

بررسی تحمل به یخ‌زدگی یولاف وحشی (*Avena ludoviciana* L.) با استفاده از آزمون نشت الکترولیت‌ها

ابراهیم ایزدی دربندی^{۱*}، احمد نظامی^۲، عباس عباسیان^۳، مجید حیدری^۴

۱ و ۲. اعضای هیات علمی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد؛

۳ و ۴. دانشجویان کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

تاریخ دریافت: ۹۱/۲/۵؛ تاریخ پذیرش: ۹۱/۹/۱۱

چکیده

به منظور بررسی تحمل به یخ‌زدگی ژنوتیپ‌های *DR4*، *NR11*، *SOR1*، *STR1*، *SM*، *ZR5* و *Skh* یولاف وحشی به تنش یخ‌زدگی آزمایشی در سال ۱۳۸۸ در دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. از بین ژنوتیپ‌های مذکور، دو ژنوتیپ *Skh* (خوزستان) و *SM* (مشهد)، ژنوتیپ‌های حساس به علف کش و در سایر ژنوتیپ‌ها مقاومت به علف کش در آن‌ها گزارش شده است. در این آزمایش ژنوتیپ‌های یولاف وحشی در معرض هفت دمای یخ‌زدگی ۳-، ۶-، ۹-، ۱۲-، ۱۵-، ۱۸- و ۲۱- درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. گیاهان تا مرحله ۳ تا ۴ برگی در محیط طبیعی نگهداری شده و پس از گذراندن دوره خوسرمایی، با استفاده از فریز ترموگرادیان، تحت تیمارهای یخ‌زدگی قرار گرفتند. میزان پایداری غشاء سیتوپلاسمی ژنوتیپ‌های یولاف وحشی مورد مطالعه، با استفاده از آزمون نشت الکترولیت‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت. سپس دمای کشنده ۵۰ درصد نمونه‌ها (LT_{50el}) بر اساس درصد نشت الکترولیت‌ها و دمای کاهنده ۵۰ درصد وزن خشک گیاهان ($RDMT_{50}$) در پایان دوره بازیافت (سه هفته بعد از اعمال تیمار یخ‌زدگی) تعیین گردید. نتایج نشان داد که اثرات دماهای یخ‌زدگی تأثیر معنی داری ($P \leq 0.01$) بر درصد نشت الکترولیت و دمای لازم برای ۵۰ درصد نشت الکترولیت (LT_{50el}) ژنوتیپ‌های یولاف وحشی داشت. ژنوتیپ‌های یولاف وحشی از نظر نشت الکترولیت‌ها اختلاف معنی داری ($P \leq 0.01$) با هم داشتند. بر اساس نتایج آزمایش، کاهش دما به کمتر از ۹- درجه سانتی‌گراد سبب افزایش معنی دار میزان نشت الکترولیت‌ها در کلیه ژنوتیپ‌های مورد بررسی شد. در بین ژنوتیپ‌های یولاف وحشی، ژنوتیپ *SM* بیشترین و ژنوتیپ *Skh*، کمترین تحمل به سرما را از نظر میزان LT_{50el} و $RDMT_{50}$ نشان دادند. نتایج این آزمایش ضمن اینکه نشان از اختلاف در تحمل به یخ‌زدگی ژنوتیپ‌های یولاف وحشی با منشأ جغرافیایی مختلف دارند، نشان داد که مقاومت به علف کش در علف‌های هرز می‌تواند منجر به تغییر بعضی دیگر از خصوصیات آن‌ها از جمله تحمل به سرما شود، به طوری که بر اساس نتایج حاصل، ژنوتیپ‌های مقاوم به علف کش یولاف وحشی (*ZR5*، *STR1*، *SOR1*، *NR11*، *DR4*) در مقایسه با ژنوتیپ حساس به علف کش خوزستان (*Skh*) از LT_{50el} بیشتری برخوردار بودند.

واژه‌های کلیدی: دمای کشنده ۵۰ درصد، نشت الکترولیت‌ها، دماهای یخ‌زدگی، مقاومت به علف کش

مقدمه

دیکلوفوپ متیل (ایلوکسان)، مهم‌ترین علفکش‌های ثبت شده در ایران برای این منظور هستند. اگر چه استفاده از علف کش‌ها برای کنترل علف‌های هرز به دلیل تأثیر سریع و مقرون به صرفه بودن، از استقبال بیشتری نسبت به سایر روش‌های کنترل علف‌های هرز مواجه است، اما پدیده بروز مقاومت به علفکش‌ها که از پیامدهای کاربرد بی‌رویه و غیر

یولاف وحشی (*Avena ludoviciana* L.) از مهم‌ترین علف‌های هرز غلات پاییزه است که در صورت عدم کنترل آن منجر به کاهش عملکرد ۵۰ درصدی در غلات پاییزه خواهد شد (Cousens et al., 1991). استفاده از علفکش‌ها، معمول‌ترین و مهم‌ترین روش مبارزه با این علف هرز است که در این ارتباط کلودینافوپ پروپارژیل (تاپیک) و

تنش‌های مربوطه است، ارزیابی تحمل نسبی توده‌های حساس و مقاوم علف هرز به تنش‌ها، می‌تواند به عنوان شاخصی مهم در این ارتباط باشد.

تنش سرما از مهم‌ترین تنش‌های غیر زیستی است که رشد غلات پاییزه را از طریق صدمه به سلول‌ها و بافت‌های گیاهی تحت تأثیر قرار می‌دهد (Azizi et al., 2007). تحقیقات زیادی برای یافتن یک روش سریع و موثر برای پیش بینی تحمل به سرمای گیاهان در شرایط مزرعه انجام شده است که با توجه به وجود نوسان در شرایط محیطی خطاهای اجتناب ناپذیری از قبیل اثرات متقابل بیماری‌های گیاهی، پوسیدگی ناشی از رطوبت و پوشش برف و سایر موارد، محققان از آزمون‌های یخ‌زدگی در شرایط کنترل شده برای این منظور استفاده می‌کنند (Bridger et al., 2007; Nezami et al., 1996). بر این اساس گیاهان در مزرعه (Anderson et al., 1993, 1995; Azizi et al., 2007) و یا شرایط کنترل شده با سرما خو گرفته (Bridger et al., 1996; Nezami et al., 2006) و با قرار دادن آن‌ها در معرض دماهای مختلف یخ‌زدگی در آزمایشگاه، دمایی را که سبب ۵۰ درصد مرگ و میر در گیاهان LT_{50su} ^۲ می‌شود، محاسبه می‌کنند. از سوی دیگر غشای سیتوپلاسمی یکی از اولین محل‌های خسارت در اثر تنش یخ‌زدگی است و میزان خسارت آن را می‌توان از طریق تراوش یونی بافت‌های خسارت دیده اندازه‌گیری کرد (Moorby, 1981)، لذا این صفت نیز به عنوان یکی از ملاک‌های ارزیابی تحمل به یخ‌زدگی در گیاهان مورد استفاده قرار گرفته است و دمایی که سبب خروج ۵۰ درصد نشت الکترولیت‌ها از بافت‌های گیاهی می‌شود به عنوان دمای کشنده ۵۰ درصد گیاهان بر اساس نشت الکترولیت‌ها LT_{50el} ^۳ در نظر گرفته می‌شود. در این ارتباط گیاهانی که از حساسیت بیشتری به سرما برخوردار هستند خسارت بیشتری خواهند دیدند و تراوش یونی آن‌ها نیز معمولاً بیشتر خواهد بود (Nezami et al., 2007).

