

Lentil genotypes Selection for freezing tolerance by fluorescence chlorophyll

Jafar Nabati^{1*}, Ahmad Nezami², Seyedeh Mahboube Mirmiran³, Alireza Hasanfard⁴

1. Department of Legume, Research Center for Plant Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.

2, 4. Department of Agrotechnology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

3. Khorasan-e-Razavi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Iran

(Received: - Accepted:)

ABSTRACT

The experiment was conducted as a factorial base on completely randomized design with three replications under controlled conditions at Ferdowsi University of Mashhad in 2018. 20 lentil genotypes, three freezing temperatures (0, -18 and -20°C) and six time period (before stress, 12, 24, 48, 72 and 96 hours after stress) were investigated. Decrease the temperature from 0 to -18 and -20°C reduced the maximum efficiency of PSII photochemistry in the light ($F'v/F'm$). The lowest values of $F'v/F'm$ were observed at -18 and -20°C, 12 and 24 hours after stress, respectively; then $F'v/F'm$ gradually increased over time. However, at -20°C, the $F'v/F'm$ did not reach the initial value before stress. PSII operating efficiency in the light adapted leaf ($F'q/F'm$) was reduced by decreased temperature in all genotypes and all time point. Despite the initial decrease in $F'q/F'm$, most of the studied genotypes had a good ability to recover at 0 and -18°C temperatures. The results of cluster analysis and principal component analysis (PCA) showed that the second component includes survival percentage, dry weight, $F'v$, $F'q/F'm$ and $F'v/F'm$ explains 20.76%. Most genotypes belonging to the second group including MLC11, MLC286, MLC407 and MLC469 were in this component. Due to the 100% survival of these genotypes at -18°C and their suitable potential for recovery of chlorophyll fluorescence components and regrowth, their use is recommended for additional studies for autumn cultivation in cold regions.

Keywords: Autumn cultivation, cluster analysis, maximum efficiency of PSII, recovery, survival percentage.

به‌گزینی تحمل یخ‌زدگی ژنوتیپ‌های عدس با استفاده از کلروفیل فلورسانس

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

۱- استادیار، 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، ۴- دکتری علوم علف‌های هرز، دانشگاه فردوسی مشهد

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۵/۱۸ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۸/۱۰)

چکیده

این آزمایش به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در شرایط کنترل‌شده در دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۱۳۹۷ انجام شد. عوامل مورد مطالعه شامل ۲۰ ژنوتیپ عدس، سه دمای یخ‌زدگی (صفر، -۱۸ و -۲۰°C) و شش زمان اندازه‌گیری (قبل از تنش، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت بعد از تنش) بودند. کاهش دما از صفر به -۱۸ و -۲۰°C سبب کاهش بیشینه کارایی پتانسیل فتوسیستم II ($F'v/F'm$) در ژنوتیپ‌های عدس شد. کمترین میزان این شاخص در دمای -۱۸ و -۲۰°C به ترتیب ۱۲ و ۲۴ ساعت بعد از اعمال تنش مشاهده شد و سپس روند بازیافت در این دماها رخ داد و به تدریج با گذشت زمان، میزان $F'v/F'm$ افزایش یافت، اما در دمای -۲۰°C مقدار این شاخص به مقدار اولیه قبل از تنش نرسید. کاهش دما در تمام ژنوتیپ‌ها در تمامی دوره‌های بازیابی، سبب کاهش کارایی عملیاتی فتوسیستم II ($F'q/F'm$) شد. اکثر ژنوتیپ‌های مورد مطالعه با وجود کاهش ابتدایی در این شاخص، از توانایی مناسبی به‌منظور بازیابی آن در دماهای صفر و -۱۸°C برخوردار بودند. نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای و تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA) نشان داد که مؤلفه دوم، صفات درصد بقا، وزن خشک، $F'v$ ، $F'q/F'm$ و $F'v/F'm$ را با ۲۰/۷۶ درصد توضیح می‌دهد. بیشتر ژنوتیپ‌های متعلق به گروه دوم شامل MLC11، MLC286، MLC407 و MLC469، در این مؤلفه قرار دارند. با توجه به بقای ۱۰۰ درصدی این ژنوتیپ‌ها در دمای -۱۸°C و پتانسیل مناسب آن‌ها به‌منظور بازیابی عوامل فلورسانس کلروفیل و رشد مجدد، استفاده از آن‌ها به‌منظور انجام مطالعات تکمیلی در کشت پاییزه در مناطق سردسیر توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: بازیافت، بیشینه کارایی پتانسیل فتوسیستم II، تجزیه خوشه‌ای، درصد بقا، کشت پاییزه.

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

مقدمه

عدس (*Lens culinaris* Medik.) یکی از مهم‌ترین حبوبات یک‌ساله با دانه‌هایی غنی از پروتئین، آهن و روی می‌باشد (Gorim & Vandenberg, 2017). این گیاه دارای فیبر بالا و چربی پایینی است (Jarpa-Parra, 2018) و از لحاظ میزان فیبرهای محلول، غنی‌تر از نخود (*Cicer arietinum* L.) است (Brummer *et al.*, 2015). علاوه بر این، به دلیل توانایی تثبیت نیتروژن و بهبود حاصلخیزی خاک می‌تواند در تناوب با غلات نیز قرار گیرد (Choudhary *et al.*, 2017). طبق آمار سازمان خواربار و کشاورزی ملل متحد (فائو) در سال ۲۰۱۹، سطح زیر کشت این محصول در ایران ۱۳۵ هزار هکتار و میزان عملکرد عدس حدود ۵۲۳ کیلوگرم در هکتار بود. متوسط عملکرد عدس در این سال در ایران ۲/۳ برابر کمتر از متوسط جهانی و سهم ایران از کل تولیدات جهانی این گیاه تنها حدود ۷۱ هزار تن بود (FAOSTAT, 2020).

از عوامل اصلی این کاهش، پتانسیل پایین عملکرد ارقام و توده‌های محلی، عدم برداشت مکانیزه (Jawad *et al.*, 2019)، متغیر بودن الگوی بارندگی سالانه و احتمال برخورد گیاه با خشکی انتهای فصل و کاهش عملکرد در کشت‌های معمول بهاره می‌باشد (Dai, 2011)؛ بنابراین یکی از استراتژی‌های موثر به‌منظور بهبود محصول، انجام کشت پاییزه گیاه (Casado *et al.*, 2016) و برخورداری از مزایای آن نظیر افزایش طول دوره رشد، استفاده مناسب از نزولات جوی و جلوگیری از برخورد دوران رسیدگی گیاه با تنش‌های خشکی و گرما در اواخر رشد است (Strydhorst *et al.*, 2015). با وجودی که میزان عملکرد در حبوبات سردسیر در کشت‌های پاییزه در مناطقی که دارای زمستان‌های معتدل می‌باشند، اغلب دو برابر کشت‌های بهاره است، اما مرگ زمستانه، عامل عمده محدودکننده تولید در این نواحی محسوب می‌شود؛ بنابراین با شناسایی ژنوتیپ‌های مقاوم به سرما و توسعه کشت آن‌ها در این مناطق می‌توان، میزان تولید را بهبود بخشید (Mugabe *et al.*, 2019).

امروزه انواع مطالعات بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی و مولکولی به‌منظور شناسایی و انتخاب ژنوتیپ‌های

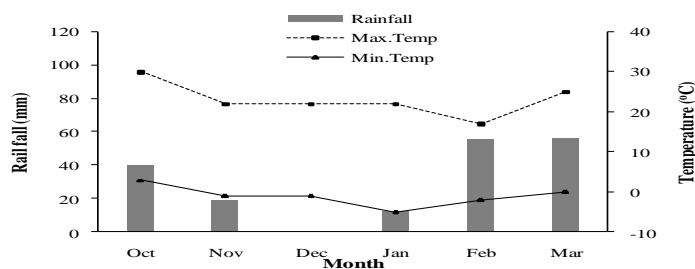
متحمل و حساس گیاهان زراعی تحت تنش‌های محیطی مورد استفاده قرار می‌گیرد. اما این روش‌ها مستلزم زمان و هزینه زیاد است و همچنین مطالعه تعداد زیادی از ژنوتیپ‌ها، تنها بر پایه بررسی‌های ژنتیک مولکولی دشوار می‌باشد؛ در این میان، استفاده از روش فلورسانس کلروفیل به‌عنوان یک راه حل مناسب مطرح است (Badeck & Rizza, 2015). این روش، به‌عنوان روشی سریع و غیرتخریبی به‌منظور بررسی میزان تحمل ارقام به تنش مورد استفاده قرار می‌گیرد (Rapacz *et al.*, 2015). در اثر سرما، فعالیت چرخه کالوین کاهش می‌یابد ولی واکنش‌های نوری فتوسنتز تحت تاثیر دما قرار نمی‌گیرند. سرما سبب اختلال در زنجیره انتقال الکترون و آسیب به مراکز واکنش فتوسیستم I و II می‌شود؛ در نتیجه مقدار زیادی از انرژی نورانی جذب شده به صورت گرما و فلورسانس به‌هدر می‌رود (Thalhammer *et al.*, 2014). خسارت اولیه تنش سرما، شامل تغییر در انسجام و فعالیت غشای سلولی و در نتیجه افزایش نشت محلول‌های سلولی به خارج از سلول می‌باشد. پایداری غشای تیلاکوئید، میزان تحمل ژنوتیپ‌ها و همچنین میزان آسیب وارده به گیاه در مواجهه با تنش، از طریق اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل قابل ارزیابی است (Mishra *et al.*, 2014). مولفه‌های فلورسانس کلروفیل نظیر بیشینه کارایی پتانسیل فتوسیستم II در شرایط سازگار شده به نور ($F'v/F'm$)، کارایی عملیاتی فتوسیستم II در شرایط سازگار شده با نور ($F'q/F'm$)، فرود انرژی فتوشیمیایی و ضریب باز بودن مراکز واکنش فتوسیستم II (qL) به‌طور گسترده‌ای به‌منظور بررسی میزان تحمل گیاهان به انواع تنش‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد (Menezes-Sliva *et al.*, 2017). تغییر در مولفه‌های فلورسانس کلروفیل در طی تنش سرما مشاهده شده است (Zhou *et al.*, 2017)، اما میزان این تغییرات بسته به واریته، شدت و مدت زمان تنش متفاوت است (Zhou *et al.*, 2018a). مناسب بودن بیشینه کارایی پتانسیل فتوسیستم II برای تشخیص شدت خسارت وارده به گیاه باقلا (*Vicia faba* L.) تحت

تنوع ژنتیکی قابل توجه بین ژنوتیپ‌های عدس از نظر خصوصیات زراعی، مورفولوژیکی و فنولوژیکی (Gautam *et al.*, 2014)، آزمایش حاضر به منظور ارزیابی تحمل به یخ‌زدگی در ژنوتیپ‌های منتخب عدس در شرایط کنترل شده انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در پاییزه و زمستان ۱۳۹۷ در گلخانه تحقیقاتی پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. عوامل مورد بررسی شامل ۲۰ ژنوتیپ منتخب عدس (جدول ۱) از مطالعات پیشین (Gholami Rezvani, *et al.*, 2019; Hojjat & Galstyan, 2014) و سه دمای یخ‌زدگی شامل صفر، ۱۸- و ۲۰- درجه سانتی‌گراد بودند. بذرها پس از ضدعفونی در دهه دوم مهرماه به تعداد ۱۵ عدد در عمق یک سانتی‌متری گلدان‌های پلاستیکی با قطر ۱۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۱۱ سانتی‌متر حاوی 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 به منظور اعمال خوسرمایی، گیاهان در شرایط طبیعی (شکل ۱) تا مرحله گیاهچه‌ای رشد کردند.

تنش سرما گزارش شده است (Zhou *et al.*, 2018a). سرما سبب تغییر در مولفه‌های فلورسانس کلروفیل می‌شود و میزان این کاهش در ارقام متحمل به صورت معنی‌داری کمتر از ارقام حساس بود، اما باید توجه داشت که این کاهش تا حدی در طی دوره بازیابی قابل جبران است (Humplik *et al.*, 2015). مناسب‌تر بودن اندازه‌گیری بیشینه کارایی پتانسیل فتوسیستم II در شرایط سازگار شده به نور (F'v/F'm) در ۲۴ ساعت بعد از اعمال تنش یخ‌زدگی در مقایسه با اندازه‌گیری آن بلافاصله بعد از اعمال تنش، در ارزیابی میزان خسارت وارده به گیاه و تعیین ژنوتیپ‌های متحمل به یخ‌زدگی مشاهده شده است (Badeck & Rizza, 2015). بیشینه کارایی پتانسیل فتوسیستم II در واریته‌های وحشی گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum L.*, formerly *Lycopersicon esculentum Mill.*) تحت تاثیر تنش دمایی قرار نگرفت و این واریته‌ها از بیشینه کارایی پتانسیل فتوسیستم II در شرایط سازگار شده با نور، کارایی عملیاتی فتوسیستم II در شرایط سازگار شده با نور و ضریب باز بودن مراکز واکنش فتوسیستم II بالاتری در مقایسه با واریته‌های زراعی برخوردار بودند. به‌طور کلی، نتایج نشان‌دهنده مقاومت بالاتر واریته‌های وحشی در مقایسه با واریته‌های زراعی به تنش‌های دمایی بود (Zhou *et al.*, 2018b). با توجه به مزایای کشت پاییزه شامل افزایش ارتفاع بوته، افزایش عملکرد و استفاده از بارندگی‌ها و وجود



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

Figure 1. Rainfall, minimum and maximum temperatures during fall and winter in 2018-2019, Mashhad.

