



Evaluation of cold stress tolerance in regenerated seedlings of some lentil genotypes

Hajar Ashoordan¹ | Massoud Dehdari² | Asad Masoumiasl³ |
Rahmatollah Karimizadeh⁴

1. Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Yasouj University, Yasouj, Iran. E-mail: hhashoordan3@gmail.com
2. Corresponding Author, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Yasouj University, Yasouj, Iran. E-mail: adehdari@yu.ac.ir
3. Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Yasouj University, Yasouj, Iran. E-mail: masomiasl@yu.ac.ir
4. Dryland Agricultural Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Gachsaran, Iran. E-mail: r.karimizadeh@areeo.ac.ir

Article Info

Article type:
Research Article

Article history:

Received 18 December 2024
Received in revised form
20 February 2025
Accepted 1 June 2025
Published online 29 September 2025

Keywords:

Electrolyte leakage
Factor analysis
Somaclonal variation
Tissue culture

ABSTRACT

Objective: Cold stress causes significant irreversible damage to crops like lentils (*Lens culinaris* Medic), an important legume. Limited information exists on utilizing somaclonal variation to enhance cold tolerance in lentils. This study aimed to evaluate cold tolerance in lentil seedlings regenerated from in vitro culture.

Method: Seven lentil genotypes were exposed to two temperature regimes: 5°C (cold stress) and 25°C (control). The experiment, conducted at Yasouj Agricultural Faculty in 2021, followed a completely randomized design with three replications. Ten days after treatment, morphological and physiological traits—including root length, root fresh and dry weight, shoot height, shoot fresh and dry weight, carotenoid and chlorophyll contents, electrolyte leakage, and total soluble sugar—were measured.

Results: Variance analysis revealed significant effects of temperature on all traits, genotype effects on all traits except root length, and genotype-by-temperature interactions on most traits. Under cold stress (5°C), genotype 09S 83259-14ILL6994/ILL5480 showed superior performance in most traits. Multivariate analysis categorized ILL 7979 and 09S 83259-14ILL6994/ILL5480 as the most cold-tolerant genotypes, while Gachsaran, Kimia, ACC 5588 ILL116, and ACC 4605 were identified as sensitive. Electrolyte leakage exhibited the highest stress sensitivity (stress index of 0.53), indicating susceptibility to cold. Variability coefficients indicated considerable diversity, especially for shoot-related traits. Heritability was highest for total soluble sugar (97.81%) and electrolyte leakage (97.70%), with the lowest for root length (88.02%).

Conclusions: The study revealed significant genetic diversity in cold tolerance among tissue-cultured lentil seedlings. The high genetic variance suggests that selection for cold tolerance based on these traits will be effective. Traits like electrolyte leakage and shoot biomass could serve as reliable selection criteria in breeding programs aimed at improving cold tolerance in lentils.

Cite this article: Ashoordan, H., Dehdari, M., Masoumiasl, A., & Karimizadeh, R. (2025). Evaluation of cold stress tolerance in regenerated seedlings of some lentil genotypes. *Journal of Crops Improvement*, 27 (3), 547-561. DOI: <https://doi.org/10.22059/jci.2025.387181.2909>





ارزیابی تحمل به تنش سرما در بوته‌های باززایی شده تعدادی از ژنوتیپ‌های عدس

هاجر آشوردن^۱ | مسعود دهداری^۲ | اسد معصومی اصل^۳ | رحمت الله کریمی زاده^۴

۱. گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران. رایانامه: hhashoordan3@gmail.com
۲. نویسنده مسئول، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران. رایانامه: adehdari@yu.ac.ir
۳. گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران. رایانامه: masomiasl@yu.ac.ir
۴. موسسه تحقیقات کشاورزی دیم کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، گچساران، ایران. رایانامه: r.karimzadeh@areeo.ac.ir

چکیده

اطلاعات مقاله

هدف: با توجه به خسارت زیاد سرما در کشت پاییزه عدس و عدم امکان اعمال تیمار سرما در مزرعه این مطالعه با هدف استفاده از تنوع سوماکلونی و بررسی تحمل به سرما در گیاهچه‌های حاصل از کشت درون شیشه‌ای اجرا گردید.

نوع مقاله: مقاله پژوهشی

روش پژوهش: جهت بررسی تحمل به سرما گیاهچه‌های باززایی شده هفت ژنوتیپ عدس در معرض دو سطح دمایی ۵ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. آزمایش در هر سطح دمایی به صورت طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در دانشکده کشاورزی یاسوج در سال ۱۴۰۰ به اجرا درآمد. ده روز بعد از اعمال تیمارهای دمایی صفات ارتفاع اندام هوایی، وزن تر اندام هوایی، وزن خشک اندام هوایی، وزن تر ریشه، وزن خشک ریشه و طول ریشه اندازه‌گیری شدند به علاوه نشت الکترولیت، میزان قندهای محلول و کلروفیل برگ نیز اندازه‌گیری شدند. سپس تجزیه واریانس بر روی مشاهدات صورت پذیرفت و براساس نتایج به دست آمده ضرایب تنوع فنوتیپی و ژنوتیپی و وراثت‌پذیری صفات محاسبه شدند. در مرحله بعد تجزیه به عامل‌ها انجام و مهم‌ترین عامل‌ها تفسیر شدند. در نهایت نمودار سه‌بعدی براساس سه عامل اول ترسیم و ژنوتیپ‌ها گروه‌بندی شدند.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۹/۲۸

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۱۲/۰۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۳/۱۱

تاریخ انتشار: ۱۴۰۴/۰۷/۰۷

یافته‌ها: نتایج تجزیه واریانس مرکب نشان داد که اثر دما برای تمامی صفات، اثر ژنوتیپ برای تمامی صفات به جز طول ریشه و برهم‌کنش دما و ژنوتیپ برای تمامی صفات به جز ارتفاع اندام هوایی، مقدار کاروتنوئید و کلروفیل معنی‌دار شدند. در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد (تنش سرما) از نظر بیش‌تر صفات ژنوتیپ 09S 83259-14ILL6994/ILL5480 از سایر ژنوتیپ‌ها بهتر بود. گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها با استفاده از نمودار سه‌بعدی حاصل از امتیاز سه عامل اول، ژنوتیپ‌های 09S 83259-14ILL6994/ILL5480 و ILL 7979 را به عنوان متحمل‌ترین ژنوتیپ‌ها در شرایط تنش سرما معرفی نمود. صفت نشت الکترولیت بیش‌ترین مقدار شدت تنش (۵۳٪) را داشت که نشان می‌دهد این صفت بیش‌تر از سایر صفات تحت تأثیر سرما قرار گرفت. ضرایب تنوع ژنوتیپی و فنوتیپی نشان داد که ژنوتیپ‌ها از نظر صفات مرتبط با اندام هوایی بیش‌ترین تنوع را داشتند. سهم واریانس ژنتیکی نسبت به سایر اجزا در این تنوع بیش‌تر بود.

نتیجه‌گیری: در مجموع نتایج نشان داد که بین گیاهچه‌های حاصل از کشت بافت ژنوتیپ‌ها تنوع کافی از نظر تحمل به سرما وجود دارد. بالا بودن سهم واریانس ژنتیکی در این مطالعه نشان می‌دهد که انتخاب در شرایط کشت بافت برای تحمل به سرما در عدس کارا خواهد بود. به علاوه، صفات مهمی مثل میزان نشت الکترولیت، وزن تر و خشک اندام هوایی به شدت تحت تأثیر سرما قرار گرفته‌اند که احتمالاً بتوانند به عنوان معیاری برای تحمل به سرما در عدس به کار روند. از این نتایج می‌توان در برنامه‌های اصلاحی بهبود تحمل به سرما در عدس استفاده نمود.

کلیدواژه‌ها:

تجزیه عامل‌ها

تنوع سوماکلونی

کشت درون شیشه‌ای

نشت الکترولیت

استناد: آشوردن، هاجر؛ دهداری، مسعود؛ معصومی اصل، اسد و کریمی زاده، رحمت‌الله (۱۴۰۴). ارزیابی تحمل به تنش سرما در بوته‌های باززایی شده تعدادی از ژنوتیپ‌های عدس. به زراعی کشاورزی، ۲۷ (۳)، ۵۴۷-۵۶۱. DOI: <https://doi.org/10.22059/jci.2025.387181.2909>



۱. مقدمه

تنش دما از عوامل اصلی است که رشدونمو گیاه و درنهایت عملکرد آن را تحت تأثیر قرار می‌دهد. دمای پایین یکی از مهم‌ترین عوامل غیرزنده محدودکننده رشد، پراکنش و تولید گیاه می‌باشد. میزان خسارت ناشی از دمای پایین به فاکتورهای بسیاری چون مرحله نمو گیاه، درجه سرمادزدگی، دوام آن و سرعت افت دما وابسته است. با کاهش دما، سرعت واکنش‌های شیمیایی کاهش می‌یابد و در نتیجه واکنش‌های تعادلی در جهت آزادشدن انرژی پیش می‌روند. بنابراین، در سرما، انرژی متابولیکی کم‌تری در دسترس است، جذب آب و عناصر غذایی محدود می‌شود، بیوسنتز کم‌تری حادث می‌گردد، فتوسنتز و ذخیره‌سازی کاهش می‌یابد و رشد متوقف می‌شود. طولانی‌تر و سردترشدن دوره‌های تنش دمای کم باعث می‌شود تا نتایج زیان‌بار برای گیاه افزایش یابد (شابالا^۱، ۲۰۱۲). اثرات تنش سرما و تغییرات ناشی از وقوع آن در سطح سلولی و اندام‌ها بروز می‌کند که بازتاب آن در سطوح بالاتر (اندام گیاهی) مشاهده می‌شود (وانی^۲ و هرت^۳، ۲۰۱۸). وقتی دما به حد آستانه تحمل گیاه می‌رسد، ممکن است ساختارهای سلولی و فعالیت آن‌ها به‌طور ناگهانی آسیب ببیند. این حالت می‌تواند تغییر خاصیت غشا، از دست‌رفتن فشار تورژسانس، کاهش سطح کلروفیل، بلوکه‌شدن زنجیره انتقال الکترون فتوسنتز، کاهش فعالیت آنزیمی فتوسنتز، ممانعت از واکنش‌های نوری و تاریکی فتوسنتز و کاهش متابولیسم انرژی در میتوکندری را سبب شود (یان^۴ و همکاران، ۲۰۱۳).

