

ارزیابی تحمل به یخ زدگی ژنوتیپ‌های نخود (*Cicer arietinum* L.) در شرایط کنترل شدهاحمد نظامی^۱، عبدالرضا باقری^۱، حمید رحیمیان^۲، محمد کافی^۱ و مهدی نصیری محلاتی^۱

چکیده

این آزمایش با هدف بررسی امکان ارزیابی تحمل به یخ زدگی گیاه نخود در شرایط کنترل شده با استفاده از دو ژنوتیپ متحمل به سرما (MCC۴۲۶ و MCC۲۵۲) و یک ژنوتیپ حساس به سرما (MCC۵۰۵) اجرا شد. ترکیب ژنوتیپ و خوسرمایی (خوسرمایی و عدم خوسرمایی) در پلات اصلی و درجه حرارت‌های صفر، -۴، -۸، -۱۲، -۱۶ و -۲۰ درجه سانتی‌گراد به عنوان پلات فرعی در نظر گرفته شدند. از نظر درصد بقای پس از اعمال تیمارهای یخ زدگی تفاوت بین ژنوتیپ‌ها معنی دار بود ($P \leq 0/05$). بر اساس میانگین داده‌های حاصل از اثرات خوسرمایی و دماهای یخ زدگی، درصد بقای ژنوتیپ‌های MCC۴۲۶ و MCC۲۵۲ به ترتیب ۴۱ و ۳۲ درصد بیشتر از ژنوتیپ MCC۵۰۵ بود. دمای کشنده برای ۵۰ درصد گیاهان (LT50) و دمایی که سبب ۵۰ درصد کاهش در وزن خشک گیاه شد (DMT50) در ژنوتیپ MCC۴۲۶ به ترتیب ۱۰/۸- و ۸/۴- درجه سانتی‌گراد و پایین‌تر از ژنوتیپ حساس (MCC۵۰۵) بود. با افزایش شدت یخ زدگی رشد گیاه در دوره باز یافت شدیداً کاهش یافت، به نحوی که در دمای ۱۲°C- وزن خشک گیاه و ارتفاع ساقه نسبت به تیمار صفر درجه سانتی‌گراد به ترتیب ۶۳ و ۶۶ درصد کاهش یافت. بیشترین خسارت یخ زدگی در ژنوتیپ حساس به سرما (MCC ۵۰۵) مشاهده شد به صورتی که تیمار دمایی ۱۲°C- سبب کاهش وزن خشک گیاه و ارتفاع این ژنوتیپ به میزان حدود ۹۰ درصد شد، در حالی که در این تیمار دمایی در ژنوتیپ MCC۴۲۶ وزن خشک و ارتفاع گیاه به ترتیب ۵۵ و ۴۹ درصد و در ژنوتیپ MCC۲۵۲ به ترتیب ۶۰ و ۵۴ درصد کاهش یافت. به نظر می‌رسد که استفاده از شرایط کنترل شده در تخمین LT50 و DMT50 برای ارزیابی تحمل به یخ زدگی در ژرم پلاسما نخود امکان پذیر است و در برنامه‌های اصلاحی از این روش می‌توان برای به‌گزینی لاین‌ها استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: تحمل به یخ زدگی، خوسرمایی، نخود، LT50 و DMT50

مقدمه

فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی در گیاه است (۱۲). 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 مورد تأکید قرار داده‌اند (۷ و ۱۴). علی‌رغم مزیت آزمایش‌های مزرعه‌ای، واقعیت این

تحمل گیاهان به شرایط سخت زمستان ترکیبی از تحمل به تنش‌های مختلف از جمله تحمل به یخ زدگی، غرقاب، پسابدگی و بیماری‌ها می‌باشد و لذا این تحمل صفت پیچیده‌ای است که مستلزم وقوع فرایندهای متعدد شیمیایی،

۱. به ترتیب استادیار، استاد و دانشیاران زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
۲. استاد زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران

مراحل رویشی و زایشی آن در معرض برخی تنش‌های محیطی (نظیر گرما و خشکی) قرار گرفته و لذا عملکرد اندک و بی‌ثباتی دارد (۱۱). بررسی‌های انجام شده توسط ایکاردا در مناطق پست با آب و هوای مدیترانه‌ای منجر به شناسایی تعدادی از ژنوتیپ‌های متحمل به سرما جهت کاشت زمستانه این گیاه شده و به دنبال آن کشت زمستانه نخود در این مناطق گسترش یافته است (۱۴ و ۱۶). در شرایط کشت زمستانه دوره رشد رویشی ارقام متحمل به سرمای مورد استفاده بهبود یافته و دوره رشد زایشی آنها نیز غالباً در شرایط رطوبتی - حرارتی مناسبی قرار گرفته و به دنبال آن عملکرد گیاه افزایش یافته است (۱۷).

با وجود این در خصوص ارزیابی تحمل به سرمای ژنوتیپ‌های نخود در شرایط مزرعه در مناطق مرتفع غرب آسیا به غیر از مطالعه سینگ و همکاران (۱۸) گزارش منتشر شده دیگری در دسترس نیست. ضمن این‌که آزمایش ایشان نیز نتایج موفقیت آمیزی را به دنبال نداشته است. ولی بررسی‌های مزرعه‌ای نظامی و باقری (۱) در خراسان منجر به شناسایی تعدادی ژنوتیپ نخود متحمل به شرایط سخت زمستان‌های این منطقه که از مناطق مرتفع شمال شرق ایران است گردید. اما در خصوص ارزیابی تحمل به یخ زدگی نخود در شرایط کنترل شده تا کنون هیچ‌گونه گزارشی منتشر نشده است، بنابراین این آزمایش با هدف بررسی امکان ارزیابی تحمل به یخ زدگی نخود در شرایط کنترل شده طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

در این مطالعه که در دانشکده کشاورزی - دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۱۳۸۰ انجام شد، دو ژنوتیپ متحمل به سرمای نخود شامل MCC۲۵۲ (ILC ۴۸۲) و MCC ۴۲۶ و یک ژنوتیپ حساس به سرما MCC ۵۰۵ (ILC ۵۳۳) مورد بررسی قرار گرفتند. ژنوتیپ‌های MCC ۲۵۲ و MCC ۵۰۵ به ترتیب به عنوان ژنوتیپ‌های متحمل و حساس به سرما در نواحی مدیترانه‌ای توسط ایکاردا معرفی شده‌اند (این بررسی‌ها توسط

است که به دلیل تنوع مکانی و زمانی وقوع سرما در شرایط مزرعه، در این گونه ارزیابی‌ها مشکلات خاصی از جمله امکان عدم وجود زمستان‌های مطلوب از نظر شرایط به‌گزینی یا سردی هوا در حد مرگ گیاهان و ایجاد خطا در به‌گزینی وجود دارد (۳ و ۴)، ضمن این‌که درصد بقای گیاهان در مزرعه تا حد زیادی وابسته به میزان پوشش برف، دما و رطوبت خاک و سایر عوامل محیطی است (۹). علاوه بر این در تولید ارقام متحمل به تنش (سرما) اولین قدم بررسی تحمل به تنش در ژنوتیپ‌های گیاه مورد نظر می‌باشد که به دلیل تعداد زیاد ژنوتیپ‌ها، به عنوان مثال وجود بیش از ۲۰۰۰۰ ژنوتیپ نخود در مراکز تحقیقاتی ایکاردا و ایکریست (۱۰)، انجام این کار در شرایط مزرعه بسیار پرهزینه و وقت‌گیر می‌باشد (۳).