آزمایش پنج درجه سانتی‌گراد بود و پس از قرار دادن نمونه‌ها با سرعت دو درجه سانتی‌گراد در ساعت کاهش یافت (Murray *et al.*, 1988). به منظور ایجاد هستک یخ در گیاه و اجتناب از بروز پدیده فرا سرما، پاشش

گلدان‌ها ۲۴ ساعت قبل از اعمال تنش یخ‌زدگی آبیاری شدند و سپس برای اعمال دماهای یخ‌زدگی در اواسط بهمن‌ماه مطابق با زمان معمول یخ‌بندان در منطقه به فریزر ترموگرادیان منتقل شدند. دمای فریزر در ابتدای

دمایی به مدت یک ساعت نگهداری و سپس به مدت یک شب در اتاقک سرد با دمای 5 ± 1 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

باکتری‌های ایجادکننده هستک یخ (Ice Nucleation Active Bacteria) در دمای -2 درجه سانتی‌گراد روی گیاه انجام شد (Wisniewski *et al.*, 2002). به‌منظور ایجاد تعادل در دمای محیط، گیاهچه‌ها در هر تیمار

جدول ۱- ژنوتیپ‌های عدس مورد استفاده در آزمایش^۱

No.	Genotype	No.	Genotype
1.	MLC8 ¹	11.	MLC84
2.	MLC11	12.	MLC103
3.	MLC13	13.	MLC286
4.	MLC17	14.	MLC303
5.	MLC33	15.	MLC334
6.	MLC38	16.	MLC407
7.	MLC47	17.	MLC409
8.	MLC70	18.	MLC454
9.	MLC74	19.	MLC469
10.	MLC83	20.	MLC472

1-MLC: Mashhad Lentil Collection

۱- کلکسیون عدس پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد

بررسی شد. صفات اندازه‌گیری شده شامل کلروفیل فلورسانس لحظه‌ای سازگار شده به نور (F')، 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'_v/F'_m ، F'_q/F'_m ، F'_q/F'_v و qL محاسبه شدند (جدول ۲).

قبل از قرارگیری نمونه‌ها در معرض دماهای یخ‌زدگی، عوامل فلورسانس کلروفیل برگ اندازه‌گیری شد. روند تغییرات عوامل فلورسانس کلروفیل در هر تیمار دمایی بر اساس زمان خارج شدن آن‌ها از فریزر ترموگرادیان با فواصل ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از اعمال تنش یخ‌زدگی در هر تیمار دمایی با استفاده از دستگاه فلورومتر (مدل OS1-FL شرکت OptiScience) و روی برگچه جوان‌ترین برگ کاملاً توسعه‌یافته در سه بوته

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

Parameter	Formula	Description
F'_v/F'_m	$(F'_m - F'_o)/F'_m$	Maximum efficiency of PSII photochemistry in the light.
$\phi_{PSII} = F'_q/F'_m$	$(F'_m - F')/F'_m$	PSII operating efficiency
F'_q/F'_v	$(F'_m - F')/(F'_m - F'_o)$	Photochemical quenching
qL	$(F_q/F'_v)/(F'_o/F')$	Estimates the fraction of open PSII centers

شد.

$$\text{SU\%} = \frac{A}{B} \times 100 \quad (1) \text{ معادله (۱)}$$

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با نرم‌افزار Minitab 17 انجام شد و برای نرمال بودن داده‌ها و مقایسه میانگین آن‌ها، به‌ترتیب از آزمون آماری شاپیرو-ویلک و آزمون چند دامن‌های دانکن در سطح احتمال پنج درصد استفاده شد. برای برآورد همبستگی و تجزیه خوشه‌ای (بر اساس روش ward) از نرم‌افزار JMP4 و برای تجزیه

برای ارزیابی بقا و بازیافت گیاهان، نمونه‌ها به گلخانه‌ای با میانگین دمای 23 ± 5 درجه سانتی‌گراد و فتوپریود ۱۴ ساعت منتقل شدند. چهار هفته پس از آن، درصد بقا و بازیافت نمونه‌ها ($SU\%$) ارزیابی شد. درصد بقای گیاهان از طریق شمارش تعداد بوته زنده قبل (B) و پس از تنش یخ‌زدگی (A) در هر گلدان محاسبه شد (معادله ۱) و وزن خشک گیاهان (۴۸ ساعت پس از قرار گرفتن در آون 70 درجه سانتی‌گراد) نیز اندازه‌گیری

به مؤلفه‌های اصلی از نرم‌افزار STATISTICA8 استفاده شد.

دمای ۲۰- درجه با افزایش مواجه شد، اما در تمامی تیمارهای دمایی کمینه فلورسانس برگ سازگار شده به نور روندی کاهشی را نشان داد و مقدار این شاخص ۹۶ ساعت پس از تنش یخ‌زدگی کمتر از ۱۲ ساعت پس از تنش یخ‌زدگی بود، به طوری که این شاخص در ۹۶ ساعت پس از تنش یخ‌زدگی در مقایسه با ۱۲ ساعت پس از اعمال تنش در دماهای صفر، ۱۸- و ۲۰- درجه سانتی‌گراد به ترتیب از کاهش ۲۷، ۳۳ و ۳۱ درصدی برخوردار بود (جدول ۴).

نتایج و بحث

برهمکنش دمای یخ‌زدگی و دوره بازبازی بر کمینه فلورسانس برگ سازگار شده به نور (F_0) معنی‌دار بود (جدول ۳). بررسی روند تغییرات F_0 نشان داد که در ساعات اولیه پس از تنش یخ‌زدگی، این متغیر در دماهای صفر و ۱۸- درجه سانتی‌گراد با کاهش، اما در

جدول ۳- منابع تغییر، درجه آزادی و میانگین مربعات عوامل فلورسانس کلروفیل ژنوتیپ‌های عدس در سطوح مختلف تنش یخ‌زدگی و زمان اندازه‌گیری در دوره بازبازی

Table 3. Source of variation, degree of freedom and mean square of chlorophyll fluorescence parameters in lentil genotypes under freezing stress and time measurement in the time points.

Source of variation	df	F_0	F_m	F_v	F_v/F_m	F_q/F_m	F_q/F_v	qL
Genotype (G)	19	44344**	229195**	171435**	0.084**	0.087**	0.020 ^{ns}	0.013 ^{ns}
Temperature (T)	2	427514**	22027743**	29665384**	13.6**	14.5**	0.005 ^{ns}	0.007 ^{ns}
Time point (TP)	5	674953**	572252**	200431**	0.220**	0.205**	0.047*	0.035 ^{ns}
T×G	38	7393 ^{ns}	111432**	108229**	0.075**	0.058**	0.017 ^{ns}	0.018 ^{ns}
TP×G	95	5932 ^{ns}	57771**	52024**	0.025**	0.021**	0.018 ^{ns}	0.017 ^{ns}
TP×T	10	80337**	1902554**	1943573**	0.753**	0.792**	0.059**	0.045**
T×TP×G	190	5013 ^{ns}	40299 ^{ns}	35025**	0.023**	0.019**	0.018 ^{ns}	0.017 ^{ns}
Error	1080	5261	35170	14387	0.015	0.013	0.020	0.018
C.V %	-	19.1	19.2	20.1	21.2	19.8	14.1	13.4

** و * ns: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد و غیر معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد. CV: ضریب تغییرات.

** and ns: significant at 1% of probability level and nonsignificant, CV: Coefficient of Variation.

جدول ۴- اثر دماهای یخ‌زدگی و دوره‌های بازبازی بر عوامل فلورسانس کلروفیل در عدس

Table 4. Effect of freezing temperature and time point on chlorophyll fluorescence parameters in the lentil genotypes.

Freezing temperature (°C)	Time Point (hour)	F_0	F_m	F_q/F_v	qL
0	Before stress	424 ^b	1044 ^{cd}	0.998 ^{ab}	1.001 ^{ab}
	12	404 ^{bc}	1129 ^{bc}	1.018 ^{ab}	0.998 ^{ab}
	24	396 ^{bc}	1043 ^{cd}	1.003 ^{ab}	0.998 ^{ab}
	48	352 ^{d-f}	1252 ^a	1.003 ^{ab}	0.996 ^{ab}
	72	280 ^g	1007 ^{d-e}	0.994 ^b	0.993 ^{ab}
	96	318 ^g	1087 ^{cd}	0.997 ^a	0.986 ^b
-18	Before stress	424 ^b	1044 ^{cd}	0.998 ^{ab}	1.001 ^{ab}
	12	423 ^b	1027 ^{cd}	1.004 ^{ab}	0.999 ^{ab}
	24	367 ^{c-e}	1202 ^{ab}	1.007 ^{ab}	1.006 ^{ab}
	48	312 ^g	1045 ^{cd}	1.011 ^{ab}	1.009 ^{ab}
	72	326.6 ^{ef}	1104 ^{b-d}	1.000 ^{ab}	1.000 ^{ab}
	96	319 ^g	1203 ^{ab}	0.998 ^{ab}	1.002 ^{ab}
-20	Before stress	424 ^b	1044 ^{cd}	1.017 ^{ab}	1.020 ^{ab}
	12	526 ^a	908 ^e	0.970 ^b	0.988 ^b
	24	437 ^b	633 ^f	0.964 ^b	0.967 ^b
	48	323 ^f	522 ^g	0.996 ^{ab}	1.000 ^{ab}
	72	370 ^{cd}	634 ^f	0.956 ^b	0.958 ^b
	96	403 ^{bc}	628 ^{f-g}	1.075 ^a	1.066 ^a

MLC: کلکسیون عدس پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد. در هر ستون، میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر صفت در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

MLC: Mashhad Lentil Collection. In each column means with the same letter(s) are not significantly different ($P \leq 0.05$).

F_0

، بیانگر سطحی از فلورسانس در زمانی است که پذیرنده کوئینون آ (QA) در بالاترین سطح اکسیداسیونی قرار

همچنین تنش یخ‌زدگی در تمام ژنوتیپ‌ها، سبب افزایش F_m تا ۲۴ پس از تنش یخ‌زدگی در مقایسه با F_m قبل از اعمال تنش یخ‌زدگی شد. ژنوتیپ MLC334 با ۲۵ درصد، بیشترین کاهش F_m را پس از گذشت ۹۶ ساعت در مقایسه با ۱۲ ساعت پس از تنش یخ‌زدگی داشت، درحالی‌که در این زمان، ژنوتیپ‌های MLC13، MLC33، MLC38، MLC74، MLC103، MLC286، MLC303 و MLC469 از F_m بالاتری در ۹۶ ساعت بعد از اعمال تنش در مقایسه با ۱۲ ساعت برخوردار بودند که این امر نشان‌دهنده توانایی بالایی این ژنوتیپ‌ها در حفظ بیشینه فلورسانس برگ و بازیافت مناسب آن‌ها پس از تنش یخ‌زدگی می‌باشد (جدول ۵).

برهمکنش ژنوتیپ و دمای یخ‌زدگی، تاثیر معنی‌داری بر بیشینه فلورسانس سازگار شده به نور داشت (جدول ۳). بجز در ژنوتیپ MLC13، تفاوتی از لحاظ مقدار F_m در سایر ژنوتیپ‌ها بین دماهای صفر و ۱۸- درجه سانتی‌گراد مشاهده نشد. کاهش دماهای یخ‌زدگی به‌ویژه از ۱۸- به ۲۰- درجه سانتی‌گراد، سبب کاهش F_m در تمام ژنوتیپ‌های مورد مطالعه شد. کمترین میزان تغییر در این مؤلفه، در نتیجه کاهش دو درجه‌ای دما در ژنوتیپ MLC409 مشاهده شد (کاهش هفت درصدی)، به این دلیل که این ژنوتیپ قادر به بقا در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد نبود؛ بنابراین تفاوت زیادی در این مؤلفه در دماهای ۱۸- و ۲۰- در آن مشاهده نشد (جدول ۶).

