



دانشگاه گزینی و علوم کشاورزی

نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی  
جلد بیست و سوم، شماره اول، ۱۳۹۵  
<http://jopp.gau.ac.ir>

## تحمل به یخ‌زدگی گونه‌های علف چمنی تحت شرایط کنترل شده

\*احمد نظامی<sup>۱</sup>، محمدجواد احمدی لاهیجانی<sup>۲</sup>، کوروش شجاعی نوفرست<sup>۲</sup>

جواد رضایی<sup>۲</sup> و فاضل فاضلی<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup>استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه فردوسی مشهد،

<sup>۲</sup>دانشجوی دکتری گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه فردوسی مشهد

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۸/۲۴؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱/۲۶

### چکیده

**سابقه و هدف:** تنش سرما یکی از مهم‌ترین عوامل محدود کننده رشد علف‌های چمنی در مناطق معتدله است. تحمل به تنش سرما بین گونه‌ها و جنس‌های مختلف گیاهی و مناطق مختلف، متفاوت است. علف‌های چمنی به دلیل کاربرد گسترده در زیباسازی فضاهای سبز، تغذیه دام‌ها و کنترل فرسایش، از اهمیت زیادی برخوردارند. بین گونه‌های مختلف علف‌های چمنی نیز تفاوت زیادی از نظر تحمل به سرما مشاهده شده است. پژوهشگران از صفات‌های متعددی از جمله دمای ۵۰ درصد کشدگی، میزان نشت الکترولیت‌ها، ارتفاع و سطح برگ گیاه برای شناسایی گونه‌های متحمل‌تر به سرما بهره جستند. به دلیل وجود اطلاعات کم در مورد تحمل به سرمای علف‌های چمنی، این پژوهش با هدف شناسایی گونه‌های متحمل‌تر علف‌های چمنی به تنش سرما با استفاده از برخی صفات فیزیولوژیک و ریخت‌شناسی صورت گرفت.

**مواد و روش‌ها:** به منظور ارزیابی تحمل به یخ‌زدگی چند گونه علف چمنی در شرایط کنترل شده، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۱۳۸۸ اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل شش نوع علف چمنی از گونه‌های لولیوم، فستوکا و برم‌وداگراس و ۱۴ دمای یخ‌زدگی (صفر تا ۱۹/۵- با فواصل ۱/۵ درجه سانتی‌گراد) بودند. بذرها در اواسط مهرماه در

\*مسئول مکاتبه: [nezami@um.ac.ir](mailto:nezami@um.ac.ir)

گلدان‌های پلاستیکی به قطر ۱۰ سانتی‌متر کشت شدند. به‌منظور ایجاد خوسرمایی، گیاهچه‌ها تا مرحله ۶-۴ برگی در محیط طبیعی رشد یافتند. گلدان‌ها، ۲۴ ساعت قبل از تیمار سرما آبیاری و سپس به فریزر ترموگرا دیان منتقل شدند. صفاتی از جمله پایداری غشای سلولی طوقه و برگ، درصد بقاء، وزن خشک بوته،  $LT_{50}$ ،  $RDMT_{50}$  و تعداد پنجه مورد ارزیابی قرار گرفتند.

**یافته‌ها:** تنش یخ‌زدگی باعث کاهش معنی‌دار درصد بقاء علف‌های چمنی شد. اغلب علف‌های چمنی قادر به تحمل دمای ۱۵- درجه سانتی‌گراد بودند، ولی با افزایش میزان سرما درصد بقاء آن‌ها کاهش یافت، به‌طوری‌که، در دمای ۱۶/۵- درجه سانتی‌گراد گیاهان کلیه گونه‌های علف‌های چمنی از بین رفتند. با این وجود، درصد بقا بسته به نمونه‌های مورد مطالعه متفاوت بود، به‌طوری‌که، گیاهان نمونه کالیفرنیا و استارلت در دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد حدود ۵۰ درصد بقا داشتند، در حالی‌که، درصد بقا گیاهان نمونه فستوکا مسترپیس در این دما حدود ۱۵ درصد بود. به‌طور کلی، درصد پایداری غشای سلولی طوقه بیشتر از برگ بود، به‌طوری‌که، در دمای ۱۳/۵- درجه سانتی‌گراد پایداری غشای سلولی طوقه بیش از ۶۰ درصد مشاهده شد، اما به‌هر حال، در دماهای بیش از ۱۵- درجه سانتی‌گراد این شاخص برای هر دو به صفر رسید. تعداد پنجه و وزن خشک گیاهان در پایان دوره بازیافت نیز به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای دمایی قرار گرفت و با کاهش دما از میزان آن‌ها کاسته شد. همبستگی بسیار معنی‌داری ( $r=-0/98^{**}$ ) بین دمای کشنده ۵۰ درصد گیاهان ( $LT_{50}$ ) با درصد بقاء مشاهده شد. بر اساس شاخص  $LT_{50}$ ، علف چمنی برموداگراس بیشترین و علف چمنی پوآ پراتنسیس میدوگراس کمترین میزان تحمل به سرما را داشتند، در صورتی‌که، علف چمنی فستوکا استارلت براساس دمای کاهنده ۵۰ درصد وزن خشک گیاه ( $RDMT_{50}$ )، بیشترین توانایی رشد مجدد در دوره بازیافت را از خود نشان داد.

**نتیجه‌گیری:** در مجموع، به‌نظر می‌رسد که شاخص‌های  $LT_{50}$ ،  $RDMT_{50}$ ، درصد بقاء و شاخص پایداری غشای سلولی شاخص‌های مناسبی در تعیین تحمل به تنش یخ‌زدگی علف‌های چمنی باشند. همچنین، بر اساس نتایج، علف‌های چمنی برموداگراس و فستوکا استارلت به‌عنوان گونه‌های متحمل به سرما شناخته شدند.

