

تأثیر محلول پاشی عنصر روی بر صفات فیزیولوژیک و عملکرد دانه سویا در شرایط رژیم‌های مختلف آبیاری

سمیه کرمی^۱، سید علی مدرس ثانوی*^۲، فائزه قناتی^۳، حامد کشاورز^۱ و پوردهقان، مونا^۵
^۱، ^۲، ^۳ و ^۴، به ترتیب، مربی، استاد، دانشیار و دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه تربیت مدرس
 (تاریخ دریافت: ۹۵/۰۷/۰۸ - تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۵/۰۷)

چکیده

به منظور بررسی اثر تنش کمبود آب و محلول پاشی روی (Zn)، بر برخی صفات فیزیولوژیک و عملکرد دانه سویا آزمایشی به صورت اسپیلیت-پلات فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در سال زراعی ۱۳۸۹ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس انجام گرفت. عامل اصلی شامل رژیم‌های آبیاری در سه سطح (بدون تنش، تنش در مرحله رشد رویشی، تنش از مرحله گل‌دهی تا ۱۰ درصد غلاف‌بندی) و عامل فرعی حاصل از ترکیب دو عامل رقم با دو سطح (L17 و کلارک ۶۳) و عامل محلول پاشی، در سه سطح (بدون محلول پاشی، محلول پاشی آب خالص و محلول پاشی سولفات روی (۵ در هزار) بود. با اعمال تنش کم‌آبی عملکرد دانه به طور معنی‌داری کاهش یافت. با اعمال تنش کم‌آبی میزان Fv/Fm، محتوای کلروفیل و پروتئین محلول برگ هر دو رقم کاهش یافته، اما هیدرات‌های کربن محلول، پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان آنها افزایش پیدا کرد. کاربرد عنصر روی سبب افزایش معنی‌داری در عملکرد دانه، میزان کلروفیل، نسبت Fv/Fm، محتوای پروتئین محلول برگ و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در هر دو رقم شد، اما مقدار کربوهیدرات‌های محلول، پرولین و فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز آنها کاهش یافت. به طور کلی محلول پاشی روی توانست اثرات منفی ناشی از تنش اکسیداتیو ناشی از کمبود آب را کاهش دهد و شرایط رشد را برای گیاه سویا بهبود بخشد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، تنش اکسیداتیو، قطع آبیاری، سویا و کلروفیل.

Influence of foliar zinc application on yield and physiological traits of soybean under different irrigation regimes

Somayeh Karami¹, Seyyed Ali Modares Sanavi^{*2}, Faezeh Ghannati³, Hamed Keshavarz¹ and Mona Pourdehghan⁵

1, 2, 3 and 4, respectively, coach, professor, associate professor and master student of Tarbiat Modarres University

(Received: October 28, 2016– Accepted: July 29, 2017)

ABSTRACT

In order to study the effect of irrigation regimes and zinc (Zn) foliar application on some physiological traits and yield of soybean, an experiment conducted in 2009 at Faculty of Agriculture of Tarbiat Modares University as randomized complete block design arrangement in split factorial with three replications. Main factor was irrigation regimes containing three levels (non stress, water deficit stress in vegetative growth stage and water deficit stress from flowering stage to 10 percent pod set) and subordinate factor was a factorial combination of foliar zinc application containing three levels (non foliar application, water foliar application and zinc sulfate (5000 ppm) foliar application and cultivars containing two levels (L17 and Clarck 63). Water deficit stress significantly decreased the grain yield. Water deficit stress decreased further Fv/Fm, chlorophyll and soluble protein content in leaves of cultivars, but increased soluble carbohydrates, proline content and antioxidant enzymes activity. Zinc sulfate foliar application increased Fv/Fm, chlorophyll content, soluble protein content in leaves and superoxide dismutase activity in both cultivars, but decreased soluble carbohydrates, proline content, catalase and peroxidase activities. In general, foliar application of zinc decreased harmful effects of oxidative stress due to water deficit stress and improved growth conditions for soybean plants.

Keywords: antioxidant enzymes, chlorophyll, Oxidation stress and withholding irrigation.

* Corresponding author E-mail: modaresa@modares.ac.ir

مقدمه

گیاهان در معرض انواع زیادی از تنش‌های محیطی هستند. در بین این تنش‌ها، تنش اسمزی، به‌ویژه تنش اسمزی ناشی از تنش شوری و خشکی، جدی‌ترین مسأله‌ای است که رشد گیاه و تولید محصول را در کشاورزی محدود می‌کند (Kuznetsov & Shevyakova, 1999). گیاهان در هنگام تنش خشکی با تغییراتی که در برخی از خصوصیات فیزیولوژیک آنها ایجاد می‌کنند، به آن پاسخ می‌دهند. تجمع مواد محلول در پاسخ به خشکی (تنظیم اسمزی)، راهی برای حفظ آماس است (Sanchez et al., 2003).

پرولین از جمله مهمترین موادی است که در هنگام بروز تنش در بافت گیاهان تجمع می‌یابد (Kuznetsov & Shevyakova, 1999). سنتز پرولین در اثر تنش در بسیاری از گیاهان مانند یونجه (Irigoyen et al., 1992)، نخود (Sanchez et al., 1998) و در سویا (Manafi et al., 2015) نیز مشاهده شده است. De Ronde et al. (2000) نقش کاملاً واضح پرولین را در بافت‌های تنش‌دیده سویا متذکر شدند. آنها سویا را در معرض تنش آبی قرار دادند و مشاهده کردند در پتانسیل آب -0.5 مگاپاسکال پرولین گیاه تیمار شده $1/3$ برابر شاهد بود. از دیگر موادی که در شرایط تنش در گیاه تجمع می‌یابد، کربوهیدرات‌های محلول است که تحت تنش کمبود آب، می‌تواند هم به‌عنوان عامل اسمزی و هم به‌عنوان حفاظت‌کننده‌های اسمزی عمل کند (Bohner et al., 1999). تحقیقات متعددی در زمینه نقش کربوهیدرات‌های محلول و افزایش آنها تحت شرایط تنش خشکی روی سویا انجام شده است که همگی بر نقش ترکیبات مذکور در تنظیم اسمزی سلول دلالت دارند (Yamada & Fukutoku, 1986; Gadallah, 2000).

