

ارزیابی تحمل به سرمای گیاه خاکشیر (*Descurainia sophia* L.) تحت شرایط کنترل شدهاحمد نظامی^{۱*}، ابراهیم ایزدی دربندی^۱، مریم جانعلی زاده قزوینی^۲، روح الله حسن بیگی^۳

۱. اعضای هیئت علمی گروه زراعت و اصلاح نبات دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد.

۲. دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی دانشگاه فردوسی مشهد.

۳. دانش آموخته کارشناسی ارشد زراعت دانشگاه فردوسی مشهد.

تاریخ دریافت: ۹۵/۰۲/۱۴؛ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۴/۲۶

چکیده

به منظور بررسی تحمل به یخ زدگی خاکشیر، آزمایشی به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۸۷ در دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل اکوتیپ خاکشیر (در پنج سطح شامل اقلید، سبزوار، همدان، تربت جام و نیشابور) و دمای یخ زدگی (در ۱۰ سطح شامل صفر تا ۱۸- با فواصل دو درجه سانتی گراد) بود. گیاهان خاکشیر در پاییز کشت و تا مرحله پنج تا هفت برگی در آب و هوای طبیعی رشد داده شدند. سپس برای اعمال دماهای یخ زدگی به یک فریزر ترموگرادبان منتقل شدند. سه هفته بعد از اعمال تنش، درصد بقاء، دمای پنجاه درصد کشته شدن بر اساس درصد بقاء (LT_{50su})، تعداد برگ، دمای کاهنده ۵۰ درصد تعداد برگ ($RNLT_{50}$)، تعداد گره، دمای کاهنده ۵۰ درصد تعداد گره ($RNNT_{50}$)، وزن خشک و دمای کاهنده ۵۰ درصد وزن خشک ($RDMT_{50}$) آن‌ها بررسی شد. نتایج نشان داد اکوتیپ همدان بیشترین درصد بقاء و اکوتیپ نیشابور کمترین درصد بقاء را دارند. در اکوتیپ‌های اقلید و نیشابور کاهش معنی دار درصد بقاء از دماهای بالاتری (۱۰- درجه سانتی گراد) نسبت به اکوتیپ‌های همدان، سبزوار و تربت جام (۱۲- درجه سانتی گراد) شروع شد. در دمای ۱۲- درجه سانتی گراد، اکوتیپ‌های نیشابور و تربت جام کمترین تعداد برگ و اکوتیپ‌های همدان و اقلید به ترتیب بیشترین و کمترین وزن خشک زیست توده را بعد از دوره باز یافت دارا بودند. همچنین در دمای ۱۲- درجه سانتی گراد، تعداد گره در اکوتیپ همدان تقریباً ۲۰ درصد نسبت به شاهد کاهش یافت، در حالی که این کاهش در اکوتیپ‌های اقلید و نیشابور بسیار بیشتر بود. در این آزمایش LT_{50su} بین ۱۰/۲- تا ۱۲/۱- درجه سانتی گراد متغیر بود. رتبه بندی اکوتیپ‌های خاکشیر بر اساس شاخص‌های LT_{50su} ، $RNLT_{50}$ ، $RNNT_{50}$ و $RDMT_{50}$ نشان داد که اکوتیپ‌های نیشابور و همدان به ترتیب حساس ترین و متحمل ترین اکوتیپ‌های خاکشیر نسبت به تنش یخ زدگی بودند.

واژگان کلیدی: اکوتیپ، درصد بقاء، دمای پنجاه درصد کشته شدن، وزن خشک، یخ زدگی.

مقدمه

گیاه درمانی دانشی دیرینه است که ریشه در اعماق تاریخ دارد و همواره یکی از پایه‌های اصلی مکاتب طبی مشهور در تمدن های باستانی مصر، هند، آشور، چین، یونان، ایران و نیز طب اسلامی بوده است (Emami et al., 2002). اخیراً نیز سازمان بهداشت جهانی اعلام کرده است که ۸۰ درصد از مردم دنیا از گیاهان و طب گیاهی در سطح اولیه بهداشتی درمانی استفاده می کنند (Kennedy, 2005). خاکشیر (*Descurainia sophia* L.) گیاهی علفی و یک ساله از تیره

شب بو (Brassicaceae) است که از آن در درمان بسیاری از بیماری‌ها نظیر سرخک، آبله، سرفه، آسم، ادم (خیز) و تومورها استفاده می کنند. همچنین این گیاه دارای خواص آنتی اکسیدانی و ضد سرطانی، ضد تورم، ضد انگل، تب بر، مدر، مسکن و اشتها آور است (Khan and Wang, 2012). چینی‌ها از خاکشیر به همراه چند گیاه دارویی دیگر برای تهیه سیگار سالم (Fan, 2002) به منظور توقف سرطان ریه استفاده می کنند (Yuqing, 2001). افزون بر فواید دارویی،

Sakhalin (۲۲/۸- درجه سانتی‌گراد) و بیشترین آن متعلق به رقم Cappelle-Desprez (۱۴- درجه سانتی‌گراد) است. اعتقاد بر این است که درصد بقاء و LT_{50su} به‌تنهایی نمی‌تواند معیار معتبر و مناسبی برای تشخیص و معرفی ارقام متحمل باشد. به عبارتی ممکن است یک نمونه گیاهی LT_{50su} خوبی (به لحاظ این شاخص متحمل‌تر باشد) داشته باشد، ولی لزوماً زیست‌توده مناسبی تولید نکند، از این‌رو تعیین دمایی که سبب کاهش ۵۰ درصد وزن خشک گیاه ($RDMT_{50}$) می‌شود، مد نظر قرار گرفته است (Nezami, 2002). استفاده از این شاخص مخصوصاً زمانی که LT_{50su} قادر به تشخیص تفاوت‌ها در میزان تحمل به یخ‌زدگی بین انواع متحمل یا حساس نیست، مفید است. در بررسی تحمل به یخ‌زدگی ارقام گندم مشاهده شد که $RDMT_{50}$ رقم بزوستایا بسیار کمتر (۱۴/۲- درجه سانتی‌گراد) از ارقام قدس و فلات (۴/۳- درجه سانتی‌گراد) است. در بررسی مذکور هرچند همبستگی بسیار بالایی (۸۵ درصد) بین LT_{50su} و $RDMT_{50}$ دیده شد، اما به لحاظ LT_{50su} ، ارقام گلنسون و مارون به ترتیب مقاوم‌ترین و حساس‌ترین ارقام شناخته شدند (Azizi et al., 2007). در بررسی بر روی تحمل به سرمای دیررس بهاره گیاه دارویی سیاه‌دانه (*Nigella sativa* L.) نیز از نظر $RDMT_{50}$ تفاوت معنی‌داری بین اکوتیپ‌ها وجود داشت، به‌طوری‌که اکوتیپ‌های سبزوار و بیرجند کمترین و اکوتیپ فردوس بیشترین مقدار را به لحاظ این شاخص داشتند (Khorsandi, 2013). در مطالعه مذکور، اکوتیپ‌های سبزوار و فردوس به لحاظ LT_{50su} نیز به ترتیب به‌عنوان مقاوم‌ترین و حساس‌ترین اکوتیپ‌ها شناخته شده بودند. در آزمایش دیگری بر روی گیاه رازیانه (*Foeniculum vulgare* L.)، مقدار $RDMT_{50}$ در اکوتیپ گناباد ۱/۶ درجه سانتی‌گراد کمتر از اکوتیپ کرمان بود که نشان‌دهنده تحمل به یخ‌زدگی بالاتر و رشد مجدد بهتر اکوتیپ گناباد نسبت به کرمان بود (Rashed Mohassel et al., 2009).

