

## بررسی تنش شوری بر روی برخی ارقام عدس با کاربرد صفات فیزیولوژیک و نشانگرهای مولکولی

نسرين مهدی نژاد مقدم<sup>۱</sup>، امید سفالیان<sup>۱</sup>، ناصر زارع<sup>۱</sup>، محمد صدقی<sup>۱</sup>، رحمت‌الله کریمی‌زاده<sup>۲</sup> و فاطمه محمدی آذر<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup>گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران، <sup>۲</sup>پژوهشکده

کشاورزی گچساران، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی کهگیلویه و بویراحمد، ایران

مسئول مکاتبات: امید سفالیان: sofalian@gmail.com

**چکیده.** حبوبات از جمله گیاهان زراعی متداول در مناطق خشک و نیمه خشک است که اغلب این گیاهان به شوری آب و خاک حساس یا نیمه حساس می باشند. پژوهش حاضر به منظور بررسی سه سطح شوری روی ۱۸ رقم عدس در گلخانه و آزمایشگاه‌های دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۹۶-۹۸ انجام شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار انجام گرفت. صفات فتوسنتزی و فیزیولوژیکی مورد بررسی قرار گرفتند و رابطه صفات با آغازگر ISSR اندازه‌گیری شد. اثر متقابل ژنوتیپ در تنش در برخی صفات اختلاف معنی‌دار داشتند. نتایج مقایسه میانگین ژنوتیپ‌های عدس از نظر صفات فیزیولوژیک با روش دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد. همبستگی صفات در سطوح تنش جداگانه انجام شد. دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای، ژنوتیپ‌ها را در شرایط شاهد و ۶۰ میلی مولار به سه گروه و در ۱۲۰ میلی مولار به دو گروه تقسیم کرد. ژنوتیپ‌های ۷ و ۵ در تمامی گروه‌بندی‌ها در گروه برتر قرار گرفتند. رابطه نشانگرهای مولکولی ISSR با صفات فیزیولوژیکی در بین ژنوتیپ‌ها محاسبه و برای تمامی صفات رگرسیون به روش گام به گام انجام شد. همه صفات در سه سطح تنش شوری با تعدادی از نشانگرهای ISSR ارتباط معنی‌دار داشتند. در مجموع ۲۲ نشانگر مثبت برای صفات فیزیولوژیکی در سطح شاهد، ۹ نشانگر مثبت در سطح تنش متوسط و ۲۳ نشانگر مثبت در سطح تنش شدید شناسایی شدند. از بین ۲۱ آغازگر ISSR مورد مطالعه نشانگر P8A11 بیشترین تعداد مکان ژنی مرتبط با صفات فیزیولوژیکی مورد مطالعه را دارا بود.

**واژه‌های کلیدی.** تجزیه خوشه‌ای، شوری، صفات کلروفیل، صفات فتوسنتزی، عدس، نشانگر ISSR

## Investigation of salinity stress on some lentil cultivars using physiological characteristics and molecular markers

Nasrin Mehdinejhad Moghadam<sup>1</sup>, Omid Sofalian<sup>1</sup>, Nasser Zare<sup>1</sup>, Mohammad Sedghi<sup>1</sup>, Rahmatullah Karimizadeh<sup>2</sup> and Fatemeh Mohammadi Azar<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Plant Genetics and Production Engineering, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran, <sup>2</sup>Gachsaran Agricultural Research Institute, Research and Education Center for Agriculture and Natural Resources, Kohgiluyeh and Boyer-Ahmad, Iran

\*Correspondence author: Omid Sofalian: [sofalian@gmail.com](mailto:sofalian@gmail.com)

**Abstract.** Legumes are common crops in arid and semi-arid regions. This study was conducted to investigate three levels of salinity stress on 18 lentil cultivars in the greenhouse and laboratories of Mohaghegh Ardabili University in 2016-2016 in a factorial manner in the form of a randomized complete block design with three replications. The results of comparing average lentil genotypes were done with Duncan's method at the five percent probability level. Correlation was done in separate stress levels. The dendrogram of cluster analysis divided the genotypes into three groups in control and 60 mM conditions and two in 120 mM conditions. Genotypes 7 and 5 were in the top group in all groupings. The relationship between ISSR molecular markers and physiological traits was calculated among genotypes. All traits in three levels of salinity stress had a significant correlation with some ISSR markers. A total of 22 positive markers for physiological traits were identified at the control level, 9 positive markers at the moderate stress level, and 23 positive markers at the severe stress level. Among the 21 studied ISSR primers, the P8A11 marker had the largest number of gene loci related to the studied physiological traits.

**Key words:** chlorophyll traits, cluster analysis, ISSR markers, lentils, molecular marker, photosynthetic traits, salinity

Received 28.03.2023/ Accepted 16.06.2024/ Published 19.06.2024

دریافت: ۱۴۰۲/۰۱/۰۸ / اصلاح: ۱۴۰۲/۰۳/۱۳ / پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۲۷ / انتشار: ۱۴۰۳/۰۳/۳۰

## مقدمه

تغییرات اسمزی پیوسته منجر می‌شود (Asish Kumar & Anath, 2005) شوری رشد گیاه را به سبب تغییر در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی نظیر فتوسنتز (Kalaji & Guo, 2008) اختلال در انتقال الکترون زنجیره انتقال الکترونی و کاهش فعالیت فتوسیستم II تغییر در طیف جذبی کلروپلاست‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهد (Allakhverdiev et al., 2000). فتوسنتز که یک مسیر مهم در فیزیولوژی گیاهان است، به شدت تحت تاثیر شوری قرار می‌گیرد. آبسزیک اسید ایجاد شده، در واکنش نسبت به شوری منجر به بسته شدن روزنه‌ها شده و ورود دی اکسید کربن را به گیاه محدود می‌کند (Leung et al., 1994). محتوای پروتئین و کلروفیل، از جمله صفات مورد استفاده برای انتخاب اولیه گیاهان متحمل به تنش شوری می‌باشد (Ashraf, 2001؛ Hester et al., 2001). 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). یکی از سازوکارهای گیاهان در برابر تنش شوری، تجمع پروتئین در سلول است. نقش پروتئین در تنظیم اسمزی، تثبیت غشاء و دفع مسمومیت یون‌های مضر در گیاهان تحت تنش شوری است (Ashraf & Foolad, 2005).

حبوبات از جمله گیاهان زراعی متداول در مناطق خشک و نیمه خشک بوده که بیشتر در اراضی حاشیه‌ای و خاکهای فقیر کشت می‌شوند. اغلب این گیاهان به شوری آب و خاک حساس یا نیمه حساس می‌باشند (Soltani et al., 2002). عدس یکی از حساس‌ترین محصولات به شوری است و رشد گیاه زمانی که پس از فصل بارش بعد از برنج کشت شود بسیار تحت تاثیر تنش شوری قرار می‌گیرد و فرایند تثبیت زیستی ازت عدس ۹۰ تا ۱۰۰ درصد کاهش می‌یابد (Hoorn et al., 2001; Katriji et al., 2003). عدس از قدیمی‌ترین حبوبات جهان بوده که سرشار از پروتئین و دیگر

گیاهان در طول رشد و نمو خود با تنش‌های مختلفی مواجه هستند که رشد آن‌ها را محدود می‌کند (Saneoka, 2004). گیاهان زراعی در معرض چندین تنش زیست‌محیطی قرار دارند که تمامی این تنش‌ها بر روی رشد و توسعه گیاه تاثیر می‌گذارند که منجر به عدم بهره‌وری محصول می‌شوند (Farooq et al., 2011). در بین این تنش‌ها، خشکی و شوری بخش‌های وسیعی از زمین‌های مزروعی را در جهان تهدید می‌کنند (Mayra et al., 2005). حدود ۵۰ درصد اراضی دنیا که شامل سه برابر مساحت زیر کشت گیاهان زراعی است، تحت‌تاثیر نمک قرار دارند و به طور مداوم بر میزان زمین‌های شور در جهان افزوده می‌شود (Kamkar et al., 2004). این مسئله به‌ویژه در مناطق خشک و نیمه‌خشک که در آن‌ها از آب‌های شور برای آبیاری استفاده می‌شود، تشدید می‌گردد (Alizadeh et al., 2018). عدم ثبات عوامل زیست‌محیطی گیاه و نیز گوناگون بودن گستره پتانسیل بالقوه در برابر این تغییرات باعث می‌شود که گیاهان واکنش‌های متفاوتی از خود بروز دهند (Saneoka et al., 2004). توانایی گیاهان برای سازش به تنش‌های محیطی بستگی به نوع، شدت، مدت تنش و همچنین گونه گیاهی و مرحله وقوع تنش دارد (Yordanov & Tsoev, 2000). غلظت‌های زیاد نمک در خاک یا آب آبیاری می‌تواند باعث سمیت یونی، تنش اسمزی، کمبود عناصر غذایی و تنش طولانی‌مدت پیری زودرس بافت و در نهایت مرگ گیاه شود.

تنش شوری تقریباً تمامی فرایندهای زیستی و فیزیولوژیکی اصلی گیاه از جمله فتوسنتز و رشد را در اندازه‌های مختلف تحت‌تاثیر قرار می‌دهد (Parida & Das, 2005). تنش شوری بسیاری از واکنش‌های معمول را در گیاهان به راه می‌اندازد که به آب‌زدایی سلولی همراه با

عناصر غذایی است. ایران از نظر سطح زیرکشت عدس بعد از هند، ترکیه و کانادا رتبه چهارم را به خود اختصاص داده است (Sabaghpour et al., 2004). می‌توان از عدس به عنوان یک منبع غنی از این مواد ضروری در وعده‌های غذایی استفاده کرد (Thavarajah & Thavarajah., 2011). کشت عدس در سیستم‌های زراعی مختلف همراه با محصولات دیگر و یا پس از آن‌ها به دلیل بهبود خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک به وسیله‌ی توانایی تثبیت نیتروژن و دیگر اثرات عدس بر کشت متناوب منجر به سودآوری در کشت محصولات دیگر نیز می‌شود (Shah et al., 2003; Wisal et al., 2003).

انتخاب ژنوتیپ‌های مقاوم به شوری، مؤثرترین راه برای غلبه بر مشکلات شوری است (Maher et al., 2003). مطالعه شاخص‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه در شرایط تنش شوری در محیط گلخانه می‌تواند در انتخاب گیاهان مقاوم به تنش سودمند باشد (Ashraf, 2004)، زیرا تغییرات مورفولوژیکی، حاصل تغییرات فیزیولوژیکی و متابولیکی گیاه است و می‌تواند به منظور غربال اولیه گیاهان جهت بررسی‌های بیشتر مورد استفاده قرار گیرد (Ahmad et al., 2005).

