

مقاله علمی-پژوهشی

## تأثیر تنش خشکی بر ویژگی‌های مورفولوژیک ریشه، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و فیزیولوژیک ژنوتیپ‌های نخود در کشت سیلندری تحت شرایط گلخانه‌ای

مهرداد سعیدیان<sup>۱</sup>، مرتضی گلدانی<sup>۲\*</sup>، مهدی پارسا<sup>۲</sup>، سعیدرضا وصال<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۲/۱۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۴/۲۸

### چکیده

به منظور مقایسه جامع ژنوتیپ‌های کاندیدای متحمل به خشکی نخود (*Cicer arietinum* L.)، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در سه تکرار در سال ۱۳۹۹ و در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل شش ژنوتیپ (MCC696، MCC552، MCC427، MCC352، MCC80) و رقم شاهد (ثمین) به عنوان عامل اول و عامل دوم شدت تنش خشکی با دو سطح زمان قطع آبیاری در ۲۰ روزگی و زمان قطع آبیاری در مرحله ۵۰٪ گلدهی بود. مطالعات ریشه نشان داد در پروفیل ۱ تا ۳۰ سانتی‌متری و ۳۰ تا ۶۰ سانتی‌متری بیشترین وزن خشک ریشه در تیمار زمان قطع آبیاری در زمان ۵۰ درصد گلدهی و ژنوتیپ MCC352 گزارش شد و با افزایش شدت تنش خشکی، به ترتیب به میزان ۳۰ و ۳۱ درصد کاهش یافت. در پروفیل پروفیل ۱ تا ۳۰ سانتی‌متری بیشترین مساحت ریشه به ترتیب در تیمار زمان قطع آبیاری پس از ۲۰ روز کاشت و ژنوتیپ MCC696 گزارش شد و زمان قطع آبیاری در مرحله ۵۰٪ گلدهی میزان مساحت ریشه به میزان ۳۲ درصد کاهش یافت. در پروفیل پروفیل ۳۰ تا ۶۰ سانتی‌متری، بیشترین مساحت ریشه به ترتیب در تیمار زمان قطع آبیاری در زمان ۵۰ درصد گلدهی و ژنوتیپ‌های MCC80 بدست آمد و با افزایش شدت تنش میزان مساحت ریشه به میزان ۵۶ درصد کاهش یافت. بیشترین میزان فعالیت کاتالاز برگ ( $659 \text{ unit} \cdot \text{min}^{-1} \text{ gfw}$ ) در تیمار زمان قطع آبیاری در ۵۰ درصد گلدهی و ژنوتیپ MCC552 بدست آمد. از سوی دیگر، بیشترین میزان پرولین برگ ( $3/20 \text{ mg/g FW}$ )، کربوهیدرات محلول ( $0/911 \text{ mg/g FW}$ ) و آسکوربات پراکسیداز ( $26/2 \text{ unit} \cdot \text{min}^{-1} \text{ gfw}$ ) در تیمار زمان قطع آبیاری پس از ۲۰ روز کاشت و در ژنوتیپ MCC552 بدست آمد. این نتایج نشان‌دهنده نقش تعیین‌کننده هم‌زمان شدت تنش خشکی به عنوان یک عامل محیطی از یک‌سو، و تفاوت‌های ژنتیکی در تحمل به خشکی در ژنوتیپ‌های نخود از سوی دیگر است؛ عواملی که می‌توانند در برنامه‌های به‌نژادی این محصول برای افزایش تحمل به خشکی بسیار مؤثر باشند.

**واژه‌های کلیدی:** آسکوربات پراکسیداز، پروفیل خاک، کاتالاز، پرولین، کربوهیدرات محلول

### مقدمه

کشورهای در حال توسعه ایفا می‌کنند. این گیاه به دلیل دارا بودن محتوای بالای پروتئین (حدود ۲۰-۲۵ درصد)، فیبر رژیمی، ویتامین‌ها، مواد معدنی نظیر آهن و روی، و همچنین ترکیبات زیست‌فعال مانند پلی‌فنول‌ها و فلاونوئیدها، از جایگاه ویژه‌ای در رژیم‌های غذایی سالم برخوردار است (Begum et al., 2023). مصرف نخود با کاهش خطر بیماری‌های قلبی-عروقی، دیابت نوع دوم و برخی سرطان‌ها در ارتباط است و به همین دلیل در بسیاری از کشورها به عنوان یک محصول غذایی عملکردگرا (functional food) شناخته می‌شود.

از نظر اکولوژیکی، نخود گیاهی است با دامنه وسیع انطباق زیستی که عمدتاً در مناطق خشک و نیمه‌خشک دنیا کشت می‌شود، جایی که سایر گیاهان زراعی ممکن است به دلیل کم‌آبی یا گرمای

نخود (*Cicer arietinum* L.) یکی از مهم‌ترین و باارزش‌ترین گیاهان زراعی خانواده لگومینوزها به‌شمار می‌رود که نقش کلیدی در امنیت غذایی و بهبود وضعیت تغذیه‌ای جوامع انسانی، به‌ویژه در

۱- دانشجوی دکتری، گروه آگروتکنولوژی دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۲- دانشیار، گروه آگروتکنولوژی دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۳- استادیار، گروه بیوتکنولوژی و به‌نژادی گیاهی دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

(\*-نویسنده مسئول: Email: goldani@um.ac.ir)

بیوشیمیایی است. برخی از ژنوتیپ‌ها با افزایش عمق و تراکم ریشه، افزایش تجمع اسمولیت‌هایی مانند پرولین، تنظیم فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز، قادر به تحمل شرایط کم‌آبی هستند. در همین راستا، شناسایی ژنوتیپ‌هایی که در شرایط تنش عملکرد نسبتاً بالایی دارند، گامی اساسی در برنامه‌های اصلاح نباتات محسوب می‌شود.

در دهه‌های اخیر، استفاده از روش‌های نوین ارزیابی ژنوتیپ‌ها برای تعیین تحمل به خشکی اهمیت یافته است. یکی از این روش‌ها، کشت سیلندری یا *cylinder culture system* است که در آن گیاهان درون ستون‌های عمودی بلند (سیلندرهای PVC یا پلی‌اتیلن) کشت می‌شوند تا امکان مطالعه دقیق‌تر رشد ریشه و جذب آب در عمق‌های مختلف خاک فراهم شود. این روش نسبت به کشت در گلدان‌های معمولی، امکان بررسی دقیق‌تر صفات ریشه‌ای مانند طول، تراکم، شاخه‌زایی، و ظرفیت استخراج آب از عمق‌های پایین‌تر را مهیا می‌کند. همچنین به دلیل کنترل بهتر شرایط رطوبتی در سیلندر، شبیه‌سازی واقع‌بینانه‌تری از تنش خشکی در مزرعه به وجود می‌آید. گزارش‌ها نشان می‌دهند که این روش به‌طور موفقی برای بررسی تفاوت‌های ژنوتیپی در واکنش به خشکی در گیاهانی مانند نخود، عدس، سویا و لوبیا استفاده شده است (Kushwah et al., 2022; Muriuki et al., 2020; Bourgault et al., 2022).

با توجه به اهمیت نخود در کشاورزی پایدار، نیاز روزافزون به شناسایی ژنوتیپ‌های مقاوم به خشکی، و ضرورت توسعه روش‌های دقیق غربالگری صفات مؤثر در مقاومت، هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر تنش خشکی بر ویژگی‌های ریشه، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، محتوای پرولین و کربوهیدرات‌های محلول در تعدادی از ژنوتیپ‌های نخود در شرایط گلخانه‌ای و با استفاده از سیستم کشت سیلندری بود.

## مواد و روش

جهت مطالعه ژنوتیپ‌ها و ارقام نخود بر اساس خصوصیات بیوشیمیایی، فیزیولوژیک و برای مطالعه ریشه، آزمایشی در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۱۳۹۸ اجرا شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. عامل اول شش ژنوتیپ (MCC537، MCC552، MCC696، MCC427، MCC352 و MCC80) و رقم شاهد (ثمین) و عامل دوم شدت تنش خشکی با دو سطح زمان قطع آبیاری در ۲۰ روز پس از کاشت و زمان قطع آبیاری در مرحله ۵۰٪ گلدهی بود.

آبیاری قبل از اعمال تیمار خشکی، در حد ۸۰ درصد ظرفیت زراعی انجام شد. برای تعیین حد ظرفیت زراعی، از چهار گلدان

شدید نتوانند عملکرد مناسبی داشته باشند. این ویژگی سبب شده است که نخود به یکی از منابع مطمئن تأمین پروتئین در نواحی با بارندگی پایین تبدیل شود (Negussu et al., 2023). این گیاه از نظر فنولوژیکی دارای دوره رشد نسبتاً کوتاه، سیستم ریشه‌ای عمیق، و توانایی تثبیت بیولوژیکی نیتروژن است که آن را به گزینه‌ای مناسب برای سیستم‌های کشاورزی پایدار تبدیل کرده است. نخود به عنوان یک محصول دو لپه‌ای، دارای دوره گلدهی طولانی و پتانسیل گلدهی مجدد در صورت بهبود شرایط محیطی پس از بروز تنش است و همین توانایی باعث انعطاف‌پذیری بیشتر آن نسبت به تنش‌های گذرا نظیر خشکی موقت می‌شود (Zarei et al., 2021).

از لحاظ پراکنش جهانی، نخود در بیش از ۵۰ کشور کشت می‌شود و در سال ۲۰۲۰ سطح زیرکشت آن در جهان به حدود ۱۴/۸ میلیون هکتار رسید که نشان از اهمیت اقتصادی و غذایی بالای این گیاه دارد (FAO, 2021). کشورهای در حال توسعه به ویژه در آسیای جنوبی و آفریقا بیشترین سهم را در تولید جهانی این محصول دارند، به طوری که بیش از ۹۰ درصد نخود تولیدی در این کشورها به مصرف داخلی می‌رسد (Arriagada et al., 2022). هند به‌عنوان بزرگ‌ترین تولیدکننده و مصرف‌کننده نخود در جهان، حدود ۷۰ درصد تولید جهانی این گیاه را به خود اختصاص داده است. با وجود سطح زیرکشت بالا، عملکرد نخود در بسیاری از کشورها به‌ویژه در شرایط تنش‌زا پایین‌تر از پتانسیل ژنتیکی آن است که علت اصلی آن محدودیت‌های محیطی به‌ویژه خشکی و گرما در مراحل حساس رشد می‌باشد.