از این رو محققان غالباً از روش آزمون یخ زدگی در شرایط کنترل شده استفاده می‌کنند. در این روش گیاهان در شرایط کنترل شده با سرما خوسرمایی (Cold acclimation) پیدا می‌کنند و در مرحله بعد با قراردادن آنها در معرض دماهای مختلف یخ زدگی، دمایی را که سبب مرگ ۵۰ درصد از گیاهان می‌شود، محاسبه می‌کنند. نتایج به‌دست آمده از اغلب آزمایش‌های انجام شده به روش مذکور، بر روی گیاهان دیگری به‌جز نخود، هم‌بستگی خوبی با بقای گیاه در مزرعه نشان داده‌اند (۳ و ۷). به‌عنوان مثال اولد و همکاران (۲)، با بررسی تحمل به سرمای ژنوتیپ‌های نخود فرنگی در شرایط مزرعه و شرایط کنترل شده مشاهده کردند که با کاهش دما درصد بقای لاین‌های نخود فرنگی در هر دو محیط کاهش یافت. در آزمایش ایشان ضرایب هم‌بستگی درصد بقای ۱۹ لاین نخود فرنگی بین دو محیط آزمایشی (مزرعه و شرایط کنترل شده) بالاتر از ۸۰ درصد بود که بیانگر امکان استفاده از شرایط کنترل شده در به‌گزینی ژنوتیپ‌ها برای تحمل به شرایط زمستان در مزرعه می‌باشد. این محققین اظهار داشتند که با به‌گزینی در دمای ۹- درجه سانتی‌گراد می‌توان گیاهان غیر مقاوم به یخ زدگی را حذف کرد.

نخود از جمله گیاهانی است که در شرایط کشت بهاره

روز بعد و قبل از اعمال تیمار یخ زدگی و به منظور مشابه‌سازی با شرایط طبیعی، گلدان‌ها در داخل جعبه‌های یونولیت قرار داده شدند. قطر ورقه‌های یونولیت ۱/۵ سانتی متر بود. این جعبه‌های محافظ که از طرفین گلدان‌های چوبی را احاطه کرده بودند شرایط مزرعه را مشابه سازی کرده و سبب می‌شوند که با کاهش دما گلدان‌ها به تدریج دچار یخ زدگی شوند، بدون این‌که ریشه گیاه دچار خسارت ناگهانی، شدید و غیر واقعی گردد (۵). در مرحله بعد گلدان‌ها به فریزر ترمو گرایان منتقل شدند. دمای فریزر در شروع آزمایش ۵ درجه سانتی‌گراد بود و پس از قرار دادن ژنوتیپ‌ها با سرعت ۲ درجه سانتی‌گراد در ساعت کاهش یافت. این وضعیت شرایط را برای توزیع مجدد آب به بافت‌های گیاهی و جلوگیری از تشکیل یخ در داخل سلول‌ها که در طبیعت به ندرت اتفاق می‌افتد فراهم می‌کند (۱۳). در دمای ۳- درجه سانتی‌گراد به منظور جلوگیری از پدیده فرا سرما و ایجاد هستک یخ در گیاهچه و اطمینان از این‌که مکانیزم از نوع تحمل است و نه اجتناب، دما به مدت ۱۲ ساعت ثابت نگه داشته شد و پس از آن دما با سرعت ۲ درجه سانتی‌گراد در ساعت کاهش یافت (۲ و ۴). در این آزمایش شش تیمار درجه حرارت صفر، -۴، -۸، -۱۲، -۱۶ و -۲۰ درجه سانتی‌گراد در نظر گرفته شد. به منظور ایجاد تعادل در دمای محیط در هر دمای مورد نظر گیاهان به مدت یک ساعت نگه داشته و سپس از فریزر خارج شدند (۲). به منظور کاهش سرعت ذوب، گلدان‌ها بلافاصله به اتاقک با دمای 1 ± 4 درجه سانتی‌گراد منتقل و به مدت ۲۴ ساعت در آنجا نگه‌داری شدند (۴)، سپس گلدان‌ها به گلخانه (مشابه شرایط قبل از خوسرمایی) منتقل شده و پس از ۲۱ روز درصد بقای و بازیافت (Recovery) گیاهان ارزیابی شد.

درصد بقای گیاهان از طریق شمارش تعداد بوته زنده در هر گلدان و از طریق فرمول:

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

محاسبه شد. جهت تعیین بازیافت گیاهان نیز وزن خشک گیاه به تفکیک وزن خشک کل ساقه، وزن خشک کل

ایکاردا غالباً در نواحی پست تا نیمه مرتفع مناطق مدیترانه‌ای که معمولاً زمستان بدون برف دارند و حداقل دما نیز بالاتر از 10°C - می‌باشد، انجام شده است. (۱۵ و ۱۶) و ژنوتیپ ۴۲۶ MCC حاصل به گزینی از توده بومی قزوین می‌باشد که در آزمایش‌های انجام شده در شرایط مزرعه جزو ارقام بسیار متحمل به سرما درجه بندی شده است (۱).

شرایط رشد در گلخانه

ابتدا بذرها با قرار دادن در اتانول ۷۵ درصد به مدت ۳۰ ثانیه ضد عفونی و سپس با قرار دادن آنها بین دو لایه پارچه ضد عفونی شده مرطوب در شرایط آزمایشگاه جوانه دار شدند. در مرحله بعد در گلخانه، ۹ بذر جوانه دار در گلدان‌های چوبی به ابعاد $12 \times 12 \times 12$ سانتی متر و در عمق ۴-۳ سانتی‌متری خاک کشت شدند. خاک گلدان دارای یک سوم شن، یک سوم خاک برگ و یک سوم خاک مزرعه بود. دمای گلخانه $16 \pm 22/16$ درجه سانتی‌گراد (شب/روز) و فتو پریود ۱۶ ساعت در نظر گرفته شد. گیاهان تا مرحله ۵-۳ برگی در شرایط فوق نگه‌داری شدند. پس از این مرحله گلدان‌ها یا بلافاصله مورد تیمار یخ زدگی قرار گرفتند (تیمار عدم خوسرمایی) و یا به شرایط خوسرمایی منتقل شدند.

