University of Birjand

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

تنشهای محیطی در علوم زراعی
Environmental Stresses In Crop Sciences

https://doi.org/10.22077/ESCS.2024.6428.2213

Original article

Evaluation of the physiological and biochemical response of cultivars *Lens culinaris* to drought stress and re-irrigation

S. Azizi[1], N. Zare[2*], P. Sheikhzadeh[3], J. Azizi Mobser[4], R.A. Karimizadeh[5]

1. *Ph.D Student, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil Iran*
2. *Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran*
3. *Associate Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran*
4. *Associate Professor, Department of Water Engineering, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran*
5. *Dryland Agricultural Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Gachsaran, Iran*

Received 29 May 2023; Accepted 1 September 2023

Extended abstract

Introduction

Drought stress is one of the most important abiotic factors that can limit plant growth and yield. The response of plants to water limitation has been evaluated based on genetic, biochemical, and morpho-physiological traits. Plants are constantly affected by drought stress and re-irrigation. Therefore, rapid and efficient recovery from water deficit stress may be one of the key determinants of drought adaptation in plants. The aim of this research was the evaluation of drought stress tolerance and recovery in lentil cultivars after stress conditions.

Materials and methods

In order to evaluate the response of lentil cultivars to drought stress and re-irrigation, a factorial split-plot experiment based on a randomized complete block design with three replications was conducted in the greenhouse. Drought stress was applied at the flowering stage. The factors include 4 lentil cultivars (Namin landrace and Sepehr, Gachsaran, and Kimiya cultivars), drought stress (control (irrigation at 80% FC), medium stress (irrigation at 55% FC) and severe stress (irrigation at 30% FC)) and 3 sampling times (three and six days after drought and recovery (two days after re-irrigation)). All the plants were allowed to grow until the flowering stage (50 days after sowing) under well-watered conditions (80% FC (field capacity) of soil). Afterward, the plants were randomly assigned to three different groups and were exposed to different irrigation regimes including the control (well-watered and maintained at 80% FC), medium stress (watered and maintained at 55% FC), and severe drought stress (watered and maintained at 30% FC). The moisture content of the soil was controlled and maintained within a defined range using the weight method. Stress conditions were kept until the crop maturity and harvesting stage. The leaf samples from 5 seedlings of each pod were collected at 3 and 6 days after drought stress exposure, and two days after re-irrigation and used for physiological and biochemical analysis. The samples immediately were frozen in liquid nitrogen and stored at −80°C until analysis.

* Corresponding author: Nasser Zare; E-Mail: nzare@uma.ac.ir

© 2024, The Author(s). Published by University of Birjand. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0).

Results and discussion

The results showed that adaptation to drought stress was closely related to the recovery ability of plants. Drought stress caused a decrease in chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, carotenoid, protein and proline, yield, and yield components. The reduction of these traits was more remarkable at six days after stress. However, during the recovery time remarkable increase was observed in these traits. The results showed that the correlation between H_2O_2 and MDA was significant and positive. Furthermore, drought stress increased the amount of H_2O_2 and MDA, which increased the activity of antioxidant enzymes (catalase, polyphenol oxidase, and peroxidase). An increase in the intensity and duration of the drought stress also caused an increase in proline (63%), H_2O_2, (19%), and MDA (110%) content, and the activity of CAT (33%), PPo (56%), and POX (24%) compared to the control treatment. An increase in the intensity and duration of the drought stress also caused an increase in H_2O_2 and MDA content and the activity of antioxidant enzymes. In addition, in the recovery conditions, a significant reduction in the destructive effects of stress (H_2O_2, MDA content) and the activity of antioxidant enzymes was visible. The results of the present study indicated that the effects of drought stress on lentil cultivars' yield and yield components (seed numbers, number of pods, 100-seed weight, and seed yield) were varied. Drought stress at the flowering stage decreased the number of seeds (20%) and pods per plant (37%), and 100-seed weight (16%), which led to 29% yield losses. Although the Gachsaran cultivar had the highest yield under normal conditions. However, under drought stress conditions Gachsaran and Sepehr cultivars showed the highest plant yield. On the other hand, the Namin landrace exhibited the lowest yield (40%) under stress conditions.

Conclusion

The water stresses markedly increased the reactive oxygen species (ROS) level and impaired the biosynthesis of the photosynthetic pigment, resulting in the reduction of plant growth and yield with fewer seeds and pods number per plant. However, re-irrigation (recovery) remarkably improved plant growth and reduced the negative effects of drought stress, such as reducing the amount of MDA and H2O2 and improving the activity of antioxidant enzymes and proline content. In conclusion, based on physiological traits Gachsaran, and Sepehr cultivars seem to be suitable cultivars for culture in the regions challenged with water deficit stress.

Keywords: Antioxidant enzymes, Chlorophyll, Drought stress, Hydrogen peroxide, Malondialdehyde (MDA)

تنش‌های محیطی در علوم زراعی
Environmental Stresses in Crop Sciences

https://doi.org/10.22077/ESCS.2024.6428.2213

مقاله پژوهشی

ارزیابی پاسخ‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ارقام عدس (*Lens culinaris*) به تنش خشکی و آبیاری مجدد

سولماز عزیزی[1]، ناصر زارع[2*]، پریسا شیخ‌زاده[3]، جوانشیر عزیزی‌مبصر[4]، رحمت‌الله کریمی‌زاده[5]

۱. دانشجوی دکتری، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل
۲. استاد، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل
۳. دانشیار، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل
۴. دانشیار، گروه مهندسی آب، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل
۵. استادیار، موسسه تحقیقات کشاورزی دیم کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، گچساران، ایران

مشخصات مقاله

واژه‌های کلیدی:
آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان
تنش خشکی
پراکسید هیدروژن
کلروفیل
مالون‌دی‌آلدهید

تاریخ دریافت:
۱۴۰۲/۰۳/۰۸

تاریخ پذیرش:
۱۴۰۲/۰۶/۱۰

چکیده

این تحقیق به‌منظور بررسی نقش تحمل خشکی و آبیاری مجدد پس از تنش در ارقام عدس طراحی شد. تیمارهای آزمایشی شامل چهار رقم عدس (رقم محلی (نمین)، سپهر، گچساران و کیمیا)، تنش خشکی {شاهد (آبیاری در ۸۰٪ ظرفیت مزرعه‌ای)، تنش متوسط (آبیاری در ۵۵٪ ظرفیت مزرعه‌ای) و تنش شدید (آبیاری در ۳۰٪ ظرفیت مزرعه‌ای)} و سه زمان نمونه‌برداری (سه و شش روز پس از تنش و دو روز پس از آبیاری مجدد (بازیابی)) بود. تنش خشکی باعث کاهش کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کارتنوئید، پروتئین و عملکرد و اجزای عملکرد شد و کاهش این صفات در زمان شش روز پس از نمونه‌برداری بیشتر بود؛ اما در شرایط بازیابی افزایش این صفات قابل‌مشاهده بود. علاوه بر این، تنش خشکی موجب افزایش میزان پرولین، H_2O_2، MDA و همچنین افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (CAT، PPO و POX) شد. به‌طورکلی، افزایش شدت و مدت‌زمان تنش موجب افزایش پرولین (۶۳٪)، H_2O_2 (۱۹٪)، MDA (۱۱۰٪)، CAT (۳۳٪)، PPO (۵۶٪) و POX (۲۴٪) نسبت به تیمار شاهد گردید. نتایج نشان داد که همبستگی H_2O_2 و MDA مثبت و معنی‌دار بود، علاوه بر این در شرایط بازیابی کاهش معنی‌دار اثرات مخرب تنش (میزان H_2O_2، MDA) و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان قابل‌مشاهده بود. اثر تنش خشکی بر عملکرد و اجزای عملکرد (تعداد دانه، تعداد غلاف، وزن ۱۰۰ دانه و ۳ دانه) ارقام عدس متفاوت بود. تنش خشکی در مرحله گلدهی باعث کاهش تعداد دانه (۲۰٪) و غلاف در بوته (۳۷٪) و وزن صد دانه (۱۶٪) شد که منجر به کاهش (۲۹٪) عملکرد شد. رقم گچساران در شرایط نرمال بیشترین عملکرد را داشت، همچنین در شرایط تنش خشکی ارقام گچساران و سپهر بیشترین عملکرد را از خود نشان دادند. کمترین میزان عملکرد در رقم بومی در شرایط تنش مشاهده شد. بر اساس نتایج این آزمایش ارقام سپهر و گچساران ارقام مناسبی برای کشت در مناطقی که با تنش کم‌آبی مواجه هستند می‌باشند.

مقدمه

دانه عدس غنی از پروتئین (۲۲ تا ۳۵ درصد)، مواد معدنی و کربوهیدرات بوده و در بسیاری از کشورها یکی از اصلی‌ترین منابع تأمین پروتئین برای میلیون‌ها نفر از مردمان کم‌درآمد محسوب می‌شود. همین امر عامل توسعه کشت این محصول در جهان و افزایش پنج برابری عملکرد جهانی این محصول طی نیم‌قرن اخیر بوده است (Srivastava and Vasishtha, 2012; Kumar et al., 2013). کشور ایران با داشتن اقلیم خشک و نیمه‌خشک و همچنین دامنه نوسانات دمایی بالا، از شرایط کاملاً مطلوب و بهینه جهت کشت عدس برخوردار نبوده و میانگین عملکرد این محصول در مناطق کشت عدس

* نگارنده پاسخگو: ناصر زارع. پست الکترونیک: nzare@uma.ac.ir

که غالباً دیم هستند، پایین‌تر از میانگین جهانی است (Sabaghpour et al., 2013). به‌طوری‌که سطح زیرکشت عدس در سال زراعی ۱۴۰۰ در کشت آبی و دیم به ترتیب ۴۲۴۴ و ۶۰۳۹۵ هکتار با تولید ۷۱۰۷ و ۲۹۳۱۸ تن و عملکرد ۱۶۷۵ و ۴۸۵ کیلوگرم در هکتار بوده است (Ministry of Agricultural Jahad, 2021).

