نشریهٔ پژوهش‌های حبوبات ایران
جلد۳، شمارهٔ۱، صفحهٔ ۶۶-۵۳، نیمهٔ اول ۱۳۹۱

Iranian Journal of Pulses Research
Vol. 3, No. 1, 2012, p. 53-66

خصوصیات فیزیولوژیک ارقام نخود زراعی (*Cicer arietinum* L.) تحت اثر تنش خشکی و کود نیتروژنه آغازگر

سیروس منصوری‌فر [۱]، مراد شعبان [۲*]، مختار قبادی [۱] و سیدحسین صباغ‌پور [۳]

۱- اعضای هیئت علمی دانشکدهٔ کشاورزی دانشگاه رازی کرمانشاه

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد زراعت و عضو باشگاه پژوهشگران جوان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد، باشگاه پژوهشگران جوان، بروجرد، ایران

۳- عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی همدان

تاریخ دریافت: ۸۹/۰۵/۲۴
تاریخ پذیرش: ۸۹/۱۱/۱۶

چکیده

تنش خشکی مهم‌ترین عامل کاهش عملکرد گیاهان زراعی از جمله نخود بوده و باعث تغییر در میزان برخی ترکیبات درونی گیاه می‌شود. این تحقیق به‌منظور بررسی اثرات تنش خشکی و کود نیتروژنهٔ آغازگر روی برخی صفات فیزیولوژیک چهار رقم نخود انجام شد. آزمایش به‌صورت اسپلیت‌فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمار تنش خشکی شامل سطح بدون تنش خشکی (آبیاری کامل)، سطح تنش خشکی متوسط (آبیاری در زمان کاشت و اوایل گلدهی) و سطح تنش خشکی شدید (بدون آبیاری) در کرت‌های اصلی قرار گرفت. تیمارهای کود نیتروژنه در دو سطح (مصرف کود و بدون مصرف کود) و رقم با چهار سطح (رقم آزاد، بیونیج، هاشم و ILC482) فاکتوریل شدند و در کرت‌های فرعی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که اثر تنش خشکی بر محتوای پرولین، میزان قندهای محلول، شاخص پایداری غشاء، محتوای نسبی آب برگ‌ها، میزان کلروفیل‌های a، b، کلروفیل کل و آب نسبی ازدست‌رفتهٔ برگ‌ها، معنی‌دار شد. تأثیر کود نیتروژنه فقط بر شاخص پایداری غشاء معنی‌دار شد که سبب افزایش آن گردید. اثر رقم نیز بر محتوای پرولین، میزان قند محلول، کلروفیلa، کلروفیل کل، شاخص پایداری غشاء، محتوای نسبی آب برگ‌ها و آب نسبی ازدست‌رفتهٔ برگ‌ها معنی‌دار شد. در نتایج حاصله مشخص شد که با افزایش تنش خشکی، میزان کلروفیل‌هایa، b، کلروفیل کل، محتوای نسبی آب برگ و شاخص پایداری غشاء در گیاه، کاهش یافته و میزان پرولین و قندهای محلول به‌ترتیب سه و دو برابر افزایش پیدا کردند که احتمالاً باعث تحمل بیشتر در برابر خشکی می‌شود.

واژه‌های کلیدی: پرولین، تحمل خشکی، کلروفیل، قند محلول

مقدمه

کمبود آب، بر رشد ریشه و اندام‌های هوایی و مراحل نموی گیاهان زراعی مختلف، اثر گذاشته و باعث تغییر در خصوصیات فیزیولوژیک گیاه شده و در نهایت تأثیر مستقیمی بر عملکرد و اجزای عملکرد گیاهان خواهد گذاشت (Khodambashi *et al*., 1990). نخود زراعی یکی از گیاهان زراعی متداول در مناطق خشک و نیمه‌خشک است که تنش خشکی به‌عنوان مهم‌ترین عامل در کاهش عملکرد آن مطرح می‌باشد (Saxina & Singh, 1997). تنش خشکی، زمانی رُخ می‌دهد که جذب آب به‌وسیلهٔ گیاه از خاک، کُندتر از تلفات آب از طریق تعرق صورت بگیرد. تنش طولانی‌مدت با تأثیر بر تمامی فرایندهای متابولیک گیاه، موجب کاهش تولید گیاهان زراعی می‌گردد (Movahedie Dehnavi *et al*., 2004). در برابر تنش خشکی، گیاه نیز مکانیسم‌هایی دارد که خود را از تنش خشکی در امان نگه‌می‌دارد. ازجملهٔ این سازگاری‌ها، اجتناب و تحمل تنش آبی است. تنظیم اسمزی به‌عنوان مهم‌ترین جزء مکانیسم تحمل می‌باشد که در طی آن گیاهان با شکستن مولکول‌های درشت درونی خود، با تنش خشکی مقابله می‌کنند (Zhan *et al*., 1999). تنظیم اسمزی، کاهش پتانسیل شیرهٔ سلولی از طریق افزایش مواد محلول در داخل سلول است (Blum, 1996). علاوه بر این، اسمولیت‌های سازگار نظیر پرولین و بتائین نیز در افزایش تحمل اثرات کمبود آب ناشی از تنش شوری، خشکی و سرما مؤثر هستند

* **نویسنده مسئول:** بروجرد، بلوار دکتر شهیدی، شهرک شهید رجایی، کوچه بنفشه۴، پلاک ۱۰، کدپستی: ۶۹۱۸۷۱۱۱۱۱، تلفن: ۰۶۶۲-۴۴۵۳۵۴۹، همراه: ۰۹۳۶۰۷۵۱۱۵۳
Shaban.morad@yahoo.com

(Rhodes & Hanson, 1993). مواد محلول سازگار، مختلف بوده و پرولین، گسترده‌ترین آنها می‌باشد و به‌نظر می‌رسد تجمع آن در فرایند سازگاری به تنش خشکی در بسیاری از گیاهان شیرین‌پسند[1]، دخالت دارد (Yoshiba *et al*., 1997). همچنین در طی تنش آبی در نوعی گیاه رستاخیزی (*Sporobolus elongates* L.)، سطح پرولین در نمونهٔ مقاوم به خشکی، بیشتر از نمونهٔ حساس به خشکی بود (Ghasempoor & Kianian, 2001). برخی گزارش‌ها حاکی است که کاربرد کود نیتروژن نیز همانند تنش خشکی، در برخی موارد باعث افزایش میزان پرولین در گیاهان می‌شود (Martines *et al*., 1994).

یکی دیگر از اسمولیت‌های سازگار، قندهای محلول هستند که در شرایط تنش خشکی تجمع می‌یابند (Bohnert *et al*., 1995). آزمایش روی گیاه نخود نیز نشان داد که تنش خشکی، قندهای محلول را افزایش داد و باعث کاهش میزان نشاسته در آن شد. دلیل این امر، آن است که در شرایط تنش، گیاه برای مقابله با تنش، مولکول‌های درشتی مثل نشاسته‌ها را شکسته و این امر، سبب افزایش محتوای قند گیاه می‌شود (Ghorbanli *et al*., 2001). افزایش تنش خشکی موجب افزایش در مقدار قندهای محلول و محتوای پرولین برگ‌ها در گیاه آفتابگردان شد (Hamudi *et al*., 2000) . کمبود آب باعث افزایش میزان پرولین و قندهای محلول درگیاه لوبیا چشم‌بلبلی نسبت به گیاه شاهد شد (Soza *et al*., 2004).