تنش خشکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده رشد و عملکرد نخود به‌ویژه در مناطق خشک و نیمه‌خشک است. بروز خشکی در مراحل حساس رشد، از جمله مرحله گلدهی و پر شدن دانه، می‌تواند موجب کاهش معنی‌دار تعداد غلاف، وزن دانه و در نهایت عملکرد نهایی شود. بررسی‌ها نشان داده است که خشکی در مرحله پر شدن دانه ممکن است موجب کاهش عملکرد تا بیش از ۵۰ درصد شود (Sehgal et al., 2018). در شرایطی که با تنش گرمایی نیز همراه باشد، این کاهش می‌تواند به حدود ۷۰ درصد نیز برسد. مکانیزم‌های فیزیولوژیکی متعددی تحت تأثیر خشکی قرار می‌گیرند، از جمله کاهش نرخ فتوسنتز به دلیل بسته شدن روزنه‌ها، کاهش تورژانس سلولی، اختلال در جذب عناصر غذایی، و افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) که منجر به استرس اکسیداتیو و آسیب به ساختارهای سلولی می‌گردد (Chowdhury et al., 2016; Nadeem et al., 2019).

شدت اثر تنش خشکی وابسته به چندین عامل از جمله مرحله رشد گیاه، مدت زمان و شدت خشکی، ترکیب ژنتیکی گیاه، وضعیت تغذیه‌ای و نیز شرایط خاک است (Todaka et al., 2017). پاسخ گیاه به خشکی، ترکیبی از ویژگی‌های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و

بذور نخود استفاده شده در این آزمایش از پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد تهیه شد. بذور شش ژنوتیپ امید بخش متحمل به خشکی با یک رقم شاهد ابتدا جوانه دار شده (خروج ۲ تا ۵ میلی‌متر ریشه‌چه) و سپس کاشت پنج بذور در داخل هر سیلندر انجام و پس از سبز شدن و استقرار گیاهچه‌ها دو بوته نگهداری شد. ترکیب خاک سیلندرها مخلوط پرلیت ۱۰ درصد، ورمی کمپوست ۲۰ درصد، ماسه ۳۰ درصد و خاک زراعی ۴۰ درصد بود. همچنین، دمای گلخانه در طول روز  $25 \pm 3$  درجه سانتی‌گراد و در شب  $18 \pm 3$  درجه سانتی‌گراد بود. میانگین رطوبت نسبی بین ۶۰ تا ۷۰ درصد حفظ شد. نور به صورت طبیعی با مکمل نور مصنوعی فلورسنت تأمین شد تا شدت نور در حدود ۳۵۰ تا ۴۰۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه در سطح برگ حفظ شود. طول دوره نوری روزانه برابر با ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی تنظیم شد. خصوصیات خاک مورد استفاده در گلخانه در جدول ۱ گزارش شد.

جدول ۱ - نتایج تجزیه شیمیایی خاک در گلخانه

بافت خاک	EC (dS/m)	pH	کربن آلی (%)	ازت (%)	فسفر (mg/kg)	پتاسیم (mg/kg)
لومی شنی	۱/۲۵	۷/۸۲	۰/۶۴	۰/۰۶	۱۱/۵	۱۳۴

سولفوریک اسید (Dubois et al., 1956) استفاده شد. ۱۰۰ میلی‌گرم از نمونه تازه برگ با هموژنایزر در میکروتیوب ۱/۵ میلی‌لیتری و اتانول ۷۰ درصد هموژنایز شد. پس از ۲۴ ساعت نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، مواد جامد نامحلول با سانتریفیوژ ۳۰۰۰ جی به مدت پنج دقیقه جدا شد. سپس مقدار مناسب از محلول شفاف بالایی استخراج شده و با ۲۰۰ میکرولیتر کلروفرم و ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر مخلوط شد. محلول شفاف حاصل با ۱۰ میکرولیتر فنول و ۱۰۰۰ میکرولیتر اسیدسولفوریک ترکیب و پس از ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم، میزان جذب در طول موج ۴۸۰ نانومتر ثبت شد. به منظور اندازه‌گیری مهار فعالیت رادیکال DPPH از روش اِبی و همکاران (Abe et al., 1998)، استفاده شد. مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم نمونه برگ تازه را پس از وزن در میکروتیوب و در اتانول ۹۰ درصد هموژنایز شد و در دمای چهار درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت. با استفاده از سانتریفیوژ ۳۵۰۰ جی به مدت پنج دقیقه مواد جامد نامحلول جدا شد. مقدار ۱۵۰ میکرولیتر از محلول استخراجی را با ۶۷۵ میکرولیتر DPPH محلول در اتانول مخلوط شد و میزان جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر پس از ۳۰ دقیقه قرارگیری در تاریکی قرائت شد.

برای سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، ۱۰۰ میلی‌گرم نمونه بذری با روش استخراج سرد-یخ با ۱۰۰۰ میکرولیتر بافر پتاسیم-فسفات ۰/۱ مولار (pH=7.8) حاوی

سیلندری با ارتفاع ۱۰۰ سانتی‌متر و قطر داخلی ۱۵ سانتی‌متر جهت اندازه‌گیری وزن خشک خاک استفاده شد. با مشخص شدن وزن خاک خشک شده در آون ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت و محاسبه وزن سیلندرها، سیلندرهای حاوی خاک خشک در حد اشباع آبیاری شد. بعد از ۴۸ ساعت و خروج آب ثقلی از پایین سیلندرها، سیلندرها وزن و حد ظرفیت زراعی با گرفتن میانگین از چهار سیلندر تعیین شد. سپس ۸۰ درصد آن برای آبیاری استفاده شد. از همین گلدان‌های سیلندری با خصوصیاتی که در بالا گفته شد برای کاشت استفاده شد که در این نوع گلدانها سیلندری امکان توسعه ریشه به اعماق خاک برای جذب رطوبت ذخیره شده فراهم می‌آید. برای اعمال تنش خشکی از روش تنش خشکی پیش رونده استفاده شد به این ترتیب که در سطح اول تنش (تنش شدید) با قطع کامل آبیاری پس از ۲۰ روز پس از کاشت و در سطح دوم تنش (متوسط) در زمان ۵۰٪ گلدھی، دیگر هیچگونه آبیاری صورت نگرفت و گیاهان صرفاً به آب ذخیره شده در سیلندرها متکی بودند.

نمونه برداری ریشه‌های گیاهان در هر دو سطح تنش در یک مقطع زمانی و پس از گذشت دو هفته از گلدھی انجام شد که برخی از گیاهان به غلاف رفته بودند. پس از جداسازی پوشش دو قسمتی هر سیلندر، پروفیل خاک داخل آن به سه قسمت مساوی تقسیم شده و هر قسمت ریشه‌های آن به صورت جداگانه شستشو و بازیابی شد. ریشه‌های بازیابی شده با اسکن و عکس برداری و با نرم افزار RhizoVision Explorer با دقت تصویر برداری شده آنالیز شده و اطلاعات مربوط به ریشه از جمله مجموع طول ریشه، مساحت ریشه‌ها، قطر ریشه‌ها و حجم ریشه با استفاده از استوانه مدرج اندازه‌گیری شد.

برای اندازه‌گیری پرولین، میزان ۱۰۰ میلی‌گرم نمونه برگ تازه در میکروتیوب ۱/۵ میلی‌لیتری، با استفاده از هموژنایزر در یک میلی‌لیتر اسید سولفوسالسیلیک هموژنایز شد. پس از سانتریفیوژ با سرعت ۳۰۰۰ جی به مدت پنج دقیقه، مواد جامد نامحلول جدا و ۲۰۰ میکرولیتر از محلول شفاف بالایی جدا گردید. به این محلول، ۲۰۰ میکرولیتر ناین هیدرین و ۲۰۰ میکرولیتر اسید استیک گلاسیال افزوده شد. برای تهیه معرف ناین هیدرین، ۵ میلی‌گرم ناین هیدرین با ۸۰۰ میکرولیتر اسید فسفریک و ۱۲۰ میکرولیتر اسید استیک مخلوط شد. سپس میزان جذب در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت شد (Bates et al., 1973).

برای اندازه‌گیری کربوهیدرات‌های محلول برگ، از روش فنل

۳۰ تا ۶۰ سانتی‌متری، بیشترین وزن خشک ریشه به‌ترتیب در تیمار زمان قطع آبیاری در زمان ۵۰ درصد گلدهی و ژنوتیپ‌های MCC352 بدست آمد و با افزایش شدت تنش میزان وزن خشک به میزان ۳۰ درصد کاهش یافت. در پروفیل ۶۰ تا ۹۰ سانتی‌متری، در تیمار زمان قطع آبیاری پس از ۲۰ روز کاشت (تنش شدید)، برای ژنوتیپ‌های نخود وزن خشک مشاهده نشد، در حالی که در تیمار زمان قطع آبیاری در ۵۰ درصد گلدهی، بیشترین وزن خشک ریشه در ژنوتیپ‌های MCC352 و ثمین مشاهده شد (شکل ۱).

### مساحت ریشه

نتایج تجزیه واریانس صفات نشان داد اثرات زمان قطع آبیاری، ژنوتیپ و برهمکنش آنها بر مساحت ریشه برای هر سه پروفیل خاک معنی‌دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین صفات نشان داد در پروفیل پروفیل ۱ تا ۳۰ سانتی‌متری بیشترین مساحت ریشه به‌ترتیب در تیمار زمان قطع آبیاری پس از ۲۰ روز کاشت و در ژنوتیپ MCC696 گزارش شد و با کاهش تنش میزان مساحت ریشه به‌میزان ۳۲ درصد کاهش یافت. در پروفیل ۳۰ تا ۶۰ سانتی‌متری، بیشترین مساحت ریشه به‌ترتیب در تیمار زمان قطع آبیاری در زمان ۵۰ درصد گلدهی و ژنوتیپ‌های MCC80 بدست آمد و با افزایش شدت تنش میزان مساحت ریشه به میزان ۵۶ درصد کاهش یافت. در پروفیل ۶۰ تا ۹۰ سانتی‌متری، در تیمار زمان قطع آبیاری پس از ۲۰ روز کاشت، برای ژنوتیپ‌های نخود مساحت ریشه مشاهده نشد، در حالی که در تیمار زمان قطع آبیاری در ۵۰ درصد گلدهی، بیشترین مساحت ریشه در ژنوتیپ‌های MCC352 و ثمین مشاهده شد (شکل ۲).

### قطر ریشه

نتایج تجزیه واریانس صفات نشان داد اثرات زمان قطع آبیاری، ژنوتیپ و برهمکنش آنها بر قطر ریشه برای هر سه پروفیل خاک معنی‌دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین صفات نشان داد در پروفیل ۱ تا ۳۰ سانتی‌متری بیشترین قطر ریشه به‌ترتیب در تیمار زمان قطع آبیاری پس از ۲۰ روز کاشت و ژنوتیپ MCC696 گزارش شد و با کاهش تنش میزان قطر ریشه به‌میزان ۴۹ درصد کاهش یافت. در پروفیل ۳۰ تا ۶۰ سانتی‌متری، بیشترین قطر ریشه به‌ترتیب در تیمار زمان قطع آبیاری در زمان ۵۰ درصد گلدهی و ژنوتیپ‌های MCC80 بدست آمد و با افزایش شدت تنش میزان قطر ریشه تغییر معنی‌داری نداشت. در پروفیل ۶۰ تا ۹۰ سانتی‌متری، در تیمار زمان قطع آبیاری پس از ۲۰ روز کاشت، برای ژنوتیپ‌های نخود با توجه به عدم رشد ریشه در این پروفیل قطر ریشه مشاهده نشد، در حالی که در تیمار زمان قطع آبیاری در ۵۰ درصد گلدهی، بیشترین قطر ریشه در ژنوتیپ‌های MCC352 و ثمین مشاهده شد (شکل ۳).