تحقیقات انجام‌شده بر روی عدس نشان داده است که این گیاه در مرحله جوانه‌زنی نسبت به مراحل بعدی حساسیت نسبتاً کمتری نسبت به خشکی دارد. بااین‌وجود عدس در مراحل پیشرفته رشد نسبت به مراحل ابتدایی‌تر در برابر خشکی حساس‌تر است که نشان‌دهنده این است که اثرات خشکی در طول دوره رشد گیاه تشدید می‌شود. دوره گلدهی نیز حساس‌ترین مرحله فنولوژی عدس نسبت به تنش خشکی است پس به نظر می‌رسد که انطباق این دوره با خشکی انتهای فصل علت اصلی کاهش عملکرد آن است (Ganjeali and Nezami, 2008). در عدس تنش گرما و تنش خشکی در مرحله باروری به‌طور قابل‌توجهی تشکیل بذر و عملکرد دانه را کاهش می‌دهد. امواج گرمایی (دمای بیش از ۳۲ درجه سانتی‌گراد) در مرحله گلدهی و پر شدن غلاف باعث آسیب به باروری شده و منجر به ریزش گل، عقیمی گرده، سقط غلاف و کاهش تعداد کل دانه‌ها می‌شود (El Haddad et al., 2020). از سوی دیگر، تنش خشکی انتهای فصل ناشی از بارش نامنظم و کم، با تسریع روند پیری و بلوغ و کاهش اندازه بذر در عدس، زمان پر شدن بذر را کاهش می‌دهد. ازآنجایی‌که تنش ترکیبی (گرما و خشکی) هم تعداد کل دانه و هم اندازه دانه را کاهش می‌دهد و باعث کاهش عملکرد بیشتر نسبت به تنش‌های فردی می‌شود، برهمکنش بین گرما و تنش خشکی جدی‌ترین چالش در نظر گرفته می‌شود (Sehgal et al. 2019). مطالعات نشان می‌دهد باآنکه عدس به ماندابی حساس است؛ اما با آبیاری محدود در زمان‌های فنولوژیکی خاص می‌توان عملکرد دانه را افزایش داد (Ahmadi et al., 2020).

گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) پتانسیل واکنش با بسیاری از ترکیبات سلولی را داشته و سبب خسارت به غشا و سایر ماکرومولکول‌های ضروری از قبیل رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی، پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و لیپیدها می‌شوند (Blokhina et al., 2003). آنتی‌اکسیدان‌ها مولکول‌هایی هستند که مانع از عملکرد رادیکال‌های آزادشده و از تخریب سلول‌ها جلوگیری می‌کنند. این مواد می‌توانند با دادن الکترون به رادیکال‌های آزاد، آن‌ها را به شکل پایدار خود تبدیل و مانع از اثرات مخرب آن‌ها شوند درجه فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان افزایش آنتی‌اکسیدان‌ها در گیاهان به گونه گیاهی، مرحله نموی، شرایط متابولیک، طول مدت و شدت تنش بستگی دارد. سازوکارهای سمیت‌زدایی انواع اکسیژن فعال در گیاهان به دودسته آنزیمی (آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، گایاکول‌پراکسیداز، گلوتاتیون ردوکتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و غیره) و غیرآنزیمی (ویتامین E، آسکوربات، گلوتاتیون، ملاتونین، ترکیبات فلاونوئیدی، کاروتنوئیدها و غیره) طبقه‌بندی می‌شوند. گزارش‌ها نشان می‌دهند که رقم‌های متحمل به تنش‌های محیطی می‌توانند از طریق فعال‌کردن سامانه‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی با تنش‌های محیطی مقابله کنند؛ بنابراین، بین سامانه دفاع آنتی‌اکسیدانی و تحمل شرایط تنش ارتباط وجود دارد. برخی از محققان معتقدند که افزایش میزان آنتی‌اکسیدان‌ها تحمل گیاه به تنش‌های محیطی را افزایش می‌دهد (Demiral and Türkan, 2004; Guo et al., 2006). در این زمینه مطالعات نشان داد که در تنش‌های کمبود آب شدید، غلظت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تا دو برابر افزایش‌یافته که نتیجه آن مقاومت بیشتر گیاه به تنش اکسیداتیو است (Abrishamchi et al., 2012; Bahadoran et al., 2015). در مطالعه بر روی ژنوتیپ‌های عدس مشاهده شد که تنش آبی منجر به افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در مقایسه با تیمار بدون تنش شد (Ahmadi et al., 2020). همچنین در بررسی بر روی ارقام متحمل و حساس نخود و لوبیا به تنش خشکی دلیل افزایش شاخص کلروفیل با دستگاه Spad در ارقام متحمل فعالیت بیشتر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گزارش شده است (Rahbarian et al., 2012; Abrishamchi et al., 2012; Rasti Sani et al., 2014).

در این مطالعه، اهمیت برهم‌کنش تنش خشکی و آبیاری مجدد (بازیابی) بر ژنوتیپ‌های عدس با استفاده از یک مدل ترکیبی مناسب موردبررسی قرار گرفت. هدف آزمایش اثرات خشکی در زمان تنش و آبیاری مجدد بر ارقام عدس بود. اکثر مطالعات به رابطه منفی بین پتانسیل عملکرد (عملکرد در شرایط بدون تنش) و عملکرد تحت تنش شدید اشاره می‌کنند، اما کمتر گزارشی در مورد اثرات تنش بعد از آبیاری مجدد موردبررسی قرار گرفته است. نتایج چن (Chen et al., 2016) نشان داد که مرحله بازیابی از اهمیت زیادی بر تحمل

به تنش خشکی و بازگشت به شرایط نرمال دارد. آن‌ها مشاهده کردند که صفات فیزیولوژیک مانند کلروفیل نقش زیادی در بهبود شرایط بعد از تنش ایفا می‌کنند. کلروفیل به‌عنوان رنگ‌دانه فتوسنتزی نقش مهمی در جذب نور و فتوسنتز گیاهان دارند. محتوای کلروفیل یکی از رایج‌ترین معیارهای مورداستفاده برای ارزیابی شدت تنش خشکی است زیرا تنش می‌تواند تجزیه کلروفیل را تسریع کند (Ying et al., 2015)؛ و با توجه به اینکه تنش خشکی یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده عملکرد گیاهان زراعی به شمار می‌آید، بنابراین شناخت ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ایجادشده در محیط دارای تنش خشکی و بررسی تغییرات بعد از مرحله آبیاری مجدد (قابلیت ریکاوری) عدس دیدگاه‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی مناسبی را در توجیه رفتار این گیاه در مواجه با تنش خشکی و آبیاری مجدد فراهم می‌سازد؛ بنابراین این تحقیق با هدف بررسی اثر تنش خشکی بر فعالیت برخی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و خصوصیات فیزیولوژیک و عملکرد ارقام عدس انجام شده است.

مواد و روش‌ها

طرح آزمایشی و شرایط رشد گیاه: این آزمایش به‌صورت فاکتوریل اسپلیت‌پلات در زمان در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار به‌منظور بررسی اثر تنش خشکی بر برخی صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی بر روی ۴ رقم عدس (جدول ۱) در شرایط گلخانه‌ای اجرا شد. ارقام و سطوح تنش به‌عنوان عامل‌های اصلی و زمان به‌عنوان عامل فرعی در نظر گرفته شدند. گیاهان در گلدان‌های ۱۰ کیلوگرمی کشت شدند. در هر گلدان ۲۰ بذر کشت شد و پس از یک هفته ۷ گیاهچه کاملاً نرمال و یکنواخت نگهداری و سایر گیاهچه‌ها حذف شدند. برخی خصوصیات خاک استفاده‌شده در این آزمایش در جدول ۲ ارائه شده است.

جدول ۱. خصوصیات مهم ارقام عدس استفاده‌شده در این آزمایش

Table 1. Important properties of lentil cultivars used in this experiment

	نام رقم cultivars name	شجره Pedegre	خاستگاه origin	عملکرد دانه Seed yield ($kg.h^{-1}$)
1	Sepehr	FLP2005-53L(ILL5883 x ILL590)	ICARDA	1472
2	Kimiya	FLIP92-12L	ICARDA	1130
3	Gachsar	ILL6212	ICARDA	910
4	Namin landrace	Namin landrace		

جدول ۲. برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمایش

Table 2. Some physical and chemical properties of the soil of the tested parts

بافت Texture	سیلت Silt	رس Clay	ماسه Sand	کربن آلی O.C	کربنات کلسیم معادل Equivalent to calcium carbonate	EC	pH
	----------%----------				%	$dS.m^{-1}$	
لومی Loamy	36	22	42	0.9	5.7	2.3	7.4

برنامه‌های آبیاری

تیمار تنش شامل سه سطح تنش خشکی به ترتیب ۸۰ درصد ظرفیت زراعی (شاهد)، ۵۵ درصد ظرفیت زراعی (تنش متوسط) و ۳۰ درصد ظرفیت زراعی (تنش شدید) در نظر گرفته شد. در این پژوهش، اعمال تنش خشکی بر اساس ظرفیت زراعی صورت گرفت. برای اندازه‌گیری رطوبت در ظرفیت زراعی از روش اندازه‌گیری وزنی رطوبت استفاده شد. برای این منظور ابتدا گلدان‌ها با زهکشی آزاد اشباع‌شده و در گلدان‌ها با پلاستیک بسته شد تا از تبخیر جلوگیری شود. سپس از گلدان‌ها نمونه خاک برداشت‌شده و رطوبت وزنی تا زمانی که در دو روز متوالی برابر شود ادامه یافت که نشان‌دهنده رطوبت وزنی در وضعیت ظرفیت زراعی بود. در گام آخر با ضرب رطوبت وزنی ظرفیت زراعی در جرم مخصوص ظاهری اندازه‌گیری شده خاک رطوبت حجمی به دست آمد و با استفاده از آن مدیریت آبیاری و تیمارهای تنش اعمال گردید. گلدان‌های مشابه و هم‌وزن انتخاب و خاک همگن‌شده به میزان ۱۰ کیلوگرم در هر گلدان اضافه شد. آبیاری بر اساس ظرفیت زراعی ۸۰٪ ظرفیت زراعی در طول

دوره رشد انجام شد. آغاز تنش از مرحله گلدهی شروع شد، زیرا مرحله گلدهی بیشترین حساسیت را نسبت به تنش خشکی دارد و گیاه بیشترین آسیب را در این مرحله متحمل می‌شود. پس از اعمال تنش به مدت ۳ و ۶ روز، آبیاری با ۸۰ درصد ظرفیت زراعی به مدت دو روز (۴۸ ساعت) انجام شد تا گیاهان وارد مرحله بازیابی شوند. نمونه‌برداری در روز سوم و ششم تنش انجام شد. نمونه‌برداری سوم دومرحله‌ای بازیابی انجام شد و صفات فیزیولوژی و بیوشیمیایی اندازه‌گیری شد. تا مرحله برداشت آبیاری بر اساس ظرفیت زراعی ۸۰٪ ظرفیت زراعی انجام شد.