برآیند تحقیقات محققان دلالت بر این مهم دارد که تداوم انسجام غشاء پلاسما، عامل اصلی بقای گیاه در شرایط تنش یخ‌زدگی است (Salk et al., 1991; Stephonkus et al., 1993). با توجه به این که بر اساس

اصولی این آفتکش‌ها است، نیز از مهم‌ترین مشکلات پیش روی علم علف‌های هرز است که از منظر کاربرد علفکش‌ها مورد توجه است (Zand and Baghestani, 2002). پیامد مستقیم مقاومت به علفکش در علف‌های هرز، عدم کنترل آن‌ها در اثر کاربرد علفکش است. این مسئله می‌تواند بر بسیاری از ویژگی‌های زیستی آن نیز موثر باشد که از آن به شایستگی^۱ نسبی اطلاق می‌شود. منظور از شایستگی، توانایی استقرار، بقاء و تکثیر موفقیت‌آمیز علف‌های هرز است که در برنامه‌ریزی مدیریت بیوتیپ‌های مقاوم علف‌هرز بر تغییرات جمعیتی توده‌های حساس و مقاوم، در صورت حذف فشار انتخاب، مهم و تأثیرگذار است (Soltani et al., 2008). شایستگی یکی از مهم‌ترین عوامل تأثیرگذار در ایجاد، تکامل و تداوم حضور بیوتیپ‌های علف‌های هرز مقاوم است. تحت شرایط انتخاب طبیعی، بیوتیپ‌های علف‌های هرزی که دارای بیشترین شایستگی هستند، تولید افراد بیشتری می‌کنند و به مخزن ژنی مسلط می‌شوند. از این‌رو، تفاوت شایستگی بیوتیپ‌های مقاوم و حساس، ممکن است ناشی از تفاوت باروری، توانایی رقابتی و پاسخ به عوامل محیطی از قبیل سرما و خشکی باشد (Tahmasebi, 2010).

به طور کلی سرنوشت تکامل ژن‌های مقاومت به علفکش در علف‌های هرز، به مقدار زیادی به دو خصوصیت سودمندی مقاومت ایجاد شده و اثر منفی چندگانه ژن بر شایستگی بستگی دارد. اگر هزینه شایستگی ژن مقاومت زیاد باشد، در غیاب عامل گزینش (علفکش)، داشتن ژن مقاومت در مقایسه با آلل‌های گونه وحشی یک نقص محسوب خواهد شد. از این رو آگاهی از خصوصیات بیولوژیکی توده‌های علف‌های هرز مقاوم و حساس به علفکش و همچنین شناخت مکانیزم‌هایی که سبب ایجاد مقاومت شده‌اند، ممکن است در مدیریت آن‌ها مفید باشند. اعتقاد بر این است که تفاوت در شایستگی علف‌های هرز مقاوم و حساس به علفکش، امکان پیش بینی روند تکامل مقاومت به علفکش و طراحی راهبردهای مدیریتی به منظور بهره برداری از صفاتی که منجر به کاهش نمود اکولوژیکی توده‌های مقاوم می‌شود را فراهم می‌نماید (Zand and Baghestani, 2002). از آنجایی که توان رقابتی گونه‌های رقیب تحت تأثیر مستقیم عوامل اقلیمی و

^۲. Lethal temperature 50 according to the survival

^۳. Lethal temperature 50 according to the electrolyte leakage

^۱. Fitness

فریزر خارج شده و به منظور کاهش سرعت ذوب گیاهان، به محیطی با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد منتقل و به مدت ۲۴ ساعت در آنجا نگهداری شدند. به منظور ایجاد هستک یخ^۲ در گیاهچه‌ها، در دمای ۳- درجه سانتی‌گراد محلول حاوی هستک یخ بر روی گیاهان به نحوی پاشیده شد که سطح گیاهان را قشر نازکی از این محلول پوشاند.

برای اندازه‌گیری میزان نشت الکترولیت‌ها از هر گلدان در هر تیمار دمایی، اندام‌های هوایی سه بوته یولاف وحشی به همراه طوقه آن‌ها به فاصله یک سانتی‌متری زیر طوقه جدا و پس از شستشو و جدا کردن خاک ریشه، داخل ویال‌های حاوی ۴۰ میلی لیتر آب دو بار تقطیر شده قرار گرفته و به مدت شش ساعت در روی شیکر قرار داده شدند. پس از آن هدایت الکتریکی هر نمونه (میزان نشت الکترولیت‌ها) با استفاده از دستگاه EC متر اندازه‌گیری شد (EC₁). به منظور تعیین میزان کل نشت الکترولیت‌ها در اثر مرگ سلول، ویال‌ها به اتوکلاو با دمای ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۲ اتمسفر انتقال و به مدت ۳۰ دقیقه نگهداری شدند و پس از آن به مدت شش ساعت در روی شیکر قرار گرفته و هدایت الکتریکی آن‌ها مجدداً اندازه‌گیری شد (EC₂). سپس درصد نشت الکترولیت‌ها با استفاده از فرمول $[(EC_1/EC_2) \times 100] =$ درصد نشت الکترولیت‌ها] محاسبه شد. درجه حرارت کشنده برای ۵۰ درصد نمونه‌ها بر اساس نشت الکترولیت‌ها (LT_{50el}) و نیز دمای کاهنده ۵۰ درصد رشد^۳ (RDMT₅₀) گیاهان به ترتیب با استفاده از رسم نمودار درصد نشت الکترولیت‌ها و وزن خشک گیاهان هر تیمار در مقابل دماهای یخ‌زدگی تعیین شد (Gusta et al., 1982, 2001; Nezami et al., 2010). تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای MINITAB و MSTATC انجام شد. برای رسم نمودارها و تعیین LT₅₀ از نرم افزارهای EXCEL و CurveExpert و Sigmaplot استفاده شد. میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون LSD در سطح ۵ درصد مقایسه شدند.

بررسی‌های انجام شده در کشور، مقاومت یولاف وحشی به علفکش‌های بازدارنده بیوسنتز چربی^۱ در کشور محرز شده است (Rastgoo, 2006)، و از آنجایی که اغلب مطالعات مربوط به ارزیابی تحمل به یخ‌زدگی و تنش سرما در گیاهان زراعی انجام شده است و اطلاعات در مورد علف‌های هرز و بیوتیپ‌های وحشی در این رابطه کمتر است، این بررسی به منظور ارزیابی شایستگی نسبی ژنوتیپ‌های مقاوم و حساس یولاف وحشی به علف‌کش‌های کلودینافوپ پروپارژیل (تاپیک) و دیکلوفوپ متیل (ایلوکسان) به تنش یخ‌زدگی با استفاده از آزمون نشت الکترولیت‌ها انجام شد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه به منظور ارزیابی تحمل به تنش یخ‌زدگی یولاف وحشی (*Avena ludoviciana* L.) انجام شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار به اجرا درآمد. عوامل مورد بررسی در آن شامل ژنوتیپ‌های یولاف وحشی در هفت سطح (شامل ۵ اکوتیپ که دارای بالاترین مقاومت عرضی به علفکش‌های کلودینافوپ پروپارژیل (تاپیک) و دیکلوفوپ متیل (ایلوکسان) بودند و ۲ اکوتیپ حساس (مشهد و خوزستان) (Rastgoo, 2006) بود که در جدول ۱ به مشخصات و مناطق جغرافیایی آن‌ها اشاره شده است. عامل دوم، دما در ۷ سطح شامل (۳-، ۶-، ۹-، ۱۲-، ۱۵-، ۱۸- و ۲۱- درجه سانتی‌گراد) بود. برای این منظور پس از تهیه بذور، ابتدا بذور پوست‌کنی شده و توسط محلول هیپوکلریت سدیم ۳٪ ضد عفونی و سپس به مدت ۴ روز در پتری دیش قرار داده شده تا جوانه‌دار شدند. بذور جوانه‌دار شده در گلدان‌های پلاستیکی با قطر ۱۰ سانتی‌متر کشت و این گلدان‌ها برای تطابق با سرما در طول پاییز و زمستان، در شرایط طبیعی تا مرحله ۳ تا ۴ برگی کامل نگهداری شدند و پس از گذراندن دوره خوسرمائی، با استفاده از فریزر ترموگرادیان، تحت تیمار دماهای یخ‌زدگی قرار گرفتند. دمای فریزر در شروع آزمایش ۵ درجه سانتی‌گراد بود و پس از آن با سرعت ۲ درجه سانتی‌گراد در ساعت کاهش یافت تا به دمای مورد نظر در تیمارهای آزمایش رسید (Azizi et al., 2007). پس از رسیدن به دمای مورد نظر نمونه‌ها به مدت یک ساعت در این دما نگهداری و سپس از

². Ice Nucleation Active Bacteria

³. Reduced Dry Matter Temperature

¹. Lipid Biosynthesis Inhibitors

جدول ۱. علائم اختصاری، مشخصات و مکان جمع‌آوری ژنوتیپ‌های یولاف وحشی مورد مطالعه

Table 1. Abbreviations, characteristics and collecting locations of studied wild oat genotypes.

