



دانشگاه گوارزی و منابع طبیعی گوار

نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی

جلد بیست و چهارم، شماره سوم، ۱۳۹۶

<http://jopp.gau.ac.ir>

اثرات تنش کم‌آبی در واکنش به زئولیت و کود نیتروژن بر برخی صفات فیزیولوژیکی شنبلیله

ابوالفضل باغبانی آرانی^۱، سیدعلی محمد مدرس‌ثانوی^{۲*}، مسعود مشهدی اکبر بوجار^۳

و علی مختصی بیدگلی^۴

^۱دانشجوی دکتری زراعت دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

^۲استاد گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

^۳دانشیار گروه زیست‌شناسی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

^۴استادیار گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۹۵/۷/۱۰؛ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۰/۸

چکیده

سابقه و هدف: تنش کم‌آبی از مهمترین عوامل محدودکننده تولید محصولات کشاورزی در مناطق خشک و نیمه خشک به شمار می‌رود. علاوه بر تغییرات فیزیولوژیک ناشی از بروز تنش، خسارت فزاینده عوامل اکسنده نیز موجب محدودیت رشد و تولید می‌گردد. گیاهان در مقابله با تنش کم‌آبی به تجمع اسمولیت‌هایی مثل پرولین، گلیسین بتائین و قندهای محلول و افزایش ترکیبات آنتی‌اکسیدانتی (آنزیمی مثل سوپر اکسید دسموتاز، کاتالاز و غیر آنزیمی مثل کارتنوئیدها و آنتوسیانین‌ها) می‌پردازند. به‌منظور بررسی اثرات تنش کم‌آبی، کود نیتروژن و زئولیت بر برخی صفات فیزیولوژیک، عملکرد زیست‌توده و تریگونلین شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum* L.) این پژوهش انجام شد.

مواد و روش‌ها: آزمایشی به صورت اسپلینت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار در سال‌های ۱۳۹۳ و ۱۳۹۴ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس اجرا گردید. تیمارهای آزمایشی شامل پنج رژیم آبیاری (بدون تنش؛ تنش خفیف در مراحل رویشی و زایشی؛ تنش شدید در مراحل رویشی و زایشی) به عنوان عامل اصلی و ترکیب فاکتوریلی از سه تیمار کودی بر اساس نیتروژن مورد نیاز گیاه (شاهد، ورمی‌کمپوست به میزان ۲/۷ تن در هکتار و اوره به میزان ۱۱ کیلوگرم در هکتار) و دو مقدار زئولیت (صفر و نه تن در هکتار) به عنوان عامل فرعی بودند. در این آزمایش صفات فیزیولوژیک گیاه شنبلیله اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که اثر رژیم آبیاری بر تمام صفات مورد مطالعه معنی‌دار گردید، و تنش کم‌آبی در هر دو سال باعث افزایش میزان تجمع پرولین، گلیسین بتائین، کربوهیدرات محلول، مالون دی‌آلدهید، آنزیم سوپر اکسیددسموتاز، کاتالاز، کارتنوئید، آنتوسیانین برگ و همچنین باعث کاهش سبزیگی برگ (اسپاد)، عملکرد زیست‌توده و تریگونلین دانه شنبلیله گردید. افزایش فعالیت دو آنزیم سوپر اکسیددسموتاز، کاتالاز و کارتنوئید و آنتوسیانین به نوعی بیانگر فعال شدن هر دو سیستم آنزیمی و غیر آنزیمی آنتی‌اکسیدانتی در شنبلیله جهت مقابله با تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن در تنش کم‌آبی می‌باشد. همچنین افزایش

*مسئول مکاتبه: modaresa@modares.ac.ir

میزان ترکیبات پرولین، گلیاسین بتائین و کربوهیدرات محلول در برگ‌ها در جهت تنظیم اسمزی و ایجاد شرایط مناسب برای جذب آب از محیط خاک موثر می‌باشد. با افزایش شدت تنش از میزان کربوهیدرات محلول برگ، عملکرد بیولوژیک و تریگونلین کاسته شد. در هر دو سال به ترتیب بیشترین و کمترین مقدار عملکرد بیولوژیک و عملکرد تریگونلین در تیمار بدون تنش کم‌آبی با کود ورمی‌کمپوست و تیمار تنش شدید کم‌آبی (۲۰ درصد ظرفیت زراعی) در مرحله زایشی بدون مصرف کود به دست آمد. همچنین در هر دو سال از نظر عملکرد تریگونلین اختلاف آماری معنی‌داری بین تیمار تنش خفیف کم‌آبی در مرحله رویشی (۴۰ درصد ظرفیت زراعی) با تیمار شاهد (بدون تنش کم‌آبی) مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: بر پایه نتایج این آزمایش، هر چند با کاهش آب مصرفی از عملکرد زیست‌توده و تریگونلین گیاه شنبلیله کاسته و بر درصد تریگونلین آن افزوده شد اما با بکارگیری کود ورمی‌کمپوست تا حدی از بروز اثرات سوء تنش کم‌آبی بر عملکرد زیست‌توده و تریگونلین تولیدی این گیاه کاست، به طوری که کمترین مقدار مالون دی‌آلدهید (به‌عنوان شاخص پراکسیداسیون غشا و آسیب به غشا) و بیشترین ظرفیت کل آنتی‌اکسدانی، عملکرد زیست‌توده و تریگونلین را تولید نمود.

واژه‌های کلیدی: اوره، تنش کم‌آبی، زئولیت، عملکرد تریگونلین، ورمی‌کمپوست

مقدمه

شنبلیله گیاهی است یکساله که به‌عنوان گیاه دارویی و علوفه‌ای با کیفیت بالا و گیاه پوششی تثبیت کننده نیتروژن در سرتاسر جهان به‌طور وسیعی کشت می‌گردد. به‌طور تاریخی، شنبلیله به‌عنوان یک گیاه دارویی در درمان تعداد زیادی از بیماری‌ها از قبیل دیابت و تب استفاده می‌شود. شنبلیله در تمام بخش‌های ایران کشت می‌شود و سطح زیر کشت آن در حدود ۴۰۰ هکتار می‌باشد. تولید سالانه علوفه شنبلیله در ایران ۸۰۰ تن و عملکرد دانه آن ۰/۸ تن در هکتار می‌باشد. شنبلیله به‌طور گسترده در بسیاری از کشورها عمدتاً به‌عنوان گیاه دارویی با ارزش کشت می‌شود. گستردگی کشت آن در جهان این گیاه را با تنش غیر زنده از جمله تنش کم‌آبی در طول فصل رشد مواجه خواهد کرد (۱۰).

یکی از اثرات تنش کم‌آبی ممانعت از فتوسنتز و تغییر در محتوی کلروفیل و خسارت به دستگاه فتوسنتزی است. یکی دیگر از تغییرات بیوشیمیایی که در گیاه تحت تنش خشکی ایجاد می‌شود تجمع گونه‌های فعال اکسیژن است که سمی و بسیار واکنش پذیرند و در غیاب ساز و کار حفاظتی می‌توانند

سوخت و ساز طبیعی سلول را به میزان زیادی مختل کنند. این رادیکال‌ها از طریق پراکسیداسیون لیپیدها و در نتیجه تخریب غشاء، از بین بردن رنگیزه‌ها و اختلال در عملکرد DNA تنش ثانویه اکسیداتیو ایجاد می‌کنند که منجر به خسارات جدی به ساختارهای سلولی و گیاه می‌گردد (۸).

شناسایی ساز و کار سازگاری و مقاومت به تنش‌ها از اهمیت زیادی در نحوه و چگونگی مقابله با آن‌ها برخوردار است. سازگاری با کم‌آبی نتیجه یکسری واکنش‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی است که به حفظ آب، کلروپلاست و نگهداری هموستازی یون‌ها کمک می‌کند. در شرایط بروز تنش خشکی، گیاهان به منظور ادامه جذب آب، از طریق تجمع ترکیبات اسمزی از جمله کربوهیدرات، پرولین و گلیاسین بتائین پتانسیل اسمزی خود را کاهش می‌دهند. در فرآیند تنظیم اسمزی تورژسانس ادامه می‌یابد، از این رو تنظیم اسمزی به توسعه سلولی و رشد گیاه در طی بروز تنش کمک می‌کند (۸، ۲۲). و علاوه بر آن‌ها می‌توان به ساز و کار حفاظتی دیگری در جهت کاهش خسارات وارده به غشای سلولی از جمله افزایش ترکیبات آنتی‌اکسیدانی (آنزیمی مثل

با جذب رادیکال‌های فعال اکسیژن سبب محافظت کلروفیل در برابر تنش‌ها می‌گردند (۱۵). محققان گزارش کردند که با افزایش تنش خشکی از مقدار کلروفیل‌ها کاسته و در مقابل میزان کاروتنوئیدها و آنتوسیانین‌ها افزوده می‌شود (۱، ۱۴).

