

# ارزیابی شاخص‌های مورفو‌فیزیولوژیک ارقام چغندرقند پاییزه تحت شرایط تنفس یخ‌زدگی در مرحله گیاه‌چهای

Evaluation of Morpho-physiological indices in autumn sugar beet (*Beta vulgaris* L.) cultivars under freezing stress at seedling stage

احمد نظامی<sup>۱</sup>، حمیدرضا خزاعی<sup>۱</sup>، مجید دشتی<sup>\*۲</sup>، حمیدرضا مهرآبادی<sup>۳</sup>، احسان عیشی‌رضایی<sup>۲</sup> و مسعود احمدی<sup>۴</sup>

تاریخ دریافت: ۹۰/۱۰/۲۱؛ تاریخ پذیرش: ۹۲/۲/۹

ا. نظامی، ح.ر. خزاعی، م. دشتی، ح.ر. مهرآبادی، ا. عیشی‌رضایی و م. احمدی. ۱۳۹۲. ارزیابی شاخص‌های مورفو‌فیزیولوژیک ارقام چغندرقند پاییزه تحت شرایط تنفس یخ‌زدگی در مرحله گیاه‌چهای. مجله چغندرقند ۲۹(۱): ۱۵-۳۱.

چکیده

به منظور مطالعه صفات فیزیولوژیکی و مورفو‌لولوژیکی هفت رقم چغندرقند [Jolge, PP8 و SBSI1 (ارقام داخلی)، Suprema, Palma, Monotonuno, Giada] تحت شرایط تنفس یخ‌زدگی در محیط کنترل شده، تحقیقی در دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد به صورت آزمایش فاکتوریل بر مبنای طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار اجرا شد و گیاهان در مرحله گیاه‌چهای در معرض دماهای یخ‌زدگی (صفر، ۲، ۶، ۸، ۱۰، ۱۲، ۱۴، ۱۶ و ۱۸ درجه سانتی گراد زیر صفر) قرار گرفتند. سپس شاخص‌های درصد نشت الکتروولیت‌ها، فلورسانس اولیه برگ خو گرفته به روشنایی ( $F_s$ )، فلورسانس حداکثر برگ خو گرفته به روشنایی ( $F_{ms}$ )، فلورسانس متغیر ( $\Delta F$ ) و کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II ( $\Delta F/F_{ms}$ )، میزان فتوستنتر خالص، تعداد و سطح برگ، طول و قطر ریشه‌چه و درصد بقاء مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان دادند رقم Monotonuno به ترتیب با میانگین ۸۸ درصد بقا و ۲۶ درصد نشت الکتروولیت نسبت به سایر ارقام برتری دارد. حداقل و حداکثر دمای ۵۰ درصد کشنندگی بر اساس درصد بقا ( $LT_{50su}$ ) به ترتیب به میزان  $16/9$  و  $15/2$ - درجه سانتی گراد و نیز بیشترین و کمترین مقدار کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II، به ترتیب با میانگین  $7/0$  و  $5/9$  در ارقام SBSI1 و Monotonuno مشاهده گردید. نتایج همچنین نشان دادند که بین درصد نشت الکتروولیت‌ها و درصد بقا (\*\*\*) ( $r=-0/65$ ) و نیز صفات مرتبط با بازیافت گیاه همبستگی منفی و معنی‌داری ( $r=+0/001$ ) وجود دارد. در حالی که همبستگی درصد بقا با تعداد برگ ( $r=+0/88$ ) و طول ریشه ( $r=+0/87$ ) مثبت و معنی‌دار بود. وجود همبستگی مثبت و معنی‌دار ( $r=+0/97$ ) بین درصد بقاء با نسبت  $\Delta F/F_{ms}$  و نیز همبستگی منفی و معنی‌دار نسبت LT<sub>50su</sub> با  $\Delta F/F_{ms}$  و دمای ۵۰ درصد کشنندگی براساس نشت الکتروولیت‌ها ( $LT_{50el}$ ) (\*\*\*\*) ( $r=-0/84$ ) نشان داد ارقامی که درصد نشت الکتروولیت کمتر و بقاء بالاتری پس از دوره بازیافت دارند دارای نسبت  $\Delta F/F_{ms}$  بیشتری هستند. نتایج همچنین نشان دادند که در ارقام متحمل به یخ‌زدگی، با کاهش درصد نشت الکتروولیت‌ها، LT<sub>50el</sub> و LT<sub>50su</sub> به‌طور معنی‌داری کاهش یافته و بین این دو شاخص نیز همبستگی مثبت و معنی‌داری ( $r=+0/75$ ) وجود دارد.

واژه‌های کلیدی: تنفس یخ‌زدگی، چغندرقند پاییزه، شاخص‌های مورفو‌فیزیولوژیک، گیاه‌چه

۱- استاد دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد

۲- دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی دانشگاه فردوسی مشهد \* - نویسنده مسئول

۳- مریبی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی

۴- استادیار مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی

ناشی از یخ‌زدگی بر غشاء سلول اندازه‌گیری می‌شود، مبنای این روش اندازه‌گیری افزایش نشت محلول‌های سلولی نظیر پتاسیم، آمینواسیدها، کربوهیدرات‌ها و در مجموع الکتروولیت‌های مختلف به خارج از سلول می‌باشد (Mirzaee et al. 1989). این روش نسبتاً سریع و ارزان بوده و تخمین خوبی از میزان مقاومت به تنفس یخ‌زدگی و میزان خسارت واردہ به غشاء سلولی در حجم زیادی از (Colombo and Raitanen 1993; Odlum and Blake 1996; Mirzaee et al. 2002; Nezami 2002; Cardona et al. 1997) نظامی و همکاران (Nezami et al. 2006) نشت الکتروولیت‌ها را به عنوان شاخصی از خسارت یخ‌زدگی در کلزا بررسی کرده و بیان نمودند که کاهش دما سبب افزایش میزان نشت الکتروولیت‌ها در کلیه ارقام مورد بررسی گردید. برخی محققین نیز دمایی را که سبب ۵۰ درصد نشت الکتروولیت می‌شود به عنوان دمای ۵۰ درصد (Electrolyte Leakase Letal كشنندگی Temperchere 50= LT<sub>50er</sub>) می‌دانند (Shashikumar and Nus 1993; Gusta et al. 1982). تنش‌های غیرزیستی همچنین به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم صفات فتوستتری برگ‌ها را تحت تأثیر قرار داده و خصوصیات فلورسانس کلروفیل آن‌ها را تغییر می‌دهند (Gray et al. 2003). قرار گرفتن گیاه در معرض تنفس یخ‌زدگی از متابولیسم برگ‌ها به شدت

## مقدمه

توانایی تحمل به تنفس یخ‌زدگی، ویژگی مهم گیاهانی است که دوره زمستان را در شرایط سخت با (Sasaki et al. 1998). کشت چغندرقند (*Beta vulgaris*) در ایران با حداقل محدودیت از لحاظ تشعشع خورشیدی مواجه است، کشت این گیاه در مناطق خشک و نیمه‌خشک، متکی به آبیاری است. به دلیل مصرف زیاد آب در کشت بهاره و محدودیت‌های منابع آب این نوع کشت مخاطره‌آمیز می‌باشد. به همین دلیل کشت پاییزه چغندرقند در برخی مناطق استان خراسان مورد توجه قرار گرفته است. کشت پاییزه چغندرقند در نواحی جنوب (Rinaldi and Vonella 2006) به دلیل استفاده مناسب گیاه از نزولات جوی زمستانه و اجتناب از خشکی‌های تابستان (Caliandro et al. 1996) رایج می‌باشد. این نواحی دارای آب و هوای مدیترانه‌ای و زمستان‌های نسبتاً ملایم می‌باشند (Scott et al. 1973)، درصورتی که در استان خراسان زمستان‌ها غالباً سرد بوده و لذا ممکن است گیاه با تنفس سرما مواجه گردد.

