نشریه پژوهشهای زراعی ایران
جلد ۱۲، شماره ۴ ، زمستان ۱۳۹۳، ص. ۶۷۶-۶۶۵

Iranian Journal of Field Crops Research
Vol. 12, No. 4, Winter. 2015, p. 665-676

اثرات سرمای دیررس بهاره بر گیاه سیاهدانه (*Nigella sativa* L.) تحت شرایط کنترل شده

طاهره خورسندی[۱] - احمد نظامی[۲*] - محمد کافی[۳] - مرتضی گلدانی[۴]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱۱/۱۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۶/۱۹

چکیده

در اغلب سالها رشد گیاهان شدیدا تحت تاثیر سرمای دیررس بهاره قرار می‌گیرد. به منظور بررسی اثر این سرما بر گیاه دارویی سیاهدانه، آزمایشی بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار در شرایط کنترل شده در دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد اجرا شد و پنج اکوتیپ سیاهدانه (بیرجند، سبزوار، فردوس، گناباد و نیشابور) پس از دو ماه رشد و خوسرمایی در شرایط طبیعی، در داخل فریزر ترموگرادیان در معرض دماهای پایین (صفر، ۱/۵-، ۳-، ۴/۵-، ۶-، ۷/۵- و ۹- درجه سانتی گراد) قرار گرفتند. جهت تعیین خسارت سرما، دمای کشنده ۵۰ درصد گیاهان بر اساس نشت الکترولیت‌ها (LT_{50el}) ، دمای کشنده ۵۰ درصد گیاهان بر اساس درصد بقاء (LT_{50su}) ، دمای کشنده ۵۰ درصد گیاهان بر اساس نکروز گیاه در لوله ازمایش (LT_{50tt}) و دمای کاهنده ۵۰ درصد وزن خشک گیاه ($RDMT_{50}$) اندازه گیری شد. بازیافت گیاهان نیز بر اساس صفاتی نظیر تعداد و سطح برگ، وزن خشک گیاه و درصد خسارت سرما بر برگ گیاهان تعیین گردید. نتایج نشان داد که بر اساس شاخص‌های LT_{50su}, LT_{50tt} و $RDMT_{50}$ اکوتیپ‌های سیاهدانه قادر به تحمل سرما در گستره ۵/۷- تا ۹/۰- درجه سانتی گراد بودند و اکوتیپ‌های سبزوار و فردوس به ترتیب تحمل به سرمای بیشتر و کمتری داشتند. از نظر صفات مربوط به بازیافت گیاهان، در اکوتیپ فردوس کمترین و در اکوتیپ‌های سبزوار و نیشابور بیشترین توان رشد مجدد مشاهده شد. همچنین همبستگی بالایی میان LT_{50tt} با LT_{50}های نشت، بقاء و$RDMT_{50}$ وجود داشت. با توجه به سریع تر بودن روش‌های نشت الکترولیت‌ها و بررسی ظاهری خسارت گیاه در لوله ازمایش، به نظر می‌رسد جهت ارزیابی تحمل به سرما در گیاهان شاخص‌های LT_{50el} و LT_{50tt} می‌توانند مورد توجه قرار داشته باشند.

واژه‌های کلیدی: بقاء، تنش سرما، رشد مجدد، نشت الکترولیت ها، نکروز گیاه

مقدمه

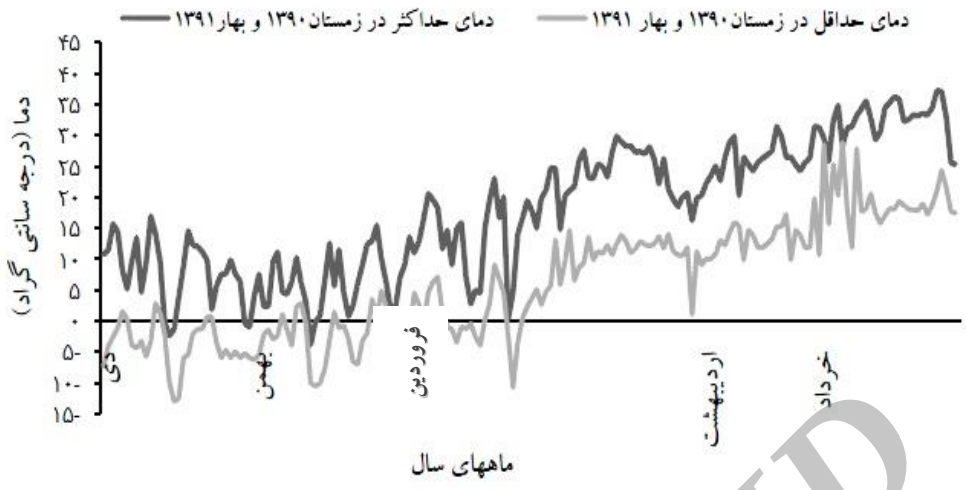
کشت گیاهان دارویی و معطر از دیرباز دارای جایگاه ویژه ای در نظام های سنتی کشاورزی ایران بوده و این نظام‌ها از نظر ایجاد تنوع و پایداری نقش مهمی ایفا کرده اند (۶). امروزه با توجه به محرز شدن اثرات سوء داروهای شیمیایی، بشر رویکرد مثبتی برای جایگزین کردن فرآورده‌های دارویی گیاهان، به جای داروهای شیمیایی پیدا کرده است. سیاهدانه (*Nigella sativa* L.) گیاهی دولپه، علفی، یکساله و متعلق به خانواده آلاله (Ranunculaceae) است (۴)، که برای آن خواص دارویی متعددی از قبیل شیر آوری، ضد نفخ، مسهل و ضد انگل، ضد صرع و ضد ویروس، ضد باکتری، ضد سرطان، مسکن و کاهش دهنده قند خون و شل کننده عضلات، سیتوتوکسیک و محرک ایمنی ذکر شده است (۱۲). علیرغم مصارف گسترده این گیاه در صنایع دارویی، بهداشتی و غذایی تاکنون تحقیقات چندانی در زمینه به زراعی آن صورت نگرفته است (۳).

تاریخ کاشت یکی از جنبه‌های مهم به زراعی محسوب می شود و شناخت مناسب ترین زمان کاشت برای هر منطقه در جهت ارتقاءکمی وکیفی محصولات ضروری است. نتایج تحقیقات نشان داده است که در تاریخ‌های کاشت زودتر، گیاهان به دلیل استفاده مطلوب از شرایط محیطی (مانند بارندگی، استقرار مناسب تر و طولانی تر بودن دوره رشد گیاه) عملکرد بیشتری داشته اند (۳ و ۱). همچنین در تاریخ کشت‌های زودتر بهاره (اول و نیمه فروردین) نسبت به تاریخ‌های کشت دیرتر (اول و نیمه اردیبهشت)، درصد جوانه زنی بذور و یکنواختی سبز مزرعه در گیاه سیاهدانه به دلیل دمای مناسب در زمان کاشت افزایش یافته است (۳).

گیاهان اغلب در فصول سرد با کوتاه شدن طول روز و کاهش تدریجی دما، تحمل سرماهای سخت را به تناسب نوع وگونه خود پیدا می کنند، اما در بهار به موازات افزایش دما و آغاز رشد مجدد، حساسیت گیاه به دماهای پایین افزایش می یابد.

۱، ۲، ۳ و ۴- به ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد، استادان و دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(*- نویسنده مسئول: (Email: nezami@um.ac.ir

Archive of SID
www.SID.ir



شکل۱- تغییرات دمای حداقل و حداکثر در مشهد طی زمستان ۱۳۹۰و بهار ۱۳۹۱

لذا سرماهای دیررس بهاره که به طور ناگهانی بعد ازگرم شدن نسبی هوا در فصل بهار رخ می دهد، ممکن است آسیب‌های شدیدی را برگیاهان وارد کند. دراین موقع گیاه ممکن است حتی از سرماهای ملایم، درصورتی که برای مدت طولانی دوام داشته باشند، صدمه ببینند (۷). لذا در مناطق سردی نظیر استان خراسان رضوی جهت کاشت زودتر بهاره گیاه سیاهدانه نیاز به شناخت و معرفی نمونه های متحمل به سرما می باشد. هرچند برای شناسایی نمونه‌های متحمل به سرما روش‌های متعددی وجود دارد، اما محققان اغلب سعی می‌کنند از یک روش سریع و موثر استفاده کنند. نظر به اینکه آزمایشاتی که در شرایط مزرعه انجام می‌شوند وقت گیر بوده و احتمال وقوع سرماهایی با شدت مناسب برای گزینش گیاهان متحمل به سرما کم می‌باشد، آزمایش در شرایط کنترل شده مورد توجه محققان قرار گرفته است (۱۶ و ۱۸). اساس ارزیابی گیاهان در اینگونه آزمایشات، اندازه گیری هدایت الکتریکی (نشت الکترولیت ها) از بافت‌های گیاهان (۱۵)، ارزیابی چشمی خسارت یخ زدگی (۱۹)، بررسی درصد بقاء و رشد مجدد بعد از طی کردن دوران بازیافت (۲۴) می‌باشد.