یکی از اثرات تنش کم‌آبی، ایجاد آسیب‌های اکسیداتیو می‌باشد که توسط رادیکال‌های آزاد اکسیژن صورت می‌گیرد. تولید گونه‌های اکسیژن فعال سبب پراکسیداسیون لیپیدهای غشا، تخریب پروتئین‌ها و نوکلئیک اسیدها می‌گردد و در نتیجه باعث کاهش نفوذپذیری انتخابی غشای سلولی می‌شود. گیاهان برای کاهش دادن اثر مخرب گونه‌های اکسیژن فعال، مکانیسم‌های متفاوتی دارند. از جمله این مکانیسم‌ها می‌توان به سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی آنزیمی اشاره کرد. در گیاه سویا مشاهده شد که کاتالاز،

سوپراکسید دیسموتاز و گلوکاتایون پراکسیداز از مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی می‌باشند و در پاک‌سازی گونه‌های فعال اکسیژن نقش دارند (Masoumi et al., 2011). همبستگی‌های گوناگونی بین تنش آب و میزان آنتی‌اکسیدان‌های محلول در آب درون‌سلولی گزارش شده است. میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در شرایط تنش آب در گونه‌های مختلف، در بعضی موارد افزایش و در بعضی موارد کاهش می‌یابد (Navari-izzo et al., 1993). فعالیت آنزیم کاتالاز در تنش کمبود آب افزایش می‌یابد اما با ادامه‌ی تنش و افزایش آن، میزان فعالیت آن کاهش می‌یابد (Masoumi et al., 2011).

تغذیه‌ی مناسب تحت شرایط تنش می‌تواند تا حدی به گیاه در تحمل تنش‌های مختلف کمک کند. روی از عناصر کم‌مصرف ضروری است که برای رشد و تولیدمثل گیاهان زراعی ضروری است و در سنتز پروتئین‌ها و هورمون‌های گیاهی نظیر اکسین به‌کار می‌رود (Alloway, 2004). در برخی از گزارش‌ها از سویا به‌عنوان گیاه حساس به کمبود روی (Banks, 2004; Havlin et al., 1999) و در یک مورد، به‌عنوان گیاه نیمه‌حساس به کمبود روی (Franzen, 1999) نام برده شده است. برای جذب عناصر، ریشه‌ها، اندام اولیه گیاه هستند که این نقش را به‌عهده دارند. وجود عاملی که دسترسی عناصر غذایی را در خاک محدود می‌کند، استفاده مورد انتظار از کودها را کاهش می‌دهد. تحت این شرایط، عناصر غذایی برای گیاهان می‌تواند به‌وسیله کاربرد برگی فراهم شود. کاربرد برگی می‌تواند دسترسی گیاهان به عناصر غذایی را برای به‌دست آمدن عملکرد زیاد تضمین کند. به‌علت قرار گرفتن ایران در منطقه جغرافیایی خشک و نیمه‌خشک، گیاهان موجود در این مناطق، در مراحل مختلف رشد خود در معرض تنش کم‌آبی هستند. با توجه به نقش عناصر غذایی در مقاومت گیاهان به تنش‌های مختلف محیطی، این تحقیق جهت تعیین اثرات عنصر روی بر عملکرد دانه و صفات فیزیولوژیک مهم ارقام سویا در شرایط رژیم‌های مختلف آبیاری انجام گرفت. همچنین به دلیل آهکی بودن، وجود پتاسیم بالا و اسیدیته بالای خاک محل اجرای آزمایش که موجب اختلال در جذب عنصر روی از خاک می‌گردد، در این تحقیق روش محلول‌پاشی برگی روی به‌جای کاربرد خاکی آن انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

گرفتند. عوامل مورد بررسی شامل رژیم آبیاری در ۳ سطح (بدون تنش، تنش در مرحله رشد رویشی (V5) و تنش از مرحله شروع گل‌دهی تا ۱۰ درصد غلاف‌بندی (R1-R3)) و عامل رقم با دو سطح (L17 و کلارک ۶۳) و عامل پاشی در سه سطح (بدون محلول‌پاشی، محلول‌پاشی آب خالص و محلول‌پاشی سولفات روی آبدار ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$)) بودند. آبیاری کلیه تیمارها از زمان کاشت تا مرحله V5 به‌طور یکنواخت و بعد از تخلیه ۴۰ درصد آب ظرفیت زراعی خاک انجام شد. تیمار تنش کم آبی در دو مرحله ذکر شده، به‌وسیله قطع آبیاری تا تخلیه ۶۰ درصد ظرفیت زراعی خاک و ثبت رطوبت خاک به‌وسیله دستگاه TDR برای اعمال تنش یکسان در مراحل مختلف رشدی گیاه انجام شد. همچنین جهت ثبت میزان آب مصرفی و کنترل میزان آب در هر بار آبیاری، مزرعه به سیستم آبیاری شامل لوله‌های پلی‌اتیلن و کنتور آب مجهز شد. در مجموع میزان آب مورد استفاده کرت‌های بدون تنش با ۱۸ بار آبیاری (۷۵/۶ متر مکعب در کل دوره رشد)، کرت‌های با اعمال تنش در V5-R1 و R1-R3 به ترتیب ۱۵ و ۱۶ بار آبیاری (به ترتیب ۶۳ و ۶۷/۲ متر مکعب در کل دوره‌ی رشد) بود.

آزمایش در خرداد ماه سال ۱۳۸۹ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس تهران، با موقعیت طول جغرافیایی ۵۱ درجه و ۴۳ دقیقه شمالی و عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۸ دقیقه شرقی و ۱۲۱۵ متر ارتفاع از سطح دریا انجام شد. مشخصات خاک و اطلاعات آب و هوایی محل اجرای آزمایش به ترتیب در جدول ۱ و ۲ ارائه شده است. عملیات آماده‌سازی زمین به‌وسیله‌ی شخم، دیسک و ایجاد کرت به ابعاد ۲×۳ انجام شد. فاصله ردیف‌ها در هر کرت ۴۰ سانتی‌متر، فاصله‌ی بوته‌ها روی ردیف‌های کشت، ۸ سانتی‌متر و تراکم نهایی برای تمام ارقام برابر ۳۱۲۵۰۰ بوته در هکتار بود. به‌منظور تشکیل گره‌های تثبیت نیتروژن در ریشه، بذور با باکتری سویه‌ی *Rhizobium japonicum* تلقیح شدند. کود نیتروژن به‌میزان ۳۰ کیلوگرم در هکتار به فرم اوره (استارتر) هنگام کاشت داده شد. در این مطالعه عامل رژیم آبیاری خاک به‌عنوان عامل اصلی و ترکیب محلول‌پاشی و رقم به‌عنوان عامل فرعی به‌صورت اسپیلیت‌پلات فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار مورد بررسی قرار

جدول ۱- مشخصات خاک محل آزمایش در عمق ۰-۶۰ سانتی‌متری خاک

Table 1. Physical and chemical properties of soil garden used in 0-60 Cm soil depth.

