

## اثر تنش شوری بر مؤلفه‌های جوانه‌زنی، مقدار کلروفیل و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در ژنوتیپ‌های نخود ایرانی (*Cicer arietinum* L.)

علیرضا عباسی<sup>۱\*</sup>، محمد انتصاری<sup>۲</sup> و امین ابراهیمی<sup>۳</sup>

۱. دانشیار، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج

۲. دانشجوی دکتری علوم و تکنولوژی بذر، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

۳. دانشجوی دکتری اصلاح نباتات-ژنتیک مولکولی گروه زراعت و اصلاح نباتات،

پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۲/۲۲ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۲/۸/۷)

### چکیده

به منظور بررسی تأثیرات سطوح شوری بر خصوصیات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی ژنوتیپ‌های نخود در مرحله جوانه‌زنی و گیاهچه‌ای، آزمایشی در سال ۱۳۸۹ در دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران با هفت ژنوتیپ نخود در دو آزمایش، یکی در آزمایشگاه برای بررسی مؤلفه‌های جوانه‌زنی و دیگری در گلخانه برای بررسی صفات فیزیولوژی و بیوشیمیایی به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک کامل تصادفی در سه تکرار تحت پنج سطح تنش شوری (صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ میلی‌مولار) انجام گرفت. نتایج این تحقیق نشان داد که با افزایش شدت تنش، صفات مذکور به طور خطی و معنی‌داری کاهش یافتند. بیشترین جوانه‌زنی در سطح تنش ۲۰۰ میلی‌مولار در ژنوتیپ G485 با ۳۴ درصد و کمترین جوانه‌زنی در ژنوتیپ G456 با ۱۳ درصد مشاهده شد. طول ریشه‌چه در همین سطح تنش در ژنوتیپ G485 و ژنوتیپ G472 به ترتیب ۵ و ۰/۲۷ سانتی‌متر بود. شاخص ویگور نیز دارای تغییرات معنی‌داری بود و در تنش ۲۰۰ میلی‌مولار بیشترین مقدار متعلق به ژنوتیپ G485 با ۲/۶۸ بود. زیست‌توده نخود نیز به طور معنی‌داری تحت تأثیر سطوح تنش شوری قرار گرفت، به طوری که ژنوتیپ G485 در سطح تنش ۵۰ میلی‌مولار با ۳/۸ گرم دارای بیشترین مقدار این شاخص بود. فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی ژنوتیپ‌های نخود تحت تنش در آزمایش گلخانه‌ای واکنش‌های متفاوت و معنی‌داری از خود بروز دادند. در تنش ۲۰۰ میلی‌مولار ژنوتیپ G104 دارای بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز بود در همین سطوح تنش ژنوتیپ G485، بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز و پلی‌فنول اکسیداز را داشت. بیشترین کاهش مقدار کلروفیل نسبت به شاهد در ژنوتیپ G643 با ۹۳ درصد و کمترین کاهش در ژنوتیپ G485 با ۵۴ درصد به دست آمد. نتایج نشان داد که فعالیت کلروفیل و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی دارای همبستگی زیادی بودند و ژنوتیپ‌های دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانتی بیشتر، کلروفیل زیادتری داشتند و همچنین بذوری که در مرحله جوانه‌زنی به شوری مقاوم‌تر بودند در شرایط گیاهچه‌ای نیز برتری مشخصی از خود نشان دادند.

**واژه‌های کلیدی:** آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت، تنش شوری، مؤلفه‌های جوانه‌زنی، محتوای کلروفیل، نخود.

### مقدمه

درصد پروتئین دارد. صد گرم ماده خشک دانه نخود، دارای

حدود ۲۳ درصد پروتئین، ۶۳/۵ درصد کربوهیدرات، ۵/۸

نخود از گیاهان تیره لگومینوز است و دانه آن ۱۸-۲۵

درصد قندهای محلول، ۵/۳ درصد چربی و ۳/۲ درصد مواد معدنی (خاکستر) و غنی از کلسیم (۱۸۶/۶ میلی‌گرم)، فسفر (۳۴۲/۹ میلی‌گرم) و منگنز (۱۴۱ میلی‌گرم) است (Herridge *et al.*, 1995). ایران یکی از مراکز اصلی تنوع نخود است و در حال حاضر ذخایر ژنتیکی جمع‌آوری شده از مناطق ایران که اغلب به صورت توده‌های بومی است در داخل و خارج کشور نگهداری می‌شوند. توده‌های بومی طی سالیان متمادی به خوبی به شرایط سخت محیطی سازگار شده‌اند و دارای مجموعه‌ای از صفات مورفولوژیک، فیزیولوژیک و فنولوژیک هستند که در نتیجه آن از سازوکارهایی برخوردارند که موجب افزایش بازده استفاده از آب موجود در خاک در محیط‌های شور و خشک می‌شود (Ashraf, 1999). نخود یکی از حبوبات مهم در تغذیه انسان و از جمله لگوم‌هایی است که در خاک‌های فقیر و شور کشت می‌شود (Rao *et al.*, 2002). تحمل به تنش شوری در مراحل اولیه جوانه‌زنی می‌تواند در تعیین عملکرد تأثیرگذار باشد. گزارش‌های متعدد حاکی از آن است که بذرهایی که در مرحله جوانه‌زنی واکنش مناسبی به تنش نشان می‌دهند، سرعت جوانه‌زنی بیشتری دارند و در نتیجه در مرحله گیاهچه‌ای رشد بهتری دارند و سیستم ریشه‌ای قوی‌تری تولید می‌کنند و می‌توانند در مناطق شور دارای استقرار بهتری باشند (Zare, 2006).

تنش‌های غیرزنده نظیر تنش شوری، هم از طریق تأثیر اسمزی و هم از طریق تأثیر سمیت یون، در گیاهان موجب تغییرات مورفولوژیک و بیوشیمیایی (تغییر مقدار کلروفیل، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی و پروتئین و مقدار پرولین) می‌گردد. کارایی فتوسنتز موجب کاهش فرایندهای رشدی و نمو گیاه نظیر جوانه‌زنی، رشد گیاهچه و در نهایت، کاهش تولید محصول می‌شود (Zheng, 2009; Mandhanian *et al.*, 2006). یکی از مهم‌ترین تأثیرات تنش شوری خسارات اکسیداتیو است که سبب معیوب شدن سیستم‌های دفع مسمومیت از گونه‌های اکسیژن رادیکال آزاد می‌شود و پراکسیداسیون اسیدهای چرب، از بین رفتن پروتئین‌ها، تخریب زنجیره‌های DNA، کاهش محتوای کلروفیل، کاهش رنگدانه‌های کمکی مثل کاروتنوئیدها و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی را در پی دارد (Arshi *et al.*, 2012; Sharifi, 2012). رادیکال‌های آزاد اکسیژن<sup>۱</sup> (ROS) به علت ویژگی‌های شیمیایی خود می‌توانند به پروتئین‌ها، کلروفیل و غشای لیپیدی و اسید نوکلئیک خسارت بزنند. یکی از این قسمت‌ها که تحت تنش شوری خسارت می‌بیند کلروفیل و کاروتنوئیدها هستند. یکی از سازوکارهای مقاومت گیاه، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی از جمله کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات و گلوتاتیون ردوکتاز است که تحت تنش شوری افزایش یافت و از این طریق خسارت به اندام‌های خود را به حداقل رساند (Rasool, 2013).

