University of Birjand

Journal homepage:
https://escs.birjand.ac.ir

تنشهای محیطی در علوم زراعی
Environmental Stresses In Crop Sciences

Vol. 16, No. 2, pp. 291-314 (Summer 2023)

http://dx.doi.org/10.22077/escs.2022.4579.2042

Original article

The physiology of salt tolerance of lentils genotypes (*Lens culinaris* Medik.) in seedling stage

J. Nabati[1*], M. Goldani[2], M. Mohammadi[3], S.M. Mirmirano[4], A. Asadi[5]

1. Assistant Professor, Research Center for Plant Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Iran
2. Associated Professor, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran
3. M.Sc. Student, Department of Agronomy and Plant Breeding, Agricultural Colleges, Ferdowsi University of Mashhad, Iran
4. Assistant Professor, Khorasan-e-razavi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Mashhad, Iran
5. PhD. Student, Department of Agronomy and Plant Breeding, Agricultural Colleges, Ferdowsi University of Mashhad, Iran

Received 10 August 2021; Accepted 10 October 2021

Extended abstract

Introduction

Salinity stress is one of the most important abiotic stresses which results in significant damages to agricultural production, which has affected about 20% of the world's agricultural lands, and its constantly increases. Plant responses to salinity stress have been depending on the severity, species, and even genotype. Different accessions of a species may also use different mechanisms to cope with salinity stress and complete their life cycle. Therefore, the identification mechanism of salt-tolerant plants is necessary to select plants for high salinity conditions. With the development of the cultivation of tolerance plants in saline soils, it is possible to use the soil more efficiently; but salt tolerance is controlled by complex physiological and genetic processes, and understanding these mechanisms is essential to improving yield in saline soils. Different strategies can be used to prevent a decrease in yield in these areas. Plant adaptation to salinity stress in low or medium salinity stress has been suggested as a way to increase plant yield in saline soils. Considering the importance of salinity stress and also the beneficial environmental effects of legumes on crop rotation as well as the role of physiological and antioxidant characteristics in salinity tolerance and genetic diversity between lentil genotypes, this study was conducted to select lentil genotypes under salinity in a controlled environment.

Materials and methods

This study was carried out in hydroponic conditions in the greenhouse of the Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad Iran in 2019. The experiment was performed as split plots in a randomized complete block design with three replications. The 24 lentil genotypes were selected in the pretest and two salinity stress levels 12 and 16 $dS.m^{-1}$ and 0.5 (control) were investigated. Seeds of lentil genotypes were prepared from the seed bank of the Research Center for Plant Sciences, Ferdowsi University of Mashhad. Seeds were sown in the hydroponic environment in the greenhouse with light and dark periods according to natural day length, day and night temperatures of 25 and 18 °C respectively with ±5 °C variations and natural light conditions. One week after planting, salinity stress was applied. Four weeks after applying salinity stress, traits including photosynthetic pigments, DPPH radical activity, malondialdehyde, total phenol, soluble carbohydrates, catalase, peroxidase, ascorbate

* Corresponding author: Jafar Nabati; E-Mail: jafarnabati@ferdowsi.um.ac.ir

© 2023, The Author(s). Published by University of Birjand. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0).

peroxidase, osmotic potential, and proline were measured. To calculate the percentage of survival before salinity stress, the number of plants was recorded and before harvest, the number of live plants was recorded and the percentage of survival was calculated.

Results and discussion

The results showed that at the salinity of 12dSm-1 MLC6, MLC12, MLC26, MLC120 and MLC178 had a survival of over 60%. Under 16dSm-1 salinity except for MLC57, MLC73, MLC94, MLC104, and MLC108 genotypes, other genotypes survived and MLC178 and MLC26 genotypes had the highest survival with 30% and 25%, respectively. With increasing salinity stress levels, the content of chlorophyll a, total photosynthetic pigments, and total phenol in all genotypes had a decreasing trend. Chlorophyll a content increase with an increase salinity from controll (0.724 $mg.g^{-1}$ Fw) to 16 dSm^{-1} (0.220724 $mg.g^{-1}$ Fw). Osmotic potential with increasing salinity was a more negative state of values at 16dSm-1 of MLC178 (-3.91 MPa) and MLC26 (-5.62 MPa). Increasing salinity stress from 0.5 to 16 $dS.m^{-1}$ increased inhibition of the free radical activity of DPPH, activity of catalase, peroxidase, and ascorbate peroxidase in MLC117 and MLC178 genotypes. Also, except for two genotypes, MLC5 and MLC14, the other remaining genotypes had a good ability to reduce the osmotic potential at the salinity of 16dSm-1. Principal component analysis (PCA) showed that the first component explained 50.14% of the changes and properties related to photosynthetic pigments and osmotic potential and the second component explained the antioxidant properties, metabolites, and survival percentage with 12.66%.

Conclusion

Generally, results showed the superiority in most of the studied traits of the MLC6, MLC12, MLC26, MLC117, MLC120, and MLC178 compared to the total average. Due to the relative superiority of this genotypes of genotypes, it is recommended that perform additional studies to evaluate their salinity tolerance in field conditions.

***Keywords*:** Antioxidant, Metabolite, Osmotic potential, Photosynthetic pigments, Survival

تنشهای محیطی در علوم زراعی
Environmental Stresses in Crop Sciences
جلد شانزدهم، شماره دوم، تابستان ۱۴۰۲

http://dx.doi.org/10.22077/escs.2022.4579.2042

مقاله پژوهشی

فیزیولوژی تحمل به شوری ژنوتیپ‌های عدس (*Lens culinaris* Medik.) در مرحله گیاهچه‌ای

جعفر نباتی[1*]، مرتضی گلدانی[2]، محمد محمدی[3]، سیده محبوبه میرمیران[4]، علی اسدی[5]

۱. استادیار گروه بقولات پژوهشکده علوم گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد
۲. دانشیار گروه اگروتکنولوژی دانشگاه فردوسی مشهد
۳. دانشجوی کارشناسی‌ارشد گروه اگروتکنولوژی، دانشگاه فردوسی مشهد
۴. استادیار پژوهشی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد
۵. دانشجوی دکتری گروه اگروتکنولوژی، دانشگاه فردوسی مشهد

مشخصات مقاله

واژه‌های کلیدی:
آنتی‌اکسیدان
بقاء
پتانسیل اسمزی
رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی
متابولیت

تاریخ دریافت:
۱۴۰۰/۰۵/۱۹

تاریخ پذیرش:
۱۴۰۰/۰۷/۱۸

تاریخ انتشار:
تابستان ۱۴۰۲

۱۶(۲): ۲۹۱-۳۱۴

چکیده

انتخاب ارقام متحمل به شوری از راهکارهای جلوگیری از کاهش عملکرد در شرایط تنش است. این پژوهش به‌منظور ارزیابی میزان تحمل به شوری ۲۴ ژنوتیپ عدس به‌صورت کرت‌های خردشده در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۱۳۹۸ اجرا شد. تنش شوری در سه سطح ۰/۵، ۱۲ و ۱۶ $dS.m^{-1}$ در کرت‌های اصلی و ژنوتیپ‌های عدس در کرت‌های فرعی قرار گرفتند. نتایج نشان داد در تنش ۱۲ $dS.m^{-1}$ ژنوتیپ‌های MLC6، MLC12، MLC26، MLC120 و MLC178 دارای بقای بالای ۶۰ درصد بودند. در سطح شوری ۱۶ $dS.m^{-1}$ به‌جز ژنوتیپ‌های MLC57، MLC73، MLC94، MLC104 و MLC108 سایر ژنوتیپ‌ها در شوری ۱۶ $dS.m^{-1}$ دارای بقاء بودند و ژنوتیپ‌های MLC178 و MLC26 به ترتیب با ۳۰ و ۲۵ درصد، بیشترین بقاء را دارا بودند. با افزایش سطح تنش شوری محتوای کلروفیل a، رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی و فنل در تمامی ژنوتیپ‌ها روندی کاهشی داشت. با افزایش شوری محتوای کلروفیل a در تیمار شاهد از ۰/۷۲۴ به ۰/۲۲۰ میلی‌گرم در گرم ماده تر در شوری ۱۶ $dS.m^{-1}$ رسید. افزایش شوری از ۰/۵ به ۱۶ $dS.m^{-1}$ سبب افزایش مهار فعالیت رادیکال آزاد DPPH، کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در ژنوتیپ‌های MLC117 و MLC178 شد. با افزایش شوری پتانسیل اسمزی منفی‌تر گردید و در شوری ۱۶ $dS.m^{-1}$ دو ژنوتیپ MLC178 و MLC26 که بقای بالای داشتند کمترین پتانسیل اسمزی را به ترتیب با ۳/۹۱- و ۵/۶۲- مگاپاسکال نشان دادند. تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA) نشان داد که مؤلفه اول ۵۰/۴۱ درصد از تغییرات و ویژگی‌های مربوط به رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی و پتانسیل اسمزی و مؤلفه دوم نیز ۱۲/۶۶ درصد ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی، متابولیت‌ها و درصد بقاء را توضیح می‌دهد. نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای نشان داد که ژنوتیپ‌های MLC6، MLC12، MLC26، MLC117، MLC120 و MLC178 در بیشتر صفات مورد بررسی برتر بودند؛ بنابراین انجام آزمایش‌های تکمیلی جهت بررسی تحمل به شوری روی این ژنوتیپ‌ها در شرایط مزرعه توصیه می‌شود.

مقدمه

امروزه شوری به‌عنوان یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی محسوب می‌شود که حدود ۲۰ درصد از اراضی کشاورزی دنیا را تحت‌تأثیر قرار داده که این مقدار دائماً در حال افزایش نیز هست (Zhao et al., 2015). این تنش، از جدی‌ترین تهدیدهای کشاورزی پایدار است که رشد و تولید گیاهان را در سراسر دنیا تحت‌تأثیر قرار می‌دهد (Ahanger and Agarwal, 2017). واکنش گیاهان به این تنش، بسته به‌شدت، نوع گونه و حتی ژنوتیپ متفاوت است. واریته‌های یک گونه نیز ممکن است از مکانیسم‌های متفاوتی جهت مقابله با تنش و تکمیل چرخه زندگی خود استفاده نمایند

* نگارنده پاسخگو: جعفر نباتی. پست الکترونیک: jafarnabati@ferdowsi.um.ac.ir

(Muscolo et al., 2015)؛ بنابراین شناسایی گیاهان متحمل به شوری جهت حفظ و افزایش تولید آن‌ها در شرایط کمبود آب و شوری بالا ضروری است. با توسعه کشت گیاهان مقاوم در خاک‌های شور، امکان استفاده مؤثرتر از خاک فراهم می‌شود؛ اما مقاومت به نمک توسط فرایندهای پیچیده فیزیولوژیکی و ژنتیکی کنترل می‌شود که درک این مکانیسم‌ها جهت بهبود عملکرد محصول در این خاک‌ها ضروری است. استراتژی‌هایی جهت جلوگیری از کاهش عملکرد محصول در این مناطق وجود دارد. رشد گیاهان در خاک‌هایی با شوری کم یا متوسط جهت سازگاری گیاهان، به‌عنوان راهکاری برای افزایش عملکرد گیاه در خاک‌های شور پیشنهاد شده است (Skliros et al., 2018).

عدس (*Lens culinaris* Medik.) یکی از منابع پروتئینی ارزان برای تغذیه انسان است که قادر به تثبیت بیولوژیکی نیتروژن بوده و همچنین غنی از متابولیت‌هایی است که دارای اهمیت تغذیه‌ای هستند (Afzal et al., 2014). همچنین این گیاه، یکی از حبوبات مهم در سیستم‌های زراعی در مناطق مدیترانه محسوب می‌شود که در این مناطق تحت‌تأثیر تنش‌های مختلف محیطی ازجمله خشکی و شوری قرار می‌گیرد (Muscolo et al., 2015). طبق آمار سازمان خواربار و کشاورزی ملل متحد (FAO) در سال ۲۰۱۹، متوسط عملکرد عدس در ایران با سطح زیرکشت معادل ۱۳۵ هزار هکتار و تولید ۷۱ هزار تن، حدود ۵۲۶ کیلوگرم در هکتار بود (FAOSTAT, 2020). این گیاه، مشابه با سایر حبوبات حساس به شوری بوده و تنش شوری اثرات منفی بر رشد و نمو آن دارد به‌طوری‌که تنش شوری با تأثیر منفی بر اجزای عملکرد، عملکرد عدس را تا ۵۰ درصد کاهش می‌دهد (Golezani and Yengabad, 2012).

واکنش گیاهان به تنش شوری شامل دو مرحله است. مرحله اول که از چند دقیقه تا چند روز طول می‌کشد، در ارتباط با انتقال پیام وجود سدیم در محیط ریشه است. در این مرحله اثر تنش شوری بر روابط آبی دارای اهمیت بوده و سبب بسته‌شدن روزنه‌ها و ممانعت از توسعه برگ‌ها می‌شود. در مرحله دوم که از چند روز تا چند هفته به طول می‌انجامد، غلظت یون‌ها در اندام‌های هوایی به‌ویژه در برگ‌های مسن به حد سمیت رسیده و سبب کاهش عملکرد شده و حتی ممکن است به مرگ گیاه منجر شود (Roy et al., 2014). تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی متعددی درنتیجه شوری در گیاهان ایجاد می‌شود. برخی از این تغییرات شامل، کاهش پتانسیل آب در محلول خاک، عدم تعادل یون‌ها و انباشت زیاد از حد انواع گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) است (Kamran et al., 2020). در شرایط عادی، گونه‌های فعال اکسیژن در اندام‌های مختلف گیاه مانند کلروپلاست، میتوکندری و پراکسی‌زوم تولید می‌شوند (Singh et al., 2019). در شرایط بدون تنش در سلول‌های گیاهی بین تولید و حذف گونه‌های فعال اکسیژن در گیاه توسط سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی، تعادل وجود دارد (Hasanuzzaman et al., 2012) که حفظ این تعادل جهت انجام واکنش‌های حیاتی گیاه مانند رشد و نمو و به عبارتی حفظ رشد طبیعی گیاه ضروری است (Mittler, 2017)؛ اما بروز تنش‌های غیرزیستی مانند تنش شوری سبب افزایش سرعت تبدیل اکسیژن غیرفعال به رادیکال‌های فعال اکسیژن، القا تنش اکسیداتیو، تخریب مولکول‌های زیستی مانند رنگ‌دانه‌ها، پروتئین‌ها، لیپیدها، کربوهیدرات‌ها و DNA، مختل‌شدن فتوسنتز، افزایش شدت تنفس نوری، مرگ برنامه‌ریزی شده سلول و درنهایت کاهش تولیدات گیاهی می‌شوند (Raja et al., 2017; Negrao et al., 2017). گیاهان از مکانیسم‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی آنزیمی (مانند سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، گلوتاتیون ردوکتاز) و غیر آنزیمی (مانند آسکوربیک اسید، ترکیب‌های فنلی، آلکالوئیدها و کاروتنوئیدها) برای مقابله با تنش استفاده می‌کنند (Kaur et al., 2019). این سیستم‌های دفاعی سبب ایجاد تعادل در تولید و حذف گونه‌های فعال اکسیژن شده و به این طریق از گیاه در شرایط تنش‌های شدید محیطی محافظت می‌کنند (Hasanuzzaman et al., 2020). کاهش در محتوای کلروفیل‌ها و افزایش پراکسیداسیون اسیدهای چرب در شرایط تنش شوری در ژنوتیپ‌های حساس و مقاوم به شوری لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) مشاهده شده است. باتوجه‌به اینکه میزان کاهش در محتوای رنگ‌دانه‌ها در ارقام مقاوم کمتر از ارقام حساس بود، این شاخص‌ها می‌توانند جهت ارزیابی میزان خسارت اکسیداتیو مورداستفاده قرار گیرند (Taibi et al., 2016).

