

تأثیر تنش خشکی بر ژنوتیپ‌های عدس از طریق بررسی برخی صفات مورفوفیزیولوژی

نادر اشرفی^۱، حسین شهبازی^{۲*}، حسین مصطفایی^۳، محمد ضعیفی زاده^۴

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، واحد اردبیل، دانشگاه آزاد اسلامی، اردبیل، ایران

۲- گروه اصلاح نباتات، واحد اردبیل، دانشگاه آزاد اسلامی، اردبیل، ایران

۳- مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی اردبیل، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اردبیل، ایران

۴- گروه زیست شناسی، واحد اردبیل، دانشگاه آزاد اسلامی، اردبیل، ایران

چکیده

به منظور بررسی تحمل خشکی در لاین‌های پیشرفته عدس از طریق صفات مورفوفیزیولوژی، ۱۰ لاین عدس در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در دو محیط بدون تنش و تنش خشکی در سال ۹۶-۱۳۹۵ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی اردبیل مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که اختلاف بین ژنوتیپ‌ها از نظر تمام صفات به جز محتوی نسبی آب برگ و فعالیت آنزیم کاتالاز (در شرایط بدون تنش) معنی‌دار بود. در شرایط بدون تنش لاین ILL-10088 با ۱۹۰۵ کیلوگرم در هکتار و تحت تنش خشکی، لاین‌های ILL-10088، ILL-10053 و بیله سوار (ILL-6037) به ترتیب با ۱۲۴۴، ۱۱۵۳ و ۱۱۰۷ کیلوگرم در هکتار بیشترین عملکرد دانه را داشتند. با توجه به شاخص STI، لاین‌های ILL-10088، بیله سوار، ILL-10017 و ILL-468 متحمل‌ترین ژنوتیپ‌ها بودند. در شرایط تنش خشکی، عملکرد دانه با فعالیت کاتالاز، محتوی نسبی آب برگ و پایداری غشای سلولی همبستگی مثبت و در شرایط بدون تنش، با محتوی نسبی آب برگ، پایداری غشای سلولی، تعداد غلاف پر در بوته و وزن هزار دانه، ارتباط مثبت نشان داد. در تجزیه رگرسیون به روش گام‌به‌گام، در شرایط تنش خشکی، فقط محتوی نسبی آب برگ و در شرایط بدون تنش پایداری غشای سلولی و محتوی نسبی آب برگ در مدل باقی ماندند. با استفاده از تجزیه خوشه‌ای، ژنوتیپ‌های متحمل از ژنوتیپ‌های حساس تفکیک شدند. با توجه به وجود تنوع ژنتیکی، سهولت اندازه‌گیری و همبستگی قوی با عملکرد دانه عدس، صفات محتوی نسبی آب برگ و پایداری غشای سلولی به عنوان ابزار غیر مستقیم برای گزینش تحمل خشکی در عدس شناسایی شدند.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، پایداری غشای سلولی، خشکی و محتوی نسبی آب برگ

* نگارنده مسئول: h.shahbazi@iauardabil.ac.ir تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۰/۰۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۲/۳۱

مقدمه

حبوبات با داشتن پروتئین بالا، نقش مهمی در تامین پروتئین و انرژی مورد نیاز انسان دارند و پس از غلات دومین منبع غذایی بشر محسوب می‌شوند (کوچکی و بنایان اول، ۱۳۸۸). عدس (*Lens culinaris Medik*) به عنوان یکی از مهمترین گیاهان خانواده حبوبات، در ایران اغلب به صورت دیم کشت می‌شود (پارسا و باقری، ۱۳۹۲). در مناطق خشک و نیمه خشک علاوه بر میزان کم بارندگی، توزیع بارندگی و پراکنش آن از سالی به سال دیگر متغیر بوده و تحت چنین شرایطی عملکرد دانه در سال‌های متوالی نوسانات فراوانی نشان می‌دهد. به همین دلیل اصلاح ارقام از طریق انتخاب فقط برای عملکرد دانه، به علت وراثت پذیری پایین و اثر متقابل ژنوتیپ × محیط بالا، چندان موفقیت‌آمیز نیست (Richards et al., 2001). به نژادگرها و فیزیولوژیست‌های گیاهی بر این عقیده‌اند که برای بازدهی بیشتر در اصلاح ارقام سازگار مناطق با محدودیت منابع آب، شناخت صفات زراعی موثر بر عملکرد دانه در شرایط تنش از اهمیت بالایی برخوردار خواهد بود. بنابراین گزینش غیرمستقیم براساس صفات فیزیولوژی به‌عنوان مکملی برای گزینش ارقام با پتانسیل عملکرد بالا پیشنهاد شده است (Singh, 2000). از دیدگاه به نژادی، هر صفت فیزیولوژی می‌بایست تنوع ژنتیکی وسیع، همبستگی ژنتیکی قوی با عملکرد دانه و وراثت پذیری بالاتری نسبت به عملکرد داشته (Jackson et al., 1996) و ارزیابی آن سریع، آسان و ارزان باشد (Araus et

al., 2001). تنش خشکی با کاهش پتانسیل آب در گیاه و محتوی نسبی آب در برگ، بسته‌شدن روزنه‌ها را تحریک کرده و به دنبال بسته‌شدن روزنه‌ها، محتوی دی اکسیدکربن داخل برگ تقلیل یافته و با تقویت انتقال الکترون به اکسیژن باعث تولید گونه‌های فعال اکسیژن^۱ می‌گردد (Reddy et al., 2004). این گونه‌های سمی اکسیژن بسیار فعال بوده و متابولیسم طبیعی سلولی را از طریق اکسایش برهم می‌زنند. گیاهان عالی دارای سیستم‌های زدایش اکسیژن فعال شامل آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، اسکوربات پراکسیداز (APX)، کاتالاز (CAT) و گلوتاتیون ردوکتاز (GR) می‌باشند (Armand et al., 2016). این سیستم‌ها غشاها را در مقابل اثرات سوء اکسیژن فعال محافظت کرده و بنابراین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و پایداری غشای سلولی در گیاهان تحت تنش با تحمل خشکی همبستگی نشان می‌دهند (Kocheva et al., Rahbarian et al., 2012). با وجود مطالعات فراوان در خصوص نقش صفات فیزیولوژی در تحمل تنش خشکی در گیاهان زراعی، مطالعاتی از این دست در روی عدس به ویژه در ایران محدود است و این تحقیق با هدف تعیین ژنوتیپ‌های متحمل به تنش خشکی و ارتباط صفات مورفوفیزیولوژی با تحمل به تنش خشکی، طراحی و اجرا گردید.

مواد و روش

در این آزمایش ۱۰ لاین پیشرفته عدس (جدول ۱) از ایستگاه تحقیقات کشاورزی اردبیل

¹ ROS (Reactive Oxygen Species)

اندازه گیری صفات

عملکرد، صفات مورفولوژی و شاخص تحمل تنش خشکی: برای اندازه گیری صفات مورفولوژی، ۱۰ بوته از هر کرت به طور تصادفی انتخاب و تعداد غلاف پر و خالی در بوته و ارتفاع بوته بر روی آن‌ها اندازه گیری شد. عملکرد دانه از ۳ ردیف وسطی به مساحت ۳ متر مربع برداشت و به کیلوگرم در هکتار تبدیل شد. شاخص تحمل تنش خشکی $(STI = \frac{(Y_p)(Y_s)}{(\bar{Y}_p)^2})$ به روش فرناندز (۱۹۹۲) محاسبه گردید، که در آن Y_p و Y_s بترتیب عبارتند از عملکرد دانه رقم در شرایط بدون تنش و تنش خشکی و \bar{Y}_p عبارتست از میانگین عملکرد دانه کلیه ارقام در شرایط بدون تنش.

