

ارزیابی تحمل به شوری در ۴۳ ژنوتیپ عدس به همراه رقم زراعی مردم

داود داداشی چوان^۱، دکتر علیرضا عباسی^{۲*}، احمد احمدی لک^۳

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد و دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران.

۳- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه به‌نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۷/۲۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۱/۸)

چکیده

مطالعه حاضر به منظور دسته‌بندی پاسخ ژنوتیپ‌های مختلف عدس (*Lens culinaris* Medik) به تنش شوری در فاز جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه، در دو مرحله به صورت آزمایش فاکتوریل و برپایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه انجام شد. ۴۳ ژنوتیپ عدس به همراه چهار سطح شوری، فاکتورهای مرحله اول و چهار ژنوتیپ عدس به همراه چهار سطح شوری، فاکتورهای مرحله دوم بودند. چهار سطح تنش شوری در آزمایش اول، حاصل ترکیب خاک معمولی با خاک دارای شوری طبیعی در نسبت‌های وزنی یک، دو به یک، یک به یک و دو (به ترتیب خاک معمولی و خاک شور) و در آزمایش دوم ناشی از NaCl (صفر، ۶۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ میلی‌مولار) بود. برخی صفات مورفولوژیکی به همراه محتوای کلروفیل a و b، کاروتنوئید و پرولین مورد ارزیابی قرار گرفتند. طبق نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل داده‌ها، اختلاف معنی‌داری بین ژنوتیپ‌ها در پاسخ به تنش شوری وجود داشت و افزایش میزان خسارت، متناسب با افزایش تنش شوری بود. به منظور دسته‌بندی ژنوتیپ‌ها از نظر پاسخ به تنش شوری در آزمایش اول، تجزیه خوشه‌ای و تجزیه به مولفه‌های اصلی انجام شد و ژنوتیپ‌ها در چهار گروه مختلف دسته‌بندی شدند. چهار ژنوتیپ آزمایش دوم با توجه به نتایج مرحله اول انتخاب شدند. به طور کلی نتایج نشان داد که در بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه عدس، تنوع بالایی از نظر پاسخ به تنش شوری وجود داشت که می‌تواند در برنامه‌های اصلاح ارقام زراعی مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: استقرار گیاهچه، رقم مردم، شوری، عدس، غربالگری ژنوتیپ.

Evaluation of 43 genotypes and Mardom cultivar of lentils under salt stress

Davud Dadashi chavan¹, Dr. Alireza Abbasi^{2*}, Ahmad Ahmadi Lak³

1,2. Agronomy and Plant Breeding Department, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Iran. 3. Plant Breeding and Biotechnology Department, University of Tabriz, Iran.

(Received: October 21, 2019 - Accepted: January 28, 2020)

ABSTRACT

This project was carried out to study and classify the lentil (*Lens culinaris* Medik) genotypes during germination and seedling establishment, in Greenhouse and in two stages. First stage was carried out with 43 genotypes and Mardom cultivar of lentil in 4 levels of salinity and 3 replications in factorial experiment in as a completely randomized design in a combination of non-saline and saline soil in the 1, 2-1, 1-1 and 1-2 weight ratios (respectively non-saline soil and saline soil). Second stage was carried out with 3 genotypes and Mardom cultivar of lentil in 4 levels of salinity of NaCl (0, 60, 120, 180 mM) and 3 replications in a factorial experiment based on a completely randomized design. In this project, some morphological characteristics as well as the content of chlorophyll a and b, carotenoids and proline were evaluated. Analysis of the results showed that as the salinity increased, morphological traits in most genotypes were significantly damaged. For clustering genotypes in the first experiment, cluster analysis and principal component analysis was carried out and genotypes were classified in four different groups. 4 genotypes for second experiment were selected according to the results of cluster analysis. Results showed that there was high diversity in lentil genotypes in response to salt stress, and we can use this diversity in cultivars breeding programs.

Keywords: Genotype screening, Mardom cultivar, lentil, salinity, Seedling establishment.

* Corresponding author E-mail: rezabbasi@ut.ac.ir

مقدمه

لگوم‌ها در سیستم‌های کشت محسوب می‌شود که دانه-های آن، سرشار از پروتئین‌هایی با کیفیت بالا برای بشر و گاو و کلش آن، غذای با ارزشی در تغذیه دام‌ها می‌باشد (Katerji *et al.*, 2001). با این که این گیاه به تنش شوری بسیار حساس است (Katerji *et al.*, 2001)، اما بین ژنوتیپ‌ها و ارقام مختلف از نظر حساسیت به تنش شوری تفاوت وجود دارد؛ بنابراین برای مهندسی گیاهان متحمل به تنش شوری می‌توان از تنوع موجود در ژنوتیپ‌ها بهره جست. برای این منظور، بررسی واکنش ژنوتیپ‌های مختلف در شرایط تنش شوری می‌تواند در شناسایی ژنوتیپ‌های برتر برای کارهای اصلاحی بسیار ارزشمند باشد. تحقیق حاضر، جهت مطالعه ژنوتیپ‌های عدس موجود در بانک ژن گروه زراعت و اصلاح نباتات پردیس کشاورزی دانشگاه تهران در شرایط تنش شوری انجام شد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور ارزیابی واکنش ژنوتیپ‌های مختلف عدس تحت شرایط تنش شوری، دو آزمایش جداگانه در گلخانه تحقیقاتی گروه زراعت و اصلاح نباتات پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران انجام شد. هر دو آزمایش با چهار سطح تنش شوری، به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در بستر خاکی، در گلخانه‌های با دمای حدوداً 25°C با ۱۶ ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی انجام شد. در مرحله اول، ۴۳ ژنوتیپ عدس به همراه رقم زراعی مردم از محل بانک ژن پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران - واقع در کرج، تهیه شد. خاک مورد استفاده در مرحله اول، دارای شوری طبیعی با هدایت الکتریکی $24/9 \text{ mS/cm}$ بود که از خاک‌های شور شهرستان نظرآباد کرج تهیه شد. به‌منظور ایجاد سطوح مختلف شوری، خاک مذکور با خاک معمولی که دارای میزان هدایت الکتریکی برابر با $3/78 \text{ mS/cm}$ بود، در نسبت‌های وزنی دو به یک، یک به یک و یک به دو (به ترتیب خاک معمولی و خاک شور) مخلوط شد. خاک‌های نهایی به ترتیب دارای هدایت الکتریکی

