علوم گیاهان زراعی ایران
دورهٔ ۴۷، شمارهٔ ۳، پاییز ۱۳۹۵ (ص ۴۶۲-۴۵۱)
DOI: 10.22059/ijfcs.2016.60126

تأثیر تنش خشکی بر تنظیم اسمزی، تغییرپذیری پرولین و قندهای محلول ریشه و برگ و رابطهٔ آن با تحمل به خشکی در دوازده ژنوتیپ نخود (*Cicer arietinum* L.)

محمد زارع مهرجردی[۱]، عبدالرضا باقری[۲]، احمدرضا بهرامی[۳]، جعفر نباتی[۴*] و علی معصومی[۵]
۱. استادیار، مجتمع آموزش عالی شیروان
۲، ۳ و ۴. استاد دانشکدهٔ کشاورزی، استاد دانشکدهٔ علوم و استادیار پژوهشکدهٔ علوم گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد
۵. استادیار، گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۸/۹- تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۰/۱۹)

چکیده

خشکی از جمله تنش‌های مهم محیطی است که بر رشد و نمو گیاهان اثر می‌گذارد. این آزمایش به‌منظور ارزیابی تأثیر تنش خشکی بر دوازده ژنوتیپ نخود در شرایط آبکشت (هیدروپونیک) با استفاده از پلی‌اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ و ایجاد تیمارهای تنش ۳- و ۶- بار و شاهد (بدون تنش) انجام شد. دو هفته پس از اعمال تیمار تنش روی ژنوتیپ‌ها، متغیرها ارزیابی شدند. نتایج نشان داد که با اعمال تنش خشکی، درصد رطوبت برگ کاسته شد اما در ریشه‌ها تغییر معنی‌داری از این نظر مشاهده نشد. در برابر میزان پتانسیل اسمزی، میزان اسمولیت‌ها و پرولین در پاسخ به تنش خشکی در برگ و ریشه افزایش یافت. شاخص تحمل به خشکی (DRI) بر پایهٔ عملکرد زیست‌توده، در ژنوتیپ‌ها همبستگی مثبت و معنی‌داری با میزان اسمولیت‌های ریشه در تیمار تنش ۳- بار داشت. با وجود معنی‌دار نبودن تغییر میزان قند محلول برگ در تیمارها، در ریشه میزان این ترکیب‌ها در تیمارهای تنش نسبت به شاهد کاسته شد. به‌رغم وجود همبستگی بین شاخص تحمل به خشکی با برخی از صفات اندازه‌گیری‌شده به نظر می‌رسد که تنظیم اسمزی، درصد رطوبت، پرولین و قندهای محلول هیچ‌کدام به‌تنهایی نمی‌توانند شاخص مناسبی برای ارزیابی تحمل به خشکی در ژنوتیپ‌های نخود در شرایط یکسان با این آزمایش باشند.

واژه‌های کلیدی: آبکشت، اسمولیت، پتانسیل اسمزی، نخود.

Effect of drought stress on osmotic adjustment, proline and soluble sugars in root and shoot and relationship with drought tolerance in 12 genotypes of Chickpea (*Cicer arietinum* L.)

Mohammad Zare Mehrjerdi[1], Abdolreza Bagheri[2], Ahmadreza Bahrami[3], Jafar Nabati[4*] and Ali Masoumi[5]
1. Assistance Professor, Shirvan Higher Education Complex, Iran
2, 3, 4. Professor, Faculty of Agriculture, Professor, Faculty of Science and Assistance Professor Research Center for Plant Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Iran
5. Assistance Professor, Department of Agriculture, Payame Noor University, Iran
(Received: Oct. 31, 2015 - Accepted: Jan. 9, 2016)

ABSTRACT

Environmental stresses such as drought have important effects on plant growth and development. In order to evaluate the effect of drought tolerance, 12 chickpea genotypes were treated with drought stress in hydroponic condition in greenhouses. Treatments were a control and two stress treatments -3 and -6 bar that was created with polyethylene glycol in hydroponic condition. Two weeks after the stress treatments on the genotypes, moisture content, osmotic potential, proline and soluble sugars were evaluated in their shoot and root. Results showed that drought stress reduced moisture content in shoot, but moisture content in the root had no significant changes. On the other hand amount of osmotic potential, osmotic compounds and proline increased in response to drought stress in shoot and root. Drought tolerance index in genotypes showed positive significant correlation with amount of the root osmotic compounds in -3 bar treatment. Despite the absence of significant changes in leaf soluble sugars, the amount of root soluble sugars declined in stress treatments compared to control. In addition, the positive significant correlation was observed between the drought tolerance index in -6 bar treatments and root soluble sugars of this treatment. Leaf and root proline levels had not significantly correlation with drought tolerance in genotypes. Despite some correlations between traits and drought tolerance index it seems that osmotic adjustment, moisture content, proline and soluble sugars alone not to be a suitable indicator to evaluate drought tolerance in chickpea genotypes.

Keywords: chickpea, hydroponic, osmotic compounds, osmotic potential.

* Corresponding author E-mail: jafarnabati@ferdowsi.um.ac.ir Tel: +98 915 645 8109

مقدمه

تنش خشکی یکی از مهم‌ترین عامل‌های کاهش بهره‌وری تولید محصولات کشاورزی در سراسر جهان به شمار می‌رود (Todaka *et al*., 2015). افزایش تحمل گیاهان به این تنش برای حفظ عملکرد در مناطقی مانند ایران که فصل خشک دارند اهمیت زیادی دارد. بنابراین، بهبود تحمل به خشکی در گونه‌های زراعی برای تحمل هرچه بیشتر تنش، هدف اصلی بسیاری از برنامه‌های اصلاح‌نژاد به‌منظور افزایش تولید در این مناطق است (Bartels & Sunkar, 2005).

بررسی‌های زیادی به‌منظور شناسایی صفات فیزیولوژیکی که بتوان از آن‌ها به‌عنوان شاخص انتخاب برای مقاومت به خشکی استفاده کرد، انجام شده است (Blum *et al*., 1996; Lizana *et al*., 2006). سازوکارهای مختلفی وجود دارد که در تحمل به خشکی نقش دارند، ولی درجهٔ اهمیت آن‌ها هنوز مشخص نشده است (Reddy *et al*., 2004). از جمله صفاتی که مورد توجه قرار گرفته‌اند، توانایی گیاهان برای تنظیم اسمزی در شرایط تنش خشکی هستند. تنظیم اسمزی امکان تحمل کوتاه‌مدت یا درازمدت کمبود آب را به گیاهان می‌دهد و یکی از فرآیندهای مهم در سازگاری گیاهان به خشکی است (Chaves *et al*., 2003). در رویارویی با کمبود آب، گیاهان ممکن است اسیدهای آمینه (پرولین و اسید آسپارتیک)، پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌های محلول (ساکارز، گلوکز و مانیتول)، ترکیب‌های آمونیوم چهارتایی متیله (گلایسین بتایین و آلانین بتایین) و اسیدهای آلی را تولید و در یاخته‌ها جمع و ذخیره کنند (Ingram & Bartels, 1996). غلظت بالای این مواد محلول به کاهش پتانسیل اسمزی کمک کرده و اجازهٔ حرکت آب به درون‌یاخته را می‌دهد، در نتیجه حفظ پتانسیل آماس یاخته به افزایش تحمل گیاه به کاهش پتانسیل آب خاک منجر می‌شود (Haileselasie & Teferii, 2012). افزون بر این، فرآیند تنظیم اسمزی افزون بر تأمین فشار آماس یاخته‌های محافظ روزنه، امکان باز بودن آن‌ها در شرایط تنش خشکی و در نتیجه ادامه فرآیند نورساخت (فتوسنتز) را فراهم می‌کند (Subarao *et al*., 2000; Moinuddin & Khannu-Chopra, 2004)، در نهایت با حفاظت از غشاء، فرآیند ترجمهٔ پروتئین و سوخت‌وساز یاخته‌ای، اجازهٔ ادامهٔ فعالیت‌های یاخته‌ای را به گیاه می‌دهد (Chaves *et al*., 2003).

