نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۲۸، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۳، ص. ۳۷۸-۳۶۹
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

Journal of Horticultural Science
Vol. 28, No. 3, Fall 2014, P. 369-378
ISSN: 2008 - 4730

بررسی تحمل به یخزدگی گیاه همیشه بهار (*Calendula officinalis*) در مرحله رشد رویشی و زایشی

احمد نظامی[1*]- محمدجواد موسوی[2]- سمیه نظامی[3]- ابراهیم ایزدی دربندی[4]- مریم یوسف ثانی[5]- فاطمه کیخاآخر[6]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۰۸/۲۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۰۷/۰۲

چکیده

همیشه بهار گیاهی نسبتاً متحمل به سرما می‌باشد، ولی در برخی سال‌ها به دلیل شدت سرمای زمستان خسارت شدیدی به گیاه وارد می‌شود. لذا این مطالعه با هدف ارزیابی اثر تنش یخزدگی بر گیاه همیشه بهار به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. فاکتورهای مورد بررسی دو تاریخ کاشت (تابستان و پاییز) و ۱۲ دماهای یخزدگی (صفر، ۲-، ۴-، ۶-، ۸-، ۱۰-، ۱۲-، ۱۴-، ۱۶-، ۱۸-، ۲۰-،۲۲- درجه سانتی‌گراد) بودند. بذر گیاهان در تابستان (کشت اول) و پاییز (کشت دوم) در خزانه کشت شد و پس از رسیدن گیاهان به مرحله شش تا هشت برگی به گلدان‌های اصلی انتقال یافتند. پس از گذراندن دوره خوسرمایی در شرایط طبیعی، تنش یخزدگی با استفاده از فریزر ترموگرادیان اعمال گردید. به‌منظور تعیین ثبات غشاء پلاسمایی درصد نشت الکترولیت‌ها از برگ گیاهان پس از یخزدگی اندازه‌گیری شد و درصد بقاء بوته‌های همیشه بهار و رشد مجدد آن‌ها نیز سه هفته پس از قرار داشتن در شرایط بازیافت تعیین گردید. درصد نشت الکترولیت‌ها در برگ گیاهان کشت پاییزه به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از برگ گیاهان کاشت تابستان بود. بررسی درصد بقاء گیاهان در پایان دوره بازیافت نشان داد که گیاهان کشت پاییز درصد بقاء بیش‌تری از گیاهان کاشت تابستانه داشتند، اما از نظر ارتفاع، تعداد ساقه فرعی و اجزای زایشی، وزن خشک کل، وزن خشک اجزاء رویشی و زایشی گیاهان کشت تابستان برتر از آن‌ها در کشت پاییز بودند. اگرچه گیاهان دو تاریخ کاشت از نظر دمای ۵۰ درصد کشندگی بر اساس درصد نشت الکترولیت‌ها (LT_{50el}) تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند، اما از لحاظ دمای ۵۰ درصد کشندگی بر اساس درصد بقاء (LT_{50su}) و وزن خشک تفاوت معنی‌داری بین گیاهان کاشت تابستان و پاییز مشاهده گردید و LT_{50su} و دمای کاهنده ۵۰ درصد وزن خشک گیاه ($RDMT_{50}$) به‌ترتیب در کاشت تابستان ۱۸/۶- و ۱۱/۳- درجه سانتی‌گراد و در کاشت پاییز ۱۹/۴- و ۱۳/۷- درجه سانتی‌گراد بود.

واژه‌های کلیدی: ارتفاع بوته، درصد بقاء، ساقه فرعی، نشت الکترولیت، وزن خشک

مقدمه

همیشه بهار (*Calendula officinalis*) گیاهی علفی و یک‌ساله است، که منشا آن مناطق مدیترانه‌ای و غرب آسیا می‌باشد و به‌عنوان گیاهی زینتی، دارویی و صنعتی پرورش می‌یابد. این گیاه به‌عنوان گیاهی زینتی طی زمستان در فضای سبز رشد می‌یابد و برخی واریته‌های آن به‌عنوان گل بریدنی نیز مورد استفاده قرار می‌گیرند (۱۰). گیاه همیشه بهار به‌صورت نشاء در اواسط تابستان تا پاییز و یا به‌صورت کاشت مستقیم بذر، پس از رفع سرمای زمستان، در محل اصلی کشت می‌گردد (۴). نتایج تحقیقات نشان داده است که در کشت پاییز استقرار، رشد و تولید برخی گیاهان متحمل به سرما بهبود می‌یابد (۹). علاوه بر این کاشت پاییزه می‌تواند از مواجه شدن گیاه با کمبود آب در بهار و اوایل تابستان جلوگیری نماید (۱۳) و لذا سبب بهبود استقرار آن شود. جهت موفقیت در کاشت پاییزه وجود تحمل به سرما در گیاهان امری ضروری است، زیرا در غیر این صورت گیاه دچار خسارت خواهد شد و حتی در مواردی ممکن است از بین برود. به‌عنوان مثال کشت گیاه بادرشبویه در پاییز به‌علت عدم تحمل دمای پایین در این گیاه منجر به از بین رفتن آن شده است، در حالی‌که کاشت بهاره گیاه مذکور موفقیت‌آمیز بوده است (۵).

۴،۱ و ۵- به ترتیب استاد، دانشیار و دانشجوی سابق کارشناسی ارشد گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(*- نویسنده مسئول: Email: nezami@um.ac.ir)
۲ و ۳- مربی و دانشجوی سابق کارشناسی ارشد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
۶- دانشجوی دکتری بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

همیشه بهار هر چند که به‌عنوان گیاهی نسبتاً متحمل به سرما شناخته می‌شود و گیاهان کشت شده در اواخر تابستان تا پاییز اغلب در طول زمستان زنده باقی می‌مانند، ولی در برخی سال‌ها به‌دلیل بروز سرمای شدید خسارات زیادی به گیاه وارد می‌شود (۲). غشا سلولی از جمله نخستین قسمت‌های گیاه است که در اثر تنش یخزدگی آسیب می‌بیند و خسارت آن منجر به خروج ترکیبات داخل سلول می‌شود. لذا نشت الکترولیت‌ها نیز جهت تعیین میزان خسارت سرما در گیاهان مورد توجه قرار گرفته و دمایی که سبب نشت نیمی از الکترولیت‌ها به بیرون از سلول می‌شود، به‌عنوان دمای ۵۰ درصد کشندگی بر اساس درصد نشت الکترولیت‌ها (LT_{50el}[1]) مورد توجه قرار گرفته است (۱۴). جواد موسوی و همکاران (۳) در بررسی اثر تنش یخزدگی بر گیاه مینای چمنی و پیتش و همکاران (۲۵) در ارزیابی تحمل به یخزدگی گیاه گوارا، مشاهده کردند که با افزایش شدت تنش یخزدگی درصد نشت الکترولیت‌ها افزایش یافت. سایر محققان نیز از نشت الکترولیت‌ها و LT_{50el}، برای ارزیابی تحمل به سرما در گیاهان زینتی استفاده کرده (۱۹ و ۲۳) و اشاره داشته‌اند که ممکن است LT_{50el} بسته به اندام گیاهی (برگ، استولون و ...) مورد بررسی متفاوت باشد (۱۹).

