بررسی تنوع صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گونه‌های وحشی نخود با گونه زراعی

نسرین مفاخری[۱]، معصومه پوراسماعیل[۲*]، سیروس منصوری‌فر[۱] و کمال سادات اسیلان[۱]

[۱] ایران، کرج، دانشگاه پیام نور واحد کرج، دانشکده کشاورزی، گروه زراعت

[۲] ایران، کرج، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر

تاریخ دریافت: ۹۶/۴/۲۶ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۱/۱۶

چکیده

خویشاوندان وحشی سازنده خزانه ژنی گیاهان زراعی هستند که در پیشبرد برنامه‌های اصلاح ارقام گیاهی اهمیت فراوانی دارند. این تحقیق باهدف مقایسه تنوع صفات محتوای آب برگ، درصد اتلاف آب برگ و سطح برگ ویژه، محتوای فلاونوئید، فنل کل و پروتئین بذر سه گونه نخود وحشی یکساله ((*Cicer echinospermum, C. reticulatum, C. bijigum*)) با گونه زراعی (*C. arietinum*) در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۰ تیمار و ۴ تکرار در گلخانه بخش تحقیقات ژنتیک و ذخائر توارثی گیاهی در سال زراعی ۹۴-۱۳۹۳ به اجرا درآمد. آنالیز واریانس صفات نشان داد که بین ژنوتیپ‌ها اختلاف معنی‌داری ازنظر کلیه صفات مورد بررسی وجود دارد. درصد محتوای آب برگ و اتلاف آب برگ در گونه‌های *C. reticulatum* و *C. echinospermum* اختلاف معنی‌داری با گونه زراعی نداشت اما درصد محتوای آب برگ در گونه *C. bijigum* به‌صورت معنی‌داری از گونه‌های دیگر کمتر و اتلاف آب برگ در این‌گونه از سایر گونه‌ها بیشتر بود. میانگین میزان پروتئین در گونه زراعی ۲۱ درصد، در گونه *C. bijigum* ۲۱ درصد، در گونه *C. reticulatum* ۱۸ درصد و در *C. echinospermum* ۱۷ درصد بود. کمترین میزان سطح برگ ویژه و بیشترین میزان فنل کل در گونه *C. bijigum* مشاهده شد. محتوای فنل کل و فلاونوئید در میان ژنوتیپ‌های مختلف گونه *C. reticulatum* از تنوع قابل‌ملاحظه‌ای برخوردار بود که می‌توان از آن برای پیشبرد اهداف اصلاحی مختلف نظیر تهیه غذاهای کاربردی و یا ایجاد واریته های متحمل نسبت به آفات و پاتوژن ها بهره‌گیری نمود.

واژه‌های کلیدی: *Cicer* spp.، نخودهای یکساله، تنوع ژنتیکی، ترکیبات فنلی، درصد پروتئین

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۶۳۲۷۰۲۸۵۹ ، پست الکترونیکی: masoumehpouresmael@yahoo.com

مقدمه

امروزه اهمیت تنوع ژنتیکی خویشاوندان وحشی گیاهان زراعی در پیشبرد و اصلاح گیاهان بر کسی پوشیده نیست. امکان دورگ‌گیری با خویشاوندان وحشی تلاش برای حفاظت از این منابع باارزش را افزایش داده است. خویشاوندان وحشی بخش جدایی‌ناپذیر و سازنده خزانه ژنی گیاهان زراعی هستند، حضور ذخائر ژنی متنوع در این‌گونه‌ها موجب شده است که برای اصلاح نخود زراعی به‌منظور بهبود کیفیت و افزایش مقاومت ارقام زراعی نسبت به تنش‌های زنده و غیرزنده به کار گرفته شوند (۸، ۲۵، ۳۱و ۴۳).

گونه سیسر آرتینوم(*Cicer arietinum* L.) تنها گونه زراعی جنس نخود محسوب می‌شود. گونه‌های وحشی این جنس شامل ۴۲ گونه می‌باشد که ۸ گونه آن یکساله و بقیه چندساله هستند. بررسی تنوع صفات مختلف در گونه‌های وحشی و مقایسه آنها با گونه زراعی با اهداف مختلفی انجام می‌گیرد. ازجمله رابرتسون و همکاران (۳۷) به بررسی تنوع صفات مورفولوژیکی ۸ گونه وحشی با گونه زراعی نخود پرداختند و بیشترین اختلاف را بین صفات سطح برگ، عادت رشد، ارتفاع بوته، ارتفاع اولین نیام از سطح خاک، ریزش دانه و وزن ۱۰۰ دانه مشاهده کردند. از

شاخص‌ترین تفاوت‌های بین‌گونه‌ای گزارش شده توسط این محققین می‌توان به عرض برگ بیشتر در گونه *C. chorassanicum* تعداد شاخه فرعی بیشتر در *C. bijugum* و *C. reticulatum* و زود گلدهی در *C. judaicum* اشاره نمود.

برگر و همکاران (۹) اختلاف در چرخه زندگی و استراتژی‌های فنولوژیکی گونه زراعی نخود را با گونه‌های وحشی *C. yamashita*، *C. echinospermum*، *C. reticlatum*، *C. judicum* و *C. pinnatifidum* مورد مقایسه قرار داده و اشاره کردند، فاصله بین گلدهی و تشکیل غلاف در گونه‌های وحشی به‌صورت معنی‌داری کمتر از گونه زراعی است که می‌تواند دلیلی برای کاهش حساسیت به سرما در گونه‌های وحشی باشد. کنسی و توکر (۱۱) گونه‌های وحشی یکساله نخود را برای مقاومت نسبت به تنش خشکی و گرما در مقایسه با لاین‌های زراعی متحمل و حساس ارزیابی کردند. نتایج آنها نشان داد در حالیکه افت محصول در اثر تنش در لاین‌های حساس نخود زراعی به ۱۰۰ درصد رسید، چهار توده از *C.reticulutum* و یک توده از *C.pinnatifidum* به اندازه لاین‌های شاهد مقاوم، نسبت به تنش متحمل شناسایی شدند.

در مقایسه ۱۷ توده نخود وحشی چند ساله با نخود زراعی برای مقاومت به کرم غلاف خوار *Helicovera armigera(Hubn)* تنوع قابل‌توجهی در گونه‌های وحشی چند ساله نخود وجود داشت. گونه *C.microphyllum* به شدت به *H.armigera* مقاوم بود که می‌توان از این ویژگی برای افزایش پایه مقاومت نخود زراعی نسبت به *H.armigera* استفاده نمود (۴۰). اگرچه تاکنون فقط تلاقی‌های بین نخود زراعی *C.reticulutum* و *C. echinospermum* با موفقیت انجام شده است، اما گزارشات نشان می‌دهد که هیبریدهای بین‌گونه‌ای نخود زراعی با *C.pinnatifidum*، *C.judicum* و *C. bijugum* نیز امکان‌پذیر می‌باشد (۱۸و ۲۵). موفقیت در این هیبریدهای بین‌گونه‌ای نوید دهنده استفاده از تنوع موجود در گونه‌های وحشی برای افزایش تنوع پایه ژنتیکی گونه زراعی می‌باشد. اگرچه روش‌های نوین نظیر انتقال ژن نیز در این زمینه می‌توانند مؤثر واقع شوند.

