

# نشریه پژوهش‌های حبوبات ایران

ISSN 2008-725X

جلد ۵، شماره ۱، نیمه اول ۱۳۹۳

دوفصلنامه علمی-پژوهشی

پژوهشکده علوم کیمی دانشگاه فردوسی مشهد



با همکاری



دانشگاه صنعتی اسلامیان



دانشگاه ترمه‌ت درس



دانشگاه شیمی‌افزارکاری



دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی اسلامیان



دانشگاه علوم و تجارت



دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی اسلامیان

- اثر تاریخ کاشت، فاصله ردیف و مقادیر بذر بر عملکرد دانه و پروتئین گیاه باقلاء (*Vicia faba L.*) در شهرستان رشت
- بررسی امکان کاشت پاییزه نخود در شرایط آب و هوایی سراوان
- بررسی مزیت نسبی طرح آلفالاتیس نسبت به طرح بلوک‌های کامل تصادفی در آزمایشات مقایسه عملکرد نخود زراعی (*Cicer arietinum L.*)
- بررسی اثر تلقیح بذر نخود زراعی (*Cicer arietinum L.*) با کودهای زیستی ریزوبیومی و ریزوباکتری‌های محرك رشد گیاه (PGPR) بر شاخص‌های رشد و تخصیص مواد فتوسنترزی در شرایط دیم و فاریاب
- کارآیی استفاده از علفکش پاراکوات برای مدیریت علف‌های هرز لوبیا (*Phaseolus vulgaris L.*) در قالب رهیافت تهیه بستر کاشت زودهنگام
- ارزیابی تأثیر نوع رقم و زمان خیساندن و پخت، بر ویژگی‌های بافت، جذب آب و میزان ترکیدگی لوبیاقرمز ایرانی
- تأثیر تنفس خشکی و روش کاشت بر عملکرد و اجزای عملکرد دو رقم نخود (*Cicer arietinum L.*)
- واکنش‌های مورفولوژیک، فیزیولوژیک و بیوشیمیابی ژنتوتیپ‌های متحمل و حساس به خشکی نخود (*Cicer arietinum L.*) در شرایط تنفس خشکی در مزرعه
- بررسی تأثیر تنفس خشکی بر صفات مورفوفیزیولوژیک و فلورورسانس کلروفیل گیاه‌چههای لوبیاقرمز (*Phaseolus vulgaris L.*)
- روند تغییرات صفات مورفوفیزیولوژیک ژنتوتیپ‌های نخود (*Cicer arietinum L.*) در باسخ به تنفس شوری ناشی از کلریدسدیم
- آزمون‌های زیستی و مولکولی گیاه نخود تراریخته (*Cicer arietinum L.*) مقاوم به آفت پیله‌خوار (*Helicoverpa armigera Hub.*)
- بررسی مقاومت ژنتوتیپ‌های باقلاء به بیماری لکه‌شکلاتی (*Botryotinia fabae Sard.*) در منطقه گرگان

(فهرست کامل، داخل نشریه...)

# نشریه پژوهش های حبوبات ایران

دوفلسفام علمی - پژوهشی

پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد

با مجوز شماره ۱۳۸۸/۰۸/۲۵ مورخ ۱۳۸۸/۰۸/۲۵ از وزارت فرهنگ و ارشاد اسلامی  
و درجه علمی پژوهشی به شماره ۱۳۸۹/۰۳/۱۷ مورخ ۱۳۸۹/۰۳/۱۷ از وزارت علوم، تحقیقات و فناوری

جلد ۵، شماره ۱، نیمة اول ۱۳۹۳

صاحب امتیاز:  
مدیر مسئول:  
سردیر:  
مدیر اجرایی:  
هیئت تحریریه:

احمد ارزانی	دانشگاه فردوسی مشهد، پژوهشکده علوم گیاهی
هادی استوان	استاد حشره‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز
علیرضا افشاری‌فر	دانشیار بیماری‌های گیاهی، دانشگاه شیراز
نادعلی بابائیان جلودار	استاد ژنتیک و اصلاح نباتات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
عبدالرضا باقری	استاد ژنتیک و اصلاح نباتات، دانشگاه فردوسی مشهد
غلامحسین حق‌نیا	استاد خاک‌شناسی، دانشگاه فردوسی مشهد
سیدحسین صباح‌پور	دانشیار اصلاح نباتات، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی همدان
محمد کافی	استاد فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد
سرالله گالشی	استاد زراعت، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
محمد گلوي	دانشیار زراعت، دانشگاه زابل
علی گنجعلی	دانشیار فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد
ناصر مجذوب‌حسینی	استاد زراعت و اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران
حسین معصومی	دانشیار گیاه‌پزشکی، دانشگاه شهید باهنر کرمان
احمد معینی	دانشیار بیولوژی گیاهی، دانشگاه تربیت مدرس
احمد نظامی	استاد فیزیولوژی گیاهان زراعی، دانشگاه فردوسی مشهد
ویراستار علمی و فنی:	مهندس حسن پرسا
همکاران این شماره:	حامد طلاچیان - سیدمهدی میرشاهولای - رحمان اسدی
ناشر:	پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد
چاپ:	مؤسسه چاپ و انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد
شمارگان:	۱۰۰ نسخه

این نشریه در قالب تفاهمنامه همکاری میان دانشگاه‌های صنعتی اصفهان، تربیت مدرس، شهید باهنر کرمان، علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، آزاد اسلامی واحد شیراز و علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری و با هدف گسترش همکاری‌های علمی و پژوهشی منتشر می‌شود.

این نشریه در پایگاه‌های زیر نمایه می‌شود:

• بانک اطلاعات نشریات کشور  
<http://www.magiran.com> • magiran  
iranian magazines reference

• پایگاه اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی  
<http://fa.journals.sid.ir> • SID

• پایگاه استنادی علوم جهان اسلام  
<http://www.isc.gov.ir> • ISC  
Scopus

## نشانی:

مشهد، میدان آزادی، پردیس دانشگاه فردوسی مشهد، پژوهشکده علوم گیاهی  
دفتر نشریه پژوهش‌های حبوبات ایران، صندوق پستی: ۹۱۷۷۹۴۸۹۷۴  
تلفن: ۰۵۱ ۳۸۸۰۴۸۰۱۲ - ۳۸۸۰۴۸۰۱ - ۰۵۱ ۳۸۸۰۴۸۰۱۹  
نیمه: ۰۵۱ ۳۸۸۰۷۰۲۴

پست الکترونیک: [ijpr@um.ac.ir](mailto:ijpr@um.ac.ir)

تارنما: <http://rcps.um.ac.ir> و <http://ijpr.um.ac.ir/index.php/ijpr>

# نشریه پژوهش‌های حبوبات ایران

## فهرست مقالات

جلد ۵، شماره ۱۴، نیمة اول ۱۳۹۳

عنوان مقاله	نوبسنده(گان)	صفحه
-------------	--------------	------

- اثر تاریخ کاشت، فاصله ردیف و مقدایر بذر بر عملکرد دانه و پروتئین گیاه باقلاء (Vicia faba L.) در شهرستان رشت
- بررسی امکان کاشت پاییزه نخود در شرایط آب و هوایی سراوان
- بررسی مزیت نسبی طرح آفالاتیس نسبت به طرح بلوک‌های کامل تصادفی در آزمایشات مقایسه عملکرد نخود زراعی (Cicer arietinum L.)
- بررسی اثر تلقیح بذر نخود زراعی (Cicer arietinum L.) با کودهای زیستی ریزوپیومی و ریزوپاکتری‌های محرك رشد گیاه (PGPR) بر شاخص‌های رشد و تخصیص مواد فتوسننتزی در شرایط دیم و فاریاب
- کارآبی استفاده از علف‌کشن پاراکوات برای مدیریت علف‌های هرز لوبیا (Phaseolus vulgaris L.) در قالب رهیافت تهیه بستر کاشت زودهنگام
- ارزیابی تأثیر نوع رقم و زمان خیساندن و پخت، بر ویژگی‌های بافت، جذب آب و میزان ترکیدگی لوبیاقرمز ایرانی
- تأثیر تنفس خشکی و روش کاشت بر عملکرد و اجزای عملکرد دو رقم نخود (Cicer arietinum L.)
- واکنش‌های مورفولوژیک، فیزیولوژیک و بیوشیمیابی ژنتیپ‌های متحمل و حساس به خشکی نخود (Cicer arietinum L.) در شرایط تنفس خشکی در مزرعه
- بررسی تأثیر تنفس خشکی بر صفات مورفوفیزیولوژیک و فلورسانس کلروفیل گیاهچه‌های لوبیاقرمز (Phaseolus vulgaris L.)
- روند تغییرات صفات مورفوفیزیولوژیک ژنتیپ‌های نخود (Cicer arietinum L.) در پاسخ به تنفس شوری ناشی از کلریدسدیم
- آزمون‌های زیستی و مولکولی گیاه نخود تراریخته (Cicer arietinum L.) مقاوم به آفت پیله‌خوار (Helicoverpa armigera Hub.)
- بررسی مقاومت ژنتیپ‌های باقلاء به بیماری لکه‌شکلاتی (Botrytis fabae Sard.) در منطقه گرگان

- 
- بررسی الگوی بیان ژن‌های کیتیناز و بتا-۱ و ۳ گلوکاناز در گیاه نخود آلووده به بیماری برقزدگی
- 151 رحیم افضل، سیدحسن مرعشی،  
نسرين مشتاقی و حمیدرضا کاووسی
- بررسی توزیع ژن‌های مقاوم به ویروس موزائیک معمولی لوبیا در ژنتیپ‌های لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) با استفاده از نشانگرهای مولکولی اسکار
- 159 محمدمجتبی کاملمنش، آنیتا نماینده  
و محمدرضا بی‌همتا
-

## سخن سردبیر

حبوبات به عنوان یکی از مهم‌ترین منابع گیاهی غنی از پروتئین، دومین منبع مهم غذایی انسان پس از غلات، به شمار می‌روند. این گیاهان با داشتن قابلیت ثبت زیستی نیتروژن، نقش در خور توجهی در بهبود حاصلخیزی خاک دارند. حبوبات در تناوب با بسیاری از گیاهان زراعی، کشت و کار می‌شوند و بدین ترتیب با تنوع بخشی به نظامهای کشت مبتنی بر غلات، جایگاه ویژه‌ای در کشاورزی پایدار به خود اختصاص داده‌اند. این گیاهان، کم‌توقع بوده و برای کشت در نظامهای زراعی کم‌نها ده مناسب می‌باشند. همچنین به صورت گیاهان پوششی، در جلوگیری از فرسایش خاک مؤثرند. مجموعه این ویژگی‌ها، حبوبات را از جنبه‌های زراعی، بوم‌شناختی و زیست‌محیطی در جایگاه ارزشمندی قرار داده است.

حبوبات در ایران پس از غلات، بیشترین سطح زیرکشت را دارا هستند. بر اساس آمار، سالانه سطحی حدود یک‌میلیون و دویست هزار هکتار در کشور به کشت حبوبات اختصاص می‌یابد که از این سطح، سالانه حدود ۷۰۰ هزار تن محصول به دست می‌آید. نگاهی اجمالی به آمار تولید و سطح زیرکشت این محصولات در ایران و مقایسه آن با آمار جهانی نشان می‌دهد که بازده تولید این محصولات در کشور ما، بسیار ناچیز بوده و گاه با نوسانات شدیدی همراه است. هرچند بخشی از پایین‌بودن بازده تولید این محصولات را می‌توان به وضعیت ویژه طبیعی و اقلیمی کشور مربوط دانست اما علت دیگر آن را باید در بی‌توجهی به سرمایه‌گذاری‌های مرتبط با تولید بهویژه فقر تحقیقات حبوبات، جستجو کرد. این کم‌توجهی‌ها سبب شده است کشت بعضی محصولات زراعی مانند غلات و محصولات نقدینه‌ای، جایگزین کشت حبوبات در اراضی مرغوب شده و لذا کشت حبوبات، بیش از پیش به مناطق حاشیه‌ای و کم‌بازده رانده شود. این وضعیت، چالشی بزرگ را فراوری مجموعه برنامه‌ریزان، سیاست‌گزاران و نیز محققان حبوبات در کشور قرار داده است.

اهمیت حیاتی این محصولات بهویژه از نظر تأمین نیازهای پروتئینی کشور و نیز حفظ بوم‌نظامهای طبیعی ایجاب می‌کند تا به امر پژوهش‌های دامنه‌دار پیرامون جنبه‌های مختلف تولید این محصولات به منظور پاسخ‌گویی به نیازهای جدید، به صورت ویژه‌ای پرداخته شود. نکته مهمی که در طراحی و اجرای برنامه‌های تحقیقات حبوبات باید همواره مدد نظر باشد، قرار داشتن کشور در وضعیت طبیعی و اقلیمی خشک است؛ به طوری که بیش از ۹۰ درصد از تولید حبوبات در کشور ما در شرایط دیم با بارش‌های بسیار اندک انجام می‌شود. بدین ترتیب، انطباق با این شرایط خشک ضمن حفظ پایداری تولید، به عنوان یکی از اصول بنیادین در تدوین و اتخاذ سیاست‌ها و خط‌مشی‌های تحقیقاتی در رابطه با حبوبات، مدد نظر قرار بگیرد.

به هر حال، تعیین یک راهبرد واحد، هماهنگی و انسجام بین مراکز علمی و تحقیقاتی و نیز تبادل اطلاعات و تجارت به دست آمده بین محققان در مراکز مختلف، عواملی هستند که ما را در رسیدن به اهداف بلندمدت تحقیقات حبوبات یاری خواهند کرد. در این راستا، پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد با همکاری مراکز دانشگاهی و تحقیقاتی کشور، نشریه علمی‌پژوهشی "پژوهش‌های حبوبات ایران" را با هدف انتشار دستاوردهای حاصل از تحقیقات حبوبات پژوهشگران کشور، آغاز کرده است. امید است این اقدام، بستر مناسبی را جهت شکل‌گیری فضای تعامل علمی و رشد قابلیت‌های محققان این عرصه فراهم آورد.



# نشریه پژوهش های حبوبات ایران

و فصلنامه علمی - پژوهشی

پژوهشکده علوم کیمی دانشگاه فردوسی مشهد

## معرفی نشریه، فراخوان و شرایط پذیرش مقاله، راهنمای تهیه و ارسال مقاله

### الف - معرفی نشریه

«پژوهش های حبوبات ایران» نشریه ای است با درجه علمی پژوهشی که به وسیله پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد در قالب تفاهمنامه همکاری با شیش دانشگاه کشور شامل دانشگاه های صنعتی اصفهان، تربیت مدرس، شهید باهنر کرمان، علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات و دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، به تعداد دو شماره در سال انتشار می یابد. این نشریه تخصصی، نتایج تحقیقات حبوبات را در زمینه های مختلف پژوهشی، منتشر می کند. منظور از حبوبات، بقولات مهم زراعی شامل خود، عدس، انواع لوبیا، ماش، باقلاء، نخود فرنگی، دال عدس و خلر است.

### ب - فراخوان و شرایط پذیرش مقاله

ب-۱- مقالات باید نتیجه پژوهش های اصیل در زمینه حبوبات بوده و پیشتر در نشریه دیگری چاپ نشده و یا همزمان به نشریه دیگری ارسال نشده باشند. مراحل ارسال مقاله و پیگیری وضعیت آن، از طریق پایگاه اختصاصی نشریه پژوهش های حبوبات ایران در سامانه یکپارچه مدیریت نشریه های علمی دانشگاه فردوسی مشهد به نشانی <http://jm.um.ac.ir/index.php/IJPR> خواهد بود.

ب-۲- نویسنده (گان) طی تعهدنامه ای، ضمن اعلام ارسال مقاله با ذکر عنوان، رعایت اخلاق پژوهشی و نیز اصول اخلاقی نشر را ابراز می نمایند. این تعهدنامه باید به امضای نویسنده مسئول و نیز یکایک سایر نویسنده گان مقاله، رسیده و پس از اسکن، از طریق سامانه اینترنتی نشریه در بخش بارگذاری فایل های الحاقی، بارگذاری گردد.

ب-۳- مسئولیت هر مقاله از نظر علمی به عهده نویسنده (گان) آن خواهد بود.

ب-۴- مقالات به وسیله گروه دبیران (هیئت تحریریه) و با همکاری هیئت داوران، ارزیابی شده و در صورت تصویب، بر اساس ضوابط خاص نشریه در نوبت چاپ قرار خواهند گرفت. نشریه در رد یا پذیرش و نیز ویراستاری و تنظیم مطالب مقالات، آزاد است.

ب-۵- زبان اصلی نشریه، فارسی است و مقالات، حاوی چکیده به زبان انگلیسی نیز خواهند بود.

### ج - راهنمای تهیه و ارسال مقاله

#### ج-۱- روش نگارش

متن مقاله باید در محیط نرم افزار MS-Office Word 2007 با ابعاد A4 با فاصله ۱/۵ بین خطوط با قلم فارسی B Nazanin و قلم انگلیسی Times New Roman اندازه ۱۲ و ۱۱ تایپ شود. لازم است تمام سطرهای متن مقاله، به صورت ادامه دار (Continuous) شماره گذاری (Line numbering) شوند. همه صفحه های مقاله باید دارای شماره بوده و تعداد آن از ۲۰ تجاوز نکند. هر گونه شکل، جدول و فرمول نیز به صورت واضح به همین نرم افزار انتقال یابد.

## ج-۲- اجزای مقاله

هر مقاله تخصصی، حداقل باید در دو فایل جداگانه شامل فایل صفحه مشخصات و فایل متن مقاله، تهیه و ارسال شود. بخش‌های ضروری هر یک از این دو فایل و نیز اصول لازم که در تهیه آنها باید رعایت شوند، به شرح زیر است:

ج-۱-۲- در فایل صفحه مشخصات، موارد زیر باید به‌دققت به هردو زبان فارسی و انگلیسی قید گردند: عنوان مقاله، نام و نام خانوادگی نگارنده(گان)، درجه علمی، عنوان شغلی، محل خدمت، آدرس دقیق پستی، پست الکترونیک، تلفن ثابت و تلفن همراه. چنانچه مقاله توسط بیش از یک‌نفر تهیه شده باشد، نام مسئول مکاتبه (Corresponding Author) با گذاشتن ستاره‌ای روی آن، مشخص و در پاورقی همین صفحه درج شود. صفحه مشخصات، بدون شماره است. چنانچه مقاله، خلاصه یا بخشی از پایان‌نامه (رساله) دانشجویی باشد، لازم است موضوع در پاورقی صفحه مشخصات با قید نام استاد راهنمای و دانشگاه مربوط، منعکس شود. فایل صفحه مشخصات به صورت جدا از فایل متن مقاله، در گام پنجم از فرآیند ارسال مقاله (بارگذاری فایل‌های الحاقی)، بارگذاری شود.

ج-۲-۲- فایل متن مقاله، باید حاوی بخش‌های عنوان، چکیده فارسی و واژه‌های کلیدی، مقدمه، مواد و روش‌ها، نتایج و بحث، سپاسگزاری (در صورت لزوم)، فهرست منابع و چکیده انگلیسی باشد. در اولین صفحه، عنوان مقاله بدون هرگونه ذکر نام و مشخصات نویسنده(گان)، درج شود. عنوان باید خلاصه، روشن و بیان‌کننده موضوع پژوهش بوده و از ۲۰ کلمه تجاوز نکند. چکیده، حداکثر در ۲۵ کلمه نوشته شده و همه آن در یک پاراگراف تنظیم شود. چکیده با وجود اختصار باید محتوای مقاله و بر جسته‌ترین نتایج آن را بدون استفاده از جدول، شکل و کلمات اختصاری تعریف‌نشده، ارائه کند.

ج-۲-۳- پس از چکیده، واژه‌های کلیدی آورده شود. به این منظور تنها از واژه‌هایی استفاده شود که در عنوان و حتی المقدور در چکیده مقاله از آنها ذکری بهمیان نیامده باشد.

ج-۲-۴- در مقدمه، باید سوابق پژوهشی مربوط به موضوع تحقیق، توجیه ضرورت و نیز اهداف تحقیق، به‌خوبی ارائه شوند.  
ج-۲-۵- مواد و روش‌ها باید کاملاً گویا و روشن بوده و در آن، مشخصات محل و نحوه اجرای آزمایش همراه با روش گردآوری داده‌ها و پردازش و تحلیل آنها با ذکر منابع، به‌روشنی ارائه شود. در صورت کاربرد معادلات ریاضی، باید همه اجزای معادله به‌طور دقیق تعریف شده و در صورت استخراج معادله توسط نگارنده(گان)، نحوه حصول آن در پیوست، آورده شود.

ج-۲-۶- نتایج و بحث باید به صورت تأم ارائه شده و یافته‌های پژوهش (نتایج) با استناد به منابع علمی مرتبط با موضوع، مورد بحث قرار گیرند. عنوان جدول‌ها، در بالا و عنوان شکل‌ها در پایین آنها آورده شود. این عناوین باید گویای کامل نتایج ارائه شده در جدول یا شکل بوده و همه اطلاعات و تعاریف لازم را شامل شوند، به‌طوری که نیاز به مراجعه به متن مقاله نباشد. ترجیمه انگلیسی عنوان‌ها و زیرعنوان‌های جداول و شکل‌ها و نیز واحدها و توضیحات عالیم و اختصارات، در زیر نوشته فارسی آنها درج شود. ساختار جداول به صورت چپ‌چین تنظیم شده و محتوای آنها (اعداد) تنها به انگلیسی نوشته شود. شکل‌ها کاملاً به انگلیسی تهیه شوند. شکل‌ها و جدول‌ها بدون قادر باشند و حروف، عناوین و علائم به کاررفته در آنها، کاملاً خوانا و تفکیک‌پذیر باشند. شکل‌ها و جدول‌ها، هر کدام به‌طور مستقل دارای شماره ترتیبی مستقل باشند و حتماً در داخل متن به آنها ارجاع داده شود. برای بیان اوزان، واحدها و مقادیر از سیستم متريک استفاده شود.

ج-۲-۷- در صورت لزوم، جهت تشکر از شخص یا سازمان، این مطلب با عنوان "سپاسگزاری" بعد از نتایج و بحث آورده شود.  
ج-۲-۸- در بخش منابع، یک فهرست شماره‌گذاری شده از منابع استفاده شده که همگی به ترتیب حروف الفبا تنظیم شده باشند، ارائه شود. تنها منابعی باید ذکر شوند که در ارتباط نزدیک با کار نویسنده بوده و مستقیماً از آنها استفاده شده باشد. همه منابعی که در متن ذکر شده‌اند، باید در فهرست منابع با مشخصات کامل نوشته شوند. در مواردی که فقط چکیده مقاله در اختیار بوده است، پس از نام منبع، کلمه (abstract) داخل پرانتز ذکر شود. نحوه ارجاع به منابع در متن به صورت اسم نویسنده(گان) و تاریخ انتشار منبع باشد. حتی‌الامکان از نام بردن افراد در شروع جمله خودداری گردد و منابع در انتهای جمله و در پرانتز ارائه شوند، مانند (Nezami, 2007). برای جداسازی منابع از ":" استفاده شود مانند (Saxena, 2003; Singh *et al.*, 2008; Bagheri & Ganjeali, 2009) به صورت نام (سال) نوشته شود مانند (Parsa 2007). اسامی فارسی نیز باید به لاتین و سال شمسی به میلادی، برگردان شوند.

ج-۲-۹- صفحه آخر، شامل عنوان مقاله به انگلیسی، چکیده انگلیسی و کلمات کلیدی به زبان انگلیسی است. از ذکر اسمی و آدرس نویسنده‌گان در این صفحه خودداری شود. چکیده انگلیسی تا حد امکان منطبق با چکیده فارسی تنظیم شود.

### ج-۳- نحوه تنظیم فهرست منابع

کلیه منابع فارسی و انگلیسی، به زبان انگلیسی و با قلم Times New Roman اندازه ۱۲ در فهرست منابع نوشته شوند. لازم است منابع فارسی به زبان انگلیسی برگردان شده و در آخر هر منبع، در صورت داشتن خلاصه انگلیسی، عبارت In Persian with English Summary و در صورت نداشتن خلاصه انگلیسی، عبارت In Persian است. در داخل پرانتز نوشته شود. در نوشتن منابع، نام نشریات به صورت کامل درج شود. از ذکر منابع بی‌نام و خارج از دسترس، خودداری شود. مثال‌هایی از نحوه نوشتن فهرست منابع در زیر آمده است:

#### ج-۱-۳- مجلات:

Anbessa, Y., Warkentin, T., Vandenberg, A., and Ball, R. 2006. Inheritance of time to flowering in chickpea in a short-season temperate environment. *Journal of Heredity* 97(1): 55-61.

#### ج-۲-۳- کتاب تألیف شده:

James, E.K., Sprent, J.I., and Newton, W.E. 2008. Nitrogen-Fixing Leguminous Symbioses. Kluwer Academic Publishers.

#### ج-۳-۳- مقاله یا یک فصل از کتاب تدوین شده (Edited book)

Mettam, G.R., and Adams, L.B. 1999. How to prepare an electronic version of your article. In: B.S. Jones and R.Z. Smith (Eds.). *Introduction to the Electronic Age*. E-Publishing Inc., New York, p. 281-304.

#### ج-۴-۳- مقاله در نشریه برخط (On-line)

Mantri, N.L., Ford, R., Coram, T.E., and Pang, E.C.K. 2010. Evidence of unique and shared responses to major biotic and abiotic stresses in chickpea. *Environmental and Experimental Botany* 69(3): 286-292. Available at Web site <http://www.sciencedirect.com/> (verified 1 August 2010).

#### ج-۵-۳- مقاله یا نوشه از اینترنت مربوط به یک دانشگاه یا سازمان:

International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA). 2010. Crops varieties released, 1977-2007, cereal and legume varieties released by national programs: Kabuli chickpea. Available at Web site [http://www.icarda.org/Crops\\_Varieties\\_KC.htm](http://www.icarda.org/Crops_Varieties_KC.htm) (verified 1 August 2010).

#### ج-۶-۳- رساله‌های تحصیلی:

Bagheri, A. 1994. Boron tolerance in grain legumes with particular reference to the genetics of boron tolerance in peas. Ph.D. Thesis. University of Adelaide, South Australia.

#### ج-۷-۳- کنفرانس‌های علمی:

Porsa, H., Nezami, A., Gholami, M., and Bagheri, A. 2010. Evaluation of chickpea (*Cicer arietinum* L.) germplasms for cold tolerance at fall sowing in highland and cold areas of Iran. (abstract). In: Abstract Book of the 3rd Iranian Pulse Crops Symposium, May 19-20, 2010. Kermanshah Agricultural Jahad Organization. p. 49. (In Persian).

#### ج-۸-۳- نرم‌افزارهای رایانه‌ای:

SAS Institute. 1999. SAS/Stat User's Guide, Version 8.0. SAS Institute, Cary, NC.

MSTAT-C. Version 1.42. Freed, R.D. and Eisensmith, S.P. Crop and Soil Sciences Department. Michigan State University.

در انتهای، فایل متن مقاله را نیز در گام چهارم از فرایند ارسال مقاله، بارگذاری نمایید.

\*\*\*\*\*

#### نشانی:

مشهد، میدان آزادی، پردیس دانشگاه فردوسی مشهد، پژوهشکده علوم گیاهی، دفتر نشریه پژوهش‌های حبوبات ایران

صندوق پستی: ۹۱۷۷۵-۱۶۵۳، گُدد پستی: ۹۱۷۷۹۴۸۹۷۴

تلفن: ۰۵۱ (۳۸۸۰۴۸۰۱ و ۳۸۸۰۴۸۱۲)، نامبر: ۰۵۱ (۳۸۸۰۷۰۲۴)

پست الکترونیک: [ijpr@um.ac.ir](mailto:ijpr@um.ac.ir)

تارنما: <http://ijpr.um.ac.ir/index.php/ijpr>

<http://rcps.um.ac.ir>

## اثر تاریخ کاشت، فاصله ردیف و مقادیر بذر بر عملکرد دانه و پروتئین گیاه باقلاء (Vicia faba L.)

محمد ربیعی<sup>۱\*</sup> و مهرداد جیلانی<sup>۲</sup>

۱- پژوهشگر مؤسسه تحقیقات برنج کشور، رشت، ایران

۲- دانشجوی دکتری زراعت، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۰۶/۱۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۰۸/۰۸

### چکیده

به منظور مطالعه اثر تاریخ کاشت، فاصله کشت و مقدار بذر بر عملکرد دانه و عملکرد پروتئین باقلاء، آزمایشی به صورت اسپلیت-فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار طی دو سال زراعی ۱۳۸۷-۸۹ در ایستگاه تحقیقاتی مؤسسه تحقیقات برنج کشور در رشت اجرا گردید. در این آزمایش سه تاریخ کاشت ۱۰، ۲۵ و ۴۰ آبان به عنوان کرت‌های اصلی و سه فاصله بین ردیف‌های کشت ۳۰، ۴۰ و ۵۰ سانتی‌متر و دو میزان بذر ۱۰۰ و ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار به عنوان کرت‌های فرعی منظور شدند. نتایج مقایسه میانگین نشان داد که سال اول، از نظر اغلب صفات مورد بررسی نسبت به سال دوم، از برتری قابل ملاحظه‌ای برخوردار بود. بین تاریخ‌های کاشت، تاریخ کاشت ۲۵ و ۴۰ مهر، بیشترین وزن ۱۰۰ آدانه، تعداد غلاف در بوته و عملکرد دانه و پروتئین را به خود اختصاص داد و به طور مشترک در یک گروه قرار داشتند. بین فواصل کشت، فاصله کاشت ۴۰ و ۳۰ سانتی‌متر و بین مقادیر بذر، میزان بذر ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار، بیشترین عملکرد دانه و پروتئین را به خود اختصاص دادند. تاریخ کاشت ۱۰ مهر با میانگین ۲۳۴ روز بیشترین طول دوره رشد را دارا بود. نتایج حاصل از تحقیق، حاکی از آن بود که کاشت باقلاء در تاریخ کاشت ۱۰ و ۴۰ سانتی‌متر و مقدار بذر ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار به دلیل بیشتر بودن عملکرد دانه و پروتئین، در اراضی شهرستان رشت قابل توصیه می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: دوره رشد، شاخص برداشت پروتئین، صفات زراعی، کشت دوم

حساس رشد گیاه با شرایط نامناسب از درجه حرارت، می‌تواند منجر به کاهش رشد رویشی، اجزای عملکرد و یا حتی مرگ گیاه گردد. در بررسی دو تاریخ کشت ۱۰ و ۲۵ آبان بر عملکرد غلاف سبز باقلاء رقم برکت در شهرستان رشت، گزارش شد که بالاترین عملکرد، در تاریخ کشت ۱۰ آبان به دست آمد (Hashemabadi & Sedaghathour, 2006) کردنده که کشت زودهنگام، سبب افزایش محتوای پروتئین بذر شد. در بررسی سه تاریخ کشت ۱۱ و ۲۴ دی و ۱۳ بهمن روی باقلاء در اردن گزارش گردید که تأخیر در تاریخ کشت منجر به کاهش عملکرد شد و بالاترین عملکرد غلاف در تاریخ کشت اول به دست آمد (Tawaha & Turk, 2001). طی بررسی اثر سه تاریخ کشت اوایل آبان، اواخر آذر و اوایل بهمن بر گیاه باقلاء در سوریه، گزارش شد که کشت زودهنگام، سبب افزایش معنی‌داری در عملکرد دانه باقلاء گردیده و حداقل عملکرد باقلاء در تاریخ کاشت اوایل آبان به دست آمد (Oweis et al., 2005).

Kondra (1975) در بررسی سه میزان بذر (۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار)، سه فاصله کشت (۱۵، ۲۳ و ۳۰

### مقدمه

بذور خشک حبوبات به دلیل داشتن مقدار پروتئین بالا و دارابودن اسیدهای آمینه اصلی همچون لیسین، آرژینین و متیونین، منبع غذایی مناسبی محسوب می‌گردد (Birgani et al., 2003). با توجه به رشد جمعیت کشور و عملکرد بالای گیاه باقلاء، کشت آن در اراضی شالیزاری می‌تواند به عنوان یکی از منابع مهم غذایی جهت تأمین تغذیه جامعه مناسب باشد. از سوی دیگر گیاه باقلاء می‌تواند در تنابع با گیاه برنج که کشت اصلی در استان گیلان می‌باشد، کشت گردد. با توجه به آن که کشت این گیاه در منطقه به صورت سنتی صورت می‌گیرد، معیار مناسبی جهت ارزیابی اثر تاریخ کاشت و تراکم‌های مختلف وجود ندارد.

تاریخ کشت نامناسب منجر به برخورد دوران رشد رویشی و زایشی گیاه با شرایط نامناسبی از نظر طول روز و یا دما می‌گردد. کاهش دوران رشدی یا برخورد دوره‌های

\* نویسنده مسئول: رشت، کیلومتر ۵ جاده رشت-قزوین، مؤسسه تحقیقات برنج کشور  
کُپ پستی: rabiee\_md@yahoo.co.uk

بذر جهت دستیابی به بیشترین عملکرد دانه و پروتئین باقلا طراحی و اجرا گردید.

### مواد و روش‌ها

این آزمایش طی سال‌های زراعی ۱۳۸۷-۸۹ در اراضی شالیزاری ایستگاه تحقیقاتی کشت دوم مؤسسه تحقیقات برنج کشور واقع در پنج کیلومتری شهرستان رشت به اجرا درآمد. آزمایش به صورت اسپلیت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار انجام گرفت. فاکتورهای آزمایشی شامل سه تاریخ کاشت ۱۰ و ۲۵ مهر و ۱۰ آبان به عنوان کرت‌های اصلی و سه فاصله بین ردیف‌های کشت ۴۰، ۳۰ و ۲۰ سانتی‌متر و دو میزان بذر ۱۰۰ و ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار به عنوان کرت‌های فرعی بودند. فاصله روی ردیف‌های کشت، بر اساس میزان بذر، متغیر بود. قبل از اجرای آزمایش، از عمق صفر تا ۳ سانتی‌متری خاک مزرعه، نمونه برداری شد و ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک، در آزمایشگاه بخش خاک و آب مؤسسه تحقیقات برنج کشور تعیین گردید (جدول ۱). جدول ۲، مشخصات آب‌وهوای ایستگاه مؤسسه تحقیقات برنج کشور طی دوره رشد گیاه باقلا در سال‌های زراعی ۱۳۸۷-۸۸ و ۱۳۸۸-۸۹ را نشان می‌دهد.

پس از برداشت برنج، عملیات آماده‌سازی زمین شامل شخم، احداث زهکش، استفاده از علف‌کش ترفلان به میزان ۲ لیتر در هکتار و افزودن کودهای پایه به میزان ۷۰ کیلوگرم فسفر در هکتار، ۷۶ کیلوگرم پتاسیم در هکتار و ۲۵ کیلوگرم نیتروژن در هکتار انجام گرفت. هر تیمار در پنج خط کاشت به طول ۷ متر کشت گردید. فواصل بین تیمارها، یک متر و بین تکرارها نیز معادل دو متر در نظر گرفته شد. کاشت بذور باقلا رقم "برکت" به صورت دستی در تاریخ‌های مورد نظر و در عمق ۴ تا ۵ سانتی‌متری انجام شد. به دلیل آبشویی و عدم تلقیح باکتری ثبت‌کننده نیتروژن، قبل از شروع ساقه‌رفتن و قبل از گلدهی، هر بار به میزان ۲۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن به مزرعه داده شد.

عملیات مبارزه با علف‌های هرز به صورت دستی و در مرحله چهاربرگی انجام گرفت. برای مبارزه با آفت حلزون، از سم متالدھاید ۰/۰ در مراحل ابتدایی رشد گیاه استفاده گردید. عملیات برداشت محصول پس از حذف اثر حاشیه، به صورت دستی و در مرحله رسیدگی فیزیولوژیک (در هر دو سال) انجام گرفت. عملکرد بیولوژیک، از شیش مترمربع برداشت و محاسبه گردید. برای به دست آوردن عملکرد دانه برای هر تیمار، مقدار دو کیلوگرم بذر تراز غلاف، جدا شده و به مدت ۴۸ ساعت در آون درجه قرار داده شده و عملکرد

۳ سانتی‌متر) در چهار تاریخ کاشت (با فواصل دوهفت‌های از ۱۲ اردیبهشت) در گیاه باقلا گزارش نمود که فاصله روی ردیف باریک‌تر، عملکرد دانه بیشتری تولید نمود. نتایج نشان داد که با افزایش میزان بذر از ۱۵۰ به ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار، افزایشی در عملکرد دانه حاصل نگردید. اثر تاریخ کاشت بر عملکرد دانه، معنی‌دار بود و تاریخ کاشت اول با ۶۳ کیلوگرم در هکتار بیشترین عملکرد دانه را تولید نمود. گزارش بررسی شش تراکم بوته (۱۳، ۳۸، ۲۵، ۵۰، ۶۳ و ۷۵ بوته در مترمربع) در دو واریته باقلا طی دو سال زراعی در دو منطقه، بیانگر آن بود که اثر تراکم بر کلیه صفات اجزای عملکرد به جز وزن ۱۰۰ دانه در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (Graf & Rowland, 1987) (Yavuz et al., 2011) در بررسی اثر مقادیر بذر (۶۰، ۸۰، ۱۰۰ و ۱۲۰ کیلوگرم در هکتار) و فواصل کشت (۵/۱۷ و ۵/۱۲ سانتی‌متر) بر گیاه ماش (*Vicia sativa L.*) طی دو سال، گزارش نمودند که بیشترین عملکرد دانه در فاصله کشت ۳۵ سانتی‌متر و میزان بذر ۱۰۰ کیلوگرم به دست آمد. تعداد غلاف در بوته، بیشترین حساسیت به تراکم بوته در واحد سطح را داشته و نتایج نشان داد که عملکرد غلاف با افزایش میزان بذر تا ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار افزایش و سپس ثابت ماند. همچنین در مطالعه دوساله سه فاصله روی ردیف (۱۰، ۲۰ و ۳۰ سانتی‌متر) بر عملکرد باقلا در کشور اتیوپی گزارش شد که بالاترین تعداد غلاف در بوته، با میانگین ۸/۲۸ غلاف و عملکرد دانه، با میانگین ۴۱/۳۳ تن در هکتار، در فاصله روی ردیف ۳۰ سانتی‌متر به دست آمد (Idris, Torabi et al., 2008) (Jafroudi et al., 2007) در بررسی سه فاصله بین ردیف کشت ۳۰، ۴۵ و ۴۵ سانتی‌متر در دو رقم لویا گزارش نمودند که با کاهش فاصله بین ردیف یا افزایش تراکم، بر میزان سرعت رشد محصول افزوده شد و بالاترین عملکرد دانه در فاصله بین ردیف ۳۰ سانتی‌متر حاصل گردید. نتایج تحقیقی در کشور ترکیه حاکی از آن بود که عملکرد گیاه باقلا با افزایش فاصله ردیف کاهش می‌یابد و فاصله بین ردیف ۳۰ سانتی‌متر، به دلیل افزایش تراکم گیاه، بالاترین عملکرد غلاف سبز را به خود اختصاص داد و پس از آن، فاصله‌های ۵۰ و ۷۵ سانتی‌متر در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند (Bozolglu et al., 2002).

با توجه به اهمیت عوامل به زراعی همچون تاریخ کاشت، فاصله کشت و میزان بذر در افزایش عملکرد دانه باقلا و نیاز به تحقیقات جدید در اراضی شهرستان رشت، این تحقیق به منظور تعیین بهترین تاریخ کاشت، فاصله کشت و میزان

تعیین شد. عملکرد پروتئین نیز از حاصل ضرب درصد پروتئین در عملکرد دانه محاسبه گردید. برای محاسبه ساخته برداشت دانه و پروتئین، به ترتیب عملکرد دانه و عملکرد پروتئین بر عملکرد بیولوژیک تقسیم گردید.

تجزیه واریانس داده‌ها برای کلیه صفات با استفاده از نرمافزار SAS نسخه ۹/۱ انجام گرفت. قبل از انجام تجزیه مركب بهمنظور اطمینان از یکنواختی واریانس اشتباه آزمایشی از آزمون بارتلت استفاده گردید. تجزیه مركب نیز با فرض تصادفی بودن سال و ثابت بودن تیمارهای آزمایشی برای تیمارها با استفاده از آزمون توکی در سطح احتمال پنج درصد انجام گرفت.

دانه بر حسب ۱۲ درصد رطوبت دانه محاسبه گردید. سبزشدن ۰.۵ درصد بوته‌ها به عنوان تاریخ سبزشدن در نظر گرفته شد. گلدهی زمانی بود که حداقل ۰.۵ درصد از بوته‌ها وارد گلدهی شده بودند و برای محاسبه طول دوره رشد، فاصله زمانی از کاشت تا رسیدگی فیزیولوژیک محاسبه شد. جهت اندازه‌گیری صفاتی مانند ارتفاع بوته، تعداد شاخه فرعی، تعداد غلاف در بوته و تعداد دانه در غلاف، تعداد ۱۰ بوته از هر کرت به طور تصادفی انتخاب و این صفات در آنها اندازه‌گیری شد و میانگین آنها به عنوان صفت مورد نظر ثبت شد. برای محاسبه وزن ۱۰۰ دانه، چهار نمونه ۵۰ تایی از دانه‌های هر کرت شمارش و توسط ترازوی حساس، اندازه‌گیری و میانگین آن به عنوان صفت مورد نظر ثبت گردید. درصد پروتئین بذور توسط روش اتوکجلدال در آزمایشگاه خاک و آب مؤسسه تحقیقات برنج

جدول ۱- مشخصات خاک محل آزمایش در ایستگاه تحقیقاتی مؤسسه تحقیقات برنج (رشت) طی سال‌های زراعی ۱۳۸۷-۸۹

Table 1. Soil properties of the experimental field at research station of Rice Research Institute of Iran (Rasht) during 2008-2010

عمق Depth (cm)	بافت خاک Texture Soil	رس Clay (%)	سیلت Silt (%)	شن Sand (%)	اسیدیته گل ashbaw pH	کربن آلی OC (%)	نیتروژن کل N total (%)	فسفر قابل جذب Available P (mg.kg <sup>-1</sup> )	پتاسیم قابل جذب Available K (mg.kg <sup>-1</sup> )	هدایت الکتریکی EC (dS.m <sup>-1</sup> )
0-30	Clay	54	37	9	6.64	1.23	0.122	12.1	222	0.61

جدول ۲- اطلاعات هواشناسی دو سال زراعی ۱۳۸۸-۸۸ و ۱۳۸۷-۸۹ در مؤسسه تحقیقات برنج کشور (رشت)

Table 2. Meteorological information for 2008-2009 and 2009-2010 growing seasons at Rice Research Institute of Iran (Rasht)

Month	ماه	میزان بارندگی (میلی متر)				میزان ساعت آفتابی			
		Total rainfall (mm)				Sunny hours level			
		(2008-2009) (max) بیشینه	(2008-2009) (min) کمینه	(2009-2010) (max) بیشینه	(2009-2010) (min) کمینه	(2008-2009)	(2009-2010)	(2008-2009)	(2009-2010)
October	مهر	24.2	16.3	23.9	14.7	163.1	130.5	71.8	159.5
November	آیان	16.7	8.8	21.0	11.9	377.6	243.8	89.0	133.7
December	آذر	14.7	6.2	15.0	5.9	237.0	95.9	98.2	128.4
January	دی	10.1	2.4	14.3	7.3	150.0	47.9	71.6	61.6
February	بهمن	13.1	5.0	10.2	3.5	66.0	139.3	68.2	38.1
March	اسفند	16.4	6.0	13.7	7.7	27.9	104.2	77.8	38.5
April	فروردین	17.3	6.2	16.2	8.3	133.3	75.0	115.3	114.2
May	اردیبهشت	22.8	13.0	21.0	14.0	43.4	136.8	154.0	123.0
June	خرداد	27.3	18.2	29.8	20.4	1.1	0.4	29.4	76.7
(Average) میانگین (Sum) مجموع		17.8	8.9	18.0	10.2	1202.0	897.6	775.3	684.4

گل غیرانتهایی خود، دارای رشد طولانی بعد از شروع گلدهی می‌باشد. بنابراین، تراکم بیشتر بوته در واحد سطح در میزان بذر ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار در مرحله رویشی که کانوپی گیاهی هنوز کامل نشده است، نتوانست تفاوت چندانی را در مرحله ظهر گل بین تیمارها نشان دهد. در میزان بذر بیشتر، با کامل شدن رشد گیاه و پُرشدن فضای بین بوته‌ها و بسته شدن فضای کانوپی در مرحله زایشی که به علت تراکم بیشتر بوته در واحد سطح بود، سبب یکنواختی رسیدگی بوته‌ها و کوتاه شدن طول دوره زایشی گیاه در میزان بذر ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار گردید.

#### صفات مورفولوژیک

نتایج حاصل از تجزیه واریانس، بیانگر آن بود که ارتفاع بوته تحت تأثیر سال و اثر میزان بذر قرار نگرفت، ولی اثر تاریخ کاشت و فاصله بین ردیف کشت، بر آن معنی دار بود (جدول ۳). مقایسه میانگین نشان داد که تاریخ کاشت ۱۰ و ۲۵ مهر به ترتیب با میانگین ارتفاع ۱۵۷/۷ و ۱۴۹/۶ سانتی متر در یک گروه آماری قرار گرفتند و نسبت به تاریخ کاشت ۱۰ آبان با میانگین ۱۲۹/۷ سانتی متر، از برتری معنی داری برخوردار بودند. نتایج آزمایشات دیگر در منطقه نیز بیانگر آن است که بیشترین ارتفاع بوته از تاریخ ۱۰ مهر با میانگین ۱۵۹/۲ سانتی متر به دست آمد (Jilani, 2011). از جمله دلایل افزایش ارتفاع بوته در تاریخ‌های کاشت زودتر را می‌توان به تخصیص بیشتر مواد غذایی و نور در بازه زمانی طولانی تر در گیاه نسبت داد.

نتایج تجزیه واریانس بیانگر آن بود که اثر سال، تاریخ کاشت و فاصله بین ردیف کشت بر تعداد شاخه فرعی معنی دار بود. مقایسه میانگین نشان داد که سال اول با میانگین ۶/۴ شاخه فرعی نسبت به سال دوم آزمایش با میانگین ۵/۴ شاخه فرعی از برتری معنی داری برخوردار بود. مقایسات میانگین در خصوص بررسی اثر تاریخ کاشت نشان داد که تاریخ‌های کشت زودتر (۱۰ و ۲۵ مهر) به ترتیب با میانگین ۶/۱ و ۶/۴، بیشترین تعداد شاخه فرعی را دارا بوده و به طور مشترک در یک گروه قرار داشتند که علت این امر را می‌توان به ارتفاع بیشتر و بهره‌گیری از طول دوره رویشی طولانی تر در تاریخ‌های کشت زودتر نسبت به تاریخ کاشت ۱۰ آبان دانست. مقایسه میانگین در مورد صفت شاخه فرعی نشان داد که فاصله بین ردیف کشت ۵۰ سانتی متر نسبت به فواصل ۴۰ و ۳۰ سانتی متر، اثر مثبت بر تعداد شاخه فرعی در بوته داشت و با افزایش فواصل بین ردیف کشت، تعداد شاخه‌های فرعی افزایش یافت.

#### نتایج و بحث

##### صفات فنولوژیک

نتایج حاصل از تجزیه واریانس مرکب نشان داد که اثر سال بر کلیه صفات فنولوژیک در سطح یک درصد معنی دار بود (جدول ۳). عملیات سبزشدن مزرعه در سال اول آزمایش با میانگین ۱۴/۷ روز کاشت تا سبزشدن، به دلیل میزان بارندگی بیشتر و دمای کمتر نسبت به سال دوم با میانگین ۱۲/۹ روز، با تأخیر مواجه شد. با توجه به آن که در تمام طول دوره رشد گیاه باقلاً طی سال اول آزمایش، میزان بارندگی بیشتر و دمای کمتری وجود داشت، مراحل فنولوژیک دیگر همچون طول دوره سبزشدن تا گلدهی، طول دوره گلدهی تا رسیدگی و طول دوره رویش، با تأخیر بیشتری نسبت به سال دوم آزمایش به وقوع پیوست. اثر تاریخ کاشت نیز بر کلیه صفات فنولوژیک، معنی دار بود. به نظر می‌رسد تأخیر در کاشت به دلیل مواجه شدن با دمای پایین‌تر، سبب تأخیر در انجام عملیات سبزشدن مزرعه گردید. طول دوره کاشت تا سبزشدن، سبزشدن تا گلدهی و طول دوره رشد در تاریخ کاشت ۱۰ مهر، بیشترین تعداد روز را نسبت به تاریخ‌های کاشت ۲۵ مهر و ۱۰ آبان دارا بود (جدول ۴). تاریخ کاشت ۱۰ مهر، کوتاه‌ترین زمان را از نظر تاریخ سبزشدن، با میانگین ۸/۴ روز داشت و بیشترین طول دوره سبزشدن تا گلدهی و طول دوره رشد را به ترتیب با میانگین ۱۲۸ و ۲۳۴ روز دارا بود (جدول ۴).

Shad *et al.* (2010) در بررسی اثر هشت تاریخ کاشت ۲۹ شهریور تا ۶ دی با فاصله هر ۱۷ روز یک کشت و چهار تراکم گیاه باقلاً گزارش نمودند که صفات روز تا جوانه‌زنی، روز تا گلدهی و روز تا رسیدگی، تحت تأثیر تاریخ کاشت قرار گرفتند. اثر فاصله کشت بر کلیه صفات فنولوژیک، معنی دار بود. فاصله کاشت ۳۰ سانتی متر سبب کاهش طول دوره رویش گیاه گردید که علت این امر را می‌توان به کمتر بودن شاخه‌های فرعی آن نسبت داد. در گیاهانی که با فواصل روی ردیف باریک‌تر کشت می‌شوند، ارتفاع بوته افزایش یافته و از تعداد شاخه فرعی کاسته می‌شود که نتیجه آن یکنواختی رسیدگی گیاه و کاهش طول دوره رویش می‌باشد.

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر میزان بذر بر طول دوره زایشی (طول دوره گلدهی تا برداشت) معنی دار بود، ولی اثر معنی داری بطول دوره رویشی (طول دوره سبزشدن تا گلدهی) نداشت (جدول ۳). علت عدم تفاوت معنی دار بین مقادیر بذر در طول دوره رویشی را می‌توان چنین توجیه نمود که گیاه باقلاً به دلیل دارابودن خاصیت

جدول ۳- تجزیه واریانس صفات ارزیابی شده در تپه‌های آزمایشی در گیاه بالا رقم برکت طی سال های ۸۹-۸۷-۸۶ در منطقه رشت.

Table 3. Analysis of variances in evaluated traits of experimental treatment in *Vicia faba* L. var. Barekat during 2008-2010 at Rasht region.

میانگین مربوطات (MS)										متغیر	
										درجه آزادی df	S.O.V
تعداد غلاف	تعداد شانه	تعداد داده در غلاف	تعداد شانه	تعداد داده در غلاف	طول دوره سبز	کاشت تا رسیدن	شدن تا گردش	شدن تا گردش	کاشت تا رسیدن	1	Year (Y)
دربوته	جانتی	دربوته	جانتی	دربوته	طول دوره گردش	تاریخ کاشت	تاریخ کاشت	تاریخ کاشت	تاریخ کاشت	2	Year × R (PD)
Pod no. per plant	Seed no. per pod	Branch number	Plant height	Growth duration	Time of flowering to maturity	Time of germination to flowing	n	1516.7 **	1516.7 **	2	Planting Date (PD)
551.7 **	2.29 **	10.4 **	39.85 ns	1095.7 **	35.59 **	736.33 **	85.33 **	1	1	1	Year × R (RS)
31.65	0.07	0.16	1351.9	0.06	0.84	0.58	0.53				Planting Date (RS)
193.61 **	4.18 **	38.74 **	7476.1 **	4904.3 **	74.36 **	3816.7 **					Error a
23.97	0.08	0.36	442.8	1.15	0.81	0.4	0.22	4	4	4	Row Spacing (RS)
57.19 *	0.24 ns	3.12 **	365.3 **	5.95 **	14.58 **	2.9 **	2.53 **	2	2	2	Seed Rate (SR)
0.24	0.33 ns	0.95 ns	145.6 ns	1.81 *	5.33 **	0.93 ns	4.48 **	1	1	1	PD × RS
4.74 ns	0.17 ns	0.76 *	234.2 *	0.2 ns	0.4 ns	0.06 ns	0.14 ns	4	4	4	PD × SR
27.01 ns	0.02 ns	0.37 ns	95.1 ns	0.4 ns	0.3 ns	0.26 ns	1.23 **	2	2	2	RS × SR
3.58 ns	0.49 *	0.4 ns	20.7 ns	0.06 ns	0.19 ns	0.34 ns	0.34 ns	2	2	2	PD × RS × SR
15.54	0.25 ns	1.6 **	22.5 ns	0.15 ns	0.93 ns	0.43 ns	0.54 **	4	4	4	Year × PD × RS
61.23 *	1.45 **	9.49 **	3140 ns	1.18 *	91.9 **	82.33 **	79.19 **	2	2	2	Year × PD × SR
10.95 ns	0.04 ns	0.03 ns	428.7 **	0.06 ns	0.29 ns	0.08 ns	0.36 ns	2	2	2	Year × RS × SR
30.4 ns	0.26 ns	0.11 ns	34.9 ns	0.04 ns	0.59 ns	0.93 ns	0.0001 ns	1	1	1	Year × SR × SR
14.8 ns	0.19 ns	0.44 ns	235.4 *	0.62 ns	1.97 *	1.33 *	0.64 **	4	4	4	Year × PD × RS
8.36 ns	0.004 ns	0.05 ns	198.5 ns	0.62 ns	0.01 ns	0.48 ns	0.03 ns	2	2	2	Year × PD × SR
13.16	0.21 ns	1.18 *	16.6 ns	0.29 ns	1.23 ns	0.45 ns	0.69 ns	2	2	2	Year × RS × SR
15.31	0.37 *	1.2 **	11.93 ns	0.12 ns	0.11 ns	0.18 ns	0.14 ns	4	4	4	Year × PD × RS × SR
17.7	0.14	0.28	79.14	0.37	0.66	0.48	0.25	64	64	64	Error b
16.9	8.32	9.27	6.11	0.27	0.78	0.59	3.61	-	-	-	C.V (%)
											ضریب تغییرات (%)

NS: Non-significant, and \*\* significant at 5% and 1% probability levels, respectively  
 \*: معنی تاریخ کاشت در میان میزان بذر و بذر خطا  
 \*\*: معنی تاریخ کاشت در میان بذر خطا

ادامه جدول ۳- تجزیه واریانس صفات ارزیابی شده در تیمارهای آزمایشی در گیاه باقال رقم برکت طی سال های ۸۷-۸۸-۸۹ در منطقه رشت.

Table 3. continued-Analysis of variances in evaluated traits of experimental treatment in *Vicia faba L. var.Barekat* during 2008-2010 at Rasht region.

میانگین مربوطات (MS)										متغیر	
شاخص برداشت		عمکرد پروتئین		عمکرد دانه		وزن ۱۰۰-گران		درجه آزادی df		S.O.V	
پروتئین Protein harvest index		میزان پروتئین Protein percent		برداشت Harvest index		عملکرد بیولوژیکی Biological yield		صدادنه		سال	
21.04 **	7655060 **	454.7 **	0.14 ns	411216181 **	15830158 **	657.1 **	1	Year (Y)			
4.56	465699	16.4	14.5	18197168	2368835	4.38	2	Year × R			سال×نکار
3.78 *	5748448 **	52.5 *	11.3 ns	1459391852 **	58155462 **	48.4 **	2	Planting Date (PD)			تاریخ کاشت
2.55	302438	5.06	24.36	29756023	1438064	6.4	4	Error a			خطای کرت اصلی
0.54 ns	771977 **	22.6 ns	9.09 ns	112067095 **	3016317 **	17.74 ns	2	Row Spacing (RS)			فاصله کنت
0.67 ns	2205061 **	5.2 ns	13.56 ns	600950533 **	17179347 **	22.41 ns	1	Seed Rate (SR)			میزان بذر
3.45 *	769184 **	28.6 ns	12.61 ns	22339666 ns	2418913 **	10.4 ns	4	PD × RS			تاریخ کاشت × فاصله کنت
1.63 ns	124260 ns	28.6 ns	0.98 ns	5949822 ns	420718 ns	3.65 ns	2	PD × SR			تاریخ کاشت × میزان بذر
2.14 ns	152976 ns	33.1 ns	2.85 ns	2118530 ns	646951 ns	4.21 ns	2	RS × SR			فاصله کنت × میزان بذر
0.77 ns	145760 ns	6.5 ns	1.71 ns	10408589 ns	487475 ns	4.02 ns	4	PD × RS × SR			تاریخ کاشت × فاصله کنت × میزان بذر
7.43 **	2723385 **	195.9 **	2.03 ns	170438768 **	5732352 **	0.57 ns	2	Year × PD			سال×تاریخ کاشت
0.65 ns	13305 ns	21.6 ns	12.4 ns	263872 ns	1026703 ns	1.17 ns	2	Year × RS			سال×فاصله کنت
2.96 ns	685 ns	0.85 ns	30.91 **	25191348 ns	283361 ns	1.61 ns	1	Year × SR			سال×میزان بذر
2.2 ns	414903 *	27.9 ns	6.14 ns	14610563 ns	450340 ns	0.17 ns	4	Year × PD × RS			سال×تاریخ کاشت × فاصله کنت
1.96 ns	40366 ns	22.5 ns	2.3 ns	30821886 ns	355070 ns	3.26 ns	2	Year × PD × SR			سال×تاریخ کاشت × میزان بذر
1.75 ns	131218 ns	7.5 ns	7.11 ns	3407067 ns	729270 ns	3.34 ns	2	Year × RS × SR			سال×فاصله کنت × میزان بذر
0.14 ns	117252 ns	4.9 ns	1.27 ns	18175793 ns	552437 ns	3.64 ns	4	Year × PD × RS × SR			سال×تاریخ کاشت × فاصله کنت
1.06	139970	13.3	5.19	19548240	503583	6.56	64	Error b			کشت × میزان بذر
15.15	19.08	11.95	10.21	15.32	11.17	2.12	-	C. V (%)			خط
								ضریب تغییرات (%)			

ns: Non-significant, \* significant at 5% and \*\* significant at 1% probability levels, respectively  
 \*\*: بزرگ تر از میانگین دارند مطابق با ترتیب مخفی دارند  
 \*: غیر مخفی دارند  
 /: داده احتسابی  
 \: داده انتسابی

Turk *et al.* (2002) نیز بر اساس نتایج سه ساله آزمایش اثر تاریخ کاشت بر رقم ریزدانه باقلا، گزارش کردند که بیشترین وزن ۱۰۰ دانه از تاریخ کاشت زودتر با میانگین ۴۰/۸ گرم به دست آمد و در صورت تأخیر چهار هفته‌ای، وزن ۱۰۰ دانه به ۳۴/۰ گرم کاهش یافت.

عملکرد دانه، عملکرد پروتئین و شاخص برداشت پروتئین بر اساس نتایج تجزیه واریانس ساده در سال زراعی ۱۳۸۷-۸، عملکرد دانه تحت تأثیر تاریخ کاشت و میزان بذر قرار گرفت ولی فواصل بین ردیف کاشت بر آن معنی دار نبود (جدول ۵). مقایسه میانگین نشان داد که بیشترین عملکرد دانه از تاریخ کاشت ۲۵ و ۱۰ مهر به ترتیب با میانگین ۷۸۱۸ و ۷۵۳۷ کیلوگرم در هکتار به دست آمد که نسبت به تاریخ کاشت ۱۰ آبان با میانگین ۴۸۴۶ کیلوگرم در هکتار از برتری معنی داری برخوردار بودند. در میان مقادیر بذر نیز میزان بذر ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار نسبت به میزان ۱۰۰ کیلوگرم بذر در هکتار از نظر عملکرد دانه، برتری داشت (جدول ۶).

تجزیه واریانس ساده در سال زراعی ۱۳۸۸-۹ نیز بیانگر آن بود که بین تاریخ کاشت، فاصله بین ردیف کاشت و میزان بذر از نظر عملکرد دانه اختلاف معنی داری وجود داشت و تاریخ کاشت ۲۵ مهر (با میانگین ۶۸۰۳ کیلوگرم در هکتار)، فاصله کاشت ۴۰ سانتی متر (با میانگین ۶۴۱۸ کیلوگرم در هکتار) و میزان بذر ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار (با میانگین ۶۴۱۸ کیلوگرم در هکتار) بیشترین عملکرد دانه را ایجاد کردند (جدول ۶).

نتایج حاصل از تجزیه واریانس مرکب نشان داد که بین تیمارهای آزمایشی از نظر عملکرد دانه تفاوت معنی داری در سطح احتمال یک درصد وجود داشت (جدول ۳). مقایسه میانگین داده ها نشان داد که سال اول آزمایش با میانگین عملکرد ۶۷۳۴ کیلوگرم در هکتار در مقایسه با سال دوم با میانگین ۵۹۶۸ کیلوگرم در هکتار از برتری معنی داری برخوردار بود. از جمله دلایل این برتری را می توان به مناسب بودن شرایط آب و هوایی از جمله بارندگی های مناسب و ساعات آفتابی بیشتر (جدول ۲) در دوره رشد گیاه باقلا در سال اول آزمایش نسبت داد.

بین تاریخ های کاشت، تاریخ کاشت ۲۵ و ۱۰ مهر به ترتیب با میانگین ۷۳۱۰ و ۶۸۳۳ کیلوگرم در هکتار بیشترین عملکرد دانه خشک را به خود اختصاص داده و به طور مشترک در یک گروه آماری قرار گرفتند (جدول ۴).

در فواصل بین ردیف عریض، به دلیل وجود فضای کافی، بوته ها می توانند تعداد شاخه های فرعی بیشتری تولید کنند. کاهش تعداد شاخه های فرعی در بوته در فواصل بین ردیف باریک را می توان به کاهش میزان نفوذ نور در بخش پایین پوشش گیاهی و عدم فعالیت جوانه های تشکیل دهنده شاخه نسبت داد.

در گیاه باقلا، عملکرد دانه، تابعی از تعداد غلاف در واحد سطح، تعداد دانه در غلاف و وزن ۱۰۰ دانه می باشد. در بین این اجزاء، وزن ۱۰۰ دانه از اهمیت بیشتری برخوردار است. وزن ۱۰۰ دانه به طور عمده متأثر از میزان مواد فتوسنترزی، تعداد دانه و ظرفیت هر دانه می باشد، اما ژنتیپ و شرایط آب و هوایی طی دوره رشد و نمو گیاه نیز بر آن مؤثر است. وزن ۱۰۰ دانه، آخرین جزء عملکرد است که در طی رشد شکل می گیرد. وزن ۱۰۰ دانه به آرایش گل ها و موقعیت رشدی غلاف بستگی دارد (Hasemabadi & Sedaghathour, 2006).

عموماً وزن ۱۰۰ دانه در تاریخ کاشت زودهنگام، بالاتر است. نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده ها نشان داد که به جز اثر سال و تاریخ کاشت، اختلاف معنی داری بین سایر تیمارهای آزمایشی از نظر صفت وزن ۱۰۰ دانه وجود نداشت (جدول ۳). مقایسه میانگین داده ها نشان داد که وزن ۱۰۰ دانه در سال اول آزمایش با میانگین ۱۲۳/۲ گرم نسبت به سال دوم آزمایش با میانگین ۱۱۸/۲ گرم از برتری معنی داری برخوردار بود. بنظر می رسد گیاه باقلا در سال اول آزمایش به دلیل بهره گیری بهتر از شرایط محیطی و طول دوره رشد بیشتر، وزن ۱۰۰ دانه بیشتری در مقایسه با سال دوم داشت. اثر تاریخ کاشت بر وزن ۱۰۰ دانه در سطح یک درصد معنی دار بود. بیشترین وزن ۱۰۰ دانه از تاریخ کاشت ۲۵ مهر با میانگین ۱۲۱/۶ گرم و کمترین مقدار از تاریخ کاشت ۱۰ آبان با میانگین ۱۱۹/۴ گرم به دست آمد (جدول ۴). نتیجه به دست آمده مؤید این مطلب است که کاهش طول دوره رشد و به تبع آن، دوره زایشی گیاه در تاریخ کاشت ۱۰ آبان، سبب کاهش وزن ۱۰۰ دانه در این تاریخ کاشت گردید.

نتایج تحقیق دیگری در منطقه، مؤید این مطلب بود که در صورت تأخیر یک ماهه در کاشت باقلای رقم برکت، وزن ۱۰۰ دانه از ۱۳۰/۷ گرم به ۱۱۴/۶ گرم کاهش یافت که دلیل آن را می توان به کاهش طول دوره پر شدن دانه نسبت داد (Jilani, 2011).

جدول - ۴ - مقایسه میانگین اثر اصلی تیمارهای آزمایشی بر صفات مورد ارزیابی گیاه باقالبرکت طی سال های ۱۳۸۹-۱۳۹۰ در منطقه رشت.

Table 4. Mean comparisons of main effect of experimental treatments on evaluated traits of *Vicia faba L. var. Barekat* during 2008-2010 at Rasht region.

Year	سال زراعی										کاشت تا سبز	طول دوره‌سنج	کاشت تا شدن (روز)	شدن (روز)	برداشت	طول دوره‌گذرهای تا شدن (روز)	تیمار
	Seed no. per Pod	Branch number	Plant height (cm)	Growth duration (day)	Time of flowering to maturity (day)	Time of germination to flowing (day)	تاریخ کاشت	تاریخ کاشت (ماه-سال)	Treatment	Time of germination (day)							
27.1 <sup>a</sup>	4.6 <sup>a</sup>	6.1 <sup>a</sup>	145.1 <sup>a</sup>	226.0 <sup>a</sup>	105.1 <sup>a</sup>	120.9 <sup>a</sup>	14.7 <sup>a</sup>	2008-2009	۱۳۸۷-۸								
22.5 <sup>b</sup>	4.3 <sup>b</sup>	5.4 <sup>b</sup>	146.3 <sup>a</sup>	219.6 <sup>b</sup>	103.9 <sup>b</sup>	115.7 <sup>b</sup>	12.9 <sup>b</sup>	2009-2010	۱۳۸۸-۹								
24.3 <sup>ab</sup>	4.8 <sup>a</sup>	6.6 <sup>a</sup>	157.7 <sup>a</sup>	234.1 <sup>a</sup>	106.1 <sup>a</sup>	128.0 <sup>a</sup>	8.4 <sup>c</sup>	1 October	۱۳۸۷-۱								
27.4 <sup>a</sup>	4.4 <sup>b</sup>	6.1 <sup>a</sup>	149.6 <sup>a</sup>	223.6 <sup>b</sup>	104.1 <sup>b</sup>	119.4 <sup>b</sup>	12.1 <sup>b</sup>	16 October	۱۳۸۷-۲								
22.8 <sup>b</sup>	4.1 <sup>c</sup>	4.6 <sup>b</sup>	129.7 <sup>b</sup>	210.8 <sup>c</sup>	103.3 <sup>c</sup>	107.5 <sup>c</sup>	21.0 <sup>a</sup>	31 October	۱۳۸۷-۱								
23.4 <sup>b</sup>	4.3 <sup>a</sup>	5.5 <sup>b</sup>	148.6 <sup>a</sup>	222.4 <sup>b</sup>	103.8 <sup>b</sup>	118.6 <sup>a</sup>	13.5 <sup>b</sup>										
25.2 <sup>ab</sup>	4.5 <sup>a</sup>	5.7 <sup>b</sup>	142.3 <sup>b</sup>	222.7 <sup>b</sup>	104.6 <sup>a</sup>	118.2 <sup>b</sup>	14.0 <sup>a</sup>										
25.8 <sup>a</sup>	4.4 <sup>a</sup>	6.1 <sup>a</sup>	146.2 <sup>ab</sup>	223.2 <sup>a</sup>	105.1 <sup>a</sup>	118.1 <sup>b</sup>	13.9 <sup>a</sup>										
					Seed Rate (Kg/ha)	میزان بذر (گیلوگرم در هکتار)	میزان بذر (گیلوگرم در هکتار)										
24.9 <sup>a</sup>	4.5 <sup>a</sup>	5.8 <sup>a</sup>	144.5 <sup>a</sup>	223.0 <sup>a</sup>	104.7 <sup>a</sup>	118.2 <sup>a</sup>	14.0 <sup>a</sup>										100
24.8 <sup>a</sup>	4.4 <sup>a</sup>	5.6 <sup>a</sup>	146.8 <sup>a</sup>	222.0 <sup>b</sup>	104.3 <sup>b</sup>	118.4 <sup>a</sup>	13.6 <sup>b</sup>										150

میانگین‌های که در هر ستون حرف مشترک دارند، تفاوت معنی‌داری از نظر آزمون توانی در سطح احتمال ۰/۰۵ ندارند.  
Means by the uncommon letter in each column are significantly different according to Tukey tests (p<0.05).

Table 4, continued- Mean comparisons of main effect of experimental treatments on evaluated traits of *Vicia faba* L. var. Barekat during 2008-2010 at Rasht region

عام کردن پیوستنی (درصد) Protein harvest index (%)	عملکرد پیوستنی (کیلوگرم در هکتار) Protein yield (Kg/ha)	میزان پروتئین (درصد) Protein percent (%)	شاخص بوداشت برداشت (درصد) Harvest index (%)	عملکرد پیوستنی (کیلوگرم در هکتار) Biological yield (Kg/ha)	عملکرد پیوستنی (کیلوگرم در هکتار) 100-grain weight (g)	عملکرد داده (کیلوگرم در هکتار) Grain yield (Kg/ha)	تیمار
							Treatment
سال زراعی Year	تاریخ کاشت Planting Date	تاریخ برداشت Harvest date					
7.23 <sup>a</sup> 6.30 <sup>b</sup>	2227.0 <sup>a</sup> 1694.5 <sup>b</sup>	32.57 <sup>a</sup> 28.47 <sup>b</sup>	21.85 <sup>a</sup> 22.18 <sup>a</sup>	30816 <sup>a</sup> 26913 <sup>b</sup>	6734.0 <sup>a</sup> 5968.3 <sup>b</sup>	123.2 <sup>a</sup> 118.2 <sup>b</sup>	2008-2009 2009-2010
7.06 <sup>a</sup> 6.46 <sup>a</sup> 6.93 <sup>a</sup>	2210.0 <sup>a</sup> 2172.8 <sup>a</sup> 1500.0 <sup>b</sup>	31.7 <sup>a</sup> 29.4 <sup>b</sup> 30.4 <sup>ab</sup>	21.82 <sup>a</sup> 21.73 <sup>a</sup> 22.69 <sup>a</sup>	31311 <sup>a</sup> 33645 <sup>a</sup> 21637 <sup>b</sup>	6833.0 <sup>a</sup> 7310.8 <sup>a</sup> 4909.7 <sup>b</sup>	121.0 <sup>ab</sup> 121.6 <sup>a</sup> 119.4 <sup>b</sup>	1 October 16 October 31 October
6.63 <sup>a</sup> 6.99 <sup>a</sup> 6.75 <sup>a</sup>	1961.9 <sup>ab</sup> 2106.6 <sup>a</sup> 1813.7 <sup>b</sup>	30.52 <sup>a</sup> 31.31 <sup>a</sup> 29.73 <sup>a</sup>	21.58 <sup>a</sup> 21.96 <sup>a</sup> 22.51 <sup>a</sup>	29588 <sup>a</sup> 30152 <sup>a</sup> 26853 <sup>b</sup>	6385.3 <sup>ab</sup> 6622.0 <sup>a</sup> 6046.1 <sup>b</sup>	120.6 <sup>a</sup> 121.4 <sup>a</sup> 120.1 <sup>a</sup>	30 40 50
6.85 <sup>a</sup> 6.74 <sup>a</sup>	1817.9 <sup>b</sup> 2103.6 <sup>a</sup>	30.3 <sup>a</sup> 30.7 <sup>a</sup>	22.08 <sup>a</sup> 21.62 <sup>a</sup>	26505 <sup>b</sup> 31223 <sup>a</sup>	5952.3 <sup>b</sup> 6750.0 <sup>a</sup>	120.2 <sup>a</sup> 121.1 <sup>a</sup>	100 150

Means by the uncommon letter in each column are significantly different according to Tukey tests ( $p < 0.05$ ).

تاریخ کاشت و میزان بذر از نظر عملکرد پروتئین تفاوت معنی داری وجود داشت (جدول ۵).

تیمار تاریخ کاشت ۱۰ و ۲۵ مهر با میانگین ۲۷۵۶/۸ و ۲۴۲۷/۸ کیلوگرم در هکتار نسبت به تاریخ کاشت ۱۰ آبان با میانگین ۱۴۹۶/۳ کیلوگرم در هکتار، از برتری معنی داری برخوردار بودند.

در میان مقادیر بذر نیز میزان بذر ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار نسبت به میزان ۱۰۰ کیلوگرم بذر در هکتار، از نظر عملکرد پروتئین، برتری داشت (جدول ۶).

نتایج تجزیه واریانس ساده در سال زراعی ۱۳۸۸-۹ نیز بیانگر آن بود که بین تاریخ کاشت، فاصله بین ردیف کشت و میزان بذر از نظر عملکرد پروتئین، اختلاف معنی داری وجود داشت و تاریخ کاشت ۲۵ مهر (با میانگین ۱۹۱۷/۹ کیلوگرم در هکتار)، فاصله بین ردیف کشت ۴۰ سانتی متر (با میانگین ۱۸۳۸/۷ کیلوگرم در هکتار) و میزان بذر ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار (با میانگین ۱۸۳۴/۹ کیلوگرم در هکتار) بیشترین عملکرد پروتئین را به خود اختصاص دادند (جدول ۶).

نتایج تجزیه مرکب دو ساله بیانگر آن بود که اثر سال، تاریخ کاشت، فاصله بین ردیف کاشت و میزان بذر بر عملکرد پروتئین در سطح یک درصد معنی دار بود (جدول ۳). مقایسه میانگین نشان داد که سال اول با میانگین ۲۲۲۷/۰ کیلوگرم در هکتار در مقایسه با سال دوم آزمایش با میانگین ۱۶۹۴/۵ کیلوگرم در هکتار، عملکرد پروتئین بیشتری داشت. این نتیجه به واسطه عملکرد دانه و میزان پروتئین بیشتر در سال اول، قابل توجیه می باشد (جدول ۴). مقایسه اثر تیمارهای تاریخ کاشت نشان داد که تاریخ کاشت ۱۰ و ۲۵ مهر به ترتیب با میانگین ۲۲۱۰/۰ و ۲۱۷۲/۸ کیلوگرم در هکتار نسبت به تاریخ کاشت دیرتر، عملکرد پروتئین بیشتری داشته و در گروه مجزای آماری قرار گرفتند (جدول ۴). از جمله دلایل کاهش عملکرد پروتئین در تاریخ کاشت ۱۰ آبان، کاهش چشمگیر عملکرد دانه در این تیمار بود.

اثر فواصل بین ردیف کشت بر عملکرد پروتئین، معنی دار بود. مقایسه میانگین نشان داد که فاصله بین ردیف کاشت ۴۰ و ۵۰ سانتی متر با میانگین ۲۱۰۶/۶ و ۱۸۱۳/۷ کیلوگرم در هکتار، به ترتیب بیشترین و کمترین عملکرد پروتئین را به خود اختصاص دادند (جدول ۴).

تاریخ کاشت ۱۰ آبان با میانگین عملکرد ۴۹۰۹ کیلوگرم در هکتار، کمترین عملکرد دانه را دارا بود. از جمله دلایل کاهش عملکرد دانه در تاریخ کاشت ۱۰ آبان را می توان کمتر بودن تعداد شاخه جانبی، تعداد دانه در غلاف، تعداد غلاف در بوته، عملکرد بیولوژیک و کوتاه تر بودن دوره گلدهی تا برداشت و در نتیجه عدم تخصیص شیره پرورده کافی برای پُرشدن دانه، نسبت به تاریخ کاشت زودتر دانست.

بر اساس یک گزارش، در کشت زودهنگام، طول دوره گلدهی و گرده افشاری و پُرشدن غلاف، طولانی تر است و در نتیجه گیاه، فرصت کافی برای تولید غلاف و پُر کردن غلافها را دارد (Loss *et al.*, 1997).

Thalji & Shalaldeh (2006) بیان کردند که کشت زودهنگام، ۳۰ درصد تا ۵۰ درصد تولید غلاف را افزایش می دهد. کاهش تعداد غلاف را می توان به کوتاه شدن دوره رشد در تاریخ کشت دیرهنگام مرتبط دانست.

اثر فواصل بین ردیف کشت بر عملکرد دانه، معنی دار بود. فاصله بین ردیف کشت ۴۰ سانتی متر با میانگین ۶۶۲۲ کیلوگرم در هکتار بیشترین عملکرد را به خود اختصاص داد. نتایج حاصل از مقایسه میانگین در خصوص مقادیر بذر نیز نشان داد که عملکرد دانه در میزان بذر ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار با میانگین ۶۷۵۰ کیلوگرم در هکتار نسبت به تیمار ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار، از برتری معنی داری برخوردار بود. با توجه به افزایش عملکرد بیولوژیک در تیمار ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار، بیشتر بودن عملکرد دانه در این تیمار، طبیعی به نظر می رسد و بیانگر واکنش پذیری مطلوب باقلای رقم برکت نسبت به مصرف بذر و تراکم بیشتر می باشد.

نتایج تحقیق تراکم بوته ۱۶/۵ و ۲۰ بوته در متربمربع) بر ارقام باقلا در شهرستان زابل نیز حاکی از آن بود که با افزایش تراکم بوته، عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیک افزایش یافت (Dahmardeh *et al.*, 2010).

عملکرد پروتئین، صفتی است که از حاصل ضرب عملکرد دانه و میزان پروتئین به دست می آید و معرف مقدار استحصالی پروتئین در واحد سطح می باشد. نتایج تجزیه واریانس ساده در سال زراعی ۱۳۸۷-۸ نشان داد که بین

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر سال و تاریخ کاشت بر شاخص برداشت پروتئین معنی‌دار بود، ولی فاصله بین ردیف کاشت و میزان بذر معنی‌دار نگردید. مقایسه میانگین نشان داد که بیشترین شاخص برداشت پروتئین از سال اول آزمایش با میانگین ۷/۲۳ درصد به دست آمد. نتایج مقایسه میانگین بیانگر آن بود که تاریخ کاشت ۲۵ مهر با وجود عملکرد دانه بالا، به دلیل کمتر بودن میزان پروتئین و بیشتر بودن زیست‌توده، کمترین شاخص برداشت پروتئین را به خود اختصاص داد.

همچنین نتایج بیانگر آن بود که میزان بذر ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار به واسطه عملکرد دانه بالاتر، عملکرد پروتئین بیشتری را دارا بود. با توجه به معنی‌دار نبودن اثر میزان بذر و فواصل بین ردیف کاشت بر میزان پروتئین دانه، نتیجه فوق، نشان‌دهنده اثر مستقیم عملکرد دانه بر عملکرد پروتئین بود. شاخص برداشت پروتئین، مؤلفه‌ای است که نشان می‌دهد چه میزان از کل ماده خشک تولیدی گیاه، در میزان پروتئین دانه و عملکرد پروتئین نقش داشته است.

جدول ۵- تجزیه واریانس صفات عملکرد دانه و عملکرد پروتئین در تیمارهای آزمایشی در گیاه باقلاء رقم برکت طی سال‌های ۱۳۸۷-۸ و ۱۳۸۸-۹ در منطقه رشت

Table 5. Analysis of variances in grain yield and protein yield of experimental treatment in *Vicia faba L. var.Barekat* during 2008-2009 and 2009-2010 at Rasht region

۱۳۸۸-۹ (2009-10)		۱۳۸۷-۸ (2008-09)		درجه آزادی df	S.O.V	منابع تغییرات
عملکرد پروتئین Protein yield	عملکرد دانه Grain yield	عملکرد پروتئین Protein yield	عملکرد دانه Grain yield			
148020 ns	1367804 ns	459873 ns	1386125 ns	2	Replication	تکرار
787414 *	15416325 **	7693420 *	48471489 **	2	Planting Date (PD)	تاریخ کاشت
61763	203054	447149	1868304	4	Error a	خطای کرت اصلی
335052 **	3736465 **	450229 ns	3065554 ns	2	Row Spacing (RS)	فاصله کشت
1064007 **	10937700 **	1141739 *	6525008 **	1	Seed Rate (SR)	میزان بذر
77146 ns	729058 ns	1106940 **	2140195 **	4	PD × RS	تاریخ کاشت × فاصله کشت
16941 ns	211900 ns	147686 ns	563887 ns	2	PD × SR	تاریخ کاشت × میزان بذر
283725 **	709241 ns	468 ns	666980 ns	2	RS × SR	فاصله کشت × میزان بذر
26156 ns	127125 ns	236857 ns	912787 ns	4	PD × RS × SR	تاریخ کاشت × فاصله کشت × میزان بذر
40050	497326	231024	492546	30	Error	خطا
11.81	11.82	21.58	10.42	-	C.V (%)	ضریب تغییرات(%)

ns غیر معنی‌دار و \* و \*\* بهتریب معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪

Ns: Non-significant, \* and \*\* significant at 5% and 1% probability levels, respectively.

جدول ۶- مقایسه میانگین اثر اصلی تیمارهای آزمایشی بر صفات مورد ارزیابی گیاه باقلاب رکت  
طی سالهای ۱۳۸۷-۸ و ۱۳۸۸-۹ در منطقه رشت

Table 6. Mean comparisons of main effect of experimental treatments on evaluated traits of *Vicia faba* L. var. Barekat during 2008-2009 and 2009-2010 at Rasht region

۱۳۸۸-۹ (2009-10)		۱۳۸۷-۸ (2008-09)		Treatment	تیمار
عملکرد پروتئین (کیلوگرم در هکتار)	عملکرد دانه (کیلوگرم در هکتار)	عملکرد پروتئین (کیلوگرم در هکتار)	عملکرد دانه (کیلوگرم در هکتار)		
Protein yield (Kg/ha)	Grain yield (Kg/ha)	Protein yield (Kg/ha)	Grain yield (Kg/ha)	Planting Date	
1662.4 <sup>b</sup>	6128.2 <sup>b</sup>	2756.8 <sup>a</sup>	7537.7 <sup>a</sup>	1 October	۱۰ مهر
1917.9 <sup>a</sup>	6803.3 <sup>a</sup>	2427.8 <sup>a</sup>	7818.2 <sup>a</sup>	16 October	۲۵ مهر
1503.3 <sup>b</sup>	4973.3 <sup>c</sup>	1496.3 <sup>b</sup>	4846.1 <sup>b</sup>	31 October	۱۰ آبان
فاصله کشت (سانتی‌متر)(cm)					
1677.4 <sup>ab</sup>	5978.3 <sup>ab</sup>	2246.5 <sup>a</sup>	6792.2 <sup>a</sup>	30	
1838.7 <sup>a</sup>	6418.8 <sup>a</sup>	2374.4 <sup>a</sup>	6825.2 <sup>a</sup>	40	
1567.5 <sup>b</sup>	5707.7 <sup>b</sup>	2060.0 <sup>a</sup>	6584.5 <sup>a</sup>	50	
میزان بذر (کیلوگرم در هکتار)					
1554.1 <sup>b</sup>	5518.2 <sup>b</sup>	2081.6 <sup>b</sup>	6386.4 <sup>b</sup>	100	
1834.9 <sup>a</sup>	6418.3 <sup>a</sup>	2372.4 <sup>a</sup>	7081.6 <sup>a</sup>	150	

میانگین‌هایی که در هر ستون، حرف مشترک دارند، تفاوت معنی‌داری از نظر آرمنون توکی در سطح احتمال ۵٪ ندارند.

Means by the uncommon letter in each column are significantly different according to Tukey tests ( $p<0.05$ ).

## سپاسگزاری

نتایج این مقاله از پژوهه تحقیقاتی با شماره مصوب ۱۳۹۳-۰۴-۲۰-۸۸۰۶۳ استخراج گردیده است و بدینوسیله

## منابع

- Bozolglu, H., Peksen, E., Peksen, A., and Gulumser, A. 2002. Determination of green pod yield and some pod characteristics of faba bean (*Vicia faba* L.) cultivar line grown in different row spacing. *Acta Horticulture Journal* 579: 347-350.
- Dahmardeh, M., Ramroodi, M., and Valizadeh, J. 2010. Effect of plant density and cultivars on growth, yield and yield components of faba bean (*Vicia faba* L.). *African Journal of Biotechnology* 9(50): 8643-8647.
- Ghanbari Birgani, D., Sakhavat, R., Osroush, S., and Shimi, P. 2003. Evaluation of the effects of herbicide application and plant density on weed population and yield of broad bean (*Vicia faba* L.). *Iranian Journal of Crop Sciences* 5(4): 315-327. (In Persian with English Summary).
- Graf, R.J., and Rowland, G. 1987. Effect of plant density on yield and components of yield of faba bean. *Canadian Plant Science Journal* 67: 1-10.

5. Hashemabadi, D., and Sedaghathour, Sh. 2006. Study of mutual effect of the sowing date and plant density on yield and yield component of winter *Vicia faba* L. Journal of Agricultural Sciences 12(1): 135-142. (In Persian with English Summary).
6. Idris, A.L. 2008. Effect of seed size and plant spacing on yield and yield components of faba bean (*Vicia faba* L.). Research Journal of Agriculture and Biological Sciences 4(2): 146-148.
7. Jilani, M. 2011. Investigation of the effect of planting date, timing and consumption rate of Paraquat herbicide on the ripening, yield and agronomic traits of faba bean at paddy fields after rice. MSc. Thesis. Faculty of Agriculture, Takestan Branch, Islamic Azad University. (In Persian with English Summary).
8. Kondra, Z.P. 1975. Effects of row spacing, seeding rate and date of seeding on faba beans. Canadian Journal of Plant Science 55: 211-214.
9. Loss, S.P., Siddique, K.H.M., and Martin, L.D. 1997. Adaptation of faba bean (*Vicia faba* L.) to dryland Mediterranean-type environments II. Phenology, canopy development, radiation absorption and biomass partitioning. Journal of Field Crops Research 52: 29-41.
10. Oweis, T., Hachum, A., and Pala, M. 2005. Faba bean productivity under rainfed and supplemental irrigation in northern Syria. Journal of Agricultural Water Management 73: 57-72.
11. Shad, K.K., Wahab, A., Rehman, A., Fida, M., and Wahab, S. 2010. Density and planting date influence phenological development assimilate partitioning and dry matter production of faba bean. Pakistan Journal of Botanic 42(6): 3831-3838.
12. Tawaha, M.A., and Turk, M.A. 2001. Effect of date and rate of sowing on yield and yield components of carbon vetch under semi-arid condition. Journal of Acta Argon. Hung 49(1): 103-105.
13. Thalji, T., and Salaldeh, G. 2006. Effect of planting date on faba bean (*Vicia faba* L.) nodulation and performance under semiarid conditions. World Journal of Agricultural Sciences 2 (4): 477-482.
14. Torabi Jafroudi, A., Hasanzadeh, A.A., and Fayaz Moghadam, A. 2007. Effect of plant population on some morphophysiological characteristics of two common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars. Pajouhesh & Sazandegi 20(1): 63-71. (In Persian with English Summary).
15. Turk, M.A., and Tawaha, A.M. 2002. Impact of seeding rate, seeding date, rate and method of phosphorus application in faba bean (*Vicia faba* L. minor) in the absence of moisture stress. Journal of Biotechnology, Agronomy, Society and Environment 6(3): 171-178.
16. Yavuz, T., Surmen, M., and Cankaya, N. 2011. Effect of row spacing and seeding rate on yield and yield component of common vetch (*Vicia sativa* L.). Journal of Food, Agriculture and Environment 9(1): 369-371.

## **Effect of the planting date, row spacing and seed rate on grain yield and protein yield of faba bean (*Vicia faba* L.) in Rasht**

Rabiee<sup>1\*</sup>, M. & Jilani<sup>2</sup>, M

1. Researcher, Rice Research Institute of Iran, Rasht, Iran  
2. PhD. Student in Agronomy, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University of Gorgan, Iran

Received: 1 September 2012  
Accepted: 30 October 2013

### **Abstract**

In order to study the effect of planting date, row spacing and seed rate on grain yield and protein yield of faba bean (*Vicia faba* L.), a split factorial experiment based on the complete randomized block design with three replications was conducted at research station of Rice Research Institute of Iran (Rasht) during 2008-2010 for two years. Experimental treatments were planting date in three levels of October 1, 16 and 31 as main plot and row spacing in three levels of 30, 40 and 50 cm and seed rate in two levels of 100 and 150 kg.ha<sup>-1</sup> as sub plots. The results of mean comparisons showed the first year was superior to the second year in most traits. Between the planting dates, planting dates of October 1 and 16 had maximum 100-seed weight, number of auxiliary branches, number of pods per plant and grain and protein yields, and were in the same group. Between row spacing levels, 30 and 40 cm and between seed rates, seed rate of 150 kg.ha<sup>-1</sup> produced maximum grain and protein yields. Planting date of October 1 had the highest growth period with average of 234 days. Based on the results of this research, planting date of October 1 and 16, row spacing levels of 30 and 40 cm, and seed rate of 150 kg.ha<sup>-1</sup> is recommended for planting of faba bean (*Vicia faba* L.) in fields of Rasht due to high grain and protein yields.

**Key words:** Agronomical traits, Growth period, Protein harvest index, Second crop

---

\*Corresponding Author: rabiee\_md@yahoo.co.uk, Mobile: 09113333193

## بررسی امکان کاشت پاییزه نخود در شرایط آب و هوایی سراوان

محسن زعفرانیه<sup>۱</sup>، احمد نظامی<sup>۲</sup>، سید مسعود ضیائی<sup>۳</sup> و میترا جباری<sup>۳</sup>

۱- عضو هیئت علمی (مربی) گروه باغبانی، دانشگاه ولايت، ایرانشهر

۲- استاد گروه زراعت دانشگاه کشاورزی و عضو هیئت علمی پژوهشکده علوم گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد

۳- اعضای هیئت علمی (مربی) گروه تولیدات گیاهی، مجتمع آموزش عالی سراوان

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۰۲/۱۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۰۵/۲۷

### چکیده

در برخی مناطق گرم و خشک، وجود فصل رشد مناسب در طول پاییز و زمستان و موقع درجه حرارت بالا در بهار سبب گرایش به کشت نخود در پاییز شده است. بنابراین به منظور بررسی مقدماتی امکان کاشت پاییزه نخود (Cicer arietinum L.) در شرایط آب و هوایی سراوان، آزمایشی در پاییز سال ۱۳۸۸ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی سراوان به صورت کرت‌های خُردشده در قالب طرح بلوك‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. کرت‌های اصلی شامل سه تاریخ کاشت (۲۰ مهر، ۱۱ آبان و اول آذر) و کرت‌های فرعی شامل پنج ژنتیپ نخود (MCC488, MCC208, MCC258, MCC770, MCC361) بودند. تاریخ کاشت تأثیر معنی‌داری بر عملکرد دانه، ارتفاع بوته، تعداد غلاف در بوته، تعداد غلاف خالی، وزن ۱۰۰ دانه، عملکرد زیستی، عملکرد اقتصادی و شاخص برداشت داشت و گیاهان کشت شده در ۴۰ مهر بیشترین عملکرد دانه را داشتند. اثر ژنتیپ نیز بر کلیه صفات اندازه‌گیری شده معنی‌دار شد و ژنتیپ MCC361 با میانگین عملکرد دانه ۲۰۴/۶ گرم در مترمربع بیشترین عملکرد را دارا بود. اثر متقابل تاریخ کاشت و ژنتیپ، معنی‌دار شد و بیشترین عملکرد دانه را ژنتیپ MCC361 در تاریخ کاشت اول (۲۰ مهر) با میانگین ۲۵۵ گرم در مترمربع و کمترین آن را ژنتیپ MCC770 در تاریخ کاشت سوم (اول آذر) با میانگین ۱۷/۵۵ گرم در مترمربع داشتند. همبستگی مثبت و معنی‌داری بین عملکرد دانه با تعداد غلاف در بوته ( $0.84^{**}$ )، تعداد دانه در بوته ( $0.63^{**}$ )، عملکرد زیستی ( $0.55^{**}$ ) و شاخص برداشت ( $0.55^{**}$ ) مشاهده شد. نتایج این مطالعه نشان داد که هرچند کاشت پاییزه نخود در منطقه سراوان موفقیت‌آمیز بوده است، ولی برای حصول نتایج مطمئن‌تر، تداوم این گونه آزمایش‌ها و بررسی دقیق‌تر واکنش ارقام نخود به کاشت‌های پاییزه توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: اجزای عملکرد، تاریخ کاشت، ژنتیپ، شاخص برداشت

از ۲۵ درجه سانتی‌گراد در طی گلدهی، تعداد گل و درنتیجه تعداد غلاف‌های تشکیل شده را در گیاه کاهش داده و باعث کاهش عملکرد شده است (Summerfield, 1987). کشت نخود در بسیاری از مناطق معتدل‌له ایران نیز در بهار انجام می‌شود و در این شرایط، به‌دلیل مصادف شدن مرحله پُر شدن دانه با تنش خشکی و درجه حرارت‌های بالا در انتهای فصل رشد، زیست‌توده نخود، تعداد غلاف در بوته و وزن ۱۰۰ دانه به‌شدت کاهش داشت (Mousavi & Pezeshkpour, 2006).

با توجه به موفقیت‌های حاصله در بهبود عملکرد نخود در کاشت پاییزه-زمستانه در مناطق مدیترانه‌ای (Saxena, 1993)، کاشت پاییزه-زمستانه در مناطق شبه‌تropیکی (Nezami, 2002) و جهت شناسایی ارقام متحمل به سرمای نخود برای مناطق مرتفع، در آزمایشی ۵۳۰ نمونه از کلکسیون نخود مشهد<sup>۱</sup> در پاییز دو سال زراعی در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه کشاورزی مشهد کشت شد (Nezami, 2002).

<sup>۱</sup> Mashhad Chickpea Collection (MCC)

### مقدمه

جبوهات و از جمله نخود، نقش مهمی در تأمین پروتئین انسان دارند (Bagheri & Parsa, 2008; Saxena, 1993). گیاهان این خانواده قادرند از طریق تثبیت نیتروژن، موجب بهبود حاصلخیزی خاک و کاهش استفاده از کودهای شیمیایی شوند (Singh et al., 1997). در مناطق معتدل‌له دنیا به‌دلیل وجود زمستان‌های سرد، گیاه نخود به صورت بهاره کشت می‌شود که این امر گاهی سبب بروز مشکل در تولید این گیاه شده است، به‌طوری‌که بروز تنش خشکی و گرما در اواخر دوره رشد رویشی و دماهای بالا در مرحله رشد زایشی، سبب کوتاهشدن مراحل فنولوژیک و کاهش زیست‌توده و در نهایت، کاهش شدید عملکرد دانه در گیاه نخود شده است (Singh et al., 1993). به عنوان مثال، درجه حرارت‌های بالاتر

\* نویسنده مسئول: همراه: ۹۱۵۱۰۳۳۷۹۴ mohsen.zafarani@yahoo.com

کاشت شده در اکتبر به نسبت گیاهان کشت شده در دسامبر از سرعت پُرشدن غلاف و عملکرد بالاتری در حدود ۲۶درصد برخوردار بود که این به دلیل افزایش شاخص سطح برگ و (Dapaah *et al.*, 2000) عملکرد زیستی بیشتر آنها ذکر شده است. در همین منطقه همچنین گیاهان نخود کاشت شده در نوامبر از زیست توده و عملکرد دانه بیشتر و کارآبی مصرف آب بالاتری نسبت به گیاهان تاریخ کاشت دسامبر برخوردار بودند (Anwar *et al.*, 2003).

مناطق جنوبی استان سیستان و بلوچستان با توجه به مجاورت با دریای عمان و بهره‌گیری از بادهای موسمی، اقلیم متفاوتی نسبت به سایر نقاط کشور دارند. بالابودن میانگین دما و پایین بودن نوسانات آن از مشخصه‌های اساسی اقلیم این منطقه است. داده‌های هواشناسی حکایت از آن دارد که میانگین بارش سالیانه مناطق جنوبی استان، حدود ۱۳۹ میلی‌متر و میانگین دمای سالیانه ۲۲/۶ درجه سانتی‌گراد می‌باشد. تاریخ کاشت، تأثیر زیادی بر رشد گیاه دارد، زیرا نوع شرایط محیطی را که مراحل مختلف فنولوژیک گیاه با آن مواجه خواهد شد، تعیین خواهد کرد. این نکته خصوصاً برای گیاهی مانند نخود که عمدتاً به صورت بهاره در شرایط خشک و با تکیه بر رطوبت ذخیره شده در خاک کشت می‌شود و با درجات حرارتی بالا در طول فصل رشد مواجه است، دارای اهمیت می‌باشد (Saxena, 1984). زمستان‌های معتدل و وقوع اکثر بارندگی‌ها در پاییز و زمستان وجود میانگین درجه حرارت‌های بالاتر از ۲۵ درجه سانتی‌گراد در بهار سبب گرایش بیشتر به کشت‌های پاییزه در مناطق بلوچستان شده است (Khaksafidi *et al.*, 2010); چراکه دما یکی از عوامل مهم و تأثیرگذار در رابطه با گلدهی و تشکیل غلاف در نخود بوده (Nayyar *et al.*, 2005) و دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد در مرحله ۵۵ درصد گلدهی و دمای بالای ۳۰ درجه به مدت سه تا چهار روز در مرحله گلدهی کامل، سبب کاهش عملکرد و توقف گلدهی و تلچیق می‌شود (Van Rheenen *et al.*, 1997).

با توجه به کمبود اطلاعات در رابطه با کاشت پاییزه نخود در این منطقه، هدف از اجرای این آزمایش، بررسی مقدماتی امکان کاشت پاییزه نخود در منطقه سراوان بود.