محتوی نسبی آب برگ (RWC^۲): برگ ۱۰ بوته جدا و سریعاً توزین گردید (FW) سپس برای رسیدن به آماس (تورژانس) کامل، به مدت ۱۲ ساعت در داخل آب مقطر در دمای ۴ درجه سانتی گراد در تاریکی قرار گرفته و بعد از خشک کردن توسط دستمال کاغذی مجدد توزین شد (TW). سپس نمونه‌ها در آون در دمای ۸۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک شده و توزین گردیدند (DW). محتوی نسبی آب برگ با فرمول بویر و همکاران (۲۰۰۸) محاسبه گردید.

$$RWC\% = \frac{(FW - DW)}{TW - DW} \times 100$$

دریافت و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در ۳ تکرار تحت شرایط تنش خشکی و بدون تنش در سال زراعی ۹۶-۱۳۹۵ در ایستگاه تحقیقات کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل کشت گردیدند. پس از عملیات آماده سازی زمین (شخم و دیسک)، هر ژنوتیپ در ۵ ردیف به فاصله ۳۰ سانتیمتر به طول ۵ متر از همدیگر توسط دست، با تراکم ۱۱۰ بوته در متر مربع کشت شد. بذریاری در دوم اردیبهشت بعد از ضد عفونی با قارچ کش سیدجیل^۱ (۱/۵ گرم به ازای هر کیلو بذر) در عمق ۵ سانتی متری انجام شد. توصیه کودی بر اساس نتایج آزمون تجزیه خاک انجام گرفت (جدول ۲). کود فسفات به میزان ۵۰ کیلوگرم P₂O₅ از منبع تریپل سوپر فسفات در پاییز سال قبل و کود نیتروژن به میزان ۶۰ کیلوگرم در هکتار از منبع اوره هم‌زمان با کاشت اعمال گردید. آبیاری محیط بدون تنش با استفاده از اندازه گیری پتانسیل آب خاک توسط تانسیومتر و رسیدن به نقطه ۶۰ درصد رطوبت قابل استفاده انجام گرفت که با توجه به بافت خاک لوم رس، پتانسیل ۱- اتمسفر بود (Ley et al., 1994). آبیاری در ۳ مرحله شاخه دهی، گلدهی و پر شدن دانه صورت گرفت و در هر آبیاری ۶۰ میلی‌متر (معادل ۶۰ لیتر/متر مربع) آب اعمال گردید. محیط تنش‌دار به صورت دیم بود و رشد بوته‌ها با استفاده از بارندگی‌های بهاره و رطوبت ذخیره شده در خاک انجام گرفت (جدول ۳).

² Relative Water Content

¹ Seed Jil

جدول ۱- لاین‌های پیشرفته عدس مورد استفاده در این بررسی

ردیف	ژنوتیپ یا لاین	ردیف	ژنوتیپ یا لاین
۱	ILL-1073	۶	ILL-10312
۲	ILL-10088	۷	ILL-10053
۳	ILL-10281	۸	ILL-6037 (رقم بیله سوار)
۴	ILL-468	۹	ILL-10170
۵	ILL-10017	۱۰	ILL-10028

جدول ۲- خواص فیزیکوشیمیایی نمونه خاک مزرعه مورد آزمایش

بافت	شن (%)	سیلت (%)	رس (%)	آهک (%)	شوری (دسی زیمنس بر متر)
لوم رس	۳۱	۳۰	۳۹	۵	۲/۰۴
اسیدیته	پتاسیم قابل جذب (قسمت در میلیون)	فسفر قابل جذب (قسمت در میلیون)	نیتروژن (قسمت در میلیون)	کربن آلی (%)	درصد اشباع
۷/۷۶	۵۹۴	۲/۲	۰/۰۸	۰/۸۵۸	۵۳

جدول ۳- اطلاعات آب و هوایی محل اجرای آزمایش در سال زراعی ۱۳۹۴-۹۵

ماه- سال	جمع بارندگی	میانگین دما	جمع ساعات آفتابی	حداکثر سرعت باد	متوسط رطوبت
مهر ۱۳۹۴	۵۸/۳	۱۳/۳	۱۶۶/۷	۱۹	۷۲
آبان ۱۳۹۴	۴۶/۶	۷/۶	۱۳۱/۸	۲۲	۷۶
آذر ۱۳۹۴	۱۳/۹	۲/۵	۱۸۳/۵	۱۵	۶۸
دی ۱۳۹۴	۶/۴	۳/۴	۱۹۶/۵	۲۷	۵۹
بهمن ۱۳۹۴	۲۴/۹	۰/۴	۱۷۳	۱۷	۷۴
اسفند ۱۳۹۴	۳۶/۷	۶/۹	۱۸۰/۲	۲۲	۶۵
فروردین ۱۳۹۵	۵۹/۶	۸	۱۵۷/۹	۲۰	۷۲
اردیبهشت ۱۳۹۵	۲۹/۷	۱۵	۱۹۸/۴	۱۸	۶۶
خرداد ۱۳۹۵	۱۴/۲	۱۷	۲۷۳/۸	۱۵	۶۴
تیر ۱۳۹۵	۲/۲	۱۹/۶	۳۱۳/۳	۱۵	۶۳

دیونیزه، ۱۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه به هر لوله آزمایش اضافه و لوله آزمایشها به مدت ۳۰ دقیقه تحت حرارت ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند.

پایداری غشای سلولی^۱(MTS): برگ‌ها به قطعات ۱ سانتی‌متری بریده و ۰/۵ گرم در هر لوله آزمایش ریخته شد. بعد از ۳ بار شستشو با آب

¹ Membrane Termal Stability

روشن کردن لامپ فلورسنت شروع گردید. محلول واکنش بمدت ۱۰ دقیقه زیر دو لامپ فلورسنت ۱۵ وات با ارتفاع ۲۰ سانتی متر قرار داده شد و با خاموش کردن لامپ‌ها واکنش خاتمه یافت. جذب در طول موج ۵۶۰ نانومتر اندازه گیری شد. به یکی از ظروف آنزیمی اضافه نگردید و در نتیجه حداکثر رنگ ایجاد گردید. یکی از ظروف نیز تحت تابش نور قرار نگرفته و رنگی ایجاد نشده و به عنوان بلانک در نظر گرفته شد. یک واحد فعالیت SOD بعنوان مقدار آنزیم لازم برای ۵۰٪ ممانعت از احیاء فتو شیمیایی نیترو بلو تترازولیوم کلراید در نظر گرفته شد.

$Unit\ SOD = \frac{V}{v}$ که در آن، V عبارتست از میزان جذب در واکنش بدون آنزیم (حداکثر واکنش) و v میزان جذب در واکنش حاوی آنزیم می‌باشد (آسادا و همکاران، ۱۹۷۴). فعالیت آنزیم کاتالاز به روش چانس و مهلی (۱۹۵۵) اندازه گیری شد. ۳ میلی لیتر محلول واکنش کاتالاز شامل ۱۵ میلی مول H_2O_2 ، ۵۰ میلی مول بافر فسفات (pH= ۷) و ۱۰۰ میکرو لیتر آنزیم استخراجی بود. واکنش با افزودن آنزیم شروع گردید و کاهش جذب H_2O_2 در طی ۱ دقیقه در ۲۴۰ نانومتر ثبت گردید. یک واحد کاتالاز به- عنوان مقدار آنزیم لازم برای اکسید کردن ۱ میلی مول H_2O_2 در دقیقه در نظر گرفته شد. فعالیت آنزیم به صورت فعالیت ویژه (میلی گرم وزن تر برگ/ واحد آنزیم) بیان شد. برای تبدیل میزان جذب به مقدار H_2O_2 محلول‌های ۰، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۳۰ میلی مولار H_2O_2 با ۳ تکرار تهیه گردیده و با

سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۰ درجه سانتی گراد نگهداری شدند تا یون‌ها به محلول نشت کنند. بعد از رسیدن دمای نمونه‌ها به دمای محیط، اندازه گیری هدایت الکتریکی انجام گردید (T_1). سپس نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد نگهداری شدند تا یون‌ها آزاد شوند و بعد از رسیدن دمای نمونه‌ها به دمای محیط هدایت الکتریکی نمونه‌ها اندازه گیری شد (T_2). میزان پایداری غشاء به روش بلام و ابرکون (۱۹۸۱) محاسبه گردید.

$$MTS = 1 - \frac{T_1}{T_2}$$

استخراج و اندازه گیری آنزیم های آنزیمی اکسیدان: استخراج آنزیمی به روش سایر ام و همکاران (۱۹۹۸) انجام گردید، ابتدا بافت برگ داخل هاون حاوی ازت مایع پودر گردیده و سپس ۰/۵ گرم پودر در ۱۰ میلی لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار سرد (pH = ۷/۵) حاوی ۰/۵ میلی مول EDTA به هم زده شد. مخلوط فوق صاف شده و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴°C با نیروی ۲۰۰۰۰ g سانتریفوژ گردید (تمام مراحل در زیر دمای ۴ درجه سانتی گراد انجام شد). قسمت مایع شفاف رویی برای اندازه گیری فعالیت آنزیم‌ها مورد استفاده قرار گرفت. فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز به روش گیانوپولوتیس و رایز (۱۹۷۷) اندازه گیری شد. سه میلی لیتر محلول واکنش شامل ۱۳ میلی مول متیونین، ۷۵ میکرو مول نیتروبلو تترازولیوم کلراید (NBT)، ۲ میکرو مول ربیوفلاوین، ۵۰ میلی مول بافر فسفات (pH= ۷/۸) و ۵۰ میکرو لیتر آنزیم استخراجی بود. واکنش با

از نظر تمام صفات به جز فعالیت آنزیم کاتالاز و محتوی نسبی آب برگ (در شرایط بدون تنش) معنی‌دار بود که نشانگر وجود تنوع کافی بین ژنوتیپ‌هاست که در تطابق با سایر تحقیقات است (Salehi *et al.*, 2008; Biju *et al.*, 2018; Morgil *et al.*, 2017). ضریب تغییرات در پایداری غشاء سلولی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بالا بود که می‌تواند ریشه در ماهیت صفات فوق داشته باشد.