غلظت کلروفیل به‌عنوان یک شاخص برای ارزیابی قدرت منبع شناخته شده است (Herzog, 1986). نتایج حاصل از یک آزمایش نشان داد که تنش خشکی موجب کاهش میزان کلروفیل در برگ‌ها می‌شود (Kuroda *et al*., 1990). تنش کم‌آبی در گیاه کلزا باعث کاهش معنی‌دار مقدار کلروفیلa، b و کلروفیل کل در مقایسه با شاهد شد (Ahmadi *et al*., 2005). با افزایش تنش خشکی در نخود، میزان کلروفیل و فتوسنتز برگ‌های نخود نیز کاهش می‌یابد.

غشاء سلول‌های گیاهی در مقابل حرکت آب و محلول‌های مختلف، به‌صورت مانعی با نفوذپذیری انتخابی عمل می‌کند و موجب تنظیم غلظت محلول‌ها در سلول و ایجاد تورژسانس مثبت می‌شود. غشاء سلول، یکی از اولین بخش‌ها در گیاه است که در شرایط تنش، آسیب می‌بینند. پایداری غشاء ازجمله عواملی است که تحت تأثیر تنش‌های مختلف از جمله خشکی و شوری قرار می‌گیرد و با افزایش شدت تنش از میزان آن کاسته می‌شود (Garg *et al*., 2009). در شرایط تنش خشکی، غشاء در ارقامی که مقاومت بیشتری به تنش خشکی دارند، دچار تخریب کمتری می‌شود و پرولین آزاد ممکن است در طول تنش، پایداری غشاء را افزایش دهد (Kocheva *et al*., 2003). عواملی مانند سن برگ، موقعیت برگ در ساقه و شدت تنش خشکی می‌توانند در آسیب به غشاء سلول تأثیر داشته باشند.

تنش‌هایی از قبیل خشکی و شوری، بر محتوای نسبی آب برگ‌ها اثر گذاشته و افزایش شدت این تنش‌ها باعث کاهش در میزان آب نسبی برگ‌ها می‌شود (Garg *et al*., 2009). در این زمینه از محتوای نسبی آب برگ‌ها به‌عنوان شاخص مناسبی از وضعیت آب برگ‌ها یاد می‌شود که با افزایش تنش خشکی، میزان آن کاهش یافته و سبب تغییر در غشاء یاخته‌ای و در نتیجه افزایش نشت الکترولیتی از یاخته‌ها می‌گردد. کاهش محتوای نسبی آب برگ‌ها در گیاه یونجه تحت تأثیر تنش خشکی گزارش شده است (El-Sayed, 1992). همچنین آزمایش ارقام فلفل نشان داد که تنش خشکی باعث کاهش در مقدار محتوای نسبی آب برگ‌ها شده و این کاهش فقط تحت شرایط تنش شدید مشهود بود (Ebadi *et al*., 2000). دراین بررسی به تغییرات برخی از پارامترهای فیزیولوژیکی در چهار رقم نخود زراعی تحت تأثیر تنش خشکی و کود نیتروژن آغازگر پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها

آزمایش در سال زراعی ۸۸- ۱۳۸۷ در دانشکدهٔ کشاورزی دانشگاه رازی کرمانشاه انجام شد. محل انجام آزمایش در ۳۳درجه و ۳۶دقیقه تا ۳۵درجه و۱۵دقیقه عرض شمالی و ۴۵درجه و۲۴دقیقه تا ۴۸درجه و۳۰دقیقه طول خاوری از نصف‌النهار گرینویچ با ارتفاع ۱۳۱۹متر از سطح دریا قرار داشت. متوسط بارندگی محل، ۴۵۰میلی‌متر و بافت خاک منطقهٔ آزمایش، رسی بود. آزمایش به‌صورت اسپلیت‌فاکتوریل با طرح پایهٔ بلوک‌های کامل تصادفی با سه‌تکرار اجرا شد. در این آزمایش، عامل آبیاری در سه سطح تنش شدید S_2 (بدون آبیاری)، تنش متوسط S_1 (آبیاری در زمان کاشت و اوایل گلدهی) و بدون تنش S_0 (آبیاری در زمان کاشت، اوایل گلدهی، شروع غلاف‌دهی و در زمان پُرشدن دانه‌ها، به‌عنوان شاهد) در کرت‌های اصلی و ترکیب چهار رقم نخود شامل هاشم، آزاد، رقم محلی بیونیج و رقم ILC482 توأم با کاربرد کود نیتروژنهٔ آغازگر به‌میزان ۲۵کیلوگرم در هکتار نیتروژن (N_1) و سطح بدون مصرف کود نیتروژنه (N_0)، فاکتوریل شد و در کرت‌های فرعی قرار گرفتند. هر کرت دارای شِش‌ردیف کشت به‌طول پنج‌متر با فاصلهٔ بین ردیف ۲۵سانتی‌متر و فاصلهٔ

1. Glycophyte

بین بوته‌ها روی ردیف ۱۰سانتی‌متر بود. بذور قبل از کاشت، با قارچ‌کش کاربوکسین‌تیرام ضدعفونی شد. قبل از شروع غلاف‌دهی، مزرعه با سم سوین به‌میزان سه‌کیلوگرم در هکتار علیه آفت هلیوتیس (*Heliothis armigera*) سمپاشی شد. سه‌روز پس از اِعمال آخرین تیمار آبیاری، یک‌بار نمونه‌برداری از هرکرت به‌تعداد پنج‌بوته انجام شد و شاخص‌های فیزیولوژیک زیر برای آنها اندازه‌گیری شد.

محتوای پرولین برگ‌ها

برای اندازه‌گیری محتوای پرولین برگ‌ها، نمونه‌های تازهٔ برگی پس از نمونه‌برداری، به‌کمک نیتروژن مایع، پودر شد و ۰/۵گرم از نمونهٔ برگ تازه به لوله‌های آزمایش ۱۵میلی‌لیتری منتقل گردید. سپس ۱۰میلی‌لیتر اسیدسولفوسالیسیلیک ۳/۳درصد به آنها اضافه شد. پس از ۴۸ساعت، نمونه‌ها با استفاده از کاغذ صافی، فیلتر شدند و از محلول‌های صاف‌شده جهت اندازه‌گیری میزان پرولین به‌روش Bates *et al.*, 1973 با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج۵۲۰نانومتر استفاده شد. برای تعیین و ارزیابی کمّی محتوای پرولین در نمونه‌ها از منحنی استاندارد با به‌کارگیری غلظت‌های معلوم پرولین خالص استفاده شد. با به‌دست‌آوردن منحنی استاندارد که به‌صورت یک معادلهٔ رگرسیونی می‌باشد، جذب اصلی پرولین قرائت گردید و با قراردادن آنها در فرمول زیر، مقدار پرولین نمونه‌ها محاسبه شد:

میکروگرم بر میلی لیتر پرولین) = میکرومول پرولین بر گرم برگ تازه
((۰/۵گرم از نمونه)/(۱۱۵/۱۷میکروگرم برمول))/(میلی لیتر تولوئن ×

قندهای محلول[1]

برای اندازه‌گیری میزان قندهای محلول از روش فنل‌سولفوریک‌اسید استفاده شد. این روش مبتنی بر آب‌گیری قندهای محلول و تشکیل ترکیب فورفورال است که با فنول، تولید کمپلکس رنگی می‌کند. شدت رنگ کمپلکس حاصله به‌وسیلهٔ دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج۴۸۰نانومتر تعیین گردید و برای تعیین و ارزیابی کمّی قندهای محلول در نمونه‌ها از منحنی استاندارد و به‌کارگیری غلظت‌های معلوم گلوکز استفاده شد (Ghorbanli *et al.*, 2001).