اتیلن‌دی‌آمین‌تترااستیک‌اسید (EDTA<sup>۱</sup>) یک میلی‌مولار هموژنایز شد. پس از سانتریفیوژ در ۱۲۰۰۰ جی به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، فاز شفاف جدا شد. فعالیت کاتالاز (EC 1.11.1.6) با ارزیابی کاهش اولیه پراکسید هیدروژن طبق روش ولیکووا و همکاران (Velikova et al., 2000) اندازه‌گیری شد. محلول واکنش شامل یک میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰ میلی‌مولار (pH=7)، آنزیم استخراجی و پراکسید هیدروژن ۳۳ میلی‌مولار بود. کاهش جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر در هر دقیقه به عنوان واحد فعالیت کاتالاز در نظر گرفته شد (ضریب خاموشی ۴۰ میلی‌مولار در سانتی‌متر). فعالیت پراکسیداز (EC 1.11.1.7) بر اساس روش سرینیوس و همکاران (Srinivas et al., 1999)، با اندازه‌گیری تتراگایاکول تشکیل‌شده از جذب در ۴۷۰ نانومتر و استفاده از ضریب خاموشی ۲۶/۶ میلی‌مولار، محاسبه گردید. مخلوط واکنش شامل یک میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۲۰ میلی‌مولار (pH=6)، ۵ میلی‌مولار گایاکول (2-methoxy phenol) و ۱ میلی‌مولار پراکسید هیدروژن به همراه آنزیم استخراجی بود. واکنش در مدت یک دقیقه انجام شد و یک واحد فعالیت پراکسیداز برابر با اکسیداسیون یک میکرومول گایاکول در یک دقیقه تعریف شد. فعالیت آسکوربات پراکسیداز (EC 1.11.1.11) با روش یاماگوچی و همکاران (Yamaguchi et al., 1995) اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش شامل بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (pH=7)، ۱ میلی‌مولار پراکسید هیدروژن و ۰.۵ میلی‌مولار آسکوربات بود. کاهش جذب در ۲۹۰ نانومتر ناشی از اکسیداسیون آسکوربات، به عنوان معیار فعالیت آسکوربات پراکسیداز استفاده شد (ضریب خاموشی ۲/۸ میلی‌مولار در سانتی‌متر).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹.۲ انجام شد و نمودارها با نرم‌افزار Excel 2013 ترسیم گردیدند. مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت.

## نتایج و بحث

### وزن خشک ریشه

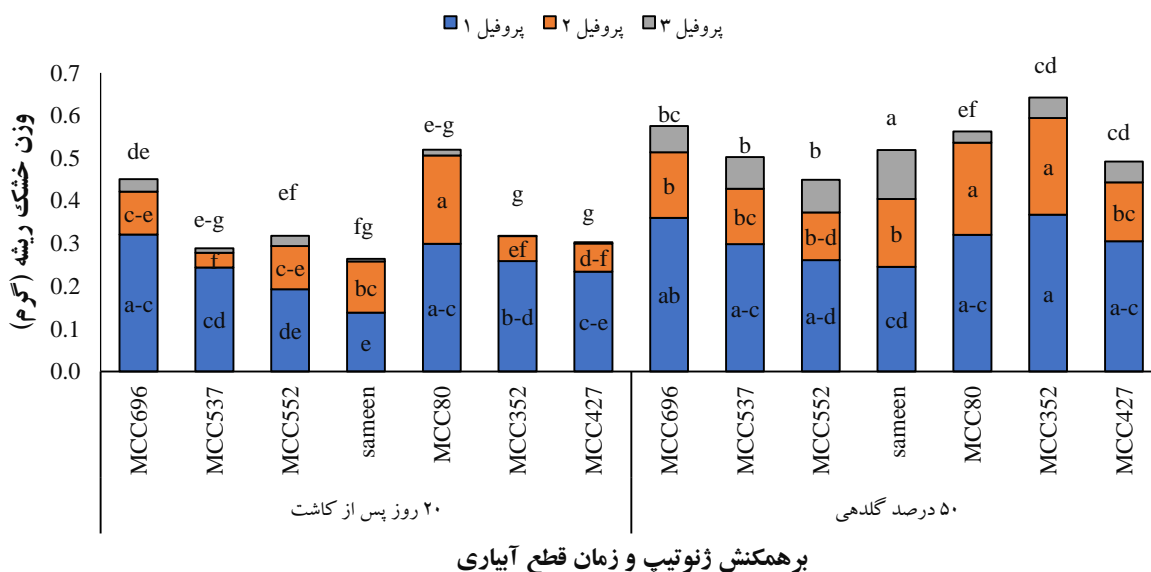
نتایج تجزیه واریانس صفات نشان داد اثرات زمان قطع آبیاری، ژنوتیپ و برهمکنش آنها بر روی وزن خشک ریشه برای هر سه پروفیل خاک معنی‌دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین صفات نشان داد در پروفیل ۱ تا ۳۰ سانتی‌متری بیشترین وزن خشک ریشه به‌ترتیب در تیمار زمان قطع آبیاری در زمان ۵۰ درصد گلدهی و ژنوتیپ‌های MCC696 و MCC352 گزارش شد و با افزایش شدت تنش میزان وزن خشک به میزان ۳۰ درصد کاهش یافت. در پروفیل

1- Ethylenediaminetetraacetic acid

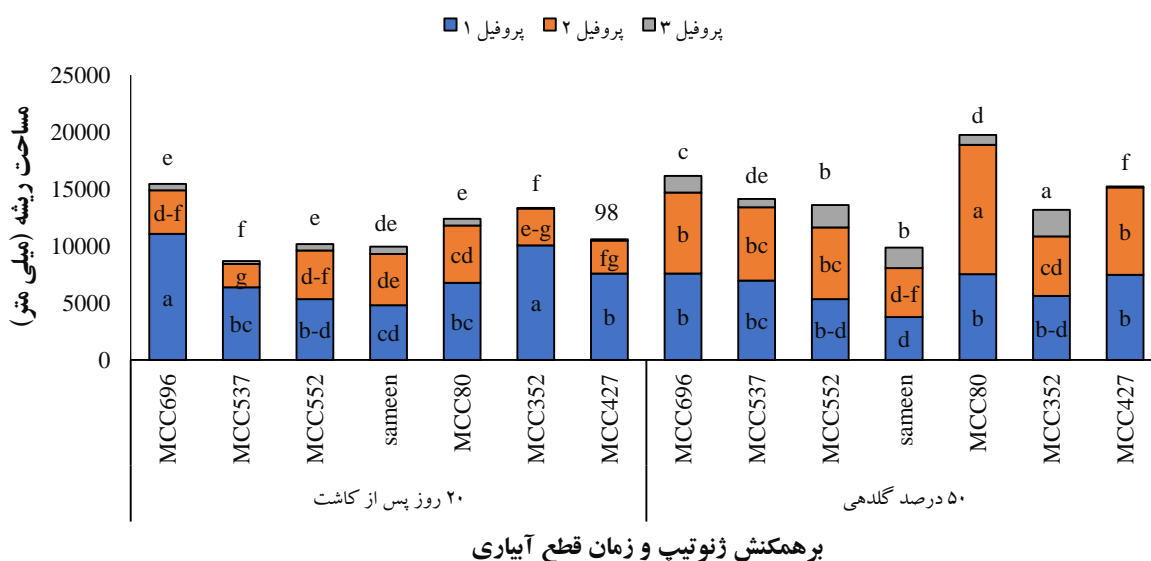
جدول ۲- تجزیه واریانس وزن خشک ریشه، مساحت ریشه، قطر ریشه و طول مجموع ریشه تحت تاثیر ژنوتیپ و زمان قطع آبیاری پروفیل‌های مختلف خاک.

منابع تغییر	درجه آزادی	وزن خشک			مساحت ریشه			قطر ریشه			طول مجموع ریشه		
		وزن خشک	وزن خشک	وزن خشک	مساحت ریشه	مساحت ریشه	مساحت ریشه	قطر ریشه	قطر ریشه	قطر ریشه	طول مجموع ریشه	طول مجموع ریشه	طول مجموع ریشه
تغییرات	ضریب	۱	۲	۳	۱	۲	۳	۱	۲	۳	۱	۲	۳
زمان قطع آبیاری (A)	۱	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
ژنوتیپ (B)	۶	*	**	**	**	**	**	*	*	**	**	**	**
A × B	۶	*	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**
خطای کل	۲۸	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
میانگین مربعیات		۲۰/۲	۲۱/۳	۲۹/۲	۱۶/۱	۱۵/۷	۱۴/۸	۱۵/۶	۱۴/۵	۱۶/۳	۱۴/۵	۱۲/۵	۲۲/۸
مجموع		۱۹۰۷۸۹۷	۱۹۰۷۸۹۷	۱۹۰۷۸۹۷	۱۹۰۷۸۹۷	۱۹۰۷۸۹۷	۱۹۰۷۸۹۷	۱۹۰۷۸۹۷	۱۹۰۷۸۹۷	۱۹۰۷۸۹۷	۱۹۰۷۸۹۷	۱۹۰۷۸۹۷	۱۹۰۷۸۹۷

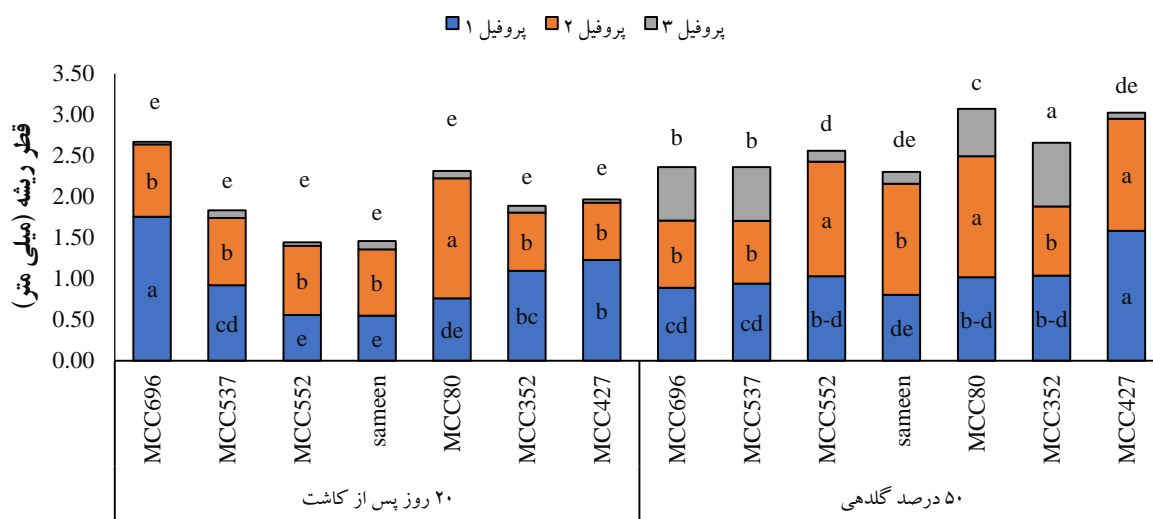
ns و \* به ترتیب بیانگر تفاوت معنی دار در سطح احتمال یک درصد، عدم تفاوت معنی دار می‌باشند.