تفاوت‌های عمده‌ای در زمینه عکس‌العمل‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی بین گونه‌های گیاهی مختلف و ژنوتیپ‌های مختلف یک‌گونه وجود دارد، که از این تنوع می‌توان به‌عنوان ابزار شناسایی و دستیابی به ژنوتیپ‌های دارای صفات مرتبط باتحمل به تنش‌های زنده و غیرزنده بهره برد. به‌عنوان مثال محتوی آب بالا و میزان کم اتلاف آب از برگ‌های قطع‌شده، به تحمل خشکی کمک نموده و به‌عنوان معیار غربالگری در برنامه‌های اصلاحی قابل‌استفاده است (۴۶). اختلاف در محتوای نسبی آب برگ می‌تواند برای انتخاب ژنوتیپ‌های با عملکرد بالا که تورگر سلول را برای تولید عملکرد نسبی بالاتر در شرایط تنش حفظ می‌کنند به کار گرفته می‌شود (۷). یافتن ژنوتیپ‌هایی با سطح برگ ویژه پایین که ظرفیت فتوسنتزی بالاتری به ازاء واحد سطح برگ دارند (۲۸)، وجود همبستگی شدید بین سطح برگ ویژه و کارایی تعرق و درجه پایین اثر متقابل ژنوتیپ در محیط دراین صفت، سطح برگ ویژه را به یک ابزار مفید برای انتخاب کارایی تعرق مبدل ساخته است (۴۷). برگ‌های با سطح برگ ویژه پایین‌تر معمولاً کارایی مصرف آب بالا دارند (۴۷). بنابراین یک راهکار برای تغییر کارایی مصرف آب مطالعه آناتومی برگ و استفاده از ضخامت برگ (کم بودن سطح برگ ویژه) به‌عنوان یک معیار است (۲۹).

ترکیبات فنلی گروه بزرگی از مواد طبیعی گیاهی شامل فلانوئیدها، تانن‌ها و آنتوسیانین و... می‌باشد که به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی، آنتی میکروبی و ضدالتهاب (۱۹، ۲۱ و ۴۱) ازیک‌طرف نقش مهمی در نگهداری محصولات غذایی و حفظ سلامتی انسان ایفا می‌کنند و از طرف دیگر

به دلیل نقشی که به‌عنوان ترکیبات ضد تغذیه‌ای در مقابله با پاتوژن‌ها و آفات مختلف ایفا می‌کنند در تحمل تنش‌های زیستی نقش بسزایی دارند (۴۲و ۴۵). بعلاوه این ترکیبات به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی نقش مؤثری در تحمل به تنش‌های محیطی ازجمله سرما دارند (۳۴). مطالعات متعددی به نقش اکوفیزیولوژی این ترکیبات به‌عنوان یکی از نشانگرهای بیوشیمیایی دفاعی گیاه در برابر تنش‌های محیطی اشاره دارند (۱، ۲، ۳، ۲۰، ۲۲، ۳۵و ۴۴).

ایجاد ارقام مقاوم به آفات و بیماری‌ها و ایجاد ارقام متحمل به سرما، خشکی، شوری جز اهداف مهم اصلاحی نخود به شمار می‌روند. ازاین‌رو این تحقیق باهدف بررسی تنوع و مقایسه صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی بین سه گونه مختلف نخود وحشی با گونه زراعی و امکان بهره‌گیری از تنوع موجود در اجداد وحشی در کارهای اصلاحی به‌منظور افزایش میزان تحمل نسبت به تنش‌های زیستی و غیرزیستی و تأمین غذای کاربردی با تأمین سلامت غذایی بیشتر به اجرا درآمد.

مواد و روشها

طراحی آزمایش، مراحل جوانه‌دار کردن، کشت و رشد نمونه‌های نخود: به‌منظور ارزیابی صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در ژنوتیپ‌های نخود وحشی و مقایسه آن با ژنوتیپ‌های نخود زراعی، آزمایشی گلخانه‌ای در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۰ تیمار و ۴ تکرار به اجرا درآمد. مواد گیاهی مورد آزمایش ۱۰ ژنوتیپ از جنس نخود از گونه‌های *C. echinospermum* ، *C.bijigum* ، *C. reticulatum* و *C . arietinum* بود که از بانک ژن گیاهی ملی ایران مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر دریافت گردید (جدول ۱).

جدول ۱- مشخصات ژنوتیپ های مورد بررسی

شماره ژنوتیپ	کد ژنوتیپ در بانک ژن	گونه	کشور مبدأ	تیپ
۱	TN. ۴۴۹۳	*C. echinospermum*	ترکیه	وحشی
۲	TN. ۴۶۲۷	*C. reticulatum*	ترکیه	وحشی
۳	TN. ۴۵۶۳	*C. reticulatum.*	ترکیه	وحشی
۴	TN. ۴۵۵۷	*C.reticulatum*	ترکیه	وحشی
۵	KC. ۲۱۵۳۶۲	*C.arietinum*	ایران	زراعی
۶	KC. ۲۱۶۲۷۷	*C. arietinum*	ایران	زراعی
۷	TN. ۵۲۹۰	*C. bijigum*	ایران	وحشی
۸	TN. ۵۳۵۵	*C. bijigum*	ایران	وحشی
۹	TN. ۵۳۵۶	*C. bijigum*	ایران	وحشی
۱۰	TN. ۵۳۶۹	*C. bijigum*	ایران	وحشی

در ابتدا به منظور تسهیل جوانه‌زنی نخودهای وحشی، خفتگی بذرهای مربوطه با کاربرد تیمارهای از قبیل خیساندن و سمباده زدن و خراش دهی برطرف شد. بذرهای آماده شده پس از ضدعفونی شدن در ظرف پتری دیش کشت شدند. پس از جوانه‌زنی و تولید یک تا ۲ برگچه، گیاهچه‌ها در لیوان‌های یکبار مصرف حاوی مخلوطی از (خاک، ماسه و پیت به نسبت حجمی ۱:۱:۲) کشت شده و در گلخانه قرار داده شدند. با رشد گیاهچه‌ها جهت دوام و پایداری هرچه بیشتر، گیاهان به گلدان‌های بزرگتر با همان ترکیب خاک منتقل شدند. خاک تهیه شده از نظر بافت اسیدیته و هدایت الکتریکی مورد آزمایش قرارگرفت (جدول ۲). کاشت به‌صورت ۲ گیاهچه در هر گلدان صورت گرفت. در طول دوره رشد گیاه هر ۲ هفته یکبار گلدان‌ها با کود فوماسکو کود دهی شدند و زمان

آبیاری به‌صورت بصری تعیین شد. باتوجه به گرمی هوا و تبخیر و نیاز گیاه آبیاری به‌صورت یک روز در میان تا زمان استقرار کامل گیاه صورت گرفت و پس‌ازآن آبیاری هر هفته ۲ بار صورت گرفت.

در طول دوره رشد گیاهان شرایط گلخانه در فتوپریود طبیعی، میانگین دمای روز ۲۵ و دمای شب ۱۸ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۶۰-۵۰ درصد حفظ شد. شکل ۱ تصویری از مراحل کشت گیاهان نخود وحشی را نشان می‌دهد.

جدول ۲- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک گلدان‌ها

ویژگی (واحد)	مقدار	ویژگی (واحد)	مقدار
بی‌کربنات (میلی اکی والان بر لیتر)	۵/۴	ماسه (%)	۵۹/۲۱
کلر (میلی اکی والان بر لیتر)	۱۷	سیلت (%)	۳۶/۰۱
کلسیم و منیزیم محلول (میلی اکی والان بر لیتر)	۳۶	رس(%)	۴/۷۸
سدیم محلول (میلی اکی والان بر لیتر)	۱۲/۵	بافت خاک	لوم شنی
هدایت الکتریکی (دسی زیمنس بر متر)	۴/۵۲	اسیدیته ds/m	۷/۶۵

شکل ۱- تصویری از مراحل جوانه‌دار کردن، کشت و رشد نخودهای وحشی در گلخانه

ارزیابی صفات فیزیولوژیکی: به دلیل بروز خطا در زمان نمونه‌برداری، اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیکی تنها در هفت ژنوتیپ از ده ژنوتیپ وارد شده در مطالعه و در مرحله رویشی گیاهان صورت پذیرفت. به این منظور پس از گذشت دو ماه از زمان انتقال نمونه‌ها به گلدان‌های بزرگ نسبت به اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیکی مبادرت شد. برای اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ (RWC) ابتدا پنجمین برگ توسعه‌یافته از بالا از هر گیاه جداشده و سپس وزن‌تر آنها با ترازوی دقیق آزمایشگاهی اندازه‌گیری شد. بعد ازآن برگ‌ها ابتدا با آب مقطر شستشو داده شد و سپس در آب مقطر دیونیزه غوطه‌ور شدند و به مدت ۱۶ ساعت در دمای ۴ ^{o}C در تاریکی قرار داده شدند (۲۳). سپس هرکدام از نمونه‌های برگی از ظرف خارج شد و به کمک کاغذ صافی آب اضافه آن‌ها گرفته شد و مجدداً توزین شد. به این ترتیب وزن تورژسانس برگ‌ها به دست آمد. سپس برای تعیین وزن خشک، نمونه‌ها در داخل انکوباتور با دمای ۷۰ ^{o}C به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شدند و مجدداً وزن آن‌ها اندازه‌گیری شد. سپس محتوای نسبی آب برگ‌بر اساس رابطه زیر محاسبه شد.

