

تأثیر تنش خشکی بر رشد و سیستم آنٹی‌اکسیدان در سه رقم نخود

مریم نصرافشانی*

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران

چکیده

کمبود آب از تنش‌های مهم غیر زیستی است که رشد گیاه و تولید محصول را به شدت تحت تأثیر قرار می‌دهد. در این مطالعه، تغییرات فعالیت آنزیم‌های آنٹی‌اکسیدان، شاخص‌های رشد، میزان پرولین و H_2O_2 و همچنین، سرعت پراکسیداسیون لیپیدها در بافت‌های ساقه و ریشه سه رقم نخود (بیونج، جم و آرمان) تحت شرایط تنش خشکی بررسی شد. وزن خشک ساقه و ریشه تحت تنش خشکی در سه رقم نخود مورد بررسی کاهش معنی‌داری نشان داد، ولی میزان کاهش در رقم جم در مقایسه با دو رقم دیگر به طور معنی‌داری بالاتر بود. تنش خشکی همچنین باعث تغییرات در خور توجهی در غلظت پرولین، مالون‌دی‌آلدئید و H_2O_2 ساقه در سه رقم نخود مورد بررسی شد که بسته به نوع رقم نخود متفاوت بود. فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز، گلوکاتیون ردوکتاز و کاتالاز بافت ساقه در رقم‌های بیونج و آرمان افزایش معنی‌داری را در مقایسه با رقم جم نشان دادند. فعالیت بیشتر آنزیم‌های آنٹی‌اکسیدان در رقم‌های بیونج و آرمان باعث شد که در این رقم‌ها آسیب‌های اکسیداتیو به لیپیدهای غشا تحت تنش خشکی در مقایسه با رقم جم کاهش یابد. به این ترتیب، بر اساس نتایج این مطالعه می‌توان نتیجه‌گیری کرد که: رقم‌های بیونج و آرمان به تنش خشکی مقاوم هستند ولی رقم جم حساس به تنش خشکی است؛ مقاومت رقم‌های بیونج و آرمان به تنش خشکی با ظرفیت افزایش یافته سیستم آنٹی‌اکسیدان برای حذف گونه‌های فعال اکسیژن و جلوگیری از پراکسیداسیون غشا مرتبط است.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنٹی‌اکسیدان، نخود، تنش خشکی، تنش اکسیداتیو

مقدمه

Ahmed *et al.*, 2009). در سال‌های اخیر، به علت

تغییرات در شرایط آب و هوایی و نیز افزایش سطح CO_2 اتمسفری، تنش خشکی بسیار شدیدتر شده است. به این ترتیب شناسایی واریته‌های گیاهی مقاوم به تنش خشکی یک ضرورت است. بررسی مکانیسم‌هایی که گیاهان را

خشکی یکی از مهمترین تنش‌های محیطی است که مراحل مختلف رشد و نمو گیاه مانند مرحله جوانه‌زنی، استقرار گیاهچه و تولید محصول را در سرتاسر جهان تحت تأثیر قرار می‌دهد (Ben *et al.*, 2007; Bacelar *et al.*, 2007)

آلفاتوکوفرول و گلوتاتیون احیاء شده (GSH) و همچنین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شامل کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، گلوتاتیون ردوکتاز و گایاکول پراکسیداز است (Xu et al., 2008).

پاسخ آنتی‌اکسیدانی، فرآیندی مهم برای محافظت گیاهان در مقابل آسیب‌های اکسیداتیوی است که در اثر طیف وسیعی از تنش‌های محیطی شامل شوری، خشکی، فلزات سنگین و سرما ایجاد می‌شود (Mittler et al., 2004). مقاومت به تنش خشکی در گیاهان با توانایی به دام انداختن ROS و کاهش دادن آثار مضرشان مرتبط است. ارتباط بین افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و بالا رفتن مقاومت گونه‌های گیاهی تحت تنش‌های محیطی در چندین گونه گیاهی مانند برنج (Guo et al., 2006) تأیید شده است.

نخود از منابع مهم پروتئین گیاهی است که در بیشتر نقاط جهان از نظر غذایی با ارزش است. ریشه نخود همچنین به واسطه توانایی در تثبیت نیتروژن اتمسفری از طریق همزیستی با ریزوبیوم‌ها اهمیت دارد و جایگاه خاصی را در تناوب زراعی آن با سایر محصولات زراعی از جمله غلات داراست (Herridge et al., 1995). این محصول عمدتاً تحت شرایط دیم کشت می‌شود. نخود به عنوان سومین محصول در بین حبوبات جهان است و در ایران نیز از مهمترین حبوبات به شمار می‌رود. ایران از نظر سطح زیر کشت این محصول چهارمین رتبه را پس از هند، پاکستان و ترکیه به خود اختصاص داده است (Sabaghpour et al., 2006). عملکرد گیاه نخود ۳۵۸ کیلوگرم در هکتار است که نسبت به میانگین عملکرد جهانی و کشورهای مهم تولید کننده نخود بسیار پایین است به طوری که کمتر

قادر می‌سازد تا با تنش خشکی سازش پیدا کنند و رشدشان را تحت آن شرایط حفظ نمایند، در نهایت می‌تواند در انتخاب گیاهان مقاوم به تنش برای کشت در مناطق خشک و نیمه خشک کمک کند.

در اثر تنش خشکی، فعالیت‌های فتوشیمیایی گیاه بازداشته می‌شود، محتوای کلروفیلی برگ تغییر می‌کند و فعالیت آنزیم‌های چرخه کالوین در فرآیند فتوسنتز کاهش می‌یابد (Monakhova and Chernyadev, 2002). در تعداد زیادی از گونه‌های گیاهی، کاهش در تولید محصول تحت شرایط تنش خشکی غالباً به کاهش در ظرفیت فتوسنتزی مربوط است (Bacelar et al., 2007). تنش خشکی همچنین تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) مانند پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، رادیکال‌های سوپراکسید ($O_2^{\cdot-}$) و هیدروکسیل (OH^{\cdot}) را افزایش می‌دهد که تجمع‌شان در سلول می‌تواند به تنش اکسیداتیو منجر شود (Mittler, 2002). در غیاب هر گونه مکانیسم حفاظتی، ROS می‌تواند از طریق آسیب اکسیداتیو به لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک متابولیسم طبیعی سلول را مختل کرده، به غشا سلولی آسیب رساند که در نهایت، موجب مرگ سلولی می‌شود (Ozkur et al., 2009). گیاهان دارای سیستم آنتی‌اکسیدانی هستند که تولید اضافی گونه‌های فعال اکسیژن را تحت شرایط تنش کنترل می‌کند و بنابراین، آنها را در مقابل آثار مضر گونه‌های فعال اکسیژن محافظت می‌کند و از سوی دیگر، سطح مناسبی از ROS را برای رشد و مسیر انتقال پیام حفظ می‌کند (Mittler et al., 2004). این سیستم دفاع آنتی‌اکسیدان شامل آنتی‌اکسیدان‌هایی با وزن مولکولی پایین مانند بتاکاروتن‌ها، آسکوربیک اسید،

۵۰ درصد هو گلند آبیاری شدند (Hoagland and Arnon, 1950) و برای ۴ هفته در شرایط تنظیم شده (۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی، ۲۵ درجه سانتیگراد در روز و ۱۸ درجه سانتیگراد شب، ۷۰ درصد رطوبت نسبی) نگهداری شدند.