کلروفیل P680 در مرکز واکنش فتوسیستم II با شکسته شدن مولکول آب (در فضای داخلی تیلاکوئید) دو الکترون دریافت می‌کند. این الکترون‌ها از طریق فئوفیتین به QA که اولین پذیرنده الکترون در فتوسیستم است، منتقل می‌شود. QA تا زمانی که الکترون را به گیرنده الکترون بعدی یعنی QB منتقل نکرده باشد، قادر نیست الکترون دیگری را از P680 دریافت کند. با انتقال الکترون به QB و سپس پلاستوکوئینون، الکترون به فتوسیستم I منتقل می‌شود و در نتیجه آن، ATP و NADPH تولید می‌شود. در این حالت، سیستم دارای کمترین فلورسانس است (F_o) و مراکز واکنش باز هستند. با افزایش درجه احیا شدن،

داشته باشد و مراکز واکنش باز هستند (Murchie & Lawson, 2013). هرچه مقدار این شاخص کمتر باشد، نشان‌دهنده انجام مطلوب فعالیت‌های فتوسنتزی و انتقال سریع‌تر الکترون می‌باشد، درحالی‌که بالا بودن این شاخص، نشان‌دهنده آسیب به زنجیره انتقال الکترون فتوسیستم II در اثر کاهش ظرفیت QA و عدم اکسیداسیون کامل آن به دلیل کند شدن جریان الکترون در فتوسیستم II است. به‌عبارتی، ژنوتیپ‌هایی که از سرعت انتقال الکترون بالاتری در طول زنجیره پلاستوکوئینون برخوردارند، مقاومت بیشتری نسبت به تنش یخ‌زدگی از خود نشان می‌دهند (Swoczyna et al., 2020). در وارپته‌های حساس به سرمای گوجه‌فرنگی، نسبت انتقال الکترون به جریان انرژی ویژه بیان شده کاهش یافته است (Zushi et al., 2012). درحالی‌که ارقام مقاوم به سرمای گندم (*Triticum aestivum* L.) از نسبت انتقال الکترون به جریان انرژی ویژه بیان شده بالاتری برخوردار بودند. بین این نسبت با میزان بقای زمستانه گیاهان همبستگی مثبت و معنی‌داری مشاهده شده است (Rapacz et al., 2015; Swoczyna et al., 2020).

مؤلفه بیشینه فلورسانس برگ سازگار شده به نور (F_m)، تحت تاثیر برهمکنش دمای یخ‌زدگی و دوره بازیابی قرار گرفت (جدول ۳). این متغیر ابتدا در دماهای صفر و ۱۸- درجه سانتی‌گراد با کاهش مواجه شد و سپس در دوره بازیافت، به تدریج مقدار آن افزایش یافت، به‌طوری‌که مقدار این مؤلفه در ۹۶ ساعت بعد از اعمال تنش در دماهای صفر و ۱۸- درجه سانتی‌گراد به ترتیب چهار و ۱۵ درصد بیشتر از مقدار آن در شرایط بدون اعمال تنش بود. با اعمال تنش یخ‌زدگی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد، روند کاهشی در مؤلفه F_m مشاهده شد؛ به‌عبارتی، افزایش شدت تنش یخ‌زدگی، سبب اختلال و کاهش در بیشینه فلورسانس برگ سازگار شده به نور شد، به حدی که گیاهان قادر به بازیابی و ترمیم این مؤلفه نبودند (جدول ۴).

F_m تحت تاثیر برهمکنش ژنوتیپ و دوره بازیابی قرار گرفت (جدول ۳). این متغیر در بیشتر ژنوتیپ‌های مورد بررسی نیز پس از اعمال تنش یخ‌زدگی با کاهش مواجه شد و سپس به تدریج در دوره بازیافت افزایش یافت.

فلورسانس افزایش می‌یابد و در مرحله احیای کامل، تنش‌های محیطی با تاثیر منفی بر ظرفیت پذیرش و دیگر الکترون به فتوسیستم I منتقل نمی‌شود و مراکز واکنش فتوسیستم II در حالت بسته قرار دارند؛ در این حالت، فلورسانس در حداکثر مقدار خود است (F'm).

تنش‌های محیطی با تاثیر منفی بر ظرفیت پذیرش و انتقال الکترون باعث می‌شوند که سیستم سریع‌تر به F'm برسد که نتیجه آن، کاهش فلورسانس متغیر خواهد بود (F'v=F'm-F'o).

جدول ۵- بیشینه فلورسانس سازگار شده به نور در ژنوتیپ‌های عدس در دوره بازیابی

Table 5. F'm in lentil genotypes during time points

Genotype	Time Point (hour)					
	Before stress	12	24	48	72	96
MLC8 ¹	1034 ^{a-g}	1051 ^{a-g}	838 ^{c-g}	957 ^{a-g}	1001 ^{a-g}	1049 ^{a-g}
MLC11	1013 ^{a-g}	953 ^{a-g}	1063 ^{a-g}	1032 ^{a-g}	959 ^{a-g}	854 ^{b-g}
MLC13	953 ^{a-g}	992 ^{a-g}	900 ^{a-g}	816 ^{d-g}	938 ^{a-g}	1042 ^{a-g}
MLC17	1064 ^{a-g}	1000 ^{a-g}	974 ^{a-g}	887 ^{a-g}	913 ^{a-g}	928 ^{a-g}
MLC33	1093 ^{a-f}	1075 ^{a-g}	1159 ^{a-d}	968 ^{a-g}	963 ^{a-g}	1080 ^{a-g}
MLC38	1098 ^{a-f}	1046 ^{a-g}	1048 ^{a-g}	981 ^{a-g}	941 ^{a-g}	1054 ^{a-g}
MLC47	1039 ^{a-g}	1050 ^{a-g}	847 ^{b-g}	886 ^{a-g}	840 ^{a-g}	897 ^{a-g}
MLC70	1048 ^{a-g}	972 ^{a-g}	914 ^{a-g}	921 ^{a-g}	739 ^g	831 ^{c-g}
MLC74	987 ^{a-g}	930 ^{a-g}	948 ^{a-g}	938 ^{a-g}	772 ^{f-g}	935 ^{a-g}
MLC83	1139 ^{a-d}	1155 ^{a-d}	942 ^{a-g}	961 ^{a-g}	963 ^{a-g}	1020 ^{a-g}
MLC84	994 ^{a-g}	1000 ^{a-g}	922 ^{a-g}	790 ^g	818 ^{d-g}	863 ^{b-g}
MLC103	1185 ^{ab}	906 ^{a-g}	891 ^{a-g}	870 ^{b-g}	840 ^{b-g}	918 ^{a-g}
MLC286	895 ^{a-g}	1031 ^{a-g}	1086 ^{a-f}	954 ^{a-g}	940 ^g	1130 ^{a-e}
MLC303	1227 ^a	1059 ^{a-g}	977 ^{a-g}	1086 ^{a-f}	1061 ^{a-g}	1140 ^{a-d}
MLC334	1052 ^{a-g}	1126 ^{a-e}	994 ^{a-g}	980 ^{a-g}	968 ^{a-g}	900 ^{a-g}
MLC407	978 ^{a-g}	1140 ^{a-d}	962 ^{a-g}	1031 ^{a-g}	933 ^{a-g}	930 ^{a-g}
MLC409	832 ^{a-g}	957 ^{a-g}	787 ^{c-g}	884 ^{a-g}	981 ^{a-g}	907 ^{a-g}
MLC454	1086 ^{a-f}	1032 ^{a-g}	915 ^{a-g}	1040 ^{a-g}	960 ^g	1028 ^{a-g}
MLC469	1176 ^{a-c}	994 ^{a-g}	1029 ^{a-g}	961 ^{a-g}	953 ^{a-g}	1000 ^{a-g}
MLC472	982 ^{a-g}	960 ^{a-g}	994 ^{a-g}	856 ^{b-g}	817 ^g	947 ^{a-g}

MLC: کلکسیون عدس پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد. میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر صفت، درصد تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج ندارند.

MLC: Mashhad Lentil Collection. Means with the same letter in the same trait are not significantly different (P≤0.05).

جدول ۶- بیشینه فلورسانس سازگار شده به نور در ژنوتیپ‌های عدس در دماهای یخ‌زدگی

Table 6. F'm parameters in lentil genotypes at freezing temperature

Genotype	Freezing temperature (°C)		
	0	-18	-20
MLC8 ¹	1093 ^{a-d}	1031 ^{a-f}	841 ^{e-l}
MLC11	1143 ^{a-c}	1146 ^{a-c}	648 ^{l-n}
MLC13	1111 ^{a-c}	1002 ^{a-g}	707 ^{j-n}
MLC17	1080 ^{a-d}	1158 ^{ab}	645 ^{l-n}
MLC33	1163 ^{ab}	1206 ^a	800 ^{g-n}
MLC38	1141 ^{a-c}	1212 ^a	731 ^{j-n}
MLC47	1078 ^{a-d}	1000 ^{a-d}	602 ^{mn}
MLC70	1043 ^{a-f}	1083 ^{a-d}	586 ⁿ
MLC74	1089 ^{a-d}	995 ^{a-g}	670 ^{k-n}
MLC83	1147 ^{a-c}	1180 ^{ab}	762 ⁱ⁻ⁿ
MLC84	1000 ^{a-g}	1096 ^{a-d}	597 ^{mn}
MLC103	1054 ^{a-e}	1001 ^{a-g}	750 ^{j-n}
MLC286	1098 ^{a-d}	1128 ^{a-c}	792 ^{g-n}
MLC303	1173 ^{ab}	1173 ^{ab}	930 ^{c-j}
MLC334	1167 ^{ab}	1166 ^{ab}	678 ^{k-n}
MLC407	1077 ^{a-d}	1141 ^{a-c}	769 ^{h-n}
MLC409	973 ^{b-i}	879 ^{d-k}	822 ^{f-m}
MLC454	1072 ^{a-d}	1137 ^{a-c}	821 ^{f-m}
MLC469	1118 ^{a-c}	1177 ^{ab}	761 ⁱ⁻ⁿ
MLC472	1052 ^{a-e}	1075 ^{a-d}	652 ^{k-n}

MLC: کلکسیون عدس پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد. میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر صفت، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

MLC: Mashhad Lentil Collection. Means with the same letters in the same trait are not significantly different (P≤0.05).

ژنوتیپ وحشی و یک ژنوتیپ زراعی گوجه‌فرنگی نشان داد که کاهش دما، موجب کاهش این مؤلفه در تمام ژنوتیپ‌ها در مقایسه با شاهد شد. ژنوتیپ‌های وحشی همچنین بسته شدن مراکز واکنش، تاثیر منفی بر بیشینه کارایی پتانسیل فتوسیستم II خواهد داشت (Murchie & Lawson, 2013). بررسی F'm در شش

مشاهده شد. همچنین ۲۴ ساعت پس از اعمال تنش یخ‌زدگی در دماهای صفر و ۲۰- درجه سانتی‌گراد، این مؤلفه به حداقل مقدار خود رسید، در صورتی که کمترین میزان این شاخص در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد ۱۲ ساعت بعد از اعمال تنش مشاهده شد. با گذشت ۴۸ ساعت از اعمال تنش یخ‌زدگی، روند مطلوب بازیافت در هر سه دمای یخ‌زدگی رخ داد. به این ترتیب که به تدریج و با گذشت زمان، میزان $F'v/F'm$ افزایش یافت و جز در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد، در دو دمای دیگر به بیش از میزان اولیه خود رسید. به عبارتی، ژنوتیپ‌هایی که در معرض دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد قرار گرفته بودند، پس از گذشت ۴۸ ساعت، از توانایی بازیابی مناسبی برخوردار بودند که این مسئله نشان‌دهنده تحمل بالای آن‌ها در مواجهه با تنش یخ‌زدگی بود (شکل ۲).

مؤلفه‌های فلورسانس کلروفیل می‌توانند برای درک تاثیر خوسرمایی بر فرآیندهای فتوسنتزی گیاه مورد استفاده قرار گیرند. به طوری که خوسرمایی در نمونه‌های مقاوم و حساس به سرمای آرابیدوپسیس (*Arabidopsis thaliana* L.)، سبب کاهش کمتر در شاخص $F'v/F'm$ در مقایسه با زمانی شد که این نمونه‌های قبل از اعمال تنش در معرض خوسرمایی قرار نداشتند. همچنین کاهش این مؤلفه در نمونه‌های مقاوم، کمتر از نمونه‌های حساس بود (Mishra et al., 2014). بنابراین شاید بتوان یکی از دلایل افزایش این مؤلفه در طول دوره بازیابی را خوسرمایی مناسب ژنوتیپ‌های مورد مطالعه دانست. با توجه به این‌که بیشتر ژنوتیپ‌های مورد مطالعه (بجز سه ژنوتیپ MLC83، MLC103 و MLC409) از بقای بالای ۵۰ درصد در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد برخوردار بودند، توانستند بازیابی مناسبی را بعد از اعمال تنش در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد از خود نشان دهند، به طوری که تفاوت زیادی در شاخص $F'v/F'm$ بین دماهای صفر و ۱۸- درجه سانتی‌گراد در طی دوره بازیابی مشاهده نشد (شکل ۲، ۳).

در مقایسه با ژنوتیپ زراعی، از کاهش $F'm$ کمتری برخوردار بودند (Zhou et al., 2018b). کاهش دما، تاثیری بر کمینه فلورسانس برگ سازگار شده به نور نداشت، اما بیشینه فلورسانس برگ سازگار شده به نور و بیشینه کارایی پتانسیل فتوسیستم II را به طور معنی‌داری در گیاهچه‌های برنج (*Oryza sativa*) (L.) کاهش داد (Zhao et al., 2020).

