



تنش قطع آبیاری و محلول پاشی با اسید هیومیک و عصاره جلبک بر میزان آنزیمهای آنتی اکسیدان و پرولین در سورگوم علوفه ای

محبوبه تقدسی*

دانشجوی کارشناسی ارشد زراعت، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، گروه کشاورزی دامغان، ایران

نصرت اله حسنی

عضو هیات علمی دانشگاه، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان سمنان، سمنان، ایران

جعفر مسعود سینکی

عضو هیات علمی دانشگاه، گروه کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، دامغان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۱/۲/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۱/۱۲/۱۳

چکیده

این آزمایش در سال زراعی ۱۳۹۰-۱۳۸۹ در سمنان با استفاده از طرح پایه بلوکهای کامل تصادفی به صورت کرت‌های دوبار خرد شده در سه تکرار اجرا شد. رژیم های آبیاری به عنوان عامل اصلی جهت اعمال محدودیت آب عبارت بودند از: آبیاری کامل، آبیاری تا مرحله خارج شدن سرگل آذین از غلاف و آبیاری تا مرحله شروع گلدهی و ظاهر شدن اولین پرچمها. تیمار محلولپاشی بعنوان عامل فرعی شامل: شاهد، استفاده از جلبک به میزان ۲ لیتر در هکتار، استفاده از اسید هیومیک به میزان ۲/۵ لیتر در هکتار و استفاده توأم جلبک و اسید هیومیک بودند. ارقام سورگوم اسپیدفید و پگاه نیز عامل فرعی فرعی در نظر گرفته شدند. نتایج نشان داد مقادیر کاتالاز، پراکسیداز و پرولین تحت تاثیر تنش قرار گرفتند و تغییرات معنی داری را نشان دادند و این تغییرات مبین افزایش میزان کاتالاز، پراکسیداز و پرولین موجود در برگ در شرایط تنش نسبت به شرایط شاهد بود. مقادیر کاتالاز، پراکسیداز و پرولین در شرایط بدون محلولپاشی بیشترین میزان را از خود نشان دادند. همچنین رقم اسپیدفید از لحاظ میزان کاتالاز و پراکسیداز نسبت به رقم پگاه فزونی داشت. بطور کلی بیشترین میزان آنزیمهای آنتی اکسیدان و پرولین در شرایط تنش و بدون محلولپاشی بدست آمد.

واژه های کلیدی: سورگوم، تنش خشکی، اسید هیومیک، عصاره جلبک

مقدمه

شیمیایی در تولیدات گیاهی ایجاد شده اند باعث مشکلاتی در سلامتی انسانها شده است. در سال های اخیر استفاده از تولیدات طبیعی جلبک و اسید هیومیک به عنوان جانشین کودهای سنتزی مرسوم نقش مهمی را برعهده گرفته اند (۱۳).

(۲۰۰۱) Gandhiyappan & et al مشاهده کرد ارزش جلبک به عنوان کود فقط به دلیل وجود نیتروژن، فسفر و پتاس نبود، بلکه بخاطر حضور عناصر و متابولیت های متفاوت نیز می باشد. افزایش رشد تحت تاثیر محلولپاشی عصاره جلبک به اثبات رسیده است.

عصاره جلبک تاثیرات مفیدی روی گیاهان به دلیل داشتن هورمون های رشد سیتوکینین، IAA, IBA عناصری مانند آهن، مس، روی، کبالت، مولیبدن، منگنز، نیکل، ویتامین ها و آمینو اسیدها است. کاربرد عصاره جلبک باعث افزایش رشد گیاه، تحریک رشد ریشه، تاخیر در پیری و بهبود مقاومت به استرس های محیطی از قبیل خشکی، شوری و درجه حرارت می شود. همچنین گزارش شده است کودهای حاوی جلبک از نظر پتاس غنی هستند (۱۸).

از طرف دیگر سطوح هورمون های گیاهی مانند اکسین و جیبرلین تحت شرایط تنش کاهش می یابد (۱). کاربرد مناسب تنظیم کننده های رشد ممکن است رشد گیاه و مقاومت به تنش خشکی را افزایش دهد (۱۲). بیشتر تنظیم کننده های رشد تجاری به صورت شیمیایی سنتز می شوند و استفاده بیش از حد از آنها ممکن است محیط را آلوده کند. بنابراین استفاده از تنظیم کننده های رشد

خشکسالی و تنش ناشی از آن مهم ترین و رایج ترین تنش محیطی (غیرزنده) است که تولیدات کشاورزی و باغی را با محدودیت روبرو ساخته و هر ساله خسارت های هنگفتی به این محصولات در جهان به خصوص ایران که به عنوان کشوری خشک و نیمه خشک محسوب می گردد وارد نموده و بازده استفاده از مناطق نیمه خشک و دیم خیز را کاهش داده است (۲۵). سورگوم زراعی با نام علمی *Sorghum bicolor* (L.) Moench گیاهی از خانواده غلات است. از نظر اهمیت غذایی پنجمین غله دنیا پس از گندم، ذرت، برنج و جو محسوب می شود. سورگوم علوفه ای با توجه به خصوصیات مورفولوژیکی منحصر به فردی که دارد به عنوان شاخص گیاهان زراعی مقاوم به خشکی معرفی شده است (۲۱).