نخود به‌عنوان یکی از حبوبات مهم، جایگاه ویژه‌ای در سبد غذایی مردم خاورمیانه دارد. ازآنجایی‌که این محصول در ایران توسط کشاورزان در اواخر زمستان و اوایل بهار و بیشتر به‌صورت دیم کشت می‌شود به دلیل برخورد دورهٔ زایشی گیاه با شرایط نامناسب محیطی و کاهش بارش‌های جوی به‌طور چشمگیری از عملکرد آن کاسته می‌شود (Nezami, 2003). به‌گونه‌ای که بر پایهٔ آمار فائو (FAO, 2012) ایران با وجود داشتن سومین سطح زیر کشت در میان ۵۵ کشور تولیدکنندهٔ نخود، از نظر میزان تولید در واحد سطح در مقام چهل و نهم قرار گرفته است. در ارتباط با گزینش رقم‌های متحمل به خشکی در نخود بررسی‌های مختلفی صورت گرفته و در مواردی گزینش برای رقم‌های زودرس با موفقیت همراه بوده است (Subarao *et al*., 1995; Kumar & Rao, 2001; Sabaghpour *et al*., 2006).

بررسی‌های مختلفی نیز در ارتباط با نقش تنظیم اسمزی در تحمل به خشکی نخود انجام شده است (Moinuddin & Khannu-Chopra, 2004; Turner *et al*., 2007; Pouresmael *et al*., 2015). با این وجود، رابطهٔ بین تنظیم اسمزی و عملکرد نخود در شرایط تنش خشکی مانند دیگر بررسی‌های انجام‌شده در برخی از گیاهان با ابهام و تردیدهایی همراه است. بررسی سازگاری به تنش خشکی در نخود نشان داده است که تنظیم اسمزی در شرایط کنترل‌شده ارتباط مثبتی با عملکرد در شرایط دیم دارد (Morgan *et al*., 1991). همچنین عملکرد دانهٔ نخود با درجهٔ تنظیم اسمزی در شرایط زراعی همبستگی دارد (Moinuddin & Khannu-Chopra 2004). با این حال، در بررسی که طیف گسترده‌ای از تنظیم اسمزی در محدودهٔ ۰-۱۳ بار را در نخود در آن گزارش شده، تنظیم اسمزی هیچ تأثیری در عملکرد نداشت (Leport *et al*., 1999). گزارش شده که تنظیم اسمزی پیوسته به افزایش

عملکرد، حتی در رقم‌هایی که تنظیم اسمزی بالایی دارند و مواد بیشتری به ریشه‌ها تخصیص می‌دهند، منجر نمی‌شود (Singh *et al*., 1990).

این بررسی به‌منظور ارزیابی تغییرپذیری‌های میزان رطوبت، اسمولیت‌ها، پرولین و قند محلول در ریشه و برگ در پاسخ به تنش خشکی و نقش این متغیرها در پتانسیل اسمزی و تحمل به خشکی دوازده ژنوتیپ نخود در شرایط کنترل‌شده انجام شد.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش دوازده ژنوتیپ مختلف نخود از لحاظ تحمل به خشکی از بانک بذر حبوبات پژوهشکدهٔ علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد تهیه، کشت و بررسی شد (جدول۱). بذرهای سالم و بدون شکستگی ژنوتیپ‌ها پس از شستشوی سطحی با آب، به مدت یک هفته روی کاغذ صافی مرطوب‌شده با آب مقطر در پتری دیش‌هایی با قطر ۹ سانتی‌متر جوانه‌دار شد. این گیاهچه‌ها به‌منظور رشد و اعمال تیمار به محیط آبکشت (هیدروپونیک) در گلخانه منتقل شدند. سامانهٔ آبکشت مورد استفاده شامل لوله‌هایی از جنس پلی‌ونیل کلراید (PVC) با قطر ۶ سانتی‌متر و طول ۱/۵ متر بود که با فاصلهٔ ۵۰ سانتی‌متری از یکدیگر به‌صورت افقی قرار گرفته بودند. روی این لوله‌ها منافذی با فاصلهٔ ۱۰ سانتی‌متر از یکدیگر تعبیه شده بود که گیاهچه‌های تولیدشده در این منافذ مستقر شدند. هر یک از لوله‌ها با ۳ لیتر محلول غذایی هوگلند پر و هر دو هفته یک‌بار تا پایان آزمایش تعویض می‌شد. چهار هفته پس از انتقال گیاهچه‌ها به محیط آبکشت، تیمار تنش خشکی روی آن‌ها اعمال شد. برای این منظور تیمار تنش خشکی با استفاده از پلی‌اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ و بر پایهٔ معادله Michel & Kaufman (1973) در دو سطح اسمزی ۳- و ۶- بار اعمال شد. برای جلوگیری از وارد شدن تنش شدید، تنش به‌صورت تدریجی و به میزان ۰/۵ بار در روز برای تیمار ۳- و یک‌بار در روز برای تیمار ۶- به مدت شش روز اعمال شد. آزمایش به‌صورت کرت‌های خردشده بر پایهٔ طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار انجام گرفت که در آن تیمارهای تنش به‌عنوان کرت اصلی و ژنوتیپ‌ها به‌عنوان کرت فرعی در نظر گرفته شدند. دو هفته پس از رسیدن تیمارها به سطوح مورد نظر تیمارها، برداشت اندام‌های هوایی و ریشه‌ها انجام شد و همزمان برای اندازه‌گیری صفات موردنظر نمونه‌هایی از ریشه و برگ تهیه شد. در ادامه درصد رطوبت، پتانسیل اسمزی، میزان قند محلول و پرولین آن‌ها تعیین شد. شاخص تحمل به خشکی (Drought Resistance Index (DRI)) بر پایهٔ رابطهٔ زیر (Fischer & Maurer, 1978) و بر پایهٔ معیار زیست‌توده تعیین شد.

$$DRI = \frac{(\frac{Ys}{Yp})}{(\frac{\overline{Ys}}{\overline{Yp}})}$$

در رابطهٔ بالا Ys تولید ژنوتیپ در تیمار تنش، Yp تولید ژنوتیپ در تیمار شاهد، $\overline{Ys}$ میانگین تولید در تیمار تنش و $\overline{Yp}$ میانگین تولید در تیمار شاهد است.

جدول۱. ژنوتیپ‌های مورد استفاده در آزمایش و منشأ آن‌ها

Table1. Used chickpea genotypes and their origin

No.	Seed bank ID		Origin	Response to drought
1	MCC333	(Flip87-84c)	ICARDA	Drought Tolerant
2	MCC537		Iran	Drought Tolerant
3	MCC544		Iran	Drought Tolerant
4	MCC674		Iran	Drought susceptible
5	MCC753	(Sel96TH11439)	ICARDA	Drought susceptible
6	MCC759	(Flip97-41c)	ICARDA	Drought susceptible
7	MCC760	(Flip97-43c)	ICARDA	Drought Tolerant
8	MCC770	(Flip97-91c)	ICARDA	Drought Tolerant
9	MCC773	(Flip97-97c)	ICARDA	Drought susceptible
10	MCC783	Flip97-120c)	ICARDA	Drought susceptible
11	MCC806	(Flip97-196c)	ICARDA	Drought susceptible
12	MCC877	(ICC4958)	ICRISAT	Drought Tolerant

MCC: Mashhad Chickpea Collection

به‌منظور اندازه‌گیری میزان آب، نمونه‌های برگ و ریشه پس از جداسازی از گیاه وزن‌شده و در ادامه به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۸۰ درجهٔ سلسیوس خشک شدند. در ادامه میزان آب برگ و ریشه از رابطهٔ زیر محاسبه شد:

میزان آب (برگ / ریشه) =(WC) (وزن خشک / (وزن خشک-وزن تر) ×۱۰۰

پتانسیل اسمزی برگ و ریشه با استفاده از دستگاه اسمزسنج (اسمومتر) مدل OM802.D شرکت Wogel بر پایهٔ روش نقطهٔ انجماد تعیین شد. برای این منظور نمونه‌های برگ و ریشه در ریزلوله (میکروتیوب)های ۰/۵ میلی‌لیتری همگن (هموژنیزه) و عصاره‌گیری شد. پتانسیل اسمزی عصارهٔ به‌دست‌آمده توسط دستگاه اسمزسنج که توسط محلول استاندار گلوکز واسنجی (کالیبره) شده بود تعیین کمیت شد. میزان اسمولیت‌های موجود در برگ و ریشه برحسب مول بر گرم مادهٔ خشک بر پایهٔ ترکیب رابطهٔ وانت هوف و میزان آب برگ و ریشه محاسبه شد (Voet *et al*, 2001).

$$Os = (-Op / RT) * (WC / (1-WC))$$

Os که در این رابطه میزان اسمولیت برحسب میلی‌مول بر گرم مادهٔ خشک، R ثابت گاز معادل ۰/۰۸۳ و T دمای محیط برحسب کلوین و Op پتانسیل اسمزی برگ بر حسب بار و WC میزان آب برگ یا ریشه است.