سنجش میزان کلروفیل

برای سنجش میزان کلروفیل، ۰/۵گرم برگ تازه را با استفاده از نیتروژن مایع در هاون چینی به‌صورت پودر درآورده و درون لوله‌های آزمایش ۱۵سی‌سی ریخته و۱۰سی‌سی استون ۸۰٪ را به آن اضافه کرده و سپس به‌مدت دوساعت در تاریکی نگهداری و پس از آن سانتریفیوژ نموده و بعد از جُدانمودن مایع شفاف بالایی، میزان جذب آنها برای تعیین غلظت کلروفیل‌های a، b و کلروفیل کل در طول موج‌های مربوطه و با استفاده از روابط زیر تعیین گردید (Bruisma, 1963):

Chl-a (mg/ml) =
[[12.7(ABS663)-2.69(ABS645)]×V]/(1000×W)
Chl-b (mg/ml) =
[[22.9(ABS645)-4.69(ABS663)]×V]/(1000×W)
Total-Chl (mg/ml) =
[[20.2(ABS645)+8.02(ABS663)]×V]/(1000×W)

ABS= میزان جذب در طول موج‌های مورد نظر (نانومتر)
W= وزن نمونهٔ اندازه‌گیری‌شده (گرم)
V= حجم نمونهٔ استخراج‌شده (میلی‌لیتر)

با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر، جذب آن قرائت شد و غلظت کلروفیل موجود در عصاره، تخمین زده شد.

پایداری غشاء سلولی[2]

برای اندازه‌گیری میزان پایداری غشاء سلولی،۱۰عدد برگ بالغ از هر کرت انتخاب شد. برگ‌ها به آزمایشگاه منتقل شد و سپس درون هر یک از لوله‌های مخصوص در شرایط بدون تنش و شرایط تنش، ۱۰عدد برگچه با اندازه‌های مساوی قرار داده شد. سپس محتوای همهٔ لوله‌ها به‌وسیلهٔ آب‌مقطر شستشو داده شد. سپس درون لوله‌های بدون تنش،۱۰سی‌سی آب‌مقطر دوبارتقطیرشده ریخته شد و در لوله‌های تنش،۱۰سی‌سی پلی‌اتیلن‌گلایکول ۳۰درصد ریخته و درب آنها را محکم کرده، پس از ۲۴ساعت نگهداری در یخچال در دمای۲درجهٔ سانتی‌گراد و شستشوی آنها با آب‌مقطر، به تمامی لوله‌ها ۱۰سی‌سی آب‌مقطر اضافه گردید و ۲۴ساعت دیگر در یخچال نگهداری شدند. سپس هدایت الکتریکی نمونه‌ها را قرائت کرده و پس از آن، نمونه‌ها را به‌مدت یک‌ساعت در آب‌جوش قرار داده و برای بار دوم، هدایت الکتریکی نمونه‌ها را قرائت نموده و با استفاده از رابطهٔ زیر، میزان خسارت غشاء سلولی تعیین گردید (Sairam *et al.*, 2002):

MSI (درصد) = [1-((1-T1/T2)/(C1/C2))]×100

C1و C2، هدایت الکتریکی در محیط شاهد در قرائت‌های اول و دوم؛

T1 وT2: هدایت الکتریکی در محیط تنشی در قرائت‌های اول و دوم.

محتوای آب نسبی برگ‌ها[3]

1. Soluble sugar

2. Membrane Stability Index (MSI)
3. Relative Water Content (RWC)

برای اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ‌ها، نمونه‌برداری‌ها از برگ‌های انتهایی و جوان گیاه انجام شد و پس از توزین، آنها را به‌مدت پنج‌ساعت درون آب‌مقطر گذاشته و وزن آماسیدهٔ آنها نیز محاسبه شد و با قراردادن آنها در دمای ۷۰درجهٔ‌سانتی‌گراد در آون و توزین، وزن خشک آنها محاسبه گردید. سپس با استفاده از رابطهٔ زیر، محتوای نسبی آب برگ‌ها محاسبه شد (Cornic, 1994):

= محتوای آب نسبی برگ (درصد)

۱۰۰ × (وزن خشک-وزن آماسیده/وزن خشک-وزن تازه)

اندازه‌گیری آب ازدست‌رفتهٔ برگ‌ها[1]

نمونه‌برداری‌ها برای اندازه‌گیری این صفت، هنگام نمونه‌برداری برای محاسبهٔ محتوای نسبی آب برگ‌ها و مشابه آن انجام گرفت. پس از نمونه‌برداری برگ‌ها، نمونه‌ها به دو قسمت هم‌وزن تقسیم شدند. بهٔوسیلهٔ یک قسمت از برگ‌ها ابتدا وزن تازهٔ آنها محاسبه شده و سپس نمونه‌ها به‌مدت پنج‌ساعت در آب‌مقطر قرار داده شد و سپس وزن آماسیدهٔ برگ‌ها به‌دست آمد. قسمت دیگر برگ‌ها به‌مدت پنج‌ساعت در هوای آزاد قرار داده شد و پس از ثبت وزن پژمردگی، در آون در دمای ۷۰درجهٔ‌سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ساعت قرار داده شد و سپس وزن خشک آنها نیز محاسبه شد. با استفاده از رابطهٔ زیر، میزان آب ازدست‌رفتهٔ برگ‌ها محاسبه گردید:

= آب ازدست‌رفتهٔ برگ‌ها (درصد)

۱۰۰ × (وزن خشک-وزن آماسیده/وزن پژمردگی-وزن تازه)

در پایان، آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای آماری SAS و MSTAT-C انجام شد. برای مقایسهٔ میانگین‌ها از آزمون LSD استفاده شد.

نتایج و بحث

محتوای پرولین و قندهای محلول

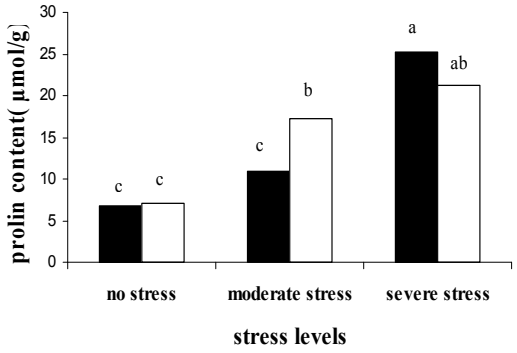
نتایج نشان داد که تأثیر تمام تیمارها و برهم‌کنش آنها به‌استثنای اثر سادهٔ کود نیتروژنه، روی محتوای پرولین برگ‌ها در سطح ۱درصد معنی‌دار شد (جدول ۱).

تنش خشکی و رقم، روی قندهای محلول در سطح ۱درصد تأثیر معنی‌داری داشتند (جدول۱). اثر متقابل تنش×کود و تنش×کود×رقم نیز در سطح ۱درصد و اثر متقابل رقم×کود در سطح ۵درصد معنی‌دار شد و اثر تیمار کود نیتروژنه و اثر متقابل رقم×کود بر قندهای محلول، معنی‌دار نشد (جدول ۱).

کمترین میزان پرولین در تیمار بدون تنش حاصل شد و با افزایش تنش خشکی، میزان تولید پرولین افزایش یافت به‌طوری‌که بیشترین میزان پرولین در تیمار تنش شدید و بدون مصرف کود نیتروژنه به‌دست‌آمد (شکل ۱). میزان پرولین در تیمار با مصرف کود نیتروژنه بیشتر از تیمار بدون مصرف کود نیتروژنه بود.

اثر متقابل تنش×کود نشان داد که در تیمار تنش متوسط، کاربرد کود نیتروژن باعث افزایش میزان پرولین شد ولی در شرایط تنش شدید، کاربرد کود، تولید پرولین را کاهش داد (شکل۱). با افزودن نیتروژن در محلول غذایی در محیط کشت گیاهان گوجه‌فرنگی و خیار، میزان پرولین در این گیاهان افزایش یافت (Martines *et al*., 1994).