نتایج مقایسه میانگین صفات نشان داد که در شرایط بدون تنش ژنوتیپ ۲ (ILL-10088) با عملکرد ۱۹۰۵ کیلوگرم در هکتار دارای بیشترین و تحت تنش خشکی، ژنوتیپ‌های ۲ (ILL-10088)، ۷ (ILL-10053) و ۸ (بیله سوار) به ترتیب با ۱۲۴۴، ۱۱۵۳ و ۱۱۰۷ کیلوگرم در هکتار بیشترین عملکرد دانه را داشتند (جدول ۵). با توجه به مقادیر STI، ژنوتیپ‌های ۲، ۸، ۵ متحمل‌ترین، ژنوتیپ‌های ۴، ۱ و ۷ نسبتاً متحمل و ژنوتیپ‌های ۶، ۱۰، ۳ و ۹ جزو ژنوتیپ‌های حساس طبقه‌بندی شدند. در شرایط بدون تنش، لاین‌های ۲ و ۸ و تحت تنش خشکی لاین‌های متحمل ۲، ۴ و ۸ دارای بیشترین وزن هزار دانه بودند. وزن هزار دانه از مهمترین اجزای عملکرد عدس محسوب می‌شود و نسبت به سایر اجزای عملکرد کمترین حساسیت را به تنش خشکی دارد (صالحی و همکاران، ۲۰۰۸).

در شرایط بدون تنش، کمترین تعداد غلاف خالی مربوط به ژنوتیپ‌های ۱۰، ۳، ۷، ۹ و ۱ و تحت تنش، ژنوتیپ‌های ۳، ۹، ۱۰ و ۵ کمترین غلاف

اندازه‌گیری جذب در هر غلظت محلول، معادله خط رگرسیون زیر برای محاسبه غلظت H_2O_2 استفاده شد:

$$H_2O_2(mMOL) = 0.024Abs + 0.011$$

$$R^2 = 0.998$$

تجزیه و تحلیل داده‌ها: پس از آزمون نرمال بودن داده‌ها با آزمون کولموگروف-اسمیرنوف^۱، تجزیه واریانس ساده داده‌ها در دو محیط بدون تنش و تنش خشکی انجام گرفت. مقایسات میانگین با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. برای بررسی ارتباط صفات از ضرایب همبستگی ساده و برای تعیین موثرترین صفات در تعیین عملکرد، از رگرسیون گام به گام استفاده گردید. برای گروه بندی ژنوتیپ‌ها از روش تجزیه به مولفه‌های اصلی و تجزیه خوشه‌ای با استفاده از فاصله اقلیدسی و روش وارد^۲ استفاده گردید. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزارهای SPSS و SAS9.2 استفاده شد.

نتایج

نتایج نشان داد که اثر تنش خشکی بر روی عملکرد دانه، محتوی نسبی آب برگ و فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT در سطح احتمال ۱٪ و بر روی تعداد غلاف خالی در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار بود (جدول ۴). تنش خشکی، عملکرد دانه و محتوی نسبی آب برگ را به ترتیب ۱۵٪ و ۴٪ کاهش و تعداد غلاف خالی و فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT را به ترتیب ۱۰، ۲۹ و ۴۹٪ افزایش داد (جدول ۵). اختلاف بین ژنوتیپ‌ها

² Ward

¹ Kolmogorov-Smirnov

اختلاف معنی داری بین ژنوتیپ‌ها از لحاظ فعالیت کاتالاز وجود نداشت، در حالیکه تحت تنش خشکی ژنوتیپ‌های ۷، ۱۰، ۸، ۱، ۲، ۵ و ۴ دارای بیشترین فعالیت بودند. از آنجائیکه تظاهر ژن کاتالاز تحت تاثیر تجمع پراکسید هیدروژن ناشی از تنش خشکی قرار دارد (Luna et al., 2004)، بنابراین عدم وجود اختلاف بین ژنوتیپ‌ها تحت شرایط بدون تنش طبیعی به نظر می‌رسد. از لحاظ فعالیت SOD در شرایط بدون تنش ژنوتیپ‌های ۱۰، ۱ و ۷ و تحت تنش خشکی ژنوتیپ ۲ (متحمل‌ترین ژنوتیپ) دارای بیشترین فعالیت بود و ژنوتیپ‌های ۱۰، ۶، ۷ و ۱ در رتبه بعدی قرار گرفتند. گونه‌های فعال اکسیژن هم در شرایط تنش دار و هم بدون تنش، هرچاییکه زنجیره انتقال الکترون حضور دارد، مانند میتوکندری‌ها، کلروپلاست‌ها و پراوکسی‌زوم‌ها تولید می‌شوند و آنزیم SOD اولین خط دفاعی در برابر این مواد می‌باشد (Reddy et al., 2004).

خالی را داشتند. در شرایط بدون تنش بیشترین تعداد غلاف پر مربوط به ژنوتیپ‌های متحمل ۴، ۵، ۱ و ۲ بود. تحت تنش ژنوتیپ متحمل ۴ بیشترین تعداد غلاف پر را به خود اختصاص داد. تعداد غلاف در بوته و تعداد دانه در غلاف از صفات تعیین کننده عملکرد دانه محسوب می‌شوند. هرچه تعداد غلاف در بوته و تعداد دانه در غلاف بیشتر باشد مخزن بزرگتری برای مواد فتوسنتز تولید شده توسط گیاه ایجاد می‌شود که در نهایت منجر به افزایش عملکرد می‌گردد (رمرودی و همکاران، ۱۳۸۷). در مورد ارتفاع بوته در شرایط بدون تنش، ژنوتیپ‌های ۴، ۸ و ۹ و تحت تنش ژنوتیپ‌های متحمل ۴ و ۸ بیشترین ارتفاع را به خود اختصاص دادند. در شرایط بدون تنش ژنوتیپ ۲ (متحمل‌ترین ژنوتیپ) دارای پایدارترین غشای سلولی بود. تحت تنش خشکی ژنوتیپ‌های ۲، ۸، ۳ و ۵ (که به جز ۳ همگی متحمل بودند) دارای پایدارترین غشای سلولی بودند. نتایج مشابهی توسط میثرا و همکاران (۲۰۱۶) بدست آمد. در شرایط بدون تنش

جدول ۴- تجزیه واریانس ساده صفات در دو محیط بدون تنش و با تنش خشکی

میانگین مربعات (MS)											
محیط	منابع تغییر	درجه آزادی	وزن هزار دانه	تعداد غلاف خالی در بوته	تعداد غلاف پر در بوته	ارتفاع بوته	عملکرد دانه	پایداری غشا سلولی	فعالیت کاتالاز	فعالیت سوپراکسید	محتوی نسبی آب برگ
بدون تنش	تکرار	۲	۰/۵۲ ^{ns}	۱۲/۱۴*	۴۰/۹۱*	۲/۶۴ ^{ns}	۶۰۰۴/۶**	۰/۳۶ ^{ns}	۰/۰۰۵ ^{ns}	۲۴۳۵۸۴۷ ^{ns}	۰/۳۴۹ ^{ns}
	ژنوتیپ	۹	۱/۳۳*	۲۴/۲۶**	۱۰۸/۱**	۳۵/۴۳**	۴۴۰۵/۶**	۸۷/۸**	۰/۰۰۸ ^{ns}	۵۲۲۶۸۷۲*	۱/۷۳ ^{ns}
	اشتباه	۱۸	۰/۴۰۵	۳/۲۸	۱۱/۲۱	۷۸۱	۴۸۹/۵۷	۷/۳۱	۰/۰۰۸	۲۱۶۳۶۴۷	۱/۲۷
	CV%	—	۱۲/۴۴	۲۶/۷۰	۲۰/۶	۱۱/۶۴	۲۱/۶۵	۲۵/۹	۵۰/۰۰	۴۵/۳۹	۱/۲۰
با تنش	تکرار	۲	۰/۰۶۴ ^{ns}	۲۱/۷۱*	۴۶/۸۹*	۳/۵۸ ^{ns}	۵۷۵/۹ ^{ns}	۱۶/۷۹ ^{ns}	۰/۰۱۵ ^{ns}	۸۲۲۲۶۱ ^{ns}	۰/۷۲ ^{ns}
	ژنوتیپ	۹	۱/۵۸**	۳۱/۵**	۵۱/۱**	۴۰/۶**	۱۵۸۴/۱**	۱۰۶/۵**	۰/۰۸۱*	۱۵۵۸۴۴۱۳**	۱/۲۹۴*
	اشتباه	۱۸	۰/۱۶۷	۴/۱۷۵	۱۲/۷۳	۲/۳۱	۱۷۴/۹	۲۱/۴۹	۰/۰۲۹	۳۹۷۷۰۲۸	۰/۴۹۴
	CV%	—	۷/۷۶	۲۷/۱۸	۲۰/۲۴	۶/۱۶	۱۵/۱۸	۴۳/۲	۴۶/۰۷	۴۳/۸۱	۰/۷۸

ns، * و ** بترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪.