قند محلول برگ و ریشه با استفاده از روش فنول سولفوریک اسید و استاندارد گلوکز تعیین شد (Dubois *et al*., 1956). غلظت پرولین در بافت ریشه و برگ بر پایهٔ روش Bates *et al*. (1973) اندازه‌گیری شد.

برای تجزیه و تحلیل‌های آماری، مقایسهٔ میانگین‌ها، تعیین رابطهٔ بین صفات و رسم نمودارها، از نرم‌افزارهای JMP 4.04، STATISTICA و Excel استفاده شد. مقایسهٔ میانگین اثرگذاری اصلی بر پایهٔ آزمون مقایسهٔ میانگین چند دامنهٔ دانکن در سطح ۵ درصد و میزان LSD برای مقایسهٔ میانگین اثر متقابل در سطح ۵ درصد انجام شد.

نتایج

با اعمال تیمار تنش خشکی، درصد آب برگ در ژنوتیپ‌های مورد بررسی به‌طور معنی‌داری در سطح ۵ درصد کاهش یافت و به‌طور میانگین از ۸۱ درصد در تیمار شاهد به ۷۲/۳ و ۶۰/۷ درصد به ترتیب در تیمار ۳- و ۶- بار رسید (جدول ۲). به دنبال این فرآیند با کاهش آب برگ و تغلیظ مواد درون‌یاخته‌ای، میزان قدرمطلق پتانسیل اسمزی برگ به‌طور معنی‌داری در تیمارهای تنش نسبت به شاهد افزایش یافت و به‌طور میانگین از ۸/۸ بار در تیمار شاهد به ۲۳/۳ بار در تیمار ۳- بار و ۳۹/۴ بار در تیمار ۶- بار رسید (جدول ۲). بررسی تجمع مواد اسمولیت نسبت به وزن خشک بافت برگ نشان داد که افزون بر کاهش آب یاخته، تجمع اسمولیت‌ها نیز در پاسخ به تنش خشکی رخ می‌دهد که در افزایش قدرمطلق پتانسیل اسمزی در شرایط تنش نقش داشتند. با وجود افزایش میزان اسمولیت‌ها در برگ با افزایش شدت تنش خشکی، این افزایش متناسب با افزایش قدرمطلق پتانسیل اسمزی برگ‌ها نبود. در این ارتباط، با وجود افزایش میانگین ۲۷۰ درصدی قدرمطلق پتانسیل اسمزی در تیمارهای تنش نسبت به شاهد، میزان اسمولیت‌ها در این شرایط تنها ۵۸ درصد افزایش پیدا کرد (جدول ۲). به‌طور میانگین میزان اسمولیت‌ها در تیمارهای تنش به‌طور معنی‌داری بیشتر از تیمار شاهد بود. بااین‌حال اختلاف معنی‌داری بین تیمار ۳- بار و ۶- بار مشاهده نشد (جدول ۲). بررسی درصد آب، قدرمطلق پتانسیل اسمزی و میزان اسمولیت‌های برگ در ژنوتیپ‌های مورد بررسی نشان داد که به‌طور میانگین بین ژنوتیپ‌ها از نظر صفات بالا تنوع وجود دارد (جدول۲). از نظر درصد آب برگ، ژنوتیپ MCC333 با میانگین ۷۶/۹ در تیمارهای مورد بررسی بیشترین میزان را دارد. در مقابل ژنوتیپ MCC770 کمترین میانگین درصد آب برگ را در بین ژنوتیپ‌ها به خود اختصاص داد. در میان ژنوتیپ‌ها کمترین کاهش آب برگ در تیمارهای تنش نسبت به شاهد در ژنوتیپ‌های MCC333، MCC753، MCC760 و MCC806 مشاهده شد که به نظر می‌رسد که این ژنوتیپ‌ها توانایی مناسبی برای حفظ آب خود در شرایط تنش دارند (جدول ۲). از نظر شاخص مقاومت به خشکی نیز این ژنوتیپ‌ها در گروه ژنوتیپ‌های متحمل قرار گرفته بودند (جدول۳). در مقابل ژنوتیپ‌های

MCC544، MCC759 و MCC770 بیشترین کاهش در آب برگ را در تیمار تنش به نسبت شاهد را در بین ژنوتیپ‌ها دارند (جدول ۳). در این ارتباط نیز به‌جز ژنوتیپ MCC544 که از نظر شاخص مقاومت به خشکی در گروه متحمل قرار گرفته بود دو ژنوتیپ دیگر در گروه حساس به خشکی قرار داشتند (جدول۳).

جدول۲. تأثیر تنش خشکی بر درصد آب، قدرمطلق پتانسیل اسمزی و میزان اسمولیت‌های برگ دوازده ژنوتیپ نخود

Table 2. Effect of drought stress on plant height, main root length and branch number in 12 chickpea genotypes

Genotype	Leaf water percent			Mean	Absolute value of Leaf osmotic potantioal (bar)			Mean	Leaf osmolyt (Mm.g-1 DW)			Mean
	Control	-3bar	-6bar		Control	-3bar	-6bar		Control	-3bar	-6bar	
MCC333	79.2	73.7	77.9	76.9^{a}	7.5	22.3	11.5	13.8^{c}	1.26	2.73	1.70	1.89^{a-d}
MCC537	83.5	79.5	64.2	75.7^{a}	9.8	9.5	20.6	13.3^{c}	2.23	1.50	1.71	1.81^{b-d}
MCC544	84.5	63.6	46.5	64.9^{ab}	7.4	37.5	67.7	37.6^{ab}	1.98	2.84	3.30	2.70^{a-c}
MCC674	80.2	74.2	51.6	68.6^{ab}	10.6	14.5	63.0	29.4^{a-c}	1.80	1.79	2.83	2.14^{a-d}
MCC753	78.2	79.7	72.0	76.6^{a}	12.2	8.9	20.9	14.0^{c}	1.79	1.39	2.18	1.79^{b-d}
MCC759	86.0	73.3	49.1	69.5^{ab}	7.3	32.6	51.0	30.3^{a-c}	1.85	2.33	2.75	2.21^{a-d}
MCC760	77.4	76.7	69.7	74.6^{a}	10.6	18.4	35.5	21.5^{bc}	1.45	2.45	4.43	2.87^{a}
MCC770	76.2	45.6	58/0	60.3^{b}	10.1	26.1	48.7	28.3^{a-c}	1.32	1.86	1.55	1.58^{d}
MCC773	78.4	83.1	48.0	69.8^{ab}	8.9	11.8	37.4	19.4^{c}	1.33	2.41	2.39	2.04^{a-d}
MCC783	83.0	70.0	67.0	73.3^{a}	7.1	24.1	25.8	19.0^{c}	1.44	2.12	1.99	1.85^{a-d}
MCC806	79.1	80.8	63.0	74.3^{a}	7.3	13.8	39.0	20.0^{c}	1.13	2.40	2.24	1.92^{a-d}
MCC877	83.2	66.4	61.3	70.3^{ab}	7.4	60.5	51.8	39.9^{a}	1.25	2.57	3.51	2.44^{a-c}
Mean	80.7^{a}	72.3^{b}	60.7^{c}	LSD=16.3	8.8^{c}	23.3^{b}	39.4^{a}	LSD=26.2	1.57^{b}	2.20^{a}	2.52^{a}	LSD=1.2

مقایسهٔ میانگین تأثیر اصلی بر پایهٔ آزمون مقایسهٔ میانگین چند دامنهٔ دانکن در سطح ۵ درصد میزان LSD برای مقایسهٔ میانگین اثر متقابل در سطح ۵ درصد.

Simple effect mean comparison base on Duncan's multiple-range test, significant difference at 5% level of probability. Interaction compare with LSD, significant difference at 5% level of probability.

جدول۳. شاخص تحمل به خشکی دوازده ژنوتیپ نخود و رتبه‌بندی آن‌ها بر پایهٔ گروه‌بندی Kmean

Table 3. Drought Tolerance Index of 12 chickpea genotypes and their ranking by Kmean

Genotype	Drought Resistance Index		Group No.
	-3bar	-6bar	
MCC333	1.06	1.24	1
MCC537	1.01	0.91	2
MCC544	0.92	1.35	1
MCC674	1.33	1.26	1
MCC753	0.96	1.09	1
MCC759	0.76	0.64	3
MCC760	1.33	0.65	2
MCC770	0.79	0.88	3
MCC773	1.03	0.74	2
MCC783	1.11	1.38	1
MCC806	1.09	089	2
MCC877	0.46	0.36	3

به‌طور میانگین در تیمارهای مورد بررسی بیشترین قدرمطلق پتانسیل اسمزی برگ در ژنوتیپ MCC877 و کمترین میزان در ژنوتیپ MCC537 ثبت شد (جدول۳). بین ژنوتیپ‌ها بیشترین افزایش قدرمطلق پتانسیل اسمزی برگ در تیمارهای تنش نسبت به تیمار شاهد به‌طور میانگین با ۶/۶ برابر در ژنوتیپ MCC877، ۶ برابر در ژنوتیپ MCC544 و ۴/۷ برابر در ژنوتیپ MCC759 رخ داد. در برابر کمترین افزایش قدرمطلق پتانسیل اسمزی در ژنوتیپ MCC753 مشاهده شد (جدول۲).