نتایج مطالعات حاکی از اثر تنش‌شوری بر جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاهچه‌های عدس است (Muscolo et al., 2015; Ouji et al., 2015). مطالعات بسیار کمی مبنی بر ارزیابی اثر سطوح بالای تنش شوری (به‌عنوان‌مثال ۵ $dS.m^{-1}$) در مزرعه روی تولید عدس در مزرعه انجام شده است (Rameshwaran et al., 2016). بررسی تحمل به شوری

ارقام مقاوم عدس ایتالیایی با ارقام تجاری کانادایی نشان داد که تفاوت قابل‌ملاحظه‌ای بین ارقام متحمل و تجاری از نظر ویژگی‌های متابولیکی و فنوتیپی وجود دارد (Muscolo et al. 2015).

باتوجه‌به اهمیت تنش‌شوری و همچنین اثرات مفید زیست‌محیطی حبوبات در تناوب زراعی و همچنین نقش ویژگی‌های فیزیولوژیکی و آنتی‌اکسیدانی در تحمل به شوری و وجود تنوع ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های عدس این پژوهش با هدف به‌گزینی ژنوتیپ‌های عدس در شرایط شوری در محیط کنترل‌شده انجام شد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه در شرایط هیدروپونیک در گلخانه‌تحقیقاتی دانشکده‌کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۱۳۹۸ انجام شد. آزمایش به‌صورت کرت‌های خردشده در قالب طرح بلوک کامل‌تصادفی در سه تکرار اجرا شد. در این آزمایش ۲۴ ژنوتیپ متحمل به تنش‌شوری عدس که در آزمایش‌های مقدماتی انتخاب‌شده بودند و سه سطح تنش ۵۰ (شاهد)، ۱۲ و ۱۶ $dS.m^{-1}$ مورد بررسی قرار گرفت. فهرست ژنوتیپ‌های مورد بررسی در این آزمایش در جدول (۱) ارائه شده است.

جدول ۱. لیست ژنوتیپ‌های عدس موردمطالعه

Table 1. List of lentil genotypes studied

شماره ردیف No.	کد بانک بذر Seed bank ID	منشأ Origin	شماره ردیف No.	کد بانک بذر Seed bank ID	منشأ Origin
1.	†MLC4	Iran	13.	MLC81	ILL7206
2.	MLC5	Iran	14.	MLC94	ILL7155
3.	MLC6	Iran	15.	MLC104	ILL5732
4.	MLC12	Iran	16.	MLC108	ILL957
5.	MLC13	Iran	17.	MLC109	ILL4401
6.	MLC14	Iran	18.	MLC117	ILL20
7.	MLC25	Iran	19.	MLC118	ILL5774
8.	MLC26	Iran	20.	MLC120	Iran
9.	MLC57	Iran	21.	MLC152	Iran
10.	MLC73	††ILL7531	22.	MLC156	Iran
11.	MLC77	ILL7674	23.	MLC178	Iran
12.	MLC78	ILL7675	24.	MLC192	Iran

MLC: کلکسیون عدس مشهد، ILL: عدس بین‌المللی لگوم

†MLC: Mashhad Lentil Collection, ††ILL: International Legume Lentil

بذر ژنوتیپ‌های عدس مورداستفاده از بانک بذر حبوبات پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد تهیه شد. بذرها در محیط هیدروپونیک در گلخانه با طول دوره روشنایی و تاریکی مطابق طول روز طبیعی، دمای روز و شب به ترتیب ۲۵ و ۱۸ درجه سانتی‌گراد با دامنه تغییر ۵± تنظیم و شرایط نور طبیعی کشت شدند. کشت در جعبه‌های پلاستیکی با طول ۷۰، عرض ۵۰ و ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر انجام شد. در هر جعبه چهار ژنوتیپ و از هر ژنوتیپ ۲۰ عدد بذر کشت گردید. بستر مورداستفاده در این مطالعه ماسه و تغذیه با استفاده از محلول غذایی هوگلند (Hoagland, and Arnon, 1950) صورت گرفت. یک هفته پس از سبزشدن، تنش شوری اعمال شد (Zare Mehrjerdi et al., 2012). سامانه تغذیه به‌صورت بسته اعمال، محلول غذایی به‌صورت هفتگی جایگزین و میزان شوری محلول غذایی به‌صورت روزانه پایش و تنظیم گردید، باتوجه‌به اینکه محلول هوگلند به‌واسطه دارابودن عناصر غذایی حدود ۲ $dS.m^{-1}$ هدایت الکتریکی ایجاد می‌کند مجموع هدایت الکتریکی محلول غذایی و تیمار شوری برای تیمار شاهد ۲ $dS.m^{-1}$، تیمار شوری ۱۲ $dS.m^{-1}$ به ۱۴ $dS.m^{-1}$ و در شوری ۱۶ $dS.m^{-1}$ به ۱۸ $dS.m^{-1}$ رسید.

کل دوره آزمایش پنج هفته بود که چهار هفته پس از اعمال تنش شوری صفاتی شامل رنگدانه‌های فتوسنتزی (Dere et al., 1998)، مهار فعالیت رادیکال DPPH (Abe et al., 1998)، مالون‌دی‌آلدئید (Heath and Parker, 1968)، فنل کل (Singleton and Rossi, 1965)، کربوهیدرات‌های محلول (Dubois et al., 1951)، کاتالاز (Velikova et al., 2000)، پراکسیداز (Sreenivasulu et al., 1999)، آسکوربات پراکسیداز (Yamagushi et al., 1995) پتانسیل اسمزی با استفاده از دستگاه اسمومتر مدل OM802.D Wogel و پرولین (Bates et al., 1973) اندازه‌گیری شد. برای محاسبه درصد بقاء پیش از اعمال تنش

شوری تعداد بوته‌های سبز شده ثبت گردید و پیش از برداشت نیز تعداد بوته‌های زنده ثبت و درصد بقاء بر اساس معادله (۱) محاسبه گردید.

تعداد بوته قبل‌تنش/(۱۰۰×تعداد بوته‌چهارهفته‌بعد تنش)=درصد بقاء [۱]

تجزیه‌وتحلیل داده‌ها با نرم‌افزار Minitab 17 و خطای استاندارد و تجزیه خوشه‌ای (بر اساس روش ward) با استفاده از نرم‌افزار JMP 4 انجام شد. برای برآورد همبستگی از نرم‌افزار R و برای تجزیه به مؤلفه‌های اصلی از نرم‌افزار STATISTICA8 استفاده شد. برای تأیید صحت گروه‌بندی انجام شده از تجزیه واریانس چندمتغیره، تجزیه تابع تشخیص از نرم‌افزار SPSS استفاده شد.

نتایج و بحث

درصد بقاء تحت‌تأثیر برهم‌کنش تنش شوری و ژنوتیپ قرار گرفت (جدول ۲). اعمال تنش شوری ۱۲ و $dS.m^{-1}$ ۱۶ سبب کاهش درصد بقاء در تمامی ژنوتیپ‌های موردمطالعه در مقایسه با شاهد شد. بیشترین درصد کاهش درصد بقاء درنتیجه اعمال شوری $dS.m^{-1}$ ۱۲ در مقایسه با شاهد در ژنوتیپ‌های MLC57، MLC73، MLC94، MLC104 و MLC108 مشاهده شد. همچنین این ژنوتیپ‌ها قادر به تحمل شوری $dS.m^{-1}$ ۱۶ نبودند. کمترین کاهش درصد بقاء درنتیجه اعمال شوری ۱۲ و $dS.m^{-1}$ ۱۶ نیز در ژنوتیپ‌های MLC178 و MLC12 مشاهده شد (جدول ۲). بررسی اثر تنش شوری در ژنوتیپ‌های عدس موردمطالعه نشان‌دهنده وجود تنوع ازلحاظ محتوای کلروفیل‌های a و b در آن‌ها است.

بیشترین غلظت کلروفیل a و b در سطح تنش شوری dSm^{-1} ۱۲ به ترتیب در ژنوتیپ‌های MLC192 و MLC178 مشاهده شد. در سطح‌شوری dSm^{-1} ۱۶ در بین ژنوتیپ‌های باقیمانده بیشترین غلظت کلروفیل a و b به ترتیب در ژنوتیپ MLC26 و MLC152 به‌دست آمد (جدول ۲). افزایش سطح شوری از ۱۲ به dSm^{-1} ۱۶ به‌جز در دو ژنوتیپ MLC13 و MLC117 در سایر ژنوتیپ‌ها سبب کاهش محتوای کلروفیل a و b شد؛ اما به‌طورکلی افزایش شدت تنش از dSm^{-1} ۰/۵ به dSm^{-1} ۱۶ سبب کاهش محتوای‌کلروفیل a در تمام ژنوتیپ‌ها شد. بیشترین و کمترین کاهش در محتوای‌کلروفیل a درنتیجه افزایش شوری از ۰/۵ به dSm^{-1} ۱۶ در ژنوتیپ‌هایی که از توانایی بقاء در این سطح‌شوری برخوردار بودند، به ترتیب در ژنوتیپ‌های MLC5 و MLC26 مشاهده شد. در ژنوتیپ MLC13 علی‌رغم کاهش ۳۵ درصدی محتوای‌کلروفیل a درنتیجه اعمال تنش شوری dSm^{-1} ۱۶، افزایش در محتوای کلروفیل b مشاهده شد. کاهش محتوای‌کلروفیل b درنتیجه افزایش تنش از ۰/۵ به dSm^{-1} ۱۶ در بیشتر ژنوتیپ‌ها مشاهده شد؛ اما میزان کاهش محتوای کلروفیل b کمتر از کلروفیل a بود. به‌عبارتی علی‌رغم سایر مطالعات که کلروفیل b به تنش حساس‌تر بود، در این بررسی تنش‌شوری تأثیر منفی بیشتری را بر محتوای کلروفیل a داشت (جدول ۳).

اعمال تنش $dS.m^{-1}$ ۱۲ به‌جز در چهار ژنوتیپ MLC78، MLC104، MLC156 و MLC192 در سایر ژنوتیپ‌ها سبب کاهش محتوای کاروتنوئیدهای برگ شد؛ اما با افزایش شدت تنش در تمامی آن‌ها میزان کاروتنوئیدها کاهش یافت. بیشترین و کمترین کاهش در محتوای کاروتنوئیدها درنتیجه اعمال شوری $dS.m^{-1}$ ۱۶ در مقایسه با شاهد به ترتیب در ژنوتیپ‌های MLC25 (۲۲/۶ برابر کاهش) و MLC178 (۲۵ درصد کاهش) مشاهده شد (جدول ۴). نسبت کلروفیل a به b تحت‌تأثیر برهم‌کنش ژنوتیپ و شوری قرار گرفت. اعمال تنش ۱۲ و $dS.m^{-1}$ ۱۶ در بیشتر ژنوتیپ‌ها سبب کاهش این نسبت در مقایسه با شوری $dS.m^{-1}$ ۰/۵ شد. تنها در ژنوتیپ‌های MLC78، MLC120، MLC156 و MLC192 ابتدا افزایش و سپس با افزایش تنش به dSm^{-1} ۱۶ کاهش در این نسبت مشاهده شد (جدول ۴).

خسارت اصلی تنش شوری بروز سمیت ناشی از تجمع یون‌های سدیم و کلر در بافت‌های گیاهی است (Hussain et al., 2018). در این شرایط تجمع یون‌های سدیم در بافت‌های گیاهی بیشتر شده و این امر سبب برهم‌خوردن تعادل یونی در گیاه، اختلال در فرایندهای متابولیکی و بروز خسارت اکسیداتیو می‌شود. درحالی‌که وجود یون پتاسیم به حفظ رشد و نمو گیاه و افزایش تحمل آن در شرایط شوری خاک کمک می‌کند. به عبارتی گیاهان متحمل به شوری از نسبت یون پتاسیم به سدیم بالاتری برخوردار هستند. کاهش رشد و نمو در شرایط شوری خاک می‌تواند به دلیل کاهش فعالیت‌های فتوسنتزی به دلیل کاهش غلظت کلروفیل‌های a و b در تنش شوری باشد (Gururani et al., 2015). غلظت زیاد نمک در پروفیل خاک ممکن است به دلیل تجمع نمک و کاهش جذب آب، سبب بروز خشکی فیزیولوژیکی در گیاه شود. وجود یون‌های سدیم در حد سمیت در غشاهای سلولی و اندام‌های گیاه سبب کاهش فرایندهای فیزیولوژیکی گیاه

نظیر فتوسنتز خالص، هدایت روزنه‌ای، تبخیر و تعرق، غلظت دی‌اکسیدکربن زیر روزنه و محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی شده و درنهایت مرگ گیاه را به دنبال دارد (Hussain et al., 2019). کلروفیل‌ها، رنگدانه‌های اصلی دخیل در فرایند فتوسنتز محسوب می‌شوند. کاهش در محتوای کلروفیل‌ها درنتیجه تنش شوری مشاهده می‌شود؛ زیرا سمیت نمک سبب سوزاندن برگ‌ها و تخریب رنگدانه‌ها می‌شود. کاهش محتوای کلروفیل‌ها به دلیل کمبود آب، پراکسیداسیون چربی‌ها و تخریب کلروفیل‌ها است (Nxele et al., 2017). تفاوت بین ارقام مقاوم و حساس به شوری در اثر تنش شوری ازلحاظ میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی مشاهده شده است. ارقام مقاوم از توانایی بیشتری جهت حفظ و جلوگیری از کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی، حفظ ظرفیت فتوسنتزی گیاه و درنتیجه تولید مناسب‌تر در این شرایط برخوردارند. کاهش در محتوای کلروفیل‌ها در اثر تنش شوری می‌تواند نشانه‌ای از تنش اکسیداتیو باشد که سبب جلوگیری از سنتز کلروفیل و یا سنتز آهسته‌تر آن‌ها همراه با افزایش سرعت تخریب آن توسط آنزیم کلروفیلاز می‌شود (Taibi et al., 2016). همچنین تنش شوری سبب اختلال در جذب برخی یون‌ها مانند آهن و منیزیم که در ساختمان کلروپلاست به کار می‌روند شده که درنتیجه آن محتوای کلروفیل برگ‌ها و میزان فتوسنتز کاهش می‌یابد (Cantabella et al., 2017).