آگاهی از میزان تنوع و فاصله ژنتیکی بین افراد یا جوامع، در انتخاب والدین مناسب جهت تولید هیبریدهای برتر از اهمیت فوق‌العاده‌ای برخوردار است ضمن اینکه تنوع ژنتیکی از ارکان اصلی کشاورزی پایدار محسوب می‌شود (Sharma et al., 2002). بااطلاع از میزان تنوع منابع ژنتیکی و بهره‌برداری از آن می‌توان ارقام جدید و مطلوب‌تر برای مناطق مختلف ایجاد و توصیه نمود. تنوع و انتخاب دو فاکتور اصلی هر برنامه اصلاحی است و انتخاب در صورتی، کارایی بالایی دارد که در صفت مورد مطالعه تنوع مطلوبی از نظر ژنتیکی موجود باشد. باتوجه به این که همه گونه‌های گیاهی اهلی به طور مستقیم و یا غیرمستقیم از گونه‌های وحشی به وجود

آمده‌اند و باتوجه به فرسایش ژنتیکی، جمع‌آوری و حفاظت نمونه‌های گیاهی برای انتخاب و بررسی‌های علمی در برنامه‌های اصلاحی ضروری است، هرگونه بررسی و مطالعه مجموعه‌های گیاهی می‌تواند شناخت ما را نسبت به آن‌ها افزایش دهد و در موارد لزوم باعث می‌شود مواد موردنیاز با دید بازتری انتخاب شوند (Masodi et al., 2008). از آنجاکه شناخت تنوع ژنتیکی و طبقه‌بندی ذخایر توارثی، امری بنیادی برای طراحی موفق برنامه‌های به‌نژادی بوده و در آسان‌کردن مدیریت حفظ و نگهداری مجموعه‌های ژنتیکی نقش بسزایی دارد، مطالعه در زمینه ارزیابی تنوع ژنتیکی ضرورت پیدا می‌کند (Dastmalchi et al., 2011). اکنون پذیرفته شده است که باید هم‌زمان با برنامه‌های اصلاحی یک برنامه حفاظتی برای توده‌های بومی عدس و خویشاوندان وحشی اجرا شود. امروزه باتوجه به توسعه نشانگرهای DNA و قدرت تمایز، قطعیت و فراوانی آن‌ها همچنین به دلیل اینکه یک روش سریع در برنامه اصلاحی می‌باشد، به طور گسترده‌ای از نشانگرهای ژنتیکی در کشاورزی استفاده می‌شود. از آنجاکه شناسایی معیارهای مؤثر و QTL‌های دخیل در تحمل به تنش شوری می‌تواند باعث تسریع برنامه‌های به‌نژادی جهت توسعه ارقام متحمل به شوری گردد (Wang et al., 2011). ارزیابی اغلب صفات مورفوفیزیولوژیکی مرتبط با تنش‌های غیرزنده با استفاده از روش‌های به‌نژادی مرسوم مشکل است. از این رو تکنولوژی نشانگرهای مولکولی می‌تواند برای تحمل به تنش‌های محیطی مورد استفاده قرار گیرد (Sing & Diwivedi, 2002). برای بررسی تنوع ژنتیکی به طور گسترده از نشانگرهای مولکولی به‌ویژه نشانگرهای DNA استفاده می‌شود (Morago et al., 2010; Chen et al., 2006). از بین نشانگرهای DNA نشانگرهای ISSR (توالی تکراری ساده داخلی) نشانگرهای مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلیمرز با تکرارپذیری بالا و چندشکلی زیاد هستند (Mohammadi Farsani et al., 2008).

برداشت شد و درون ازت مایع فریز گردید و در یخچال ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

### صفات فیزیولوژیک

میزان سبزی‌نگی با دستگاه کلروفیل‌متر مدل SPAD-502 ساخت مینولتای ژاپن از جوان‌ترین برگ کامل اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری میزان فلوئورسانس کلروفیل از دستگاه فلورومتر Opti-Science OS-30 USA مدل Chlorophyll Fluorometer استفاده شد. تمام اندازه‌گیری‌ها در ساعات ۱۰ تا ۱۳ به‌منظور به‌حداقل رساندن تغییرات روزانه انجام شد. با استفاده از گیره‌های مخصوص، برگ گیاهان به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفتند. پس از سپری‌شدن این مدت گیره‌ها به فیبر نوری دستگاه متصل و دریچه گیره‌ها باز شد و پارامترهای فلوئورسانس پایدار ( $F_t$ )، فلوئورسانس اولیه ( $F_0$ )، فلوئورسانس حداکثر ( $F_m$ )، پتانسیل عملکرد کوانتوم ( $F_v/F_m$ ) و نیز فلوئورسانس متغیر ( $F_v = F_m - F_0$ ) به دست آمد. میزان کلروفیل SPAD با استفاده از دستگاه کلروفیل‌متر از جوان‌ترین برگ کامل اندازه‌گیری شد.

برای اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ، ۰/۵ گرم از جوان‌ترین برگ توسعه‌یافته از گیاه را جدا کرده و نمونه‌های برگ‌ی انتخاب‌شده به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر شناور گردید. پس از این مدت وزن اشباع برگ نمونه‌های شناور شده اندازه‌گیری گردید. سپس، برگ‌ها به مدت ۲۴ ساعت در آون در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و بعد از گذشت این مدت، وزن خشک آن‌ها اندازه گرفته شد (Ritichie et al., 1990). سپس محتوای نسبی آب برگ محاسبه گردید.

### تجزیه‌های مولکولی

هر اقدامی برای اصلاح ژنتیکی تحمل با استفاده از تنوع ژنتیکی موجود، نیاز به یک روش ارزیابی کارآمد دارد که باید سریع بوده و قادر به انتخاب یک جمعیت بزرگ باشد. باتوجه‌به اینکه در برنامه‌های اصلاح نباتات، وجود تنوع ژنتیکی یک مؤلفه اساسی و ضروری در گزینش به شمار می‌رود، این پژوهش در راستای بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های مختلف عدس برای تعیین لاین‌های متحمل به تنش شوری و پرمحصول در عدس و بررسی ارتباط نشانگرهای مولکولی ISSR با صفات فیزیولوژیکی در عدس صورت گرفت.

### مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در گلخانه و آزمایشگاه‌های دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۹۸-۹۶ انجام شد. این آزمایش بر روی ۱۸ رقم عدس (جدول ۱) در سه سطح شوری (صفر، ۶۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار برای هر تیمار انجام گرفت. بعد از ضدفونی بذر ژنوتیپ‌های موردنظر، بذرها داخل پتری دیش‌های از قبل اتوکلاو شده که داخل آن کاغذ صافی مرطوب قرار داشت، درون ژرمیناتور با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد جوانه‌دار شدند. در مرحله بعد در گلخانه از هر رقم پنج بذر جوانه‌دار در گلدان‌های ۱۰ کیلویی پر شده با خاک میانه (لوم رسی- شنی) در عمق سه تا چهار سانتی‌متری خاک کشت و به طور مرتب هر سه روز یک‌بار آبیاری شدند (شکل ۱). دو هفته پس از کاشت، اولین تنش با محلول آب‌نمک ۶۰ میلی‌مولار به همه گلدان‌ها به‌غیر از گلدان‌های شاهد داده شد. تنش دوم نیز به فاصله یک هفته بعد از تنش اول با محلول آب‌نمک ۶۰ میلی‌مولار فقط به گلدان‌های تیمار تنش دوم در هر سه تکرار داده شد. یک هفته پس از اعمال تنش نمونه‌های برگ‌ی از تمامی گلدان‌ها

الکتروفورز به مدت ۲/۵ ساعت با ولتاژ ثابت ۱۰۰ ولت انجام گرفت. پس از انجام الکتروفورز عکس‌برداری از ژل توسط دستگاه تصویربرداری از ژل انجام شد.

تجزیه واریانس داده‌های آزمایش بر اساس طرح آزمایشی مربوطه انجام شد. قبل از انجام تجزیه واریانس، آزمون نرمال بودن به روش کولموگروف و اسمیرنوف برای کلیه صفات انجام شد (Kirkman, 1996). کلیه صفات از توزیع نرمال برخوردار بودند. مقایسه میانگین با روش دانکن و در سطح احتمال پنج درصد انجام شد. تجزیه‌ی خوشه‌ای به روش Ward با استفاده از معیار توان دوم اقلیدسی صورت گرفت. برای محاسبات آماری نرم‌افزارهای آماری SPSS v.19 و SAS مورد استفاده قرار گرفتند.

هر قطعه DNA تولید شده به‌عنوان یک متغیر گسسته، با استفاده از یک برای نشان‌دادن حضور و صفر برای عدم وجود نوار در هر نمونه امتیازدهی شد. ارتباط بین صفات مولکولی و صفات فیزیولوژی با استفاده از تجزیه رگرسیون انجام شد. تحلیل و آنالیز داده‌های مولکولی با استفاده از نرم‌افزارهای NTSYSpc2، Popgen1.32 و GenAlex6.3 انجام شد.

پس از نمونه‌برداری از برگ‌های جوان گیاه و انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه استخراج DNA به روش CTAB با اندکی تغییرات طبق روش (Saghai-marooft et al., 1984) انجام شد. جهت تعیین کمیت و کیفیت DNA از دو روش استفاده گردید. جهت اطمینان از عدم وجود شکستگی در DNA استخراج شده، از الکتروفورز ژل آگارز یک درصد استفاده شد. نمونه‌های دارای کیفیت بالا، انتخاب شدند. در روش دیگر از طیف سنجی جهت تعیین کیفیت خلوص DNAهای استخراج شده استفاده شد.

