

## مطالعه تاثیر کم آبیاری و نیتروژن بر صفات فیزیولوژیک اکوتیپ های گیاه حنا (*Lawsonia inermis*) در منطقه جیرفت

حسن سرحدی\*، دانشجوی دکتری زراعت دانشگاه آزاد اسلامی واحد تاکستان و عضو هیات علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد جیرفت

جهانفر دانشیان، استاد پژوهش سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی

سیدعلیرضا ولدآبادی، دانشیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد تاکستان

حسین حیدری شرف آباد، استاد دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران

غلامرضا افشارمنش، استادیار پژوهش مرکز تحقیقات، آموزش و منابع طبیعی جنوب استان کرمان

### چکیده

این آزمایش به صورت اسپلیت اسپلیت پلات در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی در ۴ تکرار در مزرعه آموزشی و تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی جیرفت در سال زراعی ۹۳-۹۲ انجام شد. در این تحقیق، کم آبیاری در سه سطح به عنوان عامل اصلی (شامل ۱۰۰٪ نیاز آبی، ۷۵٪ نیاز آبی و ۵۰٪ نیاز آبی گیاه)، نیتروژن در سه سطح به عنوان عامل فرعی (شامل ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ کیلو گرم نیتروژن خالص در هکتار) و اکوتیپ نیز در سه سطح به عنوان عامل فرعی فرعی (بمی، بوشهری و رودباری) مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد تاثیر سطوح مختلف کم آبیاری بر محتوی نسبی آب، ماده رنگی و شاخص سبزینگی در سطح ۱٪، کلروفیل a و کلروفیل کل و کلوفیل a/b در سطح ۵٪ معنی دار ولی بر میزان نشت الکترولیت و کلروفیل b، معنی دار نبود. اثر نیتروژن نیز بر تمامی صفات در سطح ۱٪ و شاخص سبزینگی در سطح ۵٪ معنی دار به استثنای میزان نشت الکترولیت و کلروفیل b و ماده رنگی که معنی دار نبود. در این بررسی بین اکوتیپ های حنا از نظر ماده رنگی در سطح ۱٪ و نشت الکترولیت در سطح ۵٪ اختلاف معنی داری وجود داشت. بالاترین میزان ماده رنگی لاوسون ۲۰/۶۱ از اکوتیپ بمی و اعمال تنش ۷۵٪ نیاز آبی و مصرف ۱۵۰ کیلوگرم نیتروژن خالص به دست آمد. لذا به نظر می رسد مصرف ۱۰۰ کیلوگرم نیتروژن با اعمال تنش کم آبی و تامین ۷۵٪ نیاز آبی توانسته در رسیدن به گیاهانی شاداب تر با ماده موثره بیشتر کمک کند.

واژه های کلیدی: حنا، کم آبیاری، نیتروژن، صفات فیزیولوژیک و ماده رنگی لاوسون

\* نویسنده مسئول: E-mail: sarhadi.h@yahoo.com

## مقدمه

رشد جمعیت و تغییرات آب و هوایی، محققین و اصلاح گران گیاهی را با چالش بزرگی در قرن ۲۱ جهت تولید گیاهان مفید در محیط های کم آب مواجه ساخته است (۵۴) و این در حالی است که ۷۵٪ کل آب مصرفی دنیا به کشاورزی اختصاص می یابد (۴۵). از سوی دیگر حدود ۲۶٪ از زمین های قابل کشت دنیا در مناطق خشک قرار دارد (۱۷). به علاوه نوسانات توزیع بارندگی به دلیل گرم شدن کره زمین ممکن است خطر اینکه گیاهان مکرراً در معرض خشکی قرار گیرند را افزایش دهد. تقریباً همه گونه های گیاهی تحمل به تنش خشکی را نشان می دهند اما توانایی گونه ها و واریته های مختلف در این زمینه متفاوت است (۴۰). در محیط های طبیعی گیاهان دستخوش انواع تنش هایی می شوند که اثرات منفی بر رشد شان دارد. دما، نور، آب قابل دسترس و از جمله فاکتورهای غیر زنده ای می باشند که به طور موثری بر رشد گیاهان عالی اثر می گذارند. از میان عوامل ذکر شده خشکی بزرگترین عاملی است که تولید محصولات کشاورزی را محدود می کند (۵۶).

تنش خشکی، یکی از تنش های چند بعدی است و سبب اثرات فیزیولوژیکی متفاوتی در گیاهان می شود (۱۵). در سال های اخیر علاقه جهت شناسایی صفاتی که در مقاومت به خشکی نقش دارند و ممکن است بتوانند به عنوان ملاک و معیار انتخاب در برنامه های اصلاحی گیاهان مورد استفاده قرار گیرند، افزایش یافته است (۴۲). بهترین راه اصلاح عملکرد و پایداری آن تحت شرایط کمبود رطوبت خاک بکارگیری روش های فیزیولوژیکی است که از سریع ترین راه های توسعه واریته های جدید تحمل به خشکی به شمار می روند (۶۸). هنگامی که گیاهان با تنش خشکی مواجه می شوند. پاسخ های فیزیولوژیکی در آنها مشاهده می شود (۲۸ و ۴۱). اطلاع از روابط فیزیولوژیکی میان صفات می تواند برای اصلاحگران گیاهان در انتخاب صفات برای گزینش در برنامه های اصلاحی مفید باشد (۵۰).

از آنجا که غشاء های سلولی بویژه آن دسته از غشاء ها که حاوی آنزیم ها و ناقلین آب و یون می باشند نقش محوری در فعالیت های متنوع سلولی دارند، وارد آمدن فشار و استرس به آنها یکی از مهمترین تاثیراتی است که کم آبی بر ادامه حیات گیاه می گذارد و یک غشای سلولی پایدار که در شرایط تنش آب وظایف خود را به خوبی انجام دهد، محور اصلی سازش به حرارت بالا و مقاومت به خشکی می باشد (۲۰). محتوای نسبی آب یکی دیگر از شاخص های فیزیولوژیکی پاسخ دهنده به تنش خشکی است که همبستگی خوبی با تحمل به خشکی نشان می دهد (۱۴، ۱۵، ۳۱ و ۳۵). محتوای نسبی آب گیاه همچنین یکی از صفات مهمی است که رابطه مستقیم با محتوای آب خاک دارد و نشان دهنده وضعیت آبی خاک است (۶۵). به نظر می رسد موفقیت این پارامتر در تشخیص بین ژنوتیپ های حساس و یا متحمل بستگی به گونه های مورد بررسی داشته باشد (۱۲ و ۶۰). زیرا که گونه های مختلف ممکن است مکانیسم های مختلفی را در تحمل یا مقاومت به خشکی دارا باشند (۶۹). محتوای کلروفیل رابطه مثبت

و معنی داری با سرعت فتوسنتز، تولید بیوماس، عملکرد و اجزای آن داشته و براین اساس می توان با انتخاب گیاهان با محتوای کلروفیلی بیشتر، گیاهان با عملکرد بالاتر را انتخاب نمود (۵۰). این در حالی است که تنش آبی یکی از فاکتورهای محدود کننده میزان کلروفیل گیاه است. علاوه بر آب، فراهم بودن نیتروژن از عوامل مهمی است که رشد و نمو گیاهان زراعی را در سطح جهانی تحت تاثیر قرار می دهد (۵۵).

کمبود آب و نیتروژن از طریق کاهش جذب و کارایی استفاده از منابع، منجر به کاهش عملکرد محصولات زراعی می شود. به علاوه، عرضه نیتروژن، شاخص سطح برگ، دوام سطح برگ و محتوای کلروفیل را تحت تاثیر قرار می دهد (۲۳). گزارش شده است که مقادیر بالای نیتروژن می تواند سبب افزایش میزان فتوسنتز و رشد گیاهان زراعی گردد و فتوسنتز پایین در سطوح کم نیتروژن به کاهش محتوای کلروفیل و فعالیت کم آنزیم رابیسکو نسبت داده شده است (۲۶). نتایج تحقیقات نشان داده است که نیتروژن و تنش خشکی به طور معنی داری میزان کلروفیل برگ را تحت تاثیر قرار می دهند. یکی از نقش های مهم نیتروژن در گیاهان تحت تنش، مشارکت آن در تولید مواد اسمزی است که سبب افزایش مقاومت به تنش می شوند (۳۴).

امروزه اهمیت گیاهان دارویی بر کسی پوشیده نیست و کشورهایی وجود دارند که استفاده از گیاهان دارویی را جایگزین مواد شیمیایی نموده اند. بر اساس گزارش سازمان بهداشت جهانی در سال ۲۰۰۳ حدود ۸۰٪ جمعیت کشورهای توسعه یافته قادر به تولید داروهای مورد نیاز خود نبودند (۴۹). در این میان حنا (*Lawsonia inermis*) گیاهی است صنعتی و دارویی که به عنوان یکی از رنگزاهای طبیعی مورد توجه قرار دارد و مصارف فراوانی در صنایع نساجی، قالی بافی و صنایع آرایشی و بهداشتی مثل تولید رنگ مو، تهیه صابون و نیز صنعت کاغذ سازی و دباغی و غیره دارد (۹). همچنین اثرات ضد قارچ و ضد باکتری از خواص فارمالوژیک حنا است (۱).