برهمکنش ژنوتیپ، دمای یخ‌زدگی و دوره بازیابی بر فلورسانس متغیر ($F'v$) معنی‌دار بود (جدول ۳). کاهش دما به ۲۰- درجه سانتی‌گراد در تمامی دوره‌های بازیابی در تمام ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، سبب کاهش $F'v$ شد. در بیشتر ژنوتیپ‌ها، قرارگیری در معرض دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد تا ۱۲ ساعت بعد از اعمال تنش یخ‌زدگی، سبب کاهش و سپس افزایش در مقدار این مؤلفه شد. در تمامی ژنوتیپ‌ها در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد، روندی کاهشی در مقدار $F'v$ مشاهده شد و با وجود افزایش جزئی در برخی ژنوتیپ‌های مورد بررسی، این مؤلفه ۹۶ ساعت پس از اعمال تنش به مقدار خود در ساعات اولیه تنش یخ‌زدگی نرسید (جدول ۷). تمامی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد از بین رفتند (شکل ۲). به دلیل وجود همبستگی مثبت و معنی‌دار بین درصد بقا و $F'v$ ($r^2=0/66^{**}$) می‌توان نتیجه گرفت که این ژنوتیپ‌ها قادر به بازیابی این مؤلفه در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نبودند (جدول ۷، ۹). مقادیر پایین فلورسانس متغیر، نشان‌دهنده کاهش فعالیت فتوسیستم II و اتلاف انرژی به صورت گرما است. همچنین تنش‌های محیطی مانند تنش سرما، به دلیل خسارت به غشای تیلاکوئید، سبب کاهش این شاخص می‌شوند (Goltsev et al., 2016).

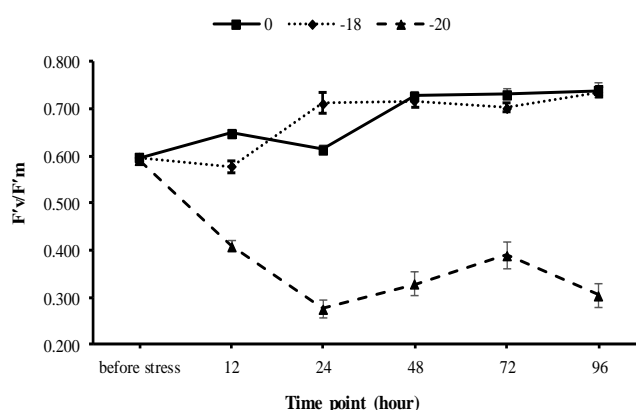
روند تغییرات بیشینه کارایی پتانسیل فتوسیستم II ($F'v/F'm$) در دوره بازیافت، تحت تأثیر دماهای یخ‌زدگی معنی‌دار بود (جدول ۳)، به طوری که بررسی تغییرات این شاخص نشان داد که کمترین میزان تغییرات آن در دماهای صفر و ۱۸- درجه سانتی‌گراد و بیشترین تغییرات در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد

Table 7. F_v parameter in the lentil genotypes at freezing temperature and during time point

Genotype	Freezing temperature (°C)	Time Point (hour)					
		Before stress	12	24	48	72	96
MLC8 ¹	0	618 ^{g-bh}	696 ^{c-ax}	514 ^{o-bu}	898 ^{a-s}	809 ^{a-af}	863 ^{a-x}
	-18	618 ^{g-bh}	461 ^{t-cc}	519 ^{n-bt}	786 ^{a-ag}	775 ^{a-ag}	695 ^{c-ay}
	-20	618 ^{g-bh}	506 ^{o-bv}	176 ^{bk-ce}	326 ^{ao-ce}	392 ^{ae-ce}	458 ^{u-cd}
MLC11	0	607 ^{h-bj}	768 ^{a-ai}	877 ^{a-v}	1149 ^a	780 ^{a-ag}	6635 ^{e-bc}
	-18	607 ^{h-bj}	682 ^{d-ba}	1131 ^{ab}	770 ^{a-ah}	847 ^{a-z}	844 ^{a-z}
	-20	607 ^{h-bj}	285 ^{aw-ce}	126 ^{bp-ce}	259 ^{bb-ce}	285 ^{w-ce}	111 ^{br-ce}
MLC13	0	5367 ^{k-bp}	727 ^{a-as}	706 ^{c-aw}	893 ^{a-s}	780 ^{a-ag}	944 ^{a-m}
	-18	5367 ^{k-bp}	400 ^{ad-ce}	770 ^{a-ah}	621 ^{g-bg}	770 ^{a-ah}	925 ^{a-p}
	-20	5367 ^{k-bp}	559 ^{j-bo}	104 ^{bs-ce}	64 ^{ca-ce}	295 ^{au-ce}	216 ^{bf-ce}
MLC17	0	659 ^{e-bc}	704 ^{c-aw}	704 ^{c-aw}	816 ^{a-ad}	773 ^{a-ah}	767 ^{a-aj}
	-18	659 ^{e-bc}	626 ^{g-bf}	942 ^{a-m}	835 ^{a-ab}	821 ^{a-ad}	946 ^{a-l}
	-20	659 ^{e-bc}	329 ^{an-ce}	98 ^{bt-ce}	83 ^{bw-ce}	161 ^{bl-ce}	48 ^{cc-ce}
MLC33	0	664 ^{e-bb}	731 ^{a-ar}	879 ^{a-u}	905 ^{a-r}	692 ^{c-az}	796 ^{a-ag}
	-18	664 ^{e-bb}	592 ^{h-bk}	993 ^{a-i}	904 ^{a-r}	829 ^{a-ab}	1054 ^{a-f}
	-20	576 ^{i-bm}	388 ^{af-ce}	297 ^{a-uc}	186 ^{bj-ce}	226 ^{bd-ce}	170 ^{bl-ce}
MLC38	0	668 ^{e-bb}	641 ^{f-bd}	696 ^{c-ax}	842 ^{a-aa}	835 ^{a-ab}	805 ^{a-ag}
	-18	668 ^{e-bb}	582 ^{h-bl}	965 ^{a-j}	818 ^{a-ad}	842 ^{a-aa}	937 ^{a-n}
	-20	668 ^{e-bb}	444 ^{x-ce}	145 ^{bn-ce}	78 ^{by-ce}	50 ^{c-ce}	230 ^{bd-ce}
MLC47	0	622 ^{g-bg}	735 ^{a-ar}	505 ^{p-bw}	858 ^{a-y}	737 ^{a-ar}	781 ^{a-ag}
	-18	622 ^{g-bg}	728 ^{a-as}	837 ^{a-ab}	729 ^{a-ar}	683 ^{c-ba}	950 ^{a-l}
	-20	622 ^{g-bg}	421 ^{aa-ce}	113 ^{bq-ce}	41 ^{cc-ce}	117 ^{bp-ce}	94 ^{bu-ce}
MLC70	0	646 ^{f-bd}	698 ^{c-ax}	692 ^{c-az}	882 ^{a-t}	615 ^{g-bh}	678 ^{d-bb}
	-18	646 ^{f-bd}	612 ^{g-bi}	807 ^{a-af}	801 ^{a-ag}	777 ^{a-ag}	7415 ^{a-ap}
	-20	646 ^{f-bd}	279 ^{x-ce}	61 ^{cb-ce}	136 ^{b-cc}	50 ^{cc-ce}	39 ^{cd-ce}
MLC74	0	564 ^{j-bn}	727 ^{a-as}	630 ^{g-bf}	962 ^{a-j}	656 ^{e-bc}	703 ^{c-aw}
	-18	564 ^{j-bn}	463 ^{t-cc}	739 ^{a-aq}	583 ^{h-bl}	578 ^{h-bm}	895 ^{a-s}
	-20	564 ^{j-bn}	241 ^{bc-ce}	83 ^{bx-ce}	176 ^{bk-ce}	117 ^{bp-ce}	166 ^{bl-ce}
MLC83	0	699 ^{c-ax}	805 ^{a-ag}	486 ^{r-bz}	866 ^{a-w}	793 ^{a-ag}	804 ^{a-ag}
	-18	699 ^{c-ax}	828 ^{a-ac}	892 ^{a-s}	729 ^{a-ar}	771 ^{a-ah}	842 ^{a-aa}
	-20	699 ^{c-ax}	316 ^{ar-ce}	159 ^{bm-ce}	198 ^{bh-ce}	223 ^{be-ce}	145 ^{bn-ce}
MLC84	0	592 ^{h-bk}	760 ^{a-ak}	728 ^{a-as}	515 ^{o-bu}	611 ^{g-bi}	7505 ^{a-an}
	-18	592 ^{h-bk}	624 ^{g-bg}	716 ^{b-au}	824 ^{a-ac}	844 ^{a-z}	877 ^{a-v}
	-20	592 ^{h-bk}	323 ^{ap-ce}	111 ^{br-ce}	91 ^{bv-ce}	66 ^{bz-ce}	31 ^{ce-ce}
MLC103	0	727 ^{a-as}	719 ^{b-at}	531 ^{l-br}	782 ^{a-ag}	703 ^{c-aw}	813 ^{a-ae}
	-18	727 ^{a-as}	485 ^{r-ca}	676 ^{d-bb}	667 ^{e-bb}	516 ^{n-bu}	568 ^{h-bm}
	-20	727 ^{a-as}	320 ^{ap-ce}	306 ^{as-ce}	227 ^{bd-ce}	209 ^{bf-ce}	203 ^{bf-ce}
MLC286	0	524 ^{m-bs}	709 ^{c-av}	740 ^{a-aq}	1053 ^{a-f}	697 ^{c-ax}	790 ^{a-ag}
	-18	524 ^{m-bs}	747 ^{a-ao}	943 ^{a-m}	628 ^{g-bf}	827 ^{a-ac}	1104 ^{a-c}
	-20	524 ^{m-bs}	450 ^{w-ce}	319 ^{aq-ce}	304 ^{at-ce}	408 ^{ac-ce}	477 ^{ab-cb}
MLC303	0	757 ^{a-al}	696 ^{c-ax}	740 ^{a-aq}	895 ^{a-s}	768 ^{a-ai}	878 ^{a-v}
	-18	757 ^{a-al}	627 ^{g-bf}	861 ^{a-x}	907 ^{a-r}	795 ^{a-ag}	919 ^{a-q}
	-20	757 ^{a-al}	456 ^{v-cd}	143 ^{bn-ce}	120 ^{bp-ce}	646 ^{f-bd}	707 ^{c-av}
MLC334	0	625 ^{g-bf}	761 ^{a-ak}	575 ^{i-bm}	1072 ^{a-e}	777 ^{a-ag}	836 ^{a-ab}
	-18	625 ^{g-bf}	852 ^{a-y}	957 ^{a-k}	771 ^{a-ah}	837 ^{a-ab}	927 ^{a-o}
	-20	625 ^{g-bf}	346 ^{aj-ce}	162 ^{bl-ce}	89 ^{bv-ce}	279 ^{ax-ce}	70 ^{by-ce}
MLC407	0	568 ^{j-bm}	750 ^{a-an}	580 ^{h-bm}	1091 ^{a-d}	709 ^{c-au}	774 ^{a-ag}
	-18	568 ^{j-bm}	877 ^{a-v}	891 ^{a-s}	679 ^{d-bb}	906 ^{a-r}	849 ^{a-z}
	-20	568 ^{j-bm}	454 ^{w-cd}	343 ^{ak-ce}	348 ^{ai-ce}	288 ^{av-ce}	213 ^{bf-ce}
MLC409	0	459 ^{u-cd}	753 ^{a-al}	336 ^{al-ce}	840 ^{a-ab}	828 ^{a-ac}	686 ^{c-ba}
	-18	459 ^{u-cd}	305 ^{at-ce}	315 ^{ar-ce}	581 ^{h-bl}	801 ^{a-ag}	596 ^{h-bk}
	-20	459 ^{u-cd}	429 ^{z-ce}	490 ^{r-by}	271 ^{az-ce}	400 ^{ad-ce}	420 ^{ab-ce}
MLC454	0	612 ^{g-bi}	720 ^{b-at}	501 ^{q-bx}	999 ^{a-h}	745 ^{a-ao}	782 ^{a-ag}
	-18	612 ^{g-bi}	439 ^{y-ce}	791 ^{a-ag}	698 ^{c-ax}	677 ^{d-bb}	1031 ^{a-g}
	-20	612 ^{g-bi}	290 ^{av-ce}	1925 ^{bi-ce}	331 ^{am-ce}	444 ^{x-ce}	274 ^{ay-ce}
MLC469	0	755 ^{a-al}	766 ^{a-aj}	748 ^{a-ao}	945 ^{a-m}	735 ^{a-ar}	802 ^{a-ag}
	-18	755 ^{a-al}	581 ^{h-bl}	1095 ^{a-d}	835 ^{a-ab}	835 ^{a-ab}	968 ^{a-j}
	-20	755 ^{a-al}	352 ^{ah-ce}	198 ^{bh-ce}	265 ^{ba-ce}	455 ^{w-cd}	267 ^{ba-ce}
MLC472	0	581 ^{h-bl}	750 ^{a-an}	784 ^{a-ag}	858 ^{a-y}	601 ^{h-bj}	751 ^{a-am}
	-18	581 ^{h-bl}	533 ^{l-bq}	894 ^{a-s}	610 ^{g-bi}	748 ^{a-ao}	999 ^{a-h}
	-20	581 ^{h-bl}	386 ^{ag-ce}	164 ^{bl-ce}	138 ^{bo-ce}	131 ^{bp-ce}	91 ^{bv-ce}

MLC: کلکسیون عدس پژوهشگاه علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد. میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر صفت، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

MLC: Mashhad Lentil Collection. Means with the same letters in the same trait are not significantly different ($P \leq 0.05$).

