

## فرآیندها و کارکردهای ژنوتیپ‌های عدس (*Lens culinaris Medik.*) در مقابله با تنش یخ‌زدگی

جعفر نباتی<sup>۱\*</sup>، علی‌اکبر محمودی<sup>۲</sup>، سیده محبوبه میرمیران<sup>۳</sup>، سعید فیض‌آبادی<sup>۴</sup>، محمد محمدی<sup>۵</sup>، احمد نظامی<sup>۶</sup>

۱. استادیار پژوهشکده علوم گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد

۲. عضو هیئت‌علمی بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی مشهد

۳. استادیار پژوهشی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد، ایران

۴. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد گروه آگروتکنولوژی، دانشگاه فردوسی مشهد

۵. دانشجوی کارشناسی ارشد گروه آگروتکنولوژی، دانشگاه فردوسی مشهد

۶. استاد گروه بیوتکنولوژی و به‌نژادی گیاهان زراعی و پژوهشکده علوم گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد

مشخصات مقاله	چکیده
واژه‌های کلیدی: بقا، پتانسیل اسمزی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، متابولیت	در این مطالعه ویژگی‌های فیزیولوژیک مؤثر در تحمل به یخ‌زدگی ژنوتیپ‌های عدس، به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در شرایط کنترل‌شده در دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۱۳۹۷ بررسی شد. عوامل مورد مطالعه شامل ۲۰ ژنوتیپ عدس و سه دمای یخ‌زدگی (صفر، ۱۸- و ۲۰- درجه سانتی‌گراد) بودند. نتایج نشان داد که ۱۴ ژنوتیپ در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد دارای ۱۰۰ درصد بقا بودند و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تمامی ژنوتیپ‌ها از بین رفتند. تجزیه خوشه‌ای بر اساس صفات مورد مطالعه ژنوتیپ‌ها را به چهار گروه تقسیم نمود. درصد بقا در گروه‌های اول، دوم و چهارم نسبت به میانگین کل برتری داشت. ژنوتیپ‌های متعلق به گروه‌های اول (MLC84، MLC407، MLC454) و دوم (MLC38، MLC303، MLC74، MLC334) از نظر فعالیت آنتی‌اکسیدانی، غلظت متابولیت‌ها، رنگ‌دانه‌ها، ارتفاع بوته، سطح برگ و وزن خشک دارای برتری نسبی در مقایسه با سایر گروه‌ها بودند. تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA) نشان داد که مؤلفه اول ۳۲/۷۷ درصد از تغییرات صفات شامل کارایی مصرف آب، کاروتنوئیدها، کلروفیل a/b، هدایت مزوفیلی، فتوسنتز، درصد بقا، ارتفاع بوته، سطح برگ و وزن خشک را دارا بود و مؤلفه دوم تغییرات غلظت کلروفیل‌های a و b، کل رنگ‌دانه‌ها، کربوهیدرات‌های محلول، مهار فعالیت رادیکال آزاد DPPH، فنول، آنتوسیانین، پتانسیل اسمزی، تبخیر و تعرق و هدایت روزنه‌ای را با ۱۶/۳۱ درصد توضیح داد. ژنوتیپ‌های MLC74، MLC334، MLC11، MLC84، MLC454 و MLC407 از نظر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و متابولیت‌ها و ژنوتیپ‌های MLC303، MLC17، MLC38، MLC286 و MLC469 از نظر درصد بقا و رشد مجدد از وضعیت مطلوبی برخوردار بودند. به‌طور کلی بر اساس نتایج تجزیه خوشه‌ای و PCA، این ژنوتیپ‌ها دارای برتری نسبی در اکثر صفات مورد مطالعه بوده و برای بررسی تکمیلی تحمل به یخ‌زدگی در شرایط مزرعه در مناطق سرد توصیه می‌گردند.
تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۹/۱۰	
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۰/۱۴	
تاریخ انتشار: پائیز ۱۴۰۱	
۷۹۹-۷۸۱ (۳): ۱۵	

### مقدمه

دارا بودن پروتئین (حدود ۲۱ درصد)، فیبر، مواد معدنی، ویتامین و ترکیب‌های فنولی نقش عمده‌ای در رژیم غذایی دارد (Zhang et al., 2015).

عمده کشت عدس در انتهای زمستان و ابتدای بهار انجام می‌شود. در این شرایط معمولاً مرحله گلدهی و پر شدن دانه

حیوانات جزو غذاهای اصلی انسان‌ها در بسیاری از کشورها هستند که پروتئین، کربوهیدرات، مواد معدنی، ویتامین‌ها و همچنین طیف گسترده‌ای از ترکیب‌ها با خاصیت آنتی‌اکسیدانی را دارا می‌باشند (Zhang et al., 2015). در میان حبوبات، عدس (*Lens culinaris Medik.*) به دلیل

تنش یخ‌زدگی سبب افزایش تجمع آن‌ها در بافت‌های حساس گیاه و بروز انفجار اکسیداتیو می‌شود (Raja et al., 2017). انفجار اکسیداتیو سبب تغییراتی در سیالیت و پایداری غشا، کاهش چرخه کربن و جذب دی‌اکسید کربن (Rakeri et al., 2016)، تخریب کلروفیل، جلوگیری از بیوسنتز پروتئین D1 (Gururani et al., 2015) و درنهایت منجر به کاهش عملکرد محصول می‌شود. در این شرایط گیاه با افزایش فتوسنتز و سنتز ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله افزایش کربوهیدرات‌های محلول و تولید متابولیت‌های ثانویه از جمله ترکیب‌های فنولی سبب حذف و همچنین جلوگیری از تولید گونه‌های جدید فعال اکسیژن شده و بدین طریق با تنش یخ‌زدگی مقابله می‌کند (Tahmasebi and Pakniyat, 2015). ارتباط مثبت بین افزایش فعالیت‌های فتوسنتزی همراه با کاهش شاخص‌های خسارت از جمله کاهش در محتوای نشت الکتروولیت‌ها در ارقام مقاوم به سرما در مقایسه با ارقام حساس مشاهده شده است (Shahryar and Maali, 2016). کاهش رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی در تنش سرما، به دلیل اختلال در مسیرهای بیوسنتز رنگ‌دانه‌ها و یا در نتیجه تخریب آن‌ها صورت می‌گیرد. در تحقیقی نتایج نشان داد که دمای پایین سبب کاهش سرعت فتوسنتز، میزان تعرق، هدایت روزنه‌ای، کارایی مصرف آب و محتوای کلروفیل‌های a و b در وارته‌های ریحان (*Ocimum basilicum* L. می‌شود و مقدار کاهش صفات در مواجهه با تنش، بسته به وارته متفاوت بود (Kalisz et al., 2016). کربوهیدرات‌های محلول رابطه مستقیمی با فرآیندهای فیزیولوژیکی مانند فتوسنتز و تنفس دارند و با تنظیم اسمزی و افزایش غلظت شیره سلولی، مانع یخ زدن آن در اثر سرما شده و از غشاهای سلول در برابر خسارت‌های تنش سرمایی محافظت می‌کند (Janmohammadi, 2012)؛ بنابراین کربوهیدرات‌ها می‌توانند شاخص مناسبی در حفاظت از ساختار غشاهای سلولی و فعالیت پروتئین‌ها محسوب شوند. از آنجایی که توانایی گیاه برای بقاء و رشد مجدد عامل اصلی تعیین‌کننده برای تولید عملکرد مناسب محسوب می‌شود؛ بنابراین شناسایی ژنوتیپ‌هایی که بتوانند در مدت‌زمان خوسرمایی از فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی بالاتری برخوردار بوده و در مقابله با تنش دمای پایین از ظرفیت فتوسنتزی بالاتری برخوردار باشند، دارای اهمیت است.

با تنش خشکی و گرمای انتهایی فصل مواجه می‌شود که کاهش عملکرد را در پی خواهد داشت. جهت رفع این مشکل نیاز به آبیاری تکمیلی در انتهایی فصل خواهد بود (Oweis and Hachum, 2012). از طرفی با توجه به اینکه غالب کشت عدس در کشور به صورت دیم و در مناطق شیب‌دار و کوهستانی است امکان آبیاری تکمیلی وجود نخواهد داشت. از کشت پاییزه می‌توان به‌عنوان یکی از راه‌های زودرس کردن گیاهان استفاده کرد (Barrios et al., 2016). از جمله مزایای کشت پاییزه استفاده از نزولات جوی، انطباق مراحل رشدی با شرایط اقلیمی مطلوب و درنهایت افزایش ارتفاع بوته و عملکرد است (Barrios et al., 2016). از طرفی کشت پاییزه گیاهان، آن‌ها را در معرض سرماهای سخت زمستانه قرار خواهد داد که لازمه بهره‌برداری از مزایای کشت پاییزه وجود ارقام متحمل به یخ‌زدگی است.

دمای پایین یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیرزنده است که رشد، نمو و پراکنش گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد (John et al., 2016). به‌طور کلی، با کشت پاییزه در مناطق معتدله گیاه در معرض دمای پایین قرار می‌گیرد، این مجاورت در دماهای پایین گیاه را قادر می‌سازد در واکنش به یخ‌بندان زمستانه از تحمل بیشتری برخوردار باشد. این پدیده تحت عنوان تطابق به سرما یا خوسرمایی<sup>۱</sup> شناخته می‌شود (Jan et al., 2018). خوسرمایی فرآیندی پیچیده و پویا بوده که تغییرات بیوشیمیایی، شبکه پیچیده انتقال پیام‌های تنش و بیان ژن را در بردارد (Zuther et al., 2015). تطابق گیاهان در پاسخ به سرما ممکن است در سطوح مورفولوژی، فیزیولوژی و بیوشیمیایی بروز کند (Arbona et al., 2017). از جمله این تغییرات می‌توان به تغییر در ترکیب اسیدهای چرب غشای سلولی (Karabudak et al., 2014)، تجمع کربوهیدرات‌های محلول (Pastorczyk et al., 2014) و تنظیم‌کننده‌های اسمزی (Janska et al., 2010)، تولید ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی و تنظیم ژنی اشاره کرد. این تغییرات ضمن بهبود تحمل به سرما در گیاه منجر به رشد بهتر گیاه نسبت به شرایط عدم خوسرمایی می‌شوند.

در شرایط عادی، گیاهان در ساختارهایی مثل کلروپلاست و میتوکندری به‌طور مداوم گونه‌های فعال اکسیژن<sup>۲</sup> (ROS) را تولید می‌کنند که به‌صورت پیوسته توسط سیستم دفاعی گیاه حذف می‌گردند؛ اما در تنش‌های غیرزیستی از جمله

<sup>2</sup> Reactive Oxygen Species

<sup>1</sup> Cold acclimation

۲۵ درصد شن و ۷۵ درصد خاک مزرعه کشت شدند و پس از استقرار به ۱۰ بوته تنک شدند. آبیاری گلدان‌ها هر دو روز یکبار انجام شد و به‌منظور اعمال خوسرمایی گیاهان در شرایط طبیعی (شکل ۱) تا مرحله گیاهچه‌ای رشد کردند.

### اعمال تیمار یخزدگی

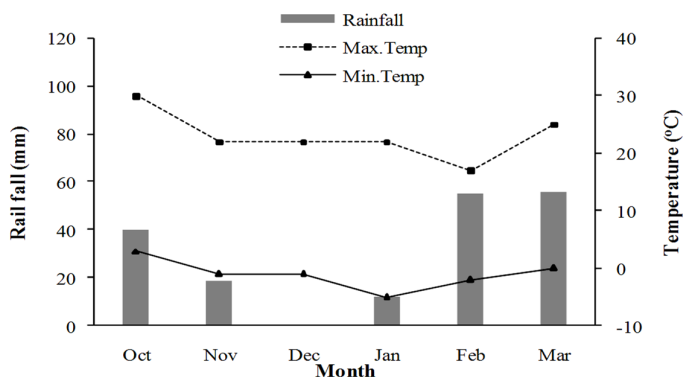
گلدان‌ها ۲۴ ساعت قبل از اعمال تنش یخزدگی آبیاری شده و سپس برای اعمال دماهای یخزدگی در اواسط بهمن‌ماه به فریزر ترموگرادیان منتقل شدند. دمای فریزر در ابتدای آزمایش پنج درجه سانتی‌گراد بود و پس از قرار دادن نمونه‌ها با سرعت دو درجه سانتی‌گراد در ساعت کاهش یافت (Murry et al., 1988). به‌منظور ایجاد هستک یخ در گیاه و اجتناب از بروز پدیده فرا سرما، در دمای  $-2/5$  درجه سانتی‌گراد، پاشش باکتری‌های ایجادکننده هستک یخ ( $INAB^3$ ) روی گیاه انجام شد (Wisniewski et al., 2002). به‌منظور ایجاد تعادل در دمای محیط، گیاهچه‌ها در هر تیمار دمایی به مدت یک ساعت نگهداری و سپس به مدت یک شب در اتاقک سرد با دمای  $5 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

با توجه وضعیت منابع آبی، با کشت پاییزه عدس می‌توان از نزولات جوی استفاده حداکثری کرد و علاوه بر کاهش فشار بر منابع آب از عملکرد بیشتر بهره برد. در این راستا به‌گزینی ژنوتیپ‌های متحمل به یخزدگی در طول زمستان ضروری خواهد بود؛ بنابراین این پژوهش باهدف بررسی نقش ویژگی‌های فیزیولوژیکی و آنتی‌اکسیدانی در میزان بهبود تحمل به سرما در ژنوتیپ‌های عدس در شرایط کنترل‌شده انجام شد.

### مواد و روش‌ها

#### آماده‌سازی و کاشت

این پژوهش در پاییزه و زمستان ۱۳۹۷ در گلخانه تحقیقاتی پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. عوامل موردبررسی شامل ۲۰ ژنوتیپ منتخب عدس که در طی سال‌های ۸۸ تا ۹۷ تحمل بالای آن‌ها به سرما محرز شده بود (Hojat and Galstyan, 2014; Gholami et al., 2019) و سه دمای یخزدگی شامل صفر،  $-18$  و  $-20$  درجه سانتی‌گراد بودند. بذور پس از ضدعفونی در دهه دوم مهرماه به تعداد ۱۵ عدد در عمق یک سانتی‌متری گلدان‌های پلاستیکی با قطر ۱۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۱۱ سانتی‌متر حاوی



شکل ۱. بارندگی، متوسط دمای حداقل و حداکثر ماهانه در پاییز و زمستان ۱۳۹۷ در مشهد.