شوری از جمله مهمترین تنش‌های محیطی به شمار می‌رود که رشد و تولید محصولات زراعی را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Abdul-Jaleel *et al.*, 2007). به شرایطی که در آن مقدار نمک‌های محلول خاک تا حد زیان‌بار افزایش یابد و باعث بروز اثرات مضر در گیاهان شود، شوری گفته می‌شود (Ates *et al.*, 2007). حتی نمک-های ضروری نیز در غلظت‌های بالا می‌توانند سبب بروز اثرات تنش شوری شوند (Sidari *et al.*, 2008). املاح خاک با کاهش پتانسیل آب در محیط ریشه، جذب آب توسط گیاه را با محدودیت رو به رو می‌کنند و عملکرد طبیعی گیاه را دچار اختلال می‌نمایند (Mauromicale, & Licandro, 2002). میزان خسارت تنش شوری به ژنوتیپ و مراحل نمو گیاه و شدت و مدت زمان تنش بستگی دارد (Manchanda *et al.*, 2008). تنش شوری تقریباً تمامی فرایندهای بیولوژیکی و فیزیولوژیکی اصلی گیاه از جمله فتوسنتز و رشد را در اندازه‌های مختلف تحت تأثیر قرار می‌دهد (Parida & Das, 2005). کاهش رشد (Kerepesi & Galiba, 2000)، جوانه‌زنی (Patel *et al.*, 2011) و میزان ماده خشک ریشه، ساقه و برگ در گیاهان تحت تنش شوری گزارش شده است (Huang *et al.*, 2010). مطالعه شاخص‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه در شرایط تنش شوری در محیط گلخانه می‌تواند در انتخاب گیاهان مقاوم به تنش سودمند باشد (Ashraf and Harris, 2004)، چراکه تغییرات مورفولوژیکی، حاصل تغییرات فیزیولوژیکی و متابولیکی گیاه است و می‌تواند به‌منظور برای غربال اولیه گیاهان جهت بررسی‌های بیشتر مورد استفاده قرار گیرد (Ahmad *et al.*, 2005). محتوای پروتئین و کلروفیل، از جمله صفات مورد استفاده برای انتخاب اولیه گیاهان متحمل به تنش شوری می‌باشد (Ashraf, 2001; Hester *et al.*, 2001)، زیرا تحقیقات نشان داده‌اند که بین این شاخص‌ها و میزان تحمل به تنش شوری ارتباط وجود دارد؛ این روابط در محیط گلخانه نیز می‌تواند صادق باشد (Ashraf, 2004). عدس، یکی از مهم‌ترین

در دمای 70°C ، با ترازوی حساس اندازه‌گیری شد. سپس با استفاده از فرمول‌های زیر، مولفه‌هایی نظیر شاخص بنیه گیاهیچه (Abdul-Baki and Anderson, 1973) نیز محاسبه شد.

$$\text{SVI} = (\text{A} + \text{B}) \times \text{C}$$

$$\text{SL} = \text{RL} + \text{SL}$$

در این معادلات، SVI: شاخص بنیه گیاهیچه، A: میانگین طول ساقه اولیه، B: میانگین طول ریشه اولیه، C: درصد جوانه‌زنی نهایی، SL: طول گیاهیچه، RL: طول ریشه و SL: طول ساقه است.

$3/78 \text{ mS/cm}$ (خاک شاهد)، $14, 9/95$ و 17 mS/cm بودند. ضدعفونی بذر با استفاده از هیپوکلرید سدیم پنج درصد انجام شد و بذر با در سینی‌های مخصوص کاشته شدند. آبیاری به صورت روزانه با 50 سی سی آب مقطر برای هر پلات انجام شد و شمارش بذرهای سبز شده، هر 24 ساعت و به مدت 14 روز متوالی صورت گرفت. تمامی نمونه‌ها در روز پانزدهم برداشت شدند. طول ریشه و ساقه با استفاده از خط‌کش و وزن تر ساقه بلافاصله پس از برداشت، با ترازوی حساس اندازه‌گیری شد. وزن خشک ریشه و ساقه پس از خشک کردن کامل

جدول ۱- اسامی و منشاء ژنوتیپ‌های عدس مورد مطالعه در این پژوهش.

Table 1. Names and origin of lentil genotypes studied in this research

origin	Genotypic code	Number genotype in gene bank and paper	origin	Genotypic code	Number genotype in gene bank and paper
Syria	33-ICARDA-ill6042	701	Syria	33-ICA-63134	553
Syria	33-ICA-ILL06235	703	Syria	33-ICA-63119	559
Turkey	33-153-26279-68	714	Syria	33-ICA-63139	564
Syria	33-ICARDA-ill4400	715	Syria	33-ICA-63108	565
Lebanon	33-058-ill851	717	Syria	33-ICA-ill05747	588
Iran	33-072-10706	719	Syria	33-ICA-ill05753	606
Syria	33-ICA-ILL4368	724	Syria	33-146-05817	607
Syria	33-ICA-ILL49	738	Syria	33-ICA-ill04400	608
Iraq	33-072-79SH4890	741	Iran	33-071-ill05753	609
Iraq	33-072-13621-153	742	Syria	33-ICA-ill5748	613
Shooshtar	33-071-10150	745	Syria	33-ICA-ill5845	622
India	33-069-00066	746	Syria	33-ICA-ill6001	629
Chile	33-032-10316	747	Syria	33-ICA-ill6195	638
Chile	33-032-10344	748	Syria	33-ICA-ill6205	648
Ardebil	33-071-10434	749	Syria	33-ICA-ill-6206	649
Fars	33-071-10646	752	Syria	33-ICA-ill6212	655
Jiroft	33-071-10919	753	Jordan	33-079-ill5582	669
Azarbayejan	33-071-10685	756	Syria	33-ICA- ill5803	680
Fars	33-071-10960	757	Syria	33-071-10437	689
Isfahan	33-071-11043-2	760	Syria	33-ICA-ill5840	690
----	-----	---	Syria	696-ICARDA-ill6014	696

بعد از اندازه‌گیری وزن تر ریشه و ساقه با استفاده از ترازوی حساس و اندازه‌گیری طول ساقه با استفاده از خط‌کش، نمونه‌ها در فویل بسته‌بندی شدند و به فریزر 70°C درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. جهت اندازه‌گیری محتوی پروتئین اندام هوایی (Bates, 1937)، یک دهم گرم از نمونه‌های اندام هوایی برداشته شد و پس از کوبیدن در نیتروژن مایع، با پنج میلی‌لیتر سولفوسالیسیلیک اسید سه درصد مخلوط شد. سپس نمونه‌ها در سانتریفیوژ با سرعت 3000 دور در دقیقه در دمای اتاق به مدت پنج دقیقه قرار گرفت. سوپرناتانت حاصل با پنج میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال و پنج میلی‌لیتر نین‌هیدرین مخلوط شد. سپس نمونه‌ها یک

در مرحله دوم، سه ژنوتیپ منتخب از مرحله اول که بر اساس واکنش به تنش شوری کلاستر بندی شده بودند، انتخاب و به همراه رقم زراعی مردم ارزیابی شدند. برخلاف مرحله اول، در این آزمایش، چهار سطح تیمار شوری (صفر، 60 ، 120 و 180 میلی‌مولار) به‌طور مصنوعی از طریق حل کردن مقادیر مشخصی نمک طعام (NaCl) در آب مقطر تهیه شد. آبیاری پلات‌ها با استفاده از محلول‌های نمکی صورت گرفت و پلات‌های شاهد با آب مقطر آبیاری شدند. تعداد 10 بذر در هر یک از پلات‌ها (گلدان‌ها) در بستر خاک معمولی کشت شدند و شمارش بذرهای سبز شده به‌طور روزانه تا 14 روز ادامه یافت. نمونه‌گیری در روز پانزدهم انجام شد و

$$\text{carotenoid (mg/g)} = (100 (A_{470}) - 3.27(\text{mg chl. a}) - 104(\text{mg chl. b}))/227$$