گزینش گیاهان در شرایط بدون تنش، تاثیری بر پاسخ به خشکی ندارد. بنابراین یک هدف اصلی در علوم گیاهی جدید برای سازگار کردن گیاهان به شرایط محیطی، درک مکانیسم های فیزیولوژیک مقاومت به تنش ها است (۲۲). باتوجه به این هدف و از آنجایی که یکی از اثرات تنش خشکی بر هم زدن تعادل تغذیه ای در گیاه است (۲۰) و تحت شرایط تنش قابلیت دسترسی به مواد غذایی، جذب و انتقال مواد دچار اختلال می گردد (۴)، برآن شدیم تا با استفاده از دو نوع کود آلی تحت شرایط تنش، به بررسی صفات فیزیولوژیکی دو نوع سورگوم علوفه ای در سمنان پردازیم.

یکی از دلایل انتخاب کودهای آلی عصاره ی جلبک و اسیدهیومیک این بود که مواد شیمیایی سمی مانند آرسنیک و کادیوم که از تجمع کودهای

خشکی نگهداری می کند (۱۵). تغییر در فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدان یکی از مکانیسمهایی است که در گیاهان برای افزایش تحمل به تنشها رخ میدهد (۱۴). Kendall (۲۰۰۰) و کافی و مهدوی دامغانی (۱۳۷۹) گزارش کردند که افزایش فعالیت کاتالاز جهت کاهش اثرات پراکسیداز در هنگام تنش های محیطی در گیاهان گندم، جو، سویا و نخود نقش مهمی دارد. آزمایش های صورت گرفته توسط ساعی (۱۳۸۴) بر روی سورگوم علوفه ای، نشان می دهد که فعالیت کاتالاز در شرایط تنش خشکی نسبت به شرایط بهینه بیشتر می شود لذا از این آنزیم می توان جهت تعیین گونه های مقاوم به خشکی استفاده نمود. پراکسیداز و کاتالاز در چندین سیکل فیزیولوژیکی شامل پاسخ به تنشهای محیطی محصولات واسطه ای از قبیل OH و H_2O_2 ، O_2 افزایش می یابد (۸).

مواد و روش ها

این آزمایش مزرعه ای در سال ۱۳۸۹ در سمنان با مختصات جغرافیایی عرض ۳۴ درجه و ۱۷ دقیقه تا ۳۷ درجه و ۳۰ دقیقه عرض شمالی بین ۵۱ درجه و ۵۸ دقیقه و ۵۷ درجه و ۵۸ دقیقه طول شرقی از نصف النهار گرینویچ به اجرا درآمد. بافت خاک محل آزمایش لوم ماسه، با $pH=7.7$ و $5/21$ $EC=$ دسی زیمنس بر متر بود و در سال قبل از اجرای آزمایش آیش بوده است. با توجه به آزمون خاک به عمل آمده خاک مزرعه مورد نظر از نظر کودهای فسفاته و پتاسه غنی بوده و نیازی به استفاده از کود نبود. این آزمایش به صورت کرت های دوبار خرد شده با طرح پایه بلوکهای کامل تصادفی

بطور طبیعی بسیاری از نظرها را به خود جلب کرده است (۷ و ۲۶).

چنین تنظیم کننده های رشدی از مواد طبیعی مشتق شده اند و مواد مضر برای طبیعت ندارند. کاربرد آنها رشد گیاه را تحریک می کند و مقاومت به تنش های محیطی را افزایش می دهد. این تنظیم کننده های رشد در عصاره جلبک و هیومیک اسید وجود دارند (۲۷).

مواد هیومیکی موجود در خاک رشد گیاهان را بطور مستقیم و غیر مستقیم تحت تاثیر قرار میدهد. هیومیک اسید به روشهای مختلفی می تواند تاثیر مثبتی روی رشد گیاه داشته باشد. هیومیک اسید باعث افزایش جذب نیتروژن بوسیله گیاهان می شود. آنها همچنین جذب K, P, Mg, Ca را تحریک کرده و افزایش می دهد (۵).

خشکی نه تنها رشد و نمو گیاهان را کاهش می دهد، بلکه موجب تغییر در مسیر برخی از فرآیندهای متابولیسمی نیز می گردد. این تغییرات می تواند گیاه را در مقابل استرس مقاوم سازد (۲۸). گزارش های متعددی نیز در باب افزایش پرولین آزاد تحت شرایط تنش اعلام شده است (۲۹ و ۱۰). پرولین یکی از اسید آمینه های فعال در پدیده تنظیم اسمزی می باشد (۱۵). عده ای از محققان علت افزایش این ماده را نتیجه تخریب پروتئینها ذکر کرده اند (۲۹). افزایش میزان پرولین در اثر تنش خشکی در سورگوم (۳۰) گزارش شده است. تعدادی از محققین عقیده دارند که پرولینی که در هنگام تنش خشکی در گیاه جمع می شود، نقش ذخیره نیتروژن و کربن را بازی می کند (۱۱) و عده ای نیز عقیده دارند که پروتوپلاسم را در برابر

نگهداشته شد و بقیه بصورت دستی تنک گردید. اولین آبیاری بلافاصله بعد از کاشت انجام گرفت. آبیاری مزرعه در طول فصل رشد به طریقه نشتی انجام شد. ابتدا آبیاری برای تمام کرت ها به طور منظم انجام گرفت. سپس در مرحله خارج شدن سرگل آذین از غلاف و شروع گلدهی و ظاهر شدن اولین پرچم ها (I_2)، آبیاری تا خارج شدن سرگل آذین از غلاف و شروع گلدهی و ظاهر شدن اولین پرچم ها، آبیاری برای تیمارهای تحت تنش بطور کامل قطع گردید به عبارت دیگر تا قبل از این زمان آبیاری برای تیمار تنش خشکی، کاملاً مشابه تیمار آبیاری کامل بود. مبارزه با علفهای هرز پهن برگ به طور مداوم در طول دوره رشد از طریق وجین دستی و یک بار مبارزه شیمیایی با سم توفوردی به میزان ۲ لیتر در هکتار انجام شد. در طول دوره رشد جهت مبارزه با ساقه خوار ذرت (*Sesamia cretica*) از سم دورسبان به میزان ۱/۵ در هزار استفاده شد.

