

اثر تغذیه روی برخی صفات فیزیولوژیک نخود (*Cicer arietinum* L.) در تنش کم آبی

نادر دادخواه^۱، علی عبادی^۲، قاسم پرمون^{۳*}، عبدالقیوم قلی پوری^۲ و سدابه جهانبخش^۳

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد زراعت، علوم و تکنولوژی بذر دانشگاه محقق اردبیلی

۲ و ۳- به ترتیب دانشیار و استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه محقق اردبیلی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۳/۱۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۱/۱۴

چکیده

به منظور مطالعه تأثیر کم آبی و محلول پاشی سولفات روی بر ویژگی‌های فیزیولوژیک نخود آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در مزرعه تحقیقاتی و آزمایشگاه دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۳۹۲ اجرا گردید. تیمارهای آزمایشی شامل سه سطح آبیاری (آبیاری در زمان کاشت؛ آبیاری در زمان کاشت و قبل از گلدهی؛ و آبیاری در زمان کاشت، قبل از گلدهی و غلاف‌دهی) و سه سطح محلول پاشی روی (صفر، ۳ و ۶ کیلوگرم روی در هکتار به صورت سولفات روی) در دو مرحله ۱۵ و ۲۵ روز پس از کاشت بود. نتایج نشان داد کم آبی موجب افزایش میزان پرولین، لیزین، قندهای محلول و کاهش متیونین، پروتئین و پتانسیل اسمزی شد. محلول پاشی با ۶ کیلوگرم در هکتار سولفات روی سبب افزایش میزان پرولین، پروتئین، قندهای محلول و پتانسیل اسمزی شد، ولی بر میزان لیزین و متیونین تأثیر معنی‌داری نداشت. نتایج نشان داد همبستگی صفات با افزایش مدت زمان بعد از اعمال تنش بیشتر می‌شود، به طوری که در ۳۳ روز بعد از تنش، تنها پرولین و در ۷۵ روز همه صفات با پتانسیل اسمزی همبستگی معنی‌دار داشتند. نتایج معادلات رگرسیونی نیز نشان داد در مراحل اولیه نمونه‌برداری میزان پرولین بیشترین سهم را در پیش‌بینی میزان پتانسیل اسمزی داشت، ولی با گذشت زمان سهم لیزین و متیونین و پروتئین‌ها در پیش‌بینی پتانسیل اسمزی افزایش پیدا کرد. به طور کلی می‌توان گفت تنش میزان پتانسیل اسمزی را کاهش داده و در این شرایط تولید متابولیت‌های ثانویه افزایش یافت. در بین متابولیت‌های ثانویه، پرولین بیشترین حساسیت را به تنش داشت و در سطوح پایین تنش تولید آن جهت تنظیم اسمزی مناسب می‌باشد، ولی با شدت یافتن تنش گیاه از متابولیت‌هایی مانند لیزین و متیونین نیز جهت تنظیم اسمزی استفاده می‌کند.

واژه‌های کلیدی: پرولین، قندهای محلول، لیزین، همبستگی

مقدمه

اسمزی از جمله پرولین و کربوهیدرات‌های محلول، پتانسیل اسمزی خود را کاهش می‌دهد (Zhang et al., 1999). تنظیم اسمزی یکی از مهم‌ترین مکانیزم‌های تحمل خشکی در گیاهان است و به واسطه کاهش پتانسیل اسمزی از طریق تجمع املاح در سلول‌های گیاه با حفظ پتانسیل آماس سلول‌ها به توسعه سلولی و رشد گیاه در شرایط تنش کمک می‌کند (Mansour et al., 2005). پرولین یک مولکول آلی است که در گیاهان تحت تنش به عنوان محافظ ماکرومولکول‌ها (پروتئین‌ها و غشاها)، منبع انرژی و حتی ترانسان علامت در تنش عمل می‌کند (Rahnama & Ebrahimzadeh, 2004). پرولین قادر به محافظت از پروتئین‌ها و افزایش فعالیت‌های مختلف آنزیمی است و همچنین در پایداری ساختارهای غشاها و پروتئین‌ها، خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد و تنظیم پتانسیل اکسید و احیایی در شرایط تنش نقش دارد (Szabados & Savoure, 2009). قندهای محلول، دسته دیگری از محافظت‌کننده‌های اسمزی هستند که در پاسخ به تنش

نخود (*Cicer arietinum* L.) در بین حبوبات، سومین گیاه مهم است که در جنوب آسیا، خاورمیانه و شرق آفریقا به طور گسترده‌ای کشت می‌شود. عمده مناطق تولید نخود در نقاط خشک و نیمه خشک قرار دارند و حدود ۹۰ درصد از نخود جهان در شرایط دیم تولید می‌شود. تنش خشکی از مهم‌ترین عوامل کاهش‌دهنده عملکرد نخود به حساب می‌آید (Sabaghpour, 2004). کم آبی یکی از عوامل محدودکننده تولیدات گیاهان زراعی است، علت اصلی تنش آب در گیاه افزایش میزان تلفات آب یا کافی نبودن میزان جذب آب و یا ترکیبی از هر دو است که موجب افزایش تلفات آب ناشی از تعرق در مقایسه با آب جذب شده توسط ریشه‌ها می‌شود (Hajebi & Hidary Sharifabady, 2005). در چنین شرایطی گیاه به منظور ادامه جذب آب، از طریق تجمع ترکیبات

* نویسنده مسئول: ghasem.parmoon@gmail.com

(2004) گزارش نمودند کاربرد روی موجب افزایش روی، آهن و پروتئین در دانه گندم گردید. (Marschner 1995) گزارش کرد در اثر مصرف آهن و روی در ذرت، مقدار نشاسته و پروتئین دانه افزایش و با افزایش کربوهیدرات وزن هزاردانه، تعداد دانه و در نتیجه عملکرد دانه افزایش یافت. نتایج نشان داد تنش کمبود آب سبب افزایش غلظت پروتئین و کل کربوهیدرات‌های محلول در نخود گردید، به گونه‌ای که محتوای پروتئین و کل کربوهیدرات‌های محلول در سطح ۲۵ درصد ظرفیت زراعی به ترتیب ۳۲ و ۲ برابر افزایش یافت (Samen et al., 2011). با توجه به مطالب بیان شده هدف از این مطالعه بررسی نقش برخی از متابولیت‌های سازگاری در تنظیمات سلول‌های برگ نخود در شرایط تنش و نقش محلول‌پاشی روی در این تغییرات می‌باشد.

مواد و روش‌ها

آزمایش مزرعه‌ای به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار و آزمایش آزمایشگاهی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سال ۱۳۹۲ در دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی اجرا گردید. فاکتور اول، به صورت سه سطح آبیاری (۱- آبیاری در زمان کاشت، ۲- آبیاری در زمان کاشت و قبل از گلدهی، ۳- آبیاری در زمان کاشت، قبل از گلدهی و غلاف‌دهی) و فاکتور دوم، سه سطح محلول‌پاشی روی (صفر، ۳ و ۶ کیلوگرم روی در هکتار به صورت سولفات روی) در دو مرحله ۱۵ و ۲۵ روز پس از کاشت، در نظر گرفته شدند.

