

اثر تنش خشکی بر میزان پرولین، کربوهیدرات‌های محلول، نشت الکترولیت‌ها و محتوای

آب نسبی لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.)

مریم بروجردنیا^۱، محمدرضا بی‌همتا^{۲*}، خلیل عالمی‌سعید^۳ و وحید عبدوسی^۴

(۱) دانش آموخته دکتری گروه علوم باغبانی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

(۲) استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

(۳) استادیار گروه اصلاح نباتات، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین، رامین، ایران.

(۴) استادیار گروه علوم باغبانی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

این مقاله برگرفته از رساله دکتری می‌باشد.

* نویسنده مسئول: Mrghanad@ut.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۹۴/۰۴/۳۱

تاریخ دریافت: ۹۴/۰۲/۰۲

چکیده

به منظور بررسی اثر تنش خشکی در طی مرحله گل‌دهی بر میزان پرولین، قندهای محلول کل، فروکتوز، گلوکز و ساکارز برگ‌های لوبیا این آزمایش به صورت کرت‌های دو بار خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا گردید. عامل اصلی شامل چهار رقم لوبیا (COS16، Taylor، خمین و اختر)، عامل فرعی شامل سه سطح تنش خشکی (۳۰، ۶۰ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) و عامل فرعی فرعی شامل دو سطح مدت زمان تنش (سه و نه روز) بود. نتایج نشان داد که تنش خشکی به طور معنی‌داری باعث کاهش محتوای آب نسبی و ساکارز و افزایش مقدار نشت الکترولیتی، کربوهیدرات‌های محلول کل، فروکتوز، گلوکز و پرولین گردید. همبستگی منفی معنی‌داری بین محتوای آب نسبی و نشت الکترولیتی، کربوهیدرات‌های محلول در آب، محتوای فروکتوز و گلوکز وجود داشت. در شرایط تنش آبی، تجمع کربوهیدرات‌های محلول و پرولین در ارقام متحمل COS16 و Taylor بیش‌تر از حساس اختر و خمین بود. افزایش مدت زمان تنش از سه به نه روز باعث افزایش معنی‌داری در میزان پرولین، گلوکز، فروکتوز و قندهای محلول کل گردید. برهمکنش اثر تنش × رقم و تنش × مدت زمان بر تمامی صفات مورد ارزیابی معنی‌دار بود، در صورتی‌که برهمکنش رقم × مدت زمان اثر معنی‌داری بر میزان نشت الکترولیتی، پرولین و کربوهیدرات‌های محلول کل داشت. نتایج این بررسی نشان داد که پرولین و کربوهیدرات‌ها در سازوکارهای تحمل به تنش نقش دارند و متابولیسم آن‌ها تحت اثر تنش آبی خاک قرار می‌گیرد.

واژه‌های کلیدی: رقم، ساکارز، فروکتوز، گلوکز و لوبیا.

مقدمه

خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی محدودکننده تولید محصولات گیاهی در سراسر جهان محسوب شده و اثرات نامطلوبی بر رشد و نمو گیاه و سایر فرایندهای متابولیکی دارد (Lum *et al.*, 2014؛ Akram *et al.*, 2013). به‌طور میانگین بیش از ۵۰ درصد عملکرد بسیاری از محصولات گیاهی در اثر تنش خشکی کاهش می‌یابد (Zlatev and Lidon, 2012). در کشاورزی، خشکی فقدان رطوبت مورد نیاز برای رشد و توسعه طبیعی گیاه به منظور تکمیل چرخه زندگی تعریف می‌شود (Manivannan *et al.*, 2008). گیاه لوبیا به تنش خشکی حساس بوده و عملکرد آن حتی در دوره‌های کوتاه مدت تنش صدمه می‌بیند. تنش خشکی باعث کاهش محتویات آب، تضعیف پتانسیل آب برگ و نزول فشار آماس، انسداد روزنه و کاهش بزرگ شدن سلول و رشد آن می‌شود. هم‌چنین تنش شدید آب می‌تواند توقف فتوسنتز، اختلال سوخت و ساز و سرانجام مرگ گیاه را به دنبال داشته باشد (Jaleel *et al.*, 2009). غشای سلولی از نخستین اندام‌هایی است که تحت شرایط تنش، آسیب می‌بیند و تراوایی آن افزایش یافته و نشت الکترولیتی از سلول باعث مرگ آن می‌گردد. پایداری غشای سلولی می‌تواند به عنوان معیاری از تحمل به تنش خشکی در نظر گرفته می‌شود (نظری‌ناسی و همکاران، ۱۳۹۱). در شرایط تنش خشکی با کاهش مقدار آب قابل دسترس، فتوسنتز کاهش یافته و متعاقب آن تولید ماده خشک گیاه نیز کاهش می‌یابد (Yang *et al.*, 2007). محتوای آب نسبی جذب آب به وسیله بافت‌ها و سلول‌ها را نشان می‌دهد (Silva *et al.*, 2007). Sadeghipour و Aghaei (۲۰۱۲) اظهار داشتند محتوای آب نسبی منعکس‌کننده فعالیت متابولیک در بافت‌های گیاه بوده و به عنوان شاخصی مناسب به منظور شناسایی لگوم‌ها در تحمل پسابیدگی استفاده می‌شود. هم‌چنین گزارش شده است که گیاهان متحمل به خشکی با جذب آب از پروتوپلاست، آب بیش‌تری را در خود نگهداری می‌کنند، بنابراین دارای مقدار بالاتری محتوای آب نسبی می‌باشند (Silva *et al.*, 2007). گیاهان عموماً سازوکارهای مختلفی برای مقابله با تنش خشکی دارند و از طریق القای انواعی از پاسخ‌های فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مورفولوژیکی به تنش خشکی سازگار می‌شوند (Farooq *et al.*, 2009؛ Mirzaee *et al.*, 2013). پاسخ گیاهان به تنش خشکی بستگی به شدت و مدت تنش و هم‌چنین گونه گیاهی و مرحله وقوع تنش دارد (Barnabas *et al.*, 2008). تنظیم اسمزی به عنوان یکی از سازوکارهای سازگاری گیاه در برابر تنش خشکی در نظر گرفته شده است که از طریق تجمع مواد محلول می‌تواند منجر به حفظ تورژسانس سلول‌ها و فرآیندهای وابسته به آن در پتانسیل‌های پایین آب شود. کربوهیدرات‌ها به عنوان تنظیم‌کننده‌های اسمزی نقش اصلی در متابولیسم گیاه دارند و در واکنش به تنش‌های غیرزنده شرکت می‌کنند. اثر تنش خشکی روی کربوهیدرات‌ها به گونه و بافت گیاهی بستگی دارد. Egli و Brevedan (۲۰۰۳) گزارش کردند که تنش خشکی در زمان پر شدن دانه سویا، تغییری در غلظت فروکتوز و گلوکز برگ‌ها ایجاد نمی‌کند در

صورتی که تحقیقات Liu و همکاران (۲۰۰۴) نشان داد که تنش خشکی باعث افزایش فروکتوز و گلوکز در برگ‌ها و گل‌ها و غلاف سویا می‌گردد. Claudia و همکاران (۲۰۱۲) در بررسی اثر تنش خشکی روی غلظت کربوهیدرات‌های لوبیا دریافتند که تنش خشکی در مرحله گل‌دهی در لوبیا به مدت ۶ و ۱۰ روز باعث افزایش میزان گلوکز (۷۸/۵ درصد و ۱۹۶ درصد) و فروکتوز (۱۹۰ درصد و ۲۳۳ درصد) در برگ‌های بالغ می‌گردد، در صورتی که غلظت ساکارز ۷۰ درصد کاهش می‌یابد. پرولین از دیگر تنظیم‌کننده‌های اسمزی تحت تنش‌های محیطی می‌باشد که در تعداد زیادی از گونه‌های گیاهی، همبستگی بالایی با تحمل به این تنش‌ها ایفا می‌کند (Azarpanah, et al., 2013). تجمع پرولین در گیاهان تحت تنش به واسطه سنتز پرولین و غیر فعال شدن تخریب آن است. افزایش محتوای پرولین در شرایط تنش باعث محافظت غشای سلولی، پروتئین‌ها، آنزیم‌های سیتوپلاسمی و مهار گونه‌های فعال اکسیژن و حذف رادیکال‌های آزاد می‌گردد (Ghorbanli et al, 2013؛ Liang et al, 2013). بنابراین از جمله پاسخ‌های گیاهان در برابر این تنش، افزایش سطح پرولین و القای فعالیت آنزیم‌های ضد اکسیداسیون می‌باشد. همچنین مطالعات انجام شده توسط Alexieva و همکاران (۲۰۰۱) در نخود فرنگی، Siddiqui و همکاران (۲۰۰۸) در باقلا و Allahmoradi و همکاران در عدس (۲۰۱۳) نشان داد که تنش خشکی باعث افزایش معنی‌داری در مقدار پرولین می‌شود. بنابراین با توجه به اهمیت تنظیم اسمزی در تحمل به تنش خشکی در لوبیا، این تحقیق با هدف ارزیابی تغییرات ایجاد شده در میزان پرولین و کربوهیدرات‌های محلول در پاسخ به تنش خشکی در ارقام متحمل و حساس لوبیا به خشکی در مرحله گل‌دهی انجام گردید.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به صورت کرت‌های دو بار خرد شده (اسپلیت اسپلیت پلات) در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. در این تحقیق عامل اصلی شامل چهار رقم لوبیا، Taylor و COS16 (ارقام متحمل)، خمین و اختر (ارقام حساس)، عامل فرعی سه سطح تنش خشکی، آبیاری معمول (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی)، تنش متوسط (۶۰ درصد ظرفیت زراعی) و تنش شدید (۳۰ درصد ظرفیت زراعی) و عامل فرعی فرعی شامل دو سطح مدت زمان تنش (سه و نه روز) در نظر گرفته شد. تنش ۶۰ و ۳۰ درصد ظرفیت زراعی به صورتی اعمال شد که میزان رطوبت خاک از ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی به ترتیب به ۶۰ و ۳۰ درصد ظرفیت زراعی کاهش یافت یا به عبارتی ۴۰ و ۷۰ درصد تخلیه رطوبتی صورت گرفت. کشت گیاهان در شرایط گلخانه و در گلدان‌های پنج لیتری حاوی مخلوط دو قسمت خاک زراعی، یک قسمت ماسه و یک قسمت کود دامی پوسیده انجام شد. در هر گلدان چهار بذر از یک رقم کشت گردید ولی در نهایت دو گیاه در هر گلدان نگهداری شد. تیمار خشکی در مرحله گل‌دهی اعمال و پس از رسیدن به ۶۰ و ۳۰ درصد ظرفیت زراعی