نیترژن از مهمترین عوامل محدودکننده تولید محصولات زراعی است. بسیاری از مطالعات نشان می‌دهد که کاهش دسترسی به نیترژن عملکرد کوانتومی انتقال الکترون فتوسیستم II و حداکثر کارایی آن را کاهش می‌دهد، همچنین کمبود نیترژن باعث تخریب فتوسیستم II می‌شود و با افزایش میزان نیترژن در گیاه، باعث افزایش میزان کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها شده که به دنبال آن سبزیگی، توانایی جذب نور خورشید، تولید مواد فتوسنتزی و در نهایت عملکرد گیاه افزایش می‌یابد (۹).

علاوه بر این استفاده از روش‌های زراعی از جمله کاربرد کودهای آلی، زئولیت یا تقویت شرایط زیستی خاک ممکن است در کاهش اثرات تنش کم‌آبی مؤثر باشند. اثر مثبت کودهای شیمیایی نیترژن بر عملکرد شنبلیله توسط محققین مختلفی گزارش شده است (۳۲). یکی از ارکان اصلی در کشاورزی پایدار استفاده از کودهای آلی از جمله ورمی‌کمپوست می‌باشد. محققان نشان دادند که گیاه شنبلیله در آبیاری مناسب و تغذیه کافی بیشترین عملکرد دانه و تریگونلین را تولید خواهد کرد (۱۰، ۲۴).

با توجه به اهمیت دارویی و غذایی گیاه شنبلیله، هدف از اجرای این پژوهش ارزیابی و شناخت مجموعه خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مؤثر در بهبود سازگاری و تحمل به خشکی در شنبلیله در شرایط مختلف رطوبتی در پاسخ به ورمی‌کمپوست و زئولیت می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به صورت مزرعه‌ای در سال‌های زراعی ۹۳-۱۳۹۲ و ۹۴-۱۳۹۳ در دانشکده کشاورزی

سوپر اکسیدسموتاز، کاتالاز و پراکسیدازها و غیر آنزیمی مثل کاروتنوئیدها و آنتوسیانین‌ها) در برابر تنش اکسیداتیو ناشی از خشکی اشاره کرد. بسیاری از مطالعات نشان داده‌است که یک سیستم آنتی‌اکسیداتیو کارآمد به همراه افزایش تجمع پرولین در گیاه می‌تواند نقش مهمی در تحمل به خشکی ایفا نماید (۳۴، ۳۵).

در میان واکنش‌های بیوشیمیایی به تنش کم‌آبی تجمع پرولین در شرایط تنش‌های محیطی، بیش از سایر اسیدهای آمینه صورت می‌گیرد که می‌تواند در تنظیم اسمزی و احتمالاً حفظ فعالیت آنزیمی گیاه و همچنین به عنوان یک ترکیب در غیرفعال کردن رادیکال‌های آزاد و ایجاد تعادل بین جذب نور و فتوسنتز تحت تنش‌های محیطی نقش داشته باشند (۲۱، ۲۲). محققین گزارش کرده‌اند که افزایش کربوهیدرات‌های محلول در مقایسه با پرولین شاخص مناسب‌تری برای نشان دادن پتانسیل مقاومت به خشکی است، زیرا پرولین نسبت به کربوهیدرات‌ها تحت تنش خشکی کمتر افزایش یافت (۱۷). گلاسیین بتائین یک آمونیم چهارتایی و معمول‌ترین محلول آلی سازگار است که در پاسخ به تنش خشکی، به میزان فراوان در سلول‌های گیاهی به خصوص در کلروپلاست و میتوکندری تجمع می‌یابد و نقش حیاتی در تنظیم و حفاظت از غشای تیلاکوئید و حفظ کارایی فتوسنتز در گیاهان عالی دارد (۲۲).

گزارش شده است فعالیت بسیاری از ترکیبات آنتی‌اکسیدان در واکنش به تنش خشکی افزایش می‌یابد (۲۳). مالون‌دی‌آلدهید محصول پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع در فسفولیپیدهاست و سطوح پراکسیداسیون لیپیدها در شرایط تنش به عنوان یک شاخص مهم به منظور ارزیابی میزان خسارت رادیکال‌های آزاد به غشای سلولی شناخته شده است که در شرایط تنش خشکی افزایش می‌یابد (۸). همچنین آنتوسیانین‌ها و کاروتنوئیدها رنگیزه‌های گیاهی هستند که خاصیت آنتی‌اکسیدان‌تی دارند. این رنگیزه‌ها

برابر با ۴۰ کیلوگرم در هکتار و مقدار آزادسازی نیتروژن کود ورمی کمپوست (۵۰ درصد) بود (۲۴). بر این اساس مقدار مورد نیاز کود ورمی کمپوست ۲/۷ تن در هکتار تعیین گردید. ژئولیت مصرفی از نوع کلینوپتیلولیت (Clinoptilolite) بوده و ویژگی‌های شیمیایی آن در جدول ۲ ارائه شده است. بر اساس تیمارها، ژئولیت و ورمی کمپوست قبل از کاشت با خاک هر کرت به طور کامل مخلوط شدند. کشت در تاریخ ۲۰ اردیبهشت در زمین اصلی با تراکم حدود ۲۷ بوته در مترمربع (فاصله بین ردیف‌ها ۳۰ سانتی‌متر و فاصله بین بوته‌ها ۱۲/۵ سانتی‌متر) انجام گردید. مبارزه با علف‌های هرز به صورت دستی انجام شد. بذر از اکوتیپ بومی منطقه اصفهان (توده اردستانی) بود.

برای اندازه‌گیری میزان کاروتنوئیدها از روش آرنون (۱۹۴۹) استفاده شد (۶). همچنین میزان آنتوسیانین مطابق روش کریزک و همکاران (۱۹۹۳) محاسبه شد (۲۰). شاخص سبزیگی برگ‌ها با استفاده از دستگاه (Minolta Readings SPAD 502) دو هفته بعد از اعمال تنش‌های کم‌آبی بعد از گلدهی اندازه‌گیری شد. مقادیر کربوهیدرات محلول در برگ‌ها، با استفاده از روش رامانجولو (۲۰۱۰) همچنین برای سنجش پرولین از روش بیتس و همکاران (۱۹۷۳) استفاده شد (۷، ۳۰).

برای سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز از روش تجزیه آب اکسیژنه با کاهش جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر به وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر پیگیری شد (۲). فعالیت آنزیم سوپر اکسیددسموتاز براساس جذب عصاره در طول موج ۵۶۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر قرائت شد (۲۷). واحد فعالیت تمامی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان اندازه‌گیری شده به صورت تغییرات جذب به میلی‌گرم پروتئین در دقیقه بیان شد. فعالیت کل آنتی‌اکسیدان‌تی نیز بر اساس روش ری و همکاران (۱۹۹۹) تعیین گردید (۳۴). میزان

دانشگاه تربیت مدرس واقع در کیلومتر ۱۶ بزرگراه تهران - کرج در مختصات جغرافیایی ۵۱ درجه و ۴۳ دقیقه طول شرقی و ۳۵ درجه و ۸ دقیقه عرض شمالی و ارتفاع ۱۲۱۵ متر از سطح دریا اجرا گردید. بر اساس آمار هواشناسی نزدیک‌ترین ایستگاه هواشناسی (چیتگر) در دانشکده کشاورزی، این منطقه با ۲۴۲ میلی‌متر بارندگی سالانه دارای رژیم آب و هوایی نیمه‌خشک بوده و متوسط درجه حرارت سالیانه آن ۲۲ درجه سانتی‌گراد است. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک در جدول ۱ نشان داده شده است.

