

ارزیابی شاخص‌های مورفوفیزیولوژیک ارقام چغندر قند پاییزه تحت شرایط تنش 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^۱، حمیدرضا خزاعی^۱، مجید دشتی^{۲*}، حمیدرضا مهرآبادی^۳، احسان عیسی‌رضایی^۴ و مسعود احمدی^۴

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

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

چکیده

به منظور مطالعه صفات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی هفت رقم چغندر قند [Jolge، PP8 و SBSI1 (ارقام داخلی)، Suprema، Palma، Monotunno، Giada (ارقام خارجی)] تحت شرایط تنش 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، ۴، ۶، ۸، ۱۰، ۱۲، ۱۴، ۱۶ و ۱۸ درجه سانتی‌گراد زیر صفر) قرار گرفتند. سپس شاخص‌های درصد نشت الکترولیت‌ها، فلورسانس اولیه برگ خو گرفته به روشنایی (F_s)، فلورسانس حداکثر برگ خو گرفته به روشنایی (F_{ms})، فلورسانس متغیر (ΔF) و کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II ($\Delta F/F_{ms}$)، میزان فتوستنز خالص، تعداد و سطح برگ، طول و قطر ریشه‌چه و درصد بقاء مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان دادند رقم Monotunno به ترتیب با میانگین ۸۸ درصد بقا و ۲۶ درصد نشت الکترولیت نسبت به سایر ارقام برتری دارد. حداقل و حداکثر دمای ۵۰ درصد کشندگی بر اساس درصد بقا (LT_{50su}) به ترتیب به میزان ۱۶/۹- و ۱۵/۲- درجه سانتی‌گراد و نیز بیشترین و کمترین مقدار کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II، به ترتیب با میانگین ۰/۷ و ۰/۵۹ در ارقام SBSI1 و Monotunno مشاهده گردید. نتایج همچنین نشان دادند که بین درصد نشت الکترولیت‌ها و درصد بقا ($r = -0/76^{***}$) و نیز صفات مرتبط با بازیافت گیاه همبستگی منفی و معنی‌داری ($P \leq 0/001$) 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 $\Delta F/F_{ms}$ با LT_{50su} ($r = -0/85^{***}$) و دمای ۵۰ درصد کشندگی بر اساس نشت الکترولیت‌ها (LT_{50el}) ($r = -0/84^{***}$) نشان داد ارقامی که درصد نشت الکترولیت 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 الکترولیت‌ها، LT_{50su} و LT_{50el} به‌طور معنی‌داری کاهش یافته و بین این دو شاخص نیز همبستگی مثبت و معنی‌داری ($r = 0/75^*$) وجود دارد.

واژه‌های کلیدی: تنش یخ‌زدگی، چغندر قند پاییزه، شاخص‌های مورفوفیزیولوژیک، گیاهچه

مقدمه

توانایی تحمل به تنش یخ‌زدگی، ویژگی مهم گیاهانی است که دوره زمستان را در شرایط سخت با دماهای زیر صفر سپری می‌کنند (Sasaki et al. 1998). کشت چغندر قند (*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 چغندر قند در برخی مناطق استان خراسان مورد توجه قرار گرفته است. کشت پاییزه چغندر قند در نواحی جنوب اسپانیا، ایتالیا و یونان (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)، در صورتی که در استان خراسان زمستان‌ها غالباً سرد بوده و لذا ممکن است گیاه با تنش 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 الکترولیت‌ها بوده که براساس خسارات