گیاهان به مدت سه و نه روز تحت این تنش رطوبتی قرار گرفتند سپس نمونه‌برداری از برگ‌های کاملاً توسعه یافته در روز سوم و نهم انجام گرفت.

به منظور تعیین محتوای آب نسبی از آخرین برگ‌های توسعه یافته گیاه نمونه‌برداری صورت گرفت. برگ‌ها به قطعات یک سانتی‌متری تقسیم شدند و وزن تر آن‌ها تعیین گردید. سپس قطعات برگ‌ی ۱۸-۱۶ ساعت در دمای اتاق (تقریباً ۲۰ درجه سانتی‌گراد) و در شدت نور کم در داخل آب مقطر قرار داده شدند. پس از این مدت قطعات به سرعت و با دقت وزن آن‌ها تعیین گردید. آنگاه قطعه‌های برگ‌ی به مدت ۴۸ ساعت در آون ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و وزن خشک آن‌ها نیز اندازه‌گیری شد. در نهایت مقدار محتوای آب نسبی از رابطه زیر به دست آمد (Barrsu and Weatherley, 1962):

$$RWC\% = [(W_f - W_d) / (W_t - W_d)] \times 100$$

W_f : وزن تازه برگ، W_t : وزن تورژسانس برگ، W_d : وزن خشک برگ

شاخص پایداری غشاء از طریق اندازه‌گیری میزان نشت الکترولیتی برگ ارزیابی شد. برای این منظور ۱۵ عدد دیسک برگ‌ی به لوله‌هایی با حجم ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر انتقال یافت و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق و شدت نور کم قرار داده شدند. هدایت الکتریکی آب مقطر همراه نمونه‌ها (EC_1) توسط دستگاه EC متر اندازه‌گیری شد. سپس لوله‌های آزمایش در حمام آب جوش (۹۵ درجه سانتی‌گراد) به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفتند و پس از سرد شدن EC_2 آن‌ها مجدداً اندازه‌گیری شد و در نهایت نشت الکترولیتی با معادله زیر محاسبه گردید (Sairam and Srivastava, 2001).

$$EL\% = [EC_1/EC_2] \times 100$$

رابطه ۱:

EL: نشت الکترولیتی، EC_1 و EC_2 هدایت الکترولیتی به ترتیب قبل و بعد از حمام آب جوش.

میزان کربوهیدرات‌های محلول (WSC) به روش فنل-اسیدسولفوریک اندازه‌گیری شد (Dubois et al., 1956). نمونه‌های برگ‌ی خشک و پودر گردید، سپس کربوهیدرات‌های محلول از طریق سه بار عصاره‌گیری یک گرم ماده خشک برگ در ۱۵ میلی‌لیتر اتانول داغ ۸۰ درصد استخراج شد. عصاره حاصل با استفاده از ۴/۷ میلی‌لیتر هیدروکسید باریم ۰/۳ نرمال و پنج میلی‌لیتر سولفات روی پنج درصد صاف گردید. به هر لوله آزمایش یک میلی‌لیتر عصاره قندی، ۰/۵ میلی‌لیتر فنل پنج درصد و ۲/۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۹۸ درصد اضافه شد. پس از ۴۵ دقیقه و با تثبیت رنگ قهوه‌ای مایل به زرد، غلظت کربوهیدرات‌های محلول به وسیله میزان جذب نور با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۸۵ نانومتر و با توجه به منحنی استاندارد حاصل از غلظت‌های مختلف گلوکز تعیین گردید. برای تفکیک میزان قندهای ساکارز، گلوکز و فروکتوز از دستگاه HPLC استفاده شد. برای تعیین مقدار پرولین برگ‌ها، از روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) استفاده شد. ابتدا مقدار ۰/۲ گرم از نمونه برگ‌ی تر در ۱۰ میلی‌لیتر اسیدسولفوسالیسیک سه درصد به وسیله هاون ساییده شد و عصاره

حاصل در دستگاه سانتیفریوژ با دور ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه سانتیفریوژ شد. سپس دو میلی‌لیتر از عصاره‌های صاف شده را به لوله‌های درب‌دار منتقل نموده و به همه لوله‌ها مقدار دو میلی‌لیتر معرف نین‌یدرین و دو میلی‌لیتر اسیداستیک گلاسیال اضافه گردید. پس از بستن درب لوله‌ها، آن‌ها به مدت یک ساعت در حمام بن‌ماری و در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و بعد از سرد شدن، به هریک از لوله‌ها مقدار چهار میلی‌لیتر تولوئن اضافه شد. غلظت پرولین با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر و با توجه به منحنی استاندارد بر حسب میلی‌گرم بر گرم بافت تازه، تعیین شد.

به منظور انجام محاسبه‌های آماری از نرم‌افزار آماری SAS استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد صورت گرفت.

نتایج و بحث

محتوای آب نسبی

نتایج نشان داد اثر رقم، سطوح مختلف تنش و مدت تنش در سطح احتمال یک درصد بر محتوای آب نسبی معنی‌دار بود (جدول ۱). مقایسه میزان محتوای آب نسبی در سطوح مختلف آبیاری نشان داد که با افزایش شدت تنش از میزان محتوای آب نسبی کاسته می‌شود، به‌طوری‌که بیش‌ترین مقدار محتوای آب نسبی مربوط به شرایط شاهد یا ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی به میزان ۸۴/۶۶ درصد و کم‌ترین مقدار آن مربوط به سطح تنش ۳۰ درصد به میزان ۵۲/۹۵ درصد بود (جدول ۲). در بین رقم‌ها، بیش‌ترین مقدار محتوای آب نسبی به رقم Taylor با میانگین ۷۲/۷۵ درصد و کم‌ترین مقدار آن به رقم اختر (۶۶/۵۵ درصد) اختصاص داشت. با افزایش مدت زمان تنش از ۳ به ۹ روز مقدار محتوای آب نسبی به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (جدول ۲). برهمکنش رقم $\times$ شدت تنش و شدت تنش $\times$ زمان بر محتوای نسبی آب معنی‌دار بود ($P < 0.01$). در سطح تنش ۶۰ درصد، بیش‌ترین محتوای نسبی آب در رقم COS16 (۷۸/۰۲ درصد) و کم‌ترین محتوای نسبی آب در رقم اختر (۶۸/۹۹ درصد) قرار داشت. در تنش ۳۰ درصد، بیش‌ترین محتوای نسبی آب به ارقام Taylor و COS16 اختصاص داشت که اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند. کم‌ترین محتوای نسبی آب در این سطح تنش مربوط به رقم اختر (۴۹/۵۲) بود (شکل ۱). نتایج نشان داد که ارقام متحمل Taylor و COS16 نسبت به ارقام حساس اختر و خمین حتی در شرایط بدون تنش حاوی محتوای نسبی آب بیش‌تری بوده و قادر هستند در سطوح تنش بالا محتوای نسبی آب خود را در سطح بالایی نگه دارند و از صدمات کم‌تری ناشی از پسابدگی و کاهش محتوای آب برخوردار گردند. تفاوت در محتوای آب نسبی در ارقام مختلف می‌تواند به توانایی آن‌ها در جذب آب از خاک یا توانایی بستن روزنه‌ها و تعرق کم‌تر در شرایط تنش خشکی مربوط گردد. هم‌چنین می‌توان نتیجه گرفت که رقم COS16 که متحمل به تنش

خشکی می‌باشد در شرایط تنش متوسط و شدید برتری قابل توجهی نسبت به سایر ارقام دارد زیرا در مقایسه با شاهد (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) آب کم‌تری (به ترتیب ۶/۰۶ و ۲۹ درصد) را نسب به سایر ارقام از دست داده است. Allahmoradi و همکاران (۲۰۱۳) در بررسی اثر تنش خشکی بر روی ارقام عدس دریافتند که در بین ارقام از نظر محتوای آب نسبی اختلاف وجود دارد. در تنش سه و نه روز با افزایش شدت تنش تا سطح ۳۰ درصد، محتوای نسبی آب کاهش معنی‌داری یافت و این شدت کاهش در تنش نه روز شدیدتر از تنش سه روز بود. در سطح تنش ۶۰ درصد به مدت سه روز میزان محتوای نسبی آب نسبت به شاهد ۱۰ درصد کاهش یافت اما در تنش نه روز میزان محتوای نسبی آب ۱۴ درصد نسبت به شاهد کاهش نشان داد. در سطح تنش ۳۰ درصد به مدت سه و نه روز میزان محتوای نسبی آب به ترتیب ۳۰ و ۳۳/۴ درصد نسبت به شاهد کاهش یافت. نظری و همکاران (۱۳۹۱) در لوبیا، کاهش محتوای آب نسبی را در شرایط تنش خشکی گزارش کرده بودند اما در تحقیق‌هایی که Martinez و همکاران (۲۰۰۷) و Ghanbari و همکاران (۲۰۱۳) انجام داده بودند تفاوتی در مقدار محتوای آب نسبی گیاهان در شرایط تنش و شاهد مشاهده نشده بود.