جهت سنجش پرولین از روش Bates (۱۹۷۳) استفاده شد. به این ترتیب که به ۱۰۰ میلی گرم از پودر برگ ۱۰ میلی لیتر از محلول اسید سولفو سالسیلیک ۳٪ اضافه شد و پس از ۲۴ ساعت این محلول به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۳۰۰۰ دور سانتریفوژ گردید. از محلول روئی ۲ میلی لیتر برداشت و به آن نینهدرین به مقدار ۲ میلی لیتر اضافه گردید سپس ۱ میلی لیتر اسید استیک گلاسیال اضافه گردید و لوله ها به مدت ۱ ساعت در بن ماری آب جوش قرار گرفتند. پس از سرد شدن بر روی هر لوله ۴ میلی لیتر تولوئن اضافه شد دو فاز تشکیل گردید فاز بالا برداشت و در طول موج ۵۲۰ نانومتر جذب آن قرائت گردید. مقدار پرولین بر حسب میکرومول بر گرم برگ تازه بیان شد.

در سه تکرار اجرا شد. رژیم های آبیاری مورد استفاده جهت اعمال محدودیت آب عبارت بودند از آبیاری کامل (I_1)، آبیاری تا مرحله BBCH ۶۱، خارج شدن سرگل آذین از غلاف (I_2)، و آبیاری تا مرحله BBCH ۵۱، شروع گلدهی و ظاهر شدن اولین پرچم ها (I_3). تیمارهای کودی بعنوان عامل فرعی در نظر گرفته شدند که شامل شاهد (P_1)، استفاده از جلبک به میزان ۲ لیتر در هکتار (P_2)، استفاده از اسید هیومیک به میزان ۲/۵ لیتر در هکتار (P_3) و استفاده توأم جلبک و اسید هیومیک (P_4) بودند. عصاره جلبک مورد استفاده با نام تجاری کلپاک از شرکت بازاگران کالا، *Ecklonia maxima* بوده و حاوی ۱۱ میلی گرم در لیتر اکسین و ۰/۰۳۱ میلی گرم در لیتر سایتوکینین بود. اسید هیومیک مورد استفاده با نام تجاری هیومکس از شرکت بازاگران کالا محصولی از شرکت Gh biotak آمریکای محتوی ۱۲٪ اسید هیومیک، ۳٪ اکسید پتاسیم و ۳٪ اسید فولویک بود. محلول پاشی در دو نوبت در مرحله رشد ۳-۵ برگی و دو هفته بعد بوسیله سمپاش پستی انجام شد. ارقام سورگوم اسپیدفید (S_1) و پگاه (S_2) عامل فرعی فرعی در نظر گرفته شدند. عملیات کاشت بذور بر روی ردیفهای کاشت در تاریخ ۱۳۸۹/۴/۴ به روش خشکه کاری و با دست به صورت کپه ای انجام گرفت. کرت‌های آزمایشی شامل ۶ ردیف کاشت به طول ۴ متر و به فواصل ۷۵ سانتی متر بودند. در هر ردیف ۴۰ کپه به فاصله ۱۰ سانتی متر و به عمق ۴ تا ۵ سانتی متر تعبیه و سپس در هر کپه ۳-۲ عدد بذر به منظور اطمینان از سبز شدن یکنواخت بوته ها و دستیابی به تراکم مطلوب گیاهی کشت شدند. بعد از سبز کردن، در هر کپه یک عدد بوته

نشان می دهد (جدول ۲). یافته های کافی و مهدوی دامغانی (۱۳۷۹) و عمان و همکاران (۱۳۸۱) گواه بر صحت یافته های این تحقیق است. بررسی ها نشان می دهد در شرایط تنش میزان آنزیم های آنتی اکسیدانت مانند کاتالاز جهت کاهش اثرات گونه های فعال اکسیژن افزایش می یابد. همچنین داده های حاصل از تاثیر تیمارهای کودی مختلف روی کاتالاز روند کاهشی معنی داری را نسبت به شرایط شاهد از خود نشان داد، بطوریکه بیشترین مقدار این آنزیم در شرایط شاهد و با مقدار ۱۰۴/۰۵۶ میلی گرم پروتئین و کم ترین مقدار آن در تیمار چهارم کودی ۷۶/۷۸ میلی گرم پروتئین بدست آمد. به عبارت دیگر ۲۶٪ کاهش در مقدار کاتالاز شاهد نسبت به تیمار کودی چهارم ملاحظه گردید. اثر رقم روی کاتالاز نیز مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد تاثیر رقم روی کاتالاز در سطح ۰.۵٪ معنی دار بود و رقم اسپیدفید با ۱۰۲/۵۲۷ نسبت به رقم پگاه با ۷۵/۸۳۳ در گروه برتر آماری قرار گرفت. نتایج تجزیه واریانس اثرات متقابل نشان داد اثرات متقابل تنش و کود، کود و رقم و اثرات سه گانه تنش، رقم و کود در سطح ۱٪ معنی دار بود. جدول مقایسه میانگین سطوح مختلف اثرات متقابل دو عامل تنش و کود روی میزان کاتالاز نشان داد تیمار I_2P_1 با میزان ۱۲۷/۵۰۰ و I_1P_4 با ۶۴/۸۳ میلی گرم پروتئین به ترتیب بالاترین و پایین ترین گروه آماری را به خود اختصاص دادند. همچنین بررسی برهمکنش تیمار آبیاری و رقم بر کاتالاز نشانگر این مطلب است که کمترین میزان کاتالاز در تیمار آبیاری کامل و در رقم پگاه I_1S_2 با ۶۰/۰۸ میلی گرم پروتئین و بیشترین مقدار