با توجه به اهمیت بسیار زیاد آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت (کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنول اکسیداز) در سیستم دفاعی گیاه و در مواجهه با انواع تنش‌های زنده و غیرزنده و همچنین بررسی ویژگی‌های جوانه‌زنی بذر در مواجهه گیاه با انواع تنش‌ها لازم است که در مورد نحوه تحمل تنش شوری در ژنوتیپ‌های نخود تحقیقی صورت پذیرد. هدف از این تحقیق ارزیابی تغییرات مؤلفه‌های رشدی بذر در مرحله اولیه جوانه‌زنی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و مقدار کلروفیل در مرحله گیاهچه‌ای در سطوح مختلف شوری بین ژنوتیپ‌های نخود بود.

## مواد و روش‌ها

ژنوتیپ‌های مورد استفاده در این آزمایش شامل هفت نمونه نخود سفید به اسامی G607 با مبدأ کرمان، G472 با مبدأ دره‌گز مشهد، G456 با مبدأ اصفهان، G647 با مبدأ ترکیه، G485 با مبدأ شیراز، G104 با مبدأ آذربایجان و رقم جم (JAM)، تهیه شده از بانک ژن گیاهی گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه تهران بودند. برای اندازه‌گیری مؤلفه‌های جوانه‌زنی، بذر در ظرف پتری قرار داده شده و پس از هشت روز مؤلفه‌های جوانه‌زنی آنها ثبت شد. برای هر تیمار ۲۰ بذر درون ظروف پتری که استریل شده بودند (هیپوکلرید سدیم ۲ درصد به مدت ۲ دقیقه و سپس سه بار شست‌وشو با آب مقطر) قرار داده شدند. به هر پتری دیش ۱۰ میلی‌لیتر محلول NaCl اضافه شد و ظرف‌ها برای آزمایش تنش

دارای یک تا دو گره در ساقه بود اعمال شد و به مدت ۱۱ روز تداوم داشت. پس از دستیابی به غلظت نهایی شوری، به منظور برآورد تغییرات شوری، هدایت الکتریکی هر گلدان دو بار در هفته با استفاده از دستگاه Weilheim Inolbal-Germany اندازه‌گیری شد و هدایت الکتریکی بستر کاشت با افزودن آب خالص یا محلول نمک به شوری‌های مدنظر رسید. هدایت الکتریکی برای ۱۰۰ میلی‌مولار در حدود ۸ تا ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر بود.

#### اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز

ابتدا ۰/۱ گرم برگ تازه در هاون چینی حاوی نیتروژن مایع پودر شده و داخل بافر Tris-HCL قرار داده شد و به سانتریوفیوژ با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با ۱۴۰۰۰ دور انتقال یافت و مایع روشن‌رنگ برداشته شده و داخل تیوپ-های ۱ میلی‌لیتری ریخته و فریز شد و برای مراحل بعدی کار به یخچال ۸۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شد. فعالیت آنزیم کاتالاز در دمای  $25 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد به روش اسپکتروفتومتری انجام گردید و برای خواندن کاتالاز طول موج دستگاه روی ۲۴۰ نانومتر تنظیم گردید. ظرف شاهد شامل ۳ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم + ۵ میکرولیتر پراکسید هیدروژن است. دستگاه بعد از قرائت، صفر شد و تیمارها به درون تیوپ ریخته شد که شامل مواد بالا به همراه ۱۰۰ میکرولیتر عصاره استخراجی بود (Scebba et al., 1998). مقدار پراکسید هیدروژن تجزیه‌شده با استفاده از ضریب خاموشی ( $\epsilon = 39.4 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) فعالیت ویژه آنزیم بر اساس میکرومول پراکسید هیدروژن تجزیه‌شده در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین بیان شد.

#### اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز

فعالیت پراکسیداز به روش Chance & Maehly (1955) اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم بر پایه تشکیل تتراگوپاکول از گویاکول در حضور پراکسید هیدروژن و آنزیم گویاکول صورت گرفت. مخلوط واکنش شامل ۳ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (PH=7/0)، ۳ میکرولیتر گویاکول ۲۰ میلی‌مولار، ۱۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۱۵ میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر عصاره بود. پس از اضافه کردن عصاره، افزایش جذب در طول موج ۴۷۰

شوری به دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. بذرها روزانه شمارش و یادداشت‌برداری شده و در پایان روز هشتم برای اندازه‌گیری صفات جوانه‌زنی ارزیابی شدند. برای تبدیل داده‌های جوانه‌زنی از تبدیل آرک سینوس ریشه دوم استفاده شد. طول ریشه‌چه و ساقه‌چه (به وسیله خط‌کش برحسب سانتی‌متر) اندازه‌گیری شد. شاخص ویگور از حاصل ضرب طول گیاهچه در درصد جوانه‌زنی به دست آمد (Abdul Baki & Anderson, 1973). آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار صورت گرفت.

آزمایش تنش در مرحله گیاهچه‌ای در سال ۱۳۸۹ و در گلخانه‌های گروه زراعت و اصلاح نباتات پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران صورت پذیرفت. برای ارزیابی مقاومت به شوری در مرحله استقرار گیاهچه و ایجاد سطوح مختلف پتانسیل اسمزی از نمک NaCl استفاده شد که شامل سطوح صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ میلی‌مولار بود. برای اجرای این آزمایش ابتدا همه بذرها، ظروف و محیط کار ضدعفونی شد. به این منظور بذرها با محلول هیپوکلریت سدیم ۳ درصد به مدت دو دقیقه ضدعفونی و پس از آن چند بار با آب مقطر استریل شست‌وشو شدند. گلدان‌های استفاده‌شده، گلدان‌های سه‌کیلویی بودند و در هر گلدان هفت بذر کشت شد که پس از رشد، استقرار گیاه و عملیات تنک کردن، به چهار عدد برای بررسی صفات مورد مطالعه کاهش یافت. گیاهان در درجه حرارت گلخانه  $26 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد و نور طبیعی روز همراه با نور تکمیلی با تناوب نوری (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) قرار داشتند. اسیدیته خاک مورد استفاده ۶/۸، هدایت الکتریکی آن  $0.73 \text{ dS.m}^{-1}$  و بافت آن، شنی رسی بود. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار صورت گرفت.

#### نحوه اعمال سطوح تیمار شوری

چهار سطح شوری ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم اعمال شد. برای اعمال شوری، ۲۵ میلی‌مولار کلرید سدیم در هر روز (۱۰ صبح) استفاده شد تا به غلظت‌های مورد نظر برسد. سطوح شوری بعد از ده روز پس از کاشت، در مرحله گیاهچه‌ای که گیاه

نانومتر به مدت ۲ دقیقه توسط دستگاه اندازه‌گیری شد.

#### ارزیابی آنزیم پلی‌فنول اکسیداز

برای این منظور از روش Kar & Mishra (1976) استفاده شد. بدین ترتیب که ابتدا ۲ میلی‌لیتر مخلوط واکنش شامل ۵۰ میکرو لیتر عصاره نمونه گیاهی، ۲۰ میکرو لیتر محلول پرولین و بافر سیترات فسفات ۲۵ میلی‌مولار اضافه شد تا حجم نهایی به ۲ میلی‌لیتر رسید. مخلوط بالا به وسیله دستگاه ورتکس یکنواخت شد. سپس دستگاه اسپکتروفتومتر با استفاده از مخلوط بالا منهای عصاره صفر شد. دستگاه با طول موج ۵۱۵ نانومتر، زمان ۱/۵ دقیقه و با فواصل زمانی ۱۰ ثانیه و جذب نور تنظیم شد. سپس ۴۰ میکرو لیتر محلول پورپوروگالین ۱۰۰ میلی‌مولار به مخلوط فوق اضافه و به سرعت مخلوط شد و بلافاصله تغییرات اندازه‌گیری به صورت جذب در واحد پروتئین گزارش شد.