خوسرمایی، تیمار یخ زدگی و بازیافت

به منظور ایجاد خوسرمایی، گیاهان به شرایط دمایی $1 \pm 5/3$ درجه سانتی‌گراد (تاریکی/روشنایی) منتقل شدند. در این شرایط فتوپریود معادل ۱۰/۵ ساعت و شدت تشعشع فعال فتوسنتزی در ۸۰ میلی‌متری سطح خاک معادل ۶۵-۷۵ میکرومول انیشتین بر متر مربع بر ثانیه در نظر گرفته شد. روشنایی از طریق نور لامپ فلورسنت ۴۰ وات و تنگستن ۱۰۰ وات به نسبت سه به یک فراهم گردید. تیمار خاموشی به‌طور ناگهانی و یک دفعه اعمال می‌شد. طول مدت خوسرمایی سه هفته بود و گیاهان در مواقع نیاز، آبیاری شدند. بوته‌ها ۲۴ ساعت قبل از تیمار یخ زدگی آبیاری شدند. در

شاخه‌ها، طول ساقه و طول و تعداد شاخه‌ها اندازه‌گیری و ثبت شد.

این مطالعه به صورت آزمایش فاکتوریل اسپلٹ پلات و در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام گرفت. ژنوتیپ و خوسرمایی به صورت فاکتوریل در پلات اصلی و درجه حرارت به عنوان پلات فرعی در نظر گرفته شدند. در مورد داده‌های درصدی و در مواردی که به دلیل عدم بقای بوته‌ها، داده‌ای حاصل نشده بود، تبدیل آماری مناسب انجام شد. درجه حرارت کشنده برای ۵۰ درصد ژنوتیپ‌ها (LT50) (Lethal Temperature 50) و نیز درجه حرارتی که سبب ۵۰ درصد کاهش در وزن خشک گیاه می‌شود (DMT50) (Dry Matter Temperature 50) نیز پس از تبدیل درصد بقای ژنوتیپ‌ها و وزن خشک آنها به داده‌های پروبیت محاسبه و سپس به صورت فاکتوریل تجزیه شدند. آنالیز واریانس با استفاده از نرم افزار MSTAT-C صورت گرفت و جهت مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون LSD استفاده شد.

نتایج و بحث

درصد بقا و درجه حرارت کشنده برای ۵۰ درصد ژنوتیپ‌ها (LT50)

ژنوتیپ‌ها از نظر درصد بقا و LT50 تفاوت معنی داری با یکدیگر داشتند (جدول‌های ۱ و ۲). براساس میانگین داده‌های حاصل از اثرات خوسرمایی و دما، درصد بقای ارقام ۴۲۶ MCC و ۲۵۲ MCC (ژنوتیپ‌های متحمل به سرما) به ترتیب ۴۱ و ۳۲ درصد بیشتر از رقم MCC ۵۰۵ (رقم حساس به سرما) و میزان LT50 دو ژنوتیپ متحمل به ترتیب ۴۶ و ۳۱ درصد کمتر از ژنوتیپ حساس بود (جدول ۳).

خوسرمایی، به‌طور کلی سبب افزایش درصد بقا به میزان ۱۵ درصد و کاهش LT50 به میزان ۲/۷ درجه سانتی‌گراد شد (جدول ۳). اثر متقابل خوسرمایی و ژنوتیپ بر درصد بقای نیز معنی دار بود (جدول ۱). با وجود این‌که خوسرمایی سبب افزایش درصد بقای هر سه ژنوتیپ شد، ولی این افزایش در

نمونه حساس یعنی MCC ۵۰۵ ۲۰/۶ درصد و در ژنوتیپ‌های MCC ۴۲۶ و MCC ۲۵۲ به ترتیب ۱۳/۶ و ۱۰/۷ درصد بود (جدول ۳).

خوسرمایی سبب بهبود LT50 ژنوتیپ MCC ۵۰۵ تا دمای ۹/۱- درجه سانتی‌گراد شد، در حالی‌که این بهبود در دو ژنوتیپ MCC ۴۲۶ و MCC ۲۵۲ به ترتیب تا دمای ۱۲/۲- و ۱۰/۶- درجه سانتی‌گراد بود (جدول ۳). با وجود این LT50 رقم MCC ۵۰۵ حتی پس از بهبودی در نتیجه خوسرمایی تقریباً معادل LT50 ژنوتیپ MCC ۲۵۲ و معادل ۹۴ درصد ژنوتیپ MCC ۴۲۶ در شرایط بدون خوسرمایی بوده است. به عبارت دیگر خوسرمایی سبب بهبود درجه تحمل به سرما در رقم حساس تا حد درجه تحمل به سرمای ارقام متحمل در شرایط عدم خوسرمایی شده است.

وری و همکاران (۲۱) اظهار داشته‌اند که در شرایط کشت زمستانه حبوبات سرما دوست، خوسرمایی ضروری است و خوسرمایی سبب بهبود تحمل به سرما در گیاه می‌شود. در بررسی ولبام و همکاران (۲۰) مشاهده شد که خوسرمایی سبب بهبود LT50 در گیاه نخود فرنگی شده است. سونسون و مورای (۱۹) نیز پس از بررسی اثر مدت خوسرمایی بر نخود فرنگی گزارش کردند که خوسرمایی به مدت ۴ تا ۶ هفته سبب بهبود LT50 در این گیاه شد. در آزمایش ایشان LT50 ارقام نخود فرنگی مورد مطالعه حدود ۸/۴- درجه سانتی‌گراد بود.

اثر تیمار یخ زدگی بر درصد بقای گیاهان معنی دار بود (جدول ۱). با کاهش دما به کمتر از ۴- درجه سانتی‌گراد درصد بقای گیاهان کاهش یافت (جدول ۴). کاهش درصد بقای گیاهان بین دمای ۴- و ۸- درجه سانتی‌گراد، ۱/۹ درصد به ازای کاهش هر درجه سانتی‌گراد دما بود، درحالی‌که این کاهش بین دمای ۸- تا ۱۲- درجه سانتی‌گراد به ۱۰/۴ درصد به ازای هر درجه سانتی‌گراد رسید. بنابراین اثر منفی درجه حرارت‌های کمتر از ۸- درجه سانتی‌گراد روی درصد بقای گیاهان شدیدتر از درجه حرارت‌های بالاتر از این دما بوده است.