اهمیت استفاده از گیاهان دارویی به دلیل وجود ماده موثره در آنها است. بنابراین، کیفیت در گیاهان دارویی نسبت به گیاهان زراعی از اهمیت بیشتری برخوردار است. از جمله عواملی که بر میزان جذب عناصر غذایی و مقدار ماده موثره تاثیر می گذارد، کمبود یا فزونی عناصر مختلف در خاک و همچنین رطوبت قابل دسترس موجود در خاک است. کنترل میزان عناصر خاک با افزودن کودهای شیمیایی یا آلی در صورت لزوم، نیز یکی از راه های بهبود کیفیت گیاهان دارویی است (۲۵). با توجه به خواص بیولوژیکی و شفابخشی گیاهان دارویی، در کشورهای توسعه یافته تقاضا برای این گیاهان بسیار بالاست. در حال حاضر تلاش ها برای به روز کردن اطلاعات در زمینه گیاهان دارویی به ویژه گیاه حنا در حال افزایش است (۴۹). در این مطالعه تلاش شده است تا پاسخ فیزیولوژیک اکوتیپ های گیاه حنا به کم آبی و سطوح مختلف نیتروژن مورد بررسی قرار گیرد.

## مواد و روش ها

به منظور بررسی پاسخ فیزیولوژیک اکوتیپ های گیاه رنگی حنا به مقادیر مختلف کود نیتروژن و کم آبیاری، آزمایشی به صورت اسپلیت اسپلیت پلات در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی در ۴ تکرار در مزرعه آموزشی و تحقیقاتی دانشگاه آزاد جیرفت در سال زراعی ۹۳-۹۲ اجرا گردید. در این تحقیق تنش کم آبیاری در سه سطح (۱۰۰٪ نیاز آبی، ۷۵٪ نیاز آبی و ۵۰٪ نیاز آبی گیاه)، نیتروژن در سه سطح (۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ کیلو گرم در هکتار نیتروژن خالص از منبع کودی اوره) و عامل اکوتیپ نیز در سه سطح (بمی، بوشهری و رودباری) به ترتیب در کرت های اصلی، فرعی و فرعی فرعی قرار گرفتند.

قبل از اجرای آزمایش جهت آگاهی از وضعیت فیزیکی و شیمیایی خاک، دو نمونه مرکب خاک از چهار نقطه به صورت زیگزاگ از اعماق صفر تا ۳۰ و ۳۰ تا ۶۰ سانتی متر پروفیل خاک تهیه و میزان EC، pH، ازت کل، پتاسیم و فسفر قابل جذب، بافت خاک، ماده آلی، وزن مخصوص ظاهری، وزن مخصوص حقیقی خاک، FC، نقطه پژمردگی دائم و آب قابل استفاده اندازه گیری شدند که نتایج آن در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱: نتایج آزمایش خاک محل اجرای آزمایش

عمق (cm)	کربن آلی (%)	نیتروژن کل (%)	فسفر قابل جذب (ppm)	پتاسیم قابل جذب (ppm)	EC (ds/m)	pH	بافت خاک
۰-۳۰	۰/۱۱۵	۰/۰۲۳	۴/۲	۲۴۰	۱/۶۴	۷/۶	لومی - شنی
۳۰-۶۰	۰/۰۲	۰/۰۳	۶/۵	۲۳۰	۲/۰۱	۷/۶	لومی - شنی

با توجه به اینکه بذر حنا دوره خواب طولانی دارد، لذا برای شکستن خواب بذور از جیبر لیک اسید با غلظت ۱۰۰۰ قسمت در میلیون استفاده شد. کشت در خزانه در اسفندماه انجام شد و پس از اینکه ارتفاع نشاء به حدود ۱۵ سانتی متر رسید، به زمین اصلی منتقل گردیدند. هر کرت دارای ۶ ردیف کاشت به فاصله ۵۰ سانتی متر و طول ۶ متر و فاصله بین کرت های اصلی ۳ متر، فرعی ۱ متر و فرعی فرعی ۷۵ سانتی متر و فاصله بین تکرارها ۲ متر در نظر گرفته شد. جهت اعمال تیمار کم آبیاری از تشتک تبخیر استفاده گردید. برای محاسبه میزان آب مصرفی، بر اساس میزان تبخیر روزانه از سطح تشتک تبخیر و سطوح مختلف تیمار های کم آبیاری با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید:

$$ET_0 = KP * E_{pan}$$

که در این رابطه، ET0 میزان تبخیر و تعرق گیاه پایه، KP میزان تبخیر از سطح تشتک و Epan ضریب تشتک است که آن برابر ۰/۷ در نظر گرفتیم سپس آب مصرفی گیاه مورد نظر را از فرمول زیر محاسبه نمودیم.

$$ETC = ET0 * KC$$

در این رابطه ETC، آب مصرفی گیاه مورد نظر، KC فاکتور گیاهی است که باتوجه به درختچه ای بودن گیاه حنا، ضریب آن را ۱/۱ در نظر گرفته شد. سپس با توجه به مفاد طرح، سطوح مختلف آب مصرفی را محاسبه نموده و بعد با توجه به مساحت کرت، با کنتور حجمی آب مصرفی مورد استفاده قرار گرفت. همچنین کود اوره در ۳ مرحله (مرحله اول حدود ۲ هفته بعد از انتقال نشاء، مرحله دوم حدود یکماه پس از مرحله اول و مرحله سوم قبل از گلدهی) به گیاه داده شد. اکوتیپ های مورد بررسی از مراکز تحقیقات کشاورزی شهرستان های رودبار جنوب، بوشهر و بم تهیه شدند. صفات مورد بررسی شامل محتوی نسبی آب، نشت الکترولیت، ماده رنگی حنا (لاوسون)، کلروفیل (a, b و کل)، نسبت کلروفیل a/b و شاخص سبزینگی که برای اندازه گیری صفات ۳ بوته به صورت تصادفی با حذف حواشی انتخاب شدند و برای اندازه گیری شاخص های فیزبولوژیک نمونه برداری از آخرین برگ های توسعه یافته جوان گیاه قبل از ورود به مرحله زایشی انجام شد.

پایداری غشای سیتوپلاسمی از طریق اندازه گیری میزان نشت الکترولیت اندازه گیری شد. برای این منظور تعداد ۲۰ دیسک دایره از برگ با پانچ برداشته نموده و در داخل شیشه های درپوش دار محتوی ۲۰ میلی لیتر آب مقطر منتقل گردید. پس از ۲۴ ساعت میزان هدایت الکتریکی بوسیله دستگاه EC متر قرائت گردید و عدد هدایت الکتریکی شاهد از عدد حاصل از اندازه گیری تیمارها کسر و بدین ترتیب هدایت الکتریکی نمونه برگ به دست آمد (۱۲).

برای اندازه گیری محتوای نسبی آب (RWC) نمونه برگ بلافاصله پس از جدا شدن از گیاه توزین شد و وزن آن بعنوان وزن تر یادداشت گردید. سپس نمونه بمدت ۶ ساعت در لوله آزمایش حاوی آب مقطر قرار گرفته و در محل تاریک نگهداری شد تا به حالت آماس یا تورژسانس برسد. پس از مدت ذکر شده برگ ها از داخل آب مقطر خارج شده و پس از خشک کردن با کاغذ خشک کن توزین گردید و وزن آماس برگ تعیین شد. سپس برگ ها به مدت ۷۲ ساعت در آون در درجه حرارت ۷۰ درجه سانتی گراد قرار گرفته و پس از خشک شدن توزین شد و با استفاده از رابطه زیر RWC محاسبه شد (۶۸).

$$RWC = \frac{\text{وزن خشک برگ} - \text{وزن برگ در حالت آماس}}{\text{وزن برگ}} \times 100$$

برای اندازه گیری میزان ماده رنگی برگ حنا (لاوسون)، از هر پلات یک گرم ماده خشک (۱ گرم) برداشت گردید و توسط هاون کاملاً کوبیده شده و با ترازوی با دقت ۰/۰۰۱ گرم وزن شد و به ارلن مایر ۱۲۵ منتقل گردید و ۵۰ میلی لیتر بیکربنات سدیم ۰/۵٪ به آن اضافه گردید و با دستگاه تکان دهنده دورانی، تکان داده شد و این عمل را ۶ بار در فواصل زمانی ۱ ساعت به مدت ۱۵ دقیقه تکرار نموده سپس نمونه ها را به مدت ۲۴ ساعت درز جای سرد و تاریک نگه داشته (سر ارلن مایرها را با فویل آلومینیومی بسته نگه داشته) و پس از زمان طی شده، ۵ میلی لیتر از عصاره صاف شده (توسط سانتریفوژ) را بر داشته و به بالون ژوژه ۵۰ میلی لیتر منتقل و با بیکربنات سدیم ۰/۵٪ به حجم رسانده سپس مقدار جذب نمونه ها را در طول موج ۴۹۰ نانومتر با دستگاه اسپکتوفتومتر قرائت نموده (دستگاه با بیکربنات سدیم ۰/۵٪ تنظیم شده بود یعنی صفر آن ۰/۵٪ بود).