تحقیقات زیادی برای یافتن روش‌های ارزیابی سریع و مؤثر برای پیش‌بینی مقاومت به سرمای گیاهان انجام شده است (Fowler et al. 1981). از جمله این شاخص‌ها، نشت الکتروولیت‌ها بوده که براساس خسارات

ظرفیت فتوستنتزی در این گیاهان دارد. بنابراین هر فاکتوری که به صورت مستقیم و غیرمستقیم بر فتوستنتز گیاه اثرگذار باشد، بر توانایی مقاومت گیاه در شرایط تنفس سرما مؤثر خواهد بود.

هدف از این مطالعه تعیین روابط همبستگی بین صفات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی ارقام چندرقند پاییزه تحت شرایط تنفس یخزدگی در مرحله گیاهچه‌ای و تعیین شاخص‌هایی با بیشترین نقش در ایجاد تغییرات در ارقام و در نهایت تعیین مقاومت‌ترین ارقام به تنفس یخزدگی می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

این تحقیق در دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد به صورت آزمایش فاکتوریل و در قالب طرح کرت‌های کاملاً تصادفی با سه تکرار در اواسط مهر ماه سال ۱۳۸۸ انجام شد. در این مطالعه هفت رقم چندرقند (Suprema, Jolge, Monotunno, Giada, PP8, SBSI1, Palma) یخزدگی (صفر، ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰، ۱۲، ۱۴، ۱۶ و ۱۸ - سانتی‌گراد) قرار گرفتند. در اواخر آبان ماه بذور چندرقند در گلدان‌های پلاستیکی به ارتفاع ۲۰ و قطر ۱۲ سانتی‌متر در عمق ۱-۲ سانتی‌متری خاک کشت شدند. گلدان‌ها با ترکیبی یکسان از ماسه، خاک مزرعه، خاکبرگ پر شدند. پس از استقرار گیاهان، تعداد

ممانعت کرده و باعث بروز خسارات ناشی از تشید اثر نور بر فتوسیستم II و کاهش سرعت انتقال الکترون در سیستم فتوستنتزی می‌شود (Baker and Rosenquist 2004). اندازه‌گیری پارامترهای فلورسانس کلروفیل که یک روش مناسب و غیرتخریبی است، جهت تعیین تفاوت‌های موجود بین گونه‌های گیاهی (Neuner and Larcher 1990) از نظر تحمل به تنفس‌های محیطی به کار رفته و به عنوان شاخصی مهم برای کمی کردن واکنش ارقام و لاین‌های متتحمل به سرمای ذرت و برج و متتحمل به گرمای آفتابگردان استفاده شده است (Dobrowski et al. 2005). پارامتر کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II به عنوان اصلی‌ترین فاکتور بین پارامترهای مورد بررسی جهت تنفس کاربرد دارد و مقادیر این فاکتور برای یک گیاه سالم بین ۷۵/۰ تا ۸۵/۰ می‌باشد، در حالی که در اثر تنفس مقدار آن کاهش می‌باید (Petite et al. 2005).

لوبیت (Levitt 1980) دمای ۵۰ درصد تلفات گیاهان در شرایط کنترل شده را روش مناسبی برای اندازه‌گیری مقاومت به سرمای پیشنهاد داد. تعیین  $LT_{50}$  طوفه گیاه در غلات نیز به عنوان روشی جهت برآورد بقای گیاهان پس از تنفس سرمای در نظر گرفته شده است (Gusta and Chen 1987; Fowler et al. 1981). همکاران (Huner et al. 1993) نشان داد، شاخص مقاومت به سرمای در غلات رابطه خطی و منفی با افزایش

دمای محیط آزمایشگاه بر روی شیکر قرار گرفتند. پس از گذشت این زمان، هدایت الکتریکی هر نمونه با استفاده از دستگاه ECمتر (مدل Senway) اندازه‌گیری شد ( $E_1$ ). بهمنظور اندازه‌گیری میزان کل نشت الکتروولیت پس از مرگ سلول‌ها، نمونه‌ها در اتوکلاو با فشار ۱۵ پوند بر اینچ مربع (PSI) معادل  $1/0^{\circ}3$  بار و دمای تقریبی  $121$  درجه سانتی‌گراد به مدت  $20$  دقیقه قرار گرفتند. نمونه‌ها سپس به مدت  $24$  ساعت مجدداً بر روی شیکر قرار گرفته و هدایت الکتریکی نمونه‌ها دوباره ثبت شد ( $E_2$ ). سپس درصد نشت الکتروولیت‌ها برای هر تیمار با استفاده از رابطه  $1$  محاسبه شد. پس از گذشت  $21$  روز از انتقال گلدان‌ها به شاسی سرد، درصد بقاء و بازیافت گیاهچه‌ها با شمارش تعداد بوته‌های زنده از رابطه  $2$  تعیین شد. علاوه‌بر این، صفات مرتبط با رشد از جمله تعداد، سطح و وزن خشک برگ و نیز قطر و طول ریشه‌ها مورد بررسی قرار گرفت. درجه حرارت کشنده برای  $50$  درصد نمونه‌ها برمبنای نشت الکتروولیت‌ها ( $LT_{50e}$ ) براساس رسم منحنی‌های میانگین درصد نشت برگ هر رقم در مقابل دماهای يخ‌زدگی و با توجه به روش ارائه شده توسط آندرسون و همکاران (Anderson et al. 1988) و اینگرام (Ingram 1985) و بر اساس رابطه  $3$  تعیین گردید:

$$\text{درصد نشت الکتروولیت‌ها} = \frac{(E_1/E_2)}{100} \quad (1)$$

پنج بوته در هر گلدان نگهداری و سایر بوته‌ها حذف شدند. به منظور اعمال خوسه‌مایی (Acclimation) گیاهچه‌ها تا مرحله شش تا هشت برگی در شرایط طبیعی نگهداری شدند. گلدان‌ها  $24$  ساعت قبل از اعمال دماهای يخ‌زدگی، آبیاری شدند و سپس جهت اعمال تیمارهای دمایی به فریزر ترمومگراديان منتقل شدند. در آغاز آزمایش دمای فریزر  $5$  درجه سانتی‌گراد بود و پس از قرار دادن نمونه‌ها، درجه حرارت در هر ساعت به میزان دو درجه سانتی‌گراد کاهش می‌یافتد. به منظور القاء هستک‌های يخ، در دمای  $-3$  درجه سانتی‌گراد از محلول حاوی باکتری‌های القاء کننده هستک يخ (Ice Nucleation Active Bacteria = INAB) استفاده گردید. برای این منظور سطح برگ گیاهان با لایه نازکی از این محلول اسپری شد. به منظور ایجاد تعادل دمای محیط آزمایش، گیاهان در هر تیمار يخ‌زدگی به مدت یک ساعت نگهداری شدند و در پایان این مدت و به منظور کاهش سرعت ذوب، نمونه‌ها به اتاق رشد با دمای  $2 \pm 4$  درجه سانتی‌گراد منتقل شدند و برای مدت  $24$  ساعت در این شرایط قرار گرفتند. بوته‌ها پس از طی این مدت به شاسی سرد منتقل شدند.

