10.22092/sppi.2020.123186

"مجله نهال و بذر"
جلد ۳۶، شماره ۲، سال ۱۳۹۹

مقاله پژوهشی

تحمل به یخ‌زدگی در برخی ژنوتیپ‌های عدس در شرایط کنترل‌شده

Freezing Tolerance in Some Lentil Genotypes under Controlled Conditions

جعفر نباتی[۱]، احمد نظامی[۲]، سیده محبوبه میرمیران[۳]، علیرضا حسن‌فرد[۴]، سید سعید حجت[۵] و عبدالرضا باقری[۶]

۱- استادیار، پژوهشکده علوم گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.
۲و ۶- استاد، دانشکده کشاورزی و پژوهشکده علوم گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.
۳- استادیار، گروه کشاورزی دانشگاه پیام نور، تهران، ایران.
۴- دانشجوی دکتری، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.
۵- کارشناس، پژوهشکده علوم گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۸/۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۲/۲۶

چکیده

نباتی، ج.، نظامی، ا.، میرمیران، س. م.، حسن‌فرد، ع. ر.، حجت، س. س. و باقری، ع. ۱۳۹۹. تحمل به یخ‌زدگی در برخی ژنوتیپ‌های عدس در شرایط کنترل‌شده. **مجله نهال و بذر۳۶:** ۲۰۵ - ۱۸۳.

به‌منظور به‌گزینی جهت تحمل به یخ‌زدگی ۴۰ ژنوتیپ عدس آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سال ۱۳۹۶ در پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. ژنوتیپ‌ها در معرض سه دمای یخ‌زدگی (۱۳-، ۱۵- و ۱۸- درجه‌سانتی‌گراد) قرار گرفتند. نتایج نشان داد که در دماهای ۱۳-، ۱۵- و ۱۸- درجه سانتیگراد به‌ترتیب ۱۰۰، ۹۳ و ۳۰ درصد از ژنوتیپ‌ها با حداکثر بقای خود (۱۰۰ درصد) تفاوت معنی‌داری نداشتند. تنها سه ژنوتیپ MLC12، MLC17 و MLC95 توانایی حفظ بقای ۱۰۰ درصد در هر سه دمای یخ‌زدگی را داشتند. کمترین دمای کاهنده ۵۰ درصد سطح برگ ($RLAT_{50}$) و وزن خشک گیاه ($RDMT_{50}$)، به‌ترتیب برابر با ۱۶/۵- و ۱۶/۷- درجه‌سانتیگراد بود و بیشتر ژنوتیپ‌ها در حفظ ۵۰ درصد از صفات مذکور در دوره بازیافت موفق بودند. ژنوتیپ‌های MLC8 و MLC286 با $RDMT_{50}$ معادل ۱۶/۷- درجه سانتیگراد بیشترین توانایی برای حفظ وزن خشک خود را داشتند و در نقطه مقابل ژنوتیپ MLC74 با $RDMT_{50}$ معادل ۱۳/۴- درجه‌سانتیگراد کمترین تحمل به سرما را ازنظر افزایش وزن خشک در دوره بازیافت داشت. به‌طورکلی ۳۷ ژنوتیپ از تحمل مناسبی برای مواجهه با تنش یخ‌زدگی برخوردار بودند بنابراین باتوجه به نتایج این آزمایش این ۳۷ ژنوتیپ عدس می توانند در برنامه به نژادی عدس برای مناطق هدف با دمای حداقل ۱۵-درجه سانتیگراد مورد استفاده قرار گیرند.

واژه‌های کلیدی: عدس، بقا، $RDMT_{50}$، $RLAT_{50}$، دوره بازیافت.

نگارنده مسئول: jafarnabati@ferdowsi.um.ac.ir تلفن: ۰۵۱۳۸۸۰۵۹۹۶

مقدمه

عدس (*Lens culinaris* Medik.) یکی از قدیمی‌ترین حبوبات دانه‌ای است که در سراسر جهان کشت می‌شود (Sarker and Erskine, 2006) و به علت محتوای پروتئین و ریزمغذی‌های ارزشمند دانه و کاه و کلش آن به‌عنوان خوراک انسان و علوفه دام به‌ویژه در کشورهای درحال‌توسعه مورداستفاده قرار می‌گیرد (Thavarajah *et al.*, 2017; Hoover *et al.*, 2010). کشورهایی همچون کانادا، هند و ترکیه به ترتیب با تولید ۳/۷۳، ۱/۲۲ و ۰/۴۳ میلیون تن در سال سه تولیدکننده عمده عدس در جهان هستند که مجموعاً ۶۹ درصد کل دانه عدس در جهان را تولید می‌کنند (FAOSTAT, 2017).

تنش یخزدگی یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیر زیستی است که در بسیاری از مناطق دنیا رشد گیاهان را از طریق صدمه به سلول‌ها و بافت‌های گیاهی محدود می‌کند (Pescador *et al.*, 2017). هرچند مطالعات حاکی از آن است که عدس توانایی تحمل به سرمای شدید را ندارد و به همین دلیل کاشت آن در برخی از مناطق مرتفع در فصل بهار انجام می‌شود (Summerfield, 1981)، اما کاشت حبوباتی همچون عدس به‌صورت پاییزه–زمستانه به علت بهره‌مندی از مزایای کاشت در این فصول بیشتر موردتوجه است. بنابراین موفقیت کاشت عدس در مناطق مرتفع نیازمند ارزیابی، شناسایی و به‌گزینی ژنوتیپ‌های متحمل به سرما است ضمن اینکه در کشت پاییزه در این مناطق علاوه بر تحمل به یخزدگی مقاومت به بیماری برق‌زدگی از اهمیت بالایی برخوردار است.

حساسیت به سرما یکی از عوامل اصلی در کاهش عملکرد محصولات می‌باشد. زمانی که گیاهان در معرض دماهای یخزدگی قرار می‌گیرند برای تطبیق خود با تنش و افزایش تحمل به سرما بسیاری از تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی را در خود ایجاد می‌نمایند (Heidarvand and Maali Amiri, 2010).

نتایج مطالعات حاکی از آن است که انسجام غشاء پلاسمایی ازجمله عوامل مهم در بقای گیاهان تحت شرایط تنش یخزدگی است و هرگونه اختلال در ساختار غشاء سبب بروز خسارت و حتی مرگ آن می‌شود (Sulk *et al.*, 1991). بنابراین ارزیابی میزان آسیب به غشاء توسط اندازه‌گیری نشت الکترولیت‌ها در سلول‌های گیاهی یکی از روش‌های معتبر در تعیین تحمل گیاهان به تنش یخزدگی محسوب می‌شود (Liu *et al.*, 2013). نتایج آزمایشی روی نخود (*Cicer arietinum* L.) نشان داد که با کاهش دما میزان نشت الکترولیت‌ها افزایش می‌یابد که این تغییر در ارقام و دماهای مختلف، متفاوت بود (Venaei *et al.*, 2011).

هرچند که میزان تحمل به سرما به عوامل مختلفی مرتبط است اما خوسرمایی (Cold acclimation) یکی از مهم‌ترین عوامل افزایش تحمل گیاهان به دماهای یخزدگی محسوب

می‌شود (Dalmannsdottir *et al*., 2017). گیاهان تحت تأثیر خوسرمایی با افزایش سطوح متابولیت‌ها و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سبب افزایش تحمل به اثرات مخرب تنش یخ‌زدگی می‌شوند (Kocsy *et al*., 2001). در بررسی تحمل به یخ‌زدگی آرابیدوپسیس (*Arabidopsis thaliana*) مشاهده شد که میزان T_{EL50} (Temperature causing 50% electrolyte leakage) (دمایی که سبب ۵۰ درصد نشت الکترولیت‌ها می‌شود) برگ در تیمارهای خوسرما شده و خوسرما نشده به ترتیب برابر ۹/۵- و ۵- درجه سانتیگراد بود (Thalhammer *et al*., 2014). بنابراین T_{EL50} کمتر نشان‌دهنده تحمل بالای گیاه به دماهای یخ‌زدگی از طریق حفظ پایداری غشای سلولی و درنتیجه نشت الکترولیت‌های کمتر است.

درصد بقا و LT_{50su} (Lethal temperature causing 50% of plants kill according to the survival percentage) به‌عنوان روشی رایج جهت ارزیابی تحمل به سرما توسط پژوهشگران مورداستفاده قرار می‌گیرد (Gusta *et al*. 1997). بر همین اساس آزمایشی بر روی دو اکوتیپ *Boechera stricta* نشان داد که با کاهش دماهای یخ‌زدگی درصد بقا کاهش می‌یابد و LT_{50su} متفاوت در دو اکوتیپ حاکی از تفاوت میان آن‌ها در تحمل به دماهای یخ‌زدگی بود (Arisz *et al*., 2018).

