Archive of SID

نشریه پژوهشهای زراعی ایران
جلد ۱۳، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۴، ص. ۷۶۵-۷۵۴

Iranian Journal of Field Crops Research
Vol. 13, No. 4, Winter. 2016, p. 754-765

ارزیابی تحمل به یخزدگی اکوتیپ‌های بارهنگ سرنیزه‌ای (*Plantago lanceolata* L.) در شرایط کنترل‌شده

مریم جانعلی زاده[۱]- احمد نظامی[۲*]- ابراهیم ایزدی دربندی[۳]- مهدی پارسا[۳]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۲/۱۸
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۲/۲۰

چکیده

به‌منظور بررسی تحمل به یخزدگی بارهنگ سرنیزه‌ای، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. پنج اکوتیپ بارهنگ (بجنورد، کلات، مشهد، قاین و بیرجند) پس از سه ماه رشد و خوسرمایی در شرایط طبیعی در معرض هشت دمای یخزدگی (صفر، ۳-، ۶-، ۹-، ۱۲-، ۱۵-، ۱۸- و ۲۱- درجه سانتی‌گراد) قرار گرفتند. سپس گیاهان برای بازیافت به محیط گلخانه منتقل شدند. یک ماه بعد، بقاء و برخی از خصوصیات رشدی گیاهان با اندازه‌گیری صفاتی چون درصد بقاء، دمای پنجاه درصد کشندگی براساس درصد بقاء (LT_{50su})، تعداد برگ، سطح برگ، وزن خشک برگ و دمای کاهنده ۵۰ درصد وزن خشک ($RDMT_{50}$) مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که درصد بقای اکوتیپ مشهد بیشتر از چهار اکوتیپ دیگر و LT_{50su} آن نیز ۵/۳ درجه سانتی‌گراد از اکوتیپ بیرجند کمتر بود. اثر متقابل اکوتیپ و دما بر درصد بقاء معنی‌دار بود و تنها اکوتیپ‌های مشهد و بجنورد در دمای ۱۵- درجه سانتی‌گراد بقاء داشتند. با کاهش دما به کمتر از ۱۲- درجه سانتی‌گراد، تعداد و سطح برگ گیاهان کاهش یافت. همچنین کاهش دما به کمتر از ۶- درجه سانتی‌گراد وزن خشک گیاهان را به‌طور معنی‌داری کاهش داد. براساس شاخص $RDMT_{50}$ اکوتیپ بجنورد متحمل‌ترین و اکوتیپ بیرجند حساس‌ترین اکوتیپ بودند. بین درصد بقاء، دمای پنجاه درصد کشندگی براساس درصد بقاء و $RDMT_{50}$ همبستگی منفی و معنی‌داری (به‌ترتیب $r=-0/97^{***}$ و $r=-0/53^{*}$) وجود داشت.

واژه‌های کلیدی: بازیافت، بقاء، دمای پنجاه درصد کشندگی، وزن خشک

مقدمه

جنس بارهنگ (*Plantago*) متعلق به خانواده Plantaginaceae است. گونه‌های جنس *Plantago* برای مقاصد دارویی مختلف استفاده می‌شوند (۴). به‌عنوان مثال از قرن‌ها پیش، برگ و بذرهای بارهنگ کبیر (*Plantago major*) برای درمان بیماری‌های مرتبط با پوست، دستگاه تنفس، دستگاه تولید مثل، اندام‌های گوارشی و سیستم گردش خون استفاده می‌شده است (۲۹). بارهنگ سرنیزه‌ای (*Plantago lanceolata* L.) به لحاظ داشتن ترکیبات شیمیایی از قبیل گلوکوزید اوکوبین (۱) و خواص دارویی از جمله خواص ضد سم و ضد التهاب (۲۹) تقریباً مشابه بارهنگ کبیر است.

اخیراً تولید واریته‌های زراعی از بارهنگ سرنیزه‌ای (Grasslands Lancelot و Ceres Tonic) با عملکرد بالا در شرایط تنش خشکی و ارزش غذایی زیاد برای دام‌ها در نیوزیلند، توجه سایر محققان را به اهلی‌سازی این گیاه، به‌عنوان گیاه علوفه‌ای و مرتعی جدید به خود جلب کرده است (۲۸ و ۳۲). براساس اطلاعات موجود، این گیاه می‌تواند زیست توده‌ای بیش از ۲۰ تن در هکتار در سال تولید کند، به‌طوری‌که نسبت به بسیاری از گیاهان علوفه‌ای برگ باریک متداول و شبدرها، عملکرد بیشتری داشته باشد (۳۳). همچنین ترکیبات ضد میکروبی موجود در این گیاه تخمیر شکمبه‌ای را متوقف و ترکیب اسیدهای چرب فرّار شکمبه را تغییر می‌دهد. این تغییرات پتانسیل اثرگذاری بر کاهش نفخ، افزایش بازدهی دام و بهبود ترکیب شیر آن را دارا می‌باشند (۳۲).

هرچند بررسی‌ها نشان داده است که بارهنگ سرنیزه‌ای در دماهای پایین به‌خوبی رشد می‌کند (۸) و اساساً یکی از علل گرایش به کشت بارهنگ در نیوزیلند، سبز بمانی[۴] و دوام بالای برگ‌های این گیاه در طی زمستان بوده است (۳۲) اما در آزمایشی که توسط اسکینر

۱- دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی دانشگاه فردوسی مشهد
۲ و ۳- به‌ترتیب استاد و دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه فردوسی مشهد
(*- نویسنده مسئول: (Email: nezami@um.ac.ir

4- Stay green

www.SID.ir

Archive of SID

و گوستین (۳۱) با هدف ارزیابی میزان تحمل به یخ زدگی دو واریته زراعی بارهنگ سرنیزه‌ای (Grasslands Lancelot و Ceres Tonic) در شرایط کنترل شده و مزرعه صورت گرفت هیچ‌یک از ارقام مذکور از تحمل به یخزدگی مناسبی برای کشت در مناطق سرد شمال شرق ایالات متحده برخوردار نبودند. لذا کشت موفق بارهنگ به‌عنوان یک گیاه چندساله و یا یکساله پاییزه به‌خصوص در مناطق سرد مستلزم شناخت اکوتیپ‌ها و یا توده‌های متحمل به تنش یخزدگی است.

ارزیابی سریع و مؤثر تحمل گیاهان به تنش یخزدگی مورد توجه محققان زیادی می‌باشد و برخی از آنها شاخص بقاء زمستانه را برای تعیین میزان تحمل به سرما در گیاهان پیشنهاد کرده‌اند. برای این منظور باید گیاهان را در سطح مزرعه کشت کرد و آنها را در معرض سرمای شدید قرار داد و سپس میزان بقای آنها را اندازه‌گیری نمود. هرچقدر که یک رقم شاخص بقای مزرعه‌ای (FSI[1]) بیشتری داشته باشد، پتانسیل تحمل به یخزدگی آن نیز بیشتر است (۱۹). علی‌رغم معتبر بودن نتایج آزمایشات مزرعه‌ای، کمبود زمستان‌هایی با شدت مناسب، عدم امکان کنترل دما و نیز وجود تنوعات بالا به لحاظ پوشش برف، نوع خاک، عمق کشت، وضعیت رطوبت خاک و گیاه در مزرعه باعث مشکل شدن ارزیابی تحمل به یخزدگی گیاهان شده (۱۱)، از این رو استفاده از انواع مختلف آزمون‌های یخزدگی در شرایط کنترل شده و مصنوعی پیشنهاد شده‌اند. به‌عنوان مثال درصد بقاء گیاه پس از قرار گرفتن آن در معرض دماهای یخزدگی مصنوعی (۱۸) و تعیین دمایی که سبب ۵۰ درصد کشندگی براساس درصد بقاء (LT_{50su}[2]) می‌شود به‌عنوان شاخص‌هایی برای انتخاب انواع متحمل مورد استفاده محققان قرار گرفته است. بر این اساس هر گیاهی که LT_{50su} پایین‌تری داشته باشد به سرما مقاوم‌تر است (۲).