آزمایش به صورت اسپلینت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار اجرا گردید. پنج رژیم آبیاری (بدون تنش با مقدار آب قابل استفاده گیاه در سطح ۶۰ درصد ظرفیت زراعی؛ تنش خفیف و آبیاری در سطح ۴۰ درصد ظرفیت زراعی به ترتیب در مراحل رویشی و زایشی؛ تنش شدید و آبیاری در سطح ۲۰ درصد ظرفیت زراعی به ترتیب در مراحل رویشی و زایشی) به عنوان عامل اصلی و ترکیب فاکتوریلی از سه تیمار کودی بر اساس نیتروژن مورد نیاز گیاه (شاهد، ورمی کمپوست به میزان ۲/۷ تن در هکتار و اوره به میزان ۱۱ کیلوگرم در هکتار) و دو مقدار ژئولیت (صفر و نه تن در هکتار) به عنوان عامل فرعی بودند.

جهت اعمال تیمارهای تنش کم‌آبی، منحنی رطوبتی خاک هر سال ترسیم گردید و مقدار آب مصرفی هر کرت بر این اساس تعیین شد. تیمارهای تنش کم‌آبی در مرحله رویشی پس از استقرار کامل گیاه در زمین اصلی تا مرحله گل‌دهی و تیمار تنش کم‌آبی در مرحله زایشی نیز، هنگام گل‌دهی تا انتهای چرخه حیاتی گیاه بر اساس ظرفیت زراعی خاک منطقه اعمال گردید. مبنای تعیین مقدار مورد نیاز کود ورمی کمپوست عبارت از درصد نیتروژن خاک و کود (جدول ۱)، مقدار کود نیتروژن لازم برای شنبلیله

صفات اندازه‌گیری شده معنی‌دار شد به‌همین دلیل سال‌ها به‌طور جداگانه تحت تجزیه آماری قرار گرفتند. تمامی تجزیه‌های آماری صورت گرفته با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS انجام پذیرفت. مقایسه میانگین تیمارهای آزمایشی به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد.

مالون‌دی‌آلدئید با اندازه‌گیری جذب در طول موج‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر و با استفاده از ضریب خاموشی $155 \text{ Mm}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ محاسبه گردید (۳۰). برای سنجش تریگونلین و تهیه محلول استاندارد آن از روش، حسن زاده و همکاران (۲۰۱۱) استفاده گردید (۱۳). در این آزمایش آزمون بارتلت برای اکثر

جدول ۱: ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک در منطقه اجرای آزمایش و ویژگی‌های شیمیایی ورمی‌کمپوست مورد استفاده.

Table 1. Physico-chemical properties of the soil of the experimental field and vermicompost use in experimental site.

بافت خاکی Soil texture	هدایت الکتریکی (دسی زیمنس بر متر) EC (dS m^{-1})	pH	مواد آلی Organic matter (%)	نیترژن کل (%) Total N (%)	کربن / نیترژن C:N	فسفر قابل دسترس (میلی‌گرم بر کیلوگرم) Available P (mg kg^{-1})	پتاسیم قابل دسترس (میلی‌گرم بر کیلوگرم) Available K (mg kg^{-1})	آهن (میلی‌گرم بر کیلوگرم) Fe (mg kg^{-1})	روی (میلی‌گرم بر کیلوگرم) Zn (mg kg^{-1})
خاک لومی شنی Sandy loam	1.82	7.35	1.98	0.06	0.099	35	320	3.86	0.84
ورمی‌کمپوست Vermicompost	-	9.25	7.65	-	0.84	16.5	48	72	14000

جدول ۲: درصد ترکیبات شیمیایی موجود در زئولیت مورد استفاده.

Table 2. Chemical composition in the zeolite percent.

اکسید کلسیم	اکسید منیزیم	اکسید سدیم	اکسید پتاس	تری‌اکسید آلومینوم	دی‌اکسید سیلیسیوم	پنتا‌اکسید فسفر	تری‌اکسید گوگرد	کلر	تری‌اکسید آهن	تری‌اکسید منگنز	اکسید تیتانیوم
CaO	MgO	Na ₂ O	K ₂ O	Al ₂ O ₃	SiO ₂	P ₂ O ₅	SO ₃	Cl	Fe ₂ O ₃	MnO	TiO ₂
2.3	0.1	1.08	3	12.02	65	0.01	-	-	1.5	0.04	0.03

ظرفیت تبادل کاتیونی = ۲۰۰ میلی‌اکی‌والان بر ۱۰۰ گرم
CEC = 200 meq.100g⁻¹

نتایج و بحث

در این مطالعه، میزان تجمع پرولین و گلاسیسین بتائین برگ شنبلیله تحت تاثیر تنش کم‌آبی، کود و زئولیت قرار گرفت. میزان تجمع پرولین و گلاسیسین بتائین برگ به‌طور معنی‌داری با افزایش تنش کم‌آبی در هر دو سال افزایش پیدا کرد (جدول ۳ و ۴). در هر دو سال بیشترین مقدار پرولین و گلاسیسین بتائین برگ در تیمار تنش شدید کم‌آبی در مرحله رویشی بدون مصرف کود و زئولیت به‌دست آمد که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با تیمار تنش شدید آبی در مرحله رویشی با زئولیت و بدون مصرف کود نداشت

و کمترین مقدار پرولین در تیمار بدون تنش آبی به همراه زئولیت و کود ورمی‌کمپوست به‌دست آمد (جدول ۳). کمترین مقدار گلاسیسین بتائین در هر دو سال در تیمار بدون تنش آبی و بدون زئولیت و همراه با کود ورمی‌کمپوست مشاهده شد که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با تیمار بدون تنش آبی با مصرف زئولیت و کود ورمی‌کمپوست نداشت (جدول ۴).

پرولین یکی از آمینواسیدهایی است که به‌طور معمول در پاسخ به تنش‌ها ظاهر می‌شود (۲۱). سطح بالای پرولین گیاه را قادر می‌سازد که پتانسیل آبی پایین

(۲۲) گزارش شده است. کاهش میزان قندهای محلول در تیمارهای تنش شدید می‌تواند به دلیل مصرف قندها در تولید متابولیت‌هایی چون پرولین در اندام هوایی باشد (۱۶).

تغییرات فعالیت کل آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، سوپر اکسیددسموتاز، کاتالاز و مالون دی‌آلدئید: در هر دو سال تمامی اثرات اصلی و برهمکنش بین تیمارها بر ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی شنبلیله به جز اثر برهمکنش زئولیت و کود در سال ۱۳۹۳ معنی‌دار گردید. در هر دو سال ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی با افزایش آب خاک افزایش یافت و در هر دو سال، بیشترین مقدار ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی در تیمار بدون تنش آبی و بدون زئولیت و همراه با کود ورمی‌کمپوست مشاهده شد که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با تیمار بدون تنش آبی با مصرف زئولیت و کود ورمی‌کمپوست نداشت و کمترین مقدار آن در هر دو سال در تیمار تنش شدید آبی در مرحله رویشی بدون مصرف زئولیت و کود به‌دست آمد (جداول ۳ و ۴).

در هر دو سال تمامی اثرات اصلی و برهمکنش بین آن‌ها بر میزان آنزیم کاتالاز برگ معنی‌دار گردید و با افزایش تنش کم‌آبی در هر دو سال افزایش معنی‌داری یافت. بیشترین مقدار آنزیم کاتالاز در سال ۱۳۹۳ در تیمار تنش شدید کم آبی در مرحله رویشی بدون مصرف زئولیت و کود مشاهده شد که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با تیمار تنش شدید کم‌آبی در مرحله رویشی با مصرف زئولیت و بدون کود نداشت و کمترین مقدار آنزیم کاتالاز در هر دو سال در تیمار بدون تنش آبی با مصرف زئولیت و کود ورمی‌کمپوست به‌دست آمد. بیشترین مقدار آنزیم سوپر اکسیددسموتاز در سال ۱۳۹۳ در تیمار تنش شدید کم‌آبی در مرحله رویشی با زئولیت و بدون مصرف کود به‌دست آمد و در سال ۱۳۹۴ بیشترین مقدار آنزیم سوپر اکسید دسموتاز در تیمار تنش

را حفظ کند. همچنین پرولین می‌تواند مسمومیت رادیکال‌های آزاد ناشی از تنش خشکی را رفع کند. بنابراین پرولین را می‌توان در فهرست آنتی‌اکسیدانت‌های غیرآنزیمی قرار داد که گیاهان برای خنثی کردن اثرات بازدارنده ROS به آن احتیاج دارند (۲۱). نتایج تحقیقات حکایت از افزایش پرولین در اثر تنش خشکی در گیاهان مختلف می‌باشد (۲۱، ۲۲). وجود ترکیب آمونیومی چهارتایی گلاسیسین بتائین در پاسخ به تنش اکسیداتیو مثل شوری و خشکی یک پدیده شایعی است که در غلظت‌های پایین می‌تواند تحمل به شرایط تنش را به‌وسیله حفاظت از ترکیب‌های پروتئینی فتوسنتز بهبود بخشد. افزایش محتوای گلاسیسین بتائین تحت تنش خشکی در آفتابگردان و جو و سایر گیاهان گزارش شده‌است (۳۲).