تاکنون توجه چندانی به اهلی سازی و شناخت عوامل محیطی مؤثر بر رشد گیاه خاکشیر نشده است. لذا با توجه به اهمیت و نقش تعیین‌کننده سرما در رشد و بقاء گیاه *Descurainia sophia*، در آزمایش کنونی بررسی اثر تنش

بذرهای این گیاه حاوی ۴۰ درصد اسید لینولنیک می‌باشند که کاربردهای صنعتی آن را نشان می‌دهد (Peng et al., 1997).

از نظر زیست‌شناختی، خاکشیر گیاهی با عادت رشدی پاییزه است، از این‌رو دماهای یخ‌زدگی زمستانه نقش مهمی در بقاء آن دارند. با توجه به اینکه دماهای پایین‌تر از آستانه‌ی حداقل رشد گیاهان، منجر به خسارت شدید و یا حتی مرگ آن‌ها می‌شوند، لذا شناخت این آستانه‌ها و ارزیابی تحمل گیاهان به دماهای یخ‌زدگی نقش مهمی در موفقیت کشت و تولید آن‌ها دارد (Mirmohammadi Meibodi and Tarkesh Esfahni, 2004). میرزایی اصل و همکاران (Mirzai-Asl et al., 2002) در بررسی مقاومت به سرمای گندم، مشاهده کردند که دمای ۵۰ درصد کشندگی (LT_{50}) حاصل از طوقه‌های گیاهان در مزرعه با LT_{50} گیاهان در شرایط کنترل‌شده همبستگی بالایی ($r^2=0/98$) داشت. کیان و همکاران (Qian et al., 2001) نیز نتایج ارزیابی تحمل به یخ‌زدگی گیاهان در شرایط آزمایشگاهی را مشابه و منطبق با مشاهدات مزرعه‌ای دانسته‌اند.

بررسی لی و همکاران (Li et al., 2010) بر روی شناسایی نمونه‌های متحمل به تنش یخ‌زدگی گیاه آگوستین گراس^۱ (*Stenotaphrum secundatum* (Walt.) Kuntze) نشان داد که درصد بقای رقم فلوراتام^۲ (شاهد حساس به سرما) کمتر از سایر نمونه‌های این گیاه بود و بیشترین درصد بقاء را لاین Elm4 داشت. در مطالعه کیخاآخر و همکاران (Keykha-Akhar et al., 2011) بر روی اثر اشعه گاما بر تحمل به یخ‌زدگی نخود (*Cicer arietinum*) در شرایط کشت درون شیشه^۳ مشاهده شد که درصد بقاء بسته به دز اشعه گاما و ژنوتیپ متفاوت است، به‌طوری‌که بیشترین درصد بقاء در ژنوتیپ‌های MCC741 در دز ۱۸۰ گری (Gy) و MCC495 در دز ۱۴۰ گری (به ترتیب ۸۰/۱ و ۶۴/۶ درصد) از اشعه گاما به دست آمد. همچنین در بررسی اخیر LT_{50} سه ژنوتیپ MCC477، MCC495 و MCC741 به ترتیب ۱۱/۵-، ۱۲/۳- و ۱۲/۵- درجه سانتی‌گراد بود. گاستا و همکاران (Gusta et al., 2001) نیز با بررسی تحمل به یخ‌زدگی ارقام گندم (*Triticum aestivum*) با استفاده از شاخص مذکور دریافتند که کمترین LT_{50su} متعلق به رقم

3. In vitro culture

1. St. Augustinegrass.

2. Floratam

ابتدای آزمایش پنج درجه سانتی‌گراد بود و پس از قرار دادن نمونه‌ها در آن، دما با سرعت دو درجه سانتی‌گراد در ساعت کاهش یافت. به‌منظور ایجاد هستک یخ در گیاهچه‌ها و جلوگیری از فراسرد شدن گیاهان، در دمای ۲- درجه سانتی‌گراد، محلول حاوی باکتری‌های فعال مولد هستک یخ (INAB)^۱ بر روی گیاهان اسپری شد. همچنین به‌منظور ایجاد تعادل در دمای محیط، گیاهان پس از رسیدن به دمای موردنظر به مدت یک ساعت در هر تیمار نگهداری و سپس از فریزر خارج شده و جهت ذوب تدریجی یخ گیاهان، به اتاقک سرد با دمای ۵ درجه سانتی‌گراد منتقل و به مدت ۲۴ ساعت در آنجا نگهداری شدند.

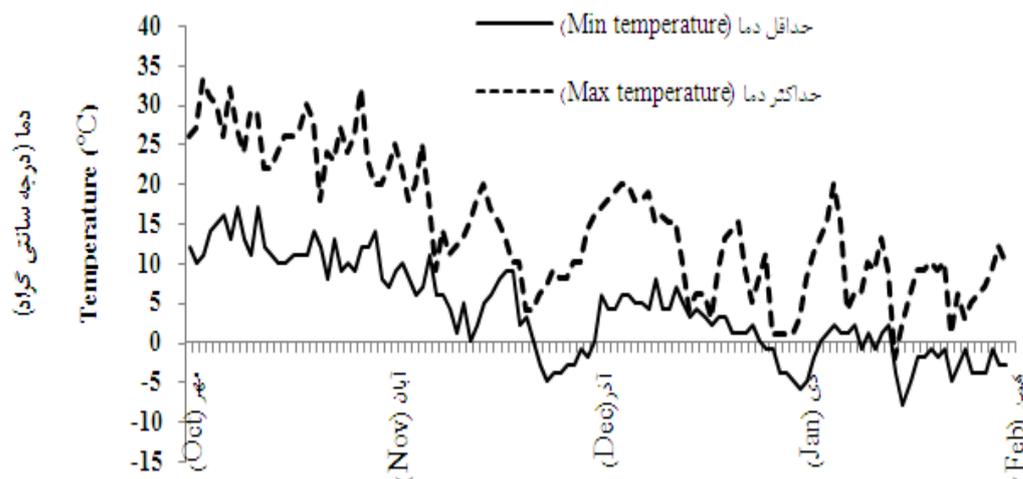
سپس گیاهان به گلخانه منتقل شده و پس از ۲۱ روز، درصد بقاء گیاهان با شمارش تعداد بوته زنده در هر گلدان و از طریق معادله (۱) محاسبه گردید.

[$100 \times (\text{تعداد گیاهان قبل از تیمار یخ‌زدگی}) / (\text{تعداد گیاهان زنده سه هفته پس از تیمار یخ‌زدگی})$] = درصد بقاء [۱]

یخ‌زدگی بر بقاء و برخی از خصوصیات رشدی اکوتیپ‌های این گیاه در شرایط کنترل‌شده مطالعه شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال ۱۳۸۷ به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل پنج اکوتیپ خاکشیر (سبزوار، همدان، اقلید، نیشابور و تربت‌جام) و ده دمای یخ‌زدگی (صفر، ۲-، ۴-، ۶-، ۸-، ۱۰-، ۱۲-، ۱۴-، ۱۶- و ۱۸- درجه سانتی‌گراد) بود. پس از جمع‌آوری بذور توده‌های موردنظر، کشت آن‌ها در پاییز و در گلدان‌هایی پلاستیکی با قطر ۱۰ سانتی‌متر، حاوی نسبت برابری از خاک مزرعه، ماسه و خاک‌برگ، صورت گرفت. گیاهان تا مرحله ۷- ۵ برگگی در شرایط آب‌وهوای طبیعی رشد یافته و با سرما سازش یافتند (شکل ۱) و سپس برای اعمال تیمارهای یخ‌زدگی به یک فریزر ترموگرادیان منتقل شدند. دمای فریزر در



شکل ۱. شرایط آب و هوایی پاییز و زمستان ۱۳۸۷ در مشهد.