Fig. 1. Rainfall, minimum and maximum temperature during fall and winter in 2018-2019, Mashhad

فتوسنتز، میزان تبخیر و تعرق و دی‌اکسید کربن زیر اتاقک روزنه با استفاده از دستگاه LCA4 Portable Photosyntesise و هدایت روزنه‌ای با استفاده از دستگاه پرومتر مدل Leaf Prometer Model Sc-1 و پتانسیل

قبل از قرارگیری نمونه‌ها در معرض دماهای یخزدگی صفاتی شامل متغیرهای تبادل گازی (سرعت فتوسنتز، میزان تبخیر و تعرق، غلظت دی‌اکسید کربن زیر روزنه، هدایت روزنه‌ای و مزوفیلی) اندازه‌گیری شدند. اندازه‌گیری سرعت

<sup>3</sup>. Ice Nucleation Active Bacteria

ward) از نرم‌افزار JMP4 و برای تجزیه به مؤلفه‌های اصلی از نرم‌افزار STATISTICA8 استفاده شد.

### نتایج و بحث

درصد بقاء تحت تأثیر معنی‌دار برهمکنش ژنوتیپ‌های عدس و دماهای یخ‌زدگی قرار گرفت (جدول ۱). تمامی ژنوتیپ‌های عدس مورد مطالعه در دمای صفر درجه سانتی‌گراد از بقای ۱۰۰ درصدی برخوردار بودند. کاهش دما به ۱۸- درجه سانتی‌گراد، تنها در شش ژنوتیپ سبب کاهش درصد بقاء شد. به عبارتی ۷۰ درصد از ژنوتیپ‌ها در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد از حداکثر بقاء برخوردار بودند که این امر نشان‌دهنده پتانسیل بالای این ژنوتیپ‌ها در تحمل به دمای یخ‌زدگی است. کاهش دما به ۱۸- درجه سانتی‌گراد موجب از بین رفتن کامل ژنوتیپ‌های MLC83، MLC103 و MLC409 شد. از طرفی کاهش دما به ۲۰- درجه سانتی‌گراد سبب مرگ تمامی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه شد (جدول ۱)؛ بنابراین آستانه تحمل به یخ‌زدگی ۷۰ درصد از ژنوتیپ‌ها که قادر به حفظ ۱۰۰ درصدی بقای خود در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد بودند کمتر از ۲۰- درجه سانتی‌گراد است. در پژوهش‌های پیشین، ژنوتیپ‌های که قادر به حفظ بقاء بالاتر از ۹۶ درصد بودند به‌عنوان ژنوتیپ‌های بسیار مقاوم به تنش یخ‌زدگی در دمای مورد مطالعه معرفی نموده‌اند (Yazdisamadi et al., 2004). در مطالعه حاضر ۱۴ ژنوتیپ قادر به حفظ ۱۰۰ درصد بقاء در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد شدند. این مطالعه در شرایط کنترل‌شده بدون پوشش برف انجام‌گرفته است و این سطح از تحمل نشان‌دهنده مقاومت بسیار بالای این ژنوتیپ‌ها به تنش یخ‌زدگی است.

بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه عدس از نظر سرعت فتوسنتز تفاوت معنی‌داری مشاهده شد (جدول ۲). بیشترین و کمترین سرعت فتوسنتز به ترتیب در ژنوتیپ‌های MLC38 و MLC409 مشاهده شد. پس از ژنوتیپ MLC38، ژنوتیپ‌های MLC407، MLC303، MLC84 و MLC454 از سرعت فتوسنتزی بالایی برخوردار بودند به طوری که نسبت به ژنوتیپ MLC409 به ترتیب ۳/۳، ۳/۲، ۲/۹ و ۲/۷ برابر میزان فتوسنتز بیشتری داشتند (جدول

اسمزی با استفاده از دستگاه اسمومتر مدل OM802.D Wogel انجام شد. همچنین کارایی مصرف آب (WUE) (Haghighi and Pessaraki, 2013)، محتوای نسبی آب برگ (RWC) (Smart and Bingham, 1974)، رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی (Dere et al., 1998)، مهار فعالیت رادیکال DPPH (Abe et al., 1998)، آنتوسیانین (Wanger, 1979) فنول کل (Singleton and Rossi, 1965) و کربوهیدرات‌های محلول (Dubois et al., 1951) اندازه‌گیری شد.

برای ارزیابی بقاء و بازیافت گیاهان، نمونه‌ها به گلخانه با میانگین دمای  $23 \pm 5$  درجه سانتی‌گراد و فتوپریود ۱۴ ساعت منتقل شدند. چهار هفته پس‌از آن درصد بقاء و بازیافت نمونه‌ها (SU%) ارزیابی شد. درصد بقاء گیاهان از طریق شمارش تعداد بوته زنده قبل (B) و پس از تنش یخ‌زدگی (A) در هر گلدان محاسبه شد (معادله ۱).

$$SU\% = \frac{A}{B} \times 100 \quad [1]$$

هم‌زمان صفات دیگری نظیر ارتفاع بوته، سطح برگ (با استفاده از دستگاه اندازه‌گیری سطح برگ مدل Delta T و وزن خشک گیاهان (۴۸ ساعت پس از قرار گرفتن در آن ۷۰ درجه سانتی‌گراد) اندازه‌گیری شد.

در ادامه دمای ۵۰ درصد کشتندگی گیاهان بر اساس درصد بقاء ( $LT_{50su}$ )، دمای کاهنده ۵۰ درصد ارتفاع بوته ( $RHT_{50}$ )، دمای کاهنده ۵۰ درصد سطح برگ ( $RLAT_{50}$ ) و دمای کاهنده ۵۰ درصد وزن خشک ( $RDMT_{50}$ ) با استفاده از رسم نمودار صفات مذکور در مقابل دماهای یخ‌زدگی تعیین شدند.

### تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها توسط نرم‌افزار MSTATC انجام گرفت. تجزیه و تحلیل برای صفات درصد بقاء، ارتفاع، سطح برگ و وزن خشک گیاهان به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و برای صفات قبل از فریز و  $LT_{50su}$ ،  $RHT_{50}$ ،  $RLAT_{50}$  و  $RDMT_{50}$  به صورت طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها نیز با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد. برای برآورد همبستگی، تجزیه خوشه‌ای (بر اساس روش

<sup>6</sup> Reduced temperature 50% of leaf area

<sup>7</sup> Reduced temperature 50% of dry matter

<sup>4</sup> Lethal temperature 50% of plants according to the survival percentage

<sup>5</sup> Reduced temperature 50% of height plant

سرما منجر به کاهش فتوسنتز خالص به علت توقف جریان سیتوپلاسمی، بسته شدن زنجیره انتقال الکترون در تیلاکوئیدها و افزایش تولید انواع گونه‌های فعال اکسیژن می‌گردد. به دنبال این وضعیت واکنش‌های تاریکی فتوسنتز مختل شده و محصولات حاصل از واکنش‌های روشنایی مصرف می‌شوند. در این شرایط به علت عدم اکسید شدن مولکول NADPH مصرف NADP+ جهت دریافت الکترون کاهش می‌یابد؛ بنابراین مولکول اکسیژن در مسیر زنجیره انتقال الکترون به‌عنوان پذیرنده جایگزین الکترون عمل می‌کند و منجر به شکل‌گیری رادیکال‌های اکسیژن می‌شود. این عوامل سبب تجزیه ساختار کلروپلاست و حساسیت آن به سرما می‌گردد (Peyvandi et al., 2007). با وجود این، سلول‌ها تنفس انجام می‌دهند که منجر به ضعیف‌تر شدن بوته‌ها می‌شود و نهایتاً مرگ گیاه را به دنبال دارد. فتوسنتز در خوسرمایی و افزایش مقاومت به سرما، نقش اساسی دارد. افزایش سرعت فتوسنتز در گیاهان متحمل در طی خوسرمایی مشاهده شده است که دلیل آن افزایش سنتز و تجمع کربوهیدرات‌ها، سنتز پروتئین‌های جدید و افزایش سنتز و فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها است (Nejadsadeghi et al., 2014). به عبارتی گیاهان متحمل به تنش یخ‌زدگی با تولید اسمولیت‌های سازگار و انجام عمل تنظیم اسمزی قادرند سرعت فتوسنتز خود را در مقابله با شرایط تنش حفظ کنند. از نظر میزان تبخیر و تعرق بین ژنوتیپ‌های عدس تفاوت معنی‌داری مشاهده شد (جدول ۲). دامنه تغییرات سرعت تبخیر و تعرق ژنوتیپ‌ها از ۱/۳۹ تا ۷/۴۷ میلی مول بر مترمربع بر ثانیه به ترتیب در ژنوتیپ‌های MLC70 و MLC38 متغیر بود (جدول ۲). پس از ژنوتیپ MLC38 دو ژنوتیپ MLC74 و MLC334 تبخیر و تعرق بالای در میان ژنوتیپ‌ها دارا بودند که نسبت به ژنوتیپ MLC74 به ترتیب ۵/۴، ۴/۰، ۲/۹ و ۳/۰ برابر نظر میزان تبخیر و تعرق بالاتری داشتند (جدول ۲).

همبستگی مثبت و معنی‌دار بین سرعت فتوسنتز و تبخیر و تعرق ( $r^2=0/47^*$ ) وجود داشت، اما بین تبخیر و تعرق و درصد بقاء همبستگی معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۸). به نظر می‌رسد در شرایط دمای پایین تأثیر عوامل غیرروشنایی بر میزان تبادلات گازی گیاه نسبت به عوامل روزنه‌ای بیشتر باشد، زیرا در این شرایط کاهش دما موجب کاهش و اختلال در واکنش‌های شیمیایی فتوسنتز می‌شود و در نهایت باعث کاهش تبادلات گازی می‌گردد، از طرفی در شرایط دمایی

(۲). همبستگی مثبت و معنی‌داری ( $r^2=0/48^*$ ) بین سرعت فتوسنتز با درصد بقاء وجود داشت (جدول ۸). به‌طورمعمول سرعت فتوسنتز تحت تأثیر عوامل روزنه‌ای و غیرروزنه‌ای قرار می‌گیرد (Kalisz et al., 2016).

جدول ۱. برهمکنش ژنوتیپ و دمای یخ‌زدگی بر درصد بقاء ژنوتیپ‌های عدس پس از اعمال یخ‌زدگی در شرایط کنترل شده  
Table 1. Interaction effects of genotype and freezing temperature on survival percentage of lentil genotypes after freezing under controlled conditions

ژنوتیپ Genotype	درصد بقاء Survival percentage		
	دمای یخ‌زدگی Freezing temperature		
	0	-18	-20
MLC8 <sup>†</sup>	100 <sup>a</sup>	53.0 <sup>c</sup>	0.00 <sup>d</sup>
MLC11	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	0.00 <sup>d</sup>
MLC13	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	0.00 <sup>d</sup>
MLC17	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	0.00 <sup>d</sup>
MLC33	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	0.00 <sup>d</sup>
MLC38	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	0.00 <sup>d</sup>
MLC47	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	0.00 <sup>d</sup>
MLC70	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	0.00 <sup>d</sup>
MLC74	100 <sup>a</sup>	67.3 <sup>b</sup>	0.00 <sup>d</sup>
MLC83	100 <sup>a</sup>	0.00 <sup>d</sup>	0.00 <sup>d</sup>
MLC84	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	0.00 <sup>d</sup>
MLC103	100 <sup>a</sup>	0.00 <sup>d</sup>	0.00 <sup>d</sup>
MLC286	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	0.00 <sup>d</sup>
MLC303	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	0.00 <sup>d</sup>
MLC334	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	0.00 <sup>d</sup>
MLC407	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	0.00 <sup>d</sup>
MLC409	100 <sup>a</sup>	0.00 <sup>d</sup>	0.00 <sup>d</sup>
MLC454	100 <sup>a</sup>	64.0 <sup>b</sup>	0.00 <sup>d</sup>
MLC469	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	0.00 <sup>d</sup>
MLC472	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	0.00 <sup>d</sup>
S.O.V	df	Mean squares	
ژنوتیپ	19	1363**	
Genotype (G)			
دما	2	167091**	
Temperature			
ژنوتیپ × دما	38	1364**	
G×T			
خطا	120	33.4	
Error			
C.V (%)	-	9.67	

<sup>†</sup> کلکسیون عدس پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون دانکن ندارند. \*\*: معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد، C.V: ضریب تغییرات.

<sup>†</sup> MLC: Mashhad Lentil Collection  
Means followed by the same letter are not significantly different ( $p < 0.05$ ). \*\*: Significant ( $P \leq 0.01$ ), C.V: Coefficient Variation.

پایین میزان رطوبت نسبی هوا بالا بوده و تبادلات گازی با سرعت کمتری انجام می‌گیرد؛ بنابراین وجود تبخیر و تعرق

بالا در برخی از ژنوتیپ‌ها نشان‌دهنده فعالیت بهتر سیستم فتوسنتزی خواهد بود.