ژنوتیپ	حساس و مقاوم بودن به علف‌کش‌های ACCase	منطقه جمع‌آوری بذر
Genotype	Sensitive or resistance to ACCase Herbicides	The region of seed collection
SM	حساس Sensitive	مشهد (خراسان رضوی) Mashhad (Khorasan Razavie)
Skh	حساس Sensitive	شوشتر (خوزستان) Shoshtar (Khuzestan)
DR4	مقاوم Resistant	دزفول (خوزستان) Dezful (Khuzestan)
NR11	مقاوم Resistant	اندیمشک (خوزستان) Andimeshk (Khuzestan)
SOR1	مقاوم Resistant	شوش (خوزستان) Shosh (Khuzestan)
STR1	مقاوم Resistant	شوشتر (خوزستان) Shoshtar (Khuzestan)
ZR5	مقاوم Resistant	رامهرمز (خوزستان) Ramhormoz (Khuzestan)

نتایج و بحث

های سلولی در اندام‌های حساس به سرما می‌شود. ایوگنیا و همکاران (Eugenia et al., 2003) نیز در ارزیابی تحمل گیاه *Trifolium hirtum* به تنش یخ‌زدگی از طریق اندازه‌گیری میزان نشت الکترولیت‌ها نشان دادند که با کاهش دما از ۶- به ۱۴- درجه سانتی‌گراد، میزان نشت مواد در برگ‌های این گیاه افزایش یافته است. با توجه به نتایج این آزمایش نیز به نظر می‌رسد با کاهش دما خسارت ناشی از تنش یخ‌زدگی بر غشاهای سلولی زیاد شده و این مهم منجر به اختلال فعالیت غشاء سلولی ژنوتیپ‌های یولاف وحشی و به دنبال آن افزایش میزان نشت مواد درون سلولی شده است.

اثر دماهای یخ‌زدگی بر وزن خشک یولاف وحشی پس از دوره بازیافت (۲۱ روز پس از اعمال تیمار یخ‌زدگی) معنی‌دار ($P \leq 0.01$) شد (جدول ۲ و شکل ۲)، به طوری که بیشترین و کمترین وزن خشک مربوط به تیمارهای دمایی ۳- و ۲۱- درجه سانتی‌گراد بود (شکل ۲). کاهش وزن خشک تک بوته با کاهش دما، احتمالاً به دلیل اثر عدم توانایی کافی رشد مجدد اندام‌های گیاهی در مرحله بازیافت بوده است. در بررسی عزیزی و همکاران (Azizi et al., 2005)، اثر دما بر وزن خشک گیاه گندم در پایان دوره بازیافت معنی‌دار بود و با کاهش دما به کمتر از صفر درجه سانتی‌گراد وزن خشک گیاه کاهش یافت. در آزمایش ایشان

نتایج نشان دادند که تأثیر دماهای یخ‌زدگی بر درصد نشت الکترولیت‌های یولاف وحشی معنی‌دار ($P \leq 0.01$) بود (جدول ۲). بر اساس نتایج آزمایش، کمترین و بیشترین درصد نشت الکترولیت‌ها به ترتیب در دماهای ۳- و ۱۸- درجه سانتی‌گراد مشاهده شد (شکل ۱). از آنجا که غشاء سلولی خارجی‌ترین بخش زنده سلول است که نقش اصلی را در تبادل انتخابی مواد بر عهده دارد و از طرفی اولین مکان خسارت در اثر سرما و یخ‌زدگی است، لذا تنش سرما ضمن اینکه منجر به تغییر وضعیت غشاء از حالت کریستال مایع به حالت جامد-ژل می‌شود، فعالیت آن را نیز مختل می‌کند. از این رو اختلال در فعالیت و انسجام غشاهای سلولی در اثر تنش سرما، نشت الکترولیت‌ها از سلول را در پی خواهد داشت (Baka and Skinner., 2003). در این ارتباط، محققان افزایش نشت الکترولیت‌ها از سلول را شاخص مناسبی در ارزیابی حساسیت گیاهان به تنش سرما و یخ‌زدگی گزارش کرده‌اند (Cardona et al., 1997). پیراس و سارهان (Perras and Sarhan, 1988) گزارش کردند که میزان مقاومت به یخ‌زدگی در برگ‌ها، طوقه‌ها و ریشه‌های گندم از طریق آزمون نشت الکترولیت‌ها قابل ارزیابی است. پاول (Paull, 1981) اظهار داشت تغییر در ساختار غشاء در اثر سرما سبب افزایش نشت الکترولیت-

یافت. گریفیت و مک‌این‌تایر (Griffith and McIntyre, 1993) اظهار داشتند که بخش هوایی گیاه چاودار در دماهای پایین ماده خشک کمتری در خود تولید می‌کند. هکنبای و همکاران (Hekneby et al., 2006) در بررسی تحمل به یخزدگی چند رقم یونجه و شبدر یک ساله مشاهده کردند که با کاهش دما از ۱- تا ۱۳- درجه سانتی‌گراد، ماده خشک گیاه کاهش معنی‌داری نشان داد. نظامی و همکاران (Nezami et al., 2006) نیز با بررسی اثر دماهای یخزدگی بر وزن خشک نخود مشاهده کردند که کاهش دما از ۴- به ۸- درجه سانتی‌گراد باعث ۴۲ درصد کاهش در وزن خشک نخود شده است.

وزن خشک گیاه در تیمارهای دمایی ۸-، ۱۲- و ۱۶- درجه سانتی‌گراد به ترتیب ۵۰، ۸۱ و ۹۵ درصد نسبت به شاهد کاهش یافت و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد به صفر رسید. چن و همکاران (Chen et al., 1983) با اعمال تیمار یخزدگی در شرایط کنترل شده بر روی گندم مشاهده کردند که کاهش دمای یخزدگی از ۵- به ۱۰- درجه سانتی‌گراد سبب کاهش ۲۰ درصدی رشد مجدد اندام‌های هوایی گندم نسبت به تیمار شاهد (صفر درجه سانتی‌گراد) شد. در صورتی که در تیمارهای یخزدگی ۱۵- و ۲۰- درجه سانتی‌گراد رشد مجدد اندام‌های هوایی گندم نسبت به شاهد به ترتیب ۶۰ درصد و ۸۰ درصد کاهش

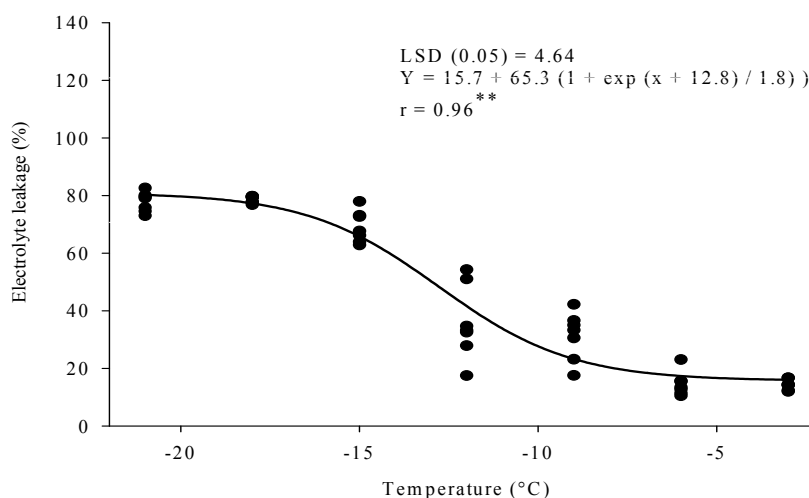
جدول ۲. منابع تغییر، درجه آزادی و میانگین مربعات نشت الکترولیت‌ها و زیست توده ژنوتیپ‌های یولاف وحشی تحت تأثیر یخزدگی در شرایط کنترل شده

Table 2. Source of variations, degrees of freedom, electrolyte leakages and biomass mean of squares in wild oat genotypes response to freezing temperatures under controlled conditions.