برای تهیه منحنی کالیبراسیون، ۰/۱ گرم از لاوسون را با دقت ۰/۱۰۰ توزین و به بالون ۱۰۰ میلی لیتر انتقال داده و با بیکربنات سدیم ۰/۵٪ به حجم رسانده سپس ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ میلی لیتر از استاندارد بالا را برداشته و به بالون ژوژه ۱۰۰ میلی لیتر اضافه کرده و با کربنات سدیم ۰/۵٪ به حجم رسانده سپس جذب طول موج های نمونه های مورد نظر را قرائت کرده و از روی منحنی، غلظت لاوسون را در نمونه های مجهول برحسب میلی گرم لاوسون بر گرم وزن برگ خشک اندازه گیری گردید. برای اندازه گیری درصد سبزینگی (شاخص سبزینگی) از دستگاه کلروفیل متر دستی (SPAD) مدل CCM-200 ساخت انگلستان (در ۳ قسمت از ۳ برگ مشابه تازه و سالم از هر کرت اندازه گیری و میانگین آن برای هر کرت ثبت گردید) استفاده گردید (۴۸). جهت اندازه گیری کلروفیل a و b از روش زیر زیر استفاده شد:

۱۰۰ میلی گرم از برگ تازه گیاه حنارا (برگ وسط که نمونه کلروفیل و بدون دم برگ باشد) داخل لوله آزمایش درب دار قرار داده و ۱۰ میلی لیتر از محلول دی متیل سلفوکسید (D.M.S.O) به آن اضافه نموده و نمونه ها را در داخل آن به مدت ۴ ساعت در دمای ۶۵ درجه سانتی گراد قرار داده سپس نمونه ها را از داخل آن خارج کرده و در دمای اتاق خنک نموده و عصاره به دست آمده را در داخل سل اپکت قرار دادیم و میزان جذب رادر طول موج های ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر به طور جداگانه قرائت کردیم و با استفاده از روابط زیر میزان کلروفیل a و b را برحسب میلی گرم بر گرم وزن تر نمونه به دست آورده شد:

$$\text{Chlorophyll a} = [(12.7 \times A_{663}) - (2.69 \times A_{645})] V / 1000 * W$$

$$\text{Chlorophyll b} = [(22.9 \times A_{645}) - (4.68 \times A_{663})] V / 1000 * W$$

در این روابط:

V: حجم محلول استفاده شده

A: جذب نور در طول موج های ۶۶۳، ۶۴۵ نانومتر

W: وزن تر نمونه بر حسب میلی گرم

پس از اطمینان از نرمال بودن داده ها، تجزیه واریانس و مقایسه میانگین ها با استفاده از نرم افزار SAS v.7 و MSTAT-C انجام شد.

## نتایج و بحث

### محتوای نسبی آب

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که بین سطوح مختلف آبیاری و نیتروژن از نظر محتوای نسبی آب تفاوت معنی داری در سطح یک درصد وجود دارد. با وجود آنکه اثر اکوتیپ بر این صفت معنی دار نبود اما اثر متقابل کم آبیاری و اکوتیپ و همچنین اثر متقابل سه عامل کم آبیاری، نیتروژن و اکوتیپ در سطح یک درصد بر این صفت معنی دار بود (جدول ۲).

براساس مقایسه میانگین ها، افزایش تنش آبی از ۱۰۰٪ نیاز آبی به ۵۰٪ نیاز آبی سبب کاهش محتوای نسبی آب شد. این در حالی است که افزایش سطح نیتروژن از ۵۰ به ۱۰۰ و ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار افزایش محتوای نسبی آب را به دنبال داشت (جدول ۳). مقایسه میانگین اثر متقابل سه عامل (جدول ۴) نشان داد که بین اکوتیپ ها در سطح ۱۰۰٪ نیاز آبی و مصرف ۱۰۰ کیلوگرم نیتروژن تفاوت معنی داری وجود ندارد. اما با افزایش سطح کود به ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار در این سطح آبی، اکوتیپ های بمی و بوشهری از محتوای آب بالاتری برخوردار بودند. در سطح آبی ۷۵٪ نیاز آبی، هر چند که مصرف ۱۰۰ کیلوگرم نیتروژن سبب حصول محتوای بیشتری از آب در سه اکوتیپ شد، اما تفاوت معنی داری با محتوای آب در سطح ۱۵۰ کیلوگرم کود در این شرایط وجود نداشت.

با افزایش تنش آبی و اعمال آن در زمان ۵۰٪ نیاز آبی، هیچ یک از سطوح کودی نتوانست تاثیر معنی داری بر افزایش محتوای نسبی آب اکوتیپ ها داشته باشد و تفاوت معنی داری بین سطوح نیتروژن و اکوتیپ در این سطح آبی مشاهده نشد. به طور کلی بیشترین مطالعات کاهش RWC را در پاسخ به خشکی گزارش دادند و آن را یک شاخص مناسب برای تحمل به خشکی مطرح کرده اند (۲۷ و ۲۶).

بسیاری از محققین نظیر خان و همکاران (۲۰۰۷) و چالوز و همکاران (۲۰۰۳) معتقدند که این کاهش RWC در اثر تنش کم آبی مربوط به انسداد روزنامه ها می باشد و علت بسته شدن روزنه هاراتجمع هورمون ابسیزیک اسید (ABA) می دانند که در اثر تنش خشکی در ریشه ساخته شده است و در سلول های گارد روزنه تجمع پیدا کرده است.

جدول ۲: تجزیه واریانس صفات مورد بررسی

منابع تغییرات	درجه آزادی	محتوای نسبی آب	نشست الکترولیت	ماده رنگی	میانگین مربعات			نسبت کلروفیل کل	شاخص سبزیگی
					کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل a به b		
تکرار	۳	۲۱۸/۸۷ <sup>ns</sup>	۰/۰۲ <sup>ns</sup>	۱/۹۹ <sup>ns</sup>	۰/۰۵ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۳ <sup>ns</sup>	۰/۰۶ <sup>ns</sup>	۱/۳۳ <sup>ns</sup>	۳۵/۳۰ <sup>ns</sup>
کم آبیاری	۲	۱۷۴۶۳۶ <sup>°°</sup>	۰/۱۰ <sup>ns</sup>	۴۰۷/۰۹ <sup>°°</sup>	۰/۲۳ <sup>°</sup>	۰/۰۰۳ <sup>ns</sup>	۰/۲۷ <sup>°</sup>	۱۰/۳۶ <sup>°</sup>	۱۹۵۵۶۲۹ <sup>°°</sup>
خطای a	۶	۷۸۳۹	۰/۰۵	۳/۲۵	۰/۰۳	۰/۰۰۵	۰/۰۴	۱/۷۰	۴۷/۴۱
نیتروژن	۲	۳۲۶۱/۷۲ <sup>°°</sup>	۰/۰۸ <sup>ns</sup>	۰/۴۴ <sup>ns</sup>	۰/۴۱ <sup>°°</sup>	۰/۰۰۸ <sup>ns</sup>	۰/۴۹ <sup>°°</sup>	۱۴/۷۳ <sup>°°</sup>	۵۲/۲۱ <sup>°</sup>
کم آبیاری × نیتروژن	۴	۷۴۰/۲۷ <sup>°°</sup>	۰/۱۴ <sup>°</sup>	۱/۲۸ <sup>ns</sup>	۰/۰۳ <sup>ns</sup>	۰/۰۱ <sup>°</sup>	۰/۰۸ <sup>°</sup>	۲/۲۴ <sup>ns</sup>	۳۹۳/۴۷ <sup>°°</sup>
خطای b	۱۸	۱۴۴/۵۸	۰/۰۴	۰/۹۱	۰/۰۲	۰/۰۰۳	۰/۰۳	۱/۳۹	۱۲/۹۷
اکوتیپ	۲	۴۰۳۸ <sup>ns</sup>	۰/۷۲ <sup>°°</sup>	۴/۳۱ <sup>°</sup>	۰/۰۱ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۶ <sup>ns</sup>	۰/۰۲ <sup>ns</sup>	۰/۹۲ <sup>ns</sup>	۲/۹۹ <sup>ns</sup>
کم آبیاری × اکوتیپ	۴	۲۱۲/۶۱ <sup>°°</sup>	۰/۰۶ <sup>°°</sup>	۲/۷۲ <sup>ns</sup>	۰/۰۱ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۸ <sup>ns</sup>	۰/۰۲ <sup>ns</sup>	۰/۹۸ <sup>ns</sup>	۱۹۱/۲۶ <sup>°°</sup>
نیتروژن × اکوتیپ	۴	۸۳/۵۳ <sup>ns</sup>	۰/۰۱ <sup>ns</sup>	۰/۵۵ <sup>ns</sup>	۰/۰۲ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۵ <sup>ns</sup>	۰/۰۲ <sup>ns</sup>	۱/۸۰ <sup>ns</sup>	۴۰/۵۱ <sup>ns</sup>
کم آبیاری × نیتروژن × اکوتیپ	۸	۱۷۱/۰۶ <sup>°°</sup>	۰/۰۴ <sup>°°</sup>	۱/۳۷ <sup>ns</sup>	۰/۰۲ <sup>ns</sup>	۰/۰۲ <sup>°°</sup>	۰/۰۳ <sup>ns</sup>	۴/۰۵ <sup>°°</sup>	۱۱۵/۹۱ <sup>°°</sup>
خطای C	۵۴	۴۳/۰۲	۰/۰۱	۱/۱۶	۰/۰۱	۰/۰۰۴	۰/۰۱	۰/۹۸	۲۳/۵۴
ضریب تغییرات (%)		۹/۵۰	۲۱/۷۷	۷/۰۲	۱۶/۷۱	۱۷/۶۵	۱۶/۲۹	۱۷/۸۹	۱۲/۸۹

\*\*\*، \*\*، \* و ns: به ترتیب اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱٪، ۵٪ و غیر معنی دار

عبادی خزینه قدیم (۱۳۷۸)، محتوای آب سلول رابرای رابرای یونجه در شرایط رطوبت ۷۵٪ ظرفیت مزرعه ۷۹/۷٪ و در شرایط تنش شدید کم آبی ۶۳/۸٪ گزارش کرد. چاوز و همکاران (۲۰۰۲) گزارش نمودند که RWC کمتر از ۷۵-۷۰٪ ناشی از مسدود شدن روزنه ها می باشد و لاکشمی و همکاران (۲۰۰۵) گزارش نمودند که استرس شدید خشکی باعث کاهش محتوای رطوبت نسبی به میزان ۵۴٪ دربرنج و درگندم ۷۲٪ شد. قربانی جاوید و همکاران (۱۳۸۴) گزارش نمودند گیاهانی که در شرایط خشکی توانایی جذب آب بیشتر داشته باشند و بتوانند محتوای رطوبت نسبی (RWC) اندام های خود را بالاتر نگه دارند، مقاومت بیشتری به خشکی دارند.