مشتاقی و همکاران (۲۰) با مطالعه بر روی نخود (*Cicer arietinum*) گزارش کردند که درصد بقای ژنوتیپ MCC426 (ژنوتیپ مقاوم) حدود ۲۷ درصد نسبت به ژنوتیپ MCC505 (ژنوتیپ حساس) بیشتر بود و LT_{50su} آن‌ها یک درجه سانتی‌گراد با هم اختلاف داشت. نتایج بررسی دیونه و همکاران (۹) بر روی چمن یکساله (*Poa annua* L.) نیز تفاوت معنی‌داری به لحاظ LT_{50} بقاء در بین اکوتیپ‌های این گیاه را نشان داد. از آن‌جایی‌که درصد بقاء معیار کاملی برای نشان دادن توان بازیافت، رشد مجدد و تحمل به یخزدگی گیاهان نیست، محققان استفاده از سایر خصوصیات رشدی گیاهان از جمله وزن خشک و دمایی را که منجر به کاهش ۵۰ درصد وزن خشک ($RDMT_{50}$[3]) آنها می‌شود، جهت گزینش ارقام متحمل پیشنهاد کرده‌اند (۲۳). مشابه شاخص LT_{50su} گیاهانی با $RDMT_{50}$ کمتر از مقاومت بیشتری به یخزدگی برخوردارند. هکنبای و همکاران (۱۲) در بررسی تحمل به یخ زدگی چندین گونه یونجه (*Medicago* spp.) و شبدر (*Trifolium* spp.) مشاهده نمودند که با کاهش دما ماده خشک گیاه کاهش معنی‌داری نشان داد، به‌طوری‌که در گیاهانی که خوسرمایی نداشتند، در تیمار دمایی ۷- درجه سانتی‌گراد وزن خشک گیاه به صفر رسید درحالی‌که این وضعیت در گیاهان خو گرفته به سرما در دمای ۱۰- درجه سانتی‌گراد اتفاق افتاد. در بررسی مشتاقی و همکاران (۲۰) بر روی گیاه نخود مشاهده شد که $RDMT_{50}$ ژنوتیپ حساس سه درجه سانتی‌گراد بیشتر از ژنوتیپ مقاوم است. بررسی نظامی و همکاران (۲۱) بر روی چغندرقند (*Beta vulgaris*) نیز نشان داد که بیشترین میزان $RDMT_{50}$ متعلق به رقم افشاری (۷/۷- درجه سانتی‌گراد) است و کمترین مقدار آن نیز به رقم ریزوفورت (۹/۷- درجه سانتی‌گراد) تعلق داشت.

اتیو (۱۰) پیشنهاد کرده است که برای انجام آزمایش‌های یخزدگی که تحت شرایط کنترل شده صورت می‌گیرد بایستی از سوپرکول (فراسرد شدن) شدن بافت‌های گیاه اجتناب شود، زیرا عدم رعایت آن موجب یخزدگی درون سلولی می‌شود. جهت جلوگیری از پدیده فراسرد شدن در طی مرحله اولیه یخزدگی، زمانی‌که دمای بافت گیاهی کمی پایین‌تر از نقطه انجماد آب است، از یخ، برف یا باکتری‌های اپی‌فیت فعال به‌عنوان هستک یخ استفاده می‌شود. نحوه عمل مولدهای هستک یخ در طبیعت تاحدی شناخته شده است. اکثر باکتری‌های مولد هستک یخ از باکتری‌های سرمادوست و گرم منفی هستند. این باکتری‌ها در دمای ۲- تا ۵- درجه سانتی‌گراد به داخل فضاهای بین سلولی گیاهان نفوذ کرده، به سرعت تکثیر می‌شوند. در پی تشکیل کریستال‌های یخ در فضاهای بین سلولی، دمای فراسردی گیاه دچار اختلال جدی شده و مقدار آن افزایش می‌یابد و در نتیجه نقطه انجماد تغییر می‌کند. به نظر می‌رسد که غشای پروتئینی باکتری‌های مولد هسته یخ در تشکیل هسته‌های انجماد نقش داشته باشد (۱۹).

از آن‌جایی‌که اطلاعات زیادی در خصوص میزان تحمل به سرمای بارهنگ سرنیزه‌ای وجود ندارد، این آزمایش با هدف ارزیابی تحمل به یخزدگی تعدادی از اکوتیپ‌های بارهنگ سرنیزه‌ای با استفاده از شاخص درصد بقاء و برخی صفات رشدی دیگر در شرایط کنترل شده انجام شد.

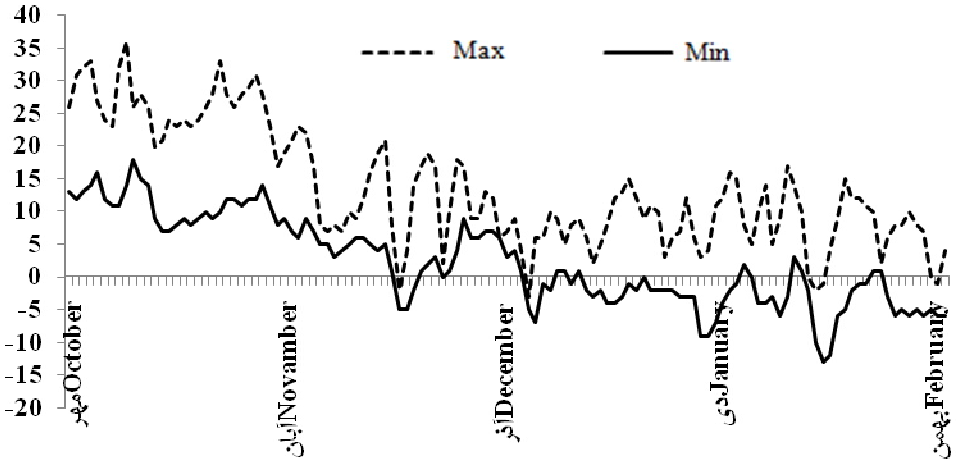
مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال ۱۳۹۰ در محل گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد.

1- Field survival index
2- Lethal temperature 50 % of plants according to the survival percentage
3- Reduced dry matter temperature 50%

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱- دماهای حداقل و حداکثر روزانه پاییز و زمستان ۱۳۹۰ در مشهد

Figure 1- Minimum and maximum temperatures of automn and winter of 2011- 2012 in Mashhad

عوامل آزمایش شامل پنج اکوتیپ بارهنگ سرنیزه‌ای (بجنورد، کلات، مشهد، قاین و بیرجند) و هشت دمای یخزدگی (صفر، ۳-، ۶-، ۹-، ۱۲-، ۱۵-، ۱۸- و ۲۱- درجه سانتی‌گراد) بود. در شروع آزمایش، بذور در آب معمولی خیسانده شده و بعد از یک شبانه روز قرار گرفتن در دمای یخچال (صفر تا چهار درجه سانتی‌گراد) برای شکستن خواب، در اواسط مهرماه ۱۳۹۰ در گلدان‌های پلاستیکی با قطر ۱۲ سانتی‌متر با تراکم ۱۰ بوته در هر گلدان کشت شدند. گلدان‌ها با نسبت برابری از خاک، ماسه و خاکبرگ پر شد. گیاهان تا مرحله دو الی چهار برگی در شرایط طبیعی و در فضای آزاد رشد یافته و در معرض خوسرمایی قرار گرفتند (شکل ۱). به منظور حفظ مواد آزمایشی، گلدان‌ها در شب‌هایی با دمای کمتر از ۴- درجه سانتی‌گراد در شاسی سرد قرار داده شدند.