در هر دو سال، میزان کربوهیدرات برگ تحت تاثیر رژیم آبیاری، زئولیت و کود و اثرات برهمکنش رژیم آبیاری × کود قرار گرفت. در سال ۱۳۹۴ علاوه بر آن‌ها تحت تاثیر اثر برهمکنش رژیم آبیاری و زئولیت نیز قرار گرفت. با افزایش کمبود آب بر مقدار کربوهیدرات‌های محلول برگ افزوده شد. مطابق با نتایج جدول (۵)، به‌ترتیب بیشترین و کمترین مقدار کربوهیدرات محلول برگ در هر دو سال در تیمار تنش خفیف کم‌آبی در مرحله زایشی با مصرف کود ورمی‌کمپوست و در تیمار تنش شدید کم‌آبی در مرحله رویشی با مصرف کود اوره به‌دست آمدند. قندهای محلول در تنش خفیف، افزایش قابل توجهی داشته و با شدیدتر شدن تنش خشکی مقدار آن شروع به کاهش نمود. علت افزایش اولیه برای بالا بردن مقاومت گیاه به‌دلیل تنظیم فشار اسمزی سلول بوده، ولی با شدیدتر شدن تنش، تولید قندها به شدت کاهش پیدا می‌کند و میزان قندهای محلول شروع به کاهش می‌نمایند. افزایش قند در شرایط تنش رطوبتی در گیاهان مختلف از جمله ترخون (۲۱) و آفتابگردان

میزان این فعالیت، بسته به شدت تنش و مرحله رشد و نمو بافت گیاهی، حساسیت ارقام مختلف و همچنین پتانسیل ژنتیکی گونه‌های مختلف، متفاوت است نقش این دو آنزیم در تعدیل میزان رادیکال‌های فعال اکسیژن ثابت شده است به طوری که محققین مختلف آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز را به عنوان ساز و کار دفاعی اولیه در برابر رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌دانند (۲۱، ۲۳).

در هر دو سال تمامی اثرات اصلی و برهمکنش بین آن‌ها بر میزان مالون دی‌آلدئید برگ نیز معنی‌دار گردید. مقدار مالون دی‌آلدئید با افزایش تنش کم‌آبی در هر دو سال افزایش معنی‌داری یافت. بیشترین مقدار مالون دی‌آلدئید در هر دو سال در تیمار تنش شدید کم‌آبی در مرحله رویشی بدون مصرف زئولیت و کود مشاهده شد و کمترین مقدار مالون دی‌آلدئید در هر دو سال در تیمار بدون تنش آبی بدون زئولیت و همراه با مصرف کود ورمی‌کمپوست به دست آمد که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با تیمار بدون تنش آبی با مصرف زئولیت و کود ورمی‌کمپوست نداشتند (جدول ۳). در این آزمایش با افزایش شدت تنش کم‌آبی در مرحله رویشی از میزان ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانت‌ها کاسته و باعث افزایش غلظت پراکسیداسیون لیپیدها (مالون دی‌آلدئید) گردید. مالون دی‌آلدئید محصول نهایی پراکسیداسیون لیپید است که به عنوان یک نشانگر برای تولید رادیکال‌های آزاد و آسیب غشاء تحت اثر شرایط تنش غیر زنده کاربرد دارد. بنابراین تجمع افزایش یافته پراکسیداسیون لیپید، نشان دهنده بالا رفتن انواع اکسیژن فعال سمی است (۸). با وجود اینکه فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی در شبلیله در اثر تنش خشکی افزایش یافت، به نظر می‌رسد دلیل افزایش میزان مالون دی‌آلدئید کافی نبودن فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان جهت جلوگیری از پراکسیداسیون چربی‌ها و حذف رادیکال‌های آزاد تولید شده باشد.

شدید کم‌آبی در مرحله رویشی بدون زئولیت و کود به دست آمد که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با تیمار تنش شدید کم‌آبی در مرحله رویشی با مصرف زئولیت و بدون کود نداشت و کمترین مقدار آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در هر دو سال در تیمار بدون تنش آبی با مصرف زئولیت و کود ورمی‌کمپوست مشاهده شد (جدول ۳ و ۴).

در زمان تنش خشکی برای حفظ رطوبت موجود در گیاه روزنه‌ها بسته می‌شوند؛ این موضوع ضمن کاهش تبادل گازی در برگ‌ها منجر به ایجاد پراکسید هیدروژن و سایر گونه واکنشگر اکسیژن (ROS) در بافت‌ها می‌گردد که موجب فعال شدن سلسله پاسخ‌های دفاعی گیاهان که برای خنثی نمودن اثرات سمی و مخرب ROS در سلول‌های گیاه می‌گردد. ساز و کار دفاعی آنزیمی شامل آنزیم‌هایی مانند سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز، اسکوربات پراکسیداز و گلوکاتیون ریدکتاز است و ساز و کار دفاعی غیر آنزیمی شامل آنتی‌اکسیدانت‌هایی مانند اسید آسکوربیک، آلفاتوکوفرول، گلوکاتیون، آنتوسیانین و کاروتنوئیدها می‌باشند تفاوت گیاهان حساس و مقاوم، در میزان فعالیت این ساز و کارهای دفاعی در برابر تنش‌ها می‌باشد. نتایج این تحقیق با نتایج سایر محققین که گزارش کرده‌اند که تنش اکسیدانتیو در صورت شدید بودن منجر به آسیب به غشا، افزایش پراکسیداسیون لیپیدها و کاهش ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانت‌ها می‌شود مطابقت کامل دارد (۲۰). اولین آنزیم پالاینده گونه‌های اکسیژن فعال سوپر اکسید دیسموتاز می‌باشد که باعث تبدیل اکسیژن به پراکسید هیدروژن شده و سپس توسط آنزیم کاتالاز زدوده می‌شود (۲۳). با افزایش شدت تنش کم‌آبی میزان آنزیم‌های کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز افزایش یافت. افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز با افزایش حفاظت از آسیب‌های حاصل از تنش‌های محیطی همبستگی دارد. هر چند

می‌شود (۳۰). به نظر می‌رسد که افزایش مقدار کلروفیل بر اثر تنش خفیف به دلیل اثر افزایش وزن مخصوص برگ باشد. وقوع تنش سطح برگ را کاهش می‌دهد که ناشی از کاهش اندازه سلول است؛ بنابراین، در طی بروز تنش خفیف به دلیل وجود سلول‌های بیشتر در واحد وزن برگ، میزان کلروفیل نیز افزایش می‌یابد (۲۶). در سال ۱۳۹۴، با توجه به معنی‌دار شدن رژیم آبیاری و زئولیت بر اسپاد، می‌توان نتیجه گرفت که زئولیت به دلیل ساختمان متخلخل برای ذخیره آب، می‌تواند در کاهش اثرات کم‌آبی موثر واقع شود. بسیاری از محققان گزارش کردند زئولیت به‌عنوان یک افزودنی مفید خاک در حفظ مواد غذایی خاک، ذخیره‌ی آب و افزودن مواد غذایی کم مصرف به خاک به خصوص نیتروژن و جلوگیری از آبشویی آن نقش دارد (۱۷). کاهش عدد خوانده شده اسپاد و سبزیگی گیاه می‌تواند نتیجه تخریب کلروفیل به دلیل محدودیت شدید آب باشد که منجر به کاهش فتوسنتز خالص می‌گردد.

