نشریهٔ پژوهش‌های حبوبات ایران
جلد۵ شمارهٔ۱، صفحهٔ۱۰۲-۹۱، نیمهٔ اول۱۳۹۳

Iranian Journal of Pulses Research
Vol. 5, No. 1, 2014, p. 91-102

واکنش‌های مورفولوژیک، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی ژنوتیپ‌های متحمل و حساس به خشکی نخود (*Cicer arietinum* L.) در شرایط تنش خشکی در مزرعه

علی گنجعلی[1*]، راهله رهباریان[2]، عبدالرضا باقری[3] و سعید ملک‌زاده شفارودی[3]

۱- عضو هیئت علمی گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم و پژوهشکدهٔ علوم گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد

۲- عضو هیئت علمی دانشگاه پیام‌نور، ra_rahbarian@yahoo.com

۳- اعضای هیئت علمی گروه بیوتکنولوژی و بِه‌نژادی گیاهی دانشکده کشاورزی، و گروه پژوهشی بقولات پژوهشکدهٔ علوم گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۰۹/۲۲
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۰۲/۲۳

چکیده

آزمایشی با هدف بررسی واکنش‌های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ژنوتیپ‌های حساس و متحمل به خشکی نخود در شرایط تنش خشکی با ۱۴ژنوتیپ، شامل دو رقم تجاری جم (MCC۳۶۱) و کرج(MCC۳۵۸)، سه ژنوتیپ کابلی و سه ژنوتیپ دسی متحمل به خشکی به‌ترتیب شامل MCC۳۹۲، MCC۵۳۷، MCC۶۹۶ و MCC۸۷۳، MCC۸۷۰، MCC۱۰ و همچنین سه ژنوتیپ کابلی و سه ژنوتیپ دسی حساس به خشکی به‌ترتیب شامل MCC۷۵۹، MCC۵۸۸، MC۷۷۴ و MCC۳۹، MCC۴۵ و MCC۱۰۱ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در شرایط دیم انجام شد. ژنوتیپ‌های فوق در مرحله گلدهی، از نظر صفات وزن‌خشک اندام هوایی، طول ساقه، مقدار نسبی آب برگ، شاخص پایداری غشاء، پتانسیل آب برگ، سطح برگ، کارآیی فتوسیستمII (Fv/Fm)، میزان پروتئین کل محلول برگی، پرولین و میزان فعالیت آنزیم کاتالاز، مورد مقایسه قرار گرفتند. نتایج نشان داد که همبستگی مثبت و معنی‌داری بین میزان پرولین و پروتئین کل محلول برگی وجود دارد. وزن‌خشک اندام هوایی و سطح برگ نیز همبستگی مثبت و معنی‌داری با میزان فعالیت آنزیم کاتالاز نشان دادند. فعالیت آنزیم کاتالاز، مقدار پرولین، پتانسیل آب برگ و کارآیی فتوسیستمII در ژنوتیپ‌های حساس به خشکی کمتر از سایر ژنوتیپ‌های مورد بررسی و به‌ویژه ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی بود که به‌نظر می‌رسد می‌توان از این صفات به‌عنوان شاخص‌های مناسبی جهت ارزیابی میزان تحمل به خشکی ژنوتیپ‌های نخود استفاده کرد. برخلاف رقم تجاری جم (MCC۳۶۱)، در رقم تجاری کرج (MCC۳۵۸) مقادیر بالایی از فعالیت آنزیم کاتالاز، مقدار پرولین، پتانسیل آب برگ و کارآیی فتوسیستمII مشاهده شد که این نتایج نشان از تحمل بالاتر این رقم به تنش خشکی دارد.

واژه‌های کلیدی: پرولین، تنش خشکی، کاتالاز، کارآیی فتوسیستمII، نخود

مقدمه

نخود (*Cicer arietinum* L.)، یکی از حبوبات سرمادوست است که در طیف وسیعی از شرایط محیطی از مناطق مدیترانه‌ای غرب آسیا تا نواحی نیمه‌گرمسیری شمال استرالیا کشت می‌شود (Gunes *et al*., 2006). در ایران، کشت نخود به‌صورت پاییزه، انتظاری و در مناطق سردسیر مرتفع به‌صورت بهاره و عمدتاً به‌صورت دیم (۹۲درصد) و با استفاده از رطوبت ذخیره‌شده در خاک انجام می‌شود (Bagheri *et al*., 1997).

خشکی و کمبود آب یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکنندهٔ تولید محصول در اکثر نقاط دنیا ازجمله ایران به‌شمار می‌آید. پاسخ گیاه در واکنش به تنش خشکی از طریق تغییرات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و فرایندهای متابولیکی است که نمود آن در گیاه ظاهر می شود (Ahmed *et al*., 2002). یکی از اثرات تنش خشکی، کاهش صفات رشد گیاه از جمله کاهش طول ساقه، وزن‌خشک، سطح برگ و میزان نسبی آب برگ است (Kiani *et al*., 2008). در بررسی مقایسه ژنوتیپ‌های متحمل و حساس به خشکی مشخص شده است که در ژنوتیپ‌های متحمل به‌دلیل وجود مکانیسم‌های مقاومت به خشکی، کاهش کمتری در رشد اندام هوایی و به‌تبع آن تولید زیست‌توده و محصول رخ می‌دهد (Parameshwarappa & Salimath, 2008). حفظ آب برگ و

* **نویسنده مسئول:** مشهد، میدان آزادی، دانشگاه فردوسی، دانشکدهٔ علوم، گروه زیست‌شناسی، همراه: ۰۹۱۵۳۰۵۷۶۴۵، ganjeali@um.ac.ir

کاهش تبخیر و تعرق، مکانیسم‌های مهم اجتناب از خشکی هستند. در شرایط تنش خشکی، قدرت حفظ آب برگ در ژنوتیپ‌های حساس به خشکی کاهش می‌یابد؛ بنابراین آب موجود در برگ از طریق تبخیر سطحی و یا تعرق، کاهش یافته و در نتیجه گیاه دچار کم‌آبی می‌شود (Beck *et al*., 2007). بنابراین می‌توان گفت که تفاوت ژنوتیپ‌های مختلف از نظر میزان نسبی آب برگ، به تفاوت آن‌ها در میزان جذب آب از خاک و همچنین توانایی آن‌ها در افزایش کارآیی سیستم ریشه‌ای و قدرت کنترل هدرروی آب از طریق روزنه‌ها مربوط می‌شود (Farooq *et al*., 2009). در گیاهان ذرت، سویا و گندم، میزان نسبی آب برگ به‌عنوان نشانگر جهت شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل به تنش خشکی معرفی شده است (Helal Samir, 2008 & Figueiredo *et al*., 2001, Galle *et al*., 2002). در این گیاهان، همبستگی مثبتی میان میزان نسبی آب برگ و میزان مواد محلول و متابولیت‌ها وجود داشته است. بنابراین بالاتربودن میزان نسبی آب برگ در شرایط تنش خشکی، به‌همراه بیشتربودن مواد محلول و متابولیت‌ها سبب افزایش تحمل این گیاهان به تنش خشکی شده است (Guerfel *et al*., 2008).