جینگ و هانگ (۲۰۰۱) و ریگوبرتو (۲۰۰۴) اظهار داشتند که بالا بودن RWC در ژنوتیپ های متحمل به خشکی می تواند به خاطر وجود ساز و کار های کاهش دهنده تلفات آب از طریق روزنه ها ( بسته شدن روزنه ها ) یا شاخص روزنه ای پایین تر و یا به واسطه جذب بیشتر آب از طریق گسترش توسعه ریشه باشد. به نظر سی و سه مرده و همکاران (۱۳۸۳) محتوای نسبی آب برگ گیاهان تحت تنش خشکی شاخص مناسب تری برای گزینش در جهت مقاومت به خشکی در مقایسه با پتانسیل آب برگ است. نگهداری آب سلول در حد قابل قبول برای متابولیسم ها و بقای گیاه ضروری بوده و تنظیم روابط آبی گیاه در پاسخ به کمبود آب برای غلبه بر این شرایط حیاتی است (۶۳ و ۶۶). صالح پور و همکاران (۲۰۰۹) که تاثیر توام تنش خشکی و نیتروژن را در شرایط هیدروپونیک روی گیاه عدس مورد مطالعه قرار داده و گزارش کردند که نیتروژن موجب افزایش محتوای نسبی آب برگ می شود. محمدزاده و



همکاران (۱۳۹۱) نیز مصرف ۱۰۰ کیلوگرم نیتروژن را بر افزایش محتوای نسبی آب مثبت گزارش نمودند که با نتایج به دست آمده مطابقت دارد.

جدول ۳: مقایسه میانگین اثرات کم آبیاری، نیتروژن و اکوتیپ بر صفات مورد بررسی

صفات	محتوای نسبی آب	نشت الکترولیت	ماده رنگی	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	نسبت کلروفیل a به b	شاخص سبزیگی
<b>کم آبیاری</b>								
۱۰۰٪ نیاز آبی	۷۲/۱۸ a	۰/۳۶ a	۱۳/۷۹ b	۰/۶۲ a	۰/۱۸ a	۰/۸۰ a	۳/۴۵ ab	۶۳/۷۹ a
۷۵٪ نیاز آبی	۷۳/۹۴ a	۰/۳۹ a	۱۹/۲۴ a	۰/۵۹ a	۰/۱۷ a	۰/۷۶ a	۴/۱۳ a	۳۰/۰۱ b
۵۰٪ نیاز آبی	۶۱/۱۰ b	۰/۴۶ a	۱۳/۱۰ b	۰/۴۷ b	۰/۱۶ a	۰/۶۳ b	۴/۰۷ b	۱۹/۰۹ c
<b>نیتروژن</b>								
۵۰ کیلوگرم در هکتار	۵۸/۵۵ b	۰/۴۵ a	۱۵/۲۵ a	۰/۴۴ b	۰/۱۶ a	۰/۶۱ b	۲/۸۴ b	۳۸/۳۶ a
۱۰۰ کیلوگرم در هکتار	۷۳/۹۴ a	۰/۳۵ a	۱۵/۴۱ a	۰/۵۸ a	۰/۱۶ a	۰/۷۴ a	۳/۷۵ a	۳۸/۲۹ a
۱۵۰ کیلوگرم در هکتار	۷۱/۵۸ a	۰/۴۱ a	۱۵/۴۶ a	۰/۶۶ a	۰/۱۹ a	۰/۸۵ a	۴/۰۷ a	۳۶/۲۴ b
<b>اکوتیپ</b>								
بمی	۷۰/۲۲ a	۰/۳۲ b	۱۵/۷۰ a	۰/۵۵ a	۰/۱۶ a	۰/۷۱ a	۳/۶۷ a	۳۷/۷۴ a
بوشهری	۶۸/۸۸ a	۰/۳۲ b	۱۵/۴۲ ab	۰/۵۷ a	۰/۱۸ a	۰/۷۶ a	۳/۶۲ a	۳۷/۸۴ a
رودباری	۶۸/۱۳ a	۰/۵۷ a	۱۵/۰۱ b	۰/۵۶ a	۰/۱۷ a	۰/۷۳ a	۳/۳۷ a	۳۷/۳۰ a

میانگین های دارای حروف مشابه در هر ستون تفاوت معنی داری با هم ندارند

### نشت الکترولیت سلولی

هر چند که بین سطوح کم آبیاری و نیتروژن تفاوت معنی داری از نظر آمارها میزان نشت الکترولیت وجود نداشت اما تفاوت معنی داری بین اکوتیپ ها از این نظر در سطح یک درصد مشاهده شد (جدول ۲). همچنین اثر متقابل کم آبیاری × نیتروژن، کم آبیاری × اکوتیپ و کم آبیاری × نیتروژن × اکوتیپ به ترتیب در سطح پنج، یک و یک درصد معنی دار بود. براساس مقایسه میانگین اثر متقابل سه عامل، بیشترین نشت الکترولیت مربوط به اکوتیپ رودباری در شرایط آبیاری ۷۵٪ نیاز آبی به همراه مصرف ۵۰ و ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن بود. مصرف نیتروژن به میزان ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار با اعمال تنش کم آبیاری در شرایط ۷۵٪ نیاز آبی، سبب کاهش نشت الکترولیت در این اکوتیپ گردید. این در حالی است که کمترین نشت الکترولیت مربوط به اکوتیپ بمی با مصرف ۱۰۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار و اعمال آبیاری در زمان ۷۵٪ نیاز آبی بود. بین میزان نشت الکترولیت در این تیمار و تیمار اکوتیپ های بمی و بوشهری آبیاری شده در زمان ۱۰۰٪ نیاز آبی به همراه مصرف ۱۵۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار تفاوت معنی داری مشاهده نشد. این نتیجه نشان دهنده اهمیت برقراری تناسب بین میزان آب قابل دسترس گیاه و کود نیتروژن استفاده شده است. جباری و همکاران (۱۳۸۵) علت تخریب دیواره سلولی را منوط به بسته شدن روزنه ها و کاهش تثبیت دی اکسید کربن می دانند در حالی که واکنش های نوری و انتقال

الکترون در مقادیر طبیعی صورت می گیرد که تحت چنین شرایطی، مقدار محدودی NADP برای پذیرش الکترون وجود خواهد داشت.