در تیمار تنش شدید، تولید پرولین نسبت به تیمار بدون تنش، حدود سه‌برابر بود.

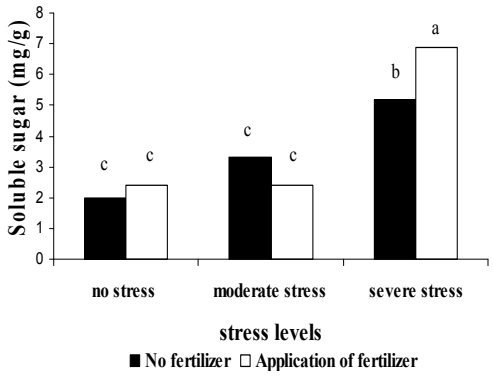


شکل۱- اثر برهم‌کنش تنش خشکی و کود نیتروژنه آغازگر بر محتوای پرولین برگ‌های نخود

Fig.1. Interaction effect of drought stress and nitrogen fertilizer starter on leaf proline content in chickpea

در تیمار بدون تنش، کمترین میزان قند محلول تولید شد و با افزایش شدت تنش خشکی، تولید قندهای محلول افزایش یافت. بیشترین میزان تولید قند محلول، در تیمار تنش شدید به‌همراه مصرف کود نیتروژنه حاصل شد (شکل۲). در تیمار تنش شدید، تولید قندهای محلول نسبت به تیمار بدون تنش، حدود دوبرابر بود.

1. Excised-Leaf Water Loss (ELWL)



شکل۲- اثر برهم‌کنش تنش خشکی و کود نیتروژنهٔ آغازگر بر قندهای محلول برگ‌های نخود

Fig.2. Interaction effect of drought stress and nitrogen fertilizer starter on soluble sugar in chickpea

افزایش در میزان قندهای محلول و پرولین، ازجمله واکنش‌هایی است که گیاهان مختلف مانند نخود برای کاهش پتانسیل اسمزی خود و مقابله با تنش خشکی از خود بروز می‌دهند (Sanches *et al*., 1998). آزمایشات روی گیاهان مختلف تحت تنش خشکی نیز این واقعیت را اثبات می‌کند (Movahedie Dehnavi *et al*., 2004 ; Barker *et al*, 1993; Soza *et al*., 2004; Evan *et al*., 1992) ازجمله در یک مطالعه که به بررسی تأثیر تنش خشکی روی آفتابگردان پرداخته شده بود، این نتیجه حاصل شد که افزایش تنش خشکی موجب افزایش در مقدار قندهای محلول و محتوای پرولین برگ‌ها پس از تنش شد (Hamdi *et al*., 2000). همچنین تنش خشکی باعث افزایش محتوای پرولین و قندهای محلول گیاه گلرنگ پس از اعمال تیمار تنش شد (Movahedie Dehnavi *et al*., 2004). قندهای احیاکننده در گیاهان تحت تنش کم‌آبی، افزایش معنی‌داری را نسبت به گیاهان شاهد نشان دادند (Ahmadi *et al*., 2005). پرولین باعث حفظ ظرفیت آب‌گیری در سیتوپلاسم سلول شده و باعث حفظ ماکرومولکول‌ها ازجمله آنزیم‌ها شده و از تشکیل اشکال نامطلوب و یا قطعه‌قطعه‌شدن آنها جلوگیری می‌کند (Barker *et al*, 1993 & Evan *et al*., 1992).

در بین ارقام، رقم هاشم بیشترین تولید پرولین را در شرایط تنش نشان داد به‌طوری‌که با تولید ۲۰/۴۸میکرومول بر گرم، حدود دوبرابرِ رقم آزاد، پرولین تولید نمود. این رقم اگرچه مقاومت بالایی در برابر تنش خشکی می‌تواند داشته باشد، ولی تولید قندهای محلول آن، از همهٔ ارقام کمتر بود؛ هر چند از این نظر با رقم‌های آزاد و ILC482 اختلاف معنی‌داری نداشت. رقم بیونیج نیز دارای بیشترین میزان قندهای محلول بود. تفاوت در واکنش ارقام نسبت به تنش آبی را می‌توان به تفاوت‌های ژنتیکی آنها نسبت داد. در گونه‌های *Brassica Spp.* نیز تغییرات ژنتیکی در تنظیم اسمزی در برابر تنش خشکی وجود داشته است (Kumar *et al*., 1987).

در یک بررسی‌که روی کلم صورت گرفت، مشاهده شد با افزایش میزان تنش، مقادیر گلوکز و فروکتوز که جزو قندهای احیاکننده هستند، در ساقه‌های این گیاه افزایش و مقدار نشاسته، کاهش یافت. در هنگام کاهش پتانسیل آب برگ، تجمع قندهای محلول می‌تواند در تنظیم اسمزی نقش اساسی را ایفا کند. از آنجا که نشاسته از کربوهیدرات‌های اصلی در ساقهٔ گیاه کلم می‌باشد و در تنش کم‌آبی، مقدار آن کاهش می‌یابد، این پدیده یک پاسخ فیزیولوژیک برای مقابله با تنش کم‌آبی به‌شمار می‌رود (Sato *et al*., 2004). در یک تحقیق که به بررسی اثرات تنش خشکی روی دو رقم نخود پرداخته شده بود، نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که افزایش تنش خشکی باعث کاهش میزان نشاسته در ریشه و اندام هوایی نخود و افزایش قندهای محلول آن شد (Ghorbanli *et al*., 2001). رشد و تنفس گیاه نیز باعث مصرف نشاسته شده و موجب کاهش ذخیرهٔ کربوهیدرات در طی تنش شد (Ahmadi *et al*., 2005).

کلروفیل

تأثیر تنش خشکی بر کلروفیلa، b و کلروفیل کل در سطح ۱درصد معنی‌دار شد (جدول۱) به‌طوری‌که با افزایش سطوح تنش، از میزان کلروفیلa، b و کلروفیل کل کاسته شد. تأثیر رقم بر کلروفیلa در سطح ۱درصد و بر کلروفیل کل در سطح ۵درصد معنی‌دار شد و بر کلروفیلb معنی‌دار نشد و اثر کود نیتروژنه نیز بر هیچ‌کدام از آنها معنی‌دار نشد (جدول ۱). اثر متقابل تنش×کود و رقم×کود بر کلروفیلb در سطح ۱درصد و بر کلروفیل کل در سطح ۵درصد معنی‌دار شد و اثر متقابل تنش×کود×رقم روی کلروفیلa، b و کلروفیل کل در سطح ۱درصد معنی‌دار شد (جدول۱).

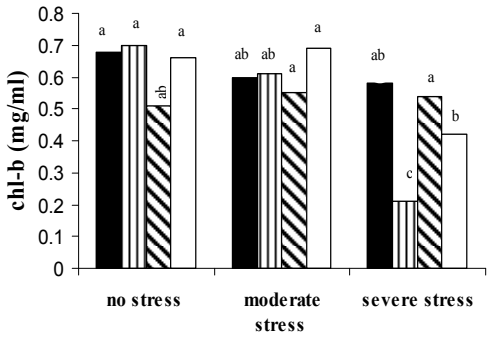
با افزایش تنش خشکی، محتوای کلروفیلa، b و کلروفیل کل کاهش یافت به‌طوری‌که کلروفیلb کاهش شدیدتری را نسبت به کلروفیلa نشان داد.

