

تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی بر برخی صفات فیزیولوژیک و کلروفیل فلورسانس ژنوتیپ‌های لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.)

شکوفه دست‌نشان^۱، محمدرضا بی‌همتا^۲، علیرضا عباسی^۳ و منیژه سبک‌دست^۴

۱- کارشناس ارشد، دانشیار و استادیار، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران
۲- استاد، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران (نویسنده مسوول: mrghanad@ut.ac.ir)
تاریخ دریافت: ۹۶/۱۱/۱۳ تاریخ پذیرش: ۹۷/۷/۲
صفحه: ۹۲ تا ۱۰۴

چکیده

از آنجائی که خشکی به عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده رشد و تولید گیاهان زراعی شناخته شده است. شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل به تنش خشکی امری ضروری می‌باشد. براین اساس پژوهش حاضر با هدف ارزیابی تحمل ژنوتیپ‌های لوبیا و تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی بر برخی از صفات فیزیولوژیک و کلروفیل فلورسانس آن‌ها به سطوح مختلف تنش خشکی صورت پذیرفت. این پژوهش با کشت بذور لوبیا در آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی و اعمال تنش خشکی در سطوح (۱۰۰٪، ۷۵٪، ۵۰٪ و ۲۵٪ ظرفیت زراعی) در گلخانه پژوهشی دانشگاه تهران انجام شد. با توجه به نتایج به دست آمده اعمال تنش شدید سبب کاهش محتوای آب نسبی برگ گردید ولی به محتوای نشت الکترولیت و دمای برگ نمونه‌ها افزوده شد. از طرفی میزان سبزیگی برگ، F_v/F_m ، F_v ، F_m با اعمال تنش ملایم نسبت به شاهد (۷۵٪ ظرفیت زراعی) افزایش یافت ولی با اعمال تنش‌های شدید کاهش چشمگیر این صفات مشاهده شد. همچنین میزان F_0 در تنش‌های شدید افزایش یافت. در این میان بیشترین میزان سبزیگی برگ، F_v و F_m ، F_v/F_m و همچنین کمترین میزان دمای برگ و محتوای نشت الکترولیت در تمامی سطوح تنش به ترتیب به ژنوتیپ‌های COS-16 و D81083 مربوط بود. بر این اساس ژنوتیپ‌های COS-16 و D81083 به ترتیب به عنوان ژنوتیپ‌های متحمل و نیمه‌متحمل به تنش خشکی شناخته شدند. همچنین، نتایج نشان داد که تنش خشکی تأثیرات سوئی بر ژنوتیپ‌های لوبیا اعمال نموده ولی میزان این خسارات با توجه به تفاوت ژنوتیپ‌ها متفاوت می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: محتوای نسبی آب برگ، نشت الکترولیت‌ها، سبزیگی برگ، دمای برگ

مقدمه

شرایط تنش کمبود آب روزنه‌ها در گیاه بسته می‌شوند و متعاقب آن غلظت CO_2 در بافت مزوفیل کاهش می‌یابد و به دنبال این وضعیت واکنش‌های تاریکی فتوسنتز مختل شده و محصولات حاصل از واکنش‌های روشنایی، که شامل ATP، NADPH است، مصرف نمی‌شود. در چنین شرایطی به دلیل عدم اکسیدشدن مولکول NADPH، مصرف $NADP^+$ جهت دریافت الکترون کاهش می‌یابد، بنابراین مولکول اکسیژن در مسیر زنجیره انتقال الکترون به عنوان پذیرنده جانشین الکترون عمل می‌کند و منجر به شکل‌گیری رادیکال سوپراکسید (O_2^{-})، پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و رادیکال هیدروکسیل (OH^-) می‌گردد (۵۹،۵۲). محتوای نسبی آب برگ (RWC) ممکن است تعادل بین آب تامین شده برای برگ و سرعت تعرق را بهتر از سایر اجزا روابط آبی منعکس کند، بنابراین این صفت به عنوان شاخصی برای تعیین وضعیت آبی برگ شناخته شده است (۵۳). محتوای نسبی آب برگ صفتی است که توانایی گیاه در تحمل تنش خشکی را نشان می‌دهد. کاهش محتوای نسبی آب برگ و بسته شدن روزنه‌ها از اثرات اولیه تنش خشکی بر گیاه می‌باشند که سبب اختلال در ساخت مواد فتوسنتزی و کاهش عملکرد می‌شوند (۴۰،۴۴). در آزمایشی روی چهار رقم لوبیا گزارش شد که تنش خشکی محتوای آب نسبی گیاهان را کاهش داد (۱). گزارش شده است که در ژنوتیپ‌های گندم با افزایش شدت تنش خشکی

بقولات سومین خانواده بزرگ گیاهان گلدار می‌باشد و شامل حدوداً ۷۵۰ جنس و بیش از ۱۹۰۰۰ گونه متمایز است (۲۹). لوبیا با نام علمی (*Phaseolus vulgaris* L.) از لگوم‌های دانه‌ای می‌باشد که با توجه به پروتئین بالا مصرف غذایی فراوان دارد و تولید سالانه لوبیا در جهان ۲۳ میلیون تن می‌باشد (۱۳). گیاهان تحت تنش‌های محیطی متعددی قرار دارند که بر رشد، متابولیسم و عملکرد آن‌ها تأثیرگذار است. آب یکی از مهم‌ترین عوامل محیطی است که رشد و تکامل گیاه را کنترل می‌کند. در بسیاری از نقاط دنیا، خشکی عامل محدود کننده مهمی است که به طور جدی بر رشد و عملکرد گیاه تأثیر می‌گذارد (۳۶). کمبود آب (معمولاً به عنوان خشکی شناخته می‌شود) را می‌توان عدم رطوبت کافی برای رشد طبیعی گیاه و تکمیل چرخه حیات آن تعریف کرد (۳۵). خشکی، خطری جدی برای تولید محصولات زراعی از جمله لوبیا می‌باشد (۱۰). خشک‌سالی و تنش حاصل از آن یکی از مهم‌ترین و رایج‌ترین تنش‌های محیطی است که تولیدات کشاورزی را در کشور ما با محدودیت روبه‌رو می‌سازد (۲). نتایج حاصل از مطالعات نشان می‌دهد در شرایط تنش و حتی تحت غلظت‌های بالای CO_2 محیطی، فتوسنتز کاهش می‌یابد که بیان کننده این امر است که دستگاه فتوسنتز صرف نظر از بسته شدن روزنه‌ها، تحت تأثیر قرار گرفته است. در

معنی‌داری کاهش یافت و در این آزمایش ژنوتیپ‌های حساس به خشکی Fv/Fm کمتری نسبت به ژنوتیپ‌های مقاوم به خشکی در مرحله گیاهچه‌ای و غلاف‌دهی داشتند (۴۶). این پژوهش با هدف مطالعه تاثیر سطوح مختلف تنش خشکی (۱۰۰٪، ۷۵٪، ۵۰٪ و ۲۵٪ ظرفیت زراعی) بر شاخص‌های فلورسانس سبزینه و برخی از صفات فیزیولوژیک (محتوای نسبی آب برگ، محتوای نشت الکترولیت، دمای برگ و سبزیگی برگ) در تعدادی از ژنوتیپ‌های لوبیا در مرحله رشد رویشی انجام شد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی تاثیر چهار سطح تنش خشکی بر ده ژنوتیپ لوبیا (جدول ۱)، (تمامی ژنوتیپ‌ها از ایستگاه خمین گرفته شده‌اند، مواردی که اسم دارند رقم هستند و مابقی آن‌ها شماره‌های موجود در بانک بذر آن‌هاست و وارداتی از CIAT هستند) این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در پنج تکرار در گلخانه پژوهشی گروه زراعت و اصلاح نباتات پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران انجام شد. سطوح اعمال شده تنش خشکی در این پژوهش شامل ۱۰۰٪، ۷۵٪، ۵۰٪ و ۲۵٪ ظرفیت زراعی (FC) بودند. در ابتدا، خاک از الک عبور داده‌شد، با ماسه بادی و کود برگ به‌طور کامل مخلوط گردید. سپس گلدان‌های پلاستیکی با شرایط و وزن کاملاً یکسان با وزن مشخص پرگردید و به‌منظور تعیین بافت (جدول ۲) و ظرفیت زراعی آن، نمونه خاک مورد آزمایش قرار گرفت. بذور کشت شده لوبیا تا زمان شش برگی گیاهچه‌ها به‌طور یکسان بر اساس میزان FC تعیین شده آبیاری گردیدند، پس از استقرار کامل گیاهچه‌ها در گلدان‌های مربوطه (در مرحله ۶ برگی) تنش خشکی به مدت دو هفته اعمال شد.