میلی‌مولار ژنوتیپ G456 با ۱۳ درصد جوانه‌زنی و ژنوتیپ G485 با ۳۴ درصد جوانه‌زنی، به ترتیب حساس‌ترین و متحمل‌ترین ژنوتیپ بودند. محققان دیگر گزارش کردند که افزایش تنش، آب در دسترس بذرها برای جوانه‌زنی و در نتیجه سرعت فعالیت‌های متابولیکی بذر را کاهش می‌دهد و تأثیر مستقیمی بر کاهش طول ریشه دارد و همچنین سبب نایکنواختی در سبز شدن و استقرار مناسب می‌شود (Kaya, 2007; Dash, 2001). نتایج حاضر با یافته‌های Flowers *et al.* (2010) مطابقت دارد. ایشان ادعا داشتند که شوری توانست سرعت درصد جوانه‌زنی را در نخود کاهش دهد و این کاهش در بین ژنوتیپ‌های مختلف متفاوت بود، به طوری که در تنش ۱۲۰ میلی‌مولار، ژنوتیپ ILC-482 دارای ۷۰ درصد و ژنوتیپ Barkla دارای ۴۰ درصد جوانه‌زنی بود.

#### طول ریشه‌چه و ساقه‌چه و شاخص ویگور

طول ریشه‌چه به لحاظ اینکه ریشه‌چه خیلی سریع‌تر از بذر بیرون می‌آید و سبب استقرار بذر و تغذیه از مواد می‌شود، از صفات مهم در مواجهه با تنش شوری است که می‌تواند به عنوان شاخص مناسبی به کار گرفته شود. با افزایش سطوح تنش شوری همه ژنوتیپ‌ها به جز دو ژنوتیپ G104، G485 و رقم جم، کاهش معنی‌داری در طول ریشه‌چه نشان دادند. این دو ژنوتیپ در سطح شوری ۵۰ میلی‌مولار نسبت به سطح شوری صفر به ترتیب دارای افزایش معنی‌دار ۲۲ و ۱۳ درصد بودند، در حالی که رقم جم نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت (جدول ۱). مشخص شد که در سطح تنش پایین، شوری سبب بهبود طول ریشه‌چه این دو ژنوتیپ شد. در تنش ۲۰۰ میلی‌مولار بیشترین مقدار صفت یادشده مربوط به ژنوتیپ G485 با ۵ سانتی‌متر و کمترین مقدار در ژنوتیپ G472 با ۰/۲۷ سانتی‌متر بود. در نتایج آزمایش حاضر با افزایش تنش، این صفت دارای کاهش بود و در بین ژنوتیپ‌های مختلف تفاوت معنی‌دار بود. این نتایج با یافته‌های Zang *et al.* (2012) که در سطوح پایین تنش سبب افزایش طول ریشه‌چه شده بود مطابقت دارد که دلیل آن را می‌توان تأثیر یون‌های سدیم و کلر بر تحریک بیشتر جوانه‌زنی در غلظت‌های کم دانست.

#### محتوای کلروفیل کل و کاروتنوئید

برای اندازه‌گیری مقدار کلروفیل از برگ‌هایی که نمو آنها به طور کامل صورت پذیرفته بود استفاده شد. سپس میزان جذب نور با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (shimadzu uv 180) و در طول موج‌های ۶۴۸، ۶۶۴ و ۴۷۰ نانومتر تعیین شد (Abbasi *et al.*, 2007). برای رسم جدول‌ها و نمودارهای آماری نیز از نرم‌افزارهای EXCEL 2010 و WORD استفاده شد. برای محاسبات آماری از نرم‌افزار SAS [نسخه ۹/۲] و برای مقایسه میانگین‌ها از نرم‌افزار MSTATC و آزمون چنددامنه‌ای دانکن با سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد. درصد جوانه‌زنی از تبدیل آرک سینوس استفاده شد.

#### نتایج و بحث

##### درصد جوانه‌زنی

مقایسه میانگین تأثیر سطوح شوری بر جوانه‌زنی ژنوتیپ‌های نخود دارای اختلاف معنی‌داری بود (جدول ۱). در سطح تنش ۵۰ میلی‌مولار ژنوتیپ‌های G104 و رقم جم نسبت به شاهد دارای افزایش ۸ و ۶ درصدی بودند که البته این افزایش معنی‌دار نبود. با افزایش غلظت شوری از ۱۰۰ تا ۲۰۰ میلی‌مولار به طور معنی‌داری از درصد جوانه‌زنی کاسته شد. در سطح شوری ۲۰۰

جدول ۱. مقایسه میانگین صفات جوانه‌زنی ژنوتیپ‌های نخود تحت سطوح تنش شوری

شاخص ویگور	طول ساقچه (سانتی‌متر)	طول ریشه‌چه (سانتی‌متر)	درصد جوانه‌زنی	ژنوتیپ	تنش شوری (میلی‌مولار)
۲۵۰۲±۵۰/۰۵	۱۳/۲۴±۱/۰۰۳	۱۲/۳±۱/۱۱	۹۸±۳/۷۶*	G607	۰
۲۵۷۷±۵۱/۵۴	۱۳/۷±۰/۹	۱۲/۶±۱/۱۴	۹۸±۳/۳۵	G472	
۲۷۴۶±۵۱/۹۱	۱۴/۲۱±۰/۶۷	۱۳/۲۵±۱/۲	۱۰۰±۲/۷۸	G456	
۲۵۹۵±۵۵/۰۴	۱۳/۲۲±۰/۷۶	۱۳±۱/۱۸	۹۹±۲/۸۲	G647	
۲۷۵۲±۴۸/۸۷	۱۳/۲±۰/۹۰	۱۴/۳۲±۰/۹	۱۰۰±۳/۳۵	G485	
۲۴۴۳±۴۹/۰۵	۱۳/۵۶±۰/۹۹	۱۳±۱/۲	۹۲±۳/۲۱	G104	
۲۴۵۲±۵۲/۴۹	۱۳/۲۵±۰/۸۹	۱۴±۱/۱۲	۹۰±۲/۱	Jam	
۱۵۳۷±۷۶/۸۸	۱۰/۲۲±۰/۸۵	۹±۰/۸	۸۰±۳/۷۱	G607	
۱۵۸۸±۷۹/۶۵	۱۰/۳۲±۰/۷۹	۸/۵۹±۰/۷۸	۸۴±۲/۲۵	G472	
۱۸۵۱±۹۲/۱۶	۱۲/۳۴±۰/۷۵	۸/۲۳±۰/۷۳	۹۰±۳/۶۵	G456	
۱۸۴۳±۹۱/۴۵	۱۰/۶±۰/۸۹	۸/۸±۰/۸	۹۵±۳/۴۲	G647	
۲۸۵۶±۹۰/۳۶	۱۳/۰۶±۰/۸۵	۱۶/۲±۰/۶۲	۹۷±۲/۱	G485	
۲۶۱۰±۷۵/۵۶	۱۰/۲±۰/۹۸	۱۵/۹±۱/۰۴	۱۰۰±۳/۲	G104	
۲۶۴۶±۶۲/۶۵	۱۳/۱۱±۱/۰۹	۱۴/۳±۱/۳	۹۶±۳/۸۹	Jam	
۷۴۰±۴۷/۰۴۴	۷/۲۳±۰/۶	۶±۰/۵۴	۵۶±۲/۱	G607	۱۰۰
۸۵۲±۴۲/۶۳	۷/۹۸±۰/۷۶	۶±۰/۴۳	۶۱±۳/۲	G472	
۷۹۷±۳۹/۸۷	۸/۲±۰/۸۶	۶/۳±۰/۳۹	۵۵±۲/۲۴	G456	
۹۹۷۵±۴۹/۸۷	۸/۱۵±۰/۵۷	۵/۹±۰/۶۱	۷۱±۳/۱	G647	
۱۸۱۰±۷۱/۳۵	۹/۴۵±۱/۱	۱۲/۱±۰/۹۲	۸۴±۲/۸۷	G485	
۱۵۰۲±۵۸/۹۹	۹±۰/۹۲	۱۱/۳±۱/۱	۷۴±۳/۹۳	G104	
۱۲۴۵±۶۳/۲۴	۹/۷۷±۰/۷۸	۱۰±۰/۹۳	۶۳±۲/۶۵	Jam	
۲۸۵±۴۷/۵۵	۴/۲۲±۰/۳۵	۳/۱±۰/۲۱	۳۹±۳/۵۶	G607	
۱۶۴±۲۷/۴۵	۴/۱±۰/۲۷	۲±۰/۳۲	۲۷±۲/۱۳	G472	
۱۸۶±۳۱/۰۵	۳/۸۷±۰/۳۹	۲/۳۴±۰/۳۱	۳۰±۳/۱۲	G456	
۲۸۷±۴۷/۹۷	۴/۹۸±۰/۳۶	۲/۴±۰/۴۱	۳۹±۲/۲۵	G647	
۸۵۵±۶۴/۹۸	۵/۹۵±۰/۲۶	۸/۳±۰/۵۱	۶۰±۲/۹۸	G485	
۶۷۴±۵۹/۲۶	۵/۷۶±۰/۳۳	۸±۰/۳۷	۴۹±۳/۷۱	G104	
۳۷۷±۴۸/۷۵	۵±۰/۴۵	۶/۱±۰/۲۸	۳۴±۴/۱۲	Jam	
۴۴±۴/۳۹	۱/۲۲±۰/۴	۰/۵±۰/۴۵	۲۶±۳/۲۶	G607	۲۰۰
۲۴±۳/۴۸	۱/۱۲±۰/۴۱	۰/۲۷±۰/۴۴	۱۷±۲/۲۵	G472	
۱۵±۲/۵۴	۰/۹±۰/۳۵	۰/۳±۰/۰۱	۱۳±۲/۶۷	G456	
۳۴±۳/۷۶	۱/۳۲±۰/۴۶	۰/۵±۰/۱	۱۹±۲/۲۱	G647	
۲۶۸±۲۳/۵۶	۳/۱±۰/۵	۵±۰/۳۲	۳۴±۳/۴۳	G485	
۲۳±۲۲/۹۸	۲/۹±۰/۳۲	۴/۸±۰/۲۹	۳۰±۲/۳۲	G104	
۷۷±۷/۳۴	۱/۵۷±۰/۱۹	۲/۱±۰/۶۶	۲۱±۳/۲۱	Jam	