پس از ۴ هفته رشد گیاهان در شرایط کنترل شده به منظور القای تنش خشکی با پتانسیل اسمزی ۰/۵- و ۱- مگاپاسگال از روش Michel و Kaufmann (۱۹۷۳) و برای ایجاد پتانسیل اسمزی صفر (شاهد) از آب مقطر استفاده شد. گیاهان ۱۵ روز پس از آغاز تنش خشکی همراه با شاهد در همان روز برداشت شدند.

۰/۱ گرم بافت تازه ریشه و ساقه در یک هاون چینی سرد با ۱/۵ میلی لیتر بافر استخراجی سرد شامل ۵۰ میلی مولار بافر فسفات پتاسیم با اسیدیته ۷، ۰/۱ میلی مولار EDTA (اتیلن دی آمین تترااستیک اسید)، ۱ میلی مولار PMSF (فنیل متیل سولفونیل فلوراید) به عنوان بازدارنده پروتئاز و ۱۰ درصد PVP (W/W) پلی وینیل پیرولیدون) ساییده و به مدت ۲۰ دقیقه با ۱۵۰۰۰ g در دمای صفر تا ۴ درجه سانتیگراد سانتریفیوژ شد. عصاره حاصل برای تخمین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و میزان کل پروتئین‌های محلول استفاده شد. میزان کل پروتئین‌های محلول طبق روش برادفورد (Bradford, 1976) با استفاده از سرم آلبومین گاوی به عنوان استاندارد اندازه گیری شد.

فعالیت کاتالاز (CAT; EC 1.11.1.6) بر اساس کاهش جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر به واسطه کاتابولیزه شدن H_2O_2 طبق روش پیشنهاد شده توسط Aebi (۱۹۸۴) اندازه گیری شد. فعالیت آنزیم بر حسب میکرومولار H_2O_2 در دقیقه در هر میلی گرم پروتئین و

از نصف میانگین جهانی است. عوامل مختلفی در پایین بودن عملکرد نخود در ایران مؤثر هستند که مهمترین آن فقدان بارندگی کافی در طی رشد و نمو است (Sabaghpour et al., 2006). گزارش‌ها نشان می‌دهد که رقم‌های مقاوم به تنش‌های محیطی می‌توانند از طریق القا کردن سیستم‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی با تنش‌های محیطی مقابله کنند. بنابراین، بین سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و تحمل شرایط تنش ارتباط وجود دارد (Demiral and Türkan, 2004). به هر حال، اطلاعات در ارتباط با پاسخ آنتی‌اکسیدان ریشه و ساقه نخود تحت شرایط تنش خشکی و ارتباط آن با میزان نسبی مقاومت به تنش محدود است. شناسایی مکانیسم‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک که در مقاومت به تنش خشکی دخالت دارند، می‌تواند به انتخاب رقم‌های مقاوم به خشکی کمک کند. در این مطالعه، پاسخ شاخص‌های رشد، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، غلظت پرولین، پراکسیداسیون لیپیدهای غشا و غلظت H_2O_2 به تنش خشکی اعمال شده توسط PEG 6000 در سه رقم نخود بررسی شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش روی سه رقم نخود (بیونج، آرمان و جم) تهیه شده از مرکز دیم ایران در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار در شرایط گلخانه انجام شد. سطح بذرها با اتانول ۸۰ درصد برای ۳۰ ثانیه و هیپوکلریت سدیم ۵ درصد به مدت ۲ دقیقه ضدعفونی و ۱۰ مرتبه با آب مقطر استریل شستشو شد و در گلدان حاوی پرلیت کشت شد. به منظور حفظ ظرفیت نگهداری آب خاک تا نزدیک ظرفیت مزرعه گیاهان هر روز با محلول غذایی

اندازه‌گیری پرولین

میزان پرولین بر اساس روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) در طول موج ۵۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و مقدار پرولین در هر نمونه با استفاده از منحنی استاندارد تعیین شد.

تحلیل داده‌ها

برای تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۶ استفاده شد. مقایسه میانگین داده‌ها بر اساس آزمون دانکن در سطح آماری ۵ درصد ($P \leq 0.05$) و رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج

تأثیر تنش خشکی بر شاخص‌های رشد

برای بررسی پاسخ شاخص‌های رشد سه رقم نخود (بیونج، جم و آرمان) به تنش خشکی، گیاهان نخود به مدت ۱۵ روز در معرض دو سطح تنش اسمزی (۰/۵- و ۱- مگاپاسگال) قرار گرفتند. نتایج مربوط به تأثیر تنش خشکی بر وزن خشک ساقه، ریشه و وزن خشک کل گیاه در جدول ۱ نشان داده شده است. بر اساس نتایج، تحت تنش خشکی وزن خشک ساقه، ریشه و همچنین، وزن خشک کل گیاه در سه رقم نخود آزمایش شده به میزان معنی‌داری کاهش نشان داد، به طوری که در پتانسیل‌های اسمزی ۰/۵- و ۱- مگاپاسگال، وزن خشک کل گیاه برای رقم بیونج به ترتیب ۱۱ و ۲۰ درصد، برای رقم جم به ترتیب ۲۸ و ۵۱ درصد و برای رقم آرمان به ترتیب ۱۶ و ۳۳ درصد کاهش نشان داد. پاسخ وزن خشک ساقه و ریشه به تنش خشکی اعمال شده بسته به نوع رقم نخود مورد آزمایش متفاوت بود. میزان کاهش وزن خشک ساقه پس از اعمال ۰/۵- و ۱- مگاپاسگال تنش خشکی در

ضریب خاموشی $0.036 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ گزارش شد. فعالیت آسکوربات پراکسیداز (APX; EC 1.11.1.11) بر اساس روش Asada و Nakano (۱۹۸۱) اندازه‌گیری شد و فعالیت آنزیم بر حسب میکرومول آسکوربات در دقیقه در هر میلی‌گرم پروتئین با استفاده از ضریب خاموشی آسکوربات $2/8 \text{ mM}^{-1} \text{ Cm}^{-1}$ محاسبه شد. فعالیت آنزیم گلوکاتایون ردوکتاز (GR; EC1.8.5.1) توسط کاهش در جذب در طول موج ۳۴۰ نانومتر به واسطه اکسیداسیون NADPH اندازه‌گیری شد (Dalton et al., 1986). فعالیت این آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی $6/2 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ محاسبه شد و فعالیت آنزیم بر حسب میکرومولار NADPH در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین گزارش شد. فعالیت آنزیم پراکسیداز (POD; EC1.11.17) در طول موج ۴۷۰ نانومتر توسط توانایی آن برای تبدیل گایاکول به تتراکایاکول به صورت افزایش در جذب اندازه‌گیری شد (Bergmeyer, 1974).

سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدها

میزان آسیب غشا توسط اندازه‌گیری میزان مالون‌دی‌آلدئید (MDA) به عنوان محصول نهایی پراکسیداسیون لیپیدهای غشا تخمین زده شد. غلظت مالون‌دی‌آلدئید طبق روش واکنش تیوباربتوریک اسید (TBA) اندازه‌گیری شد (Dhindsa and Matowe, 1981).