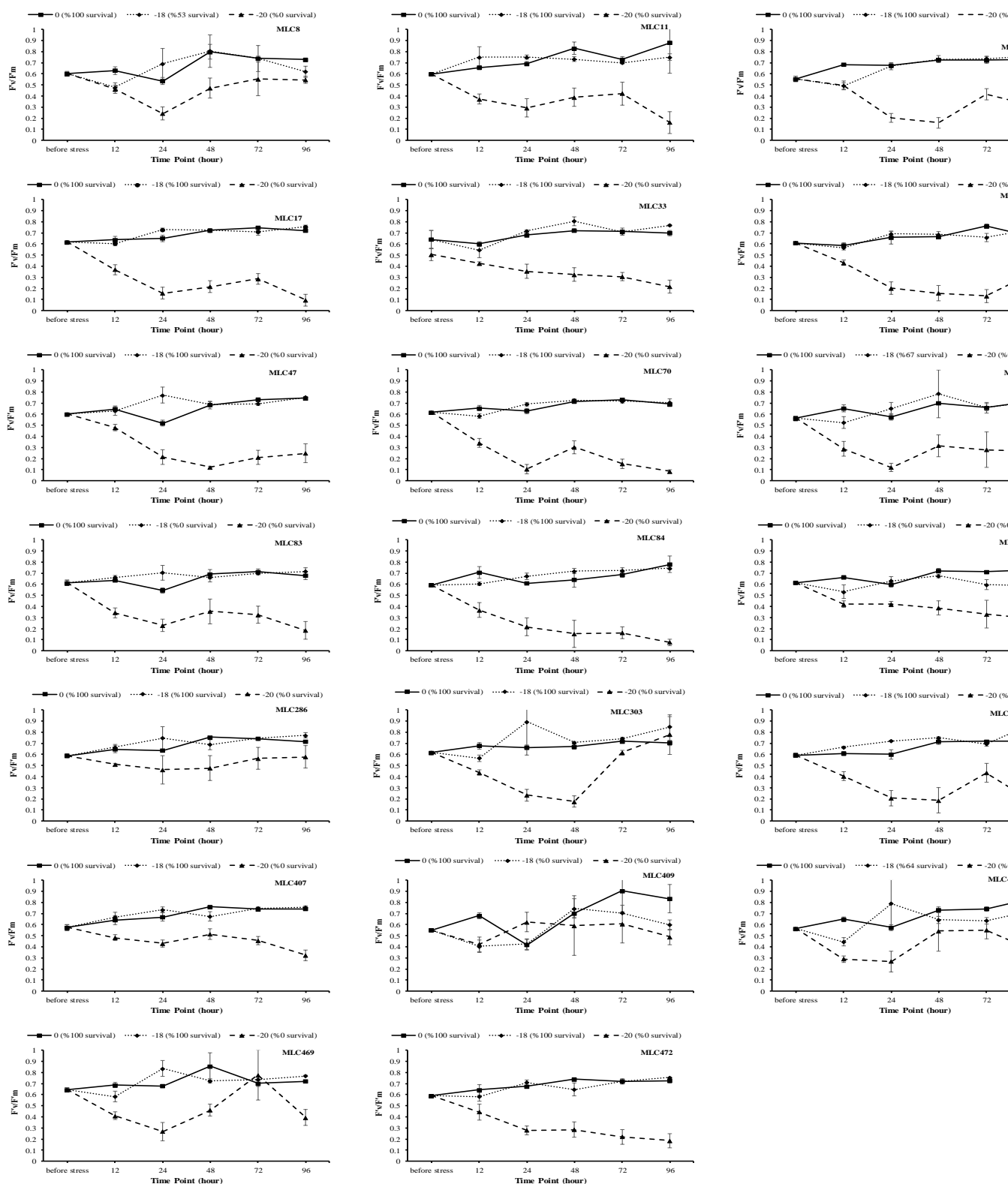


شکل ۲- روند تغییرات بیشینه کارایی پتانسیل فتوسیستم II در شرایط سازگار شده با نور (F_v/F_m) در دوره بازیابی تحت تاثیر دماهای یخ‌زدگی. بارها نشان‌دهنده خطای استاندارد هستند.

Figure 2. Trends of maximum efficiency of PSII photochemistry (F_v/F_m) in the light under freezing stress during recovery period. Vertical bars indicate standard error

در ژنوتیپ‌های عدس، شاخص F_v/F_m تحت تأثیر دما و دوره بازیابی معنی‌دار بود (جدول ۳). در بیشتر ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، تفاوت زیادی بین این مؤلفه در دماهای صفر و -18 درجه سانتی‌گراد در طی دوره بازیابی مشاهده نشد. در دمای -18 درجه سانتی‌گراد در تمام ژنوتیپ‌ها، ابتدا روند کاهشی و سپس افزایشی در این شاخص در طول دوره بازیابی مشاهده شد، به طوری که میزان این شاخص در ۹۶ ساعت بعد از اعمال تنش در بیشتر ژنوتیپ‌ها به مقدار اولیه خود در زمان قبل از تنش اعمال یخ‌زدگی رسید. تنها ژنوتیپ MLC103 کمترین توانایی در بازیابی آسیب حاصل از تنش یخ‌زدگی به فتوسیستم II را در دمای -18 درجه سانتی‌گراد داشت، به طوری که با وجود بهبود این شاخص در دمای مذکور در طول دوران بازیابی، مقدار شاخص F_v/F_m در آن در اتمام دوران بازیابی در حدود پنج درصد کمتر از زمان قبل از اعمال تنش بود. در تمامی ژنوتیپ‌ها، قرارگیری در معرض دمای -20 درجه سانتی‌گراد سبب کاهش این مؤلفه شد. هرچند برخی ژنوتیپ‌ها توانستند در طول دوره بازیابی، مقدار این شاخص را بهبود بخشند، اما مقدار آن در بیشتر ژنوتیپ‌ها به مقدار اولیه قبل از تنش و ساعات اولیه پس از اعمال تنش نرسید. همچنین با بررسی روند تغییرات بیشینه کارایی پتانسیل فتوسیستم II مشخص شد که ژنوتیپ MLC286 از کمترین میزان نوسان پس از تنش یخ‌زدگی در دماهای -18 و -20 درجه سانتی‌گراد 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 در دمای -20 درجه سانتی‌گراد و ۹۶ ساعت پس از تنش یخ‌زدگی در مقایسه با قبل از تنش یخ‌زدگی، فقط دو درصد کاهش داشت. همچنین ژنوتیپ MLC303 با وجود کاهش در این شاخص تا ۴۸ ساعت بعد از اعمال تنش دمایی -20 درجه سانتی‌گراد، توانست مقدار این مؤلفه را بهبود ببخشد، به طوری که میزان آن در ۹۶ ساعت بعد از اعمال تنش، $78/9$ درصد بیشتر از ۱۲ ساعت پس از اعمال تنش بود. به عبارتی، ژنوتیپ‌های MLC286 و MLC303 از توانایی بالاتری در حفظ ساختارهای فتوسنتزی در مواجهه با تنش یخ‌زدگی برخوردار بود.

کاهش دما سبب کاهش F_v/F_m در مقایسه با شاهد شد. هر چند دوره بازیابی سبب افزایش این مؤلفه در مقایسه با شاهد شد، اما به مقدار اولیه خود به قبل از اعمال تنش نرسید (Ortiz et al., 2017). میزان F_v/F_m در ژنوتیپ‌های باقلا تحت تنش سرما بین $0/448$ تا $0/633$ متغیر بود. بیشترین کاهش در این مؤلفه نسبت به شاهد (کاهش $45/9$ درصدی) مشاهده شد. هرچند کاهش دما سبب کاهش این مؤلفه در تمامی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه شد، اما اندازه‌گیری این مؤلفه ۲۴ ساعت پس از اعمال تنش، نشان‌دهنده افزایش F_v/F_m در مقایسه با زمان تنش بود؛ هرچند مقدار آن به زمان قبل از اعمال تنش نرسید (Zhou et al., 2018a).



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

Figure 3. Trends of maximum efficiency of PSII photochemistry in the light (F_v/F'_m) in lentil genotypes in freezing temperature and during recovery period. Vertical bars indicate standard error

تنش دمایی سبب کاهش فعالیت آنزیم رویسکو، کاهش آسیمیسیلاسیون دی اکسیدکربن به دلیل بسته شدن روزنه‌ها، اختلال در سیستم انتقال الکترون فتوسنتزی، تخریب پروتئین‌های D1 و D2 در مرکز واکنش فتوسیستم II و اختلال در کارکرد کمپلکس‌های آزادکننده اکسیژن در فتوسیستم II می‌شود. حذف پروتئین‌های D1 و D2، تاثیر منفی بر فعالیت فتوسیستم II دارد (Sasi *et al.*, 2018). ارتباط مثبتی بین حفظ زنجیره انتقال الکترون فتوسنتزی و فعالیت فتوسیستم II با فعالیت پروتئین D1 در مرکز واکنش این فتوسیستم (مسئول بیان ژن psbA که ژن مقاومت به سرما است) مشاهده شده است (Shi *et al.*, 2019)؛ بنابراین ژنوتیپ‌های متحمل به سرما از توانایی بیشتری در حفظ فعالیت‌های فتوسنتزی و حفظ زنجیره انتقال الکترون فتوسنتزی برخوردارند.

برهمکنش ژنوتیپ، دمای یخ‌زدگی و دوره بازیابی، تاثیر معنی‌داری بر کارایی عملیاتی فتوسیستم II در شرایط سازگار شده با نور ($\Phi_{PSII} = F'_q/F'_m$) داشتند (جدول ۳). کاهش دما در تمامی ژنوتیپ‌ها در تمامی دوره‌های بازیابی، سبب کاهش F'_q/F'_m شد. دمای صفر درجه سانتی‌گراد در تمامی ژنوتیپ‌ها، سبب افزایش این مؤلفه در طول دوره بازیابی شد، به‌طوری‌که میزان F'_q/F'_m در تمامی ژنوتیپ‌ها در ۹۶ ساعت بعد از اعمال تنش، بیشتر از قبل و ۱۲ ساعت بعد از اعمال تنش بود. در بیشتر ژنوتیپ‌ها، قرارگیری در معرض دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد در طی دوره بازیابی، سبب کاهش و سپس افزایش این مؤلفه شد. بجز سه ژنوتیپ MLC11، MLC83 و MLC103 در سایر ژنوتیپ‌ها، مقدار این مؤلفه در پایان زمان بازیابی، بیشتر از قبل و ۱۲ ساعت بعد از اعمال تنش بود. به‌عبارتی، اکثر ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از توانایی مناسبی به‌منظور بازیافت این مؤلفه در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد برخوردار بودند. در اکثر ژنوتیپ‌ها، تنش دمایی ۲۰- درجه سانتی‌گراد ۲۴ ساعت پس از تنش، سبب کاهش شاخص F'_q/F'_m به حداقل میزان خود شد. هرچند برخی از ژنوتیپ‌ها توانستند میزان این شاخص را در طی دوره بازیابی

افزایش دهند، اما بجز ژنوتیپ MLC303 در سایر ژنوتیپ‌ها، مقدار این شاخص به مقدار قبل از اعمال تنش نرسید. در بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی، کارایی عملیاتی فتوسیستم II ژنوتیپ MLC84 در مقایسه با سایر ژنوتیپ‌ها در پایان دوره بازیابی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد پایین‌تر بود، به‌طوری‌که مقدار این شاخص در ۹۶ ساعت بعد از اعمال تنش در این ژنوتیپ، ۷/۸ برابر کمتر از زمان قبل از اعمال تنش بود؛ این نتایج نشان‌دهنده وجود تنوع ژنتیکی بالا در ژنوتیپ‌های عدس می‌باشد. تفاوت معنی‌داری بین دماهای صفر و ۱۸- درجه سانتی‌گراد در طی دوره‌های بازیابی در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه مشاهده نشد که این مسئله بیانگر توانایی بالای آن‌ها در بازیافت پس از اعمال تنش یخ‌زدگی در این دماها می‌باشد. همبستگی مثبت و معنی‌دار بین این شاخص با درصد بقا ($r^2=0.73^{**}$) مشاهده شده (جدول ۹) که موید این مطلب است که با وجود بقای بالای ۵۰ درصد در اکثر ژنوتیپ‌ها در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد و عدم تحمل دمای ۲۰- درجه توسط آن‌ها (شکل ۳)، ژنوتیپ‌های مورد بررسی، قادر به بازیابی مناسب این شاخص در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نیستند (جدول ۸). به‌عبارتی، نتایج نشان‌دهنده وجود پتانسیل بازیابی مناسبی در ژنوتیپ‌های عدس مورد بررسی می‌باشد.