میزان تجمع اسمولیت‌ها در برگ ژنوتیپ‌ها هم در تیمارهای مورد بررسی با هم اختلاف معنی‌دار داشتند. بیشترین میزان تجمع اسمولیت‌ها در ژنوتیپ MCC760 و کمترین میزان در ژنوتیپ MCC770 مشاهده شد. بیشترین تنظیم اسمزی برگ در تیمارهای تنش نسبت به شاهد در ژنوتیپ MCC877 رخ داد. در برابر از میزان تجمع اسمولیت‌ها در برگ ژنوتیپ MCC537 در تیمار ۶- بار نسبت به شاهد کاسته شد که این کاهش معنی‌دار نبود (جدول ۲).

برخلاف تغییر شایان‌مشاهده در درصد آب برگ، درصد آب ریشه در ژنوتیپ‌های مورد بررسی با وجود کاهش اندک در تیمارهای تنش نسبت به تیمار شاهد، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. با این حال قدرمطلق پتانسیل اسمزی ریشه با افزایش شدت تنش خشکی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت و به‌طور میانگین در ژنوتیپ‌های مورد بررسی از ۷/۱ بار در تیمار شاهد به ۸/۴ و ۹/۴ به ترتیب در تیمار ۳- بار و ۶- بار افزایش یافت (جدول ۴). از نظر قدرمطلق پتانسیل اسمزی بین ژنوتیپ‌ها نیز اختلاف معنی‌دار مشاهده شد. بیشترین قدرمطلق پتانسیل اسمزی در تیمارهای مورد

بررسی در ژنوتیپ MCC537 و MCC753 و کمترین قدرمطلق پتانسیل اسمزی ریشه در ژنوتیپ MCC544 مشاهده شد. بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی بیشترین افزایش قدرمطلق پتانسیل اسمزی ریشه در تیمارهای تنش نسبت به تیمار شاهد در ژنوتیپ MCC773 و کمترین میزان در ژنوتیپ MCC760 مشاهده شد (جدول ۴). میزان اسمولیت‌ها در ریشه نیز با افزایش شدت تنش خشکی افزایش معنی‌دار پیدا کرد. به‌طور میانگین میزان اسمولیت‌ها در ریشه از ۴/۴۳ میلی مول بر گرم مادهٔ خشک در تیمار شاهد به ۴/۸۷ و ۵/۱۷ میلی‌مول بر گرم مادهٔ خشک به ترتیب در تیمارهای ۳- بار و ۶- بار افزایش یافت (جدول ۴). به نظر می‌رسد که با توجه به ثابت بودن درصد آب در بافت ریشه، تغییرپذیری در پتانسیل اسمزی ریشه ناشی از تجمع مواد تنظیم‌کنندهٔ اسمزی در پاسخ به تنش بوده است. با این وجود اختلاف معنی‌دار بین ژنوتیپ‌ها از نظر پتانسیل اسمزی ریشه از نظر میزان اسمولیت مشاهده نشد، اگرچه اثر متقابل ژنوتیپ در تیمار معنی‌دار بود. بیشترین افزایش در میزان اسمولیت‌ها به‌طور میانگین در تیمارهای تنش نسبت به تیمار شاهد در ریشه ژنوتیپ MCC770 مشاهده شد. در برابر ژنوتیپ‌های MCC759 و MCC760 افزایش چندانی در تجمع اسمولیت‌های ریشه در تیمارهای تنش نسبت به تیمار شاهد رخ نداد. افزون بر این بیشترین تنظیم اسمزی نیز در تیمار ۶- بار در ژنوتیپ MCC877 رخ داد (جدول ۴).

بررسی میزان قند محلول در برگ ژنوتیپ‌های مورد بررسی نبود اختلاف معنی‌دار را بین تیمارهای تنش نشان داد (جدول ۵). با این وجود بین ژنوتیپ‌ها از این نظر اختلاف معنی‌دار مشاهده شد. به‌طور میانگین در تیمارهای مورد بررسی بیشترین میزان قند محلول در ژنوتیپ MCC760 و کمترین میزان در ژنوتیپ MCC753 اندازه‌گیری شد. میزان قند محلول به‌طور میانگین در تیمارهای تنش نسبت به تیمار شاهد در ژنوتیپ MCC333، ۳۲ درصد افزایش و در ژنوتیپ MCC806، ۳۴ درصد کاهش یافت (جدول ۵). برخلاف برگ‌ها میزان قند محلول ریشه‌ها با افزایش سطح تنش خشکی به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. از این نظر بین ژنوتیپ‌ها نیز اختلاف معنی‌دار مشاهده شد. بیشترین میانگین قند محلول در تیمارهای مورد بررسی در ریشهٔ ژنوتیپ MCC333 و کمترین میزان در ژنوتیپ MCC759 تجمع پیدا کرده بود (جدول ۵). این نتایج نشان داد که بیشترین کاهش میزان قند محلول در تیمارهای تنش به نسبت شاهد در ژنوتیپ MCC806 مشاهده شد. در مقابل در ژنوتیپ MCC537 میزان قند محلول در تیمار ۳- بار نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار و در تیمار ۶- بار نسبت به شاهد کاهش یافت (جدول ۵).

جدول۴. تأثیر تنش خشکی بر درصد آب، قدر مطلق پتانسیل اسمزی و میزان اسمولیت‌های ریشه در دوازده ژنوتیپ نخود

Table 4. Effect of drought stress on root water percent, absolute value of root osmotic potential and root osmolyte in 12 chickpea genotypes

Genotype	Root water percent			Mean	Absolute value of root osmotic potantioal (bar)			Mean	Root osmolyt ($mM.g^{-1}$ dw)			Mean
	Control	-3bar	-6bar		Control	-3bar	-6bar		Control	-3bar	-6bar	
MCC333	93.4	94.0	92.9	93.4^{ab}	8.2	8.6	9.6	8.8^{a}	4.92	5.74	5.16	5.27^{a}
MCC537	94.0	92.9	92.4	93.1^{b}	6.8	10.4	9.8	9.0^{a}	4.41	5.61	4.91	4.98^{a}
MCC544	94.5	94.6	94.0	94.4^{a}	7.1	6.8	8.9	7.6^{c}	4.85	5.14	5.73	5.24^{a}
MCC674	93.6	94.0	92.0	93.2^{ab}	6.5	8.5	9.6	8.2^{a-c}	4.22	5.49	4.12	4.61^{a}
MCC753	93.7	92.0	93.1	92.9^{b}	7.5	9.6	10.0	9.0^{a}	4.59	4.57	5.22	4.79^{a}
MCC759	94.1	93.5	92.8	93.5^{ab}	7.4	7.9	10.0	8.5^{ab}	4.89	4.65	4.93	4.83^{a}
MCC760	94.1	93.7	92.9	93.5^{ab}	7.9	7.9	7.9	7.9^{bc}	4.63	4.87	4.18	4.56^{a}
MCC770	93.6	93.9	93.7	93.8^{ab}	6.7	8.0	8.8	7.8^{a-c}	4.00	5.33	5.44	4.92^{a}
MCC773	93.8	92.9	93.3	93.3^{ab}	6.2	7.1	11.7	8.3^{a-c}	3.80	3.81	5.30	4.30^{a}
MCC783	93.4	92.5	93.9	93.3^{ab}	7.4	8.0	9.6	8.4^{a-c}	4.26	4.07	6.13	4.82^{a}
MCC806	93.5	93.1	92.8	93.1^{b}	7.1	9.1	8.6	8.3^{a-c}	4.22	4.99	4.60	4.60^{a}
MCC877	94.4	92.0	94.8	93.7^{ab}	6.3	8.5	8.1	7.7^{a-c}	4.37	4.13	6.26	4.92^{a}
Mean	93.8^{a}	93.2^{a}	93.2^{a}	1.75=LSD	7.1^{c}	8.4^{b}	9.4^{a}	1.92=LSD	4.43^{b}	4.87^{ab}	5.17^{a}	1.6=LSD

مقایسهٔ میانگین اثر اصلی بر پایهٔ آزمون مقایسهٔ میانگین چند دامنهٔ دانکن در سطح ۵ درصد میزان LSD برای مقایسهٔ میانگین اثرات متقابل در سطح ۵ درصد.