افزایش فلوئورسانس کلروفیل و کاهش کارآیی فتوسیستمII یکی دیگر از پاسخ‌های گیاه به تنش خشکی است (Ahmed *et al*., 2002). کاهش کارآیی فتوسیستمII (Fv/Fm) در شرایط تنش خشکی نشان‌دهندۀ کاهش میزان انتقال الکترون از فتوسیستمII به فتوسیستمI است (Zlatev & Yordanov, 2004). نتایج حاصل از چندین بررسی نشان داده است که کمپلکس آزادکنندۀ اکسیژن و مراکز واکنش فتوسیستمII تحت تأثیر تنش خشکی قرار گرفته و تخریب می‌شود. برخی از این تخریب‌ها به پروتئین D_1 برمی‌گردد که در ساختمان فتوسیستمII قرار دارد (Ahmed *et al*., 2002). کاهش کارآیی فتوسیستمII در شرایط تنش خشکی، در لوبیا و آفتاب‌گردان نیز گزارش شده است (Kiani *et al*., 2008 & Zlatev & Yordanov, 2004, Dulai *et al*., 2006). کمبود آب و بسته‌شدن روزنه‌ها منجر به ممانعت فتوسنتز می‌شود. در این شرایط، حفظ توان فتوسنتزی گیاه، اهمیت زیادی در مقاومت به تنش خشکی دارد. استفاده از ظرفیت فتوسنتزی و فلوئورسانس کلروفیل به‌عنوان روشی ساده برای گزینش ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی ذرت، معرفی شده است (Ashraf *et al*., 2007).

تنظیم اسمزی در گیاهان در پاسخ به تنش به‌واسطۀ تجمع متابولیت‌هایی مانند گلایسین‌بتائین، پرولین و مانیتول حاصل می‌شود (Evazi *et al*., 2007). این متابولیت‌ها به‌دلیل عدم مداخله در واکنش‌های عادی متابولیکی گیاه به‌عنوان متابولیت‌های سازگار شناخته می‌شوند که در گیاهان متحمل به تنش به‌طور طبیعی تجمع می‌یابند. ترکیبات ذکرشده علاوه بر مشارکت در حفظ تورم سلولی، در پایداری شکل فعال آنزیم‌ها نیز اهمیت دارند (Evazi *et al*., 2007). پرولین نقش مهمی در تحمل به شوری و خشکی گیاهان برعهده دارد (Amini & Ehsanpour, 2005). تجمع پرولین در شرایط تنش، یکی از ویژگی‌های معمول در بسیاری از گیاهان است. همچنین مشخص شده است که همبستگی قوی بین افزایش سطح پرولین و درصد بقاء در شرایط کمبود آب وجود دارد (Bayoumi *et al*., 2008).

از دیگر پیامدهای تنش خشکی، افزایش میزان گونه‌های اکسیژن فعال و مواد تخریب‌کنندۀ غشاء می‌باشد. تنش خشکی از طریق افزایش تولید مواد تخریب‌کنندۀ غشاء و گونه‌های اکسیژن فعال از جمله پراکسید هیدروژن، سبب تخریب غشاء سلولی شده و در نتیجه، ضریب پایداری غشاء در شرایط تنش خشکی کاهش می‌یابد. گیاهان متحمل به خشکی برای مقابله با تخریب غشاء، مکانیسم‌هایی را فعال می‌کنند که یکی از این مکانیسم‌ها تجزیه پراکسید هیدروژن توسط آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز است. بالاتربودن میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی سبب کاهش میزان تخریب غشاء در این ژنوتیپ‌ها نسبت به ژنوتیپ‌های حساس شده است. بنابراین میزان تخریب غشاء در شرایط تنش خشکی در ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی معمولاً کمتر از ژنوتیپ‌های حساس است (Fu & Hang, 2001). کاهش ضریب پایداری غشاء در شرایط تنش خشکی در گیاهان دیگر از جمله گندم، زیتون و *Medicago truncatula* نیز گزارش شده است (Bayoumi *et al*., 2008؛ Nunes *et al*., 2008. Guerfel *et al*., 2008).

شناسایی و درک مکانیسم‌های مؤثر در بهبود تحمل به خشکی، می‌تواند نقش مؤثری در گزینش ژنوتیپ‌ها ایجاد نماید (Parameshwarappa & Salimath, 2008). دراین تحقیق سعی شده است با ارزیابی و سنجش واکنش‌های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ژنوتیپ‌های حساس و متحمل به خشکی نخود و همچنین بررسی روابط موجود بین صفات، خصوصیت(های) مطرح در تحمل و یا حساسیت به خشکی ژنوتیپ‌ها مورد بررسی قرار گیرد و مجموعه صفات احتمالی مؤثر در تحمل به خشکی ژنوتیپ‌ها در شرایط مزرعه معرفی گردند.

مواد و روش‌ها

این آزمایش با هدف بررسی واکنش‌های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ژنوتیپ‌های حساس و متحمل به خشکی نخود در شرایط تنش خشکی با ۱۴ژنوتیپ، شامل دو رقم تجاری جم (MCC۳۶۱) و کرج (MCC۳۵۸)، سه ژنوتیپ کابلی و دسی متحمل به خشکی به‌ترتیب شامل MCC۳۹۲، MCC۵۳۷، MCC۶۹۶ و MCC۸۷۳، MCC۸۷۰، MCC۱۰ و سه ژنوتیپ کابلی و دسی حساس به خشکی به‌ترتیب MCC۷۵۹، MCC۵۸۸، MC۷۷۴ و MCC۳۹، MCC۴۵ و MCC۱۰۱ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار و در شرایط دیم انجام شد. عملیات کاشت در نیمه اول فروردین‌ماه۱۳۸۸ در زمینی که از قبل برای این منظور آماده شده بود انجام شد.

در مرحله گلدهی، میزان کارآیی فتوسیستمII ژنوتیپ‌ها به‌وسیله دستگاه کلروفیل‌فلورومتر اندازه‌گیری و ثبت شد. برای اندازه‌گیری میزان کارآیی فتوسیستمII، ابتدا سطح برگ‌های جوان توسعه‌یافته با قرارگرفتن گیره بر روی آن‌ها به‌مدت ۲۰دقیقه در شرایط تاریکی قرار گرفت و سپس با اتصال رابط دستگاه به برگ و تنظیم دستگاه، کارآیی فتوسیستمII، به‌وسیلهٔ دستگاه کلروفیل‌فلورومتر مدل OS5-FI اندازه‌گیری شد. برای سنجش کارآیی فتوسیستمII، نسبت Fv (تفاوت حداکثر فلوئورسانس با حداقل فلوئورسانس [Fm-F0]) به Fm (حداکثر فلوئورسانس) توسط دستگاه اندازه‌گیری شد. F0: کارآیی فلوئورسانس در غیاب نور فتوسنتزی است که همان حداقل فلوئورسانس است که با استفاده از یک نور ضعیف (0.4 $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$) اندازه‌گیری شد. Fm (حداکثر فلوئورسانس) با استفاده از یک نور اشباع (8000 $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$) به‌مدت ۰/۸ثانیه اندازه‌گیری شد (Maxwell *et al*., 2000).

پتانسیل آب برگ با استفاده از دستگاه اندازه‌گیری پتانسیل آب برگ (ARIMAD 3000) سنجش گردید. برای سنجش شاخص پایداری غشاء، از روش Permachandra *et al*, (1990) استفاده شد. ابتدا لوله‌های آزمایش که حاوی ۱۰سی‌سی آب دیونیزه و ۰/۱گرم برگ‌بودند، به‌مدت ۳۰دقیقه در بن‌ماری ۴۰درجه‌سانتی‌گراد قرار گرفتند. سری دوم لوله‌های آزمایش که حاوی ۱۰سی‌سی آب دیونیزه و ۰/۱گرم برگ بودند، به‌مدت ۱۰دقیقه در بن‌ماری ۱۰۰درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از آن، همه لوله‌های آزمایش جهت کاهش دما و رسیدن به دمای محیط در یخچال گذاشته شدند و پس از تعدیل دما، میزان نشت الکترولیت آن‌ها با دستگاهECمتر خوانده شده و طبق معادله مقابل میزان MSI آن‌ها سنجیده شد.

