بررسی اثر تنش خشکی و پراکسید هیدروژن بر خصوصیات مورفولوژیک ۱۲ ژنوتیپ نخود

جعفرنباتی*[۱]، محمد زارع مهرجردی[۲]، عبدالرضا باقری[۳]، محمد کافی[۴] و علی معصومی[۵]

۱. عضو هیات علمی، پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد

۲. عضو هیات علمی، مجتمع آموزش عالی شیروان

۳ و ۴. عضو هیات علمی، دانشکده کشاورزی و پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد

۵. عضو هیات علمی گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور

Email: jafarnabati@ferdowsi.um.ac.ir

چکیده

رابطه بین گیاهان و پراکسید هیدروژن همراه با چالش است، پراکسید هیدروژن نقش حیاتی در سوخت و ساز گیاه دارد اما هم‌زمان تجمع آن در تنش‌های محیطی قابلیت ایجاد خسارت دارد. این مطالعه به‌منظور بررسی اثر تنش خشکی و پراکسیدهیدروژن بر ۱۲ ژنوتیپ نخود در محیط کنترل شده بر اساس آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. تیمارها شامل تنش خشکی با پتانسیل اسمزی ۳- بار و یک میلی‌مولار پراکسیدهیدروژن بود. تیمارها به مدت ۱۵ روز در شرایط هیدروپونیک در اتاقک رشد اعمال گردید. نتایج نشان داد که اعمال تنش خشکی و همچنین کاربرد پراکسیدهیدروژن موجب کاهش ارتفاع بوته در ژنوتیپ‌های مختلف شد. تنش خشکی موجب کاهش ۲۷/۶ درصدی طول ریشه نسبت به تیمار شاهد شد، اما کاربرد پراکسیدهیدروژن کاهش معنی‌داری از نظر طول ریشه نشان نداد. کاهش وزن خشک در اثر تنش خشکی معنی‌دار نبود، اما پراکسید هیدروژن به شدت موجب کاهش وزن خشک اندام هوایی گردید، این میزان کاهش وزن خشک اندام هوایی در کاربرد پراکسیدهیدروژن نسبت به شاهد ۳۰/۸ درصد بود. وزن خشک ریشه نسبت به شاهد در تیمار تنش خشکی (۵۷ درصد) در مقایسه با تیمار پراکسیدهیدروژن (۲۴ درصد) کاهش بیشتری نشان داد. تنش خشکی موجب کاهش ۴۷ درصدی نسبت وزن ریشه به اندام هوایی نسبت به شاهد شد، از طرف دیگر کاربرد پراکسیدهیدروژن موجب افزایش ۱۳ درصدی نسبت وزن ریشه به اندام هوایی گردید. تغییرات زیست‌توده کل نشان داد که تنش خشکی موجب کاهش ۳۳ درصدی و کاربرد پراکسید هیدروژن موجب کاهش ۲۷ درصدی زیست‌توده کل نسبت به شاهد شد.

واژه‌های کلیدی: اندام هوایی، پتانسیل اسمزی، ریشه، زیست‌توده، هیدروپونیک

مقدمه

نخود (*Cicer arietinum* L.) سومین لگوم خوراکی است که کل محصول تولیدی آن در دنیا ۱۱/۶ میلیون تن از ۱۳/۲ میلیون هکتار در سال ۲۰۱۱ بوده است (فائو، ۲۰۱۲). بیشتر اراضی تولید نخود در منطقه خشک و نیمه خشک واقع شده‌اند و تقریبا ۹۰ درصد نخود دنیا بصورت دیم تولید می‌شود (کومار و ابدو، ۲۰۰۱) که درآن خشک‌سالی یکی از محدودیت‌های عمده برای بهره‌وری است.

در طبیعت گیاهان بطور پیوسته تنش‌های زنده و غیر زنده را تجربه می‌کنند و فرار از این شرایط برای گیاهان امکان‌پذیر نیست. برای هر یک از شرایط، فرآیندهای پیچیده‌ای در گیاه جهت واکنش مناسب ایجاد می‌شود (کرسن اسکای و جوناک، ۲۰۱۲). خشکی یا تنش آبی یکی از مهمترین تنش‌های غیرزیستی است که عامل کاهش جدی عملکرد محصولات زراعی و گسترش آنها در سراسر دنیا است (یانگ و همکاران، ۲۰۱۰). پیش بینی تغییرات در متغیرهای اقلیمی و الگوی بارندگی نشان می‌دهد که بهبود تحمل محصولات زراعی به تنش‌های محیطی برای تولید غذا بسیار حیاتی است (لامب، ۲۰۱۲). بنابراین بهبود تحمل به تنش خشکی ارقام زراعی یکی از ضروریات در برنامه‌های اصلاحی محصولات زراعی برای امنیت غذایی قابل اطیمنان تبدیل شده است. با این وجود بهبود سازگاری به

تنش‌های غیر زیستی مدت طولانی است که توسط اصلاح نباتات تعقیب می‌شود، اما به دلیل چند ژنی بودن واکنش‌های سازگاری، رسیدن به این هدف را مشکل ساخته است (لامب، ۲۰۱۲).

یکی از بزرگ‌ترین چالش‌ها در توسعه کشاورزی پایدار پیشرفته بدست آوردن دانش جدیدی است که اجازه اصلاح و مهندسی گیاه را با صفات زراعی دلخواه بدهد (لی و همکاران، ۲۰۰۷؛ داکیو و همکاران، ۲۰۱۳). بنابراین، اهمیت درک علم پایه مولکولی و بیوشیمیایی پاسخ به تنش خشکی و تحمل به آن، توسط دانش پایه و چشم‌انداز علمی که ممکن است استراتژی جدیدی برای تحمل به خشکی در گیاهان، برای تولید محصولات زراعی مناسب‌تر ایجاد کند هدایت می‌شود.