به منظور بررسی درصد نشت الکتروولیت‌ها، جوان‌ترین برگ کاملاً توسعه یافته ( $5$  برگ از هر گلدان) جدا شده و در شیشه‌های مکارتنی حاوی  $75$  میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر شده قرار گرفتند و به مدت  $24$  ساعت در

[ $(\text{تعداد گیاهان قبل از تیمار يخ‌زدگی}) / (\text{تعداد گیاهان زنده پس از تیمار يخ‌زدگی})$ ]

(۲)

گیاه توسط دستگاه IRGA مدل LCA4 (کمپانی ADC) انجام گردید. برای این منظور میزان فتوسنتز جوانترین برگ کاملاً توسعه یافته در شدت نور ثابت ۹۰۰ میکرومول فوتون بر مترمربع بر ثانیه در طی زمان‌های یک و سه هفته پس از اعمال تیمارهای بخ‌زدگی اندازه‌گیری شد.

تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار ۹.۱ SAS 15، SPSS 7 و Sigma Plot برای رسم‌نمودارها از نرم‌افزارهای Excel 2010 و ۱۳.۳ Curve Expert استفاده شد.

## نتایج و بحث

نتایج حاصل از واکنش ارقام چندرقند به صفات مورد مطالعه نشان داد درصد بقاء گیاهان پس از دوره بازیافت و تا ۱۴ درجه سانتی‌گراد زیر صفر تحت تأثیر قرار نگرفت اما با کاهش بیشتر دما، درصد بقاء با شیب تندی کاهش یافت. بر این اساس ارقام Monotunno و Suprema با میانگین درصد بقاء بیش از ۸۸ درصد، از بیشترین تحمل برخوردار بودند (جدول ۱). هیچ‌یک از ارقام قادر به تحمل دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد نبودند. نتایج همچنین حاکی از برتری ارقام Monotunno و Giada در تعداد، سطح و وزن خشک برگ و نیز قطره ریشه پس از دوره بازیافت در مقایسه با ارقام حساس بود (جدول ۲).

$$El_p = El_1 + [(El_m - El_1) / (1 + e^{-B(T-T_m)})] \quad (3)$$

در رابطه ۳،  $El_p$  (مقدار برآورده شده نشت الکتروولیت‌ها)،  $El_1$  (حد پایین نشت الکتروولیت‌ها)،  $El_m$  (حد بالای نشت الکتروولیت‌ها)،  $e$  (سرعت افزایش شبیه منحنی)،  $T$  (مقدار مطلق تیمار حرارتی) و  $T_m$  ( نقطه عطف منحنی  $LT_{50el} =$  ) می‌باشد. بنا به تعریف، نقطه عطف، نقطه بین حد بالا و پایین منحنی و (Zhu and Liu 1987) یا نقطه تلاقی خط مماس با منحنی است

درجه حرارت کشنده برای ۵۰ درصد نمونه‌ها براساس درصد بقاء ( $LT_{50su}$ ) و نیز دمای کاهنده ۵۰ درصد وزن خشک ( $RDMLT_{50}$ ) با استفاده از رسم‌نمودار درصد بقاء و وزن خشک اندام‌های هوایی هر رقم در مقابل دماهای بخ‌زدگی تعیین شد.

فلورسانس کلروفیل توسط دستگاه فلورومتر (OS1-F1 chlorophyll Fluorometer) اندازه‌گیری بخش کناری جوانترین برگ کاملاً توسعه یافته (با فاصله از رگبرگ میانی) در طی زمان‌های دو تا ۷۲ ساعت پس از اعمال تنش بخ‌زدگی اندازه‌گیری شد. پارامترهای اندازه‌گیری شده توسط دستگاه شامل:  $F_s$  (فلورسانس اولیه برگ خو گرفته به روشنایی)،  $F_{ms}$  (بیشینه فلورسانس برگ خو گرفته به نور)،  $\Delta F$  (فلورسانس متغیر) و  $\Delta F/F_{ms}$  (کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II) بودند. اندازه‌گیری میزان فتوسنتز خالص

و کاردونا و همکاران (1997) نشان دادند که شب منحنی درصد نشت الکتروولیت‌ها در مقابل دمای بخزدگی، در ارقام مقاوم به سرما کمتر از ارقام حساس به سرما است و می‌تواند به عنوان یکی از معیارهای مقاومت به سرما منظور شود.

نتایج حاصل از همبستگی صفات نشان داد بین درصد نشت الکتروولیت‌ها و درصد بقاء همبستگی منفی و معنی‌داری ( $-0.65^{***} = r$ ) وجود دارد (جدول ۳). نتایج همچنین نشان دادند بین درصد نشت و کلیه صفات مورفولوژیکی از جمله سطح و وزن خشک برگ و نیز طول و قطر ریشه‌ها در مرحله بازیافت همبستگی منفی و معنی‌داری ( $0.001 < P$ ) وجود دارد (جدول ۳). نتایج مشابهی از این نوع همبستگی در تریتیکاله (Nezami et al. 2010) مشاهده شده است.

حداقل و حداکثر  $LT_{50su}$  به ترتیب به میزان  $16/9$  و  $15/2$  درجه سانتی‌گراد در ارقام SBSI1 و Monotunno وجود همبستگی بسیار قوی و منفی بین  $LT_{50su}$  و درصد بقاء ( $-0.99^{***} = r$ ) نشان دهنده این است که ارقام با  $LT_{50su}$  منفی‌تر از بالاترین درصد بقاء پس از دوره بازیافت برخوردارند (جدول ۴). همچنین نتیجه‌گیری گردید علی‌رغم این که رقم Monotunno از کمترین میزان  $LT_{50su}$  در بین سایر ارقام برخوردار است اما میزان  $RDMT_{50}$  این رقم ( $15/9$  درجه سانتی‌گراد)

جدول ۳ نشان می‌دهد که بین درصد بقاء و کلیه صفات مورفولوژیکی فوق همبستگی مثبت و معنی‌داری ( $P < 0.001$ ) وجود دارد. بالاترین همبستگی بین درصد بقاء با تعداد برگ ( $r = 0.88^{***}$ ) و طول ریشه ( $r = 0.87^{***}$ ) مشاهده شد.

درصد نشت الکتروولیت‌ها نیز بین ارقام مختلف تفاوت معنی‌داری ( $0.01 < P$ ) را نشان دادند (جدول ۱). میزان نشت الکتروولیت‌ها تا دمای  $5$  درجه سانتی‌گراد ناچیز بود اما با کاهش بیشتر دما، ارقامی که با شب ملایمتری به حداقل مقدار نشت خود رسیده و مقدار کل نشت کمتری داشتند در مقایسه با سایر ارقام از مقاومت بیشتری نسبت به تنفس بخزدگی برخوردار بودند. در بین ارقام مورد مطالعه، رقم Monotunno با میانگین  $26$  درصد و حداقل نشت  $54$  درصد و رقم Jolge با میانگین  $39$  درصد و حداقل نشت  $80$  درصد به ترتیب از کمترین و بیشترین مقدار نشت الکتروولیت‌ها برخوردار بودند (جدول ۱). بر این اساس می‌توان اظهار نمود که ارقام مقاوم از طریق حفظ انسجام مناسب‌تر غشای پلاسمایی و از طریق کاهش درصد نشت الکتروولیت‌ها پس از تیمارهای بخزدگی قادر به افزایش درصد زنده مانی و بقاء می‌باشند. کاردونا و همکاران (1997) نیز اظهار داشتند که تأثیر تنفس سرما بر میزان نشت الکتروولیت، بسته به میزان تحمل به بخزدگی ارقام مختلف گیاهی، متفاوت است. نظامی و همکاران (2006)

در هر دو دمای ۵۰ درصد کشنده‌گی می‌توانند به عنوان ارقام مقاوم به یخبندان انتخاب شوند.