در بررسی تحمل به سرما ارزیابی صفات مربوط به رشد مجدد گیاهان پس از تنش یخ‌زدگی ازجمله ارتفاع، سطح برگ و وزن خشک گیاه (Lee, 2001; Palliotti and Bongi, 1996) و تعیین رابطه آن‌ها با شاخص نشت الکترولیت‌ها و درصد بقا می‌تواند به‌عنوان پژوهش‌هایی معتبر مطرح شود (Rife and Zeinali, 2003). کاهش توسعه برگ سبب کاهش جذب تابش، کاهش میزان فتوسنتز و درنهایت کاهش عملکرد و کیفیت دانه می شود (Repkova *et al*., 2009). بنابراین تنش یخ‌زدگی سبب کاهش سطح برگ (Nezami *et al*., 2012) و کاهش سطح فتوسنتز گیاه می‌شود که این مهم نیز تجمع ماده خشک را تحت تأثیر قرار می‌دهد.

مطالعات متعددی در ایران در رابطه با تحمل به سرما و کشت پاییزه عدس انجام شده و نتایج رضایت بخشی در این زمینه حاصل شده است (Gholami Rezvani *et al*., 2019; Hojjat *et al*., 2014; Nezami *et al.,* 2011; Hojjat *et al*., 2007).

این پژوهش به‌منظور بررسی تحمل به یخ‌زدگی برای به‌گزینی برخی از ژنوتیپ‌های عدس از طریق ارزیابی شاخص پایداری غشاء و صفات مورفولوژیکی دوره بازیافت در شرایط کنترل‌شده انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال زراعی ۹۷-۱۳۹۶ در گلخانه تحقیقاتی پژوهشکده علوم گیاهی

دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. عوامل موردبررسی شامل ۴۰ ژنوتیپ منتخب عدس که در مطالعات گذشته (Gholami Rezvani *et al*., 2019; Hojjat and Galstyan, 2014; Hojjat *et al*., 2007) تحمل بالای آن‌ها به سرما محرز شده بود و سه دمای یخ‌زدگی شامل ۱۳-، ۱۵- و ۱۸- درجه سانتیگراد بودند. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا گردید.

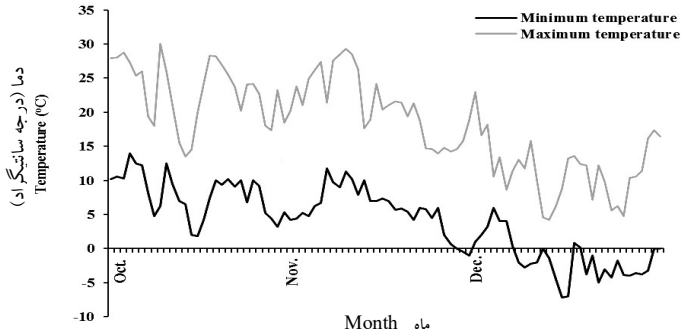
در شروع آزمایش، بذرها با محلول هیپوکلریت سدیم (NaClO) سه درصد به مدت دو دقیقه ضدعفونی و سپس سه مرتبه با آب مقطر شسته شدند. به‌منظور اطمینان از جوانه‌زنی یکنواخت، ابتدا بذرهای ضدعفونی شده در داخل پتری دیش و در دستگاه ژرمیناتور با دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و رطوبت ۷۵ درصد به مدت ۱۶ ساعت روشنایی قرار گرفتند و جوانه‌دار شدند.

در تاریخ ۱۳۹۶/۰۷/۲۰ تعداد ۱۵ عدد بذر جوانه‌زده در عمق یک سانتی‌متری گلدان‌های پلاستیکی با قطر ۱۰ سانتیمتر و ارتفاع ۱۱ سانتیمتر حاوی 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 تا مرحله گیاهچه‌ای (چهار تا شش برگی) رشد کردند. در شکل ۱ دماهای کمینه و بیشینه روزانه در طول دوره آزمایش نشان داده شده است.

گلدان‌ها ۲۴ ساعت قبل از اعمال تنش یخ‌زدگی آبیاری شدند و سپس برای اعمال دماهای یخ‌زدگی در اواسط بهمن (هم‌زمان با بروز سرماهای شدید در منطقه بر اساس داده‌های بلندمدت هواشناسی) 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. این وضعیت شرایط را برای توزیع مجدد آب به بافت‌های گیاهی و جلوگیری از تشکیل یخ در داخل سلول‌ها که در طبیعت به‌ندرت اتفاق می‌افتد، فراهم می‌کند (Murray *et al*., 1988).

به‌منظور ایجاد هسته یخ در گیاه و اجتناب از بروز پدیده فرا سرما، در دمای ۲- درجه سانتیگراد، پاشش باکتری‌های (جنس *Pseudomonas* و *Erwinia*) ایجادکننده هسته یخ (INAB = Ice Nucleation Active Bacteria) روی گیاهان انجام شد (Wisniewski *et al*., 2002). به‌منظور ایجاد تعادل در دمای محیط، گیاهچه‌ها در هر تیمار دمای یخ‌زدگی به مدت یک ساعت نگهداری و سپس به مدت ۱۲ تا ۲۴ ساعت به اتاقک رشد با دمای ۲ ± ۵ درجه سانتیگراد و تابش ۳۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه نگهداری شدند.

برای اندازه‌گیری نشت الکترولیت‌ها، بعد از خروج نمونه‌ها از اتاقک سرد (یک روز پس از



شکل ۱- روند تغییرات دماهای کمینه و بیشینه مشهد در پاییز ۱۳۹۶

Fig. 1. Variation in daily minimum and maximum temperatures, during fall autumn in 2017-2018 in Mashhad, Iran

اعمال تنش یخ‌زدگی) از هر گلدان جوان‌ترین برگ کاملاً توسعه‌یافته برداشت و به ویال حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر منتقل شد و به مدت ۲۴ ساعت در شرایط آزمایشگاه نگهداری شد. سپس با استفاده از دستگاه EC متر (مدل Jenway) نشت الکترولیت‌ها اندازه‌گیری شد (EC_1).

به‌منظور اندازه‌گیری کل نشت الکترولیت‌ها پس از مرگ سلول‌ها، نمونه‌ها در اتوکلاو با دمای ۱۱۰ درجه سانتیگراد و فشار ۱/۲ اتمسفر به مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شدند. سپس نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت مجدداً در شرایط آزمایشگاه قرار گرفتند و هدایت الکتریکی نمونه‌ها دوباره ثبت شد (EC_2) و با استفاده از رابطه ۱ درصد نشت الکترولیت‌ها (EL) تعیین شد.

رابطه ۱ $$EL(\%) = \frac{EC1}{EC2} \times 100$$

شاخص پایداری غشاء (Membrane Stability I = MSI) از طریق رابطه ۲ به دست آمد (Premachandra *et al*., 1991).

رابطه ۲ $$MSI = 100 - \%\ EL$$

برای محاسبه T_{EL50} از رابطه ۳ استفاده شد (Anderson,1988).

رابطه ۳

$$ELP = ELi + \{(Elm - ELi) \mid (1 + e^{-B(T-Tm)})\}$$

در رابطه ۳ ELp: مقدار نشت الکترولیت پیش‌بینی‌شده، EL_i و El_m: به ترتیب حداقل و حداکثر مقدار نشت الکترولیت‌ها در دماهای آزمایش، B: سرعت افزایش شیب منحنی، T: دما، T_m نقطه‌ی عطف منحنی (نقطه میانی بین بخش پایینی و بالایی خط منحنی) و نشان‌دهنده خروج ۵۰ درصد الکترولیت‌ها از سلول می‌باشد.

نمونه‌ها به گلخانه با میانگین دمای ۵ ± ۲۳ درجه سانتیگراد (شب و روز) و طول دوره روشنایی ۱۴ ساعت منتقل شدند.

چهار هفته پس از آن درصد بقا و بازیافت نمونه‌ها ارزیابی شد. درصد بقا گیاهان (Survival Percentage = SU%) از طریق شمارش تعداد بوته زنده قبل (B) و پس از تنش یخزدگی (A) در هر گلدان طبق رابطه ۴ محاسبه شد.

$$SU\ (\%) = \frac{A}{B} \times 100$$ رابطه ۴

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

تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها توسط نرم‌افزار Minitab 17 انجام گرفت. داده‌ها برای صفات شاخص پایداری غشاء، درصد بقا، ارتفاع گیاه، سطح برگ و وزن خشک گیاهان به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و برای صفات T_{EL50}، LT_{50su}، (Reduced temperature 50% of dry matter) $RDMT_{50}$ (دمای کاهنده ۵۰ درصد ماده خشک)، (Reduced temperature by 50% of leaf area) $RLAT_{50}$ (دمای کاهنده ۵۰ درصد سطح برگ) و (Reduced temperature by 50% of plant height) RHT_{50} (دمای کاهنده ۵۰ درصد ارتفاع بوته) به‌صورت طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. برای تعیین LT_{50el} از نرم‌افزار Slide Write V7.01 استفاده شد. همچنین LT_{50su}، $RDMT_{50}$، $RLAT_{50}$ و RHT_{50} با استفاده از رسم نمودار صفات مذکور در مقابل دماهای یخزدگی تعیین شد. مقایسه میانگین داده‌ها نیز با استفاده از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

ژنوتیپ‌ها ازنظر شاخص پایداری غشاء تحت تأثیر دماهای یخزدگی تفاوت معنی‌داری داشتند (جدول ۱). هرچند که در دماهای ۱۳-، ۱۵- و ۱۸- درجه سانتیگراد ازنظر بیشترین میزان شاخص پایداری غشاء به ترتیب ۶۸، ۷۵ و ۳۳ درصد از ژنوتیپ‌ها با حداکثر میزان خود تفاوت معنی‌داری نداشتند (جدول ۲). با توجه به حداقل پایداری غشاء در هر یک از دماهای مذکور چنین به نظر می‌رسد که تنوع نسبتاً قابل‌توجهی ازنظر پایداری غشاء در بین ۴۰ ژنوتیپ موردبررسی وجود دارد. به‌طوری‌که در دماهای ۱۳-، ۱۵- و ۱۸- درجه سانتیگراد ازنظر کمترین میزان شاخص پایداری غشاء به ترتیب ۲/۵، ۲۳ و ۳۸ درصد از ژنوتیپ‌ها با حداقل میزان خود تفاوت معنی‌داری نداشتند (جدول ۲).