Characteristics	Total N %	Ava P mg.kg ⁻¹	Ava K mg.kg ⁻¹	OC %	Zn mg.kg ⁻¹	EC dS/m	pH
Soil sample	0.1	80	848	1.03	0.45	1.12	7.73

پاشی آب خالص جهت تشخیص و جدا کردن اثر آب محلول‌پاشی شده (۱۰۰۰ لیتر در هکتار) همراه سولفات روی بر گیاه بود. پس از اعمال تیمارهای مورد نظر نمونه‌برداری از برگ‌های یکسان (جوان‌ترین برگ توسعه‌یافته)، جهت آنالیزهای بیوشیمیایی صورت گرفت. نمونه‌های برگی در دمای ۸۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند. برداشت نهایی به هنگام رسیدگی نهایی دانه از دو ردیف میانی کرت آزمایشی (یک متر مربع) و با در نظر گرفتن اثر حاشیه انجام گرفت و عملکرد دانه اندازه‌گیری و ثبت گردید.

مشخصات ارقام مورد آزمایش در جدول ۳ آمده است. دلیل انتخاب ارقام کلارک ۶۳ و L17، بررسی تأثیر تیمارهای ذکر شده بر گروه‌های مختلف از نظر گروه رسیدگی (جدول ۳) و همچنین عدم تحقیقات کافی در زمینه حساسیت این ارقام به کمبود عنصر روی و اثر متقابل کمبود روی و تنش کم‌آبیاری بود. محلول‌پاشی سولفات روی قبل از اعمال تنش و در مرحله‌ی چهار برگی به‌میزان ۵ در هزار (Gadallah, 2000) و به‌دلیل اجتناب از اثر سمیت احتمالی غلظت بالای عنصر روی در دو نوبت به‌فاصله‌ی دو هفته از هم انجام شد. همچنین تیمار محلول-

جدول ۲- متوسط دمای ماهانه و میزان بارندگی در طی فصل رشد گیاه سویا در سال ۸۹

Table 2. Monthly precipitation and air temperature during the period January–December for 2010

Month	March	April	May	June	July	August	September
Mean Min Tep (C)	10.55	15.35	23.16	25.58	23.8	20.52	18.93
Mean Max Tep (C)	19.68	25.26	23.58	38	34.39	31.48	28.77
Precipitation (mm)	1.74	1.02	0	0.05	0	0	0.03

جدول ۳- مشخصات ارقام مورد استفاده در آزمایش

Table 3. Profile cultivars used in test

Variety	Growing Duration (Day)	Seed Yield (kg/ha)	Growth type	100 Seed (gr) weight	Sensitivity to drought stress
Clark 63	130	3.5	Unlimited	13	Sensitive
L17	120	3	Unlimited	15	Sensitive

کربوهیدرات‌های محلول برگ به روش Dubois *et al.* (1956) اندازه‌گیری شد. بدین صورت که نمونه‌های منجمد به میزان ۰/۲ گرم در ۳ میلی‌لیتر آب مقطر عصاره‌گیری شدند و سپس محلول همگن حاصل به کمک کاغذ صافی صاف گردید. برای اندازه‌گیری قند نمونه، به ۵۰ میکرولیتر از همگن صاف شده ۰/۵ میلی‌لیتر فنل ۵ درصد و ۲/۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۹۸ درصد اضافه شد. منحنی استاندارد با استفاده از غلظت‌های مختلف گلوکز، زایلوز و مانوز از ۰ تا ۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر ترسیم گردید. جذب استانداردها به‌همراه جذب قند نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۴۸۰، ۴۸۵ و ۴۹۰ نانومتر اندازه‌گیری شده. محتوای پرولین برگ به روش Bates *et al.* (1973) محاسبه شد؛ بدین منظور ۰/۲ گرم بافت برگ توزین و در هاون چینی در ۳ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ۳ درصد به‌خوبی سائیده شد. همگن حاصل با دور ۱۸۰۰۰g به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس ۲ میلی‌لیتر معرف ناین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال اضافه شد. پس از بستن در لوله‌ها به مدت ۱ ساعت در حمام آب داغ (100 °C) قرار داده شد. پس از سرد شدن لوله‌ها، به هر کدام از آنها ۴ میلی‌لیتر تولوئن اضافه گردید و با استفاده از دستگاه ورتکس، به مدت ۱۵ ثانیه لوله‌ها تکان داده شدند. فاز روئی را که به رنگ قرمز و حاوی پرولین محلول در تولوئن بود، برداشته و همزمان با نمونه‌های استاندارد در دستگاه اسپکتروفتومتر قرار گرفت و جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت گردید. برای اندازه‌گیری غلظت کلروفیل از روش Arnon (1949) استفاده شد. برای استخراج این رنگیزه‌ها، برگ‌ها در استون ۸۰ درصد سائیده شدند. پس از صاف کردن به‌وسیله کاغذ صافی، جذب آن‌ها در طول موج‌های ۶۴۶/۸، ۶۴۳/۲۰ و ۴۷۰ نانومتر خوانده شد. تجزیه واریانس داده‌ها به‌وسیله نرم‌افزار SAS انجام شد و میانگین داده‌ها با آزمون LSD در سطح یک درصد مقایسه شدند.

برای سنجش فعالیت آنزیمی و پروتئین ۰/۲ گرم از بافت گیاهی تازه منجمد شده در نیتروژن مایع در بافر پتاسیم فسفات ۰/۰۵ مولار، pH=۷ در دمای ۴-۰ درجه سانتی‌گراد سائیده و عصاره‌گیری شد و سپس همگن حاصل در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴-۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد و محلول روئی برای سنجش فعالیت آنزیم‌ها و محتوای پروتئین محلول مورد استفاده قرار گرفت. برای اندازه‌گیری محتوای پروتئین محلول برگ از روش Bradford (1976) استفاده شد. بدین منظور ۱ میلی‌لیتر از محلول برادفورد به‌همراه ۱۰۰ میکرولیتر عصاره‌ی آنزیمی پس از مخلوط شدن کامل، در دستگاه اسپکتروفتومتر قرار گرفت و جذب محلول در طول موج ۵۹۵ نانومتر ثبت شد. فعالیت آنزیم‌های کاتالاز بر اساس روش Cakmak & Horst (1991) انجام شد. بر این اساس، از عصاره آماده شده در مرحله قبل برای سنجش فعالیت CAT استفاده شد. مخلوط واکنش شامل عصاره‌ی آنزیمی، بافر پتاسیم فسفات و پراکسید هیدروژن با غلظت نهائی ۱۰ میلی‌مولار بود. فعالیت آنزیم پراکسیداز نیز بر اساس روش Ghanati *et al.* (2002) انجام شد. فعالیت آنزیمی با افزودن مقادیر مناسب از عصاره‌ی آنزیمی، بافر، گایاکول با غلظت نهائی ۲۸ میلی‌مولار و پراکسید هیدروژن با غلظت نهائی ۵ میلی‌مولار در طول موج ۴۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. سوپراکسید دیسموتاز دیگر آنزیمی بود که به روش Giannopolitis & Ries (1997) مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. مخلوط واکنش، شامل بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار حاوی EDTA 1/0 میلی‌مولار، کربنات سدیم ۵۰ میلی‌مولار با pH=۱۰/۲، L- methionine 12 میلی‌مولار، نیتروبلوتترازولیوم ۷۵ میلی‌مولار، ریبوفلاوین ۱ میکرومولار و ۲۰۰ میکرولیتر عصاره‌ی آنزیمی بود. نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در معرض نور قرار گرفت و پس از این مدت جذب آنها در طول موج ۵۶۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد.