**جدول ۴** حاکی از همبستگی غیرمعنی‌دار بین درصد نشت الکتروولیت‌ها با  $LT_{50el}$  ( $r = -0.25$ ) و  $LT_{50su}$  ( $r = 0.12$ ) در ارقام مورد بررسی است. اما اطلاعات جدول ۵ و شکل ۲ حاکی از این است که این روابط در ارقام حساس و مقاوم روند متضادی را دنبال می‌کنند. نتایج حاصل از همبستگی دماهای ۵۰ درصد کشنده‌گی براساس نشت و بقاء با شاخص‌های مربوط به نشت الکتروولیت‌ها و درصد بقا نشان می‌دهند که ارقام مورد مطالعه در دو گروه جداگانه قرار می‌گیرند. به طوری در ارقام Palma، Giada و Monotunno (گروه الف) این همبستگی‌ها مثبت و در برخی موارد معنی‌دار بوده، در حالی که این روابط در سایر ارقام (گروه ب) منفی و غیرمعنی‌دار است، بنابراین برآیند این دو گروه منجر به بروز روند ناپایدار (مثبت یا منفی) و غیرمعنی‌دار شده است (جدول ۴). گاستا و همکاران (2001) نیز در ارزیابی مجدد آزمون‌های مقاوت به یخ‌زدگی و تقسیم‌بندی ژنوتیپ‌های مختلف گندم به دو گروه نیمه مقاوم (A) و مقاوم (B)، نتیجه گرفتند که همبستگی‌های منفی و معنی‌داری بین شاخص‌های  $LT_{50}$  بقاء و شاخص زنده مانی مزرعه (FSI) ( $r = -0.509^*$ ) و نیز FSI و محتوای آب طوفه ( $r = -0.649^*$ ) در ژنوتیپ‌های مقاوم

مثبت‌تر از ارقام Suprema (۱۶/۸) – درجه سانتی‌گراد) و Giada (۱۶/۳) – درجه سانتی‌گراد) بود (جدول ۱). جدول ۴ نشان می‌دهد بین  $RDMT_{50}$  با درصد بقا ( $r = -0.68$ ) و  $LT_{50su}$  ( $r = 0.65$ ) همبستگی‌ها معنی‌دار نیست. این نتایج با یافته‌های گذشته بر روی نخود (Nezami et al. 2002) و چندرقند بهاره (Nezami et al. 2010) مبنی تخمین دقیقی از برآورد خسارت سرما در ارقام مورد مطالعه چندرقند منظور شود.

نتایج هم‌چنین نشان دادند که رقم Monotunno با پایین‌ترین  $LT_{50el}$  (۱۲) درجه سانتی‌گراد) و کمترین درصد نشت الکتروولیت‌ها نسبت به سایر ارقام برتری دارد. بر این اساس مشاهده می‌شود که در ارقام مقاوم به یخبندان، شاخص‌های  $LT_{50el}$  و  $RDMT_{50}$  به ترتیب به میزان ۱/۴ (Monotunno) و ۲/۲ (Suprema) درجه سانتی‌گراد کمتر از ارقام حساس‌تر است (جدول ۱). نظامی (2002) نیز نشان داد شاخص  $RDMT_{50}$  در ژنوتیپ‌های متحمل به سرمای نخود ۲ درجه سانتی‌گراد کمتر از ژنوتیپ حساس است. جدول ۱ هم‌چنین نشان می‌دهد که به علت پایین بودن  $LT_{50su}$  در مقایسه با  $LT_{50el}$  در کلیه ارقام چندرقند، درصد نشت الکتروولیت‌ها در  $LT_{50el}$  به مراتب کمتر از  $LT_{50su}$  باشد. بر این اساس ارقام Giada و Monotunno با دارا بودن حداقل درصد نشت

داد که مشابه با شاخص درصد بقاء، تفاوت چندانی بین ارقام چغندرقند تا دمای ۱۴ - درجه سانتی‌گراد مشاهده نمی‌شود اما با کاهش تدریجی دما به کمتر از ۱۶ - درجه سانتی‌گراد، این تفاوت معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) شده و در دمای ۱۸ - درجه سانتی‌گراد به صفر می‌رسد (داده‌ها نشان داده نشده‌اند).

بررسی میانگین داده‌های کارآیی فتوشیمیابی فتوسیستم II در دوره بازیابی نشان داد، که اعمال تیمارهای یخ‌زدگی اثر متفاوتی بر این صفت داشت. روند این پارامتر در طی ۲۴ ساعت اول پس از اعمال تیمارهای دمایی به صورت کاهشی بود، ولی پس از آن و با شروع بازیابی گیاه طی ۷۲ ساعت پس از تنفس یخ‌زدگی، مقادیر این پارامتر افزایش یافت و تقریباً به سطح قبل از اعمال تنفس نزدیک شد (شکل ۱). مطالعه تنفس یخ‌زدگی بر گیاه جو نیز نشان داد، این گیاه توان بازیابی کارآیی فتوشیمیابی فتوسیستم II در طی ۷۲ ساعت پس از آزمایش را داشته ولی مقادیر این پارامتر کاملاً به مقادیر قبل از تنفس نمی‌رسد، که دلیل این عدم توانایی، برگشت‌پذیری ظرفیت احیاء شده الکترون و خسارت واردہ به مراکز واکنش فتوسنتزی ذکر شده است (Dai et al. 2007)

نتایج همچنین نشان دادند که همبستگی مثبت و معنی‌داری بین پارامترهای وابسته به فلورسانس کلروفیل و بهویژه کارآیی فتوشیمیابی فتوسیستم II با درصد بقاء

مشاهده می‌شود در حالی که این روابط در ژنتیک‌های نیمه مقاوم معنی‌دار نیست.

نتایج نشان دادند که در ارقام متحمل به یخ‌زدگی با کاهش درصد نشت الکتروولیت‌ها، شاخص‌های  $LT_{50el}$  و  $LT_{50su}$  نیز به طور معنی‌داری کاهش یافته و رابطه مثبت و معنی‌داری بین  $LT_{50su}$  با  $LT_{50el}$  با  $(r = 0.75^*)$  وجود دارد (جدول ۵ و شکل ۲). همبستگی مثبت و معنی‌داری بین شاخص‌های فوق در کلزا (Nezami et al. 2002)، گندم (Mirzaee et al. 2002)، چغندرقند (Nezami and Naghedinia 2010) و گلرنگ (Gholamnejad et al. 2010) به دست آمده است. با وجود این کاردونا و همکاران (1997) نتیجه گرفتند ارقامی از گیاه پاسپالوم که از  $LT_{50su}$  منفی‌تری برخوردارند از درصد نشت بیشتری در هر دو شرایط خوسمایی و عدم خوسمایی برخوردارند. جدول ۵ همچنین بیان گر روابط مشابهی در همبستگی بین صفات مورفو‌لولوژیکی با  $LT_{50el}$  و  $LT_{50su}$  در گروه‌های الف و ب نیز می‌باشد.