آزمایش در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه محقق اردبیلی واقع در ۱۰ کیلومتری شرق اردبیل با مختصات جغرافیایی ۳۸ درجه و ۱۵ دقیقه عرض شمالی و ۴۸ درجه و ۱۵ دقیقه طول شرقی و دارای میانگین بارندگی سالانه ۴۰۰ میلی‌متر اجرا شد. خصوصیات خاک‌شناسی منطقه طبق آزمون خاک در عمق ۰ تا ۳۰ سانتی‌متری خاک، شوری ۰/۴۱ دسی‌زمینس بر متر، pH خاک ۷/۶۲، درصد اشباع خاک ۵۴/۹، کربنات کلسیم معادل ۱/۲۵ درصد، کربن آلی ۲۹ درصد، نیتروژن کل ۰/۱۵۴ درصد، فسفر قابل جذب ۸/۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم، روی ۰/۵۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم، رس ۳۷/۵ درصد، سیلت ۲۲/۵ درصد، شن ۴۰ درصد و بافت خاک لوم رسی بود. مزرعه در پاییز شخم عمیق زده شد و در بهار عملیات تکمیلی تهیه زمین شامل شخم سطحی، دیسک‌زنی و همچنین کرت‌بندی انجام شد. بذور از نوع توده محلی بیونچ، از ایستگاه تحقیقات کرمانشاه تهیه شد و با تراکم ۴۰ بوته در متر مربع کشت شد. هر کرت آزمایشی به مساحت ۸ مترمربع بود، در هر کرت ۵ ردیف نخود

خشکی وضعیت آنها در برگ‌ها شروع به تغییر می‌کند و این امر ممکن است به عنوان یک سیگنال متابولیک عمل کند (Pagter et al., 2005). قندهای محلول باعث ممانعت از چسبندگی غشاهای مجاور در طول دوره تنش، نگهداری لیپیدها، پایداری پروتئین‌ها و تنظیم بیان ژن می‌شوند (Ho et al., 2001). سنتز پروتئین‌ها یکی از اصلی‌ترین عوامل در رشد سلول‌ها محسوب می‌گردد. بنابراین تنش خشکی که موجب توقف سنتز پروتئین‌ها می‌گردد، باعث کاهش رشد نیز خواهد شد. تخریب پروتئین‌ها و انباشت برخی اسیدآمین‌های آزاد در جهت حفظ و تنظیم پتانسیل اسمزی سلول و کاهش سنتز پروتئین در شرایط تنش خشکی نیز مشاهده شده است. مقدار پروتئین بافت‌های گیاه تحت شرایط خشکی یا شوری به دلیل افزایش پروتئولیز و کاهش سنتز پروتئین کاهش می‌یابد (Moran et al., 1994).

متیونین نیز یکی دیگر از اسیدهای آمینه است که به عنوان اسید آمینه‌های ضروری غیرقطبی طبقه‌بندی و به همراه سیستئین یکی از دو اسید آمینه حاوی سولفور می‌باشد. متیونین به عنوان یک واسطه در بیوسنتز سیستئین، کارنتین، تورین، لستین، فسفولیپیدها دارای نقش بوده و همچنین به عنوان پیش‌ساز هورمون اتیلن در تنظیم حرکات روزنه‌ای برگ مؤثر است. متیونین به عنوان باقی‌مانده پروتئین‌های اکسیدشده، می‌تواند توسط رایکال‌های فعال اکسیژن تولیدشده در سیستم‌های بیولوژیک تولید شود (Refsum et al., 1998; Vogt, 1995). همچنین لیزین در تنظیم بازشدن روزنه‌های برگ، در تندش دانه‌های گرده و در سنتز کلروفیل کاربرد دارد که می‌تواند نقش مهمی در افزایش تحمل گیاه به تنش ایفا کند (Najafy et al., 2013).

عنصر روی در بسیاری از سیستم‌های آنزیمی گیاه نقش کاتالیزور فعال‌کننده و یا ساختمانی دارد و در گیاه در ساخته شدن و تخریب پروتئین‌ها دخالت دارد. روی از عناصر کم‌مصرف ضروری است که برای رشد طبیعی و باروری گیاهان زراعی ضروری است (Brown et al., 1993). (Marschner 1995) بیان کرد که عنصر روی نقش بسیار مهمی در سنتز پروتئین و کربوهیدرات‌ها، اعمال متابولیکی سلول، محافظت از غشاء در مقابل رادیکال‌های آزاد اکسیژن و سایر فرآیندهای مرتبط با سازگاری گیاهان به تنش‌ها دارد.

نتایج پژوهش‌ها نشان داد تنش خشکی و کاربرد سولفات روی سبب افزایش میزان پروتئین و عناصر غذایی در ذرت شد (Sajedi & Rjay, 2011). (Thalooth et al., 2005) نشان دادند که محلول‌پاشی عنصر روی، اثر مثبتی بر عملکرد و اجزای عملکرد آفتابگردان داشت. (Aziz zade Firozy et al.

استخراج پروتئین کل از برگ به روش برادفورد انجام گرفت. در این روش ۰/۱ گرم برگ را با ۱ میلی‌لیتر بافر استخراج، له نموده سپس نمونه‌ها با استفاده از سانتریفیوژ (۱۱۵۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ سانتی‌گراد) به مدت ۲۱ دقیقه سانتریفیوژ شدند. در ادامه در هر لوله آزمایش ۵ میلی‌لیتر محلول برادفورد و ۹۹۰ میکرولیتر بافر استخراج افزوده و سپس به هر کدام ۱۰ میکرولیتر عصاره افزوده و بعد از به هم زدن میزان جذب در طول ۵۹۵ نانومتر قرائت شد (Bradford, 1976). اندازه‌گیری لیزین و متیونین با استفاده از روش Ferrel et al., (1969) صورت گرفت. در این روش ۰/۵ گرم نمونه را در ۵۰ میلی‌لیتر از هیدروکلریک اسید (۱/۰ نرمال) حل کرده آن را با آب به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده و صاف کرده و سپس نیم میلی‌لیتر از آن را با گلیسرول (۰/۵٪)، ۲ میلی‌لیتر از بافر فسفات (pH=6) و ۱ میلی‌لیتر نین‌هیدرین حل و به مدت ۳۰ دقیقه در آب جوش ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده و جذب لیزین در طول موج ۵۷۰ نانومتر قرائت شد. برای اندازه‌گیری متیونین ۱۰ میلی‌لیتر از محلول فیلتر شده در مرحله بالا را با ۴ میلی‌لیتر از سدیم هیدروکسید (۵ نرمال)، ۲ میلی‌لیتر از محلول گلیسین آبدار و ۲ میلی‌لیتر از محلول سدیم نیتروفری سیانید آبدار (۰/۱) مخلوط نموده و محلول حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس ۵ میلی‌لیتر هیدروکلریک اسید (۱:۱) را به آن افزوده و بعد از صاف نمودن در میزان جذب در ۵۱۰ نانومتر قرائت شد.

تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت. تجزیه رگرسیونی با استفاده از نرم افزار Minitab، همبستگی با استفاده از SPSS و رسم نمودارها با Excel صورت گرفت.

نتایج و بحث

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، اثرات اصلی کم‌آبی بر میزان پرولین برگ‌ها در ۳۳ روز بعد از تنش دارای اثر معنی‌دار نبود، ولی بر میزان پرولین در ۵۵ و ۷۵ روز در سطح ۱ و ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین‌های اثرات اصلی در مورد تنش کم‌آبی نشان داد در مرحله دوم و سوم نمونه‌برداری بیشترین میزان انباشت پرولین (به ترتیب ۰/۹۰۴ و ۱/۱۸۸ میکروگرم بر گرم وزن تر بافت) از یک بار آبیاری و کمترین میزان آن (به ترتیب ۰/۵۹۵ و ۰/۸۳۸ میکروگرم بر گرم وزن تر) از سه بار آبیاری مشاهده شد (جدول ۲). همچنین کاربرد سولفات روی در ۳۳ روز بعد از تنش تأثیر بر میزان

فاصله بین ردیف ۴۰ سانتی‌متر و به طول ۴ متر کشت گردید. در طول دوره رشد، کنترل علف‌های هرز چندین بار به طریق دستی انجام شد. به منظور مبارزه با آفت هلیوتیس، گیاهان با سم مالاتیون به نسبت دو در هزار سمپاشی شدند. پتانسیل اسمزی بر اساس هدایت الکتریکی در ۷۵ روز بعد از اعمال تنش اندازه‌گیری شد. در این روش یک گرم بافت برگ را پس از له کردن، با آب مقطر، به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسانده و EC آن در دمای ۲۵°C درجه سلسیوس قرائت شد. محتوای آب یک گرم دیگر از برگ‌های نمونه هم با قراردادن نمونه‌ها در آن در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت به دست آمد. با استفاده از معادلات زیر پتانسیل اسمزی محاسبه گردید (Janardhan & Krishnamorthy, 1975).