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

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

هدف از این مطالعه تعیین روابط همبستگی بین صفات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی ارقام چغندرقد پاییزه تحت شرایط تنش یخزدگی در مرحله گیاهچه‌ای و تعیین شاخص‌هایی با بیشترین نقش در ایجاد تغییرات در ارقام و در نهایت تعیین مقاومترین ارقام به تنش 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 چغندرقد (Suprema, Jolge, Monotunno, Giada,) (PP8, SBSII, Palma) در معرض ۱۰ سطح دمای یخزدگی (صفر، ۲-، ۴-، ۶-، ۸-، ۱۰-، ۱۲-، ۱۴-، ۱۶- و ۱۸- سانتی‌گراد) قرار گرفتند. در اواخر آبان ماه بذور چغندرقد در گلدان‌های پلاستیکی به ارتفاع ۲۰ و قطر دهانه ۱۲ سانتی‌متر در عمق ۲-۱ 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 تشدید اثر نور بر فتوسیستم II و کاهش سرعت انتقال الکترون در سیستم فتوستزی 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 تنش‌های محیطی به کار رفته و به‌عنوان شاخصی مهم برای کمی کردن واکنش ارقام و لاین‌های متحمل به سرمای ذرت و برنج و متحمل به گرمای آفتابگردان استفاده شده است (Dobrowski et al. 2005). پارامتر کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II به عنوان اصلی‌ترین فاکتور بین پارامترهای مورد بررسی جهت تنش کاربرد دارد و مقادیر این فاکتور برای یک گیاه سالم بین ۰/۷۵ تا ۰/۸۵ می‌باشد، در حالی که در اثر تنش مقدار آن کاهش می‌یابد (Petite et al. 2005).

لویت (Levitt 1980) دمای ۵۰ درصد تلفات گیاهان در شرایط کنترل شده را روش مناسبی برای اندازه‌گیری مقاومت به سرما پیشنهاد داد. تعیین LT₅₀ طوقه گیاه در غلات نیز به عنوان روشی جهت برآورد بقای گیاهان پس از تنش سرما در نظر گرفته شده است (Gusta and Chen 1987; Fowler et al. 1981). مطالعات هانر و همکاران (Huner et al. 1993) نشان داد، شاخص مقاومت به سرما در غلات رابطه خطی و منفی با افزایش

پنج بوته در هر گلدان نگهداری و سایر بوته‌ها حذف شدند. به منظور اعمال خوسرمایی (Acclimation) گیاهچه‌ها تا مرحله شش تا هشت برگ در شرایط طبیعی نگهداری شدند. گلدان‌ها ۲۴ ساعت قبل از اعمال دماهای یخ زدگی، آبیاری شدند و سپس جهت اعمال تیمارهای دمایی به فریزر ترموگرادیان منتقل شدند. در آغاز آزمایش دمای فریزر ۵ درجه سانتی‌گراد بود و پس از قرار دادن نمونه‌ها، درجه حرارت در هر ساعت به میزان دو درجه سانتی‌گراد کاهش می‌یافت. به منظور القاء هستک‌های یخ، در دمای ۳- درجه سانتی‌گراد از محلول حاوی باکتری‌های القاء کننده هستک یخ (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 یخ‌زدگی به مدت یک ساعت نگهداری شدند و در پایان این مدت و به منظور کاهش سرعت ذوب، نمونه‌ها به اتاقک رشد با دمای 2 ± 4 درجه سانتی‌گراد منتقل شدند و برای مدت ۲۴ ساعت در این شرایط قرار گرفتند. بوته‌ها پس از طی این مدت به شاسی سرد منتقل شدند.

به منظور بررسی درصد نشت الکترولیت‌ها، جوان‌ترین برگ کاملاً توسعه یافته (۵ برگ از هر گلدان) جدا شده و در شیشه‌های مکارتنی حاوی ۷۵ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر شده قرار گرفتند و به مدت ۲۴ ساعت در

