

The chlorophyll fluorescence parameters response of lentil (*Lens culinaris* Medik.) genotypes to freezing stress

J. Nabati^{1*}, A. Nezami², S.M. Mirmiran³, A.R. Hasanfard⁴, M.J. Ahmadi Lahijani⁴

1- Research Center for Plant Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Iran. 2- Faculty of Agriculture and Research Center for Plant Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Iran. 3- Khorasan-e-razavi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Mashhad, Iran 4- Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.

(Received: November 15, 2020 - Accepted: January 2, 2021)

ABSTRACT

A factorial experiment in a randomized complete block design with three replications was carried out to evaluate the freezing tolerance of 40 lentil genotypes, at the Research Center for Plant Science, Ferdowsi University of Mashhad, in 2017-2018. The status of chlorophyll fluorescence parameters was studied in eight genotypes (seven tolerant: MLC11, MLC12, MLC17, MLC38, MLC95, MLC409, and MLC410 and one intolerant: MLC9) and five time periods (before stress, 12, 24, 48, and 72 hours) exposed to freezing temperatures (-13, -15 and -18°C) for one hour. The results showed that the value of F_m in MLC409, 72 hours after freezing stress, was slightly different from its value in the early hours. The maximum efficiency of photosystem II (F'_v/F'_m) was not affected by temperature decline from -13 to -18°C. MLC9 F'_v/F'_m , however, decreased by 26% when the temperature declined from -13 to -18°C. Furthermore, F'_v/F'_m decreased by 14% at -18°C 24h after the freezing stress, which was the greatest decrease compared to -13 and -15°C. However, 48 h after freezing stress, the optimal recovery trend was evident at all temperatures. Although the operational efficiency of photosystem II (F'_v/F'_m) decreased at all three temperatures, 24 h after the freezing stress, this decrease was greater at -18°C than at other temperatures. Except for the MLC9, other genotypes, especially MLC12, could improve freezing stress damage 24 h after stress and gradually return to F'_v/F'_m before freezing stress. In general, the freezing-tolerant genotypes and in addition to the survival rate of more than 80% at -18°C, showed a high potential to restore the photosystemII performance, which can be considered for further studies for autumn cultivation in cold and highland regions.

Keywords: F'_v/F'_m , photosystem II, recovery, selectivity, survival.

بررسی پاسخ عوامل فلورسانس کلروفیل ژنوتیپ‌های عدس (*Lens culinaris* Medik.) به تنش یخ‌زدگی

جعفر نباتی^{۱*}، احمد نظامی^۲، سیده محبوبه میرمیران^۳، علیرضا حسن فرد^۴، محمد جواد احمدی لاهیجانی^۴

۱- استادیار گروه بقولات، پژوهشکده علوم گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد، ۲- استاد گروه آگروتکنولوژی و پژوهشکده علوم گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد، ۳- استادیار پژوهشی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد ۴ و ۵- دانشجوی دکتری و استادیار گروه آگروتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۸/۲۵ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۰/۱۳)

چکیده

تحمل به یخ‌زدگی ۴۰ ژنوتیپ عدس در دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۱۳۹۶ ارزیابی شد. وضعیت فلورسانس کلروفیل هفت ژنوتیپ متحمل (MLC11، MLC12، MLC17، MLC38، MLC95، MLC409، MLC410) و یک ژنوتیپ حساس (MLC9) به یخ‌زدگی در پنج دوره زمانی (قبل از تنش، ۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت) پس از اعمال دمای های ۱۳-، ۱۵- و ۱۸- درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت، به صورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار بررسی شد. مقدار F'_m در ژنوتیپ MLC409 در ۷۲ ساعت پس از تنش یخ‌زدگی، اختلاف اندکی با مقدار آن در ساعات اولیه داشت. کاهش دما از ۱۳- به ۱۸- درجه سانتی‌گراد در ژنوتیپ‌های منتخب بر بیشینه‌ی کارایی پتانسیل فتوسیستم II (F'_v/F'_m) معنی‌داری نبود. این درحالی است که در ژنوتیپ MLC9، کاهش دما از ۱۳- به ۱۸- درجه سانتی‌گراد، منجر به کاهش ۲۶ درصدی F'_v/F'_m شد. همچنین ۲۴ ساعت پس از تنش یخ‌زدگی، F'_v/F'_m در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد با ۱۴ درصد کاهش مواجه شد که بیش‌ترین کاهش در مقایسه با دماهای ۱۳- و ۱۵- درجه سانتی‌گراد بود، اما ۴۸ ساعت پس از تنش یخ‌زدگی روند مطلوب بازیافت در هر سه دمای یخ‌زدگی مشهود بود. هرچند که ۲۴ ساعت پس از تنش یخ‌زدگی، کارایی عملیاتی فتوسیستم II (F'_v/F'_m) در هر سه دما کاهش یافت، اما این کاهش در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد نسبت به سایر دماها بیشتر بود. همچنین به‌غیر از ژنوتیپ MLC9، سایر ژنوتیپ‌ها به‌ویژه ژنوتیپ MLC12 توانایی بهبود آسیب تنش یخ‌زدگی ۲۴ ساعت پس از تنش و بازگشت تدریجی به F'_v/F'_m قبل از تنش یخ‌زدگی را داشتند. به‌طور کلی، هفت ژنوتیپ منتخب، علاوه بر درصد بقای بیش از ۸۰ درصد در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد، از پتانسیل بالایی در بازیابی عملکرد فتوسیستم II در این دما برخوردار بودند که می‌توانند برای مطالعات تکمیلی جهت کشت پاییزه در مناطق سرد و مرتفع مورد ارزیابی قرار گیرند.

* Corresponding author E-mail: jafarnabati@ferdowsi.um.ac.ir

واژه‌های کلیدی: بازیافت، بقا، به‌گزینی، فتوسیستم II، $F'v/F'm$.

مقدمه

کشت عدس (*Lens culinaris* Medik.) به‌عنوان یکی از مهم‌ترین حبوبات غنی از پروتئین و ریزمغذی‌های ارزشمند در سطح جهان، به‌ویژه در کشورهای درحال توسعه رایج است (Nosworthy *et al.*, 2018). علاوه بر این، توانایی تثبیت نیتروژن توسط این گیاه در بهبود حاصلخیزی و سلامت خاک مؤثر است (Quinn, 2009) که می‌تواند در تناوب با غلات نیز قرار گیرد. تولید این گیاه در سال ۲۰۱۸ به بیش از شش میلیون تن در جهان رسید که سهم ایران از این مقدار، حدود ۷۹ هزار تن بود (FAOSTAT, 2018)، به‌طوری‌که مطابق آمارنامه کشاورزی ایران، در سال زراعی ۹۶-۱۳۹۵ عدس با سطح برداشت ۱۷/۱ درصد، رتبه سوم در بین حبوبات را به خود اختصاص داد (Iran Agriculture Statistics, 2017).

یکی از مهم‌ترین محدودیت‌های کاشت بهاره در حبوباتی همچون عدس، طول دوره رویشی کوتاه و مواجهه دوره گل‌دهی آن با تنش‌های گرما و خشکی و در نتیجه کاهش شدید عملکرد است؛ بنابراین به‌منظور افزایش طول دوره رشد و بهره‌مندی مناسب از نزولات آسمانی، رویکرد کاشت پاییزه عدس ضروری است (Link *et al.*, 2010; Sanchez-Gomez *et al.*, 2019). از همین رو با توجه به وقوع تنش یخ‌زدگی در فصول پاییز و زمستان، به‌گزینی ژنوتیپ‌های عدس متحمل به یخ‌زدگی با عملکرد بالا در شرایط مناطق مرتفع ایران باید در اولویت قرار گیرد.

تنش یخ‌زدگی یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده رشد گیاهان است (Pescador *et al.*, 2017). وقوع یخ‌زدگی‌های ناگهانی در پاییز و کاهش شدید دما در طول زمستان و اوایل بهار، باعث کاهش عملکرد گیاه به میزان قابل‌توجهی می‌شود. در همین راستا، پژوهشگران گزارش کردند که در گیاه عدس با افزایش شدت یخ‌زدگی، درصد بقای نمونه‌ها کاهش می‌یابد (Nezami *et al.*, 2013)، به‌طوری‌که در دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد، درصد بقای گیاهان، حدود ۵۶ درصد بود، ولی در دماهای کمتر، هیچ‌یک از گیاهان

در ژنوتیپ‌های مورد بررسی زنده نماندند. بر همین اساس، پژوهشگران ارزیابی درصد بقای گیاهان پس از تنش یخ‌زدگی را به‌عنوان یکی از راهکارهای مناسب برای سنجش میزان تحمل به یخ‌زدگی در گیاهان پیشنهاد دادند (Kim & Anderson, 2006)؛ بنابراین چنانچه نتایج حاصل از بررسی عوامل فلورسانس کلروفیل همبستگی بالایی با بقای گیاهان پس از تنش یخ‌زدگی داشته باشند، می‌توانند به‌عنوان عوامل مهمی در سنجش گیاهان برای تحمل به یخ‌زدگی مورد استفاده قرار گیرند. در همین زمینه، همبستگی بالایی بین درصد بقا در شرایط کنترل شده با حداکثر عملکرد کوانتومی فتوسیستم II در لاین‌های اصلاحی و ارقام گندم (*Triticum aestivum*) مشاهده شده است (Rapacz *et al.*, 2015).