جدول ۵- مقایسه میانگین ژنوتیپ‌های عدس برای صفات اندازه گیری شده

شاخص تحمل تنش (STI)	محتوی نسبی آب برگ (%)	فعالیت SOD (unit/gr Fw)	فعالیت کاتالاز (unit/gr Fw)	پایداری غشا (%)	ارتفاع بوته (cm)	تعداد غلاف پر در بوته	تعداد غلاف خالی	وزن هزار دانه (g)	عملکرد دانه (kg/ha)	لاین
۰/۷۸۸	۹۳/۸a	۴۷۵۳ab	۰/۸۱a	۹/۵۶b-e	۲۳/۱b	۱۹/۷ab	۵/۳cd	۴۷/۱b	۱۰۰۶b-e	۱
۲/۲۶۷	۹۳/۸a	۲۷۱۰bc	۰/۷۳a	۲۳/۲۰a	۲۰/۹b	۱۹/۸ab	۷/۸bc	۶۳/۸a	۱۹۰۵a	۲
۰/۵۰۵	۹۲/۹a	۳۰۰۲bc	۰/۶۸a	۱۳/۵۰b-e	۲۰/۹b	۹/۹de	۳/۸d	۵۱/۱b	۸۲۷cde	۳
۰/۸۹۱	۹۴/۷a	۳۰۴۶bc	۰/۶۸a	۱۰/۴۵b-e	۲۹/۹a	۲۵/۱a	۱۳/۲a	۴۶/۶b	۱۱۵۷bcd	۴
۱/۰۸	۹۴/۶a	۳۰۶۲bc	۰/۵۰a	۱۱/۰bcd	۲۴/۶b	۲۴/۴a	۷/۷bc	۴۹/۸b	۱۲۰۸bc	۵
۰/۳۸۰	۹۳/۲a	۲۲۸۹bc	۰/۶۱a	۴/۱۲f	۲۱/۹b	۱۱/۲de	۷/۹bc	۴۵/۷b	۶۸۶e	۶
۰/۷۵۶	۹۲/۷a	۴۱۲۹abc	۰/۳۹a	۷/۷۴c-f	۲۲/۲b	۱۴/۸bcd	۵/۲cd	۴۸/۷b	۶۸۸e	۷
۱/۳۴	۹۴/۴a	۱۷۳۴c	۰/۴۶a	۱۲/۶۳bc	۲۹/۸a	۱۷/۸bc	۸/۲b	۶۲/۸a	۱۲۶۹b	۸
۰/۵۷۸	۹۴/۰a	۱۸۰۳c	۰/۳۴a	۶/۳۷def	۲۵/۳ab	۱۱/۸cde	۵/۴cd	۵۰/۰b	۷۹۰de	۹
۰/۴۴۴	۹۴/۱a	۵۸۷۸a	۰/۸۳a	۵/۸۱ef	۲۱/۱b	۸/۲e	۳/۴d	۴۵/۹b	۶۸۷e	۱۰
۰/۹۰۳	۹۳/۹۱a	۳۲۴۰b	۰/۶۰۳b	۱۰/۴۴a	۲۳/۹۶a	۱۶/۳a	۶/۸b	۵۱a	۱۰۲۲a	میانگین
۰/۷۸۸	۹۰/۲bc	۴۵۶۰bc	۱/۵abc	۸/۸۵dc	۲۴/۹b	۲۰/۸۹b	۸/۲b	۴۵/۰d	۸۱۹cd	۱
۲/۲۶۷	۹۱/۴ab	۹۶۶۶a	۱/۳۸abc	۲۰/۳a	۲۲/۸bc	۱۵/۵۵b	۸/۲b	۶۲/۵a	۱۲۴۴a	۲
۰/۵۰۵	۹۰/۱bc	۴۱۳۲bc	۰/۶۱bc	۱۵/۳abc	۲۰/۲c	۱۶/۱۱b	۳/۹d	۴۹/۷cd	۶۳۶d	۳
۰/۸۹۱	۹۰/۹abc	۳۶۲۶bc	۱/۰۲abc	۹/۲۵bcd	۳۱/۴a	۲۷/۵۵a	۱۴/۰a	۶۳/۰a	۸۰۴cd	۴
۱/۰۸	۹۰/۲bc	۱۱۴۹c	۱/۰۴abc	۱۴/۴abc	۲۰/۶c	۱۴/۰۰b	۵/۶cd	۵۶/۷abc	۹۳۴bc	۵
۰/۳۸۰	۸۹/۸c	۵۳۷۵b	۰/۵۲c	۲/۳۷d	۲۳/۸b	۱۶/۲۲b	۶/۴bc	۴۴/۵d	۵۷۸d	۶
۰/۷۵۶	۹۰/۵abc	۴۸۳۰bc	۱/۹۶a	۸/۹۵cd	۲۵/۴b	۱۶/۷۷b	۶/۹bc	۴۳/۹d	۱۱۵۳ab	۷
۱/۳۴	۹۱/۷a	۲۶۷۹bc	۱/۶۱ab	۱۷/۷۴ab	۳۰/۲a	۱۴/۰۰b	۱۲/۰a	۵۸/۷ab	۱۱۰۷ab	۸
۰/۵۷۸	۸۹/۷c	۳۴۰۲bc	۰/۵۱۳c	۵/۰۹d	۲۴/۶b	۱۹/۶۶b	۴/۷cd	۵۱/۷bcd	۷۶۴cd	۹
۰/۴۴۴	۹۰/۴abc	۶۱۰۳b	۱/۶۷a	۴/۹۲d	۲۲/۸bc	۱۵/۵۵b	۵/۳cd	۵۰/۲cd	۶۷۶d	۱۰
۰/۹۰۳	۹۰/۴ab	۴۵۵۲a	۱/۱۸a	۱۰/۷۲a	۲۴/۷a	۱۷/۶a	۷/۵۲a	۵۲/۶a	۸۷۲b	میانگین

میانگین های دارای حروف مشترک در هر ستون اختلاف آماری معنی داری را نشان نمی دهند

دانه و محتوی نسبی آب برگ در تحقیقات بیجو و همکاران (۲۰۱۸) گزارش شده است. بالا بودن محتوای نسبی آب برگ در جمعیت های متحمل به تنش می تواند به دلیل وجود برخی عوامل کم کننده تلفات آب از طریق بستن روزنه ها و یا جذب بیشتر آب به وسیله ریشه باشد (Morgil et al., 2017). ارقام متحمل به خشکی عدس با استفاده از مکانیسم های کارآمد در تحمل به تنش رطوبتی نظیر فعالیت بیشتر آنزیم های آنتی اکسیدان، میزان بالاتری از پرولین نسبت به

از لحاظ محتوی نسبی آب برگ در شرایط بدون تنش تفاوت معنی داری بین ژنوتیپ ها وجود نداشت و تحت تنش، ژنوتیپ های متحمل ۸، ۲، ۴ و ۷ و ژنوتیپ حساس ۱۰ دارای بیشترین مقدار بودند.

نتایج همبستگی صفات نشان داد که در شرایط دارای تنش، عملکرد دانه با فعالیت کاتالاز، محتوی نسبی آب برگ و پایداری غشای سلولی همبستگی مثبت و معنی داری در سطح احتمال ۵٪ دارد (جدول ۶). همبستگی بین عملکرد

می دهند. محتوی نسبی آب برگ با وزن هزار دانه، تعداد غلاف خالی در بوته و پایداری غشای سلولی همبستگی مثبت و معنی داری در سطح ۵٪ نشان داد. همبستگی مثبت بین محتوی نسبی آب برگ و پایداری غشای سیتوپلاسمی در سایر مطالعات نیز مشاهده شده است (Mishra et al., 2018). همبستگی مثبت تعداد غلاف خالی با وزن هزار دانه در سطح ۱۰٪ معنی دار بود (P=0.085). بنابراین می توان نتیجه گرفت که در اثر سقط تعدادی از گلچه ها در اثر تنش خشکی و کاهش اندازه مخزن، وزن دانه ها افزایش می یابد که با نتایج رمودی و همکاران (۱۳۸۷) همخوانی دارد. پایداری غشای سلولی با محتوی نسبی آب برگ مثبت و معنی دار بود که با تحقیقات میشر و همکاران (۲۰۱۸) همخوانی داشت.

