła, M. 2015. Direct and indirect measurements of freezing tolerance: advantages and limitations. Acta Physiology Plant 37: 157-165.

Rashed, M.H., Nezami, A., Bagheri, A., Hajmohamadnia, K., and Bannayan, M. 2009. M Evaluation of freezing Tolerance of Two Fennel (*Foeniculum vulgar L.*) Ecotypes under Controlled Conditions. Journal of Herbs Spices and Medicinal Plants 15: 131-140.

Shooshtarian, S., Salehi, H., and Tehranifar, A. 2011. Investigation of growth and development of 10 ground cover plant in Kish landscape during hot weather. Journal of Agroecology 3: 514-524. (In Persian with English Summery)

Szabados. L., and Savoure, A. 2009. Proline: a multifunctional amino acid. Trend in Plant Science 15: 89-97.

Zsuzsanna, P., and Dora, S. 2016. Effects of different factors influencing the essential oil properties of *Thymus vulgaris*. Plant Science Today 3: 312-326.

www.SID.ir

Journal of Agroecology
Vol. 10, No. 4, Winter 2019, p. 1217-1227

نشریه بوم شناسی کشاورزی
جلد ۱۰، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۷، ص. ۱۲۲۷-۱۲۱۷

Evaluation of Freezing Tolerance of Some Thyme (*Thymus* spp.) Species in Green Space

H. Maleki Lajayer[1], H. Zakizadeh*[2], Y. Hamidoghli[3], E. Chamani[4], M.H. Biglouei[5]

Submitted: 20-03-2017
Accepted: 14-12-2017

Maleki Lajayer, H., Zakizadeh, H., Hamidoghli, Y., Chamani, E., and Biglouei, M.H. 2019. Evaluation of freezing tolerance of some Thyme (*Thymus* spp.) species in green space. Journal of Agroecology. 10(4):1217-1227.

Introduction

Only one-third of the total land area on earth is free of ice and 42% of land experiences temperatures below −20°C. Plants may or may not establish in extreme cold or hot temperatures, prolonged dry or wet soil conditions. For this reason, there is a growing demand for native plants in the landscape. Factors influencing plant selection include assessments of hardiness and aesthetics, ease of propagation and culture, naturalization potential. There is a high genetic variation in the flora of Iran, about 1810 of 8000 recorded taxons in Iran are native. So there is a great potential for using native plant in regions with harsh climates. The genus *Thymus* L. belongs to the Lamiaceae family, consist of about 215 species of herbaceous perennials and small shrubs in the world. They originated from Mediterranean region. This genus is presented in Iranian flora by 14 species .Overall, cold acclimation results in protection and stabilization of the integrity of cellular membranes, enhancement of the antioxidative mechanisms, increased intercellular sugar levels as well as accumulation of other cryoprotectants including polyamines that protect the intracellular proteins by inducing the genes encoding molecular chaperones. So, the aim of this study was to assess the freezing stress tolerance of some thyme species as ground covering species in landscaping projects

Material and Methods

Seeds of Theme species were sown in containers filled with sand, manure, field soil mixture and maintained in glasshouse. Then, the plants transferred to outdoor condition until the late May. At 24 hours before the end of the acclimation period, the plants irrigated and transferred in their containers to a freezing chamber with 3°C for subjection to freezing temperatures (-10, -20 and -30ºC). The temperature reduced at the rate of 2°C per h, and after 1 hour at exposure to the freezing temperature, the containers with plants immediately transferred to growth chamber at 4ºC for 24 hours to reduce the speed of ice melting and then returned to the glass. Survival rates, proline accumulation, electrolyte leakage, antioxidant enzymes activity were used to evaluate the freezing tolerance of species. For field experiment germinated seeds in container maintained in greenhouse until the environmental conditions were not limiting factor. After that, seedling planted in outdoor condition and subjected to Ardabil city freezing weather in 2 years. In early spring survival rate recorded. Moreover physiological and biochemical and physical responses of species were evaluated in 3 different times (June, December, February).

Results and Discussion

Results showed that freezing stress adversely affects growth of theme species. There were 100% survival in all species under Ardebil outdoor condition (during two years), but under freezing chamber condition plant treated with -10ºC and -30ºC showed 100% and 0% survival, respectively. While in -20ºC the highest survival rate were shown in *T.*

1- Ph.D Student, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan and Assistant Professor, Department of Horticulture, Faculty of Agricultural Sciences, University of Mohaghegh Ardabili, Iran.
2 and 3- Assistant and Associate Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Iran
4- Professor, Department of Horticulture, Faculty of Agricultural Sciences, University of Mohaghegh Ardabili, Iran.
5- Associate Professor, Department of Water Engineering, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Iran
(*- Corresponding Author Email: Zakizadeh55@yahoo.com)
DOI:10.22067/jag.v10i4.63381

www.SID.ir

Archive of SID

vulgaris and *T. sepyllum*, but *T. daenensis* had the lowest. The lowest values of electrolyte leakage were related to *T. sepyllum*, *T. kotschyanus*, and *T. vulgaris*. The highest chlorophyll and proline content achieved in *T. vulgaris* and *T. kotschyanus*, respectively. Peroxidase antioxidant enzyme activity in *T. kotschyanus* and *T. sepyllum* were higher than other species. While there were no significant differences among the species in superoxide dismutase and ascorbate peroxidase enzyme activity. According to the results, it can be deduced that *T. kotschyanus*, *T. vulgaris*, and *T. sepyllum* are more frost tolerant than others. However, because of high survival percent in Ardabil climate and under -20^{oC}, all species can be used as frost tolerant ground cover in landscapes.

Conclusion

According to the results all of the studied thyme species are frost tolerant but *T. sepyllum*, *T. kotschyanus*, and *T. vulgaris* have the ability to withstand the harsh weather condition without a considerable loss in their ornamental potential.

Keywords: Antioxidant enzymes, chlorophyll, electrolyte leakage, native plants, proline

www.SID.ir

www.SID.ir