جهت سنجش کاتالاز از روش Cakmak, I. and Horst, W. J. (۱۹۹۱) استفاده شد. ۰/۲ گرم نمونه منجمد در ۳ میلی لیتر بافر سدیم فسفات ۲۵ میلی مولار با $pH = 6/8$ عصاره گیری شد. همگن حاصل در دور ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه، به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ شده و سپس محلول فوقانی برای سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز استفاده شد. تجزیه آب اکسیژنه با کاهش در جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر مورد سنجش قرار گرفته و به ازای هر میلی گرم پروتئین در عصاره آنزیمی بیان شد.

برای سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز از روش Pereira (۲۰۰۲) استفاده شد. ۰/۲ گرم از نمونه منجمد در نیتروژن مایع سائیده در بافر پتاسیم فسفات ۰/۰۲ مولار $pH = 6/8$ در دمای ۴ درجه سانتی گراد عصاره گیری شد و سپس محلول یکنواخت حاصل در ۱۲۰۰۰ دور در دمای ۴ - ۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شده و محلول رویی جهت اندازه گیری فعالیت پراکسیداز مورد استفاده قرار گرفت.

جهت تجزیه و تحلیل داده ها و انجام محاسبات آماری از نرم افزارهای SAS و EXCEL استفاده شد. مقایسه میانگین ها در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد و با استفاده از آزمون دانکن انجام گردید.

نتایج و بحث

کاتالاز: داده های حاصل از سنجش کاتالاز، تاثیر سطوح مختلف آبیاری را بر روی مقدار ترکیب یاد شده نشان می دهد که هم در تنش ملایم و هم در تنش شدید تفاوت معنی داری نسبت به شاهد

پراکسیداز نشان داد میزان آن در رقم اسپیدفید نسبت به رقم پگاه بیشتر بود. در بررسی اثرات متقابل تنش و کود بر روی صفت پراکسیداز تیمار تنش ملایم و بدون محلولپاشی I_2P_1 با بیشترین میزان $78/700$ میلی گرم پروتئین و تیمار بدون تنش و محلولپاشی با اسید هیومیک I_1P_2 با میزان $42/61$ میلی گرم پروتئین، کمترین میزان در بالاترین و پایین ترین گروه آماری قرار گرفتند.

مقایسه میانگین بر همکنش تنش و رقم روی پراکسیداز نشان می دهد تیمار تنش ملایم و رقم اسپیدفید I_2S_1 با $75/125$ میلی گرم پروتئین و تیمار آبیاری کامل و رقم پگاه I_1S_2 با $35/64$ میلی گرم پروتئین به ترتیب بالاترین و پایین ترین میزان پراکسیداز را نشان دادند. در بررسی اثر متقابل دو عامل کود و رقم روی صفت پراکسیداز تیمار بدون محلولپاشی و رقم اسپیدفید P_1S_1 با $70/33$ میلی گرم پروتئین و تیمار محلولپاشی توام جلبک و اسید هیومیک و رقم پگاه P_2S_2 با $41/66$ میلی گرم پروتئین به ترتیب در بالاترین و پایین ترین گروه آماری قرار گرفتند. مقایسه میانگین اثرات سه گانه کود، تنش و رقم بر روی میزان صفت پراکسیداز نشان می دهد تیمار $I_2P_2S_1$ با $84/46$ بیشترین مقدار را نشان داد و تیمار $I_1P_2S_1$ با مقدار $40/133$ میلی گرم پروتئین کمترین مقدار را نشان دادند. در بررسی میزان همبستگی بین پراکسیداز و سایر صفات کیفی بر اساس جدول همبستگی ساده جدول ۵ مشاهده شد که پراکسیداز در سطح ۱٪ همبستگی مثبت معنی داری با پرولین و کاتالاز نشان داد.

پرولین: داده های حاصل از سنجش پرولین، تأثیر سطوح مختلف آبیاری را روی مقدار ترکیب یاد

آن در تیمار تنش ملایم و رقم اسپیدفید I_2S_1 با $119/91$ میلی گرم پروتئین مشاهده شد. بررسی بر هم کنش دو عامل کود و رقم روی صفت کاتالاز نشان داد بیشترین مقدار کاتالاز در تیمار بدون کود و رقم اسپیدفید P_1S_1 با $114/66$ میلی گرم پروتئین و کمترین مقدار آن در تیمار سوم کودی، استفاده از اسید هیومیک و رقم پگاه P_2S_2 با $64/22$ میلی گرم پروتئین مشاهده شد. در بررسی اثرات سه گانه مشاهده شد تیمار تنش ملایم، بدون محلولپاشی و رقم اسپیدفید $I_2P_1S_1$ با میلی گرم پروتئین $134/667$ بیشترین میزان و تیمار آبیاری کامل، محلولپاشی توام اسید هیومیک و جلبک و رقم پگاه $I_1P_2S_2$ با 56 میلی گرم پروتئین کمترین میزان را از خود نشان دادند. همبستگی ساده بین کاتالاز و سایر صفات بر اساس نتایج بدست آمده در جدول ۵ نشان می دهد کاتالاز با پراکسیداز و پرولین در سطح ۱٪ همبستگی مثبت معنی دار نشان می دهد.

