

اثر تنش یخ زدگی بر نشت الکترولیت‌ها در شش رقم گلرنگ

احمد نظامی^{۱*} - نغمه ناقدی نیا^۲

تاریخ دریافت: ۸۸/۱/۲۲

تاریخ پذیرش: ۸۸/۷/۱۱

چکیده

تنش یخ زدگی بر روی برخی از فرایندهای حیاتی گیاهان تأثیر گذاشته و سبب اختلال در رشد آنها می‌شود. در همین راستا به منظور بررسی اثر تنش یخ زدگی بر نشت الکترولیت‌ها در گلرنگ آزمایشی به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار با استفاده از شش ژنوتیپ گلرنگ (شامل پنج رقم پاییزه به نام‌های k.w.3، k.w.6، k.w.16، زرقان ۲۷۹ و لاین ۲۹۵ و یک رقم بهار - پاییزه به نام IL-111) و شش دمای یخ زدگی (صفر، -۴، -۸، -۱۲، -۱۶، -۲۰ درجه سانتی‌گراد) در دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد اجرا شد. گیاهان تا مرحله ۵-۷ برگی در شرایط آب و هوای طبیعی پاییز در داخل گلدان رشد یافته و با سرما خو گرفتند و سپس برای اعمال دماهای آزمایش به فریزر ترموگرادیان منتقل شدند. میزان پایداری غشاء سیتوپلاسمی ژنوتیپ‌ها با استفاده از نشت الکترولیت‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت و سپس دمای کشنده برای ۵۰ درصد نمونه‌ها (LT₅₀) بر اساس درصد نشت الکترولیت‌ها تعیین گردید. نتایج نشان داد که اثرات دمای یخ زدگی و ژنوتیپ بر میزان نشت مواد و LT₅₀ ارقام مورد بررسی معنی‌دار (P < 0.05) بود. کاهش دما به کمتر از -۴ درجه سانتیگراد سبب افزایش میزان نشت الکترولیت‌ها در کلیه ارقام مورد بررسی گردید. لاین ۲۹۵ بیشترین درصد نشت الکترولیت‌ها را داشت، در صورتی که کمترین درصد نشت در رقم k.w.6 مشاهده شد. شیب درصد نشت الکترولیت‌ها در مقابل دمای یخ زدگی در لاین ۲۹۵ و زرقان ۲۷۹ بیشتر از سایر ارقام بود و درصد نشت در دمای -۱۲ درجه سانتی‌گراد به حداکثر رسید، در حالی که سایر ارقام در دمای -۱۶ درجه سانتی‌گراد حداکثر درصد نشت را داشتند. از نظر شاخص LT₅₀ نیز بیشترین و کمترین تحمل به یخ زدگی را به ترتیب لاین k.w.6 و زرقان ۲۷۹ داشتند. بین درصد نشت الکترولیت‌ها و LT₅₀ همبستگی بسیار معنی‌داری (r = 76**) مشاهده شد که بیانگر امکان استفاده از این شاخص در ارزیابی خسارت تنش یخ زدگی در گلرنگ می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: یخ زدگی، نشت الکترولیت‌ها، گلرنگ، LT₅₀

مقدمه

سوی دیگر در مناطق معتدله کشت پاییزه برخی محصولات زراعی (از جمله گلرنگ) نسبت به کشت بهار آنها دارای مزایای زیادی می‌باشد که از جمله آن می‌توان به تولید و عملکرد بیشتر و ثبات بالاتر، کارایی مصرف آب بیشتر (۲۱)، ایجاد پوشش و حفاظ مناسب برای خاک و جلوگیری از فرسایش آن و ایجاد شرایط مناسب برای کاشت محصول دوم اشاره داشت (۱ و ۱۶).

در برخی از مناطق معتدله، کشت گلرنگ بعنوان یک گیاه زراعی پاییزه به دلیل صدمات ناشی از تنش‌های زمستانه موفقیت آمیز نمی‌باشد (۲۴). در این نواحی، عامل اصلی موفقیت کاشت پاییزه محصولات زراعی، وجود ارقام متحمل به شرایط سخت زمستان می‌باشد و بنابراین شناسایی ارقامی از گلرنگ که قادر به تحمل شرایط سخت زمستان این نواحی باشند، ضروری می‌باشد. تحمل به شرایط سخت زمستان یا بقای زمستانه نیز ترکیبی از تحمل به تنش‌های مختلف (نظیر یخ زدگی، استقرار ضعیف گیاهچه، خسارات