کاهش دما سبب کاهش کارایی عملیاتی فتوسیستم II در گیاهچه‌های وحشی و زراعی گوجه‌فرنگی شد. تنها در دو واریته وحشی (*Solanum pennellii*) Pe و (*Solanum peruvianum*) Pr1، تفاوتی بین این شاخص در شرایط کاهش دما و شاهد مشاهده نشد (Zhou *et al.*, 2018b). کاهش کارایی عملیاتی فتوسیستم II در دوره بازیافت پس از تنش یخ‌زدگی روند کاهشی داشت، به‌طوری‌که پس از دو روز به حداقل میزان خود رسید. هرچند بررسی‌ها نشان‌دهنده افزایش این مؤلفه در طی دوره بازیابی در طی روزهای دوم تا پنجم بود، اما مقدار این شاخص به مقدار اولیه قبل از اعمال تنش نرسید (Hou *et al.*, 2016).

جدول ۸- کارایی عملیاتی فتوسیستم II در شرایط سازگار شده با نور در ژنوتیپ‌های عدس در دماهای یخ‌زدگی و دوره بازیابی

Table 8. $F'q/F'm$ in the lentil genotypes at the freezing temperature and during time point

Genotype	Freezing temperature (°C)	Time Point (hour)					
		Before stress	12	24	48	72	96
MLC8	0	0.730 ^{a-u}	0.740 ^{a-p}	0.800 ^{a-i}	0.540 ^{a-be}	0.630 ^{a-an}	0.610 ^{a-au}
	-18	0.620 ^{a-ao}	0.740 ^{a-p}	0.810 ^{a-h}	0.700 ^{a-z}	0.480 ^{c-bj}	0.610 ^{a-au}
	-20	0.550 ^{a-be}	0.550 ^{a-be}	0.470 ^{d-bj}	0.240 ^{ak-bj}	0.450 ^{e-bj}	0.610 ^{a-au}
MLC11	0	0.880 ^{a-b}	0.730 ^{a-v}	0.830 ^{a-g}	0.690 ^{a-aa}	0.660 ^{a-aj}	0.600 ^{a-av}
	-18	0.750 ^{a-o}	0.700 ^{a-y}	0.730 ^{a-r}	0.750 ^{a-n}	0.750 ^{a-n}	0.600 ^{a-av}
	-20	0.170 ^{az-bj}	0.420 ^{h-bj}	0.390 ^{j-bj}	0.290 ^{z-bj}	0.360 ^{m-bj}	0.600 ^{a-av}
MLC13	0	0.730 ^{a-s}	0.730 ^{a-v}	0.730 ^{a-v}	0.680 ^{a-ag}	0.690 ^{a-ac}	0.560 ^{a-bd}
	-18	0.760 ^{a-m}	0.730 ^{a-r}	0.730 ^{a-u}	0.670 ^{a-ai}	0.480 ^{b-bj}	0.560 ^{a-bd}
	-20	0.310 ^{x-bj}	0.420 ^{h-bj}	0.160 ^{bb-bj}	0.200 ^{at-bj}	0.480 ^{b-bj}	0.560 ^{a-bd}
MLC17	0	0.730 ^{a-v}	0.750 ^{a-o}	0.730 ^{a-v}	0.650 ^{a-aj}	0.640 ^{a-ak}	0.620 ^{a-ap}
	-18	0.760 ^{a-n}	0.710 ^{a-x}	0.720 ^{a-v}	0.730 ^{a-v}	0.610 ^{a-au}	0.620 ^{a-ap}
	-20	0.100 ^{bi-bj}	0.280 ^{ad-bj}	0.210 ^{aq-bj}	0.150 ^{be-bj}	0.360 ^{m-bj}	0.620 ^{a-ap}
MLC33	0	0.700 ^{a-y}	0.720 ^{a-w}	0.730 ^{a-v}	0.680 ^{a-ae}	0.610 ^{a-au}	0.640 ^{a-an}
	-18	0.780 ^{a-l}	0.710 ^{a-x}	0.810 ^{a-h}	0.720 ^{a-w}	0.540 ^{a-be}	0.640 ^{a-an}
	-20	0.210 ^{ar-bj}	0.300 ^{y-bj}	0.320 ^{u-bj}	0.350 ^{n-bj}	0.420 ^{h-bj}	0.640 ^{a-an}
MLC38	0	0.670 ^{a-ai}	0.760 ^{a-m}	0.670 ^{a-ai}	0.660 ^{a-aj}	0.590 ^{a-ax}	0.600 ^{a-au}
	-18	0.740 ^{a-p}	0.660 ^{a-aj}	0.690 ^{a-ab}	0.690 ^{a-z}	0.570 ^{a-az}	0.600 ^{a-au}
	-20	0.330 ^{p-bj}	0.130 ^{bf-bj}	0.150 ^{bc-bj}	0.200 ^{au-bj}	0.420 ^{h-bj}	0.600 ^{a-au}
MLC47	0	0.740 ^{a-o}	0.730 ^{a-r}	0.680 ^{a-ad}	0.520 ^{a-bg}	0.640 ^{a-aj}	0.600 ^{a-au}
	-18	0.750 ^{a-n}	0.690 ^{a-aa}	0.690 ^{a-ab}	0.770 ^{a-l}	0.630 ^{a-an}	0.600 ^{a-av}
	-20	0.230 ^{am-bj}	0.200 ^{au-bj}	0.120 ^{bf-bj}	0.210 ^{ap-bj}	0.470 ^{d-bj}	0.600 ^{a-av}
MLC70	0	0.690 ^{a-aa}	0.730 ^{a-r}	0.720 ^{a-w}	0.630 ^{a-an}	0.660 ^{a-aj}	0.620 ^{b-aq}
	-18	0.710 ^{a-y}	0.720 ^{a-w}	0.730 ^{a-v}	0.690 ^{a-ab}	0.580 ^{a-az}	0.620 ^{a-aq}
	-20	0.090 ^{bi-bj}	0.150 ^{be-bj}	0.300 ^{y-bj}	0.100 ^{hh-bj}	0.330 ^{r-bj}	0.620 ^{a-aq}
MLC74	0	0.720 ^{a-v}	0.660 ^{a-aj}	0.700 ^{a-y}	0.580 ^{a-az}	0.650 ^{a-aj}	0.560 ^{a-bc}
	-18	0.720 ^{a-w}	0.670 ^{a-ah}	0.790 ^{a-k}	0.650 ^{a-aj}	0.570 ^{a-ba}	0.560 ^{a-bc}
	-20	0.270 ^{ah-bj}	0.270 ^{af-bj}	0.310 ^{w-bj}	0.120 ^{hg-bj}	0.280 ^{ab-bj}	0.560 ^{a-bc}
MLC83	0	0.680 ^{a-ag}	0.710 ^{a-w}	0.690 ^{a-ab}	0.540 ^{a-be}	0.640 ^{a-an}	0.610 ^{a-as}
	-18	0.660 ^{a-aj}	0.70 ^{a-y}	0.660 ^{a-aj}	0.710 ^{a-x}	0.670 ^{a-ai}	0.610 ^{a-as}
	-20	0.190 ^{av-bj}	0.320 ^{t-bj}	0.360 ^{m-bj}	0.230 ^{an-bj}	0.330 ^{q-bj}	0.610 ^{a-as}
MLC84	0	0.800 ^{a-i}	0.690 ^{a-ab}	0.650 ^{a-aj}	0.610 ^{a-at}	0.710 ^{a-x}	0.590 ^{a-aw}
	-18	0.750 ^{a-o}	0.720 ^{a-v}	0.720 ^{a-w}	0.670 ^{a-ah}	0.600 ^{a-au}	0.590 ^{a-aw}
	-20	0.080 ^{bj}	0.160 ^{ba-bj}	0.150 ^{bd-bj}	0.210 ^{as-bj}	0.360 ^{m-bj}	0.590 ^{a-aw}
MLC103	0	0.740 ^{a-q}	0.710 ^{a-x}	0.720 ^{a-v}	0.610 ^{a-au}	0.660 ^{a-ai}	0.610 ^{a-as}
	-18	0.590 ^{a-aw}	0.600 ^{a-av}	0.670 ^{a-ah}	0.630 ^{a-ao}	0.530 ^{a-bf}	0.610 ^{a-as}
	-20	0.320 ^{v-bj}	0.330 ^{s-bj}	0.380 ^{k-bj}	0.420 ^{h-bj}	0.400 ^{h-bj}	0.610 ^{a-as}
MLC286	0	0.720 ^{a-w}	0.740 ^{a-o}	0.760 ^{a-n}	0.640 ^{a-am}	0.640 ^{a-ak}	0.590 ^{a-aw}
	-18	0.770 ^{a-l}	0.740 ^{a-o}	0.800 ^{a-j}	0.750 ^{a-o}	0.660 ^{a-ai}	0.590 ^{a-aw}
	-20	0.580 ^{a-az}	0.560 ^{a-ab}	0.480 ^{c-bj}	0.460 ^{d-bj}	0.500 ^{a-bh}	0.590 ^{a-aw}
MLC303	0	0.710 ^{a-x}	0.700 ^{a-y}	0.670 ^{a-ah}	0.660 ^{a-ai}	0.690 ^{a-ab}	0.620 ^{a-as}
	-18	0.850 ^{a-e}	0.740 ^{a-o}	0.710 ^{a-x}	0.900 ^a	0.570 ^{a-ba}	0.620 ^{a-as}
	-20	0.780 ^{a-k}	0.620 ^{a-ar}	0.290 ^{aa-bj}	0.230 ^{al-bj}	0.420 ^{h-bj}	0.620 ^{a-as}
MLC334	0	0.720 ^{a-v}	0.720 ^{a-w}	0.720 ^{a-v}	0.590 ^{a-aw}	0.610 ^{a-as}	0.590 ^{a-aw}
	-18	0.880 ^{a-c}	0.700 ^{a-z}	0.750 ^{a-o}	0.720 ^{a-v}	0.670 ^{a-ai}	0.590 ^{a-aw}
	-20	0.170 ^{ay-bj}	0.430 ^{g-bj}	0.180 ^{ax-bj}	0.200 ^{au-bj}	0.390 ^{j-bj}	0.590 ^{a-aw}
MLC407	0	0.740 ^{a-o}	0.740 ^{a-p}	0.760 ^{a-m}	0.670 ^{a-ai}	0.680 ^{a-ag}	0.570 ^{a-az}
	-18	0.760 ^{a-n}	0.750 ^{a-o}	0.670 ^{a-ah}	0.730 ^{a-t}	0.670 ^{a-ai}	0.570 ^{a-az}
	-20	0.320 ^{u-bj}	0.460 ^{d-bj}	0.510 ^{a-bg}	0.430 ^{g-bj}	0.470 ^{c-bj}	0.570 ^{a-az}
MLC409	0	0.660 ^{a-aj}	0.710 ^{a-x}	0.700 ^{a-y}	0.420 ^{h-bj}	0.640 ^{a-al}	0.540 ^{a-be}
	-18	0.600 ^{a-av}	0.680 ^{a-ag}	0.750 ^{a-o}	0.500 ^{a-bh}	0.400 ^{h-bj}	0.540 ^{a-be}
	-20	0.490 ^{b-bi}	0.340 ^{o-bj}	0.260 ^{aj-bj}	0.440 ^{f-bj}	0.410 ^{h-bj}	0.540 ^{a-be}
MLC454	0	0.850 ^{a-f}	0.740 ^{a-p}	0.730 ^{a-r}	0.580 ^{a-az}	0.630 ^{a-bj}	0.560 ^{a-bb}
	-18	0.730 ^{a-v}	0.640 ^{a-an}	0.650 ^{a-aj}	0.700 ^{a-y}	0.440 ^{f-bj}	0.560 ^{a-bb}
	-20	0.370 ^{l-bj}	0.550 ^{a-be}	0.540 ^{a-be}	0.260 ^{ai-bj}	0.280 ^{ae-bj}	0.560 ^{a-bb}
MLC469	0	0.720 ^{a-v}	0.700 ^{a-y}	0.860 ^{a-d}	0.680 ^{a-af}	0.680 ^{a-af}	0.640 ^{a-al}
	-18	0.770 ^{a-l}	0.740 ^{a-q}	0.730 ^{a-v}	0.840 ^{a-g}	0.580 ^{a-ax}	0.640 ^{a-al}
	-20	0.400 ^{h-bj}	0.490 ^{a-bi}	0.450 ^{d-bj}	0.260 ^{al-bj}	0.400 ^{j-bj}	0.640 ^{a-al}
MLC472	0	0.730 ^{a-v}	0.720 ^{a-v}	0.740 ^{a-q}	0.680 ^{a-ah}	0.700 ^{a-y}	0.570 ^{a-az}
	-18	0.760 ^{a-n}	0.720 ^{a-w}	0.650 ^{a-aj}	0.710 ^{a-x}	0.580 ^{a-ay}	0.570 ^{a-az}
	-20	0.190 ^{aw-bj}	0.220 ^{ao-bj}	0.280 ^{ac-bj}	0.270 ^{ag-bj}	0.430 ^{g-bj}	0.570 ^{a-az}

MLC: کلکسیون عدس پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد. میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر صفت، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

MLC: Mashhad Lentil Collection. Means with the same letters in the same trait are not significantly different ($P \leq 0.05$).