**واژه‌های کلیدی:** پایداری غشای سلولی، تنش سرما، درصد بقاء،  $LT_{50}$ ،  $RDMT_{50}$

## مقدمه

چمن‌ها از جمله گیاهانی هستند که در فضای سبز (۵۰)، تعدیل دمای محیط و تغذیه دام‌ها، کاهش گرد و غبار و فرسایش خاک، نقش مهمی را ایفا می‌کنند (۱۷ و ۳). در مناطق معتدله‌ای از جمله بخش‌هایی از ایران، این گیاهان در پاییز و زمستان در معرض تنش سرما قرار می‌گیرند و لذا تنش مذکور از جمله مهم‌ترین تنش‌های محیطی است که رشد و بقاء زمستانه‌ی آن‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۲۴ و ۳۲). هر چند تحمل به تنش سرما بین گونه‌ها و جنس‌های مختلف گیاهی و از منطقه‌ای به منطقه دیگر، متفاوت است (۲۳)، ولی تأثیر سرما بر گیاه به‌شدت سرما، مدت آن و مرحله رشدی گیاه نیز بستگی دارد (۲۷). برای مثال، در شرایط تنش سرمای کوتاه مدت برگ‌های گیاه زیره‌سبز تغییر رنگ داده و بنفش رنگ شدند، در حالی‌که، سرما به‌مدت طولانی‌تر منجر به مرگ گیاه شد (۱). از این‌رو در مناطق معتدله، تحمل به سرمای علف‌های چمنی اهمیت خاصی در رشد و نمو آن‌ها دارد. از آنجایی که جهت رشد مناسب علف‌های چمنی در این شرایط، وجود ارقام متحمل به سرما ضروری است، پژوهشگران از انواع روش‌های ارزیابی مزرعه‌ای و کنترل شده برای شناسایی ارقام متحمل به سرما استفاده کرده‌اند (۲۵، ۳۸ و ۱۲). علی‌رغم مزیت‌های آزمایش‌های مزرعه‌ای، واقعیت این است که به‌دلیل وجود تنوع در زمان، مکان، شدت و دوام سرما در شرایط مزرعه‌ای، مشکلات خاصی از جمله عدم بروز سرماهای موردنیاز جهت یخزدگی و یا شدت زیاد سرما و از بین رفتن مواد آزمایشی، در ارزیابی و به‌گزینی به‌وجود می‌آید. علاوه‌بر این، در شرایط مزرعه میزان بقاء گیاهان تحت تأثیر عوامل متعدد اقلیمی از جمله پوشش برف، دما، رطوبت خاک و سایر عوامل محیطی است (۳۰ و ۲). به‌همین علت جهت پرهیز از برخی محدودیت‌هایی که در آزمون‌های مزرعه‌ای وجود دارد، آزمون‌های مصنوعی بررسی اثر سرما بر گیاهان که در آن‌ها کنترل شرایط آزمایش و دما انجام می‌شود، ابداع شده است. از جمله شاخص‌های مورد مطالعه در این آزمون‌ها، می‌توان به بررسی درصد بقاء گیاهان تحت شرایط سرما و تعیین دمایی که سبب مرگ ۵۰ درصد گیاهان می‌شود ( $LT_{50su}$ ) اشاره داشت (۲۱ و ۳۹).

در مورد اختلاف بین گونه‌ای در تحمل به تنش یخزدگی انواع چمن‌ها شواهد متعددی وجود دارد (۱۰). به‌طوری‌که، این تنوع از ۵- درجه سانتی‌گراد در گیاه فلوراتام<sup>۲</sup> (۱۷) تا ۱۷- درجه سانتی‌گراد

1- Lethal temperature 50 percentage according to survival

2- Floratam

در برموداگراس<sup>۱</sup> (۱۹) متفاوت است. چمن زویسیا<sup>۲</sup> نیز از جمله علف‌های چمنی متحمل به سرما محسوب می‌شود که تحمل به یخزدگی آن بین ۸- تا ۱۴- درجه سانتی‌گراد ذکر شده است (۱۴ و ۳۷). یومورا و همکاران (۴۳) اظهار داشتند که غشای سلولی اولین مکانی است که در اثر تنش یخزدگی دچار خسارت می‌شود (۴۳). از این‌رو، تداوم انسجام غشای سلولی، عامل اصلی بقای گیاه در شرایط تنش یخزدگی و هرگون اختلال در ساختار غشاء موجب ایجاد آسیب و حتی مرگ سلول می‌شود (۴۰).

نظامی و همکاران (۲۰۱۰) در ارزیابی تحمل به یخزدگی گونه‌های علف‌های چمنی، ضمن مشاهده اختلاف معنی‌دار از نظر دمای ۵۰ درصد کسندگی پس از اعمال تیمارهای یخزدگی، گزارش کردند که با افزایش شدت یخزدگی، میزان نشت الکتروولیت‌ها در اثر آسیب به غشای سلولی شدیداً افزایش می‌یابد (۳۱). شاشیکومار و ناس (۱۹۹۳) در پژوهشی که روی ۸ رقم پنجه مرغی انجام دادند اظهار داشتند که ارقام حساس‌تر به سرما، LT<sub>50</sub> بالاتری نسبت به ارقام مقاوم داشتند. دمای یخزدگی در میزان رشد گیاه در دوران بازیافت نیز تأثیر قابل توجهی دارد (۴۱). گزارش‌های متعددی مبنی بر کاهش ارتفاع (۷)، کاهش سطح برگ (۲۳) و کاهش وزن خشک (۳۵) گیاهان در دوره بازیافت مشاهده شده است. از این‌رو، استفاده از شاخص RDMT<sub>50</sub><sup>۳</sup> (دمای کاهنده ۵۰ درصد وزن خشک گیاه) می‌تواند شاخص مناسبی جهت تمایز گونه‌های مقاوم و حساس به تنش سرما باشد. با توجه به مطالب ذکر شده و کمبود اطلاعات در خصوص تحمل به یخزدگی علف‌های چمنی، این پژوهش جهت ارزیابی تحمل به سرمای علف‌های چمنی تحت شرایط کنترل شده، اجرا شد.

## مواد و روش‌ها

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. فاکتورهای آزمایشی شامل شش نوع علف چمنی:

*Lolium preenne* (var. Yarandi, ecot. yarand), *L. preenne* (var. Yarandi, ecot. Mahalat), *Festuca arundinacea* (var. Starlet), *Festuca arundinacea* (var. Masterpiece), *Poa pratensis* (var. Meadow grass), *Bermudagrass* (unhulled, origin California)

1- Bermuda grass

2- Zoysia

3- Reduced dry matter temperature 50

و ۱۴ نوع دمای یخ زدگی (۰، -۱/۵، -۳، -۴/۵، -۶، -۷/۵، -۹، -۱۰/۵، -۱۲، -۱۳/۵، -۱۵، -۱۶/۵، -۱۸ و -۱۹/۵- درجه سانتی گراد) بودند.

بدور چمن تهیه شده از بانک بذر گروه باغبانی دانشگاه فردوسی مشهد، در اواسط مهرماه در گلدان‌های پلاستیکی به قطر ۱۰ سانتی‌متر کشت شدند. به‌منظور ایجاد خوسرمایی در شرایط آب و هوایی طبیعی (شکل ۱)، گیاهچه‌ها تا مرحله ۶-۴ برگی در محیط طبیعی رشد یافتند. گلدان‌ها، ۲۴ ساعت قبل از تیمار سرما آبیاری و سپس به فریزر ترموگرادیان منتقل شدند. دمای فریزر در شروع آزمایش ۵ درجه سانتی‌گراد بود و پس از قرار دادن نمونه‌ها در آن، با سرعت دو درجه سانتی‌گراد در ساعت کاهش یافت. این وضعیت شرایط را برای توزیع مجدد آب به بافت‌های گیاهی و جلوگیری از تشکیل یخ در داخل سلول‌ها که در طبیعت به‌ندرت اتفاق می‌افتد، فراهم می‌کند (۲۱). به‌منظور جلوگیری از پدیده فراسرمایی<sup>۱</sup> (۱۱) و ایجاد هستک یخ<sup>۲</sup> در گیاهچه‌ها و اطمینان از این که راهبرد از نوع تحمل است و نه اجتناب، در دمای ۲- درجه سانتی‌گراد، روی گیاهان محلول باکتری‌های ایجاد کننده هستک یخ<sup>۳</sup> به نحوی پاشیده شد که قشر نازکی از این محلول روی برگ‌ها را پوشاند. جهت ایجاد تعادل در دمای محیط آزمایش گیاهان در هر تیمار دمایی، به‌مدت یک ساعت نگه داشته و سپس از فریزر خارج شدند (۶) و به‌منظور کاهش سرعت ذوب، گلدان‌ها بلافاصله به اتاقک با دمای  $5 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد منتقل و به‌مدت ۲۴ ساعت در آنجا نگهداری (۹) شدند.

