

## اثر تنش خشکی بر محتوای اسمولیت‌های سازگار، فعالیت آنزیمی و عملکرد دانه ژنوتیپ‌های نخود (*Cicer arietinum* L.)

### Effect of drought stress on compatible osmolytes content, enzyme activity and grain yield in chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes

عادل سی و سه مرده<sup>۱</sup>، سونیا غلامی<sup>۲</sup>، بهمن بهرام نژاد<sup>۳</sup>، همایون کانونی<sup>۴</sup> و فریده صادقی<sup>۵</sup>

#### چکیده

سی و سه مرده، ع. س. غلامی، ب. بهرام نژاد، ه. کانونی و ف. صادقی. ۱۳۹۲. اثر تنش خشکی بر محتوای اسمولیت‌های سازگار، فعالیت آنزیمی و عملکرد دانه ژنوتیپ‌های نخود (*Cicer arietinum* L.). مجله علوم زراعی ایران. ۱۶(۲): ۱۲۴-۱۰۹.

به منظور بررسی رابطه بین تجمع اسمولیت‌های سازگار و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در واکنش ژنوتیپ‌های نخود به تنش خشکی، دو آزمایش مجزا در شرایط مزرعه و کنترل شده در سال زراعی ۹۰-۱۳۸۹ در دانشکده کشاورزی دانشگاه کردستان به اجرا گذاشته شدند. آزمایش مزرعه‌ای به صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی اجرا شد. عامل اصلی شامل دو تیمار (آبیاری مطلوب و دیم) و عامل فرعی شامل ۱۹ ژنوتیپ نخود بودند. آزمایش گلدانی نیز به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با دو سطح پتانسیل آبی ۳- بار (شاهد) و ۱۲- بار (تنش خشکی) و ۱۹ ژنوتیپ نخود انجام شد. نتایج نشان داد که اثرات تنش خشکی و ژنوتیپ بر عملکرد دانه در آزمایش مزرعه‌ای معنی‌دار بود. بر این اساس ژنوتیپ‌های نخود متحمل به خشکی شناسایی شدند. در آزمایش گلدانی برخی از ویژگی‌های فیزیولوژیکی رابطه مشخصی با نمود ژنوتیپ‌ها در شرایط مزرعه نشان دادند. در مرحله زایشی تنش خشکی میزان پروتئین محلول برگ را از ۱۷/۵ به ۵ میلی گرم بر گرم وزن تر کاهش داد، اما در مجموع رابطه‌ای بین میزان پروتئین محلول برگ و مقاومت به خشکی مشاهده نشد. با افزایش میزان پرولین و کربوهیدرات‌های محلول بویژه در مرحله رویشی، شاخص تحمل به تنش بهبود پیدا کرد. همچنین رابطه مثبتی بین تجمع پرولین و کربوهیدرات‌های محلول ( $r = 0.59^{**}$ ) مشاهده شد که نشان‌دهنده نقش مشترک این دو در بهبود تحمل به تنش است. در مرحله رویشی تحت تنش خشکی میزان پرولین از ۰/۲۲ به ۲/۴ میلی گرم بر گرم وزن تر و غلظت کربوهیدرات‌های محلول از ۱۴ به ۱۶/۹ میلی گرم بر گرم افزایش یافت. نتایج این تحقیق نشان داد که تجمع کربوهیدرات‌های محلول در مقایسه با تجمع پرولین ارتباط بیشتری با تحمل به خشکی در ژنوتیپ‌های نخود داشت و نقش تنظیم‌کنندگی اسمزی کربوهیدرات‌های محلول تحت تنش خشکی در نخود دو برابر پرولین بود. بنابراین به نظر می‌رسد که میزان کربوهیدرات‌های محلول شاخص مناسب‌تری برای ارزیابی تحمل به خشکی در نخود می‌باشد، اما رابطه مشخصی بین فعالیت سوپراکسید دیسموتاز و تحمل به تنش مشاهده نگردید و به نظر می‌رسد که فعالیت آین آنزیم به شدت تنش بستگی داشته و به تفاوت‌های ژنوتیپی وابسته نیست.

واژه‌های کلیدی: تنش خشکی، سوپراکسید دیسموتاز، کربوهیدرات‌های محلول برگ و نخود.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۳/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۲/۳۱ این مقاله مستخرج از پایان‌نامه کارشناسی ارشد نگارنده دوم می‌باشد

۱- دانشیار دانشکده کشاورزی دانشگاه کردستان. عضو انجمن علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران (مکاتبه کننده) (پست الکترونیک: sioadel@yahoo.com)

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشکده کشاورزی دانشگاه کردستان

۳- دانشیار دانشکده کشاورزی دانشگاه کردستان

۴- استادیار مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی کردستان

۵- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشکده کشاورزی دانشگاه کردستان

## مقدمه

ترکیب اسمزی و هم به عنوان یک حفاظت کننده اسمزی عمل می کنند (Sanchez *et al.*, 2004). سانچز و همکاران (Sanchez *et al.*, 2004) در آزمایش خود روی ۴۹ ژنوتیپ نخود فرنگی گزارش کردند که غلظت قندهای محلول در گیاهان در معرض تنش در مقایسه با گیاهان شاهد بسته به ژنوتیپ بین ۱/۵ تا ۷ برابر افزایش یافت.

تنش های محیطی با افزایش تولید انواع اکسیژن فعال به بیومولکول های حیاتی نظیر لیپدها، DNA و پروتئین ها آسیب وارد می کنند. سلول های گیاهی جهت کاهش اثرات منفی انواع اکسیژن فعال تولید شده در سلول از سازوکارهای ویژه ای از جمله سیستم های آنتی اکسیدانی برخوردار هستند. سیستم آنتی اکسیدانی شامل عوامل آنزیمی و غیر آنزیمی می باشد، از جمله آنزیم ها می توان سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، پراکسیداز (POX) و کاتالاز (CAT) را نام برد (Singh *et al.*, 1994). فعالیت این آنزیم ها از مهم ترین عوامل در مقاومت گیاهان به تنش های محیطی محسوب می شود. سوپراکسیددیسموتاز به عنوان آنتی اکسیدان کلیدی متمرکز در سیتوسول، کلروپلاست، میتوکندری و پراکسی زوم مورد توجه است که رادیکال سوپر اکسید را به پراکسید هیدروژن کاتالیز می کند (Singh *et al.*, 1994). بنابراین SOD به عنوان یکی از اجزای مهم سازوکار دفاعی گیاه در نظر گرفته می شود.

تعیین ارتباط بین فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی با اسمولیت های سازگاز و اثر افزایشی آنها در ارقام مختلف گیاهان زراعی از جمله نخود در جهت مقابله با خشکی می تواند اطلاعات قابل توجهی در رابطه با سازوکارهای مقاومت به خشکی در اختیار قرار دهد، این موضوع در مقاله حاضر مورد بررسی قرار گرفته است.

## مواد و روش ها

این تحقیق به صورت دو آزمایش مزرعه ای و

در مناطق خشک و نیمه خشک، حبوبات از جمله گیاهانی هستند که بیشتر در خاک های کم حاصلخیز و اراضی حاشیه ای تحت تنش خشکی کشت می شوند و یکی از منابع مهم پروتئین گیاهی در این مناطق محسوب می شوند (Majnoun Hosseini, 2008). در ایران حبوبات از جمله نخود تحت شرایط محدودیت آب کشت می شود، یکی از تغییرات عمده بیوشیمیایی که در اثر کاهش رطوبت خاک در گیاهان زراعی رخ می دهد، تغییر در میزان تولید پروتئین های گیاهی در جهت تجزیه و یا جلوگیری از ساخت بعضی از آنها و نیز تولید دسته کوچکی از پروتئین های مخصوص تنش است. یکی از راهکارها برای درک توانایی گیاهان در تحمل به تنش های محیطی، شناسایی تغییرات القا شده با تنش در میزان پروتئین آنهاست، با این اندیشه که سازش به تنش، ناشی از تغییر بیان ژن است که سبب فعال یا غیر فعال شدن تعدادی از آنزیم ها می شود (Kawasaki and Borchert, 2001). تخریب پروتئین ها و انباشت برخی آمینواسیدهای آزاد در جهت حفظ و تنظیم فشار اسمزی سلول گیاهی و کاهش تولید پروتئین در شرایط تنش خشکی گزارش شده است (Moran *et al.*, 1994).