Simple effect mean comparison base on Duncan's multiple-range test, significant difference at 5% level of probability. Interaction compare with LSD, significant difference at 5% level of probability.

جدول۵. تأثیر تنش خشکی بر میزان قند محلول برگ و ریشهٔ دوازده ژنوتیپ نخود

Table 5. Effect of drought stress on leaf and root soluble carbohydrat in 12 chickpea genotypes

Genotype	Leaf Soluble carbohydrat (mg.gdw^{-1})			Mean	Root Soluble carbohydrat (mg.gdw^{-1})			Mean
	Control	-3bar	-6bar		Control	-3bar	-6bar	
MCC333	118.7	109.9	204.8	144.5^{ab}	237.0	209.5	161.9	202.8^{ab}
MCC537	121.5	149.3	88.5	119.8^{ab}	143.0	316.1	95.2	184.8^{a-d}
MCC544	85.0	110.4	97.0	97.5^{bc}	113.9	81.8	69.4	88.3^{e}
MCC674	110.5	129.0	95.2	111.6^{bc}	160.9	139.0	51.0	117.0^{c-e}
MCC753	59.4	64.7	91.0	710.7^{c}	200.0	258.0	115.9	191.3^{a-c}
MCC759	139.7	145.4	89.8	125.0^{ab}	151.4	72.7	38.1	87.4^{e}
MCC760	147.5	165.4	179.4	164.1^{a}	167.9	121.9	66.7	118.8^{b-e}
MCC770	100.0	82.0	144.3	108.8^{bc}	164.1	56.7	94.0	104.9^{de}
MCC773	94.8	123.3	102.3	106.8^{bc}	167.6	86.0	81.0	111.6^{c-e}
MCC783	120.5	129.6	87.9	112.7^{bc}	148.7	87.7	13.4	124.6^{b-e}
MCC806	174.4	133.2	93.9	133.8^{ab}	402.8	93.0	73.2	189.7^{a}
MCC877	130.2	172.8	130.9	144.7^{ab}	169.7	92.6	50.4	104.3^{e}
Mean	116.9^{a}	126.3^{a}	117.1^{a}	LSD=69	185.6^{a}	134.6^{ab}	86.2^{b}	LSD=102

مقایسهٔ میانگین اثر اصلی بر پایهٔ آزمون مقایسهٔ میانگین چند دامنهٔ دانکن در سطح ۵ درصد میزان LSD برای مقایسهٔ میانگین اثر متقابل در سطح ۵ درصد.

Simple effect mean comparison base on Duncan's multiple-range test, significant difference at 5% level of probability. Interaction compare with LSD, significant difference at 5% level of probability.

در این بررسی میزان پرولین تجمع یافته در برگ‌ها در پاسخ به تیمار تنش نسبت به شاهد مانند دیگر بررسی‌هایی که در این زمینه انجام شده به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (Pagter *et al*., 2005; Türkan *et al*., 2005; Gomes *et al*., 2010). بین ژنوتیپ‌ها نیز از این نظر اختلاف معنی‌دار مشاهده شد. بیشترین میزان تجمع پرولین در تیمارهای مورد بررسی در ژنوتیپ MCC770 و کمترین میزان در ژنوتیپ MCC773 مشاهده شد (جدول۶). در این ارتباط اثر متقابل ژنوتیپ در تیمار معنی‌دار نبود. اندازه‌گیری میزان پرولین در ریشه نشان داد که میزان این ماده در ریشه‌ها بسیار پایین‌تر از برگ‌ها بود. افزون بر این در ریشه‌ها هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری بین تیمارها و ژنوتیپ‌ها و اثر متقابل آن‌ها مشاهده نشد (جدول ۶).

جدول۶. تأثیر تنش خشکی بر میزان پرولین برگ و ریشهٔ دوازده ژنوتیپ نخود

Table 6. Effect of drought stress on leaf and root proline in 12 chickpea genotypes

Genotype	Shoot proline (mg.gdw^{-1})			Mean	Root proline (mg.gdw^{-1})			Mean
	Control	-3bar	-6bar		Control	-3bar	-6bar	
MCC333	5.2	28.1	74.5	35.9^{a-c}	1.70	3.66	1.51	2.29^{a}
MCC537	4.9	12.3	65.3	27.5^{bc}	1.57	2.23	2.09	1.96^{a}
MCC544	7.0	76.5	76.4	53.3^{a}	2.09	2.93	3.11	2.71^{a}
MCC674	4.4	43.4	60.7	36.2^{a-c}	1.69	2.83	1.73	2.09^{a}
MCC753	3.6	13.2	63.4	26.0^{bc}	1.61	3.99	2.06	2.55^{a}
MCC759	7.5	59.6	82.2	49.8^{a-c}	1.94	3.40	1.64	2.33^{a}
MCC760	2.4	68.9	65.6	45.6^{a-c}	1.99	2.43	4.48	2.97^{a}
MCC770	3.8	62.3	110.7	59.0^{ab}	2.23	3.44	2.86	2.84^{a}
MCC773	3.7	14.8	46.2	21.6^{bc}	3.18	1.40	2.12	2.23^{a}
MCC783	4.2	33.6	47.3	28.4^{bc}	1.96	2.17	1.55	1.89^{a}
MCC806	2.7	22.5	59.3	28.2^{bc}	1.34	2.21	2.71	2.09^{a}
MCC877	4.0	78.3	82.9	55.1^{a-c}	1.63	1.97	3.94	2.52^{a}
Mean	4.5^{a}	42.8^{a}	69.6^{a}	LSD=58	1.91^{a}	2.72^{a}	2.48^{a}	LSD=1.98

مقایسهٔ میانگین اثر اصلی بر پایهٔ آزمون مقایسهٔ میانگین چند دامنهٔ دانکن در سطح ۵ درصد میزان LSD برای مقایسهٔ میانگین اثر متقابل در سطح ۵ درصد.

Simple effect mean comparison base on Duncan's multiple-range test, significant difference at 5% level of probability. Interaction compare with LSD, significant difference at 5% level of probability.

بحث

بررسی‌های مختلفی در ارتباط با توانایی تنظیم اسمزی و نقش احتمالی این فرآیند در افزایش تحمل به خشکی پایان فصل در نخود انجام شده است. باوجود اینکه برخی از گزارش‌ها گویای ارتباط بین توانایی تنظیم اسمزی در ژنوتیپ‌ها و میزان عملکرد نخود در شرایط تنش خشکی است (Morgan *et al*., 1991; Moinuddin & Khannu-Chopra, 2004). در

مقابل گزارش‌هایی نیز وجود دارند که بی‌تأثیری این فرآیند در میزان تولید در این شرایط را نشان می‌دهند (Leport *et al*., 1999; Turner *et al*., 2007) در برخی موارد گزارش شده که شماری از ژنوتیپ‌ها که توانایی تنظیم اسمزی بیشتری داشتند، عملکرد پایین‌تری در شرایط تنش داشتند (Singh *et al*., 1990).