دمای محیط آزمایشگاه بر روی شیکر قرار گرفتند. پس از گذشت این زمان، هدایت الکتریکی هر نمونه با استفاده از دستگاه EC متر (مدل Senway) اندازه‌گیری شد (E_1). به منظور اندازه‌گیری میزان کل نشت الکترولیت پس از مرگ سلول‌ها، نمونه‌ها در اتوکلاو با فشار ۱۵ پوند بر اینچ مربع (PSI) معادل $1/0.3$ بار و دمای تقریبی ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه قرار گرفتند. نمونه‌ها سپس به مدت ۲۴ ساعت مجدداً بر روی شیکر قرار گرفته و هدایت الکتریکی نمونه‌ها دوباره ثبت شد (E_2). سپس درصد نشت الکترولیت‌ها برای هر تیمار با استفاده از رابطه ۱ محاسبه شد. پس از گذشت ۲۱ روز از انتقال گلدان‌ها به شاسی سرد، درصد بقاء و بازیافت گیاهچه‌ها با شمارش تعداد بوته‌های زنده از رابطه ۲ تعیین شد. علاوه بر 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 ۵۰ درصد نمونه‌ها بر مبنای نشت الکترولیت‌ها (LT_{50ei}) بر اساس رسم منحنی‌های میانگین درصد نشت برگ هر رقم در مقابل دماهای یخ‌زدگی و با توجه به روش ارائه شده توسط آندرسون و همکاران (Anderson et al. 1988) و اینگرام (Ingram 1985) و بر اساس رابطه ۳ تعیین گردید:

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

$$[\times 100] \text{ (تعداد گیاهان قبل از تیمار یخ‌زدگی) / (تعداد گیاهان زنده پس از تیمار یخ‌زدگی)} \quad (2)$$

گیاه توسط دستگاه IRGA مدل LCA4 (کمپانی ADC) انجام گردید. برای این منظور میزان فتوستنتز 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 یخ‌زدگی اندازه‌گیری شد.

تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار 9.1 SAS، SPSS 15 و Sigma Plot 7 صورت گرفت. برای رسم نمودارها از نرم‌افزارهای Excel 2010 و Curve Expert استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از واکنش ارقام چغندرقدند 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 قطر ریشه پس از دوره بازیافت در مقایسه با ارقام حساس بود (جدول ۲).

$$E_{lp} = E_{l1} + [(E_{lm} - E_{l1}) / (1 + e^{-B(T-T_m)})] \quad (3)$$

در رابطه ۳، E_{lp} (مقدار برآورد شده نشت الکترولیت‌ها)، E_{l1} (حد پایین نشت الکترولیت‌ها)، E_{lm} (حد بالای نشت الکترولیت‌ها)، e (۲/۷۱۴)، B (سرعت افزایش شیب 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 یا نقطه تلاقی خط مماس با منحنی است (Zhu and Liu 1987).

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

فلورسانس کلروفیل توسط دستگاه فلورومتر (OS1-F1 chlorophyll Fluorometer) و با اندازه‌گیری بخش کناری جوان‌ترین برگ کاملاً توسعه یافته (با فاصله از رگبرگ میانی) در طی زمان‌های دو تا ۷۲ ساعت پس از اعمال تنش یخ‌زدگی 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)، ΔF (فلورسانس متغییر) و $\Delta F/F_{ms}$ (کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II) بودند. اندازه‌گیری میزان فتوستنتز خالص

و کاردونا و همکاران (1997) نشان دادند که شیب منحنی درصد نشت الکترولیت‌ها در مقابل دمای یخ‌زدگی، در ارقام مقاوم به سرما کمتر از ارقام حساس به سرما است و می‌تواند به‌عنوان یکی از معیارهای مقاومت به سرما منظور شود.