جدول ۲. تأثیر سطوح تنش شوری بر درصد بقاء ژنوتیپ‌های عدس در شرایط کنترل‌شده

Table 2. Effects of salinity stress on survival percentage of lentil genotypes under controlled condition.

ژنوتیپ Genotype	درصد بقاء Survival percentage		
	تنش شوری Salinity stress		
	$0.5dS.m^{-1}$	$12dS.m^{-1}$	$16dS.m^{-1}$
[1]MLC4	100±0.00	17±5.51	4±4.33
MLC5	100±0.00	19±11.9	4±3.67
MLC6	100±0.00	63±11.8	17±7.88
MLC12	100±0.00	75±14.0	33±4.93
MLC13	100±0.00	36±4.81	12±3.21
MLC14	100±0.00	36±17.9	10±5.24
MLC25	100±0.00	43±16.2	8±4.04
MLC26	100±0.00	61±14.4	25±10.8
MLC57	100±0.00	10±7.31	0±0.00
MLC73	100±0.00	6±3.79	0±0.00
MLC77	100±0.00	35±12.9	8±4.18
MLC78	100±0.00	46±9.21	5±2.89
MLC81	100±0.00	31±10.6	8±6.01
MLC94	100±0.00	19±8.09	0±0.00
MLC104	100±0.00	12±3.18	0±0.00
MLC108	100±0.00	13±2.33	0±0.00
MLC109	100±0.00	20±8.66	4±3.67
MLC117	100±0.00	17.85	20±5.21
MLC118	100±0.00	51±4.67	23±14.6
MLC120	100±0.00	60±26.0	16±8.74
MLC152	100±0.00	42±17.3	9±1.67
MLC156	100±0.00	42±16.3	9±4.98
MLC178	100±0.00	80±4.67	30±18.1
MLC192	100±0.00	21±3.51	4±2.00

S.O.V	منابع تغییر	df	Mean squares میانگین مربعات
Block	بلوک	2	2401^{**}
Salinity stress (S)	تنش شوری	2	152716^{**}
E_a	خطای اصلی	4	1011
Genotypes (G)	ژنوتیپ	23	918^{**}
S×G	S×G	46	350^{**}
E_b	خطای فرعی	138	135
	CV%	-	*23.7*

MLC: کلکسیون عدس مشهد، ±: نشان‌دهنده خطای معیار میانگین‌ها است.

**: معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد، C.V: ضریب تغییرات.

MLC: Mashhad Lentil Collection. ±: indicates standard error (S.E.).

**: Significant at probability level of 1%, CV: Coefficient of Variation.

جدول ۳. تأثیر تنش شوری بر محتوای کلروفیل a و کلروفیل b در ژنوتیپ‌های عدس در شرایط کنترل‌شده

Table 3. Effects of salinity stress on chlorophyll a and chlorophyll b content of lentil genotypes under controlled condition

ژنوتیپ Genotype	کلروفیل Chl a (mg.gfw^{-1}) a			کلروفیل Chl b (mg.gfw^{-1}) b		
	تنش شوری Salinity stress			تنش شوری Salinity stress		
	0.5 dS.m^{-1}	12 dS.m^{-1}	16 dS.m^{-1}	0.5 dS.m^{-1}	12 dS.m^{-1}	16 dS.m^{-1}
[1]MLC4	0.899±0.068	0.399±0.114	0.101±0.101	0.556±0.066	0.372±0.094	0.033±0.033
MLC5	0.720±0.006	0.405±0.203	0.069±0.069	0.396±0.068	0.240±0.122	0.057±0.057
MLC6	0.991±0.062	0.557±0.047	0.325±0.081	0.467±0.038	0.349±0.027	0.282±0.006
MLC12	0.647±0.036	0.479±0.057	0.453±0.070	0.374±0.034	0.332±0.039	0.297±0.024
MLC13	0.568±0.102	0.369±0.060	0.422±0.044	0.264±0.022	0.308±0.040	0.330±0.046
MLC14	0.661±0.054	0.470±0.046	0.252±0.136	0.399±0.038	0.295±0.013	0.208±0.105
MLC25	0.901±0.072	0.386±0.007	0.135±0.067	0.426±0.032	0.392±0.062	0.157±0.079
MLC26	0.642±0.121	0.575±0.066	0.520±0.061	0.410±0.075	0.409±0.036	0.346±0.023
MLC57	0.759±0.090	0.259±0.130	0.000±0.000	0.383±0.047	0.192±0.098	0.000±0.000
MLC73	0.768±0.072	0.211±0.107	0.000±0.000	0.413±0.055	0.193±0.103	0.000±0.000
MLC77	0.799±0.059	0.448±0.011	0.296±0.148	0.334±0.034	0.330±0.019	0.289±0.145
MLC78	0.742±0.049	0.464±0.036	0.131±0.067	0.702±0.064	0.322±0.018	0.168±0.084
MLC81	0.939±0.008	0.423±0.032	0.131±0.067	0.442±0.055	0.325±0.028	0.149±0.077
MLC94	0.531±0.045	0.442±0.098	0.000±0.000	0.218±0.059	0.300±0.088	0.000±0.000
MLC104	0.711±0.002	0.434±0.069	0.000±0.000	0.519±0.008	0.354±0.039	0.000±0.000
MLC108	0.753±0.039	0.306±0.084	0.000±0.000	0.448±0.017	0.328±0.018	0.000±0.000
MLC109	0.671±0.018	0.310±0.024	0.103±0.103	0.403±0.031	0.273±0.058	0.091±0.091
MLC117	0.949±0.072	0.310±0.094	0.382±0.038	0.499±0.040	0.240±0.036	0.345±0.008
MLC118	0.417±0.079	0.319±0.037	0.262±0.131	0.358±0.062	0.326±0.043	0.229±0.115
MLC120	0.820±0.055	0.451±0.017	0.400±0.000	0.468±0.046	0.271±0.060	0.242±0.000
MLC152	0.579±0.051	0.267±0.072	0.316±0.059	0.368±0.066	0.422±0.068	0.364±0.041
MLC156	0.538±0.065	0.540±0.085	0.307±0.169	0.332±0.054	0.267±0.054	0.170±0.099
MLC178	0.721±0.068	0.474±0.040	0.389±0.060	0.395±0.023	0.429±0.067	0.278±0.042
MLC192	0.649±0.118	0.598±0.082	0.287±0.143	0.344±0.055	0.348±0.092	0.197±0.099

S.O.V	منابع تغییر	df	Mean squares میانگین مربعات	Mean squares میانگین مربعات
Block	بلوک	2	0.051^{ns}	0.015^{ns}
Salinity stress (S)	تنش شوری	2	4.66**	1.02**
E_a	خطای اصلی	4	0.035	0.024
Genotypes (G)	ژنوتیپ	23	0.069**	0.035**
S×G		46	0.054**	0.027**
E_b	خطای فرعی	138	0.017	0.010
CV%		-	*28.8*	*33.4*

MLC: کلکسیون عدس مشهد، ±: نشان‌دهنده خطای معیار میانگین‌ها است

ns : غیر معنی‌دار **: معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد، CV: ضریب تغییرات.

MLC: Mashhad Lentil Collection. ±: indicates standard error (S.E.).
ns: non-significant**: Significant at probability level of 1%, CV: Coefficient of Variation.

کاروتنوئیدها رنگ‌دانه‌هایی با چندین کارکرد در گیاهان هستند. در مرکز واکنش‌های فتوسنتزی و از طریق جذب نور به طور مستقیم در انجام فرایند فتوسنتز دخیل‌اند (Taibi et al., 2016). همچنین سبب جلوگیری از تخریب کلروفیل در شدت نور زیاد شده، در مکانیسم دفاع آنتی‌اکسیدانی به‌عنوان مهارکننده رادیکال‌های فعال اکسیژن و عمدتاً اکسیژن منفرد عمل می‌کنند و در حفاظت از کمپلکس‌های پروتئینی برداشت‌کننده نور و پایداری غشای تیلاکوئید نیز نقش دارند (Mehla et al., 2017)، بنابراین ژنوتیپ‌هایی که قادر به حفظ رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی و به عبارتی حفظ توان فتوسنتزی خود در شرایط تنش باشند، از بقاء و عملکرد مناسب‌تری برخوردار خواهند بود. بررسی همبستگی بین صفات موردمطالعه نیز نشان داد که بین درصد بقاء با غلظت کلروفیل‌های a و b و کل رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی در تمامی سطوح تنش شوری همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود دارد (شکل ۱).

افزایش تنش شوری از ۰/۵ به ۱۶ dS.m^{-1} در ژنوتیپ‌های MLC6، MLC12، MLC13، MLC26، MLC117، MLC120، MLC152 و MLC178 سبب افزایش و در سایر ژنوتیپ‌ها سبب کاهش میزان مهار فعالیت رادیکال آزاد

DPPH شد. بیشترین افزایش درنتیجه شدت تنش در ژنوتیپ‌های MLC12 و MLC13 (افزایش ۲/۴ برابری) مشاهده شد. بیشترین کاهش در این صفت با اعمال تنش $16\ dS.m^{-1}$ در ژنوتیپ MLC4 (کاهش ۶/۴ برابری) مشاهده شد (جدول ۵). بین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه با درصد بقاء در شوری ۰/۵ و $16\ dS.m^{-1}$ همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود داشت (شکل ۱). به عبارتی ژنوتیپ‌های متحمل از توانایی مهار فعالیت رادیکال آزاد DPPH بیشتری در مقایسه با ژنوتیپ‌های حساس برخوردارند. همچنین در بررسی تجزیه خوشه‌ای صفات موردمطالعه ژنوتیپ‌های گروه سوم که ازنظر تحمل شوری نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها برتر بودند از توانایی مهار فعالیت رادیکال آزاد DPPH بالاتری نیز نسبت به میانگین کل برخوردار بودند (جدول ۱۰). همچنین این ژنوتیپ‌ها در شوری $16\ dS.m^{-1}$ از بالاترین مقدار این شاخص برخوردار بودند (جدول ۵)؛ بنابراین از افزایش این صفت می‌توان به‌عنوان یک شاخص فیزیولوژیک مناسب برای ارزیابی ژنوتیپ‌های متحمل به شوری و مهار رادیکال آزاد اکسیژن استفاده نمود (Hassan et al., 2020).

جدول ۴. تأثیر تنش شوری بر کاروتنوئیدها و نسبت کلروفیل a/b در ژنوتیپ‌های عدس در شرایط کنترل‌شده

Table 4. Effects of salinity stress on carotenoids and chlorophyll a/b of lentil genotypes under controlled condition

ژنوتیپ Genotype	کاروتنوئیدها Carotenoids ($mg.gfw^{-1}$)			نسبت کلروفیل Chl a/b		
	تنش شوری Salinity stress			تنش شوری Salinity stress		
	0.5 $dS.m^{-1}$	12 $dS.m^{-1}$	16 $dS.m^{-1}$	0.5 $dS.m^{-1}$	12 $dS.m^{-1}$	16 $dS.m^{-1}$
[1]MLC4	0.112±0.013	0.098±0.015	0.015±0.015	1.63±0.074	1.12±0.271	0.122±0.122
MLC5	0.091±0.011	0.063±0.031	0.013±0.013	1.94±0.367	0.841±0.458	0.405±0.405
MLC6	0.190±0.001	0.111±0.014	0.103±0.000	2.13±0.041	1.60±0.060	1.14±0.262
MLC12	0.124±0.011	0.059±0.011	0.078±0.014	1.74±0.072	1.50±0.296	1.52±0.163
MLC13	0.140±0.016	0.051±0.013	0.079±0.013	2.11±0.230	1.19±0.101	1.29±0.063
MLC14	0.128±0.017	0.111±0.005	0.035±0.018	1.66±0.075	1.60±0.183	0.565±0.283
MLC25	0.158±0.003	0.049±0.014	0.007±0.003	2.12±0.007	1.03±0.156	0.571±0.285
MLC26	0.107±0.014	0.093±0.009	0.067±0.005	1.60±0.211	1.40±0.042	1.54±0.282
MLC57	0.148±0.012	0.041±0.021	0.000±0.000	1.98±0.011	0.910±0.463	0.000±0.000
MLC73	0.149±0.021	0.030±0.015	0.000±0.000	1.88±0.075	0.750±0.384	0.000±0.000
MLC77	0.176±0.002	0.083±0.003	0.030±0.024	2.23±0.231	1.36±0.058	0.683±0.342
MLC78	0.032±0.000	0.074±0.008	0.008±0.004	1.06±0.028	1.44±0.058	0.519±0.261
MLC81	0.204±0.002	0.065±0.016	0.013±0.007	2.19±0.259	1.34±0.217	0.588±0.294
MLC94	0.141±0.001	0.058±0.012	0.000±0.000	2.84±0.214	1.56±0.213	0.000±0.000
MLC104	0.102±0.013	0.124±0.010	0.000±0.000	1.37±0.026	1.23±0.160	0.000±0.000
MLC108	0.172±0.012	0.053±0.011	0.000±0.000	1.69±0.133	0.921±0.217	0.000±0.000
MLC109	0.109±0.000	0.017±0.007	0.006±0.006	1.69±0.173	0.994±0.051	0.378±0.378
MLC117	0.156±0.012	0.053±0.010	0.074±0.019	1.92±0.166	1.25±0.241	1.11±0.135
MLC118	0.089±0.019	0.077±0.014	0.039±0.020	1.17±0.140	1.02±0.169	0.768±0.388
MLC120	0.163±0.002	0.098±0.016	0.078±0.000	1.76±0.068	1.83±0.373	1.653±0.000
MLC152	0.132±0.016	0.075±0.000	0.006±0.000	1.63±0.193	0.727±0.298	0.852±0.068
MLC156	0.107±0.021	0.147±0.009	0.055±0.028	1.65±0.102	2.37±0.156	0.977±0.505
MLC178	0.133±0.016	0.054±0.013	0.106±0.014	1.82±0.072	1.19±0.283	1.46±0.273
MLC192	0.124±0.015	0.161±0.001	0.053±0.027	1.87±0.084	2.48±0.852	0.969±0.484

S.O.V	منابع تغییر	df	Mean squares میانگین مربعات	Mean squares میانگین مربعات
Block	بلوک	2	0.002^{*}	1.07^{**}
Salinity stress (S)	تنش شوری	2	0.170^{**}	22.1^{**}
E_a	خطای اصلی	4	0.001	0.506
Genotypes (G)	ژنوتیپ	23	0.005^{**}	0.819^{**}
S×G		46	0.004^{**}	0.533^{**}
E_b	خطای فرعی	138	0.001	0.160
CV%		-	*27.1*	*31.2*

MLC: کلکسیون عدس مشهد، ± نشان‌دهنده خطای معیار میانگین‌ها است.

** و *: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد و پنج درصد، C.V: ضریب تغییرات.

MLC: Mashhad Lentil Collection. ±: indicates standard error (S.E.).