برای اندازه‌گیری عملکرد دانه (برحسب گرم در بوته)، وزن ۱۰۰ دانه، تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در بوته، چهار بوته در هر گلدان در مرحله رسیدگی فیزیولوژیک برداشت شدند. سپس با ترازوی با دقت ۰/۰۰۱ گرم وزن آن‌ها توزین گردید.

برای اندازه‌گیری محتوای کلروفیل و کارتنوئید، ۰/۱ گرم از بافت برگی تازه با استون ۸۰ درصد سائیده شد و به حجم ۲ میلی‌لیتر رسانده شد. محلول حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۰۰ دور سانتریفیوژ شد جذب نوری در طول‌موج‌های ۶۴۵، ۶۶۳ و ۴۷۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد. مقدار کلروفیل و کارتنوئیدها طبق معادله‌های زیر محاسبه شد (Arnon, 1967).

$$Chlorophyll\ a=(19.3\times A663-0.86\times A645)V/100W \quad [1]$$

$$Chlorophyll\ b=(19.3\times A645-3.6\times A663)V/100W \quad [2]$$

$$Chlorophyll\ t=chlorophyll\ a+chlorophyll\ b \quad [3]$$

$$Carotenoids=(1000A470-1.82Ca-85.02Cb)/198 \quad [4]$$

برای اندازه‌گیری محتوای پرولین برگ، مقدار ۰/۱ گرم بافت برگی تازه در ۱۰ میلی‌لیتر سولفوسالیسیلیک اسید ۳٪ سائیده شد و با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. به ۲ میلی‌لیتر از عصاره حاصل، ۲ میلی‌لیتر معرف نایندرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال خالص اضافه شده و لوله‌ها به مدت ۱ ساعت در حمام آب ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس ۴ میلی‌لیتر تولوئن به آن‌ها اضافه گردید و پس از تشکیل دوفاز جداگانه، جذب نوری فاز بالایی رنگی در دستگاه اسپکتروفتومتری با طول‌موج ۵۲۰ نانومتر قرائت شد (Bates et al., 1973).

برای استخراج پروتئین محلول، ۰/۱ گرم نمونه‌های برگ تازه در نیتروژن مایع پودر گردید. سپس با ۱/۵ میلی‌لیتر بافر استخراج (فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار با pH=۷/۸) مخلوط شد. سوسپانسیون حاصل با سرعت ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. محلول رویی برای اندازه‌گیری غلظت پروتئین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان استفاده شد.

اندازه‌گیری غلظت پروتئین به روش اسپکتروفتومتری با استفاده از روش برادفورد (Bradford, 1976) تعیین شد. برای این منظور،۵۰ میکرولیتر عصاره پروتئینی به ۹۵۰ میکرولیتر محلول برادفورد اضافه شد. سپس جذب نمونه‌ها در طول‌موج ۵۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)، ۵۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی با ۵۰۰ میکرولیتر H_2O_2 (۱۰ میلی‌مولار) و ۲/۴۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم (pH 7؛ ۱۰۰ میلی‌مولار) مخلوط شد و جذب نوری نمونه‌ها در طول‌موج ۲۴۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتوفتومتری (SmartSpecPlus Spectrophotometer, Bio-Rad, Hercules, CA, USA) اندازه‌گیری شد (Aebi, 1984).

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز (POX)، ۵۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی به ۲/۵ میلی‌لیتر محلول واکنش (حاوی تریس ۱۰۰ میلی‌مولار، پراکسید هیدروژن ۵ میلی‌مولار و پیروگالل ۱۰ میلی‌مولار) اضافه شد. سپس میزان جذب نوری در طول‌موج ۴۲۵ نانومتر قرائت شد (Kar and Mishra, 1976).

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز (PPO)، ابتدا به ۱/۵ میلی‌لیتر از بافر تریس (۰/۲ مولار)، ۰/۳ میلی‌لیتر از پیروگالل (۰/۲ مولار) اضافه گردید. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی به آن اضافه شد. مخلوط واکنش پس از ورتکس به مدت ۵ دقیقه در بن‌ماری با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و سپس میزان جذب نوری نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری (SmartSpecPlus Spectrophotometer, Bio-Rad, Hercules, CA, USA) در طول‌موج ۴۲۰ نانومتر ثبت شد (Kar and Mishra, 1976).

برای اندازه‌گیری پروکسید هیدروژن (H_2O_2)، ۰/۱ گرم از بافت برگی در ازت مایع سائیده شد و در حمام یخ با ۱ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید ۰/۱ درصد (TCA) کاملاً مخلوط گردید و با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰

دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس نیم میلی‌لیتر از مایع رویی به نیم میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰ میلی‌مولار (pH 7.0) و ۱ میلی‌لیتر از یدید پتاسیم یک مولار اضافه شد. جذب نوری مخلوط در طول‌موج ۳۹۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد (Zaragoza-Martínez et al., 2016).

برای اندازه‌گیری مالون دی‌آلدئید (MDA)، ۰/۲ گرم از نمونه برگ تازه با ۵ میلی‌لیتر اسیدتری‌کلرواستیک ۰/۱ درصد سانتریفیوژ شد. پس از مخلوط کردن با محلول تری‌کلرواستیک اسید ۲۰ درصد حاوی تیوباربیتوریک اسید نیم درصد، ۱۵ دقیقه در حمام آبگرم دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس جذب نوری نمونه‌ها در طول‌موج‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر ثبت شد (Zaho et al., 1994).

تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.2 و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ صورت گرفت. رسم نمودار همبستگی با استفاده از نرم‌افزار R انجام شد. درصد افزایش و کاهش صفات در اثر تنش خشکی بر اساس میانگین ارقام در شدیدترین سطح تنش (تنش FC 30% به مدت ۶ روز) نسبت به تیمار شاهد محاسبه و در مقاله گزارش گردید.

نتایج و بحث

محتوای کلروفیل و کارتنوئید

نتایج نشان داد که اثر رقم، تنش خشکی و زمان و همچنین اثر متقابل بین آن‌ها بر میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئید در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳).

جدول ۳. تجزیه واریانس صفات بیوشیمیایی ارقام عدس تحت تنش خشکی

Table 3. Analysis of variance of physiological traits of lentil cultivars under drought stress

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی DF	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل کل Total Chlorophyll	کاروتنوئید Carotenoid	پروتئین Protein	پرولین Prolin
رقم (A) Cultivar (A)	3	8.08**	0.476**	12.17**	23.17**	0.963**	3.76**
تنش (B) Stress (B)	2	3.807**	0.157**	5.42**	6.25**	0.176**	6.30**
رقم ×تنش A × B	6	0.607**	0.018**	0.723**	0.416**	0.099**	1.47**
خطا Error (A, B)	24	0.009	0.005	0.013	0.076	0.001	0.039
زمان (C) Sampling time (C)	2	2.06**	0.069**	2.88**	3.22**	0.019**	0.457**
رقم × زمان A × C	6	0.893**	0.014**	0.965**	0.663**	0.010**	0.092**
تنش × زمان B × C	4	1.35**	0.034**	1.73**	1.69**	0.008**	0.275**
رقم×تنش× زمان A × B × C	12	0.404**	0.008**	0.440**	0.641**	0.006**	0.067**
تکرار × زمان R (Repeat)× (C)	4	0.02ns	0.00006ns	0.019ns	0.087ns	0.001ns	0.006ns
خطا (زمان) Error (C)	44	0.014	0.002	0.017	0.048	0.0004	0.015
ضریب تغییرات (%) CV (%)		*2.97*	*10.92*	*2.96*	*4.74*	*3.32*	*6.88*

** و ns: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ و غیرمعنی‌دار در سطح احتمال ۵٪

** and ns: Not-significant and significant at 5% and 1% probability levels, respectively.

کلروفیل a در اثر تنش متوسط (۵۵٪ ظرفیت زراعی) و شدید (۳۰٪ ظرفیت زراعی) در تمامی ارقام کاهش یافت و در زمان آبیاری مجدد افزایش یافت به‌طوری‌که رقم محلی بیشترین میزان کلروفیل a (۵/۸۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر)

را در شرایط بدون تنش (۸۰٪ ظرفیت زراعی) و اولین مرحله نمونه‌برداری نشان دادند. درحالی‌که کمترین میزان کلروفیل a در رقم گچساران (۲/۳۵ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر) در شرایط تنش شدید و مرحله دوم نمونه‌برداری (۶ روز پس از تنش) مشاهده شد (جدول ۴).