تنش آبی سبب کاهش معنی‌دار کلروفیلb در گیاه سویا گردید (Ghorbanli *et al*., 2005). کاهش در محتوای کلروفیل‌ها به احتمال زیاد به‌دلیل افزایش کاتابولیسم کلروفیل‌ها و تخریب رنگدانه‌های فتوسنتزی می‌باشد که این فرایند نیز خود نتیجهٔ فراهم‌نبودن عوامل لازم جهت سنتز

کلروفیل و تخریب ساختمان آن در شرایط تنش می‌باشد (Ahmadi *et al*., 2005).

در بین ارقام، بیونیج دارای بیشترین و هاشم دارای کمترین میزان کلروفیلa بود (جدول۲).

بیشترین میزان کلروفیلb مربوط به رقم بیونیج در تیمار بدون تنش بود که از این نظر با رقم هاشم اختلاف معنی‌داری داشت. با افزایش تنش خشکی، از میزان کلروفیلb در همهٔ ارقام کاسته شد به‌طوری‌که در تیمار تنش شدید، رقم بیونیج دارای کمترین میزان کلروفیلb بود. در بین ارقام، میزان کلروفیلb در رقم هاشم تغییر معنی‌داری نکرده و در سه سطح تنش تقریباً ثابت بود (شکل۳).



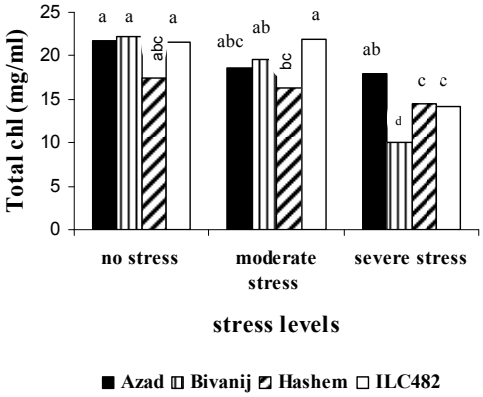
شکل۳- اثر برهم‌کنش تنش خشکی و رقم بر کلروفیلb برگ‌های نخود

Fig. 3. Interaction effect of drought stress and cultivar on chlorophyll-b in chickpea leaves

رقم بیونیج دارای بیشترین میزان کلروفیل کل در شرایط بدون تنش بود و در این شرایط رقم هاشم دارای کمترین میزان کلروفیل کل بود. در شرایط تنش متوسط رقم ILC482 و در شرایط تنش شدید، رقم آزاد دارای بیشترین میزان کلروفیل کل بودند که از این نظر با سایر ارقام دارای اختلاف معنی‌دار بودند. در همهٔ ارقام با افزایش تنش خشکی از میزان کلروفیل کل کاسته شد و کمترین میزان کلروفیل کل در تیمار تنش شدید مربوط به رقم بیونیج بود (شکل۴).

پایداری غشاء سلولی

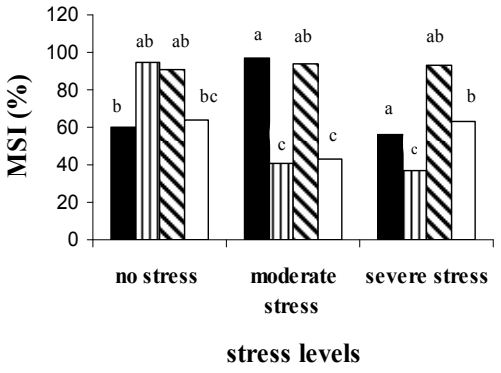
تأثیر تنش خشکی، کود نیتروژنه، رقم و اثرات متقابل دوگانه و سه‌گانه بر شاخص پایداری غشاء سلولی در سطح ۱درصد معنی‌دار شد (جدول ۱).



شکل۴- اثر برهم‌کنش تنش خشکی و رقم بر کلروفیل کل برگ‌های نخود

Fig. 4. Interaction effect of drought stress and cultivar on total chlorophyll in chickpea leaves

با افزایش تنش خشکی از میزان این شاخص کاسته شد ولی با مصرف کود نیتروژنه، میزان آن افزایش پیدا کرد. پایداری غشاء سلولی با افزایش تنش خشکی و عدم مصرف کود نیتروژنه کاهش یافت. در بین ارقام، بیشترین پایداری غشاء سلولی مربوط به رقم هاشم بود. اگرچه در شرایط تنش خشکی پایداری غشاء سلولی کاهش می‌یابد، ولی افزایش میزان پرولین سبب حفظ تورم و کاهش خسارت به غشاء می‌شود و در نتیجه با این روش تنظیم اسمزی، تحمل به تنش کم‌آبی افزایش پیدا می‌کند (Pandet & Agarwal, 1998). در این آزمایش نیز رقم هاشم که بالاترین میزان پرولین را تولید کرد، دارای بیشترین شاخص پایداری غشاء بود و با افزایش تنش خشکی، این شاخص در رقم هاشم، کمتر تغییر کرد. کمترین شاخص پایداری غشاء مربوط به رقم بیونیج و در شرایط تنش شدید بود (شکل۵). طبق آزمایشی که روی ارقام سیب‌زمینی انجام شد نتایج نشان داد که با افزایش شدت تنش خشکی، از پایداری غشاء سلولی کاسته شد که این نشان‌دهندهٔ اثرات نامطلوب تنش روی انسجام غشاء سلول‌ها می‌باشد و هرچه وقوع تنش در مراحل انتهایی رشد رُخ دهد، نشت از دیوارهٔ سلولی بیشتر شده و پایداری غشاء، بیشتر دچار آسیب می‌شود (Khorshidiebanam *et al*., 2002). تنش خشکی از تکامل دیواره ممانعت نموده و باعث نشت بیشتر الکترولیت‌ها از دیوارهٔ سلولی شده و پایدای غشاء سلولی کاهش می‌یابد (Shibario *et al*., 1998).



شکل۵-اثر برهم‌کنش تنش خشکی و رقم بر شاخص پایداری غشاء برگ‌های نخود

Fig. 5. Interaction effect of drought stress and cultivar on membrane stability index in chickpea leaves

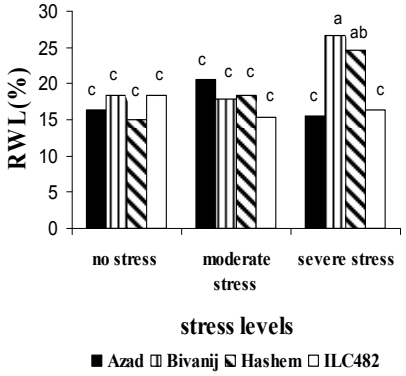
محتوای نسبی آب برگ‌ها (RWC)

تنش خشکی در سطح ۱درصد و رقم در سطح ۵درصد تأثیر معنی‌داری روی محتوای نسبی آب برگ‌ها داشتند، ولی کود نیتروژنه هیچ اثر معنی‌داری روی آن نداشت (جدول۱). با افزایش تنش خشکی، محتوای نسبی آب برگ‌ها کاهش یافت و رقم بیونیج از این لحاظ دارای بیشترین مقدار محتوای نسبی آب برگ بود (جدول۲). هیچ‌کدام از اثرات متقابل دو و سه‌گانه، تأثیر معنی‌داری بر روی این فاکتور نداشتند (جدول۱). پایین‌آمدن RWC و کاهش تورژسانس در بافت‌های گیاهی می‌تواند اولین اثر تنش خشکی باشد که به‌طور طبیعی رشد سلول و اندازهٔ نهایی آن را تحت تأثیر قرار می‌دهد (El-Kheir *et al*., 1994). کاهش میزان آب نسبی برگ در اثر کمبود آب در فلفل نیز گزارش شده است (Ebadi *et al*., 2000). ارقام مختلف سیب‌زمینی که در معرض تنش خشکی قرار گرفته بودند RWC پایین‌تری نسبت به شاهد داشتند (Khorshidiebanam *et al*., 2002). تغییرات RWC در ارقام مختلف به قابلیت نگهداری تورم برگ‌ها تحت شرایط تنش بستگی دارد (Bansal & Nagarajans, 1983).