نشت الکترولیتی

نتایج حاصل از جدول ۱ نشان داد که از نظر میزان خسارت به غشای سلولی بر اساس شاخص نشت الکترولیتی تفاوت معنی‌داری ($P < 0/01$) بین رقم‌ها، سطوح تنش و مدت زمان تنش وجود داشت. همچنین برهمکنش رقم و مدت زمان تنش، مدت زمان تنش و سطح تنش، رقم و سطح تنش و مدت زمان تنش در سطح آماری یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). در تنش سه و نه روز با افزایش شدت تنش میزان نشت الکترولیتی افزایش یافت اما تنش نه روز نسبت به سه روز آسیب بیش‌تری به غشای سلولی وارد می‌کند و این آسیب ناشی از افزایش مدت زمان تنش، در سطح ۳۰ درصد بیش‌تر از ۶۰ درصد ظرفیت زراعی بود. با افزایش مدت زمان تنش از سه به نه روز در سطح ۶۰ درصد ظرفیت زراعی میزان نشت الکترولیتی از ۲۹/۲۲ به ۳۰/۹۱ درصد می‌رسد اما در سطح تنش ۳۰ درصد میزان نشت الکترولیتی از ۳۷/۹۳ به ۴۲/۹۶ درصد افزایش می‌یابد. بنابراین مدت زمانی که گیاه تحت تنش قرار می‌گیرد در میزان آسیبی که به غشای سلولی وارد می‌کند، مؤثر می‌باشد. بیش‌ترین میزان نشت الکترولیتی در تنش سه و نه روز به رقم اختر اختصاص داشت، این رقم به تنش خشکی حساس‌تر بوده و آسیب بیش‌تری به غشای سلولی آن وارد می‌گردد. رقم Taylor در تنش سه روز (۲۵/۹۴) و نه روز (۲۷/۰۵) دارای کم‌ترین میزان نشت الکترولیتی بود. بعد از رقم Taylor، COS16 میزان نشت الکترولیتی کم‌تری در تنش سه و نه روز داشت. بنابراین رقم Taylor بسیار مقاوم به شرایط تنش بوده و می‌توان گفت که این رقم در اثر تنش شدید دچار آسیب سلولی کم‌تری می‌شود. در ارقام مقاوم Taylor و COS16 خشکی به غشای سلولی آسیب وارد نموده ولی چون مقدار آسیب تقریباً در آستانه قرار دارد ممکن است با ایجاد شرایط مناسب و در اختیار قرار گرفتن مجدد

آب برای گیاه، سلول دوباره به حالت اول بازگشته و سیالیت غشا مجدداً به دست آید. Siddiqui و همکاران (۲۰۱۵) در بررسی اثر تنش خشکی بر ارقام باقلا به نتایج مشابهی دست یافتند.

جدول ۱: نتایج تجزیه واریانس صفات مورد بررسی

منابع تغییرات	درجه آزادی	محتوای آب نسبی	نشت الکترولیتی	ساکارز	فروکتوز	گلوکز	کربوهیدرات کل محلول	پرولین
بلوک	۲	۰/۸۹۷۶ ^{ns}	۴/۶۸ [*]	۲۷/۸۵ ^{ns}	۰/۲۹۵۹ ^{ns}	۱۵/۶۱ ^{ns}	۱۱۴۹/۲۳۸ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۳۰۵۰ [*]
رقم	۳	۱۶۱/۵۹۲ ^{**}	۱۳۲/۰۴۲ ^{**}	۶۴۰/۰۵۰ ^{**}	۱۶۷۴/۳۲۴۷ ^{**}	۴۸۵/۶۱ ^{**}	۱۷۰۰۸۵/۵۱ ^{**}	۰/۰۰۱۳۴ ^{**}
خطای اصلی	۶	۰/۹۳۲۹۳	۰/۵۹۱	۲۷/۲۷	۵۱/۸۶۵	۲۹/۹۳۵	۳۵۱/۴۱	۰/۰۰۰۰۰۴۲۴
تنش	۲	۶۱۶۲/۸۸۲ ^{**}	۳۰۸۰/۹۹۷۲ ^{**}	۵۷۱۱/۱۹۳ ^{**}	۱۵۹۸۷/۹۷۹ ^{**}	۱۳۱۲۸/۰۱۴ ^{**}	۶۹۱۷۹۱/۰۳۴ ^{**}	۰/۰۰۵۸۴ ^{**}
رقم×تنش	۶	۳۱/۴۶۳ ^{**}	۲۳/۷۶۵ ^{**}	۱۷۰/۳۱۹ [*]	۱۱۵/۵۳۴ [*]	۱۷۵/۴۹۸ ^{**}	۴۲۴۶/۱۹۵ ^{**}	۰/۰۰۰۴۲۷ ^{**}
خطای فرعی	۱۶	۲/۱۰۳	۰/۵۷۷	۳۲/۶۳۵	۳۰/۸۴۲	۱۸/۶۶۲	۴۹۷/۲۸۷	۰/۰۰۰۰۰۴۶
مدت تنش	۱	۵۶/۶۱ ^{**}	۸۵/۷۸ ^{**}	۶/۳۸ ^{ns}	۶۵۷/۰۹۲ ^{**}	۲۴۲/۰۷۳۳ ^{**}	۵۸۷۱۸/۸۸ ^{**}	۰/۰۰۲۷۷ ^{**}
رقم×مدت تنش	۳	۱/۶۴ ^{ns}	۵/۴۲۸ ^{**}	۱۳/۸۲۷ ^{ns}	۱۵/۷۶۲ ^{ns}	۱۵/۱۰۴ ^{ns}	۲۶۲۹/۳۸ [*]	۰/۰۰۰۰۲۹۵۰ [*]
تنش×مدت تنش	۲	۲۸/۱۵۰ ^{**}	۴۱/۷۹۵ ^{**}	۱۱۳۱/۱۹۸ ^{**}	۹۴۵/۸۱۷ ^{**}	۲۲۴۵/۱۲۸ ^{**}	۲۲۱۲۶/۸۵ ^{**}	۰/۰۰۰۷۲۴ ^{**}
رقم×تنش×مدت تنش	۶	۱/۷۸ ^{ns}	۵/۹۴ ^{**}	۴۴/۵۵۱ ^{ns}	۲۶/۲۳ ^{ns}	۴۴/۱۱۵ ^{ns}	۱۹۶۷/۰۲ [*]	۰/۰۰۰۰۳۵۲۷ ^{ns}
خطای فرعی فرعی	۲۴	۱/۵۲۰	۰/۹۴۷	۴۹/۵۹۴	۲۱/۵۴	۲۹/۱۵۸	۷۲۴/۷۸	۰/۰۰۰۰۰۹۴
ضریب تغییرات (درصد)		۱/۷۶	۳/۳۰۹	۲/۲۱۸	۴/۸۸	۵/۳۴۴	۴/۸۹	۲/۲۳

ns، * و **: به ترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی دار و اختلاف معنی دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد می باشند.

تحت تنش خشکی، غشای سلولی پایداری خود را از دست داده و در صورت قرار گرفتن برگ در یک محیط آبی مواد محلول از سلول های آن به بیرون تراوش می کند، لذا پایداری غشا به وسیله ارزیابی تراوش یون ها از آن ارزیابی می شود (Sairam et al., 2002). به نظر می رسد که پایداری غشای سلولی در تنش ها با سنتز پروتئین های شوک گرمایی و ویژگی های سیستم فتوسنتزی، از جمله آنزیم های کلیدی و غشاهای تیلکوئیدی مرتبط می باشد (Demin et al., 2008). نتایج نشان داد افزایش شدت و مدت زمان تنش خشکی باعث ایجاد اختلال شدیدتر در فعالیت های بیولوژیک غشای سلولی، کاهش سیالیت آن و غیرفعال سازی یا کاهش سرعت پمپ شدن یون های غشایی می شود، بنابراین بر میزان نشت یون ها نیز افزوده گردید. هم چنین حفظ تمامیت غشای سلولی در طی تنش خشکی نشانه ای از وجود مکانیزم های کنترلی در تحمل به پسابیدگی است بنابراین ارقام Taylor و COS16 که پایداری غشای بالاتری دارند نسبت به ارقام خمین و اختر در شرایط تنش کم آبی مقاوم تر هستند. تنش خشکی یک سری تغییرات را در فسفولیپیدهای غشا ایجاد می کند و اسیدهای چرب غیراشباع، افزایش می یابند. در تنش های شدید بعضی از قسمت های فسفولیپیدهای دو لایه ای غشا، حالت شش وجهی پیدا کرده و ساختار غشا به ساختار منفذدار تبدیل می شود و نشت مواد رخ می دهد. به طور کلی تنش خشکی باعث افزایش پراکسیداسیون چربی ها و در نهایت کاهش شاخص پایداری غشای سلول در گیاهان مختلف می شود (میرجلیلی، ۱۳۸۴).