تنش خشکی موجب کاهش کلروفیل b (۵۱٪) و کلروفیل کل (۳۱٪) نسبت به تیمار شاهد در همه ارقام شد. بیشترین میزان کلروفیل b در رقم محلی در شرایط نرمال و دومین مرحله نمونه‌برداری (۰/۷۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) مشاهده شد. همچنین رقم محلی و سپهر کمترین میزان تغییر را در شرایط تنش متوسط و شدید (به ترتیب ۵۵ و ۳۰٪ ظرفیت زراعی) نسبت به دو رقم دیگر داشتند. درحالی‌که کمترین میزان کلروفیل b نیز در کیمیا و در شرایط تنش شدید در دومین مرحله نمونه‌برداری (۰/۰۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) مشاهده شد. ارقام کیمیا و گچساران به ترتیب (۲/۷ و ۲/۵۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) کمترین کلروفیل کل را در شرایط تنش شدید (۳۰٪ ظرفیت زراعی) و مرحله دوم نمونه‌برداری (۶ روز) نشان دادند درحالی‌که رقم محلی که بیشترین میزان کلروفیل کل (۶/۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) را در شرایط نرمال (۸۰٪ ظرفیت زراعی) و اولین مرحله نمونه‌برداری (۳ روز) نشان داده بود. بااین‌وجود میزان کلروفیل کل در مرحله ریکاوری افزایش معنی‌داری نشان داد.

نتایج نشان داد که تنش موجب کاهش کارتنوئید شد و این کاهش تا مرحله دوم نمونه‌برداری نیز اتفاق افتاد به‌طوری‌که کمترین میزان کارتنوئید در رقم گچساران (۲/۹۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در شرایط تنش شدید و مرحله دوم نمونه‌برداری مشاهده شد. بااین‌وجود میزان کارتنوئید نیز پس از آبیاری مجدد (ریکاوری) افزایش معنی‌داری نشان داد. رقم محلی بیشترین میزان کارتنوئید (۶/۴۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) را در شرایط نرمال و اولین مرحله نمونه‌برداری نشان داد.

در این پژوهش مشاهده شد که محتوای کلروفیل در همه ارقام تحت شرایط تنش خشکی متوسط و شدید به‌طور قابل‌توجهی کاهش یافت و رقم محلی و سپهر نسبت به سایر ارقام کلروفیل و کارتنوئید بیشتری در شرایط تنش نشان دادند. درحالی‌که کلروفیل کل و کارتنوئید در شرایط تنش شدید و مرحله دوم نمونه‌برداری در رقم گچساران به ترتیب ۳۸٪ و ۳۷٪ نسبت به شاهد کاهش نشان داد. بااین‌وجود در مرحله بازیابی افزایش معنی‌دار میزان کلروفیل a کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئیدها در هر چهار رقم قابل‌مشاهده بود.

علاوه‌برآن، میزان افزایش محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی در شرایط بازیابی بسته به نوع رقم و سطح تنش خشکی متفاوت بود. کاهش محتوای کلروفیل در شرایط تنش ممکن است به گیاهان کمک کند آسیب‌های اکسیداتیو نوری را کاهش دهند که در این شرایط فتوسنتز مهارشده و انرژی تهییج نور بیش‌ازحد است (Aranjuelo et al., 2011). انرژی تهییجی که توسط رنگ‌دانه فتوسنتزی در فتوسیستم II جذب می‌شود منجر به اختلال در عملکرد فتوسنتزی و تجمع گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) می‌شود که نتیجه آن ایجاد تنش اکسیداتیو است (Pintó-Marijuan and Munné-Bosch, 2014). سایر مطالعات نشان داده که فتوسنتز گیاهان به دلیل کاهش غلظت کلروفیل و اثرات مضر تنش خشکی بر چرخه کالوین مهار می‌شود (Monakhova and Chemyadev, 2002).

تأثیر تنش خشکی بر میزان پرولین و پروتئین‌های محلول

نتایج نشان داد که اثر رقم، تنش خشکی و زمان و همچنین اثر متقابل بین آن‌ها بر میزان پرولین و پروتئین در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). بین ارقام مختلف ازنظر پرولین نیز اختلاف معنی‌داری وجود داشت. به‌طوری‌که پرولین در اثر تنش متوسط و شدید در تمامی ارقام افزایش معنی‌داری یافت به‌طوری‌که رقم سپهر بیشترین میزان پرولین (۴/۲۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) را در شرایط تنش شدید و دومین مرحله نمونه‌برداری (تنش ۳۰٪ ظرفیت زراعی ۶ روز) نشان دادند. در شرایط بازیابی کاهش میزان پرولین در تمامی ارقام قابل‌مشاهده بود. همچنین کمترین میزان پرولین در تمامی ارقام در شرایط شاهد (۸۰٪ ظرفیت زراعی) قابل‌مشاهده بود (جدول ۴). تنش موجب کاهش پروتئین کل در سه رقم کیمیا، گچساران و سپهر شد و این کاهش در شرایط تنش شدید به‌طور معنی‌داری بیشتر بود. همچنین کاهش در غلظت پروتئین در مرحله بازیابی نیز جبران نشد. بااین‌حال تنش خشکی موجب افزایش میزان پروتئین در رقم محلی شد. رقم گچساران و سپهر بیشترین میزان پروتئین کل (به ترتیب ۱/۰۲ و ۱/۱۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) را در شرایط بدون تنش (۸۰٪ ظرفیت زراعی) و بازیابی نشان دادند. این دو رقم تغییرات پروتئین بیشتری نسبت به سایر ارقام در شرایط تنش داشتند. بااین‌وجود کمترین میزان پروتئین کل به کیمیا (۰/۵۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در شرایط تنش شدید و مرحله دوم نمونه‌برداری تعلق داشت. (جدول ۴).

جدول ۴. تأثیر تنش خشکی و آبیاری مجدد بر صفات فیزیولوژیکی ارقام عدس

Table 4. The effect of drought stress and re-irrigation on the physiological traits of lentil cultivars

ارقام Cultivars	تنش خشکی Drought stress	زمان نمونه‌برداری Sampling Time	کلروفیل a Chl. a	کلروفیل b Chl. B	کلروفیل کل Total Chl.	کاروتنوئید Carotenoid	پروتئین Protein	پرولین Prolin
Kimiya	80% FC	3 day	4.01^{e-g}	0.5^{d-f}	4.52^{fg}	5.31^{e-g}	0.60^{j}	1.71^{kl}
		6 day	4.13^{d-f}	0.45^{fg}	4.59^{f}	5.45^{ef}	0.58^{j-l}	1.71^{kl}
		Recovery	4.19^{de}	0.49^{ef}	4.69^{ef}	5.50^{ef}	0.57^{j-m}	1.73^{kl}
	55% FC	3 day	3.98^{f-h}	0.29^{j-n}	4.28^{h-j}	5.50^{ef}	0.61^{j}	1.67^{kl}
		6 day	3.65^{j-m}	0.23^{no}	3.90^{l-n}	4.93^{g-j}	0.59^{j-l}	1.77^{j-l}
		Recovery	3.92^{f-i}	0.34^{i-m}	4.27^{h-j}	5.07^{f-h}	0.60^{jk}	1.74^{kl}
	30% FC	3 day	3.84^{g-j}	0.35^{h-m}	4.20^{h-j}	5.74^{de}	0.54^{lm}	1.78^{j-l}
		6 day	2.63^{r}	0.05^{p}	2.70^{p}	3.27^{pq}	0.53^{m}	2.05^{h-j}
		Recovery	3.75^{i-l}	0.38^{g-k}	4.15^{h-k}	5.03^{f-i}	0.59^{j-l}	1.77^{j-l}
Gachsaran	80% FC	3 day	3.83^{g-j}	0.48^{e-g}	4.32^{g-i}	4.57^{i-m}	1.02^{c}	1.65^{kl}
		6 day	3.71^{i-m}	0.39^{g-j}	4.11^{i-l}	4.76^{h-l}	1.02^{c}	1.63^{l}
		Recovery	3.72^{i-m}	0.44^{f-h}	4.18^{h-j}	4.75^{h-l}	1.02^{c}	1.67^{kl}
	55% FC	3 day	3.52^{mn}	0.32^{j-n}	3.85^{mn}	4.03^{no}	0.95^{d}	1.94^{h-k}
		6 day	3.09^{o}	0.27^{mn}	3.37^{o}	3.70^{pq}	0.88^{e}	2.21^{f-h}
		Recovery	3.42^{n}	0.38^{g-l}	3.81^{n}	4.30^{l-n}	0.97^{d}	2.04^{h-j}
	30% FC	3 day	3.02^{op}	0.28^{k-n}	3.31^{o}	3.29^{pq}	0.73^{g}	2.64^{c}
		6 day	2.35^{s}	0.17^{o}	2.53^{p}	2.98^{q}	0.66^{hi}	2.62^{cd}
		Recovery	3.72^{i-m}	0.45^{fg}	4.18^{h-j}	4.63^{h-m}	0.78^{f}	1.74^{kl}
Sepehr	80% FC	3 day	3.78^{h-k}	0.28^{k-n}	4.07^{j-m}	4.88^{g-k}	1.08^{b}	1.79^{i-l}
		6 day	3.61^{k-n}	0.31^{j-n}	3.93^{k-n}	4.46^{j-n}	1.11^{ab}	1.80^{i-l}
		Recovery	3.55^{l-n}	0.31^{j-n}	3.87^{mn}	4.57^{i-m}	1.13^{a}	1.73^{kl}
	55% FC	3 day	3.12^{o}	0.28^{k-n}	3.41^{o}	4.27^{mn}	0.99^{cd}	2.21^{f-h}
		6 day	3.59^{k-n}	0.26^{m-o}	3.86^{mn}	4.17^{mn}	0.89^{e}	2.57^{c-e}
		Recovery	3.55^{l-n}	0.27^{l-n}	3.84^{mn}	4.23^{mn}	0.97^{d}	2.41^{c-f}
	30% FC	3 day	2.88^{pq}	0.30^{j-n}	3.20^{o}	4.18^{mn}	0.69^{h}	3.47^{b}
		6 day	4.02^{e-g}	0.27^{mn}	4.30^{g-j}	4.24^{mn}	0.70^{gh}	4.24^{a}
		Recovery	4.07^{d-f}	0.29^{j-n}	4.38^{gh}	4.43^{k-n}	0.95^{d}	3.47^{b}
Namin landrace	80% FC	3 day	5.82^{a}	0.57^{b-e}	6.40^{a}	6.48^{b}	0.55^{k-m}	1.64^{kl}
		6 day	5.09^{b}	0.73^{a}	5.84^{b}	6.77^{ab}	0.55^{k-m}	1.76^{j-l}
		Recovery	4.75^{c}	0.66^{ab}	5.43^{cd}	7.03^{a}	0.58^{j-m}	1.72^{kl}
	55% FC	3 day	5.05^{b}	0.61^{bc}	5.68^{b}	6.50^{b}	0.60^{j}	1.87^{i-l}
		6 day	4.12^{d-f}	0.52^{c-f}	4.65^{ef}	6.00^{cd}	0.61^{j}	1.94^{h-k}
		Recovery	4.72^{c}	0.56^{b-e}	5.30^{d}	6.33^{bc}	0.59^{jk}	1.94^{h-k}
	30% FC	3 day	4.27^{d}	0.59^{b-d}	4.87^{e}	6.69^{ab}	0.66^{hi}	2.33^{e-g}
		6 day	2.81^{qr}	0.43^{f-i}	3.26^{o}	4.31^{l-n}	0.70^{gh}	2.36^{d-f}
		Recovery	5.02^{b}	0.59^{b-d}	5.62^{bc}	5.70^{de}	0.62^{hi}	2.07^{g-i}