گلرنگ به دلیل قدرت سازگاری نسبتاً مناسب در مقابل شرایط نامساعد محیطی و موارد مصرف گوناگون، در کشورهای متعددی کشت می‌شود. روغن دانه این گیاه کیفیت قابل ملاحظه‌ای دارد و میزان اسید لینولئیک آن نسبت به سایر گیاهان روغنی بیشتر است (۳). کشت گلرنگ به دو صورت بهار و پاییزه انجام می‌شود (۴). در شرایط کشت بهار، عملکرد گیاهان زراعی به دلیل دماهای بالا در طول فصل رشد و بروز تنش خشکی و همچنین مشکلات ناشی از آفات کاهش می‌یابد (۲۱). ضمن اینکه در برخی شرایط ریزش نزولات جوی در ابتدای بهار کاشت محصول را به تعویق می‌اندازد. از

۱ و ۲- به ترتیب دانشیار و دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
* - نویسنده مسئول (Email: nezamiahmad@yahoo.com)

نشت الکترولیتی کمتر همراه بوده است. ایشان اظهار داشتند که با توجه به نتایج حاصله به نظر می‌رسد که بتوان با اندازه‌گیری میزان نشت الکترولیت‌ها، به معیار مناسبی جهت تعیین شدت خسارت وارده برغشاء سلولی تحت تأثیر تنش یخ زدگی دست یافت.

باتوجه به مطالب ذکر شده، این بررسی به منظور مطالعه اثر تنش یخ زدگی بر نشت الکترولیت‌های چند رقم گلرنگ طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در پاییز سال ۱۳۸۵ به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایشی عبارت بودند از ارقام گلرنگ (شامل پنج رقم گلرنگ پاییزه به نام‌های k.w.16، k.w.6، k.w.3، زرقان ۲۷۹ و لاین ۲۹۵ و یک رقم بهاره- پاییزه IL-111) و دماهای یخ زدگی (صفر، -۴، -۸، -۱۲، -۱۶، -۲۰- درجه سانتی‌گراد). تعداد پنج بذر در گلدان‌های پلاستیکی با قطر ۱۰ سانتی‌متر و در عمق ۱-۲ سانتی‌متری خاک در ابتدای پاییز سال ۱۳۸۵ کشت شدند. گیاهان تا مرحله ۵-۷ برگی در شرایط آب و هوای طبیعی رشد یافته و با سرما خو گرفتند و سپس برای اعمال دماهای آزمایش به فریزر ترموگرادین منتقل شدند. دمای فریزر در شروع آزمایش پنج درجه سانتیگراد بود و پس از قراردادن نمونه‌ها، با سرعت دو درجه سانتیگراد در ساعت کاهش یافت. به منظور القاء یخ زدگی و ایجاد هستک یخ در گیاهچه‌ها، در دمای -۲ درجه سانتی‌گراد محلول ایجاد کننده هستک یخ (INAB)^۲ روی گیاهان پاشیده شد و سپس دما با سرعت ۲ درجه در ساعت کاهش یافت تا به دمای مورد نظر هر تیمار رسید. به منظور ایجاد تعادل در دمای محیط، گیاهان به مدت یک ساعت در دمای هر تیمار آزمایش نگه داشته شده و سپس از فریزر خارج شدند. در مرحله بعد و برای کاهش سرعت ذوب یخ در گیاه، نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در اتاقک سرد با دمای 4 ± 1 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

به منظور تعیین درصد نشت الکترولیت‌ها ابتدا جوان‌ترین دو برگ کاملاً توسعه یافته از هر بوته جدا شد و در ارلن‌های حاوی ۵۰ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر شده قرار گرفت. ارلن‌ها به مدت ۶ ساعت بر روی شیکر قرار گرفته و سپس هدایت الکتریکی هر نمونه با استفاده از دستگاه EC متر (مدل Jenway) اندازه‌گیری شد (EC₁). به منظور اندازه‌گیری میزان کل نشت الکترولیت‌ها در اثر مرگ سلول، ارلن‌های حاوی نمونه‌های گیاهی به فریزر با دمای -۷۵- درجه سانتی‌گراد منتقل شده و در طول شب در این شرایط نگهداری شدند. سپس ارلن‌ها از فریزر خارج شده و پس از ذوب یخ آنها در شرایط آزمایشگاه، مجدداً به مدت ۶ ساعت بر روی شیکر قرار گرفتند و بعد از

بیماری‌ها و آفات، پوشش برف و ... است که در طول زمستان حادث می‌شود (۹ و ۱۶).