این نتایج نشان می‌دهند که اغلب ژنوتیپ‌ها به دماهای یخزدگی به‌خصوص دماهای ۱۳- و ۱۵- درجه سانتیگراد تحمل بالایی دارند. به‌عبارت‌دیگر، در دمای ۱۳- و ۱۵- درجه سانتیگراد به ترتیب ۶۸ و ۷۵ درصد از ژنوتیپ‌ها دارای بالاترین شاخص پایداری غشاء بودند و این مهم نشان‌دهنده حفظ انسجام غشای سلولی

جدول ۱- تجزیه واریانس برای صفات مختلف ژنوتیپ‌های عدس پس از اعمال یخ‌زدگی در شرایط کنترل‌شده

Table 1. Analysis of variance for different traits of lentil genotypes after freezing stress in controlled conditions

			MS میانگین مربعات				
S.O.V.	منبع تغییر	درجه آزادی df	شاخص پایداری غشاء Membrane stability index	درصد بقا Survival percentage	ارتفاع بوته Plant height	سطح برگ Leaf area	وزن خشک شاخساره Shoot dry weight
Genotypes (G)	ژنوتیپ	39	567**	94771**	92.90**	89.50**	135.0**
Temperature (T)	دما	2	24369**	1483**	4057.00**	3409.00**	2965.0**
G × T	ژنوتیپ ×دما	78	747**	945**	41.90**	41.40**	110.0**
Error	خطای آزمایش	240	127	475	8.67	7.75	14.8
C.V. (%)	درصد ضریب تغییرات	-	20.3	29.3	21.2	21.8	25.3

**: Significant at the 1% level of probability. **: معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد.

و تحمل بالای طیف وسیعی از ژنوتیپ‌های عدس موردمطالعه به دماهای یخ‌زدگی بود. هرچند ژنوتیپ‌های مورد آزمایش، منتخب متحمل‌ترین ژنوتیپ‌ها به تنش یخ‌زدگی بودند، اما قرارگیری در دماهای خوسرمایی (شکل ۱) یکی از عوامل اصلی در بهبود تحمل به دماهای یخ‌زدگی در ژنوتیپ‌های موردمطالعه بود.

نتایج تحقیقات متعدد حاکی از آن است که القای خوسرمایی سبب افزایش تحمل به یخ‌زدگی در گیاهان می‌شود (Schulz *et al.*, 2016؛ Hincha *et al.*, 2018). پژوهشگران تغییرات گسترده در بیان ژن همراه با محتوای متابولیت‌های اولیه و لیپید را علل بهبود تحمل به یخ‌زدگی در گیاهان خو گرفته به سرما اظهار کردند (Schulz *et al.*, 2016). در همین زمینه مطالعه اثر سرما در گیاهچه‌های نخود نشان داد که با کاهش دما نشت الکترولیت‌ها افزایش می‌یابد. به بیانی دیگر کاهش دما سبب کاهش شاخص پایداری غشاء و آسیب بیشتر به غشای سلولی در گیاه نخود شد. همچنین در آزمایش مذکور گیاهچه‌هایی که بیشتر در معرض فرایند خوسرمایی قرار گرفتند آسیب به غشای آن‌ها و همچنین نشت الکترولیت‌ها کمتر بود (Nayyar *et al.*, 2005).

مطالعه میزان آسیب به غشاء در دو رقم گوار (*Psidium guajava* L.) نشان داد که کاهش دما سبب افزایش آسیب به غشاء گیاهچه‌ها می‌شود که شروع آسیب و میزان آن در ارقام مورد آزمایش متفاوت بود. همچنین شروع آسیب در هر دو رقم در دمای ۲- درجه سانتیگراد و بیشترین میزان آسیب در دمای ۸- درجه سانتیگراد اتفاق افتاد (Hao *et al.*, 2009).

برهمکنش ژنوتیپ × دما بر درصد بقا گیاهان معنی‌دار بود (جدول ۱). در دمای ۱۳- درجه سانتیگراد بقای ژنوتیپ‌ها با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشتند (جدول ۲). ازنظر بیشترین درصد بقا، در دماهای ۱۵- و

جدول ۲- اثر دماهای یخزدگی بر شاخص پایداری غشاء و درصد بقا در ژنوتیپ‌های عدس در شرایط کنترل‌شده

Table 2. Effect of freezing temperatures on membrane stability index and survival of lentil genotypes in controlled conditions

شماره نمونه Accession no.	شاخص پایداری غشاء (٪) Membrane stability index (%)			درصد بقا Survival (%)		
	دمای یخزدگی (درجه سانتیگراد) Freezing temperature (°C)			دمای یخزدگی (درجه سانتیگراد) Freezing temperature (°C)		
	-13	-15	-18	-13	-15	-18
MLC8	74.20	63.40	54.70	100.00	100.00	50.00
MLC9	54.40	57.40	54.70	100.00	50.00	0.00
MLC11	70.20	65.90	57.50	100.00	100.00	83.30
MLC12	70.30	63.20	49.90	100.00	100.00	100.00
MLC13	38.30	79.20	27.30	100.00	83.30	16.70
MLC16	64.40	75.80	21.90	100.00	100.00	0.00
MLC17	68.60	60.70	23.50	100.00	100.00	100.00
MLC22	72.20	59.60	27.20	100.00	62.50	25.00
MLC29	70.90	64.20	8.03	100.00	75.00	0.00
MLC31	57.90	53.10	40.80	100.00	100.00	0.00
MLC33	48.10	49.10	50.90	100.00	100.00	0.00
MLC38	64.90	77.80	63.50	100.00	100.00	90.00
MLC47	73.80	61.10	19.70	83.30	100.00	37.50
MLC55	64.90	57.90	40.10	100.00	100.00	0.00
MLC61	67.30	68.90	22.50	90.00	75.00	16.70
MLC70	64.80	62.70	20.10	100.00	100.00	0.00
MLC71	81.80	70.40	20.80	100.00	100.00	0.00
MLC74	14.90	63.50	17.20	100.00	100.00	75.00
MLC81	69.80	73.20	15.20	100.00	100.00	0.00
MLC83	69.40	70.20	25.80	75.00	83.30	0.00
MLC84	78.80	62.70	40.20	100.00	100.00	75.00
MLC91	64.90	70.00	52.70	83.30	50.00	0.00
MLC95	63.40	60.30	42.90	100.00	100.00	100.00
MLC103	63.90	65.50	62.40	100.00	100.00	50.00
MLC151	60.60	72.60	26.40	75.00	87.50	0.00
MLC163	60.50	42.70	32.70	100.00	100.00	0.00
MLC169	65.90	71.20	45.40	100.00	100.00	75.00
MLC253	60.00	72.20	47.50	100.00	83.30	75.00
MLC286	77.40	77.70	63.60	100.00	100.00	20.00
MLC303	78.20	76.30	22.30	100.00	90.00	50.00
MLC334	66.80	73.60	43.20	87.50	87.50	0.00
MLC337	73.90	56.50	13.50	100.00	75.00	0.00
MLC394	69.60	63.70	7.09	100.00	100.00	0.00
MLC407	53.40	73.10	39.60	100.00	87.50	50.00
MLC409	70.50	77.70	51.10	100.00	90.00	100.00
MLC410	37.90	71.90	13.50	100.00	90.00	87.50
MLC454	70.10	73.80	38.50	100.00	75.00	0.00
MLC458	49.70	75.90	22.10	100.00	100.00	75.00
MLC469	72.30	63.10	47.90	100.00	100.00	0.00
MLC472	60.70	67.70	59.80	100.00	100.00	50.00
$LSD_{0.05}$		18.00			42.70	

شماره نمونه مربوط به کلکسیون عدس پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد است.

Accession no. is related to Mashhad Lentil Collection (NLC), Research Center for Plant Science, Ferdowsi Univeristy of Mashhad, Iran.