جدول ۴: مقایسه میانگین اثر متقابل کم آبیاری، نیتروژن و اکوتیپ بر صفات مورد بررسی

شاخص سبزینگی	نسبت کلروفیل a به b	کلروفیل کل	کلروفیل b	کلروفیل a	ماده رنگی	نشت الکترولیت	محتوای نسبی آب		
۴۸/۹۵ d	۳/۵۰ b..e	۰/۵۶ef	۰/۱۳ b	۰/۴۳ghi	۱۲/۸۶cd	۰/۳۶ f..k	۵۸/۵۸ efg	بمی	
۵۴/۸۰ cd	۳/۸۶ a..e	۰/۵۷ef	۰/۱۲ b	۰/۴۶ f..i	۱۴/۲۸ cd	۰/۴۲ c..h	۵۴/۷۳ efg	بوشهری	۵۰ Kg
۶۸/۲۸ ab	۲/۵۳ def	۰/۷۱de	۰/۲۰ b	۰/۵۱ d...i	۱۳/۴۳cd	۰/۴۴ d..i	۶۲/۲۸ ef	رودباری	
۶۷/۸۷ ab	۳/۷۲ b..e	۰/۸۱bc	۰/۱۷ b	۰/۶۴ a...e	۱۴/۵۲c	۰/۳ f..k	۸۲/۹۴ a	بمی	۱۰۰ Kg
۷۷/۴۰ a	۳/۰۸ b..f	۰/۸۳bc	۰/۲۰ b	۰/۶۳ a...e	۱۳/۴۸cd	۰/۲۲ jk	۸۵/۸۰ a	بوشهری	نیازآبی
۶۴/۳۰ bc	۳/۳۳ b..f	۰/۸۶bc	۰/۲۰ b	۰/۶۶a...d	۱۴/۲۵cd	۰/۴۹ c..f	۸۰/۵۶ abc	رودباری	
۵۹/۲۱ b	۳/۴۸ b..e	۰/۹۵ ab	۰/۲۱ b	۰/۷۴ ab	۱۳/۵۵cd	۰/۱۸ kl	۸۱/۶۸ ab	بمی	
۶۶/۸۸ b	۳/۹۵ a..e	۰/۹۶ ab	۰/۱۹ b	۰/۷۶ a	۱۴/۵۷c	۰/۲۰ kl	۸۰/۸۵ abc	بوشهری	۱۵۰ Kg
۶۶/۴۷ b	۳/۵۸ b..e	۰/۹۵ ab	۰/۲۰ b	۰/۷۴ ab	۱۳/۱۸cd	۰/۵۵ b..e	۶۲/۲۵ ef	رودباری	
۳۸/۷۰ e	۲/۷۵ c..f	۰/۶۹cde	۰/۱۸ b	۰/۵۹۰d...i	۲۰/۰۳a	۰/۳۶ e..k	۵۴/۷۵ efg	بمی	
۳۰/۵۷ e..h	۲/۷۸ c..f	۰/۵۵ ef	۰/۱۵ b	۰/۴۰ hi	۱۹/۶۰ab	۰/۴۴ d..i	۴۷/۰۱ g	بوشهری	۵۰ Kg
۳۱/۵۲ efg	۳/۵۶ b..e	۰/۵۷ ef	۰/۱۳ b	۰/۴۴ ghi	۱۷/۹۵b	۰/۷۸ a	۶۷/۷۴ cde	رودباری	
۲۶/۵۶ f..i	۴/۶۴ a..d	۰/۷۵cde	۰/۱۴ b	۰/۶۱ a...f	۱۹/۵۶ab	۰/۰۳ l	۸۵/۳۲ a	بمی	۷۵٪ نیاز آبی
۲۵/۲۲ f..j	۵/۰۷ ab	۰/۸۰bcd	۰/۱۳ b	۰/۶۵ a...d	۱۸/۸۸ab	۰/۲۷ h..k	۸۳/۵۸ a	بوشهری	۱۰۰ Kg
۳۰/۳۶ e..h	۳/۷۸ b..e	۰/۷۵cde	۰/۱۶ b	۰/۵۹ b...g	۱۸/۲۲b	۰/۳۳ f..k	۸۲/۸۹ a	رودباری	
۳۴/۰۳ ef	۵/۹۷ a	۰/۸۴ bc	۰/۱۲ b	۰/۷۲ abc	۲۰/۶۱a	۰/۳۱ f..k	۸۱/۴۴ abc	بمی	
۲۸/۹۰ e..h	۳/۶۶ b..e	۱/۰۵ a	۰/۳۶ a	۰/۶۹ abc	۱۹/۱۹ab	۰/۲۹ g..k	۷۸/۴۱ abcd	بوشهری	۱۵۰ Kg
۲۴/۱۹ f..k	۴/۹۹ abc	۰/۸۵ bc	۰/۱۴ b	۰/۷۰ abc	۱۹/۱۲ab	۰/۷۰ab	۸۴/۴۱ a	رودباری	
۲۶/۰۴ f..i	۱/۲۷ f	۰/۴۶ f	۰/۲۰ b	۰/۳۶ j	۱۳/۵۱cd	۰/۴۰ d..j	۶۲/۶۷ ef	بمی	
۲۵/۳۱ f..j	۲/۳۷ ef	۰/۶۸cde	۰/۲۰ b	۰/۴۸ e...i	۱۲/۸۱cd	۰/۲۴ ijk	۶۶/۲۱ def	بوشهری	۵۰ Kg
۲۱/۰۸ g..k	۲/۹۱ b..f	۰/۷۰cde	۰/۱۸ b	۰/۵۱ d...i	۱۲/۸۰cd	۰/۵۷ bcd	۵۳/۰۵ fg	رودباری	
۲۰/۶۵ h..k	۳/۵۷ b..e	۰/۶۰ def	۰/۱۳ b	۰/۴۶ f...i	۱۳/۵۰cd	۰/۴۹ c..f	۶۷/۴۷ bcde	بمی	۵۰٪ نیاز آبی
۱۷/۲۵ ijk	۲/۹۲ b..f	۰/۷۰ cde	۰/۱۸ b	۰/۵۱ d...i	۱۳/۴۱cd	۰/۳۷ e..k	۶۴/۰۱ ef	بوشهری	۱۰۰ Kg
۱۵/۰۱ jk	۳/۶۴ b..e	۰/۵۹ def	۰/۱۳ b	۰/۴۶ f...i	۱۲/۹۵cd	۰/۶۴ abc	۶۰/۲۷ efg	رودباری	
۱۷/۶۶ ijk	۴/۱۱ a..e	۰/۷۰ cde	۰/۱۴ b	۰/۵۶ c...h	۱۳/۱۷cd	۰/۴۸ c..g	۵۶/۱۴ efg	بمی	
۱۴/۳۱ k	۴/۸۷ abc	۰/۶۹ cde	۰/۱۲ b	۰/۵۷ c...g	۱۲/۵۵d	۰/۳۶ e..k	۵۹/۳۶ efg	بوشهری	۱۵۰ Kg
۱۴/۵۱ k	۲/۰۱ ef	۰/۶۰ def	۰/۲۰ b	۰/۴۰ i	۱۳/۲۳cd	۰/۵۸ bcd	۵۹/۷۳ efg	رودباری	

میانگین های دارای حروف مشابه در هر ستون تفاوت معنی داری از نظر آزمون چند دامنه ای دانکن ندارند

بنابراین اکسیژن می تواند به عنوان یک گیرنده الکترون جایگزین عمل کند و این امر منجر به تجمع گونه های سمی اکسیژن نظیر رادیکال های سوپر اکسید، هیدروژن پراکسید ( $H_2O_2$ ) و رادیکال هیدروکسیل (OH) می گردد. تجمع گونه های فعال اکسیژنی که طی تنش تولید می شوند به بسیاری از ترکیبات سلولی نظیر چربی ها، پروتئین ها کربوهیدرات ها و اسیدهای نوکلئیک صدمه می زند (۳۳) و در

نتیجه پراکسیداسیون چربی ها به غشای سلولی آسیب می زند (۳۹) از طرف دیگر تنش خشکی باعث اختلال در سیستم های آنزیمی فرونشاندن گونه های فعال اکسیژن می گردد که این امر منجر به افزایش ژراکسیداسیون چربی ها و در نتیجه خسارت به غشای سلولی می شود (۲۳). نتایج به دست آمده حسنی و همکاران (۱۳۸۷) در توتون نشان داد پایداری غشای سیتوپلاسمی در شرایط تنش خشکی کاهش یافته است. وانوزی و لارنر (۲۰۰۷) نشان دادند تیمار تنش خشکی از تکامل دیواره ممانعت نموده و باعث نشت الکترولیت از دیواره سلولی می شود.

### میزان کلروفیل a

میزان کلروفیل a تحت تاثیر سطوح مختلف کم آبیاری در سطح پنج درصد قرار گرفت. همچنین اثر سطوح مختلف نیتروژن بر این صفت در سطح یک درصد معنی دار بود (جدول ۲). اعمال تنش آبی در زمان ۱۰۰ و ۷۵٪ نیاز آبی گیاه سبب حصول بیشترین میزان کلروفیل a گردید و با افزایش تنش آبیاری و اعمال آن در زمان ۵۰٪ نیاز آبی از ۰/۶۲ و ۰/۵۹ به ۰/۴۷ میلی گرم برگرم کاهش معنی داری یافت. همچنین نتایج نشان داد که مصرف نیتروژن به میزان ۱۰۰ و ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار سبب افزایش معنی دار میزان کلروفیل a شد. کمترین میزان کلروفیل a مربوط به کمترین سطح نیتروژن یعنی ۵۰ کیلوگرم در هکتار بود (جدول ۳). شخمگر و همکاران (۱۳۹۲) نیز کاهش میزان کلروفیل a را با افزایش دور آبیاری و افزایش آن را با کاربرد نیتروژن گزارش نمودند که با نتایج بدست آمده مطابقت دارد. جذب کمتر نیتروژن در شرایط تنش به ویژه تنش شدید خشکی و به موازات آن کاهش نیتروژن برگ، باعث ایجاد اختلال در فرآیند ساخت کلروفیل a گردید چرا که نیتروژن نه تنها در ساختمان پروتئین شرکت می کند بلکه در ساختمان مولکول کلروفیل نیز نقش دارد.

ساکي نژاد (۱۳۸۲) نیز گزارش نمود تنش خشکی از طریق ایجاد محدودیت در توانایی جذب نیتروژن توسط گیاه، موجب اختلال در فرآیند ساخت کلروفیل گردید. در اثر تنش خشکی میزان کلروفیل تجزیه و به موادیپیش کلروفیلی تبدیل می گردد، ولی مجدد با توجه به تنش کلروفیل از موادیپیش کلروفیلی ساخته نمی شود.