نتایج حاصل از همبستگی صفات نشان داد بین درصد نشت الکترولیت‌ها و درصد بقاء همبستگی منفی و معنی‌داری ($r = -0/65^{***}$) 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 ($P < 0/001$) وجود دارد (جدول ۳). نتایج مشابهی از این نوع همبستگی در تربتی‌کاله (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 Monotunno و SBSI1 مشاهده گردید (جدول ۱). وجود همبستگی بسیار قوی و منفی بین LT_{50su} و درصد بقا ($r = -0/99^{***}$) نشان دهنده این است که ارقام با LT_{50su} منفی‌تر از بالاترین درصد بقا پس از دوره بازیافت برخوردارند (جدول ۴). همچنین نتیجه‌گیری گردید علی‌رغم این که رقم Monotunno از کمترین 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 الکترولیت‌ها نیز بین ارقام مختلف تفاوت معنی‌داری ($P < 0/001$) را نشان دادند (جدول ۱)، میزان نشت الکترولیت‌ها تا دمای -5 درجه سانتی‌گراد ناچیز بود اما با کاهش بیشتر دما، ارقامی که با شیب ملایم‌تری به حداکثر مقدار نشت خود رسیده و مقدار کل نشت کمتری داشتند در مقایسه با سایر ارقام از مقاومت بیشتری نسبت به تنش یخ‌زدگی برخوردار بودند. در بین ارقام مورد مطالعه، رقم Monotunno با میانگین 26 درصد و حداکثر نشت 54 درصد و رقم Jolge با میانگین 39 درصد و حداکثر نشت 80 درصد به ترتیب از کمترین و بیشترین مقدار نشت الکترولیت‌ها 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 الکترولیت‌ها پس از تیمارهای یخ‌زدگی قادر به افزایش درصد زنده ماندن و بقاء می‌باشند. کاردونا و همکاران (1997) نیز اظهار داشتند که تأثیر تنش سرما بر میزان نشت الکترولیت، بسته به میزان تحمل به یخ‌زدگی ارقام مختلف گیاهی، متفاوت است. نظامی و همکاران (2006)

در هر دو دمای ۵۰ درصد کشندگی می‌توانند به‌عنوان ارقام مقاوم به یخبندان انتخاب شوند.

جدول ۴ حاکی از همبستگی غیرمعنی‌دار بین درصد نشت الکتروولت‌ها 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 کشندگی براساس نشت و بقاء با شاخص‌های مربوط به نشت الکتروولت‌ها و درصد بقاء نشان می‌دهند که ارقام مورد مطالعه در دو گروه جداگانه قرار می‌گیرند. به‌طوری‌که در ارقام Monotunno، Giada و Palma (گروه الف) این همبستگی‌ها مثبت و در برخی موارد معنی‌دار بوده، در حالی‌که 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 طوقه ($r = -0/649^*$) 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 بقاء ($r = -0/68$) و LT_{50su} ($r = 0/65$) همبستگی‌ها معنی‌دار نیست. این نتایج با یافته‌های گذشته بر روی نخود (Nezami 2002) و چغندرقد بهاره (Nezami et al. 2010) مبنی بر همبستگی مثبت و معنی‌دار بین $RDMT_{50}$ با درصد بقاء و LT_{50su} مغایرت دارد. لذا به‌نظر نمی‌رسد این شاخص تخمین دقیقی از برآورد خسارت سرما در ارقام مورد مطالعه چغندرقد منظور شود.

نتایج هم‌چنین نشان دادند که رقم Monotunno با پایین‌ترین LT_{50el} (۱۲- درجه سانتی‌گراد) و کمترین درصد نشت الکتروولت‌ها 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 به‌علت پایین بودن LT_{50su} در مقایسه با LT_{50el} در کلیه ارقام چغندرقد، درصد نشت الکتروولت‌ها 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 چغندرقد 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 فتوشیمیایی 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 تنش یخ‌زدگی، مقادیر این پارامتر افزایش یافت و تقریباً به سطح قبل از اعمال تنش نزدیک شد (شکل ۱). مطالعه تنش یخ‌زدگی بر گیاه جو نیز نشان داد، این گیاه توان بازیابی کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II در طی ۷۲ ساعت پس از آزمایش را داشته ولی مقادیر این پارامتر کاملاً به مقادیر قبل از تنش نمی‌رسد، که دلیل این عدم توانایی، برگشت‌پذیری ظرفیت احیاء شده الکترون و خسارت وارده به مراکز واکنش فتوستتزی 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 فتوشیمیایی فتوسیستم II با درصد بقاء