جدول ۱. منابع تغذیه، درجات آزادی و میانگین مجذورات درصد بقا، وزن خشک (گیاه، ساقه و شاخه)، طول (ساقه و شاخه) و تعداد شاخه در گیاه نخود

تعداد شاخه در گیاه	طول		وزن خشک		درصد بقا	درجات آزادی	منابع تغذیه
	شاخه	ساقه	شاخه	ساقه			
۲۸/۹۲۵ **	۲۱۲۷/۱۵ **	۲۲/۳۳ **	۴۹۷۵۵۲/۸ **	۴۹۴۶۱/۲ **	۲۸۰/۱۸ **	۲	ژنوتیپ
۱/۵۶۴ NS	۷۳۲/۱۶ **	۳۰/۱۰۰ **	۹۴۲۸۲/۲ **	۴۶۲۱۰/۷ **	۵۰۰/۳/۵ **	۱	خوسرمایی
۰/۸۴۸ NS	۹۵/۷۹ *	۹/۶۴ *	۲۶۲۹۸۸/۳ **	۶۳۳۵/۸ **	۲۰۸/۵ *	۲	ژنوتیپ × خوسرمایی
۰/۶۷۹	۱۹/۳۰	۲/۳۰	۲۹۳۳/۲	۶۹۸/۲	۴۱/۷	۱۲	خطای اصلی
۱۸/۲۹۱ **	۱۱۳۵/۷۴ **	۱۲۴۰/۴۲ **	۱۹۲۶۹۶/۶ **	۳۷۶۴۷۴/۹ **	۳۰۶۶۷/۷ **	۵	دما
۳/۰۹۰ **	۱۹۴/۹۲ **	۳۳/۲۸ **	۵۱۶۶۹/۹ **	۶۸۷۷/۹ **	۹۳۹/۹ **	۱۰	ژنوتیپ × دما
۰/۶۶۴ NS	۱۲۰/۳۱ **	۴۶/۱۳ **	۱۵۴۶۳/۷ **	۸۸۰۴/۹ **	۱۵۴/۱/۵ **	۵	خوسرمایی × دما
۱/۱۰۷ **	۱۶/۷۴ NS	۱۶/۸۷ **	۲۷۱۷/۶ NS	۲۸۸۸/۶ **	۸۰۰/۴ **	۱۰	خوسرمایی × دما × ژنوتیپ
۰/۴۳۰	۸/۸۱	۲/۱۵	۲۷۳۳/۰	۹۱۹/۹	۶۶/۱	۶۰	خطای فرعی
						۱۰۷	کل

جدول ۲. منابع تغییر، درجات آزادی و میانگین مجذورات LT50 و DMT50 در ژنوتیپ های نخود مورد مطالعه

تیمار	میانگین مجذورات		درجات آزادی
	DMT50	LT50	
خوسرمایی	۱۶/۶۳۶ **	۳۲/۸۰۱ **	۱
ژنوتیپ	۹/۲۴۷ **	۱۸/۶۹۴ **	۲
خوسرمایی × ژنوتیپ	۳/۸۶۹ **	۱/۲۳۵ ^{ns}	۲
خطا	۰/۲۳۸	۰/۳۸۲	۱۲
کل			۱۷

جدول ۳. اثرات ژنوتیپ، خوسرمایی و ژنوتیپ × خوسرمایی بر درصد بقای، LT50، DMT50 و ویژگی های رشدی گیاه نخود سه هفته پس از بازیافت در شرایط گلخانه

تیمار	درصد بقا	LT50 (سانتی گراد)	DMT50 (درجه سانتی گراد)	وزن خشک (میلی گرم)			طول (سانتی متر)		تعداد شاخه در گیاه
				گیاه	ساقه	شاخه ها	ساقه	شاخه ها	
ژنوتیپ ^۱									
G1	۶۱/۶	-۱۰/۸	-۸/۴	۴۳۳	۱۸۲	۲۵۱	۹/۸	۱۷/۵	۲/۰
G2	۴۳/۶	-۷/۴	-۶/۳	۱۲۷	۱۱۱	۱۶	۸/۳	۲/۴	۰/۴
G3	۵۷/۷	-۹/۷	-۸/۴	۲۵۵	۱۲۹	۱۲۶	۸/۸	۱۲/۸	۱/۹
LSD(۰/۰۵)	۳/۳	۰/۷۸	۰/۶۱	۳۴	۱۳/۶	۲۷/۸	۰/۸	۲/۳	۰/۴
خوسرمایی ^۲									
H1	۶۱/۸	-۱۰/۶	-۸/۸	۳۲۲	۱۶۱	۱۶۰	۱۰/۶	۱۳/۵	۱/۶
H2	۴۶/۸	-۷/۹	-۶/۶	۲۲۱	۱۲۰	۱۰۱	۷/۳	۸/۳	۱/۳
LSD(۰/۰۵)	۲/۵	۰/۶۴	۰/۵۰	۲۵	۱۱/۱	۲۲/۷	۰/۶	۱/۸	۰/۴
ژنوتیپ × خوسرمایی									
H1G1	۶۸/۴	-۱۲/۲	-۱۰/۴	۵۲۶	۲۱۸	۳۰۸	۱۱/۸	۲۱/۷	۲/۳
G2	۵۳/۹	-۹/۱	-۷/۰	۱۴۳	۱۲۵	۱۹	۱۰/۲	۳/۴	۰/۶
G3	۶۳/۱	-۱۰/۶	-۹/۰	۲۹۶	۱۴۱	۱۵۵	۹/۸	۱۵/۴	۱/۹
H2G1	۵۴/۸	-۹/۴	-۶/۴	۳۴۱	۱۴۶	۱۹۴	۷/۹	۱۳/۳	۱/۹
G2	۳۳/۳	-۵/۶	-۵/۶	۱۱۰	۹۷	۱۴	۶/۳	۱/۵	۰/۳
G3	۵۲/۴	-۸/۸	-۷/۸	۲۱۳	۱۱۷	۹۶	۷/۷	۱۰/۱	۲/۰
LSD(۰/۰۵)	۴/۷	۱/۱	۰/۸۷	۴۸	۱۹/۲	۳۹/۳	۱/۱	۳/۲	۰/۶

۱. ژنوتیپ : G1 = MCC ۴۲۶، G2 = MCC ۵۰۵، G3 = MCC ۲۵۲

۲. خوسرمایی: H1 = خوسرمایی، H2 = عدم خوسرمایی

جدول ۴. اثرات دماهای یخ زدگی و دماهای یخ زدگی × خوشرمایی بر درصد بقای و ویژگی‌های رشدی گیاه نخود سه هفته پس از بازیافت در شرایط گلخانه