Fig. 1. The weather conditions of autumn and winter of 2009- 10 in Mashhad.

و ثبت شدند. جهت تعیین دماهای ۵۰ درصد کشندگی بر اساس درصد بقاء، وزن خشک، تعداد برگ و تعداد گره نیز منحنی صفات مذکور در مقابل دماهای یخ‌زدگی ترسیم شد.

هم‌زمان برخی از خصوصیات رشدی گیاهان مانند تعداد برگ، تعداد گره در بوته و وزن خشک آن‌ها پس از ۴۸ ساعت قرارگیری در آن با دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد، اندازه‌گیری

¹. Ice nucleation active bacteria.

کل گیاه را تحت شرایط تنش شدید موجب شوند (Livingston et al., 2006). مطالعات نشان داده است که تداوم انسجام غشاء پلاسمایی از جمله عوامل مهم در بقای گیاهان تحت شرایط تنش یخ‌زدگی است و هرگونه اختلال در ساختار غشاء سلولی سبب افزایش خروج الکترولیت‌ها از سلول شده که به نوبه خود باعث بروز خسارت و حتی مرگ گیاه می‌شود (Mirmohammadi Meibodi and Tarkesh Esfahni, 2004; Sulk et al., 1991). به نظر می‌رسد در این آزمایش نیز دماهای پایین‌تر از -10 درجه سانتی‌گراد موجب تغییر در ساختار غشاء و افزایش نشت الکترولیت‌ها و متعاقب آن کاهش درصد بقاء شده است. در یک بررسی بر روی گیاه زینتی قرنفل (*Dianthus barbatus*) نیز درصد بقای گیاهان تا دمای -18 درجه سانتی‌گراد تحت تأثیر قرار نگرفت اما با کاهش دما به کمتر از آن، درصد بقاء کاهش یافت و در دمای -22 درجه سانتی‌گراد به صفر رسید (Izadi-Darbandi et al., 2011). انجام آزمایشی دیگر بر روی سه رقم کلزا نیز نشان داد که درصد بقاء آن‌ها در دماهای -6 ، -8 ، -10 و -12 درجه سانتی‌گراد به ترتیب 64 ، 27 ، 9 و 7 درصد بود (Rife and Zeinali, 2003).

اثر متقابل اکوتیپ و دمای یخ‌زدگی بر درصد بقاء نیز معنی‌دار ($p \leq 0.01$) بود (جدول ۱)، به طوری که در اکوتیپ‌های اقلید و نیشابور کاهش معنی‌دار درصد بقاء نسبت به تیمار شاهد، از دماهای بالاتری (-10 درجه سانتی‌گراد) نسبت به اکوتیپ‌های همدان، سبزواری و تربت‌جام (-12 درجه سانتی‌گراد) شروع شد (جدول ۳). در اکوتیپ همدان تا دمای -14 درجه سانتی‌گراد زنده‌مانی (تقریباً هفت درصد) مشاهده شد، در حالی که اکوتیپ‌های دیگر زنده نمانده بودند (جدول ۳). ژوان و همکاران (Xuan et al., 2009) در بررسی تحمل به یخ‌زدگی زویسیاگراس (*Zoysia spp.*) در شرایط کنترل‌شده دریافتند که با کاهش دما، رشد مجدد از هر دو اندام استولون و ریزوم گونه‌ها و نیز نمونه‌هایی از این گونه‌ها کاهش یافت، به طوری که در دمای -14 درجه سانتی‌گراد تنها برخی از نمونه‌ها (دو نمونه (J-37)، Z021، Z137 (J-36) و نمونه Z020 از گونه *Z. japonica* بقاء داشتند.

در این مطالعه، مشابه با روش سرمدنیا و همکاران (Sarmadnia et al., 1988) اکوتیپ‌های خاکشیر بر مبنای شاخص‌های LT_{50} ، رتبه‌بندی شدند (جدول ۴). به این صورت که بعد از مقایسه میانگین توسط آزمون LSD، به حرف A رتبه ۱، حرف AB رتبه $1/5$ ، حرف B رتبه ۲ و ... تعلق گرفت و در نهایت رتبه‌ها با هم جمع شدند. در این روش گیاهی که رتبه کمتری داشته باشد تحمل به تنش بیشتری داشته است. تجزیه و تحلیل آماری داده‌های درصد بقاء، وزن خشک، تعداد برگ و تعداد گره به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و دماهای 50 درصد کشندگی بر اساس هر یک از صفات مذکور به صورت One-Way ANOVA توسط نرم‌افزار MSTAT-C انجام و همبستگی صفات مذکور با نرم‌افزار Minitab 16 صورت گرفت. رسم نمودارها نیز با کمک نرم‌افزار MS Excel انجام شد.

نتایج و بحث

درصد بقاء و دمای کشنده 50 درصد گیاهان بر اساس درصد بقاء (LT_{50su})

نتایج حاصل از تجزیه واریانس حاکی از وجود اختلاف معنی‌دار ($P \leq 0.05$) در درصد بقاء بین اکوتیپ‌ها بود (جدول ۱) و درصد بقای اکوتیپ‌ها از $61/5$ (اکوتیپ همدان) تا $54/2$ درصد (اکوتیپ نیشابور) متغیر بود (شکل ۲). آرمونین و همکاران (Armoniene et al., 2013) هم در بررسی تحمل به یخ‌زدگی ارقام گندم در شرایط کنترل‌شده دریافتند که درصد بقاء آن‌ها بین 50 (واریته حساس Kavas DS) تا 100 درصد (لاین اصلاحی مقاوم WW-67DH) متغیر است.

همان‌طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، تنش یخ‌زدگی اثر معنی‌داری ($P \leq 0.01$) بر درصد بقاء خاکشیر داشت. به طوری که تا دمای -8 درجه سانتی‌گراد اختلاف معنی‌داری با شاهد به لحاظ درصد بقاء مشاهده نشد اما با کاهش دما به -10 درجه سانتی‌گراد، درصد بقاء گیاهان نسبت به تیمار شاهد کاهش معنی‌داری پیدا کرد و در دمای -16 درجه سانتی‌گراد هیچ گیاهی زنده نماند (جدول ۲). دماهای یخ‌زدگی که باعث تشکیل یخ درون سلول‌های گیاهی می‌شوند می‌توانند منجر به آسیب دیدن بافت‌ها شده و مرگ