اندازه‌گیری عوامل فلورسانس کلروفیل، یک روش مؤثر و غیرتخریبی است که به‌منظور تشخیص خسارت وارد شده به گیاهانی که در معرض تنش‌های غیرزیستی هستند، مورد استفاده قرار می‌گیرد (Baker & Rozenqvist, 2004). عوامل فلورسانس کلروفیل به دلیل ارتباط نزدیک با دستگاه فتوسنتزی و در نهایت رشد و عملکرد گیاهان، شاخص‌های مناسبی جهت بررسی تنش در گیاهان محسوب می‌شوند (Rivero *et al.*, 2014). این عوامل نظیر بیشینه کارایی پتانسیل فتوسیستم II در شرایط سازگار شده با نور، کارایی عملیاتی فتوسیستم II در شرایط سازگار شده با نور، ضریب خاموشی فتوشیمیایی و ضریب باز بودن مراکز واکنش فتوسیستم II می‌توانند جهت انجام مطالعات فتوسنتزی در گیاهانی که در معرض تنش قرار گرفته‌اند، مورد استفاده قرار گیرند (Zhou *et al.*, 2017). تنوع در میزان فلورسانس کلروفیل در گیاهان تحت تنش، مشاهده شد که این تغییرات بسته به رقم، شدت و مدت زمان تنش متفاوت است (Cao *et al.*, 2015).

بررسی روند بیشینه کارایی فتوسیستم II تحت تأثیر دماهای یخ‌زدگی در گیاه نوروک (*Salvia leriifolia*)

میزان $F'_{\sqrt{F'_m}}$ از ۰/۴۵۱ تا ۰/۶۶۴ متغیر بود و ۱۹ ژنوتیپ، دارای پایین‌ترین و ۱۱ ژنوتیپ، دارای بالاترین مقدار از این شاخص بودند و به ترتیب در گروه‌های حساس و متحمل به تنش سرما قرار گرفتند (Zhou et al., 2018).

با وجود مزایای کشت پاییزه عدس در مقایسه با کشت بهاره، به‌گزینی برای تحمل به یخ‌زدگی در فصول پاییز و زمستان برای کاشت در مناطق مرتفع ضروری است؛ بنابراین آزمایش حاضر به‌منظور ارزیابی روند بازیابی ژنوتیپ‌های منتخب عدس پس از تنش یخ‌زدگی با استفاده از عوامل فلورسانس کلروفیل در شرایط کنترل شده انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در شرایط کنترل شده در پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۱۳۹۶، به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. عوامل مورد بررسی شامل ۴۰ ژنوتیپ منتخب عدس (با منشأ ایران) (جدول ۱) و سه دمای یخ‌زدگی (۱۳-، ۱۵- و ۱۸- درجه سانتی‌گراد) بود.

(Benth.) نشان داد که این شاخص تا دمای ۶- درجه سانتی‌گراد، تحت تأثیر قرار نگرفت، اما با کاهش تدریجی دما به ۲۲- درجه سانتی‌گراد، ۷۰ درصد در مقایسه با دمای صفر کاهش یافت، به‌طوری‌که گزارش شد که کاهش تدریجی $F'_{\sqrt{F'_m}}$ (بیشینه کارایی کوانتومی فتوسنتز II) در دوره بازیابی در تیمارهای دمایی کمتر از ۹- درجه سانتی‌گراد، به‌علت اختلال در فعالیت‌های فتوسنتزی گیاه در نتیجه تنش یخ‌زدگی است (Dashti et al., 2016). در بین ژنوتیپ‌های عدس تحت تنش یخ‌زدگی، کاهش دما از صفر به ۱۲- درجه سانتی‌گراد، سبب کاهش نسبت $F'_{\sqrt{F'_m}}$ در تمامی ژنوتیپ‌ها شد و از لحاظ درصد کاهش در بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، تنوع وجود داشت. تفاوت بالاترین نسبت $F'_{\sqrt{F'_m}}$ در ژنوتیپ MLC7 با پایین‌ترین آن در ژنوتیپ رباط حدود ۱۶ درصد بود (Nezami et al., 2013). در بررسی شاخص $F'_{\sqrt{F'_m}}$ بر اساس نتایج تجزیه خوشه‌ای در ۱۲۷ ژنوتیپ باقلا (*Vicia faba* L.) تحت تیمار سرمایی با دمای مشابه دو درجه سانتی‌گراد در روز و شب، ژنوتیپ‌ها به چهار گروه مجزا تفکیک شدند، به‌طوری‌که در گروه اول، ۱۹ ژنوتیپ، در گروه دوم، ۴۳ ژنوتیپ، در گروه سوم، ۵۴ ژنوتیپ و در گروه چهارم، ۱۱ ژنوتیپ قرار گرفتند.

جدول ۱- ژنوتیپ‌های عدس مورد استفاده در آزمایش

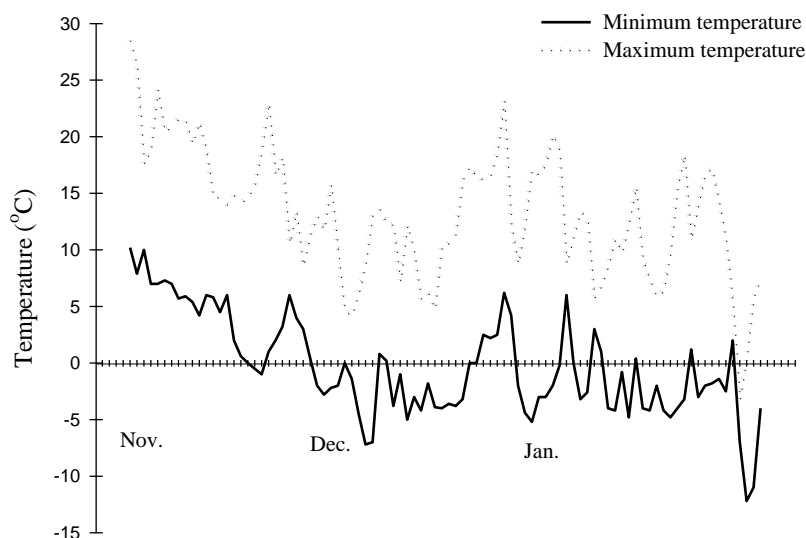
Table 1. Lentil genotypes used in the experiment

No.	Genotype	No.	Genotype	No.	Genotype	No.	Genotype
1.	MLC8 [†]	11.	MLC33	21.	MLC84	31.	MLC334
2.	MLC9	12.	MLC38	22.	MLC91	32.	MLC337
3.	MLC11	13.	MLC47	23.	MLC95	33.	MLC394
4.	MLC12	14.	MLC55	24.	MLC103	34.	MLC407
5.	MLC13	15.	MLC61	25.	MLC151	35.	MLC409
6.	MLC16	16.	MLC70	26.	MLC163	36.	MLC410
7.	MLC17	17.	MLC71	27.	MLC169	37.	MLC454
8.	MLC22	18.	MLC74	28.	MLC253	38.	MLC458
9.	MLC29	19.	MLC81	29.	MLC286	39.	MLC469
10.	MLC31	20.	MLC83	30.	MLC303	40.	MLC472

[†]کلکسیون عدس پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد (MLC: Mashhad Lentil Collection)

استقرار کامل گیاهچه‌ها، تعداد آن‌ها به ۱۰ بوته در هر گلدان تنک شد. آبیاری گلدان‌ها هر دو روز یک‌بار انجام شد و به‌منظور کسب فرآیند خوسرمایی، گیاهان تا مرحله رشدی سه تا شش برگی، در شرایط طبیعی نگهداری شدند (شکل ۱).

مطابق با تاریخ معمول کاشت پاییزه عدس در منطقه (مهرماه)، ۱۵ عدد بذر در عمق یک سانتی‌متری گلدان‌های پلاستیکی با قطر ۱۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۱۱ سانتی‌متر و حاوی ۲۵ درصد حجمی شن و ۷۵ درصد حجمی خاک مزرعه کشت شدند. پس از



شکل ۱- دماهای حداقل و حداکثر روزانه مشهد برای خوسرمایی گیاهان در سال ۱۳۹۶

Figure 1. Daily minimum and maximum temperatures of Mashhad for cold acclimation in 2017-2018.

دمایی، بر اساس زمان خارج شدن آن‌ها از فریزر ترموگرادیان با فواصل ۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از اعمال تنش یخ‌زدگی در هر تیمار دمایی با استفاده از دستگاه فلورومتر (مدل OptiScience, Inc) و روی جوان‌ترین برگ کاملاً توسعه‌یافته در تمام ژنوتیپ‌ها، دماهای یخ‌زدگی، قبل از تنش و در هر چهار دوره پس از تنش یخ‌زدگی در تمام تکرارها با استفاده از سه بوته از هر تکرار و تیمار بررسی شد. صفات اندازه‌گیری شده شامل کمینه بازتاب فلورسانس از برگ سازگار شده به نور (F_o)، بیشینه فلورسانس برگ سازگار شده به نور (F_m) و فلورسانس متغیر (F_v) بودند. همچنین با استفاده از این عوامل، شاخص‌های F'_q/F'_m ، F'_v/F'_m و Q_L محاسبه شدند (جدول ۲).

جهت ارزیابی درصد بقا، گلدان‌ها به گلخانه منتقل شدند و پس از چهار هفته، درصد بقای آن‌ها تعیین شد. درصد بقا از طریق شمارش تعداد بوته زنده در هر گلدان و از طریق معادله ۱ محاسبه شد.

$$S(\%) = (P_{af} / P_{bf}) \times 100 \quad \text{معادله ۱}$$

که در این معادله، S : درصد بقا، P_{bf} : تعداد گیاهان قبل از تیمار یخ‌زدگی و P_{af} : تعداد گیاهان زنده چهار هفته پس از اعمال تیمار یخ‌زدگی است.

بر اساس درصد بقا، هفت ژنوتیپ که بقای بالای ۸۰ درصد داشتند، به همراه ژنوتیپ MLC9 که کمترین

گیاهان ۲۴ ساعت قبل از اعمال تنش یخ‌زدگی، آبیاری شدند و سپس برای اعمال دماهای یخ‌زدگی در اواسط بهمن‌ماه، منطبق بر مرحله رشدی مورد نظر و زمان معمول یخ‌بندان در منطقه، به فریزر ترموگرادیان منتقل شدند. در ابتدای آزمایش دمای فریزر پنج درجه سانتی‌گراد بود و پس از قرار دادن نمونه‌های تمام تیمارها و تکرارها، با سرعت دو درجه سانتی‌گراد در ساعت (مطابق الگوی دمایی اقلیم منطقه) کاهش یافت. در دمای ۲- درجه سانتی‌گراد، تشکیل بلورهای یخ توسط پاشش باکتری‌های مولد هسته یخ روی گیاهان انجام شد (Wisniewski *et al.*, 2002).