در روابط بالا، A: میزان جذب در طول موج مورد نظر، V: حجم نهایی استون ۸۰ درصد بر حسب میلی لیتر و W: وزن برگ تازه بر حسب گرم می باشد. برای تجزیه و تحلیل داده ها و در نهایت گروه بندی ژنوتیپ های عدس بر اساس واکنش در شرایط شوری، از روش های چند متغیره آماری استفاده شد. روش های آماری مورد استفاده، شامل تجزیه و تحلیل مولفه های اصلی برای تفسیر بهتر رفتار ژنوتیپ ها بود. برای تجزیه و تحلیل های آماری و رسم نمودارها از نرم افزارهای MSTATC و Excel و برای مقایسه میانگین در آزمایش اول، از آزمون LSD و در آزمایش دوم، از آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد استفاده شد. تجزیه خوشه ای و تجزیه به مؤلفه های اصلی نیز با نرم افزار SPSS24 انجام شد.

نتایج و بحث

آزمایش اول

نتایج تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در آزمایش اول (جدول ۲) نشان داد که اثرات فاکتورهای A و B (به ترتیب ژنوتیپ و تنش) و همچنین اثرات متقابل آنها در سطح یک درصد برای کلیه صفات اندازه گیری شده معنی دار بود.

ساعت در حمام آب گرم قرار گرفتند و ۱۰ میلی لیتر تولوئن به محلول اضافه شد و به مدت ۲۰ ثانیه با ورتکس مخلوط شد. سپس مقادیر پرولین موجود در نمونه ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد. همچنین جهت استخراج و اندازه گیری میزان کلروفیل a و b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها، متناسب با پروتوکول های مربوطه، مقدار مشخصی از نمونه های اندام هوایی در نیتروژن مایع در هاون کوبیده شد. به منظور استخراج کلروفیل و کاروتنوئید با روش استون (Arnon, 1967)، نیم گرم از ماده گیاهی با استفاده از نیتروژن مایع در هاون خرد شد و ۲۰ میلی لیتر استون ۸۰ درصد به نمونه اضافه شد و در سانتریفیوژ با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفت. سپس مقداری از عصاره فوقانی در کووت اسپکتروفتومتر ریخته شد و میزان جذب عصاره استخراج شده در طول موج های ۶۴۵، ۶۶۳ و ۴۷۰ نانومتر، به ترتیب برای کلروفیل a، b و کاروتنوئید قرائت شد و با استفاده از روابط زیر، میزان کلروفیل a، b و کل و کاروتنوئید بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر ماده گیاهی محاسبه شد. (Arnon, 1967; Ebrahimi *et al.*, 2016).

$$\text{Chlorophyll a (mg/g)} = ((12.7 \times A_{663}) - (2.69 \times A_{645})) \times V/1000 \times W$$

$$\text{Chlorophyll b (mg/g)} = ((22.9 \times A_{645}) - (4.69 \times A_{663})) \times V/1000 \times W$$

$$\text{Total Chlorophyll (mg/g)} = ((20.2 \times A_{645}) - (8.02$$

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه در ۴۳ ژنوتیپ و رقم مردم عدس.

Table 2. Variance analysis of the studied traits of 43 genotypes and Mardom cultivar of lentil

S.O.V.	df	Mean Square							
		root length	shoot length	seedling length	dry weight root	dry weight shoot	fresh weight shoot	Percentage of germination	Seed vigor index
A Factor (Genotype)	43	5.69**	15.296**	33.098**	0.000**	0.000**	0.010**	1261.207**	23336.3**
B Factor (salinity)	3	193.9**	536.704**	1348.579**	0.000**	0.001**	0.103**	54394.658**	13873.88**
AB	129	1.529**	2.634**	5.669**	0.000**	0.000**	0.001**	625.592**	71856.05**
Error	352	0.462	0.699	1.546	0.000	0.000	0.000	382.737	38349.39
C.V(%)		24.25	17.29	16.32	28.39	24.68	17.59	32.04	36.39

** معنی دار در سطح احتمال یک درصد

** Significant at %1 of probability level.

افزایش سطح تنش شوری در ژنوتیپ های مختلف،

بررسی ترکیبات تیماری (جدول ۳) نشان داد که با

میزان خسارت نیز به صورت معنی‌داری افزایش پیدا کرد؛ این خسارت می‌تواند به دلیل اختلالات فیزیولوژیکی و فتوسنتزی ناشی از تنش شوری باشد (Ashraf, 2008). همچنین مطابق با تحقیقات صورت گرفته، شوری از طریق کاهش تعداد و اندازه سلول‌ها، باعث کاهش رشد و کاهش وزن خشک گیاه می‌شود (Mirmohammady *et al.*, 2002).

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ‌ها و سطوح تنش بر صفات اندازه‌گیری شده.

Table 3. Mean comparison of the interaction effects genotypes and stress levels on measured traits.