توالی آغازگرهای مورد استفاده در تجزیه ISSR که ساخت شرکت Metabion کره می‌باشد، در جدول ۲ آمده است. از بین آغازگرهای مورد استفاده، ۲۱ آغازگر نوارهای چند شکل ایجاد کردند. واکنش PCR برای آغازگرهای ISSR طبق برنامه زیر توسط ترموسایکلر ساخت شرکت TECHNE اجرا گردید. چرخه‌های حرارت واکنش PCR به‌صورت جدول ۳ بود. برای آشکارسازی فرآورده‌های PCR حاصل از تجزیه ISSR، از الکتروفورز ژل آگارز ۱/۵ درصد و رنگ‌آمیزی اتیدیوم بروماید استفاده شد. محصولات تکثیرشده بر روی ژل آگارز، بعد از رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید قابل تشخیص می‌باشند (Gupta, 2010). اجزای واکنش PCR در جدول ۴ آمده است. کل فرآورده‌ی PCR و رنگ اضافه شده در داخل یک چاهک بارگذاری و

## جدول ۱- نام ژنوتیپ‌های مورد مطالعه

Table 1. Names of studied genotypes

| شماره | نام ارقام                                                                | خاستگاه |
|-------|--------------------------------------------------------------------------|---------|
| 1     | GACH LOC 2010-01-12 ARLYT1 (1391-92)-Gachsaran                           | IRAN    |
| 2     | FLIP2007-16L ILL 2126 X ILL 4659-1 ARLYT2 (1391-92)-Gachsaran            | ICARDA  |
| 3     | FLIP2010-8L ILL 2126 X ILL 6199-5 ARLYT2 (1391-92)-Gachsaran             | ICARDA  |
| 4     | FLIP2011-1L ILL 6443 X ILL 1005-7 ARLYT2 (1391-92)-Gachsaran             | ICARDA  |
| 5     | FLIP2011-5L ILL 6434 X ILL 6972-10 ARLYT2 (1391-92)-Gachsaran            | ICARDA  |
| 6     | FLIP2011-6L ILL 6434 X ILL 6972-11 ARLYT2 (1391-92)-Gachsaran            | ICARDA  |
| 7     | FLIP1996-15L(Ibla 1) ILL 6209xILL5671-12 ARLYT2 (1391-92)-Gachsaran      | IRAN    |
| 8     | ILL 4605 x ADDA 2006-03-0GA-0GA-0GA-11 -1 ARLYT3 (1391-92)-Gachsaran     | IRAN    |
| 9     | ILL 6434 x ILL 8008 2006-03-0G-0GA-0GA-11 -2 ARLYT3 (1391-92)-Gachsaran  | IRAN    |
| 10    | ILL 4605 x ADDA 2006-06-0G-0GA-0GA-11 -5 ARLYT3 (1391-92)-Gachsaran      | IRAN    |
| 11    | ILL 4605 x ILL 6002 2006-02-0G-0GA-0GA-11 -8 ARLYT3 (1391-92)-Gachsaran  | IRAN    |
| 12    | ILL 7547 x ILL 6211 2006-02-0G-0GA-0GA-11 -9 ARLYT3 (1391-92)-Gachsaran  | IRAN    |
| 13    | ILL 7547 x ILL 6002 2006-03-0G-0GA-0GA-11 -10 ARLYT3 (1391-92)-Gachsaran | IRAN    |
| 14    | ILL 6211 x ILL 6002 2006-07-0G-0GA-0GA-11 -12 ARLYT3 (1391-92)-Gachsaran | IRAN    |
| 15    | FLIP 2005-32L-6 URLYT (1389-92)-Gachsaran                                | ICARDA  |
| 16    | FLIP 2005-53L-7 URLYT (1389-92)-Gachsaran                                | ICARDA  |
| 17    | KIMIA                                                                    | IRAN    |
| 18    | GACHSARAN                                                                | IRAN    |



شکل ۱- مراحل کشت و رشد ژنوتیپ‌های عدس

Figure 1. Cultivation and growth stages of lentil genotypes

جدول ۲- توالی و دمای اتصال آغازگرهای ISSR مورد استفاده

**Table 2.** The sequence and binding temperature of ISSR primers used

| شماره | توالی پرایمر            | دما (°C) | شماره | توالی پرایمر            | دما (°C) |
|-------|-------------------------|----------|-------|-------------------------|----------|
| 1*    | GAG AGA GAG AGA GAG     | 42       | 13    | AGA GAG AGA GAG AGA GT  | 43       |
| 2     | ACA CAC ACA CAC ACA CCA | 45       | 14    | CTC TCT CTC TCT CTC TA  | 42       |
| 3     | AGA GAG AGA GAG AGA GAA | 45       | 15    | CAC ACA CAC ACA CAC AT  | 43       |
| 4     | AGA GAG AGA GAG AGA GCC | 45       | 16    | TCT CTC TCT CTC TCT CC  | 42       |
| 5     | AGA GAG AGA GAG AGA GC  | 42       | 17    | ACA CAC ACA CAC ACA CT  | 43       |
| 6     | AGA GAG AGA GAG AGA GG  | 42       | 18    | AGA GAG AGA GAG AGA GCT | 43       |
| 7     | GAG AGA GAG AGA GAG AA  | 42       | 19*   | AGA GAG AGA GAG AGA GCC | 43       |
| 8     | AGA GAG AGA GAG AGA CT  | 42       | 20    | GAG AGA GAG AGA GAG ACC | 43       |
| 9     | AGA GAG AGA GAG AGA CTA | 43       | 21    | CAC ACA CAC ACA CAC ACC | 44       |
| 10    | GAG AGA GAG AGA GAG ATT | 43       | 22    | CTC CTC CTC CTC CTC CTC | 45       |
| 11    | TGT GTG TGT GTG TGT GGG | 46       | 23    | GGA GAG GAG AGG AGA     | 42       |
| 12    | TCC TCC TCC TCC TCC     | 42       |       |                         |          |

\* آغازگرهایی که نوارهای چندشکل تولید نکردند در تجزیه مورد استفاده قرار نگرفتند

\*Primers that did not produce polymorphic bands were not used in the analysis

جدول ۳- چرخه حرارتی برای تکثیر نمونه‌های DNA توسط آغازگرهای ISSR

**Table 3.** Thermal cycling for amplification of DNA samples by ISSR primers

| مراحل چرخه حرارتی | دما (درجه سانتی گراد) | زمان (دقیقه) | تعداد دور |
|-------------------|-----------------------|--------------|-----------|
| دناتوراسیون اولیه | 94                    | 5            | 1         |
| دناتوره سازی      | 94                    | 1            | 40        |
| اتصال پرایمر      | 40-50                 | 1            | -         |
| گسترش پرایمر      | 72                    | 1            | -         |
| گسترش نهایی       | 72                    | 5            | 1         |

**جدول ۴- اجزای واکنش PCR برای تکثیر نمونه‌های DNA با استفاده از آغازگرهای ISSR**  
**Table 4. PCR reaction components for amplification of DNA samples using ISSR primers**

| محلول های اصلی  | حجم در یک واکنش (microliters) |
|-----------------|-------------------------------|
| پرایمر (5 μmol) | 1.6                           |
| DNA (25 ng/μL)  | 4                             |
| آب مقطر         | 4.4                           |
| Mastermix       | 10                            |
| حجم نهایی       | 20                            |

## نتایج

متقابل ژنوتیپ در تنش در صفات محتوای کلروفیل، قند محلول و پرولین در سطح احتمال ۱ درصد و صفت RWC در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار داشتند. معنی‌دار شدن اثر متقابل ژنوتیپ در تنش نشان می‌دهد که روند تغییرات ژنوتیپ‌ها از نظر صفات در شرایط عادی و تنش شوری یکسان نیست و ژنوتیپ‌های برتر در شرایط عادی الزاماً قابل توصیه به شرایط تنش شوری نمی‌باشد. کمترین ضریب تغییرات مربوط به صفت  $F_v/F_m$  (۷/۳۷۲۹۳) و بیشترین مربوط به صفت قند محلول (۵۳/۰۹۹۳۸) بود.

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از نظر برخی صفات دارای اختلاف معنی‌داری بودند که سطح احتمال آماری در آن‌ها گاهی در سطح یک درصد و گاهی در سطح پنج درصد بود (جدول ۵). ژنوتیپ‌ها از نظر تمام صفات مورد بررسی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شدند. سطوح تنش نیز در صفات کلروفیل،  $F_t$ ،  $F_v/F_m$ ، قند محلول و پرولین در تمام صفات در سطح احتمال یک درصد و صفت RWC در سطح احتمال پنج درصد با یکدیگر اختلاف معنی‌دار داشتند. اثر

**جدول ۵- تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیکی در تنش شوری در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه**

**Table 5. Variance analysis of physiological traits in salinity stress in studied genotypes**

| Source of variety            | Degrees of freedom | Mean Square         |           |            |           |             |             |               |          |
|------------------------------|--------------------|---------------------|-----------|------------|-----------|-------------|-------------|---------------|----------|
|                              |                    | Chlorophyll content | RWC       | $F_t$      | $F_v/F_m$ | $F_0$       | $F_m$       | Soluble sugar | Proline  |
| Repeat (R)                   | 1                  | 78.558*             | 77.072    | 82.222**   | 0.007     | 11179.488** | 78676.340   | 37.943        | 0.173    |
| Genotype (A)                 | 17                 | 59.277**            | 447.353** | 7480.418** | 0.003**   | 1832.416**  | 23384.661** | 144.999**     | 1.128**  |
| Stress (B)                   | 2                  | 535.637**           | 320.604*  | 653.352**  | 0.019**   | 2640.025**  | 24625.210** | 8514.704**    | 12.294** |
| A*B                          | 34                 | 62.296**            | 138.918*  | 9035.979   | 0.003     | 1976.959    | 40069.295   | 110.345**     | 1.263**  |
| Error                        | 108                | 21.344              | 83.853    | 7960.136   | 0.003     | 1638.309    | 34400.062   | 192.418       | 0.625    |
| Coefficient of Variation (%) |                    | 16.162              | 14.001    | 38.981     | 7.37293   | 27.425      | 26.984      | 53.099        | 43.638   |

\* و \*\* به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪

\*and \*\* are significant at the 5% and 1% probability levels, respectively

## بحث

نتایج مقایسه میانگین ژنوتیپ‌های عدس از نظر صفات فیزیولوژیک با روش دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد و صفات مهم و موثر در تنش شوری مورد بحث قرار گرفتند. در رابطه با صفت  $F_t$  کمترین مقدار متعلق به ژنوتیپ ۱۳ (۲۳۴/۴۴۴) و بیشترین متعلق به ژنوتیپ ۱۵ (۳۲۴/۴۴۴) بود. در صفت  $F_v/F_m$  کمترین مقدار (۰/۷۴۵) مربوط به ژنوتیپ ۱۸ و بیشترین مقدار (۰/۸۰۸) مربوط به ژنوتیپ ۱۷ مشاهده شد. در صفت  $F_0$  ژنوتیپ ۴ بیشترین مقدار (۱۸۱/۱۱۱) و ژنوتیپ ۱۸ کمترین مقدار (۱۳۳/۶۶۶) را داشت. در صفت  $F_m$  نیز بیشترین مقدار (۷۷۶/۰۰۰) مربوط به ژنوتیپ ۳ و کمترین مقدار (۵۶۴/۵۵۵) مربوط به ژنوتیپ ۱۸ بود.

نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین صفات فیزیولوژیک در سطوح مختلف شوری نشان داد که گیاه عدس در سطح شوری شاهد بیشترین میزان کلروفیل (۴۲/۹۳۷) را داراست و در سطوح شوری ۶۰ و ۱۲۰ میلی مولار تفاوت چندانی نداشت. در  $RWC$  سطوح شوری شاهد و ۶۰ میلی مولار با فاصله کمی از هم کمترین مقدار را داشتند و بیشترین مقدار نیز مربوط به شوری ۱۲۰ میلی مولار (۸۶/۳۵۴) بود. در صفت  $F_t$  سطح شوری ۱۲۰ میلی مولار بیشترین مقدار (۳۱۶/۹۸۱) را داشت و سطح شاهد

کمترین مقدار (۱۹۲/۷۹۶) را به خود اختصاص داد ولی در صفت  $F_v/F_m$  کمترین (۰/۷۶۰) مقدار مربوط به سطح شوری ۱۲۰ میلی مولار و سپس سطح شاهد و بیشترین مقدار (۰/۷۹۷) در سطح ۶۰ میلی مولار بود. در صفت  $F_0$  کمترین مقدار (۱۴۴/۲۰۳) در سطح ۶۰ میلی مولار و بیشترین (۱۵۷/۲۰۳) در سطح شاهد مشاهده شد (جدول ۶).