پراکسیداز: نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثرات ساده و متقابل و سه گانه تنش، کود و رقم روی میزان پراکسیداز در سطح ۱٪ معنی دار می باشد. میزان پراکسیداز در شرایط تنش نسبت به شرایط شاهد افزایش معنی داری داشت و روند صعودی معنی داری را نسبت به شاهد طی کرد (جدول ۲).

این نتایج با نتایج تحقیقات *Dat et al* (۲۰۰۰) مطابقت دارد. در مقابل اثر کود روی این صفت روند کاهشی را نسبت به شاهد از خود نشان داد. به طوریکه بیشترین میزان پراکسیداز در شرایط شاهد با $64/478$ میلی گرم پروتئین و کمترین میزان آن در تیمار چهارم کودی استفاده توام اسید هیومیک و جلبک با $46/344$ میلی گرم پروتئین بدست آمد. بررسی تأثیر رقم روی

بافت و تیمار بدون تنش و رقم اسپدیفید I₁S₁ با ۳۵/۹۰۰ میکرومول بر گرم بافت به ترتیب در بالاترین و پایین ترین گروه آماری قرار گرفتند. بررسی برهمکنش دو عامل کود و رقم روی میزان پرولین نشان داد که بیشترین کاهش در میزان پرولین در تیمار چهارم کودی با استفاده توام جلبک و اسید هیومیک و رقم اسپدیفید P₁S₁ با ۳۵/۰۳ میکرومول بر گرم بافت بدست آمد، که اختلاف معنی داری در سطح ۱٪ نشان می دهند. بررسی اثرات سه گانه کود، تنش و رقم روی صفت مذکور نشان داد بیشترین مقدار پرولین در تیمار تنش ملایم، بدون محلولپاشی و رقم پگاه I₂P₁S₂ با ۹۰/۴۳ میکرومول بر گرم بافت بدست آمد و کمترین مقدار در تیمار بدون تنش یا آبیاری کامل، محلولپاشی توام جلبک و اسید هیومیک و رقم اسپدیفید I₁P₁S₁ با ۳۰/۱۳ میکرومول بر گرم بافت بدست آمد. در بررسی میزان همبستگی بین پرولین و سایر صفات کیفی براساس جدول همبستگی ساده جدول ۵ مشاهده شد این صفت با کاتالاز و پراکسیداز همبستگی مثبت معنی دار در سطح ۱٪ نشان داد.

شده نشان داد که هم در تنش ملایم و هم در تنش شدید تفاوت معنی داری نسبت به شاهد دارد و در شرایط تنش ملایم میزان بیشتری از پرولین را نسبت به تنش شدید مشاهده کردیم. این نتایج با تحقیقات (Taher, ۲۰۰۵)، حسنی و حیدری شریف آباد (۱۳۸۲)، (۲۰۰۳) Gupta et al که در مورد افزایش پرولین آزاد تحت شرایط تنش اعلام شده است همخوانی دارد. پرولین در واکنش به تیمار کودی روند نزولی نسبت به شرایط شاهد از خود نشان داد بطوری که با کاهش ۳۱٪ در تیمار چهارم کودی نسبت به شرایط شاهد مواجه هستیم. میزان پرولین در رقم پگاه نسبت به رقم اسپدیفید بیشتر بود و در گروه برتر آماری قرار گرفت. در بررسی روابط متقابل دو عامل تنش و کود روی میزان پرولین، تیمار تنش ملایم و بدون محلولپاشی I₁P₁ با ۸۲/۸۰ میکرومول بر گرم بافت بیشترین میزان آبیاری کامل یا بدون تنش و محلولپاشی توام جلبک و اسید هیومیک I₁P₁ با ۳۸/۶۱ میکرومول بر گرم بافت کمترین میزان پرولین را به خود اختصاص دادند. همچنین برهمکنش دو عامل تنش و رقم روی میزان پرولین نشان داد که تیمار تنش ملایم و رقم پگاه I₁S₂ با ۷۵/۴۲۵ میکرومول بر گرم

جدول ۱- جدول تجزیه واریانس کاتالاز، پراکسیداز، پرولین در شرایط تنش خشکی و محلولپاشی دو رقم سورگوم

میانگین مربعات			درجه آزادی	منابع تغییرات
پرولین	پراکسیداز	کاتالاز		
۵/۵۴۸ns	۶/۱۸۷ns	۲/۷۶۳ ns	۲	بلوک
۳۶۴۴/۶۴۸**	۳۳۷۲/۶۷۰**	۶۵۱۵/۲۶۳**	۲	تنش
۶/۹۶۱	۴/۷۷۸	۲۰/۹۳۰	۴	خطای اصلی
۱۸۴۴/۸۵۰**	۱۳۱۶/۸۲۴**	۲۹۰۴/۴۹۵**	۳	محلولپاشی
۱۶۶/۴۶۵**	۱۵۱/۷۱۱**	۳۱۳/۹۱۲**	۶	تنش* محلولپاشی
۳/۸۷۱	۴/۳۱۱	۹/۳۵۶	۱۸	خطای فرعی
۴۲۲۷/۴۰۱**	۳۹۶۷/۹۲۰**	۱۲۸۲۶/۶۸۰*	۱	رقم
۱۷/۴۳۷**	۲۶/۸۳۷**	۴/۲۶۳**	۲	رقم*تنش
۷۷/۶۷۴**	۱۲۱/۲۸۶**	۴۸۰/۶۸۰**	۳	محلولپاشی* رقم
۹۱/۱۹۱**	۵۶/۱۲۷**	۱۳۵/۷۶۳**	۶	تنش*رقم*محلولپاشی
۲/۷۰۹	۳/۹۲۸	۷/۷۳۶	۲۴	اشتباه فرعی-فرعی
۲/۹۳	۳/۵۳	۳/۱۱		ضریب تغییرات