برخی محققان اظهار داشته‌اند که تحمل به سرمای زمستان در گیاهان، بسته به تاریخ کاشت آن‌ها ممکن است متفاوت باشد (۲۰)، زیرا گیاهان هر تاریخ کاشت، شرایط خاصی از دما و فتوپریود را درک می‌کنند و بنابراین از نظر تحمل به سرما واکنش متفاوتی را نشان خواهند داد. در حقیقت فرآیند خوسرمایی[2] که در شرایط طول روز کوتاه و دمای پایین اتفاق می‌افتد و در طی آن تغییرات بیوشیمیایی و حتی مورفولوژیکی در گیاه ایجاد می‌شود (۲۵) بسته به مدت خوسرمایی و دمای لازم جهت بروز آن، در گیاهان مختلف با یکدیگر متفاوت است (۱۱). جونتیلا و ربرشت (۱۸) نیز بیان کردند که تحمل به یخزدگی در گیاه زینتی *Silen acualis* بسته به مرحله رشدی گیاه متفاوت بوده است و لذا تاریخ کاشت به‌علت تأثیر بر شرایط خوسرمایی و به دنبال آن تأثیر بر رشد و نمو گیاه، ممکن است مقاومت به یخزدگی را حتی در ژنوتیپ‌های متحمل به سرما تحت تأثیر قرار دهد (۱۶).

برخی محققان برای ارزیابی تحمل به سرما از شاخص بقاء زمستانه گیاهان در محیط طبیعی استفاده کرده‌اند (۱۱ و ۲۹). با وجود این کیم و اندرسون (۱۹) بیان کردند که هر چند در روش مذکور گیاهان در شرایط واقعی زمستان قرار می‌گیرند، ولی در این حالت شرایط متغییری مانند پوشش برف، بیماری‌ها، رطوبت و مواد غذایی خاک منجر به تغییر شرایط آزمایش شده و یکنواختی ان را کاهش می‌دهند و به همین دلیل تعدادی از محققان آزمون در شرایط کنترل شده را جهت این‌گونه مطالعات مد نظر قرار داده‌اند (۲۷ و ۲۶). در این بررسی‌ها درصد بقاء و رشد مجدد گیاهان پس از قرار گرفتن در معرض تنش یخزدگی (تحت شرایط کنترل شده)، از جمله شاخص‌های مفید در ارزیابی تحمل گیاهان به تنش سرما ذکر شده‌اند (۱۵). به‌عنوان مثال در بررسی تحمل به سرمای گیاه زینتی داوودی (*Dendranthema _ grandiflora Tzvelv.*) از شاخص‌های درصد بقاء و دمای ۵۰ درصد کشندگی بر اساس درصد بقاء (LT_{50su}[3]) استفاده شده است (۱۹). در همین راستا نتایج مطالعه‌ای بر روی اثر تنش یخزدگی در گیاه زینتی بنفشه نشان داد که کاهش دمای یخزدگی به کم‌تر از ۱۸- درجه سانتی‌گراد سبب کاهش درصد بقاء گیاهان شد و LT_{50su} آن‌ها نیز ۱۹/۴- درجه سانتی‌گراد بود (۶). جواد موسوی و همکاران (۳) تحمل به یخزدگی گیاه زینتی مینای چمنی (*Bellis perennis*) را بر اساس شاخص درصد بقاء و LT_{50su} مورد بررسی قرار داده و مشاهده کردند که با کاهش دما به کم‌تر از ۱۶- درجه سانتی‌گراد درصد بقاء گیاهان کاهش یافت و میزان LT_{50su} آن‌ها نیز ۱۷- درجه سانتی‌گراد بود.

این مطالعه با هدف بررسی اثر تنش یخزدگی در شرایط کنترل شده بر گیاهان همیشه بهار رشد یافته در شرایط طبیعی انجام شد.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق تحمل به یخزدگی گیاه همیشه بهار در دو مرحله رشدی مورد بررسی قرار گرفت. ابتدا بذور در اواسط مرداد (کاشت تابستان) و آبان (کاشت پاییز) سال ۱۳۸۷ در خزانه کشت شده و بعد از رسیدن گیاهان به مرحله شش تا هشت برگی تعداد ۵ گیاه‌چه به گلدانی با قطر ۱۸ سانتی‌متر انتقال یافتند. در ادامه گیاهان در شرایط طبیعی نگهداری شده و در اواخر بهمن ماه و زمانی که گیاهان کاشت تابستان در ابتدای گلدهی و گیاهان کاشت پاییز در مرحلهٔ ۱۰ تا ۱۲ برگی بودند به فریزر ترموگرادیان منتقل شدند. دمای فریزر در شروع آزمایش پنج درجه سانتی‌گراد بود که پس از قرار دادن نمونه‌ها در آن دما با سرعت دو درجه سانتی‌گراد در ساعت کاهش یافت. جهت جلوگیری از پدیده فراسرما و ایجاد هستک یخ در گیاهان و اطمینان از این‌که مکانیزم از نوع تحمل است و نه اجتناب، در دمای ۲- درجه سانتی‌گراد اسپری INAB[4] بر روی نمونه‌های مربوط به تیمارهای دمایی کم‌تر از صفر درجه سانتی‌گراد به نحوی انجام شد که سطح گیاه را قشری نازک از این محلول پوشاند. جهت ایجاد تعادل دردمای

1- Lethal temperature 50 according to electrolyte leakage percentage
2-Cold acclimation
3-Lethal temperature 50 according to the plant survival percentage
4- Ice nucleation active bacteria

محیط و اطمینان از قرار گرفتن گیاهان در معرض دماهای مورد نظر، گیاه‌چه‌ها در هر تیمار دمایی (صفر، ۲- ، ۴- ، ۶- ، ۸- ، ۱۰- ، ۱۲- ، ۱۴- ، ۱۶- ، ۱۸- ، ۲۰-،۲۲- درجه سانتی‌گراد) به‌مدت یک ساعت نگهداری (۲۱) و سپس از فریزر خارج و به‌منظور جلوگیری از ذوب شدن سریع به اتاقک سرد با دمای ۲± ۵ منتقل و به‌مدت ۱۲ تا ۲۴ ساعت نگهداری شدند.

به‌منظور تعیین پایداری غشاء پلاسمایی از روش اندازه‌گیری نشت یونی استفاده شد. به این منظور برای هر تیمار دمایی پنج برگ جوان کاملاً توسعه یافته از پنج گیاه انتخاب و در ویال‌های حاوی ۴۰ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر در شرایط محیطی آزمایشگاه قرار داده شدند. سپس نمونه‌ها روی شیکر قرار گرفته و بعد از شش ساعت نشت الکترولیت‌ها با استفاده از دستگاه EC متر (مدل- Jenway) اندازه‌گیری شد (EC_1). به‌منظور اندازه‌گیری میزان کل نشت الکترولیت‌ها در اثر مرگ سلول، ویال‌ها به‌مدت ۲۰ دقیقه در اتوکلاو، با فشار ۱۵ بار و دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد، قرار داده شدند. سپس نمونه‌ها به‌مدت شش ساعت روی شیکر قرار گرفته و پس از آن نشت الکترولیت‌ها (EC_2) اندازه‌گیری شد. درصد نشت الکترولیت‌ها با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (۲۵).