سازوکارهای تحمل خشکی خصوصاً در شرایط تنش شدید، شامل فرآیندهایی در سطح سلول است که از مهم ترین آنها می توان به تنظیم اسمزی اشاره نمود. به منظور حفظ تعادل اسمزی در شرایط تنش، انواع خاصی از متابولیت های سازگار آلی نظیر پرولین و قندهای محلول در سیتوپلاسم تجمع می یابند (Sanchez *et al.*, 1998). انباشت قندها تحت تنش خشکی ممکن است ناشی از کاهش انتقال از برگ، مصرف کمتر این ترکیبات و یا هیدرولیز نشاسته باشد (Kameli and Lasel, 1996). تجمع قندهای محلول در شرایط تنش در کاهش پتانسیل اسمزی برگ نقش تعیین کننده ای دارد. این متابولیت ها هم به عنوان یک

ساتی متر و تراکم ۲۵ بوته در متر مربع در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه کردستان واقع در منطقه دهگلان با مختصات ۴۷/۱۸ درجه شرقی و ۳۵/۱۸ درجه شمالی با ارتفاع ۱۸۶۶ متر از سطح دریا واقع در ۴۵ کیلومتری شرق شهرستان سنندج کشت شد. فاصله بین کرت‌های اصلی و فاصله بین تکرارها چهار متر در نظر گرفته شد. آبیاری در تیمار آبیاری مطلوب هر ۱۵ روز یکبار به گونه‌ای انجام شد که تا عمق ۵۰ سانتیمتری خاک به حد ظرفیت زراعی برسد و تیمار تنش خشکی به صورت دیم (بدون آبیاری و متکی به بارش‌های طبیعی در منطقه) کامل اعمال گردید. میزان بارندگی در تیمار دیم در فصل رشد نخود محدود به اردیبهشت ماه و به میزان ۷۷ میلی‌متر بود، متوسط دما در طی فصل رشد ۲۱ درجه سانتی‌گراد و میزان کل آب آبیاری علاوه بر بارندگی در تیمار آبیاری ۱۴۰ لیتر بر مترمربع (معادل ۱۴۰ میلی‌متر) بود. در مرحله رسیدگی با برداشت دو خط دو متری

گلدانی انجام شد. آزمایش مزرعه‌ای به صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در طی بهار و تابستان ۱۳۹۰ انجام گرفت. در این آزمایش تیمار آبیاری در دو سطح آبیاری مطلوب و تنش خشکی (دیم) به عنوان عامل اصلی و ۱۹ ژنوتیپ نخود (جدول ۱) به عنوان عامل فرعی در نظر گرفته شدند. مبداء ژنوتیپ‌های آزمایشی (به جزء ارقام بیونج و پیروز) از مرکز تحقیقات بین‌المللی کشاورزی مناطق خشک (ICARDA) بوده و از نتایج آزمایشات مختلف بخش تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کردستان استخراج شدند. رقم بیونج توده محلی کرمانشاه و رقم پیروز جزو ارقام اصلاح شده داخلی با مبداء اصفهان (توده بومی) می‌باشند. ژنوتیپ‌های ILC482 و بیونج قبلا توسط مفاخری و همکاران (Mafakheri et al., 2010) به عنوان ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی شناسایی شده بودند. هر ژنوتیپ در پنج ردیف چهار متری با فاصله ردیف ۳۰

جدول ۱- نام و شماره ژنوتیپ‌های نخود مورد استفاده در آزمایش

Table 1. Name and number of chickpea genotypes used in the experiment

شماره ژنوتیپ No. of genotype	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
نام ژنوتیپ Name of genotype	ILC 8262	ILC 8617	ILC 482	FLIP 96-90C	SeI93TH24477	Flip 98-108C	FLIP 97-26C	FLIP 99-48C	SeI96TH11439	X9TH5K10	ARMAN	FLIP 93-255C	SeI93TH24469	FLIP 00-82C	FLIP 97-211C	FLIP 00-6C	Azad	Pirooz	Bivanig

آزمایش گلدانی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار با دو سطح پتانسیل آبی ۳- بار (شاهد) و ۱۲- بار (تنش) و ۱۹ ژنوتیپ نخود (جدول ۱) انجام شد. کشت در گلدان به صورت انتظاری و در بهمن ماه ۱۳۸۹ صورت گرفت. گلدان‌ها در هوای آزاد (شرایط طبیعی) قرار گرفته و طی بهار و در موقع بارندگی در تیمار تنش روی

عملکرد دانه تعیین و شاخص تحمل به تنش (STI) جهت ارزیابی مقاومت نسبی ژنوتیپ‌ها به تنش خشکی تعیین گردید. در رابطه زیر  $Y_p$  و  $Y_s$  به ترتیب عملکرد هر ژنوتیپ در شرایط آبیاری و تنش خشکی و  $\bar{Y}_p$  نیز میانگین عملکرد کلیه ژنوتیپ‌ها در شرایط آبیاری می‌باشد.

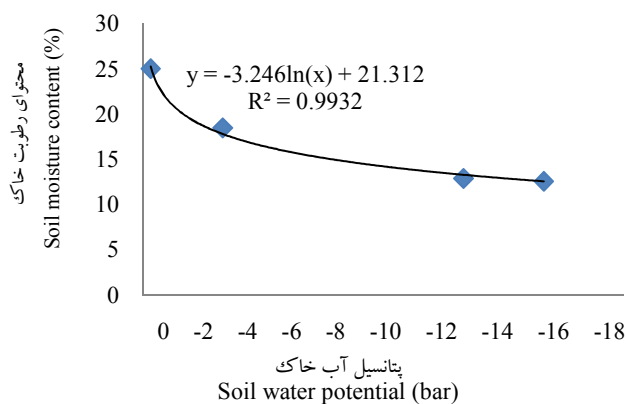
$$STI = (Y_p \times Y_s) / (\bar{Y}_p^2)$$

گلدان‌های مربوطه با پوشش پلاستیک بی رنگ و به کمک میله‌های آهنی تا ارتفاع ۱/۵ متری به منظور جلوگیری از دریافت باران پوشانده شد به طوری که هوا در زیر پلاستیک جریان داشته و با هوای بیرون هم‌دما بود، پس از رفع احتمال بارندگی پوشش برداشته می‌شد. هر واحد آزمایشی، شامل چهار گلدان بود و وزن خاک درون هر گلدان ۴/۵ کیلوگرم در نظر گرفته شد و شش بذر در هر گلدان کاشته شد. خاک گلدان‌ها دارای بافت لومی بود. بذرها قبل از کاشت با سم بنومیل با نسبت دو در هزار ضد عفونی و سپس با کود بیولوژیک Rhizochickpea Super Plus حاوی باکتری *Mesorhizobiumciceri* تلقیح شدند. به منظور اعمال پتانسیل آبی ابتدا گلدان‌ها آبیاری شده و آبیاری مجدد گلدان‌های شاهد از ابتدای بهار پس از رسیدن پتانسیل آب خاک گلدان به ۳- بار و در گلدان‌های تنش پس از رسیدن پتانسیل آب خاک گلدان به ۱۲- بار تا رسیدن میزان آب خاک گلدان به ظرفیت زراعی صورت گرفت. پتانسیل‌های آبی با استفاده از وزن کردن روزانه گلدان‌ها و با استفاده از نمودار پتانسیل آبی خاک در درصدهای مختلف وزن خاک که با استفاده از صفحه فشاری تهیه شده بود محاسبه شد (شکل ۱). در دو مرحله رویشی و زایشی نمونه‌های برگ از

کلیه واحدهای آزمایشی برداشت و در فریزر (۴۰- درجه سانتیگراد) نگهداری شد و میزان پروتئین به روش برادفورد (Bradford, 1976)، میزان پرولین از روش بیتس و همکاران (Bates and et al., 1973)، کربوهیدرات‌های محلول به روش فنل اسید سولفوریک (Ahmadi and SioSe mardeh, 2004) و میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به روش دهیندسا و همکاران (Dhindsa et al., 1981) در دو مرحله رشد رویشی و زایشی اندازه‌گیری شدند. به منظور انجام محاسبات آماری از نرم‌افزارهای آماری SAS و SPSS استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد صورت گرفت.

### نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات تنش خشکی و ژنوتیپ بر عملکرد دانه معنی‌دار بود. در این تحقیق تفاوت بین عملکرد دانه ژنوتیپ‌ها در شرایط بدون تنش خشکی (آبیاری) قابل توجه بود و دامنه‌ای از ۹۸۸ تا ۱۶۱۹ کیلوگرم در هکتار را داشت. در شرایط تنش خشکی (دیم) نیز عملکرد دانه از ۳۴۴ تا ۱۲۲۹ کیلوگرم در هکتار متغیر بود. نتایج نشان



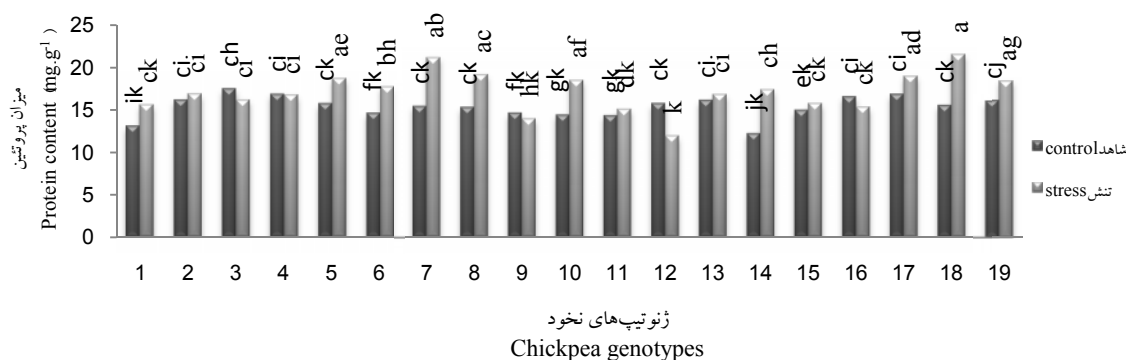
شکل ۱- منحنی پتانسیل آب خاک (بار)

Fig. 1. Soil water potential (bar)

خشکی (ژنوتیپ‌های ۸، ۹، ۱۰ و ۱۱) و ژنوتیپ‌های با پتانسیل عملکرد پایین و حساس به خشکی (ژنوتیپ‌های ۲، ۴، ۵، ۶ و ۱۲) بود.

در آزمایش گلدانی، تنش خشکی تاثیر معنی داری بر میزان پروتئین محلول برگ داشت (جدول ۲). در مرحله رویشی در شرایط تنش در مقایسه با شرایط آبیاری میزان پروتئین محلول برگ در ژنوتیپ‌های مختلف یا ثابت بود و یا افزایش یافت به گونه‌ای که ژنوتیپ شماره ۱۸ (رقم پیروز) دارای بیشترین و ژنوتیپ ۱۲ دارای کمترین میزان پروتئین محلول بودند (شکل ۲). محمدخانی و حیدری (2008) (Mohammad Khani and Heidari) نیز اظهار داشتند افزایش ابتدایی پروتئین‌های محلول در طی تنش به دلیل تشکیل پروتئین‌های جدید در اثر تنش می‌باشد. میزان پروتئین‌های محلول برگ در تیمار تنش خشکی در مرحله رشد زایشی به طور بسیار معنی داری کاهش یافت (شکل ۳)، به طوری که از ۱۷/۱۵ میلی گرم بر گرم وزن تر در مرحله رشد رویشی به ۴/۶۹ میلی گرم بر گرم در مرحله رشد زایشی در شرایط تنش رسید، کاهش سنتز پروتئین‌ها در شرایط تنش خشکی و یا تجزیه پروتئین‌ها به علت افزایش فعالیت آنزیم‌های پروتاز ممکن است دلیل این موضوع باشد (Ghorbanli *et al.*, 2001). به نظر می‌رسد

داد که عملکرد دانه برخی از ژنوتیپ‌ها تحت آبیاری مطلوب کمتر از عملکرد برخی دیگر از ژنوتیپ‌ها تحت تنش بود. این موضوع تنوع ژنوتیپ‌های مورد بررسی از لحاظ عملکرد دانه و نیز امکان گزینش ژنوتیپ‌هایی با واکنش‌هایی بسیار متفاوت به تنش خشکی را نشان می‌دهد. وان گینکل و همکاران (Van Ginkel *et al.*, 1998) معتقدند که معنی دار بودن اثر متقابل ژنوتیپ در سطوح آبیاری نشان می‌دهد که صفات مطلوب برای تعیین عملکرد در شرایط مطلوب و تنش متفاوت از هم هستند، اما در این تحقیق عدم معنی دار بودن اثر متقابل تنش × ژنوتیپ نشان می‌دهد که عملکرد ژنوتیپ‌ها در شرایط با و بدون تنش خشکی مستقل از هم است. در تحقیق حاضر به منظور ارزیابی پاسخ ژنوتیپ‌های نخود به تنش خشکی بر مبنای عملکرد دانه در شرایط آبیاری مطلوب و تنش خشکی، شاخص تحمل به تنش (STI) محاسبه شد، سپس با توجه به شاخص تحمل تنش و عملکرد در شرایط بدون و با تنش (Blum 1988) ژنوتیپ‌ها به چهار گروه دسته‌بندی شدند که شامل ژنوتیپ‌هایی با پتانسیل عملکرد بالا و مقاوم به خشکی (ژنوتیپ‌های شماره ۳، ۱۳، ۱۴، ۱۵، ۱۶، ۱۷، ۱۸ و ۱۹)، ژنوتیپ‌های با پتانسیل عملکرد بالا و حساس به خشکی (ژنوتیپ‌های ۱ و ۷)، ژنوتیپ‌های با پتانسیل عملکرد پایین و مقاوم به

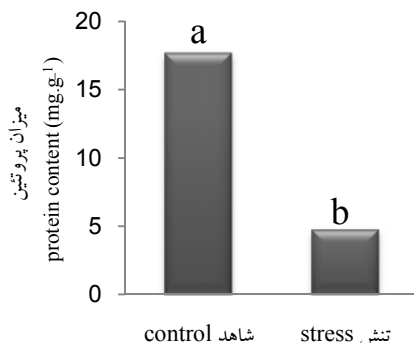


شکل ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارهای آبیاری × ژنوتیپ بر میزان پروتئین ژنوتیپ‌های نخود در مرحله رویشی

Fig. 2. Mean comparison of protein content of chickpea genotypes in interaction effect of irrigation × genotype in vegetative stage

با توجه به محتوای بالای پروتئین در دانه نخود، کاهش پروتئین برگ در مرحله رشد زایشی به دلیل نیاز دانه به پروتئین و انتقال این ترکیبات به دانه

که در مرحله رویشی شدت و دوام تنش به اندازه ای نبود که باعث کاهش شدید سنتز و یا افزایش قابل توجه تجزیه پروتئین ها شود.