نتایج و بحث

عملکرد دانه تحت تأثیر اثر اصلی رژیم آبیاری و اثرات متقابل رقم در رژیم آبیاری، رژیم آبیاری در محلول پاشی و رقم در محلول پاشی قرار گرفت (جدول ۴). سطوح مختلف آبیاری، تأثیر متفاوتی بر عملکرد دانه داشتند. همچنین ارقام مختلف عکس‌العمل متفاوتی در رژیم‌های مختلف آبیاری داشتند؛ به طوری که تنش کم‌آبی در هر دو مرحله رشدی، عملکرد رقم L17 را بیشتر از رقم کلارک ۶۳ کاهش داد (جدول ۵). کاهش بیشتر عملکرد دانه رقم L17 نسبت به کلارک ۶۳، می‌تواند به دلایل متعددی از جمله دوره رشدی کوتاه‌تر از کلارک ۶۳ (جدول ۳) و در نتیجه زمان کمتر برای جبران خسارت تنش باشد. محلول پاشی با روی موجب افزایش عملکرد دانه شد. تیمارهای مختلف محلول پاشی عکس‌العمل متفاوتی در رژیم مختلف آبیاری داشتند. به طوری که محلول پاشی با سولفات روی عملکرد دانه را در شرایط تنش، بیشتر از شرایط بدون تنش افزایش داد (جدول ۶). همچنین ارقام مختلف عکس‌العمل متفاوتی به تیمار محلول پاشی نشان دادند، به طوری که محلول پاشی با عنصر روی عملکرد رقم L17 را بیشتر از رقم کلارک ۶۳ افزایش داد (جدول ۷). این تفاوت می‌تواند به علت خصوصیات مورفولوژیکی ارقام L17 مثل سطح برگ بیشتر این رقم هنگام محلول پاشی و جذب بیشتر عنصر روی و در نتیجه گسترش بیشتر ریشه و جلوگیری از اثرات مخرب تنش باشد (سطح برگ ارقام L17 و کلارک ۶۳ هنگام محلول پاشی به ترتیب ۴۴۲۳ و ۳۳۵۸ سانتی‌متر مربع در متر مربع بود). گزارش شده است که محلول پاشی عنصر روی در سویا، در مرحله هشت‌برگی با افزایش سطح برگ و وزن خشک و طول دوره گلدهی باعث افزایش تعداد دانه در غلاف می‌شود (Banks, 2004). در آزمایشی که روی سویا انجام گرفت مشاهده گردید که با محلول پاشی عنصر روی در شرایط خشکی طول ریشه افزایش می‌یابد و در نتیجه، گیاه به توده خاک بیشتری دست‌یافته که نتیجه آن جذب بیشتر آب از خاک و بالتبع افزایش عملکرد محصول می‌باشد (Gadallah, 2000). جدول تجزیه واریانس (جدول ۴) نشان داد که اثرات اصلی، اثرات متقابل رقم در رژیم آبیاری، رژیم آبیاری در محلول پاشی و رقم در محلول پاشی بر کلروفیل $a + b$ و a معنی‌دار بود. همچنین در رابطه با کلروفیل b اثرات اصلی و اثر متقابل رقم در رژیم آبیاری و

رژیم آبیاری در محلول پاشی معنی‌دار بود. تنش کم‌آبی باعث کاهش غلظت کلروفیل a ، b و $a + b$ گردید (جدول ۵). تنش در مرحله رشد رویشی سبب کاهش بیشتر کلروفیل شد (جدول ۵). علت کاهش بیشتر در این مرحله علاوه بر اثر تنش کم‌آبی، دمای بیشتر محیط نسبت به تنش در مرحله زایشی می‌باشد (جدول ۲). در پژوهش دیگری نیز با بررسی اثر تنش رطوبتی بر سویا گزارش شده است که مقدار کلروفیل، تحت تنش آب، کاهش می‌یابد (Makbul et al., 2011). محلول پاشی سولفات روی منجر به افزایش غلظت کلروفیل $a+b$ در هر دو مرحله تنش شد اگرچه واکنش رنگیزه‌های فتوسنتزی به اثر متقابل کم‌آبی و محلول پاشی متفاوت بود (جدول ۶). با وجود افزایش میزان کلروفیل $a+b$ با محلول پاشی روی در تمام سطوح تنش، میزان کلروفیل در سطح تنش در مرحله رشد زایشی روند افزایشی بیشتری داشته است. در آزمایش دیگری روی سویا مشخص شد که محلول پاشی روی هم در شرایط تنش و هم بدون تنش، مقدار کلروفیل را به مقدار قابل توجهی افزایش داد (Gadallah, 2000). آنچه که مسلم است تنش خشکی، میزان کلروفیل a را در این آزمایش بیشتر از کلروفیل b کاهش داد. در شرایط کمبود آب، غلظت اسیدآمین پرولین افزایش یافت. از آنجایی که کلروفیل و پرولین هر دو از پیش‌ماده‌ی مشترکی به نام گلوتامات سنتز می‌شوند، بنابراین می‌توان گفت افزایش سنتز پرولین در شرایط تنش خشکی به کاهش سنتز کلروفیل منجر می‌گردد (Aspinall & Paleg, 1981). وجود همبستگی منفی و معنی‌دار کلروفیل با پرولین ($r = -0.81^*$) در این آزمایش مؤید این مطلب می‌باشد. نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس (جدول ۴) نشان داد نسبت Fv/Fm تحت تأثیر اثرات اصلی و اثر متقابل رژیم آبیاری در محلول پاشی قرار گرفت. تنش کم‌آبیاری در هر دو مرحله رشدی باعث کاهش این نسبت شد به طوری که این کاهش در مرحله رشد رویشی بیشتر بود (جدول ۵) محلول پاشی با روی منجر به افزایش مقدار Fv/Fm گردید. محلول پاشی با روی در سطوح مختلف آبیاری متفاوت عمل کرد، به طوری که محلول پاشی سولفات روی مقدار Fv/Fm را در کرت‌های بدون تنش ۲ درصد، تنش در هر مرحله رشد رویشی و زایشی ۱۲ درصد افزایش داد (جدول ۶). همان‌گونه که عنوان شد دلیل افزایش مقدار Fv/Fm در این آزمایش با

گیاه سویا تحت تنش خشکی مطالعه شد، مشخص گردید کاربرد عنصر روی حجم و طول ریشه را حدود ۳ برابر افزایش داد (Gadallah, 2000).