معادله (۱):

$$MSI = 1 - \frac{EC_{40}}{EC_{100}}$$

جهت سنجش میزان آب نسبی برگ طبق روش Barr & Weatherley (1962)، ابتدا یک برگ از هر گیاه جدا و وزنِ تَرِ آن اندازه‌گیری شد. سپس همان برگ در پتری‌دیش حاوی آب‌مقطر غوطه‌ور شد. پس از ۱۶ساعت، برگ‌ها از آب خارج شده و به‌وسیلهٔ دستمال‌کاغذی خشک شده و توزین شدند. سپس برای تعیین وزن‌خشک، برگ‌ها در آون ۷۰درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۸ساعت قرار گرفته و پس از آن، توزین شدند. مقدار نسبی آب برگ طبق معادله (۲) محاسبه گردید.

معادله(۲):

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

که در آن،FW وزن تَر برگ، DW وزن‌خشک برگ و TW وزن برگ در حالت آماس کامل است.

سطح برگ با استفاده از دستگاه اندازه‌گیری سطح برگ اندازه‌گیری شد. سپس اندام هوایی گیاهان جهت اندازه‌گیری وزن‌خشک گیاه به‌مدت ۴۸ساعت در آون ۷۰درجهٔ سانتی‌گراد قرار گرفت و پس از آن با ترازوی دیجیتال توزین شد.

جهت انجام سنجش‌های بیوشیمیایی، وزن تَر هر برگ اندازه‌گیری شد و سپس برگ‌ها در بسته‌بندی‌های مشخص در فریزر ۷۰-درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. در مراحل بعدی، برگ‌ها جهت سنجش میزان پرولین، پروتئین کل محلول برگی و میزان فعالیت آنزیم کاتالاز، از فریزر خارج شده و مورد استفاده قرار گرفتند.

برای استخراج و سنجش پرولین از روش Bates *et al*, (1973) استفاده شد. بدین‌منظور ۰/۲گرم از بافت برگ در ۴میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک آبدار (W/V) ۳درصد کاملاً سائیده شد تا همگن شود. سپس همگنای حاصل توسط کاغذ صافی واتمن نمرهٔ۲، صاف و از محلول حاصل برای سنجش پرولین استفاده گردید. میزان ۲میلی‌لیتر از همگنا با ۲میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین و ۲میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال در یک لوله آزمایش مخلوط شدند. لوله‌های آزمایش به‌مدت یک ساعت در حمام آب ۱۰۰ درجهٔ سانتی‌گراد قرار گرفتند. سپس بلافاصله نمونه‌ها به ظرف حاوی یخ منتقل شدند تا واکنش خاتمه یابد و سپس به دمای اتاق منتقل شدند. سپس به محتویات داخل لوله آزمایش ۴میلی‌لیتر تولوئن افزوده و به‌مدت ۳۰ثانیه به‌شدت مخلوط شدند. این عمل موجب دوفازه‌شدن

(فاز تولوئن رنگی حاوی پرولین در بالا و فاز آبی شفاف در پایین) محتویات لوله شد. پس از مدت ۲۰دقیقه، جذب نوری محلول فوقانی در ۵۲۰ نانومتر با استفاده از تولوئن به‌عنوان شاهد خوانده شد و با استفاده از منحنی استاندارد، غلظت پرولین در محلول محاسبه شد. در نهایت مقدار پرولین بر اساس میکرومول در گرم وزن تر نمونه گیاهی مطابق فرمول زیر محاسبه شد:

معادله (۳)

$$\text{میکرومول پرولین در گرم وزن تَر برگ} = \left(\frac{\mu g\ \ prolin}{ml} \times \frac{ml\ \ toloen}{115.5\left(\frac{\mu g}{\mu mol}\right)}\right) \div \frac{gr\ \ sample}{5}$$

جهت سنجش میزان کل پروتئین محلول برگی، ابتدا عصاره‌گیری برگ‌ها به‌وسیلۀ بافر فسفات پتاسیم انجام و سپس میزان کل پروتئین محلول برگی به روش Lowry (1951) اندازه‌گیری شد.

برای اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم کاتالاز از روش Chandlee & Scandalios (1984) استفاده شد. ابتدا ۲/۵میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۰/۰۵مولار (با pH =۷) و ۰/۳میلی‌لیتر آب‌اکسیژنه۳درصد در حمام یخ با یکدیگر مخلوط شدند و بلافاصله ۰/۲میلی‌لیتر عصاره آنزیمی به آن افزوده شد. منحنی تغییرات جذب در طول موج ۲۴۰نانومتر به‌مدت ۳ تا ۴دقیقه بررسی شد. فعالیت آنزیم بر حسب تغییرات واحد جذب در دقیقه به‌ازای میلی‌گرم پروتئین محاسبه شد.

تجزیه و تحلیل آماری

پس از اندازه‌گیری صفات مورد بررسی، مشاهدات به‌وسیلۀ نرم‌افزارJMP تجزیه واریانس شدند. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چنددامنه‌ای دانکن به‌وسیلۀ نرم‌افزار MSTAT-C استفاده شد.

نتایج و بحث

ارتفاع گیاه

دامنه ارتفاع گیاه از ۱۷/۸سانتی‌متر در ژنوتیپ متحمل دسی (MCC۸۷۰) تا ۵/۰سانتی‌متر در ژنوتیپ حساس کابلی (MCC۵۸۸) متغیر بود. ژنوتیپ‌های MCC۸۷۰ و MCC۴۵ در گروه ژنوتیپ‌های پابلند و ژنوتیپ‌های MCC۸۷۳، MCC۷۵۹، MCC۵۸۸ و MCC۱۰۱ که کمتر از ۱۰سانتی‌متر ارتفاع داشتند در گروه ژنوتیپ‌های پاکوتاه قرار گرفتند. در این ارتباط، تفاوت‌های معنی‌داری از نظر ارتفاع گیاه بین این دو گروه وجود داشت، ولی اختلاف ژنوتیپ‌های فوق با سایر ژنوتیپ‌ها (MCC۳۶۱، MCC۳۵۸، MCC۳۹۲، MCC۵۳۷، MCC۶۹۶، MCC۱۰، MCC۷۷۴ و MCC۳۹) از این حیث معنی‌دار نبود (جدول ۱). ارتفاع گیاه، یک صفت ژنتیکی است، ولی به‌مقدار زیادی تحت تأثیر محیط نیز قرار می‌گیرد (Ganjeali & Kafi, 2007). محققان افزایش ارتفاع گیاه را یک صفت مطلوب برای ذخیره مواد فتوسنتزی در دوره رشد رویشی (مخزن‌های ثانویه) می‌دانند. اعتقاد بر این است که مواد ذخیره‌شده در این مخزن‌ها در دوره‌های وقوع خشکی که گیاه با کاهش فتوسنتز جاری مواجه است، مجدداً به دانه‌ها انتقال می‌یابند. ساقه‌های بلندتر از این نظر گنجایش بیشتری خواهند داشت. در این مطالعه روند منطقی از نظر تغییرات ارتفاع گیاه میان ژنوتیپ‌ها و ارقام مورد مطالعه مشاهده نشد. احتمالاً ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی، سازوکارهای دیگری را برای مقابله با تنش خشکی اتخاذ می‌نمایند، یا شدت تنش خشکی به حدی بوده است که فرصت و شرایط برای به‌کارگیری سازوکارهای تحمل به خشکی فراهم نشده است. محققان، افزایش درجه‌حرارت همراه با تنش خشکی را عامل مؤثر بر تسریع فنولوژی و کاهش دورۀ رشد گیاه اعلام نمودند (Auld *et al*., 1988). به‌نظر می‌رسد تنش خشکی از طریق افزایش سرعت نموّ و کاهش دورۀ رشد رویشی، کاهش ارتفاع بوته را القاء می‌نماید.