$(E_1/E_2) \times 100$ = درصد نشت الکترولیت جهت تعیین درصد بقاء و بازیافت، گلدان‌های حاوی نمونه‌های گیاهی به شاسی سرد منتقل شده و پس از ۲۱ روز رشد مجدد آن‌ها ارزیابی شد. درصد بقاء گیاهان از طریق شمارش تعداد بوته زنده در هر گلدان و از طریق فرمول [۱۰۰× (تعداد گیاهان قبل از یخ زدگی/ تعداد گیاهان زنده سه هفته بعد از یخ زدگی)] محاسبه شد. هم‌زمان صفات دیگری نظیر ارتفاع گیاه، تعداد ساقه فرعی، تعداد گل و قطر گل اندازه‌گیری و ثبت شد. وزن خشک گیاهان نیز پس از ۴۸ ساعت قرار گرفتن در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد تعیین شد.

آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. عوامل مورد آزمایش شامل دو تاریخ کاشت (تابستان و پاییز) و ۱۲ دمای یخزدگی (شامل دماهای ذکر شده پیش از این) بودند. تجزیه داده‌هایی که به‌صورت درصد (بین صفر تا ۳۰ و ۷۰ تا ۱۰۰) بودند، پس از تبدیل زاویه‌ای انجام شد. به‌منظور محاسبه دمای ۵۰ درصد کشندگی بر اساس درصد نشت الکترولیت‌ها، از معادله اندرسون و همکاران (۸) استفاده شد:

$$ELp= Eli + [(Elm - Eli) / (1 + e^{-B (T-Tm)})]$$

که در آن ELp: میزان نشت الکترولیت پیش‌بینی شده، Eli: حداقل مقدار نشت الکترولیت در دماهای مختلف، Elm: حداکثر نشت الکترولیت در دماهای مختلف، e: عدد نپر، B: سرعت افزایش شیب منحنی،T: دما و Tm: نقطه عطف منحنی که عبارت است از نقطه میانی بین نقاط حداقل و حداکثر منحنی و نشان‌دهنده خروج ۵۰ درصد الکترولیت‌ها از سلول می‌باشد. LT_{50su} و $RDMT_{50}$[1] نیز به‌ترتیب با استفاده از رسم نمودار درصد بقاء و وزن خشک گیاهان در مقابل دماهای یخزدگی و تعیین دمایی که سبب کاهش ۵۰ درصدی صفت مورد بررسی نسبت به تیمار شاهد (صفر درجه سانتی‌گراد) شده بود، تعیین گردیدند. محاسبات آماری و رسم نمودارها با استفاده از نرم افزارهای MiniTab، Excel و Slidewrite انجام شد و میانگین‌ها با آزمون LSD مقایسه شدند.

نتایج و بحث

گیاهان کاشت تابستان و پاییز از لحاظ درصد نشت الکترولیت‌ها اختلاف معنی‌داری ($P\leq ۰/۰۱$) با یکدیگر داشتند (جدول ۱)، به‌طوری که درصد نشت الکترولیت‌ها در گیاهان کاشت پاییز ۳/۵ درصد بیش‌تر از گیاهان کاشت تابستان بود (جدول ۲). اثر دماهای یخزدگی بر درصد نشت الکترولیت‌ها در گیاهان همیشه بهار معنی‌دار ($P\leq ۰/۰۱$) بود (جدول ۱) و با کاهش دما درصد نشت الکترولیت‌ها افزایش یافت. کاهش دما تا ۱۲- درجه سانتی‌گراد اثر چندانی بر درصد نشت الکترولیت‌ها نداشت، اما در دماهای پایین‌تر میزان نشت الکترولیت‌ها شدیدا افزایش یافت، به‌طوری‌که در دمای ۱۴- درجه سانتی‌گراد درصد نشت حدود هفت برابر آن نسبت به دمای صفر درجه سانتی‌گراد بود (جدول ۳). در بررسی اثر تنش یخزدگی بر گیاه گوارا[2] نیز مشخص گردید که با کاهش دمای یخزدگی درصد نشت الکترولیت‌ها افزایش می‌یابد، به‌طوری که درصد نشت الکترولیت‌ها در دمای ۱۵- درجه سانتی‌گراد ۵۴ درصد بیش‌تر از دمای صفر درجه سانتی‌گراد بوده است (۲۵). اثر متقابل تاریخ کاشت × دما بر درصد نشت الکترولیت‌ها نیز معنی‌دار ($P\leq ۰/۰۱$) بود (جدول ۱). هر چند با کاهش دما درصد نشت الکترولیت‌ها در گیاهان هر دو تاریخ کاشت افزایش یافت و تفاوت چندانی در درصد نشت الکترولیت‌ها در گیاهان هر دو تاریخ کاشت در گستره دمایی صفر تا ۱۲- درجه سانتی‌گراد مشاهده نشد، ولی میزان افزایش درصد نشت الکترولیت‌ها در گیاهان کاشت پاییز در گستره دمایی ۱۴- تا ۲۲- درجه سانتی‌گراد بیش‌تر از گیاهان کاشت تابستان بود (شکل ۱).

با وجود این از نظر میزان LT_{50el} تفاوت معنی‌داری بین گیاهان کاشت تابستان و پاییز مشاهده نشد و مقدار آن در هر دو کاشت حدود ۱۳/۸- درجه سانتی‌گراد بود (جدول ۴).

گیاهان همیشه بهار کشت شده در تابستان و پاییز از نظر درصد بقاء پس از دوره بازیافت با هم اختلاف معنی‌داری ($P\leq ۰/۰۱$) داشتند (جدول ۱)، به‌طوری‌که درصد بقاء گیاهان در کاشت پاییز حدوداً چهار درصد بیش‌تر از گیاهان کاشت تابستان بود (جدول ۲).

1- Reduced dry matter temperature 50
2- Guara coccinea

جدول ۱- منابع تغییر، درجه آزادی و میانگین مربعات درصد نشت الکترولیت‌ها، درصد بقاء و رشد مجدد گیاهان همیشه بهار تحت تنش یخ‌زدگی در شرایط کنترل شده

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات						
		نشت الکترولیت‌ها	بقاء	ارتفاع گیاه	تعداد ساقه فرعی	تعداد اجزاء زایشی	وزن خشک	
							کل	اجزاء رویشی	اجزاء زایشی
تاریخ کاشت	۱	۸۷/۵**	۲۸۴/۶**	۲۵۴/۴**	۱۰۰/۷**	۶۲/۶**	۱۲۳۱۱۰۵۶**	۱۱۱۴۵۱۷۹**	۲۸۹۸۵**
دما	۱۱	۱۵۲۶/۷**	۶۳۷۸/۹**	۴۳/۲**	۸/۲**	۶/۷**	۱۵۹۲۴۳۲**	۱۴۹۹۵۳۱**	۳۰۴۷**
تاریخ کاشت × دما	۱۱	۸/۹**	۹۶/۱**	۹/۳**	۳/۵**	۳/۴**	۶۵۳۲۵۰**	۶۰۱۷۱۷**	۳۰۴۷**
خطا	۴۴	۴/۰	۴۰/۵	۰/۳	۰/۲	۰/۲	۲۱۰۱۶۱	۱۹۴۶۲۸	۱۹۹۵

**- معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

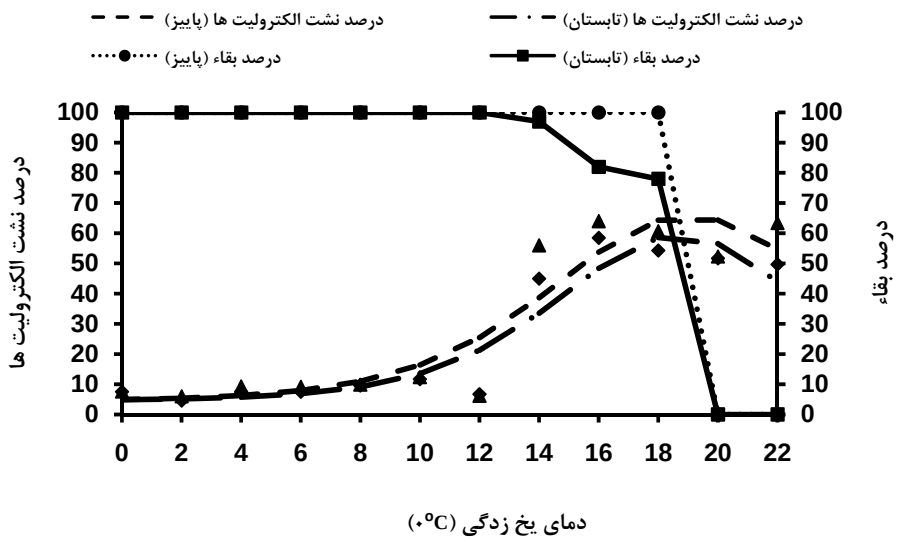
جدول ۲ – میانگین درصد نشت الکترولیت‌ها، درصد بقاء و صفات مرتبط با رشد مجدد گیاهان همیشه بهار کشت شده در تابستان و پاییز پس از قرار گرفتن در معرض تنش یخ‌زدگی در شرایط کنترل شده

تاریخ کاشت	نشت الکترولیت‌ها (درصد)	بقاء (درصد)	ارتفاع (سانتی‌متر)	تعداد ساقه فرعی	تعداد اجزاء زایشی	وزن خشک (میلی‌گرم)		
						کل	اجزاء رویشی	اجزاء زایشی
تابستان	۲۶/۲	۷۹/۸	۷/۳	۳/۵	۲/۴	۱۲۸۵/۹	۱۲۱۷/۱	۴۱/۸
پاییز	۲۹/۸	۸۳/۳	۳/۴	۱/۱	۰/۴	۳۹۸/۱	۳۹۸/۱	۰/۰

تأثیر دماهای یخ‌زدگی نیز بر درصد بقاء گیاهان همیشه بهار معنی‌دار ($P\leq$۰/۰۱) بود (جدول ۱) و علی‌رغم این‌که در گستره دمایی صفر تا ۱۲- درجه سانتی‌گراد تمام گیاهان زنده بودند، ولی کاهش دما به کم‌تر از ۱۲- درجه سانتی‌گراد سبب کاهش درصد بقاء شد، به‌نحوی که درصد بقاء در دماهای ۱۴- ، ۱۶- و ۱۸- درجه سانتی‌گراد به‌ترتیب حدود ۷، ۱۳ و ۲۲ درصد کم‌تر از تیمار شاهد (صفر درجه سانتی‌گراد) بود، درحالی‌که در دماهای ۲۰- و ۲۲- درجه سانتی‌گراد تمام گیاهان از بین رفتند (جدول ۳).

جدول ۳ – اثر دمای یخ‌زدگی بر درصد نشت الکترولیت‌ها، درصد بقاء، صفات رویشی و زایشی گیاهان همیشه بهار در شرایط کنترل شده

دمای یخ‌زدگی	نشت الکترولیت‌ها (درصد)	بقاء (درصد)	ارتفاع گیاه (سانتی‌متر)	تعداد ساقه فرعی	تعداد اجزاء زایشی	وزن خشک (میلی‌گرم)		
						کل	اجزاء رویشی	اجزاء زایشی
صفر	۷/۵	۱۰۰	۷/۳	۳/۵	۲/۷	۱۶۷۴/۴	۱۶۰۹/۲	۶۵/۳
-۲	۵/۳	۱۰۰	۸/۰	۲/۷	۳/۱	۱۴۵۹/۲	۱۴۰۱/۰	۵۸/۲
-۴	۸/۵	۱۰۰	۷/۵	۳/۶	۲/۰	۱۲۹۳/۸	۱۲۳۸/۰	۵۵/۸
-۶	۸/۳	۱۰۰	۶/۳	۳/۲	۱/۲	۱۰۶۲/۶	۱۰۰۷/۸	۵۴/۸
-۸	۹/۷	۱۰۰	۶/۰	۲/۳	۱/۰	۱۰۳۹/۴	۹۸۹/۰	۵۰/۴
-۱۰	۱۲/۱	۱۰۰	۸/۷	۳/۳	۲/۷	۱۰۰۵/۰	۹۵۶/۷	۴۸/۳
-۱۲	۶/۵	۱۰۰	۵/۸	۲/۴	۲/۰	۹۵۷/۵	۹۵۰/۹	۶/۶۲
-۱۴	۵۰/۵	۹۳	۶/۲	۲/۲	۱/۵	۹۰۳/۴	۸۹۷/۸	۵/۵۵
-۱۶	۵۷/۵	۸۷	۴/۲	۲/۳	۰/۴	۳۶۲/۳	۳۵۸/۶	۳/۷
-۱۸	۶۱/۳	۷۸	۴/۱	۱/۵	۰	۳۰۶/۷	۳۰۶/۷	۰/۰
-۲۰	۵۱/۸	۰	۰	۰	۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰
-۲۲	۵۶/۵	۰	۰	۰	۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰
$LSD_{(0.05)}$	۲/۳	۷/۴	۰/۶	۰/۵	۰/۵	۵۳۳/۴	۵۱۳/۳	۵۲/۰



شکل ۱- روند درصد نشت الکترولیت‌ها و درصد بقاء گیاهان همیشه بهار تحت تأثیر تنش یخزدگی در شرایط کنترل شده

کیم و اندرسون (۱۹) در بررسی اثر تنش یخزدگی بر گیاه زینتی داوودی مشاهده کردند که دماهای یخزدگی تأثیر معنی‌داری بر درصد بقاء گیاهان دارند و با کاهش دما درصد بقاء نیز کم شد، به‌طوری‌که در دماهای ۱۰- و ۱۲- درجه سانتی‌گراد بقاء به ترتیب ۴۶ و ۵۳ درصد کم‌تر از دمای ۶- درجه سانتی‌گراد بود. ایشان بیان کردند که درصد بقاء بسته به ژنوتیپ گیاهان متفاوت است و هر چه تحمل به تنش یخزدگی کم‌تر باشد کاهش دما آسیب بیش‌تری به گیاهان وارد می‌کند و در نتیجه درصد بقاء نیز کم‌تر خواهد شد. اثر متقابل تاریخ کاشت و دما بر درصد بقاء گیاهان معنی‌دار ($P\leq$۰/۰۱) بود. در کاشت پاییز گیاهان تا دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد کاملاً زنده ماندند، درصورتی‌که درصد بقاء گیاهان کاشت تابستان هنگام قرار گرفتن در معرض دماهای ۱۶- و ۱۸- درجه سانتی‌گراد به‌ترتیب ۱۳ و ۲۲ درصد کم‌تر از آن نسبت به دمای صفر درجه سانتی‌گراد بود (شکل ۳). به‌طورکلی تحمل به سرما در گیاهان تحت تأثیر مرحله رشدی قرار دارد و پیشرفت رشد گیاه از مرحله رشد رویشی به سمت رشد زایشی سبب کاهش تحمل آن‌ها به درجه حرارت‌های پایین می‌گردد (۱). نتایج تحقیقی بر روی گیاه زینتی *Silen acaulis* نیز مشخص کرد که مقاومت به تنش یخزدگی در گیاهانی که در مرحله گل‌دهی قرار دارند بسیار کم‌تر از گیاهانی است که در مرحله رشد رویشی هستند (۱۸). در سایر مطالعات نیز مشاهده شده است که در کاشت زودتر گیاهان رشد بیش‌تری نسبت به گیاهان درکاشت دیرتر دارند، از این رو گیاهان با مرحله رشدی جلوتر، بیش‌تر در معرض خطر تنش یخزدگی قرار دارند. علاوه بر این گیاهانی که دیرتر کشت می‌شوند از نظر انگیزش اجزاء زایشی عقب تر بوده و نسبت به تنش یخزدگی تحمل بیش‌تری خواهند داشت (۱۶).