به‌منظور تعیین پایداری غشای سلولی، ابتدا از هر گلدان ۱۵ نمونه برگ کامل و ۵ نمونه طوقه جدا شده و پس از شستشو با آب مقطر، در ویال‌های حاوی ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر دوبار تقطیر قرار داده شدند و پس از ۲۴ ساعت هدایت الکتریکی هر نمونه توسط دستگاه EC متر (Jenway) اندازه‌گیری شد (EC1). برای تعیین نشت کامل الکترولیت‌ها در اثر مرگ سلول، ویال‌ها به‌مدت ۲۰ دقیقه با دمای ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۲ اتمسفر اتوکلاو شدند و پس از ۲۴ ساعت هدایت الکتریکی نمونه‌ها اندازه‌گیری شد (EC2). پایداری غشای سلولی توسط معادله یک محاسبه شد (۴۲):

$$I = 1 - (1 - T_1/T_2) / (1 - C_1/C_2) \times 100 \quad \text{معادله ۱}$$

1- Super cooling

2- Ice nuclei

3- Ice Nucleation Active Bacteria (INAB)

که  $T_1, T_2$  به ترتیب نشان‌دهنده قابلیت هدایت الکتریکی اولیه و ثانویه در دمای یخ‌زدگی موردنظر و  $C_1$  و  $C_2$  به ترتیب نشان‌دهنده میزان هدایت الکتریکی اولیه و ثانویه نمونه شاهد می‌باشند. در مرحله بعد نمونه‌ها به گلخانه منتقل شدند و پس از ۲۱ روز، درصد بقاء گیاهان (با استفاده از معادله دو) و رشد مجدد آن‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت:

$$\text{معادله ۲} \quad \text{درصد بقاء} = \frac{\text{تعداد گیاهان زنده در 21 روز پس از اعمال تیمار یخ‌زدگی}}{\text{تعداد گیاهان قبل از تیمار یخ‌زدگی}} \times 100$$

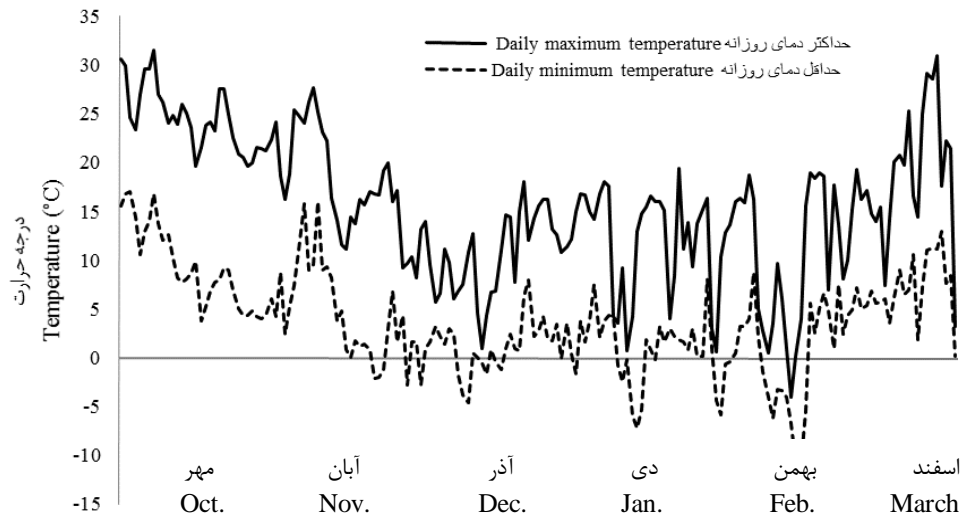
جهت تعیین دمای کشنده ۵۰ درصد گیاهان<sup>۱</sup>، معادله لجستیک (معادله سه) برای داده‌های هر یک از علف‌های چمنی در دماهای مختلف، برازش داده شد (۱۵).

$$\text{معادله ۳} \quad Y = \frac{a}{1 + \left(\frac{x}{x_0}\right)^b}$$

در این معادله،  $Y$  نشان‌دهنده درصد بقاء،  $x$  دمای یخ‌زدگی،  $a$  یکی از ضرایب معادله و نشان‌دهنده حداکثر درصد بقاء،  $b$  یکی دیگر از ضرایب معادله و نشان‌دهنده شیب منحنی در نقطه  $x_0$  و  $x_0$  نشان‌دهنده نقطه‌ای از  $x$  که در آن  $Y$  برابر ۵۰ درصد مقدار حداکثر خود است ( $LT_{50}$ )، می‌باشد. دمای کاهنده ۵۰ درصد وزن خشک پس از رسم نمودارهای وزن خشک گیاهان در مقابل دماهای یخ‌زدگی و تعیین نقطه میانی هر منحنی مشخص گردید.

پس از تعیین  $LT_{50}$ ، برای هر یک از علف‌های چمنی، داده‌های مربوطه با استفاده از طرح کاملاً تصادفی، تجزیه شدند. تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای SAS v.9.1 صورت گرفت و برای رسم نمودارها و تعیین  $LT_{50}$  و  $RDMT_{50}$  از نرم‌افزار Curve Expert استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون LSD در سطح پنج درصد انجام شد.

1-  $LT_{50su}$



شکل ۱- حداکثر و حداقل درجه حرارت روزانه طی دوره رشد علف‌های چمنی.  
Figure 1. Maximum and minimum daily temperature during growth period of grasses.

### نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تیمارهای دمایی بر درصد بقاء گیاهان مورد مطالعه معنی‌دار بود (جدول ۱)، به‌نحوی که، کلیه علف‌های چمنی در دمای صفر درجه سانتی‌گراد بیشترین درصد بقاء را داشتند و با کاهش دما درصد بقاء به‌طور معنی‌داری کاهش یافت و در دماهای کمتر از  $-15$  درجه سانتی‌گراد هیچ گیاهی زنده نماند. کاهش دما از صفر به  $-13/5$  درجه سانتی‌گراد سبب کاهش حدود ۸۴ درصدی میانگین درصد بقاء گیاهان شد. در مطالعه‌ای که توسط کیم و همکاران (۲۰۰۶) به جهت به‌گزینی ژنوتیپ‌های مقاوم به تنش یخ‌زدگی گیاه داوودی صورت گرفت، مشاهده شد که کاهش دما منجر به کاهش درصد بقاء شد، به‌طوری که، درصد بقاء در دمای  $-12$  درجه سانتی‌گراد ۵۰ درصد کمتر از دمای صفر درجه سانتی‌گراد (شاهد) بود (۲۲). راشد‌محصل و همکاران (۳۶) نیز در مطالعه اثر دمای یخ‌زدگی بر درصد بقاء گیاهان رازیانه، مشاهده کردند که با افزایش شدت دمای یخ‌زدگی، درصد بقاء کاهش یافت و در دمای  $-12$  درجه سانتی‌گراد تنها ۱۵ درصد گیاهان زنده ماندند (۳۶).