RWC (%) = [(وزن تورژسانس) − (وزن خشک)] / (وزن تورژسانس − وزن خشک) ×100

برای اندازه‌گیری درصد اتلاف آب برگ (RWL)، ابتدا از هر گیاه در هر گلدان پنجمین برگ توسعه‌یافته از بالا جدا شد و با ترازوی دقیق آزمایشگاهی وزن دقیق هر نمونه برگی اندازه‌گیری شد. سپس نمونه‌های برگی به مدت ۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و سپس مجدداً توزین گردید. درصد اتلاف آب برگ

از رابطه زیر محاسبه شد (۱۴ و۱۷).

RWL (%) = [(وزن پس از ۴ ساعت– وزن‌تر) / (وزن خشک– وزن‌تر)] ×100

برای اندازه‌گیری سطح برگ ویژه، نمونه‌های برگی از هر گیاه در هر گلدان جدا شد، پس از اندازه‌گیری سطح برگ‌ها، وزن خشک برگ‌ها با قراردادن نمونه‌های برگی در انکوباتور با دمای ۷۰°C برای مدت ۴۸ ساعت اندازه‌گیری شد. سطح برگ ویژه از نسبت سطح برگ‌ها به وزن خشک آنها محاسبه شد.

ارزیابی صفات بیوشیمیایی: صفات بیوشیمیایی در بذرهای هر ده ژنوتیپ مورد بررسی دراین مطالعه مورد ارزیابی قرارگرفت. به این منظور بذرها از گیاهانی که به ترتیب شرح داده شده در فوق کشت شده و در شرایط یکسانی رشد نموده بودند پس از مرحله رسیدگی کامل برداشت شده و برای اندازه‌گیری محتوای پروتئین، میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئید کل به شرح زیر مورد استفاده قرارگرفت.

برای اندازه‌گیری محتوای پروتئین دانه به روش کجلدال، ابتدا نمونه بذرهای خشک شده میکس شد و سپس با ترازو مقدار نیم گرم از نمونه توزین شده و داخل بالن ریخته شد. مقداری کاتالیزور (سولفات پتاسیم + سولفات مس و اکسید سدیم) اضافه شد و سپس به آن اسیدسولفوریک غلیظ اضافه کرده و برای انجام مرحله هضم بالن را روی شعله قرار داده تا زمانی که رنگ محلول از قهوه‌ای تیره به سبز تغییر کند. بعد از تغییر رنگ محلول به سبز هم ۳۰ دقیقه دیگر نیز محلول روی حرارت باقی ماند. زمانی که محلول درون بالن سرد شد به آن ۱۵۰–۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه و بالن به ست تقطیر وصل شد. با این عمل نیتروژن‌های نمونه تقطیرشده و در اسید بوریک ۳ درصد که به ست تقطیر وصل بود جمع شد. تجمع نیتروژن در آنجا موجب ایجاد رنگ سبز شد. سپس در مرحله آخر نیتروژن با اسید کلریک ۰/۱ نرمال تیتر شد که موجب تغییر رنگ محلول از سبز به صورتی شد و سپس با استفاده از اعداد بدست آمده و جاگذاری در رابطه زیر مقدار پروتئین را محاسبه شد (۳۴). در این فرمول m وزن نمونه، N نرمالیته اسید مصرفی، V حجم اسیدکلریدریک مصرفی، N درصد ازت و عدد ثابت ۱۴٪ عدد جرمی ازت را نشان می‌دهد.

$$\%N = \frac{V \times N \times \%14 \times 100}{m}$$

اندازه‌گیری فنل کل به روش کم و همکاران (۱۰) انجام شد. به این منظور ابتدا ۰/۱ میلی‌گرم بذر پودر شده با یک میلی‌لیتر محلول اسیدکلریدریک (شش مولار) و پنج میلی-لیتر محلول ۷۵ درجه متانول در آب مخلوط گردید. محلول حاصل در حمام آبی با دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت دو ساعت تکان داده شد. سپس اجازه داده شد تا دمای محلول به دمای اتاق کاهش پیدا کند و سپس با آب مقطر رقیق‌شده و حجم آن به ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد. یک میلی-لیتر از محلول با پنج میلی‌لیتر محلول فولین که نه برابر رقیق شده بود و ۱۵ میلی‌لیتر کربنات سدیم (غلظت هفت گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر) مخلوط گردید. محلول حاصل به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده و به‌خوبی تکان داده شد. مقدار جذب محلول پس از پایدار شدن در ۷۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در برابر شاهدی که تمامی مراحل استخراج را گذراند ولی بجای بذر پودر شده از آب مقطر در تهیه آن استفاده شد، قرائت گردید. تمامی مراحل استخراج توسط غلظت‌های گوناگون محلول اسید گالیک (۰/۴، ۱، ۱/۶ و ۲/۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) بجای عصاره تکرار و منحنی استاندارد رسم گردید. با استفاده از منحنی استاندارد مقدار کل ترکیبات فنلی موجود در عصاره اندازه-گیری و برحسب میکروگرم اسید گالیک موجود در یک گرم بذر پودر شده گزارش گردید (۱۰).

برای اندازه‌گیری محتوای فلاونوئید، ابتدا عصاره متانولی به روش ذکرشده در بند قبل تهیه شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره در ۱/۵ میلی‌لیتر متانول حل و ۰/۱ میلی‌لیتر

آلومینیوم کلراید ۱۰ درصد به آن اضافه شد. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر محلول پتاسیم استات ۱ مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر به این مخلوط اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. جذب مخلوط حاصل در طول‌موج ۴۱۵ نانومتر توسط اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد. برای تهیه شاهد به جای عصاره متانولی از متانول خالص استفاده شد و کلیه مراحل کار بر روی آن انجام شد. میزان فلاونوئید با استفاده از منحنی استاندارد براساس میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره گزارش شد (۱۲). آنالیز واریانس متناسب با طرح آزمایشی پیاده شده و مقایسه میانگین اثرات تیمارها در سطح احتمال (P<۰/۰۵) با کاربرد آزمون LSD در مقایسه با نخودهای زراعی با استفاده از نرم‌افزار SPSS16 انجام شد.

نتایج

تنوع صفات فیزیولوژیکی در میان گونه‌های مختلف نخود: نتایج مربوط به آنالیز واریانس صفات فیزیولوژیکی (جدول ۳) در بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی نشان داد که ازنظر صفات محتوای آب برگ و سطح برگ ویژه اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال (P<۰,۰۵) و ازنظر درصد اتلاف آب برگ و سطح برگ اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال (P<۰,۰۱) بین ژنوتیپ‌ها وجود دارد.