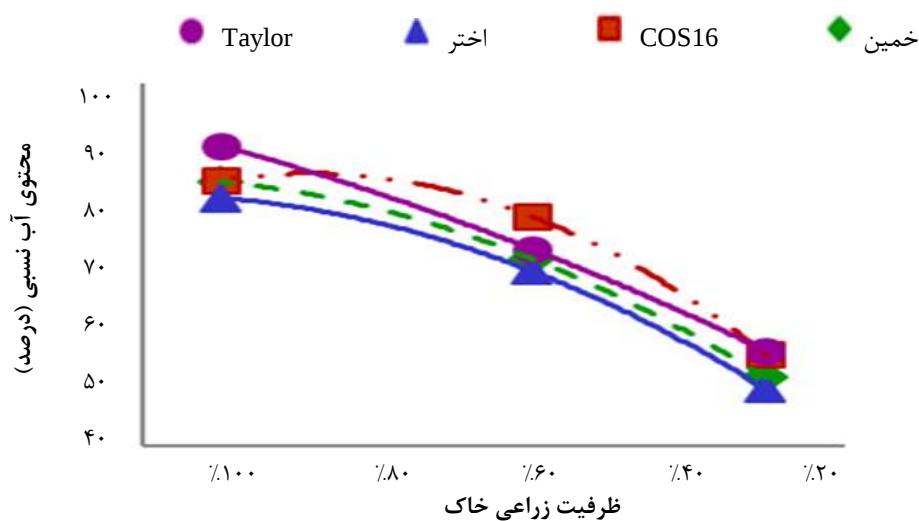
جدول ۲: نتایج مقایسه میانگین اثر تنش آبی، رقم و مدت زمان تنش بر صفات مورد بررسی

تیمار	محتوای آب نسبی (درصد)	نشت الکترولیتی (درصد)	ساکارز (میکرومول بر گرم وزن خشک)	فروکتوز (میکرومول بر گرم وزن خشک)	گلوکز (میکرومول بر گرم وزن خشک)	کربوهیدرات محلول کل (میکرومول بر گرم وزن خشک)	پرولین (میلی گرم بر گرم وزن تر)
سطح تنش							
۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی	۸۴/۶۹ a	۱۷/۸ a	۳۳۳/۵۵a	۶۷/۶۹ c	۷۵/۳۸ c	۳۸۵/۴۳ c	۰/۰۸۳c
۶۰ درصد ظرفیت زراعی	۷۲/۶۶ b	۳۰/۰۶ b	۱۰۶/۰۶ b	۹۸/۸۰ b	۱۰۶/۵۳ b	۵۴۰/۷ b	۰/۱۴b
۳۰ درصد ظرفیت زراعی	۵۲/۹۵ c	۴۰/۴۵ c	۳۰۲/۷۹ c	۱۱۸/۹۲c	۱۲۱/۱۸ c	۷۲۴/۵۹ a	۰/۱۸a
رقم							
Taylor	۷۵/۷۱ a	۲۶/۵d	۳۲۳/۱۱ a	۱۰۵/۳۲ a	۱۰۳/۹ a	۶۵۴/۳ a	۰/۱۴۷ a
COS16	۷۲/۴۲ a	۲۸/۱۱ c	۳۲۱/۱۹ a	۱۰۱ a	۱۰۴/۸ a	۵۹۳/۴۸ b	۰/۱۴۰ a
اختر	۶۶/۵۵ c	۳۲/۶۹ a	۳۱۵/۷۱ b	۸۹/۶۰ b	۱۰۲ a	۵۲۵/۶۰ c	۰/۱۲ d
خمین	۶۸/۷۱ b	۳۰/۴۷ b	۳۰۹/۸۶ c	۸۴/۶۴ b	۹۳/۴۴ b	۴۲۷/۵۹ d	۰/۱۳۱c
مدت تنش							
۳ روز	۷۰/۹۹ a	۲۸/۳۴ a	۳۱۷/۱۷ a	۹۲/۱۲ b	۹۹/۱ b	۵۲۱/۶۸ b	۰/۱۴ b
۹ روز	۶۹/۲ b	۳۰/۵۳ b	۳۱۷/۷۶ a	۹۸/۱۶ a	۱۰۲/۸۷ a	۵۷۸/۸ a	۰/۱۳ a

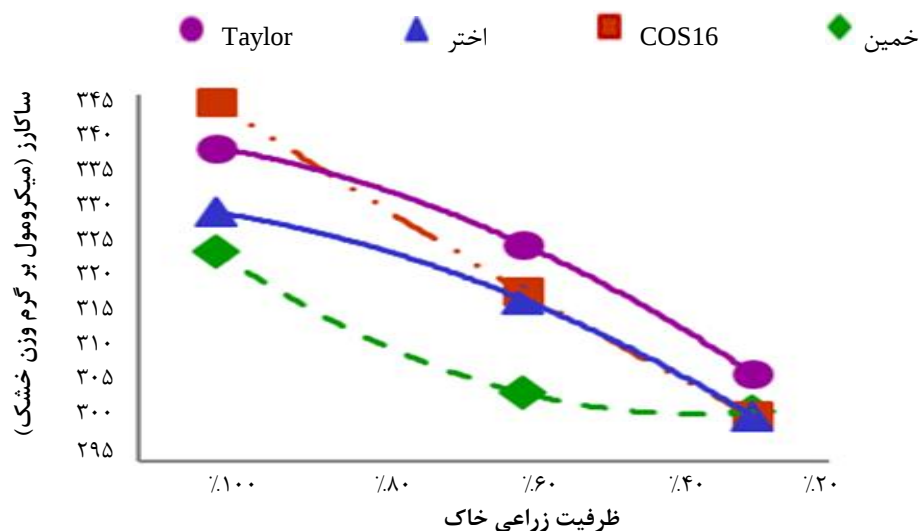
میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون فاقد تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد.

کربوهیدرات‌های محلول

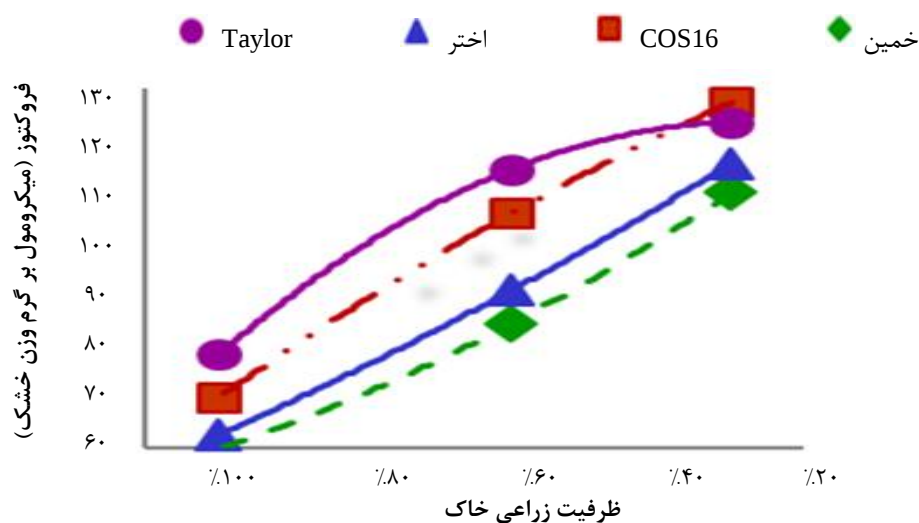
نتایج حاصل از تجزیه واریانس غلظت گلوکز، فروکتوز، ساکارز نشان داد که بین ارقام و سطوح تنش اختلاف معنی‌داری در سطح آماری یک درصد وجود داشت (جدول ۱). در ارتباط با غلظت ساکارز، بیش‌ترین مقدار متوسط ساکارز مربوط به رقم Taylor (۳۲۳/۱۱ میکرومول بر گرم) بود که تفاوت معنی‌داری با رقم COS16 (۳۲۱/۱۹ میکرومول بر گرم) نداشت. کم‌ترین میزان متوسط ساکارز نیز به رقم اختر (۳۰۹/۸۶ میکرومول بر گرم) اختصاص داشت. بیش‌ترین میزان گلوکز مربوط به رقم COS16 (۱۰۴/۸۳ میکرومول بر گرم) بود که تفاوت معنی‌داری با رقم Taylor (۱۰۳/۸۶ میکرومول بر گرم) و اختر (۱۰۱/۹۹ میکرومول بر گرم) نداشت. کم‌ترین میزان متوسط گلوکز نیز به رقم خمین (۹۳/۴۴) اختصاص داشت. در بین رقم‌ها بیش‌ترین مقدار متوسط فروکتوز مربوط به رقم Taylor (۱۰۵/۳۳ میکرومول بر گرم) بود که اختلاف معنی‌داری با رقم COS16 (۱۰۱ میکرومول بر گرم) نداشت. هم‌چنین کم‌ترین مقدار متوسط فروکتوز در رقم خمین (۸۴/۶۴ میکرومول بر گرم) مشاهده شد که با رقم اختر (۸۹/۶ میکرومول بر گرم) اختلاف معنی‌داری نداشت (جدول ۲). با افزایش شدت تنش میزان ساکارز کاهش یافت، در صورتی‌که میزان گلوکز، فروکتوز و کربوهیدرات‌های محلول کل به‌طور معنی‌داری افزایش نشان داد (جدول ۲). در شرایط تنش خشکی با کاهش مقدار آب قابل دسترس، فتوسنتز کاهش یافته و متعاقب آن تولید ماده خشک گیاه نیز کاهش می‌یابد. کاهش ساکارز در برگ‌ها در شرایط تنش خشکی نشان می‌دهد میزان سنتز ساکارز کاهش یافته و توزیع آن نیز دچار اختلال شده است. اگرچه این وقایع به گونه گیاهی، مدت زمان تنش، مرحله رشدی اعمال تنش و شدت تنش بستگی دارد (Faroog et al., 2009).