## مواد و روش‌ها

این آزمایش در پاییز سال ۱۳۸۸ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی سراوان با عرض جغرافیایی ۲۷ درجه و ۲۰ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۶۲ درجه و ۲۰ دقیقه شرقی و ارتفاع ۱۱۹۵ متر از سطح دریا با بارندگی متوسط سالیانه حدود ۱۰۰ میلی‌متر و در زمین آیش به صورت

زمستان در ۹ نمونه در هر دو سال، ۱۰۰ درصد، در ۱۶ نمونه در یکی از دو سال، ۱۰۰ درصد و در سال دیگر بیش از ۷۵ درصد و در ۵ نمونه نیز در هر دو سال، بالاتر از ۷۵ درصد و کمتر از ۱۰۰ درصد بود. نتایج این آزمایش نشان داد که در کلکسیون نخود مشهد، نمونه‌های متتحمل به شرایط سرد زمستان این منطقه وجود دارد. در آزمایش دیگری کاشت پاییزه ۳۳ زنوتیپ نخود (۱۳ نمونه انتخاب شده از آزمایش‌های سال قبل و دونمونه متتحمل به سرمای معروفی شده توسط مرکز تحقیقاتی ایکاردا برای کاشت پاییزه در منطقه مدیترانه‌ای) در چهار تاریخ کاشت (۶ مهر، ۲۴ آبان و ۱۶ آسفند) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که کاشت پاییزه نخود سبب بهبود رشد و عملکرد زنوتیپ‌های متتحمل به سرما نسبت به کشت بهاره شد، بهنحوی که نه تنها عملکرد تمام زنوتیپ‌های نخود در کشت پاییزه بیش از کاشت بهاره بود، بلکه عملکرد تمام آنها در کاشت‌های اول و دوم و ۹۴ درصد آنها در کاشت سوم بیش از متوسط عملکرد نخود در کشور (در سال‌های آزمایش) بوده است (Nezami, 2004).

کاشت پاییزه نخود نسبت به کاشت بهاره، دارای مزیت‌هایی می‌باشد که از آن جمله می‌توان به افزایش عملکرد و ثبات آن در گیاهان کاشت پاییزه نسبت به کاشت بهاره اشاره نمود (Singh *et al.*, 1997). در کشت پاییزه، غالباً کارآبی مصرف آب گیاهان بیشتر از محصولات بهاره است ضمن این‌که تثبیت بیولوژیک نیتروژن نیز بهبود می‌یابد (Singh *et al.*, 1997). گیاهان کشت پاییزه معمولاً حفاظت خوبی برای خاک ایجاد کرده و از فرسایش آن جلوگیری می‌کنند. همچنین برداشت زودتر گیاهان پاییزه، شرایط مناسبی برای کاشت محصول دوم فراهم می‌سازد (McKenzie *et al.*, 1995). با ارزیابی کشت‌های زمستانه و بهاره چندین زنوتیپ نخود در سوریه و لبنان مشخص شد که میزان زیست توده و عملکرد دانه در کشت‌های پاییزه حدود ۵۵ درصد بیشتر از کشت‌های بهاره بود (Saxena, 1984).

Azam *et al.*, (2002) گزارش کردند گیاهان عدس کشت شده در تاریخ عدسامبر به نسبت گیاهان کشت شده در تاریخ ۷ نوامبر، از کارآبی مصرف نور و کارآبی مصرف آب کمتری برخوردار بوده و در نتیجه عملکرد پایین‌تری داشتند. دلیل این امر، کمبودن طول فصل رشد و کاهش طول دوره رشد گیاه در تاریخ کاشت دسامبر ذکر شده است. در مطالعه‌ای دیگر بر روی اثر شش تاریخ کاشت بر عملکرد نخود، مشاهده شد که کاشت گیاهان در تاریخ ۱۰ نوامبر نسبت به ۳۰ دسامبر سبب بهبود ۱/۷ برابری عملکرد دانه شد (Ahmed *et al.*, 2011). در بررسی اثر تاریخ کاشت بر لوبيا در نیمکره جنوبی (نيوزيلند) نیز مشاهده شد که گیاهان

غلاف، تعداد غلاف خالی و وزن ۱۰۰ دانه، همزمان با بوته به طور تصادفی از گیاهان برداشت و به آزمایشگاه منتقل شد. شاخص برداشت نیز محاسبه شد. برای تجزیه آماری از نرمافزار MSTAT-C استفاده شد و میانگین‌ها با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن مقایسه شدند.

### نتایج و بحث

ارتفاع بوته: اثر تاریخ کاشت بر ارتفاع بوته معنی‌دار بود ( $p \leq 0.05$ ) (جدول ۱) و با تأخیر در کاشت، از ارتفاع بوته کاسته شد، به طوری که متوسط ارتفاع گیاهان در کاشت ۲۰ مهر حدود ۱/۳ برابر آن نسبت به گیاهان کاشت اول آذر بود (جدول ۲). بررسی رشد ۳۰ آنمونه نخود در تاریخ‌های کاشت عمهر، ۲۴ مهر، ۱۱ آبان و ۱۶ اسفند نشان داد که ارتفاع گیاهان در کاشت‌های اول، دوم و سوم به ترتیب ۱/۹، ۱/۸ و ۱/۵ برابر در گیاهان کاشت چهارم بوده است (Nezami, 2002). در بنگلادش نیز گزارش شده ارتفاع بوته همراه با تأخیر در کاشت پاییزه نخود کاهش یافت و ارتفاع بوته در تاریخ کاشت نوامبر نسبت به دسامبر، ۱/۵ برابر بیشتر بود (Ahmed *et al.*, 2011).

کرت‌های خردشده در قالب طرح بلوك‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. تاریخ‌های کاشت در سه سطح (۱۱ آبان، ۲۷ آبان و ۱۱ آذر) در کرت‌های اصلی و پنج ژنوتیپ‌های نخود (MCC361 MCC488 MCC208, MCC258, MCC770) در کرت‌های فرعی قرار گرفتند. بذر ژنوتیپ‌های مورد استفاده از بانک بذر پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد تهیه شد. طول هر کرت فرعی شامل چهار ردیف به طول سه متر بود. فاصله بین ردیف‌های کاشت، ۰.۵ سانتی‌متر و فاصله بوته‌ها روی ردیف، هفت سانتی‌متر در نظر گرفته شد و در هر کرت فرعی، چهار ردیف کشت شد. کشت به صورت هیزم‌کاری و آبیاری هر ۱۰ روز یکبار تا انتهای فصل رشد مطابق نظام آبیاری منطقه انجام شد. بر اساس نتایج آزمون خاک، قبل از کاشت، معادل ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار کود کامل (NPK) و ۰.۵ کیلوگرم در هکتار کود اوره به خاک داده شد. مبارزه با علف‌های هرز به صورت وجین دستی و در سه نوبت و در مراحل شاخه‌دهی، شروع گلدهی و در مرحله تولید غلاف صورت گرفت.

جهت تعیین عملکرد دانه و زیست‌توده در مرحله رسیدگی، با حذف اثرات حاشیه از سطحی معادل دو مترمربع گیاهان برداشت شدند. همچنین جهت بررسی صفاتی مانند ارتفاع بوته، تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در بوته، تعداد

جدول ۱- منابع تغییر، درجه آزادی و میانگین مربوطات ژنوتیپ و تاریخ کاشت بر برخی صفات ژنوتیپ‌های نخود در منطقه سراوان (۱۳۸۹-۹۰)

Table 1. Source of variation, mean of squares and degree of freedom for some traits of chickpea genotypes and sowing dates in Saravan, 2011

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی d.f.	ارتفاع بوته Plant height	تعداد غلاف در بوته Pods/plants	تعداد دانه در بوته Seed/ plants	عملکرد بیولوژیک Biol. yield	عملکرد اقتصادی Seed yield	وزن ۱۰۰ دانه 100 seed weight	شاخص برداشت Harvest index
تکرار Replication	2	4.66 ns	17.03 ns	6.74 ns	4308.88 ns	742.26 ns	22.76 ns	88.04 ns
تاریخ کاشت Planting date (A)	2	271.56 *	621.67 **	591.98 **	336482.22 **	14742.61 **	29.80 ns	54.61 ns
خطای a	4	18.63	15.59	27.42	14518.88	60.14	44.68	88.60
ژنوتیپ Genotype (B)	4	192.51 *	460.18 **	619.89 **	106705.55 **	1828.14 **	130.99 **	179.28 **
تاریخ Planting	8	152.277 *	145.97 **	280.54 **	97407.22 **	11228.13 **	50.261 **	77.69 *
کاشت×ژنوتیپ (A×B)	24	57.04	16.21	8.29	12251.66	348.15	12.47	28.84

\* و \*\*: به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح  $\alpha=0.01$  و  $\alpha=0.05$  ns

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

کاشت عدسامبر، بیشتر بود. همچنین در مطالعه ایشان، گیاهان کاشت شده در تاریخ کاشت اول از  $1/5$  برابر تعداد دانه بیشتر، دو برابر تعداد شاخه بیشتر و  $1/4$  برابر عملکرد زیستی بیشتری برخوردار بودند.

اثر ژنتیک بر تعداد غلاف در بوته معنی دار بود ( $p \leq 0.01$ ) (جدول ۱) و ژنتیک‌های MCC361 و MCC770 به ترتیب بیشترین و کمترین تعداد غلاف در بوته را داشتند. اثر متقابل تاریخ کاشت و ژنتیک بر تعداد غلاف در بوته معنی دار ( $p \leq 0.01$ ) بود (جدول ۱). بیشترین تعداد غلاف در بوته را در تاریخ کاشت اول، ژنتیک MCC361 داشت که  $3/8$  برابر نسبت به ژنتیک MCC770 در تاریخ کاشت سوم، بیشتر بود (جدول ۴). در سه ژنتیک دیگر نیز با تأخیر در کاشت از  $20$  مهر به اول آذر، تعداد غلاف در بوته حدود  $40$  درصد کاهش یافت (جدول ۴). مطالعه Nezami & Bagheri (2004) بر روی ژنتیک MCC361 در تاریخ کاشت پاییزه، تاریخ کاشت نخود نشان داد که در تاریخ‌های کاشت پاییزه، تاریخ کاشت  $24$  مهر و  $20$  آبان برابر بودند.

بین ژنتیک‌های نخود نیز اختلاف معنی داری ( $p \leq 0.05$ ) از نظر ارتفاع گیاه وجود داشت (جدول ۱) و میانگین ارتفاع ژنتیک MCC488  $1/8$  برابر نسبت به ارتفاع ژنتیک MCC770 بیشتر بود (جدول ۳). اثر متقابل تاریخ کاشت و ژنتیک بر ارتفاع گیاه معنی دار بود ( $p \leq 0.05$ ) (جدول ۱) و ژنتیک MCC488 بیشترین ارتفاع گیاه را در تاریخ کاشت  $20$  مهر داشت که حدود  $178$  درصد بیشتر از ژنتیک MCC770 در کاشت اول آذر بود (جدول ۴).

تعداد غلاف پُر در بوته: اثر تاریخ کاشت بر تعداد غلاف معنی دار بود ( $p \leq 0.01$ ) و با تأخیر در کاشت از  $20$  مهر به اول آذر، تعداد غلاف در بوته حدود  $40$  درصد کاهش یافت (جدول ۱). مطالعه Nezami & Bagheri (2004) بر روی ژنتیک MCC361 در تاریخ کاشت پاییزه، تاریخ کاشت  $24$  مهر و  $20$  آبان برابر بودند. Shamsi (2009) گزارش کرد که تعداد غلاف در گیاهان نخود بیشتری نسبت به تاریخ کاشت  $11$  آبان برخوردار بودند. کاشت شده در تاریخ  $24$  مهر حدود  $1/8$  برابر نسبت به گیاهان

جدول ۲- مقایسه عملکرد و اجزای عملکرد نخود در تاریخ کاشت‌های پاییزه در منطقه سراوان (۱۳۸۹-۹۰)

Table 2. Comparison of yield and yield components of chickpea in different sowing dates of fall planting in Saravan, 2011

تاریخ کاشت Planting date	ارتفاع بوته (سانتی‌متر) Pl. height (cm)	تعداد غلاف Pods/plant	تعداد دانه dr. bothe Seed/plant	عملکرد بیولوژیک Biol. yield (g/m <sup>2</sup> )	عملکرد دانه (گرم در مترمربع) Seed yield (g/m <sup>2</sup> )	وزن ۱۰۰ دانه (گرم) 100 seed weight (g)	شاخص برداشت Harvest index
مهر ۲۰ Oct. 11 <sup>th</sup>	37.9	30	26.5	718	148	21.5	20.4
آبان ۱۱ Nov. 2 <sup>nd</sup>	34.3	27.4	24.9	595	137	20.3	18.7
آذر ۱ Nov. 22 <sup>th</sup>	29.4	17.8	14.9	420	89	18.7	16.6
LSD (0.05)	4.37	4.0	5.30	122	7.86	6.7	9.5

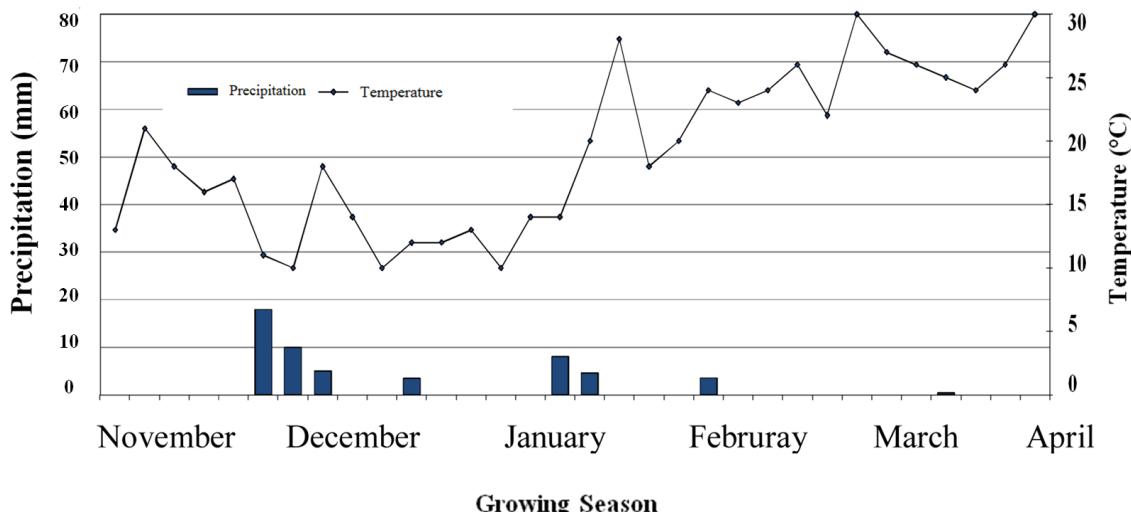
سایر محققان مشابهت دارد (Rezvani Moghaddam & Sadeghi Samarjan, 2008). همبستگی مثبت و معنی داری بین تعداد دانه در بوته و تعداد غلاف ( $r = 0.75^{**}$ ) مشاهده شد (جدول ۵).

اثر ژنتیک بر تعداد دانه در بوته معنی دار شد ( $p \leq 0.01$ ) (جدول ۱) و تعداد دانه در بوته در ژنتیک MCC361 معادل  $3/3$  برابر بیشتر از میزان آن در ژنتیک MCC770 بود (جدول ۴). اثر متقابل تاریخ کاشت و ژنتیک بر تعداد دانه در بوته نیز معنی دار شد ( $p \leq 0.01$ ) (جدول ۱) و بیشترین تعداد

تعداد دانه در بوته: اثر تاریخ کاشت بر تعداد دانه در بوته معنی دار بود ( $p \leq 0.01$ ) (جدول ۱). بیشترین و کمترین تعداد دانه در بوته را به ترتیب گیاهان کاشت اول و سوم داشتند و تعداد دانه در بوته در کاشت  $20$  مهر،  $177$  درصد بیشتر از اول آذر بود (جدول ۲). نتایج تحقیقات دیگر نیز حاکی از کاهش تعداد دانه با تأخیر در کاشت می‌باشد (Shamsi, 2009). با توجه به شرایط محیطی سراوان، این طور به نظر می‌رسد که کاهش تعداد دانه در بوته با تأخیر در کاشت به دلیل افزایش دما (شکل ۱) و کاهش میزان تلقیح دانه بوده است که با نتایج

مشابهی در بین ژنوتیپ‌ها مشاهده نشد، به طوری که تعداد دانه در بوته در ژنوتیپ‌های MCC770 و MCC488 در تاریخ کاشت ۲۰ مهر نسبت به تعداد آن در کاشت اول آذر، به ترتیب  $\frac{2}{3}$  و  $\frac{1}{9}$  برابر بیشتر بود (جدول ۴).

دانه در بوته را ژنوتیپ MCC361 در تاریخ کاشت دوم داشت و کمترین تعداد دانه در بوته در تاریخ کاشت سوم متعلق به ژنوتیپ MCC770 بود. به طور کلی هر چند تعداد دانه در بوته با تأخیر در کاشت کاهش یافت، ولی این کاهش به نسبت



شکل ۱- میانگین هفتگی دما و بارندگی طی فصل رشد گیاه نخود در سراوان (۱۳۸۹-۹۰)

Fig. 1. Average week temperature and precipitation during the growing season of chickpea in Saravan, 2011

گزارش‌های متعددی وجود دارد. برخی از نتایج نشان می‌دهد که با تأخیر در کاشت به خاطر افزایش درجه حرارت طی دوره پُرشدن دانه، همچنین کاهش طول این دوره، وزن ۱۰۰ دانه کاهش می‌یابد (Mousavi *et al.*, 2006)؛ در حالی که بررسی سایر محققان بر روی کشت پاییزه و بهاره نخود، بیانگر این است که وزن ۱۰۰ دانه نخود تحت تأثیر تاریخ کاشت قرار گرفته است، به طوری که گیاهان کشت پاییزه نخود، از وزن ۱۰۰ دانه بیشتری نسبت به گیاهان کشت بهاره برخوردار بودند (Singh *et al.*, 1993).

عملکرد زیستی: اثر تاریخ کاشت بر عملکرد زیستی نخود معنی‌دار بود ( $p \leq 0.01$ ) (جدول ۱). گیاهان کاشتشده در ۲۰ مهر، بیشترین عملکرد زیستی را دارا بودند و با تأخیر در کاشت، از میزان آن کاسته شد، به طوری که گیاهان کاشت ۲۰ مهر نسبت به گیاهان کاشته‌های ۱۱ آبان و اول آذر به ترتیب  $107$  و  $165$  درصد وزن خشک بیشتری داشتند (جدول ۴).

ظاهراً کوتاه شدن طول دوره رشد در تاریخ‌های کاشت دیر، باعث کاهش عملکرد زیستی شده است. افزایش طول دوره رویشی گیاه باعث افزایش کانونی گیاهی و بهبود زیست‌توده

وزن ۱۰۰ دانه: اثر تاریخ کاشت بر وزن ۱۰۰ دانه معنی‌دار نبود (جدول ۱)، اما تفاوت بین ژنوتیپ‌ها از این نظر معنی‌دار شد و ژنوتیپ‌های MCC770 و MCC258 بیشترین وزن ۱۰۰ دانه و ژنوتیپ MCC488 کمترین وزن ۱۰۰ دانه را داشتند (جدول ۳). اثر متقابل ژنوتیپ و تاریخ کاشت بر وزن ۱۰۰ دانه معنی‌دار بود (جدول ۴). بیشترین وزن ۱۰۰ دانه را در تاریخ کاشت سوم، ژنوتیپ MCC770 داشت، در حالی که کمترین وزن ۱۰۰ دانه در تاریخ کاشت سوم متعلق به ژنوتیپ MCC361 بود (جدول ۴). هر چند در برخی آزمایشات مشاهده شده است که وزن ۱۰۰ دانه McKenzie *et al.*, (1995)، ولی بررسی Shamsi (2009) نشان داد که با تأخیر در کاشت، وزن ۱۰۰ دانه کاهش یافته است (Zafaranieh *et al.*, 2010) بر اساس نتایج، گستره وزن ۱۰۰ دانه در میان ژنوتیپ‌ها مورد بررسی از  $14/3$  تا  $49/3$  گرم متغیر بود. ژنوتیپ‌های MCC39 و MCC495 به ترتیب با  $49/3$  و  $32/1$ ،  $30/9$  گرم، بیشترین و ژنوتیپ‌های MCC186، MCC738 و MCC769 به ترتیب با  $14/3$ ،  $15/2$  و  $16/0$  گرم، کمترین وزن ۱۰۰ دانه را دارا بودند. وزن ۱۰۰ دانه در  $5/4$  درصد ژنوتیپ‌ها بیش از  $30$  گرم و در  $18$  درصد از آنها کمتر از  $18$  گرم بود. در مورد تغییرات وزن ۱۰۰ دانه نسبت به تاریخ کاشت،

بیانگر تأثیر مثبت افزایش آن بر این اجزای عملکرد می‌باشد (جدول ۵).

گیاه می‌شود (Otooole *et al.*, 2001). همبستگی مثبت و معنی‌داری بین زیست‌توده با تعداد غلاف در بوته و تعداد دانه در بوته ( $I = 0.63^{**}$ ) و تعداد دانه در بوته ( $I = 0.68^{**}$ ) مشاهده شد که

جدول ۳- مقایسه عملکرد و اجزای عملکرد نخود در ژنتیپ‌های مختلف در کشت پاییزه در منطقه سراوان (۱۳۸۹-۹۰)

Table 3. Comparison of yield and yield components of different genotypes chickpea on fall planting in Saravan, 2011

ژنتیپ Genotype	ارتفاع بوته Pl. height (cm)	تعداد غلاف Pods/plant	تعداد دانه Seed/plant	عملکرد بیولوژیک Biol. yield (g/m <sup>2</sup> )	عملکرد دانه Seed yield (g/m <sup>2</sup> )	وزن ۱۰۰ دانه (گرم) 100 seed weight (g)	شاخص برداشت Harvest index
MCC488	39.9	28.3	28.2	525	134	15.3	26.8
MCC208	31.8	20.3	17.7	506	81.7	21.6	15.8
MCC258	39.4	22.9	16.7	622	164	23.1	26.7
MCC770	22.4	16.2	11.1	384	4.53	23.8	10.6
MCC361	35.4	37.6	36.7	850	204	17	23.8
LSD (0.05)	7.34	3.91	2.80	107	18.1	3.43	5.22

کاشت بر عملکرد زیستی معنی‌دار بود (جدول ۱) و مقایسه زیست‌توده گیاهان نخود در تاریخ کاشت اول نسبت به کاشت سوم نشان داد که کاهش عملکرد زیستی در ژنتیپ MCC361 ۶۲درصد و در ژنتیپ MCC770 ۵۸درصد بوده است که این امر نشان از تفاوت در پاسخ ژنتیپ‌ها به تاریخ کاشت می‌باشد (جدول ۴).

ژنتیپ‌های نخود از نظر تولید زیست‌توده، با هم اختلاف معنی‌داری داشتند (جدول ۱) و عملکرد زیستی ژنتیپ MCC361 ۲/۴ برابر از ژنتیپ MCC770 بیشتر بود (جدول ۳). همچنین زیست‌توده ژنتیپ MCC361 نسبت به ژنتیپ‌های MCC208، MCC258 و MCC488 به ترتیب ۱۳۶ و ۱۶۷ و ۱۶۱درصد بیشتر بود. اثر متقابل ژنتیپ و تاریخ

جدول ۴- اثر متقابل تاریخ کاشت و ژنتیپ بر عملکرد و اجزای عملکرد نخود در منطقه سراوان (۱۳۸۹-۹۰)

Table 4. Interaction between sowing date and genotype yield and yield components in Saravan, 2011

تیمارها Treatments	ارتفاع بوته Pl. height (cm)	تعداد غلاف Pods/plant	تعداد دانه Seed/plant	عملکرد بیولوژیک Biol. yield (g/m <sup>2</sup> )	عملکرد دانه Seed yield (g/m <sup>2</sup> )	وزن ۱۰۰ دانه (گرم) 100 seed weight (g)	شاخص برداشت Harvest index
T1G1	45.5	36.6	33.5	700	143	23.5	20.5
T1G2	35.5	24.0	21.5	660	110	19.6	16.7
T1G3	44.8	27.6	22.7	806	187	21.6	23.3
T1G4	25.7	14.0	10.6	447	45	19.9	10.1
T1G5	38.2	48.1	44.3	976	255	16.8	26.2
T2G1	38.7	29.2	32.2	496	145	12.2	29.2
T2G2	35.4	22.1	14.6	493	78.2	22.0	15.8
T2G3	37.8	24.3	16.7	573	184	24.7	32.2
T2G4	22.4	20.5	14.3	446	59	18.6	13.2
T2G5	37.5	41.0	46.9	966	220	16.1	22.8
T3G1	35.9	19.2	19.0	380	116	15.4	30.6
T3G2	24.7	15.0	17.1	366	56.3	27.8	15.4
T3G3	35.7	16.8	10.8	486	120	25.2	24.7
T3G4	19.0	14.2	8.6	260	17.5	26.3	6.7
T3G5	32.1	23.9	19.1	606	137	12.9	22.6
LSD (0.05)	12.0	6.7	5.5	187	29.3	6.91	10.2

تاریخ کاشت = ۲۰ مهر، ۱۱ آبان و اول آذر

Sowing Date (T)= (T1: Oct. 11<sup>th</sup>, T2: Nov. 2<sup>nd</sup>, T3: No. 22)

Genotype (G)= (G1: MCC488, G2: MCC258, G3: MCC258, G4: MCC770, G5: MCC361)

جدول ۵- جدول ضرایب همبستگی بین عملکرد و اجزای عملکرد ژنوتیپ‌های نخود در سراوان (۱۳۸۹-۹۰)  
Table 5. Correlation between yield and yield components of Chickpea genotypes in Saravan, 2011

	1	2	3	4	5	6	7
۱- ارتفاع بوته 1- Plant height	1						
۲- تعداد غلاف در بوته 2- Number of pods per plant	-0.35*	1					
۳- تعداد دانه در بوته 3- Seed per plant	-0.30*	0.75 **	0.56 **	1			
۴- وزن ۱۰۰ دانه 4- 100 seed weight	0.25 ns	-0.07 ns	-0.15 ns	-0.23 ns	1		
۵- عملکرد زیستی 5- Biological yield	-0.15 ns	0.63 **	0.28 ns	0.68 **	0.01 ns	1	
۶- عملکرد اقتصادی 6- Seed yield	-0.18 ns	0.84 **	-0.05 ns	0.63 **	0.11 ns	0.55 **	1
۷- شاخص برداشت 7- Harvest Index	0.05 ns	0.45 **	-0.30 *	0.22 ns	0.31 *	0.15 ns	0.55 **
							1

a=0.05 ns و \*\*: به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح  $\alpha=0.05$  و  $\alpha=0.01$

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

اثر متقابل تاریخ کاشت و ژنوتیپ بر عملکرد دانه معنی دار بود (جدول ۱). بیشترین عملکرد دانه را ژنوتیپ MCC361 در کاشت اول داشت که نسبت به ژنوتیپ MCC770 در تاریخ کاشت سوم حدود ۱۴/۵ برابر بیشتر بود. با وجود کاهش عملکرد اغلب ژنوتیپ‌ها با تأخیر در کاشت، تفاوت درصد کاهش عملکرد بسته به ژنوتیپ، متفاوت بود. به عنوان مثال در ژنوتیپ MCC361 مشاهده شد که در تاریخ کاشت ۲۰ مهر نسبت به اول آذر، عملکرد دانه حدود ۱۸۶ درصد بیشتر بود، در حالی که عملکرد دانه در ژنوتیپ MCC770 در همین شرایط حدود ۲۵۶ درصد افزایش یافت. از سوی دیگر نیز هرچند در بیشتر ژنوتیپ‌ها تأخیر در کاشت باعث کاهش عملکرد شد، ولی در تاریخ کاشت دوم، ژنوتیپ‌های MCC770 و MCC488 از عملکرد بالاتری نسبت به تاریخ کاشت اول برخوردار بودند.

Kanoni *et al.*, (2005) طی بررسی ۴۰ لاین نخود در سال زراعی در کاشت پاییزه در مناطق غرب ایران گزارش نمود که در بین لاین‌های آزمایشی، تفاوت معنی داری از نظر عملکرد دانه وجود داشت. در آزمایش وی، بیشترین عملکرد دانه، ۳۰۰۰ و کمترین میزان، ۸۰۰ کیلوگرم در هکتار بود، در حالی که معمولاً بهترین لاین‌های نخود در آزمایش‌های بهاره در این مناطق، عملکردی بین ۸۰۰ تا ۱۰۰۰ کیلوگرم در هکتار تولید می‌کردند. از آنجا که متوسط عملکرد دانه برای کلیه ژنوتیپ‌های مورد آزمایش توسط وی طی دو سال، حدود ۱۸۰۰ کیلوگرم در هکتار بود، این محقق نتیجه گرفت که افزایش عملکرد نخود، به دلیل استفاده از رطوبت کافی و دوره رشد طولانی تر در کاشت پاییزه بوده است. مطالعات در مورد

عملکرد دانه: اثر تاریخ کاشت بر عملکرد دانه معنی دار بود (جدول ۱) و تاریخ کاشت اول، بیشترین عملکرد دانه را داشت که نسبت به کاشت‌های دوم و سوم به ترتیب ۱/۱، ۱/۶ برابر بیشتر بود. کاهش شدید عملکرد دانه گیاهان تاریخ کاشت سوم در نتیجه تأثیر شدید افزایش دما بر گیاهان کشت شده در این تاریخ بوده است (شکل ۱). با توجه به همبستگی مثبت و معنی داری که بین عملکرد دانه با تعداد غلاف در بوته (\*\*=۰/۸۴، تعداد دانه در بوته (۰/۶۳\*\*=۰) و عملکرد زیستی (\*\*=۰/۵۵) مشاهده شد (جدول ۵)، این طور به نظر می‌رسد که با تأخیر در کاشت و کاهش در هر یک از صفات ذکر شده، عملکرد دانه کاهش یافتد که با نتایج سایر محققان در گیاه نخود مشابه است.

همان طور که پیش از این ذکر شد، با تأخیر در کاشت، ارتفاع بوته، تعداد غلاف در بوته و عملکرد ماده خشک کاهش شدیدی یافت. مطالعه Nezami & Bagheri (2004) بر روی نخود نیز نشان داد که با تأخیر در کاشت، از میزان ارتفاع، تعداد غلاف در بوته، عملکرد دانه و عملکرد زیستی نخود کاسته شد.

اثر ژنوتیپ بر عملکرد دانه معنی دار بود (جدول ۱). بیشترین عملکرد دانه را ژنوتیپ MCC361 داشت که ۵/۱ برابر بیشتر از ژنوتیپ MCC770 بود. همان طور که پیش از این اشاره شد، ژنوتیپ MCC361 بیشترین تعداد دانه در بوته و بیشترین تعداد غلاف در بوته را دارا بود. مطالعات دیگر نیز حاکی از آن است که در نخود، تعداد غلاف در بوته را دارا بود. مطالعات Tomar *et al.*, (1982) عملکرد نخود داشته است.

کمترین آن را ژنتوتیپ MCC770 در تاریخ کاشت سوم داشت. بیشترین شاخص برداشت در تاریخ کاشت اول، دوم و سوم به ترتیب مربوط به ژنتوتیپ‌های MCC361، MCC258 و MCC488 بود.

#### نتیجه‌گیری

با توجه به شرایط آب و هوایی مناطق بلوچستان و دماهای بالا در بهار و حساسیت نخود به دماهای بالا در دوران گلدهی، استفاده از تاریخ کشت‌های زودتر در پاییز می‌تواند به عنوان یک راهکار زراعی مهم در تولید گیاه نخود مدنظر قرار گیرد. نتایج این مطالعه نشان داد که کاشت زودتر در پاییز (۲۰ مهر) منجر به افزایش ارتفاع گیاه، تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در بوته، وزن خشک، عملکرد دانه و شاخص برداشت شد. واکنش ژنتوتیپ‌های نخود نسبت به تاریخ کاشت، متفاوت بود، به طوری که بیشترین عملکرد دانه را ژنتوتیپ MCC361 در تاریخ کاشت اول (۲۰ مهر) با میانگین ۲۵۵ گرم در مترمربع تولید کرد. عملکرد دانه، بالاترین همبستگی را با صفاتی مانند تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در بوته، عملکرد زیستی و شاخص برداشت نشان داد. هرچند کشت گیاه نخود در این منطقه نسبتاً رایج نیست، ولی با توجه به حصول عملکردی در حدود دو برابر میانگین عملکرد نخود آبی در ایران (Ministry of Jihad-e-Agriculture, 2010) حاضر، به نظر می‌رسد گیاه نخود می‌تواند به عنوان یک گیاه زراعی مهم در این منطقه، مذ نظر قرار گیرد. با تداوم این گونه آزمایش‌ها و بررسی دقیق‌تر واکنش ارقام نخود، اطلاعات بهتری درخصوص امکان کاشت پاییزه نخود در این منطقه فراهم خواهد شد.

#### سپاسگزاری

از پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد، جهت تأمین بذر ژنتوتیپ‌های نخود تشكیر و قدردانی می‌گردد.

همبستگی بین صفات مختلف گیاه نخود در شرایط دیم در نواحی مدیترانه‌ای نشان داده است که عملکرد نخود با تعداد غلاف در گیاه ( $F=0.90^{***}$ ، ارتفاع گیاه ( $F=0.72^{***}$ )، وزن ۱۰۰۰ دانه ( $F=0.35^{***}$ ) و نیز تعداد دانه در گیاه با وزن ۱۰۰۰ دانه ( $F=0.32^{***}$ ) همبستگی‌های مثبت و معنی‌داری داشته‌اند. در همین راستا اظهار شده است که در مناطق مدیترانه‌ای، با گزینش ژنتوتیپ‌های مناسب، می‌توان بهبود مناسبی در اجزای عملکرد مانند تعداد غلاف در گیاه، وزن ۱۰۰۰ دانه و در نهایت، عملکرد دانه نیز مشاهده کرد.

(Dapaah *et al.*, 2000)

Zafaranieh *et al.*, (2010) همبستگی میان عملکرد دانه را با طول دوره رشد رویشی ( $F=0.64^{***}$ )، طول دوره رشد زایشی ( $F=0.27^{***}$ ، ارتفاع بوته ( $F=0.14^{***}$ )، تعداد شاخه‌ها در بوته ( $F=0.34^{***}$ )، مجموع طول شاخه‌ها در بوته ( $F=0.35^{***}$ ، تعداد غلاف در بوته ( $F=0.33^{***}$ )، تعداد دانه در غلاف ( $F=0.33^{***}$ ) و وزن ۱۰۰۰ دانه ( $F=0.20^{**}$ ، مثبت و معنی‌دار اثر نمودند. این محققان نتیجه گرفتند که تأثیرات مثبت در کشت پاییزه، باعث افزایش عملکرد (میانگین ۱۲۴۰ کیلوگرم در هکتار) در ژنتوتیپ‌های مورد بررسی شده بود.

شاخص برداشت: اثر تاریخ کاشت بر شاخص برداشت معنی‌دار نبود (جدول ۱)، ولی به طور کلی گیاهان کاشتشده در تاریخ کاشت اول از شاخص برداشت بالاتری نسبت به تاریخ کاشت دوم و سوم برخوردار بودند. ژنتوتیپ‌های نخود از نظر شاخص برداشت، تفاوت معنی‌داری داشتند (جدول ۱). شاخص برداشت ژنتوتیپ MCC488 بیشتر از سایر ژنتوتیپ‌ها بود، به طوری که این ژنتوتیپ نسبت به ژنتوتیپ‌های MCC770، MCC208 و MCC770 به ترتیب ۱۶۹، ۲۵۱ و ۱۱۲ درصد شاخص برداشت بیشتری داشت. اثر متقابل تاریخ کاشت و ژنتوتیپ بر شاخص برداشت، معنی‌دار بود (جدول ۴). بیشترین شاخص برداشت مربوط به ژنتوتیپ MCC258 در تاریخ کاشت دوم بود و

#### منابع

1. Ahmed, F., Islam, M.N., Jahan, M.A., Rahman, M.T., and Ali, M.Z. 2011. Phenology, growth and yield of chickpea as influenced by weather variables under different sowing dates. Journal of Experimental Biosciences 2(2): 83-88.
2. Azam, M., Abid, H., Wajid, S.A., and Maqsood, M. 2002. Effect of sowing date, irrigation and plant densities on radiation interception and its utilization efficiency in Lentils. International Journal of Agriculture & Biology 4(2): 217-219.
3. Bagheri, A., Nezami, A., Gnejeli, A., and Parsa, M. 1997. Agronomy and Breading. Jahad Daneshgahi Mashhad. Publisher, p. 522.

4. Dapaah, H.K., Mckenzie, B.A., and Hill, G.D. 2000. Influence of sowing date and irrigation on the growth and yield of pinto beans (*Phaseolus vulgaris*) in a subhumid temperate environment. *Journal of Agricultural Science* 134: 33-43.
5. Kanooni, H. 2005. Evaluation of fall sowing of cold tolerant chickpea (*Cicer arietinum L.*) germplasms in field. *Journal of Plant and Seed* 20: 89-99. (In Persian with English Abstract).
6. Khaksafidi, A., Noura, N., Biroudian, N., and Najafi Nejad, A. 2010. Rainfall temporal distribution patterns in Sistan & Baluchestan province. *Journal of Water and Soil Conservation* 17: 44-61. (In Persian with English Abstract).
7. McKenzie, B.A., Hill, G.D., Gunaratnam, R., and Jones, A.V. 1995. Evaluation of the ICARDA cold tolerance chickpea nursery. *Proceeding Agronomy Society of N. Z* 25: 47-50.
8. Ministry of Jihad-e-Agriculture. 2010. Office of Agricultural Statistics and Information. Available at Web (site <http://dbagri.maj.ir/zrt/yearrep.asp?p=118&o=9900>).
9. Mousavi, S.K., and Pezeshkpour, P. 2006. Evaluation of Kabuli chickpea (*Cicer arietinum L.*) cultivars response to sowing date. *Journal of Iranian Field Crop Research* 4: 141-154. (In Persian with English Abstract).
10. Najibnia, S. 2004. Evaluation of fall sowing of cold tolerant chickpea (*Cicer arietinum L.*) germplasms in Mashhad condition. MSc. Thesis. Ferdowsi University of Mashhad.
11. Nayyar, H., Chander, K., Kumar, S., and Bains, T. 2005. Glycine betaine mitigates cold stress damage in chickpea. *Agronomy for Sustainable Development* 25: 381-388.
12. Nezami, A. 2002. Evaluation of cold tolerance in chickpea (*Cicer arietinum L.*) for fall planting in the highlands of Iran. PhD. Thesis. Ferdowsi University of Mashhad.
13. Nezami, A., and Bagheri, A. 2004. Responsiveness of cold tolerant chickpea characteristics in fall and spring planting: II- yield and yield components. *Journal of Iranian Field Crop Research* 3: 156-170. (In Persian with English Abstract).
14. Otoole, N. Stoddard, F.L., and Obrien, L. 2001. Screening of chickpea for adaption to autumn sowing. *Journal of Agronomy and Crop Science* 186: 193-207.
15. Rezvani Moghaddam, P., and Sadeghi Samarjan, R. 2008. Effect of sowing dates and different irrigation regimes on morphological characteristics and grain yield of chickpea (*Cicer arietinum L.*). *Journal of Iranian Field Crop Research* 6: 315-325. (In Persian with English Abstract).
16. Saxena, M.C. 1984. Agronomic studies on winter chickpea. In: M.C. Saxena and K.B. Singh. (Eds.). *Ascochyta Blight and Winter Sowing of Chickpea* p. 123-139. Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers, The Hague, The Netherlands.
17. Saxena, M.C. 1993. The challenge of developing biotic and abiotic stress resistance in cool-season food legumes. In: K.B. Singh and M.C. Saxena (Eds.). *Breeding for Stress Tolerance in Cool-Season Food Legumes*. p. 3-14. John Wiley and Sons, Chichester, UK.
18. Shamsi, K. 2009. Effect of sowing date and row spacing on yield and yield components of chickpea under rainfed condition in Iran. *Journal of Applied Biosciences* 17: 941-947.
19. Singh, K.B., Malhotra, R.S., and Saxena, M.C. 1993. Relationship between cold severity and yield loss in chickpea (*Cicer arietinum L.*). *Journal of Agronomy and Crop Science* 170: 121-127.
20. Singh, K.B., Malhotra, R.S., and Saxena, M.C. 1989. Chickpea evaluation for cold tolerance under field conditions. *Crop Science* 29: 282-285.
21. Singh, K.B., Malhotra, R.S., Saxena, M.C., and Bejiga, G. 1997. Superiority of winter sowing over traditional spring sowing of chickpea in the Mediterranean region. *Agronomy Journal* 89: 112-118.
22. Summerfield, R.J., Roberts, E.H., and Hadley, P. 1987. Photothermal effects on flowering in chickpea and other grain legumes. In: *Adaptation of Chickpea and Pigeonpea to Abiotic Stress* p. 33-48. Proc. of the Consultation Workshop, 19-21 Dec. 1984, ICRISAT. Patancheru, India: ICRISAT.
23. Tomar, G.S., Mishra, Y., and Rao, K. 1982. Path analysis and its implications in selection of high yielding chickpea (*Cicer arietinum L.*). *Indian Journal of Plant Physiology* 25: 127-132.
24. Van Rheenen, H.A., Singh, O., and Saxena, N.P. 1997. In: A.N. Asthana and M. Ali (Eds.). *Recent Advances in Pulses Research*. p. 441-458. IIPR, Kanpur, India.
25. Zafaranieh, Z., Nezami, A., Parsa, M., Porsa, H., and Bagheri, A. 2009. Evaluation of fall sowing of cold tolerant chickpea (*Cicer arietinum L.*) germplasms under complementary irrigation in Mashhad condition: II- yield and yield components. *Journal of Iranian Field Crop Research* 7: 109-129. (In Persian with English Abstract).

## Possibility of chickpea autumn planting in Saravan condition

Zafaranieh<sup>1\*</sup>, M., Nezami<sup>2</sup>, A., Ziaeem<sup>3</sup>, S.M. & Jabbari<sup>3</sup>, M.

1. Department of Agriculture, Velayat University, Iranshahr, Iran

2. Contribution from Department of Agronomy, College of Agriculture & Research Center for Plant Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

3. Contribution from Crop Production, Higher Education Complex of Saravan, Saravan, Iran  
(ziaeimasoud@yahoo.com; mitra\_jabbari@yahoo.com, respectively)

Received: 2 May 2012

Accepted: 18 August 2013

### Abstract

Long season and high temperature during spring in hot and dry areas has led to tendency for autumn planting. In order to evaluation of chickpea (*Cicer arietinum* L.) autumn planting possibility, a field experiment was done at the Agricultural Faculty and Natural Resources of Saravan Research Field in 2010. Experimental design was done as split plots based on randomized complete block design with three replications. The main plots and subplots included three planting dates (11 Oct., 2 Nov., 22 Nov), and five chickpea genotypes (MCC488, MCC208, MCC258, MCC770, MCC361), respectively. The effect of planting date on plant height, pod number per plant, seed number per plant, empty pods, 100-seed weight, biological and seed yield and harvest index was significant. The highest seed yield was achieved in first planting date (11 Oct.). Plant dry matter production and seed yield decreased with delaying of planting date. The effect of genotype on all measured parameters, was also significant ( $p \leq 0.05$ ) and the genotype MCC361 had the highest seed yield ( $204 \text{ g.m}^{-2}$ ). The interaction effect of planting date and genotype was significant and MCC361 had the highest seed yield (with average  $255 \text{ g.m}^{-2}$ ) at first planting date (11 Oct.) and the lowest yield was belong to genotype MCC 770 ( $17.55 \text{ g.m}^{-2}$ ) at second planting date (22 Nov.). There were good correlation coefficient between seed yield with number of pod per plant ( $r = 0.84^{**}$ ), number of seed per plant ( $r = 0.63^{**}$ ), biological yield ( $r = 0.55^{**}$ ) and harvest index ( $r = 0.55^{**}$ ). Although the results showed that the autumn planting of chickpea in Saravan region has been successful, but to obtain more reliable results, continuation of these experiments and more accurate response to the winter chickpea planting is recommended.

**Key words:** Chickpea, Genotype, Planting date, Yield, Yield components

---

\*Corresponding Author: mohsen.zafarani@yahoo.com, Mobile: 09151033794

## بررسی مزیت نسبی طرح آلفا لاتیس نسبت به طرح بلوک‌های کامل تصادفی (*Cicer arietinum* L.)

همايون کانونی<sup>۱\*</sup> و محمد امتیاز<sup>۲</sup>

۱- استادیار مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان کردستان

۲- محقق اصلاح نباتات و نماینده مرکز بین‌المللی سیمیت در پاکستان، اسلام‌آباد

(سمت قبلی: پژوهشگر اصلاح نخود، مرکز بین‌المللی تحقیقات کشاورزی در مناطق خشک (ایکاردا)، حلب، سوریه)

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۰۶/۰۹

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۳/۱۹

### چکیده

ساختار طرح‌های آلفا لاتیس این امکان را فراهم می‌سازد که اثر بلوک ناقص از اثر باقی‌مانده کرت‌ها حذف شده و دقت مقایسات بین ژنتیپ‌ها در یک بلوک ناقص به حداقل برود. در این تحقیق، به منظور ارزیابی ژرم‌پلاسم بین‌المللی نخود از لحاظ عملکرد دانه و سایر صفات زراعی و مقایسه طرح‌های آلفا لاتیس با طرح بلوک‌های کامل تصادفی از نقطه‌نظر توانایی شناسایی لاین‌های مطلوب، دو آزمایش خزانه بین‌المللی لاین‌های برگزیده نخود CIEN-S-2010 و CIEN-LA-2010 (Chickpea International Elite Nursery) با عنوانین ۱۳۸۹-۹۰ در شرایط دیم ایستگاه سارال کردستان به مرحله اجرا درآمدند. این دو آزمایش هرکدام شامل ۴۵ لاین آزمایشی نخود کابلی بودند که به صورت آلفا لاتیس ۹×۵ با دو تکرار، در نیمه دوم اسفند ۱۳۸۹ کشت گردیدند. با توجه به ویژگی‌های آزمایشات، عملیات اجرایی و یادداشت‌برداری‌هایی مانند تعداد روز از کاشت تا گلدهی، تعداد روز از کاشت تا رسیدگی، ارتفاع بوته، وزن ۱۰۰ دانه و عملکرد دانه در موعد مقرر انجام شدند. بر اساس تجزیه واریانس، در هر دو آزمایش، اختلاف معنی‌دار بین ژنتیپ‌های تحت مطالعه وجود داشت. از خطای معیار میانگین عملکرد ژنتیپ‌ها برای برآورد مزیت نسبی طرح آلفا لاتیس استفاده شد. نتایج نشان داد که تجزیه آلفا لاتیس، کارآیی بیشتری نسبت به بلوک‌های کامل تصادفی در هر دو آزمایش داشته و موجب تغییر در رتبه عملکرد دانه در لاین‌های آزمایشی شد. در مجموع، لاین‌های FLIP 05-55C (با عملکرد ۹۹۲ کیلوگرم در هکتار) و FLIP06-159C (با عملکرد ۷۷۳ کیلوگرم در هکتار)، به ترتیب در آزمایشات CIEN-S-2010 و CIEN-LA-2010 رتبه اول را به دست آورden. از نتایج این تحقیق در مطالعات آتی می‌توان استفاده کرد.

**واژه‌های کلیدی:** آزمایشات مقایسه عملکرد، طرح آلفا لاتیس، عملکرد دانه، نخود زراعی (*Cicer arietinum* L.).

به عنوان یک صفت پیچیده اساساً دارای وراثت‌پذیری پایینی بوده و تحت تأثیر صفات دیگر نیز قرار می‌گیرد، گزینش تکبوته ممکن است مؤثر نباشد (Kanouni & Malhotra, 1993) و باید از روش‌هایی استفاده کرد که در آن‌ها نوعی آزمون نتاج وجود داشته باشد (Sandha & Chandra, 1967). آگاهی از حجم تنوع موجود در یک گونه برای مطالعات ژنتیکی و اصلاح نباتات اهمیت زیادی دارد، زیرا می‌تواند مبنایی برای گزینش مؤثر ژنتیپ‌های مورد نظر باشد (Danehloueiipour et al., 2007).

در برخی از آزمایش‌های کشاورزی، تعداد تیمار به قدری زیاد است که چنانچه همه آنها در یک بلوک قرار گیرند، شرط یکنواختی واحدهای آزمایشی در درون بلوک کامل از بین می‌رود و لازم است از بلوک‌های ناقص استفاده شود (Patterson & Williams, 1976). مورد دومی که استفاده از طرح بلوک‌های ناقص را ایجاب می‌کند، زمانی است که

### مقدمه

ایران با سطح زیرکشت حدود ۷۵۰ هزارهکتار نخود در سال، رتبه چهارم جهان را پس از هندوستان، پاکستان و ترکیه دارا است و بیش از ۹۵ درصد کشت نخود در کشور به صورت دیم صورت می‌گیرد (Sabaghpour, 2006). در بین جبوهات کشور، از نظر میزان سطح زیرکشت مقام اول متعلق به نخود است و بیشترین سطح زیرکشت به ترتیب مربوط به استان‌های کرمانشاه، لرستان، آذربایجان غربی، کردستان و آذربایجان شرقی می‌باشد (Majnoun-Hosseini, 2014).

هدف اصلی و نهایی برنامه‌های اصلاحی، بهبود کیفیت محصول و افزایش عملکرد است. اما به دلیل این که عملکرد

\*نویسنده مسئول: سنتنج، خیابان پاسداران، صندوق پستی: ۷۱۴، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی کردستان، پخش تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، hkanouni@yahoo.com، تلفن: ۰۲۲۱-۰۸۷۱-۶۶۶۰، همراه: ۹۱۸۳۷۱۴۳۱۵

تفاوت معنی دار<sup>۲</sup> برای آزمایشات اجرا شده به صورت آلفالاتیس و تجزیه شده به دو صورت آلفا لاتیس و بلوک های کامل تصادفی است (Patterson & Ahn, 1997; Chaudhary & Ahn, 1997). بر اساس نتایج حاصل از چنین مقایساتی Williams, 1976 در مؤسسه بین المللی تحقیقات برنج<sup>۳</sup>، در آزمایشات واحد تعداد کمی لاین در پلات های بزرگ، بین آزمایشات آلفا لاتیس و بلوک های کامل، تفاوت چندانی نبود و سودمندی آلفا لاتیس زیاد نبود؛ ولی در آزمایشاتی که به صورت کرت های تکریدیه و با تعداد ژنتیپ زیاد اجرا شدند، خطای معیار در آزمایشات آلفا لاتیس نسبت به بلوک کامل بسیار کاهش یافت (Kashif et al., 2011a). به طور کلی، طرح های آلفا لاتیس، یک روش خالی از ریسک برای افزایش دقت آزمایشات مزرعه ای هستند. ضمناً اجرای طرح های بلوک ناقص، هزینه بیشتری نسبت به بلوک کامل دربر ندارند (Yau, 1997).

این تحقیق، به منظور بررسی ژرم پلاسم بین المللی نخود از لحاظ عملکرد دانه و سایر صفات زراعی و ارزیابی کارآیی نسبی طرح های آلفا لاتیس بر طرح بلوک های کامل تصادفی از نقطه نظر توانایی شناسایی لاین های پرمحلول و واحد صفات مطلوب انجام شد.

### مواد و روش ها

به منظور شناسایی لاین های نخود تیپ کابلی با عملکرد دانه بالاتر از رقم یا ارقام شاهد و دارای صفات زراعی مطلوبی مانند ارتفاع بوته زیاد و وزن ۱۰۰ دانه بالا، دو آزمایش بین المللی با عنوانین CIEN-S-2010 و CIEN-LA-2010 تحت شرایط کشت بهاره دیم در ایستگاه سارال کردستان اجرا شدند. این ایستگاه در ارتفاع ۲۱۲۰ متری از سطح دریا با طول جغرافیایی ۴۰ درجه و ۷۶ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۴۰ دقیقه شمالی، جزو مناطق استپی سرد محسوب شده و دارای رژیم رطوبتی خشک<sup>۴</sup> و رژیم حرارتی میانی<sup>۵</sup> است. از نقطه نظر فیزیو گرافی، این منطقه در زمرة فلات های مسطح مرتفع<sup>۶</sup> دسته بندی می شود. محل اجرای این آزمایشات، دارای خاک خیلی عمیق به رنگ قهوه ای روشن (7.5 YR 6.4)، بافت متوسط و ساختمان دانه ای و کلوخه ای بود که بر روی طبقاتی به رنگ روشن تا صورتی (7.5 YR 6.5/4) با بافت سنگین و ساختمان توده ای حاوی مقادیر زیادی آهک بی شکل<sup>۷</sup> قرار گرفته بود (Ammari,

تعداد واحد های آزمایشی در هر بلوک، از تعداد تیمارها کمتر است (Yazdi-samadi et al., 2002). مهم ترین مزیت طرح های بلوک ناقص این است که در آن ها می توان تعداد زیادی تیمار (۲۰۰ یا بیشتر) را مورد مطالعه قرار داد، در حالی که در طرح بلوک های کامل تصادفی محدودیت در تعداد تیمار وجود دارد. این مزیت به ویژه برای آزمایش های فاکتوریل که در آن ها تعداد تیمار زیاد است، حائز اهمیت می باشد و می توان این آزمایش ها را به صورت طرح بلوک های ناقص پیاده کرد (Patterson et al., 1978). مزیت دیگر طرح های بلوک ناقص، بالارفتن دقت در مقایسه با طرح های بلوک های کامل می باشد. در اینجا، با زیاد شدن تعداد تیمار، اندازه تکرار بزرگ نمی شود و می توان با استفاده از بلوک های کوچک در هر تکرار، میزان دقت آزمایش را افزایش داد. چنانچه ماده آزمایشی دارای تغییرات زیادی بوده و بتوان آن را به گروه های مناسبی تقسیم نمود، استفاده از طرح های بلوک های ناقص حتی برای تعداد کم تیمار نیز ممکن است منجر به افزایش دقت گردد (Lamo et al., 2007). یکی دیگر از مزایای طرح های بلوک ناقص این است که بسیاری از آن ها را در صورت لزوم می توان به صورت طرح بلوک های کامل تصادفی مورد تجزیه آماری قرار داد (Yau, 1997). از معايب طرح های بلوک های ناقص، دو مورد را می توان ذکر کرد. اول این که چون همه تیمارها در هر بلوک قرار ندارند، اثرات تیمار و بلوک تا حدودی اختلاط می یابند. به این علت، داده های حاصل از این طرح ها باید به طرز خاصی مورد تجزیه آماری قرار گیرند. عیب دوم این طرح ها پیچیده و طولانی بودن تجزیه آماری است (Yazdi-Samadi et al., 2002).

طرح های آلفا لاتیس طرح های تکرار داری هستند که در آن ها تکرارها به بلوک های ناقص که حاوی بخشی از لاین های تحت بررسی می باشند، تقسیم می گردد. در این طرح، ژنتیپ ها در داخل بلوک ها طوری توزیع می شوند که هر جفت از آن ها در یک بلوک ناقص مشابه، با فراوانی تقریباً مساوی در کنار هم قرار می گیرند. لذا ساختار طرح، این امکان را فراهم می سازد که اثر بلوک ناقص از باقی مانده کرت ها حذف شده و استفاده از مقایسات بین ژنتیپ ها در یک بلوک ناقص به حداقل برسد (Kashif et al., 2011b).

سؤال اصلی این است که طرح های آلفا لاتیس چقدر در افزایش دقت اندازه گیری میانگین ژنتیپ ها در آزمایشات مقایسه عملکرد در شرایط دیم مؤثر هستند. راه های مختلفی برای پاسخ به این سؤال وجود دارد. یکی از آن ها مقایسه کردن خطای معیار میانگین<sup>۸</sup> یا یک آماره مرتبط، مانند حداقل

<sup>2</sup> Least Significant Difference (LSD):  $t_{\alpha, df} (S_d)$

<sup>3</sup> International Rice Research Institute (IRRI)

<sup>4</sup> Xeric

<sup>5</sup> Mesic

<sup>6</sup> Plateaux

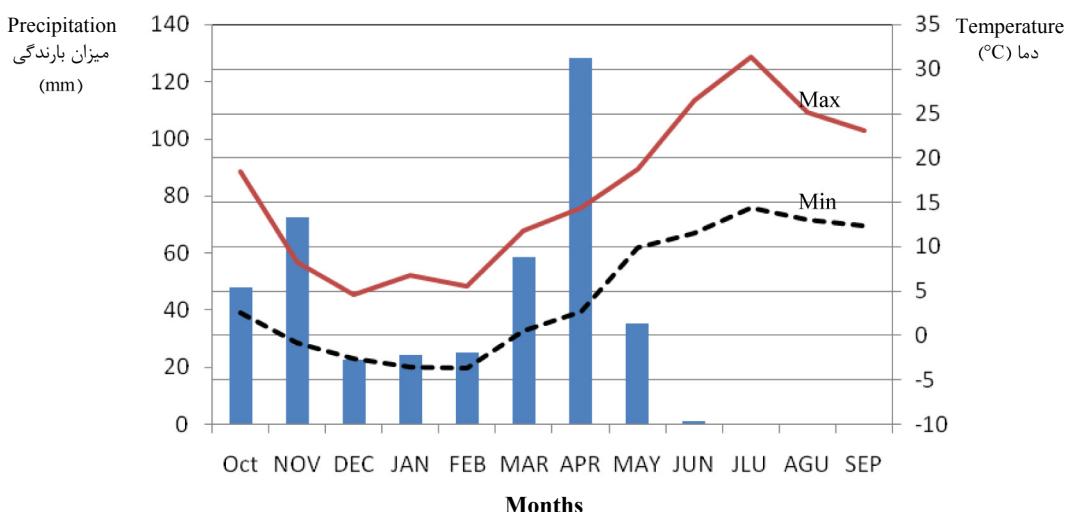
<sup>7</sup> Amorphous lime

<sup>8</sup> Standard Error of the Mean (SEM):  $S_x = \sqrt{\frac{MS_e}{n}}$

به اضافه چهار شاهد بین‌المللی با اسمی FLIP 85-85C، FLIP 82-150C، FLIP 93-93C، FLIP 482 و ILC 482 شاهد محلی (jm) با دو تکرار، و آزمایش CIEN-LA-2010 نیز به صورت طرح آلفا ۹×۵ (۴۰ لاین آزمایشی به اضافه چهار شاهد بین‌المللی با اسمی FLIP 85-5C، FLIP 88-85C، ILC 464 و FLIP 93-93C) بدلاً شاهد محلی (jm) در دو تکرار کشت شدند. واحدهای آزمایشی شامل دو خط چهارمتری به فواصل ۳۰ سانتی‌متر از یکدیگر بودند و بذور به فواصل ۱۰ سانتی‌متری هم روی خطوط قرار گرفتند.

۱۹۹۱)، در شکل ۱، میزان بارندگی و دمای ماهیانه ایستگاه اقلیم‌شناسی سارال کردستان در سال زراعی ۱۳۸۹-۹۰ نشان داده شده است.

آزمایشات در ۲۷ اسفند ۱۳۸۹ در زمین زراعی تحت آیش که عملیات خاک‌ورزی آن به موقع انجام شده بود، کشت شدند. بذور در مبدأ (مرکز بین‌المللی ایکاردا) با قارچ کش ویتاواکس ۲۰۰ ضدعفونی شده بودند و قبل از کاشت، ۳۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار مصرف شد. آزمایش CIEN-S-2010 به صورت طرح آلفا ۹×۵ (۴۰ لاین آزمایشی



شکل ۱ - نمودار دما و بارندگی محل اجرای آزمایش در سال زراعی ۱۳۸۹-۹۰

Fig. 1. Monthly rainfall and maximum and minimum temperatures during cropping season of 2009-10

## نتایج و بحث

### نتایج آزمایش CIEN-LA-2010

این آزمایش که با ۴۵ لاین نخود سفید در قالب طرح آلفا ۹×۵ کشت و اجرا شد، ابتدا به صورت طرح بلوک کامل تجزیه واریانس شد (جدول ۱). بر اساس این تجزیه، تفاوت بین لاین‌ها از لحاظ تعداد روز از کاشت تا گلدهی، ارتفاع بوته و وزن دانه در سطح احتمال ۱ درصد و از لحاظ عملکرد دانه در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود. ژنوتیپ‌های آزمایشی از نظر درصد استقرار بوته تفاوتی با یکدیگر نداشتند. بیشترین و کمترین ضریب تغییرات به ترتیب مربوط به درصد استقرار و تعداد روز از کاشت تا رسیدگی بود.

جدول ۲، میانگین عملکرد دانه و سایر صفات یادداشت‌برداری شده در طرح بلوک کامل تصادفی را نشان می‌دهد. به طوری که ملاحظه می‌شود، لاین‌هایی مانند FLIP 88-85C و FLIP 05-55C به طور معنی‌داری بالاتر از

در طول دوره داشت، از صفاتی مانند درصد سبز محصول، تعداد روز از کاشت تا گلدهی، تعداد روز از کاشت رسیدگی و ارتفاع بوته یادداشت‌برداری شد و پس از برداشت، وزن ۱۰۰ دانه و عملکرد دانه هر واحد آزمایشی تعیین و ثبت گردید. اثر طرح آلفا لاتیس از طریق محاسبه مزیت آن نسبت به طرح RCB ارزیابی شد. این کارآیی بر اساس خطای معیار میانگین (SEM) عملکرد دانه ژنوتیپ‌ها برآورد گردید. هر آزمایش یکبار بر اساس طرح RCB و یک بار بر اساس طرح α-lattice تجزیه شد و مزیت نسبی<sup>۱</sup> به کمک رابطه زیر به دست آمد (Kashif et al., 2011b):

$$RE = [(\text{SE}_{\text{lattice}} / \text{SE}_{\text{RCB}}) \times 100]$$

تجزیه واریانس صفات و سایر محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزار Genstat نسخه ۹/۱ (Genstat 9.1, 2006) انجام شد.

<sup>۱</sup> Relative efficiency (RE)

(Sabaghpour, 2006). در این آزمایشات، تلاش بر این است تا لاین‌های دارای عملکرد و وزن ۱۰۰ دانه بالا گزینش شوند. به وجود رابطه مثبت بین این دو صفت، در برخی از منابع اشاره شده است (Toker, 2008). در این تحقیق، همبستگی بین عملکرد و وزن ۱۰۰ دانه مثبت و معنی‌دار بود ( $r^2 = 0.36^{**}$ ) و لاین دارای بیشترین میزان عملکرد دانه (زنوتیپ شماره ۶) از وزن ۱۰۰ دانه بالایی (۴۳ گرم) برخوردار بود. لذا این لاین در آزمایشات بعدی باستی بیشتر مورد توجه قرار گیرد.

شاهد (رقم جم) بوده و عملکرد دانه خوبی را در شرایط دیم تولید کرده‌اند. در شرایط اجرای آزمایش 2010 CIEN-LA-2010، بیشترین و کمترین عملکرد دانه به ترتیب مربوط به لاین‌های FLIP 05-55C (۹۹۲ کیلوگرم در هکتار) و 06-94C (۴۱۴ کیلوگرم در هکتار) بود. لاین‌های آزمایشات بین‌المللی با عبارت اختصاری LA (آمریکای لاتین) غالباً دارای وزن ۱۰۰ دانه بالا هستند (ICARDA, 2004)، ولی عملکرد دانه چنین زنوتیپ‌هایی در شرایط اقلیمی غرب و شمال‌غرب کشور معمولاً کم است.

جدول ۱- تجزیه واریانس عملکرد دانه و سایر صفات در آزمایش CIEN-LA-2010

Table 1. Analysis of variance for seed yield and other characteristics in CIEN-LA-2010

منابع تغییر SOV	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean of Squares					
		DF	DM	PHT	ST	100SW	YLD
(تکرار) Rep.	1	65.88	19.60	3.21	0.28	25.07	2595.7
(زنوتیپ) Genotype	44	9.17 <sup>**</sup>	4.81 <sup>ns</sup>	16.17 <sup>**</sup>	1.14 <sup>ns</sup>	21.34 <sup>**</sup>	31175*
(خطای آزمایشی) Error	44	2.28	4.42	0.23	1.07	6.65	18894
درصد ضریب تغییرات Coefficient of Variation (%)		2.15	1.73	1.75	40.02	6.91	20.66

اختصارات: DF: تعداد روز از کاشت تا گلدهی، DM: تعداد روز از کاشت تا رسیدگی، PHT: ارتفاع بوته، ST: نمرة استقرار بوته، 100SW: وزن ۱۰۰ دانه، YLD: عملکرد دانه

Abbreviations: DF: Days to flowering, DM: days to maturity, PHT: Plant height, ST: Stand, 100SW: 100 seeds weight, YLD: Seed yield

\* and \*\* : Significant at 5 and 1 percent levels, respectively.

ns: Non- significant

و \*\* به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد؛

غیر معنی‌دار

در هر دو حالت، رتبه اول را در این بررسی به دست آورده است.

ترتیب رتبه میانگین‌ها در طرح آلفا (میانگین حداقل مربعات) و طرح بلوك (میانگین‌های معمولی) قدری با یکدیگر متفاوت بود (جدول ۴). رتبه میانگین برای لاین‌هایی مانند ۴ و ۶ و ۱۵ تفاوتی در دو حالت ندارد. در حالی که رقم شماره ۵ که در RCBD در رتبه پنجم قرار داشت، با کاهش عملکرد معادل ۴۴ کیلوگرم در هکتار به رتبه هشتم در آلفا لاتیس نزول کرد. از طرف دیگر، واریته شماره ۴۳، از رتبه سوم در RCBD به رتبه دوم در آلفا لاتیس صعود کرد.

#### نتایج آزمایش CIEN-S-2010

آزمایش CIEN-S-2010 نیز با ۴۵ لاین نخود تیپ کابلی در طرح آلفا لاتیس  $9 \times 5$  اجرا شد. تجزیه واریانس این آزمایش به صورت طرح بلوك کامل انجام و نتایج آن در جدول ۵ نشان داده شده است. چنانچه مشاهده می‌گردد، تفاوت بین لاین‌ها از لحاظ درصد استقرار بوته در سطح احتمال ۵ درصد و از نظر

تجزیه واریانس عملکرد دانه این آزمایش به صورت طرح آلفا نشان داد که اثر بلوك، غیرمعنی‌دار و اثر زنوتیپ در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). همچنین خطای میانگین و ضریب تغییرات به ترتیب برابر با ۹۴/۴۳ و ۱۹/۰۶ بود که در مقایسه با این مقدادر در تجزیه طرح بلوك کامل، کوچکتر بودند. از آنجا که CV به عنوان معیاری برای میزان اعتبار و دقت آزمایشات به کار برده می‌شود. این افزایش دقت در طرح آلفا لاتیس می‌تواند به نحو بهتری تفاوت‌های معنی‌دار بین لاین‌ها را نسبت به طرح RCBD مشخص نماید (Lafitte et al., 2006).

میانگین معمولی زنوتیپ‌ها در طرح بلوك‌های کامل تصادفی و میانگین حداقل مربعات<sup>۱</sup> آن‌ها در طرح آلفا-لاتیس محاسبه و به همراه رتبه لاین‌ها در جدول ۴ درج شدند. مزیت نسبی طرح آلفا نسبت به بلوك، معادل ۲/۳۱۹ براورد شد. به طوری که ملاحظه می‌گردد، لاین شماره ۶ (FLIP05-55C) از لحاظ درصد استقرار بوته در سطح احتمال ۵ درصد و از نظر

<sup>1</sup> Least Square Means

کمترین ضریب تغییرات به ترتیب مربوط به درصد استقرار بوته و تعداد روز از کاشت تا رسیدگی بود.

تعداد روز از کاشت تا گلدهی، ارتفاع بوته، وزن ۱۰۰ دانه و عملکرد دانه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. بیشترین و

**جدول ۲- میانگین عملکرد دانه و سایر صفات زراعی در آزمایش CIEN-LA-2010**

**Table 2. Mean of seed yield and other agronomic traits for CIEN-LA-2010**

ردیف No.	نام لاین Entry name	مبدأ Origin	ST	DF	DM	PHT (cm)	100SW (g)	YLD (kg/ha)	%Check
1	FLIP97-706C	ICARDA	3	65	121	29.5	37.5	620.8	87
2	FLIP01-29C	ICARDA	1	72	121	28.0	41.0	689.6	96
3	FLIP03-22C	ICARDA	2	71	123	27.0	42.0	689.6	96
4	FLIP03-27C	ICARDA	2	68	122	28.0	39.0	710.4	99
5	FLIP03-100C	ICARDA	1	71	122	26.0	38.5	791.7	110
6	FLIP05-55C	ICARDA	1	71	123	27.5	43.5	922.9	129
7	FLIP05-60C	ICARDA	3	67	121	23.0	39.5	625.0	87
8	FLIP05-157C	ICARDA	2	68	121	34.5	41.5	681.3	95
9	FLIP06-13C	ICARDA	2	72	116	25.5	37.0	614.6	86
10	FLIP06-15C	ICARDA	3	69	121	27.0	35.0	454.2	63
11	FLIP06-33C	ICARDA	3	66	120	25.5	36.5	621.9	87
12	FLIP06-34C	ICARDA	2	73	124	27.0	36.0	604.2	84
13	FLIP06-39C	ICARDA	3	70	122	32.5	37.5	554.2	77
14	FLIP06-51C	ICARDA	3	71	121	26.0	37.0	575.0	80
15	FLIP06-52C	ICARDA	2	71	121	30.5	36.0	618.8	86
16	FLIP06-59C	ICARDA	3	66	124	27.0	40.0	629.2	88
17	FLIP06-64C	ICARDA	3	71	122	26.0	38.0	585.4	82
18	FLIP06-65C	ICARDA	2	66	123	30.0	37.5	618.8	86
19	FLIP06-69C	ICARDA	3	68	120	30.5	38.5	556.3	77
20	FLIP06-75C	ICARDA	2	66	120	26.5	34.0	564.6	79
21	FLIP06-80C	ICARDA	3	70	121	32.5	36.5	602.1	84
22	FLIP06-86C	ICARDA	2	66	120	25.0	35.0	497.9	69
23	FLIP06-87C	ICARDA	2	68	119	32.0	38.5	593.8	83
24	FLIP06-88C	ICARDA	3	67	122	30.5	34.5	620.8	87
25	FLIP06-90C	ICARDA	2	69	122	31.0	37.5	654.2	91
26	FLIP06-92C	ICARDA	3	68	124	30.5	39.0	597.9	83
27	FLIP06-93C	ICARDA	3	68	125	23.0	35.0	462.5	64
28	FLIP06-94C	ICARDA	3	72	120	25.0	38.0	414.6	58
29	FLIP06-96C	ICARDA	3	67	121	30.0	37.5	720.8	101
30	FLIP06-97C	ICARDA	2	69	121	25.5	38.0	677.1	94
31	FLIP06-102C	ICARDA	2	69	120	27.5	34.5	556.3	77
32	FLIP06-105C	ICARDA	2	72	121	33.0	39.5	612.5	85
33	FLIP06-109C	ICARDA	2	66	123	26.5	33.5	533.3	74
34	FLIP06-110C	ICARDA	3	68	120	30.0	38.5	458.3	64
35	FLIP06-121C	ICARDA	4	65	121	28.5	34.0	495.8	69
36	FLIP06-128C	ICARDA	3	71	121	22.0	32.5	437.5	61
37	FLIP06-133C	ICARDA	3	69	121	25.0	38.0	629.2	88
38	FLIP06-155C	ICARDA	3	69	123	23.5	38.0	658.3	92
39	FLIP06-159C	ICARDA	2	68	122	25.5	40.0	791.7	110
40	FLIP06-160C	ICARDA	1	67	119	27.0	41.0	812.5	113
41	FLIP88-85C	ICARDA	2	69	121	24.0	31.8	845.8	118
42	FLIP93-93C	ICARDA	1	71	122	26.0	31.5	600.0	84
43	FLIP 85-5C	ICARDA	2	71	120	26.5	35.5	835.4	117
44	ILC 464	ICARDA	1	69	121	27.0	46.5	766.7	107
45	Jam(check)	Iran	2	69	123	26.0	28.5	713.5	100
	LSD 5%	-	-	-	-	-	-	262.3	-

See table 1 for abbreviations.

برای اختصارات به جدول ۱ مراجعه شود.

جدول ۳- تجزیه واریانس عملکرد دانه لاین‌های نخود در دو آزمایش حالت طرح آلفا لاتیس

Table 3. Analysis of variance for seed yield of two experiments in alpha-lattice

SOV	منابع تغییر	درجه آزادی df	میانگین مربعات (MS)	
			CIEN-LA-2010	CIEN-S-2010
Rep	نکار	1	33213.12	10135.03
Block(adj.)	بلوک (تصحیح شده)	8	11171.53 <sup>ns</sup>	8163.22 <sup>ns</sup>
Genotype	ژنتیپ	44	4066.23	2943.92
Genotype(adj.)	ژنتیپ (تصحیح شده)	44	21587.05*	15535.17*
Error	خطا	36	11993.17	8624.28
CV%	درصد ضریب تغییرات	-	19.06	14.11
SEM	خطای معیار میانگین	-	94.43	59.66

جدول ۴- مقایسه میانگین عملکرد لاین‌های آزمایشی در تجزیه آزمایش CIEN-LA-2010 به صورت آلفا لاتیس و بلوک کامل

Table 4. Ranks and mean yield values in RCBD and alpha lattice designs for CIEN-LA-2010

ردیف No.	میانگین عملکرد Mean yield (RCBD)	رتبه Rank	میانگین عملکرد Mean yield ( $\alpha$ -Lattice)	رتبه Rank
1	620.8	21	640.1	20
2	689.6	12	674.9	13
3	689.6	11	671.4	14
4	710.4	10	709.3	10
5	791.7	5	748.0	8
6	922.9	1	886.5	1
7	625.0	19	645.3	18
8	681.3	13	647.3	17
9	614.6	25	590.7	31
10	454.2	43	467.6	43
11	621.9	20	621.6	22
12	604.2	27	558.1	34
13	554.2	37	546.6	35
14	575.0	33	594.8	29
15	618.8	23	613.0	23
16	629.2	17	592.0	30
17	585.4	32	586.7	32
18	618.8	24	645.0	19
19	556.3	35	534.4	38
20	564.6	34	540.2	36
21	602.1	28	607.9	25
22	497.9	39	502.7	40
23	593.8	31	651.5	15
24	620.8	22	606.7	26
25	654.2	16	647.5	16
26	597.9	30	601.0	28
27	462.5	41	470.8	42
28	414.6	45	438.0	45
29	720.8	8	717.1	9
30	677.1	14	675.6	12
31	556.3	36	584.3	33
32	612.5	26	604.6	27
33	533.3	38	538.7	37
34	458.3	42	527.1	39
35	495.8	40	502.2	41
36	437.5	44	459.7	44
37	629.2	18	608.1	24
38	658.3	15	681.3	11
39	791.7	6	778.1	5
40	812.5	4	785.9	4
41	845.8	2	812.4	3
42	600.0	29	632.3	21
43	835.4	3	855.1	2
44	766.7	7	758.6	6
45	713.5	9	755.6	7

See Table 1 for abbreviations.

برای اختصارات به جدول ۱ مراجعه شود

جدول ۵ - تجزیه واریانس عملکرد دانه و سایر صفات در آزمایش CIEN-S-2010

Table 5. Analysis of variance for seed yield and other characteristics in CIEN-S-2010

منابع تغییر SOV	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean of Squares					
		DF	DM	PHT	ST	100SW	YLD
Rep. (تکرار)	1	0.91	0.18	4.91	4.90	10.68	413445
Genotype (ژنتیپ)	44	17.01**	4.71**	16.11**	1.31*	23.81**	15539**
Error (خطای آزمایشی)	44	2.51	0.29	0.61	0.76	4.75	7104
درصد ضرب تغییرات Coefficient of variation (%)		2.29	0.44	3.43	26.66	6.42	13.79

See Table 1 for abbreviations.

\* and \*\*: Significant at 5 and 1 percent levels, respectively.

ns: Non-significant

برای اختصارات به جدول ۱ مراجعه شود.

\* به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد؛

ns: غیرمعنی دار

در رتبه‌بندی ارقام و لاین‌های آزمایشی ملاحظه می‌گردد (جدول ۷).

رتبه‌بندی میانگین لاین‌های آزمایشی در دو طرح بلوک و آلفا، تا حدّی متفاوت بود. لاین شماره ۳۹ رتبه خود را در هر دو حالت حفظ نمود. لاین شماره ۶ که در RCBD در رتبه چهارم قرار داشت، با تصحیح (افزایش) عملکرد معادل ۱۴ کیلوگرم در هکتار، به رتبه سوم در آلفا لاتیس صعود کرد، در حالی که ژنتیپ شماره ۵ با تصحیح (کاهش) عملکردی در حدود ۲۲ کیلوگرم در هکتار، از رتبه پنجم در RCBD به رتبه ششم در آلفا لاتیس نزول کرد.

تناقض‌ها در رتبه‌بندی و کاهش میانگین مربعات خطا در طرح آلفا لاتیس حاکی از آن است که طرح آلفا لاتیس برای پیداکردن تفاوت‌های ژنتیپی، از RCBD بهتر عمل کرده و لذا می‌تواند کارآیی آزمایشات مزرعه‌ای را بهبود بخشد (Kashif, 2001b).

از آنجا که طرح آلفا لاتیس کنترل مؤثرتری را در تغییرپذیری داخل تکرارها فراهم می‌کند، با توجه به نتایج، به نظر می‌رسد که استفاده از طرح آلفا لاتیس، شانس یافتن تفاوت بین واریته‌ها را تا حد زیادی تقویت می‌کند.

Yau (1996) در بررسی آزمایشات بین‌المللی جو و گندم اعلام کرد وقتی که متوسط واریانس به عنوان معیار مقایسه به کار رفت، طرح‌های آلفا لاتیس به طور متوسط درصد کارآیی بیشتری نسبت به طرح‌های بلوک داشت.

در جدول ۶ میانگین عملکرد دانه و سایر صفات یادداشت برداری شده در این آزمایش درج شده است. بیشترین و کمترین عملکرد دانه به ترتیب مربوط به لاین‌های FLIP06-15C (۷۷۳ کیلوگرم در هکتار) و C (۴۶۴ کیلوگرم در هکتار) بود.

تجزیه واریانس آزمایش CIEN-S-2010 به صورت طرح آلفا لاتیس انجام و در جدول ۳ ارائه شده است. در این حالت نیز تفاوت بین لاین‌های آزمایشی در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار بود. در این تجزیه، خطای معیار میانگین و ضربت تغییرات به ترتیب برابر با ۵۹/۶۶ و ۱۴/۱۱ بود که تفاوت چندانی با این مقادیر در تجزیه طرح بلوک کامل نداشتند.

Paterson & Williams (1976) اظهار داشتند که چنانچه CV طرح آلفا لاتیس کمتر از طرح بلوک کامل به دست نیاید، احتمالاً به دلیل این است که کارآیی طرح آلفا، کمتر از طرح RCBD بوده است. در هر حال، نظر محققان بر این است که در شرایطی که تعداد ژنتیپ‌های تحت بررسی زیاد است، استفاده از طرح آلفا لاتیس به جای طرح RCBD مناسب‌تر خواهد بود (Yau, 1997).

این به نوبه خود، سودمندی ناشی از بلوک‌های ناقص کوچک را به دنبال دارد که به مقایسه واریته‌ها تحت شرایط بسیار هموزن تر کمک می‌کند (Kashif et al., 2011a). در این آزمایش، مزیت نسبی آلفا لاتیس به بلوک کامل، برابر با ۱/۱۹ به دست آمد. در اینجا نیز تفاوت‌های متعددی

**جدول ۶- میانگین عملکرد دانه و سایر صفات زراعی در آزمایش CIEN-S-2010**

Table 6. Mean of seed yield and other agronomic traits for CIEN-S-2010

ردیف No.	نام لاین Entry name	مبدأ Origin	ST	DF	DM	PHT (cm)	100SW (g)	YLD (kg/ha)	%Check
1	FLIP97-706C	ICARDA	3	70	121	23.5	38.5	622.9	86
2	FLIP98-117C	ICARDA	2	67	119	28.0	41.0	616.7	85
3	FLIP99-66C	ICARDA	3	71	121	23.0	32.0	631.3	87
4	FLIP03-23C	ICARDA	5	70	123	24.5	37.0	477.1	65
5	FLIP03-57C	ICARDA	4	67	122	18.0	32.0	550.0	76
6	FLIP03-98C	ICARDA	2	75	123	24.0	33.5	745.8	103
7	FLIP05-12C	ICARDA	5	67	121	26.0	31.0	487.5	67
8	FLIP05-28C	ICARDA	3	67	121	19.5	38.5	615.6	85
9	FLIP05-80C	ICARDA	2	67	119	25.5	41.5	689.6	95
10	FLIP05-99C	ICARDA	4	75	123	18.5	36.0	464.6	64
11	FLIP05-111C	ICARDA	4	68	121	26.5	32.0	581.3	80
12	FLIP05-145C	ICARDA	3	73	121	19.0	32.0	547.9	75
13	FLIP05-147C	ICARDA	2	69	123	22.5	37.5	670.8	92
14	FLIP05-154C	ICARDA	4	66	120	21.0	32.0	533.3	73
15	FLIP05-156C	ICARDA	4	70	123	22.0	37.0	567.7	78
16	FLIP05-162C	ICARDA	2	70	121	23.5	39.0	741.7	102
17	FLIP05-170C	ICARDA	4	70	121	24.5	32.0	505.2	69
18	FLIP06-3C	ICARDA	3	70	123	24.0	29.0	575.0	79
19	FLIP06-4C	ICARDA	3	68	119	23.5	35.5	482.3	66
20	FLIP06-17C	ICARDA	3	71	121	18.0	31.5	575.0	79
21	FLIP06-19C	ICARDA	3	65	121	25.0	33.0	697.9	96
22	FLIP06-27C	ICARDA	3	71	121	24.5	35.0	610.4	84
23	FLIP06-31C	ICARDA	2	67	119	21.5	35.0	760.4	105
24	FLIP06-42C	ICARDA	2	67	123	17.0	34.8	687.5	95
25	FLIP06-45C	ICARDA	4	70	121	21.5	34.0	508.3	70
26	FLIP06-49C	ICARDA	3	66	123	27.0	36.3	545.8	75
27	FLIP06-54C	ICARDA	4	75	121	24.5	33.0	514.6	71
28	FLIP06-55C	ICARDA	3	72	123	19.0	33.5	681.3	94
29	FLIP06-63C	ICARDA	3	65	121	24.0	33.5	647.9	89
30	FLIP06-72C	ICARDA	3	67	123	26.0	33.5	537.5	74
31	FLIP06-98C	ICARDA	3	70	119	23.0	35.5	633.3	87
32	FLIP06-104C	ICARDA	3	70	123	23.0	34.5	512.5	70
33	FLIP06-106C	ICARDA	3	75	123	24.0	32.0	588.5	81
34	FLIP06-107C	ICARDA	2	67	123	26.0	33.5	622.9	86
35	FLIP06-123C	ICARDA	3	65	121	21.5	32.5	585.4	80
36	FLIP06-125C	ICARDA	3	65	122	21.5	33.0	618.8	85
37	FLIP06-139C	ICARDA	4	67	119	21.5	33.5	471.9	65
38	FLIP06-143C	ICARDA	3	68	121	24.0	35.5	595.8	82
39	FLIP06-157C	ICARDA	2	75	121	20.5	36.0	770.8	106
40	FLIP06-158C	ICARDA	2	70	123	27.5	40.0	704.2	97
41	ILC482	ICARDA	2	70	125	18.0	28.0	664.6	91
42	FLIP 82-150C	ICARDA	3	70	121	20.0	23.5	631.3	87
43	FLIP88-85C	ICARDA	2	66	119	18.0	31.0	739.6	102
44	FLIP93-93C	ICARDA	2	71	119	22.0	31.0	770.8	106
45	Jam(check)	Iran	3	67	123	24.0	29.0	722.9	100
LSD 5%			-	-	-	-	-	169	-

See Table 1 for abbreviations.

برای اختصارات به جدول ۱ مراجعه شود.

جدول ۷ - مقایسه میانگین عملکرد لاین‌های آزمایشی در تجزیه آزمایش CIEN-S-2010 با طرح‌های آلفا لاتیس و بلوك کامل

Table 7. Ranks and mean yield values in RCBD and alpha lattice designs for CIEN-S-2010

ردیف No.	میانگین عملکرد Mean yield (RCBD)	رتبه Rank	میانگین عملکرد Mean yield (α-Lattice)	رتبه Rank
1	622.9	19	610.5	23
2	616.7	22	666.4	15
3	631.3	17	642.6	19
4	477.1	43	459.9	43
5	550.0	32	590.2	27
6	745.8	4	760.3	3
7	487.5	41	463.1	42
8	615.6	23	609.5	24
9	689.6	10	678.9	14
10	464.6	45	455.1	44
11	581.3	28	599.0	26
12	547.9	33	505.5	39
13	670.8	13	695.9	9
14	533.3	36	512.1	38
15	567.7	31	624.8	22
16	741.7	5	719.3	6
17	505.2	40	536.9	35
18	575.0	29	572.0	29
19	482.3	42	467.8	41
20	575.0	30	571.7	30
21	697.9	9	696.1	8
22	610.4	24	588.6	28
23	760.4	3	747.7	4
24	687.5	11	682.8	12
25	508.3	39	518.0	37
26	545.8	34	525.0	36
27	514.6	37	538.8	34
28	681.3	12	681.1	13
29	647.9	15	651.2	18
30	537.5	35	550.3	33
31	633.3	16	606.4	25
32	512.5	38	476.3	40
33	588.5	26	627.7	21
34	622.9	20	655.8	16
35	585.4	27	556.3	32
36	618.8	21	653.4	17
37	471.9	44	442.0	45
38	595.8	25	569.4	31
39	770.8	1	778.7	1
40	704.2	8	691.9	11
41	664.6	14	694.3	10
42	631.3	18	631.3	20
43	739.6	6	720.8	5
44	770.8	2	777.4	2
45	722.9	7	703.6	7

See Table 1 for abbreviations.

برای اختصارات به جدول ۱ مراجعه شود.

از آنجاکه تبدیل و تجزیه نهایی با آلفا لاتیس، نیازمند نهادهای خاص یا تغییر در وضعیت اجرای آزمایش نیست، استفاده از طرح‌های آلفا لاتیس در آزمایشات بین‌المللی توصیه شده است (ICARDA, 2004).

آلفا لاتیس عموماً زمانی که آزمایشات بالاست، کارآیی بیشتری دارد. همچنین در آزمایشات کم عملکرد قدری کارآیی بیشتری نسبت به آزمایشات با عملکرد بالا دارد.

این طرح‌ها در آزمایشات دیم بهتر از آزمایشات آبی عمل می‌کند (Chaudhary & Ahn, 1997).

### سپاسگزاری

این مقاله از نتایج پژوهه مصوب مؤسسه تحقیقات کشاورزی دیم کشور به شماره ۱۵-۸۸۰۹۹-۰ استخراج و تهیه شد. نگارندگان مقاله از مؤسسه مذبور و مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی کردستان بخاطر حمایت‌های مالی و

### منابع

1. Ammari, P. 1991. Detailed pedological studies of Saral agricultural research station. Soil and Water Research Institute (SWRI) No. 174.
2. Bagheri, A., Zand, E., and Parsa, M. 1997. Pulses, Constraints and Strategies. Jihad-e- Daneshgahi Publications of Mashhad, Iran. (In Persian).
3. Chaudhary, R.C., and Ahn, S.W. 1996. International network for genetic evaluation of rice (INGER) and its *Modus operandi* for multi-environment testing. In: M. Cooper and G.L. Hammer (Eds.). Plant Adaptation and Crop Improvement. CAB International Wallingford, UK, p. 139-164.
4. Danehloueipour, N., Yan, G., Clarke, H.J., and Siddique, K.H.M. 2007. Diallel analyses reveal the genetic control of resistance to Ascochyta blight in diverse chickpea and wild *Cicer* species. *Euphytica* 154: 195-205.
5. Genstat 9.1. 2006. Genstat Release 9.1 Reference Manual. VSN International, Wilkinson House, Oxford, UK.
6. ICARDA. 2004. New chickpea cultivars for CAC. p. 19-20. In: ICARDA Annual Report 2004. Aleppo, Syria.
7. Kanouni, H., and Malhotra, R.S. 1993. Genetic variation and relationships between agronomic traits of chickpea (*Cicer arietinum* L.) lines at dry conditions. *Iranian Journal of Crop Sciences* 5(3): 185-194.
8. Kashif, M., Inayat Khan, M., Arif, M., Ahmad, M., Mahmood, K. 2011b. Experience in use alpha lattice design in Pakistan. *International Journal of Intelligent Technologies and Applied Statistics*, Taiwan 4(1): 133-146.
9. Kashif, M., Inayat Khan, M., Arif, M., Anwer, M., and Ijaz, M. 2011a. Efficiency of Alpha Lattice Design in Rice Field Trials in Pakistan. *J. Sci. Res.* 3(1): 91-95.
10. Lafitte, H.R., Li, Z.K., Vijayakumar, C.H.M., Gao, Y.M., Shi, Y., Xu, J.L., Fu, B.Y., Yu, S.B., Ali, A.J., Domingo, J., Maghirang, R., Torres, R., and Mackill, D. 2006. Improvement of rice drought tolerance through backcross breeding: Evaluation of donors and selection in drought nurseries. *Field Crops Research* 97: 77-86.
11. Lamo, J., Tongona, P., Okori, P., Derera, D., Bigirwa, G., and Laing, M. 2007. Breeding for drought tolerance and grain threshability in upland rice in Uganda: selection of parents from interspecific and intraspecific lines. 8<sup>th</sup> African Crop Science Society Conference, El-Minia, Egypt, 27-31 October 2007, p. 1885-1891.
12. Majnoun-Hosseini. 2014. Status and role of pulse crops in agriculture of Iran. 5<sup>th</sup> Iranian Pulse Crops Conference, 26 Feb. 2014, Campus of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.
13. Patterson, H.D., and Williams, E.R. 1976. A new class of resolvable incomplete block designs. *Biometrika* 63: 83-92.
14. Patterson, H.D., Williams, E.R., and Hunter, E.A. 1978. Block designs for variety trials. *The Journal of Agricultural Science* 90: 395-400.
15. Sababghpour, S.H. 2006. Challenges and solutions for production of pulse crops in Iran. Appendix No. 8, *Iranian Journal of Crop Sciences*. (In Persian).
16. Sandha, G.S., and Chandra, S. 1969. Heritability of some quantitative characters in tow crosses of Bengal gram. *Indian J. Genetics* 29: 216-219.
17. Toker, C. 2008. Evaluation of yield criteria with phenotypic correlations and factor analysis in chickpea. *Soil Plant Sciences* 54: 45-48.

18. Yau, S.K. 1997. Efficiency of alpha-lattice designs in international variety yield trials of barley and wheat. *The Journal of Agricultural Science, Cambridge*, 128: 5-9.
19. Yazdi-Samadi, B., Rezaei, A., and Valyzadeh, M. 2002. Statistical designs in agricultural research. Tehran University Publications, No. 2346.

## **Relative efficiency of alpha lattice design over randomized complete block design in yield trials of chickpea (*Cicer arietinum* L.)**

**Kanouni<sup>1\*</sup>, H. & Imtiaz<sup>2</sup>, M.**

1. Member of Scientific Board, Food Legume Breeder, Research Center for Agriculture and Natural Resources of Kurdistan
2. Former: Chickpea breeder, International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA), Aleppo, Syria; and Present: Plant Breeder, CIMMYT Country Representative for Pakistan, Islamabad, Pakistan

Received: 1 September 2012

Accepted: 9 June 2014

### **Abstract**

Structure of alpha lattice designs makes removing the effects of incomplete blocks from residual effect of plots, and maximizes precision of comparison between genotypes at the same incomplete block. This investigation was conducted to study the international chickpea germplasm, for finding desirable lines regarding seed yield and other traits. Two trials including CIEN-LA-2010 and CIEN-S-2010 carried out at Saral station of Kurdistan province during 2009-2010 cropping season. CIEN-LA and CIEN-S were sown at normal time, early March and as 9×5 alpha lattice designs with two replications. Considering property of each trial, data recording was done and statistical analyses were performed. According to analysis of variance, there were significant differences between genotypes across two trials. The average standard error of difference between genotypes was used to calculate relative efficiency of alpha lattice design. These results revealed that, alpha lattice had more efficiency over traditional randomized complete block design in both experiments, and ranks of entries were changed in trials. In CIEN-LA and CIEN-S, lines FLIP 05-55C and FLIP 06-159C ranked first for seed yield, respectively. It is necessary to have a more precise look to the best entries of these trials at the next studies.

**Key words:**  $\alpha$ -designs, Chickpea (*Cicer arietinum* L.), International yield trials, Seed yield

---

\*Corresponding Author: hkanouni@yahoo.com, Mobile: 09183714315, P.O. Box: 714, Pasdaran Blvd., Sanandaj, Iran

## بررسی اثر تلقیح بذر نخود زراعی (*Cicer arietinum* L.) با کودهای زیستی ریزوبیومی و ریزوپاکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) بر شاخص‌های رشد و تخصیص مواد فتوستنتزی در شرایط دیم و فاریاب

وحیده خالق‌نژاد<sup>۱</sup> و فرهاد جباری<sup>۲\*</sup>

vahideh.khaleghnezhad@yahoo.com ۱- دانشجوی کارشناسی ارشد زراعت، دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان؛

۲- استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۳/۰۷

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۲/۱۲

### چکیده

به منظور ارزیابی تأثیر نزادهای ریزوبیومی و ریزوپاکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) بر تخصیص مواد فتوستنتزی و برخی پارامترهای مرتبط با رشد گیاه نخود زراعی (*Cicer arietinum* L.) رقم آرمان، آزمایشی به صورت کرت‌های خُردشده در قالب بلوک‌های کامل تصادفی در مزرعه پژوهشی دانشگاه زنجان به مرحله اجرا آمد. در این آزمایش، سطوح آبیاری در دو سطح (آبیاری مطلوب در طی فصل رشد و عدم آبیاری در کل دوره رشد) در کرت‌های اصلی و سطوح کودی در ۷ سطح (شاهد یا عدم مصرف کود شیمیایی و بولوژیکی، مصرف ۵۰ کیلوگرم اوره در موقع کاشت، تلقیح بذر با *Mesorhizobium ciceri* نژاد-3، SWRI-17، تلقیح بذر با SWRI-3+SWRI-17) انجام گردید. نتایج این آزمایش نشان داد که تیمارهای SWRI-17 و SWRI-3+PGPR با نزادهای (SWRI-3+SWRI-17+PGPR) در کرت‌های فرعی قرار گرفتند. نتایج این بررسی نشان داد که فتوستنتزی به نیام‌ها و تخصیص کمتر مواد فتوستنتزی به ساقه‌ها و برگ‌ها، عملکرد دانه بیشتری تولید کردند. در شرایط آبیاری مطلوب نیز تیمار (SWRI-3+SWRI-17+PGPR) با تخصیص بیشتر مواد فتوستنتزی به برگ‌ها که احتمالاً باعث جذب بیشتر تشبع می‌شوند، عملکرد دانه بیشتری تولید کردند. بر اساس نتایج این بررسی، تلقیح بذر با ترکیبی از کودهای زیستی ریزوبیومی و PGPR در هر دو شرایط آبیاری مطلوب و دیم، باعث حصول عملکرد بیشتر نسبت به شاهد کودی یا مصرف کود نیتروژنه اوره می‌شود.

**واژه‌های کلیدی:** تخصیص مواد فتوستنتزی، ریزوپاکتری‌های محرک رشد گیاه، عملکرد دانه، نخود زراعی، نزادهای ریزوبیوم

برای کمبودن عملکرد نخود در ایران وجود دارد، اما بی‌شک مهم‌ترین آن‌ها تنفس خشکی است (Leport *et al.*, 1999). محققان گزارش کردند که مهم‌ترین عامل تعیین‌کننده عملکرد نخود در شرایط دیم، میزان و توزیع بارندگی است (Harriris *et al.*, 2000). نتایج یک بررسی نشان داد عملکرد دانه نخود در اثر آبیاری، ۱۴۲ تا ۷۴ درصد افزایش یافت. روند مشابهی هم در مورد وزن خشک کل مشاهده شد. مشابهی هم در سبزشدن تا بلوغ نسبت به شرایط دیم، عملکرد دانه را ۵۳ درصد افزایش داد. لگوم‌ها می‌توانند نیتروژن مورد نیاز خود را از طریق برقراری ارتباط هم‌زیستی با باکتری‌های ریزوبیوم تأمین نمایند. این باکتری‌ها در گره ریشه‌های گیاهان لگوم وجود دارند و نیتروژن اتمسفری را به فرم قابل استفاده برای گیاه تبدیل می‌کنند. استفاده از

### مقدمه

نخود (*Cicer arietinum* L.) از لحاظ سطح زیرکشت در بین حبوبات، مقام سوم و در بین کلیه گیاهان زراعی مقام نوزدهم را به خود اختصاص داده است و در ۳۴ کشور دنیا کشت می‌شود (Onyari *et al.*, 2010). ایران از لحاظ سطح زیرکشت نخود بعد از هندوستان، ترکیه و پاکستان چهارمین کشور دنیا محسوب می‌شود. متوسط عملکرد نخود در ایران کمتر از نصف متوسط جهانی آن می‌باشد. بیش از ۹۵ درصد سطح زیرکشت نخود در ایران به صورت دیم می‌باشد. بهدلیل فقدان بارندگی طی دوره گل‌دهی، غلاف‌دهی و پُرشد دانه، تنفس خشکی انتهایی، مهم‌ترین عامل بهره‌وری پایین نخود در ایران می‌باشد (Sabaghpour *et al.*, 2006).

\*نویسنده مسئول: زنجان، دانشگاه زنجان، گروه زراعت و اصلاح نباتات

هرماه: Jabbari@znu.ac.ir .. ۰۹۱۲۶۴۲۰۰۷۸

(Zea mays L.) بر اثر تلکیح با PGPR حاوی شیش نژاد باکتریایی (Gholami et al., 2009) از نتایج مطالعات دیگر محققان در رابطه با اثر تلکیح بذر بر عملکرد محصولات زراعی می‌باشد. اثرات تلکیح با باکتری‌های هم‌زیست لگوم‌ها در شرایط تنفس زا (تنفس خشکی) هم مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج حاصل از آزمایشات متعدد نشان می‌دهد که این هم‌زیستی منجر به بروز نوعی سازگاری در گیاه Dazzo et al., 2010) قسمتی از این سازگاری توسط افزایش در سطح تنظیم‌کنندگان اسمزی مانند پرولین در اثر تلکیح ریزوپیومی ایجاد می‌گردد. تلکیح بذور نخود با باکتری‌های رایزوپیوم در شرایط تنفس خشکی نسبت به تیمار عدم تلکیح تحت همین شرایط، موجب افزایش معنی‌دار عملکرد دانه شد (Romdhane et al., 2009). بر اساس مورونهای تکثیری و تأثیر تلکیح بذر نخود با کودهای زیستی ریزوپیومی و PGPR بر تخصیص مواد فتوسنترزی، پژوهشی صورت نگرفته است. بنابراین هدف این تحقیق، بررسی اثر تلکیح بذر نخود با کودهای زیستی ریزوپیومی و ریزوپاکتری‌های محرک رشد گیاه بر روی برخی شاخص‌های رشد، عملکرد دانه و نحوه تخصیص مواد فتوسنترزی بین اندام‌های مختلف گیاه نخود و عملکرد دانه آن می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر تلکیح بذر نخود با کودهای زیستی ریزوپیومی و ریزوپاکتری‌های محرک رشد گیاه بر روی برخی شاخص‌های رشد، عملکرد دانه و نحوه تخصیص مواد فتوسنترزی بین اندام‌های گیاهی گیاه نخود (*Cicer arietinum* L.) آزمایشی به صورت کرت‌های خردشده در قالب بلوك‌های کامل تصادفی در چهار تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه زنجان صورت گرفت. برخی ویژگی‌های اقلیمی محل اجرای آزمایش در جدول ۱ آورده شده است.