در اوایل بهمن ماه گلدان‌ها به فریزر ترموگرادیان منتقل شدند. دمای فریزر در شروع آزمایش پنج درجه سانتی‌گراد بود و پس از آن با سرعت دو درجه سانتی‌گراد در ساعت کاهش یافت تا به دمای مورد نظر رسید. پس از رسیدن به دمای مورد نظر، نمونه‌ها به مدت یک ساعت در این دما نگهداری و سپس از فریزر خارج شده و به‌منظور کاهش سرعت ذوب و تشدید خسارت، گیاهان به محیطی با دمای ۲±۵ درجه سانتی‌گراد منتقل و به مدت ۲۴ ساعت در آنجا نگهداری شدند. به منظور ایجاد هستک یخ در گیاهچه‌ها، جلوگیری از فراسرد شدن گیاهان و اطمینان یافتن از اینکه مکانیزم مقاومت به سرما از نوع تحمل است و نه اجتناب، همانگونه که پیشتر ذکر شد در دمای ۲- درجه سانتی‌گراد محلول حاوی باکتری‌های فعال مولد هستک یخ (INAB[1])، بر روی گیاهان به نحوی پاشیده شد که سطح گیاهان را قشر نازکی از این محلول پوشاند (۱۰). چهار هفته پس از انتقال گیاهان تیمار شده به گلخانه، درصد بقاء و توانایی بازیافت آنها مورد ارزیابی قرار گرفت و برای تعیین درصد بقاء گیاهان از رابطه (۱) استفاده شد.

(۱) [۱۰۰× (تعداد گیاهان قبل از تیمار یخ زدگی) / (تعداد گیاهان زنده چهار هفته پس از تیمار یخ زدگی)] =درصد بقاء

برای بررسی توان بازیافت گیاهان صفاتی نظیر تعداد برگ، سطح برگ (با استفاده از دستگاه سنجش سطح برگ[2]) و وزن خشک آنها پس از قرار گرفتن در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد آون به مدت ۴۸ ساعت با استفاده از یک ترازوی دیجیتال با دقت یک میلی‌گرم، اندازه‌گیری و ثبت شدند. مقدار LT_{50su} و $RDMT_{50}$ هر اکوتیپ به‌ترتیب با استفاده از رسم منحنی داده‌های درصد بقاء و وزن خشک کلیه تکرارهای آنها در مقابل دماهای یخزدگی و سپس یافتن نقطه (دما) ای که منجر به کاهش ۵۰ درصدی صفات مذکور نسبت به تیمار شاهد شده بود، تعیین گردید.

تجزیه و تحلیل آماری کلیه داده‌ها به‌صورت فاکتوریل و با استفاده از نرم افزار MSTAT-C انجام شد. آنالیز دو داده LT_{50su} و $RDMT_{50}$ به‌صورت One-Way ANOVA صورت گرفت. برای تعیین همبستگی میان صفات مذکور از نرم افزار Minitab ver. 15 استفاده شد. رسم شکل‌ها توسط نرم افزار MS Excel صورت گرفت و مقایسه‌ی میانگین داده‌ها نیز با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال یک درصد انجام شد.

1- Ice Nucleation Active Bacteria

2- Leaf area meter

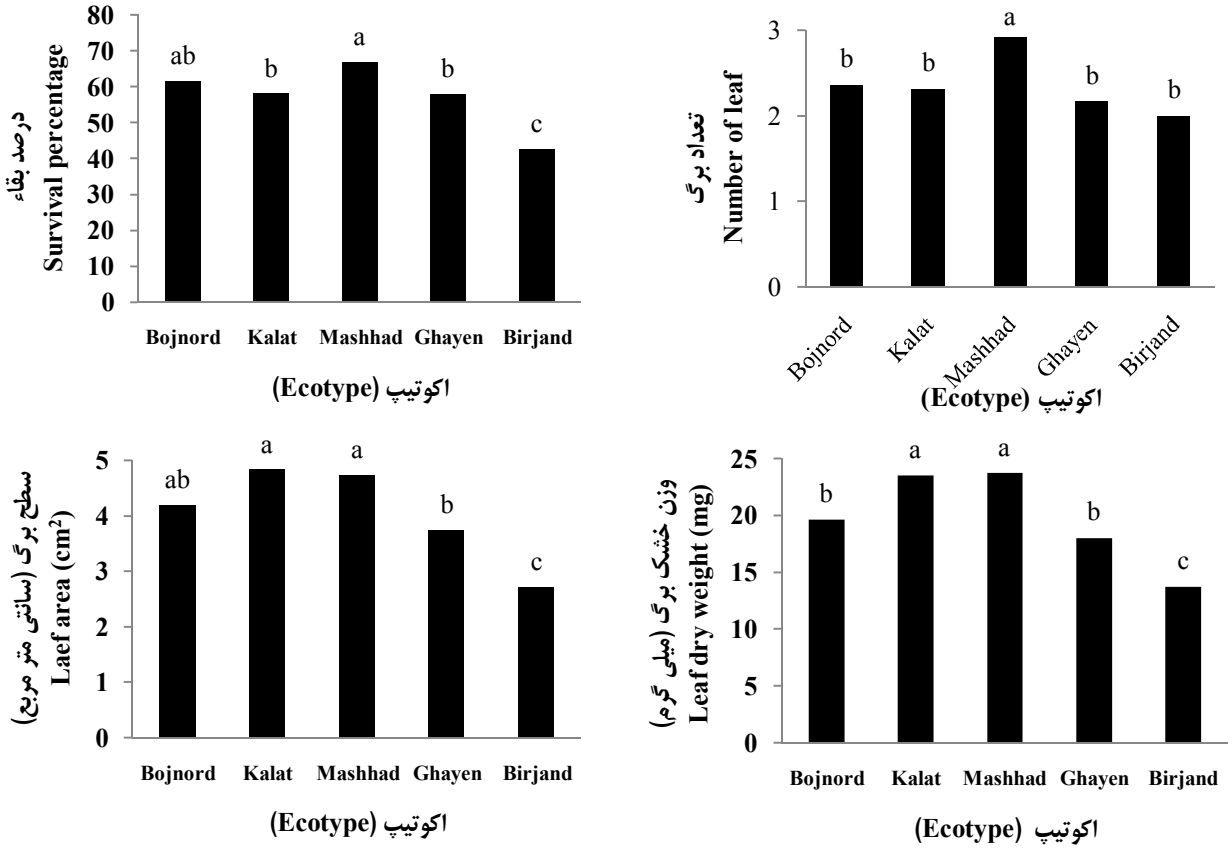
www.SID.ir

Archive of SID

نتایج و بحث

درصد بقاء و دمای کشنده پنجاه درصد گیاهان براساس درصد بقاء

اکوتیپ‌های بارهنگ سرنیزه‌ای به لحاظ درصد بقاء تفاوت معنی‌داری ($p\leq$۰/۰۱) با یکدیگر داشتند و اکوتیپ‌های مشهد و بیرجند به‌ترتیب بیشترین و کمترین درصد بقاء را دارا بودند (شکل ۲). درصد بقاء گیاهان پس از قرار گرفتن آن‌ها در معرض سرما به‌عنوان یکی از شاخص‌های تحمل به سرما معرفی شده است (۱۳). در آزمایش اسکینر (۳۰) که با هدف ارزیابی تحمل به یخزدگی دو واریته زراعی (Lancelot و Tonic) و یک لاین آزمایشی (PG700) از بارهنگ سرنیزه‌ای در شرایط کنترل شده صورت گرفت، نیز مشاهده شد که درصد بقاء لاین PG700 (۵۸ درصد) بیشتر از ارقام Lancelot (۳۳ درصد) و Tonic (۱۸ درصد) بوده است. به نظر می‌رسد که اختلاف اکوتیپ‌های بارهنگ سرنیزه‌ای در تحمل به یخزدگی بازتاب فرآیندهای انتخاب طبیعی و محیطی است که در آن تکامل پیدا کرده‌اند. از آن‌جایی‌که اقلیم شهر مشهد نسبت به بیرجند سردتر است لذا انتظار می‌رود گیاهانی که در چنین زیستگاهی پرورش یافته‌اند از تحمل به سرمای بیشتری برخوردار باشند. در آزمایش ژوآن و همکاران (۳۴) بر روی گونه‌های زویسیاگراس (*Zoysia* spp.) در چین نیز نمونه‌های گرفته شده از مناطق ساحلی به‌دلیل کمتر بودن تنوعات و نوسانات سالانه در دما و رطوبت هوا در این مناطق تحمل به یخزدگی کمی نشان دادند، زیرا آنها نیازی به اکتساب ویژگی‌هایی که منجر به افزایش بقای آنها در دماهای کمتر می‌شود، نداشته‌اند.