سنجش پراکسید هیدروژن (H_2O_2)

میزان پراکسید هیدروژن به روش اسپکتروفتومتری پس از واکنش با یدید پتاسیم (KI) در طول موج ۳۹۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و غلظت‌های مختلف H_2O_2 برای تهیه منحنی استاندارد استفاده شد (Alexieva et al. 2001).

بیشترین کاهش در وزن خشک ریشه به رقم جم مربوط بود. نسبت ریشه به ساقه در رقم‌های بیونج و آرمان تحت تنش خشکی به میزان معنی‌داری از این نسبت در گیاه شاهد بیشتر بود، با وجود این، در رقم جم تنش خشکی تأثیر معنی‌داری بر نسبت ریشه به ساقه نداشت.

رقم بیونج به ترتیب ۱۷ و ۲۶ درصد، در رقم آرمان ۲۰ و ۳۷ درصد و در رقم جم به ترتیب ۲۷ و ۵۰ درصد تخمین زده شد. نتایج نشان داد که وزن خشک ریشه در پتانسیل‌های اسمزی ۰/۵- و ۱- مگاپاسگال در سه رقم نخود مورد مطالعه کاهش پیدا کرد، در حالی که

جدول ۱- تأثیر تنش خشکی بر وزن خشک ساقه (گرم در هر گیاه)، وزن خشک ریشه (گرم در هر گیاه)، نسبت وزن خشک ریشه به ساقه و وزن خشک کل گیاه (گرم در هر گیاه) در سه رقم نخود. مقادیر، میانگین ۳ تکرار است. حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح $P < 0.05$ است.

رقم	تیمار	وزن خشک ساقه	وزن خشک ریشه	وزن خشک ریشه به ساقه	وزن خشک کل گیاه
	شاهد	۱/۷۵ ^a	۱/۳۹ ^a	۰/۷۹ ^b	۳/۱۴ ^a
بیونج	-۰/۵ Mpa	۱/۴۵ ^b	۱/۳۲ ^a	۰/۹۱ ^a	۲/۷۷ ^b
	-۱ Mpa	۱/۲۸ ^c	۱/۲۲ ^b	۰/۹۵ ^a	۲/۵ ^c
جم	شاهد	۰/۸۱ ^e	۰/۴۴ ^d	۰/۵۴ ^c	۱/۲۵ ^f
	-۰/۵ Mpa	۰/۵۹ ^f	۰/۳۱ ^e	۰/۵۲ ^c	۰/۹۰ ^h
	-۱ Mpa	۰/۴۰ ^g	۰/۲۱ ^f	۰/۵۲ ^c	۰/۶۱ ⁱ
آرمان	شاهد	۱/۳ ^c	۰/۵۵ ^c	۰/۴۲ ^d	۱/۸۵ ^d
	-۰/۵ Mpa	۱/۰۴ ^d	۰/۵۰ ^c	۰/۴۸ ^{cd}	۱/۵۴ ^e
	-۱ Mpa	۰/۸۱ ^e	۰/۴۳ ^d	۰/۵۳ ^c	۱/۲۴ ^g

در رقم جم در مقایسه با دو رقم دیگر به میزان معنی‌داری بیشتر بود (جدول ۲ الف). تنش خشکی تأثیر معنی‌داری بر میزان MDA ریشه در سه رقم نخود مورد بررسی نداشت (جدول ۲ ب). میزان پروتئین‌های محلول در سه رقم نخود مورد بررسی تحت تنش خشکی در مقایسه با شاهد کاهش معنی‌داری نشان داد، ولی میزان کاهش در رقم جم در مقایسه با دو رقم دیگر به میزان درخور توجهی بیشتر بود (جدول ۲ الف). در مقابل، تنش خشکی میزان پروتئین محلول ریشه را تنها در رقم جم به میزان معنی‌داری کاهش داد (جدول ۲ ب). نتایج مربوط به اندازه‌گیری تغییرات در میزان پروتئین ساقه و ریشه در سه رقم نخود تحت شرایط پتانسیل اسمزی ۰/۵- و ۱- مگاپاسگال نشان داد

تأثیر تنش خشکی بر پروتئین‌های محلول، میزان پروتئین، سطح H_2O_2 و پراکسیداسیون لیپیدهای غشا
غلظت پروتئین، H_2O_2 و پروتئین‌های محلول و همچنین، میزان پراکسیداسیون لیپیدها در رقم‌های بیونج، جم و آرمان تحت تنش خشکی و گیاهان شاهد در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که میزان MDA به عنوان شاخصی برای تعیین پراکسیداسیون لیپیدهای غشا در ساقه سه رقم نخود مورد بررسی تحت ۰/۵- و ۱- مگاپاسگال تنش خشکی در مقایسه با میزان آن در گیاه شاهد به میزان معنی‌داری افزایش پیدا می‌کند، در حالی که میزان MDA تجمع یافته در ساقه تحت تنش خشکی بین سه رقم نخود تفاوت وجود داشت به نحوی که میزان تجمع MDA

به نوع رقم نخود متفاوت بود. در رقم‌های بیونیچ و آرمان، اعمال ۰/۵- مگاپاسگال تنش خشکی باعث تغییر معنی‌داری در میزان H_2O_2 نشد، در حالی که به دنبال تشدید تنش (۱- مگاپاسگال) افزایش معنی‌داری در سطوح H_2O_2 مشاهده شد که میزان آن در رقم آرمان به میزان در خور توجهی از رقم بیونیچ بیشتر بود. در رقم جم، هر دو سطح تنش خشکی اعمال شده باعث افزایش معنی‌داری در غلظت H_2O_2 ساقه شد (جدول ۲).

که تنش خشکی تجمع در خور توجهی از پرولین را در ریشه و ساقه القا می‌کند که میزان این تجمع در بافت‌های ساقه رقم بیونیچ و آرمان به میزان معنی‌داری در مقایسه با میزان تجمع آن در رقم جم بیشتر بود. در مقابل، اگرچه تنش خشکی باعث افزایش معنی‌داری در محتوای پرولین ریشه در سه رقم تحت بررسی شد، با وجود این، اختلافی در میزان پرولین تجمع یافته در میان رقم‌های مورد بررسی مشاهده نشد (جدول ۲). تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی بر غلظت H_2O_2 ساقه بسته

جدول ۲- تأثیر تنش خشکی بر غلظت پروتئین محلول ($mg \cdot ml^{-1}$)، پرولین ($\mu mol \cdot g^{-1} FW$)، H_2O_2 ($nmol \cdot g^{-1} FW$) مالون‌دی‌آلدئید (MDA) ساقه (الف) و ریشه (ب) در سه رقم نخود. مقادیر، میانگین ۳ تکرار است. حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح $P < 0.05$ است. (الف)