سطح برگ و وزن‌خشک اندام هوایی

به‌طور کلی، ژنوتیپ‌ها از نظر سطح برگ و وزن‌خشک اندام هوایی، تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. مشابه نتایج ارتفاع گیاه، در مورد سطح برگ، بیشترین (۱۵/۸۳مترمربع) و کمترین میزان (۵/۶۳ مترمربع)، به‌ترتیب به ژنوتیپ متحمل دسی (MCC۸۷۰) و ژنوتیپ حساس کابلی (MCC۵۸۸) که از این حیث تفاوت معنی‌داری داشتند، تعلق داشت. بیشترین و کمترین وزن‌خشک اندام هوایی نیز به‌ترتیب به ژنوتیپ‌های متحمل کابلی (MCC۵۳۷) و حساس کابلی (MCC۵۸۸) اختصاص یافت. ژنوتیپ‌های متحمل MCC۳۹۲، MCC۸۷۳، MCC۷۰ و ژنوتیپ حساس MCC۴۵، از سطح برگ و وزن‌خشک اندام هوایی بیشتری نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها

برخوردار بودند، ولی تفاوت‌های موجود معنی‌دار نبود (جدول۱). نتایج فوق مؤید این است که ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی هر دو تیپ دسی و کابلی، هم در گروه ژنوتیپ‌های با سطح برگ و وزن‌خشک اندام هوایی بالا و هم در گروه ژنوتیپ‌های با سطح برگ و وزن‌خشک اندام هوایی پایین قرار می‌گیرند و در این ارتباط، روند مناسبی قابل‌مشاهده نیست. این موضوع برای ژنوتیپ‌های حساس به خشکی نیز صادق است؛ بنابراین به‌نظر می‌رسد معیارهای سطح برگ و وزن‌خشک اندام هوایی و تغییرات آن‌ها در گیاه نمی‌توانند معیارهای مناسبی برای پاسخ گیاهان به تنش باشند و لذا نمی‌توان از آن‌ها به‌عنوان معیارهای مناسب برای گزینش ژنوتیپ‌های متحمل و یا حساس به خشکی استفاده نمود. در یک آزمایش، Ganjeali *et al*, (2011) تفاوت‌های معنی‌داری را میان ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی از نظر تغییرات سطح برگ در واکنش به تنش خشکی گزارش کردند. این نتایج، ناکارآمدبودن معیار سطح برگ را برای گزینش ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی مجدداً تأیید می‌کند.

ضریب پایداری غشاء

در این بررسی، تفاوت معنی‌داری میان ژنوتیپ‌ها از نظر ضریب پایداری غشاء وجود نداشت (جدول۱). بااین حال بیشترین ضریب پایداری غشاء به رقم تجاری کرج (MCC۳۵۸) و کمترین آن نیز به ژنوتیپ‌های حساس دسی (MCC۳۹ و MCC۱۰۱) اختصاص یافت (جدول۱). نتایج این بررسی نشان داد که ژنوتیپ‌های متحمل و حساس به خشکی هر دو تیپ دسی و کابلی، تفاوت معنی‌داری از نظر ضریب پایداری غشاء با یکدیگر نداشتند، بنابراین به‌نظر می‌رسد ضریب پایداری غشاء نیز نمی‌تواند معیار مناسبی برای پاسخ گیاهان نخود به تنش در شرایط مزرعه باشد و لذا نمی‌توان از این صفت برای گزینش ژنوتیپ‌های متحمل و یا حساس به خشکی نخود استفاده نمود.

افزایش تولید مواد تخریب‌کنندهٔ غشاء از جمله پراکسیدهیدروژن در شرایط تنش خشکی، سبب کاهش پایداری غشاء می‌گردد. بنابراین گیاهانی که قادر به حذف یا کاهش میزان تولید این ترکیبات در شرایط تنش خشکی باشند، می‌توانند میزان پایداری غشاء خود را در حد مطلوبی حفظ و از تخریب آن جلوگیری نمایند. بنابراین انتظار می‌رود میزان تخریب غشاء در شرایط تنش خشکی در ژنوتیپ‌های متحمل به تنش خشکی کمتر از ژنوتیپ‌های حساس باشد (Fu & Hang, 2001).

مقدار نسبی آب برگ

حفظ آب برگ و کاهش میزان تبخیر و تعرق یکی از مکانیسم‌های مهم اجتناب از خشکی است (Beck *et al*., 2007). ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی مکانیسم‌هایی برای حفظ آب برگ و جلوگیری از هدررفتن آن دارند. یکی از این مکانیسم‌ها کاهش سطح برگ، جهت کاهش میزان تبخیر سطحی و تعرق و همچنین بسته‌شدن روزنه‌ها در شرایط تنش خشکی است (Bray, 1997).

در بررسی حاضر، تفاوت معنی‌داری میان ژنوتیپ‌ها از نظر مقدار نسبی آب برگ وجود نداشت (جدول۱). بااین حال ژنوتیپ‌های MCC۸۷۳، MCC۵۸۸ و MCC۶۹۶ و رقم تجاری کرج (MCC۳۵۸) مقدار نسبی آب برگ بیشتری نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها داشتند. کمترین مقدار نسبی آب برگ به ژنوتیپ حساس دسی (MCC۱۰۱) اختصاص یافت (جدول۱). نتایج این بررسی نشان داد که ژنوتیپ‌های متحمل و حساس به خشکی هر دو تیپ دسی و کابلی تفاوت معنی‌داری از نظر مقدار نسبی آب برگ با یکدیگر نداشتند، بنابراین به‌نظر می‌رسد مقدار نسبی آب برگ نیز نمی‌تواند معیار مناسبی برای پاسخ گیاهان نخود به تنش در شرایط مزرعه باشد و لذا نمی‌توان از آن به‌عنوان شاخص مناسبی جهت تعیین میزان تحمل به خشکی ژنوتیپ‌های نخود استفاده نمود. از طرفی همبستگی معنی‌داری بین سطح برگ و مقدار نسبی آب برگ نیز در ژنوتیپ‌های مورد بررسی وجود نداشت. بنابراین براساس نتایج حاصل می‌توان گفت که در ژنوتیپ‌های نخود، کاهش سطح برگ، نقش چندانی در حفظ آب درون برگ در شرایط خشکی نداشته و بنابراین نمی‌تواند به‌عنوان مکانیسم مهمی در پاسخ به تنش خشکی مطرح باشد.