از آن جایی که تاکنون در زمینه تحمل به سرمای سیاهدانه تحقیقات چندانی صورت نگرفته است، آزمایش حاضر با هدف بررسی اثرات سرمای دیر رس بهاره بر این گیاه و شناسایی اکوتیپ‌های متحمل سیاهدانه درشرایط کنترل شده اجرا گردید.

مواد و روش ها

این آزمایش در دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایشی پنج اکوتیپ سیاهدانه (بیرجند، سبزوار، فردوس، گناباد و نیشابور) و هفت تیمار دمایی (صفر، ۱/۵- ۳- ۴/۵- ۶- ۷/۵- و ۹- درجه سانتی گراد) بودند. در اواسط اسفندماه بذور سیاهدانه در گلدان‌های پلاستیکی با قطر ۱۲سانتی متر (پر شده با نسبت برابر از خاک و ماسه و خاک برگ) با تراکم ۱۳ بوته در هر گلدان کشت شدند. گیاهان تا مرحله ۵-۴ برگی در شرایط آب و هوایی طبیعی و درفضای آزاد رشد یافتند. به منظور حفظ مواد آزمایشی، گلدان‌ها درشب هایی با دمای کمتر از ۲- درجه سانتی گراد (شکل ۱)، در شاسی سرد قرار داده شدند.

گستره تیمارهای دمایی و زمان اعمال سرما بر گیاهان بر اساس دماهای حداقل بهار طی هفده سال اخیر انتخاب و بر اساس ان در ۱۲ اردیبهشت ماه گلدان‌ها به فریزر ترموگرادیان منتقل شدند. دمای فریزر در ابتدای آزمایش پنج درجه سانتی گراد بود که پس از قرار دادن نمونه‌ها با سرعت دو درجه سانتیگراد در ساعت کاهش یافت. به منظور جلوگیری از پدیده فراسرد شدن[1] و ایجاد هستک یخ در گیاهان و اطمینان از اینکه مکانیزم از نوع تحمل است و نه اجتناب، در دمای ۲- درجه سانتیگراد اسپری INAB[2] بر روی نمونه‌ها به نحوی انجام شد که سطح گیاهان را قشری از این محلول پوشاند. به منظور ایجاد تعادل در دمای محیط، گیاهچه‌ها در هر تیمار دمایی به مدت یک ساعت نگهداری و برای جلوگیری از ذوب شدن سریع یخ، در طول شب به اتاقک سرد با دمای ۲±۵ درجه سانتی گراد منتقل

1- Super cooling
2- Ice Nucleation Active Bacteria

Archive of SID

www.SID.ir

شدند.

برای تعیین پایداری غشاء سیتوپلاسمی از روش اندازه گیری نشت الکترولیت‌ها استفاده شد. برای این منظور، روز بعد از اعمال تنش سرمایی، سه بوته از گیاهان هر گلدان بطور تصادفی انتخاب و از سطح خاک قطع شدند. بعد از شستشوی آنها با آب مقطر (برای حذف آلودگی های احتمالی)، بوته‌ها در داخل ظروف شیشه ای حاوی ۵۰ میلی لیتر آب دوبار تقطیر، قرار گرفتند. نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق قرار داده شده و سپس نشت اولیه با استفاده از دستگاه EC متر (مدل Jenway) اندازه گیری شد (EC_1). به منظور اندازه گیری میزان نشت کل الکترولیت‌ها در اثر مرگ سلول، این ظروف به مدت ۲۰ دقیقه در اتوکلاو (با فشار ۱/۲بار و دمای ۱۲۰ درجه سانتی گراد) قرار داده شدند. سپس نمونه‌ها به محیط آزمایشگاه منتقل شده و بعد از ۲۴ ساعت، درصد نشت نهایی (EC_2) اندازه گیری شد. درصد نشت الکترولیت‌ها (EL%) با استفاده از فرمول $EL\% = \frac{EC1}{EC2} \times 100$ محاسبه شد و درجه حرارت کشنده برای ۵۰ درصد بوته‌ها بر اساس نشت الکترولیت‌ها $LT50_{el}$[1]، با استفاده از رسم نمودار درصد نشت الکترولیت‌های هر اکوتیپ در مقابل دما با استفاده از معادله اندرسون تعیین شد (۱۰).

برای ارزیابی ظاهری خسارت تنش سرمایی بر بوته‌های سیاهدانه و تعیین همبستگی این روش با روش ارزیابی درصد بقاء گیاهان (جهت جایگزینی احتمالی این شاخص با درصد بقاء گیاهان و به منظور کوتاه کردن دوره‌ی ارزیابی)، نیز روز بعد از اعمال تنش سرما، دو گیاه از سطح خاک قطع شده و سپس به لوله های آزمایش رو بازی با قطر دو و ارتفاع ۲۰ سانتیمتر منتقل شدند. در پایین لوله آزمایش نیز از پنبه به عنوان بستر استقرار گیاه و نگهداری رطوبت استفاده شد. نمونه‌ها روزانه بازدید شده و براساس میزان نکروزه شدن آنها درجه بندی انجام شد. در این مطالعه برای گیاهان کاملا سالم درجه یک، ۲۵ درصد نکروزه شدن درجه دو، ۵۰ درصد نکروزه شدن درجه سه، ۷۵ درصد نکروزه شدن درجه چهار و بالاخره گیاه کاملا نکروزه شده درجه پنج در نظرگرفته شد (۱۹). همچنین در مرحله ای که در همه اکوتیپها میزان نکروز درجه سه یا بیشتر بود، دمای ۵۰ درصد کشندگی بر اساس روش لوله آزمایش (LT_{50tt})[2] تعیین شد.

برای تعیین درصد بقاء و بازیافت گیاهان، گلدان‌ها به گلخانه انتقال یافتند و پس از یک ماه درصد آسیب دیدگی برگ‌ها و درصد بقاء آنها ارزیابی شد. درصد آسیب دیدگی برگ ها پس از اعمال تنش سرمایی، با شمارش تعداد برگ‌های آسیب دیده هر بوته در پایان دوره بازیافت (A) و تعداد برگ قبل از اعمال سرما (B)، بر اساس معادله $(\frac{A}{B} \times ۱۰۰)$ محاسبه شد. درصد بقاء گیاهان از طریق شمارش تعداد بوته زنده در هر گلدان و از طریق معادله $\frac{C}{D} \times 100$ محاسبه شدکه در آن C، D به ترتیب تعداد بوته بعد و قبل از یخ زدگی می‌باشد. همزمان صفاتی نظیر تعداد برگ، سطح سبز (با استفاده از دستگاه LAM[3]) و وزن خشک آنها (پس از ۴۸ ساعت قرار داشتن در آون ۷۰ درجه سانتی گراد) اندازه گیری شد. برای محاسبه وزن خشک بوته‌ها برگ‌های آسیب دیده ی ناشی از تنش سرمایی که دچار نکروز شده و هنوز تعدادی از آن‌ها بر روی گیاه باقی مانده بودند حذف شدند. دمای ۵۰ درصد کشندگی بر اساس درصد بقاء (LT_{50su})[4] و دمای کاهنده ۵۰ درصد وزن خشک گیاهان ($RDMT_{50}$[5]) نیز پس از ترسیم نمودار داده های هر کدام از صفات مذکور در مقابل دماهای مورد بررسی تعیین شد.

تبدیل داده‌ها در صورت نیاز صورت گرفت و پس از ان تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزارهای Minitab وMSTAT-C انجام شد و رسم شکل‌های مربوط توسط نرم افزار Excel صورت گرفت. مقایسه‌ی میانگین داده‌ها نیز با استفاده از آزمونLSD در سطوح احتمال یک و پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

نشت الکترولیت ها: اثرات متقابل اکوتیپ و دماهای پایین بر درصد نشت الکترولیت‌ها معنی دار ($P\leq ۰/۰۱$) بود، بطوری که اکوتیپ نیشابور در دمای صفر درجه سانتی گراد حداقل و اکوتیپ فردوس در دمای ۹- درجه سانتی گراد حداکثر میزان نشت الکترولیت‌ها را داشتند (شکل ۲).