گیاهان همیشه بهار کشت شده در تابستان و پاییز اختلاف معنی‌داری از نظر LT_{50su}داشتند و میزان آن در کاشت تابستان ۱۸/۶- درجه سانتی‌گراد و در کاشت پاییز ۱۹/۴- درجه سانتی‌گراد بود (جدول۴). به‌نظر می‌رسد گیاهان کاشت پاییز به‌دلیل مرحله رشدی عقب‌تر نسبت به گیاهان کاشت تابستان، تحمل بهتری نسبت به تنش یخزدگی از خود نشان داده‌اند، بنابراین LT_{50su} پایین‌تری نیز در مقایسه با گیاهان کاشت تابستان داشته‌اند. کیم و اندرسون (۱۹) نیز بیان داشته‌اند که گیاهان با LT_{50su} پایین‌تر تحمل بیش‌تری به دماهای یخزدگی نسبت به گیاهان با LT_{50su} بالاتر دارند.

بین درصد نشت الکترولیت‌ها و درصد بقاء گیاهان همیشه بهار همبستگی منفی و معنی‌داری ($r =-۰/۵۲^{**}$) مشاهده شد (جدول ۵) و لذا با افزایش درصد نشت الکترولیت‌ها، مرگ و میر گیاهان افزایش یافته است. با وجود این در شرایطی که ۵۰ درصد نشت الکترولیت‌ها به وقوع پیوسته است، هیچ‌گونه مرگ و میری در گیاهان همیشه بهار رخ نداده، بلکه نشت الکترولیت‌ها به میزان ۵۷ و ۶۵ درصد به ترتیب در گیاهان کاشت تابستان و پاییز منجر به کاهش ۵۰ درصدی بقاء گیاهان شده است (شکل ۱). جواد موسوی و همکاران (۳) نیز در بررسی تحمل به یخزدگی گیاه زینتی مینا چمنی بیان کردند با وجود آن که بین درصد نشت الکترولیت‌ها و درصد بقاء رابطه منفی وجود داشت، اما نشت نیمی از الکترولیت‌ها سبب کاهش ۵۰ درصدی بقاء نشده، بلکه ۷۸ درصد نشت الکترولیت‌ها منجر به مرگ نیمی از گیاهان شده است.

جدول ٤- مقایسه میانگین LT_{50el}، LT_{50su} و $RDMT_{50}$ گیاهان همیشه بهار کشت شده در تابستان و پاییز پس از قرار گرفتن در معرض تنش یخزدگی در شرایط کنترل شده

تاریخ کاشت	LT_{50el}	LT_{50su}	$RDMT_{50}$
تابستان	-۱۳/۸	-۱۸/۶	-۱۲/۳
پاییز	-۱۳/۸	-۱۹/۴	-۱۲/۰
سطح معنی‌داری	ns	*	ns

ns و *- به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد.

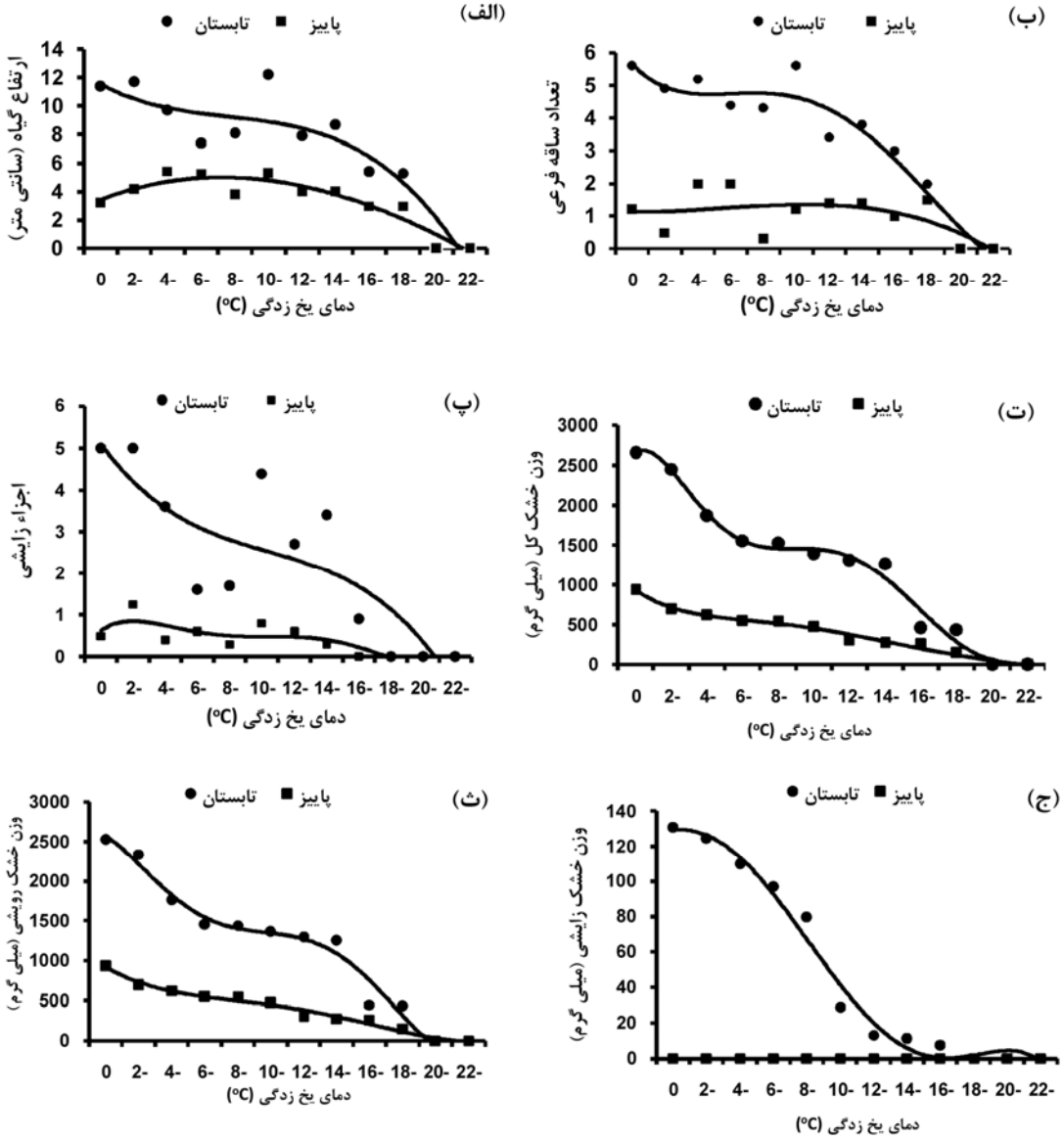
از نظر ارتفاع گیاه در پایان دوره بازیافت بین گیاهان کاشت تابستان و پاییز اختلاف معنی‌داری (P≤۰/۰۱) مشاهده شد (جدول ۱) و ارتفاع گیاهان کاشت اول بیش‌تر از دو برابر ارتفاع آن‌ها در کاشت پاییز بود (جدول ۲). نیشیدا و همکاران (۲۲) در بررسی اثر تاریخ‌های کاشت بر تحمل به یخزدگی گیاه *Solanum carolinense* بیان کردند که از نظر ارتفاع گیاهان در پایان دوره بازیافت بین گیاهان کاشت شده در تاریخ‌های مختلف تفاوت معنی‌داری مشاهده شد، به‌صورتی که ارتفاع گیاهان در تاریخ کاشت اوایل مهرماه حدود ۵۱ درصد بیش‌تر از کاشت اواخر مهرماه بود. تأثیر دماهای یخزدگی بر ارتفاع گیاهان معنی‌دار (P≤۰/۰۱) بود (جدول ۱) و کاهش دما به کم‌تر از ۱۴- درجه سانتی‌گراد منجر به کم‌شدن ارتفاع گیاه شد، به‌طوری‌که ارتفاع گیاهان در دمای ۱۶- درجه سانتی‌گراد ۴۲ درصد کم‌تر از ارتفاع آن‌ها در تیمار شاهد (صفر درجه سانتی‌گراد) بود (جدول ۳). راشد محصل و همکاران (۲۶) نیز با بررسی اثر تنش یخزدگی بر گیاه رازیانه بیان کردند که دماهای یخزدگی تأثیر معنی‌داری بر ارتفاع گیاه در پایان دوره بازیافت داشتند، به‌صورتی که ارتفاع گیاهان رازیانه دردمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد ۱۵ درصد کم‌تر از تیمار شاهد (صفر درجه سانتی‌گراد) بود. اثر متقابل تاریخ کاشت × دما بر ارتفاع گیاهان همیشه بهار معنی‌دار (P≤۰/۰۱) بود. در کاشت پاییز ارتفاع بوته‌ها در گستره دمایی که گیاهان زنده ماندند بودند (صفر تا ۱۸- درجه سانتی‌گراد) تفاوت چندانی با یکدیگر نداشت، ولی در کاشت تابستان این تفاوت معنی‌دار بود، به‌طوری‌که ارتفاع گیاهان در دمای ۱۶- و ۱۸- درجه سانتی‌گراد بیش از ۵۰ درصد کم‌تر از گیاهان تیمار شاهد (صفر درجه سانتی‌گراد) بود (شکل ۳- الف).