Genotype	Stress*	Root length (cm)	Genotype	Stress	Shoot length (cm)	Genotype	Stress	Seedling length (cm)	Genotype	Stress	Dry weight root (g)	Genotype	Stress	Dry weight shoot (g)	Genotype	Stress	Fresh weight shoot (g)	Genotype	Stress	Percentage of germination (%)	Genotype	Stress	Seed vigor index
724	1	7.05	747	1	8.97	719	1	15.5	607	1	0.0095	649	1	0.017	609	1	0.217	559	1	100	714	1	1433.3
719	1	6.7	719	1	8.75	756	1	14.75	724	1	0.0087	607	1	0.016	756	1	0.208	607	1	100	607	1	1300.8
724	2	6.66	756	1	8.67	714	1	14.33	M	2	0.0082	747	1	0.016	773	1	0.201	629	1	100	669	1	1258.9
756	1	6.08	649	1	8.25	747	1	14.092	756	1	0.008	756	1	0.0164	607	1	0.194	648	1	100	749	1	1250
M	1	5.85	753	1	8.17	724	1	13.55	715	1	0.008	719	1	0.016	649	1	0.193	649	2	100	724	1	1220.13
565	1	5.83	745	1	8.083	649	1	13.375	715	2	0.0077	756	2	0.0159	747	1	0.193	669	1	100	719	1	1205.6
742	1	5.82	588	1	8.017	M	1	13.375	756	2	0.0076	753	1	0.0151	773	2	0.191	669	2	100	742	1	1191.7
607	1	5.74	756	2	6.08	607	1	13.008	717	1	0.0076	588	1	0.0142	609	2	0.19	689	2	100	756	1	1152.8
714	1	5.56	747	2	7.93	756	2	12.917	649	1	0.0076	559	1	0.0139	773	3	0.187	696	1	100	745	1	1126.4
649	1	5.12	608	1	7.83	745	1	12.625	747	1	0.0073	747	2	0.0138	741	1	0.183	703	1	100	703	1	1118.3
747	1	5.12	753	2	7.806	669	1	12.59	717	2	0.0072	689	1	0.0137	622	1	0.181	714	1	100	746	1	1105
741	1	5.08	714	1	7.76	749	1	12.5	719	1	0.007	741	1	0.0136	756	2	0.18	742	1	100	753	1	1099.4
749	1	5.08	669	1	7.756	724	2	12.33	M	1	0.0065	753	3	0.0136	607	2	0.177	746	1	100	747	1	1091.9
689	1	4.91	747	3	7.75	753	1	12.32	649	2	0.0064	748	1	0.01345	719	1	0.177	749	1	100	M	1	1040.3
756	2	4.91	608	2	7.63	714	3	12.17	689	1	0.0062	747	3	0.0134	607	3	0.172	752	1	100	648	1	1028.3
690	4	0.62	559	4	1	690	4	1.87	648	3	0.000833	771	4	0.0019	690	4	0.05	648	4	22.1	690	4	62.3
655	4	0.58	714	4	1	742	4	1.62	773	4	0.0008	559	3	0.0018	742	4	0.05	690	4	22.1	559	4	51.2
714	4	0.5	771	4	0.875	771	4	1.62	742	4	0.00075	655	4	0.0015	771	4	0.0475	559	4	22	742	4	41.5
773	4	0.5	559	3	0.83	714	4	1.5	771	4	0.00067	742	4	0.0012	773	4	0.047	714	4	22	714	4	38.8
742	4	0.37	773	4	0.611	773	4	1.11	648	4	0.0006	773	4	0.001	714	4	0.0375	742	4	22	773	4	37
638	2	0	638	2	0	638	2	0	638	2	0	638	2	0	638	2	0	638	2	0	638	2	0
638	3	0	638	3	0	638	3	0	638	3	0	638	3	0	638	3	0	638	3	0	638	3	0
638	4	0	638	4	0	638	4	0	638	4	0	638	4	0	638	4	0	638	4	0	638	4	0
689	4	0	689	4	0	689	4	0	689	4	0	689	4	0	689	4	0	689	4	0	689	4	0
715	4	0	715	4	0	715	4	0	715	4	0	715	4	0	715	4	0	715	4	0	715	4	0
LSD		0.392			0.4826			0.7178			0.0006			0.0012			0.0123			11.295			113.06

* سطوح تنش شوری: شماره ۱: خاک معمولی با هدایت الکتریکی ۳/۷۸ mS/cm، شماره ۲: خاک با هدایت الکتریکی ۹/۹۵ mS/cm، شماره ۳: خاک با هدایت الکتریکی ۱۷ mS/cm و شماره ۴: خاک با هدایت الکتریکی ۱۴ mS/cm. Salt stress levels: 1) normal soil, EC=3.78 mS/cm; 2) soil, EC=9.95 mS/cm; 3) soil, EC=14 mS/cm and 4) soil, EC=17 mS/cm.

به‌منظور ارزیابی تنوع ژنتیکی و دسته‌بندی ژنوتیپ‌ها، از روش‌های تجزیه به مولفه‌های اصلی و تجزیه خوشه‌ای استفاده شد. ژنوتیپ‌های مورد مطالعه با استفاده از الگوریتم WARD تجزیه خوشه‌ای و میانگین داده‌های

جدول ۴- تجزیه تابع تشخیص برای تعیین برش دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای بر اساس کلیه صفات در ۴ ژنوتیپ عدس

Table 4. Discriminant function analysis to determine the location of the dendrogram cutting

group	p-value	Wilks,lambda	Chi-Square
2	0.000	0.302	147.156
3	0.000	0.550	73.546
4	0.004	0.771	31.931
5	0.578	0.962	4.738

بر اساس نتایج تجزیه تابع تشخیص، نمودار دندروگرام برش یافته و چهار گروه ژنوتیپی به‌دست آمد. گروه اول

شامل ژنوتیپ‌های ۶۰۸، مردم، ۷۴۵، ۷۱۵، ۷۵۳، ۷۱۹، ۷۴۶، ۷۴۷، ۷۴۹، ۷۴۸، ۶۶۹، ۷۲۴؛ گروه دوم شامل ژنوتیپ‌های ۶۰۹، ۶۸۰، ۶۸۹، ۵۶۴؛ گروه سوم شامل ژنوتیپ‌های ۶۲۲، ۷۷۱، ۶۲۹، ۷۱۷، ۷۷۳، ۵۵۳، ۷۴۱، ۷۶۰، ۵۵۹، ۶۱۳، ۵۶۵، ۶۵۵، ۷۳۸، ۶۰۶، ۷۰۱، ۶۹۰، ۶۹۶ و گروه چهارم شامل ژنوتیپ‌های ۶۴۸، ۷۵۶، ۷۴۲.

۵۸۸، ۷۰۳، ۷۵۲، ۷۵۷، ۶۰۷، ۶۴۹، ۷۱۴ و ۶۳۸ بودند. همچنین تجزیه به مولفه‌های اصلی در ۴۴ ژنوتیپ مورد ارزیابی، بر اساس صفات مورد مطالعه نشان داد که حدود ۸۶ درصد از تغییرات کل، توسط دو مولفه اصلی اول توجیه شد (جدول ۵).

جدول ۵- مقادیر ویژه و درصد واریانس تجمعی در تجزیه به مولفه‌های اصلی برای ژنوتیپ‌های مورد مطالعه.

Table 5. Eigenvalues and cumulative variance percentage in the principal components analysis for all genotypes.

Principal Component	eigenvalues	Variance%	Percent of the total variance
1	7.043	78.253	78.253
2	0.718	7.975	86.228
3	0.433	4.809	91.037
4	0.361	4.007	95.004
5	0.249	2.771	97.815
6	0.146	1.627	99.442
7	0.047	0.522	99.964
8	0.003	0.036	100



شکل ۱- دندوگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای ۴۴ ژنوتیپ عدس با استفاده از روش Ward.

Figure 1. The cluster analysis dendrogram of 44 genotypes of lentil using Ward method.

آزمایش دوم

در تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در آزمایش دوم برخلاف آزمایش اول، تنها اثرات متقابل بر صفات وزن تر ساقه، ریشه و گیاهچه معنی دار شده دست و در بقیه صفات، مقایسه میانگین برای اثرات اصلی صورت گرفت (جدول ۶).

به طور کلی نتایج تجزیه واریانس آزمایش اول، بیانگر وجود تنوع ژنتیکی بالا در بین ژنوتیپها بود. با توجه به نتایج دیاگرام تجزیه خوشه‌ای در آزمایش اول، از هر خوشه، یک ژنوتیپ شامل ژنوتیپهای ۶۹۶، ۷۵۳ و ۶۳۸ به همراه رقم زراعی مردم برای انجام مطالعات بیشتر و مقایسه فیزیولوژیک انتخاب شدند.