در این آزمایش، سطوح آبیاری در دو سطح (آبیاری مطلوب از سبزشدن تا رسیدگی محصول و عدم آبیاری در کل طول دوره رشد) در کرت‌های اصلی و کودهای زیستی و شیمیایی در هفت سطح (شاهد یا عدم کاربرد کود، مصرف ۵۰ کیلوگرم اوره در هکتار در موقع کاشت، تلکیح بذر با *Mesorhizobium ciceri* نژاد SWRI-3، تلکیح با *Mesorhizobium ciceri* نژاد SWRI-3، ترکیب نژادهای ریزوپیومی ۳ و SWRI-17، PGPR، SWRI-17، ترکیب SWRI-3، SWRI-17 و PGPR) در کرت‌های فرعی قرار گرفتند. ریزوپاکتری‌های مورد استفاده تحریک‌کننده رشد گیاه (PGPR)، ترکیبی از

ریزوموجودات خاک، راه حلی پایدار برای غله بر مشکلات زیست‌محیطی ناشی از تلفات عناصر غذایی و افزایش عملکرد بهدلیل عدم وجود کودهای شیمیایی در کشت‌بوم‌های فعلی و آینده بهشمار می‌رود. این موجودات سبب استفاده کارآمدتر از عناصر غذایی و بهبود قابلیت دسترسی آن‌ها می‌شوند. گروه دیگری از باکتری‌های خاک‌زی که اثرات مفیدی بر رشد و نمو گیاه می‌گذارند، ریزوپاکتری‌های محرک رشد گیاه<sup>۱</sup> (PGPR) می‌باشند. PGPR قادر است رشد و عملکرد محصولات زراعی را از طریق مکانیزم‌های مستقیم و غیرمستقیم افزایش دهد. مکانیزم‌های مستقیم افزایش رشد گیاه توسط PGPR از طریق سنتر مواد توسط باکتری‌ها و یا افزایش جذب مواد غذایی صورت می‌گیرد. از راهکارهای غیرمستقیم افزایش عملکرد گیاه توسط PGPR می‌توان کاهش یا حذف اثرات مضرّ پاتوژن‌ها، تجزیه، متحرک‌نمودن و افزایش انحلال مواد غذایی و نیز تولید هورمون‌های گیاهی را نام برد (Verma et al., 2010; Oureshi et al., 2009).

اثرات افزایشی این باکتری‌ها بر رشد و عملکرد محصولات مختلف مورد بررسی قرار گرفته است. در آزمایشی که اثرات تلکیح ریزوپیومی را بر عملکرد و محتوای پروتئین شیش رقم نخود (*Cicer arietinum* L.) مورد بررسی قرار داده بود، تعداد کل گره‌های ریزوپیومی هر گیاه، وزن ۱۰۰ دانه، عملکرد و محتوای پروتئین دانه‌ها به‌طور معنی‌داری در مقایسه با شاهد افزایش یافت (Elsheik & Hadi, 1999). در یک مطالعه اثرات تلکیح مشترک *Seudomonas jessenii* PS06 (باکتری حل‌کننده فسفات) و نژاد C-2/2 باکتری *Mesorhizobium ciceri* بر رشد و عملکرد نخود در شرایط مزرعه و گلخانه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که تلکیح مشترک، میزان عملکرد دانه و وزن ترگرهای را بیشتر از زمانی که تلکیح به تنها یابی توسط *M. ciceri* C-2/2 یا *P. jessenii* PS06 صورت گرفته بود، افزایش داد (Valverde et al., 2006). همچنین تلکیح *Bradyrhizobium* با مشترک بذر سویا (*Glycine max* L.) با PGPR و *japonicum* گره‌زنی، تثبیت نیتروژن و عملکرد دانه را افزایش داد. ریزوپاکتری‌های افزایش‌دهنده رشد گیاه که شامل جنس‌های آزوپسپیریلیوم، ازوتوپاکتر، مزوریزوپیوم و سودوموناس بود، عملکرد دانه، وزن خشک بوته و جذب نیتروژن و فسفر دانه را افزایش داد (Dashti et al., 1998). افزایش رشد لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) بر اثر تلکیح مشترک Stajkovic et al., 2006) با ریزوپیوم، سودوموناس و باسیلوس (Bacillus).

<sup>۱</sup> Plant Growth Promoting Rhizobacteria

برخی ویژگی‌های مرتبط با خاک مزروعه محل انجام آزمایش در جدول ۲ نشان داده شده است.

<i>Azotobacter</i>	<i>chroococcum</i>	strain	12
<i>Azospirillum</i>	<i>lipoferum</i>	strain	of
<i>Pseudomonas</i>	<i>flourescens</i>	strain	169

جدول ۱- برخی ویژگی‌های اقلیمی محل اجرای آزمایش در سال زراعی ۱۳۹۰-۱۳۹۱

(ویژگی‌های اقلیمی منطقه، در طی دوره رشد گیاه به صورت اعداد برجسته در داخل جدول نشان داده شده‌اند)

**Table 1. Some climate traits of experimental field at 2011-2012 agronomic year**  
(Climatic traits during growth season showed as bold)

ماه October	شهریور September	مرداد August	تیر July	خرداد June	اردیبهشت May	فروردین April	اسفند March	بهمن February	دی January	آذر December	آبان November	مهر October	پارندگی (میلی‌متر) Total rainfall (mm)
0.2	0.2	0.2	1.1	17.7	55	94.3	21.5	45.3	26.5	1.1	82.1	1	میانگین حداکثر دمای روزانه (سلسیوس) Maximum temperature average
24.4	29.1	32.8	30.2	26.7	22.3	15.4	5.6	2.4	6.4	7.4	9.9	23.1	میانگین حداکثر حرارت (سلسیوس) Maximum temperature average
6.9	13.4	15.8	13.7	11.1	7.2	2.6	-4.9	-7.1	-4.6	-5.9	0.6	6.4	میانگین حداقل حرارت (سلسیوس) Minimum temperature average

جدول ۲- برخی ویژگی‌های مرتبط با خاک محل اجرای آزمایش

**Table 2. Some soil properties of experimental field**

K(ppm)	P (ppm)	فسفر پتابیسیم N(%)	نیتروژن آلی OC(%)	درصد ماده آلی EC(ds/m)	هدایت الکتریکی pH	اسیدیتیه Soil texture	بافت خاک لوم شنی (Sandy loam)
156	8.4	0.2	1.75	1.2	7.6		

بلافاصله کشت شدند. عملیات کاشت در نیمه دوم فروردین ۱۳۹۱ صورت گرفت. فاصله ردیف‌های کاشت ۰.۵ سانتی‌متر و فاصله بوته‌ها بر روی ردیف ۱۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. کشت به صورت کپه‌ای صورت گرفت و در هر کپه سه عدد بذر کاشته شد. هر کرت آزمایش شامل پنج خط پنج متری بود. گیاهچه‌ها در مرحله پنج برگی تنک شدند تا در هر کپه فقط یک بذر باقی بماند و تراکم ۲۰ بوته در مترمربع به دست آید. عمق کاشت بذر، سه سانتی‌متر در نظر گرفته شد. عملیات مبارزه با علف‌های هرز در دو نوبت با وجین دستی صورت گرفت. در هر واحد آزمایشی دو ردیف از پنج ردیف و نیم متر از ابتداء و انتهای ردیف‌ها به عنوان حاشیه در نظر گرفته شد. به منظور اندازه‌گیری شاخص‌های رشد، سه بوته از هر کرت در نظر گرفته شد که در ابتداء مرحله گلدهی (۴۰ روز بعد از کاشت) و یک هفته بعد از آن مورد نمونه‌برداری قرار گرفت. به این منظور، کلیه بوته‌ها از فاصله یک سانتی‌متری سطح زمین قطع شدند. در هر نمونه‌برداری گیاه پس از تفکیک به اجزای

رقم نخود مورد استفاده در این آزمایش، آرمان بود. به منظور تلکیح بذر با کودهای زیستی فوق، ۱۲ ساعت قبل از کاشت بذور در داخل مایع تلکیح فرموله شده خیسانده شدند. به ازای هر ۸۰ کیلوگرم نخود، در حدود یک لیتر کود مایع زیستی مورد استفاده قرار می‌گیرد. به عبارتی برای تلکیح بذور برای هر تیمار که در حدود یک کیلوگرم بذر را شامل می‌شد، ۱۵ میلی‌لیتر از کودهای زیستی استفاده شد. برای تیمارهای PGPR+SWRI-3+SWRI-17 ترکیبی (3+SWRI-17) نیز این مقدار بین کودهای زیستی تقسیم و به نسبت‌های مساوی جهت تلکیح مورد استفاده قرار گرفت. باکتری‌های مورد استفاده، همگی باکتری‌های طبیعی و بومی خاک‌های کشور بود که توسط بخش تحقیقات بیولوژی خاک مؤسسه تحقیقات خاک‌وآب، جدا و خالص سازی شده‌اند. مایه تلکیح آن‌ها در هر میلی‌لیتر مایع و هر گرم مایه تلکیح پودری دارای ۱۰<sup>۸</sup> عدد باکتری زنده و فعال بود. سپس قبل از کاشت، بذور در بین یک پارچه تمیز قرار گرفتند تا خشک شوند و

## نتایج و بحث

### شاخص‌های رشدی

شاخص سطح برگ (LAI): در این بررسی، تنفس خشکی باعث کاهش معنی‌دار شاخص سطح برگ شد (جدول ۳). شاخص سطح برگ در شرایط شاهد (آبیاری مطلوب) و تنفس خشکی در عروز بعد از کاشت، به ترتیب  $1/35$  و  $0/7$  بود. به عبارت دیگر در اثر تنفس خشکی، شاخص سطح برگ  $48$  درصد کاهش یافت. در یک آزمایش، سطح برگ گیاه نخود در شرایط آبیاری مطلوب  $85$  روز بعد از کاشت،  $1/8$  مترمربع برای هر بوته گزارش شد و شاخص سطح برگ گیاه در زمان گلدهی، حتی کمتر از  $1$  بوده است. به طور کلی توسعه سطح برگ و تجمع ماده خشک در اغلب حبوبات، به ویژه حبوبات سردسیری، برای یک دوره طولانی پس از کاشت آهسته است. بنابراین در مزارع حبوبات بخش عمده‌ای از تشعشع ابتدای فصل به دلیل پوشش گیاهی نامناسب برای جذب آن هدر می‌رود و شاید بخشی از عملکرد کم حبوبات سردسیری در مقایسه با سایر گیاهان، به این موضوع ارتباط داشته باشد (Parsa & Bagheri, 2008).

همچنین اثر متقابل سطح آبیاری در سطح کودی هم در این آزمایش معنی‌دار بود (جدول ۳). بیشترین میزان شاخص سطح برگ در شرایط آبیاری مطلوب، از تیمار ترکیب همه کودهای زیستی (PGPR+SWRI-3+SWRI-17) به دست آمد (جدول ۴). در ضمن، کمترین میزان شاخص سطح برگ در شرایط آبیاری مطلوب، از تیمار کودی (عدم مصرف کود، شیمیایی و زیستی) به دست آمد (جدول ۴). به عبارت دیگر، مصرف کودهای زیستی باعث افزایش شاخص سطح برگ در مقایسه با تیمار شاهد و تیمار مصرف کود نیتروژن اوره شد (جدول ۴). در شرایط تنفس خشکی، بیشترین شاخص سطح برگ از تیمار ترکیب کودهای زیستی (SWRI-3+SWRI-17) و کمترین میزان آن از تیمار کود نیتروژن اوره به دست آمد (جدول ۴). بنابراین به نظر می‌رسد که استفاده از کودهای زیستی، هم در شرایط آبیاری مطلوب و هم در شرایط تنفس خشکی باعث افزایش شاخص سطح برگ می‌شود.

سرعت رشد محصول (CGR): در این بررسی سرعت رشد محصول در شرایط آبیاری مطلوب و تنفس خشکی تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۳). سرعت رشد محصول در شرایط آبیاری مطلوب و تنفس خشکی به ترتیب  $2/5$  و  $1/52$  گرم در مترمربع در روز بود. به عبارت دیگر، سرعت رشد محصول در شرایط تنفس خشکی،  $39$  درصد کاهش یافت هرچند که این کاهش در سطح احتمال  $5$  درصد معنی‌دار نبود. اما اثر متقابل سطح آبیاری در سطح کودی از نظر سرعت رشد محصول

مختلف (برگ و ساقه) به مدت  $48$  ساعت در آون الکتریکی در دمای  $70$  درجه سانتی گراد خشک و سپس توزین گردید. سپس، سرعت رشد محصول (CGR) و شاخص سطح برگ (LAI) از طریق روابط زیر محاسبه شدند:

$$CGR = \frac{W_2 - W_1}{GA(t_2 - t_1)} \quad (1)$$

$$LAI = \frac{LA}{GA} \quad (2)$$

$W_1$ : وزن خشک گیاه در نمونه گیری اول

$W_2$ : وزن خشک گیاه در نمونه گیری دوم

$t_1$ : زمان نمونه گیری اول

$t_2$ : زمان نمونه گیری دوم

LA: سطح برگ (سانتی مترمربع)

GA: سطح زمین (سانتی مترمربع)

اندازه گیری تخصیص مواد فتوسنتری در اواسط مرحله دانه‌بندی ( $90$  روز بعد از کاشت) صورت گرفت. به همین منظور سه بوته از هر کرت به طور تصادفی انتخاب و از فاصله یک سانتی‌متری سطح زمین، کف بُر و به برگ، ساقه و نیام تفکیک شدند. سپس اندام‌های تفکیک شده گیاهی به مدت  $48$  ساعت در آون الکتریکی در دمای  $70$  درجه سانتی گراد قرار گرفتند و با ترازوی حساس توزین شدند. آنگاه نسبت وزن ساقه<sup>۱</sup> (SWR)، نسبت وزن برگ<sup>۲</sup> (LWR) و نسبت وزن نیام<sup>۳</sup> (PWR) طبق روابط زیر محاسبه گردید (Jabbari et al., 2010):

$$SWR = \frac{SDW}{TDW} \quad (3)$$

$$LWR = \frac{LDW}{TDW} \quad (4)$$

$$PWR = \frac{PDW}{TDW} \quad (5)$$

SDW و LDW به ترتیب وزن خشک ساقه، برگ و نیام و TDW وزن خشک کل بر حسب گرم است. برای تعیین عملکرد دانه،  $10$  بوته از هر کرت به صورت تصادفی انتخاب و عملکرد دانه آن تعیین گردید. تجزیه واریانس و سایر محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزارهای MSTAT-C، SAS و MINITAB و میانگین صفات با استفاده از آزمون چندامنه‌ای دانکن ( $P \leq 0.05$ ) صورت گرفت.

<sup>1</sup> Stem Weight Ratio

<sup>2</sup> Leaf Weight Ratio

<sup>3</sup> Pod Weight Ratio

(عدم مصرف کود شیمیایی و زیستی) به دست آمد (جدول ۴). در شرایط تنفس خشکی نیز بیشترین میزان وزن خشک برگ از تیمار ترکیب کودهای زیستی (SWRI-3+SWRI-17) و کمترین میزان آن از تیمار ترکیب کودهای زیستی SWRI-17 حاصل شد (جدول ۴).

**وزن خشک نیام (PDW):** در این بررسی وزن خشک نیام در شرایط آبیاری مطلوب و تنفس خشکی، تفاوت معنی‌داری با هم نداشت (جدول ۳). وزن خشک نیام در شرایط آبیاری مطلوب و تنفس خشکی به ترتیب  $1/0.57$  و  $1/2.38$  گرم بود. ضمناً در این بررسی اثر متقابل سطوح آبیاری در سطوح کودی معنی‌دار بود (جدول ۳). بیشترین میزان وزن خشک نیام در شرایط آبیاری مطلوب از تیمار ترکیب کودهای زیستی (SWRI-3+SWRI-17) و کمترین آن از تیمار ترکیب همه کودهای زیستی (SWRI-3+PGPR) به دست آمد (جدول ۴). در شرایط تنفس خشکی هم بیشترین میزان وزن خشک نیام از تیمار ترکیب همه کودهای زیستی (SWRI-3+SWRI-17+PGPR) (Sivaramaiah et al., 2007) به دست آمد (جدول ۴). در شرایط تنفس خشکی هم بیشترین میزان وزن خشک نیام از تیمار ترکیب همه کودهای زیستی (SWRI-3+SWRI-17+PGPR) و کمترین میزان آن از تیمار شاهد کودی (عدم مصرف کود شیمیایی و زیستی) حاصل شد (جدول ۴).

**زیست‌توده:** تنفس خشکی موجب کاهش معنی‌دار وزن خشک زیست‌توده شد (جدول ۴). در این بررسی زیست‌توده تکبوته در شرایط آبیاری مطلوب و تنفس خشکی به ترتیب  $3/765$  و  $2/371$  گرم بود. به عبارت دیگر تنفس خشکی موجب کاهش  $37$  درصدی زیست‌توده گردید. محققان دیگر نیز یک کاهش  $50$  درصدی را برای وزن خشک زیست‌توده در شرایط تنفس خشکی گزارش کردند (Romdhane et al., 2009). در شرایط آبیاری مطلوب، بیشترین میزان زیست‌توده از تیمار SWRI-17 و کمترین میزان آن از تیمار شاهد کودی (عدم مصرف کود شیمیایی و زیستی) به دست آمد (جدول ۴). در شرایط تنفس خشکی نیز بیشترین و کمترین میزان زیست‌توده به ترتیب از تیمار ترکیب همه کودهای زیستی (SWRI-3+SWRI-17+PGPR) و تیمار میزان میتواند اوره به دست آمد (جدول ۴). سایر محققان مصروف کود نیتروژنه اوره به دست آمد (جدول ۴). نیز گزارش کردند که تلقیح بذر با یک نژاد *Pseudomonas jessinii* و *Mesorhizobium ciceri* باکتری حل‌کننده فسفات (یافا) باعث افزایش وزن خشک ساقه نسبت به شاهد شد، اما تلقیح مشترک با این باکتری وزن خشک ساقه را کاهش داد (Valverde et al., 2006).

معنی‌دار بود (جدول ۳). بیشترین میزان سرعت رشد محصول در شرایط آبیاری مطلوب از ترکیب کودهای زیستی (SWRI-3+SWRI-17) و کمترین میزان آن از تیمار شاهد کودی (عدم مصرف کود شیمیایی و زیستی) به دست آمد (جدول ۴). در شرایط تنفس خشکی هم بیشترین میزان وزن خشک نیام از تیمار SWRI-17 و کمترین میزان آن از تیمار کود نیتروژنه اوره حاصل شد (جدول ۴). محققان گزارش کردند که تلقیح بذر نخود در شرایط آبیاری مطلوب و گلخانه باعث افزایش رشد این گیاه شد و تلقیح مشترک، بیش از هر یک از تلقیح‌های جداگانه رشد گیاه را افزایش داد (Valverde et al., 2006) که با یافته‌های این پژوهش مطابقت دارد.

#### تخصیص مواد فتوسنترزی

**وزن خشک ساقه (SDW):** در این بررسی تنفس خشکی باعث کاهش معنی‌دار وزن خشک ساقه گردید (جدول ۳). وزن خشک ساقه در شرایط آبیاری مطلوب و تنفس خشکی به ترتیب  $1/786$  و  $1/801$  گرم بود. به عبارت دیگر در اثر تنفس خشکی وزن خشک ساقه  $55$  درصد کاهش یافت. محققان یک کاهش  $50$  درصدی را در وزن خشک ساقه نخود در اثر تنفس خشکی گزارش کردند (Sivaramaiah et al., 2007). اثر متقابل سطوح آبیاری در سطوح کودی هم در این آزمایش معنی‌دار بود (جدول ۳). بیشترین میزان وزن خشک ساقه و کمترین میزان آن در شرایط آبیاری مطلوب به ترتیب از تیمارهای SWRI-17 و تیمار شاهد کودی (عدم مصرف کود شیمیایی و زیستی) حاصل شد (جدول ۴). در شرایط تنفس خشکی نیز بیشترین و کمترین میزان وزن خشک ساقه از تیمارهای ترکیب کودهای زیستی ریزوبیومی (SWRI-3+SWRI-17) و تیمار مصروف کود نیتروژنه اوره به دست آمد (جدول ۴). سایر محققان نیز گزارش کردند که تلقیح بذر با یک نژاد باکتری حل‌کننده فسفات (یافا) باعث افزایش وزن خشک ساقه نسبت به شاهد شد، اما تلقیح مشترک با این باکتری وزن خشک ساقه را کاهش داد (Valverde et al., 2006).

**وزن خشک برگ (LDW):** در این بررسی تنفس خشکی موجب کاهش معنی‌دار وزن خشک برگ گردید (جدول ۳). وزن خشک برگ در شرایط آبیاری مطلوب و تنفس خشکی به ترتیب کاهش  $0/922$  و  $0/332$  گرم بود. در واقع تنفس خشکی موجب کاهش  $64$  درصدی وزن خشک برگ شد. همچنان اثر متقابل سطوح آبیاری در سطوح کودی معنی‌دار بود (جدول ۳). بیشترین میزان وزن خشک برگ در شرایط آبیاری مطلوب از تیمار SWRI-17 و کمترین میزان آن از تیمار شاهد کودی

**نسبت وزن ساقه (SWR):** در این بررسی تنفس خشکی موجب کاهش معنی‌دار نسبت وزن ساقه شد (جدول ۵). نسبت وزن ساقه که از تقسیم وزن خشک ساقه به وزن خشک کل بوته

سطح آبیاری در سطوح کودی معنی‌دار بود (جدول ۵). بیشترین میزان نسبت وزن ساقه در شرایط آبیاری مطلوب از SWRI-3+SWRI-17+PGPR (۱۷) و کمترین میزان آن از تیمار ترکیب کودهای زیستی (SWRI-3+SWRI-17) حاصل شد (جدول ۶).

به دست می‌آید، در شرایط آبیاری مطلوب و تنش خشکی به ترتیب  $484/0$  و  $355/0$  بود. در واقع تنش خشکی موجب کاهش  $26/5$  درصدی نسبت وزن ساقه شد. محققان دیگر نیز اظهار داشتند که در شرایط تنش خشکی، نسبت وزن ساقه کاهش یافت (Jabbari *et al.*, 2010). همچنین اثر متقابل کاهش یافت

جدول ۳- میانگین مربعات برخی پارامترهای مرتبه با رشد نخود زراعی رقم آرمان در سطوح مختلف کودهای زیستی و شیمیایی در شرایط آبیاری مطلوب و تنش خشکی

Table 3. Mean squares for some related growth parameters of chickpea Arman cultivar at different levels of biological and chemical fertilizers under irrigated and rainfed conditions

میانگین مربعات (MS)								متابع تغییر S.O.V
زیست‌نده	وزن خشک نیام	وزن خشک برگ	وزن خشک ساقه	سرعت رشد محصول	شاخص سطح برگ	درجه آزادی	df	
Biomass	Pod dry weight	Leaf dry weight	Stem dry weight	CGR	LAI			
4.130 <sup>ns</sup>	0.467 <sup>ns</sup>	0.222 <sup>ns</sup>	0.776 <sup>ns</sup>	0.003 <sup>ns</sup>	0.046 <sup>ns</sup>	3		تکرار Rep.
27.226 <sup>**</sup>	0.457 <sup>**</sup>	4.877 <sup>**</sup>	13.580 <sup>**</sup>	13.24 <sup>ns</sup>	6.030 <sup>**</sup>	1		سطح آبیاری Irrigated levels
0.336	0.100	0.064	0.078	4.503	0.013	3		خطای اصلی Main error
3.714 <sup>**</sup>	0.865 <sup>**</sup>	0.180 <sup>**</sup>	0.446 <sup>**</sup>	4.104 <sup>*</sup>	0.290 <sup>**</sup>	6		سطح کودی Fertilizer levels
2.079 <sup>**</sup>	1.228 <sup>**</sup>	0.165 <sup>**</sup>	0.385 <sup>**</sup>	2.852 <sup>*</sup>	0.243 <sup>**</sup>	6		سطح آبیاری × سطوح کودی Irrigated levels×Fertilizer levels
0.290	0.151	0.013	0.038	1.084	0.025	36		خطای کل Total error
17.56	13.87	18.48	15.05	15.84	15.47			ضریب تغییرات (%) C.V(%)

\* و \*\*: به ترتیب عدم وجود تفاوت معنی‌دار، تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد

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

جدول ۴- مقایسه میانگین برخی پارامترهای مرتبه با رشد نخود زراعی رقم آرمان در شرایط آبیاری مطلوب و تنش خشکی در سطوح مختلف کودی (عدم مصرف کود، کود شیمیایی اوره و کودهای زیستی)

Table 4. Mean comparisons for some related growth parameters of chickpea Arman cultivar at different levels of fertilizer (no application fertilizer, biological and chemical fertilizers) under irrigated and rainfed conditions

Biomass (g)	زیست‌نده (گرم)	وزن خشک نیام (گرم)		وزن خشک برگ (گرم)		وزن خشک ساقه (گرم)		وزن خشک مخصوص (گرم در مترمربع در روز)		سرعت رشد محصول CGR(g.m-2.day-1)	شاخص سطح برگ LAI			سطوح کودی Fertilizer levels
		آبیاری مطلوب	آبیاری خشک	آبیاری مطرد	آبیاری مطرد	آبیاری مطرد	آبیاری مطرد	آبیاری مطرد	آبیاری مطرد		آبیاری مطرد	آبیاری مطرد	آبیاری مطرد	
Drought stress	Irrigated	Tension	Drought stress	Irrigated	Ayarai	Tension	Drought stress	Irrigated	Ayarai	LAI	Tension	Drought stress	Irrigated	سطوح کودی Fertilizer levels
1.726f	1.898f	0.6483ef	0.5017f	0.3325d	0.3933cd	0.7450def	1.003cd	1.522bde	1.109ede	0.799de	0.747def	(Control)	شاهد (Control)	
1.642f	3.933b	0.7833def	1.182bde	0.2733d	0.9442b	0.5850f	1.807b	0.622e	2.072bde	0.515f	1.058c	(N)	کود نیتروژن (N)	
1.958f	3.803bcd	1.067cdef	1.075cdef	0.2417d	0.8533b	0.6500ef	1.875b	0.889de	3.133ab	0.556ef	1.392b	SWRI3		
2.812e	4.940a	1.891a	1.332abcd	0.2158d	1.256a	0.7050def	2.352a	2.706bc	2.639bc	0.608ef	1.488b	SWRI17		
2.978de	3.861bc	1.661abc	1.158bde	0.3733cd	0.9600b	0.9442cde	1.743b	0.886de	1.617bde	0.802de	1.512b	PGPR		
2.422ef	4.842a	0.6983def	1.704ab	0.5250c	1.153a	1.198c	1.986b	1.590bde	4.289a	0.945cd	1.607b	SWRI3+SWRI17		
3.057ode	3.079cde	1.915a	0.4467f	0.3600cd	0.8942b	0.7825def	1.738b	2.450bcd	2.586bcd	0.635ef	1.653a	PGPR+SWRI3+SWRI17		

هر ستون میانگین چهار عدد است. میانگین‌های دارای حروف مشابه تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

ترکیب کودهای (SWRI-3+SWRI-17+PGPR) به دست آمد (جدول ۶).

هم چنین بیشترین میزان نسبت وزن ساقه در شرایط تنش خشکی در تیمار ترکیب کودهای ریزوپیومی (SWRI-3+SWRI-17) و کمترین میزان میزان آن از تیمار

کودهای زیستی (به صورت انفرادی یا ترکیبی) باعث تخصیص بیشتر مواد فتوستنتزی به نیام در شرایط تش خشکی می‌شود؛ لذا می‌توان گفت که استفاده از کودهای زیستی به خصوص در شرایط کشت دیم باعث تخصیص بیشتر مواد فتوستنتزی به نیام و تخصیص کمتر مواد فتوستنتزی به برگ و ساقه شده و نهایتاً باعث سازگاری بهتر به شرایط کم‌آبی می‌شود. اما در شرایط آبیاری مطلوب بدلیل تحریک رشد اندام‌های هوایی توسط کودهای زیستی (به صورت انفرادی یا به‌ویژه در حالت ترکیب)، درصد بیشتری از زیست‌توده تولیدی گیاه به برگ و ساقه اختصاص می‌یابد که احتمالاً با افزایش فتوستنتز خالص و انتقال مجدد مواد فتوستنتزی باعث افزایش عملکرد نسبت به شاهد کودی (عدم مصرف کودهای شیمیایی و زیستی) و کود نیتروژنه اوره می‌شود.

#### عملکرد دانه

عملکرد دانه نخود تحت تأثیر تنش خشکی قرار گرفت (جدول ۳). میانگین عملکرد دانه در شرایط فاریاب و دیم به ترتیب ۱۷۲۳ و ۱۰۸۷ کیلوگرم در هکتار بود. به عبارت دیگر تنش خشکی باعث کاهش ۳۷ درصد عملکرد دانه نخود شد. در آزمایشی نشان داده شد که عملکرد دانه نخود از ۲۷۶۶ کیلوگرم در هکتار در شرایط آبیاری کافی به ۹۰۹ کیلوگرم در شرایط دیم کاهش یافت، به عبارت دیگر یک کاهش ۶۷ درصدی رخ داد (Onyari *et al.*, 2003). نتایج یک بررسی هم نشان داد که عملکرد دانه نخود در اثر آبیاری ۷۴ تا ۱۲۴ درصد افزایش یافت (Rajin Anvar *et al.*, 2003). متوسط عملکرد دانه نخود در ایران کمتر از نصف متوسط جهانی آن می‌باشد (Sabaghpour *et al.*, 2006). دلایل زیادی برای کمبودن عملکرد نخود در ایران وجود دارد، اما بی‌شک مهم‌ترین آن‌ها تنش خشکی است (Leport *et al.*, 1999). بدلیل فقدان بارندگی طی دوره گلدهی، غلافدهی و پُرشدن دانه، تنش خشکی انتهایی مهم‌ترین عامل بهره‌وری پایین نخود در ایران می‌باشد (Sabaghpour *et al.*, 2006). Fallah (2008) عملکرد دانه نخود دیم را در تاریخ‌های کاشت مختلف از ۸۳۲ تا ۱۲۹۳ کیلوگرم در هکتار و در تراکم‌های متفاوت از ۹۶۱ تا ۱۰۳۷ کیلوگرم در هکتار گزارش کرد. اثر مقابله سطوح آبیاری در سطوح کودی از لحاظ عملکرد دانه معنی‌دار بود (جدول ۳). بیشترین میزان عملکرد دانه در شرایط آبیاری مطلوب از تیمار ترکیب همه کودهای زیستی (SWRI-3+SWRI-17+PGPR) و کمترین میزان عملکرد دانه در شرایط تنش خشکی هم بیشترین میزان عملکرد دانه از ترکیب همه

نسبت وزن برگ (LWR): در این بررسی نسبت وزن برگ در اثر تنش خشکی به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (جدول ۵). نسبت وزن برگ در شرایط آبیاری مطلوب و تنش خشکی به ترتیب ۰/۲۴۹ و ۰/۱۴۹ بود. در واقع تنش خشکی موجب کاهش ۳۸/۵ درصدی نسبت وزن برگ شد. محققان کاهش ۱۱ درصدی را در نسبت وزن برگ در اثر تنش خشکی گزارش کردند (Jabbari *et al.*, 2010). از آنجایی که بخش عمده‌ای از تعرق از راه برگ‌ها صورت می‌گیرد، به نظر می‌رسد تخصیص کمتر مواد فتوستنتزی به برگ که موجب کاهش تعرق می‌شود، باعث اجتناب گیاه از تنش خشکی می‌گردد. ضمناً اثر متقابل سطوح آبیاری در سطوح کودی هم معنی‌دار بود (جدول ۵). بیشترین و کمترین میزان نسبت وزن برگ در شرایط آبیاری مطلوب به ترتیب از تیمارهای ترکیب کودهای زیستی (SWRI-3+SWRI-17+PGPR) و شاهد کودی (عدم مصرف کود شیمیایی و زیستی) به دست آمد (جدول ۶). در شرایط تنش خشکی نیز بیشترین و کمترین نسبت وزن برگ به ترتیب از تیمارهای ترکیب کودهای زیستی ریزوبیومی (SWRI-17+SWRI-17) و SWRI-3+SWRI-17 (جدول ۶). به نظر می‌رسد کودهای زیستی با بهبود ویژگی‌های رشد گیاه، هم در شرایط آبیاری مطلوب و هم در تنش خشکی، درصد بیشتری از وزن خشک کل را به برگ‌ها نسبت به شاهد کودی (عدم مصرف کود زیستی و شیمیایی) اختصاص دادند.

نسبت وزن نیام (PWR): در این بررسی تنش خشکی اثر معنی‌داری بر نسبت وزن نیام داشت (جدول ۵). نسبت وزن نیام در شرایط آبیاری مطلوب و تنش خشکی به ترتیب ۰/۲۷۴ و ۰/۴۹۶ بود. به عبارت دیگر، در شرایط تنش خشکی درصد بیشتری از زیست‌توده گیاه به نیام اختصاص یافت. بنابراین مشاهده می‌شود که گیاه نخود در شرایط تنش خشکی با اختصاص کمتر مواد فتوستنتزی به برگ و ساقه‌ها و اختصاص بیشتر مواد فتوستنتزی به نیام، تمایل به اجتناب از شرایط تنش‌زا دارد. در عین حال، اثر متقابل سطوح آبیاری در سطوح کودی معنی‌دار بود (جدول ۵). بیشترین میزان نسبت وزن نیام و کمترین میزان آن در شرایط آبیاری مطلوب از تیمارهای ترکیب کودهای زیستی ریزوبیومی (SWRI-3+SWRI-17) و ترکیب کودهای زیستی (SWRI-3+SWRI-17+PGPR) به دست آمد. در شرایط تنش خشکی بیشترین نسبت وزن نیام از تیمارهای SWRI-17 و کمترین نسبت وزن نیام از تیمار ترکیب کودهای زیستی ریزوبیومی (SWRI-3+SWRI-17) به دست آمد (جدول ۶). بنابراین به نظر می‌رسد که استفاده از

خشکی است که نشان می‌دهد کودهای زیستی ریزوبیومی و PGPR می‌توانند نقش قابل توجهی در کاهش اثرات تنفس خشکی داشته باشد. همچنین مشاهده می‌شود که در این بررسی ترکیب همه کودهای زیستی به کار رفته در آزمایش، بیشترین عملکرد دانه را تولید کرده است و استفاده از همه کودهای زیستی به صورت ترکیبی یا انفرادی در مقایسه با شاهد کودی و کود نیتروژنه اوره عملکرد بیشتری را موجب شده است.

ضرایب همبستگی بین صفات مورد بررسی در شرایط آبیاری مطلوب و تنفس خشکی در جدول ۷ آورده شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود، در شرایط آبیاری مطلوب، عملکرد دانه با شاخص سطح برگ، وزن خشک ساقه، وزن خشک برگ، وزن خشک کل، نسبت وزن برگ و نسبت وزن نیام، همبستگی مثبت و معنی‌داری نشان می‌دهد. به عبارت دیگر، بوته‌های درشت‌تر نخود که سطح برگ بیشتری داشته باشند، در شرایط فاریاب، عملکرد بیشتری تولید می‌کنند. (Parsa & Bagheri (2008) میز یکی از دلایل عملکرد کم حبوبات نسبت به سایر گیاهان زراعی را کمبودن سطح برگ در این گیاهان عنوان می‌کنند و یکی از استراتژی‌های افزایش عملکرد را افزایش شاخص سطح برگ معرفی می‌نمایند. از بین متغیرهای مربوط به تخصیص مواد فتوسنتری بین اندام‌های هوایی، نسبت وزن برگ بیشترین همبستگی را با عملکرد دانه نشان داد.

کودهای زیستی و کمترین آن از تیمارهای شاهد کودی و تیمار کود نیتروژنه اوره به دست آمد. همچنین می‌توان گفت که مصرف کودهای زیستی (چه به صورت منفرد و چه به صورت ترکیبی) باعث به دست آوردن عملکرد بیشتر نسبت به تیمار شاهد کودی (عدم مصرف کود) و تیمار کود نیتروژنه اوره در هر دو شرایط آبیاری مطلوب و تنفس خشکی گردید. عملکرد دانه در تیمار ترکیب همه کودهای زیستی نسبت به تیمار شاهد کودی و کود نیتروژنه اوره در شرایط آبیاری به ترتیب ۵۰ و ۴۰ درصد افزایش یافت. این افزایش در شرایط تنفس خشکی به ترتیب ۷۵ و ۷۶ درصد بود. به نظر می‌رسد کودهای زیستی ریزوبیومی با افزایش مقدار و کارآیی ثبت بیولوژیک نیتروژن، و ریزوپاکتری‌های تحریک‌کننده رشد گیاه با افزایش دسترسی گیاه به عناصر مغذی مهمی چون نیتروژن و فسفر و رشد ریشه، باعث افزایش عملکرد دانه نخود هم در شرایط آبیاری مطلوب و هم در شرایط تنفس خشکی می‌گردد (Sabaghpour et al., 2006; Dashti et al., 1998).

(Elsheik & Hadi (1999) میزان افزایش عملکرد دانه نخود در اثر تلقیح با نژاد TAL ۱۱۴۸ ۷۲ و ۷۰ درصد گزارش کردند که این میزان افزایش عملکرد دانه با یافته‌های این تحقیق مطابقت دارد.

در بررسی ما میزان افزایش عملکرد دانه نخود در اثر تلقیح با کودهای زیستی در مقایسه با شاهد کودی و کود نیتروژنه اوره در شرایط دیم، به مراتب بیش از شرایط تنفس

جدول ۵- میانگین مربعات برخی پارامترهای مرتبط با رشد نخود زراعی رقم آرمان در سطوح مختلف کودهای زیستی و شیمیایی در شرایط آبیاری مطلوب و تنفس خشکی

Table 5. Mean squares for some related growth parameters of chickpea Arman cultivar at different levels of biological and chemical fertilizers under irrigated and rainfed conditions

Seed yield	میانگین مربعات MS				درجه آزادی d.f	منابع تغییر S.O.V
	عملکرد دانه PWR	نسبت وزن برگ LWR	نسبت وزن ساقه SWR	نسبت وزن برگ		
61692 <sup>ns</sup>	0.002 <sup>ns</sup>	0.001 <sup>ns</sup>	0.001 <sup>ns</sup>	3	Rep.	نکار
5669938**	0.689**	0.122**	0.232**	1	Irrigated levels	سطوح آبیاری
134887	0.007	0.001	0.004	3	Main error	خطای اصلی
1983629**	0.024**	0.003*	0.012**	6	Fertilizer levels	سطوح کودی
229732**	0.068**	0.009**	0.030**	6	Irrigated levels×Fertilizer levels	سطوح آبیاری×سطوح کودی
8666	0.007	0.001	0.003	36	Total error	خطای کل
12.05	21.12	16.64	13.48		C.V(%)	ضریب تغییرات(%)

\* و \*\*: به ترتیب، عدم وجود تفاوت معنی‌دار، تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد ns :Non-significant, \*and \*\*: Significant at  $\alpha=0.05$  &  $\alpha=0.01$ , respectively

جدول ۶- مقایسه میانگین پارامترهای مربوط به تخصیص مواد فتوسنتزی و عملکرد نخود زراعی رقم آرمان در شرایط آبیاری مطلوب و تنش خشکی در سطوح مختلف کودی (عدم مصرف کود، کود شیمیایی اوره و کودهای زیستی)

**Table 6. Mean comparisons for photo assimilate partitioning and grain yield of chickpea Arman cultivar at different levels of fertilizer (no application fertilizer, biological and chemical fertilizers) under irrigated and rainfed conditions**

عملکرد دانه (کیلوگرم در هکتار) Seed yield (kg/ha)	نسبت وزن نیام PWR				نسبت وزن برگ LWR				نسبت وزن ساقه SWR				سطوح کودی Fertilizer levels	
	تنش خشکی Drought stress		آبیاری Irrigated		تنش خشکی Drought stress		آبیاری Irrigated		تنش خشکی Drought stress		آبیاری Irrigated			
	مطروب	آبریز	مطروب	آبریز	مطروب	آبریز	مطروب	آبریز	مطروب	آبریز	مطروب	آبریز		
541.7h	1189fg	0.3619cd	0.2664d	0.1962cd	0.2051bcd	0.4419bcd	0.5285ab	0.3725de	0.4624bcd	0.4897abc	0.4773abc	0.4524bcd	شاهد (Control)	
435h	1471de	0.4548bc	0.2994d	0.1727de	0.2383bc	0.3418ef	0.4624bcd	0.2235bcd	0.3418ef	0.4897abc	0.4773abc	0.4524bcd	کود نیتروژن (N)	
983.4g	1649ed	0.5323ab	0.2869d	0.1260ef	0.2601fg	0.3245efg	0.4124cde	0.2489abc	0.3245efg	0.4944abc	0.4124cde	0.4524bcd	SWRI3	
1282ef	1965b	0.6580a	0.2692d	0.0819f	0.2534ab	0.2601fg	0.4773abc	0.1318ef	0.2534ab	0.4944abc	0.4773abc	0.4524bcd	SWRI17	
1008e	1715bcd	0.5437ab	0.2987d	0.1318ef	0.2489abc	0.3245efg	0.4524bcd	0.1715bcd	0.2489abc	0.4944abc	0.4524bcd	0.4524bcd	PGPR	
951.4e	1736bc	0.2840d	0.3505cd	0.2216bcd	0.2371bc	0.4944abc	0.5656a	0.2216bcd	0.2371bc	0.4944abc	0.4124cde	0.4524bcd	SWRI3+SWRI17	
1940b	2335a	0.6341a	0.1442e	0.1139f	0.2902a	0.2520g	0.5656a	0.1442e	0.2902a	0.2520g	0.4124cde	0.4524bcd	PGPR+SWRI3+SWRI17	

هر سی و هشت میانگین  $\mu$  عدد است. میانگین های دارای حروف مشابه تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۵درصد ندارند.

خشکی از عملکرد دانه بیشتری برخوردار خواهد بود. در ضمن در شرایط تنفس خشکی بین نسبت وزن ساقه و نسبت وزن برگ با عملکرد دانه همیستگی منفی معنی داری مشاهده می شود (جدول ۷). این یافته ها مؤید آن است که ساقه و برگ با نیام ها برای مواد فتوسنتزی با هم رقابت می کنند و در صورتی که گیاه نخود در این شرایط درصد بیشتری از وزن خشک خود را به نیام و درصد کمتری را به ساقه و برگ اختصاص دهد، عملکرد بالاتری تولید خواهد کرد.

به عبارت دیگر، در صورتی که گیاه خود در صد بیشتری از وزن خشک تولیدی را به برگ‌ها اختصاص دهد، از عملکرد دانه بالاتری در شرایط فاریاب برخوردار خواهد بود. در شرایط تنفس خشکی هم سرعت رشد محصول، وزن خشک نیام، وزن خشک برگ، وزن خشک کل و نسبت وزن نیام همبستگی مثبتی با عملکرد دانه نشان داد (جدول ۷). به عبارت دیگر، ارقامی که در صد بیشتری از وزن خشک خود را به نیام اختصاص دهنده و نیام‌های پیشتر و سنگین‌تری داشته باشند، در شرایط تنفس

#### **جدول ۷- ضرایب همبستگی صفات مورد بررسی در شرایط آبیاری مطلوب (اعداد بالابی) و تنش خشکی (اعداد پایینی)**

**Table 7. Correlations coefficient of some traits under drought stress (above numbers) and irrigated (under numbers)**

و \*\*\*: به ترتیب، عدم وجود تفاوت معنی دار، تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵درصد و ۱درصد

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

منابع

1. Dashti, N., Zhang, F., Hynes, R., and Smith, D.L. 1998. Plant growth promoting rhizobacteria accelerate nodulation and increase nitrogen fixation activity by field grown soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] under short season conditions. *Plant and Soil* 200: 205-213.
2. Dazzo, F., Asghari, B., and Batool, R. 2010. Adaptation of chickpea to desiccation stress is enhanced by symbiotic rhizobia. *J. Symbiosis* 50: 129-133.
3. Elsheikh, E.A.E., and Hadi, E.A. 1999. Effect of Rhizobium inoculation and nitrogen fertilization on yield and protein content of six chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars in marginal soils under irrigation. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 54: 57-63.
4. Fallah, S. 2008. Effect of sowing date and plant density on yield and yield component on chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes. *Agriculture and Natural Resource Science and Technologies* 45: 123-135.
5. Gholami, A., Shahsavani, S., and Nezarat. S. 2009. The effect of plant growth promoting Rhizobacteria (PGPR) on germination, seedling growth and yield of maize. *World Academy of Science, Engineering and Technology* 49: 19-24.
6. Harrris, H., Oweis, T., Pala, M., and Zhang, H. 2000. Water use and water use efficiency of chickpea and lentil in a Mediterranean environment. *Australian Journal of Agricultural Res.* 51: 295-304.
7. Jabbari, F., Ahmadi, A., and Pouryousef, M. 2010. Evaluation of relative growth rate and matter allocation of drought tolerant and susceptible wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *Modern Technologies in Agriculture* 4(1) :41-58.
8. Leport, L., Turner, N.C., French, R.J., Barr, M.D., Dua, R., Davies, S.L., Tennant, D., and Siddique, K.H.M. 1999. Physiological responses of chickpea genotypes to terminal drought in a Mediterranean-type environment. *European J. of Agron.* 11: 279-291.
9. Leport, L., Turner, N.C., French, R.J., Tennant, D., Thomason, B.D., and Siddique, K.H.M. 1998. Water relations, gas exchange and growth of cool-season grain legumes in a Mediterranean-type environment. *European J. of Agron.* 9: 295-303.
10. Onyari, C.A.N., Mc Kenzie, B.A., and Hill, G.H. 2003. The effect of irrigation and sowing date on crop yield and yield components of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under semi-arid conditions in Kenya. *Journal of Applied Biosci.* 34: 2028-2036.
11. Onyari, C.A.N., Ouma, J.P., and Kibe, A.M. 2010. Effect of tillage method and sowing time on phenology, yield and yield components of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under semi-arid conditions in Kenya. *Journal of Applied Biosci.* 34: 2156-2165.
12. Parsa, M., and Bagheri, A.R. 2008. Pulses. *Jahad Daneshgahi Mashhad Press.* p: 267-290.
13. Qureshi, M.A., Shakir, M.A., Naveed, M., and Ahmad, M.J. 2009. Growth and yield response of chickpea to co-inoculation with *Mesorhizobium ciceri* and *Bacillus megaterium*. *The Journal of Animal & Plant Sciences* 19(4): 205-211.
14. Rajin Anvar, M., Mc Kenzie, B.A., and Hill, G.H. 2003. The effect of irrigation and sowing date on crop yield and yield components of Kabuli chickpea (*Cicer arietinum* L.) in a cool-temperate subhumid climate. *Journal of Agricultural Sci.* 141: 259-271.
15. Romdhane, S.B., Trabelsib, M., Elarbi, M., Lajudie, P., and Mhamdia, R. 2009. The diversity of rhizobia nodulating chickpea (*Cicer arietinum*) under water deficiency as a source of more efficient inoculants. *Soil Biology & Biochemistry* 41: 2568-2572.
16. Sabaghpour, H., Mahmoudi, A.A., Saeed, A., Kamel, M., and Malhotra, R.S. 2006. Study on chickpea drought tolerance lines under dryland condition of Iran. *Indian Journal of Crop Sci.* 1: 70-73.
17. Sivaramaiah, N., Malik, D.K., and Sindhu, S.S. 2007. Improvement in symbiotic efficiency of chickpea (*Cicer arietinum*) by co-inoculation of *Bacillus* strains with *Mesorhizobium* sp. *Cicer*. *Indian Journal of Microbiology* 47: 51-56.
18. Stajkovic, O., Delic, D., Josic, D., Kuzmanovic, D., Rasulic, N., and Kenezevic, J. 2011. Improvement of common bean growth by co-inoculation with Rhizobium and plant growth-promoting bacteria. *Romanian Biotechnological Letters* 16(1): 5919-5926.

19. Valverde, A., Burgos, A., Fiscella, T., Rivas, R., Vela, E., Rodri, C., Emilio Cervantes, B., Chamber, M., and Mariano, J. 2006. Differential effects of co-inoculations with *Pseudomonas jessenii* PS06 (a phosphate-solubilizing bacterium) and *Mesorhizobium ciceri* C-2/2 strains on the growth and seed yield of chickpea under greenhouse and field conditions. *J. Plant and Soil* 287(2): 43-50.
20. Verma, J.P., Yadav, J., Tiwari, K.N., Lavakush, and Singh, V. 2010. Impact of plant growth rhizobacteria on crop production. *International Journal of Agricultural Research* 5(11): 954-983.

## **Evaluation of chickpea (*Cicer arietinum* L.) seed inoculation with rhizobium strains and plant promoting rhizobacteria (PGPR) on growth indices and photoassimilate partitioning under rainfed and irrigated conditions**

**Khaleghnezhad<sup>1</sup>, V. & Jabbari<sup>2\*</sup>, F.**

1. MSc. Student of Agronomy, College of Agriculture, Zanjan University  
2. Contribution from College of Agriculture, Zanjan University

Received: 28 May 2013  
Accepted: 3 March 2014

### **Abstract**

This experiment was carried out to evaluate the effect of rhizobium strains and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on dry matter partitioning and some growth parameters of chickpea (*Cicer arietinum* L.) Arman cultivar. This research was conducted as split plot based on complete random block design at Zanjan university research farm. Irrigation levels (optimum irrigation during season growth and no irrigation during growth period) were set as main plots and fertilizer level (control or no application chemical and biological fertilizer, 50kg/ha Urea, seed inoculation with *Mesorhizobium ciceri* strain of SWRI-3, seed inoculation with *Mesorhizobium ciceri* strain SWRI-17, seed inoculation with PGPR, Co-inoculation with rhizobium strains SWRI-3+SWRI-17 and Co-inoculation with all biofertilizers, SWRI-3+SWRI-17+PGPR were sets as subplots. Based on results, SWRI-17 and SWRI-17+SWRI-3+ PGPR caused more allocation of chickpea photoassimilate to pods and less allocation of photoassimilates to stems and leaves under drought stress. Also, because SWRI-17+SWRI-3+PGPR allocated more photoassimilate to leaves under irrigated condition, caused effective solar irradiance absorption, produce maximum seed yield. Finally our data showed that, sees co-inoculation with rhizobium strains and PGPR resulted more seed yield in comparison with control (no fertilizer usage) or Urea fertilizer application under both irrigated and rainfed conditions.

**Key words:** Chickpea, Rhizobium strains, Plant growth promoting Rhizobacteria, Photoassimilate, Partitioning, Seed yield

---

\*Corresponding Author: Jabbari@znu.ac.ir, Mobile: 09126420078

## کارآبی استفاده از علف کش پاراکوات برای مدیریت علف‌های هرز در قالب رهیافت تهیه بستر کاشت زودهنگام لوبیا (*Phaseolus vulgaris L.*)

حمید رحیمیان مشهدی<sup>۱</sup>، سیدگریم موسوی<sup>۲\*</sup> و جمشید نظری عالم<sup>۳</sup>

۱- استاد دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران

۲- استادیار پژوهشی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی لرستان

۳- دانش آموخته کارشناسی ارشد شناسایی و مبارزه با علف‌های هرز از دانشگاه تهران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۰۳/۰۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۵/۲۰

### چکیده

کارآبی علف کش پاراکوات در کنترل علف‌های هرز لوبیا در چارچوب رهیافت بستر کاشت زودهنگام، به صورت کرت‌های خردشده در قالب طرح بلوك‌های کامل تصادفی با سه تکرار در استان لرستان طی دو سال ۱۳۸۸ و ۱۳۸۹ مورد ارزیابی قرار گرفت. مقدار بذر لوبیا (در سه سطح ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ کیلوگرم در هکتار) به کرت‌های اصلی و مدیریت علف‌های هرز در هفت سطح (تری‌فلورالین، پاراکوات، بنتازون+اسیفلورفن، تری‌فلورالین+بنتازون+اسیفلورفن، پاراکوات+بنتازون+اسیفلورفن، وجین دستی و شاهد بدون کنترل) به کرت‌های فرعی اختصاص داده شد. در سال اول آزمایش، در بین تیمارهای علف کش کمترین سطح تراکم علف هرز به تیمار کاربرد پسرویشی علف کش پاراکوات به علاوه کاربرد پسرویشی علف کش بنتازون+اسیفلورفن اختصاص داشت که در مقایسه با شاهد بدون کنترل، سبب کاهش عدرصد جمعیت علف‌های هرز شد. تیمارهای کاربرد پیش‌کاشت تری‌فلورالین به علاوه کاربرد پسرویشی بنتازون+اسیفلورفن، کاربرد پیش‌رویشی پاراکوات به علاوه کاربرد پسرویشی بنتازون+اسیفلورفن و تیمار کاربرد تنهایی علف کش بنتازون+اسیفلورفن به ترتیب سبب کاهش ۸۳، ۸۲ و ۷۰ درصد زیست‌توده علف‌های هرز شدند. بر اساس نتایج سال دوم آزمایش، همه تیمارهای مدیریت در مقایسه با شاهد بدون کنترل موجبات کاهش معنی دار تراکم علف‌های هرز را فراهم آورده‌اند. تیمارهای مبتنی بر کاربرد تری‌فلورالین با کاهش ۷۷ درصد تراکم علف‌های هرز، برترین تیمارهای علف کش از نظر کنترل علف‌های هرز بودند. کاربرد تلفیقی پاراکوات و بنتازون+اسیفلورفن نیز با کاهش ۵۵ درصد تراکم علف‌های هرز با تیمار کاربرد تلفیقی تری‌فلورالین و بنتازون+اسیفلورفن تفاوت معنی داری نداشت.

**واژه‌های کلیدی:** بنتازون+اسیفلورفن، تری‌فلورالین، مدیریت علف‌های هرز

توانایی رقابت‌کنندگی ضعیف لوبیا در مواجهه با علف‌های هرز گویای اهمیت مدیریت علف‌های هرز در فرآیند تولید این محصول است. از سوی دیگر، حضور علف‌های هرز عملیات برداشت محصول را نیز دشوار می‌سازد (Soltani *et al.*, 2007).

علف‌کش‌ها یکی از نهاده‌های مهم و ضروری در نظام‌های کشاورزی محسوب می‌شوند (Powel *et al.*, 1997). در حال حاضر، تعداد معدودی علف‌کش با طیف کنترلی وسیع برای کنترل علف‌های هرز لوبیا در سطح دنیا در دسترس است (Soltani *et al.*, 2007). این امر سبب تحمیل هزینه زیادی برای کنترل علف‌های هرز از طریق روش‌های مکانیکی یا وجین دستی می‌شود که این امر می‌تواند کاهش رغبت کشاورزان به کشت چنین محصولی را در پی داشته باشد. این در حالی است که کشت حبوبات علاوه بر اهمیت ذاتی خود، از نظر پایداری

### مقدمه

سطح زیرکشت لوبیا در کشور ایران برای سال زراعی ۹۳۸۸-۸۸ معادل ۹۳۸۷ هکتار برآورد شده است که نزدیک به ۲۲ درصد آن به استان‌های لرستان و مرکزی اختصاص دارد (Anonymous, 2010). این دو استان با دارابودن بیشترین سطح زیرکشت و بالاترین مقدار تولید، مهم‌ترین قطب لوبیاکاری کشور به حساب می‌آیند.

مدیریت علف‌های هرز از جمله مشکلات مهمی است که لوبیاکاران با آن مواجه هستند. علف‌های هرز بهشت با لوبیا بر تصاحب نور، آب و عناصر غذایی به رقابت می‌پردازند. تداخل علف‌های هرز، کاهش عملکرد قابل توجه لوبیا را در پی دارد (Soltani *et al.*, 2007; Blackshaw & Esau, 1991).

\*نویسنده مسئول: خرم‌آباد، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی لرستان، بخش تحقیقات گیاه‌پژوهشی، تلفن: ۰۶۶۳۳۰۱۰۰۵، skmousavi@gmail.com

(Tripp *et al.*, 1988; Heatherly & Elmore, 1983). در این ناحیه، بستر کشت در فصل پاییز برای کاشت سویا در فصل بهار آماده می‌شود و پیش از کاشت گیاه زراعی، از علف‌کش برای کنترل علف‌های هرز رویش یافته استفاده می‌شود (Johnson & Mullinix, 2000). رهیافت دیگر برای کنترل علف‌های هرز بر اساس عملیات تهیه بستر بذر زودهنگام، استفاده از شخم سطحی پیش از کاشت است. خاک‌ورزی مکرر با تحریک رویش، سبب کاهش جمعیت بذر در لایه شخم خورده می‌شود (Chancellor, 1985). گزارش شده است در شرایط بارش مطلوب، ۵۰درصد بذور علف‌هرز در لایه شخم ظرف شش هفته پس از خاک‌ورزی جوانه زدند (Bond & Baker, 1990). در یک مزرعه آیش، مشاهده شد شخم مکرر طی چهار سال با تحریک رویش علف‌های هرز، سبب کاهش اساسی تراکم علف‌های هرز شد (Egley & Williams, 1990).

بستر کاشت زودهنگام، رهیافتی است که در آن بذور فاقد خواب در ناحیه جوانه‌زنی (لایه سطحی خاکی که علف‌های هرز از آن رویش می‌یابند) پیش از کاشت گیاه زراعی از بین برده می‌شوند. رویش علف‌های هرز از ناحیه جوانه‌زنی، به گونه علف‌هرز، نوع خاک، خاک‌ورزی و خصوصیات فیزیکی خاک وابسته است (Mohler & Galford, 1997; Buhler *et al.*, 1991; Yenish *et al.*, 1996 در اراضی زراعی از لایه شیش سانتی‌متر رویی خاک رویش Cousens & Moss, 1990; Du Croix Sissons, 1990). بیشتر علف‌های هرز می‌یابند (et al., 2000). بنابراین رهیافت تهیه بستر کاشت زودهنگام در صورتی موفق است که بذور علف‌هرز فاقد خواب واقع در لایه سطحی خاک رویش یافته و بر اثر عملیات کنترلی از بین برده شوند. لذا تخلیه بانک‌بذر لایه سطحی خاک، سبب کاهش فشار علف‌های هرز می‌شود (Boyd *et al.*, 2006).

بررسی امکان استفاده از علف‌کش پاراکوات برای کنترل علف‌های هرز پیش از رویش لوبيا و بدین‌ترتیب معرفی جایگزینی برای علف‌کش تری‌فلورالین از جمله اهداف این پژوهش است.

## مواد و روش‌ها

کارآبی علف‌کش پاراکوات برای کنترل علف‌های هرز لوبيا در چارچوب عملیات تهیه بستر کاشت زودهنگام به صورت کرت‌های خُردشده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در استان لرستان طی دو سال ۱۳۸۸ و ۱۳۸۹ به ترتیب در شهرستان‌های خرم‌آباد و سلسله، مورد ارزیابی قرار گرفت. مقدار بذر لوبيا در سه سطح ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار به کرت‌های اصلی و مدیریت علف‌های هرز در هفت

تولید محصول راهبردی گندم در سطح کشور، از اهمیت بسزایی برخوردار است.

امروزه مقاومت علف‌های هرز به علف‌کش‌ها به مشکلی جهانی تبدیل شده است. بروز مقاومت به علف‌کش در علف‌های هرز عمدهاً به دلیل مصرف مداوم علف‌کش‌های مشابه یا علف‌کش‌هایی با مکانیسم عمل مشابه است (Heap, 1999) یکی از مهم‌ترین روش‌ها در مدیریت مقاومت به علف‌کش‌ها، به حداقل رساندن مصرف مداوم سومومی است که مکانیسم عمل آنها مشابه است (Dyer, 1997). در ایران، هفت علف‌کش عمدهاً از تناوب علف‌کش‌ها یا اختلاط آنها استفاده می‌شود (Shanaer *et al.*, 2000). در ایران، هفت علف‌کش تری‌فلورالین، اتال‌فلورالین، لاسو، داکتال، ارادیکان، بازآگران و گالانت برای لوبيا به ثبت رسیده است و عمده کنترل شیمیایی علف‌های هرز در سطح مزارع لوبيای کشور با استفاده از علف‌کش تری‌فلورالین صورت می‌گیرد (Zand *et al.*, 2010).

عملیات تهیه بستر کاشت زودهنگام<sup>۱</sup>، بر این منطق استوار است که با به تأخیر انداختن کاشت گیاه زراعی پس از تهیه بستر کاشت، جمعیت‌های علف‌هرز تحریک به رویش شده و متعاقب آن از بین برده می‌شوند. در صورتی که بتوان با حداقل دستورزی خاک، علف‌های هرز رویش یافته را کنترل نمود، در آن صورت، بانک‌بذر علف‌های هرز در رویه سطحی خاک تا حدودی تخلیه شده و بدین‌ترتیب مشکل علف‌های هرز کاهش خواهد یافت (Caldwell & Mohler, 2001). عمده تحقیقات عملیات تهیه بستر بذر زودهنگام، به نظام‌های کشت سویا Heatherly *et al.*, 1993 مبتنی بر کاربرد علف‌کش‌ها استوار است (Oliver *et al.*, 1993; Oliver *et al.*, 1993)، هرچند این روش به وسیله کشاورزان ارگانیک نیز به طور گسترده‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرد (Stopes & Millington, 1991; Wookey, 1991).

گزارش شده است که یک مرحله استفاده از شعله‌افکن به فاصله چهار روز بعد از آبیاری و یک روز پیش از نشای کاهو، سبب کاهش ۶۲درصد تراکم علف‌های هرز شد (Balsari *et al.*, 1994). در آزمایش این محققان، تأثیر کاربرد شعله‌افکن در روش تهیه بستر بذر زودهنگام در حد تأثیر کاربرد علف‌کش پرونامید بود. محققان در مقایسه چندین روش عملیات تهیه بستر بذر زودهنگام برای کشت خیار مشاهده کردند که کارآبی خاک‌ورزی سطحی از نظر کنترل علف‌های هرز، بهتر از کاربرد علف‌کش گلیفوسیت بود (Johnson & Mullinix, 1998).

برای کاشت سویا در منطقه دلتای رودخانه می‌سی‌سی‌پی عملیات تهیه بستر بذر زودهنگام خاصی معرفی شده است

<sup>۱</sup> Stale seedbed

کرت به طول ۴ متر با حذف اثرات حاشیه‌ای و اجزای عملکرد با انتخاب تصادفی ۱۰ بوته لوبیا از هر کرت اندازه‌گیری شد. لازم به ذکر است که بهدلیل کمبود آب ناشی از خشکسالی شدید طی سال اول آزمایش، رشد لوبیا در اوایل دوره با تنفس مواجه شد. داههای آزمایش با استفاده از آنالیز واریانس و مقایسه میانگین‌ها به کمک آزمون LSD در سطح ۵ درصد مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

### نتایج و بحث

#### سال اول

پیچک صحراوی (*Convolvulus arvensis* L.)<sup>۱</sup>, گونه‌های ارزنی (*Solanum* spp), تاجریزی (*Setaria*)<sup>۲</sup>, توق (*Xanthium strumarium* L.), خرفه (*Chenopodium*), سلمه تره (*Portulaca oleracea* L.)<sup>۳</sup>, *Amaranthus retroflexus* (*album* L.), تاج خروس وحشی (*Physalis divaricata* D.)<sup>۴</sup>, عروسک پشت پرده یکساله (*Chrozophora tinctoria* L.)<sup>۵</sup>, گوش بره (*Echinochloa crus-galli* L.)<sup>۶</sup>, و سوروف (*Hibiscus trionum* L.)<sup>۷</sup> مهم‌ترین گونه‌های علف‌هرز شایع در سطح مزرعه آزمایش بودند.

تأثیر مقدار بذر لوبیا بر تراکم، زیست‌توده و سطح کنترل علف‌های هرز از نظر آماری معنی‌دار نبود ( $P>0.05$ ; جدول ۱). با این حال، افزایش مقدار بذر از ۱۰۰ به ۱۵۰ و ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار به ترتیب سبب کاهش ۱۶ درصد و ۲۴ درصد تراکم علف‌های هرز شد. به دنبال افزایش مقدار بذر لوبیا از ۱۰۰ به ۱۵۰ و ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار، زیست‌توده علف‌های هرز نیز به ترتیب ۱۰ و ۵۰ درصد کاهش یافت (داده‌ها نشان داده نشده است). لازم به ذکر است که مقدار بذر لوبیا در دامنه‌ای انتخاب شده بود که علاوه بر حصول حداقل عملکرد، توان رقابت با علف‌های هرز را بالا ببرد.

آنالیز واریانس داده‌های ارزیابی ارزشی سطح کنترل علف‌های هرز، گویای عدم تأثیر معنی‌دار مقدار بذر لوبیا بر سطح کنترل علف‌های هرز بود ( $P>0.05$ ; جدول ۱). تأثیر مدیریت علف‌های هرز، کاملاً معنی‌دار بود ( $P<0.01$ )، ولی اثر متقابل عوامل آزمایش معنی‌دار نبود ( $P>0.05$ ; جدول ۱). عدم معنی‌داری اثر متقابل، گویای اثرگذاری یکسان تیمارهای علف‌کش در سطوح مختلف تراکم کاشت لوبیاست.

سطح شامل: ۱) کاربرد پیش‌کاشت آمیخته با خاک علف‌کش تری‌فلورالین (EC48%) به مقدار ۲ لیتر در هکتار؛ ۲) کاربرد پاراکوات (SL20%) به مقدار ۲ لیتر در هکتار پیش از رویش لوبیا؛ ۳) کاربرد پس‌رویشی بنتازون+اسیفلورفن با نام تجاری استورم با فرمولاسیون ۴2.6%SL(29.2+13.4) به مقدار ۲ لیتر در هکتار؛ ۴) کاربرد پیش‌کاشت تری‌فلورالین به مقدار ۲ لیتر در هکتار+کاربرد پس‌رویشی بنتازون+اسیفلورفن به مقدار ۲ لیتر در هکتار در هکتار؛ ۵) کاربرد پاراکوات به مقدار ۲ لیتر در هکتار پیش از رویش لوبیا+کاربرد پس‌رویشی بنتازون+اسیفلورفن به مقدار ۲ لیتر در هکتار؛ ۶) وجین دستی علف‌های هرز و ۷) شاهد بدون کنترل علف‌های هرز، به کرت‌های فرعی اختصاص داده شد.

بعد از عملیات تهیه زمین و پیاده‌نمودن نقشه آزمایش در سطح کرت‌های فرعی مربوط، علف‌کش پیش‌کاشت تری‌فلورالین به مقدار ۲ لیتر در هکتار از ماده تجاری پاشیده شد و بلاface به استفاده از دیسکزنی، علف‌کش با خاک مخلوط گردید. متعاقب آن با استفاده از جوی‌وپشت‌ساز پشت‌تراکتوری، پشت‌هایی برای کاشت لوبیا ایجاد شد. هر کرت آزمایش شامل ۴ پشتۀ ۰۶۰ سانتی‌متری به طول ۵۵ متر بود. خاک مزارع آزمایشی از نوع سیلتی کلی و آب و هوای مناطق آزمایش، معتدل بود.

بعد از آبیاری پیش‌کاشت برای زمینه‌سازی رویش علف‌های هرز پیش از رویش گیاه‌زراعی، بر اساس تراکم مورد نظر، لوبیا رقم COS16 با تیپ رشد ایستاده و میانگین وزن ۱۰۰ داده ۲۹/۸۲ گرم، به صورت دستی در دو طرف پشت‌ها در عمق ۵ سانتی‌متری کاشته شد. علف‌کش پاراکوات به مقدار ۲ لیتر در هکتار از ماده تجاری، قبل از رویش گیاه‌زراعی لوبیا در سطح کرت‌های موردنظر برای کنترل علف‌های هرز رویش یافته پاشیده شد. سمپاشی پس‌رویشی علف‌کش بنتازون+اسیفلورفن به مقدار ۲ لیتر در هکتار مصادف با توسعه اولین سه برگ‌چهای لوبیا صورت گرفت. سمپاشی با استفاده از سمپاش پشتی ماتابی با نازل شرهای کالیبره شده بر اساس پاشش ۳۰۰ لیتر آب در هکتار انجام شد.

تراکم و زیست‌توده علف‌های هرز با نمونه‌برداری تصادفی (کادر  $50 \times 60$  سانتی‌متر) از سطح کرت‌های آزمایش، اندازه‌گیری شد. ارزیابی چشمی اثرات کنترلی بر اساس نمره‌دهی در دامنه صفر (کاملاً بی‌تأثیر) تا ۱۰۰ (کنترل کامل) صورت گرفت (Sandral et al., 1997). در سال دوم آزمایش، عملکرد دانه بر اساس برداشت لوبیا در سطح دو پشتۀ میانی هر

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس تراکم و زیست‌توده علف‌های هرز و ارزیابی چشمی سطح کنترل علف‌های هرز در شهرستان خرم‌آباد در سال ۱۳۸۸

Table 1. Analysis of variance of weed density and biomass and weed control score in Khorramabad in 2009

Sources of variation	DF	Mean square			
		Weed density <sup>1</sup>	Weed biomass <sup>2</sup>	Visual control score	Grain yield <sup>2</sup>
Replication	2	4.76 ns	1.86 ns	476.25 ns	0.311
Crop seed rate	2	1.99 ns	2.24 ns	72.21 ns	0.264
Error	4	5.76	1.96	298.02	0.231
Weed control	6	33.32 **	28.59 **	9826.68 **	0.942
Crop seed rate×Weed control	12	0.97 ns	0.82 ns	172.76 ns	0.125
Error	36	1.48	1.23	155.02	0.155
Coefficient of variation%		26.46	30.10	18.05	5.6

<sup>\*</sup>, <sup>\*\*</sup>, and <sup>ns</sup>: significant at 0.05, 0.01 and non-significant respectively  
<sup>1</sup> and <sup>2</sup>: data were analyzed after square-root and logarithmic transformation respectively

کاربرد پس‌رویشی بنتازون+اسیفلورفن و تیمارهای کاربرد تنهای علف‌کش‌های تری‌فلورالین و بنتازون+اسیفلورفن نیز با تیمار شیمیایی دارای کمترین سطح تراکم علف‌هرز، تفاوت معنی‌داری نداشتند. تیمارهای کاربرد پیش‌کاشت علف‌کش تری‌فلورالین+کاربرد پس‌رویشی بنتازون+اسیفلورفن، کاربرد پیش‌کاشت تری‌فلورالین، کاربرد پس‌رویشی بنتازون+اسیفلورفن و کاربرد پیش‌رویشی پاراکوات در مقایسه با شاهد بدون کنترل به ترتیب سبب کاهش ۶۲، ۵۶، ۵۶ و ۴۴ درصد جمعیت علف‌هرز شدند (جدول ۲).

میانگین تراکم علف‌هرز در سطح کرتهای شاهد بدون کنترل، ۵۶ بوته در مترمربع بود. تمامی تیمارهای علف‌کش در مقایسه با شاهد بدون کنترل سبب کاهش معنی‌دار تراکم علف‌هرز شدند. در بین تیمارهای علف‌کش، کمترین سطح تراکم علف‌هرز (۱۸ بوته در مترمربع) به تیمار کاربرد پیش‌رویشی علف‌کش پاراکوات به علاوه کاربرد پس‌رویشی علف‌کش بنتازون+اسیفلورفن اختصاص داشت. تیمار یادشده در مقایسه با شاهد بدون کنترل، سبب کاهش ۶۸ درصد جمعیت علف‌هرز شد. تیمار کاربرد پیش‌کاشت علف‌کش تری‌فلورالین+

جدول ۲- میانگین تراکم و زیست‌توده علف‌های هرز برای تیمارهای مختلف مدیریتی در شهرستان خرم‌آباد در سال ۱۳۸۸

Table 2. Mean density and biomass of weeds and weed control visual assessment of various treatments in Khorramabad in 2009

Weed management treatment	Weed density (Plants.m <sup>-2</sup> )	Weed biomass (g.m <sup>-2</sup> )	Visual injury %	Grain yield (kg.ha <sup>-1</sup> )
Trifluralin	24.89 bc	162.7 b	66.11 c	1162 a
Paraquat	31.11 b	119.5 b	65.00 c	1481 a
[Bentazon+acifluorfen]*	24.89 bc	116.7 bc	74.44 c	1320 a
Trifluralin+[Bentazon+acifluorfen]	21.33 c	68.52 c	89.56 ab	1261 a
Paraquat+[Bentazon+ acifluorfen]	17.78 c	72.04 bc	87.78 b	1436 a
Weeding	0.00 d	0.00 d	100.0 a	1484 a
Weedy check	56.00 a	393.0 a	0.00 d	610 b

\*[Bentazon+acifluorfen] with commercial name of Storm

In each column, treatments with similar letters had not significant difference by LSD test at 5% level.

مقایسه با شاهد بدون کنترل موجب کاهش ۸۳ درصد زیست‌توده علف‌های هرز شد. تمامی تیمارهای علف‌کش در مقایسه با شاهد بدون کنترل سبب کاهش معنی‌دار زیست‌توده علف‌های هرز شدند. تیمارهای کاربرد پیش‌رویشی پاراکوات به علاوه کاربرد پس‌رویشی بنتازون+اسیفلورفن و تیمار کاربرد تنهای علف‌کش بنتازون+اسیفلورفن به ترتیب با کاهش ۸۱/۷ و

میانگین زیست‌توده علف‌های هرز برای تیمار شاهد بدون کنترل، ۳۹۳ گرم در مترمربع بود. کمترین سطح تولید زیست‌توده علف‌هرز (۶۸/۵ گرم در مترمربع) به تیمار کاربرد پیش‌کاشت تری‌فلورالین به علاوه کاربرد پس‌رویشی بنتازون+اسیفلورفن اختصاص داشت. تیمار کاربرد پیش‌کاشت تری‌فلورالین به علاوه کاربرد پس‌رویشی بنتازون+اسیفلورفن در

در نتایج محققان دیگر نیز برای بستر کاشت زودهنگام سویا تیمار شده با علف کش یا خاکورزی نیز تراکم کمتر علف‌های هرز و عملکرد بیشتر گیاه زراعی گزارش شده است (Burnside *et al.*, 1980). اشاره شده است که استفاده از کولتیواتور چرخان بعد از جوانه‌زنی علف‌های هرز و به فاصله کوتاهی پیش از رویش، سبب کاهش جمعیت بذر موجود در لایه شخم خورده شده است (Gunsolus, 1990).

#### سال دوم

تراکم علف‌های هرز: عروسک پشت‌پرده یک‌ساله، پیچک صحرایی، ارزنی (*Sorghum viridis* L.), قیاق (*Setaria halpens* L.) و کنف وحشی مهم‌ترین گونه‌های علف‌های هرز در سال دوم آزمایش بودند. بر اساس نتایج آنالیز واریانس، تأثیر مقدار بذر لوبيا بر تراکم علف‌های هرز از نظر آماری معنی‌دار نبود، در حالی که تراکم علف‌های هرز به طور کاملاً معنی‌داری تحت تأثیر مدیریت علف‌های هرز قرار گرفت (جدول ۳). همه تیمارهای مدیریت در مقایسه با شاهد بدون کنترل، موجبات کاهش معنی‌دار تراکم علف‌های هرز را فراهم آوردند. تیمارهای کاربرد تری‌فلورالین و تلفیق آن با کاربرد پس‌رویشی بنتازون‌اسیفلورفن به ترتیب با کاهش ۷۸ و ۷۵ درصد تراکم علف‌های هرز برترین تیمارهای علف‌کش از نظر کنترل علف‌های هرز بودند. کاربرد تلفیقی پاراکوات و بنتازون‌اسیفلورفن نیز با کاهش ۴۵ و ۴۳ درصد تراکم علف‌های هرز با تیمار کاربرد تلفیقی تری‌فلورالین و بنتازون‌اسیفلورفن تفاوت معنی‌داری نداشت. کاهش تراکم علف‌های هرز برای کاربرد تنها علف‌کش‌های پاراکوات و بنتازون‌اسیفلورفن به ترتیب ۳۸ و ۳۶ درصد بود (جدول ۵). بر مبنای تراکم، هیچ یک از تیمارهای علف‌کش، توفیق چندانی در کنترل علف‌های هرز عروسک پشت‌پرده یک‌ساله و علف‌های هرز چندساله پیچک صحرایی نداشتند.

۷۰/۳ درصد زیست‌توده علف‌های هرز در مقایسه با شاهد بدون کنترل با تیمار کاربرد پیش‌کاشت تری‌فلورالین به علاوه کاربرد پس‌رویشی بنتازون‌اسیفلورفن، تفاوت معنی‌داری نداشتند. کاربرد پیش‌رویشی علف‌کش پاراکوات با کاهش ۶۹/۶ درصد زیست‌توده علف‌های هرز با تیمار کاربرد پیش‌کاشت علف‌کش تری‌فلورالین با کاهش ۵۸/۶ درصد زیست‌توده علف‌های هرز تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۲).

در بین تیمارهای کنترل شیمیایی کاربرد پیش‌کاشت تری‌فلورالین به علاوه کاربرد پس‌رویشی بنتازون‌اسیفلورفن بر اساس ارزیابی چشمی از نظر سطح کنترل علف‌های هرز با تیمار و جین دستی علف‌های هرز تفاوت معنی‌داری نداشت. میانگین سطح کنترل علف‌های هرز برای تیمارهای کاربرد پیش‌کاشت تری‌فلورالین به علاوه کاربرد پس‌رویشی بنتازون‌اسیفلورفن و کاربرد پیش‌رویشی پاراکوات به علاوه کاربرد پس‌رویشی استوره به ترتیب ۹۰ و ۸۸ درصد بود. بین دو تیمار اخیر، تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. سطح کنترل علف‌های هرز برای تیمارهای کاربرد پس‌رویشی بنتازون‌اسیفلورفن، کاربرد پیش‌رویشی پاراکوات و کاربرد پیش‌کاشت تری‌فلورالین به ترتیب ۷۴ و ۶۶ و ۶۵ درصد بود. بین دو تیمارهای یادشده تفاوت معنی‌داری وجود نداشت، ولی سطح کنترل آنها به طور معنی‌داری کمتر از سطح کنترل ناشی از کاربرد تلفیقی پیش‌کاشت تری‌فلورالین یا پیش‌رویشی پاراکوات به علاوه پس‌رویشی علف‌کش بنتازون‌اسیفلورفن بود (جدول ۲).

عملکرد دانه لوبيا به طور معنی‌داری تحت تأثیر مدیریت علف‌های هرز قرار گرفت ( $P<0.01$ ; جدول ۱). بین تیمارهای کنترلی و جین دستی، تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. عملکرد دانه لوبيا برای همه تیمارهای مدیریتی به طور معنی‌داری بیشتر از شاهد بدون کنترل بود (جدول ۲).

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس تراکم و زیست‌توده علف‌های هرز در شهرستان سلسنه در سال ۱۳۸۹  
Table 3. Analysis of variance of weed density and biomass and weed control score in Selseleh in 2010

Sources of variation	DF	Mean square	
		Weed density <sup>1</sup>	Weed biomass <sup>2</sup>
Replication	2	1.74 ns	0.09 ns
Crop seed rate	2	0.81 ns	0.54 *
Error	4	0.28	0.07
Weed control	6	13.68 **	32.11 **
Crop seed rate×Weed control	12	0.24 ns	0.13 ns
Error	36	0.62	0.31
Coefficient of variation%		34.16	13.27

\*، \*\*، and ns: significant at 0.05, 0.01 and non-significant respectively

<sup>1</sup> and <sup>2</sup>: data were analyzed after square-root and logarithmic transformation respectively

جدول ۴ - تأثیر مقدار بذر لوبيا بر تراکم و زیست‌توده علف‌های هرز در شهرستان سلسنه در سال ۱۳۸۹

Table 4. Influence of crop seeding rate on weed species density in Selseleh in 2010

Crop seed rate (kg.ha <sup>-1</sup> )	Weed density (plants.m <sup>-2</sup> )	Weed biomass (g.m <sup>-2</sup> )
100	7.67 a	151.0 a
150	7.33 a	120.6 b
200	6.29 a	136.0 ab

In each column, treatments with similar letters had not significant difference by LSD test at 5% level.

جدول ۵ - تأثیر تیمارهای مختلف مدیریتی بر تراکم و زیست‌توده علف‌های هرز در شهرستان سلسنه در سال ۱۳۸۹

Table 5. Influence of various treatments on weed density and biomass in Selseleh in 2010

Treatment	Weed density (plants.m <sup>-2</sup> )	Weed biomass (g.m <sup>-2</sup> )
Trifluralin	3.44 c	87.44 b
Paraquat	9.67 ab	201.1 a
[Bentazon+acifluorfen]*	10.00 ab	185.3 a
Trifluralin+[Bentazon+acifluorfen]	3.89 c	99.78 b
Paraquat+[Bentazon+ acifluorfen]	7.11 b	168.7 ab
Weeding	0.00 d	0.00 c
Weedy check	15.56 a	206.7 a

In each column, treatments with similar letters had not significant difference by LSD test at 5% level.

به وسیله پاراکوات، تری‌فلورالین، پاراکوات+استورم و استورم کاهش معنی داری نشان نداد. جمیعت علف‌های هرز از نیز به خوبی توسط علف‌کش‌های تری‌فلورالین، تری‌فلورالین+استورم و پاراکوات+استورم به طور معنی داری کاهش یافت. علف‌های هرز قیاق تحت تأثیر علف‌کش تری‌فلورالین تا حدودی کاهش جمیت نشان داد، ولی این کاهش معنی دار نبود (جدول ۶).

جمیعت علف‌های هرز عروسانک پشت‌پرده در تیمار شاهد ۴ بوته در مترمربع بود که با بقیه تیمارهای علف‌کش تفاوت معنی داری نداشت. پیچک صحرایی نیز در تیمارهای علف‌کشی تفاوت معنی داری با شاهد بدون کنترل نداشت. جمیعت علف‌های هرز کنفوخی به خوبی به وسیله تیمار علف‌کش تری‌فلورالین+استورم به طور معنی داری کاهش یافت، ولی

جدول ۶ - تأثیر تیمارهای مختلف علف‌کش بر تراکم علف‌های هرز به تفکیک گونه در شهرستان سلسنه در سال ۱۳۸۹

Table 6. Influence of various treatments on weed species density in Selseleh in 2010

Treatment	Weed density (plants/m <sup>2</sup> )				
	<i>Physalis divaricata</i>	<i>Convolvulus arvensis</i>	<i>Hibiscus sp.</i>	<i>Setaria viridis</i>	<i>Sorghum halpens</i>
Trifluralin	0.05b	6.4a	0.5bc	0.7c	0b
Paraquat	0.4ab	7.5a	1.2ab	3.7b	0.2ab
Storm	1.3a	3.3ab	0.6bc	5b	1a
Trifluralin+Storm	0.4ab	5.7a	0.4c	0.4c	0.3ab
Paraquat+Storm	0.1ab	6.3a	1.5a	2.6bc	0.6ab
Weeding	0b	0b	0c	0c	0b
Weedy	0.4ab	5.6a	1.2ab	8a	0.6ab

In each column, treatments with similar letters had not significant difference by LSD test at 5% level.

به کمترین مقدار بذر مربوط بود (جدول ۴). در بین تیمارهای علف‌کش، کمترین مقدار زیست‌توده علف‌های هرز به تیمارهای مبتنی بر کاربرد تری‌فلورالین اختصاص داشت که به طور میانگین در مقایسه با شاهد بدون کنترل سبب کاهش ۵۵ درصد تولید زیست‌توده علف‌های هرز شد.

زیست‌توده علف‌های هرز؛ بر اساس نتایج آنالیز واریانس مجموع زیست‌توده علف‌های هرز به طور معنی داری تحت تأثیر مقدار بذر لوبيا و مدیریت علف‌های هرز قرار گرفت ( $P<0.01$ ). کمترین مقدار زیست‌توده علف‌های هرز در سطح متوسط مقدار بذر لوبيا حاصل شد. بیشترین مقدار زیست‌توده علف‌های هرز نیز

به وسیلهٔ تیمارهای علف‌کش، کاهش معنی‌داری در زیست‌توده پیچک صحرایی به وجود نیامد و تفاوت معنی‌داری بین شاهد بدون کنترل و بقیهٔ تیمارها نبود. زیست‌توده علف‌هرز کنفوچی به وسیلهٔ تیمار علف‌کش تری‌فلورالین+استورم به طور معنی‌دار کاهش یافت ولی به وسیلهٔ پاراکوات، تری‌فلورالین، پاراکوات+استورم و استورم به طور معنی‌دار کاهش نیافت. زیست‌توده علف‌هرز ارزنی نیز توسط علف‌کش‌های تری‌فلورالین، تری‌فلورالین+استورم و پاراکوات+استورم به طور معنی‌دار کاهش یافت. (جدول ۷).

در پژوهش Caldwell & Mohler (2001) استفاده از شعله‌افکن یا کاربرد گلیفوسیت در روش عملیات تهیه بستر بذر زودهنگام به طور معنی‌داری سبب کاهش تراکم و زیست‌توده گونه‌های علف‌هرز پهن برگ مهمی مثل خرفه و گندمک شد. این امر گویای کارآبی مناسب این تکنیک‌ها در روش تهیه بستر بذر زودهنگام است. البته هیچ‌یک از تکنیک‌های مورد استفاده در روش تهیه بستر بذر زودهنگام علیه علف‌هرز اویارسلام (*Cyperus esculentus* L.) مؤثر نبودند.

تیمارهای تری‌فلورالین و تری‌فلورالین+بنتاژون+اسیفلورفن در کنترل علف‌هرز عروسک‌پشت‌پرده تا حدودی موفق‌تر از سایر تیمارهای علف‌کش بودند. پیچک صحرایی تحت تأثیر تیمارهای علف‌کش قرار نگرفت. تیمار تری‌فلورالین+بنتاژون+اسیفلورفن در کنترل علف‌هرز کنفوچی موفق بود، ولی پاراکوات، تری‌فلورالین، پاراکوات+بنتاژون+اسیفلورفن و بنتاژون+اسیفلورفن کارآبی لازم برای کنترل این علف هر را نداشتند. علف‌هرز چسبک نیز به خوبی به وسیلهٔ علف‌کش‌های تری‌فلورالین، تری‌فلورالین+بنتاژون+اسیفلورفن و پاراکوات+بنتاژون+اسیفلورفن کنترل شد. علف‌هرز قیاق تحت تأثیر تری‌فلورالین تا حدودی کنترل شد.

بیوماس علف‌هرز عروسک‌پشت‌پرده در تیمار شاهد بدون کنترل، ۲۸/۶ گرم در مترمربع بود. این علف‌هرز به وسیلهٔ تیمارهای علف‌کش تری‌فلورالین و تری‌فلورالین+استورم کاهش معنی‌داری از نظر زیست‌توده نشان داد و تفاوت معنی‌داری با بقیهٔ تیمارها داشت. بیوماس این علف‌هرز تحت تأثیر تیمارهای علف‌کش پاراکوات، استورم و پاراکوات+استورم قرار نگرفت.

جدول ۷- تأثیر تیمارهای مختلف علف‌کش بر زیست‌توده علف‌های هرز به تفکیک گونه در شهرستان سلسنه در سال ۱۳۸۹

Table 7. Influence of various treatments on weed species biomass in Selseleh in 2010

Treatment	<i>Physalis divaricata</i>	<i>Convolvulus arvensis</i>	<i>Hibiscus sp.</i>	<i>Setaria viridis</i>	<i>Sorghum halpens</i>
Trifluralin	2.7b	22.1ab	25ab	18bc	20ab
Paraquat	18ab	45.6a	16.8abc	38.4ab	36a
Storm	14.7ab	58.2a	11.2bc	27.9bc	35a
Trifluralin+Storm	6ab	38.2ab	9.2bc	13bc	20.8ab
Paraquat+Storm	17ab	34.5ab	30.6a	24.7bc	4.8ab
Weeding	0b	0b	0c	0c	0b
Weedy	28.6a	18.6ab	6.6c	63a	21.5ab

In each column, treatments with similar letters had not significant difference by LSD test at 5% level.

لوبیا شدند. کاربرد تلفیقی پاراکوات و بنتاژون+اسیفلورفن نیز افزایش ۴۷ درصد تعداد غلاف در بوته لوبیا را در پی داشت (جدول ۱۰).

با افزایش مقدار بذر کاشت لوبیا از ۱۰۰ به ۱۵۰ و ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار، تعداد دانه در بوته به ترتیب ۱۱ درصد و ۲۸ درصد کاهش یافت (جدول ۹). و چین علف‌های هرز در مقایسه با شاهد بدون کنترل، سبب افزایش ۷۵ درصد تعداد دانه در هر بوته لوبیا شد. این امر گویای توانایی بالای خسارت رسانی علف‌های هرز در کشت لوبیاست. تیمارهای کاربرد تری‌فلورالین به تنها یی و در تلفیق با کاربرد پسرویشی بنتاژون+اسیفلورفن از نظر تعداد دانه در بوته با تیمار و چین دستی در یک گروه قرار داشتند.

عملکرد و اجزای عملکرد لوبیا: نتایج آنالیز واریانس نشان داد که تأثیر مقدار بذر لوبیا بر تعداد دانه در بوته، وزن ۱۰۰۰ دانه و عملکرد دانه لوبیا معنی‌دار بود ( $P<0.05$ ). مدیریت علف‌های هرز بر وزن ۱۰۰۰ دانه تأثیر معنی‌دار نداشت، ولی بر تعداد غلاف و تعداد دانه در بوته و عملکرد دانه تأثیر معنی‌دار داشت. اثر متقابل مقدار بذر و مدیریت علف‌های هرز بر صفات زراعی لوبیا، تأثیر معنی‌داری نداشت (جدول ۸).

افزایش مقدار بذر لوبیا از ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار به ۱۵۰ و ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار به ترتیب سبب کاهش ۱۰ درصد و ۲۲ درصد تعداد غلاف در بوته لوبیا شد (جدول ۹). تیمارهای مشتمل بر کاربرد تری‌فلورالین به طور میانگین در مقایسه با شاهد بدون کنترل سبب افزایش ۷۳ درصد تعداد غلاف در بوته

جدول ۸- نتایج تجزیه واریانس تعداد دانه در بوته، تعداد غلاف در بوته، وزن ۱۰۰۰دانه و عملکرد دانه لوبیا در شهرستان سلسله در سال ۱۳۸۹

Table 8. Analysis of variance of number of seeds per plant, number of pods per plant, 1000 seeds weight and grain yield of common bean in Selseleh in 2010

Sources of variation	DF	Mean square			
		No. seeds.plant <sup>-1</sup>	No. pods.plant <sup>-1</sup>	1000 seeds weight	Grain yield
Replication	2	0.51 ns	0.20 ns	6.35 ns	905.33 ns
Crop seed rate	2	5.25 *	1.18 ns	6273.02 *	6537.00 **
Error	4	0.26	0.29	806.35	269.62
Weed control	6	6.82 *	2.32 *	4444.44 ns	20450.65 **
Crop seed rate×Weed control	12	0.86 ns	0.32 ns	3650.79 ns	1410.74 ns
Error	36	0.93	0.58	3080.42	1000.43
Coefficient of variation%		16.33	19.67	12.18	23.62

\* , \*\* , and ns: significant at 0.05, 0.01 and non- significant respectively

جدول ۹- تأثیر مقدار بذر لوبیا بر تعداد دانه، تعداد غلاف، وزن ۱۰۰۰دانه و عملکرد دانه لوبیا در شهرستان سلسله در سال ۱۳۸۹

Table 9. Influence of crop seeding rate on number of seeds per plant, number of pods per plant, 1000 seeds weight and grain yield of common bean in Selseleh in 2010

Crop seed rate (kg.ha <sup>-1</sup> )	No. pods.plant <sup>-1</sup>	No. seeds.plant <sup>-1</sup>	1000 Seeds weight (g)	Grain yield (kg.ha <sup>-1</sup> )
100	17.6 a	41.6 a	448.6 b	1163 c
150	15.9 ab	37.0 a	475.2 a	1338 b
200	13.8 b	30.1 b	442.9 b	1516 a

In each column, treatments with similar letters had not significant difference by LSD test at 5% level.

بنتازون+اسیفلورفن از نظر تعداد دانه در بوته با شاهد بدون کنترل تفاوت معنی داری نداشتند (جدول ۱۰) که این موضوع گویای کارآیی ناکافی این تیمارها در کنترل علفهای هرز است.

کاربرد تلفیقی پاراکوات و بنتازون+اسیفلورفن نیز با تیمار وجین دستی تفاوت معنی داری نداشت. در بین تیمارهای مختلف، کاربرد تنهای پاراکوات و کاربرد تنهای

جدول ۱۰- تأثیر مدیریت علفهای هرز بر تعداد دانه، تعداد غلاف، وزن ۱۰۰۰دانه و عملکرد دانه لوبیا در شهرستان سلسله در سال ۱۳۸۹

Table 10. Influence of various treatments on number of seeds per plant, number of pods per plant, 1000 seeds weight and grain yield of common bean in Selseleh in 2010

Weed management treatment	No. pods.plant <sup>-1</sup>	No. seeds.plant <sup>-1</sup>	1000 seeds weight (g)	Grain yield (kg.ha <sup>-1</sup> )
Trifluralin	21.6 a	48.9 a	468.9 ab	1517 ab
Paraquat	11.9 b	27.0 c	462.2 ab	849 c
[Bentazon+acifluorfen]*	11.6 b	24.2 c	435.6 b	1168 b
Trifluralin+[Bentazon+acifluorfen]	19.2 a	44.8 ab	460.0 ab	1831 ab
Paraquat+[Bentazon+ acifluorfen]	17.3 ab	36.1 bc	435.6 b	1263 b
Weeding	16.8 ab	45.9 ab	493.3 a	2010 a
Weedy check	11.8 b	26.8 c	433.3 b	736 c

In each column, treatments with similar letters had not significant difference by LSD test at 5% level.

به ۱۵۰ و ۲۰۰ کیلوگرم، عملکرد دانه لوبیا به ترتیب به میزان ۱۵ و ۳۰ درصد افزایش یافت (جدول ۹).

با افزایش تراکم لوبیا، اجزای عملکرد و به دنبال آن عملکرد تک بوته کاهش یافت، چون بوته‌ها بر اثر رقابت درون‌گونه‌ای تضعیف شدند. ولی از سوی دیگر، عملکرد در واحد سطح به دلیل

بیشترین میانگین وزن ۱۰۰۰دانه، به مقدار بذر ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار اختصاص داشت. بر اساس آزمون مقایسه میانگین، وزن ۱۰۰۰دانه برای مقدار بذر ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار، به طور معنی داری بیشتر از وزن ۱۰۰۰دانه مقداری بذر ۱۰۰ و ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار بود. با افزایش مقدار بذر از ۱۰۰

بر اساس نتایج این آزمایش، بهنظر می‌رسد با تهیه بستر کاشت زودهنگام و انجام آبیاری پیش از کاشت به‌منظور فراهم‌سازی زمینه رویش فلاش‌های علف‌های هرز پیش از سبزشدن گیاه‌زارعی و کاربرد علف‌کش پاراکوات پیش از رویش لوبيا می‌توان در تلفیق با کاربرد علف‌کش‌های پس‌رویشی نظری بنتاژون+اسیفلورفن موجبات کنترل مناسب علف‌های هرز را فراهم آورد. در این بین، افزایش تراکم کاشت لوبيا با کاربرد مقدار بذر بیشتر در دامنه‌ای منطقی نیز می‌تواند ضمن کاهش خسارت علف‌های هرز، زمینه حصول عملکرد بالاتری را فراهم آورد.

مزیت رهیافت بستر کاشت زودهنگام، امکان استفاده از علف‌کش‌های غیرانتخابی نظری پاراکوات و گلیفوسیت برای کنترل علف‌های هرز رویش‌یافته پیش از سبزشدن گیاه‌زارعی است. باید توجه داشت که در شرایط معمول کشت لوبيا، امکان استفاده از چنین علف‌کش‌های غیرانتخابی وجود ندارد. در صورتی که امکان تهیه بستر کاشت در اوایل فصل بهار فراهم باشد، می‌توان بدون آبیاری و صرف‌آ با استفاده از بارندگی، زمینه رویش بذور علف‌های هرز واقع در لایه سطحی خاک را فراهم آورد و سپس پیش از کاشت گیاه‌زارعی یا به فاصله کوتاهی پیش از رویش گیاه‌زارعی با تیمارهای سراسری از قبیل شعله‌افکن، خاک‌ورزی سطحی یا کاربرد علف‌کش‌های عمومی مانند پاراکوات و گلیفوسیت، علف‌های هرز رویش‌یافته را کنترل نمود. ذکر این نکته ضروری است که عملیات کاشت می‌بایست با حداقل برهم‌زدگی خاک صورت گیرد، چه در غیراین صورت، بر اثر برهم‌زدگی شدید، بذور علف‌های هرز از عمق‌های زیرین به سطح خاک آورده می‌شوند که بدین ترتیب سبب ناکارآمدی عملیات تخلیه بانک‌بذر رویی خواهد شد. رهیافت تهیه بستر کاشت زودهنگام به‌خصوص از نظر کاهش اتكاء به علف‌کش پرمصرف تری‌فلورالین که از دیرباز در مناطق لوبياکاری کشور مورد استفاده قرار می‌گیرد و هرآن، بیم بروز مقاومت علف‌های هرز بر اثر مصرف مکرر این تک‌علف‌کش طی سالیان متمادی می‌رود، می‌تواند امیدبخش و راهگشا باشد.

فراهیمی آب برای آبیاری پیش‌کاشت از جمله مسائل مهم رهیافت تهیه بستر کاشت زودهنگام است. بهنظر می‌رسد با توجه به بارش‌های مناسب اوایل بهار در عمدۀ مناطق لوبياکاری کشور، به‌خصوص قطب لوبياخیز کشور (شهرستان‌های ازنا، دورو، الیگودرز و سلسۀ در استان لرستان)، می‌توان با عملیات تهیه بستر کاشت زودهنگام حداقل طی ۱/۵ تا ۲ ماه زمینه رویش علف‌های هرز و تخلیه بانک بذر سطحی خاک را بدون انجام آبیاری و صرف‌آ با اتكاء به نزولات آسمانی فراهم ساخت.

افزایش تراکم زیاد شد. در پژوهش‌های دیگر مربوط به حبوبات نیز مشخص شده است که با افزایش تراکم بوته، اجزای عملکرد، روند کاهشی ولی عملکرد دانه در واحد سطح افزایش یافته است (Gasemi Gholezani *et al.*, 1994).