از نظر تعداد ساقه فرعی پس از بازیافت گیاهان همیشه بهار در کاشت تابستان و پاییز اختلاف معنی‌داری (P≤۰/۰۱) مشاهده شد (جدول ۱) و تعداد ساقه فرعی گیاهان در کاشت پاییز ۶۹ درصد کم‌تر از آن‌ها در کاشت تابستان بود (جدول ۲). تأثیر دماهای یخزدگی بر تعداد ساقه فرعی معنی‌داری (P≤۰/۰۱) بود (جدول ۱) و کاهش دما به کم‌تر از ۱۶- درجه سانتی‌گراد سبب کم‌شدن تعداد ساقه فرعی در گیاه گردید، به‌طوری‌که در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد تعداد ساقه فرعی ۵۷ درصد کم‌تر از دمای صفر درجه سانتی‌گراد بود (جدول ۳). اثر متقابل تاریخ کاشت × دما نیز بر تعداد ساقه فرعی گیاهان کشت تابستان و پاییز معنی‌دار (P≤۰/۰۱) بود (جدول ۱) و شدت دمای یخزدگی تأثیر متفاوتی بر آن‌ها داشت، به‌نحوی که در گیاهان تابستان تعداد ساقه فرعی در دمای ۱۶- درجه سانتی‌گراد نسبت به تیمار شاهد ۴۸ درصد کم‌تر بود، درحالی‌که در گیاهان پاییز تعداد ساقه فرعی در دمای مذکور نسبت به تیمار شاهد تغییر چندانی نداشت (شکل ۳- ب). تعداد ساقه فرعی با ارتفاع گیاه همبستگی بسیار معنی‌داری (r= ۰/۸۴**) داشت و بنابراین با افزایش ارتفاع گیاهان تعداد انشعابات گیاه نیز افزایش یافته است.

بین گیاهان همیشه بهار در کاشت تابستان و پاییز از لحاظ اجزاء زایشی (تعداد گل و غنچه) در پایان دوره بازیافت اختلاف معنی‌داری (P≤۰/۰۱) وجود داشت (جدول۱)، به‌نحوی که در گیاهان کاشت تابستان تعداد اجزاء زایشی شش برابر بیش‌تر از گیاهان کاشت پاییز بود. اثر دمای یخزدگی نیز بر تعداد اجزاء زایشی گیاهان در پایان دوره بازیافت معنی‌دار (P≤۰/۰۱) بود (جدول۱) و شدت تنش یخزدگی در دمای ۱۶- درجه سانتی‌گراد سبب کاهش ۸۵ درصدی آن‌ها نسبت به دمای صفر درجه سانتی‌گراد شد (جدول ۳). اثر متقابل تاریخ کاشت × دما بر تعداد اجزاء زایشی گیاهان همیشه بهار معنی‌دار (P≤۰/۰۱) بود (جدول۱). در گیاهان پاییزه در گستره دمایی صفر تا ۱۴- درجه سانتی‌گراد تعدادی غنچهٔ بسیار کوچک مشاهده شد و تفاوت اندکی نیز از نظر این صفت در گستره دمایی مذکور وجود داشت (شکل ۳- پ)، ولی در گیاهان کاشت تابستان هر چند اجزاء زایشی تا دمای ۱۶- درجه سانتی‌گراد مشاهده شدند، ولی در دمای مذکور تعداد گل و غنچه حدوداً ۵/۵ برابر کم‌تر از تیمار شاهد (صفر درجه سانتی‌گراد) بود. نکته قابل ذکر این است که در گیاهان کاشت پاییز هیچ‌گونه گلی در پایان دوره بازیافت مشاهده نشد. آدکینز و همکاران (۷) در بررسی تحمل به یخزدگی کولتیوارهای گیاه زینتی *Hydrangea macrophylla* مشاهده کردند که تعداد اجزای زایشی در گیاهان با مرحله رشدی جلوتر، بیش‌تر از گیاهان با مرحله رشدی عقب‌تر بود. ایشان افزایش مدت زمان قرارگرفتن گیاهان در شرایط دماهای پایین و روزهای کوتاه را یکی از علل بیش‌تر بودن اجزاء زایشی در گیاهان با مرحله رشدی جلوتر دانستند. برخی محققان نیز اظهار داشته‌اند که

قرار گرفتن گیاهان در معرض شرایط مذکور (دماهای پایین و طول روز کوتاه) سبب تغییرات نموی در گیاهان و تسریع گذر از مرحلهٔ رویشی به زایشی می‌شود (۲۸). در ازمایش حاضر نیز گیاهان کاشت تابستان در طول دوره رشد، مدت زمان بیش‌تری در معرض روزهای کوتاه و دمای پایین قرار داشتند و لذا تعداد اجزا زایشی بیش‌تری در آن‌ها ایجاد شده بود.