کاروتنوئید: مقدار کاروتنوئید در هر دو سال در سطح ۱ درصد تحت تاثیر اثرات اصلی رژیم آبیاری و کود و اثرات برهمکنش دوگانه رژیم آبیاری × زئولیت و رژیم آبیاری × کود و در سطح ۵ درصد تحت تاثیر اثرات برهمکنش سه‌گانه رژیم آبیاری × زئولیت × کود قرار گرفت علاوه بر این در سال ۱۳۹۴ تحت تاثیر اثرات برهمکنش زئولیت × کود نیز قرار داشت. بیشترین مقدار کاروتنوئید در هر دو سال در تیمار تنش شدید کم‌آبی در مرحله رویشی بدون کاربرد زئولیت و کود مشاهده شد. مطابق جدول (۴)، تنش شدید کم‌آبی در مرحله رویشی، منجر به افزایش محتوای کاروتنوئید در برگ شنبلیله گردیده‌است. کاروتنوئیدها در کلروپلاست به‌عنوان رنگدانه‌های کمکی در برداشت نور فعالیت می‌کنند، اما شاید مهمترین نقش آن‌ها، توانایی در رفع سمیت شکل‌های مختلفی از اکسیژن فعال شده باشد که در نتیجه

مقدار سبزیگی کلروفیل (اسپاد): در سال ۱۳۹۳ به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر اثرات اصلی رژیم آبیاری و کود و اثرات برهمکنش دوگانه رژیم آبیاری × کود قرار گرفت به‌نحوی که بیشترین مقدار اسپاد در تیمار بدون تنش و با کاربرد کود اوره به‌دست آمد و کمترین مقدار اسپاد در تیمار تنش شدید کم‌آبی در مرحله رویشی بدون کاربرد کود مشاهده شد. با افزایش محدودیت نیتروژن و کم‌آبی در مرحله رویشی (I4F1) اسپاد عدد کمتری به دلیل کاهش محتوای کلروفیل نشان داد. افزایش میزان نیتروژن در گیاه به دلیل حضور در ساختمان کلروفیل، باعث افزایش میزان کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها شده که به دنبال آن سبزیگی، توانایی جذب نور خورشید، تولید مواد فتوسنتزی و در نهایت رشد و عملکرد گیاه افزایش می‌یابد (۹). همچنین به دلیل ارتباط قوی بین مقدار نیتروژن، کلروفیل و اسپاد، کاهش مقدار اسپاد نشان دهنده مقدار کلروفیل در واحد سطح برگ است (۱۲).

اما در سال ۱۳۹۴، مقدار اسپاد به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر اثرات اصلی رژیم آبیاری و زئولیت قرار گرفت. بیشترین مقدار اسپاد مربوط به تیمار تنش کم‌آبی خفیف در مرحله رویشی مشاهده شد که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با تیمار بدون تنش کم‌آبی نداشت و کمترین مقدار اسپاد در تیمار تنش شدید کم‌آبی در مرحله زایشی به‌دست آمد که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با تیمارهای تنش شدید کم‌آبی در مرحله رویشی و تنش خفیف کم‌آبی در مرحله زایشی و تنش شدید کم‌آبی در مرحله زایشی نداشت. و بیشترین مقدار اسپاد در گیاهانی مشاهده شد که با زئولیت تیمار شده بودند و کمترین مقدار آن در تیمار بدون کاربرد زئولیت مشاهده شد. محتوای کلروفیل یکی از عوامل کلیدی در تعیین شدت فتوسنتز و تولید ماده خشک می‌باشد در گیاهان تحت شرایط تنش، کاهش معنی‌داری در محتوای کلروفیل مشاهده

برانگیختگی ترکیب‌های فتوستتزی به‌وسیله نور تولید می‌شوند. افزایش میزان کاروتنوئیدها در شرایط تنش با توجه به نقش آن‌ها در ساز و کار دفاع آنتی‌اکسیدانی برای محافظت از رنگدانه‌های فتوستتزی (کلروفیل) قابل انتظار است (۱).

آنتوسیانین: در سال ۱۳۹۳ تجمع آنتوسیانین به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر اثرات برهمکنش دوگانه رژیم آبیاری × زئولیت و رژیم آبیاری × کود و زئولیت × کود قرار گرفت. بیشترین مقدار برهمکنش برای تجمع آنتوسیانین در تیمار تنش شدید کم‌آبی در مرحله رویشی بدون زئولیت مشاهده شد که در مقایسه با تیمار شاهد منجر به افزایش ۵۰ درصدی در تجمع آنتوسیانین گردید و کمترین آن در تیمار بدون تنش با کاربرد زئولیت به‌دست آمد (جدول ۵). بیشترین مقدار برهمکنش رژیم آبیاری × کود برای تجمع آنتوسیانین در تیمار تنش کم‌آبی خفیف در مرحله رویشی بدون کود به‌دست آمد که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با تیمار تنش شدید کم‌آبی در مرحله رویشی بدون کود نداشت و کمترین مقدار آن در تیمار بدون تنش با مصرف ورمی‌کمپوست مشاهده شد (جدول ۷) همچنین به‌ترتیب بیشترین و کمترین مقدار اثر برهمکنش زئولیت × کود در تیمارهای بدون مصرف زئولیت و کود و با کاربرد زئولیت و کود به‌دست آمد (جدول ۶). اما در سال ۱۳۹۴، تجمع آنتوسیانین به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر تمامی اثرات اصلی و برهمکنش آن‌ها قرار گرفت. بیشترین مقدار آنتوسیانین در سال ۱۳۹۴، در تیمار تنش شدید کم‌آبی با مصرف زئولیت و بدون کود و کمترین مقدار آن در تیمار بدون تنش کم‌آبی با کاربرد زئولیت و کود ورمی‌کمپوست مشاهده شد که اختلاف آماری معنی‌داری با تیمارهای بدون تنش کم‌آبی و زئولیت همراه با کود ورمی‌کمپوست و بدون تنش کم‌آبی و بدون زئولیت همراه با کود ورمی‌کمپوست و بدون تنش کم‌آبی و بدون زئولیت همراه با کود آورده نداشت (جدول ۴).

کلروفیل، کاروتنوئید و آنتوسیانین و سایر فلاونوئیدها، سه گروه بزرگ رنگدانه‌های مهم هستند. آنتوسیانین‌ها به‌دلیل فعالیت آنتی‌اکسیدانی ضد سرطان، ضدانگل و غیره به‌شمار می‌روند (۱۵). همچنین آن‌ها گزارش کردند که ارتباط مثبت معنی‌داری بین تنش کم‌آبی و شدت نور با تجمع آنتوسیانین‌ها وجود دارد. در مطالعه حاضر، تنش شدید کم‌آبی، بیوستتز آنتوسیانین را افزایش داد. به‌نظر می‌رسد که تیمارهای تنش شدید کم‌آبی در مرحله رویشی (I_4Z_1 و I_4F_1) با تجمع بیشتر غلظت آنتوسیانین اثر بیشتری بر محتوای آنتوسیانین داشت (جدول ۶). همچنین در سال ۱۳۹۴، تیمار تنش شدید کم‌آبی ($I_4Z_1F_1$) آنتوسیانین بیشتری را تجمع داد. گزارش شده که با وقوع تنش اکسیداتیو در گیاهان، بیان ژن‌های آنتی‌اکسیداتیو و پروپانوئیدی به‌ویژه از مسیر بیوستتز فلاونوئیدها افزایش می‌یابد. فلاونوئیدها قادرند تا از تولید رادیکال‌های آزاد جلوگیری کنند یا آن‌ها را خنثی کنند (۴) به‌نظر می‌رسد که افزایش بیوستتز آنتوسیانین‌ها، موازی با کاهش میزان کلروفیل خواهد بود (۱۴).