تداخل علف‌های هرز در مقایسه با تیمار وجین دستی سبب کاهش ۶۳درصد عملکرد دانه لوبيا شد. در بین تیمارهای علف‌کش بیشترین عملکرد دانه به تیمار تلفیقی کاربرد تری‌فلورالین به علاوه کاربرد پس‌رویشی بنتاژون+اسیفلورفن مربوط بود که با تیمار وجین دستی تفاوت معنی‌داری نداشت. البته تیمار کاربرد تنها تری‌فلورالین نیز از این نظر با تیمار وجین دستی تفاوت معنی‌داری نداشت. به استثنای تیمار کاربرد تنها پاراکوات، سایر تیمارهای علف‌کش در مقایسه با شاهد بدون کنترل سبب افزایش معنی‌دار عملکرد دانه لوبيا شدند. کاربرد پس‌رویشی بنتاژون+اسیفلورفن به تنها بیان در مقایسه با شاهد بدون کنترل، افزایش درصد عملکرد دانه لوبيا را در پی داشت. کاربرد پس‌رویشی بنتاژون+اسیفلورفن در تلفیق با تری‌فلورالین و پاراکوات، به ترتیب سبب افزایش ۲۱ و ۴۹ درصد عملکرد دانه لوبيا در مقایسه با کاربرد تنها این علف‌کش‌ها شد (جدول ۱۰). این مسئله گویای اهمیت کنترل پس‌رویشی علف‌های هرز و عدم کفایت تیمارهای پیش‌کاشت و پیش‌رویشی برای دستیابی به سطح کنترل مطلوب و ممانعت از کاهش عملکرد لوبياست.

نبود راهکارهای جایگزین و اتكائی پیش از حد به یک شیوه کنترل به‌خصوص کاربرد یک علف‌کش طی سالیان متمادی، می‌تواند منجر به بروز مقاومت علف‌های هرز و کاهش فرصت‌های کنترل علف‌های هرز شود. با توجه به استفاده مستمر کشاورزان لوبياکار طی سالیان زیاد از علف‌کش تری‌فلورالین و بیم ظهور علف‌های هرز مقاوم به این علف‌کش، بهنظر می‌رسد کاربرد علف‌کش پاراکوات در قالب روش تهیه بستر زودهنگام می‌تواند سبب جلوگیری یا حداقل به‌تأخراندازی مقاومت در گونه‌های علف‌های هرز شود.

عملیات تهیه بستر بذر زودهنگام یکی از اجزای مدیریت تلفیقی است که فرصتی برای بهبود کنترل علف‌های هرز فراهم می‌آورد. این عملیات را می‌توان به صورت تهیه بستر کاشت چندین روز، هفت‌هه یا ماه پیش از کاشت گیاه‌زارعی توصیف کرد. اصل استفاده از برهم‌زدگی خاک برای تحریک جوانهزنی و رویش علف‌های هرز و متعاقب آن کنترل سراسری، در مطالعات زیادی مورد اشاره قرار گرفته است. یکی از رهیافت‌ها، تیمار بستر بذر زودت‌هیه شده با علف‌کش غیرانتخابی پیش از کاشت گیاه‌زارعی به‌منظور کنترل علف‌های هرز رویش‌یافته است (Johnson & Mullinix, 2000).

منابع

1. Anonymous. 2010. Agriculture Statistics, 2008-09. Bureau of Statistics and Information Technology Ministry of Agriculture. <http://www.maj.ir>.
2. Balsari, P., Berruto, R., and Ferrero, A. 1994. Flame weed control in lettuce crop. *Acta Hort.* 372: 213-222.
3. Blackshaw, R.E., and Esau, R. 1991. Control of broadleaf weeds in pinto beans (*Phaseolus vulgaris*). *Weed Technol.* 5: 532-538.
4. Bond, W., and Baker, P.J. 1990. Patterns of Weed Emergence Following Soil Cultivation and its Implications for Weed Control in Vegetable Crops. Monograph-British Crop Protection Council 45: 63-68.
5. Boyd, N.S., Brennan, E.B., and Fennimore, S.A. 2006. Stale seedbed techniques for organic vegetable production. *Weed Technol.* 20(4): 1052-1057.
6. Buhler, D.D., and Mester, T.C. 1991. Effect of tillage systems on the emergence depth of giant (*Setaria faberi*) and green foxtail (*Setaria viridis*). *Weed Sci.* 39: 200-203.
7. Burnside, O.C., Wicks, G.A., and Carlson, D.R. 1980. Control of weeds in an oat (*Avena sativa*)-soybean (*Glycine max*) ecofarming rotation. *Weed Sci.* 28: 46-50.
8. Caldwell, B., and Mohler, C.L. 2001. Stale seedbed practices for vegetable production. *Hortscience* 36(4): 703-705.
9. Chancellor, R.J. 1985. Tillage effects of annual weed germination. *World Soybean Res. Conf. III Proc.* 3: 1105-1111.
10. Cousens, R., and Moss, S.R. 1990. A model of the effects of cultivation on the vertical distribution of weed seeds within the soil. *Weed Res.* 30: 61-70.
11. Du Croix Sissons, M.J., Van Acker, R.C., Derkzen, D.A., and Thomas, A.G. 2000. Depth of seedling recruitment of five weed species measured in situ in conventional and zero-tillage fields. *Weed Sci.* 48: 327-332.
12. Dyer, W.E. 1997. Herbicide resistance weed management: Who's resistance? *Weed Sci.* 45: 465.
13. Egley, G.H., and Williams, R.D. 1990. Decline of weed seeds and seedling emergence over five years as affected by soil disturbance. *Weed Sci.* 38: 504-510.
14. Gasemi Gholezani, K., Mohamadi, S., Rahimzade-Khoei, F., and Moghadam, M. 1994. Quantitative relationship between plant density and chickpea seed yield in different sowing dates. *J. Agricultural Sci. University of Tabriz* 7: 59-73. (In Persian with English Summary).
15. Gunsolus, J.L. 1990. Mechanical and cultural weed control in corn and soybeans. *Am. J. Altern. Agric.* 5: 114-119.
16. Heap, I. 1999. International survey of herbicide resistance weeds. Online. [www.weedscience.com](http://www.weedscience.com).
17. Heatherly, L.G., and Elmore, C.D. 1983. Response of soybeans (*Glycine max*) to planting in untilled, weedy seedbed on clay soil. *Weed Sci.* 31: 93-99.
18. Heatherly, L.G., Wesley, R.A., Elmore, C.D., and Spurlock, S.R. 1993. Net returns from stale seedbed plantings of soybean (*Glycine max*) on clay soil. *Weed Technol.* 7: 972-980.
19. Johnson, W.C., and Mullinix, B.G. 1998. Stale seedbed weed control in cucumber. *Weed Sci.* 46: 698-702.
20. Johnson, W.C., and Mullinix, B.G. 2000. Evaluation of tillage implements for stale seedbed tillage in peanut (*Arachis hypogaea*). *Weed Technology* 14(3): 519-523.
21. Mohler, C.L., and Galford, A.E. 1997. Weed seedling emergence and seed survival: separating the effects of seed position and soil modification by tillage. *Weed Res.* 37: 147-155.
22. Oliver, L.R., Klingaman, T.E., McClelland, M., and Bozsa, R.C. 1993. Herbicide systems in stale seedbed soybean (*Glycine max*) production. *Weed Technol.* 7: 816-823.
23. Powel, S.B., Peterson, C., Bryan, I.B., and Jutsum, A.R. 1997. Herbicide resistance: Impact and management. *Adv. in Agron.* 58: 57-93.
24. Sandral, G.A., Dear, B.S., Pratley, J.E., and Cullis, B.R. 1997. Herbicide dose rate response curve in subterranean clover determined by a bioassay. *Aust. J. Exp. Agric.* 37: 67-74.
25. Shanaer, D.L., Howard, S., and Chalmers, I. 2000. Effectiveness of mode of action labeling for resistance management: Survey of Australian farmers. <http://www.plantprotection.org>.
26. Soltani N., Van Eerd, L.L., Vyn, R., Shropshire, C., and Sikkema, P.H. 2007. Weed management in dry beans (*Phaseolus vulgaris*) with dimethenamid plus reduced doses of imazethapyr applied preplant incorporated. *Crop Protection* 26: 739-745.
27. Stopes, C., and Millington, S. 1991. Weed control in organic farming systems. In: Brighton Crop Protection Conf. Weeds. Brit. p. 185-192. Crop Protection Council, Farnham, U.K.

28. Tripp, T.N., Oliver, L.R., and Baldwin, F.L. 1988. Use of imazaquin and chlorimuron plus metribuzin in stale seedbed soybeans. Proc. South. Weed Sci. Soc. 41: 38.
29. Wookey, C.B. 1985. Weed control practice on an organic farm. In: British Crop Protection Conf. Weeds. Brit. p. 577-582. Crop Protection Council, Croydon, U.K.
30. Yenish, J.P., Fry, T.A., Durgan, B.R., and Wyse, D.L. 1996. Tillage effects on seed distribution and common milkweed (*Asclepias syriaca*) establishment. Weed Sci. 44: 815-820.
31. Zand E., Baghestani, M.A., Nezamabadi, N., and Shimi, P. 2010. Application guide of registered herbicides in Iran. Mashhad. Jihade-e-Daneshgahi Press. (In Persian).

## **Efficacy of paraquat herbicide for common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) weed management in stale seedbed practices**

**Rahimian Mashhadi<sup>1</sup>, H., Mousavi<sup>2\*</sup>, S.K. & Nazari Alem<sup>3</sup>, J.**

1. Contribution from College of Agriculture, Tehran University
2. Contribution from Agricultural and Natural Resources Research and Education Center of Lorestan
3. MSc. in Identify and Weed Control from Tehran University

Received: 26 May 2012  
Accepted: 11 August 2014

### **Abstract**

Paraquat herbicide weed control efficacy in stale seedbed practices was evaluated by split plots arrangement according to a randomized complete block design with three replications in Lorestan province during 2009 and 2010. The common bean seed rate (in three levels: 100, 150 and 200 kg.ha<sup>-1</sup>) and weed management in seven levels (1. Trifluralin PPI; 2. Paraquat PRE; 3. Bentazon+acifluorfen POST; 4. Trifluralin PPI+ Bentazon+acifluorfen POST; 5. Paraquat PRE +Bentazon+acifluorfen POST; 6. Hand weeding; 7. Weedy check) were allocated to main plots and sub plots, respectively. In the first year, among the herbicide treatments, the lowest weed density was belonged to the paraquat PRE+Bentazon+acifluorfen POST, that reduced weed density by 68% in comparison to weedy check. Trifluralin PPI+ Bentazon+acifluorfen POST, Paraquat PRE +Bentazon+acifluorfen POST, and Bentazon+acifluorfen POST alone were reduced weed biomass 83, 82 and 70%, respectively. Based on the second year experimental results, all management treatments significantly reduced weed density compared to weedy check. Treatments included Trifluralin PPI, by average were reduced weed density 77% compared to weedy check. Integrated application of Paraquat PRE+Bentazon+acifluorfen POST, also reduced weed density by 55%, and had not significant differences with superior treatment.

**Key words:** Bentazon+acifluorfen, trifluralin, weed management

---

\* Corresponding Author: skmousavi@gmail.com, Tel: 066-33301005

## ارزیابی تأثیر نوع رقم و زمان خیساندن و پخت بر ویژگی‌های بافت، جذب آب و میزان ترکیدگی لوبیا قرمز ایرانی

لیلا مصطفی<sup>۱\*</sup>، نفیسه زمیندار<sup>۲</sup> و مهدی عموحیدری<sup>۳</sup>

۱- به ترتیب، مربی و کارشناس ارشد گروه صنایع غذایی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرضا

۲- استادیار گروه صنایع غذایی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد خوارسکان

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۰۹/۱۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۲/۱۲

### چکیده

لوبیاها منبع غنی از فیبرهای رژیمی و ترکیبات شیمیایی گیاهی از قبیل فلاونوئید و فنولیک هستند و ویژگی‌های فراسودمند بسیاری نشان داده‌اند. در این مطالعه اثر رقم، زمان خیساندن و پخت بر جذب آب، ترکیدگی و بافت لوبیا قرمز ایرانی مورد بررسی قرار گرفت تا بهترین رقم و بهترین زمان خیساندن تعیین گردد. رقم D81083، اختر و KS31164 پس از ۲۴ ساعت خیساندن به ترتیب بیشترین میزان جذب آب را نشان دادند، در حالی که رقم‌های ازنا، گلی و ناز کمترین جذب آب را داشتند ( $P < 0.05$ ). رقم اختر و صیاد بالاترین میزان ترکیدگی و KS31164 پایین‌ترین میزان ترکیدگی را به خود اختصاص دادند ( $P < 0.05$ ). خیساندن رقم اختر به مدت ۲۴ ساعت باعث بیشترین میزان جذب آب و کمترین میزان ترکیدگی در این رقم شد. در مورد رقم صیاد، ۲۴ ساعت خیساندن و زمان پخت طولانی تر نتایج بهتری دربرداشت. رقم درخشان پس از ۲۴ ساعت خیساندن، مدت زمان ۱۲ ساعت برای خیساندن و زمان پخت طولانی تر نتایج بهتری دربرداشت. رقم درخشان پس از ۲۴ ساعت خیساندن، ۱۶/۸ درصد جذب آب و ۷/۸ درصد مقدار ترکیدگی را نشان داد. اثر رقم، زمان خیساندن و زمان پخت بر بافت لوبیا قرمز معنی‌دار بود ( $P < 0.01$ ).

واژه‌های کلیدی: پخت، ترکیدگی، جذب آب، خیساندن، لوبیا قرمز، مقاومت بر شی

### مقدمه

تبديل می‌شود که خواص سلامتی بخش بسیار دارند. جبوهات در مقایسه با غلات و غدد از نشاسته مقاوم بیشتری برخوردار هستند (Yadav *et al.*, 2010). روش‌های فرایند و پخت زیادی برای کاهش مواد ضدمغذی مانند تریپسین و اسید فیتیک و افزایش تانن‌ها، کاتچین و پلی‌فنول‌ها که دارای خاصیت آنتی‌موتاژنی و آنتی‌اکسیدانی هستند، وجود دارد (Boateng *et al.*, 2008). مواد ضدمغذی موجود در غذاهای گیاهی مانند ساپونین‌ها، تانن‌ها و فیتات باعث کاهش دسترسی مواد مغذی همچنین ممانعت از رشد می‌شوند و برخی از آنها باعث نفخ در مصرف کنندگان می‌گردند (Oboh *et al.*, 1986). بنابراین تلاش‌های زیادی به منظور کاهش مواد ضدمغذی و افزایش ارزش غذایی صورت گرفته است (Abd El-Hady *et al.*, 2003). خیساندن لوبیا قبل از پخت، یک تجربه عملی است که باعث ترمشدن بافت و تسریع پخت می‌گردد. از سوی دیگر، خیساندن جهت کاهش مواد ضدمغذی و بهبود کیفیت پخت توصیه شده است (Rehman *et al.*, 2005). در پخت سنتی، لوبیا یک شب قبل از پخت در آب خیسانده می‌شود تا میزان آب در دسترس برای انجام واکنش شیمیایی مثل ژلاتینه شدن

لوبیا (*Phaseolus spp* L.) به عنوان مهم‌ترین حبوهات برای مصرف انسان، سال‌ها است که مورد کشت قرار گرفته و نقش مهمی در رژیم غذایی مردم بسیاری از نقاط جهان دارد (Meng *et al.*, 2001; Oboh *et al.*, 2005; Rehman *et al.*, 2005). اهمیت جبوهات در کشورهای درحال توسعه بیش از کشورهای توسعه‌یافته است. در آسیا مصرف سرانه روزانه لوبیا حدود ۱۱۰ گرم و در آمریکا ۹ گرم می‌باشد (Boateng, 2008). لوبیا منبع غنی از پروتئین (۲۰ تا ۳۰٪ درصد) و کربوهیدرات (۵۰ تا ۶۰٪ درصد) و منبع نسبتاً خوبی از مواد معدنی و ویتامین‌ها است (Rehman *et al.*, 2004; Yin *et al.*, 2008). آرد و کنسانتره پروتئین لوبیا قرمز خواص فراسودمند زیادی از خود نشان داده اند (Tang, 2008). طی تخمیر در روده بزرگ نشاسته مقاوم لوبیا به اسیدهای چرب کوتاه زنجیر

\* نویسنده مسئول: اصفهان، خیابان آزادی، خیابان فارابی شمالی، کوچه ۲۲، پلاک ۴۰، ۸۱۶۸۹۷۸۳۶۳، همراه: ۰۹۱۳۱۰۲۸۹۶۵، تلفن: ۰۳۲۱-۳۲۹۳۳۲۲.

leilamosaffa@yahoo.com

مِرک آلمان بودند. همه اندازگیری‌ها در سه تکرار انجام شدند و میانگین آن‌ها برای تست LSD در سطح احتمال ۵درصد استفاده شد. میانگین‌ها در جدول شماره ۱ گزارش شدند.

#### تیمار خیساندن

میزان ۱۰ گرم از هر رقم در ۸۰ میلی‌لیتر آب مقطر درون یک بشیر و در دمای اتاق (۲۰°C) خیسانده شد. زمان خیساندن، ۰، ۶، ۱۲ و ۲۴ ساعت در نظر گرفته شد. پس از هر دوره زمانی، لوبياها از آب خارج شده و به مدت ۳، ۵ و ۱۰ دقیقه در آب جوش برای پخت قرار گرفتند. نسبت وزن آب پخت به لوبيا ۵:۱ در نظر گرفته شد. سپس لوبياها از آب جوش خارج شده و آب سطحی آن‌ها با دستمال کاغذی گرفته شده و در بسته‌های پلاستیکی سربسته، خنک و سپس توزین گردید. برای خنک‌شدن لوبياها تا دمای اتاق، حدود ۱۰ تا ۱۵ دقیقه زمان لازم بود. تفاوت وزن ثانویه و اولیه نسبت به وزن اولیه برای هر تیمار به صورت درصد مشخص شد. برای موادی که از لوبيا خارج و در آب خیساندن یا آب پخت وارد شده بود، ضریب تصحیح در نظر گرفته نشد (Taiwo *et al.*, 1998).

لوبیاهای شکسته یا ترک‌خورده نیز از بقیه لوبياها جداسازی و توزین شدند و نسبت وزن آن‌ها به وزن لوبياها پخته شده محاسبه گردید تا برای گزارش درصد ترکیدگی ناشی از خیساندن و پخت مورد استفاده قرار گیرد. کلیه آزمون‌ها در سه تکرار انجام شد.

#### ارزیابی بافت

مقدار ۲۰ گرم بذر رقم‌های لوبيای ازنا، گلی، D81083، اختر، درخشان، صیاد و KS31164 در آب مقطر (با نسبت ۱:۵) به مدت ۱۲ و ۲۴ ساعت خیسانده شد. لوبياهای خیسانده شده به دو دسته تقسیم شدند. یک دسته مستقیماً برای ارزیابی بافت به کار رفته و دسته دوم مدت ۱۰ دقیقه در آب جوش (با نسبت وزنی لوبيا به آب ۱:۵) پخته شدند. آن‌ها نیمساعت در بسته‌های پلاستیکی در بسته قرار گرفتند تا به دمای اتاق رسیده و سپس برای ارزیابی بافت استفاده شدند. برای این منظور، ۷ عدد لوبيا برای آزمون Puncture در دستگاه اینستران مدل ۱۱۴۰ انتخاب شدند. قطر پروب مورد استفاده برای این آزمون، ۳/۳ میلی‌متر و ابعاد صفحه ۱۰ × ۱۰ سانتی‌متر و ضخامت آن ۱/۳ سانتی‌متر بود. در مرکز صفحه، سوراخی به قطر ۵ میلی‌متر وجود داشت. پروب با سرعت ۲۰۰ میلی‌متر بر دقیقه پایین آورده شد. پروب از محل هیلوم لوبيا به صورت عمود بر آن حرکت نموده و لوبيا

نشاسته و دناتوره‌شدن پروتئین در دانه افزایش یابد (Bellido *et al.*, 2006). جذب آب لوبياهای خشک قبل از پخت یا کنسروسازی به منظور کاهش زمان پخت و افزایش وزن آبکش، ضروری است. از دیگر مزایای این عمل می‌توان به ایجاد بافت نرم‌تر و خروج بخشی از استاکیوز و رافینوز که باعث نفخ می‌شوند، اشاره نمود (Taiwo *et al.*, 1998). با پیشرفت زمان خیساندن، آب به داخل پوسته لوبيا و سپس به درون لپه‌ها نفوذ می‌کند تا به مرکز لوبيا برسد و بافت را نرم و یکنواخت کند؛ اما زمان خیساندن طولانی می‌تواند به افزایش تعداد میکروب‌های مضرّ منجر شود (Gowen *et al.*, 2007). تحقیقات سایر محققان نشان داده است که روش‌های مختلف پخت می‌توانند تا حد زیادی موجب افزایش کیفیت تغذیه‌ای غلات و حبوبات شود (Vasudeva *et al.*, 2010).

با توجه به این که اگر لوبيا قائم، قبل از پخت به اندازه کافی آب جذب نکند، افت کیفیت در محصول نهایی آن، به ویژه در کنسروسازی ایجاد می‌شود و نیز با توجه به این که اطلاعات کمی در مورد لوبيا قائم‌ایرانی در دسترس است، لذا این مطالعه با هدف بررسی اثر زمان‌های متفاوت خیساندن و پخت بر جذب آب و خصوصیات بافتی لوبيا قائم‌ایرانی به انجام رسید.

#### مواد و روش‌ها

##### آماده‌سازی نمونه

لوبيا قائم (*Phaseolus vulgaris*) مورد استفاده در این تحقیق از مرکز تحقیقات خمین (اراک-ایران) تأمین شد. رقم‌های ازنا، گلی، D81083، اختر، صیاد، ناز، KS31164 و درخشان جهت این تحقیق انتخاب شدند. لوبياهای در کیسه‌های نفوذناپذیر در محل تاریک در دمای اتاق نگهداری شدند. پیش از آزمایش، لوبياهای شکسته، مواد خارجی و گردوغبار آن‌ها جدا شد و سپس با دست بر اساس اندازه، درجه‌بندی شدند. میزان ۱۰۰ گرم از هر رقم با استفاده از یک آسیاب آشپزخانه‌ای تا سایز ۰/۵ میلی‌متر پودر گردید و برای آنالیز شیمیایی مورد استفاده قرار گرفت و مابقی آن برای تیمارهای خیساندن قبل از پخت مصرف شد (Rehinan *et al.*, 2004).

آنالیز شیمیایی پروتئین نمونه‌های تهیه شده، قبل از خیساندن مورد ارزیابی قرار گرفت. پروتئین نمونه‌ها پس از هضم به وسیله اسید سولفوریک غلیظ مطابق با روش میکروکلداو AOAC اندازه‌گیری شد (AOAC, 1990). کلیه ترکیبات شیمیایی مورد استفاده در آزمایش از نوع

۱۲ و ۲۴ ساعت) و زمان پخت (۵ و ۰۱ دقیقه) برای بررسی بافت در نظر گرفته شد.

### نتایج و بحث

مقدار پروتئین رقم‌های مختلف در جدول ۱ ارائه شده است. رقم‌های درخشان و ازنا به ترتیب بیشترین و کمترین مقدار پروتئین را داشتند ( $P < 0.01$ ). با توجه به مقدار پروتئین به نظر می‌رسد رقم‌های مختلف لوبيا قرمز منبع مناسب پروتئین برای تغذیه انسان باشند. خیساندن و فرآیند حرارتی، هضم پروتئین را بهبود می‌بخشد، چون با توجه به ماهیت محلول در آب ممانته کننده تریپسین، در اثر خیساندن این ترکیب به داخل آب خیساندن مهاجرت خواهد کرد (Abd El-Hady *et al.*, 2003; Rehman *et al.*, 2004). بنابراین خیساندن رقم‌های موردنظر قبل از مصرف، ارزش تغذیه‌ای آن‌ها را افزایش می‌دهد. مطابق جدول ۲، اثر رقم، زمان خیساندن و زمان پخت بر جذب آب و ترکیدگی معنی‌دار بود ( $P < 0.01$ ). اثر متقابل رقم و زمان پخت، رقم و زمان خیساندن، زمان خیساندن و زمان پخت، همچنین اثر متقابل رقم و زمان خیساندن و زمان پخت بر جذب آب نیز معنی‌دار بود ( $P < 0.01$ ). اثر رقم ( $P < 0.01$ ) و زمان خیساندن ( $P < 0.05$ ) بر ترکیدگی لوبيا معنی‌دار بود، اما سایر فاکتورها و اثر متقابل آن‌ها بر ترکیدگی اثر معنی‌داری نداشتند.

را سوراخ کرده و در یک میلی‌متری داخل صفحه متوقف شد. مقدار مقاومت برشی با توجه به رابطه زیر محاسبه شد:

$$S = F/\pi dt$$

که در آن،  $S$  مشخص کننده مقاومت برشی بر حسب گرم‌نیرو بر سانتی‌مترمربع،  $F$  نیرو (بیشترین مقدار نیرو برای برش لوبيا) بر حسب گرم‌نیرو بهازی هر نمونه،  $d$  (قطر پروب و  $t$  ضخامت هر لوبيا بود، Gowen *et al.*, 2007).

### طرح آزمایشی

طرح آزمایشی کاملاً تصادفی در قالب آزمون فاکتوریل با سه تکرار به منظور بررسی اثر رقم، زمان خیساندن و زمان پخت بر میزان جذب آب و درصد ترکیدگی مورد استفاده قرار گرفت. فاکتور اول، هشت رقم مختلف لوبيا قرمز شامل ازنا، گلی، D81083، اختار، صیاد، ناز، KS31164 و درخشان، فاکتور دوم زمان خیساندن شامل ۰، ۶، ۱۲ و ۲۴ ساعت و فاکتور سوم زمان‌های پخت شامل ۳، ۵ و ۰۱ دقیقه بود.

برای هر تکرار، ۱۰ گرم نمونه و برای مقایسه میانگین‌ها آزمون LSD و سطح احتمال ۵ درصد در نظر گرفته شد. داده‌ها با نرم‌افزار SAS (نسخه ۸/۰۲، مؤسسه SAS، ۲۰۰۱) تحلیل شدند.

طرح آزمایشی کاملاً تصادفی در قالب آزمون فاکتوریل برای تحلیل داده‌های ارزیابی بافت در نظر گرفته شد. طرح در قالب سه فاکتور رقم (ازنا، گلی، D81083)، اختار، درخشان، صیاد، ناز (در دو سطح KS31164)، زمان خیساندن (در دو سطح

جدول ۱- مقدار پروتئین انواع مختلف لوبيا قرمز خشک

Table 1. Protein content of different raw dry red beans

پروتئین Protein (%)	رقم لوبيا قرمز Red bean line
18.6 <sup>h</sup> ± 0.03	Azna ازنا
19.7 <sup>g</sup> ± 0.16	Goli گلی
20.2 <sup>f</sup> ± 0.06	D81083 D81083
20.8 <sup>e</sup> ± 0.14	Akhtar اختار
23.4 <sup>b</sup> ± 0.13	Sayyad صیاد
21.2 <sup>d</sup> ± 0.16	Naz ناز
21.8 <sup>c</sup> ± 0.04	KS31164 KS31164
23.6 <sup>a</sup> ± 0.13	Derakhshsan درخشان

مقدار میانگین ± SD برای سه تکرار

Mean values ± SD of triplicate determinations.

میانگین‌ها با حروف متفاوت در یک ستون، اختلاف معنی‌داری دارند ( $P < 0.05$ ).

Mean values within a column with different superscripts are significantly different at  $P < 0.05$ .

نشده‌اند، ولی ۳، ۵ یا ۱۰ دقیقه پخته شده‌اند. پس می‌توان گفت این جذب آب ناشی از پخت است. با توجه به این که رقم‌ها و زمان‌های پخت در سایر سطوح زمان خیساندن (۶، ۱۲ و ۲۴ ساعت) تکرار شده‌اند، این مقایسه فقط تفاوت میانگین‌های زمان خیساندن را نشان می‌دهد. نتایج جدول ۲ نشان می‌دهد با طولانی‌شدن زمان خیساندن و زمان پخت، جذب آب به صورت معنی‌داری افزایش می‌یابد ( $P < 0.05$ ). میزان ۱۰ دقیقه حرارت در آب جوش برای نرم‌شدن بافت لوبيا قرمز کافی نبود، برای این منظور به زمان بیش از ۲۰ دقیقه احتیاج است. برای تعیین بهترین رقم و مناسب‌ترین زمان خیساندن و پخت برای آنها اثرات متقابل مورد بحث قرار می‌گیرد.

اثرات متقابل زمان خیساندن و پخت بر جذب آب و ترکیدگی در جدول ۳ نشان داده شده است. اثرات متقابل ۶ ساعت خیساندن و ۵ یا ۱۰ دقیقه پخت، بیشترین ترکیدگی را نشان داد. این امر به دلیل آن است که سطح و مرکز لوبيا به یک اندازه آب جذب نکرده‌اند. جدول ۴ اثر متقابل دوگانه رقم و زمان خیساندن و جدول ۵ اثر متقابل سه‌گانه رقم، زمان خیساندن و زمان پخت بر میزان جذب آب و ترکیدگی را نشان می‌دهند.

اثرات اصلی رقم، زمان خیساندن و زمان پخت بر جذب آب و ترکیدگی در جدول ۲ ارائه شده است. میانگین‌های ارائه شده برای هر رقم، میانگین همه زمان‌های خیساندن و پخت است. همان‌طور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، رقم D81083 بالاترین جذب آب را نشان می‌دهد و رقم‌های KS31164 پس از آن قرار گرفته‌اند. در حالی که رقم‌های ازنا، گلی و ناز پایین‌ترین سطح جذب آب را نشان دادند ( $P < 0.05$ ). بر اساس جدول ۲ تفاوت معنی‌داری در میزان ترکیدگی رقم‌های مختلف به چشم می‌خورد. رقم KS31164 کمترین میزان ترکیدگی و رقم‌های اختر و صیاد بالاترین میزان ترکیدگی ( $P < 0.05$ ) را نشان دادند. با توجه به سطح جذب آب و ترکیدگی رقم‌های D81083 و KS31164 برای مصارف صنعتی توصیه می‌شوند.

نتایج به دست آمده برای میزان جذب آب و ترکیدگی همه رقم‌ها، در زمان‌های مختلف خیساندن و همه زمان‌های پخت در جدول ۲ نشان داده شده است. در زمان صفر ساعت خیساندن، میانگین جذب آب ۳۱/۹ درصد و میانگین ترکیدگی ۸/۳ درصد به دست آمد. این میانگین‌ها معدل جذب آب و ترکیدگی همه رقم‌هایی است که خیسانده

جدول ۲- اثرات اصلی رقم، زمان خیساندن و زمان پخت بر جذب آب و ترکیدگی  
Table 2. Effect of red bean lines, soaking time and cooking time on water absorption and splitting (main effects)

ترکیدگی (درصد) Splitting (%)	جذب آب (درصد) Water absorption (%)	فاکتور اصلی Main factors	
		Red bean lines	رقم لوبيا قرمز Aza
7.2 <sup>cd</sup> ± 0.093	56.8 <sup>c</sup> ± 0.379	Azna	ازنا
12.2 <sup>ab</sup> ± 0.098	56.7 <sup>c</sup> ± 0.288	Goli	گلی
7.8 <sup>bcd</sup> ± 0.065	88.6 <sup>a</sup> ± 0.310	D81083	D81083
13.3 <sup>a</sup> ± 0.133	64.9 <sup>b</sup> ± 0.292	Akhtar	اختر
13.2 <sup>a</sup> ± 0.130	59.0 <sup>bc</sup> ± 0.310	Sayyad	صیاد
11.8 <sup>abc</sup> ± 0.138	55.9 <sup>c</sup> ± 0.324	Naz	ناز
5.3 <sup>d</sup> ± 0.096	64.5 <sup>b</sup> ± 0.373	KS31164	KS31164
7.7 <sup>bcd</sup> ± 0.089	60.7 <sup>bc</sup> ± 0.390	Derakhshsan	درخشن
Soaking time (h)		زمان خیساندن (ساعت) Time of soaking (h)	
8.3 <sup>b</sup> ± 0.111	31.9 <sup>d</sup> ± 0.232	0	
12.8 <sup>a</sup> ± 0.139	44.8 <sup>c</sup> ± 0.218	6	
9.1 <sup>b</sup> ± 0.089	75.7 <sup>b</sup> ± 0.262	12	
9.0 <sup>b</sup> ± 0.090	101.2 <sup>a</sup> ± 0.137	24	
Cooking time (min)		زمان پخت (دقیقه) Time of cooking (min)	
10.6 <sup>ab</sup> ± 0.104	53.4 <sup>c</sup> ± 0.366	3	
11.0 <sup>a</sup> ± 0.125	61.6 <sup>b</sup> ± 0.349	5	
7.8 <sup>b</sup> ± 0.098	75.2 <sup>a</sup> ± 0.286	10	

میانگین‌ها با حروف متفاوت در یک ستون برای هر ویژگی، اختلاف معنی‌داری دارند ( $P < 0.05$ ).

Mean having the same letter within each property are not significantly different using LSD test at  $P < 0.05$ , means are calculated as main effects.

### جدول ۳- اثر متقابل زمان خیساندن و زمان پخت بر جذب آب و ترکیدگی

Table 3. Interactive effect of soaking and cooking time on water absorption and splitting

زمان خیساندن × زمان پخت Soaking time × Cooking time	جذب آب (درصد) Water absorption (%)	ترکیدگی (درصد) Splitting (%)
0h × 3 min	13.8 <sup>h</sup> ± 0.110	11.6 <sup>ab</sup> ± 0.130
0h × 5 min	27.5 <sup>g</sup> ± 0.157	9.5 <sup>abc</sup> ± 0.114
0h × 10 min	54.3 <sup>e</sup> ± 0.203	3.7 <sup>c</sup> ± 0.065
6h × 3 min	29.6 <sup>g</sup> ± 0.201	10.9 <sup>ab</sup> ± 0.124
6h × 5 min	44.6 <sup>f</sup> ± 0.189	13.5 <sup>a</sup> ± 0.165
6h × 10 min	60.2 <sup>e</sup> ± 0.148	14.1 <sup>a</sup> ± 0.129
12h × 3 min	78.0 <sup>d</sup> ± 0.203	9.8 <sup>ab</sup> ± 0.084
12h × 5 min	73.5 <sup>d</sup> ± 0.318	11.0 <sup>ab</sup> ± 0.098
12h × 10 min	75.7 <sup>d</sup> ± 0.263	6.4 <sup>bc</sup> ± 0.083
24h × 3 min	92.0 <sup>c</sup> ± 0.136	9.9 <sup>ab</sup> ± 0.074
24h × 5 min	101.0 <sup>b</sup> ± 0.121	10.1 <sup>ab</sup> ± 0.115
24h × 10 min	110.6 <sup>a</sup> ± 0.081	7.1 <sup>bc</sup> ± 0.076

میانگین‌ها با حروف متفاوت در یک ستون برای هر ویژگی، اختلاف معنی‌داری دارند (P<0.05).

Mean values within a column with different letters are significantly different using LSD test at P<0.05.

### جدول ۴- اثر متقابل رقم × زمان خیساندن و رقم × زمان پخت بر جذب آب و ترکیدگی

Table 4. Interaction of red bean lines-soaking time and red bean lines-cooking time on water absorption and splitting

رقم × زمان خیساندن Line × Time soaking	جذب آب (درصد) Water absorption (%)	ترکیدگی (درصد) Splitting (%)	رقم × زمان پخت Line × Cooking time	جذب آب (درصد) Water absorption (%)	ترکیدگی (درصد) Splitting (%)
Azna × 24h	97.3 <sup>bc</sup> ± 0.128	4.7 <sup>fghi</sup> ± 0.056	Azna × 10 min	62.1 <sup>fghi</sup> ± 0.321	4.7 <sup>ed</sup> ± 0.072
Azna × 12h	83.8 <sup>d</sup> ± 0.206	11.9 <sup>bcddefg</sup> ± 0.060	Azna × 5 min	55.8 <sup>hijk</sup> ± 0.422	5.2 <sup>cde</sup> ± 0.069
Azna × 6h	25.5 <sup>m</sup> ± 0.192	6.0 <sup>defgh</sup> ± 0.091	Azna × 3 min	52.7 <sup>ijk</sup> ± 0.414	11.7 <sup>abcede</sup> ± 0.119
Azna × 0h	20.8 <sup>n</sup> ± 0.096	6.3 <sup>defgh</sup> ± 0.139	Goli × 10 min	71.0 <sup>def</sup> ± 0.246	9.0 <sup>abcde</sup> ± 0.080
Goli × 24h	86.6 <sup>cd</sup> ± 0.213	6.4 <sup>defgh</sup> ± 0.062	Goli × 5 min	57.6 <sup>ghijk</sup> ± 0.284	13.5 <sup>abc</sup> ± 0.104
Goli × 12h	62.3 <sup>fg</sup> ± 0.229	12.7 <sup>bcd</sup> ± 0.120	Goli × 3 min	41.7 <sup>l</sup> ± 0.257	14.1 <sup>ab</sup> ± 0.107
Goli × 6h	43.4 <sup>hij</sup> ± 0.186	14.3 <sup>bcd</sup> ± 0.095	D81083 × 10 min	97.3 <sup>a</sup> ± 0.233	6.8 <sup>bcd</sup> ± 0.037
Goli × 0h	34.8 <sup>klim</sup> ± 0.229	15.5 <sup>bcd</sup> ± 0.094	D81083 × 5 min	89.3 <sup>ab</sup> ± 0.288	9.8 <sup>abcde</sup> ± 0.098
D81083 × 24h	114.7 <sup>a</sup> ± 0.050	5.8 <sup>defgh</sup> ± 0.024	D81083 × 3 min	79.3 <sup>bcd</sup> ± 0.388	6.8 <sup>bcd</sup> ± 0.044
D81083 × 12h	113.7 <sup>a</sup> ± 0.041	7.7 <sup>cdefgh</sup> ± 0.020	Akhtar × 10 min	78.2 <sup>cd</sup> ± 0.219	16.7 <sup>a</sup> ± 0.140
D81083 × 6h	76.8 <sup>ed</sup> ± 0.092	7.6 <sup>cdefgh</sup> ± 0.038	Akhtar × 5 min	59.2 <sup>ghij</sup> ± 0.281	13.3 <sup>abc</sup> ± 0.135
D81083 × 0h	49.4 <sup>hi</sup> ± 0.268	9.9 <sup>bcd</sup> ± 0.123	Akhtar × 3 min	57.3 <sup>ghijk</sup> ± 0.340	9.8 <sup>abde</sup> ± 0.119
Akhtar × 24h	97.7 <sup>bc</sup> ± 0.063	7.7 <sup>cdefgh</sup> ± 0.078	Sayyad × 10 min	65.0 <sup>fghi</sup> ± 0.288	9.5 <sup>abcde</sup> ± 0.115
Akhtar × 12h	77.9 <sup>ed</sup> ± 0.155	10.2 <sup>bcd</sup> ± 0.101	Sayyad × 5 min	63.4 <sup>fgh</sup> ± 0.350	15.0 <sup>ab</sup> ± 0.169
Akhtar × 6h	49.3 <sup>hi</sup> ± 0.161	26.0 <sup>a</sup> ± 0.147	Sayyad × 3 min	48.5 <sup>kl</sup> ± 0.298	15.1 <sup>ab</sup> ± 0.097
Akhtar × 0h	34.6 <sup>klim</sup> ± 0.220	9.1 <sup>cdefgh</sup> ± 0.110	Naz × 10 min	70.3 <sup>def</sup> ± 0.306	8.8 <sup>abcde</sup> ± 0.115
Sayyad × 24h	100.4 <sup>b</sup> ± 0.119	14.6 <sup>bcd</sup> ± 0.122	Naz × 5 min	49.5 <sup>ijkl</sup> ± 0.318	14.2 <sup>ab</sup> ± 0.178
Sayyad × 12h	62.8 <sup>fg</sup> ± 0.161	10.1 <sup>bcd</sup> ± 0.118	Naz × 3 min	48.0 <sup>kl</sup> ± 0.323	12.5 <sup>abcd</sup> ± 0.118
Sayyad × 6h	40.2 <sup>ijkl</sup> ± 0.194	19.7 <sup>ab</sup> ± 0.156	KS31164 × 10 min	74.7 <sup>cde</sup> ± 0.270	3.3 <sup>e</sup> ± 0.077
Sayyad × 0h	32.5 <sup>klimn</sup> ± 0.174	8.4 <sup>cdefgh</sup> ± 0.108	KS31164 × 5 min	67.2 <sup>fghi</sup> ± 0.391	8.0 <sup>bcd</sup> ± 0.122
Naz × 24h	100.3 <sup>b</sup> ± 0.121	11.8 <sup>bcd</sup> ± 0.128	KS31164 × 3 min	51.6 <sup>ijkl</sup> ± 0.432	4.6 <sup>ed</sup> ± 0.084
Naz × 12h	52.9 <sup>gh</sup> ± 0.177	9.7 <sup>cdefgh</sup> ± 0.104	Derakhshan × 10 min	83.0 <sup>bc</sup> ± 0.321	3.9 <sup>e</sup> ± 0.063
Naz × 6h	42.0 <sup>hij</sup> ± 0.203	16.3 <sup>abc</sup> ± 0.184	Derakhshan × 5 min	51.1 <sup>ijkl</sup> ± 0.368	9.1 <sup>abce</sup> ± 0.079
Naz × 0h	28.5 <sup>lmn</sup> ± 0.206	9.6 <sup>cdefgh</sup> ± 0.107	Derakhshan × 3 min	48.1 <sup>kl</sup> ± 0.406	9.9 <sup>abce</sup> ± 0.112
KS31164 × 24h	104.5 <sup>ab</sup> ± 0.089	13.2 <sup>bcd</sup> ± 0.109			
KS31164 × 12h	82.1 <sup>ed</sup> ± 0.226	2.4 <sup>gh</sup> ± 0.073			
KS31164 × 6h	41.6 <sup>hijk</sup> ± 0.184	5.4 <sup>cdefgh</sup> ± 0.108			
KS31164 × 0h	29.8 <sup>klimn</sup> ± 0.327	0.00 <sup>h</sup> ± 0.000			
Derakhshan × 24h	108.0 <sup>ab</sup> ± 0.082	8.0 <sup>cdefgh</sup> ± 0.069			
Derakhshan × 12h	70.5 <sup>ef</sup> ± 0.326	8.0 <sup>cdefgh</sup> ± 0.066			
Derakhshan × 6h	39.6 <sup>ijkl</sup> ± 0.189	7.5 <sup>cdefgh</sup> ± 0.132			
Derakhshan × 0h	24.8 <sup>mn</sup> ± 0.246	7.2 <sup>cdefgh</sup> ± 0.089			

میانگین‌ها با حروف متفاوت در یک ستون برای هر ویژگی، اختلاف معنی‌داری دارند (P<0.05).

Mean values within a column with different letters are significantly different using LSD test at P<0.05.

جدول ۵- اثر متفاوت رقه × زمان خسیدن × زمان پخت بر جدب آب و ترکیبگی

رقم × زمان خسیدن × زمان پخت	جدب آب (%)	Water absorption (%)	Line × soaking time × cooking time	ترکیبگی (%)	Splitting (%)	Line × soaking time × cooking time	ترکیبگی (%)	جدب آب (%)	Water absorption (%)	Line × soaking time × cooking time	ترکیبگی (%)	جدب آب (%)	Water absorption (%)	Line × soaking time × cooking time	ترکیبگی (%)	
Azna × 24h×10min	107.3± 0.079	0.00± 0.000	Akhbar × 24h×10min	101.6± 0.08	11.1± 0.104	KS31164 × 24h×10min	113.5± 0.022	5.6± 0.097								
Azna × 24h×5min	89.9± 0.183	7.0± 0.061	Akhbar × 24h×5min	97.3± 0.053	8.0± 0.070	KS31164 × 24h×5min	104.8± 0.063	23.1± 0.070								
Azna × 24h×3min	94.8± 0.037	7.0± 0.061	Akhbar × 24h×3min	94.3± 0.046	4.0± 0.070	KS31164 × 24h×3min	95.4± 0.055	10.9± 0.096								
Azna × 12h×10min	63.3± 0.243	7.7± 0.067	Akhbar × 12h×10min	89.3± 0.020	14.1± 0.124	KS31164 × 12h×10min	60.6± 0.139	0.00± 0.000								
Azna × 12h×5min	99.3± 0.047	13.8± 0.054	Akhbar × 12h×5min	61.8± 0.162	12.4± 0.109	KS31164 × 12h×5min	97.1± 0.275	0.00± 0.000								
Azna × 12h×3min	88.7± 0.083	14.1± 0.055	Akhbar × 12h×3min	82.2± 0.085	4.1± 0.071	KS31164 × 12h×3min	88.6± 0.026	7.3± 0.126								
Azna × 6h ×10min	48.2± 0.048	11.1± 0.100	Akhbar × 6h ×10min	63.5± 0.172	33.2± 0.055	KS31164 × 6h ×10min	59.8± 0.080	7.5± 0.130								
Azna × 6h ×5min	14.6± 0.137	0.00± 0.000	Akhbar × 6h ×5min	5.1± 0.007	26.4± 0.184	KS31164 × 6h ×5min	43.6± 0.096	8.8± 0.153								
Azna × 6h ×3min	13.5± 0.093	6.7± 0.116	Akhbar × 6h ×3min	33.6± 0.082	18.3± 0.182	KS31164 × 6h ×3min	21.4± 0.094	0.00± 0.000								
Azna × 0h ×10min	29.5± 0.068	0.00± 0.000	Akhbar × 0h ×10min	57.9± 0.175	8.2± 0.143	KS31164 × 0h ×10min	65.3± 0.276	0.00± 0.000								
Azna × 0h ×5min	19.2± 0.099	0.00± 0.000	Akhbar × 0h ×5min	26.8± 0.134	6.4± 0.111	KS31164 × 0h ×5min	23.2± 0.176	0.00± 0.000								
Azna × 0h ×3min	13.6± 0.057	18.9± 0.204	Akhbar × 0h ×3min	19.1± 0.133	12.7± 0.112	KS31164 × 0h ×3min	0.94± 0.006	0.00± 0.000								
Goli × 24h×10min	107.0± 0.066	7.5± 0.065	Sayyad × 24h×10min	104.4± 0.087	11.8± 0.128	Derakhsan × 24h×10min	116.8± 0.056	7.8± 0.089								
Goli × 24h×5min	86.9± 0.170	3.0± 0.052	Sayyad × 24h×5min	110.3± 0.048	14.5± 0.181	Derakhsan × 24h×5min	107.7± 0.036	6.7± 0.060								
Goli × 24h×3min	65.9± 0.147	8.6± 0.075	Sayyad × 24h×3min	86.4± 0.017	17.5± 0.088	Derakhsan × 24h×3min	99.5± 0.003	9.4± 0.084								
Goli × 12h×10min	55.2± 0.249	0.00± 0.000	Sayyad × 12h×10min	59.5± 0.121	8.9± 0.154	Derakhsan × 12h×10min	105.5± 0.219	7.9± 0.069								
Goli × 12h×5min	66.3± 0.320	17.2± 0.109	Sayyad × 12h×5min	71.5± 0.157	14.4± 0.154	Derakhsan × 12h×5min	36.4± 0.098	7.5± 0.067								
Goli × 12h×3min	65.3± 0.182	20.8± 0.094	Sayyad × 12h×3min	57.6± 0.219	7.1± 0.061	Derakhsan × 12h×3min	69.4± 0.105	8.6± 0.090								
Goli × 6h ×10min	59.4± 0.016	18.3± 0.071	Sayyad × 6h ×10min	5.8± 0.246	13.8± 0.140	Derakhsan × 6h ×10min	45.6± 0.077	0.00± 0.000								
Goli × 6h ×5min	48.7± 0.126	19.2± 0.066	Sayyad × 6h ×5min	38.0± 0.140	22.7± 0.252	Derakhsan × 6h ×5min	46.8± 0.062	10.0± 0.102								
Goli × 6h ×3min	22.0± 0.103	5.4± 0.094	Sayyad × 6h ×3min	30.7± 0.190	22.5± 0.284	Derakhsan × 6h ×3min	17.3± 0.129	12.4± 0.215								
Goli × 0h ×10min	62.5± 0.058	10.3± 0.017	Sayyad × 0h ×10min	44.3± 0.114	3.3± 0.058	Derakhsan × 0h ×10min	55.2± 0.155	0.00± 0.000								
Goli × 0h ×5min	28.4± 0.127	14.7± 0.132	Sayyad × 0h ×5min	33.8± 0.240	8.6± 0.148	Derakhsan × 0h ×5min	13.5± 0.045	12.3± 0.114								
Goli × 0h ×3min	13.4± 0.013	21.6± 0.091	Sayyad × 0h ×3min	19.4± 0.054	13.2± 0.118	Derakhsan × 0h ×3min	9.4± 0.084	9.4± 0.074								
D81083 × 24h×10min	120.5± 0.030	6.3± 0.028	Naz × 12h×10min	113.9± 0.030	6.7± 0.062	Naz × 24h×10min	13.3± 0.230									
D81083 × 24h×5min	112.0± 0.036	4.9± 0.031	Naz × 24h×5min	98.8± 0.054												
D81083 × 24h×3min	111.6± 0.005	6.2± 0.018	Naz × 24h×3min	88.3± 0.069	15.3± 0.055											
D81083 × 12h×10min	112.4± 0.029	8.4± 0.019	Naz × 12h×10min	59.6± 0.174	4.3± 0.075											
D81083 × 12h×5min	117.6± 0.024	7.1± 0.012	Naz × 12h×5min	37.8± 0.137	15.5± 0.148											
D81083 × 12h×3min	111.1± 0.041	7.6± 0.031	Naz × 12h×3min	61.3± 0.158												
D81083 × 6h ×10min	83.2± 0.078	9.4± 0.014	Naz × 6h ×10min	60.9± 0.148	19.4± 0.183											
D81083 × 6h ×5min	75.9± 0.106	4.3± 0.030	Naz × 6h ×5min	37.9± 0.164	17.0± 0.294											
D81083 × 6h ×3min	71.4± 0.076	9.2± 0.047	Naz × 6h ×3min	27.2± 0.166	12.4± 0.108											
D81083 × 0h ×10min	73.1± 0.242	3.0± 0.052	Naz × 0h ×10min	47.0± 0.256	4.6± 0.079											
D81083 × 0h ×5min	51.8± 0.089	22.7± 0.127	Naz × 0h ×5min	23.4± 0.041	11.0± 0.096											
D81083 × 0h ×3min	23.3± 0.181	4.0± 0.070	Naz × 0h ×3min	15.0± 0.140	13.3± 0.231											

میانگین ها برحسب درصد ازدهاده شده اند. مقادیر بزرگ آب و ترکیبگی به ترتیب بدین معنی است: LSD values are 0.2099 and 0.1711 for water absorption and splitting respectively (P<0.05).

۱۲ ساعت خیساندن و زمان پخت طولانی توصیه می‌شود. در رقم درخشان، افزایش زمان خیساندن باعث افزایش جذب آب گردید، ولی اثر معنی‌داری بر میزان ترکیدگی نداشت. همچنین زمان پخت باعث افزایش جذب آب و کاهش ترکیدگی گردید، لذا در این رقم، ۲۴ ساعت خیساندن و زمان پخت طولانی تراقبابل توصیه است.

#### بافت لوبياهاي خيسانده شده

اثر رقم و زمان پخت و همچنین اثر مدت زمان خیساندن بر بافت لوبيا قرمز معنی دار ( $P < 0.01$ ) بود. اثر متقابل اين فاكتورها بر بافت لوبيا قرمز در جدول ۶ نشان داده شده است. برای همه ارقام مطالعه شده (به جز ازنا) با افزایش زمان خیساندن، نیروی لازم برای برش لوبياها کاهش یافت و اين نتایج با تحقیقات سایر پژوهشگران هماهنگی دارد (Abu-Ghannam, 1998). خاک، اقلیم، زمان برداشت و تفاوت‌های گیاهشناسی می‌تواند از جمله دلایل رفتار متفاوت رقم ازنا باشند.

با توجه به جذب آب و ترکیدگی می‌توان نتیجه گرفت در رقم ازنا، ۲۴ ساعت خیساندن و مدت زمان پخت طولانی تر مناسب است. رقم گلی بهدلیل جذب آب پایین (حتی پس از ۲۴ ساعت خیساندن) برای مصارف صنعتی قابل توصیه نیست. جذب آب رقم D81083 پس از ۱۲ ساعت خیساندن و ۲۴ ساعت خیساندن تفاوت معنی دار نداشت، ولی با زمان خیساندن طولانی تر میزان ترکیدگی پایین تری پس از پخت را باعث گردید (جدول ۶). با توجه به این که در صنعت، زمان خیساندن کوتاه‌تر از نظر اقتصادی بهصرفه است و باعث رشد میکروبی پایین تری می‌شود، این رقم برای کاربرد صنعتی بهشدت توصیه می‌شود. در رقم اختر، ۲۴ ساعت خیساندن باعث افزایش جذب آب و کاهش ترکیدگی می‌شود. نتایج مشابه در رقم صیاد به‌چشم می‌خورد. رقم ناز برای مصارف صنعتی قابل توصیه نیست، زیرا پس از خیساندن، رنگ آن به خاکستری تغییر می‌کند. میزان جذب آب KS31164 پس از ۲۴ ساعت خیساندن افزایش معنی داری نسبت به ۱۲ ساعت نشان داد، ولی ترکیدگی نیز افزایش یافت (جدول ۶)، بنابراین برای این رقم،

جدول ۶- اثر متقابل رقم-زمان خیساندن، رقم-زمان پخت بر بافت لوبيا قرمز

Table 6. Interaction of red bean lines $\times$ soaking time and red bean lines $\times$ cooking time and soaking time $\times$ cooking time on texture of red bean

رقم $\times$ زمان پخت Line $\times$ Cooking time	نیروی برشی (gf/cm <sup>2</sup> ) Shear strength (gf/cm <sup>2</sup> )	رقم $\times$ زمان خیساندن Line $\times$ Soaking time	نیروی برشی (gf/cm <sup>2</sup> ) Shear strength (gf/cm <sup>2</sup> )	زمان خیساندن $\times$ زمان پخت Soaking time $\times$ Cooking time	نیروی برشی (gf/cm <sup>2</sup> ) Shear strength (gf/cm <sup>2</sup> )
Azna $\times$ uncooked	38041.9 <sup>a</sup> $\pm$ 5860.47	Azna $\times$ 12h	27148.5 <sup>de</sup> $\pm$ 7799.86	12h $\times$ uncooked	31836.7 <sup>a</sup> $\pm$ 5061.85
Azna $\times$ cooked	21408.3 <sup>e</sup> $\pm$ 2423.09	Azna $\times$ 24h	32301.7 <sup>a</sup> $\pm$ 10679.86	12h $\times$ cooked	23280.0 <sup>b</sup> $\pm$ 4512.13
Goli $\times$ uncooked	39022.7 <sup>a</sup> $\pm$ 2035.15	Goli $\times$ 12h	31245.9 <sup>ab</sup> $\pm$ 9614.00	24h $\times$ uncooked	31688.6 <sup>a</sup> $\pm$ 6535.33
Goli $\times$ cooked	21909.4 <sup>a</sup> $\pm$ 4228.57	Goli $\times$ 24h	29686.1 <sup>bc</sup> $\pm$ 9272.58	24h $\times$ cooked	20220.8 <sup>c</sup> $\pm$ 4236.03
D81083 $\times$ uncooked	29827.6 <sup>b</sup> $\pm$ 2101.73	D81083 $\times$ 12h	26922.3 <sup>def</sup> $\pm$ 4446.72		
D81083 $\times$ cooked	23420.7 <sup>de</sup> $\pm$ 2620.29	D81083 $\times$ 24h	26326.0 <sup>ef</sup> $\pm$ 3663.56		
Akhtar $\times$ uncooked	26390.0 <sup>a</sup> $\pm$ 1689.23	Akhtar $\times$ 12h	24518.5 <sup>f</sup> $\pm$ 4937.69		
Akhtar $\times$ cooked	18542.2 <sup>f</sup> $\pm$ 5725.47	Akhtar $\times$ 24h	20413.8 <sup>g</sup> $\pm$ 5945.08		
Sayyad $\times$ uncooked	31388.3 <sup>b</sup> $\pm$ 4907.03	Sayyad $\times$ 12h	28917.2 <sup>bcd</sup> $\pm$ 5539.72		
Sayyad $\times$ cooked	25013.3 <sup>cd</sup> $\pm$ 5039.25	Sayyad $\times$ 24h	27484.4 <sup>de</sup> $\pm$ 6289.86		
KS31164 $\times$ uncooked	30552.2 <sup>b</sup> $\pm$ 2897.54	KS31164 $\times$ 12h	28959.3 <sup>bcd</sup> $\pm$ 3822.55		
KS31164 $\times$ cooked	23505.4 <sup>de</sup> $\pm$ 3487.19	KS31164 $\times$ 24h	25098.4 <sup>ef</sup> $\pm$ 4965.50		
Derakhshan $\times$ uncooked	27116.1 <sup>c</sup> $\pm$ 3846.02	Derakhshan $\times$ 12h	25196.9 <sup>ef</sup> $\pm$ 5452.11		
Derakhshan $\times$ cooked	18453.5 <sup>f</sup> $\pm$ 4169.01	Derakhshan $\times$ 24h	20372.7 <sup>g</sup> $\pm$ 5506.47		

میانگین‌هایا حروف متفاوت در یک ستون برای هر ویژگی اختلاف معنی دارند ( $P < 0.05$ ).

Mean values within a column with different letters are significantly different using LSD test at  $P < 0.05$ .

خیسانده شده است ( $P < 0.05$ ). در رقم ازنا، نیروی لازم برای برش انواعی که ۱۲ ساعت خیسانده شده بودند، نسبت به نمونه‌هایی که ۲۴ ساعت خیسانده شده بودند، پایین‌تر بود، اما با توجه به جدول ۴ که میزان جذب آب ازنا پس از ۱۲ ساعت خیساندن را بسیار پایین نشان می‌دهد، می‌توان نتیجه گرفت این رقم برای معارف صنعتی، نامناسب است. رقم گلی بافت بسیار سختی داشت و نیروی لازم برای برش آن حتی پس از ۲۴ ساعت خیساندن بسیار زیاد بود و این رقم برای مصارف صنعتی قابل توصیه نیست.

در فرایند پخت، مواد پکتیکی تجزیه شده و اتصال بین سلول‌ها ضعیف و مقاومت برشی کم می‌شود. پوشش و ساختمان دانه ممکن است مسئول نرم شدن سریع دانه در اثر خیساندن باشند (Taiwo *et al.*, 1998). نتایج جدول ۶ نشان داد وقتی لوبیاهای خیسانده شده، فرایند پخت دریافت نکرده‌اند، تفاوت معنی‌داری بین ۱۲ ساعت و ۲۴ ساعت خیساندن وجود ندارد، درحالی‌که وقتی عملیات پخت روی لوبیاهای خیسانده شده صورت گیرد، نیروی لازم برای برش انواع ۱۲ ساعت خیسانده شده بسیار بیشتر از انواع ۲۴ ساعت

#### منابع

1. Abd El-Hady, E.A., and Habiba, R.A. 2003. Effect of soaking and extrusion conditions on antinutrients and protein digestibility of legume seeds. *Lebensm-Wiss U-Technology* 36: 285-293.
2. Abu-Ghannam, N. 1998. Modeling textural changes during the hydration process of red beans. *Journal of Food Engineering* 38: 341-352.
3. AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. 15<sup>th</sup> ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC, USA.
4. Bellido, G., Arntfield, SD., Cenkowski, S., and Scanlon, M. 2006. Effects of micronization pretreatments on the physicochemical properties of navy and black beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *LWT Food Science and Technology* 39: 779-787.
5. Boateng, J., Verghese, M., Walker, L.T., and Ongutu, S. 2008. Effect of processing on antioxidant contents in selected dry beans (*Phaseolus spp.* L.). *LWT Food Science and Technology* 41: 1541-1547.
6. Gowen, A., Abu-Ghannam, N., Frias, J., and Oliveira, J. 2007. Modeling the water absorption process in chickpeas (*Cicer arietinum* L.) the effect of blanching pre-treatment on water intake and texture kinetics. *Journal of Food Engineering* 78: 810-819.
7. Meng, G.T., and Ma, C.Y. 2001. Thermal properties of *Phaseolus angularis* (red bean) globulin. *Food Chemistry* 73: 453-460.
8. Mohsenin, N.N. 1986. Physical properties of plant and animal materials. 2<sup>nd</sup> ed. Gordon and Breach Science Publisher.
9. Oboh, H.A., Muzquiz, M., Burbano, C., Cuadrado, C., Pedrosa, M.M., Ayet, G., and Osagie, A.U. 1998. Anti-nutritional constituents of six underutilized legumes grown in Nigeria. *Journal of Chromatography A* 823: 307-312.
10. Rehman, Z.U., Rashid, M., and Shah, W.H. 2004. Insoluble dietary fiber components of food legumes as affected by soaking and cooking processes. *Food Chemistry* 85: 245-249.
11. Rehman, Z.U., and Shah, W.H. 2004. Domestic processing effects on some insoluble dietary fiber components of various food legumes. *Food Chemistry* 87: 613-617.
12. Rehman, Z.U., and Shah, W.H. 2005. Thermal heat processing effects on antinutrients, protein and starch digestibility of food legumes. *Food Chemistry* 91: 327-331.
13. Rehman, Z.U., Salariya, A.M., and Zafar, S.I. 2001. Effect of processing on available carbohydrate content and starch digestibility of kidney beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Chemistry* 73: 351-355.
14. Taiwo, K.A., Akanbi, C.T., and Ajibola, O.O. 1998. Regression relationships for the soaking and cooking properties of two cowpea varieties. *Journal of Food Engineering* 37: 331-344.
15. Tang, C.H. 2008. Thermal denaturation and gelation of vicilin-rich protein isolates from three *Phaseolus* legumes: A comparative study. *LWT Food Science and Technology* 41: 1380-1388.

16. Vasudeva, S., and Vishwanathan, Kh. 2010. Hydration behavior of food grains and modeling their moisture pick up as per Peleg's equation: Part II. Legumes. Journal of Food Science and Technology 47: 42-46.
17. Vasudeva, S., Vishwanathan, Kh., Aswathanarayana, K.N., and IndhudharaSwamy, Y.M. 2010. Hydration behavior of food grains and modeling their moisture pick up as per Peleg's equation: Part I. Cereals. Journal of Food Science and Technology 47: 34-41.
18. Yadav, B.S., Sharma, A., and Yadav, R.B. 2010. Resistant starch content of conventionally boiled and pressure-cooked cereals, legumes and tubers. Journal of Food Science and Technology 47: 84-88.
19. Yin, S.W., Tang, C.H., Wen, Q.B., Yang, X.Q., and Li, L. 2008. Functional properties and in vitro trypsin digestibility of red kidney bean (*Phaseolus vulgaris L.*) protein isolate: Effect of high-pressure treatment. Food Chemistry 110: 938-945.

## **Effect of line, soaking and cooking time on water absorption, texture and splitting of Iranian red kidney beans**

**Mosaffa<sup>1\*</sup>, L., Zamindar<sup>2</sup>, N. & Amooheidari<sup>3</sup>, M.**

1&3. Respectively, Instructor and MSc. Expert of Food Science Department, Islamic Azad University, Shahreza Branch  
2. Assistant Professor of Food Science Department, Islamic Azad University, Khorasgan Branch

Received: 8 December 2012  
Accepted: 3 March 2014

### **Abstract**

Dry beans are rich sources of dietary fiber and phytochemicals such as flavonoids and phenolics that exhibit good functional properties. In current study line, cooking and soaking time effects were investigated on water absorption, splitting and texture properties of different Iranian red kidney beans to determine the best lines and the best soaking time for industrial use. D81083 line showed the highest level of water absorption after 24 h soaking followed by Akhtar and KS31164 lines while Azna, Goli and Naz lines showed the lowest level of water absorption ( $p<0.05$ ). Akhtar and Sayyad showed the highest level of splitting while KS31164 showed the lowest level of splitting ( $p<0.05$ ). Soaking of Akhtar line for 24 h caused the highest level of water absorption accompanied with low splitting level. 24 h soaking and 10 minutes cooking time is recommended for Sayyad, while 12 h soaking and 10 minutes cooking time is recommended for KS31164 line. 24 h soaking and 10 minutes cooking causes 116.8% water absorption and 7.8% splitting in Derakhshan line. The effects of line, cooking and soaking time on red bean texture were significant ( $p<0.01$ ).

**Key words:** Cooking, Red bean, Shear strength, Soaking, Splitting, Water absorption

---

\*Corresponding Author: leilamosaffa@yahoo.com, Mobile: 09131028965

## تأثیر تنش خشکی و روش کاشت بر عملکرد و اجزای عملکرد دو رقم نخود (*Cicer arietinum L.*)

لاله عباسلو<sup>۱</sup>، سید عبدالرضا کاظمینی<sup>۲\*</sup> و محسن عدالت<sup>۳</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد زراعت، دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز

۲ و ۳- بهترتب، دانشیار و استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱۱/۱۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۲/۱۲

### چکیده

به منظور بررسی تأثیر تنش خشکی و روش کاشت بر عملکرد و اجزای عملکرد دو رقم نخود، آزمایشی در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز به صورت اسپلیت‌فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با چهار تکرار انجام شد. فاکتور اصلی، قطع آبیاری بر اساس مراحل رشدی نخود (دو هفتۀ پس از سبزشدن=I<sub>1</sub>، گلدهی=I<sub>2</sub> و آبیاری نرمال=I<sub>3</sub>) و فاکتور فرعی شامل ترکیبی از دو رقم نخود (آرمان و آزاد) و روش کاشت (کرتی، درون جوی و روی پشتۀ بود). نتایج نشان داد که بیشترین و کمترین میزان غلاف در بوته، دانه در بوته، درصد غلاف دودانه‌ای، وزن ۱۰۰ دانه، عملکرد دانه، و عملکرد بیولوژیک به ترتیب در تیمار I<sub>3</sub> و I<sub>1</sub> بدست آمد و در مورد درصد غلاف پوک، روند بر عکس بود. از نظر روش کاشت، بیشترین میزان غلاف در بوته، دانه در بوته، درصد غلاف دودانه‌ای، وزن ۱۰۰ دانه و عملکرد دانه، در روش کاشت روی پشتۀ بدست آمد. به طور کلی رقم آزاد به طور معنی‌داری از عملکرد دانه بیشتری نسبت به رقم آرمان (۱۶۴) در مقابل (۱۷۶ گرم در متراز) برخوردار بود و رقم مناسب برای این منطقه می‌باشد. هر چند تحت شرایط تنش خشکی، عملکرد دانه در هر دو رقم نخود کاهش یافت، ولی تغییر در روش کاشت از کرتی به کشت روی پشتۀ در تیمارهای قطع زودهنگام آبیاری (I<sub>1</sub>) و یا در مرحله گلدهی (I<sub>2</sub>)، به عنوان یک روش زراعی می‌تواند باعث کاهش خسارت ایجاد شده به ترتیب تا میزان ۲۶ و ۳۲ درصد شود.

کلمات کلیدی: تعداد دانه در غلاف، قطع آبیاری، کاشت روی پشتۀ، گلدهی

### مقدمه

۳۰ تا ۴۰ درصد عملکرد را کاهش می‌دهد (Kanouni *et al.*, 2003). اقلیم مدیترانه‌ای، نخود به طور سنتی در بهار کاشته می‌شود که این نواحی دارای بارندگی کم و با توزیع نامناسب می‌باشد. بنابراین، تولید نخود دیم به رطوبت ذخیره‌شده در خاک وابسته است که این شرایط به همراه دمای بالا سبب کاهش شدید عملکرد نخود می‌شود (Oweis *et al.*, 2004). تنش خشکی علاوه بر این که بر صفات کمی اثر می‌گذارد، بر صفات کیفی نیز تأثیر دارد، به صورتی که تحت تنش خشکی میزان پروتئین دانه لوبيا افزایش یافته (Mohammadei *et al.*, 2011). تنش خشکی در نخود معمولاً از اواخر مرحله رشد رویشی تا مرحله رسیدگی مشاهده می‌گردد (Soltani *et al.*, 2001). تنش خشکی، رشد رویشی و عملکرد را از طریق افت سطح برگ و فتوسنتر کاهش می‌دهد و این امر منجر به کاهش فتوسنتر جامعه گیاهی می‌گردد و یک رابطه نزدیک بین رشد گیاه و فتوسنتر وضعيت آب در برگ مشاهده شده است (Jalilian *et al.*, 2005; Kumar, 2010). آبیاری تکمیلی بر عملکرد و اجزای عملکرد چهار رقم نخود دریافتند که آبیاری تکمیلی باعث افزایش تعداد شاخه فرعی،

در سطح جهانی، نخود با سطح زیرکشت بیش از ۱۲ میلیون هکتار و متوسط تولید ۹۳۰ کیلوگرم در هکتار به عنوان سومین گیاه مهم از گروه جبوهات می‌باشد (FAO, 2012) که بهدلیل دارابودن هزینه تولید کم، سازگاری وسیع آب و هوایی، استفاده در تناوب گیاهی و توانایی ثبت نیتروژن اتمسفری، یکی از مهم‌ترین گیاهان لگوم در سیستم کشاورزی پایدار به شمار می‌رود (Anonymous, 2001). ایران با سطح زیرکشت حدود ۷۰۰ هزار هکتار، رتبه چهارم این محصول را در جهان پس از هندوستان، پاکستان و ترکیه به خود اختصاص داده است. ۹۵ درصد کشت نخود در ایران در شرایط دیم صورت می‌گیرد. متوسط عملکرد در ایران ۵۵۸ کیلوگرم در هکتار است که نسبت به میانگین جهانی آن بسیار پایین است (FAO, 2012; Sabaghpoor, 2001). تنش خشکی مهم‌ترین تنش غیرزنده در نخود گزارش شده است و بسته به منطقه جغرافیایی و شرایط آب و هوایی در طول فصل رشد،

\* نویسنده مسئول: شیراز، دانشگاه شیراز، دانشکده کشاورزی، گروه زراعت و اصلاح نباتات  
kazemin@shirazu.ac.ir

## مواد و روش‌ها

این آزمایش در بهار سال ۱۳۹۰ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز، واقع در باجگاه ۱۴ کیلومتری شمال شرقی شیراز) اجرا شد. بافت خاک مورد آزمایش از نوع لومی سیلت و در دو سال قبل از آن به صورت آیش بود. میانگین دما و بارندگی ماههای فروردین تا تیر، از ایستگاه هواشناسی سینیوپتیک باجگاه تهیه شد (جدول ۱). عملیات تهیه زمین شامل شخم، دیسک و تسطیح در اوایل فروردین بود و سپس با مرزبند، کرت‌هایی به ابعاد  $2/4 \times 3$  متر ایجاد شد. کود نیتروژن مورد نیاز بر اساس ۱۵۰ کیلوگرم اوره و ۵۰ کیلوگرم سوپرفسفات تریپل در هکتار به کرت‌ها داده شد که نصف کود نیتروژن و تمام کود فسفات در هنگام کاشت و مابقی کود نیتروژن دو هفته پس از سبزشدن به مزرعه داده شد. آزمایش به صورت اسپلیت‌پلات فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در چهار تکرار انجام شد که فاکتور اصلی، دو رقم نخود (آرمان و آزاد)، فاکتور فرعی شامل ترکیبی از مراحل قطع آبیاری بر اساس مراحل رشدی نخود (دو هفته پس از سبزشدن = I<sub>1</sub> که معادل مرحله ۵ تا عبرگی است، گلدهی = I<sub>2</sub>، آبیاری در تمام مراحل رشد = I<sub>3</sub> (به عنوان شاهد) و سه روش کشت (کرتی، کشت درون جوی و کشت روی پشتہ) بود. فاصله پشتنهای از یکدیگر حدود ۹ سانتی‌متر بود. تراکم کاشت برای تمام تیمارها ۲۰ بوته در مترمربع در نظر گرفته شد. به منظور جلوگیری از نشت آب به کرت‌های مجاور، بین هر کرت، پشتنهای به عرض یک‌متر ایجاد شد. جهت مبارزه با علف‌های هرز از وجین دستی استفاده شد. برای اندازه‌گیری صفات تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در بوته، وزن ۱۰۰ دانه، درصد غلاف یک و دو دانه‌ای و درصد غلاف پوک، در انتهای فصل رشد و پس از رسیدگی فیزیولوژیک نخود، چهار بوته از هر کرت به طور تصادفی برداشت شد. برای محاسبه عملکرد دانه، با رعایت حاشیه‌ها از سطح معادل دو مترمربع در انتهای فصل رشد، بوته‌ها را از نزدیک سطح زمین کفیر نموده و پس از قراردادن در آون با دمای  $70^{\circ}\text{C}$  به مدت ۴۸ ساعت، دانه‌ها را از سایر قسمت‌ها جدا کرده و با توزین دانه‌ها، عملکرد دانه محاسبه شد. برای محاسبه عملکرد بیولوژیک، وزن خشک دانه‌ها با وزن خشک بقایای گیاه جمع شد. جهت محاسبه شاخص برداشت، از فرمول زیر استفاده شد که در آن GY عملکرد دانه و BY عملکرد بیولوژیک گیاه است:

$$\text{HI} = (\text{GY}/\text{BY}) * 100$$

کلیه محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزارهای EXCEL و SAS انجام شد و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون LSD در سطح ۵ درصد استفاده شد.

تعداد غلاف در گیاه، وزن ۱۰۰ دانه و عملکرد دانه می‌شود. Leport *et al*, (2006) دریافتند که تولید غلاف در نخود، بیشتر توسط تنفس آبی اوایل غلاف‌بندی نسبت به تنفس آبی در Liu *et al*, (2004) اواخر غلاف‌بندی تحت تأثیر قرار می‌گیرد. گزارش کردند تنفس خشکی شدید در اوایل مرحله توسعه غلاف‌ها در سویا، رشد غلاف‌ها را کاهش می‌دهد و منجر به کاهش قابل ملاحظه در مجموع تعداد کل غلاف می‌شود. Pacucci *et al*, (2006) در آزمایشی نشان دادند که با افزایش دفعات آبیاری، وزن ۱۰۰۰ دانه افزایش پیدا می‌کند. Mohammadian *et al*, (2005) گزارش کردند که شاخص سطح برگ، وزن خشک برگ، وزن خشک شاخه و وزن خشک ریشه تحت تنفس خشکی در مقایسه با شرایط بدون تنفس کاهش یافت. Soltani *et al*, (2001) نشان دادند که خشکی انتهایی دوره رشد می‌تواند عملکرد دانه را در نخود بهشت و به میزان ۶۷ درصد کاهش دهد. Nelson (2001) گزارش کرد که اعمال تنفس رطوبتی در مراحل پایانی رشد باعث کاهش عملکرد دانه و بیوماس نخود می‌شود.

روش کاشت مناسب، روشنی است که بتوان با مصرف کمترین مقدار بذر و حداقل تردد ماشین‌آلات و همچنین با صرف کمترین انرژی و زمان، بذر را در فواصل و عمق مناسب خاک قرار دهد که به سرعت جوانه زده و در نهایت گیاهچه‌های پایداری ایجاد نماید (Khan, 2000).

Fahong *et al*, (2004) با مطالعه بر روی دو رقم گندم در خاک لومی دریافتند که سیستم کشت جوی و پشتنهای در مقایسه با کشت مسطح موجب افزایش جذب نیتروژن همراه با افزایش ۱۰ درصدی در عملکرد گندم گردیده است. در آزمایشی با مقایسه روش کشت کرتی همراه با آبیاری غرقابی و روش کشت روی پشته همراه با آبیاری فاروبی مشاهده شد که روش کشت کرتی به واسطه ایجاد سله، کاهش راندمان آبیاری، ناکارآمدی مصرف نیتروژن و تخریب برخی ویژگی‌های خاک قابل توصیه نمی‌باشد. در عوض استفاده از روش کشت روی پشته با آبیاری فاروبی باعث کاهش مقدار مصرف و افزایش راندمان آبیاری، بهبود کارآیی مصرف نیتروژن، عدم ایجاد سله در سطح خاک و همچنین کاهش شیوع بیماری‌ها می‌شود. استفاده از علف‌هرز، کاهش مقدار مصرف نهاده‌ها از جمله کود، بذر، روش کشت روی پشته باعث ایجاد امکان کنترل بهتر از انجام این تحقیق تعیین بهترین رقم و روش کاشت در کاهش خسارت ناشی از تنفس خشکی است.

جدول ۱- درجه حرارت میانگین، حداقل، حداکثر و روزانه و درجه حرارت مطلق حداقل و حداکثر بر حسب درجه سانتی گراد و بارندگی حداقل روزانه و جمع کل آن بر حسب میلی متر در سال زراعی ۱۳۹۰ در منطقه باجگاه

**Table 1. Average minimum, maximum and daily temperature and absolute minimum and maximum temperature, and the maximum daily rainfall and in total in crop year 2011 in Bajgah region**

بارندگی (میلی متر) Rainfall (mm)		درجه حرارت هوا (سانتی گراد) Temperatures (C)						ماه Month	
جمع کل Total	حداکثر روزانه Maximum daily	مطلق Absolute		متوجه Average					
		حداقل Minimum	حداکثر Maximum	روزانه Daily	حداقل Minimum	حداکثر Maximum			
30.5	15.5	-4	24	11.81	3.32	20.31	فوردین April		
-	-	2.6	34	17.66	7.83	27.5	اردیبهشت May		
-	-	6.8	37.5	23.25	12.39	34.10	خرداد June		
-	-	11	38	25.54	15.30	35.77	تیر July		
-	-	11.6	37.5	25.51	15.16	35.85	مرداد August		

آبیاری و رقم نشان داد که بیشترین و کمترین تعداد غلاف در بوته به ترتیب مربوط به تیمار  $I_3$  و رقم آزاد ( $44/4$ ) و تیمار  $I_1$  و رقم آرمان ( $12/5$ ) بود (جدول ۴).

اثر برهمکنش رقم در روش کاشت بر تعداد غلاف در بوته معنی دار بود، به طوری که بیشترین و کمترین تعداد غلاف در بوته به ترتیب مربوط به رقم آزاد با روش کشت روی پشته ( $30$ ) و رقم آرمان با روش کشت کرتی ( $22/6$ ) بود (جدول ۵). همیستگی عملکرد دانه با تعداد غلاف در بوته ( $r = 0.98^{**}$ ) مثبت و معنی دار بود (جدول ۷) که با نتایج بسیاری از تحقیقات Calcagno *et al.*, 1988; Geletu Bejiga *et al.*, 1991 (Rezvani Moghaddam & Sadeghi Samarjan 2008 مطابقت دارد.

#### تعداد دانه در بوته

تعداد دانه در بوته ارتباط نزدیکی با تعداد غلاف در بوته دارد اثر سطوح مختلف آبیاری و برهمکنش آن با رقم بر تعداد دانه در بوته معنی دار بود (جدول ۲). بیشترین و کمترین تعداد دانه به ترتیب مربوط به تیمار  $I_3$  و تیمار  $I_1$  ( $12$ ) بود (جدول ۳). رقم آزاد نسبت به رقم آرمان به طور معنی داری به میزان  $22$  درصد دارای تعداد دانه در بوته بیشتری بود (جدول ۳). نتایج برهمکنش سطوح آبیاری و رقم نشان داد که بیشینه تعداد دانه در برهمکنش تیمار آبی نرمال و رقم آزاد ( $51/6$ ) و کمینه آن در سطح آبیاری  $I_1$  و رقم آرمان ( $11$ ) به دست آمد (جدول ۴). به نظر می‌رسد در شرایط فراهم بودن رطوبت قبل دسترسی، طول دوره زایشی و میزان فتوسنترز جاری افزایش می‌یابد که منجر به تشکیل گل‌های بیشتر در هر گل آذین می‌شود.

#### نتایج و بحث

##### تعداد غلاف در بوته

نتایج نشان داد که اثر سطوح مختلف آبیاری و برهمکنش آن با رقم بر تعداد غلاف در بوته معنی دار بود (جدول ۲). با اعمال سطوح آبیاری در مراحل دو هفتگه پس از سبزشدن ( $I_1$ ) و گلدهی ( $I_2$ ) در مقایسه با تیمار آبیاری نرمال ( $I_3$ ) تعداد غلاف در بوته به ترتیب به میزان  $68$  و  $40$  درصد کاهش یافت. (جدول ۳). در تحقیقات انجام شده توسط Leport (1999) و Soltani *et al.*, (2000) در مورد اثرات تنفس خشکی در نخود گزارش شده است که کمبود آب باعث کاهش تعداد غلاف می‌شود. Singh *et al.*, (1987) گزارش کردند که تعداد غلاف در بوته در بین اجزای عملکرد به تنفس خشکی حساس‌تر می‌باشد. Liu *et al.*, (2004) گزارش کردند که تنفس خشکی شدید در اوایل گسترش غلافها، رشد غلافها را کاهش می‌دهد و منجر به کاهش قابل ملاحظه در تعداد غلافها می‌شود. هرچه مقدار آب آبیاری بیشتر شود، سایه‌انداز گیاه افزایش می‌یابد که قادر است مخزن زایشی بزرگتری را نیز تغذیه نماید و به میزان کافی ماده خشک به آن اختصاص دهد، Jalota *et al.*, (2006). در نتیجه تعداد غلاف در بوته افزایش می‌یابد (Fang *et al.*, 2010).

تعداد غلاف در رقم آزاد ( $28/2$  عدد) نسبت به رقم آرمان ( $23/3$  عدد) به طور معنی داری بیشتر بود (جدول ۳). اثر روش کاشت بر تعداد غلاف، معنی دار بود. بیشترین تعداد غلاف در روش کاشت روی پشته ( $27$  عدد) و کمترین در روش کاشت کرتی ( $25$  عدد) به دست آمد (جدول ۳). برهمکنش سطوح

جدول ۲- تجزیه واریانس عملکرد و اجزای عملکرد دانه نخود  
Table 2. Analysis of variance for yield and yield components of chickpea

منابع تغییرات (S. O. V.)	درجه آزادی d.f	تعداد غلاف در بوته No. pod plant <sup>-1</sup>	تعداد دانه در بوته No. seed plant <sup>-1</sup>	درصد غلاف یکدانه‌ای One seeded pod percent	درصد غلاف دودانه‌ای Two seeded pod percent	درصد غلاف پوک Hollow pod percent plant <sup>-1</sup>	وزن دانه ۱۰۰- Seed weight	عملکرد دانه Seed yield	عملکرد بیولوژیک Biological yield
تکرار Replication	3	7.29 <sup>ns</sup>	11.96 <sup>ns</sup>	31.35 <sup>ns</sup>	11.62 <sup>ns</sup>	31.36 <sup>ns</sup>	0.84 <sup>ns</sup>	21652.62 <sup>ns</sup>	23493.27 <sup>ns</sup>
سطح آبیاری Irrigation levels (A)	2	4441.79 <sup>**</sup>	6885.67 <sup>**</sup>	637.74 <sup>**</sup>	540.68 <sup>**</sup>	1140.54 <sup>**</sup>	18.15 <sup>**</sup>	20558182.91 <sup>**</sup>	26279634.90 <sup>**</sup>
خطای کرت اصلی Error (a)	6	3.61	4.39	25.95	7.02	12.39	0.66	9723.21	10135.41
Cultivars (B)	1	441.29 <sup>**</sup>	795.00 <sup>**</sup>	62.79 <sup>ns</sup>	179.77 <sup>**</sup>	30.07 <sup>*</sup>	59.29 <sup>**</sup>	3885301.13 <sup>**</sup>	7045682.40 <sup>**</sup>
روش کاشت Planting method (C)	2	21.10 <sup>**</sup>	59.98 <sup>**</sup>	17.58 <sup>ns</sup>	90.53 <sup>**</sup>	61.34 <sup>**</sup>	7.23 <sup>**</sup>	313309.39 <sup>**</sup>	331559.99 <sup>**</sup>
A×B	2	89.04 <sup>**</sup>	198.40 <sup>**</sup>	116.93 <sup>**</sup>	40.65 <sup>**</sup>	53.13 <sup>**</sup>	8.19 <sup>**</sup>	1125691.13 <sup>**</sup>	1922672.15 <sup>**</sup>
A×C	4	1.94 <sup>ns</sup>	13.17 <sup>*</sup>	42.98 <sup>ns</sup>	72.39 <sup>**</sup>	19.55 <sup>*</sup>	8.02 <sup>**</sup>	146037/47 <sup>**</sup>	145694.60 <sup>**</sup>
B*C	2	20.89 <sup>**</sup>	45.21 <sup>**</sup>	14.39 <sup>ns</sup>	5.72 <sup>ns</sup>	32.57 <sup>**</sup>	12.45 <sup>**</sup>	101991.83 <sup>**</sup>	108602.86 <sup>**</sup>
(b) Error	45	4.82	4.58	18.42	7.91	6.77	0.36	11878.33	12293.97
CV (%)									
ضریب تغییرات(%)		8.52	7.86	7.15	13.71	13.34	2.39	7.75	4.28

%: به ترتیب عدم اختلاف معنی‌دار، معنی‌دار در سطح ۰.۵٪ و ۱٪.  
ns, \* and \*\*: not significant, significant at 5% and 1%, respectively

جدول ۳- اثر سطوح آبیاری، رقم و روش کاشت بر برخی از صفات نخود  
Table 3. Effects of irrigation levels, cultivars and planting method on some traits of chickpea

تیمار Treatments	تعداد غلاف در بوته Pod no. per plant	تعداد دانه در بوته Seed no. per plant	غلاف یکدانه‌ای در بوته (درصد) One seeded pod per plant (%)	غلاف دودانه‌ای در بوته (درصد) Two seeded pod per plant (%)	غلاف پوک در بوته (درصد) Hollow pod per plant (%)	وزن ۱۰۰دانه (گرم) 100 seed weight (g)	عملکرد دانه (گرم در مترمربع) Seed yield (g.m <sup>-2</sup> )	عملکرد بیولوژیک (گرم در مترمربع) Biological yield (g.m <sup>-2</sup> )
سطوح آبیاری Irrigation levels	I <sub>1</sub>	13.0c	12.0c	55.0c	18.0	27.2a	24.9b	59.2c
	I <sub>2</sub>	24.2b	24.4b	65.0a	17.6b	17.3b	24.8b	121.4b
	I <sub>3</sub>	40.0a	45.0a	60.0b	26.0a	13.9c	26.4a	241.3a
رقم Cultivar	آرمان Arman	23.3b	23.9b	61.0a	19.0 b	20.1a	24.4b	1174b
	ازاد Azad	28.2a	30.5a	59.0a	22.1a	18.8b	26.3a	163.9a
روش کاشت Planting method	جوی Furrow	25.8ab	27.b	60.8a	20.4b	18.8b	24.9b	136.5b
	پشتہ Ridge	27.0a	29.0a	60.0a	22.5a	18.4b	26.0a	153.5a
	کرت Flat	25.0b	26.0c	60.0a	18.6c	21.3a	25.2b	132.0b

I<sub>1</sub>: قطع آبیاری دو هفته پس از سبز شدن؛ I<sub>2</sub>: قطع آبیاری در مرحله گلدهی؛ I<sub>3</sub>: آبیاری نرمال  
میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون برای هر پارامتر اختلاف معنی‌داری ندارند (LSD 5%)

I<sub>1</sub>: Stop irrigation two weeks after emergence; I<sub>2</sub>: Stop irrigation at flowering stage; I<sub>3</sub>: Normal irrigation  
Means with similar letters in each column have no significant difference (LSD 5%)

آزاد بیشترین درصد غلاف یکدانه‌ای (۶۶/۷) و در تیمار<sub>I</sub> و رقم آزاد کمترین میزان (۵۳) بدست آمد (جدول ۴).

#### درصد غلاف دودانه‌ای در بوته

اثر سطوح مختلف آبیاری و رقم و برهمکنش آنها بر درصد غلاف دودانه‌ای معنی دار بود (جدول ۲). بیشترین درصد غلاف دودانه‌ای مربوط به تیمار<sub>3</sub> (۲۶) و کمترین مربوط به تیمار<sub>2</sub> (۱۷/۶) بود که اختلاف معنی داری با تیمار<sub>I</sub> نشان نداد (جدول ۳). به نظر می‌رسد قابل دسترس بودن آب در پیش از گلدهی و دوره پُرشدن دانه ارتباط مثبتی با رشد و دودانه‌ای شدن غلاف‌ها دارد، در صورتی که تنش در دوره پُرشدن دانه رخ دهد، رشد دانه متوقف می‌شود (Begum *et al.*, 1992). مواجه شدن گیاه با تنش رطوبتی در طول دوره گرده‌افشانی یا حتی قبل از گلدهی منجر به کاهش تعداد دانه‌ها در غلاف می‌شود و با تداوم تنش رطوبتی، چرخه زندگی گیاه کوتاه‌تر شده و گیاه فرصت کافی برای پُرشدن غلاف‌ها و تولید کافی مواد پرورده نخواهد داشت که ضمن تأثیر بر وزن دانه می‌تواند باعث کاهش تولید غلاف‌های دودانه‌ای شود، در حالی که تحت شرایط بدون تنش رطوبتی، ضمن افزایش درصد تولید تعداد غلاف‌های دودانه‌ای امکان و فرصت کافی برای تولید مواد فتوسنتزی فراهم شده و حتی وزن دانه هم افزایش می‌یابد که این نتایج با نتایج محققان دیگر مطابقت دارد (Rezvani Moghaddam & Sadeghi Samarjan, 2008).

رقم آزاد نسبت به رقم آرمان به طور معنی داری به میزان ۱۴/۵ درصد دارای غلاف دودانه‌ای بیشتری بود (جدول ۳). تغییر در روش کاشت به طور معنی داری تعداد غلاف دودانه‌ای را تحت تأثیر قرار داد، به طوری که بیشترین و کمترین مقدار به ترتیب مربوط به روش کاشت روی پشتہ (۲۲/۵) و روش کاشت کرتی (۱۸/۶) بود (جدول ۳). نتایج برهمکنش سطوح آبیاری و رقم نشان داد که در هر دو رقم با اعمال تنش آبی، درصد غلاف دودانه‌ای به طور معنی داری کاهش یافت. بیشترین و کمترین درصد غلاف دودانه‌ای به ترتیب در سطح تنش<sub>3</sub> و رقم آزاد (۲۹) و تنش<sub>I</sub> و رقم آرمان (۱۷) دیده شد (جدول ۴).

نتایج برهمکنش سطوح آبیاری و روش کاشت بر درصد غلاف یکدانه‌ای در بوته معنی دار بود، به طوری که بیشترین و کمترین درصد در تیمار<sub>3</sub> و روش کاشت کرتی (۱۳) به دست آمد (جدول ۶). همبستگی عملکرد دانه با درصد غلاف دودانه‌ای در بوته، مثبت و معنی دار بود (۰/۷۳\*) (جدول ۷). هرچه تعداد غلاف‌های دودانه‌ای در گیاه بیشتر شود، عملکرد کل افزایش می‌یابد.

با افزایش آب آبیاری، رشد غلاف‌ها و بلوغ آنها در یک دوره طولانی تر انجام می‌شود و برگ‌ها با سرعتی آهسته‌تر پیر می‌شوند در نتیجه تعداد دانه در بوته افزایش می‌یابد و از طرفی کاهش میزان آب آبیاری و همچنین افزایش ناگهانی درجه حرارت سبب پیری زودرس گیاه می‌شود (Khanna-Chopra *et al.*, 1987). تعداد دانه در بوته متأثر از تعداد غلاف در بوته و تعداد دانه در غلاف و درصد پوکی ارقام است، لذا بدینه است که بیشترین تعداد دانه در بوته را رقمی داشته باشد که از تعداد غلاف در بوته و تعداد دانه در غلاف بیشتر و میزان پوکی کمتری برخوردار باشد.

اثر روش کاشت و برهمکنش آن با رقم بر تعداد دانه در بوته معنی دار بود (جدول ۲). با تغییر روش کاشت، تعداد دانه در بوته به طور معنی داری تغییر یافت، به گونه‌ای که بیشترین تعداد دانه (۲۹) در روش کاشت روی پشتہ و کمترین (۲۶) در روش کاشت کرتی به دست آمد (جدول ۳). نتایج برهمکنش رقم و روش کاشت نشان داد که بیشینه و کمینه تعداد دانه در بوته به ترتیب مربوط به رقم آزاد با روش کاشت روی پشتہ (۳۳) و رقم آرمان با روش کاشت کرتی (۲۲) بود (جدول ۵). برهمکنش سطوح آبیاری و روش کاشت بر تعداد دانه در بوته معنی دار بود، به طوری که بیشترین تعداد دانه در بوته در تیمار آبیاری نرمال و روش کاشت روی پشتہ و کمینه آن (۱۰) در سطح آبیاری<sub>I</sub> و روش کاشت کرتی به دست آمد (جدول ۶). همبستگی عملکرد دانه با تعداد دانه در بوته مثبت و معنی دار بود (۰/۹۹\*\*\*) (جدول ۷)، به طوری که هرچه تعداد دانه در گیاه افزایش یابد، عملکرد کل افزایش می‌یابد. صفت تعداد دانه در بوته به عنوان مهم‌ترین جزو در تعیین عملکرد دانه تحت شرایط تنش خشکی در مرحله ۵ تا عبرگی می‌باشد (Eivazi *et al.*, 2012).

#### درصد غلاف یکدانه‌ای

اثر سطوح آبیاری و برهمکنش آن با رقم بر درصد غلاف یکدانه‌ای معنی دار بود (جدول ۲). بیشترین و کمترین درصد غلاف یکدانه‌ای به ترتیب مربوط به تیمار<sub>2</sub> (۸۵) و T<sub>I</sub> (۵۵) بود (جدول ۳). یکی از دلایل مؤثر بر کاهش تعداد غلاف‌های یکدانه‌ای در رژیمهای کم آبیاری و یا دیم، کوتاه‌شدن دوره گرده‌افشانی و در نتیجه کاهش تعداد غلاف می‌باشد (Pala *et al.*, 1992). بین دو رقم از نظر درصد غلاف یکدانه‌ای اختلاف معنی داری دیده نشد، ولی رقم آرمان نسبت به رقم آزاد دارای درصد غلاف یکدانه‌ای بیشتری بود (جدول ۳). نتایج برهمکنش سطوح آبیاری و رقم نشان داد که در تیمار<sub>2</sub> و رقم

نتایج نشان داد که بین روش‌های کاشت، روش کاشت کرتی نسبت به دو روش کاشت دیگر دارای درصد تعداد غلاف پوک بیشتری در بوته بود (جدول ۳). نتایج برهمکنش سطوح مختلف تنفس و رقم نشان داد که در هر دو رقم با اعمال تنفس آبی درصد غلاف پوک به طور معنی‌داری افزایش یافت و اعمال زودهنگام تنفس آبی درصد پوکی را افزایش داد (جدول ۴).

#### درصد غلاف پوک در بوته

اثر سطوح مختلف آبیاری و روش کاشت بر درصد غلاف پوک معنی‌دار بود (جدول ۲). با اعمال تنفس خشکی درصد غلاف پوک در بوته افزایش یافت و بیشترین درصد پوکی مربوط به اعمال تنفس خشکی در مرحله دو هفته پس از سبزشدن ( $I_1$ ) بود به گونه‌ای که در مقایسه با تیمار شاهد ( $I_3$ ) به میزان ۷/۴۸ درصد به طور معنی‌داری افزایش یافت (جدول ۳).

جدول ۴- اثر برهمکنش سطوح آبیاری و رقم بر برخی از صفات مورد مطالعه در نخود

Table 4. Interaction effects of irrigation levels and cultivar on some traits of chickpea

سطوح آبیاری irrigation levels	رقم Cultivar	تعداد غلاف در بوته Pod no. per plant	تعداد دانه در بوته Seed no. per plant	غلاف یکدانه‌ای در بوته (درصد) One seeded pod per plant (%)	غلاف دو‌دانه‌ای در بوته (درصد) Two seeded pod per plant (%)	غلاف پوک در بوته (درصد) Hollow pod per plant (%)	وزن ۱۰۰ دانه (گرم) 100 seed weight (g)	عملکرد دانه (گرم در مترمربع) Seed yield (g.m <sup>-2</sup> )	عملکرد بیولوژیک (گرم در مترمربع) Biological yield (g.m <sup>-2</sup> )
$I_1$	آرمان Arman	12.5e	11.0e	56.6c	17.0c	26.4a	24.0d	54.7f	170.0f
		21.6d	21.0d	63.50b	17.0c	19.5b	24.5d	103.0d	198.0d
		35.8b	39.2b	62.6b	23.0b	14.5c	24.8c	194.3b	314.0b
$I_1$	ازاد Azad	13.5e	12.3e	53.0d	19.0c	28.0a	25.8b	63.6e	181.0e
		26.8c	27.7c	66.7a	18.2c	15.1c	25.2c	139.6c	249.6c
		44.4a	51.6a	57.5c	29.0a	13.4c	27.9a	288.2a	438.0a

$I_1$ : قطع آبیاری دو هفته پس از سبزشدن؛  $I_2$ : قطع آبیاری در مرحله گلدهی؛  $I_3$ : آبیاری نرمال  
میانگین‌های با حروف مشابه در هر سوتون برای هر پارامتر اختلاف معنی‌داری ندارند (LSD درصد)

$I_1$ : Stop irrigation two weeks after emergence;  $I_2$ : Stop irrigation at flowering stage;  $I_3$ : Normal irrigation  
Means with similar letters in each column have no significant difference (LSD 5%)

پُرشدن دانه می‌تواند موجب کاهش انتقال مواد فتوستنتزی و در نتیجه چروکشدن دانه‌ها گردد. Pacucci *et al.* (2006) در آزمایشی نشان دادند که با افزایش دفعات آبیاری، وزن ۱۰۰ دانه افزایش پیدا می‌کند. همبستگی عملکرد دانه با وزن ۱۰۰ دانه ( $F_{1,20}=40.6**$ ) مثبت و معنی‌دار بود (جدول ۷). در شرایط کشت آبی، وجود همبستگی مثبت بین عملکرد و وزن دانه نخود بیانگر این واقعیت است که نخود در شرایط مساعد از نظر دما و رطوبت از طریق تشکیل دانه‌های بزرگ‌تر، عملکرد را بهبود می‌بخشد (Silim & Saxena, 1993). وزن ۱۰۰ دانه رقم آزاد ( $\frac{26}{3}$  گرم) نسبت به رقم آرمان ( $\frac{24}{4}$  گرم) به طور معنی‌داری بیشتر بود و با کاشت بذر روی پشتہ (۲۶ گرم) نسبت به دو روش دیگر کاشت، وزن ۱۰۰ دانه بیشتری داشت (جدول ۳). با اعمال سطوح مختلف آبیاری، وزن ۱۰۰ دانه در دو رقم کاهش یافت به گونه‌ای که کمترین وزن ۱۰۰ دانه در برهمکنش رقم آرمان و سطح آبیاری  $I_1$  به دست آمد (جدول ۴). نتایج برهمکنش سطوح آبیاری و روش کاشت بر وزن ۱۰۰ دانه معنی‌دار بود، به طوری که بیشترین و کمترین وزن ۱۰۰ دانه در تیمار  $I_3$  و روش کاشت روی پشتہ ( $\frac{27}{3}$ ) و تیمار  $I_2$  و روش کاشت کرتی ( $\frac{23}{4}$ ) بدست آمد (جدول ۶).