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل از نظر صفات فیزیولوژیک در ژنوتیپ‌های عدس در شرایط تنش شوری با استفاده از روش دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد. میزان سبزیگی تشدید سطح تنش کاهش یافت. بیشترین مقدار میزان سبزیگی در ژنوتیپ ۱۱ در سطح تنش ۶۰ میلی مولار و کمترین در ژنوتیپ ۱۲ سطح ۶۰ میلی مولار مشاهده گردید. همچنین میزان کاهش سبزیگی ژنوتیپ ۱۳ در شرایط تنش نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها کمتر بود که نشان‌دهنده مقاومت بهتر این ژنوتیپ نسبت به تنش است. در صفت  $RWC$  (محتوای نسبی آب) بیشترین مقدار در ژنوتیپ‌های ۱ و ۵ و کمترین در ژنوتیپ ۱۵ در سطح شاهد مشاهده شد. میزان صفات قند محلول و پرولین نیز از سطح شاهد تا سطح شوری ۱۲۰ میلی مولار، روند روبه‌افزایش داشتند.

جدول ۶- مقایسه میانگین صفات فیزیولوژیکی در سطوح مختلف شوری

Table 6. Comparison of average physiological traits at different salinity levels

| $F_m$                | $F_0$                | $F_v/F_m$           | $F_t$                | شوری   |
|----------------------|----------------------|---------------------|----------------------|--------|
| 710.888 <sup>a</sup> | 157.203 <sup>a</sup> | 0.779 <sup>ab</sup> | 192.796 <sup>b</sup> | 0 mM   |
| 677.222 <sup>b</sup> | 144.203 <sup>a</sup> | 0.797 <sup>a</sup>  | 301.111 <sup>a</sup> | 60 mM  |
| 671.296 <sup>a</sup> | 155.166 <sup>a</sup> | 0.76 <sup>b</sup>   | 316.981 <sup>a</sup> | 120 mM |

حروف یکسان در هر ستون نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌داری است

The same letters in each column indicate no significant difference

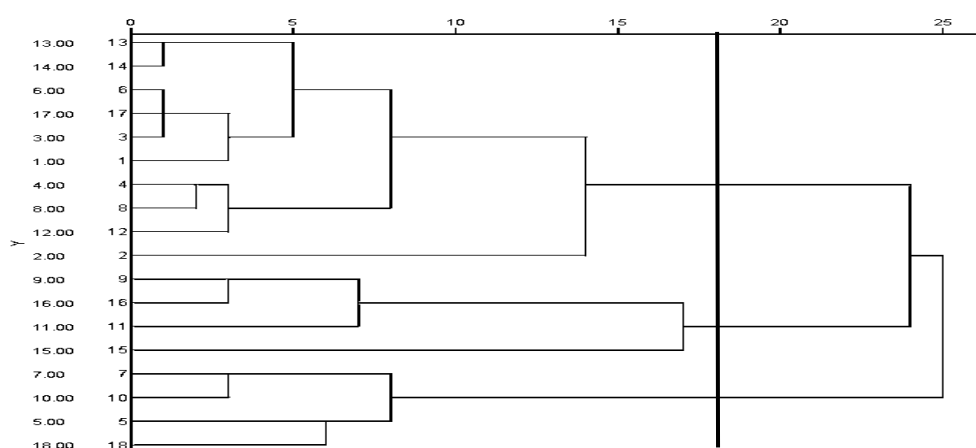
۱۲۰ میلی مولار در بین تمامی صفات بیشترین همبستگی مثبت (۰/۶۵۹) در بین  $F_0$  و  $F_m$  و بیشترین همبستگی منفی (۰/۳۶۷) در بین صفات  $F_m$  و پرولین مشاهده شد.

دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای، ژنوتیپ‌ها را بر اساس صفات فیزیولوژیکی ارزیابی شده در شرایط شاهد به سه گروه و در سطح ۶۰ میلی مولار به سه گروه و ۱۲۰ میلی مولار نیز به دو گروه تقسیم کرد (شکل‌های ۲، ۳ و ۴). در سطح شاهد گروه اول شامل ژنوتیپ‌های ۱۳، ۱۴، ۱۷، ۳، ۱، ۴، ۸، ۱۲ و ۲ که

بر اساس همبستگی‌های محاسبه شده در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در بین صفات فیزیولوژیک در شرایط شاهد،  $F_0$  و  $F_t$  بیشترین همبستگی مثبت (۰/۵۲۷) و دو صفت  $RWC$  و  $F_t$  بیشترین همبستگی منفی (۰/۴۸۰) را داشتند. بر اساس ضرایب همبستگی فیزیولوژیکی در شرایط تنش ۶۰ میلی مولار در بین تمامی صفات بیشترین همبستگی مثبت (۰/۸۳۷) را صفات  $F_t$  و  $F_m$  و بیشترین همبستگی منفی (۰/۵۵۰) را صفات  $F_v/F_m$  و  $F_0$  داشتند. ضرایب همبستگی مورفولوژیکی در شرایط تنش

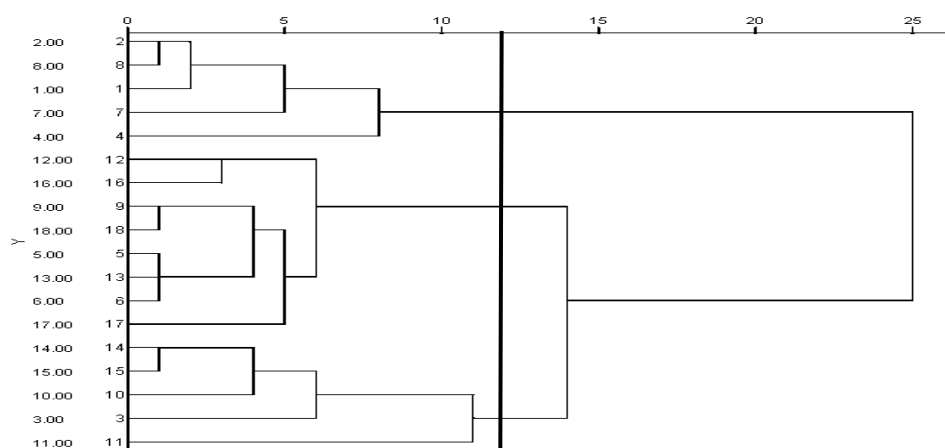
در گروه دوم بودند و گروه سوم شامل ژنوتیپ‌های ۳، ۱۴، ۱۵، ۱۰، ۳ و ۱۱ قرار گرفتند که مقادیر بالای محتوای کلروفیل و پرولین را داشتند. در سطح تنش ۱۲۰ میلی‌مولار ژنوتیپ‌های ۱۰، ۱۶، ۳، ۹، ۱، ۲، ۱۴، ۴، ۵، ۷ و ۱۷ که از کلروفیل فلوئورسانس و RWC بالایی برخوردار بود و در گروه دوم ژنوتیپ‌های ۶، ۱۸، ۱۲، ۱۱، ۱۳، ۱۵ و ۸ قرار گرفتند که همگی قند محلول و پرولین بالایی داشتند (جدول ۷)

دارای مقادیر بالای محتوای کلروفیل و RWC است و ژنوتیپ‌های ۹، ۱۶، ۱۴ و ۱۵ در گروه دوم و ژنوتیپ‌های ۷، ۱۰، ۵ و ۱۸ در گروه سوم قرار گرفتند که دارای مقادیر بالایی فلوئورسانس کلروفیل و پرولین بودند. در سطح تنش ۶۰ میلی‌مولار گروه اول شامل ژنوتیپ‌های ۲، ۸، ۱، ۷، ۴ و ۵ جای گرفتند که میزان بالایی از کلروفیل فلوئورسانس، RWC و قند محلول داشتند. ژنوتیپ‌های ۱۲، ۱۶، ۹، ۱۸، ۵، ۷، ۱۳، ۶ و ۱۷



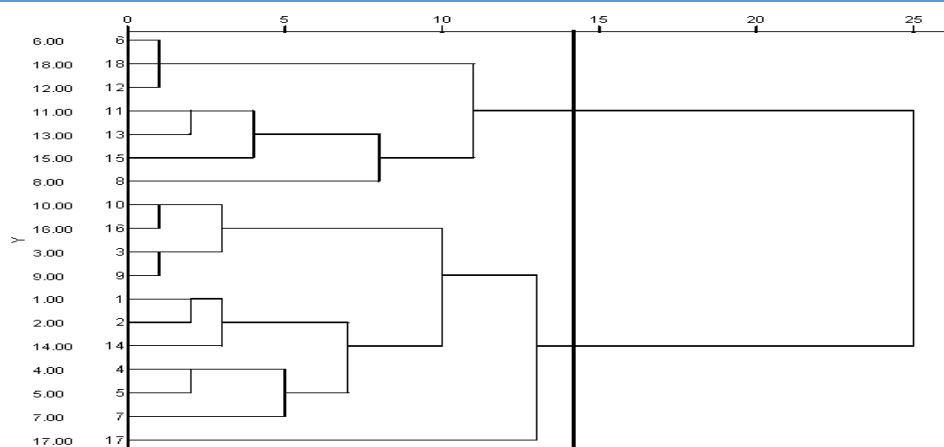
شکل ۲- گروه‌بندی ژنوتیپ‌های عدس بر اساس صفات اندازه‌گیری شده با روش WARD در شرایط شاهد (بدون شوری)

**Figure 2.** Grouping of lentil genotypes based on traits measured by the WARD method in control conditions



شکل ۳- گروه‌بندی ژنوتیپ‌های عدس بر اساس صفات اندازه‌گیری شده با روش WARD در شرایط ۶۰ میلی‌مولار

**Figure 3.** Grouping of lentil genotypes based on traits measured by the WARD method in 60 mM conditions



شکل ۴- گروه‌بندی ژنوتیپ‌های عدس بر اساس صفات اندازه‌گیری شده با روش WARD در شرایط ۱۲۰ میلی‌مولار  
**Figure 4.** Grouping of lentil genotypes based on traits measured by the WARD method in 120 mM conditions

جدول ۷- میانگین گروه‌های تعیین شده در سطوح تنش در هر صفت فیزیولوژیک در ژنوتیپ‌های عدس