تیمار	درصد بقای	وزن خشک (میلی گرم)			طول (سانتی متر)		تعداد شاخه در گیاه
		گیاه	ساقه	شاخه‌ها	ساقه	شاخه‌ها	
دمای یخ زدگی (درجه سانتی‌گراد)							
صفر	۱۰۰/۰	۵۶۱	۳۱۷	۲۴۴	۱۹/۰	۱۸/۵	۲/۱
-۴	۱۰۰/۰	۵۳۷	۳۱۴	۲۲۳	۱۷/۵	۱۷/۲	۱/۹
-۸	۸۲/۴	۳۰۹	۱۳۴	۱۷۵	۱۰/۶	۱۵/۹	۲/۲
-۱۲	۴۱/۰	۲۰۷	۷۹	۱۲۷	۶/۵	۱۱/۶	۲/۳
-۱۶	۱/۵	۳	۰	۳	۰/۰	۱/۱	۰/۲
-۲۰	۰/۹	۱۳	۰	۱۳	۰/۰	۱/۱	۰/۲
LSD(۰/۰۵)	۵/۴	۴۶	۲۰/۲	۳۴/۹	۱/۰	۲/۰	۰/۴
خوسرمایی × دما خوسرمایی							
صفر	۱۰۰/۰	۵۸۲	۳۲۹	۲۵۴	۲۱/۴	۱۹/۸	۲/۱
-۴	۱۰۰/۰	۵۷۲	۳۳۱	۲۴۱	۱۸/۴	۱۷/۵	۱/۸
-۸	۱۰۰/۰	۴۲۴	۱۸۳	۲۴۱	۱۴/۲	۲۱/۳	۲/۶
-۱۲	۶۵/۹	۳۲۲	۱۲۶	۱۹۵	۹/۷	۱۸/۰	۲/۳
-۱۶	۳/۰	۶	۰	۶	۰/۰	۲/۱	۰/۳
-۲۰	۱/۹	۲۶	۰	۲۶	۰/۰	۲/۲	۰/۳
عدم خوسرمایی							
صفر	۱۰۰/۰	۵۳۹	۳۰۶	۲۳۳	۱۶/۷	۱۷/۲	۲/۱
-۴	۱۰۰/۰	۵۰۳	۲۹۷	۲۰۶	۱۶/۷	۱۶/۸	۲/۱
-۸	۶۴/۸	۱۹۵	۸۵	۱۰۹	۷/۰	۱۰/۶	۱/۷
-۱۲	۱۶/۱	۹۱	۳۲	۶۰	۳/۳	۵/۲	۲/۲
-۱۶	۰/۰	۰	۰	۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰
-۲۰	۰/۰	۰	۰	۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰
LSD(۰/۰۵)	۷/۷	۶۴	۲۸/۶	۴۹/۳	۱/۴	۲/۸	۰/۶

پایین زیاد شد (جدول ۴). با وجود کاهش ۳۴ درصدی بقای گیاهان دردمای -۱۲ درجه سانتی‌گراد در شرایط خوسرمایی، نسبت به تیمار عدم یخ‌زدگی درصد بقای گیاهان در این تیمار چهار برابر بیشتر از شرایط عدم خوسرمایی بوده است.

اثر متقابل دما × خوسرمایی بر درصد بقای گیاهان معنی‌دار بود (جدول ۱). در تیمار عدم خوسرمایی با کاهش دما از -۴ درجه سانتی‌گراد به دمای پایین‌تر تلفات گیاهی افزایش داشت، در حالی که در تیمار خوسرمایی تلفات گیاهی از دمای -۸ درجه سانتی‌گراد به

جدول ۵. اثرات متقابل دما × ژنوتیپ بر درصد بقای و ویژگی‌های رشدی گیاه نخود سه هفته پس از بازیافت در شرایط گلخانه

تیمار	درصد بقای	وزن خشک (میلی گرم)			طول (سانتی متر)		تعداد شاخه در گیاه
		گیاه	ساقه	شاخه ها	ساقه	شاخه ها	
MCC ۴۲۶							
صفر (۱)	۱۰۰/۰	۸۶۱	۳۷۵	۴۸۶	۱۹/۳	۲۹/۴	۳/۳
-۴	۱۰۰/۰	۷۶۶	۳۶۸	۳۹۸	۱۶/۴	۲۷/۵	۲/۷
-۸	۱۰۰/۰	۵۴۴	۲۱۰	۳۳۴	۱۳/۵	۲۴/۳	۳/۱
-۱۲	۶۴/۳	۳۸۵	۱۴۱	۲۴۴	۹/۹	۱۸/۶	۲/۵
-۱۶	۲/۴	۵	۰	۵	۰	۱/۷	۰/۲
-۲۰	۲/۸	۳۹	۰	۳۹	۰	۳/۳	۰/۵
MCC ۵۰۵							
صفر	۱۰۰/۰	۳۱۸	۳۰۱	۱۷	۲۰/۹	۲/۴	۰/۷
-۴	۱۰۰/۰	۳۰۸	۲۸۱	۲۶	۱۹/۳	۲/۵	۰/۵
-۸	۵۰/۰	۱۰۲	۶۶	۳۶	۷/۲	۶/۴	۰/۹
-۱۲	۱۱/۷	۳۳	۱۶	۱۷	۲/۲	۳/۲	۰/۵
-۱۶	۰/۰	۰	۰	۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰
-۲۰	۰/۰	۰	۰	۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰
MCC ۲۵۲							
صفر	۱۰۰/۰	۵۰۳	۲۷۵	۲۲۸	۱۷/۰	۲۳/۷	۲/۴
-۴	۱۰۰/۰	۵۳۸	۲۹۳	۲۴۶	۱۷/۰	۲۱/۴	۲/۶
-۸	۹۷/۲	۲۸۳	۱۲۷	۱۵۶	۱۱/۲	۱۷/۱	۲/۴
-۱۲	۴۷/۱	۲۰۱	۸۱	۱۲۰	۷/۵	۱۳/۰	۳/۸
-۱۶	۲/۱	۳	۰	۳	۰/۰	۱/۵	۰/۳
-۲۰	۰/۰	۰	۰	۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰
LSD(۰/۰۵)							
	۹/۴	۷۹	۳۵	۶۰	۱/۷	۳/۴	۰/۸

۱. درجه سانتی گراد

باز یافت و رشد مجدد گیاه پس از یخ زدگی

اثر ژنوتیپ بر وزن خشک گیاه در پایان دوره بازیافت (۲۱ روز پس از اعمال تیمار یخ زدگی) معنی دار بود (جدول ۱). وزن خشک گیاه در ژنوتیپ MCC ۵۰۵ (حساس) در پایان این دوره به ترتیب ۵۰ و ۷۰ درصد کمتر از ژنوتیپ‌های MCC۲۵۲ و MCC۴۲۶ (ارقام متحمل) بود. ضمن این‌که در بررسی DMT50 ژنوتیپ‌ها مشاهده شد که در ژنوتیپ‌های متحمل به

بررسی اثر متقابل دما × ژنوتیپ نشان داد که بقای دو ژنوتیپ متحمل به سرما تا دمای ۸- درجه سانتی گراد چندان تحت تأثیر قرار نگرفته است. درصد بقای هر دو ژنوتیپ در این دما حدود دو برابر نمونه حساس بوده است (جدول ۵). در صورتی که تیمار دمایی ۱۲- درجه سانتی گراد سبب ۸۸/۳ درصد تلفات در ژنوتیپ MCC ۵۰۵ و به ترتیب ۵۳/۰ و ۴۵/۷ درصد تلفات در ژنوتیپ‌های MCC۲۵۲ و MCC۴۲۶ شده است.