جدول ۲. متغیرهای فتوسنتزی و هدایت مزوفیلی ژنوتیپ‌های عدس قبل از اعمال یخ‌زدگی در شرایط کنترل شده

Table 2. Photosynthetic properties and mesophyll conductance in lentil genotypes before freezing stress under control condition

ژنوتیپ Genotype	سرعت فتوسنتز Photosynthetic rate ( $\mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )	تبخیر و تعرق Evapotranspiration rate ( $\text{mmol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )	هدایت روزنه‌ای Stomatal conductance ( $\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )	دی‌اکسید کربن		
				زیر روزنه CO <sub>2</sub> substomatal (ppm)	هدایت مزوفیلی Mesophyll conductance ( $\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )	
MLC8 <sup>†</sup>	17.6 <sup>f</sup>	3.25 <sup>c-g</sup>	0.394 <sup>i-l</sup>	393 <sup>a</sup>	0.051 <sup>b-e</sup>	
MLC11	15.3 <sup>gh</sup>	1.70 <sup>gh</sup>	0.364 <sup>i-k</sup>	386 <sup>a</sup>	0.034 <sup>e-g</sup>	
MLC13	11.0 <sup>jk</sup>	2.04 <sup>d-h</sup>	0.516 <sup>g-i</sup>	430 <sup>a</sup>	0.022 <sup>g</sup>	
MLC17	18.6 <sup>ef</sup>	2.80 <sup>c-h</sup>	0.671 <sup>c-f</sup>	436 <sup>a</sup>	0.041 <sup>d-g</sup>	
MLC33	16.5 <sup>f-h</sup>	2.94 <sup>c-h</sup>	0.679 <sup>c-f</sup>	418 <sup>a</sup>	0.034 <sup>e-g</sup>	
MLC38	30.7 <sup>a</sup>	7.47 <sup>a</sup>	1.44 <sup>a</sup>	429 <sup>a</sup>	0.064 <sup>ab</sup>	
MLC47	14.8 <sup>hi</sup>	2.52 <sup>d-h</sup>	0.489 <sup>h-j</sup>	406 <sup>a</sup>	0.028 <sup>fg</sup>	
MLC70	17.9 <sup>f</sup>	1.39 <sup>h</sup>	0.434 <sup>i-l</sup>	402 <sup>a</sup>	0.044 <sup>c-f</sup>	
MLC74	16.9 <sup>fg</sup>	5.54 <sup>b</sup>	0.789 <sup>bc</sup>	420 <sup>a</sup>	0.043 <sup>c-f</sup>	
MLC83	12.0 <sup>j</sup>	3.62 <sup>cd</sup>	0.844 <sup>b</sup>	430 <sup>a</sup>	0.034 <sup>e-g</sup>	
MLC84	25.0 <sup>c</sup>	3.44 <sup>c-e</sup>	0.635 <sup>e-g</sup>	394 <sup>a</sup>	0.064 <sup>ab</sup>	
MLC103	12.4 <sup>j</sup>	2.85 <sup>c-h</sup>	0.441 <sup>i-k</sup>	427 <sup>a</sup>	0.050 <sup>b-e</sup>	
MLC286	17.9 <sup>f</sup>	2.32 <sup>d-h</sup>	0.655 <sup>d-f</sup>	421 <sup>a</sup>	0.069 <sup>ab</sup>	
MLC303	29.0 <sup>a</sup>	3.38 <sup>c-f</sup>	0.784 <sup>b-d</sup>	386 <sup>a</sup>	0.071 <sup>a</sup>	
MLC334	14.6 <sup>hi</sup>	4.18 <sup>bc</sup>	0.752 <sup>b-e</sup>	409 <sup>a</sup>	0.033 <sup>e-g</sup>	
MLC407	27.0 <sup>b</sup>	3.16 <sup>c-g</sup>	0.601 <sup>f-h</sup>	383 <sup>a</sup>	0.072 <sup>a</sup>	
MLC409	9.19 <sup>k</sup>	2.19 <sup>d-h</sup>	0.306 <sup>l</sup>	382 <sup>a</sup>	0.023 <sup>g</sup>	
MLC454	20.8 <sup>d</sup>	3.02 <sup>c-g</sup>	0.423 <sup>i-l</sup>	384 <sup>a</sup>	0.061 <sup>a-c</sup>	
MLC469	13.0 <sup>ij</sup>	1.91 <sup>e-h</sup>	0.442 <sup>i-k</sup>	417 <sup>a</sup>	0.035 <sup>d-g</sup>	
MLC472	19.9 <sup>de</sup>	1.78 <sup>f-h</sup>	0.346 <sup>kl</sup>	442 <sup>a</sup>	0.053 <sup>a-d</sup>	
S.O.V	df	Mean squares				
ژنوتیپ Genotype	19	107 <sup>**</sup>	5.97 <sup>**</sup>	0.196 <sup>**</sup>	1159 <sup>ns</sup>	0.001 <sup>**</sup>
خطا Error	40	1.26	0.693	0.005	1268	0.001
C.V (%)	-	6.24	27.1	11.6	8.69	16.0

<sup>†</sup> کلکسیون عدس پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد. میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون دانکن ندارند. ns: غیر معنی‌دار، \*\*: معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد، C.V: ضریب تغییرات.

<sup>†</sup> MLC: Mashhad Lentil Collection

Means followed by the same letter are not significantly different ( $p < 0.05$ ). ns: non-significant, \*\*: Significant ( $P \leq 0.01$ ), C.V: Coefficient Variation

نکته قابل توجه در ارتباط با این ژنوتیپ‌ها حفظ بقاء در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد در ژنوتیپ MLC38 و از بین رفتن کامل ژنوتیپ MLC409 در این دما بود (جدول ۱). در این بررسی بین سرعت تبخیر و تعرق و هدایت روزنه‌ای رابطه مثبت و معنی‌داری مشاهده شد ( $r^2 = 0.89^{**}$ ) (جدول ۸). با افزایش هدایت روزنه‌ای میزان دی‌اکسید کربن ورودی برای استفاده در فتوسنتز بیشتر خواهد شده و در نتیجه مواد اولیه بیشتری جهت انجام فرآیند فتوسنتز در اختیار گیاه قرار

بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از لحاظ میزان هدایت روزنه‌ای تفاوت معنی‌داری مشاهده شد (جدول ۲). هدایت روزنه‌ای در ۵۵ درصد ژنوتیپ‌ها بیشتر از ۰/۵۰۰ مول بر مترمربع بر ثانیه بود. ژنوتیپ MLC38 نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها از هدایت روزنه‌ای بالاتری برخوردار بود از طرف دیگر ژنوتیپ MLC409 پایین‌ترین میزان هدایت روزنه‌ای را دارا بود، تفاوت میان این دو ژنوتیپ ۱/۱۳۴ مول بر مترمربع بر ثانیه بود که از میانگین کل ژنوتیپ‌ها بالاتر بود (جدول ۲).

بین ژنوتیپ‌های عدس از نظر محتوای نسبی آب برگ تفاوت معنی‌داری مشاهده شد (جدول ۳). بیشترین مقدار محتوای نسبی آب برگ در دو ژنوتیپ MLC38 و MLC454 و کمترین مقدار این ویژگی در ژنوتیپ MLC74 مشاهده شد که تفاوت میان بیشترین و کمترین مقدار محتوای نسبی آب برگ در حدود ۲۰ درصد بود (جدول ۳). در میان ژنوتیپ‌های مورد مطالعه ۵۵ درصد از ژنوتیپ‌ها دارای محتوای نسبی آب برگ بالای ۷۰ درصد بودند (جدول ۳). حفظ محتوای نسبی آب برگ موجب بهبود فعالیت دستگاه فتوسنتزی خواهد شد در این مطالعه ژنوتیپ دو ژنوتیپ MLC38 و MLC454 که محتوای نسبی آب برگ بالایی دارا بودند از نظر سرعت فتوسنتز نیز وضعیت مطلوبی نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها دارا بودند (جدول‌های ۲ و ۳) که این امر نشان‌دهنده توانایی بیشتر ژنوتیپ‌ها در حفظ آب برگ‌ها در مقابله با تنش است.

پتانسیل اسمزی برگ تحت تأثیر معنی‌دار ژنوتیپ‌های مورد مطالعه قرار گرفت. میزان پتانسیل اسمزی از ۲/۰۲- مگا پاسکال در ژنوتیپ MLC13 تا ۵/۰۵- مگا پاسکال در MLC303 متغیر بود (جدول ۳). پتانسیل اسمزی می‌تواند به‌عنوان یکی از مؤلفه‌های تحمل به سرما در گیاهان مطرح باشد، زیرا غلظت شیره سلولی در تشکیل بلورهای یخ در داخل سلول‌ها و بافت‌های گیاهی مؤثر است و بالا بودن غلظت شیره سلولی موجب کاهش پتانسیل اسمزی و در نهایت کاهش دمای یخ‌زدگی خواهد شد (Yildiztugay et al., 2017). گیاهان متحمل می‌توانند با تولید تنظیم‌کننده‌های اسمزی نظیر کربوهیدرات‌های محلول و کاهش پتانسیل آب، محتوای آب نسبی برگ را در شرایط تنش در سطح بالایی حفظ کنند.

در بین ژنوتیپ‌های عدس مورد مطالعه از نظر غلظت کلروفیل‌های a، b، کاروتنوئیدها و کل رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی تفاوت معنی‌داری مشاهده شد (جدول ۴). بیشترین مقدار کلروفیل a و کل رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی در ژنوتیپ MLC454 مشاهده شد. ژنوتیپ MLC407 نیز از بیشترین مقدار کلروفیل b و کاروتنوئیدها برخوردار بود. کمترین مقدار کلروفیل a و کاروتنوئیدها در ژنوتیپ MLC8 و کمترین مقدار کلروفیل b و کل رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی نیز در MLC83 مشاهده شد (جدول ۴). نسبت کلروفیل a به b تحت تأثیر ژنوتیپ‌ها قرار نگرفت (جدول ۴).

می‌گیرد. همان‌طور که در این مطالعه مشاهده شد بیشترین و کمترین میزان فتوسنتز به ترتیب در ژنوتیپ‌های MLC38 و MLC409 مشاهده شد (جدول ۲). بسته شدن روزنه‌ها و کاهش هدایت روزنه‌ای تحت تأثیر تنش یخ‌زدگی می‌تواند ناشی از افزایش غلظت دی‌اکسید کربن زیر روزنه به دلیل کاهش فعالیت آنزیم روبیسکو باشد. کاهش ۹۵ درصدی میزان تعرق در نتیجه بسته شدن روزنه‌ها مشاهده شده است (Kalisz et al., 2016).

عامل اصلی محدودکننده فتوسنتز، هدایت مزوفیلی است (Fisher et al., 1998). کاهش سرعت فتوسنتز در شرایط تنش در حضور مقادیر بالای دی‌اکسید کربن زیر روزنه به مفهوم پایین بودن میزان هدایت مزوفیلی و عدم توانایی سلول‌های مزوفیل در استفاده از دی‌اکسید کربن است. به عبارتی تجمع دی‌اکسید کربن در برگ در شرایط تنش نشان‌دهنده عدم توانایی گیاه در استفاده از آن است. در این بررسی تفاوت آماری معنی‌داری از لحاظ میزان هدایت مزوفیلی بین ژنوتیپ‌های عدس مشاهده شد (جدول ۲). دامنه تغییرات هدایت مزوفیلی از ۰/۰۲۲ مول بر مترمربع بر ثانیه در ژنوتیپ MLC13 تا ۰/۰۷۲ مول بر مترمربع بر ثانیه در ژنوتیپ MLC407 متغیر بود (جدول ۲). همبستگی بین هدایت مزوفیلی با سرعت فتوسنتز مثبت و معنی‌دار ( $r^2=0/18^{**}$ ) بود (جدول ۸). به عبارتی هدایت مزوفیلی بالاتر نشان‌دهنده سرعت فتوسنتز بیشتر و ورود دی‌اکسید کربن بیشتر به فضای زیر روزنه است که این امر مستلزم باز نگه‌داشتن روزنه‌ها است که سبب خروج آب بیشتر از روزنه‌ها و افزایش میزان تعرق می‌شود؛ بنابراین در شرایط تنش ژنوتیپ‌های مقاوم قادرند از دی‌اکسید کربن تجمع یافته در برگ‌ها استفاده کرده و با حفظ ساختار کلروفیل‌ها از کاهش سرعت فتوسنتز ممانعت کنند.

کارایی مصرف لحظه‌ای آب تحت تأثیر معنی‌دار ژنوتیپ‌های عدس قرار گرفت (جدول ۳). تفاوت ۴/۷ برابری بین بیشترین (MLC472) و کمترین (MLC83) میزان کارایی مصرف آب لحظه‌ای مشاهده شد (جدول ۳). با توجه به اینکه کارایی مصرف آب لحظه‌ای از تقسیم سرعت فتوسنتز بر تبخیر و تعرق به دست می‌آید؛ بنابراین رابطه معکوسی بین کارایی مصرف آب لحظه‌ای و سرعت تبخیر و تعرق وجود دارد. در این بررسی نیز همبستگی منفی و معنی‌داری ( $r^2=-0/53^{**}$ ) بین این دو صفت مشاهده شد (جدول ۸).

جدول ۳. کارایی مصرف آب، محتوای نسبی آب برگ و پتانسیل اسمزی در ژنوتیپ‌های عدس قبل از اعمال یخ‌زدگی در شرایط کنترل‌شده

Table 3. Water use efficiency, relative water content, and osmotic potential in lentil genotypes before freezing stress under control condition.

ژنوتیپ Genotype	کارایی مصرف آب WUE ( $\mu\text{molCO}_2.\text{mMol H}_2\text{O}$ )	محتوای نسبی آب برگ RWC (%)	پتانسیل اسمزی Osmotic potential (MPa)	
MLC8 <sup>†</sup>	5.84 <sup>c-f</sup>	75.7 <sup>ab</sup>	-2.80 <sup>d-f</sup>	
MLC11	8.53 <sup>b</sup>	69.0 <sup>a-e</sup>	-3.65 <sup>bc</sup>	
MLC13	5.49 <sup>c-f</sup>	76.0 <sup>ab</sup>	-2.02 <sup>f</sup>	
MLC17	6.02 <sup>c-e</sup>	70.7 <sup>a-e</sup>	-2.64 <sup>d-f</sup>	
MLC33	5.95 <sup>c-e</sup>	77.0 <sup>ab</sup>	-2.54 <sup>d-f</sup>	
MLC38	4.16 <sup>e-g</sup>	79.0 <sup>a</sup>	-2.90 <sup>c-e</sup>	
MLC47	6.53 <sup>b-e</sup>	73.7 <sup>a-c</sup>	-3.14 <sup>b-d</sup>	
MLC70	13.4 <sup>a</sup>	76.7 <sup>ab</sup>	-2.27 <sup>ef</sup>	
MLC74	3.06 <sup>g</sup>	59.7 <sup>e</sup>	-3.09 <sup>b-e</sup>	
MLC83	2.90 <sup>g</sup>	68.7 <sup>a-e</sup>	-2.75 <sup>d-f</sup>	
MLC84	7.32 <sup>b-d</sup>	68.3 <sup>a-e</sup>	-2.78 <sup>d-f</sup>	
MLC103	4.37 <sup>e-g</sup>	75.0 <sup>ab</sup>	-2.53 <sup>d-f</sup>	
MLC286	6.37 <sup>b-e</sup>	67.7 <sup>a-e</sup>	-2.66 <sup>d-f</sup>	
MLC303	8.68 <sup>b</sup>	68.0 <sup>a-e</sup>	-5.05 <sup>a</sup>	
MLC334	3.55 <sup>fg</sup>	66.0 <sup>b-e</sup>	-2.79 <sup>d-f</sup>	
MLC407	7.60 <sup>bc</sup>	61.3 <sup>de</sup>	-2.47 <sup>d-f</sup>	
MLC409	4.60 <sup>e-g</sup>	62.7 <sup>c-e</sup>	-3.81 <sup>b</sup>	
MLC454	6.44 <sup>b-e</sup>	78.0 <sup>a</sup>	-2.92 <sup>c-e</sup>	
MLC469	5.10 <sup>d-g</sup>	74.0 <sup>ab</sup>	-2.78 <sup>d-f</sup>	
MLC472	13.9 <sup>a</sup>	71.7 <sup>a-d</sup>	-2.30 <sup>ef</sup>	
S.O.V	df	Mean squares		
ژنوتیپ Genotype	19	26.2 <sup>**</sup>	96.9 <sup>**</sup>	1.31 <sup>**</sup>
خطا Error	40	1.52	33.3	0.175
C.V (%)	-	19.0	8.14	14.5

<sup>†</sup> کلکسیون عدس پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد.

میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون دانکن ندارند. \*\*: معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد، C.V: ضریب تغییرات.

<sup>†</sup> MLC: Mashhad Lentil Collection

Means followed by the same letter are not significantly different ( $p < 0.05$ ). \*\*: Significant ( $P \leq 0.01$ ), C.V: Coefficient Variation

دمای پایین به دلیل افزایش جذب نور توسط کلروفیل‌های آنتن در مقایسه با مراکز واکنش غیرفعال، درصد تبدیل انرژی جذب‌شده به انرژی برانگیختگی که در اثر برانگیخته شدن کلروفیل a در مرکز واکنش فتوسیستم II به دام می‌افتد، کاهش می‌یابد و در نتیجه انرژی لازم برای احیای پذیرنده‌ها در زنجیره انتقال الکترون فراهم نشده و اتلاف انرژی به صورت گرما افزایش می‌یابد (Mehta et al., 2010). این انرژی مازاد از طریق تخریب کلروفیل‌ها، سبب متلاشی شدن بافت گیاه و در نتیجه کاهش سرعت فتوسنتز می‌شود (Kalisz et al., 2016). همبستگی مثبت و معنی‌داری بین کلروفیل b و کاروتنوئیدها با سرعت فتوسنتز ( $r^2 = 0.61^{**}$  و  $r^2 = 0.47^*$ ) و

کلروفیل برگ از مهم‌ترین شاخص‌های نشان‌دهنده تنش‌های محیطی بر گیاه است و کاهش آن یکی از نشانگرهای شناخته‌شده برای تنش محسوب شده (Iswarya et al., 2015) و به‌عنوان یک عامل محدودکننده غیر روزنه‌ای در فتوسنتز به حساب می‌آید. همچنین غلظت کلروفیل برگ‌ها یکی از عوامل کلیدی در تعیین سرعت فتوسنتز و تولید ماده خشک در گیاه است. دمای پایین سبب کند شدن بازسازی پروتئین D1 در مرکز واکنش می‌شود و همچنین از روند بازسازی فتوسیستم II ممانعت می‌کند (Gururani et al., 2015). این امر موجب کاهش کارایی کمپلکس تجزیه آب و اختلال در زنجیره انتقال الکترون فتوسیستم II می‌شود. در



بین ژنوتیپ‌ها از لحاظ میزان مهار فعالیت رادیکال آزاد DPPH تفاوت معنی‌داری مشاهده شد (جدول ۵). ژنوتیپ‌های MLC74 و MLC334 بیشترین و ژنوتیپ MLC103 کمترین مهار فعالیت رادیکال آزاد DPPH را دارا بودند (جدول ۵). با وجود اینکه ارتباط مثبت و معنی‌داری بین این صفت با درصد بقاء گیاهچه‌های عدس مشاهده نشد، اما در بررسی‌های سایر پژوهشگران توانایی مهار فعالیت رادیکال آزاد DPPH در واریته متحمل به سرما انگور بیشتر از واریته‌های حساس بود. همچنین در هر دو واریته حساس و مقاوم اعمال تنش دمای پایین سبب افزایش این صفت در مقایسه با شرایط بدون تنش شد (Krol et al., 2015).

درصد بقاء ( $r^2=0/49^*$  و  $r^2=0/50^*$ ) مشاهده شد (جدول ۸). به عبارتی ژنوتیپ‌هایی که از مقدار کلروفیل b بالاتری برخوردار باشند، قادرند سرعت فتوسنتز خود را در شرایط تنش حفظ کرده و در نتیجه از درصد بقای مناسب‌تری برخوردار باشند. افزایش تجمع کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها در ارقام مقاوم به سرما مشاهده شده است (Jan et al., 2018). گیاهان مقاوم به سرما از طریق افزایش تجمع کلروفیل‌ها و حفظ ساختار آن‌ها و همچنین انجام تنظیم اسمزی از طریق افزایش تجمع ترکیب‌هایی مانند کربوهیدرات‌های، فنول‌ها و پروتئین‌های ضد یخ سبب حفظ پایداری غشای سلول، حفظ هدایت روزنه‌ای و نگهداری آب جهت انجام فعالیت‌های بیوشیمیایی در گیاه شده و در نتیجه از کاهش فتوسنتز ممانعت می‌کنند (Aras and Esitken, 2013).

جدول ۴. محتوای رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی در ژنوتیپ‌های عدس قبل از اعمال یخ‌زدگی در شرایط کنترل شده

Table 4. Photosynthesis pigments in lentil genotypes before freezing stress under control condition

ژنوتیپ Genotype	کلروفیل a Cha	کلروفیل b Chb	کاروتنوئیدها Carotenoids	کلروفیل a/b Cha/Chb	کل رنگ‌دانه‌ها Total pigment	
	mg.gfw <sup>-1</sup>				mg.gfw <sup>-1</sup>	
MLC8 <sup>†</sup>	0.768 <sup>j</sup>	0.473 <sup>ij</sup>	0.205 <sup>f</sup>	1.86 <sup>a</sup>	1.55 <sup>h-j</sup>	
MLC11	1.27 <sup>d-f</sup>	0.690 <sup>ef</sup>	0.388 <sup>b-d</sup>	1.84 <sup>a</sup>	2.34 <sup>c-f</sup>	
MLC13	0.847 <sup>ij</sup>	0.460 <sup>ij</sup>	0.292 <sup>e</sup>	1.78 <sup>a</sup>	1.43 <sup>ij</sup>	
MLC17	1.15 <sup>e-h</sup>	0.745 <sup>de</sup>	0.354 <sup>d</sup>	1.93 <sup>a</sup>	2.34 <sup>c-f</sup>	
MLC33	0.858 <sup>h-j</sup>	0.482 <sup>ij</sup>	0.289 <sup>e</sup>	2.04 <sup>a</sup>	1.54 <sup>h-j</sup>	
MLC38	1.18 <sup>e-g</sup>	0.760 <sup>cd</sup>	0.386 <sup>b-d</sup>	2.00 <sup>a</sup>	2.61 <sup>cd</sup>	
MLC47	0.987 <sup>f-j</sup>	0.475 <sup>ij</sup>	0.380 <sup>cd</sup>	1.83 <sup>a</sup>	1.84 <sup>f-i</sup>	
MLC70	1.09 <sup>e-i</sup>	0.621 <sup>gh</sup>	0.381 <sup>cd</sup>	2.23 <sup>a</sup>	1.97 <sup>e-h</sup>	
MLC74	1.48 <sup>cd</sup>	0.673 <sup>fg</sup>	0.443 <sup>b</sup>	2.07 <sup>a</sup>	2.75 <sup>bc</sup>	
MLC83	0.965 <sup>g-j</sup>	0.351 <sup>k</sup>	0.296 <sup>e</sup>	1.96 <sup>a</sup>	1.30 <sup>l</sup>	
MLC84	1.81 <sup>b</sup>	0.837 <sup>b</sup>	0.495 <sup>a</sup>	1.85 <sup>a</sup>	3.13 <sup>b</sup>	
MLC103	0.884 <sup>g-j</sup>	0.440 <sup>j</sup>	0.235 <sup>f</sup>	1.85 <sup>a</sup>	1.74 <sup>g-j</sup>	
MLC286	1.34 <sup>c-e</sup>	0.647 <sup>f-h</sup>	0.394 <sup>b-d</sup>	2.10 <sup>a</sup>	2.37 <sup>c-e</sup>	
MLC303	1.12 <sup>e-i</sup>	0.609 <sup>h</sup>	0.392 <sup>b-d</sup>	1.99 <sup>a</sup>	2.13 <sup>d-g</sup>	
MLC334	1.02 <sup>f-j</sup>	0.734 <sup>de</sup>	0.301 <sup>e</sup>	1.79 <sup>a</sup>	2.32 <sup>c-f</sup>	
MLC407	1.85 <sup>b</sup>	0.928 <sup>a</sup>	0.546 <sup>a</sup>	2.33 <sup>a</sup>	3.77 <sup>a</sup>	
MLC409	1.15 <sup>e-h</sup>	0.512 <sup>i</sup>	0.295 <sup>e</sup>	2.20 <sup>a</sup>	2.30 <sup>c-f</sup>	
MLC454	2.35 <sup>a</sup>	0.801 <sup>bc</sup>	0.426 <sup>bc</sup>	2.14 <sup>a</sup>	3.84 <sup>a</sup>	
MLC469	1.60 <sup>bc</sup>	0.665 <sup>f-h</sup>	0.541 <sup>a</sup>	2.43 <sup>a</sup>	2.80 <sup>bc</sup>	
MLC472	1.10 <sup>e-i</sup>	0.468 <sup>ij</sup>	0.384 <sup>b-d</sup>	2.35 <sup>a</sup>	1.92 <sup>e-i</sup>	
S.O.V	df	Mean squares				
ژنوتیپ Genotype(G)	19	0.481 <sup>**</sup>	0.073 <sup>**</sup>	0.025 <sup>**</sup>	0.118 <sup>ns</sup>	1.50 <sup>**</sup>
خطا Error	40	0.024	0.001	0.001	0.113	0.073
C.V (%)	-	12.6	4.89	10.4	16.6	11.7

<sup>†</sup> کلکسیون عدس پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون دانکن ندارند. ns: غیر معنی‌دار، \*\*: معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد، C.V: ضریب تغییرات.

<sup>†</sup> MLC: Mashhad Lentil Collection

Means followed by the same letter are not significantly different ( $p < 0.05$ ). ns: non-significant, \*\*: Significant ( $P \leq 0.01$ ), C.V: Coefficient Variation

جدول ۵. مهار فعالیت رادیکال آزاد DPPH، آنتوسیانین، فنول و کربوهیدرات‌های محلول ژنوتیپ‌های عدس قبل از اعمال یخ‌زدگی در شرایط کنترل‌شده

Table 5. DPPH, antocyanin, phenol and soluble carbohydrates in lentil genotypes before freezing stress under control condition

ژنوتیپ Genotype	مهار فعالیت رادیکال آزاد					
	DPPH DPPH mg.gfw <sup>-1</sup>	آنتوسیانین Antocyanin mmol.gfw <sup>-1</sup>	فنول Phenol	کربوهیدرات‌های محلول Soluble carbohydrates mg.gfw <sup>-1</sup>		
<sup>1</sup> MLC8	1.180 <sup>c</sup>	1.400 <sup>b</sup>	159 <sup>d-h</sup>	0.109 <sup>i</sup>		
MLC11	1.060 <sup>d</sup>	1.640 <sup>a</sup>	174 <sup>c-g</sup>	0.250 <sup>de</sup>		
MLC13	0.599 <sup>g</sup>	0.782 <sup>ef</sup>	99 <sup>i</sup>	0.116 <sup>i</sup>		
MLC17	0.960 <sup>de</sup>	0.585 <sup>gh</sup>	127 <sup>h-j</sup>	0.161 <sup>gh</sup>		
MLC33	0.579 <sup>g</sup>	0.486 <sup>hi</sup>	105 <sup>j</sup>	0.117 <sup>i</sup>		
MLC38	0.670 <sup>g</sup>	0.566 <sup>gh</sup>	136 <sup>g-j</sup>	0.236 <sup>c</sup>		
MLC47	0.967 <sup>de</sup>	0.758 <sup>ef</sup>	187 <sup>b-f</sup>	0.132 <sup>hi</sup>		
MLC70	1.010 <sup>d</sup>	0.630 <sup>f-h</sup>	165 <sup>c-h</sup>	0.120 <sup>i</sup>		
MLC74	1.890 <sup>a</sup>	0.973 <sup>d</sup>	162 <sup>d-h</sup>	0.331 <sup>b</sup>		
MLC83	0.826 <sup>f</sup>	0.881 <sup>de</sup>	222 <sup>b</sup>	0.132 <sup>hi</sup>		
MLC84	0.834 <sup>f</sup>	0.652 <sup>fg</sup>	160 <sup>d-h</sup>	0.338 <sup>b</sup>		
MLC103	0.452 <sup>h</sup>	0.334 <sup>i</sup>	110 <sup>ij</sup>	0.121 <sup>i</sup>		
MLC286	0.871 <sup>ef</sup>	0.659 <sup>fg</sup>	149 <sup>f-i</sup>	0.110 <sup>i</sup>		
MLC303	0.982 <sup>de</sup>	0.351 <sup>i</sup>	206 <sup>bc</sup>	0.188 <sup>fg</sup>		
MLC334	1.680 <sup>b</sup>	1.530 <sup>ab</sup>	201 <sup>b-d</sup>	0.293 <sup>c</sup>		
MLC407	1.051 <sup>d</sup>	1.140 <sup>c</sup>	225 <sup>ab</sup>	0.448 <sup>a</sup>		
MLC409	0.623 <sup>g</sup>	0.481 <sup>hi</sup>	173 <sup>c-g</sup>	0.282 <sup>cd</sup>		
MLC454	0.595 <sup>g</sup>	0.758 <sup>ef</sup>	261 <sup>a</sup>	0.352 <sup>b</sup>		
MLC469	0.813 <sup>f</sup>	0.947 <sup>d</sup>	196 <sup>b-e</sup>	0.217 <sup>ef</sup>		
MLC472	0.636 <sup>g</sup>	0.361 <sup>i</sup>	156 <sup>c-h</sup>	0.126 <sup>hi</sup>		
S.O.V	df	Mean squares				
Genotype	ژنوتیپ	19	0.384**	0.435**	5357**	31225**
Error	خطا	40	0.005	0.008	492	406
C.V (%)	-		7.66	11.2	13.2	9.65

† کلکسیون عدس پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون دانکن ندارند. \*\*: معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد، C.V: ضریب تغییرات.