نتایج نشان داد که درصد پوکی در رقم آزاد به طور معنی‌داری کمتر از رقم آرمان بود و تغییر روش کاشت از روش کرتی به کشت روی پشتہ‌ای باعث کاهش درصد پوکی غلاف شد (جدول‌های ۳ و ۵)، به عبارت دیگر هرچند رقم آرمان تعداد غلاف کمتری در بوته دارد، ولی درصد پوکی آن بیشتر است. نتایج برهمکنش سطوح آبیاری و روش کاشت بر درصد غلاف پوک در بوته معنی‌دار بود. به طور مشخص تغییر روش کاشت از کشت کرتی به سمت کشت روی پشتہ‌ای به عنوان یک راهکار زراعی مناسب جهت کاهش درصد غلاف پوک در بوته می‌باشد (جدول ۶). همبستگی عملکرد دانه با درصد غلاف پوک در بوته منفی و معنی‌دار بود ( $F_{1,20}=78.0**$ ) (جدول ۷).

#### وزن ۱۰۰ دانه

اثر سطوح مختلف آبیاری و روش کاشت و برهمکنش آنها با رقم بر وزن ۱۰۰ دانه معنی‌دار بود (جدول ۲). با اعمال سطوح آبیاری وزن ۱۰۰ دانه به طور معنی‌داری کاهش یافت، به گونه‌ای که در مقایسه با تیمار آبیاری نرمال، وزن ۱۰۰ دانه به ترتیب به میزان  $\frac{5}{5}$  و  $\frac{9}{9}$  درصد در تیمارهای آبیاری  $I_1$  و  $I_2$  کاهش یافت (جدول ۳). محدودیت رطوبت در زمان غلاف‌بندی و

جدول ۵- اثر برهمکنش رقم و روش کاشت بر بخی از صفات نخود  
Table 5. Interaction effect of cultivar and planting methods on some of traits chickpea

رقم Cultivar	روش کاشت Planting method	تعداد غلاف در بوته Pod no. plant <sup>-1</sup>	تعداد دانه در بوته Seed no. plant <sup>-1</sup>	غلاف پوک در بوته (درصد) Hollow pod plant <sup>-1</sup> (%)	وزن ۱۰۰ دانه (گرم) 100- seed weight (g)	عملکرد دانه (گرم در مترمربع) Seed yield (g.m <sup>-2</sup> )	عملکرد بیولوژیک (گرم در مترمربع) Biological yield (g.m <sup>-2</sup> )
آرمان Arman	جوی Furrow	24.1c	25.2c	18.3b	23.4d	117.7cd	227.7cd
	پشتہ Ridge	23.2	24.3c	19.0b	25.0c	122.8c	232.0c
	کرت Flat	22.6c	22.0d	23.1a	25.0c	111.7d	222.0d
آزاد Azad	جوی Furrow	27.5b	28.9b	19.3b	26.5b	155.0b	281.8b
	پشتہ Ridge	30.0a	33.0a	17.7b	27.0a	184.3a	311.0a
	کرت Flat	27.0b	29.2b	19.5b	25.3c	152.1b	277.0b

میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشابه در هر ستون هستند، برای هر فاکتور مطابق آزمون دانکن اختلاف معنی داری ندارند.  
Means with similar letters in each column have no significant difference (LSD 5%)

جدول ۶- اثر برهمکنش سطوح آبیاری و روش کاشت بر بخی از صفات نخود  
Table 6. Interaction effects of irrigation levels and planting methods on some traits of chickpea

سطح آبیاری Irrigation levels	روش کاشت Planting method	تعداد دانه در بوته Seed no. plant <sup>-1</sup>	غلاف دو دانه‌ای در بوته (درصد) Two seeded pod Plant <sup>-1</sup> (%)	غلاف پوک در بوته (درصد) Hollow pod plant <sup>-1</sup> (%)	وزن ۱۰۰ دانه (گرم) 100- seed weight (g)	عملکرد دانه (گرم در مترمربع) Seed yield (g.m <sup>-2</sup> )	عملکرد بیولوژیک (گرم در مترمربع) Biological yield (g.m <sup>-2</sup> )
I <sub>1</sub>	جوی Furrow	12.6e	20.1bc	26.0b	24.4c	61.7fg	179.3f
	پشتہ Ridge	12.8e	20.6bc	26.1b	25.1b	64.0f	182.0f
	کرت Flat	10.0f	13.0d	29.5a	25.2b	51.3g	166.0g
I <sub>2</sub>	جوی Furrow	24.9c	18.5c	15.9d	25.4b	127.d	229.5d
	پشتہ Ridge	26.3c	18.5c	15.4d	25.6b	135.0d	237.6d
	کرت Flat	21.9d	15.6d	20.6c	23.4d	102.0e	204.6e
I <sub>3</sub>	جوی Furrow	43.7b	22.4b	14.5d	25.1b	220.5c	355.5c
	پشتہ Ridge	47.4a	28.0a	13.5d	27.3a	261.0a	396.0a
	کرت Flat	45.0b	27.0a	13.8d	26.8a	242.2b	377.2b

I<sub>1</sub>: قطع آبیاری دو هفته پس از سبزشدن؛ I<sub>2</sub>: قطع آبیاری در مرحله گلدهی؛ I<sub>3</sub>: آبیاری نرمال  
میانگین‌هایی که در هر ستون حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند، مطابق آزمون دانکن اختلاف معنی داری ندارند.  
I<sub>1</sub>: Stop irrigation two weeks after emergence; I<sub>2</sub>: Stop irrigation at flowering stage; I<sub>3</sub>: Normal irrigation  
Means with similar letters in each column have no significant difference (LSD 5%)

شدن دوره پُرشدن دانه با تأثیر بر اندازه دانه‌ها بر عملکرد دانه موثر است. مطالعات نشان می‌دهد که بیشترین عملکرد نخود تحت شرایط فاریاب حاصل می‌شود و در این ارتباط اجتناب از تنش خشکی بعد از مرحله گلدهی بهویژه در مرحله غلاف‌دهی تا دانه‌بستان، ضروری است (Jalota *et al.*, 2006). (Parwaiz *et al.*, 2011) نشان دادند که مرحله گلدهی، حساس‌ترین مرحله فولوژیکی به تنش خشکی است و انجام

عملکرد دانه نتایج نشان داد که اثرات اصلی فاکتورها بر عملکرد دانه معنی دار بود (جدول ۲)، با اعمال تنش آبی از I<sub>3</sub> به I<sub>2</sub> و I<sub>1</sub> عملکرد دانه به میزان ۵۰ و ۷۵ درصد به طور معنی داری کاهش یافت (جدول ۳) که این نتایج با یافته‌های Goldani & Jalilian *et al.*, (2005) Rezvani Moghaddam (2004) مشابه است. به عبارت دیگر به نظر می‌رسد عدم مواجه شدن دوره پُرشدن غلاف‌ها با تنش خشکی، از طریق طولانی‌تر

بیولوژیک را به طور معنی داری به میزان ۵۳ و ۴۰ درصد در مقایسه با تیمار آبیاری نرمال کاهش داد (جدول ۳). به نظر می‌رسد کمبود رطوبت ناشی از تنفس آبی با کاهش طول دوره رشد و نیز اثر آن بر کاهش سرعت رشد محصول باعث کاهش مقدار بیوماس کل تولیدی می‌شود. کاهش وزن اندام‌های هوایی و تولید فراورده‌های فتوسنتزی در نتیجه کمبود آب توسط Leport *et al.*, (2006) و Anwar *et al.*, (2003) نیز گزارش شده است. بنا بر گزارش Farbodnia (1995) گیاه خود از گسترش اندام‌های رویشی کاسته و انرژی و مواد فتوسنتزی خود را جهت حفظ بقاء متوجه رشد زایشی می‌نماید. عملکرد بیولوژیک در رقم آزاد به طور معنی داری به میزان ۲۲ درصد بیشتر از رقم آرمان بود (جدول ۳).

بیشترین عملکرد بیولوژیک در روش کاشت روی پشته (۲۷۲ گرم در مترمربع) و کمترین در روش کاشت کرتی (۲۴۹ گرم در مترمربع) به دست آمد (جدول ۳). عملکرد بیولوژیک تحت تأثیر اثر برهمکنش تنفس و رقم قرار گرفت و هرچند در هر دو رقم، اعمال آبیاری به طور معنی داری عملکرد بیولوژیک را کاهش داد، لیکن کمترین عملکرد بیولوژیک در تیمار I و رقم آرمان (۱۷۰ گرم در مترمربع) به دست آمد (جدول ۴). Keatinge & Cooper سه جزء اصلی عملکرد در نخود را تعداد غلاف در بوته، درصد غلاف پوک و وزن ۱۰۰ دانه معرفی و عنوان کردند که افزایش پوکی غلاف و کاهش وزن ۱۰۰ دانه در شرایط تنفس می‌تواند ناشی از تأثیر سوء خشکی بر روی تولید بیوماس باشد.

نتایج برهمکنش رقم و روش کاشت نشان داد که در هر دو رقم، کاشت روی پشته به طور معنی داری عملکرد بیولوژیک را افزایش داد و بیشترین عملکرد بیولوژیک، با کاشت رقم آزاد روی پشته (۳۱۱ گرم در مترمربع) به دست آمد و کمترین عملکرد بیولوژیک در رقم آرمان و با روش کاشت کرتی (۲۲۲ گرم در مترمربع) به دست آمد (جدول ۵). نتایج برهمکنش سطوح آبیاری و روش کاشت بر عملکرد بیولوژیک معنی دار بود؛ به عبارت دیگر با تغییر روش کاشت در تیمارهای سطوح آبیاری از حالت کرتی به روشن کاشت روی پشته، عملکرد بیولوژیک افزایش یافت. بیشترین و کمترین مقدار در تیمار I و روش کاشت روی پشته (۳۹۶ گرم در مترمربع) و تیمار I و روش کاشت کرتی (۱۶۶) به دست آمد (جدول ۶). همبستگی عملکرد دانه با عملکرد بیولوژیک ( $r=0.99^{**}$ ) مثبت و معنی دار بود (جدول ۷) که با نتایج (Majnoun Hosseini & Hamzei, 2011) مطابقت دارد.

یکبار آبیاری در این مرحله عملکرد ارقام نخود را افزایش داد.

رقم آزاد به طور معنی داری به میزان ۲۸ درصد عملکرد دانه بیشتری نسبت به رقم آرمان نشان داد (جدول ۳). کاشت روی پشته به طور معنی داری در مقایسه با دو روش کاشت دیگر عملکرد دانه را افزایش داد (جدول ۳). به نظر می‌رسد که روش کاشت روی پشته بدلیل مناسب تربوند بستر و عدم ارتباط مستقیم آب با اندام‌های نخود و انجام تهویه بهتر برای ریشه‌های گیاه، عملکرد بهتری نسبت به دو روش دیگر داشت. اثر برهمکنش سطوح مختلف آبیاری در رقم نشان داد که در هر دو رقم، اعمال سطوح آبیاری به طور معنی داری عملکرد دانه را کاهش داد و درصد این کاهش در هر سطح از تیمار آبیاری در رقم آرمان بیشتر بود (جدول ۴). به عبارت دیگر با توجه به نتایج به دست آمده، انتخاب رقم آزاد در هر سطحی از تیمار آبیاری در مقایسه با رقم آرمان، دارای عملکرد بیشتری بود. انتخاب رقم و روش کاشت مناسب، هر دو عامل مهمی در افزایش عملکرد دانه است، به گونه‌ای که بیشترین عملکرد دانه در رقم آزاد و در روش کاشت روی پشته (۱۸۴/۳ گرم در مترمربع) به دست آمد (جدول ۵). Shaikh *et al.*, (1994) وزن ۱۰۰۰ دانه، ارتفاع گیاه و عملکرد دانه با کاشت بر روی پشته به دست آمده است.

نتایج برهمکنش سطوح آبیاری و روش کاشت نشان داد که با تغییر روش کاشت، عملکرد دانه به طور معنی داری تحت تأثیر قرار گرفت؛ به عبارت دیگر به نظر می‌رسد هرچند در تمام سطوح آبیاری، کاشت روی پشته در مقایسه با روش کاشت کرتی دارای عملکرد بیشتری می‌باشد، ولی درصد افزایش عملکرد در تیمارهای تنفس آبی بیشتر بود، به گونه‌ای که در تیمار آبی I و II به ترتیب کاشت روی پشته در مقایسه با کاشت کرتی، ۲۵ و ۳۲ درصد افزایش عملکرد Chaghimirza نشان داد (جدول ۶). (2005) & Farshadfar روابط بین عملکرد و اجزای آن را روی ۱۰۳ اژنوتیپ نخود کابلی مورد مطالعه قرار دادند. نتایج نشان داد که صفاتی همچون تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در بوته، وزن خشک بوته، ارتفاع بوته و وزن صد دانه همبستگی بالا و معنی داری با عملکرد دانه داشتند.

### عملکرد بیولوژیک

عملکرد بیولوژیک به طور معنی داری تحت تأثیر فاکتورهای سطوح آبیاری و روش کاشت قرار گرفت (جدول ۲). اعمال تنفس آبی در سطح I و II عملکرد

جدول ۷- ضریب همبستگی بین صفات مورد مطالعه در نخود  
Table 7. Coefficient Correlation some of Chickpea traits

صفات Traits	تعداد غلاف در بوته Pod no. plant <sup>-1</sup>	تعداد دانه در بوته Seed no. plant <sup>-1</sup>	تعداد دانه Seed no. plant <sup>-1</sup>	درصد غلاف در بوته (درصد) One seeded pod plant <sup>-1</sup> (%)	درصد غلاف در بوته Two seeded pod plant <sup>-1</sup> (%)	درصد غلاف پوک در بوته Hollow pod plant <sup>-1</sup> (%)	وزن ۱۰۰ دانه 100-seed weight	عملکرد دانه Seed yield
تعداد غلاف در بوته Pod no. plant <sup>-1</sup>	1							
تعداد دانه در بوته Seed no. plant <sup>-1</sup>		1	0.99**					
درصد غلاف پوک Hollow pod plant <sup>-1</sup> (%)			1	0.23*	0.29**			
درصد غلاف دونانهای Two seeded pod plant <sup>-1</sup> (%)				1	-0.40**	0.69**	0.64**	
وزن ۱۰۰ دانه 100-seed weight					1	-0.45**	-0.62**	-0.82**
عملکرد دانه Seed yield						1	-0.26*	0.57**
عملکرد بیولوژیک Biological yield							1	0.60**
آرمان) تا ۴۰ درصد به عنوان راهکارهای زراعی می‌تواند باعث افزایش عملکرد دانه نخود شوند. در تیمار قطع زودهنگام آبیاری (I <sub>1</sub> ), استفاده از رقم آزاد در مقایسه با آرمان و یا تغییر روش کاشت از کرتی به روی پشتہ به ترتیب تا حدود ۱۷ و ۲۶ درصد عملکرد دانه را افزایش داد و در تیمار (I <sub>2</sub> ) نیز این افزایش عملکرد به ترتیب به میزان ۳۵ و ۳۲ درصد بود. لذا انتخاب ارقام با پتانسیل عملکرد دانه بالاتر و یا متحمل به خشکی و تغییر روش کاشت، به عنوان روش‌های به زراعی و به نزدیک می‌تواند تا حدودی جبران خسارت بنماید.								

### نتیجه‌گیری

به طور کلی نتایج نشان داد که اعمال زودهنگام قطع آبیاری (I<sub>1</sub>) در مقایسه با تیمار آبیاری نرمال (I<sub>3</sub>) ۷۵ درصد کاهش عملکرد دانه را به همراه داشت. کاهش معنی دار تعداد غلاف در بوته تا ۶۷ درصد، تعداد دانه در غلاف به میزان ۷۴ درصد و همچنین وزن ۱۰۰ دانه از یکسو و افزایش درصد پوکی غلافها تا ۴۹ درصد از عوامل اصلی کاهش دهنده عملکرد دانه نخود در تحت شرایط تنفس شدید بوده است. تغییر در روش کاشت (از کشت کرتی به سمت کاشت روی پشتہ) به تنهایی به میزان ۱۶ درصد (۱۳۱/۹) در مقابل ۱۵۳/۵ گرم در

### منابع

- Anonymous. 2001. Nitrogen fixing organisms (Diazotrophs). <http://www.asahi-et.or.ir/it61-wtnb/BNF.html>.
- Anwar, M.R., Mckenzie, B.A., and Hill, G.D. 2003. The effect of irrigation and sowing date on crop yield and yield component of Kabuli chickpea (*Cicer arietinum* L.) in a cool-temperate subhumid climate. Journal of Agriculture Science 141: 259-271.
- Begum, N., Husain, M., and Chowdury, S.I. 1992. Effect of sowing date and plant density on pod borer incidence and grain yield of chickpea in Bangladesh. International Chickpea Newsletter 27: 19-21.
- Calcagno, F., Gallo, G., Iaian, M., and Raimondo, I. 1988. Effects of plant density on seed yield and its components for ten chickpea genotypes grown in Sicily, Italy. International Chickpea Newsletter 18: 29-31.
- Chaghimirza, K., and Farshadfar, E.A. 2005. Study of relationships between yield and yield components in chickpea. Abstract of 9<sup>th</sup> Iranian Congress of Crop Science and Plant Breeding, College of Agriculture, University of Tehran. Karaj, Iran.

6. Eivazi, A., Taghikhani, H., Shiralizadeh, Sh., Rezaei, M., and Mousavi Anzabi, S.H. 2012. Evaluation of response of chickpea genotypes to water deficit at different growth stages by using drought tolerance indices. *Iranian Journal of Pulses Research* 3(1): 81-92. (In Persian with English Summary).
7. Fahong, W., Xoging, W., and Sayre, K. 2004. Comparison of conventional, flood irrigated, flat planting with furrow irrigated, raised bed planting for winter wheat in China. *Field Crop Research* 87: 35-42.
8. Fang, X., Turner, N.C., Yan, G., Li, F., and Siddique, K.H.M. 2010. Flower numbers, pod production, pollen viability, and pistil function are reduced and flower and pod abortion increased in chickpea (*Cicer arietinum* L.) under terminal drought. *Journal of Experimental Botany* 61: 335-345.
9. FAO. 2012. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://www.Faostate.fao.org>.
10. Farbodnia, T. 1995. Effect of drought stress on germination, growth and some biochemical changes induced by stress in Iranian chickpea lines. MSc. Thesis in Biology, Plant Sciences. Tehran University of Teacher Education, p. 125.
11. Geletu Bejiga, H.A., Van Rheenen, C.A., Jagadish, C.A., and Singh, O. 1991. Correlation between yield and its components in segregation population of different generations of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Legume Research* 14: 87-91.
12. Goldani, M., and Rezvani Moghaddam, P. 2004. Effect of planting date on yield and yield components of rainfed and irrigated chickpea cultivars in Mashhad. *Journal of Agricultural Research* 2: 229-239. (In Persian with English Summary).
13. Jalilian, J., Modares Sanavi, S.A.M., and Sabaghpoor, S.H. 2005. Effect of plant density and irrigation on yield, yield components and protein content of four varieties of chickpea in rainfed conditions. *Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources* 12: 1-9.
14. Jalota, S.K., Sood, A., and Harman, W.L. 2006. Assessing the response of chickpea (*Cicer arietinum* L.) yield to irrigation water on two soils in Punjab (India): A simulation analysis using the CROPMAN model. *Agricultural Water Management* 79: 312-320.
15. Kanouni, H., Ahmadi, M.K., Sabaghpoor, S.H., Malhotra, R.S., and Ketata, H. 2003. Evaluation of spring sown chickpea varieties for drought tolerance. International Chickpea Conference. Raipur, Chhattisgrah, India.
16. Keating, J.D.H., and Cooper, P.J.M. 1983. Kabuli chickpea as a winter-sown crop in northern Syria: moisture relations and crop productivity. *Journal of Agricultural Science* 100: 667-680.
17. Khan, M.J., and Khattak, R.A. 2000. Influence of sowing methods on the productivity of canola grown in saline soil. *Pakistan Journal Biological Science* 3: 687-691.
18. Khanna-Chopra, R., and Sinha, S.K. 1987. Chickpea: physiological aspects of growth and yield. In: M.C. Saxena and K.B. Singh (Eds.). *The Chickpea*. p. 163-189. C.A.B. International, UK.
19. Kumar, A.M. 2010. Plant water relations and photosynthetic activity in three Tunisian chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotype subjected to drought. *Turkish Journal Agriculture Forestry* 34: 257-264.
20. Leport, L., Turner, N.C., Davies, S.L., and Siddique, K.H.M. 2006. Variation in pod production and abortion among chickpea cultivars under terminal drought. *European Journal of Agronomy* 24: 236-246.
21. Leport, L., Turner, N.C., French, R.J., Barr, M.D., Duda, R., Davies, S.L., Tennant, D., and Siddique, K.H.M. 1999. Physiological responses of chickpea genotypes to terminal drought in a Mediterranean-type environment. *European Journal of Agronomy* 11: 279-291.
22. Liu, F., Jensen, C.R., and Andersen, M.N. 2004. Drought stress effect on carbohydrate concentration in soybean leaves and pods during early reproductive development: its implication in altering pod set. *Field Crops Research* 86: 1-13.
23. Majnoun Hosseini, N., and Hamzei, R. 2011. Effect of winter and spring planting time on yield and yield components of chickpea at dry land conditions. *Iranian Journal of Pulses Research* 1(2): 59-68. (In Persian with English Summary).
24. Mohammadi, A., Bihamta, M.R., and Dorri, H. 2011. Effects of factors affecting cooking characteristics and protein content in 15 red bean genotypes (*Phaseolus vulgaris* L.) under normal irrigation and drought stress conditions. *Iranian Journal of Pulses Research* 1: 143-152. (In Persian with English Summary).
25. Mohammadian, R., Moghaddam, M., Rahimian, H., and Sadeghian, S.Y. 2005. Effect of early season drought stress on growth characteristics of sugar beet genotypes. *Turkish Journal of Agriculture* 29: 357-368.
26. Nelson, C. 2001. Untapped Potential: Irrigated Chickpea Production. p. 43-55. Proc. Southern Alberta Conserv. Assoc. Dryland and Irrigated Reduced Tillage Conf., 1-2 Dec. 2001, Lethbridge, Canada.
27. Oweis, T., Hachum, A., and Pala, M. 2004. Water use efficiency of winter sown chickpea under supplemental irrigation in a Mediterranean environment. *Agriculture Water Management* 66: 163-179.
28. Pacucci, G., Troccoli, C., and Leoni, B. 2006. Effects of supplementary irrigation on yield of chickpea genotypes in a Mediterranean climate. *Agricultural Engineering International; The CIGRE Journal* 3: 1-9.

- 29.Pala, M., and Mazid, A. 1992. On farm assessment of improved crop production practices in North West Syria. I. Chickpea. Experimental of Agriculture 28: 175-184.
- 30.Parsa, M., Ganjali, A., Rezaeanzadeh, A., and Nezami, A. 2011. Effect of supplemental irrigation on yield and growth indices of chickpea (*Cicer arietinum* L.). Iranian Journal of Field Crops Research 9(3): 310-321. (In Persian with English Summary).
- 31.Rezvani Moghaddam, P., and Sadeghi Samarjan, R. 2008. Effect of different planting dates and different irrigation regimes on morphological characteristics and yield of chickpea (*Cicer arietinum* L.) ILC3279 cultivars in the climatic conditions Neyshabur. Journal of Agricultural Research 2: 315-325.
- 32.Sabaghpour, S.H. 2001. Major diseases of chickpea in Iran. In Proceeding of Symposium on Grain Legumes in the Mediterranean. Agriculture, (LEGUMED), 25-27 October 2001. Rabat, Morocco.
- 33.Shaikh, A.A., Jadhav, B.D., and Wattam War, M.J. 1994. Effects of planting layouts, mulching and fertilizers on dry matter accumulation and energy relationship in rainfall pearl millet. Journal Maharashtra Agriculture University 19: 421-423.
- 34.Silim, S.N., Saxana, M.C., and Singh, K.B. 1993. Adaptation of spring-sown chickpea to the Mediterranean basin. II. Factors influencing yield under drought. Field Crops Research 34: 137-141.
- 35.Singh, D.P., Singh, P., Sharma, H.C., and Turner, N.C. 1987. Influence of water deficit on the water relations, canopy gas exchange and yield of chickpea (*Cicer arietinum*). Field Crops Research 16: 231-241.
- 36.Soltani, A., Khooie, F.R., Ghassemi-Golezani, K., and Moghaddam, M. 2000. Thresholds for chickpea leaf expansion and transpiration response to soil water deficit. Field Crops Research 68: 205-210.
- 37.Soltani, A., Khooie, F.R., Ghassemi-Golezani, K., and Moghaddam, M. 2001. A simulation study of chickpea crop response to limited irrigation in a semiarid environment. Agriculture Water Management 49: 225-237.

## **Effects of drought stress and planting methods on yield and yield components of two chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars**

**Abasluo<sup>1</sup>, L., Kazemeini<sup>2\*</sup>, S.A. & Edalat<sup>3</sup>, M.**

1. MSc. Student of Crop Production and Plant Breeding, Shiraz University, College of Agriculture, Shiraz, Iran  
2&3. Respectively, Associate Professor and Assistant Professor of Crop Production and Plant Breeding, College of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran

Received: 2 February 2013

Accepted: 3 March 2014

### **Abstract**

In order to evaluate the effects of drought stress and planting method on yield and yield components of two chickpea cultivars (*Cicer arietinum* L.), an experiment was carried out at the research field of Faculty of Agriculture; Shiraz University, using a split factorial randomized complete block design with four replications. The main factor was irrigation stop at different growth stages of chickpea (two weeks after emergence= I<sub>1</sub>, flowering= I<sub>2</sub> and normal irrigation= I<sub>3</sub>) and sub-factor involved a combination of two varieties of pea (Arman and Azad) and sowing methods (ridges, furrow and flat planting), respectively. Results showed that the highest and lowest pod number per plant, seeds per plant, two seeded pod percent, grain weight, grain yield and biological yield were obtained from I<sub>3</sub> and I<sub>1</sub> treatments, respectively, and the trend was contrary in the case of hollow pods. Most of pods per plant, seed per plant, two seeded pod percent, seed weight and seed yield were obtained from planting on ridges. Azad cultivar seed yield was more than (Arman 164 vs 117 g.m<sup>-2</sup>) and could be recommended in the Bajgah region. Although under drought stress condition seed yield was reduced in both cultivars but, it modification by changing the planting method from flat to ridge in the I<sub>1</sub> and I<sub>2</sub> treatments, and it can be used as a way of reducing seed yield loss by 26 and 32 percent, respectively.

**Key words:** Flowering, Ridge planting, Seed number per plant, Stop irrigation

---

\*Corresponding Author: kazemin@shirazu.ac.ir

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

علی گنجعلی<sup>۱\*</sup>، راهله رهباریان<sup>۲</sup>، عبدالرضا باقری<sup>۳</sup> و سعید ملکزاده شفارودی<sup>۳</sup>

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

ra\_rahbarian@yahoo.com

۲- عضو هیئت علمی دانشگاه پیام‌نور، گروه پژوهشی بقولات پژوهشکده 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 متتحمل به خشکی نخود در شرایط تنش خشکی با ۱۴ ژنوتیپ، شامل دو رقم تجاری جم (MCC۳۶۱) و کرج (MCC۳۵۸)، سه ژنوتیپ کابلی و سه ژنوتیپ دسی متتحمل به خشکی به ترتیب شامل MCC۳۹۲، MCC۵۳۷ و MCC۶۹۶، MCC۸۷۳ و MCC۸۷۰، MCC۱۰ و همچنین سه ژنوتیپ کابلی و سه ژنوتیپ دسی حساس به خشکی به ترتیب شامل MCC۱۰۱، MCC۴۵ و MCC۳۹، MCC۷۷۴، MCC۵۸۸ و MCC۷۵۹ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در شرایط دیم انجام شد. ژنوتیپ‌های فوق در مرحله گلدهی، از نظر صفات وزن خشک اندام هوایی، طول ساقه، مقدار نسبی آب برگ، شاخص پایداری غشاء، پتانسیل آب برگ، سطح برگ، کارآیی فتوسیستم II (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. وزن خشک 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 فتوسیستم II در ژنوتیپ‌های حساس به خشکی کمتر از سایر ژنوتیپ‌های مورد بررسی و بهویژه ژنوتیپ‌های متتحمل به خشکی بود که به نظر می‌رسد می‌توان از این صفات به عنوان شاخص‌های مناسبی جهت ارزیابی میزان تحمل به خشکی ژنوتیپ‌های نخود استفاده کرد. برخلاف رقم تجاری جم (MCC۳۶۱)، در رقم تجاری کرج (MCC۳۵۸) مقدادر بالایی از فعالیت آنزیم کاتالاز، مقدار پرولین، پتانسیل آب برگ و کارآیی فتوسیستم II مشاهده شد که این نتایج نشان از تحمل بالاتر این رقم به تنش خشکی دارد.

واژه‌های کلیدی: پرولین، تنش خشکی، کاتالاز، کارآیی فتوسیستم II، نخود

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

### مقدمه

خود (*Cicer arietinum L.*), یکی از حبوبات سرمهادوست 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 به صورت پاییزه، انتظاری و در مناطق سردسیر مرتفع به صورت بهاره و عمدهاً به صورت دیم (درصد) و با استفاده از رطوبت ذخیره شده در خاک انجام می‌شود (Bagheri *et al.*, 1997).

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

عدم مداخله در واکنش‌های عادی متابولیکی گیاه به عنوان متابولیت‌های سازگار شناخته می‌شوند که در گیاهان متتحمل به تنش به طور طبیعی تجمع می‌یابند. ترکیبات ذکر شده 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 بر عهده 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 تخریب‌کننده غشاء می‌باشد. تنش خشکی از طریق افزایش تولید مواد تخریب‌کننده غشاء و گونه‌های اکسیژن فعال از جمله پراکسید هیدروژن، سبب تخریب غشاء سلولی شده و در نتیجه، ضربیت پایداری غشاء در شرایط تنش خشکی کاهش می‌یابد. گیاهان متتحمل 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. بالاترین میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در ژنوتیپ‌های متتحمل 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 متتحمل به خشکی عموماً کمتر از ژنوتیپ‌های حساس است (Fu & Hang, 2001). کاهش ضربیت پایداری غشاء در شرایط تنش خشکی در گیاهان دیگر از جمله گندم، زیتون و *Medicago truncatula* نیز گزارش شده است (Nunes *et al.*, 2008; Bayoumi *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). در این تحقیق سعی شده است با ارزیابی و سنجش واکنش‌های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ژنوتیپ‌های حساس و متتحمل به خشکی نخود و همچنین بررسی روابط موجود بین صفات، خصوصیت‌های 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.

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 به عنوان نشانگر جهت شناسایی ژنوتیپ‌های متتحمل به تنش خشکی معرفی شده است (Helal & 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 بالاترین میزان نسبی آب برگ در شرایط تنش خشکی، به همراه بیشترین مواد محلول و متابولیت‌ها سبب افزایش تحمل این گیاهان به تنش خشکی شده است (Guerfel *et al.*, 2008).

افزایش فلورسانس کلروفیل و کاهش کارآیی فتوسیستم II یکی دیگر از پاسخ‌های گیاه به تنش خشکی است (Ahmed *et al.*, 2002). کاهش کارآیی فتوسیستم II (Fv/Fm) در شرایط تنش خشکی نشان‌دهنده کاهش میزان انتقال الکترون از فتوسیستم II به فتوسیستم I است (Zlatev & Yordanov, 2004). نتایج حاصل از چندین بررسی نشان داده است که کمپلکس آزادکننده اکسیژن و مراکز واکنش فتوسیستم II تحت تأثیر تنش خشکی قرار گرفته و تخریب می‌شود. برخی از این تخریب‌ها به پروتئین D1 برمی‌گردد که در ساختمان فتوسیستم II قرار دارد (Ahmed *et al.*, 2002). کاهش کارآیی فتوسیستم II در شرایط تنش خشکی، در لوبیا و آفتاب‌گردان نیز گزارش شده است (Kiani *et al.*, 2008). (Zlatev & Yordanov, 2004; Dulai *et al.*, 2006 & Kiani *et al.*, 2008). 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 فلورسانس کلروفیل به عنوان روشی ساده برای گزینش ژنوتیپ‌های متتحمل به خشکی ذرت، معرفی شده است (Ashraf *et al.*, 2007).

تنظیم اسمزی در گیاهان در پاسخ به تنش به واسطه تجمع متابولیت‌هایی مانند گلایسین‌ بتائین، پرولین و مانیتول حاصل می‌شود (Evazi *et al.*, 2007). این متابولیت‌ها به دلیل

دستگاه EC متر 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 وزن تر آن اندازه‌گیری شد. سپس همان برگ در پتری دیش حاوی آب مقطور غوطه‌ور شد. پس از ۱۶ ساعت، برگ‌ها از آب خارج شده و بهوسیله دستمال کاغذی خشک شده و توزین شدند. سپس برای تعیین وزن خشک، برگ‌ها در آون ۷۰ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت 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 تر برگ، DW وزن خشک برگ و TW وزن برگ در حالت آمامس کامل است.

سطح برگ با استفاده از دستگاه اندازه‌گیری سطح برگ اندازه‌گیری شد. سپس اندام هوایی گیاهان جهت اندازه‌گیری وزن خشک گیاه به مدت ۴۸ ساعت در آون ۷۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت و پس از آن با ترازوی دیجیتال توزین شد.

جهت انجام سنجش‌های بیوشیمیایی، وزن تر هر برگ اندازه‌گیری شد و سپس برگ‌ها در بسته‌بندی‌های مشخص در فریزر ۷۰ درجه سانتی گراد 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. بدین منظور ۰/۲ گرم از بافت برگ در ۴ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک آبدار (W/V) ۳ دقیقه کاملاً سائیده شد تا همگن شود. سپس همگنای حاصل توسط کاغذ صافی واتمن نمره ۲، صاف و از محلول حاصل برای سنجش پرولین استفاده گردید. میزان ۲ میلی‌لیتر از همگنا با ۲ میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال در یک لوله آزمایش مخلوط شدند. لوله‌های آزمایش به مدت یک ساعت در حمام آب ۱۰۰ درجه سانتی گراد قرار گرفتند. سپس بلافالصله نمونه‌ها به ظرف حاوی یخ منتقل شدند تا واکنش خاتمه یابد و سپس به دمای اتاق منتقل شدند. سپس به محتويات داخل لوله آزمایش ۴ میلی‌لیتر تولوئن افزوده و به مدت ۳۰ ثانیه به شدت مخلوط شدند. این عمل موجب دوفازه شدن

## مواد و روش‌ها

این آزمایش با هدف بررسی واکنش‌های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ژنتیکی‌های حساس و متحمل به خشکی نخود در شرایط تنفس خشکی با ۱۴ ژنتیک، شامل دو رقم تجاری جم (MCC۳۶۱) و کرج (MCC۳۵۸)، سه ژنتیک کابلی و دسی متحمل به خشکی به ترتیب شامل MCC۳۹۲، MCC۱۰، MCC۸۷۰، MCC۸۷۳ و MCC۶۹۶، MCC۵۳۷ و سه ژنتیک کابلی و دسی حساس به خشکی به ترتیب MCC۴۵، MCC۳۹ و MC۷۷۴، MCC۵۸۸، MCC۷۵۹ در مرحله تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در قالب طرح بلوك‌های کامل تصادفی با سه تکرار و در شرایط دیم انجام شد. عملیات کاشت در نیمه اول تا ۱۳۸۸ ماه در زمینی که از قبل برای این منظور آماده شده بود انجام شد.

در مرحله گلدهی، میزان کارآبی فتوسیستم II ژنتیک‌ها بهوسیله دستگاه کلروفیل‌فلورومتر اندازه‌گیری و ثبت شد. برای اندازه‌گیری میزان کارآبی فتوسیستم II، ابتدا سطح برگ‌های جوان توسعه‌یافته با قرار گرفتن گیره بر روی آن‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در شرایط تاریکی قرار گرفت و سپس با اتصال رابط دستگاه به برگ و تنظیم دستگاه، کارآبی فتوسیستم II بهوسیله دستگاه کلروفیل‌فلورومتر مدل OS5-FI اندازه‌گیری شد. برای سنجش کارآبی فتوسیستم II، نسبت Fv (تفاوت Fm از Fm-F0) به حداقل فلوئورسانس با (Fm-F0) به (حداکثر فلوئورسانس) توسط دستگاه اندازه‌گیری شد. F0: کارآبی فلوئورسانس در غیاب نور فتوسنتزی است که همان حداقل فلوئورسانس است که با استفاده از یک نور ضعیف (۰.۴ μmol m⁻² s⁻¹) از دستگاه گیری شد. Fm (حداکثر فلوئورسانس) با استفاده از یک نور اشباع (۸۰۰۰ μmol m⁻² s⁻¹) به مدت ۸ ثانیه 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 ۰/۱ سی سی آب دیونیزه و ۰/۱ گرم برگ بودند، به مدت ۳ دقیقه در بن‌ماری ۴۰ درجه سانتی گراد قرار گرفتند. سری دوم لوله‌های آزمایش که حاوی ۰/۱ سی سی آب دیونیزه و ۱/۱ گرم برگ بودند، به مدت ۱ دقیقه در بن‌ماری ۱۰۰ درجه سانتی گراد قرار گرفتند. پس از آن، همه لوله‌های آزمایش جهت کاهش دما و رسیدن به دمای محیط در یخچال گذاشته شدند و پس از تعديل دما، میزان نشت الکترولیت آن‌ها با

پرولین در محلول محاسبه شد. در نهایت مقدار پرولین بر اساس میکرومول در گرم وزن تر نمونه گیاهی مطابق فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{معادله (۳)} \quad \text{میکرومول پرولین در گرم وزن تر برگ} = \frac{\frac{\mu\text{g prolin}}{\text{ml}} \times \frac{\text{ml toloen}}{115.5(\frac{\mu\text{g}}{\mu\text{mol}})}}{\frac{\text{gr sample}}{5}}$$

ولی به مقدار زیادی تحت تأثیر محیط نیز قرار می‌گیرد (Ganjeali & Kafi, 2007). محققان افزایش ارتفاع گیاه را یک صفت مطلوب برای ذخیره مواد فتوستنتری در دوره رشد رویشی (مخزن‌های ثانویه) می‌دانند. اعتقاد بر این است که مواد ذخیره شده در این مخزن‌ها در دوره‌های وقوع خشکی که گیاه با کاهش فتوستنتر 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 تنفس خشکی اتخاذ می‌نمایند، یا شدت تنفس خشکی به حدی بوده است که فرصت و شرایط برای به کارگیری سازوکارهای تحمل به خشکی فراهم نشده است. محققان، افزایش درجه حرارت همراه با تنفس خشکی را عامل مؤثر بر تسریع فنولوژی و کاهش دوره رشد گیاه اعلام نمودند (Auld et al., 1988). بنظر می‌رسد تنفس خشکی از طریق افزایش سرعت نمو و کاهش دوره رشد رویشی، کاهش ارتفاع بوته را القاء می‌نماید.

#### سطح برگ و وزن خشک اندام هوایی

به طور کلی، ژنوتیپ‌ها از نظر سطح برگ و وزن خشک اندام هوایی، تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. مشابه نتایج ارتفاع گیاه، در مورد سطح برگ، بیشترین کمترین (۱۵/۸۳ مترمربع) و (۰/۵۶۳ مترمربع)، به ترتیب به ژنوتیپ متحمل دسی (MCC۸۷۰) و ژنوتیپ حساس کابلی (MCC۵۸۸) که از این حیث تفاوت معنی‌داری داشتند، تعلق داشت. بیشترین و کمترین وزن خشک اندام هوایی نیز به ترتیب به ژنوتیپ‌های متحمل کابلی (MCC۵۳۷) و حساس کابلی (MCC۵۸۸) اختصاص یافت. ژنوتیپ‌های متحمل MCC۳۹۲، MCC۳۹۳، MCC۴۵، MCC۷۰ و ژنوتیپ حساس MCC۱۰، MCC۶۹۶ وزن خشک اندام هوایی بیشتری نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها

(فاز تولوئن رنگی حاوی پرولین در بالا و فاز آبی شفاف در پایین) محتويات لوله شد. پس از مدت ۲۰ دقیقه، جذب نوری محلول فوکانی در ۵۲۰ نانومتر با استفاده از تولوئن به عنوان شاهد خوانده شد و با استفاده از منحنی استاندارد، غلظت

جهت سنجش میزان کل پروتئین محلول برگی، ابتدا عصاره‌گیری برگ‌ها به‌وسیله بافر فسفات پتابسیم 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) ۰/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتابسیم pH=۷ مولار (Ba۰/۰۵ مولار) و ۰/۳ میلی‌لیتر آب اکسیژنه ۳درصد در حمام یخ با یکدیگر مخلوط شدند و بلافلسله ۰/۲ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی به آن افزوده شد. منحنی تغییرات جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر به مدت ۳ تا ۴ دقیقه 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 به‌وسیله نرم‌افزار JMP تجزیه واریانس شدند. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چنددامنه‌ای دانکن به‌وسیله نرم‌افزار MSTAT-C استفاده شد.

#### نتایج و بحث

##### ارتفاع گیاه

دامنه ارتفاع گیاه از ۱۷/۸ سانتی‌متر در ژنوتیپ متحمل دسی (MCC۸۷۰) تا ۰/۵ سانتی‌متر در ژنوتیپ حساس کابلی MCC۴۵ و MCC۸۷۰، MCC۵۸۸ در گروه ژنوتیپ‌های پابلند و ژنوتیپ‌های MCC۸۷۳، MCC۱۰۱ که کمتر از ۱۰ سانتی‌متر 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، MCC۳۹۳، MCC۴۵، MCC۷۷۴، MCC۱۰، MCC۶۹۶) از این حیث معنی‌دار نبود (جدول ۱). ارتفاع گیاه، یک صفت ژنتیکی است،

### 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 متتحمل 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 بسته شدن روزنه‌ها در شرایط تنفس خشکی است (Bray, 1997).

در بررسی حاضر، تفاوت معنی‌داری میان ژنوتیپ‌ها از نظر مقدار نسبی آب برگ وجود نداشت (جدول ۱). با این حال ژنوتیپ‌های MCC۸۷۳، MCC۸۸۸ 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 (جدول ۱). نتایج این بررسی نشان داد که ژنوتیپ‌های متتحمل و حساس به خشکی هر دو تیپ دسی و کابلی تفاوت معنی‌داری از نظر مقدار نسبی آب برگ با یکدیگر نداشتند، بنابراین به نظر می‌رسد مقدار نسبی آب برگ نیز نمی‌تواند معیار مناسبی برای پاسخ گیاهان نخود به تنفس در شرایط مزروعه باشد و لذا نمی‌توان از آن به عنوان 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 به عنوان مکانیسم مهمی در پاسخ به تنفس خشکی مطرح باشد.

### پتانسیل آب برگ

پتانسیل آب برگ در ژنوتیپ‌های متتحمل دسی MCC۸۷۰ و MCC۸۷۳ به طور معنی‌داری بیشتر از ژنوتیپ‌های حساس دسی MCC۴۵ و MCC۳۹ بود. سایر ژنوتیپ‌ها تفاوت معنی‌داری از نظر پتانسیل آب برگ با یکدیگر نداشتند (جدول ۱). با این حال، پتانسیل آب برگ در ژنوتیپ‌های متتحمل 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 متتحمل به خود اختصاص داد (جدول ۱). بالاترین پتانسیل آب برگ در ژنوتیپ‌های متتحمل به تنفس خشکی، دلیلی بر توانایی

برخوردار بودند، ولی تفاوت‌های موجود معنی‌دار نبود (جدول ۱). نتایج فوق مؤید این است که ژنوتیپ‌های متتحمل به خشکی هر دو تیپ دسی و کابلی، هم در گروه ژنوتیپ‌های با سطح برگ و وزن خشک اندام هوایی بالا و هم در گروه ژنوتیپ‌های با سطح برگ و وزن خشک اندام هوایی پایین قرار می‌گیرند و در این ارتبا، روند مناسبی قابل مشاهده نیست. این موضوع برای ژنوتیپ‌های حساس به خشکی نیز صادق است؛ بنابراین به نظر می‌رسد معیارهای سطح برگ و وزن خشک اندام هوایی و تغییرات آن‌ها در گیاه نمی‌توانند معیارهای مناسبی برای پاسخ گیاهان به تنفس باشند و لذا نمی‌توان از آن‌ها به عنوان معیارهای مناسب برای گزینش ژنوتیپ‌های متتحمل و یا حساس به خشکی استفاده نمود. در یک آزمایش، Ganjeali *et al.* (2011) تفاوت‌های معنی‌داری را میان ژنوتیپ‌های متتحمل به خشکی از نظر تغییرات سطح برگ در واکنش به تنفس خشکی گزارش کردند. این نتایج، ناکارآمدی‌بودن معیار سطح برگ را برای گزینش ژنوتیپ‌های متتحمل به خشکی مجدد تأیید می‌کند.

### ضریب پایداری غشاء

در این بررسی، تفاوت معنی‌داری میان ژنوتیپ‌ها از نظر ضریب پایداری غشاء وجود نداشت (جدول ۱). با این حال بیشترین ضریب پایداری غشاء به رقم تجاری کرج (MCC۳۵۸) و کمترین آن نیز به ژنوتیپ‌های حساس دسی (MCC۳۹) و MCC۱۰۱ اختصاص یافت (جدول ۱). نتایج این بررسی نشان داد که ژنوتیپ‌های متتحمل و حساس به خشکی هر دو تیپ دسی و کابلی، تفاوت معنی‌داری از نظر ضریب پایداری غشاء با یکدیگر نداشتند، بنابراین به نظر می‌رسد ضریب پایداری غشاء نیز نمی‌تواند معیار مناسبی برای پاسخ گیاهان نخود به تنفس در شرایط مزروعه باشد و لذا نمی‌توان از این صفت برای گزینش ژنوتیپ‌های متتحمل و یا حساس به خشکی نخود استفاده نمود.

افزایش تولید مواد تخریب‌کننده غشاء از جمله پراکسیدهیدروژن در شرایط تنفس خشکی، سبب کاهش پایداری غشاء می‌گردد. بنابراین گیاهانی که قادر به حذف یا 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 تنفس خشکی در ژنوتیپ‌های متتحمل به تنفس خشکی کمتر از ژنوتیپ‌های حساس باشد (Fu & Hang, 2001).

مناسبی جهت به گزینی ژنوتیپ‌های ذرت در شرایط تنفس 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، در حالی که سایر ژنوتیپ‌های مورد بررسی از این لحاظ تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نشان ندادند (جدول ۱).

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

### پرولین

در این بررسی میزان پرولین در ژنوتیپ متحمل کابلی MCC۳۹۲ به طور معنی‌داری از سایر ژنوتیپ‌های مورد بررسی بیشتر بود. کمترین میزان پرولین نیز به ژنوتیپ حساس کابلی MCC۳۹ و ژنوتیپ‌های حساس دسی (MCC۴۵ و MCC۷۷۴) اختصاص داشت. رقم تجاری کرج (MCC۳۵۸) و ژنوتیپ متحمل کابلی MCC۵۳۷ پس از ژنوتیپ MCC۳۹۲ بیشترین میزان پرولین را به خود اختصاص داده و میزان پرولین آن‌ها به طور معنی‌داری بیشتر از ژنوتیپ‌های MCC۷۷۴، MCC۳۹ و MCC۴۵ بود. سایر ژنوتیپ‌ها از نظر میزان پرولین تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند (جدول ۱). با این حال، نتایج حاصل از این بررسی نشان دهنده بالاتربودن میزان پرولین در شرایط تنفس خشکی در ژنوتیپ‌های متحمل نسبت به ژنوتیپ‌های حساس بود. بنابراین احتمالاً بتوان پرولین را نیز

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

### کارآبی فتوسیستم II

بیشترین میزان کارآبی فتوسیستم II 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 (MCC۱۰ و MCC۸۷۳) نیز از میزان کارآبی فتوسیستم II بالاتری نسبت به ژنوتیپ‌های حساس برخوردار بودند (جدول ۱).

کاهش نسبت Fv/Fm که نشان دهنده کاهش کارآبی فتوسیستم II است، به دلیل کاهش انتقال الکترون از فتوسیستم II به فتوسیستم I در شرایط تنفس خشکی می‌باشد (Lu & Zhang, 1998). نتایج حاصل از بررسی‌ها، مؤید این مطلب است که کمپلکس آزادکننده اکسیژن فتوسیستم II و مراکز واکنش فتوسیستم II، تحت تأثیر تنفس خشکی قرار گرفته و تخریب می‌شوند. اثر تخریبی تنفس خشکی بر پروتئین D1 در ساختمان فتوسیستم II قرار دارد نیز گزارش شده است (Zlatev & Yordanov, 2004; Redy et al., 2003). سایر محققان نیز گزارش نمودند که همبستگی معنی‌داری بین میزان فلوروسانس کلروفیل و پتانسیل رشد ریشه و اندام هوایی گیاه، میزان تبادل گازهای تفسی، ضریب ثبات غشاء و پتانسیل آب برگ وجود دارد و درنتیجه، افزایش میزان فلوروسانس کلروفیل و متعاقباً کاهش میزان کارآبی فتوسیستم II در شرایط تنفس، سبب کاهش اسیمیلاسیون دی‌اسیدکربن و همچنین کاهش رشد گیاه می‌گردد (Zlatev & Yordanov, 2004). با توجه به تفاوت آشکار ژنوتیپ‌های متحمل و حساس از نظر میزان کارآبی فتوسیستم II، می‌توان کارآبی فتوسیستم II 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 کارآبی فتوسیستم II به عنوان شاخصی مؤثر در تعیین میزان تحمل به خشکی پیشنهاد شده است (et al., 2011). Rahbarian, Ashraf et al., (2007) نیز در بررسی اثرات تنفس خشکی بر روی ژنوتیپ‌های ذرت به این نتیجه رسیدند که استفاده از نسبت Fv/Fm و ظرفیت فتوسنترزی، معیار

در شرایط تنفس نسبت به واریته حساس برخوردار بود. ایشان فعالیت بیشتر کاتالاز در شرایط تنفس و در واریته متحمل را دلیلی بر توانایی بیشتر این واریته در روبندگی گونه‌های اکسیژن فعل و توانایی آن در تحمل شرایط تنفس ذکر نمودند Hallal & Samir (2008). Koca *et al.*, (2007) گزارش نمودند که افزایش فعالیت کاتالاز، سبب افزایش پتانسیل دفاعی گیاه ذرت در مقابل تنفس خشکی شده و میزان تحمل این گیاه به شرایط تنفس خشکی را بهبود می‌بخشد. کاهش اثرات تخربی تنفس 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 فتوسیستم II و همچنین شاخص‌های بیوشیمیایی پرولین و فعالیت آنزیم کاتالاز، بتوان به گزینش ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی نخود پرداخت. بر اساس شاخص‌های تعیین شده، احتمالاً رقم تجاری جم (MCC۳۶۱) از حساسیت بالایی نسبت به تنفس خشکی برخوردار است، زیرا این رقم در حفظ آب درون برگی در شرایط تنفس خشکی موفقیت چندانی نداشت و لذا میزان پتانسیل آب برگ و مقدار نسبی آب برگ آن در شرایط تنفس خشکی به شدت کاهش یافت. تولید پرولین نیز که به عنوان 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 این که شاخص‌های تحمل تنفس از قبیل میزان پرولین، کارآیی فتوسیستم II، 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 تنفس خشکی قرار دارند، مناسب نیست. البته برای اطمینان بیشتر از نتایج ارزیابی‌های فوق، بررسی عملکرد این رقم در شرایط تنفس خشکی و مقایسه آن با سایر ژنوتیپ‌های متحمل، ضروری به نظر می‌رسد.

رقم تجاری کرج (MCC۳۵۸) در شرایط تنفس خشکی با استفاده از مکانیسم‌های تحمل محلول برگی جهت تنظیم اسمزی سلول‌ها، پرولین و پروتئین محلول برگی که از قبیل افزایش میزان 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 تخربی گونه‌های فعل اکسیژن را به حداقل رسانده و در نتیجه کارآیی فتوسیستم II بالایی در

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

افراش پرولین در شرایط تنفس خشکی، به عنوان یکی از پاسخ‌های دفاعی گیاه به تنفس خشکی مطرح است. تجمع زیاد پرولین در سلول‌های تحت تنفس، سبب محافظت از سلول در شرایط تنفس 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 تنفس خشکی در بقولات نیز گزارش شده است (Ashraf & Iram, 2005). بالاترین 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 تنفس 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 به طور معنی‌داری بیشتر از سایر ژنوتیپ‌های مورد بررسی بود. ژنوتیپ‌های حساس کابلی MCC۵۸۸، MCC۷۵۹ و MCC۴۵ و حساس دسی MCC۳۹ و MCC۷۷۴ نیز کمترین میزان فعالیت کاتالازی را به خود اختصاص دادند. به طور کلی در این بررسی میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در ژنوتیپ‌های متحمل کابلی و دسی به طور معنی‌داری بیشتر از ژنوتیپ‌های حساس بود (جدول ۱). رقم تجاری کرج (MCC۳۵۸) نیز از فعالیت کاتالازی بیشتری نسبت به ژنوتیپ‌های حساس برخوردار بود، در حالی که رقم تجاری جم (MCC۳۶۱) همانند ژنوتیپ‌های حساس به خشکی رفتار نموده و فعالیت کاتالازی پایین‌تری را نسبت به ژنوتیپ‌های متحمل به خود اختصاص داد (جدول ۱).

کاتالاز به عنوان یک آنزیم آنتی‌اکسیدانی عمل کرده و در حذف و روبندگی پراکسیدهیدروژن تولیدشده در پراکسیزوم‌ها و کاهش اثرات تخربی گونه‌های اکسیژن فعل نقش مهمی برعهده دارد (Niknam *et al.*, 2008). در یک آزمایش که اثرات تنفس شوری بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان دو واریته کنجد (*Sesamum indicum*) مورد بررسی قرار گرفت، بررسی‌ها حاکی از افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در هر دو واریته در شرایط تنفس بود، با این تفاوت که واریته متحمل به تنفس، از فعالیت کاتالازی بیشتری

شرایط تنش خشکی می‌باشد. همچنین در ژنتیک‌های مورد بررسی، میزان فعالیت آنزیم کاتالاز نیز همبستگی معنی‌داری با میزان وزن خشک اندام هوایی ( $F=0.39$ ) و سطح برگ ( $F=0.41$ ) داشت (جدول ۲). بنابراین می‌توان گفت که رشد بهتر گیاه در شرایط تنش خشکی مستلزم وجود مکانیسم‌های دفاعی از جمله سیستم دفاعی آتنی اکسیدانی و اسمولیت‌هایی نظیر پرولین جهت به حداقل رساندن اثرات تخریبی ناشی از تنش می‌باشد. وجود همبستگی مثبت و معنی‌دار بین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز و شاخص‌های مورفولوژیکی رشد (وزن خشک اندام هوایی و سطح برگ) مؤید این مطلب می‌باشد.

شرایط تنش خشکی نسبت به ژنتیک‌های حساس مورد بررسی داشت. بنابراین رقم تجاری کرج (MCC358) را می‌توان به عنوان یک رقم متحمل به خشکی معرفی نمود. در یک آزمایش بر روی ژنتیک‌های نخود در شرایط آزمایشگاهی و مزرعه، رقم کرج به عنوان 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 ( $F=0.41$ ) (جدول ۲). وجود این همبستگی مثبت و معنی‌دار، نشان‌دهنده نقش مشترک این دو شاخص در ایجاد و حفظ سازگاری اسمنزی در سلول‌ها در

**جدول ۱- مقایسه میانگین کاتالاز، پتانسیل آب برگ، ضریب پایداری غشاء، مقدار نسبی آب برگ، پروتئین، طول ساقه، وزن خشک اندام هوایی، سطح برگ و کارآبی فتوسیستم II در ژنتیک‌های 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 $\Delta A \text{ min}^{-1} \cdot \text{mg protein}^{-1}$	پتانسیل آب برگ (بار) Leaf water potential (Bar)	ضریب پایداری غشاء (درصد) MSI (%)	مقدار نسبی آب برگ (درصد) RWC	پروتئین برگ (mg.g DW <sup>-1</sup> )	پرولین Protein (μ mol g FW <sup>-1</sup> )	طول ساقه Shoot height (cm)	وزن خشک اندام هوایی Shoot dry weight (g)	سطح برگ Leaf area (m <sup>2</sup> )	کارآبی Fv/Fm فتوسیستم II	ژنتیک 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	0.47ed	MCC101

میانگین‌هایی که در هر ستون حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، مطابق آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری ندارند ( $p \leq 0.05$ ).

Values with the same letter within a column are not significantly different ( $p \leq 0.05$ ).

جدول ۲- ضریب همبستگی صفات مورد بررسی در ژنوتیپ‌های نخود در شرایط تنفس خشکی در مزرعه

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

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

\* و \*\* بهتر ترتیب نشان دهنده وجود همبستگی معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد می باشد.

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

#### منابع

- 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.
- Amini, F., and Ehsanpour, A. 2005. Soluble proteins, proline, carbohydrates and  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  changes in two tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) cultivars under in vitro salt stress. American Journal of Biochemistry and Biotechnology 1: 212-216.
- Ashraf, M., and Harris, P.J.C. 2004. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants, Plant Sci. 166: 3-16.
- 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.
- 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.
- 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.
- Bagheri, A., Nezami, A., Ganjeali, A., and Parsa, M. 1997. The Chickpea. Mashhad Jahad Daneshgahi Publishers (In Persian).
- 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.
- 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.
- 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 Bhattacharai, 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., Csizsar, J., Tari, I., and Erdei, L. 2002. Changes in water and chlorophyll fluorescence parameters under osmotic stress in wheat cultivars. *Acta Biologica Szegediensis* 46: 85-86.
20. Ganjeali, A., and Kafi, M. 2007. Genotypic differences for allometric relationships between root and shoot 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 *Trigonella* 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 potassium 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.

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

**Ganjeali<sup>1\*</sup>, A., Rahbarian<sup>2</sup>, R., Bagheri<sup>3</sup>, A. & Malekzadeh-Shafaroudi<sup>3</sup>, 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](mailto: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](mailto:ganjeali@um.ac.ir), Mobile: 09153057645

## بررسی تأثیر تنش خشکی بر صفات مورفوفیزیولوژیک و فلورسانس کلروفیل (*Phaseolus vulgaris* L.) گیاهچه‌های لوبيا قرمز

معصومه سادات راستی ثانی<sup>\*</sup>، مهرداد لاهوتی<sup>۲</sup> و علی گنجعلی<sup>۳</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه فردوسی مشهد

۲- عضو هیئت علمی (استاد) گروه زیست‌شناسی، دانشگاه فردوسی مشهد

۳- عضو هیئت علمی (دانشیار) گروه زیست‌شناسی دانشگاه علوم و پژوهشکده علوم گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۰۱/۲۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۰/۰۴

### چکیده

خشکی یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده رشد و عملکرد گیاهان در بسیاری از مناطق دنیا است. بهمنظور بررسی اثرات تنش خشکی بر برخی صفات مورفوفیزیولوژیک و فلورسانس گیاهان آزمایشی با دو رقم لوبيا قرمز (*Phaseolus vulgaris* L.) (درخشان و گلی) در چهار تیمار تنش خشکی شامل ۲۵، ۵۰، ۷۵ و شاهد ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی بهصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. نتایج نشان داد که صفات مورفوفیزیولوژیک مورد بررسی از قبیل ارتفاع گیاه، سطح ریشه، مجموع طول ریشه‌ها و نیز وزن خشک اندام هوایی و ریشه در شرایط تنش خشکی بهطور معنی‌داری تحت تأثیر تنش خشکی کاهش یافت ( $p \leq 0.01$ ). همچنین نتایج نشان داد که صفات فیزیولوژیک برسی شده از قبیل محتوای آب نسبی برگ (RWC)، شاخص پایداری غشاء (MSI)، میزان کلارآبی فتوسیستم II (Fv/Fm) و عملکرد کوانتمی فتوسنتز (Y) بهطور معنی‌داری تحت تأثیر تنش خشکی کاهش یافتند ( $p \leq 0.01$ )؛ ولی مقاومت روزنگاری و ساختار کلروفیل (SPAD) در گیاهچه‌های لوبيا بهطور معنی‌داری افزایش یافت ( $p \leq 0.01$ ). میزان افزایش نسبت ریشه به اندام هوایی رقم درخشان در تنش شدید (۲۵ درصد ظرفیت زراعی) نسبت به شاهد بیشتر از گلی بود. مقادیر Fv/Fm، RWC و MSI در تنش شدید نسبت به شاهد در رقم گلی کاهش بیشتری از درخشان نشان داد. نتایج این بررسی نشان داد که رقم درخشان احتمالاً از طریق بکارگیری مکانیسم‌های مختلف تحمل به خشکی نسبت به رقم گلی تا حدی کمتر تحت تأثیر تنش خشکی قرار گرفت. اغلب صفات فیزیولوژیک رقم درخشان، در سطح خشکی ۷۵ درصد ظرفیت زراعی و شاهد تفاوت معنی‌داری نداشتند.

**واژه‌های کلیدی:** تنش خشکی، صفات مورفوفیزیولوژیک و فلورسانس کلروفیل، لوبيا

مخالف دنیا بیش از ۵۰ درصد گزارش شده است & (Zlatev & Yordanov, 2004). کشور ما دارای آب و هوای خشک و نیمه‌خشک است و کمبود آب، یکی از مشکلات اساسی کشاورزی ایران است؛ لذا وقوع تنش خشکی در دوره رشد گیاهان امری اجتناب‌ناپذیر است. واکنش گیاهان مختلف و حتی رقم‌های مختلف نسبت به تنش خشکی متفاوت است (Zabet et al., 2003).

تنش خشکی از طریق کاهش محتوای آب، فشار آماس، پتانسیل کل آب، پژمردگی و بسته‌شدن روزنگرهای بر فرآیندهای رشد و نمو گیاهان مؤثر واقع می‌شود. رشد گیاه وابسته به تقسیم سلولی و بزرگ‌شدن آن است و تمام این حوادث تحت تأثیر تنش خشکی قرار می‌گیرند. در شرایط تنش خشکی، کاهش ارتفاع بوته ممکن است به کاهش بزرگ‌شدن سلول مربوط بوده و کاهش رشد سلول به پایین‌بودن فشار آماس و همچنین پیری برگ مربوط باشد. سیستم ریشه‌ای گسترده که

### مقدمه

جبوهات با داشتن حدود ۲۵ درصد پروتئین، نقش مهمی در تأمین پروتئین مورد نیاز انسان دارند. جبوهات در ایران پس از گندم و برنج، مهم‌ترین محصولات هستند. از آنجا که حدود دو سوم زمین‌های زیرکشت ایران در مناطق نیمه‌خشک و دیم‌خیز قرار دارند، لذا تهیه ارقام با مقاومت بالا به تنش‌های خشکی، یکی از مهم‌ترین اهداف برنامه‌های اصلاحی است. از طرف دیگر، لوبيا (*Phaseolus vulgaris* L.) به عنوان تأمین‌کننده پروتئین گیاهی در کشورهای در حال رشد و نیز در کشورهای پیشرفته به عنوان مکمل غذایی، مصرف زیادی دارد (Ebrahimi et al., 2010; Majnon Hoseini, 1996). تنش خشکی، از عوامل اصلی کاهش محصول در سراسر جهان است و میانگین کاهش محصول ناشی از تنش خشکی در نقاط

\*نویسنده مسئول: تلفن: ۰۵۱-۳۸۶۸۶۳۷۰، همراه: ۰۹۳۵۲۳۸۱۳۰۹

m.rastisani@yahoo.com

فیزیولوژی گیاهی گروه زیست‌شناسی دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۱۳۸۹ اجرا شد. هر واحد آزمایشی از یک گلدان به حجم دو لیتر که با نسبت ۳:۱ به ترتیب از ماسه و خاک زراعی پُر شده بودند، تشکیل شد. درصد رطوبت خاک از طریق اندازه‌گیری روزانه درصد وزنی رطوبت خاک هر گلدان و اضافه‌نمودن آب مصرفی به آن، تنظیم شد. مدت ۱۰ روز پس از کاشت، سطوح مختلف تنش خشکی اعمال شد. حدود چهار‌هفته پس از کاشت، گلدان‌ها تخریب شده و گیاهان به دو بخش ریشه و اندام هوایی تفکیک شدند. تمامی ریشه‌های هر گیاه به‌طور کامل و با حداقل آسیب‌دیدگی، شسته و به‌منظور جلوگیری از پلاسیدگی، بلافصله به یخچال منتقل شدند. صفاتی مانند مجموع طول ریشه‌ها (TRL)<sup>۲</sup>، سطح ریشه (RA)<sup>۳</sup> و وزن خشک ریشه (RDW)<sup>۴</sup>، اندازه‌گیری و محاسبه شدند. اندام‌های هوایی و ریشه‌ها نیز پس از اندازه‌گیری سطح خشک شدن و سپس وزن خشک اندام هوایی و ریشه با ترازوی AND مدل GT-300 با دقیقه ۴۸ در آون ۷۷ درجه سانتی‌گراد ارتفاع بوته با خطکش و سطح برگ با دستگاه اندازه‌گیری سطح برگ تعیین شد. طول و سطح ریشه‌ها نیز برای هر گیاه با یک اسکنر متصل به کامپیوتر، پس از رنگ‌آمیزی، اسکن و با استفاده از نرم‌افزار ROOT EDGE (Root Edge, 1999) تعیین شد.

برای اندازه‌گیری محتوای نسبی آب (RWC)<sup>۵</sup> مقدار توزین شده‌ای از برگ دوم هر گیاه قبل از برداشت گیاهان، به مدت ۴۸ ساعت در آب مقطر غوطه‌ور شد. پس از خروج از آب، سطح برگ‌ها با دستمال کاغذی خشک و سپس وزن شدند. برگ‌ها در آون ۷۰ درجه به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند و وزن خشک آن‌ها نیز اندازه‌گیری شد. محتوای آب نسبی با استفاده از معادله زیر (Bian & Jiang, 2009) محاسبه شد:

$$\text{معادله (۱):} \quad RWC = (FW - DW) / (TW - DW)$$

در این معادله، RWC محتوای آب نسبی، FW وزن تر برگ، DW وزن خشک برگ و TW وزن برگ در حالت تورژسانس کامل است.

برای تعیین شاخص پایداری غشاء سلولی، ۱/۰۰ گرم از برگ دوم هر گیاه داخل دو سری لوله آزمایش حاوی ۰۰۰۰۰۱ میلی‌لیتر آب مقطر گذاشته شدند. یک سری از لوله‌ها در بن‌ماری

<sup>2</sup> Total root length (TRL)

<sup>3</sup> Root area (RA)

<sup>4</sup> Root dry weight (RDW)

<sup>5</sup> Leaf area (LA)

<sup>6</sup> Relative water content (RWC)

توانایی گیاه را برای مصرف آب افزایش می‌دهد، مکانیزم اساسی سازگاری به خشکی است (Jaleel *et al.*, 2008). یکی از اثرات تنش خشکی، کاهش صفاتی مانند طول ساقه، وزن خشک اندام هوایی، سطح برگ و میزان رنگدانه‌های فتوسنتری است (Ahmed *et al.*, 2002). کاهش وزن خشک اندام هوایی در شرایط تنش خشکی در لوبیا نیز گزارش شده است (Ashraf & Iram, 2005).

خشکی اثرات عمیقی بر رشد، محصول و کیفیت گیاه دارد. اولین اثر ناشی از تنش، ازدستدادن آماز است که بر سرعت انبساط سلول و اندازه نهایی سلول اثر می‌گذارد. آماز، فرآیندی بسیار حساس به تنش خشکی است و فقدان آن در اثر تنش، کاهش سرعت رشد، کاهش طویل‌شدن ساقه، کاهش گسترش برگ و کاستی از گشودگی روزنیه را در پی دارد (Kumar & Purohit, 2001). از پیامدهای دیگر تنش خشکی، تغییر میزان فعالیت فتوسیستم II و همچنین تخریب ساختمان پروتئین D<sub>1</sub> موجود در فتوسیستم II در نتیجه افزایش فلورورسانس کلروفیل در شرایط تنش خشکی است (Ahmed *et al.*, 2002). اندازه‌گیری فلورورسانس کلروفیل روشنی سریع، دقیق و غیرمخرب است که به‌طور گستردگی در بررسی آسیب ایجادشده در سیستم فتوسنتر گیاه در واکنش به تنش‌های محیطی استفاده می‌شود (Netto *et al.*, 2005). کارایی فتوسیستم II، به عنوان یک شاخص مهم در ارزیابی میزان تحمل گونه‌های مختلف گیاهی به تنش خشکی مطرح است. نتایج حاصل از بررسی‌ها نشان می‌دهد که عملکرد کوانتومی فتوسنتر (Y) و همچنین سرعت انتقال الکترون در زنجیره انتقال الکترون فتوسنتری، تحت تأثیر تنش خشکی کاهش می‌یابند (Zlatev & Yordanov, 2004).

با توجه به موارد اشاره شده، این تحقیق با هدف بررسی تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی بر صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک ارقام لوبیا و چگونگی واکنش این ارقام به تنش خشکی انجام شد.

## مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی تأثیر تنش خشکی بر خصوصیات مورفولوژیک و فیزیولوژیک ارقام لوبیا قرمز گلی و درخسان، آزمایشی با چهار سطح رطوبتی شامل، شاهد ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی<sup>۱</sup>، ۵۰ درصد، ۲۵ درصد و ۷۵ درصد ظرفیت زراعی با دو رقم لوبیا قرمز مذکور انجام شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه

<sup>1</sup> Field capacity (FC)

تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرمافزار آماری Mstat-C انجام شد و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چنددامنه‌ای دانکن ( $p \leq 0.01$ ) استفاده شد. نمودارهای مربوطه به وسیله نرمافزار Excel رسم گردیدند.

### نتایج و بحث ارتفاع گیاه

در این آزمایش ارتفاع گیاه لوبیا به طور معنی‌داری ( $p \leq 0.01$ ) تحت تأثیر تنش خشکی قرار گرفت (جدول ۱). با افزایش تنش خشکی ارتفاع گیاه در هر دو رقم نسبت به شاهد کاهش یافت (شکل ۱a). بیشترین ارتفاع گیاه در رقم ۵/۲ و ۲۵/۸ درخشنان مربوط به تیمار شاهد به ترتیب  $48/4$  و  $25/8$  سانتی‌متر و کمترین ارتفاع در هر دو رقم مربوط به تیمار ۲۵ درصد ظرفیت زراعی بود. میزان کاهش ارتفاع گیاه در رقم درخشنان در تیمار ۲۵ درصد ظرفیت زراعی نسبت به شاهد  $16/3$  و در رقم ۵/۲ سانتی‌متر بود. تنش خشکی یک فاکتور محدودکننده و مهم در فاز ابتدایی رشد و استقرار گیاه است. فرایند رشد نمو شامل تقسیم سلول، طویل شدن سلول‌ها و تمایز است و این مراحل به علت وابستگی آن‌ها به فشار آماز به کمبود آب بسیار حساس هستند (Sikuku *et al.*, 2010). در گیاه سویا طول ساقه در شرایط تنش خشکی کاهش یافت (Jaleel *et al.*, 2009). در تحقیقی بر روی ماش، بیشترین آسیب ناشی از تنش خشکی را مربوط به ارتفاع گیاه و کمترین آسیب را به عملکرد اقتصادی و تعداد دانه در غلاف اعلام کردند. آنها نیز علت کاهش ارتفاع گیاه و تعداد گره در ساقه تحت تنش خشکی را کاهش تقسیم سلولی و کاهش رشد رویشی گیاه و در نهایت کاهش عملکرد بیولوژیکی گیاه در طی تنش اعلام کردند (Zabet *et al.*, 2003).

۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه و سری دیگر لوله‌ها در بن‌ماری ۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفتند. پس از رسیدن دمای لوله‌ها به دمای محیط، هدایت الکتریکی نمونه‌ها با دستگاه EC متر اندازه‌گیری شد و سپس شاخص پایداری غشاء از معادله زیر به دست آمد (Shanahan *et al.*, 1990) معادله (۲):

$$MSI = [1 - (C_1/C_2)] \cdot 100$$

در این معادله  $C_1$  هدایت الکتریکی آب در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد و  $C_2$  هدایت الکتریکی آب در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد است.

برای اندازه‌گیری میزان فلوئورسانس کلروفیل و میزان کارایی فتوسیستم II، ابتدا سطح برگ‌های جوان توسعه یافته قبل از مرحله برداشت گیاهان با قرار گرفتن گیره بر روی آن‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در شرایط تاریکی قرار گرفتند و سپس عملکرد فتوسیستم II، سرعت انتقال الکترون و عملکرد OS5-FI مدل Fv اندازه‌گیری شد. برای سنجش عملکرد فتوسیستم II، نسبت (Fv/[Fm-Fo]) (Fm-Fo) عملکرد Fv (حداکثر فلوئورسانس با حداقل فلوئورسانس) به Fm (حداکثر فلوئورسانس) اندازه‌گیری شد. عملکرد فلوئورسانس در غیاب نور فتوسنتزی است که همان حداقل فلوئورسانس است (Maxwell & Johnson, 2000).

مقاآمت روزنای توسط دستگاه POROMETER AP4 و شاخص کلروفیل برگ توسط دستگاه کلروفیل‌متر (SPAD) مدل OPTI-SCIENCES CCM-200 اندازه‌گیری شد. در سومین برگ گیاه اندازه‌گیری شد.

جدول ۱- منابع تغییر، درجات آزادی و میانگین مربعات برای برخی صفات مورفولوژیک گیاهچه‌های لوبیا قرمز

Table 1. Source of variances, degree of freedom and mean of squares for some morphological characteristics of Red bean seedlings

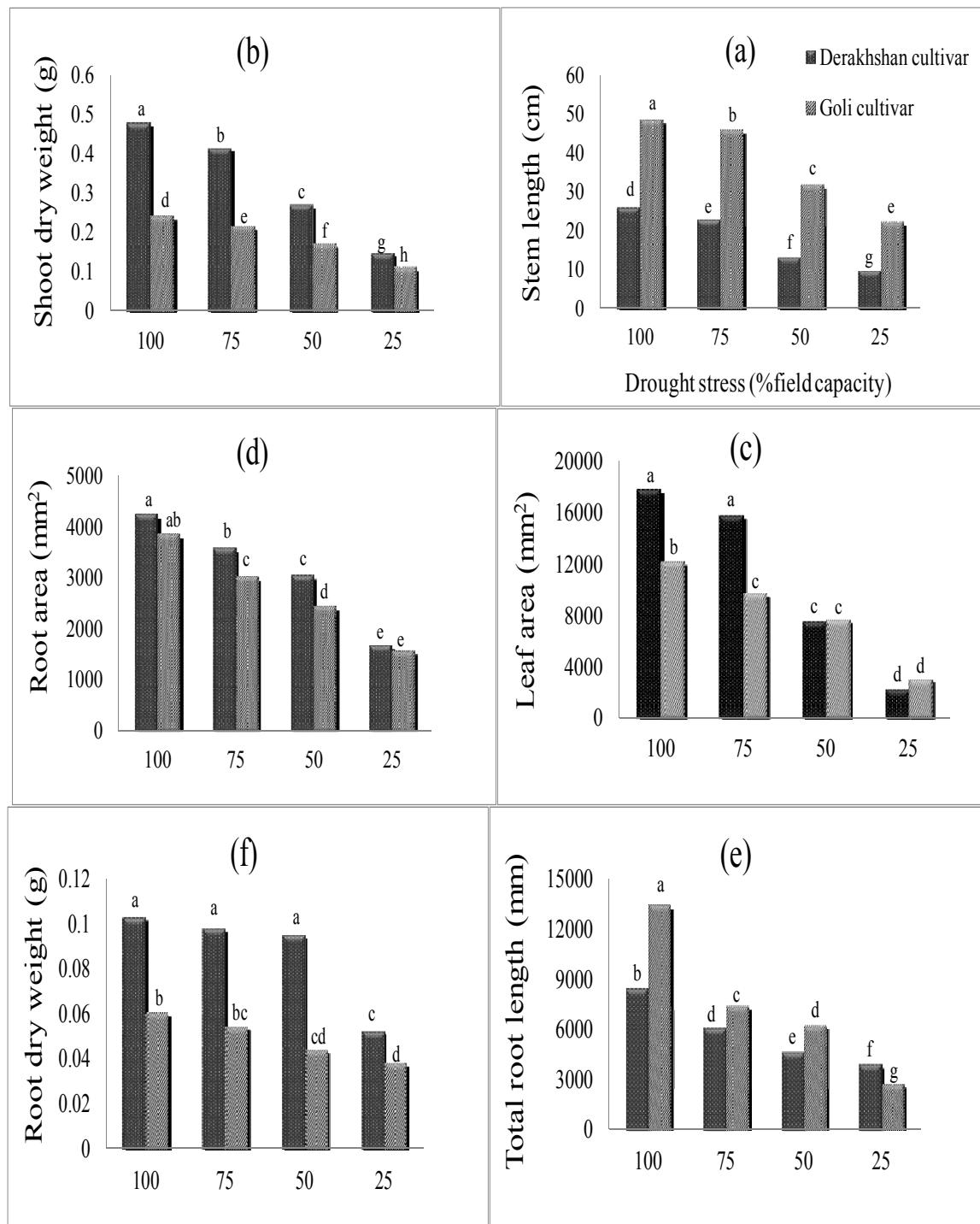
منابع تغییر S.O.V.	درجه آزادی df	ارتفاع گیاه Stem length	وزن خشک اندام Shoot dry weight	سطح برگ Leaf area	سطح ریشه Root area	مجموع طول ریشه Total root length	وزن خشک ریشه Root dry weight	وزن خشک ریشه به ساقه Root/Shoot	نسبت
خشکی Drought	3	**	**	**	**	**	**	**	**
رقم Cultivar	1	**	**	**	**	**	**	**	**
خشکی×رقم Drought×Cultivar	3	ns	**	**	**	**	**	**	**

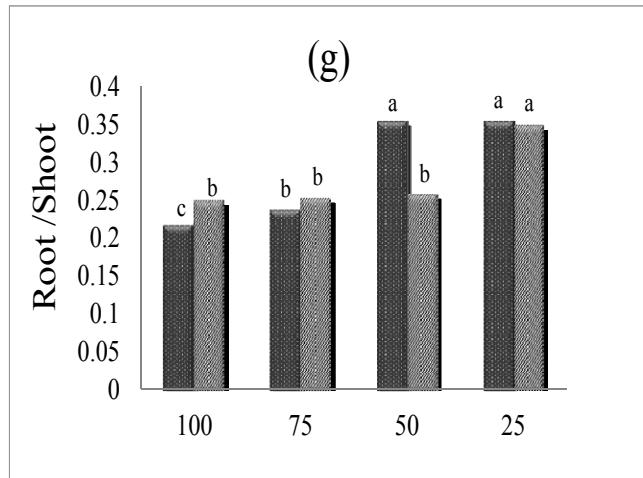
ns و \*\*: به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح ۱ درصد ns and \*\*: non-significant & significant at 0.01, respectively

اندام هوایی به تیمار شاهد و رقم درخشان و کمترین وزن خشک به تیمار ۲۵ درصد ظرفیت زراعی و رقم گلی اختصاص داشت.

### وزن خشک اندام هوایی

با افزایش تنش خشکی وزن خشک اندام هوایی گیاهچه‌های لوبیا به طور معنی داری کاهش یافت (جدول ۱) و در این ارتباط تفاوت‌های معنی داری بین سطوح مختلف تیماری مشاهده شد (شکل ۱b). بیشترین میزان وزن خشک





شکل ۱- اثرات تنش خشکی بر برخی صفات مورفولوژیک ارقام لوبيا قرمز؛ a: ارتفاع گیاه، b: وزن خشک اندام هوایی، c: سطح برگ، d: سطح ریشه ( $p \leq 0.05$ )، e: مجموع طول ریشه‌ها، f: وزن خشک ریشه، g: نسبت وزن ریشه به ساقه حروف مشترک، نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن ( $p \leq 0.01$ ) می‌باشد.

**Fig. 1. Effects of drought stress on some morphological characteristics of Red bean cultivars.** a: Stem length; b: Shoot dry weight; c: Leaf area; d: Root area ( $p \leq 0.05$ ); e: Total root length; f: Root dry weight; g: Root/Shoot Common letters indicate no significant difference among the means based on Duncan test ( $p \leq 0.01$ ).

#### سطح برگ

سطح برگ در هر دو رقم در اثر تنش خشکی به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. بین ارقام لوبيا در سطح رطوبتی شاهد ۷۵ درصد ظرفیت زراعی تفاوت معنی‌داری از نظر سطح برگ وجود داشت، ولی در سطح رطوبتی ۵۰ و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی، این اختلاف، معنی‌دار نبود (شکل ۱c). میزان کاهش سطح برگ با افزایش تیمار خشکی، در رقم درخشان محسوس‌تر بود و بیشترین و کمترین میزان سطح برگ به ترتیب به تیمار شاهد و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی و رقم درخشان اختصاص داشت. کاهش سطح برگ در رقم درخشان در تیمار ۲۵ درصد ظرفیت زراعی نسبت به شاهد حدود ۷۷ درصد و در رقم ۵۰ در تیمار ۲۵ درصد ظرفیت زراعی نسبت به شاهد حدود ۷۷ درصد بود. مهار رشد برگ در اثر تنش خشکی می‌تواند به عنوان یک پاسخ سازشی در نظر گرفته شود. بنابراین تنش خشکی، تولید سطح برگ و در نهایت میزان تعرق گیاهان را محدود می‌کند (Sikuku *et al.*, 2010). تنش خشکی عمدتاً رشد برگ و بهنوبه خود، سطح برگ را در بسیاری از گونه‌های گیاهی کاهش می‌دهد (Farooq *et al.*, 2009). در مطالعه روی گیاه عدس مشخص شد که با کمبود آب، سطح برگ به شدت کاهش یافت. تولید و توسعه برگ به کمبود آب بسیار حساس می‌باشد و علت آن، نیاز مبرم فرآیندهای تقسیم سلولی و رشد به فشار تورژسانس سلولی است که آب، نیروی محرکه آن است (Pagter *et al.*, 2005).

کاهش وزن خشک اندام هوایی در تیمار ۲۵ درصد ظرفیت زراعی نسبت به شاهد، حدود ۶۹ و ۵۵ درصد به ترتیب برای ارقام درخشان و گلی مشاهده شد. احتمالاً کاهش فتوسنتز، افزایش مواد بازدارنده رشد و کاهش هورمون‌ها (اکسین و سیتوکینین) در تنش خشکی از جمله عواملی است که رشد و وزن خشک اندام هوایی را کاهش می‌دهد (Hayat & Ahmad, 2007).

کاهش وزن ماده خشک به‌دلیل کاهش رشد گیاه و پیری و ریش برگ‌ها می‌باشد (Bhatt & Srinivasa Rao, 2005). کاهش وزن خشک اندام هوایی در شرایط تنش خشکی در لوبيا نیز گزارش شده است (Ashraf & Iram, 2005). در تحقیقی روی برنج، وزن خشک ساقه، برگ و ریشه با افزایش کمبود آب، کاهش یافت. کاهش وزن خشک ساقه می‌تواند با نرخ کاهش تولید برگ و کاهش تعداد برگ‌ها همراه باشد (Sikuku *et al.*, 2010). خسارت رایج تنش خشکی بر گیاهان زراعی، کاهش تولید بیوماس تر و خشک است هوایی گیاهان نخود تحت تنش خشکی به صورت معنی‌داری کاهش یافت. بیشتر بودن وزن خشک اندام هوایی در ژنوتیپ‌های مقاوم به خشکی ممکن است به رشد بیشتر ریشه‌ها مربوط باشد. توسعه بیشتر ریشه‌ها در شرایط تنش خشکی به جذب بیشتر آب و مواد غذایی و افزایش رشد در شرایط تنش کمک می‌کند (Rahbarian *et al.*, 2011).

## سطح ریشه

ریشه روی رشد گیاه تأثیر منفی داشته است. احتمالاً این موضوع به سطح تماس کم ریشه برای جذب آب و نمک‌های معدنی مربوط می‌شود (Sikuku *et al.*, 2010). طی تنش خشکی تعداد روزنه‌ها کاهش می‌یابد. احتمالاً این امر منجر به سنتز ماده خشک بخش هوایی و انتقال آن به ریشه شده و متعاقب آن وزن خشک گیاه کاهش می‌یابد & (Yadav & Bhushan, 2001). گیاهانی که طول ریشه اصلی و تعداد ریشه‌های جانبی بالاتری دارند، نسبت به گیاهانی که این خصوصیات را کمتر دارند، مقاومت و تحمل بیشتری به تنش خشکی دارند (Singh *et al.*, 2000). تنظیم اسمرزی و مجموع طول ریشه‌ها به میزان رطوبت خاک وابسته است. این صفات مهم‌ترین عوامل در خصوص حفظ آماس و رشد گیاه تحت شرایط خشکی در طی مرحله گیاهچه‌ای است. اعتقاد بر این است که استفاده از آب در دسترس توسط سیستم‌های ریشه‌ای یا تنظیم اسمرزی در شرایط کمبود آب می‌تواند رشد گیاه یا آماس سلول را برای بقا حفظ کند (Kusaka *et al.*, 2005).

حقوقان در مطالعه ژنتیک‌های باقلاً مقادیر متفاوتی را برای طول ریشه و گستردگی آن هنگام قرارگرفتن در شرایط متفاوت رطوبتی خاک ثبت کردند. این حقوقان اظهار داشتند که طول مجموع ریشه‌ها می‌تواند به عنوان یک معیار مهم در گزینش ارقام مقاوم به خشکی مورد استفاده قرار گیرد. تفاوت‌های ژنتیکی ویژگی‌های ریشه و اندام‌های هوایی، اغلب در مراحل اولیه رشد آشکار می‌شود و این حقیقت را می‌توان به عنوان یک روش مناسب و آسان در گزینش ارقام یا ژنتیک‌ها مورد استفاده قرار داد (Elshazly & Warboys, 1989).

### نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی

با افزایش سطح خشکی، نسبت وزن خشک ریشه به وزن خشک اندام هوایی در هر دو رقم افزایش یافت (شکل ۱g). در رقم درخشنan بین سطوح ۵۰ و ۲۵۰ درصد ظرفیت زراعی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. در رقم گلی نیز بین تیمارهای ۷۵ و ۲۵۰ درصد ظرفیت زراعی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. در تیمارهای ۷۵ و ۲۵۰ درصد ظرفیت زراعی تفاوت معنی‌داری بین دو رقم در نسبت ریشه به اندام هوایی مشاهده نشد. تیمار ۲۵۰ درصد ظرفیت زراعی رقم گلی و تیمارهای ۵۰ و ۲۵۰ درصد ظرفیت زراعی رقم درخشنan دارای نسبت ریشه به اندام هوایی بیشتری بود. تغییرات نسبت ریشه به اندام هوایی در تیمار ۲۵۰ درصد ظرفیت زراعی نسبت به شاهد در رقم درخشنan نسبت به گلی بیشتر بود.

سطح ریشه به طور معنی‌داری تحت تأثیر تنش خشکی قرار گرفت، به طوری که با افزایش تیمار خشکی، سطح ریشه در ارقام لوبيا کاهش نشان داد (جدول ۱). از نظر سطح ریشه بین ارقام در سطح رطوبتی ۷۵ و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی، تفاوت معنی‌داری وجود داشت (شکل ۱d). در تمام تیمارها میزان سطح ریشه در رقم درخشنan بیشتر از گلی بود، ولی میزان آن تنها در تیمارهای ۷۵ و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی معنی‌دار بود. میزان کاهش سطح ریشه در هر دو رقم در سطح رطوبتی ۲۵ درصد نسبت به شاهد حدود ۶۰ درصد بود.

### مجموع طول ریشه‌ها

نتایج، حاکی از تأثیر معنی‌دار تنش خشکی بر مجموع طول ریشه بود ( $p < 0.01$ ). با افزایش سطح خشکی، مجموع طول ریشه در دو رقم به طور کاملاً مشخصی کاهش یافت. میزان کاهش مجموع طول ریشه با افزایش خشکی، در رقم گلی محسوس‌تر بود (شکل ۱e) و بیشترین مجموع طول ریشه به رقم گلی در تیمار شاهد و کمترین آن نیز به تیمار ۲۵۰ درصد ظرفیت زراعی به همین رقم تعلق داشت. تغییرات مجموع طول ریشه در سطح ۲۵۰ درصد خشکی نسبت به شاهد، حدود ۵۴ و ۸۰ درصد به ترتیب برای ارقام درخشنan و گلی مشاهده شد.

### وزن خشک ریشه

با افزایش تنش خشکی وزن خشک ریشه لوبيا کاهش یافت. نتایج نشان داد که تغییرات وزن خشک ریشه در رقم درخشنan در تیمارهای ۷۵ و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی نسبت به شاهد معنی‌دار نبود و تنها در سطح خشکی ۲۵۰ درصد ظرفیت زراعی کاهش معنی‌داری نسبت به شاهد مشاهده شد. در رقم گلی، کاهش وزن خشک ریشه در تمام تیمارها (به جز ۷۵ درصد ظرفیت زراعی) نسبت به شاهد معنی‌دار بود. وزن خشک ریشه در رقم گلی در سطوح تیماری ۲۵ و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی تفاوت معنی‌داری نداشتند. در این آزمایش وزن خشک ریشه در رقم درخشنan در تمام سطوح خشکی بیشتر از رقم گلی بود (شکل ۱f).

حقوقان در بررسی اثرات کمبود آب بر مورفولوژی و فیزیولوژی سه واریته برنج تحت شرایط دیم دریافتند که ارتفاع، بیومس گیاه و اندازه ریشه با کاهش آب خاک کاهش یافتند. آنها مشاهده کردند که با افزایش کمبود آب وزن خشک ریشه و طول ریشه کاهش یافت و گیاهان شاهد، طول ریشه بیشتری نسبت به گیاهان تحت تیمارهای خشکی داشتند. مهار رشد ریشه ممکن است به کاهش توسعه پذیری بافت نوک ریشه به علت سخت‌شدن دیوارهای سلولی مربوط باشد. کاهش رشد

داشت. در یک آزمایش در گیاه برنج، تنش خشکی باعث کاهش میزان نسبی آب برگ شد. مقدار نسبی آب برگ به طور مستقیم با آماز یاخته و پتانسیل آبی گیاه ارتباط دارد. از طرف دیگر تورم، در ارتباط با توسعه و تقسیم سلولی است و بدین ترتیب ارتباطی بین میزان نسبی آب برگ و عملکرد بیولوژیک وجود دارد (Yadav & Bhushan, 2001). در یک آزمایش با افزایش تنش خشکی در گندم، RWC کاهش یافت. در بررسی‌های انجام‌شده مشخص شده است که معمولاً، ولی نه همیشه، ارقام مقاوم به خشکی از RWC بالاتری در شرایط تنش خشکی برخوردار هستند (Schonfeld *et al.*, 1988). محققان بیان کردند که کمبود آب به طور آشکاری محتوای نسبی آب را در برگ‌های لوبيا کاهش می‌دهد (Turkan *et al.*, 2005). در مطالعه اثر تنش کمبود آب بر گیاه عدس، کاهش محتوای نسبی آب برگ به دنبال کمبود آب تأیید شد (Salehpour *et al.*, 2009).

#### شاخص پایداری غشاء

با افزایش تنش خشکی میزان شاخص پایداری غشاء در ارقام لوبيا کاهش یافت. میزان کاهش MSI در طی تنش خشکی در رقم ۵۰ لوبيا در تمام تیمارها نسبت به شاهد معنی دار بود، ولی در رقم درخشان فقط در تیمارهای ۵۰ و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی نسبت به شاهد معنی دار بود (شکل ۲a). همچنین تفاوت معنی داری در میزان شاخص پایداری غشاء در تیمارهای ۷۵ و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی بین دو رقم وجود داشت و رقم درخشان نسبت به ۵۰ از سطح شاخص پایداری غشاء بالاتری برخوردار بود.

از آنجایی که نسبت بالاتر ریشه به اندامهای هوایی (اندامهای جذب‌کننده آب نسبت به اندامهای مصرف‌کننده) توان گیاه را برای افزایش تحمل به خشکی بهبود می‌بخشد، لذا اغلب متخصصان فیزیولوژی این نسبت را به عنوان یک معیار برای گزینش ژنتیک‌های مقاوم به خشکی معرفی کرده‌اند. در یک آزمایش، تنش خشکی، نسبت ریشه به اندام هوایی را در ژنتیک‌های نخد افزایش داد (Ganjeali & Bagheri, 2011). در آزمایش دیگری نسبت ریشه به اندام هوایی در سه رقم برنج با افزایش تنش خشکی افزایش یافت، در این آزمایش، افزایشی در نسبت ریشه به ساقه در طول دوره تنش خشکی مشاهده شد. حساسیت متفاوت ریشه‌ها و ساقه‌ها به کمبود آب منجر به تغییر در نسبت ریشه به اندام هوایی در شرایط خشکی می‌شود. کاهش در رشد ساقه همراه با ادامه رشد ریشه منجر به بهبود در وضعیت آب گیاه تحت شرایط کمبود شدید آب می‌شود (Sikuku *et al.*, 2010).

#### محتوای نسبی آب

در این آزمایش، محتوای نسبی آب برگ لوبيا به طور معنی‌داری تحت تأثیر تنش خشکی قرار گرفت (جدول ۲). با افزایش سطح خشکی محتوای نسبی آب برگ گیاه‌چههای لوبيا کاهش یافت (شکل ۲a). محتوای نسبی آب در رقم ۵۰ در تمام تیمارهای خشکی به طور معنی‌داری نسبت به شاهد کاهش یافت، در حالی‌که در رقم درخشان، کاهش محتوای نسبی آب فقط در تیمار ۷۵ درصد ظرفیت زراعی نسبت به شاهد معنی‌دار نبود. در تمام تیمارها رقم ۵۰ از نظر محتوای نسبی آب از سطح بالاتری برخوردار بود، ولی فقط تیمارهای ۱۰۰ و ۷۵ درصد ظرفیت زراعی بین دو رقم تفاوت معنی‌داری

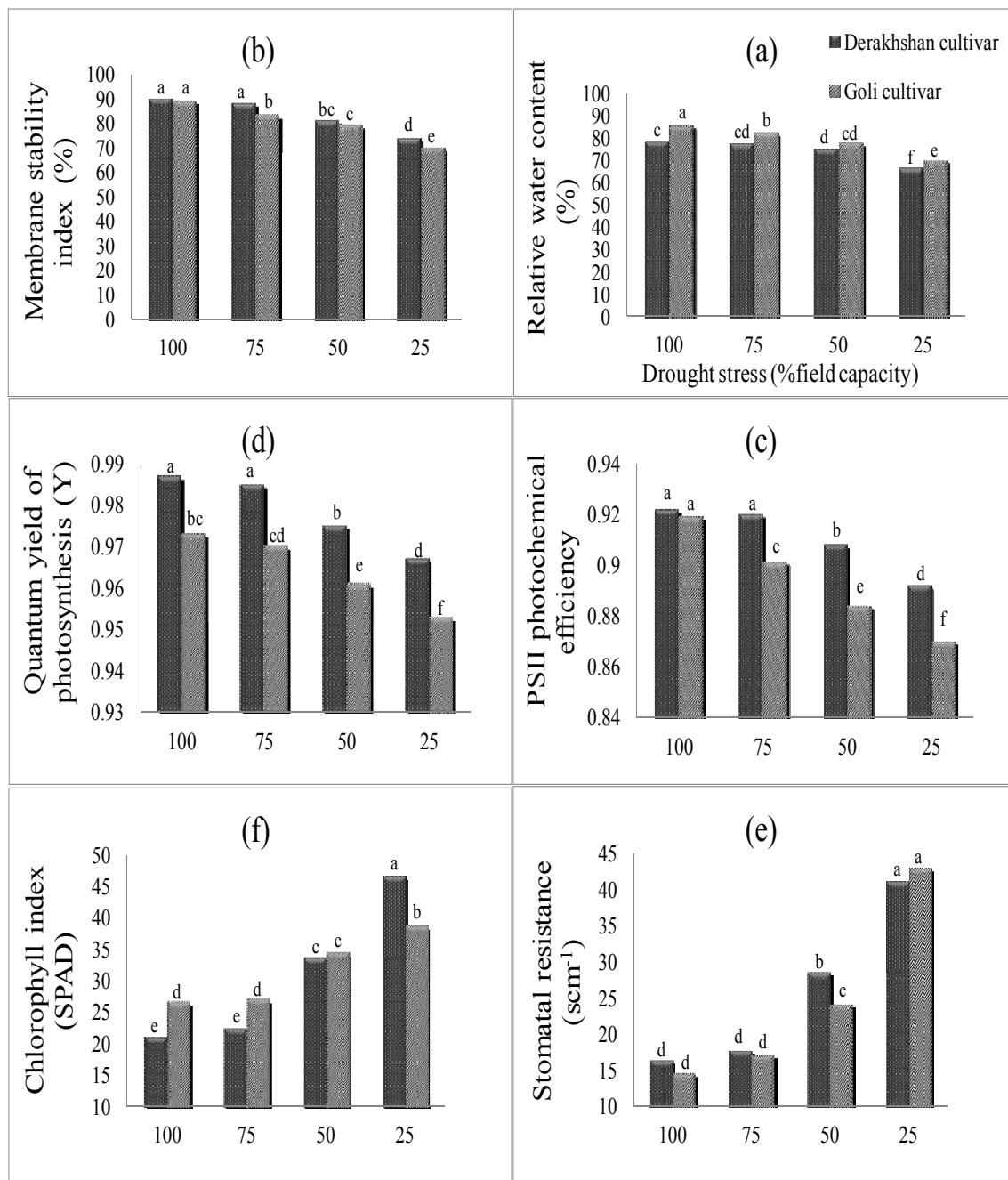
جدول ۲- منابع تغییر، درجات آزادی و میانگین مربعات برای برخی صفات فیزیولوژیک گیاه‌چههای لوبيا قرمز

Table 2. Source of variances, degree of freedom and mean of squares for some physiological characteristics of Red bean seedlings

منابع تغییر S.O.V.	درجه آزادی df	محتوای نسبی آب Relative water content	شاخص پایداری غشاء Membrane stability index	مقاآمت روزنه Stomatal resistance	شاخص کلروفیل Chlorophyll index (SPAD)	کارآیی فتوسیستم II Photochemical efficiency	عملکرد کوانتومی فتوسنتز Quantum yield of photosynthesis
خشکی Drought	3	**	**	**	**	**	**
رقم Cultivar	1	**	**	*	ns	**	**
خشکی×رقم Drought×Cultivar	3	ns	ns	**	**	ns	ns

ns, \*, \*\*: به ترتیب غیرمعنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد

ns, \*, \*\*: non-significant & significant at 0.05 & 0.01, respectively



شکل ۲- اثر تنش خشکی بر برخی صفات فیزیولوژیک ارقام لویاقدرم؛ a: محتوای نسبی آب ( $p \leq 0.05$ ); b: شاخص پایداری غشاء ( $p \leq 0.05$ ); c: کارآبی فتوسیستم II؛ d: عملکرد کوانتومی فتوسنترز ( $p \leq 0.05$ ); e: مقاومت روزنه؛ f: شاخص کلروفیل حروف مشترک، نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن ( $p \leq 0.01$ ) می‌باشد.