جدول ۶- تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه در سه ژنوتیپ و رقم مردم عدس.

Table 6. Variance analysis of studied traits in 3 genotypes and Mardom cultivar of lentil.

S.O.V.	df	Mean Square										
		Shoot length(cm)	Fresh weight shoot (g)	Fresh weight root (g)	Fresh weight seedling (g)	Ch. ^a A content	Ch. B content	Ch. A/B content	Ch. A.B content	Total Ch. content	Carotenoid content	Prolin content
A Factor (Genotype)	3	53.59**	0.079**	0.055**	0.24**	0.007**	0.005**	0.16**	0.001**	20.87**	0.11**	0.00001*
B Factor (salinity)	3	18.05**	0.017**	0.28**	0.43**	0.017**	0.01**	0.4**	0.002**	49.56**	0.183**	0.00001**
AB	9	0.87 ^{ns}	0.002**	0.01**	0.011**	0.001 ^{ns}	0.001 ^{ns}	0.07 ^{ns}	0.00001 ^{ns}	3.44 ^{ns}	0.02 ^{ns}	0.000004 ^{ns}
Error	32	0.51	0.0001	0.001	0.002	0.001	0.001	0.04	0.00008	2.331	0.017	0.000005
C.V(%)		5.71	3.11	5.46	4.97	12.6	25.86	9.37	27.73	15.29	15.2	9.72

: کلروفیل.

^a: Chlorophyll

*, ** و ^{ns}: به ترتیب معنی دار در سطوح احتمال یک و پنج درصد و عدم معنی دار.

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

ژنوتیپهای دیگر به دستبند، در حالی که سه ژنوتیپ دیگر، اختلاف معنی دار با هم نداشتند (شکل ۴). نتایج مربوط به تجزیه میانگین برای کلروفیل a, b, a/b و a.b نیز به ترتیب در قسمت‌های a, b, c و d شکل ۵ آورده شده است. تنش شوری، موجب کاهش معنی دار این صفات نسبت به حالت نرمال شد و کمترین میزان این پارامترها در ژنوتیپ ۷۵۳ به دست آمد.

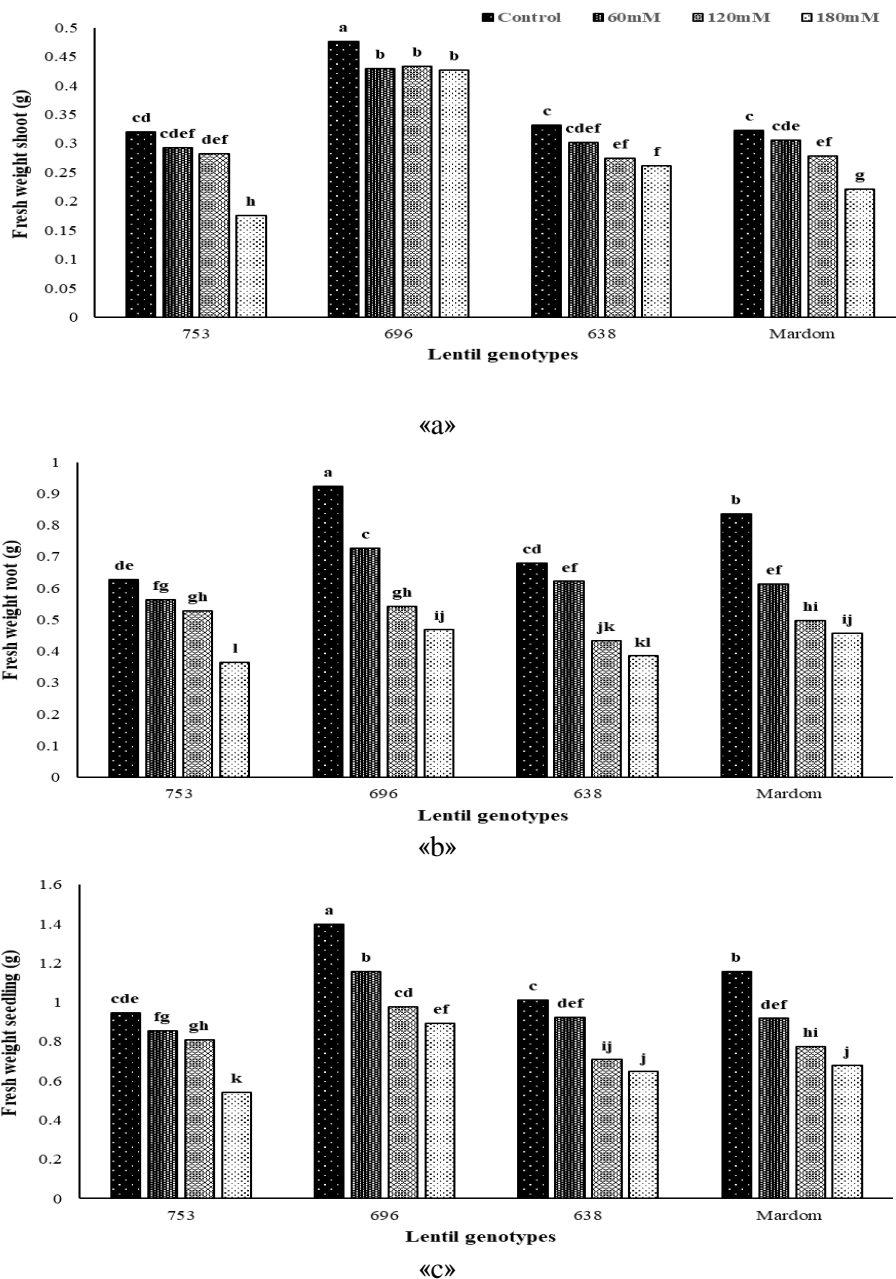
تغییرات کاروتنوئیدها نیز مشابه با تغییرات کلروفیلها بود (شکل 6a). کاروتنوئیدها یکی از رنگدانه‌های مهم دستگاه آنتی‌اکسیدانی گیاهان می‌باشند که به تخریب اکسیداتیو بسیار حساس هستند (Havaux, 1998). کلروفیل نیز به عنوان رنگدانه اصلی فتوسنتزی، دارای نقش اساسی در میزان تولید انرژی و رشد گیاه است. مطابق با تحقیقات صورت گرفته، این رنگدانه‌ها متأثر از تنش شوری می‌باشند، به طوری که تأثیر منفی تنش شوری بر میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی در گیاه نخود گزارش شده است (Mudgal, et al., 2009). متناسب با افزایش میزان شوری از تیمار صفر به ۱۸۰ میلی‌مولار، غلظت پرولین نیز افزایش معنی دار نشان داد (نمودار