تنش خشکی، تنش شوری، تنش دما و تنش اکسیداتیو اغلب به هم پیوسته بوده و خسارت سلولی مشابهی ایجاد می‌کنند (وانگ و همکاران، ۲۰۰۳؛ سینگ و همکاران، ۲۰۱۱). پس از قرار گرفتن در معرض تنش خشکی، بطور چشمگیری گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) مانند اکسیژن نوزاد ($^1O_2$) سوپر اکسید ($O2^{\bullet-}$)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و رادیکال هیدروژن ($\bullet OH$) در اندامک‌های سلولی در گیاهان افزایش می‌یابد (کروز دی کاروالو، ۲۰۰۸). در مضیقه بودن ورود دی اکسید کربن به برگ‌ها در زمان تنش خشکی تثبیت دی اکسید کربن را محدود کرده و مسیر تنفس نوری را تسریع کرده و در نهایت منجر به حضور بیش از حد پراکسید هیدروژن در پراکسی‌زوم می‌گردد (کروز دی کاروالو، ۲۰۰۸). پیش‌بینی شده که تحت شرایط تنش خشکی بیشتر از ۷۰ درصد از کل پراکسید هیدروژن تجمع یافته به دلیل تنفس نوری است (نوکتور و همکاران، ۲۰۰۲). با وجود اینکه گونه‌های اکسیژن فعال به ویژه پراکسید هیدروژن می‌تواند به عنوان یک پیام در گیاه به سازگاری در جهت تحمل به تنش خشکی کمک کند (میلر و همکاران، ۲۰۰۸ و ۲۰۱۰؛ جیل و توتیجا، ۲۰۱۰؛ هوساین و فوجیتا،۲۰۱۰؛ پیتروو و بریوسیگوم، ۲۰۱۲)، زیادی گونه‌های اکسیژن فعال موجب خسارت اکسیداتیو به اندامک‌های سلولی گیاه می‌شود (جیل و توتیجا، ۲۰۱۰؛ جاسپرس و کانگاسجاریو، ۲۰۱۰؛ هوساین و همکاران، ۲۰۱۱). در نتیجه تغییرات متابولیکی، ممانعت فتوسنتز و فرو ریختن ساختار سلولی اندامک‌ها به کاهش رشد، کاهش باروری، پیری زود رس و حتی مرگ گیاهان کمک می‌کند (سایتو و همکاران،۲۰۱۰؛ کرسن اسکای و جوناک، ۲۰۱۲؛ هوساین و همکاران، ۲۰۱۱).

بنابراین سطح پراکسید هیدروژن در تنظیم عاقلانه در گیاه از طریق مشخصات پراکسید هیدروژن تولیدی در گیاه و سیستم مهار کننده‌ی پراکسید هیدروژن در مدیریت خسارت اکسیداتیو و تنظیم همزمان پیام رسانی نقش دارد (فویر و نوکتور، ۲۰۰۵؛ روهیر و همکاران، ۲۰۰۸) اما فرآیندهای اصلی بطور گسترده‌ای ناشناخته مانده است. این مطالعه با هدف بررسی اثرات تنش خشکی و تنش اکسیداتیو القا شده توسط اعمال تیمار پر اکسید هیدروژن بر روی خصوصیات مورفولوژیک نخود انجام شد.

مواد و روش‌ها

به منظور ارزیابی تاثیر تیمار تنش اسمزی القاء شده با پلی اتیلن گلیکول (PEG 6000) و تنش اکسیداتیو با پراکسید هیدروژن (H_2O_2) بر ۱۲ ژنوتیپ نخود، آزمایشی بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در شرایط کنترل شده انجام شد.میزان تحمل به خشکی ژنوتیپ‌های مورد استفاده در این آزمایش، در مطالعات پیشین ارزیابی شده بود (سکسینا و همکاران ۱۹۹۳، صداقت خواهی، ۱۳۸۶ و گنجعلی و همکاران، ۱۳۸۸). بذور از بانک بذر حبوبات پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد تهیه شد (جدول ۱).

جدول۱- ژنوتیپ‌های مورد استفاده در آزمایش و منشاء آنها

ردیف	شناسه در بانک بذر		منشاء	پاسخ به خشکی در مطالعات زراعی	منبع
۱	MCC333	(Flip87-84c)	ایکاردا	متحمل	صداقت خواهی، ۱۳۸۶
۲	MCC537		ایران	متحمل	گنجعلی و همکاران، ۱۳۸۸
۳	MCC544		ایران	متحمل	گنجعلی و همکاران، ۱۳۸۸
۴	MCC674		ایران	حساس	گنجعلی و همکاران، ۱۳۸۸
۵	MCC753	(Sel96TH11439)	ایکاردا	حساس	صداقت خواهی، ۱۳۸۶
۶	MCC759	(Flip97-41c)	ایکاردا	حساس	گنجعلی و همکاران، ۱۳۸۸
۷	MCC760	(Flip97-43c)	ایکاردا	متحمل	گنجعلی و همکاران، ۱۳۸۸
۸	MCC770	(Flip97-91c)	ایکاردا	متحمل	گنجعلی و همکاران، ۱۳۸۸
۹	MCC773	(Flip97-97c)	ایکاردا	حساس	صداقت خواهی، ۱۳۸۶
۱۰	MCC783	Flip97-120c)	ایکاردا	حساس	گنجعلی و همکاران، ۱۳۸۸
۱۱	MCC806	(Flip97-196c)	ایکاردا	حساس	گنجعلی و همکاران، ۱۳۸۸
۱۲	MCC877	(ICC4958)	ایکریست	متحمل	سکسینا و همکاران، ۱۹۹۳