پتانسیل آب برگ

پتانسیل آب برگ در ژنوتیپ‌های متحمل دسی MCC۸۷۳ و MCC۸۷۰ به‌طور معنی‌داری بیشتر از ژنوتیپ‌های حساس دسی MCC۴۵ و MCC۳۹ بود. سایر ژنوتیپ‌ها تفاوت معنی‌داری از نظر پتانسیل آب برگ با یکدیگر نداشتند (جدول۱). بااین‌حال، پتانسیل آب برگ در ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی بالاتر از ژنوتیپ‌های حساس بود. رقم تجاری کرج (MCC۳۵۸) نیز از پتانسیل آب برگ بیشتری نسبت به ژنوتیپ‌های حساس برخوردار بود، درحالی‌که رقم تجاری جم (MCC۳۶۱) همانند ژنوتیپ‌های حساس به خشکی رفتار نموده و پتانسیل آب برگ پایین‌تری را نسبت به ژنوتیپ‌های متحمل به‌خود اختصاص داد (جدول۱). بالاتربودن پتانسیل آب برگ در ژنوتیپ‌های متحمل به تنش خشکی، دلیلی بر توانایی

حفظ آب و کاهش ازدست‌دادن آب در این گیاهان در شرایط تنش خشکی می‌باشد. تغییر پتانسیل آب برگ در شرایط تنش خشکی در گیاهان دیگر از جمله گندم، نخود و *Arachis hypogaea* نیز گزارش شده است (Bayoumi *et al*., 2008؛ Gunes *et al*., 2006).

کارآیی فتوسیستمII

بیشترین میزان کارآیی فتوسیستمII به ژنوتیپ کابلی متحمل MCC۳۹۲ و کمترین میزان آن به ژنوتیپ کابلی حساس MCC۵۸۸ اختصاص داشت. سایر ژنوتیپ‌های متحمل کابلی (MCC۶۹۶ و MCC۵۳۷) و ژنوتیپ‌های متحمل دسی MCC۸۷۳ و MCC۱۰ و همچنین رقم تجاری کرج (MCC۳۵۸) نیز از میزان کارآیی فتوسیستمII بالاتری نسبت به ژنوتیپ‌های حساس برخوردار بودند (جدول۱).

کاهش نسبت Fv/Fm که نشان‌دهندۀ کاهش کارآیی فتوسیستمII است، به‌دلیل کاهش انتقال الکترون از فتوسیستمII به فتوسیستمI در شرایط تنش خشکی می‌باشد (Lu & Zhang, 1998). نتایج حاصل از بررسی‌ها، مؤید این مطلب است که کمپلکس آزادکنندۀ اکسیژن فتوسیستمII و مراکز واکنش فتوسیستمII، تحت تأثیر تنش خشکی قرار گرفته و تخریب می‌شوند. اثر تخریبی تنش خشکی بر پروتئین D1 که در ساختمان فتوسیستمII قرار دارد نیز گزارش شده است (Redy *et al*., 2003؛ Zlatev & Yordanov, 2004). سایر محققان نیز گزارش نمودند که همبستگی معنی‌داری بین میزان فلوئورسانس کلروفیل و پتانسیل رشد ریشه و اندام هوایی گیاه، میزان تبادل گازهای تنفسی، ضریب ثبات غشاء و پتانسیل آب برگ وجود دارد و درنتیجه، افزایش میزان فلوئورسانس کلروفیل و متعاقباً کاهش میزان کارآیی فتوسیستمII در شرایط تنش، سبب کاهش اسیمیلاسیون دی‌اکسیدکربن و همچنین کاهش رشد گیاه می‌گردد (Zlatev & Yordanov, 2004). با توجه به تفاوت آشکار ژنوتیپ‌های متحمل و حساس از نظر میزان کارآیی فتوسیستمII، می‌توان کارآیی فتوسیستمII را معیاری مناسب جهت تعیین میزان تحمل به خشکی ژنوتیپ‌های نخود و شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل دانست. در بررسی‌های قبلی نیز که بر روی ژنوتیپ‌های نخود انجام شده است، استفاده از کارآیی فتوسیستمII به‌عنوان شاخصی مؤثر در تعیین میزان تحمل به خشکی پیشنهاد شده است (Rahbarian, *et al*., 2011). Ashraf *et al*, (2007) نیز در بررسی اثرات تنش خشکی بر روی ژنوتیپ‌های ذرت به این نتیجه رسیدند که استفاده از نسبت Fv/Fm و ظرفیت فتوسنتزی، معیار مناسبی جهت بِه‌گزینی ژنوتیپ‌های ذرت در شرایط تنش خشکی است.

پروتئین کل محلول برگی

در بررسی حاضر، تعدادی از ژنوتیپ‌های مورد بررسی از نظر میزان پروتئین کل محلول برگی، تفاوت معنی‌داری با یکدیگر داشتند. بیشترین میزان پروتئین کل محلول برگی به رقم تجاری کرج (MCC۳۵۸) و ژنوتیپ متحمل دسی (MCC۸۷۰) و کمترین آن به رقم تجاری جم (MCC۳۶۱) و ژنوتیپ حساس دسی(MCC۴۵) اختصاص داشت. تفاوت معنی‌داری میان این دو گروه از این حیث وجود داشت، درحالی‌که سایر ژنوتیپ‌های مورد بررسی از این لحاظ تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نشان ندادند (جدول۱).

در تنش‌های غیرزنده از قبیل تنش خشکی، شوری، گرما و سرما، بیان بعضی از پروتئین‌ها در گیاه افزایش می‌یابد. این پروتئین‌ها در ایجاد سازگاری با شرایط تنش، ایفای نقش می‌کنند. علاوه بر آن، پروتئین‌ها در شرایط تنش شوری و خشکی در سازگاری اسمزی گیاه نیز نقش مهمی ایفا می‌نمایند (Ashraf & Harris, 2004). افزایش میزان پروتئین‌های محلول در شرایط تنش در گیاه (*Lycopersicon esculentum* Mill) توسط Amini & Ehsanpour (2005) نیز گزارش شده است. ایشان گزارش نمودند که میزان پروتئین‌های محلول برگی در ارقام متحمل به تنش، بالاتر از میزان آن در ارقام حساس به تنش بود. Najaphy *et al*, (2010) نیز در بررسی ژنوتیپ‌های نخود در شرایط تنش خشکی، افزایش ۴۳درصدی میزان پروتئین در شرایط تنش نسبت به شرایط بدون تنش را گزارش نمودند.

پرولین

در این بررسی میزان پرولین در ژنوتیپ متحمل کابلی MCC۳۹۲ به‌طور معنی‌داری از سایر ژنوتیپ‌های مورد بررسی بیشتر بود. کمترین میزان پرولین نیز به ژنوتیپ حساس کابلی MCC۷۷۴ و ژنوتیپ‌های حساس دسی MCC۴۵ و MCC۳۹ اختصاص داشت. رقم تجاری کرج (MCC۳۵۸) و ژنوتیپ متحمل کابلی MCC۵۳۷ پس از ژنوتیپ MCC۳۹۲ بیشترین میزان پرولین را به‌خود اختصاص داده و میزان پرولین آن‌ها به‌طور معنی‌داری بیشتر از ژنوتیپ‌های MCC۷۷۴، MCC۳۹ و MCC۴۵ بود. سایر ژنوتیپ‌ها از نظر میزان پرولین تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند (جدول۱). با این حال، نتایج حاصل از این بررسی نشان‌دهندۀ بالاتربودن میزان پرولین در شرایط تنش خشکی در ژنوتیپ‌های متحمل نسبت به ژنوتیپ‌های حساس بود. بنابراین احتمالاً بتوان پرولین را نیز

به‌عنوان معیار مناسبی جهت ارزیابی میزان تحمل به خشکی ژنوتیپ‌های نخود معرفی نمود.