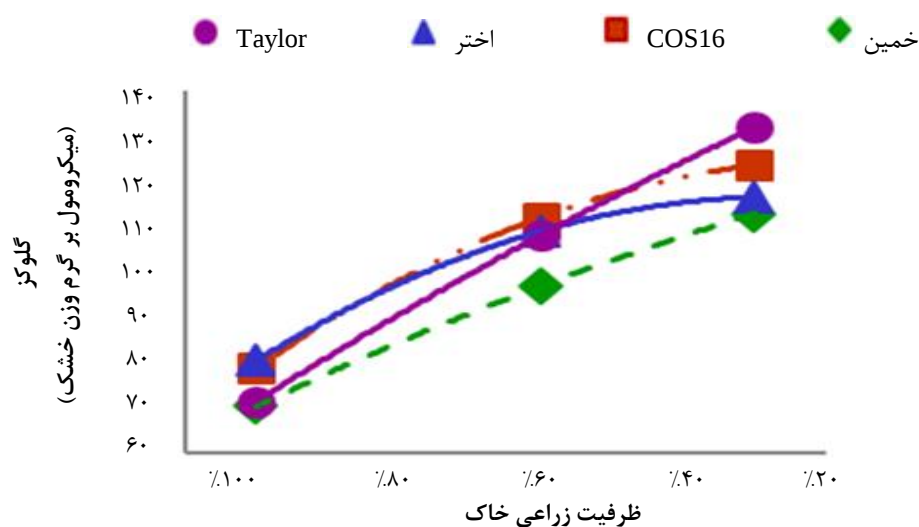
شکل ۱: مقایسه میزان محتوای آب نسبی در ارقام مختلف تحت شرایط تنش خشکی



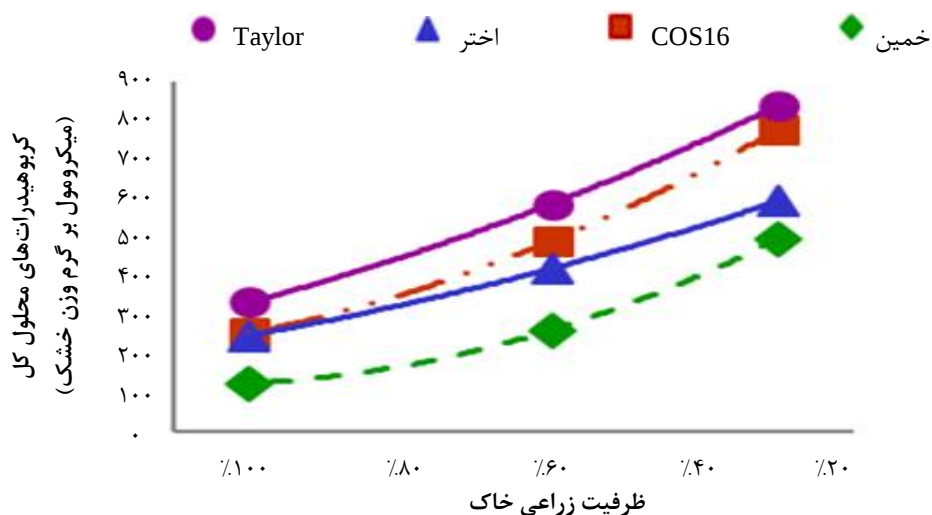
شکل ۲: مقایسه میزان ساکارز در ارقام مختلف تحت شرایط تنش خشکی



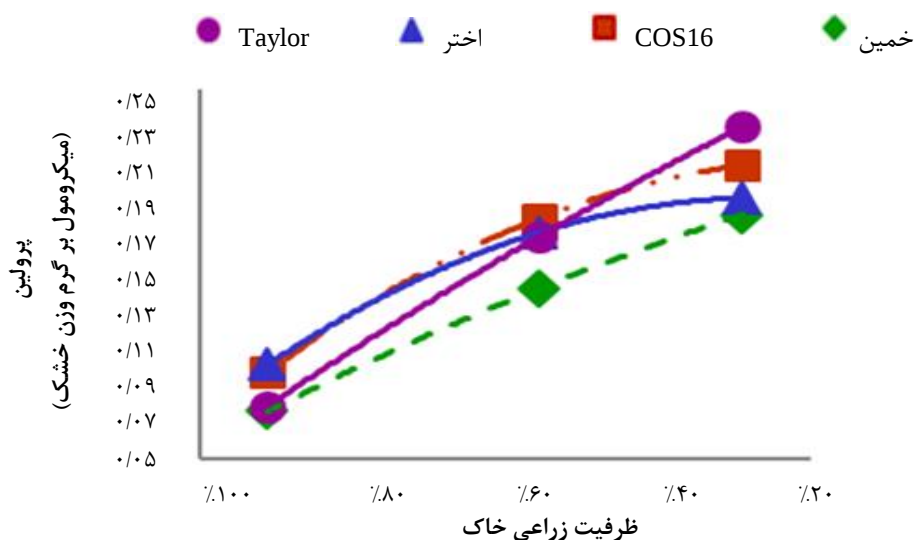
شکل ۳: مقایسه میزان فروکتوز در ارقام مختلف تحت شرایط خشکی



شکل ۴: مقایسه میزان گلوکز در ارقام مختلف تحت شرایط تنش خشکی



شکل ۵: مقایسه میزان کربوهیدرات‌های محلول کل در ارقام مختلف تحت شرایط تنش خشکی



شکل ۶: مقایسه میزان پرولین در ارقام مختلف تحت شرایط خشکی

علی رغم کاهش تثبیت کربن در طی تنش خشکی به علت بسته شدن روزنه‌ها و کاهش بیان ژن‌های مربوط به سیکل کلوین، میزان گلوکز و فروکتوز در برگ‌ها افزایش می‌یابد. در تنش خشکی بیان ژن‌های کدکننده آنزیم‌های (فروکتوز ۱ و ۶ بیس فسفات آلدولاز، فروکتوز بیس فسفاتاز و فسفوگلوکوموتاز) درگیر در تولید گلوکز از تریوز فسفات‌ها کاهش می‌یابد. کاهش بیان این ژن‌ها احتمالاً به علت کاهش مقدار تولید تریوز فسفات‌ها و انتقال آن‌ها از کلروپلاست می‌باشد در صورتی که بیان ژن‌های مربوط به هیدرولیز ساکارز افزایش می‌یابد که منجر به افزایش گلوکز و فروکتوز و کاهش ساکارز در برگ‌ها می‌گردد (Xue et al., 2008). همچنین تجمع گلوکز و فروکتوز در برگ‌ها تحت شرایط تنش می‌تواند به کاهش انتقال این هگزوزها مربوط باشد. افزایش گلوکز و فروکتوز در طی تنش خشکی با نتایج Liu و همکاران (۲۰۰۴) در برگ‌های سویا، Sato و همکاران (۲۰۰۴) در کلم و Jie و همکاران (۲۰۱۰) در سیب مطابقت دارد. در تنش سه و نه روز میزان گلوکز، فروکتوز و کربوهیدرات‌های کل با افزایش سطح تنش افزایش یافت به‌طوری که در سطح تنش ۳۰ درصد به بالاترین حد خود رسید. در تنش سه روز با افزایش سطح تنش میزان ساکارز کاهش یافت و کم‌ترین مقدار ساکارز در سطح تنش ۳۰ درصد (۲۹۷/۲۴ میکرومول برگرم) مشاهده شد. در تنش نه روز میزان ساکارز در سطح تنش ۶۰ درصد (۳۰۸/۶ میکرومول برگرم) نسبت به شاهد (۳۳۶/۳۶ میکرومول برگرم) کاهش یافت اما با بیش‌تر شدن شدت تنش در ۳۰ درصد ظرفیت زراعی کاهش معنی‌داری در مقدار ساکارز مشاهده نشد. نتایج حاصل از مقایسات میانگین برهمکنش سطح تنش و رقم نشان داد که در تیمار شاهد (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) و سطوح تنش بین ارقام از نظر میزان ساکارز، فروکتوز، گلوکز و کربوهیدرات‌های کل تفاوت وجود داشت (جدول ۱). در سطح تنش ۶۰ درصد بیش‌ترین میزان ساکارز در رقم Taylor و کم‌ترین میزان ساکارز در رقم خمین بود. با افزایش سطح تنش به ۳۰ درصد ظرفیت زراعی، رقم Taylor همچنان بیش‌ترین میزان ساکارز را به خود اختصاص داد و کم‌ترین میزان ساکارز در رقم اختر مشاهده شد که با ارقام خمین و COS16 اختلاف معنی‌داری نداشت (شکل ۲). تنش خشکی باعث القای شدید در فعالیت آنزیم‌های هیدرولیزکننده نشاسته (آمیلاز) و ساکارز (اینورتاز و ساکارز سنتاز) می‌گردد، بنابراین میزان نشاسته و ساکارز به شدت کاهش می‌یابد (Keller and Ludlow, 1993). Claudia و همکاران (۲۰۱۲) نشان داد که کاهش فتوسنتز و تغییرات متابولیکی که برای نگهداری انتقال ساکارز در شرایط تنش انجام می‌گیرد منجر به کاهش تجمع ساکارز در برگ‌ها و اندام‌های زایشی می‌گردد. همچنین نتایج مشابهی در تحقیقات Keller و Ludlow (۱۹۹۳) در لپه هندی و Chen و همکاران (۲۰۰۷) بر روی هویج مشاهده گردید. با افزایش میزان تنش میزان کربوهیدرات‌های محلول افزایش یافت و این افزایش در رقم‌های متحمل بیش‌تر از حساس بود. بیش‌ترین میزان فروکتوز، گلوکز و کربوهیدرات‌های محلول کل در تیمار ۳۰ درصد ظرفیت زراعی و ارقام متحمل COS16 و Taylor مشاهده شد، در صورتی که کم‌ترین میزان کربوهیدرات در