نتایج حاصل از تأثیر سطوح مختلف درجه حرارت‌های یخ‌زدگی بر فاکتورهای مربوط به فلورسانس کلروفیل نشان دادند که در بین ارقام چغندرقند مورد مطالعه دو رقم Monotunno و SBSII به ترتیب با میانگین ۰/۷ و ۰/۵۹ از بیشترین و کمترین مقدار کارآیی فتوشیمیابی فتوسیستم II برخوردار بودند (جدول ۱). روند تغییرات این شاخص در دماهای مختلف یخ‌زدگی نشان

مناطقی با اقلیم سرد (سوئیس و آلمان) است و لذا از تحمل به سرمای بیشتری نسبت به سایر ارقام با منشاً اقلیم معتدل و گرم برخوردارند. نتایج حاصل از کاهش کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II در اثر خسارت یخ‌زدگی (Majdi et al. 2006) و گندم (Strauss et al. 2006) بر روی سویا (Majdi et al. 2007) نشان دادند که این کاهش در ارقام متتحمل به طور معنی‌داری کمتر از ارقام حساس است.

وجود همبستگی قوی و منفی بین نسبت LT<sub>50su</sub> با  $\Delta F/F_{ms}$  ( $r = -0.84^{***}$ ) و LT<sub>50el</sub> ( $r = -0.85^{***}$ ) نشان‌دهنده این است که ارقامی با دماهای ۵۰ درصد کشنده‌گی کمتر از عملکرد کوآنتومی بالاتری در مقایسه با ارقام حساس برخوردارند. نتایج Hasselt (1996) نیز نشان داد که ظرفیت فتوشیمیایی فتوسیستم II بعد از تنش یخ‌زدگی روشی سریع و منطقی برای تعیین میزان تحمل به یخ‌زدگی برگ‌های گندم بوده و همبستگی بالایی با روش‌های رایج تعیین خسارت یخ‌زدگی همچون LT<sub>50</sub> نشت، احیاء‌تری فنیل ترازوولیوم کلراید و ارزیابی‌های ظاهری (Visual assessment) دارد.

تنش یخ‌زدگی، فتوستنتز خالص گیاه را به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر قرار داد. جدول ۱ نشان می‌دهد که ارقام Monotunno و Giada به ترتیب با میانگین ۱۰/۸ و ۱۰/۳ میکرومول دی اکسید کربن بر مترمربع بر ثانیه از بالاترین میزان فتوستنتز پس از گذشت سه هفته از بازیابی برخوردارند. کلیه ارقام مورد مطالعه در گستره دمایی صفر

( $r = 0.97^{***}$ ) و نیز کلیه صفات مورفو‌لوژی وجود دارد (جدول ۳). لذا چنین به‌نظر می‌رسد که ارقام با درصد بقاء بالاتر پس از دوره بازیافت در مقایسه با گیاهانی که دچار خسارت شوند از کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II بیشتری برخوردار می‌باشند.

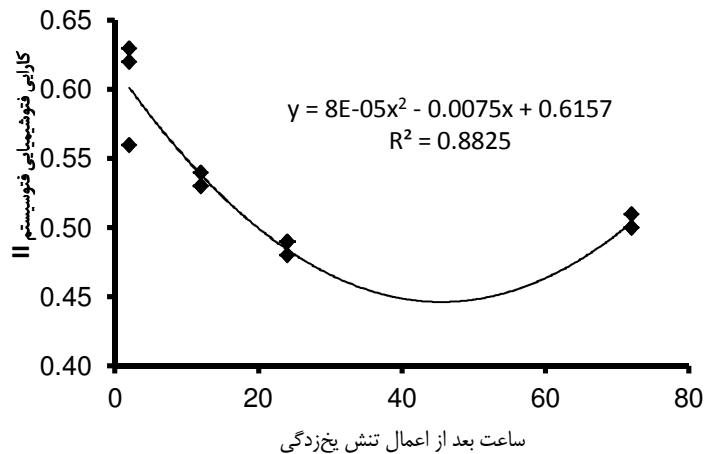
جلیلیان و همکاران (Jalilian et al. 1999) نیز کاهش شاخص‌های حداکثر فلورسانس کلروفیل (Fm) و کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II در ارقام بهاره چندرقند را دلیل افزایش شدت خسارت یخ‌زدگی در گیاهان ذکر نمودند. دای و همکاران (2007) نیز نتیجه گرفتند که از بین پارامترهای فلورسانس کلروفیل، سرعت انتقال الکترون‌ها در فتوسیستم II، پس از اعمال شوک یخ‌زدگی و در طی دوره بازیافت، می‌تواند به عنوان شاخصی مناسب در شناسایی و ارزیابی ارقام متتحمل به سرمای جو مورد استفاده قرار گیرد.

جدول ۳ همچنین بیان گر وجود همبستگی منفی و قوی بین شاخص  $\Delta F/F_{ms}$  و میانگین درصد نشت ( $r = -0.74^{***}$ ) می‌باشد. لذا این شاخص در ارقامی که از کمترین میزان نشت الکترولیت‌ها در دماهای یخ‌زدگی برخوردارند به مراتب بیشتر از ارقام حساس است. نتایج نشان دادند این نسبت در رقم مقاوم به یخ‌بندان Monotunno پس از دوره بازیافت تقریباً معادل با قبل از تنش بود. به نظر می‌رسد تفاوت در پتانسیل مقاومت ژنتیکی ارقام در تحمل به تنش یخ‌زدگی دلیل بر این وضعیت باشد زیرا منشأ ارقام Monotunno و Giada

منفی و بسیار معنی‌داری بین درصد نشت الکتروولیت‌ها با میزان فتوستتر در هفته اول ( $r = -0.87^{***}$ ) و سوم ( $r = -0.94^{***}$ ) پس از اعمال تنش مشاهده شد (جدول ۳). نتایج همچنین بیانگر همبستگی منفی میزان فتوستتر پس از اعمال تنش بخزدگی با شاخص‌های  $LT_{50el}$  و  $LT_{50su}$  ( $r = -0.71^*$ ) بود اما این رابطه تنها با  $LT_{50su}$  همبستگی معنی‌داری داشت (جدول ۴).

تا دمای ۱۴- درجه سانتی‌گراد توانستند سیستم فتوستتری خود را پس از ۷۲ ساعت احیا نموده و خسارت وارد را جبران کنند اما دماهای ۱۶- و ۱۸- درجه سانتی‌گراد باعث بروز خسارت غیرقابل برگشت به سیستم فتوستتری گیاه شدند.