شکل ۱- برهمکنش ژنوتیپ و زمان قطع آبیاری بر وزن خشک ریشه در پروفیل‌های مختلف (پروفیل اول: ۰ تا ۳۰ سانتی‌متر، پروفیل دوم: ۳۱ تا ۶۰ سانتی‌متر و پروفیل سوم: ۶۱ تا ۹۰ سانتی‌متر) قسمت‌های هم‌رنگ با حروف مشابه از نظر آماری در سطح ۵ درصد معنی دار نیستند.

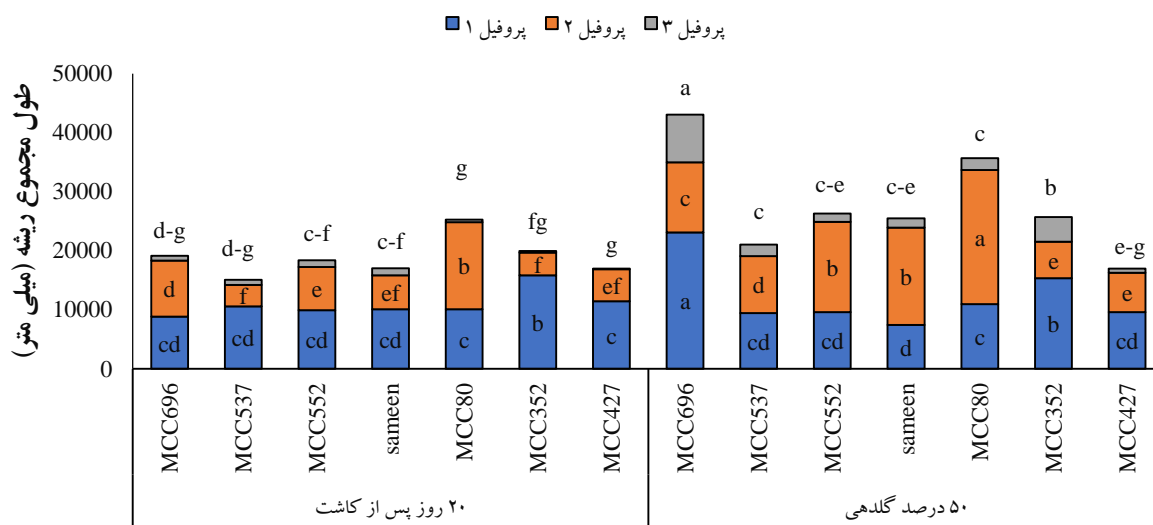


شکل ۲- برهمکنش ژنوتیپ و زمان قطع آبیاری بر مساحت ریشه در پروفیل‌های مختلف (پروفیل اول: ۰ تا ۳۰ سانتی‌متر، پروفیل دوم: ۳۱ تا ۶۰ سانتی‌متر و پروفیل سوم: ۶۱ تا ۹۰ سانتی‌متر) قسمت‌های هم‌رنگ با حروف مشابه از نظر آماری در سطح ۵ درصد معنی دار نیستند.



برهمنش ژنوتیپ و زمان قطع آبیاری

شکل ۳- برهمنش ژنوتیپ و زمان قطع آبیاری بر قطر ریشه در پروفیل‌های مختلف (پروفیل اول: ۰ تا ۳۰ سانتی‌متر، پروفیل دوم: ۳۱ تا ۶۰ سانتی‌متر و پروفیل سوم: ۶۱ تا ۹۰ سانتی‌متر) قسمت‌های هم‌رنگ با حروف مشابه از نظر آماری در سطح ۵ درصد معنی دار نیستند.



برهمنش ژنوتیپ و زمان قطع آبیاری

شکل ۴- برهمنش ژنوتیپ و زمان قطع آبیاری بر قطر ریشه در پروفیل‌های مختلف (پروفیل اول: ۰ تا ۳۰ سانتی‌متر، پروفیل دوم: ۳۱ تا ۶۰ سانتی‌متر و پروفیل سوم: ۶۱ تا ۹۰ سانتی‌متر) قسمت‌های هم‌رنگ با حروف مشابه از نظر آماری در سطح ۵ درصد معنی دار نیستند.

خاک معنی دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین صفات نشان داد در پروفیل ۱ تا ۳۰ سانتی‌متری بیشترین طول مجموع ریشه به ترتیب در تیمار زمان قطع آبیاری در زمان ۵۰ درصد گلدهی و ژنوتیپ MCC696 گزارش شد و با افزایش شدت تنش میزان طول مجموع

#### طول مجموع ریشه

با توجه به نتایج تجزیه واریانس صفات، اثرات زمان قطع آبیاری، ژنوتیپ و برهمنش آنها بر طول مجموع ریشه برای هر سه پروفیل

زیرا سطح تماس ریشه برای جذب آب و مواد معدنی کاهش می‌یابد. در پژوهشی که بر روی پنج رقم لوبیا چشم بلبلی انجام شد، گزارش گردید که در شرایط تنش خشکی، حجم ریشه و توسعه آن متوقف یا مهار می‌شود (Hamidou et al., 2007). حمیدوی و همکاران (Hamidou et al., 2007) نیز بیان کردند که توسعه قطر ریشه و طول تجمعی ریشه‌های گیاه ارزن مرواریدی (*Pennisetum glaucum*) تحت تأثیر تنش خشکی مهار می‌شود. آنها توضیح دادند که تنظیم اسمزی و مجموع طول ریشه‌ها به میزان کمبود آب بستگی دارد و این ویژگی‌ها از مهم‌ترین عوامل در حفظ فشار تورژسانس و رشد گیاه تحت شرایط خشکی در مرحله گیاهچه‌ای هستند. این محققان پیشنهاد کردند که سیستم‌های ریشه‌ای یا تنظیم اسمزی در شرایط کمبود آب می‌توانند به حفظ رشد گیاه و تورژسانس سلول برای بقا کمک کنند. بر این اساس، تنش خشکی شدید در ناحیه ریشه، رشد گیاه را از طریق جلوگیری از گسترش سلول و غیرفعال کردن سیتوزنژ محدود می‌کند. مورفولوژی ریشه انعطاف‌پذیری بالایی در واکنش به دسترسی آب و مواد مغذی معدنی دارد (Wang et al., 2019). پژوهشگران گزارش کرده‌اند که ارتباطات معناداری بین پارامترهای مورفولوژی ریشه با لوله‌ای شدن برگ، محتوای رطوبت نسبی، میزان مصرف آب توسط گیاه، و کارایی مصرف عناصر وجود دارد. این ارتباطات نقش کلیدی رشد و مورفولوژی ریشه را در بهبود تحمل به خشکی، جذب آب خاک، و استفاده از عناصر در مرحله گیاهچه‌ای نشان می‌دهد (Wang et al., 2019). علاوه بر مورفولوژی ریشه، توزیع فضایی سیستم‌های ریشه در نیمرخ خاک نیز تأثیر زیادی بر جذب آب و مواد مغذی از خاک و به تبع آن بر رشد و بهره‌وری محصول دارد (Wang et al., 2019). در تحقیقی دیگر محققان گزارش دادند که در هنگام وقوع تنش خشکی، سطح وسیع‌تر برگ و تبخیر و تعرق بیشتر، منجر به از دست رفتن آب به میزان بالاتر می‌شود. در عین حال، توزیع کم‌عمق ریشه باعث کاهش جذب آب از خاک می‌گردد (Yousefi et al., 2020).

### پرویلین

تجزیه واریانس صفات نشان داد که سطوح تنش، ژنوتیپ‌های نخود و برهمکنش آن‌ها تأثیر معنی‌داری بر محتوای پرویلین برگ داشتند (جدول ۳). در اغلب ژنوتیپ‌های نخود مورد مطالعه، با افزایش شدت تنش خشکی، میزان پرویلین برگ افزایش یافت. بر اساس نتایج، ژنوتیپ MCC552 بیشترین محتوای پرویلین برگ را در تیمار قطع آبیاری در ۲۰ روز پس از کاشت نشان داد. در حالی که در شرایط قطع آبیاری در مرحله ۵۰ درصد گلدهی، محتوای پرویلین برگ در این ژنوتیپ نسبت به تیمار قطع آبیاری در ۲۰ روز پس از کاشت، حدود ۴۶ درصد کاهش یافت. با این حال، حتی در این مرحله نیز ژنوتیپ

ریشه به‌میزان ۶۲ درصد کاهش یافت. در پروویل ۳۰ تا ۶۰ سانتی‌متری، بیشترین طول مجموع ریشه به‌ترتیب در تیمار زمان قطع آبیاری در زمان ۵۰ درصد گلدهی و ژنوتیپ‌های MCC80 بدست آمد و با افزایش شدت تنش میزان طول مجموع ریشه به‌میزان ۳۵ درصد کاهش یافت. در پروویل ۶۰ تا ۹۰ سانتی‌متری، در تیمار زمان قطع آبیاری پس از ۲۰ روز کاشت، برای ژنوتیپ‌های نخود با توجه به عدم رشد ریشه در این پروویل طول مجموع ریشه گزارش نشد، در حالی که در تیمار زمان قطع آبیاری در ۵۰ درصد گلدهی، بیشترین طول مجموع ریشه در ژنوتیپ MCC696 مشاهده شد (شکل ۴).

رشد سلولی به عنوان حساس‌ترین فرآیند فیزیولوژیکی نسبت به کمبود آب شناخته می‌شود. تنش آبی به ویژه در مراحل اولیه رشد گیاه محدودیت‌های قابل توجهی ایجاد می‌کند، زیرا فشار تورژسانسی پایین مانع از رشد و توسعه سلول‌ها می‌شود (Tokarz et al., 2020). توکارز و همکاران (Tokarz et al., 2020) در تحقیقات خود به این نتیجه رسیدند که عوامل تنش‌زا تأثیر قابل ملاحظه‌ای بر طول و وزن ریشه و بخش‌های هوایی گیاه خلر (*Lathyrus sativus* L.) داشتند. این نتایج با یافته‌های سایر پژوهشگران در مورد گیاهانی مانند نخود (Petrovic et al., 2016)، نخود فرنگی (*Pisum sativum* L.) (Okçu et al., 2005) و گیاه سنا (*Cassia angustifolia*) (Shitole et al., 2012) مطابقت داشت. مطالعات پیشین نشان داده‌اند که گیاهان در مواجهه با تنش خشکی، به دلیل افزایش تخصیص ماده خشک به ریشه‌ها به‌منظور بهبود رشد ریشه و افزایش کارایی جذب آب، نسبت ریشه به اندام هوایی بالاتری دارند؛ این تغییر تخصیص منابع به‌عنوان یکی از سازوکارهای تطبیقی گیاه برای بقا در شرایط کم‌آبی شناخته می‌شود (Wang et al., 2019).