رقم حساس خمین و به تیمار شاهد اختصاص یافت (شکل‌های ۳، ۴ و ۵). این نشان می‌دهد ارقام متحمل از سازوکار کاراتری برای گلیکولیز ساکارز و تولید قندهای اسمزدهنده بهره‌برداری می‌کنند درحالی‌که ارقام حساس از این لحاظ ضعیف بوده و برای جبران آن ناچار هستند زمان بیش‌تری را برای تجزیه نشاسته استفاده کنند. افزایش میزان گلوکز و فروکتوز در مطالعات بسیاری گزارش شده است (Castrillo, 1992; Doron, et al., 1996; Pelleschi et al., 1997). قربانعلی و نیاکان در مطالعه اثر تنش خشکی بر روی گیاه سویا دریافتند که افزایش شدت تنش خشکی موجب افزایش معنی‌دار غلظت قندهای محلول در ساقه و برگ می‌گردد. افزایش کربوهیدرات‌های محلول ممکن است ناشی از کاهش نیاز به مواد فتوسنتزی به دلیل کاهش رشد، سنتز این ترکیبات از مسیرهای غیرفتوسنتزی و همچنین تخریب کربوهیدرات‌های نامحلول باشد (Ehdaie et al., 2006). کربوهیدرات‌ها به عنوان مولکول‌های سیگنال عمل می‌کنند و در سازوکارهای سازگاری گیاه نقش دارند و باعث تغییر بیان بسیاری از ژن‌های متابولیکی می‌گردند (Hanson and Smeekens, 2009; Li et al., 2006) در شرایط تنش افزایش کربوهیدرات‌های محلول در آب باعث حفظ تورژسانس سلول‌های برگ، حفاظت غشای سلولی و بازداری از تخریب پروتئین‌ها می‌شود، همچنین از طریق تأمین انرژی مورد نیاز گیاه از مرگ حتمی آن جلوگیری می‌کند (Xue et al., 2008).

پرولین

تجزیه واریانس داده‌های پرولین نشان داد که بین ارقام، سطوح تنش خشکی و مدت زمان تنش بر روی مقدار پرولین در سطح یک درصد اختلاف معنی‌داری وجود دارد (جدول ۱). در بین ارقام بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار پرولین به ترتیب در رقم Taylor و اختر مشاهده شد (جدول ۲). با افزایش شدت تنش میزان پرولین افزایش یافت به‌طوری‌که میزان پرولین از ۰/۰۸۳۷ میلی‌گرم بر گرم در شاهد (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) به ۰/۱۸۱ میلی‌گرم بر گرم در ۳۰ درصد تنش خشکی رسید (جدول ۲). همچنین در تنش نه روز (۰/۱۴۳ میلی‌گرم بر گرم) میزان پرولین به‌طور معنی‌داری نسبت به تنش سه روز (۰/۱۳ میلی‌گرم بر گرم) افزایش یافته است. برهمکنش بین رقم و شدت تنش بر روی مقدار پرولین در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که با افزایش شدت تنش میزان پرولین در ارقام مختلف افزایش یافت اما این میزان افزایش در ارقام متحمل بیش‌تر از حساس بود. در تنش ۶۰ درصد ظرفیت زراعی بیش‌ترین مقدار پرولین در رقم متحمل Taylor مشاهده گردید که مقدار پرولین از ۰/۰۸۳ میلی‌گرم بر گرم در شاهد به ۰/۱۶ میلی‌گرم بر گرم تحت تنش ۶۰ درصد ظرفیت زراعی افزایش یافت. کم‌ترین میزان پرولین در این سطح تنش به رقم اختر اختصاص داشت که میزان پرولین آن از ۰/۰۸۵ میلی‌گرم بر گرم در شاهد به ۰/۱۳ میلی‌گرم بر گرم در تنش ۶۰ درصد ظرفیت زراعی رسید. در تنش ۳۰ درصد ظرفیت زراعی بیش‌ترین میزان پرولین متعلق به ارقام متحمل Taylor و

COS16 به ترتیب با ۰/۲۰ و ۰/۱۸۵ میلی گرم بر گرم و کمترین میزان مربوط به ارقام حساس خمین و اختر به ترتیب با ۰/۱۷۰ و ۰/۱۷۱ میلی گرم بر گرم اختصاص داشت (شکل ۶). بنابراین ارقام از نظر توانایی تجمع پرولین تحت شرایط تنش با هم اختلاف دارند و ارقام Taylor و COS16 با سازوکار کارتری قادرند باعث افزایش میزان تجمع پرولین گردند و از طریق تنظیم اسمزی مقاومت خود را نسبت به تنش کم آبی افزایش دهند. با افزایش مدت زمان تنش در ۶۰ و ۳۰ درصد ظرفیت زراعی میزان پرولین افزایش یافت اما این میزان افزایش در تنش ۶۰ درصد ظرفیت زراعی بیش تر از ۳۰ درصد ظرفیت زراعی بود. میزان پرولین در تنش ۶۰ درصد از ۰/۱۳ (تنش ۳ روز) به ۰/۱۶ میلی گرم بر گرم (تنش ۹ روز) رسید در صورتی که میزان پرولین در تنش ۳۰ درصد از ۰/۱۷ (سه روز تنش) به ۰/۱۸ میلی گرم بر گرم (نه روز تنش) افزایش یافت. پرولین اسید آمینه ای می باشد که بخش عمده بسیاری از پروتئین های درگیر در تنظیم اسمزی، دیواره سلولی و غشا را تشکیل می دهد (Szabados and Savoure, 2009). در شرایط تنش خشکی، پرولین در حفظ پتانسیل اسمزی، حذف رادیکال های آزاد و ROS، حفاظت ماکرومولکول ها از دنا توره شدن، تنظیم PH سلولی نقش دارد. همچنین پرولین به عنوان منبع نیتروژن و کربن برای گیاهان تحت تنش شدید عمل می کند و تحمل گیاه در برابر تنش را افزایش می دهد (Amini et al., 2015). در گیاهان عالی سنتز پرولین از طریق دو مسیر گلو تانات (Glu) و آرژنین/ اورنیتین (Orn) صورت می گیرد. در شرایط تنش خشکی، مسیر Glu نقش اصلی در بیوسنتز پرولین ایفا می کند. در مسیر Glu، L-Glu، گلو تامیک اسید با آنزیم P5CS به گلو تامیک-۵- سمی آلدئید تبدیل می شود که پس از تبدیل به دلتا-۱-پیرولین-۵- کربوکسیلات به کمک آنزیم P5CR به L-پیرولین تبدیل می گردد (Hu et al., 1992). مسیر تجزیه پرولین نیز در تجمع آن تحت شرایط تنش اهمیت دارد. تجمع پرولین با افزایش شدت تنش به میزان ۳۰ درصد ظرفیت زراعی در نتیجه افزایش بیوسنتز پرولین و کاهش تخریب آن صورت می گیرد. همچنین توزیع پرولین در درون و بیرون سلول نقش مهمی در مقاومت اسمزی بافت های مختلف نسبت به تنش ها ایفا می کند. در شرایط کمبود آب اغلب بیوسنتز پرولین از گلو تامیک اسید در سیتوزول و کلروپلاست سلول های گیاهی اتفاق می افتد، بنابراین پرولین در سیتوزول تجمع یافته تا توزیع آب به درون سلول انجام شود. در شرایط نرمال پرولین به اندامک ها به ویژه واکنول و پلازمید انتقال می یابد و در صورتی که گیاه تحت شرایط تنش خشکی قرار گیرد پرولین از واکنول به سیتوزول انتقال می یابد (et al, 2010). Lehmann). قربانی و نیاکان (۱۳۸۴) در بررسی اثر تنش خشکی بر روی سویا نشان دادند که در ریشه میزان پرولین تحت شرایط تنش ملایم و تنش شدید افزایش معنی داری یافت در حالی که در برگ و ساقه میزان آن تنها در تنش شدید روند صعودی معنی داری داشت. عده ای معتقدند که پرولین می تواند اثر منفی تنش آبی را بر تثبیت کربن اصلاح نماید (Fendina et al., 1993). از آن جا که پرولین در تنظیم اسمزی نقش دارد به نظر می رسد که برتری ارقام متحمل با