$$Df^1 = \frac{\text{مقدار آب موجود در برگ گرم بافت برگی}}{\text{مقدار آب موجود در برگ گرم بافت برگی}} \times 25$$

$$OP^2 = \frac{EC(25)}{0.678}$$

میزان پرولین، لیزین، متیونین، قندهای محلول و پروتئین در سه مرحله ۳۳، ۵۵ و ۷۵ روز بعد از اعمال تنش اندازه‌گیری شد. استخراج پرولین از جوان‌ترین برگ‌ها صورت گرفت. در این روش مقدار یک گرم بافت برگ‌ها در ۱۰ میلی‌لیتر سولفوسالیسیلیک اسید ۳/۳٪ ساییده و سپس با سرعت ۴۰۰۰ دور بر دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید و به ۲ میلی‌لیتر از عصاره حاصل، ۲ میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید اسیتیک گلاسیال خالص اضافه گردید. لوله‌ها به مدت یک ساعت در بن‌ماری قرار گرفته و پس از اضافه کردن ۴ میلی‌لیتر تولوئن به هر کدام از لوله‌ها، به مدت ۱۵ تا ۲۰ ثانیه ورتکس گردیدند. پس از تشکیل دو فاز جداگانه، فاز بالایی رنگی، در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت شد (Bates et al., 1973). استخراج قندهای محلول با استفاده از روش فنل سولفوریک (Irigoyen et al., 1992) صورت گرفت. در این روش ۰/۲ گرم از برگ‌ها پودر شده با ۲ میلی‌لیتر بافر سدیم فسفات (pH=7) ساییده و با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. از محلول روشن‌ر ۱۰ میکرولیتر برداشته و به آن ۹۹۰ میکرولیتر آب مقطر افزوده شد. به ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول حاصل، ۰/۵ میلی‌لیتر فنل ۵٪ (محلول آبی) و ۲/۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک (۰/۹۸٪) اضافه گردید و جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۹۰ نانومتر صورت گرفت.

¹ Dillution factor

² Osmotic potential

افزایش فواصل آبیاری و کاهش رطوبت خاک، پتانسیل آب سلول به پایین‌تر از حد آستانه رسیده و با افزایش آنزیم پروتئولاز، سنتز پرولین به‌منظور بالابردن توان جذب آب افزایش یافته است. کاهش تورژسانس، عامل اولیه تجمع پرولین در تنش خشکی است. کاهش تورژسانس باعث فعال شدن یک توالی پیچیده فرآیندهای تطابقی مرتبط با سطح تحمل گیاه به تنش می‌شود (Syosemarde *et al.*, 2009). تجمع پرولین در زمان تنش کم‌آبی در سیتوپلاسم بوده و به‌عنوان یک ماده محلول، سبب محافظت از ساختمان ماکرومولکول‌های درون سلول، تنظیم اسمزی، نگهداری تورژسانس سلول و در مجموع موجب انطباق گیاه با شرایط تنش شده است (Bokhari & Trent, 1985).

پرولین نداشت، درحالی‌که در ۵۵ و ۷۵ روز به‌ترتیب در سطح ۱ و ۵ درصد تأثیر معنی‌دار نشان داد (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد در ۵۵ و ۷۵ روز بعد از تنش، کاربرد ۶ کیلوگرم روی در هکتار باعث افزایش معنی‌دار میزان پرولین تولیدشده نسبت به سایر سطوح روی شد، به طوری‌که در ۵۵ روز بعد از تنش میزان پرولین از ۰/۶۳۰ به ۰/۸۵۱ و در ۷۵ روز از ۰/۸۸۲ به ۱/۰۸۱ میکروگرم بر گرم وزن تر رسید (جدول ۲).

نتایج دیگر پژوهش‌ها نیز تأییدکننده این مطالب می‌باشد، به طوری‌که در نخود و بادرنجبویه نیز به افزایش محتوای پرولین برگ برای اجتناب از تنش کم‌آبی اشاره شده است (Abbasi Zade *et al.*, 2007; Dehqanzadeh *et al.*, 2008; Verbruggen & Hermans, 2008). به نظر می‌رسد با

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) میزان اسیدآمین‌های پرولین، متیونین و لیزین طی ۳۳، ۵۵ و ۷۵ روز بعد از تنش

کم‌آبی و کاربرد روی

Table 1. Analysis of variance (mean squares) for proline, methionine and lysine content in 33, 55 and 75 day after stress and usage zinc

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات (MS)									
		پرولین Proline			متیونین Methionine			لیزین Lysine			
		33day	55day	75day	33day	55day	75day	33day	55day	75day	
تنش	Stress	2	0.230**	0.147**	0.275**	0.000033 ^{ns}	0.000050**	0.00019**	0.000056 ^{ns}	0.0439**	0.094**
روی	Zinc	2	0.116*	0.117*	0.116**	0.000002 ^{ns}	0.000003 ^{ns}	0.00016 ^{ns}	0.00020 ^{ns}	0.000090 ^{ns}	0.0075 ^{ns}
اثرات متقابل	Stress×Zinc	4	0.028 ^{ns}	0.002 ^{ns}	0.002 ^{ns}	0.000022	0.000006 ^{ns}	0.000022 ^{ns}	0.000065 ^{ns}	0.00045 ^{ns}	0.0010 ^{ns}
خطا	Error	18	0.020	0.021	0.006*	0.000021	0.000007	0.000054	0.00017	0.00073	0.0023
ضریب تغییرات	CV%	-	19.54	19.34	8.03	12.56	8.85	9.10	11.02	9.48	10.55

ns: غیر معنی‌دار، * : معنی‌دار در سطح ۵ درصد و **: معنی‌دار در سطح ۱ درصد.

ns: Non-significant; * and **: Significant at 5% and 1% probability levels, respectively

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) میزان پروتئین و قندهای محلول طی ۳۳، ۵۵ و ۷۵ روز بعد از تنش کم‌آبی و کاربرد

سولفات روی و پتانسیل اسمزی

Table 2. Analysis of variance (mean squares) for protein, soluble sugar and potansil osmotic content in 33, 55 and 75 day after stress and usage zinc

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات (MS)								
		پروتئین Protein			قندهای محلول Soluble sugar			پتانسیل اسمزی Osmotic potential		
		33day	55day	75day	33day	55day	75day	33day	55day	75day
تنش	Stress	2	31.70 ^{ns}	525.13**	489.35**	10.74 ^{ns}	500.37**	2090.10**	50.57**	
روی	Zinc	2	42.39 ^{ns}	166.65*	125.89*	26.20 ^{ns}	300.73*	291.08*	1.66*	
اثرات متقابل	Stress×Zinc	4	43.48 ^{ns}	20.59 ^{ns}	12.66 ^{ns}	20.11 ^{ns}	522.45 ^{ns}	13.049 ^{ns}	0.367 ^{ns}	
خطا	Error	18	53.99	37.83	26.56	58.22	52.004	103.38	0.405	
ضریب تغییرات	CV%	-	9.61	10.44	15.08	8.29	14.42	12.40	4.72	

ns: غیر معنی‌دار، * : معنی‌دار در سطح ۵ درصد و **: معنی‌دار در سطح ۱ درصد.