طول ریشه به‌عنوان یکی از معیارهای مهم برای انتخاب گونه‌های متحمل به خشکی شناخته می‌شود (Yousefi et al., 2020). کاهش طول ریشه در گیاهان تحت تأثیر تنش خشکی به دلیل کاهش تقسیم سلولی و کاهش طولی شدن ریشه است (Yousefi et al., 2020). پژوهشگران در این زمینه توضیح داده‌اند که در شرایط تنش خشکی و با افزایش شدت آن، بذرها در جذب آب با مشکل مواجه می‌شوند. در نتیجه، تولید هورمون‌ها و فعالیت آنزیم‌ها کاهش می‌یابد و این فرآیند منجر به کاهش هیدرولیز آنزیمی و کمبود مواد مغذی لازم برای رشد و تقسیم سلولی می‌شود که در نهایت کاهش رشد ریشه‌چه را به دنبال دارد (Basra et al., 2006). عبدالکریم (Abdolkareem, 2017) نیز کاهش قابل توجه رشد ریشه‌چه دو رقم نخود را در شرایط تنش خشکی گزارش کرده است. سیرکوکو و همکاران (Sikuku et al., 2010) اشاره کردند که کاهش رشد ریشه ممکن است ناشی از کاهش توسعه بافت نوک ریشه باشد که به دلیل سخت شدن دیواره‌های سلولی رخ می‌دهد. آنها همچنین بیان کردند که کاهش رشد ریشه تأثیر منفی بر رشد کلی گیاه دارد،

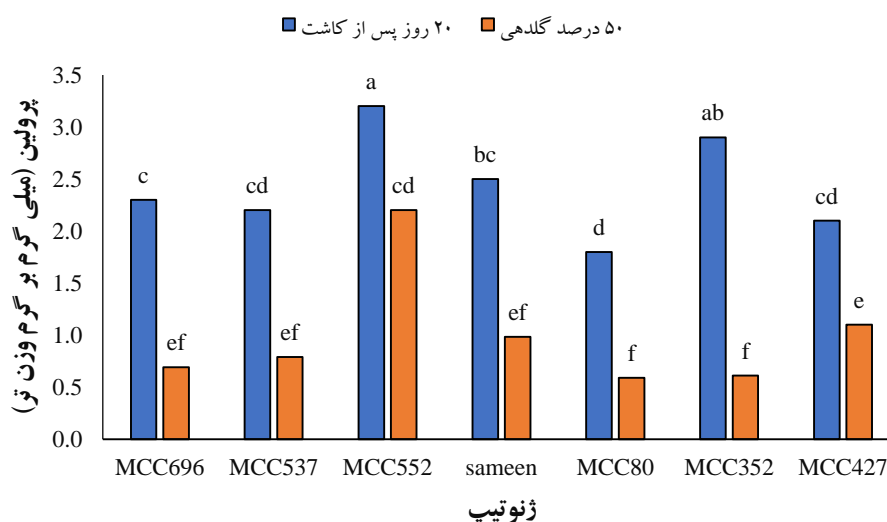
بین بیشترین و کمترین محتوای پرولین برگ در میان ژنوتیپ‌های مورد بررسی، بیش از ۴۰۴ برابر بود (شکل ۵).

MCC552 همچنان بیشترین میزان پرولین را در بین ژنوتیپ‌ها داشت. کمترین میزان پرولین برگ نیز در ژنوتیپ MCC80 و در تیمار قطع آبیاری در مرحله ۵۰ درصد گلدهی مشاهده شد. اختلاف

جدول ۳- تجزیه واریانس خصوصیات بیوشیمیایی تحت تاثیر ژنوتیپ و زمان قطع آبیاری پروفیل‌های مختلف خاک.

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		پرولین	کربوهیدرات محلول	مه‌ار فعالیت رادیکال آزاد
زمان قطع آبیاری (A)	۱	**۳۱/۴	**۰/۵۹۰	**۱۲/۸
ژنوتیپ (B)	۶	**۱/۳۴	**۰/۱۳۹	**۱/۷۸
A × B	۶	**۰/۳۰۴	**۰/۰۴۷	**۰/۵۵۰
خطای کل	۲۸	۰/۰۶۴	۰/۰۰۵	۰/۱۰۴
ضریب تغییرات		۱۴/۸	۱۶/۰	۷/۸۴

ns، \* و \*\* به ترتیب بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد، پنج درصد و عدم تفاوت معنی‌دار می‌باشند.



شکل ۵- برهمکنش ژنوتیپ و زمان قطع آبیاری بر میزان پرولین در شرایط گلخانه (ستون‌های هم‌رنگ با حروف مشابه از نظر آماری در سطح ۵ درصد معنی‌دار نیستند)

منجر به کاهش پتانسیل اسمزی شده و در نتیجه جذب آب توسط گیاه را افزایش داده و فشار تورژسانس را حفظ می‌کند که به گیاه کمک می‌کند در شرایط تنش خشکی مقاوم‌تر باشد. تحقیقات مشابه در نخود نیز نشان داده‌اند که افزایش تنش خشکی به‌طور مستقیم با افزایش محتوای پرولین در برگ‌ها مرتبط است (Rasool et al., 2013; Mushtaq et al., 2020).

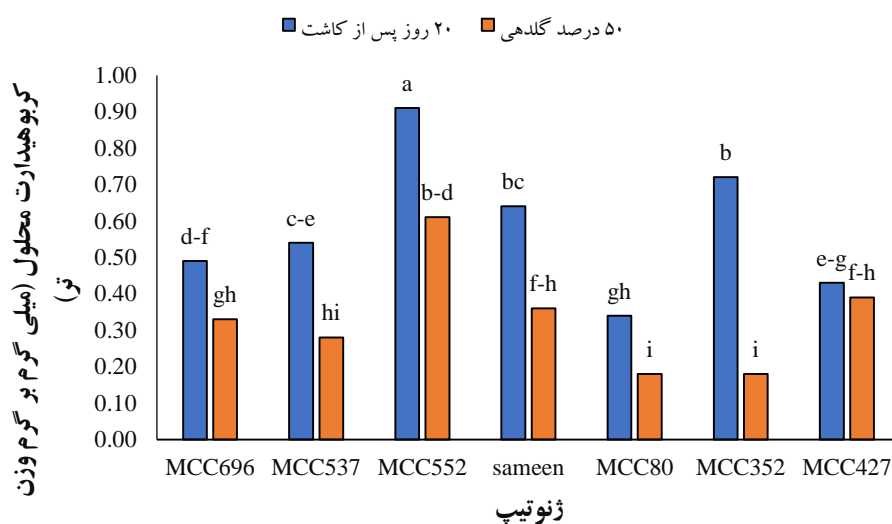
#### کربوهیدرات محلول

بررسی نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر زمان قطع آبیاری، ژنوتیپ‌های نخود و برهمکنش سطوح زمان قطع آبیاری و ژنوتیپ تأثیر معنی‌داری بر کربوهیدرات‌های محلول داشت (جدول ۳).

پرولین نقش کلیدی در کمک به کاهش آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد و محافظت از گیاهان در برابر تنش‌های محیطی ایفا می‌کند. این اسیدآمینو چندمنظوره، به‌عنوان یک اسمولیت، یکی از نخستین مکانیزم‌های دفاعی گیاهان در شرایط سخت مانند خشکی محسوب می‌شود. تحت تنش خشکی، پرولین با تنظیم تعادل اسمزی، تثبیت ساختار پروتئین‌ها و غشاها، و همچنین القای بیان ژن‌های مرتبط با سیستم آنتی‌اکسیدانی، به کاهش اثرات منفی تنش کمک می‌کند (Kim and Nam, 2013). در این پژوهش، با افزایش شدت خشکی، میزان تجمع پرولین در گیاهان افزایش یافت. ژنوتیپ MCC552 در مقایسه با سایر ژنوتیپ‌ها میزان بیشتری پرولین ذخیره کرد که نشان از تحمل بالای آن به خشکی دارد. این افزایش پرولین

آبیاری در ۵۰ درصد گلدهی بیشترین کربوهیدرات محلول را دارا بود. کمترین میزان این صفت نیز در شرایط زمان قطع آبیاری در ۵۰ درصد گلدهی و ژنوتیپ MCC80 و MCC352 به دست آمد که تفاوت بیشترین و کمترین میزان کربوهیدرات‌های محلول بیش از چهار برابر بود (شکل ۶).

ژنوتیپ‌های نخود مورد مطالعه با افزایش شدت تنش خشکی مقدار کربوهیدرات‌های محلول افزایش یافت. با توجه به نتایج، در ژنوتیپ MCC552 در شرایط زمان قطع آبیاری پس از ۲۰ روز کاشت بیشترین کربوهیدرات‌های محلول مشاهده شد که نسبت به زمان قطع آبیاری در ۵۰ درصد گلدهی ۴۹ درصد کربوهیدرات‌های محلول بیشتری را دارا بود. همچنین، ژنوتیپ MCC552 در تیمار زمان قطع

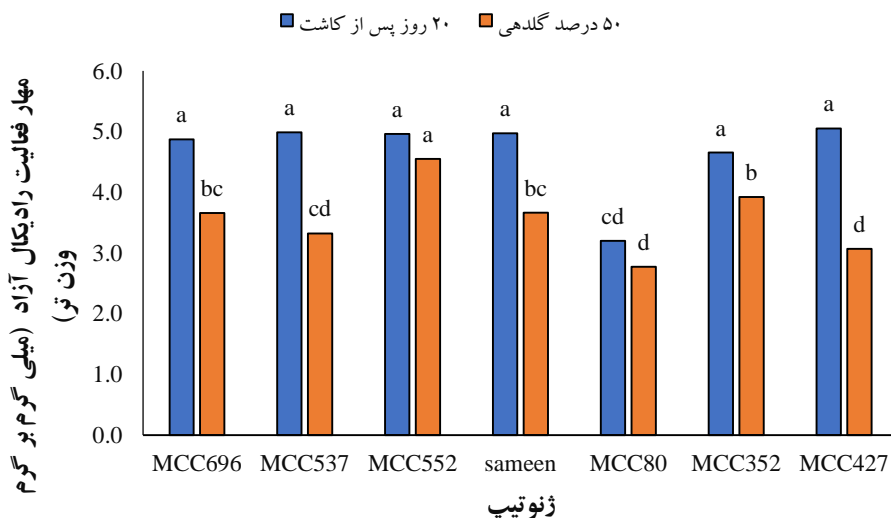


شکل ۶- برهمکنش ژنوتیپ و زمان قطع آبیاری بر میزان کربوهیدرات محلول در شرایط گلخانه (ستون‌های هم‌رنگ با حروف مشابه از نظر آماری در سطح ۵ درصد معنی دار نیست)

### مهار فعالیت رادیکال آزاد

بررسی نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر خشکی، ژنوتیپ و برهمکنش تنش خشکی و ژنوتیپ‌های نخود تأثیر معنی‌داری بر مهار فعالیت رادیکال آزاد (DPPH) داشتند (جدول ۳). در همه ژنوتیپ‌های نخود مورد مطالعه با افزایش سطح خشکی فعالیت رادیکال افزایش یافت. با توجه به نتایج، ژنوتیپ MCC427 در شرایط زمان قطع آبیاری پس از ۲۰ روز از کاشت دارای بیشترین میزان مهار فعالیت رادیکال بود و با کاهش شدت تنش به زمان قطع آبیاری در ۵۰ درصد گلدهی به میزان ۶۵ درصد بر میزان مهار فعالیت رادیکال کاسته شد. در ژنوتیپ MCC552 تحت شرایط زمان قطع آبیاری پس از ۲۰ روز کاشت بیشترین میزان مهار فعالیت رادیکال مشاهده شد ولی نسبت به زمان قطع آبیاری در ۵۰ درصد گلدهی به میزان ۸ درصد کمتر بود. کمترین میزان مهار فعالیت رادیکال نیز در شرایط بدون زمان قطع آبیاری در ۵۰ درصد گلدهی و ژنوتیپ MCC80 به دست آمد که تفاوت بیشترین و کمترین میزان مهار فعالیت رادیکال برابر با ۸۲ درصد می‌باشد (شکل ۷).