در بین انواع تنش‌های زمستانه، یخ زدگی به عنوان یکی از مهم‌ترین تنش‌های زمستانه معرفی شده است (۱۰) و به همین دلیل در اغلب آزمایش‌ها محققان تحمل به یخ زدگی را به عنوان یک شاخص مناسب مورد تأکید قرار داده‌اند (۱). آزمون‌های ارزیابی تحمل به یخ زدگی گیاهان عمدتاً در شرایط کنترل شده انجام می‌شود (۵ و ۱۲) و درصد بقاء گیاه پس از قرار گرفتن آن در معرض دماهای یخ زدگی به عنوان یکی از شاخص‌های مقاومت به یخ زدگی معرفی شده است. در این روش نیز چنانچه تعداد نمونه‌های گیاهی اندک باشد محقق با مشکل از بین رفتن نمونه‌های اندک، ولی ارزشمند مواجه خواهد شد. برای یافتن روش‌های ارزیابی سریع و مؤثر تحمل به یخ زدگی در گیاهان، تاکنون تحقیقات زیادی انجام شده است. یکی از این روش‌های ارزیابی، اندازه‌گیری نشت الکترولیت‌ها از سلول‌های گیاهی پس از اعمال تنش یخ زدگی می‌باشد. هنگامی که بافت‌های گیاه در اثر سرما آسیب می‌بینند، فعالیت غشاء مختل شده و الکترولیت‌های داخل سلول به خارج از آن نشت می‌کنند. آزمایشات نشان داده است که اولین مکان خسارت در اثر سرما، غشاء سلولی است و سرما باعث تغییر حالت غشاء از کریستال-مایع به حالت جامد-ژل می‌شود و با این تغییر، فعالیت غشاء مختل می‌گردد (۱۴ و ۱۵). به همین دلیل اندازه‌گیری میزان نشت الکترولیت‌ها از بافت‌های گیاهی به عنوان یک روش مناسب برای تخمین تراوایی غشاء در ارتباط با اثر تنش‌های محیطی بر ژنوتیپ‌های مختلف گیاهی مورد استفاده محققان قرار گرفته است (۱۱ و ۱۳).

پیراس و سارهان (۱۹) بیان نمودند که میزان مقاومت به یخ زدگی در برگ‌ها، طوقه‌ها و ریشه‌های گندم از طریق روش نشت الکترولیت‌ها قابل ارزیابی است. پاول (۱۸) نیز عنوان کرد که تغییر در ساختار غشاء در اثر سرما سبب افزایش نشت الکترولیت‌های سلولی در اندام‌های حساس به سرما می‌گردد. تحقیقات دیگری بر روی گندم نیز نشان داده است که ژنوتیپ‌های متحمل به سرما عموماً غشاء سیتوپلاسمی پایدارتر و نشت الکترولیت کمتری نسبت به ژنوتیپ‌های حساس داشته‌اند (۶). بررسی نظامی و همکاران (۸) بر روی اثر تنش یخ زدگی در نشت الکترولیت‌های ۱۰ رقم کلزا نشان داد که با کاهش دما به کمتر از -۴ درجه سانتیگراد درصد نشت الکترولیت‌ها به طور معنی‌داری افزایش یافت. در بین ارقام کلزای مورد بررسی از نظر LT₅₀^۱ نیز تفاوت معنی‌داری مشاهده شد، به طوری که رقم سیمبل