در بین انواع علف‌های چمنی مورد بررسی، علف‌های چمنی برم‌وداگراس بدون ریشک کالیفورنیایی و پوآپرتنزیس رقم میدوگراس با میانگین بقاء  $58/6$  و  $34/6$  درصد به‌ترتیب بیشترین و

کمترین درصد بقاء را داشتند. وجود اختلاف بین ژنوتیپ‌های چمن از نظر پاسخ به تنش یخ‌زدگی توسط سایر پژوهشگران نیز گزارش شده است (۱۰ و ۱۸). در پژوهشی که برای ارزیابی تحمل به تنش یخ‌زدگی تعدادی از ژنوتیپ‌های گیاه گوارا<sup>۱</sup> انجام گرفت، مشخص شد که از نظر درصد بقاء تفاوت معنی‌داری بین ژنوتیپ‌ها وجود دارد، به طوری که، گیاهان ژنوتیپ مینسوتا تا دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد زنده ماندند، در حالی که، گیاهان ژنوتیپ تگزاس در این دما از بین رفت (۳۴). از دیدگاه پژوهشگران، اصلی‌ترین عامل تفاوت بین ژنوتیپ‌های یک گونه گیاهی از نظر درصد بقاء در شرایط تنش یخ‌زدگی، خصوصیات ژنتیکی متفاوت آن‌ها می‌باشد (۴). براساس نتایج این پژوهش، علف‌های چمنی برموداگراس بدون ریشک کالیفورنیایی و ارقام استارتل تحمل زیادی نسبت به سرما از خود نشان دادند. در همین راستا پژوهشگران برخی دلایل تحمل به سرمای علف‌های چمنی را به خصوصیات مانند میزان پایداری غشاهای سلولی، ترکیب و ذخیره کربوهیدرات‌ها و سنتز پروتئین‌های تنظیم‌کننده سرما متناسب کرده‌اند (۱۳ و ۱۷).

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه علف‌های چمنی در شرایط دماهای یخ‌زدگی.

Table 1. ANOVA results of studied traits of grasses under freezing temperatures conditions.

میانگین مربعات						
Mean squares						
وزن خشک	تعداد پنجه	پایداری غشای برگ	پایداری غشای طوقه	درصد بقاء	درجه آزادی	منبع تغییرات
Dry weight	Tiller No.	Leaf membrane stability	Crown membrane stability	Survival (%)	df	SOV
651195.00**	11405.41**	698.97**	247.50**	2312.30**	5	رقم Cultivar (C)
7011242.91**	20753.04**	13687.44**	5501.93**	27466.57**	13	دمای یخ‌زدگی Freezing temperatures (T)
560670.84**	1158.76**	269.10**	153.47**	264.78**	65	رقم × دما C×T
13211.2	67.55	53.36	45.25	80.37	168	خطا Error
15.31	18.83	13.79	11.41	18.44		ضریب تغییرات CV

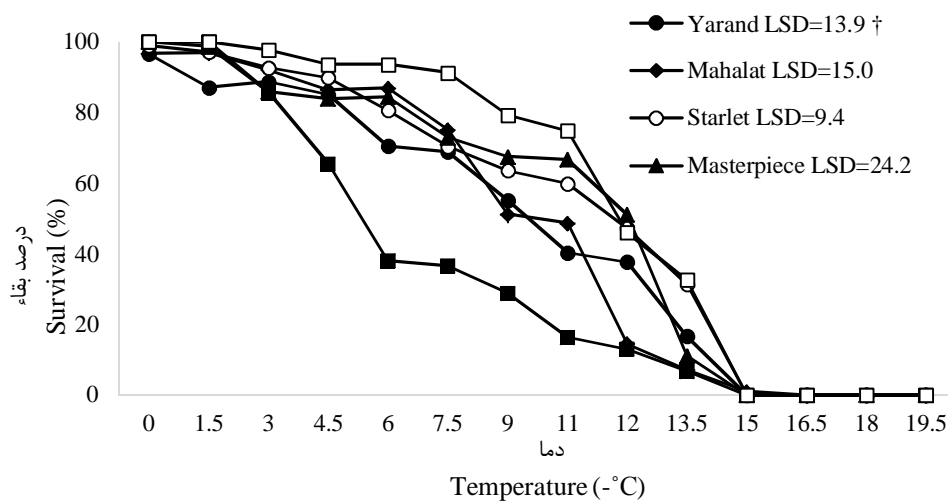
\*\* معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

\*\* Significant at 1% of probability level

1- *Gaura spp.*



نتایج حاصل از تجزیه واریانس حاکی از معنی‌دار بودن اثر متقابل نوع علف چمنی × دما بر درصد بقای علف‌های چمنی بود (جدول ۱). در این ارتباط مشاهده شد که درصد بقای علف چمنی برموداگراس بدون ریشک کالیفورنیایی تا دمای ۷/۵- درجه سانتی‌گراد تحت تأثیر قرار نگرفت، اما دمای ۹- درجه سانتی‌گراد سبب بروز ۲۰ درصد تلفات در گیاهان شد و کاهش بیشتر دما و رسیدن آن به ۱۳/۵- درجه سانتی‌گراد باعث افزایش تلفات گیاهان به میزان ۷۰ درصد شد. این در حالی است که درصد بقای در پوآ پراتنزیس رقم میدوگراس تا دمای ۳- درجه سانتی‌گراد تحت تأثیر قرار نگرفت و دمای ۴/۵- درجه سانتی‌گراد سبب حدود ۳۳ درصد تلفات در گیاهان شد و کاهش بیشتر دما و رسیدن آن به ۱۳/۵- درجه سانتی‌گراد تلفات ۹۵ درصد گیاهان را در پی داشت (شکل ۲). عزیززی و همکاران (۲۰۰۷) نیز در بررسی تحمل به سرمای ارقام گندم اثر متقابل دما × رقم را معنی‌دار گزارش کردند و مشاهده کردند که درصد بقای رقم گلنسون تا دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد تحت تأثیر تیمار دمایی قرار نگرفت در حالی که، دمای ۱۶- درجه سانتی‌گراد باعث ۶۶/۷ درصد تلفات در این رقم گردید (۷). جکسون و همکاران (۱۹۹۶) معتقدند برهم‌کنش معنی‌دار ژنوتیپ و محیط نشان می‌دهد که ژنوتیپ‌ها در محیط‌های مختلف کارایی متفاوتی دارند (۲۵) و بیانگر این است که گزینش ارقام براساس تنها یک پارامتر خاص مناسب نبوده و بررسی پایداری ژنوتیپ برای ارزیابی پتانسیل کارایی آن پارامتر لازم می‌باشد.