مقدار آب نسبی اندام هوایی گیاه کاهش می‌یابد (۴۷، ۴۹). در تنش‌های محیطی همانند تنش خشکی، نشت یونی غشای سلول (ELI) که جزء تنظیم‌کننده‌های اسمزی به شمار می‌آید تغییر می‌نماید. پلاسما از جمله نخستین اندام‌هایی است که در شرایط تنش آسیب می‌بیند (۲۸). افزایش میزان دمای برگ با اعمال تنش خشکی توسط محققین گزارش شده است (۱۴). در نتایج آزمایشات فیزیولوژیک پژوهشی بر روی برنج گزارش شد که اثرات ژنوتیپ، زمان نمونه‌گیری و اثر متقابل روی تمامی صفات اندازه‌گیری شده شامل کلروفیل a، کلروفیل b، کاروتنوئید، میزان مالون‌دی‌آلدئید و پرولین در سطح یک درصد معنی‌دار بود (۴۱). فلورسانس کلروفیل معیاری برای اندازه‌گیری تاثیر تنش‌های محیطی، از جمله تنش خشکی بر گونه‌های زراعی و تعیین میزان تحمل به خشکی آن‌ها پیشنهاد شده است (۳۹). فلورسانس حداقل (F0)، فلورسانس حداکثر (Fm)، فلورسانس متغیر (Fv) و نسبت‌های آن‌ها مانند Fv/Fm شاخص‌های کلروفیل فلورسانس می‌باشند و میزان فعالیت فتوسنتزی گیاه را نشان می‌دهند (۴۸). هنگامی که روزه‌های گیاه به دلیل تنش خشکی و یا دمای زیاد بسته می‌شوند، دی‌اکسیدکربن قابل دسترس کاهش می‌یابد و به دنبال کاهش تولید و ذخیره فرآورده‌های انتقال الکترون یعنی ATP و NADPH در واکنش‌های نوری فتوسنتز، عملکرد کوانتومی فتوسیستم II افت پیدا می‌کند و از این طریق می‌توان عدم توازن بین فرآیند متابولیسم و تولید را ملاحظه نمود (۱۵). میزان Fv/Fm در هنگام مواجهه گیاه با تنش کاهش می‌یابد (۱۶). محققین گزارش نمودند که تنش خشکی با اثر سوئی که بر همانندسازی کربن دارد، ظرفیت پذیرش و انتقال الکترون را کاهش داده و در نتیجه سیستم به سرعت به Fm می‌رسد که نتیجه آن کاهش فلورسانس متغیر می‌باشد. به عبارت دیگر تنش خشکی منجر به کاهش Fv می‌گردد (۱۸). در آزمایشی نسبت Fv/Fm ژنوتیپ‌های نخود تحت تنش خشکی به‌طور

جدول ۱- ژنوتیپ‌های لوبیا مورد استفاده در این پژوهش

۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰
Taylor	KS-10012	1164	COS-16	D81083	KS-31138	Khomein	AND-1007	KS-31112	KS-31167

جدول ۲- نتایج آزمون خاک

تعیین بافت خاک به روش هیدرومتر			
درصد رس و سیلت	درصد شن	درصد رس	درصد سیلت
۵۹/۱۵٪	۴۰/۸۵٪	۲۳/۲۵٪	۳۵/۹۰٪
بافت خاک لوم			

خشک کردن آب سطح برگ، وزن آماس آن‌ها قرائت گردید. در نهایت برگ‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون ۸۰ درجه سانتی‌گراد به‌منظور اندازه‌گیری وزن خشک قرار گرفتند. در نهایت برای محاسبه RWC از رابطه (۱) استفاده شد. که در این رابطه W_f وزن تر برگ، W_d وزن تورژانس برگ و W_d وزن خشک برگ را نشان می‌دهد.

سنجش صفت RWC به روش مارتینز و همکاران (۳۷) صورت پذیرفت. بدین ترتیب که بالاترین برگ هر تیمار در تکرار را جدا کرده و پس از جدا کردن دیسک‌های یک نواخت از قسمت پهنک برگ، بلافاصله وزن تر آن به دقت اندازه‌گیری گردید. سپس برگ‌ها در تاریکی (برای جلوگیری از تغییر وزن به دلیل فعالیت تنفسی) درون آب مقطر قرار داده شدند و پس از ۲۴ ساعت برگ‌ها از آب مقطر خارج و پس از

1-Chlorophyll Fluorescence
3- Maximal Fluorescence

2- Base Fluorescence
4- Variable Fluorescence

ژنوتیپ‌های مورد بررسی در این پژوهش با بقیه ژنوتیپ‌ها تفاوت بسیار معنی‌دار در سطح احتمال آماری ۱٪ را دارا بوده است. تفاوت بسیار معنی‌دار در تنش حاکی از آن است که در بین سطوح مختلف تنش مورد استفاده در این آزمایش در سطح احتمال آماری ۱٪ حداقل یکی از تنش‌ها با بقیه متفاوت بوده است. متفاوت بودن اثر متقابل ژنوتیپ در محیط نیز نشان می‌دهد که ژنوتیپ‌های مختلف در سطوح مختلف تنش روند متفاوتی را داشته‌اند. با این حال در اثر متقابل ژنوتیپ×تنش صفت محتوای نسبی آب برگ تفاوت معنی‌داری موجود نمی‌باشد، این امر نشان می‌دهد که همگی ژنوتیپ‌ها در سطوح مختلف تنش با روندی مشابه کاهش یافته‌اند، به عبارتی در میان آنها تفاوتی موجود نبوده است.

با بررسی نمودارهای به دست آمده از محتوای نسبی آب برگ مشاهده شد که با افزایش میزان تنش، محتوای آب نسبی برگ کاهش یافته است؛ کاهش چشمگیر این صفت بخصوص در تنش ۲۵٪ ظرفیت زراعی (تنش شدید نسبت به ۱۰۰٪ ظرفیت زراعی) مشاهده شد (شکل ۱). با حفظ محتوای نسبی آب در سلول‌ها و بافت‌ها، فعالیت‌های متابولیک از طریق تنظیم اسمزی و سایر صفات سازگاری با خشکی ادامه می‌یابد (۵۷). تحقیقات نشان دادند که ژنوتیپ‌هایی با RWC بالاتر مقاومت بیشتری به خشکی دارند (۲۳). اساساً کاهش محتوای آب نسبی از طریق تنش القایی وابسته به ظرفیت آن ژنوتیپ در جذب آب خاک و جلوگیری از هدر رفتن آب از روزنه‌ها می‌باشد (۲۵). در نتایج مطالعه‌ای دیگر آمده است که ارقام متحمل به خشکی RWC بیشتری را در شرایط تنش و عدم تنش نشان دادند و با توجه به همبستگی بالای این صفت با عملکرد چنین نتیجه‌گیری شد که صفت RWC می‌تواند به‌عنوان شاخصی مناسب برای شناسایی ارقام متحمل به خشکی دارای عملکرد زیاد در برنامه‌های اصلاحی به کار رود (۴۲). محققین گزارش کردند که در میان ارقام در مراحل مختلف رشدی از نظر محتوای نسبی آب برگ تفاوت معنی‌داری وجود دارد و همچنین میزان این صفت در ارقام حساس در شرایط تنش خشکی بیشتر کاهش می‌یابد (۵). ژنوتیپ‌هایی که RWC بالاتری دارند تحمل بیشتری به تنش خشکی داشته و بنابراین می‌توان از این صفت فیزیولوژیک جهت غربال بهترین ژنوتیپ‌ها برای کشت در شرایطی که ممکن است تنش خشکی رخ دهد استفاده کرد (۴۳).

رابطه (۱)

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

برای اندازه‌گیری نشت یونی از روش لوتوس و همکاران (۱۹۹۶) و برای محاسبه آن از رابطه ۲ استفاده گردید (۳۲). که در این رابطه EC_1 هدایت الکتریکی اولیه و EC_2 هدایت الکتریکی ثانویه را نشان می‌دهد.

$$\%ELI = (EC_1/EC_2) \times 100$$

رابطه (۲)

سنجش دمای برگ برای هر تیمار نیز توسط دستگاه مادون قرمز شرکت OMEGA مدل OS1327D صورت گرفت. اندازه‌گیری این صفت پس از اعمال تنش و در ساعت ۱۲ الی ۱۴ انجام شد و بدین صورت که سه قسمت از برگ‌های مورد نظر انتخاب و دمای آن‌ها اندازه‌گیری شد و میانگین آن‌ها به عنوان دمای برگ تیمار مورد نظر تعیین گردید. مقدار کلروفیل برگ (SPAD) با استفاده از دستگاه کلروفیل‌متر دستی مدل Minolta SPAD-502 پس از اعمال تنش اندازه‌گیری گردید. بدین صورت که از سه قسمت برگ‌های هر تیمار (ابتدا، وسط و انتها) انتخاب و مقدار آن ثبت گردید، سپس از میانگین آن‌ها برای تیمار مورد نظر استفاده گردید. به‌منظور بررسی فلورسانس کلروفیل برگ‌ها نیز از دستگاه ساخت شرکت Hansatech استفاده گردید. تمامی اندازه‌گیری‌ها در ساعات ۱۰ الی ۱۳ به‌منظور به حداقل رسانیدن تغییرات روزانه صورت پذیرفت. در ابتدا گیره‌های مخصوص دستگاه بر روی برگ‌ها نصب شد و به‌منظور قرار گرفتن برگ در تاریکی و متوقف کردن واکنش نوری فتوسنتز در پیچه آن‌ها کاملاً بسته شد، پس از گذشت ۲۰ دقیقه گیره‌ها به دستگاه متصل شدند و در پیچه گیره‌ها باز شد و سپس اعداد در دستگاه ثبت گردید. تجزیه آماری داده‌های حاصله با نرم‌افزار SAS 9.2 انجام شد و مقایسه میانگین بر پایه آزمون توکی صورت پذیرفت و همچنین به‌منظور رسم نمودارها از برنامه Excel استفاده شد.