تغییرات زیادی در پارامترهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی طی قرارگرفتن گیاه در دماهای پایین مشاهده می‌شود از جمله تغییر سطوح و فعالیت آنزیم‌ها در مسیرهای متابولیکی مختلف، تجمع کربوهیدرات‌ها، آمینواسیدها، پروتئین‌های محلول، پیدایش ایزوفرم‌های جدیدی از پروتئین‌ها و تغییر ترکیبات غشای لیپیدها (وانی و هرت، ۲۰۱۸). معرفی ارقام متحمل به سرما در عدس یکی از مناسب‌ترین روش‌ها برای مقابله با تنش سرما می‌باشد. اعمال تنش سرما در شرایط مزرعه تقریباً غیرممکن است به همین دلیل اغلب پژوهش‌ها در این زمینه در شرایط کنترل‌شده انجام می‌گیرد. یک روش کارآمد برای تولید ارقام متحمل به تنش‌های محیطی مانند تنش سرما در گیاهان، انتخاب در شرایط آزمایشگاهی با استفاده از تنوع سوماکلونال است (کاو^۵ و همکاران، ۲۰۱۶). استفاده از چنین راهبردی در برنامه‌های انتخاب، به‌ویژه برای به‌دست‌آوردن جهش‌های متحمل به تنش‌های غیرزیستی مانند سرما بسیار موردتوجه قرار گرفته است (پاپوا^۶ و همکاران، ۲۰۱۶).

۲. پیشینه پژوهش

عدس^۷ در مراحل اولیه رشد در کشت پاییزه در معرض تنش دمای پایین قرار می‌گیرد که در نهایت کاهش عملکرد به‌همراه خواهد داشت. از این‌رو، پژوهش‌گران در مناطق مختلف به‌دنبال معرفی ارقام متحمل به سرما هستند. نظامی و همکاران (۱۳۹۲) آزمایشی در شرایط کنترل‌شده اثر نه دما بر هفت نمونه عدس موردبررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که ژنوتیپ‌های MLC-60 و رباط با میانگین‌های ۵۱ و ۳۹ درصد به‌ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین درصد بقا را داشتند. به‌علاوه، کاهش درجه حرارت با افزایش میزان نشت الکترولیت‌ها در تمام ژنوتیپ‌های موردارزیابی همراه بود. در ایالات متحده آمریکا و ترکیه، افزایش عملکرد چشم‌گیری توسط کاشت عدس در زمستان به جای بهار، با استفاده از ارقام

1. Shabala
2. Wani
3. Herath
4. Yun
5. Cao
6. Popova
7. *Lens culinaris* Medic

متحمل به هوای سرد در زمستان به‌دست آمده است (وانی و هرت، ۲۰۱۸). پاپوا و همکاران (۲۰۱۶) برای بهبود تحمل به سرما در فلفل از تنوع سوماکلونی و کشت درون‌شیشه‌ای استفاده کردند. نتایج آزمایش آن‌ها نشان داد که بازده جنین‌زایی تحت تنش دمایی پایین کاهش می‌یابد. در عین حال، توانستند چهار ژنوتیپ متحمل به سرما از طریق کشت بساک و تنوع سوماکلونی معرفی نمایند. در پژوهش دیگر توانستند از طریق کشت بافت و با اعمال تنش سرمایی چهار درجه سانتی‌گراد ژنوتیپ‌های هاپلوئید و دبل‌هاپلوئید در هویج تولید نمایند (کیزجک^۱ و همکاران، ۲۰۱۵).

بررسی اثر سرما در گیاهان در جهت بهبود تحمل به تنش سرما می‌تواند راه‌کار مؤثری در انجام کشت پاییزه گیاهانی مثل عدس باشد. با توجه به مشکلات کشت بهاره عدس از جمله خشکی و کمبود رطوبت آخر فصل، کشت پاییزه این محصول منطقی به‌نظر می‌رسد. لیکن سرما عامل محدودکننده در توسعه کشت پاییزه عدس در بیش‌تر نواحی کشور است و می‌تواند اثرات مخربی مثل یخ‌زدگی را نیز به‌همراه داشته باشد. باوجود پژوهش‌های متعدد در عدس اما در مورد استفاده از تنوع سوماکلونال در گزینش لاین‌های سلولی متحمل به تنش‌ها از جمله تنش سرما، گزارشی در اختیار نیست. هم‌چنین با توجه به احتمال وقوع سرما در کشت پاییزه عدس، ارزیابی لاین‌ها و ارقام جدید از نظر تحمل به سرما ضروری است. لذا این پژوهش به‌منظور بررسی واکنش ژنوتیپ‌های باززایی‌شده در شرایط کشت بافت به تنش سرما طراحی گردید.

۳. روش‌شناسی پژوهش

به‌منظور تولید گیاهچه‌های سالم و تهیه ریزنمونه از آن‌ها، بذره‌های یکنواخت و سالم مربوط به ۱۵ ژنوتیپ عدس از ایستگاه تحقیقات گچساران تهیه شدند. بعد از تولید گیاهچه به‌روش غیرمستقیم (تولید گیاه از پینه) از ریز نمونه جنین برش خورده به‌همراه ۱/۴ لپه (آشوردن^۲ و همکاران، ۲۰۲۳)، گیاهچه‌های سالم هفت ژنوتیپ (جدول ۱) جهت بررسی تحمل به سرما انتخاب شدند. گیاهچه‌های باززایی‌شده به گلدانهایی با ابعاد ۲۰×۱۵ سانتی‌متر حاوی خاک، ماسه و کوددامی به نسبت‌های ۱:۱:۲ منتقل شدند. ۲۰ روز بعد از استقرار در معرض دو سطح دمایی ۲۵ درجه سانتی‌گراد (به‌عنوان شاهد) و ۵ درجه سانتی‌گراد (به‌عنوان تنش سرما) با طول دوره روشنایی ۱۶ ساعت و هشت ساعت تاریکی و به‌مدت ۱۰ روز قرار گرفتند. در هر گلدان حداقل دو بوته نگهداری شد. آزمایش در هر سطح دمایی در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. سپس ویژگی‌های مورفولوژیکی از قبیل ارتفاع اندام هوایی و طول ریشه (با خط‌کش)، وزن تر اندام هوایی و وزن تر ریشه با ترازوی دیجیتال اندازه‌گیری شدند. سپس نمونه‌ها در آون به‌مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و وزن خشک ریشه و وزن خشک اندام هوایی اندازه‌گیری شدند. این صفات بر روی بوته‌های هر گلدان اندازه‌گیری و از میانگین آن‌ها استفاده شد. هم‌چنین، برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی مانند نشت الکترولیت، میزان قندهای محلول و کلروفیل به شرح زیر ثبت شدند.

جدول ۱. مشخصات ژنوتیپ‌های مورد مطالعه

نام ژنوتیپ	کد ژنوتیپ
KIMIA	۱
GACHSARAN	۲
ACC 5588 ILL116 Sel	۳
ACC 4605	۴
ILL 7979	۵
09S 83259-14ILL6994/ILL5480	۶
FLIP2010-40L-10770-ILL 8119 / ILL7686	۷

۳.۱. اندازه‌گیری کلروفیل

اندازه‌گیری کلروفیل برگ به‌روش آرنون^۱ (۱۹۴۹) بلافاصله بعد از اعمال تیمارهای دمایی انجام شد. بدین منظور نمونه‌برداری تصادفی از حداقل ۱۰ برگ بوته‌های هر گلدان انجام و مخلوط گردیدند. عملیات استخراج کلروفیل از یک گرم بافت‌های برگ تازه به‌وسیله استون ۸۰ درصد و کربنات کلسیم در حمام یخی صورت گرفت. میزان جذب نوری محلول در طول موج‌های ۴۷۰، ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر به‌وسیله اسپکتروفتومتر (Lambda ez 210 USA) قرائت گردید. میزان غلظت کلروفیل از طریق روابط (۱)، (۲) و (۳) محاسبه شد:

$$\text{Chla} = (0.0127 \times OD663) - (0.00269 \times OD645) \quad \text{رابطه ۱}$$

$$\text{Chlb} = (0.0229 \times OD645) - (0.00468 \times OD663) \quad \text{رابطه ۲}$$

$$\text{Chla} + \text{Chlb} = (0.0202 \times OD665) + (0.00802 \times OD663) \quad \text{رابطه ۳}$$

میزان کاروتنوئید برگ نیز از رابطه (۴) محاسبه گردید:

رابطه ۴

$$\text{Carotenoid} = [((1000 \times OD470) - (1.82 \times \text{chl } a) - (85.02 \times \text{chl } b)) / 198] \times (V / 1000 \times W)$$

در این رابطه، OD663: میزان جذب نور در طول موج ۶۶۳ نانومتر، OD645: میزان جذب نور در طول موج ۶۴۵ نانومتر، OD470: میزان جذب نور در طول موج ۴۷۰ نانومتر، V: حجم نمونه استخراج شده (میلی‌متر)، W: وزن تر نمونه (گرم)، Chl a: میزان کلروفیل a (mg/ml)، Chl b: میزان کلروفیل b (mg/ml) می‌باشند.