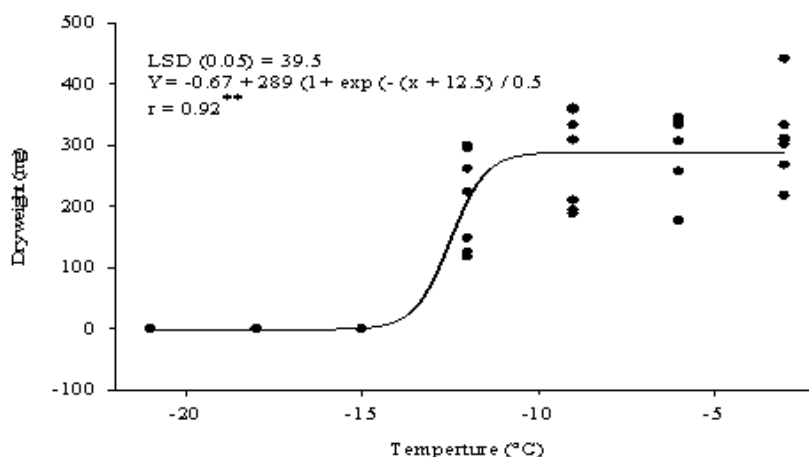
Source of variations	منبع تغییرات	درجه آزادی Degree of freedom	نشت الکترولیت‌ها Electrolyte leakages	زیست توده Biomass
Temperature	دما	6	17092.5**	460630**
Genotype	ژنوتیپ	6	224.7**	25213**
Temperature × Genotype	دما × ژنوتیپ	36	115.7**	856**
Error	خطا	98	57.6	4156

** significant at 1% level of probability

** معنی داری در سطح ۱ درصد



شکل ۱. اثر دماهای یخزدگی بر نشت الکترولیت ژنوتیپ‌های یولاف وحشی در شرایط کنترل شده
Fig. 1. Effect of freezing temperatures on wild oat genotypes electrolyte leakage under controlled conditions.



شکل ۲. اثر دماهای یخ‌زدگی بر وزن خشک بوته ژنوتیپ‌های یولاف وحشی سه هفته پس از یخ‌زدگی در شرایط کنترل شده.

Fig. 2. Effect of freezing temperatures on wild oat genotypes dry weight three weeks after freezing under controlled conditions.

سرما عموماً غشاء سیتوپلاسمی پایدارتر و نشت الکترولیت کمتری نسبت به ژنوتیپ‌های حساس داشته‌اند. کاردونا و همکاران (Cardona et al., 1997) نیز اظهار داشتند که تأثیر تنش سرما بر اختلال در فعالیت غشاهای سلولی و به دنبال آن نشت الکترولیت‌ها بسته به تحمل به یخ‌زدگی ارقام مختلف گیاهی متفاوت است. با توجه به مطالعات مذکور و نتایج حاصل از این آزمایش به نظر می‌رسد در یولاف وحشی اختلاف در زیستگاه و نقش آن در سازگاری به تحمل دمای پایین، نقش مهمی بر کمتر بودن نشت الکترولیت‌ها در ژنوتیپ مشهود داشته است. بر اساس نتایج حاصل، ژنوتیپ‌های یولاف وحشی مقاوم به علفکش اختلاف معنی داری از نظر درصد نشت الکترولیت‌ها، با ژنوتیپ حساس به علفکش خوزستان و نیز با ژنوتیپ حساس به علف کش مشهود داشتند (شکل ۳).

گوستا و همکاران (Gusta et al., 1982) دمایی را که سبب ۵۰ درصد نشت الکترولیت‌ها از بافت‌های گیاهی می‌شود، به عنوان دمای ۵۰ درصد کشندگی (LT_{50el}) پیشنهاد کردند. در مطالعه حاضر ژنوتیپ‌های یولاف وحشی مورد بررسی از نظر LT_{50el} تفاوت معنی داری ($P < 0.01$) داشتند (جدول ۳). بر اساس شاخص مذکور ژنوتیپ حساس به علفکش مشهود با LT_{50el} معادل $-13/5$ درجه سانتی‌گراد متحمل‌ترین و ژنوتیپ حساس به علفکش

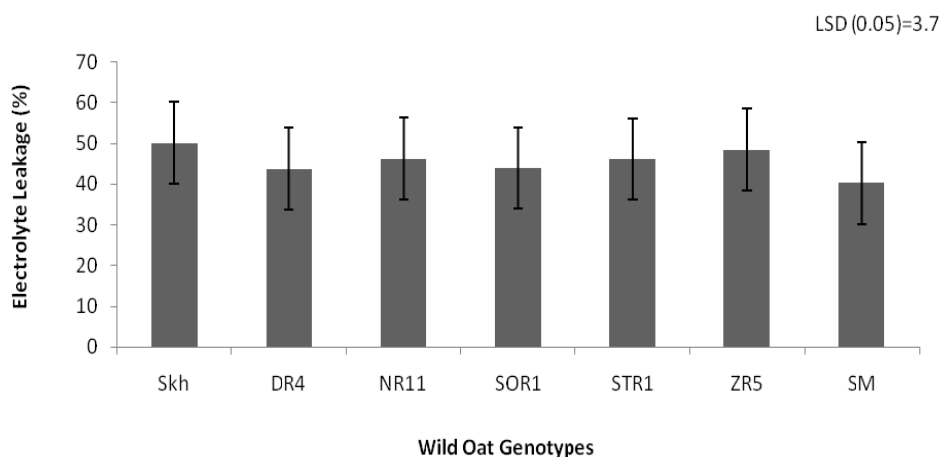
ژنوتیپ‌های یولاف وحشی از نظر میزان نشت الکترولیت‌ها تفاوت معنی‌داری ($P \leq 0.01$) با یکدیگر داشتند (جدول ۲) و بر اساس نتایج حاصل، در بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی، ژنوتیپ Skh بیشترین و ژنوتیپ SM از کمترین درصد نشت الکترولیت برخوردار بودند (شکل ۳).

از آنجا که شرایط اقلیمی حاکم بر رشد گونه‌های گیاهی در سازش آن‌ها به تنش‌های محیطی موثر است، لذا به نظر می‌رسد که ژنوتیپ SM در طول فصل رشد خود به دلیل این‌که در شرایط محیطی سردتری نسبت به ژنوتیپ‌های خوزستان رشد یافته‌اند، نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها تحمل بیشتری به سرما داشته باشند. مطالعه سالک و همکاران (Salk et al., 1991) بر روی تحمل به یخ‌زدگی یونجه نشان داد که ارقام حساس یونجه بیشترین مقدار نشت الکترولیت‌ها را پس از قرار گرفتن در معرض تنش یخ‌زدگی داشتند. نایار و همکاران (Nayyar et al., 2005) نیز ضمن بررسی اثر تنش سرما بر گیاهچه‌های نخود با استفاده از آزمون نشت الکترولیت‌ها گزارش کردند که در گیاهچه‌های خو سرما^۱ شده درصد نشت الکترولیت‌ها کمتر از گیاهچه‌های خو سرما نشده بود. تحقیقات دیگری بر روی گندم نیز نشان داده است که ژنوتیپ‌های متحمل به

^۱. Cold acclimated plant

نیز با بررسی LT_{50el} و همچنین رشد مجدد در گونه‌های مختلف پنجه‌مرغی به نتایج مشابه‌ای اشاره کرده‌اند. در بررسی نظامی و همکاران (Nezami et al., 2007) نیز مشاهده شد که بین ارقام کلزای مورد مطالعه از نظر LT_{50el} تفاوت معنی‌داری وجود داشت و LT_{50el} کمتر در ارقام متحمل به سرمای کلزا با نشت سلولی کمتر نسبت به سایر ارقام مورد مطالعه همراه بود. در آزمایش حاضر نیز ژنوتیپ حساس خوزستان که کمترین LT_{50el} را داشت (شکل ۴) دارای بیشترین درصد نشت الکترولیت‌ها نیز بود (شکل ۳)، که در تطابق با یافته‌های سایر محققان مذکور در این ارتباط است.