جدول ۳- مقایسه میانگین میزان پرولین، لیزین و متیونین تحت شرایط تنش کم آبی و محلول پاشی روی
Table 3. Mean comparisons for proline, methionine and lysine content under drought stress and zinc applied

تیمارها	Traits	پرولین (میکروگرم بر گرم وزن تر)			متیونین (میکروگرم بر گرم وزن تر)			لیزین (میکروگرم بر گرم وزن تر)		
		Proline (µg. g fw)			Methionine (µg. g fw)			Lysine (µg. g fw)		
		33day	55day	75day	33day	55day	75day	33day	55day	75day
تنش	Stress									
۱ بار آبیاری	1 stage irrigation	0.904 ^a	0.904 ^a	1.188 ^a	0.038 ^a	0.028 ^b	0.021 ^c	0.117 ^a	0.365 ^a	0.57 ^a
۲ بار آبیاری	2 stage irrigation	0.676 ^b	0.676 ^b	1.016 ^b	0.038 ^a	0.032 ^a	0.024 ^b	0.120 ^a	0.251 ^b	0.442 ^b
۳ بار آبیاری	3 stage irrigation	0.595 ^b	0.689 ^b	0.839 ^c	0.035 ^a	0.033 ^a	0.030 ^a	50.122 ^a	0.238 ^b	0.374 ^c
روی	Zinc									
۰ کیلوگرم	0 kg	0.630 ^b	0.630 ^b	0.881 ^b	0.037 ^a	0.031 ^a	0.024 ^b	0.119 ^a	0.281 ^a	0.435 ^b
۳ کیلوگرم	3kg	0.694 ^b	0.788 ^a	1.075 ^a	0.036 ^a	0.030 ^a	0.025 ^{ab}	0.116 ^a	0.287 ^a	0.463 ^{ab}
۶ کیلوگرم	6kg	0.851 ^a	0.851 ^a	1.082 ^a	0.037 ^a	0.031 ^a	0.027 ^a	0.125 ^a	0.286 ^a	0.493 ^a

حروف نامشابه نشان دهنده اختلاف معنی دار در احتمال خطای درصد ($P < 0.05$) آزمون LSD می باشد

Dissimilar letters indicate significant differences at 5% level ($P < 0.05$) of LSD test.

و ۷۵ روز بعد از تنش به ترتیب ۰/۳۶۵ و ۰/۵۷۵ میکروگرم در گرم از یک بار آبیاری و کمترین میزان آن نیز به ترتیب ۰/۲۳۸ و ۰/۳۷۴ میکروگرم بر گرم وزن تر از تیمار سه بار آبیاری به دست آمد (جدول ۳). همچنین نتایج نشان داد میزان اسید آمینه متیونین تنها تحت تأثیر اثرات اصلی کم آبی در ۵۵ و ۷۵ روز بعد از تنش قرار گرفت ($P < 0.01$) و محلول پاشی و اثرات متقابل کم آبی در محلول پاشی در هیچ کدام از مراحل نمونه برداری معنی دار نشد (جدول ۱). نتایج نشان داد بر خلاف لیزین میزان متیونین در طی تنش کاهش پیدا کرد، به طوری که بیشترین مقدار آن در طی ۵۵ و ۷۵ روز بعد از تنش به ترتیب ۰/۳۳۵ و ۰/۳۰۶ میکروگرم بر گرم وزن تر از ۳ بار آبیاری و کمترین مقدار آنها (۰/۲۸۹) میکروگرم بر گرم وزن تر در ۵۵ روز بعد از تنش و ۰/۲۱۶ میکروگرم بر گرم وزن تر در ۷ روز بعد از تنش) نیز از یک بار آبیاری مشاهده شد (جدول ۲). علی رغم معنی دار نشدن اثرات اصلی مصرف روی بر میزان لیزین و متیونین، بین مصرف ۶ کیلوگرم در هکتار سولفات روی و عدم استفاده روی در مرحله سوم نمونه برداری اختلاف معنی دار وجود دارد. با این حال، تأثیر روی در شرایط تنش، کم رنگ تر از اثر خشکی بر میزان این اسید آمینه بود. نتایج همبستگی صفات نشان داد که هرچه مدت زمان بعد از تنش افزایش یابد همبستگی بین لیزین و متیونین با پتانسیل اسمزی افزایش پیدا می کند که علت آن می تواند افزایش شدت تنش باشد (جدول ۴).

پژوهش‌های دیگر نیز گزارش نمودند میزان لیزین برای کاهش تأثیر تنش افزایش پیدا می کند (Liu et al., 2007). پلی آمین‌ها نقش مثبتی را در واکنش دفاعی گیاهان در برابر تنش‌ها بر عهده دارند. نقش تنظیم‌کنندگی پلی آمین‌ها در

عناصر روی و منگنز به خصوص در ارقام متحمل به خشکی در شرایط تنش، نقش افزایش دهنده در فرآیند تنظیم اسمزی به واسطه افزایش میزان پرولین و یا قندهای محلول دارند. بررسی‌ها نشان داد که انباشتگی میزان پرولین با میزان تحمل به خشکی گیاه ارتباط مستقیم دارد. همچنین نتایج نشان داد با گذشت مدت زمان بیشتر بعد از تنش میزان پرولین افزایش پیدا کرد که این باعث می شود گیاه فرصت کافی برای تولید پرولین را به دست آورده و در این مدت گیاه به تنش مقاوم تر شده است.

همچنین نتایج نشان داد در ۳۳ روز بعد از تنش تنها میزان پرولین با تغییرات پتانسیل اسمزی دارای همبستگی معنی داری بود ولی با افزایش مدت زمان به ۵۵ و ۷۵ روز میزان اسید آمینه‌های لیزین و متیونین نیز با تغییرات پرولین دارای همبستگی معنی دار بودند که این نشان دهنده واکنش سریع پرولین به شرایط تنش می باشد. افزایش پرولین در طی تنش مربوط به کاهش فعالیت آنزیم نیترات رداکتاز می باشد. حساسیت آنزیم نیترات رداکتاز به تغییرات وضعیت رطوبت و پتانسیل آب برگ، می تواند توجیه‌گر حساسیت پرولین به تنش کم آبی باشد (Tejo & Santos Diaz, 1987).

همچنین نتایج تجزیه واریانس‌ها نشان داد اگرچه اثرات اصلی کم آبی بر میزان لیزین در ۳۳ روز بعد از تنش معنی دار نشد، ولی بر میزان آن در ۵۵ و ۷۵ روز بعد از تنش در سطح ۱ درصد معنی دار بود. محلول پاشی با سولفات روی بر میزان لیزین در هیچ یک از مراحل نمونه برداری اثر معنی داری نشان نداد (جدول ۱)؛ ولی مقایسه میانگین اثرات اصلی تنش در ۵۵ و ۷۵ روز بعد از تنش نشان داد میزان لیزین طی افزایش فواصل آبیاری افزایش یافت. بیشترین میزان لیزین در طی ۵۵

عملکرد غشاهای سلولی و تولید رادیکال‌های هیدروکسیل و سوپراکسید به سلول خسارت وارد می‌نمایند (Murray, 1989). روند کاهش میزانی متیونین با افزایش تنش، قابل توجه است. بیوسنتز متیونین و اتیلن از یک پیش ماده مشترک به نام S-آدنوزیل متیونین می‌باشد. به نظر می‌رسد تنش باعث برتری بیوسنتز اتیلن در باندشدن با پیش ماده مشترک شده و میزان متیونین کاهش یافته است. این نتایج با یافته‌های پژوهشگران دیگر (Khan, 2008; Sood & Nagar, 2008) مطابقت دارد.

واکنش گیاهان در برابر تنش‌ها، از طریق استحکام غشاهای سلولی و بازداری از فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک می‌باشد. چنین تأثیری در پلی آمین‌ها با برخی بارهای مثبت (گروه‌های آمینی) در ساختار مولکول مرتبط می‌باشد (Abu-kpawoh et al., 2002). به نظر می‌رسد مصرف روی موجب افزایش اسیدآمین لیزین در مقابله با تنش شده و از این طریق موجب تقویت سیستم دفاع سلولی شده است (Liu et al., 2007)؛ به نحوی که در شرایط کمبود عنصر روی بروز خسارت‌های اکسیداتیو ناشی از تهاجم رادیکال‌های آزاد با ایجاد اختلال در

جدول ۴- مقایسه میانگین میزان پروتئین، قندهای محلول و پتانسیل اسمزی تحت شرایط تنش کم‌آبی و محلول پاشی روی
Table 4. Mean comparisons for protein, soluble sugar content and osmotic potential under drought stress and zinc applied

تیمارها	Traits	پروتئین (میلی‌گرم بر گرم وزن تر) Protein (mg. g fw)			قندهای محلول (میلی‌گرم بر گرم وزن تر) Soluble sugar (mg. g fw)			پتانسیل اسمزی (بار) Osmotic potential (par)
		33day	55day	75day	33day	55day	75day	
تنش	Stress							
	1 stag irrigation	76.84 ^a	50.21 ^b	26.91 ^c	34.48 ^a	58.57 ^a	98.14 ^a	-15.76 ^a
	2 stag irrigation	78.02 ^a	61.81 ^a	33.93 ^b	32.49 ^a	46.40 ^b	79.81 ^b	-13.63 ^b
۳ بار آبیاری	3stag irrigation	74.34 ^a	64.62 ^a	41.65 ^a	32.70 ^a	45.02 ^b	67.89 ^c	-11.03 ^c
روی	Zinc							
	0 kg	73.90 ^a	53.91 ^b	31.88 ^b	33.21 ^a	44.21 ^b	77.11 ^b	-13.72 ^a
	3kg	77.78 ^a	61.34 ^a	32.14 ^b	31.53 ^a	50.01 ^{ab}	80.52 ^{ab}	-13.72 ^a
۶ کیلوگرم	6kg	77.52 ^a	61.39 ^a	38.78 ^a	34.94 ^a	55.77 ^a	88.21 ^a	-12.98 ^b

حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در احتمال خطای درصد ($P < 0.05$) آزمون LSD می‌باشد

Dissimilar letters indicate significant differences at 5% level ($P < 0.05$) of LSD test.