نتایج مقایسات میانگین نشان داد که با افزایش میزان شوری، وزن تر ساقه، ریشه، گیاهچه (شکل ۲) و طول ساقه (شکل ۳ a) و به طور کلی رشد گیاه به صورت معنی داری در سه ژنوتیپ مورد بررسی و رقم مردم کاهش یافت. کمترین مقدار سه صفت اول در ژنوتیپ ۷۵۳ و تنش ۱۸۰ mM و بیشترین آن‌ها در ژنوتیپ ۶۹۶ و شرایط بدون تنش مشاهده شد. کمترین و بیشترین طول ساقه نیز به ترتیب در ژنوتیپ‌های ۷۳۵ و ۶۹۶ به دست آمد (شکل ۳ b). این کاهش در رشد می‌تواند به دلیل کاهش سطح برگ و در نتیجه از بین رفتن سطح فتوسنتز کننده گیاه باشد (Shannon, 1986; Garg et al., 2001). همچنین کاهش سطح فتوسنتز کننده، موجب کاهش وزن تر گیاهچه و زیست توده گیاه نیز می‌شود (Kerepesi et al., 2000; Parida et al., 2005).

در این آزمایش، با افزایش میزان شوری از صفر به ۱۸۰ میلی‌مولار، علاوه بر سه صفت فوق، میزان کلروفیل کل ژنوتیپها نیز کاهش معنی داری یافت. محتوای کلروفیل کل در ژنوتیپ ۷۵۳ به صورت معنی داری کمتر از

محافظة کننده از آنزیمها و ساختارهای درون سلولی عمل می کند و در مقابله با رادیکالهای آزاد نیز نقش دارد و همچنین در شرایط تنش، به عنوان یک ترکیب ذخیره ای برای کربن و نیتروژن محسوب می شود (Lutts *et al.*, 1996).

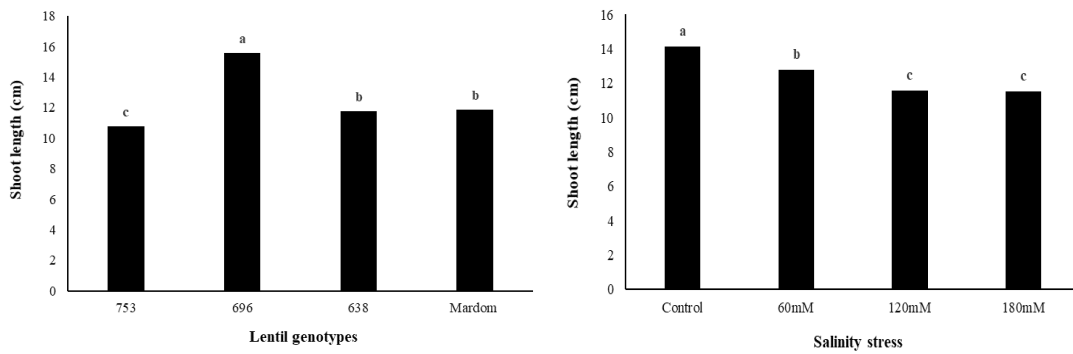
۶b). در شرایط تنش شوری، یکی از راهکارهای اصلی گیاه برای تعدیل تنش اسمزی، تولید مواد متابولیکی آلی از جمله پرولین، بتائین و ساکارز در گیاه می باشد (Flowers *et al.*, 1977; Greenway *et al.*, 1980) پرولین علاوه بر نقش اسمزی، به عنوان یک عامل



شکل ۲- تأثیر سطوح مختلف تنش شوری بر وزن تر ساقه (a)، ریشه (b) و گیاهچه (c) در ژنوتیپهای مورد مطالعه.

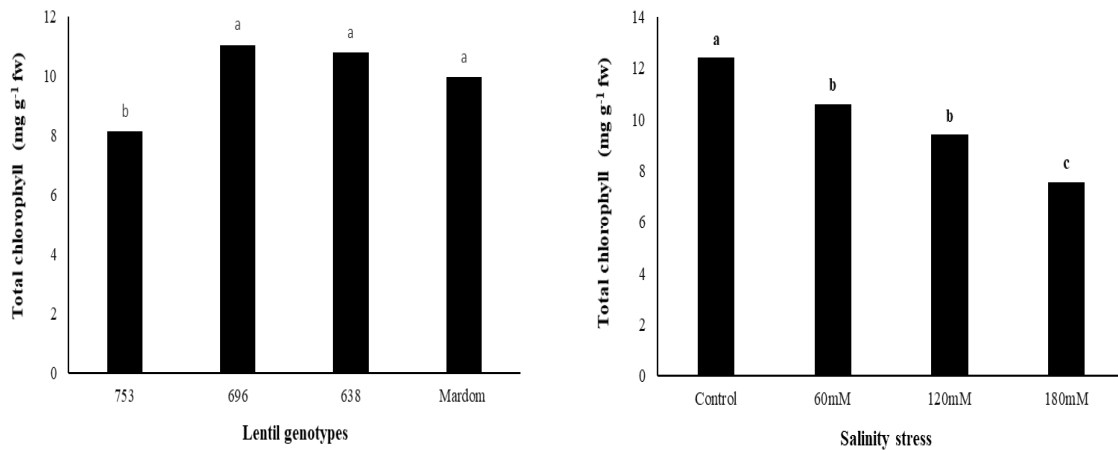
در هر نمودار، ستون‌های دارای حروف مشابه، اختلاف آماری معنی‌داری ندارند.

Figure 2. Effect of different level of salinity stress on shoot (a), root (b) and seedling (c) fresh weights in studied genotypes. In each graph, columns with similar letters are not statistically significant different.



شکل ۳- تأثیر سطوح مختلف تنش شوری و ژنوتیپ بر طول ساقه گیاه. در هر نمودار، ستون‌هایی با حروف مشابه اختلاف آماری معنی‌داری ندارند.

Figure 3. Effect of different levels of salinity stress and genotypes on shoot length. In each graph, columns with similar letters are not statistically significant different.



شکل ۴- تأثیر سطوح مختلف تنش شوری و ژنوتیپ بر محتوای کل کلروفیل. در هر نمودار، ستون‌هایی با حروف مشابه، اختلاف آماری معنی‌داری ندارند.

Figure 4. Effect of different levels of salinity stress and genotypes on total Chlorophyll content. In each graph, columns with similar letters are not statistically significant different.

در سطوح مختلف فیزیولوژیک و مولکولی نیاز است تا بتوان با اطمینان بیشتری اقدام به انتخاب ژنوتیپ‌های برتر نمود. به‌طور کلی نتایج این پروژه نشان می‌دهد که ژنوتیپ‌های موجود در بانک‌های بذری کشور می‌توانند پتانسیل خوبی برای ارزیابی و شناسایی ژنوتیپ‌های مقاوم به تنش‌های مختلف از جمله تنش شوری باشند. با ارزیابی‌های بیشتر و دقیق‌تر بر روی این ژنوتیپ‌ها می‌توان ژنوتیپ‌های مقاومی را یافت که در کارهای اصلاحی و تولید ارقام با عملکرد بیشتر در شرایط تنش بسیار مفید باشد.