† MLC: Mashhad Lentil Collection

Means followed by the same letter are not significantly different ( $p < 0.05$ ). \*\*: Significant ( $P \leq 0.01$ ), C.V: Coefficient Variation

اپیدرم و جهت حذف گونه‌های فعال اکسیژن و همچنین کاهش پتانسیل اسمزی جهت تأخیر در یخ‌زدگی صورت می‌گیرد. مقدار آن بسته به ویژگی‌های فیزیولوژیکی گیاه متفاوت است. تحت شرایط تنش سلول‌های اپیدرم به دلیل تجمع گونه‌های فعال اکسیژن، در مقایسه با سایر بافت‌های گیاه اثر تنش را سریع‌تر دریافت می‌کنند (Li et al., 2015). در این مطالعه نیز بین میزان آنتوسیانین و مهار فعالیت رادیکال آزاد DPPH همبستگی مثبت و معنی‌دار ( $r^2 = 0.62$ ) وجود داشت (جدول ۸).

در بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از نظر فنول کل تفاوت معنی‌داری مشاهده شد (جدول ۵). وجود تفاوت ۶۲ درصدی

غلظت آنتوسیانین تحت تأثیر معنی‌دار ژنوتیپ‌های عدس قرار گرفت. دامنه تغییرات آنتوسیانین از ۰/۳۳۴ میلی‌مول بر گرم وزن تر در ژنوتیپ MLC103 تا ۱/۶۴ میلی‌مول بر گرم وزن تر در ژنوتیپ MLC11 متغیر بود (جدول ۵). آنتوسیانین یکی از مهم‌ترین رنگ‌دانه‌های گیاهی است که از گیاه در برابر شرایط تنش محافظت می‌کند. یکی از عوامل مهم و تأثیرگذار در بیوسنتز آنتوسیانین، تنش سرما است که افزایش آن نشان‌دهنده افزایش مقاومت گیاه در برابر تنش است. افزایش محتوای رنگ‌دانه آنتوسیانین در مواجهه با تنش سرما در ارقام گندم‌سیاه (*Fagopyrum tataricum*) مشاهده شده است. تجمع آنتوسیانین عمدتاً در سلول‌های

نشان‌دهنده نقش حفاظتی کربوهیدرات‌های محلول در حفظ ساختار کلروفیل‌ها در شرایط تنش باشد.

ارتفاع بوته تحت تأثیر برهمکنش ژنوتیپ و دماهای یخ‌زدگی قرار گرفت (جدول ۶). در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تمامی ژنوتیپ‌ها از بین رفتند و بوته زنده‌ای برای ثبت ارتفاع بوته وجود نداشت. بیشترین ارتفاع بوته در دماهای صفر و ۱۸- درجه سانتی‌گراد به ترتیب در ژنوتیپ MLC84 و MLC286 مشاهده شد. در هفت ژنوتیپ (MLC8، MLC70، MLC74، MLC83، MLC103، MLC409 و MLC454) کاهش دما از صفر به ۱۸- درجه سانتی‌گراد سبب کاهش معنی‌دار ارتفاع بوته شد و در سایر ژنوتیپ‌ها تفاوتی از لحاظ ارتفاع بوته بین دماهای صفر و ۱۸- درجه سانتی‌گراد وجود نداشت. به عبارتی این ژنوتیپ‌ها از توانایی حفظ و یا افزایش ارتفاع خود در دوره بازیافت برخوردار بودند که حفظ این توانایی به دلیل نقش ارتفاع در عملکرد نهایی گیاه می‌تواند به‌عنوان عاملی جهت انتخاب ژنوتیپ‌ها مورد استفاده قرار گیرد. بیشترین کاهش ارتفاع بوته در نتیجه کاهش دما از صفر به ۱۸- درجه سانتی‌گراد در ژنوتیپ MLC103 و به میزان ۱۷/۸ برابر مشاهده شد (جدول ۶).

سطح برگ تحت تأثیر برهمکنش معنی‌دار دماهای یخ‌زدگی و ژنوتیپ‌های عدس مورد مطالعه قرار گرفت (جدول ۶). کاهش دما به ۲۰- درجه سانتی‌گراد سبب مرگ تمامی بوته‌ها شد. بیشترین کاهش در سطح برگ در نتیجه کاهش دما از صفر به ۱۸- درجه سانتی‌گراد در ژنوتیپ MLC409 مشاهده شد. در ژنوتیپ‌های MLC13، MLC17، MLC33، MLC84، MLC286 و MLC469 بین دماهای صفر و ۱۸- درجه سانتی‌گراد از لحاظ سطح برگ بوته‌ها تفاوتی مشاهده نشد. کاهش دما سبب کاهش سطح برگ در گیاهان می‌شود و قرار گرفتن گیاه در معرض دماهای پایین سبب کاهش سیالیت غشا، ممانعت از فتوسنتز و تنفس و اختلالات متابولیکی شده و در نتیجه رشد گیاه کاهش می‌یابد. با این وجود ژنوتیپ‌های ذکر شده توانستند سطح برگ خود را در شرایط ۱۸- درجه سانتی‌گراد حفظ کرده و از کاهش آن ممانعت کنند. نتایج نیز نشان‌دهنده حفظ بقای ۱۰۰ درصدی این ژنوتیپ‌ها در دمای صفر و ۱۸- درجه سانتی‌گراد بود (جدول ۱). بین سطح برگ و درصد بقاء همبستگی مثبت و معنی‌داری ( $r^2=0/73^{**}$ ) مشاهده شد (جدول ۸). به نظر می‌رسد گیاهانی که قادر به حفظ بقاء در دماهای یخ‌زدگی بوده‌اند، از توانایی بازیافت مناسب‌تری برخوردار هستند.

بین بیشترین (MLC454) و کمترین (MLC13) میزان فنول در ژنوتیپ‌های عدس نشان‌دهنده تنوع موجود در بین آن‌ها از لحاظ تجمع ترکیب‌های فنولی است (جدول ۵). وجود رابطه منفی فنول با میزان دی‌اکسید کربن زیر روزنه ( $r^2=0/55^*$ ) و رابطه مثبت و معنی‌دار با میزان کلروفیل a ( $r^2=0/60^{**}$ ) و کل رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی ( $r^2=0/54^*$ ) نشان‌دهنده آن است که این ترکیب‌ها قادر هستند اثرات منفی تنش بر سرعت فتوسنتز را از طریق مصرف دی‌اکسید کربن در چرخه فتوسنتزی کاهش داده و با حفظ ساختار کلروفیل‌ها از کاهش فتوسنتز ممانعت نماید (جدول ۸). فنول‌ها متابولیت‌های ثانویه گیاهی هستند که از طریق مسیر اسید شیکمیک و متابولیسم فنیل پروپانویید بیوسنتز می‌شوند (Vogt, 2010). در هنگام تنش این ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی سبب حذف رادیکال‌های آزاد لیپید و ممانعت از تجزیه هیدروپرواکسیدازها به رادیکال‌های آزاد می‌شوند (Razali et al., 2008). هرچند عواملی نظیر مرحله رشدی، شدت و مدت‌زمان تنش و اندام گیاهی بر میزان تولید این ترکیب‌ها تأثیرگذار است (Krol et al., 2015). تنش‌های محیطی سبب افزایش سنتز آن‌ها در بافت گیاهی می‌شوند (Swigonska et al., 2014) که تعیین آن‌ها می‌تواند روشی جهت شناسایی میزان تحمل گیاه به تنش باشد.

کربوهیدرات‌های محلول به‌عنوان یکی از منابع مهم در تأمین انرژی گیاه تحت تأثیر معنی‌دار ژنوتیپ‌های عدس قرار گرفت (جدول ۵). تفاوت ۴/۱ برابری بین بیشترین (MLC407) و کمترین (MLC8) میزان کربوهیدرات‌های محلول در ژنوتیپ‌ها مشاهده شد (جدول ۵). تنش دمای پایین می‌تواند سبب خسارت به غشای سلول و ایجاد اختلال در انتقال مولکول‌ها و یون‌ها شود. در گیاهان متحمل، تجمع کربوهیدرات‌های محلول در گیاه انرژی مورد نیاز را در طی خوسرمایی جهت مقابله با تنش یخ‌زدگی فراهم می‌کند (Soliman et al., 2018). تجمع کربوهیدرات‌های محلول به‌عنوان اسمولیت‌های سازگار سبب افزایش میزان تحمل گیاه به تنش یخ‌زدگی شده و از طریق حفظ ساختار غشاء از خسارت تنش به آن ممانعت می‌نمایند (Gusta and Wisniewski, 2013). با وجود اینکه رابطه معنی‌داری بین میزان کربوهیدرات‌های محلول با درصد بقاء و سرعت فتوسنتز مشاهده نشد، اما وجود رابطه مثبت و معنی‌دار بین این صفت با رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی (جدول ۸) می‌تواند

جدول ۶. برهمکنش ژنوتیپ و دمای یخزدگی بر ارتفاع، سطح برگ و وزن خشک ژنوتیپ‌های عدس پس از اعمال یخزدگی در شرایط کنترل شده

Table 6. Interaction effects of genotype and freezing temperature on Plant height, Leaf area and dry weight of lentil genotypes after freezing under controlled conditions

ژنوتیپ	ارتفاع بوته			سطح برگ			زیست توده		
	Plant Height (cm)			Leaf area (mm <sup>2</sup> .plant <sup>-1</sup> )			Biomass (mg.plant <sup>-1</sup> )		
	دمای یخزدگی			دمای یخزدگی			دمای یخزدگی		
Genotype	Freezing temperature (°C)			Freezing temperature (°C)			Freezing temperature (°C)		
	0	-18	-20	0	-18	-20	0	-18	-20
MLC8 <sup>†</sup>	17.9 <sup>a-e</sup>	4.59 <sup>l</sup>	0.00 <sup>m</sup>	377 <sup>m-p</sup>	247 <sup>q</sup>	0.00 <sup>r</sup>	50.0 <sup>i-p</sup>	46.7 <sup>m-q</sup>	0.00 <sup>s</sup>
MLC11	16.8 <sup>b-i</sup>	17.1 <sup>b-g</sup>	0.00 <sup>m</sup>	382 <sup>m-p</sup>	584 <sup>b-g</sup>	0.00 <sup>r</sup>	68.9 <sup>e-e</sup>	47.5 <sup>l-p</sup>	0.00 <sup>s</sup>
MLC13	15.9 <sup>c-j</sup>	16.8 <sup>b-i</sup>	0.00 <sup>m</sup>	584 <sup>b-g</sup>	519 <sup>f-j</sup>	0.00 <sup>r</sup>	59.6 <sup>e-l</sup>	44.7 <sup>n-q</sup>	0.00 <sup>s</sup>
MLC17	16.9 <sup>b-h</sup>	17.8 <sup>a-f</sup>	0.00 <sup>m</sup>	571 <sup>b-h</sup>	591 <sup>b-g</sup>	0.00 <sup>r</sup>	92.9 <sup>a</sup>	58.9 <sup>e-m</sup>	0.00 <sup>s</sup>
MLC33	13.9 <sup>h-j</sup>	15.6 <sup>d-j</sup>	0.00 <sup>m</sup>	524 <sup>f-j</sup>	436 <sup>i-n</sup>	0.00 <sup>r</sup>	66.8 <sup>c-f</sup>	72.0 <sup>b-d</sup>	0.00 <sup>s</sup>
MLC38	14.6 <sup>g-j</sup>	15.1 <sup>d-j</sup>	0.00 <sup>m</sup>	351 <sup>n-p</sup>	508 <sup>g-k</sup>	0.00 <sup>r</sup>	60.9 <sup>d-j</sup>	57.9 <sup>e-m</sup>	0.00 <sup>s</sup>
MLC47	15.1 <sup>d-j</sup>	13.9 <sup>h-j</sup>	0.00 <sup>m</sup>	542 <sup>e-i</sup>	647 <sup>bc</sup>	0.00 <sup>r</sup>	48.6 <sup>j-p</sup>	35.7 <sup>q</sup>	0.00 <sup>s</sup>
MLC70	14.9 <sup>d-j</sup>	11.0 <sup>k</sup>	0.00 <sup>m</sup>	531 <sup>f-i</sup>	238 <sup>q</sup>	0.00 <sup>r</sup>	38.3 <sup>pq</sup>	51.8 <sup>i-o</sup>	0.00 <sup>s</sup>
MLC74	13.7 <sup>ij</sup>	6.75 <sup>l</sup>	0.00 <sup>m</sup>	656 <sup>b</sup>	229 <sup>q</sup>	0.00 <sup>r</sup>	48.0 <sup>k-p</sup>	18.8 <sup>r</sup>	0.00 <sup>s</sup>
MLC83	17.3 <sup>a-g</sup>	0.00 <sup>m</sup>	0.00 <sup>m</sup>	533 <sup>f-i</sup>	0.00 <sup>r</sup>	0.00 <sup>r</sup>	51.0 <sup>i-o</sup>	0.00 <sup>s</sup>	0.00 <sup>s</sup>
MLC84	20.2 <sup>a</sup>	18.8 <sup>a-c</sup>	0.00 <sup>m</sup>	331 <sup>p</sup>	341 <sup>op</sup>	0.00 <sup>r</sup>	35.9 <sup>q</sup>	60.1 <sup>d-k</sup>	0.00 <sup>s</sup>
MLC103	17.8 <sup>a-f</sup>	0.00 <sup>m</sup>	0.00 <sup>m</sup>	553 <sup>c-h</sup>	0.00 <sup>r</sup>	0.00 <sup>r</sup>	40.7 <sup>o-q</sup>	0.00 <sup>s</sup>	0.00 <sup>s</sup>
MLC286	15.0 <sup>d-j</sup>	19.7 <sup>ab</sup>	0.00 <sup>m</sup>	632 <sup>b-e</sup>	640 <sup>b-d</sup>	0.00 <sup>r</sup>	74.4 <sup>bc</sup>	75.3 <sup>bc</sup>	0.00 <sup>s</sup>
MLC303	13.9 <sup>h-j</sup>	14.9 <sup>d-j</sup>	0.00 <sup>m</sup>	654 <sup>b</sup>	424 <sup>k-o</sup>	0.00 <sup>r</sup>	53.9 <sup>g-n</sup>	74.3 <sup>bc</sup>	0.00 <sup>s</sup>
MLC334	15.8 <sup>c-j</sup>	14.7 <sup>f-j</sup>	0.00 <sup>m</sup>	587 <sup>b-g</sup>	370 <sup>m-p</sup>	0.00 <sup>r</sup>	53.5 <sup>h-n</sup>	66.5 <sup>c-f</sup>	0.00 <sup>s</sup>
MLC407	17.5 <sup>a-g</sup>	17.7 <sup>a-g</sup>	0.00 <sup>m</sup>	837 <sup>a</sup>	481 <sup>h-l</sup>	0.00 <sup>r</sup>	97.2 <sup>a</sup>	51.9 <sup>i-o</sup>	0.00 <sup>s</sup>
MLC409	17.7 <sup>a-g</sup>	0.00 <sup>m</sup>	0.00 <sup>m</sup>	630 <sup>b-e</sup>	0.00 <sup>r</sup>	0.00 <sup>r</sup>	61.4 <sup>d-i</sup>	0.00 <sup>s</sup>	0.00 <sup>s</sup>
MLC454	14.9 <sup>c-j</sup>	9.88 <sup>k</sup>	0.00 <sup>m</sup>	604 <sup>b-f</sup>	397 <sup>l-p</sup>	0.00 <sup>r</sup>	55.5 <sup>f-n</sup>	82.3 <sup>b</sup>	0.00 <sup>s</sup>
MLC469	17.3 <sup>a-g</sup>	18.1 <sup>a-d</sup>	0.00 <sup>m</sup>	508 <sup>g-k</sup>	573 <sup>b-h</sup>	0.00 <sup>r</sup>	56.2 <sup>f-n</sup>	65.6 <sup>c-h</sup>	0.00 <sup>s</sup>
MLC472	13.6 <sup>j</sup>	16.2 <sup>c-j</sup>	0.00 <sup>m</sup>	453 <sup>i-m</sup>	546 <sup>d-h</sup>	0.00 <sup>r</sup>	65.9 <sup>c-g</sup>	56.0 <sup>f-n</sup>	0.00 <sup>s</sup>
	S.O.V	df		Mean squares					
Genotype(G)	ژنوتیپ	19	42.9**	55799**			1110**		
Temperature (T)	دما	2	4244**	4683986**			59247**		
G×T	ژنوتیپ × دما	38	49.2**	60235**			789**		
Error	خطا	120	2.45	2358			39.7		
	C.V (%)	-	16.5	15.7			17.6		