آب نسبی ازدست‌رفتهٔ برگ‌ها (RWL)

فقط تأثیر تنش خشکی و رقم بر مقدار آب نسبی ازدست‌رفتهٔ برگ‌ها در سطح ۵درصد معنی‌دار شد و به‌جُز اثر متقابل تنش×رقم که در سطح ۱درصد بر روی آن معنی‌دار شد، سایر اثرات متقابل، تأثیر معنی‌داری روی آن نداشتند (جدول۱).

بیشترین میزان آب نسبی ازدست‌رفتهٔ برگ‌ها مربوط به تیمار تنش شدید بود. در بین ارقام در شرایط تنش خشکی شدید، رقم بیونیج دارای بیشترین میزان آب نسبی ازدست‌رفته بود که از این نظر با سایر ارقام، اختلاف معنی‌داری داشت و کمترین آن مربوط به رقم‌های آزاد و ILC482 بود. در شرایط بدون تنش و تنش متوسط، تفاوتی از این نظر در میان ارقام مشاهده نشد (شکل۶).



شکل۶- اثر برهم‌کنش تنش خشکی و رقم بر آب نسبی ازدست‌رفتهٔ برگ‌های نخود

Fig. 6. Interaction effect of drought stress and cultivar on excised-leaf water loss in chickpea

همبستگی بین شاخص‌های فیزیولوژیک

بر اساس نتایج، محتوای پرولین برگ‌ها با محتوای قندهای محلول، میزان کلروفیلa، b، کلروفیل کل و RWC دارای همبستگی منفی و معنی‌دار بود (جدول۳). همبستگی بین محتوای پرولین با RWL، مثبت و معنی‌دار بود. پرولین و قندهای محلول، هر دو، نقش کاهش پتانسیل آب را در گیاه دارند و تولید بیشتر یکی از آنها در شرایط تنش، کمبود دیگری را جبران می‌کند. در بین ارقام نیز هاشم که بیشترین میزان پرولین را تولید کرد دارای کمترین میزان قند محلول بود و رقم بیونیج که پرولین کمتری تولید نمود دارای بیشترین میزان قند محلول بود. با افزایش پرولین، میزان کلروفیلa، b و کلروفیل کل نیز کاهش می‌یابد که این وضعیت جُز در شرایط تنش، رُخ نداد که این خود، نتیجهٔ افزایش کاتابولیسم کلروفیل‌ها در شرایط تنش می‌باشد.

جدول ۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) شاخص‌های فیزیولوژیک ارقام نخود تحت شرایط تنش خشکی و کود نیتروژنه آغازگر .

Table 1. Analysis of variance (mean squares) for physiological traits in chickpea cultivars under drought stress and nitrogen fertilizer starter

منابع تغییرات S.O.V		درجه آزادی df	پرولین proline	قند محلول Soluble sugar	کلروفیلa chlorophyll-a	کلروفیلb chlorophyll-b	کلروفیل کل Total chlorophyll	شاخص پایداری غشاء Membran stability index (MSI)	محتوای نسبی آب برگ‌ها Relative water content (RWC)	آب نسبی از دست رفته برگ‌ها Excised-leaf water loss (RWL)
تکرار	Replication	2	22.2	48096.1	0.64	0.021	9.91	308.61	158.83	116.11
تنش خشکی	Drought stress(A)	2	1581.8**	960308**	35.4**	0.28**	283.59**	738.01**	710.8**	90.18*
خطایa	Error a (Ea)	4	6.56	1985.6	3.18	0.02	17.29	76.57	103.3	22.28
کود نیتروژنه	N fertilizer(B)	1	14.8ns	19821ns	0.0006ns	0.0009ns	0.51ns	1135.2**	13.21ns	0.19ns
رقم	Cultivar(C)	3	328.6**	60775**	18.07**	0.048ns	48.17*	1990.07**	105.6*	69.13*
تنش×کود	A×B	2	164.7**	93079.5**	0.23ns	0.018ns	7.54ns	1927.07**	21.02ns	25.01ns
رقم×کود	B×C	3	194.8**	37875.1*	0.87ns	0.098**	48.62*	3022.7**	59.7ns	20.27ns
تنش×رقم	A×C	6	131.7**	19790ns	3.13ns	0.09**	39.03*	1525.7**	24.7ns	85.8**
تنش×کود×رقم	A×B×C	6	35.9**	173174**	10.08**	0.056*	33.83*	1333.9**	65.2ns	8.19ns
خطایb	Error b (Eb)	42	8.41	1058.7	2.66	0.021	13.79	128.6	36.24	20.06
ضریب تغییرات%	%CV		19.62	27.66	24.7	25.55	20.61	8.48	8.48	24.02

ns، * و **: به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در در سطح $\alpha= 0.05$ و $\alpha= 0.01$.

ns :Non-significant, *and **: Significant at $\alpha= 0.05$ & $\alpha= 0.01$, respectively.

جدول ۲- مقایسات میانگین محتوای نسبی آب برگ‌ها و کلروفیلa در ارقام نخود تحت شرایط تنش خشکی و کود نیتروژنه آغازگر

Table 2. Mean comparisons for relative water content (RWC) and chlorophyll-a in chickpea cultivars under drought stress and nitrogen fertilizer starter

تیمارها	Treatments	کلروفیلa (میلی گرم بر میلی‌لیتر) chlorophyll-a (mg/ml)	محتوای نسبی آب برگ‌ها (درصد) Relative water Content (RWC) (%)
تنش خشکی	**Drought stress**		
بدون تنش	No stress(S0)	7.37a	76.58a
تنش متوسط	Moderate stress(S1)	6.16ab	70.55ab
تنش شدید	Severe stress(S2)	4.94b	65.71b
LSD		**1.43**	**8.14**
کودنیتروژن	**Nitrogen fertilizer**		
بدون مصرف	No fertilizer (N0)	6.16a	71.38a
با مصرف	Used fertilizer (N1)	6.16a	70.5a
LSD		**0.077**	**2.86**
ارقام	**Cultivars**		
آزاد	Azad	6.34a	71.43ab
بیونیج	Bivanij	6.73a	74.11a
هاشم	Hashem	4.69b	68.52b
ILC482	ILC482	6.87a	69.74b
LSD		**1.09**	**4.05**

* مقادیر هر ستون که حرف مشترکی با هم ندارند در سطح آماری ۰/۰۵، تفاوت معنی‌دار با هم دارند.

*Means by the uncommon letter in each column are significantly different ($p<0.05$).

در بین ارقام، رقم آزاد که کمترین میزان پرولین را تولید نمود دارای بیشترین میزان کلروفیلa، b و کلروفیل کل بود و رقم هاشم که بیشترین میزان پرولین را داشت، دارای کلروفیلa، b و کلروفیل کل کمتری بود. در تیمار عدم مصرف کود نیتروژنه که پرولین کمتری تولید شد میزان کلروفیلa، b و کلروفیل کل نسبت به تیمار مصرف کود نیتروژنه، بیشتر بود. هرچند همبستگی بین پرولین و شاخص پایداری غشاء، معنی‌دار نشد، ولی دارای یک روند منفی بود که با افزایش سطح پرولین، خسارت به غشاء افزایش یافت و این روند بدین دلیل است که افزایش در میزان پرولین، نشان‌دهندهٔ شرایط تنش حاکم بر گیاه است که هرچه میزان پرولین بیشتری تولید شود یعنی تنش شدیدتر بوده و خسارت به غشاء افزایش می‌یابد و پرولین فقط می‌تواند تا حدودی این خسارت را تخفیف بخشد. رقم هاشم بیشترین میزان تولید پرولین را داشت و در این حال دارای کمترین میزان شاخص پایداری غشاء بود و ارقام آزاد و بیونیج که کمترین میزان پرولین را تولید نمودند شاخص پایداری غشاء بیشتری نسبت به سایر ارقام داشتند. در مطالعه‌ای که بر روی ژنوتیپ‌های سویا انجام شد، مشخص شد که در شرایط تنش خشکی، محتوای پرولین با آسیب به غشاء سلول همبستگی منفی دارد (Pactu *et al*., 1995). در تیمار مصرف کود نیتروژنه که تولید پرولین در نخود افزایش یافته، شاخص پایداری غشاء کاهش یافته است.