سپاسگزاری

با سپاس فراوان از آقای مهندس محمد انتصاری، آقای

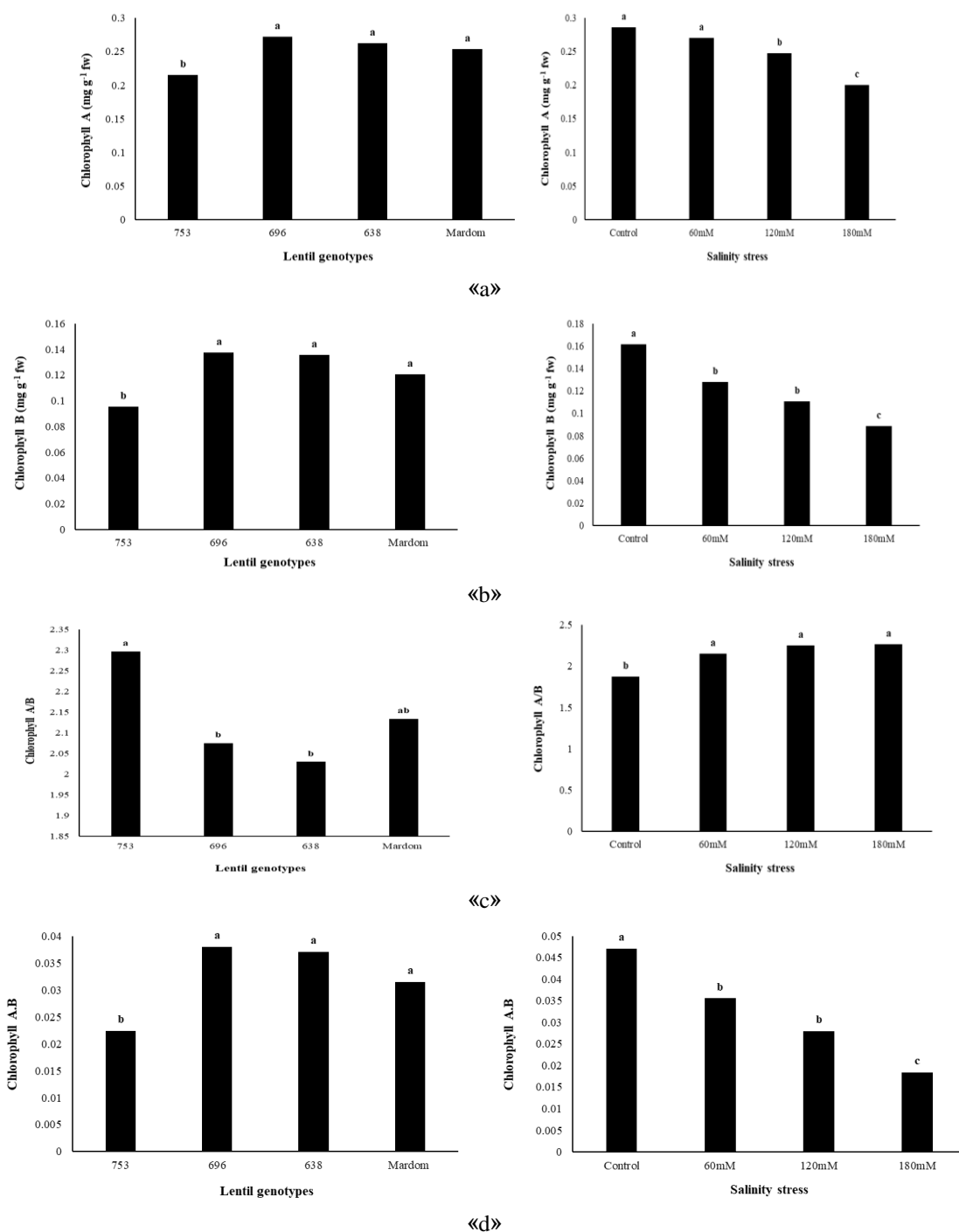
در آزمایش اول گفته شد که کاهش رشد گیاهان تحت تنش شوری، احتمالاً به دلیل اختلال در فرآیندهای فیزیولوژیک باشد که این فرضیه در آزمایش دوم بررسی و تایید شد.

نتیجه‌گیری کلی

رقم مردم، یکی از ارقام مورد کشت عدس توسط زارعین می‌باشد که در این پروژه، به‌عنوان معیاری برای سنجش ژنوتیپ‌ها استفاده شد. با توجه به نتایج این پژوهش، بسیاری از ژنوتیپ‌ها در سطوح مختلف تنش، خسارت کمتری در صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک نسبت به این رقم نشان دادند. البته جهت انتخاب مطمئن ژنوتیپ‌های مقاوم به تنش شوری، به مطالعات بیشتر

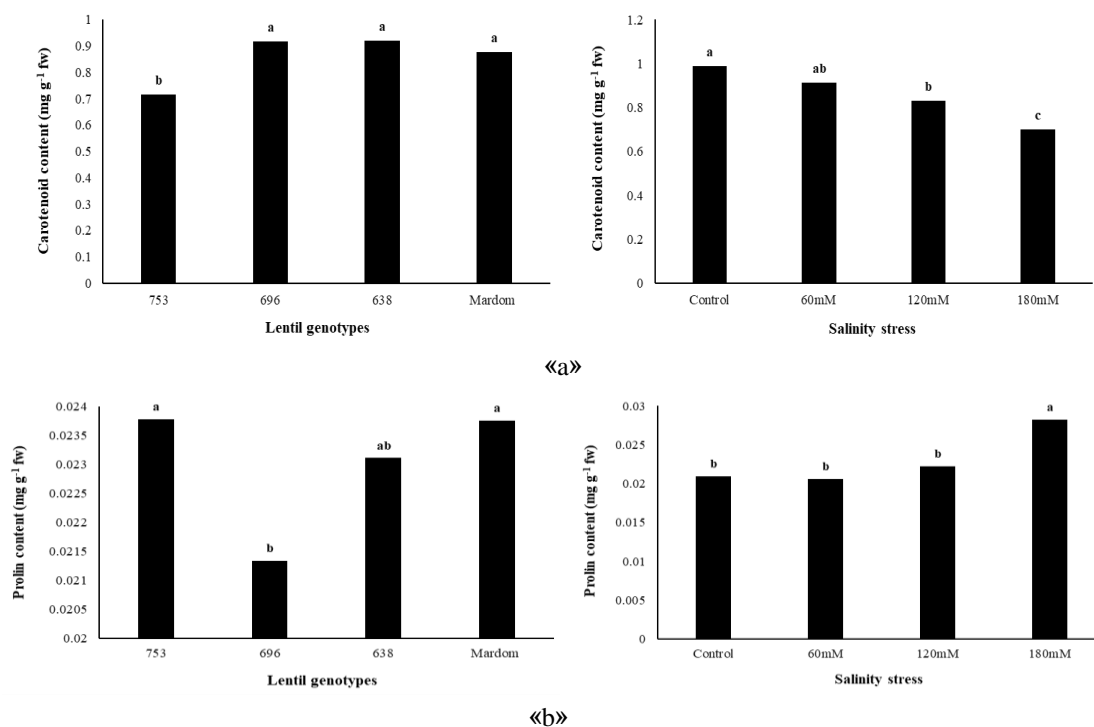
دشتکی، آقای صادقی و آقای محمدی که در انجام این پروژه ما را یاری کردند.