نتایج و بحث

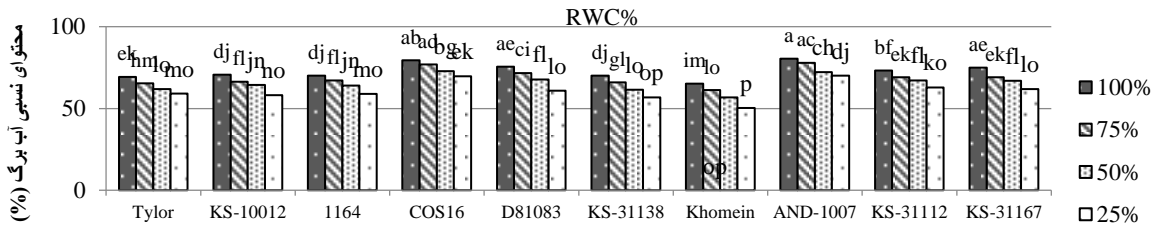
نتایج بدست آمده از تجزیه واریانس نشان داد (جدول ۳) که در تمامی صفات مورد بررسی در میان بلوک‌ها در این پژوهش تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ولی در ژنوتیپ‌ها، سطوح مختلف تنش و اثر متقابل ژنوتیپ در تنش تفاوت بسیار معنی‌دار مشاهده شد. به عبارت دیگر فقدان تفاوت معنی‌دار در بلوک‌ها نشان از این است که محیط و شرایط آزمایش از یکنواختی مناسبی برخوردار بوده است. تفاوت بسیار معنی‌دار در ژنوتیپ‌ها حاکی از آن است که حداقل یکی از

جدول ۳- تجزیه واریانس صفات مورد ارزیابی در ژنوتیپ‌های لویا تحت سطوح مختلف تنش خشکی
Table 3. Analysis of variance of traits evaluated in bean genotypes under different levels of drought stress.

منابع تغییرات	درجه آزادی	MS									
		Rwc	EI	SPAD	CTD	Fm	Fv	F0	Fv/Fm		
بلوک	۴	۲/۵۶	۵/۴۰۷۲	۰/۸۸	۰/۸۲	۴۴/۱۹	۲۳۲/۶۳	۱۱۵/۱۰	۰/۰۰۰۰۴۰۸۸		
ژنوتیپ	۹	۵۲۵۹۰***	۶۹۰/۰۱**	۷۱۴/۳***	۶۹/۳***	۳۳۱۶۹/۳۵***	۳۲۵۱۴/۴۳***	۱۴۱۹/۵۴***	۰/۰۰۰۲۳۱۰***		
تنش	۳	۱۳۱۹/۳۷***	۱۰۴۱۸/۲۳***	۴۱۰۷/۸۱**	۳۲۲/۴۹***	۱۵۵۰۰/۸۸***	۳۳۲۸۱۲/۵۳***	۳۱۶۵۸/۹۳***	۰/۰۲۰۵۰۱۹۶***		
ژنوتیپ*تنش	۲۷	۵/۱۴	۹۷/۳۷***	۲۱/۵۹***	۵/۱۱***	۳۹۹۱/۱۹***	۴۸۲۳/۱۹***	۷۳۳/۲۵***	۰/۰۰۰۳۷۶۳۱***		
خطا	۱۵۶	۶/۲۴	۱/۹۹	۰/۸۵	۰/۵۳۷۸۵	۲۸/۷۹	۱۰۶/۷۰	۸۷/۰۴	۰/۰۰۰۰۲۷۸۱		
CV%		۲/۷۲	۲/۸۵	۲/۷۷	۲/۳۹	۰/۳۱	۰/۷۱	۲/۱۹	۰/۶۳		

** Very significant at 1% probability level
Fm: maximal fluorescence, Fv: variable fluorescence, F0: base fluorescence

[**: خیلی معنی‌دار در سطح احتمال آماری یک درصد]

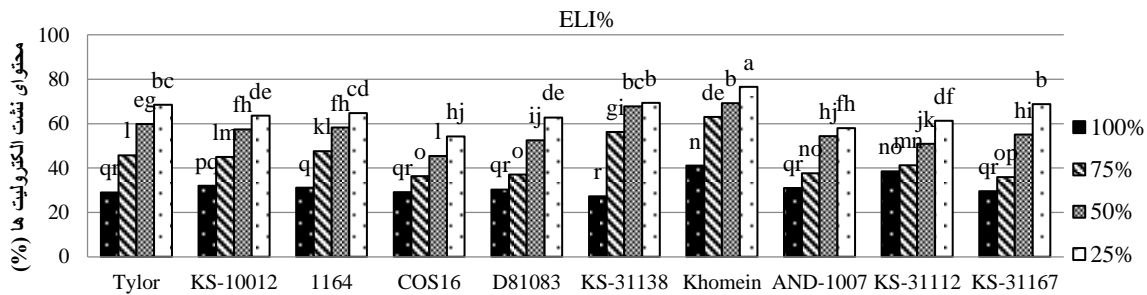


شکل ۱- محتوای نسبی آب برگ در تمامی ژنوتیپ‌ها در سطوح مختلف تنش (۱۰۰٪، ۷۵٪، ۵۰٪ و ۲۵٪ ظرفیت زراعی) حروف متفاوت روی نمودار بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال ۱٪ تعیین شده‌اند.

Figure 1. The relative water content of leaves in all genotypes at different levels of stress (100%, 75%, 50% and 25% Field capacity). Different characters are plotted based on the Tukey's test at 1% probability

غشای سلول در تنش خشکی یکی از سازوکارهای مقاومت می‌باشد (۷). همبستگی مثبت نشت یون‌ها با تنش خشکی توسط محققین گزارش شده‌است (۳، ۴ و ۱۹). مطالعات مربوط به درصد آسیب نسبی سلولی نشان داد، ژنوتیپ‌هایی که آسیب کمتری به غشاء پلاسمایی آن‌ها وارد شده‌است متحمل هستند و ژنوتیپ‌های با آسیب بیشتر به غشاء حساس به خشکی می‌باشند (۴ و ۵۰). بنابراین از این نتایج می‌توان استنباط نمود که ژنوتیپ COS-16 با توجه به نوسانات کمتر نشت الکترولیت در سطوح مختلف تنش و همچنین کم بودن میزان نشت الکترولیت در تنش ۲۵٪ ظرفیت زراعی (یک تنش شدید به حساب می‌آید) به‌عنوان ژنوتیپ متحمل به تنش خشکی شناسایی شد.

همچنین محققین کاهش معنی‌دار محتوای آب نسبی گیاه را در اثر تنش خشکی گزارش نمودند (۶۰). در گیاهان ذرت (*Zea mays L.*) تحت تیمار کم آبی تنها سه روز کافی بود که محتوای آب نسبی تا ۶۵٪ کاهش یابد (۵۴). با افزایش تنش خشکی در گندم RWC کاهش پیدا می‌کند و معمولاً ارقام مقاوم به خشکی دارای محتوای RWC بالاتری در شرایط تنش خشکی هستند (۵۵). با بررسی نتایج حاصل از محتوای نشت الکترولیت استنباط شد که با افزایش شدت تنش، میزان این صفت نیز افزایش پیدا کرده‌است، ولی روند افزایشی متفاوت آن در ژنوتیپ‌های مختلف بسته به تحمل آن ژنوتیپ به تنش خشکی، مشاهده شد (شکل ۲). پایداری



شکل ۲- محتوای نشت الکترولیت در تمامی ژنوتیپ‌ها در سطوح مختلف تنش (۱۰۰٪، ۷۵٪، ۵۰٪ و ۲۵٪ ظرفیت زراعی) حروف متفاوت روی نمودار بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال ۱٪ تعیین شده‌اند.