ارقام حساس، کمتر تحت تأثیر اثرات منفی تنش رطوبتی قرار می گیرند (احمد پور و همکاران، ۱۳۹۵). در مطالعه میشر و همکاران (۲۰۱۶) همبستگی مثبتی بین پایداری غشای سلولی و تحمل خشکی عدس بدست آمد. همبستگی عملکرد دانه با شاخص STI نیز در سطح ۱٪ معنی دار بود (r=۰/۸۲۳). شاخص STI با وزن هزار دانه و محتوی نسبی آب برگ همبستگی مثبت و معنی داری در سطح ۵٪ و با پایداری غشای سلولی در سطح ۱٪ نشان داد. همبستگی مثبت فعالیت کاتالاز با محتوی نسبی آب برگ (r=۰/۵۷۸) در سطح ۱۰٪ معنی دار بود (P=0.08). نتایج مشابهی در تحقیقات شهبازی و همکاران (۲۰۱۲) بدست آمد. با توجه به همبستگی فوق شاید بتوان نتیجه گیری کرد ارقامی که محتوی نسبی آب برگ بالایی دارند با حفظ سنتز پروتئین های آنزیمی، تنش اکسیداتیو وارده در اثر تنش خشکی را کاهش

جدول ۶- ضرایب همبستگی ساده بین صفات در شرایط دارای تنش (بالای قطر) و بدون تنش (پایین قطر)

تعداد غلاف خالی	وزن هزار دانه	تعداد غلاف پر	ارتفاع بوته	پایداری غشای سلولی	محتوی نسبی آب برگ	فعالیت SOD	فعالیت کاتالاز	شاخص STI	عملکرد دانه
۰/۳۶۴	۰/۴۱۶	-۰/۲۳۲	۰/۲۳۳	۰/۶۷۲*	۰/۷۱۶*	۰/۲۲۷	۰/۶۲۸*	۰/۸۲۳***	۱
۰/۳۹۱	۰/۶۹۷*	-۰/۱۸۲	۰/۱۰۹	۰/۸۰۵**	۰/۷۶۰*	۰/۴۲۴	۰/۳۲۷	۱	۰/۹۶۴**
۰/۳۰۷	-۰/۰۱۱	-۰/۱۷۱	۰/۲۶۱	۰/۲۲۴	۰/۵۷۸	۰/۲۲۰	۱	۰/۰۵۶	۰/۱۷۸
-۰/۰۵۷	۰/۰۳۳	-۰/۰۸۲	-۰/۱۸۲	۰/۱۰۱	۰/۲۶۸	۱	۰/۶۰۳	-۰/۲۷۹	-۰/۳۰۸
۰/۷۱۷*	۰/۶۷۸*	-۰/۰۵۷	۰/۵۳۱	۰/۶۹۸*	۱	-۰/۱۵۳	۰/۲۰۳	۰/۰۶۱۵	۰/۷۲۴*
۰/۲۳۷	۰/۶۲۲	-۰/۳۲۷	-۰/۰۴۰	۱	۰/۴۴۴	-۰/۲۳۳	۰/۲۲۴	۰/۸۹۱**	۰/۹۰۳**
۰/۹۰۱**	۰/۳۵۳	۰/۵۶۸	۱	-۰/۰۵۶	۰/۴۸۰	-۰/۴۴۱	۰/۳۵۲	۰/۱۱۰	۰/۱۸۲
۰/۵۱۸	۰/۱۷۴	۱	۰/۵۴۸	۰/۴۱۶	۰/۶۱۷	-۰/۱۶۷	۰/۰۰۲	۰/۵۵۵	۰/۶۴۳*
۰/۵۷۰	۱	۰/۲۱۰	۰/۱۶۳	۰/۸۰۱**	۰/۴۱۱	-۰/۴۸۵	-۰/۱۴۹	۰/۸۴۷**	۰/۷۸۰**
۱	۰/۱۳۰	۰/۷۴۳*	۰/۷۱۴*	۰/۱۹۷	۰/۵۵۵	-۰/۴۳۸	۰/۰۵۵	۰/۳۵۳	۰/۴۵۸
۰/۷۱۷*	۰/۶۷۸*	-۰/۰۵۷	۰/۵۳۱	۰/۶۹۸*	۱	-۰/۱۵۳	۰/۲۰۳	۰/۰۶۱۵	۰/۷۲۴*

* ** و *** معنی دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪ (حد بحرانی ضریب همبستگی بادرجه آزادی ۸ برای سطوح احتمال ۱٪ و ۵٪ برابراست با ۰/۷۶۵ و ۰/۶۳۲)

غلاف پر در بوته و محتوی نسبی آب برگ در سطح احتمال ۰/۱۰ معنی دار بود (P=0.096) و (P=0.058). در شرایط بدون تنش همبستگی فعالیت کاتالاز با فعالیت SOD در سطح احتمال ۱۰٪ معنی دار شد (P=0.065).

در تجزیه رگرسیون خطی به روش گام به گام، در شرایط واجد تنش، فقط محتوی نسبی آب برگ در مدل باقی ماند و اثر معنی داری در سطح ۵٪ روی عملکرد داشت (جدول ۷) و با توجه به ضریب تبیین تصحیح شده مدل، ۵۱/۲٪ تغییرات عملکرد را توجیه کرد. ضریب رگرسیون ناقص استاندارد شده حاکی از اثر مسقیم بالای محتوی نسبی آب برگ بر عملکرد تحت تنش است (جدول ۸).

در شرایط بدون تنش عملکرد دانه با محتوی آب نسبی برگ و تعداد غلاف پر در بوته همبستگی مثبت و معنی دار در سطح ۵٪ و با پایداری غشای سلولی و وزن هزار دانه همبستگی مثبت و معنی داری در سطح ۱٪ نشان داد که با نتایج واعظی (۱۳۹۴) همخوانی دارد. در آزمایش رمرودی و همکاران (۱۳۸۷) نیز ارتباط بین عملکرد دانه با تعداد غلاف در بوته مثبت بود. در تحقیق صالحی و همکاران (۲۰۰۸) وزن دانه در بوته و تعداد غلاف در بوته با عملکرد همبستگی داشتند. شاخص STI با پایداری غشای سلولی و وزن هزار دانه همبستگی مثبت و معنی داری در سطح احتمال ۱٪ داشت. همبستگی STI با تعداد

جدول ۷- تجزیه واریانس رگرسیون صفات موثر بر روی عملکرد دانه در شرایط بدون تنش و تنش دار

محیط		
بدون تنش	تنش خشکی	منابع تغییر
۶۲۴۸/۶**	۲۴۳۴/۹۸*	رگرسیون
۱۰۲/۸	۲۸۹/۶۷	باقیمانده

جدول ۸- ضرایب رگرسیون ناقص صفات بر روی عملکرد دانه

VIF	مقادیر t	ضریب رگرسیون ناقص استاندارد شده	متغیرهای موجود در مدل	محیط
۱	۲/۸۹*	۰/۷۱۶	محتوی نسبی آب برگ	تنش خشکی
۱/۲۴۶	۷/۳۶**	۰/۷۲۴	پایداری غشای سلولی	بدون تنش
۱/۲۴۶	۴/۰۹**	۰/۴۰۲	محتوی نسبی آب برگ	

معنی داری در سطح ۱٪ روی عملکرد داشتند (جدول ۸). با توجه به ضریب تبیین تصحیح شده مدل، ۹۳٪ تغییرات عملکرد توسط این دو صفت

