

بررسی اثر تنش یخ‌زدگی در گیاه باقلا (*Vicia faba* L.) تحت شرایط کنترل شده

علیرضا حسن‌فرد^۱، احمد نظامی^{۲*}، محمد کافی^۳، جعفر نباتی^۳

۱. دانشجوی دکتری علوم علف‌های هرز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۲. استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و پژوهشکده علوم گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد

۳. استادیار پژوهشکده علوم گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد

تاریخ دریافت: ۹۶/۰۷/۳۰؛ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۰/۰۴

چکیده

هرچند کشت پاییزه باقلا موجب بهره‌گیری مؤثر از نزولات آسمانی، نیاز کمتر به آبیاری و بهبود عملکرد دانه آن نسبت به کشت بهاره می‌شود، اما وجود تنش سرما در این فصل به‌عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده رشد در این گیاه محسوب می‌شود. به همین منظور آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در دو توده باقلا (بروجرد و نیشابور) در دانشگاه فردوسی مشهد اجرا شد. گیاهان در مرحله چهار تا شش برگی به مدت یک ساعت در هریک از دماهای موردنظر (صفر، -۴، -۸، -۱۲، -۱۶، -۲۰، -۲۴ درجه سانتی‌گراد) توسط فریزر ترموگرادیان تحت تنش قرار گرفتند. بیست‌ویک روز بعد، درصد بقاء و برخی از خصوصیات مربوط به رشد مجدد مانند ارتفاع ساقه، تعداد برگ، سطح برگ، وزن خشک برگ، ساقه، مجموع اندام‌های هوایی و ریشه مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که اثر دما بر درصد بقاء و سایر صفات رشد مجدد گیاه پس از اعمال تنش معنی‌دار بود؛ اما اثر توده و برهمکنش توده و دما بر درصد بقاء معنی‌دار نبود. به‌طوری‌که با کاهش دما درصد بقاء و سایر صفات رشد مجدد گیاه کاهش یافتند. این کاهش از دمای -۱۲ درجه سانتی‌گراد شدیدتر بود و در دمای -۱۶ درجه سانتی‌گراد منجر به مرگ تمام گیاهان شد. توده نیشابور تقریباً در تمام صفات رشد مجدد در محدوده دمایی صفر تا -۱۲ درجه سانتی‌گراد با کاهش بیشتری نسبت به توده بروجرد مواجه شد. به این صورت که سطح برگ در بوته ۲۴ سانتی‌متر مربع و وزن خشک برگ، ساقه، اندام‌های هوایی و ریشه به ترتیب ۲۵، ۳۰، ۲۷ و ۲۳ درصد کاهش داشت که مبین حساسیت بیشتر آن است. بین ارتفاع ساقه و سطح برگ گیاه با وزن خشک اندام‌های هوایی (به ترتیب $r^{**} = 0.98$ ، $r^{**} = 0.96$) و ریشه (به ترتیب $r^{**} = 0.96$ و $r^{**} = 0.91$) همبستگی مثبت و معنی‌داری مشاهده شد؛ که نشان‌دهنده تغییرات همسو و هماهنگ بین دو صفت مذکور با وزن خشک گیاه است.

واژه‌های کلیدی: بقاء، کشت پاییزه، وزن خشک، همبستگی

مقدمه

مناسب بخش پروتئینی، عمدتاً در صنایع فرآورده‌های غذایی از جمله تولید ماکارونی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Rizzello et al., 2017). همچنین بر اساس گزارش فائو (FAO, 2016) از دلایل اصلی مصرف حبوباتی مانند باقلا می‌توان به چربی و سدیم کم و عدم وجود کلسترول در این محصولات اشاره نمود. علاوه بر مصارف تغذیه‌ای باقلا برای انسان و دام (Ali et al., 2016)، در مطالعات مختلف تأثیر باقلا بر فعالیت

پروتئین حبوبات تقریباً دو برابر مقدار پروتئین موجود در غلات است (FAO, 2016). در کشورهایی مانند هند حبوبات به‌عنوان منبع اصلی پروتئین در رژیم غذایی مردم شناخته می‌شوند. به‌طوری‌که از این محصولات به‌عنوان منابع مهم در حفظ امنیت غذایی این کشور یاد می‌شود (Shalendra et al., 2013). باقلا (*Vicia faba* L.) نیز یکی از حبوبات قدیمی است که به سبب مقادیر پروتئین نسبتاً زیاد یکی از گیاهان مهم پروتئینی تلقی می‌شود. آرد باقلا به علت کیفیت

زیستی خاک و سیستم کشت مخلوط^۱ نیز مثبت ارزیابی شده است (Lepse et al., 2017).

سطح زیر کشت باقلا در ایران حدود ۳۰ هزار هکتار با متوسط عملکرد پنج تن باقلا سبز در هکتار است (Majnonhosseini, 2008). هرچند باقلا گیاهی سرمادوست و روزبلند است (Jensen et al., 2010) و انواع زمستانه آن از پتانسیل عملکرد بالاتری برخوردار است (Arbaoui et al., 2008) اما در مناطق معتدله به‌منظور اجتناب از مواجهه با سرمای شدید، باقلا را به‌صورت محصول بهاره کشت می‌کنند؛ بنابراین انتخاب باقلای زمستانه و یا بهاره بستگی بسیار زیادی به شرایط آب‌وهوا، نوع خاک و سیستم کشت دارد (Jensen et al., 2010). کاشت گیاهان سرمادوست به‌صورت پاییزه-زمستانه ضمن امکان استفاده مؤثر از نزولات آسمانی در این فصول و کاهش نیاز به آبیاری موجب افزایش عملکرد دانه نسبت به کشت بهاره می‌شود (Inci and Toker, 2011). از طرفی دیگر، کشت پاییزه گیاهانی همچون باقلا موجب می‌شود که گیاه با خشک‌سالی آخر فصل مواجه نشده و از این تنش فرار کند و حتی قابلیت برداشت زودتر آن نیز فراهم می‌شود (Link et al., 2010). باوجود این جهت موفقیت در کاشت پاییزه، باقلا باید تحمل خوبی به سرما نشان دهد.

فرآیند خوسرمایی^۲ در گیاهان موجب فعال شدن مکانیسم‌های پاسخ به سرما می‌شود که منجر به افزایش تحمل گیاهان به دماهای یخ‌زدگی می‌شود (Levitt, 1980). در بررسی تحمل به سرمای ارقام شش ردیفه گیاه جو (*Hordeum vulgare* L.) گزارش شده که تحمل به سرمای بیشتر در گیاه جو کاشته شده در پاییز نسبت به بهار به علت فرآیند خوسرمایی است که سبب افزایش تحمل گیاه به دماهای پایین می‌شود (Kosova, 2008). گزارش‌ها حاکی از آن است که گیاهان می‌توانند با تولید پروتئین‌های ضد انجماد^۳، توانایی تحمل به یخ‌زدگی در طول زمستان را کسب کنند. فعالیت ضد یخ این پروتئین‌ها در بیش از ۶۰ گیاه اعم از دولپه و تک‌لپه تشخیص داده شده است (Gupta and Deswal, 2014). همچنین Wang et al. (2003) از برگ‌های گیاه *Ammopiptanthus mongolicus*