اندازه‌گیری نشت الکترولیت‌ها با استفاده از روش بلترانو^۲ و رونکو^۳ (۲۰۰۸) بلافاصله بعد از اعمال تیمارهای دمایی انجام شد. برای این کار ۰/۱ گرم از برگ‌های مختلف هر گلدان وزن شد و درون لوله آزمایش درب‌دار ریخته شد. سپس به هر نمونه ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. هدایت الکتریکی هر نمونه بعد از گذشت ۲۴ ساعت در دمای اتاق به‌وسیله دستگاه هدایت الکتریکی سنج (Inolab Cond 720, Germany) اندازه‌گیری شد (EC1). سپس نمونه‌ها در حمام آب جوش با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۵ دقیقه قرار داده شدند و دوباره هدایت الکتریکی نمونه‌ها اندازه‌گیری شدند (EC2). درصد نشت الکترولیت‌ها با استفاده از رابطه ۵ محاسبه شدند:

$$\text{رابطه ۵} \quad \text{درصد نشت الکترولیت} = (EC1 \div EC2) \times 100$$

جهت اندازه‌گیری میزان قندهای محلول ابتدا به‌روش پاکوئین^۴ و لجازر^۵ (۱۹۷۹) عصاره الکلی از برگ‌ها بلافاصله بعد از اعمال تیمارهای دمایی تهیه شد. برای اندازه‌گیری قندهای محلول از روش ایریگوئین^۶ و همکاران (۱۹۹۲) استفاده شد. بدین صورت که ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره الکلی هر نمونه داخل لوله آزمایش ریخته شد. سپس سه میلی‌لیتر آنترون تازه به آن اضافه و به‌مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار داده شد. پس از خنک‌شدن نمونه‌ها در محیط آزمایشگاه، میزان جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۶۲۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید. قبل از انجام مراحل فوق، استانداردهایی از گلوکز تهیه گردید و کلیه مراحل مذکور روی آن‌ها نیز انجام شد. سپس منحنی کالیبراسیون با استفاده از استاندارد گلوکز رسم و میزان قندهای محلول نمونه‌ها براساس میلی‌گرم در هر گرم وزن تر برگ محاسبه گردید.

1. Arnon
2. Beltrano
3. Ronco
4. Paquine
5. Lechasseur
6. Irigoyen

تجزیه واریانس مرکب برای هر دو شرایط انجام شد. سپس واریانس‌های ژنتیکی، محیطی و فنوتیپی، ضرایب تنوع فنوتیپی و ژنوتیپی، وراثت‌پذیری عمومی به کمک امید ریاضی میانگین مربعات طبق روابط (۶)، (۷) و (۸) محاسبه شدند (شارما، ۱۹۹۸):

$$CV_p = \frac{\sqrt{\sigma_p^2}}{\bar{X}} \times 100 \quad \text{رابطه ۶}$$

در این رابطه، CV_p و σ_p^2 به ترتیب ضریب تنوع فنوتیپی و واریانس فنوتیپی می‌باشند و $\bar{X}$ میانگین کل می‌باشد.

$$CV_g = \frac{\sqrt{\sigma_g^2}}{\bar{X}} \times 100 \quad \text{رابطه ۷}$$

در این رابطه، CV_g و σ_g^2 به ترتیب ضریب تنوع ژنوتیپی و واریانس ژنتیکی می‌باشند و $\bar{X}$ میانگین کل می‌باشد.

$$h_b^2 = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_p^2} \times 100 \quad \text{رابطه ۸}$$

در این رابطه، h_b^2 وراثت‌پذیری عمومی می‌باشد. σ_p^2 و σ_g^2 به ترتیب واریانس ژنوتیپی و واریانس فنوتیپی می‌باشند.

شدت تنش و شاخص تحمل تنش به کمک روابط (۹) و (۱۰) محاسبه شدند (فرناندز، ۱۹۹۲):

$$SI = 1 - \left(\frac{Y_s}{Y_p}\right) \quad \text{رابطه ۹}$$

$$STI = \frac{(Y_p) \times (Y_s)}{Y_p^2} \quad \text{رابطه ۱۰}$$

در این روابط، SI: شدت تنش برای کلیه صفات مورد مطالعه، STI: شاخص تحمل به تنش براساس وزن خشک اندام هوایی، $\bar{Y}_s$: میانگین وزن خشک کلیه ژنوتیپ‌ها در شرایط تنش (۵ درجه سانتی‌گراد)، $\bar{Y}_p$: میانگین وزن خشک کلیه ژنوتیپ‌ها در شرایط بدون تنش (۲۵ درجه سانتی‌گراد)، Y_p : میانگین وزن خشک هر ژنوتیپ در شرایط بدون تنش (۲۵ درجه سانتی‌گراد)، Y_s : میانگین وزن خشک هر ژنوتیپ در شرایط تنش (۵ درجه سانتی‌گراد).

تجزیه به عامل‌ها به روش مؤلفه‌های اصلی انجام و به روش واریانس دوران داده شدند. در مرحله بعد امتیاز عامل‌ها برای سه عامل اول محاسبه شدند و نمودار سه بعدی پراکنش ژنوتیپ‌ها برای امتیاز سه عامل اول ترسیم شد. ژنوتیپ‌ها براساس قرار گرفتن در چهار ناحیه حاصل (نواحی A، B، C و D) گروه‌بندی و تفسیر شدند.

تجزیه‌های آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۴) و SPSS (نسخه ۲۵) انجام گردید. مقایسه میانگین اثرها به روش دانکن و در صورت معنی‌دار بودن برهم‌کنش، برش‌دهی عامل سرما انجام شد.

۴. یافته‌های پژوهش

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر دما برای تمام صفات و اثر ژنوتیپ برای تمام صفات به جز طول ریشه معنی‌دار بودند (جدول ۲). برهم‌کنش دما و ژنوتیپ برای کلیه صفات به جز ارتفاع اندام هوایی و میزان کاروتنوئید معنی‌دار شد. بنابراین، ارقام موردبررسی از لحاظ صفات اندازه‌گیری شده واکنش‌های متفاوتی نسبت به دو شرایط مورد مطالعه داشتند.

ارتفاع اندام هوایی در سطح ۲۵ درجه سانتی‌گراد (شاهد) با میانگین ۱۴۹/۱۴ میلی‌متر تفاوت معنی‌دار با سطح ۵ درجه سانتی‌گراد با میانگین ۱۳۳/۶۷ میلی‌متر داشت. میزان کاروتنوئید در تیمار سرما با ۱/۰۸۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر دارای تفاوت معنی‌داری با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد (۰/۹۷۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) بود. مقایسه میانگین ژنوتیپ‌ها (جدول ۳) نشان داد، بیش‌ترین ارتفاع اندام هوایی مربوط به ژنوتیپ 09S 83259-14 ILL6994 / ILL5480 با میانگین ۱۷۱/۱۷ میلی‌متر و کم‌ترین میزان این صفت مربوط به ژنوتیپ ACC 5588 ILL116 Sel با میانگین ۱۱۱/۳۳ میلی‌متر بود. در مقایسه ژنوتیپ‌ها (جدول ۳)

بیش‌ترین میزان کاروتنوئید مربوط به ژنوتیپ 09S 83259-14 ILL6994 / ILL5480 با میانگین ۱/۳۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ و کم‌ترین میزان کاروتنوئید مربوط به ژنوتیپ ACC 5588 ILL116 Sel با میانگین ۰/۷۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ بود. براساس مقایسه میانگین جدول (۳) بیش‌ترین میزان شاخص تحمل به تنش مربوط به ژنوتیپ 09S 83259-14 ILL6994/ ILL5480 (۱/۳۱) و کم‌ترین مربوط به ژنوتیپ ACC 5588 ILL116 Sel (۰/۲۹) بود.