1-Lethal Temperature 50

2- Ice Nucleation Active Bacteria

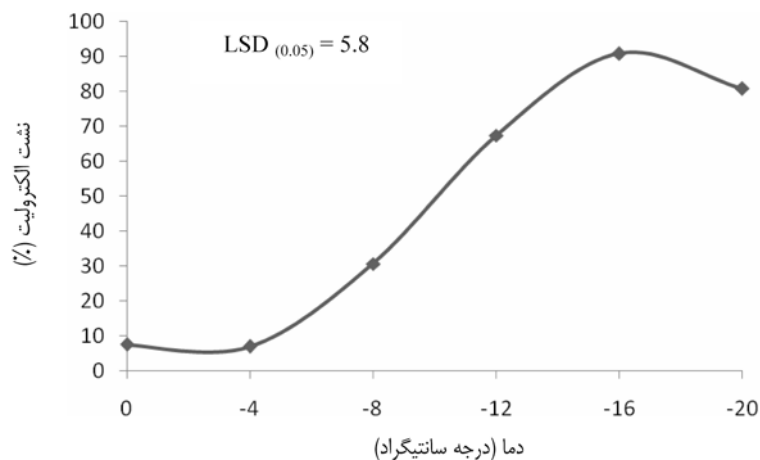
زرقان ۲۷۹ دارا بودند و ژنوتیپ K.W.6 کمترین درصد نشت را داشت (شکل ۲). مطالعه سالک و همکاران (۲۰) بر روی تحمل به یخ زدگی ریشه یونجه نشان داد که با کاهش دما از ۴- تا ۱۶- درجه سانتی گراد میزان نشت الکترولیت ها افزایش یافت. در آزمایش آنها ارقام حساس یونجه بیشترین مقدار نشت را داشتند، ضمن اینکه حداکثر نشت در این ارقام در دماهای ۶- تا ۱۰- درجه سانتی گراد اتفاق افتاد. در بررسی نظامی و همکاران (۸) نیز مشاهده شد که واکنش ارقام کلزا به تنش یخ زدگی متفاوت بود، به نحوی که ارقام کالورت و اکاپی بیشترین و ارقام الیت و SLM046 کمترین درصد نشت را داشتند. تأثیر تنش سرما بر اختلال فعالیت غشاهای سلولی و به دنبال آن نشت الکترولیت ها بسته به تحمل به یخ زدگی ارقام مختلف گیاهی متفاوت است (۱۱)، لذا اندازه گیری میزان نشت از بافت ها یا اندام های گیاهی تحت تنش سرما معیار مناسبی برای ارزیابی مقاومت گیاهان به تنش سرما ذکر شده است (۷). از این رو پایین تر بودن میزان نشت الکترولیت ها در ارقام K.W.3 و K.W.6 احتمالاً نشان دهنده تحمل بیشتر این ارقام نسبت به تنش یخ زدگی می باشد. در بررسی روند نشت الکترولیت ها تحت تأثیر دماهای یخ زدگی در ارقام گلرنگ ملاحظه می شود که تا دمای ۴- درجه سانتی گراد میزان نشت الکترولیت ها تقریباً ثابت بوده، ولی با کاهش دما نشت الکترولیت ها در تمام ارقام روندی افزایشی پیدا کرد (شکل ۳). با وجود این سرعت افزایش نشت الکترولیت ها در دو رقم K.W.6 و K.W.3 کمتر از سایر ارقام بود. در لاین ۲۹۵ و رقم زرکان ۲۷۹ رسیدن به حداکثر درصد نشت الکترولیت ها از دمای کمتری نسبت به سایر ارقام شروع شد (دمای ۱۲- درجه سانتی گراد)، به عبارت دیگر در این دو رقم شیب منحنی نشت الکترولیت ها شدیدتر از سایر ارقام بود، در صورتی که رسیدن به حداکثر نشت الکترولیت ها در چهار رقم دیگر از دمای ۱۶- درجه سانتی گراد مشاهده شد (شکل ۳).

آن هدایت الکتریکی نمونه ها اندازه گیری شد (EC_2). درصد نشت الکترولیت ها با استفاده از فرمول $(EC_1/EC_2) \times 100$ محاسبه شد. دمای کشنده برای ۵۰ درصد نمونه ها (LT_{50}) براساس نشت الکترولیت ها و با استفاده از رسم نمودار درصد نشت الکترولیت های هر تیمار در مقابل دمای یخ زدگی تعیین شد (۱۴). جهت تجزیه آماری داده ها از نرم افزار MSTATC و برای رسم نمودارها و تعیین LT_{50} از نرم افزار Slide Write استفاده شد. مقایسه میانگین داده ها نیز با استفاده از آزمون LSD انجام شد.