همبستگی قندهای محلول نیز با کلروفیل‌های a، b، کلروفیل کل، شاخص پایداری غشاء و RWC مثبت بود که برای کلروفیلa در سطح ۵درصد و برای RWC در سطح ۱درصد معنی‌دار شد و با توجه به همبستگی آن با RWL که منفی و معنی‌دار است، نشان‌دهندهٔ این است که با افزایش شدت تنش، میزان تولید پرولین در گیاه برای کاهش پتانسیل آب، بیشتر از میزان تولید قندهای محلول می‌باشد و در شرایط بدون تنش، میزان تولید قندهای محلول بیشتر از میزان پرولین می‌باشد. در بین ارقام، رقم بیونیج بیشترین میزان تولید قندهای محلول و کمترین میزان کلروفیلb را نیز داشت و سایر ارقام که قند محلول کمتری نسبت به این رقم تولید کردند، کلروفیلb بیشتری نسبت به این رقم داشتند.

جدول ۳- همبستگی بین شاخص های فیزیولوژیک ارقام نخود تحت شرایط تنش خشکی و کود نیتروژنه آغازگر

Table 3. Correlation between physiological parameters of chickpea cultivars under drought stress and nitrogen fertilizer starter

صفات فیزیولوژیکی Physiologycal traits	پرولین proline	قند محلول S. sugar	aکلروفیل (chl-a)	bکلروفیل (chl-b)	کلروفیل کل Total chl)	شاخص پایداری غشاء (MSI)	محتوای نسبی آب برگ‌ها (RWC)	آب نسبی از دست برگ‌ها رفته (RWC)
پرولین prolin	1							
قند محلول Soluble sugar (S.sugar)	-0.77**	1						
aکلروفیل chlorophyll-a (chl-a)	-0.88**	0.72*	1					
bکلروفیل chlorophyll-b (chl-b)	-0.85**	0.46ns	0.66ns	1				
کلروفیل کل Total chlorophyll (Total chl)	-0.93**	0.61ns	0.84**	0.95**	1			
شاخص پایداری غشا Membran stability index(MSI)	-0.05ns	0.17ns	-0.31ns	0.29ns	0.1ns	1		
محتوای نسبی آب برگ‌ها Relative water content(RWC)	-0.88**	0.92**	0.82**	0.6ns	0.74*	0.002ns	1	
آب نسبی از دست رفته برگ‌ها Eecised-leaf water loss(RWL)	0.72*	-074*	-0.62ns	-0.66ns	-0.72*	-0.35ns	-0.65ns	1

ns، * و **: به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در در سطح $\alpha= 0.05$ و $\alpha= 0.01$.

ns :Non-significant, *and **: Significant at $\alpha= 0.05$ & $\alpha= 0.01$, respectively.

کلروفیل کل نیز با کلروفیل‌های a و b و RWC دارای همبستگی مثبت و معنی‌دار بود که این نشان می‌دهد که در شرایط تنش، کاهش هر کدام از اینها سبب کاهش چشمگیر کلروفیل کل می‌شود. در میان همهٔ ارقام نیز با کاهش محتوای کلروفیل‌های a و b در اثر افزایش شدت تنش خشکی، میزان کلروفیل کل نیز کاهش یافت (جدول۳).

نتیجه‌گیری

یافته‌های حاصل از این تحقیق نشان داد هنگامی که گیاه نخود با کمبود آب روبرو می‌شود میزان کلروفیل‌های a و b، کلروفیل کل، محتوای نسبی آب برگ و شاخص پایداری غشاء در گیاه کاهش می‌یابد و با توجه به همبستگی منفی که بین ویژگی‌های مورد بررسی با میزان پرولین وجود دارد، میزان پرولین در هنگام تنش شدید تا سه‌برابر افزایش می‌یابد. همچنین با توجه به این‌که همبستگی بین این صفات با میزان قندهای محلول، مثبت است، ولی در شرایط تنش شدید میزان این قندها نیز تا دوبرابر افزایش می‌یابد که افزایش در میزان پرولین و قندهای محلول سبب می‌شود گیاه تحمل بیشتری در برابر خشکی داشته باشد هرچند که نقش پرولین در تحمل تنش خشکی در مورد گیاه نخود بیشتر احساس می‌شود.

منابع

1. Ahmadi, M.A., Manuchehri, K.Kh., and Torkzadeh, M. 2005. Effect of type of Brasinoestroid on accumulation of Malon Aldeid, Proline, sugar and photosynthetic pigments in Rapeseed in situation of water stress. J. Biol. of Iran 18: 295-306. (In Persian with English Summary).
2. Bansal, K.C., and Nagarajans, S. 1983. Measurement of desiccation tolerance in potato leaves. Indian Journal of Plant Physol. 264: 418-420.
3. Barker, D.L., Sulivan, C.Y., and Moser, L.E. 1993. Water deficits effect on osmotic potential, cell wall elasticity and prolin in five grasses. J. Agron. 85: 2750-2759.
4. Bates, L.S., Walden, R.P., and Teave, I.D., 1973. Rapid determination of free praline for water stress studies. Plant and Soil 39: 205-207.
5. Blum, A. 1996. Crop response to drought and the interpretation of adaptation. Plant Growth Regulators 20: 135-148.
6. Bohnert, H.J., Nelson, D.E., and Jensen, R.G. 1995. Adaptations to environmental stresses. Plant Cell 7: 1099-1111.
7. Bruisma, J. 1963. The quantitative analysis of chlorophyll a & b in plant extract. Photochem Photobil 12: 241-249.
8. Cornic, G. 1994. Drought stress and high light effects on leaf photosynthesis. In: N.R. Baker and J.R. Bowyer (Eds.). Photoinhibition of photosynthesis: from molecular mechanisms to the field. Bios Scientific Publishers, Oxford, 297-313.
9. Ebadi, A., Heydarie Sharifabad, H., Hashemie dezfulli, A., and Tahmasebi, Z. 2000. Effect of water deficit on accumulation of accord metabolites in different varieties of alfalfa. J. Rea & Bui 48: 64-67. (In Persian).
10. El-Kheir, M.S.A., Kandil, S.A., and Mekki, B.B. 1994. Physiological response of two soybean cultivars grown under stress conditions as affected by CCC treatment. Egypt. J. Physiol. Sci. 18: 179-200.
11. El-Sayed, H. 1992. Proline metabolism during water stress in sweet pepper (*Capsicum annum* L.) plant Phyton. Horn. 32: 255-261.
12. Evan, R.D., Black, R.A., Loeshel, W.H., and Follows, R.J. 1992. Osmotic relation the drought-induced shrub *Artimisia tridentatain* in response to water stress. Plant. Cell and Environ 15: 49-59.
13. Garg, N., and Singla, R. 2009. Variability in the response of chickpea cultivars to short-term salinity, in terms of water retention capacity, membrane permeability and osmo-protection. Turk J. Agric. 33: 1-7.