\* اعداد بعد از ± اشتباه استاندارد است.

خواهد شد که گیاه از منابع نوری بیشتر استفاده کند و کانوپی بیشتری داشته باشد که در نتیجه عملکرد بیشتری در پی خواهد داشت (Keshavkant et al., 2012).

طول ساقچه نیز روندی مشابه طول ریشه‌چه

طول ساقچه نیز از جمله صفاتی است که تحت تأثیر تنش شوری قرار می‌گیرد و به دلیل دیرتر بیرون آمدن از بذر سبب می‌شود که حساسیت بیشتری نسبت به شوری داشته باشد. هرچقدر ساقچه سریع‌تر رشد کند سبب

گرفت. ژنوتیپ‌های G104 و G485 تا سطح تنش ۱۰۰ میلی‌مولار دارای افزایش معنی‌داری بودند و پس از آن کاهش یافتند. بقیه ژنوتیپ‌ها تا سطح تنش ملایم ۵۰ میلی‌مولار دارای افزایش فعالیت این آنزیم بودند. ژنوتیپ G104 در همه سطوح تنش شوری دارای فعالیت بیشتری از این آنزیم بود. در تنش ۲۰۰ میلی‌مولار بیشترین فعالیت مربوط به ژنوتیپ‌های G104 و G485 به ترتیب با ۱/۷۵ و ۱/۴۹، و کمترین فعالیت متعلق به ژنوتیپ G472 با ۰/۳۸ بر حسب واحد بود (شکل ۱). اجتناب از تولید گونه‌های اکسیژن رادیکال آزاد (Ros) در طول تنش یک راهبرد مهم در توانمندی گیاه برای بر آمدن از عهده کمبود آب است (de Carvalho, 2008). کاتالاز برای حذف  $H_2O_2$  و تبدیل آن به آب و اکسیژن در طی تنفس نوری در پراکسی‌زوم عمل می‌کند. در شرایط تنش، افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز برای مقاومت به تنش شوری دارای اهمیت زیادی است (Parida & Das, 2005). Keshavkant *et al.* (2012) گزارش کردند که فعالیت کاتالاز رابطه تنگاتنگی با مقاومت به شوری در نخود دارد در صورت افزایش مقدار این آنزیم، صفات رویشی نیز مقدار بیشتری خواهند داشت. در بسیاری از تحقیقات این موضوع مطرح است که مقاومت به تنش، همبستگی زیادی با سیستم آنتی‌اکسیدانتی دارد (Farooq *et al.*, 2009). Eyidogan & Tofan (2007) نیز گزارش کردند که سیستم‌های آنتی‌اکسیدانتی در مقابل تنش شوری در گیاهچه‌های نخود فعال شدند و در مقاومت این گیاه به تنش نقش بسزایی داشتند (Rasool *et al.*, 2013).

#### آنزیم پراکسیداز

فعالیت پراکسیداز به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر سطوح تنش در ژنوتیپ‌های مختلف نخود قرار گرفت (شکل ۲). این آنزیم روندی مشابه آنزیم کاتالاز از خود نشان داد، البته با این تفاوت که در این آنزیم علاوه بر دو ژنوتیپ G104 و G485 که تا سطح ۱۰۰ میلی‌مولار افزایش فعالیت آنزیم را نشان دادند، رقم جم نیز تا این سطح دارای افزایش فعالیت آنزیم بود. بقیه ژنوتیپ‌ها فقط تا سطح ۵۰ میلی‌مولار افزایش فعالیت این آنزیم را نشان دادند. در سطح تنش ۲۰۰ میلی‌مولار، دو ژنوتیپ G104

داشت، با این تفاوت که در سطح شوری پایین ۵۰ میلی‌مولار هیچ یک از ژنوتیپ‌ها دارای افزایش معنی‌داری نبودند؛ البته ژنوتیپ G485 و رقم جم در این سطح تنش نسبت به شاهد کاهش داشتند، ولی این کاهش معنی‌دار نبود (جدول ۱). ژنوتیپ G485 در همه سطوح شوری، طول ساقه‌چه بیشتری نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها داشت. تنش شوری از این لحاظ دارای اهمیت است که اگر جذب آب توسط بذر دچار اختلال شود یا جذب به‌آرامی صورت گیرد، فعالیت‌های متابولیکی جوانه‌زنی در داخل بذر به‌آرامی انجام خواهد گرفت و در نتیجه مدت زمان لازم برای خروج ریشه‌چه از بذر افزایش یافته و درصد جوانه‌زنی و به‌دنبال آن طول ریشه‌چه و ساقه‌چه در نخود کاهش خواهد یافت (Das, 1996; Macar, 2009). افت شایان توجه ریشه و ساقه ممکن است کاهش جذب آب، عدم توازن مواد مغذی و سمیت یونی را در اثر تنش شوری ایجاد کند. در نتایج آزمایش حاضر که با نتایج برخی یافته‌ها (Serraj *et al.*, 2004; Maliro *et al.*, 2009; Mudgal *et al.*, 2004) مطابقت دارد، با افزایش تنش، کاهش تدریجی جوانه‌زنی و صفات مورفولوژیک، به‌ویژه طول ریشه و ساقه مشاهده شد.