نتایج حاصل از همبستگی میزان فتوستتر در هفته‌های بعد از اعمال تنش حاکی از روابط مثبت و قوی با خصوصیات مورفولوژیکی بود، در حالی که همبستگی



شکل ۱ تغییرات میانگین کارآئی فتوشیمیایی فتوسیستم II در ارقام چغندرقدن پاییزه طی دوره‌های مختلف زمانی در مقابل اعمال تنش بخزدگی در شرایط کنترل شده (هر نقطه میانگین ۷۰ اندازه‌گیری است)

جدول ۱ گروه‌بندی میانگین صفات فیزیولوژیکی ارقام چغندر پاییزه پس از اعمال دماهای بخزدگی

رقم	درصد بقاء	$LT_{50el}$	$LT_{50su}$	$RDMT_{50}$	میانگین درصد نشت	حداکثر درصد نشت	درصد نشت در $LT_{50el}$	درصد نشت در $LT_{50su}$	$\Delta F/F_{ms}$	فوستتر سه هفته پس از اعمال سرما
Suprema	۸۷/۲ a	-۱۱/۸ c	-۱۶/۹ c	-۱۶/۸ c	۲۷/۰ a	۸۱/۴ a	۴۸/۲ a	۷۶/۷ a	.۰/۶۵۸ b	۸/۲ b
Jolge	۸۵/۳ ab	-۱۱/۹ c	-۱۶/۳ bc	-۱۴/۶ a	۲۸/۷ a	۷۹/۹ a	۴۹/۳ a	۷۷ a	.۰/۶۵۵ b	۷/۹ bc
PP8	۸۰ b	-۱۱/۴ abc	-۱۵/۲ a	-۱۴/۸ a	۳۸/۵ a	۷۶/۲ a	۴۶/۲ a	۷۲/۷ a	.۰/۶۱۸ c	۷/۱ c
SBSII	۸۰ b	-۱۱/۱ ab	-۱۵/۲ a	-۱۵/۴ ab	۳۱/۱ b	۶۳/۳ bc	۳۹/۹ b	۵۸/۵ bc	.۰/۵۹۹ e	۸/۲ bc
Monotonuno	۸۸/۷ a	-۱۲/۰ c	-۱۶/۹ c	-۱۵/۹ abc	۲۶/۰ c	۵۴/۲ d	۳۲/۷ b	۵۳/۸ c	.۰/۷۰۰ a	۱۰/۸ a
Giada	۸۵/۳ ab	-۱۰/۹ ab	-۱۶/۰ abc	-۱۶/۳ bc	۲۹/۵ b	۶۰/۵ c	۳۴/۹ b	۵۷/۵ bc	.۰/۶۰۶ d	۱۰/۳ a
Palma	۸۱/۱ b	-۱۰/۶ a	-۱۵/۴ ab	-۱۴/۶ a	۳۱/۶ b	۶۶/۸ b	۴۶/۵ b	۶۲/۵ b	.۰/۶۱۶ c	۷/۶ c

در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌دارند.

جدول ۲ گروه‌بندی میانگین صفات مورفولوژیکی ارقام چندرقند پاییزه در دماهای مختلف یخ‌زدگی

تعداد کل برگ	سطح برگ	وزن خشک برگ (میلی گرم / گیاه)	قطر ریشه (میلی متر)	طول ریشه (میلی متر)	رقم
۵/۳d	۱۳/۸cd	۱۲۴/۰d	۲/۷b	۶۲/۰b	Suprema
۵/۹bc	۱۵/۵c	۱۵۰/۹c	۲/۸b	۷۲/۲a	Jolge
۴/۷e	۱۲/۲d	۱۱۱/۷d	۲/۴c	۵۰/۲c	PP8
۴/۰f	۹/۵e	۸۷/۴e	۲/۰d	۵۱/۷c	SBSI1
۶/۱b	۳۲/۶a	۲۸۴/۲a	۲/۰b	۴۷/۲c	Monotunno
۷/۷a	۲۰/۴b	۲۰۱/۱b	۴/۱a	۵۸/۴b	Giada
۵/۸c	۱۲/۲d	۱۰۸ de	۲/۷b	۵۹/۴b	Palma

در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

جدول ۳ ضرایب همبستگی بین تعداد، سطح و وزن خشک برگ، طول و قطر ریشه، درصد بقا، و نشت الکتروولیت، فلورسانس کلروفیل و فتوستنتز در ارقام چندرقند پاییزه

صفات	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲
۱-تعداد برگ												
۲-سطح برگ	.۰/۷***											
۳-وزن برگ	.۰/۹۳***	.۰/۹۸***										
۴-قطر ریشه	.۰/۹۳***	.۰/۹۷***	.۰/۷۴***									
۵-طول ریشه	.۰/۸***	.۰/۸۹***	.۰/۵۱***	.۰/۷۵***								
۶-درصد بقا	.۰/۸***	.۰/۸۳***	.۰/۶۴***	.۰/۸۳***	.۰/۸۷***							
۷-درصد نشت	.۰/۸۲***	.۰/۵۴***	.۰/۰۵۴***	.۰/۰۵۴***	.۰/۰۵۴***	.۰/۰۵۴***						
FS -۸	.۰/۶۸***	.۰/۴***	.۰/۴۳***	.۰/۶۵***	.۰/۷۴***	.۰/۷۱***	.۰/۷۱***	.۰/۷۱***	.۰/۷۱***	.۰/۷۱***	.۰/۷۱***	.۰/۷۱***
FMS -۹	.۰/۷۳***	.۰/۶۷***	.۰/۶۸***	.۰/۷۷***	.۰/۷۸***	.۰/۷۸***	.۰/۷۸***	.۰/۷۸***	.۰/۷۸***	.۰/۷۸***	.۰/۷۸***	.۰/۷۸***
ΔF -۱۰	.۰/۷۲***	.۰/۶۹***	.۰/۶۹***	.۰/۶۹***	.۰/۶۹***	.۰/۶۹***	.۰/۶۹***	.۰/۶۹***	.۰/۶۹***	.۰/۶۹***	.۰/۶۹***	.۰/۶۹***
ΔF/F <sub>ms</sub> -۱۱	.۰/۸۴***	.۰/۶۹***	.۰/۶۹***	.۰/۶۹***	.۰/۶۹***	.۰/۶۹***	.۰/۶۹***	.۰/۶۹***	.۰/۶۹***	.۰/۶۹***	.۰/۶۹***	.۰/۶۹***
۱۲-فتوستنتز یک هفته بعد تنش	.۰/۶۱***	.۰/۵۹***	.۰/۵۹***	.۰/۵۹***	.۰/۵۹***	.۰/۵۹***	.۰/۵۹***	.۰/۵۹***	.۰/۵۹***	.۰/۵۹***	.۰/۵۹***	.۰/۵۹***
۱۳-فتوستنتز سه هفته بعد تنش	.۰/۶۵***	.۰/۶۵***	.۰/۶۵***	.۰/۶۵***	.۰/۶۵***	.۰/۶۵***	.۰/۶۵***	.۰/۶۵***	.۰/۶۵***	.۰/۶۵***	.۰/۶۵***	.۰/۶۵***