خوزستان با LT_{50el} حدود ۹- درجه سانتی‌گراد حساس‌ترین ژنوتیپ نسبت به تنش یخ‌زدگی شناخته شد (شکل ۴). در این ارتباط، شاشیکومار و ناس (Shashikumar and Nus, 1993) با انجام آزمایشی بر روی ۸ بیوتیپ پنجه‌مرغی گزارش کردند که بیوتیپ‌های حساس‌تر به سرما LT_{50el} کمتری نسبت به بیوتیپ‌های مقاوم داشتند. کاردونا و همکاران (Cardona et al., 1997) با مطالعه اثر تنش یخ‌زدگی بر روی سه بیوتیپ پاسپالوم، با منشاء جغرافیایی متفاوت، تفاوت معنی‌داری را از نظر درصد نشت الکترولیت‌ها و LT_{50el} آن‌ها مشاهده کردند. اندرسون و همکاران (Anderson et al., 1993)



شکل ۳. درصد نشت الکترولیت‌ها در ژنوتیپ‌های یولاف وحشی تحت تأثیر دماهای یخ‌زدگی در شرایط کنترل شده
 Fig. 3. Electrolyte leakage percentage in wild oat genotypes affected by freezing temperatures under controlled

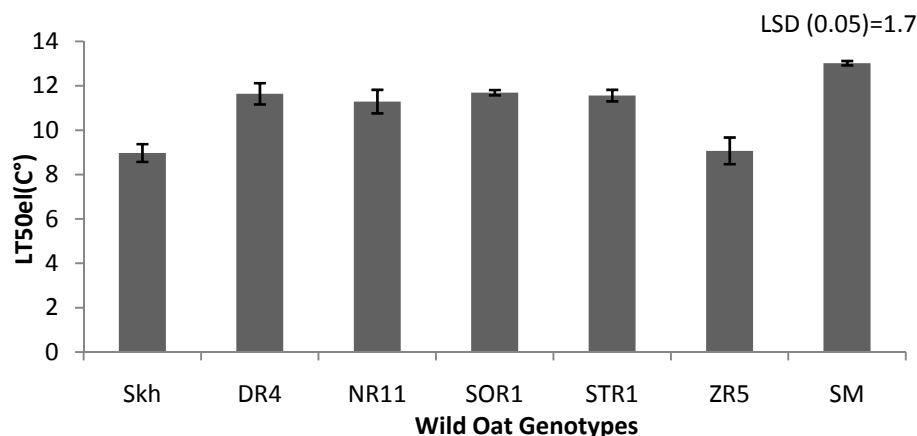
جدول ۳. منابع تغییر، درجه آزادی و میانگین مجزورات دمای ۵۰ درصد کشته بر اساس درصد نشت الکترولیت (LT_{50el}) و دمای ۵۰ درصد کاهنده زیست توده ($RDMT_{50}$) ژنوتیپ‌های یولاف وحشی پس از یخ‌زدگی تحت شرایط کنترل شده

Table 3. Sources of variations, degrees of freedom and mean squares of 50% lethal temperature based on percentage of electrolyte leakage (LT_{50el}) and temperature to reduce 50% of wild oat genotypes biomass ($RDMT_{50}$) after freezing temperatures under controlled conditions

Source of variations	Degree of freedom	دمای ۵۰ درصد کاهنده زیست توده اساس درصد نشت الکترولیت LT_{50el}	دمای ۵۰ درصد کاهنده زیست توده $RDMT_{50}$
Genotype	ژنوتیپ 6	6.61**	7.35*
Error	خطا 14	1.95	2.86

** and * significant at 5% and 1% levels of probability

* و ** معنی داری در سطح ۵ و ۱ درصد



شکل ۴. دمای ۵۰ درصد کشندگی بر اساس نشت الکترولیت‌ها (LT_{50el}) در ژنوتیپ‌های یولاف وحشی پس از اعمال تنش یخ‌زدگی در شرایط کنترل شده.

Fig. 4. Lethal temperature 50 according to electrolyte leakage (LT_{50el}) in wild oat genotypes after freezing temperatures under controlled conditions

الکترولیت‌ها در مقابل دمای یخ‌زدگی، در ارقام متحمل به سرما کمتر از ارقام حساس به سرما است. این محققان شیب منحنی نشت الکترولیت‌ها را به عنوان یکی از نشانه‌های خسارت ناشی از تنش سرما در گیاهان معرفی کردند. در بررسی سایر محققان نیز مشاهده شده است که شیب منحنی نشت الکترولیت‌ها در مقابل دمای یخ‌زدگی در ارقام متحمل به سرما کمتر از ارقام حساس به سرما است (Nezami et al., 2007; Cardona et al., 1997). نامبرندگان تفاوت در شیب منحنی نشت الکترولیت‌ها را به عنوان یکی از شاخص‌های مهم شدت خسارت ناشی از تنش سرما در ارقام و گیاهان متحمل و حساس به سرما معرفی کردند. این مسئله نشان می‌دهد که در شرایط تنش سرما، ژنوتیپ‌های گیاهان متحمل به سرما در مقایسه با ژنوتیپ‌های حساس به سرما از سرعت نشت الکترولیت کمتری برخوردار هستند.

ژنوتیپ‌های یولاف وحشی از نظر وزن خشک در پایان دوره بازیافت تفاوت معنی‌داری داشتند (جدول ۲)، به طوری که ژنوتیپ DR4 با وزن خشک تک بوته معادل ۲۰۹ میلی‌گرم بیشترین میزان و ZR5 با مقدار ۱۲۰ میلی‌گرم کمترین وزن خشک را دارا بودند (شکل ۷).

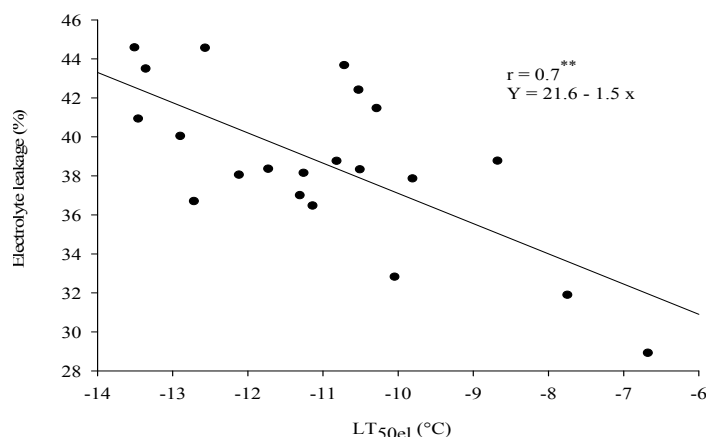
از سوی دیگر، ژنوتیپ‌های یولاف وحشی اختلاف معنی‌داری از نظر RDMT₅₀ داشتند (جدول ۳). بر اساس نتایج حاصل، کم‌ترین میزان RDMT₅₀ در ژنوتیپ Skh (با ۹/۵- درجه سانتی‌گراد) و بیشترین آن در ژنوتیپ SM

در بررسی همبستگی بین درصد نشت الکترولیت‌ها و LT_{50el} ژنوتیپ‌های یولاف وحشی مورد آزمایش نیز مشاهده شد که با کاهش درصد نشت الکترولیت‌ها، دمای ۵۰ درصد کشندگی نیز کاهش یافت (شکل ۵). ضریب همبستگی درصد نشت الکترولیت‌ها و LT_{50el} در این آزمایش $r = -0.7$ بود؛ لذا به نظر می‌رسد که علاوه بر شاخص درصد نشت الکترولیت‌ها، از شاخص LT_{50el} نیز می‌توان برای ارزیابی میزان خسارت سرما در یولاف وحشی استفاده کرد. در این ارتباط، در کلزا نیز مشاهده شده است که بین LT_{50el} و درصد نشت الکترولیت‌ها همبستگی منفی و بالایی وجود دارد (Nezami et al., 2007).