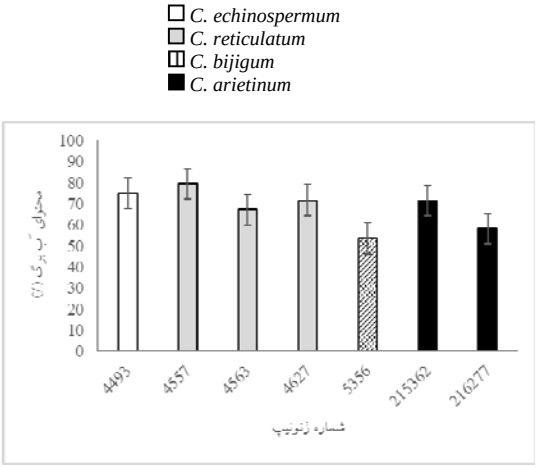
جدول ۳- تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیکی مورد بررسی در بین هفت ژنوتیپ مختلف نخود

منابع تغییرات (S/O/V)	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		محتوای آب برگ	سطح برگ	سطح برگ ویژه	درصد اتلاف آب
ژنوتیپ	۶	۳۴۲/۰۹۲*	۴۳۶۹۰/۱۳**	۰/۴۵۳*	۶۲۲/۰۶۹**
خطای آزمایش	۲۱	۱۰۶/۰۲۷	۳۹۷۰/۹۷۳	۰/۱۰۲	۷/۴۵۵
کل	۲۷				

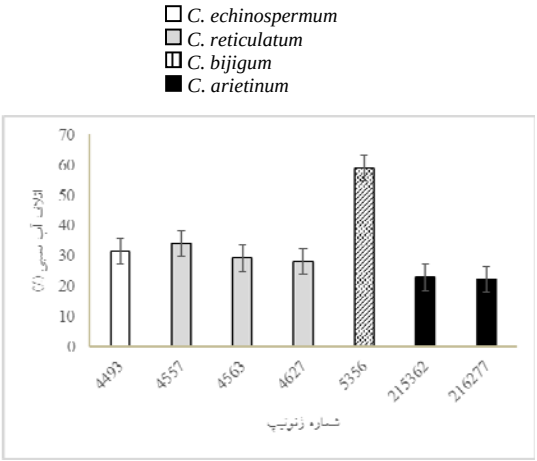
**، * به ترتیب بیانگر معنی‌دار بودن اثر ژنوتیپ در سطح احتمال ۱٪، ۵٪ است.

درصد محتوای آب برگ در گونه زراعی ۶۵ درصد، در *C.bijigum* ۵۵ درصد، در *C.reticulatum* ۷۰ درصد و در *C.echinospermum* ۷۵ درصد بود. مقایسه درصد محتوای آب برگ در ژنوتیپ‌های نخود، با روش LSD نشان داد ژنوتیپ ۲۱۶۲۷۷ گونه زراعی با ژنوتیپ ۴۵۵۷ گونه *C.reticulatum* و گونه *C.echinospermum* در درصد محتوای آب برگ اختلاف معنی‌دار داشتند. کمترین محتوای آب برگ مربوط به گونه *C.bijigum* بود و محتوای آب برگ این‌گونه با دیگرگونه‌های وحشی اختلاف معنی‌داری نشان داد (شکل ۲).

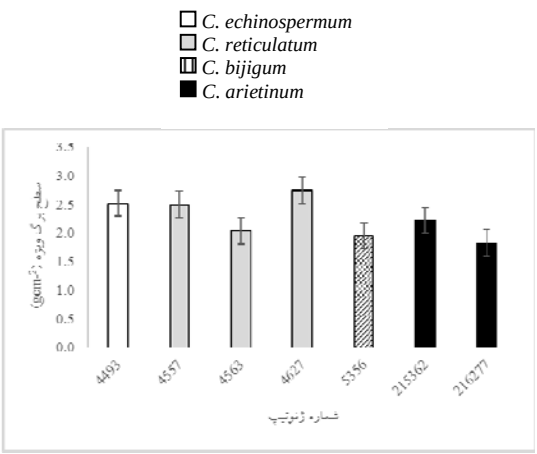
میانگین درصد اتلاف آب نسبی در گونه زراعی ۲۵ درصد، در *C.bijigum* ۶۰ درصد، در *C.reticulatum* ۳۰ درصد و در *C. echinospermum* نیز۳۰ درصد بود. مقایسه اتلاف آب نسبی در ژنوتیپ‌های نخود، با روش LSD نشان داد اختلاف معنی‌داری بین درصد اتلاف آب‌گونه *C.bijigum* و سایر گونه هاوجود دارد. هم‌چنین درصد اتلاف آب برگ ژنوتیپ ۴۵۵۷ گونه*C.reticulatum* به‌صورت معنی‌داری بیشتر از گونه‌ی زراعی بود (شکل ۳).



شکل ۲- تنوع درصد محتوای آب برگ در ژنوتیپ‌های مختلف نخود. گونه *C.arietinum* تنها گونه زراعی و سایر گونه‌ها، گونه‌های وحشی جنس نخود می‌باشند.



شکل ۳- تنوع درصد اتلاف آب در ژنوتیپ‌های مختلف نخود. گونه *C.arietinum* تنها گونه زراعی و سایر گونه‌ها، گونه‌های وحشی جنس نخود می‌باشند.



شکل ۴- تنوع سطح برگ ویژه در ژنوتیپ‌های مختلف نخود. گونه *C.arietinum* تنها گونه زراعی و سایر گونه‌ها، گونه‌های وحشی جنس نخود می‌باشند.

میانگین سطح برگ ویژه در گونه زراعی ۲/۱۰ گرم بر سانتی‌متر مربع، در گونه *C.bijigum* ۲گرم بر سانتی-مترمربع، در گونه *C.reticulatum* ۲/۴۰ گرم بر سانتی‌متر مربع و در گونه *C.echinospermum* ۲/۴۰ گرم بر سانتی-مترمربع می‌باشد. بنابراین به‌طور کلی سطح برگ ویژه در گونه زراعی کمتر از گونه‌های وحشی است (شکل ۴).

تنوع صفات بیوشیمیایی در میان گونه‌های مختلف نخود: نتایج مربوط به آنالیز واریانس صفات بیوشیمیایی (جدول ۴) در بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی نشان داد که ازنظر صفات محتوای پروتئین، فلاونوئید و فنل کل اختلاف معنی‌داری بین ژنوتیپ‌ها در سطح احتمال (P<۰,۰۱) وجود دارد.

جدول ۴- تجزیه واریانس صفات بیوشیمیایی مورد بررسی در بین ده ژنوتیپ مختلف نخود

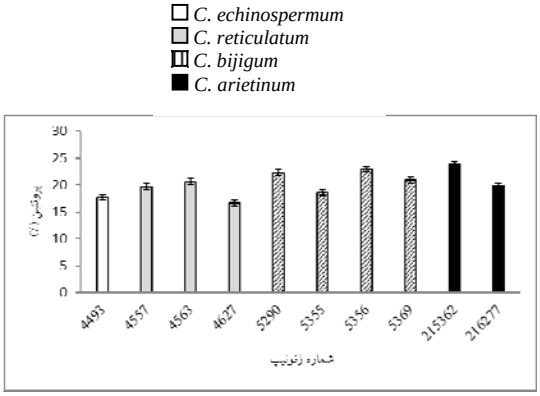
منابع تغییرات (S/O/V)	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		محتوای پروتئین	محتوای فلاونوئید	محتوای فنل کل
ژنوتیپ	۹	۲۱/۵۵۱**	۰/۰۶۴**	۰/۰۰۴**
خطای آزمایش	۳۰	۱	۰/۰۰۴	۰
کل	۳۹			

** بیانگر معنی‌دار بودن اثر ژنوتیپ در سطح احتمال ۱٪ است.

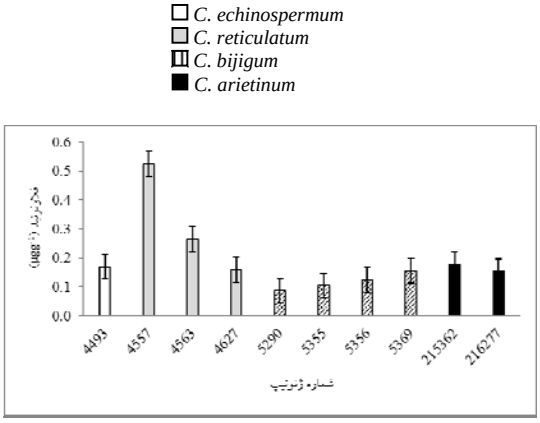
مقایسه محتوای پروتئین در میان گونه‌های مختلف نشان داد (شکل ۵)، میانگین میزان پروتئین در گونه زراعی ۲۱درصد، در *C.bijigum* ۲۱ درصد، در *C.reticulatum* ۱۸درصد و در *C.echinospermum* ۱۷ درصد می‌باشد. مقایسه میانگین میزان پروتئین، با روش LSD نشان داد اختلاف معنی‌داری بین میزان پروتئین گونه‌ی زراعی و گونه *C.bijigum* وجود ندارد اما محتوای پروتئین گونه‌ی زراعی به‌صورت معنی‌داری بیشتر از دو گونه دیگر است. در بین ژنوتیپ‌های مختلف تمام گونه‌ها نیز اختلاف معنی-داری وجود دارد.