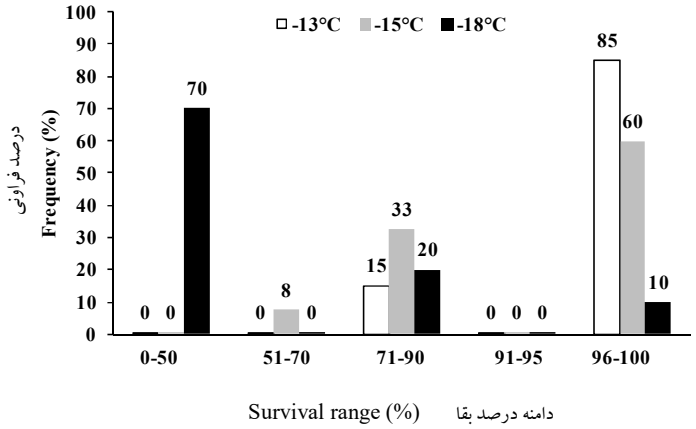
۱۸- درجه سانتیگراد به ترتیب ۹۳ و ۳۰ درصد از ژنوتیپ‌ها با حداکثر بقای خود (۱۰۰ درصد) تفاوت معنی‌داری نداشتند. از طرفی ۵۸ درصد از ژنوتیپ‌ها با حداقل بقا خود (صفر درصد) در دمای ۱۸- درجه سانتیگراد تفاوت معنی‌داری نداشتند و این نشان از حساسیت به یخ‌زدگی در این گروه از ژنوتیپ‌ها بود. حفظ بقای حداکثری در ۳۰ درصد از ژنوتیپ‌ها در دمای ۱۸- درجه سانتیگراد حاکی از پتانسیل بالای این ژنوتیپ‌ها در تحمل به دمای یخ‌زدگی بود.

به نظر می‌رسد در دماهای پایین علاوه بر فرایند خوسرمایی، پتانسیل ژنتیکی گیاهان در تحمل به یخ‌زدگی بیشتر بروز پیدا کرد. به‌عبارت دیگر، اگرچه فرایند خوسرمایی و کاهش دما برای تمام ژنوتیپ‌های موجود در آزمایش اتفاق افتاد، اما در شرایط حاکم بر این آزمایش برخی از ژنوتیپ‌ها نشان دادند که پتانسیل بیشتری برای زنده‌مانی پس از تنش یخ‌زدگی داشتند. در ژنوتیپ‌های مورد آزمایش، پاسخ متفاوت به دمای ۱۸- درجه سانتیگراد مبین تنوع گسترده در تحمل به سرما بود. علاوه بر این، فقط سه ژنوتیپ MLC12، MLC17 و MLC95 توانایی حفظ بقای ۱۰۰ درصد خود را در هر سه دمای یخ‌زدگی داشتند که حاکی از تحمل بالای یخ‌زدگی و توانایی بازیافت مناسب در آن‌ها بود(جدول ۲).

برای تعیین تحمل به سرما در ۴۰ ژنوتیپ عدس مورد بررسی از روش مقیاس‌بندی بر اساس درصد بقا استفاده شد (Yazdisamadi *et al*., 2004). بیشترین درصد فراوانی ژنوتیپ‌ها در دمای ۱۳- و ۱۵- درجه سانتیگراد (به ترتیب با ۸۵ و ۶۰ درصد فراوانی) ازنظر درصد بقا متعلق به گروه خیلی مقاوم به سرما (بقا ۹۶ تا ۱۰۰ درصد) و بیشترین درصد فراوانی ژنوتیپ‌ها در دمای ۱۸- درجه سانتیگراد (با ۷۰ درصد فراوانی) متعلق به گروه کاملاً حساس به سرما (بقا صفر تا ۵۰ درصد) بود (شکل۲).

با افزایش شدت دماهای یخ‌زدگی، درصد فراوانی ژنوتیپ‌ها ازنظر بقا در گروه کاملاً حساس افزایش یافت و برعکس با کاهش شدت دماهای یخ‌زدگی درصد فراوانی ژنوتیپ‌ها ازنظر بقا در گروه خیلی مقاوم به سرما افزایش نشان داد. درمجموع با توجه به اینکه طیف وسیعی از ژنوتیپ‌ها درصد بقای بالایی در دماهای ۱۳- و ۱۵- درجه سانتیگراد داشتند می‌توان چنین اظهار کرد که اکثر ژنوتیپ‌های عدس موردمطالعه تحمل بالایی به تنش یخ‌زدگی داشتند و می توانند برای استفاده در برنامه های به‌نژادی عدس براس مناطق هدف با درجه حرارت حداقل ۱۵- مورد استفاده قرار گیرند.

اگرچه انجام مطالعات تکمیلی و مزرعه‌ای، لازمه اطمینان کامل از نتایج این آزمایش است، اما به‌طورکلی به علت اهمیت بالای بقای زمستانه گیاهان (Østrem *et al*., 2018) می‌توان چنین اظهار کرد که در مناطقی با دمای حداقل ۱۵- درجه سانتیگراد ژنوتیپ‌های مذکور



شکل ۲- درصد فراوانی ژنوتیپ های عدس مورد آزمایش در دامنه‌های درصد بقا در دماهای ۱۳-، ۱۵- و ۱۸- درجه سانتیگراد

Fig. 2. Frequency (%) of lentil genotypes in different survival range (%) at -13 °C, -15 °C and -18 °C temperatures

زنده می مانند. همچنین مزایای کاشت پاییزه نسبت به کاشت بهاره هنگام استفاده از ارقام متحمل به یخزدگی اثبات‌شده است (Singh *et al.*, 1995) و ژنوتیپ‌های برتر عدس موردمطالعه ازنظر تحمل به یخزدگی امکان کاشت در فصل پاییز را فراهم می‌کنند. در همین راستا وری (Wery, 1990) گزارش کرد که اگرچه برخی از لاین‌های نخود قابلیت تحمل دمایی معادل با ۱۳- درجه سانتیگراد را در مرحل اولیه رشد رویشی دارند، اما حداقل دمایی که عموماً به نظر می‌رسد که نخود بقای خود را حفظ کند دمای ۸- درجه سانتیگراد است.

در آزمایش تحمل به سرمای ۲۲۰ ژنوتیپ عدس در مشهد مشاهده شد که بین ژنوتیپ‌ها ازنظر درصد بقا تنوع گسترده‌ای وجود داشت و بسته به سال زراعی آزمایش و دمای حاکم بر منطقه، در مقیاس‌بندی متفاوتی ازنظر تحمل یا حساسیت به سرما قرار گرفتند. در این گزارش مقیاس متحمل به سرما در هر دو سال زراعی کاشت پاییزه بیشترین درصد ژنوتیپ را به خود اختصاص داد (سال اول ۶۱ درصد و سال دوم ۵۷ درصد از ژنوتیپ‌ها) (Bagheri *et al.*, 2004). گزارش شده است که آرابیدوپسیس توانایی بقا در دماهای کمتر از ۸- درجه سانتیگراد را با فرایند خوسرمایی دارد، به‌طوری‌که خوسرمایی دمای ۵۰ درصد کشندگی را کاهش داد و سبب افزایش تحمل گیاه به دماهای یخزدگی شد (Gilmour *et al.*, 1988). در آزمایش حاضر

نیز دمای ۵۰ درصد کشندگی بر اساس درصد بقا (LT_{50su}) غیر معنی‌دار بود (جدول ۳).

ارتفاع بوته تحت تأثیر معنی‌دار برهمکنش ژنوتیپ و دما قرار گرفت (جدول ۱). مطابق با نتایج حاصل، در دمای ۱۳-، ۱۵- و ۱۸- درجه سانتیگراد به ترتیب ۲۰، ۱۸ و ۸ درصد از ژنوتیپ‌ها با بیشترین ارتفاع بوته خود تفاوت معنی‌داری نداشتند (جدول ۳) (بیشترین ارتفاع بوته به ترتیب برابر با ۲۷/۵، ۲۶/۶ و ۲۰/۹ سانتیمتر بود). به‌عبارت دیگر، با توجه به حداکثر ارتفاع بوته در سه سطح دمای مذکور، می‌توان چنین نتیجه گرفت که این ژنوتیپ‌ها دارای توانایی بهتری برای افزایش ارتفاع بوته در دوره بازیافت نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها بودند.

به‌طورکلی کاهش دما سبب کاهش درصد ژنوتیپ‌هایی شد که با حداکثر ارتفاع بوته تفاوت معنی‌دار نداشتند و این مبین کاهش ارتفاع بوته از دمای ۱۳- به ۱۸- درجه سانتیگراد بود (جدول ۳). در دمای ۱۳-، ۱۵- و ۱۸- درجه سانتیگراد به ترتیب ۲۵، ۳۵ و ۶۸ درصد از ژنوتیپ‌ها با کمترین ارتفاع بوته تفاوت معنی‌داری نداشتند (جدول ۳) (کمترین ارتفاع بوته به ترتیب برابر با ۹/۱، ۱۱/۵ و صفر سانتی‌متر بود).

با توجه به حداقل ارتفاع بوته در این دماها، ۲۵، ۳۵ و ۶۸ درصد از ژنوتیپ‌ها بیشترین حساسیت را ازنظر ارتفاع بوته خود داشتند. به‌عبارت دیگر در دوره بازیافت این گیاهان توانایی حفظ و یا افزایش ارتفاع بوته را به علت آسیب دماهای یخ‌زدگی نداشتند. برعکس حداکثر ارتفاع بوته، در این قسمت کاهش دما سبب افزایش درصد ژنوتیپ‌هایی شد که با حداقل ارتفاع بوته تفاوت معنی‌دار نداشتند و این نیز مبین کاهش ارتفاع بوته از دمای ۱۳- به ۱۸- درجه سانتیگراد و افزایش تعداد ژنوتیپ‌هایی بود که ارتفاع کمتری داشتند (جدول۳).

در تراکم بالای گونه‌های گیاهی و در شرایط تنش‌زا ازجمله تنش یخ‌زدگی، افزایش ارتفاع گیاه می‌تواند به‌عنوان عامل مهمی در توان رقابتی برای کسب نور و فضا باشد (Gonzalez *et al.*, 1996). از طرفی دیگر با توجه به این‌که عدس گیاهی رشد نامحدود است، در صورت افزایش ارتفاع بوته، تعداد غلاف بیشتری نیز تولید می‌شود و این مهم نقش مؤثری در عملکرد دانه خواهد داشت (Singh and Singh, 2016). بنابراین ژنوتیپ‌هایی که توانایی افزایش ارتفاع بوته را پس از دماهای یخ‌زدگی دارند می‌توانند در بهبود عملکرد نهایی عدس نیز نقش مؤثری داشته باشند. در این آزمایش در دماهای ۱۳-، ۱۵- و ۱۸- درجه سانتیگراد به ترتیب ژنوتیپ‌های MLC407، MLC12 و MLC11 دارای بیشترین ارتفاع بوته بودند (جدول ۳).

بین ژنوتیپ‌های موردبررسی ازلحاظ دمای کاهنده ۵۰ درصد نشت الکترولیت‌ها (T_{EL50}) تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۴). دمای کاهنده ۵۰ درصد ارتفاع بوته تحت تأثیر

جدول ۳- اثر دمای یخزدگی بر ارتفاع بوته، سطح برگ و وزن خشک شاخساره ژنوتیپ‌های عدس در شرایط کنترل‌شده

Table 3. Effect of freezing temperatures on plant highet, leaf area and shoot dry weight of lentil genotypes in controlled conditions

شماره نمونه Accession no.	ارتفاع بوته (سانتیمتر) Plant height (cm)			سطح برگ (سانتیمتر مربع در بوته) Leaf area (cm plant^{-1})			وزن خشک شاخساره (میلی‌گرم در بوته) Shoot dry weight (mg plant^{-1})		
	دمای یخزدگی (درجه سانتیگراد) Freezing temperature (°C)			دمای یخزدگی (درجه سانتیگراد) Freezing temperature (°C)			دمای یخزدگی (درجه سانتیگراد) Freezing temperature (°C)		
	-13	-15	-18	-13	-15	-18	-13	-15	-18
MLC8	19.80	18.80	4.63	15.20	20.40	4.80	14.90	14.90	4.23
MLC9	12.25	15.60	0.00	10.90	9.90	0.00	25.30	25.60	0.00
MLC11	23.80	21.80	20.90	19.90	21.20	17.90	16.90	16.90	25.30
MLC12	19.90	26.60	14.00	23.90	24.00	18.90	25.60	25.50	21.40
MLC13	24.10	20.60	2.65	23.60	19.90	3.25	25.40	25.40	6.31
MLC16	10.00	12.00	0.00	9.50	16.40	0.00	21.60	25.40	0.00
MLC17	19.50	20.60	18.20	20.30	20.80	13.90	12.70	19.00	16.90
MLC22	19.30	18.80	3.45	11.10	18.50	4.65	21.10	21.40	6.32
MLC29	9.55	11.50	0.00	9.10	12.40	0.00	11.40	13.90	0.00
MLC31	15.75	19.40	0.00	8.85	14.60	0.00	21.20	25.90	0.00
MLC33	20.25	20.60	0.00	16.70	16.70	0.00	17.90	21.20	0.00
MLC38	11.05	14.80	14.00	13.40	13.10	11.90	25.30	17.80	14.10
MLC47	9.10	11.70	4.05	6.15	13.10	4.65	18.90	14.70	4.21
MLC55	16.80	16.80	0.00	15.40	16.00	0.00	25.40	14.00	0.00
MLC61	16.00	20.30	4.05	15.50	17.80	3.50	16.90	19.10	6.34
MLC70	20.60	16.90	0.00	23.50	15.40	0.00	11.50	21.10	0.00
MLC71	21.20	17.30	0.00	21.70	17.20	0.00	16.30	21.30	0.00
MLC74	22.00	18.30	13.10	24.10	14.30	12.40	25.40	13.70	33.60
MLC81	10.70	19.50	0.00	19.00	19.00	0.00	16.90	12.70	0.00
MLC83	11.80	14.80	0.00	17.40	14.60	0.00	21.00	25.40	0.00
MLC84	20.30	17.50	7.25	13.50	15.90	9.20	13.50	14.80	13.90
MLC91	20.30	15.10	0.00	10.80	15.70	0.00	14.30	4.24	0.00
MLC95	15.30	15.30	12.30	14.20	16.10	9.40	14.80	18.90	12.70
MLC103	20.50	20.30	2.85	17.80	15.30	2.80	14.20	16.90	4.21
MLC151	14.40	21.40	0.00	15.50	12.40	0.00	25.30	16.90	0.00
MLC163	18.60	18.00	0.00	13.00	16.80	0.00	25.40	17.00	0.00
MLC169	21.90	18.50	13.10	21.00	13.90	11.70	21.20	17.80	34.20
MLC253	16.90	17.60	13.10	15.60	16.80	13.60	25.30	25.50	33.90
MLC286	24.50	20.70	4.13	27.30	24.30	3.50	14.90	16.90	6.37
MLC303	17.50	21.80	4.08	21.30	19.30	4.25	17.90	14.90	4.26
MLC334	19.70	17.60	0.00	18.80	18.30	0.00	13.60	12.10	0.00
MLC337	11.60	15.40	0.00	14.50	7.50	0.00	21.10	33.80	0.00
MLC394	17.40	13.30	0.00	16.00	10.90	0.00	12.70	14.80	0.00
MLC407	27.50	25.20	6.70	26.20	23.00	3.38	10.70	18.60	4.27
MLC409	18.80	18.60	17.90	14.30	17.40	13.70	16.90	14.90	15.60
MLC410	17.80	19.60	12.50	13.40	18.80	10.80	21.20	14.20	16.90
MLC454	14.00	11.60	0.00	14.30	5.90	0.00	16.90	33.60	0.00
MLC458	17.80	16.80	13.60	20.50	19.50	17.90	16.20	14.00	33.90
MLC469	23.90	25.80	0.00	15.00	23.10	0.00	14.80	21.20	0.00
MLC472	22.50	25.50	3.07	22.00	24.00	18.90	21.20	14.80	6.54
LSD $_{0.05}$		5.77			5.46			7.54	

شماره نمونه کلکسیون عدس پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد است.

Accession no. is related to Mashhad Lentile Collection (MLC).), Research Center for Plant Science, Ferdowsi Univeristy of Mashhad, Iran.

ژنوتیپ قرار گرفت (جدول ۴). دراین‌ارتباط تنوع گسترده‌ای وجود نداشت و ۷۸ درصد از ژنوتیپ‌ها با کمترین میزان RHT50 (۱۶/۶- درجه سانتیگراد متعلق به ژنوتیپ MLC469) و ۱۵ درصد از ژنوتیپ‌ها با بیشترین میزان RHT50 (۱۳/۶- درجه سانتیگراد متعلق به ژنوتیپ MLC409) تفاوت معنی‌داری نداشتند (جدول ۵). بنابراین تعداد زیادی از ژنوتیپ‌ها توانایی حفظ ۵۰ درصد از ارتفاع بوته در دمای پایین را داشتند که نتایج حاصل در این قسمت نشان‌دهنده تحمل تعداد زیادی از ژنوتیپ‌ها به دماهای یخ‌زدگی بود.

سطح برگ گیاه تحت تأثیر برهمکنش ژنوتیپ × دما قرار گرفت (جدول ۱). با کاهش دما میانگین حداکثر سطح برگ نیز کاهش یافت. به‌طوری‌که در دمای ۱۳-، ۱۵- و ۱۸- درجه سانتیگراد بیشترین سطح برگ به ترتیب ۲۷/۳، ۲۴/۳ و ۱۸/۹ سانتیمتر مربع بود (جدول ۳). همچنین در دمای ۱۳-، ۱۵- و ۱۸- درجه سانتیگراد به ترتیب ۱۸، ۳۰ و ۱۸ درصد از ژنوتیپ‌ها با بیشترین سطح برگ خود تفاوت معنی‌داری نداشتند (جدول ۳). این مبین تحمل آنها به دماهای مذکور بود.

افزایش سطح برگ در ژنوتیپ‌ها پس از تنش یخ‌زدگی ضمن تائید تحمل آن‌ها به تنش یخ‌زدگی، منجر به افزایش جذب نور، افزایش میزان فتوسنتز و افزایش تجمع مواد فتوسنتزی خواهد شد (Weraduwage *et al.* 2015). بنابراین مجموعه ژنوتیپ‌هایی که پس از تنش یخ‌زدگی توان افزایش مطلوب سطح برگ خود را دارند درنهایت با کارایی فتوسنتزی بالا سبب حفظ یا افزایش عملکرد دانه نسبت به ژنوتیپ‌های حساس می شوند. ازاین‌رو هرچه درصد ژنوتیپ‌هایی که با حداکثر سطح برگ خود تفاوت معنی‌داری ندارند، بیشتر باشد، نشان از تحمل به یخ‌زدگی در تعداد زیادی از ژنوتیپ‌ها است.