گیاهچه‌ها بر اساس مدت زمان بروز یخ‌زدگی در شب-های فصل زمستان بر اساس اقلیم طولانی‌مدت منطقه، در هر تیمار دمایی یک ساعت نگهداری شدند. پس از اعمال تیمار و مطابق الگوی دمایی از پیش تعیین شده، نمونه‌ها در دمای مورد نظر از فریزر خارج شدند (Dashti *et al.*, 2016). بلافاصله پس از خروج از فریزر، نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت به اتاقک سرد با دمای 5 ± 2 درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. قبل از قرارگیری نمونه‌ها در معرض دماهای یخ‌زدگی، عوامل فلورسانس کلروفیل برگ از ساعت ۱۰ صبح تا ۱۴ بعد از ظهر در حالت روشنائی اندازه‌گیری شد. روند تغییرات عوامل فلورسانس کلروفیل در هر تیمار

مقایسه میانگین آن‌ها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد و خطای استاندارد انجام شد.

درصد بقا (۵۰ درصد) را دارا بود، جهت جهت ارزیابی روند تغییرات عوامل فلورسانس کلروفیل انتخاب شدند.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با نرم‌افزار Minitab 17 و

جدول ۲- صفات، معادلات و تعاریف عوامل فلورسانس کلروفیل اندازه‌گیری شده در آزمایش (Baker, 2008).

Table 2. Characteristics, equations and description of chlorophyll fluorescence measured in the experiment (Baker, 2008).

Parameter	Formula	Description
F'_m/F'_m	$(F'_m - F'_o)/F'_m$	Maximum efficiency of PSII photochemistry in the light, if all centres were open
$F'_q/F'_m = \Phi_{PSII}$	$(F'_m - F')/F'_m$	PSII operating efficiency: the quantum efficiency of PSII electron transport in the light
qL	$(F_q/F_v)/(F_o/F')$	Estimates the fraction of open PSII centres

نتایج و بحث

درصد بقا

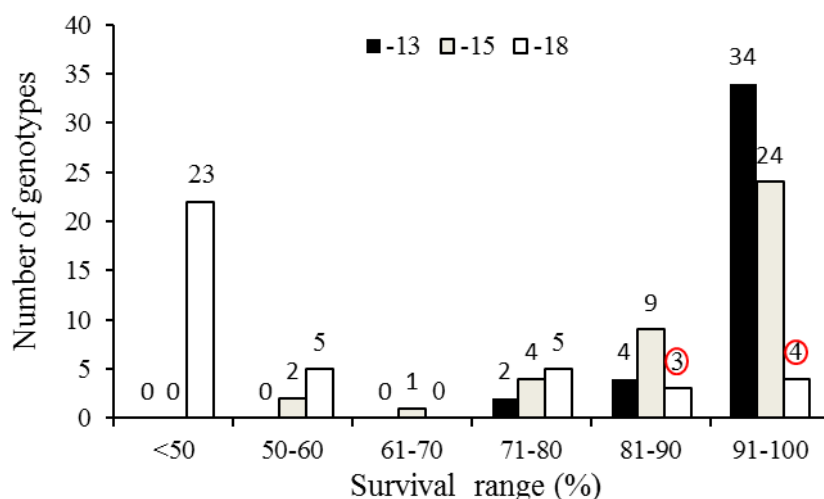
با توجه به اهمیت بقا در به‌گزینی ژنوتیپ‌ها برای تحمل به یخ‌زدگی، بررسی شاخص مذکور و ارتباط احتمالی آن با سایر خصوصیات از اهمیت بالایی برخوردار است (Vyse *et al.*, 2019). بررسی برهمکنش ژنوتیپ و دمای یخ‌زدگی بر درصد بقای گیاهان اختلاف معنی‌داری نشان داد ($p \leq 0.01$)، به‌طوری‌که مقایسه میانگین حاصل از این نتایج نشان داد که با کاهش دما از ۱۳- به ۱۸- درجه سانتی‌گراد، از فراوانی ژنوتیپ‌های عدس که بقای بیش از ۸۰ درصد داشتند کاسته شد (شکل ۲). به‌عبارتی دیگر، در بیشتر ژنوتیپ‌هایی (۲۳ ژنوتیپ) که در معرض دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند، درصد بقا کمتر از ۵۰ درصد بود. در این میان هفت ژنوتیپ از ۴۰ ژنوتیپ مورد بررسی که دارای بقای بیش از ۸۰ درصد در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد بودند (ژنوتیپ‌های MLC11، MLC12، MLC17، MLC38، MLC95، MLC409 و MLC410) همراه با ژنوتیپ MLC9 که در مقایسه با سایر ژنوتیپ‌ها، کمترین بقا و کارایی عملیاتی فتوسینتیم II را داشت، مورد مقایسه قرار گرفتند. از همین رو، تغییرات عوامل فلورسانس کلروفیل نیز به‌منظور تعیین وضعیت فیزیولوژیک گیاه و سنجش خسارت وارد شده به دستگاه فتوسنتز در ژنوتیپ‌هایی با بقای بالا انجام گرفت.

کمینه فلورسانس برگ سازگار شده به نور (F'_o)

برهمکنش ژنوتیپ و دوره بازیابی بر F'_o معنی‌دار بود (جدول ۳). به غیر از ژنوتیپ MLC9، در سایر ژنوتیپ‌های عدس تفاوت معنی‌داری از نظر F'_o قبل از اعمال تنش یخ‌زدگی مشاهده نشد. با این وجود، تنش یخ‌زدگی در تمام ژنوتیپ‌ها، سبب افزایش F'_o در ساعات اولیه پس از تنش یخ‌زدگی در مقایسه با F'_o قبل از اعمال تنش یخ‌زدگی شد. (جدول ۴). بررسی روند تغییرات F'_o نشان داد که در ساعات اولیه پس از تنش یخ‌زدگی، این متغیر با کاهش و سپس افزایش مواجه شد که میزان این افزایش، بسته به ژنوتیپ متفاوت بود، به‌طوری‌که در تمام ژنوتیپ‌های مورد بررسی، میزان شاخص F'_o در ۷۲ ساعت پس از تنش یخ‌زدگی، کمتر از ۱۲ ساعت پس از تنش یخ‌زدگی بود. ژنوتیپ MLC409 با ۳۰ درصد کاهش و ژنوتیپ MLC38 با ۴۹ درصد کاهش، به‌ترتیب کمترین و بیشترین کاهش F'_o را داشتند. تفاوت کمتر F'_o در ۱۲ و ۷۲ ساعت پس از اعمال تنش یخ‌زدگی در ژنوتیپ MLC409 در مقایسه با سایر ژنوتیپ‌ها، نشان‌دهنده توانایی بالای این ژنوتیپ در حفظ فلورسانس کمینه در روشنایی و همچنین بازیافت مطلوب آن است. کاهش F'_o در تمام ژنوتیپ‌ها ۲۴ ساعت پس از تنش یخ‌زدگی، نشان‌دهنده ادامه فعالیت‌های فتوسنتزی به نحو مطلوب است. به‌عبارتی‌دیگر، هرچه شاخص یاد شده کمتر باشد، تثبیت کربن و انتقال الکترون

۲۴ ساعت پس از تنش یخ‌زدگی، روند نزولی و پس از آن روند افزایشی داشت و به مقدار قبل از تنش یخ‌زدگی رسید (Nabati *et al.*, 2018).

سریع‌تر صورت می‌گیرد و زنجیره انتقال الکترون فتوسیستم II به نحو مطلوب‌تری سورت می‌پذیرد. بررسی F'_0 در دو توده باقلا نشان داد که مؤلفه یادشده



شکل ۲- فراوانی ژنوتیپ‌های عدس مورد آزمایش از نظر درصد بقا در سه دمای یخ‌زدگی ۱۳-، ۱۵- و ۱۸- درجه سانتی‌گراد. موارد مشخص شده، هفت ژنوتیپ منتخب متحمل به تنش یخ‌زدگی در این آزمایش را نشان می‌دهند.

Figure 2. Frequency of Lentil genotypes in different survival range at three freezing temperatures (-13, -15 and -18°C). The identified cases show seven selected freezing tolerate genotypes.

جدول ۳- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) عوامل فلورسانس کلروفیل هشت ژنوتیپ عدس در سطوح مختلف تنش یخ‌زدگی و زمان اندازه‌گیری در دوره بازیابی

Table 3. Variance analysis (mean square) of chlorophyll fluorescence parameters of eight lentile genotypes under freezing stress, time measurement and recovery periods.

Source of variation	df	F'_0	F'_m	F'_v	F'_v/F'_m	F'_q/F'_m	qL'
Replication	2	12783*	75782 ^{ns}	55028 ^{ns}	0.045**	0.056**	0.000 ^{ns}
Genotype (G)	7	22828**	234025**	249725**	0.074**	0.081**	0.002 ^{ns}
Temperature (T)	2	11612 ^{ns}	186891**	289859**	0.083**	0.085**	0.000 ^{ns}
Recovery period (R)	4	443947**	5060959**	2709649**	0.094**	0.110**	0.007**
T×G	14	4350 ^{ns}	71994*	67327**	0.014**	0.015**	0.000 ^{ns}
R×G	28	8408**	85817**	56169**	0.008*	0.010**	0.002*
R×T	8	4391 ^{ns}	43904 ^{ns}	52285 ^{ns}	0.010*	0.011*	0.000 ^{ns}
T×R×G	56	3202 ^{ns}	32723 ^{ns}	21934 ^{ns}	0.003 ^{ns}	0.003 ^{ns}	0.000 ^{ns}
Error	238	3841	36667	27188	0.005	0.005	0.001
C.V %	-	23.2	21.3	26.1	10.3	10.6	3.5

تنش یخ‌زدگی در مقایسه با F'_m قبل از اعمال تنش یخ‌زدگی شد.