**Table 10.** The average of the determined groups at the levels of stress in each physiological trait in lentil genotypes

| سطح شاهد بدون تنش شوری      |            |             |        |         |           |         |         |        |        |
|-----------------------------|------------|-------------|--------|---------|-----------|---------|---------|--------|--------|
| گروه                        | تعداد اعضا | Chlorophyll | RWC    | $F_t$   | $F_v/F_m$ | $F_0$   | $F_m$   | Shugar | Prolin |
| 1                           | 10         | 44.764      | 85.344 | 170.267 | 0.792     | 155.4   | 731.367 | 12.046 | 1.064  |
| 2                           | 4          | 39.833      | 85.078 | 172.833 | 0.743     | 132.75  | 573.583 | 9.022  | 1.581  |
| 3                           | 4          | 41.478      | 70.786 | 269.083 | 0.782     | 186.167 | 797     | 10.243 | 2.07   |
| تنش اول شوری ۶۰ میلی‌مولار  |            |             |        |         |           |         |         |        |        |
| 1                           | 5          | 34.987      | 86.385 | 337.533 | 0.765     | 137.4   | 765.267 | 30.455 | 1.754  |
| 2                           | 5          | 40.55       | 80.162 | 315.533 | 0.813     | 138.6   | 697.8   | 28.537 | 2.482  |
| 3                           | 8          | 37.889      | 80.91  | 269.333 | 0.808     | 129.458 | 609.333 | 28.042 | 1.556  |
| تنش دوم شوری ۱۲۰ میلی‌مولار |            |             |        |         |           |         |         |        |        |
| 1                           | 11         | 36.489      | 88.109 | 337.606 | 0.78      | 162.091 | 737.849 | 34.011 | 2.126  |
| 2                           | 7          | 38.31       | 83.66  | 284.571 | 0.728     | 144.286 | 566.714 | 30.037 | 2.719  |

مشاهده شد که مکان‌های ژنی شناسایی شده توانستند این میزان تغییرات صفات مربوطه را تبیین کنند. در سطح شاهد صفات محتوای کلروفیل،  $F_0$  و  $F_t$  و در سطح تنش شدید  $F_0$  به دلیل نداشتن رابطه علت و معلولی وارد مدل رگرسیونی نشدند. مقادیر به‌دست‌آمده نشان داد در مجموع ۲۲ نشانگر مثبت برای صفات فیزیولوژیکی در سطح شاهد، ۹ نشانگر مثبت در سطح تنش متوسط و ۲۳ نشانگر مثبت در سطح تنش شدید شناسایی شدند. در سطح شاهد، بیشترین تعداد نشانگر مربوط به صفت RWC با ۱۷ نشانگر و کمترین مربوط به صفت  $F_v/F_m$  با ۳ نشانگر بود. در تنش شوری ۶۰ میلی‌مولار نیز بیشترین و کمترین تعداد

رابطه نشانگرهای مولکولی ISSR با صفات فیزیولوژیکی در بین ژنوتیپ‌ها محاسبه و برای تمامی صفات، رگرسیون به روش گام‌به‌گام انجام شد. در این بررسی همه صفات در هر سه سطح تنش شوری با تعدادی از نشانگرهای ISSR ارتباط معنی‌دار داشتند. در سطح شوری شاهد کمترین ضریب تبیین تصحیح شده (۰/۵۹۴) در  $F_v/F_m$  و بیشترین (۱) در RWC و در تنش شوری ۶۰ میلی‌مولار کمترین (۰/۲۰۳) ضریب تبیین تصحیح شده در  $F_0$  و بیشترین (۰/۹۸۹) در محتوای کلروفیل همچنین در تنش ۱۲۰ میلی‌مولار کمترین ضریب تبیین تصحیح شده (۰/۴۴۱) در RWC و بیشترین (۰/۹۹۷) در محتوای کلروفیل

نشانگر به ترتیب در صفت محتوای کلروفیل با ۹ نشانگر و صفات  $F_0$ , RWC و قند محلول با ۱ نشانگر بود و در تنش شوری ۱۲۰ میلی‌مولار هم بیشترین تعداد نشانگر در محتوای کلروفیل با ۱۰ نشانگر و کمترین در صفت RWC با ۲ نشانگر بود. بیش‌تر نشانگرها دارای رابطه معنی‌دار با بیش از یک صفت بودند. از سوی دیگر با مقایسه سطوح تنش در برخی صفات نشانگرهای مشترکی مشاهده شد. در هر سه سطح تنش نشانگر P10A4 با صفت RWC دارای رابطه مثبت، نشانگر P18A2 در سطوح تنش متوسط دارای رابطه منفی و در تنش شدید دارای رابطه مثبت بود. نشانگر P18A3 با صفت پرولین در سطح شاهد دارای مثبت و در سطح شدید دارای رابطه منفی بود. در مجموع از بین ۲۱ آغازگر ISSR مورد مطالعه نشانگرهای P13A6 و P8A1 بیشترین تعداد مکان ژنی مرتبط با صفات فیزیولوژیکی مورد مطالعه را دارا بودند.

## بحث

### مقایسه میانگین‌اثر شوری بر رنگیزه‌های فتوسنتزی و

#### کلروفیل

از آنجا که شوری رشد گیاه را به علت تغییر در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی مثل فتوسنتز (Kalaji Guo, 2008)، اختلال انتقال الکترون در زنجیره‌ی انتقال الکترونی و کاهش فعالیت فتوسیستم II و تغییر در طیف جذبی کلروپلاست‌ها (Allakhverdiev et al., 2000) تحت تاثیر قرار می‌دهد، در این آزمایش نیز ژنوتیپ‌ها تحت تاثیر قرار گرفتند. تنش شوری مقدار محتوای کلروفیل را در مقایسه با شرایط بدون تنش کاهش داده و با تخریب کلروپلاست‌ها منجر به کاهش فتوسنتز، رشد و عملکرد گیاهان می‌گردد (Cramre, 2002). در آزمایشات کاید نظامی و همکاران میزان کلروفیل نیز با افزایش غلظت نمک کاهش یافت. تنش شوری کلروفیل را نسبت به شرایط بدون شوری کاهش می‌دهد (kayednezami et al., 2013). مشابه اثرهای نامطلوب تنش شوری بر محتوای کلروفیل در آزمایشات کایا و همکاران بیان شده است (kaya et al., 2003). اصولاً مقدار فلئوئورسانس کلروفیل در زمانی که پذیرنده الکترون (کینون) در حالت احیا باشد زیاد است و به این علت مقدار  $F_v$  نیز در این حالت زیاد می‌شود؛ اما زمانی که کینون در حالت اکسیداسیون است مقدار فلئوئورسانس کلروفیل  $a$  کامل می‌شود؛ در این حالت میزان  $F_v$  کاهش می‌یابد. تنش‌های محیطی مقدار  $F_v$  را به علت ممانعت از فتواکسیداسیون فتوسیستم II کاهش می‌دهد. از آنجا که  $F_v$  نشانگر احیای کامل کینون می‌باشد، بنابراین می‌توان استنباط کرد که تنش در انتقال الکترون به

فتوسیستم I اختلال ایجاد کرده‌است (Paknejad et al., 2007). تنش به تنهایی تغییرات معناداری در  $F_0$  ایجاد نمی‌کند. افزایش  $F_0$  در اثر تنش توسط پژوهشگران دیگر نیز گزارش شده است و به نظر می‌رسد ارقامی که بتوانند در شرایط تنش از افزایش  $F_0$  جلوگیری کنند، تحمل بیشتری به تنش نشان خواهند داد (سهیلی موحد و همکاران، ۱۳۹۶). به تدریج، با افزایش درجه احیاشدن، شدت فلئوئورسانس افزایش می‌یابد. این فرآیند تا احیای کامل ادامه یافته و مراکز احیای فتوسیستم II به تدریج بسته می‌شوند و انتقال الکترون به فتوسیستم I صورت نمی‌گیرد. در این حالت فلئوئورسانس کلروفیل افزایش می‌یابد و مراکز فتوسیستم دارای بیشترین فلئوئورسانس ( $F_m$ ) است. در واقع تنش با تاثیر منفی بر ظرفیت پذیرش و انتقال الکترون، باعث می‌شود سیستم به سرعت به  $F_m$  برسد (Amirjan et al., 2009). افزایش در مقدار  $F_0$  و کاهش در  $F_m$ ، فعالیت فتوسیستم II را مختل می‌کند (Paknejad et al., 2007). کاهش نسبت  $F_v/F_m$  در شرایط تنش می‌تواند نشان دهنده این باشد که انتقال الکترون از فتوسیستم II به فتوسیستم I تحت تاثیر تنش قرار گرفته و کاهش می‌یابد (محمدی آذر، ۱۴۰۱). از نسبت  $F_v/F_m$  به‌طور گسترده برای نشان دادن تنش ناشی از اختلال ایجاد شده در مراکز فتوشیمیایی استفاده شده است، چرا که کاهش  $F_v/F_m$  می‌تواند نتیجه فرآیندهای کاهشی و خسارت نوری با مراکز واکنش فتوسیستم II باشد. که هر دو باعث کاهش حداکثر کارایی کوآنتومی فتوسیستم II می‌شوند (Baker and Rosenqvist, 2004).

### اثر شوری بر سبزی‌نگی و RWC

درصد رطوبت نسبی بافت‌ها (RWC) و قابلیت آب گیاه از مهم‌ترین مؤلفه‌هایی است که نشان‌دهنده وضعیت آبی گیاه هستند (Heydari sharif abad, 2001). محتوای نسبی آب به‌عنوان معیاری قابل‌اعتماد برای اندازه‌گیری وضعیت آب در بافت‌های گیاهی محسوب شده و از این نظر نسبت به قابلیت آب سلول برتری دارد. زیرا محتوای آب نسبی برگ از طریق ارتباط مستقیم با حجم سلول می‌تواند تعادل بین آب گیاه و سرعت تعرق را بهتر نشان دهد (Munns et al., 2006). نتایج این آزمایش نشان داد که با افزایش شوری محتوای نسبی آب در برگ‌ها کاهش یافت. علت این امر، کاهش جذب آب از خاک به علت محدودیت آب ناشی از شوری خاک است که باعث به‌هم‌خوردن تعادل بین دو فرایند جذب آب و تعرق می‌شود و در نتیجه محتوای آب گیاه کاهش می‌یابد (Fallah et al., 2015). کاهش در محتوای نسبی آب همچنین می‌تواند به علت تضعیف

al., 2010). نتایج این آزمایش نشان داد که با افزایش غلظت شوری محتوای قند محلول در نمونه‌های تحت تیمار روند کاهشی داشت. عامل مؤثر در کاهش محتوای قند محلول در تیمارهای مورد آزمایش، مربوط به کمبود یا نبود آب قابل دسترس برای گیاهان است (Arvin & Firuzeh 2021).