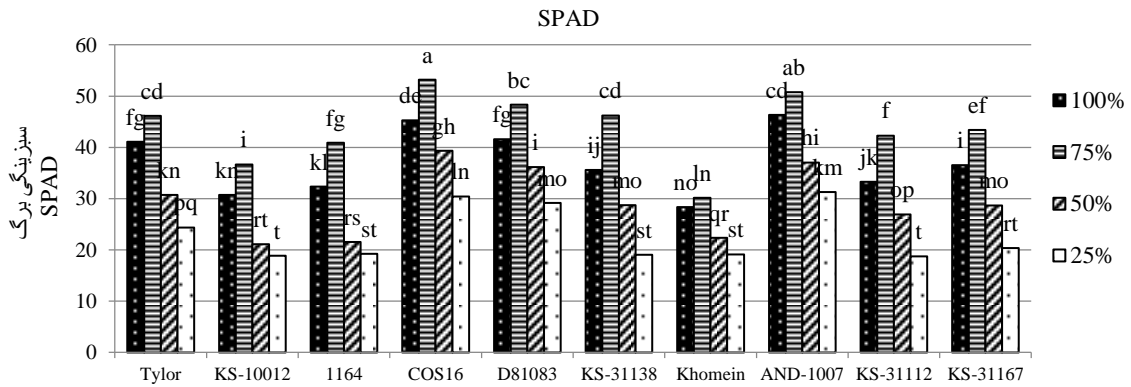
Figure 2. Electrolyte leakage content in all genotypes at different levels of stress (100%, 75%, 50% and 25% Field Capacity). Different letters on the chart were determined based on Tukey's test at 1% probability level.

زراعی به میزان ۱۹/۱ بود. از طرف دیگر با بررسی ژنوتیپ‌ها در تمامی سطوح تنش مشاهده می‌شود که بیشترین میزان سبزیگی برگ مربوط به ژنوتیپ COS-16 و کمترین آن مربوط به ژنوتیپ خمین بود (شکل ۳). محققین در نتایج پژوهشی گزارش کردند که با افزایش تنش خشکی کلروفیل برگ نیز افزایش یافت که این امر می‌تواند ناشی از کاهش سطح برگ، کاهش اندازه سلول و تجمع کلروفیل در سطح کمتر برگ‌ها باشد (۶). کاهش سبزیگی برگ در گیاه می‌تواند به دلیل محدودیت آب باشد که سبب کاهش نورساخت خالص

نتایج سبزیگی برگ که توسط دستگاه کلروفیل متر قرائت گردید نشان داد که با افزایش میزان تنش (هنگامی که به نسبت شاهد تنش ملایم اعمال شده است) (تنش ۷۵٪ ظرفیت زراعی)) به صفت سبزیگی برگ افزوده شده‌است و در تنش‌های ۵۰٪ و ۲۵٪ ظرفیت زراعی به ترتیب کاهش چشمگیر این صفت مشاهده شد. در سطوح مختلف تنش، بیشترین میزان سبزیگی برگ مربوط به ژنوتیپ COS-16 در تنش ۷۵٪ ظرفیت زراعی به میزان ۵۳/۲ بود و کمترین میزان آن مربوط به ژنوتیپ خمین در تنش ۲۵٪ ظرفیت

تخریب رنگیزه‌ها و یا کاهش ساخت آن‌ها و همچنین اختلال در فعالیت آنزیم‌های مسئول سنتز رنگدانه‌های فنوستیزی باشد (۱۴)، کاهش چشمگیر میزان سبزیگی برگ در این پژوهش نیز می‌تواند ناشی از این موارد باشد، که در ژنوتیپ‌های حساس به تنش خشکی نسبت به ژنوتیپ‌های متحمل بیشتر بوده‌است.

می‌گردد (۲۱، ۲۷). از دست رفتن سریع رطوبت می‌تواند منجر به افزایش مقدار کلروفیل گردد. از طرفی، هنگامی که سرعت افت رطوبت کند باشد مقدار کلروفیل کمتر خواهد بود (۶۳). در دیگر تحقیقات آمده است که تنش خشکی در ارقام مختلف جو سبب کاهش میزان نسبی سبزینه گردید (۳۴). کاهش محتوای کلروفیل در تنش آبی می‌تواند به دلایلی چون

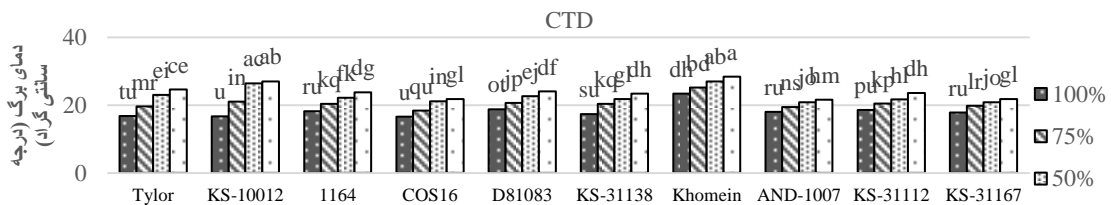


شکل ۳- میزان سبزیگی برگ در تمامی ژنوتیپ‌ها در سطوح مختلف تنش (۱۰۰٪، ۷۵٪، ۵۰٪ و ۲۵٪ ظرفیت زراعی) حروف متفاوت روی نمودار بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال ۱٪ تعیین شده‌اند.

Figure 3. The amount of leaf vegetation in the leaves of all genotypes in stress levels (100%, 75%, 50% and 25% of Field Capacity). Different characters on the chart were determined based on Tukey's test at 1% probability level.

گرما و خشکی، دمای برگ می‌باشد (۵۶). احتمالاً افزایش دمای برگ به دلیل کاهش خنک‌کنندگی از طریق تبخیر و تعرق می‌باشد که این موضوع ناشی از بسته شدن منافذ تنفسی به دلیل القای خشکی است. بسته شدن منافذ تنفسی در پاسخ به تنش خشکی و جلوگیری از خنک شدن برگ از طریق تعرق منجر به افزایش دمای برگ می‌گردد (۲۲، ۳۱). تعرق روزنه‌ای نقش اصلی را در تنظیم دمای برگ دارد (۵۸). گیاهان تحت تنش، ابتدا از طریق تنظیم روزنه‌ای از اتلاف زیاد آب جلوگیری می‌کنند (۱۱) و همین مسئله باعث افزایش دمای برگ در آن‌ها می‌شود. افزایش دمای برگ در اثر تنش خشکی در گیاهان دیگر نیز مورد تایید قرار گرفته‌است (۱۴، ۶۲، ۶۱، ۴۴). هرچقدر که دمای برگ گیاه پایین تر باشد نشان از ترازمنندی بهتر آب توسط گیاه دارد که این امر به سبب جذب بهتر آب توسط ریشه‌ها از خاک می‌باشد (۲۰).

با تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از دمای برگ و ترسیم نمودارهای حاصل از آن این‌گونه استنباط می‌گردد که با افزایش شدت تنش به دمای برگ نیز افزوده شده‌است، به عبارتی گیاهانی که در معرض تنش شدید بوده‌اند دمای برگ بالاتری دارند. همچنین کمترین مقدار دمای تاج‌پوشش مربوط به شرایط شاهد (۱۰۰٪ ظرفیت زراعی) در ژنوتیپ COS-16 به میزان ۱۶/۶ درجه سانتی‌گراد و بیشترین مقدار مربوط به سطح تنش ۲۵٪ ظرفیت زراعی برای ژنوتیپ خمین می‌باشد (شکل ۴). جذب آب بیشتر توسط ریشه‌ها، حفظ و نگهداری وضعیت آبی مناسب در برگ‌ها (هدایت روزنه‌ای و محتوی نسبی آب برگ) و شمار روزنه‌های باز بیشتر در نهایت باعث خنک شدن گیاهان از راه تعرق می‌شود (۲۰). پایین تر بودن دمای برگ در ژنوتیپ‌های متحمل نسبت به حساس بیانگر تعادل بهتر آب در این گیاهان می‌باشد. بنابراین یکی از بهترین معیارها برای انتخاب ژنوتیپ‌های متحمل به تنش

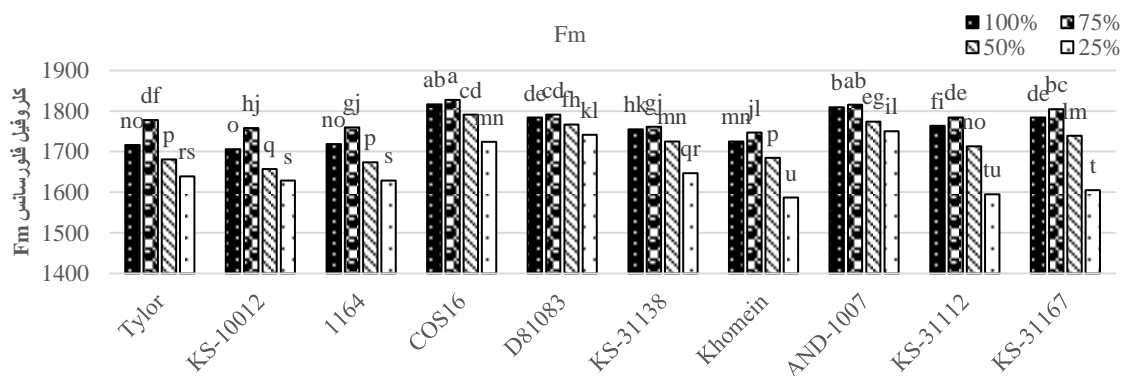


شکل ۴- میزان دمای برگ در تمامی ژنوتیپ‌ها در سطوح مختلف تنش (۱۰۰٪، ۷۵٪، ۵۰٪ و ۲۵٪ ظرفیت زراعی). حروف متفاوت روی نمودار بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال ۱٪ تعیین شده‌اند.