<sup>†</sup> کلکسیون عدس پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون دانکن ندارند. \*\*: معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد، C.V: ضریب تغییرات.

<sup>†</sup> MLC: Mashhad Lentil Collection

Means followed by the same letter are not significantly different ( $p < 0.05$ ). \*\*: Significant ( $P \leq 0.01$ ), C.V: Coefficient Variation.

افزایش تولید زیست توده مشاهده شد (جدول ۶). تولید ماده خشک در گیاه به سطح سبز و سرعت فتوسنتز بستگی دارد؛ بنابراین هر ژنوتیپی که بتواند در مقابله با تنش از بقای بالاتری برخوردار بوده و سطح فتوسنتزی خود را با حفظ سطح برگ در طول فصل رشد بالا نگه دارد از ماده خشک بالاتری در انتهای فصل رشد برخوردار خواهد بود. همبستگی مثبت و معنی‌دار بین درصد بقاء و زیست توده ( $r^2 = 0.75^{**}$ ) در پایان دوره بازیافت مؤید این مطلب است (جدول ۸).

زیست توده تولیدی سه هفته پس از تنش یخزدگی تحت تأثیر معنی‌دار برهمکنش دما و ژنوتیپ قرار گرفت (جدول ۶). در بررسی برهمکنش ژنوتیپ و دمای یخزدگی بر زیست توده ژنوتیپ‌های عدس مشاهده شد که با کاهش دما به ۱۸- درجه سانتی‌گراد بیشترین درصد کاهش وزن خشک نسبت به دمای صفر درجه سانتی‌گراد متعلق به ژنوتیپ MLC409 بود. از طرفی در برخی از ژنوتیپ‌ها مانند MLC70، MLC33، MLC84، MLC286، MLC303، MLC334، MLC454 و MLC469 با کاهش دما از صفر به ۱۸- درجه سانتی‌گراد

بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از نظر  $RHT_{50}$  تفاوت معنی‌داری مشاهده شد. دامنه دمای کاهنده ۵۰ درصد ارتفاع بوته در ژنوتیپ‌ها از  $-۸/۹۷$  درجه سانتی‌گراد در ژنوتیپ MLC103 تا  $-۱۹$  درجه سانتی‌گراد در ژنوتیپ‌های MLC286، MLC303 و MLC469 متغیر بود (جدول ۷). به عبارتی نتایج نشان‌دهنده وجود طیف وسیعی از تحمل ژنوتیپ‌ها به دماهای یخ‌زدگی است.

بین ژنوتیپ‌ها از نظر  $LT_{50su}$ ،  $RHT_{50}$ ،  $RLAT_{50}$  و  $RDMT_{50}$  تفاوت معنی‌داری مشاهده شد (جدول ۷). بالاترین دمای ۵۰ درصد کشتندگی گیاهان بر اساس درصد بقاء در ژنوتیپ‌های MLC83، MLC103 و MLC409 مشاهده شد و ۷۰ درصد ژنوتیپ‌ها (۱۴ ژنوتیپ) از  $LT_{50su}$  معادل  $-۱۹/۰$  درجه سانتی‌گراد برخوردار بودند (جدول ۷).

جدول ۷. دمای ۵۰ درصد کشتندگی گیاهان بر اساس درصد بقاء ( $LT_{50su}$ )، دمای کاهنده ۵۰ درصد ارتفاع بوته ( $RHT_{50}$ )، دمای کاهنده ۵۰ درصد سطح برگ ( $RLAT_{50}$ ) و دمای کاهنده ۵۰ درصد وزن خشک ( $RDMT_{50}$ )، ژنوتیپ‌های عدس پس از اعمال یخ‌زدگی در شرایط کنترل شده

Table 7. Lethal temperature 50% of plants according to the survival percentage ( $LT_{50su}$ ), Reduced temperature 50% of height plant ( $RHT_{50}$ ), Reduced temperature 50% of leaf area ( $RLAT_{50}$ ) and Reduced temperature 50% of dry matter ( $RDMT_{50}$ ) in lentil genotypes after freezing stress under control condition

ژنوتیپ Genotype	$LT_{50su}$	$RHT_{50}$	$RLAT_{50}$	$RDMT_{50}$		
MLC8 <sup>†</sup>	-16.8 <sup>b</sup>	-12.1 <sup>b</sup>	-16.2 <sup>c</sup>	-18.7 <sup>d</sup>		
MLC11	-19.0 <sup>c</sup>	-18.8 <sup>d</sup>	-18.4 <sup>c</sup>	-18.5 <sup>d</sup>		
MLC13	-19.0 <sup>c</sup>	-18.9 <sup>d</sup>	-18.7 <sup>c</sup>	-18.5 <sup>d</sup>		
MLC17	-19.0 <sup>c</sup>	-18.9 <sup>d</sup>	-19.0 <sup>c</sup>	-18.3 <sup>d</sup>		
MLC33	-19.0 <sup>c</sup>	-18.9 <sup>d</sup>	-18.9 <sup>c</sup>	-18.9 <sup>d</sup>		
MLC38	-19.0 <sup>c</sup>	-18.8 <sup>d</sup>	-19.0 <sup>c</sup>	-18.8 <sup>d</sup>		
MLC47	-19.0 <sup>c</sup>	-18.8 <sup>d</sup>	-18.9 <sup>c</sup>	-18.6 <sup>d</sup>		
MLC70	-19.0 <sup>c</sup>	-17.8 <sup>d</sup>	-18.9 <sup>c</sup>	-19.0 <sup>d</sup>		
MLC74	-17.0 <sup>b</sup>	-16.3 <sup>c</sup>	-12.9 <sup>b</sup>	-15.0 <sup>c</sup>		
MLC83	-9.00 <sup>a</sup>	-9.03 <sup>a</sup>	-9.03 <sup>a</sup>	-9.07 <sup>a</sup>		
MLC84	-19.0 <sup>c</sup>	-18.8 <sup>d</sup>	-19.0 <sup>c</sup>	-13.6 <sup>b</sup>		
MLC103	-9.00 <sup>a</sup>	-8.97 <sup>a</sup>	-11.3 <sup>ab</sup>	-9.00 <sup>a</sup>		
MLC286	-19.0 <sup>c</sup>	-19.0 <sup>d</sup>	-16.2 <sup>c</sup>	-18.9 <sup>d</sup>		
MLC303	-19.0 <sup>c</sup>	-19.0 <sup>d</sup>	-18.9 <sup>c</sup>	-18.9 <sup>d</sup>		
MLC334	-19.0 <sup>c</sup>	-18.8 <sup>d</sup>	-19.0 <sup>c</sup>	-18.9 <sup>d</sup>		
MLC407	-19.0 <sup>c</sup>	-18.9 <sup>d</sup>	-18.4 <sup>c</sup>	-17.8 <sup>d</sup>		
MLC409	-9.00 <sup>a</sup>	-9.20 <sup>a</sup>	-10.0 <sup>ab</sup>	-9.03 <sup>a</sup>		
MLC454	-17.5 <sup>bc</sup>	-18.5 <sup>d</sup>	-18.4 <sup>c</sup>	-13.7 <sup>b</sup>		
MLC469	-19.0 <sup>c</sup>	-19.0 <sup>d</sup>	-18.9 <sup>c</sup>	-19.0 <sup>d</sup>		
MLC472	-19.0 <sup>c</sup>	-18.9 <sup>d</sup>	-19.0 <sup>c</sup>	-18.7 <sup>d</sup>		
S.O.V	df	Mean squares				
Genotype	ژنوتیپ	19	39.1 <sup>**</sup>	41.4 <sup>**</sup>	44.1 <sup>**</sup>	40.3 <sup>**</sup>
Error	خطا	40	1.02	0.809	4.11	0.464
C.V (%)	-	-	-5.87	-5.33	-12.0	-4.11

<sup>†</sup> کلکسیون عدس پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون دانکن ندارند. \*\*: معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد، C.V: ضریب تغییرات.

<sup>†</sup> MLC: Mashhad Lentil Collection

Means followed by the same letter are not significantly different ( $p < 0.05$ ). \*\*: Significant ( $P \leq 0.01$ ), C.V: Coefficient Variation

سانتی‌گراد بود که در پنج ژنوتیپ MLC38، MLC17، MLC84، MLC334 و MLC472 مشاهده شد. بالاترین دمای کاهنده ( $-۹/۰۳$  درجه سانتی‌گراد) نیز متعلق به ژنوتیپ

بررسی ژنوتیپ‌های عدس مورد مطالعه حاکی از تفاوت معنی‌دار آن‌ها از نظر  $RLAT_{50}$  بود (جدول ۷). پایین‌ترین دمای کاهنده ۵۰ درصد سطح برگ، معادل  $-۱۹$  درجه

MLC83 بود (جدول ۷). حدود ۷۰ درصد از ژنوتیپ‌ها توانایی بالای اکثر ژنوتیپ‌ها در حفظ خصوصیات توانستند ۵۰ درصد از سطح برگ خود را در دماهای کمتر از ۱۸- درجه سانتی‌گراد حفظ نمایند که این مسئله نشان‌دهنده است

جدول ۸. ضرایب همبستگی بین درصد بقاء و صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ژنوتیپ‌های عدس قبل از اعمال تنش یخ‌زدگی تحت شرایط کنترل‌شده

Table 8. Correlation matrix of lentil genotypes before freezing stress under controlled condition