افزایش نسبی پرولین این ارقام در شرایط تنش ارتباط داشته است. اگرچه پرولین در همه اندام‌های گیاه در طی تنش خشکی تجمع می‌یابد ولی سریع‌ترین انباشت را در برگ‌ها دارد (حیدری‌شریف‌آباد، ۱۳۷۹). افزایش میزان پرولین در مطالعات بسیاری تحت تنش خشکی گزارش شده است (Hanson et al., 1999؛ Ghorbanli et al., 2013). بنابراین گیاهانی که در تحت تنش خشکی قرار می‌گیرند مقدار زیادی از منابع کربن و نیتروژن خود را صرف سنتز تنظیم‌کننده‌های اسمزی از قبیل پرولین می‌کنند تا بتوانند فشار تورژسانس سلول‌های خود را حفظ نمایند (Aranjuelo et al., 2011).

همبستگی بین صفات

بین میزان محتوای آب نسبی با نشأت الکترولیتی ($0/95^{**}$)، پرولین ($0/87^{**}$) و میزان فروکتوز ($0/79^{**}$)، گلوکز ($0/80^{**}$) و کربوهیدرات‌های محلول ($0/74^{**}$) همبستگی منفی معنی‌داری مشاهده شد (جدول ۳).

جدول ۳: ضرایب همبستگی بین صفات مورد بررسی تحت تنش خشکی

صفات	محتوای آب نسبی	نشأت الکترولیتی	پرولین	ساکارز	گلوکز	فروکتوز
نشأت الکترولیتی	$0/95^{**}$					
پرولین	$0/87^{**}$	$0/87^{**}$				
ساکارز	$0/82^{**}$	$0/78^{**}$	$0/77^{**}$			
گلوکز	$0/80^{**}$	$0/79^{**}$	$0/92^{**}$	$0/79^{**}$		
فروکتوز	$0/79^{**}$	$0/77^{**}$	$0/94^{**}$	$0/69^{**}$	$0/92^{**}$	
قندهای محلول کل	$0/74^{**}$	$0/69^{**}$	$0/89^{**}$	$0/55^{**}$	$0/86^{**}$	$0/93^{**}$

میزان پرولین با ساکارز ($0/77^{**}$) همبستگی منفی نشان داد، در صورتی‌که بین میزان پرولین و میزان گلوکز ($0/92^{**}$)، فروکتوز ($0/94^{**}$) و کربوهیدرات‌های محلول ($0/89^{**}$) همبستگی مثبت و معنی‌داری مشاهده شد. بین محتوای نسبی آب و میزان ساکارز ($0/82^{**}$) همبستگی مثبت و معنی‌داری مشاهده شد. نشأت الکترولیتی غشای پلاسمایی با میزان ساکارز ($0/78^{**}$) همبستگی منفی و معنی‌داری نشان داد. در صورتی‌که همبستگی مثبت بین نشأت الکترولیتی و میزان پرولین ($0/87^{**}$)، گلوکز ($0/79^{**}$)، فروکتوز ($0/77^{**}$) و کربوهیدرات‌های کل ($0/69^{**}$) وجود داشت. همچنین بین میزان ساکارز با میزان فروکتوز ($0/69^{**}$)، گلوکز ($0/79^{**}$) و کربوهیدرات‌های محلول ($0/55^{**}$) همبستگی منفی و معنی‌داری به‌دست آمد. بین میزان گلوکز و میزان فروکتوز ($0/92^{**}$) و کربوهیدرات‌های محلول ($0/86^{**}$) همبستگی مثبت مشاهده شد. نتایج حاکی از آن است که هر چه میزان محتوای آب نسبی کاهش یابد، نشأت الکترولیتی غشای سلولی در اثر آسیب وارده به آن افزایش یافته و باعث تولید بیش‌تر پرولین و قندهای محلول بیش‌تری می‌گردد. بنابراین گیاه لوبیا در شرایط تنش خشکی با افزایش تجمع اسمولیت‌های سازگارکننده‌ای مانند پرولین، گلوکز و فروکتوز باعث تنظیم اسمزی درون سلولی، حفظ تورژسانس سلولی و کاهش خسارت به غشای سلولی و جلوگیری از

تخریب آنزیم‌ها می‌گردد و تحمل به تنش خشکی افزایش می‌یابد. Mohsenzade و همکاران (۲۰۰۶) بیان کردند که افزایش غلظت کربوهیدرات‌های محلول و پرولین یک پاسخ نسبت به تغییرات میزان محتوای نسبی آب و نشت الکترولیت غشای سلولی می‌باشد که باعث افزایش تحمل به تنش خشکی می‌گردد.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه، شدت و مدت زمان تنش در میزان تجمع کربوهیدرات‌های محلول و پرولین نقش به‌سزایی دارد. هم‌چنین ارقام متحمل COS16 و Taylor از طریق کنترل خسارت اکسیداتیو و ممانعت از تخریب غشا نسبت به ارقام حساس (خمین و اختر) نشت الکترولیتی کم‌تر و میزان پرولین و کربوهیدرات‌های محلول بیش‌تری داشتند. بنابراین تجمع پرولین و کربوهیدرات‌های محلول به عنوان یک شاخص فیزیولوژیک تحمل به خشکی می‌تواند توسط به‌نژادگران برای گزینش رقم‌های متحمل به خشکی در لوبیا مورد استفاده قرار گیرد.

منابع

- حیدری شریف‌آباد، ح. ۱۳۷۹. گیاه، خشکی و خشکسالی. چاپ اول. انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور تهران. ۱۶۳ ص.
- خزاعی، ح. ۱۳۸۱. اثر تنش خشکی بر عملکرد و خصوصیات فیزیولوژیک ارقام متحمل و حساس گندم و معرفی مناسب‌ترین شاخص‌های مقاومت به خشکی. پایان‌نامه دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی. دانشکده کشاورزی. دانشگاه فردوسی مشهد. ۱۳۶ ص.
- قربانلی، م. و نیاکان، م. ۱۳۸۴. بررسی اثر تنش خشکی بر روی میزان قندهای محلول، پروتئین، پرولین ترکیبات فنلی و فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز گیاه سویا رقم گرگان ۳. نشریه علوم دانشگاه تربیت معلم. ج ۵ (۱ و ۲): ۵۳۷-۵۵۰.
- میرجلیلی، ع. ۱۳۸۴. گیاهان در محیط‌های تنش زا. انتشارات نوربخش. ۲۳۰ ص.
- نظری‌ناسی، ح.، جباری، ف.، عظیمی، م. ر. و نوروزیان، م. ۱۳۹۱. ارزیابی اثر تنش خشکی بر پایداری غشای سلولی، سرعت فتوسنتز، محتوای نسبی آب و عملکرد دانه چهار رقم لوبیا چیتی. مجله علوم گیاهان زراعی ایران. ۴۳ (۳): ۴۹۹-۴۹۱.

Allahmoradi, P., Mansourifar, C., Saidi, M. and Jalali Honarmand, S. 2013. Water deficiency and its effects on grain yield and some physiological traits during different growth stages in lentil (*Lens culinaris* L.) cultivars. Annals of Biological Research 4 (5): 139-145.

Alexieva, V., Sergiev, I., Mapelli, S. and Karanov, E. 2001. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. Plant Cell Environ 24: 1337-1344.

Akram, H.M., Ali, A., Sattar, A., Rehman, H.S.U. and Bibi, A. 2013. Impact of water deficit stress on various physiological and agronomic traits of three Basmati rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. *Journal of Animal & Plant Sciences* 23 (5): 1415-1423.

Amini, S., Ghobadi, C. and Yamchi, A. 2015. Proline accumulation and osmotic stress: an overview of P5CS gene in plants. *Journal of Plant Molecular Breeding*, 3(2): 44-55.

Aranjuelo, I., Molero, G., Erice, G., Christophe Avice, J. and Nogues, S. 2011. Plant physiology and proteomics reveals the leaf response to drought in alfalfa (*Medicago sativa* L.). *The Journal of Experimental Botany* 62:111-123

Azarpanah, A., Alizadeh, O. and Dehghanzadeh, H. 2013. Investigation on proline and carbohydrates accumulation in *Zea mays* L. under water stress condition. *Extreme life, Biospeology & Asterobiology, International Journal of the Bioflux Society* 5 (1): 47-54.