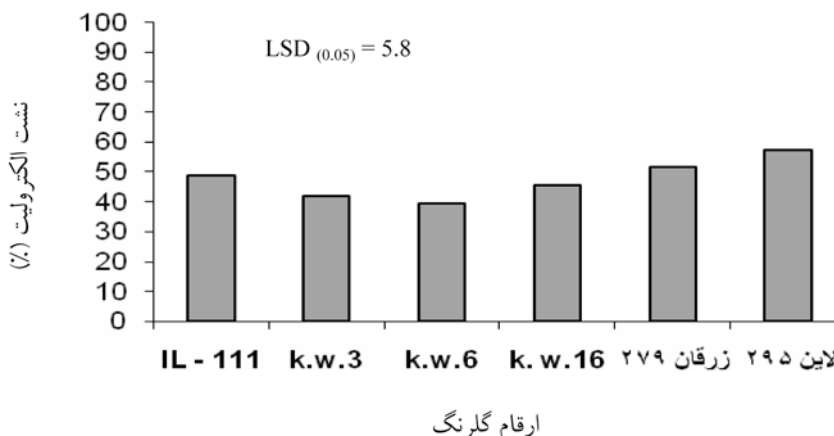
نتایج و بحث

در بررسی اثر دمای یخ زدگی بر میزان نشت الکترولیت ها مشاهده می شود که نشت الکترولیت ها از سلول های برگ گلرنگ از دمای ۴- درجه سانتی گراد شروع شده و با کاهش دما افزایش یافت (شکل ۱). افزایش نشت الکترولیت ها نشان می دهد که انسجام غشاهای سلولی تحت تأثیر دماهای یخ زدگی مختل شده و نشت مواد به خارج سلول افزایش یافته است. بررسی ایوگنیا و همکاران (۱۳) در مورد ارزیابی میزان مقاومت گیاه *Trifolium hirtum* به تنش یخ زدگی از طریق اندازه گیری میزان نشت الکترولیت ها نیز نشان داد که با کاهش دما از ۶- به ۱۴- درجه سانتی گراد، میزان نشت مواد در برگ های این گیاه افزایش یافت. نیار و همکاران (۱۷) نیز مشاهده کردند که با کاهش دما، نشت الکترولیت ها از گیاهچه های ۱۴ روزه نخود افزایش یافت. طی بررسی انجام شده در مورد درصد نشت الکترولیت ها تحت تأثیر تنش سرما در چند رقم کلزا نیز مشخص شد که میزان نشت الکترولیت ها در برگ آن ها، با میزان شدت سرما همبستگی مثبت دارد (۸). به نظر می رسد با کاهش دما خسارت ناشی از تنش یخ زدگی بر غشاهای سلولی زیاد شده و منجر به افزایش میزان نشت مواد درون سلولی می شود.

تفاوت درصد نشت الکترولیت ها بین ارقام مختلف گلرنگ معنی دار ($P < 0.05$) بود، بطوری که بیشترین درصد نشت را لاین ۲۹۵ و



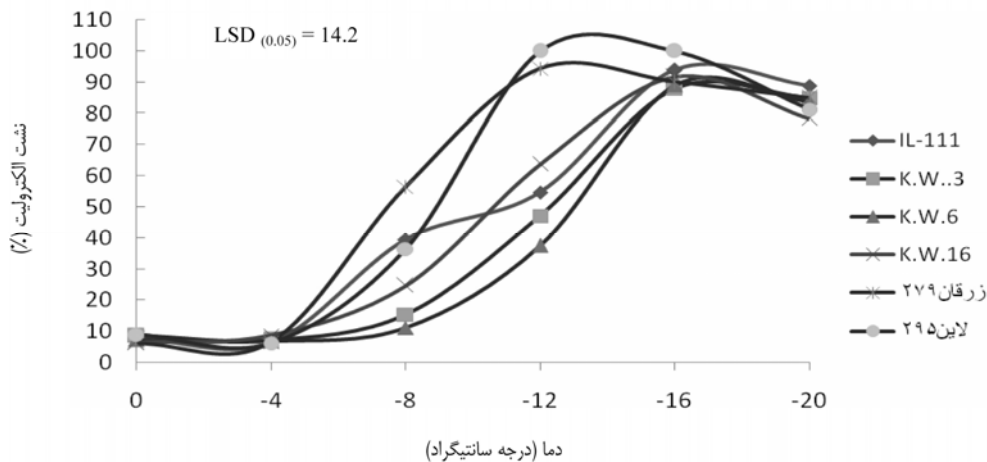
شکل ۱- تأثیر کاهش دما بر میزان نشت الکترولیت های ارقام گلرنگ