### میزان کلروفیل b

میزان کلروفیل b تنها تحت تاثیر اثر متقابل کم آبیاری و نیتروژن در سطح پنج درصد و اثر متقابل سه عامل کم آبیاری، نیتروژن و اکوتیپ در سطح یک درصد قرار گرفت و اثر سطوح مختلف کم آبیاری، نیتروژن و اکوتیپ بر آن معنی دار نبود (جدول ۲). براساس مقایسه میانگین اثر متقابل کم آبیاری، نیتروژن و اکوتیپ، بیشترین میزان کلروفیل b (۰/۳۶ mg/g) از اکوتیپ بوشهری حاصل شد که آبیاری در آن در زمان ۷۵٪ نیاز آبی انجام شده و مورد تیمار مصرف ۱۵۰ کیلوگرم نیتروژن قرار گرفته بود. بین سایر تیمارها اختلاف معنی داری مشاهده نشد (جدول ۴). عدم اختلاف معنی دار در بین این تیمارها می تواند

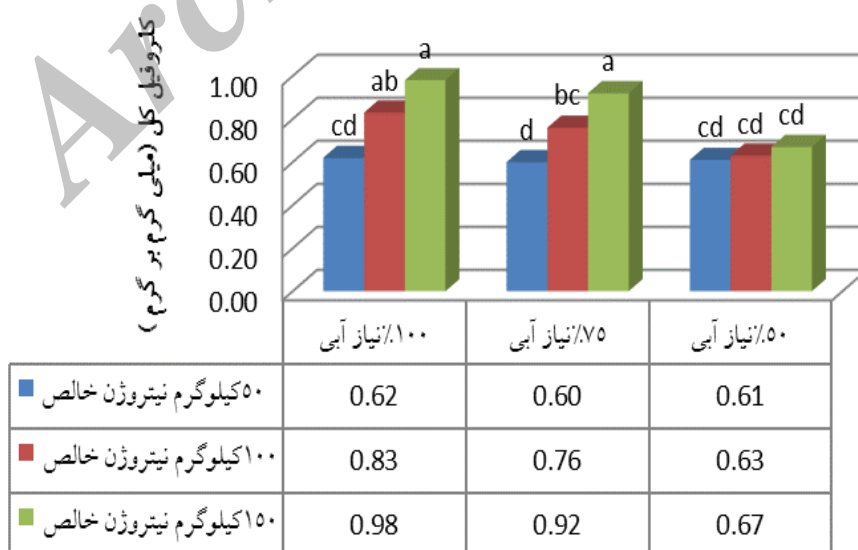
ناشی از آن باشد که در طی تنش خشکی سیستم های فتوسنتزی فتوسیستم II کمتر از فتوسیستم I تحت تاثیر تنش قرار می گیرد (۲۴).

### کلروفیل کل

این صفت تحت تاثیر سطوح مختلف کم آبیاری، نیتروژن و اثر متقابل دو عامل کم آبیاری و نیتروژن به ترتیب در سطح پنج، یک و پنج درصد قرار گرفت (جدول ۲).

مقایسه میانگین اثر متقابل کم آبیاری و نیتروژن (شکل ۱) نشان داد که بیشترین میزان کلروفیل کل از اعمال آبیاری در زمان ۱۰۰ و ۷۵٪ نیاز آبی همراه با مصرف ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن حاصل شد (به ترتیب ۰/۹۸ و ۰/۹۲ mg/g). این در حالی است که بین این تیمار ها و تیمار مصرف ۱۰۰ کیلوگرم نیتروژن همراه با آبیاری در زمان ۱۰۰٪ نیاز آبی تفاوت معنی داری مشاهده نشد. افزایش دور آبیاری از ۷۵٪ نیاز آبی به زمان ۵۰٪ نیاز آبی، سبب کاهش معنی دار محتوای کلروفیل برگ شد و تفاوت معنی داری بین سطوح مختلف نیتروژن در این سطح آبیاری مشاهده نشد. همچنین اعمال آبیاری در زمان ۱۰۰ و ۷۵٪ نیاز آبی به مصرف ۵۰ کیلوگرم نیتروژن کاهش کلروفیل را نشان داد.

میزان کلروفیل در گیاه زنده یکی از عامل های مهم حفظ ظرفیت فتوسنتزی است. در این بین با توجه به شدت، مدت و مرحله رشدی، تاثیر خشکی بر هر کدام از مقادیر کلروفیل a و b در گیاهان متفاوت خواهد بود. کرناکر و همکاران (۲۰۰۱) و نایار و گوتیا (۲۰۰۶) گزارش کردند گزارش نودند که محتوی کلروفیل برگ در شرایط تنش خشکی کاهش می یابد. کاهش میزان کلروفیل در این آزمایش با نتایج حاصل از تحقیقات محمدخانی و حیدری (۲۰۰۷) روی ذرت و سانچز (۲۰۰۶) روی رزماری مطابقت دارد. براساس نظر مارچنر (۱۹۹۵) این ترکیبات دارای ساختار نیتروژنی هستند، از این رو استفاده از نیتروژن می تواند تا حد زیادی سبب افزایش مقدار آنها در گیاه گردد.



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر متقابل کم آبیاری و نیتروژن بر میزان کلروفیل کل برگ

### نسبت کلروفیل a به b

نسبت کلروفیل a به b تحت تاثیر سطوح مختلف کم آبیاری در سطح پنج درصد، نیتروژن در سطح یک درصد و اثر متقابل سه عامل کم آبیاری، نیتروژن و اکوتیپ در سطح یک درصد قرار گرفت (جدول ۲). اعمال آبیاری در زمان ۷۵٪ نیاز آبی در دو اکوتیپ بمی و بوشهری که به ترتیب مورد تیمار کودی نیتروژن به میزان ۱۵۰ و ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار قرار گرفته بودند، منجر به حصول حداکثر میزان نسبت کلروفیل a به b شد (به ترتیب ۵/۹۷ و ۵/۰۷ mg/g). این در حالی است که از نظر آماری برخی دیگر از تیمارها افزایش این نسبت را به دنبال داشتند و تفاوت معنی داری بین میزان نسبت دو فرم کلروفیل در آنها و تیمارهای برتر وجود نداشت (جدول ۴). همچنین کمترین میزان این نسبت در اکوتیپ بمی، بوشهری و رودباری در تیمار اعمال تنش در زمان ۵۰٪ نیاز آبی و مصرف به ترتیب ۵۰، ۵۰ و ۱۵۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار بدست آمد. هونگ بو و همکاران (۲۰۰۵) گزارش کردند تغییر نسبت کلروفیل a/b در شرایط تنش خشکی وجود دارد.

### شاخص سبزینگی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که بین سطوح مختلف تنش آبی و نیتروژن از نظر شاخص سبزینگی تفاوت معنی داری به ترتیب در سطح یک و پنج درصد وجود دارد. با وجود آنکه اثر اکوتیپ بر این صفت معنی دار نبود اما اثر متقابل کم آبیاری و اکوتیپ و همچنین اثر متقابل سه عامل کم آبیاری، نیتروژن و اکوتیپ در سطح یک درصد بر این صفت معنی دار بود (جدول ۲). براساس این شاخص، بیشترین میزان کلروفیل از اعمال آبیاری در زمان ۱۰۰٪ نیاز آبی به همراه مصرف ۱۰۰، ۱۰۰ و ۵۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار به ترتیب در اکوتیپ های بوشهری، بمی و رودباری حاصل شد. اثر منفی خشکی بر کاهش کلروفیل برگ توسط الیواریس و همکاران (۲۰۰۷) نیز گزارش شده است. آنگرا و همکاران (۲۰۱۰) نیز کاهش میزان کلروفیل برگ و محتوای نسبی آب برگ را با افزایش شدت تنش خشکی گزارش نمودند و اظهار داشتند که این کاهش در ژنوتیپ های حساس بیشتر بوده است. رینولدز و تررتووان (۲۰۰۷) اظهار داشتند که محتوای کلروفیل برگ یا پایداری سبزینگی آن با کارایی تعرق در ارتباط بوده و بالا بودن آن سبب بهبود کارایی مصرف آب در شرایط خشکی می شود. ریچاردز و همکاران (۲۰۰۱) نیز گزارش نمودند که پایداری و دوام سبزی برگ که نشان دهنده میزان کلروفیل برگ است، شاخصی از وضعیت آبی برگ و سیستم عمیق تر ریشه است. علاوه بر آن، این ویژگی نشان دهنده سیستم فتوسنتزی قوی تر برای ساخت اسیمیلات ها و استخراج آب از خاک است. سعیدپور (۲۰۱۲) گزارش نمود که تنش خشکی از طریق کاهش کلروفیل برگ و پروتئین های محلول سبب تسریع پیری برگ می شود و این کاهش در ژنوتیپ های حساس زودتر اتفاق می افتد. همچنین اثر نیتروژن بر افزایش کلروفیل می تواند ناشی از شرکت نیتروژن در ساختار کلروفیل باشد (۱۸). همچنین جفری و همکاران

(۲۰۰۳) گزارش نمودند که نسبت کلروفیل برگ در تیمار نیتروژن بالاتر، بیشتر از تیمار نیتروژن پایین تر بود که با نتایج حال مطابقت دارد.

### میزان ماده رنگی

میزان ماده رنگی تنها تحت تاثیر تنش کم آبیاری و اکوتیپ به ترتیب در سطح یک و پنج درصد قرار گرفت و اثر نیتروژن و اثرات متقابل بر آن معنی دار نبود (جدول ۲). مقایسه میانگین جدول ۳ نشان داد که اعمال آبیاری در زمان ۷۵٪ نیاز آبی منجر به حصول بیشترین میزان ماده رنگی شده و کاهش و یا افزایش دور آبیاری و اعمال آن در زمان ۱۰۰ و یا ۵۰٪ نیاز آبی سبب کاهش میزان ماده رنگی شد. در بین اکوتیپ ها، اکوتیپ بمی دارای بیشترین میزان ماده رنگی بوده و کمترین ماده رنگی در اکوتیپ رودباری مشاهده شد. اکوتیپ بوشهری از نظر این صفت تفاوت معنی داری با اکوتیپ بمی و رودباری نشان نداد. بنابر نظر پنکا (۱۹۷۸) عموماً تشکیل و تجمع ماده موثره در گیاهان در شرایط محیطی خشک تر تمایل به افزایش دارد.