Figure 4. Characteristic of leaf temperature in all genotypes at different levels of stress (100%, 75%, 50% and 25% of Field Capacity) Different characters on the chart were determined based on Tukey's test at 1% probability level.

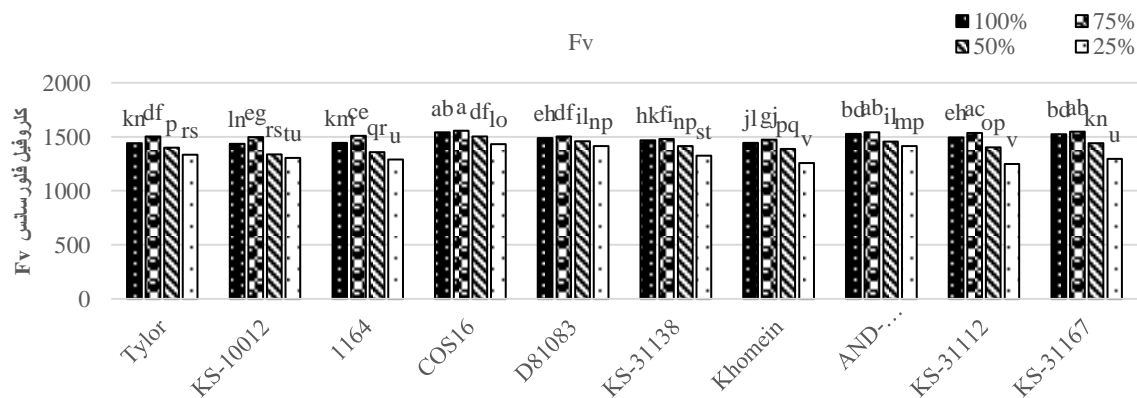
است که تنش خشکی میزان کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II را در ژنوتیپ‌های مختلف لوبیا نسبت به آبیاری نرمال کاهش داد (۱۷). افت Fm ممکن است فعالیت کمپلکس آنزیم تجزیه کننده آب و همچنین چرخه انتقال الکترون در درون یا اطراف فتوسیستم II مرتبط باشد (۶۷)، با افزایش شدت تنش خشکی نسبت به آبیاری نرمال به دلیل تخریب مراکز واکنش فتوسیستم II، مقدار F0 افزایش می‌یابد (۳۰). گزارش شده است که تنش خشکی، بیشینه کارایی کوانتومی فتوسیستم II را کاهش می‌دهد (۸) که نتایج ذکر شده با نتایج این پژوهش مطابقت دارد.

در نتایج داده‌های کلروفیل فلورسانس مشاهده می‌شود که در تیمارهایی که نسبت به تیمار شاهد، تنش ملایم اعمال شده‌است (تنش ۷۵٪ ظرفیت زراعی) به صفات Fm (شکل ۵)، Fv (شکل ۶) و نسبت‌های آن‌ها شامل Fv/Fm (شکل ۸) برگ افزوده شده‌است و در تنش‌های ۵۰٪ و ۲۵٪ ظرفیت زراعی به ترتیب کاهش چشمگیر این صفات را مشاهده می‌نماییم. همچنین در F0 (شکل ۷) میزان این صفت در تنش ملایم کاهش و در تیمارهای تحت تنش شدید افزایش داشته‌است نکته شایان ذکر این است که در تنش‌های شدید کاهش میزان صفات کلروفیل فلورسانس در ژنوتیپ‌های حساس بیش از ژنوتیپ‌های متحمل می‌باشد. گزارش شده



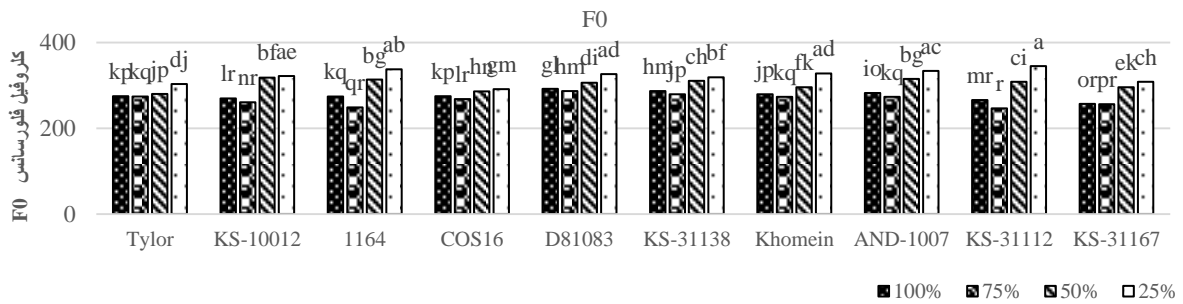
شکل ۵- میزان Fm در تمامی ژنوتیپ‌ها در سطوح مختلف تنش (۱۰۰٪، ۷۵٪، ۵۰٪ و ۲۵٪ ظرفیت زراعی) حروف متفاوت روی نمودار بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال ۱٪ تعیین شده‌اند.

Figure 5. Fm values in all genotypes at different levels of stress (100%, 75%, 50% and 25% Field Capacity). Different characters on the chart were determined based on Tukey's test at 1% probability level.



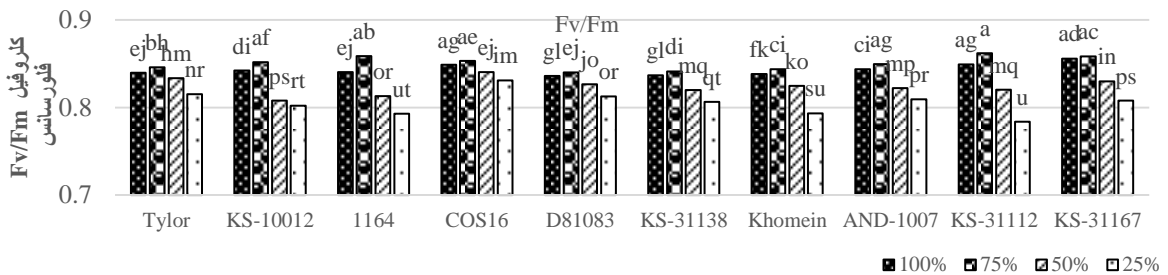
شکل ۶- میزان Fv در تمامی ژنوتیپ‌ها در سطوح مختلف تنش (۱۰۰٪، ۷۵٪، ۵۰٪ و ۲۵٪ ظرفیت زراعی) حروف متفاوت روی نمودار بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال ۱٪ تعیین شده‌اند.

Figure 6. Fv values in all genotypes at different levels of stress (100%, 75%, 50% and 25% Field Capacity). Different characters on the chart were determined based on Tukey's test at 1% probability level.



شکل ۷- میزان F0 در تمامی ژنوتیپها در سطوح مختلف تنش (۱۰۰٪، ۷۵٪، ۵۰٪ و ۲۵٪ ظرفیت زراعی) حروف متفاوت روی نمودار بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال ۱٪ تعیین شده‌اند.

Figure 7. F0 values in all genotypes at different levels of stress (100%, 75%, 50% and 25% Field Capacity). Different characters on the chart were determined based on Tukey's test at 1% probability level.



شکل ۸- میزان Fv/Fm در تمامی ژنوتیپها در سطوح مختلف تنش (۱۰۰٪، ۷۵٪، ۵۰٪ و ۲۵٪ ظرفیت زراعی) حروف متفاوت روی نمودار بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال ۱٪ تعیین شده‌اند.

Figure 8. Fv/Fm values in all genotypes at different levels of stress (100%, 75%, 50% and 25% Field Capacity). Different characters on the chart were determined based on Tukey's test at 1% probability level.