عملکرد زیست‌توده: عملکرد زیست‌توده شنبلیله در سال ۱۳۹۳، به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر اثرات برهمکنش دوگانه رژیم آبیاری × کود قرار گرفت. مقدار عملکرد زیست‌توده با افزایش تنش کم‌آبی در هر دو سال کاهش معنی‌داری یافت. به‌گونه‌ای که بیشترین مقدار برهمکنش آن‌ها برای عملکرد زیست‌توده در سال ۱۳۹۳ در تیمار بدون تنش کم‌آبی به همراه ورمی‌کمپوست با (۲۲۵۵/۴ کیلوگرم) و کمترین آن در تیمار تنش شدید کم‌آبی بدون کود با (۷۹۵/۹۲ کیلوگرم) به‌دست آمد (جدول ۷). همچنین در سال ۱۳۹۴، بیشترین مقدار برهمکنش ($I \times Z \times F$) آن در تیمار بدون تنش آبی به‌همراه مصرف زئولیت و ورمی‌کمپوست با (۱۹۹۸ کیلوگرم) و کمترین آن در تیمار تنش شدید کم‌آبی در مرحله زایشی بدون

اسمزی در واکنش به تنش شوری و خشکی نقش بسیار مهمی را ایفا می‌کند (۲۸). در گیاهان، تریگونلین به عنوان یک متابولیت دفاعی در واکنش به کمبود آب افزایش می‌یابد و نتیجه آن کاهش تعداد گره‌ها و عملکرد است. در آزمایشی روی گیاه سنبله نشان داده شد که با افزایش تنش خشکی درصد تریگونلین دانه افزایش می‌یابد ولی با کاهش عملکرد دانه جبران می‌شود (۱۰) که در مطابقت کامل با نتایج این تحقیق می‌باشد. همچنین دادرسان و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که بالاترین مقدار عملکرد تریگونلین دانه سنبله تحت تنش کم‌آبی در تیمار آبیاری کامل با مصرف ۵۰ درصد کود زیست‌توده و ۵۰ درصد کود شیمیایی اوره به‌دست آمد (۱۰). محققان بسیاری گزارش کرده‌اند که احتمالاً تجمع بیشتر متابولیت‌های ثانویه در بذرهاى سنبله تحت شرایط تنش به‌منظور جلوگیری از تولید بیش از حد گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) و آسیب نوری اتفاق می‌افتد (۳).

درصد اسانس و متابولیت‌های ثانویه با استرس خفیف کم‌آبی افزایش می‌یابد. قابل توجه است که همیشه با افزایش شدت تنش، میزان اسانس افزایش نمی‌یابد زیرا در تنش شدید، گیاهان مواد فتوسنتزی خود را بیشتر در تولید ترکیبات تنظیم اسمزی از قبیل پرولین، گلايسين بتائين و ترکیبات قندی مثل فروکتوز و فروکتان مصرف می‌کنند که شرایط لازم برای زنده ماندن آن‌ها را در این شرایط فراهم می‌کند. این ترکیبات برای گیاهان هزینه‌بر بوده و گاهی اوقات هزینه آن‌ها برای گیاهان، کاهش عملکرد آن‌ها می‌باشد (۲۶). محققین همچنین گزارش کردند که اثرات منفی کمبود آب بر عملکرد دانه به‌طور کامل با اثرات مثبت آن بر تجمع تریگونلین جبران می‌شود و قابل توجه است که تجمع بیشتر متابولیت‌های ثانویه در گیاهان در شرایط تنش ممکن است از نظر اقتصادی مقرون به‌صرفه نباشد چون تجمع بیشتر تریگونلین اغلب به عملکرد ماده خشک و دانه کمتر منتهی می‌گردد (۳) و (۱۰). به‌طور کلی نقش تعیین‌کننده ترکیبات نیتروژنه در

مصرف کود و زئولیت به‌دست آمد که نسبت به تیمار شاهد ($I_1Z_1F_1$) کاهش ۴۸ درصدی در عملکرد بیولوژیک را نشان داد (جدول ۴).

هنگامی که گیاهان با محدودیت آب مواجه می‌شوند آن‌ها برای به حداقل رساندن از دست دادن آب روزنه‌های خود را می‌بندند که منجر به کاهش CO_2 قابل دسترس برای فتوسنتز و تولید ماده خشک می‌شود. تحقیقات حکایت از آن داشت که افزایش تنش خشکی در گیاهان مختلف موجب کاهش طول و عرض برگ، طول ساقه‌های جانبی و عملکرد ماده خشک شد (۱۰).

عملکرد تریگونلین دانه: عملکرد تریگونلین دانه سنبله در هر دو سال آزمایش، به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر اثرات برهمکنش دوگانه رژیم آبیاری × کود و زئولیت × کود قرار گرفت. در هر دو سال بیشترین مقدار اثر برهمکنش رژیم آبیاری × کود برای عملکرد تریگونلین در تیمار بدون تنش کم‌آبی همراه با کاربرد کود ورمی‌کمپوست مشاهده شد و کمترین مقدار آن در هر دو سال در تیمار تنش شدید کم‌آبی بدون کود به‌دست آمد. همچنین نتایج نشان داد که در هر دو سال آزمایش بین تیمارهای تنش کم‌آبی خفیف در مرحله رویشی بدون مصرف کود با تیمار شاهد (I_1F_1) از نظر آماری اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۷). نتایج نشان داد که در هر دو سال به ترتیب بیشترین و کمترین مقدار برهمکنش اثر زئولیت و کود برای عملکرد تریگونلین در تیمار مصرف زئولیت با کود ورمی‌کمپوست و در تیمار شاهد (Z_1F_1) به‌دست آمد (جدول ۶). مقدار عملکرد تریگونلین سنبله در این مطالعه مشابه مقدار عملکرد گزارش شده برای اکوتیپ‌های بومی سنبله در ایران می‌باشد (۱۰). تریگونلین یک ترکیب آلکالوئیدی است که دارای نقش هورمونی در گیاهان می‌باشد که در بسیاری از گونه‌های گیاهی از جمله قهوه، سنبله، سویا، نخود، یونجه و غیره شناسایی شده است. تریگونلین در پاسخ به تنش‌های اکسیداتیو، تنظیم فشار

نتیجه گیری

از نتایج حاصله در این آزمایش می‌توان بیان کرد که خشکی تاثیر معنی‌داری بر گیاه دارویی شنبلیله دارد و این تاثیر از جنبه‌های مختلفی قابل بررسی می‌باشد. در طی بروز تنش خشکی از میزان کلروفیل کاسته شد که این امر می‌تواند بر کاهش تولید مواد فتوسنتزی در این گیاه تاثیر سوء داشته باشد. در این آزمایش بالا رفتن فعالیت دو آنزیم سوپر اکسیددسموتاز، کاتالاز و کارتنوئید و آنتوسیانین به نوعی بیانگر فعال شدن هر دو سیستم آنزیمی و غیر آنزیمی آنتی‌اکسیدان در گیاه شنبلیله جهت مقابله با تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌باشد. همچنین در این گیاه، میزان سه ترکیب پرولین، گلايسين بتائين و کربوهیدرات محلول در بافت سبز برگ‌ها افزوده شد که این فرآیند در جهت تنظیم اسمزی و ایجاد شرایط مناسب برای جذب آب از محیط خاک موثر است. بر اساس نتایج به‌دست آمده از این آزمایش، می‌توان بیان کرد که هر چند با کاهش آب مصرفی از عملکرد خشک، دانه و تریگونلین گیاه شنبلیله کاسته و بر درصد تریگونلین آن افزوده شد اما با بکارگیری کود ورمی کمپوست تا حدی از بروز اثرات سوء تنش خشکی بر عملکرد خشک و تریگونلین تولیدی این گیاه کاست، به‌طوری‌که کمترین مقدار مالون دی‌آلدهید (به‌عنوان شاخص پراکسیداسیون غشا و آسیب به غشا) و بیشترین ظرفیت کل آنتی‌اکسیدان، عملکرد زیست‌توده و تریگونلین را تولید نمود. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که به احتمال زیاد خواص شیمیایی و فیزیکی اسید هیومیک موجود در ورمی کمپوست، از طریق افزایش ظرفیت نگهداری عناصر غذایی و افزایش هورمون‌های تنظیم‌کننده رشد و همچنین افزایش فعالیت ریز جانداران باعث افزایش تجمع نیتروژن توسط گیاه می‌شود و از آنجایی که ترکیب‌های عمده صفات فیزیولوژیک اندازه‌گیری شده و همچنین تریگونلین دارای ساختار نیتروژنی می‌باشند موجب بهبود این صفات شده‌است. همچنین می‌توان نتیجه گرفت که ورمی کمپوست در مقایسه با زئولیت در کاهش اثرات تنش خشکی موثرتر واقع شده است.