رقم	تیمار	پروتئین محلول	پرولین	H_2O_2	MDA
بیونیچ	شاهد	۱۰ ^a	۹/۸ ^e	۴/۸ ^g	۹/۲۳ ^d
	-۰/۵ Mpa	۹/۴۸ ^{ab}	۴۰/۷ ^c	۶/۵ ^{fg}	۲۳ ^c
	-۱ Mpa	۷/۸۷ ^{cd}	۸۵/۳ ^a	۱۸ ^c	۳۷/۴ ^b
جم	شاهد	۶/۹۴ ^d	۷/۸ ^e	۷/۳ ^{ef}	۹ ^d
	-۰/۵ Mpa	۴/۴۳ ^f	۱۹/۲ ^e	۱۹/۲ ^c	۲۰/۹ ^c
	-۱ Mpa	۳/۱۶ ^g	۳۴/۴ ^d	۳۵/۹ ^a	۳۹/۲ ^b
آرمان	شاهد	۹/۴۸ ^{ab}	۸/۷ ^e	۹ ^{de}	۹/۵ ^d
	-۰/۵ Mpa	۸/۸۳ ^{bc}	۳۱/۲ ^d	۱۰/۴ ^d	۴۱/۸ ^b
	-۱ Mpa	۵/۹۴ ^e	۶۴/۵ ^b	۲۷/۳ ^b	۶۰ ^a
(ب)					
رقم	تیمار	پروتئین محلول	پرولین	H_2O_2	MDA
بیونیچ	شاهد	۵/۴۳ ^a	۵/۹ ^{bc}	۱۳/۳ ^{bc}	۶/۷ ^{cd}
	-۰/۵ Mpa	۵/۵ ^a	۶/۶ ^{bc}	۱۴/۱۳ ^{bc}	۷/۲۴ ^{bcd}
	-۱ Mpa	۵/۵ ^a	۱۶/۲ ^a	۱۲/۹۶ ^c	۶/۶۳ ^{cd}
جم	شاهد	۴/۵۸ ^b	۵/۶ ^{bc}	۱۶/۶۳ ^a	۶ ^d
	-۰/۵ Mpa	۳/۰۶ ^c	۵/۵ ^{bc}	۱۶/۱۳ ^a	۶/۶ ^{cd}
	-۱ Mpa	۲/۲۵ ^d	۱۶/۸ ^a	۱۴/۹۶ ^{ab}	۷/۲۳ ^{bcd}
آرمان	شاهد	۵/۷۳ ^a	۶/۹ ^{bc}	۱۳/۳ ^{bc}	۷/۷۹ ^{abc}
	-۰/۵ Mpa	۵/۲ ^{ab}	۷/۶ ^b	۱۳/۵ ^{bc}	۸/۷ ^a
	-۱ Mpa	۵/۰۸ ^{ab}	۱۶/۲ ^a	۱۳/۳۶ ^{bc}	۸/۲ ^{ab}

تأثیر تنش خشکی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

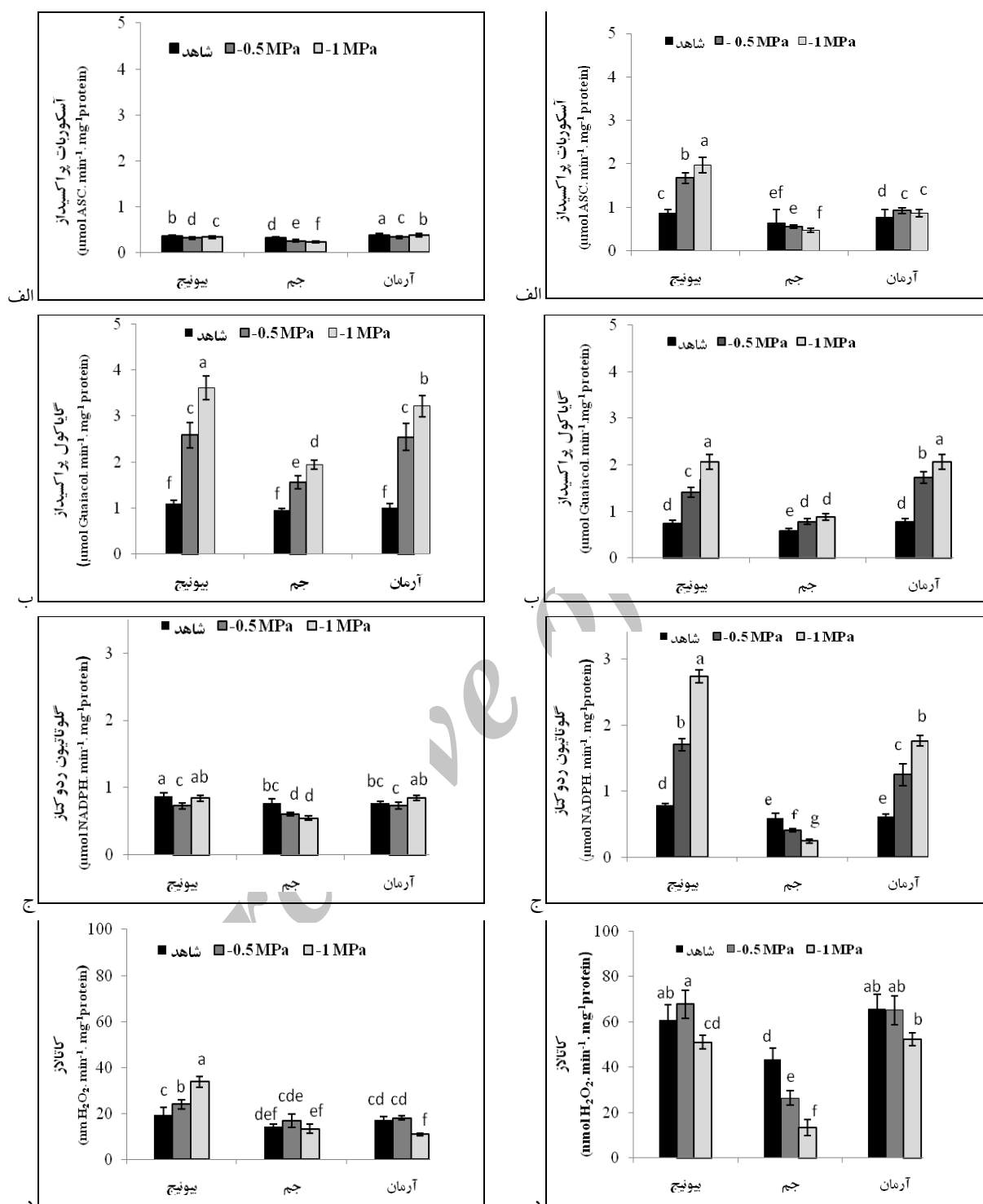
به منظور بررسی پاسخ سیستم آنتی‌اکسیدانی سه رقم نخود مورد بررسی به تنش خشکی، فعالیت آنزیم‌های APX، POD، GR و CAT در ریشه و ساقه بررسی شد (شکل‌های ۱ و ۲). میزان فعالیت آنزیم APX ساقه در رقم‌های آرمان و بیونج تحت تنش خشکی افزایش معنی‌داری را در مقایسه با میزان آن در شاهد نشان داد، به طوری که پس از اعمال ۰/۵- و ۱- مگاپاسگال تنش خشکی، سطح فعالیت این آنزیم در رقم بیونج به ترتیب ۱۹۲ و ۲۲۶ درصد و در رقم آرمان در هر دو سطح خشکی تقریباً ۱۱۵ درصد افزایش نشان داد (شکل ۱ الف). در سطح ۰/۵- مگاپاسگال تنش خشکی، فعالیت آنزیم APX ریشه در رقم‌های بیونج، جم و آرمان اختلاف معنی‌داری با شاهد نشان نداد، ولی با تشدید تنش خشکی (۱- مگاپاسگال) فعالیت این آنزیم در رقم‌های بیونج و جم افزایش معنی‌داری را در مقایسه با شاهد نشان داد (شکل ۲ الف).