پروتئین‌های ضد انجماد را (با استفاده از ترکیب ستون کروماتوگرافی^۴ و ژل الکتروفورز^۵) خالص‌سازی کردند که این پروتئین‌ها در دوره خوسرمایی می‌توانند به‌عنوان یکی از عوامل مهم در افزایش تحمل به سرما در گیاه محسوب شوند. هرچند این اعتقاد وجود دارد که در صورت دسترسی به منابع کافی از جمله زمین، مطالعات تحمل گیاهان به تنش سرما در شرایط مزرعه و در مناطق سردسیر انجام گیرد (Fowler et al., 1993) و ارزیابی تحمل به سرمای گیاهان در شرایط مزرعه گیاه را در شرایط واقعی سرما قرار می‌دهد، اما احتمال دارد به سبب نوسانات مکانی و زمانی در وقوع سرما و همچنین وجود پوشش برف و یخ، نتایج معتبر و دقیقی به دست ندهد، ضمن اینکه چنین آزمایش‌هایی معمولاً زمان‌بر و پرهزینه می‌باشند. از طرفی برخلاف تنش‌هایی مانند تنش خشکی، اعمال تیمارهای دمایی دلخواه در مزرعه امکان‌پذیر نبوده و روش‌های کنترل‌شده در این زمینه در صورت همبستگی بالا با نتایج آزمایش‌های مزرعه‌ای (Auld et al., 1983) می‌توانند مناسب باشند. بر همین اساس ارزیابی درصد بقای گیاهان پس از اعمال دماهای یخ‌زدگی به‌صورت مصنوعی و تعیین دمای ۵۰ درصد کشندگی گیاهان بر اساس درصد بقاء (LT_{50su})^۶ به‌عنوان شاخصی مناسب در جهت گزینش گیاهان متحمل به تنش یخ‌زدگی مطرح است (Azizi et al., 2007).

مطالعه صفات مربوط به رشد مجدد همچون ارتفاع گیاه، تعداد برگ، سطح برگ و وزن خشک بوته، پس از دوره‌ی بازیافت^۷ می‌تواند به‌عنوان معیاری مناسب برای ارزیابی میزان تحمل گیاهان به سرما پس از اعمال تنش مورد استفاده قرار گیرد (Fowler et al., 1981). در مطالعات مختلف کاهش صفات رشدی گیاهان پس از قرارگیری در معرض دماهای پایین مشاهده شده است (Hekneby et al., 2006). بررسی نسبت رشد مجدد اندام‌های هوایی^۸ در گیاه بوفالوگراس (*Buchloe dactyloides* (Nutt.) Engelm.) پس از تنش یخ‌زدگی نشان داد که با کاهش دما از دو درجه سانتی‌گراد (به‌عنوان شاهد) به ۲۲- درجه سانتی‌گراد رشد مجدد اندام‌های هوایی نیز کاهش یافتند (Qian et al., 2001).

5. Gel Electrophoresis
6. Lethal Temperature 50% of Plants According to the Survival Percentage (LT_{50su})
7. Recovery
8. Relative shoot regrowth

1. Intercropping
2. Cold acclimation
3. Antifreeze Proteins (AFPs)
4. Column Chromatography

گلدان‌ها به گلخانه منتقل‌شده و ۲۱ روز پس از اعمال تیمار یخ‌زدگی، صفات مذکور مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای تعیین درصد بقای گیاهان (SU%)، تعداد گیاهان زنده قبل از اعمال تنش یخ‌زدگی (B) و ۲۱ روز پس از اعمال تنش یخ‌زدگی (A) شمارش و درصد بقاء از طریق معادله (۱) محاسبه شد.

$$SU\% = (A/B) \times 100 \quad [1]$$

هم‌زمان به‌منظور بررسی توان بازیافت گیاه صفات رشدی همچون ارتفاع ساقه، تعداد برگ و سطح برگ (به‌وسیله دستگاه LAM^{۱۱} مدل آبی آسا) مورد ارزیابی قرار گرفتند. همچنین وزن خشک گیاه (وزن خشک برگ، ساقه، مجموع اندام‌های هوایی و ریشه) پس از قرارگیری در آون (مدل پارس آزما) ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت با استفاده از ترازوی دیجیتال (مدل AND GF-300)، با دقت توزین یک میلی‌گرم اندازه‌گیری و ثبت شد. LT_{50su} نیز پس از ترسیم نمودار داده‌های درصد بقاء در مقابل دماهای یخ‌زدگی و یافتن دمایی که منجر به کاهش ۵۰ درصدی صفت مذکور نسبت به تیمار شاهد شده بود، بررسی و مشخص شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌های صفات توسط نرم‌افزار Minitab (V. 17) و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد انجام گرفت. برای ترسیم نمودارها نیز از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

نتایج و بحث

اثر دما بر درصد بقاء گیاهان پس از اعمال دماهای یخ‌زدگی معنی‌دار بود (جدول ۱). به این صورت که کاهش دما از صفر به ۴- درجه سانتی‌گراد سبب کاهش حدود هشت درصدی بقاء (۲/۱) درصد کاهش به ازای هر درجه سانتی‌گراد کاهش دما شد (شکل ۲). هرچند کاهش دما از ۴- به ۸- و از ۸- به ۱۲- درجه سانتی‌گراد تأثیر معنی‌داری بر درصد بقاء نداشت اما کاهش دما از ۴- به ۱۲- درجه سانتی‌گراد بقاء را به میزان حدود نه درصد کاهش داد (۱/۱) درصد کاهش به ازای هر درجه سانتی‌گراد کاهش دما). کاهش شدیدتر دما از ۱۲- درجه سانتی‌گراد موجب کاهش شدید درصد بقاء در گیاه باقلا شد. به‌نحوی که با کاهش دما از ۱۲- به ۱۶- درجه سانتی‌گراد بقاء گیاه حدود ۸۰ درصد کاهش یافت. به‌عبارتی دیگر هر

با توجه به کمبود اطلاعات در زمینه تحمل به یخ‌زدگی در گیاه باقلا و اهمیت ویژه کشت پاییزه گیاهان به‌منظور استفاده بهینه از نزولات جوی در جهت کاهش مصرف آب، این آزمایش باهدف تعیین آستانه خسارت تنش یخ‌زدگی در گیاه باقلا با استفاده از شاخص درصد بقاء و برخی خصوصیات رشدی در شرایط کنترل‌شده انجام شد.

مواد و روش‌ها

آزمایش حاضر در پاییز و زمستان سال ۱۳۹۴ در گلخانه تحقیقاتی پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار اجرا شد. عوامل آزمایش شامل دو توده باقلا (بروجرد و نیشابور) و هفت دما (صفر به‌عنوان شاهد، ۴-، ۸-، ۱۲-، ۱۶-، ۲۰- و ۲۴- درجه سانتی‌گراد) بودند. ابتدا به‌منظور جلوگیری از خسارت بیماری‌های خاک‌زی، بذرها توسط قارچ‌کش بنومیل^۹ ضدعفونی و در عمق سه سانتی‌متری در گلدان‌های پلاستیکی با قطر ۱۲ سانتی‌متر حاوی خاک مزرعه، خاک‌برگ و ماسه (به نسبت ۱:۱:۱) در نیمه دوم آبان ماه کشت شدند. گیاهان تا مرحله چهار تا شش برگی در شرایط محیط طبیعی رشد کرده و در معرض دماهای خوسرمایی قرار گرفتند (شکل ۱).