### اثر شوری بر پرولین

محتوای اسیدآمینه پرولین در بسیاری از تنش‌های محیطی در گیاهان افزایش می‌یابد (Ashraf & Foolad, 2005). تجمع پرولین یک پاسخ دفاعی اولیه برای حفظ فشار اسمزی در سلول است. گزارش‌های متعددی مبنی بر نقش پرولین در این رابطه بیان شده است. به‌عنوان مثال توانگر و همکاران در بررسی دو توده اردستان و برازجان شنبلیله در تنش شوری گزارش کردند که سطوح نمک باعث افزایش محتوای پرولین شد (Tavangar et al., 2021). تجمع املاح سازگار در سیتوپلاسم از جمله پرولین به گیاه کمک می‌کند تا تعادل اسمزی را حفظ کند و آسیب غشاء را کاهش دهد (Arvin & Firuzeh 2021). آزمایشی دیگر نوری و همکاران بیان کردند که با افزایش شوری، محتوای ترکیب‌هایی مانند پرولین و قندهای محلول در گیاه بابونه افزایش یافت (Noori et al., 2012). شدت ساخت پرولین به‌سرعت و میزان توسعه تنش، نوع و سن اندام و تنوع ژنتیکی درون و بین‌گونه‌ای بستگی دارد (Bajji et al., 2001). نکته قابل توجه دیگر این است که روند افزایش غلظت پرولین در پاسخ به تنش شوری به‌صورت خطی نیست و با افزایش شدت تنش به‌تدریج واکنش تدافعی گیاه کاهش‌یافته است. این امر ممکن است به دلیل این باشد که اعمال تنش شوری شدید به‌صورت یکباره باعث می‌شود متابولیسم گیاه به‌سرعت دچار اختلال شود و گیاه نتواند سازوکار دفاعی مناسبی از خود نشان دهد. هرگونه گیاهی باتوجه‌به توان تحملی که نسبت به یک تنش دارد تا سطح مشخصی پاسخ‌های مقاومت ایجاد می‌کند و چنانچه شدت تنش از سطح مشخصی بالاتر رفت، پاسخ‌های مقاومتی گیاه نیز ضعیف‌تر می‌شود (Satoh et al., 2002). بنابراین، افزایش شدت تنش و افزایش غلظت نمک از یک‌میزان به بعد می‌تواند موجب کاهش محتوای پرولین در گیاه شود. نتایج تجزیه واریانس داده‌های کاید نظامی و همکاران نشان داد که اثر شوری بر میزان پرولین و غلظت قندهای محلول برگ عدس در سطح یک درصد معنی‌دار بود و با افزایش شوری در تمام تیمارها میزان پرولین افزایش یافت (kayednezami et al., 2013). افزایش غلظت پرولین با زیادشدن شوری توسط سایر محققین نیز گزارش شده است (Keshta et al., 1999).

سیستم ریشه‌ای در شرایط تنش و کاهش سطح جذب باشد که به دنبال آن گیاه قادر به جبران آب ازدست‌رفته توسط تعرق نیست (Farkhondeh et al., 2012). در مجموع کاهش محتوای نسبی آب برگ یک پاسخ عمومی به شرایط تنش اسمزی است. به تعبیری دیگر کاهش در محتوای نسبی آب برگ نشانگر یک کاهش فشار تورگر است که سبب کاهش آب موردنیاز برای فرایندهای مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی می‌شود (Cicek & Cakirlar, 2002). بر اساس گزارشات محتوای نسبی آب، پتانسیل آب و پتانسیل اسمزی گیاهان بیشتر با افزایش شوری منفی می‌شود. بر اساس مطالعات انجام شده گروهی از محققان، میزان RWC تحت تنش شوری بر اساس میزان تحمل اکوتیپ‌ها تغییر می‌کند و کاهش مقدار آن در اکوتیپ‌های حساس به شوری بیشتر از اکوتیپ‌های متحمل به شوری است (Parida & Das, 2005). اکوتیپ‌های حساس در مقابل تنش شوری، نسبت به گیاهان مقاوم مقدار بیشتری آب از دست می‌دهند. در نتیجه، هنگامی که برگ آن‌ها را جدا کرده و در آب قرار می‌دهیم، آب بیشتری جذب کرده و وزن آماس بیشتری نیز خواهند داشت؛ بنابراین مقدار بیشتر آماس مبین حساسیت بیشتر نسبت به تنش شوری و بالابودن مقدار آب ازدست‌رفته است. نتایج تحقیقات نیز نشان داد که با افزایش تنش شوری در توده‌های مختلف، درصد محتوای آب نسبی در برگ‌ها کاهش یافته که این کاهش در توده‌های مختلف مورد آزمایش متفاوت بود (Arvin & Firuzeh 2021). کاهش محتوای نسبی آب برگ که به دنبال تنش شوری در گیاهان اتفاق می‌افتد خود می‌تواند مسبب کاهش آب مورد نیاز برای فرایندهای مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی و فرایندهای وابسته به فتوسنتز باشد (Chinnusamy et al., 2005).

در آزمایش‌های انجام شده محققان نیز محتوای کلروفیل تحت تنش شوری به طور معنی‌داری کاهش یافت و در تیمارهای شوری مقدار پرولین نسبت به شاهد افزایش یافت (Andalibi et al., 2021؛ Dadashi chovan, 2021 و Nabati et al., 2021). باتوجه‌به آزمایشات داداشی چوان و همکاران افزایش میزان خسارت، متناسب با افزایش تنش شوری بود (Dadashi chovan, 2021).

### اثر شوری بر قند محلول

کاید نظامی و همکاران اعلام کردند که با افزایش غلظت نمک بر میزان قندهای محلول برگ افزوده شد (kayednezami et al., 2013). تجمع متابولیت‌هایی نظیر قندها اغلب در گیاهان تحت وضعیت‌های نامساعد مشاهده می‌شوند (Ghorbanli et

## همبستگی

یکی از دلایل وجود همبستگی بین دو صفت می‌تواند به علت قرارگرفتن ژن‌های کنترل‌کننده آن صفت روی یک کروموزوم باشد. در خصوص صفات کیفی همبستگی بین صفات منحصرأ به مکان ژنی کنترل‌کننده آن صفات و ارتباط آن‌ها روی کروموزوم بستگی دارد که این ارتباط می‌تواند به صورت لینکاژ ژن‌ها یا اثر متقابل غیرآلی و یا ترکیبی از این حالات بروز کند. ولی در مورد صفات کمی علاوه بر ژن‌های کنترل‌کننده صفت، پارامترهای مختلف از جمله عوامل اقلیمی می‌تواند موجب همبستگی بین صفات شوند. وجود همبستگی بین صفات، در کارهای اصلاحی به خصوص در امر گزینش براساس تعدادی از صفات بسیار ضروری می‌باشد. در غلات، اغلب همبستگی عملکرد دانه با ارتفاع منفی است، ولی در حبوبات به خصوص عدس این همبستگی اغلب مثبت ولی کم است، زیرا عدس در زمره‌ی گیاهان دارای رشد نامحدود است. از این رو با افزایش ارتفاع، غلاف‌های بیشتری تولید می‌شود که بر عملکرد تاثیر مثبت دارد (Bagheri et al., 1997). هدف از شناسایی نشانگر پیدا کردن آللهایی است که با صفات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و صفات جوانه‌زنی همبستگی نشان داده‌اند. به منظور شناسایی پرایمرهایی که احتمال می‌رود با صفات مورفولوژیک همبستگی داشته باشند از رگرسیون گام به گام استفاده شد.

## تجزیه خوشه‌ای ارقام عدس

جهت تعیین گروه‌های بهتر در هر سطح میانگین هر گروه برای صفات فیزیولوژیکی مورد بررسی آورده شد. در سطح شاهد ژنوتیپ‌ها به سه گروه تقسیم شدند که باتوجه به میانگین بالا در هر گروه از صفات، گروه سوم با ۴ عضو به عنوان گروه و ارقام برتر شناخته شدند. در سطح تنش ۶۰ میلی‌مولار ژنوتیپ‌ها به سه گروه تقسیم شدند که گروه اول با ۵ عضو با داشتن میانگین بالا در اکثر صفات به عنوان ژنوتیپ برتر شناخته شد. البته تفاوت میان گروه اول و دوم در این سطح آن‌چنان محسوس نبود. در سطح تنش ۱۲۰ میلی‌مولار ژنوتیپ‌ها به دو گروه تقسیم شدند که گروه اول با ۱۱ عضو با داشتن میانگین بالا در اکثر صفات به عنوان ژنوتیپ‌های برتر شناخته شدند. باتوجه به نتایج ژنوتیپ‌های ۷ و ۵ در تمامی گروه‌بندی‌ها در گروه برتر قرار گرفتند که نشان‌دهنده ثبات عملکرد در شرایط تنش است؛ بنابراین به عنوان ژنوتیپ‌های متحمل معرفی شدند.

## رابطه بین داده‌های ISSR و صفات فیزیولوژیکی

ردی و همکاران (Reddy et al., 2000) گزارش کردند که ارزیابی معتبر و قابل تکراری برای بررسی تنوع ژنتیکی در بسیاری از گیاهان به وسیله تکنیک ISSR انجام می‌شود. تکنیک ISSR به طور موفقیت‌آمیزی در مطالعه تنوع ژنتیکی بین و درون گونه‌ها در بسیاری از گونه‌های گیاهی انجام شده‌است که همگی حاکی از قدرتمند بودن نشانگر ISSR در برآورد تنوع ژنتیکی در اکثر گیاهان است (Joshi et al., 2000, Wakui et al., 2009, Yang et al., 2007, Xiao & Yang, 2007, Bornet et al., 2002, Shahriari Ahmadi et al., 2012, Naderi et al., 2015).

محققان به منظور تعیین ارتباط ژنتیکی جهت توسعه یک طبقه بندی استاندارد از ۲۰ آغازگر ISSR روی ۶۶ واریته توتون استفاده کردند (Denduang boripant et al., 2010). آن‌ها گزارش کردند که از بین آغازگرهای مورد استفاده، ۵ آغازگر نوارهای قابل تکرار ایجاد می‌کنند و می‌توان با آن‌ها به ارتباط ژنتیکی ژنوتیپ‌های بومی و وارداتی پی‌برد. در مطالعه وو و همکاران به منظور ارزیابی و حفظ گونه‌های وحشی در معرض خطر برنج گونه‌ی گرانولاتا و آغازگرهای ISSR و RAPD به ترتیب ۶۰/۱۵، ۵۶/۷۳ درصد باندهای چندشکل آشکار کردند که نشان داد که این دو نشانگر مشابه هستند و قدرت تشخیص بالایی دارند (Wu et al., 2004). با وجود این که نتایج حاکی این بود که نشانگرهای ISSR قدرتمندتر هستند به طوری که از فقط ۱۲ آغازگر برای ایجاد داه‌های مجزا مورد نیاز است و در حالی که ۵۰ آغازگر RAPD برای این منظور استفاده شد. این حقایق نشان می‌دهد که نشانگر ISSR علاوه بر مناسب بودن برای مطالعه تنوع ژنتیکی، جهت مطالعه روابط درون‌گونه‌ای و بین‌گونه‌ای و اصلاح گونه‌های گیاهی با اهمیت است.

