

اثر تنش خشکی بر شاخص سطح برگ، فتوسنتز، هدایت روزنه‌ای و میزان پرولین در دو رقم لوبیاچیتی (*Phaseolus vulgaris* L.)

فرشاد سرخی*، مجتبی فاتح

گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد میان‌دوآب، دانشگاه آزاد اسلامی، میان‌دوآب، ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۱۱/۲۹؛ تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۳/۱۱

چکیده

جهت بررسی اثر تنش خشکی بر شاخص سطح برگ، سرعت فتوسنتز، میزان کلروفیل، هدایت روزنه‌ای و میزان پرولین در ارقام لوبیاچیتی، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل تنش خشکی در سه سطح، آبیاری کامل (شاهد)، قطع آبیاری در مرحله رویشی شامل ظهور سه برگچه اول (V3) و قطع آبیاری در مرحله گلدهی (R6) و دو رقم لوبیاچیتی (تلاش و خمین) بودند. نتایج نشان داد در هر دو رقم لوبیاچیتی شاخص سطح برگ، میزان کلروفیل a و b، سرعت فتوسنتز و هدایت روزنه‌ای در اثر تنش خشکی کاهش معنی‌دار یافت ولی بر میزان پرولین به‌طور معنی‌داری افزوده شد. ارقام لوبیا از لحاظ شاخص سطح برگ و میزان کلروفیل b، تحت شرایط آبیاری کامل فاقد اختلاف معنی‌دار بودند ولی در شرایط اعمال تنش خشکی، رقم تلاش در مقایسه با رقم خمین به‌طور معنی‌داری از کاهش کمتر هدایت روزنه‌ای، میزان کلروفیل و سرعت فتوسنتز برخوردار بود. میزان کاهش هدایت روزنه‌ای در تنش خشکی در مراحل گلدهی و رویشی نسبت به شاهد (آبیاری کامل) در رقم تلاش به ترتیب ۲۵/۶۹ و ۴۶/۲۹ درصد و در رقم خمین به ترتیب ۳۸/۹۰ و ۵۷/۸۱ درصد بود و افزایش محتوی پرولین نیز در رقم تلاش به ترتیب ۵۶/۴۶ و ۹۲/۵۱ درصد و در رقم خمین به ترتیب ۴۳/۹۷ و ۸۱/۴۵ درصد به دست آمد. نتیجه‌گیری شد رقم تلاش با دوام فتوسنتزی بیشتر از طریق حفظ سطح برگ، هدایت روزنه‌ای، سرعت فتوسنتز و میزان کلروفیل و افزایش مقدار پرولین در شرایط تنش خشکی مقاوم‌تر از رقم خمین است.

واژه‌های کلیدی: برگ، خشکی، فیز بولوژی، کلروفیل، لوبیا

مقدمه

خشکی به شرایطی اطلاق می‌گردد که در نتیجه آن رطوبت موجود در خاک به نقطه‌ای می‌رسد که گیاه قادر به جذب آب با سرعت کافی برای جبران تعرق نباشد. لذا برخی از فرآیندهای رشد و نمو به شدت تحت تأثیر این نوع تنش قرار می‌گیرند (Maazou et al., 2016). ایران دارای آب‌وهوای مدیترانه‌ای است و با متوسط نزولات ۲۴۰ میلی‌متر در سال در زمره مناطق خشک و نیمه‌خشک جهان قرار گرفته است (Sorkhi, 2015). میزان پروتئین حبوبات در حدود دو برابر غلات بوده که می‌تواند به‌عنوان مکمل پروتئین غلات در رژیم غذایی جای گیرد (Magalhaes et al., 2017). لوبیا

(*Phaseolus vulgaris*) گیاهی یک‌ساله، علفی و خودگشن، از تیره Fabaceae است که به‌عنوان یکی از منابع تأمین غذای انسان دارای پروتئین در حد بالا، فسفر، آهن، ویتامین‌های B₁، C و فیبر بوده که فاقد کلسترول است (Wondimu and Tana, 2017). آثار سوء ناشی از تنش خشکی بر رشد و نمو و عملکرد لوبیا، بستگی به زمان وقوع تنش، شدت تنش، مرحله نمو و ژنوتیپ گیاه دارد (Cortes et al., 2012). خشکی از طریق کاهش رشد برگ‌ها، غلظت کلروفیل، غلظت پروتئین‌های محلول برگ، هدایت روزنه‌ای، سرعت فتوسنتز و در نهایت

(Khayatnezhad and Gholamin, 2011) مقدار کلروفیل را به‌طور معنی‌داری کاهش داد. گیاهان در شرایط محیطی متفاوت مواد محلول با وزن مولکولی کم که به‌طور کلی مواد محلول سازگار نامیده می‌شوند را تجمع می‌دهند که شامل اسیدهای آمینه، پرولین، قندها و بتائین است (Mauad et al., 2016). مواد محلول سازگار با واکنش‌های عادی بیوشیمیایی سلول تداخل ندارند و به‌عنوان محافظان اسمزی در طی تنش اسمزی عمل می‌کنند. در بین مواد محلول سازگار شناخته‌شده احتمالاً پرولین گسترده‌ترین نوع آن‌ها است (Nohong and Nampo, 2015). افزایش میزان پرولین در اثر تنش خشکی در لوبیا چشم‌بلبلی (Ardabili et al., 2013)، نخودفرنگی (Shinde and Thakur, 2015)، ذرت (Homayouni and Khazarian, 2014)، گندم (Sultan et al., 2012)، جو (Sorkhi, 2015) و کلزا (Majidi et al., 2015) گزارش شده است. طبق نتایج آزمایش جاباسینگ و بابو (Jabasingh and Babu, 2013) تجمع پرولین با توانایی گیاه برای زنده ماندن در شرایط کمبود آب مرتبط است. هدف از انجام این پژوهش بررسی اثر تنش خشکی در مراحل رشد رویشی و زایشی بر روی برخی از فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در دو رقم لوبیاچیتی بود تا پاسخ این دو رقم در مقابله با تنش خشکی ارزیابی شود.