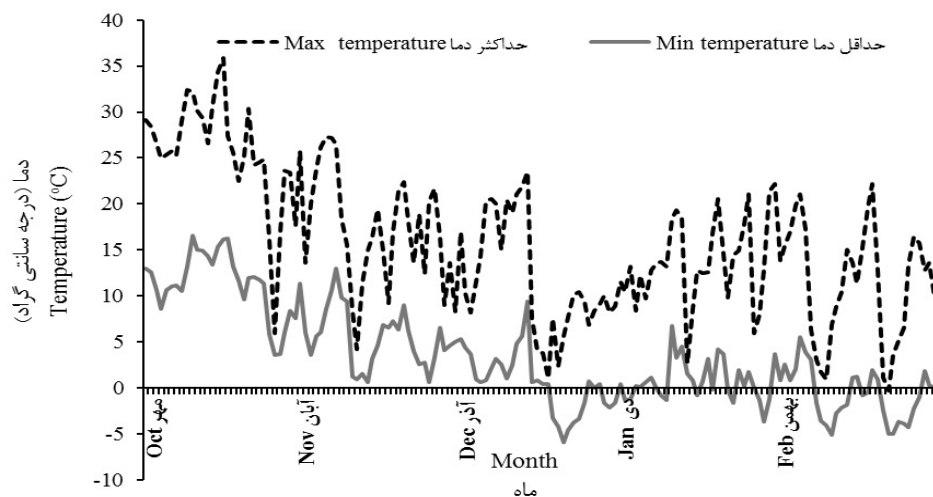
گلدان‌ها ۲۴ ساعت قبل از اعمال یخ‌زدگی آبیاری و سپس در نیمه دوم بهمن‌ماه به فریزر ترموگرادپان منتقل شدند. دمای فریزر در شروع آزمایش پنج درجه سانتی‌گراد بود و پس از قرار دادن نمونه‌ها دما با سرعت دو درجه سانتی‌گراد در ساعت به‌صورت پیوسته کاهش پیدا کرد. جهت جلوگیری از پدیده فراسرمایی و ایجاد هستک یخ در گیاهچه‌ها (Lindow et al., 1982) و همچنین کسب اطمینان از مقاومت گیاهچه‌ها به دماهای یخ‌زدگی از نوع تحمل (نه از نوع اجتناب)، در دمای ۲/۵- درجه سانتی‌گراد روی گیاهچه‌ها محلول باکتری‌های فعال ایجادکننده هستک یخ^{۱۰} به‌طوری‌که قشر نازکی بر روی برگ‌ها قرار گیرد، پاشیده شد. گیاهان در هر یک از دماهای موردنظر به مدت یک ساعت نگهداری و سپس از فریزر خارج و بلافاصله به‌منظور جلوگیری از ذوب سریع یخ به اتاقک رشد با دمای ۵±۲ درجه سانتی‌گراد منتقل و به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شدند.

11. Leaf Area Meter (LAM)

9. Benomyl
2. Ice Nucleation Active Bacteria (INAB)

سایر صفات رشد مجدد (جدول ۲)، مطالعه این صفات به‌منظور ارزیابی دقیق تحمل به یخ‌زدگی گیاه باقلا ضرورت بیشتری پیدا می‌کند.

درجه سانتی‌گراد کاهش دما در این محدوده موجب کاهش ۲۰ درصدی بقاء شد. همچنین در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تمام گیاهان از بین رفتند و درصد بقاء به صفر رسید. با توجه به همبستگی غیر معنی‌دار بین درصد بقاء و



شکل ۱. دماهای حداقل و حداکثر پاییز و زمستان ۱۳۹۴ در مشهد

Fig. 1. Minimum and maximum temperatures in autumn and winter 2015 in Mashhad

جدول ۱. درجه آزادی و میانگین مربعات منابع تغییر برای درصد بقاء، ارتفاع ساقه، تعداد برگ، سطح برگ و وزن خشک برگ، ساقه، اندام‌های هوایی و ریشه در دو توده باقلا تحت تأثیر تنش یخ‌زدگی.

Table 1. Degree of freedom and mean of squares of sources of variation for survival percentage, stem height, no. leaf, leaf area, dry weight of leaf, stem, shoot organs and root of two faba bean landraces under freezing stress.

منابع تغییر S.O.V.	درجه آزادی df	ارتفاع			Dry Weight			وزن خشک	
		درصد بقاء Survival Percentage	ساقه Stem height	تعداد برگ Leaf No.	سطح برگ Leaf area	برگ Leaf	ساقه Stem	اندام‌های هوایی Shoot Organs	ریشه Root
توده									
Landrace (L)	1	2.2 ^{ns}	73 ^{**}	1.8 [*]	4860 ^{**}	64763 ^{**}	23232 ^{**}	165572 ^{**}	77853 ^{**}
دما									
Temperature (T)	6	18555 ^{**}	526 ^{**}	56 ^{**}	12929 ^{**}	210920 ^{**}	77572 ^{**}	540070 ^{**}	255393 ^{**}
توده × دما									
L×T	6	28 ^{ns}	10.6 ^{**}	0.4 ^{ns}	617 ^{**}	9028 ^{**}	3464 ^{**}	20109 ^{**}	11441 ^{**}
خطا									
Error	42	26	0.68	0.3	11.2	617	259	984	997
ضریب تغییرات CV(%)		9.75	9.47	18.56	7.80	14.61	15.57	11.45	16.8

^{**}, ^{*} و ^{ns}: به ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال یک، پنج درصد و غیر معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد.

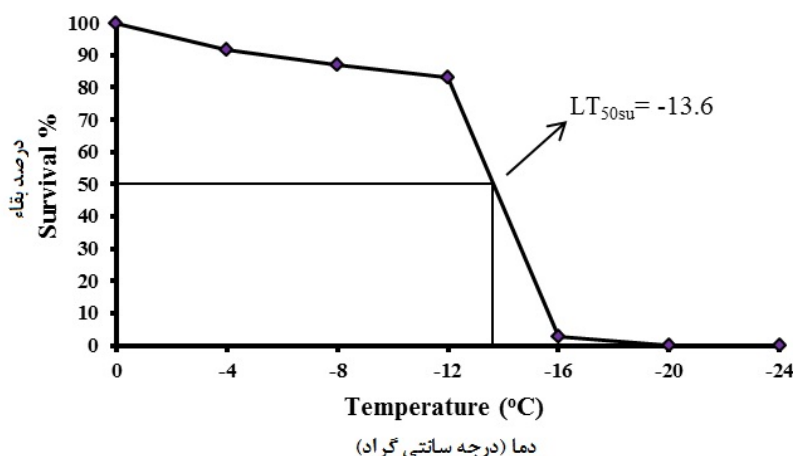
^{**}, ^{*} and ^{ns}: significant at one, five% probability levels and non-significant respectively.

کاهش بقاء به ازای هر درجه سانتی‌گراد کاهش دما (از محدوده دمایی صفر تا ۱۲- درجه سانتی‌گراد) ۱/۴ درصد بود.

کاهش دما از صفر به ۱۲- درجه سانتی‌گراد موجب کاهش فقط ۱۷ درصد بقاء در گیاهان شد؛ به عبارتی دیگر

همکاران (Nezami et al., 2006) نیز در بررسی اثر خوسرمایی بر گیاه نخود (*Cicer arietinum* L.) عنوان کردند که در شرایط کنترل‌شده خوسرمایی سبب بهبود درصد بقاء و کاهش LT_{50} شده است.