جدول ۲. میانگین مربعات منابع تغییر، برای صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی اندازه‌گیری‌شده در گیاهچه‌های باززایی‌شده عدس

منابع تغییر	درجه آزادی	ارتفاع اندام هوایی	وزن تر اندام هوایی	وزن خشک اندام هوایی	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه	طول ریشه	نشت الکترولیت	کاروتنوئید	کلروفیل	قندهای محلول کل
ژنوتیپ	۶	۲۲۴۶/۶۰**	۸۸۰۰/۱۵**	۳۴۸۹۶/۵۸**	۶۷۰۰/۷۳**	۴۳۳۰/۷۶**	۱۰/۵۰ ^{ns}	۱۳۷۳/۲۳**	۰/۲۰۹**	۰/۲۲۶**	۱۰/۱۷۷**
دما	۱	۶۸۱۴/۸۸*	۴۷۷۵/۶۴**	۱۸۱۷/۹۶**	۹۶۱۳/۵۱**	۳۶۸۸/۵۸**	۲۱۴۴/۰۲**	۷۹/۵۴**	۰/۱۳۶**	۴/۴۰**	۹۱۱/۳۰**
ژنوتیپ × دما	۶	۳۷/۳۸ ^{ns}	۸۴۵/۷۲**	۳۳۱/۶۷**	۳۸۷/۶۸**	۲۲۱/۴۷**	۲۳۲/۹۴**	۱/۹۸**	۰/۰۰۲ ^{ns}	۰/۰۲۵**	۱۰/۱۷**
خطا	۲۸	۳۳/۲۳	۷۸/۰۰	۲۹/۸۰	۶۹/۸۱	۳۷/۳۷	۴۷/۵۵	۰/۳۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳	۰/۳۸
ضریب تغییرات (درصد)		۴/۲۳	۶/۵۵	۶/۵۷	۷/۳۷	۷/۲۰	۱۰/۳۹	۳/۵۴	۴/۶۷	۵/۷۶	۲/۶۳

*, **, و *** به ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد و غیرمعنی‌دار را نشان می‌دهند.

جدول ۳. مقایسه میانگین ژنوتیپ‌های عدس برای صفات ارتفاع، کاروتنوئید و شاخص تحمل به تنش

تیمار	صفات		
ژنوتیپ	ارتفاع اندام هوایی (میلی‌متر)	کاروتنوئید (میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ)	شاخص تحمل به تنش (STI)
۱	۱۲۳/۳۳a	۰/۸۹e	۰/۳۳e
۲	۱۴۰/۶۷c	۱/۰۷c	۰/۵۹c
۳	۱۱۱/۳۳f	۰/۷۸f	۰/۲۹e
۴	۱۳۳/۵۰d	۱/۰۳d	۰/۴۵d
۵	۱۲۷/۱۷d	۰/۹۹d	۰/۶۹bc
۶	۱۷۱/۱۷a	۱/۳۴a	۱/۳۱a
۷	۱۴۷/۶۷b	۱/۱۸b	۰/۷۸b

در هر ستون میانگین‌های با حداقل یک حرف مشترک براساس آزمون دانکن در سطح ۱ درصد تفاوت معنی‌دار ندارند. شماره ژنوتیپ‌ها طبق جدول (۱) می‌باشد.

براساس مقایسه میانگین‌ها به‌روش برش‌دهی در سطح ۲۵ درجه سانتی‌گراد (جدول ۴) ژنوتیپ S 83259-14 ILL6994 / ILL5480، بیش‌ترین وزن تر اندام هوایی (۲۴۵/۷۷ میلی‌گرم در بوته)، وزن خشک اندام هوایی (۱۵۲/۳۸ میلی‌گرم در بوته)، وزن تر ریشه (۱۸۳/۵۰ میلی‌گرم در بوته)، وزن خشک ریشه (۱۱۹/۲۷ میلی‌گرم در بوته)، طول ریشه (۱۰۸ میلی‌متر)، قندهای محلول کل (۲۶/۲۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ)، میزان کلروفیل (۰/۹۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) و کم‌ترین میزان نشت الکترولیت (۶/۹۴ دسی‌زیمنس بر متر) به خود اختصاص داد. ژنوتیپ ACC 5588 ILL116 Sel کم‌ترین مقادیر از نظر صفات وزن تر اندام هوایی (۱۴۰/۵۳ میلی‌گرم در بوته)، وزن خشک اندام هوایی (۸۷/۱۳ میلی‌گرم در بوته)، وزن تر ریشه (۸۱/۹۳ میلی‌گرم در بوته)، وزن خشک ریشه (۵۳/۴۷ میلی‌گرم در بوته)، طول ریشه (۳۶ میلی‌متر)، قندهای محلول (۸/۷۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) میزان کلروفیل و (۰/۵۳۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) و بیش‌ترین مقدار نشت الکترولیت (۱۷/۳۹ دسی‌زیمنس بر متر) در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد داشت.

جدول ۴. مقایسه میانگین ژنوتیپ‌های عدس برای صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی مورد ارزیابی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد (شاهد)

ژنوتیپ	وزن تر (میلی گرم)	وزن خشک اندام هوایی (میلی گرم)	وزن تر ریشه (میلی گرم)	وزن خشک ریشه (میلی گرم)	طول ریشه (میلی متر)	نشت الکترولیت (دسی‌زیمنس بر متر)	قند محلول (میلی گرم بر گرم وزن تر برگ)	کلروفیل (میلی گرم بر گرم وزن تر برگ)
۱	۱۴۸/۸۳c	۹۲/۲۸c	۸۹/۹۰e	۵۸/۲۰e	۴۹/۳۳cd	۱۳/۰۴b	۱۷/۵۳f	۰/۵۶f
۲	۲۰۵/۶۳b	۱۲۷/۴۹b	۱۲۳/۹۷cd	۸۵/۱۱cd	۶۰/۶۷c	۷/۸۲de	۲۰/۱۶c	۰/۷۴c
۳	۱۴۰/۵۳c	۸۷/۱۳c	۸۱/۹۳e	۵۳/۴۷e	۳۶/۰۰d	۱۷/۳۹a	۸/۷۸s	۰/۵۳f
۴	۱۶۱/۱۰c	۹۹/۸۲c	۱۱۵/۴۷d	۷۹/۶۷d	۵۰/۶۷c	۹/۴۶c	۱۹/۰۹d	۰/۶۷d
۵	۱۵۳/۲۰c	۹۴/۹۸c	۱۵۱/۶۷b	۹۳/۸۶b	۸۴/۶۷b	۸/۲۵d	۱۸/۲۶e	۰/۶۰e
۶	۲۴۵/۷۷a	۱۵۲/۳۸a	۱۸۳/۵۰a	۱۱۹/۲۸a	۱۰۸/۰۰a	۶/۹۴e	۲۶/۲۰a	۰/۹۰a
۷	۲۰۸/۸۷b	۱۲۹/۵۰b	۱۳۵/۶۳c	۸۹/۸۳bc	۷۸/۶۷b	۷/۴۱de	۲۱/۰۵b	۰/۸۱b

در هر ستون میانگین‌های با حداقل یک حرف مشترک براساس آزمون دانکن در سطح ۱ درصد تفاوت معنی‌دار ندارند. شماره ژنوتیپ‌ها طبق جدول (۱) می‌باشد.

در تیمار دمایی ۵ درجه سانتی‌گراد (جدول ۵) ژنوتیپ S 83259-14 ILL6994 / ILL5480، بیش‌ترین وزن تر اندام هوایی (۱۱۶/۳۷ میلی‌گرم در بوته)، وزن خشک اندام هوایی (۷۰/۹۸ میلی‌گرم در بوته)، وزن تر ریشه (۱۸۰/۴۳ میلی‌گرم در بوته)، وزن خشک ریشه (۱۱۱/۸۷ میلی‌گرم در بوته)، طول ریشه (۹۱/۶۷ میلی‌متر)، میزان کلروفیل (۱/۷۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ)، قندهای محلول کل (۳۲/۷۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) و کم‌ترین میزان نشت الکترولیت (۱۷/۳۹ دسی‌زیمنس بر متر) به خود اختصاص داد. ژنوتیپ ACC 5588 ILL116 Sel کم‌ترین مقادیر از نظر صفات وزن تر اندام هوایی (میلی‌گرم در بوته)، وزن خشک اندام هوایی (۴۰/۴۲ میلی‌گرم در بوته)، وزن تر ریشه (۶۰/۱۳ میلی‌گرم در بوته)، وزن خشک ریشه (۳۷/۲۸ میلی‌گرم در بوته)، طول ریشه (۵۲/۳۳ میلی‌متر)، میزان کلروفیل (۰/۹۴۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ)، قندهای محلول (۲۳/۵۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) و بیش‌ترین میزان نشت الکترولیت (۲۷/۰۳ دسی‌زیمنس بر متر) در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد داشت.

جدول ۵. مقایسه میانگین ارقام عدس برای صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی مورد ارزیابی در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد

ژنوتیپ	وزن تر (میلی گرم)	وزن خشک اندام هوایی (میلی گرم)	وزن تر ریشه (میلی گرم)	وزن خشک ریشه (میلی گرم)	طول ریشه (میلی متر)	نشت الکترولیت (دسی‌زیمنس بر متر)	قند محلول (میلی گرم بر گرم وزن تر برگ)	کلروفیل (میلی گرم بر گرم وزن تر برگ)
۱	۷۲/۸۳d	۴۴/۴۳d	۶۳/۴۷d	۳۹/۳۵d	۵۶/۳۳de	۲۵/۰۲b	۲۵/۲۷e	۱/۱۸d
۲	۹۲/۳۷c	۵۶/۳۴c	۷۹/۹۳d	۴۹/۵۶d	۶۲/۶۷cd	۱۹/۴۱e	۲۹/۰۶c	۱/۳۵c
۳	۶۶/۳۷d	۴۰/۴۲d	۶۰/۱۳d	۳۷/۲۸d	۵۲/۳۳e	۲۷/۰۳a	۲۳/۵۱f	۰/۹۵e
۴	۸۵/۶۷c	۵۲/۲۶c	۶۷/۵۰d	۴۱/۸۵d	۵۸/۶۷de	۲۲/۳۹c	۲۸/۱۷c	۱/۳۰c
۵	۸۴/۶۰c	۵۱/۶۱c	۱۳۸/۹۳b	۸۶/۱۴b	۷۲/۳۳b	۲۰/۶۸d	۲۶/۸۷d	۱/۲۸c
۶	۱۱۶/۳۷a	۷۰/۹۸a	۱۸۰/۴۳a	۱۱۱/۸۷a	۹۱/۶۶a	۱۷/۳۹g	۳۲/۷۲a	۱/۷۵a
۷	۱۰۵/۰۰b	۶۴/۰۵b	۱۱۴/۸۳c	۷۱/۲۰c	۶۷/۰۰bc	۱۸/۴۴f	۳۰/۶۹b	۱/۵۳b

در هر ستون میانگین‌های با حداقل یک حرف مشترک براساس آزمون دانکن تفاوت معنی‌دار ندارند. شماره ژنوتیپ‌ها طبق جدول (۱) می‌باشد.