در دمای ۱۳-، ۱۵- و ۱۸- درجه سانتیگراد به ترتیب ۱۸، ۱۰ و ۶۸ درصد از ژنوتیپ‌ها با کمترین سطح برگ خود تفاوت معنی‌داری نداشتند (جدول ۳). این مبین حساسیت این ژنوتیپ‌ها به دماهای مذکور بود. با کاهش بیشتر دماهای یخ‌زدگی درصد ژنوتیپ‌هایی که حساس‌تر هستند، افزایش یافت. همانند حداکثر سطح برگ، کمترین میزان سطح برگ نیز با کاهش دما کاهش یافت. به‌طوری‌که در دمای ۱۳-، ۱۵- و ۱۸- درجه سانتیگراد کمترین سطح برگ به ترتیب ۶/۲، ۵/۹ و صفر سانتی‌متر مربع بود. لیو و همکاران (Liu *et al.*, 2019) گزارش کردند که کاهش دما به‌طور واضحی سبب کاهش میانگین سطح برگ در دو رقم گندم (*Triticum aestivum* L.) موردبررسی شد. بنابراین یکی از خصوصیات مهم در تعیین ژنوتیپ برتر، توانایی افزایش سطح برگ در دوره بازیافت و درنهایت افزایش تجمع ماده خشک است.

بین سطح برگ و درصد بقا همبستگی مثبت و معنی‌داری ($r = ۰/۷۳^{**}$) مشاهده شد. همچنین

جدول ۴- تجزیه واریانس دمای کاهنده ۵۰ درصد صفات موردبررسی در ژنوتیپ‌های عدس در شرایط کنترل‌شده

Table 4. Analysis of variance for studied traits of lentil genotypes in controlled conditions

			میانگین مربعات MS				
		درجه آزادی	دمای کاهنده ۵۰ درصد نشت الکترولیت‌ها	دمای کاهنده ۵۰ درصد بقا	دمای کاهنده ۵۰ درصد ارتفاع	دمای کاهنده ۵۰ درصد برگ	دمای کاهنده ۵۰ درصد ماده خشک
S.O.V.	منبع تغییر	df	T_{EL50}	LT_{50su}	RHT_{50}	$RLAT_{50}$	$RDMT_{50}$
Genotypes (G)	ژنوتیپ	39	2.46	1.44	1.530**	1.820**	1.220**
Error	خطا	80	2.06	1.22	0.395	0.644	0.498
C.V. (%)	ضریب تغییرات (درصد)	-	8.88	6.70	3.96	5.16	4.44

**: Significant at the 1% level of probability. **: معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد.

T_{EL50}: Temperature causing 50% electrolyte leakage, LT_{50su}: Lethal temperature 50% of plants according to the survival percentage,
$RLAT_{50}$: Reduced temperature 50% of leaf area, RHT_{50}: Reduced temperature 50% of plant height, $RDMT_{50}$: Reduced temperature 50% of dry matter.

جدول ۵- دمای کاهنده ۵۰ درصد از صفات ژنوتیپ های عدس در شرایط کنترل‌شده

Table 5. Reduced temperature 50 percent of traits of lentile genotypes in controlled conditions

شماره نمونه Accession no.	دمای کاهنده ۵۰ درصد ارتفاع بوته RHT_{50}	دمای کاهنده ۵۰ درصد سطح برگ $RLAT_{50}$	دمای کاهنده ۵۰ درصد ماده خشک شاخساره $RDMT_{50}$
MLC8	-16.4	-15.0	-16.7
MLC9	-16.5	-16.3	-16.4
MLC11	-14.4	-13.9	-16.1
MLC12	-14.4	-13.9	-15.8
MLC13	-16.2	-16.1	-16.4
MLC16	-16.0	-16.5	-16.6
MLC17	-15.1	-16.4	-15.3
MLC22	-16.5	-15.1	-15.8
MLC29	-16.5	-16.5	-16.5
MLC31	-16.4	-16.4	-16.5
MLC33	-16.4	-16.5	-16.6
MLC38	-13.8	-13.9	-14.8
MLC47	-15.2	-14.9	-15.6
MLC55	-16.2	-16.2	-15.4
MLC61	-16.5	-16.5	-15.7
MLC70	-16.2	-15.8	-16.6
MLC71	-16.2	-16.0	-16.5
MLC74	-15.1	-14.3	-13.4
MLC81	-16.5	-16.5	-16.0
MLC83	-16.4	-15.9	-16.5
MLC84	-16.1	-13.8	-14.3
MLC91	-16.1	-16.5	-15.3
MLC95	-16.5	-16.5	-14.4
MLC103	-16.3	-15.9	-16.6
MLC151	-16.5	-16.0	-16.0
MLC163	-16.5	-16.5	-16.0
MLC169	-15.8	-14.3	-16.4
MLC253	-14.2	-15.0	-16.5
MLC286	-16.1	-16.2	-16.7
MLC303	-16.5	-16.2	-15.9
MLC334	-16.3	-16.4	-15.7
MLC337	-16.5	-15.2	-16.5
MLC394	-16.0	-15.7	-16.6
MLC407	-16.3	-16.2	-15.6
MLC409	-13.6	-13.9	-15.8
MLC410	-14	-15.3	-14.5
MLC454	-16.2	-14.9	-16.5
MLC458	-15.8	-13.7	-16.5
MLC469	-16.6	-16.3	-16.6
MLC472	-16.5	-15.9	-15.6
$LSD_{0.05}$	1.25	1.60	1.40

شماره نمونه مربوط به کلکسیون عدس پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد است.

Accession no. is related to Mashhad Lentil Collection (MLC).), Research Center for Plant Science, Ferdowsi Univeristy of Mashhad, Iran.

$RLAT_{50}$: Reduced temperature 50% of leaf area, RHT_{50}: Reduced temperature 50% of plant height and $RDMT_{50}$: Reduced temperature 50% of dry matter.

سطح برگ همبستگی مثبت و بسیار معنی‌دار (r = ۰/۹۱**) با ارتفاع بوته داشت (جدول ۶). به نظر می‌رسد گیاهانی که قادر به حفظ بقا در دماهای یخزدگی بوده‌اند، توانسته‌اند رشد مجدد مناسب‌تری (ازنظر ارتفاع بوته و سطح برگ) داشته باشند.

تفاوت ژنوتیپ های برای $RLAT_{50}$ معنی‌دار بود (جدول۴). کمترین $RLAT_{50}$، ۱۶/۵- درجه سانتیگراد بود که ۸۰ درصد از ژنوتیپ‌های موردبررسی نیز با آن تفاوت معنی‌دار نداشتند (جدول ۵) و این نشان‌دهنده توانایی بالای اکثر ژنوتیپ‌ها در حفظ ۵۰ درصد از سطح برگ خود در دمای پایین‌تر بود. بنابراین با توجه به این‌که هرچه دمای یخزدگی برای کاهش خصوصیات مورفولوژیکی مانند سطح برگ کمتر باشد، توان آن گیاه در پاسخ به تنش یخزدگی بیشتر و حساسیت آن کمتر خواهد بود، می‌توان چنین نتیجه گرفت که ۸۰ درصد از ژنوتیپ‌های موردمطالعه پس از تنش یخزدگی سطح برگ خود را در حد مطلوبی حفظ کردند.

وزن خشک شاخساره تحت تأثیر برهمکنش ژنوتیپ × دما قرار گرفت (جدول ۱). در دمای ۱۳-، ۱۵- و ۱۸- درجه سانتیگراد به ترتیب ۴۵، ۵ و ۱۰ درصد از ژنوتیپ‌ها با بیشترین مقدار وزن خشک شاخساره خود تفاوت معنی‌داری نداشتند (جدول ۳). به‌عبارت‌دیگر، با توجه به حداکثر وزن خشک شاخساره در سه دمای مذکور، می‌توان چنین نتیجه گرفت که ۴۵، ۵ و ۱۰ درصد از ژنوتیپ‌ها دارای توانایی بهتری برای افزایش وزن خشک شاخساره خود در دوره بازیافت نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها بودند.

به‌طورکلی کاهش دما سبب کاهش درصد ژنوتیپ‌هایی شد که با حداکثر وزن خشک شاخساره خود تفاوت معنی‌دار نداشتند. این نشان‌دهنده تأثیر نامطلوب دماهای یخزدگی بر وزن خشک شاخساره بود. در دماهای ۱۳-، ۱۵- و ۱۸- درجه سانتیگراد به ترتیب MLC12، MLC337 و MLC169 بیشترین وزن خشک شاخساره را داشتند که نشان از تجمع مطلوب مواد فتوسنتزی و افزایش وزن خشک پس از تنش یخزدگی در این ژنوتیپ‌ها بود (جدول ۳).