احتمالاً پدیده خوسرمایی سبب بهبود تحمل گیاهان به تنش یخ‌زدگی تا دمای -12 درجه سانتی‌گراد شده است. کاهش تدریجی دما (دماهای زیر هشت و بالای صفر درجه سانتی‌گراد) و فتوپریودهای کوتاه سبب ایجاد پدیده خوسرمایی در گیاهان می‌شود (Levitt, 1980). نظامی و



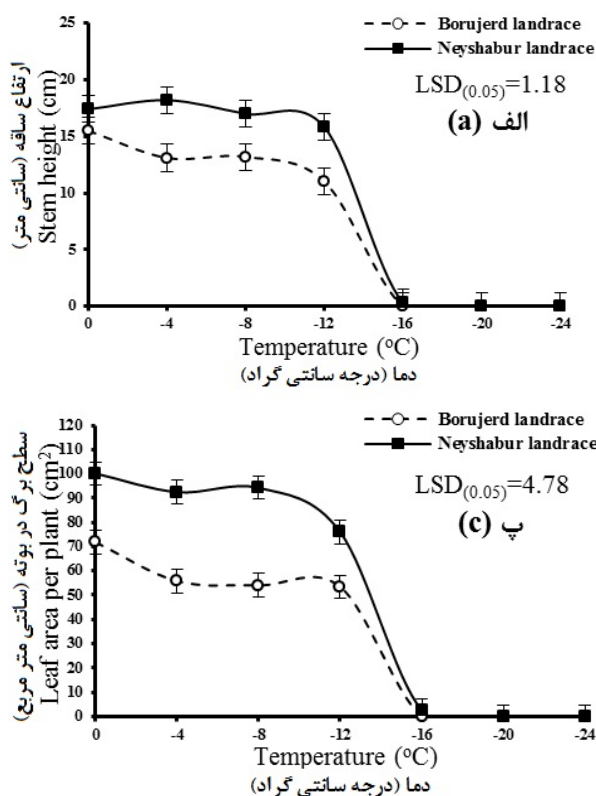
شکل ۲. منحنی درصد بقاء در گیاه باقلا تحت تنش یخ‌زدگی، مقدار عدد LSD در سطح احتمال پنج درصد برای درصد بقاء ۵/۱۳ است.

Fig. 2. Survival percentage curve in faba bean under freezing stress, LSD value at 5% probability level for survival% is 5.13.

اثر برهمکنش توده و دما بر ارتفاع ساقه باقلا معنی‌دار بود (جدول ۱). در توده بروجرد کاهش دما از صفر به -4 و -8 درجه سانتی‌گراد سبب کاهش ارتفاع ساقه به ترتیب به میزان ۱۶ و ۱۵ درصد شد (شکل ۳، الف). در صورتی که تغییرات ارتفاع ساقه در توده نیشابور در محدوده‌های دمایی مذکور غیر معنی‌دار بود. در توده بروجرد با کاهش دما از -8 به -12 درجه سانتی‌گراد ارتفاع ساقه ۱۷ درصد کاهش یافت، این در حالی است که کاهش دما در نیشابور در تغییر ارتفاع ساقه توده نیشابور بی‌تأثیر بود. برخلاف توده نیشابور که ارتفاع ساقه در دمای -12 درجه سانتی‌گراد نسبت به دمای شاهد (صفر درجه سانتی‌گراد) تفاوت معنی‌داری نداشت، در توده بروجرد ارتفاع ساقه در دمای -12 درجه سانتی‌گراد ۲۹ درصد کمتر از دمای شاهد (صفر درجه سانتی‌گراد) بود. همچنین در توده نیشابور نیز در دمای -12 درجه سانتی‌گراد نسبت به دمای -4 درجه سانتی‌گراد با ۱۳ درصد کاهش ارتفاع مواجه شد که این تغییر دما در توده بروجرد تأثیر معنی‌داری در کاهش صفت مذکور نداشت. با کاهش دما از -12 به -16 درجه

در بررسی تحمل به سرما در گیاه قرنفل (*Dianthus barbatus*) مشاهده شد که درصد بقای گیاه از دمای صفر تا -18 درجه سانتی‌گراد تحت تأثیر دماهای یخ‌زدگی قرار نگرفت اما با کاهش دما به کمتر از آن (-18 درجه سانتی‌گراد)، کاهش یافت. به طوری که از دمای -18 تا -20 درجه سانتی‌گراد بقاء گیاهان حدود ۳۰ درصد کاهش داشت (۱۵ درصد کاهش بقاء به ازای هر درجه سانتی‌گراد کاهش دما). افزایش تنش یخ‌زدگی موجب شد تا گیاهان در دمای -22 درجه سانتی‌گراد به صورت کامل از بین رفته و درصد بقاء گیاهان به صفر برسد. به نظر می‌رسد در آزمایش ایشان خوسرمایی سبب بهبود تحمل به تنش یخ‌زدگی تا دمای -18 درجه سانتی‌گراد شده است (Izadi-Darbandi et al., 2012). در آزمایشی روی گل داودی (*Chrysanthemum morifolium* L.) کاهش دما موجب کاهش درصد بقاء در این گیاهان شد و گیاهان در دمای -12 درجه سانتی‌گراد از بین رفتند (Kim and Anderson, 2006).

ساقه شد. نتایج آزمایش Rashed Mohassel et al. (2009) روی گیاه رازیانه (*Foeniculum vulgare* L.) نیز همسو با نتایج آزمایش حاضر است. به طوری که کاهش دماهای یخزدگی از صفر به ۹- درجه سانتی‌گراد سبب کاهش ۵۸ و ۲۶ درصدی ارتفاع در دو اکتیپ کرمان و گناباد شد.



سانتی‌گراد ارتفاع ساقه در توده بروجرد و نیشابور به ترتیب ۱۰۰ و ۹۸ درصد کاهش یافت. در ادامه نیز به علت مرگ کامل گیاهان در اثر دماهای یخزدگی ارزیابی ارتفاع ساقه در هر دو توده غیرممکن شد. هرچند روند تغییرات ارتفاع ساقه با کاهش دما در دو توده مورد بررسی با یکدیگر مشابه نبودند، اما به طور کلی کاهش دما در هر دو توده سبب کاهش ارتفاع

شکل ۳. اثر برهمکنش توده و دما بر ارتفاع ساقه (الف)، سطح برگ (ب) و اثر دما بر تعداد برگ (ب) گیاه باقلا ۲۱ روز پس از اعمال تنش یخزدگی.

Fig. 3. Interaction effect between landrace and temperature on stem height (a), leaf area (c) and effect of temperature on no. leaf (b) in faba bean, 21 days after applying freezing stress.

کاهش تعداد برگ‌ها متأثر از کاهش دماهای یخزدگی بوده و با کاهش دماهای یخزدگی تعداد برگ در گیاه نیز کاهش می‌یابد. به طوری که کاهش دما از صفر به ۶- درجه سانتی‌گراد سبب کاهش ۳۸ درصدی تعداد برگ‌ها شد. در ادامه نیز کاهش شدیدتر دما از ۶- به ۱۲- درجه سانتی‌گراد موجب کاهش شدیدتر تعداد برگ‌ها به میزان ۹۲ درصد شد (Siahmargouei et al., 2011).

برهمکنش توده و دما بر سطح برگ باقلا معنی‌دار بود (جدول ۱). در مجموع توده نیشابور در کلیه دماهای یخزدگی سطح برگ بیشتری نسبت به توده بروجرد داشت (شکل ۳، پ). در توده بروجرد کاهش دما از صفر به ۴- درجه

هرچند برهمکنش توده و دما تأثیر معنی‌داری بر تعداد برگ نداشت، اما اثر دما بر تعداد برگ در گیاه باقلا معنی‌دار بود (جدول ۱). بیشترین و کمترین تعداد برگ در بین گیاهان زنده در دمای ۴- و ۱۶- درجه سانتی‌گراد مشاهده شد (شکل ۳، ب). کاهش دما از صفر به ۸- و ۱۲- درجه سانتی‌گراد سبب کاهش تعداد برگ به ترتیب به میزان ۲۴ و ۱۸ درصد شد. همچنین کاهش دما به ۸- و ۱۲- درجه سانتی‌گراد سبب کاهش تعداد برگ به ترتیب به میزان ۲۲ و ۱۷ درصد نسبت به دمای ۴- درجه سانتی‌گراد شد. در ادامه تشدید دماهای یخزدگی باعث عدم ارزیابی صفت مذکور به علت مرگ گیاهان شد. بررسی اثر دماهای یخزدگی در گیاه رازیانه نشان داد که

مطابق جدول (۱) اثر برهمکنش توده و دما بر وزن خشک برگ گیاه باقلا معنی‌دار بود. به این صورت که در توده بروجرد با کاهش دما از صفر به ۸- و ۱۲- درجه سانتی‌گراد وزن خشک برگ به ترتیب ۲۳ و ۳۳ درصد کاهش یافت (شکل ۴، الف). به عبارتی دیگر کاهش هر درجه سانتی‌گراد دما در این دو محدوده دمایی سبب کاهش ۸/۴ و ۸/۱ میلی‌گرم وزن خشک در برگ گیاه باقلا شد.