با گروه‌بندی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه به سه گروه حساس به علفکش مشهد، حساس به علفکش خوزستان و مقاوم به علفکش خوزستان (شکل ۶)، و ترسیم روند منحنی نشت الکترولیت‌های آن‌ها تحت تأثیر دماهای یخ‌زدگی، مشاهده می‌شود که علیرغم شباهت کلی تغییرات روند منحنی نشت الکترولیت‌ها در ژنوتیپ‌های مورد بررسی، درصد نشت الکترولیت‌های این سه گروه تا قبل از دمای ۶- درجه سانتی‌گراد اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند، ولی با کاهش دما از ۶- به ۱۵- درجه سانتی‌گراد شیب افزایش درصد نشت الکترولیت‌ها در ژنوتیپ حساس به علفکش خوزستان از ژنوتیپ مقاوم به علفکش خوزستان بیشتر بود. بررسی کاردونا و همکاران (Cardona et al., 1997) نشان داده است که شیب منحنی درصد نشت

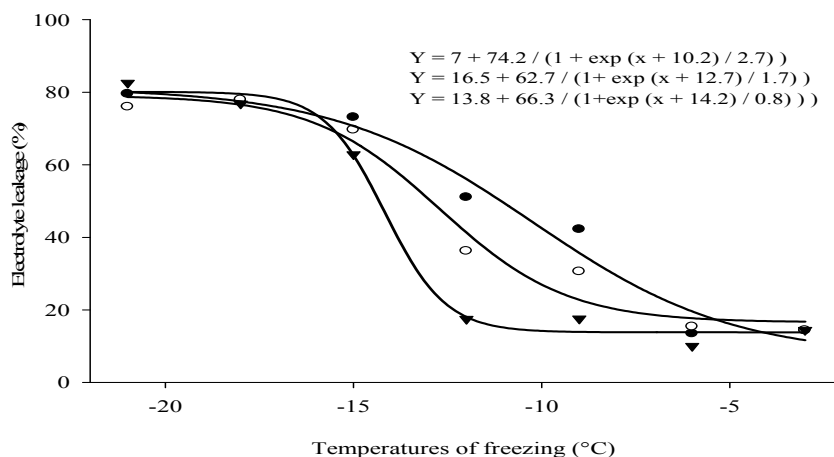
همبستگی $RDMT_{50}$ با LT_{50su} در آزمایش ایشان ۰/۸۹ بود که نشان دهنده کارایی این شاخص در تخمین میزان خسارت سرما به گیاه بیان شد. وی نتیجه‌گیری کرد که علاوه بر شاخص LT_{50} از این شاخص نیز می‌توان برای ارزیابی میزان خسارت سرما به گیاه و بازیافت و رشد مجدد آن استفاده کرد.

(۱۳/۷- درجه سانتی‌گراد) مشاهده شد (شکل ۸). بررسی همبستگی $RDMT_{50}$ با LT_{50el} نشت نشان داد که این دو شاخص با یکدیگر رابطه نزدیکی دارند ($r=0.66^*$). در بررسی نظامی (Nezami, 2006) بر روی تحمل به سرمای نخود در شرایط کنترل شده، مشاهده شد که در ژنوتیپ‌های متحمل به سرما شاخص $RDMT_{50}$ دو درجه سانتی‌گراد کمتر از ژنوتیپ حساس به سرما بود. ضریب



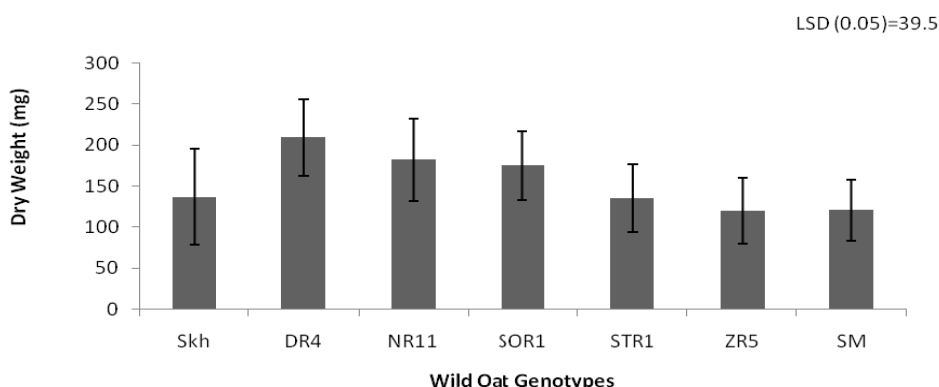
شکل ۵. رابطه بین نشت الکترولیت‌ها با دمای ۵۰ درصد کشندگی بر اساس نشت الکترولیت‌ها (LT_{50el}) در ژنوتیپ‌های یولاف وحشی پس از یخ‌زدگی در شرایط کنترل شده.

Fig. 5. Relationship between 50% lethal temperature based on electrolyte leakage (LT_{50el}) in wild oat genotypes after freezing temperatures under controlled conditions.

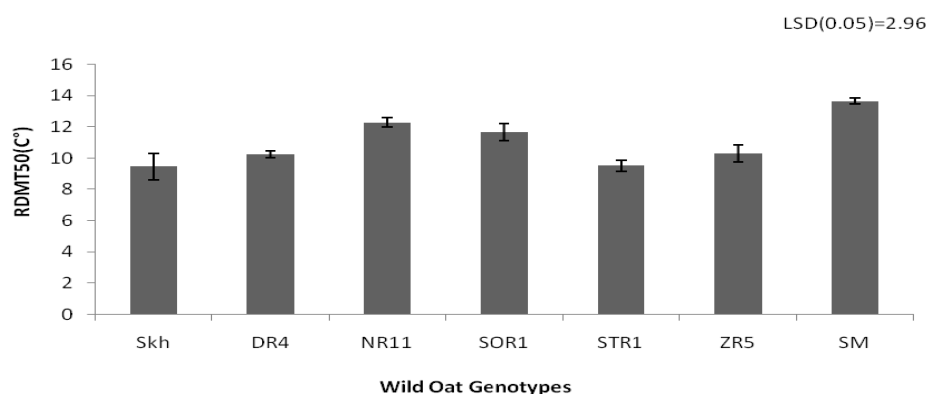


شکل ۶. تأثیر دماهای یخ‌زدگی در شرایط کنترل شده بر روند نشت الکترولیت‌ها در یولاف وحشی حساس به علف کش مشهد (▼ معادله اول) و یولاف حساس به علف کش خوزستان (○، معادله سوم) و میانگین سایر ژنوتیپ‌های مقاوم به علف کش‌های خوزستان (●، معادله دوم).

Fig. 6. Effect of freezing temperatures on wild oat genotypes (Mashhad sensitive genotype (▼, first equation), Khuzestan sensitive genotypes (○, third equation) and the average of other Khoozestan resistant genotypes (●, second equation) electrolyte leakages under controlled conditions.



شکل ۷. میانگین وزن خشک ژنوتیپ‌های یولاف وحشی پس از دوره بازیافت
 Fig. 7. The average of wild oat genotypes dry weight after of recovery period.