مقایسه محتوای فلاونوئید در میان گونه‌های مختلف نشان داد، میانگین این صفت در گونه زراعی ۰/۱۷ میکروگرم بر گرم، در *C.bijigum* ۰/۱۲میکروگرم بر گرم، در *C.reticulatum* ۰/۳۲ میکروگرم بر گرم و در *C.echinospermum* ۰/۱۷ میکروگرم بر گرم بود. مقایسه میانگین میزان فلاونوئید، با روشLSD نشان داد میزان

فلاونوئید ژنوتیپ های مختلف گونه *C.reticulatum* با یکدیگر اختلاف معنی‌دار نشان دادند. در گونه‌های *C.bijigum* و گونه زراعی اختلاف معنی‌داری بین ژنوتیپ های مختلف مشاهده نشد. ژنوتیپ ۴۵۵۷ و ۴۵۶۳ گونه‌ی *C.reticulatum* با یکدیگر و با سایر ژنوتیپ‌های دیگر گونه‌ها نیز اختلاف معنی‌داری نشان دادند (شکل ۶).



شکل ۵- تنوع درصد پروتئین در بذر ژنوتیپ های مختلف نخود. گونه *C.arietinum* تنها گونه زراعی و سایر گونه‌ها، گونه‌های وحشی جنس نخود می‌باشند.

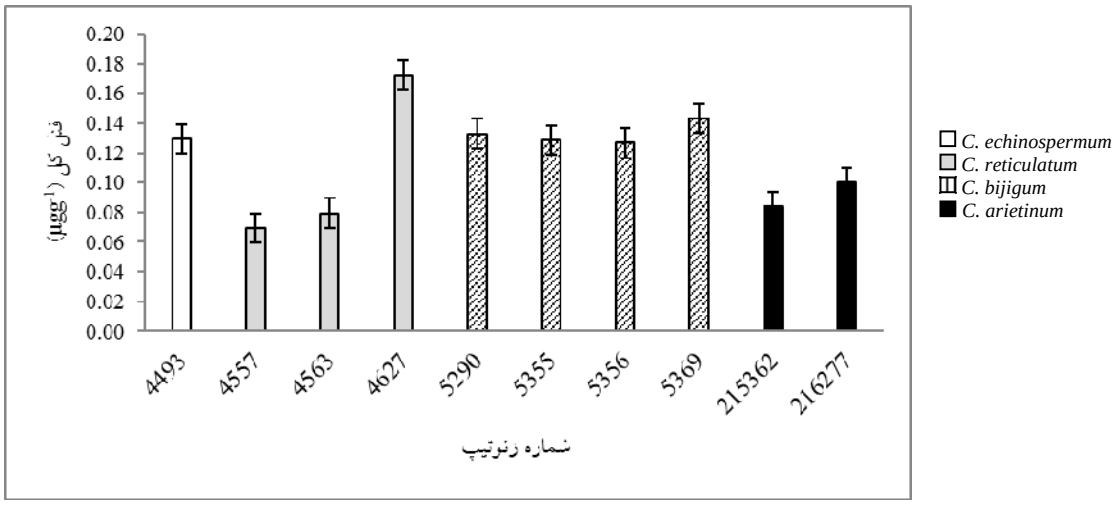


شکل ۶- تنوع میزان فلاونوئید در بذر ژنوتیپ های مختلف نخود. گونه *C.arietinum* تنها گونه زراعی و سایر گونه‌ها، گونه‌های وحشی جنس نخود می‌باشند.

میانگین میزان فنل کل در کلیه گونه‌های وحشی از گونه زراعی بیشتر بود. میانگین میزان فنل کل در گونه زراعی ۰/۰۹ میکروگرم بر گرم، در *C.bijigum* ۰/۱۳میکروگرم بر گرم، در *C.reticulatum* ۰/۱۱ میکروگرم بر گرم و در *C.echinospermum* ۰/۱۳ میکروگرم بر گرم می‌باشد. مقایسه میانگین میزان فنل کل، با روش LSD نشان داد، اگرچه میزان فنل کل تنوع قابل‌ملاحظه ای بین ژنوتیپ‌های مختلف گونه *C.reticulatum* دارد اما این محتوا در کلیه ژنوتیپ‌های گونه *C.bijigum* و *C.echinospermum* در سطح بالایی وجود دارد. به‌طوری که اختلاف معنی‌داری ژنوتیپ‌های این دو گونه با ژنوتیپ های گونه زراعی دارند. بین میزان فنل کل ژنوتیپ ۴۶۲۷ گونه‌ی *C.reticulatum* با سایر ژنوتیپ‌های دیگر گونه‌ها اختلاف معنی‌داری وجود دارد. در ژنوتیپ‌های مختلف گونه زراعی با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ازنظر محتوای ترکیبات فنلی دیده نشد و به‌صورت معنی‌داری این میزان از محتوای ترکیبات فنلی گونه‌های وحشی پایین‌تر بود (شکل ۷).

بحث

نتایج مربوط به آنالیز واریانس صفات مختلف نشان‌دهنده وجود تنوع قابل‌ملاحظه ازنظر صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مورد بررسی در بین ژنوتیپ‌های مختلف بود. اگرچه اختلاف معنی‌داری بین میزان پروتئین گونه‌ی زراعی و گونه *C.bijigum* دیده نشد اما گونه‌ی زراعی با دو گونه *C. echinospermum* و *C.reticulatum* در میزان پروتئین اختلاف معنی‌دار نشان داد. در بین ژنوتیپ‌های مختلف تمام گونه‌ها نیز اختلاف معنی‌داری ازنظر این صفت وجود داشت. این نتیجه نشان‌دهنده وجود تنوع ژنتیکی بالا ازنظر میزان پروتئین نه تنها در گونه‌های مختلف بلکه در میان ژنوتیپ‌های مختلف یک‌گونه می‌باشد و نشان‌دهنده امکان بهره‌برداری از این تنوع برای اصلاح و بهینه‌سازی این صفت می‌باشد.



شکل ۷- تنوع میزان فنل کل در بذر ژنوتیپ های مختلف نخود. گونه *C.arietinum* تنها گونه زراعی و سایر گونه‌ها، گونه‌های وحشی جنس نخود می‌باشند.

اکامپو و همکاران (۳۰) در ارزیابی ۲۲۸ توده از گونه‌های وحشی یکساله نخود برای جستجوی محتوای پروتئین دانه بیشتر از نخود زراعی در مرکز بین‌المللی تحقیق کشاورزی در نواحی خشک تنوع قابل‌ملاحظه ای را بین گونه‌های مختلف مشاهده نمودند، طبق این مشاهدات تنوع محتوای پروتئین دانه از ۱۶۸ گرم بر کیلوگرم در *C.cuneatum* تا ۲۶۸ گرم بر کیلوگرم در *C.pinnatifidum* با میانگین محتوای پروتئین دانه ۲۰۷ گرم بر کیلوگرم در میان هشت گونه وحشی متغیر بود.