در هر دو سطح تنش اسمزی، میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز (POD) ریشه و ساقه در سه رقم مورد بررسی به میزان درخور توجهی افزایش نشان داد، با وجود این، بیشترین فعالیت آنزیم در رقم‌های آرمان و بیونج مشاهده شد (شکل‌های ۱ ب، ۲ ب).

پاسخ آنزیم گلوکاتایون ردوکتاز (GR) به شرایط تنش خشکی در سه رقم نخود مورد بررسی کاملاً متفاوت بود. در بیونج و آرمان، فعالیت GR در ساقه پس از اعمال ۰/۵- مگاپاسگال تنش خشکی به ترتیب ۲۱۸ و ۲۰۰ درصد افزایش نشان داد و با تشدید تنش خشکی (۱- مگاپاسگال) فعالیت این آنزیم به ترتیب ۳۴۵ و ۲۹۸ درصد افزایش پیدا کرد (شکل ۱ ج). به هر

حال، فعالیت این آنزیم در رقم جم پس از اعمال ۰/۵- و ۱- مگاپاسگال تنش خشکی کاهش یافت. از طرف دیگر، فعالیت GR ریشه در رقم بیونج تحت ۰/۵- مگاپاسگال تنش خشکی کاهش نشان داد، در حالی که در ۱- مگاپاسگال تنش خشکی فعالیت این آنزیم افزایش پیدا کرد. در رقم جم فعالیت آنزیم GR ریشه تحت هر دو سطح تنش خشکی تفاوت معنی‌داری را با فعالیت آن در شاهد نشان نداد و در رقم جم نیز کاهش در فعالیت این آنزیم در ریشه در هر دو سطح تنش خشکی مشاهده شد (شکل ۲ ج).

در رقم‌های بیونج و آرمان، فعالیت آنزیم CAT ساقه تحت ۰/۵- مگاپاسگال تنش خشکی تغییر درخور توجهی نشان نداد، در حالی که با اعمال خشکی شدیدتر (۱- مگاپاسگال)، فعالیت این آنزیم کاهش معنی‌داری را نسبت به فعالیت آن در گیاه شاهد در هر دو رقم نشان داد. از طرف دیگر، هر دو سطح تنش خشکی اعمال شده (۰/۵- و ۱- مگاپاسگال) به طور معنی‌داری باعث کاهش فعالیت آنزیم CAT در رقم جم نسبت به شاهد شد (شکل ۱ د). پاسخ فعالیت CAT ریشه به تنش خشکی بسته به نوع رقم نخود متفاوت بود. در رقم بیونج، فعالیت کاتالاز تحت ۰/۵- و ۱- مگاپاسگال تنش خشکی در مقایسه با فعالیت آن در گیاه شاهد افزایش نشان داد که از نظر آماری معنی‌دار بود، در حالی که در آرمان اعمال ۰/۵- مگاپاسگال تنش خشکی تأثیری بر فعالیت آنزیم نداشت، در حالی که در ۱- مگاپاسگال تنش خشکی فعالیت آنزیم به طور معنی‌داری افزایش یافت. در رقم جم، فعالیت آنزیم CAT ریشه تحت ۰/۵- و ۱- مگاپاسگال تنش خشکی تأثیری بر فعالیت آنزیم نداشت (شکل ۲ ج).



شکل ۲- فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز (الف)، گایاکول پراکسیداز (ب)، گلوٹاتیون ردوکتاز (ج) و کاتالاز (د) در ریشه سه رقم نخود تحت ۰/۵- و ۱- مگاپاسگال تنش خشکی اعمال شده توسط PEG 6000 برای ۱۵ روز. مقادیر، میانگین ۳ تکرار است. حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح $P < 0.05$ است.

شکل ۱- فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز (الف)، گایاکول پراکسیداز (ب)، گلوٹاتیون ردوکتاز (ج) و کاتالاز (د) در ساقه سه رقم نخود تحت ۰/۵- و ۱- مگاپاسگال تنش خشکی اعمال شده توسط PEG 6000 برای ۱۵ روز. مقادیر، میانگین ۳ تکرار است. حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح $P < 0.05$ است.

بحث

تنش خشکی یکی از عوامل اصلی کاهش محصول در گیاهان است. در حال حاضر به علت توسعه مناطق خشک و نیمه خشک و همچنین، محدود بودن منابع آبی شناسایی و انتخاب رقم‌های گیاهی مقاوم به تنش کم آبی برای به کمینه رساندن مشکلات آینده جهان برای تأمین مواد غذایی الزامی است. برای دستیابی به این هدف، تعیین درجه مقاومت گونه‌های گیاهی به تنش خشکی و همچنین، شناخت مکانیسم‌های دخیل برای بقا گیاهان تحت شرایط خشک و نیمه خشک ضروری است (Rahnama and Ebrahimzadeh 2005). تنوع در میزان تولید بیوماس ریشه و ساقه تحت شرایط تنش در بین رقم‌های مختلف گیاهی نشان داده است که رقم گیاهی عامل مهمی در تعیین میزان مقاومت به شرایط تنش است (Hossein Boldaji et al., 2012).

نتایج این مطالعه نشان داد که میزان وزن خشک ساقه، ریشه و همچنین، وزن خشک کل گیاه تحت تنش خشکی اعمال شده توسط PEG 6000 در سه رقم نخود مورد بررسی به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد. کاهش مشاهده شده در شاخص‌های رشدی ممکن است نتیجه کاهش سرعت فتوسنتز تحت تنش خشکی باشد که می‌تواند به بسته شدن روزنه‌ها یا کاهش سطح برگ در پاسخ به تنش خشکی نسبت داده شود. در بین سه رقم بررسی شده، بیشترین کاهش در میزان وزن خشک ساقه و ریشه تحت تیمارهای ۰/۵- و ۱- مگاپاسگال تنش اسمزی در رقم جم مشاهده شد و از آنجا که میزان مقاوم بودن رقم‌های گیاهی بر اساس میزان تولید بیوماس تحت شرایط تنش در مقابل شرایط شاهد ارزیابی می‌شود، به این ترتیب رقم جم به عنوان

رقم حساس به تنش خشکی و رقم‌های بیونیچ و آرمان به عنوان رقم‌های مقاوم به خشکی در نظر گرفته شدند. رقم بیونیچ در مطالعه دیگری نیز به عنوان رقم مقاوم به تنش خشکی تأیید شده است (Mafakheri et al., 2011). تأثیر رقم گیاهی روی مقاومت گیاه به شرایط تنش در سایر گونه‌های گیاهی مانند یونجه (Hossein Boldaji et al., 2012) نیز تأیید شده است. نتایج این مطالعه همچنین نشان داد که در رقم‌های بیونیچ و آرمان وزن خشک ساقه تحت تنش خشکی بیشتر از وزن خشک ریشه کاهش پیدا کرد، به طوری که نسبت ریشه به ساقه در گیاهان تحت تنش خشکی به میزان معنی‌داری از گیاهان شاهد بیشتر بود. به این ترتیب می‌توان پیشنهاد کرد که افزایش در وزن خشک ریشه به ساقه در رقم‌های بیونیچ و آرمان می‌تواند به توسعه یافتن بیشتر سیستم ریشه در این رقم‌ها تحت شرایط تنش مربوط باشد که به جذب آب کمک می‌کند.