موجب تجزیه و کاهش غلظت پروتئین‌ها در برگ‌ها شده است. احتمالاً تجزیه و تخریب پروتئین‌ها و انباشت برخی آمینواسیدهای آزاد (از جمله پرولین) در شرایط تنش خشکی، در جهت تنظیم اسمزی سلول و کاهش تأثیر سوء تنش باشد. در پژوهش‌های نخود و ذرت نیز چنین نتایجی حاصل شده بود (Moran et al., 1994; Sheykhbagloo1 et al., 2009). Ghorbanli & Niakan (2005) بیان کردند که با تشدید میزان تنش در سویا، مقدار کل پروتئین‌های محلول، هم در بخش هوایی ساقه و برگ و هم در ریشه، کاهش یافت. روی، سنتز پروتئین را افزایش داده و باعث کاهش همه اسیدهای آمینه از طریق انتقال اسیدهای آمینه و کاهش تجزیه و تخریب RNA شد (Brown et al., 1993). نتایج نشان می‌دهد، تنش خشکی از طریق توقف سنتز و افزایش تخریب پروتئین‌ها باعث کاهش عملکرد شد. کاهش میزان پروتئین‌ها از لحاظ تغذیه‌ای نیز از آثار نامطلوب تنش خواهد بود. نتایج به دست آمده توسط سایر محققان نشان داده است که محلول پاشی روی موجب افزایش درصد پروتئین می‌گردد (Jamson et al., 2009)؛

نتایج تجزیه واریانس نشان داد میزان پروتئین در ۵۵ و ۷۵ روز بعد از تنش در سطح ۱ درصد تحت تأثیر اثرات اصلی کم‌آبی و در سطح ۵ درصد تحت تأثیر محلول پاشی با سولفات روی قرار گرفت (جدول ۲). مقایسه میانگین‌ها نشان داد کم‌آبی موجب کاهش میزان پروتئین‌ها شد، به طوری که بیشترین میزان تولید پروتئین (به ترتیب ۶۴/۶۲ و ۴۱/۶۵ میلی‌گرم در گرم در ۵۵ و ۷۵ روز بعد از تنش) با سه بار آبیاری و کمترین میزان این شاخص در مرحله ۵۵ و ۷۵ روز بعد از تنش (به ترتیب ۵۰/۲۰ و ۲۶/۹۰ میلی‌گرم در گرم) با یک بار آبیاری به دست آمد. سه بار آبیاری گیاه در مراحل مختلف رشد نسبت به دو بار ۱۸/۵۳ درصد و نسبت به یک بار ۳۵/۳۹ درصد از پروتئین محلول بیشتری برخوردار بود (جدول ۳). همچنین کاربرد سولفات روی باعث کاهش تأثیر تنش در تجزیه پروتئین شد. محلول پاشی موجب افزایش پروتئین برگ‌ها در ۵۵ و ۷۵ روز بعد از تنش شد. مصرف ۶ کیلوگرم در هکتار سولفات روی موجب افزایش ۶۱٪ و ۲۲٪ میزان پروتئین در ۵۵ و ۷۵ روز بعد از تنش شد (جدول ۳). به نظر می‌رسد که تنش خشکی

و فروکتوز و سایر قندهای آزاد محلول شده است. نتایج همبستگی نیز نشان داد بین تغییرات میزان قند محلول و پتانسیل اسمزی همبستگی مثبت وجود دارد. همچنین نتایج نشان داد میزان قندهای محلول تنها در نمونه برداری سوم دارای همبستگی معنی داری با میزان پتانسیل اسمزی می باشد. در واقع می توان گفت تغییرات میزان قندهای محلول آهسته بوده و برای تجزیه نشاسته نیاز به زمان بیشتری در مقایسه با میزان اسید آمینه‌ها و پروتئین می باشد (جدول ۷). قندهای محلول تجمع یافته در شرایط تنش خشکی ممکن است به عنوان عامل اسمزی و یا محافظ اسمزی عمل نمایند. در حالت اول، افزایش قندها در اثر تنش با تنظیم اسمزی و نگهداری تورژسانس و در حالت دوم، با پایدار کردن غشاها و پروتئین‌ها در ارتباط می باشد. قندها به احتمال قوی جایگزین آب در پیوندهای هیدروژنی یا دنباله‌های پلی پپتیدی و گروه‌های فسفات فسفولیپیدها می شوند و از گسیختگی غشایی ممانعت می کنند (Irigoyen et al., 1992). انباشت قندهای محلول در شرایط تنش علاوه بر نقش‌های فیزیولوژیک مهمی که از نظر تأمین انرژی و جلوگیری از مرگ حتمی ایفا می کند، می تواند از طریق تنظیم اسمزی و بالاترنگه داشتن محتوای آب نسبی، در سازوکار تحمل به خشکی هم نقش مهمی داشته باشد. افزایش قندهای محلول تحت تنش، نشان دهنده این است که میزان تنظیم اسمزی در اندام‌های در حال رشد، به تأمین متابولیت‌ها بستگی کامل دارد، زیرا این عمل با صرف انرژی همراه است و ترکیبات کربن دار برای تولید متابولیت‌ها به تداوم فتوسنتز وابسته‌اند. با کاهش فتوسنتز و در نتیجه کاهش کربوهیدرات‌های ساختاری، رشد و عملکرد محدود می شود.

Banks (Mazhar et al., 2005; Thalooth et al., 2005) (2004) بیان داشت محلول پاشی روی در سویا میزان پروتئین و میزان روغن دانه را افزایش داد.

میزان قندهای محلول در سطح ۱ درصد و ۵ درصد تحت تأثیر اثرات اصلی کم آبی و محلول پاشی در ۵۵ و ۷۵ روز بعد از تنش قرار گرفت، ولی در ۳۳ روز معنی دار نشد (جدول ۲). کم آبی موجب افزایش میزان قندهای محلول گردید؛ به طوری که بیشترین (۵۸/۵۷ میلی گرم بر گرم وزن تر) و کمترین (۴۵/۰۲ میلی گرم بر گرم وزن تر) میزان قندهای محلول در ۵۵ روز بعد از تنش به ترتیب از یک بار آبیاری و سه بار آبیاری مشاهده شد. همچنین نتایج نشان داد یک بار آبیاری در مرحله سوم نمونه برداری موجب افزایش میزان قندهای محلول از ۶۷/۸۹ به ۹۸/۱۴ میلی گرم بر گرم وزن تر شد (جدول ۴). محلول پاشی با سولفات روی بر میزان قندهای محلول در نمونه برداری بعد از ۵۵ و ۷۵ روز اعمال تنش در سطح ۵ درصد تفاوت معنی دار نشان داد (جدول ۲). محلول پاشی موجب افزایش میزان قندهای محلول شد. محلول پاشی برگ‌ها با ۶ کیلوگرم در هکتار سولفات روی موجب افزایش ۲۷٪ قندهای محلول در نمونه برداری در ۵۵ روز و ۱۴٪ در نمونه برداری در ۷۵ روز بعد از تنش شد (جدول ۴). این نتایج با گزارش‌های دیگر پژوهش‌ها مطابقت دارد (Abbas-Zade et al., 2007; Dehqanzadeh et al., 2008). در طی دیگر پژوهش‌ها نیز میزان کربوهیدرات‌ها در اثر محلول پاشی روی افزایش یافت (Babania et al., 2010). به نظر می رسد با افزایش فاصله زمانی از آبیاری، پتانسیل آب سلول سریع تر به پایین تر از حد آستانه رسیده و منجر به افزایش فعالیت آنزیم آمیلاز و تجزیه نشاسته به ساکارز و سپس مولکول‌های کوچک تری مانند گلوکز