کربوهیدرات‌های محلول، ترکیبات مهمی هستند که گیاه برای مقابله با تنش‌های محیطی، به‌ویژه برای تنظیم و حفاظت اسمزی، از آن‌ها استفاده می‌کند (Hirich et al., 2014). مطالعات گذشته نشان داده‌اند که در شرایط تنش خشکی، میزان کربوهیدرات‌های محلول در گیاهان افزایش می‌یابد (Almodares et al., 2008; Teimouria et al., 2009). محققان بیان می‌کنند که بسته شدن روزنه‌ها و کاهش فرآیند فتوسنتز به دلیل تنش خشکی، باعث اختلال در متابولیسم کربوهیدرات‌ها و آمینواسیدها می‌شود و به همین دلیل، این مواد مانند پرولین و گلاسیسین بتائین در برگ‌ها انباشته می‌شوند (Suriyan and Chalernpol, 2009). با افزایش شدت خشکی، بخش قابل‌توجهی از کربن که می‌توانست به رشد گیاه اختصاص یابد، به تولید ترکیبات اسمزی نظیر قندها اختصاص داده می‌شود که این فرآیند منجر به کاهش رشد و افزایش تجمع قندهای آزاد در گیاه می‌شود (Nematollahi et al., 2020). از این رو، میزان کربوهیدرات‌های محلول می‌تواند به‌عنوان یک نشانگر فیزیولوژیکی معتبر برای ارزیابی تحمل گیاهان به تنش خشکی، به‌ویژه در گیاهانی مانند نخود، به‌کار گرفته شود (Zhang et al., 2012).



شکل ۷- برهمکنش ژنوتیپ و زمان قطع آبیاری بر میزان مهار فعالیت رادیکال آزاد (DPPH) در شرایط گلخانه (ستون‌های هم‌رنگ با حروف مشابه از نظر آماری در سطح ۵ درصد معنی دار نیستند)

ژنوتیپ‌های نخود و برهمکنش آن‌ها تأثیر معنی‌داری بر فعالیت کاتالاز برگ داشتند (جدول ۴). در بیشتر ژنوتیپ‌های نخود مورد مطالعه با افزایش شدت تنش میزان کاتالاز کاهش یافت. نتایج نشان داد که ژنوتیپ MCC552 در شرایط قطع آبیاری در مرحله ۵۰ درصد گلدهی، بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز را داشت. با این حال، در همین ژنوتیپ، هنگامی که آبیاری ۲۰ روز پس از کاشت قطع شد، فعالیت کاتالاز به طور قابل توجهی کاهش یافت، به طوری که میزان آن نسبت به تیمار ۵۰ درصد گلدهی، ۱۹۳ درصد کاهش نشان داد. همچنین، نتایج نشان داد ژنوتیپ MCC552 در تیمار زمان قطع آبیاری در ۲۰ روز پس از کاشت نیز نسبت به دیگر ژنوتیپ‌ها دارای کاتالاز بیشتری بود. کمترین میزان این صفت نیز در شرایط تیمار زمان قطع آبیاری در ۲۰ روز پس از کاشت و ژنوتیپ MCC80 به دست آمد که تفاوت بیشترین و کمترین فعالیت کاتالاز برگ ۵/۹ برابر بود (شکل ۸).

تجمع گونه‌های فعال اکسیژن در گیاهان تحت تنش خشکی باعث ایجاد آسیب‌های اکسیداتیو به لیپیدها و پروتئین‌ها شده و در موارد حاد منجر به مرگ گیاه می‌شود (Molassiotis et al., 2006). سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی گیاهان شامل آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی است که برای ارزیابی این دفاع‌ها، فعالیت مهار رادیکال به‌عنوان یکی از شاخص‌های آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی سنجیده می‌شود. تحقیقات نشان می‌دهند که گیاهان متحمل به خشکی قابلیت بیشتری در افزایش فعالیت مهار رادیکال دارند (Bandeoglu et al., 2004). جالب توجه است که ژنوتیپ MCC427 علی‌رغم پایین‌ترین میزان افزایش در ترکیباتی چون پرولین، کربوهیدرات‌های محلول و پتانسیل اسمزی، توانسته به طور قابل توجهی فعالیت مهار رادیکال خود را افزایش دهد.

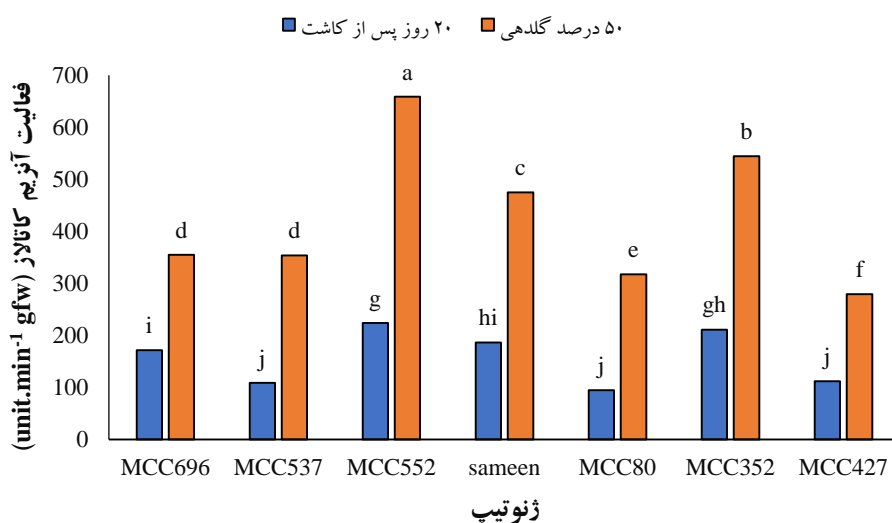
#### کاتالاز

بررسی نتایج تجزیه واریانس نشان داد که سطوح خشکی،

جدول ۴- تجزیه واریانس صفات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تحت تأثیر ژنوتیپ و زمان قطع آبیاری در شرایط گلخانه

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		کاتالاز	آسکوربات پراکسیداز	پراکسیداز
زمان قطع آبیاری (A)	۱	** ۷۵۳۳۴۸	** ۷۷۷	** ۷۳/۴
ژنوتیپ (B)	۶	** ۵۲۲۳۷	** ۱۱۹	** ۵/۸۵
A × B	۶	** ۱۳۱۳۴	** ۷۱/۸	** ۰/۷۱۴
خطای کل	۲۸	۲۵۴	۱/۹۲	۰/۱۰۴
ضرب تغییرات		۵/۴۶	۱۲/۸	۸/۰۷

\*\*، \* و ns به ترتیب بیانگر تفاوت معنی دار در سطح احتمال یک درصد، پنج درصد و عدم تفاوتگس از کاشت دتنش شدید است پس چرا فعالیت این آنزیم کم است؟؟؟ معنی دار می‌باشند.

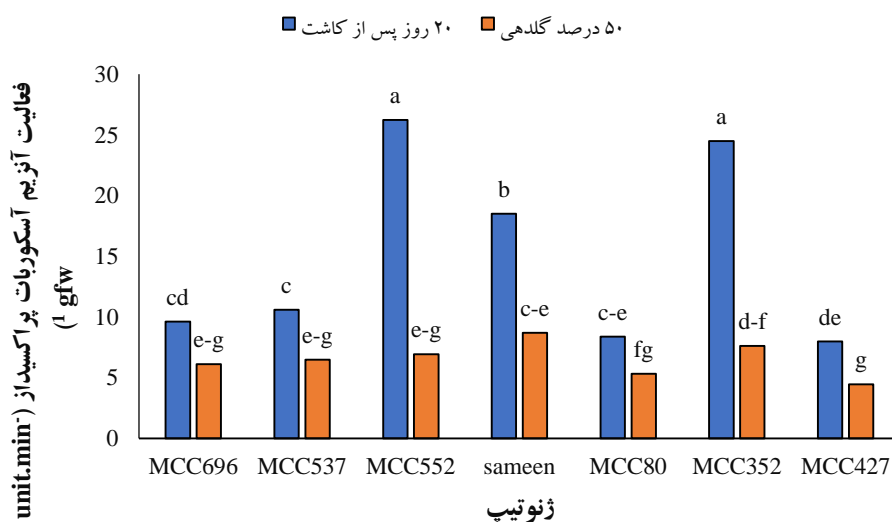


شکل ۸- برهمکنش ژنوتیپ و زمان قطع آبیاری بر فعالیت آنزیم کاتالاز در شرایط گلخانه (ستون‌های هم‌رنگ با حروف مشابه از نظر آماری در سطح ۵ درصد معنی دار نیستند)

آبیاری در ۲۰ روز پس از کاشت)، میزان این آنزیم در همین ژنوتیپ ۷۸ درصد افزایش یافت، اما با این حال، در میان ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، MCC427 همچنان کمترین فعالیت آسکوربات پراکسیداز را در این تیمار نشان داد. در مقابل، بیشترین میزان فعالیت این آنزیم در شرایط قطع آبیاری در ۲۰ روز پس از کاشت و در ژنوتیپ MCC552 به دست آمد، به طوری که تفاوت بین بیشترین و کمترین مقدار این صفت نزدیک به پنج برابر بود (شکل ۹).