محلول پاشی روی می تواند به نقش این عنصر در افزایش ریشه و حفظ پتانسیل رطوبتی برگ و در نتیجه جلوگیری از اثرات مخرب تنش در تخریب کلروفیل ارتباط داشته باشد. در یک آزمایش گلدانی که اثر کاربرد عنصر روی بر

جدول ۴- تجزیه ی واریانس عملکرد و صفات فیزیولوژیک سویا در تیمارهای رژیم های مختلف آبیاری، محلول پاشی روی و ارقام سویا

Table 4. Analysis of variance of yield and physiological traits of soybean in different irrigation regimes, Zinc concentrations and soybean varieties

S.O.V.	df	Seed Yeild	Chllorophyll a	Chllorophyll b	Chllorophyll a+b	Fv/Fm	Proline
Replication (R)	2	882	0.0007	0.0007	0.00229	0.00007	0.35
Irrigation(IR)	2	3658406**	1.9956**	0.8132**	5.3503**	0.0778**	10530.75**
Errorr	4	4059	0.0013	0.0003	0.00118	0.00013	0.19
Variety (V)	1	3666537**	0.2893**	0.1738**	0.9115**	0.0065**	1.48
Foliar treatment (F)	2	4385612**	0.1904**	0.0334**	0.3825**	0.0123**	9029.48**
V*IR	2	57885**	0.0169**	0.0028*	0.0143**	0.00029	1.11
F*IR	2	121523**	0.0253**	0.0046**	0.0473**	0.0009**	2175.33**
V*F	4	45562*	0.0027*	0.0008	0.0062*	0.00012	10.05*
V*IR*F	4	12497	0.0016	0.00004	0.0016	0.00018	2.99
Error	30	9922	0.0008	0.00054	0.0017	0.00014	2.04
CV (%)		3.63	5.66	4.71	4.62	2.49	4.58
S.O.V.	df	Total Solution Suger	Protein	Catalase	Peroxidase	Superoxid dismutase	
Rep(R)	2	1895	0.00967	109	0.004	0.0187	
Irrigation(IR)	2	161401616**	3.5609**	13345**	51.211**	37.674**	
R*IR	4	8388	0.003793	29	0.0021	0.0337	
Variety (V)	1	1065831**	0.4910**	5126**	27.456**	23.2851**	
Foliar treatment (F)	2	5334236**	0.2380**	504*	5.482**	3.8112**	
V*IR	2	612343**	0.1763**	245*	0.729**	0.0246	
F*IR	4	10827112**	0.00624	419**	4.668**	0.7716**	
V*F	2	203528*	0.00023	1	0.0049	0.8780**	
V*IR*F	4	72772	0.00312	7	0.0022	0.01286	
Error	30	38438	0.00382	68	0.0054	0.0899	
CV (%)		5.01	2.85	5.09	6.46	4.85	

ns و ** به ترتیب بدون اثر معنی دار و معنی داری در سطح احتمال ۱ درصد.

No Singh, * and ** at 0.05, 0.001 probability level and no significant, respectively. CAT-Catalase; Chl-Chlorophyll; TSS: Total Sugar Solution; SOD-Superoxide dismutase; POX-Peroxidase

گیاه یونجه به ترتیب ۹ و ۱۷ برابر مقدار پرولین در برگ ها و گره های گیاهان شاهد افزایش یافت (Irigoyen et al., 1992). در شرایط تنش، غلظت اسید آمینه پرولین نسبت به سایر اسیدهای آمینه افزایش می یابد، پرولین به عنوان مخزن ذخیره ای نیتروژن و یا ماده ی محلولی که پتانسیل اسمزی سیتوپلاسم را کاهش می دهد عمل می نماید و گیاه را در تحمل به تنش یاری می کند (Bian et al., 1988). تیمارهای مختلف محلول پاشی در سطوح مختلف رژیم

محتوای پرولین برگ تحت تأثیر رژیم آبیاری، محلول پاشی و اثرات متقابل رژیم آبیاری در محلول پاشی و رقم در محلول پاشی قرار گرفت (جدول ۴). محتوی پرولین برگ در گیاهان تنش دیده بیشتر از گیاهان بدون تنش بود. در تحقیقی که بر روی یازده ژنوتیپ سویا انجام گرفت، محتوی پرولین برگ، تحت تنش خشکی افزایش یافت (Farokhi et al., 2005). گزارش شده است که در شرایط تنش خشکی، مقدار پرولین آزاد در بافت های برگ و گره

کاهش داد (جدول ۶). همچنین تأثیر محلول پاشی در دو رقم مورد مطالعه متفاوت بود. به طوری که محلول پاشی روی مقدار پرولین را در ارقام L17 و کلارک ۶۳ به ترتیب ۸۶ و ۹۰ درصد کاهش داد (جدول ۷).

آبیاری، رفتار متفاوتی داشتند. محلول پاشی با روی باعث کاهش مقدار پرولین در تمام سطوح رژیم آبیاری گردید. محلول پاشی با سولفات روی میزان پرولین را در شرایط بدون تنش ۲۵ درصد و در هر دو سطح تنش ۹۰ درصد

جدول ۵- مقایسه میانگین‌های اثر متقابل رژیم آبیاری و رقم بر عملکرد دانه و برخی از صفات فیزیولوژیک سویا

Table 5. Mean comparison of interaction between irrigation and Variety on grain yield and some physiological characteristics of soybean

Stress Level	Variety	Seed Yield (kg/ha)	Chlorophyll a (mg/g FW)	Chlorophyll b (mg/g FW)	Chlorophyll a+b (mg/g FW)
No Stress	L17	3018 ^b	1.38 ^b	0.70 ^b	2.08 ^b
	Clark 63	3474 ^a	1.43 ^a	0.75 ^a	2.19 ^a
Vegetable Stress	L17	2285 ^b	0.66 ^b	0.30 ^b	0.96 ^b
	Clark 63	2937 ^a	0.83 ^b	0.32 ^a	1.16 ^a
Productive stress	L17	2146 ^b	0.94 ^b	0.40 ^b	1.35 ^b
	Clark 63	2602 ^a	1.07 ^a	0.48 ^a	1.55 ^a