شکل ۲- درصد بقاء و برخی از صفات رشدی بارهنگ سرنیزه‌ای (براساس میانگین تک بوته) یک ماه پس از اعمال دماهای یخزدگی (میانگین‌هایی با حروف مشابه اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد براساس آزمون LSD ندارند).

Figure 2- Survival percentage and some of growth traits of Lancelot plantain (based on individual plant mean) after one month applying freezing stress temperatures (means with similar letters haven't significant difference according to the LSD test in 1% probability level.)

اثر دما بر درصد بقاء گیاهان نیز معنی‌دار ($p\leq$۰/۰۱) بود، به‌طوری‌که با کاهش دما به کمتر از ۹- درجه سانتی‌گراد درصد بقاء آنها به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. درصد بقاء در تیمار ۱۲-، ۱۵- و ۲۱- درجه سانتی‌گراد نسبت به تیمار شاهد (صفر درجه سانتی‌گراد)

www.SID.ir

Archive of SID

به‌ترتیب ۱۹/۹، ۸۰/۶ و ۹۲/۸ درصد کاهش یافت (جدول ۱). در بررسی اثر دمای یخزدگی بر روی گیاه گل داوودی (*Chrysanthemum morifolium* L.) نیز مشاهده شد که با کاهش دما از صفر به ۱۲- درجه سانتی‌گراد مرگ و میر گیاهان افزایش یافت به‌طوری‌که در دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد اغلب گیاهان از بین رفته و قادر به رشد مجدد نبودند (۱۸). در بررسی دیگری (۱۷) بر روی گیاه مینای چمنی (*Bellis perennis*) نیز گیاهان تا دمای ۱۶- درجه سانتی‌گراد را به‌خوبی تحمل کردند (۱۰۰ درصد بقاء)، اما در دماهای پایین‌تر به کلی از بین رفتند.

اثر متقابل اکوتیپ و دما بر درصد بقاء اکوتیپ‌های بارهنگ نیز معنی‌دار ($p\leq$۰/۰۱) بود. در اغلب اکوتیپ‌ها با کاهش دما از ۱۲- درجه سانتی‌گراد، درصد بقاء به شدت کاهش یافت، اما کاهش درصد بقاء در اکوتیپ بیرجند از دمای ۶- درجه سانتی‌گراد آغاز شد و در دمای ۱۲- سانتی‌گراد کمترین درصد بقاء را نسبت به سایر اکوتیپ‌ها دارا بود (جدول ۲). شیب کاهش درصد بقاء در محدوده دمایی ۹- تا ۱۲- درجه سانتی‌گراد در اکوتیپ مشهد، نسبت به سایر اکوتیپ‌ها کمتر بود. در دمای ۱۵- درجه سانتی‌گراد نیز تنها دو اکوتیپ بجنورد و مشهد بقاء داشتند هرچند درصد بقای آنها در این دما نسبت به تیمار شاهد به‌ترتیب ۸۰ و ۵۰ درصد کمتر بود (جدول ۲). در بررسی اثر متقابل اکوتیپ و دماهای یخ زدگی بر درصد بقاء گیاه زنیان (*Trachyspermum ammi* (Linn). Sprague) نیز مشاهده شد که دو اکوتیپ تربت حیدریه و نیشابور تا دمای ۴- درجه سانتی‌گراد درصد بقاء خوبی داشته و پس از آن با افزایش شدت تنش یخزدگی درصد بقاء آنها کاهش یافت، در صورتی‌که گیاهان اکوتیپ بیرجند تا دمای ۶- درجه سانتی‌گراد درصد بقاء مناسبی داشته و پس از آن درصد بقاء آن کاهش یافت (۵). پیتش و همکاران (۲۵) نیز با ارزیابی تحمل به یخزدگی ژنوتیپ‌های گیاه گوارا (*Gaura* sp.) بیان کردند که بین ژنوتیپ‌های این گیاه از نظر درصد بقاء تفاوت معنی‌داری وجود داشت، به‌طوری‌که گیاهان ژنوتیپ مینه سوتا تا دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد زنده ماندند، درصورتی‌که گیاهان ژنوتیپ تگزاس در دمای مذکور از بین رفتند.

اختلاف اکوتیپ‌های بارهنگ به لحاظ LT_{50su} نیز معنی‌دار ($p\leq$۰/۰۱) بود، به‌طوری‌که LT_{50su} اکوتیپ مشهد (مقاوم‌ترین اکوتیپ) ۵/۳ درجه سانتی‌گراد کمتر از اکوتیپ بیرجند (حساس‌ترین اکوتیپ) بود (جدول ۳). در مطالعه کاردونا و همکاران (۷) بر روی تحمل به یخزدگی گیاه پاسپالوم (*Paspalum vaginatum* Swarts) نیز مشاهده شد که بیوتیپ Midiron با LT_{50su} = ۱۲- و بیوتیپ PI 299042 با LT_{50su}=۸- درجه سانتی‌گراد به‌ترتیب مقاوم‌ترین و حساس‌ترین بیوتیپ‌های پاسپالوم به سرما بودند.

در این بررسی بین درصد بقاء و LT_{50su} همبستگی منفی و معنی‌داری ($r= -۰/۹۷^{***}$) مشاهده شد (جدول ۴). به عبارت دیگر با کاهش درصد بقاء، LT_{50su} گیاهان زیاد شد. رابطه رگرسیون خطی بین درصد بقاء و LT_{50su} اکوتیپ‌های مختلف بارهنگ نیز نشان داد که با افزایش درصد بقاء، دمای ۵۰ درصد کشندگی براساس درصد بقاء کاهش یافته است (شکل ۳). نظامی و همکاران (۲۴) نیز با بررسی تحمل به یخزدگی ارقام کلزا (*Brassica napus*) به نتایج مشابهی دست یافتند. آنها بیان نمودند همانطور که ارقام سیمبل، کالورت و زرفام از بیشترین درصد بقاء برخوردار بودند، کمترین دمای LT_{50su} نیز در همین ارقام مشاهده شد. در بررسی بریجر و همکاران (۶) نیز که به‌منظور بررسی بقای زمستانه برخی از غلات انجام شد، مشخص گردید که بین شاخص بقاء در مزرعه و LT_{50su} حاصل از گیاهان قرار گرفته در معرض دماهای یخزدگی در شرایط کنترل شده، همبستگی قوی وجود دارد.

جدول ۱- اثر دمای یخزدگی بر درصد بقاء و برخی خصوصیات رشدی بارهنگ سرنیزه‌ای (براساس میانگین تک بوته) یک ماه پس از بازیافت در شرایط گلخانه

Table 1- Effect of freezing temperatures on survival % and some of growth traits of Lancelot plantain (based on individual plant mean) after one month recovery at greenhouse conditions

دمای یخزدگی Freezing temperature	درصدبقاء Survival%	تعداد برگ No. Leaf	سطح برگ Leaf area (cm^2)	وزن خشک برگ Leaf dry weight (mg)
0	92.8	3.96	6.26	32.6
-3	96.7	3.82	7.34	37.6
-6	96.8	3.74	7.40	34.5
-9	86.8	3.42	5.81	27.0
-12	72.9	3.46	4.91	23.4
-15	12.2	0.43	0.58	2.8
-18	0.0	0.00	0.00	0.0
-21	0.0	0.00	0.00	0.0
LSD (0.01)	10.2	0.53	1.08	4.6

*میانگین‌هایی که اختلاف آنها بیشتر از LSD است دارای تفاوت آماری معنی‌داری هستند.