**Fig. 2. Effects of drought stress on some physiological characteristics of Red bean cultivars.**

**a: Relative water content ( $p \leq 0.05$ ); b: Membrane stability index ( $p \leq 0.05$ ); c: PSII photochemical efficiency; d: Quantum yield of photosynthesis ( $p \leq 0.05$ ); e: Stomatal resistance; f: Chlorophyll index**

Common letters indicate no significant difference among the means based on Duncan test ( $p \leq 0.01$ ).

می‌یابد. علت این امر هنوز کاملاً مشخص نیست، ولی ممکن است کاهش آسیمیلاسیون  $\text{CO}_2$  در اثر بسته شدن روزنه‌ها در شرایط تنش خشکی منجر به مصرف نشدن محصولات حاصل از زنجیره انتقال الکترون (NADPH) شده و از این طریق میزان فرودوکسین احیاء افزایش یافته و به‌دلیل افزایش فرودوکسین احیاء شده، تولید رادیکال‌های فعال افزایش یافته و از این طریق، تغییر و یا تخریب پروتئین‌های غشاء تیلاکوئید صورت گیرد. بنابراین تخریب پروتئین‌های غشاء تیلاکوئید مانع انتقال الکترون از جایگاه پذیرنده فتوسیستم II می‌گردد و این امر موجب کاهش سرعت انتقال الکترون، افزایش فلورورسانس کلروفیل و کاهش عملکرد فتوسیستم II می‌شود (Piper *et al.*, 2007; Tilahun & Sven, 2003).

تغییر میزان فعالیت فتوسیستم II و همچنین تخریب ساختمان پروتئین D موجود در فتوسیستم II در نتیجه افزایش فلورورسانس کلروفیل در شرایط تنش خشکی است (Ahmed *et al.*, 2002). نتایج حاصل از بررسی‌ها مؤید این است که کمپلکس آزادکننده اکسیژن فتوسیستم II و مراکز واکنش فتوسیستم II تحت تأثیر تنش خشکی تخریب می‌شوند. اثر تخریبی تنش خشکی بر پروتئین D در ساختمان فتوسیستم II قرار دارد نیز گزارش شده است (Lu & Zhang, 1998; Zlatev & Yordanov, 2004). کاهش سرعت انتقال الکترون و عملکرد کوانتمومی فتوسنتز گیاه در شرایط تنش خشکی ممکن است به‌دلیل تخریب سیکل کالوین، به تأخیرافتادن احیاء کوئینون‌ها و همچنین تخریب زنجیره انتقال الکترون غشاء تیلاکوئید Fv/Fm باشد (Tilahun & Sven, 2003). کاهش نسبت Fv/Fm در شرایط تنش خشکی می‌تواند نشان‌دهنده این موضوع باشد که انتقال الکترون از فتوسیستم II به فتوسیستم I تحت تأثیر تنش خشکی قرار گرفته و کاهش می‌یابد (Lu & Zhang, 1998). در یک آزمایش، تنش خشکی نسبت Fv/Fm ژنوتیپ‌های نخود را به صورت معنی‌داری کاهش داد. در این آزمایش، ژنوتیپ‌های نخود حساس به خشکی، Fv/Fm، کمتری نسبت به ژنوتیپ‌های مقاوم به خشکی در مراحل گیاهچه‌ای و غلاف‌دهی داشتند (Rahbarian *et al.*, 2011). کارایی فتوسیستم II، به عنوان یک شاخص مهم در ارزیابی میزان تحمل گونه‌های مختلف گیاهی به تنش خشکی مطرح است. نتایج حاصل از بررسی‌ها مؤید این است که عملکرد کوانتمومی فتوسنتز (Y) تحت تأثیر تنش خشکی کاهش می‌یابد (Zlatev & Yordanov, 2004).

میزان کاهش MSI در گیاهچه‌های ارقام لوبيا در تیمار ۲۵ درصد ظرفیت زراعی محسوس بود. در تمام تیمارها میزان شاخص پایداری غشاء در رقم درخشان از سطح بالاتری نسبت به رقم گلی برخوردار بود. درجه آسیب به غشاء سلول ناشی از تنش خشکی یا تنش گرما به راحتی ممکن است از طریق اندازه‌گیری نشت الکتروولیت‌ها از سلول‌ها برآورد شود (Ghobadi *et al.*, 2011). تنش خشکی از طریق افزایش تولید مواد تخریب‌کننده غشاء از جمله پراکسید هیدروژن، سبب تخریب غشاء سلولی شده و در نتیجه، ضربی پایداری غشاء در شرایط تنش خشکی کاهش می‌یابد. افزایش پراکسیداسیون چربی و به‌دلیل آن کاهش شاخص پایداری غشاء سلول در گیاهان گندم (Turkan *et al.*, 2000) و لوبيا (Sairam & Saxena, 2000) ۲۰۰۵ و عدس (Salehpour *et al.*, 2009) نیز گزارش شده است.

کارایی فتوسیستم II و عملکرد کوانتمومی فتوسنتز با افزایش تنش خشکی کارایی فتوسیستم II در ارقام لوبيا به طور معنی‌داری ( $p \leq 0.01$ ) کاهش یافت (جدول ۲). همچنین رقم و اثر متقابل خشکی و رقم تأثیر معنی‌داری بر کارایی فتوسیستم II داشتند. در رقم گلی فتوسیستم II بین سطوح مختلف رطوبتی از نظر کارایی فتوسیستم II وجود داشت، در حالی که در رقم درخشان میزان کارایی فتوسیستم II تنها در تیمارهای ۵۰ و ۵۵ درصد ظرفیت زراعی نسبت به شاهد معنی‌دار بود (شکل ۲۰). در تمام ترکیبات تیماری مقدار Fv/Fm در رقم درخشان بیشتر از رقم گلی بود. میزان کاهش نسبت Fv/Fm در تیمار ۲۵ درصد ظرفیت زراعی نسبت به شاهد در رقم گلی عملکرد کوانتمومی فتوسنتز (Y) ارقام لوبيا کاهش نشان یافت. کاهش عملکرد کوانتمومی فتوسنتز در هر دو رقم لوبيا قمز در تیمارهای ۵۰ و ۵۵ درصد ظرفیت زراعی نسبت به شاهد معنی‌دار بود و کاهش Y در سطح خشکی ۷۵ درصد ظرفیت زراعی نسبت به شاهد معنی‌دار نبود. تفاوت معنی‌داری از نظر عملکرد کوانتمومی فتوسنتز بین ارقام لوبيا در سطوح مختلف رطوبتی وجود داشت و در سطوح مختلف تیماری عملکرد کوانتمومی فتوسنتز در رقم درخشان از میزان بیشتری برخوردار بود (شکل ۲d).

در شرایط تنش خشکی تجمع  $Q_B$  غیراحیاء افزایش می‌یابد که این امر نشان‌دهنده عدم انتقال الکترون از  $Q_A^-$  احیاء به  $Q_B$  است. در چنین شرایطی تجمع  $Q_A^-$  نیز افزایش

زراعی) بین دو رقم معنی‌دار بود (شکل ۲f). دامنه تغییر عدد SPAD لوبيا در رقم درخشان در تیمار ۲۵ درصد ظرفیت زراعی نسبت به شاهد  $25/4$  و در رقم گلی  $11/9$  بود. بیشترین و کمترین میزان شاخص کلروفیل به ترتیب به تیمار ۲۵ درصد ظرفیت زراعی و تیمار شاهد و به رقم درخشان اختصاص داشت. کلروفیل متر ابزار تشخیصی ساده و قابل حمل است که سبزی یا غلظت کلروفیل نسبی برگ را اندازه‌گیری می‌کند. در مقایسه با روش‌های سنتی مخبر، استفاده از این تجهیزات موجب صرفه‌جویی در زمان، فضا و منابع است (Netto *et al.*, 2005). افزایش عدد SPAD در شرایط تنش نیز احتمالاً به علت کاهش سطح برگ و تجمع کلروفیل در سطح کمتر برگ‌ها می‌باشد. در واقع، گیاه با کمترکردن سطح برگ در شرایط تنش، سطح تعرق کننده را جهت جلوگیری از اتلاف آب کم کرده و در نتیجه با کاهش سطح برگ، میزان کلروفیل در واحد سطح برگ افزایش می‌یابد (Salehi *et al.*, 2003).

با افزایش تنش خشکی میزان کلروفیل برگ کاهش می‌یابد، ولی نسبت کلروفیل a/b افزایش می‌یابد. قابل ذکر است که برخی محققان افزایش نسبت کلروفیل a/b را موجب تیره شدن برگ‌ها و افزایش عدد کلروفیل متر می‌دانند (Antolin *et al.*, 1995; Salehi *et al.*, 2003) افزایش عدد SPAD در شرایط تنش نیز احتمالاً به علت کاهش سطح برگ و تجمع کلروفیل در سطح کمتر برگ‌ها می‌باشد.

### نتیجه‌گیری

به نظر می‌رسد که گیاهان مقاوم، با کاهش سطح اندام هوایی و افزایش نسبت ریشه به کل گیاه، شرایط خشکی را بهتر تحمل می‌کنند. وقتی آب مورد نیاز گیاه در خاک کاهش یابد، نسبت وزن ریشه به ساقه افزایش می‌یابد، زیرا ریشه در مقایسه با ساقه حساسیت کمتری نسبت به کاهش پتانسیل آب دارد. از طرفی افزایش رشد بخش ریشه‌ای در شرایط تنش خشکی به عنوان یک پاسخ دفاعی جهت جذب بیشتر آب و کاهش اثرات تنش خشکی محسوب می‌شود. این تحقیق نشان داد که ارتفاع گیاه، سطح برگ، سطح ریشه، مجموع طول ریشه‌ها و نیز وزن خشک اندام هوایی و ریشه در شرایط تنش خشکی در هر دو رقم لوبيا-قرمز کاهش یافت. میزان کاهش ارتفاع گیاه لوبيا، سطح برگ و وزن خشک اندام هوایی در لوبيا-قرمز رقم درخشان در تنش خشک شدید (تیمار ۲۵ درصد ظرفیت زراعی) نسبت به شاهد بیشتر از رقم گلی بود. در تمام تیمارها وزن خشک

### مقاومت روزنه

با افزایش خشکی، مقاومت روزنه به طور معنی‌داری در گیاهچه‌های ارقام لوبيا-قرمز افزایش یافت (جدول ۲). در ارقام لوبيا افزایش میزان مقاومت روزنه تنها در تیمار ۵۰ درصد ظرفیت زراعی نسبت به تیمار شاهد معنی‌دار نبود. میزان مقاومت روزنه در تمام تیمارها (به جز تیمار ۵۰ درصد ظرفیت زراعی) بین دو رقم تفاوت معنی‌داری نداشت (شکل ۲e). در تیمار ۵۰ درصد ظرفیت زراعی بیشترین و کمترین مقاومت روزنه  $28/5$  و  $24/1 \text{ cm}^{-1}$ ، به ترتیب به ارقام درخشان و گلی اختصاص داشت. حرکت آب در سیستم اتمسفر-گیاه-خاک در پاسخ به تفاوت پتانسیل رخ می‌دهد و در جهت کاهش انرژی از خاک به ریشه گیاه و از طریق آوند چوبی به برگ‌ها است. با کاهش محتوای آب خاک، پتانسیل آب برگ و خاک نیز کاهش می‌یابد، در نتیجه کمبود آب در برگ‌ها ایجاد می‌شود و فشار آماس سلول‌های محافظه روزنه کاهش یافته و باعث بسته شدن روزنه می‌شود. بنابراین مقاومت برای انتقال بخار آب از برگ‌ها افزایش می‌یابد. فشار تورگر سلول‌های محافظه روزنه نه تنها توسط پتانسیل آب برگ، بلکه توسط دما، نور و غلظت  $\text{CO}_2$  هوا پیرامون تحت تأثیر قرار می‌گیرد (Kanemasu & Tanner, 1969). تغییرات فیزیولوژیک سریع مانند کاهش سطح برگ و افزایش مقاومت روزنه ای جزء مکانیسم‌های اجتناب از تنش خشکی معرفی شده‌اند (Machado & Paulsen, 2001). در شرایط تنش خشکی در گیاه ذرت خوش‌های، افزایش زیادی در مقاومت روزنه مشاهده شد که با کاهشی در فتوسنتر این گیاهان همراه بود (Kanemasu *et al.*, 1973). کاهش رطوبت خاک ممکن است منجر به کاهش محتوای آب برگ‌ها شود که نتیجه‌آن، کاهش فشار تورگر سلول‌های محافظه روزنه، کاهش قطر منافذ روزنه و کاهش تعرق می‌باشد. علاوه بر این، افزایش مقاومت روزنه ممکن است منجر به کاهش انتقال آب در برگ‌ها شده و نهایتاً کاهش هدایت روزنلهای، کاهش تعرق و محدود شدن فتوسنتر را به دنبال دارد (Tezara *et al.*, 2002).

### شاخص کلروفیل

با افزایش تنش خشکی، شاخص کلروفیل در برگ ارقام لوبيا-قرمز افزایش یافت. افزایش شاخص کلروفیل در هر دو رقم در تیمارهای ۵۰ و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی نسبت به شاهد معنی‌دار بود. همچنین تفاوت مقدار شاخص کلروفیل در تمام سطوح خشکی (به جز تیمار ۵۰ درصد ظرفیت

میزان شاخص کلروفیل رقم درخشنان نسبت به رقم گلی افزایش بیشتری را نشان می‌دهد. نتایج این بررسی نشان داد که رقم درخشنان احتمالاً از طریق به کارگیری مکانیسم‌های مختلف تحمل به خشکی نسبت به رقم گلی تا حدی کمتر تحت تأثیر تنش خشکی قرار گرفت. همچنین در مورد تمام ویژگی‌های فیزیولوژیک موردن بررسی، در رقم درخشنان بین سطح خشکی ۷۵درصد ظرفیت زراعی و شاهد تفاوت معنی داری مشاهده نشد.

### سپاسگزاری

از گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم و پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی به خاطر فراهم‌آوردن حمایت‌های علمی و آزمایشگاهی جهت انجام این پژوهه تحقیقی سپاسگزاری می‌نماییم.

ریشه رقم درخشنان بیشتر از رقم گلی بود و میزان افزایش نسبت به اندام هوایی رقم درخشنان در تنش شدید نسبت به شاهد بیشتر از گلی بود. در بررسی صفات فیزیولوژیک مشاهده شد که با افزایش تنش خشکی Fv/Fm، MSI، RWC، عملکرد کوانتومی فتوسنترز (Y) در ارقام لوبيا کاهش یافت؛ ولی مقاومت روزنای و شاخص کلروفیل در گیاهچه‌های لوبيا تحت تنش خشکی به‌طور معنی داری افزایش یافت.

مقادیر Fv/Fm، MSI و RWC در تنش شدید نسبت به شاهد در رقم گلی کاهش بیشتری از درخشنان نشان داد. در تنش‌های خشکی شدید، شدت افزایش مقاومت روزنای نسبت به شاهد در رقم گلی بیشتر از درخشنان بود، ولی شدت افزایش عدد کلروفیل‌متر در رقم درخشنان بیشتر از گلی بود که ممکن است به این علت باشد که رقم درخشنان با کاهش بیشتر سطح برگ مانع از دست‌رفتن آب از طریق تعرق می‌شود و به‌دلیل آن با کاهش بیشتر سطح برگ،

### منابع

- Ahmed, S., Nawata, E., Hosokawa, M., Domae, Y., and Sakuratani, T. 2002. Alterations in photosynthesis and some antioxidant enzymatic activities of mung bean subjected to water logging. *Plant Science* 163: 117-123.
- Antolin, M.C., Yoller, J., and Sanchez-Diaz, M. 1995. Effects of temporary drought on nitrate-fed and nitrogen-fixing alfalfa plants. *Plant Science* 107: 159-165.
- 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: 446-535.
- Bhatt, R.M., and Srinivasa Rao, N.K. 2005. Influence of pod load on response of okra to water stress. *Indian J. Plant Physiol.* 10: 54-59.
- Bian, Sh., and Jiang, Y. 2009. Reactive oxygen species, antioxidant enzyme activities and gene expression patterns in leaves and roots of *Kentucky bluegrass* in response to drought stress and recovery. *Scientia Horticulturae* 120: 264-270.
- Ebrahimi, M., Bihamta, M., Hosein zade, A.A., Khialparast, F., and Golbashi, M. 2010. Evaluation reaction yield and yield components of white bean genotypes under water stress conditions. *Iranian Journal of Field Crops Research* 8: 347-358. (In Persian).
- Elshazly, M.S., and Warboys, I.B. 1989. The use of transparent flexible tubes for studying the root extension and elongation of beans (*Vicia faba*). *J. Experimental Agriculture* 25: 35-37.
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., and Basra, S.M.A. 2009. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agron. Sustain. Dev.* 29: 185-212.
- Ganjeali, A., and Bagheri, A. 2011. Evaluation of morphological characteristics of root chickpea (*Cicer arietinum* L.) in response to drought stress. *Iranian Journal of Pulses Research* 1: 101-110. (In Persian with English Summary).
- Ghobadi, M., Khosravi, S., Kahrizi, D., and Shirvani, F. 2011. Study of water relations, chlorophyll and their correlations with grain yield in wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes. *World Academy of Science, Engineering and Technology* 78: 582-585.
- Hayat, S., and Ahmad, A. 2007. Salicylic Acid a Plant Hormone. Springer. P. 97-99.
- Jaleel, C.A., Manivannan, P., and Lakshmanan, G.M.A. 2008. Alterations in morphological parameters and photosynthetic pigment responses of *Catharanthus roseus* under soil water deficits. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 61: 298-303.

13. Jaleel, C.A., Manivannan, P., Wahid, A., Farooq, M., Somasundaram, R., and Panneerselvam, R. 2009. Drought stress in plants: a review on morphological characteristics and pigments composition. *Int. J. Agric. Biol.* 11: 100-105.
14. Kanemasu, E.T., and Tanner, C.B. 1969. Stomatal diffusion resistance of snap beans. I. Influence of leaf-water potential. *Plant Physiol.* 44: 1547-1552.
15. Kanemasu, E.T., An-Jen Chen, Powers, W.L., and Teare, I.D. 1973. Stomatal resistance as an indicator of water stress. *Transcation of the Kansas Academy of Science* 76: 159-163.
16. Kumar, A., and Purohit, S.S. 2001. *Plant Physiology Fundamentals and Applications*. Second Enlarged Edition. Agrobios (India).
17. Kusaka, M., Lalasin, A.G., and Fujimura, T. 2005. The maintenance of growth and turgor in pearl millet (*Pennisetum glaucum* (L.) Leeke) cultivars with different root structures and osmo-regulation under drought stress. *Plant Sci.* 168: 1-14.
18. Lu, C., and Zhang, J. 1998. Effects of water stress on photosynthesis, chlorophyll fluorescence and photoinhibition in wheat plants. *Australian Journal of Plant Physiology* 25: 883.
19. Machado, S., and Paulsen, G.M. 2001. Combined effects of drought and high temperature on water relations of wheat and sorghum. *Plant and Soil* 223: 179-187.
20. Majnon Hoseini, N. 1996. *Grains in Iran*. Jahad Publisher Institute Affiliated to University Jahad. Tehran. p. 240. (In Persian).
21. Netto, A.T., Campostrini, E., Oliveira, J.G., and Bressan-Smith, R.E. 2005. Photosynthetic pigments, nitrogen, chlorophyll a fluorescence and SPAD readings in coffee leaves. *Scientia Horticulture* 104: 199-209.
22. Pagter, M., Bragato, C., and Brix, H. 2005. Tolerance and physiological responses of phragmites Australia to water deficit. *Aquatic Bot.* 81: 285-299.
23. Piper, F.I., Corcuera, L.J., Alberdi, M., and Lusk, C. 2007. Differential photosynthetic and survival responses to soil drought in two evergreen *Nothofagus* species. *Science* 64: 447-452.
24. Rahbarian, R., Khavari-nejad, R.A., Ganjeali, A., Bagheri A.R., and Najafi, F. 2011. Drought stress effects on photosynthesis, chlorophyll fluorescence and water relations in tolerant and susceptible chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes. *ACTA Biological Cracoviensia Series Botanica* 53: 47-56.
25. Sairam, R.K., and Saxena, D.C. 2000. Oxidative stress and antioxidant in wheat genotypes: possible mechanism of water stress tolerance. *J. Agronomy and Crop Sci.* 184: 55-61.
26. Salehi, M., Nassiri Mahallati, M., and Koocheki, A. 2003. Leaf nitrogen and chlorophyll as indicators for salt stress. *Iranian Journal of Field Crops Research* 1: 199-205. (In Persian with English Summary).
27. Salehpour, M., Ebadi, A., Izadi, M., and Jamaati-e-Somarin Sh. 2009. Evaluation of water stress and nitrogen fertilizer effects on relative water content, membrane stability index, chlorophyll and some other traits of lentils (*Lens culinaris* L.) under hydroponics conditions. *Research Journal of Environmental Sciences* 3: 103-109.
28. Schonfeld, M.A., Johnson, R.C., Carver, B.F., and Mornhinweg, D.W. 1988. Water relations in winter wheat as drought resistance indicators. *Crop Sci.* 28: 526-531.
29. Shanahan, J.F., Edwards, I.B., Quick, J.S., and Fenwick, J.R. 1990. Membrane thermostability and heat tolerance of spring wheat. *Crop Science* 30: 247-251.
30. Sikuku P.A., Netondo, G.W., Onyango, J.C., and Musyimi, D.M. 2010. Effects of water deficit on physiology and morphology of three varieties of NERICA rainfed rice (*Oryza sativa* L.). *ARPN Journal of Agricultural and Biological Science* 5: 23-28.
31. Singh, D.N., Massod Ali R.I., and Basu, P.S. 2000. Genetic variation in dry matter partitioning in shoot and root influences of chickpea to drought. *3rd International Crop Science Congress*.
32. Tezara, W., Mitchel, V., Driscul, S.P., and Lawlor, D.W. 2002. Effects of water deficit and its interaction with CO<sub>2</sub> supply on the biochemistry and physiology of photosynthesis in sunflower. *Exp. Bot.* 53: 1781-1791.
33. Tilahun, A., and Sven, S. 2003. Mechanisms of drought resistance in grain: PSII stomatal regulation and root growth. *Ethiopian Journal of Science* 26: 137-144.
34. Turkan, I., Melike, B., Ozdemir, F., and Koca, H. 2005. Differential response of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of drought-tolerant *P. acutifolius* gray and drought-sensitive *P. vulgaris* L. subjected to polyethylene glycol mediated water stress. *Plant Sci.* 168: 223-231.
35. Yadav, R.S., and Bhushan, C. 2001. Effect of moisture stress on growth and yield in rice genotype. *Indian J. of Agric. Res.* 2: 104-107.

36. Zabet, M., Hosein zade, A.H., Ahmadi, A., and Khialparast, F. 2003. Effect of water stress on different traits and determination of the best water stress index in mung bean (*Vigna radiata*). Iranian J. Agric. Sci. 34: 889-898. (In Persian with English Summary).
37. Zlatev, Z.S., and Yordanov, I.T. 2004. Effects of soil drought on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in bean plants. Bulg. J. Plant Physiol. 30: 3-18.

## **Effect of drought stress on some morphophysiological traits and chlorophyll fluorescence of red bean seedlings (*Phaseolus vulgaris* L.)**

**Sadat Rasti Sani<sup>1\*</sup>, M., Lahouti<sup>2</sup>, M. & Ganjeali<sup>3</sup>, A.**

1. Young Researchers Club, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
2. Professor, Biology Department, Faculty of Sciences, Ferdowsi University of Mashhad
3. Associate Professor, Biology Department, Faculty of Sciences & Research Center for Plant Sciences, Ferdowsi University of Mashhad

Received: 11 April 2012  
Accepted: 30 December 2012

### **Abstract**

Drought is one of the most important factors limiting growth and yield in many parts of the world. In order to evaluate the effects of drought stress on some morphological and physiological traits of two cultivars of bean, two red beans (Derakhshan and Goli) in four drought treatments including 25%, 50%, 75%, control 100% field capacity were studied in a factorial experiment based on complete randomized design with three replications. Results showed that morphological traits inducing plant height, leaf area, root area, total root length and shoot and root dry weight were significantly ( $p \leq 0.01$ ) decreased under drought stress. So, results showed that physiological traits such as leaf relative water content (RWC), membrane stability index (MSI), PSII photochemical efficiency (Fv/Fm), and quantum yield of photosynthesis (Y) were significantly declined under drought stress ( $p \leq 0.01$ ). But, stomatal resistance and chlorophyll index (SPAD) significantly increased in bean seedlings under drought stress ( $p \leq 0.01$ ). The root to shoot ratio was increased further in Derakhshan cultivar in severe stress than control. RWC, MSI, and Fv/Fm showed a greater reduction in severe stress than control in Goli cultivar. Results showed that probably Derakhshan cultivar was affected fewer by drought stress, by means of applying drought tolerance different mechanisms than that of Goli cultivar. The Derakhshan cultivar in most physiological traits, was not represent significant differences between 75% of field capacity and control.

**Key words:** Bean, Chlorophyll fluorescence, Drought stress, Morphological and Physiological traits

---

\*Corresponding Author: m.rastisani@yahoo.com, Mobile: 09352381309

## روند تغییرات صفات مورفوفیزیولوژیک ژنوتیپ‌های نخود (*Cicer arietinum* L.) در پاسخ به تنش شوری ناشی از کلریدسدیم

محمد عارفیان<sup>\*</sup>، سعیدرضا وصالی<sup>۱</sup>، عبدالرضا باقری<sup>۲</sup> و علی گنجعلی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup>- دانش آموخته کارشناسی ارشد رشته بیوتکنولوژی کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد

<sup>۲</sup>- عضو هیئت علمی پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد

<sup>۳</sup>- عضو هیئت علمی دانشکده کشاورزی و پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد

<sup>۴</sup>- عضو هیئت علمی دانشکده علوم و پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱۰/۰۹

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۰۶/۰۱

### چکیده

شوری یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیرزیستی در حال گسترش بوده که علاوه بر اثرات سیمی و تغذیه‌ای، توانایی گیاه برای جذب آب را کاهش می‌دهد. در مواجهه با تنش شوری، مجموعه‌ای از واکنش‌های مورفوفیزیولوژیک در گیاهان ایجاد می‌شود. عملکرد نخود به دلیل حساسیت بالا به این تنش و به دنبال برخی پاسخ‌های قابل توجه در خصوصیات فیزیولوژیک و مورفولوژیک، به شدت کاهش می‌یابد. در این تحقیق، پیامدهای غلظت‌های مختلف تنش شوری شامل صفر، ۸ و ۱۲ dS.m<sup>-۱</sup> بر ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک ژنوتیپ‌های حساس و متحمل نخود در مراحل اولیه رشد نمونه گیاه به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و چهار نمونه برداری با فاصله زمانی یک هفته مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس داده‌های حاصل، با افزایش غلظت کلریدسدیم و گذشت زمان (هفتۀ چهارم)، ژنوتیپ‌های MCC760 و MCC806 به ترتیب از کمترین و بیشترین آسیب بر اساس شاخص‌های وزن خشک ریشه به وزن خشک اندام هوایی (۰/۸ و ۲ برابر کاهش) و وزن خشک ریشه (۱/۷ و ۴ برابر کاهش) برخوردار بودند. در شدت بالای تنش (۱۲ dS.m<sup>-۱</sup>)، ژنوتیپ MCC760 نه تنها مقدار رنگدانه‌های فتوسنتزی (شامل کلروفیل‌های a و b و کارتونوئیدها) بیشتری داشت، بلکه شدت کاهش رنگدانه‌های این ژنوتیپ، کمتر و در مقابل، ضریب پایداری کلروفیل آن (۷۵٪ درصد) به صورت معنی‌داری بیشتر از سایر ژنوتیپ‌ها بود، به طوری که تفاوت آن با ژنوتیپ MCC806 بیش از ۳۰٪ درصد بود. درصد رطوبت نسبی در همه ژنوتیپ‌ها کاهش یافت و در هفته سوم، این دو ژنوتیپ به ترتیب با کاهش ۱/۸ و ۳/۴ برابر نسبت به شاهد، کمترین و بیشترین تغییرات را نشان دادند. بنابراین در بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه ژنوتیپ MCC760 به عنوان متتحمل‌ترین ژنوتیپ به تنش شوری معرفی شد و زمان مناسب جهت ارزیابی تحمل به این صفت بر مبنای خصوصیات مورفولوژیک، هفتۀ چهارم و بر مبنای صفات فیزیولوژیک، هفته سوم تعیین شد.

**واژه‌های کلیدی:** اندام هوایی، رنگدانه‌های فتوسنتزی، ریشه، شوری، محتوای آب نسبی، نخود

### مقدمه

تنش شوری که در زمرة مهم‌ترین تنش‌های غیرزیستی قرار می‌گیرد. به دلیل پاره‌ای از عوامل، آثار سوئی بر رشد و نمو گیاهان دارد که می‌توان به تنش آبی (کاهش پتانسیل اسمزی خاک<sup>۱</sup>، عدم تعادل یونی<sup>۲</sup>، افزایش غلظت یون‌ها (شوری) و Ashraf & Harris, 2004; ترکیبی از این موارد اشاره کرد (Toker et al., 2007). بنابراین فرآیندهای گیاه را در برابر تنش شوری می‌توان به دو دسته فرآیندهای کاهش‌دهنده اثرات تنش اسمزی و فرآیندهای حفظ تعادل یونی سلول و

<sup>\*</sup>نوابنده مسئول: arefian.m@gmail.com

<sup>۱</sup> Low osmotic potential of soil solution

<sup>۲</sup> Nutrient ion imbalance

حذف اثرات سمتی یون‌ها تقسیم کرد (Yokoi et al., 2002).

با این حال، شوری علاوه بر تأخیر در جوانه‌زنی و اختلال در بافت‌ها و اندام‌های تولیدمثیلی، نکروزهشدن حاشیه برگ‌ها به ویژه برگ‌های پرتر و کاهش توانایی ثبیت نیتروژن (Toker et al., 2007; Jaiwal & Mehta, 1983) می‌تواند عملکرد و کیفیت محصول را حتی در ارقام متتحمل، کاهش دهد (Dhingra, 2007).

متوسط عملکرد نخود ( $\text{Kg.ha}^{-1}$ ) حدوداً ۸۰۰ Millan et al. (۴۰۰  $\text{Kg.ha}^{-1}$ ) کمتر از توان بالقوه تولید آن (Singh, 1987; al., 2006) بوده و ضریب تغییرات<sup>۳</sup> آن پایدار نیست (بیش از ۱۰ درصد) که از مهم‌ترین عوامل آن می‌توان به

<sup>۳</sup> Coefficient of variation

گلدان‌های یک‌لیتری حاوی ماسه و خاک مزروعه (با نسبت ۲:۱، w/w) کشت و در دمای  $25 \pm 2$  درجه سلسیوس، رطوبت نسبی  $\pm 5$  درصد تحت شرایط نوری  $16$  ساعت روشنایی (شدت نور  $270 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-2}$ ) در اتاقک رشد، نگهداری و یکروزدرمیان به صورت کاملاً یکسان آبیاری شدند. در هر گلدان، دو بوته رشد یافته‌نده که پس از گذشت دوهفته از کاشت، ارقام در سه سطح NaCl (صفرا،  $8$  و  $12 \text{ dS.m}^{-1}$ ) تیمار شدند و در طول چهار هفته متوالی، نمونه‌برداری‌ها انجام شد. در این آزمایش تأثیر تنش شوری ناشی از کلریدسدیم به صورت آنی بر پارامترهای مورفو‌فیزیولوژیک پس از چهار تا چهار هفته متوالی (گیاهچه‌های دو تا شش هفت‌هه) به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی تیمارها با سه تکرار بررسی شد.

کلروفیل‌ها و کاروتونوئیدها با استفاده از استون sp-3000 plus OPTIMA مدل استخراج و توسط اسپکتروفوتومتر ZnO میزان کلروفیل گل در شرایط تنش به میزان کلروفیل گل در شرایط بدون تنش محاسبه گردید (Terzi & Kadioglu, 2006).

$$c_a (\mu\text{g/ml}) = 12.25 A_{663.2} - 2.79 A_{646.8}$$

$$c_b (\mu\text{g/ml}) = 21.50 A_{646.8} - 5.10 A_{663.2}$$

$$c_{(x+c)} (\mu\text{g/ml}) = (1000 A_{470} - 1.82 c_a - 85.02 c_b) / 198$$

درصد آب نسبی برگ (RWC) طبق معادله زیر به دست آمد که در آن FW وزن شر برگ، DW وزن خشک برگ (۴۸ ساعت در آن درجه سلسیوس) و TW وزن تورم برگ (۲۴ ساعت شناور در آب مقطر) است (de Silva *et al.*, 1996).  $RWC(\%) = (FW - DW / TW - DW) \times 100$

به منظور تعیین معیاری جهت رشد گیاه، ارتفاع آن یعنی فاصله بین طوقه و رأس ساقه اصلی اندازه‌گیری شد. جهت اندازه‌گیری وزن خشک اندام‌های هوایی و ریشه‌ها، در هر نمونه‌برداری، چهار گیاه به طور جداگانه در آن درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفت و سپس با ترازوی دیجیتال توزین شد. جهت محاسبات آماری و رسم نمودارها در این مطالعه از نرم‌افزارهای SAS 6.12 و Excel 2013 استفاده شد. داده‌های درصدی به آرکسینوس و داده‌های نسبتی به روش جذری تبدیل شد. میانگین‌ها به روش دانکن مقایسه و سطح احتمال به کاررفته در کلیه تجزیه تحلیل‌ها درصد در نظر گرفته شد.

## نتایج و بحث

یکی از اثرات بارز تنش شوری و خشکی بر گیاهان، کاهش ارتفاع و رشد اندام هوایی است که از دلایل اصلی آن

تنش‌های مختلف زیستی و غیرزیستی اشاره کرد که از لحاظ اقتصادی خسارت قابل توجهی را بدنبال دارد (Singh, 1993). شناسایی ارقامی که در شرایط شوری از رشد مناسبی برخوردار بوده و آستانه کاهش عملکرد آن‌ها بالا باشد، می‌تواند علاوه بر افزایش کلی تولید محصول، در زمینه‌سازی برای برنامه‌های بهزیادی و همچنین کمک به تبیین مکانیزم تحمل به شوری بسیار مؤثر باشد (Dhingra, 2007). اما تنوع ژنتیکی بین ارقام نخود کم است (Chauhan, 1987)، از سوی دیگر sp-3000 plus مدل OPTIMA مطالعات نشان داده است که گزینش ارقام مختلف نخود به شوری با موفقیت خوبی همراه بوده است (Vadez *et al.*, 2004; Maliroo *et al.*, 2007). از سوی دیگر می‌تواند برای گزینش ژنوتیپ‌های مناسب برای تنش ضروری است (Ganjeali & Kafi, 2007).

علاوه بر این که بیش از ۱۰ درصد از زمین‌های کشور دچار شوری است (Szabolcs, 1989)، کمبودهای روزافزون آب مناسب برای آبیاری نیز از مهم‌ترین دلایل ایجاد و گسترش تنش شوری می‌باشد. با این حال، مطالعات اندکی در زمینه غربالگری ژنوتیپ‌های نخود در مقابل تنش شوری انجام شده است. مطالعه انجام شده در این زمینه مربوط به Kafi *et al.* (2011) می‌باشد. آنها در مطالعه خود که در شرایط کنترل شده به صورت هیدرопونیک انجام شده است، ژنوتیپ‌های مورد مطالعه را براساس عکس العمل آن‌ها به شوری به ژنوتیپ‌های حساس و متحمل تقسیم کردند. مطالعه حاضر با هدف ارزیابی دقیق تر ژنوتیپ‌های نخود کاندید حساس و متحمل به شوری قبلی، تحت شرایط کاملاً کنترل شده صورت گرفت تا با تعیین دقیق متحمل‌ترین و حساس‌ترین ژنوتیپ‌ها به غلظت‌های مختلف شوری بتوان با ارزیابی بیشتر ژنوتیپ‌ها در سطح بیوشیمیابی و تعیین مناسب‌ترین شرایط آزمایشی، از نتایج به دست آمده جهت مطالعات دقیق‌تر مولکولی چون پروتئومیکس استفاده نمود.

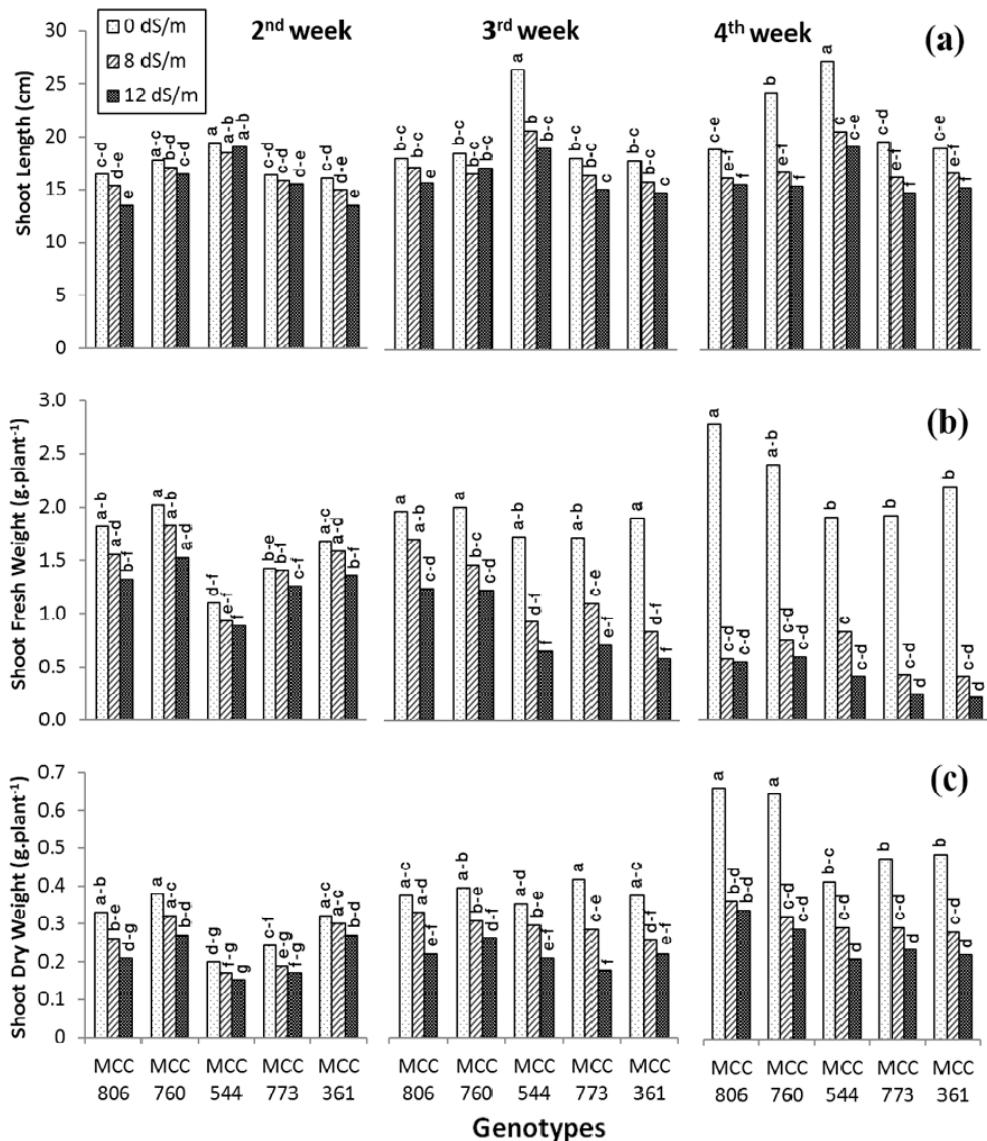
## مواد و روش‌ها

بر اساس نتایج مطالعات شوری و خشکی انجام شده Saxena *et al.*, 2011; Ganjeali *et al.*, 2011; MCC544، MCC760، MCC806 (al., 1993) ژنوتیپ‌های MCC361 و MCC773 بذور آن‌ها از بانک بذر پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی تهیه گردید. ابتدا بذور با هیپوکلریدسیم ۳ درصد و اتانول ۷۰ درصد ضد عفونی و در پتربی دیش به مدت ۲۴ ساعت جوانه‌دار شدند. سپس در

(*et al.*, 2006) در مطالعه حاضر نیز با افزایش شدت تنفس، ارتفاع گیاه در ژنوتیپ‌ها کاهش و با افزایش مدت زمان تنفس، شدت کاهش بیشتر شد (شکل‌های ۱ a-۵ و c).

می‌توان به کاهش ترشح هورمون‌های رشد و افزایش مواد بازدارنده رشد در شرایط تنفس اشاره کرد (Bayoumi *et al.*, 2010).

مشابه با دیگر تحقیقات انجام شده (Ahmed *et al.*, 1997; Gunes, 2002; Bayoumi *et al.*, 2010;



شکل ۱- مقایسه برخی پارامترهای مورفولوژیک خود تحت تنفس شوری  $\text{NaCl}$  در غلظت‌های صفر، ۸ و  $12 \text{ dS.m}^{-1}$  در هفته دوم، سوم و چهارم.  
a: طول گیاهچه؛ b: وزن ترا اندام هوایی؛ c: وزن خشک اندام هوایی، ( $p \leq 0.05$ )

Fig. 1. Comparison of some morphological parameters of chickpea under  $\text{NaCl}$  salinity stress (0, 8 and  $12 \text{ dS.m}^{-1}$ ) in 2<sup>nd</sup>, 3<sup>rd</sup> and 4<sup>th</sup> weeks after sowing. a: Shoot length; b: Shoot fresh weight; c: Shoot dry weight, ( $p \leq 0.05$ )

نشده است. در ژنوتیپ‌های MCC760 و MCC544 معنی‌داری در هفته چهارم نمونه‌گیری (۹/۲ و ۸/۱) سانتی‌متر کاهش) به ویژه در غلظت  $12 \text{ dS.m}^{-1}$  مشاهده نشد (به جز این که ذکر شده باشد)، داده‌های آن ارائه

از آن جا که نمونه‌گیری اول همزمان با اعمال تنفس بود و در ژنوتیپ‌های مختلف قبل از تنفس اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (به جز این که ذکر شده باشد)، داده‌های آن ارائه

از هفته دوم به بعد، در شرایط تنفس، رشد ریشه تقریباً در همه ژنوتیپ‌ها متوقف شد، اما بیشترین شدت کاهش نسبت به شاهد مربوط به ژنوتیپ MCC806 بود و کمترین مقدار کاهش در ژنوتیپ MCC760 مشاهده شد (شکل ۲-۲).

از آنجاکه یکی از پاسخ‌های ژنوتیپ‌های متحمل به تنفس، افزایش نسبت وزن خشک ریشه به وزن خشک اندام هوایی است (Kumaga *et al.*, Ganjeali & Kafi, 2007; 2003)، بنابراین با توجه به این پارامتر می‌توان ژنوتیپ MCC760 را متحمل‌ترین و ژنوتیپ MCC806 را حساس‌ترین ژنوتیپ به شوری در بین ارقام مورد مطالعه به شوری در نظر گرفت.

در هفته چهارم و در غلظت متوسط ( $dS.m^{-1}$ ) اختلاف معنی‌داری بین غلظت‌های مختلف تنفس در ژنوتیپ MCC544 مشاهده نشد و این ژنوتیپ با  $1/5$  برابر کاهش نسبت به شاهد در وزن خشک اندام هوایی، کمترین آسیب‌دیدگی را داشت. از سوی دیگر، میانگین وزن خشک ریشه آن با افزایش شدت تنفس، زیادتر نیز شد (شکل ۲-۲)، براین اساس، همانند ژنوتیپ MCC760. این ژنوتیپ نیز از تحمل بهتری به تنفس شوری برخوردار بود. در گیاهان دیگر مانند لوبیا و گندم کاهش وزن خشک اندام هوایی در اثر تنفس‌های شوری و خشکی گزارش شده است (Bayoumi *et al.*, 2010; Tawfik, 2008).

سیستم ریشه‌ای به‌دلیل تماس مستقیم با محلول خاک، به عنوان اولین حسگر تنفس آبی محسوب می‌شود، لذا در ایجاد مقاومت نسبت به تنفس شوری و خشکی نقش مهمی دارد (Okçu *et al.*, 2005). در بررسی وزن خشک ریشه‌ها مشخص شد که ژنوتیپ‌های MCC806 و MCC760 سیستم ریشه‌ای توسعه‌یافته‌تری داشته و وزن تر و وزن خشک آن‌ها به صورت معنی‌داری بیشتر از سایر موادر بود (شکل‌های a-۲، b و c).

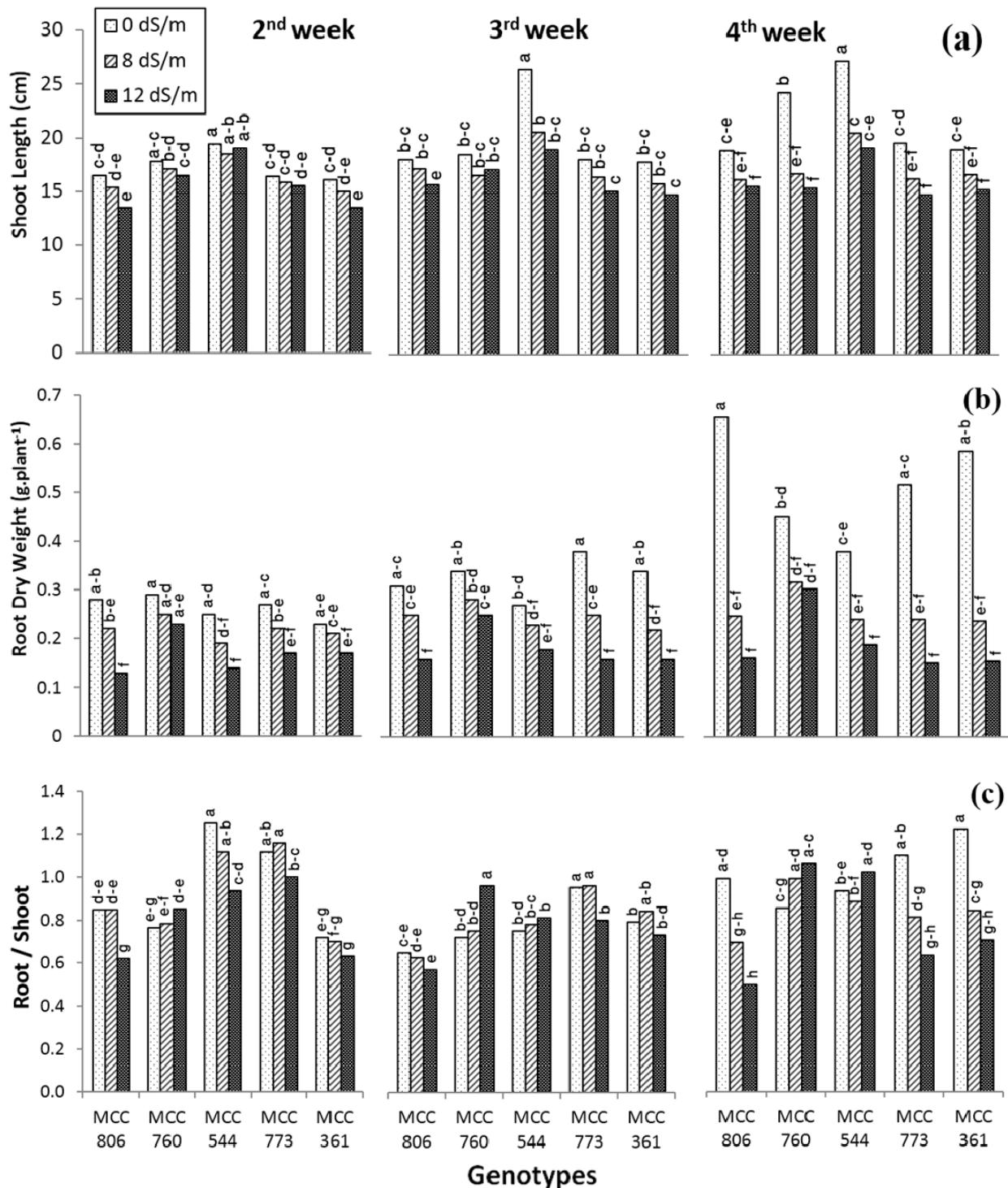
با افزایش زمان و غلظت نمک، به‌ویژه در هفته چهارم، کاهش معنی‌دار چهار برابر نسبت به شاهد در ژنوتیپ MCC806 مشاهده شد، اما ژنوتیپ MCC760 کمترین میزان کاهش وزن خشک ریشه نسبت به شاهد ( $1/7$  برابر) را داشت و تفاوتی در غلظت‌های  $dS.m^{-1}$  و  $12 dS.m^{-1}$  داشد. مشاهده نشد که بنظر می‌رسد به حد آستانه خود رسیده باشد. از طرفی در مقایسه با دیگر ژنوتیپ‌ها، این حد آستانه بیشترین وزن تر و خشک ریشه را به خود اختصاص داده است.

ژنوتیپ MCC544 که یک ژنوتیپ بومی ایرانی است، از نظر سرعت جوانه‌زنی بهتر و از لحاظ رشد طولی ساقه اصلی، برتری معنی‌داری (با اختلاف  $10\text{سانسنتی متری}$  در هفته سوم) نسبت به دیگر ژنوتیپ‌ها داشت که تا حدی به عادت رشدی گیاه بازمی‌گردد.

این ژنوتیپ در چهار زمان نمونه‌گیری (هفته اول نشان داده نشده است) و در هر سه غلظت، بیشترین ارتفاع گیاه را به‌خود اختصاص داد، اما وزن تر و خشک آن به‌خصوص در هفته دوم نمونه‌گیری، کمتر از بقیه بود (شکل‌های a-۵ و b-۱)؛ چراکه جوانه‌های جانی نداشت، اما با توسعه بافت‌های هوایی از قبل تولید شده، این کاهش وزن را در هفته‌های سوم و چهارم جبران کرد. ارتفاع بیشتر این ژنوتیپ و گنجایش بیشتر ساقه آن را می‌توان به عنوان منبع ثانویه ذخیره مواد فتوسنتزی و انتقال مجدد مواد فتوسنتزی به دانه‌ها در نظر گرفت که خود می‌تواند به عنوان یک راهکار در راستای مقاومت به تنفس مطرح باشد (Ganjeali & Kafi, 2007).

با افزایش شدت تنفس، وزن تر همه ژنوتیپ‌ها کاهش یافت و با افزایش مدت زمان تنفس، شدت کاهش وزن، بیشتر نیز شد، به‌طوری‌که در هفته سوم در ژنوتیپ‌های MCC361 و MCC544 و هفته چهارم در دیگر ژنوتیپ‌ها کاهش معنی‌داری در وزن تر اندام هوایی مشاهده شد. ژنوتیپ MCC806 اگرچه بیشترین وزن تر در هفته سوم را داشت، اما به‌همراه ژنوتیپ MCC361 بیشترین درصد (بیش از  $5$  برابر) افت وزن تر نسبت به شاهد را در هفته چهارم به خود اختصاص داد که حساسیت این ژنوتیپ نسبت به شوری را نشان می‌دهد. در هفته چهارم و در غلظت  $12 dS.m^{-1}$  از MCC760 و MCC544 در نظر وزن تر، ژنوتیپ‌های MCC361 و MCC806 کمترین درصد افت (به ترتیب  $2$  و  $3$  برابر) و بیشترین میانگین این پارامتر را نسبت به دیگر ژنوتیپ‌ها داشتند که بیانگر جذب آب بیشتر و سازگاری بهتر با تنفس بود.

اگرچه با افزایش سن، وزن تر خشک گیاه‌چهای تحت تنفس کاهش یافت، اما بر وزن خشک آن‌ها افزوده شد (شکل b-۱ و c). با این‌که ژنوتیپ MCC760 افت شدیدی (تقریباً  $2$  برابر) در وزن خشک هفته چهارم داشت، اما با بررسی وزن خشک ریشه (شکل‌های b-۲ و b-۵) مشخص می‌شود با افزایش نسبت وزن خشک ریشه به وزن خشک ساقه، مکانیزم مقاومت این ژنوتیپ نسبت به تنفس شوری همچنان ادامه دارد. این روند به‌ویژه در هفته سوم و چهارم و در غلظت‌های بالاتر برای این ژنوتیپ بیشتر مشاهده می‌شود.



شکل ۲- برخی تغییرات پارامترهای مورفولوژیک ریشه نخود تحت تنفس شوری  $\text{NaCl}$  در سطوح صفر، ۸ و ۱۲  $\text{dS.m}^{-1}$  طی سه هفته متوالی.  
a: وزن تر ریشه؛ b: وزن خشک ریشه؛ c: نسبت وزن خشک ریشه به نسبت وزن خشک اندام هوایی، ( $p \leq 0.05$ )

Fig. 2. Some changes in morphological parameters of chickpea roots under  $\text{NaCl}$  salinity (0, 8 and 12  $\text{dS.m}^{-1}$ ) during three consecutive weeks. a: Root fresh weight; b: Root dry weight; c: Root dry weight to shoot dry weight ratio, ( $p \leq 0.05$ )

آب بیشتر است (Ganjeali & Kafi, 2007)، ژنوتیپ MCC760 تحمل بیشتری نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها به ویژه MCC806 در برابر تنفس شوری دارد.

از آن جا که یکی از پاسخ‌های گیاهان متحمل به تنفس شوری و خشکی، افزایش رشد ریشه جهت ذخیره ماده خشک و یا انتقال از اندام هوایی به ریشه (Bibi et al., 2009) و جذب

جدول ۱- تغییرات میزان کلروفیل a، b و کارتنوئید (mg/gFW) تحت تنفس شوری (صفر، ۸ و ۱۲ dS.m<sup>-۱</sup>) در هفت‌های دوم و سوم پس از تنفس

Table 1. Changes of chlorophyll a, b and carotenoid (mg/gFW) under salinity (0, 8 and 12 dS.m<sup>-۱</sup>) during two weeks

ژنوتیپ‌ها Genotypes	نوع کلروفیل Chlorophyll type	شدت‌های تنفس شوری در هفته دوم Levels of salinity in 2 <sup>nd</sup> week			شدت‌های تنفس شوری در هفته سوم Levels of salinity in 3 <sup>rd</sup> week		
		۰ dS/m	8 dS/m	12 dS/m	۰ dS/m	8 dS/m	12 dS/m
		Chlorophyll a	26.58±0.4	24.21±1.2	18.39±0.5	23.63±0.8	16.56±0.7
MCC 806	Chlorophyll b	09.74±0.3	08.62±0.4	07.66±0.2	09.27±0.0	06.59±0.3	03.72±0.2
	Carotenoid	05.11±0.7	04.86±0.2	05.31±0.3	04.94±0.3	04.45±0.5	03.61±0.4
	Chlorophyll a	24.75±1.3	23.14±0.8	19.78±1.1	20.23±0.2	14.28±1.5	15.37±1.7
MCC 760	Chlorophyll b	09.28±0.4	09.48±0.4	08.84±0.4	08.04±0.9	05.44±0.4	05.93±0.6
	Carotenoid	05.60±0.4	05.56±0.3	05.24±0.4	04.60±0.3	04.11±0.5	04.11±0.5
	Chlorophyll a	27.39±1.2	22.34±1.1	20.08±1.1	26.43±1.5	18.26±1.1	10.61±0.7
MCC 544	Chlorophyll b	09.47±0.4	08.79±0.4	08.04±0.4	09.74±0.4	07.78±0.2	04.79±0.5
	Carotenoid	05.83±0.3	04.72±0.1	05.36±0.2	05.35±0.5	04.62±0.3	03.19±0.2
	Chlorophyll a	25.35±0.5	23.24±0.6	19.27±1.0	19.13±1.7	13.78±0.6	10.13±0.5
MCC 733	Chlorophyll b	09.37±0.5	08.69±0.3	07.77±0.3	07.35±0.7	05.37±0.3	04.93±0.3
	Carotenoid	05.42±0.3	04.91±0.3	05.10±0.1	04.47±0.5	03.91±0.3	03.02±0.2
	Chlorophyll a	24.66±0.6	21.20±0.4	18.59±0.5	23.49±1.1	15.87±0.6	11.49±0.8
MCC 361	Chlorophyll b	09.39±0.4	08.66±0.2	07.64±0.4	09.13±0.2	06.54±0.5	05.44±0.7
	Carotenoid	04.78±0.4	04.52±0.2	04.93±0.4	05.02±0.3	04.11±0.2	03.34±0.3

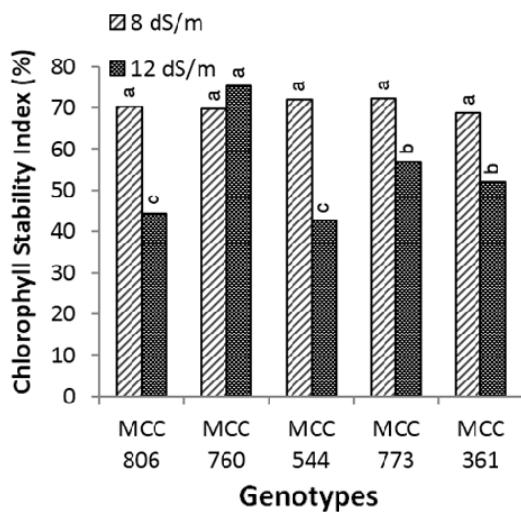
ژنوتیپ‌های MCC544 و MCC760 بر خلاف سه ژنوتیپ دیگر، در هفته‌های سوم و چهارم نه تنها نسبت وزن خشک ریشه به وزن خشک ساقه آن‌ها کاهش نیافت (شکل ۲)، بلکه با افزایش شدت تنفس، بیشتر نیز شد. در گیاهان متحمل به تنفس شوری و خشکی، کاهش رشد بخش ساقه‌ای و در مواردی افزایش رشد ریشه‌ای مشاهده شده است (Mensah et al., 2009 ; Kalefetoglu Macar et al., 2009). نتایج حاصل از این تحقیق نیز افزایش نسبت وزن خشک ریشه به وزن خشک ساقه آن‌ها کاهش نیافت (Kafi et al., 2011).

(Data are mean ± s.e.).

داده‌ها شامل میانگین ± خطای معیار.

افزایش غلظت کلریدسدیم باعث کاهش میزان کلروفیل‌های a و b در ژنوتیپ‌های نخود شد و با افزایش مدت زمان، شدت کاهش نیز زیادتر شد (جدول ۱). ژنوتیپ MCC760 در هفته سوم دارای بیشترین مقادیر کلروفیل‌های a و b در بالاترین سطح تنفس بوده و برخلاف دیگر ژنوتیپ‌ها با افزایش شدت تنفس از ۸ dS.m<sup>-۱</sup> به ۱۲ dS.m<sup>-۱</sup> نه تنها میانگین آن کاهش نیافت، بلکه افزایش نیز داشت و دارای بیشترین میانگین کلروفیل کل بود. علاوه بر این، این

مقدار کلروفیل و رنگدانه‌های فتوسنترزی از مهم‌ترین عوامل مؤثر در ظرفیت فتوسنترزی گیاهان هستند، چراکه به طور مستقیم بر سرعت و میزان فتوسنترز و تولید زیست‌توده مؤثر هستند (Kafi et al., 2011). تأثیر تنفس شوری و خشکی بر میزان کلروفیل‌ها وابسته به شدت و مدت تنفس و نوع گونه گیاهی می‌باشد (Guerfel et al., 2009). منطبق با دیگر گزارش‌های ارائه شده (Mudgal et al., 1999; Soussi et al., 2009)، در آزمایش حاضر نیز



شکل ۳- اثر شوری ( $\text{NaCl}$ ) بر درصد ضریب پایداری کلروفیل ژنوتیپ‌های نخود در هفته سوم، ( $p \leq 0.05$ )

Fig. 3. Impact of salinity ( $\text{NaCl}$ ) on chlorophyll stability Index (%) of chickpea genotypes in 3<sup>rd</sup> week, ( $p \leq 0.05$ )

حفظ آب برگ و کاهش تبخیر و تعرق، یک مکانیسم مهم اجتناب از تنفس شوری است و محتوای آب نسبی برگ به عنوان نشانگر جهت تعیین میزان تحمل ژنوتیپ‌های گیاهی نسبت به تنفس شوری و خشکی معرفی شده است (Terzi & Kadioglu, 2006). در این آزمایش در همه مراحل نمونه‌گیری، میزان آب نسبی برگ تمام ژنوتیپ‌ها در اثر تنفس شوری کاهش داشت و این روند به مرور زمان بیشتر نیز شد و نهایتاً در هفته چهارم تا حد آستانه کاهش یافت، به طوری که با افزایش غلظت، کاهش معنی‌داری مشاهده نشد. در غلظت  $12 \text{ dS.m}^{-1}$  کمترین و بیشترین میزان کاهش نسبت به شاهد در هفته دوم به ترتیب مربوط به ژنوتیپ‌های MCC544 (۱/۱۸ برابر کاهش) و MCC806 (۱/۹۲ برابر کاهش) بود. در هفته سوم و چهارم ژنوتیپ‌های MCC760 (۱/۸۵ و ۱/۳ برابر) و MCC806 (۳/۴۱ و ۴/۶ برابر) به ترتیب کمترین و بیشترین میزان کاهش نسبت به شاهد را داشتند. بنابراین ژنوتیپ‌های MCC760 و MCC544 (برخلاف ژنوتیپ MCC806) به دنبال توانایی بیشتر در حفظ آب تحت شرایط شوری، بیشترین تحمل را به تنفس داشتند (شکل‌های ۴ و ۵).

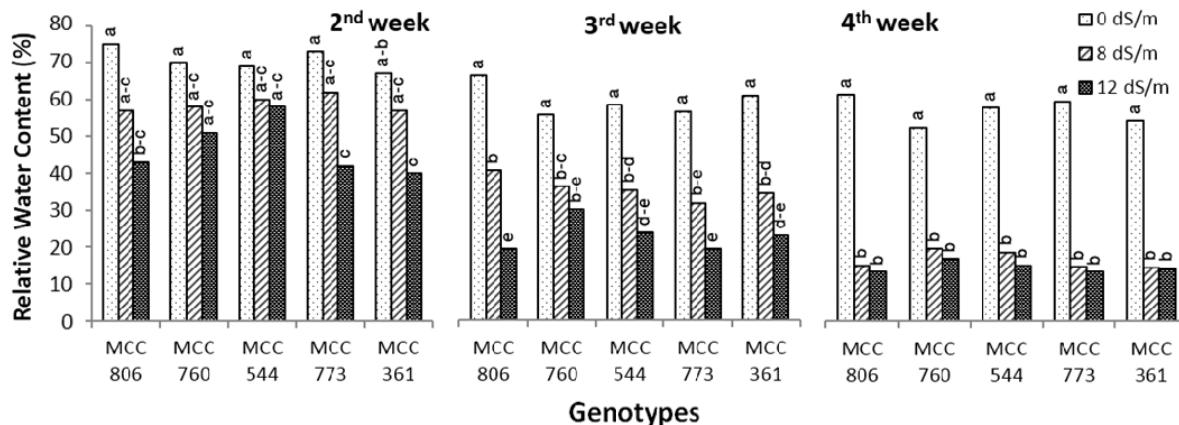
تفاوت ژنوتیپ‌ها از نظر میزان نسبی آب برگ به تفاوت آنها در میزان جذب آب از خاک و نیز توانایی آنها در افزایش کارآیی سیستم ریشه‌ای و قدرت کنترل هدرروی آب از طریق روزنه‌ها و تبخیر سطحی یا تعرق کمتر مربوط می‌شود (Farooq *et al.*, 2009; Beck *et al.*, 2007).

ژنوتیپ بیشترین ضریب پایداری کلروفیل (CSI) را به خود اختصاص داد (شکل ۳).

ژنوتیپ MCC544 در شدت متوسط تنفس  $8 \text{ dS.m}^{-1}$  (۸) و هفته سوم، دارای بیشترین میزان کلروفیل‌های a و b بود (۷۰ و ۵۷٪)؛ اما در شدت تنفس بالاتر یک گرم بافت تر برگ، اما در شدت تنفس بالاتر  $12 \text{ dS.m}^{-1}$  (۱۲) افت شدیدی در رنگدانه‌های این ژنوتیپ مشاهده شد، به طوری که در غلظت  $12 \text{ dS.m}^{-1}$  ۱۲ بهمراه ژنوتیپ MCC806 بیشترین آسیب در رنگدانه‌ها را داشتند (۱۵/۴٪). از آنجا که کاهش میزان کلروفیل گیاهچه‌های تحت تنفس، با پیری برگ در ارتباط است (Guerfel *et al.*, 2008؛ Lage-Pinto *et al.*, 2009)، یکی از دلایل احتمالی کاهش شدید رنگدانه‌های فتوسنتری این ژنوتیپ را می‌توان به عادت رشدی آن نسبت داد، چراکه از یک سو وزن خشک و زیست‌توده کمتری داشت و از سوی دیگر، شاخه‌های جانبی و درنتیجه برگ‌های جوان تولید نکرد و درنتیجه ضریب پایداری این ژنوتیپ به طور معنی‌داری کاهش یافت. ژنوتیپ MCC806 علاوه بر کاهش شدید در ضریب پایداری کلروفیل، دارای کمترین کلروفیل b در هفته سوم بود و در شدت تنفس بالا ( $12 \text{ dS.m}^{-1}$ ) اختلاف معنی‌داری با ژنوتیپ MCC760 داشت.

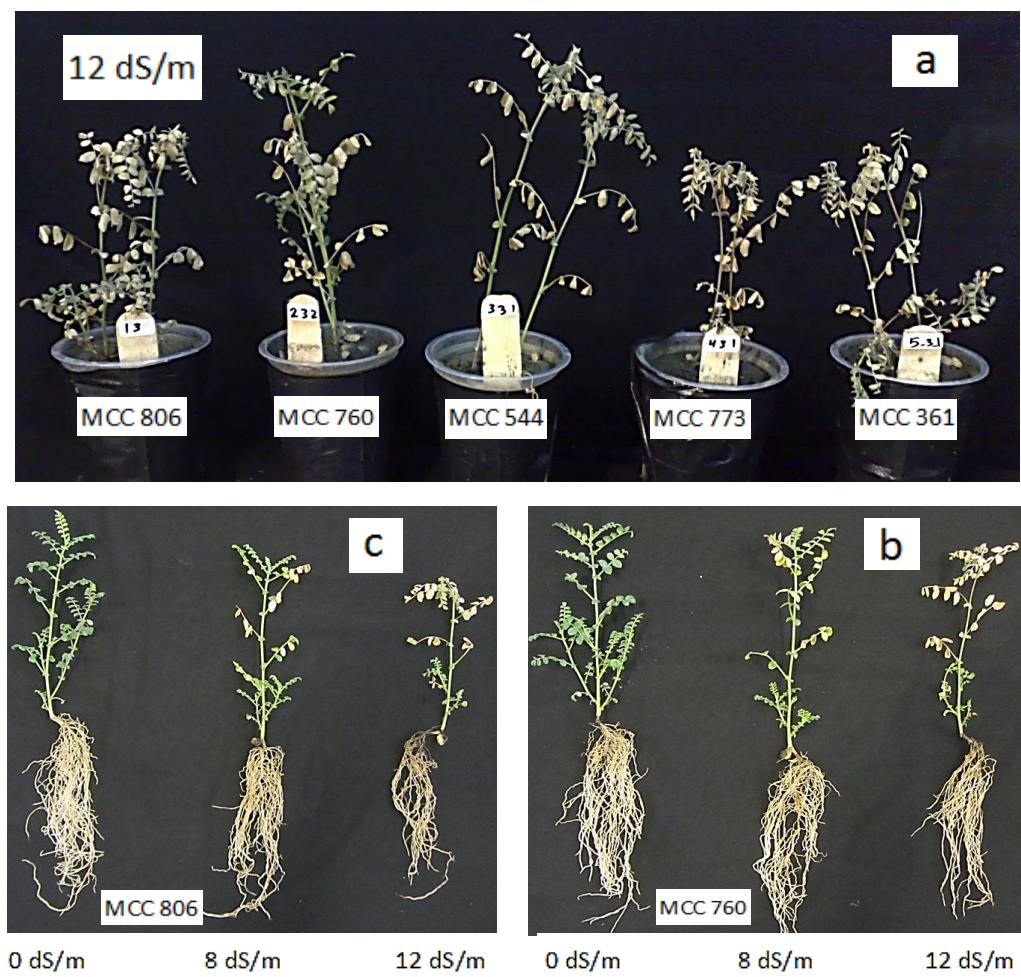
کاروتونوئیدها یکی از رنگریزه‌های کلیدی و مهم سیستم آنتی‌اکسیدانی در گیاهان می‌باشند که گروه بزرگی از مولکول‌های ایزوپرپرنوئید را تشکیل می‌دهند و به تخربی اکسیدانتیو نیز حساس می‌باشند (Simkin *et al.*, 2008). در مطالعه حاضر، با افزایش شدت تنفس، میزان کاروتونوئید نیز کاهش یافت (جدول ۱). کمترین کاهش، مربوط به ژنوتیپ MCC760 بود، به طوری که در سطوح تنفس متوسط  $8 \text{ dS.m}^{-1}$  و بالا ( $12 \text{ dS.m}^{-1}$ ) تغییری در میانگین آن مشاهده نشد. بنابراین ممکن است این ژنوتیپ توانایی بیشتری در کاهش تنفس اکسیدانتیو ایجاد شده در اثر شوری Prochazkova *et al.*, 2001) و لذا موجب تحمل بیشتر آن نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها شده است.

کاهش میزان کلروفیل کل و کاروتونوئید نخود در اثر تنفس شوری در مطالعات دیگران نیز (Mudgal *et al.*, 1999؛ Soussi *et al.*, 2009) تأیید شده است.



شکل ۴- تأثیر سه غلظت  $\text{NaCl}$  (صفر، ۸ و  $12 \text{ dS.m}^{-1}$ ) بر درصد تغییرات مقدار آب نسبی در ژنوتیپ‌های نخود در طول سه هفته متوالی، ( $p \leq 0.05$ )

Fig. 4. Effects of  $\text{NaCl}$  levels ( $0, 8, 12 \text{ dS.m}^{-1}$ ) on relative water content in chickpea genotypes during three consecutive weeks, ( $p \leq 0.05$ )



شکل ۵- تأثیر کلریدسدیم بر ویژگی‌های مورفولوژیکی و رشد و نمو ژنوتیپ‌های نخود. (a) اثر غلظت شوری  $12 \text{ dS.m}^{-1}$  بر پنج ژنوتیپ نخود در هفته چهارم. اثر غلظت‌های مختلف  $\text{NaCl}$  بر ژنوتیپ MCC760 (b) و ژنوتیپ MCC806 (c) در هفته دوم

Fig. 5.  $\text{NaCl}$  impact on morphology and growth of chickpea genotypes. (a) Effect of  $12 \text{ dS.m}^{-1}$  salinity level on five genotypes of chickpea in 4<sup>th</sup> week. Effect of  $\text{NaCl}$  salinity levels on MCC760 (b) and MCC806 (c) in 2<sup>nd</sup> week

مشابه با نتایج آزمایش حاضر، در مطالعات دیگر که روی گندم، سویا و ذرت انجام شده است، ژنوتیپ‌های MCC544 و MCC760 علاوه بر توانایی بیشتر در جذب و حفظ آب، متabolیت‌های تولیدی و ذخیره‌ای بیشتری داشته و احتمالاً از سازگاری اسمنزی بالاتر و تحمل بیشتری نسبت به شوری (Bayoumi *et al.*, 2010) برخوردار بودند. از سوی دیگر ژنوتیپ MCC806 به دلیل بیشترین آسیب، حساس‌تر از چهار ژنوتیپ دیگر ارزیابی شد. از سوی Mehrjerdi *et al.*, Kafi *et al.*, (2011) و (2011) در محیط هیدروپونیک و با حذف اثر خاک انجام گرفته است، اما با نتایج به دست آمده از این آزمایش تا حدودی مطابقت دارد.

مشابه با نتایج آزمایش حاضر، در مطالعات دیگر که روی نسبی آب برگ بالاتری داشتند (Bayoumi *et al.*, 2010; Figueiredo *et al.*, 2001; Galle *et al.*, 2002; Moussa & Abdel-Aziz, 2008; Sairam *et al.*, 2005)

به طور کلی، نتایج مبین آن بود که ارزیابی تحمل به تنش شوری بر اساس خصوصیات فیزیولوژیک در هفته سوم و بر مبنای ویژگی‌های مورفو‌لولوژیک در هفته چهارم مناسب‌تر می‌باشد، اما جهت تشخیص دقیق‌تر، بررسی نشانگرهای بیوشیمیایی به ویژه در گیاه‌چهه‌های دو یا سه هفتگی ضروری به نظر می‌رسد، چراکه طبق گزارش‌های مختلف، نخود در مرحله گله‌ی حلقه‌ی حساسیت بیشتری داشته و اختلافات بین Ganjeali & Kafi, (2007) نمایان خواهد شد.

#### منابع

- Ahmed, S., Nawata, E., Hosokawa, M., Domae, Y., and Sakuratani, T. 2002. Alterations in photosynthesis and some antioxidant enzymatic activities of mungbean subjected to waterlogging. Plant Science 163: 117-123.
- Ashraf, M., and Harris, P. 2004. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. Plant Science 166: 3-16.
- Bayoumi, T., Eid, M.H., and Metwali, E. 2010. Application of physiological and biochemical indices as a screening technique for drought tolerance in wheat genotypes. African Journal of Biotechnology 7: 2341-2352.
- Beck, E.H., Fettig, S., Knake, C., Hartig, K., and Bhattacharai, T. 2007. Specific and unspecific responses of plants to cold and drought stress. Journal of Biosciences 32: 501-510.
- Bibi, N., Hameed, A., Ali, H., Iqbal, N., Haq, M., Atta, B., Shah, T., and Alam, S. 2009. Water stress induced variations in protein profiles of germinating cotyledons from seedlings of chickpea genotypes. Pakistan Journal of Botany 41: 731-736.
- Bray, E.A. 1997. Plant responses to water deficit. Trends in Plant Science 2: 48-54.
- Chauhan, Y. 1987. Screening for tolerance to salinity and waterlogging: case studies with pigeonpea and chickpea. In: Consultants' Workshop: Adaptation of Chickpea and Pigeonpea to Abiotic Stresses, 19-21 Dec 1984, ICRISAT, India.
- de Silva, M., Purcell, L.C., and King, C.A. 1996. Soybean petiole ureide response to water deficits and decreased transpiration. Crop Science 36: 611-616.
- Dhingra, H.R. 2007. Salinity mediated changes in yield and nutritive value of chickpea (*Cicer arietinum* L.) seeds. Indian Journal of Plant Physiology 12: 271-275.
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., and Basra, S. 2009. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. Sustainable Agriculture 29(1): 153-188.
- Figueiredo, M.V.B., Bezerra-Neto, E., and Burity, H.A. 2001. Water stress response on the enzymatic activity in cowpea nodules. Brazilian Journal of Microbiology 32: 195-200.
- Galle, A., Csiszár, J., Tari, I., and Erdei, L. 2002. Changes in water and chlorophyll fluorescence parameters under osmotic stress in wheat cultivars. Acta Biologica Szegediensis 46: 85-86.
- Ganjeali, A., and Kafi, M. 2007. Genotypic differences for allometric relationships between root and shoot characteristics in chickpea (*Cicer arietinum* L.). Pakistan Journal of Botany 39: 1523-1531.
- 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.
- Guerfel, M., Baccouri, O., Boujnah, D., Chaïbi, W., and Zarrouk, M. 2009. Impacts of water stress on gas exchange, water relations, chlorophyll content and leaf structure in the two main Tunisian olive (*Olea europaea* L.) cultivars. Scientia Horticulturae 119: 257-263.

16. Gunes, A., Cicek, N., Inal, A., Alpaslan, M., Eraslan, F., Guneri, E., and Guzelordu, T. 2006. Genotypic response of chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars to drought stress implemented at pre-and post-anthesis stages and its relations with nutrient uptake and efficiency. *Plant Soil and Environment* 52: 368-376.
17. Kafi, M., Bagheri, A., Nabati, J., Zare Mehrjerdi, M., and Masomi, A. 2011. Effect of salinity on some physiological variables of 11 chickpea genotypes under hydroponic conditions. *Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture-Isfahan University of Technology* 1: 55-70.
18. Kalefetoglu Macar, T., Turan, O., and Ekmekci, Y. 2009. Effect of water deficit induced by PEG and NaCl on chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivar and lines at early seedling stage. *Gazi University Journal of Science* 22: 5-14.
19. Kumaga, F., Adiku, S., and Ofori, K. 2003. Effect of post-flowering water stress on dry matter and yield of three tropical grain legumes. *International Journal of Agriculture and Biology* 4: 405-407.
20. Lage-Pinto, F., Oliveira, J.G., Da Cunha, M., Souza, C.M.M., Rezende, C.E., Azevedo, R.A., and Vitoria, A.P. 2008. Chlorophyll *a* fluorescence and ultrastructural changes in chloroplast of water hyacinth as indicators of environmental stress. *Environmental and Experimental Botany* 64: 307-313.
21. Lichtenthaler, H.K., and Buschmann, C. 2001. Chlorophylls and carotenoids: Measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. pp. F4.3.1-F4.3.8). New York John Wiley and Sons.
22. Maliro, M.F.A., McNeil, D., Kollmorgen, J., Pittock, C., and Redden, R. 2004. Screening chickpea (*Cicer arietinum* L.) and wild relatives germplasm from diverse country sources for salt tolerance. The 4<sup>th</sup> International Crop Science Congress, Brisbane, Queensland, Australia.
23. Mehrjerdi, M.Z., Nabati, J., Masomi, A., Bagheri, A., and Kafi, M. 2011. Evaluation of tolerance to salinity based on root and shoot growth of 11 drought tolerant and sensitive chickpea genotypes at hydroponics conditions. *Iranian Journal of Pulses Research* 2: 83-96.
24. Mensah, J., Obadoni, B., Eruotor, P., and Onome-Irieguna, F. 2009. Simulated flooding and drought effects on germination, growth, and yield parameters of sesame (*Sesamum indicum* L.). *African Journal of Biotechnology* 5: 1249-1253.
25. Millan, T., Clarke, H.J., Siddique, K.H.M., Buhariwalla, H.K., Gaur, P.M., Kumar, J., Gil, J., Kahl, G., and Winter, P. 2006. Chickpea molecular breeding: New tools and concepts. *Euphytica* 147: 81-103.
26. Moussa, H.R., and Abdel-Aziz, S.M. 2008. Comparative response of drought tolerant and drought sensitive maize genotypes to water stress. *Australian Journal of Crop Science* 1: 31-36.
27. Mudgal, V., Madaan, N., Mudgal, A., and Mishra, S. 2009. Changes in growth and metabolic profile of chickpea under salt stress. *Journal of Applied Biosciences* 23: 1436-1446.
28. Munns, R., and Tester, M. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annu Rev Plant Biol* 59: 651-681.
29. Okcu, G., Kaya, M.D., and Atak, M. 2005. Effects of salt and drought stresses on germination and seedling growth of pea (*Pisum sativum* L.). *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 29: 237-242.
30. Prochazkova, D., Sairam, R., Srivastava, G., and Singh, D. 2001. Oxidative stress and antioxidant activity as the basis of senescence in maize leaves. *Plant Science* 161: 765-771.
31. Sairam, R., Srivastava, G., Agarwal, S., and Meena, R. 2005. Differences in antioxidant activity in response to salinity stress in tolerant and susceptible wheat genotypes. *Biologia Plantarum* 49: 85-91.
32. Saxena, N.P., Krishnamurthy, L., and Johansen, C. 1993. Registration of a drought-resistant chickpea germplasm. *Crop Science* 33: 1424-1424.
33. Simkin, A.J., Moreau, H., Kuntz, M., Pagny, G., Lin, C., Tanksley, S., and McCarthy, J. 2008. An investigation of carotenoid biosynthesis in *Coffea canephora* and *Coffea arabica*. *Journal of Plant Physiology* 165: 1087-1106.
34. Singh, K. 1987. Chickpea Breeding, In: M.C. Saxena and K.B Singh (Eds). *The Chickpea*. CAB International, Wallingford, UK. p. 127-162.
35. Singh, K. 1993. Chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Field Crops Research* 53: 161-170.
36. Soussi, M., Lluch, C., Ocana, A., and Norero, A. 1999. Comparative study of nitrogen fixation and carbon metabolism in two chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars under salt stress. *Journal of Experimental Botany* 50: 1701-1708.
37. Szabolcs, I. 1989. Salt-affected Soils. CRC Press (Boca Raton, Fla.). p. 274.
38. Tawfik, K. 2008. Effect of water stress in addition to potassium application on mungbean. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences* 2: 42-52.
39. Terzi, R., and Kadioglu, A. 2006. Drought stress tolerance and the antioxidant enzyme system. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* 48: 89-96.

40. Toker, C., Lluch, C., Tejera, N.A., Serraj, R., and Siddique, K.H.M. 2007. Abiotic stresses. In: S.S. Yadav, R. Redden, W. Chen, and B. Sharma (Eds.). *Chickpea Breeding and Management* pp. 474-496. CABI, Wallingford, UK.
41. Vadez, V., Krishnamurthy, L., Serraj, R., Gaur, P., Upadhyaya, H., Hoisington, D., Varshney, R., Turner, N., and Siddique, K. 2007. Large variation in salinity tolerance in chickpea is explained by differences in sensitivity at the reproductive stage. *Field Crops Research* 104: 123-129.
42. Yokoi, S., Bressan, R.A., and Hasegawa, P.M. 2002. Salt stress tolerance of plants. *JIRCAS Working Report* 23: 25-33.

## **Trend of changes for morpho-physiological characteristics of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under salinity stress (NaCl) condition**

Arefian<sup>1\*</sup>, M., Vessal<sup>2</sup>, S., Bagheri<sup>3</sup>, A. and Ganjeali<sup>4</sup>, A.

1. MSc. Department of Biotechnology, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran
2. Contribution from Research Center for Plant Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Iran
3. Department of Biotechnology, College of Agriculture, & Research Center for Plant Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Iran
4. Department of Biology, College of Sciences, & Research Center for Plant Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Iran

Received: 29 December 2012

Accepted: 23 August 2013

### **Abstract**

Salinity is one of the most important widespread abiotic stresses which causes toxic and nutritional effects as well as loss of water absorption ability by plants. Plants respond to salinity with morphological changes. Due to high susceptibility of chickpea to salt stress, some physiological and morphological responses occur following the stress in this plant. Thus, different concentrations of salt stress (0, 8, 12 dS.m<sup>-1</sup>) impacts on morphophysiological characteristics were studied in candidate chickpea genotypes; a factorial experiment in a completely randomized design was performed with three replications and four sampling times of one week interval. The results indicated that the most tolerant and susceptible genotype to salinity were MCC760 and MCC806, respectively. By increasing the concentration of sodium chloride at week 4, root dry weight to shoot dry weight ratio increased 0.8 and 2 folds in these genotypes but root dry weight decreased 1.7 and 4 folds. At high stress level (12 dS.m<sup>-1</sup>), MCC760 genotype had not only the more photosynthetic pigments (including chlorophyll a, b and carotenoids) but also the rate was less in which its chlorophyll stability index (75%) was significantly higher than the others, indicating more than 30% significant differences compared with MCC806. The third week determined as more appropriate time to compare the physiological parameters in which MCC760 and MCC806 genotypes with 1.8 and 3.4 folds had significant difference and lowest relative water content. Overall, the data showed that MCC760 was the most tolerant genotype in response to salinity in this study and also the appropriate time for tolerant assessment were 4<sup>th</sup> and 3<sup>rd</sup> weeks after sowing based on Morphological and physiological parameters, respectively.

**Key words:** Chickpea, Pigments, Relative water content, Root, Salinity, Shoot

\*Corresponding Author: arefian.m@gmail.com

## آزمون‌های زیستی و مولکولی گیاه نخود تراریخته (Cicer arietinum L.) مقاوم به آفت پیله‌خوار (Helicoverpa armigera Hub.)

پرویز عبادی باباجان<sup>۱</sup>، نسرین مشتاقی<sup>۲\*</sup>، عبدالرضا باقری<sup>۲</sup>، حسن مرعشی<sup>۳</sup> و سعید ملک‌زاده شفارودی<sup>۴</sup>

۱- کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۲- اعضای هیئت علمی گروه بیوتکنولوژی و بهنژادی گیاهی دانشکده کشاورزی، پژوهشکده فناوری زیستی و پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد

۳- عضو هیئت علمی گروه بیوتکنولوژی و بهنژادی گیاهی دانشکده کشاورزی و پژوهشکده فناوری زیستی دانشگاه فردوسی مشهد

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۰۲/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۲/۲۱

### چکیده

آفت پیله‌خوار یکی از عوامل اصلی کاهش عملکرد نخود محسوب می‌شود و انتقال ژن با هدف افزایش مقاومت به این آفت، از اهداف اصلاحی در این گیاه زراعی می‌باشد. یکی از راهبردهای مؤثر برای تولید نخود تراریخته مقاوم به آفت پیله‌خوار، استفاده از سوم طبیعی Cry از باکتری *Bacillus thuringiensis* است. این سوم قادرند در معده حشرات فعال شده و سیستم گوارشی حشره را مختل نمایند. در مطالعه حاضر بررسی ثبات حضور ژن *cryIAc* و بیان آن در نسل‌های سوم (T3) و چهارم (T4) حاصل از نسل دوم نخود تراریخته با ژن *cryIAc* و ژن گزینشگر *nptII* انجام شد تا بتوان به لاینی دست یافته که تنها حاوی ژن *cryIAc* بوده و ژن *nptII* بر اثر نوترکیبی بین دو *T-DNA* از آن تفکیک شود. آزمون PCR از بین ۲۵ نمونه مشکوک در نسل سوم به وجود ژن *cryIAc* در عمورد باند مربوط به ژن *cryIAc* و باند مربوط به ژن *nptII* را در تمامی نمونه‌ها نشان داد، ولی از بین این نمونه، در آزمون RT-PCR در ۵۰ مورد ژن *cryIAc* در سطح RNA بیان شد. نتایج PCR در طی نسل چهارم حاکی از وجود باند مربوط به ژن *cryIAc* در ۷۳ مورد و باند مربوط به ژن *nptII* در ۱۸ مورد از ۹۴ مورد بود. در ۰ نمونه از گیاهان تراریخته که حاوی ژن *nptII* بودند، باند مربوط به ژن *nptII* مشاهده نگردید که این نشان دهنده آن بود که ژن *cryIAc* از ژن *nptII* تفکیک شده است. نتایج آزمون RT-PCR نیز نشان داد که ژن موردنظر در همه گیاهان تراریخته، در سطح RNA بیان شده است. همچنین نتایج آزمون الیزا نشان داد که در تمام نمونه‌های موردنظر آزمون، پرتوئین *Cry1Ac* در لاینهای مختلف در غلظت‌های متفاوتی بیان شده است. در آزمون زیست‌سنگی، لاروهایی که با برگ گیاهان غیرتراریخته تغذیه شدند، همگی زنده ماندند، اما در مقابل لاروهایی که با برگ گیاهان تراریخته نسل T4 تغذیه شدند، همگی به طور کامل از بین رفتند که این امر نشان دهنده بروز موققیت‌آمیز فوتیپ مورد انتظار می‌باشد.

**واژه‌های کلیدی:** آفت پیله‌خوار، نخود تراریخته، *cryIAc*, Bt

### میزان خسارت آفت پیله‌خوار نخود در سطح جهانی سالانه

بالغ بر ۳۲۵ میلیون دلار تخمین زده شده است (Popelka & Higgins, 2007)، لذا افزایش مقاومت در برابر این آفت می‌تواند سبب بهبود عملکرد این گیاه در نواحی کاشت آن شود. یکی از راهبردهای مؤثر برای تولید نخود تراریخته مقاوم به آفت پیله‌خوار، استفاده از سوم طبیعی Cry از باکتری *Bacillus thuringiensis* است. این سوم قادرند در معده حشرات، فعال شده و سیستم گوارشی حشره را مختل نمایند. تلاش‌های متعددی برای انتقال انواع ژن‌های *cry* به گیاهان زراعی جهت ایجاد مقاومت به انواع آفات حشره‌ای انجام شده است و تعدادی از گیاهان Bt هم‌اکنون در سطح وسیعی در کشورهای مختلف نظری هند، چین، ایالات متحده، اسپانیا، کانادا، استرالیا، پرتغال، چک، لهستان، اسلواکی، رومانی و بزریل

### مقدمه

تنش‌های زیستی نظری آفت پیله‌خوار، از عوامل اصلی کاهش عملکرد نخود محسوب می‌شوند. اصلاح نخود از طریق روش‌های مرسوم مشابه با سایر گیاهان با صرف هزینه و زمان زیادی انجام می‌شود و در برخی مواقع بهدلیل فقدان ژن‌های مطلوب در خزانه ژرمپلاسم و عدم تلاقی بین‌گونه‌ای، با محدودیت‌هایی مواجه است. لذا به نظر می‌رسد بتوان با استفاده از تلفیق روش‌های نوین کشت این‌ویترو و مهندسی ژنتیک، موانع موجود در روش‌های اصلاحی کلاسیک را از میان برداشته و فرایندهای اصلاحی را سرعت بخشید (Bajaj, 1990).

\* نویسنده مسئول: مشهد، میدان آزادی، دانشگاه فردوسی، دانشکده کشاورزی، moshtagh@um.ac.ir گروه بیوتکنولوژی و بهنژادی گیاهی،

انجام شد. جوانه‌زنی بذور در داخل پتری دیش در شرایط آزمایشگاهی انجام گرفت. بعد از جوانه‌زنی، بذور به گلستان‌های کوچک انتقال داده شدند. بعد از ۲۰ روز، نمونه برگی از هر کدام از بوته‌ها برای استخراج RNA و DNA و پروتئین تهیه شدند و درون میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی‌لیتری قرار داده شده و در فریزر با دمای -۸۰°C نگهداری شدند.

## استخراج DNA و انجام PCR

استخراج DNA با استفاده از کیت استخراج DNA (Fermentas #K0512) طبق دستورالعمل شرکت سازنده از بافت برگی فریبزشده صورت گرفت. پس از هر استخراج، کمیت و کیفیت DNA را نیومی با نانودرایپ و الکتروفوروز بر روی ژل آگارز تعیین شد. جهت تأیید وجود ژن *cryIAC* و *nptII* در گیاه، واکنش زنجیره‌ای پلی مراز با استفاده از آغازگرهای ژن *nptII* و *cryIAC* انجام شد (جدول ۱). تعداد چرخه‌های انجام گرفته برای ژن *cryIAC* ۳۵ چرخه و حجم نهایی واکنش ۵ میکرولیتر در نظر گرفته شد. واسرشت‌سازی اولیه برای هر ۲۵ دو ژن، در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه و در ۳۵ چرخه بعدی به مدت یک دقیقه انجام شد. دمای اتصال برای آغازگر ۵۴ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۹۰ ثانیه و برای ژن *nptII* ۵۱ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۶۰ ثانیه در نظر گرفته شد. مرحله پلیمیریزاسیون در دمای ۷۷ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۱۲۰ ثانیه برای ژن *cryIAC* و ۹۰ ثانیه برای ژن *nptII* در تمام چرخه‌ها و ۱ دقیقه برای چرخه نهایی انتخاب شد. در ضمن برای تأیید نسبت تفکیک ژن *cryIAC* از آزمون کای مربع در نسل چهارم استفاده گردید.

## استخراج RNA و انجام RT-PCR

برای استخراج RNA از کیت Fast Pure™ RNA (TaKaRa) در نسل سوم و کیت استخراج RNA دنایزیست (#S1020) در نسل چهارم استفاده شد. مقدار ۵۰ میلی گرم از بافت برگ فریزشده توسط هاون عاری از RNase (اتوکلاو شده و شستشو با آب depsi) به خوبی ساییده شد و بقیه مراحل طبق دستورالعمل کیت شرکت سازنده انجام گرفت. پس از هر استخراج، کمیت و کیفیت RNA را استخراج شده با نانودرآپ و الکتروفورز بر روی ژل آگارز تعیین شد. نمونه های RNA برای اطمینان از عدم آلودگی، زدایی شدند و PCR نمونه های RNA هیچ باندی را تکثیر ننمود. سپس نسخه برداری معکوس Quantitect Reverse Transcription با استفاده از کیت Revert Aid First Strand (Takara) طی نسل سوم و کیت Quantitect Reverse Transcription با استفاده از کیت Fermentas, K1621 (Fermentas, K1621) طی نسل چهارم در حجم نهایی ۰.۳ میکرو لیتر انجام گردید.

کشت می‌شوند (James, 2011). این گیاهان میزان مصرف آفت‌کش‌ها را کاهش داده و مزایای فراوانی را برای تولیدکننده و مصرف‌کننده بهمراه دارند، ضمن این‌که باعث صرفه‌جویی اقتصادی نیز خواهد شد.

تحقیقان با استفاده از آگروباکتریوم تومی فاشینس bar توانسته‌اند انتقال چندین ژن نشانگر و گزارشگر از جمله *Fontana et al.*, 1993; Krishnamurthy et al., 2000; Chandra & Pental, 2003; Somers et al., 2003; Polowick et al., 2004

را در نخود ردیابی کنند ( *gfp* و *gus* از *apnII* اولین کسانی بودند که *Fontana et al.*, (1993) .(2004 توانستند گیاه نخود تاریخته با ژن *gus* را تولید نمایند. آن‌ها در تحقیق خود از محورهای جنینی به عنوان ریزنمونه و از آگروباکتریوم تومی فاشینس جهت تاریزش استفاده کردند. علاوه بر این، تلاش‌هایی نیز در جهت تولید نخود مقاوم به آفت کرم پیله‌خوار انجام گرفته و با موفقیت همراه بوده است Moshtaghi, 2008; Moshtaghi et al., 2010; Sanyal et al., 2005; Indurker et al., 2007; Acharjee et al., 2010; Mehrotra et al., 2011

در مطالعه Moshtaghی *et al.* (2010) سعی شد تا با انتقال ژن *cry1Ac* به لاینی از نخود Bt دست یابند که بتواند به طور مؤثری باعث کنترل آفت پیله‌خوار در نخود شود و این مطالعات تا نسل دوم گیاهان تراویریخته پیش رفته است. نکته متمایز در بررسی آن‌ها، استفاده از دو ژن گزینشگر *nptII* و ژن عامل تولید پروتئین کریستالی در دو T-DNA‌ی جدای از هم روی پلاسمید آگروباکتریوم می‌باشد. به این ترتیب، علاوه بر انتقال ژن *cry1Ac* می‌توان انتظار داشت که در نسل‌های بعد به لاینی دست یافت که تنها حاوی ژن *cry1Ac* بوده و ژن گزینشگر مقاوم به آنتی‌بیوتیک (*nptII*) بر اثر نوترکیبی بین اب: ده T-DNA حذف شود.

بنابراین می‌توان در نسل‌های بعد که هدف این بررسی نیز می‌باشد به یک لاین مطلوب هموژیگووس از ژن *cryIAc* دست یافت که مشکل ژن‌های مقاومت به آنتیبیوتیک را دارا نیست و نیز باعث کنترل مؤثر آفت پیله‌خوار خواهد شد. لذا در مطالعه حاضر سعی شد ضمن بررسی ثبات حضور ژن *cryIAc* و بیان آن در نسل‌های T3 و T4 بتوان به لاینی دست یافت که تنها حاوی ژن *nptII* بوده و ژن *cryIAc* بر اثر نوترکیبی بین دو آن تفکیک شود.

مواد و روش‌ها

## کشت گیاهان و تهییه نمونه

ضدغونی بذور نخود ترا را خسته مقاوم به آفت پیله خوار در طی نسل سوم و چهارم، در واپتکس ۰/۵ درصد به مدت ۴ دقیقه

به عنوان الگو در واکنش PCR مشابه با قسمت قبل استفاده شد.

میکروگرم RNA ای الگو است. به منظور بررسی بیان ژن در سطح RNA، آزمون RT-PCR با استفاده از cDNA سنتز شده صورت گرفت. بدین منظور cDNA های سنتز شده

**جدول ۱- توالی آغازگر ژن‌های *cryIAc* و *nptII***  
**Table 1. Primer sequences of *cryIAc* and *nptII* genes**

آغازگر Primer	رفت Forward	برگشت Reverse	اندازه محصولات Product size
<i>cryIAc</i>	5'-GACACAATGGACAACAACCCAAA-3'	5'-TCACTGCAGGGATTGAGTAATA-3'	1473 bp
<i>nptII</i>	5'-ATCGGGAGCGGCGATACCGTA-3'	5'-GGCTATTGGCTATGACTG-3'	887 bp

نخود تاریخته در داخل پتری دیش در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار به مدت یک هفته تغذیه شدند. در این آزمون، یک برگ به همراه یک لارو در هر پتری دیش قرار داده شدند. بعد از این مدت میزان مرگ و میر لاروها ثبت گردید.

### نتایج و بحث

#### نتایج کشت گیاهان

در نسل سوم گیاهان تاریخته، تعداد کل بذور حوانه‌زده ۲۵ عدد بود که ارزیابی PCR و RT-PCR در نسل سوم بر روی آن‌ها صورت گرفت. نمونه‌های شاهد نیز برای تکثیر و به دست آوردن بذور کشت شدند. در نسل چهارم، ۱۰۸ عدد بذر حاصل از لاین‌های تاریخته حاوی ژن *cryIAc* و چند گیاه شاهد غیر تاریخته نیز کشت شدند. از این تعداد بذور تاریخته ۴۶ گیاه به مرحله گلدهی رسیدند، ولی ۶۴ گیاه قادر به تولید بذر برای نسل بعدی شدند.