اعمال تنش افزایش یافت، اما سپس روندی کاهشی در این شاخص مشاهده شد. تنش دمایی ۲۰- درجه سانتی‌گراد، سبب کاهش این شاخص در تمام دوره‌های بازبازی شد و مقدار آن در ۷۲ ساعت بعد از اعمال تنش

فرود فتوشیمیایی ($F'q/F'v$) تنها تحت تاثیر دماهای یخ‌زدگی و دوره بازبازی قرار گرفت (جدول ۳). در دماهای صفر و ۱۸- درجه سانتی‌گراد و ۱۲ ساعت بعد از اعمال تنش، میزان این شاخص نسبت به قبل از

گوجه فرنگی شد. در وارپته های وحشی $Pi2$, $Pi1$, Pe و $Pr1$ ، بین شاهد و کاهش دما تفاوتی از لحاظ ضریب باز بودن مراکز واکنش فتوسیستم II مشاهده نشد (Zhou *et al.*, 2018b). همچنین کاهش این مؤلفه در طی دوره بازیافت بعد از اعمال تنش مشاهده شد، به‌طوری‌که در روز سوم بازیابی، مقدار این مؤلفه بیشتر از دو برابر کمتر از مقدار آن در روز اعمال تنش بود (Dong *et al.*, 2020).

به حداقل مقدار خود رسید (جدول ۴). برهمکنش دماهای یخ‌زدگی و دوره بازیابی بر ضریب باز بودن مراکز واکنش فتوسیستم II (qL) معنی‌دار بود (جدول ۳). کاهش دما سبب کاهش این شاخص در تمامی دوره‌های بازیابی شد. مقدار این ضریب در ۷۲ ساعت پس از تنش یخ‌زدگی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد، ۶/۵ درصد کمتر از قبل از اعمال تنش بود (جدول ۴). کاهش دما سبب کاهش qL در گیاهچه‌های

جدول ۹- ضرایب همبستگی بین صفات مورد بررسی ژنوتیپ‌های عدس در دمای ۱۸- (قطر بالا) و ۲۰- درجه سانتی‌گراد (قطر پایین)

Table 9. Correlation matrix of lentil genotypes properties at -18 °C (above diagonal) and total temperature (lower diamond).

NO.	Parameters	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.
1.	Survival	1	0.80**	-0.31 ^{ns}	0.52*	0.66**	0.73**	0.73**	-0.11 ^{ns}	-0.39 ^{ns}
2.	Dry weight	0.75**	1	0.03 ^{ns}	0.62**	0.64**	0.62**	0.60**	-0.20 ^{ns}	-0.41 ^{ns}
3.	F ₀	-0.24 ^{ns}	-0.02 ^{ns}	1	0.26 ^{ns}	-0.02 ^{ns}	-0.29 ^{ns}	-0.35 ^{ns}	-0.32 ^{ns}	-0.29 ^{ns}
4.	F _m	0.18 ^{ns}	0.49*	0.53*	1	0.95**	0.77**	0.71**	-0.43 ^{ns}	-0.40 ^{ns}
5.	F _v	0.39 ^{ns}	0.64**	0.12 ^{ns}	0.89**	1	0.90**	0.87**	-0.32 ^{ns}	-0.31 ^{ns}
6.	F _v /F _m	0.07 ^{ns}	0.42 ^{ns}	-0.24 ^{ns}	0.50*	0.73**	1	0.99**	-0.19 ^{ns}	-0.29 ^{ns}
7.	F _q /F _m	0.29 ^{ns}	0.56*	-0.20 ^{ns}	0.65**	0.85**	0.90**	1	-0.04 ^{ns}	-0.19 ^{ns}
8.	F _q /F _v	0.37 ^{ns}	0.25 ^{ns}	0.20 ^{ns}	0.43 ^{ns}	0.37 ^{ns}	0.04 ^{ns}	0.40 ^{ns}	1	0.76**
9.	qL	0.28 ^{ns}	0.21 ^{ns}	0.27 ^{ns}	0.55*	0.47*	0.14 ^{ns}	0.47*	0.97**	1

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

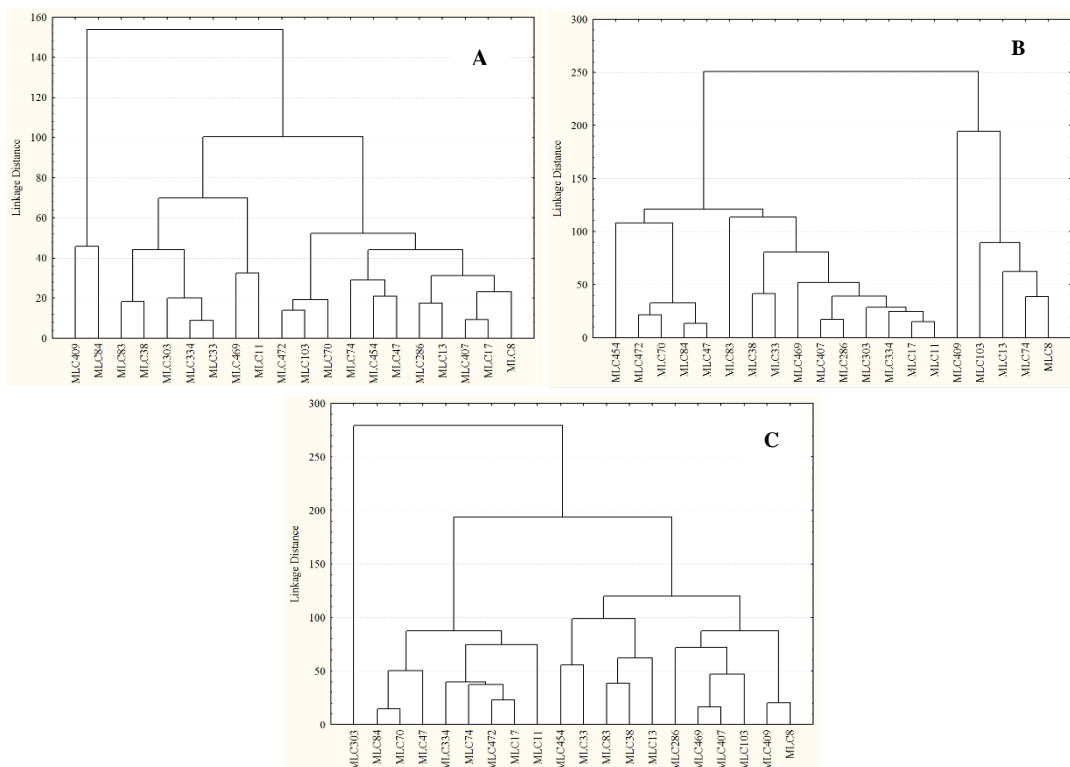
^{ns}, * and **: non-significant and significant at 5%, and 1% of probability levels, respectively.

(شکل ۵ الف). در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد، مؤلفه اول ۵۵/۳۹ درصد از تغییرات صفات شامل qL و $F'q/F'v$ و مؤلفه دوم نیز صفات F_0 را با ۲۴/۴۹ درصد توضیح دادند (شکل ۵ ب). در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد، مؤلفه اول ۵۴/۲۰ درصد از تغییرات صفات شامل F_m , F_0 , $F'v/F'm$ و $F'q/F'v$ و مؤلفه دوم نیز صفات F_m و F_0 را با ۳۰/۳۴ درصد توضیح دادند (شکل ۵ ج). در دمای صفر و دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد، تمام ژنوتیپ‌ها به ترتیب ۱۰۰ درصد بقا و بدون بقا بودند؛ به همین دلیل در PCA، جزو متغیرها قرار نگرفتند. بررسی آزمون تجزیه به مؤلفه‌های اصلی همراه با نتایج تجزیه خوشه‌ای نشان داد که دمای دماهای مورد بررسی، بیشتر ژنوتیپ‌های موجود در گروه دوم در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد، در دو بُعد تجزیه به مؤلفه‌های اصلی قرار دارند که با توجه به این نتایج، احتمالاً بتوان عنوان کرد که این ژنوتیپ‌ها قادر به حفظ بقای خود در شرایط تنش یخ‌زدگی بودند و از توانایی بالاتری در حفظ بیشینه کارایی پتانسیل فتوسیستم II در مواجهه با تنش

نتایج تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های مورد مطالعه عدس در دماهای مختلف نشان داد که در دمای صفر درجه سانتی‌گراد، ژنوتیپ‌ها در سه گروه (شکل ۴ الف)، در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد در دو گروه (شکل ۴ ب) و دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد در سه گروه مجزا قرار گرفتند (شکل ۴ ج). در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد، گروه دوم که شامل ۱۵ ژنوتیپ بود، درصد بقا ۱۱/۷ درصد نسبت به میانگین کل بقای بیشتر بود (جدول ۱۰). به‌طور کلی در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد، نتایج نشان‌دهنده برتری نسبی ژنوتیپ‌های گروه دوم در صفات مورد مطالعه به جز فرود فتوشیمیایی ($F'q/F'v$) و ضریب باز بودن مراکز واکنش فتوسیستم II (qL) بود (جدول ۱۰).

نتایج حاصل از آزمون تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA) و ترسیم بای‌پلات نشان داد که در دمای صفر درجه سانتی‌گراد، مؤلفه اول ۴۹/۲۶ درصد از تغییرات صفات شامل $F'q/F'm$ و $F'v/F'm$ و مؤلفه دوم نیز صفات F_0 , $F'q/F'v$, F_m , $F'v$ و qL را با ۳۰/۴۶ درصد توضیح دادند

یخزدگی برخوردار بودند که از این ویژگی‌ها می‌توان در به‌گزینی ژنوتیپ‌های متحمل به یخزدگی عدس استفاده نمود.



شکل ۴- گروه‌بندی خوشه‌ای ژنوتیپ‌های عدس بر اساس صفات مورد مطالعه در دماهای صفر (الف)، ۱۸- (ب) و ۲۰- درجه سانتی‌گراد (ج) تحت شرایط کنترل‌شده. MLC: کلکسیون بذر عدس پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد.

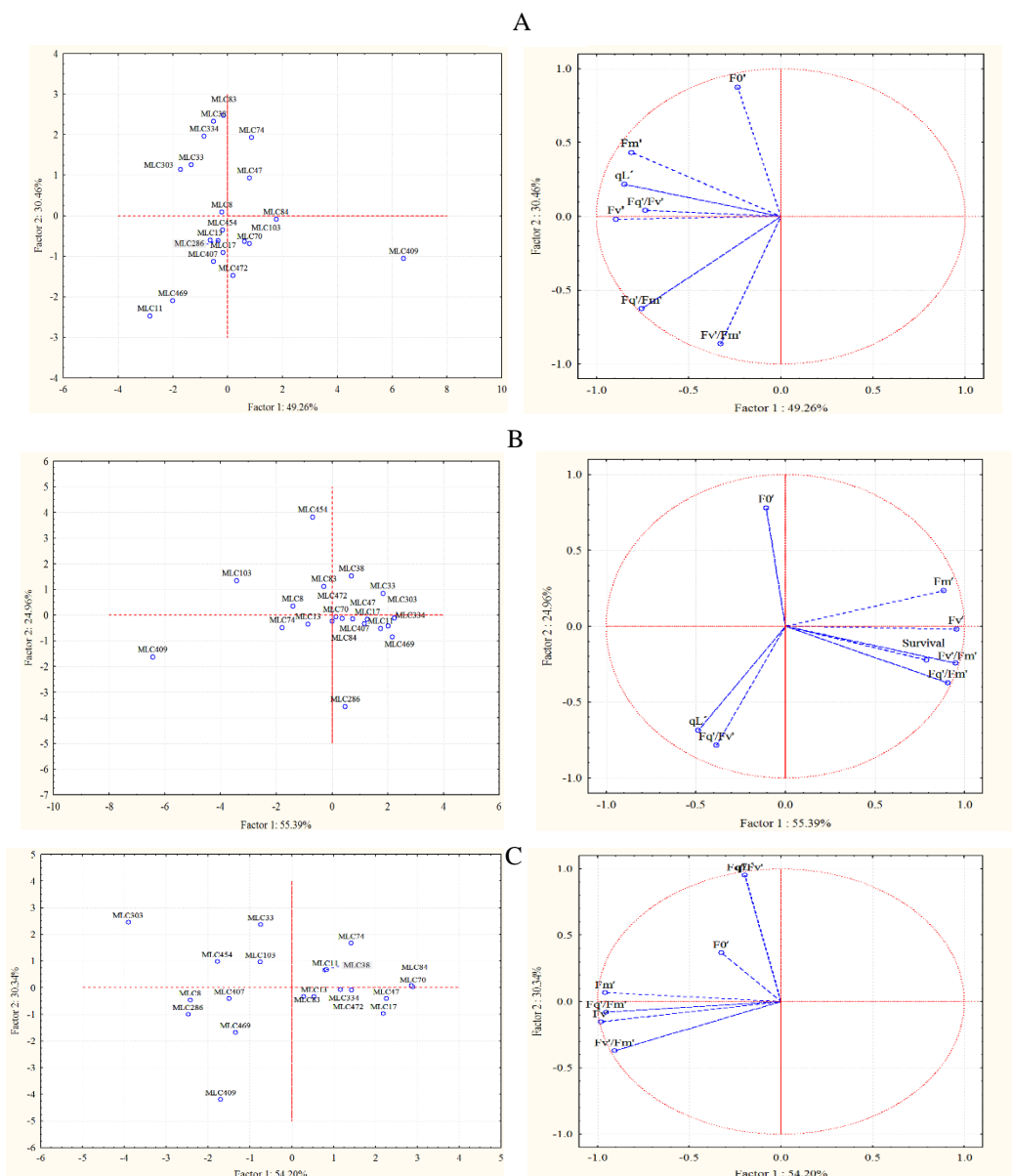
Figure 4. Cluster grouping of lentil genotypes based on studied characteristics at 0°C (A), -18°C (b) and -20°C (C) under controlled conditions. MLC: Mashhad Lentil Collection