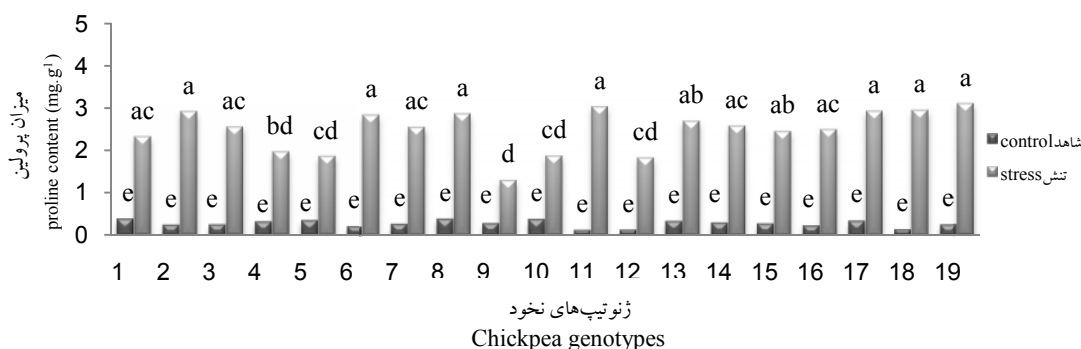


شکل ۳- مقایسه میانگین اثر تیمارهای آبیاری بر میزان پروتئین های محلول ژنوتیپ های نخود در مرحله رشد زایشی

Fig. 3. Mean comparison of protein content of chickpea genotypes in irrigation treatments in reproductive stage

بنابراین نیاز به انتقال مجدد اسیدهای آمینه حاصل از تجزیه پروتئین ها در این شرایط بیشتر از شرایط آبی است. نتایج این آزمایش نشان داد که میزان پروتئین در مرحله زایشی در ژنوتیپ های متحمل بیشتر از ژنوتیپ های حساس بود، با این وجود در هر دو مرحله رویشی و زایشی رابطه ای بین میزان پروتئین و عملکرد در شرایط تنش و یا شاخص تحمل به خشکی وجود نداشت، بنابراین می توان نتیجه گرفت که میزان پروتئین به تنهایی نمی تواند شاخصی از تحمل به خشکی در

مخصوصاً در تیمار تنش می باشد که به دلیل زودرسی این انتقال سریع تر از تیمار آبی صورت می گیرد. چنین وضعیتی در گیاهان دیگر از جمله گندم توسط کلش رستا و همکاران (Kulshrestha *et al.*, 1987) گزارش شده است. به نظر می رسد که در شرایط تنش به دلیل محدودیت آب خاک، انحلال ترکیبات نیتروژن دار در محلول خاک کاهش یافته و امکان جذب و انتقال آن به دانه کاهش می یابد و فعالیت باکتری های همزیست نیز کاهش می یابد (Salardini and Mojtahedi, 1983)،



شکل ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارهای آبیاری × ژنوتیپ بر میزان پرولین ژنوتیپ های نخود در مرحله رویشی

Fig. 4. Interaction effects of irrigation × genotype on proline content of chickpea genotypes in vegetative stage

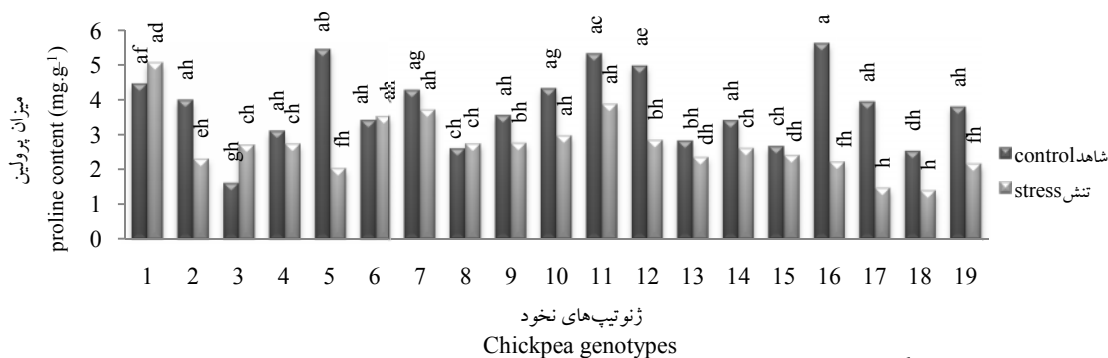
رشد رویشی و زایشی گزارش کردند، مطابقت داشت. میزان پرولین در مرحله رشد زایشی بیشتر از مرحله رشد رویشی بود (شکل‌های ۴ و ۵). در حالی که در مرحله رشد زایشی علی‌رغم اعمال تنش شدیدتر، میزان پرولین در شرایط تنش در مقایسه با شاهد کاهش یافت (شکل ۵). در مرحله زایشی با توجه به تفاوت در زمان رسیدگی ژنوتیپ‌ها و برداشت همزمان نمونه‌ها جهت ارزیابی پرولین محلول، ممکن است بخش عمده‌ای از تفاوت میزان پرولین نمونه‌ها در مرحله زایشی به دلیل پیری برگ باشد و نه لزوماً تفاوت بین ژنوتیپ‌ها از لحاظ تجمع پرولین.

افزایش میزان پرولین به تنظیم اسمزی کمک

نخود باشد. گنجعلی (2009, Ganjali) گزارش کرد که با توجه به عدم تفاوت معنی‌دار میزان پروتئین در ارقام حساس و متحمل به خشکی نمی‌توان از این صفت بعنوان یک نشانگر، برای گزینش ژنوتیپ‌های مقاوم به خشکی نخود استفاده کرد.

مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در مرحله رویشی تنش خشکی باعث افزایش میزان پرولین شد (شکل ۴). میزان پرولین در تیمار شاهد ۰/۲۷ و در تیمار تنش ۲/۴۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بود.

این یافته با نتایج گزارش شده توسط قربانلی و همکاران (1997, Ghorbanliet *al.*) که افزایش چشمگیر اسید آمینه پرولین متناسب با افزایش تنش خشکی در دو رقم نخود را در دو مرحله



شکل ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارهای آبیاری × ژنوتیپ بر میزان پرولین ژنوتیپ‌های نخود در مرحله زایشی

Fig. 5. Interaction effect of irrigation × genotype on proline content of chickpea genotypes in reproductive stage

می‌کند و گزارش شده است که می‌تواند ناشی از چند عامل از جمله می‌توان به ممانعت از تجزیه پرولین، جلوگیری از تبدیل پرولین به پروتئین و یا افزایش تجزیه پروتئین که ممکن است با کاهش رشد همراه باشد، اشاره کرد (Kao, 1981). اما در این آزمایش افزایش همزمان میزان پرولین و پروتئین تحت تنش خشکی در مرحله رشد رویشی (شکل‌های ۲ و ۴) نشان می‌دهد که افزایش میزان پرولین تحت تنش خشکی در نخود بر خلاف بعضی گزارش‌ها

باندورسکا و استروینسکی (2003, Bandurska and Stroinski) ناشی از تجزیه پروتئین‌ها نبوده، بلکه بواسطه سنتز پرولین جدید است. همچنین با توجه به افزایش همزمان غلظت پرولین و کاهش پروتئین محلول تحت تنش خشکی در مرحله زایشی (شکل‌های ۳ و ۵)، می‌توان گفت که تجزیه پروتئین و کاهش میزان آن در این مرحله در جهت سنتز پرولین نبوده است. هر چند تجمع پرولین به گیاه کمک می‌کند که در دوره کوتاهی بعد از رفع تنش، رشد خود را بازیابی کند و بنابراین اثر مثبت بر عملکرد

نتایج تجزیه همبستگی نشان داد که در مرحله رویشی و تحت تنش محدود، تجمع پرولین با شاخص مقاومت به تنش (STI) همبستگی مثبت و معنی داری داشت، اما در مرحله زایشی هنگامی که شدت تنش به اندازه‌ای افزایش می‌یابد که تمامی ژنوتیپ‌ها به تنش واکنش داده و میزان پرولین در آنها افزایش می‌یابد،

خواهد داشت، ولی با این حال گزارش شده که در شرایط تنش خشکی طولانی مدت اثرات مفید آن قابل توجه نبوده و تجمع آن حتی اثر منفی بر عملکرد خواهد گذاشت زیرا منابع فتوسنتزی گیاه را به سمت فرایندهایی غیر از پر شدن دانه منحرف می‌کند (Sanchez et al., 1998).