#### نتایج آزمون PCR

از گیاهان حاصل از کشت بذور در نسل سوم، در آزمون PCR در عمود باند مربوط به ژن *cryIAc* مشاهده گردید و

باند مربوط به ژن *nptII* در تمامی نمونه‌ها مشاهده شد.

PCR با آغازگرهای *cryIAc* منجر به تکثیر یک قطعه ۱۴۷۳ جفت بازی (شکل ۱) و با آغازگرهای *nptII* منجر به تکثیر قطعه ۸۸۷ جفت بازی (شکل ۲) شد.

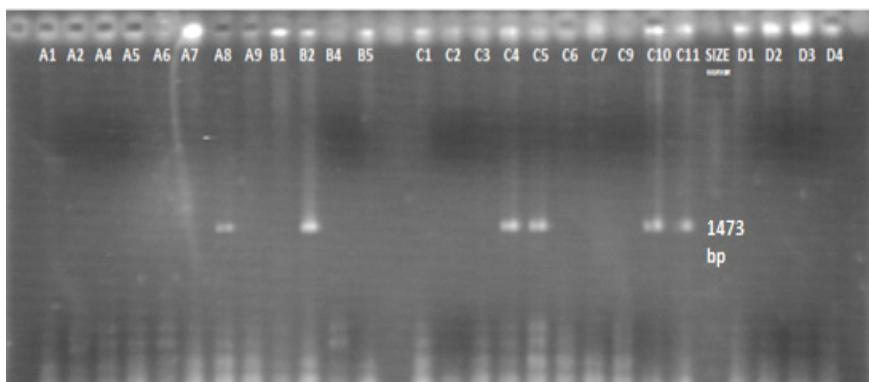
نتایج PCR در طی نسل چهارم حاکی از وجود باند مربوط به ژن *cryIAc* در ۷۳ مورد از ۹۴ مورد (شکل ۳)، و باند مربوط به ژن *nptII* در ۸۱ نمونه از ۹۴ مورد (شکل ۴) بود. در ۱۰ نمونه از گیاهان تاریخته که حاوی ژن *cryIAc* بودند، باند مربوط به ژن *nptII* مشاهده نگردید که این، نشان‌دهنده این مطلب بود که ژن *cryIAc* از ژن *nptII* تفکیک شده است.

#### آزمون ELISA

آزمایش الایزا با استفاده از کیت Krishgene Biosystem KBA005D (#) صورت گرفت. بدین منظور، از محلول استخراج پروتئین کیت برای استخراج پروتئین از بافت برگی استفاده شد. با فر استخراج پروتئین به مقدار ۵۰۰ میکرولیتر به همراه بافت برگی در درون میکروتیوب قرار گرفت. سپس با استفاده از یک پستل، بافت برگی به صورت دستی کاملاً له شد. سپس محلول حاصل در دستگاه سانتریفیوژ در ۲۰۰ دور و به مدت ۲ دقیقه قرار گرفت. بعد از آن، محلول رویی که حاوی پروتئین کل بود برداشته شد. بعد از استخراج پروتئین، انجام آزمون الایزا با استفاده از آنتی‌بادی‌های اختصاصی Cry1Ac طبق دستورالعمل کیت شرکت سازنده انجام گرفت. در نهایت چگالی نوری (جذب نور) چاهک‌ها در ۴۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. ارزیابی نتایج با مشاهده تغییر رنگ چاهک از بی‌رنگ به رنگ زرد و یا اندازه‌گیری میزان جذب در محدوده طول موج ۴۵۰ نانومتر با استفاده از دستگاه الایزاخوان (Stat Fax 2100, Awarness Tech. Inc, USA) صورت گرفت.

#### ارزیابی زیستی

برای تأیید تأثیر بیان پروتئین Bt بر رشد لارو آفت پیله‌خوار در گیاهان تاریخته نسل چهارم و بروز فنوتیپ مورد نظر، از آزمون زیست‌سنگی استفاده شد. بدین منظور از برگ گیاهان شاهد (غیرتاریخته‌های نسل چهارم که حاصل از تفرق یافتن لاین‌های تاریخته نسل سوم بودند) و تاریخته‌های نسل چهارم استفاده گردید. لاین‌های تاریخته‌ای که مورد این آزمون قرار گرفتند شامل ۴E11، 4E15، 4E30 و 4D7 بودند. برای این آزمون، از لاروهای یک تا دوروزه که از مزرعه دانشگاه فردوسی مشهد جمع‌آوری شده بودند، استفاده شد. لاروهای از جمی آوری به آزمایشگاه انتقال داده شدند. لاروهای توسط برگ‌های تازه نخود غیرتاریخته به عنوان شاهد و برگ‌های تازه

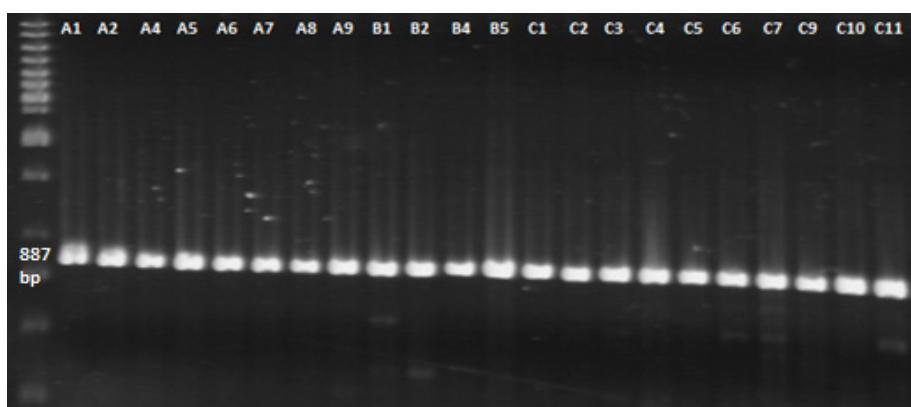


شکل ۱- تکثیر قطعه ۱۴۷۳ جفت بازی مربوط به ژن سوم *cry1Ac* در نسل سوم گیاهان تراریخته

(چاهک‌های مختلف، لاین‌های تراریخته هستند که بذور به دست آمده از یک گیاه با حرف لاتین مشترک نشان داده شده‌اند).

**Fig. 1. Amplified 1473 bp *cry1Ac* gene by PCR in T3 generation of transgenic plants**

(Different wells show the transgenic lines which the common alphabet indicated the all seeds from one plant)



شکل ۲- تکثیر قطعه ۸۸۷ جفت بازی مربوط به ژن سوم *nptII* در نسل سوم گیاهان تراریخته

(چاهک‌های مختلف، لاین‌های تراریخته هستند که بذور به دست آمده از یک گیاه با حرف لاتین مشترک نشان داده شده‌اند).

**Fig. 2. Amplified 887 bp *cry1Ac nptII* by PCR in T3 generation of transgenic plants**

(Different wells show the transgenic lines which the common alphabet indicated the all seeds from one plant)

مشاهده گردید؛ و به بیان دیگر در همه گیاهان تراریخته، ژن موردنظر در سطح RNA بیان شده است (شکل ۵-۶).

#### نتایج آزمون ELISA

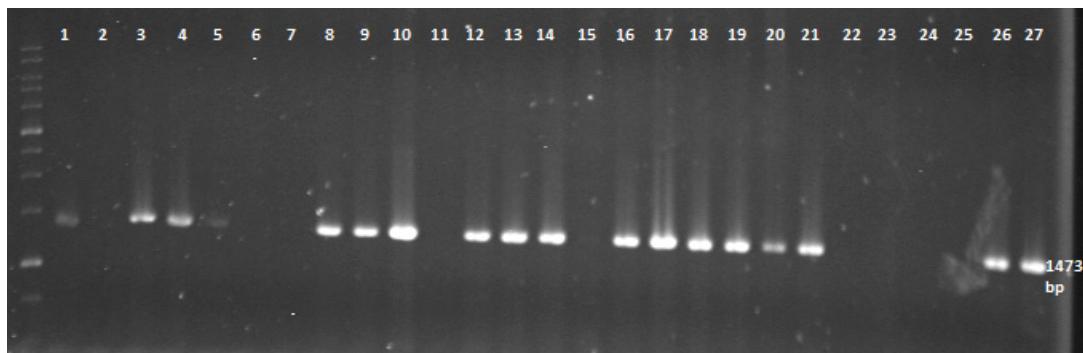
آزمون ELISA به منظور تأیید بیان پروتئین Cry1Ac در گیاهانی که دارای ژن این پروتئین بودند، صورت گرفت. پس از انتقال میزان برابر از پروتئین کل به درون چاهک‌ها، انتظار می‌رفت که تغییر رنگ ناشی از وجود پروتئین مربوطه، و با اندازه‌گیری میزان جذب نوری در طول موج ۴۵۰-۴۵۰ نانومتر با استفاده از دستگاه الایزاخوان میزان بیان پروتئین Cry1Ac در گیاهان تراریخته را مشخص کند. همان‌طوری که انتظار می‌رفت، تغییر رنگ متمایل به زرد در چاهک‌ها مشاهده شد (شکل ۶).

نتایج حاصل از PCR نشان داد که تفکیک ژن *cry1Ac* با نسبت ۳:۱ در نسل چهارم صورت گرفته است. آزمون کای مربع این نسبت را تأیید نمود (جدول ۲).

#### نتایج RT-PCR

از بین عنمونه موجود در نسل سوم که دارای ژن *cry1Ac* بودند، در آزمون RT-PCR معمولی، در ۵ مورد قطعه ۱۴۷۳ جفت بازی مربوط به ژن *cry1Ac* تکثیر شد و بر روی ژل آگارز ۱ درصد باند مربوطه مشاهده گردید (شکل ۵-a-۵).

در طی نسل چهارم از ۷۳ نمونه‌ای که در آزمون PCR دارای ژن *cry1Ac* بودند، استخراج RNA صورت گرفت. پس از ساخت cDNA، آزمون RT-PCR با استفاده از آغازگر ژن *cry1Ac* به عمل آمد. نتایج آزمون RT-PCR نشان داد که در همه نمونه‌ها باند مربوطه مشاهده شد و قطعه ۱۴۷۳ جفت بازی

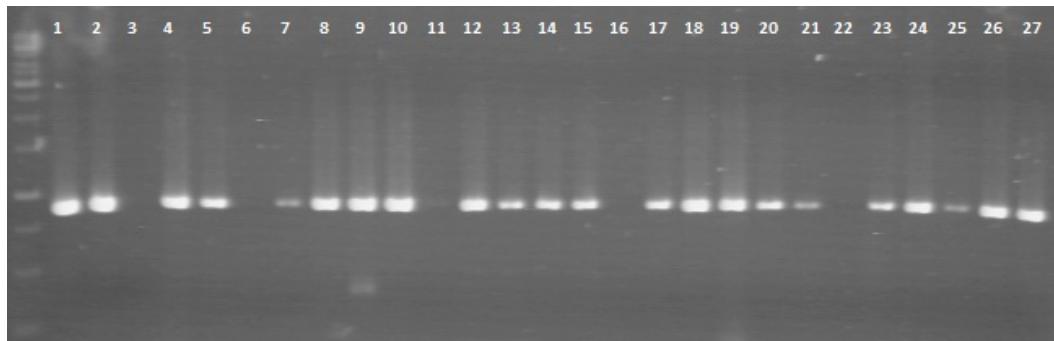


شکل ۳- تکثیر قطعه ۱۴۷۳ جفت بازی مربوط به ژن *cry1Ac* در نسل چهارم گیاهان تراریخته

**Fig. 3. Amplified 1473 bp *cry1Ac* gene by PCR in T4 generation of transgenic plants**

The number well from left to right are, respectively:

4A1-4A2-4A3-4A4-4A5-4A6-4A7-4A8-4A9-4A10-4A11-4A12-4A13-4A14-4A15-4A16-4A17-4A18-4A19-4B1-4B2-4B3-4B4-4C1-4C2-4C3-4C4



شکل ۴- تکثیر قطعه ۸۸۷ جفت بازی مربوط به ژن *nptII* در نسل چهارم گیاهان تراریخته

**Fig. 4. Amplified 1473 bp *nptII* gene in PCR in T4 generation of transgenic plants**

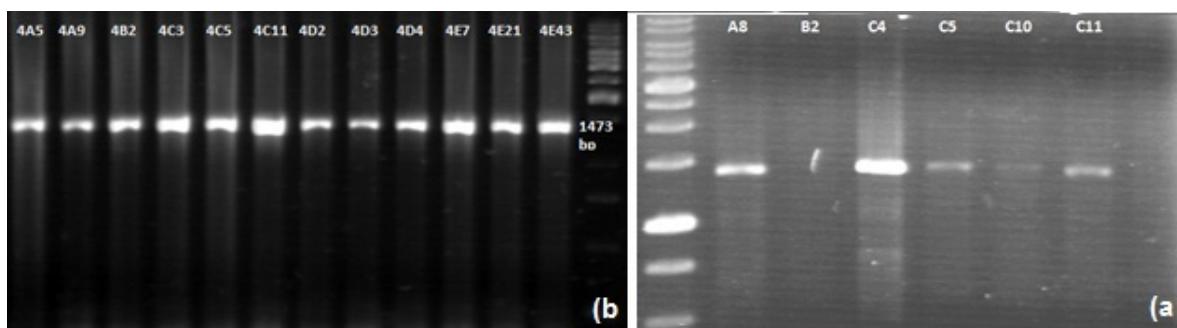
The number well from left to right are, respectively:

4A1-4A2-4A3-4A4-4A5-4A6-4A7-4A8-4A9-4A10-4A11-4A12-4A13-4A14-4A15-4A16-4A17-4A18-4A19-4C1-4C2-4C3-4C4-4C5-4C6-4C7-4C8

جدول ۲- برآورد نسبت حضور ژن *cry1Ac* در نسل چهارم

**Table 2. The estimation of the presence ratio of *cry1Ac* gene in the T4 transgenic plants**

نسل Generation	تعداد کل گیاهان Total plants	مدل Model	فرابانی مشاهدات و مورد انتظار Frequency of observed and expected				$\chi^2$
			مشاهدات Obs.	حضور ژن <i>cry1Ac</i> Presence of <i>cry1Ac</i>	عدم حضور ژن <i>cry1Ac</i> Absence of <i>cry1Ac</i>		
T4	94	3:1	مشاهدات Obs. مورد انتظار Exp.	73 70.5	21 23.5	0.184 <sup>ns</sup>	



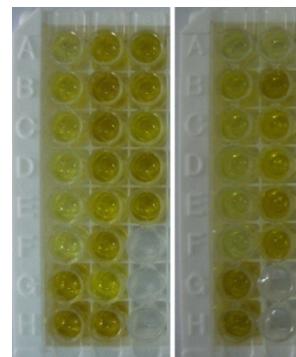
شکل ۵- a: تکثیر قطعه جفت بازی ۱۴۷۳ در آزمون *cry1Ac* در نسل سوم گیاهان تراریخته؛ b: تکثیر قطعه جفت بازی ۱۴۷۳ در آزمون *cry1Ac* در نسل چهارم گیاهان تراریخته

**Fig. 5. a: Amplified 1473 bp *cry1Ac* gene by RT-PCR in T3 generation of transgenic plants; b: T4 generation of transgenic plants**

لاین‌های مختلف گیاهان تاریخته از ۲۴ نانوگرم بر گرم بافت تا تقریباً ۱۰۰ نانوگرم بر گرم بافت متفاوت بوده است.

نتایج ارزیابی زیستی

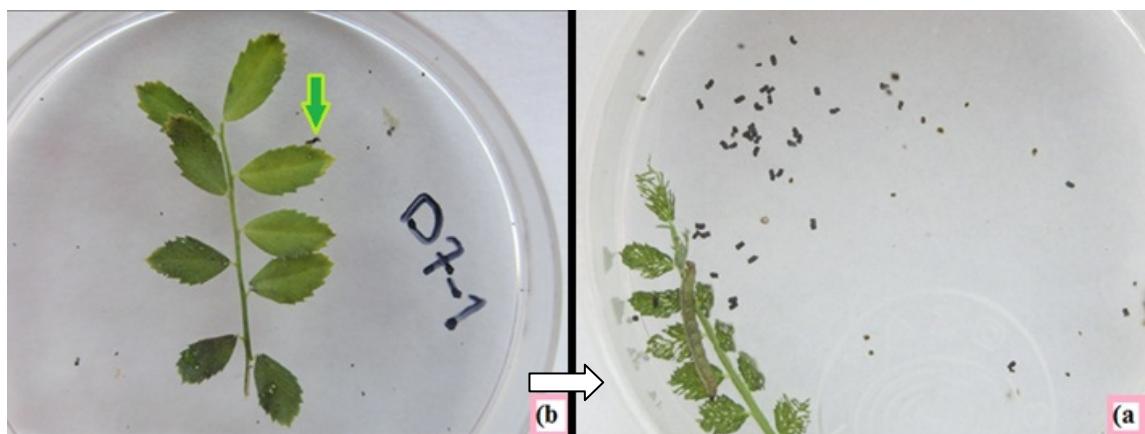
طی نسل چهارم گیاهان تاریخته، ارزیابی زیستی با لارو یک تا دوروزه از آفت پیله خوار در سه تکرار در مقایسه با گیاهان غیرتاریخته حاصل از تفرق گیاهان تاریخته نسل سوم انجام گرفت. نتایج آزمون زیست-سنجدی حاکی از آن بود که تمام لاروهایی که با برگ گیاهان غیرتاریخته به عنوان نمونه شاهد تغذیه شدند، زنده ماندند (شکل a-۷) اما در مقابل ۱۰۰ ادرصد لاروهایی که با برگ گیاهان تاریخته تغذیه شدند، از بین رفتند (شکل b-۷) که این امر، نشان دهنده بروز موفقیت‌آمیز فنوتیپ مورد انتظار بوده است.



شکل ۶- رنگ متمایل به زرد در چاهک‌های مربوط به آزمون الایزا

**Fig. 6. Yellow color of the well associated with the ELISA test**

بر اساس نتایج الایزا، در تمام نمونه‌های مورد آزمون،  
پروتئین Cry1Ac بیان شده است. مقدار بیان این پروتئین در



**شکل ۷- تغذیه لارو آفت پیله خوار از a: برگ گیاهان غیرتاریخته و زنده‌ماندن لارو (فلش، محل لارو رشدیافتہ را بر روی برگ نشان می‌دهد؛ b: برگ گیاهان تاریخته و مرگ لارو (فلش، محل لارو مردہ را نشان می‌دهد)**

**Fig. 7.** Feeding pod borer larvae of: a) leave of non-transgenic plant and survived larvae (Arrow shows the survived larvae); b) leave of transgenic plant and dead larvae (Arrow shows the dead larvae)

غیرتاریخته مشاهده شد. همگام با کاهش رشد، تولید دانه نیز کاهش یافت. اما در لاین‌های با بیان پروتئینی کم، کاهش رشد دانه در مقایسه با لاین‌های مادری، تفاوت زیاد قابل توجهی نداشت. اندازه دانه‌ها در بین لاین‌ها تفاوت زیاد معنی‌داری را نشان نمی‌داد (Acharjee *et al.*, 2010). البته مطالعات دیگر نشان داده است که لاین‌های تاریخته می‌توانند افزایش تولید داشته باشند. در مطالعه مربوط به لاین‌های تاریخته برنج با ژن‌های پیشرفته در مقایسه با گیاهان غیرتاریخته بیش از ۴۰ درصد بذر تولید کردند و همه این ویژگی‌ها در نسل‌های پیشرفته به اثر رسیده بودند (Rahman *et al.*, 2007).

علت تفاوت در میزان خسارت در آزمایشات مربوط به آزمایشگاه و مزرعه شاید به دلیل سن گیاه و همچنین قسمت‌های مختلف گیاه باشد (Kranthi *et al.*, 2005). گزارش‌ها نشان می‌دهد تاریختگی موجب رسیدگی زودتر و یا دیرتر می‌شود (Jiang *et al.*, 2000). علت این تنوع مورفولوژیکی احتمالاً به Larkin & Scowcroft (1981)، تفکیک ژن‌های گیاهی به دلیل واردشدن ژن جدید یا جهش (Lijsebettens *et al.*, 1991)، پلیوتربپی و یا خاموشی ژن القایی (Metzke *et al.*, 2000) و یا بیان بالای پروتئین Cry (Gahakwa *et al.*, 2000) نسبت داد که از بین این‌ها تنوع سوماکلونی محتمل‌تر به نظر می‌رسد، چون زمان بیشتری برای تولید گیاهان تاریخته در روش کشت بافت صرف می‌شود و طولانی‌شدن زمان کشت بافت فراوانی تنوع سوماکلونی را در پی دارد (Kaeppeler *et al.*, 2000).

افزایش تعداد کپی‌های ترانسکریپت ممکن است باعث ناپایداری یا بی‌ثباتی شده و خاموش‌کردن ژن وابسته به همسانی را ایجاد کند. اما با طراحی دقیق، ممکن است به سطوح بالایی از بیان پروتئین از طریق رونویسی دست یافته (Butaye *et al.*, 2005). برنج تاریخته بیان‌کننده سطح بالای (بیش از ۱۰ درصد پروتئین محلول) پروتئین Cry1Ac و Cry2A، نواقص رشدی و مورفولوژیکی از جمله توقف رشد و عقیمی را نشان داد (Gahakwa *et al.*, 2000). بیان سطوح بالای پروتئین Bt گیاهان، برای محافظت کامل، همیشه مورد نیاز نیست، مقدار کم (کمتر از ۱/۰۰ درصد کل پروتئین محلول) پروتئین Cry1Ab مرگ Wunn *et al.*, 1996 در مطالعه حاضر نیز، با توجه به این که بیان پروتئین Cry1Ac به میزان حدود ۳۲ نانوگرم بر گرم بافت (۲۸/۹) بیان پروتئین Cry1Ac بر میلی‌لیتر پروتئین محلول) باعث کنترل ۱۰۰ درصدی آفت پیله‌خوار شد، به نظر می‌رسد بتوان با بیان پایین این پروتئین نیز آفت را کنترل کرد.

در این بررسی، نتایج حاصل از PCR نشان داد که ژن cry1Ac در گیاه نخود تاریخته به ثبات و پایداری رسیده است. همچنین تفکیک ژن cry1Ac در نسل چهارم نسبت ۳:۱ را نشان داد. میزان انتقال ژن cry1Ac در حدود ۷۶/۷ درصد بود. در بررسی‌های انجام‌شده در نخود، تفکیک ۳:۱ در نسل دوم گیاه تاریخته با ژن cry1Ac مقاوم به آفت پیله‌خوار نیز گزارش شده است (Acharjee *et al.*, 2010). نتایج به دست آمده نشان دادند که دو ژن nptII و cry1Ac در چندین نمونه از هم تفکیک شده‌اند، به طوری که در ۰۰ نمونه که دارای ژن cry1Ac بودند، ژن nptII منتقل نشده است. اما از این تعداد، تنها سه گیاه تولید بذر (متوسط ۵ عدد) نمودند و بذر T5 آن‌ها در اختیار است.

در این تحقیق مشخص شد که گیاه نخود تاریخته، فنوتیپ مورد نظر را آشکار کرد و نشان داد که ژن cry1Ac اثر کشندگی بالایی بر روی لاروهای آفت پیله‌خوار دارد و باعث مرگ‌ومیر ۱۰۰ درصدی لاروهای این آفت شد. مطالعه بر روی تأثیر سوموم Bt و گیاهان تاریخته Bt نشان می‌دهد که هر کدام از سوموم خانواده Bt تأثیرات متفاوتی بر روی لاروهای مختلف آفات دارند. از میان توکسین‌های Bt، سم Cry1Ac در برابر پیله‌خوار بسیار مؤثر شناخته شده است. پس از آن سوموم Cry2Aa، Cry2Ab و Perlak *et al.*, 1990 تأثیر بیشتری بر روی این آفت دارند (Cry1Aa). ارزیابی زیستی نخود تاریخته با ژن cry2Aa برای مقاومت به آفت پیله‌خوار نخود، داده‌های متفاوتی را نشان داده است، اما در همه لاین‌هایی که بیان پروتئین بالایی داشتند، همه لاروها از بین رفتند (Acharjee *et al.*, 2010). ارزیابی زیستی نخود تاریخته با ژن cry1Ac علیه آفت پیله‌خوار، نشان دهنده مرگ‌ومیر ۷۶ درصدی لارو این آفت بود (Indurker *et al.*, 2010).

در مطالعه حاضر نیز گیاهان نسل سوم، از رشد بسیار خوبی برخوردار بودند، اما میزان بذور تولیدی این گیاهان در مقایسه با گیاهان غیرتاریخته پایین بود. با این حال، اندازه ظاهری بذور تولیدی گیاهان تاریخته با بذور تولیدی گیاهان غیرتاریخته تفاوتی را نشان نمی‌داد. تفاوت فاحشی بین ارتفاع بوته، تعداد غوزه، تعداد روز تا بلوغ، میزان خسارت غوزه و عملکرد متوسط بین خطوط تاریخته و کنترل در گیاه پنجه تاریخته نیز به دو ژن cry2A و cry1Ac مشاهده شد. همچنین رسیدگی سریع‌تر لاین‌های تاریخته نسبت به لاین‌های غیرتاریخته مشاهده شد و همه ویژگی‌ها در نسل‌های پیشرفته به توارث پایدار رسیده بودند (Bakhsh *et al.*, 2009). رشد گیاهان نخود تاریخته دارای ژن cry2Aa طی دو هفته اول، تفاوتی با لاین‌های مادری نشان نمی‌داد که این امر نشان می‌دهد که بیان بالای پروتئین بر سبزشدن و استقرار گیاهان تأثیر ندارد، درحالی که از هفته سوم به بعد کاهش رشد گیاهان تاریخته در مقایسه با گیاهان

منابع

1. Acharjee, S., Sarmah, B.K., Kumar, P.A., Olsen, K., Mahon, R., Moar, W.J., Moore, A., and Higgins, T.J.V. 2010. Transgenic chickpeas (*Cicer arietinum* L.) expressing a sequence-modified *cry2Aa* gene. *Plant Science* 178: 333-339.
2. Bajaj, Y.P.S. 1990. Biotechnology in Agriculture and Forestry 10: Legumes and Oilseed Crops. New Delhi, India. p. 100-113.
3. Bakhsh, A., Rao, A.Q., Shahid, A.A., Husnain, T., and Riazuddin, S. 2009. Insect resistance and risk assessment studies in advance lines of Bt cotton harboring *cry1Ac* and *cry2A* genes. *American Eurasian Jornal of Agricultural and Environmental Science* 6: 1-11.
4. Butaye, K.M.J., Cammue, B.P.A., Delaure, S.L., and De Bolle, M.F.C. 2005. Approaches to minimize variation of transgene expression in plants. *Molecular Breeding* 16: 79-91.
5. Chandra, A., and Pental, D. 2003. Regeneration and genetic transformation of grain legumes: An overview. *Current Science* 84: 381-387.
6. Fontana, G.S., Santini, L., Caretto, S., Frugis, G., and Mariotti, D. 1993. Genetic transformation in the grain legume *Cicer arietinum* L.(chickpea.). *Plant Cell Reports*, 12: 194-198.
7. Gahakwa, D., Maqbool, S.B., Fu, X., Sudhakar, D., Christou, P., and Kohli, A. 2000. Transgenic rice as a system to study the stability of transgene expression: multiple heterologous transgenes show similar behaviour in diverse genetic backgrounds. *TAG Theoretical and Applied Genetics* 101: 388-399.
8. Indurker, S., Misra, H.S., and Eapen, S. 2007. Genetic transformation of chickpea (*Cicer arietinum* L.) with insecticidal crystal protein gene using particle gun bombardment. *Plant Cell Reports* 26: 755-763.
9. Indurker, S., Misra, H., and Eapen, S. 2010. *Agrobacterium*-mediated transformation in chickpea (*Cicer arietinum* L.) with an insecticidal protein gene: optimisation of different factors. *Physiology and Molecular Biology of Plants* 16: 273-284.
10. James, C. 2011. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2011. ISAAA Brief No. 43. ISAAA: Ithaca, NY.
11. Jiang, J., Linscombe, S.D., Wang, J., and Oard, J.H. 2000. Field evaluation of transgenic rice (*Oryza sativa* L.) produced by *Agrobacterium* and particle bombardment methods. In: Plant and Animal Genome VIII Conference (9-12 January, 2000, San Diego, CA, USA). Available from Internet: <http://www.intl-pag.org/8/abstracts/pag8695.html>.
12. Kaeppeler, S.M., Kaeppeler, H.F., and Rhee, Y. 2000. Epigenetic aspects of somaclonal variation in plants. *Plant Molecular Biology* 43: 179-188.
13. Kranthi, K.R., Naidu, S., Dhawad, C., Tatwawadi, A., Mate, K., Patil, E., Bharose, A., Behere, G., Wadaskar, R., and Kranthi, S. 2005. Temporal and intra-plant variability of Cry1Ac expression in Bt-cotton and its influence on the survival of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Noctuidae: Lepidoptera). *Current Cience-Bangalore* 89: 291.
14. Krishnamurthy, K., Suhasini, K., Sagare, A., Meixner, M., De Kathen, A., Pickardt, T., and Schieder, O. 2000. *Agrobacterium* mediated transformation of chickpea (*Cicer arietinum* L.) embryo axes. *Plant Cell Reports* 19: 235-240.
15. Larkin, P.J., and Scowcroft, W. 1981. Somaclonal variation-a novel source of variability from cell cultures for plant improvement. *TAG Theoretical and Applied Genetics* 60: 197-214.
16. Lijsebettens, M., Vanderhaeghen, R., and Montagu, M. 1991. Insertional mutagenesis in *Arabidopsis thaliana*: isolation of a T-DNA-linked mutation that alters leaf morphology. *TAG Theoretical and Applied Genetics* 81: 277-284.
17. Matzke, M.A., Mette, M., and Matzke, A. 2000. Transgene silencing by the host genome defense: implications for the evolution of epigenetic control mechanisms in plants and vertebrates. *Plant Molecular Biology* 43: 401-415.
18. Mehrotra, M., Singh, A.K., Sanyal, I., Altosaar, I., and Amla, D. 2011. Pyramiding of modified *cry1Ab* and *cry1Ac* genes of *Bacillus thuringiensis* in transgenic chickpea (*Cicer arietinum* L.) for improved resistance to pod borer insect *Helicoverpa armigera*. *Euphytica* 182: 87-102.
19. Moshtaghi, N. 2008. Genetic engineering for increasing resistance of chickpea (*Cicer arietinum* L.) to pod borer and freezing stress. Ph.D Dissertation, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad. (In Persian with English Summary).
20. Moshtaghi, N., Bagheri, A., Higgins, T.J., Jalali Javarani, M., and Ghareyazie, B. 2010. Genetic engineering for increasing resistance of chickpea (*Cicer arietinum* L.) to pod borer (*Helicoverpa armigera*). *Iranian Journal of Pulses Research* 1: 65-75. (In Persian with English Summary).
21. Perlak, F.J., Deaton, R.W., Armstrong, T.A., Fuchs, R.L., Sims, S.R., Greenplate, J.T., and Fischhoff, D.A. 1990. Insect resistant cotton plants. *Nature Biotechnology* 8: 939-943.

22. Polowick, P., Baliski, D., and Mahon, J. 2004. *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of chickpea (*Cicer arietinum* L.): gene integration, expression and inheritance. *Plant Cell Reports* 23: 485-491.
23. Popelka, J.C., and Higgins, T.J.V. 2007. Chickpea. In: E.C. Pua and M.R. Davey (Eds.). *Biotechnology in Agriculture and Forestry Vol. 59: Transgenic Crops IV*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
24. Rahman, M., Rashid, H., Shahid, A.A., Bashir, K., Husnain, T., and Riazuddin, S. 2007. Insect resistance and risk assessment studies of advanced generations of basmati rice expressing two genes of *Bacillus thuringiensis*. *Electronic Journal of Biotechnology* 10: 241-251.
25. Sanyal, I., Singh, A.K., Kaushik, M., and Amla, D.V. 2005. *Agrobacterium*-mediated transformation of chickpea (*Cicer arietinum* L.) with *Bacillus thuringiensis cry1Ac* gene for resistance against pod borer insect *Helicoverpa armigera*. *Plant Science* 168: 1135-1146.
26. Schuh, W., Nelson, M.R., Bigelow, D.M., Orum, T.V., Orth, C.E., Lynch, P.T., Eyles, P.S., Blackhall, N.W., Jones, J., Cocking, E.C., and Davey, M.R. 1993. The phenotypic characterisation of R2 generation transgenic rice plants under field conditions. *Plant Science* 89: 69-79.
27. Somers, D.A., Samac, D.A., and Olhoft, P.M. 2003. Recent advances in legume transformation. *Plant Physiology* 131: 892-899.
28. Wunn, J., Kloti, A., Burkhardt, P.K., Biswas, G.C.G., Launis, K., Iglesias, V.A., and Potrykus, I. 1996. Transgenic indica rice breeding line IR58 expressing a synthetic *cry1A (b)* gene from *Bacillus thuringiensis* provides effective insect pest control. *Nature Biotechnology* 14: 171-176.

## **Bioassay and molecular tests of transgenic chickpea (*Cicer arietinum* L.) resistant to *Helicoverpa armigera* Hub.**

**Ebadi Babajan<sup>1</sup>, P., Moshtaghi<sup>2\*</sup>, N., Bagheri<sup>2</sup>, A., Marashi<sup>2</sup>, H. & Malekzadeh-Shafaroudi<sup>2</sup>, S.**

1. MSc. of Agricultural Biotechnology, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad
2. Contributions from Biotechnology and Plant Breeding Department, College of Agriculture and Biotechnology Research Center, Ferdowsi University of Mashhad

Received: 1 May 2012

Accepted: 11 May 2014

### **Abstract**

Pod borer is one of the main causes for yield loss of chickpea. Therefore, breeding of chickpea for resistance to this pest is important. The use of Cry toxin from *Bacillus thuringiensis* is an effective strategy for producing of transgenic resistant chickpea to this pest. These toxins are able to become active in the midgut of larvae and disrupt the insect's digestive system. We studied the stability and expression of cry1Ac gene obtained as T2 transgenic chickpea with cry1Ac gene and nptII gene with binary T-DNA in T3 and T4 generations of transgenic plants and observed the transgenic lines with cry1Ac gene and no nptII gene suggesting that separation between cry1Ac and nptII genes was occurred by recombination between two T-DNAs. In T3, PCR results showed that 6 of 25 putative transgenic plants had cry1Ac gene but all of them showed the nptII gene. From six samples with positive PCR in cry1Ac gene, five of them had positive results in RT-PCR reaction, confirming the expression of cry1Ac gene in transgenic lines. PCR results in T4 plants showed that 73 of 94 plants had cry1Ac gene and 81 of 94 samples included the nptII gene. In 10 samples cry1Ac gene separated from nptII gene. According ELISA results, in all samples tested, Cry1Ac protein was expressed in different concentrations. Bioassay tests showed that all pod borer larvae fed by leaves of transgenic plants, were dead, but all survived when the larvae were fed with leaves of non-transgenic plants. So, expected phenotype was observed successfully.

**Key words:** Bt, Chickpea, cry1Ac, Pod borer, Transgenic

\*Corresponding Author: moshtaghi@um.ac.ir

# بررسی مقاومت ژنوتیپ‌های باقلاء به بیماری لکه‌شکلاتی (*Botrytis fabae* Sard.) در منطقه گرگان

فاطمه شیخ<sup>۱</sup> و حمید دهقانی<sup>۲</sup>

۱ و ۲- به ترتیب، دانشجوی دکتری و دانشیار گروه اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس  
تهران، ایران، صندوق پستی ۳۳۶-۱۴۱۱۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱۱/۱۵  
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۲/۲۵

چکیدہ

بیماری‌های قارچی نظیر بیماری لکه‌شکلاتی (*Botrytis fabae* sard) یکی از مهم‌ترین بیماری‌های گیاه باقلا (*Vicia faba* L.) در مناطق مروط می‌باشد که منجر به کاهش عملکرد باقلا می‌شود. این تحقیق با هدف بررسی مقاومت مزرعه‌ای ژنوتیپ‌های باقلا شامل ۳۶۵ گلابن به همراه رقم شاهد حساس 365 و شاهد محلی (برکت) در برابر بیماری لکه‌شکلاتی در ایستگاه تحقیقات کشاورزی گرگان انجام شد. نتایج تجزیه واریانس حاکی از اختلاف ژنوتیپ‌ها از نظر عملکرد، اجزای عملکرد و صفات مرتبط با مقاومت به بیماری در سطح احتمال یک‌درصد بود. بالاترین عملکرد دانه، ارتفاع بوته و وزن ۱۰۰ دانه به رقم برکت تعلق داشت و ژنوتیپ‌های FLIP03-58FB، FLIP03-35FB و FLIP03-33FB در رتبه‌های بعد قرار گرفتند. به منظور بررسی واکنش ارقام نسبت به لکه‌شکلاتی، میزان وقوع و شدت بیماری در فاصله‌های زمانی مشخص از ظهور عالیم پیشرفت بیماری تا زمان برداشت اندازه‌گیری و بر این اساس، منحنی پیشرفت بیماری رسم و با استفاده از آن، متغیرهای AUDPC<sub>r</sub> و AUDPC<sub>s</sub> محاسبه شدند. با توجه به نتایج حاصل از تجزیه واریانس، مقایسه میانگین و تجزیه کلاستر بر اساس مقادیر AUDPC<sub>r</sub> و AUDPC<sub>s</sub>، تفاوت معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی و عکس العمل آن‌ها نسبت به بیماری وجود داشت. ژنوتیپ‌های 365 ILB، FLIP03-59FB و FLIP03-43FB مقادیر AUDPC<sub>r</sub> کمترین FLIP03-57FB، FLIP03-29FB، Icarus و FLIP03-30FB داشدند.

واژه‌های کلیدی: تجزیه کلاستر، سطح زیر منحنی پیشرفت سیماری (AUDPC)، شدت سیماری، عملکرد

این بیماری در ارقام حساس به ۶۰ تا ۸۰ درصد می‌رسد (Bouhassan *et al.*, 2004). بیماری لکه‌شکلاتی نخستین بار توسط Berkely (1983) گزارش شد. این بیماری طی سال‌های ۱۹۹۷-۹۸ در جنوب استرالیا حالت همه‌گیر پیدا کرد و به دنبال آن سطح زیرکشت باقلا کاهش یافت (& Paull, 2004). در سال ۲۰۰۵، این بیماری از ۳۶ کشور دنیا گزارش شده است، ولی بیشتر در مناطق مرطوب دنیا نظری اروپا و کشورهای حوزه مدیترانه، دارای اهمیت می‌باشد (Jamali, 2009) و در ایران از استان‌های شمالی و استان خوزستان گزارش شده است (Aghajani *et al.*, 2009).

علایم لکه‌شکلاتی به صورت لکه‌های گرد و بیضی شکل متمایل به رنگ قرمز و شکلاتی، به صورت منفرد، فراوان و با قطری کمتر از یک میلی متر قابل مشاهده روی پهنه‌ک برگ بوده که در شرایط مساعد، روی ساقه‌ها و گل‌ها نیز دیده می‌شود و در شدت‌های بالاتر بیماری، نشانه‌های بیماری روی غلاف و بذر مشاهده می‌شوند (MacLeod & Sweetingham, 1999; Tivoli *et al.*, 2006).

مقدمة

باقلاء (*Vicia faba* L.) متعلق به تیره بقولات است. گیاه باقلاء با داشتن ۲۵ تا ۳۸ درصد پروتئین همانند سایر جویبات دارای ارزش غذایی بالایی است (Jelenic *et al.*, 2000). باقلاء با توجه به داشتن توانایی تثبیت نیتروژن دارای اثر تناوبی بسیار خوبی بوده (Dahmarde *et al.*, 2010) و باعث تقویت حاصلخیزی شیمیایی و بیولوژیکی خاک می‌گردد. لکه‌شکلاتی یکی از مهم‌ترین بیماری‌های باقلاء در سراسر دنیا محسوب می‌شود که در اکثر مناطق کشت این محصول در دنیا دیده شده است. قارچ عامل این بیماری *Botrytis fabae* از خانواده اسکلروتیناسه (Sclerotiniaceae) و شاخه آسکومیسیت (Ascomycota, Fungi) می‌باشد (Staats *et al.*, 2012) از طریق خسارت به برگ و کاهش فتوسنتز، عملکرد جهانی باقلاء، ۱ کاهش، مردده (Torres *et al.*, 2003).

\* نویسنده مسئول: تلفن: ۰۲۱-۴۸۲۹۰۴۰، همراه: ۰۹۱۲۵۱۴۴۸۲۰، ایمیل: dehghanr@modares.ac.ir

به لکه‌شکلاتی شناسایی شدند (Juan, 1993). در ارزیابی مقاومت ۱۸ لاین باقلان نسبت به بیماری لکه‌شکلاتی، لاین‌های ILB 2026-A و ILB 4726، ILB 5322 و Sarparast (2008) در مصر، مقاومت لکه‌شکلاتی مقاوم بودند (Liang, 1996). کاهش می‌دهد (Khattab et al., 2004). تناوب زراعی، تنظیم تاریخ کاشت، زهکشی مناسب، استفاده از پتانس و قارچ‌کش، شیوع بیماری را کاهش می‌دهد (Bouhassan et al., 2004). کاهش تراکم بوته و کشت مخلوط از ارقام متحمل، Stoddard et al., 2010; Hawthrone, 2004). تغییر تاریخ کاشت، تناوب، شخم زدن، سوزاندن بقایای محصول، کاهش تراکم بوته و کشت مخلوط از عوامل بزرگی مؤثر در کاهش شدت بیماری محسوب می‌شوند (Fininsa & Yuen, 2002). با توجه به نسبی بودن کنترل بیماری از طریق مبارزه شیمیایی (Bouhassan et al., 2004)، افزایش هزینه‌های تولید در واحد سطح و آسیب به محیط‌زیست، استفاده از ارقام مقاوم، ارزان‌ترین و بهترین روش کنترل بیماری (Makkouk & Hanounik, 1993). لکه‌شکلاتی می‌باشد (Rhaiemi et al., 2002). نتایج برخی از آزمایشات نشان داده است که بیماری زایی جدایه‌های مختلف باقلان متفاوت می‌باشد (Hosni et al., 1981). بررسی ۱۹ لاین مقاوم باقلان در سوریه، انگلیس، مصر و نیوزیلند نسبت به سه ایزوله قارچ عامل بیماری لکه‌شکلاتی نشان داد که لاین‌های BPL1179-1 و BPL1169، BPL710 و Laiha، BPL1763 و ILB1814 مقاومت عمودی دارند (Hanounik & 1986).

## مواد و روش‌ها

در این تحقیق ۵۳ زنوتیپ به همراه شاهد حساس لاین ILB365 (Rhaiemi et al., 2002) و شاهد محلی رقم برکت، جمعاً ۳۷ زنوتیپ و رقم (جدول ۱) در سال زراعی ۱۳۸۹-۹۰ در ایستگاه تحقیقات کشاورزی گرگان ارزیابی شدند. مواد زنوتیکی مورد بررسی از مؤسسه اصلاح و تهیه نهال و بذر تأمین شد. هر زنوتیپ در دو خط دو متری (۲۰ بوته در خط) در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار کشت شد. جهت کمک به گسترش و توزیع یکنواخت بیماری در خزانه ارزیابی بیماری، بعد از هر چهار خط، دو خط زنوتیپ حساس کشت گردید (Tivoli et al., 2006). ضمناً، بهترین نتیجه زمانی حاصل می‌گردد که آلوودگی مصنوعی در روزهای ابری یا هنگام غروب آفتاب در مزرعه انجام شود.

در ارديبهشت‌ماه سال ۱۳۸۹، برگ‌های آلووده به بیماری لکه‌شکلاتی جمع‌آوری و با هيپوكلرید سدیم ۵ درصد خداغونی

محیطی، از سالی به سال دیگر متغیر می‌باشد. رطوبت نسبی ۷۰ درصد، دامنه دمایی ۱۵ تا ۲۲ درجه سانتی‌گراد، پاتونز بیماری‌زا، حساسیت رقم، تراکم زادمایه، سن گیاه و نوع عملیات زراعی از عوامل مؤثر در توسعه بیماری محسوب می‌شوند (Sahile et al., 2008). تناوب زراعی، تنظیم تاریخ کاشت، زهکشی مناسب، استفاده از پتانس و قارچ‌کش، شیوع بیماری را کاهش می‌دهد (Liang, 1996). کنترل بیماری لکه‌شکلاتی از طریق بذر عاری از بیماری، استفاده از قارچ‌کش (مانکوزب و کاربندازیم)، اقدامات زراعی و استفاده از ارقام متحمل، Stoddard et al., 2010; Hawthrone, 2004). تغییر تاریخ کاشت، تناوب، شخم زدن، سوزاندن بقایای محصول، کاهش تراکم بوته و کشت مخلوط از عوامل بزرگی مؤثر در کاهش شدت بیماری محسوب می‌شوند (Fininsa & Yuen, 2002). با توجه به نسبی بودن کنترل بیماری از طریق مبارزه شیمیایی (Bouhassan et al., 2004)، افزایش هزینه‌های تولید در واحد سطح و آسیب به محیط‌زیست، استفاده از ارقام مقاوم، ارزان‌ترین و بهترین روش کنترل بیماری (Makkouk & Hanounik, 1993). لکه‌شکلاتی می‌باشد (Rhaiemi et al., 2002). نتایج برخی از آزمایشات نشان داده است که بیماری زایی جدایه‌های مختلف باقلان متفاوت می‌باشد (Rhaiemi et al., 2002). لاین‌های مختلف باقلان متفاوت می‌باشد (Hosni et al., 1981). بررسی ۱۹ لاین مقاوم باقلان در سوریه، انگلیس، مصر و نیوزیلند نسبت به سه ایزوله قارچ عامل بیماری لکه‌شکلاتی نشان داد که لاین‌های BPL1179-1 و BPL1169، BPL710 و Laiha، BPL1763 و ILB1814 مقاومت عمودی دارند (Hanounik & 1986).

در آزمایشی (Kamel & Malila, 1990) اظهار کردند که ۹۱ درصد از مزارع باقلان حداقل به یکی از سه بیماری شایع (لکه‌شکلاتی، برق‌زدگی و زنگ) آلووده شده‌اند که مهم‌ترین بیماری، لکه‌شکلاتی بوده است. در ایکاردا ۲۵۳ زنوتیپ باقلان که از کلمبیا منشأ گرفته بودند، جهت شناسایی منابع مقاومت طی دو سال ارزیابی شدند. در سال اول، ۵۳ زنوتیپ مقاومت نشان دادند؛ در حالی که در سال دوم ۱۴ زنوتیپ مقاوم شناسایی شدند و ۳۹ زنوتیپ حساس بودند (Jamali, 2009). در ارزیابی بیماری لکه‌شکلاتی، ۹۰ لاین باقلان که ۵۰۰ لاین آن به استان جی جیانگ ژاپن و ماقی به ایکاردا تعلق داشت، ۱۴ لاین مقاوم

<sup>۱</sup> Area Under the Disease-Progress Curve

<sup>۲</sup> International Center for Agricultural Research in the Dry Areas

پس از نگهداری کشت‌های قارچی در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، بررسی میکروسکوپی جدایه‌های به دست آمده انجام شد. خالص‌سازی بر اساس روش تکاسپور و شناسایی گونهٔ قارچ با استفاده از کلیدهای قارچ‌شناسی انجام شد.

سطحی شدند. سپس قطعه‌های ضدغونی شده سه تا چهار بار در آب مقطر استریل شستشو داده شدند تا اثر محلول ضدغونی کننده بر طرف گردد. سپس قطعه‌ها در کاغذ صافی استریل، آبگیری شدند و در محیط PDA کشت شدند (به تعداد چهار قطعه در هر پلیت محتوى محیط کشت). دو تا سه روز

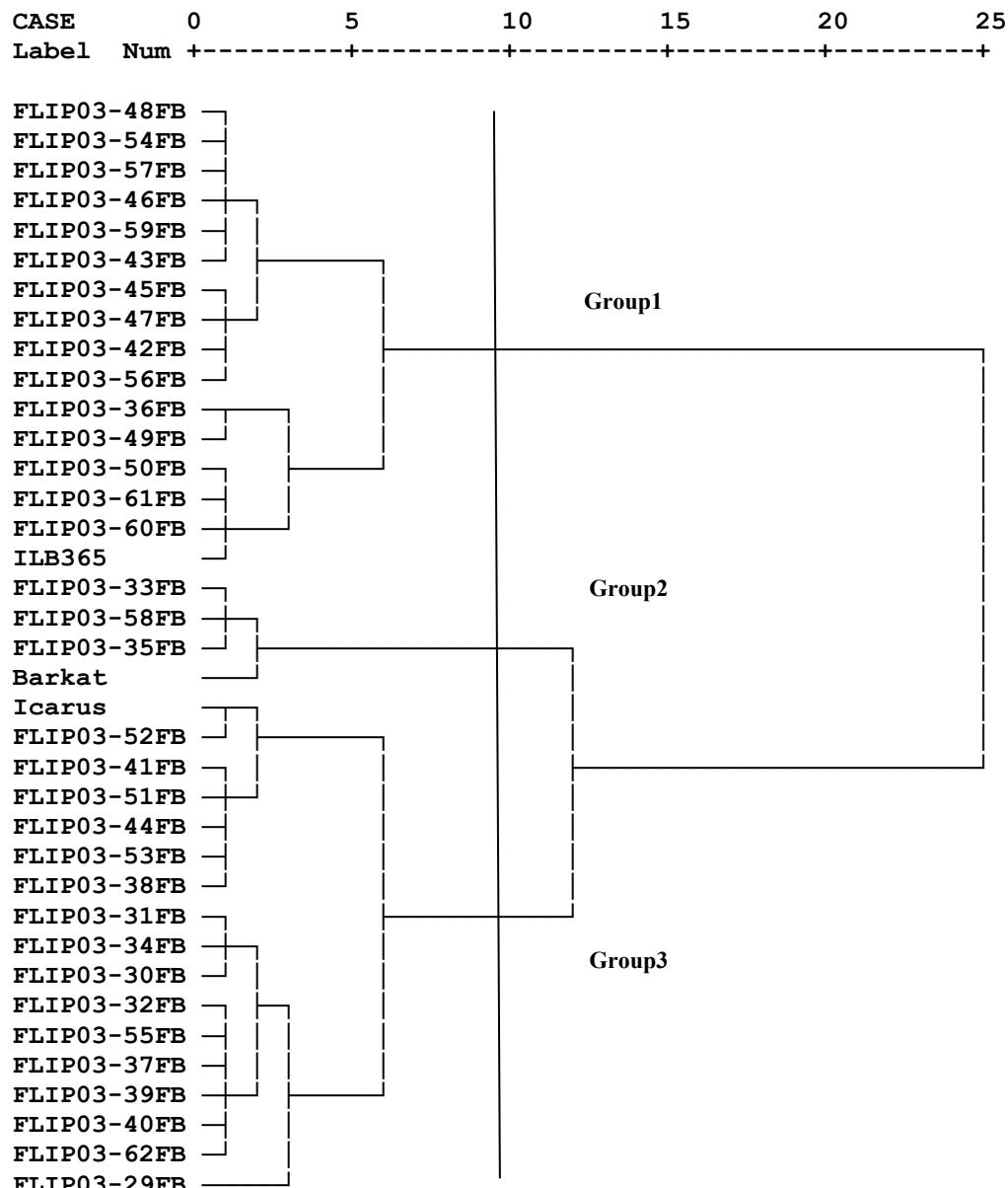
#### جدول ۱- نام، منشاء و شجره ژنتیکی‌های باقلا در ارزیابی برای مقاومت به بیماری لکه‌شکلاتی

Table 1. Names, pedigree and origin of faba bean genotypes for evaluation of chocolate spot disease resistance

Case No. ردیف	Entry name نام	Pedigree شجره	Origin منشاء	F.A.O. status*
1	ICARUS	BPL710	ICARDA	U
2	FLIP03-29FB	F6/1437/03-2/HBP/Bot×Bot/Fam657-1	Ecuador	D
3	FLIP03-30FB	F6/1438/03-1/HBP/Bot×Bot/Fam657-2	ICARDA	U
4	FLIP03-31FB	F6/1438/03-2/HBP/Bot×Bot/Fam657-2	ICARDA	U
5	FLIP03-32FB	F6/1441/03-1/HBP/Bot×Bot/Fam657-3	ICARDA	U
6	FLIP03-33FB	F6/1441/03-2/HBP/Bot×Bot/Fam657-3	ICARDA	U
7	FLIP03-34FB	F6/1443/03/HBP/Bot×Bot/Fam665-2	ICARDA	U
8	FLIP03-35FB	F6/1444/03-/HBP/Bot×Bot/Fam665-3	ICARDA	U
9	FLIP03-36FB	F6/1454/03/HBP/Bot×Bot/Fam675-3	ICARDA	U
10	FLIP03-37FB	F6/1457/03/HBP/Bot×Bot/Fam675-7	ICARDA	U
11	FLIP03-38FB	F6/1462/03/HBP/Bot×Bot/Fam676-7	ICARDA	U
12	FLIP03-39FB	F6/1551/03/HBP/Bot×Bot/Fam712-2	ICARDA	U
13	FLIP03-40FB	F6/1585/03/HBP/Bot×Ascot/Fam734-5	ICARDA	U
14	FLIP03-41FB	F6/1589/03/HBP/Bot×Ascot/Fam734-9	ICARDA	U
15	FLIP03-42FB	F6/1590/03/HBP/Bot×Ascot/Fam734-1	ICARDA	U
16	FLIP03-43FB	F6/1591/03/HBP/Bot×Ascot/Fam734-3	ICARDA	U
17	FLIP03-44FB	F6/1593/03/HBP/Bot×Ascot/Fam734-7	ICARDA	U
18	FLIP03-45FB	F6/1594/03/HBP/Bot×Ascot/Fam735-1	Egypt	D
19	FLIP03-46FB	F6/1597/03-1/HBP/Bot×Ascot/Fam735-2	ICARDA	U
20	FLIP03-47FB	F6/1597/03-2/HBP/Bot×Ascot/Fam735-2	ICARDA	U
21	FLIP03-48FB	F6/1598/03-2/HBP/Bot×Ascot/Fam735-3	ICARDA	U
22	FLIP03-49FB	F6/1605/03-1/HBP/Bot×Ascot/Fam736-8	ICARDA	U
23	FLIP03-50FB	F6/1605/03-2/HBP/Bot×Ascot/Fam736-8	ICARDA	U
24	FLIP03-51FB	F6/1621/03/HBP/Bot×Ascot/Fam739-2	ICARDA	U
25	FLIP03-52FB	F6/1606/03-2/HBP/Bot×Ascot/Fam737-2	ICARDA	U
26	FLIP03-53FB	F6/1492/03/HBP/Bot×Bot/Fam688-3	ICARDA	U
27	FLIP03-54FB	F6/1549/03/HBP/Bot×Bot/Fam716-1	ICARDA	U
28	FLIP03-55FB	F6/1603/03/HBP/Bot×Ascot/Fam736-1	Egypt	D
29	FLIP03-56FB	F6/1606/03-1/HBP/Bot×Ascot/Fam737-1	ICARDA	U
30	FLIP03-57FB	F6/1748/03-1/HBP/C.Spot×Ascot×Oro/775-2	ICARDA	U
31	FLIP03-58FB	F6/1603/03/HBP/Bot×Ascot/Fam736-1	ICARDA	U
32	FLIP03-59FB	F6/1749/03-2/HBP/C.Spot×Ascot×Oro/775-3	ICARDA	U
33	FLIP03-60FB	F6/1765/03/HBP/C.Spot×Ascot×Oro/776-1	ICARDA	U
34	FLIP03-61FB	F6/1767/03/HBP/C.Spot×Ascot×Oro/776-3	ICARDA	U
35	FLIP03-62FB	F6/1796/03/HBP/C.Spot×Ascot×Oro/784-1	ICARDA	U
36	Local Check (Barkat)	ILB1269	ICARDA	U
37	RobaYa40	ILB365	Egypt	D

D: Designated; U: Undesignated

در این کلیدها، با استفاده از ویژگی‌های ریخت‌شناسی میکروسکوپی قارچ نظیر ابعاد و تعداد دیواره‌های عرضی کنیدی‌ها، اقدام به تعیین گونهٔ قارچ شد (Barnett & Hunter, 1998). سپس، اسپورها به محیط کشت PDA منتقل شدند و درب لوله‌ها با پارافین بسته شد و تا بهمن‌ماه در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. به‌منظور تهیه زادمایه، اسپورها در محیط کشت PDB کشت شده و جهت تکثیر اسپور، ظروف حاوی سوسپانسیون در معرض نور متراوب ۱۲ ساعت نور فلورسنت ۴۰ وات و ۱۲ ساعت تاریکی (به مدت سه‌روز قرار گرفتند و سپس به مدت ۹ روز در تاریکی قرار داده شدند. بعد از این مدت، سوسپانسیون اسپورها با غلظت ۱۰۰ میلی‌لیتر تهیه شد و بعد از غروب آفتاب روی گیاهانی که ۱۲ هفته قبل کشت شده بودند، به میزان ۲۰ میلی‌لیتر در بوته اسپری شدند (Tivoli et al., 2006).



شکل ۱- دندروگرام ژنتیک‌های باقلاء بر اساس عملکرد، اجزای عملکرد و صفات مرتبط با مقاومت به بیماری بر اساس روش وارد و معیار فاصله توان دوم اقلیدسی

Fig. 1. Dendrogram generated by cluster analysis (Ward) based on yield, yield component and related traits to disease resistance

می‌شود (حساس)، نمره ۹، زخم‌های خیلی بزرگ و ریزش برگ بسیار گسترده است (خیلی حساس).

سپس مقادیر سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری (AUDPC<sup>۱</sup>)، سطح زیر منحنی استاندارد شده پیشرفت بیماری AUDPC و مقدار نسبی سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری AUDPC به صورت زیر به دست آمد:

علاجم بیماری سدهفته بعد از مایه‌زنی، یادداشت برداری شدند و بر اساس حساسیت و تحمل نسبت به بیماری، نمره‌دهی بر اساس مقیاس ۹ درجه‌ای (Tivoli *et al.*, 2006) انجام شد: نمره ۱، زخم‌ها قابل مشاهده نیستند (مقاومت بالا)، نمره ۳، زخم‌های پراکنده که در صورت بررسی دقیق، قابل مشاهده‌اند (مقاوم)؛ نمره ۵، زخم‌ها مشخص هستند و ریزش برگ مختصر دیده می‌شود (نسبتاً مقاوم)؛ نمره ۷، زخم‌های بزرگ، خیلی مشخص و مقداری ریزش برگ مشاهده

<sup>۱</sup> Area Under the Disease-Progress Curve

(Campbell & Modden, 1990):

$$DS \text{ (disease severity)} = \left( \frac{\text{score}}{9} \right) \times 100$$

(Villegas-Fernandez et al., 2011; Campbell & Modden, 1990):

$$AUDPC = \sum_{i=1}^n \frac{1}{2} \left\{ (y_{i+1} + y_i)(x_{i+1} - x_i) \right\}$$

(Campbell & Modden, 1990):

$$rAUDPC = \left( \frac{AUDPC \text{ (genotype)}}{AUDPC \text{ susceptible genotype}} \right)$$

(Campbell & Modden, 1990):

$$sAUDPC = \frac{AUDPC \text{ (genotype)}}{T}$$

در فرمول فوق،  $Y_i$  شدت بیماری در ارزیابی آم،  $X_i$  زمان بر حسب روز از کاشت، score نمره بیماری، T طول مدت زمان یادداشت برداری و n تعداد مراحل یادداشت برداری می‌باشد.  
همچنین صفاتی نظیر عملکرد دانه، تعداد دانه در غلاف، تعداد غلاف در بوته، ارتفاع بوته و وزن ۱۰۰ دانه ثبت شد. تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام شد. میانگین‌ها با استفاده از آزمون<sup>۱</sup> LSD مورد بررسی قرار گرفتند. با استفاده از تجزیه به روش خوش‌های (کلستر)، گروه‌بندی ژنتیک‌ها نیز انجام گردید و نمودار درختی (دندروگرام) آن رسم گردید. ماتریس فاصله (بر مبنای مجموع مربعات) تشکیل شد. گروه‌بندی ژنتیک‌ها با استفاده از پارامترهای بیماری، صفات مورفولوژیکی، عملکرد و اجزای عملکرد به روش وارد<sup>۲</sup> و SPSS براساس توان دوم فاصله اقلیدسی با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ انجام شد (SPSS, 2010). بر� دنдрوگرام‌های حاصل براساس مقادیر آماره ویلکس لامدا<sup>۳</sup>، صورت گرفت (Moghaddam et al., 1995).

## نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که ژنتیک‌های باقلاً از لحاظ صفات مورد بررسی با یکدیگر اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک‌درصد داشتند که دلالت بر وجود تنوع مناسب بین ژنتیک‌های مورد بررسی دارد (جدول ۲). رقم برکت و دو لاین FLIP03-57FB و FLIP03-58FB بیشترین ارتفاع بوته و رقم برکت و لاین FLIP03-58FB بیشترین عملکرد بیولوژیکی به خود اختصاص دادند (جدول ۳).

جدول ۲- تجزیه واریانس میانگین مربوطات برای عاملکرد و صفات مرتبط با مقاومت به بیماری کاهشکاری باقلاً

Table 2. Mean of squares of yield, yield component and related traits to faba bean chocolate spot disease resistance

S.O.V.	درجه آزادی	منبع تغییرات	df	Plant height	Pod per plant	Pod length	Seed no. per pod	Seed yield	Biomass	Harvest index	100 seed weight	DS1	DS2	DS3	DS4	AUDPC
Replication	نکار		2	102.86*	34.65**	0.14 <sup>ns</sup>	0.15**	19593**	20098 <sup>ns</sup>	0.007**	69.66*	103.53 <sup>ns</sup>	754.51**	281.15*	554.96**	315793**
Treatment	تیمار		36	402.65**	19.77**	9.80**	0.62**	140007**	225947**	0.004**	13063**	415.52**	382.87**	311.86**	462.98**	238041**
Error	خطا		72	40.31	6.01	0.32	0.06	4033	8221.79	0.002	20.91	52.99	102.628	74.5891	108.191	39988.5
CV(%)	شروع بیانندگی (%)			6.18	11.11	6.66	8.04	8.66	7.05	5.99	7.20	22.02	24.03	17.26	16.44	14.64

ns, \* and \*\*: non significant and significant at 0.05 and 0.01 probability level, respectively.

<sup>1</sup> Least Significant Different

<sup>2</sup> Ward

<sup>3</sup> Wilk's Lamda

مقاومتی بالاتر از شاهد مقاوم (Icarus) نشان دادند و کلیه ژنوتیپ‌های مورد بررسی از لحاظ مقاومت به بیماری، برتر از شاهد حساس بودند (جدول ۳). سرعت افزایش علایم بیماری در ژنوتیپ‌های مختلف متفاوت بود. لاین‌های FLIP03-58FB و FLIP03-34FB نسبت به بیماری حساس و نیمه حساس بودند، ولی مقادیر سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری پایینی داشتند، که نشان‌دهنده توانایی این ژنوتیپ‌ها در گندکردن روند پیشرفت بیماری در مراحل ابتدایی توسعه است. این دسته از ژنوتیپ‌ها که در گروه‌های نیمه حساس و نیمه مقاوم قرار دارند، منابع مطمئنی جهت کاهش سرعت انتشار قارچ هستند (Rhaiemi *et al.*, 2002).

برای انتخاب ژنوتیپ‌های برتر، عملکرد و اجزای آن و عکس العمل ژنوتیپ‌ها نسبت به بیماری اهمیت دارد، لذا گروه‌بندی بر اساس این صفات انجام شد (شکل ۱). برش دندروگرام مربور در فاصله ۱۰ واحد منجر به تشکیل سه گروه گردید. در این دندورگرام، گروه اول شامل ۱۶ ژنوتیپ بود که بردار میانگین این گروه بر اساس مقدار آماره  $T^2$  هتلینگ (۰/۲۹۲) تفاوت معنی‌داری با بردار میانگین کل داشت. از لحاظ ارتفاع بوته، عملکرد و بیوماس، نزدیک به بردار میانگین کل بودند و بردار میانگین شاخص‌های حساسیت به لکه‌شکلاتی بالاتر از بردار میانگین کل بود. اعضای این گروه دارای عملکرد کم و حساسیت بالا نسبت به لکه‌شکلاتی بودند.

بردار میانگین گروه دوم بر اساس مقدار آماره  $T^2$  هتلینگ (۰/۶۸۴) تفاوت معنی‌داری با بردار میانگین کل داشت. بردار میانگین گروه دوم از لحاظ ارتفاع، عملکرد و بیوماس تعداد غلاف در بوته، طول غلاف، تعداد دانه در غلاف و وزن ۱۰۰ دانه بالاتر از میانگین کل و از لحاظ شاخص‌های حساسیت به بیماری در سطحی پایین‌تر از بردار میانگین کل قرار گرفت. رقم برکت و لاین‌های FLIP03-33FB، FLIP03-35FB و FLIP03-58FB در این گروه قرار داشتند. افراد این گروه دارای مقاومت بالاتر از حد متوسط و عملکرد مطلوب بودند، بنابراین می‌توان این گروه از ژنوتیپ‌ها را وارد آزمایشات مقایسه عملکرد نمود.

وجود تنوع برای صفات مورفولوژیک، عملکرد، اجزای عملکرد و صفات مرتبط با بیماری در بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی، به انتخاب همزمان برای عملکرد و مقاومت کمک خواهد کرد و با یافتن ترکیبات مناسب، به تولید هیبرید به منظور ترکیب این صفات، نیاز نخواهد بود (Anastasios *et al.*, 2004).

ژنوتیپ‌های FLIP03-49FB، FLIP03-34FB و FLIP03-34FB بیشترین تعداد غلاف در بوته را داشتند و براساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری با سایر ژنوتیپ‌ها در سطح احتمال پنج درصد داشتند. رقم برکت و لاین-31FB بهترتبیب بیشترین و کمترین طول غلاف را داشتند. FLIP03-62FB بالاترین تعداد دانه در غلاف به رقم برکت و لاین-62FB تعلق داشت. به گزارش (Sarparast 2008) تعداد دانه در غلاف، بائبات‌ترین جزء عملکرد است و لاین‌های مقاوم به بیماری، کمترین تغییرات تعداد غلاف را داشته‌اند. نتایج آزمون LSD در سطح احتمال یک درصد نشان داد که بالاترین عملکرد دانه مربوط به رقم برکت بود و ژنوتیپ‌های FLIP03-35FB و FLIP03-58FB بهترتبیب با عملکرد ۱۱۰۴ و ۱۰۵ کیلوگرم در هکتار بعد از رقم برکت قرار گرفتند (جدول ۳). وزن ۱۰۰ دانه یکی از مهم‌ترین اجزای تعیین‌کننده عملکرد دانه است. البته اجزای عملکرد، اثر متقابلی با هم دیگر داشته و نمی‌توان یک شاخص معین را به عنوان تأثیرگذار اصلی معرفی کرد. نتایج مقایسه میانگین در سطح احتمال یک درصد نشان داد که بالاترین وزن ۱۰۰ دانه به رقم برکت با ۱۶۲/۸ گرم تعلق داشت و ژنوتیپ‌های FLIP03-62FB و RobaYa40 و FLIP03-45FB در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند (جدول ۳).

بعد از آلودهسازی، روند پیشرفت بیماری گند بود و در یک بوته، بافت‌های جوان، علایم بیماری کمتری نسبت به بافت‌های مسن‌تر بروز دادند. علایم اولیه بیماری لکه‌شکلاتی از اوایل دوره گله‌هی و ابتدا در لاین حساس مشاهده شد. نتایج حاصل از تجزیه واریانس برای متغیرهای AUDPC، DS و AUDPC نشان داد تنوع بالایی برای عکس العمل ژنوتیپ‌ها نسبت به بیماری لکه‌شکلاتی وجود دارد (جدول ۲). سایر محققان نیز تنوع بالایی در واکنش لاین‌ها نسبت به بیماری لکه‌شکلاتی گزارش کردند (Rhaiemi *et al.*, 2002; Bouhassan *et al.*, 2004; Jamali, 2009) در ضمن، بارندگی و رطوبت بالای ماههای بهمن و اسفند شرایط مناسبی را برای رشد و توسعه بیماری لکه‌شکلاتی ایجاد نمود که با اظهارات سایر محققان مطابقت داشت (Stoddard *et al.*, 2010). بررسی میانگین مقادیر مساحت زیر منحنی پیشرفت شدت بیماری (AUDPC) نشان داد که کمترین مقادیر به ژنوتیپ‌های Icarus، FLIP03-34FB، FLIP03-29FB و FLIP03-34FB داشت و بیشترین مقادیر به ژنوتیپ‌های ILB365 و FLIP03-52FB داشت و بهترتبیب این دو گروه در برگیرنده مقاومترین و حساس‌ترین ژنوتیپ‌ها بودند. دو لاین FLIP03-29FB و

شیخ و دهقانی؛ بررسی مقاومت ... / نشریه پژوهش‌های حبوبات ایران / جلد ۵، شماره ۱، نیمة اول ۱۳۹۳

جدول ۳- مقایسه میانگین داده های مربوط به علکرود و صفات مرتبط با مقاومت به بیماری لکچشکلانی باقلاء

**Table 3.** Mean comparison of yield, yield component and related traits to faba bean chocolate spot disease resistance

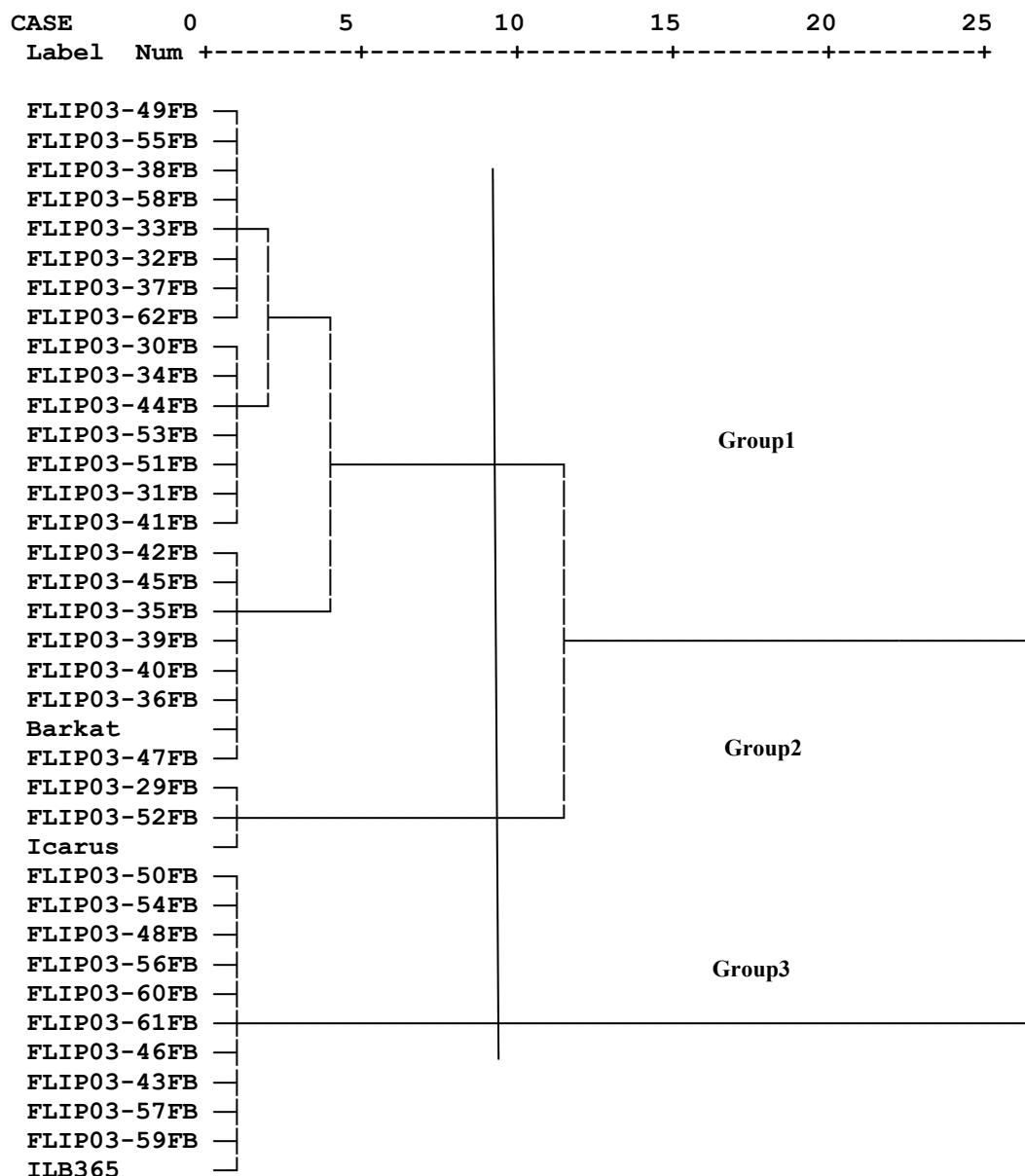
مقدار نسبی سطح زیر منحصري پیشرفت بیماری	سنجاق زر منحصري پیشرفت بیماری استاندارد شده										rAUDIC	
	سنجاق زر منحصري پیشرفت بیماری					سنجاق زر منحصري پیشرفت بیماری						
Genotype	Plant height (cm)	Pod per plant	Pod length	Seed no. per pod	Seed yield (gr/pilot)	Biomass (gr/plant)	Harvest index (%)	DSI	DS2	DS3	DS4	s.AUDPC
ICARUS	102.33	22.78	8.24	2.83	699.9	880.0	0.90	49.57	11.11	33.33	33.33	866.67
FILIP03-29FB	120.57	21.78	7.73	3.07	973.7	1366.7	0.72	56.03	11.11	18.52	33.33	725.93
FILIP03-30FB	102.33	21.44	8.33	2.77	806.2	1093.3	0.74	48.50	33.33	33.33	55.56	1077.78
FILIP03-31FB	90.33	21.22	7.60	2.87	935.5	1186.7	0.79	49.33	33.33	40.74	48.15	1114.81
FILIP03-32FB	100.30	19.11	8.07	3.07	765.2	1073.3	0.71	48.73	11.11	40.74	55.56	62.96
FILIP03-33FB	117.30	18.00	7.60	3.07	977.6	1346.7	0.73	44.97	33.33	40.74	40.74	55.56
FILIP03-34FB	112.33	27.11	8.27	2.87	905.6	1160.0	0.78	49.10	33.33	33.33	55.56	1077.78
FILIP03-35FB	106.33	19.22	8.20	2.97	1049.9	1433.3	0.73	56.50	40.74	48.15	55.56	55.56
FILIP03-36FB	95.33	24.86	7.77	2.93	405.7	573.3	0.71	63.73	33.33	33.33	55.56	77.78
FILIP03-37FB	109.67	20.22	7.67	3.13	837.1	1066.7	0.79	64.27	33.33	40.74	48.15	55.56
FILIP03-38FB	104.33	20.11	7.87	3.10	548.3	706.7	0.78	53.80	25.93	33.33	48.15	70.37
FILIP03-39FB	104.57	20.33	8.17	3.17	855.5	1086.7	0.79	55.90	33.33	33.33	55.56	70.37
FILIP03-40FB	106.30	24.33	8.80	2.90	798.6	993.3	0.80	58.43	33.33	48.15	48.15	55.56
FILIP03-41FB	110.30	23.78	8.10	3.00	745.3	986.0	0.83	56.00	11.11	40.74	40.74	55.56
FILIP03-42FB	83.33	20.55	8.73	2.87	691.1	940.0	0.73	54.20	33.33	48.15	55.56	1477.78
FILIP03-43FB	82.00	18.33	7.87	2.87	901.5	1190.3	0.76	56.70	40.74	62.96	62.96	70.37
FILIP03-44FB	89.00	22.93	8.47	3.07	495.4	660.0	0.75	60.23	33.33	33.33	40.74	55.56
FILIP03-45FB	92.33	20.11	8.50	3.20	600.6	770.0	0.78	81.47	33.33	48.15	55.56	62.96
FILIP03-46FB	107.33	22.33	9.13	3.17	668.5	986.3	0.77	67.00	40.74	48.15	55.56	85.19
FILIP03-47FB	101.30	24.44	8.40	2.90	597.9	806.3	0.74	67.90	33.33	40.74	55.56	70.37
FILIP03-48FB	85.67	27.20	8.23	3.20	758.2	961.3	0.79	55.73	48.15	48.15	55.56	77.78
FILIP03-49FB	95.00	29.00	8.13	3.20	296.6	426.7	0.70	62.83	33.33	40.74	40.74	62.96
FILIP03-50FB	92.33	21.00	8.27	3.27	512.0	680.0	0.75	50.17	33.33	55.56	55.56	77.78
FILIP03-51FB	104.57	20.77	8.10	3.17	663.4	966.7	0.69	60.67	40.74	33.33	40.74	48.15
FILIP03-52FB	113.57	22.44	8.20	2.80	756.1	868.0	0.87	54.47	11.11	33.33	55.56	766.67
FILIP03-53FB	82.67	26.44	7.97	3.20	573.6	766.7	0.75	67.90	33.33	33.33	40.74	55.56
FILIP03-54FB	90.00	20.77	8.80	3.03	742.5	906.7	0.75	54.63	33.33	48.15	62.96	77.78
FILIP03-55FB	110.30	20.55	8.33	3.07	735.4	1030.0	0.71	58.17	33.33	40.74	40.74	62.96
FILIP03-56FB	93.00	22.22	8.20	3.17	641.9	853.3	0.75	64.00	40.74	55.56	55.56	70.37
FILIP03-57FB	112.33	22.78	8.50	3.03	764.7	1033.3	0.74	71.80	48.15	55.56	55.56	1151.85
FILIP03-58FB	120.57	20.22	8.93	2.87	1103.7	1426.7	0.77	52.10	11.11	33.33	55.56	70.37
FILIP03-59FB	113.30	22.44	7.87	3.30	592.8	860.0	0.69	58.43	40.74	55.56	62.96	77.78
Barkat	121.20	20.59	19.00	8.05	4.73	4247.9	5846.6	0.73	162.87	52.93	63.04	65.63
Barakat	102.55	10.33	3.99	0.41	103.4	147.6	0.07	744	11.65	16.95	14.06	1255.53
Barakat	13.22	5.30	1.23	0.56	132.7	195.0	0.10	6.88	15.73	22.99	18.66	1300.23

بردار میانگین کل بود. در نتیجه، گروه سوم از لحاظ مقاومت به بیماری در سطح بالاتری نسبت به بردارهای میانگین کل و دو گروه دیگر قرار داشت، لذا این گروه، دانه‌زن هستند این رافتگرها نتایج

گروه سوم شامل ۱۷ ژنوتیپ بود. بردار میانگین گروه دوم  
بر اساس مقدار آماره  $T^2$  هتلینگ ( $1/49$ ) تفاوت معنی‌داری با  
بردار میانگین کل داشت. بردار میانگین ارتفاع بوته، عملکرد،  
بیوماس و شاخص برداشت نزدیک به بردار میانگین کل و بردار  
میانگین شدت بیماری Disease Severity می‌باشد.

مختلفی از مقاومت را در باقلاء مشاهده نمود و ژنوتیپ‌های دانه‌ریز با رنگ دانه سبز مقاوم‌تر بودند (Liang, 1986).

به دست آمده توسط Liang (1986) هماهنگی دارد. ایشان پس از بررسی مقاومت به لکه‌شکلاتی در ۱۰۵ الاین باقلاء سطوح



شکل ۲- دندروگرام ژنوتیپ‌های باقلاء بر اساس روش وارد و بر مبنای صفات rAUDPC، sAUDPC، AUDPC، Disease Severity

Fig. 2. Dendrogram generated by cluster analysis (Ward) based on Disease Severity, AUDPC, sAUDPC and rAUDPC traits

گروه اول تفاوت معنی‌داری با بردار میانگین کل نداشت. بردار میانگین گروه دوم بر اساس مقادیر آماره  $T^2$  هتلینگ ( $0/356$ ) تفاوت معنی‌داری با بردار میانگین کل داشت. گروه دوم دوام شامل سه ژنوتیپ بود و اعضای این گروه DS، مساحت زیر منحنی پیشرفته شدت بیماری (AUDPC) کمتر و مقاومت بیشتری

گروه‌بندی بر اساس صفات شدت بیماری Disease AUDPC، Severity rAUDPC و انجام شد (شکل ۲). بر این دندروگرام مذبور بر اساس آماره ویلکس لاندا در فاصله ۹ واحد انجام شد و سه گروه تشکیل گردید. گروه اول شامل ۲۳ ژنوتیپ بود. با توجه به نتایج آماره  $T^2$  هتلینگ ( $0/035$ ) بردار میانگین

52FB نسبت به بیماری لکه‌شکلاتی مقاوم بودند. بنابراین، کاشت این لاین‌ها با هدف کنترل بیماری لکه‌شکلاتی مناسب‌تر است، اما از نظر عملکرد دانه خشک و نیز وزن ۱۰۰ دانه و عملکرد بیولوژیک در رتبه‌های پایین‌تری قرار دارند. با توجه به عدم وجود تنوع در عامل بیماری‌زا (Tivoli *et al.*, 2006) لاین‌های مذکور به شرط سازگاری با شرایط محیطی، برای سایر مناطق آلوده نیز قابل توصیه هستند. ارقام مقاوم را می‌توان در اصلاح نباتات جهت انتقال مقاومت به ارقام پُرمحصول و حساس استفاده نمود. نظر به این که ژنوتیپ‌های FLIP03-52FB و ILB365 از نظر صفات مرتبط با مقاومت به لکه‌شکلاتی بهتر ترتیب بیشترین و کمترین میانگین را به خود اختصاص دادند، بنابراین این ارقام می‌توانند به عنوان والدین مناسب جهت تهیه جمعیت‌های ژنتیکی مناسب برای ترسیم نقشه ژنتیکی استفاده شوند. به این ترتیب، امکان شناسایی QTL‌های کنترل‌کننده صفات کمی مؤثر در مقاومت به بیماری فراهم خواهد شد.

در مجموع، از نتایج از این آزمایش حاصل می‌توان در برنامه‌های بهنژادی استفاده کرد و با ترکیب و انتخاب صفات مطلوب به اهداف موردنظر دست یافت.

### سپاسگزاری

از مؤسسه اصلاح و تهیه نهال و بذر به جهت حمایتی که در طول اجرای طرح نمودند و تهیه بذور ژنوتیپ‌ها تشکر و قدردانی می‌گردد.

نسبت به بیماری در مقایسه با سایر ژنوتیپ‌ها داشتند. رقم Icarus نیز در این گروه قرار داشت. اعضای این گروه منابع ژنتیکی مطلوبی از لحاظ مقاومت به بیماری محسوب می‌شوند. بررسی رقم (BPL710) Icarus در استرالیای غربی نیز نشان داد که این رقم نسبت به لکه‌شکلاتی، مقاوم، ولی عملکرد دانه آن کم است (Bouhassan *et al.*, 2004).

در تحقیقی Tivoli *et al.* (1988) نیز پس از انجام تجزیه کلاستر، ژنوتیپ‌های باقلا را در سه گروه ضعیف، قوی و متوسط قرار دادند و لاین‌های ILB938 و Icarus (BPL710) در شرایط فرانسه مقاوم بودند و نسبت به *B. fabae* Giza 402 بیشترین حساسیت را نشان داد. نتایج حاصل از این (Tivoli *et al.*, 1988) بردار میانگین گروه سوم بر اساس مقادیر آماره  $T^2$  هتلینگ (۰/۳۳۹) تفاوت معنی‌داری با بردار میانگین کل داشت. گروه سوم DS، مساحت زیر منحنی پیشرفته شدت بیماری (AUDPC) زیادتر نسبت به میانگین کل داشت که ۱۰ ژنوتیپ حساس به بیماری و ILB365 (شاهد حساس) در این گروه جای گرفتند.

ژنوتیپ‌های FLIP03-58FB، FLIP03-60FB و FLIP03-61FB از لحاظ عملکرد و اجزای عملکرد در سطح مطلوبی قرار داشتند. با توجه به حساسیت لاین ILB 365 نسبت به بیماری لکه‌شکلاتی به خصوص در سال‌های مرطوب، از این ژنوتیپ‌ها می‌توان در کارهای اصلاحی در ارتباط با ارزیابی مقاومت نسبت به بیماری لکه‌شکلاتی استفاده کرد. از بین لاین‌های مورد بررسی، لاین‌های FLIP03- Icarus، FLIP03-34FB و FLIP03-30FB، 29FB

### منابع

1. Aghajani, M., Razinataj, A., and Mohammadi, H. 2009. Identification and Management Guide for Broad Bean Diseases. Rashad Publishers. 87p. (In Persian)
2. Anastasios S.L., Dimitrios G.R., and Christos, A.D. 2004. Evaluation of faba beans for resistance to sclerotinia stem rot caused by *Sclerotinia trifoliorum*. Phytoprotection 85: 89-94.
3. Barnett, H.L., and Hunter, B.B. 1998. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. Fourth Edition. American Phytopathological Society Press.
4. Berkely, M.G. 1983. Gardners Chronicle. In: P.D. Hebblethwaite (Ed.). The Faba Bean (*Vicia faba* L.). A Basic for Improvement. Cambridge, UK. 573p.
5. Bouhassan, A., Sadiki, M., and Tivoli, B. 2004. Evaluation of a collection of faba bean (*Vicia fabae* L.) genotypes originating from the Maghreb for resistance to chocolate Spot (*Botrytis fabae*) by assessment in the field and laboratory. Euphytica 135: 55-62.
6. Campbell, C.L., and Modden, L.V. 1990. Introduction to Plant Disease Epidemiology. John Wiley and Sons, New York, 532p.
7. Fininsa, C., and Yuen, J. 2002. Temporal progression of bean common bacterial blight (*Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*). European Journal of Plant Pathology 108: 485-495.

8. Hanounik, S.B., and Maliha, M. 1986. Horizontal and vertical resistance in *Vicia faba* to chocolate spot caused by *Botrytis fabae*. Plant Disease 70: 770-773.
9. Hawthorne, W. 2004. Faba bean disease management strategy for southern region. <http://www.sardi.sa.gov.au/pdfserve/fieldcrops/publications/advicefactsheets/brochure.pdf>
10. Hosni, A.M., Zed, N.A., and Habib, W.F. 1981. Variation within the fungus *Botrytis fabae* sard. FABIS Newsletter 3: 49-50.
11. Jamali, A.R. 2009. Identification of sources of disease resistance in Chinese faba bean germplasm for incorporation in Australian cultivars. MSc. Thesis. University of Adelaide, South Australia.
12. Jelenic, S., Mitrikeski, P.T., Papes, D., and Jelaska, S. 2000. Agrobacterium-mediated transformation of broad bean (*Vicia faba* L.). Food Technology and Biotechnology 38: 167-172.
13. Juan, L.L. 1993. Research on breeding and germplasm of autumn sown faba bean. Faba Bean Information Services Newsletter 32:3-22.
14. Kamel, A., and Malila, N.F. 1990. Faba bean diseases in Tanisa. FABIS 10: 20-25.
15. Liang, X.Y. 1986. Faba bean diseases in China. FABIS Newsletter, Faba Bean Information Service, ICARDA 15: 49-51.
16. MacLeod, B., and Sweetingham, M. 1999. Faba bean, Chocolate Spot Disease. In: A.W. Australia (Ed.). Farm Note, Perth Australia. Available at Web site <http://www.agric.wa.gov.au/> (verified 1 August 2012).
17. Makkouk, K.M., and Hanounik, S.B. 1993. Major faba bean disease with special emphasis on viral disease. pp. 123-137. In: M.C. Saxena, S. Weigand and L. Li-Juan (Eds.). Faba bean Production and Research in China. International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA), Aleppo, Syria.
18. Milus, E.A., and Line, R.F. 1986. Gene action for inheritance of durable, high-temperature, adult plant resistances to stripe rust in wheat. Phytopathology 76: 435-441.
19. Moghaddam, M., Mohamadi, S.A., and Aghaee-Sarbarzeh, M. 1995. Introduction to Multivariate Statistical Methods. 281pp. (In Persian).
20. Paull, J.G., and White, P. 2004. Breeding for the future-southern and western regions. In: J. Egan, J. Paull, A. Mayfield and Hawthorne (Eds). Faba and broad beans: Delivering a quality product in to the furture. Tanunda, South Australia. pp. 66-70. (Pulse Australia).
21. Rhaiemi, A., Cherif, M., Kharrat, M., and Harrabi, M. 2002. New faba bean genotypes resistant to chocolate spot caused by *Botrytis fabae*. Phytopathol. Mediterr 41: 99-108.
22. Rossi, V. 1999. Effect of host resistance and fungicide sprays against *Cercospora leaf Spot* in different sugar beet-growing areas of the Mediterranean basin. Phytopathologia Mediterranea 38(2): 465-470.
23. Sahile, S., Chemed, F., Sahuja, P.K., and Ahmed, S. 2008. Effect of mixed cropping and fungicides on chocolate Spot (*Botrytis fabae* sard) of faba bean (*Vicia faba* L.) in Ethiopia. Crop Protection 27: 275-282.
24. Sarparast, R. 2008. A Final Report of the International Faba Bean Chocolate Spot Experiment Nursery. Publishing Seed and Plant Improvement Institute of Karaj. (In Persian).
25. Staats, M., Baarlen, P., and van Kan, J.A.L. 2012. Molecular phylogeny of the plant pathogenic genus *Botrytis* and the evolution of host specificity. Molecular Biology and Evolution 22(2).
26. Singh, A., and Rao, M.V. 1989. Area under disease progress curve: its reliability as a measure of slow-rusting resistance. Plant Breeding 103: 319-323.
27. SPSS Inc. 2010. Released IBM SPSS Statistics for Windows, Version 19.0.
28. Stoddard, F.L., Nicholas, A.H., Rubiales, D., Thomas, J., and Villegas-Fernandez, A.M. 2010. Integrated pest management in faba bean. Field Crop Research 115: 308-318.
29. Tivoli, B., Baranger, A.C., Avila, M., Banniza, S., Barbetti, M., Chen, W., Davidson, J., Lindeck, K., Tivoli, B., Berthelem, P., Leguen, J., and Onfroy, C. 1988. A study of the performance of certain Faba bean genotypes in relation to *Botrytis fabae* and *Ascochyta fabae* in France. FABIS Newsletter 21: 36-40.
30. Tivoli, B., Baranger, A., Avila, C.M., Banniza, S., Barbetti, M., Chen, W., Davidson, J., Lindeck, K., Kharrat, M., Rubiales, D., Sadiki, M., Sillero, J.C., Sweetingham, M. and Muehlbauer, F.J. 2006. Screening techniques and sources of resistance to foliar diseases caused by major necrotrophic fungi in grain legumes. Euphytica 147: 223-253.

31. Torres, A.M., Roman, B., Avila, C.M., Satovic, Z., Rubiales, D., Sillero, J.C., Cubero, J.I., Ulukan, H., Guler, M., and Keskin, S. 2003. A path analysis some yield and yield components in Faba bean (*Vicia faba* L.) genotypes. Pakistan Journal of Biological Sciences 6: 1951-1955.
32. Villegas-Fernandez, A.M., Sillero, J.C., and Rubiales, D. 2011. Screening faba bean for chocolate Spot resistance: evaluation methods and effects of age of host tissue and temperature. European Journal of Plant Pathology 132: 443-453.

## **Investigation of resistance to chocolate spot (*Botrytis fabae* sard) in faba bean (*Vicia faba* L.) in Gorgan region**

**Sheikh<sup>1</sup>, F. & Dehghani<sup>2\*</sup> H.**

1 & 2. Respectively, PhD. Student and Associate Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, P.O.Box 14115-336, Iran

Received: 3 February 2013  
Accepted: 15 May 2014

### **Abstract**

Fungal diseases, chocolate spot (*Botrytis fabae* Sard) is the most destructive diseases of faba bean and causes considerable dramatic damage losses on faba bean yield worldwide. The levels of resistance to chocolate spot were evaluated in 35 faba bean cultivars and one susceptible check (ILB365) and local check (Barkat) at the Gorgan Agricultural Research Station during the 2010 and 2011 cropping seasons. The obtained results showed a significant difference ( $P < 0.01$ ) among genotypes for yield, yield component and related traits to disease resistance. Barkat, FLIP03-35FB and FLIP03-58FB produced the highest plant height, seed yield and 100 seed weight, respectively. In order to determine genotype reaction to chocolate spot, disease symptoms scored in certain intervals until harvest, then AUDPC, rAUDPC and sAUDPC was calculated. A significant variation among the tested genotypes and their reaction to chocolate spot disease was found. Results of variance, comparing the mean and also cluster analysis revealed that ILB 365, FLIP03-57FB, FLIP03-43FB and FLIP03-59FB where susceptible. Whereas, Icarus, FLIP03-29FB, FLIP03-30FB, FLIP03-34FB and FLIP03-52FB introduced as resistance genotypes to chocolate spot judged by the lowest AUDPC.

**Key words:** Area Under the Disease Progress Curve, Cluster Analysis, Disease Severity, Yield

---

\* Corresponding Author: dehghanr@modares.ac.ir, Tel: 02148292040, Mobile: 09125144820

## بررسی الگوی بیان ژن‌های کیتیناز و بتا-۱و۳ گلوکاناز در گیاه نخود آلوده به بیماری برق‌زدگی

رحیم افضل<sup>۱\*</sup>، سیدحسن مرعشی<sup>۲</sup>، نسرین مشتاقی<sup>۳</sup> و حمیدرضا کاووسی<sup>۴</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، گروه بیوتکنولوژی و بیوپردازی گیاهی، دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد

۲- عضو هیئت علمی گروه بیوتکنولوژی و بیوپردازی گیاهی، دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد

۳- عضو هیئت علمی گروه بیوتکنولوژی و بیوپردازی گیاهی دانشکده کشاورزی و گروه بقولات پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد

۴- عضو هیئت علمی گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی دانشگاه شهریاد باهنر کرمان

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۱۲/۰۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۲/۲۵

### چکیده

القای مقاومت نسبت به پاتوژن‌ها از راهکارهایی است که گیاهان برای مقابله با تنش‌های زیستی به کار می‌برند. آنزیم‌های کیتیناز و بتا-۱و۳ گلوکاناز جزء پروتئین‌های قابل القاء هستند که در پاسخ به عوامل بیماری‌زا توسط گیاه، سنتز می‌شوند. در این تحقیق، بیان ژن ایزوفرم‌های اسیدی و بازی این دو آنزیم در سطح مولکولی در گیاه نخود زراعی مورد مطالعه قرار گرفت. بداین ترتیب که سطح ظاهر ژن‌های مذکور در نمونه‌های تیمارشده و شاهد، در ژنوتیپ نخود حساس MCC403 و ژنوتیپ مقاوم MCC496 نسبت به آلودگی با نژاد شیش فارج برق‌زدگی (*Ascochyta rabiei*) در ۰، ۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت بعد از آلودگی با استفاده از روش ارزیابی نیمه کمی RT-PCR بررسی شد. نتایج، حاکی از افزایش بیان ایزوفرم اسیدی هر دو ژن کیتیناز و بتا-۱و۳ گلوکاناز پس از آلودگی بود. هردو ژن مذکور در ۲۴ ساعت اولیه پس از تلقيق، حداکثر بیان را در ژنوتیپ مقاوم نشان دادند. این در حالی است که در ژنوتیپ حساس در ساعات اولیه بعد از آلودگی، تظاهر دو ایزوفرم اسیدی به حداکثر می‌رسد و تا ۷۲ ساعت بعد از آلودگی، سطح بیان در هردو ژنوتیپ به کمترین سطح ظاهر می‌رسد. ایزوفرم بازی کیتیناز در ژنوتیپ حساس به میزان بیشتری بیان شد و ایزوفرم بازی بتا-۱و۳ گلوکاناز ظاهر پیدا نکرد. در کل، می‌توان نتیجه گرفت که احتمالاً ایزوفرم‌های اسیدی ژن‌های کیتیناز و گلوکاناز در اعطای مقاومت در برابر بیماری برق‌زدگی نخود نقش دارند.

**واژه‌های کلیدی:** بتا-۱و۳ گلوکاناز، برق‌زدگی نخود، پروتئین‌های مرتبط با پاتوژن، کیتیناز، RT-PCR

که باعث مقاومت گیاه نسبت به پاتوژن می‌شود. واکنش فوق حساسیت، تجمع موضعی فیتوالکسین‌ها، ساخت دیواره سلولی ضخیم از سلولر، پکتین، لیگنین و فعال‌سازی مسیر فنیل پروپانوئید از جمله این مکانیسم‌ها می‌باشد (Kavousi et al., 2009). در تعداد زیادی از گیاهان، پروتئین‌هایی مرتبط با بیماری‌زایی<sup>۱</sup> را به عنوان پروتئین‌هایی که بعد از آلودگی گیاهان با پاتوژن‌ها مختلف تجمع می‌یابند، می‌شناسند (Bol et al., 1990). این پروتئین‌ها القاء پذیر می‌باشند و در طول حمله پاتوژن‌ها و یا شرایط تشنج‌زای مشابه، القاء می‌شوند و فعالیت ضدقارچی دارند. به علاوه، اکثر این پروتئین‌ها دارای مجموعه‌ای از خصوصیات مشترک می‌باشند که می‌توان به وزن مولکولی پایین، مقاومت به پروتئازها و پایداری در بافرهای با pH پایین اشاره کرد (Van Loon et al., 1999). PR پروتئین‌ها بر اساس تشابه اسیدهای آمینه، روابط سرولوزیک و یا فعالیت‌های آنزیمی بیولوژیکی، به ۱۷ خانواده طبقه‌بندی می‌شوند

### مقدمه

بیماری برق‌زدگی نخود یکی از مهم‌ترین بیماری‌های شایع نخود زراعی (*Cicer arietinum*) است که عامل آن قارچ *Ascochyta rabiei* (Pass) Labrnsse می‌باشد (Maden et al., 1975). این قارچ به اندام‌های هوایی گیاه حمله می‌کند و موجب خسارت شدید به خصوص در هوای خنک و بارندگی زیاد در طی فصل رشد می‌گردد (Yonesi, 2003). در حال حاضر این بیماری به عنوان مهم‌ترین عامل محدود‌کننده کشت زمستانه نخود مطرح است (Shokouhifar et al., 2006). این بیماری یکی از مهم‌ترین تنش‌های زیستی است که باعث کاهش عملکرد این گیاه در ایران شده است. بهبود مقاومت ژرم‌پلاسم گیاهی، راهکار مناسبی برای مقابله با بیماری‌های گیاهی است (Kavousi et al., 2009). گیاهان در پاسخ به حمله پاتوژن‌ها مکانیسم‌های دفاعی پیچیده‌ای را فعال می‌کنند

\* نویسنده مسئول: استان اردبیل، شهرستان گرمی، بخش انگوت، روستای قباله

همراه: ۰۹۱۴۹۵۵۶۲۴۶، تلفن: ۰۴۵۲۶۳۸۲۰۴، afzal64rahim@gmail.com

<sup>۱</sup> Pathogen related proteins

گردید. سطح بذور، قبل از کشت توسط هیپوکلریت سدیم ۲درصد به مدت ۱۵ دقیقه ضدغونی شد. بذور پس از شستشو با آب‌مقطر، برای رشد به پتری دیش انتقال داده شدند. بعد از ۳۶ ساعت رشد، بذور جوانه‌زده، در گلدانهایی به قطر ۲۰ سانتی‌متر حاوی مخلوط خاک، ماسه و کود دامی (به ترتیب با غلظت‌های ۱:۳) در عمق ۲/۵ سانتی‌متری کاشته شدند. در هر گلدان، پنج بذر کشت گردید. این تحقیق به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوك‌های کامل تصادفی در چهار تکرار انجام شد. برای این منظور دو ژنوتیپ حساس و مقاوم، در بازه‌های زمانی (۰، ۶، ۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت بعد از آلوگی با قارچ) مورد مطالعه قرار گرفتند.