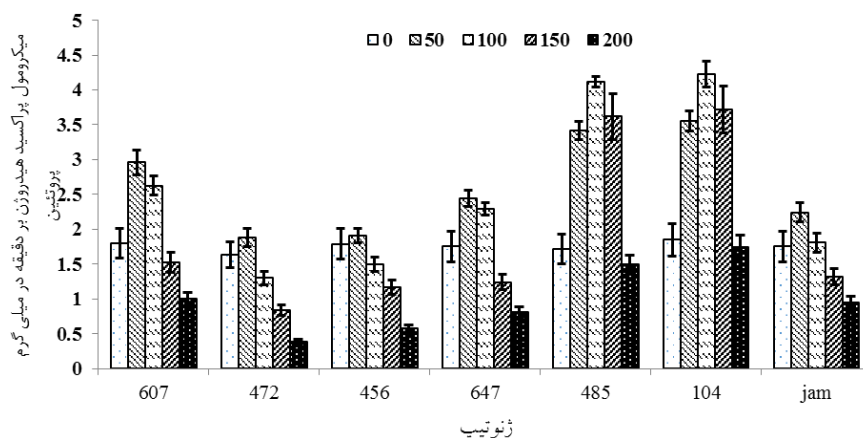
شاخص ویگور در ژنوتیپ‌ها با افزایش تنش شوری دارای کاهش معنی‌دار بود، البته به‌جز دو ژنوتیپ G104 و G485 و رقم جم که دارای افزایش جزئی نسبت به تیمار بدون شوری بودند. هر چه قدرت برگشت‌پذیری و ترمیم خسارت ناشی از تنش رطوبتی در یک گیاه بیشتر باشد، سازگاری آن به شوری بیشتر خواهد بود. این امر به توان حفظ سازمان سلولی جلوگیری از اضمحلال مولکول‌های بزرگ و سلول‌ها و حفظ توان متابولیسم تحت شرایط تنش رطوبتی بستگی دارد. واضح است که امکان و میزان برگشت به وضعیت طبیعی به شدت و طول دوران تنش بستگی دارد (Hashemi dezfuli, 1995). در مورد صفات رویشی نتایج این تحقیق با یافته‌های Eyidogan & Tofan (2007) که نشان دادند تنش شوری سبب کاهش معنی‌دار مؤلفه‌های جوانه‌زنی و طول گیاهچه نخود می‌شود مطابقت داشت.

#### آنزیم کاتالاز

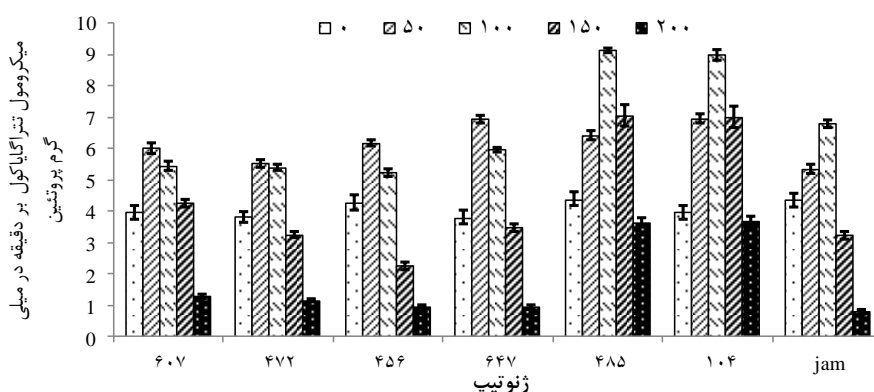
فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تأثیر سطوح تنش شوری قرار

آنتی‌اکسیدانتی و مقاومت به تنش آبی وجود دارد و مقاومت گیاهان بهبود یافته است (Perl *et al.*, 1993; Behnamnia *et al.*, 2009). در یافته‌های دیگر محققان نیز بر این نکته تأکید شده است که آنزیم کاتالاز و پراکسیداز عامل خیلی مهمی در مقاومت به تنش آبی در نخود است (Mafakheri, 2011).

و G485 در بیشترین حد فعالیت این آنزیم قرار گرفتند و این حاکی از قدرتمند بودن سیستم آنتی‌اکسیدانتی این دو ژنوتیپ بود که توانستند به ترتیب نسبت به رقم جم دارای افزایش ۷۷ و ۷۸ درصدی در فعالیت آنزیم پراکسیداز باشند. در اکثر مطالعات نشان داده شده است که ارتباط خیلی نزدیکی بین فعالیت آنزیم‌های



شکل ۱. مقایسه میانگین فعالیت آنزیم کاتالاز ژنوتیپ‌های نخود تحت سطوح شوری

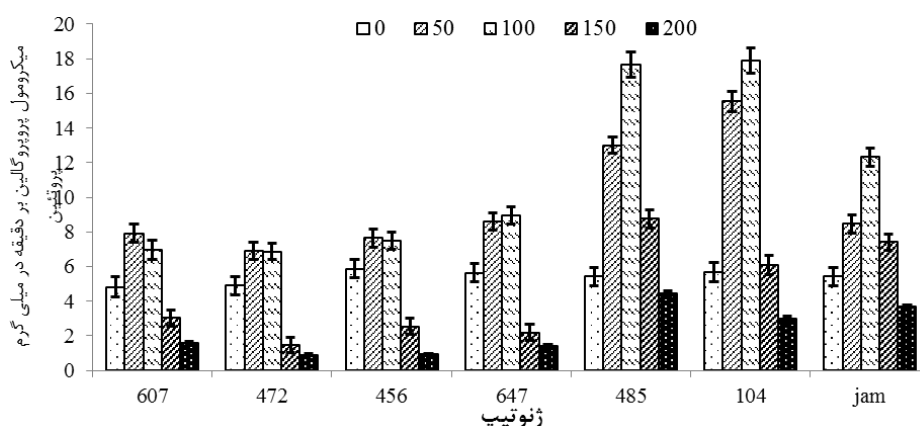


شکل ۲. مقایسه میانگین فعالیت آنزیم پراکسیداز ژنوتیپ‌های نخود تحت سطوح شوری

معنی‌داری ندارند و این حاکی از کارآمد بودن این آنزیم در تنش شوری و نقش مهم آن در مقابله با اکسیژن‌های رادیکال آزاد (ROS) است. پلی‌فنول اکسیداز توسط ژن‌های هسته‌ای کد می‌شوند و بعداً به کلروپلاست انتقال می‌یابند و در اکسیداسیون فنول‌ها به کئینون‌ها و تشکیل لیگنین در سلول‌های گیاهی عامل مؤثری به‌شمار می‌روند (Mohammadi & Kazemi, 2002). یافته‌های ما با نتایج تحقیقات Keshavkant *et al.* (2012) که حاکی از پاسخ فیزیولوژیکی و آنتی‌اکسیدانتی در مقابل تنش شوری در نخود بود مطابقت داشت.