بذرهای سالم و بدون شکستگی پس از شستشوی سطحی با آب، به مدت سه روز روی کاغذ صافی مرطوب شده با آب مقطر در پتریدیش‌هایی با قطر نه سانتی‌متر جوانه‌دار شدند. این گیاهچه‌ها به محیط هیدروپونیک حاوی محلول هوگلند منتقل و یک هفته پس از انتقال گیاهچه‌ها و مستقر شدن آنها در هیدروپونیک تیمار تنش خشکی با استفاده از پلی اتیلن گلیکول و پراکسید هیدروژن روی نمونه‌ها به مدت ۱۵ روز اعمال شد. جهت جلوگیری از وارد شدن تنش شدید اعمال تیمار تنش خشکی پتانسیل اسمزی به محیط هیدروپونیک در طول ۱۵ روز به تدریج و با نرخ ۰/۲ بار در روز پتانسیل اسمزی تا ۳- بار، بر اساس معادله‌ی میشل کافمن (۱۹۷۳)، افزایش یافت. تنش اکسیداتیو با تیمار پراکسید هیدروژن شامل محلول غذایی هوگلند به همراه یک میلی‌مولار پراکسید هیدروژن اعمال شد.

گیاهچه‌ها در اتاقک رشد کانوایرون با دمای ۰/۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۵±۵۰ درصد و شدت نور متوسط ۴۰۰ میکرومول بر متر مربع با دوره روشنایی به تاریکی ۱۶ به ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند. پانزده روز پس از شروع اعمال تیمارها نمونه‌ها برداشت و صفات مختلف شامل ارتفاع بوته، طول ریشه، وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه اندازه‌گیری شد. جهت اندازه‌گیری میزان ماده تر و خشک تولیدی نمونه‌های برگ و ریشه پس از جدا سازی از گیاه وزن شده و در ادامه به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند.

در نهایت برای تجزیه داده‌ها، تعیین روابط بین صفات، و رسم نمودارها، از نرم افزارهای Minitab 16 و EXCEL استفاده شد. و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن و LSD در سطح احتمال پنج درصد انجام گرفت.

نتایج و بحث

بررسی تغییرات ارتفاع بوته در ژنوتیپ‌ها و تیمارهای مورد مطالعه نشان داد اعمال تنش خشکی ۳- بار پتانسل اسمزی از طریق پلی اتیلن گلیکول و همچنین کاربرد پراکسید هیدروژن موجب کاهش ارتفاع بوته در ژنوتیپ‌های مختلف شد. میزان کاهش ارتفاع در تیمار کاربرد یک میلی‌مولار پراکسید هیدروژن (۱۲/۵ درصد) بیشتر از تیمار تنش خشکی ۳- بار پتانسیل اسمزی (۶/۳ درصد) نسبت به شاهد بود (جدول ۲). بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از نظر ارتفاع بوته اختلاف معنی‌داری ($P\leq۰/۰۵$) مشاهده شد (جدول ۲). بیشترین ارتفاع بوته به طور مشترک مربوط به ژنوتیپ‌های MCC537 و MCC544 که هر دو متحمل به تنش خشکی بودند و کمترین ارتفاع بوته مربوط به ژنوتیپ MCC753 که حساس به تنش خشکی بود (جدول ۲). واکنش ژنوتیپ‌های مختلف از نظر ارتفاع بوته به کاربرد پراکسید هیدروژن متفاوت بود. با وجود اینکه در کل ارتفاع بوته با کاربرد پراکسید هیدروژن کاهش یافت اما در

ژنوتیپ‌های MCC333، MCC674 و MCC759 استفاده از پراکسید هیدروژن موجب افزایش ارتفاع بوته نسبت به تیمار شاهد شد، در مقابل ایجاد تنش خشکی با پتانسیل اسمزی ۳- بار در ژنوتیپ‌های MCC674 و MCC759 تغییری در ارتفاع بوته نسبت به شاهد ایجاد نکرد و در ژنوتیپ MCC333 تنش خشکی موجب کاهش ارتفاع بوته شد (جدول ۲).

مطالعات نشان داده است که پراکسیدهیدروژن می‌تواند با دیگر مولکول‌های تنظیم کننده مانند آبسسیک اسید و اتیلن که در رشد و نمو و پیری گیاه نقش دارند اثرات متقابل داشته باشد (چن و همکاران، ۲۰۱۲). با وجود اینکه در مطالعات مختلف گزارشاتی در ارتباط با نقش پراکسید هیدروژن در تحمل به تنش‌های محیطی گزارش شده است (گائو و همکاران، ۲۰۱۰؛ ایس هیباشی و همکاران، ۲۰۱۱) در این مطالعه مشخص شد که کاربرد یک میلی مولار پراکسید هیدروژن باعث ایجاد تنش اکسیداتیو و کاهش رشد و ارتفاع بوته شده است.

جدول ۲- اثر تنش خشکی (۳- بار) و پراکسید هیدروژن (یک میلی‌مولار) بر ارتفاع بوته، طول ریشه و وزن خشک اندام هوایی در ۱۲ ژنوتیپ نخود.