Stress Level	Variety	Total Solution Sugar (mg/g FW)	Solution Protein (mg/g FW)	Catalase ΔAbs 240/mg Protein	Proxidase ΔAbs 470/mg Protein
No Stress	L17	15862 ^a	2.70 ^a	130.78 ^a	3.23 ^a
	Clark 63	16065 ^a	2.81 ^b	133.20 ^a	3.06 ^b
Vegetable Stress	L17	20868 ^b	1.64 ^b	190.20 ^a	4.63 ^a
	Clark 63	21692 ^a	2.19 ^a	179.63 ^b	4.29 ^b
Productive stress	L17	20580 ^b	1.71 ^b	175.2 ^a	4.59 ^a
	Clark 63	21439 ^a	2.23 ^a	164.64 ^b	4.25 ^b

در هر سطح تنش، اعدادی که با حرف یکسان - نشان داده شده‌اند، با آزمون LSD در سطح یک درصد دارای اختلاف معنی‌دار نیستند.

Means, in each column, followed by at least one letter in common are not significantly different at the 5% probability level

پروتئین‌ها در مقاومت به تنش خشکی سهم به‌سزایی دارند (Sanchez *et al.*, 1998). عنصر روی با حفظ رطوبت نسبی برگ محتوای کربوهیدرات برگ را کاهش داد. به نظر می‌رسد، این اثر به دلیل بهبود بافت آوندی به دلیل کاربرد عنصر روی و تجمع املاح اسمولیتی فعال در ریشه و کمک به جذب آب به طور مداوم باشد (Gadallah, 2000). جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثرات اصلی و اثرات متقابل رقم در رژیم آبیاری در محتوای پروتئین محلول برگ معنی‌دار شد (جدول ۴). تنش سبب کاهش محتوای پروتئین شد؛ ولی کاربرد روی به طور میانگین ۱۵ درصد از این کاهش را جبران کرد (داده‌ها ارائه نشده‌اند). ارقام مختلف عکس‌العمل متفاوتی در سطوح تنش کم‌آبی داشتند، به طوری که تنش کم‌آبی در هر دو مرحله رقم L17 را از نظر محتوای پروتئین بیشتر تحت تأثیر قرار داد و به ترتیب در مرحله رشد رویشی و زایشی به مقدار ۳۹ و ۳۷ درصد کاهش داد. ولی در رقم کلارک ۶۳ این کاهش به میزان ۲۲ و ۲۱ درصد بود (جدول ۵). تنش کم‌آبی با تولید رادیکال‌های مخرب اکسیژن، سبب تخریب ساختار پروتئین‌ها و اسیدهای آمینه می‌شود. کاهش پتانسیل آب در برگ‌های سویا، موجب نقصان قابل توجهی در پلی-

جدول تجزیه واریانس نشان داد که کربوهیدرات‌های محلول کل تحت تأثیر اثرات اصلی و اثر متقابل رژیم آبیاری در رقم، رژیم آبیاری در محلول پاشی و محلول پاشی در رقم قرار گرفت (جدول ۴). تنش کم‌آبی باعث افزایش کربوهیدرات‌های محلول کل شد. به طوری که این افزایش در شرایط تنش در دوره رویشی بیشتر بود. علت افزایش بیشتر کربوهیدرات‌های محلول در این مرحله رشد می‌تواند به دلیل مصادف شدن دمای بالای منطقه مورد آزمایش با رشد رویشی ارقام مورد آزمایش باشد (جدول ۲). همچنین رفتار ارقام مختلف در رژیم‌های مختلف آبیاری متفاوت بود؛ به طوری که کربوهیدرات‌های محلول برگ رقم کلارک ۶۳ در هر دو مرحله تنش، بیشتر از رقم L17 تحت تأثیر قرار گرفت و افزایش یافت (جدول ۵). اما محلول پاشی با سولفات روی در تمامی سطوح آبیاری به ویژه در شرایط تنش مقدار کربوهیدرات‌ها را کاهش داد (جدول ۶). محلول پاشی با سولفات روی مقدار کربوهیدرات‌های محلول کل برگ رقم کلارک ۶۳ را نسبت به رقم L17 بیشتر تحت تأثیر قرار داده و کاهش داد (جدول ۷). کربوهیدرات‌های محلول با افزایش فشار اسمزی و نگهداری تورژسانس و همچنین پایدار کردن غشاهای زیستی و

آنزیم‌های مطالعه شده بیشتر تحت تأثیر قرار گرفت (جدول ۴). افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تحت شرایط تنش کمبود آب در گیاه سویا با یافته‌های Vasconcelos *et al.* (2009) مطابقت داشت. محلول پاشی سولفات روی سبب کاهش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز شد اما فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را افزایش داد (جدول ۶). نتایج پژوهش حاضر با یافته‌های Weisany *et al.* (2012) عدم تأثیر عنصر روی بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مغایرت دارد. گزارش شده است که عنصر روی به دلیل افزایش حجم ریشه سبب افزایش پتانسیل آب در برگ‌های سویا شده است (Gadallah, 2000) که نتیجه آن کاهش تولید پراکسید هیدروژن و در پی آن کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز می‌باشد. آنزیم سوپراکسید دیسموتاز از مهم‌ترین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بوده که در شرایط تنش افزایش فعالیت آن در بیشتر گیاهان گزارش شده است (Vasconcelos *et al.* 2009). بسیاری از محققین به نقش کلیدی SOD در حفاظت آنتی‌اکسیدان در برابر تنش‌های مختلف اشاره داشته‌اند (Scandalios, 1993). با توجه به اینکه عنصر روی در ساختمان این آنزیم (Cu/ZnSOD) شرکت دارد لذا می‌تواند بر فعالیت آن تأثیر بگذارد و منجر به افزایش آن گردد.