به طور کلی گزارش های موجود در زمینه اثر تنش آبی بر میزان ماده موثره در گونه های گیاهی مختلف تا حدودی متفاوت است. سلماسی و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کردند که تنش آبی سبب افزایش ماده موثره در گیاه انیسون می گردد. تراکم غده های مترشحه ماده موثره در اثر کاهش سطح برگ در شرایط تنش خشکی به عنوان دلیلی بر تجمع بیشتر ماده موثره در ریحان و نعناع ذکر شده است (۹). به هر حال با توجه به نتایج تحقیقات گذشته چنین نتیجه گیری می شود که تغییرات میزان ماده رنگی در شرایط تنش خشکی بسیار متفاوت و کاملاً به نوع گونه مورد تنش بستگی دارد. لذا چنین استنباط می شود که ژنوتیپ گیاه مورد نظر نقش بسیار مهمی را در عکس العمل گیاه مورد تنش نقش بسیار مهمی را در عکس العمل گیاه به شرایط تنش دارد.

### ضرایب همبستگی صفات

با توجه به نتایج جدول همبستگی بین صفات فیزیولوژیکی (جدول ۵) حاکی از آن است که بیشترین همبستگی مثبت و معنی دار بین صفات اندازه گیری شده مربوط است به ماده رنگی (لاوسون) به نسبت کلروفیل  $a/b$   $0.92$  ( $p < 0.01$ ) بود. لاوسون به عنوان مهمترین ماده موثره در حنا همبستگی بالایی با کلروفیل  $b$ ، کلروفیل کل و شاخص سبزیگی داشت. نشت الکتروولت تقریباً همبستگی منفی ولی غیر معنی داری با تمام صفات اندازه گیری شده به جز شاخص سبزیگی که ضرایب همبستگی منفی و معنی داری داشت. معنی دار بودن ضرایب همبستگی در آزمون معنی داری ضرایب همبستگی حتی ضرایب کوچک به دلیل زیاد بودن تیمارها در نتیجه افزایش درجه آزادی توسط گل پرور و مدنی (۱۳۸۷) گزارش شده است. همبستگی منفی و معنی داری بین کلروفیل  $b$  و نسبت کلروفیل  $a/b$  و همچنین



- ۴- حسنی، س.، مصباح، ه.، مصباح، ر. و بابائیان جلودار، ن. ۱۳۸۷. ارزیابی شاخص های تحمل به تنش خشکی در عملکرد شش رقم توتون ورجینیا. نهال و بذر. ۲۴(۱): ۱۴۳-۱۲۹.
- ۵- ساکی نژاد، ط. ۱۳۸۲. مطالعه اثر تنش آب بر روند جذب عناصر ازت، فسفر، پتاسیم و سدیم در دوره های مختلف رشد، با توجه به خصوصیات مرفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه ذرت در شرایط آب و هوایی اهواز. پایان نامه دوره دکتری تخصصی فیزیولوژی گیاهان زراعی. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم تحقیقات اهواز. ۲۸۸ صفحه.
- ۶- سی و سه مرده، ع.، احمدی، ع.، پوستینی، ک. و ابراهیم زاده، ح. ۱۳۸۳. عوامل روزنه ای و غیر روزنه ای کنترل کننده فتوسنتز و ارتباط آن با مقاومت به خشکی در ارقام گندم. مجله علوم کشاورزی ایران، ۳۵(۱): ۹۳-۱۰۶.
- ۷- شخمگر، م.، بردادران، ر.، موسوی، غ.، پویان، م. و آرمجگو، ا. ۱۳۹۲. اثر دور آبیاری و مصرف کود نیتروژن بر تغییرات عملکرد دانه و صفات فیزیولوژیک سنبله. فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. ۲۹(۳): ۵۳۸-۵۲۷.
- ۸- عبادی خزینه قدیم، ع. ۱۳۷۸. بررسی جنبه های فیزیولوژیک افزایش عملکرد در یونجه های دیم رساله دکتری رشته زراعت (فیزیولوژی گیاهان زراعی) دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، تهران.
- ۹- قانی، دهکردی، ف.، قاسمی پیربلوطی، ع.، حامدی، ب. و ملک زاده، ف. ۱۳۹۰. بررسی اثر سطوح مختلف آب و نیتروژن بر صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه دارویی بابونه اورا. داروهی گیاهی. ۲(۲): ۱۱۱-۱۰۱.
- ۱۰- قربانی جاوید، م.، اکبری، غ.، مرادی، ف. و الله دادی. ۱۳۸۴. بررسی تاثیر سطوح مختلف خشکی خاک بر روابط آبی دو ژنوتیپ یونجه یکساله بومی ایران. (مجموعه مقالات)، نهمین کنگره علوم خاک ایران (جلد دوم)، مرکز تحقیقات حفاظت خاک و آبخیزداری، ص ۱۵۷ - ۱۵۵.
- ۱۱- گل پرور، ا. و مدنی، ح. ۱۳۸۷. تجزیه همبستگی و علیت عملکرد دانه و تثبیت بیولوژیک در ژنوتیپهای ایرانی لوبیای معمولی. مجله علمی و پژوهشی علوم کشاورزی. سال چهاردهم ویژه نامه شماره ۱ فروردین ماه. صفحه ۱۶۳-۱۷۱.
- ۱۲- نستانی، ا. و عظیم زاده، م. ۱۳۸۲. ارزیابی تحمل به خشکی در ارقام مختلف عدس. مجله کشاورزی. ۵(۱): ۶۹-۶۱.
- ۱۳- محمدزاده، آ.، مجنون حسینی، ن.، مقدم، ح. و اکبری، م. ۱۳۹۱. اثر تنش خشکی و سطوح کود نیتروژن بر صفات فیزیولوژیک دو ژنوتیپ لوبیا قرمز. مجله علوم زراعی ایران. ۱۴(۳): ۳۰۷-۲۹۴.
- 14- Achera, M. and Rambal, S. 1992. Daily and seasonal variation in water relation of macchia shrubs and trees in France and Turkey. *Vegetation*. 99(100): 185-198.
- 15- Altinkut, A., K. Kazan, Z. Ipekci, and Gozukirmizi. 2001. Tolerance to paraquat is correlated with the associated with water stress tolerance in segregation F2 populations of barley and wheat. *Euphytica*, 121:81-86.
- 16- Angra, S., S. Kaur, K. Singh., D. Pathania, N. Kaur, S. Sharma and H. Nayyar, 2010. Water deficit stress during seed filling in contrasting soybean genotypes: Association of stress sensitivity with profiles of osmolytes and antioxidants. *Int. J. Agric. Res.* 5 (6): 328-345.
- 17- Atlin, G. N. and K. J. Frey, 1990. Selecting oat for yield in low productivity environments. *Crop Sci.* 30: 556-561.
- 18- Cassman, K. G., M. J. Kropff, and Z. D. Yan. 1994. A conceptual framework for nitrogen management of irrigated rice in high - yield environments. *New developments and future projects*. IRRI, Los Banos, Philippines. pp : 81-96.
- 19- Chaudhary .G, S. Goyal, and P. Poonia, 2010. *Lawsonianermis*Linnaeus: A Phytopharmacological Review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research* 2010; 2(2): 91-98 . ISSN 0975-248X.
- 20-Chaves, M. M., J. S. Pereira, J. P. Maroco, M. L. Rodrigues, C. P. P. Ricardo, Osorio, M. L. Carvalho, I. F. T. and Pinherio, C. 2002. How plants cope with water stress in the field : Phtosynthesis and growth. *Annals of Botany* 89,907-916 .