#### آسکوربات پراکسیداز

بررسی نتایج تجزیه واریانس نشان داد که زمان قطع آبیاری، ژنوتیپ‌های نخود و برهمکنش آن‌ها تأثیر معنی‌داری بر فعالیت آسکوربات پراکسیداز برگ داشتند (جدول ۴). در ژنوتیپ‌های نخود مورد مطالعه با افزایش شدت تنش خشکی میزان آسکوربات پراکسیداز افزایش یافت. نتایج نشان داد کمترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در ژنوتیپ MCC427 و در شرایط قطع آبیاری در مرحله ۵۰ درصد گلدهی مشاهده شد. با افزایش شدت تنش (قطع

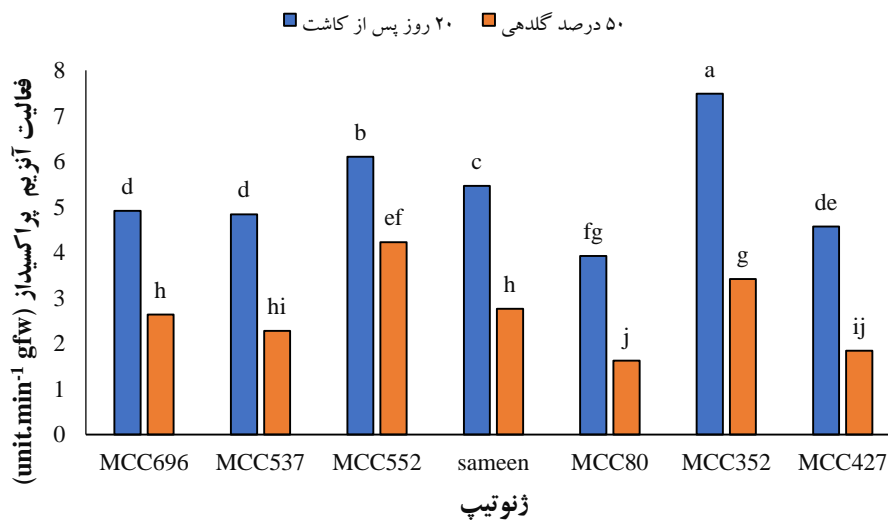


شکل ۹- برهمکنش ژنوتیپ و زمان قطع آبیاری بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در شرایط گلخانه (ستون‌های هم‌رنگ با حروف مشابه از نظر آماری در سطح ۵ درصد معنی دار نیستند)

## پراکسیداز

تجزیه واریانس صفات نشان داد که سطوح خشکی، ژنوتیپ‌های نخود و برهمکنش آن‌ها تأثیر معنی‌داری بر فعالیت پراکسیداز برگ داشتند (جدول ۴). همانند فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز برگ، در بیشتر ژنوتیپ‌های نخود مورد مطالعه با افزایش سطح تنش خشکی فعالیت پراکسیداز برگ افزایش یافت. نتایج نشان داد کمترین فعالیت آنزیم پراکسیداز برگ در ژنوتیپ MCC80 و در شرایط قطع آبیاری

در مرحله ۵۰ درصد گلدهی مشاهده شد. در تیمار قطع آبیاری در ۲۰ روز پس از کاشت، فعالیت این آنزیم در ژنوتیپ مذکور ۱۴۲ درصد افزایش یافت. با این حال، در میان ژنوتیپ‌های مورد بررسی، MCC80 همچنان در تیمار قطع آبیاری زود هنگام کمترین سطح فعالیت پراکسیداز را نشان داد. بیشترین مقدار این صفت در همین تیمار و در ژنوتیپ MCC352 مشاهده شد، به طوری که تفاوت بین بیشترین و کمترین مقدار پراکسیداز برگ، ۶.۳ برابر بود (شکل ۱۰).



شکل ۱۰- برهمکنش ژنوتیپ و زمان قطع آبیاری بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در شرایط گلخانه (ستون‌های هم‌رنگ با حروف مشابه از نظر آماری در سطح ۵ درصد معنی دار نیستند)

همچنین تحقیقات نشان داده است که خشکی منجر به کاهش فعالیت کاتالاز در برخی گونه‌های گیاهی می‌شود. به‌عنوان مثال، کاستا و همکاران (Costa et al., 2005) ارتباط قابل توجهی میان تحمل به خشکی و فعالیت پراکسیداز در ژنوتیپ‌های سورگوم مشاهده کردند.

## نتیجه‌گیری

نتایج آزمایش گلخانه‌ای نشان داد صفات رشدی ریشه‌ای در ژنوتیپ‌های مختلف دارای رفتار متفاوتی بودند ولی در همه تیمارهای اندازه‌گیری شده نشان داد در شرایط زمان قطع آبیاری در ۵۰ درصد گلدهی در مقایسه با زمان قطع آبیاری ۲۰ روز پس از کاشت (تنش شدید خشکی)، دارای خصوصیات ریشه‌ای بهتری بود. بر اساس خصوصیات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی، رفتار ژنوتیپ‌ها تقریباً ثابت بود، به طوری که بیشترین میزان این صفات در ژنوتیپ MCC552

در شرایط معمول، گیاهان مقدار کمی از گونه‌های اکسیژن فعال را در کلروپلاست، میتوکندری و پراکسی‌زوم‌ها تولید می‌کنند که این تولیدات به ترتیب ناشی از فرایندهای فتوسنتز، تنفس و تنفس نوری هستند. در حالت طبیعی، گیاهان برای مقابله با تنش‌ها تعادل یونی بین تولید و حذف این گونه‌های اکسیژن فعال را از طریق افزایش فعالیت سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی آنزیمی نظیر آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و پراکسیداز و همچنین دفاع غیر آنزیمی مانند پرولین حفظ می‌کنند (Gill and Tuteja, 2010). در شرایط تنش خشکی، تولید گونه‌های فعال اکسیژن به شدت افزایش می‌یابد که منجر به آسیب به غشاء، پروتئین‌ها، و مواد ژنتیکی گیاه از جمله DNA و RNA می‌شود و در نهایت فرایندهای متابولیکی کل گیاه را دچار اختلال می‌کند (del-Rio, 2015). کاهش آب موجود در خاک نیز فعالیت آنزیم‌هایی همچون کاتالاز و پراکسیداز را تقویت می‌کند، که این آنزیم‌ها با تبدیل H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> به آب و اکسیژن به تنظیم تعادل اکسیداسیون و کاهش تنش کمک می‌کنند (Yang et al., 2008).

- Vandenberg, A. and Warkentin, T. 2022. Genotypic variability in rootlength in pea (*Pisum sativum* L.) and lentil (*Lensculinaris* Medik.) cultivars in a semi-arid environment based on mini-rhizotron image capture. *The PlantPhenome Journal*, 5, e20037. <https://doi.org/10.1002/ppj2.20037>.
- Chowdhury, J. A., Karim, M. A., Khaliq, Q. A., Ahmed, A. U. and Khan, M. S. A. 2016. Effect of drought stress on gas exchange characteristics of four soybean genotypes. *Bangladesh Journal of Agricultural Research*. 41: 195–205.
- Costa, P. H. A., Neto, A. D. A., Bezerra, M. A., Frisco, J. T. and Gomes-Filho, E. 2005. Antioxidant enzymatic system of two sorghum genotypes differing in salt tolerance. *Brazilian Journal of Plant Physiology*. 17(4): 353–361. <https://doi.org/10.1590/S1677-04202005000400003>.
- Del-Rio, L. A. 2015. ROS and RNS in plant physiology: An overview. *Journal of Experimental Botany*. 66(10): 2827–2837. <https://doi.org/10.1093/jxb/erv099>.
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. T. and Smith, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*. 28(3): 350-356.
- FAOSTAT. 2021. [accessed on 17 December 2021]. Available online: <https://www.fao.org/faostat/es/#data/QCL>.
- Gill, S. S. and Tuteja, N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*. 48(12): 909–930. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016>.
- Hamidou, F., Zombre, G., Diouf, O., Diop, N. N., Guinko, S. and Braconnier, S. 2007. Physiological, biochemical and agromorphological responses of five cowpea genotypes (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) to water deficit under glasshouse conditions. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*. 11: 225–234.
- Hirich, A., Ragab, R., Choukr-Allah, R. and Rami, A. 2014. The effect of deficit irrigation with treated wastewater on sweet corn: Experimental and modelling study using SALTMED model. *Irrigation Science*. 32L 205-219.
- Kim, G. B. and Nam, Y. W. 2013. A novel  $\Delta$ 1-pyrroline-5-carboxylate synthetase gene of *Medicago truncatula* plays a predominant role in stress-induced proline accumulation during symbiotic nitrogen fixation. *Journal of Plant Physiology*. 170(3): 291–302. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2012.10.004>.
- Kushwah A, Bhatia D, Singh G, Singh I, Vij S, Bindra S, Siddique KHM, Nayyar H, Singh S. Phenotypic evaluation of agronomic and root related traits for drought tolerance in recombinant inbred line population derived from a chickpea cultivar (*C. arietinum* L.) and its wild relative (*C. reticulatum*). *Physiol Mol Biol Plants*. 2022 Jul; 28(7):1437-1452.
- گزارش شد. نتایج نشان داد با افزایش شدت تنش فعالیت آنزیم کاتالاز کاهش یافت. همچنین، بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار زمان قطع آبیاری در ۵۰ درصد گلدهی و ژنوتیپ MCC552 بدست آمد. از سوی دیگر، بیشترین میزان پرولین، کربوهیدرات محلول و آسکوربات پراکسیداز در تیمار زمان قطع آبیاری ۲۰ روز پس از کاشت و در ژنوتیپ MCC552 بدست آمد. این نتایج از یک سو، نشان دهنده نقش تعیین کننده زمان قطع آبیاری بعنوان یک عامل تنش زا و محدود کننده محیطی می باشد و از سوی دیگر بیانگر نقش کلیدی تفاوت های ژنتیکی در تحمل به خشکی در ژنوتیپ های نخود است که می تواند از نظر به نژادی و گزینش برای تحمل به خشکی مهم باشد.