فرض بر این است که تنظیم اسمزی در برگ‌ها و ریشه‌ها با ایجاد مکش منفی به درون‌یاخته‌ها باعث افزایش توانایی گیاه برای جذب آب از خاک و در نتیجه بهبود توانایی گیاه برای تحمل به خشکی می‌شود. میزان تنظیم اسمزی و توانایی حفظ آب در ژنوتیپ‌های مورد بررسی نشان داد که در مجموع تیمارها همبستگی منفی و معنی‌داری بین درصد آب برگ با قدرمطلق پتانسیل اسمزی برگ وجود دارد که این رابطهٔ منفی در ریشه‌ها نیز مشاهده شد (جدول ۷). با این حال بررسی وضعیت داده‌های درونی هر تیمار نشان داد که تنها در تیمارهای تنش این رابطه برقرار است و در تیمار شاهد هیچ‌گونه همبستگی بین میزان درصد رطوبت ریشه و برگ وجود ندارد (جدول‌های ۷ و ۸). اثرگذاری کاهش آب یاخته به‌عنوان یکی از عامل‌های کاهش پتانسیل اسمزی باعث می‌شود تا بر پایهٔ میزان پتانسیل اسمزی نتوان برآورد مؤثری از توانایی تولید ترکیب‌های اسمولیت در بهبود جذب آب گیاه داشت. محاسبهٔ میزان اسمولیت‌ها در واحد وزن خشک بافت بر پایهٔ رابطهٔ وانت هف نشان داد که در مقابل نبود همبستگی بین پتانسیل اسمزی برگ و ریشه، همبستگی مثبت و معنی‌داری بین میزان اسمولیت‌ها در برگ و ریشه وجود دارد (جدول ۷). برخلاف پتانسیل اسمزی میزان اسمولیت‌های ریشه با درصد آب ریشه همبستگی مثبت و معنی‌دار داشتند (جدول ۷). با این حال همبستگی مثبت بین میزان اسمولیت برگ و درصد آب برگ تنها در تیمار شاهد مشاهده شد (جدول ۷). به نظر می‌رسد در شرایطی که میزان شدت تنش کم باشد همان‌طور که در ریشه‌ها در همهٔ تیمارها و در برگ‌ها در تیمار شاهد مشاهده می‌شود، تنظیم اسمزی باعث بهبود توانایی جذب آب توسط یاخته‌ها شود. با این حال نبود ارتباط بین میزان اسمولیت‌ها با درصد آب برگ در تیمارهای تنش می‌تواند بیانگر تأثیر ناچیز تنظیم اسمزی برای جذب بهتر آب و حفظ تعادل آبی برگ در شرایط تنش شدید باشد. با توجه به تأثیر کم تنظیم اسمزی در جذب آب در شرایط تنش شدید، با وجود کاهش پتانسیل اسمزی برگ‌ها، می‌تواند از کارایی گزینش بر پایهٔ این ویژگی برای گزینش ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی بکاهد؛ زیرا در این شرایط از دست ندادن آب در مقابل تنظیم اسمزی اهمیت بیشتری برای گزینش ژنوتیپ‌های متحمل دارد. با توجه با این موارد به نظر می‌رسد که به‌احتمال گزینش ژنوتیپ‌ها بر پایهٔ تنظیم اسمزی در شرایط کنترل‌شده و شدت تنش کم نسبت به گزینش در شرایط کشتزار موفقیت بهتری دارد. در این آزمایش نیز ارتباط معنی‌داری بین میزان تجمع اسمولیت‌ها در تنش ۳- بار در ریشه با میزان تحمل به خشکی ژنوتیپ‌ها مشاهده شد (r=۰/۶۴**). در این تیمار ژنوتیپ‌های متحمل‌تر تنظیم اسمزی بیشتری در ریشه نسبت به ژنوتیپ‌های حساس دارند.

جدول۷. ضریب‌های همبستگی صفات اندازه‌گیری‌شدهٔ نخود در مجموع تیمارها (قطر بالایی) و شاهد (قطر پایینی)

Table 7. Correlation matrix of chickpea properties in total (above diagonal) and control (lower diamond)

No.	Traits	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1
1	Absolute value of LOP	0.24*	0.60**	0.43**	0.01	0.02	0.85**	0.20	0.18	0.60**	1
2	Leaf osmolyte	0.27**	0.47**	0.32**	0.14	0.01	0.19	0.25*	0.17	1	0.55**
3	Absolute value of ROP	0.01	0.34**	0.14	0.10	0.44**	0.20	0.55**	1	0.24	0.09
4	Root osmolyte	0.32**	0.28**	0.20	0.10	0.48**	0.16	1	0.66**	0.08	0.02
5	Leaf water percent	0.15	0.53**	0.40**	0.13	0.05	1	0.17	0.23	0.63**	0.21
6	Root water percent	0.31**	0.12	0.09	0.01	1	0.06	0.59**	0.17	0.16	0.13
7	Leaf soluble carbohydrat	0.03	0.02	0.24*	1	0.08	0.06	0.23	0.24	0.11	0.14
8	Root soluble carbohydrat	0.01	0.41**	1	0.28	0.20	0.10	0.51**	0.42*	0.18	0.12
9	Leaf proline	0.16	1	0.31	0.3.3	0.20	0.02	0.15	0.40*	0.01	0.04
10	Root proline	1	0.35	0.10	0.07	0.36*	0.22	0.05	0.22	0.52**	0.42*

*، **: به ترتیب معنی‌داری در سطح ۵ درصد و در سطح ۱ درصد.

*, **: Significant coloration at 5 and 1% levels of probability, respectively.
LOP (Leaf osmotic potential), ROP (Root osmotic potential)

جدول ۸. ضریب‌های همبستگی صفات اندازه‌گیری‌شدهٔ نخود در ۳- بار (قطر بالایی) و ۶- بار (قطر پایینی)

Table 8. Correlation matrix of chickpea properties in -3 bar (above diagonal) and -6 bar (below diagonal)

No.	Traits	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1
1	Absolute value of LOP	0.28	0.53**	0.37	0.32	0.39*	0.83**	0.13	0.28	0.45**	1
2	Leaf osmolyte	0.04	0.33	0.30	0.17	0.22	0.04	0.19	0.06	1	0.62**
3	Absolute value of ROP	0.12	0.08	0.42*	0.17	0.32	0.25	0.47**	1	0.21	0.20
4	Root osmolyte	0.54**	0.09	0.32	0.02	0.65**	0.03	1	0.30	0.12	0.03
5	Leaf water percent	0.27	0.43*	0.25	0.43*	0.26	1	0.05	0.11	0.10	0.79**
6	Root water percent	0.45**	0.13	0.02	0.17	1	0.02	0.60**	0.54**	018	0.08
7	Leaf soluble carbohydrat	0.41*	0.17	0.22	1	0.11	0.09	0.12	0.04	0.37	0.15
8	Root soluble carbohydrat	0.23	0.46**	1	0.27	0.10	0.58**	0.20	0.43*	0.26	0.51**
9	Leaf proline	0.13	1	0.31	0.08	0.10	0.30	0.19	0.22	0.43*	0.45*
10	Root proline	1	0.02	0.13	0.43*	0.35	0.09	0.19	0.29	0.65**	0.20

*، **: به ترتیب معنی‌داری در سطح ۵ درصد و در سطح ۱ درصد.

*, **: Significant coloration at 5 and 1% levels of probability, respectively.
LOP (Leaf osmotic potential), ROP (Root osmotic potential)

در بررسی‌های مختلف تجمع قندهای محلول در پاسخ به تنش خشکی و نقش این مواد در افزایش تحمل به خشکی گیاهان مختلف گزارش شده است (Hakimi *et al.*, 1995; Hoekstra & Buitink, 2001; Basu *et al.*, 2007). قندهای محلول نقش اساسی در زیست‌ساخت (بیوسنتز) و سوخت‌وساز یاخته‌ای دارند و به‌عنوان منابع تأمین انرژی در فرآیندهای نموی گیاهان مؤثر هستند (Wang *et al.*, 1996). برخی بررسی‌ها نیز از نقش آن‌ها در فرآیند انتقال پیام به‌عنوان محرک در تنظیم سوخت‌وساز یاخته‌ای و ایجاد پاسخ‌های فیزیولوژیکی مانند دفاع و تنظیم اسمزی یاد کرده‌اند (Koch, 1996; Sturm & Tang, 1999). در شرایط تنش خشکی قندهای محلول افزون بر تنظیم اسمزی و کاهش و پتانسیل آب، از یاخته در برابر آسیب‌های اکسایشی (اکسیداتیو) محافظت می‌کنند. همچنین آن‌ها در این شرایط نقش موثری در حفاظت از غشاء یاخته‌ای و پروتئین ها دارند (Hoekstra & Buitink, 2001).

در این بررسی اگرچه تغییر نوع یا میزان قند محلول در واحد وزن خشک برگ در ژنوتیپ‌های مورد بررسی در مجموع با وجود اندکی افزایش در تیمار تنش ۳- بار تغییر معنی‌داری نشان نداد (جدول ۵). با این حال غلظت این ترکیب‌ها به واسطهٔ کاهش درصد آب برگ افزایش یافت. هیچ‌گونه همبستگی معنی‌داری بین میزان قند محلول در برگ با پتانسیل اسمزی و ترکیب‌های اسمولیت در مجموع و هر یک از تیمارها مشاهده نشد (جدول‌های ۷ و ۸). همچنین در مجموع تیمارها همبستگی مثبت و معنی‌داری بین میزان قند محلول برگ با قند محلول ریشه مشاهده نشد (جدول ۷).