ژنوتیپ‌های MLC409 و MLC9 به ترتیب با ۳۱ و ۴۸ درصد کاهش، به ترتیب کمترین و بیشترین کاهش F'_m را پس از گذشت ۷۲ ساعت در مقایسه با ۱۲ ساعت پس از تنش یخ‌زدگی داشتند. هرچند که مؤلفه F'_m در ژنوتیپ MLC409 همانند سایر ژنوتیپ‌های مورد بررسی تا ۴۸ ساعت پس از تنش یخ‌زدگی روند کاهشی

بیشینه فلورسانس برگ سازگار شده به نور (F'_m) مؤلفه F'_m تحت تاثیر برهمکنش ژنوتیپ و دوره بازیابی قرار گرفت (جدول ۳). روند تغییرات F'_m در ژنوتیپ‌های مورد بررسی عدس، مشابه تغییرات F'_0 بود و این متغیر نیز پس از اعمال تنش یخ‌زدگی با کاهش مواجه شد و سپس به تدریج در دوره بازیافت افزایش یافت (جدول ۴). همچنین در تمام ژنوتیپ‌ها، تنش یخ‌زدگی سبب افزایش F'_m در ساعات اولیه پس از

تغییرات عوامل فلورسانس کلروفیل در دو توده باقلا (*Vicia faba* L.) نشان داد که مقادیر F'_m تا ۲۴ ساعت پس از اعمال تنش یخ‌زدگی، روند کاهشی داشت، اما پس از آن، به تدریج مقادیر F'_m افزایش یافت، به طوری که روند بازیافت در توده بروجرد مناسب‌تر از توده نیشابور گزارش شد (Nabati *et al.*, 2018).

داشت، اما با توجه به اختلاف نسبتاً اندک این متغیر در ژنوتیپ MLC409 در ساعات اولیه و ۷۲ ساعت پس از تنش یخ‌زدگی، احتمالاً ژنوتیپ مذکور از توانایی بالایی در حفظ بیشینه فلورسانس برگ و بازیافت مناسب ۷۲ ساعت پس از تنش یخ‌زدگی برخوردار است. در آزمایشی مشابه، بررسی روند

جدول ۴- مقایسه میانگین عوامل فلورسانس کلروفیل در ژنوتیپ‌های منتخب عدس در دوره بازیابی

Table 4. Mean comparison of chlorophyll fluorescence parameters in selected lentil genotypes during recovery period.

Genotype	Recovery	F'_o	F'_m	F'_v	F'_q/F'_m	qL'
MLC9	Before stress	315±35.2 ^{c-g}	778±24.2 ^{e-j}	462±43.8 ^{i-m}	0.572±0.05 ^{m-o}	0.994±0.02 ^{cd}
	12	441±58.2 ^{ab}	1262±103.4 ^{cd}	820±110.9 ^{e-e}	0.639±0.05 ^{h-m}	0.997±0.01 ^{cd}
	24	314±33.6 ^{d-g}	729±65.2 ^{f-k}	415±73.8 ^{k-m}	0.543±0.06 ^o	0.996±0.01 ^{cd}
	48	226±13.3 ⁱ⁻ⁿ	689±56.0 ^{h-l}	462±48.8 ^{i-m}	0.663±0.02 ^{f-k}	0.999±0.01 ^{cd}
	72	243±14.6 ^{h-m}	653±79.2 ^{i-l}	410±79.9 ^{l-m}	0.588±0.06 ^{i-o}	0.985±0.01 ^d
MLC11	Before stress	155±10.2 ^o	503±28.3 ^{lm}	348±30.3 ^{mn}	0.646±0.02 ^{g-l}	1.08±0.03 ^a
	12	364±33.1 ^{cd}	1446±74.8 ^{a-c}	1082±47.6 ^{ab}	0.753±0.01 ^{a-c}	0.996±0.01 ^{cd}
	24	316±22.4 ^{c-g}	982±44.6 ^e	666±31.0 ^{f-h}	0.681±0.01 ^{d-j}	0.998±0.01 ^{cd}
	48	215±15.2 ^{i-o}	785±63.3 ^{e-j}	569±49.6 ^{f-j}	0.724±0.01 ^{a-f}	0.999±0.01 ^{cd}
	72	218±12.0 ^{i-o}	830±48.4 ^{e-j}	611±37.9 ^{f-i}	0.744±0.01 ^{a-d}	0.977±0.02 ^d
MLC12	Before stress	208±12.4 ^{j-o}	872±83.5 ^{e-i}	664±72.9 ^{f-h}	0.762±0.01 ^a	0.979±0.03 ^d
	12	358±19.2 ^{cd}	1464±52.1 ^{ab}	1106±40.9 ^a	0.757±0.01 ^{ab}	0.997±0.01 ^{cd}
	24	284±16.9 ^{e-i}	927±47.5 ^{e-g}	643±35.0 ^{f-h}	0.694±0.01 ^{b-i}	0.997±0.01 ^{cd}
	48	212±10.2 ^{j-o}	829±43.1 ^{e-j}	616±33.9 ^{f-h}	0.744±0.01 ^{a-d}	0.998±0.01 ^{cd}
	72	244±16.9 ^{h-m}	946±68.6 ^{ef}	702±52.6 ^{c-g}	0.747±0.01 ^{a-d}	0.997±0.01 ^{cd}
MLC17	Before stress	178±8.3 ^{m-o}	529±61.6 ^{k-m}	350±57.7 ^{mn}	0.646±0.03 ^{g-l}	0.982±0.02 ^d
	12	325±14.7 ^{c-f}	1184±54.6 ^d	859±50.2 ^{cd}	0.724±0.01 ^{a-f}	1.01±0.01 ^{b-d}
	24	284±21.0 ^{e-i}	850±53.9 ^{e-j}	565±42.0 ^{g-k}	0.665±0.02 ^{f-k}	0.997±0.01 ^{cd}
	48	193±8.8 ^{k-o}	728±45.7 ^{f-k}	535±39.1 ^{h-l}	0.738±0.01 ^{a-e}	0.988±0.01 ^d
	72	214±10.6 ^{j-o}	785±41.5 ^{e-j}	571±32.6 ^{f-j}	0.726±0.01 ^{a-f}	0.987±0.01 ^d
MLC38	Before stress	192±10.1 ^{k-o}	631±109.5 ^{j-l}	439±99.6 ^{i-m}	0.612±0.05 ^{k-n}	1.00±0.01 ^{cd}
	12	433±25.7 ^{ab}	1366±86.9 ^{a-d}	932±77.4 ^{bc}	0.675±0.03 ^{e-k}	0.998±0.01 ^{cd}
	24	299±26.4 ^{d-h}	825±58.4 ^{e-j}	526±43.9 ^{h-l}	0.635±0.02 ^{i-m}	0.999±0.01 ^{cd}
	48	236±7.5 ^{h-m}	941±53.1 ^{ef}	705±46.5 ^{c-g}	0.747±0.01 ^{a-d}	0.998±0.01 ^{cd}
	72	224±11.4 ^{i-o}	851±44.7 ^{e-j}	626±34.7 ^{f-h}	0.735±0.01 ^{a-e}	1.00±0.01 ^{cd}
MLC95	Before stress	163±17.1 ^{no}	385±24.8 ^m	221±8.4 ⁿ	0.552±0.01 ^{no}	1.03±0.02 ^{bc}
	12	382±24.2 ^{bc}	1319±73.9 ^{b-d}	937±65.8 ^{bc}	0.707±0.02 ^{ag}	0.998±0.01 ^{cd}
	24	334±28.1 ^{c-e}	877±65.1 ^{e-h}	542±55.4 ^{h-l}	0.611±0.04 ^{k-n}	0.989±0.01 ^d
	48	213±13.8 ^{j-o}	777±69.1 ^{e-j}	563±57.0 ^{g-l}	0.724±0.01 ^{a-f}	0.989±0.01 ^d
	72	255±15.6 ^{g-l}	863±40.7 ^{e-i}	608±38.4 ^{f-i}	0.701±0.02 ^{a-i}	0.999±0.01 ^{cd}
MLC409	Before stress	185±4.9 ^{h-o}	766±49.8 ^{e-j}	580±48.8 ^{f-j}	0.748±0.02 ^{a-c}	1.00±0.01 ^{cd}
	12	332±24.2 ^{c-e}	1224±115.5 ^d	891±92.2 ^c	0.721±0.01 ^{a-f}	0.998±0.01 ^{cd}
	24	277±14.9 ^{e-j}	797±64.3 ^{e-j}	519±58.1 ^{h-l}	0.642±0.02 ^{g-l}	0.999±0.01 ^{cd}
	48	206±10.7 ^{k-o}	765±61.3 ^{e-j}	559±52.7 ^{g-l}	0.727±0.01 ^{a-f}	0.994±0.01 ^{cd}
	72	234±8.8 ^{h-m}	865±44.1 ^{e-i}	630±37.2 ^{f-h}	0.729±0.01 ^{a-f}	0.995±0.01 ^{cd}
MLC410	Before stress	160±13.8 ^{no}	707±101.2 ^{g-k}	546±101.4 ^{h-l}	0.702±0.05 ^{ah}	1.04±0.02 ^b
	12	461±21.9 ^a	1524±111.7 ^a	1062±94.3 ^{ab}	0.688±0.02 ^{e-j}	0.999±0.01 ^{cd}
	24	328±32.0 ^{c-e}	872±49.5 ^{e-i}	543±42.6 ^{h-l}	0.625±0.03 ^{j-m}	0.997±0.01 ^{cd}
	48	224±16.4 ^{i-o}	851±53.4 ^{e-j}	626±38.3 ^{f-h}	0.739±0.01 ^{a-e}	0.997±0.01 ^{cd}
	72	257±11.4 ^{f-k}	979±54.0 ^e	721±48.4 ^{d-f}	0.734±0.02 ^{a-e}	0.996±0.01 ^{cd}

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون، بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد، اختلاف معنی‌داری ندارد. هر یک از مقادیر نشان‌دهنده میانگین و خطای استاندارد آن (±SE) است.