* Means which their differences are more than LSD have significant difference.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲- مقایسه میانگین درصد بقاء و خصوصیات رشدی اکوتیپ‌های بارهنگ سرنیزه‌ای قرار گرفته در معرض تنش یخزدگی

Table 2- Mean comparison for survival % and growth traits of Lancelot plantain ecotypes exposed to freezing stress

اکوتیپ Ecotype	دما (درجه سانتی‌گراد) Temperature (°C)	درصد بقاء Survival %	تعداد برگ در بوته No. Leaf per plant	سطح برگ در بوته (سانتی‌مترمربع) Leaf Area per plant (cm^2)	وزن خشک برگ در بوته (میلی‌گرم) Leaf dry weight per plant (mg)
بجنورد Bojnord	0	96.3	3.75	6.23	32.2
	-3	100.0	4.00	6.19	27.3
	-6	94.4	3.36	7.11	33.9
	-9	100.0	3.61	7.17	33.3
	-12	83.3	3.38	5.64	24.8
	-15	16.7	0.78	1.12	5.4
	-18	0.0	0.00	0.00	0.0
	-21	0.0	0.00	0.00	0.0
کلات Kalat	0	100.0	4.56	7.49	38.5
	-3	83.3	3.35	9.35	50.9
	-6	97.2	3.67	10.2	44.8
	-9	100.0	3.56	7.08	31.4
	-12	83.3	3.39	4.59	22.5
	-15	0.0	0.00	0.00	0.0
	-18	0.0	0.00	0.00	0.0
	-21	0.0	0.00	0.00	0.0
مشهد Mashhad	0	94.4	4.70	8.86	44.7
	-3	100.0	4.44	6.89	38.0
	-6	100.0	4.55	7.00	37.6
	-9	100.0	3.92	7.27	31.3
	-12	94.4	4.40	5.96	30.0
	-15	44.4	1.36	1.78	8.3
	-18	0.0	0.00	0.00	0.0
	-21	0.0	0.00	0.00	0.0
قاین Ghayen	0	94.4	3.40	5.16	24.4
	-3	100.0	3.70	8.56	41.0
	-6	92.2	3.62	6.38	30.8
	-9	97.8	3.44	4.76	23.8
	-12	77.8	3.20	5.03	24.0
	-15	0.0	0.00	0.00	0.0
	-18	0.0	0.00	0.00	0.0
	-21	0.0	0.00	0.00	0.0
بیرجند Birjand	0	78.6	3.40	3.54	23.0
	-3	100.0	3.61	5.73	30.8
	-6	100.0	3.48	6.26	25.3
	-9	36.1	2.56	2.79	15.4
	-12	25.4	2.92	3.35	15.5
	-15	0.0	0.00	0.00	0.0
	-18	0.0	0.00	0.00	0.0
	-21	0.0	0.00	0.00	0.0
LSD (0.01)		22.8	ns	2.42	10.3

*میانگین‌هایی که اختلاف آنها بیشتر از LSD است دارای تفاوت آماری معنی‌داری هستند.

* Means which their differences are more than LSD have significant difference.

بازیافت گیاهان پس از تنش یخزدگی

بین اکوتیپ‌ها اختلاف معنی‌داری ($p\leq$۰/۰۱) از لحاظ تعداد، سطح و وزن خشک برگ در پایان دوره بازیافت وجود داشت. اکوتیپ مشهد بیشترین و اکوتیپ بیرجند کمترین تعداد برگ را در پایان دوره بازیافت دارا بودند (شکل ۲). نتایج آزمایش ایزدی دربندی و همکاران (۱۴) نیز نشان داد که بین توده‌های خاکشیر (*Descurainia sophia*) از نظر تعداد برگ در پایان دوره بازیافت، تفاوت معنی‌داری وجود دارد. به‌طوری‌که توده تربت جام با چهار برگ بیشترین و توده اقلید با ۳/۱ برگ کمترین تعداد برگ را دارا بودند. در بررسی حاضر مقدار سطح برگ در اکوتیپ کلات حدوداً ۱/۸ برابر آن در اکوتیپ بیرجند بود (شکل ۲).

www.SID.ir

Archive of SID

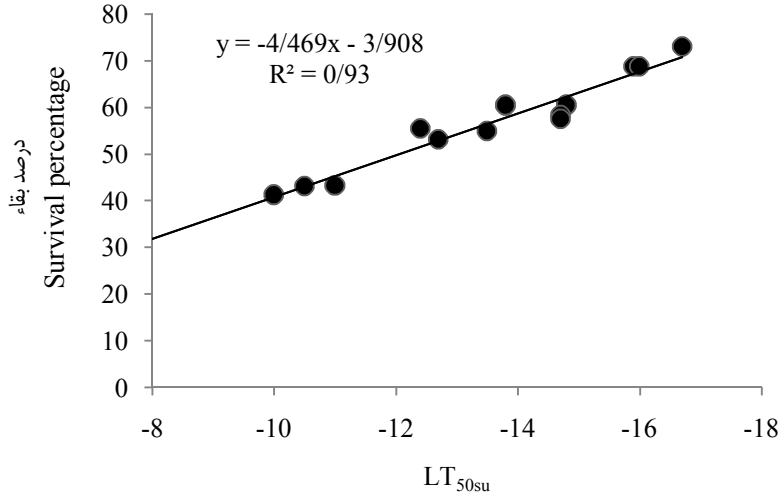
جدول ۳- دمای پنجاه درصد کشندگی براساس درصد بقاء و دمای کاهنده پنجاه درصد وزن خشک اکوتیپ‌های بارهنگ سرنیزه‌ای یک ماه پس از بازیافت در شرایط گلخانه

Table 3- Lethal temperature for 50% of plants according to the survival % and dry weight of Lancelot plantain ecotypes after one month recovery at greenhouse conditions

اکوتیپ (Ecotype)	LT_{50su} (°C)	$RDMT_{50}$ (°C)
بجنورد (Bojnord)	-14.4	-14.1
کلات (Kalat)	14.1	-11.8
مشهد (Mashhad)	-15.8	-12.5
قاین (Ghayen)	-13.6	-12.8
بیرجند (Birjand)	-10.5	-11.1
LSD (0.01 and 0.05)	2.8	2.0

*میانگین‌هایی که اختلاف آنها بیشتر از LSD است دارای تفاوت آماری معنی‌داری هستند.

* Means which their differences are more than LSD have significant difference.



شکل ۳- ضریب تبیین بین درصد بقاء با دمای ۵۰ درصد کشندگی گیاهان براساس درصد بقاء (LT_{50su}) در اکوتیپ‌های بارهنگ سرنیزه‌ای (هر نقطه میانگین هشت داده می‌باشد).

Figure 3- Regression coefficient between survival % and lethal temperature for 50% of plants according to the survival % (LT_{50su}) in Lancelot plantain ecotypes (each point is mean of eight data).

در آزمایش عزیزی و همکاران (۳) بر روی ژنوتیپ‌های گندم (*Triticum aestivum*) نیز رقم بزوستایا بیشترین سطح برگ و رقم مارون کمترین سطح برگ را داشتند. به لحاظ وزن خشک برگ نیز اکوتیپ مشهد بیشترین و اکوتیپ بیرجند کمترین وزن خشک برگ را دارا بودند (شکل ۲). در بررسی ایزدی دربندی و همکاران (۱۵) نیز بین ژنوتیپ‌های یولاف وحشی (*Avena ludoviciana* L.) از نظر وزن خشک تفاوت معنی‌داری دیده شد به‌طوری‌که ژنوتیپ DR4 بیشترین و ژنوتیپ ZR5 کمترین وزن خشک را در پایان دوره بازیافت دارا بودند.