می‌دهد. هنگامی که مولکول‌های کوئینون گیرنده الکترون فتوسیستم II در وضعیت کاملاً اکسید شده باشند، سیستم دارای کمترین فلورسانس (F0) است که با افزایش احیای این مولکول‌ها، میزان فلورسانس افزایش و تا احیای کامل مولکول‌های آن به درازا می‌انجامد. در چنین حالتی مرکز فتوسیستم در حالت احیای کامل بوده و دارای بیشترین فلورسانس (Fm) است. با افزایش شدت نور، سیستم فتوسنتزی با یک روش تنظیمی برای کاهش انرژی القا شده تحریکی، انرژی مازاد را به طریق افزایش خاموشی غیر فتوشیمیایی، به صورت فرآیند غیر تابشی از دست می‌دهد. با این عمل، علاوه بر حفاظت از مرکز واکنش، سبب می‌شود که حداقل صدمه به این مرکز وارد شود (۹). همبستگی صفات بر اساس سطوح آبیاری ۱۰۰٪ ظرفیت زراعی (جدول ۴) و ۲۵٪ ظرفیت زراعی (جدول ۵) اعمال شده به صورت مجزا محاسبه گردید. همبستگی منفی و بسیار معنی‌داری بین صفات F0 و Fv/Fm مشاهده شد. همچنین بین صفات Fm و Fv همبستگی مثبت و بسیار معنی‌دار در تمامی سطوح آبیاری مشاهده شد و این مسئله گویای این است که صفات Fm و Fv در طی اعمال تنش‌های مختلف دارای روندی مشابه می‌باشند. بین دو صفت RWC و SPAD در سطح آبیاری ۱۰۰٪ و ۲۵٪ ظرفیت زراعی همبستگی مثبت و بسیار معنی‌دار وجود داشت. همچنین همبستگی صفات

کاهش معنی‌دار Fv/Fm در تنش بالای خشکی بیان‌کننده فتواکسیداسیون نوری فتوسیستم II است، زیاد بودن بازده F0/Fm در تنش زیاد، گویای کاهش فعالیت فتوسیستم I است. کلروفیل فلورسانس به منزله‌ی یک روش غیر تخریبی می‌باشد و برای کشف و تعیین کمیت آسیب به سیستم فتوسنتز کننده برگ در گونه‌های مختلف گیاهی در تنش‌های محیطی، استفاده شده است (۴۵). محققین روند فتوسنتزی و فلورسانس کلروفیل را در گیاهان لویا تحت تنش و آبیاری مجدد بررسی و در تنش‌های شدید، روند کاهش کلروفیل فلورسانس مشاهده کردند (۳۸). در نتایج پژوهش حاضر نیز کاهش کلروفیل فلورسانس، کلروفیل متغیر و بیشینه کلروفیل را در تنش شدید (۲۵٪ ظرفیت زراعی) نسبت به شاهد (۱۰۰٪ ظرفیت زراعی) و تنش ملایم (۷۵٪ ظرفیت زراعی) مشاهده می‌نماییم که می‌تواند به دلیل آسیب به سیستم فتوسنتز کننده برگ در تنش شدید باشد و این نتیجه با نتایج سایر محققین تطابق دارد. پارامتر Fv/Fm ظرفیت جذب انرژی القایی توسط برگ را نشان می‌دهد و معمولاً بر اثر عوامل محیطی همچون خشکی و شوری کاهش می‌یابد (۳۳، ۱۶، ۱۲) که نتایج Fv/Fm در این پژوهش نیز با نتایج این محققین مطابقت دارد. مقدار فلورسانس کلروفیل، سالم بودن غشای تیلاکوئید و نیز کارایی نسبی انتقال الکترون را از فتوسیستم II به فتوسیستم I نشان

نشان‌دهنده‌ی آسیب به زنجیره انتقال الکترون فتوسیستم II در اثر کاهش ظرفیت کوئینون آ و عدم اکسیداسیون کامل آن به دلیل جریان کند الکترون در طول مسیر فتوسیستم II و در مجموع غیر فعال شدن فتوسیستم II می‌باشد (۶۸). از این رو همبستگی منفی و بسیار معنی‌دار این صفت با Fv/Fm در تمامی سطوح تنش مشاهده شد. در نتایج پژوهشی که بر روی شاخص‌های تحمل خشکی انجام شد همبستگی مثبت و معنی‌دار در میان صفات مورد اندازه‌گیری گزارش گردید (۵۱). بنابراین با توجه به خشکسالی سال‌های اخیر و وجود کم‌آبی در طی سالیان، بررسی تنش خشکی و شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی امری ضروری می‌باشد، همچنین تحقیقات و مطالعه بر روی صفات فیزیولوژیک و بررسی روند تغییرات آن‌ها در طی تنش خشکی اهمیت فراوان دارد به‌طور کلی نتایج پژوهش حاضر نشان داد که صفاتی همچون محتوای نسبی آب برگ، محتوای نشت الکتروولت برگ‌ها، دمای برگ، سبزی‌نگی برگ‌ها و کلروفیل فلورسانس از جمله پارامترهای مناسب جهت شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل به سطوح مختلف تنش خشکی هستند.

در RWC و Fm در سطح آبیاری ۱۰۰٪ ظرفیت زراعی، در سطح احتمال ۱٪ مثبت و معنی‌دار و در سطح آبیاری ۲۵٪ ظرفیت زراعی، در سطح احتمال ۰/۰۵٪ مثبت و معنی‌دار بود. همبستگی مثبت و بسیار معنی‌دار Fv با Fm در تمامی سطوح تنش مشاهده می‌شود (جدول ۴ و ۵). بر طبق نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر چنین استنباط می‌شود که همبستگی میان صفات RWC و ELI در سطح آبیاری ۱۰۰٪ بی‌معنی و در سطح آبیاری ۲۵٪ ظرفیت زراعی بسیار معنی‌دار شد این نتیجه حاکی از آن است که در حضور تنش شدید (۲۵٪ ظرفیت زراعی) گیاهان واکنش نشان داده و نتایج صفات محتوای آب نسبی برگ و محتوای نشت الکتروولت روندی معکوس داشته‌اند. نتایج سایر تحقیقات نیز نشان‌دهنده وجود همبستگی شاخص‌های مختلف فلورسانس سبزینه متأثر از تنش شوری می‌باشد (۶۶). کاهش محتوای نسبی آب در شرایط تنش خشکی و همبستگی مثبت و معنی‌دار این صفت با عملکرد دانه در ارقام مختلف لوبیا توسط محققین گزارش شده است (۶۵). رابطه منفی و غیر معنی‌دار بین دو صفت ELI و Fv/Fm نیز در تمامی سطوح تنش مشاهده شد که همین نتیجه را نیز محققین گزارش نمودند (۶۶). افزایش F0

جدول ۴- ضرایب همبستگی صفات مورد ارزیابی در این پژوهش در سطح آبیاری ۱۰۰٪ ظرفیت زراعی
Table 4. Correlation coefficients of the evaluated traits in this research at irrigation level of 100% Field Capacity

100%	ELI	RWC	SPAD	CTD	Fm	Fv	F0	Fv/Fm
ELI	۱/۰۰							
RWC	-۰/۴۱ ^{ns}	۱/۰۰						
SPAD	-۰/۵۹ ^{ns}	۰/۸۲ ^{**}	۱/۰۰					
CTD	-۰/۸ ^{**}	-۰/۴۷ ^{ns}	-۰/۴۸ ^{ns}	۱/۰۰				
Fm	-۰/۲۷ ^{ns}	۰/۸۹ ^{**}	۰/۷۵ [*]	-۰/۱۸ ^{ns}	۱/۰۰			
Fv	-۰/۲۳ ^{ns}	۰/۸۸ ^{**}	۰/۶۷ [*]	-۰/۲۲ ^{ns}	۰/۹۶ ^{**}	۱/۰۰		
F0	-۰/۱۶ ^{ns}	۰/۰۲ ^{ns}	۰/۳ ^{ns}	-۰/۱۸ ^{ns}	۰/۱۲ ^{ns}	-۰/۱۲ ^{ns}	۱/۰۰	
Fv/Fm	-۰/۰۳ ^{ns}	۰/۴۷ ^{ns}	۰/۱۲ ^{ns}	-۰/۲۶ ^{ns}	۰/۴۴ ^{ns}	-۰/۶۵ [*]	-۰/۸۳ ^{**}	۱/۰۰

ns و * ** : به ترتیب عدم وجود و اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال آماری پنج و یک درصد

جدول ۵- ضرایب همبستگی صفات مورد ارزیابی در این پژوهش در سطح آبیاری ۲۵٪ ظرفیت زراعی
Table 5. Correlation coefficients of the evaluated traits in this research at irrigation level of 25% Field Capacity

25%	ELI	RWC	SPAD	CTD	Fm	Fv	F0	Fv/Fm
ELI	۱/۰۰							
RWC	-۰/۹۰ ^{**}	۱/۰۰						
SPAD	-۰/۶۵ [*]	۰/۷۳ [*]	۱/۰۰					
CTD	۰/۶۲ ^{ns}	-۰/۸۳ ^{**}	-۰/۵۱ ^{ns}	۱/۰۰				
Fm	-۰/۶۸ [*]	۰/۶۸ [*]	۰/۹۳ ^{**}	-۰/۵۱ ^{ns}	۱/۰۰			
Fv	-۰/۶۵ [*]	۰/۶۸ [*]	۰/۹۳ ^{**}	-۰/۵۲ ^{ns}	۰/۹۷ ^{**}	۱/۰۰		
F0	۰/۰۷ ^{ns}	-۰/۲ ^{ns}	-۰/۳۳ ^{ns}	۰/۲۲ ^{ns}	-۰/۲۰ ^{ns}	-۰/۴۳ ^{ns}	۱/۰۰	
Fv/Fm	-۰/۴۱ ^{ns}	۰/۵ ^{ns}	۰/۷۴ [*]	-۰/۴۳ ^{ns}	۰/۶۸ [*]	۰/۸۴ ^{**}	-۰/۸۵ ^{**}	۱/۰۰

ns و * ** : به ترتیب عدم وجود و اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال آماری پنج و یک درصد