### آنزیم پلی‌فنول اکسیداز

سطوح تنش شوری توانست فعالیت آنزیم پلی‌فنول اکسیداز را در ژنوتیپ‌های مختلف به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر قرار دهد. به‌طوری‌که دو ژنوتیپ G104 و G485 و رقم جم روند یکسانی را از خود نشان دادند و تا سطح ۱۰۰ میلی‌مولار تنش شوری توانستند فعالیت این آنزیم را داشته باشند. نکته مهمی که در این آنزیم نسبت به دو آنزیم قبلی وجود دارد، پایداری آن تا سطح ۱۰۰ میلی‌مولار تنش است، به‌طوری‌که مشاهده می‌شود (شکل ۳) همه ژنوتیپ‌ها تا سطح ۱۰۰ میلی‌مولار با سطح ۵۰ میلی‌مولار، تفاوت



شکل ۳. مقایسه میانگین فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز ژنوتیپ‌های نخود تحت سطوح شوری

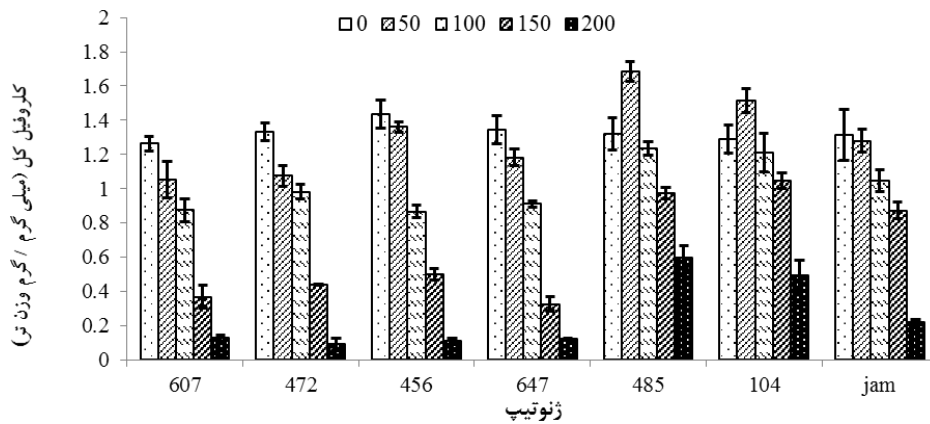
### مقدار کلروفیل و کاروتنوئید

با توجه به شکل ۴ مشخص می‌شود که مقدار کلروفیل تحت تأثیر معنی‌دار سطوح شوری قرار گرفت، به طوری که با افزایش تنش از ۵۰ تا ۲۰۰ میلی‌مولار، مقدار کلروفیل کل کاهش یافت، به جز دو ژنوتیپ G104 و G485 که در تنش ۵۰ میلی‌مولار افزایش داشتند. به نظر می‌رسد که تنش ۲۰۰ میلی‌مولار یک سطح بحرانی از شوری برای همه ژنوتیپ‌ها است. بیشترین درصد کاهش کلروفیل نسبت به شاهد در ژنوتیپ G643 با ۹۳ درصد و کمترین کاهش در ژنوتیپ G485 با ۵۴ درصد بود. کاروتنوئید نیز به طور معنی‌داری تحت سطوح تنش شوری قرار گرفت. روند تغییرات کاروتنوئید نیز همانند کلروفیل کل بود، ولی در ژنوتیپ‌های G456 و G647 و رقم جم دارای افزایش غیر معنی‌داری نسبت به تیمار بدون شوری بودند. در سطح تنش ۲۰۰ میلی‌مولار بیشترین تأثیر شوری مشاهده شد، در حالی که ژنوتیپ G485 با میزان ۰/۵۹ و ژنوتیپ G472 با ۰/۹۱ به ترتیب بیشترین و کمترین مقدار این صفت را به خود اختصاص دادند.

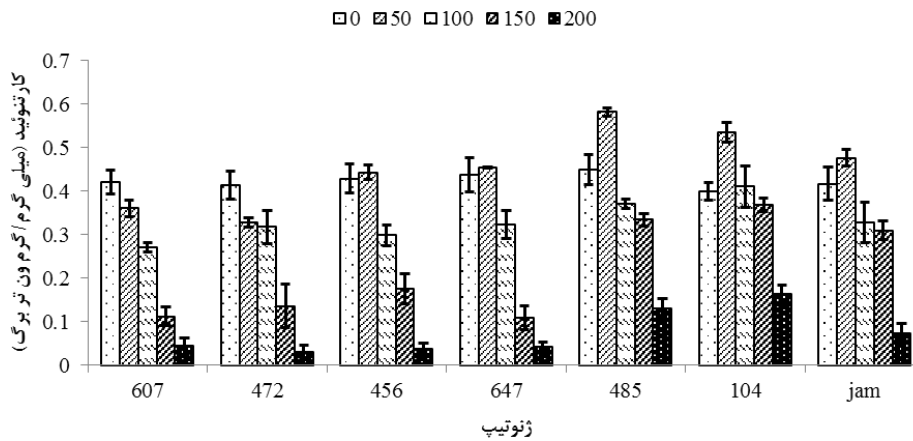
همان‌طور که از نتایج برمی‌آید ژنوتیپ‌های G104 و G485 دارای کلروفیل بیشتری نسبت به بقیه ژنوتیپ‌ها بودند و این ممکن است به دلیل وجود سیستم آنتی‌اکسیدانتی قدرتمند در این ژنوتیپ‌ها باشد. در گونه‌های مختلف گیاهی نیز این مهم وجود دارد که بین مقاومت به شوری و ظرفیت تولید آنتی‌اکسیدانتی مقاومت‌های بالایی مشاهده شده است (Gossett et al., 1994; Dionisio-Sese & Tobita, 1998; Benavides et

al., 2000). نکته شایان توجه در رابطه بین مقدار کلروفیل و سیستم آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی این است که مقدار کلروفیل تا سطح ۵۰ میلی‌مولار افزایش یافت و بعد از آن روندی کاهشی را در این دو ژنوتیپ دنبال گرفت، ولی فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانتی در این دو ژنوتیپ تا سطح ۱۰۰ میلی‌مولار افزایش یافت و بعد از آن شروع به کاهش نهاد. فعالیت بالای آنزیم‌ها در سطح تنش ۱۰۰ میلی‌مولار سبب شد که بین مقدار کلروفیل در سطوح شوری و بدون شوری در دو ژنوتیپ G104 و G485 اختلاف معنی‌داری مشاهده نشود. دو ژنوتیپ G472 و G456 حساس‌ترین ژنوتیپ‌ها، هم از نظر مقدار کلروفیل و هم از نظر تولید سیستم آنتی‌اکسیدانتی هستند. البته در بعضی منابع نیز تناقضی مبنی بر ارتباط بین سیستم آنتی‌اکسیدانتی و کلروفیل گزارش شده است. کاهش پروتئین‌های غشایی خاص، افزایش فعالیت آنزیم کلروفیل‌از و پراکسیداز و اختلال در فعالیت آنزیم‌های مسئول سنتز کلروفیل از عوامل مؤثر در کاهش کلروفیل در شرایط تنش کم‌آبی ذکر شده‌اند. کاهش غلظت کلروفیل به میزان ۱۲ درصد و در مقابل، تجمع پرولین تحت استرس کمبود آب در گیاه کلزا مشاهده شده است (Omidbaigi, 2001). بین مقدار پراکسیداز و کلروفیل کل و b در تنش رابطه معنی‌داری وجود ندارد (Jabari et al., 2006). گزارش‌های زیادی در مورد تأثیر شوری بر کلروفیل موجود است که برای کم کردن تأثیرات زیان‌آور گیاهان سیستم توسعه‌یافته آنزیمی مانند CAT, APX, SOD, GR و مواد غیر آنزیمی مانند گلوکوتایون آسکوربیک اسید و کاروتنوئیدها وجود دارد (Vranova et al., 2002; Mandhania et al., 2006).