افزایش آلکالوئیدها، ناشی از این موضوع است که نیتروژن مولکول اصلی در ترکیب اسیدهای آمینه و متابولیت‌های حاصل از آنها (آلکالوئیدها) می‌باشد (۱۱). بالاترین مقادیر تمام صفات اندازه‌گیری شده شامل محتوی رنگرزه‌های فتوسنتزی، قند، پرولین، میزان و عملکرد تریگونلین در بین رژیم‌های کودی به تیمار ورمی کمپوست اختصاص داشت.

ورمی کمپوست یکی از کودهای زیست‌توده با ظرفیت نگهداری بالای آب می‌باشد. بنابراین ورمی کمپوست می‌تواند نیاز آبی گیاهان را ۳۰ تا ۴۰ درصد کاهش دهد. فراهمی مواد غذایی قابل دسترس خاک را افزایش دهد (مقدار نیتروژن و فسفر در ورمی کمپوست اغلب ۵ تا ۱۱ برابر بیشتر از خاک می‌باشد) و علاوه بر آن متابولیت‌های میکروبی در ورمی کمپوست می‌توانند به‌خوبی به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی عمل نمایند که در مجموع، موجب افزایش فعالیت‌های فتوسنتزی، رشد و عملکرد گیاه می‌گردند (۵). در مورد عملکرد تریگونلین تیمار ورمی کمپوست به‌دلیل داشتن اثر مثبت بر درصد تریگونلین و عملکرد دانه سبب افزایش عملکرد تریگونلین گردید. در سال ۱۳۹۴، برهمکنش زئولیت و کود در سطح ۱ درصد بر عملکرد تریگونلین شنبلیله معنی‌دار گشت. محققین بسیاری گزارش نموده‌اند که زئولیت نقش مهم و موثری در بهبود ساختار فیزیکی خاک از طریق اصلاح ظرفیت تبادل کاتیونی خاک دارد که این به دلیل کاهش آبشویی نیتروژن و افزایش حضور کودها در ناحیه ریشه می‌باشد و همچنین زئولیت می‌تواند سبب افزایش مقدار آب قابل دسترس گیاه شود. براساس نتایج به‌دست آمده از این آزمایش، می‌توان بیان کرد که هر چند با کاهش آب مصرفی از عملکرد زیست‌توده و تریگونلین گیاه شنبلیله کاسته و بر درصد تریگونلین آن افزوده شد اما با بکارگیری کود ورمی کمپوست به‌همراه زئولیت می‌توان تا حدی از بروز اثرات سوء تنش خشکی بر عملکرد زیست‌توده این گیاه کاست.

جدول ۳: مقایسه میانگین اثرات برهمکنش رژیم‌های آبیاری × زئولیت × کود بر صفات فیزیولوژیک شنبلیله.

Table 3. Mean comparison of irrigation regime × zeolite × fertilizer interaction on physiological traits in fenugreek.

آبیاری Irrigation	زئولیت (تن در هکتار) Zeolite (t ha ⁻¹)	کود fertilizer	کاتالاز (میلی‌گرم پروتئین) Catalase (mg protein)		مالون دی‌آلدئید (میکرومول بر گرم) MDA (μmol g ⁻¹)		کل آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت (میلی‌گرم پروتئین) Total antioxidant enzymes (mg protein)		پرولین (میکرومول بر گرم) Proline (μmol g ⁻¹)	
			2014	2015	2014	2015	2014	2015	2014	2015
			I ₁	0	0	2.63klm	2.45k	12.40l	12.46k	3.82e
		ورمی‌کیپوست Vemicompost	1.83qr	1.71n	8.19o	8.26n	4.59a	4.61a	7.31mn	7.24no
		اوره Urea	1.99pq	1.94m	10.00n	10.03m	4.25b	4.21b	8.26lm	8.31mn
	9	0	2.51mn	2.53k	12.19l	12.21k	3.92d	3.9cde	10.07ijk	10.15l
		ورمی‌کیپوست Vemicompost	1.67r	1.68n	8.38o	8.46n	4.57a	4.6a	6.96n	7.05o
		اوره Urea	2.00pq	2.10lm	10.99m	11.06l	4.09c	4.15bc	9.44jkl	9.52l
I ₂	0	0	4.87bc	4.80c	21.21cd	21.10bc	2.08pq	2.05op	20.87bc	20.72bc
		ورمی‌کیپوست Vemicompost	3.66fg	3.70g	17.22g	17.22f	2.62m	2.67lm	16.11e	16.16efg
		اوره Urea	4.56d	4.43d	19.19e	19.07d	2.52n	2.5mn	17.31d	17.26kl
	9	0	4.70klm	5.01b	21.38c	21.40b	2.03q	2.07op	19.76 c	19.89 c
		ورمی‌کیپوست Vemicompost	3.35hi	3.38h	16.19h	16.25g	3.05i	3.11hi	14.03 fg	14.08 h
		اوره Urea	3.50fgh	3.59g	17.11d	17.19f	2.8k	2.81jkl	15.80 e	15.97 g
I ₃	0	0	2.85jk	2.82j	13.49k	13.54j	3.54g	3.46fg	11.55 h	11.46 j
		ورمی‌کیپوست Vemicompost	2.17op	2.17l	10.90m	10.95l	4.10c	4.10bc	9.10kl	9.11lm
		اوره Urea	2.56lmn	2.51k	21.18cd	21.15bc	3.87de	3.84de	10.32ij	10.26ij
	9	0	2.65b	2.73j	13.71jk	13.76ij	3.64f	3.65ef	11.53h	11.60j
		ورمی‌کیپوست Vemicompost	2.01pq	2.09lm	11.14m	11.22l	4.07c	4.11bcd	9.29jkl	9.33 lm
		اوره Urea	2.33no	2.36k	12.32l	12.36k	3.94d	3.96bcd	9.88jk	9.86 l
I ₄	0	0	5.79a	5.74a	23.95a	23.66a	1.85s	1.84p	22.26a	22.20a
		ورمی‌کیپوست Vemicompost	5.05b	5.03b	21.31c	21.34b	2.11p	2.62lm	17.42d	17.36d
		اوره Urea	4.75cd	4.20e	19.09e	19.03de	2.39o	2.36no	18.07d	17.37d
	9	0	5.69a	5.60a	23.49b	23.51a	1.93r	1.90p	21.79ab	21.80 ab
		ورمی‌کیپوست Vemicompost	4.69cd	4.78c	20.48d	20.89c	2.04pq	2.09op	20.43c	20.49c
		اوره Urea	4.08e	3.92e	18.63f	18.72e	2.52n	2.55lmn	17.62 d	17.17def
I ₅	0	0	3.76f	3.75fg	17.50g	17.45f	2.69lm	2.67klm	15.75e	16.07fg
		ورمی‌کیپوست Vemicompost	3.21hi	3.11i	14.02j	14.06j	3.22h	3.26gh	12.84 g	12.89i
		اوره Urea	3.45gh	3.37h	16.10h	16.03g	2.95j	2.94ijk	14.46 f	14.42 h
	9	0	3.67fg	3.71g	17.39g	17.34f	2.73kl	2.75jklm	15.79e	15.89g
		ورمی‌کیپوست Vemicompost	2.82kl	2.85j	13.71jk	13.74ij	3.56g	3.63ef	11.19 hi	11.32 jk
		اوره Urea	3.12ij	3.15i	15.37i	15.43h	3.04i	3.00hij	14.23f	14.24h

I₁ بدون تنش در مرحله رویشی و زایشی با مقدار آب قابل استفاده گیاه در سطح ۶۰٪ ظرفیت زراعی؛ I₂ و I₃ = تنش متوسط و آبیاری در سطح ۴۰٪ ظرفیت زراعی به ترتیب در مراحل رویشی و زایشی؛ I₄ و I₅ = تنش شدید و آبیاری در سطح ۲۰٪ ظرفیت زراعی به ترتیب در مراحل رویشی و زایشی. حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد.

I₁: unstress at vegetative and reproductive stages, Irrigation at 60% of FC; I₂, I₃: mild stress and irrigation at 40% of FC during the vegetative and reproductive stages respectively; I₄, I₅: severe stress irrigation at 20% of FC during the vegetative and reproductive stages respectively. Means within each column followed by the same letter are not significantly different at the level of 5%.

جدول ۴: مقایسه میانگین اثرات برهمکنش رژیم‌های آبیاری × ژئولیت × کود بر صفات فیزیولوژیک شنبلیله.