جدول ۲- ضرایب همبستگی صفات فیزیولوژیک و عملکرد دانه نخود در مراحل رشد رویشی (بالای قطر) و زایشی (پایین قطر) در شرایط تنش خشکی

Table 2. Correlation coefficients between physiological traits and grain yield of chickpea genotypes during vegetative (above diameter) and reproductive stage (below diameter) under drought stress condition

		عملکرد دانه تحت تنش Grain yield (Ys)	پروتئین Protein	پروالین Proline	کربوهیدرات Carbohydrates	سوپراکسید دیسموتاز SOD	شاخص تحمل به تنش STI
Grain yield (Ys)	عملکرد دانه (تنش)	1	-0.1	0.39	0.52*	0.06	0.95**
Protein	پروتئین	0.15	1	0.22	0.25	0.23	-0.12
Proline	پروالین	-0.56*	0.09	1	0.59**	-0.06	0.52*
Carbohydrates	کربوهیدرات	0.18	-0.02	0.22	1	0.06	0.60**
SOD	سوپراکسید دیسموتاز	-0.28	-0.63**	0.28	-0.20	1	-0.08
STI	شاخص تحمل به تنش	0.95**	0.22	-0.15	0.17	-0.25	1

\* و \*\*: به ترتیب معنی دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد  
\*and \*\*: Significant at 5% and 1% probability levels, respectively

جدول ۳- ضرایب همبستگی صفات فیزیولوژیک و عملکرد دانه در مراحل رشد رویشی (بالای قطر) و زایشی (پایین قطر) در شرایط بدون تنش خشکی

Table 3. Correlation coefficients between physiological traits and grain yield of chickpea genotypes during vegetative (above diameter) and reproductive stage (below diameter) under non stress condition

		عملکرد دانه بدون تنش Grain yield (Yp)	پروتئین Protein	پروالین Proline	کربوهیدرات Carbohydrates	سوپراکسید دیسموتاز SOD	شاخص تحمل به تنش STI
Grain yield (Yp)	عملکرد دانه (آبیاری)	1	-0.02	0.01	-0.22	-0.03	0.59**
Protein	پروتئین	0.09	1	-0.11	-0.05	-0.38	0.11
Proline	پروالین	-0.35	0.66**	1	0.09	-0.20	-0.01
Carbohydrates	کربوهیدرات	-0.04	0.15	-0.10	1	-0.20	-0.38
SOD	سوپراکسید دیسموتاز	-0.07	0.52*	0.08	-0.21	1	0.13
STI	شاخص تحمل به تنش	0.59**	0.05	-0.33	0.59**	-0.28	1

\* و \*\*: به ترتیب معنی دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد  
\*and \*\*: Significant at 5% and 1% probability levels, respectively

(همزمان با رشد زایشی) میزان کربوهیدرات‌های محلول در هر دو شرایط بدون و با تنش خشکی نسبت به مرحله قبل (رشد رویشی) افزایش یافت. مواد فتوسنتزی پس از تولید در برگ به طرف مخزن‌های مواد فتوسنتزی (دانه) انتقال می‌یابند، بنابراین تجمع کربوهیدرات‌های محلول در برگ در مرحله دوم، حاکی از عدم انتقال آنها به این مخزن‌ها بواسطه پایین بودن ظرفیت مخزن (دانه) و عدم

رابطه‌ای بین میزان پرولین و مقاومت به خشکی مشاهده نخواهد شد (جدول ۲).

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات تیمارهای آبیاری، ژنوتیپ و اثر متقابل آبیاری در ژنوتیپ بر میزان کربوهیدرات‌های محلول برگ در مرحله رشد رویشی معنی دار بود. در مرحله رشد زایشی نیز ژنوتیپ بر این صفت اثر معنی داری داشت. در مرحله دوم تنش

نیز نشان داده است که ارقام متحمل تر نسبت به ارقام حساس از افزایش قندهای محلول بیشتری برخوردار بودند (Kameli and Losel, 1996 و Keller and Ludlow, 1993). این افزایش ممکن است بدلیل توانایی ارقام متحمل در بازنگه داشتن روزنه‌ها و ادامه فتوسنتز تحت شرایط تنش خشکی باشد.

اثر تنش خشکی در مرحله رشد زایشی بر غلظت کربوهیدرات‌های محلول برگ معنی‌دار نبود، اما تفاوت‌هایی از لحاظ میزان این ترکیبات بین ژنوتیپ‌ها دیده شد (شکل ۷). احمدی و سی‌وسه‌مرده (Ahmadi and SioSe Mardeh, 2004) نیز هیچگونه رابطه‌ای بین میزان گلوکز و تنش خشکی در گندم در مرحله رشد زایشی نیافتند. با توجه به آنچه که بیان شد می‌توان گفت که میزان کربوهیدرات‌های محلول برگ، بویژه در مرحله رشد رویشی می‌تواند شاخص مناسبی برای گزینش ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی نخود باشد.

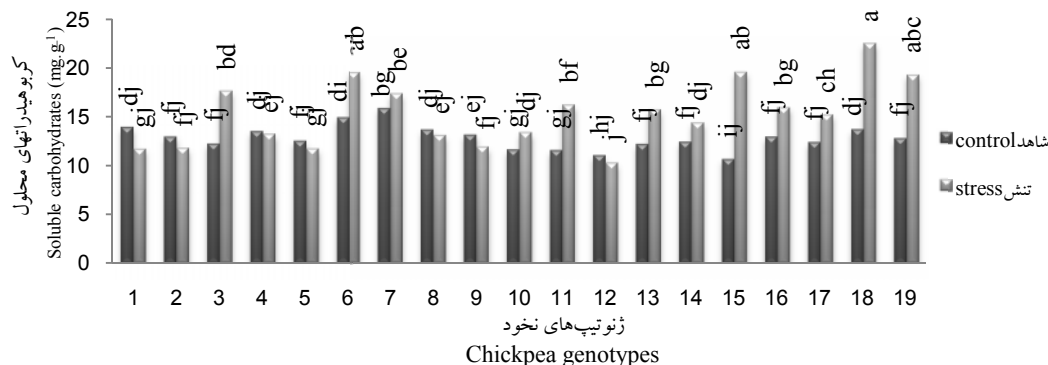
در شرایط تنش خشکی، میزان پرولین با میزان کربوهیدرات‌های محلول در ژنوتیپ‌های مورد بررسی، رابطه مثبت و معنی‌داری داشت و میزان پرولین با کربوهیدرات‌های محلول کل ( $r = 0.59^*$ ) در مرحله رویشی به صورت همسو افزایش یافت. در یک آزمایش گلدانی نیز روی سویا رقم گرگان ۳ یک روند فزاینده در میزان قندهای محلول و همسو با آن در پرولین در تیمار تنش خشکی مشاهده شد، به نحوی که این افزایش به خصوص در ساقه و برگ در طی تنش شدید چشمگیر بود (Ghorbanli and Niakan, 2005). علی‌رغم افزایش همزمان میزان پرولین و کربوهیدرات‌های محلول تحت تنش خشکی، نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که تجمع کربوهیدرات‌های محلول تحت تنش خشکی رابطه بیشتری با تحمل به خشکی در مقایسه با تجمع پرولین داشت. در آزمایش کاملی و لوسل (Kameli and Losel, 1996) در دو رقم حساس و متحمل گندم دوروم مشاهده شد که افزایش

نیاز دانه به کربوهیدرات‌های محلول یا بالا بودن قدرت برگ در تولید این ترکیبات و یا نیاز به کربوهیدرات‌های محلول در تنظیم اسمزی برگ است. مقایسه میانگین اثر متقابل آبیاری در ژنوتیپ در مرحله رشد رویشی نشان داد که در این مرحله رشد در ژنوتیپ‌های مورد بررسی، میزان کربوهیدرات تحت تنش یا ثابت باقی مانده و یا افزایش یافت، اما می‌توان گفت که در این مرحله تقریباً در ژنوتیپ‌های متحمل (ژنوتیپ‌های ۳، ۱۳، ۱۴، ۱۵، ۱۶، ۱۷، ۱۸ و ۱۹) میزان کربوهیدرات بیشتری برای مقابله با تنش خشکی تولید شد (شکل ۶)، به طوری که مقدار کربوهیدرات محلول در ژنوتیپ‌های متحمل ۱۴/۴ و در ژنوتیپ‌های حساس ۱۳/۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بود. گزارش شده است که بعضی از کربوهیدرات‌ها باعث تعدیل اثر بازدارندگی خشکی بر نسخه‌برداری از ژن‌های فتوسنتزی می‌شوند، برای نمونه بیان ژن‌های کدکننده زیر واحدهای کوچک و بزرگ رویسکو در طی تنش خشکی، نشان دهنده سازوکار کنترل شده‌ای است که این موضوع می‌تواند یکی از دلایل تجمع کربوهیدرات‌ها در برگ باشد (Koch, 1996). در گزارش‌های مختلف از جمله در نخود (Sanchez et al., 1998) به افزایش میزان قندهای محلول برگ در اثر اعمال تنش خشکی اشاره شده است. میزان کربوهیدرات‌های محلول برگ در مرحله رشد رویشی در شرایط تنش همبستگی مثبتی با عملکرد تنش و نیز شاخص تحمل به تنش (STI) داشت (جدول ۲).