FC: ظرفیت زراعی

در این بررسی افزایش پرولین در ارقام عدس در شرایط تنش متوسط و شدید قابل‌مشاهده بود. به‌طوری‌که پرولین در شرایط تنش شدید و مرحله دوم نمونه‌برداری در رقم سپهر ۱۳۶٪ نسبت به شاهد افزایش نشان داد. در انتخاب و اصلاح ارقام سازگار با خشکی، داشتن وِیژگی‌های فیزیولوژیک مانند پرولین بیشتر، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در شرایط تنش از قابلیت‌های سازگاری با خشکی است (Hura et al., 2007). افزایش غلظت پرولین در هر چهار رقم تحت تنش خشکی در این آزمایش با نتایج سینها و همکاران (Sinha et al., 2018) همخوانی دارد. افزایش پرولین احتمالاً به علت افزایش فعالیت آنزیم‌های درگیر در بیوسنتز پرولین یعنی اورنیتین‌آمینوترانسفراز و پرولین کربوکسیلاز ردوکتاز و به‌علاوه به علت جلوگیری از فعالیت آنزیم پرولین‌اکسیداز و کاتابولاز است (Valentovic et al., 2006). نتایج سینگ و

همکاران (Singh et al., 2019) نیز نشان داد ژنوتیپ‌های متحمل در مقایسه با ژنوتیپ‌های حساس، محتوای پرولین بیشتری را انباشته می‌کنند.

تأثیر تنش خشکی بر میزان پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و مالون دی‌آلدئید (MDA)

نتایج این پژوهش نشان داد که اثر متقابل رقم، تنش خشکی و زمان نمونه‌برداری بر H_2O_2 و MDA در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۵). بین ارقام مختلف ازنظر H_2O_2 و MDA نیز اختلاف معنی‌داری وجود داشت. به‌طوری‌که H_2O_2 و MDA در اثر تنش متوسط و تنش شدید در تمامی ارقام افزایش معنی‌داری یافت. رقم محلی بیشترین میزان H_2O_2 (۱۸/۱۵ میکرومول بر گرم وزن تر) را در شرایط تنش شدید و دومین مرحله نمونه‌برداری نشان دادند درحالی‌که کمترین میزان H_2O_2 در رقم گچساران و رقم سپهر (۱۰/۳۵ میکرومول بر گرم وزن تر) در شرایط شاهد و مرحله دوم نمونه‌برداری مشاهده شد. همچنین مشاهده شد که در شرایط بازیابی میزان H_2O_2 به‌طور معنی‌داری کاهش یافت.

کمترین میزان MDA در رقم سپهر، شرایط بدون تنش و در اولین مرحله نمونه‌برداری (۶/۶۹ میکرومول بر گرم وزن تر) مشاهده شد. همچنین رقم محلی بیشترین میزان تغییر را در شرایط تنش متوسط و شدید نسبت به سایر ارقام ازنظر میزان MDA داشت. به‌طوری‌که بیشترین میزان MDA در رقم محلی و در شرایط تنش شدید و نمونه‌برداری شش روز (۲۷/۱۹ میکرومول بر گرم وزن تر) مشاهده شد. در شرایط تنش خشکی، افزایش تنش اکسیداتیو و افزایش محتوای MDA و H_2O_2 امری اجتناب‌ناپذیر است به‌طوری‌که H_2O_2 و MDA در شرایط تنش شدید و مرحله دوم نمونه‌برداری در رقم محلی به ترتیب ۲۱٪ و ۱۸۲٪ نسبت به شاهد افزایش نشان داد. این مسئله نشان می‌دهد که آسیب غشای سلولی و تجمع MDA در رقم محلی تحت شرایط تنش خشکی بیشتر از سایر ارقام بود. همچنین به نظر می‌رسد که سطوح بالاتر MDA در ارقام عدس تحت شرایط تنش به دلیل افزایش قابل‌توجه تولید ROS (H_2O_2 و O_2^-) باشد (Tariq et al., 2018). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که در ارقام عدس در هر دو سطح تنش متوسط و شدید میزان پراکسیداسیون لیپیدی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. بااین‌حال کاهش پراکسیداسیون لیپیدی در مرحله بازیابی قابل‌توجه بود که نشان می‌دهد پس از یک دوره تنش خشکی، گیاه قادر به بازگشت به شرایط نرمال بود. همچنین همبستگی مثبت و معنی‌داری بین میزان MDA و H_2O_2 مشاهده شد (شکل ۱) که نشان می‌دهد افزایش سطح H_2O_2 در شرایط تنش خشکی منجر به افزایش پراکسیداسیون لیپیدها غشایی و احتمالاً درنهایت کاهش محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی و نرخ فتوسنتز می‌شود.

تأثیر تنش خشکی بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (CAT, PPO, POX)

تنش موجب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پلی‌فنل اکسیداز و پراکسیداز شد. بااین‌حال میزان تغییر در فعالیت این آنزیم‌ها بسته به سطح تنش و نوع رقم متفاوت بود. بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در رقم سپهر و در مرحله دوم نمونه‌برداری و شرایط تنش شدید مشاهده شد. بااین‌وجود میزان فعالیت کاتالاز در رقم کیمیا و رقم سپهر در شرایط نرمال و تنش متوسط تا مرحله دوم نمونه¬برداری تغییر معنی‌داری نداشت. بیشترین تغییرات فعالیت کاتالاز در رقم گچساران مشاهده شد. بااین‌حال کمترین میزان فعالیت کاتالاز در مرحله اول نمونه‌برداری در شرایط نرمال در گچساران (۱۱/۳ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) مشاهده شد (جدول ۶). در شرایط تنش شدید فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز به‌طور معنی‌داری تشدید شد. به‌طوری‌که گچساران و رقم سپهر (به ترتیب ۹/۲۵ و ۱۰/۰۸ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) بیشترین فعالیت پلی‌فنل اکسیداز را در شرایط تنش شدید و مرحله دوم نمونه‌برداری (شش روز پس از تنش) نشان دادند. بااین‌وجود میزان فعالیت پلی‌فنل اکسیداز در مرحله بازیابی کاهش معنی‌داری نشان داد. درحالی‌که رقم گچساران کمترین میزان پلی‌فنل اکسیداز (۴/۰۱ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) را در شرایط شاهد و اولین مرحله نمونه-برداری (۸۰٪ ظرفیت زراعی و ۳ روز پس از تنش) نشان داد. همچنین بیشترین میزان تغییر در فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در رقم سپهر و شرایط تنش شدید و بازیابی مشاهده شد. نتایج نشان داد که تنش خشکی به‌ویژه تنش شدید موجب افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در رقم گچساران و سپهر عدس گردید؛ ولی در رقم محلی تغییر معنی‌داری در فعالیت این آنزیم در شرایط تنش مشاهده نشد (جدول ۶). بیشترین میزان فعالیت پراکسیداز در رقم گچساران (۴۱/۹ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) در شرایط تنش شدید و مرحله دوم نمونه‌برداری (۳۰٪ ظرفیت زراعی و ۶ روز) مشاهده شد.

بااین‌وجود میزان فعالیت پراکسیداز در مرحله بازیابی کاهش معنی‌داری نشان داد و این کاهش در رقم گچساران بیشتر از ارقام دیگر بود. همچنین گچساران کمترین میزان فعالیت پراکسیداز (۲۱ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) را در شرایط نرمال و هر دو مرحله نمونه‌برداری نشان داد.