۴.۱. برآورد اجزای واریانس، حداقل و حداکثر و ضرایب تنوع صفات مورد بررسی

آمار توصیفی مربوط به ۱۰ صفت اندازه‌گیری‌شده در هفت ژنوتیپ مربوط به سطح تنش سرما (۵ درجه سانتی‌گراد) و عدم تنش سرما (۲۵ درجه سانتی‌گراد) با استفاده از امید ریاضی میانگین مربعات تجزیه مرکب در جدول (۶) آورده شده است.

بررسی میانگین‌ها نشان داد که میانگین کلیه صفات مورفولوژیکی در حالت تنش نسبت به عدم تنش کاهش یافت. همان‌طور که ملاحظه می‌شود ارتفاع اندام هوایی ۱۷، وزن تر اندام هوایی ۵۰/۵، وزن خشک اندام هوایی ۵۱، وزن تر ریشه ۲۰/۵، وزن خشک ریشه ۲۴/۵ و طول ریشه ۲ درصد نسبت به حالت عدم تنش کاهش پیدا کردند. یکی از اولین نشانه‌های کمبود آب، کاهش آماس سلول و کاهش سطح تعرق گیاه می‌باشد، در این شرایط جذب مواد غذایی کند شده و رشد و توسعه سلول‌ها در اندام هوایی برگ و ساقه کم می‌شود و ارتفاع و حجم اندام هوایی گیاه کاهش می‌یابد (شارما، ۱۹۹۸). میانگین نشت الکترولیت و قندهای محلول کل در سطح تنش نسبت به عدم تنش به ترتیب ۵۳ و ۴۹/۵ درصد افزایش و میزان کاروتنوئید و کلروفیل نیز در سطح تنش نسبت به عدم تنش به ترتیب ۱۳ و ۹۴ درصد افزایش یافت.

جدول ۶. میانگین، شدت تنش، ضرایب تنوع ژنتیکی و فنوتیپی و وراثت‌پذیری صفات موردبررسی بوته‌های باززایی شده عدس در شرایط تنش سرما

(۵ درجه سانتی‌گراد) و عدم تنش سرما (۲۵ درجه سانتی‌گراد)

صفات	میانگین		ضریب تنوع فنوتیپی (درصد)		ضریب تنوع ژنوتیپی (درصد)		وراثت‌پذیری	
	تنش	عدم تنش	شدت تنش	عدم تنش	تنش	عدم تنش	تنش	عمومی (درصد)
ارتفاع اندام هوایی (میلی‌متر)	۱۴۹/۱۴	۱۲۳/۶۷	۰/۱۷	۱۲/۶۶	۱۵/۹۹	۱۳/۴۱	۱۴/۸۹	۹۱/۷۱
وزن تر اندام هوایی (میلی‌گرم)	۱۸۰/۵۶	۸۹/۰۱	۰/۵۱	۲۲/۵۲	۲۰/۲۳	۲۱/۶۵	۱۹/۲۷	۹۰/۹۴
وزن خشک اندام هوایی (میلی‌گرم)	۱۱۱/۹۵	۵۴/۳۰	۰/۵۲	۲۲/۵۲	۲۰/۲۳	۲۱/۶۵	۱۹/۲۷	۹۰/۹۱
وزن تر ریشه (میلی‌گرم)	۱۲۶/۰۱	۱۰۰/۷۵	۰/۲۰	۲۸/۲۳	۴۶/۱۵	۲۷/۷۴	۴۵/۱۱	۹۵/۸۰
وزن خشک ریشه (میلی‌گرم)	۸۲/۷۷	۶۲/۴۶	۰/۲۵	۲۷/۲۴	۴۶/۱۵	۲۶/۷۸	۴۵/۱۱	۹۵/۷۱
طول ریشه (میلی‌متر)	۶۶/۸۶	۶۵/۸۶	۰/۰۲	۲۱/۴۸	۳۸/۲۰	۱۹/۲۸	۳۶/۶۲	۸۸/۰۲
نشت الکترولیت (درصد)	۱۰/۰۴	۲۱/۴۸	۰/۵۳	۳۸/۳۹	۱۶/۶۱	۳۸/۰۲	۱۶/۳۹	۹۷/۷۰
کاروتنوئید (میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ)	۰/۹۷	۱/۰۹	۰/۱۲	۱۹/۱۵	۱۸/۰۷	۱۸/۷۳	۱۷/۲۲	۹۳/۷۰
کلروفیل (میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ)	۰/۶۸۷	۱/۳۳	۰/۴۸	۲۰/۴۰	۱۹/۶۷	۱۹/۸۶	۱۸/۸۳	۹۱/۶۶
قند محلول کل (میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ)	۱۸/۷۳	۲۸/۰۴	۰/۳۳	۲۸/۰۲	۱۱/۴۲	۲۷/۸۹	۱۱/۱۴	۹۷/۸۱

نشت الکترولیت (۰/۵۳)، وزن تر (۰/۵۱) و خشک (۰/۵۲) اندام هوایی و میزان کلروفیل (۰/۴۸) بیش‌ترین شدت تنش و طول ریشه (۰/۰۲) کم‌ترین آن را به خود اختصاص دادند.

بیش‌ترین و کم‌ترین ضریب تنوع ژنوتیپی در شرایط عدم تنش سرما به ترتیب مربوط به نشت الکترولیت (۳۸/۰۲ درصد) و ارتفاع اندام هوایی (۱۳/۴۱ درصد) بود، درحالی‌که در شرایط تنش سرما وزن تر و خشک ریشه (۴۵/۱۱ درصد) بیش‌ترین و قند محلول کل (۱۱/۱۴ درصد) کم‌ترین مقادیر را داشتند. در بین صفات اندازه‌گیری در شرایط تنش، صفت قند محلول کم‌ترین (۱۱/۴۲ درصد) و وزن تر و خشک ریشه بیش‌ترین (۴۶/۱۵ درصد) ضریب تنوع فنوتیپی را به خود اختصاص دادند. در حالت عدم تنش ارتفاع اندام هوایی کم‌ترین (۱۳/۶۶ درصد) و نشت الکترولیت بیش‌ترین (۳۸/۳۹ درصد) ضریب تنوع فنوتیپی را به خود اختصاص دادند. اکثر ضرایب تنوع فنوتیپی بیش‌تر از ضرایب تنوع ژنتیکی بود و در بعضی صفات اختلاف کمی ما بین این ضرایب مشاهده شد که بیانگر اثر کم عوامل محیطی در برآورد آن‌ها می‌باشد.

محاسبه میزان وراثت‌پذیری عمومی (جدول ۶) نشان داد که بیش‌ترین میزان وراثت‌پذیری عمومی مربوط به قند محلول کل (۹۷/۸۱ درصد) و نشت الکترولیت (۹۷/۷۰ درصد) و کم‌ترین میزان را نیز صفت طول ریشه (۸۸/۰۲ درصد) به خود اختصاص داد.

۲.۴. تجزیه به عامل‌ها

نتایج تجزیه به عامل‌ها براساس ویژگی‌های اندازه‌گیری شده در شرایط تنش سرما (۵ درجه سانتی‌گراد) در جدول (۷)

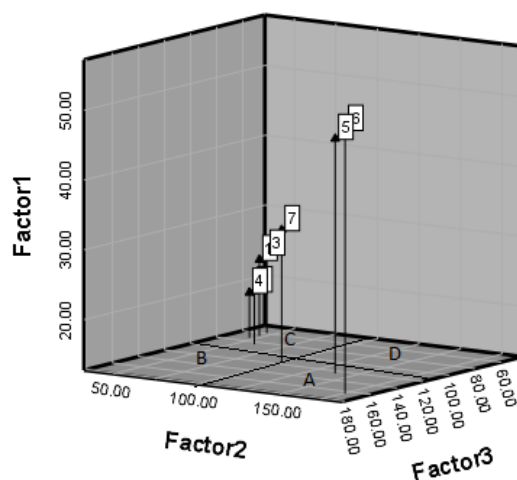
آمده است. پنج عامل اول در مجموع ۹۸/۶۰ درصد تغییرات را توجیه نمودند. همان‌طور که در جدول مشاهده می‌شود ضرایب اشتراک اکثر صفات بالا بوده که این نشان‌دهنده این است که تعداد فاکتور مورد انتخاب مناسب و فاکتورهای منتخب توانسته‌اند تغییرات صفات را به نحو مطلوبی توجیه نمایند.