پرویلین از طریق مکانیسم‌های مختلف شامل تنظیم وضعیت اسمزی، سم‌زدایی گونه‌های فعال اکسیژن و ثبات آنزیم‌ها یا پروتئین‌ها، گیاهان را در مقابل تنش‌های محیطی محافظت می‌کند. در برخی از گیاهان ثابت شده است که تغییرات میزان پرویلین با توانایی آنها برای تحمل یا سازش به شرایط تنش مرتبط است و می‌تواند به عنوان شاخصی برای انتخاب گیاهان مقاوم به تنش استفاده شود (Niknam et al., 2006). در مقابل، گزارش‌هایی وجود دارد که بیان می‌کند پرویلین نمی‌تواند به عنوان یک شاخص معتبر برای انتخاب گونه‌های گیاهی مقاوم به شرایط تنش استفاده شود (Yazici et al., 2007). بر اساس نتایج این مطالعه، تنش خشکی تجمع پرویلین را در ساقه در سه رقم نخود

پروتئین‌ها و DNA آسیب وارد کند و از فرآیند فتوسنتز و فعالیت آنزیم‌های دیگر جلوگیری کند (Gupta and Gupta, 2005). چندین آنزیم سطوح H_2O_2 را درون سلول تنظیم می‌کنند که مهم‌ترین آنها کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز (گایاکول پراکسیداز) است.

آنزیم POD نقش کلیدی در سم‌زدایی H_2O_2 حذف مالون‌دی‌آلدئید که باعث پراکسیداسیون غشا می‌شود و حفظ ثبات و پایداری دیواره سلولی بازی می‌کند (Hojati et al., 2011). نتایج این مطالعه نشان داد که فعالیت آنزیم POD ساقه و ریشه در سه رقم نخود مورد آزمایش تحت تنش خشکی به طور درخور توجهی در مقایسه با شاهد افزایش پیدا کرد، با وجود این، آنزیم POD فعالیت بیشتری را در رقم‌های بیونیچ و آرمان نسبت به رقم جم نشان داد که نشان‌دهنده ظرفیت بالاتر برای به دام انداختن ROS در این دو رقم نخود است و بنابراین، آسیب به لیپیدهای غشا پلاسمايي تحت تنش خشکی در این دو رقم کمتر است. نتایج حاصل از مطالعه روی رقم مقاوم و حساس برنج به تنش شوری نیز نشان داده است که تحت تنش شوری سطح فعالیت آنزیم POD در رقم مقاوم به شوری نسبت به رقم حساس به شوری به میزان بیشتری افزایش نشان می‌دهد (Khan and Panda, 2008).

در رقم حساس جم، فعالیت CAT ساقه در هر دو سطح تنش خشکی (۰/۵- و ۱- مگاپاسگال) کاهش معنی‌داری نشان داد که این کاهش در مقایسه با کاهش فعالیت این آنزیم در رقم‌های بیونیچ و آرمان تحت تنش ۱- مگاپاسگال به میزان درخور توجهی بالاتر بود. توانایی کاهش یافته برای به دام انداختن H_2O_2 توسط

مورد بررسی الفا کرد، البته میزان تجمع در رقم جم در مقایسه با دو رقم دیگر به میزان درخور توجهی پایین‌تر بود. تجمع پرولین در پاسخ به تنش‌ها در میان گونه‌های گیاهی گزارش شده است.

یکی از تغییرات بیوشیمیایی که در گیاهان تحت شرایط تنش خشکی اتفاق می‌افتد، تجمع ROS است. در گزارش‌های متعددی بیان شده است که تنش خشکی میزان تولید ROS را افزایش می‌دهد (Foyer and Noctor, 2003). سلول‌های گیاهی قادرند از طریق القا سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی بر شرایط تنش اکسیداتیو ایجاد شده تحت تنش غلبه کنند (Alscher et al., 2002). بنابراین، توانایی برای به دام انداختن گونه‌های فعال اکسیژن یک راهکار سازشی در گیاهان است که گونه‌های گیاهی از آن برای مقابله با تنش اکسیداتیو استفاده می‌کنند (Foyer and Noctor, 2003). مقاومت گیاه به تنش‌های مختلف محیطی ممکن است با سطح فعالیت آنزیم‌های مسؤول به دام انداختن رادیکال‌های آزاد اکسیژن مرتبط باشد (Mckersie et al., 1996). پاسخ آنتی‌اکسیدان‌ها به کمبود آب، به شدت تنش و نوع گونه گیاهی بستگی دارد. گونه‌های گیاهی مقاوم معمولاً ظرفیت حفاظتی کارآمدتری در مقابل تنش اکسیداتیو القا شده توسط تنش کم آبی دارند که می‌تواند از طریق بالا بردن میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان افزایش پیدا کند (Hossein Boldaji et al., 2012). H_2O_2 یک ترکیب سمی برای سلول‌هاست و باید به سرعت توسط سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی به آب و اکسیژن تبدیل شود (Guo et al., 2006) در غیر این صورت می‌تواند از طریق پراکسیداسیون لیپیدها به غشا سلولی، ساختمان

آسکوربات پراکسیداز از طریق سیکل آسکوربات - گلو تاتیون باعث متابولیزه شدن H_2O_2 می‌شود. در سه رقم نخود مورد بررسی، فعالیت APX ساقه در مقایسه با میزان فعالیت آن در ریشه تحت هر دو شرایط شاهد و تنش بیشتر بود. تنش خشکی باعث افزایش معنی‌داری در فعالیت آنزیم APX ساقه در رقم‌های آرمان و بیونج شد، ولی سطح افزایش در بیونج در مقایسه با رقم آرمان به میزان در خور توجهی بیشتر بود. به این ترتیب القای فعالیت APX در این دو رقم توسط تنش خشکی با کارایی بالاتر مکانیسم دفاع آنتی‌اکسیدانی در این دو رقم تحت تنش خشکی مرتبط است. در مقابل، فعالیت آنزیم APX در رقم جم تحت ۱- مگاپاسگال تنش خشکی در مقایسه با شاهد کاهش نشان داد و به این ترتیب می‌توان پیشنهاد کرد که حساسیت رقم جم به تنش خشکی می‌تواند تا حدودی به واسطه ظرفیت پایین‌تر این رقم در به دام انداختن ROS باشد که صدمه به این رقم را تحت تنش خشکی افزایش می‌دهد. در مطالعه مشابهی گزارش شده است که رقم مقاوم به خشکی گندم فعالیت بالاتری از APX را در مقایسه با رقم حساس به خشکی گندم تحت شرایط شدید تنش خشکی نشان می‌دهد (Khanna-Chopra and Selote, 2007).