ژنوتیپ	ارتفاع بوته (سانتی‌متر)				طول ریشه (سانتی‌متر)				وزن خشک اندام هوایی (میلی‌گرم در بوته)			
	شاهد	H_2O_2	۳- بار	میانگین	شاهد	H_2O_2	۳- بار	میانگین	شاهد	H_2O_2	۳- بار	میانگین
MCC333	۱۵	۱۷	۱۴	۱۵$^{a-d}$	۳۱	۲۳	۲۳	۲۶^{ab}	۸۲۲	۵۱۹	۴۸۷	۶۱۰^{ab}
MCC537	۱۹	۱۶	۱۷	۱۸^{a}	۳۱	۳۰	۲۴	۲۸^{a}	۴۴۸	۳۳۶	۳۴۳	۳۷۶^{c}
MCC544	۱۷	۱۷	۲۱	۱۸^{a}	۲۶	۲۶	۲۴	۲۵^{ab}	۶۶۵	۲۰۵	۲۲۶	۳۶۵^{c}
MCC674	۱۷	۱۸	۱۷	۱۷^{ab}	۳۰	۲۶	۱۷	۲۴^{ab}	۵۱۹	۳۴۴	۳۶۳	۴۰۹^{bc}
MCC753	۱۳	۹	۱۳	۱۲^{d}	۲۶	۳۱	۲۲	۲۷^{ab}	۳۳۴	۲۱۲	۴۵۱	۳۳۳^{c}
MCC759	۱۴	۱۶	۱۴	۱۵$^{a-d}$	۳۲	۲۹	۱۹	۲۷^{ab}	۵۱۳	۴۳۶	۳۵۲	۴۳۹$^{a-c}$
MCC760	۱۷	۱۴	۱۵	۱۵$^{a-d}$	۲۸	۳۱	۱۹	۲۶^{ab}	۷۲۵	۵۱۵	۶۴۳	۶۲۷^{a}
MCC770	۱۶	۱۳	۱۵	۱۵$^{a-d}$	۲۹	۳۱	۲۱	۲۷^{ab}	۳۶۸	۲۰۵	۳۹۲	۳۲۲^{c}
MCC773	۱۴	۱۱	۱۵	۱۳^{cd}	۳۶	۲۵	۲۰	۲۷^{ab}	۴۸۰	۳۷۶	۴۴۴	۴۳۳$^{a-c}$
MCC783	۱۵	۱۳	۱۴	۱۴$^{b-d}$	۲۴	۲۱	۲۲	۲۲^{ab}	۵۳۱	۲۶۰	۵۰۹	۴۳۳$^{a-c}$
MCC806	۱۳	۱۳	۱۱	۱۳^{d}	۳۲	۳۲	۲۲	۲۹^{a}	۴۰۰	۳۹۴	۴۳۹	۴۱۱^{ab}
MCC877	۲۱	۱۶	۱۳	۱۷$^{a-c}$	۲۳	۲۰	۱۵	۱۹^{b}	۴۱۳	۲۰۸	۲۷۶	۲۹۹^{c}
میانگین	۱۶^{a}	۱۴^{b}	۱۵^{ab}	LSD=۴	۲۹^{a}	۲۷^{a}	۲۱^{b}	LSD=۷	۵۱۸^{a}	۳۳۴^{b}	۴۱۰^{ab}	LSD=۲۰۴

مقایسه میانگین اثرات مستقیم بر اساس آزمون مقایسه میانگین چند دامنه دانکن در سطح ۰/۰۵. مقدار LSD برای مقایسه میانگین اثرات متقابل در سطح ۰/۰۵.

تنش خشکی با پتانسیل اسمزی ۳- بار موجب کاهش ۲۷/۶ درصدی طول ریشه نسبت به تیمار شاهد شد، اما کاربرد پراکسید هیدروژن کاهش معنی‌داری (P>۰/۰۵) از نظر طول ریشه نشان نداد (جدول ۲). نکته قابل توجه در بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی، مشاهده بیشترین طول ریشه در ژنوتیپ MCC806 (حساس به خشکی) و کمترین طول ریشه در ژنوتیپ MCC877 (مقاوم به خشکی) بود (جدول ۲). در تمامی ژنوتیپ‌ها بجز MCC753 تنش خشکی و کاربرد پراکسید هیدروژن موجب کاهش طول ریشه گردید. با این وجود بیشترین کاهش طول ریشه در تیمار تنش خشکی با پتانسیل اسمزی ۳- بار نسبت به شاهد مربوط به ژنوتیپ‌های MCC773، MCC674 و MCC759 به ترتیب با ۴۴، ۴۳ و ۴۱ درصد، و کمترین کاهش طول ریشه مربوط به ژنوتیپ‌های MCC544 و MCC783 با هشت درصد بود. در ارتباط با میزان کاهش طول ریشه در تیمار کاربرد پراکسید هیدروژن نسبت به تیمار شاهد ژنوتیپ‌های MCC333 و MCC773 به ترتیب با ۲۶ و ۳۱ درصد و ژنوتیپ‌های MCC544 و MCC806 بدون کاهش، بیشترین و کمترین کاهش طول ریشه را دارا بودند. با وجود اینکه کاربرد پراکسید هیدروژن نسبت به تنش اسمزی حاصل از پلی اتیلن گلیکول تاثیر منفی کمتری بر طول ریشه داشت، ولی واکنش ژنوتیپ‌ها در این رابطه متفاوت بود (جدول ۲).