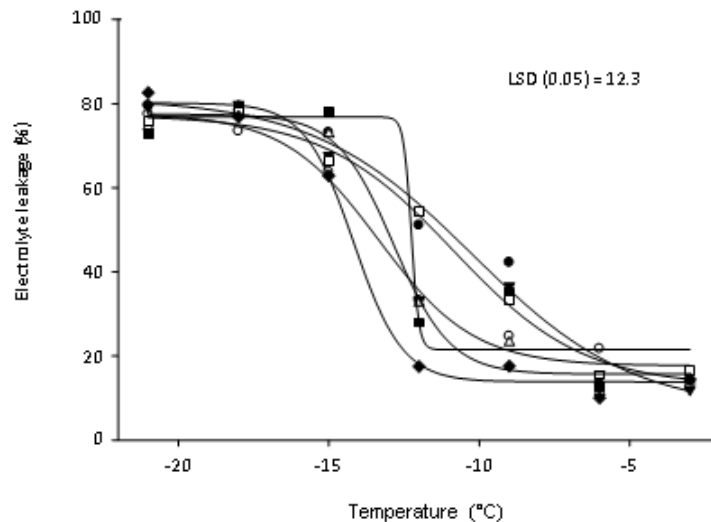


شکل ۸. دمای کاهشدهنده ۵۰ درصد وزن خشک (RDMT₅₀) ژنوتیپ‌های یولاف وحشی سه هفته پس از یخ‌زدگی در شرایط کنترل شده

Fig. 8. Temperature to reduced 50% dry weight (RDMT₅₀) of wild oat genotypes after three weeks of freezing under controled conditions

۱۵- درجه سانتی‌گراد به بعد، روند تغییرات نشت الکترولیت‌ها در تمام ژنوتیپ‌ها ثابت شد (شکل ۹). به طور کلی، مقایسه روند تغییرات نشت الکترولیت‌ها در ژنوتیپ‌های یولاف وحشی نشان داد که سرعت افزایش نشت الکترولیت‌ها در ژنوتیپ Skh بیشتر و در ژنوتیپ SM کمتر از دیگر ژنوتیپ‌ها بود. بررسی سایر محققان نیز نشان داده است که شیب منحنی درصد نشت الکترولیت‌ها در مقابل دمای یخ‌زدگی، در ارقام متحمل به سرما کمتر از ارقام حساس به سرما است (Cardona et al., 1997; Nezami et al., 2007). نامبردگان، شیب منحنی نشت الکترولیت‌ها را به عنوان یکی از نشانه‌های خسارت ناشی از تنش سرما در گیاهان معرفی کردند.

در بررسی اثرات متقابل دماهای یخ‌زدگی بر روند تغییرات نشت الکترولیت‌های ژنوتیپ‌های یولاف وحشی ملاحظه شد که در تمامی ژنوتیپ‌ها تا دمای ۶- درجه سانتی‌گراد میزان نشت الکترولیت‌ها تقریباً ثابت بود و اختلاف معنی‌داری ($p \leq 0.05$) با هم نداشتند (شکل ۹). با کاهش دما از ۶- تا ۱۲- درجه سانتی‌گراد، اختلاف معنی‌داری در میزان نشت الکترولیت‌های ژنوتیپ مشاهده نشد، ولی در ژنوتیپ‌های خوزستان نشت الکترولیت‌ها با اختلاف معنی‌داری ($p \leq 0.05$) افزایش یافت. بر اساس نتایج آزمایش، در بین ژنوتیپ‌های خوزستان روند افزایش نشت الکترولیت‌ها در ژنوتیپ Skh بیشتر از سایر ژنوتیپ‌ها بود. با کاهش دما از ۱۲- تا ۱۵- درجه سانتی‌گراد نیز نشت الکترولیت‌ها در تمامی ژنوتیپ‌ها افزایش یافت و از دمای



شکل ۹. تأثیر دماهای یخ‌زدگی بر روند نشت الکتrolیت‌های ژنوتیپ‌های یولاف وحشی [Skh (●) ، (SM (◆), ZR5 (□), STR1 (■), SOR1 (Δ), NR11 (▼), DR4 (○)].

Fig. 9. Effect of freezing temperatures on wild oat genotypes [(● Skh), (○ DR4), (▼ NR11), (Δ SOR1), (■ STR1), (□ ZR5), (◆ SM)] electrolyte leakags trend.

نتیجه گیری

بطورکلی نتایج این آزمایش نشان داد که در همه ژنوتیپ‌های یولاف وحشی با کاهش دما نشت الکتrolیت‌ها افزایش یافت و در بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی ژنوتیپ حساس خوزستان و حساس مشهد به ترتیب کمترین و بیشترین تحمل به سرما را با توجه میزان نشت الکتrolیت‌ها و LT_{50el} و $RDMT_{50}$ از خود نشان دادند. بر اساس این بررسی، در گیاهان مهاجمی از جمله یولاف وحشی، استفاده از آزمون نشت الکتrolیت‌ها می‌تواند به عنوان روشی نسبتاً مناسب در ارزیابی و شناخت ژنوتیپ‌های متحمل به سرما مورد استفاده قرار گیرد. از سوی دیگر مقاومت به علف‌کش در علف‌های هرز احتمالاً با تغییر بعضی دیگر از خصوصیات آن‌ها از جمله تحمل به سرما در ارتباط است، به طوری که بر اساس نتایج حاصل، ژنوتیپ‌های مقاوم به علف‌کش‌های کلودینافوپ پروپارژیل (تاپیک) و دیکلوفوپ متیل (ایلوکسان) یولاف وحشی در مقایسه با ژنوتیپ حساس به علف‌کش خوزستان LT_{50el} بالاتری داشتند. تغییر در صفات بیولوژیکی و فیزیولوژیکی علف‌های هرز مقاوم به علف‌کش‌ها که از آن به شایستگی اطلاق می‌شود، از پدیده‌هایی است که می‌تواند در مدیریت آن‌ها موثر باشد (Zand and Baghestani, 2002). هر چند

در بررسی روند تغییرات وزن خشک تک بوته‌های گیاهان تحت تأثیر دماهای یخ‌زدگی در ژنوتیپ‌های یولاف وحشی، نیز مشاهده شد که وزن خشک بوته‌های ژنوتیپ‌های Skh, NR11 و SOR1 از دمای ۳- تا ۱۲- درجه سانتی‌گراد ثابت بوده و تغییر معنی‌داری نداشت، اما با کاهش دما به کمتر از ۱۲- درجه سانتی‌گراد، وزن خشک بوته‌ها تدریجاً کم شد و حتی به صفر رسید (بوته‌ها از بین رفتند). در صورتی که در ژنوتیپ SM روند مذکور در محدوده دمای ۳- تا ۱۵- درجه سانتی‌گراد ثابت و اختلاف معنی‌داری در وزن خشک تک بوته آن تحت تأثیر دماهای یخ‌زدگی مشاهده نشد، و با کاهش دما به کمتر از ۱۵- درجه سانتی‌گراد، با توجه به از بین رفتن گیاهان، ماده خشک آن‌ها به صفر رسید. در ژنوتیپ‌های STR1 و ZR5 نیز روند تغییرات ماده خشک با کاهش دما از ۳- تا ۱۵- درجه سانتی‌گراد کاهش یافت، اما از دماهای کمتر از ۱۵- درجه سانتی‌گراد به صفر رسید. در ژنوتیپ DR4 نیز وزن خشک بوته‌ها از دمای ۳- تا ۱۲- درجه سانتی‌گراد ثابت و اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند، و در محدوده ۱۲- تا ۱۵- درجه سانتی‌گراد با اختلاف معنی‌داری کاهش یافته و از دمای ۱۵- درجه سانتی‌گراد به بعد نیز به صفر رسید (داده‌ها نشان داده نشده‌اند).

(Tahmasebi, 2010) بر روی ژنوتیپ‌های یولاف وحشی مقاوم به علفکش نیز مشاهده شد که خصوصیات دیگری از جمله سرعت فتوسنتز، درصد و سرعت جوانه‌زنی، سبز شدن و سرعت رشد با هم متفاوت بوده است. در این مطالعه با توجه به این که مقاومت به علفکش، منجر به افزایش تحمل به سرمای بیوتیپ‌های یولاف وحشی شده است، و با توجه به نحوه عمل علفکش‌های کلودینافوپ پروپارژیل و دیکلوفوپ متیل که از بازدارندگان سنتز اسیدهای چرب هستند، به نظر می‌رسد مقاومت به آن‌ها از طریق تغییر در ژن‌های مسئول سنتز اسیدهای چرب و تحمل بیشتر غشای سلولی بیوتیپ‌های مقاوم به سرما و یخ‌زدگی منجر به این نتیجه شده باشد که نیاز به بررسی و مطالعات دقیق مولکولی در این ارتباط می‌باشد. با توجه به عوامل مختلف دخیل در خصوص رابطه بین مقاومت به علف کش و تحمل به سرمای یولاف وحشی مطالعات تکمیلی در شرایط آزمایشگاه و مزرعه پیشنهاد می‌شود.

