

## تأثیر تنش یخ زدگی بر شاخص‌های مورفوفیزیولوژیکی و فلورسانس کلروفیل گیاه دارویی نوروبک (*Salvia leriifolia* Benth.) در مرحله گیاهچه‌ای

مجید دشتی<sup>۱\*</sup>، محمد کافی<sup>۲</sup>، حسین توکلی<sup>۱</sup>، مهدی میرزا<sup>۳</sup> و احمد نظامی<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup>مشهد، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی

<sup>۲</sup>مشهد، دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده کشاورزی، گروه زراعت و اصلاح نباتات

<sup>۳</sup>تهران، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۰/۷ تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۲/۲۵

### چکیده

به منظور ارزیابی صفات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II گیاه نوروبک (*Salvia leriifolia* Benth.) در شرایط تنش یخ‌زدگی، یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در شرایط کنترل شده اجرا شد. گیاهان در مرحله گیاهچه‌ای در معرض دماهای یخ‌زدگی (صفر، -۲، -۴، -۶، -۸، -۱۰، -۱۲، -۱۴، -۱۶، -۱۸، -۲۰، -۲۲ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفتند. شاخص‌های مورفولوژیکی، درصد نشت الکترولیتها و بقاء پس از سه هفته و پارامترهای فلورسانس کلروفیل در پنج سطح بازیابی (۰، ۶، ۱۲، ۲۴، ۷۲ ساعت بعد از تنش) اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد با کاهش دما، درصد نشت الکترولیتها افزایش یافته و در دمای  $22^{\circ}\text{C}$  به حداکثر رسید. درصد بقاء گیاهان تا  $14^{\circ}\text{C}$  تغییری نکرد، اما در  $22^{\circ}\text{C}$  تمام گیاهان از بین رفتند. دمای ۵۰٪ کسندگی بر اساس بقا و نشت به ترتیب به میزان  $16/5-$  و  $11/8-$  درجه سانتیگراد و دمای کاهنده ۵۰ درصد وزن خشک به میزان  $16/5-$  درجه سانتیگراد تعیین شد. کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II ( $F'_{v}/F'_{m}$ ) تا دمای  $6^{\circ}\text{C}$  تحت تأثیر قرار نگرفت، اما با کاهش دما به  $22^{\circ}\text{C}$  به میزان ۷۰٪ نسبت به دمای صفر درجه سانتیگراد کاهش یافت. کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II، ۲۴ ساعت پس از بازیابی به میزان ۴۰٪ در مقایسه با شاهد کاهش یافت، اما با ادامه بازیابی تا ۷۲ ساعت افزایش نشان داد. درصد نشت الکترولیتها همبستگی منفی با درصد بقا ( $r=-0/82^{***}$ ) و کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II ( $r=-0/95^{***}$ ) داشت.

واژه‌های کلیدی: نوروبک، تنش سرما، فلورسانس کلروفیل، نشت الکترولیت

\* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۵۵۱۵۴۶۵۲ پست الکترونیکی: Majiddashti46@gmail.com

### مقدمه

بروز خسارت و یا مرگ گیاه در دماهای پایین به دلیل اختلال در فعالیت پروتئین‌ها، یخ زدن آب بین سلولی و حرکت آب از پروتوپلاسم به فضای بین سلولی و یا تشکیل کریستالهای یخ در داخل پروتوپلاسم انجام می‌شود (۵). در آزمایشهای بررسی تحمل به سرما در شرایط مزرعه، محققان بقای گیاهان در مزرعه پس از زمستان را به عنوان معیار ارزیابی تحمل گیاهان به شرایط سخت زمستان

دماهای پایین در مناطق خشک و معتدله یکی از تنش‌های مهم غیر زیستی و محدودکننده عملکرد گیاهان زراعی در کشت پاییزه می‌باشد، بنابراین تحمل گیاهان به تنش سرما یکی از عوامل ضروری جهت بقاء زمستانه و رشد و تولید مناسب آنها ذکر شده است (۷). توانایی تحمل به تنش یخ‌زدگی، ویژگی مهم گیاهانی است که دوره زمستان را در شرایط سخت با دماهای زیر صفر سپری می‌کنند (۲۴).

اندازه‌گیری پارامترهای فلورسانس کلروفیل روش مناسب و غیرتخریبی برای مقایسه بین گونه‌های گیاهی از نظر تحمل به تنش‌های محیطی است. مجدی و همکاران (۳) نشان دادند که کاهش دمای محیط باعث کاهش کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم در ارقام حساس و متحمل به سرمای گندم شد، ولی میزان این کاهش در ارقام متحمل بصورت معنی‌داری کمتر از ارقام حساس بود. از بین پارامترهای فلورسانس کلروفیل، سرعت انتقال الکترونها در فتوسیستم II، پس از اعمال شوک یخ زدگی و در طی دوره بازیابی، می‌تواند بعنوان شاخصی مناسب در شناسایی و ارزیابی ارقام متحمل به سرمای جو مورد استفاده قرارگیرد (۱۳).

گیاه نوروزک (*Salvia lerifolia Benth.*) از جمله گیاهان دارویی با ارزش و چند ساله خانواده نعناعیان (Lamiaceae) است که به دلیل بهره‌برداری بی‌رویه در معرض خطر انقراض است (۱۷). رویشگاه‌های این گونه منحصرراً در مراتع بیابانی کشور با اقلیم خشک تا نیمه خشک سرد در استانهای خراسان رضوی و سمنان و نیز بخشهایی از کشور افغانستان می‌باشد (۲۳). وقوع یخبندان در رویشگاه‌های فوق و مشاهده گیاهان چند ساله نوروزک با حداقل خسارت در مواجهه با دماهای یخ زدگی، بیانگر تحمل نسبتاً بالای این گیاه به این تنش می‌باشد. با وجود این تاکنون گزارشی مبنی بر آستانه تحمل به یخ زدگی این گیاه به ویژه در مرحله گیاهچه‌ای منتشر نشده است. لذا این آزمایش با هدف بررسی میزان تحمل به سرمای نوروزک و نیز تعیین روابط همبستگی بین صفات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی تحت شرایط تنش یخ‌زدگی در مرحله گیاهچه‌ای انجام شد.

### مواد و روشها

این تحقیق در دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۱۳۹۰ انجام شد. بذور رسیده نوروزک در نیمه دوم اردیبهشت ۱۳۹۰ از دو رویشگاه واقع در منطقه هلالی

مورد تأکید قرار داده اند (۱۸). به دلیل تنوع مکانی و زمانی وقوع سرما در شرایط مزرعه، ارزیابی گیاهان در این شرایط مشکلات خاصی از جمله عدم یکنواختی دما و در نتیجه خطا در به‌گزینی را دربر خواهد داشت (۱۱). از این رو محققان غالباً از روش آزمون یخ زدگی در شرایط کنترل شده استفاده می‌کنند. نتایج بدست آمده از آزمایش‌های انجام شده در گیاهان ذرت و باقلا به روش مذکور همبستگی خوبی با بقاء گیاه در مزرعه نشان دادند (۱۸، ۱۱). با وجود این ارزیابی بقا در شرایط کنترل شده نیز تخریبی، پرهزینه و زمانبر بوده و به ویژه در زمانی که مقدار کمی بذور در دسترس است، انجام این آزمون امکان پذیر نمی‌باشد. بنابراین محققان شناسایی برخی شاخص‌های فیزیولوژیک متحمل به سرما در گیاهان را مورد تأکید قرار داده اند (۲۰، ۱۰).