تاثیر تنش سرما در اختلال فعالیت غشاهای سلولی و به دنبال آن نشت الکترولیت ها، متاثر از تحمل به یخ زدگی ارقام مختلف گیاهی است (۱۳)، لذا اندازه گیری میزان نشت الکترولیت‌ها از بافت‌ها یا اندام‌های گیاهی تحت تنش سرما، معیار مناسبی برای اندازه گیری میزان تحمل گیاهان به تنش سرما ذکر شده است (۸). شیب افزایش نشت الکترولیت‌ها در اکوتیپ‌های گناباد و نیشابور کمتر از سایر اکوتیپ‌ها بود، با وجود این افزایش شدید نشت الکترولیت‌ها در اغلب اکوتیپ‌ها (به جز اکوتیپ بیرجند) از دمای۶- درجه سانتی گراد آغاز شد. رسیدن به حداکثر درصد نشت الکترولیت‌ها نیز در همه اکوتیپ‌ها بجز گناباد و فردوس در دمای ۷/۵- درجه سانتی گراد بود. به عبارت دیگر در اکوتیپ‌های بیرجند و

1- Lethal Temperature for 50% of plants according to the Electrolyte Leakage percentage
2- Lethal Temperature for 50% of plant according to the plant necrosis in Test Tube

3- Leaf Area Meter
4-Lethal Temperature for 50% of plants according to the Survival percentage
5- Reduced Dry Matter Temperature 50

Archive of SID

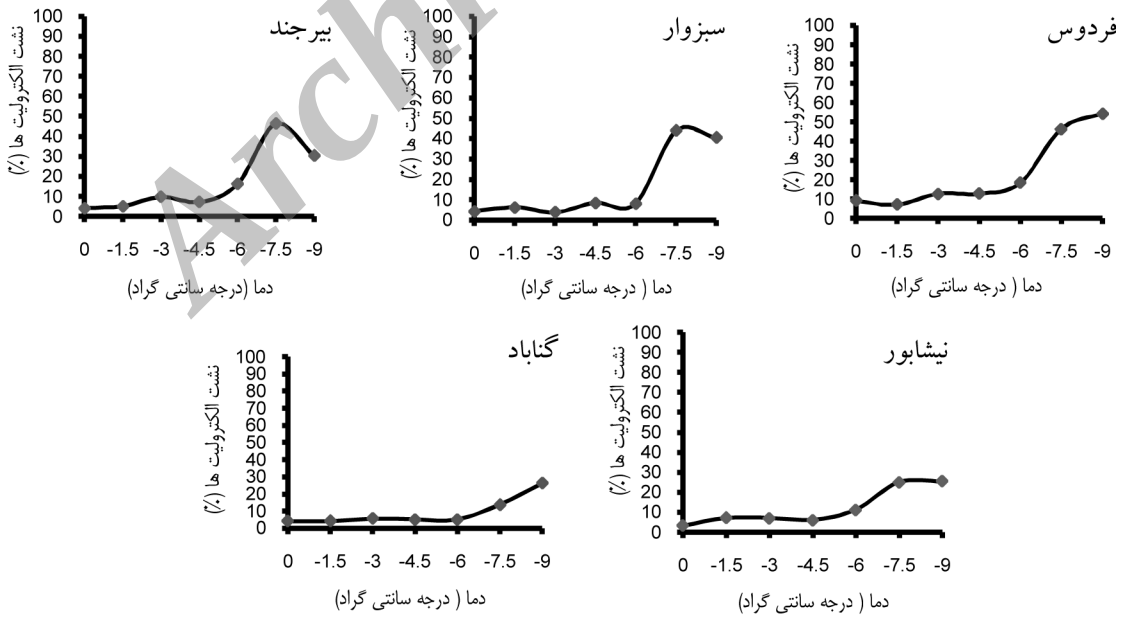
www.SID.ir

سبزوار که شیب افزایش میزان نشت الکترولیت‌ها شدیدتر بوده است، رسیدن به حداکثر درصد نشت الکترولیت‌ها نیز در دمای بالاتری اتفاق افتاد. همچنین در تمام دماها میزان نشت الکترولیت‌ها در اکوتیپ فردوس نسبت به سایر اکوتیپ‌ها بیشتر بود. در مطالعات پیشین مشاهده شده است که شیب منحنی نشت الکترولیت‌ها در مقابل دمای یخ زدگی در ارقام مقاوم کمتر از ارقام حساس به سرما است (۱۳). لذا در شرایط تنش سرما اکوتیپ‌های مقاوم در مقایسه با اکوتیپ‌های حساس از سرعت نشت کمتری برخوردار هستند. در مطالعه تحمل به یخ زدگی ارقام جو در مراحل گیاهچه ای نیز تنوع در ارقام از نظر تحمل به سرما و میزان نشت الکترولیت‌ها مشاهده شد بطوری که ارقام کارون کویر، ماکویی، لخت و والفجر تا دمای ۱۲- درجه سانتی گراد تحت تاثیر تنش یخ زدگی قرار نگرفتند، در حالی که در رقم ریحان تحت دمای ۸- درجه سانتی گراد میزان نشت الکترولیت‌ها نسبت به سایر ارقام افزایش داشت (۹).

ژوان و همکاران (۲۴) دمایی را که در آن ۵۰ درصد نشت الکترولیت‌ها اتفاق می‌افتد، به عنوان دمای ۵۰ درصد کشندگی بر اساس نشت الکترولیت‌ها (LT_{50el}) مورد استفاده قرار دادند. در این بررسی از نظر شاخص ذکر شده نیز بین اکوتیپ‌های سیاهدانه اختلاف معنی داری ($P\leq ۰/۰۵$) وجود داشت و مقدار آن در اکوتیپ گناباد ۱۷ درصد کمتر از دو اکوتیپ فردوس و بیرجند بود (جدول۱). اندرسون و همکاران (۱۱) با بررسی LT_{50el} و رشد مجدد ارقام مختلف برمودا‌گراس (*Cynodo doctylon* L.) به این نتیجه رسیدند که بین ارقام مختلف تفاوت معنی داری وجود داشت و دمای ۵۰ درصد کشندگی آنها از ۷- تا ۱۱- درجه سانتی گراد متغیر بود.

ارزیابی خسارت تنش سرما برگیاهان منتقل شده به لوله آزمایش: روند تغییرات درجه نکروز گیاه سیاهدانه در دماهای مختلف تا حدود دو هفته پس از اعمال تنش سرمایی و قرار گرفتن در لوله آزمایش در شکل ۳ آمده است. همانگونه که ملاحظه می‌شود تا روز پنجم کاهش دما تا ۶- درجه سانتی گراد تاثیر چندانی بر درجه نکروز گیاهان نداشت ولی کاهش دما به کمتر از آن افزایش درجه نکروز گیاهان را در پی داشت. سیاهمرگویی و همکاران (۵) نیز اظهار داشتند که بوته‌های رازیانه ای که در دمای صفر قرار داشتند در مقایسه با سایر تیمارها دارای درجه نکروز کمتری بودند و بیشترین درجه نکروز در دمای ۱۵- درجه سانتی گراد مشاهده شد.