منابع

1. Abebe, A., M.A. Brick and R. Kirkby. 1998. Comparison of selection indices to identify productive dry bean lines under diverse environmental conditions. *Field Crops Research*, 58: 15-23.
2. Abolhasani, K. and G. Saiedi. 2006. Evaluation of drought tolerance of safflower lines based on tolerance and sensitivity indices to water stress. *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resourc*, 10(3): 407-418 (In Persian).
3. Ahmadzadeh, M. 2013. Physiological and agromorphological response to drought stress. *Middle-East Journal Science Research*, 13: 998-1009.
4. Ali, A., N. Ali, N. Ullah, F. Ullah, M. Adnan and Z. Ahmad. 2013. Effect of drought stress on the physiology and yield of the Pakistani wheat germplasm. *International Journal of Advanced Science and Technology*, 2: 419- 430.
5. Almeselmani, M., F. Abdullah, F. Hareri, M. Naaesan, M.A. Ammar and O. Zuher-Kanbar. 2011. Effect of drought on different physiological characters and yield component in different varieties of Syrian durum wheat. *Journal of Agricultural Science*, 3: 127-133.
6. Antonin, M.C., J. Yeller and M. Sanchez- Diaz. 1995. Effect of temporary drought on nitrate –fed and nitrogen –fixing alfalfa plants. *Plant Science*, 107: 159-165.
7. Bajji, M., J.M. Kinet and S. Lutts. 2002. The use of the electrolyte leakage method for assessing cell membrane stability as a water stress tolerance test in durum wheat. *Journal of Plant Growth Regulation*, 36(1): 61-70.
8. Basu, P.S., S. Ashoo, N.P. Sukumaran and A. Sharma. 1998. Changes in net photosynthetic rate and chlorophyll fluorescence in potato leaves induced by water stress. *Photosynthetic*, 35: 13-19.
9. Behra, R.K., P.C. Mishra and N.K. Choudhury. 2002. High irradiance and water stress induce alteration pigment composition and chloroplast activities of primary wheat leaves. *Plant Physiology*. 159: 967-973.
10. Blum, A. 1988. *Plant breeding for stress environments*. CRC Press, USA, 222: 46-55.
11. Cornic, G. 2000. Drought stress inhibits photosynthesis by decreased stomatal aperture – not by affecting ATP synthesis. *TIBS*, 5: 187-188.
12. De Lucena, C.C., D.L. De Siqueira, H.N. Martinez and P.R. Cecon. 2012. Salt stress change chlorophyll fluorescence in mango, *Fruticultura Jaboticabal*, 34(4): 1245-1255.
13. Emeterio-Payro, D.L.C., P. Gepts, P.C. Garciamarin and D.Z. Villareal. 2004. Spatial distribution of genetic diversity in the wild population of (*Phaseolus vulgaris* L.) from Guanajuato and Michoacan, Mexico. *Genetic Crop Research*, 9: 1-11.
14. Erdem, Y., S. Shirali, T. Erdem and D. Kenar. 2006. Determination or crop water stres index for irrigation scheduling of Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal Agriculture and Forest*, 30: 195-202.
15. Flageaa, Z., B. Pastore, R.G. Campanile and N. Di Fonzo. 1994. Photochemical quenching of chlorophyll fluorescence and drought tolerance in different durum wheat (*Triticum durum*) cultivars. 1. *Agricultural Science Cambridge*, 122(2): 183-192.
16. Fracheboud, Y. 2006. Using chlorophyll fluorescence to study photosynthesis. *Institute of Plant Sciences ETH, Universitatstrass, CH-8092 Zurich*.
17. Ghanbari, A., M.R. Shakiba, M. Toorchi and R. Choukan. 2013. Morpho-physiological responses of common bean leaf to water deficit stress. *European Journal of Experimental Biology*, 3: 487-492.
18. Hak, R., U. Rinderle-Zimmer, H.K. Linchtenthaler and L. Natr. 1993. Chlorophyll a fluorescence signatures of nitrogen deficient barley leaves. *Photosynthetic*, 28: 151-159.
19. Hossein, S., E. Aalii, R. Seifollahi and A. Parchehbai. 2012. Physiological traits related to yield of wheat under drought stress in early, mid and late stages of grain filling. *Annual Biology Research*, 3: 2947- 2952.
20. Hosseini Salekdeh, G.R., R. John, E. Boyer and M. John. 2009. Conceptual framework for drought phenotyping during molecular breeding. *Trends in Plant Science*, 14: 1360-1385.
21. Johnson, R., N.M. Frey and N. Dale. 2002. Effect of water stress on photosynthesis and transpiration of flag leaves and spikes of barley and wheat. *Crop Science*, 5: 728-731.
22. Jones, H.G. 2004. Application of thermal imaging and infrared sensing in plant physiology and ecophysiology. *Advances in Botanical Research*, 41: 107-163.
23. Kamoshita, A., R.C. Babu, N.M. Boopathi and S. Fukai. 2008. Phenotypic and genotypic analysis of drought-resistance traits for development of rice cultivars adapted to rainfed environments. *Field Crop Research*, 109: 1-23.
24. Katerji, N., J.W. Van Hoorn, A. Hamdy, M.M. Mastrorilli and E. Karzel. 1997. Osmotic adjustment of sugar beets in response to soil salinity and its influence on stomatal conductance, growth and yield. *Agriculture Water Manage*, 34: 57-69.
25. Keyvan, S. 2010. The effects of drought stress on yield, relative water content, proline, soluble carbohydrates and chlorophyll of bread wheat cultivars. *Journal Animal Plant Science*, 8: 1051–1060.
26. Lawlor, D.W. and G. Cornic. 2002. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants, *Plant, Cell and Environment*, 25: 275-294.