طول ریشه به عنوان یکی از صفات مناسب برای گزینش گیاهان مقاوم به خشکی در شرایط طبیعی مطرح است (کاشیواگی و همکاران، ۲۰۱۵). ریشه طول بلند موجب جذب آب از اعماق بیشتر خاک می‌گردد و گیاه کمتر در معرض تنش قرار می‌گیرد. در این مطالعه بیشترین کاهش طول ریشه در اثر ایجاد پتانسیل اسمزی در ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی مشاهده شد. در شرایط کنترل شده، ایجاد تنش خشکی با پلی اتیلن گلیکول باعث می‌شود که تنش بصورت یکنواخت در کل سطح ریشه ایجاد شود و بر خلاف شرایط مزرعه طول بیشتر ریشه نقشی در جذب آب نداشته باشد. بنابراین به نظر می‌رسد در شرایط تنش خشکی با پلی اتیلن گلیکول طول ریشه صفت مناسبی برای گزینش تحمل به خشکی نباشد. رشد ریشه گیاه وابسته به تولید سلول‌های جدید در مریستم انتهایی ریشه و طویل شدن سلول‌های مریستمی است (رحمان و همکاران، ۲۰۰۷). علاوه بر ترکیبات هورمونی، رشد ریشه بشدت به تولید گونه‌های اکسیژن فعال مرتبط است. در مقایسه با سایر گونه‌های اکسیژن فعال پراکسید هیدروژن پایداری بیشتری دارد (دای تز و همکاران، ۲۰۰۶). در مطالعه گیاه آرابیدوبسیس (*A. thaliana*) جهش یافته مشاهده شد که میزان رادیکال اکسیژن فعال افزایش یافت اما میزان پراکسید هیدروژن در انتهای ریشه کاهش یافت، در نتیجه بزرگ شدن مریستم، طویل شدن سلول افزایش و رشد ریشه بیشتر شد (تسوکاگوشی و همکاران، ۲۰۱۰).

اعمال تیمارهای پتانسیل اسمزی و کاربرد پراکسید هیدروژن موجب کاهش وزن خشک اندام هوایی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه نخود شد. با این وجود در شرایط تنش خشکی با پتانسیل اسمزی ۳- بار کاهش وزن خشک معنی‌دار (P>۰/۰۵) نبود اما پراکسید هیدروژن به شدت موجب کاهش وزن خشک اندام هوایی گردید. به‌طوری که میزان کاهش ماده وزن خشک اندام هوایی در تیمارهای پتانسیل اسمزی و کاربرد پراکسید هیدروژن نسبت به شاهد به ترتیب ۷/۵ و ۳۰/۸ درصد بود (جدول ۲).

بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از نظر وزن خشک اندام هوایی اختلاف معنی‌داری (P≤۰/۰۵) مشاهده شد و ژنوتیپ‌های MCC760 و MCC877 که هر دو متحمل به خشکی بودند بیشترین و کمترین وزن خشک اندام هوایی را دارا بودند. میزان کاهش وزن خشک اندام هوایی در ژنوتیپ‌های MCC333 و MCC759 در تنش خشکی با پتانسیل اسمزی ۳- بار نسبت به شاهد بیشتر از سایر ژنوتیپ‌ها بود، در سایر ژنوتیپ‌ها کاربرد پر اکسید هیدروژن موجب کاهش بیشتر وزن خشک اندام هوایی نسبت به شاهد گردید. در ژنوتیپ‌های MCC770 (متحمل به خشکی) و MCC806 (حساس با خشکی) به میزان ۷ و ۱۰ درصد افزایش وزن خشک در تیمار تنش خشکی با پتانسیل اسمزی ۳- بار نسبت به شاهد مشاهده شد (جدول ۲).

تولید گونه‌های اکسیژن فعال در شرایط تنش یک پدیده عمومی در گیاهان تحت تنش‌های غیر زیستی محیطی است. گونه‌های اکسیژن فعال قابلیت ایجاد خسارت به سلول‌ها بواسطه تخریب پروتئین‌ها، غیر فعال کردن آنزیم‌ها، تغییر در ژن‌ها و اختلال در مسیرهای متابولیکی مهم دارند (مهاجان و توتیجا، ۲۰۰۵). پراکسید هیدروژن یکی از گونه‌های اکسیژن فعال است که نقش مهمی در پیام رسانی برای تحمل به تنش‌های غیر زیستی دارد با این وجود پراکسید هیدروژن در غلظت‌های بالا سمی می‌باشد (فویر و نوکتور، ۲۰۰۹). برخی از پژوهشگران پیشنهاد کرده‌اند که کاربرد پراکسید هیدروژن در غلظت‌های پایین می‌تواند در بهبود تحمل به تنش‌های غیر زیستی مانند خشکی (هی و همکاران، ۲۰۰۹)، گرما (گائو و همکاران، ۲۰۱۰) و عناصر سنگین (هو و همکاران، ۲۰۰۹) موثر باشد. پراکسید هیدروژن فعالیت آنتی اکسیدانتی آنزیم‌ها در گیاهانی تحت تنش هستند را القاء می‌کند. به عنوان مثال گزارشی در ارتباط با افزایش مقاومت به تنش اسمزی در دو واریته خیار پیش تیمار شده با پراکسید هیدروژن با القای سیستم آنتی اکسیدانتی وجود دارد (لیو و همکاران، ۲۰۱۰). در مطالعه حاضر کاربرد پراکسید هیدروژن با غلظت یک میلی‌مولار موجب کاهش وزن خشک اندام هوایی گردید. بنابراین می‌توان عنوان کرد این سطح از پراکسید هیدروژن برای ژنوتیپ‌های مورد بررسی دارای سمیت می‌باشد.

جدول ۳- اثر تنش خشکی (۳- بار) و پراکسید هیدروژن (یک میلی‌مولار) بر وزن خشک ریشه، نسبت ریشه به اندام هوایی و زیست توده کل در ۱۲ ژنوتیپ نخود.