14. Ghasempoor, H.R., and Kianian, J. 2001. Effect of drought stress on free Proline, total protein soluble sugar and protein profile in (*Sporobolus elongates* L.). J. Sci TMU. 1: 111-119. (In Persian).
15. Ghorbanli, M., and Niakan, M. 2005. Effect of drought stress on amount of soluble sugar, protein, Proline, complexes of Phenolic and activity of nitrate reductase enzyme in Gorgan three varieties of rapeseed. J. Sci. TMU. 5: 537-551. (In Persian).
16. Ghorbanli, M., Noujavan, M., Heydari, R., and Farbodnia, T. 2001. Changes of soluble sugar, starch and proteins on tow Iranian varieties of chickpea in effect of drought stress. J. Sci. TMU. 1: 1-53. (In Persian with English Summary).
17. Hamudi, J., Heydari, R., Nojavan, M., and Zare. S. 2000. Effect of drought stress on biochemical and biological parameters in Sunflower (Rekurd variety). MSc. Thesis. Uromia University, Iran. (In Persian with English Summary).
18. Herzog, H. 1986. Source and Sink during the Productive Period of Wheat. Scientific Publishers. Berlin and Hamburg.
19. Khodambashi, M., and Khajepoor, M. 1990. Effect of types of irrigation on growth procedure of soybeen. J. Agric. Sci. 21: 39-44. (In Persian).
20. Khorshdiebenam, M.B., Rahimzadekhui, F., Mirhadi, M.J., and Noormohamadi, G. 2002. Effect of drought stress on growth stages in different varieties of potato. J. Agro. Sci. of Iran 4: 48-58. (In Persian with English Summary).
21. Kocheva, K., and Georgive, G. 2003. Evaluation of the reaction of two contrasting Barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars in response to osmotic stress with PEG600. BLUG. J. Plant Physiol. 12: 290-294.
22. Kumar, A., Singh, D., and Singh, P. 1987. Genotypic variation in response of *Brassica* species to water deficit. J. Agric. Sci. Camb. 109: 615-618.
23. Kuroda, M., Qzawa, T., and Imagawa, H. 1990. Changes in chloroplast peroxidase activities in relation to chlorophyll loss in barley leaf segments. Physiologia Plantarum 80: 555-560.
24. Martines, V., Nnez, J., Orrizl, M., and Cerda, A. 1994. Changes in amino acid and organic acid composition in tomato and cucumber plants in relation to salinity and nitrogen nutrition. J. Sci. TMU. 11: 201-218.
25. Movahedie Dehnavi, M., Modarese Sanavi, S.A.M., Sorushzadeh, A., and Jalali, M. 2004. Changes of proline, total soluble sugar, chlorophyll (spad) and chlorophyll fluorescence in varieties of autumn *Carthamus* in effect of drought stress and spray of Zn and Mn. J. Desert 9: 93-110. (In Persian with English Summary).
26. Pactu, E., Dencescu, S., and Vladu, P. 1995. Aspects of the tolerance of some soybean genotypes to water stress problem. De Genetic Teoretica Siaplicata 27: 115-124.
27. Pandey, R., and Agarwal, R.M. 1998. Water stress-induced change in praline contents and nitrate reductase activity in rice under light and dark condition. Physiology and Molecular Biology of Plants 4: 53-59.
28. Rhodes, D., and Hanson, A.D. 1993. Quaternary ammonium and quaternary sulfonium compounds in higher plants. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 44: 357-384.
29. Sanches, F.J., Manzanares, M., Andres, E.F., Ternorio, J.L., Ayerbe, L., and De Andres, E.F. 1998. Turger maintenance, osmotic adjustment and soluble sugar and praline accumulation in 49 pea cultivars in response to water stress. Field Crop Res. 59: 225-235.
30. Sarim, R.R., Veerabhadra Rao, K., and Srivastava. G.C. 2002. Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. Plant Sci. 163: 1037-1046.
31. Sato, F., Yoshioka, H., Fujiwara, T., Higashio, H., Uragami, A., and Tokuda, S. 2004. Physiological response of cabbage pig seedling to water stress during low-temperature storage in darkness. J. Hort. Sci. 101: 349-357.

32. Shibario, S.I., Opadhyaya, M.K., and Toivonen, P.M.A. 1998. Influence of pre harvest water stress on post harvest moisture loss of carrots (*Daucus carota* L.). J. Hort. Sci. & Biotech. 73: 347-352.
33. Souza, R.P., Machadoa, E.C., Silva, J.A.B. Lagoa, A.M.M.A., and Silveira, J.A.G. 2004. Photosynthetic gas exchange, chlorophyll fluorescence and some associated metabolic changes in cowpea (*Vigna unguiculata* L.) during water stress and recovery. Environmental & Experimental Botany 51: 45-56.
34. Saxina, M.C., and Singh, K. 1997. Planting and Regeneration of Chickpea. 245pp.
35. Yoshiba, Y.M., Kiyosue, T., Nakashima, K., Kamayushi-shino Zaki, K., and Shinizaki, K. 1997. Regulation of levels of praline as an osmolyte in plants under water stress. Plant and Cell Physi. 38: 1095-1102.
36. Zhan, J., Nguyen, H.T., and Blum, A. 1999. Genetic analysis of osmotic adjustment in crop plants. J. of Exper. Botany 50: 291-302.

Iranian Journal of Pulses Research
Vol. 3, No. 1, 2012, p. 53-66

Physiological characteristics of chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars under drought stress and nitrogen fertilizer as starter

Mansourifar[1], S., Shaban[2*], M., Ghobadi[1], M. and Sabaghpoor[3], S.H.

1- Contributions from College of Agriculture, Razi University of Kermanshah
2- MSc. Student of Agronomy, Razi University of Kermanshah and contribution from Young Researchers Club, Islamic Azad University, Broujerd branch, Boroujerd, Iran
3- Contribution from Agriculture and Natural Resources Research Center of Hamedan

Received: 15 August 2010
Accepted: 5 February 2011

Abstract

Drought stress is the most important factor that reduces yield in crops including chickpea and causes some changes in seed composition. This study was performed in order to evaluate the effects of drought stress and starter nitrogen fertilizer on four cultivars of chickpea. Experiment was performed in a split-factorial using randomized complete block design with three replications. Drought stress treatment stand as main plots in three levels consist of no drought stress (complete irrigation), moderate drought stress (irrigation at planting and early flowering) and severe drought stress (no irrigation). Nitrogen fertilizer in two levels (0 and 25kg N/ha) and cultivar treatment (four cultivars Azad, Bivanij, Hashem and ILC482) allocated in sub plots. The results showed that effects of drought stress treatments were significant on proline content, amount of soluble sugar, membrane stability index (MSI), relative water content (RWC), chlorophyll-a, chlorophyll-b, total chlorophyll and excised-leaf water loss (RWL). Application of nitrogen fertilizer treatment only significantly increased membrane stability index (MSI). Effect of cultivar treatment was significant on proline, soluble sugar, membrane stability index (MSI), chlorophyll-a, total chlorophyll, relative water content (RWC) and excised-leaf water loss (RWL). Results showed that with increase of drought stress level amounts of chlorophyll-a, chlorophyll-b, total chlorophyll, relative water content (RWC) and membrane stability index (MSI) decreased while proline content and soluble sugar increased by three and two-fold compared to control, respectively. This osmoprotectant accumulation probably explains increase in plant tolerance to drought stress.

Key words: Chlorophyll, Drought tolerance, Proline, Soluble sugar

[*] **Corresponding Author:** shaban.morad@yahoo.com, Mobile: 09360751153, Tel.: 0662-4453549