از نظر تعداد، سطح و وزن خشک برگ اختلاف معنی‌داری ($p\leq$۰/۰۱) بین دماهای یخزدگی وجود داشت. کاهش دما به کمتر از ۱۲- درجه سانتی‌گراد سبب کاهش معنی‌دار تعداد و سطح برگ گیاه نسبت به تیمار عدم یخزدگی شد، به‌طوری‌که سطح برگ گیاهان در دماهای ۱۲- و ۱۵- درجه سانتی‌گراد به‌ترتیب ۲۳ و ۹۱ درصد نسبت به دمای صفر درجه سانتی‌گراد کاهش یافت (جدول ۱). شیب کاهش تعداد برگ در محدوده دمایی ۱۲- و ۱۵- درجه سانتی‌گراد نسبت به سایر تیمارهای دمایی بیشتر (۲۹/۲ درصد کاهش در تعداد برگ به‌ازای هر درجه سانتی‌گراد کاهش دما) بود (جدول ۱). آزمایش نظامی و همکاران (۲۲) بر روی تحمل به یخزدگی ژنوتیپ‌های تریتیکاله (*X Triticosecale* Wittmack) تحت شرایط کنترل شده نیز نشان داد که تعداد برگ گیاهان در پایان دوره بازیافت، در تیمارهای دمایی ۴-، ۸- و ۱۲- در مقایسه با تیمار صفر درجه سانتی‌گراد به‌ترتیب ۶/۲، ۱۰/۴ و ۲۲/۹ درصد کمتر بود. بررسی عزیزی و همکاران (۳) بر روی ارقام گندم نیز نشان داد که تنش

www.SID.ir

Archive of SID

یخزدگی سطح برگ گیاهان را شدیداً کاهش داد، به‌طوری‌که بیشترین و کمترین سطح برگ گیاهان به‌ترتیب در دماهای صفر درجه سانتی‌گراد و ۲۰- درجه سانتی‌گراد به‌دست آمد.

کاهش معنی‌دار وزن خشک برگ نیز از دمای ۶- درجه سانتی‌گراد شروع شد (جدول ۱). شیب کاهش وزن خشک برگ در محدوده دمایی ۱۲- و ۱۵- درجه سانتی‌گراد حدوداً ۲۹/۴ درصد به‌ازای هر درجه سانتی‌گراد و بسیار بیشتر از سایر تیمارهای دمایی (آن دسته از تیمارهای دمایی که گیاهان زنده ماندند) بود (جدول ۱). راشد محصل و همکاران (۲۷) نیز در بررسی تحمل به یخزدگی دو اکوتیپ رازیانه (*Foeniculum vulgare* L.) گزارش کردند که کاهش دما به پایین‌تر از صفر درجه سانتی‌گراد، میزان وزن خشک گیاه را کاهش داد. در مطالعه ایزدی دربندی و همکاران (۱۶) بر روی گیاه قرنفل (*Dianthus barbatus*) وزن خشک گیاه تحت تأثیر دماهای یخزدگی قرار گرفت و در دمای ۲۲- درجه سانتی‌گراد به صفر رسید.

بررسی تأثیر دماهای یخزدگی بر سطح برگ اکوتیپ‌های مورد بررسی نشان داد که در بین گیاهان زنده، بیشترین سطح برگ را اکوتیپ کلات در دمای ۶- درجه سانتی‌گراد داشت و کمترین آن در اکوتیپ بجنورد در دمای ۱۵- درجه سانتی‌گراد مشاهده شد (جدول ۲). در بررسی عزیزی و همکاران (۳) نیز مشاهده شد که در گیاهان زنده بیشترین سطح برگ در رقم آنزا و در دمای صفر درجه سانتی‌گراد به‌دست آمد و کمترین سطح برگ متعلق به رقم MV-17 در دمای ۱۶- درجه سانتی‌گراد بود. در این آزمایش اکوتیپ‌های بیرجند و کلات به‌ترتیب از دماهای ۶- و ۹- درجه سانتی‌گراد کاهش معنی‌داری در سطح برگ نسبت به تیمار شاهد نشان دادند در حالی‌که برای اکوتیپ‌های مشهد، بجنورد و قاین در دماهای کمتر از ۱۲- درجه سانتی‌گراد سطح برگ کاهش یافت (جدول ۲).

اثرات متقابل اکوتیپ و دما بر وزن خشک برگ نیز معنی‌دار ($p\leq ۰/۰۱$) بود. اکوتیپ کلات در دمای ۳- درجه سانتی‌گراد بیشترین وزن خشک برگ را دارا بود و کمترین مقدار وزن برگ در دماهایی که گیاهان زنده ماندند در اکوتیپ بجنورد و در دمای ۱۵- درجه سانتی‌گراد دیده شد (جدول ۲). در اکوتیپ مشهد، درصد کاهش وزن خشک برگ در تیمار دمایی ۱۲- درجه سانتی‌گراد نسبت به دمای صفر درجه سانتی‌گراد ۳۲/۹ درصد بود، در حالی‌که این کاهش در اکوتیپ‌های کلات و بیرجند به‌ترتیب ۴۱/۶ و ۶۷/۷ درصد بود (جدول ۲). در بررسی کیان و همکاران (۲۶) مشاهده شد که با کاهش دماهای یخزدگی رشد مجدد اندام‌های هوایی در ارقام مختلف بوفالوگراس (*Buchloe dactyloides* (Nutt.) تحت تأثیر قرار گرفت و با کاهش دما از ۸- به ۱۲- درجه سانتی‌گراد، کاهش وزن خشک در حساس‌ترین رقم حدود ۶۰ درصد بود.

بین اکوتیپ‌ها از لحاظ $RDMT_{50}$ تفاوت معنی‌داری ($p\leq ۰/۰۵$) وجود داشت، به‌طوری‌که اکوتیپ‌های بیرجند و کلات حساس‌ترین و اکوتیپ‌های بجنورد، قاین و مشهد متحمل‌ترین اکوتیپ‌ها شناخته شدند (جدول ۳). به نظر می‌رسد که بیشتر بودن میزان $RDMT_{50}$ در اکوتیپ بیرجند به دلیل تأثیر شدید تنش یخزدگی بر توانایی رشد مجدد در مرحله بازیافت اکوتیپ مذکور نسبت به سایر اکوتیپ‌ها بوده است. در مطالعه ایزدی دربندی و همکاران (۱۵) بر روی ژنوتیپ‌های یولاف وحشی نیز ژنوتیپ‌های Skh و SM با $RDMT_{50}$ معادل ۹/۷- و ۱۳/۵- درجه سانتی‌گراد، به‌ترتیب حساس‌ترین و مقاوم‌ترین بیوتیپ‌ها بودند.

در این بررسی $RDMT_{50}$ با درصد بقاء همبستگی منفی و معنی‌داری ($r= -۰/۵۳^{*}$) داشت (جدول ۴)، لذا با افزایش درصد بقاء، میزان $RDMT_{50}$ کمتر شد و به‌عبارتی تحمل به یخزدگی براساس این شاخص افزایش یافت. در این آزمایش ضریب همبستگی وزن خشک گیاهان با LT_{50su} منفی و معنی‌دار بود که نشان‌دهنده تولید بیوماس بیشتر با کاهش LT_{50su} اکوتیپ‌ها است (جدول ۴). هکنبای و همکاران (۱۲) هم در بررسی تحمل به یخزدگی چندین رقم یونجه و شبدر یکساله مشاهده نمودند که گیاهانی که LT_{50} پایین‌تری داشتند، از تولید ماده خشک بیشتری پس از رشد مجدد برخوردار بودند.