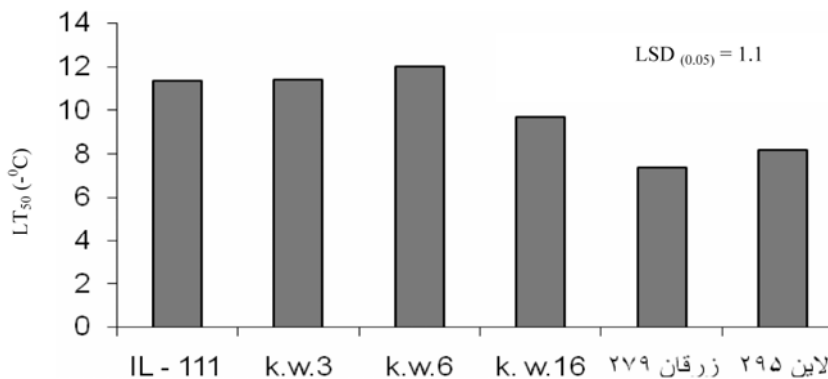
شکل ۲- درصد نشت الکترولیت ها در ارقام گلرنگ تحت تأثیر تیمار یخ زدگی

داشتند. بیشترین LT_{50} در لاین ۲۹۵ و زرقان ۲۷۹ و کمترین آن در سه رقم K.W.6، K.W.3، IL-111 مشاهده شد (شکل ۴). به عبارت دیگر ارقام زرقان ۲۷۹ و لاین ۲۹۵ تحمل به یخ زدگی کمتری نسبت به ارقام دیگر داشتند. کاردونا و همکاران (۱۱) با مطالعه اثر تنش یخ زدگی بر روی سه اکوتیپ پاسپالوم، تفاوت معنی داری را از نظر درصد نشت الکترولیت‌ها و LT_{50} بین آنها مشاهده کردند. در بررسی نظامی و همکاران (۸) نیز مشاهده شد که بین ارقام کلزای مورد مطالعه از نظر LT_{50} تفاوت معنی داری وجود داشت و LT_{50} کمتر در ارقام متحمل به سرمای کلزا با نشت سلولی کمتر نسبت به سایر ارقام مورد مطالعه همراه بود. در آزمایش حاضر نیز لاین ۲۹۵ و زرقان ۲۷۹ که LT_{50} کمتری داشتند، دارای بیشترین درصد نشت بودند که این امر با یافته‌های سایر محققان مطابقت دارد.

در بررسی سایر محققان (۸ و ۱۱) نیز مشاهده شده است که شیب منحنی نشت الکترولیت‌ها در مقابل دمای یخ زدگی در ارقام مقاوم به سرما کمتر از ارقام حساس به سرما است. این امر نشان می‌دهد که در شرایط تنش سرما ژنوتیپ‌های مقاوم در مقایسه با ژنوتیپ‌های حساس از سرعت نشت الکترولیت کمتری برخوردار هستند. این محققان تفاوت در شیب منحنی نشت الکترولیت‌ها را به عنوان یکی از نشانه‌های مهم شدت خسارت ناشی از تنش سرما در ارقام مقاوم و حساس معرفی کردند. در برخی مطالعات دمایی که سبب ۵۰ درصد نشت الکترولیت‌ها از بافت‌های گیاهی می‌شود، به عنوان دمای ۵۰ درصد کشندگی (LT_{50}) در نظر گرفته شده است (۱۴). در همین راستا شاشیکوما و ناس (۲۲) با انجام آزمایشی بر روی ۸ رقم پنجه مرغی گزارش کردند که ارقام حساس تر به سرما LT_{50} بالاتری نسبت به ارقام مقاوم داشتند. در مطالعه حاضر ارقام گلرنگ مورد بررسی از نظر LT_{50} تفاوت معنی داری ($P < 0.05$)