** and *: Significant at probability level of 1% and 5% respectively, CV: Coefficient of Variation

غلظت مالون‌دی‌آلدئید تحت‌تأثیر تنش شوری و ژنوتیپ‌های عدس موردمطالعه قرار گرفت. به‌جز در سه ژنوتیپ MLC13، MLC77 و MLC152 در سایر ژنوتیپ‌ها اعمال شوری ۱۶ $dS.m^{-1}$ سبب کاهش مقدار مالون‌دی‌آلدئید شد. این شاخص بیانگر میزان خسارت به گیاه ناشی از پراکسیداسیون لیپیدهای غشا است. به عبارتی بالاتر بودن این شاخص نشان‌دهنده خسارت بیشتر به غشاهای سلولی است. ژنوتیپ MLC4 علی‌رغم اینکه توانایی مناسبی در تولید مهار رادیکال آزاد DPPH نداشت، اما از بیشترین توانایی در جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدها در شوری ۱۶ $dS.m^{-1}$ برخوردار بود (جدول ۵).

جدول ۵. تأثیر تنش شوری بر مهار فعالیت رادیکال آزاد DPPH و مالون دی آلدئید در ژنوتیپ‌های عدس در شرایط کنترل‌شده

Table 5. Effects of salinity stress on DPPH and MDA in lentil genotypes under controlled condition

ژنوتیپ Genotype	مهار فعالیت رادیکال آزاد DPPH DPPH (mg.gfw^{-1})			مالون‌دی‌آلدئید MDA (mg.gfw^{-1})		
	تنش شوری Salinity stress			تنش شوری Salinity stress		
	0.5 $dS.m^{-1}$	12 $dS.m^{-1}$	16 $dS.m^{-1}$	0.5 $dS.m^{-1}$	12 $dS.m^{-1}$	16 $dS.m^{-1}$
[1]MLC4	0.161±0.040	0.437±0.067	0.025±0.025	21.7±1.172	14.4±2.97	2.20±2.20
MLC5	0.190±0.007	0.296±0.149	0.069±0.069	34.1±5.05	7.21±3.76	3.89±3.89
MLC6	0.247±0.020	0.385±0.068	0.348±0.059	46.1±0.238	13.0±1.53	12.1±1.17
MLC12	0.210±0.054	0.322±0.024	0.502±0.043	26.5±1.54	23.0±4.74	14.6±2.09
MLC13	0.223±0.025	0.281±0.014	0.524±0.057	12.3±2.56	21.5±0.568	32.9±0.772
MLC14	0.215±0.020	0.345±0.009	0.102±0.058	11.8±0.006	21.7±4.99	2.99±1.49
MLC25	0.340±0.061	0.409±0.045	0.176±0.101	27.2±0.416	20.7±1.15	10.4±5.98
MLC26	0.265±0.045	0.382±0.051	0.467±0.027	37.4±2.36	15.8±2.84	12.4±0.000
MLC57	0.140±0.000	0.233±0.122	0.000±0.000	27.8±0.597	14.8±7.41	0.00±0.000
MLC73	0.215±0.000	0.095±0.048	0.000±0.000	21.3±3.73	8.07±4.14	0.00±0.000
MLC77	0.248±0.003	0.391±0.021	0.205±0.105	2.30±0.002	17.5±3.01	13.7±6.87
MLC78	0.311±0.012	0.331±0.025	0.171±0.086	36.6±2.77	19.6±1.10	14.7±7.35
MLC81	0.234±0.052	0.339±0.047	0.167±0.088	38.1±0.479	11.9±1.99	14.5±7.39
MLC94	0.209±0.012	0.311±0.065	0.000±0.000	22.0±0.483	20.4±5.21	0.00±0.000
MLC104	0.422±0.020	0.529±0.018	0.000±0.000	24.0±3.72	27.8±3.62	0.00±0.000
MLC108	0.295±0.049	0.389±0.020	0.000±0.000	22.2±3.724	15.6±0.492	0.00±0.000
MLC109	0.163±0.021	0.339±0.045	0.057±0.057	24.9±4.28	14.3±2.06	4.76±4.76
MLC117	0.300±0.050	0.315±0.032	0.497±0.046	26.3±3.29	25.4±3.98	15.2±1.49
MLC118	0.409±0.048	0.496±0.097	0.268±0.139	21.7±3.44	12.8±3.39	8.52±4.30
MLC120	0.239±0.025	0.433±0.041	0.356±0.060	32.4±3.78	7.47±1.41	28.3±3.38
MLC152	0.258±0.047	0.432±0.025	0.373±0.006	24.8±4.77	30.1±3.22	30.1±0.000
MLC156	0.274±0.029	0.432±0.055	0.233±0.124	24.0±3.53	15.6±2.91	11.4±5.70
MLC178	0.297±0.048	0.447±0.050	0.610±0.018	24.4±2.84	15.3±2.12	24.8±3.61
MLC192	0.203±0.044	0.643±0.048	0.202±0.101	26.3±2.00	22.2±2.91	3.26±1.92

S.O.V	منابع تغییر	df	Mean squares میانگین مربعات	Mean squares میانگین مربعات
Block	بلوک	2	0.003^{ns}	94.5*
Salinity stress (S)	تنش شوری	2	0.470**	3968**
E_a	خطای اصلی	4	0.077	130
Genotypes (G)	ژنوتیپ	23	0.072**	216**
S×G		46	0.046**	225**
E_b	خطای فرعی	138	0.007	29.3
CV%		-	*30.6*	*30.2*

MLC: کلکسیون عدس مشهد، ±: نشان‌دهنده خطای معیار میانگین‌ها است.

ns: غیرمعنی‌دار ** و *: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد و پنج درصد، C.V: ضریب تغییرات.

MLC: Mashhad Lentil Collection. ±: indicates standard error (S.E.).

ns: non- significant, ** and *: Significant at probability level of 1% and 5% respectively, CV: Coefficient of Variation.

پژوهش‌های پیشین نشان داد که افزایش سطح تنش شوری سبب افزایش محتوای مالون‌دی‌آلدئید در دو ژنوتیپ لوبیا شد؛ اما ژنوتیپ مقاوم به شوری از عملکرد بالاتر و محتوای مالون‌دی‌آلدئید کمتری برخوردار بود که این امر

نشان‌دهنده پراکسیداسیون کمتر لیپیدها در این ژنوتیپ در مواجه با تنش شوری بود (Taibi et al., 2016). شوری بالا سبب بروز خسارت تنش اکسیداتیو در بافت‌های مختلف گیاهان عالی می‌شود (Chawla et al., 2013). کلروپلاست‌ها مکان‌های اصلی تولید گونه‌های فعال اکسیژن هستند. به‌طوری‌که میزان تولید گونه‌های فعال در آن‌ها ۳۰ تا ۱۰۰ برابر بیشتر از میتوکندری است (Singh et al., 2019). در تنش شوری روزنه‌ها بسته شده و میزان دی‌اکسیدکربن کلروپلاستی کاهش یافته و این امر سبب اختلال در زنجیره انتقال الکترون و افزایش تجمع گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود. به دلیل اهمیت بالایی که کلروپلاست‌ها به‌عنوان جایگاه انجام چرخه کالوین دارند، گیاهان از یکسری مکانیسم‌های دفاعی مانند چرخه مهلر، چرخه گزانتوفیل و گلوتاتیون - آسکوربات برای حذف و جلوگیری از تجمع گونه‌های فعال اکسیژن و حفاظت از کلروپلاست استفاده می‌کنند. این چرخه‌ها با همکاری برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند کاروتنوئیدها و فلاونوئیدها تشکیل شده است (Bose et al., 2014). در تنش‌های شدید فعالیت این آنزیم‌ها کاهش یافته و سبب ناکارآمدی چرخه مهلر و کاهش کارایی چرخه گزانتوفیل شده و تولید گونه‌های فعال اکسیژن بر مکانیسم‌های دفاعی گیاه غلبه می‌کند. این امر سبب خسارت به غشاهای سلولی و افزایش پراکسیداسیون لیپیدها می‌شود که به‌صورت افزایش در مقادیر مالون دی آلدئید قابل‌مشاهده است (Chawla et al., 2013).

نتایج نشان‌دهنده تأثیر معنی‌دار ژنوتیپ و شوری بر محتوای فنل کل بود. دامنه تغییرات میزان فنل کل در شوری ۱۲ $dS.m^{-1}$ از ۱۶/۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر در ژنوتیپ MLC57 تا ۵۰/۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر در ژنوتیپ MLC152 متغیر بود. همچنین بیشترین میزان این صفت در شوری ۱۶ $dS.m^{-1}$ در ژنوتیپ MLC12 مشاهده شد. در تمامی ژنوتیپ‌ها اعمال تنش ۱۶ $dS.m^{-1}$ در مقایسه با شاهد سبب کاهش میزان فنل کل در گیاهچه‌های عدس شد. کمترین میزان کاهش نیز متعلق به ژنوتیپ MLC12 (کاهش هشت درصد) بود (جدول ۶). در این بررسی همبستگی معنی‌داری بین میزان فنل کل با درصد بقاء، غلظت کلروفیل b، کاروتنوئیدها، کل رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی و مهار فعالیت رادیکال آزاد DPPH در تمامی سطوح شوری مشاهده شد (شکل ۱). این ارتباط می‌تواند نشان‌دهنده تأثیر مثبت این صفات فیزیولوژیکی در بهبود تحمل به تنش در ژنوتیپ‌ها باشد.

ترکیب‌های فنلی به‌عنوان یکی از مهم‌ترین متابولیت‌های ثانویه، دارای نقش‌های چندگانه هستند. به‌عنوان اجزای دیواره‌های سلولی، تنظیم فرایندهای رشد و نمو گیاه و مکانیسم دفاعی گیاه در تنش‌های زنده و غیرزنده عمل می‌کنند (Cheynier et al., 2013). افزایش آن‌ها در شرایط تنش به‌عنوان یک شاخص برای دفاع آنتی‌اکسیدانی در گیاه مطرح است. فعالیت این ترکیب‌های فنلی مربوط به خواص اکسیداسیون - احیاء آن‌ها است که نقش مهمی در جذب و خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد اکسیژن دارند. این ترکیب‌ها عمدتاً از طریق مسیر اسید شیکمیک در گیاه ساخته می‌شوند و آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز (PAL) آنزیم کلیدی در این مسیر متابولیکی است (Sadak and T. Abdelhamid, 2015). افزایش محتوی فنل کل، احتمالاً به دلیل القای سنتز راه‌اندازی مسیرهای پیام‌رسان و درنتیجه فعال‌شدن ژن‌های درگیر در سیستم دفاعی است.

اعمال شوری ۱۲ $dS.m^{-1}$ در بیشتر ژنوتیپ‌های موردمطالعه سبب افزایش محتوای کربوهیدرات‌های محلول شد؛ اما افزایش شدت تنش به ۱۶ $dS.m^{-1}$ سبب کاهش این صفت در تمامی ژنوتیپ‌ها شد. بیشترین توانایی در تولید و تجمع کربوهیدرات‌های محلول به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های اسمزی در تنش ۱۲ $dS.m^{-1}$ در مقایسه با شاهد در ژنوتیپ‌های MLC12 و MLC25 مشاهده شد که سبب افزایش بیش از چهار برابری در تولید این تنظیم‌کننده شدند (جدول ۶). رابطه مثبتی بین محتوای کربوهیدرات‌های محلول با محتوای کلروفیل‌های a و b و غلظت کل رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی مشاهده شد به نظر می‌رسد بهبود ویژگی‌های فتوسنتزی موجب افزایش کربوهیدرات‌های محلول می‌گردد (شکل ۱). افزایش محتوای کربوهیدرات‌های محلول در شرایط تنش شوری می‌تواند به دلیل نقش آن‌ها در تنظیم اسمزی به‌عنوان محافظت‌کننده اسمزی باشد که سبب حفظ آماس و افزایش توانایی آن‌ها در جذب آب در شرایط تنش شوری می‌شود (Dawood et al., 2014). توانایی گیاهچه‌های باقلا (*Vicia Faba*) در جذب آب در شرایط تنش شوری در ارتباط با توانایی آن‌ها در سنتز محافظت‌کننده‌های اسمزی است که قادرند از طریق تنظیم اسمزی، انتقال یون‌ها و سنتز آنزیم‌ها رادیکال‌های فعال را حذف نمایند (Sadak and Abdelhamid, 2015).

جدول ۶. تأثیر تنش شوری بر فنل کل و کربوهیدرات‌های محلول در ژنوتیپ‌های عدس در شرایط کنترل‌شده

Table 6. Effects of salinity stress on total phenol and soluble carbohydrates in lentil genotypes under controlled condition.

ژنوتیپ Genotype	فنل Phenol (mg.gfw^{-1}) تنش شوری Salinity stress			کربوهیدرات‌های محلول Soluble carbohydrates (mg.gfw^{-1}) تنش شوری Salinity stress		
	0.5 dS.m^{-1}	12 dS.m^{-1}	16 dS.m^{-1}	0.5 dS.m^{-1}	12 dS.m^{-1}	16 dS.m^{-1}
[1]MLC4	45.1±3.82	34.8±5.58	5.69±5.69	0.359±0.034	0.534±0.005	0.035±0.035
MLC5	33.5±3.48	25.1±12.6	5.00±5.00	0.252±0.040	0.242±0.122	0.056±0.056
MLC6	45.4±1.18	38.1±3.57	25.3±5.42	0.623±0.020	0.970±0.014	0.115±0.002
MLC12	33.0±2.65	46.1±5.80	30.6±2.24	0.061±0.011	0.267±0.006	0.189±0.042
MLC13	35.1±3.72	30.4±3.94	28.6±4.19	0.202±0.048	0.314±0.010	0.213±0.014
MLC14	33.4±1.49	36.8±5.17	14.7±7.90	0.319±0.013	0.342±0.020	0.092±0.047
MLC25	38.9±1.57	30.8±5.63	13.2±6.61	0.302±0.022	1.415±0.010	0.091±0.046
MLC26	34.2±3.11	39.9±4.14	24.9±0.37	0.235±0.012	0.691±0.045	0.176±0.003
MLC57	32.1±1.57	16.6±8.28	0.00±0.00	0.219±0.034	0.260±0.130	0.000±0.000
MLC73	37.6±2.42	21.6±10.9	0.00±0.00	0.173±0.015	0.151±0.084	0.000±0.000
MLC77	34.6±0.957	38.1±2.39	21.5±11.1	0.287±0.018	0.198±0.046	0.235±0.118
MLC78	38.7±5.91	26.8±2.32	15.2±7.70	0.528±0.044	0.170±0.001	0.084±0.049
MLC81	32.4±2.95	25.6±3.48	10.1±5.24	0.817±0.085	0.396±0.043	0.092±0.059
MLC94	29.8±0.479	26.8±6.59	0.00±0.00	0.260±0.038	0.417±0.070	0.000±0.000
MLC104	49.0±3.27	36.3±2.64	0.00±0.00	0.470±0.021	0.530±0.058	0.000±0.000
MLC108	14.8±5.10	31.5±4.59	0.00±0.00	0.446±0.047	0.682±0.009	0.000±0.000
MLC109	28.0±0.502	33.6±3.02	4.8±4.81	0.283±0.021	0.487±0.030	0.047±0.047
MLC117	41.4±3.44	28.7±2.66	24.9±0.00	0.387±0.009	0.370±0.011	0.431±0.064
MLC118	43.3±3.71	48.4±8.20	22.7±11.4	0.265±0.041	0.667±0.058	0.109±0.056
MLC120	42.7±5.35	42.9±3.22	28.6±0.00	0.411±0.051	0.725±0.042	0.445±0.000
MLC152	33.0±2.90	50.6±6.20	27.5±4.01	0.361±0.045	0.496±0.029	0.296±0.022
MLC156	31.0±4.70	48.4±8.25	15.4±7.72	0.243±0.051	0.510±0.030	0.152±0.079
MLC178	51.9±4.56	42.6±7.49	30.4±1.72	0.304±0.066	0.357±0.013	0.168±0.013
MLC192	30.0±5.86	39.6±4.19	16.6±8.28	0.173±0.035	0.319±0.066	0.177±0.089

S.O.V	منابع تغییر	df	میانگین مربعات Mean squares	میانگین مربعات Mean squares
Block	بلوک	2	209^{ns}	0.014^{ns}
Salinity stress (S)	تنش شوری	2	9974**	2.17**
E_a	خطای اصلی	4	320	0.034
Genotypes (G)	ژنوتیپ	23	482**	0.144**
S×G		46	158**	0.110**
E_b	خطای فرعی	138	70.3	0.006
CV%		-	*29.1*	*23.9*

MLC: کلکسیون عدس‌مشهد، ±: بیانگر خطای‌معیار میانگین است.

ns: غیر معنی‌دار **: معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد، C.V: ضریب تغییرات.