برخلاف قند محلول برگ، قند محلول ریشه‌ها در مجموع تیمارها همبستگی منفی و معنی‌داری با قدرمطلق پتانسیل اسمزی و تجمع اسمولیت‌ها در برگ داشت (جدول ۷). با این حال در هر یک از تیمارها به‌طور مستقل چنین رابطه‌ای مشاهده نشد ولی در مجموع تیمارها همبستگی مثبت و معنی‌داری بین قدرمطلق پتانسیل اسمزی و میزان اسمولیت در ریشه با قند محلول ریشه مشاهده شد (جدول ۷). در شرایط تنش خشکی انتقال مواد نورساختی مختل می‌شود (Basu *et al.*, 2007). به نظر می‌رسد در این شرایط ریشه‌ها با کمبود منابع انرژی برای ادامهٔ فعالیت و رشد خود روبه‌رو می‌شوند. به نظر می‌رسد که توانایی انتقال قند از برگ‌ها در شرایط تنش بتواند در بهبود مقاومت به خشکی نخود مؤثر باشد. در این آزمایش قند محلول ریشه در تیمار ۶- بار همبستگی مثبت و معنی‌دار (r=۰/۵۰**) با شاخص تحمل به تنش خشکی DRI داشت.

گزارش‌های چندی از تجمع پرولین در برگ گیاهان در شرایط تنش خشکی وجود دارد (Pagter *et al.*, 2005; Türkan *et al.*, 2005; Gomes *et al.*, 2010). در این بررسی میزان پرولین برگ به‌طور میانگین در تیمارهای تنش نسبت به شاهد در ژنوتیپ‌های مورد بررسی بیشینه ۱۵/۴ برابر افزایش یافت. در حالی که در ریشه میزان میانگین افزایش تجمع پرولین بیشینه ۴/۱ برابر بود. تجمع پرولین در شرایط تنش بیشتر در اثر ساخت (سنتز) این ماده است تا تجزیه و تخریب پروتئین‌ها (Hare & Cress, 1997)، که به نظر می‌رسد به‌گونه‌ای در بهبود فرآیند

مقاومت گیاه در برابر خشکی مؤثر است. با این حال تاکنون نقش‌های محافظتی چندی برای پرولین در برابر تنش خشکی گزارش شده است. نقش پرولین در تنظیم اسمزی در بررسی‌های مختلف گزارش شده است (Gomes *et al.*, 2010). در این بررسی پرولین به‌طور میانگین در تیمار شاهد، ۳- و ۶- بار به ترتیب ۲/۴، ۱۶/۶ و ۲۳/۶ درصد از کل میزان اسمولیت‌ها را در برگ شامل می‌شد. در برابر، این میزان برای ریشه به ترتیب ۰/۳، ۰/۵ و ۰/۴ درصد بود. در این ارتباط سهم پرولین از تنظیم اسمزی در برگ‌ها در تیمارهای ۳- و ۶- بار نسبت به شاهد به ترتیب ۵۲ و ۵۸ درصد و در ریشه‌ها به ترتیب ۵/۲ و ۲/۸ درصد بود. به نظر می‌رسد اگر چه پرولین جایگاه ویژه‌ای در تنظیم اسمزی در برگ‌ها دارد با این حال نقش این ماده در تنظیم اسمزی در ریشه‌ها بسیار اندک باشد. در مجموع تیمارها پرولین برگ همبستگی مثبت و معنی‌داری با قدرمطلق پتانسیل اسمزی و میزان اسمولیت‌ها در ریشه و برگ داشت. با این حال در تیمار شاهد همبستگی مثبتی از این نظر مشاهده نشد (جدول ۷). در برابر در این تیمار میزان پرولین همبستگی منفی و معنی‌دار با قدرمطلق پتانسیل اسمزی ریشه داشت. میزان پرولین ریشه نیز در مجموع تیمارها همبستگی مثبت و معنی‌دار با قدرمطلق پتانسیل اسمزی برگ و میزان اسمولیت برگ و ریشه نشان داد. شایان‌توجه این بود که همان‌طور که در تیمار شاهد همبستگی منفی پرولین برگ با قدرمطلق پتانسیل اسمزی ریشه مشاهده شد، در مقابل نیز همبستگی منفی و معنی‌دار بین پرولین ریشه و قدرمطلق پتانسیل اسمزی و میزان اسمولیت‌های برگ مشاهده شد (جدول ۷). به نظر می‌رسد که به‌احتمال در تیمار شاهد که محدودیت آب برای گیاهان وجود ندارد افزایش پرولین در ریشه‌ها با تنظیم اسمزی آسانی جذب و انتقال آب به اندام‌های هوایی را سبب می‌شود، در نتیجه بهبود جذب آب توسط اندام‌های هوایی، قدرمطلق پتانسیل اسمزی و در نتیجه نیاز به تنظیم اسمزی کاهش می‌یابد. در مقابل پرولین بیشتر در برگ در این تیمار می‌تواند در نتیجه سوخت و ساز و تولید بهتر باشد؛ که به دنبال آن باعث بهبود رشد اندام‌های گیاه از جمله ریشه‌ها شده و در نتیجه جذب آب را توسط گیاه بهبود داده است و درنتیجه کاهش نیاز به تنظیم اسمزی در ریشه‌ها را باعث شده است.

اگرچه تولید پرولین در برگ‌ها تحت تیمار تنش خشکی سهم مناسبی از تنظیم اسمزی را در این شرایط نسبت به شاهد دارد با این حال نقش بسیار اندک این ماده در تنظیم اسمزی در ریشه‌ها این پرسش مطرح می‌شود، چرا با وجود نیاز بیشتر برای تنظیم اسمزی در ریشه‌ها برای جذب بهتر آب این ماده در ریشه‌ها به میزان بیشتری تولید و تجمع پیدا نکرده است؟. افزون بر این بررسی چگونگی تجمع این ماده در برگ‌ها نشان می‌دهد که تولید و تجمع این ماده به شدت تحت تأثیر کاهش درصد آب برگ است. به‌گونه‌ای‌که همبستگی منفی و معنی‌داری بین میزان پرولین برگ با درصد آب برگ مشاهده شد (جدول ۷). در نتیجه چنین استنباط می‌شود که اگرچه در تیمار تنش پرولین بیشتری در برگ‌ها تولید شده ولی تأثیر اندکی در بهبود جذب آب توسط گیاه داشته و یا کاهش درصد آب به تولید پرولین بیشتر منجر شده است. برخی از بررسی‌ها نیز گویای کم تأثیر بودن تنظیم اسمزی ناشی از تولید پرولین برگ‌ها در بهبود مقاومت به خشکی است (Lutts *et al.*, 2004; Pagter *et al.*, 2005; Gomes *et al.*, 2010). بررسی‌ها نشان داده که پرولین نقش فراتری از یک تنظیم‌کنندهٔ اسمزی ساده در افزایش تحمل به خشکی در گیاهان دارد (Szabados & Savoure, 2009). ممکن است پرولین در پایداری پروتئین‌ها نقش داشته باشد (Rajendrakumar *et al.*, 1994) و یا به‌عنوان یک تخریب‌کنندهٔ رادیکال‌های فعال عمل کند (Reddy *et al.*, 2004). ساخت پرولین ممکن است با دریافت الکترون از سامانهٔ انتقال الکترون، در برابر جلوگیری نوری در شرایط تنش خشکی از گیاه محافظت کند (Szabados and Savoure, 2009) بنابراین به نظر می‌رسد که نقش پاداکسندگی (آنتی اکسیدانی) پرولین اهمیت بیشتری نسبت به نقش اسمولیتی آن داشته باشد (Vendruscolo *et al.*, 2007). بنابراین، با توجه به اینکه برگ‌ها به واسطهٔ جذب نور خورشید،

بیشتر از ریشه در معرض تنش اکسایشی قرار می‌گیرند می‌تواند توجیه‌کنندهٔ بیشتر بودن میزان پرولین برگ در مقایسه با ریشه باشد. در این بررسی هیچ‌گونه همبستگی معنی‌دار بین میزان پرولین در ژنوتیپ‌ها با شاخص تحمل به خشکی در آن‌ها مشاهده نشد.

در مجموع نتایج نشان داد که بین تنظیم اسمزی و قند محلول در ریشه‌ها با مقاومت به خشکی در ژنوتیپ‌ها همبستگی مثبت و معنی‌دار وجود دارد و می‌توان از این صفات برای گزینش ژنوتیپ‌های متحمل بهره برد. با این حال دیگر صفات مورد بررسی از تکرارپذیری کمتری برای گزینش ژنوتیپ‌های حساس متحمل دارند. به نظر می‌رسد نتوان از آن‌ها به تنهایی به‌عنوان یک نشانگر برای گزینش ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی و یا به‌عنوان یک هدف اصلاحی در نخود استفاده کرد. بنابراین بهتر است در برنامه‌های اصلاحی نخود از ترکیبی از این صفات برای بهبود مقاومت به خشکی بهره برد. در این ارتباط به نظر می‌رسد که اصلاح بر پایهٔ بهبود توانایی گیاه برای حفظ آب و تنظیم اسمزی به‌طور همزمان موفقیت بیشتری برای دستیابی به ژنوتیپ‌های متحمل نخود داشته باشد.