Means followed by the same letter(s) in the same column are not significantly different based on Duncan test ($p < 0.05$). Each value represents the mean and its standard error (±SE).

در ژنوتیپ MLC9، کاهش دما از ۱۳- به ۱۸- درجه سانتی‌گراد، سبب کاهش ۳۰ درصدی $F'm$ شد. در بررسی نه ژنوتیپ گیاه آرابیدوپسیس تالیانا (*Arabidopsis thaliana*) مشخص شد که کاهش دما، موجب کاهش $F'm$ در تمام ژنوتیپ‌ها می‌شود که این کاهش در هشت ژنوتیپ، از دمای ۴- درجه سانتی‌گراد و در یک ژنوتیپ، از دمای ۱- درجه سانتی‌گراد آغاز شد. با کاهش دما تا ۱۵- درجه سانتی‌گراد، کاهش شاخص مذکور در ژنوتیپ‌ها ادامه داشت (Mishra *et al.*, 2011).

عامل $F'm$ به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر برهمکنش ژنوتیپ و دمای یخ‌زدگی قرار گرفت (جدول ۳). مطابق نتایج جدول ۵، هرچند که کاهش دماهای یخ‌زدگی، سبب کاهش $F'm$ در بیشتر ژنوتیپ‌های مورد مطالعه شد، اما روند تغییرات این شاخص به استثنای ژنوتیپ MLC9 در سایر ژنوتیپ‌ها معنی‌دار نبود. در ژنوتیپ یادشده، با کاهش دما از ۱۳- به ۱۸- درجه سانتی‌گراد، $F'm$ روند کاهشی داشت. به عبارتی دیگر، مراکز واکنش فتوسیستم II بسته شدند و این مسئله منجر به کاهش پذیرش الکترون و درنهایت کاهش $F'm$ و کاهش کارایی سیستم شده است. به این ترتیب که

جدول ۵- تاثیر دماهای یخ‌زدگی بر عوامل فلورسانس کلروفیل در ژنوتیپ‌های عدس

Table 5. Effect of freezing temperatures on chlorophyll fluorescence parameters in lentil genotypes

Genotype	Temperature (°C)	F'_m	F'_v	F'_v/F'_m	F'_q/F'_m
MLC9	-13	961±73.2 ^{a-c}	685±63.6 ^{a-d}	0.703±0.02 ^{a-c}	0.703±0.02 ^{a-d}
	-15	837±86.9 ^{c-e}	517±73.6 ^{f-g}	0.591±0.03 ^e	0.586±0.03 ^f
	-18	669±57.4 ^f	341±34.7 ^g	0.518±0.04 ^f	0.514±0.04 ^g
MLC11	-13	861±80.4 ^{a-e}	627±65.8 ^{b-f}	0.718±0.01 ^{a-c}	0.711±0.01 ^{a-d}
	-15	873±90.1 ^{a-e}	637±71.4 ^{b-e}	0.722±0.01 ^{ab}	0.716±0.02 ^{a-c}
	-18	994±101.4 ^{a-c}	703±73.2 ^{a-c}	0.704±0.01 ^{a-c}	0.702±0.02 ^{a-d}
MLC12	-13	998±72.7 ^{a-c}	728±56.5 ^{ab}	0.726±0.01 ^{ab}	0.728±0.01 ^{a-c}
	-15	1019±70.7 ^a	768±57.3 ^a	0.749±0.01 ^a	0.757±0.01 ^a
	-18	1006±87.0 ^{ab}	745±68.6 ^{ab}	0.735±0.01 ^a	0.738±0.01 ^{ab}
MLC17	-13	872±82.0 ^{a-e}	631±65.5 ^{b-f}	0.712±0.02 ^{a-c}	0.719±0.01 ^{a-c}
	-15	847±60.0 ^{b-e}	604±47.4 ^{c-g}	0.704±0.02 ^{a-c}	0.708±0.02 ^{a-d}
	-18	727±56.5 ^{ef}	493±43.4 ^g	0.669±0.02 ^{b-d}	0.673±0.02 ^{c-e}
MLC38	-13	970±87.0 ^{a-c}	693±66.8 ^{ac}	0.703±0.02 ^{a-c}	0.698±0.03 ^{a-d}
	-15	912±85.7 ^{a-d}	649±67.9 ^{a-e}	0.698±0.02 ^{a-c}	0.693±0.02 ^{b-d}
	-18	888±84.0 ^{a-e}	596±63.3 ^{c-g}	0.657±0.02 ^{cd}	0.651±0.03 ^{de}
MLC95	-13	835±86.4 ^{c-e}	570±65.9 ^{d-g}	0.673±0.02 ^{b-d}	0.669±0.02 ^{c-e}
	-15	912±95.6 ^{a-d}	649±76.9 ^{b-e}	0.694±0.02 ^{a-c}	0.689±0.02 ^{b-d}
	-18	785±86.9 ^{d-f}	504±65.1 ^g	0.626±0.03 ^{de}	0.620±0.03 ^{ef}
MLC409	-13	930±83.3 ^{a-d}	680±64.9 ^{a-d}	0.726±0.01 ^{ab}	0.726±0.01 ^{a-c}
	-15	926±66.0 ^{a-d}	670±54.8 ^{a-d}	0.717±0.02 ^{a-c}	0.718±0.02 ^{a-c}
	-18	794±56.0 ^{d-f}	559±47.1 ^{e-g}	0.696±0.02 ^{a-c}	0.698±0.02 ^{a-d}
MLC410	-13	969±97.9 ^{a-c}	705±73.6 ^{a-c}	0.718±0.02 ^{a-c}	0.716±0.02 ^{a-c}
	-15	1025±107.9 ^a	738±81.2 ^{ab}	0.712±0.02 ^{a-c}	0.710±0.02 ^{a-d}
	-18	965±79.4 ^{a-c}	658±64.8 ^{a-e}	0.670±0.03 ^{b-d}	0.667±0.03 ^{c-e}

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارد. هر یک از مقادیر نشان‌دهنده میانگین و خطای استاندارد آن (±SE) است.

Within each column, means followed by the same letter are not significantly different based on Duncan test ($p < 0.05$). Each value represents the mean and its standard error (±SE).

کاسته شد (جدول ۵). به استثنای ژنوتیپ MLC11 که F'_v در آن به علت انتقال مطلوب الکترون از فتوسیستم II روند افزایشی داشت، در سایر ژنوتیپ‌ها، شاخص مذکور با کاهش دماهای یخ‌زدگی از نظر آماری تغییر معنی‌داری نکرد و همین مسئله نشان‌دهنده حساسیت کمتر آن‌ها به تنش یخ‌زدگی است.

فلورسانس متغیر (F'_v)

برهمکنش ژنوتیپ و دمای یخ‌زدگی بر F'_v معنی‌دار بود (جدول ۳)، به‌طوری‌که در ژنوتیپ‌های MLC9 و MLC17 با کاهش دما از ۱۳- به ۱۸- درجه سانتی‌گراد، به ترتیب ۵۰ و ۲۲ درصد از مقدار F'_v