جدول ۱۰- میانگین و انحراف از میانگین گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای برای صفات مورد مطالعه در ژنوتیپ‌های عدس در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد تحت شرایط کنترل‌شده

Table 10. Mean and deviation from mean of groups in cluster analysis for traits in lentil genotypes at -18°C under controlled conditions

Genotypes	Group			
	1		2	
	MLC8, MLC13, MLC74, MLC103, MLC409		MLC11, MLC407, MLC286, MLC469, MLC303, MLC472, MLC47, MLC70, MLC84, MLC83, MLC17, MLC334, MLC33, MLC38, MLC454	
Traits	Group mean	Deviation from mean	Group mean	Deviation from mean
Survival	44.0	-35.2	91	11.7
F ⁰	358	-4.40	363	1.500
F ^m	982	-123	1145	40.9
F ^v	613	-130	786	43.4
F ^v /F ^m	0.628	-0.045	0.689	0.015
F ^q /F ^m	0.631	-0.043	0.688	0.014
F ^q /F ^v	1.010	0.007	1.001	-0.002
qL	1.008	0.005	1.001	-0.002

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



شکل ۵- نمودار بای پلات بر مبنای دو مؤلفه اول و دوم با بیشترین توجیه واریانس داده‌ها در دماهای صفر درجه سانتی‌گراد (الف)، ۱۸- درجه سانتی‌گراد (ب) و ۲۰- درجه سانتی‌گراد (ج): MLC: کلکسیون بذر عدس پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد.

Figure 5. Biplot based on two major principal component factors at 0°C (A), -18°C (b) and -20°C (C). MLC: Mashhad Lentil Collection

نتیجه‌گیری کلی

تعیین بقای زمستانه، از جمله مهم‌ترین روش‌های اندازه‌گیری تحمل به تنش یخ‌زدگی به شمار می‌آید، اما عواملی نظیر تفاوت در شدت سرمای زمستان در سال‌های مختلف، یکنواختی آن را کاهش می‌دهد و ایجاد خطا می‌کند. بنابراین به‌منظور رفع این مشکلات، استفاده از انواع مختلف آزمون‌های یخ‌زدگی در شرایط

کنترل شده و مصنوعی در تکمیل آزمایش‌های مزرع‌ای پیشنهاد شدند؛ استفاده از روش فلورسانس کلروفیل، یکی از روش‌های مناسب و غیرتخریبی در این زمینه می‌باشد. نتایج این آزمایش نشان داد که ۱۷ ژنوتیپ (به جز سه ژنوتیپ MLC83، MLC103 و MLC409) از ۲۰ ژنوتیپ عدس مورد بررسی، در دارای بقای بیش از ۵۰ درصد دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد بودند که

و ۲۰- درجه سانتی‌گراد، در طول دوره بازیابی متعلق به ژنوتیپ MLC286 بود. نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای و تجزیه به مولفه‌های اصلی نیز نشان‌دهنده مناسب‌تر بودن ژنوتیپ‌های MLC286، MLC407 و MLC469 در مواجهه با تنش یخ‌زدگی و بازیافت مناسب و توانایی آن‌ها در حفظ فعالیت‌های فتوسنتزی می‌باشد.

احتمالاً در مناطقی که حداقل دمای آن‌ها به ۱۸- درجه سانتی‌گراد می‌رسد، از پتانسیل مناسبی به‌منظور کاشت پاییزه برخوردار هستند. بیشتر ژنوتیپ‌ها توانایی بازیابی مناسبی در جبران کاهش عوامل فلورسانس کلروفیل در نتیجه خسارت تنش یخ‌زدگی در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد داشتند، اما کمترین نوسان در تغییرات شاخص F'_v/F'_m پس از تنش یخ‌زدگی در دماهای ۱۸-

REFERENCES

- Badeck, F. W. & Rizza, F. (2015). A combined field/laboratory method for assessment of frost tolerance with freezing tests and chlorophyll fluorescence. *Agronomy*, 5, 71-88.
- Baker, N. R. (2008). Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis *in vivo*. *Annual Review of Plant Biology*, 59, 89-113.
- Brummer, Y., Kaviani, M. & Tosh, S. M. (2015). Structural and functional characteristics of dietary fiber in beans, lentils, peas and chickpeas. *Food Research International*, 67, 117-125.
- Casado, A. B., Aparicio, T., Rodríguez, M. J., de la Vega, M. P. & Saldaña, C. C. (2016). Winter sowing of adapted lines as a potential yield increase strategy in lentil (*Lens culinaris* Medik.). *Spanish Journal of Agricultural Research*, 14(2), 1-8.
- Choudhary, R., Verma, S. K., Panwar, R. K., Chourasiya, V. K. & Pandey, D. (2017). Morphological characterization of lentil (*Lens culinaris* Medikus.) Varieties based on six qualitative traits. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(5), 1611-1615.
- Dai, A. (2011). Drought under global warming: a review. *WIREs Climate Change*, 2(1), 45-65.
- 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.
- FAOSTAT, (2020). Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://www.fao.org/faostat/en/#compare> (Accessed: 23 December 2020).
- Gautam, N. K., Singh, N., Iqueball, M. A., Singh, M., Akhtar, J. & Khan, Z. (2014). Genetic diversity analysis for quantitative traits in lentil (*Lens culinaris* Medik.) germplasm. *Legume Research*, 37(2), 139-144.
- Gholami Rezvani, N., Nezami, A., Kafi, M. & Nabati, J. (2019). Evaluation of lentil (*Lens culinaris*) genotypes for autumn sowing in cold temperate regions under field condition. *Journal of Crop Production*, 11(4), 142-147. (In Persian)
- Goltsev, V. N., Kalaji, H. M., Paunov, M., Baba, W., Horacek, T., Mojski, J., Kociel, H. & Allakhverdiev, S. I. (2016). Variable chlorophyll fluorescence and its use for assessing physiological condition of plant photosynthetic apparatus. *Russian Journal of Plant Physiology*, 63(6), 869-893.
- Gorim, L. Y. & Vandenberg, A. (2017). Evaluation of wild lentil species as genetic resources to improve drought tolerance in cultivated lentil. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1129.
- Hojjat, S. S. & Galstyan, M. H. (2014). Study of economic-ecological results of cold resistance sort of the lentil world collection under Highlands of Islamic Republic of Iran. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, 7(14), 1364-1370.
- Hou, W., Sun, A. H., Chen, H. L., Yang, F. S., Pan, J. L. & Guan, M. Y. (2016). Effects of chilling and high temperatures on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in leaves of watermelon seedlings. *Biologia Plantarum*, 60(1), 148-154.
- Humplik, J. F., Lazar, D., Furst, T., Husickova, A., Hybl, M. & Spichal, L. (2015). Automated integrative high-throughput phenotyping of plant shoots: a case study of the cold-tolerance of pea (*Pisum sativum* L.). *Plant Methods*, 11(1), 1-11.
- Jarpa-Parra, M. (2018). Lentil protein: a review of functional properties and food application. An overview of lentil protein functionality. *International Journal of Food Science and Technology*, 53, 892-903.
- Jawad, M., Malik, R. M., Sawar, M. A., Asadullah, M., Hussain, I. & Khalid, R. (2019). Genetic analysis of lentil (*Lens Culinaris*) exotic germplasm to identify genotypes suitable for mechanical harvesting. *Pakistan Journal of Agricultural Research*, 32(10), 152-158.

18. Menezes-Silva, P. E., Sanglard, L. M. V. P., Avila, R. T., Morais, L. E., Martins, S. C. V., Nobres, P., Patreze, C. M., Ferreira, M. A., Araujo, W. L., Fernie, A. R. & DaMatta, F. M. (2017). Photosynthetic and metabolic acclimation to repeated drought events play key roles in drought tolerance in coffee. *Journal of Experimental Botany*, 68, 4309–4322.
19. Mishra, A., Heyer, A. G. & Mishra, K. B. (2014). Chlorophyll fluorescence emission can screen cold tolerance of cold acclimated *Arabidopsis thaliana* accessions. *Plant Methods*, 10(1), 1-10.
20. Mugabe, D., Coyne, C.J., Piaskowski, J., Zheng, P., Ma, Y., Landry, E., McGee, R., Main, D., Vandermark, G., Zhang, H. & Abbo, S. (2019). Quantitative trait loci for cold tolerance in chickpea. *Crop Science*, 59, 1–10.
21. Murchie, E. H. & Lawson, T. (2013). Chlorophyll fluorescence analysis: a guide to good practice and understanding some new applications. *Journal of Experimental Botany*, 64(13), 3983–3998.
22. Murray, G. A., Eser, D. L., Gusta, V. & Eteve, G. (1988). *Winter hardiness in pea, lentil, faba bean and chickpea. in summer field R.J.*, (ed.) *World crops: cool season food legumes*. Kluwer Academic Publishers, the Netherlands. 831-843.
23. Ortiz, D., Hu, J. & Salas Fernandez, M. G. (2017). Genetic architecture of photosynthesis in Sorghum bicolor under non-stress and cold stress conditions. *Journal of Experimental Botany*, 68(16), 4545–4557.
24. Rapacz, M., Sasal, M., Kalaji, H. M. & Koscielniak, J. (2015). Is the OJIP test a reliable indicator of winter hardiness and freezing tolerance of common wheat and triticale under variable winter environments? *Plos One*, 10(7), p.e0134820
25. Sasi, S., Venkatesh, J., Daneshi, R. F. & Gururani, M. A. (2018). Photosystem II extrinsic proteins and their putative role in abiotic stress tolerance in higher plants. *Plants*, 7(4), 100.
26. 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 photosystemII and assessment of freezing tolerance of tea cultivar. *Plants*, 8(10), 434.
27. Strydhorst, S., Olson, M. A., Vasanthan, T., McPhee, K. E., McKenzie, R. H., Henriquez, B., Tieulie, J., Middleton, A., Dunn, R., Pfiffner, P., Coles, K., Bandara, M., Kruger, A., Bowness, R., Bing, D. J. & Beauchesne, D. (2015). Adaptability and Quality of Winter Pea and Lentil in Alberta. *Agronomy Journal*, 107(6), 2431-2448.
28. Swoczyna, T., Mojski, J., Baczewska-Dabrowska, A. H., Kalaji, H. M. & Elsheery, N. I. (2020). Can we predict winter survival in plants using chlorophyll a fluorescence? *Photosynthetica*, 58(2), 248-257.
29. Thalhammer, A., Hincha, D. K. & Zuther, E. (2014). Measuring freezing tolerance: electrolyte leakage and chlorophyll fluorescence assays. *Plant cold acclimation: Methods in Molecular Biology*, 1166, 15–24.
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. Zhao, Y., Han, Q., Ding, Ch., Huang, Y., Liao, J., Chen, T., Feng, S., Zhou, L., Zhang, Z., Chen, Y., Yuan, S. & Yuan, M. (2020). Effect of low temperature on chlorophyll biosynthesis and chloroplast biogenesis of rice seedlings during greening. *International Journal of Molecular Sciences*, 21, 1390.
32. Zhou, R., Hyldgaard, B., Yu, X., Rosenqvist, E., Magana Ugarte, R., Wu, Z., Ottosen, C. O. & Zhao, T. (2018a). Phenotyping of faba beans (*Vicia faba* L.) under cold and heat stresses using chlorophyll fluorescence. *Euphytica*, 214(68), 1-13.
33. Zhou, R., Wu, Z., Wang, X., Rosenqvist, E., Wang, Y., Zhao, T. & Ottosen, C. O. (2018b). Evaluation of temperature stress tolerance in cultivated and wild tomatoes using photosynthesis and chlorophyll fluorescence. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 59, 499–509.
34. 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 (1), 1-13.
35. Zushi, K., Kajiwara, S. & Matsuzoe, N. (2012). Chlorophyll a fluorescence OJIP transient as a tool to characterize and evaluate response to heat and chilling stress in tomato leaf and fruit. *Scientia Horticulturae*, 148, 39-46.