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

نتایج نشان دادند که در ارقام متحمل به یخ‌زدگی با کاهش درصد نشت الکترولیت‌ها، شاخص‌های LT_{50el} و LT_{50su} نیز به‌طور معنی‌داری کاهش یافته و رابطه مثبت و معنی‌داری بین LT_{50el} با LT_{50su} ($r = 0.75^*$) 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، چغندرقد (Nezami et al. 2010) و گلرنگ (Nezami and Naghedinia 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 خوسرمایی و عدم خوسرمایی برخوردارند. جدول ۵ هم‌چنین بیان‌گر روابط مشابهی در همبستگی بین صفات مورفولوژیکی 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 چغندرقد مورد مطالعه دو رقم Monotunno و SBSII به ترتیب با میانگین ۰/۷ و ۰/۵۹ از بیشترین و کمترین مقدار کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II برخوردار بودند (جدول ۱). روند تغییرات این شاخص در دماهای مختلف یخ‌زدگی نشان

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

وجود همبستگی قوی و منفی بین نسبت $\Delta F/F_{ms}$ با LT_{50el} ($r = -0.84^{***}$) و LT_{50su} ($r = -0.85^{***}$) نشان‌دهنده این است که ارقامی با دماهای ۵۰ درصد کشندگی کمتر از عملکرد کوآتومی بالاتری در مقایسه با ارقام حساس برخوردارند. نتایج هاسلت (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_{50} نشت، احیاءتری فنیل تترازولیوم کلراید و ارزیابی‌های ظاهری (Visual assessment) دارد.

تنش یخ‌زدگی، فتوستنز 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 دی‌اکسید کربن بر مترمربع بر ثانیه از بالاترین میزان فتوستنز 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.

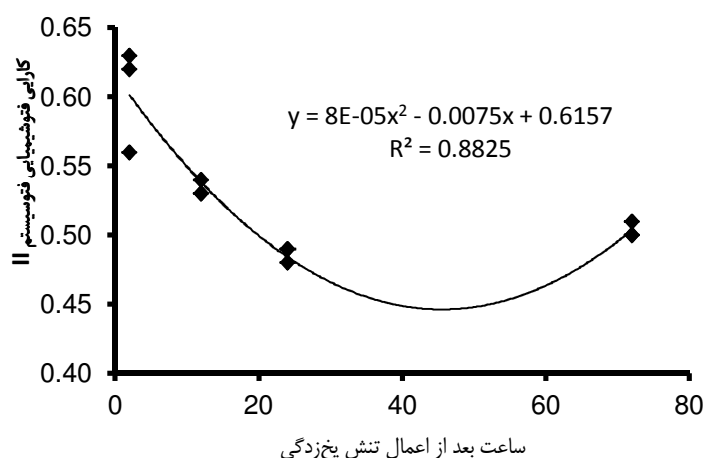
جلیلیان و همکاران (Jalilian et al. 1999) نیز کاهش شاخص‌های حداکثر فلورسانس کلروفیل (Fm) و کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II در ارقام بهاره چغندرقد را دلیل افزایش شدت خسارت یخ‌زدگی در گیاهان ذکر نمودند. دای و همکاران (2007) نیز نتیجه گرفتند که از بین پارامترهای فلورسانس کلروفیل، سرعت انتقال الکترون‌ها در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

جدول ۳ هم‌چنین بیان‌گر وجود همبستگی منفی و قوی بین شاخص $\Delta F/F_{ms}$ و میانگین درصد نشت ($r = -0.7^{***}$) 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 الکترولیت‌ها با میزان فتوستتزر 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 فتوستتزر پس از اعمال تنش یخ‌زدگی با شاخص‌های LT_{50el} ، LT_{50su} و $RDMT_{50}$ بود اما این رابطه تنها با LT_{50su} ($r = -0.71^*$) همبستگی معنی‌داری داشت (جدول ۴).