جدول ۵. تجزیه واریانس صفات بیوشیمیایی در ارقام عدس در شرایط تنش خشکی

Table 5. Analysis of variance of biochemical traits in lentil cultivars under drought stress conditions

S.O.V	منابع تغییرات	درجه آزادی DF	مالون دی‌آلدئید MDA	پراکسید هیدروژن H_2O_2	کاتالاز CAT	پلی فنل اکسیداز PPO	پراکسیداز POX
Cultivar (A)	رقم (A)	3	300.7**	124.3**	400.0**	6.84**	247.9**
Stress (B)	تنش (B)	2	434.9**	25.92**	154.9**	30.98**	104.6**
A × B	رقم ×تنش	6	142.9**	2.003**	52.17**	4.15**	78.13**
Error (A, B)	خطا	24	0.626	0.346	0.715	0.130	1.491
Sampling time (C)	زمان (C)	2	47.9**	4.27**	50.67**	12.64**	97.55**
A × C	رقم × زمان	6	9.68**	0.234ns	14.71**	2.61**	51.42**
B × C	تنش × زمان	4	17.62**	1.721*	21.08**	5.40**	30.66**
A × B × C	رقم×تنش× زمان	12	3.79**	0.412**	11.35**	1.27**	24.51**
R (Repeat)× C	تکرار × زمان	4	0.782ns	0.202ns	0.299 ns	0.057 ns	0.186 ns
Error (C)	خطا (زمان)	44	0.305	0.235	0.849	0.097	0.766
CV (%)	ضریب تغییرات (%)	-	5.06	3.79	4.28	4.91	3.18

** و ns: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ و غیرمعنی‌دار در سطح احتمال ۵٪

ns and **: Not-significant and significant at 5% and 1% probability levels, respectively.

تحت تنش خشکی القای فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی توسط گیاه یک سازوکار دفاعی است که از طریق آن بر آسیب سلولی ناشی از تنش اکسیداتیو غلبه می‌کند (Talaat et al., 2015). در این پژوهش مشاهده شد که میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در رقم گچساران و سپهر بیشتر از سایر ارقام در شرایط تنش متوسط و شدید بود. افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در شرایط تنش می‌تواند از آسیب‌های ناشی از تنش اکسیداتیو بکاهد. به نظر می‌رسد واکنش ارقام در فعال‌سازی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در شرایط تنش خشکی و بازیابی متفاوت باشد؛ بنابراین، ارقام متحمل مانند گچساران و سپهر به ترتیب فعالیت کاتالاز (۱۱۳٪ و ۵۹٪)، پراکسیداز (۹۵٪ و ۲۰٪) و پلی‌فنل اکسیداز (۱۳۰٪ و ۹۱٪) بیشتری نسبت به رقم کیمیا و محلی نسبت به تیمار شاهد نشان دادند. مطالعات مختلف تحت شرایط تنش تغییرات متعددی را در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و میزان H_2O_2 نشان داده‌اند (Talaat et al., 2015).

تأثیر تنش خشکی بر عملکرد دانه و اجزای عملکرد

نتایج نشان داد که اثر رقم، تنش خشکی و همچنین اثر متقابل بین آن‌ها بر میزان عملکرد دانه، وزن ۱۰۰ دانه، تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در بوته در سطح یک درصد معنی‌دار است (جدول ۷).

وزن صد دانه و تعداد دانه در بوته در اثر تنش خشکی متوسط (۵۵٪ ظرفیت زراعی) و شدید (۳۰٪ ظرفیت زراعی) در تمامی ارقام کاهش یافت، به‌طوری‌که رقم گچساران بیشترین میزان وزن صد دانه و تعداد دانه در بوته را (به ترتیب ۵/۰۴ و ۶/۲۷ گرم در بوته) را در شرایط بدون تنش (۸۰٪ ظرفیت زراعی) نشان دادند. درحالی‌که کمترین میزان وزن صد دانه و تعداد دانه در بوته در رقم کیمیا (به ترتیب ۲/۰۹ و ۱/۹۷ گرم در بوته) در شرایط تنش شدید (۳۰٪ ظرفیت زراعی) مشاهده شد (جدول ۸). تعداد غلاف در بوته و عملکرد دانه نیز در اثر تنش خشکی متوسط و شدید (به ترتیب ۵۵ و ۳۰٪ ظرفیت زراعی) کاهش یافت، میزان این کاهش در شرایط تنش خشکی متوسط ناچیز بود با افزایش شدت تنش

ارقام میزان کاهش بیشتری را نشان دادند. به‌طوری‌که بیشترین تعداد غلاف در بوته و عملکرد دانه در رقم گچساران (به ترتیب ۲۴/۶ و ۷/۵۲ گرم در بوته) در شرایط نرمال و کمترین تعداد غلاف در بوته در شرایط تنش خشکی شدید در ارقام محلی و کیمیا (۸/۵۸ گرم در بوته) مشاهده شد همچنین کمترین میزان عملکرد دانه در رقم محلی و تنش خشکی شدید (۰/۷۰۴ گرم در بوته) مشاهده شد (جدول ۸).

جدول ۶. تأثیر تنش خشکی و آبیاری مجدد بر صفات بیوشیمیایی ارقام عدس

Table 6. The effect of drought stress and re-irrigation on the biochemical traits of lentil cultivars

ارقام Cultivars	تنش خشکی Drought stress	زمان نمونه‌برداری Sampling Time	پراکسیدهیدروژن H_2O_2	مالون دی‌آلدئید MDA	کاتالاز CAT	پلی‌فنل اکسیداز PPO	پراکسیداز POX
			----------µmol.g^{-1}----------		----------U. mg $^{-1}$ protein----------		
		3 day	12.503^{j}	6.69^{m}	19.45^{n}	5.90^{g-k}	29.93^{fg}
	80% FC	6 day	13.407^{h}	6.96^{lm}	21.89^{h-j}	6.47^{e-g}	32.17^{c-e}
		Recovery	13.25^{hi}	6.99^{lm}	21.34^{i-l}	6.23^{e-i}	31.33^{d-f}
		3 day	13.917^{gh}	13.55^{g}	21.67^{h-k}	6.10^{f-i}	28.83^{gh}
Kimiya	55% FC	6 day	14.75^{d-f}	16.89^{e}	23.00^{e-h}	6.40^{e-h}	31.67^{d-f}
		Recovery	13.917^{gh}	11.89^{hi}	22.00^{g-j}	6.43^{e-h}	30.93^{d-f}
		3 day	16.107^{b}	19.02^{d}	25.52^{c}	6.74^{ef}	22.96^{m-p}
	30% FC	6 day	15.87^{bc}	24.78^{b}	23.34^{f-g}	6.80^{e}	32.72^{cd}
		Recovery	14.75^{d-f}	15.39^{f}	22.00^{g-j}	6.50^{e-g}	31.70^{d-f}
		3 day	10.75^{mn}	8.08^{l}	11.34^{r}	4.01^{op}	21.67^{op}
	80% FC	6 day	10.35^{n}	8.10^{l}	11.27^{r}	4.03^{op}	21.43^{p}
		Recovery	10.825^{mn}	7.80^{lm}	11.12^{r}	3.88^{p}	22.21^{n-p}
		3 day	10.85^{mn}	7.85^{lm}	14.84^{p}	4.60^{no}	26.67^{ij}
Gachsaran	55% FC	6 day	10.85^{mn}	8.09^{l}	17.67^{o}	6.17^{e-i}	32.00^{c-e}
		Recovery	10.817^{mn}	8.05^{l}	13.00^{q}	4.23^{op}	23.33^{m-o}
		3 day	11.25^{lm}	7.90^{l}	19.65^{n}	7.50^{d}	35.80^{b}
	30% FC	6 day	12.05^{jk}	10.82^{ij}	24.05^{de}	9.26^{b}	41.97^{a}
		Recovery	10.683^{mn}	8.12^{l}	12.17^{qr}	4.47^{n-p}	23.00^{m-p}
		3 day	10.717^{mn}	10.24^{jk}	20.45^{k-n}	5.05^{l-n}	30.81^{d-f}
	80% FC	6 day	10.807^{mn}	9.95^{jk}	20.31^{l-n}	5.27^{k-m}	30.64^{ef}
		Recovery	10.85^{mn}	10.04^{jk}	20.00^{mn}	5.07^{l-n}	30.83^{d-f}
		3 day	11.75^{kl}	10.22^{jk}	21.67^{h-k}	5.80^{h-k}	31.50^{d-f}
Sepehr	55% FC	6 day	12.017^{jk}	10.29^{jk}	23.50^{d-f}	6.43^{e-h}	32.67^{cd}
		Recovery	11.417^{k-m}	9.89^{jk}	22.67^{f-i}	5.43^{j-m}	31.10^{d-f}
		3 day	12.517^{j}	9.51^{k}	28.67^{b}	8.35^{c}	33.66^{c}
	30% FC	6 day	12.683^{ij}	10.15^{jk}	32.37^{a}	10.08^{a}	36.75^{b}
		Recovery	11.117^{lm}	9.55^{jk}	24.67^{cd}	5.33^{j-m}	31.00^{d-f}
		3 day	14.417^{e-g}	9.57^{jk}	21.77^{h-j}	5.42^{j-m}	24.05^{lm}
	80% FC	6 day	14.623^{d-f}	9.56^{jk}	23.37^{ef}	4.98^{mn}	25.25^{j-l}
		Recovery	14.35^{fg}	9.75^{jk}	22.67^{f-i}	5.03^{l-n}	24.70^{k-m}
		3 day	15.083^{de}	12.89^{gh}	22.34^{f-j}	5.80^{h-k}	25.67^{j-l}
Namin landrace	55% FC	6 day	15.317^{cd}	15.22^{f}	21.17^{j-m}	5.97^{g-j}	26.00^{jk}
		Recovery	15.05^{de}	12.55^{gh}	22.00^{g-j}	5.47^{j-m}	24.50^{k-m}
		3 day	16.163^{b}	24.64^{b}	17.67^{o}	6.35^{e-h}	27.97^{hi}
	30% FC	6 day	18.15^{a}	27.19^{a}	22.51^{f-j}	6.35^{e-h}	24.60^{k-m}
		Recovery	16.083^{b}	20.22^{c}	22.00^{g-j}	5.63^{i-l}	24.00^{l-n}

FC: ظرفیت زراعی

جدول ۷. جدول تجزیه واریانس صفات عملکرد ارقام عدس

Table 7. Analysis of variance of yield traits of lentil cultivars

S.O.V	منابع	درجه آزادی DF	وزن صد دانه 100 seed number	تعداد دانه در بوته seed number per plant	تعداد غلاف در بوته pod number per plant	عملکرد دانه Seed yield
Cultivar	رقم	3	11.8**	21.6**	205.1**	58.39**
Drought stress	تنش خشکی	2	1.08**	2.65**	171.6 ns	9.46**
Cultivar×drought	رقم× تنش خشکی	6	0.180**	1.63**	2.204**	1.64 **
Error	خطا	24	0.003	0.90	71.18	0.127
CV٪		-	1.78	4.49	10.09	10.57