سرما این شاخص ۲ درجه سانتی‌گراد پایین‌تر از ژنوتیپ حساس به سرما است (جدول ۳).

در بررسی اجزای وزن خشک گیاه (وزن خشک ساقه و شاخه‌ها) مشاهده شد (جدول ۳) که وزن خشک شاخه (شامل وزن خشک شاخه‌ها و برگ‌های شاخه) در رقم حساس به ترتیب معادل ۱۳ و ۶ درصد دو رقم MCC ۲۵۲ و MCC ۴۲۶ است، در حالی که وزن خشک ساقه در رقم مذکور به ترتیب معادل ۸۶ و ۶۱ درصد ژنوتیپ‌های مذکور بود. علاوه بر این مقایسه سایر اجزای رویشی گیاه شامل طول ساقه و طول و تعداد شاخه در گیاه نیز نشان داد (جدول ۳) که از بین صفات مذکور، رشد انشعابات در ژنوتیپ MCC ۵۰۵ بسیار کمتر از دو رقم دیگر بوده است. به عنوان مثال در حالی که طول ساقه در ژنوتیپ مذکور به ترتیب معادل ۹۴ و ۸۵ درصد دو ژنوتیپ MCC ۲۵۲ و MCC ۴۲۶ بوده ولی مجموع طول شاخه در این رقم به ترتیب معادل ۱۹ و ۱۴ درصد طول شاخه ژنوتیپ‌های فوق رسیده است.

در مورد اغلب صفات مورد بررسی اثر خوسرمایی و اثر متقابل ژنوتیپ × خوسرمایی بر رشد مجدد گیاه پس از اعمال تیمارهای یخ زدگی معنی دار بود (جدول ۱). براساس میانگین داده‌های حاصل از سه رقم، خوسرمایی سبب بهبود ۳۳ درصدی DMT50 شده است (جدول ۳). با وجود این در بررسی وضعیت ژنوتیپ‌ها مشاهده شد که در ژنوتیپ MCC ۴۲۶ خوسرمایی سبب ۶۳ درصد بهبود در DMT50 شده است، در صورتی که در ژنوتیپ MCC ۲۵۲ و MCC ۵۰۵ این بهبود به ترتیب معادل ۱۵ و ۲۵ درصد بوده است (جدول ۳). خوسرمایی سبب افزایش ۶۰ درصدی طول و وزن شاخه‌ها شد، در حالی که این افزایش در مورد صفاتی مانند وزن خشک گیاه، وزن خشک ساقه و طول آن به ترتیب ۴۵، ۳۴ و ۴۵ درصد بود. در بررسی اثر متقابل ژنوتیپ × خوسرمایی مشاهده می‌شود که اثر خوسرمایی بر افزایش رشد اجزای رویشی بسته به رقم متفاوت بوده است. به عنوان مثال اثر خوسرمایی بر افزایش طول ساقه و وزن خشک آن در رقم MCC ۵۰۵ به ترتیب ۶۲ و

۲۹ درصد، در رقم MCC ۴۲۶ برای هر دو صفت ۴۹ درصد و در رقم MCC ۲۵۲ به ترتیب ۲۷ و ۲۱ درصد بوده است، در حالی که در خصوص افزایش وزن خشک شاخه در گیاه وضعیت کاملاً متفاوت است. وزن خشک شاخه در ارقام MCC ۴۲۶ و MCC ۲۵۲ تحت تأثیر خوسرمایی به ترتیب ۵۹ و ۶۱ درصد افزایش داشته است در صورتی که این صفت در رقم حساس MCC ۵۰۵ ۳۶ درصد افزایش یافته است. در مجموع به نظر می‌رسد که اثر خوسرمایی بر بازیافت رقم حساس از طریق بهبود رشد ساقه اصلی، در رقم MCC ۲۵۲ از طریق افزایش رشد شاخه‌ها و در رقم MCC ۴۲۶ از طریق بهبود رشد هر دو جزء (ساقه و شاخه‌ها) بوده است.

دماهای یخ زدگی اثر معنی داری بر رشد مجدد گیاه داشتند (جدول ۱). کاهش دما به کمتر از ۴- درجه سانتی‌گراد سبب کاهش معنی دار اجزای رشدی گیاه شد. کاهش دما از ۴- به ۸- درجه سانتی‌گراد سبب ۴۲ درصد کاهش در وزن خشک گیاه شد (۵۷ میلی گرم کاهش به ازای هر درجه سانتی‌گراد کاهش دما) و وزن خشک ساقه و طول آن را به ترتیب ۵۷ و ۳۹ درصد کاهش داد (به ترتیب ۴۵ میلی گرم و ۱/۷ سانتی متر کاهش به ازای هر درجه سانتی‌گراد کاهش دما) (جدول ۶)، در صورتی که در محدوده دمایی مذکور ۲۲ درصد کاهش در وزن شاخه‌ها و ۸ درصد کاهش در طول شاخه در گیاه مشاهده شد (به ترتیب ۱۲ میلی گرم و ۰/۳ سانتی متر به ازای هر درجه سانتی‌گراد کاهش دما). کاهش وزن خشک گیاه در محدوده دمایی ۸- تا ۱۲- درجه سانتی‌گراد ۳۳ درصد بود (۲۶ میلی گرم کاهش به ازای هر درجه سانتی‌گراد کاهش دما) و وزن خشک ساقه و طول آن به ترتیب ۴۱ و ۳۹ درصد کاهش داشتند (به ترتیب ۱۴ میلی گرم و ۱/۰ سانتی متر کاهش به ازای هر درجه سانتی‌گراد کاهش دما). این کاهش برای هر دو صفت وزن شاخه‌ها و طول آنها ۲۷ درصد بود (۱۲ میلی گرم و ۱/۱ سانتی متر به ازای هر درجه سانتی‌گراد کاهش دما).

چن و همکاران با اعمال تیمارهای یخ زدگی در شرایط کنترل شده روی گندم مشاهده کردند که کاهش دمای یخ زدگی

جدول ۶. درصد و مقدار کاهش اجزای رشدی گیاه نخود (میانگین سه ژنوتیپ) به ازای هر درجه سانتی‌گراد کاهش دما در محدوده دماهای آزمایش

محدوده دمایی	گیاه		ساقه		شاخه‌ها		کاهش طول	
	درصد	میلی‌گرم	درصد	میلی‌گرم	درصد	میلی‌گرم	درصد	سانتی‌متر
۴- تا ۸- درجه سانتی‌گراد	۱۰/۵	۵۷	۱۴/۳	۴۵	۵/۵	۱۲	۹/۸	۲/۰
۸- تا ۱۲- درجه سانتی‌گراد	۸/۳	۲۶	۱۰/۳	۱۴	۶/۸	۱۲	۹/۷	۶/۸

دماهای ۴-، ۸- و ۱۲- به ترتیب ۱۱۵،۱۱ و ۲۹۴ درصد و افزایش وزن خشک شاخه در دماهای مذکور به ترتیب ۱۷، ۱۲۰ و ۲۲۵ درصد بود. هم‌چنین خوسرمایی اثر منفی تنش یخ زدگی را بر رشد طولی ساقه و شاخه‌ها کاهش داد. به عنوان مثال در دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد طول ساقه و طول شاخه‌ها در شرایط عدم خوسرمایی به ترتیب ۲۰ و ۳۰ درصد آنها در تیمار عدم یخ زدگی (صفر درجه سانتی‌گراد) بودند درحالی که در نتیجه خوسرمایی طول ساقه و طول شاخه‌ها به ترتیب به ۴۵ و ۹۱ درصد آنها در تیمار مذکور رسید.

اثر متقابل دما × ژنوتیپ بر خصوصیات رشدی گیاه معنی‌دار بود (جدول ۱). در رقم حساس (MCC۵۰۵) با کاهش دما از ۴- به ۸- درجه سانتی‌گراد وزن خشک گیاه، وزن خشک ساقه و طول آن به ترتیب ۶۷، ۷۷ و ۶۳ درصد کاهش داشتند، در حالی که وزن خشک شاخه‌ها ۳۸ درصد بیشتر شد (جدول ۵). به نظر می‌رسد دمای یخ زدگی سبب بروز خسارت در مریستم انتهایی ساقه در این رقم گردیده است، بنابراین با کاهش اثر غالبیت انتهایی رشد انشعابات جانبی افزایش داشته است. در محدوده دمای ۸- تا ۱۲- درجه سانتی‌گراد نیز تأثیر سوء سرما بر انشعابات جانبی ژنوتیپ MCC ۵۰۵ کمتر از سایر اجزای رویشی بود، به صورتی که وزن خشک کل شاخه و طول آن در دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد نسبت به دمای ۸- درجه سانتی‌گراد ۵۰ درصد کمتر شدند درحالی که وزن خشک گیاه،

از دمای ۵- به ۱۰- درجه سانتی‌گراد سبب کاهش ۲۰ درصدی رشد مجدد اندام‌های هوایی گندم (رشد یافته در گلدان به مدت سه هفته پس از اعمال یخ زدگی) نسبت به تیمار شاهد عدم یخ زدگی شد (۶). در صورتی که در تیمارهای یخ زدگی ۱۵- و ۲۰- درجه سانتی‌گراد رشد مجدد اندام‌های هوایی گندم نسبت به تیمار شاهد عدم یخ زدگی به ترتیب ۶۰ و ۸۰ درصد کاهش یافت.

سهم وزن خشک ساقه از وزن خشک کل گیاه در تیمارهای دمایی صفر و ۴- درجه سانتی‌گراد به ترتیب ۵۶ و ۵۸ درصد بود، درحالی که در تیمارهای دمای ۸- و ۱۲- درجه سانتی‌گراد به ترتیب به ۴۳ و ۳۸ درصد کاهش یافت. به عبارت دیگر با افزایش شدت تنش یخ زدگی سهم انشعابات جانبی در بازیافت گیاه و رشد مجدد آن افزایش یافته است.

اثر متقابل دما × خوسرمایی بر اجزای رویشی گیاه معنی‌دار بود (جدول ۱). در تیمار عدم خوسرمایی وزن خشک گیاه در دماهای ۴-، ۸- و ۱۲- درجه سانتی‌گراد به ترتیب ۹۳، ۳۶ و ۱۷ درصد تیمار عدم یخ زدگی (صفر درجه سانتی‌گراد) بود درحالی که در تیمار خوسرمایی وزن خشک گیاه در دماهای فوق به ترتیب ۹۸، ۷۳ و ۵۵ درصد تیمار عدم یخ زدگی شد. این افزایش مربوط به افزایش وزن خشک ساقه و وزن خشک شاخه بوده است (جدول ۴) به نحوی که افزایش وزن خشک ساقه در نتیجه خوسرمایی نسبت به تیمار عدم خوسرمایی در

خوسرمایی سبب افزایش درصد بقای ژنوتیپ‌های مورد آزمایش شد. با وجود این درصد بقای ژنوتیپ حساس (MCC ۵۰۵) حتی پس از خوسرمایی به اندازه درصد بقای دو ژنوتیپ متحمل به سرما قبل از خوسرمایی شد. با توجه به این که بازیافت و رشد مجدد گیاه پس از اعمال یخ زدگی معیار مهمی در ارزیابی گیاهان می‌باشد، در این آزمایش شاخص جدیدی با عنوان درجه حرارتی که باعث ۵۰ درصد کاهش در وزن خشک گیاه می‌شود یا DMT50 معرفی گردید. ضریب هم‌بستگی DMT50 با LT50 در این آزمایش ۰/۸۹ بود که نشان دهنده کارایی این شاخص در تخمین میزان خسارت سرما به گیاه می‌باشد. لذا به نظر می‌رسد که علاوه بر شاخص LT50 از این شاخص نیز می‌توان برای ارزیابی میزان خسارت سرما به گیاه و بازیافت و رشد مجدد آن استفاده کرد.

رشد مجدد ژنوتیپ‌های متحمل به سرما بهتر از ژنوتیپ‌های حساس به سرما بود. رشد مجدد ژنوتیپ‌های متحمل به سرما غالباً از طریق رشد ساقه و انشعابات جانبی بود در حالی که در ژنوتیپ حساس به سرمای نخود، ساقه غالباً نقش بیشتری را در بازیافت گیاه داشته است و رشد انشعابات جانبی در این ژنوتیپ نسبت به ژنوتیپ‌های متحمل به سرما بسیار ناچیز بوده است.

با توجه به نتایج به دست آمده به نظر می‌رسد که می‌توان در شرایط عدم خوسرمایی دمای ۶- درجه سانتی‌گراد و در شرایط خوسرمایی دمای ۹- درجه سانتی‌گراد را برای تفکیک ژنوتیپ‌های متحمل و حساس به سرمای نخود مورد استفاده قرار داد.

وزن خشک ساقه و طول آن به ترتیب ۷۸، ۷۶ و ۶۹ درصد کاهش داشتند. بررسی اتیوبر روی نخود فرنگی نیز نشان داد که تحمل به یخ زدگی شاخه‌ها نسبت به ساقه بیشتر می‌باشد (۸).