تا دمای -14 - درجه سانتی‌گراد توانستند سیستم فتوستتتری خود را پس از 72 ساعت احیا نموده و خسارت وارده را جبران کنند اما دماهای -16 و -18 - درجه سانتی‌گراد باعث بروز خسارت غیرقابل برگشت به سیستم فتوستتتری گیاه شدند.

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



شکل ۱ تغییرات میانگین کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II در ارقام چغندرقد پاییزه طی دوره‌های مختلف زمانی در مقابل اعمال تنش یخ‌زدگی در شرایط کنترل شده (هرنقطه میانگین 70 اندازه‌گیری است)

جدول ۱ گروه‌بندی میانگین صفات فیزیولوژیکی ارقام چغندرقد پاییزه پس از اعمال دماهای یخ‌زدگی

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}	$\Delta F/F_{ms}$	فتوستتزر سه هفته پس از اعمال سرما
Suprema	۸۸/۳ a	-۱۱/۸c	-۱۶/۹ c	-۱۶/۸ c	۳۷/۰ a	۸۱/۴ a	۴۸/۲ a	۷۶/۷ a	-۰/۶۵۸b	۸/۷ b
Jolge	۸۵/۳ ab	-۱۱/۹ c	-۱۶/۳ bc	-۱۴/۶ a	۳۸/۷ a	۷۹/۹ a	۴۹/۳ a	۷۷ a	-۰/۶۵۵ b	۷/۹ bc
PP8	۸۰ b	-۱۱/۴ abc	-۱۵/۲a	-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	-۱۵/۲a	-۱۵/۴ ab	۳۷/۱ b	۶۳/۳ bc	۳۹/۹ b	۵۸/۵ bc	-۰/۵۹۹ e	۸/۲ bc
Monotunno	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	-۱۴/۶a	۳۱/۶ b	۶۶/۸ b	۳۶/۵ 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 معنی‌داری ندارند.

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

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

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 الکترولیت، فلورسانس کلروفیل و فتوستنز در ارقام چغندرقد پاییزه

صفات	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲
۱-تعداد برگ												
۲-سطح برگ	۰/۰۷***											
۳-وزن برگ	۰/۷۳***	۰/۹۸***										
۴-قطر ریشه	۰/۹۳***	۰/۶۷***	۰/۷۴***									
۵-طول ریشه	۰/۱۸***	۰/۴۹***	۰/۵۱***	۰/۷۵***								
۶-درصد بقا	۰/۱۸***	۰/۶۳***	۰/۶۴***	۰/۸۳***	۰/۸۷***							
۷-درصد نشت	۰/۶۲***	۰/۵۴***	۰/۵۴***	۰/۵۴***	۰/۶***	۰/۶۵***						
۸-Fs	۰/۶۸***	۰/۴***	۰/۴۳***	۰/۶۵***	۰/۶۸***	۰/۷۴***	۰/۶۱***					
۹-FMS	۰/۷۳***	۰/۶۷***	۰/۶۸***	۰/۶۵***	۰/۷۳***	۰/۷۶***	۰/۷۸***	۰/۸۳***				
۱۰-ΔF	۰/۷۲***	۰/۶۹***	۰/۶۸***	۰/۶۴***	۰/۷۱***	۰/۸۳***	۰/۷۸***	۰/۷۸***	۰/۹۹***			
۱۱-ΔF/F _{ms}	۰/۸۲***	۰/۶۹***	۰/۶۹***	۰/۷۸***	۰/۸۵***	۰/۹۷***	۰/۷۰***	۰/۷۶***	۰/۹۲***	۰/۹***		
۱۲-فتوستنز یک هفته بعد تنش	۰/۶۱***	۰/۶۹***	۰/۶۹***	۰/۵۴***	۰/۵۵***	۰/۵۸***	۰/۸۷***	۰/۵۶***	۰/۷۹***	۰/۱۸***	۰/۶۷***	
۱۳-فتوستنز سه هفته بعد تنش	۰/۶۵***	۰/۶۵***	۰/۶۶***	۰/۵۹***	۰/۶۲***	۰/۶۷***	۰/۹۴***	۰/۶۶***	۰/۸۳***	۰/۱۸۴***	۰/۷۳***	۰/۹۵***