جدول ۵- نتایج همبستگی صفات در ۳۳ روز بعد از اعمال تنش

Table 5. Correlation results at 33 days after stress

	Proline	Methionine	Lysine	Protein	Souble sugar	Osmotic potential
پرولین Proline	1					
متیونین Methionine	-0.135	1				
لیزین Lysine	0.041	-0.089	1			
پروتئین Protein	0.135	-0.104	-0.182	1		
قندهای محلول Souble sugar	-0.059	0.455*	-0.154	-0.305	1	
پتانسیل اسمزی Osmotic potential	-0.428*	-0.357	0.151	-0.116	-0.102	1

*: Significant at 5% probability levels

*: معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد

جدول ۶- نتایج همبستگی صفات در ۵۵ روز بعد از اعمال تنش

Table 6. Correlation results at 55 days after stress

	Proline	Methionine	Lysine	Perotine	Souble sugar	Osmotic potential
پرولین Proline	1					
متیونین Methionine	-0.104	1				
لیزین Lysine	0.567**	-0.407*	1			
پروتئین Protein	-0.666**	0.334	-0.673**	1		
قندهای محلول Souble sugar	0.029	-0.216	0.411*	-0.334	1	
پتانسیل اسمزی Osmotic potential	-0.489**	0.601**	-0.777**	0.653**	-0.378	1

* and **: Significant at 5% and 1% probability levels, respectively

* و **: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

جدول ۷- نتایج همبستگی صفات در ۷۵ روز بعد از اعمال تنش

Table 7. Correlation results at 75 days after stress

	Proline	Methionine	Lysine	Protein	Souble sugar	Osmotic potential
پرولین Proline	1					
متیونین Methionine	-0.542**	1				
لیزین Lysine	0.768**	-0.677**	1			
پروتئین Protein	-0.505**	0.706**	-0.530**	1		
قندهای محلول Souble sugar	0.784**	-0.543**	0.836**	-0.440*	1	
پتانسیل اسمزی Osmotic potential	-0.726**	0.854**	-0.762**	0.788**	-0.691**	1

* and **: Significant at 5% and 1% probability levels, respectively

* و **: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

اسمزی در محیط سلول و یا هر دو آن‌ها باشد. در شرایط کمبود آب فعالیت برخی از آنزیم‌های هیدرولیزکننده افزایش می‌یابد که این آنزیم از طریق تجزیه مولکول‌های پلیمر ذخیره‌ای، میزان مواد محلول در سلول را افزایش داده و پتانسیل اسمزی را کاهش می‌دهند. این امر موجب می‌شود که سلول با حفظ توانایی جذب آب، فشار آماس خود را در سطح بالایی حفظ کند؛ همان‌طوری که در پژوهش انجام گرفته نیز همبستگی مثبت معنی‌داری بین افزایش اسید آمینه پرولین، لیزین و میزان قندهای محلول مشاهده شد. همچنین نتایج نشان داد در طی نمونه‌برداری میزان پرولین در نمونه‌برداری اول، دارای همبستگی معنی‌داری با میزان پتانسیل اسمزی داشته و بقیه صفات معنی‌دار نشده‌اند. با گذشت زمان و نمونه‌برداری‌های بعدی میزان لیزین و قندهای محلول نیز دارای همبستگی معنی‌دار شده‌اند. با توجه به این نتیجه می‌توان استنباط نمود که تغییرات پرولین حساس‌تر بوده و به سرعت در اثر تنش تغییر پیدا می‌کند و با پتانسیل اسمزی همبستگی بالاتری دارد (جدول ۶). توانایی گیاه از نظر تنظیم

تأثیر کم‌آبی بر پتانسیل اسمزی در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). مقایسه میانگین‌ها نشان داد با افزایش تعداد دفعات آبیاری محتوای آب بیشتر و پتانسیل اسمزی افزایش می‌یابد. کمترین پتانسیل اسمزی (۱۵/۷- بار) از یک بار آبیاری و بالاترین میزان این شاخص (۱۱/۱- بار) از سه بار آبیاری به دست آمد (جدول ۴). مصرف سولفات روی نیز در سطح ۵ درصد بر روی پتانسیل اسمزی اثر معنی‌داری داشت (جدول ۲). محلول‌پاشی با سولفات روی موجب افزایش پتانسیل اسمزی شد به طوری که مصرف ۶ کیلوگرم روی در هکتار نسبت به دو سطح دیگر تأثیر مثبت‌تری بر کاهش پتانسیل اسمزی داشت (جدول ۵).

با مصرف روی، نشتی کمتر، پایداری بیشتر، خروج املاح کمتر، املاح باقی‌مانده بیشتر و پتانسیل اسمزی پایین‌تر بود. تنظیم اسمزی یکی از سازوکارهای مهم تحمل خشکی در گیاهان می‌باشد. کاهش معنی‌دار پتانسیل اسمزی می‌تواند به دلیل از دست دادن آب آزاد سلول‌ها و یا به دلیل وجود سازوکار فعال در جذب و یا تولید املاح کاهش‌دهنده پتانسیل

واقع نتایج نشان داد میزان پرولین در مقایسه با بقیه صفات اندازه‌گیری شده در نمونه‌برداری اول واکنش سریع‌تری انجام داده است، ولی با گذشت زمان و تغییر در دیگر صفات مانند اسیدآمین لیزین و متیونین از تأثیر پرولین بر میزان پتانسیل اسمزی کاسته شد. همچنین نتایج نشان داد میزان پرولین در نمونه‌برداری اول به‌جز با پتانسیل اسمزی با هیچ‌یک از صفات دیگر دارای همبستگی معنی‌دار نبود، ولی در نمونه‌برداری دوم و سوم بر میزان همبستگی لیزین و پروتئین افزوده شده که این می‌تواند از همبستگی پرولین با پتانسیل اسمزی کاسته ولی بر میزان همبستگی آن با لیزین و متیونین افزوده و از این طریق در تنظیم پتانسیل اسمزی نقش ایفا نماید (جدول ۵، ۶ و ۷).

اسمزی عمدتاً تحت تأثیر محیط رشد قرار می‌گیرد (Loos & Siddique, 1994). همچنین نتایج پیش‌بینی میزان پتانسیل اسمزی نشان داد در نمونه‌برداری اول (۳۳ روز بعد از اعمال تنش) میزان پرولین ($R^2=0/183$) بالاترین سهم را در پیش‌بینی نشان داد، به‌طوری‌که تغییرات میزان پرولین و پتانسیل اسمزی از نوع خطی بود. با گذشت مدت زمان از اعمال تنش سهم بقیه اسیدآمین‌ها در پیش‌بینی پتانسیل اسمزی افزایش پیدا کرد، به‌طوری‌که در مرحله دوم نمونه‌برداری میزان اسید آمینه لیزین ($R^2=-0/604$) و متیونین ($R^2=-0/592$) و در ۷۵ روز بعد از تنش میزان متیونین ($R^2=-0/729$) و پروتئین ($R^2=-0/620$) بالاترین سهم را در پیش‌بینی میزان پتانسیل اسمزی نشان دادند (جدول ۸).