مطالعاتی در ارتباط با رابطه بین مقاومت به علفکش و تحمل به سرما و یخ‌زدگی انجام نشده است، اما بررسی‌های انجام شده در مورد رابطه بین بروز مقاومت به علفکش در علف‌های هرز با سایر ویژگی‌های زیستی آنها از جمله ویژگی‌های جوانه‌زنی و سبز شدن، فتوسنتز و نرخ رشد بیوتیپ‌های مقاوم نشان از ارتباط این موارد با هم دارند. برای مثال در مطالعات سلطانی و همکاران (Soltani et al., 2008) که به منظور بررسی رابطه بین مقاومت به علفکش‌های تریازین‌ها در گونه‌ای تاج خروس (*Amaranthus tuberculatus* var. *rudis*) و خصوصیات رشدی آن انجام شد، مشاهده شد که بین بیوتیپ‌های مذکور اختلافی در ویژگی‌های رشدی از جمله تعداد برگ، ارتفاع، زیست توده و زمان گلدهی مشاهده نشد، اما بیوتیپ‌های مقاوم به ترتیب ۳۰ و ۳۹ درصد زیست توده اندام زایشی و تعداد بذر کمتری نسبت به بیوتیپ حساس تولید کردند. در تحقیقات انجام شده توسط طهماسبی

منابع

- Anderson, J.A., Taliaferro, C.M., Martin, D.L., 1993. Evaluating freeze tolerance of bermudagrass in a controlled environment. Hort. Sci. 28, 955-959.
- Anderson, J.A., Taliaferro, C.M., 1995. Laboratory freeze tolerance of field-grown forage bermudagrass cultivars. Agron. J. 87, 1017-1020.
- Azizi, H., 2005. Evaluation of cold tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars under controlled conditions and field. MS.C. Thesis. Ferdowsi University of Mashhad, Iran. [In Persian with English Summary].
- Azizi, H., Nezami, A., Nassiri, M., Khazaie, H.R., 2007. Evaluation of cold tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars under controlled conditions. Iranian J. Field Crops Res. 5, 109-121. [In persian with English summary].
- Baeka, K.H., Skinner, D.Z., 2003. Alteration of antioxidant enzyme gene expression during cold acclimation of near-isogenic wheat lines. Plant Sci. 165, 1221-1227.
- Bridger, G.M., Falk, D.E., Mckersie, B.D., Smith, D.L., 1996. Crown freezing tolerance and field winter survival of winter cereals in eastern Canada. Crop Sci. 36, 150-157.
- Cardona, C.A., Duncan, R.R. Lindstrom, O., 1997. Low temperature tolerance assessment in paspalm. Crop Sci. 37, 1283-1291.
- Chen, T.H., Gusta, L.V., Fowler, D.B., 1983. Freezing injury and root development in winter cereals. Plant Physiol. 73, 773-777.
- Cousens, R.D., Weaver, S.E., Martin, T.D., Blair, A.M., Wilson, J., 1991. Dynamic of competition between wild oat (*Avena fatua*) and winter cereals. Weed Res. 31, 203-210.
- Eugenia, M., Nunes, S., Ray Smith, G., 2003. Electrolyte leakage assay capable of quantifying freezing resistance in Rose Clover. Crop Sci. 43, 1349-1357.

- Griffith, M., McIntyre, C.H., 1993. The interrelationship of growth and frost tolerance in winter rye. *Physiol. Plant.* 87, 335-344.
- Gusta, L.V., O'Connor, B.J., Gao, Y.P., Jana, S., 2001. A re-evaluation of controlled freeze-tests and controlled environment hardening conditions to estimate the winter survival potential of hardy winter wheats. *Can. J. Plant Sci.* 80, 241-246.
- Gusta, L.V., Fowler, D.B., Tyler, N.J., 1982. Factors influencing hardening and survival in winter wheat. pp. 23-40. In: Li, P.H., Sakai, A., (Eds), *Plant Cold Hardiness and Freezing Stress, Mechanisms and Crop Implications*. Vol.2. Academic Press, London.
- Hana, B., Bischofa, J.C., 2004. Direct cell injury associated with eutectic crystallization during freezing. *Cryobio.* 48, 8-21.
- Hekneby, M., Antolin, M.C., Sanchez-Diaz, M., 2006. Frost resistance and biochemical changes during cold acclimation in different annual legumes. *Environ. Exp. Bot.* 55, 305-314.
- Moorby, J., 1981. *Transport Systems in Plants*. Longman Pub. New York.
- Nayyar, H., Bains, T.S., Kumar, S., 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.
- Nezami A., Soleimani, M.R., Ziaee, M., Ghodsi, M., Bannayan, M., 2010. Evaluation of freezing tolerance of hexaploid triticale genotypes under controlled conditions. *Not. Sci. Biol.* 2(2), 114-120.
- Nezami, A., 2002. Evaluation of cold tolerance of chickpea (*Cicer arietinum* L.) for fall planting in the highlands. Ph.D. Thesis. Ferdowsi University of Mashhad, Iran. [In Persian with English Summary].
- Nezami, A., Bagheri, A., Rahimian, H., Kafi, M., Nasiri, M., 2006. Evaluation of freezing tolerance of chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes under controlled conditions. *J. Sci. Technol. Agric. Natur. Resour.* 10(4), 257-269. [In Persian with English Summary].
- Nezami, A., Borzooei, A., Jahani, M., Azizi, M., 2007. Evaluation of freezing tolerance in canola (*Brassica napus* L.) cultivars under controlled conditions. *Iranian J. Field Crops Res.* 5, 167-175. [In Persian with English Summary].
- Paull, R.E., 1981. Temperature induced leakage from chilling-sensitive and chilling-resistant plant. *Plant Physiol.* 68, 149-153.
- Perras, M., Sarhan, F., 1988. Synthesis of freezing tolerance proteins in leaves, crown and roots during cold acclimation of wheat. *Plant Physiol.* 89, 577-585.
- Rastgoo, M., 2006. Detecting of *Avena ludoviciana* resistant to aryloxyphenoxy propionate herbicides in wheat fields of khuzestan province. Ph.D. Thesis. Ferdowsi University of Mashhad, Iran. [In Persian with English Summary].
- Salk, R.M., K. A. Albrecht, Duke, S.H., 1991. Leakage of intracellular substances as an indicator of freezing injury in alfalfa. *Crop Sci.* 31, 430-435.
- Soltani, N., Vyn J., Swanton C., Weaver S., Sikkema, P., 2008. Growth and fitness of triazine-susceptible and triazine-resistant common waterhemp (*Amaranthus tuberculatus* var. *rudis*). *Weed Biol. Manage.* 8(2), 73-77.
- Shashikumar, K., Nus, J.L., 1993. Cultivar and winter cover effects on bermudagrass cold acclimation and crown moisture content. *Crop Sci.* 33, 813-817.

- Stephonkus, P.L., Uemura, M., Webb, M.S., 1993. Redesigning crops for increased tolerance to freezing stress. In: Jackson, M.B., Black, C.R. (Eds.), *Interacting Stresses on Plants in a Changing Climate*. Springer-Verlag, Berlin. pp. 697-714.
- Tahmasebi, A., 2010. Relative fitness of aryloxyphenoxy propionate susceptible and resistant accessions of wild oat (*Avena ludoviciana* L.) from wheat fields of khuzestan. Ph.D. Thesis. Ferdowsi University of Mashhad, Iran. [In Persian with English Summary].
- Zand, E., Baghestani, M.A., 2002. *Weed Resistant to Herbicides*. Publication of Iranian Academic Center for Education, Culture and Research, Mashhad, Iran. [In Persian].