شکل ۳- تأثیر دماهای یخ زدگی بر میزان نشت الکترولیت ها در هر کدام از ارقام گلرنگ



ارقام گلرنگ

شکل ۴- دمای ۵۰ درصد کشندگی (LT₅₀) بر اساس درصد نشت الکترولیت ها در ارقام گلرنگ

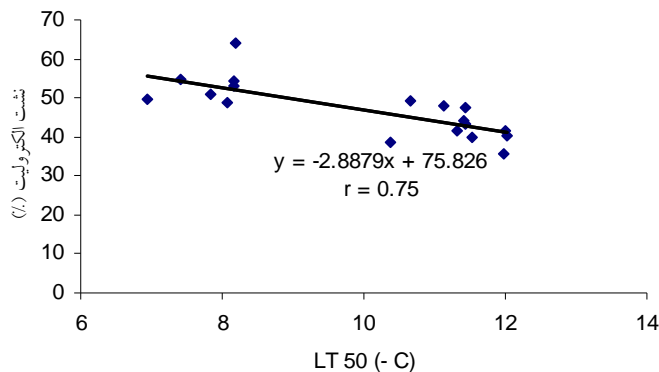
ارقام) مرتبط دانست. روش نشت الکترولیت ها به عنوان آزمونی جهت ارزیابی خسارت غشاء در مقابل تنش های محیطی مطرح است (۱۵) و (۲۳). در این مطالعه نیز مشاهده شد که این آزمون را می توان جهت ارزیابی خسارت تنش یخ زدگی در کلزا مورد استفاده قرار داد. تداوم این سری مطالعات جهت تعیین رابطه بین درصد نشت الکترولیت ها با بقاء گیاهان در شرایط کنترل شده و همچنین شرایط مزرعه مزیت این روش را در سطح کاربردی تعیین خواهد کرد.

سپاسگزاری

از معاونت پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد به خاطر در اختیار قرار دادن اعتبار این پژوهش در قالب طرح شماره ۹۲۱ پ قدردانی می شود. از سرکار خانم مهندس انورخواه نیز به دلیل همکاری در اجرای طرح تشکر می گردد.

در بررسی همبستگی بین درصد نشت الکترولیت ها و LT₅₀ ارقام گلرنگ مشاهده شد که بین این دو پارامتر همبستگی بسیار معنی داری ($r=76^{**}$) وجود داشت و با کاهش درصد نشت الکترولیت ها، دمای ۵۰ درصد کشندگی ارقام مورد بررسی کاهش یافت (شکل ۵). مطالعه بیرامی زاده و همکاران (۲) و نظامی و همکاران (۸) بر روی اثر تنش یخ زدگی بر پایداری غشاء سیتوپلاسمی نشان داد که بین نشت الکترولیت ها و LT₅₀ همبستگی وجود دارد. ایشان اظهار داشتند که این همبستگی احتمالا می تواند نشان دهنده کارایی این روش در ارزیابی تحمل به سرما در گیاهان مورد مطالعه باشد.

نتایج این بررسی نشان داد که در همه ارقام مورد مطالعه گلرنگ با کاهش دما نشت الکترولیت ها افزایش یافت. در بین ارقام مورد بررسی لاین ۲۹۵ و k.w.6 به ترتیب کمترین و بیشترین تحمل به سرما را از نظر میزان نشت الکترولیت ها و LT₅₀ داشتند. شدید تر بودن شیب منحنی نشت الکترولیت ها در لاین ۲۹۵ و زرقان ۲۷۹ را احتمالا می توان با حساسیت این دو رقم به سرما (نسبت به سایر