و*ns به ترتیب معنی دار در سطح احتمال پنج و یک درصد و غیرمعنی دار

جدول ۲- مقایسه میانگین سطوح مختلف تنش، محلولپاشی و رقم بر روی کاتالاز، پراکسیداز، پرولین در سورگوم

پرولین میکرومول / گرم	پراکسیداز میلی گرم	کاتالاز میلی گرم	عوامل آزمایشی
۴۴/۱۳۷ c	۴۴/۲۱۷ c	۷۳/۱۶۷ c	آبیاری
۶۸/۷۴۲ a	۶۷/۹۲۵ a	۱۰۶/۰۸۳ a	شاهد
۵۵/۱۹۲ b	۵۵/۹۲۹ b	۸۸/۲۹۲ b	قطع آبیاری در مرحله خارج شدن سرگل آذین از غلاف
			قطع آبیاری در مرحله شروع گلدهی و ظاهر شدن اولین پرچمها
			محلولپاشی
۶۵/۷۳۹a	۶۴/۴۷۸a	۱۰۴/۰۵۶a	شاهد
۶۳/۴۸۳b	۶۱/۸۱۱b	۹۵/۲۲۲b	محلولپاشی با جلبک
۴۹/۶۶۷c	۵۱/۴۶۱c	۸۰/۶۶۷c	محلولپاشی با اسیدهیومیک
۴۵/۲۰۶d	۴۶/۳۴۴d	۷۶/۷۷۸d	محلولپاشی جلبک و اسیدهیومیک
			وارسته
۴۸/۳۶۱ b	۶۳/۴۴۷ a	۱۰۲/۵۲۸a	اسپیدفید
۶۳/۶۸۶ a	۴۸/۶۰۰ b	۷۵/۸۳۳b	پگاه

میانگین‌های، در هر ستون و برای هر عامل، که دارای حداقل یک حرف مشترک می باشند، بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی دار ندارند.

جدول ۳- مقایسه میانگین اثرات متقابل

پرویلین میکرومول / گرم	پراکسیداز میلی گرم	کاتالاز میلی گرم	اثرات متقابل
۴۸/۹۱۲ d e	۵۱/۷۶۵ ef	۸۴ d e	I ₁ P ₁
۴۹/۶۵۵ d	۴۶/۳۶۳ g	۷۴/۱۶۰ f	I ₁ P _۲
۳۹/۳۶۴ g	۴۲/۶۱۹ h	۶۹/۶۶۵ g	I ₁ P _۳
۳۸/۶۱۵ g	۳۶/۱۱۱ i	۶۴/۸۳۱ h	I ₁ P _۴
۸۲/۸۰۷ a	۷۸/۷۰۸ a	۱۲۷/۵۰۲ a	I _۲ P ₁
۷۵/۹۱۴ b	۷۲/۹۰۴ b	۱۱۲ b	I _۲ P _۲
۶۵/۴۰۱ c	۶۷/۰۶۲ c	۹۹/۸۳۵ c	I _۲ P _۳
۵۰/۸۵۵ d	۵۳/۰۳۱ e	۸۵ d	I _۲ P _۴
۶۵/۵۰۸ c	۶۲/۹۶۴ d	۱۰۰/۶۶۰ c	I _۳ P ₁
۶۴/۸۱۶ c	۶۶/۱۶۱ c	۹۹/۵۰۶ c	I _۳ P _۲
۴۴/۲۳۹ f	۴۴/۷۰۸gh	۷۲/۵۰۸ fg	I _۳ P _۳
۴۶/۱۵۱ e	۴۹/۸۸۸ f	۸۰/۵۰۶ e	I _۳ P _۴
۳۵/۹۰۴ e	۵۲/۷۹۵ d	۸۶.۲۵ d	I _۴ S ₁
۵۲/۳۷۲ c	۳۵/۶۴۳ f	۶۰.۰۸ f	I _۴ S _۲
۶۲/۰۵۳ b	۷۵/۱۲۵ a	۱۱۹.۹۱ a	I _۴ S _۳
۷۵/۴۲۵ a	۶۰/۷۲۲ c	۹۲.۲۵ c	I _۴ S _۴
۴۷/۱۲۴ d	۶۲/۴۲۱ b	۱۰۱.۴۱ b	I _۵ S ₁
۶۳/۲۵۷ b	۴۹/۴۳۰ e	۷۵.۱۶ e	I _۵ S _۲
۵۷.۱۷ c	۷۰/۳۳۴ a	۱۱۴/۶۶۵ a	P ₁ S ₁
۷۴.۳۰ a	۵۸/۶۲۵ b	۹۳/۴۴۲ c	P ₁ S _۲
۵۷.۴۰ c	۷۲/۰۶۶ a	۱۱۴ a	P _۲ S ₁
۶۹.۵۶ b	۵۱/۵۵۶ c	۷۷/۴۴۳ e	P _۲ S _۲
۴۳.۸۳ e	۶۰/۳۶۵b	۹۷/۱۱۴ b	P _۳ S ₁
۵۵.۵۰ d	۴۲/۵۵۱ d	۶۴/۲۲۳ g	P _۳ S _۲
۳۵.۰۳f	۵۱/۰۲۴ c	۸۴/۳۳۷d	P _۴ S ₁
۵۵.۳۷ d	۴۱/۶۶۶ d	۶۹/۲۲۸ f	P _۴ S _۲

اثر متقابل تنش خشکی و محلولپاشی

اثر متقابل تنش خشکی و رقم

اثر متقابل محلولپاشی و رقم

میانگین های، در هر ستون و برای هر عامل، که دارای حداقل یک حرف مشترک می باشند، بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی دار ندارند.