کاهش رشد اغلب اجزای رویشی گیاه در رقم متحمل به سرمای MCC ۴۲۶ در دو محدوده دمایی، ۴- تا ۸- درجه سانتی‌گراد و ۸- تا ۱۲- درجه سانتی‌گراد بین ۱۲ تا ۳۳ درصد بود (به جز صفت وزن خشک ساقه که در محدوده دمایی ۴- و ۸- حدود ۴۳ درصد کاهش داشت)، در حالی که در ژنوتیپ MCC ۲۵۲ کاهش این اجزای در محدوده ۴- تا ۸- درجه سانتی‌گراد بین ۲۰ تا ۵۶ درصد (کاهش اجزای رویشی شاخه شامل طول و وزن آن به ترتیب ۲۰ و ۳۷ درصد) و در محدوده دمایی ۸- تا ۱۲- درجه سانتی‌گراد ۱۹ تا ۳۹ درصد (کاهش اجزای رویشی شاخه شامل طول و وزن کل آن به ترتیب ۲۴ و ۲۳ درصد) بود (جدول ۵).

در مجموع مشاهده می‌شود که بازیافت ژنوتیپ‌های متحمل به سرما بهتر از ژنوتیپ حساس بوده است. به عنوان مثال در تیمار ۱۲- درجه سانتی‌گراد، وزن خشک گیاه در ژنوتیپ‌های MCC ۴۲۶ و MCC ۲۵۲ به ترتیب ۴۵ و ۴۰ درصد تیمار عدم یخ زدگی شد، در حالی که وزن خشک ژنوتیپ MCC ۵۰۵ در این شرایط تنها ۱۰ درصد تیمار مذکور بود.

نتیجه‌گیری

در این آزمایش مشاهده شد که LT50 ژنوتیپ‌های متحمل به سرما کوچک‌تر از ژنوتیپ حساس به سرما بود، ضمن این که

منابع مورد استفاده

۱. نظامی، ا. و ع. باقری. ۱۳۸۰. ارزیابی کلکسیون نخود مشهد برای تحمل به سرما در شرایط مزرعه. علوم و صنایع کشاورزی ۱۵: ۱۶۲-۱۵۶.
2. Auld, D.L., R.L. Ditterline, G.A. Murray and J.B. Swensen. 1983. Screening peas for winter hardiness under field and laboratory conditions. *Crop Sci.* 23:85-88.
3. Blum, A. 1988. *Plant Breeding for Environmental Stress*. CRC Press., USA.
4. Bridger, G.M., D.E. Falk, B.D. Mckersie and D.L. Smith. 1996. Crown freezing tolerance and field winter survival of winter cereals in eastern Canada. *Crop Sci.* 36:150-157.

5. Cardona, C.A., R.R. Duncan and O. Lindstorm. 1997. Low temperature tolerance assessment in paspalum. *Crop Sci.* 37:1283-1291.
6. Chen, T.H., L.V. Gusta and D.B. Fowler. 1983. Freezing injury and root development in winter cereals. *Plant Physiol.* 73:773-777.
7. Cousin, R., A. Burghoffer, P. Marget, A. Vingere and G. Eteve. 1993. Morphological, physiological and genetic bases of resistance in pea to cold and drought PP. 311-320. *In: K.B. Singh and M.C. Saxena (Eds.), Breeding for Stress Tolerance in Cool Season Food Legumes.* John Wiley and Sons, Chichester, UK.
8. Eteve, G. 1985. Breeding for cold tolerance and winter hardiness in pea. PP. 131-136. *In: P.D. Hebblethwaite, M.C. Heath and T.C.K. Dawkins, (Eds.), The Pea Crop. A Basis for Improvement.* London, UK.
9. Gusta, L.V., B.J. O'Connor, Y.P. Gao and S. Jana. 2000. A re-evaluation of controlled freeze-tests and controlled environment hardening conditions to estimate the winter survival potential of hardy winter wheats. *Can. J. Plant Sci.* 80:241-246.
10. Jana, S. and K.B. Singh. 1993. Utilization of germplasm resources of cool-season food legumes in breeding for stress tolerance. PP. 373-390. *In: K.B. Singh (Ed.), Breeding for Stress Tolerance in Cool-Season Food Legumes.* John Wiley and Sons, Chichester, UK.
11. Keatinge, J.D.H., R.J. Summerfield, I. Kusmenoglu and M.H. Halila. 2000. Autumn sowing of lentil in the Mediterranean highlands: lessons for chickpea. PP. 279-288. *In: R. Knight (Ed.), Linking Research and Marketing Opportunities for Pulses in the 21st Century.* Kluwer Academic Pub., The Netherlands.
12. McKersie, B.D. and Y.Y. Leshem. 1994. *Stress and Stress Coping in Cultivated Plants.* Kluwer Academic Pub., The Netherlands.
13. Murry, G.A., D. Eser, L.V. Gusta and G. Eteve. 1988. Winter hardiness in pea, lentil, faba bean and chickpea. PP. 831- 843. *In: R.J. Summerfield (Ed.), World Crops: Cool Season food Legumes.* Kluwer Academic Pub., The Netherlands.
14. Singh, K.B., R.S. Malhotra, M.H. Halila, E.J. Knights and M. Verma. 1994. Current status and future strategy in breeding chickpea for resistance to biotic and abiotic stresses. *Euphytica* 73:137-149.
15. Singh, K.B., R.S. Malhotra and M.C. Saxena. 1992. Registration of ILC 482 chickpea. *Crop Sci.* 32: 826.
16. Singh, K.B., R.S. Malhotra and M.C. Saxena. 1995. Additional sources of tolerance to cold in cultivated and wild *Cicer* species. *Crop Sci.* 35: 1491-1497.
17. Singh, K.B., R.S. Malhotra M.C. Saxena and G. Bejiga. 1997. Superiority of winter sowing over traditional spring sowing of chickpea in the Mediterranean region. *Agron. J.* 89: 112-118.
18. Singh, K.B., M.C. Saxena and B.E. Gridley. 1984. Screening chickpea for cold tolerance and frost resistance. PP. 167-177. *In: M.C. Saxena and K.B. Singh (Eds.), Ascochyta blight and Winter Sowing of Chickpeas.* Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk.Pub., The Hague, The Netherlands.
19. Swenson, J.B. and G.A. Murray. 1983. Cold acclimation of field peas in a controlled environment. *Crop Sci.* 23:27-30.
20. Welbaum, E., D. Bian, D.R. Hill, R.L. Grayson and M.K. Gunatilaka. 1997. Freezing tolerance, protein composition, and abscisic acid localization and content of pea epicotyl, shoot and root tissue in response to temperature and water stress. *J. Exp. Botany* 48:643-654.
21. Wery, J., S.N. Silim, E.J. Knight, R.S. Malhotra and R. Cousin. 1994. Screening techniques and sources of tolerance to extremes of moisture and air temperature in cool season food legumes. PP. 439-456. *In: F.J. Muehlbauer, W.J. Kaser (Eds.), Expanding the Production and Use of Cool Season Food Legumes.* Kluwer Academic Pub., The Netherlands.