مقایسه محتوای فلاونوئید در میان گونه‌های مختلف نشان‌دهنده تنوع درون گونه‌ای بالا ازنظر این صفت در میان ژنوتیپ های مختلف گونه *C.reticulatum* می‌باشد. وجود تنوع بالا ازنظر میزان فلاونوئید در گونه *C.reticulatum* نشان می‌دهد که می‌توان از این‌گونه برای اصلاح و افزایش محتوای فلاونوئید گونه زراعی بهره جست تا به این شکل قدم مثبتی برای تهیه غذاهای کاربردی (functional food) و سالم‌سازی تغذیه در جهت افزایش خصوصیات ضد سرطانی غذاها برداشت. میانگین میزان فنل کل در کلیه گونه‌های وحشی از گونه زراعی بیشتر بود. اگرچه میزان فنل کل تنوع قابل‌ملاحظه ای بین ژنوتیپ‌های مختلف گونه *C.reticulatum* نشان داد اما این محتوا در کلیه ژنوتیپ‌های گونه *C.bijigum* و *C.echinospermum* در سطح بالایی وجود داشت.

وفور ترکیبات فنلیک در حبوبات، این مواد را به‌عنوان منابع غذایی مهم سرشار از آنتی‌اکسیدان‌های فعال نموده است. مقادیر فعالیت پلی فنل‌ها، فلاونوئیدها و آنتی‌اکسیدان‌ها میان حبوبات مختلف به شدت فرق می‌کند (۳۹، ۴۸ و ۴۹). نخود منبع خوبی برای ترکیبات بیواکتیو (پلی فنل‌ها و فلاونوئیدها) است (۵و ۱۳). پوسته رنگی نخود حاوی سطح بالای ترکیبات پلی فنلیک است (۱۶). تنوع رنگ پوشش بذر نخود رنگی را مدلی بالقوه و قوی برای بررسی‌های غذاهای کاربردی ساخته است. نتایج به‌دست‌آمده در این تحقیق نشان می‌دهد که اصلاح و بهینه‌سازی محتوای ترکیبات فنلی گونه زراعی با بهره‌گیری از تنوع موجود در ژرم‌پلاسم خویشاوندان وحشی آن وجود دارد. ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها به دلیل داشتن خواص آنتی‌اکسیدانی منحصر به فرد، امروزه نقش بسیار مهمی در سالم‌سازی تغذیه بشر برای در دسترس قرارگرفتن رژیم ضد سرطان دارند و از اینرو می‌توان از این خزانه ژنی ارزشمند برای افزایش کیفیت تغذیه‌ای گونه

زراعی استفاده نمود. علاوه بر این با توجه به اینکه یکی از اعمال بیولوژیکی فلاونوئیدها نقش حفاظتی آنها در برابر تنش‌ها به‌خصوص دفاع در برابر پاتوژن‌ها و تحمل درجه حرارت پایین می‌باشد (۳۶ و۳۸)، امروزه توجه خاصی به افزایش سطح بیان این ترکیبات در گیاه از طریق روش‌های اصلاح سنتی و یا انتقال ژن برای افزایش توان تحمل آن در مواجهه با عوامل تنش‌زا می‌شود. از اینرو این اعتقاد وجود دارد که تحقیقات در مورد وجود فلاونوئیدها در گونه‌های وحشی نخود که مقاومت به بیماری و آفات را تضمین می‌کنند باید تقویت شوند (۲۶). در بررسی بر روی گونه‌های نخود وحشی مشخص‌شده است که گونه‌هایی که ایزوفلاونوئید بیشتری در مقایسه با بقیه دارند خاصیت ضد تغذیه‌ای بیشتری برعلیه *Helicovera armigera*، مهم‌ترین آفت نخود دارند (۳۲).

مقایسه درصد محتوای آب برگ در ژنوتیپ‌های نخود نشان داد که درصد محتوای آب برگ در گونه‌های *C.reticulatum* و *C.echinospermum* بیشتر از گونه زراعی و در گونه *C.bijigum* کمتر از گونه زراعی بود. محتوای آب نسبی برگ یک شاخص کلیدی نشان‌دهنده درجه هیدراتاسیون بافت یا سلول است که برای بهینه انجام شدن اعمال فیزیولوژیکی و فرآیندهای رشد ضروری است (۴). اختلاف در محتوای نسبی آب برگ می‌تواند برای انتخاب ژنوتیپ‌های با عملکرد بالا که تورگر سلول را برای تولید عملکرد نسبی بالاتر در شرایط تنش حفظ می‌کنند به کار گرفته شود (۷). محتوای نسبی آب بالای ژنوتیپ‌های مقاوم احتمالاً به توانایی بهتر آنها برای دریافت آب در پتانسیل‌های پایین آب خاک مربوط است، این ویژگی موجب حفظ تورگر و در نتیجه فرایندهای وابسته به تورگر نظیر باز بودن روزنه‌ها، فتوسنتز، رشد بخش هوایی و گسترش و توسعه ریشه در اعماق خاک می‌شود (۶). بنابراین از بالا بودن محتوای نسبی آب برگ گونه‌های *C.reticulatum* و *C.echinospermum* می‌توان برای افزایش تحمل خشکی گونه زراعی از طریق تلاقی بین‌گونه‌ای و یا از طریق روش‌های انتقال ژن بهره برد.

مقایسه میانگین سطح برگ ویژه در گونه‌های مختلف نخود نشان داد که سطح برگ ویژه در گونه زراعی و گونه *C.bijigum* به ترتیب کمتر از سایر گونه‌های وحشی است. بنابراین در این صفت برتری با گونه زراعی و گونه *C.bijigum* است. زیرا برگ‌های با سطح برگ ویژه پایین‌تر معمولاً کارایی مصرف آب بالاتری داشته و ظرفیت فتوسنتزی بالاتری به ازاء هر واحد سطح برگ دارند. کاهش سطح برگ موجب کاهش از دست رفتن آب از طریق تعرق می‌شود. این کاهش می‌تواند به‌واسطه افزایش ریزش برگ‌ها در تنش و یا تغییر در مورفولوژی برگ‌ها با کاهش تعداد برگچه‌ها و یا کوچک شدن برگ‌ها صورت پذیرد (۱۵). سطح برگ ویژه نشان دهنده دانسیته و ضخامت برگ است. سطح برگ ویژه یک پارامتر انعطاف‌پذیر است که بستگی به فاکتورهای متعددی ازجمله سن برگ و شرایط رشد دارد و درواقع نشان دهنده اثر شرایط محیطی بر ساختمان برگ است (۲۷). گونه‌های با سطح ویژه برگ پایین‌تر، معمولاً برگ‌های کوچکتر و ضخیم‌تری دارند و تعداد واحد فتوسنتز کننده بیشتری در واحد سطح برگ دارند. این گیاهان درواقع دارای یک مکانیسم حفاظتی هستند که ازیک‌طرف برای انجام فتوسنتز کافی و راه انداختن فرایندهای ضروری سطح برگ را در حد مطلوب حفظ کرده و از طرف دیگر از اتلاف آب بیشتر به‌واسطه داشتن سطح تبخیر و تعرق بیشتر جلوگیری می‌نماید (۲۴).

پوراسماعیل و همکاران (۳۳)در بررسی صفات فیزیولوژیکی مؤثر در تحمل خشکی در سه گونه وحشی نخود نشان دادند که گونه‌های مختلف مکانیسم‌های متفاوتی را برای کاهش اثرات مخرب تنش خشکی به کار می‌گیرند. بر این اساس کارایی بالای فتوسنتز از طریق حفظ نسبت بالای Fv/Fm در *C. echinospermum* و *C.*

reticulatum میزان فتوسنتز بیشتر در واحد سطح برگ از طریق حفظ محتوای کلروفیل بالاتر در *C. judaicum* و *C. reticulatum* مکانیسم‌های احتمالی تحمل خشکی در این گونه‌ها گزارش شدند. بنابراین اگرچه گونه *C.bijigum* محتوای آب پایین دارد اما با داشتن سطح برگ ویژه پایین می‌تواند تحمل بهتری نسبت به خشکی نشان بدهد. این مسئله نشان می‌دهد گونه‌های مختلف مکانیسم‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی بالقوه متفاوتی دارند که این مکانیسم‌ها به سازگاری بهتر آنها با شرایط اکولوژیکی‌شان کمک می‌کند. وجود این اختلافات نوید دهنده امکان بهره‌برداری از پتانسیل‌های موجود در خویشاوندان وحشی برای بهبود صفات گونه‌های زراعی می‌باشد.