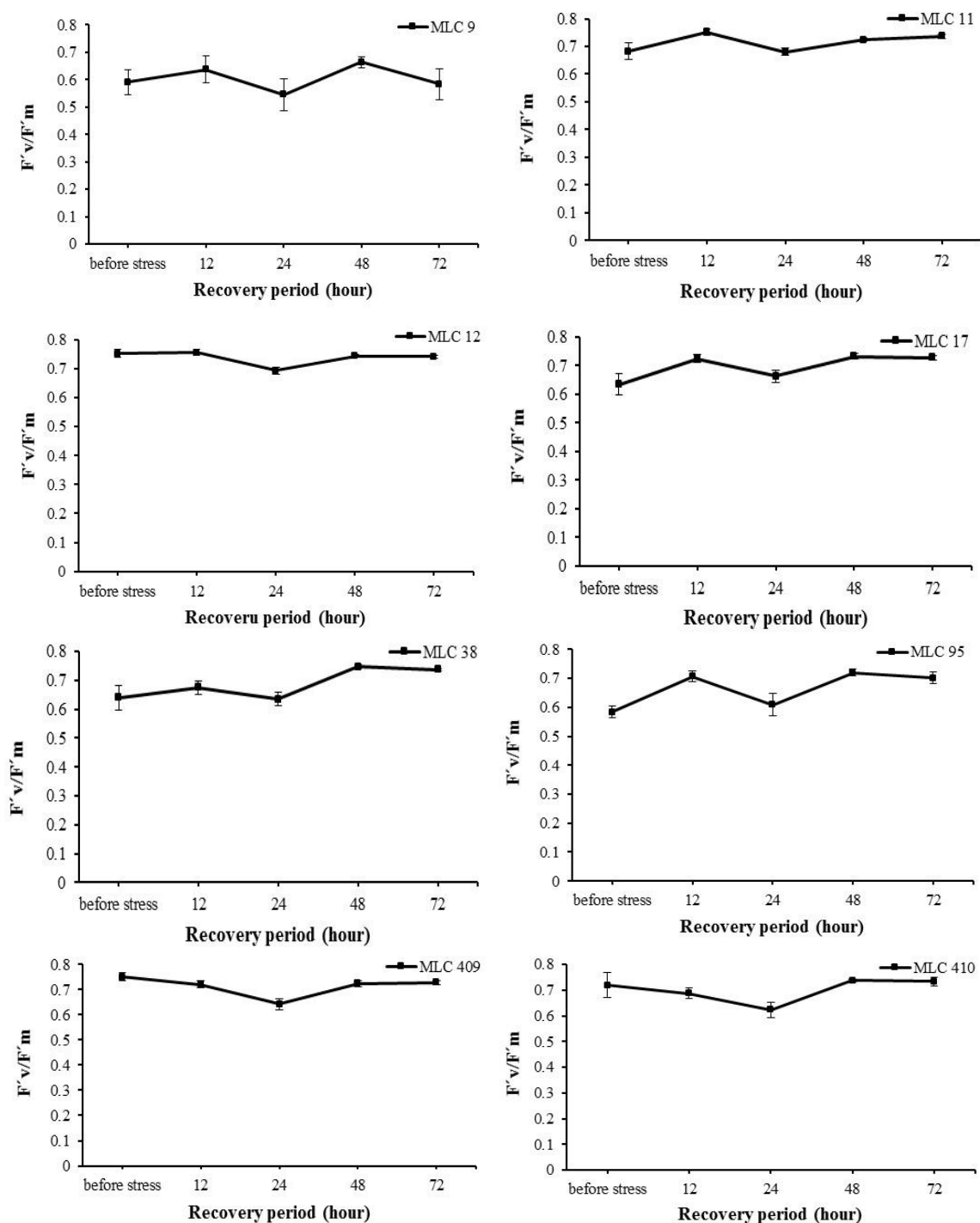
یخ‌زدگی را فراهم کرده است، به طوری که توانایی بهبود آسیب در این ژنوتیپ‌ها در ۷۲ ساعت پس از تنش یخ‌زدگی، موجب ادامه فعالیت فتوسنتزی شده است. همچنین با بررسی روند تغییرات بیشینه کارایی پتانسیل فتوسیستم II مشخص شد که ژنوتیپ MLC12 ضمن نوسان اندک پس از تنش یخ‌زدگی، از شاخص $F'v/F'm$ بیشتری نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها برخوردار بود. علاوه بر این، ژنوتیپ مذکور در جبران کاهش بیشینه کارایی فتوسیستم II در دوره بازیافت قابلیت بالایی داشت، به طوری که شاخص $F'v/F'm$ در این ژنوتیپ، ۷۲ ساعت پس از تنش یخ‌زدگی در مقایسه با قبل از تنش یخ‌زدگی فقط یک درصد کاهش داشت. سرعت انتقال الکترون در فتوسیستم II تحت تأثیر تنش یخ‌زدگی قرار می‌گیرد (Shi et al., 2019)؛ بنابراین، حفظ زنجیره انتقال الکترون فتوسنتزی توسط فتوسیستم II و در نتیجه توانایی حفظ تثبیت دی‌اکسیدکربن، به‌عنوان مهم‌ترین ویژگی‌های ژنوتیپ‌های عدس متحمل به تنش یخ‌زدگی محسوب می‌شوند. به‌طور کلی نتایج این قسمت از آزمایش نشان داد که ژنوتیپ MLC9 کمترین توانایی در بازیابی آسیب حاصل از تنش یخ‌زدگی به فتوسیستم II را داشت و برخلاف این ژنوتیپ، سایر ژنوتیپ‌ها به‌ویژه ژنوتیپ MLC12 (به علت $F'v/F'm$ بیشتر و پایداری بالای آن) از وضعیت مطلوبی در حفظ کارایی فتوسیستم II پس از مواجهه با تنش یخ‌زدگی برخوردار بودند.

برهم‌کنش ژنوتیپ و دمای یخ‌زدگی بر $F'v/F'm$ معنی‌دار بود (جدول ۳). هرچند که روند تغییرات $F'v/F'm$ تحت تأثیر دماهای یخ‌زدگی در بین ژنوتیپ‌های عدس متفاوت بود، اما کاهش دما از ۱۳- به ۱۸- درجه سانتی‌گراد در ژنوتیپ‌های منتخب، تأثیر معنی‌داری در این شاخص نداشت (جدول ۵).

به‌عبارتی دیگر، جریان الکترون از فتوسیستم به QA در این ژنوتیپ‌ها به نحو مطلوب‌تری انجام گرفته است. مطالعه شاخص $F'v$ در باقلا نشان داد که کاهش دما به ۴/۵- درجه سانتی‌گراد، موجب کاهش شاخص مذکور شد و در دمای ۱۱- درجه سانتی‌گراد، به حداقل میزان خود رسید (Herzog & Olszewski, 1998).

شاخص $F'v$ تحت تأثیر برهم‌کنش ژنوتیپ و دوره بازیابی قرار گرفت (جدول ۳). روند تغییرات در ژنوتیپ‌های مختلف در دوره بازیابی متفاوت بود، به طوری که $F'v$ ژنوتیپ‌های MLC38 و MLC410 با گذشت ۲۴ ساعت از تنش یخ‌زدگی به حداقل مقدار خود رسید. هرچند که به‌علت توانایی بالای آن‌ها برای بازیابی، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از تنش یخ‌زدگی $F'v$ روند افزایشی یافت، اما به مقدار خود در ساعات اولیه تنش یخ‌زدگی نرسید (جدول ۴)؛ بنابراین دو ژنوتیپ مذکور نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها، توانایی بیشتری در بهبود شرایط پس از تنش یخ‌زدگی داشتند.

بیشینه کارایی پتانسیل فتوسیستم II ($F'v/F'm$)
شاخص $F'v/F'm$ در ژنوتیپ‌های عدس تحت تأثیر دوره بازیابی معنی‌دار بود (جدول ۳) به طوری که کاهش شاخص مذکور ۲۴ ساعت پس از تنش یخ‌زدگی در تمام ژنوتیپ‌های مورد مطالعه مشاهده کاهش یافت و پس از آن به‌علت توانایی بالای ژنوتیپ‌ها در تحمل به یخ‌زدگی، به تدریج در دوره بازیافت به مقدار اولیه خود در زمان قبل از تنش یخ‌زدگی رسید (شکل ۳). با توجه به این که بیشینه کارایی پتانسیل فتوسیستم II به‌عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل کمی‌سازی پاسخ گیاهان به تنش یخ‌زدگی محسوب می‌شود (Yao et al., 2020)، می‌توان چنین نتیجه گرفت که ژنوتیپ‌های منتخب عدس در این آزمایش، از قابلیت بالایی در حفظ کارایی فتوسیستم II برخوردار بودند و همین مسئله، احتمالاً پتانسیل جذب CO_2 بیشتر پس از تنش



شکل ۳- روند تغییرات بیشینه کارایی پتانسیل فتوسیسستم II در شرایط سازگار شده با نور (F_v'/F'_m) در دوره بازیابی. بارها نشان‌دهنده خطای استاندارد هستند.

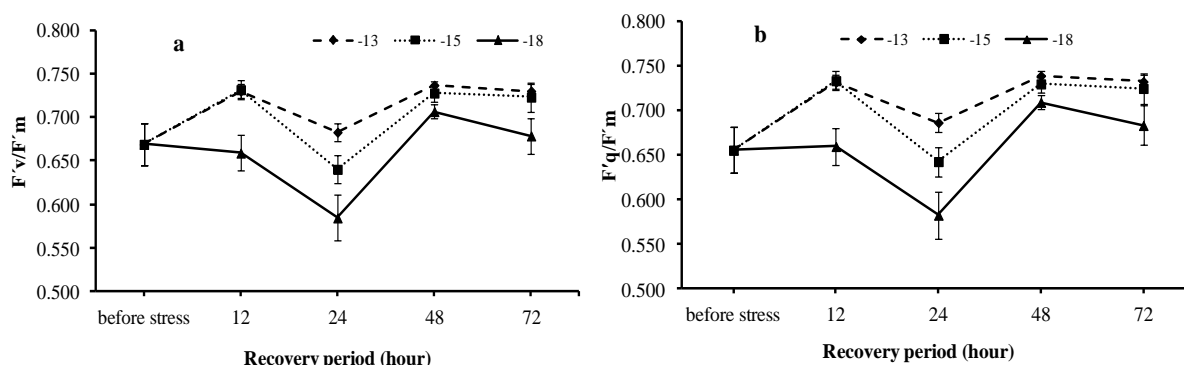
Figure 3. Trends of maximum efficiency changes of PSII photochemistry in the light (F_v'/F'_m), during recovery period. Vertical bars indicate standard error

شد. کاهش شاخص مذکور در این ژنوتیپ، به‌علت خسارت وارد شده به مراکز واکنش فتوسنتزی در اثر شدت یخ‌زدگی است؛ بنابراین در این آزمایش، هفت

این درحالی است که در ژنوتیپ MLC9، کاهش دما از ۱۳- به ۱۵- و از ۱۳- به ۱۸- درجه سانتی‌گراد به‌ترتیب منجر به کاهش ۱۶ و ۲۶ درصد از F_v'/F'_m

ژنوتیپ‌های عدس شده است (Nezami *et al.*, 2013). همچنین در آزمایشی، دیگر کاهش بیشینه کارایی پتانسیل فتوسیستم II در دو لاین نخود (*Cicer arietinum* L.)، تحت تاثیر دماهای پایین گزارش شده است (Turan & Ekmekci, 2014). روند تغییرات F_v/F_m در دوره بازیافت، تحت تاثیر دماهای یخزدگی معنی‌دار بود (جدول ۳). به طوری که بررسی تغییرات این شاخص نشان داد که کمترین و بیشترین میزان F_v/F_m ، به ترتیب در دماهای ۱۸- و ۱۳- درجه سانتی‌گراد اتفاق افتاد (شکل a ۴). همچنین ۲۴ ساعت پس از اعمال تنش یخزدگی، شاخص F_v/F_m در هر سه دمای مورد آزمایش (۱۳-، ۱۵- و ۱۸- درجه سانتی‌گراد) به حداقل میزان خود رسید، به طوری که ۲۴ ساعت پس از تنش یخزدگی، F_v/F_m در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد با حدود ۱۴ درصد کاهش مواجه شد که بیشترین کاهش در مقایسه با دماهای ۱۳-، ۱۵- درجه سانتی‌گراد بود. با گذشت ۴۸ ساعت از اعمال تنش یخزدگی، روند مطلوب بازیافت در هر سه دمای یخزدگی مشهود بود. به این ترتیب که به تدریج با گذشت زمان، میزان F_v/F_m افزایش یافت و به بیش از میزان اولیه خود رسید؛ بنابراین ژنوتیپ‌های مورد آزمایش، ۴۸ ساعت پس از وقوع دماهای یخزدگی توانایی بازیافت مناسبی را داشتند که همین مسئله نشان‌دهنده تحمل بالای آن‌ها در مواجهه با تنش یخزدگی در نتیجه حفظ فعالیت‌های فتوسنتزی است. در همین زمینه، پژوهشگران ظرفیت بالای خوسرمایی را نیز به عنوان یکی از عوامل مهم در پایداری عملکرد دستگاه فتوسنتزی و بازیابی مناسب F_v/F_m پس از تنش یخزدگی عنوان کردند (Dai *et al.*, 2007)؛ در نتیجه یکی از دلایل محتمل در افزایش مناسب شاخص F_v/F_m پس از تنش یخزدگی، توانایی بالای خوسرمایی در ژنوتیپ‌های مورد آزمایش است.