\*\*\* معنی دار در سطح احتمال یک در هزار

**جدول ۴ ضرایب همبستگی (r) بین LT<sub>50su</sub> و LT<sub>50el</sub> در ارقام مختلف چغندرقند پاییزه**

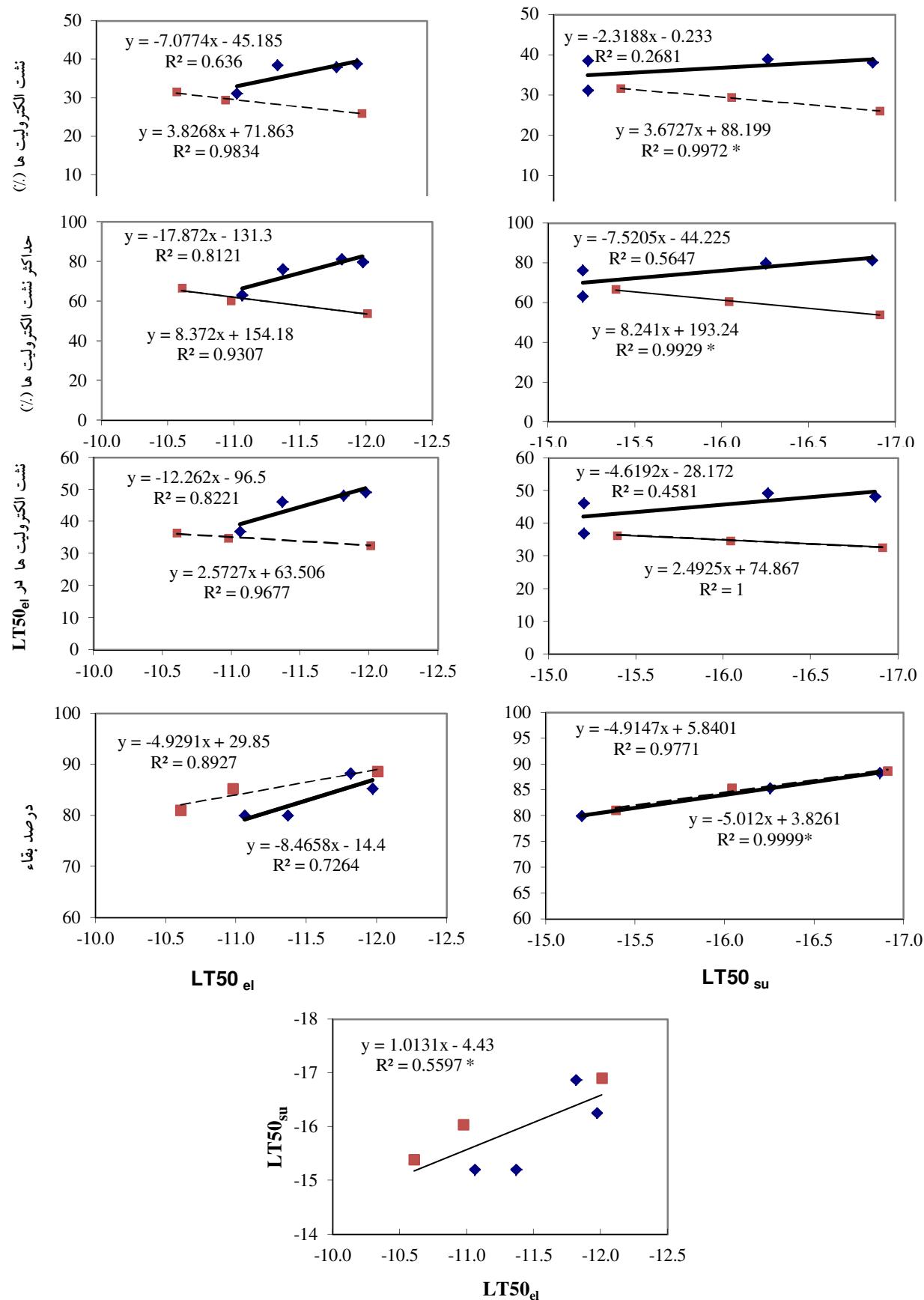
LT <sub>50su</sub>	درصد نشت در el	LT <sub>50el</sub>	درصد نشت در el	RDMT <sub>50</sub>	LT <sub>50su</sub>	LT <sub>50el</sub>	صفات
					۷۴۸/۰ *		LT <sub>50su</sub>
					۰/۶۴۸ ns	۰/۲۵۷ ns	RDMT <sub>50</sub>
					۰/۲۵۵ ns	۰/۱۱۴ ns	میانگین درصد نشت
					۰/۱۷۳ ns	۰/۰۰۳ ns	حداکثر درصد نشت
					۰/۱۵۶ ns	۰/۰۰۷۵ ns	درصد نشت در el
۰/۹۸۹ ***		۰/۱۷۲ ns			۰/۰۰۷۷ ns	۰/۰۳۷۴ ns	درصد نشت در LT <sub>50su</sub>
۰/۰۶۸ ns	۰/۰۷۴ ns		۰/۰۲۶۷ ns		۰/۰۸۴۹ **	۰/۰۴۴۷ **	ΔF/F <sub>ms</sub>
۰/۰۲۹۸ ns		۰/۰۲۵ ns		۰/۰۶۷۹ ns	۰/۰۹۹ ***	۰/۰۹۹۰ ns	درصد بقا
۰/۰۶۱۱ ns		۰/۰۶۰۸ ns		۰/۰۵۷۰ ns	۰/۰۷۰۶ *	۰/۰۳۲۱ ns	فتوستتر یک هفته پس از اعمال سرما
۰/۰۶۱۳ ns		۰/۰۵۸۹ ns		۰/۰۷۰۱ ns	۰/۰۶۷۷ ns	۰/۰۲۹۱ ns	فتوستتر سه هفته پس از اعمال سرما
۰/۰۵۰۱ ns		۰/۰۴۸۷ ns		۰/۰۳۸۱ ns	۰/۰۶۸۷ ns	۰/۰۴۷۰ ns	سطح برگ
۰/۰۴۸۹ ns		۰/۰۴۷۳ ns		۰/۰۳۹۱ ns	۰/۰۶۸۱ ns	۰/۰۴۴۶ ns	وزن خشک برگ
۰/۰۱۶۳ ns		۰/۰۲۰۶ ns		۰/۰۳۶۴ ns	۰/۰۲۸۳ ns	۰/۰۱۴۶ ns	قطر ریشه
۰/۰۶۲۸ ns		۰/۰۵۸۶ ns		۰/۱۵۸ ns	۰/۰۲۰۸ ns	۰/۰۱۵۵ ns	طول ریشه

ns غیرمعنی‌دار. \* معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد \*\*\* معنی‌دار در سطح احتمال یک در هزار

**جدول ۵ روابط همبستگی گروهی بین ارقام چغندرقند پاییزه براساس LT<sub>50el</sub> و LT<sub>50su</sub> گروه الف-ارقام Monotunno و گروه ب-Palma و Giada**

LT <sub>50su</sub>		LT <sub>50el</sub>		
ب	الف	ب	الف	
- ns	+	- ns	+	میانگین درصد نشت
- ns	+	- ns	+	حداکثر درصد نشت
- ns	+	- ns	+	درصد نشت در el
- ns	*	**	- ns	سطح برگ
- ns	-	-	-	وزن خشک برگ
- ns	- ns	-	- ns	قطر ریشه
- ns	+	-	+	طول ریشه
- ns	+	ns	+	

ns غیرمعنی‌دار. \* معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد \*\*\* معنی‌دار در سطح احتمال یک در هزار



شکل ۲ مقایسه ضریب تبیین ( $r^2$ ) بین  $LT50_{el}$  و  $LT50_{su}$  با شاخص‌های نشت و بقا در اقام مقاوم (■) و حساس (◆) چندرقند پاییزه

دانشگاه فردوسی مشهد، تامین شده است که

بدینوسیله سپاسگزاری می‌گردد.