جدول ۷. بار عامل‌های دوران یافته به‌روش واریماکس، واریانس جزء و واریانس تجمعی برای پنج عامل اول مربوط به ویژگی‌های اندازه‌گیری شده در عدس در شرایط تنش سرما (دمای ۵ درجه سانتی‌گراد)

صفات	فاکتور اول	فاکتور دوم	فاکتور سوم	فاکتور چهارم	فاکتور پنجم	واریانس مشترک
ارتفاع اندام هوایی	۰/۶۹	۰/۳۰	۰/۵۳	۰/۰۷	۰/۰۳	۰/۹۹
وزن تر اندام هوایی	۰/۷۰	۰/۳۸	۰/۵	۰/۳۲	۰/۰۸	۰/۹۹
وزن خشک اندام هوایی	۰/۷۰	۰/۳۸	۰/۵	۰/۳۲	۰/۰۸	۰/۹۹
وزن تر ریشه	۰/۳۳	۰/۸۹	۰/۲۹	۰/۰۶	۰/۰۲	۰/۹۹
وزن خشک ریشه	۰/۳۳	۰/۸۹	۰/۲۹	۰/۰۶	۰/۰۲	۰/۹۹
طول ریشه	۰/۴۶	۰/۷۳	۰/۳۲	۰/۰۸	۰/۳۸	۰/۹۹
نشت الکترولیت	۰/۸۴	۰/۴۰	۰/۳۴	۰/۰۰۲	۰/۱۱	۰/۹۹
کاروتنویید	۰/۴۶	۰/۴۷	۰/۷۳	۰/۰۴	۰/۱۳	۰/۹۹
کلروفیل	۰/۴۶	۰/۵۱	۰/۷۲	۰/۰۶	۰/۰۲	۰/۹۸
قند محلول	۰/۸۳	۰/۴۶	۰/۲۸	۰/۰۰۰۹	۰/۰۳	۰/۹۸
شاخص تحمل به تنش (STI)	۰/۴۶	۰/۷۱	۰/۵۲	۰/۱۵	۰/۰۰۲	—
واریانس جزء	۳۵/۷۰	۳۵/۲۵	۲۳/۵۰	۲/۴۳	۱/۷۲	—
واریانس تجمعی	۳۵/۷۰	۷۰/۹۵	۹۴/۴۵	۹۶/۸۸	۹۸/۶۰	—

عامل اول ۳۵/۷۰ درصد کل تغییرات را توجیه نموده و در این عامل تمامی صفات به‌جز وزن تر و خشک ریشه نقش داشتند که در این میان نشت الکترولیت در جهت منفی بود. به عبارت دیگر، با افزایش این عامل همه صفات افزایش می‌یابند و نشت الکترولیت کاهش پیدا می‌کند، بنابراین عامل اول مرتبط با تحمل به سرما می‌باشد. در عامل دوم که ۳۵/۲۵ درصد تغییرات را توجیه نموده است. صفات وزن تر و خشک ریشه، طول ریشه، نشت الکترولیت، کاروتنویید، میزان کلروفیل و قند محلول کل نقش زیاد داشتند که همانند عامل اول نشت الکترولیت در جهت منفی بود در این عامل تمام ویژگی‌های ریشه در جهت مثبت نقش بالا داشته، بنابراین این عامل را می‌توان عامل متحمل به سرما مرتبط با ریشه نام‌گذاری کرد. با افزایش این عامل ویژگی‌های مرتبط با تحمل زیاد و نشت الکترولیت مرتبط با حساسیت به سرما، کاهش می‌یابد. در عامل سوم که ۲۳/۵۰ درصد تغییرات را توجیه نموده، بار عامل‌های ویژگی‌های اندام هوایی شامل ارتفاع، وزن تر و خشک اندام هوایی و کاروتنویید، میزان کلروفیل و قند محلول بالاترین نقش را داشتند. در این عامل نیز نشت الکترولیت در جهت منفی بود. هرچند که زیر ۰/۴ بود. بنابراین، این عامل را نیز می‌توان مرتبط با تحمل به سرما با برتری اندام هوایی دانست. عامل‌های دیگر سهم چندانی در توجیه تنوع نداشتند.

نمودار پراکنش سه‌بعدی براساس امتیازهای سه عامل اول برای هفت ژنوتیپ مورد مطالعه در شکل (۱) ارائه شده است. ژنوتیپی که از نظر هر سه عامل بالاترین مقادیر را داشته باشد، متحمل‌تر می‌باشد. بنابراین، در چهار ناحیه طراحی شد. ژنوتیپ‌هایی که در ناحیه A واقع شوند به شرطی که از نظر عامل اول مقدار بالایی داشته باشند، متحمل‌ترین می‌باشند که در این مطالعه ژنوتیپ‌های ۷۹۷۹ ILL و ۵۴۸۰ ILL / ۸۳۲۵۹-۰۹ S در این ناحیه واقع شدند. ژنوتیپ‌های GACHSARAN، KIMIA، ACC 5588 ILL116 Sel و ACC 4605 در ناحیه C قرار گرفتند.



شکل ۱. نمودار پراکنش سه‌بعدی براساس امتیازهای سه عامل اول برای ویژگی‌های عدس در شرایط ۵ درجه سانتی‌گراد. شماره ژنوتیپ‌ها طبق جدول (۱) می‌باشد.

این ژنوتیپ‌ها از نظر عامل‌های اول، دوم و سوم امتیازهای کمی داشتند، بنابراین حساس‌ترین ژنوتیپ‌ها می‌باشند. ژنوتیپ FLIP2010-40L-10770-ILL 8119 / ILL 7686 در ناحیه B قرار گرفت که از نظر عامل‌های دوم و سوم مقادیر متوسطی داشته و از نظر عامل اول متوسط بود، بنابراین جزء ژنوتیپ‌های متحمل محسوب می‌شود و مقداری تحمل به واسطه ریشه و توسعه ریشه‌ای و فیزیولوژیک (عامل دوم) دارا می‌باشد.

۵. بحث

استفاده از تنوع سوماکلونی جهت به‌نژادی گیاهان برای بهبود تحمل به سرما به‌دلیل ارزیابی سخت مزرعه‌ای روشی کارا و نوین محسوب می‌شود. گیاهچه‌های حاصل از کشت درون‌شیشه‌ای عدس در این مطالعه تنوع وسیعی را نشان دادند. در عدس گزارشی در خصوص استفاده از این روش برای بهبود تحمل به سرما در دسترس نیست، اما در سایر گیاهان مثلاً در فلفل (پاپوا و همکاران، ۲۰۱۶) و در هویج (کیزجک^۱ و همکاران، ۲۰۱۵) استفاده از این روش برای بهبود تحمل به سرما موفقیت‌آمیز بوده است. در سیب‌زمینی با این روش توانستند واریانتهای متنوعی با منشأ ژنتیکی تولید نمایند (دان^۲ و ویلسون^۳، ۲۰۱۱). در توافق با نتایج این پژوهش تبریزیوند طاهری و همکاران (۲۰۲۴) با مقایسه ۱۳ توده بومی عدس از نظر تحمل به سرما در شرایط کنترل‌شده و مزرعه تنوع بالایی را گزارش نمودند. برای ارزیابی تحمل به تنش‌های غیرزنده شاخص‌های مختلفی ارائه شده که یکی از کاراترین آن‌ها شاخص تحمل به تنش است (فرناندز، ۱۹۹۲). ژنوتیپی که شاخص تحمل به تنش بیشتری دارد نسبت به تنش سرما متحمل‌تر است. این شاخص یکی از مهم‌ترین معیارها برای شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل به انواع تنش‌ها می‌باشد و در مطالعات فراوانی از آن استفاده شده است (باقری^۴ و همکاران، ۲۰۲۰؛ برزن و همکاران، ۱۳۹۷؛ فرناندز، ۱۹۹۲؛ هدایت‌خواه و همکاران، ۱۳۹۵؛ جلیلیان و همکاران، ۱۳۹۶). در این مطالعه ژنوتیپ 09S 83259-14 ILL6994/ ILL5480 برای اکثر صفات و شاخص تحمل به تنش بیش‌ترین مقادیر را داشت درحالی‌که میزان نشت الکترولیت آن کم‌تر بود.