## منابع

- Abdolkareem, B. M. 2017. The effect of priming on germination characteristics and early growth of chickpea under water stress conditions in laboratory and greenhouse (M.Sc. thesis, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, International Branch). 92 p.
- Abe, N., Murata, T. and Hirota, A. 1998. Novel DPPH radical scavengers, bisorbicillinol and demethyltrichodimerol, from a fungus. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 62(4): 661-666. <https://doi.org/10.1271/bbb.62.661>.
- Almodares, A., Hadi, M. R. and Ahmadpour, H. 2008. Sorghum stem yield and soluble carbohydrates under different salinity levels. *African Journal of Biotechnology*. 7(22): 4051-4055.
- Arriagada, O., Cacciuttolo, F., Cabeza, R. A., Carrasco, B. and Schwember, A. R. 2022. A comprehensive review on chickpea (*Cicer arietinum* L.) breeding for abiotic stress tolerance and climate change resilience. *International Journal of Molecular Sciences*. 23(12): 6794. <https://doi.org/10.3390/ijms23126794>.
- Bandoğlu, E., Eyidoğan, F., Yücel, M. and Öktem, H. A. 2004. Antioxidant responses of shoots and roots of lentil to NaCl-salinity stress. *Plant Growth Regulation*. 42(1): 69-77.
- Basra, S. M. A., Farooq, M. and Rehman, H. 2006. Seed priming enhances emergence, yield, and quality of direct-seeded rice. *Crop Physiology*. 31: 42-46.
- Bates, L. S., Waldren, R. P. and Teare, I. D. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*. 39(1): 205-207.
- Begum, N., Khan, Q. U., Liu, L. G., Li, W., Liu, D., & Haq, I. U. 2023. Nutritional composition, health benefits and bio-active compounds of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Frontiers in Nutrition*. 10: 1218468. <https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1218468>.
- Bourgault, M., Lamb, P., McPhee, K., McGee, R. J.,

2013. Changes in growth, lipid peroxidation and some key antioxidant enzymes in chickpea genotypes under salt stress. *Acta Physiologia Plantarum*. 35: 1039–1050. <https://doi.org/10.1007/s11738-012-1142-4>.
- Sehgal, A., Sita, K., Siddique, K. H. M., Kumar, R., Bhogireddy, S., Varshney, R. K., HanumanthaRao, B., Nair, R. M., Prasad, P. V. V. and Nayyar, H. 2018. Drought or/and heat-stress effects on seed filling in food crops: Impacts on functional biochemistry, seed yields, and nutritional quality. *Frontiers in Plant Science*. 9: 1705. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01705>.
- Shitole, S. M. and Dhumal, K. N. 2012. Effect of water stress by polyethylene glycol 6000 and sodium chloride on seed germination and seedling growth of *Cassia angustifolia*. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 3: 528–531.
- Sikuku, P. A., Netondo, G. W., Onyango, J. C., & Musyimi, D. M. 2010. Effects of water deficit on physiology and morphology of three varieties of NERICA rainfed rice (*Oryza sativa* L.). *ARNP Journal of Agricultural and Biological Science*. 5: 23–28.
- Srinivas, N. D., Rashmi, K. R. and Raghavarao, K. S. M. S. 1999. Extraction and purification of a plant peroxidase by aqueous two-phase extraction coupled with gel filtration. *Process Biochemistry*. 35: 43–48.
- Suriyan, C. U. and Chalermopol, K. 2009. Proline accumulation, photosynthetic abilities and growth characters of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) plantlets in response to iso-osmotic salt and water-deficit stress. *Agricultural Sciences in China*. 8(1): 51–58.
- Teimouria, A., Jafari, M. and Azarnivand, H. 2009. Effect of proline, soluble carbohydrates and water potential on resistance to salinity of three *Salsola* species (*S. rigida*, *S. dendroides*, *S. richteri*). *Desert*. 14: 15–20.
- Todaka, D., Zhao, Y., Yoshida, T., Kudo, M., Kidokoro, S., Mizoi, J. and Kodaira, K. 2017. Temporal and spatial changes in gene expression, metabolite accumulation and phytohormone content in rice seedlings grown under drought stress conditions. *Plant Journal*. 90: 61–78.
- Tokarz, B., Wójtowicz, T., Makowski, W., Jędrzejczyk, R. J. and Tokarz, K. M. 2020. What is the difference between the response of grass pea (*Lathyrus sativus* L.) to salinity and drought stress? — A physiological study. *Agronomy*. 10(6): 833. <https://doi.org/10.3390/agronomy10060833>.
- Velikova, V., Yordanov, I. and Edreva, A. 2000. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants. Protective role of exogenous polyamines. *Plant Science*. 151: 59–66.
- Wang, Y., Zhang, X., Chen, J., Chen, A., Wang, L., Guo, X., Niu, Y., Liu, S., Mi, G. and Gao, Q. 2019. Reducing basal nitrogen rate to improve maize seedling growth, water and nitrogen use efficiencies Doi: 10.1007/s12298-022-01218-z.
- Mittal, N., Mishra, A., Singh, R. and Kumar, P. 2014. Assessing future changes in seasonal climatic extremes in the Ganges River basin using an ensemble of regional climate models. *Climate Change*. 123: 273–286.
- Molassiotis, A., Sotiropoulos, T., Tanou, G., Diamantidis, G. and Therios, I. 2006. Boron-induced oxidative damage and antioxidant and nucleolytic responses in shoot tips culture of the apple rootstock EM 9 (*Malus domestica* Borkh). *Environmental and Experimental Botany*. 56(1): 54–62.
- Muriuki, R., Paul, K. K., Towett, B. K., Vadez, V. and Gangarao, R. 2020. Study of root traits of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under drought stress. *African Journal of Plant Science*. 14(11): 420–435.
- Mushtaq, Z., Faizan, S., Gulzar, B. and Hakeem, K. R. 2020. Inoculation of rhizobium alleviates salinity stress through modulation of growth characteristics, physiological and biochemical attributes, stomatal activities and antioxidant defence in *Cicer arietinum* L. *Journal of Plant Growth Regulation*. <https://doi.org/10.1007/s00344-020-10267-1>.
- Nadeem, M., Li, J., Yahya, M., Wang, M., Ali, A., Cheng, A., Wang, X. and Ma, C. 2019. Grain legumes and fear of salt stress: Focus on mechanisms and management strategies. *International Journal of Molecular Sciences*. 20: 799. <https://doi.org/10.3390/ijms20040799>.
- Negussu, M., Karalija, E., Vergata, C., Buti, M., Subašić, M., Pollastri, S., Loreto, F. and Martinelli, F. 2023. Drought tolerance mechanisms in chickpea (*Cicer arietinum* L.) investigated by physiological and transcriptomic analysis. *Environmental and Experimental Botany*. 215: 105488. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2023.105488>
- Nematollahi, D., Eisvand, H. R., Modares Sanavi, A. M., Akbari, N. and Ismaili, A. 2020. Effects of low irrigation on yield quantity and quality of clover species under high input management conditions. *Iranian Journal of Field Crop Science*. 51(3): 47–57. (In Persian with English Summary). <https://doi.org/10.22059/ijfcs.2019.251696.654444>.
- Okçu, G., Kaya, M. D. and Atak, M. 2005. Effects of salt and drought stresses on germination and seedling growth of pea (*Pisum sativum* L.). *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. 29: 237–242.
- Petrovic, G., Jovičić, D., Nikolić, Z., Tamindžić, G., Ignjatov, M., Milošević, D. and Milošević, B. 2016. Comparative study of drought and salt stress effects on germination and seedling growth of pea. *Genetika*. 48: 373–381.
- Pushpavalli, R., Zaman-allah, M., Turner, N. C., Baddam, R., Rao, M. V. and Vadez, V. 2015. Higher flower and seed number leads to higher yield under water stress conditions imposed during reproduction in chickpea. *Functional Plant Biology*. 42: 162–174. <https://doi.org/10.1071/FP14135>.
- Rasool, S., Ahmad, A., Siddiqi, T. O. and Ahmad, P.

- canescens* to PEG-induced drought stress. *Environments*. 7: 107. <https://doi.org/10.3390/environments7120107>
- Zarei, E., & Modarres-Sanavy, S. A. M. 2021. The effect of seed priming and foliar application of anti-stress materials on quantitative and qualitative yield of chickpea (*Cicer arietinum* L.) Adel cultivar under irrigation regimes. *Environmental Stresses in Crop Sciences*. 14(1): 99-108. <https://doi.org/10.22077/escs.2019.2503.1660>.
- Zhang, Z., Liu, Q., Song, H., Rong, X. and Abdelbagi, M.I. 2012. Responses of different rice (*Oryza sativa* L.) genotypes to salt stress and relation to carbohydrate metabolism and chlorophyll content. *African Journal of Agricultural Research*. 7(1): 19-27.
- under drought stress by optimizing root morphology and distribution. *Agricultural Water Management*. 212: 328-337. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2018.09.010>.
- Yamaguchi, K., Mori, H. and Nishimura, M. 1995. A novel isoenzyme of ascorbate peroxidase localized on glyoxysomal and leaf peroxisomal membranes in pumpkin. *Plant Cell Physiology*. 36:1157-1162.
- Yang, Y., Han, C., Liu, Q., Lin, B. and Wang, J. 2008. Effect of drought and low light on growth and enzymatic antioxidant system of *Picea asperata* seedlings. *Acta Physiologia Plantarum*. 30: 433-440. <https://doi.org/10.1007/s11738-008-0140-z>.
- Yousefi, A., Rashidi, S., Moradi, P. and Mastinu, A. 2020. Germination and seedling growth responses of *Zygophyllum fabago*, *Salsola kali* L., and *Atriplex*

## Effects of Drought Stress on Root Morphological Traits, Antioxidant Enzyme Activity and Physiological Responses in Chickpea Genotypes as cylindrical culture under Greenhouse Conditions

Mehrdad Saeedian<sup>1</sup>, Morteza Goldani<sup>2\*</sup>, Mehdi Parsa<sup>2</sup>, Saeedreza Vesal<sup>3</sup>

Received: Apr.30, 2025

Accepted: Jul.19, 2025

### Abstract

To comprehensively compare drought-tolerant candidate genotypes of chickpea (*Cicer arietinum* L.), a factorial experiment was conducted in a completely randomized design with three replications in 2020 at the research greenhouse of the Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad. The experimental treatments consisted of six genotypes (MCC696, MCC552, MCC537, MCC427, MCC352, and MCC80) and one check cultivar (Samin) as the first factor, and drought stress intensity as the second factor, with two irrigation withholding times: 20 days after sowing and at 50% flowering stage. Root studies revealed that the highest root dry weight in both 0–30 cm and 30–60 cm soil profiles was observed in the treatment with irrigation withheld at 50% flowering and in genotype MCC352. With increasing drought severity, root dry weight decreased by 30% and 31% in the respective soil layers. In the 0–30 cm profile, the greatest root area was recorded under irrigation withheld 20 days after sowing and in genotype MCC696, whereas withholding irrigation at 50% flowering resulted in a 32% reduction in root area. In the 30–60 cm soil profile, the highest root area was found in the 50% flowering irrigation cutoff treatment and genotype MCC80, with a 56% reduction in root area under increased drought intensity. The highest leaf catalase activity ( $659 \text{ unit}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1} \text{ FW}$ ) was observed under the 50% flowering irrigation cutoff treatment and in genotype MCC552. Conversely, the maximum leaf proline content ( $3.20 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1} \text{ FW}$ ), soluble carbohydrate content ( $0.911 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1} \text{ FW}$ ), and ascorbate peroxidase activity ( $26.2 \text{ unit}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1} \text{ FW}$ ) were recorded in the treatment where irrigation was withheld 20 days after sowing, also in genotype MCC552. These findings highlight the simultaneous and critical roles of drought stress intensity as an environmental factor and genetic variation in drought tolerance among chickpea genotypes. These factors can be highly effective in breeding programs aimed at enhancing drought tolerance in chickpea.

**Keywords:** Ascorbate peroxidase, Catalase, Proline, Soluble carbohydrates, Soil profile.

1- Ph.D. Candidate, Department of Agrotechnology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran

2- Associate Professor, Department of Agrotechnology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran

3- Assistant Professor, Department of Plant Biotechnology and Breeding, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran

(\*Corresponding Author Email: goldani@um.ac.ir)