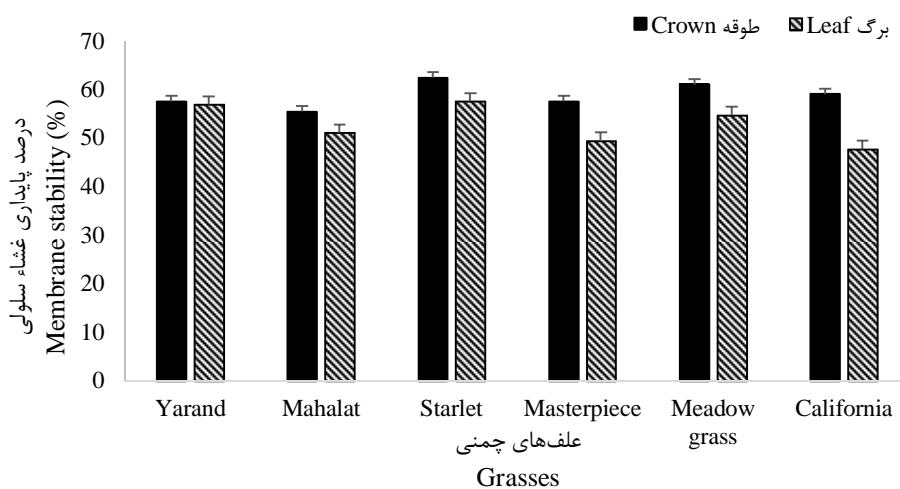


شکل ۲- روند تغییرات درصد بقای علف‌های چمنی در اثر اعمال تنش یخ‌زدگی در شرایط کنترل شده.

Figure 2. Survival percentage trend of grasses under freezing stress temperatures in controlled conditions.

† LSD = 0.05

علف‌های چمنی از نظر میزان پایداری غشای سلول‌های برگ و طوقه در اثر دماهای یخ‌زدگی اختلاف معنی‌داری نشان دادند (جدول ۱). میانگین داده‌های حاصل از تأثیر دماهای یخ‌زدگی بر میزان پایداری غشای سلولی سلول‌های طوقه نشان داد که ارقام استارلت و محلات به ترتیب بیشترین و کمترین میزان پایداری غشا را دارا بودند، اما در مورد میزان پایداری غشای سلولی سلول‌های برگ، استارلت بیشترین و ارقام کالیفرنیا کمترین میزان پایداری غشای سلولی را دارا بودند (شکل ۳). سایر پژوهش‌گران نیز وجود تفاوت معنی‌دار بین ارقام علف چمنی در اثر تنش سرما را گزارش کرده‌اند (۱۰ و ۳۶). میزان آسیب به غشای سلولی با کاهش دما به کمتر از دمای  $-7/5$  درجه سانتی‌گراد شدت گرفت، به طوری‌که با کاهش بیشتر دما میزان خسارت به غشا نیز افزایش یافت. نتایج نشان داد که میزان خسارت سلول‌های برگ در همه ارقام بیشتر از سلول‌های طوقه بوده است (شکل ۴). پژوهش‌ها نشان داده است که ژنوتیپ‌های متحمل‌تر به سرما عمدتاً غشای سیتوپلاسمی پایدارتر و نشت الکترولیت کمتری نسبت به ژنوتیپ‌های حساس دارا می‌باشند (۲۸).

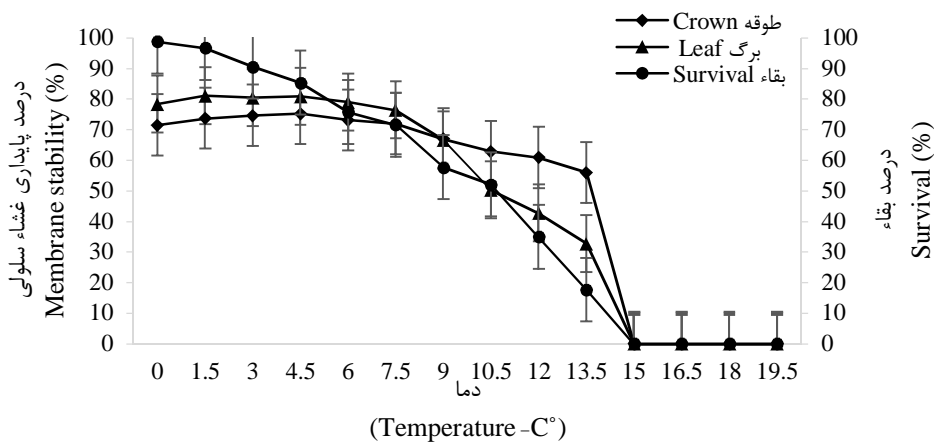


شکل ۳- میانگین درصد پایداری غشای سلول‌های طوقه و برگ علف‌های چمنی تحت تأثیر دماهای یخ‌زدگی در شرایط کنترل شده (میانگین‌های دارای دامنه همپوشانی یکسان براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند)

Figure 3. Mean of crown and leaf membrane stability percentage of grasses under freezing temperature in controlled conditions (Means with the same overlap domain are not statistically different at 5% of probability).

به نظر می‌رسد که بر اساس شاخص خسارت غشای سلولی، رقم استارلت تحمل بیشتری به تنش یخزدگی نسبت به سایر علف‌های چمنی داشته است. واکنش متفاوت گونه‌های علف‌های چمنی در مقابل تیمارهای یخزدگی به احتمال زیاد به دلیل تفاوت‌های ژنتیکی آن‌ها می‌باشد. باجی و همکاران (۲۰۰۲) کاهش خسارت به غشاء سلولی را به افزایش تجمع قندها در اندام‌های هوایی نسبت داده‌اند (۸). مشاهده شده است که کاهش میزان آب بافت‌ها و افزایش ذخیره قندهای محلول از جمله مکانیزم‌های سازش گیاهان به شرایط سخت زمستان می‌باشد (۱۷).

انواع علف‌های چمنی مورد بررسی در این آزمایش، از نظر آماری دارای اختلاف معنی‌دار از نظر دمای کشته ۵۰ درصد گیاهان ( $LT_{50}$ ) بودند (جدول ۲). تمامی علف‌های چمنی تا دمای ۹- درجه سانتی‌گراد بیش از ۵۰ درصد بقاء خود را حفظ کردند، اما با افزایش شدت سرما، میزان بقاء آن‌ها کاهش یافت. علف چمنی برموداگراس بدون ریشک کالیفورنیایی در حدود ۱۲- درجه سانتی‌گراد ۵۰ درصد گیاهان خود را از دست داد و بر این اساس، مقاوم‌ترین نوع علف چمنی بود، در حالی‌که، علف چمنی پوآ پرنتنزیس وارپته میدوگراس در حدود ۶- درجه سانتی‌گراد، ۵۰ درصد بقاء خود را از دست داده و در نتیجه بر این اساس، حساس‌ترین علف چمنی مورد بررسی در این آزمایش به تنش یخزدگی شناخته شد.



شکل ۴- تأثیر دماهای یخزدگی بر میزان خسارت به غشای سلول‌های طوقه و برگ و درصد بقای علف‌های چمنی در شرایط کنترل شده (میانگین‌های دارای دامنه همپوشانی یکسان براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند).