نتایج حاصل از اندازه‌گیری میزان H_2O_2 نشان داد که در رقم‌های بیونج و آرمان غلظت H_2O_2 ساقه در سطح ۰/۵- مگاپاسگال تنش خشکی تغییری پیدا نکرد، در حالی که با تشدید تنش (۱- مگاپاسگال) غلظت آن به میزان معنی‌داری افزایش پیدا کرد که ممکن است با کاهش در فعالیت آنزیم CAT در این سطح خشکی مرتبط باشد. به علت این که CAT مسؤوّل حذف بخش

در سه رقم نخود، باعث تجمع ROS و بنابراین، پراکسیداسیون لیپیدهای سیستم غشایی و آسیب اکسیداتیو می‌شود. نظر به این که سطح فعالیت CAT در رقم جم در مقایسه با دو رقم دیگر به میزان بالاتری کاهش نشان داد، بنابراین تجمع ROS در این رقم بیشتر است و احتمالاً آسیب اکسیداتیو نیز شدیدتر است. غیرفعال شدن CAT تحت تنش اسمزی ممکن است به واسطه بازداشته شدن سنتز آنزیم یا غیرفعال شدن آنزیم توسط اکسیژن منفرد، پراکسید و هیدروکسیل باشد (Hosseini Boldaji *et al.*, 2012).

GR نیز نقش کلیدی در تنش اکسیداتیو بازی می‌کند. این آنزیم مسؤوّل تبدیل گلو تاتیون اکسید شده (GSSG) به گلو تاتیون احیاء شده (GSH) و حفظ نسبت بالای GSH به GSSG است. در مطالعه‌ای افزایش در سطح فعالیت آنزیم GR در برگ‌های چغندر قند تحت تنش شوری گزارش شده است که ممکن است با میزان توانایی گیاه برای مقاومت به تنش شوری ارتباط نزدیکی داشته باشد (Bor *et al.*, 2003). نتایج این مطالعه نشان داد که با اعمال تنش خشکی فعالیت آنزیم GR ساقه در رقم‌های بیونج و آرمان به میزان معنی‌داری نسبت به فعالیت آن در شاهد افزایش پیدا کرد، در صورتی که در رقم جم، تنش خشکی باعث کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم GR در ساقه شد. به این ترتیب می‌توان پیشنهاد کرد که کاهش فعالیت GR تحت تنش خشکی باعث حساسیت بیشتر رقم جم به تنش خشکی می‌شود. در مطالعه دیگری نیز نشان داده شد که در رقم حساس به شوری برنج فعالیت آنزیم GR تحت تنش شوری کاهش بیشتری را نسبت به رقم مقاوم به شوری نشان می‌دهد (Khan and Panda, 2008).

توجهی بیشتر بود که نشان‌دهنده سرعت بالاتر پراکسیداسیون لیپیدها در این رقم تحت تنش خشکی است. میزان پایین MDA مشاهده شده در رقم‌های آرمان و بیونج نشان می‌دهد که این دو رقم تحت تنش خشکی کمتر در معرض پراکسیداسیون لیپیدها قرار گرفته و به این ترتیب پراکسیداسیون کمتر لیپیدها یکی از علت‌های مقاومت این دو رقم به تنش خشکی است. گزارش‌هایی نیز وجود دارد که نشان می‌دهد در رقم حساس به تنش شوری برنج، میزان تجمع MDA در مقایسه با رقم مقاوم به خشکی بیشتر بود (Khanna-Chopra and Selote, 2007).

نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان داد که تنش خشکی، شاخص‌های رشدی را در رقم‌های بیونج، آرمان و جم به میزان درخور توجهی تحت تأثیر قرار می‌دهد. با این وجود، تنوع در حساسیت به تنش خشکی در بین رقم‌های نخود مورد مطالعه مشاهده شد. رقم‌های بیونج و آرمان به ترتیب مقاوم‌ترین رقم‌های مقاوم به خشکی در بین رقم‌های مورد مطالعه در نظر گرفته شدند به علت این که این دو رقم سطح بالایی از تولید بیوماس را تحت تنش خشکی حفظ می‌کنند. از سوی دیگر، نتایج این مطالعه تأیید کرد که تفاوت بین رقم‌ها برای تحمل تنش خشکی با ظرفیت دفاع آنتی‌اکسیدانی مرتبط است. رقم‌های بیونج و آرمان به ترتیب مکانیسم‌های حفاظتی کارآمدتری در مقابل آسیب‌اکسیداتیو تحت تنش خشکی نشان دادند و بنابراین، به عنوان رقم‌های مقاوم به تنش خشکی برای مناطق خشک پیشنهاد می‌شوند.

عظیمی از H_2O_2 است (Eyidogan and Tufan öz, 2007). به هر حال، احتمالاً به علت این که فعالیت آنزیم‌های APX و POD ساقه در رقم بیونج تحت شرایط تنش خشکی بیشتر از فعالیت آنها در رقم آرمان افزایش پیدا کرد، بنابراین، میزان H_2O_2 در رقم بیونج در مقایسه با رقم آرمان پایین‌تر است. در رقم حساس به خشکی جم، میزان H_2O_2 در هر دو سطح خشکی اعمال شده در مقایسه با شاهد افزایش نشان داد که به کاهش در فعالیت آنزیم کاتالاز و عدم فعالیت کافی آنزیم‌های دخیل در حذف H_2O_2 تحت تنش خشکی مربوط می‌شود.

گزارش‌ها نشان می‌دهد که آسیب به غشا تحت تنش‌های خشکی با افزایش در میزان تولید گونه‌های فعال اکسیژن مرتبط است و بنابراین، ثبات غشاهای زیستی دال بر مقاومت به تنش خشکی است. تجمع رادیکال‌های آزاد اکسیژن تحت تنش خشکی باعث اکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع دارای چندین پیوند دوگانه در غشا پلاسمایی و ایجاد مالون‌دی‌آلدئید (MDA) می‌شود. پراکسیداسیون لیپیدها به عنوان تولید میزان مالون‌دی‌آلدئید (MDA) اندازه‌گیری شد. پراکسیداسیون لیپیدهای غشارا می‌توان به عنوان نشانه‌ای از آسیب‌اکسیداتیو در نظر گرفت و اغلب از آن به عنوان شاخصی برای تعیین میزان آسیب وارده به غشا تحت تنش استفاده می‌شود (Khan and Panda, 2008). در این پژوهش، میزان MDA در سه رقم نخود مورد بررسی تحت تنش خشکی در مقایسه با شاهد افزایش نشان داد، در حالی که میزان تجمع MDA در رقم جم در مقایسه با دو رقم دیگر به میزان درخور