ژنوتیپ منتخب عدس، از توانایی بالای انتقال الکترون در فتوسیستم II تحت تنش یخزدگی برخوردار بودند. در همین راستا گزارش شده است که تنش یخزدگی، کارایی فتوسیستم II را تحت تاثیر قرار می‌دهد و همین مسئله سبب کاهش شاخص F_v/F_m می‌شود (Miralles-Crespo *et al.*, 2011). گزارش شده است که کاهش کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II در گندم با کاهش دما از ۱۲- درجه سانتی‌گراد، شدت بیشتری گرفته است و تبادل کربن و انتقال الکترون در فتوسیستم II با کاهش دما از ۱۲- درجه سانتی‌گراد با اختلال مواجه شده است (Hasanfard *et al.*, 2020). تخریب پروتئین D₁ فتوسیستم II و تولید گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive oxygen species)، از دلایل محتمل در کاهش شاخص F_v/F_m هستند که در نهایت، منجر به اختلال در تولید کلروفیل و صدمه به ساختار کلروپلاست گیاهان خواهد شد (Baek and Skinner, 2012; Shi *et al.*, 2019). از طرفی دیگر، کاهش شاخص F_v/F_m در آزمایش حاضر می‌تواند به علت کاهش متابولیسم برگ و آسیب نوری به فتوسیستم II نیز باشد (Strasser *et al.*, 2004)؛ بنابراین با توجه به این که هفت ژنوتیپ منتخب عدس در این آزمایش، دارای بقای بیش از ۸۰ درصد در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد بودند و بیشینه کارایی پتانسیل فتوسیستم II در شرایط سازگار شده با نور در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد در شرایط مطلوبی بود، می‌توان چنین نتیجه گرفت که در این آزمایش، فعالیت فتوسنتزی در این ژنوتیپ‌ها تحت تاثیر دماهای یخزدگی قرار نگرفت و احتمالاً در مناطقی که دما تا ۱۸- درجه سانتی‌گراد کاهش می‌یابد، ژنوتیپ‌های مذکور توانایی زمستان‌گذرانی مطلوب‌تری خواهند داشت. در همین راستا، بررسی روند تغییرات عوامل فلورسانس کلروفیل در ژنوتیپ‌های عدس نشان داد که کاهش دما از صفر به ۱۲- درجه سانتی‌گراد، سبب کاهش ۲۰ درصدی شاخص F_v/F_m در



شکل ۴- روند تغییرات بیشینه کارایی پتانسیل فتوسیستم II در شرایط سازگار شده با نور ($F'v/F'm$) و کارایی عملیاتی فتوسیستم II در شرایط سازگار شده با نور ($F'q/F'm$) در دوره بازیابی تحت تأثیر دماهای یخ‌زدگی. بارها نشان‌دهنده خطای استاندارد هستند.

Figure 4. Trends of maximum efficiency changes of PSII photochemistry ($F'v/F'm$) and PSII operating efficiency in the light under freezing stress, during recovery period. Vertical bars indicate standard error

است. در همین زمینه، پژوهشگران گزارش کردند که کارایی عملیاتی فتوسیستم II در گیاه جو زمستانه (*Hordeum vulgare* L.) پس از اعمال تنش یخ‌زدگی، شروع به کاهش کرد، اما در دوره بازیافت به تدریج افزایش یافت و ۷۲ ساعت پس از تنش یخ‌زدگی در دو رقم Chumai1 و MO103 به ترتیب به ۷۰/۴ و ۸۲/۹ درصد از شاهد خود رسیدند (Dai et al., 2007).

برهمکنش ژنوتیپ و دمای یخ‌زدگی بر $F'q/F'm$ معنی‌دار بود (جدول ۳). در ژنوتیپ MLC9 کاهش دما از ۱۳- به ۱۸- درجه سانتی‌گراد منجر به کاهش ۲۷ درصدی شاخص $F'q/F'm$ شد (جدول ۵). هرچند که در بیشتر ژنوتیپ‌ها کاهش دما منجر به کاهش این شاخص شد، اما اختلاف معنی‌داری از نظر آماری در $F'q/F'm$ بین دمای ۱۳- و ۱۸- درجه سانتی‌گراد مشاهده نشد و این مسئله نشان‌دهنده پتانسیل ژنتیکی بالای این ژنوتیپ‌ها در حفظ کارایی عملیاتی فتوسیستم II تحت تأثیر تنش یخ‌زدگی است. بررسی کارایی عملیاتی فتوسیستم II در ژنوتیپ‌های سویا (*Glycine max* (L.) Merr.) نشان داد که کاهش دما، سبب کاهش مقدار شاخص مذکور می‌شود که این کاهش در ژنوتیپ‌های متحمل به سرما کمتر بود (Strauss et al., 2006).

برهمکنش دوره بازیافت و دمای یخ‌زدگی بر روند تغییرات $F'q/F'm$ معنی‌دار بود (جدول ۳). روند

کارایی عملیاتی فتوسیستم II (Φ_{PSII}) ($=F'q/F'm$)

کارایی عملیاتی فتوسیستم II یا عملکرد کوانتومی فتوسیستم II در شرایط سازگار شده به نور، به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر برهمکنش ژنوتیپ و دوره بازیابی قرار گرفت (جدول ۳). هرچند که در برخی از ژنوتیپ‌ها شاخص $F'q/F'm$ در ساعات اولیه پس از تنش یخ‌زدگی بیشتر از مقدار آن قبل از تنش یخ‌زدگی بود، اما در تمام ژنوتیپ‌های مورد بررسی، ۲۴ ساعت پس از تنش یخ‌زدگی، اثرات تخریبی حاصل از ذوب تدریجی یخ‌های تشکیل شده باعث شد تا شاخص $F'q/F'm$ به حداقل میزان خود برسد (جدول ۴). در ادامه، تغییرات شاخص مذکور در هشت ژنوتیپ عدس مورد بررسی به گونه‌ای بود که تفاوت معنی‌داری بین ۱۲ ساعت و ۷۲ ساعت پس از تنش یخ‌زدگی مشاهده نشد و این مسئله توانایی بالای آن‌ها در بازیافت، پس از گذشت ۷۲ ساعت از تنش یخ‌زدگی را نشان می‌دهد. در بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی، ژنوتیپ MLC9 کارایی عملیاتی فتوسیستم II پایین‌تری در مقایسه با سایر ژنوتیپ‌ها داشت که با توجه به مقدار کمتر $F'q/F'm$ قبل و پس از تنش یخ‌زدگی، احتمالاً این ژنوتیپ ظرفیت فتوسنتزی کمتری در مقایسه با سایر ژنوتیپ‌ها دارد و همین مسئله مبنای تنوع ژنتیکی بالا در ژنوتیپ‌های عدس

نتیجه‌گیری کلی

ارزیابی مناسب تحمل گیاهان به تنش یخ‌زدگی و به‌گزینی آن‌ها مستلزم بررسی عوامل بیشتر، تکرار آن‌ها و در نهایت اخذ نتیجه‌گیری واحد و صحیح است. نتایج این آزمایش نشان داد که هفت ژنوتیپ از ۴۰ ژنوتیپ عدس مورد بررسی، دارای بقای بیش از ۸۰ درصد در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد بودند که با توجه به این‌که بقای زمستانه، یکی از مهم‌ترین عوامل ارزیابی تحمل گیاهان به تنش یخ‌زدگی است، می‌توان چنین نتیجه گرفت که کاشت پاییزه ژنوتیپ‌های MLC11، MLC12، MLC17، MLC38، MLC95، MLC409 و MLC410 در مناطقی که حداقل دمای آن‌ها به ۱۸- درجه سانتی‌گراد می‌رسد، می‌تواند جهت بهره‌مندی از پتانسیل‌های کاشت پاییزه مفید باشد. مطابق نتایج این آزمایش، هفت ژنوتیپ مذکور توانایی بالایی در جبران کاهش عوامل فلورسانس کلروفیل در نتیجه خسارت تنش یخ‌زدگی داشتند. هرچند که انجام مطالعات تکمیلی در این ارتباط ضروری است، اما ژنوتیپ MLC12 علاوه بر نوسان اندک در تغییرات شاخص F'_{v}/F'_m پس از تنش یخ‌زدگی، در طول دوره ارزیابی نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها از شاخص F'_{v}/F'_m بیشتری برخوردار بود. همچنین با توجه به اختلاف اندک F'_m در ژنوتیپ MLC409 در ساعات اولیه و ۷۲ ساعت پس از تنش یخ‌زدگی، احتمالاً این ژنوتیپ توانایی بالایی در حفظ بیشینه فلورسانس برگ و بازیافت مناسب ۷۲ ساعت پس از تنش یخ‌زدگی دارد. به‌طورکلی، درصد بقای بالا در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد و روند مطلوب ارزیابی عوامل کلروفیل فلورسانس در ژنوتیپ‌های منتخب، نشان‌دهنده حساسیت اندک آن‌ها به تنش یخ‌زدگی و ادامه فعالیت‌های فتوسنتزی پس از تنش یخ‌زدگی است.