- 21- **Chaves, M. M., Marco, J. P. and Pereira, J. S. 2003.** Understanding plant responds to drought : From genes to the whole plant . *Functional plant Biology* 30,239-264 .
- 22- **Colom, M. R., C. Vazzana. 2003.** Photosynthesis and PSII functionality of drought-resistant and drought-sensitive weeping lovegrass plants. *Environ. Exp. Bot.* 49: 135-144.
- 23- **Ding, L., K. J. Wang, G. M. Jiang, D. K. Biswas, H. Xu, L. F. Li, Y. H. Li. 2005.** Effects of nitrogen deficiency on photosynthetic traits of maize hybrids released in different years. *Annal. Bot.* 96: 925-930.
- 24- **Estill, K., R.H. Delany, W.K. Smith, and R.L. Ditterline. 1991.** Water relations and productivity of alfalfa leaf chlorophyll variants. *Crop Sci.* 25, 345-348.
- 25- **Farzaneh, H. 1990.** *Agrochemistry*. Avaye Noor Press. P: 148. (In Persian).
- 26- **Fredeen, A. L., J. A. Gamon and C. B. Field. 1991.** Responses of photosynthesis and carbohydrate partitioning to limitations in nitrogen and water availability in field grown sunflower. *Plant Cell Environ.* 14: 963-970.
- 27- **FU, J. and B. Huang. 2001.** Involvement of antioxidants and lipid peroxidation in the adaptation of two cool-season grasses to localized drought stress. *Environ. and Exp. Botany.* 45: 105-114.
- 28- **Fukai, S. and H. Cooper. 1995.** Development of drought resistant cultivars using physio- morphological traits in rice. *Field Crops Res.* 40: 67- 86.
- 29- **Gregersen, P. L. and Holm, P. B. 2007.** Transcriptome analysis of senescence in the flag leaf of wheat. *Plant Biot.* 5, 192-206.
- 30- **Hong Bo, S., Zong Suom, L. and MingAn, S. 2005.** Changes of anti-oxidative enzymes and MDA content under soil water deficits among 10 wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes at maturation stage. *Colloids. Surf. Bio.* 45, 7-13.
- 31- **Jamaux, I., A. Steinmertz, and Belhassen, E. 1997.** Looking for molecular and physiological markers of osmotic adjustmet in sunflower. *New Phy Tol.* 137: 117- 127.
- 32- **Jeffrey, V. and Gyles, R. 2003.** Controlled release urea as a nitrogen source of corn in southern Minnesota. *Annual Report to Agrium U. S. Inc.*
- 33- **Jing, Y. and Huang, B. 2001.** Osmotic adjustment root growth associated wheat drought preconditioning enhanced heat tolerance in Kentucky bluegrass. *Crop Sci.* 41: 1168-1173.
- 34- **Jones, H. G. 1980.** Interaction and integration of adaptive responses to water stress: the implications of an unpredictable environment. In *Adaptation od plant to water and High Temperutre stress* (Ed.by N.C Turner & P.J. Kramer), pp. 353-365, Wiley,New York.
- 35- **Khan, H. R. and Stoddard, F. L. 2005.** Genotypic variation in physiological attributes related to drought tolerance in faba been inter Drought – II : Coping With drought 24 to 28 , 2005 , University of Rome " LA sapienza" , Rome , Italy .
- 36- **Kirnak, H., Kaya, C., TAS, I. and Higgs, D. 2001.** The influence of water deficit on vegetative growth, physiology, fruit yield and quality in egg plants. *Plant Physiol.* 27, 34-46.
- 37- **Khan, H. R., Link, W., cking, T. J. H. and Stodder, F . L . 2007.** Evaluation of physiological traits for improving drought tolerance in faba bean (*Vicia faba*) , *Journal , Plant and Soil .* 292 : 205 – 217 .
- 38- **Lakshmi, P. M., Candra, R. B., Carins, J. E. and Lafitte, H. R. 2005.** Comparative phisiolog of rice and mheat under drought ,September 24 to 28 ,2005,University of Rom " sapienza" , Roam
- 39- **Liang , Y., Chen, Q. Liu, Q. Zhang, W. and Ding. R. 2003.** Exogenous silicon (Si) increases antioxidan enzyme activity and reduces lipid peroxidation in roots of salt - stressed barley (*Hordeum Vulgar* L.) .*J.Plant physiol.* 160: 1157 – 1164 .
- 40- **Larcher, W. 2003.** *Physiological plant ecology*. Berlin, Heidelberg, New York, Springer-verlage.
- 41- **Ludlow, M. M., and R. C. Muchow. 1990.** A critical evolution of traits for improving crop yield in water- limited environmental. *Adv. Agron.* 42: 107- 153.
- 42- **Marcelo, d. A., L. John. 2007.** Use of physiological parameters as fast tools to screen for drought tolerance in sugarcane. *Braz. J. Plant Physiol.* 19(3):193-201.
- 43- **Marschner, H. 1995.** *Mineral Nutrition of Higher Plants*. Academic Press London, 889p.
- 44- **Mohammadkhani, N. and R. Heidari. 2007.** Effects of water stress on respiration, photosynthetic pigments and water content in two maize cultivar. *Pakistan Journal of Biological Science*, 10(22): 4022-4028.
- 45- **Molden, A. D. 2007.** *Water for food, water for life: A comprehensive assessment of water management in agriculture*. London: Earthscan -Colombo: International Water Management Institute.
- 46- **Nayyar, H. and Gupta, D. 2006.** Differential sensitivity of C3 and C4 plants to water deficit stress: Association with oxidative stress and antioxidants. *Environ. Exp. Bot.* 58, 106-113.
- 47- **Olivares-Villegas, J. J., M. P. Reynolds, G.K. McDonald. 2007.** Drought-adaptive attributes in the Seri/Babax hexaploid wheat population. *Funct. Plant Biol.* 34: 189-203.
- 48- **O'Neill, P. M., J. F. Shanahan, J. S. Schepers. 2006.** Use of Chlorophyll fluorescence assessments to differential corn hybrid response to variable water condition. *Crop Sci.* 49: 681-689.

- 49- Orwa .C, A. Mutua, R. Kindt, R. Jamnadass and A. Simons. 2009. AgroforestryDatabase Lawsonia inermis ( Henna ) . a tree reference and selection guide version 4.0.
- 50- Pandey RM, Singh, R. 2010. Genetic studies for biochemical and quantitative characters in grain amaranth (*Amaranthus hypochondriacus* L.). *Plant Omics Journal*, 3(4):129-134.
- 51- Pandya, G. A., R. M. Prajapata., and P. S. Vashi. 1996. Estimates of genetic variability oarameters in safflower. *Gujarat Agric. Univ. Res. J.* 21: 13-16.
- 52- Penka, M. 1978. Influence of irrigation on the contents of effective substances in officinal plants. *Acta Horticulture.* 73:181-198
- 53- Pessarkli, M., 1999. Hand book of Plant and Crop Stress. Marcel Dekker Inc. 697 pp.Rai, V.K., Singh, G., Thakur, P.S., Banyal, S., 1983. Protein and amino acid relationship during water stress in relation to drought resistance. *Plant Physiol. Biochem.* 10, 161-167.
- 54- Pimentel, D., J. Houser, E. Preiss, O. White, H. Fang, L. Mesnick, T. Barsky, S. Tariche, J. Schreck., and S. Alpert. 1997. Water resources: agriculture, the environment, and society. *Bio Sci.* 47: 97-106.
- 55- Rajala, A., K. Hakala, P. Makela, S. Muurinen and P. Peltonen-Sainio. 2009. Spring wheat response to timing of water deficit through sink and grain filling capacity. *Field Crops Res.*114: 263–271.
- 56- Reddy, A. R., K.V. Chaitanya, and M. Vivekananda. 2004. Drought – induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plant. *J. plant physiol.* 161: 1189-1202.
- 57- Reynolds, M. P., C. Saint Pierre, A.S. I. Saad, M. Vargas, A.G. Condon. 2007. Evaluating potential genetic gains in wheat associated with stress adaptive traits expression in elite genetic resources under drought and heat stress. *Crop Science.* 47(S3): 172-189.
- 58- Richards, R. A. 1996. Increasing the yield potential of wheat: manipulating sources and sinks. In 'Increasing yield potential in wheat: breaking the barriers'. (Eds Reynolds MP, Rajaram S, McNab A) pp. 134-149. (CIMMYT: Mexico City)
- 59- Rigoberto, R. S., K .S. Josue, A. G. Jorge Alberto, T. L. Carlos, O. C. Joaquin, J. D. Kelly. 2004. Biomass distribution, maturity acceleration and yield in drought-stressed common bean cultivars. *Field Crops Res.* 85: 203-211.
- 60- Rong-hua, L., G. Pei-guo, M. Baum, S. Grando, S. Ceccarelli. 2006. Evaluation of chlorophyll content and fluorescence parameters as indicators of drought tolerance in barley. *Agric. Sci. China.* 5: 751-757.
- 61- Saeedipour, S. 2012. Appraisal of some physiological traits in two wheat cultivars subjected to terminal drought stress during grain fill ing. *African Journal of Biotechnology*, Vol. 11(83), pp. 14884-14888.
- 62- Salehpour, M., A. Ebadi, M. Izadi and Sh. Jamaati-e-Somarini. 2009. Evaluation of water stress and nitrogenfertilizer effects on relative water content, membrane stability index, chlorophyll and some other traits of lentils (*Lens culinaris* L.) under hydroponics conditions. *Res. J. Environ. Sci.* 3 (1): 103-109.
- 63- Salleo, S., A. Nardini, F. Pitt, M. A. Lo Gullo. 2000. Xylem cavitations and hydraulic control of stomatal conductance in laurel (*Laurus nobilis* L.). *Plant Cell Environ.* 23: 71-79.
- 64- Sanchez-Blanco, J., T. Fernandez, M.A. Morales, A. Morte, and J.J. Alarcon. 2006. Variation in water stress, gas exchange, and growth in *Rosmarinus officinalis* plants infected with *Glomus deserticola* under drought conditions. *Journal of Plant Physiology*, 161(6): 675-682.
- 65- Saraker, A. M., M. S. Rahman, and N. K. Paul. 1999. Effect of soil moisture on relative leaf water content, chlorophyll, proline and sugar accumulation in wheat. *J. Agron and Crop Sci.* 183: 225-229.
- 66- Serrano, L., J. Penuelas. 2005. Contribution of physiological and morphological adjustments to drought resistance in two Mediterranean tree species. *Biol Plantarum.* 49: 551-559.
- 67- Shaw, B., T. H. Thomas, and D. T. Cooke. 2002. Responses of sugar beet to drought and nutrient deficiency stress. *Plant Growth Regulation.* 37: 77-83.
- 68- Siddique, M. R. B., A. Hamid, and M. S. Islam. 2000. Drought stress effects on water relations of wheat. *Bot.Bull.Acad.Sin.*41:35-39.
- 69- Tize, L. and E. Zaiger, 2007. ABA and drought adaptation. Chapter 25. P: 671-682.
- 70- Vannozi, G. and F. Larner. 2007. Proline accumulation during drought rhizogene in maize. *Journal Plant Physiology* 85: 441-467.
- 71- Zehtab- Salmasi, S., A. Javanshir, R. Omidbaigi, H. Alyari, and K. Ghassemi-Golezani. 2001. Effects of water supply and sowing date on performance and essential oil production of anise (*Pimpinella anisum* L.). *Acta Agro Hungarica.*, 49:75-81.