جدول ۸- معادلات رگرسیونی پیش‌بینی پتانسیل اسمزی در شاخص‌های سازگاری سلول در روزهای مختلف بعد تنش

Table 8. Regression equations for predicting the osmotic potential of the cells at various days post- stress adaptation

صفات وابسته X	نمونه‌برداری	همبستگی R square	ضرایب رگرسیونی معادله				مدل Model
			b ₀	b ₁	b ₂	b ₃	
پرولین Proline	33day	0.183	10.42**	-4.205*	ns	ns	Y = b ₀ +b ₁ X
	55day	0.239	9.38**	-5.40**	ns	ns	Y = b ₀ +b ₁ X
	75day	0.528	5.29**	-8.07**	ns	ns	Y = b ₀ +b ₁ X
متیونین Methionine	33day	0.127	7.48**	-160.70	ns	ns	Y = b ₀
	55day	0.592	84.66**	3780.7**	47801.1**	0.00*	Y = b ₀ +b ₁ X+b ₂ X ² +b ₃ X ²
	75day	0.729	23.68**	397.9**	ns	ns	Y = b ₀ +b ₁ X
لیزین Lysine	33day	0.023	16.50	25.17	ns	ns	Y = 0
	55day	0.604	6.12**	-25.74**	ns	ns	Y = b ₀ +b ₁ X
	75day	0.580	5.93**	-16.19**	ns	ns	Y = b ₀ +b ₁ X
پروتئین Protein	33day	0.013	10.86	-0.034	ns	ns	Y = 0
	55day	0.427	22.31**	0.150**	ns	ns	Y = b ₀ +b ₁ X
	75day	0.620	20.30**	0.200**	ns	ns	Y = b ₀ +b ₁ X+b ₂ X ²
قندهای محلول Soluble sugar	33day	0.010	12.43	-0.031	ns	ns	Y = 0
	55day	0.142	10.52**	-0.059**	ns	ns	Y = b ₀ +b ₁ X
	75day	0.478	6.10**	-0.090**	ns	ns	Y = b ₀ +b ₁ X

ns: Non-significant; * and **: Significant at 5% and 1% probability levels, respectively

ns: غیر معنی‌دار، *: معنی‌دار در سطح ۵ درصد و **: معنی‌دار در سطح ۱ درصد.

نتیجه‌گیری

(تشدید تنش) همبستگی صفات با یکدیگر افزایش پیدا می‌کند. پرولین در مراحل اولیه بعد از تنش بیشترین همبستگی و سهم را در پیش‌بینی پتانسیل اسمزی نشان داد که می‌تواند به ایفای نقش آن در تنظیم اسمزی در ابتدای تنش مرتبط باشد؛ ولی با گذشت زمان میزان همبستگی لیزین و متیونین با پتانسیل اسمزی افزایش یافت که نشان‌دهنده این است که در کاهش شدید پتانسیل اسمزی گیاه از این اسیدآمین‌ها نیز برای تحمل تنش استفاده می‌کند.

با توجه به نتایج این پژوهش مشاهده شد در طی تنش کم‌آبی میزان اسیدآمین پرولین، لیزین و میزان قندهای محلول افزوده و از میزان متیونین و پروتئین و پتانسیل اسمزی برگ‌ها کاسته شد. همچنین محلول‌پاشی برگ‌ها با سولفات روی سبب افزایش و ارتباط پرولین، قند محلول و میزان پروتئین و پتانسیل اسمزی شد، ولی بر میزان لیزین و متیونین تأثیر معنی‌داری نداشت. همچنین با گذشت زمان بعد از اعمال تنش

منابع

1. Abbas-Zade, B., Sharifi, A., Abadi, A., Lebaschi, M.H., Naderi, M., and Maghdami, F. 2007. Effect of drought stress on proline, soluble sugars, chlorophyll and relative water content of *Melissa officinalis* L. Journal Reserche Aroma Plants Iran 23(4): 504-513.

2. Abu-Kpawoh, J.C., Xi, Y.F., Zhang, Y.Z., and Jin, Y.F. 2002. Polyamine accumulation following Hot-water dips influence chilling injury and decay in friar plum fruit. *Food Chemistry and Toxicology* 67(7): 2649-2653.
3. Aziz zade Firozy, F., Bahman Yar, A., Momeny, V., and Ghasem por A. 2004. Effect of potassium fertilizers on the agronomic characteristics and quantities of zinc, iron and phosphorus in two wheat cultivars on calcareous soil with low. *Proceedings of the 10th Congress of Iran, Karaj.* (In Persian).
4. Babania, M., Haidary, M., and Ghanbari, A., 2010. Effects of water stress and foliar application of micronutrients on physiological characteristics and nutrient uptake of sunflower. (*Helianthus annuus* L.). *Iranian Journal of Crop Sciences* 12(4): 377-391. (In Persian).
5. Banks, L.W. 2004. Effect of timing of foliar zinc fertilizer on yield component of soybeans. *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry* 22(116): 226-231.
6. Bates, I.S., Waldern. R.P., and Teare, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-207.
7. Bokhari, U.G., and Trent, J.D. 1985. Proline concentrations in water stressed grasses. *Journal of Range Management* 38: 37-38.
8. Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
9. Brown, P.H., Cakmak, I., and Zhang, Q. 1993. Form and function of zinc in plants, In: Robson, A.D. (Ed.). Pp: 93-106.
10. Dehqanzadeh, H., Khajehpour, M.R., Heidari Sharif Abad, H., and Soleimani, A.S. 2008. Effect of limited irrigation on the accumulation of proline, free soluble sugars and potassium in bread wheat cultivars. *10th Iran. Cong. Agron. and Plant Breed Science.* 430p.
11. Ferrel, R.E., Fellers, D.A., and Shepherd, A.D. 1969. Determination of free Lysine and Methionine in Amino acid-Fortified wheat. 46: 614- 620.
12. Ghorbanli, M., and Niakan, M. 2005. Study the effect of drought stress on soluble sugars, protein, proline, phenol compounds and reductase enzyme activity in soybean plants cv. Gorgan 3. *Tarbiat Moallem University Science Magazin.* 5(1, 2): 537-550.
13. Hajebi, A., and Hidayat sharifabady, H. 2005. Effect of drought on growth and nodulation of three species of clover. *Journal of Agronomy and Horticulture Research and Development* 66: 13-21. (In Persian).
14. Ho, S., Chao, Y., Tong, W., and Yu, S. 2001. Sugar coordinately and differentially regulates growth and stress-related gene expression via a complex signal transduction network and multiple control mechanisms. *Plant Physiology* 46: 281-285.
15. Irigoyen, J. J., Emerich D.W., and Sanchez-Diaz, M. 1992. Alfalfa leaf senescence induced by drought stress: photosynthesis, hydrogen peroxide metabolism, lipid peroxidation and ethylene evolution. *Physiologia Plantarum* 84: 67-72.
16. Jamson, M., Galshy, S., Pahlevani, M., and Zinaly, A., 2009. Effect of foliar zinc (Zn) on the yield and grain quality characteristics of soybean cultivars in summer cultivation. *Journal of Plant Production* 16(1): 17-28. (In Persian).
17. Janardhan, K.V., and Krishnamorthy, V. 1975. A rapid method for determination of osmotic potential of plant cell. *Current Science* 44(11): 390-391.
18. Khan, A.S., Singh, Z., Abbasi, N.A., and Swinny, E.E. 2008. Pre or post-harvest application of putrescine and low temperature storage affect fruit ripening and quality of Agelino plum. *Journal of the Science of food and Agriculture* 88(11): 1687-1695.
19. Liu, J. H., Kitashiba, H., Wang, J., Ban, Y., and Moriguchi, T. 2007. Polyamines and their ability to provide environmental stress tolerance to plants. *Plant Biotechnology* 24: 117-126.
20. Loos, S.P., and Siddique, K.H.M. 1994. Morphological and physiological traits Associated with wheat increases in Mediterranean environment. *Adv. in Agronomy* 52: 229-276.