MLC: Mashhad Lentil Collection. ±: indicates standard error (S.E.).
ns: non- significant**: Significant at probability level of 1%, CV: Coefficient of Variation

هرچند در این آزمایش همبستگی مستقیمی بین تجمع کربوهیدرات‌های محلول و مقاومت به شوری مشاهده نشد (شکل ۱)، اما در تجزیه به مؤلفه‌های اصلی این صفت همراه با درصد بقاء در بعد دوم تجزیه به مؤلفه‌ها قرار گرفت (شکل ۳). همچنین در بررسی تجزیه خوشه‌ای صفات موردمطالعه، ژنوتیپ‌های گروه سوم که ازنظر تحمل به شوری نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها برتر بودند، ازنظر محتوای کربوهیدرات‌های محلول از میانگین بالاتری نسبت به میانگین کل برخوردار بودند (جدول ۱۰) و عمده این ژنوتیپ‌ها توانستند محتوای کربوهیدرات‌های محلول را در مواجهه با شوری ۱۲ dS.m^{-1} در مقایسه با شاهد افزایش دهند (جدول ۶). به‌طورکلی از افزایش محتوای کربوهیدرات‌های محلول می‌توان به‌عنوان یک شاخص فیزیولوژیک مناسب برای ارزیابی تحمل به شوری ژنوتیپ‌ها استفاده نمود.

اعمال تنش ۱۲ dS.m^{-1} در ۵۴ درصد ژنوتیپ‌های موردمطالعه (۱۳ ژنوتیپ) سبب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز شد. با افزایش شدت تنش شوری به ۱۶ dS.m^{-1} در اکثر ژنوتیپ‌ها روند کاهشی در فعالیت آنزیم کاتالاز مشاهده شد.

تنها در ژنوتیپ‌های MLC6، MLC12، MLC117، MLC152، MLC178 و MLC192 از گروه‌های دوم و سوم اعمال شوری ۱۶ $dS.m^{-1}$ به ترتیب سبب افزایش ۲/۴ برابری، ۱۴ درصد، ۸۷ درصد، ۵۸ درصد، ۱۳ درصد و ۱۰ درصدی فعالیت آنزیم کاتالاز برگ‌ها در مقایسه با شاهد شد (جدول ۷). باتوجه‌به همبستگی مثبت و معنی‌دار بین درصد بقاء با فعالیت آنزیم کاتالاز (شکل ۱) و نتایج تجزیه خوشه‌ای به نظر می‌رسد ژنوتیپ‌های MLC6، MLC12، MLC117 و MLC178 از توانایی مناسب‌تری جهت تولید آنتی‌اکسیدان کاتالاز و حفظ بقاء در مواجهه با تنش شوری برخوردار باشند. نتایج نشان‌دهنده تأثیر معنی‌دار ژنوتیپ و شوری بر فعالیت آنزیم پراکسیداز بود. در بیشتر ژنوتیپ‌های موردمطالعه (۱۷ ژنوتیپ) افزایش شوری از ۰/۵ به ۱۲ $dS.m^{-1}$ سبب افزایش این صفت شد؛ اما با شدت یافتن تنش به ۱۶ $dS.m^{-1}$ به‌جز در ژنوتیپ‌های MLC26،MLC117، MLC120 و MLC178 در سایر ژنوتیپ‌ها روند کاهشی در تولید آن مشاهده شد (جدول ۷). بین میزان فعالیت این آنتی‌اکسیدان با درصد بقاء و محتوای‌کل رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی همبستگی مثبت و معنی‌داری مشاهده شد (شکل ۱). به عبارتی توانایی ژنوتیپ‌ها در تولید این آنتی‌اکسیدانت و حذف گونه‌های فعال، سبب حفظ ساختار کلروفیل و درنتیجه حفظ فتوسنتز و تولید ماده خشک و دوام گیاه در شرایط تنش می‌شود.

افزایش تنش شوری از ۰/۵ به ۱۶ $dS.m^{-1}$ در ژنوتیپ‌هایMLC6 ، MLC13، MLC117، MLC156، MLC178 وMLC192 سبب افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز شد؛ اما در سایر ژنوتیپ‌ها روندی کاهشی در فعالیت آنزیمی آن مشاهده شد. بیشترین افزایش در فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در ژنوتیپ‌های MLC117و MLC178 به ترتیب با ۲ و ۲/۲ برابر افزایش مشاهده شد. در ژنوتیپ‌هایMLC12 ، MLC77، MLC81 و MLC118 باوجوداینکه فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز با اعمال شوری ۱۲ $dS.m^{-1}$ در مقایسه با شاهد افزایش یافت، اما شدت یافتن تنش به ۱۶dSm^{-1} سبب کاهش فعالیت آنزیم‌آسکوربات‌پراکسیداز در تمامی آن‌ها در مقایسه با تیمار ۰/۵ $dS.m^{-1}$ شد (جدول ۸). بین میزان فعالیت این آنتی‌اکسیدانت نیز با درصد بقاء، محتوای رادیکال آزاد DPPHو فعالیت آنزیم کاتالاز همبستگی مثبت و معنی‌داری مشاهده شد (شکل ۱). به نظر می‌رسد ژنوتیپ‌های MLC117 و MLC178 از توان آنتی‌اکسیدانی مناسب‌تری در رفع رادیکال‌های آزاد اکسیژن در مقایسه با سایر ژنوتیپ‌ها برخوردار هستند.

سلول‌های گیاهی با استفاده از سیستم‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی، قادر به مهار اثرات مخرب گونه‌های فعال اکسیژن هستند. آنزیم‌هایی مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیدازها یک مکانیسم دفاعی برای ازبین‌بردن گونه‌های فعال اکسیژن در برابر سمیت هستند؛ اما افزایش تعداد گونه‌های فعال به حد سمیت درنهایت سبب مرگ برنامه‌ریزی شده سلول می‌شود (Ma et al., 2010).

کاتالاز یک آنزیم تترامر حاوی آهن و شامل چهار زنجیره پلی‌پپتیدی است که می‌تواند در یک دقیقه ۲۶ میلیون مولکول پراکسید هیدروژن را به آب و اکسیژن تجزیه نماید (Mehla et al., 2017). سنتز این آنزیم از طریق چرخه آسکوربات- گلوتاتیون صورت می‌گیرد. همچنین از دسته پروتئین‌های آهن‌دار بوده و در شرایط تنش سبب تبدیل پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن شده و عمدتاً در پراکسی زوم فعالیت دارد (Hasanuzzaman et al., 2020). اگرچه آنزیم کاتالاز قادر به حذف گونه‌های فعال اکسیژن نظیر پراکسید هیدروژن است، اما نمی‌تواند تعادل بین تولید و حذف این گونه‌ها را در شرایط تنش شدید شوری حفظ نماید (Sarker and Oba, 2020).

آنزیم آسکوربات پراکسیداز یکی از اجزای ضروری مسیر آسکوربات-گلوتاتیون یا Asada-Halliweel است که برای ازبین‌بردن گونه‌های فعال اکسیژن ازجمله پراکسید هیدروژن ضروری است و در کلروپلاست، پراکسی‌زوم، میتوکندری، سیتوزول و آپوپلاست برای حفظ وضعیت ردوکس سلول، تولید می‌گردد (Hasanuzzaman et al., 2020). توانایی آنزیم آسکوربات پراکسیداز در حذف پراکسید هیدروژن بیشتر از آنزیم کاتالاز و پراکسیداز بوده و تمایل بالای این آنزیم به پراکسید هیدروژن، حتی قادر به ازبین‌بردن مقادیر کم این گونه فعال است. اعمال تنش شوری سبب افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در برگ‌های واریته متحمل به شوری (VA14) شد. درصورتی‌که در رقم حساس به شوری (VA3)، بین تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم با ۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم و شاهد تفاوتی ازلحاظ میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز مشاهده نشد. واریته حساس از تولید پراکسید هیدروژن، پراکسیداسیون لیپیدها و نشت

بیشتری در مقایسه با واریته مقاوم برخوردار بود (Sarker and Oba, 2020).

در تمام ژنوتیپ‌های موردمطالعه تنش شوری ۱۲ dSm^{-1} سبب کاهش پتانسیل اسمزی در مقایسه با شوری dSm^{-1} ۰/۵ شد. با افزایش سطح تنش شوری از ۱۲ به ۱۶ $dS.m^{-1}$ در سه ژنوتیپ MLC12، MLC26 و MLC178 بیشترین تأثیر را در کاهش پتانسیل اسمزی در مقایسه با سایر ژنوتیپ‌ها داشت. بیشترین تأثیر تنش‌شوری ۱۶ $dS.m^{-1}$ بر این صفت در ژنوتیپ MLC178 مشاهده شد، به‌طوری‌که این ژنوتیپ توانست در این سطح تنش شوری، میزان پتانسیل اسمزی را ۶/۶ برابر در مقایسه با شاهد کاهش دهد (جدول ۹).

جدول ۷. تأثیر تنش شوری بر فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز در ژنوتیپ‌های عدس در شرایط کنترل‌شده

Table 7. Effects of salinity stress on catalase and peroxidase activity in lentil genotypes under controlled condition.

ژنوتیپ Genotype	کاتالاز Catalase (Unit.gFw^{-1}.min^{-1}) تنش شوری Salinity stress			پراکسیداز Peroxidase (Unit.gFw^{-1}.min^{-1}) تنش شوری Salinity stress		
	0.5 dS.m^{-1}	12 dS.m^{-1}	16 dS.m^{-1}	0.5 dS.m^{-1}	12 dS.m^{-1}	16 dS.m^{-1}
[1]MLC4	109±5.36	376±0.157	37.3±37.3	8.06±1.08	9.99±1.20	1.41±1.41
MLC5	386±42.7	115±58.8	54.0±54.0	7.37±0.314	4.87±2.48	0.591±0.591
MLC6	229±1.50	379±18.8	551±19.4	11.7±1.06	9.30±1.74	8.64±0.125
MLC12	259±27.9	347±9.36	294±44.8	4.05±0.661	8.85±2.24	8.92±1.35
MLC13	131±7.83	534±82.8	106±10.5	7.63±1.22	14.8±1.71	4.67±0.352
MLC14	412±2.30	151±31.2	139±69.3	7.19±1.38	7.33±1.51	3.95±1.97
MLC25	205±0.00	633±17.6	169±84.9	5.47±0.041	12.8±0.437	3.16±1.58
MLC26	370±14.7	221±55.1	138±0.00	6.46±0.573	15.9±0.450	14.6±0.00
MLC57	428±0.00	123±61.7	0.00±0.00	4.93±0.00	5.91±2.95	0.00±0.00
MLC73	252±15.0	207±104	0.00±0.00	11.8±0.109	3.11±1.57	0.00±0.00
MLC77	374±13.8	364±62.6	194±105	7.52±0.689	8.23±0.328	5.92±2.96
MLC78	373±25.8	252±42.7	170±93.4	11.1±0.292	6.82±0.276	3.28±1.64
MLC81	454±10.7	521±20.9	53.3±26.6	6.35±1.09	12.2±1.36	3.95±1.98
MLC94	133±11.3	234±5.39	0.00±0.00	9.02±1.61	19.0±1.39	0.00±0.00
MLC104	546±15.6	298±0.027	0.00±0.00	7.78±0.616	12.4±0.00	0.00±0.00
MLC108	218±37.8	245±45.0	0.00±0.00	6.76±0.768	8.53±1.10	0.00±0.00
MLC109	135±17.6	415±24.9	69.7±69.7	6.45±0.281	5.32±1.91	1.77±1.77
MLC117	244±16.9	225±25.4	456±87.0	7.49±0.023	6.42±0.101	9.53±0.342
MLC118	257±10.3	475±70.7	77.6±38.8	9.32±0.068	11.0±1.98	2.87±1.44
MLC120	318±16.0	770±62.7	246±83.4	8.17±0.899	9.33±0.467	9.55±1.31
MLC152	223±28.0	352±22.2	352±0.00	7.57±0.702	3.14±0.266	3.14±0.00
MLC156	416±45.0	291±72.0	142±70.9	7.33±0.328	12.2±0.298	4.15±2.08
MLC178	210±63.2	201±43.2	237±51.3	6.58±0.592	7.77±0.743	8.51±1.05
MLC192	147±8.63	414±67.3	161±89.3	3.54±0.726	8.83±1.75	2.72±1.36

S.O.V	منابع تغییر	df	Mean squares میانگین مربعات	Mean squares میانگین مربعات
Block	بلوک	2	21549*	9.03^{ns}
Salinity stress (S)	تنش شوری	2	668780**	482**
E_a	خطای اصلی	4	41888	21.3
Genotypes (G)	ژنوتیپ	23	54442**	37.9**
S×G		46	65900**	33.7**
E_b	خطای فرعی	138	4987	3.76
CV%		-	*27.3*	*27.6*

MLC: کلکسیون عدس مشهد، ±: نشان‌دهنده خطای معیار میانگین‌ها است.

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

MLC: Mashhad Lentil Collection. ±: indicates standard error (S.E.).

ns: non- significant, **and *: Significant at probability level of 1% and 5% respectively, CV: Coefficient of Variation

جدول ۸. تأثیر تنش شوری بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در ژنوتیپ‌های عدس در شرایط کنترل‌شده

Table 8. Effects of salinity stress on ascorbate peroxidase activity in lentil genotypes under controlled condition.