I₁، I_۲، I_۳ = به ترتیب شامل آبیاری کامل، آبیاری تا مرحله خارج شدن سرگل آذین از غلاف، آبیاری تا مرحله شروع گلدهی و ظاهر شدن اولین پرچمها

P₁، P_۲، P_۳، P_۴ = به ترتیب شامل شاهد یا بدون محلولپاشی، استفاده از جلبک به میزان ۲ لیتر در هکتار، استفاده از اسید هیومیک به میزان ۲/۵

لیتر در هکتار، استفاده توام جلبک و اسید هیومیک

S_۱، S_۲ = به ترتیب شامل رقم اسپیدفید، پگاه

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر سه گانه تنش خشکی * محلولپاشی * رقم روی کاتالاز، پراکسیداز، پرولین در سورگوم

پرولین میکرومول / گرم	پراکسیداز میلی گرم	کاتالاز میلی گرم	اثر متقابل آبیاری، رقم و محلولپاشی
۳۹/۴۶۶ j	۵۸/۶۳۴ ef	۹۴/۳۳۱ d	I ₁ P ₁ S ₁
۵۸/۳۶۱. def	۴۴/۹۰۶ i	۷۳/۶۶۴ h	I ₁ P ₁ S _۲
۴۱/۶۰۳ ij	۶۰ d e	۹۲/۶۶۵ d e	I ₁ P _۲ S ₁
۵۷/۷۰۶ def	۳۲/۷۳۲ k	۵۵/۶۶۶ i	I ₁ P _۲ S _۲
۳۲/۴۰۷ k	۵۲/۴۰۴ h	۸۳/۳۳۴ g	I _۲ P _۱ S ₁
۴۶/۳۳۶ g	۳۲/۸۳۳ k	۵۶ i	I _۲ P _۱ S _۲
۳۰/۱۳۲ k	۴۰/۱۳۲ j	۷۴/۶۶۲ h	I _۲ P _۲ S ₁
۴۷/۱۰۰ g	۳۲/۱۰۱ k	۵۵ i	I _۲ P _۲ S _۲
۷۵/۱۶۱ bc	۸۳/۴۶۷ a	۱۳۴/۶۶۷ a	I _۲ P _۳ S ₁
۹۰/۴۳۰ a	۷۳/۹۳۸ b	۱۲۰/۳۳۵ b	I _۲ P _۳ S _۲
۷۴/۸۳۴ bc	۸۴/۴۶۹ a	۱۳۴/۳۳۶ a	I _۲ P _۳ S ₁
۷۷ b	۶۱/۳۳۲ d	۸۸/۶۶۱ e f	I _۲ P _۳ S _۲
۵۵/۸۰۴ f	۷۲/۵۳۴ b	۱۱۴/۳۳۷ c	I _۲ P _۳ S ₁
۷۵ bc	۶۱/۶۰۵ d	۸۵/۳۳۵ f g	I _۲ P _۳ S _۲
۴۲/۴۳۵ hi	۶۰/۰۳۱ de	۹۵/۳۳۴ d	I _۲ P _۳ S ₁
۵۹/۲۶۲ d e	۴۶/۰۳۴ i	۷۴/۶۶۰ h	I _۲ P _۳ S _۲
۵۶/۹۰۹ ef	۶۸/۹۰۷ c	۱۱۵ c	I _۲ P _۳ S ₁
۷۴/۱۰۷ c	۵۷/۰۳۵ ef	۸۶/۳۳۶ f g	I _۲ P _۳ S _۲
۵۵/۷۶۲ f	۷۱/۷۳۴ bc	۱۱۴ c	I _۲ P _۳ S ₁
۷۴ c	۶۰/۶۰۲ d	۸۵ f g	I _۲ P _۳ S _۲
۴۳/۳۰۱ hi	۵۶/۱۶۵ f g	۹۳/۶۶۷ d	I _۲ P _۳ S ₁
۴۵/۱۶۳ gh	۳۳/۲۳۴ k	۵۱/۳۳۶ i	I _۲ P _۳ S _۲
۳۲/۵۳۴ k	۵۲/۹۰۲ gh	۸۳ g	I _۲ P _۳ S ₁
۵۹/۷۶۵ d	۴۶/۸۶۵ i	۷۸ h	I _۲ P _۳ S _۲

میانگین‌های، در هر ستون و برای هر عامل، که دارای حداقل یک حرف مشترک می باشند، بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی دار ندارند.