از نظر وزن خشک کل در پایان دوره بازیافت بین گیاهان همیشه بهار در کاشت پاییز و تابستان تفاوت معنی‌داری ($P\leq$۰/۰۱) وجود داشت (جدول ۱)، به‌طوری‌که در گیاهان کاشت تابستان وزن خشک بوته ۳/۲ برابر بیش‌تر از آن در گیاهان کاشت پاییز بود (جدول۲). حدود ۹۵ درصد از وزن خشک بوته در گیاهان کاشت تابستان مربوط به وزن خشک اجزاء رویشی بود و اجزاء زایشی پنج درصد از وزن خشک بوته را تشکیل دادند، درصورتی‌که در گیاهان کاشت پاییزه اجزا زایشی تقریباً هیچ سهمی در وزن خشک نداشتند.



شکل ۲- اثرات متقابل تاریخ کاشت × دما بر ارتفاع گیاه (الف)، تعداد ساقه فرعی (ب)، اجزاء زایشی (پ)، وزن خشک کل (ت)، وزن خشک اجزاء رویشی (ث) و زایشی (ج) گیاهان همیشه بهار در تنش یخزدگی در شرایط کنترل شده

جدول ۵- ضرایب همبستگی بین درصد نشت الکترولیت‌ها، درصد بقاء، ارتفاع گیاه، تعداد ساقه فرعی و اجزاء زایشی و وزن خشک (کل، اجزاء رویشی، اجزاء زایشی) در گیاه همیشه بهار تحت تأثیر تنش یخزدگی در شرایط کنترل شده

	۱	۲	۳	٤	٥	٦	۷
۱- درصد نشت الکترولیت‌ها	۱						
۲- درصد بقاء	-۰/۵۲***	۱					
۳- ارتفاع گیاه	-۰/۶۲***	۰/۶۵***	۱				
۴- تعداد ساقه فرعی	-۰/۴۴***	۰/۵۱***	۰/۸۴***	۱			
۵-تعداد اجزاء زایشی	-۰/۴۳***	۰/۳۶***	۰/۸۴***	۰/۸۱***	۱		
۶- وزن خشک کل	-۰/۵۵***	۰/۴۶***	۰/۸۴***	۰/۸۵***	۰/۸۸***	۱	
۷- وزن خشک اجزاء رویشی	-۰/۵۵***	۰/۴۷***	۰/۸۴***	۰/۸۶***	۰/۸۸***	۰/۹۹***	۱
۸- وزن خشک اجزاء زایشی	-۰/۳۱***	۰/۲۰ns	۰/۵۷***	۰/۵۰***	۰/۵۸***	۰/۶۴***	۰/۶۰***

*** و ns- به ترتیب معنی‌دار در سطح ۱٪ درصد و غیر معنی‌دار.

تأثیر دماهای یخزدگی بر وزن خشک بوته معنی‌دار ($P\leq$۰/۰۱) بود (جدول ۱) و با افزایش شدت تنش یخزدگی وزن خشک گیاهان کاهش یافت (جدول۳)، به‌طوری‌که وزن خشک بوته در دماهای ۱۶- و ۱۸- درجه سانتی‌گراد به‌ترتیب ۷۸ و ۸۲ درصد کم‌تر از دمای صفر درجه سانتی‌گراد بود. در تیمار شاهد (دمای صفر درجه سانتی‌گراد) سهم اجزا رویشی از کل وزن خشک بوته حدود ۹۶ درصد بود، درصورتی‌که این سهم در دمای ۱۶- درجه سانتی‌گراد به ۹۹ درصد رسید. در تیمار دمایی ۱۸- درجه سانتی‌گراد نیز هیچ‌گونه اجزاء زایشی تولید نشد (جدول ۳). ایلسو هوارد آگنو (۱۷) نیز در بررسی تحمل به یخزدگی گیاه زینتی Chatterbox (*Heuchera sanguinea*) بیان کردند که دماهای یخزدگی تأثیر معنی‌داری بر وزن خشک گیاهان در پایان دوره بازیافت داشت و کاهش دما به کم‌تر از ۸- درجه سانتی‌گراد سبب کاهش شدید در وزن خشک بوته شد، به‌صورتی‌که وزن خشک گیاه در دمای ۱۰- درجه سانتی‌گراد ۴۸ درصد کم‌تر از آن نسبت به دمای صفر درجه سانتی‌گراد بود. اثر متقابل تاریخ کاشت × دما بر وزن خشک کل گیاهان همیشه بهار در کاشت‌های تابستان و پاییز معنی‌دار ($P\leq$۰/۰۱) بود (جدول ۱). با وجود این‌که در هر دو کاشت تابستان و پاییز وزن خشک گیاه (شامل وزن خشک کل و اجزا زایشی و رویشی) تحت تأثیر دماهای یخزدگی کاهش یافت (شکل ۳- ت، ث و ج)، ولی در دمای ۱۶- درجه سانتی‌گراد وزن خشک کل گیاه در کاشت تابستان نسبت به تیمار شاهد ۸۳ درصد کم‌تر بود، درصورتی‌که صفت مذکور در کاشت پاییز نسبت به تیمار شاهد ۷۲ درصد کاهش داشته است. اگرچه اختلاف معنی‌داری میان تاریخ‌های کاشت تابستان و پاییز از نظر $RDMT_{50}$ مشاهده نشد، اما از نظر عددی میزان $RDMT_{50}$ گیاهان در کاشت پاییز ۳ درصد کم‌تر از گیاهان کاشت تابستان بود (جدول ۴). بین وزن خشک کل گیاه و درصد نشت الکترولیت‌ها همبستگی منفی و معنی‌داری (r =-۰/۵۵**) وجود داشت و لذا با افزایش درصد نشت الکترولیت‌ها وزن خشک کل گیاه کاهش یافته است. بررسی بر روی تأثیر تنش یخزدگی در گیاه مینای چمنی نیز نشان داده است که افزایش درصد نشت الکترولیت‌ها سبب کاهش وزن خشک گیاهان در پایان دوره بازیافت شده است (۳).

نتیجه‌گیری

تنش یخزدگی سبب افزایش معنی‌دار درصد نشت الکترولیت‌ها از گیاهان هر دو تاریخ کاشت شد. گیاهان همیشه بهار کشت شده در تابستان تا دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد را به خوبی تحمل کرده و کاملاً زنده ماندند و پس از آن کاهش دما به‌طور معنی‌داری درصد بقاء آن‌ها را کاهش داد، درحالی‌که بقاء گیاهان کاشت پاییزه در گستره‌ی دمایی صفر تا ۱۸- درجه سانتی‌گراد تحت تأثیر قرار نگرفت و بعد از آن به شدت کاهش یافت. با وجود این در پایان دوره بازیافت ارتفاع، تعداد ساقهٔ فرعی، تعداد اجزاء زایشی، وزن خشک کل، وزن خشک اجزاء رویشی و زایشی گیاهان همیشه بهار در کاشت تابستان به صورت معنی‌داری بیش‌تر از گیاهان کاشت پاییز بود.