ریبوزوم‌ها و مونوریبوزوم‌ها می‌گردند که این مسئله خود بازگو کننده کاهش سنتز پروتئین‌ها می‌باشد (Bradford & Hsiao, 1982). همچنین رادیکال‌های آزاد اکسیژن میل ترکیبی بالایی با پروتئین‌ها داشته و سبب اکسید شدن آنها می‌شوند. استفاده از عنصر روی، سبب افزایش محتوی پروتئین شد. وجود همبستگی منفی و معنی‌دار فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها و پروتئین‌ها در این آزمایش، گواه این است که عنصر روی با اثر بر فعالیت برخی از آنتی‌اکسیدان‌ها، اثر مخرب رادیکال‌های آزاد را خنثی کرده و از اکسید شدن و تخریب ساختار پروتئین‌ها جلوگیری به عمل آورده است (** $r = -0.96$). آهن و روی دو عنصر مهم موجود در ساختمان آنزیم‌های دخیل در ساخت آمینواسیدهای پایه که برای سنتز پروتئین ضروری هستند، می‌باشند. مقدار فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز تحت تأثیر اثرات اصلی و اثرات متقابل رقم در رژیم آبیاری و رژیم آبیاری در محلول پاشی قرار گرفتند، اما مقدار فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز تحت تأثیر اثرات اصلی و اثرات متقابل رقم در محلول پاشی و محلول پاشی در رژیم آبیاری قرار گرفت (جدول ۴). تنش باعث افزایش فعالیت کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز گردید. در میان آنزیم‌های مورد بررسی، فعالیت آنزیم پراکسیداز نسبت به سایر

جدول ۶- مقایسه میانگین‌های اثر متقابل رژیم آبیاری و محلول پاشی روی بر عملکرد دانه و برخی از صفات فیزیولوژیک سویا

Table 6. Mean comparison of interaction between irrigation and Variety on grain yield and some physiological characteristics of soybean

Stress Level	Foliar Application	Seed Yield (kg/ha)	Chlorophyll a (mg/g FW)	Chlorophyll b (mg/g FW)	Chlorophyll a+b (mg/g FW)	Fv/Fm
No Stress	No Spraying	3106 ^b	1.37 ^b	0.68 ^b	2.05 ^b	0.52 ^b
	Tab Water Spraying	2989 ^b	1.35 ^b	0.69 ^b	2.04 ^b	0.53 ^b
	Zinc Spraying	3644 ^a	1.50 ^a	0.80 ^a	2.31 ^a	0.54 ^a
Vegetable Stress	No Spraying	2295 ^b	0.70 ^b	0.25 ^b	0.96 ^b	0.38 ^b
	Tab Water Spraying	2325 ^b	0.68 ^b	0.24 ^b	0.93 ^b	0.38 ^b
	Zinc Spraying	3215 ^a	0.86 ^a	0.42 ^a	1.29 ^a	0.42 ^a
Productive stress	No Spraying	2011 ^b	0.89 ^b	0.37 ^b	1.27 ^b	0.45 ^b
	Tab Water Spraying	2030 ^b	0.88 ^b	0.37 ^b	1.26 ^b	0.45 ^b
	Zinc Spraying	3082 ^a	1.23 ^a	0.58 ^a	1.82 ^a	0.50 ^a
Stress Level	Foliar Application	Proline (μmol.g-1 FW)	TSS (mg/g FW)	CAT ΔAbs 240/mg Protein	POX ΔAbs 470/mg Protein	SOD ΔAbs 560/mg Protein
No Stress	No Spraying	3.68 ^a	16529 ^a	136.26 ^a	3.32 ^a	3.62 ^b
	Tab Water Spraying	3.41 ^a	16416 ^a	163.15 ^a	3.23 ^a	3.63 ^b
	Zinc Spraying	2.77 ^b	14945 ^b	123.56 ^b	2.90 ^b	6.30 ^a
Vegetable Stress	No Spraying	67.12 ^a	23176 ^a	185.03 ^a	7.34 ^a	6.55 ^b
	Tab Water Spraying	66.12 ^a	23066 ^a	182.37 ^a	7.34 ^a	6.56 ^b
	Zinc Spraying	6.94 ^b	17597 ^b	150.00 ^b	4.33 ^b	8.05 ^a
Productive stress	No Spraying	62.31 ^a	22922 ^a	200.11 ^a	6.71 ^a	6.44 ^b
	Tab Water Spraying	61.85 ^a	22824 ^a	198.37 ^a	6.69 ^a	6.37 ^b
	Zinc Spraying	6.17 ^b	17283 ^b	170.00 ^b	3.67 ^b	8.14 ^a

در هر سطح تنش، اعدادی که با حرف یکسان نشان داده شده‌اند، با آزمون LSD در سطح یک درصد دارای اختلاف معنی‌دار نیستند.

Means, in each column, followed by at least one letter in common are not significantly different at the 5% probability level

جدول ۷- مقایسه میانگین‌های اثر متقابل محلول‌پاشی روی و رقم بر عملکرد دانه و برخی از صفات فیزیولوژیک سویا

Table 7. Mean comparison of interaction between irrigation and Variety on grain yield and some physiological characteristics of soybean

Foliar application	Variety	Seed Yield (kg/ha)	Chlorophyll a (mg/g FW)	Chlorophyll a+b (mg/g FW)
No Spraying	L17	2189 ^b	0.94 ^b	1.36 ^b
	Clark 63	2743 ^a	1.04 ^a	1.49 ^a
Tab Water Spraying	L17	2144 ^b	0.92 ^b	1.33 ^b
	Clark 63	2751 ^a	1.03 ^a	1.49 ^a
Zinc Spraying	L17	3108 ^b	1.13 ^b	1.70 ^b
	Clark 63	3519 ^a	1.27 ^a	1.91 ^a

Foliar application	Variety	Proline (μmol.g ⁻¹ FW)	Total solution Sugar (mg/g FW)	SOD ΔAbs 560/mg Protein
No Spraying	L17	43.46 ^b	20519 ^b	5.95 ^a
	Clark 63	45.28 ^a	21233 ^a	5.13 ^b
Tab Water Spraying	L17	43.63 ^a	20376 ^b	5.90 ^a
	Clark 63	43.96 ^a	21161 ^a	5.14 ^b
Zinc Spraying	L17	5.87 ^a	16415 ^b	7.51 ^a
	Clark 63	4.71 ^b	16802 ^a	7.48 ^a

در هر سطح محلول‌پاشی، اعدادی که با حرف یکسان نشان داده شده‌اند، با آزمون LSD در سطح یک درصد دارای اختلاف معنی‌دار نیستند.

Means, in each column, followed by at least one letter in common are not significantly different at the 5% probability level

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گردیده، با علم به اینکه اکثر بخش‌های سلولی پتانسیل تولید گونه‌های فعال اکسیژن ناشی از شرایط تنش را دارد، لذا اعمال تیمارهای این مطالعه توانست موجب تقویت سیستم تدافعی در گیاه گردد و از این‌رو، می‌توان انتظار داشت که با کاربرد این عنصر سطوح تحمل گیاه در برابر انواع تنش‌ها بهبود یابد.