مهندس میثم ملکپور و آقای مهندس حمید فضلی و مسئولین بانک زن به ویژه جناب آقای قدردان، آقای



شکل ۵- تأثیر سطوح مختلف تنش شوری و ژنوتیپ بر میزان کلروفیل A (a)، B (b)، A/B (c) و A.B (d). در هر نمودار، ستون‌هایی با حروف مشابه، اختلاف آماری معنی‌داری ندارند.

Figure 5. Effect of different levels of salinity stress and genotypes on chlorophyll a (a), chlorophyll b (b), chlorophyll a/b (c) and chlorophyll a.b (d) contents. In each graph, columns with similar letters are not statistically significant different.



شکل ۶- تأثیر سطوح مختلف شوری و ژنوتیپ بر محتوای کارتنوئید (a) و پرولین (b). در هر نمودار، ستون‌هایی با حروف مشابه، اختلاف آماری معنی‌داری ندارند.

Figure 6. Effect of different levels of salinity stress and genotypes on carotenoid (a) and prolin (b) contents. In each graph, columns with similar letters are not statistically significant different.

REFERENCES

1. Abdul-Baki, A. A. & Anderson, J. D. (1973). Vigor determination in soybean seed by multiple criteria. *Crop Science*, 13(6), 630-633.
2. Abdul-Jaleel C., Gopi R., Sankar B., Manivannan P., Kishorekumar A., Sridharan R. & Panneerselvam R. (2007). Studies on germination, seedling vigour, lipid peroxidation and proline metabolism in *Catharanthus roseus* seedlings under salt stress. *South African Journal of Botany*, 73(2), 190-195.
3. Ahmad S., Wahid A., & Rasul E. (2005). Comparative morphological and physiological responses of green gram genotypes to salinity applied at different growth stages. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 46, 135-142.
4. Arnon, A. N. (1967). Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal*, 23, 112-121
5. Ashraf, M. & Harris, P. (2004). Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. *Plant Science*, 166(1), 3-16.
6. Ashraf, M. & Ali. Q. (2008). Relative membrane permeability and activities of some antioxidant enzymes as the key determinants of salt tolerance in canola (*Brassica napus* L.). *Environmental and Experimental Botany*, 63, 266-273.
7. Ashraf, M. (2001). Relationships between growth and gas exchange characteristics in some salt-tolerant amphidiploid " *Brassicai* " species in relation to their diploid parents. *Environmental and Experimental Botany*, 45(2), 155-163.
8. Ates, E. & Tekeli, A. (2007). Salinity tolerance of Persian clover (*Trifolium resupinatum* Var. *majus* Boiss.) lines at germination and seedling stage. *World Journal of Agricultural Sciences*. 3(1), 71-79.
9. Bates, L. S., Waldern, R. P. & Tear, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil*, 39, 205-207.
10. Ebrahimi, M., Ricki Maryshany, A. & Shirmohammadi, E. (2016). Effect of extract of fast growing species *Trifolium alexandrinum* L. on germination, photosynthetic pigments and nutrient ptake of *Prosopis cineraria* (L.) Druce. *ECOPERSIA*, 4(3), 1491-1506.

11. Flowers, T. J., Troke P. F. & Yeo A. R. (1977). The mechanism of salt tolerance in halophytes. *Annual Review of Plant Physiology*, 28, 89-121.
12. Garg, B., Kathju, S. & Burman, U. (2001). Influence of water stress on water relations, photosynthetic parameters and nitrogen metabolism of moth bean genotypes. *Biologia Plantarum*, 44(2), 289-292.
13. Greenway, H. & Munns R. (1980). Mechanism of salt tolerance of nonhalophytes. *Plant Physiology*, 31, 149-190.
14. Havaux, M. (1998). Carotenoids as membrane stabilizers in chloroplasts. *Trends Plant Sciences*, 3, 147-151.
15. Hester, M. W., Mendelssohn, I. A. & McKee, K. L. (2001). Species and population variation to salinity stress in " *Panicum hemitomon*", " *Spartina patens*", and " *Spartina alterniflora*": morphological and physiological constraints. *Environmental and Experimental Botany*, 46(3), 277-297.
16. Huang, Z., Chao-xing, H., Zhong-qun, H., Zhi-rong, Z. & Zhi-bin Z. (2010). The effects of arbuscular mycorrhizal fungi on reactive oxyradical scavenging system of tomato under salt tolerance. *Agricultural Sciences in China*, 9(8), 1150-1159.
17. Katerji, N., van Hoorn, J. W., Hamdyc, A., Mastrorillid, M., Oweis, T. & Erskine, W. (2001). Response of two varieties of lentil to soil salinity. *Agricultural Water Management*, 47(3), 179-190.
18. Kerepesi, H. & Galiba, G. (2000). Osmotic and salt stress induced alteration in soluble carbohydrate content in wheat seedling. *Crop Science*, 40, 482-487.
19. Lutts, S., Kinet, J. M. & Bouharmont, J. (1996). Effects of salt stress on growth, mineral nutrition and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Plant Growth Regulation*, 19, 207-218.
20. Manchanda, G. & Garg, N. (2008). Salinity and its effects on the functional biology of legumes. *Acta Physiologia Plantarum*, 30, 595-618.
21. Mauromicale, G. & Licandro, P. (2002). Salinity and temperature effects on germination, emergence and seedling growth of global Artichoke. *Agronomie*, 22, 443-450.
22. Mirmohammadyi S. A. M. & Ghareyazie, B. (2002). Physiological aspects and breeding for salinity stress in plants. *Iran, Isfahan University of Technology Press*. 274p.
23. Mudgal, V., Madaan, N., Mudgal A. & Mishra S. (2009). Changes in growth and metabolic profile of Chickpea under salt stress. *Journal of Applied Biosciences*, 23, 1436- 1446.
24. Parida, A. K. & Das, A. B. (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60, 324-349.
25. Patel, N. T., Vaghela, P. M., Patel, A. D. & Pandey, A. N. (2011). Implications of calcium nutrition on the response of " *Caesalpinia crista*" (*Fabaceae*) to soil salinity. *Acta Ecologica Sinica*, 31(1), 24-30.
26. Sidari, M., Santonoceto, C., Anastasi, U., Preiti, G. & Muscolo, A. (2008). Variations in four genotypes of lentil under NaCl-salinity stress. *American journal of Agricultural and Biological*, 3(1), 410-416.