جدول ۸. تأثیر تنش خشکی بر صفات عملکرد ارقام عدس

Table 8. The effect of drought stress on the yield traits of lentil cultivars

ارقام Cultivars	Drought stress	تنش خشکی	وزن صد دانه 100 seed weight	تعداد دانه در بوته Number seeds per plant	تعداد غلاف در بوته Number pods per plant	عملکرد دانه Seed yield
			g			g.plant^{-1}
Kimiya	Control(80% FC)	شاهد (FC٪۸۰)	2.5^{g}	4.97^{c}	17.33^{c}	2.16^{e}
	drought stress(55% FC)	تنش خشکی (FC٪۵۵)	2.3^{i}	4.21^{d}	13.3^{d}	1.66^{ef}
	drought stress(30% FC)	تنش خشکی (FC٪۳۰)	2.09^{j}	1.97^{f}	8.58^{e}	1.17^{gf}
Gachsaran	Control(80% FC)	شاهد (FC٪۸۰)	5.04^{a}	6.27^{a}	24.6^{a}	7.52^{a}
	drought stress(55% FC)	تنش خشکی (FC٪۵۵)	4.74^{b}	6.05^{ab}	23.16^{ab}	7.05^{a}
	drought stress(30% FC)	تنش خشکی (FC٪۳۰)	3.8^{e}	5.75^{b}	18.3^{c}	4.36^{c}
Sepehr	Control(80% FC)	شاهد (FC٪۸۰)	4.25^{c}	5.1^{c}	22.66^{ab}	4.94^{bc}
	drought stress(55% FC)	تنش خشکی (FC٪۵۵)	4.05^{d}	5.05^{c}	21.66^{b}	5.14^{b}
	drought stress(30% FC)	تنش خشکی (FC٪۳۰)	3.8^{d}	5^{c}	16.33^{c}	3.16^{d}
Namin landrace	Control(80% FC)	شاهد (FC٪۸۰)	2.62^{f}	2.62^{e}	17^{c}	1.17^{gf}
	drought stress(55% FC)	تنش خشکی (FC٪۵۵)	2.42^{gh}	2.42^{e}	13^{d}	.963^{g}
	drought stress(30% FC)	تنش خشکی (FC٪۳۰)	2.35^{ih}	2.36^{e}	8.58^{e}	0.704^{g}
LSD (5%)	-	-	0.100	0.327	2.90	0.6014

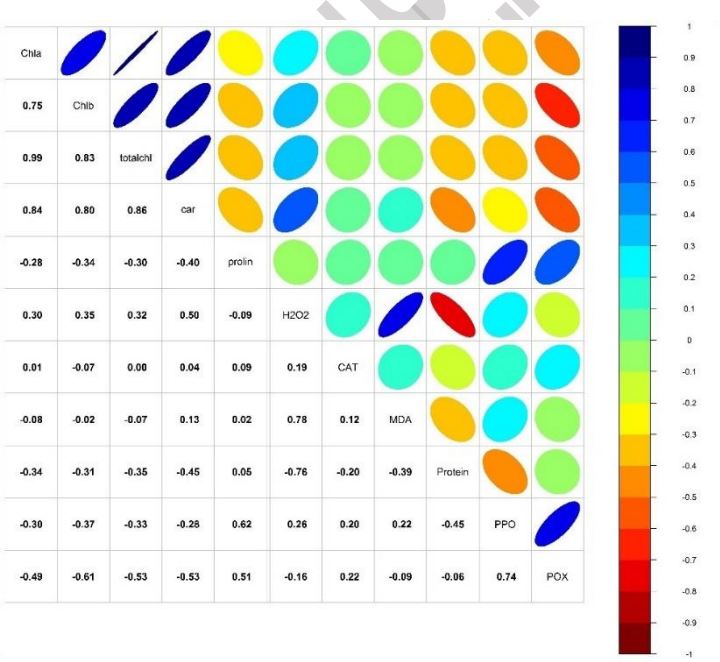
FC: ظرفیت زراعی

تنش خشکی در مرحله گلدهی و پر شدن بذر باعث کاهش عملکرد و اجزای عملکرد شد. اگرچه رقم سپهر و گچساران در شرایط نرمال و تنش متوسط (۵۵٪ ظرفیت زراعی) بیشترین عملکرد را داشتند، اما در شرایط تنش خشکی کاهش عملکرد شدیدی را نشان دادند. نتایج ما مطابق با گزارش‌های قبلی نشان‌دهنده تنوع قابل‌توجه بین ارقام ازنظر عملکرد و اجزای عملکرد است که نشان‌دهنده وجود تنوع ژنتیکی برای این ویژگی‌ها در مواد ژنتیکی ارزیابی‌شده در شرایط تنش آبی است (Sehgal et al., 2019). در یک مطالعه بر روی چهار ژنوتیپ عدس تحت تنش خشکی تفاوت

معنی‌داری بین ژنوتیپ‌ها ازنظر پاسخ‌های فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی آن‌ها گزارش شد. به نظر می‌رسد که عدم کارایی آب در این دوره حساس باعث کاهش قابل‌توجه عملکرد و اجزای عملکرد شده است. در مقابل، آبیاری مناسب در زمان پر شدن بذر منجر به افزایش محصول فتوسنتزی و انتقال آن‌ها به بذر و در نتیجه افزایش وزن بذر شد (Muscolo et al., 2013). همچنین عدم وجود رطوبت کافی در گلدهی به‌طور قابل‌توجهی تشکیل بذر و باروری آن را کاهش می‌دهد و اگر کمبود آب در مرحله پر شدن دانه رخ دهد، می‌تواند به‌طور قابل‌توجهی تولید محصولات فتوسنتزی و انتقال آن را به بذر کاهش دهد که نتیجه آن کوچک شدن دانه و کاهش وزن دانه می‌شود (Plaut et al., 2004). نتایج تحقیقات دیگر مؤید آن است که عملکرد دانه و اجزای عملکرد در شرایط تنش کاهش می‌یابد. تنش خشکی منجر به فتوسنتز غیرطبیعی و گرده‌های عقیم می‌شود و همچنین انتقال مواد برای ذخیره‌سازی بذر را کاهش می‌دهد که می‌تواند منجر به کاهش وزن بذر شود (Mollasadeghi and Dadbakhsh, 2011). بر اساس نتایج این پژوهش، ارقام گچساران و سپهر در هر دو شرایط تنش توانایی بالایی در حفظ عملکرد نسبت به سایر ارقام نشان دادند

همبستگی صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی

نتایج تجزیه همبستگی بین صفات نشان داد که میزان کلروفیل و کارتنوئید برگ همبستگی مثبت و معنی‌داری با یکدیگر داشتند. (شکل ۱). فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان همبستگی مثبت و معنی‌داری با یکدیگر داشتند. علاوه بر این، میزان کلروفیل با آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان همبستگی منفی و معنی‌داری داشت. همچنین همبستگی مثبت و معنی‌داری بین میزان MDA و میزان H_2O_2 مشاهده شد درحالی‌که همبستگی H_2O_2 با پروتئین منفی و معنی‌دار بود (شکل ۱).



شکل ۱. ضرایب همبستگی پیرسون در بین صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی عدس در شرایط تنش و نرمال. ضرایب همبستگی با مقادیر مطلق بالاتر از ۰/۲۰ و ۰/۲۶ به ترتیب در سطح احتمال آماری ۵ و ۱ درصد معنی‌دار بود.

Fig. 1. Pearson correlation coefficients between the physiological and biochemical traits of lentil under drought stress and normal conditions. Correlation coefficients with absolute values higher than 0.20 and 0.26 were statistically significant at the probability level of 5 and 1%, respectively

نتیجه‌گیری نهایی

در این پژوهش افزایش شدت و مدت تنش خشکی باعث کاهش کلروفیل a (۲۹٪)، کلروفیل b (۵۱٪)، کلروفیل کل (۳۱٪)، کارتنوئید (۳۲٪)، پروتئین (۲۱٪)، عملکرد دانه (۲۹٪)، تعداد غلاف (۳۷٪)، تعداد دانه (۲۰٪) و وزن صد دانه (۱۶٪) در همه ارقام نسبت به تیمار شاهد شد، اما کاهش این

صفات در ارقام مختلف متفاوت بود. همچنین تنش خشکی به‌طور قابل‌توجهی میزان فعالیت آنزیم‌های CAT (۳۳٪)، PPO (۵۶٪)، POX (۲۴٪)، پرولین (۶۳٪)، MDA (۱۱۰٪) و H_2O_2 (۱۹٪) را در برگ‌ها افزایش داد. بااین‌حال ارقام عدس در نمونه‌برداری اول و دوم تنش خشکی کاهش شدیدی در صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی نشان دادند؛ اما در مرحله ریکاوری بهبود رشد گیاه و کاهش اثرات منفی تنش مانند کاهش میزان MDA و H_2O_2 و بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و میزان پرولین قابل‌مشاهده بود. نتایج همبستگی نشان داد که آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان همبستگی مثبت و معنی‌داری با پرولین داشتند. همچنین ارقام گچساران و سپهر دارای بیشترین عملکرد در شرایط نرمال و تنش خشکی بودند. این ارقام توانایی بالایی به تحمل به تنش خشکی نشان دادند در نتیجه، بر اساس نتایج این تحقیق ارقام گچساران و سپهر ارقام مناسبی برای کشت در شرایط منطقه می‌توانند باشند. بااین‌حال، مطالعات بیشتر بر روی این ارقام در مورد بیان ژن مرتبط با تحمل به خشکی نیاز خواهد بود.