نتیجه‌گیری

در مجموع، تنش یخزدگی منجر به کاهش درصد بقاء و سایر صفات رشدی در بارهنگ سرنیزه‌ای شد، ولی میزان کاهش این صفات بسته به اکوتیپ و دما متفاوت بود. در بیشتر اکوتیپ‌ها (به استثنای بیرجند) کاهش معنی‌دار درصد بقاء از دمای کمتر از ۱۲- درجه سانتی‌گراد رخ داد. وزن خشک برگ از دمای ۶- درجه سانتی‌گراد به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. در حالی‌که کاهش سطح و تعداد برگ از دماهای پایین‌تری (۱۲- درجه سانتی‌گراد) شروع شد. در این آزمایش مقادیر LT_{50su} بین ۱۰/۵- تا ۱۵/۸- درجه سانتی‌گراد و گستره مقادیر $RDMT_{50}$ بین ۱۱/۱- تا ۱۴/۱- درجه سانتی‌گراد متغیر بود. براساس نتایج حاصل از این بررسی تعدادی از اکوتیپ‌های بارهنگ (مشهد، بجنورد و قاین) تحمل به یخزدگی مناسبی نشان دادند که می‌تواند بیانگر پتانسیل احتمالی آنها برای کشت در مناطق سرد باشد. با این وجود برای بررسی تحمل به یخزدگی بارهنگ انجام آزمایش‌های بیشتر در شرایط مزرعه و کنترل شده سودمند است.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ٤- ضرایب همبستگی پیرسون بین درصد بقاء و برخی از صفات رشدی بارهنگ سرنیزه‌ای قرار گرفته در معرض تنش یخزدگی

Table 4- Pearson correlation coefficients between survival % and some of growth traits of Lancelot plantain exposed to freezing stress

	1	2	3	4	5	6
۱- درصدبقاء 1- Survival percentage	1					
2- LT_{50su}	-0.96^{***}	1				
۳- تعداد برگ در بوته 3- No. Leaf per plant	-0.78^{***}	-0.76^{***}	1			
۴- سطح برگ در بوته 4- Leaf area per plant	0.75^{***}	-0.75^{***}	0.69^{**}	1		
۵- وزن خشک برگ در بوته 5- Leaf dry weight per plant	0.76^{***}	-0.78^{***}	0.76^{***}	0.96^{***}	1	
6- $RDMT_{50}$	-0.53^{*}	0.51^{ns}	-0.22^{ns}	-0.28^{ns}	-0.28^{ns}	1

ns، *، **، ***: به‌ترتیب عدم معنی‌داری و معنی‌دار در سطوح پنج، یک و ۰/۱ درصد.

ns, ** and *** are non significant and significant at 5, 1 and 0.1 % probability levels respectively.

سپاسگزاری

بودجه این تحقیق از محل اعتبارات معاونت پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد تأمین شده است که بدین‌وسیله سپاسگزاری می‌گردد. همچنین از قطب علمی گیاهان زراعی ویژه دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد تشکر و قدردانی می‌شود.

References

1. Adler, L. S., Schmidt, J., and Bowers, M. D. 1995. Genetic variation in defensive chemistry in *Plantago lanceolata* (Plantaginaceae) and its effect on the specialist herbivore. *Junonia coenia* (Nymphalidae). Oecologia 101: 75-85.
2. Azizi, H. 2005. Evaluation of cold tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars under controlled conditions and field. MSc. Thesis. Ferdowsi University of Mashhad, Iran. (in Persian with English abstract).
3. Azizi, H., Nezami, A., Nassiri Mahallati, M., and Khazaie H. R. 2007. Evaluation of cold tolerance in wheat (*Triticum aestivum*) cultivars under controlled conditions. Iranian Journal of Field Crops Research 5: 109-121. (in Persian with English abstract).
4. Blumenthal, M., Busse, W. R., Goldberg, A., Gruenwald, J., Hall, T., Riggins, C. W., and Rister, R. S., (ed), and Klein, S., and Rister, R. S. (trans.). 2000. Plantain. Texas: American Botanical Council; Boston: Integrative Medicine Communications. Adapted from The Complete German Commission E Monographs-Therapeutic Guide to Herbal Medicines, 1998.
5. Boroumand Rezazadeh, Z., Nezami, A., and Nezami, S. 2013. Evaluation of freezing stress tolerance in three Ecotypes of Ajowan (*Trachyspermum ammi* (Linn). Sprague) under controlled conditions. Iranian Journal of Field Crops Research 11 (1): 121-130. (in Persian with English abstract).
6. 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.
7. Cardona, C. A., Duncan, R. R., and Lindstrom, O. 1997. Low Temperature Tolerance Assessment in Paspalum. Crop Science 37: 1283-1291.
8. Chatterton, N. J., Harrison, P. A., Thornley, W. R., and Bennett, J. H. 1990. Sucrosyl oligosaccharides and cool temperature growth in 14forb species. Plant Physiology and Biochemistry 28: 167-172.
9. Dionne, J., Castonguay, Y., Nadeau, P., and Desjardins, Y. 2001. Freezing tolerance and carbohydrate changes during cold acclimation of green-type annual bluegrass (*Poa annua* L.) ecotypes. Crop Science 41: 443-451.
10. Eteve, G. 1985. Breeding for cold tolerance and winter hardiness in pea. PP. 131-136. In: P.D. Hebblethwaite, et al. (ed.), the Pea Crop. A Basis for Improvement. London, UK.
11. Fowler, D. B., and Gusta, L. V. 1979. Selection for winter hardiness in wheat. I. Identification of genotypic variability. Crop Science 19: 769-772.
12. Hekneby, M., Antolin, M. C., and Sanchez-Diaz, M. 2006. Frost resistance and biochemical changes during cold acclimation in different annual legumes. Environmental Experimental Botany 55: 305-314.
13. Hofgard, I. S., Vollsnes, A. V., Marum, P., Larsen, A., and Tronsmo, A. M. 2003. Variation in resistance to different winter stress factors within a full-sub family of perennial ryegrass. Euphytica 134: 61-75.
14. Izadi-Darbandi, E., Nezami, A., and Hassanbeigy, R. 2010. Evaluation of freezing tolerance in Flixweed (*Descorainia sophia*) under controlled conditions. Pp 22-24. The 3rd Iranian Weed Science Congress, February. (in Persian with English abstract).