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج به‌دست آمده در این بررسی، می‌توان اظهار داشت که گیاه در مواجهه‌شدن با تنش خشکی سعی در حفظ فشار اسمزی خود دارد و این کار را با افزایش اسمولیت‌هایی از جمله پرولین و قندهای محلول انجام می‌دهد که به حفظ فشار و تورژسانس سلول‌های گیاه کمک می‌کنند. محلول‌پاشی عنصر روی موجب افزایش سطح فعالیت برخی از

REFERENCES

- Alloway, B.J. (2004). *Zinc in soils and crop nutrition*. International Zinc Assoc. (IZA), Belgium, 128p.
- Arnon, D.I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 24(1), 1-150.
- Aspinall, D. & Paleg, L.G. (1981). Proline accumulation physiological aspects. In: Paleg, L.G. & Aspinall, D. (Eds) *Physiology and Biochemistry of Drought Resistance in Plants*. 205 pp. Sydney Academic Press.
- Banks, L.W. (2004). Effect of timing of foliar zinc fertilizer on yield component of soybeans. *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry*, 22(116), 226-231.
- Bates, L.S. Waldern, R.P. & Teave, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*, 39, 205-207.
- Bian, Y.M. Chen, S.Y. Liu, S.K. & Xie, M.Y. (1988). Effects of HF on praline of some plants. *Plant Physiology Communications*, 6, 19-21.
- Bohnert, H.J., Nelson, D.E. & Jensen, R.G. (1999). Adaptations to environmental stresses. *Plant Cell*, 7, 1099-1111.
- Borrmann, D. Junqueira, R.D., Sinnecker, P., Gomes, M.S.D., Castro, I.A, Marquez, U.M.L. (2009). Chemical and biochemical characterization of soybean produced under drought stress. *Food Science and Technolgy.*, 29(3), 676-681.
- Bradford, K.J. & Hsiao, T.C. (1982). Physiological responses to moderate water stress. In: O.L. Lange, P.S. Nobel, C.B. Osmond, H. Ziegler (Eds.), *Water relations and photosynthetic productivity*, Vol. 12.3., *Encyclopedia of Plant Physiology*, New Series, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, pp. 263-324.
- Bradford, M. (1976). A rapid & sensitive method for the quantitation of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Annual Review Biochemistry*, 72, 248-254.
- Cakmak, I. & Horst, W. (1991). Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities in root tip of soybean (*Glysin max*). *Plant Phisiology*, 83, 463-468.
- De Ronde, J.A., Spreeth, M.H. & Cress, W.A. (2000). Effect of antisense L-Δ¹-pyrroline-5-carboxylate

- reductase transgenic soybean plants subjected to osmotic and drought stress, *Plant Growth Regulation*, 32, 13–26.
13. Dubois, M., Gilles, K.A. Hamilton, J.K. Rebers, P.A. & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Annual Chemistry*, 28, 350-356.
 14. Farokhi, A., Galeshi, S.A., Zeynali, E. & Abdoulzadeh, A. (2005). Evaluation of drought tolerance of soybean (*Glycine Max* L. Merr) in vegetative growth, *Journal of Agricultural Sciences And Natural Resources*, 11(4), 59-70.
 15. Franzen, D.W. (1999). *Soybean soil fertility*. North Dakota State University Publication. SF - 1164.
 16. Gadallah, N.A.A. (2000). Effects of indol -3-acetic acid and zinc on the growth, osmotic potential and soluble carbon and nitrogen components of soybean plants growing under water deficit. *Journal of Arid Environments*, 44, 451-567.
 17. Ghanati, F. Morita, A. & Yokota, H. (2002). Induction of suberin and increase of lignin content by excess Boron in Tobacco cell. Soil Science. *Plant Nutrition*, 48(3), 357-364.
 18. Giannopolitis, C. & Ries, S. (1997). Superoxid desmutase. I. Occurence in higher plant. *Plant Physiology*, 59, 309-314.
 19. Havlin, J.L., Beaton, J.D., Tisdale, S.L. & Nelson, W.L. (1999). *Soil Fertility and Fertilizers*. Sixth Edition. Prentice Hall, Inc. New Jersey. 499 pp.
 20. Irigoyen, J.J., Emerich, D.W. & Sanchez-Diaz, M. (1992). Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Physiologia Plantarum*, 84, 55-60.
 21. Kuznetsov, V. & Shevyakova, N.I. (1999). Proline under stress: Biological role, metabolism and regulation. *Russian Journal Plant Physiol*, 46, 274-287.
 22. Makbul, S., Guler, N. S., Durmus, N., Guven, S. (2011). Changes in anatomical and physiological parameters of soybean under drought stress. *Turkish Journal of Botany*, 35, 369-377.
 23. Manavalan L.P, Guttikonda, S.K., Tran, L.S.P., Nguyen, H.T. (2009). Physiological and Molecular Approaches to Improve Drought Resistance in Soybean. *Plant Cell Physiology*, 50(7), 1260-1276.
 24. Masoumi, H. Darvish, F. Daneshian, J. Normohammadi, G. & Habibi, D. (2011). Effects of water deficit stress on seed yield and antioxidants content in soybean (*Glycine max* L.) cultivars. *African Journal of Agricultural Research* Vol. 6(5), pp. 1209-1218.
 25. Navari-izzo, F. Milone, M.T.A., Quartacci, M.F. & Pinzino, C. (1993). Metabolic changes in wheat plants subjected to a water deficit stress programme. *Plant Science*, 92, 151-157.
 26. Sanchez, F.J., De Andres, E.F., Tenorio, J.L. & Ayerbe, L. (2003). Growth of epicotyls, turgor maintenance and osmotic adjustment in pea plants (*Pisum sativum* L.) subjected to water stress. *Field Crop Research*, 86, 81-90.
 27. Sanchez, F.J. Manzanares, M., De Andres, E.F. Tenorio, J.L. & Ayerbe, L. (1998). Turgor maintenance, osmotic adjustment and soluble sugar and proline accumulation in 49 pea cultivar in response to water stress. *Field Crops Research*, 59, 225-232.
 28. Scandalios, J.G. (1993). Oxygen stress and superoxide dismutase. *Plant physiology*, 101, 7-12.
 29. Vasconcelos, A.C.F., Zhang, X.Z., Ervin, E.H., Kiehl, J.D. (2009). Enzymatic antioxidant responses to Biostimulants in maize and soybean subjected to drought. *Scientia Agricola*, 66(3), 395-402.
 30. Weisany, W., Sohrabi Y., Heidari, G., Siosemardeh, A. & Ghassemi –Golezani, K. (2012). Changes in antioxidant enzymes activity and plant performance by salinity stress and zinc application in soybean (*Glycine max* L.). *Plant & Omics Journal*, 5(2), 60-67.
 31. Yamada, Y. & Fukutoku, Y. (1986). Effect of water stress on soybean stress soybean in tropical and sub tropical cropping system. *The asion vegetable research and development center*, shanbue Taiwan, China chapter, 48, 373-382.