Bates, L. S., Walderen, R. D. and Taere, I. D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil*, 39: 205-207.

Barrsu, H.D. and Weatherley, P.E. 1962. A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficits in leaves. *Australian Journal of Biological Sciences* 15: 413-428.

Barnabas, B., Jager, K. and Feher, A. 2008. The effect of drought and heat stress on reproductive processes in cereals. *Plant Cell Environ* 31: 11-38.

Brevedan, R. and Egli, B. 2003. Short periods of water stress during seed filling, leaf senescence and yield of soybean. *Crop Science* 43: 2083-2088.

Castrillo, M. 1992. Sucrose metabolism in bean plants under water deficit. *Journal of Experimental Botany* 43: 1557-1561.

Claudia Castaneda Saucedo, M., Delgado Alvarado, D., Cordova Tellez, L., Gonzalez Hernandez, V., Tapia-Campos, E. and Santacruz Varela, A. 2012. Changes in carbohydrate concentration in leaves, pods and seeds of dry bean plants under drought stress. *Interciencia* 37 (3): 168-175.

Demin, I.N., Deryabin, A.N., Sinkevich, M.S. and Trunova, T.I. 2008. Insertion of cyanobacterial desA gene coding for $\Delta 12$ -acyl-lipid desaturase increases potato plant resistance to oxidative stress induced by hypothermia. *Russian Journal of Plant Physiology* 55: 710-720.

Dorion, S., Lalonde, S. and Saini, H.S. 1996. Induction of male sterility in wheat by meiotic stage water deficit is preceded by a decline in invertase activity and changes in carbohydrate metabolism in anthers. *Plant Physiology* 111: 137-145.

Dubois, D., Gilleres, K.A. and Hamilton, J.K. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* 350-356.

Ehdaie, B., Alloush, G.A. Madore, M.A. and Waines, J.G. 2006. Genotypic variation for stem reserves and mobilization in wheat: I. postanthesis changes in internode dry matter. *Crop Science* 46: 735- 746.

Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D. and Basra, S.M.A. 2009. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development* 29: 185–212.

Fendina, I.S., Tsonev, T. and Guleva, E.L. 1993. The effect of pretreatment with praline on the responses of (*Pisum sativum* L.) to salt stress. *Photosynthetica* 29: 521-527.

Ghanbari, A.A., Shakiba1, M.R., Toorchi, M. and Choukan. 2013. Morpho-physiological responses of common bean leaf to water deficit stress. *European Journal of Experimental Biology* 3 (1): 487-492.

Ghanbari, A.A., Mosavi, S.H., Gorji, A.M. and Rao, I. 2013. Effects of water stress on leaves and seeds of bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Turkish Journal of Field Crops* 18 (1): 73-77.

Ghorbanli, M., Gafarabad, M., Amirkian, T. and Allahverdi Mamaghani, B. 2013. Investigation of proline, total protein, chlorophyll, ascorbate and dehydro ascorbate changes under drought stress in Akria and Mobil tomato cultivars. *Iranian Journal of Plant Physiology* 3 (2): 651-658.

Hanson, A.D., Nelson, C.E. and Pederson, A.R., 1999. Capacity for proline accumulation during water stress in barley and implications for breeding for drought stress. *Crop Science* 19: 489-493.

Hanson, J. and Smeekens, S. 2009. Sugar perception and signaling- an update. *Current Opinion in Plant Biology* 12: 562–567.

Hu, C.A., Delauney, A.J. and Verma, D.P. 1992. A bifunctional enzyme ($\Delta 1$ -pyrroline-5-carboxylate synthetase) catalyzes the first two steps in proline biosynthesis in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 89: 9354-9358.

Jaleel, C.A., Manivannan, P., Wahid, A., Farooq, M., Al-Juburi, J., Somasundaram, R. and Panneerselvam, R. 2009. Drought Stress in Plants: A Review on Morphological Characteristics and Pigments Composition. *International Journal of Agriculture and Biology* 11: 100-105.

Jie, Z., Yuncong, Y., Streeter, J. and Ferree, D. 2010. Influence of soil drought stress on photosynthesis, carbohydrates and the nitrogen and phosphorus absorb in different section of leaves and stem of Fuji/M.9EML, a young apple seedling. *African Journal Biotechnology* 9: 5320-5325.

Keller, F. and Ludlow, M.M. 1993. Carbohydrates metabolism in drought– stressed leaves of pigeonpea (*Cajanus cajana*). *Journal of Experimental Botany* 44 (8): 1351-1359.

Lehmann, S., Funck, D., Szabados, L. and Rentsch, D. 2010. Proline metabolism and transport in plant development. *Amino Acids* 39: 949-962.

Liang, X., Zhang, L., Natarajan, S.K. and Becker, D.F. 2013. Proline Mechanisms of Stress Survival. *Antioxid Redox Signal* 20; 19 (9): 998–1011.

Liu, F., Jensen, R. and Andersen, N. 2004. Drought stress effect on carbohydrate concentration in soybean leaves and pods during early reproductive development: its implication in altering pod set. *Field Crops Research* 86: 1-13.

Lum, M.S., Hanafi, M.M., Rafii, Y.M. and Akmar, A.S.N. 2014. Effect of Drought Stress on Growth, Proline and Antioxidant Enzyme Activities of Upland Rice. *Journal of Animal & Plant Sciences* 24 (5): 1487-1493.

Manivannan, P., Abdul Jaleel, C., Somasundaram, R. and Panneerselvam, R. 2008. Osmoregulation and Antioxidant Metabolism in Drought-stressed *Helianthus annuus* under Triadimefon Drenching. *Comptes Rendus Biologies* 331: 418-425.

Martinez, J.P., Silva, H., Ledent, J.F. and Pinto, M. 2007. Effect of drought stress on the osmotic adjustment, cell wall elasticity and cell volume of six cultivars of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *European Journal of Agronomy* 26: 30-38.

Mirzaee, M., Moieni, A. and Ghanati, F. 2013. Effects of drought stress on the lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in two canola (*Brassica napus* L.) cultivar. *Journal of Agricultural Science and Technology* 15: 593-602.

Mohsenzade, S., Malboobi, M.A., Razavi, K. and Farrahi Ashtiani, S. 2006. Physiological and molecular responses of (*Aeluropus lagopoides*) to water deficit. *Environmental and Experimental Botany* 56: 374-322

Parida, A.K., Dagaonka, V.S., Phalak, M.S. and Aurangabadkar, L.P. 2008. Differential responses of the enzymes involved in proline biosynthesis and degradation in drought tolerant and sensitive cotton genotypes during drought stress and recovery. *Acta Physiologiae Plantarum* 30 (5): 619-627.

Pelleschi, S., Pocher, J.P. and Prioul, J.L. 1997. Effect of water restriction on carbohydrate metabolism and photosynthesis in mature maize leaves. *Plant, Cell and Environment* 20 (4): 493-503.

Pirdashti, H., Tahmasebi-Sarvestani, Z. and Bahmanyar, A. 2009. Comparison of physiological responses among four contrast rice cultivars under drought stress conditions. *World academy of science. Engineering and technology* 49: 52-54.

Sadeghipour, O. and Aghaei, P. 2012. Response of common bean to exogenous application of salicylic acid under water stress conditions. *Environmental Biology* 6: 1160-1168.

Sairam, R.K. and Srivastava, G.C. 2001. Water stress tolerance of wheat *Triticum aestivum* L.: Variation in hydrogen peroxide accumulation and antioxidant activity in tolerant and susceptible genotype. *Journal Agronomy and Crop Science* 186: 63-70.

Sairam, R.K., Rao, K.V and Srivastava, G.C. 2002. Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. *Plant Science* 163: 1037-1046.

Sato, F., Yoshioka, H., Fujiwara, T., Higashio, H., Uragami, A. and Tokuda, S. 2004. Physiological responses of cabbage plug seedlings to water stress during low-temperature storage in darkness. *Scientia Horticulturae* 101: 349-357.

Siddiqui, M.H., Al-Khaishany, M.Y., Al-Qutami, M.A., Al-Whaibi, M.H., Grover, Ali, H.M., Al-Wahibi, M.S. and Bukhari, N. A. 2015. Response of different genotypes of faba Bean plant to drought stress. *International Journal of Molecular Sciences* 16: 10214-10227.

Silva, M.A., Jifon, J.L., Da Silva, J.A.G. and Sharma, V. 2007. Use of physiological parameters as fast tools to screen for drought tolerance in sugarcane. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 19: 193-201.

Szabados, L. and Savoure, A. 2009. Proline: a multifunctional amino acid. *Trends in Plant Science* 15: 89-97

Xue, G., Lynne McIntyre, C., Glassop, D. and Shorter, R. 2008. Use of expression analysis to dissect alterations in carbohydrate metabolism in wheat leaves during drought stress. *Plant Mol Biol* 67: 197-214.

Yang, Y., Liu, Q., Han, C., Qiao, Y. Z., Yao, X. Q. and Yin, H.J. 2007. Influence of water stress and low irradiance on morphological and physiological characteristics of *Picea asperata* seedlings. *Photosynthetica* 45 (4): 613-619.

Zlatev, Z., Lidon, F.C. 2012. An overview on drought induced changes in plant growth, water relations and photosynthesis. *Emirates Journal of Food and Agriculture* 24: 57-72.