ژنوتیپ	وزن خشک ریشه (میلی‌گرم در بوته)				ریشه/اندام هوایی				زیست توده کل (میلی‌گرم در بوته)			
	شاهد	H_2O_2	۳- بار	میانگین	شاهد	H_2O_2	۳- بار	میانگین	شاهد	H_2O_2	۳- بار	میانگین
MCC333	۷۸۰	۶۶۱	۲۵۴	۵۶۵[a]	۰/۹۵	۱/۲۸	۰/۵۲	۰/۹۲[a]	۱۶۰۳	۱۱۸۱	۷۴۱	۱۱۷۵[a]
MCC537	۵۸۸	۳۲۳	۱۷۵	۳۶۲[ab]	۱/۳۰	۰/۸۶	۰/۴۸	۰/۸۸[a]	۱۰۳۶	۶۵۹	۵۱۸	۷۳۸[c]
MCC544	۴۵۵	۳۴۴	۳۷۱	۳۹۰[ab]	۰/۶۸	۱/۶۸	۱/۶۴	۱/۳۳[a]	۵۹۸	۵۴۹	۱۱۱۹	۷۵۵[bc]
MCC674	۵۹۲	۴۲۱	۱۴۰	۳۸۴[ab]	۱/۱۷	۱/۲۵	۰/۳۹	۰/۹۳[a]	۱۱۱۱	۷۶۶	۵۰۳	۷۹۳[a-c]
MCC753	۵۰۹	۳۲۰	۳۱۴	۳۸۱[ab]	۱/۵۳	۱/۷۰	۰/۶۸	۱/۳۰[a]	۸۴۴	۵۳۲	۷۶۵	۷۱۴[c]
MCC759	۷۰۳	۶۷۹	۲۲۰	۵۳۴[a]	۱/۳۳	۱/۵۶	۰/۷۳	۱/۲۱[a]	۱۲۳۴	۱۱۱۵	۵۷۲	۹۷۳[a-c]
MCC760	۵۰۳	۶۷۹	۳۷۷	۵۲۰[ab]	۰/۶۹	۱/۳۵	۰/۵۵	۰/۸۶[a]	۱۲۲۸	۱۱۹۴	۱۰۲۰	۱۱۴۷[ab]
MCC770	۴۹۱	۳۸۱	۳۰۲	۳۹۱[ab]	۱/۳۶	۱/۹۲	۰/۷۶	۱/۳۴[a]	۸۵۹	۵۸۶	۶۹۴	۷۱۳[c]
MCC773	۵۴۵	۴۴۰	۳۳۳	۴۳۹[ab]	۱/۱۳	۱/۱۵	۰/۷۱	۰/۹۹[a]	۱۰۲۶	۸۱۶	۷۷۶	۸۷۳[a-c]
MCC783	۶۴۶	۳۶۷	۲۱۸	۴۱۰[ab]	۱/۴۴	۱/۳۴	۰/۴۱	۱/۰۷[a]	۱۱۷۶	۶۲۷	۷۲۷	۸۴۳[a-c]
MCC806	۵۷۲	۳۹۰	۱۸۹	۳۸۴[ab]	۱/۴۵	۱/۰۷	۰/۴۴	۰/۹۹[a]	۹۷۲	۷۸۴	۶۲۸	۷۹۵[a-c]
MCC877	۵۲۵	۲۳۶	۹۴	۲۸۵[b]	۱/۳۱	۱/۱۰	۰/۳۴	۰/۹۲[a]	۹۳۸	۴۴۴	۳۷۱	۵۸۴[c]
میانگین	۵۷۶[a]	۴۳۷[b]	۲۴۹[c]	LSD=۲۳۹	۱/۲۰[a]	۱/۳۵[a]	۰/۶۴[b]	LSD=۰/۵۵	۱۰۵۲[a]	۷۷۱[b]	۷۰۳[b]	LSD=۴۰۱

مقایسه میانگین اثرات مستقیم بر اساس آزمون مقایسه میانگین چند دامنه دانکن در سطح ۰/۰۵. مقدار LSD برای مقایسه میانگین اثرات متقابل در سطح ۰/۰۵.

بر خلاف وزن خشک اندام هوایی، وزن خشک ریشه نسبت به شاهد در تیمار تنش خشکی (۵۷ درصد) در مقایسه با تیمار پراکسید هیدروژن (۲۴ درصد) کاهش بیشتری نشان داد (جدول ۳). در میان ژنوتیپ‌ها بیشترین و کمترین وزن خشک ریشه به ترتیب در ژنوتیپ‌های MCC333 و MCC877 مشاهده شد (جدول ۳).

کاهش وزن خشک ریشه نسبت به شاهد بجز در ژنوتیپ MCC544 در سایر ژنوتیپ‌ها در تیمار پتانسیل اسمزی ۳- بار بیشتر از کاربرد پراکسید هیدروژن بود. بیشترین کاهش وزن خشک ریشه در تیمار ۳- بار پتانسیل اسمزی نسبت به شاهد در ژنوتیپ‌هایMCC877 و MCC537 (هر دو متحمل به خشکی) با ۸۲ و ۷۰ درصد کاهش مشاهده شد (جدول ۳). کاربرد پراکسید هیدروژن بر ژنوتیپ MCC760 (متحمل به خشکی) موجب افزایش ۳۵ درصدی وزن خشک ریشه در این ژنوتیپ گردید (جدول ۳).

بررسی نسبت وزن ریشه به اندام هوایی در تیمارهای مختلف نشان داد که اعمال تنش خشکی با پتانسیل اسمزی ۳- بار موجب کاهش این نسبت به میزان ۴۷ درصد نسبت به شاهد شد. از طرف دیگر کاربرد پراکسید هیدروژن موجب افزایش ۱۳ درصدی نسبت وزن ریشه به اندام هوایی در مقایسه با تیمار شاهد گردید (جدول ۳). نسبت وزن ریشه به اندام هوایی در تیمار ۳- بار پتانسیل اسمزی نسبت به شاهد تنها در ژنوتیپ MCC544 افزایش یافت و در سایر ژنوتیپ‌ها این نسبت کاهش یافت و بیشترین کاهش مربوط به ژنوتیپ MCC877 با ۷۴ درصد کاهش بود. نسبت وزن ریشه به اندام هوایی در تیمار کاربرد پراکسید هیدروژن نسبت به شاهد در ژنوتیپ‌های MCC537، MCC783، MCC806 و MCC877 روند کاهشی داشت اما در سایر ژنوتیپ‌ها این نسبت افزایشی بود (جدول ۳).