افزایش پرولین در شرایط تنش خشکی، به‌عنوان یکی از پاسخ‌های دفاعی گیاه به تنش خشکی مطرح است. تجمع زیاد پرولین در سلول‌های تحت تنش، سبب محافظت از سلول در شرایط تنش و همچنین جلوگیری از ایجاد سمیت در سلول می‌شود (Tawfik *et al*., 2008). پرولین همچنین در حفظ ساختار غشاء، ایجاد سازگاری اسمزی و حفظ ساختار آنزیم‌ها در سلول، ایفای نقش می‌کند (Ashraf & Iram, 2005). تجمع پرولین در شرایط تنش خشکی در بقولات نیز گزارش شده است (Ashraf & Iram, 2005). بالاتربودن میزان پرولین در ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی ذرت نسبت به ژنوتیپ‌های حساس نیز گزارش شده است (Helal & Samir, 2008). نتایج یک تحقیق در ژنوتیپ‌های نخود تحت شرایط تنش خشکی، مؤید افزایش میزان پرولین بود (Najaphy *et al*., 2010).

میزان فعالیت آنزیم کاتالاز

میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در ژنوتیپ متحمل کابلی MCC۵۳۷ و ژنوتیپ متحمل دسی MCC۸۷۰ به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر ژنوتیپ‌های مورد بررسی بود. ژنوتیپ‌های حساس کابلی MCC۷۵۹، MCC۵۸۸ وMCC۷۷۴ و حساس دسی MCC۳۹، MCC۴۵ و MCC۱۰۱ نیز کمترین میزان فعالیت کاتالازی را به‌خود اختصاص دادند. به‌طور کلی در این بررسی میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در ژنوتیپ‌های متحمل کابلی و دسی به‌طور معنی‌داری بیشتر از ژنوتیپ‌های حساس بود (جدول۱). رقم تجاری کرج (MCC۳۵۸) نیز از فعالیت کاتالازی بیشتری نسبت به ژنوتیپ‌های حساس برخوردار بود، درحالی‌که رقم تجاری جم (MCC۳۶۱) همانند ژنوتیپ‌های حساس به خشکی رفتار نموده و فعالیت کاتالازی پایین‌تری را نسبت به ژنوتیپ‌های متحمل به خود اختصاص داد (جدول۱).

کاتالاز به‌عنوان یک آنزیم آنتی‌اکسیدانی عمل کرده و در حذف و روبندگی پراکسیدهیدروژن تولیدشده در پراکسیزوم‌ها و کاهش اثرات تخریبی گونه‌های اکسیژن فعال نقش مهمی برعهده دارد (Simova Stoilova *et al*., 2008؛ Niknam *et al*., 2006). در یک آزمایش که اثرات تنش شوری بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان دو واریته کنجد (*Sesamum indicum*) مورد بررسی قرارگرفت، بررسی‌ها حاکی از افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در هر دو واریته در شرایط تنش بود، با این تفاوت که واریته متحمل به تنش، از فعالیت کاتالازی بیشتری در شرایط تنش نسبت به واریته حساس برخوردار بود. ایشان فعالیت بیشتر کاتالاز در شرایط تنش و در واریته متحمل را دلیلی بر توانایی بیشتر این واریته در روبندگی گونه‌های اکسیژن فعال و توانایی آن در تحمل شرایط تنش ذکر نمودند (Koca *et al*., 2007). Hallal & Samir (2008) نیز گزارش نمودند که افزایش فعالیت کاتالاز، سبب افزایش پتانسیل دفاعی گیاه ذرت در مقابل تنش خشکی شده و میزان تحمل این گیاه به شرایط تنش خشکی را بهبود می‌بخشد. کاهش اثرات تخریبی تنش خشکی از طریق افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه لوبیا نیز گزارش شده است (Ahmed *et al*., 2002).

بر اساس نتایج حاصل از این بررسی، انتظار می‌رود با استفاده از شاخص‌های فیزیولوژیکی پتانسیل آب برگ، کارآیی فتوسیستمII و همچنین شاخص‌های بیوشیمیایی پرولین و فعالیت آنزیم کاتالاز، بتوان به گزینش ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی نخود پرداخت. بر اساس شاخص‌های تعیین‌شده، احتمالاً رقم تجاری جم (MCC۳۶۱) از حساسیت بالایی نسبت به تنش خشکی برخوردار است، زیرا این رقم در حفظ آب درون‌برگی در شرایط تنش خشکی موفقیت چندانی نداشت و لذا میزان پتانسیل آب برگ و مقدار نسبی آب برگ آن در شرایط تنش خشکی به‌شدت کاهش یافت. تولید پرولین نیز که به‌عنوان یک مکانیسم دفاعی در برابر خشکی محسوب می‌شود، در این ژنوتیپ افزایش چندانی نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها نداشت. با توجه به فعالیت بسیار کم آنزیم کاتالاز در این ژنوتیپ، عملکرد ضعیف سیستم آنتی‌اکسیدانی در پاسخ به خشکی در این ژنوتیپ، کاملاً محسوس است. با توجه به نتایج فوق و این‌که شاخص‌های تحمل تنش از قبیل میزان پرولین، کارآیی فتوسیستمII، پتانسیل آب برگ و میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در رقم تجاری جم (MCC۳۶۱) نسبت به ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی در سطح پایین‌تری قرار دارند، این رقم برای کشت در مناطقی که در معرض تنش خشکی قرار دارند، مناسب نیست. البته برای اطمینان بیشتر از نتایج ارزیابی‌های فوق، بررسی عملکرد این رقم در شرایط تنش خشکی و مقایسه آن با سایر ژنوتیپ‌های متحمل، ضروری به‌نظر می‌رسد.

رقم تجاری کرج (MCC۳۵۸) در شرایط تنش خشکی با استفاده از مکانیسم‌های تحمل خشکی از قبیل افزایش میزان پرولین و پروتئین محلول برگی جهت تنظیم اسمزی سلول‌ها، مقدار نسبی آب برگ خود را در حد مناسبی حفظ نمود. این رقم با استفاده از سیستم آنتی‌اکسیدانی (آنزیم کاتالاز و سایر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی) اثرات تخریبی گونه‌های فعال اکسیژن را به حداقل رسانده و در نتیجه کارآیی فتوسیستمII بالایی در

شرایط تنش خشکی نسبت به ژنوتیپ‌های حساس مورد بررسی داشت. بنابراین رقم تجاری کرج (MCC۳۵۸) را می‌توان به‌عنوان یک رقم متحمل به خشکی معرفی نمود. در یک آزمایش بر روی ژنوتیپ‌های نخود در شرایط آزمایشگاهی و مزرعه، رقم کرج به‌عنوان یک رقم متحمل به تنش معرفی شده است (Ganjeali *et al*., 2009). نتایج بررسی حاضر نیز مؤید نتایج فوق می‌باشد.

در بررسی میزان همبستگی صفات با یکدیگر مشخص شد که میزان پروتئین کل محلول برگی همبستگی مثبت و معنی‌داری با میزان پرولین داشت (r=۰/۴۱) (جدول۲). وجود این همبستگی مثبت و معنی‌دار، نشان‌دهندۀ نقش مشترک این دو شاخص در ایجاد و حفظ سازگاری اسمزی در سلول‌ها در شرایط تنش خشکی می‌باشد. همچنین در ژنوتیپ‌های مورد بررسی، میزان فعالیت آنزیم کاتالاز نیز همبستگی معنی‌داری با میزان وزن‌خشک اندام هوایی (r=۰/۳۹) و سطح برگ (r=۰/۴۱) داشت (جدول۲). بنابراین می‌توان گفت که رشد بهتر گیاه در شرایط تنش خشکی مستلزم وجود مکانیسم‌های دفاعی از جمله سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی و اسمولیت‌هایی نظیر پرولین جهت به‌حداقل‌رساندن اثرات تخریبی ناشی از تنش می‌باشد. وجود همبستگی مثبت و معنی‌دار بین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز و شاخص‌های مورفولوژیکی رشد (وزن‌خشک اندام هوایی و سطح برگ) مؤید این مطلب می‌باشد.