Figure 4. Effect of freezing temperatures on crown and leaf membranes damage and survival percentage of grasses in control conditions (Means with the same overlap domain are not statistically different at 5% of probability).

LT<sub>50</sub> همبستگی منفی و معنی‌داری ( $r = -0.98^{**}$ ) با درصد بقاء داشت، به طوری که، دمای کشنده ۵۰ درصد گیاهان در گونه مقاوم حدود ۶ درجه سانتی‌گراد کمتر از گونه حساس بود، به عبارت دیگر، LT<sub>50</sub> کمتر نشان دهنده تحمل بیشتر گیاهان به یخزدگی و بقاء بیشتر آن‌ها می‌باشد. سایر پژوهشگران نیز از دمای کشنده ۵۰ درصد گیاهان به عنوان شاخصی مناسب جهت ارزیابی تحمل به تنش سرما در گیاهان استفاده کرده‌اند (۱۶ و ۲۵). عزیززی و همکاران (۳۰) در ارزیابی تحمل به یخزدگی ارقام گندم، حدود ۱۲ درجه سانتی‌گراد اختلاف در LT<sub>50</sub> ارقام متحمل و حساس گندم مشاهده کردند (۷). میانگین تعداد پنجه و وزن خشک گیاهان در پایان دوره بازیافت نیز تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی و اثر متقابل آن‌ها قرار گرفت (جدول ۱) و با افزایش شدت تنش یخزدگی رشد گیاه کاهش یافت، به طوری که، در دمای ۱۵- درجه سانتی‌گراد، میانگین تعداد پنجه و وزن خشک گیاه نسبت به دمای صفر درجه به ترتیب ۹۴ و ۹۹ درصد کمتر بود (جدول ۳). نظامی و همکاران (۳۰) نیز در ارزیابی تحمل به یخزدگی ژنوتیپ‌های نخود گزارش کردند که با افزایش شدت تنش یخزدگی، رشد گیاه در دوره بازیافت شدیداً کاهش یافت، به نحوی که در دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد وزن خشک گیاه و ارتفاع ساقه نسبت به دمای صفر درجه سانتی‌گراد به ترتیب ۶۳ و ۶۶ درصد کاهش نشان داد (۳۰). در مطالعه‌ای که به منظور بررسی تأثیر تنش یخزدگی تعدادی از جمعیت‌های شبدر سفید انجام گرفت، مشخص شد که این جمعیت‌ها از نظر وزن خشک در پایان دوره رشد مجدد تفاوت معنی‌دار داشته‌اند (۵). همچنین، در پژوهشی مشخص شد که گونه‌های متحمل به یخزدگی بقولات علوفه‌ای، رشد مجدد بهتری نسبت به گونه‌های حساس داشتند و بین شاخص LT<sub>50</sub> و میزان رشد مجدد آن‌ها پس از تنش همبستگی مثبت و معنی‌دار مشاهده شد (۱۸). پژوهشگران، کاهش وزن خشک گیاهان در دوره بازیافت را ناشی از اثر خسارت یخزدگی بر گیاهان و کاهش توانایی رشد مجدد اندام‌های هوایی دانسته‌اند (۷).

جدول ۲- دمای کشنده ۵۰ درصد براساس درصد بقاء (LT<sub>50su</sub>) و دمای کاهنده ۵۰ درصد وزن خشک (RDMT<sub>50</sub>) علف‌های چمنی تحت تأثیر دماهای یخزدگی در شرایط کنترل شده.

Table 2. Lethal temperature 50 percentage according to survival (LT<sub>50su</sub>) and reduced dry matter temperature 50 (RDMT<sub>50</sub>) of grasses under freezing temperatures in controlled conditions.

RDMT <sub>50</sub>	LT <sub>50</sub>	نوع علف چمنی Grasses
-8.3 <sup>ab</sup>	-9.3 <sup>bc</sup>	<i>L. prene</i> (Eco. Yarand)
-6.3 <sup>bc</sup>	-9.3 <sup>bc</sup>	<i>L. prene</i> (Eco. Mahalat)
-8.9 <sup>a</sup>	-10.8 <sup>b</sup>	<i>Festuca arundinacea</i> (var. Starlet)
-7.7 <sup>b</sup>	-10.7 <sup>b</sup>	<i>Festuca arundinacea</i> (var. Masterpiece)
-6.7 <sup>bc</sup>	-6.0 <sup>c</sup>	<i>Poa pratensis</i>
-5.5 <sup>c</sup>	-11.7 <sup>a</sup>	<i>Bermudagrass Unhulled</i>

روند تغییرات تعداد پنجه و وزن خشک گیاه در پایان دوره بازیافت تحت تأثیر تنش یخزدگی نشان می‌دهد که با کاهش دما تا ۹- درجه سانتی‌گراد، گیاه با ثابت نگه داشتن تعداد پنجه، سعی در بازیافت و حفظ وزن خشک خود داشته است، ولی با کاهش بیشتر دما به علت خسارت زیاد که در اثر یخزدگی به غشاهای سلولی وارد شده است، این توانایی را از دست داده است. به نظر می‌رسد، که افزایش شدت تنش یخزدگی باعث اختلال در رشد گیاه شده و منجر به کاهش تعداد پنجه و وزن خشک گیاه می‌شود (جدول ۳).

جدول ۳- تعداد پنجه در دوره بازیافت و وزن خشک علف‌های چمنی تحت تأثیر دماهای یخزدگی در شرایط کنترل شده.

Table 3. Tiller number in recovery period and dry matter of grasses under freezing temperatures in controlled conditions.

LSD (0.05)	-13.5	-12	-10.5	-9	-7.5	-6	-4.5	-3	-1.5	0	دما* Temp. (°C)	نوع علف چمنی Grasses
57	33	69	88	69	94	105	93	84	83	106	تعداد پنجه	Yarand
74	6	10	49	35	78	135	134	122	96	107		Mahalat
22	32	75	30	70	69	82	84	73	80	90	در دوره	Starlet
30	6	42	45	61	53	101	101	66	63	72	بازیافت	Masterpiece
15	2	7	8	12	28	48	24	41	34	19		Meadow grass
26	18	44	49	54	56	53	45	56	48	49	Tiller No. In recovery	California
59	333	485	515	775	810	1156	1079	899	1051	1095		Yarand
57	101	129	377	513	522	929	1100	951	1084	749	وزن خشک	Mahalat
58	373	1123	804	1469	1329	1335	1700	1388	1561	1227		Starlet
51	62	62	622	610	937	1352	1228	1336	1128	1202	Dry matter (mg plant <sup>-1</sup> )	Masterpiece
28	33	33	160	371	706	884	817	783	851	732		Meadow grass
119	156	156	247	677	1184	1071	1536	1327	1925	1600		California

\* با توجه به از بین رفتن تمامی ژنوتیپ‌ها در دماهای پایین‌تر از ۱۵-، مقادیر این دماها در جدول نشان داده نشده‌اند.

\* Data for temperatures under -15°C are not shown due to no survived grass in these temperatures.