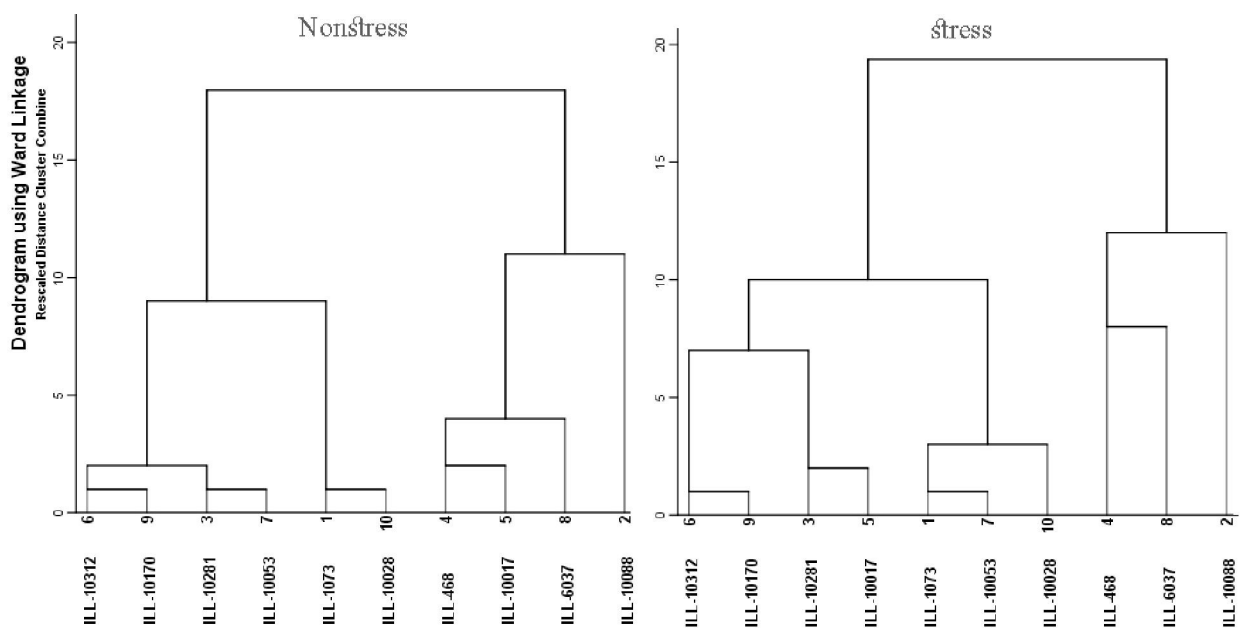
در شرایط بدون تنش پایداری غشای سلولی و محتوی نسبی آب برگ در مدل باقی مانده و اثر

حساس به خوبی انجام نگردید، بطوریکه ژنوتیپ متحمل ۵ و ژنوتیپ های نسبتا متحمل او ۷ از ژنوتیپ های حساس جدا نگردید. در حالیکه در شرایط بدون تنش این تفکیک بهتر بوده و ۴ ژنوتیپ برتر ۲، ۸، ۵ و ۴ از بقیه ژنوتیپ ها جدا گردیدند. تفکیک مناسب تر ژنوتیپ های متحمل از حساس تحت شرایط بدون تنش می تواند بوسیله تعداد همبستگی های بیشتر صفات با عملکرد (۴ صفت از ۸ صفت) توجیه گردد. تحت تنش، ژنوتیپ های خوشه ۱ دارای تعداد غلاف خالی، وزن هزاردانه، ارتفاع بوته، پایداری غشای سلولی، محتوی نسبی آب برگ و شاخص STI بیشتری بودند. در شرایط بدون تنش ژنوتیپ های خوشه ۱ دارای تعداد غلاف خالی و پر، پایداری غشا، محتوی نسبی آب برگ و عملکرد بیشتری بودند (جدول ۹).

توجیه گردید. با توجه به مقدار کمتر از ۱۰ عامل تورم واریانس نتیجه گیری شد که مشکل چند هم راستایی خطی وجود نداشته و نتیجه گیری بر مبنای مدل رگرسیون گمراه کننده نخواهد بود. ضرایب رگرسیون ناقص نشان داد که پایداری غشا بیشترین اثر مستقیم را بر روی عملکرد دارد. محتوی نسبی آب برگ و پایداری غشای سلول در تعدادی از مطالعات به عنوان معیار گزینش تحمل خشکی عدس معرفی شده اند (Biju et al., 2018; Mishra et al., 2018).

تجزیه خوشه‌ای: برش دندروگرام بر اساس

فرمول $\sqrt{\frac{N}{2}}$ (فاصله حدود ۱۵ واحد)، ژنوتیپ ها را در ۲ خوشه قرار داد (شکل ۱). تحت تنش خشکی، ژنوتیپ های متحمل ۲، ۴ و ۸ در گروه اول و ۷ ژنوتیپ دیگر در گروه دوم جای گرفتند. گفتنی است تحت تنش، تفکیک ژنوتیپ های متحمل و



شکل ۱- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای ۱۰ ژنوتیپ عدس بر اساس صفات مورفوفیزیولوژی به روش وارد

جدول ۹- میانگین صفات خوشه های بدست آمده در تجزیه کلاستر

عملکرد دانه	STI	فعالیت کاتالاز	فعالیت SOD	محتوی نسبی آب برگ	پایداری غشای سلولی	ارتفاع بوته	تعداد غلاف پر	وزن هزار دانه	تعداد غلاف خالی	شماره کلاستر
۱۰۵۱	۱/۵۰	۰/۱۳۴	۵۳۲۳	۹۱/۳	۱۵/۷۶	۲۸/۲	۱۹	۶۱/۴	۱۱/۴	۱(۳ رقم)
۷۹۴	۰/۶۵	۰/۱۱۱	۴۲۲۱	۹۰/۱	۸/۶۳	۲۳/۲	۱۷	۴۸/۸	۵/۹	۲(۷ رقم)
۱/۸۲ ^{ns}	۳/۰۲*	۰/۶۰۴ ^{ns}	۰/۶۷ ^{ns}	۵/۴۷**	۲/۰۴*	۲/۴۳*	۰/۶۸ ^{ns}	۴/۳۳**	۴/۱۶**	مقدار †
۱۳۸۴	۱/۴۰	۰/۰۵۹	۲۶۳۸	۹۴/۶	۱۴/۳۲	۲۶/۳	۲۱/۸	۵۵/۸	۹/۲	۱(۴ رقم)
۷۸۰	۰/۵۸	۰/۰۶۱	۳۶۴۲	۹۳/۴	۷/۸۵	۲۲/۴	۱۲/۶	۴۸/۱	۵/۲	۲(۶ رقم)
۳/۹۷**	۳/۲۱*	۰/۱۳۲ ^{ns}	۱/۲۱ ^{ns}	۴/۴۸**	۲/۲۴*	۱/۶۹ ^{ns}	۳/۶۴**	۱/۷ ^{ns}	۳/۰۸*	مقدار †

اساس دو مولفه اول صورت گرفت. تحت تنش خشکی، اولین مؤلفه ۴۵/۸٪ از تغییرات کل داده‌ها را توجیه نمود و همبستگی بالایی را با محتوی نسبی آب برگ، عملکرد دانه و شاخص STI نشان داد (جدول ۱۰).

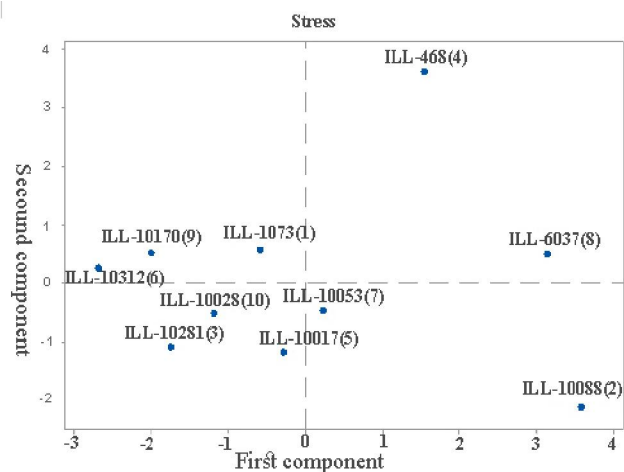
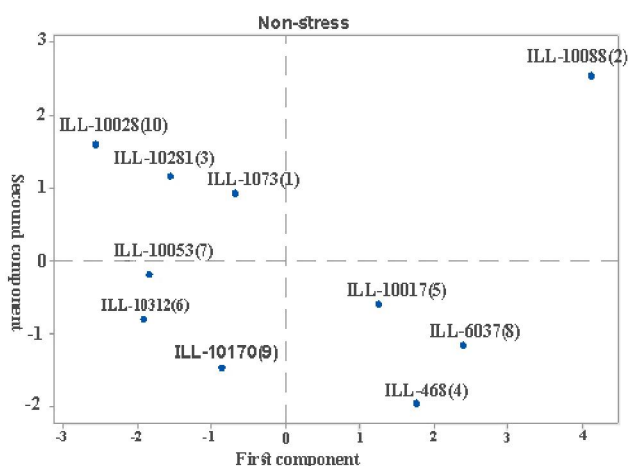
تجزیه به مؤلفه‌های اصلی: با استفاده از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی ۱۰ مؤلفه محاسبه شد ولی از آنجایی که سه مؤلفه اصلی تحت تنش خشکی و بدون تنش بترتیب ۸۱/۸ و ۸۶/۹ درصد تغییرات موجود در متغیرها را در بر گرفتند، از سایر مؤلفه‌ها چشم پوشی شد و ترسیم بای پلات بر

جدول ۱۰- تجزیه به مؤلفه های اصلی صفات مورفوفیزیولوژی ژنوتیپ های عدس در شرایط بدون تنش و تنش خشکی