بودجه این تحقیق از محل اعتبارات

معاونت محترم پژوهشی دانشکده کشاورزی

قدرتانی

## References:

## منابع مورد استفاده:

- Anderson JA, Kenna MP, Taliaferro CM. Cold hardiness of ‘midiron’ and ‘Tifgreen’ Bermudagrass. Hortscience. 1988; 23:748-750.
- Baker NR, Rosenquist E. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. Journal of Experimental Botany. 2004; 55: 1607-1621.
- Cardona CA, Duncan RR, Lindstrom O. Low temperature tolerance assessment in Paspalum. Crop Science. 1997; 37:1283-1291.
- Caliandro A, Zuffrano M, Mastro MA. Risposta produttiva all’irrigazione della barbabietola a semina autunnale in ambiente meridionale. L’Inform. Agrario. 1996; 23: 29–33.
- Colombo SJ, Raitanen EM. Frost hardening in 1st-year larch (*Larix laricina*) container seedlings. New Forests. 1993; 7: 55-61.
- Dai F, Zhou M, Zhang G. The change of chlorophyll fluorescence parameters in winter barley during recovery after freezing shock and as affected by cold acclimation and irradiance. Plant Physiology and Biochemistry. 2007; 45:915-921.
- Dobrowski SZ, Pushnik JC, Tejada, PJ, Ustin SL. Simple reflectance indices track heat and water stress-induced changes in steady-state chlorophyll fluorescence at the canopy scale. Remote Sensing Environment. 2005; 97: 403-414.
- Fowler DB, Gusta LW, Tyler, NJ. Selection for winter hardiness in wheat. III. Screening methods. Crop Sci. 1981;21:896-901.

- Gray GR, Hope BJ, Qin XQ, Taylor BG, Whitehead C.L. The characterization of photo inhibition and recovery during cold acclimation in *Arabidopsis thaliana* using chlorophyll fluorescence imaging. *Physiol. Plant.* 2003; 119 . 365-375.
- Gusta LV, Fowler DB, Tyler NJ. Factors influencing hardening and survival in winter wheat . In: P.H. Li, and A. Sakai (ed.) .1982; Plant cold hardiness and freezing stress. Vol. II. Academic Press, New York. pp. 23-40.
- Gusta LV, Chen THH. The physiology of water and temperature stress. In: E.G. Heyne (ed.), wheat and wheat improvement. ASA, CSSA, Agron. Monograph 13, 1987; pp. 115-144. Madison, WI. USA.
- Gusta LV, O'Connor BJ, Gao YP, Jana S. A re- evaluation of controlled freeze- tests and controlled environment hardening conditions to estimate the winter survival potential of hardy winter wheat. *Canadian journal of plant Science.* 2001; 81:241-246
- Hasselt PRV. Chlorophyll fluorescence as a parameter for hardiness in winter wheat: A comparison with other hardiness parameters. *Phyton.* 1996; 36(1) 45-56.
- Huner NPA, Quist GO, Hurry VM, Krol M, Falk S, Griffith M. Photosynthesis, photoinhibition and low temperature acclimation in cold tolerant plants, *Photosynthetic Researches.* 1993; 37: 19-39
- Ingram DL. Modeling high temperature and exposure time interactions on *Pittosprum tobira* root cell membrane thermostability. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 1985;110:470-473.
- Jalilian A, Mazaheri D, Tavakkol Afshari R, Abdollahian-Noghabi M, Rahimian mashhadi H, Ahmadi A. Effect of freezing damage at seedling stage in different sugar beet cultivars. *Iranian Journal of Crop Science.* 1999; 10(4):400-415
- Majdi M, Karimzade G, Mahfoozi S. Effects of low temperature and exogenous calcium on the quantum efficiency of photosystem II ( Fv/Fm) and relative content of chlorophyll in cold susceptible and tolerant wheat cultivars. *Pajouhesh and Sazandegi.* 2007; 77: 175-181. (in Persian, abstract in English)

Levitt J. Chilling injury and resistance. Vol. 1. PP. 23-64 .In Kozlowsky, T. T. (eds.) Chilling, Freezing and High Temperature Stresses. Responses of Plants to Environmental Stresses. 1980; Academic Press, New York.

Mirzaee A, Yazdi Samadi B, Zali A, Saqdeghian SY. Investigation on cold tolerance in wheat by laboratory experiment. Journal of Sciences and Technology of Agriculture and Natural Resources. 2002; 6: 177-186

Murray MB, Cape JN, Fowler D. Quantification of frost damage in plant tissues by rates of electrolyte leakage. New Physiologist. 1989; 11: 113-307.

Neuner G,Larcher W. Determination of differences in chilling susceptibility of two soybean varieties by means of in vivo chlorophyll fluorescence measurement. Crop Science. 1990; 167: 73-80.

Nezami A, Evaluation of cold tolerance in chickpea (*Cicer aritinum*) for fall planting in the highlands . (PhD thesis). College of Agriculture . Ferdowsi university of Mashhad; 2002.

Nezami A, Bagheri A, Rahimian H, Kafi M, Nasiri Mahallati M. Evaluation of freezing tolerance in chickpea (*Cicer aritinum*) genotypes in controlled condition. Journal of Sciences and Technology of Agriculture and Natural Resources. 2006;4: 257-268

Nezami A, Borzooei A, Jahani M, Azizi M, Sharif A. Electrolyte leakage as an indicator of freezing injury in Colza (*Brassica napus L.*). Journal of Iranian Field Crop Research. 2007; 5 (1):167-175.

Nezami A, Naghedinia N. Effects of freezing stress on electrolyte leakage of sunflower genotypes. Journal of Iranian Field Crop Research.2010; 7 (1): 891-896.

Nezami A, Hajmohammad nia Ghalibaf K, Kamandi A. Evaluation of freezing tolerance in sugar beet (*Beta vulgaris*) cultivars under controlled condition. Environmental Stresses in Agricultural Sciences. 2010; 3(2).

Nezami A, Soleimani MR, Ziae M, Ghodsi M, Bannayan Aval M. Evaluation of freezing tolerance of hexaploid Triticale genotypes under controlled conditions . Not Sci Biol 2 .2010; (2) 2010, 114-120.

- Odlum KD, Blake TJ. A comparison of analytical approaches for assessing freezing damage in black spruce using electrolyte leakage method. Canadian Journal of Botany. 1996; 74: 952-958.
- Petite AM, Rueda AM, Lacuesta M. Effect of cold storage treatments and transplanting stress on gas exchange, chlorophyll fluorescence and survival under water limiting conditions of *Pinus radiata* stock-types. European Journal of Forest Research. 2005; 124: 73-82.
- Rinaldi M, Vonella AV. The response of autumn and spring sown sugar beet (*Beta vulgaris*) to irrigation in Southern Italy: Water and radiation use efficiency. Field Crop Research. 2006; 95: 103-114.
- Sasaki H, Ichimura K, Okada K, Oda M. Freezing tolerance and soluble sugar contents affected by water stress during cold-acclimation and de-acclimation in cabbage seedlings. Scientia Horticulturae. 1998; 76: 161-169.
- Scott RK, English SD, Wood DW, Unsworth MH. The yield of sugar beet in relation to weather and length of growing season. The Journal of Agricultural Science. 1973; 81: 339–347.
- Shashikumar K, Nus JL. Cultivar and winter cover effects on bermudagrass cold acclimation and crown moisture content. Crop Science. 1993; 33: 813-817.
- Strauss AJ, Kruger, GHJ, Strasser RJ, Heerden PDR. Ranking of dark chilling tolerance in soybean genotypes probed by the chlorophyll a fluorescence transient O-J-I-P. Environment and Experimental Botany. 2006; 56: 147-157.
- Zhu GH, Liu ZQ. Determination of median Lethal temperature using the logistical function. P.292-298. In P.H. Li (ed.). Plant cold hardiness. 1987; Alan R. Liss. Inc., New York.