بررسی‌ها نشان داده است که هرچند درصد بقاء و تعیین  $LT_{50}$  براساس آن به‌عنوان شاخصی مناسب جهت ارزیابی تحمل گیاهان به تنش یخزدگی مطرح است، ولی ممکن است گاهی تنش یخزدگی موجب مرگ و از بین رفتن برخی ژنوتیپ‌ها نشود، ولی رشد مجدد آن‌ها پس از رفع سرما را تحت تأثیر قرار می‌دهد و در این شرایط گیاه قادر به بازیافت و از سرگیری رشد مجدد خود به‌طور مناسب نخواهد بود (۱۸). با توجه به این مساله، شاخص دمای کاهنده ۵۰ درصد وزن خشک گیاه ( $RDMT_{50}$ ) قادر به ایجاد چنین تمایزی بین ژنوتیپ‌ها از نظر تحمل به سرما خواهد بود. نظامی و همکاران (۳۰) همبستگی بالایی بین  $RDMT_{50}$  و  $LT_{50}$  مشاهده کردند و عنوان کردند که ژنوتیپ‌های

متحمل نخود RDMT<sub>50</sub> کمتری نسبت ژنوتیپ‌های حساس داشتند (۳۰). در پژوهش حاضر نیز بین گونه‌های مورد بررسی از لحاظ RDMT<sub>50</sub> تفاوت معنی‌داری مشاهده شد (جدول ۲). علف چمنی فستوکا واریته استارلت با RDMT<sub>50</sub> ۸/۹- درجه سانتی‌گراد بیشترین میزان رشد مجدد پس از رفع سرما و بازیافت را در مقایسه با سایر گونه‌ها از خود نشان داد، به این معنی که در این گونه کاهش دما به کمتر از ۹- درجه سانتی‌گراد سبب کاهش ۵۰ درصدی وزن خشک در پایان دوره رشد مجدد شد، در حالی که، با کاهش دما به کمتر از ۵/۵- درجه سانتی‌گراد موجب کاهش ۵۰ درصدی وزن خشک علف چمنی برموداگراس شد (جدول ۲). پری و هریک (۱۹۹۶) نیز در مطالعه خود روی سه گونه علف چمنی گزارش کردند که گونه دیانتوس دلتویدس<sup>۱</sup> با کاهش دما تا ۱۴- درجه سانتی‌گراد رشد مجدد بهتری نسبت به گونه‌های آکوئلیگیا<sup>۲</sup> و لاواندولا<sup>۳</sup> داشت (۳۳). در مطالعه هکنبی و همکاران (۱۸) نیز که در جهت تعیین تحمل به یخزدگی چند گونه بقولات علوفه‌ای صورت گرفت، مشخص شد که گونه‌های متحمل رشد مجدد بهتری نسبت به گونه‌های حساس داشتند (۱۸).

در مجموع، تنش یخزدگی باعث کاهش درصد بقاء، کاهش تعداد پنجه در دوره بازیافت و وزن خشک اندام‌های هوایی در پایان دوره بازیافت شد، که البته واکنش ویژگی‌های مورد مطالعه بسته به شدت تنش و نوع علف چمنی متفاوت بود. علف چمنی برموداگراس بدون ریشک کالیفورنیایی تحمل زیادی نسبت به سرما از خود نشان دادند که LT<sub>50</sub> کمتر آن نسبت به سایر گونه‌ها موید این مطلب است، در حالی که، علف چمنی پوا پرتنزیس رقم میدوگراس بر اساس شاخص LT<sub>50</sub> حساس‌ترین گیاه در بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بود. هر چند درصد بقای همه ژنوتیپ‌ها با افزایش شدت تنش یخزدگی کاهش قابل توجهی داشت ولی در مورد تعداد پنجه و وزن خشک پس از دوره بازیافت این کاهش از دمای ۷/۵- درجه سانتی‌گراد به بعد مشاهده شد. رقم استارلت با بیشترین میزان پایداری غشای سلولی، بیشترین درصد بقاء و وزن خشک بوته در دوره بازیافت را نشان داد. نتایج نشان‌دهنده همبستگی معنی‌دار (r=-۰/۹۸<sup>\*\*</sup>) درصد بقاء با LT<sub>50</sub> بود که این موضوع احتمالاً نشان‌دهنده این است که این شاخص به همراه RDMT<sub>50</sub>، درصد بقاء و شاخص پایداری غشای سلولی، می‌توانند به عنوان شاخص‌های مناسب در تعیین تحمل علف‌های چمنی به تنش یخزدگی مورد استفاده قرار گیرند.

1- *Dianthus deltooides*

2- *Aquilegia*

3- *Lavandula*

منابع

1. Agrawal, P.K. 1993. Handbook of seed testing. National Seeds corporation Limited. New Dehli, India. 224p.
2. Ali, A., Johnson, D.L., and Stushnoff, C. 1999. Screening lentil (*Lens culinaris*) for cold hardiness under controlled conditions. J. Agr. Sci. 133: 313-319.
3. Almasouri, M., Kinet, J.M., and Lutts, S. 2001. Effect of salt and osmotic stresses on germination in durum wheat (*Triticum durum* Desf). Plant Soil. 231: 243-254.
4. 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. J. Agr. Sci. 145: 611-622.
5. Annicchiarico, P., Collins, R.P., Fornasier, F., and Rhodes, I. 2001. Variation in cold tolerance and spring growth among Italian white clover populations. Euphytica. 122: 407-416.
6. Auld, D.L., Ditterline, R.L., Murray G.A., and Swensen, J.B. 1983. Screening peas for winter hardiness under field and laboratory conditions. Crop Sci. 23: 85-88.
7. Azizi, H., Nezami, A., Nasiri Mahalati, M., and Khazaei, H.R. 2007. Evaluation of cold tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars under controlled conditions. Iran. J. Field Crop Res. 5: 109-120. (In Persian)
8. Bajji, M., Kinet, L.M., and Lutts, S. 2002. The use of the electrolyte leakage method for assessing cell membrane stability as a water stress tolerance test in durum wheat. Plant Growth Regul. 00: 1-10.
9. Bridger, G.M., Falk, D.E., Mckersie, B.D., and Smith, D.L. 1996. Crown freezing tolerance and field winter survival of winter cereals in eastern Canada. Crop Sci. 36: 150-157.
10. Cardona, C.A., Duncan, R.R., and Lindstrom, O. 1997. Low temperature tolerance assessment in *Paspalum*. Crop Sci. 37: 1283-1291.
11. Christopher, J., and Fredericks, T. 2007. The freezing characteristics of wheat at ear emergence. Eur. J. Agron. 26: 435-441.
12. Coopman, R.E., Jara, J.C., Scobar, R., Corcuera, L.J., and Bravo, A.L. 2010. Genotypic variation in morphology and freezing resistance of *Eucalyptus globulus* seedlings subjected to drought hardening in nursery. Elect. J. Biotech. 13: 1-9.
13. Cyril, J., Duncan, R.R., and Baird, W.V. 1998. Changes in membrane fatty acids in cold-acclimated turf grass. Hortsci. 33: 453-465.
14. Dunn, J.H., Bughrara, S.S., Warmund, M.R., and Fresenburg, B.F. 1999. Low temperature tolerance of zoysia grasses. Hortsci. 34: 96-99.
15. Eizenberg, H., Colquhoun, J., and Mallory-Smith, C. 2005. A predictive degree-day model for small broomrape (*Orobanche minor*) parasitism in red clover in Oregon. Weed Sci. 40: 37-40.