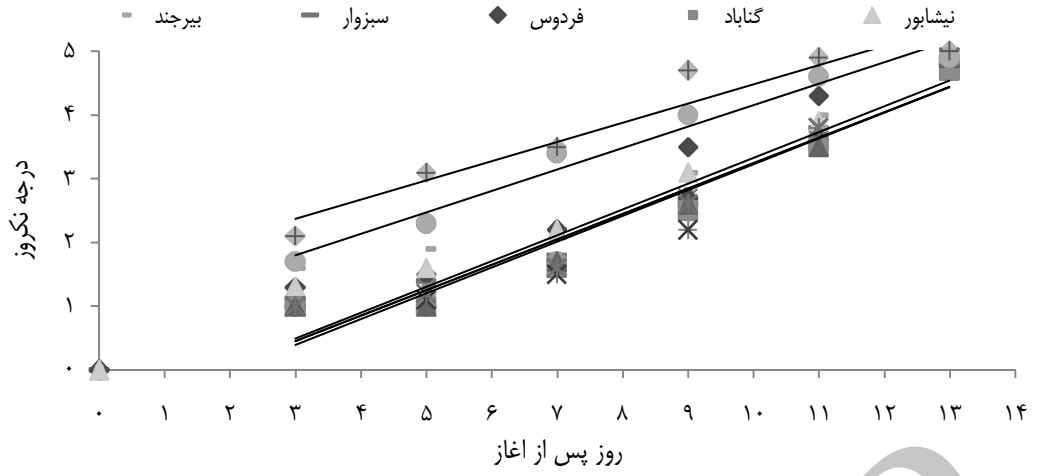
در روزهای سوم و پنجم ارزیابی، از نظر درجه نکروز بین اکوتیپ‌های سیاهدانه تا دمای ۴/۵- درجه سانتی گراد تفاوت معنی داری وجود نداشت (شکل۴) و افزایش شدت سرما بعد از آن باعث بروز تفاوت در درجه نکروز گیاهان شد. در حالی که در روزهای بعد، تفاوت در درجه نکروز از دمای صفر درجه سانتی گراد به بعد مشهود بود، بطوری که اکوتیپ فردوس بیشترین و اکوتیپ‌های بیرجند و سبزوار کمترین درجه نکروز را داشتند. اکوتیپ نیشابور نیز همواره درجه نکروز حد واسطی داشت. در اکوتیپ‌های بیرجند، فردوس و نیشابور اثر کاهش دما بر افزایش درجه نکروز از روز سوم آشکار شد. در مقایسه با اکوتیپ‌های مذکور، در اکوتیپ سبزوار و گناباد در روز سوم تمام گیاهان سالم (درجه یک) بودند (شکل ۴).



شکل ۲- درصد نشت الکترولیت‌ها از اکوتیپ‌های سیاهدانه تحت تاثیر دماهای پایین در شرایط کنترل شده، LSD در سطح احتمال یک درصد، معادل ۵/۱ می‌باشد.

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۳- روند تغییرات روزانه‌ی درجه نکروز اکوتیپ‌های سیاهدانه پس از اعمال تنش سرمایی و قرارگرفتن در لوله آزمایش

بررسی خصوصیات ظاهری سیاهدانه تحت تاثیر تنش سرما نشان داد که ارزیابی خسارت در طول یک هفته اول بعد از تنش قابل رؤیت و امکان پذیر است که در مقایسه مدت زمان برای بررسی بقاء گیاهان (سه هفته تا یک ماه) زمان بسیار کوتاه تری می‌باشد. همبستگی درجه نکروز گیاهان با درصد نشت الکترولیت‌ها نشان داد که درجه نکروز در روز هفتم همبستگی بالایی (*** r= ۰/۷۲) با درصد نشت الکترولیت‌ها داشت (جدول۲). لذا به نظر می‌رسد که این روز علاوه بر کاهش طول مدت دوره ارزیابی به دلیل امکان تعیین LT_{50} برای همه اکوتیپ‌ها و همبستگی مناسب با درصد نشت الکترولیت‌ها بهترین مرحله ارزیابی خصوصیات ظاهری باشد. مطالعه سیاهمرگویی و همکاران (۵) در خصوص ارزیابی خسارت ظاهری اثر تنش یخ زدگی بر گیاه رازیانه نیز نشان داد که روز ششم جهت بررسی درجه نکروز گیاهان مناسب می‌باشد. با توجه به ایجاد بیش از ۵۰ درصد نکروز در گیاهان مورد بررسی در روز هفتم، دمای ۵۰ درصد کشندگی بر اساس درجه نکروز گیاهان در لوله آزمایش (LT_{50tt}) در این روز تعیین شد. از نظر این شاخص بین اکوتیپ‌های سیاهدانه اختلاف معنی داری ($P\leq$۰/۰۵) مشاهده شد و مقدار آن در اکوتیپ سبزوار ۱۵ درصد کمتر از اکوتیپ فردوس بود (جدول ۱).

ارزیابی خسارت سرما بر برگ گیاهان در پایان دوره بازیافت: درصد خسارت برگ در اکوتیپ‌های سیاهدانه در پایان دوره بازیافت، به طور معنی داری ($P\leq$۰/۰۱) تحت تاثیر سرما قرار گرفت. کمترین خسارت در اکوتیپ‌های نیشابور و گناباد در دمای صفر درجه سانتی گراد و بیشترین آن در دمای ۹- درجه سانتی گراد در اکوتیپ نیشابور و فردوس مشاهده شد (شکل ۵).

در دو اکوتیپ نیشابور و گناباد کاهش دما به کمتر از ۳- درجه سانتی گراد سبب افزایش خسارت سرما بر برگهای گیاه شد، در صورتی که در اکوتیپ‌های بیرجند و فردوس کاهش دما تا ۴/۵- درجه سانتی گراد تاثیر چندانی بر بروز خسارت در برگ‌ها نداشت، اما با ادامه روند کاهش دما، شیب افزایش خسارت در اکوتیپ فردوس نسبت به اکوتیپ بیرجند بیشتر بود، به طوری که در دمای ۹- درجه سانتی گراد کلیه برگ‌های آن از بین رفتند. همچنین در دمای ۹- درجه سانتی گراد اکوتیپ سبزوار با کمترین درصد آسیب بهترین تحمل را نسبت به این دما نشان داد (شکل۵).

جدول۱- درجه حرارت کشنده ۵۰ درصد و رتبه بندی اکوتیپ‌های سیاهدانه براساس درصد نشت الکترولیت ها، ارزیابی خصوصیات ظاهری، درصدبقاء و وزن خشک آنها

	LT50(°C)							
اکوتیپ	نشت الکترولیت ها	رتبه	لوله آزمایش	رتبه	بقاء	رتبه	$RDMT_{50}$	رتبه
بیرجند	-۶/۴	۴	-۶/۸	۴	-۷/۵	۳	-۸/۴	۲
سبزوار	-۶/۹	۲	-۷/۶	۱	-۸/۸	۱	-۹/۰*	۱
فردوس	-۶/۴	۴	-۶/۶	۵	-۵/۷	۵	-۵/۹	۵
گناباد	-۷/۵	۱	-۷/۴	۲	-۷/۴	۴	-۷/۱	۴
نیشابور	-۶/۶	۳	-۷/۱	۳	-۸/۲	۲	-۷/۴	۳
LSD	۱/۰		۰/۵		۰/۶		۰/۴	

*- تغییرات وزن خشک اکوتیپ سبزوار در گستره دماهای مورد بررسی به کمتر از ۵۰ درصد وزن خشک در دمای صفر نرسید.