با توجه به این که صفات مختلفی در تحمل به سرمای گیاهان نقش دارند، استفاده از تجزیه و تحلیل‌های چند متغیره به‌ویژه تجزیه به عامل‌ها امری متداول است. در پژوهش حاضر، به‌خوبی این روش ارقام را از نظر تحمل به سرما تفکیک نمود. این روش برای شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل به تنش زمانی که تعداد ژنوتیپ‌ها خیلی زیاد نباشد کارایی بسیار بالایی دارد، زیرا در این روش به‌طور همزمان از تمامی صفات استفاده می‌شود. از نمودار سه‌بعدی براساس چهار ناحیه توصیه‌شده به‌وسیله فرناندز (فرناندز، ۱۹۹۲) جهت شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل به سرما در مطالعات دیگر از جمله در کلزا (برزن و همکاران، ۱۳۹۷)، در چغندرقد (جلیلیان و همکاران، ۱۳۹۶) در بابونه (باقری و همکاران، ۲۰۲۰) و در برنج (هدایت‌خواه و همکاران، ۱۳۹۵) استفاده شده است. غلامی‌رضوانی و همکاران (۱۳۹۷) در شرایط مزرعه ژنوتیپ‌های عدس را از نظر تحمل به سرما ارزیابی نمودند. مشاهدات آن‌ها حاکی از تنوع وسیع بین ژنوتیپ‌های موردبررسی از نظر صفات مختلف بود و در نهایت با تجزیه خوشه‌ای ۲۳ ژنوتیپ را متحمل‌تر از سایر ژنوتیپ‌ها تشخیص دادند. نباتی و همکاران (۱۳۹۹) تحمل به دمای پایین در شرایط مزرعه را در ژنوتیپ‌های مختلف عدس با اندازه‌گیری صفات مختلف زراعی و درصد بقا بررسی کردند. آن‌ها توانستند هشت ژنوتیپ از ۴۰ ژنوتیپ مورد مطالعه به‌عنوان متحمل به سرما معرفی نمایند.

سرما صفات مختلف عدس در این مطالعه را تحت تأثیر قرار داد. دمای پایین می‌تواند مراحل نمو و فتوسنتزی گیاه تحت تأثیر قرار دهد و با کاهش میزان کربوهیدرات‌ها، رشد آن را کاهش و در نتیجه به‌طور غیرمستقیم باعث کاهش عملکرد شود (وانی و هرت، ۲۰۱۸). با توجه به نتایج شدت تنش اندام هوایی، نشت الکترولیت و میزان کلروفیل بیش‌تر از سایر صفات تحت تأثیر سرما قرار گرفتند. تنش دمای پایین می‌تواند از طریق ممانعت از رشد و توسعه سلولی، رشد اندام هوایی گیاه را تحت تأثیر قرار دهد. عدم تورژسانس مناسب سلول‌ها و تخصیص بیش‌تر مواد سنتز شده جهت مقابله با تنش، کوتاه‌شدن دوره رشد گیاه و سازوکار فرار از تنش، همگی می‌توانند مانع از توسعه عادی سلول‌ها و در نتیجه کاهش ارتفاع گیاه شوند (وانی و هرت، ۲۰۱۸).

معمولاً تنش دمای پایین هدایت هیدرولیکی ریشه را کاهش می‌دهد و از جذب آب توسط ریشه‌ها جلوگیری می‌کند. با توجه به اینکه ریشه اولین مکان برای جذب آب می‌باشد، انتظار می‌رود که با کاهش نفوذپذیری آب توسط ریشه بر اثر دمای پایین، هدایت روزنه‌ای، فتوسنتز، رشد و عملکرد گیاه نیز کاهش یابد (شابالا، ۲۰۱۲). در دماهای پایین، در انتقال مواد در گیاهان و در شکل و مقدار مواد انتقال یافته، تغییراتی ایجاد می‌شود که باعث کاهش رشد ریشه و کاهش مقدار وزن آن می‌شود، بدین معنی که کاهش در تقاضا برای مواد فتوسنتزی وجود دارد (وانی و هرت، ۲۰۱۸).

در پژوهش حاضر با کاهش دما میزان نشت الکترولیت‌ها افزایش یافت. این نتایج با نتایج سایر پژوهش‌ها (نظامی و همکاران، ۱۳۹۲؛ تبریزی و نند طاهری و همکاران، ۱۴۰۲) همخوانی داشت. تنش سرمایی موجب آسیب‌رساندن به غشای سلولی و تغییر غشا از حالت کریستال مایع به حالت جامد (ژل) می‌گردد. بنابراین، اختلال در فعالیت غشاءهای سلولی در اثر تنش سرما باعث افزایش نشت محلول‌های سلولی نظیر پتاسیم، آمینواسیدها، کربوهیدرات‌ها و در مجموع الکترولیت‌های مختلف به خارج از سلول می‌شود (نظامی و همکاران، ۱۳۹۲). شیب منحنی درصد نشت الکترولیت‌ها در ارقام مقاوم به سرمای نخود کم‌تر از ارقام حساس به سرماست. این امر نشان می‌دهد که در شرایط تنش سرما ژنوتیپ‌های مقاوم در مقایسه با ژنوتیپ‌های حساس از سرعت نشت الکترولیت کم‌تری برخوردار هستند (وانی و هرت، ۲۰۱۸). تأثیر سرما بر اختلال در فعالیت غشاهای سلولی و به‌دنبال آن نشت الکترولیت‌ها بسته به تحمل سرمای ارقام مختلف گیاهی متفاوت است (وانی و هرت، ۲۰۱۸). از این‌رو، می‌توان گفت که پایین‌تر بودن میزان نشت الکترولیت در ژنوتیپ‌ها احتمالاً نشان‌دهنده مقاومت بیش‌تر در تحمل به سرما رقم در سطح سلولی می‌باشد.

قندهای محلول در بسیاری از گونه‌های گیاهی نقش تقویت‌کننده مهمی را در مقابل سرما به عهده دارند. بین افزایش

میزان سرما و افزایش قندهای محلول به‌ویژه ساکارز رابطه مستقیمی وجود دارد (وانی و هرت، ۲۰۱۸). در پژوهشی (یان و همکاران، ۲۰۱۳) که بر روی سه گیاه پوششی انجام دادند مشاهده کردند که با افزایش میزان تنش سرما سطح قندهای محلول در این گیاهان افزایش یافت، اما زمانی که دما به ۱۵- درجه سانتی‌گراد رسید، این روند تغییر کرد و سطح قند محلول کاهش یافت. در پنبه (عظیمی و همکاران، ۲۰۱۲) و پسته (نوبری و همکاران، ۲۰۱۲) افزایش میزان قندهای محلول با افزایش تنش سرما رابطه‌ای مستقیم داشت. به‌نظر می‌رسد در چنین شرایطی تولید مولکول‌هایی با وزن مولکولی کم که در آب نیز محلول هستند، به‌دلیل تنظیم فشار اسمزی نقش مهمی در ایجاد تحمل گیاهان تحت شرایط تنش ایفا نمایند (جان‌محمدی، ۲۰۱۲).

از مهم‌ترین ایرادات وارد بر تنوع سوماکلونی مشخص‌نبودن سهم تغییرات غیر ژنتیکی (اپی‌ژنتیکی) در آن می‌باشد که باعث اتلاف وقت و هزینه می‌گردد. در این مطالعه با اندازه‌گیری اجزای واریانس ژنتیکی تا حدودی مشخص گردید که برای صفات کلیدی سهم واریانس ژنتیکی بیش‌تر می‌باشد. پایین‌بودن وراثت‌پذیری صفت طول ریشه می‌تواند نشان‌دهنده نقش بیش‌تر محیط در کنترل این صفت و تنوع کم ارقام مورد مطالعه از لحاظ این صفت باشد. هم‌چنین تفاوت‌های ژنتیکی بین ارقام مورد بررسی را می‌توان به‌عنوان دلیل دیگری برای بالا بودن وراثت‌پذیری عمومی در نظر داشت. وراثت‌پذیری عمومی بالا برای صفات مورد ارزیابی بیانگر آن است که بیش‌ترین تنوع فنوتیپی مشاهده‌شده تحت کنترل عوامل ژنتیکی بوده است. وجود تنوع ژنتیکی و وراثت‌پذیری بالا در دو صفت کلیدی نشت الکترولیت و قندهای محلول در این مطالعه حاکی از پیشرفت‌های ژنتیکی ناشی از انتخاب در برنامه‌های اصلاحی است (شارما، ۱۹۹۸).

۶. نتیجه‌گیری و پیشنهادها

در مجموع نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که بین گیاهچه‌های حاصل از کشت بافت در این ژنوتیپ‌ها تنوع کافی از نظر تحمل به سرما وجود دارد. به‌علاوه صفات مهمی مثل میزان نشت الکترولیت، وزن تر و خشک اندام هوایی به‌شدت تحت تأثیر سرما قرار گرفته‌اند. این صفات می‌توانند به‌عنوان معیار انتخاب برای تحمل به سرما در کشت درون‌شیشه‌ای مورد استفاده قرار بگیرند. در تجزیه به عامل‌ها ژنوتیپ‌های ILL 7979 و ILL 5480 / ILL 6994 - 09S 83259-14 متحمل‌ترین ژنوتیپ‌ها به تنش سرما ژنوتیپ ILL 7686 / ILL 8119 - FLIP2010-40L-10770-ILL نسبتاً متحمل به تنش سرما و سایر ژنوتیپ‌ها حساس به تنش سرما بودند. بنابراین تلاقی بین این ژنوتیپ‌ها می‌تواند نوید بخش تولید ارقام جدید متحمل به سرما باشد. در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد (تنش سرما) وزن تر و خشک اندام هوایی، ارتفاع اندام هوایی، وزن تر و خشک ریشه و طول ریشه ژنوتیپ ILL 5480 / ILL 6994 - 09S 83259-14 از مابقی ژنوتیپ‌ها بهتر بود. وراثت‌پذیری صفات نیز بالا بود که نشان‌دهنده اثر کم محیط بر روی صفات می‌باشد. همین امر بیانگر وجود منشأ ژنتیکی تنوع سوماکلونی مشاهده شده می‌باشد. از این نتایج می‌توان در برنامه‌های اصلاحی بهبود تحمل به سرما در عدس استفاده نمود. در این صورت می‌توان کشت پاییزه این محصول را گسترش داد.