شکل ۵- رابطه بین درصد نشت الکترولیت ها با دمای ۵۰ درصد کشندگی در ارقام گلرنگ

منابع

- ۱- باقری، ع.، ا. نظامی و م. سلطانی. ۱۳۷۹. اصلاح حبوبات سرما دوست برای تحمل به تنش‌ها (ترجمه). سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی. ۴۴۵ صفحه.
- ۲- بیرامی‌زاده، ا.، ی. ارشد، ب. یزدی صمدی و ر. قنادها. ۱۳۸۱. بررسی ژنتیک پایداری غشای سیتوپلاسمی در گندم. خلاصه مقالات سومین همایش ضایعات ناشی از سرمازدگی محصولات زراعی و باغی کشور، معاونت زراعت سازمان حفظ نباتات. ۶۵ صفحه.
- ۳- فروزان، ک. ۱۳۷۸. گلرنگ. انتشارات شرکت دانه‌های روغنی. ۱۴ صفحه.
- ۴- کریمی، ه. ۱۳۷۵. گیاهان زراعی. انتشارات دانشگاه تهران. ۳۳۱ صفحه.
- ۵- میرزایی اصل، ا.، ب. یزدی صمدی، ع. زالی و ی. صادقیان مطهر. ۱۳۸۱. بررسی مقاومت گندم به سرما با روش‌های آزمایشگاهی. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، ۶ (۱): ۱۸۶-۱۷۷.
- ۶- میرعشقی، ا. و غ. ر. خلیل زاده. ۱۳۸۱. ارزیابی برخی از صفات فیزیولوژیک مرتبط با سرما در ۲۲ ژنوتیپ گندم نان. خلاصه مقالات سومین همایش ضایعات ناشی از سرمازدگی محصولات زراعی و باغی کشور، معاونت زراعت سازمان حفظ نباتات. ۶۵ صفحه.
- ۷- میرمحمدی میبیدی، ع. م.، و س. ترکش اصفهانی. ۱۳۷۹. جنبه‌های فیزیولوژی و به نژادی تنش‌های سرما و یخ زدگی گیاهان زراعی. انتشارات گلبن، اصفهان. ۲۳۳ صفحه.
- ۸- نظامی، ا.، م. جهانی، ا. برزوئی، م. عزیزی، و ع. شریف. ۱۳۸۶. نشت الکترولیت‌ها به عنوان شاخصی از خسارت یخ زدگی در کلزا. مجله پژوهش‌های زراعی ایران، جلد ۵ (۱): ۱۶۷-۱۷۵.
- 9- Blum, A. 1988. Plant Breeding for Stress Environment. CRC Press, USA.
- 10- Bridger, G.M., D.M. Falk, B.D. McKersie and D.L. Smith. 1996. Crown freezing tolerance and field winter survival of winter cereals in eastern Canada. *Crop Sci.* 36:150-157.
- 11- Cardona, C.A., R.R. Duncan and O. Lindstrom. 1997. Low temperature tolerance assessment in paspalum. *Crop Sci.* 37:1283-1291.
- 12- Cousin, R., A. Burghoffe R.P. Marget, A. Vingere and G. Eteve. 1993. Morphological, physiological and genetic base of resistance in pea to cold and drought. pp. 311-320. In: K.B. Singh and M.C. Saxena (Eds), *Breeding for Stress Tolerance in Cool Season Food Legumes*. John Wiley and Sons, Chichester, UK.
- 13- Eugenia, M., S. Nunes and G. Ray Smith. 2003. Electrolyte leakage assay capable of quantifying freezing resistance in Rose Clover. *Crop Sci.* 43:1349-1357.
- 14- Gusta, L.V., D.B. Fowler and N.J. Tyler. 1982. Factors influencing hardening and survival in winter wheat. pp. 23-40. In: P.H. Li and A. Sakai (Eds), *Plant Cold Hardiness and Freezing Stress, Mechanisms and Crop Implications*. Vol.2 Academic Press, London.
- 15- Hana, B. and J.C. Bischofa. 2004. Direct cell injury associated with eutectic crystallization during freezing, *Cryobio.* 48:8-21.
- 16- McKersie, B.D. and Y.Y. Leshem. 1994. Stress and stress coping in cultivated plants. Kluwer Academic Publishers. The Netherlands.
- 17- Nayyar, H., T.S. Bains, and S. Kumar. 2005. Chilling stressed chickpea seedling: effect of cold acclimation, calcium and abscisic acid on cryoprotective solutes and oxidative damage. *Environ. Exp. Bot.* 54:275-285.
- 18- Paull, R.E. 1981. Temperature induced leakage from chilling-sensitive and chilling-resistant plant. *Plant Physiol.* 68:149-153
- 19- Perras, M. and F. Sarhan. 1988. Synthesis of freezing tolerance proteins in leaves, crown and roots during cold acclimation of wheat. *Plant Physiol.* 89:577-585.
- 20- Sulc, R.M., K.A. Albrecht, J.P. Palta and S.H. Duke. 1991. Leakage of intercellular substance from alfalfa roots at various subfreezing temperatures. *Crop Sci.* 33:1575-1578.
- 21- Singh, K.B., R.S. Malhorta, M.C. Saxena and G. Bejiga. 1997. Superiority of winter sowing over traditional spring sowing of chickpea in mediterranean region. *Agron. J.* 89:112-118.
- 22- Shashikumar, K. and J.L. Nus. 1993. Cultivar and winter cover effects on bermudagrass cold acclimation and crown moisture content. *Crop Sci.* 33:813-817.
- 23- Whitlow, T.H., N.L. Bassuk, T.G. Ranney and D.L. Reiche. 1991. An improved method for using electrolyte leakage to assess membrane competence in plant tissues. *Plant. Physiol.* 98:198-205.
- 24- Zimmerman, L.H. 1977. Selection for seeding cold tolerance in safflower with modified controlled environment chambers. *Crop Sci.* 17:679-682.