یکی از دلایل احتمالی رابطه بین نشانگرهای مولکولی و نمود صفات کمی، عدم تعادل پیوستگی دخیل در روابط تصادفی مربوط به فراوانی‌های آلی همبسته در نمونه‌های کوچک می‌باشد. با وجود این، پیوستگی ژنتیکی بین نشانگرها و مکان‌های زنی صفات کمی (QTLها) محتمل‌ترین توجیه برای این روابط است (Chung et al., 2003). امروزه استفاده از پیوستگی بین نشانگرهای مولکولی و ژن‌های کنترل‌کننده صفات کمی، فرآیند اصلاح نباتات را تسریع کرده است. به طوری که به جای ارزیابی صفات، گزینش غیرمستقیم به کمک نشانگرهای پیوسته صورت می‌گیرد. شناسایی نواحی کروموزومی دخیل در تغییرات به دو روش عمده تجزیه پیوستگی و تجزیه ارتباط بین ژنوتیپ و فنوتیپ انجام می‌شود (Gupta et al., 2000).

## نتیجه‌گیری

مربوط به صفت  $F_v/F_m$  با ۳ نشانگر بود. در تنش شوری ۶۰ میلی مولار نیز بیشترین و کمترین تعداد نشانگر به ترتیب در صفت محتوای کلروفیل با ۹ نشانگر و صفات  $RWC$ ،  $F_0$  و قند محلول با ۱ نشانگر بود و در تنش شوری ۱۲۰ میلی مولار هم بیشترین تعداد نشانگر در محتوای کلروفیل با ۱۰ نشانگر و کمترین در صفت  $RWC$  با ۲ نشانگر بود. بیش‌تر نشانگرها دارای رابطه‌ی معنی‌دار با بیش از یک صفت بودند. از سوی دیگر با مقایسه سطوح تنش در برخی صفات نشانگرهای مشترکی مشاهده شد. در هر سه سطح تنش نشانگر P10A4 با صفت  $RWC$  دارای رابطه‌ی مثبت، نشانگر P18A2 در سطوح تنش متوسط دارای رابطه‌ی منفی و در تنش شدید دارای رابطه‌ی مثبت بود. نشانگر P18A3 با صفت پرولین در سطح شاهد دارای مثبت و در سطح شدید دارای رابطه‌ی منفی بود. در مجموع ۱۳۰ نشانگر برای صفات شناسایی شدند. از بین ۲۱ آغازگر ISSR مورد مطالعه نشانگر P8A11 بیشترین تعداد مکان ژنی مرتبط با صفات فیزیولوژیکی مورد مطالعه را دارا بود.

## سپاسگزاری

از پژوهشکده کشاورزی گچساران و پژوهشکده کشاورزی دیم مراغه برای تهیه بذر لاین‌های مورد مطالعه صمیمانه تشکر میکنیم.

نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس نشان داد که ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در اکثر صفات مورد بررسی اختلاف معنی‌دار با یکدیگر داشتند که بیانگر وجود تنوع ژنتیکی قابل توجه در بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه است. نتایج مقایسه میانگین مقایسه میانگین صفات فیزیولوژیک در سطوح مختلف شوری نشان داد که در رابطه با صفت محتوای کلروفیل و  $F_m$  با اعمال تنش شوری میزان صفت کاهش یافته است و در هر دو صفت کمترین مقدار در تنش شدید مشاهده شده‌است؛ ولی صفات  $RWC$ ،  $F_t$ ، قند محلول و پرولین با اعمال تنش افزایش یافته است و کمترین مقدار مربوط به سطح شاهد می‌باشد. در گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر اساس صفات فیزیولوژیکی در سطح شاهد ژنوتیپ‌ها به سه گروه، در سطح تنش متوسط ژنوتیپ‌ها به سه گروه و در سطح تنش شدید به دو گروه تقسیم شدند که با توجه به نتایج ژنوتیپ‌های ۷ و ۵ در تمامی گروه‌بندی‌ها در گروه برتر قرار گرفتند که نشان‌دهنده ثبات عملکرد در شرایط تنش است. بنابراین به عنوان ژنوتیپ‌های متحمل معرفی شدند. در مجموع ۲۲ نشانگر مثبت برای صفات فیزیولوژیکی در سطح شاهد، ۹ نشانگر مثبت در سطح تنش متوسط و ۲۳ نشانگر مثبت در سطح تنش شدید شناسایی شدند. در سطح شاهد، بیشترین تعداد نشانگر مربوط به صفت  $RWC$  با ۱۷ نشانگر و کمترین

## References

- 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.
- Alizadeh, Y., Moradi, R., Nezami, A., Eshghizadeh, H. 2018. The effect of salinity and seed size on germination and growth characteristics of lentil seedlings (*Lens culinaris* Medik.). Journal of Iranian Agricultural Research, 9: 2, p. 20 (in persian).
- Allakhverdiev, S.I., Sakamoto, A., Nishiyama, Y., Inaba, M., Murata, N. 2000. Ionic and osmotic effects of NaCl-induced inactivation of photosystems I and II in *Synechococcus* sp. Plant Physiology, 123: 1047-1056.
- Amirjan, M.R., Iranbakhsh, A., Abnosi, M.H. 2009. Molecular mechanism of photosynthesis. Arak university, P.o.Box38156.
- Andalibi, B., Mohammadi Azar, M., Ismailpour, B., Shekari, F. 2021. Investigating the effect of salicylic acid and nanosilicon on some morphophysiological traits and essential oil under salinity stress of *Lallemantia iberica* (M.B.) Fisch. & C.A. Mey. Iranian Medicinal and Aromatic Plants Research Journal. 37: 2, 364-380 (in persian).
- Arvin, P. and Firuzeh, R. 2021. Studying the effect of salinity stress on some physiological and biochemical parameters (*Trigonella foenum-graecum* L.) of several fenugreek plants. Iranian Medicinal and Aromatic Plants Research Journal. 37: 5, 822-837 (in persian).
- Ashraf, M. 2001. Relationships between growth and gas exchange characteristics in some salttolerant amphidiploid "Brassicai" species in relation to their diploid parents. Environmental and Experimental Botany, 45(2), 155-163.
- Ashraf, M. and Harris, P. 2004. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. Plant Science, 166(1), 3-16.
- Ashraf, M., Foolad, M.R. 2005. Pre sowing seed treatment – A shotgun approach to improve germination, plant growth, and crop yield under saline and non saline conditions. Advances in Agronomy, 88: 223- 265.

- Asish Kumar Paridaa, A. and Anath Bandhu Das, A. 2005.** Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60: 324-349.
- Bagheri, A., Goldani, M., Hasanzadeh, M. 1997.** *Agronomy and Breeding of lentil*. Jihad, Mashhad University Press. 248 pp. (In Persian).
- Bajji, M., Lutts, S., Kinet, J.M. 2001.** Water deficit effects on solute contribution to osmotic adjustment as a function of leaf ageing in three durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivars performing differently in arid conditions. *Plant Science*, 160: 669-681.
- Baker, N.R. and Rosenqvist, E. 2004.** Applications of chlorophyll fluorescence Can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *Journal of Experimental Botany*, (55): 607-621.
- Bornet, B., Goraguers, F., Joly, G., Branchard, M. 2002.** Genetic diversity in European and Argentinean cultivated potatoes detected by inter- simple sequence repeats (ISSR). *Genome*, 45: 481-484.
- Chung, J., Babka, H.L., Graef, G.L., Staswick, P.E., Lee, D.J., Cregan, P.B., Shoemaker, R.C., Specht, J.E. 2003.** The seed protein, oil and yield QTL on soybean linkage group I. *Crop Science*, (43): 1053-1067.
- Chen, J., Gituru, W., Wang, Y., Wang, Q. 2006.** The extent of clonality and genetic diversity in the rare *Caldesia grandis* (Alismataceae): comparative results for RAPD and ISSR markers. *Aquatic Botany*, 27: 45-52.
- Chinnusamy, V., Jagendorf, A., Zhu, J.K. 2005.** Understanding and improving salt tolerance in plants. *Crop Science*, 45: 437-448.
- Cicek, N. and Cakirlar, H. 2002.** The effect of salinity on some physiological parameters in two maize cultivars. *Bulgican Journal Plant Physiology*, 28: 66-74.
- Cramre, G.R. 2002.** Sodium calcium interactions under salinity stress. In Lauchli, A., Luttag, U. salinity: *Environment Plants Molecules*, 205-227.
- Dadashi Chovan, D., Abbasi, A., Ahmadi Lak, A. 2021.** Evaluation of tolerance to salinity in 43 lentil genotypes along with the cultivar of the people. *Journal of Crop Plant Sciences of Iran*. Volume 52, Number 3, pp. 67-87 (in persian).
- Dastmalchi, T., Omid, M., Torabi, S., Madah-Arefi, H., Etminan, A., Hasani, M.H., Behzadi-Rad, M. 2011.** Evaluating genetic diversity in medicinal plant *Althaea* & *Alcea* spp L. with molecular marker of AFLP. *Novin Genetics*, 6: 79- 87.
- Denduangboripant, J., Setaphan, S., Suwanprasart, W., Panha, S. 2010.** Determination of genetic diversity in local tobacco cultivars using ISSR molecular marker. *Chiang Mai Journal of Science*, 37(2): 293-303.
- Fallah, A., Farahmandfar, E., Moradi, F. 2015.** Effect of salt stress on some morphological characters of two rice cultivars during different growth stage at green house. *Agronomy Journal (Pajooresh va Sazandegi)*, 28: 175-182.
- Farkhondeh, R., Nabizadeh, E., Jalil Nezhad, N. 2012.** Effect of salinity stress on proline content, membrane stability and water relation in two sugar beet cultivars. *International Journal of Agricultural Science*, 2: 385-392.
- Farooq, M., Jabran, K., Cheema, Z.A., Wahid, A., Siddique, K.H. 2011.** Therole of allelopathy in agricultural pest management. *Pest management Science*, 67 (5): 493-506.
- Ghorbanli, M., Adib Hashemi, N., Peyvandi, M. 2010.** Study of salinity and ascorbic acid on some physiological responses of *Nigella sativa* L. *Iranian Journal of Medical and Aromatic Plants*. 26: 370- 380. (In Persian with English Summary).
- Gupta, P. 2010.** *Elements of biotechnology*: Rastogi Publications.
- Gupta P.K. and Varshney, R.K. 2000.** The development and use of microsatellite markers for genetic analysis and plant breeding with emphasis on bread wheat. *Euphytica*. (113): 163-185.
- Heydari sharif abad, H. 2001.** *Plant and Salinity*. Publication of Forest and Rangeland Research Institute, Tehran, Iran, 199 p.
- Hoorn, J.W., Katerji, N., Hamdy A., Mastorilli, M. 2001.** Effect of salinity on yield and nitrogen uptake of four grain legumes and on biological nitrogen contribution from soil. *Agricultural Water Management*, 51: 887-898.
- Hester, M.W., Mendelsohn, I.A., McKee, K.L. 2001.** Species and population variation to salinity stress in” *Panicum hemitomom*”, “*Spartina patens*”, and “*Spartina alterniflora*”: morphological and physiological constraints. *Environmental and Experimental Botany*, 46(3): 277-297.
- Joshi S.P., Gupta, V.S., Aggarwal, R.K., Ranjekar P.K., Brar, D.S. 2000.** Genetic diversity and phylogenetic relationship as revealed by inter-simple sequence repeat (ISSR) polymorphism in the genus *Oryza*. *Theor Appl Genet*, 100: 1311-1320.
- Kalaji, M.H. and Guo, P. 2008.** Chlorophyll fluorescence: a useful tool in barley plant breedingprograms. In: A. Sanchez and S.J.