مقایسه میانگین میزان کربوهیدرات‌های محلول ژنوتیپ‌ها در مرحله رشد زایشی هم حاکی از بالا بودن مقدار قندهای محلول در ژنوتیپ‌های متحمل بود (شکل ۷). این مقدار در مرحله رشد زایشی در ژنوتیپ‌های متحمل ۲۰/۵ و در ژنوتیپ‌های حساس ۱۸/۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بود که تفاوت این دو از لحاظ آماری معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ ). نتایج آزمایش‌هایی که قبلاً روی گیاهان مختلف انجام گرفته

با توجه به اینکه بخش عمده کربوهیدرات‌های محلول در برگ به صورت ساکارز تجمع یافته و وزن مولکولی ساکارز ۳۴۲ گرم بر مول است و از طرف

کربوهیدرات‌های محلول در رقم متحمل به کمبود آب شاخص مناسب‌تری، در مقایسه با پرولین، برای نشان دادن پتانسیل مقاومت به تنش کمبود آب بود.

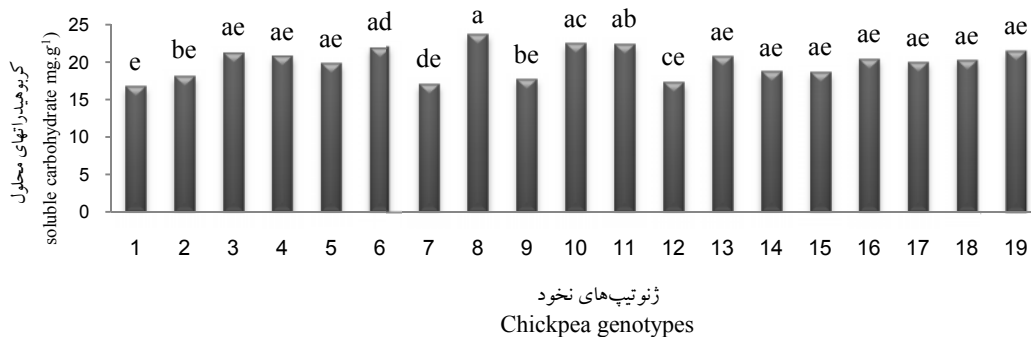


شکل ۶- مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارهای آبیاری × ژنوتیپ بر میزان کربوهیدرات‌های محلول در ژنوتیپ‌های نخود در مرحله رویشی

Fig. 6. Intraction effects of irrigation × genotype on soluble carbohydrates content of chickpea genotypes in vegetative stage

تنظیم کنندگی کربوهیدرات‌های محلول تحت تنش خشکی در نخود دو برابر پرولین می‌باشد. از طرف دیگر میزان کربوهیدرات‌های محلول با مقاومت به خشکی همبستگی بالایی داشت (جدول ۲). هر دو موضوع فوق نقش مهم کربوهیدرات محلول را در تحمل به خشکی ژنوتیپ‌های نخود نشان می‌دهند. مانز و ویر (Munns and Weir, 1981) نیز سهم قندها را در تنظیم اسمزی گیاهان مهم و قابل توجه ارزیابی کردند.

دیگر وزن مولکولی پرولین ۱۱۵ گرم بر مول می‌باشد، می‌توان با تقسیم کردن غلظت کربوهیدرات و پرولین بر وزن مولکولی آنها، کسر مولی هر یک از مواد را در برگ تعیین کرد. بر این اساس در شرایط تنش خشکی در مرحله رویشی میزان پرولین و کربوهیدرات‌های محلول به ترتیب به ۲۲ و ۴۴ میلی مول بر گرم وزن تر و در مرحله زایشی به ترتیب ۲۴ و ۵۸ میلی مول بر گرم وزن تر بود، بنابراین می‌توان گفت که نقش



شکل ۷- مقایسه میانگین میزان کربوهیدرات‌های محلول ژنوتیپ‌های نخود در مرحله رشد زایشی

Fig. 7. Mean comparison of soluble carbohydrates content of chickpea genotypes in reproductive stage

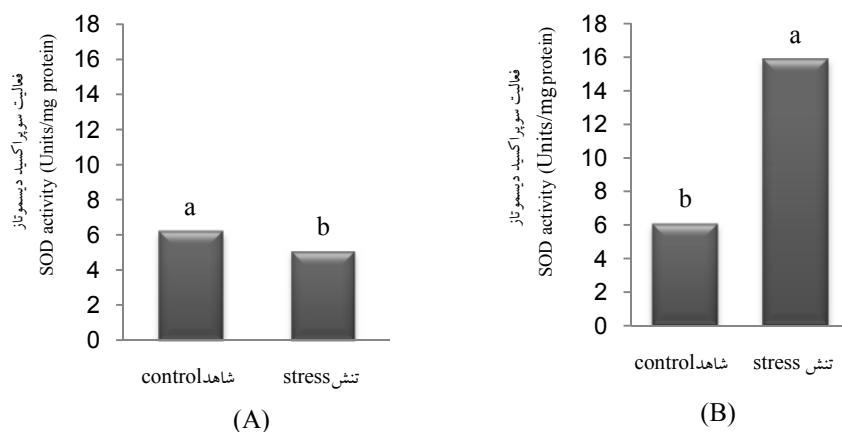
8-B). می‌توان عنوان کرد که همزمان با اعمال تنش خشکی میزان ترکیبات پراکسیدازی افزایش یافته و به دنبال آن فعالیت و غلظت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تحت تنش خشکی به منظور مقابله با رادیکال‌های آزاد تسریع گردیده است، با این وجود از میزان پروتئین کل گیاه به علت تنش وارده کاسته شده است. مشابه این افزایش (در اثر تنش خشکی) به وسیله محققین دیگر نیز گزارش شده است. شارما و دویی (Sharma and Dubey, 2005) گزارش کردند که فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز و آسکوربیت پراکسیداز در برنج با افزایش شدت تنش خشکی افزایش پیدا می‌کند، در صورتی که یانگ و همکاران (Yong et al., 2006) نشان دادند که با افزایش شدت خشکی فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز کاهش می‌یابد. به نظر می‌رسد که این تفاوت ناشی از گونه گیاهی، مرحله رشد و نمو بافت گیاه و شرایط محیطی باشد. در تحقیق حاضر نیز رابطه‌ای بین فعالیت آنزیم مذکور و مقاومت به خشکی در ژنوتیپ‌های نخود مشاهده نشد (جدول‌های ۲ و ۳). به نظر می‌رسد که فعالیت آین آنزیم به شدت تنش بستگی داشته و به تفاوت‌های ژنوتیپی وابسته نیست. فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در شرایط شاهد در هر دو مرحله رشد رویشی و زایشی در حدود ۶ واحد آنزیم در میلی گرم پروتئین بود، اما این فعالیت در شرایط تنش در مرحله رشد رویشی حدود ۵ و در مرحله رشد زایشی حدود ۱۶ واحد آنزیم در میلی گرم پروتئین بود. به نظر می‌رسد که این افزایش شدید بعلا شدت یافتن تنش در مرحله رشد زایشی و نیاز به آنزیم فوق جهت تبدیل سوپر اکسید به پراکسید هیدروژن می‌باشد، پراکسید هیدروژن در مرحله بعد به کمک آنزیم کاتالاز به آب و اکسیژن تبدیل می‌شود. همبستگی منفی و معنی‌دار بین غلظت پروتئین و فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز در مرحله زایشی (جدول ۲) می‌تواند بواسطه اثر تنش بر تولید ترکیبات اکسیداتیو و کاهش میزان پروتئین در نتیجه تاثیر این ترکیبات بر

باسیو و همکاران (Basu et al. 2007) نیز گزارش کردند که ساکارز اصلی‌ترین کربوهیدرات موثر در تنظیم اسمزی نخود می‌باشد، گرچه این محققین رابطه‌ای بین تنظیم اسمزی و تحمل به خشکی در گندم نیافتند.

نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در مرحله رشد رویشی میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در تیمار بدون تنش به طور معنی‌داری بیشتر از تیمار تنش خشکی بود (شکل ۸-A). اثر متقابل سطوح تنش  $\times$  ژنوتیپ بر فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در هر دو مرحله رشدی معنی‌دار نبود، به عبارت دیگر تنش خشکی تاثیری بر واکنش متفاوت بین ژنوتیپ‌های نخود از نظر میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز نداشت.

آنتی‌اکسیدان‌ها در حفظ تعادل اکسیداتیوی سلول‌ها نقش بسیار بارزی را ایفا می‌نمایند، زیرا این متابولیت‌ها توانایی واکنش مستقیم با انواع اکسیژن فعال و جمع‌آوری آنها را دارند (Israr and Sahi, 2006) به طوریکه کاهش فعالیت برخی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان با افزایش فعالیت آنزیم‌های دیگر جبران می‌گردد (Esfandiari, 2007). در آزمایشی روی گیاه *Tacitus bellus* در مراحل اولیه اندام‌زایی ساقه فعالیت آنزیم SOD کاهش و فعالیت آنزیم کاتالاز افزایش یافت (Mitrovic et al., 2012). برخی از پژوهشگران افزایش میزان آنتی‌اکسیدان‌ها را عامل اصلی مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی دانسته‌اند (Esfandiari, 2007 و Herbing et al., 2002)، زیرا افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان درگیر در سازوکارهای دفاعی، میزان آسیب به غشاهای DNA و اکسیداسیون پروتئینی را کاهش می‌دهد و می‌تواند بر اساس آنها به گزینش ارقام اقدام نمود.

در آزمایش حاضر در مرحله زایشی میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز تحت تنش خشکی به طور معنی‌داری از میزان فعالیت این آنزیم در گیاهان تحت تیمار آبیاری در کلیه ژنوتیپ‌ها بیشتر بود (شکل



شکل ۸- مقایسه میانگین اثر تیمارهای آبیاری بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در مرحله رویشی (A) و زایشی (B)

Fig. 8. Mean comparison of superoxide dismutase activity of chickpea genotypes in irrigation treatments in vegetative (A) and reproductive stage (B)

نقش داشته باشد. علی‌رغم افزایش همزمان پرولین و کربوهیدرات‌های محلول در شرایط تنش خشکی، نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که تجمع کربوهیدرات‌های محلول در مقایسه با تجمع پرولین رابطه بیشتری با مقاومت به خشکی داشت و نقش تنظیم‌کنندگی کربوهیدرات‌های محلول تحت تنش خشکی در خود دو برابر پرولین می‌باشد. این موضوع نقش مهم کربوهیدرات‌های محلول را در بهبود مقاومت به خشکی ژنوتیپ‌های نخود نشان می‌دهند. از طرف دیگر تنش خشکی قادر به ایجاد واکنش متفاوت بین ژنوتیپ‌های نخود از نظر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نگردید و به نظر می‌رسد که فعالیت این آنزیم به شدت تنش بستگی داشته و به تفاوت‌های ژنوتیپی وابسته نیست. با توجه به نقش پرولین و کربوهیدرات‌های محلول در شرایط تنش در این تحقیق پیشنهاد می‌شود که الگوی باندهای پروتئینی و تغییرات انواع مونو، دی و الیگو ساکاریدها به تفکیک در ژنوتیپ‌های نخود مورد بررسی قرار گیرد تا نقش احتمالی هر یک از آنها در بهبود مقاومت به خشکی در نخود تعیین شود.

تجزیه پروتئین و نیاز به حضور بیشتر سوپراکسید دیسموتاز جهت رفع اثر این آنتی‌اکسیدان‌ها باشد.

### نتیجه‌گیری

در مجموع نتایج آزمایش مزرعه‌ای نشان داد که ژنوتیپ‌های نخود واکنش متفاوتی به تنش خشکی داشته و بر این اساس امکان‌پذیر گزینش ژنوتیپ‌های متحمل به شرایط تنش خشکی مشابه در مناطق غربی ایران وجود دارد. در آزمایش گل‌دانی برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی رابطه مشخصی با نمود ژنوتیپ‌ها در شرایط مزرعه نشان دادند. برای نمونه میزان قندهای محلول و تا حد کمتری پروتئین محلول برگ در مرحله زایشی در ژنوتیپ‌های متحمل بیشتر از ژنوتیپ‌های حساس بود. تجمع کربوهیدرات‌های محلول طی مرحله رشد رویشی در برگ ممکن است به دلیل نیاز به این ترکیبات جهت تنظیم اسمزی برگ باشد و به همین دلیل با عملکرد تحت تنش همبستگی مثبتی نشان داد. تنش خشکی در مرحله اولیه رشد، میزان پرولین برگ را افزایش داد، این افزایش نیز ممکن است از طریق تنظیم اسمزی در مقاومت به تنش

References

- Ahmadi, A. and A. SioSe Mardeh. 2004.** The effects of water stress on soluble carbohydrates, chlorophyll and proline contents of four Iranian wheat cultivars under different moisture regimes. *Iran. J. Agric. Sci.* 35(3): 753-763. (In Persian with English abstract).
- Basu, P. S., J. D. Berger, N. C. Turner, S. K. Chaturvedi, M. Ali and K. M. Siddique. 2007.** Osmotic adjustment of chickpea is not associated with changes in carbohydrate comparison or leaf gas exchange under drought. *Ann. Appl. Biol.* 150 (2): 217-225
- Bates, L. S., R. P. Walderen and I. D. Teare. 1973.** Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil.* 39: 205-207.
- Blum, A. 1988.** Methods of plant breeding for drought resistance. In: Monti, L. and Procceddu, E. (Eds). *Drought resistance in plants: physiological and genetic aspects.* Luxembourg: EEC: 124-140.
- Bandurska, H. and Stroinski, A. 2003.** ABA and proline accumulation in leaves and roots of wild (*Hordeum spontaneum*) and cultivated (*Hordeum vulgare* Maresi) barley genotypes under deficit water conditions. *Acta Physiologiae Plantarum*, 25, 55-61.
- Bradford, M. M. 1976.** A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing protein-dye binding. *Analyt. Biochem.* 72: 248-254.
- Dhindsa, R. S., P. Plumb-Dhindsa and T.A. Thorpe. 1981.** Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *J. Exp. Bot.* 32: 93-101.
- Esfandiari, E. 2007.** Evaluation of drought tolerance in winter wheat cultivars using physiological and biochemical parameters. PhD thesis in Agronomy (Crop Physiology), Faculty of Agriculture, University of Tabriz. (In Persian with English abstract).
- Ganjali, A. 2009.** Hormonal changes and stomatal behavior of chickpea genotypes in response to drought stress. First National Conference of Plant Physiology of Iran. 12-13 August. Isfahan University of Technology. (In Persian)
- Ghorbanli, M., R. Hidari, M. Nojavan and T. Farboudnia. 1997.** The effect of water stress on the variation soluble of proteins and amino acids in two different of chickpea. *Iran. J. Agric. Sci.* 29(1): 67-77. (In Persian with English abstract).
- Ghorbanli, M. and M. Niakan. 2005.** Effect of drought stress on soluble sugar, protein, proline, phenolic compound contents and reductase enzyme activity in Gorgan3 soybean cultivar. *J. of Sci. (Teacher Training University).* 5 (2): 538 – 550. (In Persian with English abstract).
- Ghorbanli, M., M. Nojavan, R. Heydari and I. Frbodnia. 2001.** Changes in soluble sugars, starch and proteins by drought stress in two varieties of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *J. Agric. Sci. University Tarbiat Moalem.* 1 (1): 38-53. (In Persian with English abstract).
- Herbinger, K., M. Tausz, A. Wonisch, G. Soja, A. Sorger and D. Grill. 2002.** Complex interactive effects of