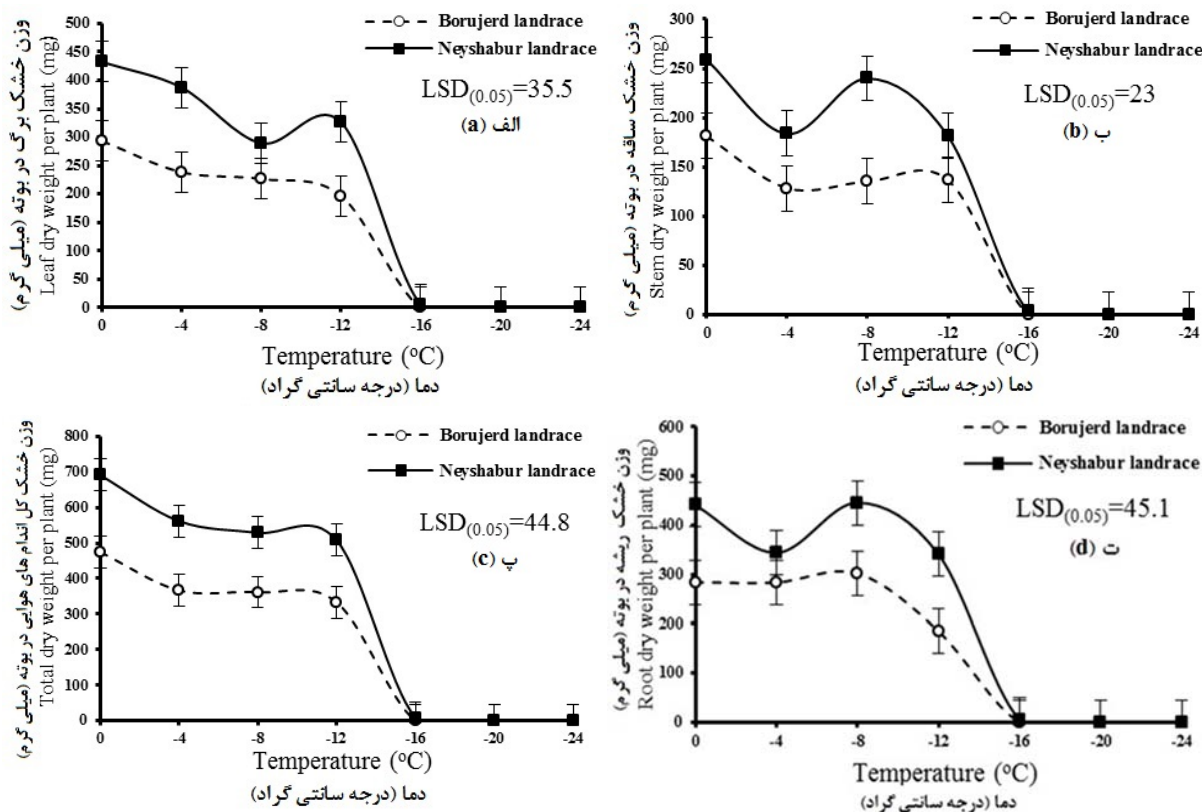
اثر برهمکنش توده و دما بر وزن خشک ساقه گیاه باقلا معنی‌دار بود (جدول ۱). همان‌گونه که در شکل (۴، ب) مشاهده می‌شود در توده بروجرد کاهش دما از صفر به ۴-، ۸- و ۱۲- درجه سانتی‌گراد به ترتیب سبب کاهش ۲۹، ۲۵ و ۲۵ درصدی وزن خشک ساقه شد. به عبارتی دیگر کاهش هر درجه سانتی‌گراد دما به ترتیب موجب کاهش وزن خشک به میزان ۱۳/۳، ۱۱/۵ و ۱۱/۳ میلی‌گرم در دماهای مذکور شد. در توده نیشابور کاهش دما از صفر به ۴-، ۸- و ۱۲- درجه سانتی‌گراد سبب کاهش وزن خشک در اندام ساقه به میزان ۲۹، ۷/۲ و ۳۰ درصد شد. کاهش هر درجه سانتی‌گراد دما در این توده سبب کاهش وزن خشک این اندام به میزان ۱۸/۸، ۴/۸ و ۱۹/۳ میلی‌گرم در دماهای مذکور شد. در این آزمایش ساقه از نظر وزن خشک به کاهش دما در مراحل اولیه تنش حساسیت بیشتری داشت و به همین جهت کاهش دماهای یخ‌زدگی از صفر به ۴- درجه سانتی‌گراد، سبب کاهش وزن خشک محسوس‌تری شده است. احتمالاً پس از گذراندن شوک یخ‌زدگی ابتدایی و در محدوده دمایی ۴- تا ۸- درجه سانتی‌گراد، ساقه با تولید ترکیباتی همچون پروتئین‌های ضد انجماد مواجه شده است که در نتیجه اتصال این پروتئین‌ها به سطح هسته‌های یخ از رشد بلور یخ جلوگیری و سبب کاهش تأثیر نامطلوب تنش یخ‌زدگی شده است. سرانجام با کاهش بیشتر دماهای یخ‌زدگی مجدداً روند کاهش وزن خشک ساقه ادامه پیدا کرد. تأثیر مطلوب این پروتئین‌ها جهت حفاظت از گیاهان در برابر تنش یخ‌زدگی در برخی از گیاهان خانواده لگوم همچون یونجه (*Medicago sativa* L.)، شبدر سفید (*Trifolium repens* L.) همچنین چاودار زمستانه (*Secale cereale* L.) مشخص شده است (Avic et al., 2003; Griffith and Yaish, 2004). با مقایسه روند تغییرات وزن خشک ساقه در دو توده مورد بررسی مشخص شد که در توده نیشابور کاهش دما از صفر درجه سانتی‌گراد به هر یک از دماهای ۴- و ۱۲- درجه سانتی‌گراد سبب کاهش بیشتر وزن خشک ساقه نسبت به توده بروجرد شده است، این

سانتی‌گراد سبب کاهش ۲۲ درصدی سطح برگ (۱۶ سانتی‌متر مربع) شد، درحالی‌که در توده نیشابور این کاهش هشت درصد (هشت سانتی‌متر مربع) بود. سطح برگ توده بروجرد در محدوده دمایی مذکور حساسیت بیشتری به دماهای یخ‌زدگی نسبت به توده نیشابور داشت؛ به عبارتی دیگر شروع خسارت در توده بروجرد از دماهای بالاتری آغاز شده است. احتمالاً واکنش بهتر توده نیشابور به فرآیند خوسرمایی سبب آسیب کمتر سطح برگ در این محدوده دمایی شده است. کاهش دما از ۸- به ۱۲- درجه سانتی‌گراد تأثیر معنی‌داری بر کاهش سطح برگ توده نیشابور داشت و سبب کاهش ۱۹ درصدی سطح برگ (۱۸ سانتی‌متر مربع) این توده شد، در صورتی‌که در توده بروجرد این کاهش دما تأثیری بر سطح برگ نداشت. با وجود این کاهش دما از صفر به ۱۲- درجه سانتی‌گراد سبب کاهش سطح برگ در هر دو توده بروجرد و نیشابور شد. به‌طور کلی در محدوده دمایی مذکور کاهش سطح برگ در توده نیشابور بیشتر بود (کاهش ۲۴ سانتی‌متر مربع سطح برگ در توده نیشابور در مقایسه با ۱۸ سانتی‌متر مربع در توده بروجرد).