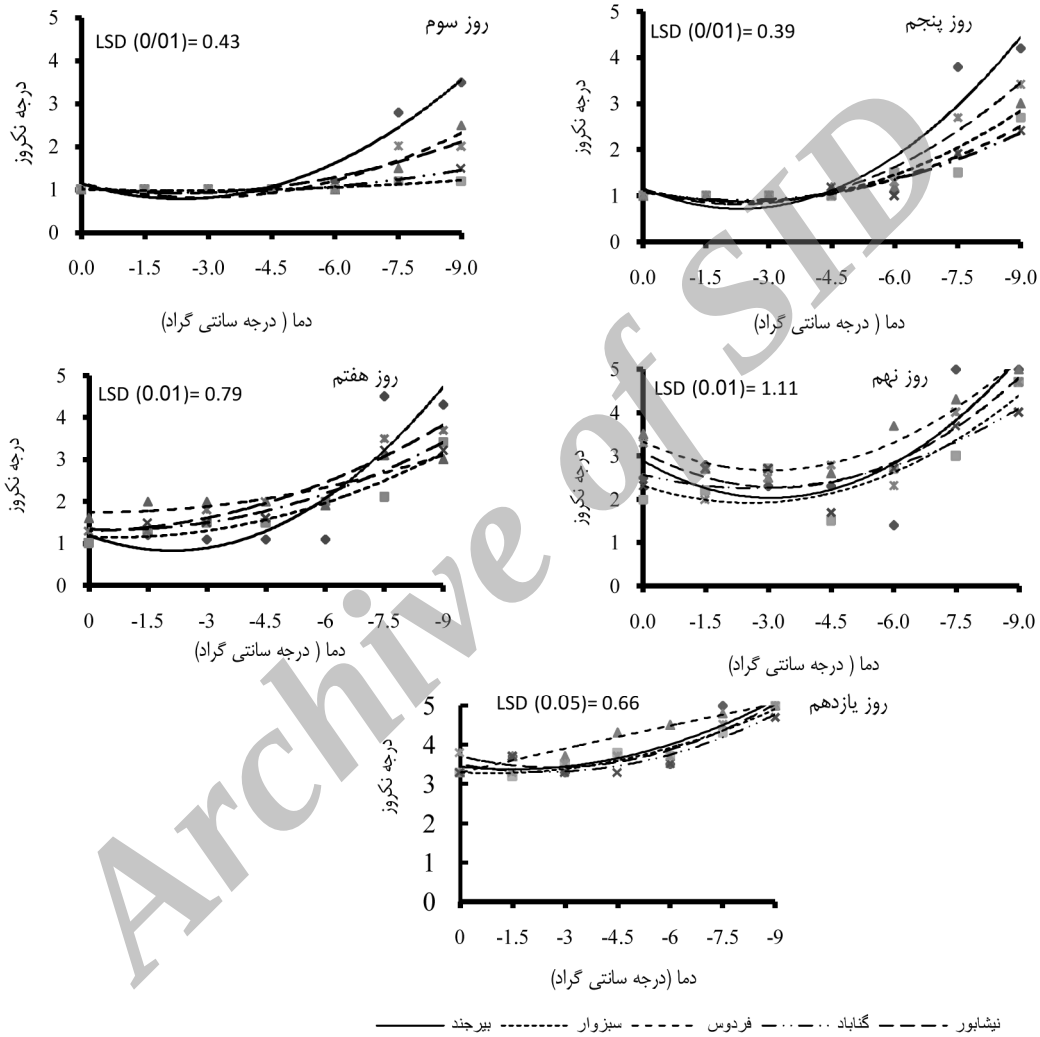
Archive of SID

www.SID.ir

جدول۲- مقادیر همبستگی درجه نکروز در طول روزهای ارزیابی خسارت تنش سرما بر گیاهان سیاهدانه در لوله آزمایش با درصد نشت الکترولیت‌ها و درصد بقاء آن ها

	درجه نکروز در					
	روز سوم	روز پنجم	روز هفتم	روز نهم	روز یازدهم	روز سیزدهم
درصد بقاء	-۰/۵۳***	-۰/۵۹***	-۰/۷۰***	-۰/۶۵***	-۰/۶۲***	-۰/۱۲*
درصد نشت الکترولیت ها	۰/۵۷***	۰/۶۶***	۰/۷۲***	۰/۶۳***	۰/۶۷***	۰/۱۹ns

***،** وns- به ترتیب معنی‌دار در سطوح ۰/۰۰۱و ۰/۰۵و غیر معنی دار



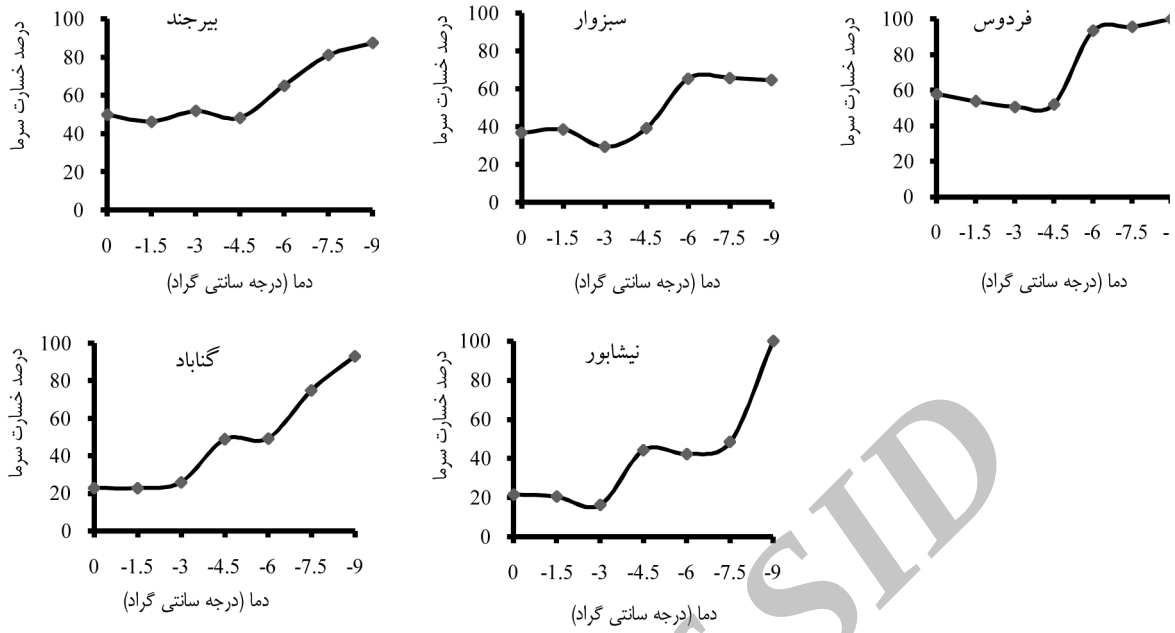
شکل ٤- روند تغییرات درجه نکروز اکوتیپ‌های سیاهدانه در لوله آزمایش تحت تاثیر دماهای پایین

همبستگی بین درصد خسارت برگ‌ها با درصد نشت الکترولیت‌ها و درصد بقاء گیاهان، معنی دار (به ترتیب r=۰/۷۱*** و r= -۰/۸۵***) بود، به عبارتی با افزایش درصد نشت الکترولیت ها، درصد خسارت بر برگ گیاهان نیز افزایش یافته و با افزایش آسیب به برگ‌ها، درصد بقاء گیاهان کاهش یافته است (شکل۶).

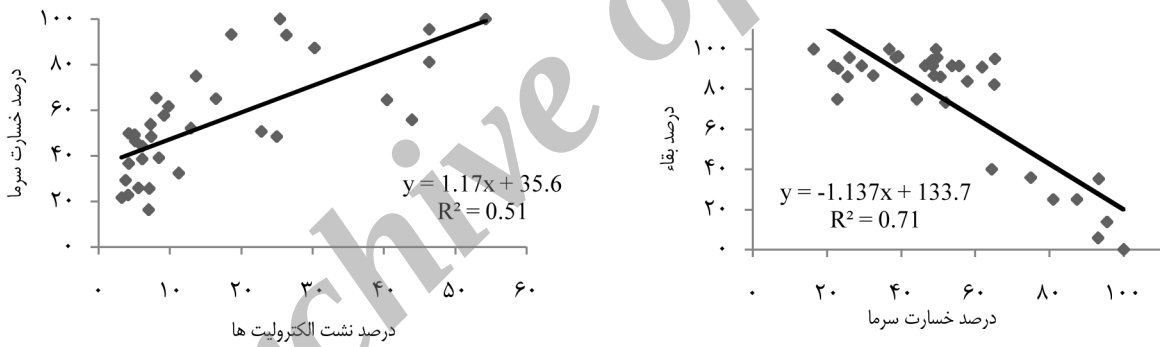
درصد بقاء: اثرات متقابل اکوتیپ و دما بر درصد بقاء معنی دار (P≤۰/۰۱) بود. در بررسی روند درصد بقاء تحت تاثیر دماهای پایین در اکوتیپ‌های سیاهدانه ملاحظه شد که تا دمای ۴/۵- درجه سانتی گراد درصد مرگ گیاهان تقریبا ثابت بوده است، ولی با کاهش دما در سه اکوتیپ بیرجند، نیشابور و فردوس درصد بقاء روند کاهشی پیدا کرد (شکل ۷).

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۵- روند تغییرات درصد خسارت برگ‌ها با کاهش دما در اکوتیپ‌های سیاهدانه در پایان دوره بازیافت. LSD در سطح احتمال یک درصد، معادل ۱۷/٦می باشد.