ژنوتیپ Genotype	آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase (Unit.gfw^{-1}.min^{-1}) تنش شوری Salinity stress 0.5 dS.m^{-1}	12 dS.m^{-1}	16 dS.m^{-1}
[1]MLC4	5.06±0.568	3.58±0.172	1.19±1.19
MLC5	5.04±1.19	3.91±1.96	0.366±0.366
MLC6	5.83±0.644	5.08±0.327	5.99±1.14
MLC12	6.54±1.39	11.9±0.858	4.33±1.04
MLC13	4.23±1.47	8.45±1.43	4.76±0.531
MLC14	4.36±0.513	2.90±0.144	2.92±1.46
MLC25	7.17±0.719	4.54±0.827	3.02±1.51
MLC26	7.61±1.41	6.87±1.68	3.34±0.000
MLC57	7.07±0.000	4.55±2.27	0.00±0.000
MLC73	5.95±0.470	3.57±1.89	0.00±0.000
MLC77	6.99±0.654	9.16±0.202	6.11±3.05
MLC78	11.3±0.325	3.12±0.182	2.47±1.23
MLC81	5.01±0.412	5.90±0.891	1.49±0.745
MLC94	6.41±1.64	5.15±1.05	0.00±0.000
MLC104	13.4±0.527	13.0±0.000	0.00±0.000
MLC108	5.82±0.674	11.9±1.127	0.00±0.000
MLC109	6.54±1.14	3.76±0.601	1.70±1.70
MLC117	6.74±1.29	6.12±0.432	13.6±1.29
MLC118	7.07±1.60	14.4±0.439	5.89±2.95
MLC120	11.3±0.840	5.49±1.18	6.11±0.251
MLC152	3.61±0.408	3.31±0.393	3.31±0.000
MLC156	3.59±0.549	4.32±0.432	4.39±2.19
MLC178	3.01±0.040	6.04±0.612	6.76±1.74
MLC192	3.11±0.616	5.58±1.11	3.51±1.76

S.O.V منابع تغییر	df	Mean squares میانگین مربعات
Block بلوک	2	5.71^{ns}
Salinity stress (S) تنش شوری	2	212**
E_a خطای اصلی	4	12.5
Genotypes (G) ژنوتیپ	23	33.8**
S×G	46	24.6**
E_b خطای فرعی	138	3.51
CV%	-	*34.9*

MLC: کلکسیون عدس‌مشهد، ±: بیانگر خطای‌معیار میانگین است.

ns: غیر معنی‌دار **: معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد، C.V: ضریب تغییرات.

MLC: Mashhad Lentil Collection. ±: indicates standard error (S.E.).
ns: non- significant**: Significant at probability level of 1%, CV: Coefficient of Variation

مطالعات پیشین نشان داد که اعمال شوری ۹ dS.m^{-1} کلرید سدیم سبب کاهش ۳/۴ برابری پتانسیل اسمزی در مقایسه با شاهد در گیاهچه‌های عدس شد. کاهش پتانسیل اسمزی در شرایط تنش‌های شوری و خشکی جهت حفظ تعادل آب و حفظ آماس سلولی ضروری است. این کار در گیاهان از طریق فرایند تنظیم اسمزی و با تجمع مولکول‌های آلی و غیرآلی نظیر قندها و آمینواسیدهایی نظیر پرولین صورت می‌گیرد (Hossain et al., 2017). ارقام مقاوم به تنش، توانایی بیشتری در کاهش پتانسیل اسمزی جهت حفظ توانایی ریشه‌ها برای جذب آب دارند (Sarker and Oba, 2020).

اعمال تنش شوری از ۰/۵ به ۱۲ dS.m^{-1} سبب افزایش محتوای پرولین در تمامی گیاهچه‌های عدس شد. نتایج نشان داد که افزایش شدت تنش از ۱۲ به ۱۶ dS.m^{-1} در تمامی ژنوتیپ‌های متعلق به گروه سوم سبب افزایش میزان پرولین شد، اما در سایر ژنوتیپ‌ها کاهش در محتوای پرولین مشاهده

شد (جدول ۹). در بررسی تجزیه خوشه‌ای صفات مورد بررسی نیز، مقدار پرولین در ژنوتیپ‌های گروه اول و سوم بیشتر از میانگین بود و ژنوتیپ‌های سایر گروه‌ها ازنظر پرولین از مقدار کمتری نسبت به میانگین کل برخوردار بودند (جدول ۱۳).

جدول ۹. تأثیر تنش شوری بر پتانسیل اسمزی و پرولین در ژنوتیپ‌های عدس در شرایط کنترل‌شده

Table 9. Effects of salinity stress on osmotic potential and proline in lentil genotypes under controlled condition

ژنوتیپ Genotype	پتانسیل اسمزی Osmotic Potentioal (MPa)			پرولین Proline (mg.gfw^{-1})		
	تنش شوری Salinity stress			تنش شوری Salinity stress		
	0.5 dS.m^{-1}	12 dS.m^{-1}	16 dS.m^{-1}	0.5 dS.m^{-1}	12 dS.m^{-1}	16 dS.m^{-1}
[1]MLC4	-1.11±0.084	-5.67±0.163	0.00±0.000	0.790±0.160	2.54±0.162	0.365±0.365
MLC5	-1.21±0.138	-1.31±0.678	-0.30±0.299	1.11±0.125	1.26±0.646	0.641±0.641
MLC6	-1.26±0.088	-3.19±0.155	-2.63±0.556	0.455±0.012	2.59±0.156	2.65±0.323
MLC12	-1.16±0.033	-2.88±0.193	-3.35±0.271	0.452±0.027	2.36±0.411	4.08±0.341
MLC13	-1.17±0.053	-3.81±0.518	-3.07±0.299	0.465±0.020	2.45±0.273	2.41±0.121
MLC14	-0.823±0.383	-3.09±0.481	-0.78±0.392	0.651±0.150	2.59±0.404	1.10±0.549
MLC25	-1.22±0.092	-3.51±0.045	0.00±0.000	1.60±0.498	8.77±0.350	1.27±0.729
MLC26	-1.40±0.034	-3.43±0.058	-3.91±0.075	0.872±0.098	2.09±0.176	2.97±0.000
MLC57	-1.46±0.125	-6.67±0.192	0.00±0.000	1.19±0.155	1.37±0.685	0.00±0.000
MLC73	-1.22±0.055	-4.96±0.091	0.00±0.000	1.04±0.015	1.55±0.773	0.00±0.000
MLC77	-1.13±0.206	-3.52±0.101	0.00±0.000	0.768±0.098	4.28±0.111	1.21±0.607
MLC78	-1.12±0.089	-2.19±0.178	0.00±0.000	0.681±0.082	2.10±0.351	1.90±0.950
MLC81	-1.08±0.054	-3.73±0.118	-1.94±1.00	0.557±0.009	3.84±0.571	1.86±0.937
MLC94	-1.33±0.029	-3.96±0.329	0.00±0.000	0.922±0.096	3.74±0.129	0.00±0.000
MLC104	-1.48±0.000	-3.43±0.260	0.00±0.000	2.66±0.180	4.22±0.511	0.00±0.000
MLC108	-1.35±0.162	-3.30±0.217	0.00±0.000	1.48±0.197	11.4±0.124	0.00±0.000
MLC109	-1.09±0.142	-2.55±0.048	0.00±0.000	0.710±0.031	6.10±0.140	0.404±0.404
MLC117	-1.39±0.088	-3.42±0.447	-2.88±0.364	0.984±0.200	2.80±0.243	3.05±0.013
MLC118	-1.63±0.256	-2.79±0.343	-2.46±0.174	1.62±0.384	3.89±0.263	1.91±0.958
MLC120	-1.27±0.086	-3.28±0.165	-2.82±0.445	0.941±0.018	2.31±0.235	2.55±0.092
MLC152	-1.21±0.149	-3.87±0.068	0.00±0.000	0.708±0.040	2.42±0.358	2.42±0.000
MLC156	-1.23±0.136	-4.34±0.067	-1.78±0.893	1.15±0.329	5.36±0.130	1.64±0.818
MLC178	-0.852±0.401	-3.32±0.418	-5.62±0.370	1.92±0.571	2.88±0.340	4.54±0.290
MLC192	-0.989±0.234	-5.21±0.243	-1.13±0.566	1.16±0.027	2.19±0.544	1.17±0.588

S.O.V	منابع تغییر	df	Mean squares میانگین مربعات	Mean squares میانگین مربعات
Block	بلوک	2	0.240^{ns}	0.787^{ns}
Salinity stress (S)	تنش شوری	2	133**	125**
E_a	خطای اصلی	4	0.839	1.19
Genotypes (G)	ژنوتیپ	23	3.27**	6.39**
S×G		46	4.31**	8.23**
E_b	خطای فرعی	138	0.231	0.416
CV%		-	*23.2*	*31.4*

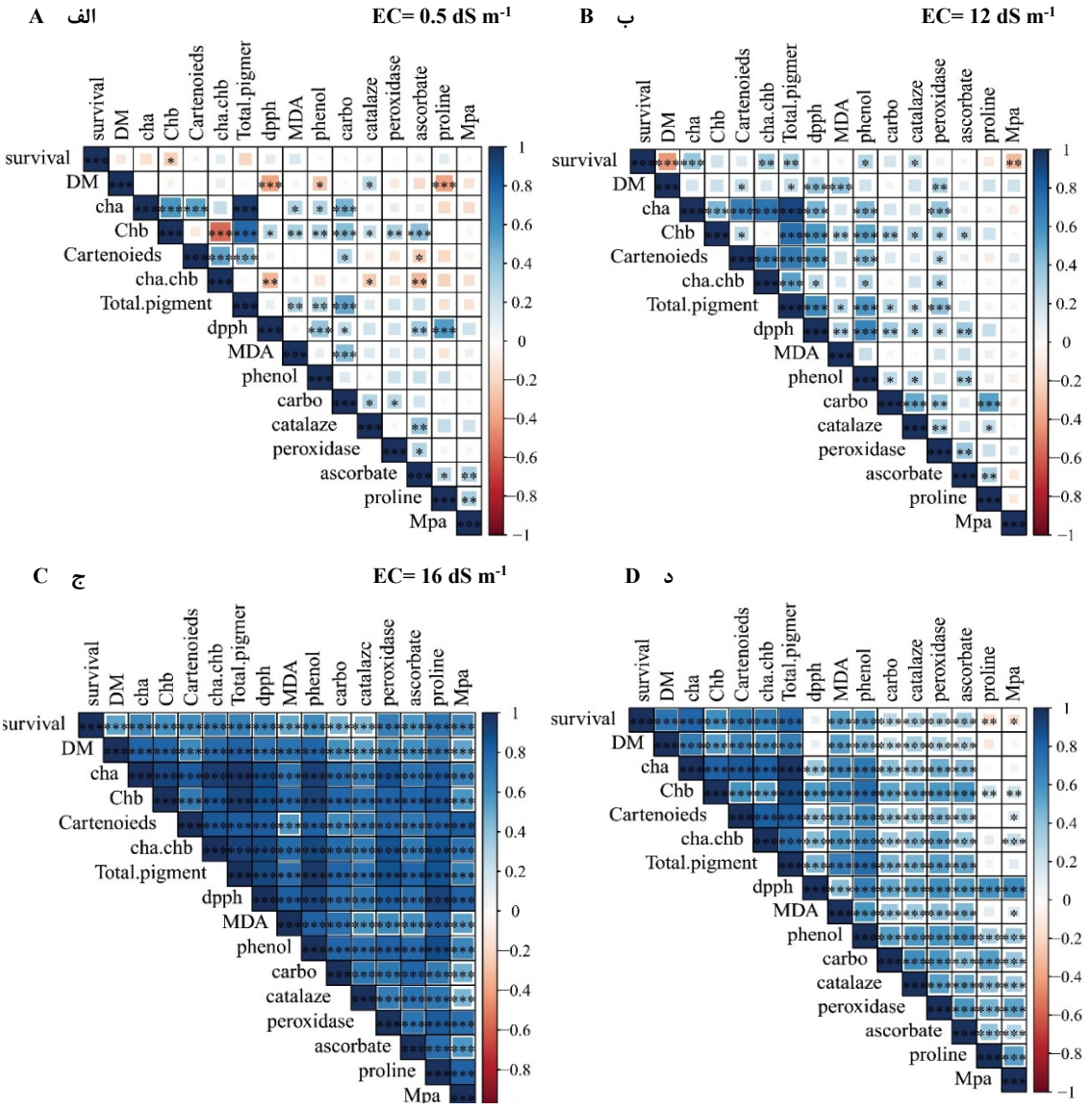
MLC: کلکسیون عدس مشهد، ±: نشان‌دهنده خطای معیار میانگین‌ها است.

ns: غیر معنی‌دار **: معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد، C.V: ضریب تغییرات.

MLC: Mashhad Lentil Collection. ±: indicates standard error (S.E.).
ns: non- significant **: Significant at probability level of 1%, CV: Coefficient of Variation

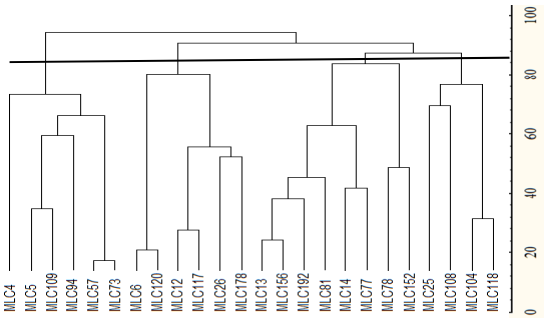
در این بررسی هرچند همبستگی معنی‌داری بین درصد بقاء با محتوای پرولین مشاهده نشد، اما در تجزیه به مؤلفه‌های اصلی این صفت همراه با درصد بقاء در بعد دوم تجزیه به مؤلفه‌ها قرار گرفت (شکل ۲). باتوجه‌به این مطلب که ژنوتیپ‌های متعلق به گروه سوم از درصد بقاء و پرولین بیشتری در مقایسه با میانگین کل برخوردار بودند، به نظر می‌رسد افزایش پرولین به‌عنوان یک مکانیسم دفاعی مؤثر در افزایش تحمل به شوری در ژنوتیپ‌های متحمل عمل می‌کند. پرولین یکی از اسمولیت‌های آلی در گیاهان است. تجمع این ماده به‌عنوان تنظیم‌کننده اسمزی در شرایط تنش‌های محیطی در بافت‌های گیاهی (Rahman et al., 2016)، سبب حفظ روابط آبی در گیاه، پایداری ساختار و عملکرد سایر ماکرومولکول‌های سلولی مانند پروتئین‌ها و

اسیدنوکلئیک و افزایش تحمل به تنش می‌شود (Saxena et al., 2011). ساخت پرولین در شرایط تنش شوری عمدتاً در کلروپلاست و از طریق مسیر اورنیتین به‌وسیله اورنیتین ترانسفراز انجام می‌شود (Meena et al., 2019). نتایج مطالعه روی گوجه‌فرنگی نشان‌دهنده تأثیر ژنوتیپ بر میزان تجمع پرولین در مواجه با تنش شوری بود (Shin et al., 2020a). افزایش تنش شوری از صفر به ۴۰۰ میلی‌مولار، سبب افزایش ۳۲ برابری میزان پرولین در مقایسه با شاهد شد (Shin et al., 2020b). افزایش محتوای پرولین تحت شرایط تنش شوری در گیاهچه‌های تاریخته خردل (*Brassica juncea*) می‌تواند به دلیل نقش حفاظتی پرولین به‌عنوان یک تنظیم‌کننده اسمزی در حذف رادیکال‌های فعال اکسیژن باشد (Saxena et al., 2020).