۷. تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از دانشگاه یاسوج به‌دلیل حمایت مالی و خانم‌ها مهندس کرمی و مهندس حاجی‌زاده به‌دلیل کمک در اجرای این پژوهش، تشکر و قدردانی می‌گردد.

۸. تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

۹. منابع

برزن، زهرا؛ دهداری، مسعود و امیری فهلپانی، رضا (۱۳۹۷). ارزیابی تحمل سرما در تعدادی از ژنوتیپ‌های مختلف کلزا در مرحله گیاهچه‌ای و ارتباط آن با نشانگرهای ریزماهواره. نشریه تولید و فرآوری محصولات زراعی و باغی، ۸ (۲)، ۳۳-۴۶.

غلامی رضوانی، نسیم؛ نظامی، احمد؛ کافی، محمد و نباتی، جعفر (۱۳۹۷). ارزیابی ژنوتیپ‌های عدس (*Lens culinaris*) برای کشت پاییزه در مناطق سرد معتدل در شرایط مزرعه. مجله تولید گیاهان زراعی، ۱۱ (۴)، ۱۴۲-۱۴۷.

هدایت‌خواه، طاهره؛ دهداری، مسعود و امیری فهلپانی، رضا. (۱۳۹۵). بررسی تحمل سرما در تعدادی از ارقام برنج با استفاده از صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک در مرحله گیاهچه‌ای. نشریه تولید و فرآوری محصولات زراعی و باغی، ۶ (۲۰)، ۱-۱۲.

جلیلیان، مهدی؛ دهداری، مسعود؛ امیری فهلپانی، رضا و موحدی دهنوی، محسن (۱۳۹۶). بررسی تحمل به سرما در ارقام مختلف چغندرقد (*Beta vulgaris* L.) در مرحله گیاهچه‌ای. تنش‌های محیطی در علوم زراعی، ۱۰ (۳)، ۴۷۵-۴۹۰.

نباتی، جعفر؛ نظامی، احمد؛ میرمیران، سیده محبوبه؛ حسن‌فرد، علیرضا؛ حجت، سید سعید و باقری، عبدالرضا (۱۳۹۹). تحمل به یخ‌زدگی در برخی ژنوتیپ‌های عدس در شرایط کنترل‌شده. نهال و بذر، ۳۶ (۲)، ۱۸۳-۲۰۵.

نظامی، احمد؛ خزاعی، حمیدرضا؛ حسین پناهی، فرزاد و فاضلی کاخکی، سید فاضل (۱۳۹۲). ارزیابی میزان تحمل به سرما در ژنوتیپ‌های عدس با بهره‌گیری از شاخص نشت الکترولیت‌ها. پژوهش‌های زراعی/ایران، ۱۱ (۱)، ۲۳-۳۰.

تبریزی وند طاهری، مژگان؛ پورعلی بابا، حمیدرضا و کوکب صبا (۱۴۰۲). بررسی توده‌های بومی عدس (*Lens culinaris* Medik) از نظر تحمل به سرما در شرایط کنترل‌شده و شرایط مزرعه. پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی، ۱۵ (۴۸)، ۲۲۳-۲۱۳.

References

- Arnon, D.T. (1949). Copper enzymes in isolation chloroplast phenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 24, 1-15.
- Ashoordan, H., Dehdari, M., Masoumiasl, A., & Karimizadeh, R. (2023). Lentil (*Lens culinaris* Medik.) genotype× PGR (Plant growth regulator) interaction and heritability of some traits under *in vitro* conditions. *Iran Agricultural Research* 42(2), 4-13. doi: 10.22099/iar.2024.48842.1563
- Azimi, F., Sofalian, O., Jahanbakhsh, G., & Khomari, S. (2012). Effect of chilling stress on soluble, suger and proline accumulation in cotton genotype. *International Journal of Agriculture and crop Science*, 4(12), 825-830.
- Bagheri, R., Dehdari, M., & Salehi, A. (2020). Effect of cold stress at flowering stage on some important characters of five German chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) genotypes in a pot experiment. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 16, 100228.
- Barzan, Z., Dehdari, M., & Amiri Fahliani, R. (2018). Evaluation of cold tolerance in rapeseed (*Brassica napus* L.) genotypes at seedling stage and its association with microsatellite marker. *Journal of Crop Production and Processing* 8(2), 33-46. (In Persian).
- Beltrano, J., & Ronco, M.G. (2008). Improved tolerance of wheat plants (*Triticum aestivum* L.) to drought stress and rewatering by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus claroideum*: Effect on growth and cell membrane stability. *Brazilian Journal of Plant Physiol* 20, 29-31.
- Cao, Z., Sui, S., Cai, X., Yang, Q., & Deng, Z. (2016). Somaclonal variation in 'Red Flash' caladium: Morphological, cytological and molecular characterization. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 126, 269-279.
- Dann, A.L., & Wilson, C.R. (2011). Comparative assessment of genetic and epigenetic variation among regenerants of potato (*Solanum tuberosum*) derived from long-term nodal tissue-culture and cell selection. *Plant Cell Reports* 30, 631-639.
- Fernandez, G.C.J. (1992). Effective selection, criteria for assessing stress tolerance. In: Kuo C.G. (ed.), *Proceedings of the International Symposium on Adaptation of Vegetables and Other Food Crops in Temperature and Water Stress*. AVRDC Publication, Tainan, Taiwan. pp. 257-270.
- Gholami Rezvani, N., Nezami, A., & Kafi, M. (2019). Evaluation of lentil (*Lens culinaris*) genotypes for autumn sowing in cold temperate regions under field conditions. *Journal of Crop Production*, 11(4), 142-147. (In Persian).

- Hedayatkah, T., Dehdari, M., & Amiri, R.F. (2016). Study of chilling tolerance in rice cultivars at seedling stage using morphological and physiological characteristics. *Journal of Crop Production and Processing*, 6 (20), 1-12. (In Persian).
- Irigoyen, J. J., Emerich D.W., & Sanchez-Diaz, M. (1992). Water stress induced change concentration of proline and total soluble sugars in undulated alfalfa (*Medicago sativa*) plant. *Physiologia Plantarum*, 84, 55-60.
- Jalilian, M., Dehdari, M., Amiri Fahliani, R., & Movahedi Dehnovi, M. (2017). Study of cold tolerance of different sugar beet (*Beta vulgaris* L.) cultivars at seedling growth stage. *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 10 (3), 475-490. (In Persian).
- Janmohammadi, M. (2012). Metabolomic analysis of low temperature responses in plants. *Current Opinion in Agriculture*, 1(1), 1-6.
- Kiszcak, W., Kowalska, U., Kapuścińska, A., Burian, M., & Górecka, K. (2015). Effect of low temperature on *in vitro* androgenesis of carrot (*Daucus carota* L.). *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 51, 135-142.
- Nabati, J., Nezami, A., Mirmiran, S.M., Hasanfard, A.R., Hojjat, S.S., & Bagheri, A. (2020). Freezing tolerance in some lentil genotypes under controlled conditions. *Seed and Plant Journal*, 36(2), 183-205. (In Persian).
- Nezami, A., Khazaei, H.R., Hosseinpanahi, F., & Fazeli Kakhki, S.F. (2013). Assessment of freezing tolerance in lentil genotypes (*Lens culinaris*) by electrolyte leakage index. *Iranian Journal of Field Crops Research*, 11(1), 23-30. (In Persian).
- Nobari, F., Afshari, H., Miri, S.M., & Hokmabadi, H. (2012). An investigation of cold tolerance properties (proline, protein and suger) of the flowerbuds in four commercial cultivars of Darngan local pistachio. *Journal of Nuts*, 3(2), 1-8.
- Paquine, R., & Lechasseure, P. (1979). Observation assay method for free proline in plantes. *Canadian Journal of Botany*, 57(2), 1851-1854.
- Popova, T., Grozeva, S., Todorova, V., Stankova, G., Anachkov, N., & Rodeva, V. (2016) Effects of low temperature, genotype and culture media on *in vitro* androgenic answer of pepper (*Capsicum annum* L.). *Acta Physiologiae Plantarum*, 38, 273.
- Pouramir-Dashtman, F., Khajeh-Hosseini, M., & Esfahani, M. (2014). Alleviating harmful effects of chilling stress on rice seedling via application of spermidine as seed priming factor. *African Journal of Agricultural Research*, 9(18), 1412-1418.
- Shabala, S. (2012). *Plant Stress Physiology*. (2nd ed.), Wallingford, UK: CABI.
- Sharma, J.R. (1998). *Statistical and Biometrical Techniques in Plant Breeding*, New Age International, New Delhi, P. 440
- Tabrizvand taheri, M., Pouralibaba, H.R., & Kokab, S. (2024). Study lentil (*Lens culinaris* L.) landraces for cold tolerance under field and controlled conditions. *Journal of Crop Breeding*, 15(48), 213-223. (In Persian).
- Wani, S.H., & Herath, V. (2018). *Cold Tolerance in Plants: Physiological, Molecular and Genetic Perspectives*. Springer Nature Switzerland AG. Pp 202.
- Yun, H., Li, Y., & Li, X. (2013). The research of cold stress on three reventment plants. *Journal of Agriculture Science*, 5(6), 102-108.