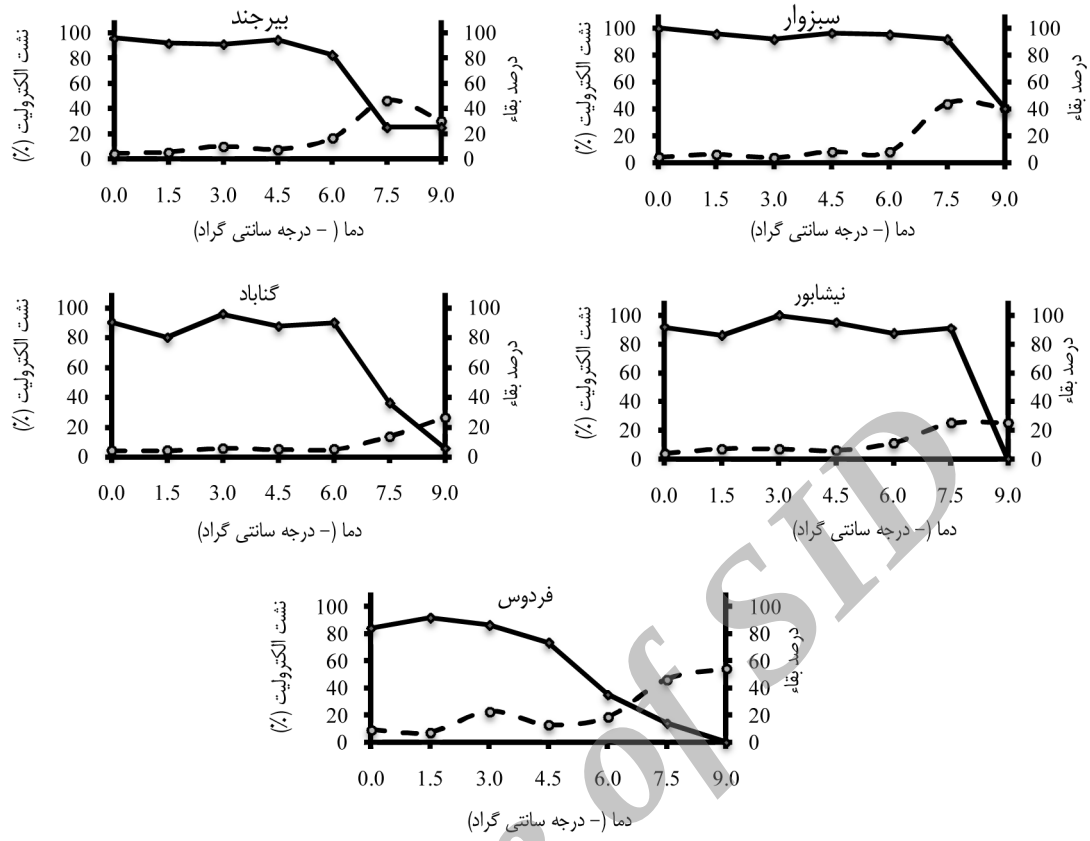
شکل ٦- همبستگی بین درصد خسارت تنش سرمایی با درصد نشت الکترولیت‌ها و درصد بقاء در سیاهدانه

در صورتی که کاهش درصد بقاء در دو اکوتیپ گناباد و سبزوار به ترتیب از دمای ۶- و ۷/۵- درجه سانتی گراد آغاز شد. با وجود این شیب کاهش درصد بقاء با کاهش دما در اکوتیپ‌های نیشابور و گناباد از سایر اکوتیپ‌ها شدید تر بود. در اکوتیپ نیشابور کاهش معنی دار بقاء از دمای کمتری (۷/۵- درجه سانتی گراد) آغاز شد و گیاهان علیرغم تحمل نسبی کاهش دما تا ۷/۵- درجه سانتی گراد، در دمای ۹- درجه سانتی گراد کاملا از بین رفتند. اکوتیپ سبزوار نیز نسبت به سایر اکوتیپ ها، کاهش دما را به خوبی تحمل کرد و در دمای ۹- درجه سانتی گراد که هیچ گیاهی از اکوتیپ‌های فردوس، گناباد و نیشابور باقی نماند، درصد بقاء آن ۴۰/۳ درصد بود. اکوتیپ فردوس نیز در تمامی دماهای آزمایش دارای درصد بقاء کمتری از سایر اکوتیپ‌ها بود و روند کاهشی درصد بقاء آن با شیب ملایمی تداوم داشت. در بررسی راشد محصل و همکاران (۲۳) روی دو اکوتیپ رازیانه (*Foeniculum vulgare*) نیز از نظر درصد بقاء بین اکوتیپ‌های رازیانه تفاوت معنی داری (P<۰/۰۵) وجود داشت. در مطالعه ایشان هر چند با کاهش دما از درصد بقاء گیاهان کاسته شد، ولی در دمای ۹- درجه سانتی گراد درصد بقاء اکوتیپ گناباد ۳۰ درصد بیشتر از اکوتیپ کرمان بود.

اکوتیپ‌های سیاهدانه از نظر درصد نشت الکترولیتی که در آن ۵۰ درصد مرگ گیاهان اتفاق افتاد متفاوت بودند، بطوری که در اکوتیپ‌های سبزوار، بیرجند و نیشابور ۵۰ درصد مرگ گیاهان زمانی اتفاق افتاد که به ترتیب ۴۰، ۳۶ و ۲۵ درصد الکترولیت‌ها به خارج از سلول نشت کردند، در حالیکه در اکوتیپ فردوس و گناباد این مقدار نشت الکترولیت به ترتیب حدود ۱۸ و ۱۰ درصد بود.

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۷-روند درصد بقاء (◊) و درصد نشت الکترولیت‌ها (○) در اکوتیپ‌های سیاهدانه تحت تاثیر دماهای پایین در شرایط کنترل شده

لذا در اکوتیپ‌های بیرجند، سبزوار و گناباد نشت بیشتر الکترولیت‌ها منجر به مرگ ۵۰ درصد گیاهان شده است، در حالی که در دو اکوتیپ دیگر نشت کمتر الکترولیت ها، مرگ ۵۰ درصدی آن‌ها را به دنبال داشته است. اکوتیپ سبزوار علیرغم نشت زیاد الکترولیت‌ها درصد بقاء خوبی حتی در دمای ۹- درجه سانتی گراد داشته است، در صورتی که در اکوتیپ‌های فردوس و گناباد با وجود نشت کم، درصد بقاء کاهش شدیدی داشته است که به نظر می‌رسد به دلیل حساسیت بیشتر این اکوتیپ‌ها به تنش سرما باشد (شکل۷).

از نظر دمای کشنده ۵۰ درصد گیاهان بر اساس درصد بقاء (LT_{50su}) نیز بین اکوتیپ‌ها تفاوت معنی داری ($P\leq$۰/۰۱) مشاهده شد، به طوری که در اکوتیپ سبزوار مقدار آن ۵۴ درصد کمتر از اکوتیپ فردوس بود. لذا بر اساس این شاخص، این دو اکوتیپ به ترتیب متحمل ترین و حساس ترین اکوتیپ‌ها نسبت به تنش سرما شناخته شدند. در اکوتیپ بیرجند و گناباد شاخص مذکور نسبت به اکوتیپ سبزوار به ترتیب ۱/۳ و۱/۴ درجه سانتی گراد بالاتر بود و بین اکوتیپ نیشابور با سبزوار نیز تفاوت معنی داری مشاهده نشد (جدول۱). در آزمایش نظامی و همکاران (۲۰)، تحمل به یخ زدگی شش اکوتیپ زیره سبز (*Cuminum cyminum* L.) در شرایط کنترل شده مورد بررسی قرار گرفت و بر اساس این شاخص اکوتیپ‌های قوچان و قائن به ترتیب با LT_{50su} معادل ۱۱/۸- و ۱۰/۸- درجه سانتی گراد متحمل ترین و اکوتیپ‌های تربت حیدریه و راجستان با دمای معادل ۹/۳- درجه سانتی گراد حساس ترین اکوتیپ‌ها نسبت به تنش یخ زدگی شناخته شدند. در مطالعه جانعلی زاده (۲) نیز اکوتیپ‌های بارهنگ سرنیزه ای (*Plantago lanceolata* L.) مورد بررسی از نظر این شاخص متفاوت بودند و اکوتیپ‌های مشهد و بیرجند دارای کمترین و بیشترین LT_{50su} (به ترتیب معادل ۱۵/۸- و ۱۰/۵- درجه سانتی گراد) بودند.

توان بازیافت گیاهان: در بررسی صفات مرتبط با توان بازیافت گیاهان، مشاهده شد که اثر تنش سرما بر اکوتیپ‌های سیاهدانه به طور معنی داری ($P\leq$۰/۰۱) متفاوت بود (جدول۳). در اکوتیپ فردوس با کاهش دما صفات مرتبط با توان بازیافت نیز کاهش یافتند، اما در اکوتیپ نیشابور و بیرجند این وضعیت مشاهده نشد و گیاهان قادر بودند که گستره ای از تنش را تحمل کنند. سطح سبز و وزن خشک اکوتیپ گناباد با کاهش دما به کمتر از دمای ۶-

Archive of SID

www.SID.ir

درجه سانتی گراد کاهش شدیدی داشت در حالیکه در اکوتیپ سبزوار با کاهش دما تا ۳- درجه سانتی گراد توان بازیافت گیاهان افزایش نسبی داشت و حتی وزن خشک بوته در دمای ۹- درجه سانتی گراد با دمای صفر درجه سانتی گراد تفاوت چندانی را نشان نداد، در صورتی که در دمای ۹- درجه سانتی گراد وزن خشک اکوتیپ‌های بیرجند و گناباد به ترتیب ۶۵/۳ و ۸۶/۲ درصد نسبت به دمای صفر درجه سانتی گراد کاهش یافت (جدول۳). چن و همکاران (۱۴) مشاهده کردند که دماهای ۱۸- و ۲۰- درجه سانتی گراد رشد مجدد ارقام نورستار و کاپل گندم را نسبت به شاهد به ترتیب ۸۰ و ۹۰ درصد کاهش داد. در بررسی تحمل به یخ زدگی چندین ژنوتیپ یونجه و شبدر یکساله توسط هکنبای و همکاران (۱۷) نیز با کاهش دما از ۱- تا ۱۳- درجه سانتی گراد ماده خشک گیاهان به طور معنی داری کاهش داشته است.