www.SID.ir

Archive of SID

15. Izadi- Darbandi, E., Nezami, A., Abbasian, A., and Heidari, M. 2012. Evaluation of freezing stress tolerance in Wild Oat (*Avena ludoviciana* L.) by electrolytes leakage test. Journal of Environmental Stresses in Crop Sciences 5 (1): 81-94. (in Persian with English abstract).
16. Izadi-Darbandi, E., Yousef Sani, M., Nezami, A., Javadmousavi, M., Keykha, F., and Nezami, S. 2011. Effect of freezing stress on Sweet William (*Dianthus barbatus*) under Controlled Conditions. Journal of Environmental Stresses in Crop Sciences 4 (2): 117-125. (in Persian with English abstract).
17. Javad Mousavi, M., Nezami, S., Izadi, E., Nezami, A., Yousef Sani, M., and Keykha Akhar, F. 2011. Evaluation of freezing tolerance of English daisy (*Bellis perennis)* under controlled conditions. Journal of Water and Soil 25 (2): 380-388. (in Persian with English abstract).
18. Kim, D. C., and Anderson, N. O. 2006. Comparative analysis of laboratory freezing methods to establish cold tolerance of detached rhizomes and intact crowns in garden chrysanthemums (*Dendranthema X grandiflora* Tzvelv). Scientia Horticulture 109: 345-352.
19. Mirmohamadi Meibodi, A., and Tarkeshe Esfahani, S. 2004. Aspects of Physiology and Breeding for Cold and Freezing in Crops. Golbon Publication, Isfahan, Iran 223 pp. (in Persian).
20. Moshtaghi, N., Bagheri, A. R., Nezami, A., and Moshtaghi, S. 2009. Investigation of betaine spray on freezing tolerance of chickpea (*Cicer arietinum* L.) in controlled conditions. Iranian Journal of Field Crops Research 7: 647-656. (in Persian with English abstract).
21. Nezami, A., Hajmohammad nia Ghalibaf, K., and Kamandi, A. 2010. Evaluation of freezing tolerance in sugar beet (*Beta vulgaris*) cultivars under controlled condition. Environmental Stresses in Agricultural Sciences 3 (2). (in Persian with English abstract).
22. Nezami, A., Soleimani, M. R., Ziaee, M., Ghodsi, M., and Bannayan aval, M. 2010. Evaluation of freezing tolerance of hexaploid Triticale genotypes under controlled conditions. Notulae Scientia Biologicae 2 (2): 114-120.
23. Nezami, A. 2002. Evaluation of chilling stress in chickpea (*Cicer arietinum* L.). PhD Thesis, Ferdowsi University of Mashhad. (in Persian with English abstract).
24. Nezami, A., Borzooei, A., Jahani, M., Azizi, M., and Javad Moosavi, M. 2009. Evaluation of freezing tolerance of canola (*Brassica napus* L.) cultivars after cold acclimation under controlled conditions. Iranian Journal of Field Crops Research 7 (2): 711-722. (in Persian with English abstract).
25. Pietsch, G., Anderson, M., and Li, P. H. 2009. Cold tolerance and short day acclimation in perennial *Gaura coccinea* and *G. drummondii*. Scientica Horticulture 120: 418-425.
26. Qian, Y. L., Ball, S., Tan, Z., Kodki, A. J., and Wilhelm, S. J. 2001. Freezing tolerance of six cultivars of buffalo grass. Crop Science 41: 1174-1178.
27. Rashed Mohassel, M. H., Nezami, A., Bagheri, A., Hajmohammadnia, K., and Bannayan, M. 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.
28. Rumball, W., Keogh, R. G., Lane, G. E., Miller, J. E., and Claydon, R. B. 1997. "Grasslands Lancelot" Plantain (*Plantago lanceolata* L.). New Zealand Journal of Agricultural Research 40: 373-377.
29. Samuelsen, B. 2000. The traditional uses, chemical constituents and biological activities of *Plantago major* L.: A review. Journal of Ethnopharmacology 71: 1-21.
30. Skinner, R. H. 2005. Cultivar and environmental effects on freezing tolerance of narrow leaf plantain. Crop Science 45: 2330-2336.
31. Skinner, R. H., and Gustine, D. L. 2002. Freezing Tolerance of Chicory and Narrow-Leaf Plantain. Crop Science 42: 2038-2043.
32. Stewart, A. V. 1996. Plantain (*Plantago lanceolata* L.), a potential pasture species. Proceeding of New Zealand Grassland Association 58: 77-86.
33. Suckling, F. E. T. 1960. Productivity of pasture species on hill country. New Zealand journal of Agricultural Research 3: 579-591.
34. Xuan, J., Liu, J., Gao, H., Huaguabghu, H., and Cheng, X. 2009. Evaluation of low-temperature tolerance of *Zoysia* grass. Tropical Grasslands 43: 118-124.

www.SID.ir

Archive of SID

Iranian Journal of Field Crops Research
Vol. 13, No. 4, Winter. 2016, p. 754-765

نشریه پژوهشهای زراعی ایران
جلد ۱۳، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۴، ص. ۷۶۵-۷۵۴

Evaluation of Freeze Tolerance in Lancelot Plantain (*Plantago lanceolata* L.) Ecotypes under Controlled Conditions

M. Janalizadeh[1]- A. Nezami[2*]- E. Izadi-Darbandi[3]- M. Parsa[3]

Received: 09-03-2014
Accepted: 11-03-2015

Introduction

Lancelot Plantain (Ribwort, narrow-leaf or English plantain) is a deep-rooted, short-lived perennial herb from Plantaginaceae family which has been used for various medicinal purposes for centuries, especially in Europe and only more recently has been proposed as a forage plant. The leaf of plantain is highly palatable for grazing animals, providing mineral-rich forage. Recently two productive upright cultivars of plantain have been bred and introduced, Grasslands Lancelot and the more erect winter active Ceres Tonic. Plantain grows moderately in winter but its main growth periods beings in spring and autumn with opportunistic summer growth. Although it reveals suitable winter survival in natural conditions, but there is not a lot of information about cold tolerance of this plant. So it is important to recognize the freeze tolerance of narrow leaf plantain for successful planting and utilization in cold regions such as Mashhad in Khorasan Razavi Province (Northeast of Iran). Determining LT_{50} point or critical temperature for survival of plant is the most reliable and simple method for evaluating cold tolerance of plants. Another reliable method for freeze tolerance of plants is estimation of temperature at which 50 % of dry matter reduces ($RDMT_{50}$). This experiment was carried out to evaluate freeze tolerance of five ecotypes of Lancelot plantain according to the LT_{50su} and $RDMT_{50}$ indices.

Materials and Methods

In order to evaluate freeze tolerance of Lancelot plantain, a factorial experiment based on completely randomized design with three replications was carried out under controlled conditions at college of agriculture, Ferdowsi University of Mashhad. Five ecotypes of Lancelot plantain (Bojnourd, Kalat, Mashhad, Ghayen and Birjand) after three months growth and hardening in natural environment were transferred to a Thermo gradient freezer on January 20_{th}, 2012 and exposed to eight freezing temperatures (Zero, -3, -6, -9, -12, -15, -18 and -21°C**).** The initial temperature of programmable freezer was 5°C; but gradually decreased in a rate of $2°C.h^{-1}$ until reach to desired temperatures. When the temperature reached to -2°C, the plants were sprayed with the Ice Nucleation Active Bacteria (INAB) to help the formation of ice nuclei in them. Then for recovery, plants were transferred to greenhouse and after one month, survival and growth traits of plants were determined by measuring characteristics such as survival percentage (Su%), the lethal temperature for 50% of plants according to the survival percentage (LT_{50su}), number of leaf, leaf area, leaf dry weight and temperature at which 50% of dry matter reduces ($RDMT_{50}$). LT_{50su} and $RDMT_{50}$ were determined after plotting survival percentage and dry weight data curves versus experimental temperatures respectively. Analysis of variance performed by MSTAT-C software and correlation between data carried out by MINITAB 15 program. Mean separation was conducted by least significant difference (LSD) test at 1% probability level.

Results and Discussion

Analysis of variance showed significant difference between plantain ecotypes and freezing temperatures for survival %. Means comparison showed that survival percentage of Mashhad ecotype was more than other ecotypes. Interaction effects of ecotype and temperature on survival percentage was significant too and only Mashhad and Bojnourd ecotypes in -15°C were alive. Evaluating the temperature-survival curve allowed estimation of a LT_{50} value, similar to the LD_{50} (lethal dose for 50% of the subjects) in a toxicity screen. In this experiment there was significant difference between ecotypes at the point of this indicator view and LT_{50su} of Mashhad ecotype was 5.3°C lower than Birjand ecotype. With decreasing the temperature to less than -12°C, number of leaf and leaf area were decreased. In addition decreasing of temperature to less than -6°C, reduced dry weight of plants noticeably. Mashhad and Birjand ecotypes produced the most and the least leaf number and

1- Ph.D. Student in Crop Physiology, Ferdowsi University of Mashhad
2 and 3- Professor and Associate Professor in Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad respectively
(*- Corresponding Author Email: nezami@um.ac.ir)

www.SID.ir

Archive of SID

leaf dry weight but Kalat and Birjand ecotypes produced the most and the least leaf area respectively after the recovery period. Based on $RDMT_{50}$ index, Bojnourd ecotype was the most tolerant and Birjand ecotype was the most sensitive ecotype. There was high and negative correlation between Survival percentage, LT_{50su} and $RDMT_{50}$ ($r= -0.97^{**}$ and $r= -0.53^{*}$ respectively) which confirmed that these indices were suitable alternatives for each other in estimating the freeze tolerance of narrow leaf plantain.

Conclusions

Based on these results, Lancelot plantain has the ability to withstand winters which are not colder than -16 $^{\circ}$C. Despite this for better perception of Plantain freeze tolerance potential, more experiments under controlled and field conditions are required.

Keywords: Dry weight, LT_{50}, Recovery, Survival

www.SID.ir