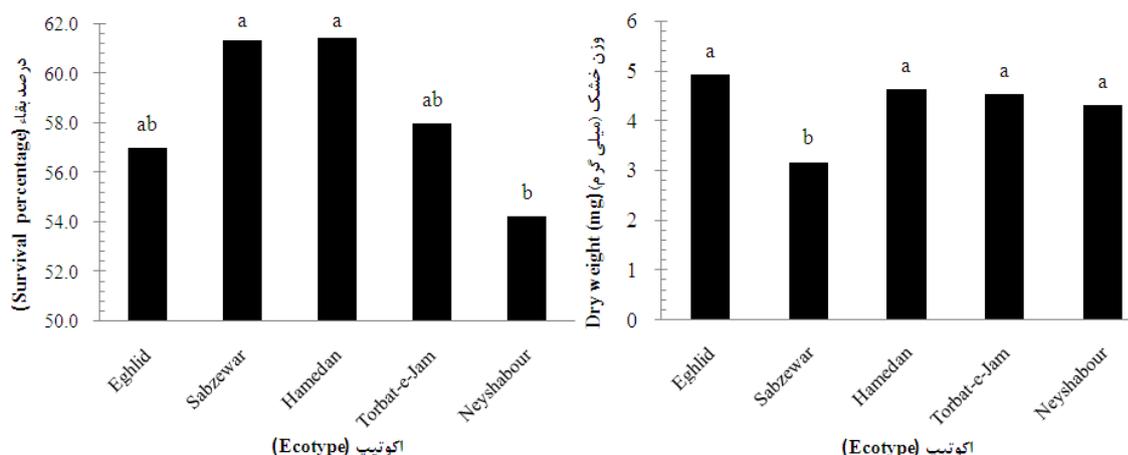
جدول ۱. منابع تغییر، درجه آزادی و میانگین مربعات درصد بقاء و برخی صفات رشدی در اکوتیپ‌های خاکشیر پس از اعمال دماهای یخ زدگی در شرایط کنترل شده.

Table 1. Sources of variation, degree of freedom and mean of squares of survival percentage and some of growth traits in Flixweed ecotypes after applying freezing temperatures under controlled conditions.

Sources of variation	منابع تغییر	درجه آزادی Degree of freedom	(Mean of squares) میانگین مربعات			
			درصد بقاء Survival percentage	تعداد برگ No. Leaf	تعداد گره No. Node	وزن خشک گیاه Plant dry weight
Ecotype	اکوتیپ	4	280.521*	2.546**	11.324**	13.798**
Freezing temperatures	دماهای یخ‌زدگی	9	29825.067**	116.705**	250.603**	164.059**
Ecotype × Temperature	اکوتیپ × دما	36	253.432**	1.634**	3.284*	6.192**
Error	خطا	100	88.521	0.579	1.902	2.122
Total	کل	149				
CV (%)	ضریب تغییرات		16.1	20.9	25.08	33.7

* و ** به ترتیب معنی‌دار در سطوح پنج و یک درصد.

* and ** are significant in 5 and 1% probability levels respectively.



شکل ۲. درصد بقاء و وزن خشک (بر اساس میانگین تک بوته) اکوتیپ‌های خاکشیر قرارگرفته در معرض تنش یخ‌زدگی (میانگین‌هایی با یک حرف مشابه اختلاف معنی‌داری در سطوح احتمال پنج و یک درصد بر اساس آزمون LSD ندارند).

Fig. 2. Survival percentage and dry weight (based on individual plant mean) of Flixweed ecotypes exposed to freezing stress (means with one similar letter don't have significant difference according to the LSD test at 5 and 1% probability levels).

همدان و سبزووار به لحاظ این شاخص تقریباً دو درجه سانتی‌گراد بیشتر از اکوتیپ‌های اقلید و نیشابور بود و اکوتیپ تربت‌جام اختلاف معنی‌داری با سایر اکوتیپ‌ها نداشت (جدول ۴). در بررسی پاتون و ریچر (Patton and Reicher, 2007)

ارزیابی منحنی بقاء-دماهای یخ‌زدگی، اجازه تخمین دمای پنجاه‌درصد کشندگی (LT_{50su}) را که شبیه به LD₅₀^۱ در مطالعات مربوط به سمیت است، می‌دهد (Anderson et al., 2007). در این بررسی تحمل به یخ‌زدگی اکوتیپ‌های

¹. Lethal dose for 50% of the subjects

۶ (جنوبی‌ترین زون) به ترتیب با LT_{50su} معادل $-14/4$ و $-11/1$ - درجه سانتی‌گراد حساس‌ترین گیاهان را دارا بودند. در این بررسی همبستگی منفی و معنی‌داری ($r=-0/67^{***}$) بین درصد بقاء و LT_{50su} وجود داشت (جدول ۵) که نشان‌دهنده کاهش LT_{50su} با افزایش درصد بقاء گیاهان است. به عبارتی همان اکوتیپ‌هایی که درصد بقاء بالاتری داشتند، LT_{50su} کمتر و در نتیجه تحمل به یخزدگی بیشتری نشان دادند. در بررسی نظامی و همکاران (Nezami et al., 2013) بر روی ارقام چغندر قند (*Beta vulgaris*) پاییزه نیز همبستگی بسیار قوی و منفی ($r=0/99^{***}$) بین شاخص‌های مذکور مشاهده شد.

بر روی ارقام زویسیاگراس نیز تحمل به یخزدگی رقم‌های Diammond, Palisades, J-36 و Meyer (بر مبنای LT_{50su} مربوط به استولون) به ترتیب $-8/4$ ، -11 ، $-10/8$ و $-11/5$ - درجه سانتی‌گراد ذکر شد.

روکاوینا و همکاران (Rukavina et al., 2007) نیز در بررسی تحمل به یخزدگی ۲۷ اکوتیپ از نوعی گراس شورزیست^۱ (*Distichlis spicata* (L.) Greene) برداشت‌شده از سه پهنه^۲ اقلیمی سرد ایالات متحده (زون‌های ۴، ۵ و ۶) با استفاده از شاخص مذکور دریافتند که در سال ۲۰۰۴، پهنه چهارم که شمالی‌ترین زون در آمریکا بود با $LT_{50su}=-17/2$ درجه سانتی‌گراد متحمل‌ترین و مناطق ۵ و

جدول ۲. اثر دماهای یخزدگی بر درصد بقاء و برخی از خصوصیات رشدی خاکشیر (بر اساس میانگین تک بوته) پس از ۲۱ روز بازیافت در شرایط گلخانه.

Table 2. Effect of freezing temperatures on survival percentage and some of growth traits in Flixweed (based on individual plant mean) after 21 days recovery in greenhouse conditions.

دمای یخزدگی (°C) Freezing temperature (°C)	درصد بقاء Survival percentage	تعداد برگ No. leaf	تعداد گره No. Node	وزن خشک (میلی‌گرم) Dry weight (mg)
0	98.7	6.25	9.15	7.55
-2	94.9	6.32	9.13	7.21
-4	97.6	5.74	8.75	6.84
-6	95.1	6.08	8.61	7.30
-8	91.1	5.44	8.61	6.48
-10	73.6	4.39	6.87	5.40
-12	32.3	1.88	3.85	2.15
-14	1.33	0.13	0.13	0.27
-16	0.0	0.00	0.00	0.00
-18	0.0	0.00	0.00	0.00
LSD (0.01)	9.0	0.73	1.33	1.39

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

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

برگ اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد مشاهده نشد اما با کاهش دما به -8 - درجه سانتی‌گراد، کاهش معنی‌داری در تعداد برگ تولید شده بعد از گذراندن دوره بازیافت نسبت به تیمار شاهد دیده شد (جدول ۲)، به طوری که تعداد برگ

تعداد برگ و دمای کاهشنده 50 درصد تعداد برگ ($RNLT_{50}$) اثر دمای یخزدگی بر تعداد برگ گیاه نیز معنی‌دار ($P \leq 0/01$) بود (جدول ۱). تا دمای -6 - درجه سانتی‌گراد از نظر تعداد

2. Zone

1. Salt grass

جدول ۳. اثر متقابل اکوتیپ و دمای یخزدگی بر روی درصد بقاء و تعدادی از صفات رشدی خاکشیر (بر اساس میانگین تک بوته) پس از ۲۱ روز بازیافت.