جدول۱- مقایسه میانگین کاتالاز، پتانسیل آب برگ، ضریب پایداری غشاء، مقدار نسبی آب برگ، پروتئین، پرولین، طول ساقه، وزن‌خشک اندام هوایی، سطح برگ و کارآیی فتوسیستمII در ژنوتیپ‌های نخود در شرایط تنش خشکی در مزرعه

Table 1. Mean of Catalase, leaf water potential, MSI, RWC, protein, prolin, shoot height, plant dry weight, leaf area and Fv/Fm in chickpea genotypes under drought stress in field conditions

کاتالاز Catalase Δ A min^{-1}. mg $protein^{-1}$	پتانسیل آب برگ (بار) Leaf water potential (Bar)	ضریب پایداری غشاء (درصد) MSI (%)	مقدار نسبی آب برگ (درصد) RWC	پروتئین Protein (mg.g DW^{-1})	پرولین Prolin (µ mol g FW^{-1})	طول ساقه Shoot height (cm)	وزن خشک اندام هوایی Shoot dry weight (g)	سطح برگ Leaf area (m^2)	کارآیی فتوسیستمII Fv/Fm	ژنوتیپ نخود Chickpea genotype
0.39e	-19.96 ab	59a	0.61a	0.8c	1.3bc	10cde	3.1ab	6.22ab	0.49cd	MCC361
2.0d	-17.76ab	72a	0.79a	1.4a	4.5b	13bcd	3.17ab	7.72ab	0.63abc	MCC358
2.39cd	-16.25ab	55a	0.69a	1.2abc	8.5a	11.6bcde	5.1ab	15.17ab	0.82a	MCC392
9.58a	-17.31ab	68a	0.7a	1.2abc	3.9bc	13.0bcd	6.3a	8.20ab	0.65abc	MCC537
3.09cd	-17.51ab	63a	0.79a	1.0abc	2.0bc	11.7bcde	3.7ab	6.22ab	0.65abc	MCC696
3.92c	-16.66b	54a	0.74a	1.0abc	1.9bc	7.3de	5.1ab	10.75ab	0.63abc	MCC873
8.15b	-16.00b	67a	0.61a	1.4a	1.9bc	17.8ab	4.89ab	15.83a	0.54bc	MCC870
3.5cd	-17.96ab	62a	0.62a	1.1abc	3.0bc	11.6bcde	3.17ab	6.47ab	0.7ab	MCC10
0.5e	-20.11ab	67a	0.61a	1.2abc	1.2bc	7.8cde	3.27ab	8.66ab	0.52c	MCC759
0.28e	-18.33ab	69a	0.72a	1.3ab	1.1bc	5.0e	2.35b	5.63b	0.21d	MCC588
0.49e	-19.23ab	56a	0.69a	1.2abc	0.8c	12.9bcd	4.06ab	9.45ab	0.42cd	MCC774
0.55e	-22.41a	48a	0.63a	1.3ab	0.6c	11.3bcde	3.67ab	9.07ab	0.44cd	MCC39
0.007e	-21.11a	56a	0.64a	0.9bc	0.7c	14.5bc	4.72ab	11.61ab	0.23d	MCC45
0.003e	-19.86ab	45a	0.58a	1.3ab	1.3bc	9.6cde	3.83ab	9.59ab	0.47cd	MCC101

میانگین‌هایی که در هر ستون حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، مطابق آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری ندارند ($p\leq0.05$).

Values with the same letter within a column are not significantly different ($p\leq0.05$).

جدول۲- ضریب همبستگی صفات مورد بررسی در ژنوتیپ‌های نخود در شرایط تنش خشکی در مزرعه

Table 2. Correlation of traits in chickpea genotypes under drought stress in the field condition

Catalase ($\Delta A\ min^{-1} mg\ protein^{-1}$)	Fresh weight (g)	Water potential (Bar)	RWC (%)	Leaf area (m^2)	High shoot (cm)	Prolin (µ mol g FW^{-1})	Dry weight (g)	MSI (%)	Protein (mg g DW^{-1})	Fv/Fm	
										1.00	Fv/Fm
									1.00	0.25	Protein
								1.00	0.23	0.07	MSI
							1.00	0.10	0.05	0.28	Dry weight
						1.00	0.17	0.06	0.41**	0.14	Prolin
					1.00	0.21	0.34*	0.05	0.10	0.44*	High shoot
				1.00	0.28	0.17	0.94**	0.10	0.06	0.30	Leaf area
			1.00	0.20	0.05	0.01	0.2	0.17	0.05	0.13	RWC
		1.00	0.14	0.20	0.02	0.24	0.14	0.14	0.08	0.08	Water potential
	1.00	0.24	0.20	0.30*	0.49**	0.12	0.2	0.24	0.04	0.23	Fresh weight
1.00	0.14	0.28	0.08	0.41**	0.10	0.22	0.39**	0.08	0.03	0.04	Catalase

* و ** به‌ترتیب نشان‌دهندهٔ وجود همبستگی معنی‌دار در سطح احتمال۵درصد و ۱درصد می‌باشد.

*,**show significance in 5% and 1% level respectively.

منابع

1. Ahmed, S., Nawata, E., Hosokawa, M., Domae, Y., and Sakuratani, T. 2002. Alterations in photosynthesis and some antioxidant enzymatic activities of mungbean subjected to water logging. Plant Science 163: 117-123.
2. Amini, F., and Ehsanpour, A. 2005. Soluble proteins, proline, carbohydrates and Na+ /K+ changes in two tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) cultivars under in vitro salt stress. American Journal of Biochemistry and Biotechnology 1: 212-216.
3. Ashraf, M., and Harris, P.J.C. 2004. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants, Plant Sci. 166: 3-16.
4. Ashraf, M., and Iram, A. 2005. Drought stress induced changes in some organic substances in nodules and other plant parts of two potential legumes differing in salt tolerance. Flora 200: 535-546.
5. Ashraf, M., Nawazish, S.H., and Athar, H. 2007. Are chlorophyll fluorescence and photosynthetic capacity potential physiological determinants of drought tolerance in maize (*Zea mays* L.)? Pak. J. Bot. 39: 1123-1131.
6. Auld, D.L., Bettis, B.L. Crock, J.E., and Kephart, K.D. 1988. Planting date and temperature effects on germination, emergence, and seed yield of chickpea (*Cicer arietinum* L.). Agron. J. 80: 909-914.
7. Bagheri, A., Nezami, A., Ganjeali, A., and Parsa, M. 1997. The Chickpea. Mashhad Jahad Daneshgahi Publishers (In Persian).
8. Barr, H.D., and Weatherley, P.E. 1962. A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficit in leaves. Australian Journal of Biological Science 15: 413-428.
9. Bates, L.S., Waldern, R.P., and Teare, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil Environ. 39: 205-207.
10. Bayoumi, T.Y., Eid, M., & Metwali, E.M. 2008. Application of physiological and biochemical indices as a screening technique for drought tolerance in wheat genotypes. African Journal of Biotechnology 7: 2341-2352.