آماده‌سازی نمونه قارچ و تهیه سوسپانسیون اسپور: نژاد شماره ۶ قارچ Ascochyta rabiei در محیط کشت جامد عصاره نخود<sup>۱</sup> CDA کشت گردید و در شرایط دمایی ۱۸ درجه سانتی‌گراد و ۱۴ ساعت روشناختی نگهداری و پس از ۱۰ روز، ۵/۵ سانتی‌مترمربع از نمونه قارچ برای تولید اسپور به داخل ویال حاوی محیط کشت مایع<sup>۲</sup> CDB منتقل شدند. بعد از سه‌روز، اسپورها آماده تکثیر می‌باشند و تا شیش روز بعد نیز اسپورها توانایی بیماری‌زایی دارند. در این مرحله، سوسپانسیون محیط کشت از پارچه ململ دولایه عبور داده شد و غلظت محلول عبوری با استفاده از لام گلبول‌شمار به غلظت ۱۰/۲×۱۰<sup>۶</sup> اسپور در هر میلی‌لیتر رسانده شد.

تلقیح گیاهان نخود: سوسپانسیون اسپور با آب‌پاش‌های پلاستیکی به طور یکنواخت بر روی گیاهچه‌های ۱۴ روزه نخود اسپری شد. عمل اسپری تا مرحله ریزش اولین قطره از سطح برگ ادامه یافت و گلدان‌ها به مدت ۵ روز در زیر پلاستیک به منظور حفظ رطوبت تا ۹۰ درصد نگهداری شدند و روزانه سه تا پنج بار آب‌پاشی در زیر پلاستیک انجام شد و پس از آن پوشش پلاستیکی به تدریج برداشته شد و رطوبت گلخانه در سطح ۷۰ درصد تنظیم گردید.

استخراج RNA و ساخت cDNA: RNA<sup>۳</sup> کل از برگ‌های گیاهان در بازه‌های زمانی ۰، ۶، ۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت بعد از آلوگی قارچی با استفاده از کیت RNX™ plus (Sherkat سیناژن، ایران) مطابق دستورالعمل شرکت تولیدکننده استخراج شد. قبل از استخراج RNA نمونه‌های برگ و ساقه گیاهان هر تیمار باهم مخلوط شدند. RNA کل استخراج شده (۳۰ میکروگرم برای هر واکنش) با استفاده از آنزیم DNaseI (Fermentas، USA) تیمار شد تا DNA<sup>۴</sup> MCC496 و حساس MCC402 به بیماری برق‌زدگی نخود (Shokouhifar et al., 2006) استفاده شد. بدراها از ژنومی حذف شود و با استفاده از نانودرایپ غلظت نمونه‌های

PR-P (Gorjanovic, 2009) پروتئین‌ها بسته به نقطه ایزوالکتریک خود به دو ایزوفرم اسیدی یا بازی تقسیم‌بندی می‌شوند. نوع اسیدی غالباً در فضاهای آپوپلاستی تجمع می‌یابد و نوع بازی عمدها در درون سلول و در درون واکوئل قرار دارد (Van Loon, 1997). در مکانیسم دفاعی گیاهان، دو خانواده PR-2 و PR-3 نقش مهمی در مقاومت گیاهان به بیماری‌های قارچی دارند. خانواده PR-2 عمدها شامل β-۱، ۳-گلوكاتاز می‌باشند و توانایی هیدرولیز پلیمرهای گلوكوزیدی را که واحدهای آن با پیوند بتا-۱ و ۳ گلوكان به یکدیگر متصل شده‌اند، دارند (Simmons, 1994). خانواده PR-3 نیز در بردارنده کیتینازها می‌باشند که پیوندهای گلیکوزیدی کیتین را به واحدهای مونومری، می‌شکنند. کیتین و گلوكان جزء تشکیل‌دهنده دیواره سلولی بسیاری از پاتوژن‌های قارچی می‌باشند (Saikia et al., 2005). در بسیاری از گیاهان در پاسخ به آلوگی، فعالیت این دو آنزیم، القاء شده و باعث ایجاد مقاومت می‌شود. کیتینازها و گلوكاتازها در تخریب دیواره سلولی قارچ‌ها با یکدیگر همکاری دارند (Saikia et al., 2005). در مطالعات انجام‌شده در مورد بیان این ژن، نشان داده شد که بیان آن‌ها بعد از آلوگی به پاتوژن، چندین برابر افزایش می‌یابد. به عنوان مثال، در تحقیقی که بر روی تنبک‌کوی Pseudomonas syringae pv syringae انجام شد، تعداد نسخه‌های آنزیم بتا-۱ و ۳ گلوكاتاز تا ۲۱ برابر افزایش یافت (Alonso et al., 1995). واریته‌های سویای مقاوم به Meloidogyne incognita نیز القای بیان ژن کیتیناز را به میزان سه تا چهار برابر نشان دادند (Cao et al., 1997).

در مطالعه حاضر، تغییرات الگوی بیان ژن ایزوفرم‌های اسیدی و بازی ژن‌های کیتیناز و بتا-۱ و ۳ گلوكاتاز در زمان‌های مختلف پس از آلوگی با قارچ بیماری برق‌زدگی در دو ژنوتیپ حساس و مقاوم به بیماری برق‌زدگی در نخود به روش RT-PCR نیمه‌کمی بررسی شد تا واکنش گیاه به آلوگی قارچی در سطح نسخه‌برداری، مورد ارزیابی قرار گیرد.

## مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و شرایط رشد: این تحقیق در سال ۱۳۸۹ در گروه بیوتکنولوژی و بمنزادی گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد اجرا شد. در این تحقیق، از دو ژنوتیپ نخود مقاوم MCC496 و حساس MCC402 به بیماری برق‌زدگی نخود (Shokouhifar et al., 2006) استفاده شد. بدراها از بانک بذر پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد تهیه

<sup>1</sup> Chickpea Dextrose Agar

<sup>2</sup> Chickpea Dextrose Broth

نمونه‌ها قرار داد. بدین منظور از متوازن کردن باند یوبی کوئیتین استفاده شد. واکنش‌های مکرر PCR برای تکثیر قطعه‌ای از cDNA کدکننده پروتئین عمومی یوبی کوئیتین همراه با رقیق‌سازی مکرر cDNA در هر نمونه در هر سری PCR انجام گرفت. در نهایت، غلظت‌هایی از استوک‌های cDNA ایجاد شد که در صورت وارد نمودن مقادیر مساوی از cDNA به واکنش‌های PCR، باند تکثیر شده یوبی کوئیتین همه نمونه‌ها از غلظت چشمی یکسانی برخوردار گردیدند. آغازگرهایی براساس توالی ژن‌های اختصاصی با استفاده از نرم‌افزار (Primer Premier V5.0) طراحی شد که در جدول ۱ آورده شده است. در ادامه برای کمی کردن باندهای روی ژل و شاخص‌بندی شدت باندهای DNA تکثیر شده ژن‌ها، از نرم‌افزار Lab Work (version 3.0.2) استفاده گردید.

RNA با یکدیگر یکسان شدن و سپس RNA‌های با غلظت ۲۵۰ نانوگرم در میکرولیتر برای ساخت cDNA با استفاده از کیت cDNA سنتراز (Fermentas, USA) مطابق دستورالعمل شرکت تولیدکننده، مورد استفاده قرار گرفت. cDNA سنتراز شده در ۲۰ درجه سانتی گراد نگهداری شد. همچنین برای اطمینان، نمونه‌های RNA کل به عنوان الگو برای تکثیر ژن یوبی کوئیتین استفاده شدند. تکثیر نشدن ژن یوبی کوئیتین، تأیید کننده عدم آلودگی RNA کل با DNA ژنومی در نمونه‌های مورد مطالعه بود.

بررسی نیمه کمی RT-PCR: برای بررسی نیمه کمی سطوح بیان ژن‌های مورد نظر، ابتدا یک مرحله متوازن کردن مقدار cDNA وارد شده به واکنش‌های PCR انجام گرفت تا بتوان شدت باند تکثیر شده در هر واکنش را ملاک مقایسه بین

جدول ۱- توالی آغازگرهای ژن‌های اختصاصی کیتیناز و گلوکاناز و ژن خانگی یوبی کوئیتین

Table 1. The sequence of gene-specific chitinase and gluconase primers and Ubiquitin house keeping

آغازگرهای اختصاصی gene-specific primers	آغازگرهای رفت Forward primers	آغازگرهای برگشت Reverse primers
Basic chitinase	5'-ACAAGCTGGTGGTCGTTGT-3'	5'-TACCAGCCGCACGATCAGAA-3'
Basic glucanase	5'-GGTGGCTCTTCTGGCTTG-3'	5'-CCGTAGTTGCATTGAAGTCATCG-3'
Acidic chitinase	5'-TGCTGGCCATTGTGATCCAT-3	5'-GCATCAGAACGAGCACACC-3
Acidic glucanase	5'-GGTGCACAATCTGTTGGTGT-3	5'-ACCAATTGCAAGCGTCGCTAA-3
Ubiquitin	5'-CGACAACGTCAAGGCGAAGAT-3	5'-CCAAAGGCCACGGCACAAGTT-3

نمونه متفاوت به هر واکنش PCR وارد شده است (Zolala *et al.*, 2008).

مقایسه نیمه کمی بیان ژن‌ها: در صورتی که مقادیر مساوی از cDNA کل نمونه‌های مختلف به واکنش‌های مقایسه‌ای PCR برای تکثیر قطعه‌ای از cDNA ژن مورد نظر وارد شود، می‌توان غلظت باندهای تکثیر شده در هر نمونه را به عنوان شاخص میزان بیان ژن مورد مطالعه در نظر گرفت. نمونه‌هایی که باند تکثیر شده قوی‌تری را نشان دهند، سهم نسبی cDNA مورد نظر در mRNA نسبت داد تناسب را به طور مستقیم می‌توان به غلظت mRNA نسبت داد (Salzer *et al.*, 2000). پس از همسانه‌سازی غلظت cDNA کل در نمونه‌ها بر اساس غلظت یوبی کوئیتین و همچنین طی مرحله بهینه‌سازی تعداد چرخه‌های مناسب واکنش PCR برای سنجش کمی و نسبی، تعداد ۲۴ چرخه برای ایزوفرم‌های اسیدی بتا ۱ و ۳ گلوکاناز و ۲۸ چرخه برای ایزوفرم‌های بازی کیتیناز و ۲۴ چرخه برای ژن کیتیناز اسیدی انتخاب شد.

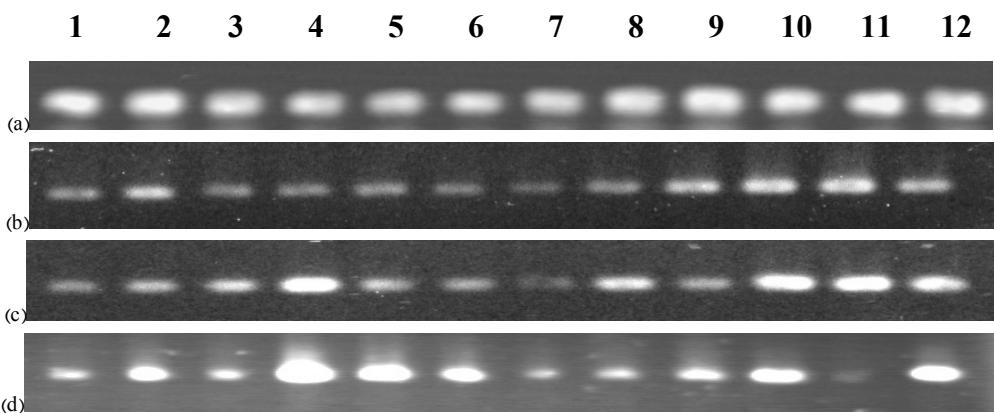
## نتایج و بحث

استخراج RNA: پس از استخراج RNA کل از ۱۲ نمونه گیاهی و مشاهده دو باند قوی 18S و 28S ریبوزومی که نشان‌دهنده کیفیت خوب RNA‌های استخراج شده بود، cDNA هریک از نمونه‌ها پس از موازنی استاندارد یوبی کوئیتین ساخته شد.

موازنی باند cDNA کوئیتین یوبی کوئیتین: شکل ۱-a، باندهای یوبی کوئیتین تکثیر یافته در واکنش‌های PCR با مقادیر مساوی از غلظت‌های نهایی cDNA کل نمونه‌ها را نشان می‌دهد که پس از ۲۸ چرخه PCR، توازن مقداری آنها مشاهده می‌شود. پروتئین یوبی کوئیتین به عنوان یک پروتئین خانگی در سلول‌های گیاهی شناخته شده است که mRNA کدکننده آن در تمام بافت‌ها و اندام‌های مختلف، تقریباً به یک اندازه نسخه‌برداری می‌شوند. بعد از استاندارد کردن غلظت cDNA، با وارد کردن غلظت‌های cDNA نمونه‌های مختلف به واکنش‌های PCR، در حقیقت مقادیر یکسانی از cDNA از

بعد از آلودگی، مقدار آن به بیشترین میزان می‌رسد و بعد از این ساعت از شدت بیان کاسته می‌شود. در ژنتوتیپ مقاوم، ۴۸ ساعت بعد از آلودگی، میزان بیان به طور چشمگیری افزایش پیدا می‌کند سپس کاهش چشمگیری در سطح ظاهر این ژن رخ می‌دهد. البته بیان این ژن در زمان صفر در دو ژنتوتیپ نیز به مقدار کم مشاهده می‌شود.

بررسی بیان ایزوفرم اسیدی ژن کیتیناز: نتایج اندازه‌گیری بیان نیمه کمی ایزوفرم اسیدی ژن کیتیناز (شکل ۲-۶) مبین غلط متفاوت mRNA کیتیناز اسیدی در دو ژنتوتیپ MCC496 و MCC403 است. بعد از آلودگی می‌باشد. همان‌طور که مشاهده می‌شود، میزان بیان این ژن در هر دو ژنتوتیپ در ساعات بعد از آلودگی روند عکس هم دارند. در ژنتوتیپ حساس در ساعت اولیه، بیشترین میزان بیان ژن مشاهده می‌شود و در ۶ ساعت



شکل ۱- a: یوبی کوئیتین یکسان شده در ۲۸ چرخه؛ b: ایزوفرم اسیدی ژن کیتیناز در ۲۴ چرخه؛ c: ایزوفرم اسیدی ژن بتا-۱و۳ گلوکاناز در ۲۴ چرخه؛ d: ایزوفرم بازی ژن کیتیناز در ۲۸ چرخه

چاهک‌های ۱، ۲، ۳، ۴، ۵ و ۶ نشان‌دهنده بیان ژن‌ها در ژنتوتیپ حساس (MCC403) به ترتیب در زمان‌های ۰، ۶، ۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت بعد از آلودگی با قارچ، و چاهک‌های ۷، ۸، ۹، ۱۰، ۱۱ و ۱۲ نشان‌دهنده بیان ژن‌ها در ژنتوتیپ مقاوم (MCC496) به ترتیب در زمان‌های ۰، ۶، ۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت بعد از آلودگی با قارچ می‌باشند.

**Fig. 2. a: Equilibrated ubiquitin in 28 cycle; b: acidic isoform of chitinase 24 cycle; c: acidic isoform of  $\beta$ -1,3-glucanase in 24 cycle; d: basic isoform of chitinase 28 cycle**

Lanes 1-6 were load correspond to the expression level in sensitive genotype (MCC403) at times 0, 6, 12, 24, 48 and 72 hours after infection with *A. rabiei* and Lanes 7-12 were load correspond to the expression level in resistant genotype (MCC496) at times 0, 6, 12, 24, 48 and 72 hours after infection with *A. rabiei*

این ژن افزایش یافت اما مقدار آن در مقایسه با ژنتوتیپ MCC403 کمتر بود. به نظر می‌رسد ایزوفرم بازی ژن کیتیناز، رابطه ای با مقاومت به بیماری برق‌زدگی نخود نداشته باشد.

بررسی بیان ایزوفرم بازی ژن بتا-۱و۳ گلوکاناز: با وجود این که حضور ایزوفرم بازی ژن بتا-۱و۳ گلوکاناز در DNA ژنومی نخود با PCR تأیید شد، ولی در هیچ‌کدام از نمونه‌های مورد مطالعه، این ژن بیانی را نشان نداد. (Pozo *et al.*, 1999) در مطالعه‌ای بر روی گوجه‌فرنگی آلوده به *Phytophthora parasitica* مشاهده کردند که ایزوفرم بازی بتا-۱و۳ گلوکاناز به مقدار اندکی در نمونه شاهد بیان شده است.

تجزیه و تحلیل بیان این ژن‌ها نشان می‌دهد که دو ژنتوتیپ MCC496 و MCC403 پاسخ‌های متفاوتی را نسبت به آلودگی قارچی نشان می‌دهند. ایزوفرم اسیدی ژن کیتیناز در ژنتوتیپ MCC496 به میزان بیشتری القاء شده است

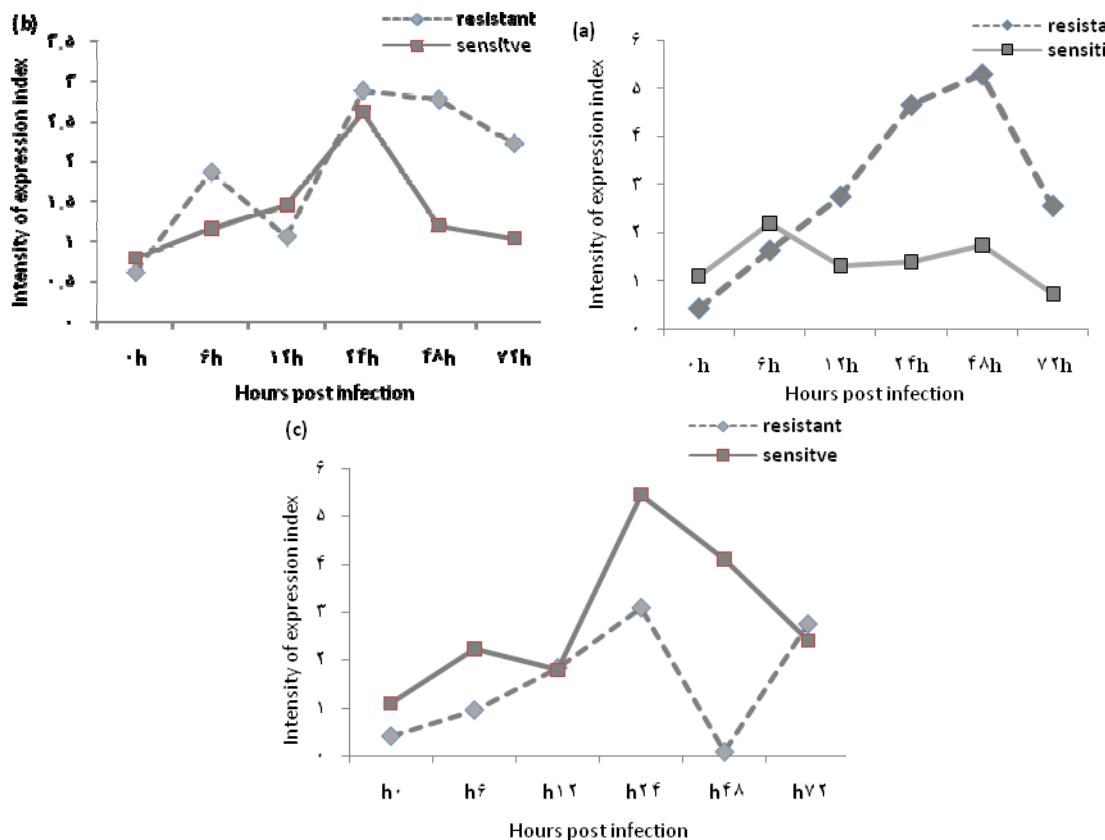
بررسی بیان ایزوفرم اسیدی ژن بتا-۱و۳ گلوکاناز: تغییرات بیان ژن بتا-۱و۳ گلوکاناز در دو ژنتوتیپ MCC496 و MCC403 مشهود بود (شکل ۱-۶). بیان این ژن در هر دو ژنتوتیپ، در ۲۴ ساعت پس از تلقیح به حداقل مقدار خود می‌رسد و پس از آن، بیان این ژن تا ۷۲ ساعت بعد از آلودگی در ژنتوتیپ مقاوم MCC496 در حد بالا ادامه می‌یابد؛ ولی در ژنتوتیپ حساس MCC403، به تدریج از میزان نسخه‌های این ژن کاسته می‌شود. به نظر می‌رسد بیان این ژن در ژنتوتیپ مقاوم روند بهتری نسبت به ژنتوتیپ حساس دارد.

بررسی بیان ایزوفرم بازی ژن کیتیناز: بیان این ژن در دو ژنتوتیپ مورد مطالعه روندی متفاوت داشت و در ژنتوتیپ MCC403 بیان این ژن بیشتر از ژنتوتیپ MCC496 بود (شکل ۱-۶). در ژنتوتیپ MCC403، ۲۴ ساعت بعد از آلودگی بیان ایزوفرم بازی ژن کیتیناز به بیشترین مقدار خود رسید و به تدریج از میزان آن کاسته شد اما در ژنتوتیپ MCC496 بیان

ژنوتیپ حساس MCC403 است. این ژن هم احتمالاً در مکانیسم مقاومت به بیماری نقش دارد. با توجه به این‌که ایزوفرم بازی ژن کیتیناز که در ژنوتیپ حساس MCC403 بیشتر از ژنوتیپ مقاوم MCC496 بیان شده (شکل ۲-۲) و عدم بیان ژن بتا ۱ و ۳-گلوکاناز بازی در هیچ‌کدام از آنها، احتمالاً این دو ژن تأثیری در مقاومت گیاه خود به بیماری برق‌زدگی خود ندارند.

با توجه به بیان بالای ژن‌های مورد مطالعه در ژنوتیپ حساس MCC403 به نظر می‌رسد که این ژن‌ها شاخص مناسبی برای حساسیت نیستند.

(شکل ۲-۲) (a) و در ۴۸ ساعت اولیه، این ژن به حد اکثر بیان خود رسید و در ۷۲ ساعت بعد از آلودگی کاهش یافت. میزان بیان ژن کیتیناز اسیدی در ژنوتیپ مقاوم MCC496 نسبت به ژنوتیپ حساس MCC403 تقریباً سه‌برابر شده است. با توجه به بیان این ژن در ژنوتیپ MCC403 که در حد پایینی می‌باشد، می‌توان چنین نتیجه گرفت که احتمالاً این ژن در ایجاد مقاومت به برق‌زدگی خود نقش دارد. الگوی بیان ایزوفرم اسیدی ژن بتا ۱ و ۳-گلوکاناز نیز در ژنوتیپ MCC496 به بیشترین مقدار خود در ۲۴ ساعت بعد از آلوده کردن گیاه با قارچ، می‌رسد (شکل ۳-۲) (b) و در ادامه نیز این روند مقدار بالای بیان را حفظ می‌کند و مقدار بیان در ژنوتیپ مقاوم MCC496 بیشتر از



شکل ۲- الگوی بیان ژن‌های a: ایزوفرم اسیدی ژن کیتیناز؛ b: ایزوفرم اسیدی ژن بتا ۱ و ۳-گلوکاناز؛ c: ایزوفرم بازی ژن کیتیناز در ژنوتیپ‌های حساس و مقاوم خود بعد از آلودگی با قارچ *A. rabiei*

Fig. 3. Gene expression patterns a: acidic isoform of chitinase; b: acidic isoform of  $\beta$ -1,3-glucanase; c: basic isoform of chitinase in sensitive and resistant chickpea genotype after infection by *A. rabiei*

حمله قرار گیرد، این ژن‌ها را تا حدی در خود بیان می‌کند. در مطالعه‌ای در نیشکر، مشاهده شده است که کیتینازها به طور دائمی حضور دارند و توسط محرک‌های زیستی و غیرزیستی به طور سیستماتیک القاء می‌شوند (Viswanathan *et al.*, 2001). در بررسی دیگری گزارش شد که فعالیت ژن

در مورد ژنوتیپ مقاوم MCC496 نیز باید گفت که چون دو ژن ایزوفرم اسیدی در این ژنوتیپ به طور معنی‌داری بیان شده‌اند، احتمالاً این ژنوتیپ یک ژنوتیپ مقاوم به بیماری برق‌زدگی خود است. همچنین بیان این ژن‌ها در گیاه شاهد هم نشان می‌دهد که گیاه قبل از این که با پاتوژن قارچی مورد

محركهایی از دیواره سلولی قارچ‌ها مکانیسم‌های دفاعی مختلفی را در گیاهان تحریک کنند (Ren *et al.*, 1992). نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که قارچ *Ascochyta rabiei* باعث ایجاد مقاومت سیستمیک در گیاه نخود می‌شود. دو ژنتیپ MCC496 و MCC403 پاسخ‌های متفاوتی را نسبت به آلودگی قارچی نشان دادند که این نشان از مناسببودن این دو ژنتیپ برای استفاده به عنوان ژنتیپ‌های حساس و مقاوم به بیماری برق‌زدگی نخود می‌باشد، ولی بهتر است در مطالعات علاوه بر این دو ژنتیپ، ژنتیپ‌های کاملاً حساس و مقاوم به این بیماری نیز بررسی شود. با توجه به تفاوت میزان بیان ژن‌های ایزوفرم اسیدی بتا-۱،۳ گلوکاناز و MCC403 و MCC496، بهنظر می‌رسد که ایزوفرم اسیدی هردو ژن کیتیناز و گلوکاناز در ایجاد مقاومت به بیماری برق‌زدگی در ژنتیپ مقاوم نقش داشته باشند و هر دو در سطح بالایی در ژنتیپ مقاوم بیان شده‌اند. همچنین افزایش همزمان تعداد نسخه‌های ایزوفرم‌های اسیدی هر دو آنزیم در ژنتیپ مقاوم، تأیید‌کننده فعالیت سینرژیستی این دو آنزیم در القای مقاومت می‌باشد.

کیتیناز III در رقم مقاوم نخود پس از تلقیح با *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cicer* افزایش می‌یابد (Sephri, 2009). تعداد نسخه‌های mRNA بتا-۱ و ۳ گلوکاناز اسیدی در برگ‌های گوجه‌فرنگی آلوه به پاتوژن قارچی *Cladosporium fulvum* نیز به مقدار زیادی تجمع پیدا کرده است که نشان‌دهنده نقش این ایزوآنزیم در مقابله با پاتوژن می‌باشد (Van Kan *et al.*, 1992). فعالیت ضدقارچی کیتیناز و بتا-۱ و ۳ گلوکاناز بوسیله محققان اثبات شد، به طوری که آنها پس از خالص‌سازی و قراردادن این پروتئین‌ها در محیط کشت حاوی پاتوژن‌های قارچی گیاهی مشاهده کردند که رشد این قارچ‌ها در نواحی که این پروتئین‌ها حضور دارند، محدود می‌شود که این دلیل خوبی برای تأثیر مستقیم این PR پروتئین‌ها بر روی پاتوژن‌ها می‌تواند باشد (Saikia *et al.*, 2005) PR<sup>1</sup> در گیاهان مرتبط می‌باشد (Ryals *et al.*, 1996). SAR کیتیناز و بتا-۱ و ۳ گلوکاناز علاوه بر هیدرولیز دیواره سلولی گلوکان و کیتین، توانایی این را هم دارند که با رهاسازی

#### منابع

- Alonso, E., De Carvalho Niebel, F., Obregon, P., Gheysen, G., Inzé, D., Van Montagu, M., and Castresana, C. 1995. Differential *in vitro* DNA binding activity to a promoter element of the *gnl* β-1, 3-glucanase gene in hypersensitively reacting tobacco plants. Plant Journal 7: 309-0320.
- Bol, J.F., Linthorst, H.J.M., and Cornelissen, B.J.C. 1990. Plant pathogenesis-related protein induced by virus infection. Annual Review of Phytopathology 28: 113-138.
- Cao, H., Glazebrook, J., Clarke, J.D., Volko, S., and Dong, X. 1997. The *Arabidopsis NPR1* gene that controls systemic acquired resistance encodes a novel protein containing ankyrin repeats. Cell 88: 57-62.
- Gorjanovic, S. 2009. Biological and technological functions of barley seed pathogenesis-related protein (PRs). A review. Journal of the Institute of Brewing 115(4): 334-360.
- Kavousi, H.R., Marashi, H., Mozafari, J., and Bagheri, A.R. 2009. Expression of phenylpropanoid pathway genes in chickpea defense against race 3 of *Ascochyta rabiei*. Plant Pathology Journal 8: 127-132.
- Maden, S., Mathur, D., and Neergaard, S.B. 1975. Detection and location of seed born inoculum of *Ascochyta rabiei* and its transmission in chickpea (*Cicer arietinum* L.). Seed Science and Technology 3: 667-681.
- Pozo, M., Azcon-Aguilar, C., Dumas-Gaudot, E., and Barea, G.M. 1999. β-1,3 Glucanase activities in tomato roots inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi and/or *Phytophthora parasitica* and their possible involvement in bioprotection. Plant Science 141: 149-157.
- Ren, Y.Y., and West, C.A. 1992. Elicitation of diterpene biosynthesis in rice (*Oryza sativa* L.) by chitin. Plant Physiology 99: 1169-1178.
- Ryals, J.A., Neuenschwander, U.H., Willits, M.G., Molina, A., Steiner, H.Y., and Hunt, M.D. 1996. Systemic acquired resistance. Plant Cell 8: 1809-1819.
- Saikia, R., Pratab Singh, B., Kumar, R., and Arora, K. 2005. Detection of pathogenesis-related proteins-chitinase and β-1,3-glucanase in induced chickpea. Current Science 89(4): 659-663.
- Salzer, P., Bonanomi, A., Beyer, K., Aeschbacher, R.A., and Boller, T. 2000. Differential expression of eight chitinase genes in *Medicago truncatula* roots during mycorrhiza formation, nodulation and pathogen infection. Molecular Plant Microbe Interaction 13: 763-777.

<sup>1</sup> Systemic-acquired-resistance

12. Sephri, H., 2009. Gene Expression Profiling of Chitinase in Chickpea by Using Real-Time PCR. MSc. Thesis. Agriculture Faculty, University of Ferdowsi Mashhad. ( In Persian).
13. Shokouhifar, F., Bagheri, A.R., and Fallahati Rastegar, M. 2006. Identification of resistant chickpea lines against pathotypes causing *Ascochyta* blight disease in Iran. Iranian Journal of Plant Biology 19(1): 29-42. (In Persian).
14. Siddiqui, I.A., and Shaukat, S.S. 2004. Systemic resistance in tomato induced by biocontrol bacteria against the root-knot nematode, *Meloidogyne javanica* is Independent of Salicylic Acid Production. Journal Phytopathology 152: 48-54.
15. Simmons, C. 1994. The physiology and molecular biology of plant 1,3- $\beta$ -D-glucanases and 1,3; 1,4- $\beta$ -D-glucanases. Critical Reviews in Plant Sciences 13: 325-387.
16. Van Kan, J.A.L., Joosten, M.H.A.J., and Wagemakers, C.A.M. 1992. Differential accumulation of mRNAs encoding extracellular and intracellular PR proteins in tomato induced by virulent and a virulent races of *Cladosporium fulvum*. Plant Molecular Biology 20: 513-527.
17. Van Loon, L.C. 1997. Induced resistance in plants and the role of pathogenesis-related protein. European Journal of Plant Pathology 103: 753-765.
18. Van Loon, L.C., and Van Strien, E.A. 1999. The families of pathogenesis-related protein, their activities and comparative analysis of PR-1 type proteins. Physiological and Molecular Plant Pathology 55: 85-97.
19. Van Loon, L.C., Pierpoint, W.S., Boller, T., and Conejero, V. 1994. Recommendations for naming plant pathogenesis-related protein. Plant Molecular Biology Reporter 12: 245-264.
20. Viswanathan, R., and Samiyappan, R. 2001. Antifungal activity of chitinases produced by some fluorescent pseudomonads against *Colletotrichum falcatum* Went causing red rot disease in sugarcane. Microbiological Research 155: 309-314.
21. Yonesi, H., Okhowat, S.M., and Hajarod, G. 2003. Virulence variability of *Ascochyta rabiei* isolates on chickpea cultivar sin Kermanshah province. Iranian Journal of Plant Pathology 39: 213-228. (In Persian).
22. Zolala, J., Farsi, M., Moghaddam Matin, M., Bahrami, A.R., and Ghabooli, M. 2008. The comparison of cel I endonuclease gene expression in some Apiaceae plants using semi-quantitative RT-PCR. Agricultural Sciences and Technology Journal 1(22): 4-11. (In Persian).

## **Gene expression profiling of chitinase and $\beta$ -1,3 glucanase in chickpea infected by *Ascochyta blight***

**Afzal<sup>1\*</sup>, R., Marashi<sup>2</sup>, S.H., Moshtagh<sup>3</sup>, N. & Kavousi<sup>4</sup>, H.R.**

1. MSc. Student of Biotechnology and Plant Breeding, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad
2. Department of Biotechnology and Plant Breeding, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad
3. Contribution from Department of Biotechnology and Plant Breeding, College of Agriculture & Research Center for Plant Sciences, Ferdowsi University of Mashhad
4. Department of Plant Breeding, College of Agriculture, Bahonar University of Kerman

Received: 23 February 2011

Accepted: 15 May 2014

### **Abstract**

Induced resistance to pathogen is one of the ways which plants use against biotic stresses. Pathogenesis-related proteins(PR), including chitinase and  $\beta$ -1,3-glucanase synthesized by the plant in response to pathogenic infection. In this investigation, the expression of two isoforms: acidic and basic of chitinase and  $\beta$ -1,3-glucanase genes were analyzed at 0, 6, 12, 24, 48 and 72 hours after fungal inoculation of chickpea genotypes (MCC496 as resistant and MCC403 as sensitive) with race 6 of *Ascochyta rabiei* by semi-quantitative RT-PCR. The results showed that the expression of both acidic isoforms of chitinase and  $\beta$ -1,3-glucanase genes were increased at 24 and 48 hours, respectively after fungal inoculation in genotype MCC496, but the expression level in sensitive genotype increased in early time after inoculation and then decreased. The basic isoform of chitinase was expressed in sensitive genotype more than the resistant genotype. The basic isoform of  $\beta$ -1,3-glucanase was not expressed in these genotypes. Totally, acidic isoforms of these enzymes specifically chitinase would play roles in plant defense against *Ascochyta blight*.

**Key words:** Ascochyta blight, Chitinase, Pathogenesis-related proteins, RT-PCR,  $\beta$ -1,3-glucanase

---

\*Corresponding Author: afzal64rahim@gmail.com, Mobile: 09149556246

## بررسی توزیع ژن‌های مقاوم به ویروس موزائیک معمولی لوبیا در ژنتیپ‌های (Phaseolus vulgaris L.) با استفاده از نشانگرها مولکولی اسکار

محمد مجتبی کامل منش<sup>۱</sup>، آنیتا نماینده<sup>۲\*</sup> و محمد رضا بی‌همت<sup>۳</sup>

۱- استادیار دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شیراز، گروه گیاه‌بیزشکی، شیراز، ایران

۲- استادیار دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شیراز، گروه علوم باگبانی، شیراز، ایران

۳- استاد، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۰۹/۲۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۰۸/۲۷

### چکیده

به منظور تعیین پتانسیل ژنتیکی مقاومت برخی از ژنتیپ‌های لوبیا نسبت به ویروس موزائیک معمولی لوبیا، دو آزمایش مجزا هر یک در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۲۵ تیمار (ژنتیپ‌های لوبیا) و سه تکرار در دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز اجرا گردید. آزمایش اول در شرایط نرمال و آزمایش دوم در شرایط آلودگی با ویروس موزائیک معمولی لوبیا انجام شد. آلوده‌سازی مزرعه در دو مرحله (برای اطمینان بیشتر) ظهور برگ‌های کوتیلدونی و ظهور اولین سه برگ‌چه به صورت مکانیکی و با پودر کاریاراندوم انجام گردید. پس از ۲۱ روز از آلودگی اول، جهت انجام آزمون الیزرا از بوته‌های هر کرت که دارای عالیم ظاهری بودند، نمونه‌گیری شد. جهت تعیین آلودگی از روش PTA-ELISA میزان تغییرات عملکرد مربوط به ژنتیپ-۹ (WA8528-۶/۵) نسبت به سایر ژنتیپ‌ها افت عملکرد کمتری را در شرایط آلودگی نشان دادند. کمترین معنی‌داری ( $P\text{-value}=0.001$ ) نسبت به سایر ژنتیپ‌ها افت عملکرد این ژنتیپ-۹ بودند. در بین کل میزان تغییرات عملکرد مربوط به ژنتیپ-۹ (WA8528-۶/۵) تنها نمونه‌ای بود که هر سه ژن  $I$ ،  $bc-I^2$  و  $bc-3$  بودند، به‌طور ژنتیپ‌ها، ژنتیپ-۹ نسبتاً کم (۰/۹ درصد) بود. در کل، ۴۴ درصد ژنتیپ‌ها حاوی ژن  $I$ ، ۴۰ درصد ژنتیپ‌ها حاوی ژن  $bc-3$  و ۱۰ درصد ژنتیپ‌ها حاوی ژن  $bc-I^2$  بودند. از دیگر نتایج مهم این تحقیق، واکنش منفی دو ژنتیپ Capsoli و Local Khomein در آزمون الیزرا نسبت به ویروس موزائیک معمولی لوبیا و همچنین تغییرات عملکرد کمتر از میانگین کل این ژنتیپ‌ها بود. از آنجایی که این دو ژنتیپ قادر هر سه ژن مقاوم مورد بررسی بودند، لذا این احتمال وجود دارد که ترکیبات ژنی مقاوم جدید در ژنتیپ‌های Capsoli و Local Khomein وجود داشته باشد. بنابراین با توجه به نتایج به‌دست آمده از این تحقیق پیشنهاد می‌شود در مطالعات اصلاحی آتی در خصوص ارقام مقاوم به ویروس موزائیک معمولی لوبیا به این دو ژنتیپ اخیر توجه ویژه‌ای بشود.

**واژه‌های کلیدی:** تغییرات عملکرد، لوبیا، نشانگر اسکار، ویروس موزائیک معمولی لوبیا

(Eduardo *et al.*, 2006; Prasad *et al.*, 2007; Singh *et al.*, 2007). به‌طور کلی این ویروس به عنوان یکی از عوامل عمدۀ کاهنده عملکرد در لوبیا شناخته شده است. این مسئله برای بهبود گران بسیار بالاهمیت است تا با به کارگیری هر روش ممکن و ابزارهای موجود، مقاومت به BCMV را توسعه داده و در نهایت عملکرد و کیفیت لوبیا افزایش یابد. در این راستا، شناسایی ژن‌های مقاوم و نحوه عمل آنها در ژنتیپ‌ها می‌تواند بسیار مؤثر باشد (Kamelmanesh *et al.*, 2008). در خصوص ژن‌های مقاوم شناسایی شده علیه BCMV برای نخستین بار در سال ۱۹۵۰، ژن  $I$  کشف شد (Ali, 1950). این ژن غالباً روی تمام نژادهای BCMV مؤثر است و واکنش آن نسبت به آلودگی به صورت فوق حساسیت بروز

### مقدمه

ویروس موزائیک معمولی لوبیا<sup>۱</sup> (BCMV) از مهم‌ترین بیماری‌های ویروسی است که امروزه به‌طور وسیعی در جهان و ایران گسترش پیدا کرده است (Hasani & Sharareen, 2001; Shree, 2001). BCMV از طریق کاهش کمیت و کیفیت محصول، خسارت قابل توجهی به لوبیا وارد می‌کند. گزارش‌های متعددی در این زمینه وجود دارد که نشان می‌دهد خسارت BCMV بسته به نوع رقم و زمان آلودگی بین ۴ تا ۱۰۰ درصد

\*نوبنده مسئول: شیراز، پردیس دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز، دانشکده کشاورزی، گروه علوم باگبانی، تلفن: ۰۷۱۱۶۴۱۰۰۴۲، همراه: ۰۹۱۷۳۰۲۸۴۶۴  
namayandeh@iaushiraz.ac.ir

<sup>۱</sup> Bean Common Mosaic Virus

بیان شد که نشانگر SCAR (SW13) ابزار مفید و قوی جهت شناسایی ژنتیک‌های حاوی ژن *I* در خزانه‌های ژنی مختلف جهت برنامه‌های اصلاحی است (Melloto *et al.*, 1996). بر اساس نشانگرهای مولکولی RAPD نشانگر SCAR (SBD5) برای ژن مقاوم و مغلوب *bc-I<sup>2</sup>* معرفی شد. این نشانگر پیوستگی بسیار بالایی با ژن *I<sup>2</sup>* داشت و در گروه پیوسته قرار دارد و مستقل از ژن *I* (بر روی گروه پیوسته B3 ژن *bc-3* بر روی گروه پیوسته B6) می‌باشد. همچنین نشان داده شد که *bc-I* و *bc-1* هم‌آلل بوده به‌طوری که *Miklas et al.*, 2000). نشانگر مولکولی (ROC11) SCAR (ROCK11) نیز که پیوستگی بالایی با ژن *bc-3* داشته، در گروه پیوسته B6 شناسایی شد (Johnson *et al.*, 1997). با توجه به موارد مذکور و همچنین عدم وجود تحقیقات لازم روی خسارت این ویروس (BCMV) در شرایط مزرعه و عدم شناسایی ژن‌های مقاوم ارقام و لاین‌های مورد مطالعه و استفاده در مراکز تحقیقاتی کشور، این تحقیق با اهداف ارزیابی ژنتیک‌ها از نظر واکنش به در شرایط مزرعه و آزمایشگاه (آزمون الایزا)، تعیین خسارت ناشی از آلودگی بر عملکرد دانه و تعیین وجود یا عدم وجود ژن یا ژن‌های مقاوم معرفی شده، در ارقام و لاین‌های مورد مطالعه با استفاده از نشانگرهای مولکولی SCAR (ناحیه تکثیرشونده با ردیف مشخص) اجرا گردید.

### مواد و روش‌ها

تعداد ۲۵ رقم و لاین لوبيا از انواع مختلف قرمز، چیتی و سفید از ایستگاه ملی تحقیقات لوبيای خمین تهیه گردید. فهرست اسامی ارقام و لاین‌های تحت بررسی، همراه با کدهای مربوطه در جدول ۴ آمده است. دو آزمایش مجلزا هر یک در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۲۵ تیمار (ارقام و لاین‌های لوبيا) و سه تکرار اجرا گردید، به‌طوری که تا شعاع ۱۰۰۰ امتري اطراف محل آزمایش، کشتی صورت نگرفته بود. فاصله دو آزمایش از یکدیگر، ۵۰ متر بود و به منظور ایزوله‌بودن دو آزمایش، حاشیه دو مزرعه توسط گیاه ذرت به‌طور متراکم کشت گردید. آزمایش اول در شرایط نرمال (عدم آلودگی) و آزمایش دوم در شرایط آلودگی با BCMV انجام شد. لازم به ذکر است که غیر از شرایط آلودگی، بقیه شرایط دو آزمایش کاملاً یکسان بود. هر کرت ۳×۳ شامل چهار خط کاشت با فاصله بین خطوط ۵۰ سانتی‌متر بود که پس از تک‌کردن در هر کرت، ۳۰ بوته نگه داشته شد. بافت خاک، لومی رسی بود و عملیات کاشت برای هر دو آزمایش، کاملاً یکسان و به صورت

می‌کند. در گیاهان آلوده‌شده حاوی این ژن، بافت‌مردگی سیستمیک توسعه می‌یابد. این واکنش، یک خسارت بزرگ ناشی از مقاومت به‌وسیله ژن غیر‌حمایت‌شده *I* است. به هر حال ژن *I* می‌تواند به‌وسیله ژن‌های مغلوب مقاوم همراهی و حمایت شود. این ترکیبات ژنی در گیاه می‌توانند واکنش شدید فوق‌حساسیت را محدود نمایند (*Miklas et al.*, 2000). محل شیش ژن مغلوب مقاوم در چهار مکان ژنی تعیین شده است. این ژن‌های مغلوب عبارتند از: *bc-1, bc-I<sup>2</sup>, bc-2, bc-2<sup>2</sup>, bc-1, bc-u, bc-3* نشان داده شده است که ژن‌های *bc-1* و *bc-u* پیوستگی ضعیفی با یکدیگر دارند (*Drijfhout*, 1995). با استفاده از نشانگرهای<sup>1</sup> (OC16, OH14) RAPD (مشخص شده است که ژن‌های *bc-u* و *bc-1* و *bc-1, bc-I<sup>2</sup>, bc-2, bc-2<sup>2</sup>, bc-1, bc-u, bc-3* پیوسته قرار دارند و فاصله آنها ۲۲/۸ سانتی‌متر گزارش شده است (*Strausbaugh et al.*, 1999). در این سیستم ژن *I* *bc-u* اختصاصی نبوده ولی برای بیان ژن‌های خانواده *bc* لازم است، مگر این که در غیاب آن ژن *I* حضور داشته باشد. در حضور ژن *I* ژن‌های *bc-1, bc-I<sup>2</sup>, bc-2, bc-2<sup>2</sup>, bc-1, bc-u* بدون حضور *bc* مقاومت را بروز خواهند داد. همچنین نشان داده شده است که در حضور ژن *I* Kelly, 1997; *Miklas et al.*, 2000) *bc-1* غالباً است (Drijfhout, 1991). ترکیب ژن‌های *bc-u* و *bc-3* نیز به تمام نژادهای ویروس مقاومت نشان می‌دهند (Ariyarathne *et al.*, 1999). بعد از اضافه کردن ژن‌های مغلوب مقاوم به ژنتیک‌هایی که حاوی ژن *I* بودند، واریته‌های حاصل حاوی ژن‌های ترکیبی مقاوم، در برابر طیف وسیعی از نژادهای ویروس مقاومت پایدار بیشتری از خود نشان دادند (*Miklas et al.*, 2000). در سال‌های اخیر، نشانگرهای مولکولی پیوسته به ژن‌های مقاوم در لوبيا توسط تعدادی از محققان گزارش گردیده است. با استفاده از نشانگرهای مولکولی RAPD محل ژن *I* بر روی گروه پیوسته ۲ (Linkage Group 2) با فاصله ۱/۴ سانتی‌متر از نشانگر A10.1750 تعیین شده است (Ariyarathne *et al.*, 1999). همچنین در ایزو لاین‌های مقاوم و حساس لوبيا به BCMV (OW13) RAPD نشانگر مولکولی (OW13) توانستند برای ژن مقاوم *I* نشانگر مولکولی (OW13) را پیدا کنند که با این ژن پیوستگی نزدیکی نشان می‌داد و عنوان شد که این نشانگر جهت انتخاب غیر‌مستقیم می‌تواند مؤثر واقع شود (Haley *et al.*, 1994). دو سال بعد با استفاده و بر اساس نشانگر OW13 پیوسته به ژن *I* توانستند نشانگر<sup>2</sup> SCAR<sup>3</sup> (SW13) را معرفی نمایند. پیوستگی بین این نشانگر و ژن *I* در سه جمعیت تفرق یافته F2 آزمون شد. نتایج حاکی از پیوستگی کمتر از ۱ سانتی‌متر گان بین این نشانگر و ژن *I* بود.

<sup>1</sup> Random Polymorphic Amplified DNA

<sup>2</sup> Sequence Characterized Amplified Region

در نهایت، تجزیه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای Excel ۲۰۰۷ و Minitab ۱۵ SAS-ver6.12 انجام شد.

**استخراج DNA و واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز**  
 DNAی زنومی از ۹۰ میلی‌گرم برگ جوان که قبلاً در دمای ۷۰-درجه سانتی‌گراد ذخیره شده بود، استخراج شد (Gowel & Jarret, 1991). پنج میکرولیتر از DNAی زنومی استخراج شده بر روی ژل ۰/۰۰ درصد آگارز که با ۰/۰۵ نانوگرم در لیتر اتیدیوم بروماید محلوت شده بود، بارگذاری شد. پس از الکتروفورز، کیفیت و کمیت DNA با توجه به DNAی لامبدا به عنوان کنترل ارزیابی شد و تنها DNAهایی استفاده شدند که فاقد اسمیر روی ژل آگارز بودند و نسبت A260/A280 آنها بین ۱/۸ تا ۲ بود. سپس DNAهای مناسب به غلظت ۰/۰۵ نانوگرم در میکرولیتر رسید و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد (یخچال) جهت انجام واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز نگهداری شد. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز در حجم ۰/۰۵ نانوگرم در میکرولیتر (به مقدار ۰/۰۵ میکرولیتر)، یک واحد Taq DNA Polymerase (به مقدار ۱/۱۳ میکرولیتر)، ۰/۰۰۵ میکرولیتر آغازگر (از هر کدام ۰/۰۰۵ میکرولیتر)، ۰/۰۰۵ میکرولیتر dNTPs، یک میکرولیتر بافر ۱۰xPCR و ۰/۰۰۵ میکرولیتر MgCl<sub>2</sub> بود. محصولات تکثیرشده حاصل از نشانگرهای SCAR (جدول ۱) با استفاده از دستگاه ترموسایکلر و برنامه ارائه شده در آخر همین بخش به دست آمد. سپس نتایج در ژل آگارز ۱/۲ درصد با بافر TBE (1x) در الکتروفورز بارگذاری و پس از پایان کار با دستگاه عکسبرداری ژل UVidoc مدل GAS9000 از آنها عکس گرفته شد.  
 برنامه زمانی و چرخه‌های دمایی نشانگرها نیز به شرح زیر بود:

دمای اولیه ۹۴°C به مدت ۰۰ ثانیه، دمای واسرشت‌سازی ۹۴°C به مدت ۱۰ ثانیه، دمای اتصال برای نشانگر SW13 (۴۰°C) به مدت ۰۴۰ ثانیه (برای نشانگر ROC11 (۵۵°C) به مدت ۰۴۰ ثانیه) و برای نشانگر SBD5 (۶۵°C) به مدت ۰۴۰ ثانیه، دمای بسط ۷۲°C به مدت ۰۲ دقیقه، دمای نهایی ۷۲°C به مدت ۰۵ دقیقه و تعداد چرخه ۳۴.

### نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس و مقایسه میانگین عملکرد دانه در هر دو شرایط نرمال و آلودگی در جداول ۲ و ۳ آمده است. نتایج نشان داد که بین ژنوتیپ‌ها از نظر عملکرد دانه در هر دو شرایط نرمال و آلودگی تفاوت معنی‌داری وجود دارد. در شرایط

دستی انجام گرفت. آبیاری بر اساس عرف منطقه انجام شد و برای مبارزه با علف‌های هرز، پنج مرحله وجین دستی انجام شد.

### تهیه و تکثیر ویروس و نحوه آلوده‌سازی

ویروس موردنظر به صورت جدایه‌ای از یک مزرعه تحقیقاتی در یاسوج، جداسازی و پس از خالص‌سازی بیولوژیکی با استفاده از آنتی‌سرم به دست‌آمده از خرگوش (اهدایی از دکتر ایزدپناه، دانشگاه شیراز) و تکنیک پی‌تی‌ای-الایزا-PTA<sup>۱</sup> (Clark & Adams, 1977) مورد تأیید قرار گرفت. سپس این ویروس جهت تکثیر روی گیاهچه‌های حساس لوپیا (رقم دانشجو) مایع‌زنی شد. آلوده‌سازی مزرعه در دو مرحله (برای اطمینان بیشتر) یعنی در مراحل ظهور برگ‌های کوتیلدونی و ظهور اولین سه برگ‌چه به صورت مکانیکی و با پودر کارباراندوم انجام شد. ۲ روز بعد از آلودگی اول، جهت انجام آزمون الایزا از بوته‌های هر کرت که دارای علائم ظاهری بودند، نمونه‌گیری شد. جهت تعیین آلودگی با استفاده از آزمون الایزا از روش PTA-ELISA استفاده گردید. تعداد نمونه ارزیابی شده برای هر ژنوتیپ، ۲۴ عدد بود (هر ژنوتیپ دارای سه تکرار و از هر تکرار چهار نمونه و هر نمونه در دو چاهک پلیت). در پلیت، شش چاهک به عنوان نمونه‌های منفی (شاهد) و دو چاهک فقط حاوی بافر نمونه بود (جذب نور صفر). پس از ثبت میزان جذب نور چاهک‌های پلیت توسط دستگاه الایزا ریدر (مارک بایورد مدل ۶۸۰)، میانگین جذب نور شش چاهک شاهد (نمونه‌های شاهد) محاسبه گردید. نمونه‌هایی که جذب نور بیش از میانگین شاهد به علاوه سه برابر انحراف معیار (نمونه‌های شاهد) داشتند، به عنوان نمونه‌های مثبت و آنهایی که کمتر از این میزان جذب نور داشتند، به عنوان نمونه‌های منفی ثبت گردیدند (Clark & Adams, 1977).

(انحراف معیار نمونه‌های شاهد) + میانگین نمونه‌های شاهد ≥ جذب نور نمونه مثبت (آلوده)

(انحراف معیار نمونه‌های شاهد) + میانگین نمونه‌های شاهد < جذب نور نمونه منفی (غیرآلوده)

برای برآورد درصد تغییرات ایجادشده در اثر آلودگی در عملکرد لوپیا از رابطه زیر استفاده گردید:

$$a = [(b - c)/b] \times 100$$

a درصد تغییر عملکرد دانه؛ b میانگین عملکرد در شرایط نرمال؛ c میانگین عملکرد در شرایط آلودگی.

<sup>1</sup> Plate-Trapped Antigen-Enzyme Linked Immune Sorbent Assay

<sup>2</sup> ELISA-Reader

<sup>3</sup> Bio Rad

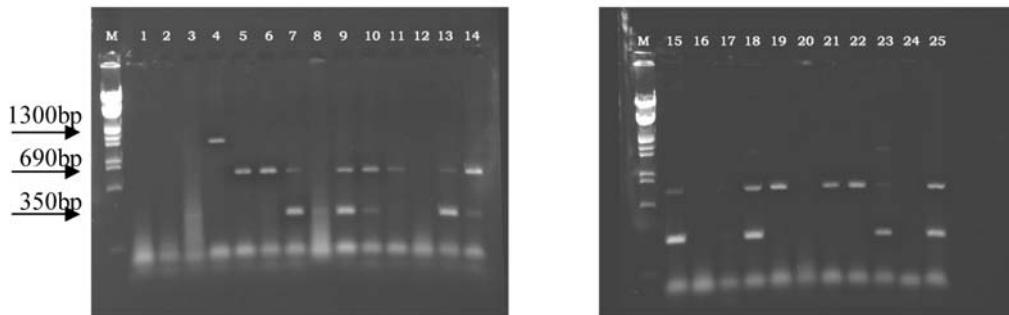
Capsoli بیشترین عملکرد را داشتند و کمترین عملکرد مربوط به ژنوتیپ‌های Akhtar و Daneshjo بود (جدول ۳).

نرمال، بیشترین عملکرد مربوط به ژنوتیپ‌های WA8563-4 و Khomein-5 Capsoli و کمترین عملکرد مربوط به ژنوتیپ ۴-5 و WA8563-3 بود. در شرایط آلودگی نیز دو ژنوتیپ ۴-4 و ۳-3 بود.

جدول ۱ - نشانگرهای مولکولی SCAR مورد استفاده برای ژن‌های مقاوم به ویروس BCMV

Table 1. SCAR molecular marker used for BCMV resistant genes

ژن مقاوم Resistant Gene	نشانگر اسکار SCAR marker	توالی Sequence
<i>I</i>	SW13	F: 5' CACAGCGACATTAATTTCCTTC3' R: 5' CACAGCGACAGGAGGAGCTTATTA3'
<i>bc-1<sup>2</sup></i>	SBD5	F: 5' GTGCGGAGAGGCCATCCATTGGTG3' R: 5' GTGCGGAGAGTTCAGTGTGACA3'
<i>bc-3</i>	ROC11	F: 5' CCAATTCTCTTCACTTGTAAACC3' R: 5' GCATGTTCCAGCAAACC3'



شکل ۱- باندهای اختصاصی مربوط به محصولات سه نشانگر (SW13, ROC11, SBD5) در ژنوتیپ‌های ۱ تا ۲۵

Fig. 1. Separate bands related to products of three markers (SW13, ROC11, SBD5) at 1-25 genotypes

جدول ۲- تجزیه واریانس عملکرد دانه در شرایط نرمال و آلودگی به BCMV

Table 2. Analysis of variance of seed yield in normal and BCMV infected conditions

متابع تغییر S.O.V	درجه آزادی (df)		میانگین مربیات (MS)		F		Pr > F	
	Normal	Infected	Normal	Infected	Normal	Infected	Normal	Infected
ژنوتیپ Genotype	24	24	597929.4	493244.1	38.31	88.95	0.0001	0.0001
بلوک Block	2	2	88416.1	1582.6	5.66	0.29	0.0062	0.7530
خطا Error	48	48	15607.5	5544.9	---	---	---	---
C.V.%			8.88	8.00				

$I^2$ ) را نشان می‌دهد. همچنین در این جدول (۳) اطلاعات به دست آمده از واکنش ژنوتیپ‌ها به ویروس BCMV در آزمون الیزا و تغییرات عملکرد آنها در شرایط آلودگی نسبت به شرایط نرمال آورده شده است. بنابراین با توجه به این اطلاعات، تمامی ژنوتیپ‌ها در ۱۰ گروه مختلف به شرح زیر قرار گرفتند:

ارزیابی ژنوتیپ‌ها با استفاده از آزمون الیزا و نشانگرهای اختصاصی SCAR

جدول ۳ نتایج حاصل از ارزیابی ژنوتیپ‌ها با آغازگرهای اختصاصی ROC11 (مشخص کننده ژن *I*، *bc-1<sup>2</sup>*)، SW13 (مشخص کننده ژن *bc-3*) و SBD5 (مشخص کننده ژن *bc-3*)

(جدول ۳). متوسط افت عملکرد در شرایط آلودگی نسبت به شرایط عدم آلودگی در این ژنتیپ‌ها ۵۰/۳۷ درصد بود.

**گروه اول:** شامل ژنتیپ‌های Khomein-5, Akhtar همگی فاقد سه زن G5710, WA8563-6, Cifemcave مورد بررسی بوده و نتیجه آزمون الایزا در آنها مثبت می‌باشد

جدول ۳- تغییرات عملکرد، آزمون الایزا وجود یا عدم وجود زن‌های مقاوم به BCMV در ژنتیپ‌های لوبیا

Table 3. Yield variation, ELISA test and resistant genes to BCMV in bean genotypes

ژنتیپ Genotype	عملکرد در شرایط نرمال (کیلوگرم در هکتار) Yield in normal conditions (kg/ha)	عملکرد در شرایط آلودگی (کیلوگرم در هکتار) Yield in infected conditions (kg/ha)	درصد تغییرات عملکرد Yield variation %	آزمون الایزا ELISA test	I	bc-3	bc-I <sup>2</sup>
Khomein-5	863 l	495 kl	42.61	+	-	-	-
Local Khomein	1203 g-k	948 e-h	21.25	-	-	-	-
Daneshjo	1198 g-k	367 l	69.34	+	-	+	-
Cardinal	1633 cd	1030 ef	36.88	-	-	-	+
Cran 75	1722 c	698 i	59.64	+	+	-	-
Pinto	1360 efg	539 jk	60.34	+	+	-	-
MCD4012	1349 e-h	1198 cd	11.18	-	+	+	-
COS16	2135 b	1489 b	30.29	-	-	+	-
Taylor	1396 eg	829 h	40.65	+	+	+	-
Goli	1009 kl	885 gh	12.35	-	+	+	-
Naz	1264 f-j	647 ij	48.85	+	+	-	-
Capsoli	2654 a	1902 a	28.33	-	-	-	-
D81083	986 kl	902 fgh	8.58	-	+	+	-
Sayad	1287 f-i	1052 e	18.25	+	+	+	-
Derakhshan	1104 ijk	925 fgh	16.21	-	+	+	-
Akhtar	1025 jkl	378 l	63.09	+	-	-	-
G5710	1045 jkl	684 i	34.61	+	-	-	-
WA8528-9	1249 f-j	1178 d	5.67	-	+	+	-
WA8563-2	1688 c	1316 c	22.01	-	+	-	-
WA8563-6	1539 cde	859 h	44.16	+	-	-	-
WA8563-4	2450 a	1889 a	22.92	-	+	-	-
WA8563-3	1363 efg	906f gh	33.57	+	+	-	-
11805	1121 h-k	1019 efg	9.05	-	+	+	+
Cifemcave	1455 def	475 kl	67.36	+	-	-	-
WA4502-1	1051 i-l	666 ij	36.61	+	+	+	-

مقادیر هر ستون برای هر تیمار که حرف مشترکی با یکدیگر ندارند، بر اساس آزمون دانکن در سطح آماری ۰/۰۵ تفاوت معنی‌داری با هم دارند.

Means by the uncommon letter in each column and treatment are significantly different according to Duncan's multiple range test ( $p<0.05$ ).

bc-u با یکی از زن‌های خانواده bc-x می‌تواند مقاومت را القاء کند (Silbernjel *et al.*, 2001; Miklas *et al.*, 2002) همچنین اعلام شده است گیاهچه‌هایی که حاوی زن‌های bc-u و bc-3 بودند، صرف نظر از حضور یا عدم حضور زن I هنگامی که با تزادهای BCMV و BCMNV آلوده شدند، هیچ علایمی بروز ندادند (Drijfhout *et al.*, 1978). لذا می‌توان گفت که احتمالاً ژنتیپ‌های Capsoli Local Khomein حاوی

**گروه دوم:** ژنتیپ‌های این گروه (Capsoli Local Khomein, G5710, WA8563-6, Cifemcave) فاقد سه زن مورد بررسی بوده و نتیجه آزمون الایزا در رابطه با واکنش آنها به آلودگی BCMV منفی بود. گزارش شده است زن‌های مغلوب bc-3, bc-I<sup>1</sup>, bc-2, bc-2<sup>2</sup> و زن‌های شوند، زن‌های bc-I<sup>2</sup> که باعث ایجاد مقاومت به BCMV در لوبیا می‌شوند، زن‌های اختصاصی نزد هستند و bc-u غیراختصاصی است و برای بیان زن‌های خانواده bc-x ضروری می‌باشد. به عبارت دیگر، ترکیب

(1983). با توجه به مطالب ذکر شده، منطقی به نظر می‌رسد که این ژنوتیپ‌ها با وجود دارابودن ژن *I* (به تنها یا) واکنش مثبت به ویروس نشان دهنند. همچنین می‌توان عنوان کرد که این ژنوتیپ‌ها احتمالاً فاقد دیگر ژن‌های خانواده *bc-x* هستند. تغییرات عملکرد در این ژنوتیپ‌ها ۵۰/۶۰ درصد بود.

**گروه ششم:** پنج ژنوتیپ (Goli, MCD4012, WA8528-9, D81083 Derakhshan, BCMV) از ۲۵ ژنوتیپ مورد مطالعه، در این گروه قرار گرفتند. واکنش این ژنوتیپ‌ها به BCMV منفی بود. نتایج جدول ۳ نیز وجود ژن‌های مقاوم *I* و *bc-3* را در این ژنوتیپ‌ها تأیید می‌کند. طی مطالعاتی اعلام شده است که ترکیب ژن *I* و *bc-3* می‌تواند مقاومت خوبی در برابر طیف وسیعی از نژادهای BCMV و BCMNV ایجاد نماید (Day, 1983; Mukeshimana *et al.*, 2005) (Daneshjo, 2002). بنابراین با وجود ژن‌های *I* و *bc-3* مقاوم بودن این ژنوتیپ منطقی به نظر می‌رسد. تغییرات عملکرد ژنوتیپ ۹ WA8528-9 در بین کل ژنوتیپ‌ها کمترین مقدار (۵۰/۶۷ درصد) بود و از این نظر می‌تواند حایز اهمیت باشد. متوسط تغییرات عملکرد ژنوتیپ‌های این گروه ۸۶/۰ درصد بود که کمترین میزان افت عملکرد در شرایط آلودگی نسبت به شرایط عدم آلودگی در بین کل گروه‌ها است.

**گروه هفتم:** این گروه فقط شامل ژنوتیپ COS16 بود که نتیجه آزمون الایزا آن منفی بود. با توجه به نتایج جدول ۳ مشخص شد که COS16 حاوی ژن *bc-3* است. از آنجایی که *bc-u* لازمه بروز مقاومت ژن *I* همراهی آن با ژن *I* یا *bc-3* می‌باشد و با توجه به این که این ژنوتیپ فاقد ژن *I* است، می‌توان گفت واکنش منفی به BCMV احتمالاً به دلیل حضور ژن *bc-u* در این ژنوتیپ می‌باشد. تغییرات عملکرد آن نیز ۳۰/۳ درصد بود.

**گروه هشتم:** این گروه شامل ژنوتیپ‌های Tylor, Sayad, WA4502-1 بود. نتیجه آزمون الایزا در این ژنوتیپ‌ها مثبت بود، اما نتایج جدول ۳ وجود ژن‌های مقاوم *I* و *bc-3* را در این ژنوتیپ‌ها تأیید می‌کند. از آنجاکه ترکیب ژن‌های *I* و *bc-3* باعث القای مقاومت می‌شود (Mukeshimana *et al.*, 2005)، حساس بودن این ژنوتیپ با مطلب ذکر شده، در تنافض است. در توجیه این موضوع باستی عنوان کرد که در زمینه مقاومت به BCMV، مکانیسم‌های اپیستازی متعددی گزارش شده است. نشان داده شده است که *bc-3* بر روی ژن‌های *bc-I<sup>2</sup>* و *bc-2<sup>2</sup>* اپیستاتیک است. از طرفی خود *bc-I<sup>2</sup>* نیز بر *bc-2<sup>2</sup>* اپیستاتیک می‌باشد (Kelly *et al.*, 1995). با توجه به این مطالب شاید بتوان عنوان کرد که ژن‌های دیگری در این ژنوتیپ اثر اپیستاتیکی بر روی ژن *I* یا *bc-3* ایجاد کرده‌اند که باعث عدم

ژن‌های مقاوم دیگری مانند *bc-u* و حداقل یکی از ژن‌های خانواده *bc-x* غیر از *bc-I<sup>2</sup>* است و یا این که ژن‌های مقاوم جدیدی در این ژنوتیپ وجود دارد که با مطالعات تکمیلی بیشتر باستی این موضوع را مشخص کرد. متوسط تغییرات عملکرد در این ژنوتیپ‌ها ۷۹/۴۴ درصد بود.

**گروه سوم:** تنها ژنوتیپی است که در این گروه قرار می‌گیرد. نتیجه آزمون الایزا نسبت به ویروس BCMV در این ژنوتیپ مثبت بود. نتایج جدول ۳ نشان می‌دهد که ژنوتیپ Daneshjی با آغازگر اختصاصی ROC11 باند ایجاد کرده است. به عبارت دیگر، این ژنوتیپ واجد ژن مقاوم *bc-3* است. نشان داده شده است که ژن‌های مغلوب خانواده *bc-x* بدون حضور ژن *I* یا نمی‌تواند واکنش‌های مقاومتی را بروز دهند (Vandermark & Miklas, 2002) (BCMV) این مطلب توحیه کننده واکنش مثبت این ژنوتیپ به در عین دارابودن ژن مقاوم *3* است. تغییرات عملکرد در این ژنوتیپ در بین کل ژنوتیپ‌های مطالعه شده بیشترین مقدار (۶۹/۳۴ درصد) بود.

**گروه چهارم:** تنها موردی که در این گروه قرار گرفت، ژنوتیپ Cardinal بود. واکنش این ژنوتیپ به BCMV طی آزمون الایزا منفی تشخیص داده شد. جدول ۳ مشخص می‌کند که ژنوتیپ Cardinal با آغازگر SBD5 ایجاد باند کرده است. به عبارت دیگر، این ژنوتیپ حاوی ژن مقاوم *bc-I<sup>2</sup>* می‌باشد. اما همان‌طور که قبل اشاره شد، ژن‌های خانواده *bc-x* به تنها ی نمی‌توانند واکنش‌های مقاومتی را بروز دهند و باستی با یکی از ژن‌های *I* یا *bc-u* همراه باشند. از آنجایی که این ژنوتیپ با آغازگر SW13 تولید باند نکرده است، می‌توان عنوان کرد که احتمالاً ژنوتیپ Cardinal واجد ژن غیراختصاصی *bc-u* می‌باشد. تغییرات عملکرد این ژنوتیپ ۸۸/۳۶ درصد بود.

**گروه پنجم:** این گروه شامل چهار ژنوتیپ (Cran75, Pinto, Naz, WA8563-3) است. جدول ۳ نشان می‌دهد که این ژنوتیپ‌ها با آغازگر SW13 ایجاد باند کرده‌اند؛ یعنی دارای ژن مقاوم *I* می‌باشد. گزارش شده است ارقامی که فقط دارای ژن *I* هستند عالیم بیماری را بروز دادند. ژن *I* زمانی می‌تواند مفید واقع شود که با ژن‌های مقاوم مغلوب خانواده *bc-x* همراهی شود (Strausbaugh *et al.*, 2003) (Strausbaugh *et al.*, 2003). همچنین زمانی که ژن *I* به تنها ی در مقابل نژادهای BCMV قرار می‌گیرد، یک واکنش فوق حساسیت در گیاه بروز می‌کند که Black root (Collmer *et al.*, 2000) در صورتی که اگر این ژن با ژن‌های خانواده *bc-x* همراهی گردد، سبب کاهش و کندشدن تکثیر سیستمیک ویروس شده و تراکم ویروس در گیاه کاهش می‌یابد (Day, 1983).

بود؛ اما هیچ‌کدام از این گروه‌ها با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشتند (جدول ۴). در مقایسه دیگر، ژنوتیپ‌هایی که دارای ژن  $I$  و حداقل یکی از ژن‌های  $bc-I^2$  یا  $bc-I^1$  بودند، در یک گروه (A) و باقی ژنوتیپ‌ها در گروهی دیگر گرفتند (B). میانگین درصد تغییرات عملکرد گروه اول (A) ۱۷/۶۲ و برای گروه دوم (B) ۴۲/۸۲ به دست آمد. نتایج جدول ۴ نشان می‌دهد که اختلاف میانگین این دو گروه، معنی‌دار است ( $P\text{-value}=0.001$ ). به عبارت دیگر، افت عملکرد در اثر ویروس BCMV در ژنوتیپ‌هایی که حاوی ژن  $I$  و یکی از ژن‌های  $bc-I^2$  یا  $bc-I^1$  بودند، به طور معنی‌داری کمتر از ژنوتیپ‌هایی می‌باشد که فاقد هرگونه ژن مقاوم یا ژن  $I$  به تنها یا یکی از ژن‌های  $bc-I^2$  و  $bc-I^1$  است. گزارش‌های متعدد تأکید بر آن دارند که بهترین ترکیب ژنی برای مقاومت در برابر اکثر نژادهای BCMV، ترکیب ژن  $I$  با یکی از ژن‌های Strausbaugh *et al.*, 2003؛  $bc-I^2$  یا  $bc-I^1$  می‌باشد (Makshimana *et al.*, 2005).

در گروه لوبياچیتی، ژنوتیپ MCD4012 دارای ترکیب ژنی  $I$  و  $bc-3$  بود و کمترین میزان تغییرات عملکرد را نشان داد (۱۱/۱۸ درصد). در گروه لوبياقرمز، ژنوتیپ D81083 (۱۲/۳۵ درصد) و Goli (۰/۵۸ درصد) به ترتیب کمترین میزان تغییرات عملکرد را نشان دادند. این دو ژنوتیپ نیز هر دو دارای ترکیب ژنی  $I$  و  $bc-3$  بودند. کمترین میزان تغییرات عملکرد در گروه لوبياسفید مربوط به ژنوتیپ ۹ (WA8528-۰/۶۷ درصد) بود که ترکیب آن نیز به صورت  $I$  و  $bc-3$  بود. در این گروه و در بین کل ژنوتیپ‌ها، ژنوتیپ ۱۱۸۰۵ تنها ژنوتیپی بود که هر سه ژن  $I$  و  $bc-3$  را داشت. میزان تغییرات عملکرد این ژنوتیپ نیز نسبتاً کم (۰/۹ درصد) می‌باشد.

بروز مقاومت شده است. همچنین مشخص گردیده است که دوزهای متفاوت ژن  $I$  می‌تواند واکنش‌های مقاومتی متفاوتی ایجاد کند (Collmer *et al.*, 2000). البته جواب قاطع به این موضوع، نیازمند مطالعات تكمیلی بیشتری است. متوسط تغییرات عملکرد ژنوتیپ‌های این گروه ۱/۸۴ درصد بود.

**گروه نهم:** ژنوتیپ‌های ۴- WA8563-2 و WA8563-1 در این گروه قرار گرفتند. واکنش این ژنوتیپ‌ها به BCMV منفی بود. نتایج جدول ۳ وجود ژن مقاوم  $I$  را در آنها تأیید می‌کند. نشان داده شده است که ژن  $I$  به تنها یابی نمی‌تواند مقاومت مناسبی علیه BCMV ایجاد نماید و باقیستی با یکی از ژن‌های خانواده  $bc-x$  همراهی گردد. از طرفی مشخص گردیده است که دوزهای متفاوت ژن  $I$  می‌تواند واکنش‌های مقاومتی متفاوتی ایجاد کند (Collmer *et al.*, 2000) (با توجه به این مطالب می‌توان بیان کرد که جهت بروز مقاومت در این ژنوتیپ، احتمالاً ژن  $I$  با یکی دیگر از ژن‌های خانواده  $bc-x$  (به جز  $bc-3$  و  $bc-I^2$ ) همراهی شده است. متوسط تغییرات عملکرد ژنوتیپ‌های این گروه ۲/۴۶ درصد بود.

**گروه دهم:** ژنوتیپ ۱۱۸۰۵ تنها ژنوتیپی است که در این گروه قرار گرفت. آزمون الایزا برای این ژنوتیپ منفی بود و نتایج جدول ۳ وجود ژن‌های مقاوم  $I$ ،  $bc-3$  و  $bc-I^2$  را در آن تأیید می‌کند. بنابراین، مقاومت مشاهده شده در این ژنوتیپ منطقی به نظر می‌رسد. البته باقیستی توجه داشت که ژن  $bc-3$  و  $bc-I^2$  اثر اپیستاتیکی دارد (Kelly *et al.*, 1995). تغییرات عملکرد در این ژنوتیپ، کم (۰/۹ درصد) بود که از این لحاظ، قابل توجه است.

مقایسه تغییرات عملکرد گروه‌های مختلف لوبيا با یکدیگر میانگین تغییرات عملکرد برای گروه لوبياچیتی (۳/۳۴ درصد)، لوبياسفید (۰/۶۰ درصد)، و لوبياقرمز (۹/۷۲ درصد)

جدول ۴ - مقایسه میانگین تغییرات عملکرد گروه‌های مختلف لوبيا در شرایط نرمال و آلودگی BCMV با آزمون  $t$   
Table 4. Mean comparison of bean different groups for yield variation in normal and BCMV infected conditions using t-test

مقایسه Comparison	درجه آزادی df	میانگین Mean	t	P-value
Chiti-Red	۱۴	Chiti 41.33	Red 27.95	1.35
Chiti-White	۱۶	Chiti 41.33	White 30.66	1.19
Red-White	۱۴	Red 27.95	White 30.66	0.28
A-B	۲۳	A 17.62	B 42.82	3.93
				0.001

حاوی ژن مغلوب  $bc-I^2$  بودند که در این بین، در رابطه با ژن  $I$  و  $bc-3$  بیشترین سهم مربوط به گروه لوبياقرمز بود. در بین ژن‌های مورد بررسی، کمترین سهم مربوط به ژن  $I^2$  و  $bc-3$  بود؛

به طور کلی، ژنوتیپ‌های مورد بررسی از نظر ژن‌های مقاوم به BCMV در سطح خوبی قرار داشتند. میزان ۰۰ درصد ژنوتیپ‌ها حاوی ژن  $I$  (۴۴ درصد) دارای ژن  $I$  و  $bc-3$  و  $bc-I^2$  بود.

این ژنوتیپ‌ها توجه ویژه‌ای بشود. همچنین دو ژنوتیپ Local Capsoli و Khomein در آزمون الایزا واکنش منفی به ویروس BCMV نشان دادند و تغییرات عملکرد آنها نیز کمتر از میانگین کل بود. از آنجاکه این دو ژنوتیپ فاقد هر سه ژن مقاوم برسی بودند، لذا این احتمال وجود دارد که ترکیبات ژنی مقاوم جدید در ژنوتیپ‌های Local Khomein و Capsoli (براساس نتایج به دست آمده در این تحقیق) وجود داشته باشد.

### سپاسگزاری

بدین‌وسیله از ایستگاه ملی تحقیقات لوبيای خمین به‌دلیل همکاری در تهیه بذور مورد آزمایش، سپاسگزاری می‌گردد.

به‌طوری‌که تنها یک ژنوتیپ گروه لوبياچیتی (Cardinal) و یک ژنوتیپ گروه لوبياسفید (1180۵) حاوی آن بودند و هیچ یک از ژنوتیپ‌های گروه لوبياکرمز، این ژن را نداشتند (جدول ۳).

ژنوتیپ‌های MCD4012 (چیتی)، D81083 (قمرز)، WA8528-9 (سفید) و 11805 (سفید)، همگی در آزمون الایزا واکنش منفی نشان دادند و تغییرات عملکرد آنها نیز نسبت به بقیه ژنوتیپ‌ها در سطح بسیار پایین‌تری بود. همچنین این ژنوتیپ‌ها همگی حاوی ترکیب ژنی *I* و *bc-3* هستند که بر اساس گزارش‌های مختلف (Strausbaugh *et al.*, 2003; Makeshimana *et al.*, 2005) بهترین ترکیب ژنی مقاوم علیه ویروس BCMV می‌باشد. لذا با توجه به نتایج به دست آمده از این تحقیق، پیشنهاد می‌شود در مطالعات اصلاحی آتی در خصوص ارقام مقاوم به ویروس BCMV، به

### منابع

- Ali, M. 1950. Genetic of resistance to the common bean mosaic virus (bean virus 1) in the bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Phytopathology* 40: 69-79.
- Ariyaratne, H.M., Coyne, D.P., Jung, G., Skroch, P.W., Vidaver, A.K., Steadman, J.R., Miklas, P.N., and Bassett, M.J. 1999. Molecular mapping of disease resistance genes for halo blight, common bacterial blight, and bean common mosaic virus in a segregating population of common bean. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 124(6): 654-662.
- Clark, M.F., and Adams, A.N. 1977. Characteristics of the micro plate method of enzyme-linked immune sorbent assay for detection of plant viruses. *Journal of Genetic Virology* 34: 475-483.
- Collmer, C.W., Marston, M.F., Taylor, J.C., and Jahn, M. 2000. The *I* gene of bean: A dosage-dependent allele conferring extreme resistance, hypersensitive resistance, or spreading vascular necrosis in response to the potyvirus bean common mosaic virus. *Molecular Plant-Microbiology Interaction* 13: 1266-1270.
- Day, K.L. 1983. Resistance to bean common mosaic virus in *Phaseolus* bean. Annual Report pp: 19- 21.
- Drijfhout, E. 1978. Genetic interact *Phaseolus vulgaris* and bean common mosaic virus with implications for strain identification and breeding for resistance. PhD. Dissertation. Wageningen Agriculture Research Report. 872.
- Drijfhout, E. 1991. Bean Common Mosaic. In: R. Hall (Ed.). Compendium of Bean Diseases. APS Press, The American Phytopathological Society, Minnesota: 37-39.
- Drijfhout, E., Silbernagel, M.J., and Burke, D.W. 1978. Differentiation of strains of bean common mosaic virus. *Netherlands Journal Plant Pathology* 84: 13-26.
- Eduardo, C.V., Gustavo, A.M., Valerie, J., Tommy, R.P., Ney, S.S., and Sally, A.M. 2006. Genetic and molecular characterization of the *I* locus of *Phaseolus vulgaris*. *Genetics* 172: 1229-1242.
- Gowen, N.J., and Jarret, R.L. 1991. A modified CTAB DNA extraction procedure for *Musa* and *Ipomoea*. *Plant Molecular Biology Report* 9: 262-266.
- Haley, S.D., Afanador, L., and Kelly, J.D. 1994. Identification and application of a random amplified polymorphic DNA marker for the *I* gene (potyvirus resistance) in common bean. *Phytopathology* 84: 157-160.
- Hassani, M., and Shahraeen, N. 2001. Determine of resistance bean genetically sources to CMV, BYMV and BCMV. Final Report, Central Province Agriculture Research Center.
- Johnson, W.C., Guzman, P., Mandala, D., Mkandawire, A.B.C., Temple, S., Gilbertson, R.L., and Gepts, P. 1997. Molecular tagging of the *bc-3* gene for introgression into Andean common bean. *Crop Science* 37: 248-254.
- Kamelmanesh, M.M., Dorri, H.R., Ghasemi, S., Bihamta, M.R., and Darvish, F. 2008. Gene action for resistance to Bean common mosaic virus (BCMV) in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Iranian Journal of Field Crops Research* 6(2): 363-370.

15. Kelly, J.D. 1997. A review of varietal response to bean common mosaic potyvirus in *Phaseolus vulgaris*. Plant & Seed 10: 1-6.
16. Kelly, J.D., Afanador, L., and Haley, S.D. 1995. Pyramiding genes for resistance to bean common mosaic virus. Euphytica 82: 207-212.
17. Makeshimana, G., Pandea, A., Rodriguez, S.C., and Ferreira, J.J. 2005. Markers linked to the bc-3 gene conditioning resistance to bean common mosaic potyviruses in common bean. Euphytica 144(3): 291-299.
18. Melloto, M., Afanador, L., and Kelly, J.D. 1996. Development of a SCAR marker linked to the *I* gene in common bean. Genome 39: 1216-1219.
19. Miklas, P.N., Hang, A.N., Kelly, J.D., Strausbaugh, C.A., and Forster, R.L. 2002. Registration of three kidney bean germplasm lines resistance to bean common mosaic and necrosis potyvirus: USLK-2 light red kidney, USDK-4 dark red kidney, and USWK-6 white kidney. Crop Science 42: 674-675.
20. Miklas, P.N., Larsen, R.C., Riley, R., and Kelly, J.D. 2000. Potential marker-assisted selection for *bc-1<sup>2</sup>* resistance to bean common mosaic potyvirus in common bean. Euphytica 116: 211-219.
21. Prasad, S.M., Barnwal, M.K., Sharma, R.B., and Prasad, N. 2007. Influence of different dates of sowing on incidence of virus diseases of French bean. 18(1): 44- 46.
22. Shree, P.S. 2001. Broadening the genetic base of common bean cultivars: A review. Crop Science 41: 1659-1675.
23. Silbernagel, M.J., Mink, G.L., Zhao, R.L., and Zhang, G.Y. 2001. Phenotypic recombination between bean common mosaic virus and bean common mosaic necrosis potyvirus in vivo. Archives of Virology 146: 1007-1020.
24. Singh, S.P., Teran, H., Lema, M., Webster, D.M., Strausbaugh, C.A., Miklas, P.N., Schwartz, H.F., and Brick, M.A. 2007. Seventy-five years of breeding dry bean of the Western USA. Crop Science 47(3): 981-989.
25. Strausbaugh, C.A., Miklas, P.N., Singh, S.P., Myers, J.R., and Forster, R.L. 2003. Genetic characterization of differential reaction among host group 3 common Bean cultivars to NL-3 K strain of Bean common mosaic necrosis virus. Phytopathology 93: 683-690.
26. Strausbaugh, C.A., Myers, J.R., Forster, R.L., and Mc Clean, P.E. 1999. *Bc-1* and *Bc-u* Two loci controlling bean common mosaic virus resistance in common bean are linked. Journal of American Society Horticulture Science 124: 644-648.

## **Distribution study of resistant genes to Bean Common Mosaic Virus in bean genotypes (*Phaseolus vulgaris* L.) using SCAR molecular markers**

**Kamelmanesh<sup>1</sup>, M.M., Namayandeh<sup>2\*</sup>, A. & Bihamta<sup>3</sup>, M.R.**

1. Department of Plant Protection, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz-Iran
2. Department of Horticulture Science, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz-Iran
3. Department of Agriculture Biotechnology of Tehran University

Received: 13 December 2011

Accepted: 17 November 2012

### **Abstract**

In order to determine resistance genetically potential of some bean genotypes to Bean Common Mosaic Virus, two separated experiments in randomized complete block design with 25 genotypes and three replications was conducted in IAU Shiraz Branch. The first experiment and the second one were performed in normal and BCMV infected conditions, respectively. Plants were inoculated in cotyledon leaf and first triple leaflet stage in the method of mechanical using carborundum powder. After 21 days, the first inoculation, sampling for PTA-ELISA test was done. According to the results, the genotypes that have *I* gene and at least one of the *bc-3* and *bc-I<sup>2</sup>* genes showed less yield decline in BCMV infected conditions than other genotypes (p-value=0.001). The least yield variation was relevant to WA8528-9 genotype (5.67%) which containing of *I* and *bc-3* genes. Among the genotypes, only 11805 had all of three (*I*, *bc-3* and *bc-I<sup>2</sup>*) genes. Yield variation of this genotype was 9.05%. Evidences have shown that 60% of genotypes had *I*, 44% had *bc-3* and 8% had *bc-I<sup>2</sup>* genes, respectively. One of the other important results of this research was negative reaction of two genotypes (Local Khomein and Capsoli) to ELISA test. These genotypes were devoid of each three resistant genes, whereas yield variations of them were low in BCMV infected conditions. Existence of new combinations of genes are possible in Local Khomein and Capsoli genotypes, so these genotypes should be considered specially.

**Key words:** BCMV, Bean, SCAR marker, Yield variation

---

\*Corresponding Author: namayandeh@iaushiraz.ac.ir, Mobile: 09173028464

# نشریه پژوهش های حبوبات ایران

دوفلسفام علمی - پژوهشی

پژوهشکده علوم کیمی و دانشگاه فردوسی مشهد

مشخصات داوران جلد ۵، شماره ۱، نیمة اول ۱۳۹۳  
(به ترتیب حروف الفبا)

دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد	ایزدی	ابراهیم	دکتر
پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد	پرسا	حسن	مهندس
دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد	پارسا	مهدي	دکتر
دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرون	جامی الاحمدی	مجید	دکتر
دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس تهران	جلالی	مختار	دکتر
دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام	حاتمی	علی	دکتر
دانشگاه شهید بهشتی کرمان	ذوالعلی	جعفر	دکتر
مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان رضوی	زارع فیض آبادی	احمد	دکتر
دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی شیروان	زارع مهرجردی	محمد	دکتر
مؤسسه تحقیقات آفات و بیماری‌های گیاهی تهران	زنده	اسکندر	دکتر
دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد	کافی	محمد	دکتر
دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد	گلستانی	مرتضی	دکتر
دانشکده کشاورزی دانشگاه زابل	گلوي	محمد	دکتر
دانشکده علوم دانشگاه فردوسی مشهد	گنجعلی	علی	دکتر
مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان	علی‌اکبر	مهندسان	دکتر
دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد	مصطفاقی	نسرين	دکتر
دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس تهران	معینی	احمد	دکتر
دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان	قصودلو	یحیی	دکتر
دانشکده شفارودی	ملک‌زاده شفارودی	سعید	دکتر
سازمان مرکزی جهاد دانشگاهی مشهد	میلانی	الناز	دکتر
دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد	نظامی	احمد	دکتر



# نشریه پژوهش های حبوبات ایران

دوفلسفامه علمی-پژوهشی

پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد

## فرم اشتراک

خواهشمند است فرم زیر را پس از تکمیل، به نشانی زیر ارسال فرمایید:

مشهد، میدان آزادی، پر迪س دانشگاه فردوسی مشهد، پژوهشکده علوم گیاهی  
دفتر نشریه پژوهش های حبوبات ایران، صندوق پستی: ۹۱۷۷۵-۱۶۵۳، کد پستی: ۹۱۷۷۹۴۸۹۷۴

مشخصات متقاضی: (لطفاً با ذکر جزئیات، مشخص فرمایید)

نام: (وزارت/ سازمان/ مؤسسه/ شرکت/ دانشگاه/ دانشکده/ کتابخانه/ بخش خصوصی/ شخصی/ سایر)

نشانی دقیق پستی:

.....  
.....  
.....

تلفن (با گذشت شهرستان): .....

تلفن همراه: .....

نامبر: .....

نحوه اشتراک:

مايل به اشتراک نشریه از تاریخ ..... تا ..... می باشم.

بهای هر شماره از نشریه، ۵۰۰۰ ریال می باشد. خواهشمند است مبلغ مربوط به تعداد شماره های مورد نیاز را به حساب شماره ۹۹۶۵۴ بدنام عواید اختصاصی پژوهشکده علوم گیاهی نزد بانک تجارت شعبه دانشگاه فردوسی واریز نموده و فیش آن را همراه با فرم، به دفتر نشریه ارسال فرمایید. هزینه های پستی به عهده متقاضی می باشد.

امضاء:

تاریخ:

Title	Author(s)	Page
• Gene expression profiling of chitinase and $\beta$ -1,3 glucanase in chickpea infected by Ascochyta blight	Afzal, R., Marashi, S.H., Moshtagh, N. & Kavousi, H.R.	151
• Distribution study of resistant genes to Bean Common Mosaic Virus in bean genotypes ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) using SCAR molecular markers	Kamelmanesh, M.M., Namayandeh, A. & Bihamta, M.R.	159

**Iranian Journal of  
Pulses Research**

**List of Articles  
Vol. 5, No. 1, 2014**

Title	Author(s)	Page
• Effect of the planting date, row spacing and seed rate on grain yield and protein yield of faba bean ( <i>Vicia faba</i> L.) in Rasht	Rabiee, M. & Jilani, M.	9
• Possibility of chickpea autumn planting in Saravan condition	Zafaranieh, M., Nezami, A., Ziae, S.M. & Jabbari, M.	23
• Relative efficiency of alpha lattice design over randomized complete block design in yield trials of chickpea ( <i>Cicer arietinum</i> L.)	Kanouni, H. & Imtiaz, M.	33
• Evaluation of chickpea ( <i>Cicer arietinum</i> L.) seed inoculation with rhizobium strains and plant promoting rhizobacteria (PGPR) on growth indices and photoassimilate partitioning under rainfed and irrigated conditions	Khaleghnezhad, V. & Jabbari, F.	45
• Efficacy of paraquat herbicide for common bean ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) weed management in stale seedbed practices	Rahimian Mashhadi, H., Mousavi, S.K. & Nazari Alem, J.	57
• Effect of line, soaking and cooking time on water absorption, texture and splitting of Iranian red kidney beans	Mosaffa, L., Zamindar, N. & Amooheidari, M.	69
• Effects of drought stress and planting methods on yield and yield components of two chickpea ( <i>Cicer arietinum</i> L.) cultivars	Abasluo, L., Kazemeini, S.A. & Edalat, M.	79
• Study on drought stress effects on morphological, physiological and biochemical characteristics of chickpea genotypes ( <i>Cicer arietinum</i> L.) under field condition	Ganjeali, A., Rahbarian, R., Bagheri, A. & Malekzadeh-Shafaroudi, S.	91
• Effect of drought stress on some morphophysiological traits and chlorophyll fluorescence of red bean seedlings ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	Sadat Rasti Sani, M., Lahouti, M. & Ganjeali, A.	103
• Trend of changes for morpho-physiological characteristics of chickpea ( <i>Cicer arietinum</i> L.) under salinity stress (NaCl) condition	Arefian, M., Vessal, S., Bagheri, A. and Ganjeali, A.	117
• Bioassay and molecular tests of transgenic chickpea ( <i>Cicer arietinum</i> L.) resistant to <i>Helicoverpa armigera</i> Hub.	Ebad Babajan, P., Moshtaghi, N., Bagheri, A., Marashi, H. & Malekzadeh-Shafaroudi, S.	129
• Investigation of resistance to chocolate spot ( <i>Botryotis fabae</i> Sard.) in faba bean ( <i>Vicia faba</i> L.) in Gorgan region	Sheikh, F. & Dehghani, H.	139

# *Iranian Journal of Pulses Research*

**A Biannually Scientific Journal**

**Research Center for Plant Sciences, Ferdowsi University of Mashhad**  
**Vol. 5, No. 1, 2014**

---

**Published by:** Research Center for Plant Sciences, Ferdowsi University of Mashhad

**Editor in Charge:** Dr. Mohammad Kafi

**Editor in Chief:** Dr. Abdolreza Bagheri

**Executive Director:** Hassan Porsa (MSc.)

## Editorial Board:

**Alireza Afsharifar**

Associate Professor, Shiraz University

**Ahmad Arzani**

Professor, College of Agriculture, Isfahan University of Technology (IUT)

**Nadeali Babaeian Jelodar**

Professor, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University

**Abdolreza Bagheri**

Professor, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad (FUM)

**Mohammad Galavi**

Associate Professor, Zabol University

**Serrollah Galeshi**

Professor, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

**Ali Ganjeali**

Associate Professor, Research Center for Plant Sciences, Ferdowsi University of Mashhad (FUM)

**Gholam Hossein Haghnia**

Professor, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad (FUM)

**Mohammad Kafi**

Professor, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad (FUM)

**Nasser Majnoun Hosseini**

Professor, College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj

**Hossain Massumi**

Associate Professor, University of Shahid Bahonar Kerman

**Ahmad Moieni**

Associate Professor, Tarbiat Modares University

**Ahmad Nezami**

Professor, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad (FUM)

**Hadi Ostovan**

Professor, College of Agricultural Sciences, Shiraz Branch, Islamic Azad University

**Sayyed Hossain Sabaghpoor**

Associate Professor, Agricultural and Natural Resources Research Center, Hamadan

**Editor:** Hassan Porsa (MSc.)

**Assistant:** Talachian, Mirshah-Velay, Asadi

**Circulation:** 100

This journal has the "Scholarly Grade" issued by the Ministry of Sciences, Research & Technology (No. 3/11/3785 dated 07/06/2010) and is published based on a Memorandum of Cooperation between Mashhad Ferdowsi University and the following universities: Isfahan University of Technology; Tarbiat Modares University; University of Shahid Bahonar Kerman; Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources; Shiraz Branch, Islamic Azad University; Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University.

**This journal is indexed in: Islamic World Science Citation Center (<http://www.isc.gov.ir>); Iranian Journals Database (<http://www.magiran.com>); Scientific Information Database ([www.SID.ir](http://www.SID.ir))**

---

## **Address:**

**Research Center for Plant Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Azadi Square, Mashhad- Iran**  
**P.O. Box: 91775-1653; ZIP Code: 9177948974; Tel.: +98-51-38804801 & 38804812; Fax: +98-51-38807024;**  
**E-mail: [ijpr@um.ac.ir](mailto:ijpr@um.ac.ir); Web Site: <http://rcps.um.ac.ir>; <http://ijpr.um.ac.ir/index.php/ijpr>**

# Iranian Journal of Pulses Research

A Biannually Scientific Journal

ISSN 2008-725X



Research Center for Plant Sciences  
Ferdowsi University of Mashhad

Vol. 5 (1) June 2014



دانشگاه صنعتی امیرکبیر



دانشکده زراعت مدرس



دانشکده شیمی ارگانیک



دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی



دانشکده فنی و تجارتی



دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی



دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی

- Effect of the planting date, row spacing and seed rate on grain yield and protein yield of faba bean (*Vicia faba* L.) in Rasht
- Possibility of chickpea autumn planting in Saravan condition
- Relative efficiency of alpha lattice design over randomized complete block design in yield trials of chickpea (*Cicer arietinum* L.)
- Evaluation of chickpea (*Cicer arietinum* L.) seed inoculation with rhizobium strains and plant promoting rhizobacteria (PGPR) on growth indices and photoassimilate partitioning under rainfed and irrigated conditions
- Efficacy of paraquat herbicide for common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) weed management in stale seedbed practices
- Effect of line, soaking and cooking time on water absorption, texture and splitting of Iranian red kidney beans
- Effects of drought stress and planting methods on yield and yield components of two chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars
- Study on drought stress effects on morphological, physiological and biochemical characteristics of chickpea genotypes (*Cicer arietinum* L.) under field condition
- Effect of drought stress on some morphophysiological traits and chlorophyll fluorescence of red bean seedlings (*Phaseolus vulgaris* L.)
- Trend of changes for morpho-physiological characteristics of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under salinity stress (NaCl) condition
- Bioassay and molecular tests of transgenic chickpea (*Cicer arietinum* L.) resistant to *Helicoverpa armigera* Hub.
- Investigation of resistance to chocolate spot (*Botryotinia fabae* Sard.) in faba bean (*Vicia faba* L.) in Gorgan region

Rabiee, M. & Jilani, M.

Zafaranieh, M., Nezami, A., Ziaeef, S.M. & Jabbari, M.

Kanouni, H. & Imtiaz, M.

Khaleghnezhad, V. & Jabbari, F.

Rahimian Mashhadi, H., Mousavi, S.K. & Nazari Alem, J.

Mosaffa, L., Zamindar, N. & Amooheidari, M.

Abasluo, L., Kazemeini, S.A. & Edalat, M.

Ganjeali, A., Rahbarian, R., Bagheri, A. & Malekzadeh-Shafaroudi, S.

Sadat Rasti Sani, M., Lahouti, M. & Ganjeali, A.

Arefian, M., Vessal, S., Bagheri, A. and Ganjeali, A.

Ebadi Babajan, P., Moshtaghi, N., Bagheri, A., Marashi, H. & Malekzadeh-Shafaroudi, S.

Sheikh, F. & Dehghani, H.

(Complete list, inside the journal...)