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1 Survival	1									
2 Photosynthetic rate	0.48*	1								
3 Evapotranspiration rate	-0.04 <sup>ns</sup>	0.47*	1							
4 CO <sub>2</sub> substomatal	0.03 <sup>ns</sup>	-0.20 <sup>ns</sup>	0.18 <sup>ns</sup>	1						
5 Stomatal conductance	0.17 <sup>ns</sup>	0.54*	0.89**	0.32 <sup>ns</sup>	1					
6 Mesophyll conductance	0.27 <sup>ns</sup>	0.85**	0.31 <sup>ns</sup>	-0.21 <sup>ns</sup>	0.31 <sup>ns</sup>	1				
7 WUE	0.44 <sup>ns</sup>	0.29 <sup>ns</sup>	-0.57**	-0.11 <sup>ns</sup>	-0.40 <sup>ns</sup>	0.29 <sup>ns</sup>	1			
8 RWC	0.14 <sup>ns</sup>	0.02 <sup>ns</sup>	-0.11 <sup>ns</sup>	0.26 <sup>ns</sup>	0.02 <sup>ns</sup>	-0.07 <sup>ns</sup>	0.18 <sup>ns</sup>	1		
9 Osmotic potential	-0.07 <sup>ns</sup>	0.22 <sup>ns</sup>	0.07 <sup>ns</sup>	-0.50*	0.06 <sup>ns</sup>	0.15 <sup>ns</sup>	-0.04 <sup>ns</sup>	-0.34 <sup>ns</sup>	1	
10 Ch a	0.17 <sup>ns</sup>	0.39 <sup>ns</sup>	0.10 <sup>ns</sup>	-0.42 <sup>ns</sup>	-0.05 <sup>ns</sup>	0.50*	0.05 <sup>ns</sup>	-0.20 <sup>ns</sup>	0.04 <sup>ns</sup>	1
11 Ch b	0.49*	0.61**	0.29 <sup>ns</sup>	-0.38 <sup>ns</sup>	0.25 <sup>ns</sup>	0.54*	0.05 <sup>ns</sup>	-0.26 <sup>ns</sup>	0.03 <sup>ns</sup>	0.76**
12 Carotenoids	0.50*	0.47*	0.10 <sup>ns</sup>	-0.22 <sup>ns</sup>	0.08 <sup>ns</sup>	0.49*	0.23 <sup>ns</sup>	-0.30 <sup>ns</sup>	0.09 <sup>ns</sup>	0.78**
13 Ch a/Ch b	0.07 <sup>ns</sup>	0.14 <sup>ns</sup>	-0.14 <sup>ns</sup>	-0.04 <sup>ns</sup>	-0.19 <sup>ns</sup>	0.26 <sup>ns</sup>	0.39 <sup>ns</sup>	-0.12 <sup>ns</sup>	-0.05 <sup>ns</sup>	0.43 <sup>ns</sup>
14 Total pigment	0.24 <sup>ns</sup>	0.50*	0.23 <sup>ns</sup>	-0.46*	0.06 <sup>ns</sup>	0.54*	0.01 <sup>ns</sup>	-0.29 <sup>ns</sup>	0.08 <sup>ns</sup>	0.94**
15 DPPH	0.20 <sup>ns</sup>	0.04 <sup>ns</sup>	0.31 <sup>ns</sup>	-0.15 <sup>ns</sup>	0.16 <sup>ns</sup>	-0.02 <sup>ns</sup>	-0.18 <sup>ns</sup>	-0.57**	0.15 <sup>ns</sup>	0.03 <sup>ns</sup>
16 Anthocyanin	0.14 <sup>ns</sup>	-0.17 <sup>ns</sup>	0.06 <sup>ns</sup>	-0.33 <sup>ns</sup>	-0.10 <sup>ns</sup>	-0.19 <sup>ns</sup>	-0.22 <sup>ns</sup>	-0.24 <sup>ns</sup>	-0.05 <sup>ns</sup>	0.08 <sup>ns</sup>
17 Phenol	-0.10 <sup>ns</sup>	0.20 <sup>ns</sup>	0.06 <sup>ns</sup>	-0.55*	-0.08 <sup>ns</sup>	0.28 <sup>ns</sup>	0.03 <sup>ns</sup>	-0.30 <sup>ns</sup>	0.35 <sup>ns</sup>	0.60**
18 Soluble carbohydrates	0.07 <sup>ns</sup>	0.36 <sup>ns</sup>	0.33 <sup>ns</sup>	-0.54*	0.11 <sup>ns</sup>	0.31 <sup>ns</sup>	-0.18 <sup>ns</sup>	-0.54*	0.16 <sup>ns</sup>	0.77**
19 Plant height	0.86**	0.39 <sup>ns</sup>	-0.13 <sup>ns</sup>	-0.01 <sup>ns</sup>	0.08 <sup>ns</sup>	0.29 <sup>ns</sup>	0.30 <sup>ns</sup>	0.02 <sup>ns</sup>	-0.11 <sup>ns</sup>	0.30 <sup>ns</sup>
20 Leaf area	0.73**	0.27 <sup>ns</sup>	-0.13 <sup>ns</sup>	0.02 <sup>ns</sup>	0.02 <sup>ns</sup>	0.22 <sup>ns</sup>	0.15 <sup>ns</sup>	-0.11 <sup>ns</sup>	0.02 <sup>ns</sup>	0.28 <sup>ns</sup>
21 Dry weight	0.75**	0.50*	-0.05 <sup>ns</sup>	-0.07 <sup>ns</sup>	0.12 <sup>ns</sup>	0.45*	0.29 <sup>ns</sup>	0.10 <sup>ns</sup>	-0.02 <sup>ns</sup>	0.34 <sup>ns</sup>

Table 8. Continued

جدول ۸. ادامه

	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
11 Ch b	1										
12 Carotenoids	0.71**	1									
13 Ch a/Ch b	0.20 <sup>ns</sup>	0.55*	1								
14 Total pigment	0.89**	0.78**	0.41 <sup>ns</sup>	1							
15 DPPH	0.29 <sup>ns</sup>	0.15 <sup>ns</sup>	-0.16 <sup>ns</sup>	0.14 <sup>ns</sup>	1						
16 Anthocyanin	0.26 <sup>ns</sup>	0.05 <sup>ns</sup>	-0.25 <sup>ns</sup>	0.14 <sup>ns</sup>	0.62**	1					
17 Phenol	0.35 <sup>ns</sup>	0.44 <sup>ns</sup>	0.32 <sup>ns</sup>	0.54*	0.26 <sup>ns</sup>	0.33 <sup>ns</sup>	1				
18 Soluble carbohydrates	0.78**	0.62**	0.23 <sup>ns</sup>	0.87**	0.33 <sup>ns</sup>	0.32 <sup>ns</sup>	0.55*	1			
19 Plant height	0.58**	0.58**	0.04 <sup>ns</sup>	0.36 <sup>ns</sup>	0.01 <sup>ns</sup>	0.15 <sup>ns</sup>	-0.09 <sup>ns</sup>	0.18 <sup>ns</sup>	1		
20 Leaf area	0.41 <sup>ns</sup>	0.50*	0.22 <sup>ns</sup>	0.34 <sup>ns</sup>	0.11 <sup>ns</sup>	0.07 <sup>ns</sup>	0.09 <sup>ns</sup>	0.13 <sup>ns</sup>	0.67**	1	
21 Dry weight	0.56*	0.40 <sup>ns</sup>	0.25 <sup>ns</sup>	0.41 <sup>ns</sup>	-0.02 <sup>ns</sup>	0.09 <sup>ns</sup>	0.08 <sup>ns</sup>	0.16 <sup>ns</sup>	0.74**	0.78**	1

ns: غیر معنی‌دار، \*: معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد و \*\*: معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد.

ns, \* and \*\*: non-significant and significant in the probability levels of 5%, and 1%, respectively

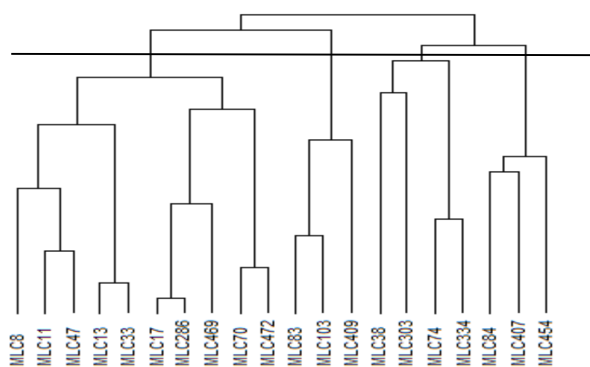
(جدول ۷). سه ژنوتیپ MLC47، MLC286 و MLC454 با RDMT50 پایین‌تر از ۱۸- درجه سانتی‌گراد بیشترین توان برای حفظ وزن خشک خود را داشتند. طیف وسیعی از نوع ژنتیکی در گستره تحمل به دماهای یخ‌زدگی در

بین ژنوتیپ‌های عدس از لحاظ RDMT50 تفاوت معنی‌داری مشاهده شد. پایین‌ترین RDMT50 در ژنوتیپ MLC469 و MLC70 (۱۹- درجه سانتی‌گراد) و بالاترین آن در ژنوتیپ MLC103 (۹- درجه سانتی‌گراد) مشاهده شد

مزوفیلی، سرعت فتوسنتز، درصد بقاء و صفات مربوط به رشد مجدد بود. مؤلفه دوم نیز صفات کلروفیل‌های *a* و *b*، غلظت کل رنگدانه‌های فتوسنتزی، کربوهیدرات‌های محلول، مهار فعالیت رادیکال آزاد DPPH، فنول کل، آنتوسیانین، پتانسیل اسمزی، هدایت روزنه‌ای و تبخیر و تعرق را با ۱۶/۳۱ درصد توضیح می‌دهد (شکل ۳). در واقع بعد اول نمودار ویژگی‌های مربوط به درصد بقاء و توانایی گیاه برای رشد مجدد پس از اعمال تنش یخزدگی و بعد دوم ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و متابولیتی را در بردارد؛ بنابراین ژنوتیپ‌های MLC74، MLC334، MLC11، MLC84، MLC454 و MLC407 از نظر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و متابولیت‌ها و ژنوتیپ‌های MLC17، MLC38، MLC303، MLC286 و MLC469 از لحاظ درصد بقاء و رشد مجدد از وضعیت مطلوبی برخوردار هستند. بررسی آزمون تجزیه به مؤلفه‌های اصلی همراه با نتایج تجزیه خوشه‌ای نشان داد که تمام ژنوتیپ‌های موجود در گروه‌های اول و دوم در دو بُعد تجزیه به مؤلفه‌های اصلی قرار دارند. با توجه به این نتایج احتمالاً بتوان عنوان کرد که ژنوتیپ‌های عدس که قادر به حفظ بقای خود در شرایط تنش یخزدگی بودند از مکانیسم فعالیت آنتی‌اکسیدانی، غلظت متابولیت‌ها، رنگدانه‌های فتوسنتزی و همچنین درصد بقاء و رشد مجدد مناسب‌تری در مواجهه با تنش یخزدگی برخوردار بودند که از این ویژگی‌ها می‌توان در به‌گزینی ژنوتیپ‌های متحمل به یخزدگی عدس استفاده نمود.

ژنوتیپ‌های عدس مشاهده می‌شود که این امر عملکرد نهایی آن‌ها را پس از تنش یخزدگی تحت تأثیر قرار خواهد داد. بالاترین دماهای کاهش از لحاظ درصد بقاء، ارتفاع و وزن خشک در ژنوتیپ‌های MLC83، MLC103 و MLC409 مشاهده شد که نتایج بررسی درصد بقاء نیز نشان‌دهنده توانایی پایین این ژنوتیپ‌ها در تحمل دماهای یخزدگی است (جدول‌های ۱ و ۷).

نتایج تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های مورد مطالعه عدس نشان‌دهنده قرارگیری آن‌ها در چهار گروه مجزا بود. به ترتیب ۳، ۴، ۳ و ۱۰ ژنوتیپ در گروه‌های اول تا چهارم قرار گرفتند (شکل ۲). مقایسه میانگین گروه‌ها با میانگین کل نشان داد که درصد بقاء در گروه‌های اول، دوم و چهارم نسبت به میانگین کل برتری داشت. به‌طور کلی نتایج نشان‌دهنده برتری نسبی ژنوتیپ‌های گروه اول شامل MLC84، MLC407 و MLC454 در بیشتر صفات مورد مطالعه از جمله مکانیسم فعالیت آنتی‌اکسیدانی و غلظت متابولیت‌ها، رنگدانه‌های فتوسنتزی و همچنین ویژگی‌های مربوط به رشد مجدد بود (جدول ۹). این نتایج نشان‌دهنده مناسب‌تر بودن ژنوتیپ‌های متعلق به این گروه جهت استفاده از صفات برتر آن‌ها در تحمل به یخبندان زمستان است. نتایج حاصل از آزمون تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA) و ترسیم بای‌پلات نشان داد که مؤلفه اول ۳۲/۷۷ درصد از تغییرات صفات شامل کارایی مصرف آب، کاروتنوئیدها، نسبت کلروفیل *a/b*، هدایت



شکل ۲. گروه‌بندی خوشه‌ای ژنوتیپ‌های عدس بر اساس صفات مورد مطالعه تحت شرایط کنترل‌شده. MLC:

کلکسیون بذر عدس پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد

Fig. 2. Cluster grouping of lentil genotypes based on studied characteristic under controlled conditions. MLC: Mashhad Lentil Collection

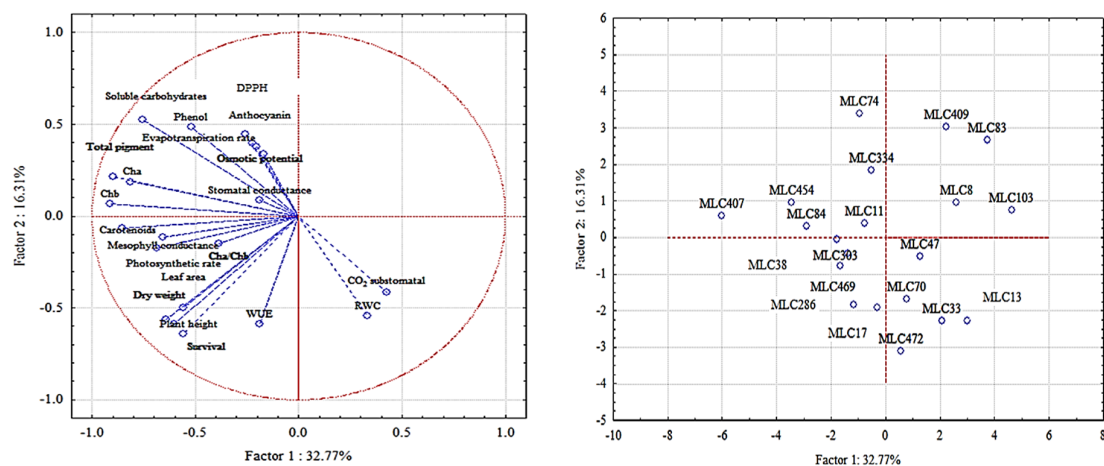
جدول ۹. میانگین و انحراف از میانگین گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای برای صفات مورد مطالعه در ژنوتیپ‌های عدس تحت شرایط کنترل شده

Table 9. Mean and deviation from mean of groups in cluster analysis for traits in Lentil genotypes under controlled conditions

Genotypes	Group گروه							
	1		2		3		4	
	ژنوتیپ	MLC84, MLC407, MLC454	MLC38, MLC303, MLC74, MLC334	MLC83, MLC103, MLC409	MLC8, MLC11, MLC13, MLC33, MLC47, MLC17, MLC286, MLC469, MLC70, MLC472	Group mean	Deviation from mean	Group mean
Survival (%)	62.7	2.92	63.9	4.20	33.3	-26.4	65.1	5.37
Photosynthetic rate ( $\mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )	24.2	6.25	22.8	4.79	11.17	-6.82	16.2	-1.74
Evapotranspiration rate ( $\text{mmol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )	3.34	0.157	5.14	1.96	3.06	-0.123	2.38	-0.796
CO <sub>2</sub> substomatal (ppm)	387	-22.4	411	1.27	413	3.16	415	5.27
Stomatal conductance ( $\text{mmol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )	0.553	-0.047	0.940	0.340	0.530	-0.070	0.499	-0.101
Mesophyll conductance ( $\text{mmol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )	0.066	0.020	0.052	0.006	0.034	-0.012	0.041	-0.005
WUE ( $\mu\text{molCO}_2.\text{mMol H}_2\text{O}$ )	7.12	0.625	4.86	-1.64	3.96	-2.54	7.73	1.23
RWC (%)	69.2	-1.711	68.2	-2.77	68.8	-2.16	73.2	2.27
Osmotic potential (MPa)	2.70	-0.224	3.46	0.534	3.03	0.107	2.75	-0.179
Cha ( $\text{mg.gfw}^{-1}$ )	2.00	0.763	1.20	-0.040	1.00	-0.241	1.10	-0.140
Chb ( $\text{mg.gfw}^{-1}$ )	0.855	0.237	0.694	0.075	0.434	-0.184	0.573	-0.046
Carotenoids ( $\text{mg.gfw}^{-1}$ )	0.489	0.118	0.381	0.009	0.275	-0.096	0.361	-0.010
Cha/Chb	2.11	0.080	1.96	-0.066	2.01	-0.023	2.04	0.009
Total pigment ( $\text{mg.gfw}^{-1}$ )	3.58	1.28	2.45	0.153	1.78	-0.519	2.01	-0.289
DPPH ( $\text{mg.gfw}^{-1}$ )	0.827	-0.087	1.30	0.390	0.634	-0.280	0.87	-0.046
Anthocyanin ( $\text{mmol.gfw}^{-1}$ )	0.851	0.055	0.85	0.059	0.565	-0.230	0.83	0.029
Phenol ( $\text{mg.gfw}^{-1}$ )	215	47.6	176	8.51	168	0.733	150	-17.9
Soluble carbohydrates ( $\text{mg.gfw}^{-1}$ )	379	170	262	53.2	178	-30.5	146	-63.2
Plant height (cm)	11.0	1.52	9.12	-0.366	5.86	-3.63	10.3	0.78
Leaf area ( $\text{mm}^2.\text{plant}^{-1}$ )	332	22.1	315	4.66	191	-120	338	27.4
Dry weight ( $\text{mg.plant}^{-1}$ )	42.5	6.78	36.1	0.39	17.0	-18.8	39.2	3.44

MLC: Mashhad Lentil Collection

MLC: کلکسیون بذر عدس پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد.