I₁، I_۲، I_۳ = به ترتیب شامل آبیاری کامل، آبیاری تا مرحله خارج شدن سرگل آذین از غلاف، آبیاری تا مرحله شروع گلدهی و ظاهر شدن اولین پرچمها

P_۱، P_۲، P_۳، P_۴ = به ترتیب شامل شاهد یا بدون محلولپاشی، استفاده از جلبک به میزان ۲ لیتر در هکتار، استفاده از اسید هیومیک به میزان ۲/۵

لیتر در هکتار، استفاده توام جلبک و اسید هیومیک

S_۱، S_۲ = به ترتیب شامل رقم اسپیدفید، پگاه

جدول ۵- ضرایب همبستگی میان کاتالاز، پراکسیداز، پرولین در شرایط تنش خشکی و محلولپاشی دو رقم سورگوم

Proline	Peroxidase	CAT	صفات
		۱	CAT
	۱	۰/۹۶**	Peroxidase
۱	۰/۵۰**	۰/۴۲**	Proline

References

- Aharoni, N., Blumenfeld .A. and Richmond. E. 1977. Hormonal activity in attached lettuce leaves as affected by leaf water content. *Plant physiol.* 59:1169.
- Aman, a., habibi, d., mashhadi akbar bujar and khodabande, n.2005. Antioxidant enzymes as an index to select different Zhyvtyphay sunflower for drought tolerance. Master's thesis. Islamic Azad University of Karaj.
- Bates, L. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil* 39: 205-207.
- Benjamin, J. 2007. Effects of water stress on corn production. USDA Agricultural Research Service, Akron. Pp: 3-5.
- Biggs, R.H., Obreza, T.A., Webb.R.G.1989. Humate material: their effect and use as soil amendment. *Journal of applied psychology*, 5:115-120.
- Cakmak, I. and Horst, W. J. 1991. Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*) *Plant Physiology* 83: 463-468.
- Crouch, I.J. 1990. The effect of seaweed concentrate on plant growth. Dissertation for the doctor of phylosophy. Dept of Botany. Univ. of Natal, Pietermaritzburg. South Africa.
- Dat, J., Vandenabeele, S., Vranova, E., Van Montagu, M., Inze, D. and Van Breusegem, F. 2000. Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 57: 779-795.
- Gandhiyappan, K., and Perumal. P. 2001. Growth promoting effect of seaweed liquid fertilizer on the sesame crop plant. *Seaweed Res. Utiln.* 23(1&2), 23-25.
- Genetic engineering news letter. Special Issue. Transgenic drought and salt tolerant plant. (2004).
- Gupta, S. K. D., and DAS. K. 2003. Effect of level and time of application of N.P.K on yield and oil content of rape Indian agricultural, 17.163-8.
- Hall, J.R.III.1991. Growth regulators research in kentucky bluegrass sod production. *proc. Virginia Turfgrass landscape conference.*(31):69-71.
- Hansra, B. S. 1993. Transfer of agricultural technology on irrigated agriculture. *Fertilizer news*, 38:31-33.
- Hernandez, J. A., Jimenez, A., Mullineaux, P., Sevilla, F. 2000. Tolerance of pea (*Pisum sativum* L.) to long term salt stress is associated with induction of antioxidant defences. – *Plant Cell Environ.* 23: 853-862.
- Hasani, a., heidari sharif abd, h.2003. The biological role of proline and osmotic adjustment under drought stres, Ways to reduce dryness and drought Tehran.
- Kafi, m., mahdavi damghani, a.2000. Mechanisms of resistance of plants to environmental stress. Ferdowsi University of Mashhad.
- Kendall, e. j., Murnaghan, B. D., Jonesand, j. and Bowley, S. R. 2000. Iron superoxide dismutase expression in transgenic alfalfa increase winter survival without a detectable increase in photosynthetic oxidative stress tolerance *Plant Physiology*. 22: 1427-1836.

- Kingman, A. R. and Moore. J. 1982. Isolation, purification and quantification of several growth regulating substance in *Ascophyllum nodosum* (Phaeophyceae). *Botanica Marina*.25:149-153.
- Majidi heravan, a.2002.environment stress. Islamic Azad University, Sciences and Research Branch of Tehran.
- Mobaser, h., heidari sharif abad, m., musavi nik, gh., nour mohamadi, A., and darvish, f.2005. Effect of potassium, zinc and copper on the performance and enrich the wheat seeds in conditions of water scarcity. *Journal of Agricultural Sciences*. 11:133-143.
- Moaveni, p., heidari, y.2004. Effect of planting density on yield and some physiological traits in sorghum forage. *Journal of Agricultural Science*. 4:374-382.
- Nurani azad, h., chubine, d. 2008. Study of water stress on biomass, soluble sugars, proline, enzymes and ions in sunflower plant. *Journal - Research of Biological Sciences*. 3:19-26.
- Pereira, G. J. G., Milina, S. M. G., Lea, P. J., Azevedo, R. A., 2002. Activity of antioxidant enzymes in response to cadmium in *Crotalaria juncea*. *Plant and Soil* 239: 123-132.
- Saie, m., habibi, d., mashhadi akbar bujar, m and ardakani, m.2005. Determination of antioxidant enzyme activity levels as a parameter in determining forage sorghum varieties resistant to drought. Abstracts for the First International Conference of Biological Sciences.
- Sabagh pour, s.2003. Mechanisms of Drought Tolerance in Plants. *Quarterly drought and agricultural drought*.p:21-32.
- Schmidt, R. E.1990. Employment of biostimulants and iron for enhancement of turfgrass growth and development. *proc 30.virginia turfgrass conference*.
- Schmidt, S. P. and Osborn. T.G.1993. Effects of endophyte-infected tall fescue on animal performance. *Agric. Ecosyst. Environ*. 44: 233-262.
- Sunka, R., Bartels, D., and Kirch H.H. Over expression of a stress inducible dehydrogenase gene from *Arabidopsis thaliana* in transgenic plants improves stress tolerance. *The Plant Journal* 35 (2003).
- Taher. A. Physiology and lipid change in some upland rice (*Oryza sativa* L.) cultivars grown under drought stress. *College Laguna (Philippines)* (2007) 162: Leaves.