منابع

- Aebi, H. (1984) Catalase *in vitro*. Methods in Enzymology 105: 121-126.
- 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 Environmental 24: 1337-1344.
- Alscher, R. G., Erturk, N. and Heath, L. S. (2002) Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress. Journal of Experimental Botany 53: 1331-1341.
- Bacelar, E. A., Santaos, D. L., Moutinho-Pereira, J. M., Lopes, J. I., Goncalves, B. C., Ferreira, T. C. and Correia, C. M. (2007) Physiological behavior, oxidative damage and antioxidative protection of olive trees grown under different irrigation regimes. Plant Soil 292: 1-12.
- Bates, L. S., Waldre, R. P. and Teare, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil 39: 205-207.
- Ben Ahmed, C., Ben Rouina, B., Sensoy, S., Boukhris, M. and Ben Abdallah, F. (2009) Changes in gas exchange, proline accumulation and antioxidative enzyme activities in three olive cultivars under contrasting water availability regimes. Environmental and Experimental Botany 67: 345-352.
- Bergmeyer, H. U. (1974) Methods of enzymatic analysis 1 and 2nd Ed, Academic Press, New York.
- Bor, M., Ozdemir, F. and Turkan, I. (2003) The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in leaves of sugar beet *Beta vulgaris* L. and wild beet *Beta maritima* L. Plant Sciences 164: 77-84.
- Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 72: 248-254.
- Dalton, D. A., Russell, S. A., Hanus, F. J., Pascoe, G. A. and Evans, H. J. (1986) Enzymatic reactions of ascorbate and glutathione that prevent peroxide damage in soybean root nodules. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United State of America 83: 3811-3815.
- Demiral, T. and Türkan, I. (2004) Does exogenous glycine betaine affect antioxidative system of rice seedlings under NaCl treatment? Journal of Plant Physiology 161: 1089-1100.
- Dhindsa, R. and Matowe, W. (1981) Drought tolerance in two mosses: correlated with enzymatic defense against lipid peroxidation. Journal of Experimental Botany 32: 79-91.
- Eyidogan, F. and Tufan öz, M. (2007) Effect of salinity on antioxidant responses of chickpea seedlings. Acta Physiologia Plantarum 29: 485-493.
- Foyer, C. and Noctor, G. (2003) Redox sensing and signaling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. Physiologia Plantarum 119: 355-364.
- Guo, Z., Ouw Lu, S. and Zhong, Q. (2006) Differential responses of antioxidative system to chilling and drought in four rice cultivars differing in sensitivity. Plant Physiology and Biochemistry 44: 828-836.
- Gupta, S. and Gupta, N. K. (2005) High temperature induced antioxidative defense mechanism in contrasting wheat seedlings. Indian Journal of Plant Physiology 10: 73-75.
- Herridge, D. F., Marcellos, H., Felton, W. L. and Turner, G. L. (1995) Chickpea increases soil-N fertility in cereal systems through nitrate sparing and N₂ fixation. Soil Biology and Biochemistry 27: 545-51.
- Hoagland, D. R. and Arnon, D. I. (1950) The water-culture method for growing plants without soil. California Agricultural Experiment Station Circular 347: 1-32.

- Hojati, M., Modarres-Sanavy, A. M. M., Karimi, M. and Ghanati, F. (2011) Responses of growth and antioxidant systems in *Carthamus tinctorius* L. under water deficit stress. *Acta Physiologia Plantarum* 33: 105-112.
- Hosseini Boldaji, S. A., Khavari-Nejad, R. A., Hassan Sajedi, R., Fahimi, H., Saadatmand, S. (2012) Water availability effects on antioxidant enzyme activities lipid peroxidation, and reducing sugar contents of alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Acta Physiologia Plantarum* 34: 1177-1186.
- Khan M. H. and Panda S. K. (2008) Alternations in root lipid peroxidation and antioxidative responses in two rice cultivars under NaCl-salinity stress. *Acta Physiologia Plantarum* 30: 81-89.
- Khanna-Chopra, R. and Selote D. S. (2007) Acclimation to drought stress generates oxidative stress tolerance in drought-resistant than -susceptible wheat cultivar under field conditions. *Environmental and Experimental Botany* 60: 276-283.
- Mafakheri, A., Siosemardeh, A., Bahramnejad, B., Struik, P. C. and Sohrabi Y. (2011) Effect of drought stress and subsequent recovery on protein, carbohydrate contents, catalase and peroxidase activities in three chickpea (*Cicer arietinum*) cultivars. *Australian Journal of Crop Science* 5 (10): 1225-1260
- Mckersie, B. D., Bowley, S. R., Harjanto, E. and Leprince, O. (1996) Water-deficit tolerance and field performance of transgenic alfalfa overexpressing superoxide dismutase. *Plant Physiology* 111: 1177-1181.
- Michel, B. E. and Kaufmann, M. R. (1973) The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. *Plant Physiology* 51: 914-916.
- Mittler, R. (2002) Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science* 7: 405-410.
- Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M. and Vanbreusegem, F. (2004) Reactive oxygen gene network of plants. *Trends Plant Science* 9: 490-498.
- Monakhova, O. F. and Chernyadev, I. I. (2002) Protective role of kartolin-4 in wheat plants exposed to soil drought. *Applied Environmental Microbiology* 38: 373-380.
- Nakano, Y. and Asada, K. (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiology* 22: 867-880.
- Niknam, V., Razavi, N., Ebrahimzadeh, H. and Sharifzadeh, B. (2006) Effect of NaCl on biomass, protein and proline contents and antioxidant enzymes in seedlings and calli of two *Trigonella* Species. *Biologia Plantarum*. 50 (4): 591-596.
- Ozkur, O., Ozdemir, F., Bor, M. and Turkan I. (2009) Physicochemical and antioxidant responses of the perennial xerophyte *Capparis ovata* Desf to drought. *Environmental and Experimental Botany* 66: 487-492.
- Rahnama, H. and Ebrahimzadeh, H. (2005) The effect of NaCl on antioxidant enzyme activities in potato seedling. *Biologia Plantarum* 49 (1): 93-97.
- Sabaghpour, S. H., Mahmodi, A. A., Saeed, A., Kamel, M. and Malhotra R. S. (2006) Study on chickpea drought tolerance lines under dryland condition of Iran. *Indian Journal of Crop Science* 1 (1-2): 70-73.
- Xu, P. L., Guo, Y. K., Bai, J. G., Shang, L. and Wang, X. J. (2008) Effects of long-term chilling on ultrastructure and antioxidant activity in leaves of two cucumber cultivars under low light. *Physiologia Plantarum* 132: 467-478.
- Yazici, I., Turkan, F., Sekmen, A. H. and Demiral, T. (2007) Salinity tolerance of purslane (*Portulaca oleracea* L.) is achieved by enhanced antioxidative system, lower level of lipid peroxidation and proline accumulation. *Environmental and Experimental Botany* 61(1): 49-57.

Effect of dry stress on growth and antioxidant system in three chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars

Maryam Nasr Esfahani *

Department of Biology, Faculty of Sciences, Lorestan University, Khoram abad, Iran

Abstract

Water deficit is one of the major abiotic stresses which adversely affects plant growth and crop yield. In this study, the changes in the activity of antioxidant enzymes, growth parameters, proline and H₂O₂ contents and the rate of lipids peroxidation in terms of malondialdehyde in shoot and root tissues of three chickpea cultivars (Bivanij, Jam and Arman) under dry stress were investigated. Compared to the controls, dry stress resulted in the reduction of dry weights of the shoot and the root tissues in the studied three chickpea cultivars while magnitude of decrease was greater in jam cultivar comparee to the other two cultivars. Dry stress caused significant changes in proline, and Malondialdehyde (MDA) levels in shoot tissues in the studied cultivars. Bivanij and Arman cultivars also showed higher activities of ascorbate peroxidase, proxidase, catalase and glutathione reductase in the shoot tissues in comparison with jam. These higher antioxidant activities may help the tolerant cultivars to decrease oxidative damages of dry stress to membrane lipids as compared with sensitive cultivar. On the basis of results of this study, it can be concluded that: (1) Bivanij and Arman were tolerant but Jam was sensitive to dry stress (2) dry tolerance of Bivanij and Arman cultivars might be closely related to the increased capacity of the antioxidative system to scavenge reactive oxygen species and thus suppress lipid peroxidation under dry stress.

Key words: Antioxidant enzymes, Chickpea, Dry stress, Oxidative stress

* Corresponding Author: esfahani.m@lu.ac.ir