شکل ۱. ضرایب همبستگی بین صفات مورد بررسی ژنوتیپ‌های عدس در شوری‌های ۰/۵dS.m^{-1} (الف)، ۱۲dS.m^{-1} (ب)، ۱۶dS.m^{-1} (ج) و کل سطوح تنش شوری (د)

Fig. 1. Correlation matrix of lentil genotypes properties in 0.5 dS.m^{-1} (A), 12 dS.m^{-1} (B), 16 dS.m^{-1} (C) and total salinity stress levels (D). * and **: probability levels of 5% and 1%, respectively



شکل ۲. گروه‌بندی خوشه‌ای ژنوتیپ‌های عدس بر اساس صفات موردمطالعه تحت شرایط کنترل‌شده.MLC : کلکسیون عدس مشهد.

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

نتایج تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های موردمطالعه عدس نشان‌دهنده قرارگیری آن‌ها در چهار گروه مجزا بود. به ترتیب ۴، ۸، ۶ و ۶ ژنوتیپ در گروه‌های اول تا چهارم قرار گرفتند (شکل ۲). مقایسه میانگین گروه‌ها با میانگین کل نشان داد که ژنوتیپ‌های گروه سوم به‌جز در صفت وزن خشک در سایر صفات از میانگینی بالاتر از میانگین کل برخوردار بودند. از طرفی ژنوتیپ‌های گروه دوم تنها ازنظر وزن خشک و گروه اول ازنظر محتوای کربوهیدرات‌های محلول، پرولین و فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز و از میانگین کل و سایر گروه‌ها برتر بودند. همچنین ژنوتیپ‌های متعلق به گروه چهارم ازنظر تمام صفات مورد بررسی، میانگین پایین‌تری در مقایسه با میانگین کل داشتند (جدول ۱۰). به‌طورکلی نتایج نشان‌دهنده برتری نسبی ژنوتیپ‌های گروه سوم شامل MLC6، MLC12، MLC26، MLC117، MLC120 و MLC178 در بیشتر صفات موردمطالعه ازجمله فعالیت مهار فعالیت رادیکال آزادDPPH ، رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی و درصد بقاء بود (جدول ۱۰). به عبارتی این نتایج نشان‌دهنده مناسب‌تر بودن ژنوتیپ‌های متعلق به این گروه جهت استفاده از صفات برتر آن‌ها در تحمل به تنش شوری است.

نتایج حاصل از آزمون تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA) و ترسیم بای‌پلات نشان داد که مؤلفه اول ۵۰/۱۴ درصد از تغییرات صفات شامل فعالیت آنزیم پراکسیداز، محتوای کاروتنوئیدها، کلروفیل a، نسبت کلروفیل a/b و پتانسیل اسمزی بود. مؤلفه دوم نیز صفات کلروفیل b، فعالیت آنزیم کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، محتوای کربوهیدرات‌های محلول، مهار فعالیت رادیکال آزاد DPPH، فنل کل، مالون‌دی‌آلدئید و درصد بقاء را با ۱۶/۳۱ درصد توضیح می‌دهد. درواقع بُعد اول نمودار ویژگی‌های مربوط به رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی و پتانسیل اسمزی پس از اعمال تنش و بعد دوم ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی، متابولیتی و درصد بقاء را در بر دارد؛ بنابراین ژنوتیپ‌های MLC25، MLC117، MLC118، MLC152 و MLC178 ازلحاظ درصد بقاء و

جدول ۱۰. میانگین و انحراف از میانگین گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای برای صفات موردمطالعه در ژنوتیپ‌های عدس

Table 10. Mean and deviation from mean of groups in cluster analysis for traits in Lentil genotypes

Traits صفات	Group گروه			
	1		2	
ژنوتیپ Genotypes	MLC118, MLC104, MLC108, MLC25		MLC152, MLC78, MLC77, MLC14, MLC81, MLC192, MLC156, MLC13	
	میانگین گروه Group mean	اختلاف از میانگین Deviation from mean	میانگین گروه Group mean	اختلاف از میانگین Deviation from mean
Survival (%)	45.917	-3.218	48.056	-1.079
Dry weight (mg.plant^{-1})	23.361	-11.097	42.181	7.722
Cha (mg.gfw^{-1})	0.385	-0.067	0.466	0.014
Chb (mg.gfw^{-1})	0.295	-0.008	0.320	0.018
Carotenoids (mg.gfw^{-1})	0.072	-0.009	0.087	0.005
Cha/Chb	0.990	-0.294	1.390	0.106
DPPH (mg.gfw^{-1})	0.311	0.027	0.297	0.014
MDA (mg.gfw^{-1})	15.912	-2.039	19.149	1.197
Phenol (mg.gfw^{-1})	27.407	-1.407	29.749	0.935
Soluble carbohydrates (mg.gfw^{-1})	0.415	0.100	0.292	-0.023
Catalase (Unit.gFw^{-1}.min^{-1})	260.301	1.679	280.286	21.664
Peroxidase (Unit.gFw^{-1}.min^{-1})	6.674	-0.341	6.818	-0.197
Ascorbate peroxidase (Unit.gFw^{-1} .min^{-1})	7.182	1.814	4.745	-0.623
Proline (mg.gfw^{-1})	3.234	1.177	1.878	-0.179
Osmotic potential (MPa)	1.763	-0.310	1.968	-0.105

جدول ۱۰. ادامه

Table 10. Continued

Traits صفات	ژنوتیپ Genotypes	Group گروه 3		4	
		MLC178, MLC26, MLC117, MLC12, MLC120, MLC6		MLC73. MLC57, MLC94, MLC109, MLC5, MLC4	
		میانگین گروه Group mean	اختلاف از میانگین Deviation from mean	میانگین گروه Group mean	اختلاف از میانگین Deviation from mean
Survival (%)		62.870	13.736	38.981	-10.153
Dry weight (mg.plant^{-1})		32.815	-1.644	33.204	-1.255
Cha (mg.gfw^{-1})		0.560	0.108	0.369	-0.083
Chb (mg.gfw^{-1})		0.357	0.055	0.229	-0.073
Carotenoids (mg.gfw^{-1})		0.103	0.021	0.061	-0.021
Cha/Chb		1.565	0.281	1.058	-0.226
DPPH (mg.gfw^{-1})		0.368	0.084	0.163	-0.120
MDA (mg.gfw^{-1})		22.236	4.284	13.430	-4.521
Phenol (mg.gfw^{-1})		36.200	7.387	21.117	-7.696
Soluble carbohydrates (mg.gfw^{-1})		0.385	0.069	0.210	-0.105
Catalase (Unit.gFw^{-1}.min^{-1})		316.420	57.799	170.817	-87.804
Peroxidase (Unit.gFw^{-1}.min^{-1})		8.991	1.975	5.531	-1.484
Ascorbate peroxidase (Unit.gFw^{-1} .min^{-1})		6.812	1.443	3.547	-1.822
Proline (mg.gfw^{-1})		2.249	0.192	1.318	-0.739
Osmotic potential (MPa)		2.670	0.596	1.824	-0.249

MLC: Mashhad Lentil Collection.

MLC: کلکسیون عدس مشهد

ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و ژنوتیپ‌های MLC6،MLC12، MLC13، MLC26، MLC77، MLC81، MLC156 و MLC192 ازنظر رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی از وضعیت مطلوبی برخوردار هستند. ژنوتیپ MLC120 که متعلق به گروه سوم بود، دقیقاً بین این دو مؤلفه قرار گرفت (شکل ۴). بررسی آزمون تجزیه به مؤلفه‌های اصلی همراه با نتایج تجزیه خوشه‌ای نشان داد که تمام ژنوتیپ‌های موجود در گروه سوم در دو بُعد تجزیه به مؤلفه‌های اصلی قرار دارند. باتوجه‌به این نتایج احتمالاً بتوان عنوان کرد که ژنوتیپ‌های عدس که قادر به حفظ بقای خود در شرایط تنش شوری بودند، از مکانیسم فعالیت آنتی‌اکسیدانی و غلظت متابولیت‌های مناسب‌تری در مواجه با شوری برخوردارند که از این ویژگی‌ها می‌توان در به‌گزینی ژنوتیپ‌های متحمل استفاده نمود.

برای بررسی صحت گروه‌بندی‌های انجام شده از روش تجزیه خوشه‌ای، از تجزیه تابع تشخیص استفاده شد که نتایج حاصل در جدول ۱۱ نمایش‌داده‌شده است.

نتایج به‌دست‌آمده حاکی از آن است که تمامی ژنوتیپ‌های مورد بررسی به طور صحیحی گروه‌بندی شدند و میزان موفقیت تابع تشخیص برای تمام گروه‌ها ۱۰۰ درصد است که این مقدار را میزان موفقیت کل تابع تشخیص گویند. میزان موفقیت نشان می‌دهد که تابع تشخیص تا چه حد در گروه‌بندی یا تشخیص بین گروه‌ها موفق بوده است. سایر پژوهشگران نیز از تجزیه تابع تشخیص برای بررسی صحت گروه‌بندی انجام شده توسط خوشه تجزیه کرده استفاده مختلف گیاهان مختلف استفاده کرده‌اند (Shafiee-Khorshidi et al., 2012).

جدول ۱۱. نتایج تابع تشخیص برای صحت گروه‌بندی ژنوتیپ‌های عدس تحت تنش شوری

Table 11. The results of discriminant function for clustering validity of lentil genotypes under salinity stress

Group		Group Membership				Total
		1	2	3	4	
Total	1	4	0	0	0	4
	2	0	8	0	0	8
	3	0	0	6	0	6
	4	0	0	0	6	6
Percent	1	100	0	0	0	100
	2	0	100	0	0	100
	3	0	0	100	0	100
	4	0	0	0	100	100

گروه بندی ژنوتیپ‌ها بر اساس متغیرهای کانونیک بیشترین فاصله بین گروه‌های ۴ با ۳ و ۴ با ۲ مشاهده می‌شود و بین گروه‌های ۱ و ۲ کمترین فاصله مشاهده می‌شود. از طرفی گروه سوم که از صفات مورد مطالعه از میانگین بالاتری

نسبت به سایر گروه‌ها برخوردار بود به صورت مجزا قرار گرفت (شکل ۳).

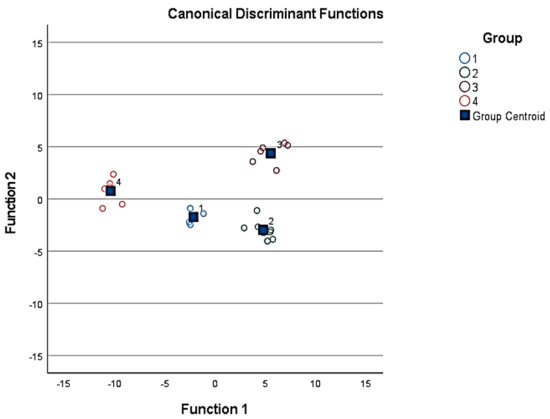
جدول ۱۲. ضرایب استاندارد کانونیکی صفات اندازه‌گیری شده در ژنوتیپ‌های عدس تحت تنش شوری

Table 12. Standardized canonical discriminant function coefficients measured groups in lentil genotypes under salinity stress

Traits	Canonical Function		
	1	2	3
Survival	1.160	0.787	-0.428
Dry weight	0.382	-0.081	0.369
Cha	-0.158	1.371	2.244
Chb	7.300	-3.478	2.739
Carotenoids	4.935	-1.223	0.423
Cha/Chb	0.573	-0.090	1.374
DPPH	1.556	-2.344	-1.544
MDA	-0.590	2.072	0.617
Phenol	-4.168	2.619	1.143
Soluble carbohydrates	-3.427	2.117	-0.479
Catalase	3.312	-3.475	-0.678
Peroxidase	1.121	-1.171	-0.329
Ascorbate peroxidase	-0.727	1.942	-0.171
Proline	0.436	-0.192	-0.516
Osmotic potential	-0.544	0.365	0.185
Eigenvalue	51.613	10.069	8.890
Cumulative%	73.1	87.4	100.0
Canonical Correlation	.990**	.954**	.948**

**: بالاترین همبستگی مشاهده شده بین هر صفت و متغیر کانونیکی

**: The highest correlation observed between each trait and the canonical variable



شکل ۳. گروه بندی ژنوتیپ های عدس بر اساس متغیرهای کانونیک معنی دار تحت تنش شوری.

Fig 3. Cluster grouping of lentil genotypes based on significant canonical variable under controlled conditions.

تجزیه واریانس بین گروه‌ها نیز حاکی از تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها از نظر تمام صفات مورد بررسی بود (جدول ۱۳). همانطور که در جدول ۱۰ اشاره شد ژنوتیپ‌های گروه سوم در بیشتر صفات از میانگینی بالاتر از میانگین کل برخوردار بودند.