تغییرات زیست توده تولیدی در تیمارهای مختلف نشان داد که تاثیر تنش خشکی ۳- بار پتانسیل اسمزی موجب کاهش ۳۳ درصدی و کاربرد پراکسید هیدروژن موجب کاهش ۲۷ درصدی زیست توده تولیدی نسبت به تیمار بدون تنش خشکی شد (جدول ۳). در میان ژنوتیپ‌ها MCC333 و MCC760 بیشترین و MCC877 کمترین زیست توده را تولید کردند. اختلاف میان بیشترین و

کمترین زیست توده تولیدی در ژنوتیپ ۵۹۱ میلی‌گرم ماده خشک در بوته بود (جدول ۳). با اعمال تنش اسمزی ۳- بار بیشترین کاهش زیست توده تولیدی نسبت به شاهد در ژنوتیپ‌های MCC877 (۶۰ درصد)، MCC674 (۵۵ درصد) و MCC333 (۵۴ درصد) و در تیمار کاربرد یک میلی‌مولار پر اکسید هیدروژن بیشترین کاهش زیست توده تولیدی نسبت به شاهد در ژنوتیپ‌های MCC877 (۵۳ درصد) و MCC783 (۴۷ درصد) مشاهده شد (جدول ۳).

نتیجه‌گیری

بطور کلی ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی MCC333، MCC537 و MCC877 کاهش زیست توده بیشتری در شرایط تنش اسمزی نشان دادند، در مقابل ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی MCC760 و MCC770 در مواجهه با تنش اسمزی کاهش عملکرد کمتری داشتند. بنابراین با توجه به اینکه تنش خشکی حاصل از پلی اتیلن گلیکول تمامی سطح ریشه را بطور یکنواخت تحت تاثیر پتانسیل اسمزی قرار می‌دهد احتمالا فرآیندهای فیزیولوژیک گیاه در مقابله با تنش خشکی در دو ژنوتیپ MCC760 و MCC770 فعال‌تر از ژنوتیپ‌های MCC333، MCC537 و MCC877 است و احتمالا این سه ژنوتیپ سازکارهای دیگری مانند کوتاه کردن دوره رشد برای مقابله با تنش خشکی دارا می‌باشند. تاثیر پراکسید هیدروژن بر میزان تولید اندام هوایی نخود بیشتر از ریشه بود از طرف دیگر ایجاد پتانسیل اسمزی در محیط ریشه توسط پلی اتیلن گلیکول میزان تولید ریشه را بیشتر از اندام هوایی تحت تاثیر قرار داد.

منابع

گنجعلی، ع.، باقری ع.، و پرسا، ح. (۱۳۸۸). ارزیابی ژرم پلاسم نخود نخود (Cicer arietinum L.) برای مقاومت به خشکی. مجله پژوهشهای زراعی ایران۷(۱): ۱۸۵-۱۹۶.

صداقت خواهی، ح. (۱۳۸۶). ارزیابی کشت انتظاری ژنوتیپ‌های نخود (Cicer arietinum L.) متحمل به سرما در شرایط آب و هوایی مشهد. پایان نامهٔ کارشناسی ارشد رشتهٔ زراعت، دانشکدهٔ کشاورزی دانشگاه فردوسی.

Chen, H.J.; Wu, S.D.; Huang, G.J.; Shen, C.Y.; Afiyanti, M.; Li, W.J.; Lin, Y.H. (2012) Expression of a cloned sweet potato catalase SPCAT1 alleviates ethephon-mediated leaf senescence and H2O2 elevation. J. Plant Pysiol., 169: 86–97.

Cruz de Carvalho, M.H. (2008) Drought stress and reactive oxygen species. Plant Signaling and Behavior, 3: 156-165.

Dietz, K.J,. Jacob, S., and Oelze, M.L. (2006). The function of peroxiredoxins in plant organelle redox metabolism. Journal of Experimental Botany 57:1697–1709.

Duque, A.S., de Almeida, A.M., da Silva, A.B., da Silva, J.M., Farinha, A.P., Santos, D., Fevereiro, P., and de Sousa Araújo, S. (2013) Abiotic stress responses in plants: unraveling the complexity of genes and networks to survive. In: Vahdati K., Leslie C. (eds.), Abiotic stress-plant responses and applications in agriculture, INTECH-Open Access Publisher, Croatia, pp. 49-101.

Food and Agricultural Organization of the United Nations. FAOSTAT (2012) Available at http://faostat3.fao.org/home/index.html;.

Foyer, C.H., and Noctor, G. (2005) Redox homeostasis and antioxidantsignaling: A metabolic interface between stress perception andphysiological responses, Plant Cell, 17:1866-1875

Foyer, CH, Noctor, G. (2009) Redox regulation in photosynthetic organisms: signaling, acclimation, and practical implications. Antioxid Redox Signal. 11:861–905.

Gao, Y., Guo, Y.K., Lin, S.H., Fang, Y.Y., Bai, J.G.(2010) Hydrogen peroxide pretreatment alters the activity of antioxidant enzymes and protects chloroplast ultrastructure in heatstressed cucumber leaves. Sci Hortic. 126:20–26.