- Gutierrez (Eds.). Photochemistry Research Progress. Nova Publishers, NY, USA: 439-463.
- Kamkar, B., Kafi, M., Nassiri Mahallati, M. 2004.** Determination of the most sensitive developmental period of wheat (*Triticum aestivum*) to salt stress to optimize saline water utilization. 4th International Crop Science Congress. 1- 6.
- Katerji, N., Hoorn, J.W., Hamdy, A., Mastrorilli, M. 2003.** Salinity effect on crop development and yield analysis of salt tolerance according to several classification methods. *Agricultural Water Management*, 62: 37-66.
- Kaya, C., Higgs, D., Ince, F., Amador, B.M., Cakir, A., Sakar, E. 2003.** Ameliorative effects of potassium phosphate on salt stressed pepper and cucumber. *Journal of Plant Nutrition*. 26: 807-820.
- Kayednezami, R., and Balochi, H. 2013.** Physiological responses of lentil plant (*Lens culinaris* Medik.) to salinity stress and foliar spraying with salicylic acid. *Journal of Iranian Legume Research*. Volume 5. Number 2. Page 83-98.
- Keshta, M.M., Hammad, K.M., Sorour, W.A.I. 1999.** Evaluation of rape seed genotypes in saline soil. *Proceedings of the 10th International Rape Seed Congress*. Canberra, Australia.
- Kirkman, T.W. 1996.** Statistics to Use <http://www.physics.csbsju.edu/stats/> [Google Scholar]
- Leung, J., Boouvier-Durand, M., Morris, P.C., Guerrier, D., Chedfor, F., Giraudat, J. 1994.** Arabidopsis ABA-response gene ABI1: features of a calcium- modulated protein phosphatase. *Plant Science*, 264: 1448-1452.
- Maher, L., Armstrong, R., Connor, D. 2003.** Salt Tolerant lentils a Possibility for the future. Solutions for a better environment. *Proceedings of the 11 th Australian Agronomy Conference*, Geelong, Victoria, Australia, 2-6 February 2003, pp 0-4.
- Mohammadi Azar, F. 2023.** Evaluation of freezing stress tolerance in promising durum wheat lines and its relationship with molecular markers. PhD Thesis. Faculty of Agriculture and Natural Resources, Educational Department of Production Engineering and Plant Genetics, Mohaghegh Ardabil University. Ardabil (in persian).
- Moraga, A., Trapero-Mozos, A., Gómez-Gómez, L., Ahrazem, O. 2010.** Intersimple sequence repeat markers for molecular characterization of *Crocus cartwrightianus* cv. albus. *Ind. Crop Science*. 123-132.
- Masodi, B., Bihata, M.R., Babaei, H.R., Peganbari, S.A. 2008.** Evaluation of genetic diversity for agronomic, morphological and phonological traits in Sorbean. *Seed and Plant Improvement Journal*, 24(3): 413-427. (In Persian).
- Mayra, R., Eduardo, V., Orlando, B. 2005.** Plants Molecular aspects of abiotic stress. *Bioteconologia Applicada*, 22: 1-10.
- Mohammadi Farsani, T., Etamadi, N., Seyyed Tabatabai, B.A. 2017.** Evaluation of genetic diversity of chicken grass plant (*Cynodon dacylon*) using morphological traits and ISSR molecular markers. *Journal of Horticultural Sciences and Techniques of Iran*. 83-996:2 (in persian).
- Munns, R., James, R.A., Läuchli, A. 2006.** Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *Journal of Experimental Botany*, 57: 1025-1043.
- Nabati, J., Guldani, M., Mohammadi, M., Mirmiran, S.M., Asadi, A. 2021.** Examining the response of lentil genotypes (*Lens culinaris* Medik.). to salt stress under controlled conditions. *Journal of soil and plant relations*. 12th year No. 4, pages 73-91.
- Naderi, H., Shokrpur, M., Asghari, A.S., Kanooni, H., Esfandiari, A.S. 2015.** Genetic diversity of pea lines using molecular markers ISSR. *Iranian Field Crop Science*, 45: 519-505.
- Noori, K., Amiri, H., Naghdi Badi, H., Torabi, H., Fotookian, M. 2012.** Effects of soil and water salinity on flower yield, soluble components, minerals amount and essence quality of *Matricaria recutita* L. *Journal of Water Research in Agriculture*, 4: 367-378.
- Paknejad, F., Majidiheravan, E., Noor mohammadi, Q., Siyadat, A., Vazan, S. 2007.** Effects of drought stress on chlorophyll fluorescence parameters, chlorophyll content and grain yield of wheat cultivars. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 5(4): 162-169.
- Parida, A., and Das, A.B. 2005.** Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60: 324-349.
- Reddy, P.M., Sarla, N., Siddiq, E.A. 2000.** Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. *Euphytica*, 128:9-17.
- Ritichie, S.W., Nguyen, H.T., Holaday, A.S. 1990.** Leaf water content and gas-exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. *Crop Science*, 30(1): 105-111.
- Sabaghpour, S., Safikhani, H., Sarker, M., Ghaffari, A., Ketata, A.H. 2004.** Present status and future prospects of lentil cultivation in Iran.

- P, 146, Proceeding of 5th European Conference on Grain. 7-11 June, Dijon, France.
- Saghai-Marooft, M.A., Soliman, K.M., Jorgensen, R.A., Allard, R. 1984.** Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 81(24): 8014-8018.
- Saneoka, H., Moghaieb, R.E.A., Premachandra, G.S., Fujita, K. 2004.** Nitrogen nutrition and water stress effects on cell membrane stability and leaf water relations in *Agrostis Palustris* Huds. *Environmental and Experimental Botany*. 52: 131-138.
- Satoh, R., Nakashima, K., Seki, M., Shinozaki, K., Yamaguchi-Shinozaki, K. 2002.** ACTCAT, a novel cis-acting element for proline and hypo osmolarity- responsive expression of the ProDH gene encoding proline dehydrogenase in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 130: 709-719.
- Shah, Z., Shah, S.H., Peoples, M.B., Schwenke, G.D., Herridge, D.F. 2003.** Crop residue and fertilizer N effects on nitrogen fixation and yields of legume-cereal rotations and soil organic matter. *Field Crop Research*. 83, 1-11.
- Shahriari Ahmadi, F.A., Salehi, M., Ghasemi, V.A.O., Ramezani Moghadam, M.R. 2012.** Genetic diversity between some genotypes of cotton (*Gossypium* sp.) In Iranian germplasm using molecular markers between Ryzmahvarh ISSR. *Iranian Journal of Crop Research*, 10: 680-674.
- Sharma, K.K., Crouch, J.H., Hosh, C.T. 2002.** Application of biotechnology for crop improvement: prospects and constraints. *Plant Science*. 163: 381-395.
- Singh S.P. and Diwivedi, V.K. 2002.** Character association and path analysis in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Agriculture Science. Dig.* 22: 225-547.
- Soheili Movahed, S., Ismaili, M.A., Jabari, F., Khorramdel, S., Fooladi, A. 2016.** The effect of water deficit on relative leaf water content, chlorophyll fluorescence indices and seed yield of four pinto bean cultivars. *Agricultural plant production journal. Gorgan University of Agriculture and Natural Resources*. 10 (1): 169-190. (in persian)
- Soltani, A.S., Galeshi, E., Zeinali, H., Latifi, N. 2002.** Germination, seed reserve utilization and seedling growth of chickpea as affected by salinity and seed size. *Seed Science Technology*. 30: 661- 672.
- Tavangar, A., Karami, L., Hedayat, M., Abdi, G. 2021.** Effect of salinity and drought stress on morphological and biochemical properties of two Iranian fenugrecks (*Trigonella foenum-graecum*) populations. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 49(2): 1-12.
- Thavarajah, D. and Thavarajah, P. 2011.** Lentil (*Lens culinaris*) as a biofortified crop with essential micronutrients: A food – based solution to micronutrient malnutrition. *Grain legumes*. 57: 29-31.
- Wakui, K., Iwata, H., Takahashi, Y., Fujigaki, J. 2009.** Assessment of the congruity of genetic relationships and variation revealed by individual-and bulked samples- based approaches using RAPD and ISSR markers in Japanese turnip (*Brassica rapa* ssp. *Rapa*) cultivars. *Breed Science*, 59: 447-452.
- Wang, Z., Wang, J., Bao, Y., Wu, Y., Zhang, H. 2011.** Quantitative trait loci controlling rice seed germination under salt stress. *Euphytica*, 178: 297-307.
- Wisal, M. 2003.** Strategies for improving wheat productivity and soil organic matter in irrigated and rainfed environments. PhD thesis, North West Frontier Province (NWFP) Agricultural University, Peshawar, Pakistan. Available at: <http://eprints.hec.gov.pk/536> (accessed on 15 April 2008).
- Wu, C.J., Cheng, Z.Q., Huang, X.Q., Yin, S.H., Cao, K.M., Sun, C.R. 2004.** Genetic diversity among and within population of *Oryza granulata* from Yunnan of China revealed by RAPD and ISSR markers. Implications for the endangered species. *Plant Science*. 167: 35-42.
- Xiao, B.G. and Yang, B.C. 2007.** Assessment of genetic diversity among tobacco germplasms by ISSR markers. *Scientia Agricultural Sinica*. 40(10): 2153-2161.
- Yang, Y.X., Wu, W., Zheng, Y.L., Chen, L., Liu, R.J., Huang, C.Y. 2007.** Genetic diversity and relationships among safflower (*Carthamus tinctorius* L.) analyzed by inter-simple sequence repeats (ISSRs). *Genetic Resource Crop Evolution*. 54: 1043-1051.
- Yordanov, V. and Tsoev, T. 2000.** Plant responses to drought, acclimation and stress tolerance. *Photosynthetica*. 38 (1): 171-186.

**How to cite this article:**

**Mehdinejad moghadam N, sofalian O, zare N, sedghi M, karimizadeh R & mohammadi azar F 2023.** Investigation of salinity stress on some lentil cultivars using physiological characteristics and molecular markers. Nova Biologica Reperta 11 (1): 15-33. (In Persian).

مهدی‌نژاد مقدم، ن.، سفالیان، ا.، زارع، ن.، صدقی، م.، کریمی‌زاده، ر.، محمدی آذر، ف. ۱۴۰۳. بررسی تنش شوری بر روی برخی ارقام عدس با کاربرد صفات فیزیولوژیک و نشانگرهای مولکولی. یافته‌های نوین در علوم زیستی ۱۱ (۱)، ۱۵-۳۳