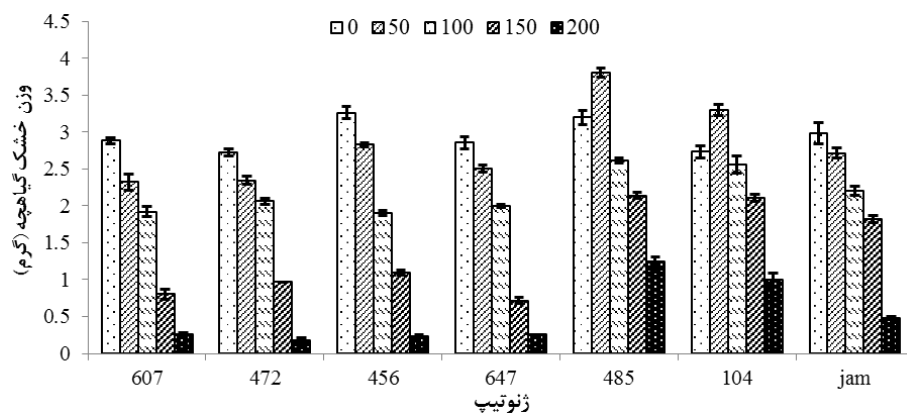




شکل ۴. مقایسه میانگین مقدار کلروفیل کل در ژنوتیپ‌های نخود تحت سطوح شوری



شکل ۵. مقایسه میانگین محتوای کاروتنوئید در ژنوتیپ‌های نخود تحت سطوح شوری



شکل ۶. مقایسه میانگین وزن خشک گیاهچه در ژنوتیپ‌های نخود تحت سطوح شوری

زیست‌توده نخود بود. ژنوتیپ‌های G607 و G104 دارای کمترین مقدار زیست‌توده بودند. یکی از علتهایی که می‌توان به متحمل بودن در برابر تنش نسبت‌داد فعالیت‌های سیستم آنتی‌اکسیدانتهی است که در نتایج این تحقیق نیز تأیید شده است و ژنوتیپ‌هایی که دارای سیستم

زیست‌توده گیاهچه نخود به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر سطوح شوری قرار گرفت. به‌طوری‌که در همه ژنوتیپ‌ها به جز دو ژنوتیپ G104 و G485 با افزایش سطوح تنش شوری دارای روند کاهش بود. ژنوتیپ G485 با ۳/۸۰ گرم در سطح شوری ۵۰ میلی‌مولار دارای بیشترین مقدار

برمی آید که (شکل ۳) در طول تنش، این آنزیم نسبت به بقیه آنتی اکسیدانت ها کمتر تحت تأثیر قرار گرفت و پایداری بیشتری نشان داد. نتایج دیگر تحقیقات نیز نشان می دهد که آنزیم های آنتی اکسیدانت مخصوصاً پلی فنول اکسیداز که عاملی اساسی در از بین بردن ترکیبات فنولی در طی تنش شوری است، توانایی زیادی در از بین بردن ترکیبات گونه های اکسیژن فعال و فنولی دارد (Weisany *et al.*, 2012).

آنتی اکسیدانتی قوی تر بوده اند توانسته اند زیست توده بیشتری نیز باشند. زیست توده بیشتر نتیجه فتوسنتز بیشتر است و این رابطه تنگاتنگی با مقدار کلروفیل دارد. نتایج برآورد ضرایب همبستگی نشان می دهد (جدول ۱) که بین همه آنزیم های آنتی اکسیدانتی و کلروفیل و کاروتنوئید رابطه مثبتی برقرار بوده است. بیشترین همبستگی بین فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز و زیست توده و کلروفیل بود. از نتایج آزمایش نیز

جدول ۲. ضرایب همبستگی بین میانگین فعالیت های آنزیم های آنتی اکسیدانت و محتوای کلروفیل و کاروتنوئید هفت ژنوتیپ نخود

وزن خشک گیاهچه	کاتالاز	پراکسیداز	پلی فنول اکسیداز	کلروفیل کل	کاروتنوئید
۱	۱	۱	۱	۱	۱
۰/۸۱۵*	۰/۸۴*	۰/۹۷۴**	۰/۸۸۴**	۰/۹۶۵**	۰/۹۸۰**
۰/۸۴*	۰/۸۴*	۰/۸۸۴**	۰/۸۸۴**	۰/۸۸۴**	۰/۸۸۴**
۰/۹۵۵**	۰/۸۱۳*	۰/۸۸۹**	۰/۸۸۹**	۰/۸۸۹**	۰/۸۸۹**
۰/۹۹۰**	۰/۸۲۸*	۰/۸۸۵**	۰/۸۸۵**	۰/۸۸۵**	۰/۸۸۵**
۰/۹۶۰**					

\* و \*\*: معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

### نتیجه گیری کلی

دارای چنین ویژگی ای بودند. ژنوتیپ های G104 و G485 توانستند مقاومت بیشتری نسبت به اعمال تنش شوری داشته باشند و به عنوان ژنوتیپ های متحمل به شوری برگزیده شدند. ژنوتیپ G472 به عنوان حساس ترین ژنوتیپ شناخته شد. نتایج نشان داد که زیست توده همبستگی زیادی با سیستم های آنتی اکسیدانتی دارد.

به طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که فعالیت آنتی اکسیدانتی بیشتر می تواند بر تحمل به سطوح شوری بالا دلالت داشته باشد و همان طور که نشان داده شد، مقدار کلروفیل با فعالیت آنزیم ها همبستگی قوی داشت. بذوری که در شرایط جوانه زنی توانستند دارای شاخص های برتری باشند، در مرحله گیاهچه ای نیز

### REFERENCES

1. Abbasi, A.R., Hajirezaei, M., Hofius, D., Sonnewald, U. & Voll, L. M. (2007). Specific roles of a-and g-tocopherol in abiotic stress responses of transgenic tobacco1. *Plant Physiology*, 143, 1720-1738.
2. Abdul Baki, A. A. & Anderson, J. D. (1973). Vigor determination in soybean seed by multiple criteria. *Crop Science*, 13, 630-633.
3. Arshi A, Ahmad, A., Aref, IM. & Iqbal, M. (2012). Comparative studies on antioxidant enzyme action and ion accumulation in soybean cultivars under salinity stress. *Journal of Environmental Biology*, 33, 9-20.
4. Ashraf, M. & Karim, F. (1991). Screening for some cultivar/line of black gram (*Vigna mungo* L.) for resistance to water stress. *Tropical Agriculture*, 68, 57-62.
5. Baruah, A., Simkova, K., Apel, K. & Laloi, C. (2009). Arabidopsis mutants reveal multiple singlet oxygen signaling pathways involved in stress response and development. *Plant Molecular Biology*, 70, 547-563.
6. Behnamnia, M., Kalantari, K.M. & Ziaie, J. (2009). The effects of brassinosteroid on the induction of biochemical changes in *Lycopersicon esculentum* under drought stress. *Turkish Journal of Botany*, 33, 417-428.
7. Benavides, M.P., Marconi, P.L., Gallego, S.M., Comba, M.E. & Tomaro, M.L. (2000). Relationship between antioxidant defense systems and salt tolerance in *Solanum tuberosum*. *Australian Journal of Plant Physiology*, 27, 273-278.