Table 3. Interaction effect of ecotype and freezing temperature on survival% and some of growth traits (based on individual plant mean) in Flixweed after 21 days recovery.

اکوتیپ (Ecotype)	دمای یخزدگی (درجه سانتی‌گراد) Freezing temperature (°C)	درصد بقاء Survival percentage	تعداد برگ No. Leaf	تعداد گره No. Node	وزن خشک (میلی‌گرم) Dry weight (mg)
اقلید (Eghlid)	0	100.0	5.60	7.07	8.08
	-2	93.3	5.83	8.05	9.40
	-4	100.0	5.40	7.67	9.08
	-6	100.0	4.87	7.11	7.97
	-8	100.0	5.07	9.47	8.89
	-10	51.8	2.91	5.87	5.17
	-12	26.7	2.33	2.67	0.67
	-14	0.0	0.00	0.00	0.00
سبزوار (Sabzwar)	0	93.3	4.80	7.63	4.36
	-2	100.0	7.44	9.14	4.69
	-4	87.8	5.42	7.65	4.31
	-6	93.3	7.17	9.03	7.14
	-8	100.0	5.23	7.87	5.15
	-10	87.8	4.90	7.38	3.91
	-12	51.1	1.75	4.25	2.17
	-14	0.0	0.00	0.00	0.00
همدان (Hamedan)	0	100.0	6.41	9.27	6.49
	-2	93.3	6.75	8.98	5.83
	-4	100.0	5.22	8.07	4.69
	-6	100.0	7.00	9.40	9.04
	-8	81.1	5.20	8.05	7.50
	-10	81.1	4.77	7.00	7.07
	-12	52.4	3.33	6.40	4.44
	-14	6.7	0.67	0.66	1.33
تربت‌جام (Torbat-e-Jam)	0	100.0	7.20	10.20	10.04
	-2	94.4	5.55	10.44	8.22
	-4	100.0	6.08	11.42	8.92
	-6	93.3	5.95	9.63	4.97
	-8	80.0	6.03	9.27	4.56
	-10	88.9	5.80	8.57	6.30
	-12	24.4	1.68	4.61	2.50
	-14	0.0	0.00	0.00	0.00
نیشابور (Neyshabour)	0	100.0	7.22	11.60	8.80
	-2	93.3	6.00	9.05	7.92
	-4	100.0	6.58	8.94	7.20
	-6	88.9	5.44	7.89	7.42
	-8	94.4	5.69	8.39	6.33
	-10	58.4	3.58	5.58	4.56
	-12	6.7	0.33	1.33	1.00
	-14	0.0	0.00	0.00	0.00
LSD (0.01)		20.2	1.63	2.24	3.12

میانگین‌هایی که اختلاف آن‌ها بیشتر از مقدار LSD است، دارای تفاوت آماری معنی‌داری هستند. به دلیل مرگ تمام اکوتیپ‌ها در دماهای پایین‌تر از ۱۴- درجه سانتی‌گراد، مقادیر این دماها در جدول نشان داده نشده‌اند.

Means which, their differences are more than LSD value had significant difference. Because of whole mortality of ecotypes at temperatures less than -14°C, the values of these temperatures haven't been shown.

به ژنوتیپ 'ET-82-8' در دمای صفر درجه سانتی‌گراد و کمترین آن به Juanilo-92 در دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد تعلق داشت (Nezami et al., 2010). یکی از بارزترین نشانه‌های تنش یخ‌زدگی بر گیاهان در روزهای بعد از تنش، زرد شدن تدریجی و خشک شدن برگ‌ها، ریزش آن‌ها و کاهش سطح برگ است (Amirghasemi, 2002). در این بررسی دمای کاهنده ۵۰ درصد تعداد برگ در اکوتیپ همدان کمترین مقدار را داشت و بیشترین $RNLT_{50}$ متعلق به اکوتیپ نیشابور بود. لذا به نظر می‌رسد که به لحاظ این شاخص، اکوتیپ‌های مذکور به ترتیب مقاوم‌ترین و حساس‌ترین اکوتیپ‌ها باشند (جدول ۴). در توجیه این اختلافات این‌طور می‌توان عنوان کرد که احتمالاً خاستگاه جغرافیایی متفاوت این اکوتیپ‌ها باعث بروز تفاوت در درصد بقاء و بهبود آن‌ها (از جمله تولید برگ) پس از تنش یخ‌زدگی شده است.

خاکشیر در دماهای ۸-، ۱۰-، ۱۲- و ۱۴- درجه سانتی‌گراد، نسبت به تیمار شاهد به ترتیب ۱۳، ۳۰، ۷۰ و ۹۸ درصد کاهش یافت و در دمای ۱۶- درجه سانتی‌گراد به صفر رسید (جدول ۲). در آزمایش جانعلی زاده (Janalizadeh, 2012) بر روی اکوتیپ‌های بارهنگ سرنیزه‌ای (*Plantago lanceolata* L.) نیز، کاهش دما به کمتر از ۱۲- درجه سانتی‌گراد سبب کاهش معنی‌دار تعداد برگ نسبت به تیمار عدم یخ‌زدگی شد.

اختلاف اکوتیپ‌ها به لحاظ تعداد برگ بعد از تنش یخ‌زدگی نیز معنی‌دار ($P \leq 0/01$) بود (جدول ۱). بیشترین تعداد برگ در دمای ۲- درجه سانتی‌گراد و در اکوتیپ سبزواری دیده شد و اکوتیپ‌های نیشابور و تربت‌جام کمترین تعداد برگ را در دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد دارا بودند (جدول ۳). در بررسی بر روی تحمل به یخ‌زدگی ژنوتیپ‌های تریتیکاله (*X Tritico-secale Wittmack*) نیز بیشترین تعداد برگ متعلق

جدول ۴. رتبه‌بندی اکوتیپ‌های خاکشیر بر اساس دماهای ۵۰ درصد کشندگی (LT_{50su} ، $RDMT_{50}$ ، $RNLT_{50}$ و $RNNT_{50}$).

Table 4. Ranking of Flixweed ecotypes according to the lethal temperature 50% of plants (LT_{50su} , $RDMT_{50}$, $RNLT_{50}$ and $RNNT_{50}$).

Ecotype	اکوتیپ	دمای ۵۰ درصد کشندگی (LT_{50})							
		درصد بقاء Survival%	رتبه Rank	وزن خشک Dry weight	رتبه Rank	تعداد برگ No. Leaf	رتبه Rank	تعداد گره No. Node	رتبه Rank
Eghlid	اقلید	-10.2	2	-10.1	1.5	-11.3	1	-10.7	1.5
Sabzewar	سبزواری	-12.1	1	-9.0	2	-10.8	1.5	-12.1	1.5
Hamedan	همدان	-12.1	1	-11.7	1	-11.5	1	-12.6	1
Torbat-e-Jam	تربت‌جام	-11.3	1.5	-9.8	1.5	-11.2	1.5	-11.7	1.5
Neyshabour	نیشابور	-10.4	2	-9.1	2	-10.0	2	-10.2	2
LSD (0.01)		1.2		2.2		ns		2.4	

barbatus) نیز معنی‌دار بود و با کاهش دما به کمتر از ۱۶- درجه سانتی‌گراد صفت مذکور به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد کاهش پیدا کرد (Izadi-Darbandi et al., 2011). سیاهمرگویی و همکاران (Siahmargooyi et al., 2011) نیز با مطالعه اثر تنش یخ‌زدگی بر گیاه رازیانه دریافتند که با کاهش دما به کمتر از ۶- درجه سانتی‌گراد تعداد گره نسبت به تیمار شاهد کاهش معنی‌داری یافت.