در آزمایش حاضر گیاهان همیشه بهار در شرایط کنترل شده در معرض تنش یخزدگی قرار گرفتند و بر اساس نتایج حاصله گستره تنش یخزدگی قابل تحمل آن در دو کاشت تابستان و پاییز مشخص گردید. بر این اساس گیاهان کاشت پاییز تا حدود دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد را تحمل کرده و هیچ‌گونه مرگ و میری در آن‌ها مشاهده نشد، درحالی‌که گیاهان کشت تابستان با کاهش دما به کم‌تر از ۱۲- درجه سانتی‌گراد دچار مرگ و میر شدند و در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد بیش از ۲۰ درصد گیاهان از بین رفته بودند. با وجود این گیاهان هر دو تاریخ کاشت در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد به‌طورکلی از بین رفتند. برای تعیین همبستگی نتایج مطالعه در شرایط کنترل شده با نتایج در شرایط طبیعی، مطالعه واکنش گیاهان همیشه بهار به تنش سرما در شرایط طبیعی زمستان و هنگامی که گیاهان علاوه بر تنش یخزدگی در معرض انواع دیگری از تنش‌های زمستانه (مانند پوشش برف، غرقاب، چرخه‌های یخ و ذوب و ...) قرار می‌گیرند

ضروری می‌باشد.

منابع

۱- باقری ع.، نظامی ا.، و سلطانی م. ۱۳۷۹. اصلاح حبوبات سرما دوست برای تحمل به تنش‌ها. انتشارات سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی. مشهد.

۲- توکل م.س. ۱۳۸۷. فنولوژی و استقرار گیاهان دارویی و معطر در باغ گیاهشناسی ملی ایران. انتشارات موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور. تهران.

۳-جوادموسوی م.، نظامی س.، ایزدی دربندی ا.، نظامی ا.، یوسف ثانی م. و کیخاآخر ف. ۱۳۹۰. مطالعه اثرات تنش یخ زدگی بر گیاه مینای چمنی (*Bellis perennis*) در شرایط کنترل شده. نشریه آب و خاک (علوم و صنایع غذایی)، ۲۵ (۲): ۳۸۰-۳۸۸.

۴- خلیقی ا. ۱۳۷۶. گلکاری. انتشارات گلشن. تهران.

۵-دوازده امامی س.، سفیدکن ف.، جهانسوز م.ر.، و مظاهری د. ۱۳۸۷. مقایسه عملکرد بیولوژیکی، عملکرد کمی و کیفی اسانس و مراحل فنولوژیکی در کشت پاییزه، بهاره و تابستانه بادرشبویه (*Dracocephalum moldavica* L.). فصلنامهٔعلمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۴ (۳): ۲۶۳-۲۷۰.

۶- نظامی ا.، کیخاآخر ف.، جوادموسوی م.، ایزدی دربندی ا.، نظامی س و یوسف ثانی م. ۱۳۹۰. اثر تنش یخ زدگی بر گیاه بنفشه *Viola gracilis* (L.) تحت شرایط آزمایشگاهی. مجله بوم شناسی، ۳ (۴): ۴۳۰-۴۳۸.

7-Adkins J.K., Dirr M.A., and Lindstorm O.M. 2002.Cold hardiness potential of ten *Hydrangea* taxa. Journal of Environment and Horticulture, 20(3): 171–174.

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

9-Annicchiarico P., and Iannucci A. 2007. Winter survival of pea, faba bean and white lupin cultivars in contrasting Italian locations and sowing times, and implications for selection. Journal of Agricultural Science, 145: 611–622.

10-Azzaz N.A., Hassan E.A., and Elemarey F.A. 2007. Pysiological, anatomical, and biochemical studies on pot marigold (*Calendula officinalis* L.) plants. African Crop Science Conference Proceedings, 8: 1727-1738.

11-Byard S., Wisniewski M., Li J., and Karlson D. 2010.Interspecific analysis of xylem freezing responses in acer and betula. Horticultural Science, 45 (1): 165-168.

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

13-Ebrahimi A., Moaveni P., and Aliabadi Farahani H. 2011.Effects of planting dates and compost on mucilage variations in borage (*Borago officinalis* L.) under different chemical fertilization systems. International Journal of Biotechnology, 2(1): 194-197.

14-Gusta L.V., Fowler D.B., and Tyler N.J. 1982.Factors influencing hardening and survival in winter wheat. In: Li P. H., and Sakai A. (eds.). Plant Cold Hardiness and Freezing Stress.Academic press. New York.

15-Gusta L.V., O'Connor B.J., Gao Y.P., and Jana S. 2001. A re-evaluation of controlledfreeze-test and controlled environment hardening conditions to estimate the winter survival potential of winter wheats. Canadian Journal of Plant Science, 81:241-246.

16-Huyghe C.1991. Winter growth of autumn-sown white lupin *(Lupinus albus* L.): main apex growth model. Annals of Botany, 67: 429-434.

17-Iles J.K., and Howard Agnew N. 1993. Determining cold hardiness of *Heuchera sanguine* Engelm.'chatterbox' using dormant crowns. Horticultural Science, 28(11):1087–1088.

18-Junttila O., and Robberecht R. 1993. The influence of season and phenology on freezing tolerance in *Silen acaulis* L., a subarctic and arctic cushion plant of circumpolar distribution. Annals of Botany, 71: 423-426.

19-Kim D.C., and Anderson N.O. 2006.Comparative analysis of laboratory freezing methods to establish cold tolerance of detached rhizomes and intact crowns in garden chrysanthemums (*Dendranthema- grandiflora* Tzvelv.). Scientia Horticulturae, 109: 345–352.

20-Link W., Balko C., and Stoddard F.L. 2008. Winter hardiness in faba bean: Physiology and breeding. Field Crops Research, 115: 287–296.

21-Nezami A., Manjula S.B., and Gusta L.V. 2012. An evaluation of freezing tolerance of winter chickpea (*Cicer arientinum* L.) using controlled freeze tests. Canadian Journal of Plant science, 92: 155-161.

22-Nishida T., Kitagawa M. and Yamamoto Y. 2004: Effect of sowing date on overwintering and freezing tolerance of horsenettle (*Solanum carolinense* L.) seedlings. Grassland Science, 50(2): 139-146

23-Pennycooke J.C., Cox S., and Stushnoff C. 2005.Relationship of cold acclimation, total phenolic Content and antioxidant capacity with chilling tolerance in petunia (*Petunia* × *hybrida*). Environmental and Experimental

Botany, 53: 225–232.
24-Perry L.P., and Herrick T. 1996. Freezing date and duration Effects on regrowth of three species of container-grown herbaceous perennials. Journal of Environment and Horticulture, 14 (4): 214-216.
25-Pietsch G.M., Anderson N.O., and Li P.H. 2009.Cold tolerance and short day acclimation in perennial *Gaura coccinea* and *G. drummondii*. Scientia Horticulturae, 120: 418–425.
26-Rashed Mohasel M.H., Nezami A., Bagheri A., Hajmohammadnia K., and Bannayan M. 2009. Evaluation of freezing tolerance of two fennel *(Foeniculum vulgar* L.) ecotypes under controlled conditions. Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants, 15:131–140.
27-Roland L.J., Dhanaraj A.L., Naik D., Alkharouf N., Matthews B. and Arora R. 2008. Study of cold tolerance in blueberry using EST libraries, cDNA microarrays, and subtractive hybridization. Horticultural Science, 43(7): 1975-1981.
28-Stitt M., and Hurry V. 2002. A plant for all seasons: alterations in photosynthetic carbon metabolism during cold acclimation in *Arabidopsis*. Physiology and Metabolism, 5:199-206.
29-Teutonico R.A., Palta J.P., and Osborn T.C. 1993.In vitro freezing tolerance in relation to winter survival of rapeseed cultivars. Crop Science, 33: 103-107.