21. Mansour, M.M.F., Salama, K.H., Ali, F.Z.M., and Abou Hadid, A.F. 2005. Cell and plant responses to NaCl in *Zea Mays* L. cultivars differing in salt tolerance. *Gentice Applec Plant Physiology* 31(1-2): 29-41.
22. Marschner, H. 1995. *Mineral Nutrition of Higher Plants*, 2. Academic Press, London, U.K., Pp. 889.
23. Mazhar, U., Haq, M.U., and Mallarino, A.P. 2005. Response of soybean grain oil and protein concentrations to foliar and soil fertilization. *Agronomy Journal* 97: 910-918
24. Mohsenzade, S., Malboobi, M.A., Razavi, K., and Farrahi Aschtiani, S. 2006. Physiological and molecular responses of *Aeluropus lagopoides* (poaceas) to water deficit. *Environmental and Experimental Botany* 56: 374-322.
25. Moran, J.F., Becana, M., Ormaetxe, I.I., Frechilla, S.L., Klucasc, R.V., and Tejo, D.A. 1994. Drought induces oxidative stress in pea plants. *Plant* 194: 346-352.
26. Murray, D. R. 1989. *Biology of fool irradiation*. Research Studies Press, UK. Esmith, D. S. 1991. Growth responses of corn (*Zea mays* L.) to interminating of soil water dificits. *Fild Crops Abstracts*. Pp: 237.
27. Najafy, M. 2013. The role of amino acids in organic farming. <http://www.talfighdaneh.ir/News/post-23550>.
28. Pagter, M., Bragato, C., and Brix, H. 2005. Tolerance and physiological responses of phragmites australis to water deficit. *Aquatic Botany* 81: 285-299.
29. Rahnama, H., and Ebrahimzadeh, H. 2004. The effect of NaCl on proline accumulation in potato seedlings and calli. *Physiologiae Plantarum* 26 (3): 263-270.
30. Refsum H., Ueland, P.M, Nygård, O., and Vollset, S.E. 1998. Homocysteine and Cardiovascular Disease. *Annual Review of Medicine* 49: 31-62.
31. Sabaghpour, S.H. 2004. Present status and future prospects of food legume in Iran. In Gowda, C.L.L and Pande, F. (Eds.). *Role of legumes in crop diversification and poverty reduction in Asia*. The International Crops Research Institute for the Semi-Arid-Tropics. Pp 75-83.
32. Sajedi, N.A., and Rjay, F. 2011. Application of mycorrhizal inoculation on the uptake of zinc and micronutrients in maize. *Journal of Soil Research* 25: 83-92. (In Persian).
33. Samen, M., Sepehry A., and Ahmadvand, G., 2011. Dry matter accumulation of metabolites produced in six chickpea genotypes under different levels of soil moisture adjustment. *Iranian Journal of Biology* 24(3): 373-389. (In Persian).
34. Sheykhbagloo1, N., Hassanzadeh, A., Gortapeh, M., Baghestani, M., and Zand, B. 2009. Study the effect of zinc foliar application on the quantitative and qualitative yield of grain corn under water stress. *Electronic Journal of Crop Production* 2(2): 59-74. (In Persian).
35. Sood, S., and Nagar, P.K. 2008. Post-harvest alteration in polyamins and ethylene in two diverse rose species. *Acta Physiology Plant* 30(21): 243-248.
36. Syosemarde, A., Ahmady, A., and Postiny, K. 2009. Stomatal and non-stomatal factors controlling photosynthesis and its relation with drought resistance in wheat. *Journal of Agricultural Sciences* 35: 93-106. (In Persian).
37. Szabados, L., and Savoure, A. 2009. Proline: a multifunctional amino acid. *Trends in Plant Science* 15(2): 89-97.
38. Tejo, P.A., and Santos Diaz, M. 1987. Nodule and leaf nitrate reductase and nitrogen fixation in *Medicago sativa* L. under water stress. *Plant Physiology* 69: 479-482.
39. Thallooth, A.T., Badr, N.M., and Mohamed, M.H. 2005. Effect of foliar spraying with Zn and different levels of phosphatic fertilizer on growth and yield of sunflower plants grown under saline conditions. *Egyptian Journal of Agronomy* 27: 11-22.
40. Verbruggen, N., and Hermans, C. 2008. Proline accumulation in plants: a review. *Amino Acids* 35: 753 -759.
41. Vogt, W. 1995. Oxidation of methionine residues in proteins: Tools, targets, and reversal. *Free Radical Biology and Medicine* 18: 93-105.

42. Zhang, J., Nguyen, H.T., and Blum, A. 1999. Genetic analysis of osmotic adjustment in crop plants. *Journal of Experimental Botany* 50: 291-302.

Archive of SID

The effects of zice fertilizer on some physiological characteristics of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under water stress

Dadkhah¹, N., Ebadi², A., Parmoon^{1*}, Gh., Ghlipoori², E. & Jahanbakhsh², S.

1- MSc. Graduated of Agronomy and seed science and technology, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

2- Associate & Assistant Professor, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, University of Mohaghegh Ardabili

Received: 8 June 2014
Accepted: 3 February 2015

Introduction

Dehydration is one of the limiting factors of crop production. It results from increasing the amount of water losses from leaf or inadequate water absorption rate or combination of both. Zinc used in many enzymes of the plant tissues and have catalytic role in activation of some enzymes. Zinc is involved in the synthesis and degradation of proteins and is an essential micronutrient for normal growth and reproduction of crops. It plays an important role in the synthesis of protein and carbohydrates, metabolic functions of the cell membrane to protect cells against free radicals of oxygen and other processes related to the plants adaptation to stress. Osmotic adjustment is one of the most important mechanisms of drought tolerance in plants. By this mechanism the osmotic potential of plant cells reduces by solute accumulation. Turgor potential maintains high which is essential in cell development and growth.

Materials and Methods

Effect of water deficit stress and foliar application of zinc on physiological characteristics of chickpea was studied at a factorial experiment using randomized complete block design in field crop research station of University of Mohaghegh Ardabili in 2012. Irrigation schedules consisted of three levels (1: irrigation at planting, 2 : planting + before flowering and 3 : planting + before flowering + pod set) and zinc was applied on three concentration (0, 3 and 6 kg ha⁻¹ as zinc sulfate) in two stages of 15 and 25 days after planting. In this study Proline, Lysine, Methionine, soluble sugars, and protein content were measured in three stages 33, 55 and 75 day after stress induction and osmotic potential in 75 days after stress. Osmotic potential was measured based on the electrical conductivity, the extraction of soluble sugars by using phenol sulfuric method, total protein from the leaves by the Bradford method and Lysine and methionine assayed using Ferrel method. Data were analyzed using the SAS and means compared by the LSD at the 5% level.

Results and Discussions

The results showed that dehydration increased proline, lysine, methionine, protein and soluble sugar content but reduced the osmotic potential. The maximum amount of proline accumulation resulted in two and three stage samplings once irrigation and its minimum rate obtained in the three irrigation schedule. It seems that by reducing soil moisture availability or increasing irrigation intervals, the water potential of the cells has been reached to the lower threshold which enhanced the protease enzyme activity resulted in proline accumulation in order to enhance water absorption. The maximum amount of lysine during 55 and 75 days after the stress obtained from one irrigation. Unlike the lysine, methionine content reduced during stress period, so that it's maximum value was obtained over 55 and 75 days after the tension of 3 times irrigation. Dehydration reduced the amount of proteins so that the maximum amount of protein production observed with three irrigations. Spraying six kg ha⁻¹ zinc sulphate also enhanced the amount of proline, soluble sugar and osmotic potential but had no effect on the amount of lysine and methionine. Correlation showed that by increasing the time from withholding irrigation by 33 days proline increased, but osmotic potential affected only after 75 days. The regression results also showed that in the early stages of sampling, proline content had the significant effect on the biomass prediction but the elapsed time increased the effect of lysine, methionine and protein on predicting the osmotic potential.

* Corresponding Author: ghasem.parmoon@gmail.com

Conclusions

In general it can be said increasing the secondary metabolites production can reduce the stress and proline is the most sensitive to the low level of stress, but under higher levels of stress many metabolites such as lysine and methionine were also used for osmoregulation. The regression results also showed that in the early stages of sampling, proline levels had the largest effect on the biomass prediction, but with increasing time the lysine, methionine and protein levels also predicted the osmotic potential.

Key words: Correlation, Lysine, Proline, Soluble sugar

Archive of SID