تعداد گره و دمای کاهنده ۵۰ درصد تعداد گره ($RNNT_{50}$)

کاهش دما موجب کاهش معنی‌دار ($P \leq 0/01$) در تعداد گره در ساقه خاکشیر شد (جدول ۱). تعداد گره در دماهای ۱۰-، ۱۲- و ۱۴- درجه سانتی‌گراد نسبت به دمای صفر درجه سانتی‌گراد به ترتیب ۲۵، ۵۸ و ۹۹ درصد کمتر بود (جدول ۲). اثر دمای یخ‌زدگی بر تعداد گره گیاه قرنفل (*Dianthus*)

نسبت به نیشابور سردتر است از این رو انتظار می‌رود گیاهانی که در چنین زیستگاهی پرورش یافته‌اند از تحمل به سرمای بیشتری برخوردار هستند. در آزمایش ژوان و همکاران (۳۴) بر روی گونه‌های زویسیاگراس (*Zoysia spp.*) در چین نیز نمونه‌های گرفته‌شده از مناطق ساحلی به دلیل 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.

در این بررسی همبستگی بین درصد بقاء و تعداد گره بسیار مثبت و بالا ($r=93^{***}$) بود (جدول ۵) که با نتایج ایزدی دربندی و همکاران (Izadi-Darbandi et al., 2011) بر روی گیاه قرنفل همخوانی داشت. همچنین همبستگی منفی و بالایی بین شاخص RNNT₅₀ با درصد بقاء، تعداد برگ و تعداد گره وجود داشت (جدول ۵). علاوه بر این همبستگی مثبت و زیادی بین RNNT₅₀، LT_{50su} و RNLT₅₀ مشاهده شد (جدول ۵) و از این رو به نظر می‌رسد که این روابط نشان‌دهنده کارایی و امکان جایگزینی این شاخص با LT_{50su} و RNLT₅₀ در ارزیابی تحمل به یخ‌زدگی خاکشیر باشد.

اثر متقابل اکوتیپ و دما بر تعداد گره گیاه نیز معنی‌دار ($P \leq 0.05$) بود (جدول ۱) و در اکوتیپ همدان تعداد گره در دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد، ۳۱ درصد نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت. در حالی که این میزان در اکوتیپ‌های سبزوار، تربت‌جام، اقلید و نیشابور به ترتیب ۴۴/۳، ۵۴/۸، ۶۲/۳ و ۸۸/۵ درصد بود (جدول ۳). در بررسی راشد محصل و همکاران (Rashed Mohassel et al., 2009) بر روی گیاه رازیانه نیز به لحاظ تعداد گره بین دو اکوتیپ گناباد و کرمان در دماهای ۳- و ۶- درجه سانتی‌گراد اختلاف معنی‌داری وجود نداشت، اما با افزایش شدت تنش (۹- درجه سانتی‌گراد) تعداد گره روی ساقه اصلی برای اکوتیپ گناباد ۶۸ درصد بیشتر از اکوتیپ کرمان بود.

اکوتیپ‌های همدان و نیشابور به ترتیب کمترین و بیشترین دمای کاهنده ۵۰ درصد تعداد گره را به خود اختصاص دادند (جدول ۴) و به لحاظ این شاخص به ترتیب به‌عنوان متحمل‌ترین و حساس‌ترین اکوتیپ شناخته شدند. به نظر می‌رسد که اختلاف اکوتیپ‌های خاکشیر در تحمل به یخ‌زدگی بازتاب فرآیندهای انتخاب طبیعی و محیطی است که در آن تکامل پیدا کرده‌اند. به‌عبارت‌دیگر چون اقلیم شهر همدان

جدول ۵. ضرایب همبستگی بین درصد بقاء، وزن خشک، تعداد برگ و تعداد گره با دماهای ۵۰ درصد کشندگی بر اساس صفات مذکور در خاکشیر قرار گرفته در معرض تنش یخ‌زدگی.

Table 5. Correlation coefficients between Survival percentage, dry weight, number of leaf and number of node with lethal temperature 50 based on these traits in Flixweed exposed to freezing stress.

صفت (Trait)	1	2	3	4	5	6	7	8
۱-درصد بقاء 1-Survival percentage	1							
۲-وزن خشک 2-Dry weight	0.69***	1						
۳-تعداد برگ 3-No. leaf	0.94***	0.71***	1					
۴-تعداد گره 4-No. Node	0.93***	0.74***	0.96***	1				
5- LT _{50su}	-0.67***	0.13 ^{ns}	-0.67***	-0.40 ^{ns}	1			
6- RDMT ₅₀	-0.01 ^{ns}	0.02 ^{ns}	-0.07 ^{ns}	-0.18 ^{ns}	0.18 ^{ns}	1		
7-RNLT ₅₀	-0.41 ^{ns}	-0.44 ^{ns}	-0.46 ^{ns}	-0.41 ^{ns}	0.22 ^{ns}	0.33 ^{ns}	1	
8- RNNT ₅₀	-0.82***	-0.01 ^{ns}	-0.74***	-0.62*	0.71***	0.22 ^{ns}	0.61*	1

^{ns}، * و ***: عدم معنی‌داری و به ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد.

^{ns}، * and ***: Non significant and Significant at 5 and 0.1% probability levels respectively.

وزن خشک و دمای کاهنده ۵۰ درصد وزن خشک گیاهان ($RDMT_{50}$)

اکوتیپ‌های خاکشیر از نظر وزن خشک سه هفته پس از اعمال تیمار یخ‌زدگی تفاوت معنی‌داری ($P \leq 0/01$) با یکدیگر داشتند (جدول ۱). بر اساس نتایج حاصل، اکوتیپ‌های اقلید و سبزواری به ترتیب بیشترین و کمترین وزن خشک را دارا بودند به طوری که وزن خشک اکوتیپ اقلید نسبت به اکوتیپ سبزواری ۳۵/۵ درصد بیشتر بود و اختلاف معنی‌داری بین وزن زیست‌توده اکوتیپ‌های اقلید، همدان و تربت‌جام بعد از طی شدن دوره بازیافت وجود نداشت (شکل ۲). آنیکچاریکو و همکاران (Annicchiarico et al., 2001) نیز در مطالعه اثر تنش یخ‌زدگی بر روی جمعیت‌های شبدر سفید (*Trifolium repens*) بیان کردند که وزن خشک گیاهان در جمعیت‌های *Grassland Huia* و *Aberherald* به ترتیب ۴۱ و ۴۰ درصد کمتر از جمعیت TRI 074 بود. ایشان علت اختلاف در وزن خشک جمعیت‌های مختلف گونه شبدر سفید را تفاوت در شرایط سازگار شدن هر جمعیت در محل رویش خود دانستند که علاوه بر بروز تنوع در برخی صفات مورفولوژیک، سبب تفاوت در تحمل به تنش یخ‌زدگی نیز شده است.