نتیجه‌گیری

تنوع ژنتیکی اساس اصلاح نباتات است، ازاین‌رو ارزیابی تنوع ژنتیکی در گیاهان زراعی و خویشاوندان وحشی آنها برای برنامه‌های اصلاح نباتات و حفاظت از ذخایر توارثی از اهمیت زیادی برخوردار است. شناخت تنوع ژنتیکی و تخمین میزان تنوع ژنتیکی به‌عنوان یکی از گام‌های پایه‌ای و اساسی در نگهداری و حفاظت مواد ژنتیکی در بانک‌های ژن و اجرای برنامه‌های به نژادی است. تجربیات به‌دست‌آمده در این تحقیق نشان می‌دهد که تنوع بالقوه نه تنها در میان گونه‌های مختلف بلکه در بین ژنوتیپ های مختلف یک‌گونه وجود دارد که از این تنوع می‌توان برای بالابردن پایه ژنتیکی ارقام زراعی استفاده نمود. از اینرو ضرورت دارد تا ساختار ژنتیک گونه‌های وحشی به‌خوبی مورد بررسی قرار بگیرد تا بتوان از ظرفیت‌های بالقوه موجود در این نمونه‌ها برای پیشبرد اهداف اصلاحی و تأمین امنیت غذایی استفاده نمود.

منابع

۱- سمانه اسدی صنم، س.، زوازه، م.، اله پیردشتی، ه.، سفیدکن، ف.، و نعمت‌زاده، ق. ع.، ۱۳۹۴. بررسی پاسخ‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک گیاه دارویی سرخارگل (*Echinacea purpurea* (L.) Moench) به تنش دمای پایین. فرایند و کارکرد گیاهی، ۴(۱۲)، صفحات ۲۸-۱۱.

۲- فیروزه، ر.، خاوری نژاد، ر. ع.، نجفی، ف.، و سعادتمند، س.، ۱۳۹۶. اثرات جیبرلین بر محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی، پرولین، فنل و فلاونوئید در گیاه دارویی مرزه (*Satureja hortensis* L.) تحت تنش شوری، مجله پژوهش‌های گیاهی، ص ۸۸۹-۹۰۱.

۳- نیک‌رو، م.، خلدبرین، ب.، نژادستاری، ط.، و نجفی، ف.، ۱۳۹۵. اثر سدیم نیتروپروساید (SNP) بر برخی عوامل فیزیولوژیکی گیاه کلزا (*Brassica napus* L.) تحت تنش خشکی، مجله پژوهش‌های گیاهی، ۲۹(۳)، صفحات ۶۴۴-۶۵۸.

4- Ali, M. A., Abbas, A., Niaz, S. H., Zulkiffal, M., and Ali, S. H., 2009. Morpho-physiological Criteria for drought Tolerance in Sorghum (*Sorghum bicolor*) at Seedling and Post-anthesis Stages. Int J Agri Biol, 11, PP: 674-680.

5- Aparicio-Fernandez, X., Reynoso-Camacho, R., Castano Tostado, E., Garcia-Gasca, T., Gonzalez de Mejie, E., Guzman-Maldonado, S., Elizondo, G., Yousef, G. G., Lila, M. A., and Loarca-Pina, G., 2008. Antiradical capacity and Induction of apoptosis in HeLa cells by a *Phaseolus vulgaris* extract. Plant Foods for Human Nutrition, 63, PP: 35-40.

6- Bajji, M., Lutts, S., and Kinet, J. M., 2000. Physiological changes after exposure to and recovery from polyethylene glycol-induced water deficit in callus cultures issued from durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivars differing in drought resistance. Journal of Plant Physiology, 156, PP: 75-83.

7- Bayoumi, T. Y., Eid, M. H., and Metwali, E. M., 2008. Application of physiological and biochemical indices as a screening technique for drought tolerance in wheat genotypes. African Journal of Biotechnology, 7, PP: 2341-2352.

8- Berger, J., Aboo, S., and Turner, N. C., 2003. Ecogeography of annual wild *Cicer* Species. Crop Science, 43, PP: 1076-1090.

9- Berger, J., Turner, N. C. T., and Buck, R. P., 2006. Wild and cultivated *Cicer* species different evolutionary paths lead to different phonological strategies that can be exploited to broaden the adaptation of chickpea (*C.*

arietinum L.). 4th International Crop Science congress.

10- Çam, M., Hısıl, Y., and Durmaz, G., 2009. Classification of eight pomegranate juices based on antioxidant capacity measured by four methods. Food Chemistry, 112, PP: 721-726.

11- Canci, H, and Toker, C., 2009. Evaluation of yield criteria for drought and heat resistance in Chickpea (*Cicer arietinum* L.). Journal of Agronomy and Crop Science, 195(1), PP: 47–54.

12- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., and Chern, J. C., 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Journal of Food and Drug Analysis, 10, PP: 178-182.

13- Dong, M., He, X., and Liu, R. H., 2010. Phytochemicals of black bean seed coats: isolation, structure elucidation and their antiproliferative and antioxidative activities. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55 (15), PP: 6044-6051.

14- Farshadfar, E., and Sutka, J., 2002. Screening drought tolerance criteria in maize. Acta Agronomical Hungarica, 50 (4), PP: 411-416.

15- Gaur, P. M., Krishnamurthy, L., and Kashiwagi, J., 2008. Improving drought avoidance root traits in chickpea. Current Status of Research at ICRISAT, 11, PP: 3-11.

16- Heimler, P., Vignolini, M., Dini, G., and Romani, A., 2005. Rapid Tests to Assess the Antioxidant Activity of Phaseolus vulgaris L. Dry Beans. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53, PP: 3053-3056.

17- Gavuzzi, P., Rizza, F., Palumbo, M., Campanile, R. G., Ricciardi, G. L., and Borghi, B., 1997. Evaluation of field and laboratory predictors of drought and heat tolerance in winter cereals. Canadian Journal of Plant Science, 77, PP: 523-531.

18- Iruela, M., Rubio, J., Cubero, J. L., Gil, J., and Millan, T., 2002. Phylogenetic analysis in the genus *Cicer* and cultivated chickpea using RAPD and ISSR markers. Theoretical Applied Genetics. 104, PP: 643-651.

19- Iwashina, T., 2003. Flavonoide function and activity to plants and other organisms. Biological Sciences in Space, 17 (1), PP: 24-44.

20- Jackson, M. B., Ishizawa, K., and Ito, O., 2009. Evolution and mechanisms of plant tolerance to flooding stress. Annals of Botany, 103, PP: 137-42.

21- Jamshidi, M., Ahmadi, H. R., Rezazadeh, S. H, fathi, F., and Mazanderani, M., 2010. Study on phenolicd and anioxident activity of some selected plant of Mazandaran province. Medicinal Plant, 9 (34), PP: 177-183 (In persian).

22- Johnson, R. C., Johnston, W. J., Golob, C. T., Nelson, M. C., and Soreng, R. J., 2002. Characterization of the USDA Poapratensis collection using RAPD markers and agronomic descriptors. Genet. Resource and Crop Evolution, 49, PP: 349-361.

23- Kumar, A., and Elston, J., 1992. Genotypic differences in leaf water relation between *Brassica Juncea* and *B. napus*. Annals of Botany, 70, PP: 3-9.