مواد و روش‌ها

آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار در دانشگاه آزاد اسلامی واحد میان‌دوآب در سال ۱۳۹۶ اجرا شد. ارتفاع منطقه آزمایش از سطح دریا ۱۰۱۵ متر و عرض جغرافیایی آن به ترتیب ۴۷ درجه و ۵۲ دقیقه شرقی و ۳۵ درجه و ۲۰ دقیقه شمالی است. میانگین حداکثر و حداقل دمای سالیانه به ترتیب ۲۱/۲ و ۶/۵ درجه سانتی‌گراد است. میانگین بارندگی سالیانه ۲۷۲/۲ میلی‌متر است. مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه مورد آزمایش طبق جدول ۱ و میزان بارندگی در منطقه در زمان آزمایش طبق جدول ۲ است. تیمارهای آزمایش شامل تنش خشکی در سه سطح، آبیاری در تمام مراحل رشد (شاهد)، قطع آبیاری در مرحله رویشی شامل ظهور سه برگچه اول (V3) و قطع آبیاری در مرحله گلدهی (R6) و دو رقم لوبیاچیتی، تلاش و خمین بودند. در تیمار شاهد (آبیاری کامل) و سایر تیمارها تا زمان اعمال تنش خشکی، دور آبیاری

تسریع پیری برگ‌ها مقدار تولید و عملکرد را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Praba et al., 2009). تنش خشکی سبب کاهش تعداد برگ و شاخص سطح برگ در هر بوته می‌گردد (Hu and Xiong, 2014). تحت شرایط تنش خشکی برگ‌های کوچک و باریک در گیاه، شاخص سطح برگ کمتری را ایجاد کرده و بدین ترتیب میزان تعرق کاهش‌یافته و آب بیشتری در خاک ذخیره می‌شود تا در دوره‌های حساس رشد و مراحل دانه‌بندی و پر شدن دانه مورد استفاده قرار گیرد (Mahpara et al., 2014).

میزان فتوسنتز عامل اصلی تعیین‌کننده رشد و عملکرد گیاهان است و توانایی حفظ آن در صورت وجود تنش‌های محیطی برای حفظ ثبات عملکرد مهم است (Kaur et al., 2012). اوکاروم و همکاران (Oukarroum et al., 2009) کاهش فتوسنتز در اثر خشکی را به دلیل عوامل روزنه‌ای مانند کاهش هدایت روزنه‌ای و عوامل غیر روزنه‌ای مانند کاهش تخریب کلروفیل دانستند. تاترای و همکاران (Tatrai et al., 2016) گزارش کردند که تحت تنش خشکی، کاهش فتوسنتز به دلیل کارایی تثبیت دی‌اکسید کربن در واحد سطح برگ نبوده بلکه به دلیل کاهش سطح فتوسنتز کننده است. همچنین در صورتی که دوره تنش طولانی شود گیاهان عدم تعادل یونی (افزایش یا کمبود) را تجربه می‌کنند که می‌تواند موجب پیری زودهنگام برگ‌ها و کاهش سطح‌فعال فتوسنتز کننده شود (Tosens et al., 2012). میزان کاهش فتوسنتز به‌شدت تنش و مرحله‌ای که تنش اتفاق می‌افتد بستگی دارد (Ashraf and Harris, 2013). در شرایط تنش، کاهش میزان فتوسنتزی ممکن است به دلیل محدودیت‌های بیوشیمیایی ناشی از کمبود آب از قبیل کاهش رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی به‌خصوص کلروفیل‌ها باشد (Jaleel et al., 2009). غلظت کلروفیل به‌عنوان شاخصی در ارزیابی قدرت منبع شناخته می‌شود (Massacci et al., 2008). رنگیزه کلروفیل به‌طور مستقیم در ارتباط با فرایند فتوسنتز بوده و هرگونه کاهش در آن بر میزان این فرایند تأثیر می‌گذارد (Siddique et al., 2016). کاهش مقدار کلروفیل در اثر تنش خشکی می‌تواند به دلیل تغییر متابولیسم نیتروژن و در نتیجه ساخت ترکیباتی نظیر پرولین باشد که در چنین شرایطی در تنظیم اسمزی نقش دارد (Sorkhi, 2015). تنش خشکی در گیاه نخود (Mafakheri et al., 2010)، گندم (Sharifi and Mohammadkhani, 2016)، آفتابگردان (Vanaja et al., 2011) و توتون

سانتی‌متر و فاصله روی ردیف ۸ سانتی‌متر در عمق ۵ سانتی‌متری کاشته شدند. تراکم کاشت ۵۰ بوته در مترمربع در نظر گرفته شد. کنترل علف‌های هرز از طریق وجین دستی صورت گرفت. جهت نمونه‌برداری از بوته‌ها بعد از حذف حاشیه‌ها شامل یک ردیف کناری و ۲۵ سانتی‌متر از ابتدا و انتهای هر ردیف، از چهار ردیف وسط استفاده شد.

به فواصل ۴ روز و به‌صورت جوی و پشته انجام شد. در فروردین‌ماه ۱۳۹۶ عملیات تهیه زمین شامل شخم، دیسک زنی، ایجاد جوی پشته و کرت بندی انجام شد. کاشت لوبیا در هفته اول اردیبهشت‌ماه انجام گردید. کلیه بذور قبل از کاشت با سم بنومیل به نسبت دو در هزار ضدعفونی شده و سپس در هر کرت ۶ ردیف به طول ۶ متر با فاصله ردیف ۲۵

جدول ۱. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه مورد آزمایش.

Table 1. Physical and chemical characteristics of soil in experimental field

اسیدیته	هدایت الکتریکی	کربن آلی	میزان فسفر قابل جذب	میزان پتاسیم قابل جذب	نیتروژن کل	بافت خاک
pH	EC (dS/m)	O.C (%)	P (ppm)	K (ppm)	N (%)	Soil texture
7.16	1.32	0.89	16.5	487.3	0.09	سیلت لومی Silty loam

جدول ۲. میزان بارندگی در منطقه در زمان آزمایش.

Table 2. Amount of rainfall in the area during the test.

Rain (mm)	Month			
	فروردین - April	اردیبهشت - May	خرداد - June	تیر - July
بارندگی	59.6	35.9	18.8	11.3

نمونه استخراج‌شده و W وزن تر نمونه است (Khayatnezhad and Gholamin, 2012).

$$\text{Chlorophyll a (mg/g FW)} = \text{جذب نور در } 645(4/6) - \text{جذب نور در } 663(3/1) \times V/1000 \times W \quad [2]$$

$$\text{Chlorophyll b (mg/g FW)} = \text{جذب نور در } 663(3/4) - \text{جذب نور در } 645(9/2) \times V/1000 \times W \quad [3]$$

میزان پرولین برگ به روش بیتس و همکاران (Bates et al., 1973) در آغاز غلاف‌دهی اندازه‌گیری گردید. بدین منظور ۰/۱ گرم از نمونه‌های تر برگ در ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالسیلیک ۳ درصد به‌وسیله هاون هم‌وزن شده و عصاره حاصل در سانتریفیوژ ۵۰۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند تا مواد اضافی از محلول جدا شوند. به ۲ میلی‌لیتر از عصاره صاف‌شده فوق ۲ میلی‌لیتر اسیداستیک و ۲ میلی‌لیتر ناین‌هیدرین (شامل ۱/۲۵ گرم ناین‌هیدرین، ۳۰ میلی‌لیتر اسیداستیک و ۲۰ میلی‌لیتر اسید فسفریک ۶ مولار) اضافه شد. محلول حاصل

اندازه‌گیری سرعت فتوسنتز در واحد سطح برگ و هدایت روزنه‌ای در زمان پر شدن نیام از برگ‌های فعال و کاملاً توسعه‌یافته قسمت فوقانی بوته و در ساعت ۱۱ تا ۲ بعدازظهر که زمان حداکثر تشعشع خورشیدی بود با استفاده از دستگاه فتوسنتز متر Lci از شرکت ADC-England انجام گرفت (Fallah et al., 2014). شاخص سطح برگ (LAI) از تقسیم سطح برگ هر بوته به سطح زمینی که توسط آن اشغال شده است به دست می‌آید و با استفاده از معادله (۱) محاسبه گردید (Rasheed et al., 2003):

$$LAI = LA / \text{یک مترمربع سطح پلات} \quad [1]$$

سطح برگ (LA) با دستگاه اندازه‌گیری سطح برگ مدل LI-3100 - Area-Meter, LI-COR, Inc: Lincoln, Nebraska USA) تعیین شد. کلروفیل بر اساس میزان جذب نور توسط عصاره استخراج‌شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (Cary 300, USA) در طول موج ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر در آغاز غلاف‌دهی تعیین گردید. غلظت کلروفیل از طریق روابط زیر به دست آمد که در این روابط V حجم

زمان تنش خشکی می‌تواند به علت پیری زودرس عاملی برای کاهش تعرق و رسیدگی زودتر گیاه باشد (Korir et al., 2006). در آزمایشی بر روی گونه‌های نخود گزارش کردند که تفاوت معنی‌داری بین گونه‌های مقاوم و حساس در توسعه برگگی در شرایط تنش خشکی وجود دارد (Abaslou et al., 2015).

میزان کلروفیل

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات ساده تنش خشکی و رقم و برهمکنش آن‌ها بر کلروفیل a برگ معنی‌دار بود ولی در رابطه با کلروفیل b فقط اثر ساده تنش خشکی و برهمکنش تنش خشکی با رقم معنی‌دار شد (جدول ۳). بیشترین مقدار کلروفیل a و b مربوط به تیمار آبیاری کامل (شاهد) و رقم تلاش به و کمترین مقدار کلروفیل a و b مربوط به تیمار قطع آبیاری در مرحله رویشی و رقم خمین تعلق داشت (شکل ۲- A و B). به‌طور کلی مشاهده شد تأثیر منفی تنش خشکی بر میزان کلروفیل a بیشتر از کلروفیل b است به‌طوری‌که با اعمال تنش در مراحل گلدهی و رویشی در مقایسه با شاهد (آبیاری کامل)، میزان کلروفیل a به ترتیب ۲۳/۳۱ و ۵۶/۰۵ درصد و میزان کلروفیل b به ترتیب ۱۳/۶۷ و ۳۰/۷۶ درصد کاهش یافت. گزارش شده است که طی تنش خشکی محتوی کلروفیل کاهش می‌یابد و ارقام دارای محتوی کلروفیل بالاتر، مقاومت بیشتری در شرایط تنش از خود نشان می‌دهند (Holm and Gregersen, 2007).

تحقیقاتی مبنی بر کاهش محتوی کلروفیل برگ (Khayatnezhad and Gholamin, 2012) و نیز تغییر نسبت کلروفیل a/b (Anjum et al., 2011b) در شرایط تنش خشکی وجود دارد. گزارش شده که در گندم طی تنش خشکی محتوی کلروفیل کاهش می‌یابد و ارقام دارای محتوای کلروفیل بالاتر، مقاومت بیشتری در شرایط تنش خشکی از خود نشان می‌دهند (Akhkha et al., 2011). دوام فتوسنتز و حفظ کلروفیل برگ تحت شرایط تنش خشکی از جمله شاخص‌های فیزیولوژیک مناسب جهت مقاومت به تنش خشکی هستند (Tatrai et al., 2016). مفاخری و همکاران (Mafakheri et al., 2010) نیز به کاهش محتوای کلروفیل a و b طی تنش خشکی در ارقام گندم اشاره کرده‌اند. از جمله دلایلی که برای کاهش محتوای کلروفیل در شرایط تنش خشکی عنوان شده می‌توان به تخریب غشاهای تیلاکوئیدهای کلروپلاست و اکسیداسیون

به مدت یک ساعت در حمام بن ماری و در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد، پس‌از آن برای پایان یافتن واکنش لوله‌های آزمایش در داخل بستر یخی قرار گرفتند و ۷ میلی‌لیتر تولوئن به هر لوله اضافه شد. غلظت پرولین نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (Model: V-530, Japan, JASCO) در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت شد. جهت تجزیه و تحلیل تیمارها از نرم‌افزار MSTATC و SPSS، برای رسم نمودارها از نرم‌افزار EXCEL و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

شاخص سطح برگ

اثر تنش خشکی و برهمکنش تنش خشکی در رقم بر شاخص سطح برگ معنی‌دار بود (جدول ۳).

طبق نتایج برهمکنش تنش خشکی و رقم، در هر سطحی از تنش خشکی رقم تلاش دارای شاخص سطح برگ بیشتری بود، البته در تیمار تنش خشکی در مرحله رویشی این اختلاف معنی‌دار به دست آمد. بیشترین شاخص سطح برگ به برهمکنش تیمار آبیاری کامل (شاهد) و رقم تلاش و کمترین به برهمکنش قطع آبیاری در مرحله رویشی و رقم خمین اختصاص داشت (شکل ۱). بر اساس گزارش‌های موجود تنش خشکی سطح برگ بسیاری از گیاهان را کاهش می‌دهد (Anjum et al., 2011a; Nonong and Nampo, 2015). این پدیده در گیاهان زیادی مانند لوبیا (Ganbari et al., 2014)، نخود (Nehbandani et al., 2015)، ذرت (Fallahi et al., 2013)، گندم (Mahpara et al., 2014) و جو (Sorkhi, 2015) مشاهده شده است. افزایش سطح برگ به تورژسانس برگ، دما و عوامل رشد بستگی دارد که همه این موارد تحت تأثیر خشکی قرار می‌گیرند (Nonong and Nampo, 2015). به محض آنکه آب برگ کاهش می‌یابد فشار تورژسانس بافت برگ‌ها کاهش یافته و برگ‌ها شروع به پژمرده شده می‌کنند (Guerfe et al., 2009). مناسب نبودن تورژسانس سلولی کاهش تقسیم سلولی و کاهش هدایت روزنه‌ای یا بسته شدن روزنه‌ها، کاهش فتوسنتز و رشد گیاه را به همراه دارد که این‌ها از عوامل ثانویه کاهش سطح برگ قلمداد می‌شود (Nonong and Nampo, 2015; Mahpara et al., 2014). کاهش سطح و تعداد برگ‌ها در

و b، کاروتن، یولوگزانتین و نئوگزانتین کاهش می‌یابد (Saud, 2011). از دست رفتن کلروفیل در شرایط تنش خشکی می‌تواند جنبه سازگاری داشته باشد چون با کاهش کلروفیل الکترون برانگیخته شده طی فتوسنتز کاهش یافته و به دنبال آن خسارت‌های ناشی از تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن کاهش می‌یابد (Oukarroum et al., 2009).

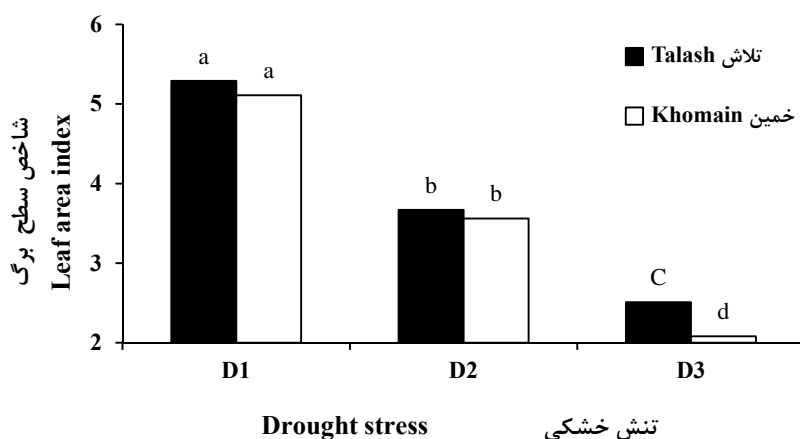
نوری کلروفیل در اثر افزایش فعالیت گونه‌های فعال اکسیژن و افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز اشاره کرد (Rad et al., 2012). همچنین با افزایش مقدار برخی از تنظیم‌کننده‌های رشد نظیر اتیلن و آبسیزیک اسید در اثر تنش خشکی فعالیت کلروفیلاز تحریک می‌شود (Rahbarian et al., 2011). در اثر تنش خشکی، تشکیل پلاستیدهای جدید، کلروفیل‌های a

جدول ۳. تجزیه واریانس صفات مورد ارزیابی در ارقام لوبیا.

Table 3. Variance analysis in traits of bean cultivars.

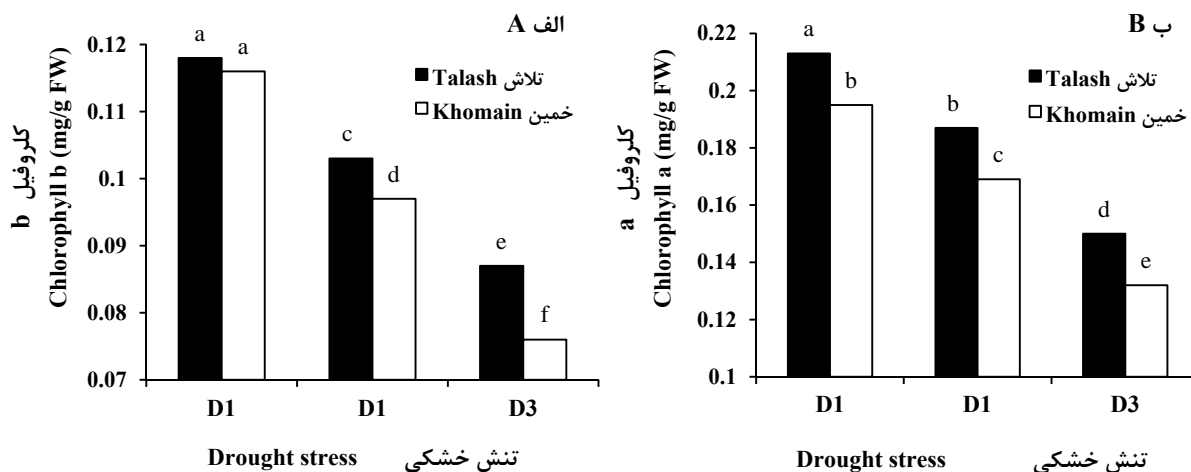
منبع تغییرات	درجه آزادی	شاخص سطح برگ	کلروفیل a	کلروفیل b	سرعت فتوسنتز	هدایت روزهائى	پرولین
SOV	df	Leaf area index	Chlorophyll a	Chlorophyll b	rate of photosynthesis	Stomatal conductance	Proline
تکرار	3	4.917 ^{ns}	0.202 ^{ns}	0.130 ^{ns}	8.437 ^{ns}	0.966 ^{ns}	1.154 ^{ns}
تنش خشکی	2	9.536*	1.004**	0.318*	28.625**	1.216**	6.724**
رقم	1	2.761 ^{ns}	0.796**	0.042 ^{ns}	21.106*	0.769*	3.146*
تنش خشکی در رقم	2	8.795*	0.859**	0.238*	47.164**	1.457**	2.928*
خطا	15	1.621	0.087	0.052	3.937	0.154	0.716
ضریب تغییرات		3.50	6.44	4.31	3.78	7.01	2.69
C.V%							

ns, * and **: non-significant and significant at the 5 and 1% probability level, respectively.



شکل ۱. اثر تنش خشکی بر شاخص سطح برگ دو رقم لوبیا، D₁- آبیاری کامل (شاهد)، D₂- قطع آبیاری در مرحله گلدهی و D₃- قطع آبیاری در مرحله رویشی.

Fig. 1. Effects of drought stress on leaf area index of two bean cultivars. D₁- Complete irrigation (control), D₂- Elimination of irrigation at flowering stage and D₃- Elimination of irrigation at vegetative stage.



شکل ۲. اثر تنش خشکی بر (الف) کلروفیل a و (ب) کلروفیل b در دو رقم لوبیا، D₁ - آبیاری کامل (شاهد)، D₂ - قطع آبیاری در مرحله گلدهی و D₃ - قطع آبیاری در مرحله رویشی.

Fig. 2. Effects of drought stress on (A) chlorophyll a and (B) chlorophyll b of two bean cultivars. D₁- Complete irrigation (control), D₂- Elimination of irrigation at flowering stage and D₃- Elimination of irrigation at vegetative stage.

فرایند فتوسنتز می‌شود (Jaleel et al., 2009). گزارش کردند که طی تنش خشکی به علت بسته شدن روزنه‌ها و کاهش هدایت روزنه‌ای، سرعت تبادل گازی کاهش یافته و سبب کاهش سرعت تعرق می‌شود (Tatrai et al., 2016). اگرچه بسته شدن روزنه‌ها از طریق کاهش اتلاف آب گیاه می‌تواند در تحمل به خشکی مؤثر باشد ولی بسته شدن روزنه‌ها در شرایط تنش خشکی موجب افزایش دمای برگ و کاهش فتوسنتز می‌گردد (Kaur et al., 2012).

هدایت روزنه‌ای

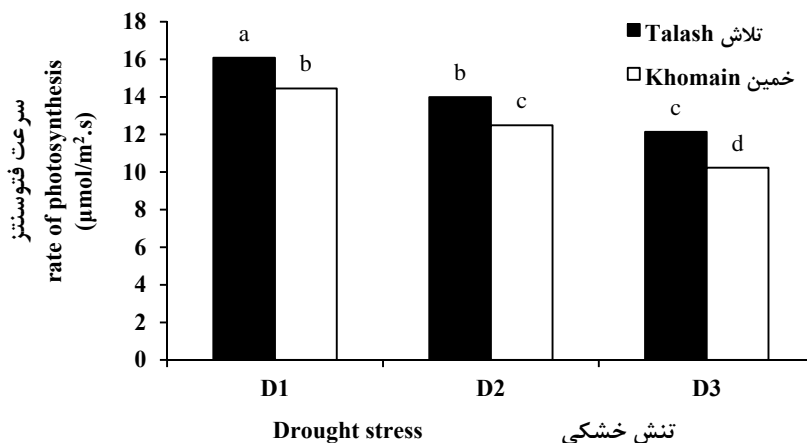
اثر تنش خشکی، رقم و برهمکنش آن‌ها بر هدایت روزنه‌ای معنی‌دار بود (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که تنش خشکی در هر کدام از مراحل رشد سبب کاهش هدایت روزنه‌ای در هر دو رقم گردید. ولی درصد کاهش در رقم خمین بیشتر از رقم تلاش بود. به طوری که در تنش خشکی در مراحل گلدهی و رویشی نسبت به شاهد (آبیاری کامل) میزان کاهش در رقم تلاش به ترتیب ۲۵/۶۹ و ۴۶/۲۹ درصد و در رقم خمین به ترتیب ۳۸/۹۰ و ۵۷/۸۱ درصد بود (شکل ۴). محققان به نتایج مشابهی در ذرت (Grzesiak et al., 2006)، برنج (Ouyang et al., 2017) و پنبه (Han et al., 2016) اشاره کردند. تجمع اسید آسبزیک در سلول‌های محافظ روزنه در اثر انتقال پیام از ریشه به برگ و کاهش

سرعت فتوسنتز

سرعت فتوسنتز به طور معنی‌دار تحت تأثیر تنش خشکی، ارقام لوبیا و برهمکنش آن‌ها قرار گرفت (جدول ۳). رقم تلاش تحت آبیاری نرمال (شاهد) دارای بیشترین سرعت فتوسنتز بود و کمترین سرعت فتوسنتز در رقم خمین تحت تیمار قطع آبیاری در مرحله رویشی مشاهده شد (شکل ۳). تیمار تنش خشکی کاهش معنی‌دار سرعت فتوسنتز در ارقام لوبیا را به همراه داشت که این کاهش در قطع آبیاری در مراحل گلدهی و رویشی نسبت به آبیاری کامل (شاهد) در رقم تلاش به ترتیب ۱۲/۹۹ و ۲۴/۵۰ درصد و در رقم خمین به ترتیب ۱۳/۵۶ و ۲۹/۱۹ درصد مشاهده شد (شکل ۳-A). کاهش فتوسنتز می‌تواند مربوط به کاهش هدایت روزنه‌ای باشد به طوری که در این تحقیق با قطع آبیاری در مرحله رویشی، میزان هدایت روزنه‌ای نسبت به شاهد در ارقام تلاش و خمین به ترتیب ۴۶/۲۹ و ۵۷/۸۱ درصد کاهش نشان داد (شکل ۴). کاهش فعالیت‌های بیوشیمیایی فتوسنتزی تحت تنش خشکی به دلیل کاهش هدایت روزنه‌ای و در نتیجه کاهش مقدار گاز کربنیک در کلروپلاست است (Wu et al., 2008). به نظر می‌رسد با کاهش سطح برگ از یک طرف و بسته شدن روزنه‌ها ناشی از تنش خشکی و نیز کاهش فعالیت‌های پروتوپلاسمی و تثبیت گاز کربنیک، شرایطی برای کاهش سنتز پروتئین و کلروفیل فراهم می‌شود که خود باعث تقلیل

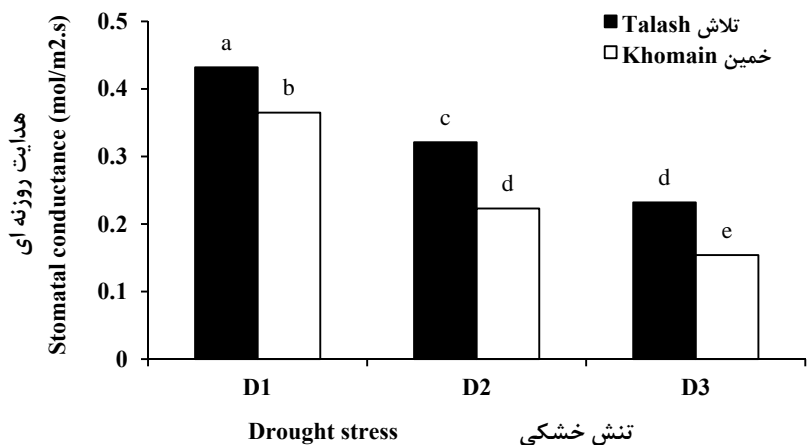
Kandil et al.,) و همکاران (Kusvuran, 2012). کاندیل و همکاران (Kandil et al., 2017) در ارزیابی شاخص‌های فیزیولوژیک برای گزینش ارقام مقاوم به خشکی در کلزا، کاهش معنی‌دار در هدایت روزنه‌ای در ارقام حساس نسبت به ارقام مقاوم به خشکی گزارش کردند.

محتوای نسبی برگ از مهم‌ترین دلایل بسته شدن روزنه در اثر تنش خشکی است (Steiner et al., 2014). بسته شدن روزنه‌ها از اولین پاسخ‌های گیاه به تنش خشکی است و به نظر می‌رسد که علت اصلی اختلال فتوسنتز ناشی از خشکی است (Tosens et al., 2012). بسته شدن روزنه‌ها مقدار CO_2 قابل دسترس برای سلول‌های مزوفیل را محدود می‌کند



شکل ۳. اثر تنش خشکی بر سرعت فتوسنتز دو رقم لوبیا، D₁ - آبیاری کامل (شاهد)، D₂ - قطع آبیاری در مرحله گلدهی و D₃ - قطع آبیاری در مرحله رویشی.

Fig 3. Effects of drought stress on rate of photosynthesis of two bean cultivars. D₁- Complete irrigation (control), D₂- Elimination of irrigation at flowering stage and D₃- Elimination of irrigation at vegetative stage.



شکل ۴. اثر تنش خشکی بر هدایت روزنه‌ای دو رقم لوبیا، D₁ - آبیاری کامل (شاهد)، D₂ - قطع آبیاری در مرحله گلدهی و D₃ - قطع آبیاری در مرحله رویشی.

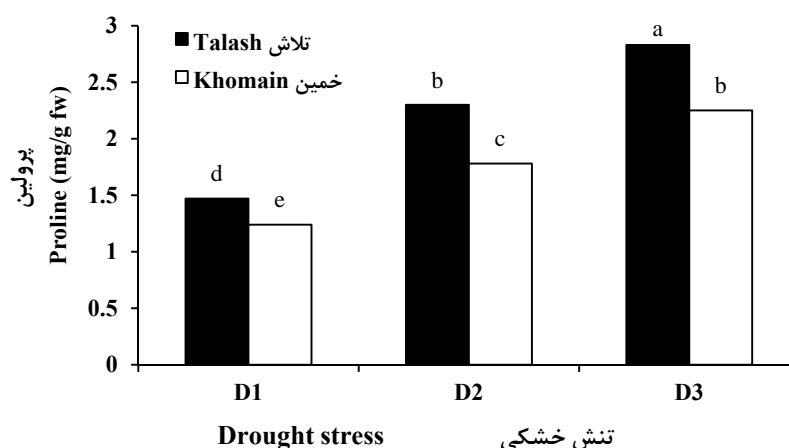
Fig. 4. Effects of drought stress on stomatal conductance of two bean cultivars. D₁- Complete irrigation (control), D₂- Elimination of irrigation at flowering stage and D₃- Elimination of irrigation at vegetative stage.

پرولین

اثر فاکتورهای اصلی و برهمکنش آن‌ها بر مقدار پرولین برگ معنی‌دار بود (جدول ۲). تنش خشکی در هر دو رقم باعث افزایش معنی‌دار در میزان پرولین گردید. به طوری که تنش خشکی در مراحل گلدهی و رویشی نسبت به شاهد (آبیاری کامل) در رقم تلاش به ترتیب ۵۶/۴۶ و ۹۲/۵۱ درصد افزایش و در رقم خمین به ترتیب ۴۳/۹۷ و ۸۱/۴۵ درصد افزایش مشاهده شد (شکل ۵).

پرولین یکی از آمینواسیدهایی است که به طور معمول در پاسخ به تنش‌ها ظاهر می‌شود (Zegaoui et al., 2017). گیاهان، پرولین را از گلوتامین در برگ‌هایشان سنتز می‌کنند (Jabasingh and Babu, 2013). پرولین روی حلالیت پروتئین‌های مختلف اثر گذاشته و مانع تجزیه آن‌ها می‌گردد. همچنین به عنوان یک منبع انرژی و یک اسیدآمینه قابل استفاده خواهد بود (Nohong and Nompo, 2015).

افزایش پرولین در تنش خشکی در گوجه‌فرنگی (Jurekova et al., 2011) و فلفل (Anjum et al., 2012) گزارش شده است. افزایش تجمع پرولین در برگ لوبیا سازوکاری برای تعدیل اسمزی تحت شرایط تنش خشکی معرفی شده است (Siddiqui et al., 2015). گزارش شده در گندم و جو تحت تنش شوری گلاپسین بتائین و ساکارز و در شرایط تنش خشکی پرولین، محلول‌های اسمزی غالب بوده‌اند (Nevo and Chen, 2010). در مطالعه‌ای بر روی ذرت مشاهده شد که افزایش پرولین در رقم مقاوم به خشکی در مقایسه با کربوهیدرات محلول شاخص مناسب‌تری برای نشان دادن پتانسیل تحمل به خشکی است (Anjorin et al., 2016). گزارش شده است که تحت تنش خشکی محتوای پرولین در ارقام جو مقاوم به طور معنی‌داری بیشتر از ارقام حساس است و همچنین اگرچه پرولین در همه اندام‌های گیاه کامل در طی تنش خشکی تجمع می‌یابد ولی سریع‌ترین انباشت آن در برگ‌ها است (Sorkhi, 2015).



شکل ۵. اثر تنش خشکی بر پرولین دو رقم لوبیا، D₁- آبیاری کامل (شاهد)، D₂- قطع آبیاری در مرحله گلدهی و D₃- قطع آبیاری در مرحله رویشی.

Fig 5. Effects of drought stress on proline of two bean cultivars. D₁- Complete irrigation (control), D₂- Elimination of irrigation at flowering stage and D₃- Elimination of irrigation at vegetative stage.

نتیجه‌گیری

طبق نتایج رقم تلاش و خمین از لحاظ شاخص سطح برگ تحت شرایط آبیاری کامل (شاهد) و قطع آبیاری در مرحله گلدهی فاقد اختلاف آماری معنی‌دار بودند ولی با قطع آبیاری در مرحله ظهور سه برگچه اول، رقم تلاش به طور معنی‌دار از شاخص سطح برگ بیشتری نسبت به رقم خمین برخوردار

بود. تأثیر منفی تنش خشکی بر کلروفیل a بیشتر از کلروفیل b بود به طوری که با کاهش رطوبت از D₁ به D₂ و D₃ میزان کلروفیل a در ارقام لوبیا به طور معنی‌دار کاهش یافت در حالی که با کاهش رطوبت از D₁ به D₂ اختلاف معنی‌داری در کلروفیل b مشاهده نشد. بیشترین تأثیر در اعمال تنش خشکی در مرحله ظهور سه برگچه اول مشاهده شد که به

اول بود که میزان افزایش در رقم تلاش (۹۲/۵۱ درصد) به مراتب بیشتر از رقم خمین (۸۱/۴۵ درصد) بود. مشخص گردید رقم تلاش با دوام فتوسنتزی بیشتر از طریق حفظ سطح برگ، هدایت روزنه‌ای، سرعت فتوسنتز و میزان کلروفیل و با تنظیم اسمزی بهتر از طریق افزایش غلظت پرولین در شرایط تنش رطوبتی نسبت به رقم خمین دارای شاخص‌های فیزیولوژیکی مقاوم‌تر به تنش خشکی است.

ترتیب درصد کاهش در ارقام تلاش و خمین نسبت به شاهد (آبیاری کامل) در شاخص سطح برگ ۲۵/۵۵ و ۵۹/۲۹، کلروفیل a ۲۹/۵۷ و ۳۲/۳۰، کلروفیل b ۲۶/۲۷ و ۳۴/۴۸، سرعت فتوسنتز ۲۴/۵۰ و ۲۹/۲۱، هدایت روزنه‌ای ۴۶/۲۹ و ۵۷/۸۱ درصد به دست آمد. در هر دو رقم با اعمال تنش خشکی میزان پرولین افزایش معنی‌داری نشان داد و بیشترین افزایش مربوط به تنش خشکی در مرحله ظهور سه برگچه

منابع

- Abaslou, L., Kazemini, S.A., Adalat, M., Dadkhodaei, A., 2015. Effect of drought stress and planting pattern on some physiological and biochemistry characteristics of two chickpea cultivars. *Journal of Crop Agriculture*. 16(4), 933-943. [In Persian with English summary].
- Akhkha, A., Boutraa, T., Alhejely, A., 2011. The rates of photosynthesis, chlorophyll content, dark respiration, proline and abscisic acid (ABA) in wheat (*Triticum durum*) under water deficit conditions. *International Journal of Agriculture and Biology*. 13, 215-221.
- Anjorin, F.B., Adejumo, S.A., Agboola, L., Samuel, Y.D., 2016. Proline, soluble sugar, leaf starch and relative water contents of four maize varieties in response to different watering regimes. *Cercetari Agronomice in Moldova*. 3(167), 51-62.
- Anjum, S.A., Farooq, M., Wang, L.C., Xue, L.L., Wang, S.G., Wang, L., Zhang, S., Chen, M., 2011a. Gas exchange and chlorophyll synthesis of maize cultivars are enhanced by exogenously-applied glycinebetaine under drought conditions. *Journal of Plant, Soil and Environment*. 57(7), 326-331.
- Anjum, S.A., Xie, X.Y., Wang, L.C., Saleem, M.F., Man, C., Lei, W., 2011b. Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. *African Journal of Agricultural Research*. 6(9), 2026-2032.
- Anjum, S.A., Farooq, M., Xie, X.Y., Ijaz, M.F., 2012. Antioxidant defense system and proline accumulation enables hot pepper to perform better under drought. *Journal of Scientia Horticulturae*. 140, 66-73.
- Ardabili, A. A., Sadeghipour, O., Rashidi Asl, A., 2013. The effect of proline application on drought tolerance of cowpea (*Vigna unguiculata* L.). *Advances in Environmental Biology*. 7(14), 4689-4696.
- Ashraf, M., Harris, P.J.C., 2013. Photosynthesis under stressful environments: An overview. *International Journal for Photosynthesis Research*. 51(2), 163-190.
- Ashraf, M.Y., Azmi, A.R., Khan, A.H., Ala, S.A., 1994. Effect of water stress on total phenols, peroxidase activity and chlorophyll content in wheat. *Acta Physiologiae Plantarum*. 16(3), 185-191.
- Bates, L.S., Waldren, R.P., Teare, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*. 39, 205-208.
- Cortes, A.J., Thiis, D., Chavarro, C., Madrinan, S., Blair M.W., 2012. Nucleotide diversity patterns at the drought-related DREB2 encoding genes in wild and cultivated common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Theoretical and Applied Genetics*. 125, 1069-1085.
- Fallah, A., Farahmanfar, E., Moradi, F., 2014. Effect of salt stress on some morphophysiological characters of two rice cultivars during different growth stages at greenhouse. *Agronomy Journal*. 107, 175-182. [In Persian with English summary].
- Fallahi, g., Hatami, A., Naseri, R., 2013. Growth Analysis of Six Corn Hybrids Under Drought Conditions in Kermanshah Province, Iran. *Journal of Crop Ecophysiology*. 7(2), 181-196. [In Persian with English summary].
- Gregersen, P.L., Holm, P.B., 2007. Transcriptome analysis of senescence in the flag leaf of wheat. *Journal of Plant Biotechnology*. 5, 192-206.
- Grzesiak, M.T., Grzesiak, S., Skoczowski, A., 2006. Changes of leaf water potential and gas exchange during and after drought in triticale and maize genotypes differing in drought tolerance. *International Journal for Photosynthesis Research*. 44(4), 561-568.

- Han, J.M., Meng, H.F., Wang, S.Y., Jiang, C.D., Liu, F., Zhang, W.F., Zhang, Y.L., 2016. Variability of mesophyll conductance and its relationship with water use efficiency in cotton leaves under drought pretreatment. *Journal of Plant Physiology*. 194, 61-71.
- Homayouni, H., Khazarian, V., 2014. Effect of deficit irrigation on soluble sugars, starch and proline in three corn hybrid. *Indian Journal of Scientific Research*. 7(1), 910-917.
- Hu, H., Xiong, L., 2014. Genetic engineering and breeding of drought resistant crops. *Journal of Plant Biology*. 65, 715-741.
- Jabasingh, C., Babu, S., 2013. Proline Content of *Oryza sativa* L. under Water Stress. *Journal of Academia and Industrial Research*. 2(7), 442-445.
- Jaleel, C.A., Manivannan, P., Wahid, A., Farooq, M., Al-juburi, H.J., Somasundaram, R., Panneerselva, A.M., 2009. Drought stress plants: a review on morphological characteristics and pigments composition. *International Journal of Agriculture and Biology*. 11, 100-105.
- Jurekova, Z., Molnar, K.N., Paganova, V., 2011. Physiological responses of six tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) cultivars to water stress. *Journal of Horticulture and Forestry*. 3(10), 294-300.
- Kaur, G., Singh, H.P., Batish, D.R., Kohli, R.K., 2012. Growth, photosynthetic activity and oxidative stress in wheat (*Triticum aestivum*) after exposure of lead to soil. *Journal of Environmental Biology*. 33, 265-269.
- Korir, P.C., Nyabundi, J.O., Kimurto, P.K., 2006. Genotypic responses of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) to moisture stress conditions in Kenya. *Asian Journal of Plant Science*. 5, 24-32.
- Maazou, A.R.S., Tu, J., Qiu, J., Liu, Z., 2016. Breeding for Drought Tolerance in Maize (*Zea mays* L.). *American Journal of Plant Sciences*. 7, 1858-1870.
- Kandil, A., Sharief, A.E., El-Mohandes, S.I., Keshta, M.M., 2017. Performance of canola (*Brassica napus* l.) genotypes under drought stress. *International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology*. 2(2), 653-661.
- Khayatnezhad, M., Gholamin, R., 2012. The effect of drought stress on leaf chlorophyll content and stress resistance in maize cultivars (*Zea mays*). *African Journal of Microbiology Research*. 6(12), 2844-2848.
- Kusvuran, S., 2012. Effects of drought and salt stresses on growth, stomatal conductance, leaf water and osmotic potentials of melon genotypes (*Cucumis melo* L.). *African Journal of Agricultural Research*. 7(5), 775-781.
- Mahpara, S., Hussain, T., Farooq, J., 2014. Drought tolerance studies in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Cercetari Agronomice in Moldova*. 4(160), 133-140.
- Mafakheri, A., Siosemardeh, A., Bahramnejad1, B., Struik, P.C., Sohrabil, Y., 2010. Effect of drought stress on yield, proline and chlorophyll contents in three chickpea cultivars. *Australian Journal of a Crop Science*. 4(8), 580-585.
- Magalhaes, I.D., Lyra, G.B., Souza, J.L., Teodora, I., Cavalcante, C.A., Ferreira, R.A., Souza, R.C., 2017. Physiology and Grain Yield of Common Beans under Evapotranspired Water Reposition Levels. *Irrigation and Drainage Systems Engineering*. 6(1), 2-8.
- Majidi, M.M., Rashidi, F., Sharafi, Y., 2015. Physiological traits related to drought tolerance in *Brassica*. *International Journal of Plant Production*. 9(4), 541-549.
- Massacci, A., Nabiev, S.M., Pietrosanti, L., Nematov, S.K., Chernikova, T.N., Thor, K., Leipner, J., 2008. Response of the photosynthetic apparatus of cotton (*Gossypium hirsutum*) to the onset of drought stress under field conditions studied by gas-exchange analysis and chlorophyll fluorescence imaging. *Journal of Plant Physiology and Biochemistry*. 46, 189-195.
- Mauad, M., Crusciol, C.A.C., Nascente, A.S., Filho, H.G., Lima, G.P., 2016. Effects of silicon and drought stress on biochemical characteristics of leaves of upland rice cultivars. *Revista Ciencia Aagronomica Journal*. 47(3), 532-539.
- Nehbandani, A., Soltani, A., Darvishirad, P., 2015. Effect of terminal drought stress on water use, growth and yield of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Journal of plant ecophysiology*. 7(23), 18-27. [In Persian with English summary].
- Nohong, B., Nompo, S., 2015. Effect of water stress on growth, yield, proline and soluble sugars contents of Signal grass and Napier grass species. *American merican- Eurasian journal of sustainable agriculture*. 9(5), 14-21.

- Oukarroum, A., Schansker, G., Strasser, R.J., 2009. Drought stress effects on photosystem I content and photosystem II thermotolerance analyzed using Chl a fluorescence kinetics in barley varieties differing in their drought tolerance. *Physiologia Plantarum*. 137, 188-199.
- Ouyang, W., Struik, P.C., Yin, X., Yang, J., 2017. Stomatal conductance, mesophyll conductance, and transpiration efficiency in relation to leaf anatomy in rice and wheat genotypes under drought. *Experimental Botany*. 68(18), 5191-5205.
- Praba, M.L., Cairns, J.E., Babu, R.C., Lafitte, H.R., 2009. Identification of physiological traits underlying cultivar differences in drought tolerance in rice and wheat. *Journal of Agronomy and Crop Science*. 195, 30-46.
- Rad, M.R.N., Kadir, M.A., Yusop, M.R., 2012. Genetic behaviour for plant capacity to produce chlorophyll in wheat (*Triticum aestivum*) under drought stress. *Australian Journal of Crop Science*. 6(3), 415-420.
- Rasheed, M., Hussain, A., Mahnood, T., 2003. Growth analysis of hybrid maize as influenced by planting techniques and nutrient management. *Agriculture Biology*. 5(2), 168-171.
- Sharifi, P., Mohammadkhani, N., 2016. Effects of drought stress on photosynthesis factors in wheat genotypes during anthesis. *Journal of Cereal Research Communications*. 44(2), 229-239.
- Sorkhi, F. Effect of irrigation and nitrogen fertilizer levels on physiological characteristics of four varieties of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Journal of Crop Ecophysiology*. 9(3), 401-416. [In Persian with English summary].
- Sultan, M.A., Hui, L., Yang, L.J., Xian, Z.H., 2012. Assessment of drought tolerance of some *Triticum* L. species through physiological indices. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*. 48(4), 178-184.
- Siddique, Z., Jan, S., Imadi, S.R., Ahmad, P., 2016. Drought stress and photosynthesis in plants. *Journal of Water Stress and Crop Plants*. 32, 1-11.
- Siddiqui, M.H., Khaishany, M.Y., Qutami, M.A., Whaibi, M.H., Grover, A., Ali, H.M., Wahibi, M.S., Bukhari, N.A., 2015. Response of different genotypes of faba bean plant to drought stress. *International Journal of Molecular Sciences*. 16, 10214-10227.
- Steiner, M., Toth, E.G., Juhasz, A., Dioszegi, M.S., Hrotko, K., 2014. Stomatal responses of drought and heat stressed linden (*Tilia* sp.) leaves. *Horticulture and Landscape Engineering*. 6, 7-10.
- Tatrai, Z.A., Sanoubar, R., Pluhar, Z., Mancarella, S., Orsini, F., Gianquinto, G., 2016. Morphological and physiological plant responses to drought stress in *Thymus citriodorus*. *International Journal of Agronomy*. 10, 1-8.
- Tosens, T., Niinemets, U., Vislap, V., Eichelmann, H., Castro, D.P., 2012. Developmental changes in mesophyll diffusion conductance and photosynthetic capacity under different light and water availabilities in *Populus tremula*: how structure constrains function. *Journal of Plant, Cell and Environment*. 35, 839-856.
- Vanaja, M., Yadav, S.K., Archana, G., Lakshmi, N.J., Reddy, R.P., Vagheera, P., Razak, S.K., Maheswari, M., Venkateswarlu, B., 2011. Response of C4 (maize) and C3 (sunflower) crop plants to drought stress and enhanced carbon dioxide concentration. *Journal of Plant, Soil and Environment*. 57(5), 207-215.
- Wondimu, W., Tana, T., 2017. Yield response of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties to combined application of nitrogen and phosphorus fertilizers at Mechara, Eastern Ethiopia. *Journal of Plant Biology and Soil Health*. 4(2), 2-7.
- Wu, F.Z., Bao, W.K., Li, F.L., Wu, N., 2008. Effects of water stress and nitrogen supply on leaf gas exchange and fluorescence parameters of *Sophora davidii* seedling. *International Journal of Photosynthesis Research*. 46(1), 40-48.
- Zali, H., Hasanloo, T., Sofalian, O., Asghari, A., Zeinalabedini, M., 2016. Drought stress effect on physiological parameter and amino acids accumulations in canola. *Journal of Crop Breeding*. 8(18), 191-203. [In Persian with English summary].
- Zegaoui, Z., Planchais, S., Cabassa, S., Djebbar, R., Belbachir, O.A., Carol, P., 2017. Variation in relative water content, proline accumulation and stress gene expression in two cowpea landraces under drought. *Journal of Plant Physiology*. 218, 26-34.