تغییرات این شاخص، مشابه تغییرات F'_{v}/F'_m بود (شکل ۴b). هرچند که ۲۴ ساعت پس از تنش یخ‌زدگی، شاخص F'_q/F'_m در هر سه دما کاهش داشت، اما این کاهش در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد نسبت به سایر دماها بیشتر بود، به‌طوری‌که مقدار F'_q/F'_m ، ۲۴ ساعت پس از تنش یخ‌زدگی در مقایسه با قبل از اعمال تنش یخ‌زدگی ۱۲ درصد کمتر بود. پس از گذشت ۴۸ ساعت، ارزیابی مناسب در گیاهان صورت گرفت و F'_q/F'_m به مقدار مطلوب خود رسید. نتایج این بخش از آزمایش نیز حاکی از آن است که پتانسیل ارزیابی مناسبی در ژنوتیپ‌های عدس مورد بررسی وجود دارد.

ضریب باز بودن مراکز واکنش فتوسیستم II (qL)

برهمکنش ژنوتیپ و دوره ارزیابی بر ضریب باز بودن مراکز واکنش فتوسیستم II معنی‌دار بود (جدول ۳). در ژنوتیپ‌های MLC11 و MLC410، کاهش این ضریب در ۷۲ ساعت پس از تنش یخ‌زدگی نسبت به قبل از اعمال تنش یخ‌زدگی، به ترتیب ۱۰ و شش درصد بود (جدول ۴). در سایر ژنوتیپ‌ها، تغییرات ۷۲ ساعت پس از تنش یخ‌زدگی و قبل از دوره بازیافت معنی‌دار نبود؛ بنابراین، شاخص qL که در واقع کسری از مراکز فتوسیستم II باز را نشان می‌دهد (Kramer *et al.*, 2004)، در سایر ژنوتیپ‌های این آزمایش روند نسبتاً ثابتی را داشت. در همین راستا، Dong *et al.*, (2020) نیز گزارش کردند که qL در گیاهچه‌های گوجه فرنگی (*Solanum lycopersicum*) در دوره بازیافت پس از تنش یخ‌زدگی، روند کاهشی داشت، به‌طوری‌که پس از سه روز به حداقل میزان خود رسید.

REFERENCES

1. Baek, K. H. & Skinner, D. Z. (2012). Production of reactive oxygen species by freezing stress and the protective roles of antioxidant enzymes in plants. *Journal of Agricultural Chemistry and Environment*, 1, 34.
2. Baker, N.R. (2008). Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis *in vivo*. *Annual Review of Plant Biology*, 59, 89-113.
3. Baker, N. R. & Rosenqvist, E. (2004). Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *Journal of Experimental Botany*, 55, 1607-1621.

4. Cao, X., Jiang, F., Wang, X., Zang, Y. & Wu, Z. (2015). Comprehensive evaluation and screening for chilling-tolerance in tomato lines at the seedling stage. *Euphytica*, 205, 1–16.
5. Dai, F., Zhou, M. & Zhang, G. (2007). The change of chlorophyll fluorescence parameters in winter barley during recovery after freezing shock and as affected by cold acclimation and irradiance. *Plant Physiology and Biochemistry*, 45(12), 915-921.
6. Dashti, M., Kafi, M., Tavakoli, H., Mirza, M., & Nezami, A. (2016). Effects of freezing stress on Morpho-physiological indices and chlorophyll fluorescence of *Salvia leriifolia* Benth. in seedling stage. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)*, 28, 962-973. (In Persian)
7. Dong, Z., Men, Y., Liu, Z., Li, J. & Ji, J. (2020). Application of chlorophyll fluorescence imaging technique in analysis and detection of chilling injury of tomato seedlings. *Computers and Electronics in Agriculture*, 168, 105-109.
8. FAOSTAT, (2018). *Food and Agriculture Organization of the United Nations*. <http://www.fao.org/faostat/en/#compare>.
9. Hasanfard, A., Rastgoo, M., Darbandi, E. I., Nezami, A., & Chauhan, B. S. (2020). Regeneration capacity after exposure to freezing in wild oat (*Avena ludoviciana* Durieu.) and turnipweed (*Rapistrum rugosum* (L.) All.) in comparison with winter wheat. *Environmental and Experimental Botany*, 181, 104271.
10. Herzog, H. & Olszewski, A. (1998). A rapid method for measuring freezing resistance in crop plants. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 181(2), 71-79.
11. Iran Agriculture Statistics. (2017). Volume I: Crops. Ministry of Jihad-e-Agriculture Iran.
12. Kim, D. C. & Anderson, N. O. (2006). Comparative analysis of laboratory freezing methods to establish cold tolerance of detached rhizomes and intact crowns in garden chrysanthemums (*Dendranthema X grandiflora* Tzvelv). *Scientia Horticulture*, 109, 345-352.
13. Kramer, D. M., Johnson, G., Kiirats, O. Edwards, G. E. (2004). New fluorescence parameters for the determination of Q A redox state and excitation energy fluxes. *Photosynthesis Research*, 79(2), 209.
14. Link, W., Balko, C. & Stoddard, F. L. (2010). Winter hardiness in faba bean: Physiology and breeding. *Field Crops Research*, 115, 287–296.
15. Miralles-Crespo, J., Martínez-López, J. A., Franco-Leemhuis, J. A. & Bañón-Arias, S. (2011). Determining freezing injury from changes in chlorophyll fluorescence in potted oleander plants. *Hort Science*, 46(6), 895-900.
16. Mishra, A., Mishra, K. B., Höermiller, I. I., Heyer, A. G. & Nedbal, L. (2011). Chlorophyll fluorescence emission as a reporter on cold tolerance in *Arabidopsis thaliana* accessions. *Plant Signaling and Behavior*, 6(2), 301-310.
17. Nabati, J., Nezami, A., Hasanfard, A. & Haghghat Sheshvan, Z. (2018). The trend of changes in chlorophyll fluorescence parameters in two *Vicia faba* ecotype during freezing stresses. *Iranian Journal of Pulses Research*, 9, 139-150 (In Persian)
18. Nezami, A., Khazaei, H. R., Eshghizadeh, H. R. & Riahinia, S. (2013). Evaluation of freezing temperature tolerance of lentil (*Lens culinaris* Medik.) genotypes with using chlorophyll fluorescence parameters. *Agronomy Journal (Pajouhesh & Sazandegi)*, 99, 24-33 (In Persian)
19. Nosworthy, M. G., Medina, G., Franczyk, A. J., Neufeld, J., Appah, P., Utioh, A., Frohlich, P. & House, J. D. (2018). Effect of processing on the in vitro and in vivo protein quality of red and green lentils (*Lens culinaris*). *Food Chemistry*, 240, 588-593.
20. Pescador, D. S., Sanchez, A. M., Luzuriaga, A. L., Sierra-Almeida, A. & 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.
21. Quinn, M. A. (2009). 15 Biological Nitrogen Fixation and Soil Health Improvement. *The Lentil*, 229.
22. Rapacz, M., Sasal, M. & Wojcik-Jagła, M. (2015). Direct and indirect measurements of freezing tolerance: advantages and limitations. *Acta Physiology Plant*, 37(157), 1-16.
23. Rivero, R. M., Mestre, T. C., Mittler, R., Rubio, F., Garcia-Sanchez, F. & Martinez, V. (2014). The combined effect of salinity and heat reveals a specific physiological, biochemical and molecular response in tomato plants. *Plant, Cell and Environment*, 37, 1059–1073.
24. Sanchez-Gomez, D., Cervera, M. T., Escolano-Tercero, M. A., Velez, M. D., de Maria, N., Diaz, L. & Guevara, M. A. (2019). Drought escape can provide high grain yields under early drought in lentils. *Theoretical and Experimental Plant Physiology*, 31(2), 273-286.
25. Shi, Y. L., Cai, Z. Y., Li, D., Lu, J. L., Ye, J. H., Liang, Y. R. & Zheng, X. Q. (2019). Effect of freezing on photosystem ii and assessment of freezing tolerance of tea cultivar. *Plants*, 8(10), 434.
26. Strasser, R. J., Tsimilli-Michael, M. & Srivastava, A. (2004). *Analysis of the chlorophyll a fluorescence transient*. In *Chlorophyll a fluorescence* (pp. 321-362). Springer, Dordrecht.

27. Strauss, A. J., Krüger, G. H. J., Strasser, R. J. & Van Heerden, P. D. R. (2006). Ranking of dark chilling tolerance in soybean genotypes probed by the chlorophyll a fluorescence transient OJIP. *Environmental and Experimental Botany*, 56(2), 147-157.
28. Turan, O. & Ekmekci, Y. (2014). Chilling tolerance of *Cicer arietinum* lines evaluated by photosystem II and antioxidant activities. *Turkish Journal of Botany*, 38(3), 499-510.
29. Vyse, K., Pagter, M., Zuther, E. & Hinch, D. K. (2019). Deacclimation after cold acclimation-a crucial, but widely neglected part of plant winter survival. *Journal of Experimental Botany*, 70(18), 4595-4604.
30. 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(3), 358-364.
31. Yao, L., Hao, X., Cao, H., Ding, C., Yang, Y., Wang, L. & Wang, X. (2020). ABA-dependent bZIP transcription factor, CsbZIP18, from *Camellia sinensis* negatively regulates freezing tolerance in *Arabidopsis*. *Plant Cell Reports*, 39(4), 553-565.
32. Zhou, R., Hyldgaard, B., Yu, X., Rosenqvist, E., Magana Ugarte, R., Wu, Zh., Ottosen, C. O. & Zhao, T. (2018). Phenotyping of faba beans (*Vicia faba* L.) under cold and heat stresses using chlorophyll fluorescence. *Euphytica*, 214 (68), 1-13.
33. Zhou, R., Yu, X., Ottosen, C. O., Rosenqvist, E., Zhao, L., Wang, Y., Yu, W. & Zhao, T. (2017). Drought stress had a predominant effect over heat stress on three tomato cultivars subjected to combined stress. *BMC Plant Biology*, 17, 24.