- drought and ozone stress on the antioxidant defense systems of two wheat cultivars. *Plant Physiol. Biochem.* 40: 691-696.
- Israr, M. and S. V. Sahi. 2006.** Antioxidative responses to mercury in the cell cultures of *Sesbania drummondii*. *Plant Physiol. Biochem.* 44: 590-595.
- Kameli, A. and D. M. Losel. 1996.** Growth and sugar accumulation in durum wheat plants under water stress. *New Phytol.* 132: 57-62.
- Kao, C. H. 1981.** Senescence of rice leaves. VI. Comparative study of the metabolic changes of senescing turgid and water-stressed excised leaves. *Plant Cell Physiol.* 22: 683-685.
- Kawasaki, S. and C. Borchert. 2001.** Gene expression profiles during the initial phase of salt stress in Rice. *The Plant Cell* 13: 889-905.
- Keller, F. and M. M. Ludlow. 1993.** Carbohydrate metabolism in drought-stress leaves of pigeonpea (*Cajanus cajan*). *J. Exp. Bot.* 44(265): 1351-1359.
- Koch, K. E. 1996.** Carbohydrate-modulated gene expression in plant. *Annual Review. Plant Physiol.* 47: 509-515.
- Kulshrestha, S., D. P. Mishra and R. K. Gupta. 1987.** Changes in contents of chlorophyll, protein and lipids in whole chloroplast and chloroplasts membrane fractions at different leaf water potentials in drought resistant and sensitive genotypes of wheat. *Photosynthetica.* 21: 65- 70.
- Mafakheri, A., A. Siosemardeh, B. Bahramnejad, P. C. Struik and E. Sohrabi. 2010.** Effect of drought stress on yield, proline and chlorophyll content in three chickpea cultivars. *Aust. J. Crop Sci.* 4 (8): 580 – 585.
- Majnoun Hosseini, N. 2008.** Grain Legume Production. Jihad-e- Daneshgahi of Tehran University Press. 4<sup>th</sup> Edition. 283 pp. (In Persian).
- Mitrovic, A., D. Janosevic, S. Budimir and J. Bogdanovic Pristov. 2012.** Changes in antioxidative enzymes activities during *Tacitus bellus* direct shoot organogenesis. *Biologia Plantarum.* 56(2): 357-361.
- Mohammad Khani, N. and R. Heidari. 2008.** Effects of drought stress on soluble proteins in two maize varieties. *J. Biol.* 32: 23-30.
- Moran, J. F., M. Becana, S. Frechilla, R. V. L. Klucasc and D. A. Tejo. 1994.** Drought induces oxidative stress in pea plants. *Planta.* 194: 346-352.
- Munns, R. and R. Weir. 1981.** Contribution of sugars to osmotic adjustment in elongating and expanded zones of wheat leaves during mild water deficits at two light levels. *Aust. J. Plant Physiol.* 8: 93-105.
- Salardini, A. and M. Mojtahedi. 1983.** Principles of Plant Nutrition. Tehran University Press. 433 pp. (In Persian).
- Sanchez, F. J., M. Manzanares, E. F. De Andres, J. L. Tenorio and L. Ayerbe. 1998.** Turgor maintenance, osmotic adjustment and soluble sugar and prolin accumulation in 49 pea cultivars in responses to water stress. *Field Crops Res.* 59: 225-235.

- Sanchez, F. J., E. F. D. Ander, J. L. Tenorio and L. Ayerbe. 2004.** Growth of epicotyls turgor maintenance and osmotic adjustment in pea plant (*Pisum sativum* L.) subjected to water stress. *Field Crops Res.* 86: 81-90.
- Sharma, P. and R. S. Dubey. 2005.** Drought induces oxidative stress and enhances the activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. *Plant Growth Reg.* 46: 209-221.
- Singh, K. B., R. S. Malhotra, M. H. Halila, M. H. Halila, E. J. Kinghts and M. M. Verma. 1994.** Current status and future strategy in breeding chickpea for resistance to biotic and abiotic stresses. *Euphytica*, 73: 137-149.
- Van Ginkel, M., D. S. Calhoun, G. Gebeyehu, A. Miranda, C. Tian-you, R. Pargas Lara, R.M Trethowan, K. Sayre, L. Crossa and S. Rajaram. 1998.** Plant traits related to yield of wheat in early, late or continuous drought conditions. *Euphytica*, 100: 109-121.
- Yong, T., L. Zongsuo, S. Hongbo and D. Feng. 2006.** Effect of water deficits on the activity of anti-oxidative enzymes and osmoregulation among three different genotypes of *Radix astragali* at seedling stage. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 49: 60-65.

## Effect of drought stress on compatible osmolytes content, enzyme activity and grain yield in chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes

Sio-Se Mardeh, A.<sup>1</sup>, S. Gholami<sup>2</sup>, B. Bahramnejad<sup>3</sup>, H. Kanouni<sup>4</sup>  
and F. Sadeghi<sup>5</sup>

### ABSTRACT

Sio-Se Mardeh, A., S. Gholami, B. Bahramnejad, H. Kanouni and F. Sadeghi. 2014. Effect of drought stress on compatible osmolytes content, enzyme activity and grain yield in chickpea (*Cicer arietinum* L) genotypes. **Iranian Journal of Crop Sciences**. 16(2): 109 -124. (In Persian).

The relationship between accumulation of compatible osmolytes and superoxide dismutase (SOD) activity with grain yield of chickpea genotypes in responses to drought stress was studied in two separate experiments; a field and a pot experiments at the Faculty of Agriculture, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran, in 2010-11 cropping season. Field experiment was carried out as split plot arrangement in randomized complete blocks design (RCBD) with three replications. Irrigation and rainfed conditions were assigned to main plots and chickpea genotypes were randomized in subplots. Pot experiment was conducted as factorial arrangement using RCBD with two factors including irrigation treatments (irrigation at -3 (control) and -12 bar (stress) of soil water potential) and 19 chickpea genotypes as second factor with three replications. Results showed that the effects of drought stress and genotype on grain yield was significant in the field experiment. Genotypes showed different responses to drought stress. In pot experiment some physiological traits showed specific relationship with genotype performance under field condition. In the reproductive stage, drought stress decreased leaf soluble protein from 17.5 to 5 mg.g<sup>-1</sup>. However, there was no relationship between concentration of total soluble leaf protein and drought tolerance, but increasing of proline and soluble carbohydrates concentration, improved stress tolerance index especially in the vegetative stage. Results showed positive relationship between accumulation of proline and soluble carbohydrates concentration ( $r = 0.59^{**}$ ), that revealed a common role of these osmolytes in improvement of drought stress tolerance in chickpea genotypes. In the vegetative stage, drought stress increased proline concentration from 0.27 to 2.4 mg.g<sup>-1</sup> and soluble carbohydrates from 14 to 16.9 mg.g<sup>-1</sup>. These results indicated that soluble carbohydrates accumulation had stronger relationship with drought tolerance rather than proline concentration, and soluble carbohydrates had two fold higher osmotic adjustment than proline. It can be concluded that accumulation of soluble carbohydrates is a better index in selection for drought tolerance in chickpea. However, results showed no relationship between SOD activity and stress tolerance in chickpea genotypes.

**Key words:** Chickpea, Drought stress, Leaf soluble Carbohydrate and Superoxide dismutase.

Received: June, 2013

Accepted: May, 2014

1- Associate Prof., University of Kurdistan, Sanandaj, Iran (Corresponding author) (Email: sioadel@yahoo.com)

2- MSc. Student, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran

3- Associate Prof., University of Kurdistan, Sanandaj, Iran

4- Assistant Prof., Agricultural and Natural Resources Research Center of Kurdistan Province, Sanandaj, Iran

5-MSc. Student, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran