



بررسی عملکرد دانه و برخی خصوصیات بیوشیمیایی پنج رقم نخود (*Cicer arietinum* L.) تحت تنش خشکی در منطقه کرمانشاه

سیدمحمد ناصح حسینی^۱، محسن سعیدی^۲ و سیروس منصوری^{فر*}۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۰/۱

تاریخ بازنگری: ۱۳۹۷/۹/۱۷

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۵/۲۵

چکیده

به منظور بررسی تغییرات بیوشیمیایی ناشی از تنش کم آبی در نخود، آزمایشی به صورت کرت‌های خرد شده و در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در دانشگاه رازی کرمانشاه اجرا شد. عامل اصلی تنش کم آبی با سه سطح شامل: ۱- تنش کم آبی ابتدای گلدهی تا رسیدگی فیزیولوژیک، ۲- تنش کم آبی از ابتدای غلاف‌دهی تا رسیدگی فیزیولوژیک، ۳- آبیاری مطلوب و عامل فرعی پنج رقم نخود شامل آرمان، آزاد، بیونج، هاشم و ILC482 بودند. بر اساس نتایج، تنش کم آبی در هر دو سطح موجب کاهش معنی‌دار محتوی کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها و افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نظیر: پراکسیداز، کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز در برگ‌ها در مقایسه با تیمار شاهد شد. بنابراین، بین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان با میزان آب قابل استفاده در خاک رابطه منفی وجود داشت و فعالیت آنها با افزایش شدت تنش کم آبی به طور معنی‌داری افزایش یافت. عملکرد دانه به طور معنی‌داری تحت تأثیر کمبود آب قرار گرفت و تیمار تنش کم آبی از زمان ابتدای گلدهی تا رسیدگی، بیشتر از دیگر تیمار تنش کم آبی (ابتدای غلاف‌دهی تا رسیدگی) موجب کاهش عملکرد دانه، به ترتیب ۳۶ و ۱۵ درصد، نسبت به شرایط بدون تنش شد. در بین ارقام مورد بررسی، تحت تنش کم آبی از شروع گلدهی، رقم ILC482 با عملکرد دانه به میزان ۷۱۵ (کیلوگرم در هکتار) و در شرایط عدم وجود تنش، رقم آرمان با عملکرد دانه به مقدار ۱۳۵۵ (کیلوگرم در هکتار) عملکرد مناسب‌تری از خود نشان دادند. ILC482، آزاد و بیونج به عنوان ارقام با عملکرد بالاتر در شرایط وقوع تنش کم آبی در هر دو تیمار تنش کم آبی، همچنین دارای محتوی بیشتر رنگیزه‌ها و سرعت فعالیت بیشتر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در برگ‌های خود بودند. نتایج حاصله حاکی از اثرات مثبت محتوای رنگیزه‌های گیاهی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان جهت افزایش توان تحملی نخود برای تداوم رشد و حفظ عملکرد قابل قبول در شرایط تنش خشکی بود.

واژگان کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، تنش کم آبی، عملکرد، کاروتنوئیدها، کلروفیل.

۱- فرهیخته‌ی کارشناسی ارشد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران.

۲- دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران.

۳- دانشیار گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور البرز، کرج، ایران. * نگارنده‌ی مسئول

مقدمه

در مناطق خشک و نیمه‌خشک، نخود زراعی (*Cicer arietinum* L.) مهم‌ترین گیاه زراعی از تیره ی لگوم‌ها می‌باشد (Awari *et al.*, 2017). سطح زیر کشت جهانی این گیاه در حدود ۱۲/۷ میلیون هکتار با عملکرد ۹۵۶ (کیلوگرم در هکتار) و سطح زیر کشت این گیاه در ایران در حدود ۴۳۶ هزار هکتار با میانگین ۴۰۹ (کیلوگرم در هکتار) می‌باشد (Anonymous, 2016). وقوع تنش خشکی از مرحله گلدهی به بعد اصلی‌ترین دلیل کاهش عملکرد این گیاه زراعی است (Awari *et al.*, 2017). بر اساس مطالعات انجام شده بین عوامل مختلف محدود کننده رشد نخود، تنش خشکی انتهای فصل رشد به تنهایی ۳۳ تا ۴۵ درصد کاهش عملکرد دانه این گیاه را توجیه می‌کند (Kashiwagi *et al.*, Fang *et al.*, 2010; 2015). به‌طور کلی، خشکی و ارتباط آن با کاهش عملکرد و اجزای آن در گیاهان زراعی را در درجه اول می‌توان به بسته شدن روزنه‌ها در پاسخ به محتوای پایین آب خاک نسبت داد که طی آن ورود دی‌اکسیدکربن به درون برگ کاهش یافته و در نتیجه کاهش فتوسنتز را نیز در پی دارد (Flexas *et al.*, 2004). وقوع تنش خشکی به شدت مانع از انجام تبادلات گازی طبیعی در گیاهان زراعی شده و این مسئله کاهش توسعه و گسترش برگ، اختلال در سیستم فتوسنتزی گیاه و اجزای درگیر در این فرایند، پیری زودرس برگ‌ها و کاهش دوام سطح برگ، اکسیداسیون لیپیدهای کلروپلاست و بروز تغییرات در ساختار پروتئین‌ها و رنگیزه‌ها را در پی دارد (Menconi *et al.*, 1995). کاهش غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی تحت شرایط تنش خشکی از جمله عواملی است که می‌تواند محدود کننده فتوسنتز باشد و میزان

آن را کاهش دهد (Behra *et al.*, 2002). تنش خشکی باعث کاهش محتوای کلروفیل‌ها شده و ارقامی که محتوای بالاتری از این رنگیزه‌ها را در برگ‌های خود دارند با توجه به نقش آنها در بهبود و تداوم فتوسنتز، می‌توانند سبب افزایش مقاومت به خشکی شوند (Gregersen and Holm, 2007). نتایج مطالعات انجام شده حاکی از کاهش معنی‌دار محتوای کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها در ماش (Maiti *et al.*, 2000) و نخود (Talebi *et al.*, 2013) می‌باشد و ارقام متحمل به خشکی نسبت به ارقام حساس دارای محتوای بالاتری از رنگیزه‌های فتوسنتزی در برگ‌های خود بودند.

تنش خشکی باعث بسته شدن روزنه‌ها و کاهش سرعت فتوسنتز و رشد گیاه می‌شود. بسته شدن روزنه‌ها باعث کاهش غلظت دی‌اکسید کربن در بافت مزوفیلی برگ و در نتیجه آن افزایش تجمع NADPH , H^+ می‌گردد، تحت چنین شرایطی مقدار محدودی NADP^+ برای پذیرش الکترون زنجیره انتقال الکترون وجود خواهد داشت. این در حالی است که واکنش نوری و انتقال الکترون در مقادیر طبیعی خود صورت می‌گیرد. این شرایط در روزهای آفتابی که حداکثر تشعشع وجود دارد شدت می‌یابد بنابراین، اکسیژن می‌تواند به عنوان یک گیرنده‌ی الکترون جایگزین NADP^+ شود (Mittler *et al.*, 2011). این امر منجر به تجمع گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) مانند رادیکال سوپراکسید (O_2^-)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و رادیکال هیدروکسیل (OH^\cdot) که بسیار فعال هستند می‌شود (Krishnamurthy and Rathinasabapathi, 2013). از میان آنها پراکسید هیدروژن دارای طول عمر و خسارت‌زایی بیشتری می‌باشد (Blokhina *et al.*, 2003). سمیت گونه‌های اکسیژن فعال از قابلیت آنها برای

به دلیل پایین بودن سطح فشار آستانه لازم برای نگهداری رشد مطلوب دانه‌ها می‌باشد (Yadav *et al.*, 2004). در گیاه نخود، فراهمی رطوبت در مرحله گلدهی بسیار حایز اهمیت بوده و انجام آبیاری در این مرحله سبب بهبود شاخص سطح برگ و دوام آن، افزایش فتوسنتز جاری برگ و در نتیجه افزایش سرعت رشد محصول در این شرایط شده و افزایش عملکرد دانه را در پی دارد (Thaman *et al.*, 2007). محمدی و همکاران (Mohammadi *et al.*, 2016) در مطالعه بر روی چهار رقم نخود، رقم‌های بیونج و ILC₄₈₂ را با توجه به عملکرد بالاتر در شرایط تنشی بهتر ارزیابی کرده و اظهار داشتند که تحت تنش خشکی، انجام آبیاری تکمیلی در مراحل حساس گلدهی و غلاف‌دهی به‌طور معنی‌داری سبب بهبود عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیک نخود می‌گردد.

هرساله بخش وسیعی از زمین‌های زراعی استان کرمانشاه و استان‌های همجوار مانند لرستان و کردستان توسط نخود به صورت آبی و مخصوصاً به‌صورت دیم زیر کشت قرار می‌گیرد و به علت نیمه‌خشک بودن آب و هوای این مناطق، مواجه شدن نخود با تنش خشکی از ابتدای گلدهی به بعد تقریباً هر ساله امری اجتناب‌ناپذیر است (شکل ۱). با توجه به اهمیت تولید نخود در امر تغذیه جمعیت کشور، مهم‌ترین ارقام نخود مورد کشت در این مناطق شامل آرمان، آزاد، بیونج، هاشم و ILC₄₈₂، این تحقیق به منظور بررسی نحوه تأثیر تنش خشکی از ابتدای گلدهی و ابتدای غلاف‌دهی تا زمان رسیدگی فیزیولوژیک بر محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی، سرعت فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و مخصوصاً عملکرد دانه رقم‌های مذکور انجام شد.

ایجاد واکنش‌های پیوسته رادیکالی ناشی می‌شود که به وارد کردن آسیب به پروتئین‌ها، پراکسیداسیون چربی‌ها، آسیب به DNA و در نهایت مرگ سلول منجر می‌گردد (Choudhury *et al.*, 2017). گیاهان برای مقابله با تنش اکسیداسیون نوری سازوکارهای چند منظوره‌ای را در درون خود تکامل بخشیده‌اند که عملکرد مطلوب گیاهان در این شرایط را تعیین می‌کند (Edreva, 2005). این سازوکارهای دفاعی شامل روش‌های آنزیمی و غیرآنزیمی است (Choudhury *et al.*, 2017). آنزیم‌های این سیستم دفاعی شامل پراکسیداز، کاتالاز، سوپراکسیددیسموتاز و ... بوده و سیستم غیرآنزیمی شامل آسکوربیک اسید (ویتامین C)، آلفاتوکوفرول (ویتامین E)، گلوکاتایون، کاروتنوئیدها و ... می‌باشند (Blokhina *et al.*, 2003). نصرافهانی (Nasr-Esfahani, 2013) افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان پراکسیداز و کاتالاز را تحت شرایط تنش خشکی در گیاه نخود گزارش نموده و در بین ارقام مورد بررسی رقم بیونج را با فعالیت بیشتر و عملکرد بالاتر، مقاوم معرفی و علت آن را برخورداری این رقم از سازوکارهای حفاظتی کارآمدتر در برابر تنش اکسیداتیو ایجاد شده بیان کرده است. همچنین، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز در گیاه نخود مشاهده گردیده و رقم‌های بیونج و ILC₄₈₂ با برخورداری از فعالیت بیشتر آنزیمی، سبب افزایش عملکرد خود در این شرایط شدند (Mohammadi *et al.*, 2011). تنش خشکی در مرحله گلدهی معمولاً عدم باروری را در پی دارد که یکی از دلایل عمده این امر کاهش جریان انتقال آسیمیلات‌ها به قسمت‌های تشکیل دهنده عملکرد اقتصادی گیاه،

مواد و روش‌ها

این آزمایش به صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه رازی کرمانشاه با طول جغرافیایی ۴۷ درجه و ۹ دقیقه، عرض جغرافیایی ۳۴ درجه و ۲۱ دقیقه و با ارتفاع ۱۳۱۹ متر از سطح دریا اجرا شد. تیمارهای مورد بررسی در این تحقیق، رقم‌های مختلف نخود و سطوح مختلف رژیم رطوبتی بودند. رژیم رطوبتی به عنوان عامل اصلی در سه سطح، شامل: ۱- قطع آبیاری بعد از ابتدای مرحله گلدهی (R_1 ، زمان رویت اولین گل در بوته) تا رسیدگی فیزیولوژیک (R_6 ، زمان قهوه‌ای شدن ۹۰ درصد غلاف‌ها)، ۲- قطع آبیاری از ابتدای مرحله غلاف‌دهی (R_3 ، اولین غلاف در بوته قابل رویت است) تا رسیدگی فیزیولوژیک و ۳- شرایط بدون تنش بود. فاصله زمانی بین مرحله گلدهی تا غلاف‌دهی ۱۳ روز به طول انجامید. در تیمار بدون تنش در مراحل جوانه‌زنی، اوایل رشد رویشی، ابتدای گلدهی و ابتدای غلاف‌دهی آب مورد نیاز توسط در اختیار گیاه قرار گرفت. آبیاری به صورت کرتی انجام شد. دور آبیاری به صورت ۲۰ روز یک‌بار در نظر گرفته شد، همچنین میزان آب مورد استفاده در هر آبیاری معادل ۴۰ میلی‌متر بود. این مقدار آب آبیاری با توجه به ابعاد کرت‌های آزمایشی، توسط کنترلر اندازه‌گیری شد. پنج رقم نخود شامل آرمان، آزاد، بیونج، هاشم و ILC₄₈₂ به عنوان عامل فرعی در نظر گرفته شدند. عملیات آماده‌سازی زمین شامل شخم در پاییز سال قبل، دیسک و تسطیح زمین در بهار و کشت به صورت مسطح و بهاره و در پانزدهم فروردین ماه سال ۱۳۹۱ صورت پذیرفت، تراکم مورد استفاده ۴۰ بوته در متر مربع با

فاصله‌ی بین ردیف ۲۵ سانتی‌متر و فاصله روی ردیف ۱۰ سانتی‌متر بود. بذرها در عمق ۵ سانتی‌متری خاک کشت شدند و هر کرت شامل ۶ خط کاشت به طول ۳ متر و عرض ۱/۵ متر بود. جهت اندازه‌گیری محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از جوان‌ترین برگ‌های بالغ و توسعه یافته خط‌های وسط با حذف اثرات حاشیه‌ای استفاده شد. نمونه‌گیری از تیمارهای تحت تنش زمانی صورت گرفت که اثرات تنش کم‌آبی در بوته‌ها قابل رویت بود. به منظور اعمال تنش کم‌آبی (در هر دو سطح تنش رطوبتی) بر بوته‌های مورد بررسی، نمونه‌گیری‌ها در تیمارهای تحت تنش زمانی صورت گرفت که بعد از آخرین آبیاری، برگ‌ها حتی در اوایل صبح نیز حالت پژمردگی از خود نشان دادند (Izanloo *et al.*, 2008). این نمونه‌ها به سرعت در نیتروژن مایع منجمد شده و تا زمان اندازه‌گیری‌ها در دمای ۸۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند. عملیات برداشت پس از رسیدگی فیزیولوژیک بوته‌های نخود انجام گرفت (زمان رسیدگی فیزیولوژیک برای تیمار تنش کم‌آبی از ابتدای گلدهی ۷۵ روز بعد از کاشت، تیمار تنش خشکی از ابتدای غلاف‌دهی ۸۴ روز بعد از کاشت و تیمار بدون تنش، ۹۴ روز بعد از کاشت بود). عملکرد بیولوژیک با برداشت ردیف‌های چهارم و پنجم کشت و سپس توزین توسط ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم به دست آمد. عملکرد دانه با جداسازی دانه‌های دو ردیف برداشت شده و توزین دقیق آنها محاسبه گردید.

به منظور اندازه‌گیری صفات بیوشیمیایی از نمونه برگ‌های نگهداری شده در دمای ۸۰- درجه سلسیوس استفاده شد. برای اندازه‌گیری غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی شامل کلروفیل a، b و کل

به دست آمد (جدول ۲). هم‌چنین، نتایج تجزیه واریانس محتوای کاروتنوئیدها نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد بین تیمارهای آبیاری (تنش و شاهد) و ارقام بود (جدول ۱) و بیشترین و کمترین محتوای کاروتنوئیدها به ترتیب در ارقام آزاد و هاشم به مقدار ۲/۱۱۴ و ۰/۸۳۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه حاصل شد (جدول ۲). وقوع تنش خشکی از شروع مرحله‌ی گلدهی به بعد بیشتر از وقوع تنش خشکی در مرحله غلاف‌دهی محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی برگ‌ها را کاهش داد و کلروفیل a نسبت به کلروفیل b از محتوای بیشتری برخوردار بود که این امر می‌تواند به دلیل ماهیت و ساختار این کلروفیل و نقش ویژه آن در فتوسیستم‌ها باشد. گزارش‌های ارایه شده در مورد گیاهان زراعی مختلف از جمله نخود (Mafakheri *et al.*, 2010; Abbaslu *et al.*, 2014; Makarian *et al.*, 2014)، ماش (Sirousmehr *et al.*, 2014)، سویا (Kamrava *et al.*, 2017) و سوسن از تأثیر معنی‌دار تنش خشکی بر کاهش محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی برگ‌های این گیاهان و به تبع آن کاهش فتوسنتز است. مجنون حسینی و همکاران (Majnoon-Hosseini *et al.*, 2003) اظهار نمودند که تنش خشکی کاهش معنی‌دار کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها را سبب گردید و در بین رقم‌های نخود مورد بررسی رقم ILC₄₈₂ بیشترین محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی را دارا بود و به این رقم با توجه به نقش پررنگی که رنگیزه‌ها بر افزایش فعالیت فتوسنتزی دارند برای دستیابی به بیشترین عملکرد تحت شرایط کمبود آب مؤثر واقع گردید.

رنگیزه‌های فتوسنتزی از این نظر حایز اهمیت هستند که در دریافت انرژی نورانی

و کاروتنوئیدها، از روش لیچتن‌تالر و ولبرن (Lichtenthaler and Wellburn, 1983) و توسط دستگاه الیزا ریدر (PowerWave Bio Tek XS2) استفاده گردید. به منظور اندازه‌گیری سرعت فعالیت آنزیم پراکسیداز از روش چانس و ماهلی (Chance and Maehly, 1995)، برای اندازه‌گیری سرعت فعالیت آنزیم کاتالاز از روش سینها (Sinha, 1972) و برای اندازه‌گیری سرعت فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز از روش بیوچامپ و فریدوویچ (Beauchamp and Fridovich, 1971) استفاده شد. برای انجام محاسبات مورد نیاز و تجزیه واریانس داده‌ها از نرم‌افزار EXCEL و MSTATC و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

رنگیزه‌های فتوسنتزی: نتایج تجزیه واریانس محتوای کلروفیل a، b و کلروفیل کل بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد بین تیمارهای آبیاری (تنش و شاهد) و ارقام بود (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین و کمترین محتوای کلروفیل a به ترتیب در ارقام ILC₄₈₂ در تیمار آبیاری مطلوب و هاشم در تیمار قطع آبیاری از ابتدای گلدهی به میزان ۷/۹۰۴ و ۲/۹۳۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه، بیشترین و کمترین غلظت کلروفیل b به ترتیب در ارقام آزاد در تیمار آبیاری مطلوب و هاشم در تیمار قطع آبیاری از ابتدای گلدهی به مقدار ۴/۵۲۴ و ۲/۰۴۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه و بیشترین و کمترین محتوای کلروفیل کل به ترتیب در ارقام ILC₄₈₂ در تیمار آبیاری مطلوب و هاشم در تیمار قطع آبیاری از ابتدای گلدهی به میزان ۱۲/۱۹ و ۴/۹۷۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه

با مشکل مواجه می‌شود که نتیجه آن کاهش عملکرد خواهد بود. بین تغییرات عملکرد دانه و تغییرات رنگی‌های فتوسنتزی یک رابطه خطی وجود دارد و در این بین با کاروتنوئیدها بالاترین ضریب همبستگی دیده می‌شود. بنابراین، کاهش میزان رنگی‌ها در طی تنش خشکی، کاهش فتوسنتز، کاهش میزان مواد پرورده و در نهایت کاهش عملکرد دانه را موجب می‌شود (Dadkhah *et al.*, 2014). به‌طور کلی، می‌توان گفت که با توجه به نقش رنگی‌های فتوسنتزی در فرایند فتوسنتز از نظر دریافت تشعشعات فعال فتوسنتزی، کاهش دادن انرژی بالای فوتون‌ها و تعدیل این انرژی به‌منظور جلوگیری از تخریب رنگی‌ها و توسعه تشعشعات دریافتی و انتقال آنها به مراکز واکنش در فتوسیستم‌ها با هدف راه‌اندازی زنجیره انتقال الکترون فتوسنتزی و حفظ عملکرد مطلوب آن (Tanaka and Tanaka, 2006)، وجود محتوای بالاتری از این رنگی‌ها می‌تواند به بالا بردن کارایی فتوسنتزی و کاهش اکسیداسیون نوری کمک کرده و همراه با نقش محافظتی و آنتی‌اکسیدانی کاروتنوئیدها برای مقابله با گونه‌های اکسیژن فعال (Sarvajeet and Narendra, 2010)، برای گیاهان زراعی مفید واقع گردد و در این مطالعه نیز ارتباط مثبت بین بالا بودن محتوای کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها با عملکرد دانه، هم در شرایط مطلوب و هم در شرایط تنش ملاحظه گردید و در ارقام IL482 و آزاد محتوای بالاتری از کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها هم در شرایط بدون تنش و هم در شرایط تنش خشکی دیده شد لذا این ارقام توان فتوسنتزی بیشتر و عملکرد بالاتری داشتند، بنابراین می‌توان وجود محتوای بالای رنگی‌های فتوسنتزی را به عنوان معیاری

خورشید و کنترل انرژی بالا و اضافی نوری و کاهش دادن آن به‌منظور جلوگیری از وارد آمدن خسارت به اجزای فتوسنتزی گیاه نقش مؤثری دارند (Farooq *et al.*, 2009). کاروتنوئیدها علاوه بر نقش قابل توجه در دریافت تشعشعات نوری، توانایی حذف انواع گونه‌های اکسیژن فعال یا ممانعت از تولید آنها را نیز دارا بوده و وجود کاروتنوئید بیشتر می‌تواند باعث افزایش مقاومت به تنش خشکی گردد. این توانایی بالای کاروتنوئیدها در حذف انواع گونه‌های اکسیژن فعال سبب شده است تا آن را در دسته آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی قرار دهند (Sarvajeet and Narendra, 2010). کلروفیل یکی از اجزای کلروپلاست برای فتوسنتز بوده و محتوای نسبی کلروفیل ارتباط مثبتی با میزان فتوسنتز دارد. کاهش محتوای کلروفیل برگ طی تنش خشکی به‌عنوان یک علامت رایج ناشی از تنش اکسیداسیون در نظر گرفته می‌شود و ممکن است منجر به اکسیداسیون نوری رنگی‌ها و تخریب کلروفیل گردد (Farooq *et al.*, 2009). این کاهش غلظت کلروفیل در شرایط کم آبی می‌تواند به‌عنوان یک عامل محدود کننده غیرروزنه‌ای در فرایند فتوسنتز به حساب آید و از دلایل کاهش محتوای کلروفیل‌ها می‌توان به حمله انواع گونه‌های اکسیژن فعال ناشی از تنش اکسیداسیون نوری و افزایش فعالیت آنزیم کلروفیل‌لاز تحت تنش خشکی اشاره کرد (Tale-Ahmad and Hadad, 2010). محتوای کلروفیل به‌دلیل کاهش سنتز و افزایش تخریب آن از طریق افزایش تولید گونه‌های اکسیژن فعال کاهش می‌یابد. کلروفیل، گیرنده‌ی انرژی نوری و مرکز واکنش‌های فتوشیمیایی است و هنگامی که میزان آن کاهش می‌یابد اولین مرحله تولید فرآورده‌های فتوسنتزی

یک درصد بین تیمارهای آبیاری (تنش و شاهد) و ارقام بود (جدول ۱). بر اساس نتایج مقایسه میانگین‌ها بیشترین سرعت فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تیمار تنش خشکی از مرحله‌ی گلدهی تا رسیدگی در رقم ILC₄₈₂ به ترتیب به میزان ۳۶/۱۶ واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین‌های محلول و کمترین سرعت فعالیت در رقم هاشم تحت تیمار آبیاری مطلوب به میزان ۱۲/۶۶ واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین‌های محلول به دست آمد (جدول ۲). به نظر می‌رسد که تمام موجودات هوازی دارای آنزیم کاتالاز هستند. این آنزیم نقش اساسی در از بین بردن پراکسید هیدروژن تولید شده در درون بدن این موجودات دارد، در حالی که موجودات بی‌هوازی فاقد این آنزیم بوده و در طی مدتی که در معرض هوای اتمسفر هستند به دلیل تشکیل پراکسید هیدروژن در درون بدن آنها و اثرات زیان‌بار ناشی از آن از بین می‌روند (Singh, 2003). کاتالاز می‌تواند به‌طور مستقیم پراکسید هیدروژن را به آب و اکسیژن تبدیل و سمیت این ماده مخرب را به طور کامل حذف کند (Sarvajeet and Narendra, 2010). آنزیم کاتالاز یکی از آنزیم‌های اصلی برای از بین بردن پراکسید هیدروژن تولید شده در پراکسیزوم است (Shigeoka et al., 2002). این آنزیم یکی از سریع‌ترین آن‌تی‌اکسیدان‌های شناخته شده است که می‌تواند در کمتر از ۱ دقیقه، ۶ میلیون پراکسید هیدروژن را به آب و اکسیژن تبدیل کند (Azpilicueta et al., 2007). با توجه به اینکه پراکسید هیدروژن از مخرب‌ترین گونه‌های اکسیژن فعال است، فعالیت بالای آنزیم کاتالاز درون سلول‌های گیاهی و به‌ویژه در پراکسیزوم می‌تواند برای مقابله با این عامل خسارت‌زا بسیار مفید واقع گردد. مشاهده تشدید فعالیت آنزیم

برای مقاومت به شرایط تنش در نظر گرفت که بهبود عملکرد را به دنبال دارد.

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان: نتایج تجزیه

واریانس فعالیت آنزیم پراکسیداز بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد بین تیمارهای آبیاری (تنش و شاهد) و ارقام بود (جدول ۱). با توجه به نتایج مقایسه میانگین‌ها، بیشترین سرعت فعالیت آنزیم پراکسیداز، تحت تیمار تنش خشکی از مرحله‌ی گلدهی تا رسیدگی در رقم ILC₄₈₂ به میزان ۸۷/۲۲ واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین‌های محلول و کمترین سرعت فعالیت رقم هاشم در تیمار آبیاری مطلوب به میزان ۲۲/۴۴ واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین‌های محلول حاصل گردید (جدول ۲). پراکسیداز دارای توالی نوکلئوتیدی و نقش فیزیولوژیک متفاوتی نسبت به سایر آن‌تی‌اکسیدان‌های طبیعی شناخته شده است. این آنزیم با تجزیه ایندول استیک اسید (هورمون اکسین)، داشتن نقش مؤثر در تولید لیگنین و مصرف پراکسید هیدروژن باعث مقاومت گیاهان در برابر بسیاری از تنش‌های زنده و غیرزنده می‌گردد (Milone et al., 2003). مطالعه بر روی ارقام مختلف گندم حاکی از افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت تنش خشکی بوده و این افزایش در ارقام گندم مقاوم به خشکی، بیشتر بود (Jabari et al., 2006). با توجه به نتایج این مطالعه، فعالیت آنزیم پراکسیداز با کاهش آب قابل استفاده افزایش معنی‌داری یافت و بیشترین شدت فعالیت در تیمار قطع آبیاری از ابتدای گلدهی مشاهده گردید و در ارقام متحمل به خشکی شامل ILC₄₈₂، آزاد و بیونج فعالیت بیشتری از این آنزیم دیده شد (جدول ۳).

نتایج تجزیه واریانس فعالیت آنزیم کاتالاز نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال

(Sarvajeet and Narendra, 2010). تحت شرایط وقوع تنش خشکی نسبت به شرایط بدون تنش افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز به میزان ۲۳/۲ درصد و فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز به میزان ۴۲/۲ درصد در گیاه نخود گزارش شده است (Shuryabi *et al.*, 2012). طی تنش خشکی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز افزایش معنی‌داری یافته که سازوکاری مؤثر برای پاک‌سازی گونه‌های اکسیژن فعال و کاهش خسارت اکسیداسیونی به نخود در این شرایط است و این ویژگی از خصوصیات بیوشیمیایی مفید برای شناسایی ارقام مقاوم می‌باشد (Awari *et al.*, 2017). تنش خشکی باعث افزایش محتوای پراکسید هیدروژن و سایر گونه‌های اکسیژن فعال و افزایش پراکسیداسیون لپیدی شده و این مسئله موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان پراکسیداز، کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز می‌گردد و در ارقام نخود مقاوم به تنش خشکی مقادیر پراکسید هیدروژن و میزان پراکسیداسیون لپیدی به میزان کمتر و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به میزان بیشتری دیده می‌شود (Patel and Hemantaranjan, 2012). تنش خشکی بر روی سرعت فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان پراکسیداز، کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز تأثیر معنی‌داری را از خود بر جای گذاشته و موجب افزایش قابل ملاحظه‌ی فعالیت این آنزیم‌ها می‌شود (Mirzaee *et al.*, 2013; Yarnia, 2015; Hossinzadeh *et al.*, 2015; Khan *et al.*, 2018)، که این خصوصیت را می‌توان به عنوان معیاری برای مقاومت گیاه به خشکی در نظر گرفته (Patel *et al.*, 2011) و افزایش فعالیت این آنزیم‌ها تحت شرایط تنش خشکی نقش ضروری را برای

کاتالاز و نقش مثبت آن برای دفع فشار وارده بر گیاه با افزایش شدت تنش خشکی، در سیاه‌دانه (Mohammadi *et al.*, 2010)، نخود (Ghorbanli *et al.*, 2011) و همچنین مطالعه حاضر حاکی از نقش مثبت این آنزیم برای کاهش خسارت ایجاد شده در این شرایط می‌باشد. مفاخری و همکاران (Mafakheri *et al.*, 2011) با معرفی ارقام بیونج و ILC₄₈₂ به‌عنوان ارقام مقاوم به خشکی گزارش کردند که با افزایش روند تنش خشکی سرعت فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز به‌طور معنی‌داری در این ارقام افزایش یافت و با توجه به نقش محافظتی آنها در مقابله با گونه‌های اکسیژن فعال، فعالیت بیشتر آنزیمی برای بهبود وضعیت گیاه تحت شرایط تنش حایز اهمیت می‌باشد.

نتایج تجزیه واریانس فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد بین تیمارهای آبیاری (تنش و شاهد) و ارقام بود (جدول ۱). با توجه به نتایج مقایسه میانگین‌ها، بالاترین سرعت فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز برای رقم بیونج و تحت تیمار تنش خشکی از مرحله‌ی گلدهی تا رسیدگی به مقدار ۹/۲۳۴ واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین‌های محلول و کمترین سرعت فعالیت برای رقم هاشم در تیمار آبیاری مطلوب به مقدار ۴/۵۲۷ واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین‌های محلول به‌دست آمد (جدول ۲). آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز، اولین ماده تولید شده از احیای یک ظرفیتی اکسیژن یعنی رادیکال سوپراکسید را از بین می‌برد (Alscher *et al.*, 2002). سوپر اکسید دیسموتاز قادر است دو مولکول سوپر اکسید را به پراکسید هیدروژن و اکسیژن تبدیل نماید، در مرحله بعد پراکسید هیدروژن توسط پراکسیدازها، کاتالاز و یا دیگر آنتی‌اکسیدان‌ها حذف می‌گردد

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان پراکسیداز، کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز مشاهده گردید به نحوی که در تیمار تنش خشکی از شروع مرحله‌ی گلدهی تا رسیدگی، بالاترین فعالیت آنزیمی و بعد از آن در تیمار قطع آبیاری از ابتدای غلاف‌دهی فعالیت آنزیمی بیشتری نسبت به شاهد مشاهده شد. همچنین، ارقام ILC₄₈₂، آزاد و بیونیک فعالیت آنزیمی بالاتری را از خود نشان دادند و عملکرد دانه بالاتر در شرایط تنش خشکی را دارا بودند که این فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا در برگ‌های این ارقام می‌تواند از نظر خنثی‌سازی اثرات نامطلوب مواد سمی تولید شده در شرایط تنش خشکی از جمله گونه‌های اکسیژن فعال و جلوگیری از بروز پراکسیداسیون لیپیدی و خسارت اکسیدان به اندامک‌های درون سلولی، تأثیر به‌سزایی داشته و در دستیابی به عملکرد قابل قبول، مفید واقع گردد.

عملکرد دانه، زیست‌توده و وزن صد

دانه: نتایج تجزیه واریانس عملکرد دانه، زیست توده و وزن صد دانه بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد بین تیمارهای آبیاری (تنش و شاهد) و ارقام بود (جدول ۱). نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها نشان داد که اعمال تنش رطوبتی در هر دو تیمار از مرحله گلدهی و غلاف‌دهی تا زمان رسیدگی به‌طور معنی‌داری عملکرد دانه و بیولوژیک را کاهش می‌دهد و بیشترین و کمترین عملکرد بیولوژیک در رقم آرمان به‌ترتیب در تیمارهای آبیاری مطلوب و تیمار قطع آبیاری از ابتدای گلدهی به‌میزان ۳۱۲۶ و ۱۵۳۶ کیلوگرم در هکتار دیده شد (جدول ۳). همچنین، بیشترین و کمترین عملکرد دانه به‌ترتیب مربوط به رقم آرمان در تیمار آبیاری مطلوب به‌میزان ۱۳۵۵ کیلوگرم در هکتار و رقم

محافظةت از نخود بازی می‌کنند (Mafakheri et al., 2011). به نظر می‌رسد که بروز تغییرات در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در مراحل مختلف رشد نخود ناشی از بیان ژن‌های ویژه‌ای است که مسئولیت ایجاد مقاومت در گیاه را بر عهده دارند. بنابراین، میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌تواند ابزاری مناسب برای نشان دادن تحمل به خشکی در گیاه نخود باشد و از این ویژگی ارقام مقاوم یعنی فعالیت بالای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌توان در اصلاح نباتات بهره گرفت (Oberoi et al., 2014). در اثر تنش خشکی، برگ‌ها روزنه‌های خود را بسته و در نتیجه ورود دی‌اکسیدکربن به برگ‌ها نیز کاهش می‌یابد که در پی آن تثبیت دی‌اکسیدکربن افت نموده و تولید گونه‌های اکسیژن فعال در کلروپلاست تشدید می‌گردد (Akashi et al., 2001)، افزایش سرعت فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در جهت حذف این گونه‌های فعال اکسیژن می‌باشد. رادیکال سوپراکسید و پراکسید هیدروژن، به‌وسیله آنزیم‌های ویژه این گونه‌های فعال اکسیژن، مانند پراکسیداز، کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز تجزیه می‌شوند. بر اثر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در میتوکندری، کلروپلاست، پراکسی‌زوم و سیتوپلاسم، رادیکال سوپر اکسید به پراکسید هیدروژن تبدیل می‌گردد، آنزیم پراکسیداز در مهار پراکسید هیدروژن تولید شده به‌وسیله آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نقش کلیدی ایفا می‌کند و آنزیم کاتالاز نیز یکی از آنزیم‌های اصلی برای از بین بردن پراکسید هیدروژن تولید شده در میتوکندری و سایر اندامک‌های درون سلولی است (Shigeoka et al., 2002).

براساس نتایج حاصله، ارتباط مثبتی بین کاهش رطوبت قابل استفاده برای نخود و افزایش

حاوی یک عدد بذر باشند وزن هزار دانه بالاتری دارند زیرا سهم بیشتری از مواد فتوسنتزی به تک دانه رسیده و به تبع آن اندازه دانه درشت‌تر می‌شود. قاسمی گل‌عذانی و همکاران (Ghassemi-) (Golezani *et al.*, 2013) در مطالعه بر روی چند رقم نخود رقم آزاد را هم در شرایط تنش خشکی و هم در شرایط بدون تنش با توجه به عملکرد دانه، زیست‌توده و وزن صد دانه بالاتر رقمی مناسب برای شرایط دیم و متحمل به خشکی دانستند. فرشادفر و جوادینی (Farshadfar and Javadiniya, 2011) در مطالعه خود ارقام ILC₄₈₂ و بیونیک را نسبت به ارقام آرمان و هاشم با توجه عملکرد بالاتری که تحت شرایط تنش خشکی از خود نشان دادند متحمل‌تر به خشکی ارزیابی کردند، و در مطالعه حاضر نیز ارقام ILC₄₈₂، آزاد و بیونیک با بهره‌گیری از خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی برتر از قبیل محتوای بالای رنگه‌های فتوسنتزی و سیستم آنتی‌اکسیدانی قوی‌تر و فعال‌تر توانایی تحمل شرایط کم آبی و عملکرد بهتر را موجب شدند. از عواملی که سبب کاهش قابل توجه عملکرد دانه، زیست‌توده و وزن صد دانه، در بوته در نخود تحت تنش رطوبتی می‌شود کاهش منابع فتوسنتزی و محدودیت آسمیلات‌ها در این شرایط است (Nemati *et al.*, 2016). تنش خشکی منجر به کاهش رشد و آماس سلولی شده و بر فتوسنتز و متابولیسم گیاه اثر می‌گذارد، عموماً کمبود آب در مراحل رشد زایشی نخود با ریزش گل‌ها و غلاف‌ها سبب کاهش عملکرد می‌گردد (Abhari *et al.*, 2017). در بین مراحل فنولوژیک گیاه نخود، مرحله گلدهی و دانه بستن حساس‌ترین مراحل به کمبود آب هستند و در شرایط محدودیت آب، با انجام آبیاری در این مراحل می‌توان عملکرد نخود را افزایش داد

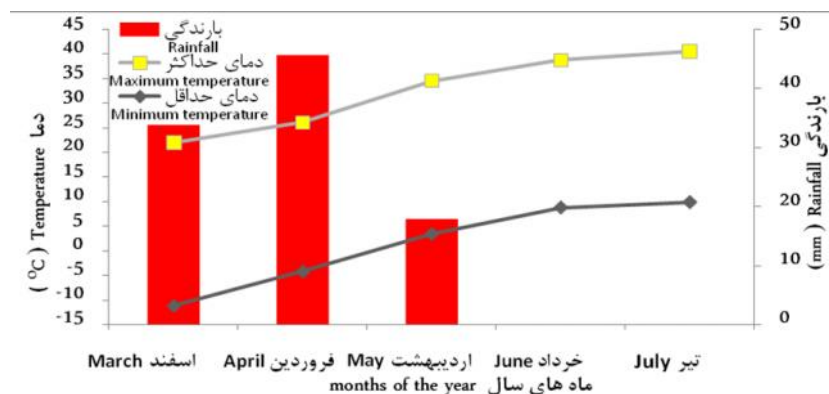
هاشم تحت تیمار قطع آبیاری از ابتدای گلدهی تا رسیدگی به میزان ۲۹۳ کیلوگرم در هکتار بود (جدول ۳). اعمال تنش رطوبتی از زمان گلدهی تا رسیدگی موجب کاهش بیشتر عملکرد دانه و بیولوژیک نسبت به تیمار تنش رطوبتی از زمان غلاف‌دهی تا رسیدگی شد. در این شرایط بیشترین کاهش عملکرد دانه و بیوماس نسبت به شرایط بدون تنش مربوط به رقم آرمان به ترتیب با ۶۳ و ۵۱ درصد و کمترین کاهش عملکرد دانه و بیولوژیک برای رقم ILC₄₈₂ به ترتیب با ۴۲ و ۲۷ درصد حاصل گردید که حاکی از متحمل بودن این رقم در برابر شرایط کم آبی و حفظ عملکرد خود در این شرایط است. کمترین عملکرد دانه در هر سه تیمار رطوبتی نیز مربوط به رقم هاشم بود (جدول ۳). با توجه به نتایج مقایسه میانگین‌ها در شرایط کنترل رطوبتی رقم بیونیک با ۴۵/۸۳ گرم بیشترین وزن صد دانه و رقم هاشم در تیمار قطع آبیاری از شروع گلدهی تا رسیدگی با ۲۳/۶۷ گرم کمترین وزن صد دانه را به خود اختصاص دادند (جدول ۳). تنش رطوبتی در هر دو سطح مورد بررسی به‌طور معنی‌داری موجب کاهش وزن صد دانه شد. در هر دو تیمار تنش رطوبتی رقم بیونیک و بعد از آن رقم آزاد بیشترین و رقم هاشم کمترین وزن صد دانه را داشتند (جدول ۳). وزن صد دانه خصوصیتی ژنوتیپی بوده و به شدت تحت تأثیر عوامل ژنتیکی قرار دارد، اما مقدار آن متأثر از شرایط دوره رسیدگی نیز می‌باشد، این شرایط ممکن است موجب تغییراتی بین ۲۰ تا ۳۰ درصد در وزن صد دانه شوند (Kouchaki and Bannayan-Aval, 1994). با افزایش تعداد غلاف در بوته و تعداد دانه در بوته، دانه کوچک‌تر شده و وزن صد دانه نیز کاهش می‌یابد (Singh *et al.*, 1990) بنابراین ارقامی که بیشتر غلاف‌های آنها

فعالیت آنزیمی را به دنبال داشت و در بین ارقام مورد استفاده در این آزمایش در شرایط تنش کم‌آبی، ارقام ILC₄₈₂ و آزاد و بعد از آنها رقم بیونیک کارآیی بالاتری را نسبت به ارقام آرمان و هاشم از خود نشان دادند که این مسئله را می‌توان به خصوصیات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی این ارقام از جمله حفظ محتوای بالاتر رنگیزه‌های فتوسنتزی و در نتیجه کمک به تداوم انجام فرایند فتوسنتز و همچنین کارآیی بالاتر سیستم آنتی‌اکسیدانی به‌وسیله فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان که کاهش آسیب‌رسانی به اندامک‌های درون سلولی و همچنین پروتئین‌ها، لیپیدها، آنزیم‌ها و سایر ترکیبات را در پی دارد نسبت داد که روی هم رفته منجر به کاهش آثار زیان‌بار ناشی از تنش خشکی و بهبود عملکرد گردیدند.

(Mirzavand *et al.*, 2011). انجام آبیاری در مرحله پر شدن غلاف‌ها باعث افزایش سرعت فتوسنتز جاری و افزایش طول مرحله زایشی و دوره مؤثر پر شدن دانه و در نهایت باعث افزایش وزن دانه و عملکرد دانه می‌شود (Maleky *et al.*, 2011). به‌طور کلی، آبیاری نخود در مرحله گلدهی کامل و مرحله پر شدن غلاف‌ها عملکرد دانه و بیولوژیک نخود را نسبت به شرایط دیم به‌طور معنی‌داری افزایش می‌دهد (Kanuni *et al.*, 2002)، و در مطالعه حاضر نیز این امر به وضوح مشاهده گردید که در نتیجه کاهش رطوبت، سنتز و انتقال شیره پرورده نیز کاهش یافته و به دنبال آن عملکرد دانه نیز نقصان یافت.

نتیجه‌گیری کلی

تنش خشکی کاهش معنی‌دار عملکرد دانه و محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی و افزایش معنی‌دار



شکل ۱- میزان بارندگی و حداکثر و حداقل دما در منطقه کرمانشاه در سال زراعی ۱۳۹۰-۱۳۹۱

Figure 1- Rainfall maximum and minimum temperature in Kermanshah region at five months of 2011-2012

جدول ۱- تجزیه واریانس عملکرد بیولوژیک، عملکرد دانه، رنگیزه‌های فتوسنتزی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، تحت تأثیر اثر متقابل سطوح رژیم رطوبتی و رقم در منطقه کرمانشاه

Table 1- Analysis of variation of the biological yield, grain yield, photosynthetic pigments and antioxidant enzymes, influenced by the interaction of moisture regime and variety levels in Kermanshah region

منابع تغییر Source of Variation	درجه آزادی Degrees of freedom	عملکرد بیولوژیک Biological yield	عملکرد دانه Grain yield	وزن ۱۰۰ دانه Weight of 100 seeds	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b
تکرار Replication	2	13171.2 ^{ns}	1538.5 ^{ns}	0.425 ^{ns}	0.324 ^{ns}	0.709 ^{ns}
رژیم رطوبتی Moisture regime	2	953894.4 ^{**}	341515 ^{**}	170.2 ^{**}	13.050 ^{**}	49.951 ^{**}
خطای اصلی Main error (E _a)	4	12544	364.7	1.438	0.054	0.250
رقم Cultivar	4	75845 ^{**}	110276.4 ^{**}	322.2 ^{**}	0.592 ^{**}	2.445 ^{**}
رژیم رطوبتی × رقم Moisture regime × Cultivar	8	24301.5 ^{**}	6763.9 ^{**}	9.977 ^{**}	0.026 ^{ns}	0.252 ^{ns}
خطای فرعی Sub error (E _b)	24	7121.1	391	1.830	0.034	0.110
ضریب تغییرات Coefficient of variation (%)		7.32	4.67	4.70	6.87	6.56

ns, * و **: به ترتیب نشان دهنده‌ی عدم معنی‌دار بودن و معنی‌دار بودن در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪ است.
ns, * and **: Non significant and significant at the 5% and 1% probability levels, respectively.

ادامه جدول ۱

Table 1- Continued

منابع تغییر Source of Variation	درجه آزادی Degrees of freedom	کلروفیل کل Total Chlorophyll	کاروتنوئیدها Carotenoids	پراکسیداز peroxidase	کاتالاز catalase	سوپراکسید دیسموتاز Superoxide dismutase
تکرار Replication	2	1.953 ^{ns}	0.037 ^{ns}	144.1 ^{ns}	10.004 ^{ns}	0.680 ^{ns}
رژیم رطوبتی Moisture regime	2	113.958 ^{**}	2.126 ^{**}	7362.7 ^{**}	788.478 ^{**}	35.750 ^{**}
خطای اصلی Main error (E _a)	4	0.369	0.019	16.9	2.147	0.130
رقم Cultivar	4	5.392 ^{**}	0.626 ^{**}	831.9 ^{**}	173.445 ^{**}	5.155 ^{**}
رطوبتی × رقم Moisture regime × Cultivar	8	0.327 ^{ns}	0.016 ^{**}	203.1 ^{**}	16.148 ^{**}	1.048 ^{**}
خطای فرعی Sub error (E _b)	24	0.159	0.003	5.1	1.167	0.057
ضریب تغییرات Coefficient of variation (%)		4.87	3.77	4.77	4.58	3.72

ns, * و **: به ترتیب نشان دهنده‌ی عدم معنی‌دار بودن و معنی‌دار بودن در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪ است.
ns, * and **: Non significant and significant at the 5% and 1% probability levels, respectively.

جدول ۲- مقایسه میانگین رنگیزه‌های فتوسنتزی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تحت تأثیر اثر متقابل سطوح رژیم رطوبتی و رقم در منطقه کرمانشاه.

Table 2- Means comparison of the photosynthetic pigments and antioxidant enzymes influenced by the interaction of moisture regime and variety levels in Kermanshah region

رژیم رطوبتی Moisture regime	رقم Cultivar	کلروفیل a Chlorophyll a (mg g ⁻¹ fw)	کلروفیل b Chlorophyll b (mg g ⁻¹ fw)	کلروفیل کل Total Chlorophyll (mg g ⁻¹ fw)	کاروتنوئید ها Carotenoids (mg g ⁻¹ fw)	پراکسیداز Peroxidase (U mg ⁻¹ Prot)	کاتالاز Catalase (U mg ⁻¹ Prot)	سوپراکسید دیسموتاز Superoxide dismutase (U mg ⁻¹ Prot)
قطع آبیاری از شروع گلدهی Cut off irrigation from the beginning of flowering	آرمان Arman	3.356 fg	2.445 f	5.801 gh	0.970 g	55.91 cd	27.83 c	6.813 cd
	آزاد Azad	4.180 de	2.497 ef	6.677 ef	1.389 e	79.36 b	35.14 ab	8.585 b
	بیونج Bivanij	3.398 fg	2.106 g	5.504 hi	1.153 f	79.38 b	33.21 b	9.234 a
	هاشم Hashem	2.934 g	2.042 g	4.976 i	0.835 h	46.21 e	21.75 d	6.387 e
	ILC482	4.094 de	2.543 ef	6.637 ef	1.447 e	87.22 a	36.16 a	9.008 a
قطع آبیاری از شروع غلاف‌دهی Cut off irrigation from the beginning of podding	آرمان Arman	4.488 cd	2.901 cd	7.389 cd	1.430 e	39.40 f	22.71 d	5.548 f
	آزاد Azad	4.911 c	3.170 c	8.081 c	1.901 b	56.71 c	27.98 c	6.923 c
	بیونج Bivanij	4.385 cde	2.826 de	7.211 de	1.461 de	52.50 d	26.48 c	7.135 c
	هاشم Hashem	3.840 ef	2.528 ef	6.368 fg	1.122 f	33.48 g	14.73 fg	5.377 fg
	ILC482	4.800 c	3.072 cd	8.872 cd	1.798 c	53.21 cd	25.84 c	6.463 de
آبیاری مطلوب Full irrigation	آرمان Arman	7.489 a	4.292 a	11.87 a	1.878 bc	25.37 hi	16.85 ef	4.924 hi
	آزاد Azad	7.458 a	4.524 a	11.98 a	2.114 a	26.67 h	18.08 e	5.211 fgh
	بیونج Bivanij	6.263 b	3.832 b	10.09 b	1.932 b	25.93 hi	16.46 ef	4.975 gh
	هاشم Hashem	6.402 b	3.816 b	10.22 b	1.544 d	22.44 i	12.66 g	4.527 i
	ILC482	7.904 a	4.289 a	12.19 a	2.091 a	26.13 hi	17.54 e	4.988 gh

میانگین‌ها در هر ستون که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشند.

Means within each column with a letter in common there is no significant difference on the basis of Duncan multiple range test at the 5% probability level.

جدول ۳- مقایسه میانگین عملکرد بیولوژیک و عملکرد دانه تحت تأثیر اثر متقابل سطوح رژیم رطوبتی و رقم در منطقه کرمانشاه

Table 3- Means comparison of the biological yield and grain yield influenced by the interaction of moisture regime and variety levels in Kermanshah region

رژیم رطوبتی Moisture regime	رقم Cultivar	عملکرد بیولوژیک Biological yield (kg.ha ⁻¹)	کاهش نسبت به شرایط کنترل Decrease relative to control conditions (%)	عملکرد دانه Grain yield (kg/ha)	کاهش نسبت به شرایط کنترل Decrease relative to control conditions (%)	وزن ۱۰۰ دانه Weight of 100 seeds (g)
قطع آبیاری از شروع گلدهی Cut off irrigation from the beginning of flowering	آرمان Arman	1536 f	51	504 g	63	23.17 f
	آزاد Azad	1824 ef	36	659 f	51	27.33 e
	بیونج Bivanij	1963 e	31	651 f	45	33.53 c
	هاشم Hashem	1568 f	35	293 i	59	21.67 f
	ILC482	2000 e	27	715 f	42	24.03 f
قطع آبیاری از شروع غلاف‌دهی Cut off irrigation from the beginning of podding	آرمان Arman	2304 d	27	811 e	40	24 f
	آزاد Azad	2518 cd	11	1035 c	23	29 de
	بیونج Bivanij	2570 bcd	9	928 d	21	37 b
	هاشم Hashem	2006 e	16	365 h	49	23 f
	ILC482	2390 d	12	923 d	25	24.17 f
آبیاری مطلوب Full irrigation	آرمان Arman	3126 a	-	1355 a	-	28.17 e
	آزاد Azad	2832 b	-	1339 a	-	30.87 d
	بیونج Bivanij	2838 b	-	1173 b	-	45.83 a
	هاشم Hashem	2394 d	-	720 f	-	28.33 e
	ILC482	2726 bc	-	1237 b	-	28.70 de

میانگین‌ها در هر ستون که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشند.

Means within each column with a letter in common there is no significant difference on the basis of Duncan multiple range test at the %5 probability level.

References

منابع مورد استفاده

- Abbaslu, L., S.A.R. Kazemini, M. Edalat, and A. Dadkhodae. 2014. Effect of drought stress and planting arrangement on some physiological and biochemical characteristics of two chickpea cultivars. *Journal of Agricultural Improvement*. 16(4): 933-943. (In Persian).
- Abhari, A., E. Azizi, and B. Hareth-Abadi. 2017. Effect of super absorbent on yield and yield components of chickpea under drought stress conditions of the end of season. *Crop Production Publication*. 10(1): 191-202. (In Persian).
- Akashi, K., C. Miyake, and A. Yakota. 2001. Citrulline, a novel compatible solute in drought tolerant wild watermelon leaves, is an efficient hydroxyl radical scavenger. *FEBS Lett*. 508: 438-442.
- Alscher, R.G., N. Erturk, and L.S. Heath. 2002. Role of superoxidedismotase (SOD) in controlling oxidative stress in plant. *Journal of Experimental Botany*. 153: 1331-1341.
- Anonymous. 2016. FAO. <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>.
- Awari, V.R., U.S. Dalvi, P.K. Lokhande, V.Y. Pawar, S.N. Mate, R.M. Naik, and L.B. Mhase. 2017. Physiological and biochemical basis for moisture stress tolerance in chickpea under pot study. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 6(5): 1247-1259.
- Azpilicueta, C.E., M.P. Benavides, M.L. Tomaro, and S.M. Gallego. 2007. Mechanism of CATA3 induction by cadmium in sunflower leaves. *Plant Physiology and Biochemistry*. 45: 589-595.
- Beauchamp, C., and I. Fridovich. 1971. Superoxide dismutase improved assays and an assay predictable to acrylamide gels. *Annals of Biochemistry*. 44: 276-287.
- Behra, R.K., P.C. Mishra, and N.K. Choudhury. 2002. High irradiance and water stress induce alterations in pigment composition and chloroplast activities of primary wheat leaves. *Journal Plant Physiology*. 159: 967-973.
- Blokhina, O., E. Virolainen, and K.V. Fagerstedt. 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress. *Annual Review of Botany*. 91: 179-194.
- Chance, B., and A.C. Maehly. 1995. Assay of catalase and peroxidase. PP. 764-765 In: S.P. Culowic, and N.O. Kaplan (eds). *Methods in enzymology* Vol. 2. Academic Press. Inc. New York.
- Choudhury, F.K., R.M. Rivero, E. Blumwald, and R. Mittler. 2017. Reactive oxygen species, abiotic stress and stress combination. *Plant Journal*. 90(5): 856- 867.
- Dadkhah, N., A. Ebadi, G. Parmoon, E. Gholipoori, and S. Jahanbakhsh. 2014. Effect of spraying zinc on photosynthetic pigments and grain yield of chickpea under level different irrigation. *Iranian Agriculture Drought Journal*. 2(2): 141-161. (In Persian).
- Edreva, A. 2005. Generation and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts a submolecular approach. *Agriculture Ecosystems and Environment*. 106: 119-133.

- Fang, X., N.C. Turner, G. Yan, F. Li, and K.H.M. Siddique. 2010. Flower numbers, pod production, pollen viability, and pistil function are reduced and flower and pod abortion increased in chickpea (*Cicer arietinum* L.) under terminal drought. *Journal of Experimental Botany*. 61: 335-345.
- Farooq, M., A. Wahid, N. Kobayashi, D. Fujita, and S.M.A. Basra. 2009. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development*. 29: 185-212.
- Farshadfar, E., and J. Javadiniya. 2011. Evaluation of chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes for drought tolerance. *Journal to Breed of Seed and Seedling*. 27-1(4): 517- 537. (In Persian).
- Flexas, J., J. Bota, F. Loreto, G. Cornic, and T.D. Sharkey. 2004. Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C₃ plants. *Plant Biology*. 6: 1-11.
- Ghasemi-Golazani, K., S. Mohamadi, P. Rahem-Zadeh, and M. Moghadam. 2013. Quantitative connection between density and yield of three chickpea cultivar on different planting dates. *Journal of Plant Physiology and Breeding*. 7: 59-73.
- Ghorbanli, M., G.R. Bakhshi-Khaniki, S. Salimi-Elizei, and M. Hedayati. 2010. Effect of water deficit and its interaction with ascorbate on proline, soluble sugars, catalase and glutathione peroxidase amounts in *Nigella sativa* L. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*. 26(4): 46-476. (In Persian).
- Gregersen, P.L., and P.B. Holm. 2007. Transcriptome analysis of senescence in the flag leaf of wheat. *Plant Biotechnology*. 5: 192-206.
- Hossinzadeh, S.R., A. Salimi, A. Ganjeali, and R. Ahmadpour. 2015. Effect of foliar application of methanol on biochemical characteristics and antioxidant enzyme activity of chickpea under drought stress. *Journal of Plant Physiology and Biochemistry*. 1(1): 17-30. (In Persian).
- Izanloo, A., A.G. Condon, P. Langridge, M. Tester, and T. Schnurbusch. 2008. Different mechanisms of adaptation to cyclic water stress in two South Australian bread wheat cultivars. *Journal of Experimental Botany*. 59(12): 3327-3346.
- Jabari, F., A. Ahmadi, K. Poustini, and H. Alizadeh. 2006. Evaluation of some antioxidant enzyme effects on chlorophyll and cell membrane in drought susceptible and tolerant wheat varieties. *Iranian Journal of Agricultural Science*. 37: 307-316. (In Persian).
- Kamrava, S., N. Babaeianjolodar, and N. Bagheri. 2017. Evaluation of drought stress on chlorophyll and proline traits in soybean genotypes. *Journal of Crop Breeding*. 9(23): 95-104. (In Persian).
- Kanuni, H., H. Kazemi, M. Moghaddam, and M.R. Neyshburi. 2002. Selection of chickpea (*Cicer arietinum* L.) lines for drought resistance. *Journal of Agricultural Science*. 12(2): 109-121. (In Persian).
- Kashiwagi, J., L. Krishnamurthy, R. Purushothaman, H.D. Upadhyaya, P.M. Gaur, C.L.L. Gowda, and R.K. Varshney. 2015. Scope for improvement of yield under drought through the root traits in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Field Crops Research*. 170: 47-54.

- Khan, N., A. Bano, M.A. Rahman, B. Rathinasabapathi, and M.A. Babar. 2018. UPLC-HRMS-based untargeted metabolic profiling reveals changes in chickpea metabolome following long-term drought stress. *Plant, Cell and Environment*. 42(1): 115-132.
- Kouchaki, A., and M. Bannayan-Aval. 1994. Yield physiology in crops. Jahad Daneshgahi Mashhad Publisher. 261 pp. (In Persian).
- Krishnamurthy, A., and B. Rathinasabapathi. 2013. Oxidative stress tolerance in plants: novel interplay between auxin and reactive oxygen species signaling. *Plant Signaling and Behavior*. 8(5): 257-261.
- Lichtenthaler, H., and A.R. Wellburn. 1983. Determination of total carotenoids and chlorophyll a and chlorophyll b leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions*. 603: 591-592.
- Mafakheri A., A. Sio-Semardeh, B. Bahramnejad, and Y. Sohrabi. 2010. Effect of drought stress on yield, proline and chlorophyll contents in three chickpea cultivars. *Australian Journal of Crop Science*. 4(8): 580-585.
- Mafakheri, A., A. Sio-Semardeh, B. Bahramnejad, P.C. Struik, and Y. Sohrabi. 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): 1255-1260.
- Maiti, R.K., S. Moreno-Limon, and P. Wesche-Ebeling. 2000. Responses of some crops to various abiotic stress factors and its physiological and biochemical basis of resistances. *Agricultural Reviews*. 21: 155-167.
- Majnoon-Hosseini, N., H. Mohammadi, K. Poustini, and H. Zeinaly-khanghah. 2003. Effect of plant density on agronomic characteristics, chlorophyll content and stem remobilization percentage in chickpea cultivars (*Cicer arietinum* L.). *Iranian Journal Agriculture Science*. 34(4): 1011-1019. (In Persian).
- Makarjian, H., H. Shojaei, A. Damavandi, A. Nasiri-Dehsorkhi, and A. Akhyani. 2017. The effect of foliar application of zinc oxide in common and nanoparticles forms on some growth and quality traits of mungbean (*Vigna radiata* L.) under drought stress conditions. *Iranian Journal of Pulses Research*. 8(2): 166-180. (In Persian).
- Maleky, A., A. Heidary-Moghaddam, S.A. Siyadat, and A. Tahmasebi. 2011. Effect of supplemental irrigation on yield, yield components and seed protein percentage of three chickpea cultivars in Ilam. *Journal of Crop Ecophysiology*. 19(5): 65-78. (In Persian).
- Menconi, M., C.L.M. Sgherri, C. Pinzino, and F. Navari-Izzo. 1995. Activated oxygen production and detoxification in wheat plants subjected to a water deficit programme. *Journal of Experimental Botany*. 46:1123-1130.
- Milone, M.T., C. Sgherri, H. Clijters, and F. Navari-Izzo. 2003. Antioxidative responses of wheat treated with realistic concentrations of cadmium. *Environment and Experimental Botany*. 50: 265-273.
- Mirzaee, M., A. Moieni, and F. Ghanati. 2013. Effects of drought stress on the lipid peroxidation and antioxidant enzyme activity in two canola (*Brassica napus* L.) cultivars. *Journal of Agriculture and Science Technology*. 15: 593-602.

- Mirzavand, M., KH. Azizi, M. Abdali, and A. Esmaeili. 2011. Effect of some agricultural techniques (Planting arrangement and supplementary irrigation) on chickpea growth indices. *Journal of Crop Ecophysiology*. 2(3): 63-73. (In Persian).
- Mittler, R., S. Vanderauwera, N. Suzuki, G. Miller, V.B. Tognetti, K. Vandepoele, M. Gollery, V. Shulaev, and F. Van Breusegem. 2011. ROS signaling: the new wave?. *Trends Plant Science*. 16(6): 300-309.
- Mohammadi, A., D. Habibi, M. Rohami, and S. Mafakheri. 2011. Effect of drought stress on antioxidant enzymes activity of some chickpea cultivars. *American-Eurasian Journal of Agriculture and Environmental Science*. 11(6): 782-785.
- Mohammadi, M., M. Roozrokh, and R. Talebi. 2016. Effect of supplemental irrigation and iron foliar application on Chickpea genotypes in Kermanshah. *Journal of Crop Ecophysiology*. 27: 103-113. (In Persian).
- Nasr-Esfahani, M. 2013. Effect of dry stress on growth and antioxidant system in three chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars. *Journal of Plant Biology*. 15: 111-124.
- Nemati, A., M. Rafieealhusseini, and A. Danesh-Shahraki. 2016. Effect of livestock manure and bacterial inoculation on physiological indices, yield and yield components of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under drought stress. *Environmental Stresses in Crop Sciences*. 9(4): 339-351. (In Persian).
- Oberoi, H.K., A.K. Gupeta, S. Kaur, and I. Singh. 2014. Stage specific upregulation of antioxidant defence system in leaves for regulating drought tolerance in chickpea. *Journal of Applied Natural Science*. 6(2): 326-337.
- Patel, P.K., A. Hemantaranjan, B.K. Sarma, and R. Singh. 2011. Growth and antioxidant system under drought stress in chickpea (*Cicer arietinum*) as sustained by salicylic acid. *Journal of Stress Physiology and Biochemistry*. 7: 130-144.
- Patel, P.K., and A. Hemantaranjan. 2012. Antioxidant defence system in chickpea (*Cicer arietinum* L.) influence by drought stress implemented at pre and post anthesis stage. *American Journal of Plant Physiology*. 7(4): 164-173.
- Sarvajeet, S.G., and T. Narendra. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in a biotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*. 3: 1-22.
- Shigeoka, S., T. Ishikawa, M. Tamoi, Y. Miyagawa, T. Takeda, Y. Yabuta, and K. Yoshimura. 2002. Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes. *Journal of Experimental Botany*. 53: 1305-1319.
- Shuryabi, M., A. Gangeali, and P. Abrishamchi. 2012. Effect of salicylic acid on the activity of enzyme and antioxidant compounds in chickpea cultivars at facing drought stress. *Journal of Environmental Tensions in Crop Sciences*. 1(5): 41-54. (In Persian).
- Singh, D.P. 2003. Oxidative stress in stress physiology. New Age International Limited. New Dehli. 41 pp.
- Singh, K.B., G. Bejiga, and R.S. Malhorta. 1990. Assosiations of some characters with seed yield in chickpea collection. *Euphytica*. 49(1): 83-88.

- Sinha, A.K. 1972. Colorimetric assay of catalase. *Analytical Biochemistry*. 47(2): 389-394.
- Sirousmehr, A., J. Bardel, and S. Mohammadi. 2014. Changes of Germination Properties, Photosynthetic Pigments and antioxidant enzymes activity of safflower as affected by drought and salinity stresses. *Journal of Crop Ecophysiology*. 8(4): 517-534. (In Persian).
- Tale-Ahmad, S., and R. Hadad. 2010. Effect of silicon on antioxidant enzymes activities and osmotic adjustment contents in two bread wheat genotypes under drought stress conditions. *Journal of Seed and Seedling Crop*. 26-2(2): 207-225. (In Persian).
- Talebi R., M.H. Ensafi, N. Baghebani, E. Karami, and K. Mohammadi. 2013. Physiological responses of chickpea (*Cicer arietinum*) genotypes to drought stress. *Environmental and Experimental Biology*. 11: 9-15.
- Tanaka, A., and R. Tanaka. 2006. Chlorophyll metabolism. *Plant Biology*. 9: 248-255.
- Thaman, M., A. Sepehri, G. Ahmadvand, and S.H. Sabbaghpour. 2007. Effect of irrigation in pod formation and seed filling on growth and yield of five chickpea cultivar. *Journal of Agricultural Research, Water, Soil and Plant in Agriculture*. 7(1): 41-59. (In Persian).
- Yadav, R.S., C.T. Hash, F.R. Bidinger, K.M. Devos, and C.J. Howarth. 2004. Genomic regions associated with grain yield and aspects of post flowering drought tolerance in pearl millet across environments and tester background. *Euphytica*. 136: 265-277.
- Yarnia, M. 2015. The effect of water deficit stress on osmotic metabolites and antioxidant system and grain and oil yield of amaranth CV. koniz. *Journal of Crop Ecophysiology*. 8(4): 499-516. (In Persian).

Evaluation of Grain Yield and some Biochemical Characteristics of Five Chickpea Cultivars (*Cicer arietinum* L.) under Drought Stress in Kermanshah Region

Seyed Mohammad Naseh Hosseini¹, Mohsen Saeidi², and Cirous Mansourifar^{3*}

Received: July 2018, Revised: 8 December 2018, Accepted: 22 December 2018

Abstract

To study the effect of water deficit on biochemical changes in chickpea, a split-plot experiment based on complete block design with three replications was carried out at the Research Farm of Razi University in Iran. Moisture regimes with three levels, were: 1) irrigation cut off from beginning of flowering till maturity, 2) irrigation cut off from beginning of podding till maturity and 3) irrigating plants at all stages of growth (control) assigned to the main-plots and five chickpea cultivars: Arman, Azad, Bivanij, Hashem and ILC482 to the sub-plots. Based on the results, two levels of water deficit resulted in significant reduction in the chlorophylls and carotenoids concentration and significant increase in the activity of antioxidant enzymes such as: catalase, peroxidase and super oxide dismutase of leaves, in comparison with control. Therefore, there was a negative correlation between the activity of antioxidant enzymes and the amount of available water in soil, and their activity increased with increasing the severity of water stress. Seed yield was significantly affected by water deficit. In comparison of control treatment, irrigation cut off from the beginning of flowering up to maturity compared to irrigation cut off from podding up to maturity resulted in more reduction in seed yield (36 and 15% respectively). ILC482 cultivar with seed yield of 715 kg.ha⁻¹ under irrigation cut off from the beginning of flowering up to maturity and Arman cultivar with a seed yield of 1355 kg.ha⁻¹ under irrigation cut off from podding up to maturity produced highest grain yield. High yield cultivars under two levels of water deficit including: ILC482, Azad and Bivanij also had the highest photosynthetic pigments concentration and highest antioxidant activity in their leaves. The results also indicated a positive relationship between the antioxidant enzymes activities and photosynthetic pigment concentrations in chickpea which may help to increase growth and yield of chickpea under drought stress conditions.

Key words: Antioxidant enzymes, Carotenoid, Chlorophyll, Drought stress, Yield.

1-Former M.Sc. Student, Department of Agronomy and Plant Breeding, Campus of Agriculture and Natural Resource, Razi University, Kermanshah, Iran.

2- Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Razi University, Kermanshah, Iran.

3- Associate Professor, Alborz Payam Noor University, Karaj, Iran.

* Corresponding Author: cmansourif@yahoo.com