در مجموع کاهش معنی‌دار سطح برگ در توده بروجرد از محدوده دمایی بالاتری (صفر تا ۴- درجه سانتی‌گراد) آغاز شده است که مبین حساسیت بالای سطح برگ این توده به شروع دماهای یخ‌زدگی نسبت به توده نیشابور است. سطح برگ به‌عنوان عامل اصلی و مؤثر در جذب نور توسط گیاهان، میزان فتوسنتز، تولید محصول و زیست‌توده را در گیاه تعیین می‌کند. هرگونه کاهش توسعه برگ سبب کاهش در میزان فتوسنتز و در نهایت کاهش عملکرد و کیفیت دانه خواهد شد (Repkova et al., 2009)؛ بنابراین مطالعه اثرات نامطلوب دماهای یخ‌زدگی بر این شاخص می‌تواند راهکاری مناسب جهت ارزیابی خسارت وارد شده به گیاه باشد. در همین راستا مطالعه خورسندی و همکاران (Khorsandai et al., 2015) نشان داد که کاهش دما از صفر به ۶- درجه سانتی‌گراد موجب کاهش چندانی در سطح سبز اکوتیپ گناباد گیاه سیاه‌دانه (*Nigella sativa* L.) نشد، اما کاهش دما به ۹- درجه سانتی‌گراد سبب کاهش ۹۲ درصدی سطح سبز نسبت به دمای ۶- درجه سانتی‌گراد شد. در آزمایش ایشان اکوتیپ نیشابور تا دمای ۳- درجه سانتی‌گراد سطح سبز خود را حفظ کرد اما کاهش دما به ۴/۵- درجه سانتی‌گراد سبب کاهش ۲۶ درصدی صفت مذکور نسبت به دمای صفر درجه سانتی‌گراد شد.

همان‌طور که در جدول (۱) ملاحظه می‌شود وزن خشک اندام‌های هوایی (برگ و ساقه) گیاه باقلا به‌صورت معنی‌داری تحت تأثیر برهمکنش توده و دما قرار گرفت.

در حالی است که در توده بروجرد نسبت به توده نیشابور کاهش دما از صفر به ۸- درجه سانتی‌گراد سبب کاهش بیشتر وزن خشک ساقه شد. همچنین وزن خشک ساقه در دمای ۱۶- درجه سانتی‌گراد در هر دو توده مذکور (به علت مرگ گیاهان) تقریباً به صفر رسید.



شکل ۴. اثر برهمکنش توده و دما بر وزن خشک برگ (الف)، وزن خشک ساقه (ب)، وزن خشک کل اندام‌های هوایی (پ) و وزن خشک ریشه (ت) گیاه باقلا ۲۱ روز پس از اعمال تنش یخ‌زدگی.

Fig. 4. Interaction effect between landrace and temperature on leaf dry weight (a), stem dry weight (b), shoot organs dry weight (c) and root dry weight (d) in faba bean, 21 days after applying freezing stress.

درجه سانتی‌گراد) ۲۹/۸ درصد کاهش داشت (کاهش ۱۱/۸ میلی‌گرم وزن خشک گیاه به ازای هر درجه سانتی‌گراد)، در توده نیشابور نیز هرچند روند تغییرات وزن خشک از دمای ۴- تا ۱۲- درجه سانتی‌گراد تقریباً مشابه توده بروجرد بود ولی کاهش دما در گستره مورد اشاره (از دمای صفر به ۱۲- درجه سانتی‌گراد) سبب کاهش وزن خشک به میزان ۲۶/۶ درصد (معادل کاهش ۱۵/۳ میلی‌گرم ماده خشک به ازای هر درجه سانتی‌گراد کاهش دما) شد. با مقایسه وزن خشک گیاهان در محدوده دمایی صفر تا ۱۲- درجه سانتی‌گراد در

مطابق شکل (۴، پ) در توده بروجرد کاهش دما از صفر به ۴- درجه سانتی‌گراد موجب کاهش ۲۳ درصدی وزن خشک اندام‌های هوایی گیاه شد (۲۷ میلی‌گرم کاهش به ازای هر درجه سانتی‌گراد کاهش دما). در صورتی که در توده نیشابور این کاهش در شرایط مشابه ۱۸/۷ درصد بود (۳۲/۳ میلی‌گرم کاهش به ازای هر درجه سانتی‌گراد کاهش دما). روند تغییرات وزن خشک در توده بروجرد از دمای ۴- تا ۱۲- درجه سانتی‌گراد معنی‌دار نبود، اما وزن خشک این توده در دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد نسبت به دمای شاهد (صفر

(کاهش ۲۹/۳ و ۲۶/۳ میلی‌گرم در بوته وزن خشک ریشه به ازای هر درجه سانتی‌گراد کاهش دما به ترتیب در توده بروجرد و نیشابور). همانند اندام‌های هوایی، ریشه‌های هر دو توده نیز در دمای ۱۶- درجه سانتی‌گراد به علت شدت آسیب سرما از بین رفته بودند و وزن خشک آن‌ها به صفر رسیده بود. کاهش وزن خشک ریشه از دمای شاهد (صفر درجه سانتی‌گراد) تا دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد همسو با کاهش وزن خشک کل اندام‌های هوایی بود. به این صورت که در توده بروجرد این کاهش دما سبب کاهش وزن خشک کل اندام‌های هوایی و ریشه به ترتیب به میزان ۳۰ و ۳۵ درصد شد، این در حالی است که در توده نیشابور کاهش دمای مذکور سبب کاهش وزن خشک کل اندام‌های هوایی و ریشه به ترتیب به میزان ۲۷ و ۲۳ درصد شد. همچنین همبستگی بین وزن خشک اندام‌های هوایی با وزن خشک ریشه مثبت و معنی‌دار ($r=0/97^{**}$) بود (جدول ۲).

بنابراین با توجه به نتایج حاصل از همبستگی می‌توان چنین استنباط کرد که تغییرات در تخصیص مواد فتوسنتزی در ریشه و اندام‌های هوایی همسو و هماهنگ بوده و کاهش دماهای یخ‌زدگی سبب کاهش وزن خشک در ریشه و اندام‌های هوایی در نتیجه کاهش تخصیص، شده است. کلیه خصوصیات مرتبط با ریشه گیاهان از جمله وزن خشک ریشه تحت تأثیر دماهای پایین قرار می‌گیرند (Sun et al., 2016). مطالعه Ghorbani et al. (2011) روی وزن خشک ریشه برنج نشان داد که کاهش دما از ۲۵ درجه سانتی‌گراد (دمای شاهد) به دماهای ۱۵ و ۱۰ درجه سانتی‌گراد سبب کاهش وزن خشک ریشه‌چه در رقم نعمت به ترتیب به میزان ۶۷ و ۸۱ درصد شد. این در حالی است که کاهش دمای مذکور در رقم اوندان منجر به کاهش وزن خشک ریشه‌چه به ترتیب به میزان ۴۶ و ۶۱ درصد شد.