8. Vranova, E., Inze, D. & Van Breusegem, F. (2002). Signal transduction during oxidative stress. *Journal of Experimental Botany*, 53, 1227-1236.
9. Chance, B. & Maehly, A. C. (1955). Assay of catalases and peroxidase. *Methods in Enzymology*, 2, 764-775.
10. Chang, C.J. & Koa, C.H. (1988). H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> metabolism during senescence of rice leaves changes in enzyme activities in light and darkness. *Plant growth regulation*, 25, 11-15.
11. Dash, M. & Panda, S.K. (2001). Salt stress induced changes in growth and enzyme activities in germinating *Phaseolus mungo* seed. *Biological Plantarum*, 44(4), 587-589.
12. De Carvalho, M.H.C. (2008). Drought stress and reactive oxygen species. *Plant signaling & Behavior*, 3(3), 156-165.
13. Dionisio-Sese, M.L. & Tobita, S. (1998). Antioxidant response of rice seedlings to salinity stress. *Plant Science*, 135, 1-9.
14. Eyidogan, F. & Tofan, M. (2007). Effect of salinity on antioxidant responses of chickpea seedlings. *Acta Physiol Plant*, 29, 485-493.
15. Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D. & Basra, S.M.A. (2009). Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development*, 29, 185-212.
16. Flowers, T.J., Gaur, P. M., Gowda, L. C. L., Krishnamurthy, L., Samineni, S., Siddique K. H. M., Turner, N. C., Vadez, V., Varshney, R. K. & Colmer T. D. (2010). Salt sensitivity in chickpea. *Plant Cell and Environment*, 33, 490-509.
17. Gossett, D.R., Millhollon, E.P. & Lucas, M.C. (1994). Antioxidant response to NaCl stress in salt-tolerant and salt-sensitive cultivar of cotton. *Crop Science*, 34, 706-714.
18. Hashemi dezfuli, A. (1995). *Increase crop yield*. Jihad-Daneshgahi Pub. Mashhad University, Iran. 360 pp. (In Farsi).
19. Herridge, D.F., Marcellos, H., Felton, W.L. & Turner, G.L. (1995). Chickpea increases soil-N fertility in cereal systems through nitrate sparing and N<sub>2</sub> fixation. *Soil Biology and Biochemistry*, 27, 545-51.
20. Jabari, F., Ahmadi, A., Poustini, K. & Alizadeh, H. (2006). Relationship between some antioxidant enzymes activities and cell membrane and chlorophyll stability in drought-tolerant and susceptible wheat cultivars. *Iranian Journal of Agricultural Sciences*, 2(37), 307-316. (In Farsi).
21. Kar, M. & Mishra, D. (1976). Catalase, peroxidase, and polyphenol oxidase activities during rice leaf senescence. *Plant Physiology*, 57, 315-319.
22. Kaya, M., Gamze, K., Demir Kaya, M., Atak, M., Saglam, Sevil, Khawar, K.M. & Ciftci, C.Y. (2008). Interaction between seed size and NaCl on germination and early seedling growth of some Turkish cultivars of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Journal of Zhejiang University Science B*, 9(5), 371-377.
23. Keshavkant, S., Padhan, J., Parkhey, S. & Naithani, S.C. (2012). Physiological and Antioxidant Responses of Germinating *Cicer arietinum* Seeds to Salt Stress. *Russian Journal of Plant Physiology*, 59(2), 232-237.
24. Mafakheri, A., Siosemardeh, A., Bahramnejad, B., Struik, P.C. & Sohrabi, Y. (2010). Effect of drought stress on yield, proline and chlorophyll contents in three chickpea cultivars. *Australian Journal of Crop Science*, 4(8), 580-585.
25. Maliro, M.F., McNeil, A.D., Kollmorgen, J., Pittock, C. & Redden, B. (2004). Screening chickpea (*Cicer arietinum* L.) and wild relatives germplasm from diverse sources for salt tolerance. New directions for a diverse planet. In: Proceedings of the 4<sup>th</sup> International Crop Science Congress, Brisbane, Australia, and September 26–October 1.
26. Mandhania, S., Madan, S. & Sawhney, V. (2006). Antioxidant defense mechanism under salt stress in wheat seedlings. *Biologia Plantarum*, 50 (2), 227-231.
27. Mohammadi, M. & Kazemi, H. (2002). Changes in peroxidase and polyphenol oxidase activities in susceptible and resistance wheat heads inoculated with *fusarium graminearum* and induced resistance. *Plant Science*, 162, 491-498.
28. Mudgal, V., Madaan, N., Mudgal, A. & Mishra, S. (2009). Changes in growth and metabolic profile of Chickpea under salt stress. *Journal Applied Bioscience*, 23, 1436-1446.
29. Omidbaigi, R.M., Tabatabaei, F. & Akbari, T. (2001). Effect of N-fertilizers and irrigation on the productivity (growth, seed yield, and active substances) of linseed. *Iranian Journal of Field Crop Science*, 32(1), 53-63. (In Farsi).
30. Parida, A.K. & Das, A.B. (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60, 324-349.
31. Perl, A., Perl-Treves, R., Galili, G., Aviv, D., Shalgi, E., Malkin, S. & Galun, E. (1993). Enhanced oxidative stress defense in transgenic tobacco expressing tomato Cu, Zn superoxide dismutase. *Theoretical and Applied Genetics*, 85, 568-576.
32. Rao, D.L.N., Giller, K.E., Yeo, A.R. & Flowers, T.J. (2002). The effect of salinity and sodicity upon nodulation and nitrogen fixation in chickpea (*Cicer arietinum*). *Annual Botany*, 89, 563-570.

33. Rao, P.S., Mishra, B., Gupta, S.R. & Rathore, A. (2008). Reproductive stage tolerance to salinity and alkalinity stresses in rice genotypes. *Plant Breeding*, 127, 256-261.
34. Rasool, S., Ahmad, A., Siddiqi, T.O. & Ahmad, P. (2013). Changes in growth, lipid peroxidation and some key antioxidant enzymes in chickpea genotypes under salt stress. *Acta Physiol Plant*, 35, 1039-1050.
35. Sánchez-Rodríguez, E., Rubio-Wilhelmi, M.d. M., Blasco, N.B., Leyva, R., Romero, L. & Ruiz, J.m. (2012). Antioxidant response resides in the shoot in reciprocal grafts of drought-tolerant and drought-sensitive cultivars in tomato under water stress. *Plant Science*, 188, 89-96.
36. Scabba, F., Sebastiani, L. & Vitagliano, C. (1998). Changes in activity of antioxidative enzymes in wheat (*Triticum aestivum*) seedlings under cold acclimation. *Physiologia Plantarum*, 104, 747-752.
37. Serraj, R., Krishnamurthy, L. & Upadhyaya, H. D. (2004). Screening chickpea minicore germplasm for tolerance to soil salinity. *Int Chickpea Pigeonpea Newsletter*, 11, 29-32
38. Serraj, R., Krishnamurthy, L., Kashiwagi, J., Kumar, J., Chandra, S. & Crouch, J.H. (2004). Variation in root traits of chickpea (*Cicer arietinum* L.) grown under terminal drought. *Field Crops Research*, 88, 115-127.
39. Sharifi, P., Amirmia, P., Majidi, R., Hashem, E., Roustaii, H., Nakhoda, M.B., Alipoor Mohammad, H. & Moradi, F. (2012). Relationship between drought stress and some antioxidant enzymes with cell membrane and chlorophyll stability in wheat lines. *African Journal of Microbiology Research*, 6(3), 617-623.
40. Weisany, W., Sohrabi, Y., Heidari, G., Siosemardeh, Adel. & Ghassemi, G.K. (2012). Changes in antioxidant enzymes activity and plant performance by salinity stress and zinc application in soybean (*Glycine max* L.). *Plant Omics Journal*, 5(2), 60-67.
41. Welfare, K., Yeo, A.R. & Flowers, T.J. (2002). Effects of salinity and ozone, individually and in combination, on the growth and ion contents of two chickpea (*Cicer arietinum* L.) varieties. *Environ Pollution*, 120, 397-403.
42. Zare, M., Mehrabi oladi, A.A. & Sharaf zadeh, Sh. (2006). Investigation of GA3 and Kinetin Effects on Seed Germination and Seedling Growth of Wheat under Salinity Stress. *Journal of Agricultural Sciences*, 12(4), 855-865.
43. Zhang, Zh., Huizhen, Li, Shaojun Qiao Xin Zhang, Peipei Liu & Xiliang Liu. (2012). Effect of salinity on seed germination, seedling growth, and physiological characteristics of *Perilla frutescens*. *Plant Biosystems*, 146(2), 245-251.
44. Zheng, Yh., Xu, Xb., Wang, My., Zheng, Xh., Li, Zj. & Jiang, Gm. (2009). Responses of salt-tolerant and intolerant wheat genotypes to sodium chloride: photosynthesis, antioxidants activities, and yield. *Photosynthetica*, 47, 87-94.