24- Khaliq, I., Arshad, A., and Ahsan, M., 2008. Awns and flag leaf contribution towards grain yield in spring wheat (*Triticum aestivum* L.). Cereal Research Communication, 36, PP: 65-76.

25- Mallikarjuna, N., Jadhav, D., Nagamani, A. V., and Hoisington D. A., 2007. Progress in interspecific hybridization between *Cicer arietinum* and wild species *C. bijugum*. Journal of SAT Agricultural Research, 5(1), PP: 1-3.

26- Mallikarjuna, N., Coyne, C., Cho, S., Rynearson, S. H., Rajesh, P. N., Jadhav, D. R., and Muehlbauer F. J., 2011. Cicer. In: Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources, PP: 63-82.

27- Marron, N., Dreyer, E., Bodouresque, E., Delay, D., Petit, J. M., Delmotte, F. M., and Brignolas, F., 2003. Impact of successive drought and re watering cycles on growth and specific leaf area of two *Populus* clones. Tree Physiol, 23, PP: 1225-1235.

28- Nageswara Rao, R. C., Udaykumar, M., Farquhar, G. D., Talwar, H. S., and Prasad, T. G., 1995. Variation in carbon isotope discrimination and its relationship to specific leaf area and ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase content ingroundnut genotypes. Aust J Plant Physiol, 22, PP: 545-551.

29- Nigam, S. N., and Aruna, R., 2008. Stability of soil plant analytical development (SPAD) chlorophyll meter reading (SCMR) and specific leaf area (SLA) and their association across varying soil moisture stress conditions in groundnut (*Arachis hypogaea* L.). Euphytica, 160, PP: 111-117.

30- Ocampo, B., Robertson, L. D., and Singh, K. B., 1998. Variation in seed protein content in the annual wild *Cicer* species. Journal of the

Science of Food and Agriculture, 78(2), PP: 220-224.

31- Philip, D. A., Lsdorf, M., and Ahmad, M., 2007. Wild Relatives and biotechnological approaches. In: Yadav, S.S., McNeal, D. and Stevenson P.C (eds.), Lentil: An Ancient Crop for Modern Times, PP: 225-240.

32- Pourcel, L. J., Routaboul, V., Cheynier, L., Lepiniec and Debeaujon, I., 2006. Flavonoid oxidation in plants: from biochemical properties to physiological functions. Trends in Plant Science, 12 (1), PP: 29-36.

33- Pouresmael, M., Khavari-Nejad, R. A., Mozafari, J., Najafi, F., and Moradi, F., 2012. Wild *Cicer* species response to drought stress through different mechanisms. Advances in Environmental Biology, 6(11), PP: 2966-2975.

34- Ryan, J., Estefan, G., and Rashid, A., 2002. Soil and plant analysis laboratory manual, 2nd edn, ICARDA and NARC: Aleppo, Syria, and Islamabad, Pakistan.

35- Razali, N., Razab, R., Mat Junit, S., and Abdulaziz, A., 2008. Radical scavenging and reducing properties of extracts of cashew shoots (*Anacardium occidentale*L.). Food Chemistry 111, PP: 38–44.

36- Rivero, R. M., Ruiz, J. M., Garcı´a, P. C., Lo´pez-Lefebre, L. R., Sa´nchez, E., and Romero, L. S., 2001. Resistance to cold and heat stress: accumulation of phenolic compounds in tomato and watermelon plants .Plant Science, 160, PP: 315–321.

37- Robertson, L. D., Ocampo, B., and Singh, K. B., 1997. Morphological variation in wild annual Cicer species in comparision to the cultigen. Euphytica, 95, 319 p.

38- Schulz, E., Tohge, T., Zuther, E., Fernie, A. R., and Hinchaa, D. K., 2016. Flavonoids are determinants of freezing tolerance and cold acclimation in *Arabidopsis thaliana*. Sci Rep., 6, 34027 p. doi: 10.1038/srep34027

39- Segev, A., Badani, H., Kapulnik, Y., Shomer, I., Oren-Shamir, M., and Galili, S., 2010. Determination of polyphenols, flavonoids and antioxsidant capacity in colored chickpea (*Cicer arietinum* L.). Journal Food Science, 75, PP: 115-119.

40- Sharma, H. C., Bhagwat, M. P., Pampapathy, G., Sharma, J. P., and Ridsdill-Smith, T. J., 2006. Prennial wild relatives of chickpea as potential sources of resistance to *Helicoverpa armigera*. Genetic Resource and Crop Evolution, 53, PP: 131-138.

41- Shun, Y. M., wen, Y. H., and Yongcy jian, G. S., 2003. Two benzyl dihydroflavones from *Phellinus igniarius*. Chinese Chemical Letters, 14 (8), PP: 810-813.

42- Simmonds, M. S. J., 2003. Flavonoid–insect interactions: recent advances in our knowledge. Phytochemistry, 64, PP: 21–30.

43- Singh, R. J., Chung, G. H., and Nelson, R. L., 2008. Landmark research in legumes. Genome, 50, PP: 525-537.

44- Vogt, T., 2010. Phenylpropanoid biosyntesis, Molecular Plant, 3, PP: 2-20.

45- Winkel-Shirley, B., 2001. Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology. Plant Physiology, 126, PP: 485–493.

46- Winter, S. R., Musik, J. T., and porter, K. B., 1998. Evaluation of screening Technique for Breeding, Drought- resistant winter wheat. Crop Science, 28, PP: 512-516.

47- Wright, G. C., Nageswara Rao, R. C., and Farquhar, G. D., 1994. Water-use efficiency and carbon isotope discrimination in peanut under water deficit conditions, Crop Science, 34, PP: 92-97.

48- Xu, B. J., and Change, S. K. C., 2007. A comparative study on phenolic profiles and antioxidant activities of legumes as affect by extraction solvents. Journal Food Science, 72, (2), PP: 159-166.

49- Xu, B. J., Yuan, S. H., and Change, S. K. C., 2007. Comparative analyses of phenolic composition, antioxidant capacity and color of cool season legumes and other selected food legumes. Journal Food Science, 72, PP: 167-177.

Physiological and biochemical traits variability in *Cicer* species

Mafakheri N.,[1] Pouresmael M.,[*2] Mansourifar C.[3] and Asilan K.S.[3]

[1] **Dept. of Agricultural Science, Payam Noor University, Karaj, I.R. of Iran.**

[2] **Dept. of Genetics and National Plant Gene Bank of Iran, Seed and Plant Improvement Institute, Agricultural research, education and extension organization, Karaj, I.R. of Iran.**

[3] **Dept. of Agricultural Science, Payam Noor University, Karaj, I.R. of Iran.**

Abstract

Wild relatives which constitute the crop gene pool, have an inseparable role in construction of new breeding programs. The present study aims to compare diversity of leaf water content, excised leaf water rate specific leaf area, flavonoids, total phenol and protein content traits among three annual wild chickpea species (*Cicer echinospermum*, *C. reticulatum* and *C. bijigum*) with cultivated one (*C. arietinum*).With this purpose an experiment including 10 treatments and 4 repetition was conducted in Randomly Complete Design at greenhouse in National Plant Gene Bank of Iran during 2014-15. Significant difference has been observed between genotypes from all measured biochemical and physiological traits point of view. Relative water content and leaf relative water loss in *C.arietinum* statistically was similar to C. *reticulatum* and C. *echinospermum* Relative water content of *C. bijigum* significantly was lower than other species. While leaf relative water loss in this species significantly was more than other species. Average of protein amount was 21% in *C.arietinum* and *C. bijigum*, 18% in *C. reticulatum* and 17% in *C. echinospermum*. Minimum amount of specific leaf area and maximum amount of total phenol content was found in *C. bijigum*. There was a considerable variety between *C. reticulatum* genotypes from flavonoids and total phenol content point of view, which can be used for further achievement in breeding programs for providing functional food or introduction of resistance genotype to pest and disease.

Key words: *Cicer* spp., annual wild chickpea, phenolic component, protein content, genetic diversity.