11. Beck, E., Fettig, S., Knake, C., Hartig, K., and Bhattarai, T. 2007. Specific and unspecific responses of plants to cold and drought stress. J. Biosci. 32: 501-510.
12. Bray, E.A. 1997. Plant responses to water deficit. Trends in Plant Science 2: 48-54.
13. Chandlee, J.M., and Scandalios, J.G. 1984. Analysis of variants affecting the catalase development program in Maize *scutellum*. Theor. Appl. Genet. 69: 71-77.
14. Dulai, S., Molnar, I., Pronay, J., Csernak, A., Tarnai, R., and Molnar-Lang, M. 2006. Effects of drought on photosynthetic parameters and heat stability of PSII in wheat and in *Aegilops* species originating from dry habitats. Acta Biologica Szegediensis 50: 11-17.
15. Eivazi, A., Talat, F., Saeed, A., and Ranji, H. 2007. Selection for osmoregulation gene to improve grain yield of wheat genotype under osmotic stress. Pakistan Journal of Biological Science 10: 3703-3707.
16. Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita D., and Basra, S.M.A. 2009. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. Agronomy for Sustainable Development 29: 185-212.
17. Figueiredo, M., Bezerra, E., and Burity, H. 2001. Water stress response on the enzymatic activity in cowpea nodules. Braz. J. Microbiol. 32: 1-9.
18. Fu, J., and Huang, B. 2001. Involvement of antioxidants and lipid peroxidation in the adaptation of two cool-season grasses to localized drought stress. Environ. Exp. Bot. 45: 05-114.
19. Galle, A., Csiszar, J., Tari, I., and Erdei, L. 2002. Changes in water and chlorophyll fluorescence parameters under osmotic stress in wheat cultivars. Acta Biologica Szegedieniensis 46: 85-86.
20. Ganjeali, A., and Kafi, M. 2007. Genotypic differences for allometric relationships between root and shot characteristics in chickpea (*Cicer arietinum* L.). Pak. J. Bot. 39: 1523-1531.
21. Ganjeali, A., Bagheri, A., and Porsa. H. 2009. Evaluation of chickpea (*Cicer arietinum* L.) germplasm for drought resistance. Iranian Journal of Field Crops Research 6: 295-303. (In Persian with English Summary).
22. Ganjeali, A., Porsa, H., and Bagheri, A. 2011. Assessment of Iranian chickpea (*Cicer arietinum* L.) germplasms for drought tolerance. Agricultural Water Management 98: 1477-1484.
23. Guerfel, M., Baccouri, O., Boujnah, D., Cha, W., and Zarrouk, M. 2008. Impacts of water stress on gas exchange, water elations, chlorophyll content and leaf structure in the two main Tunisian olive (*Olea europaea* L.) cultivars. Scientia Horticulturae 1: 1-7.
24. Helal, R.M., and Samir, M.A. 2008. Comparative response of drought tolerant and drought sensitive maize genotypes to water stress. Aust. J. Crop Sci. 1: 31-36.
25. Izanloo, A., Condon, A.G., Langridge, P., Tester, M., and Schnurbusch, T. 2008. Different mechanisms of adaptation to cyclic water stress in two south Australian bread wheat cultivars. Journal of Experimental Botany 59: 3327-3346.
26. Kiani, S.P., Maury, P., Sarrafi, A., and Grieu, P. 2008. QTL analysis of chlorophyll fluorescence parameters in sunflower (*Helianthus annuus* L.) under well-watered and water-stressed conditions. Plant Science 175: 565-573.
27. Koca, H., Bor, M., Ozdemir, F., and Turkan, I. 2007. The effect of salt stress on lipid peroxidation, antioxidative enzymes and proline content of sesame cultivars. Environmental and Experimental Botany 60: 344-351.
28. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., and Randapp, R.J. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 191: 265-275.
29. Maxwell, K., and Giles, N.J. 2000. Chlorophyll fluorescence, a practical guide. Journal of Experimental Botany 51: 659-668.
30. Najaphy, A., Niari Khamssi, N., Mostafaie, A., and Mirzaee, H. 2010. Effect of progressive water deficit stress on praline accumulation and protein profiles of leaves in chickpea. African Journal of Biotechnology 9: 7033-7036.
31. Niknam, V., Razavi, N., Ebrahimzadeh, H., and Sharifizadeh, B. 2006. Effect of NaCl on biomass proline and protein contents and antioxidant enzymes in seedling and calli of two *Triginella species*. Biologia Plantarum 50: 591-596.
32. Nunes, C., Ara ujo, S., da Silva, J.M., Salema Fevereiro, M., and da Silva, A. 2008. Physiological responses of the legume model *Medicago truncatula* cv. Jem along to water deficit. Environmental and Experimental Botany 63: 289-296.
33. Parameshwarappa, S.G., and Salimath, P.M. 2008. Field screening of chickpea genotypes for drought resistance. Karnataka Journal of Agriculture Science 21: 113-114.
34. Premachandra, G.S., Saneoka, H., and Ogata, S. 1990. Cell membrane stability an indicator of drought tolerance as affected by applied nitrogen in soybean. Journal of Agricultural Science (Camb) 115: 63-66.

35. Rahbarian, R., Khavari-Nejad, R.A., Ganjeali, A., Bagheri, A., and Najafi, F. 2011. Drought stress effects on photosynthesis, chlorophyll fluorescence and water relations, in tolerant and susceptible chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes. Acta abaiologica Cracoviensia 53: 2-9.
36. Simova-Stoilova, L., Demirevska, K., Petrova, T., Tsenov, N., and Feller, U. 2008. Antioxidative protection in wheat varieties under severe recoverable drought at seedling stage. Plant Soil Environment 54: 529-536.
37. Tawfik, K.M. 2008. Effect of water stress in addition to potassiomag application on mungbean. Aust. J. Basic Appl. Sci. 2: 42-52.
38. Zlatev, Z.S., and Yordanov, I.T. 2004. Effects of soil drought on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in bean plants. Bulgarian Journal of Plant Physiology 30:3-18.

Iranian Journal of Pulses Research
Vol. 5, No. 1, 2014, p. 91-102

Study on drought stress effects on morphological, physiological and biochemical characteristics of chickpea genotypes (*Cicer arietinum* L.) under field condition

Ganjeali[1*], A., Rahbarian[2], R., Bagheri[3], A. & Malekzadeh-Shafaroudi[3], S.

1. Contribution from Department of Biology, College of Sciences, and Research Center for Plant Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, IRAN
2. Contribution from Payame Noor University, ra_rahbarian@yahoo.com
3. Contributions from College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, IRAN

Received: 13 December 2011
Accepted: 13 May 2013

Abstract

In order to evaluate of morphological, physiological and biochemical traits, related to drought tolerance, an experiment was carried out in field condition. In this study two commercial cultivars (MCC361, MCC358), three Kabuli and three Deci type of tolerant genotypes (MCC392, MCC537, MCC696, MCC873, MCC870, MCC10,) and three Kabuli and three Deci type of susceptible genotypes (MCC759, MCC588, MCC774, MCC45, MCC39, MCC101) were grown in Ferdowsi University of Mashhad research field. These genotypes were compared in shoot length, dry weight, leaf area, Fv/Fm, leaf water potential, prolin and protein content and catalase activity in the flowering stage. There was a significant positive correlation between prolin and protein content. Catalase activity also had significant positive correlation with dry weight and leaf area. Susceptible genotypes had lower Fv/Fm, leaf water potential, prolin content and catalase activity than tolerant genotypes. Accordingly, Fv/Fm, leaf water potential, prolin content and catalase activity were introduced as suitable markers for identification of drought tolerant genotypes. Commercial cultivar (MCC358) was introduced as a tolerant genotype because of higher Fv/Fm, leaf water potential, prolin content and catalase activity as compared to susceptible genotypes under drought stress.

Key words: Catalase, Chickpea, Drought stress, Fv/Fm, Prolin

* **Corresponding Author:** ganjeali@um.ac.ir, Mobile: 09153057645