Gill S.S., and Tuteja N., 2010, Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants, Plant Physiology and Biochemistry, 48: 909-930

He, L., Gao, Z,. Li, R. (2009) Pretreatment of seed with H2O2 enhances drought tolerance of wheat (Triticum aestivum L.) seedlings. Afr J Biotechnol. 8:6151–6157.

Hossain M.A., Teixeira da Silva J.A., and Fujita M., 2011, Glyoxalasesystem and reactive oxygen species detoxification system in plantabiotic stress response and tolerance: An intimate relationship, In:Shanker A.K., Venkateswarlu B. (eds.), Abiotic Stress/ Book 1,INTECH-Open Access Publisher, Rijeka, Croatia, pp. 235-266

Hossain, M.A., and Fujita, M. (2012) Regulatory role of components of ascorbate-glutathione (AsA-GSH) pathway in plant tolerance to oxidative stress. In: Anjum N.A., Umar S, Ahmed A. (eds.), Oxidative stress in plants: causes, consequences and tolerance, IK International Publishing House Pvt. Ltd., INDIA, pp. 81-147.

Hu, Y., Ge, Y., Zhang, C., Ju, T., Cheng, W. (2009) Cadmium toxicity and translocation in rice seedlings are reduced by hydrogen peroxide pretreatment. Plant Growth Regul. 59:51–61.

Ishibashi, Y.; Yamaguchi, H.; Yuasa, T.; Iwaya-Inoue, M.; Arima, S.; Zheng, S.H. (2011) Hydrogen peroxide spraying alleviates drought stress in soybean plants. J. Plant Pysiol. 168: 1562–1567

J. Kashiwagi, Krishnamurthy, L., Purushothaman, R., Upadhyaya, H.D., Gaur, P.M., Gowda, C.L.L., Ito, O. and Varshney, R.K (2015) Scope for improvement of yield under drought through the root traits in chickpea (*Cicer arietinum* L.). Field Crops Research. 170: 47–54

Jaspers, P., and Kangasjarvi, J. (2010) Reactive oxygen species in abioticstress signalling, Phyiologia Plantarum, 138: 405-413

Krasensky, J., and Jonak, C. (2012) Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic rearrangements and regulatory etworks, Journal of Experimental Botany. 63:1593-1608

Kumar, J. and Abbo, S. (2001) Genetics of flowering time in chickpea and its bearing on productivity in semiarid environments. In: Spaks, D.L. (Ed.), Advances in Agronomy, vol. 2. Academic press, New York, p. 122.

Lamb, R.S. (2012) Abiotic stress responses in plants: a focus on the SRO family, In: Montanaro G. (ed.), Advances in selected plant physiology aspects, INTECH open access publisher, Croatia, pp. 1-21.

Le, B.H., Wagmaister, J.A., Kawashima, T., Bui, A.Q., Harada, J.J., and Goldberg, R.B. (2007) Using genomics to study legume seed development, Plant Physiology, 144:564-572.

Liu, Z.J., Guo, Y.K., Bai, J.G. (2010) Exogenous hydrogen peroxide changes antioxidant enzyme activity and protects ultrastructure in leaves of two cucumber ecotypes under osmotic stress. J Plant Growth Regul. 29:171–183.

Mahajan, S., and Tuteja, N. (2005). Cold, salinity and drought stresses: an overview. Arch Biochem Biophys. 444:139–158.

Michel, B.E. and Kaufman, M.R. (1973). The osmotic potential of polyethylenglycol 6000. Plant Physiol. 51:914 – 916.

Miller, G., Shulaev, V., and Mittler, R. (2008) Reactive oxygen signaling and abiotic stress, PhysiologiaPlantarum, 133: 481-489

Miller, G., Sujuki, N., Ciftci-Yilmaz, S., and Mittler, R. (2010) Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity, Plant Cell and Environment, 33: 453-467

Noctor, G., Veljovic-Jovanovic, S., Driscoll, S., Novitskaya, L., and Foyer, C. (2002) Drought and oxidative load in the leaves of C3 plants: a predominant role for photorespiration? Annals of Botany, 89: 841−850.

Petrov, V.D., and Van Breusegem, F. (2012) Hydrogen peroxide-a central hub for information flow in plant cells. *AoB Plants*, pls014.

Rahman, A., Bannigan, A., Sulaman, W., Pechter, P., Blancaflor, E.B., and Baskin, T.I. (2007) Auxin, actin and growth of the Arabidopsis thaliana primary root. Plant Journal. 50: 514–528.

Rouhier, N., Lemaire, S.D., and Jacquot, J.P. (2008) The role of glutathione inphotosynthetic organisms: emerging functions for glutaredoxins andglutathionylation, Annual Review of Plant Biology. 59: 143−166

Saito, R., Yamamoto, H., Makino, A., Sugimoto, T., and Miyake, C. (2011) Methylglyoxal functions as hill oxidant and stimulates the photoreductinof O2 at photosystem I: a symptom of plant diabetes, Plant Cell andEnvironment, 34:1454-1464

Singh, L.P., Gill, S.S., and Tuteja, N. (2011) Unraveling the role of fungal symbionts in plant abiotic stress tolerance, Plant Signaling and Behavior. 6:175-191.

Tsukagoshi, H., Busch,W., and Benfey, P.N. (2010) Transcriptional regulation of ROS controls transition from proliferation to differentiation in the root. Cell. 143: 606–616.

Wang, W., Vinocur, B., and Altman, A. (2003) Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance, Planta. 218: 1−14.

Yang, S., Vanderbeld, B., Wan, J., Huang, Y. (2010) Narrowing down the targets: towards successful genetic engineering of drought-tolerant crops, Molecular Plant. 3:479-490.