شکل ۳. نموداری بای پلات بر مبنای دو مؤلفه اول و دوم با بیشترین توجیه واریانس داده‌ها. MLC: کلکسیون بذر عدس پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد

Fig 3. Biplot based on two major principal component factors. MLC: Mashhad Lentil Collection



صفت‌های پتانسیل اسمزی و غلظت دی‌اکسید کربن زیر روزنه در سایر صفات از میانگین پایین‌تری در مقایسه با میانگین کل برخوردار بودند. همبستگی مناسبی بین غلظت کلروفیل b، کاروتنوئیدها و سرعت فتوسنتز با درصد بقاء نسبت به سایر صفات فیزیولوژیکی و آنتی‌اکسیدانی مشاهده شد که به نظر می‌رسد این صفات، شاخص‌های مناسبی جهت تعیین میزان تحمل به سرمای ژنوتیپ‌ها قبل از اعمال تنش یخ‌زدگی باشند. با توجه به اینکه این پژوهش در شرایط کنترل‌شده و در گلدان انجام شد و از طرفی مهم‌ترین ویژگی در انتخاب ژنوتیپ‌ها برای معرفی ارقام متحمل به یخ‌زدگی در مزرعه عملکرد دانه آن‌ها است، بررسی تحمل به یخ‌زدگی این ژنوتیپ‌ها در شرایط مزرعه در کشت پاییزه در مناطق سرد توصیه می‌گردد.

### نتیجه‌گیری نهایی

نتایج نشان‌دهنده وجود تنوع ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از لحاظ ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیکی و آنتی‌اکسیدانی است. تمام ژنوتیپ‌های متعلق به گروه اول (MLC84، MLC407 و MLC454) همراه با ژنوتیپ‌های متعلق به گروه دوم (MLC303، MLC38، MLC74 و MLC334) در دو بعد اصلی نمودار قرار گرفتند که نتایج حاصل از خوشه‌بندی و مقایسه میانگین گروه‌ها نیز نشان‌دهنده برتری نسبی این ژنوتیپ‌ها در اکثر صفات مورد مطالعه است. ژنوتیپ‌های متعلق به گروه سوم از پایین‌ترین درصد بقاء برخوردار بودند و طبق تجزیه به مؤلفه‌های اصلی نیز در هیچ‌کدام از دو بُعد نمودار بای‌پلات قرار نگرفتند. همچنین ژنوتیپ‌های این گروه به‌جز در

### منابع

- Abe, N., Murata, T., Hirota, A., 1998. Novel 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl- radical scavengers, bisorbicillin and demethyltrichodimerol, from a fungus. *Bioscience, Biotechnology, Biochemistry*. 62, 61-662.
- Aras, S., Esitken, A., 2013. Effects of antifreeze proteins and glycine etaine on strawberry plants for resistance to cold temperature. *ICABT 60,21* (IACSIT Press, Singapore).
- Arbona, V., Manzi, M., Zandalinas, S. I., Vives-Peris, V., Perez-Clemente, R.M., Gomez-Cadenas, A., 2017. Physiological, metabolic and molecular responses of plants to abiotic stress. In *stress signaling in plants. Genomics and Proteomics Perspective in Plant*. 2, 1–35.
- Barrios, A., Aparicio, T.J., Rodriguez, M., Perez de la Vega, M., Caminero, C., 2016. Winter sowing of adapted lines as a potential yield increase strategy in lentil (*Lens culinaris* Medik.). *Spanish Journal of Agricultural Research*. 14, 1-8.
- Dere, S., Gines, T., Sivaci, R., 1998. Spectrophotometric determination of chlorophyll - a, b and total carotenoid contents of some algae species using different solvents. *Turkish Journal of Botany*. 22, 13-17.
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., Smith, F., 1951. A colorimetric method for the determination of sugars. *Nature*. 168, 167-167.
- Fisher, R., Rees, D., Sayre, K., Lu, Z., Candon, A., Saavedra, A., 1998. Wheat yield progress associated with higher stomata conductance and photosynthetic rate, and cooler canopies. *Crop Science*. 38, 1467-1475.
- Gholami Rezvani, N., Nezami, N., Kafi, M., Nabati, J., 2019. Evaluation of lentil (*Lens culinaris*) genotypes for autumn sowing in cold temperate regions under field conditions. *Journal of Crop Production*. 11, 142-147. [In Persian with English Summary].
- Gururani, M.A., Venkatesh, J., Tran, L.S.P., 2015. Regulation of photo-synthesis during abiotic stress-induced photoinhibition. *Molecular Plant*. 8, 1304-1320.
- Gusta, L.V., Wisniewski, M., 2013. Understanding plant cold hardiness: an opinion. *Physiologia Plantarum*. 147, 4–14.
- Haghighi, M., Pesarakli, M., 2013. Influence of silicon and nano-silicon on salinity tolerance of cherry tomatoes (*Solanum lycopersicum* L.) at early growth stage. *Scientia Horticulture*. 161.111-7.
- Hojat, S.S., Galstyan, M.H., 2014. Study of economic-ecological results of cold resistance sort of the Lentil world collection under Highlands of Islamic Republic of Iran. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*. 7, 1364-1370.
- Iswarya, V., Bhuvabeshwari, M., Alex, S.A., Iyer, S., Chaudhuri, G., Chandrasekaran, P.T.,

- Bhalerao, G.M., Chakaravarty, S., Raichur, A.M., Chandrasekaran, N., 2015. Combined toxicity of two crystalline phases (anatase and rutile) of Titania nanoparticles towards freshwater microalgae: *Chlorella* sp. *Aquatic Toxicology*. 161, 154-169.
- Jan, N., Majeed, U., Andrabi, Kh.I., John, R., 2018. Cold stress modulates osmolytes and antioxidant system in *Calendula officinalis*. *Acta Physiologiae Plantarum*. 40, 1-16.
- Janmohammadi, M., 2012. Metabolomic analysis of low temperature responses in plants. *Current Opinion in Plant Biology*. 1:1. 1-6.
- Janska, A., Marsik, P., Zelenkova, S., Ovesna, J., 2010. Cold stress and acclimation: what is important for metabolic adjustment? *Plant Biology*. 12, 395-405.
- John, R., Anjum, N.A., Sopory, S.K., Akram, N.A., Ashraf, M., 2016. Some key physiological and molecular processes of cold acclimation. *Biologia Plantarum*. 60, 603-618.
- Kalisz, A., Jezdinsky, A., Pokluda, R., Sekara, A., Grabowska, A., Gill, J., 2016. Impacts of chilling on photosynthesis and chlorophyll pigment content in juvenile basil cultivars. *Horticulture Environment and Biotechnology*. 57, 330-339.
- Karabudak, T., Bor, M., Ozdemir, F., Turkan, I., 2014. Glycine betaine protects tomato (*Solanum lycopersicum*) plants at low temperature by inducing fatty acid desaturase 7 and lipoxygenase gene expression. *Molecular Biology Reports*. 41, 1401-1410.
- Krol, A., Amarowicz, R., Weidner, S., 2015. The effects of cold stress on the phenolic compounds and antioxidant capacity of grapevine (*Vitis vinifera* L.) leaves. *Journal of Plant Physiology*. 189, 97-104.
- Li, Sh., Bai, Y., Li, Ch., Yao, H., Chen, H., Zhao, H., Wu, Q., 2015. Anthocyanins accumulate in tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum*) sprout in response to cold stress. *Acta Physiologiae Plantarum*. 37, 159.
- Mehta, P., Allakhverdiev, S. I., Jajoo, A., 2010. Characterization of photosystem II heterogeneity in response to high salt stress in wheat leaves (*Triticum aestivum*). *Photosynthesis Research*. 105, 249-255.
- Murray, G.A., Eser, D.L., Gusta, V., Eteve, G., 1988. Winter hardiness in pea, lentil, faba bean and chickpea. In *World crops: cool season food legumes*. Kluwer Academic Publishers, the Netherlands. 831-843.
- Nejadsadeghi, L., Maali-Amiri, R., Zeinali, H., Sadeghzadeh, B., Ramezanzpour, S.S., 2014. Comparative analysis of physio-biochemical responses to cold stress in tetraploid and hexaploid wheat. *Cell Biochemistry and Biophysics*. 70, 399-408.
- Oweis, T., Hachum, A., 2012. Supplemental irrigation, a highly efficient water-use practice, 2nd Ed., ICARDA, Aleppo, Syria.
- Pastorzcyk, M., Gietwanowska, I., Lahuta, L.B., 2014. Changes in soluble carbohydrates in polar Caryophyllaceae and Poaceae plants in response to chilling. *Acta Physiologiae Plantarum*. 36, 1771-1780.
- Peyvand, M., Abrishamchi, P., Hadadchi, Gh.R., Hajiboland, R., Ahmadi-Moghadam, A., Habibi Rezaei, M., Asghary, R., 2007. *Plant Physiology*. House of Biology Publisher, 3rd ed, pp 804. [In Persian].
- Raja, V., Majeed, U., Kang, H., Andrabi, K.I., John, R., 2017. Abiotic stress: interplay between ROS, hormones and MAPKs. *Environmental and Experimental Botany*. 137, 142-157.
- Rakeri, A., Maali-Amiri, R., Zeinali, H., Ranjbar, M., 2016. DNA methylation and physiobiochemical analysis of chickpea in response to cold stress. *Protoplasma*. 253, 61-76.
- Razali, N., Razab, R., Junit, S.M., Aziz, A.A., 2008. Radical scavenging and reducing properties of extracts of cashew shoots (*Anacardium occidentale*). *Food Chemistry*. 111, 38-44.
- Shahryar, N., Maali-Amiri, R., 2016. Metabolic acclimation of tetraploid and hexaploid wheats by cold stress-induced carbohydrate accumulation. *Journal of Plant Physiology*. 1-38.
- Singleton, V.L., Rossi, J.A., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*. 16, 144-158.
- Smart, R.E., Bingham, G.E., 1974. Rapid estimates of relative water content. *Plant Physiology* 53, 258-260.
- Soliman, M.H., Alayafi, A.A.M., El Kelish, A., Abu-Elsaoud, A.M., 2018. Acetylsalicylic acid enhance tolerance of *Phaseolus vulgaris* L. to

- chilling stress, improving photosynthesis, antioxidants and expression of cold stress responsive genes. *Botanical Studies*. 59, 1-17.
- Swigonska, S., Amarowicz, R., Krol, A., Mostek, A., Badowiec, A., Weidner, S., 2014. Influence of abiotic stress during soybean germination followed by recovery on the phenolic compounds of radicles and their antioxidant capacity. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*. 83, 209–218.
- Tahmasebi, A., Pakniyat, H., 2015. Comparative analysis of some biochemical responses of winter and spring wheat cultivars under low temperature. *International Journal of Agronomy and Agricultural Research*. 7, 14–22.
- Vogt, T., 2010. Phenylpropanoid biosynthesis. *Molecular Plant*. 3, 2-20.
- Wanger, G.J., 1979. Content and vacuole/ extra vacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanin's in protoplast. *Plant Physiology*. 64, 88-93.
- Wisniewski, M., Glenn, D.M., Fuller, M.P., 2002. Use of a hydrophobic particle film as a barrier to extrinsic ice nucleation in tomato plants. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 127, 358-364.
- Yazdisamadi, B., Majnoonhosaini, N., Paighabari, A., 2004. Evaluation of cold resistance in lentil (*Lens culinaris*) germplasm. *Seed and Plant Journal*. 20, 23-37. [In Persian with English summary].
- Yildiztugay, E., Ozfidan-Konakci, C., Kucukoduk, M., 2017. Improvement of cold stress resistance via free radical scavenging ability and promoted water status and photosynthetic capacity of gallic acid in soybean leaves. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 17, 366-384.
- Zhang, B., Deng, Z., Ramdath, D.D., Tang, Y., X. Chen, P., Liu, R., Liu, R., Liu, Q., Tsao, R., 2015. Phenolic profiles of 20 Canadian lentil cultivars and their contribution to antioxidant activity and inhibitory effects on  $\alpha$ -glucosidase and pancreatic lipase. *Food Chemistry*. 172, 862–872.
- Zuther, E., Juszczak, I., Lee, Y.P., Baier, M., Hinch, D.K., 2015. Time dependent deacclimation after cold acclimation in *Arabidopsis thaliana* accessions. *Scientific Reports*. 5, 1-10.