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی کاهش دماهای یخ‌زدگی سبب کاهش درصد بقاء و رشد مجدد گیاهچه‌های باقلا شد. هرچند کاهش دماهای یخ‌زدگی تا ۱۲- درجه سانتی‌گراد خسارت نسبتاً اندکی به گیاهچه‌های باقلا وارد کرد، اما پس‌از این دما خسارت شدیدتر شد. به‌نحوی که در دمای ۱۶- درجه سانتی‌گراد تقریباً تمام گیاهچه‌های باقلا از بین رفتند و درصد بقای گیاهان به صفر رسید. خصوصیات رشد مجدد گیاهان بسته به توده و دماهای یخ‌زدگی تغییرات متفاوتی داشتند. از محدوده دمایی صفر تا

دو توده مورد آزمایش مشخص می‌شود که توده نیشابور نسبت به توده بروجرد کاهش وزن خشک بیشتری داشته و از این نظر به دماهای یخ‌زدگی (دمای صفر تا ۱۲- درجه سانتی‌گراد) حساس‌تر است. بین ارتفاع ساقه و سطح برگ گیاه با وزن خشک اندام‌های هوایی باقلا همبستگی مثبت و معنی‌داری (به ترتیب $r=0/98^{**}$ و $r=0/96^{**}$) مشاهده شد (جدول ۲)، به‌طوری‌که با کاهش دو صفت مذکور وزن خشک اندام‌های هوایی باقلا نیز کاهش یافت.

در سایر مطالعات نیز مشاهده شده است که هرچند تحت تأثیر تنش یخ‌زدگی وزن خشک گیاه کاهش می‌یابد ولی این کاهش بسته به رقم و یا ژنوتیپ متفاوت است. در همین راستا مطالعه تحمل به یخ‌زدگی در ژنوتیپ‌های نخود نشان‌دهنده معنی‌داری اثر برهمکنش ژنوتیپ و دما بر وزن خشک گیاه بود. به‌طوری‌که در ژنوتیپ MCC 426 کاهش دما از ۴- به ۸- درجه سانتی‌گراد سبب کاهش ۲۸ درصد از وزن خشک گیاه شد، این در حالی است که در ژنوتیپ MCC 505 کاهش دمای مذکور منجر به کاهش ۶۷ درصدی وزن خشک گیاه شد. (Nezami et al., 2006).

اثر برهمکنش توده و دما بر وزن خشک ریشه معنی‌دار بود (جدول ۱). هرچند در توده بروجرد با کاهش دما از صفر تا ۸- درجه سانتی‌گراد، تغییرات معنی‌داری در میزان وزن خشک ریشه مشاهده نشد، اما در توده نیشابور مطابق شکل (۴، ت) کاهش دما از صفر به ۴- و از ۴- به ۸- سبب کاهش و افزایش وزن خشک ریشه به ترتیب به میزان ۲۲، ۲۳ درصد شد (کاهش و افزایش وزن خشک ریشه به ترتیب به میزان ۲۴/۳ و ۲۵/۵ میلی‌گرم به ازای هر درجه سانتی‌گراد کاهش دما از صفر به ۴- و ۴- به ۸- درجه سانتی‌گراد). ریشه در توده نیشابور نسبت به دماهای یخ‌زدگی حساسیت بیشتری نشان داد. به نظر می‌رسد کاهش ناگهانی دما (از صفر به ۴- درجه سانتی‌گراد) و عدم آمادگی ریشه برای مواجهه با این کاهش دما سبب اختلال در رشد ریشه و در نتیجه کاهش وزن خشک آن شده است. احتمالاً دلیل افزایش وزن خشک ریشه (در محدوده دمایی ۴- تا ۸- درجه سانتی‌گراد) به دلیل مطابقت آن با شرایط دمایی ایجاد شده باشد. در ادامه کاهش شدیدتر دماهای یخ‌زدگی منجر به کاهش شدید وزن خشک ریشه شد. به‌طوری‌که کاهش دما از ۸- به ۱۲- درجه سانتی‌گراد در توده بروجرد سبب کاهش وزن خشک ریشه به میزان ۳۹ درصد شد، این در حالی است که کاهش وزن خشک ریشه در دمای مذکور در توده نیشابور ۳۴ درصد بود

خسارت شدیدتر به گیاهان شد؛ بنابراین با توجه به مزایای متعدد کشت پاییزه گیاهان سرمادوستی مانند باقلا، می‌توان با تنظیم مناسب تاریخ کاشت در دو توده بومی مذکور، به گونه‌ای که دمای حداقل ۱۲- درجه سانتی‌گراد مصادف با مرحله رشدی چهار تا شش برگی باشد از اثرات نامطلوب تنش یخ‌زدگی جلوگیری کرد. به عبارتی دیگر احتمال موفقیت کاشت دو توده بومی باقلا (بروجرد و نیشابور) در مناطقی با حداقل دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد (در صورت همبستگی بالایی نتایج آزمایش‌های مزرعه‌ای با شرایط کنترل‌شده) زیاد است.

۱۲- درجه سانتی‌گراد توده نیشابور در تمام خصوصیات رشد مجدد (به‌غیر از ارتفاع ساقه) با کاهش بیشتری نسبت به توده بروجرد مواجه بود که نشان‌دهنده حساسیت بالاتر این توده در این محدوده دمایی است. به عبارتی دیگر احتمالاً توان بازیافت توده بروجرد در محدوده دمایی مذکور بیشتر از توده نیشابور بود. با توجه به کاهش شدیدتر درصد بقاء و خصوصیات رشدی پس از دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد می‌توان چنین نتیجه گرفت که در آزمایش حاضر آستانه خسارت در گیاه باقلا دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد بود و کاهش دماهای یخ‌زدگی از ۱۲- درجه سانتی‌گراد سبب

جدول ۲. ضرایب همبستگی بین درصد بقاء و برخی از صفات رشدی گیاه باقلا ۲۱ روز پس از اعمال تنش یخ‌زدگی.

Table 2. Correlation coefficients between survival percentage and some of growth traits of faba bean 21 days after applying freezing stress.

صفات		1	2	3	4	5	6	7	8
Traits									
1	درصد بقاء Survival percentage	1							
2	ارتفاع ساقه Stem height	-0.03 ^{ns}	1						
3	تعداد برگ No. leaf	-0.14 ^{ns}	-0.65 ^{ns}	1					
4	سطح برگ Leaf area	-0.01 ^{ns}	0.95 ^{**}	-0.59 ^{ns}	1				
5	وزن خشک برگ Leaf dry weight	-0.01 ^{ns}	0.95 ^{**}	-0.67 ^{ns}	0.93 ^{**}	1			
6	وزن خشک ساقه Shoot dry weight	-0.10 ^{ns}	0.98 ^{**}	-0.56 ^{ns}	0.97 ^{**}	0.94 ^{**}	1		
7	وزن خشک اندام‌های هوایی Shoot organs dry weight	-0.04 ^{ns}	0.98 ^{**}	-0.64 ^{ns}	0.96 ^{**}	0.99 ^{**}	0.98 ^{**}	1	
8	وزن خشک ریشه Root dry weight	-0.17 ^{ns}	0.96 ^{**}	-0.78 [*]	0.91 ^{**}	0.96 ^{**}	0.94 ^{**}	0.97 ^{**}	1