*** معنی‌دار در سطح احتمال یک در هزار

جدول ۴ ضرایب همبستگی (r) بین LT_{50el} ، LT_{50su} ، $RDMT_{50}$ درصد نشت در LT_{50su} و LT_{50el} در ارقام مختلف چغندر قند پاییزه

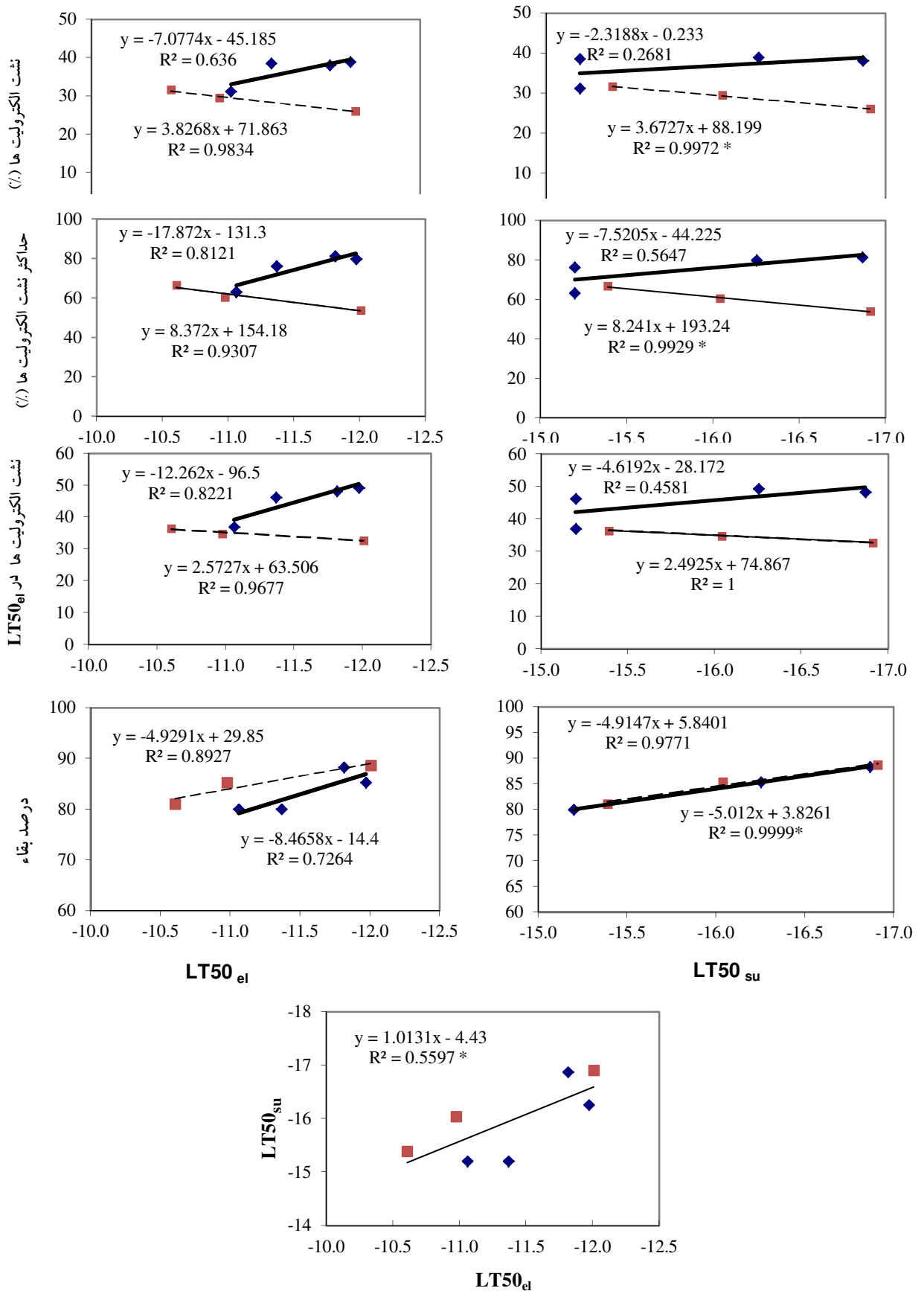
صفات	LT_{50el}	LT_{50su}	$RDMT_{50}$	درصد نشت در LT_{50el}	درصد نشت در LT_{50su}
LT_{50su}	۷۴۸/۰ *				
$RDMT_{50}$	۰/۲۵۷ ns	۰/۶۴۸ ns			
میانگین درصد نشت	۰/۲۵۳ ns	۰/۱۱۴ ns	۰/۲۵۵ ns		
حداکثر درصد نشت	۰/۲۷۳ ns	۰/۰۰۳ ns	۰/۱۷۳ ns		
درصد نشت در LT_{50el}	۰/۴۳۸ ns	۰/۰۷۵ ns	۰/۱۵۶ ns		
درصد نشت در LT_{50su}	۰/۳۷۴ ns	۰/۰۷۷ ns	۰/۱۷۲ ns	۰/۹۸۹ ***	
$\Delta F/F_{ms}$	۰/۸۴۲ **	۰/۸۴۹ **	۰/۲۶۷ ns	۰/۰۷۴ ns	۰/۰۶۸ ns
درصد بقا	۰/۶۹۹ ns	۰/۹۹ ***	۰/۶۷۹ ns	۰/۰۲۵ ns	۰/۰۲۹۸ ns
فتوستتیز یک هفته پس از اعمال سرما	۰/۳۲۱ ns	۰/۷۰۶ °	۰/۵۷۰ ns	۰/۶۰۸ ns	۰/۶۱۱ ns
فتوستتیز سه هفته پس از اعمال سرما	۰/۲۹۱ ns	۰/۶۷۷ ns	۰/۷۰۱ ns	۰/۵۸۹ ns	۰/۶۱۳ ns
سطح برگ	۰/۴۷۰ ns	۰/۶۸۷ ns	۰/۳۸۱ ns	۰/۴۸۷ ns	۰/۵۰۱ ns
وزن خشک برگ	۰/۴۴۶ ns	۰/۶۸۱ ns	۰/۳۹۱ ns	۰/۴۷۳ ns	۰/۴۸۹ ns
قطر ریشه	۰/۱۴۶ ns	۰/۲۸۳ ns	۰/۳۶۴ ns	۰/۲۰۶ ns	۰/۱۶۳ ns
طول ریشه	۰/۱۵۵ ns	۰/۲۰۸ ns	۰/۱۵۸ ns	۰/۵۸۶ ns	۰/۶۲۸ ns

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

جدول ۵ روابط همبستگی گروهی بین ارقام چغندر قند پاییزه براساس LT_{50su} و LT_{50el} گروه الف- ارقام Monotunno، Palma و Giada و گروه ب- سایر ارقام

LT_{50su}		LT_{50el}		
ب	الف	ب	الف	
ns	+	ns	+	میانگین درصد نشت
-	+	ns	+	حداکثر درصد نشت
ns	+	ns	+	درصد نشت در LT_{50el}
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 درصد *** معنی‌دار در سطح احتمال یک در هزار



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

قدردانی

دانشگاه فردوسی مشهد، تامین شده است که بدینوسیله سپاسگزاری می‌گردد.

بودجه این تحقیق از محل اعتبارات معاونت محترم پژوهشی دانشکده کشاورزی

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, Lindstorm 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 Englis)

- 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, Ziaee 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.