16. Fowler, D.B., Limin, A.E., Wang, S.Y., and Ward, R.W. 1996. Relationship between low-temperature tolerance and vernalization response in wheat and rye. *Can. J. Plant Sci.* 76: 37-42.
17. Fry, J.D., Lang, N.S., Clifton, R.G.P., and Maier, F.P. 1993. Freezing tolerance and carbohydrate content of low-temperature-acclimated and non-acclimated centipede grass. *Crop Sci.* 33: 1051-1055.
18. Hekneby, M., Antolin, M.C., and Sanchez-Diaz, M. 2006. Frost resistance and biochemical changes during cold acclimation in different annual legumes. *Environ. Exp. Bot.* 55: 305-314.
19. Ibitayo, O.O., Butler, J.D., and Burke, M.J. 1981. Cold hardiness of Bermuda grass and *Paspalum vaginatum* Sw. *Hort. Sci.* 16: 683-384.
20. Jackson, P., Robertson, M., Cooper, M., and Hammer, G. 1996. The role of physiological understanding in plant breeding; from a breeding perspective. *Field Crops Res.* 49: 11-37.
21. Kenadal, E.J., and McKersie, B.D. 1989. Free radical and freezing injury to cell membranes of winter wheat. *Physiol. Plant.* 76: 86-94.
22. Keykha-Akhar, F., Bagheri, A.R., Moshtaghi, N., and Nezami, A. 2011. The effect of gamma radiation on freezing tolerance of chickpea (*Cicer arietinum* L.) at in vitro culture. *J. Biol. Environ. Sci.* 5: 63-70.
23. 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.). *Sci. Hort.* 109: 345-352.
24. Li, C., Yang, Y., OlaviJunttila, O., and Palva, E.T. 2005. Sexual differences in cold acclimation and freezing tolerance development in sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) ecotypes. *Plant Sci.* 168: 1365-1370.
25. Liang, Y.C., Chen, Q., Liu, Q., Zhang, W.H., and Ding, R.X. 2003. Exogenous silicon (Si) increases antioxidant enzyme activity and reduces lipid peroxidation in roots of salt-stressed barley (*Hordeum vulgare* L.). *J. Plant Physiol.* 160: 1157-1164.
26. Lukatkin, A.S., Brazaityte, A., Bobinas, C., and Duchovskis, P. 2012. Chilling injury in chilling-sensitive plants: a review. *Agri.* 99: 111-124.
27. Mahfoozi, S., Limin, A.E., Ahakpaz, F., and Fowler, D.B. 2006. Phenological development and expression of freezing resistance in spring and winter wheat under field conditions in north-west Iran. *Field Crops Res.* 97: 182- 187.
28. Mian Abadi, A., Mousavi Bayegani, M., Sanaei Nejad, H., and Nezami, A. 2009. Assessment and mapping of early autumn, late spring and winter freezing in Khorasan Razavi province using GIS. *J. Water Soil.* 23: 79-90. (In Persian)
29. Mir Eshghi, A., and Khalilzadeh, Gh.R. 2002. Evaluation of some physiological traits relevant to chilling resistance in 22 wheat genotypes. P. 61. In: 3th congress of reduced injury of chilling and freezing of crops.



30. Murry, G.A., Eser, D., Gusta, L.V., and Eteve. G. 1988. Winter hardiness in pea, lentil, faba bean and chickpea. P831-843. In: R.J. Summerfield (ed.) World Crops: Cool Season Food Legumes. Kluwer Academic Publishers, Netherlands.
31. Nagao, M., Minami, A., Arakawa, K., Fujikawa, S., and Takezawa, D. 2005. Rapid degradation of starch in chloroplasts and concomitant accumulation of soluble sugars associated with ABA-induced freezing tolerance in the moss *Physcomitrella patens*. J. Plant Physiol. 162: 169–180.
32. Nezami, A., Bagheri, A., Rahimian, R., Kafi, M., and Nasiri Mahalati, M. 2006. Evaluation of freezing tolerance of pea genotypes (*Cicer arietinum* L.) under controlled conditions. J. Sci. Tech. Agri. Nat. Res. 10: 257-268. (In Persian)
33. Nezami, A., Rezaei, J., and Alizadeh, B. 2010. Evaluation of cold tolerance in several species of grasses by electrolyte leakage test. J. Water Soil. 24: 1019-1026. (In Persian)
34. Pearce, R.S. 2001. Plant Freezing and Damage. Ann. Bot. 87: 417-424.
35. Perry, L.P., and Herrick, T. 1996. Freezing data and duration effects on regrowth of three species of container. J. Environ. Hort. 14: 214-216.
36. Pietsch, G.M., Anderson, N.O., and Li, P.H. 2009. Cold tolerance and short day acclimation in perennial *Gaura coccinea* and *G. drummondii*. Sci. Hort. 120: 418–425.
37. Qian, Y.L., Ball, S., Tan, Z., Koski, A.J., and Wilhelm, S.J. 2001. Freezing tolerance of six genotypes of buffalo grass. Crop Sci. 41: 1174–1178.
38. Rashed Mohassel, M.H., Nezami, A., Bagheri, A.R., Hajmohammadnia, K., and Bannayan, M. 2009. Evaluation of freezing tolerance of two fennels (*Foeniculum vulgare* L.) ecotypes under controlled conditions. J. Herbs Spices Med. Plants. 15: 131–140.
39. Rogers, R.A., Dunn, J.H., and Nelson, C.J. 1977. Photosynthesis and cold hardening in zoysia and Bermuda grass. Crop Sci. 17: 727-732.
40. Saghfi, S., Eivazi, A.R., and Qasimov, N. 2013. Assessing of chick-pea (*Cicer arietinum* L.) genotypes to cold stress with different planting dates. Intl. J. Agron. Plant Prod. 4: 1903-1909.
41. Skinner, D.Z., and Garland-Campbell, K.A. 2008. The relationship of LT<sub>50</sub> to prolonged freezing survival in winter wheat. Can. J. Plant Sci. 88: 885-889.
42. Steponkus, P.L. 1984. Role of the plasma membrane in freezing injury and cold acclimation. Annu. Rev. Plant Physiol. 35: 543–584.
43. Shashikumar K., and Nus J.L. 1993. Cultivar and winter cover effects on Bermuda grass cold acclimation and crown moisture content. Crop Sci. 33: 813-817.
44. Sullivan, C.Y. 1972. Mechanism of heat and drought resistance in grain sorghum and methods of measurement. P247–264. In: Rao, N.G.P., and House, L.R. (eds.), Sorghum in the seventies. New Delhi, India: Oxford and IBH publ Co.

45. Uemura, M., Tominaga, Y., Nakagawara, C., Shigematsu, S., Minami, A., and Kawamura, Y. 2006. Responses of plasma membrane to low temperature. *Physiol. Planta.* 126: 81-89.