با توجه به اینکه بازیافت گیاه پس از اعمال یخ زدگی معیار مهمی در ارزیابی تحمل به سرمای گیاهان است، اکوتیپ سبزوار از نظر این شاخص برتری محسوسی نسبت به سایر اکوتیپ‌ها داشت، ضمن اینکه اکوتیپ نیشابور نیز تحمل خوبی از این نظر نشان داده است. در بررسی کیان و همکاران (۲۲) مشاهده شد که با کاهش دماهای یخ زدگی رشد مجدد اندام‌های هوایی در ارقام مختلف بوفالوگراس[1] تحت تاثیر قرار گرفت، به طوری که با کاهش دما از ۸- به ۱۲- درجه سانتی گراد، کاهش وزن خشک در حساس ترین رقم حدود ۶۰ درصد بوده است.

بین اکوتیپ‌های سیاهدانه از نظر دمای کاهنده ۵۰ درصد وزن خشک گیاه تفاوت معنی داری ($P\leq 0/01$) وجود داشت، بطوری که اکوتیپ‌های سبزوار و بیرجند کمترین و فردوس بیشترین مقدار این شاخص را داشتند (جدول۱). بین سایر اکوتیپ‌ها تفاوت معنی داری از این نظر مشاهده نشد. اکوتیپ سبزوار که از نظر شاخص LT_{50el} و LT_{50su}، دمای ۵۰ درصد کشندگی پایینی را به خود اختصاص داد بود، در دوره بازیافت نیز از تولید ماده خشک بیشتری برخوردار بود و کاهش دما در محدوده دماهای آزمایش بر وزن خشک این اکوتیپ نسبتاً بی تاثیر بود، بطوری که در گستره دماهای آزمایش وزن خشک آن به کمتر از ۵۰ درصد وزن خشک تیمار شاهد (دمای صفر درجه سانتی گراد) نرسید. سایر محققان نیز اظهار داشته اند که گیاهانی که LT_{50} پایین تری دارند از تولید ماده خشک بیشتری نیز پس از رشد مجدد برخوردارند (۹ و ۱۷).

همچنین در این مطالعه، مشابه با آزمایش کاردونا و همکاران (۱۳) بر مبنای شاخص‌های LT_{50}، اکوتیپهای سیاهدانه رتبه بندی شدند (جدول۱). رتبه بندی اکوتیپ‌ها بر اساس همه شاخص‌ها در اغلب موارد مشابه بود، به عبارت دیگر اکوتیپ فردوس بر اساس هر چهار شاخص بالاترین LT_{50} را داشت و حساس ترین اکوتیپ مورد مطالعه بود و اکوتیپ سبزوار ضمن داشتن رتبه‌ی بالاتر از نظر این شاخص‌ها (به جز شاخص نشت الکترولیت ها) متحمل ترین اکوتیپ شناخته شد (جدول۱). اکوتیپ گناباد که بر اساس شاخص‌های LT_{50el} و LT_{50tt} ، تحمل نسبتاً خوبی را نشان داده بود، براساس دوشاخص دیگر (LT_{50su} و $RDMT_{50}$)، دارای رتبه چهارم در بین پنج اکوتیپ بود،که بیانگر این است که دو شاخص اول برای ارزیابی اولیه تحمل به سرما مناسب هستند. در مجموع به نظر می‌رسد در استفاده از شاخص LT_{50el} باید به این نکته توجه کرد که نشت ۵۰ درصد الکترولیت‌ها از بافت‌های گیاهی لزوماً به معنی مرگ ۵۰ درصدی گیاهان نیست و به همین جهت اندازه گیری هدایت الکتریکی و تعیین درجه حرارت کشنده بر اساس صفت مذکور تنها می‌تواند برای ارزیابی مراحل ابتدائی خسارت ناشی از یخ زدگی مفید باشد (۲۱) درحالیکه تعداد بوته‌های باقیمانده پس از اعمال تیمار یخ زدگی نشان دهنده خسارت گسترده به اجزای سلولی و در نتیجه بقای کل گیاه می‌باشد (۹) و لذا تعیین LT_{50} گیاهان ازطریق بررسی درصد بقاء و توان بازیافت آنها نتایج معتبرتری را فراهم می‌سازد. دراین مطالعه بین درصد نشت الکترولیت‌ها و درصدبقاء با شاخصهای مورد مطالعه همبستگی خوبی مشاهده شد (جدول۴). البته همبستگی کمتری بین درصد بقاء، LT_{50su} و $RDMT_{50}$ با LT_{50el} و LT_{50tt} مشاهده شدکه تاییدی بر نتایج قبلی در مورد کارایی این شاخص‌ها در مراحل اولیه پس از تنش سرمایی می‌باشد (جدول۴).

نتیجه گیری

تنش سرمایی سبب افزایش نشت الکترولیت ها، آسیب برگ‌ها و کاهش درصد بقاء و توان بازیافت گیاه سیاهدانه شد. روش نشت الکترولیت‌ها با بقاء گیاهان همبستگی خوبی داشت، اما باید توجه داشت که نشت از بافت‌های گیاهی لزوماً به معنای آسیب غیر قابل بازگشت به آن نیست. نتایج حاصل از ارزیابی خصوصیات ظاهری گیاهان نیز با نتایج حاصل از نشت الکترولیت‌ها و بقاء گیاهان در شرایط گلخانه، همبستگی نسبتاً مطلوبی داشت و میزان تحمل گیاهان به سرما نیز در مدت زمان کمتری آشکار شد. با وجود این نتایج آن تا دمای ۶- درجه سانتی گراد مطابقت بیشتری با نتایج حاصل از بقاء و بازیافت گیاهان داشت. علاوه بر این نتایج حاصل از شاخص $RDMT_{50}$، با نتایج بقاء گیاهان مطابقت بسیار خوبی داشت، لذا به نظر می‌رسد استفاده از این شاخص برای ارزیابی تحمل گیاهان به سرما مفید باشد. بر اساس نتایج حاصل از این آزمایش، اکوتیپ‌های سبزوار و نیشابور تحمل به سرمای بیشتری از سایر اکوتیپ‌ها داشتند. پیشنهاد می‌شود که در بررسی‌های آینده، تحمل به سرمای دیررس اکوتیپ‌های سیاهدانه با استفاده از ارزیابی

1- *Buchloe dactyloides*

Archive of SID

www.SID.ir

خصوصیات ظاهری، نشت الکترولیت‌ها و درصد بقاء گیاهـان کشـت شده در شرایط مزرعه ارزیابی گردد.