REFERENCES

1. Bartels, D. & Sunkar, R. (2005). Drought and salt tolerance in plants. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 24, 23-58.
2. Basu, P.S., Masood A. & Chaturvedi, S.K. (2007). Osmotic adjustment increase water uptake, remobilization of assimilates and maintains photosynthesis in chickpea under drought. *Indian Journal of Experimental Biology*, 45, 261-267.
3. Bates, L.S., Waldran, R.P. & Teare, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water studies. *Plant and Soil*, 39, 205-208.
4. Blum, A., Munns, R., Passioura, J.B., Turner, N.C., Sharp, R.E., Boyer, J.S. Nguyen, H.T. & Hsiao, T.C. (1996). Letters to the editor. Genetically engineered plants resistant to soil drying and salt stress: how to interpret osmoticrelations?. *Plant Physiology*, 110, 1051-1053.
5. Chaves, M.M., Maroco, J.P. & Pereira, J.S. (2003). Understanding plant responses to drought: from genes to the whole plant. *Functional Plant Biology*, 30, 239-264.
6. Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. & Smith, F. (1956). Calorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28, 350-356.
7. FAOSTAT Database. (2012). http://apps.fao.org/faostat/
8. Fischer, R.A. & Maurer, R. (1978). Drought resistance in spring wheat cultivars. I. Grain yield response. *Australian Journal of Agricultural Research*, 29, 897-907.
9. Gomes, F.P., Olivab, M.A., Mielkea, M.S., Almeidaa, A.F. & Aquinob, L.A. (2010). Osmotic adjustment, proline accumulation and cell membrane stability in leaves of Cocos nucifera submitted to drought stress. *Scientia Horticulturae*, 126, 379-384.
10. Haileselasie, T. H. & Teferii, G. (2012). The Effect of Salinity Stress on Germination of Chickpea (*Cicer arietinum* L.) Land Race of Tigray. *Current Research Journal of Biological Sciences*, 4, 578-583.
11. Hakimi, A., Monneveux, P. & Galiba, G. (1995). Soluble sugars, proline and Relative Water Content (RWC) as traits for improving drought tolerance and divergent selection for RWC from *T. polonicum into T. durum*. *Journal of Genetic Breeding*, 49, 237-244.
12. Hare, P.D. & Cress, W.A. (1997). Metabolic implications of stress induced proline accumulation in plants. *Plant Growth Regulators*, 21, 79-102.
13. Hoekstra, F.A. & Buitink, J. (2001). Mechanisms of plant dessiccation tolerance. *Trends in Plant Science*, 8, 431-438.
14. Ingram, J. & Bartels, D. (1996). The molecular basis of dehydration tolerance in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 47, 377-403.
15. Koch, K.E. (1996) Carbohydrate-modulated gene expression in plants. *Annu Rev Plant Physiol Plant Molecular Biology*, 47, 509-540.
16. Kumar, J. & Rao, B.V. (2001). Registration of ICCV96029, super early and double podded chickpea germplasm. *Crop Science*, 41, 605-606.
17. Leport, L., Turner, N.C., French, R.J., Barr, M.D., Duda, R., Davies, S.L., Tennant, D. & 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.

18. Lizana, C., Wentworth, M., Mart´nez, J.P., Villegas, D., Meneses, R., Murchie, E.H., Pastenes, C., Lercari, B., Vernieri, P., Horton, P. & Pinto, M. (2006). Differential adaptation of two varieties of common bean to abiotic stress. I. Effects of drought on yield and photosynthesis. *Journal of Experimental Botany*, 57, 685-697.
19. Lutts, S., Almansouri, M. & Kinet, J.M. (2004). Salinity and water stress have contrasting effects on the relationship between growth and cell viability during and after stress exposure in durum wheat callus. *Plant Science*, 167, 9-18.
20. Michel, B.E. & Kaufman, M.R. (1973). The osmotic potential of polyethylenglycol 6000. *Plant Physiology*, 51, 914-916.
21. Moinuddin, K.H.M. & Khannu-Chopra, R. (2004). Osmotic adjustment in chickpea in relation to seed yield and yield parameters. *Crop Science*, 44, 449-455.
22. Morgan, J.M., Rodriguez-Maribona, B. & Knights, E.J. (1991). Adaptation to water deficit in chickpea breeding lines by osmoregulation, relationship to grain yields in the fields. *Field Crops Research*, 27, 61-70.
23. Nezami, A. (2003). *Evaluation of chickpea genotypes (Cicer arietinum L.) for cold tolerance in fall sowing on highland regions*. Ph.D. Thesis. Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad. (in Farsi)
24. Pagter, M., Bragato, C. & Brix, H. (2005). Tolerance and physiological responses of Phragmites australis to water déficit. *Aquatic Botany*, 81, 285-299.
25. Pouresmael, M., Mozafari, J., Khavari-Nejad, R.A., Najafi, F. & Moradi, F. (2015). Identification of possible mechanisms of chickpea (*Cicer arietinum* L.) drought tolerance using cDNA-AFLP. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 17, 1303-1317.
26. Rajendrakumar, C.S.V., Reddy, B.V.B. & Reddy, A.R. (1994). Proline-protein interactions: protection of structural and functional integrity of M4 lactate dehydrogenase. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2, 957-963.
27. Reddy, A.R., Chaitanya, K.V. & Vivekanandan, M. (2004). Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *Journal of Plant Physiology*, 161, 1189-1202.
28. Sabaghpour, S.H., Mahmodi, A.A., Saeed, A., Kamel, M. & Malhotra, R.S. (2006). Study on chickpea drought tolerance lines under dryland condition of Iran. *Indian Journal Crop Science*, 1, 70-73.
29. Singh, D.P., Chaudhary, B.D., Singh, P., Sharma, H.C. & Karwasra, S.P.S. (1990). Drought tolerance in oilseed Brassicas and chickpea. Hisar, India: Haryana Agricultural University.
30. Sturm, A. & Tang, G.Q. (1999). The sucrose-cleaving enzymes of plants are crucial for development, growth and carbon partitioning. *Trends in Plant Science*, 4, 401-407.
31. Subarao, G.V., Chauhan, Y.S. & Johansen, C. (2000). Patterns of osmotic adjustment in pigeopea its importance as a mechanism of drought resistance. *European Journal of Agronomy*, 12, 239-249.
32. Subarao, G.V., Johanson, C., Slinkard, A.E., Nageswara R.C., Rao Saxena, N.P. & Chauhan, Y.S. (1995). Strategies for improving drought resistance in grain legumes. *Critic Review in Plant Science*, 14, 469-523.
33. Szabados, L. & Savoure, A. (2009). Proline: a multifunctional amino acid. *Trends in Plant Science*, 2, 89-97.
34. Todaka, D., Shinozaki, K. & Yamaguchi-Shinozaki, K. (2015). Recent advances in the dissection of drought-stress regulatory networks and strategies for development of drought-tolerant transgenic rice plants. *Frontiers in Plant Science*, 6, 2-20.
35. Türkan, I., Bor, M., Özdemir, F. & Koca, H. (2005). Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in leaves of drought-tolerant *P. acutifolius* Gray and drought sensitive *P. vulgaris* L. subjected to polyethylene glycol mediated water stress. *Plant Science*, 168, 223-231.
36. Turner, N.C., Abbo, S., Berger, J.D., Chaturvedi, S.K., French, R.J., Ludwig, C., Mannur, D.M., Singh, J. & Yadava, H.S. (2007). Osmotic adjustment in chickpea (*Cicer arietinum* L.) results in no yield benefit under terminal drought. *Journal of Experimental Botany*, 58, 187-194.
37. Vendruscolo, E.C.G., Schuster, I., Pileggi, M., Scapim, C.A., Molinari, H.B.C., Marur, C.J. & Vieira, L.G.E. (2007). Stress-induced synthesis of proline confers tolerance to water deficit in transgenic wheat. *Journal of Plant Physiololgy*, 164, 1367-1376.
38. Voet, D., Voet, J.G. & Pratt, C.W. (2001). *Fundamentals of biochemistry*. New York, Wiley.
39. Wang, Z., Quebedeaux, B. & Stutte, G.W. (1996). Partitioning of (14C) glucose into sorbitol and other carbohydrates in apple under water stress. *Australian Journal of Plant Physiology*, 23, 245-251.