شاخص‌های متعددی برای ارزیابی سریع و مؤثر گیاهان در مواجهه با تنش یخ زدگی بررسی شده است، از جمله این شاخص‌ها، نشت الکترولیت‌ها بوده که بر اساس خسارتهای ناشی از یخ‌زدگی بر غشاء سلول اندازه‌گیری می‌شود. این روش نسبتاً سریع و ارزان بوده و تخمین خوبی از مقاومت گیاه به تنش یخ‌زدگی و میزان خسارت را به غشاء سلولی ارائه می‌دهد (۴، ۱۲).

زینالی یادگار و همکاران (۲) نشان دادند پیش‌سرما در دانه رسته‌های سویا، منجر به افزایش توان مقاومت آنها در برابر دمای ۴ درجه سانتیگراد شد. نظامی و همکاران (۷) با مطالعه نشت الکترولیت‌ها به‌عنوان شاخصی از خسارت یخ‌زدگی در کلزا بیان کردند که کاهش دما سبب افزایش میزان نشت الکترولیت‌ها در کلیه ارقام مورد بررسی شد. برخی محققان نیز دمایی را که سبب ۵۰ درصد نشت الکترولیت می‌شود به عنوان دمای ۵۰ درصد کشندگی ( $LT_{50el}$  Electrolyte Leakage Lethal Temperature) پیشنهاد کردند (۲۵، ۱۵).

برای مدت ۷۲ ساعت 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 به ظروف شیشه‌ای حاوی ۷۵ میلی لیتر آب دو بار تقطیر شده منتقل شدند. نمونه‌ها سپس به مدت ۲۴ ساعت در درجه حرارت آزمایشگاه بر روی شیکر قرار گرفتند. پس از گذشت این زمان، هدایت الکتریکی هر نمونه با استفاده از دستگاه EC متر (مدل Jenway) ساخت انگلستان اندازه‌گیری شد ( $E_1$ ). به منظور اندازه‌گیری میزان کل نشت الکترولیت‌ها پس از مرگ سلولها، نمونه‌ها در اتوکلاو با فشار ۱۵ پوند بر اینچ مربع (PSI) معادل ۱/۰۳ بار و دمای تقریبی ۱۲۱ درجه سانتیگراد به مدت ۲۰ دقیقه قرار گرفتند. سپس نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت بر روی شیکر قرار گرفته و هدایت الکتریکی نمونه‌ها دوباره ثبت شد ( $E_2$ ). درصد نشت الکترولیت‌ها برای هر تیمار با استفاده از رابطه ۱ محاسبه شد. فلورسانس کلروفیل توسط دستگاه فلورومتر (OS1-F1 chlorophyll Flurometer) و در پنج زمان بازبایی پس از اعمال تنش یخ زدگی [صفر (شاهد)، ۶، ۱۲، ۲۴ و ۷۲ ساعت] اندازه‌گیری شد. کلیه اندازه‌گیری‌ها روی جوانترین برگ کاملاً توسعه یافته (با فاصله از رگبرگ میانی) انجام شد. پارامترهای اندازه‌گیری شده توسط دستگاه شامل:  $F_0$  (فلورسانس اولیه برگ خو گرفته به روشنایی)،  $F_m$  (بیشینه فلورسانس برگ خو گرفته به نور)،  $F_v$  (فلورسانس متغیر) و  $F_v/F_m$  (کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II) بودند.

پس از گذشت ۲۱ روز از انتقال گلدانها به شاسی سرد، درصد بقاء و بازبایی گیاهچه‌ها با شمارش تعداد بوته‌های زنده از رابطه ۲ اندازه‌گیری شد. علاوه بر این در پایان آزمایش صفات مرتبط با رشد از جمله سطح و وزن خشک برگ، طول و وزن خشک ریشه‌ها و نیز قطر طوقه مورد بررسی قرار گرفت. درجه حرارت کشنده برای ۵۰

بجستان (۳۴° ۲۹' ۳۴" شمالی و ۵۸° ۰۷' ۳۰" شرقی) و سبزوار (۳۸° ۰۰' ۳۸" شمالی و ۵۷° ۴۲' ۱۷" شرقی) جمع‌آوری شدند. در اوایل شهریورماه ۱۳۹۰ بذور هر دو اکوتیپ پس از ضدعفونی با قارچ‌کش کربندازیم ۶۰٪ به میزان ۱/۵ در ۱۰۰۰، به تعداد ۲۵ عدد در ظروف پتری ۹۰ میلی متری بین دو لایه کاغذ صافی واتمن شماره یک و درجه حرارت مطلوب  $15 \pm 1$  درجه سانتیگراد کشت شدند. پس از جوانه زنی، شش گیاهچه سالم با طول ریشه حداکثر ۱۰ تا ۱۵ میلی متر، در داخل گلدانهای پلاستیکی با ارتفاع ۱۵ و قطر دهانه ۱۲ سانتیمتر با ترکیب یکسانی از ماسه، خاک مزرعه و خاک‌برگ نشا شدند. پس از استقرار گیاهان، تعداد سه بوته در هر گلدان نگهداری و سایر بوته‌ها حذف شدند. برای هر تکرار دو گلدان در نظر گرفته شد. به منظور اعمال خوسرمایی (Acclimation) گیاهچه‌ها تا مرحله شش تا هشت برگی در شرایط طبیعی نگهداری شدند. گلدانها ۲۴ ساعت قبل از اعمال دماهای یخ زدگی، آبیاری شدند و بعد در اوایل دی ماه ۱۳۹۰ برای اعمال تیمارهای دمایی به فریزر ترموگرادین منتقل شده و در معرض ۱۲ دمای یخ زدگی (صفر، -۲، -۴، -۶، -۸، -۱۰، -۱۲، -۱۴، -۱۶، -۱۸، -۲۰، -۲۲ درجه سانتیگراد) قرار گرفتند.

در آغاز آزمایش دمای فریزر پنج 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 هستک‌های یخ (INAB) (Ice Nucleation Active Bacteria) استفاده شد (۱۹). 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 یخ زدگی به مدت یک ساعت نگهداری شدند و در پایان این مدت و به منظور کاهش سرعت ذوب، نمونه‌ها به اتاقک رشد با دمای  $1 \pm 5$  درجه سانتیگراد و تشعشع ۳۰۰ میکرومول بر متر مربع بر ثانیه

معنی داری در کلیه صفات بررسی شده وجود نداشت، لذا ارزیابی تحمل به سرما با میانگین دو اکوتیپ (۶ تکرار) انجام شد. دماهای یخ زدگی تأثیر معنی داری ( $P \leq 0/001$ ) بر میزان نشت الکترولیت های گیاه نوروک داشتند. میزان نشت الکترولیت‌ها تا دمای ۲- درجه سانتیگراد تحت تأثیر قرار نگرفت اما با کاهش بیشتر دما، میانگین درصد نشت الکترولیت‌ها به طور معنی داری ( $P \leq 0/05$ ) افزایش یافته و در دمای  $22^{\circ}\text{C}$  - به حداکثر ۸۳ درصد رسید (جدول ۱). تأثیر تنش سرما بر میزان نشت الکترولیت‌ها، بستگی به میزان تحمل به یخ زدگی ارقام مختلف گیاهی، متفاوت است. لذا به نظر می‌رسد شیب منحنی درصد نشت الکترولیت‌ها در مقابل دمای یخ زدگی، در ارقام متحمل به سرما کمتر از ارقام حساس بوده و می‌تواند بعنوان یکی از نشانه‌های مقاومت به سرما در نظر گرفته شود (۱۲،۸). یوگنیا و همکاران (۱۴) نیز با ارزیابی میزان مقاومت گیاه *Trifolium hirtum* به تنش یخ زدگی نشان دادند که با کاهش دما از ۶- به ۱۴- درجه سانتی‌گراد، میزان نشت الکترولیت‌ها افزایش یافت. نظامی و همکاران (۷) در بررسی اثر تنش یخ زدگی بر نشت الکترولیت‌های ده رقم کلزا گزارش کردند که با کاهش دما به کمتر از ۴- درجه سانتیگراد درصد نشت الکترولیت‌ها به طور معنی داری افزایش می‌یابد. بر اساس نتایج این تحقیق دمای ۱۱/۸- درجه سانتیگراد به عنوان دمای کشنده ۵۰ درصد نمونه‌های گیاهی بر اساس نشت الکترولیت‌ها ( $LT_{50el}$ ) تعیین شد (شکل ۱). در بررسی انجام شده بر روی هفت رقم چغندر قند پاییزه نیز  $LT_{50el}$  آنها بین ۱۰/۶- تا ۱۲- درجه سانتیگراد گزارش شده است (۶).

میانگین درصد بقای گیاهان تا دمای ۱۴- درجه سانتیگراد تحت تأثیر قرار نگرفت اما با کاهش بیشتر دما، درصد بقا با شیب تندی کاهش یافت و در دمای ۲۲- درجه سانتیگراد به صفر رسید (شکل ۱، جدول ۱). مطالعه اثر دماهای یخ- زدگی بر درصد بقای گیاهان رازیانه نیز نشان داد که با کاهش دما به ۱۲- درجه سانتی‌گراد، تنها ۱۵ درصد گیاهان

درصد نمونه‌ها بر اساس نشت الکترولیت‌ها ( $LT_{50el}$ ) بر اساس رسم منحنی‌های میانگین درصد نشت برگ در مقابل دماهای یخ زدگی بر اساس رابطه ۳ تعیین شد (۹).

$$100 \times (E_1/E_2) = \text{درصد نشت الکترولیت ها : رابطه ۱}$$

رابطه ۲

= درصد بقا

$$100 \times (\text{تعداد گیاهان قبل از تیمار}) / (\text{تعداد گیاهان زنده پس از تیمار})$$

$$\text{رابطه ۳ : } E_p = E_1 + [(E_m - E_1) / (1 + e^{-B(T - T_m)})]$$

در رابطه ۳،  $E_p$  (مقدار برآورد شده نشت الکترولیت‌ها)،  $E_1$  (حد پایین نشت الکترولیت‌ها)،  $E_m$  (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 (۲۷). درجه حرارت کشنده برای ۵۰٪ نمونه‌ها بر اساس درصد بقاء (Survival Lethal Temperature) ( $LT_{50su}$ ) و نیز دمای کاهنده ۵۰٪ وزن خشک ( $RDMT_{50}$ ) (Reduced Dry Matter Temperature 50) با استفاده از رسم نمودار درصد بقاء و وزن خشک اندام‌های هوایی هر اکوتیپ در مقابل دماهای یخ زدگی تعیین شد.

این مطالعه بصورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. در مورد صفات مرتبط با درصد و نسبت پس از تبدیل داده‌ها اقدام به تجزیه واریانس شد. تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار 9.1.SAS و SlideWrite 2.0 انجام شد و میانگین داده‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح آماری ۰/۰۵ مقایسه شدند.

## نتایج و بحث

صفات مورفولوژیکی و درصد نشت و بقا: نتایج این تحقیق نشان دادند که بین اکوتیپ‌های مورد مطالعه تفاوت

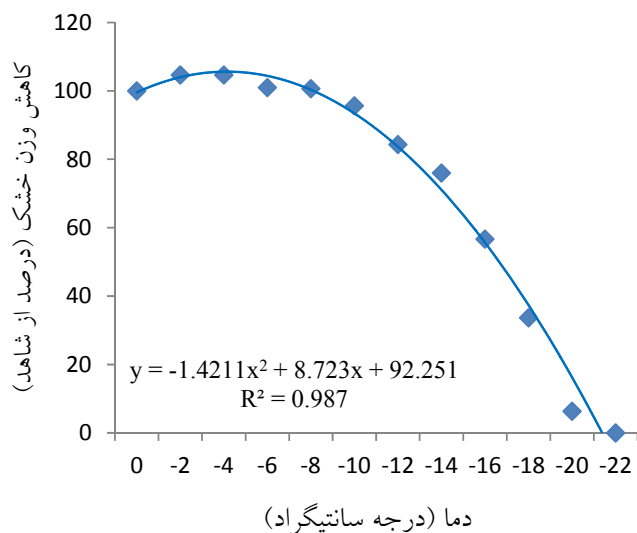
زننده ماندند (۲۲). بر اساس نتایج حاصل  $LT_{50su}$  گیاه نوروک معادل  $16/5$  - درجه سانتیگراد و میزان نشت الکترولیت‌ها در دماهای کشندگی نشت و بقا به ترتیب به میزان  $45/7$  و  $71/7$  درصد شد (شکل ۱).

جدول ۱- مقایسه میانگین صفات مورفولوژیکی و شاخص‌های درصد نشت و بقا در گیاه نوروک

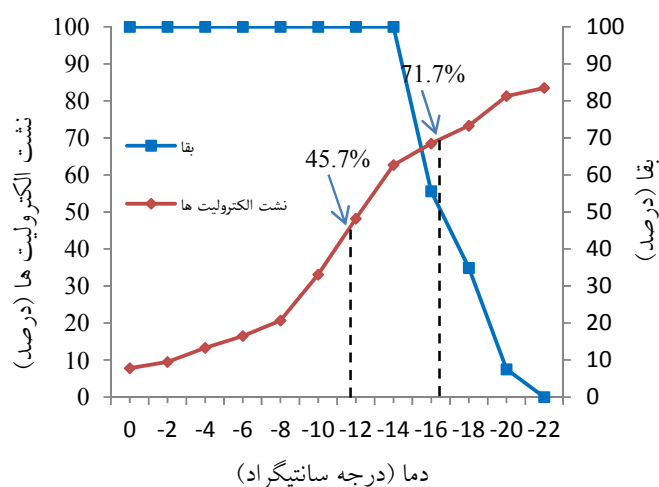
تیمار	سطح برگ (سانتیمتر مربع)	وزن خشک برگ (میلی‌گرم / گیاه)	وزن خشک ریشه (میلی‌گرم / گیاه)	قطر طوقه (میلیمتر)	طول ریشه (میلیمتر)	میانگین درصد بقاء	میانگین درصد نشت
صفر	۱۶/۵ <sup>ab</sup>	۱۵۹/۳ <sup>a</sup>	۷۶/۳ <sup>a</sup>	۴/۳ <sup>ab</sup>	۲۳/۳ <sup>a</sup>	۱۰۰ <sup>a</sup>	۷/۸ <sup>j</sup>
-۲	۱۷/۲ <sup>a</sup>	۱۶۶/۰ <sup>a</sup>	۷۸/۷ <sup>a</sup>	۴/۳ <sup>ab</sup>	۲۳/۲ <sup>a</sup>	۱۰۰ <sup>a</sup>	۹/۵ <sup>j</sup>
-۴	۱۷/۴ <sup>a</sup>	۱۶۷/۷ <sup>a</sup>	۷۷/۰ <sup>a</sup>	۴/۵ <sup>a</sup>	۲۲/۷ <sup>a</sup>	۱۰۰ <sup>a</sup>	۱۳/۳ <sup>i</sup>
-۶	۱۶/۶ <sup>ab</sup>	۱۵۹/۷ <sup>a</sup>	۷۹/۳ <sup>a</sup>	۴/۴ <sup>ab</sup>	۲۲/۳ <sup>a</sup>	۱۰۰ <sup>a</sup>	۱۶/۵ <sup>h</sup>
-۸	۱۶/۴ <sup>ab</sup>	۱۵۹/۳ <sup>a</sup>	۷۶/۳ <sup>a</sup>	۴/۳ <sup>ab</sup>	۲۲/۶ <sup>a</sup>	۱۰۰ <sup>a</sup>	۲۰/۷ <sup>g</sup>
-۱۰	۱۵/۱ <sup>b</sup>	۱۵۱/۳ <sup>ab</sup>	۷۶/۷ <sup>a</sup>	۴/۰ <sup>abc</sup>	۲۱/۹ <sup>a</sup>	۱۰۰ <sup>a</sup>	۳۳/۱ <sup>f</sup>
-۱۲	۱۲/۹ <sup>c</sup>	۱۳۳/۳ <sup>bc</sup>	۷۷/۰ <sup>a</sup>	۳/۹ <sup>abc</sup>	۲۲/۰ <sup>a</sup>	۱۰۰ <sup>a</sup>	۴۸/۲ <sup>e</sup>
-۱۴	۱۱/۶ <sup>c</sup>	۱۲۰/۷ <sup>c</sup>	۷۴/۷ <sup>a</sup>	۳/۸ <sup>abc</sup>	۲۲/۰ <sup>a</sup>	۱۰۰ <sup>a</sup>	۶۲/۷ <sup>d</sup>
-۱۶	۸/۱ <sup>d</sup>	۹۰/۳ <sup>d</sup>	۷۰/۳ <sup>a</sup>	۳/۷ <sup>bc</sup>	۲۱/۳ <sup>a</sup>	۵۵/۶ <sup>b</sup>	۶۸/۵ <sup>c</sup>
-۱۸	۴/۶ <sup>e</sup>	۵۳/۷ <sup>e</sup>	۶۷/۷ <sup>a</sup>	۳/۴ <sup>c</sup>	۲۱/۸ <sup>a</sup>	۳۴/۹ <sup>c</sup>	۷۳/۳ <sup>b</sup>
-۲۰	۰/۹ <sup>f</sup>	۹/۷ <sup>f</sup>	۱۹/۰ <sup>b</sup>	۰/۷ <sup>d</sup>	۶/۷ <sup>b</sup>	۷/۵ <sup>d</sup>	۸۱/۳ <sup>a</sup>
-۲۲	۰ <sup>f</sup>	۰ <sup>f</sup>	۰ <sup>c</sup>	۰ <sup>e</sup>	۰ <sup>c</sup>	۰ <sup>e</sup>	۸۳/۵ <sup>a</sup>

دما (درجه سانتیگراد)

در هر ستون میانگین‌های دارای یک حرف مشترک بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی‌داری ندارند.



شکل ۲- تغییرات وزن خشک برگ (درصد از گیاهان شاهد) در دماهای یخ‌زدگی در گیاه نوروک



شکل ۱- تغییرات درصد نشت الکترولیت‌ها و بقا در دماهای یخ‌زدگی در گیاه نوروک (فلش‌ها بیانگر میزان نشت در  $LT_{50el}$  و  $LT_{50su}$  هستند)

روند تغییرات شاخص  $F'_v/F'_m$  در دماهای مختلف یخ زدگی بیانگر این واقعیت است که این شاخص تا دمای ۶- درجه سانتیگراد تحت تأثیر قرار نگرفته اما با کاهش تدریجی دما به ۲۲- درجه سانتیگراد، به میزان ۷۰٪ در مقایسه با دمای صفر درجه سانتیگراد کاهش یافت. نتایج حاکی از عدم اختلاف معنی دار فلورسانس حداقل ( $F'_0$ ) تا دمای ۱۴- درجه سانتیگراد بود (جدول ۳). در بررسی روند کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II تحت تأثیر دماهای زیر صفر مشاهده شد که مقادیر این کارایی شش ساعت پس از اعمال تنش (۰/۵۰۹) به میزان ۳۰ درصد نسبت به شاهد کاهش یافت (جدول ۳ و شکل ۳ الف) ولی با گذشت زمان و طی دوره‌های ۱۲، ۲۴ و ۷۲ ساعت پس از تنش یخ‌زدگی این کاهش شدیدتر شد (شکل ۳ ب، پ و ت). به طوری که ۲۴ ساعت بعد از تنش یخ‌زدگی این شاخص در دمای ۲۲- درجه سانتیگراد تقریباً به صفر رسید. احتمال می‌رود دلیل تأثیر کمتر دماهای پایین در زمان شش ساعت پس از اعمال تنش یخ‌زدگی، ذوب نشدن کامل یخ تشکیل شده در گیاه تا این زمان بوده است ولی پس از گذشت ۱۲ ساعت از اعمال تنش و با ذوب شدن تدریجی یخ‌های تشکیل شده در گیاه اثرات تخریبی دماهای پایین آشکار شد.

نتایج بررسی تحمل ارقام گندم پاییزه به سرما نشان داد که کاهش دمای محیط باعث کاهش کارایی فتوسیستم II در ارقام حساس و متحمل شد، ولی میزان این کاهش در ارقام متحمل بصورت معنی داری کمتر از ارقام حساس بود (۳). بررسی میانگین داده‌های کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II در دوره های بازبازی نشان داد، که اعمال تیمارهای یخ‌زدگی اثرات متفاوتی بر این صفت داشت. به طوری که در طی ۲۴ ساعت اول پس از اعمال تیمار، این شاخص به میزان ۴۰ درصد نسبت به قبل از اعمال تنش کاهش یافت ولی پس از آن و با شروع بازبازی گیاه تا ۷۲ ساعت پس از تنش، مقدار  $F'_v/F'_m$  افزایش نشان داد (جدول ۳). دای و همکاران (۱۳) نیز نشان دادند گیاه جو توان بازبازی کارایی

نتایج حاصل از صفات مورفولوژیکی مورد مطالعه پس از ۲۱ روز دوره بازبازی نشان دادند که سطح و وزن خشک برگ‌ها تا دمای ۸- درجه سانتیگراد و پارامترهای مرتبط با ریشه تا ۱۶- درجه سانتیگراد تحت تأثیر قرار نگرفتند اما کاهش بیشتر دما باعث شد تا این صفات با شیب ملایمی کاهش یابند (جدول ۱). به طوری که وزن خشک برگ‌ها در دمای ۱۸- و ۲۰- درجه سانتیگراد به ترتیب به میزان ۶۶ و ۹۴ درصد در مقایسه با دمای صفر درجه سانتیگراد کاهش یافت. در مطالعه اثر دماهای یخ‌زدگی بر وزن خشک گیاهان رازیانه نیز مشاهده شد که با کم شدن دما، وزن خشک گیاه کاهش یافت، به طوری که در دمای ۱۲- درجه سانتیگراد وزن گیاهان معادل ۱۴ درصد وزن خشک گیاهان شاهد بود (۲۲). نتایج نشان داد بین درصد بقاء با کلیه صفات مورفولوژیکی همبستگی مثبت و معنی داری ( $P \leq 0/001$ ) وجود دارد، به طوری که بالاترین همبستگی بین درصد بقاء با وزن خشک برگ ( $r = 0/98^{***}$ ) مشاهده شد (جدول ۴). همبستگی بین وزن خشک برگ و تیمارهای دمایی حاکی از افزایش نسبی وزن خشک برگ تا دمای ۶- تا ۸- درجه سانتیگراد بعد از دوره بازبازی بود، اما این تفاوت از نظر آماری معنی دار نبود (شکل ۲). در این بررسی، دمای کاهنده ۵۰ درصد وزن خشک ( $RDMT_{50}$ ) گیاهان نوروک حدود ۱۶/۵- درجه سانتیگراد تعیین شد. نتایج همچنین نشان داد که بین درصد نشت الکترولیتها با درصد بقا همبستگی منفی و معنی داری ( $r = -0/82^{***}$ ) وجود داشت. علاوه بر این رابطه همبستگی بین این شاخص با کلیه صفات مورفولوژیکی در مرحله بازبازی منفی و معنی دار ( $P \leq 0/001$ ) بود (جدول ۴). نتایج مشابهی از این نوع همبستگی در تربتی‌کاله (۲۱) و چغندر قند پاییزه (۶) گزارش شده است.

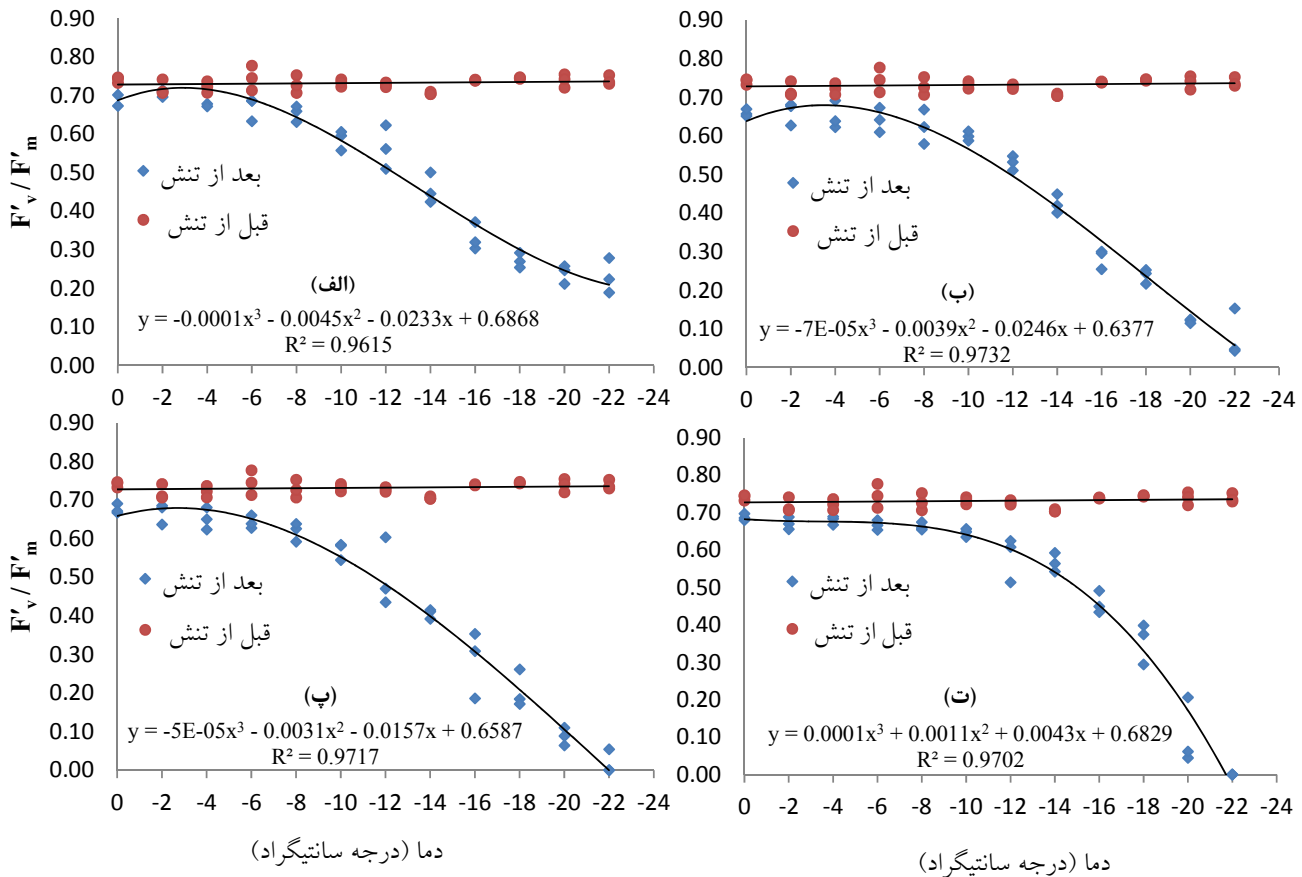
**پارامترهای فلورسانس کلروفیل:** بررسی نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات اصلی و متقابل تیمارهای اعمال شده تأثیر معنی داری ( $P \leq 0/001$ ) بر کلیه فاکتورهای مربوط به فلورسانس کلروفیل داشتند (جدول ۲).

های حداکثر فلورسانس کلروفیل ( $F_m$ ) و کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II در ارقام بهاره چغندرقد را دلیل افزایش شدت خسارت یخ زدگی در گیاهان ذکر کردند.

فتوشیمیایی فتوسیستم II در طی ۷۲ ساعت پس از تنش یخ زدگی را داشته ولی مقادیر این پارامتر به دلیل خسارت وارده به مراکز واکنش فتوستتزی کاملاً به مقادیر قبل از تنش نرسید. جلیلیان و همکاران (۱) نیز کاهش شاخص

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس و میانگین مربعات شاخص‌های فلورسانس کلروفیل در سطوح مختلف تنش یخ‌زدگی و دوره بازیابی در گیاه نوروزک

منابع تغییرات	درجه آزادی	فلورسانس اولیه ( $F'_0$ )	بیشینه فلورسانس ( $F'_m$ )	فلورسانس متغیر ( $F'_v$ )	کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II ( $F'_v/F'_m$ )
دما (A)	۱۱	۱۰۴۱۴***	۳۰۸۷۳۵***	۲۳۲۱۵۶***	۰/۴۵۹***
دوره بازیابی (B)	۴	۲۷۶۸***	۴۹۱۰۶۱***	۴۸۵۵۱۸***	۰/۴۸۸***
A×B	۴۴	۲۱۶۱***	۲۳۹۸۸***	۱۶۷۷۸***	۰/۰۳۵***
اشتباه آزمایشی	۱۲۰	۱۷۹	۱۲۷۴	۱۰۰۷	۰/۰۰۱۱
ضریب تغییرات (CV)		۷/۴	۷/۵۷	۱۰/۸۸	۶/۲۹
ضریب تبیین ( $r^2$ )		۰/۹۱	۰/۹۷۶	۰/۹۷۷	۰/۹۸۴



شکل ۳- روند تغییرات  $F'_v/F'_m$  در دماهای یخ‌زدگی طی دوره‌های بازیابی ۶ (الف)، ۱۲ (ب)، ۲۴ (پ) و ۷۲ (ت) ساعت در گیاه نوروزک

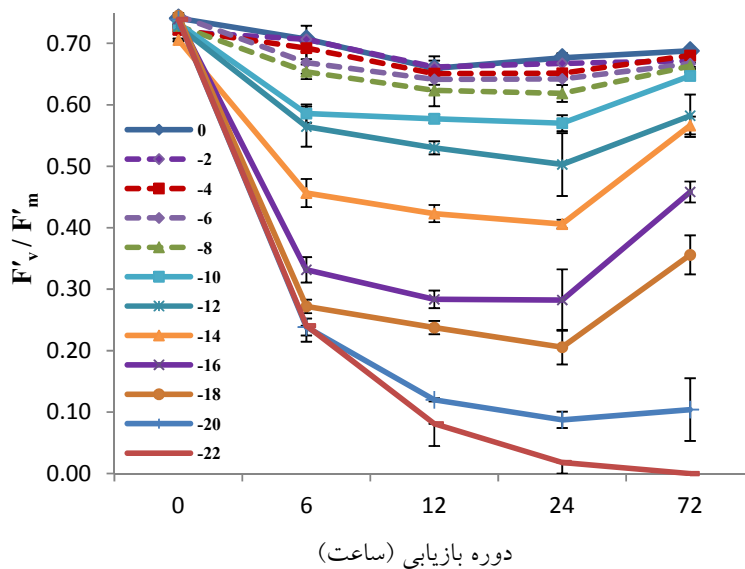
جدول ۳- مقایسه میانگین پارامترهای فلورسانس کلروفیل در سطوح مختلف تنش یخزدگی و دوره بازیابی در گیاه نوروک

تیمار	F' <sub>o</sub>	F' <sub>m</sub>	F' <sub>v</sub>	F' <sub>v</sub> /F' <sub>m</sub>
۰	۱۹۴ <sup>a</sup>	۶۳۸ <sup>a</sup>	۴۴۵ <sup>a</sup>	۰/۶۹۴ <sup>a</sup>
-۲	۱۹۱ <sup>a</sup>	۶۱۰ <sup>b</sup>	۴۲۰ <sup>b</sup>	۰/۶۸۵ <sup>a</sup>
-۴	۱۸۹ <sup>a</sup>	۵۹۸ <sup>bc</sup>	۴۰۹ <sup>b</sup>	۰/۶۷۹ <sup>ab</sup>
-۶	۱۹۲ <sup>a</sup>	۵۹۴ <sup>bc</sup>	۴۰۳ <sup>bc</sup>	۰/۶۷۳ <sup>ab</sup>
-۸	۱۹۳ <sup>a</sup>	۵۷۵ <sup>c</sup>	۳۸۳ <sup>c</sup>	۰/۶۵۷ <sup>b</sup>
-۱۰	۱۹۶ <sup>a</sup>	۵۳۹ <sup>d</sup>	۳۴۳ <sup>d</sup>	۰/۶۲۷ <sup>c</sup>
-۱۲	۱۹۴ <sup>a</sup>	۴۸۶ <sup>e</sup>	۲۹۲ <sup>c</sup>	۰/۵۸۱ <sup>d</sup>
-۱۴	۱۹۲ <sup>a</sup>	۴۲۰ <sup>f</sup>	۲۲۹ <sup>f</sup>	۰/۵۱۳ <sup>e</sup>
-۱۶	۱۷۷ <sup>b</sup>	۳۵۵ <sup>g</sup>	۱۷۸ <sup>g</sup>	۰/۴۱۹ <sup>f</sup>
-۱۸	۱۷۴ <sup>bc</sup>	۳۳۰ <sup>g</sup>	۱۵۶ <sup>g</sup>	۰/۳۶۳ <sup>g</sup>
-۲۰	۱۶۵ <sup>c</sup>	۲۹۰ <sup>h</sup>	۱۲۵ <sup>h</sup>	۰/۲۵۸ <sup>h</sup>
-۲۲	۱۰۲ <sup>d</sup>	۲۱۹ <sup>i</sup>	۱۱۷ <sup>h</sup>	۰/۲۱۴ <sup>i</sup>
شاهد (قبل از تنش)	۱۸۰ <sup>b</sup>	۶۷۶ <sup>a</sup>	۴۹۶ <sup>a</sup>	۰/۷۳۲ <sup>a</sup>
۶	۱۹۰ <sup>a</sup>	۴۴۹ <sup>b</sup>	۲۵۹ <sup>b</sup>	۰/۵۰۹ <sup>b</sup>
۱۲	۱۸۶ <sup>ab</sup>	۴۱۲ <sup>d</sup>	۲۲۵ <sup>c</sup>	۰/۴۵۹ <sup>c</sup>
۲۴	۱۷۳ <sup>c</sup>	۳۸۷ <sup>e</sup>	۲۱۴ <sup>c</sup>	۰/۴۴۴ <sup>c</sup>
۷۲	۱۷۰ <sup>c</sup>	۴۳۲ <sup>c</sup>	۲۶۳ <sup>b</sup>	۰/۵۰۷ <sup>b</sup>

دما (درجه سانتیگراد)

دوره بازیابی (ساعت)

در هر ستون میانگین‌های دارای یک حرف مشترک بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی‌داری ندارند.



شکل ۴- تغییرات کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II طی دوره‌های بازیابی و دماهای مختلف یخزدگی در گیاه نوروک



کاهش راندمان کوانتومی فتوسیستم II در رقم بهاره کوهدشت بیشتر از ارقام پاییزه سرداری و نورستار بود (۳). استراتوس و همکاران (۲۶) نیز استفاده از فلورسانس کلروفیل را به عنوان یک شاخص مطلوب در گزینش و مقایسه ژنوتیپ‌های متحمل به سرمای سویا گزارش کردند.

نتایج همچنین نشان دادند که پارامترهای وابسته به فلورسانس کلروفیل و بویژه کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II دارای همبستگی مثبت و معنی‌دار با درصد بقا ( $r=0/96^{***}$ ) و منفی و معنی‌دار با درصد نشت ( $r=-0/95^{***}$ ) بودند (جدول ۴). نتایج حاصل از تأثیر دماهای پایین در سه رقم گندم و در کل زمان‌های اندازه‌گیری نشان داد که

جدول ۴- ضرایب همبستگی بین سطح و وزن خشک برگ، وزن و طول ریشه، قطر طوقه، درصد بقا، درصد نشت الکترولیتها و پارامترهای فلورسانس

کلروفیل در گیاه نوروژک

	۱۰	۹	۸	۷	۶	۵	۴	۳	۲	۱	
۱- سطح برگ										-	
۲- وزن خشک برگ									۰/۹۹***	-	
۳- وزن ریشه								۰/۸۸***	۰/۸۴***		
۴- طول ریشه							۰/۹۹***	۰/۸۵***	۰/۸۱***		
۵- قطر طوقه						۰/۹۸***	۰/۹۹***	۰/۹۲***	۰/۸۹***		
۶- درصد نشت الکترولیتها					-	-۰/۷۶***	-۰/۶۶***	-۰/۶۹***	-۰/۹۲***	-۰/۹۴***	
درصد بقا						۰/۹۲***	۰/۸۵***	۰/۸۹***	۰/۹۸***	۰/۹۶***	
۸- کمینه فلورسانس ( $F'_0$ )				۰/۷۸***	-۰/۶۱***	۰/۸۳***	۰/۸۵***	۰/۸۶***	۰/۸۷***	۰/۷۴***	
۹- بیشینه فلورسانس ( $F'_m$ )		-	۰/۷۴***	۰/۹۱***	-۰/۹۸***	۰/۸۴***	۰/۷۵***	۰/۷۸***	۰/۹۶***	۰/۹۷***	
۱۰- فلورسانس متغیر ( $F'_v$ )		۰/۹۹***	۰/۶۴***	۰/۸۷***	-۰/۹۹***	۰/۷۸***	۰/۶۸***	۰/۷۱***	۰/۹۴***	۰/۹۶***	
۱۱- $F'_v/F'_m$	۰/۹۷***	۰/۹۸***	۰/۷۵***	۰/۹۶***	-۰/۹۵***	۰/۸۹***	۰/۸۱***	۰/۸۵***	۰/۹۹***	۰/۹۹***	

شدت تنش متفاوت بود. درصد نشت الکترولیت‌ها تا دمای  $2^{\circ}\text{C}$  درجه سانتیگراد تحت تأثیر قرار نگرفت، ولی پس از آن بتدریج افزایش یافت و در دمای  $22^{\circ}\text{C}$  به حداکثر رسید. درصد بقای گیاهان با کاهش دما به کمتر از  $14^{\circ}\text{C}$  با شیب تندی کاهش یافت و در  $22^{\circ}\text{C}$  کلیه گیاهان از بین رفتند. کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II نیز در دمای  $22^{\circ}\text{C}$  به میزان ۷۰ درصد در مقایسه با دمای صفر درجه کاهش یافت. گیاه نوروژک توان بازیابی کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II در طی ۷۲ ساعت پس از تنش یخ زدگی را داشته، ولی مقادیر این پارامتر به دلیل خسارت وارده به مراکز واکنش فتوستتزی کاملاً به مقادیر قبل از تنش نرسید. سطح و وزن خشک برگ‌ها تا دمای  $8^{\circ}\text{C}$  درجه سانتیگراد و پارامترهای مرتبط با ریشه تا  $16^{\circ}\text{C}$  درجه سانتیگراد تحت تأثیر قرار نگرفتند، اما کاهش بیشتر دما

بررسی روند تغییرات میانگین داده‌های حاصل از اثر متقابل دما و دوره بازیابی نشان داد، تیمارهای دمایی اعمال شده تا دمای  $8^{\circ}\text{C}$  درجه سانتیگراد تغییر محسوسی در کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II ایجاد نکردند، ولی کاهش محسوس در این شاخص از دمای  $10^{\circ}\text{C}$  درجه سانتیگراد آغاز شد و این کاهش تا ۲۴ ساعت دوره بازیابی بصورت نزولی بود و پس از آن در دماهای بالاتر از  $18^{\circ}\text{C}$  درجه سانتیگراد روند افزایشی داشت (شکل ۴). مطالعه این صفت در دوره‌های مختلف خوسرمایی در گیاه گندم نیز نشان داد که اختلاف بین دوره‌های مختلف خوسرمایی از دماهای زیر  $8^{\circ}\text{C}$  درجه سانتیگراد پدیدار شده است (۱۶).

### نتیجه‌گیری کلی

تأثیر تنش یخ زدگی بر صفات مورد مطالعه بر اساس

تحمل به یخ‌زدگی این گیاه در شرایط طبیعی و تعیین همبستگی صفات مورد مطالعه در مزرعه در مقایسه با شرایط کنترل شده ضروریست.

منجر شد تا این صفات با شیب ملایمی کاهش یابند. با وجود تحمل نسبی گیاه نوروزک به دماهای یخ‌زدگی در شرایط کنترل شده، تحقیقات بیشتر در خصوص ارزیابی

## منابع

- ۱- جلیلیان، ع.، د. مظاهری، ر. توکل افشاری، م. عبدالهیان، ح. رحیمیان مشهدی، و ع. احمدی. ۱۳۷۸. اثر خسارت یخ‌زدگی در مرحله گیاهچه ارقام مختلف چغندر قند. مجله علوم زراعی ایران، ۴: ۴۱۵-۴۰۰.
- ۲- زینالی یادگار، ل.، حیدری، ر. و کاراپتیان، ژیراریر. ۱۳۸۹. اثر پیش‌سرما بر میزان تنفس و مقادیر پرولین و رنگیزه‌های فتوسنتزی در دانه رسته‌های گیاه سویا (*Glycine max L. cv. L17*). مجله زیست‌شناسی ایران. ۲۳ (۳): ۴۱۷-۴۰۹.
- ۳- مجد، م.، ق. کریم‌زاده، و س. محفوظی. ۱۳۸۶. اثر دمای پایین و کلسیم خارجی بر راندمان کوانتومی فتوسیستم II ( $F_v/F_m$ ) و میزان کلروفیل در ارقام گندم حساس و متحمل به سرما. پژوهش و سازندگی، ۷۷: ۱۸۱-۱۷۵.
- ۴- میرزایی اصل، الف.، ب. یزدی صمدی، ع. زالی و ی. صادقیان مظهر. ۱۳۸۱. بررسی مقاومت گندم به سرما با روشهای freezing resistance in rose clover. *Crop Science* 43: 1349-1357.
- 15- Gusta, L.V., Fowler, D.B. and Tyler, N.J. 1982. Factors influencing hardening and survival in winter wheat. In: P.H. Li, and A. Sakai (ed.). *Plant cold hardiness and freezing stress*. Vol. II. Academic Press, New York. pp. 23-40.
- 16- Hasselt, P.R.V. 1996. Chlorophyll fluorescence as a parameter for hardiness in winter wheat: A comparison with other hardiness parameters. *Phyton*. 36(1) 45-56.
- 17- Jalili, A. and Jamzad, Z. 1999. Red Data Book of Iran. Research Institute of Forest and Rangeland. No. 215.
- 18- Kościelniak, L. and Biesaga-Kościelniak, J. 2006. Photosynthesis and non-photochemical excitation quenching components of chlorophyll excitation in maize and field bean during chilling at different photon flux density. *Photosynthetica*. 44: 174-180.
- ۶- آزمایشگاهی. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی. ۶ (۱): ۱۸۶-۱۷۷.
- ۵- نصیری محلاتی، م.، ع. کوچکی، پ. رضوانی مقدم، و ع. بهشتی. ۱۳۸۶. آگرواکولوژی. (ترجمه). انتشارات دانشگاه مشهد.
- ۶- نظامی، الف.، ح. خزاعی، م. دشتی، م. مهرآبادی، الف. عیشی‌رضایی 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.
- ۷- نظامی، الف.، الف. برزویی، م. جهانی، م. عزیزی و ع. شریف. ۱۳۸۶. نشت الکترولیت‌ها به عنوان شاخصی از خسارت یخ‌زدگی در کلزا. مجله پژوهش‌های زراعی ایران. ۵: ۱۷۵-۱۶۷.
- ۸- نظامی، الف.، ع. باقری، ح. رحیمیان، م. کافی، و م. نصیری محلاتی. ۱۳۸۵. ارزیابی تحمل به یخ‌زدگی ژنوتیپ‌های نخود (*Cicerarietinum*) در شرایط کنترل شده. علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، ۴: ۲۶۸-۲۵۷.
- 9- Anderson, J. A., Kenna, M.P., Taliaferro, C.M. 1988. Cold hardiness of 'midiron' and 'Tifgreen' Bermudagrass. *Hortscience*. 23:748-750.
- 10- Baker, N.R., Rosenquist, E. 2004. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *Journal of Experimental Botany*. 55: 1607-1621.
- 11- Blum, A. 1988. *Plant Breeding for Environmental Stress*. CRC Press.
- 12- Cardona, C.A., Duncan, R.R. and Lindstorm, O. 1997. Low temperature tolerance assessment in *Paspalum*. *Crop Science*. 37:1283-1291.
- 13- Dai, F., Zhou, M. and Zhang, G. 2007. 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*. 45:915-921.
- 14- Eugenia, M., Nunes, S. and Ray Smith, G. 2003. Electrolyte leakage assay capable of quantifying

- 19- Lindow, S.E., Army, D.C. and Upper, C.D. 1982. Bacterial ice nucleation: a factor in frost injury to plants. *Plant Physiology* 70: 1084-1089.
- 20- Maxwell, K. and Johnson, G. N. 2000; Review article: Chlorophyll fluorescence- A practical guide. *Journal of Experimental Botany*. 51: 659-668.
- 21- Nezami, A., Soleimani, M.R., Ziaee, M., Ghodsi, M. and BannayanAval, M. 2010. Evaluation of freezing tolerance of hexaploidTriticale genotypes under controlled conditions. *NotulaeScientiaBiologicae*. 2:114-120.
- 22- RashedMohassel, M.H., Nezami, A., Bagheri, A., Haj Mohammadnia, K., and Bannayan, M. 2009. Evaluation of freezing tolerance of two fennel ecotypes under controlled conditions. *Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants* 15(1): 131-140.
- 23- Rechinger, K. H. 1982. *Flora Iranica*, No. 150: AkademischeDruk-U. VerlagsustaltGratz. Page 439.
- 24- Sasaki, H., Ichimura. K., Okada, K. and Oda, M. 1988. Freezing tolerance and soluble sugar contents affected by water stress during cold-acclimation and de-acclimation in cabbage seedlings. *ScientiaHorticulturae*. 1998; 76: 161-169.
- 25- Shashikumar, K. and Nus, J.L. 1993. Cultivar and winter cover effects on bermudagrass cold acclimation and crown moisture content. *Crop Science*. 1993; 33: 813-817.
- 26- Strauss, A.J., Kruger, G.H.J., Strasser, R.J., Heerden, P.D.R. 2006. Ranking of dark chilling tolerance in soybean genotypes probed by the chlorophyll a fluorescence transient O-J-I-P. *Environment and Experimental Botany*. 56: 147-157.
- 27- Zhu, G.H., Liu, Z.Q. 1987. Determination of median Lethal temperature using the logistical function. P.292-298. In P.H. Li (ed.). *Plant cold hardiness*. Alan R. Liss. Inc., New York

## Effects of freezing stress on Morpho-physiological indices and chlorophyll fluorescence of *Salvia leriifolia* Benth. seedlings

Dashti M.<sup>1</sup>, Kafi M.<sup>2</sup>, Tavakkoli H.<sup>1</sup>, Mirza M.<sup>3</sup> and Nezami A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Khorasan-e-razavi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Mashhad, I.R. of Iran

<sup>2</sup> Agronomy Dept., Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, I.R. of Iran

<sup>3</sup> Rangeland and Forestry Research Institute, Tehran, I.R. of Iran

### Abstract

An experiment was carried to evaluate the physiological and morphological traits and Photochemical efficiency of photosystem II of *Salvia leriifolia* under freezing stress in controlled condition as a factorial experiment based on completely randomized design with three replications in Ferdowsi University of Mashhad. The plants exposed to twelve freezing temperatures (0, -2, -4, -6, -8, -10, -12, -14, -16, -18, -20 and -22°C) in seedling stage. Leaf area and dry weight, root length and dry weight, Electrolyte Leakage (EL), survival percentage after three weeks and chlorophyll fluorescence parameters in recovery periods (0, 6, 12, 24 and 72 hr. after stress) were studied. Results showed that effect of freezing temperatures on all traits were significant ( $P \leq 0.001$ ). EL increased significantly with decreasing temperature and reached to maximum 83% at -20°C. Although plant survival percentage did not affect until -14°C, all seedlings were died in -22°C. Lethal temperature based on survival ( $LT_{50su}$ ) and electrolyte leakage ( $LT_{50el}$ ) were -17.0 and -11.8. Results also indicated that Reduced Dry Matter Temperature 50% ( $RDMT_{50}$ ) was -16.5 °C. Photochemical efficiency of photosystem II ( $F'_v/F'_m$ ) was not affected up to -6°C, but it decreased by 70% with decreasing temperature to -22°C.  $F'_v/F'_m$  decreased by 40% during 24 hours after recovery compared to control, but it increased when recovery continued to 72 hr. Results also indicated that EL had negative correlation with survival percent ( $r = -0.82^{***}$ ) and  $F'_v/F'_m$  ( $-0.95^{***}$ ).

**Key words:** *Salvia leriifolia*, cold stress, chlorophyll fluorescence, electrolyte leakage