جدول ۳- میانگین تعداد برگ، سطح سبز و وزن خشک اکوتیپ‌های سیاهدانه در پایان دوره بازیافت در شرایط گلخانه، پس از اعمال تنش سرمایی

اکوتیپ	تیمار	تعداد برگ	سطح سبز (cm^{-2})	وزن خشک (mg)
بیرجند	۰	۶/۹	۳/۴	۲۹/۱
	-۱/۵	۷/۴	۳/۴	۲۷/۸
	-۳	۵/۷	۲/۸	۲۲/۹
	-۴/۵	۵/۵	۲/۴	۱۹/۱
	-۶	۵/۹	۲/۸	۲۱/۷
	-۷/۵	۵/۲	۲/۴	۲۱/۸
	-۹	۴/۸	۱/۴	۱۰/۱
سبزوار	۰	۶/۸	۳/۰	۲۶/۸
	-۱/۵	۷/۵	۴/۱	۳۶/۵
	-۳	۸/۴	۴/۰	۳۸/۷
	-۴/۵	۸/۲	۳/۹	۳۴/۵
	-۶	۵/۴	۱/۹	۲۱/۱
	-۷/۵	۵/۳	۱/۵	۲۱/۶
	-۹	۳/۱	۰/۹	۲۲/۰
فردوس	۰	۷/۱	۴/۲	۳۷/۱
	-۱/۵	۶/۲	۲/۷	۲۴/۷
	-۳	۶/۵	۲/۷	۲۹/۳
	-۴/۵	۷/۰	۳/۰	۳۰/۷
	-۶	۳/۶	۱/۷	۱۹/۸
	-۷/۵	۳/۵	۰/۵	۰/۹
	-۹	۰	۰	۰
گناباد	۰	۶/۴	۲/۵	۱۹/۶
	-۱/۵	۵/۸	۲/۳	۲۲/۷
	-۳	۶/۱	۲/۲	۱۶/۸
	-۴/۵	۵/۸	۲/۸	۱۵/۷
	-۶	۶/۱	۲/۴	۱۹/۴
	-۷/۵	۴/۹	۱/۶	۱۱/۵
	-۹	۰	۰/۲	۲/۷
نیشابور	۰	۶/۷	۳/۴	۲۷/۰
	-۱/۵	۷/۰	۳/۰	۲۰/۹
	-۳	۷/۴	۳/۱	۲۱/۷
	-۴/۵	۷/۲	۲/۵	۲۰/۷
	-۶	۶/۸	۲/۳	۲۲/۹
	-۷/۵	۶/۳	۲/۵	۲۰/۲
	-۹	۰	۰	۰
	LSD(۰/۰۱)	۲/۱	۰/۹	۷/۸

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ٤- همبستگی بین LT_{50}ها بر اساس درصد نشت الکترولیت ها، ارزیابی خصوصیات ظاهری خسارت در لوله آزمایش، درصد بقاء و وزن خشک گیاه سیاهدانه

	۱	۲	۳	٤	٥	٦
۱- LT_{50el}	۱					
۲- LT_{50tt}	۰/۴۱*	۱				
۳- LT_{50su}	۰/۲۶*	۰/۵۵***	۱			
۴- $RDMT_{50}$	۰/۰۶ns	۰/۴۶***	۰/۸۴***	۱		
۵- درصد نشت الکترولیت ها	۰/۷۴***	۰/۵۰***	۰/۶۰***	۰/۳۱*	۱	
۶- درصد بقاء	-۰/۲۲*	-۰/۴۸***	-۰/۸۷***	۰/۸۲*	-۰/۷۰***	۱

***، *وns- به ترتیب معنی‌داردر سطوح۰/۰۰۱و ۰/۰۵و غیرمعنی دار

منابع

۱- ترکمن نیا، ا. ۱۳۷۶. بررسی اثر زمان کشت بر عملکرد سیاهدانه در شرایط آب و هوایی تربت جام. پایان نامه کارشناسی زراعت و اصلاح نباتات،دانشگاه آزاد اسلامی واحد تربت جام.

۲- جانعلی زاده، م. ۱۳۹۱. ارزیابی تحمل به سرمای اکوتیپ های بارهنگ سرنیزه ای (*Plantago lanceolata* L.)در شرایط کنترل شده. پایان نامه کارشناسی ارشد زراعت، دانشگاه فردوسی مشهد.

۳- جوادی، ح. ۱۳۸۷. اثر تاریخ‌های کاشت و مقادیر نیتروژن بر عملکرد و اجزای عملکرد سیاهدانه (*Nigella sativa* L.). مجله پژوهشهای زراعی ایران،۶ (۱) : ۶۶-۵۹.

۴- زرگری، ع. ۱۳۶۸.گیاهان دارویی. موسسه چاپ و انتشارات دانشگاه تهران.

۵- سیاهمرگویی، آ.، گ. عزیزی، ا. نظامی و م. جهانی کندری. ۱۳۹۰. بررسی تحمل به یخ زدگی اکوتیپ های رازیانه رشد یافته در مزرعه، تحت شرایط کنترل شده. نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)، ۲۵(۱) : ۷۲-۶۴.

۶- کوچکی، ع.، م. نصیری محلاتی، و ف. نجفی. ۱۳۸۳. تنوع زیستی گیاهان دارویی و معطّر در بوم نظام های زراعی ایران. مجله پژوهشهای زراعی ایران،۲ (۲) : ۲۱۶-۲۰۸.

۷- محمدی، ح. و م. گزل خو. ۱۳۸۹. تاثیر یخبندان‌های زودرس پاییزه و دیررس بهاره بر کشت غلات در شهرستان کرج. فصلنامه علمی – پژوهشی جغرافیایی سرزمین، (۲۷):۱۰۹-۹۳.

۸- میرمحمدی میبدی، ع. و س. ترکش اصفهانی. ۱۳۸۳. جنبه های فیزیولوژیک و به نژادی تنش های سرما و یخ زدگی در گیاهان زراعی. انتشارات گلبن.

۹- نظامی، ا.، ج. نباتی، ا. برزویی، ع. کمندی، ع. معصومی، و م. صالحی. ۱۳۸۹. ارزیابی تحمل به یخ زدگی ارقام جو (*Hurdeum vulgar*) در مرحله گیاهچه ای تحت شرایط کنترل شده. مجله تنش های محیطی در علوم زراعی، ۳ (۱) : ۲۲-۹.

10- Anderson, J. A., P. Michael, and C. M. Taliaferro. 1988. Cold hardiness of Midiron and Tifgreen. Horticulture Science, 23: 748-750.

11- Anderson, J. A., C. M. Taliaferro, and D. L. Martin. 1993. Evaluation freeze tolerance of bermudagrass in controlled environment. Horticulture Science, 28:955-964.

12- Bassim Atta, A. 2003.Some characteristics of nigella (*Nigella sativa* L.) seed cultivated and its lipid profile in Egypt. Food Chemistry, 83:63-68.

13- Cardona, C. A., R. R. Duncan, and O. Lindstrom. 1997. Low temperature tolerance assessment in paspalum. Crop Science, 37: 1283-1291.

14- Chen, T. H., L. V. Gusta, and D. B. Fowler. 1983. Freezing injury and root development in winter cereals. Plant Physiology, 73: 773-777.

15- Eugenia, M., S. Nunesand Ray, and G. Smith. 2003. Electrolyte leakage assay capable of quantifying freezing resistance in Rose Clover. Crop Science, 43:1349-1357.

16- Fowler, D. B. and L. V. Gusta. 1977. Dehardening of winter wheat and rye under spring field conditions. Canadian Journal of Plant Science, 57:1049-1054.

17- Henkeby, M., M. C. Antolin, and M. Sanchez-Diaz. 2006. Frost resistance and biochemical changes during cold acclimation in different annual legumes. Environmental. Exprimrntal. Botany, 55: 305-314.

18- Li R., R. Qu, A. H. Brunean, and D. P. Livingston. 2010. Selection for freezing tolerance in St. Augustinegrass

Archive of SID

www.SID.ir

through somaclonal variation and germplasm evaluation. Plant Breeding, 129: 417-421.
19- Nezami, A., M. S. Bandara, and L. V. Gusta. 2012. An evaluation of freezing tolerance of winter chickpea (*Cicer arientium* L.) using controlled freezing tests. Canadian Journal of Plant Science, 92: 155-161.
20- Nezami, A., S. Sanjani, M. Ziaee, M. Bannayan Awal, M. R. Soleimani, and M. Nasiri- Mahalati. 2012. Evaluation of freezing tolerance of Cumin (*Cuminum cyminum* L.) under controlled conditions. Agricultura – Ştiinţă şi practică, 1(2): 75-84.
21- Palta, J. A., T. Kobata, N. C. Turner, I. R. Fillery. 1994.Remobilization of carbon and nitrogen in wheat as influenced by postanthesis water deficits. Crop Science, 34: 118-124.
22- Qian, Y. L., S. Ball, Z. Tan, A. J. Kodki, and S. J. Wilhelm. 2001. Freezing tolerance of six cultivars of buffalograss. Crop Science, 41: 1174-1178.
23- Rashed Mohassel, M. H., A. Nezami, A. Bagheri, K. Hajmohammadnia, and M. Bannayan. 2009. Evaluation of freezing tolerance of two fennel (*Foeniculum vulgar* L.) ecotypes under controlled conditions. Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants, 15:131–140.
24- Xuan, J., J. Xiuliu, H. Gao, H. Uaguabghu, and X. Cheng. 2009. Evaluation of low-temperature tolerance of Zoysia grass.Tropical Grasslands, 43: 118–124.

Archive of SID

www.SID.ir