تجمع زیست‌توده به‌عنوان منبع اصلی عملکرد نهایی دانه محسوب می‌شود. این فرایند حساس در رشد گیاهی به‌شدت تحت تأثیر تنش یخزدگی قرار می‌گیرد (Liu *et al.*, 2019). در همین راستا مطالعه تحمل به یخزدگی در ژنوتیپ‌های نخود نشان داد که در ژنوتیپ MCC426 کاهش دما از ۴- به ۸- درجه سانتیگراد سبب کاهش ۲۸ درصد از وزن خشک گیاه شد. این در حالی بود که در ژنوتیپ نخود MCC505 کاهش دمای مذکور منجر به کاهش ۶۷ درصدی وزن خشک گیاه شد (Nezami *et al.*, 2006) بنابراین تنوع در گستره تحمل به دماهای یخزدگی در ژنوتیپ‌های گیاهان ازجمله ژنوتیپ‌های عدس موردمطالعه زیاد است که این مهم سبب تفاوت در عملکرد نهایی آن‌ها پس از تنش یخزدگی می شود.

جدول ۶- ضرایب همبستگی بین صفات مختلف ژنوتیپ های عدس تحت تنش یخ‌زدگی در شرایط کنترل‌شده

Table 6. Correlation coefficients between different traits of lentil genotypes under freezing stress in controlled conditions

ردیف No.	Trait	صفت	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1.	Membrane stability index	شاخص پایداری غشاء	1									
2.	T_{EL50}	دمای کاهنده ۵۰ درصد نشت الکترولیت‌ها	0.04	1								
3.	Survival percentage	درصد بقا	0.15	0.28	1							
4.	LT_{50su}	دمای کاهنده ۵۰ درصد بقا	-0.12	-0.21	-0.79**	1						
5.	Plant height	ارتفاع بوته	0.23	0.18	0.73**	-0.58**	1					
6.	RHT_{50}	دمای کاهنده ۵۰ درصد ارتفاع	0.12	0.12	0.65**	-0.32*	0.51**	1				
7.	Leaf area	سطح برگ	0.20	0.09	0.73**	-0.59**	0.91**	0.47**	1			
8.	$RLAT_{50}$	دمای کاهنده ۵۰ درصد برگ	0.15	0.40*	0.61**	-0.32*	0.45**	0.67**	0.44**	1		
9.	Shoot dry weight	وزن خشک	-0.10	0.33*	0.51**	-0.25	0.44**	0.53**	0.44**	0.61**	1	
10.	$RDMT_{50}$	دمای کاهنده ۵۰ درصد ماده خشک	-0.24	-0.05	0.45**	-0.32*	0.28	0.36*	0.22	0.25	0.15	1

*and**: Significant at the 5% and 1% probability levels, respectively.

* و **: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد و یک درصد.

T_{EL50}: Temperature causing 50% electrolyte leakage, LT_{50su}: Lethal temperature 50% of plants according to the survival percentage, $RLAT_{50}$: Reduced temperature 50% of leaf area, RHT_{50}: Reduced temperature 50% of plant height, $RDMT_{50}$: Reduced temperature 50% of dry matter.

بین ژنوتیپ‌ها از لحاظ دمای کاهنده پنجاه درصد وزن خشک شاخساره ($RDMT_{50}$) تفاوت معنی‌دار به وجود داشت (جدول ۴). تعداد زیادی از ژنوتیپ‌ها توانایی حفظ وزن خشک ۵۰ درصدی خود تا دمای پایین‌تری را داشتند (جدول ۵). به‌این‌ترتیب که ۸۸ درصد از ژنوتیپ‌ها با کمترین میزان $RDMT_{50}$ خود تفاوت معنی‌داری نداشتند که این مطلب حاکی از تحمل بالا به سرما در آن‌ها بود. ژنوتیپ‌های MLC8 و MLC286 با $RDMT_{50}$ تا حدود ۱۶/۷- درجه سانتیگراد بیشترین توان برای حفظ وزن خشک خود را داشتند. در نقطه مقابل ژنوتیپ MLC74 با $RDMT_{50}$ معادل ۱۳/۴- درجه سانتیگراد کمترین تحمل به سرما را ازنظر افزایش وزن خشک شاخساره در دوره بازیافت داشت (جدول ۵).

در مطالعه اثر دماهای یخزدگی بر وزن خشک نمونه‌های خوسرما شده چهار لگوم یک‌ساله شامل دو گونه شبدر شامل *Trifolium subterraneum* L. ssp. *brachycalycinum* cv. Clare و *T. michelianum* Savi cv. Giorgia و دو گونه یونجه شامل *Medicago polymorpha* L. cv. Anglona و *M. truncatula* Gaertn. cv. Paraggio مشخص شد که $RDMT_{50}$ در گونه‌های مختلف شبدر و یونجه متفاوت بود. به‌طوری‌که $RDMT_{50}$ در ارقام Clare، Giorgia، Anglona و Paraggio به ترتیب تقریباً برابر با ۷/۵-، ۸/۵-، ۶/۸- و ۵/۵- درجه سانتیگراد بود. بنابراین گونه‌ای که کمترین میزان $RDMT_{50}$ را داشت توانایی تحمل بیشتری به دماهای یخزدگی در کاهش ۵۰ درصد وزن خشک خود را داشت (Hekneby *et al*., 2006).

نتایج آزمایش مذکور حاکی از آن است که پس از چهار هفته دوره بازیافت، گونه‌هایی که خوسرما نشدند نسبت به گونه‌هایی که خوسرما شدند $RDMT_{50}$ بیشتری داشتند که نشان‌دهنده حساسیت بالای آن‌ها به دماهای یخزدگی است. بنابراین در ژنوتیپ‌های عدس موردبررسی نیز احتمالاً علاوه بر پتانسیل ژنتیکی ژنوتیپ‌ها در تحمل به دماهای یخزدگی، خوسرمایی مناسب عاملی مهم در بهبود تحمل به سرما تلقی می‌شود.

وزن خشک شاخساره گیاهان در پایان دوره بازیافت همبستگی مثبت و معنی‌داری ($r = ۰/۵۱^{**}$) با درصد بقا داشت (جدول ۶). به عبارتی با افزایش درصد بقا وزن خشک گیاهان در پایان دوره بازیافت پس از تنش نیز افزایش‌یافت. وزن خشک شاخساره ژنوتیپ‌های عدس با ارتفاع بوته و سطح برگ نیز همبستگی مثبت و معنی‌داری ($r = ۰/۴۴^{**}$) داشت. همچنین همبستگی مثبت و معنی‌داری ($r = ۰/۴۵^{**}$) بین درصد بقا و $RDMT_{50}$ مشاهده شد (جدول ۶). به عبارتی هرچه گیاهان از تحمل به یخزدگی بالاتری برخوردار باشند، کاهش ۵۰ درصدی وزن خشک در آن‌ها در دماهای پایین‌تر اتفاق می‌افتد. درمجموع تنش یخزدگی منجر به کاهش درصد بقا و توانایی رشد مجدد در

ژنوتیپ‌های مورد مطالعه عدس شد.

با توجه به این‌که بیشترین درصد فراوانی ژنوتیپ‌های عدس در دمای ۱۳- و ۱۵- درجه سانتیگراد ازنظر درصد بقا متعلق به گروه خیلی مقاوم به سرما و بیشترین درصد فراوانی ژنوتیپ‌ها در دمای ۱۸- درجه سانتیگراد متعلق به گروه کاملاً حساس به سرما بود. به نظر می‌رسد تعداد زیادی از ژنوتیپ‌های عدس تحمل مناسب برای مواجهه با تنش یخ‌زدگی داشتند.

علاوه بر این، نتایج سایر صفات موردمطالعه شامل ارتفاع بوته، سطح برگ و وزن خشک شاخساره نیز حاکی از آن بود که ژنوتیپ‌های عدس به‌خوبی توان تحمل به دماهای ۱۳- و ۱۵- درجه سانتیگراد را داشتند و این موضوع مبین پتانسیل بالای آنها برای کاشت در فصل پاییز است . بنابراین نتایج این پژوهش می تواند برای استفاده در برنامه های به‌نژادی عدس برای مناطق هدف با دمای حداقل ۱۵- درجه سانتیگراد مورد استفاده قرار گیرد.

سپاسگزاری

هزینه اجرای این مطالعه از محل طرح مصوب با کد ۴۸۰۲۱ در معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد تأمین‌شده است که بدین‌وسیله سپاسگزاری می شود.

References

Anderson, J. A., Kenna, M. P., and Taliaferro, C. M. 1988. Cold hardiness of "Midiron" and "Tifgreen" bermudagrass. Horticultural Science 23: 748-750.

Arisz, S. A., Heo, J. Y., Koevoets, I. T., Zhao, T., van Egmond, P., Meyer, A. J., Zeng, W., Niu, X., Wang, B., Mitchell-Olds, T., Schranz, M. E., and Testerink, Ch. 2018. Diacylglycerol acyltransferase1 contributes to freezing tolerance. Plant Physiology 177 (4): 1410-1424.

Bagheri, A., Nezami, A., and Hojjat, S. 2004. Evaluation of cold tolerance in lentil for fall planting in the highlands of Iran. Final report of research project, Ferdowsi University of Mashhad (in Persian).

Dalmannsdottir, S., Jørgensen, M., Rapacz, M., Østrem, L., Larsen, A., Rødven, R., and Rognli, O.A. 2017. Cold acclimation in warmer extended autumns impairs freezing tolerance of perennial ryegrass (*Lolium perenne*) and timothy (*Phleum pratense*). Physiologia Plantarum 160 (3): 266-281.