منابع

Abrishamchi, P., Ganjeali, A., Sakeni, H., 2012. Evaluation of morphological traits, proline content and antioxidant enzymes activity in chickpea genotypes (*Cicer arietinum* L.) under drought stress. Iranian Journal of Pulses Research. 3, 17-30. [In Persian with English summary]. https://doi.org/10.22067/IJPR.V1391I2.24695

Aebi, H., 1984. Catalase in vitro. Methods Enzymol. 105, 121–126. https://doi.org/10.1016/s0076-6879(84)05016-3

Ahmadi, A., Amini Dehaghi, M., Sedghi, M., Mansourifar, C., 2020. The effect of drought stress on antioxidant enzyme activity and chlorophyll content of some advanced genotypes of lentil (*Lens culinaris* Medik). Enviromental Stress in Crope Seinces. 12, 1105- 1116. https://doi.org/10.22077/escs.2019.1712.1390

Aranjuelo, I., Molero, G., Erice, G., Avice, J. C., Nogués, S., 2011. Plant physiology and proteomics reveal the leaf response to drought in alfalfa (*Medicago sativa* L.). Journal of Experimental Botany. 62, 111–123. https://doi.org/10.1093/jxb/erq249

Arnon, A., 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. Agron. Journal. 23, 112–121.

Bahadoran, M., Abrishamchi, P., Ejtehadi, H., Ghassemzadeh, F.,2015. Study on some physiological characteristics of Salsola richteri in drought conditions in the two desert regions of the South Khorasan province. Plant Biology. 7, 1-14. [In Persian with English summary]. https://dorl.net/dor/20.1001.1.20088264.1394.7.24.2.0

Bates, L., Waldren, S., Teare, I., 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil. 39, 205–207. https://doi.org/10.1007/BF00018060

Blokhina, O., Virolainen E., Fagerstedt, K.V., 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. Annals of Botany. 91, 179-194. https://doi.org/10.1093/aob/mcf118

Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Annals Biochem. 72, 248–254. https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3

Chen, D., Wang, S., Cao, B., Cao, D., Leng, G., Li, H., Yin, L., Shan, L., Deng, X., 2016. Genotypic variation in growth and physiological response to drought stress and re-watering reveals the critical role of recovery in drought adaptation in maize seedlings. Frontiers in Plant Science. 6,1–15. https://doi.org/10.3389/fpls.2015.01241

Demiral, T., Türkan, I., 2004. Does exogenous glycine betaine affect antioxidative system of rice seedlings under NaCl treatment? Journal of Plant Physiology. 161, 1089-1100. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2004.03.009

El Haddad, N., Rajendran, K., Smouni, A., Es-safi, N.E., Benbrahim, N., Mentag, R., Nayyar, H., 2020. Screening the FIGS set of lentil (*Lens culinaris* Medikus) germplasm for tolerance to terminal heat and combined drought-heat stress. Agronomy. 1–27. https://doi.org/10.3390/agronomy10071036

Ganjeali, A., Nezami, A., 2008. Ecophysiology and Limiting the Yield of Beans. Mashhad

University Jihad Publishers, pp. 500. [In Persian].

Guo, Z., W. Ou, Lu S., Zhong. Q., 2006. Differential responses of antioxidative system to chilling and drought in four rice cultivars differing in sensitivity. Plant Physiology and Biochemistry. 44, 828-836. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2006.10.024

Hura, T., Grzesiak, S., Hura, K., Elisabeth Thiemt, E., Tokarz, K., Wedzony, M., 2007. Physiological and biochemical tools useful in drought-tolerance detection in genotypes of winter triticale: accumulation of ferulic acid correlates with drought tolerance. Annals of Botany. 100, 767–775. https://doi.org/10.1093/aob/mcm162

Kar, M., Mishra, D.,1976. Catalase, peroxidase and polyphenol oxidase activity during rice leaf senescence. Plant Physiology. 57, 315–319. https://doi.org/10.1104/pp.57.2.315

Kumar, S., Barpete, S., Kumar, J., Gupta, P., Sarker, A., 2013. Global Lentil Production: Constraints and Strategies. SATSA Mukhapatra–Annu Tech. 17, 1-13.

Ministry of Agricultural Jahad. 2021. Agricultural Products Statistics. p. 19. [In Persian].

Mollasadeghi, V., Dadbakhsh, A., 2011. Evaluation of some yield components in wheat genotypes under the influence of drought stress after flowering. Australian Journal of Basic and Applied Sciences. 5, 1137-1142.

Monakhova, O.F., Chemyadev II., 2002. Protective role of kartolin-4 in wheat plants exposed to soil drought. Applied Biochemistry and Microbiology. 38, 373–380. https://doi.org/10.1023/A:1016243424428

Muscolo, A., Sidari, M., Anastasi, U., Santonoceto, C., Maggio, A., 2013. Effect of PEG-induced drought stress on seed germination of four lentil genotypes. Journal of Plant Interactions. 9, 354–363. https://doi.org/10.1080/17429145.2013.835880

Pintó-Marijuan, M., Munné-Bosch, S., 2014. Photo-oxidative stress markers as a measure of abiotic stress-induced leaf senescence: advantages and limitations. Journal of Experimental Botany. 65, 3845–3857. https://doi.org/10.1093/jxb/eru086

Plaut, Z., Butow, B.J., Blumenthal, C.S., Wrigley, C.W., 2004. Transport of dry matter into meveloping wheat kernels and its contribution to grain yield under post-anthesis water deficit and elevated temperature. Field Crops Research. 86, 185–98. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2003.08.005

Rahbarian, R., Khavari-nejad, R., Ganjeali, A., Bagheri A. R., Najafi, F., 2011. Drought stress effects on photosynthesis, chlorophyll fluorescence and water relations in tolerant and susceptible chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes. Acta Biologica Cracoviensia. 53, 47-56. https://doi.org/10.2478/v10182-011-0007-2

Rasti Sani, M., Lahouti, M., Ganjeali, A., 2014. Effect of drought stress on some morphophysiological traits and chlorophyll fluorescence of red bean seedlings (*Phaseolus vulgaris* L.). Iranian Journal of Pulses Research. 5, 103-116. [In Persian with English summary]. https://doi.org/10.22067/IJPR.V1393I1.46210

Sabaghpour, S., Seyedi, F., Mahmoodi, A., Safikhani., M, Pezeshkpour, P., Rostemi, B., Kamel, M., Ferayedi, Y., Alahyar, N., Poursiabidi, M. 2013. Kimiya, a new high yielding lentil cultivar for moderate cold and semi warm climate of Iran. Seed and Plant Journal. 29, 397-399. [In Persian with English summary]. https://doi.org/10.22092/SPIJ.2017.111165

Sehgal, A., Sita, K, Bhandari, K., Kumar, S., Kumar, J., Vara Prasad, P.V., Siddique, K.H.M., Nayyar, H., 2019. Influence of drought and heat stress, applied independently or in combination during seed development, on qualitative and quantitative aspects of seeds of lentil (*Lens culinaris* Medikus) genotypes, differing in drought sensitivity. Plant Cell and Environment. 42, 198–211. https://doi.org/10.1111/pce.13328

Singh, D., Singh, CK., Taunk, J., Jadon, V., Pal, M., Gailkwad, K., 2019. Genome wide transcriptome analysis reveals vital role of heat responsive genes in regulatory mechanisms of lentil (*Lens culinaris* Medikus). Science Reporter. 9, 1–19. https://doi.org/10.1038/s41598-019-49496-0

Sinha, R., Kumar, A., Anil, P., Singh, K., 2018. Physiological, biochemical and molecular responses of lentil (*Lens culinaris* Medik) genotypes under drought stress. Indian Journal Plant Physiology. https://doi.org/10.1007/s40502-018-0411-7

Srivastava, R., Vasishtha, H., 2012. Saponins and lectins of Indian chickpeas (*Cicer arietinum*) and lentils (*Lens culinaris*). Indian Journal of Agricultural Biochemistry. 25, 44-47.

Talaat, NB., Shawky, BT., Ibrahim, AS., 2015. Alleviation of drought-induced oxidative stress in maize (*Zea mays* L.) plants by dual application of 24-epibrassinolide and spermine. Environmental and Experimental Botany. 113, 47–58. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2015.01.006

Tariq, A., Pan, K., Olatunji, OA., Graciano, C., Li, Z., Wu, X., Chen, W., Song, D., Huang, D., Xue, T., Zhang, A., 2018. Phosphorous fertilization alleviates drought effects on Alnus cremastogyne by regulating its antioxidant and osmotic potential. Scientific Reports. 8, 1–11. https://doi.org/10.1038/s41598-018-24038-2

Valentovic, P., Luxova, M., Kolarovic, L., Gasparicova, O., 2006. Effect of osmotic stress on compatible solutes content, membrane stability and water relations in two maize cultivars. Plant, Soil and Environmen. 52, 186-191. https://doi.org/10.17221/3364-PSE

Ying, Y. Q., Song, L. L., Jacobs, D. F., Mei, L., Liu, P., Jin, S. H., et al., 2015. Physiological response to drought stress in Camptotheca acuminata seedlings from two provenances. Frontiers in Plant Science. 6, 361. https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00361

Zaho, S., Xu, C., Zou, Q., 1994. Improvements of the method for measurement of malondialdehyde in plant tissue. Plant Physiology. Communications. 30, 207–210.

Zaragoza-Martínez, F., Lucho-Constantino, GG., Ponce-Noyola, T., Esparza-Garcıa, F., Poggi-Varaldo, H., Cerda-Garcı´a-Rojas, C.M., Trejo-Tapia, G., Ramous-Valdivia, C., 2016. Jasmonic acid stimulates the oxidative responses and triterpene production in Jatropha curcas cell suspension cultures through mevalonate as biosynthetic precursor. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 127, 47–56. https://doi.org/10.1007/s11240-016-1028-z

پیش از انتشار