صفت	تنش خشکی			بدون تنش		
	مؤلفه ۱	مؤلفه ۲	مؤلفه ۳	مؤلفه ۱	مؤلفه ۲	مؤلفه ۳
وزن هزار دانه	۰/۳۴۵	۰/۱۰۲	-۰/۵۰۸	۰/۳۴۵	۰/۱۷۵	۰/۴۰۶
تعداد غلاف خالی	۰/۳۲۹	۰/۴۳۷	۰/۰۴۵	۰/۲۸۹	-۰/۳۷۶	-۰/۲۸۸
تعداد غلاف پر	۰/۰۰۱	۰/۵۴۸	-۰/۰۵۰	۰/۳۳۱	-۰/۱۸۱	-۰/۳۴۱
ارتفاع بوته	۰/۲۲۹	۰/۵۲۴	۰/۱۷۳	۰/۲۰۶	-۰/۵۲۷	-۰/۱۳۴
عملکرد دانه	۰/۳۹۰	-۰/۱۹۱	۰/۱۸۲	۰/۴۲۹	۰/۱۹۷	-۰/۰۰۸
شاخص STI	۰/۴۱۰	-۰/۲۱۵	-۰/۱۶۶	۰/۴۰۹	۰/۲۲۶	۰/۱۰۷
فعالیت کاتالاز	۰/۲۵۲	-۰/۰۸۸	۰/۶۸۲	-۰/۰۰۴	۰/۴۳۴	-۰/۵۲۱
فعالیت SOD	۰/۱۱۸	-۰/۲۴۷	۰/۲۵۶	-۰/۲۱۰	۰/۳۴۶	-۰/۴۷۲
محتوی نسبی آب برگ	۰/۴۴۷	۰/۰۱۹	۰/۰۷۳	۰/۳۴۶	-۰/۰۲۸	-۰/۳۰۷
پایداری غشای سلولی	۰/۳۵۰	-۰/۲۶۸	-۰/۳۳۳	۰/۳۶۰	۰/۳۴۴	۰/۱۳۳
مقدار ویژه	۴/۵۸۶	۲/۳۶۵	۱/۲۳۴	۴/۹۲۸	۲/۱۷۱	۱/۵۹۳
واریانس تجمعی٪	۴۵/۸۵۷	۶۹/۵۰۳	۸۱/۸۴	۴۹/۲۷۷	۷۰/۹۸۵	۸۶/۹۲

همبستگی آن با صفات، اگر میزان بالای آن انتخاب شود ژنوتیپ‌هایی گزینش می‌شوند که دارای محتوی آب نسبی برگ، پایداری غشای سلولی، عملکرد و تحمل به خشکی بالا هستند، مؤلفه دوم نیز ۲۱/۷٪ از تغییرات موجود را به خود اختصاص داد و دارای همبستگی مثبت و بالایی با فعالیت آنزیمی و پایداری غشای سلولی و همبستگی منفی با ارتفاع بوته داشت. بنابراین اگر میزان بالای آن انتخاب شود ژنوتیپ‌هایی گزینش می‌شوند که دارای پایداری غشای سلولی و فعالیت آنزیمی بالا هستند. با توجه به این نکات قسمت مطلوب بای پلات، ناحیه سمت راست و بالا با مقادیر بالای مؤلفه اول و دوم خواهد بود که ژنوتیپ ۲ در این ناحیه قرار دارد.

بنابراین اگر میزان بالای آن انتخاب شود ژنوتیپ‌هایی گزینش می‌شوند که دارای محتوی نسبی آب برگ، عملکرد و تحمل به خشکی بالا هستند. مؤلفه دوم نیز ۲۳/۶٪ از تغییرات موجود را به خود اختصاص داد و با توجه به ضرایب صفات در مؤلفه‌ها، اگر میزان پایین آن انتخاب شود ژنوتیپ‌هایی گزینش می‌شوند که دارای پایداری غشای سلولی و فعالیت SOD بالا هستند. با توجه به این نکات قسمت مطلوب بای پلات ناحیه سمت راست و پایین با مقادیر بالای مؤلفه اول و مقادیر پایین مؤلفه دوم خواهد بود که ژنوتیپ‌های ۲ و ۷ در این ناحیه قرار دارند (شکل ۲). در شرایط بدون تنش نیز مؤلفه اول ۴۹٪ از تغییرات را توجیه نمود و با توجه به



شکل ۲- نمودار بای پلات تجزیه مؤلفه‌های اصلی در دو محیط تنش خشکی (راست) و محیط بدون تنش (چپ)

تلقیح برخی از گل‌ها و ریزش آن‌ها در شرایط کمبود رطوبت اشاره کرد. تنش خشکی در نخود نیز باعث کاهش محتوای نسبی آب برگ و پایداری غشاء سلولی گردید (منصوری فر و همکاران، ۱۳۹۱). کاهش محتوی نسبی آب برگ

بحث

تنش خشکی، عملکرد دانه و محتوی نسبی آب برگ را کاهش و تعداد غلاف خالی و فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT را افزایش داده است. از علل افزایش تعداد غلاف خالی می‌توان به عدم

تحت تنش خشکی با نتایج سایر محققین همخوانی دارد (Biju et al., 2018; Mishra et al., 2018). در گاودانه تنش خشکی باعث افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز شد (Nair, 2008). در عدس، تنش خشکی شبیه سازی شده توسط پلی اتیلن گلیکول تاثیری بر فعالیت کاتالاز نداشت، درحالیکه فعالیت SOD را افزایش داد (Oya, 2008). در مطالعه دیگر بر روی عدس، تظاهر ژن SOD تحت تاثیر خشکی قرار نگرفت (Aksoy, 2008). دلیل افزایش فعالیت کاتالاز تحت تنش خشکی کاملا شناخته نشده، ولی افزایش فعالیت آن به عنوان زداینده پراکسید هیدروژن، نشان دهنده سرعت بالای تولید این ماده تحت تنش خشکی است (Jiang and Hung, 2001). از آنجائیکه تنش خشکی در مراحل پایانی رشد (بعد از گلدهی) وارد شده بود، در نتیجه بر روی صفاتی مانند ارتفاع بوته تاثیری نداشته است. نتایج نشان داد که تنوع کافی بین ژنوتیپ‌ها از لحاظ صفات مورفوفیزیولوژی مرتبط با تحمل به خشکی در ارقام عدس وجود دارد. این امر امکان گزینش ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی را فراهم می‌کند. با توجه به شاخص STI، ژنوتیپ‌های ۲ (ILL-10088)، ۸ (بیله سوار)، ۵ (ILL-10017) متحمل-ترین، ژنوتیپ‌های ۴ (ILL-468)، ۱ (ILL-1073) و ۷ (ILL-10053) نسبتا متحمل و ژنوتیپ‌های ۶ (ILL-10312)، ۱۰ (ILL-10028)، ۳ (ILL-10281) و ۹ (ILL-10170) جزو ژنوتیپ‌های حساس طبقه‌بندی شدند. رقم بیله سوار در مطالعه

شیروئی و همکاران (۱۳۹۲) متحمل ترین ژنوتیپ به خشکی بود. در این میان ژنوتیپ‌های ۲، ۸ و ۵ با دارا بودن وزن هزار دانه، پایداری غشای سلولی، فعالیت آنزیمی و محتوی نسبی آب برگ بیشتر، بالاترین شاخص STI را به خود اختصاص دادند. نتایج این تحقیق نشان داد که تفکیک ژنوتیپ‌های متحمل و حساس بر اساس صفات مورفوفیزیولوژی اندازه گیری شده در روش چند متغیره تجزیه به مولفه‌های اصلی بهتر از تجزیه خوشه‌ای انجام می‌گیرد. با این حال با توجه به فاصله ژنتیکی ژنوتیپ‌ها در تجزیه خوشه‌ای، می‌توان نتیجه گرفت که دورگ‌گیری و تشکیل جمعیت‌های اصلاحی بین ژنوتیپ‌های برتر واقع در خوشه ۱ (ژنوتیپ‌های ۲، ۴ و ۸) و ژنوتیپ‌های متحمل موجود در خوشه ۲ (۱، ۷ و ۵) می‌تواند در اصلاح تحمل به خشکی با موفقیت همراه باشد. با توجه به نتایج همبستگی و رگرسیون می‌توان نتیجه گرفت که محتوی نسبی آب برگ و پایداری غشای سلولی دارای قوی ترین روابط با عملکرد و شاخص تحمل به تنش خشکی می‌باشند که در تطابق با تحقیقات سایر محققین می‌باشد (Biju et al., 2016; Mishra et al., 2018). بنابراین با توجه به وجود تنوع ژنتیکی، سهولت اندازه‌گیری و همبستگی قوی با عملکرد در دو صفت محتوی نسبی آب برگ و پایداری غشای سلولی می‌توان از آن‌ها به عنوان ابزار غیر مستقیم گزینش برای تحمل به خشکی در عدس استفاده کرد.