جدول ۱۳. تجزیه واریانس (میانگین مربعات) گروه ها بر اساس صفات مورد مطالعه عدس تحت تنش شوری

Table 13. Analysis of variance (mean square) based on measured groups in lentil genotypes under salinity stress

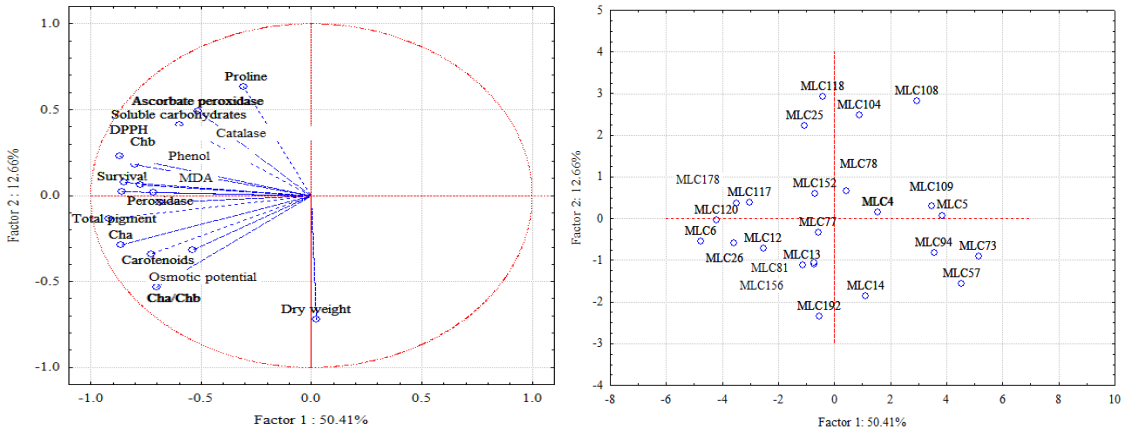
Traits	Between	Within
df	3	20
Survival	600.4**	27.05**
Dry weight	331.8**	38.27**
Cha	0.044**	0.002**
Chb	0.018**	0.002**
Carotenoids	0.002**	0.000**
Cha/Chb	0.404**	0.044**
DPPH	0.045**	0.002**
MDA	86.96**	14.51**
Phenol	232.6**	26.66**
Soluble	0.046*	0.011*
Catalase	23356**	3453**
Peroxidase	12.47*	2.97*
Ascorbate	16.22**	1.886**
Proline	3.099**	0.352**
Osmotic potential	0.993*	0.269*

* و ** به ترتیب معنی دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد

and 1%, respectively. : probability levels of 5%** and *

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج نشان‌دهنده وجود تنوع ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های موردمطالعه ازلحاظ ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی بود. ژنوتیپ‌های MLC6، MLC12، MLC26، MLC117، MLC120 و MLC178 برتری نسبی در اکثر صفات موردمطالعه ازجمله درصد بقاء و ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی دارا بودند. ژنوتیپ‌های MLC4، MLC5، MLC73، MLC57، MLC94 و MLC109 در تمامی صفات موردمطالعه از میانگین پایین‌تری در مقایسه با میانگین کل برخوردار بودند. بین رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی با درصد بقاء و میزان فنل با درصد بقاء در تمامی سطوح تنش شوری همبستگی مثبت و معنی‌داری مشاهده شد که به نظر می‌رسد این صفات، شاخص‌های مناسبی جهت تعیین میزان تحمل به تنش شوری در ژنوتیپ‌های عدس باشند.



شکل ۴. نموداری بای‌پلات بر مبنای دو مؤلفهٔ اول و دوم با بیشترین توجیه واریانس داده‌ها. MLC: کلکسیون عدس مشهد.

Fig 4. Biplot based on two major principal component factors. MLC: Mashhad Lentil Collection

منابع

Abe, N., Murata, T., Hirota, A., 1998. Novel 1,1-diphenyl-2-picryhy- drazyl- radical scavengers, bisorbicillin and demethyltrichodimerol, from a fungus. Bioscience Biotechnology Biochemistry. 62, 61-662.

Afzal, F., Khan, T., Khan, A., Khan, S., Raza, H., Ihsan, Ahanger, M.A., Kazi, A.G., 2014. Nutrient deficiencies under stress in legumes. In: Azooz, M.M., Ahmad, P. (Eds.), Legumes Under Environmental Stress: Yield, Improvement and Adaptations. Wiley pp. 53-65.

Ahanger, M.A., Agarwal, R.M., 2017. Salinity stress induced alterations in antioxidant metabolism and nitrogen assimilation in wheat (*Triticum aestivum* L) as influenced by 586 potassium supplementation. Plant Physiology and Biochemistry. 115, 449-460.

Bates, L.S., Waldren, R.P., Teare, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil. 39, 205-207.

Bose, J., Rodrigo-Moreno, A., Shabala, S., 2014. ROS homeostasis in halophytes in the context of salinity stress tolerance. Journal of Experimental Botany. 65, 1241-1257.

Cantabella, D., Piqueras, A., Acosta-Motos, J. R., Bernal-Vicente, A., Hernandez, J. A., Diaz-Vivancos, P., 2017. Salt-tolerance mechanisms induced in Stevia rebaudiana Bertoni: Effects on mineral nutrition, antioxidative metabolism and steviol glycoside content. Plant Physiology and Biochemistry. 115, 484-496.

Chawla, S., Jain, S., Jain, V., 2013. Salinity induced oxidative stress and antioxidant system in salt-tolerant and salt-sensitive cultivars of rice (*Oryza sativa* L.). Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology. 22, 27-34.

Cheynier, V., Comte, G., Davies, K.M., Lattanzio, V., Martens, S., 2013. Plant phenolics: recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology. Plant Physiology and Biochemistry. 72, 1-20.

Dawood, M. G., Taie, H. A. A., Nassar, R. M. A., Abdelhamid, M. T., Schmidhalter, U., 2014. The changes induced in the physiological, biochemical and anatomical structure of Vicia faba by the exogenous application of proline under seawater stress. South African Journal of Botany. 93, 54-63.

Dere, S., Gines, T., Sivaci, R., 1998. Spectrophotometric determination of chlorophyll - a, b and total carotenoid contents of some algae species using different solvents. Turkish Journal of Botany. 22, 13-17.

Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., Smith, F., 1951. A colorimetric method for the determination of sugars. Nature. 168, 167.

FAOSTAT, 2020. Food and Agriculture Organization of the United Nations. http://www.fao.org/faostat/en/#compare (Accessed: 23 December 2020).

Golezani, K.G., Yengabad, F.M., 2012. Physiological responses of lentil (*Lens*

culinaris Medik.) to salinity. International Journal of Agriculture and Crop Sciences. 4, 1531-1535.

Gururani, M. A., Venkatesh, J., Tran, L. S. P., 2015. Regulation of photosynthesis during abiotic stress-induced photoinhibition. Molecular Plant. 8, 1304–1320.

Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M.H.M.B., Zulfiqar, F., Reza, A., Mohsin, S.M., Al Mahmud, J., Fujita, M., Fotopoulos, V., 2020. Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: Revisiting the crucial role of a universal defense regulator. Antioxidants. 9, 1-52.

Hasanuzzaman, M., Hossain, M.A., Teixeira da Silva, J.A., Fujita, M., 2012. Plant responses and tolerance to abiotic oxidative stress: Antioxidant defense is a key factor. In: Bandi, V., Shanker, A.K., Shanker, C., Mandapaka, M. (Eds.), Crop Stress and its Management: Perspectives and Strategies; Springer: Berlin, Germany, pp: 261-316.

Hassan, H.A.A., Alkhalifeh, M.D.H., Yousef, A.Al S., Beemster, T.S.G., Mousa, S.M.A., Hozzein, N.W., AbdElgawad, H., 2020. Salinity stress enhances the antioxidant capacity of bacillus and planococcus species isolated from saline lake environment. Frontiers in Microbiology. 11, 2191.

Heath, R. L., Packer, L., 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry and Biophysics. 125, 189-198.

Hoagland, D.R., Arnon, D.L., 1950. The water culture method for growing plants without soil. California Agricultural Experiment Station Circular. 347.

Hussain, S., Bai, Z., Huang, J., Cao, X., Zhu, L., Zhu, C., Khaskheli, M.A., Zhong, C., Jin, Q., Zhang, J., 2019. 1-methylcyclopropene modulates physiological, biochemical, and antioxidant responses of rice to different salt stress levels. Frontiers in Plant Science. 10, 1-18.

Hussain, S., Zhong, C., Bai, Z., Cao, X., Zhu, L., Hussain, A., Zhu, C., Fahad, S., James, A. B., Zhang, J., Jin, Q., 2018. Effects of 1-methylcyclopropene on rice growth characteristics and superior and inferior spikelet evelopment under salt stress. Journal of Plant Growth Regulation. 37, 1368-1384.

Kamran, M., Parveen, A., Ahmar, S., Malik, Z., Hussain, S., Chattha, M.S., Saleem, M.H., Adil, M., Heidari, P., Chen, J.T., 2020. An overview of hazardous impacts of soil salinity in crops, tolerance mechanisms, and amelioration through selenium supplementation. International Journal of Molecular Sciences. 21, 148.

Kaur, N., Kaur, J., Grewal, S. K., Singh, I., 2019. Effect of heat stress on antioxidative defense system and its amelioration by heat acclimation and salicylic acid pre-treatments in three pigeonpea genotypes. Indian Journal of Agricultural Biochemistry. 32, 106-110.

Ma, Y., Kuang, L., He, X., Bai, W., Ding, Y., Zhang, Z., Zhao, Y., Chai, Z., 2010. Effectsof rare earth oxide nanoparticles on root elongation of plants. Chemosphere. 78, 273-279.

Meena, M., Divyanshu, K., Kumar, S., Swapnil, P., Zehra, A., Shukla, V., Yadav, M., Upadhyay, R. S., 2019. Regulation of L-proline biosynthesis, signal transduction, transport, accumulation and its vital role in plants during variable environmental conditions. Heliyon. 5, 1-20.

Mehla, N., Sindhi, V., Josula, D., Bisht, P., Wani, S. H., 2017. An introduction to antioxidants and their roles in plant stress tolerance. In Reactive Oxygen Species and Antioxidant Systems in Plants: Role and Regulation under Abiotic Stress; Khan, M.I.R., Khan, N.A., Eds.; Springer: Singapore, 2017; pp. 1-23.

Mittler, R., 2017. ROS are good. Trends in Plant Science. 22, 11–19.

Muscolo, A., Junker, A., Klukas, C., Weigelt-Fischer, K., Riewe, D., Altmann, T., 2015. Phenotypic and metabolic responses to drought and salinity of four contrasting lentil accessions. Journal of Experimental Botany. 66, 5467-5480.

Muscolo, A., Junker, A., Klukas, C., Weigelt-Fischer, K., Riewe, D., Altman, T., 2015. Phenotypic and metabolic responses to drought and salinity of four contrasting lentil accessions. Journal of Experimental Botany. 66, 5467-5480.

Negrao, S., Schmockel, S. M., Tester, M., 2017. Evaluating physiological responses of plants to salinity stress. Annals of Botany. 119, 1–11.

Nxele, X., Klein, A., Ndimba, B. K., 2017. Drought and salinity stress alters ROS accumulation, water retention, and osmolyte

content in sorghum plants. South African Journal of Botany. 108, 261-266.

Ouji, A., El-Bok, S., Mouelhi, M., Ben-Younes, M., Kharrat, M., 2015. Effect of salinity stress on germination of five Tunisian lentil (*Lens Culinaris* L.) genotypes. European Scientific Journal. 1, 100571

Rahman, A., Nahar, K., Hasanuzzaman, M., Fujita, M., 2016. Calcium supplementation improves Na+/K+ ratio, antioxidant defense and glyoxalase systems in salt-stressed rice seedlings. Frontiers in Plant Science. 7, 609.

Raja, V., Majeed, U., Kang, H., Andrabi, K. I., John, R., 2017. Abiotic stress: Interplay between ROS, hormones and MAPKs. Environmental and Experimental Botany. 137, 142-157.

Rameshwaran, P., Qadir, M., Ragab, R., Arslan, A., Majid, G., Abdallah, K., 2016. Tolerance of faba bean, chickpea and lentil to salinity: Accessions salinity response functions. Irrigation and Drainage. 65, 49-60.

Roy, S. J., Negrao, S., Tester, M., 2014. Salt resistant crop plants. Current Opinion in Biotechnology. 26, 115–124.

Sadak, M. Sh., T. Abdelhamid, M., 2015. Influence of amino acids mixture application on some biochemical aspects, antioxidant enzymes and endogenous polyamines of Vicia faba plant grown under seawater salinity stress. Gesunde Pflanzen. 67, 119-129.

Sarker, U., Oba, Sh., 2020. The response of salinity stress-induced a. tricolor to growth, anatomy, physiology, non-enzymatic and enzymatic antioxidants. Frontiers in Plant Science. 11, 1-14.

Saxena, S., Joshi, P., Grimm, B., Arora, S., 2011. Alleviation of ultraviolet-C-induced oxidative damage through overexpression of cytosolic ascorbate peroxidase. Biologia. 66, 1052-1059.

Saxena, S.C., Salvi, P., Kamble, N.U., Joshi, P.K., Majee, M., Arora, S., 2020. Ectopic overexpression of cytosolic ascorbate peroxidase gene (Apx1) improves salinity stress tolerance in Brassica juncea by strengthening antioxidative defense mechanism. Acta Physiologiae Plantarum. 42, 1-14.

Shafiee-Khorshidi, M., M.R. Bihamta, F. Khialparast., M.R. Naghavi., 2012. Assessment of geneticvariation in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes under drought condition using clusterand canonical discriminant analysis (CDA). Journal of Crop Breeding. 10: 1-17 [In Persian].

Shin, Y. K., Bhandari, S. R., Cho, M. C., Lee, J. G., 2020a. Evaluation of chlorophyll fluorescence parameters and proline content in tomato seedlings grown under different salt stress conditions. Horticulture, Environment, and Biotechnology. 61, 433-443.

Shin, Y. K., Bhandari, Sh., Su Jo, J., Woo Song, J., Cheoul Cho, M., Young Yang, E., Gu Lee, J., 2020b. Response to salt stress in lettuce: Changes in chlorophyll fluorescence parameters, phytochemical contents, and antioxidant activities. Agronomy. 10, 1627.

Singh, A., Kumar, A., Yadav, S., and Singh, I. K. 2019. Reactive oxygen species-mediated signaling during abiotic stress. Plant Gene 18: 1-23.

Singleton, V. L., Rossi, J. A., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture. 16, 144-158.

Skliros, D., Kalloniati, C., Karalias, G., Skaracis, G.N., Rennenberg, H., Flemetakis, E., 2018. Global metabolomics analysis reveals distinctive tolerance mechanisms in different plant organs of lentil (*Lens culinaris*) upon salinity stress. Plant and Soil. 429, 451-468.

Sreenivasulu, N., Ramanjulu, S., Ramachandra-Kini, K., Prakash, H., Shekar-Shetty, H., Savithri, H., Sudhakar, C., 1999. Total peroxidase activity and peroxidase isoforms as modified by salt stress in two cultivars of fox-tail millet with differential salt tolerance. Plant Science. 141, 1-9.

Taibi, Kh., Taibi, F., Abderrahim, L. A., Ennajah, A., Belkhodja, M., Mulet, J. M., 2016. Effect of salt stress on growth, chlorophyll content, lipid peroxidation and antioxidant defence systems in Phaseolus vulgaris L. South African Journal of Botany. 105, 306-312.

Velikova, V., Yordanov, I., Edreva, A., 2000. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. Plant Science. 151, 59-66.

Yamaguchi, K., Mori, H., Nishimura, M., 1995. A novel isoenzyme of ascorbate peroxidase localized on glyoxysomal and leaf peroxisomal membranes in pumpkin. Plant and Cell Physiology. 36, 1157-62.

Zare Mehrjerdi, M., Nabati, J., Massomi, A., Bagheri, A., Kafi, M., 2012. Evaluation of tolerance to salinity based on root and shoot growth of 11 drought tolerant and sensitive chickpea genotypes at hydroponics conditions. Iranian Journal Pulses Research. 2(2), 83-96. [In Persian].

Zhao, G. M., Han, Y., Sun, X., Li, S.H., Shi, Q. M., Wang, C. H., 2015. Salinity stress increases secondary metabolites and enzyme activity in safflower. Industrial Crops and Products. 64, 175-181.