**، * و ^{ns}: به ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال یک، پنج درصد و غیر معنی‌دار.

** , * and ^{ns}: significant at one, five% levels and nonsignificant, respectively.

منابع

- Ali, M.B., Welna, G., Sallam, A., Martsch, R., Balko, CH., Gebser, B., Sass, O., Link, W., 2016. Association analyses to genetically improve drought and freezing tolerance of faba bean (*Vicia faba* L.). *Journal of Crop Science*. 56, 1036-1048.
- Arbaoui, M., Balko, C., Link, W., 2008. Study of faba bean (*Vicia faba* L.) winter-hardiness and development of screening methods. *Field Crops Research*: 106, 60-67.
- Auld, D.L., Ditterline, R.L. Murray, G.A., Swensen, J.B., 1983. Screening peas for winter hardiness under field and laboratory conditions. *Crop Science*. 23, 85-88.
- Avicé, J.C., Dily, F., le Goulas, E., Noquet, C., Meuriot, F., Volenec, J.J., Cunningham, S.M., Sors, T.G., Dhont, C., Castonguay, Y., Nadeau,

- P., Belanger, G., Chalifour, F.P., Ourry, A., 2003. Vegetative storage proteins in overwintering storage organs of forage legumes: roles and regulation. *Canadian Journal of Botany*. 81, 1198-1212.
- Azizi, H., Nezami, A., Nasiri-mahalati, M., Khazaei, H.R., 2007. Evaluation of cold tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars under controlled conditions. *Iranian Journal of Field Crops Research*. 5, 109-120. [In Persian with English summary].
- FAO. 2016., Nutritional benefits of pulses. www.FAO.com.
- FAO. 2016., Pulses; nutritious seeds for a sustainable future. www.FAO.com.
- Fowler, D.B., Gusta, L.V., Tyler, N.J., 1981. Selection for winterhardiness in wheat. III. Screening methods. *Journal of Crop Science*. 21, 896-901.
- Ghorbani, A., Zarinkamar, F., Fallah, A., 2011. Effect of cold stress on anatomy and morphology in both resistant and sensitive rice varieties at germination stage. *Cell and Tissue Journal*. 2, 235-244. [In Persian with English summary].
- Griffith, M., Yaish, M.W.F., 2004., Antifreeze proteins in overwintering plants: a tale of two activities. *Trends in Plant Science*. 9, 399-405.
- Gupta, R., Deswal, R., 2014. Antifreeze proteins enable plants to survive in freezing conditions. *Journal of Biosciences*. 39, 1-14.
- Hekneby, M., Antolin, M.C., Sanchez-Diaz, M., 2006. Frost resistance and biochemical changes during cold acclimation in different annual legumes. *Environmental and Experimental Botany*. 55, 305-314.
- Inci, N.E., Toker, C., 2011. Screening and selection of faba beans (*Vicia faba* L.) for cold tolerance and comparison to wild relatives. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 58, 1169-1175.
- Izadi-Darbandi, E., Yousef-Sani, M., Nezami, A., Mousavi, M.J., Keikha, F., Nezami, S., 2012. Effect of freezing stress on cranberry (*Dianthus barbatus*) in controlled conditions. *Journal of Environmental Stresses in Crop Sciences*. 4: 117-125. [In Persian with English summary].
- Jensen, E.S., Peoples, M.B., Hauggaard-Nielsen, H., 2010. Faba bean in cropping systems. *Field Crops Research*. 115, 203-216.
- Khorsandi, T., Nezami, A., Kafi, M., Goldani, M., 2015. Effects of spring late cold on black cumin (*Nigella sativa* L.) under controlled conditions. *Iranian Journal of Field Crops Research*. 12, 665-676. [In Persian with English summary].
- Kim, D.C., Anderson, N.O., 2006. Comparative analysis of laboratory freezing methods to establish cold tolerance of detached rhizomes and intact crowns in garden chrysanthemums (*Dendranthema X grandiflora* Tzvelv). *Scientia Horticulture*. 109, 345-352.
- Koocheki, A., Nassiri-Mahallati, M., Mondani, F., Khorramdel, S., 2012. *Ecophysiology of Field Crops: A New Perspective*. Ferdowsi University of Mashhad Press. 614p. [In Persian].
- Kosova, K., 2008. Relationships between vernalization, frost tolerance and expression of dehydrins in barley (*Hordeum vulgare* L.). PhD Thesis. Charles University in Prague.
- Lepse, L., Dane S., Zeipina, S., Domínguez-Perles, R., Rosa, EA., 2017. Evaluation of vegetable-faba bean (*Vicia faba* L.) intercropping under Latvian agro-ecological conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 97, 4334-4342.
- Levitt, J., 1980. Chilling injury and resistance. In: Kozlowsky, T.T. (Ed), *Chilling, Freezing and High Temperature Stresses. Responses of Plants to Environmental Stresses*. Vol.1. Academic Press, New York. pp. 23-64.
- Lindow, S.E., Arny, D.C., Upper, C.D., 1982. Bacterial ice nucleation: a factor in frost injury to plants. *Plant Physiology*. 70, 1084-1089.
- Link, W., Balko, C., Stoddard, F.L., 2010. Winter hardiness in faba bean: Physiology and breeding. *Field Crops Research*. 115, 287-296.
- Majnonhosseini, N., 2008. *Grain Legume Production*. Tehran Jahad Daneshgahi Publications. 294p. [In Persian].
- Nezami, A., Bagheri, A.R., Rahimian, H., Kafi, M., Nasiri-mahalati, M., 2006. Evaluation of freezing tolerance in chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes under controlled conditions. *Journal of Sciences and Technology of Agriculture and Natural Resources*. 10, 257-268. [In Persian with English summary].
- Nezami, A., Khazaei, H.R., Mehrabadi, H.R., Dashti, M., Pouramir, F., Ahmadi, M., 2015. Evaluation of tolerance of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) cultivars to freezing temperatures under controlled conditions. *Iranian Journal of*

- Field Crops Research. 13, 53-61. [In Persian with English summary].
- Qian, Y.L., Ball, S., Tan, Z., Koski, A.J., Wilhelm, S.J., 2001. Freezing tolerance of six cultivars of buffalograss. *Journal of Crop Science*. 41, 1174-1178.
- Rashed-Mohassel, M.H., Nezami, A., Bagheri, A.R., Hajmohammadnia, K., Bannayan, M., 2009. Evaluation of freezing tolerance of two fennel (*Foeniculum vulgare* L.) ecotypes under controlled conditions. *Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants*. 15, 131-140.
- Repkova, J., Brestic, M., Olsovska, K., 2009. Leaf growth under temperature and light control. *Plant, Soil and Environment*. 55, 12: 551-557.
- Rizzello, C.G., Verni, M., Koivula, H., Montemurro, M., Seppa, L., Kemell, M., Katina, K., Coda, R., Gobbetti, M., 2017. Influence of fermented faba bean flour on the nutritional, technological and sensory quality of fortified pasta. *Food and Function*. 8, 860-871.
- Shalendra, K.C., Gummagolmath, K., Sharma, P., Patil, S.M., 2013. Role of pulses in the food and nutritional security in India. *Journal of Food Legumes*. 26, 124-129.
- Siahmargouei, A., Azizi, G., Nezami, A., Jahani, M., 2011. Evaluation of freeze tolerance in fennel ecotypes grown in field, under controlled conditions. *Journal of Horticulture Science*. 25, 64-72. [In Persian with English summary].
- Sun, B., Liu, G-L., Phan, T.T., Yang, L-t., Li, Y-R., Xing, Y-X., 2016. Effects of cold stress on root growth and physiological metabolisms in seedlings of different sugarcane varieties. *Sugar Tech*. 19, 165-175.
- Wang, W., Wei, L., Wang, G., 2003. Multistep purification of an antifreeze protein from *Ammopiptanthus mongolicus* by chromatographic and electrophoretic methods. *Journal of Chromatographic Science*. 41, 489-493.