منابع

احمدپور راهله، چاشیانی سمیه، حسین زاده رضا. ۱۳۹۵. مطالعه خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ریشه ارقام عدس (*Lens culinaris Medik*) در پاسخ به تنش رطوبتی. فیزیولوژی محیطی گیاهی، ۱۱(۳۴): ۳۹-۵۱.

پارسا مهدی، باقری عبدالرضا. ۱۳۹۲. حبوبات. انتشارات جهاد دانشگاهی واحد مشهد. ۵۲۸ص.
رمرودی محمود، گلوی محمد، و نخزری مقدم علی. ۱۳۸۷. ارزیابی عملکرد و اجزای عملکرد برخی از ژنوتیپ‌های عدس در تاریخ‌های مختلف کاشت. مجله پژوهش کشاورزی: آب، خاک و گیاه در کشاورزی. ۹(۳): ۶۹-۷۸.

کوچکی عوض، بنایان محمد. ۱۳۸۸. زراعت حبوبات. جهاد دانشگاهی (دانشگاه مشهد). ۲۳۶ص.
منصوری فر سیروس، شعبان مراد، قبادی مختار، صباغ پور سیدحسین. ۱۳۹۱. خصوصیات فیزیولوژیک ارقام نخود زراعی (*Cicer arietinum L.*) تحت اثر تنش خشکی و کود نیتروژن آغازگر. نشریه پژوهش های حبوبات ایران. ۳(۱): ۵۳-۶۶.

شیرویی حمزه، تیموری ایوب، محمدی هادی، نوری مجید، اسدی پیمان. ۱۳۹۲. بررسی صفات فیزیولوژیک ارقام عدس تحت شرایط آبیاری تکمیلی و تراکم بوته. پنجمین همایش ملی حبوبات ایران. پردیس کشاورزی دانشگاه تهران، ۷۳۲ص.

واعظی شاهین. ۱۳۹۴. ارزیابی تحمل به خشکی در برخی از ژنوتیپ‌های عدس در منطقه اردبیل. پژوهش های کاربردی زراعی. ۲۸(۳): ۴۳-۵۲.

Aksoy, E. 2008. Effect of drought and salt stresses on the gene expression levels of antioxidant enzymes in lentil (*Lens culinaris M.*) seedlings. Msc. Thesis, Bashkant University.

Armand N, Amiri H, Ismaili A. 2016. Interaction of methanol spray and water-deficit stress on photosynthesis and biochemical characteristics of *Phaseolus vulgaris L.* cv. Sadry. Journal of Photochemistry and Photobiology 92(1):102-110.

Biju S, Fuentes S, Gupta D. 2018. The use of infrared thermal imaging as a non-destructive screening tool for identifying drought-tolerant lentil genotypes. Plant Physiology and Biochemistry 127: 11-24.

Blum A, Ebercon A. 1981. Cell membrane stability as a measure of drought and heat tolerance in wheat. Crop Science 21(1): 43-47.

Chance B, Maehly AC. 1955. Assay of catalases and peroxidases. Methods in Enzymology 2: 764-775.

Fernandez GCJ. 1992. Effective selection criteria for assessing plant stress tolerance. Crop Science 28: 13-16.

Giannopolities CN, Ries SK. 1977. Superoxide dismutase. I. Occurrence in higher plants. Plant Physiology 59: 309-314.

- Jiang Y, Huang B. 2001. Drought and heat stress injury to two cool-season turfgrasses in relation to antioxidant metabolism and lipid peroxidation. *Crop Science* 41 (2), 436-442.
- Kocheva K, Georgieva G. 2003. Evaluation of the reaction of two contrasting Barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars in response to osmotic stress with PEG600. *Bulgarian Journal of Plant Physiology* 12: 290-294.
- Ley TW, Stevens RG, Topielec RR, Neibling WH. 1994. Soil water monitoring and measurement. a pacific northwest publication-Washington. Oregon. Idaho. pp: 26.
- Luna CM, Pastori GM, Driscoll S, Groten K, Bernard S, Foyer CH. 2004. Drought controls on H₂O₂ accumulation, catalase (CAT) activity and CAT gene expression in wheat. *Journal of Experimental Botany* 56: 417-423.
- Mishra BK, Srivastava JP, Lal JP, Sheshshayee MS. 2016. Physiological and biochemical adaptations in lentil genotypes under drought stress. *Russian Journal of Plant Physiology* 63(5): 695-708.
- Mishra BK, Srivastava JP, Lal JP. 2018. Drought resistance in lentil (*Lens culinaris* Medik.) in relation to morphological, physiological parameters and phenological developments. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 7(1): 2288-2304.
- Morgil H, Gercek YC, Caliskan M, Oz GC. 2017. Investigation of the mechanism of physiological tolerance in lentil (*Lens culinaris* Medik.) Cultivars under drought stress conditions. *European Journal of Biology* 76(1): 31-35.
- Nair AS, Abraham TK, Jaya DS. 2008. Studies on the changes in lipid peroxidation and antioxidants in drought stress induced cowpea (*Vigna unguiculata* L.) varieties. *Journal of Environmental Biology* 29(5) 689-691.
- Oya, E. 2008. Effect of drought and salt stresses on antioxidant defense system and physiology of lentil (*Lens culinaris* Medik.) seedlings. Ms Thesis. pp: 128.
- Rahbarian R, Khavari-Nejad R, Ganjeali A, Bagheri A, Najafi F, Roshanfekar M. 2012. Use of biochemical indices and antioxidant enzymes as a screening technique for drought tolerance in Chickpea genotypes (*Cicer arietinum* L.). *African Journal Biotechnology* 7: 5372 - 5380.
- Reddy AR, Chaitanya K V, Vivekanandan M. 2004. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *Journal of Plant Physiology* 161: 1189-1202.
- Richards RA, Condon AG, Rebetzke GJ. 2001. Traits to improve yield in dry environments. In: Reynolds, M. P., J.U. Ortiz-Monasterio, and A., McNab (Eds). *Application of physiology in wheat breeding Mexico: CIMMYT*.
- Sairam RK, Deshmukh PS, Saxena DC. 1998. Role of antioxidant systems in wheat genotypes tolerance to water stress. *Biologia Plantarum* 41 (3): 387-394.
- Salehi M, Haghazari A, Shekari F, Faramarzi A. 2008 . The study of seed yield and seed yield components of lentil (*Lens culinaris* Medik) under normal and drought stress conditions. *Pakistan Journal of Biological Science* 11(5):758-62.
- Shahbazi H, Aalii E, Seifollahi R, Parchehbaf A. 2012. Physiological traits related to yield of wheat under drought stress in early, mid and late stages of grain filling. *Annals of Biological Research* 3 (6): 2947-2952.

Impact of drought stress on lentil genotypes through investigation of morpho-physiological traits

Nader Ashrafi¹, Hosein Shahbazi^{2*}, Hosein Mostafaie³, Mohammad Zaeifizadeh⁴

1-MSc Graduate of Plant breeding, Department of plant breeding, Ardabil branch, Islamic Azad University, Ardabil, Iran

2-Department of plant breeding, Ardabil branch, Islamic Azad University, Ardabil, Iran

3- Ardabil Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Ardabil, Iran

4-Department of Biology, Ardabil branch, Islamic Azad University, Ardabil, Iran

Abstract

To evaluate the drought tolerance of lentil by morpho-physiological traits, 10 lentil lines were planted in randomized complete design with 3 replications under non-stress and drought stress conditions in agricultural station of Islamic Azad University, Ardabil, Iran in 2016. Grain yield, plant height, number of pods and 1000 kernels weight, leaf relative water content, activity of superoxide dismutase and catalase enzymes and cell membrane stability were measured. Results showed that differences among genotypes were significant in all of traits except for relative water content and CAT activity (under non-stress). Under drought, ILL-10088, ILL-10053 and Bilesavar, with 1244, 1153 and 1107 kg/ha and under non stress condition, ILL-10088, with 1905 kg/ha had the highest yield. Considering the yield of cultivars in two environments, ILL-10088, BileSavar, ILL-10017 and ILL-468 were the most tolerant cultivars. Results showed that under drought, grain yield had significant correlations with catalase activity, relative water content and cell membrane stability. Under non-stress condition, yield had significant correlations with relative water content, cell membrane stability, 1000 kernels weight and number of fertile pods. In regression analysis, using stepwise method, under stress, relative content remained in model. However, under non-stress condition, relative water content and cell membrane stability remained in model. Principle component analysis could separate susceptible cultivars from tolerant cultivars better than cluster analysis. Regarding to the presence of genetic diversity, ease of use and strong relations with yield, relative water content and cell membrane stability were proposed as indirect criteria for selection of drought tolerance in lentil.

Keywords: antioxidant enzymes, drought, cell membrane stability, relative water content

* Corresponding author: h.shahbazi@iauardabil.ac.ir Received: 2018/12/24 Accepted: 2019/05/21