27. Legg, B.J., W.D. Day, W. Lawlor and K.J. Parkinson. 2000. The effects of drought on barley growth: models and measurements showing the relative importance of leaf area and photosynthetic rate. *The Journal of Agricultural Science*, 92: 703-716.
28. Levitt, J. 1980. Responses of plants to environmental stress: Water, radiation, salt and other stresses, (2nd ed.). Academic Press, New York, 3-211.
29. Lewis, G., B. Schrire, B. Mackinder and M. Lock. 2005. Legumes of the world. The Royal Botanic Gardens, Kew, Richmond, UK, 577 pp.
30. Liang, J., J. Zhang and M. Woog. 1997. Can stomatal closure caused by xylem ABA explain the inhibition of leaf photosynthesis under soil drying? *Photosynthesis Research*, 51: 149-159.
31. Luquet, D., A. Begue, A. Vidal, P. Clouvel, J. Dauzat, A. Oliosio, X.F. Gu and Y. Tao. 2003. Using multidirectional thermography to characterize water status of cotton. *Remote Sens. Environ*, 84: 411-421.
32. Lutts, S., J.M. Kinet and J. Bouharmont. 1996. NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Journal Annals of Botany*, 78: 389-398.
33. Ma, B.L., M.J. Morison and H.D. Videng. 1995. Leaf greenness and photosynthetic rates in soybean. *Crop Science*, 35: 1411-1414.
34. Mamnoei, E. and S.R. Sharifi. 2010. Study the effects of water deficit on chlorophyll fluorescence indices and the amount of proline in six barley genotypes and its relation with canopy temperature and yield. *Journal of Plant Biology*, 5: 51-62 (in Persian).
35. Manivannan, P., C.A. Jaleel, A. Kishorekumar, B. Sankar, R. Somasundaram and R. Panneerselvam. 2008. Protection of *Vigna unguiculata* (L.) Walp. Plants from salt stress by paclobutrazol, *Colloids Surf. B: Biointerfaces*, 61: 315-318.
36. Manivannan, P., C.A. Jaleel, A. Kishorekumar, B. Sankar, R. Somasundaram, R. Sridharan and R. Panneerselvam. 2007. Changes in antioxidant metabolism of *Vigna unguiculata* (L.) Walp. By propiconazole under water deficit stress, *Colloids Surf. B: Biointerfaces*, 57: 69-74.
37. Martinez, J.P., H. Silva, J.F. Ledent and M. Pinto. 2007. Effect of drought stress on the osmotic adjustment, cell wall elasticity and cell volume of six cultivars of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Europ Journal Agronomy*, 26: 30-38.
38. Miyashita, K., S. Tanakamaru, T. Maitani and K. Kimura. 2005. Recovery responses of photosynthesis, transpiration, and stomatal conductance in kidney bean following drought stress. *Environmental and Experimental Botany*, 53: 205-214.
39. Moffatt, J., M.R.G. Sears and G. Paulsen. 1990. Wheat height temperature tolerance during reproductive growth. Evaluation by chlorophyll fluorescence. *Crop Science*, 112: 881-885.
40. Molnar, I., L. Gaspar, L. Stehli, S. Dulai, E. Sarvari, I. Kiraly, G. Galiba and M. Molnar-Lang. 2002. The effects of drought stress on the photosynthetic processes of wheat and of *Aegilops biuncialis* genotypes originating from various habitats. *Proceeding of the 7th Hungarian Congress on Plant Physiology. Acta Biologica*, 46: 115-116.
41. Musavizadeh, Z.S., H. Najafi Zarini, S.H. Hashemi-Petroudi and S.K. Kazemitabar. 2018. Assessment of proline, chlorophyll and malondialdehyde in sensitive and tolerant rice (*Oryza sativa* L.) cultivars under salt stress conditions. *Journal of crop breeding*, 10 (25): 28-35.
42. Naroui Rad, M.R., M. Abdul Kadir, M.Y. Rafii, H.Z.E. Jaafa and M. Danaee. 2013. Gene action for physiological parameters and use of relative water content (RWC) for selection of tolerant and high yield genotypes in F2 population of wheat. *Australian Journal of Crop Science*, 7(3): 407-413.
43. Nouri, A., A. Etmnan, J.A.T. Silva and R. Mohammadi. 2011. Assessment of yield, yield related traits and drought tolerance of durum wheat genotypes (*Triticum turgidum* var. durum Desf.). *Australian Journal of Crop Science*, 5(1): 8-16.
44. Patel, N.R., A.N. Mehta and A.M. Shekh. 2001. Canopy temperature and water stress quantification in rainfed pigeonpea (*Cajanus cajan* L.). *Agriculture Forest Meteorology*, 109: 223-232.
45. Percival, G.C. 2005. Use of chlorophyll fluorescence to identify chemical and environmental stresses in leaf tissue of three oak species. *Journal of Arboriculture*, 31(5): 215-227.
46. Rahbarian, R., R.A. Khavari-nejad, A. Ganjeali, A.R. Bagheri and F. Najafi. 2011. Drought stress effects on photosynthesis, chlorophyll fluorescence and water relations in tolerant and susceptible chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes. *ACTA Biologica Cracoviensia Series Botanica*, 53: 47-56.
47. Ramirez-Vallejo, P. and J.D. Kelly. 1998. Traits related to drought resistance in common bean. *Euphytica*, 99: 127-136.
48. Ranjbar-Fordoei, A., R. Samson and P. Van Damme. 2006. Chlorophyll fluorescence performance of sweet almond (*Prunus dulcis* (Miller) D. Webb) in response to salinity stress, *Photosynthetica*, 44(4): 513-522.
49. Rascio, A., M. Russo, C. Platani and N. Difonzo. 1998. Drought intensity effects on genotypic differences in tissue affinity for strongly bound water. *Plant Science*, 132: 121-126.
50. Renu, M., S.S. Dhanda, R.K. Rana and I. Singh. 2004. Membrane thermostability as an indicator of heat tolerance at seedling stage in bread wheat. *National Journal of Plant Improvement*, 6: 133-135.

51. Sadeghi, F. 2018. Evaluation of drought tolerance indices of grain maize hybrids under deficit irrigation. *Journal of crop breeding*, 10 (25): 81-90.
52. Sairam, R.K. and D.C. Saxena. 2000. Oxidative stress and antioxidant in wheat genotypes: possible mechanism of water stress tolerance. *Journal Agronomy and Crop Science*, 184: 55-61.
53. Sanchez-Rodríguez, E., M. Rubio-Wilhelmi, L.M. Cervilla, B. Blasco, J.J. Rios, M.A. Rosales, L. Romero and J.M. Ruiz. 2010. Genotypic differences in some physiological parameters symptomatic for oxidative stress under moderate drought in tomato plants. *Plant Science*, 178: 30-40.
54. Schlemmer, M.R., D.D. Francis, J.F. Shanahan and J.S. Schepers. 2005. Remotely measuring chlorophyll content in corn leaves with differing nitrogen levels and relative water content. *Agronomy Journal*, 97: 106-112.
55. Schonfeld, M.A., R.C. Johnson, B.F. Carver and D.W. Mornhinweg. 1988. Water relations in winter wheat as drought resistance indicators. *Crop Science*, 28: 526-531.
56. Siva, M.A., J.A. Da Silva and S. Sharma. 2007. Use of physiology parameters as fast tools to screen for drought tolerance in sugarcane. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 19: 193-201.
57. Slabbert, M.M. and G.H.J. Krüger. 2014. Antioxidant enzyme activity, proline accumulation, leaf area and cell membrane stability in water stressed *Amaranthus* leaves. *South African Journal of Botany*, 95: 123-128.
58. Taize, L. and E. Zaiger. 2007. ABA and drought adaptation. Chapter, 25: 671-682.
59. Turkan, I., M. Bor, F. Ozdemir and H. Koca. 2005. Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of drought - tolerant *P. Acutifolius* Gray and drought-sensitive *P. vulgaris* L. subjected to polyethylene glycol mediated water stress. *Plant Science*, 168: 223-231.
60. Velu, G. and K. Palanisami. 2002. Impact of moisture stress on growth and yield of sunflower. *Madras Agricultural Journal*, 88: 660-665.
61. Wanjura, D.F., S.J. Mass, J.C. Winslow and D.R. Upchurch. 2004. Scanned and spotmeasured canopy temperatures of cotton and corn. *Computers and Electronics in Agriculture*, 44: 33-48.
62. Wanjura, D.F. and D.R. Upchurch. 2000. Canopy temperature characterization of corn and cotton water status. *Transaction ASAE*, 43: 867- 875.
63. Ward, K., R. Scarth, J. Daun and P.B.E. Mcvetty. 1992. Effects of genotype and environment on seed chlorophyll degradation during ripening in four cultivars of oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Canadian Journal of Plant Science*, 72: 643-649.
64. Yang, Y., Q. Liu, C. Han, Y.Z. Qiao, X.Q. Yao and H.J. Yin. 2007. Influence of water stress and low irradiance on morphological and physiological characteristics of *Picea asperata* seedlings. *Photosynthetica*, 45(4): 613-619.
65. Zadehbagheri, M., M.M. Kamelmanesh, S. Javanmardi and S. Sharafzadeh. 2012. Effect of drought stress on yield and yield components, relative leaf water content, proline and potassium ion accumulation in different white bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotype. *African Journal Agriculture Research*, 7(42): 5661-5670.
66. Zamanian, M., S.A. Syadat, GH. Fathi, R. Ghogan, A. Jafari, M. Bakhshandeh and A. Moghadam. 2013. Application of chlorophyll fluorescence attributes in selection for cold tolerance in some clover species. *Seed and Plant Production Journal*, 29: 251-267 (In Persian).
67. Zlatev, Z. 2009. Drought-induced changes in chlorophyll fluorescence of young wheat plants. *Biotechnol. Biotechnol. Equip*, 23(4): 438-441.
68. Zlatev, Z.S. and I.T. Yordanov. 2004. Effects of soil drought on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in bean plants. *Bulg Journal Plant Physiol*, 30: 3-18.

The Effect of Different Levels of Drought Stress on some Physiological Traits and Chlorophyll Fluorescence of bean Genotypes (*Phaseolus Vulgaris* L.)

Shokoufeh Dastneshan¹, Mohammad Reza Bihamta², Alireza Abbasi³ and Manijeh Sabokdast⁴

1, 3 and 4- M.Sc., Associate Professor and Assistante Professor, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran

2- Professor, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran
(Corresponding author: mrghanad@ut.ac.ir)

Received: February 2, 2018

Accepted: September 24, 2018

Abstract

Due to the fact that drought is known as one of the most important factors limiting the growth and production of crops. Identification of tolerant drought stress genotypes is essential. The present study was conducted to evaluate the tolerance of bean genotypes and the effects of different levels of drought stress on some of their physiological traits and their chlorophyll fluorescence to different levels of drought stress. This study was carried out in a factorial experiment using randomized complete block design with drought stress (100%, 75%, 50% and 25% field capacity) in a research greenhouse in university of Tehran. According to the results, applying severe stress caused a decrease in the relative water content of the leaves, but the content of the electrolyte leakage and the leaf temperature of the samples were increased. On the other hand, leaves vegetation, Fm, Fv, Fv/Fm increased with gentle stress compared to control (75% capacity), but severe stresses showed a significant decrease in these traits. Also, F0 increased in severe stresses. The highest leaf vegetation, Fv/Fm, Fm and Fv, as well as the lowest leaf temperature and electrolyte leakage content were related to COS-16 and D81083 genotypes at all levels of stress, respectively. Accordingly, COS-16 and D81083 genotypes were recognized as tolerant and semi-tolerant genotypes for drought stress. Also, the results showed that drought stress had a negative effect on bean genotypes, but the magnitude of these damages was different due to differences in genotypes.

Keywords: Electrolyte leakage, Leaf vegetation, Leaf temperature, Relative water content of leaf