FAOSTAT, 2017. Food and Agriculture Organization of the United Nations.

http://www.fao.org/faos tat/en/#data/QC. Latest accessed on 20 January 2018.

Gholami Rezvani, N., Nezami, A., Kafi, M., and Nabati, J. 2019. Evaluation of lentil (*Lens culinaris*) genotypes for autumn sowing in cold temperate regions under field conditions. Electronic Journal of Crop Production 11 (4): 142-147 (in Persian).

Gilmour, S.J., Hajela, R.K., and Thomashow, M.F. 1988. Cold acclimation in *Arabidopsis thaliana*. Plant Physiology 87: 745-50.

Gonzalez Ponce, R., Zancada, C., Verdugo, M., and Salas, L. 1996. Plant height as a factor in competition between black nightshade and two horticultural crops (tomato and pepper). Journal of Horticultural Science 71 (3): 453-460.

Gusta, L.V., O'Connor, B. J., and MacHutcheon, M. G. 1997. The selection of superior winter-hardy genotypes using a prolonged freeze test. Canadian Journal of Plant Science 77 (1): 15-21.

Hao, W., Arora, R., Yadav, A. K., and Joshee, N. 2009. Freezing tolerance and cold acclimation in guava (*Psidium guajava* L.). HortScience 44 (5): 1258-1266.

Heidarvand, L., and Maali Amiri, R. M. 2010. What happens in plant molecular responses to cold stress? Acta Physiologiae Plantarum 32 (3): 419-431.

Hekneby, M., Antolin, M. C., and Sanchez-Diaz, M. 2006. Frost resistance and biochemical changes during cold acclimation in different annual legumes. Environmental and Experimental Botany 55: 305-314.

Hincha, D. K., Schaarschmidt, S., Fischer, A., Erban, A., Pagter, M., Mubeen, U., Walther, D., Giavalisco, P., Kopka, J., Sprenger, H., and Zuther, E. 2018. Cold acclimation, deacclimation and memory in Arabidopsis. pp. 228. In: Plant biology abstracts of the Society of Experimental Botany, Florence 2018.

Hojjat, S. S., Bagheri, A. R., and Nezami, A. 2007. Evaluation of lentil germplasm for cold tolerance in order to fall in highlands of Iran. Journal of Agriculture Science 1: 19-31.

Hojjat, S. S., and 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 (14): 1364-1370.

Hoover, R., Hughes, T., Chung, H. J., and Liu, Q. 2010. Composition, molecular

structure, properties, and modification of pulse starches: a review. Food Research International 43 (2): 399-413.

Kocsy, G., Galiba, G., and Brunold, C. 2001. Role of glutathione in adaptation and signalling during chilling and cold acclimation in plants. Physiologia Plantarum 113 (2): 158-164.

Lee, M. H. 2001. Low temperature tolerance in rice: the Korean experience. pp. 138-141. In: Fukai, S., and Basnayake, J. (eds.) ACIAR proceedings 101: increased lowland rice in the Mekong region.

Liu, L., Ji, H., An, J., Shi, K., Ma, J., Liu, B., Tang, L., Cao, W., and Zhu, Y. 2019. Response of biomass accumulation in wheat to low-temperature stress at jointing and booting stages. Environmental and Experimental Botany 157: 46-57.

Liu, W., Yu, K., He, T., Li, F., Zhang, D., and Liu, J. 2013. The low temperature induced physiological responses of *Avena nuda* L., a cold-tolerant plant species. The Scientific World Journal: 1-7.

Murray, G. A., Eser, D.L., Gusta, V., and Eteve, G. 1988. Winter hardiness in pea, lentil, faba bean and chickpea. pp. 831-843. In: Summerfield, R. J. (ed.) world crops: cool season food legumes. Kluwer Academic Publishers, the Netherlands.

Nayyar, H., Bains, T. S., and Kumar, S. 2005. Chilling stressed chickpea seedlings: effect of cold acclimation, calcium and abscisic acid on cryoprotective solutes and oxidative damage. Environmental and Experimental Botany 54: 275-285.

Nezami, A., Bagheri, A. R., Rahimian, H., Kafi, M., Nasiri-Mahalati, M. 2006. Evaluation of freezing tolerance in chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes under controlled conditions. Journal of Sciences and Technology of Agriculture and Natural Resources 10: 257-268 (in Persian).

Nezami, A., Khamadi, N., Khajehosiny, M., Bagheri, A. 2011. Evaluation of drought tolerance in cold hardy lentils (*Lens culinaris* medik.) at germination stage. Iranian Journal of Field Crops Research 8 (1): 138-146 (in Persian).

Nezami, A., Sanjani, S., Ziaee, M., Soleimani, M., Nassiri-Mahallatia, M., and Bannayan, M. 2012. Evaluation of freezing tolerance of cumin (*Cuminum cyminum* L.)

under controlled conditions. Agricultura 81 (1-2): 75-84.

Østrem, L., Rapacz, M., Larsen, A., Marum, P., and Rognli, O. A. 2018. Chlorophyll a fluorescence and freezing tests as selection methods for growth cessation and increased winter survival in ×*Festulolium*. Frontiers in Plant Science 9:1200. DOI: 10.3389/fpls.2018.01200

Palliotti, A., and Bongi, G. 1996. Freezing injury in the olive leaf and effects of mefluidide treatment. Journal of Horticultural Science 71 (1): 57-63.

Pescador, D. S., Sánchez, A. M., Luzuriaga, A. L., Sierra-Almeida, A., and Escudero, A. 2017. Winter is coming: plant freezing resistance as a key functional trait for the assembly of annual Mediterranean communities. Annals of Botany 121 (2): 335-344.

Premachandra, G. S., Saneoka, H., Kanaya, M., and Ogata, S. 1991. Cell membrane stability and leaf surface wax content as affected by increasing water deficits in maize. Journal of Experimental Botany 42 (2): 167-171.

Repkova, J., Brestic, M., and Olsovska, K. 2009. Leaf growth under temperature and light control. Plant, Soil and Environment 55: 12: 551-557.

Rife, C. L., and Zeinali, H. 2003. Cold tolerance in oilseed rape over varying acclimation durations. Crop Science 43 (1): 96-100.

Sarker, A., and Erskine, W. 2006. Recent progress in the ancient lentil. The Journal of Agricultural Science 144 (1): 19-29.

Schulz, E., Tohge, T., Zuther, E., Fernie, A. R., and Hincha, D. K. 2016. Flavonoids are determinants of freezing tolerance and cold acclimation in *Arabidopsis thaliana*. Scientific Reports 6: 34027.

Singh, K. B., Malhotra, R. S., and Saxena, M. C. 1995. Additional sources of tolerance to cold in cultivated and wild *Cicer* species. Crop Science 35 (5): 1491-1497.

Singh, N., and Singh, G. 2016. Response of lentil (*Lens culinaris* Medikus) to phosphorus-a review. Agricultural Reviews 37 (1). 27-34.

Sulk, R.M., Albrecht, K. A., and Duke, S. H. 1991. Leakage of intra cellular substances as an indicator of freezing injury in alfalfa. Journal of Crop Science 31:

430-435.

Summerfield, R. J. 1981. Adaptation to environment in lentils. pp. 91-110. In: Webb, C., and Hatwin, G. (eds.) lentils. Common Wealth Agricultural Bureau. Farnhan Royal, UK.

Thalhammer, A., Hincha, D. K., and Zuther, E. 2014. Measuring freezing tolerance: electrolyte leakage and chlorophyll fluorescence assays. Plant cold acclimation: methods and protocols. Methods in Molecular Biology 1166: 15-24.

Thavarajah, D., Thavarajah, P., and Agrwal, S. K. 2013. Lentils (*Lens culinaris* L.): linking whole foods for better human health. pp. 193-207. In: Satou, H., and Nakamura, R. (eds.) Legumes: types, nutritional compostion and health benefets. Nova Sciences Publishers.

Venaei, S., Siosemarde, A. and Heydari, Gh. R. 2011. The effects of cold stress in germination stage and seedling on the activity of antioxidant enzymes and some physiological traits in pea (*Cicer arietinum*). Iranian Journal of Field Crops Research 9: 514-524 (in Persian).

Weraduwage, S. M., Chen, J., Anozie, F. C., Morales, A., Weise, S. E., and Sharkey, T. D. 2015. The relationship between leaf area growth and biomass accumulation in *Arabidopsis thaliana*. Frontiers in Plant Science 6: 167. DOI: 10.3389/fpls.2015.00167.

Wery, J. 1990. Adaptation to frost and drought stress in chickpea and implication in plant breeding. pp. 77–85. In: Saxena, M. C., Cubero, J. I., and Wery, J. (eds.) present status and future prospect of chickpea crop production and improvement in the Mediterranean countries. Spain, CIHEAM.

Wisniewski, M., Glenn, D. M., and 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 (3): 358-364.

Yazdi Samadi, B., Majnoon Hosaini, N., and Peighambari, A. 2004. Evaluation of cold hardiness in lentil (*Lens culinaris*) genotypes. Seed and Plant Journal 20: 23-37 (in Persian).