اثر دما بر وزن خشک گیاه در پایان دوره بازیافت نیز معنی‌دار ($P \leq 0/01$) بود (جدول ۱). وزن خشک گیاه خاکشیر در دماهای ۸-، ۱۰-، ۱۲- و ۱۴- درجه سانتی‌گراد نسبت به تیمار شاهد به ترتیب ۱۴/۲، ۲۸/۵، ۷۱/۵ و ۹۶/۵ درصد کمتر بود و در ۱۶- درجه سانتی‌گراد بوته‌ها کاملاً از بین رفتند (جدول ۲). این کاهش احتمالاً به دلیل اثر خسارت ناشی از یخ‌زدگی بر توانایی رشد مجدد اندام‌های گیاهی از طوقه در مرحله بازیافت بوده است. در بررسی عزیززی و همکاران (Azizi et al., 2007) نیز مشاهده شد که وزن خشک ارقام گندم تحت تأثیر تنش یخ‌زدگی قرار گرفته و در دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد، ۸۱ درصد نسبت به تیمار عدم یخ‌زدگی کاهش داشت. در بررسی دیگری بر روی گیاه مینای چمنی (*Bellis perennis*) وزن خشک گیاهان تا دمای ۶- درجه سانتی‌گراد چندان تحت تأثیر تنش یخ‌زدگی قرار نگرفت ولی بعد از آن با شیب نسبتاً تندی کاهش یافت، به طوری که میزان وزن خشک گیاهان در دماهای ۱۴- و ۱۶- درجه سانتی‌گراد نسبت به دمای صفر درجه سانتی‌گراد ۲۶ و ۷۸ درصد کمتر بود (Javad Mousavi et al., 2011).

اثر متقابل اکوتیپ و دما بر وزن خشک گیاه نیز معنی‌دار ($P \leq 0/01$) بود (جدول ۱)، به طوری که بیشترین وزن خشک

متعلق به اکوتیپ تربت‌جام در دمای صفر درجه سانتی‌گراد بود و در دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد، اکوتیپ‌های همدان و اقلید به ترتیب بیشترین و کمترین زیست‌توده را بعد از دوره بازیافت تولید کردند. همچنین اکوتیپ همدان در دمای ۱۴- درجه سانتی‌گراد، ۲۰/۵ درصد وزن خشک شاهد را دارا بود در حالی که وزن خشک اکوتیپ‌های دیگر در این دما به صفر رسید (جدول ۳). نتایج بررسی راشد محصل و همکاران (Rashed Mohassel et al., 2009) بر روی اثر تنش یخ‌زدگی بر اکوتیپ‌های رازیانه نیز نشان داد که در دمای ۹- درجه سانتی‌گراد وزن خشک گیاهان اکوتیپ گناباد و کرمان به ترتیب ۴۷ و ۸۰ درصد کمتر از تیمار شاهد (صفر درجه سانتی‌گراد) بود. در بررسی بر روی گیاه دارویی زنیان (*Trachyspermum ammi* (Linn). Sprague) نیز کاهش دما به کمتر از ۷/۵- درجه سانتی‌گراد به ترتیب سبب کاهش ۸۰ و ۸۲ درصدی وزن خشک در اکوتیپ بیرجند و تربت‌حیدریه شد، در حالی که در دمای مذکور گیاهان اکوتیپ نیشابور کاملاً از بین رفته بودند (Boroumand Rezazadeh et al., 2013).

به لحاظ $RDMT_{50}$ اکوتیپ همدان تقریباً ۲/۷ و ۲/۶ درجه سانتی‌گراد تحمل به یخ‌زدگی بیشتری نسبت به اکوتیپ‌های سبزواری و نیشابور داشت (جدول ۴) و اختلاف معنی‌داری بین اکوتیپ‌های اقلید و تربت‌جام مشاهده نشد (جدول ۴). در مطالعه‌ای که بر روی بیوتیپ‌های یولاف وحشی (*Avena ludoviciana* L.) انجام شد، بیوتیپ‌های شوستر و مشهد با $RDMT_{50}$ معادل ۹/۷- و ۱۳/۵- درجه سانتی‌گراد، به ترتیب حساس‌ترین و مقاوم‌ترین بیوتیپ‌ها ذکر شدند (Izadi-Darbandi et al., 2012).

بر اساس نتایج حاصل از این آزمایش، گستره $RDMT_{50}$ بین ۹- تا ۱۱/۷- درجه سانتی‌گراد متغیر بود در حالی که این دامنه برای LT_{50su} بین ۱۰/۲- تا ۱۲/۱- بسته به اکوتیپ نوسان داشت (جدول ۴). در بررسی نظامی و همکاران (Nezami et al., 2010) بر روی اثر تنش یخ‌زدگی بر گیاهچه‌های ارقام جو نیز مشاهده شد که LT_{50su} کلیه ارقام کمتر از یک درجه سانتی‌گراد با هم تفاوت داشت در حالی که $RDMT_{50}$ رقم کارون × کویر تقریباً ۲/۵ درجه سانتی‌گراد کمتر از ارقام لخت و ریحان بود. در مجموع پایین‌ترین $RDMT_{50}$ و LT_{50su} در بررسی ایشان متعلق به رقم کارون × کویر بود.

اکوتیپ‌های همدان و اقلید به ترتیب بیشترین و کمترین زیست‌توده را بعد از دوره بازیافت تولید کردند. رتبه‌بندی اکوتیپ‌ها به لحاظ شاخص‌های LT_{50su} ، $RNLT_{50}$ ، $RNNT_{50}$ و $RDMT_{50}$ نشان داد که اکوتیپ همدان متحمل‌ترین اکوتیپ مورد مطالعه و اکوتیپ نیشابور حساس‌ترین آن‌ها به تنش یخ‌زدگی است که احتمالاً وضعیت اقلیمی مناطق مذکور در این خصوص تأثیرگذار بوده است.

تقدیر و تشکر

بودجه این تحقیق از محل اعتبارات قطب علمی گیاهان زراعی ویژه دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد تأمین شده است که بدین‌وسیله سپاسگزاری می‌گردد.

در مجموع تنش یخ‌زدگی منجر به کاهش درصد بقاء و سایر خصوصیات رشدی گیاه خاکشیر شد؛ اما بسته به شدت تنش و اکوتیپ، صفات مذکور به‌طور متفاوتی تحت تأثیر قرار گرفتند. کاهش شدید درصد بقاء گیاهان در اکوتیپ‌های همدان، سبزوار و تربت‌جام از دمای -12 درجه سانتی‌گراد نسبت به تیمار شاهد شروع شد، در حالی که این کاهش در اکوتیپ‌های اقلید و نیشابور از دمای -10 درجه سانتی‌گراد اتفاق افتاد. اکوتیپ‌های نیشابور و تربت‌جام کمترین تعداد برگ را در دمای -12 درجه سانتی‌گراد دارا بودند. در اکوتیپ همدان تعداد گره در دمای -12 درجه سانتی‌گراد، 31 درصد نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت. در حالی که این کاهش در اکوتیپ‌های سبزوار، تربت‌جام، اقلید و نیشابور بسیار بیشتر بود. به لحاظ وزن خشک نیز در دمای -12 درجه سانتی‌گراد،

منابع

- Amir Ghasemi, T., 2002. Chilling of Plants (Frost, Damages and Prevention). Ayandegan Press. 123p. [In Persian]
- Anderson, J.A., Taliaferro, C.M. Wu, Y.Q., 2007. Freeze tolerance of seed- and vegetatively propagated bermuda grasses compared with standard cultivars. Application of Turfgrass Science. 618, 1-7. (TGIF Record 124630).
- Annicchiarico, P., Collins, R.P., Fornasier, F., Rhodes, I. 2001. Variation in cold tolerance and spring growth among Italian white clover populations. Euphytica. 122, 407-416.
- Armoniene, R., Liatukas, Z., Brazauskas, G., 2013. Evaluation of freezing tolerance of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) under controlled conditions and in the field. Zemdirbyste-Agriculture. 100 (4), 417-424.
- Azizi, H., Nezami, A., Nassiri, M., Khazaie, H.R., 2007. Evaluation of cold tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars under controlled conditions. Iranian Journal of Field Crops Research. 5, 109-121. [In Persian with English Summary].
- Boroumand Rezazadeh, Z., Nezami, A., Nezami, S., 2013. Evaluation of freezing stress tolerance in 3 Ecotypes of Ajwan (*Trachyspermum ammi* (Linn). Sprague) under controlled conditions. Iranian Journal of Field Crops Research. 11 (1), 121-130. [In Persian with English Summary].
- Emami, A. Shams Ardakani, M. Nekoie Naieni, N. 2002. Phytotherapie: Traitement des Maladies Par Les Plantes (Translated), Rahe Kamal Press. Page 11. [In Persian]
- Fan, W. 2002. Cigarette with Chinese herb medicines. PCT International Application. 47, 494- 501.
- Gusta, L.V., O'connor, B.J., Gao, Y.P., Jana, S., 2001. Evaluation of controlled freeze-test and controlled environment hardening conditions to estimate the winter survival potential of hardy winter wheat. Canadian Journal of Plant Science. 81, 241-246.
- Izadi- Darbandi, E., Nezami, A., Abbasian, A., Heidari, M., 2012. Evaluation of freezing stress tolerance in wild Oat (*Avena ludoviciana* L.) by electrolytes leakage test. Environmental Stresses in Crop Sciences. 5 (1), 81-94. [In Persian with English summary]
- Izadi-Darbandi, E., Yousef Sani, M., Nezami, A., Javadmousavi, M., Keykha, F., 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 Summary]
- Janalizadeh, M. 2012. Evaluation of cold tolerance in Lancelot plantain (*Plantago lanceolata* L.) ecotypes under controlled conditions. MSc Thesis. Faculty of

- Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad. [In Persian with English Summary]
- Javad Mousavi, M., Nezami, S., Izadi, E., Nezami, A., Yousef Sani, M., 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 Summary]
- Khan, M., Wang, N., 2012. *Descurainia sophia* (L.): a weed with multiples medicinal uses. Punjab University Journal of Zoologist, 27(1): 45-51.
- Kennedy, J., 2005. Herb and supplement use in the US adult population. Clinical Therapeutics. 27(11), 1847-58.
- Keykha-Akhar, F., Bagheri, A. R., Moshtaghi, N., Nezami, A., 2011. The effect of gamma radiation on freezing tolerance of chickpea (*Cicer arietinum* L.) at in vitro culture. Journal of Biology and Environmental Science. 5: 63-70.
- Khorsandi, T., 2013. Evaluation of late spring cold tolerance in black cumin (*Nigella sativa* L.) ecotypes under controlled conditions. MSc Thesis. Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad. [In Persian with English Summary].
- Li, R., Qu, R., Bruneau, A.H., Livingston, D.P., 2010. Selection for freezing tolerance in St. Augustinegrass through somaclonal variation and germplasm evaluation. Plant Breeding. 129, 417—421.
- Livingston, D.P., Premakumar, R. Tallury, S.P., 2006. Carbohydrate partitioning between upper and lower regions of the crown in oat and rye during cold acclimation and freezing. Cryobiology. 52, 200—208.
- Mirmohamadi Meibodi, A., Tarkeshe Esfahani, C., 2004. Aspects of Physiology and Breeding for Cold and Freezing in Crops. Golbon Publication. Isfahan. [In Persian].
- Mirzai-Asl, A., Yazdi-Samadi, B., Zali, A., Sadeghian-Motahhar, Y., 2002. Measuring cold resistance in wheat by laboratory tests. Iranian Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources. 6, 177-186.
- Nezami, A., Khazaie, H.R., Dashti, M., Mehrabadi, H.R., Eishi Rezaie, E., Ahmadi, M., 2013. Evaluation of Morphophysiological indices in autumn sugar beet (*Beta vulgaris* L.) cultivars under freezing stress at seedling stage. Journal of Sugar beet. 29(1), 15-31. [In Persian with English Summary].
- Nezami, A., 2002. Evaluation of cold tolerance of chickpea (*Cicer arietinum* L.) for fall planting in the highlands. Ph.D. Thesis. Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran. [In Persian with English Summary].
- Nezami, A., Nabati, J., Borzooei, A., Kamandi, A., Masomi, A., Salehi, M., 2010. Evaluation of freezing tolerance in barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars at seedling stage under controlled conditions. Environmental Stresses in Crop Sciences. 3(1), 9-22. [In Persian with English Summary].
- Nezami, A., Soleimani, M.R., Ziaee, M., Ghodsi, M., Bannayan Aval, M., 2010. Evaluation of freezing tolerance of hexaploid Triticale genotypes under controlled conditions. Notulae Scientia Biologica. 2(2), 114-120.
- Patton, A., Reicher, Z., 2007. Zoysiagrass winter hardiness: zoysiagrass cultivar selection is important because winter injury and freeze are variable. Great Commission Ministries. 119—123.
- Peng, L.Y., Youg, J., Gao Zequ, L., 1997. Preliminary study on the introduction on *Descurainia Sophia* an oil plant species for industrial uses. Zhiwu Xuebao. 39(5), 477-479.
- Qian, Y.L., Ball, S., Tan, Z., Koski, A.J., Wilhelm, S.J. 2001. Freezing tolerance of six genotypes of buffalo grass. Crop Science. 41, 1174—1178.
- Rashed Mohassel, M.H., Nezami, A., Bagheri, A.R., Hajmohammadnia, K., Bannayan, M. 2009. Evaluation of freezing tolerance of two fennel (*Foeniculum vulgare* L.) ecotypes under controlled conditions. Journal of Herb, Species and Medicinal Plants. 15,131—140.
- Rife, C.L., Zeinali, H., 2003. Cold tolerance in oilseed rape over varying acclimation durations. Crop Science. 43, 96—100.
- Rukavina, H., Hughes, H.G., Qian, Y., 2007. Freezing tolerance of 27 saltgrass ecotypes from three cold hardiness zones. Horticultural Science. 42(1), 157—160.
- Sarmadnia, Gh., Tavakkoli, H., Ghorbani, A., 1988. Evaluation of drought resistance in different dry land wheat landraces at germination stage. Collection of papers and

- results of the first conference researches and survey of issues in dryland farming in Iran. Ferdowsi University of Mashhad. Pp 57-80. [In Persian].
- Siahmargooyi, A., Azizi, G., Nezami, A., Jahani, M., 2011. Evaluation of freezing tolerance in Field grown fennel ecotypes under controlled conditions. *Journal of Horticultural Science*. 25(1), 64-72. [In Persian with English Summary].
- Sulk, R.M., Albrecht, K.A., Duke, S.H., 1991. Leakage of intra cellular substances as an indicator of freezing injury in alfalfa. *Crop Science*. 31, 430-435.
- Xuan, J., Liu, J., Gao, H., Huaguabghu, H., Cheng, X. 2009. Evaluation of low-temperature tolerance of Zoysia grass. *Tropical Grasslands*. 43, 118-124.
- Yuqing, Zh., 2001. Compound Chinese medicine prepared by using snake medicine Qianshouguanyin for preventing cancer of lung. *Faming Zhuanli Shenqing Cong*. 321, 509.