Table 4. Mean comparison of irrigation regime × zeolite × fertilizer interaction on physiological traits in fenugreek.

آبیاری Irrigation	ژئولیت (تن در هکتار) Zeolite (t ha ⁻¹)	کود fertilizer	کارتونوید (میلی‌گرم در گرم) Cartoneoide(mg g ⁻¹)		گلاسیسین بتائین (میلی‌گرم در گرم) GB (mg g ⁻¹)		ویر اکسیدسموتاز (میلی‌گرم پروتئین) SOD (mg protein)		آنتوسیانین (میلی‌گرم در گرم) Anth (mg g ⁻¹)		عملکرد بیولوژیک (کیلوگرم در هکتار) Biological yield (kg h ⁻¹)
			2014	2015	2014	2015	2014	2015	2014	2015	
I ₁	0	0	14.84l	13.81l	8.10 t	8.15 klm	12.98 k		12.98k		1594.0 c
		ورمی‌کپوست Vemicompost	13.51mn	12.48mn	5.15y	5.19 o	10.67 m		10.67m		1564.37 c
		اوره Urea	10.75op	9.72pq	6.32x	6.46 no	10.73 m		10.74m		1750.6 b
	9	0	14.79l	13.76l	7.93u	7.90 lmn	12.97 k		12.97k		1540.67 c
		ورمی‌کپوست Vemicompost	12.92n	11.88o	5.19y	5.20 o	10.66 m		10.66m		1998.0 a
		اوره Urea	9.85p	8.82q	7.15w	7.15 mn	11.8 l		11.80l		1027.3 fghij
I ₂	0	0	24.59cd	23.55cd	18.70b	18.89 ab	21.25 c		21.25c		1054.0 efgh
		ورمی‌کپوست Vemicompost	20.33gh	19.3gh	13.93j	13.98defg	17.85 e		17.85e		1001.3 ghijk
		اوره Urea	21.86ef	20.83ef	15.56f	15.75 c	19.19 d		19.19d		947.33 ijkl
	9	0	23.99d	22.96d	18.29d	18.26 b	21.74 b		21.74b		1150.67 e
		ورمی‌کپوست Vemicompost	19.55hi	18.52hi	12.71 l	12.75gh	16.58 g		16.59g		1298.0 d
		اوره Urea	20.86fg	19.82fg	14.28i	14.32cdef	17.39 f		17.39f		970.67 hijkl
I ₃	0	0	15.2l	14.17l	9.45q	9.53 ijk	13.71 i		13.71i		920.67 jklm
		ورمی‌کپوست Vemicompost	11.19o	10.16p	7.45v	7.49 mn	11.73 l		11.73l		1141.33 e
		اوره Urea	15.26l	14.22l	8.30 s	8.37 jklm	13.22 jk		13.22jk		1130.0 ef
	9	0	16.39k	15.36k	9.28 r	9.31 ijkl	13.46 ij		13.46ij		1364.0 d
		ورمی‌کپوست Vemicompost	14.36lm	13.32lm	7.07w	7.11 mn	11.82 l		11.82l		1088.0 efg
		اوره Urea	15.43kl	14.4kl	7.94u	7.92 lmn	12.96 k		12.97k		1057.6 efghi
I ₄	0	0	26.15a	25.12a	19.80a	19.84 a	21.47 bc		21.48bc		967.33 hijkl
		ورمی‌کپوست Vemicompost	25.18abc	24.15abc	18.18e	15.30 cde	21.47 bc		21.47bc		878.0 lm
		اوره Urea	22.30e	21.01e	15.09h	15.42 cd	19.23 d		19.24d		874.0 lm
	9	0	25.74ab	24.71ab	19.88a	19.78 a	22.23a		22.23a		1057.6 efghi
		ورمی‌کپوست Vemicompost	24.80bcd	23.77bcd	18.50c	18.48 ab	21.81 b		21.81b		1061.3efgh
		اوره Urea	22.71e	21.34e	15.37g	15.41cde	19.05 d		19.05d		860.67 lm
I ₅	0	0	20.70g	19.67g	13.81k	13.89efgh	17.47 ef		17.74ef		827.33 m
		ورمی‌کپوست Vemicompost	17.85j	16.82j	10.78o	10.81 i	14.85 h		14.85h		961.33 hijkl
		اوره Urea	19.18i	18.15i	12.41 m	12.50h	16.22 g		16.23g		946.67 ijkl
	9	0	20.54gh	19.47gh	14.01j	14.10defg	17.55 ef		17.55ef		894.0 klm
		ورمی‌کپوست Vemicompost	16.50k	15.39k	9.64p	9.7 ij	13.77 i		13.77i		914.67 jklm
		اوره Urea	19.50hi	18.47hi	12.28n	12.90 fgh	16.60 g		16.61g		1154.0 e

I₁ بدون تنش در مرحله رویشی و زایشی با مقدار آب قابل استفاده گیاه در سطح ۶۰٪ ظرفیت زراعی؛ I₂ و I₃ = تنش متوسط و آبیاری در سطح ۴۰٪ ظرفیت زراعی به ترتیب در مراحل رویشی و زایشی؛ I₄ و I₅ = تنش شدید و آبیاری در سطح ۲۰٪ ظرفیت زراعی به ترتیب در مراحل رویشی و زایشی. حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد.

I₁: unstress at vegetative and reproductive stages, Irrigation at 60% of FC; I₂, I₃: mild stress and irrigation at 40% of FC during the vegetative and reproductive stages respectively; I₄, I₅: severe stress irrigation at 20% of FC during the vegetative and reproductive stages respectively. Means within each column followed by the same letter are not significantly different at the level of 5%

جدول ۵: اثرات متقابل رژیم آبیاری × ژئولیت بر آنتوسیانین و سوپر اکسیدسموتاز و کربوهیدرات برگ شنبلیله.

Table 5. Mean comparison of irrigation regime × zeolite interaction on Anth, SOD and Carbohydrate in fenugreek.

تیمارها Treatments		2014	2015	
آبیاری Irrigation	ژئولیت (تن در هکتار) Zeolite (t ha ⁻¹)	آنتوسیانین (میلی‌گرم در گرم) Anth (mg g ⁻¹)	کربوهیدرات (میلی‌گرم بر گرم) Carbohydrate (mg g ⁻¹)	سوپر اکسیدسموتاز (میلی‌گرم پروتئین) SOD (mg protein)
I ₁	0	11.65g	5.48 cd	1.97 g
	9	11.60g	5.27 d	1.97 g
I ₂	0	20.44b	5.57 c	3.98 b
	9	18.86c	6.03 b	3.73 c
I ₃	0	12.91f	6.91 a	2.38 f
	9	12.12g	7.07 a	2.39 f
I ₄	0	21.471a	3.96 f	4.39 a
	9	20.31b	3.91 f	4.32 a
I ₅	0	16.84d	4.77 e	3.2 d
	9	15.95e	4.93 e	3.02 e

حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد.

Means within each column followed by the same letter are not significantly different at the level of 5%.

جدول ۶: اثرات برهمکنش ژئولیت × کود بر آنتوسیانین و عملکرد تریگونلین شنبلیله.

Table 6. Mean comparison of zeolite × nitrogen fertilizer interaction on Anth and Trigoneline yield in fenugreek.

تیمارها Treatments		2014	2015	
ژئولیت (تن در هکتار) Zeolite(t ha ⁻¹)	کود fertilizer	آنتوسیانین (میلی‌گرم در گرم) Anth(mg g ⁻¹)	عملکرد تریگونلین (گرم بر هکتار) Trigoneline yield(g ha ⁻¹)	عملکرد تریگونلین (گرم بر هکتار) Trigoneline yield (g ha ⁻¹)
0	0	18.86 a	239.52 d	208.51 c
0	ورمی‌کپوست Vemicompost	15.27 d	315.21 b	315.46 b
0	اوره Urea	15.84 c	254.89 c	254.89 bc
9	0	17.32 b	245.55 c	299.65 b
9	ورمی‌کپوست Vemicompost	14.59 e	443.12 a	432.37 a
9	اوره Urea	15.38 cd	272.85 c	272.85 bc

حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد.

Means within each column followed by the same letter are not significantly different at the level of 5%.

جدول ۷: مقایسه میانگین اثرات برهمکنش رژیم‌های آبیاری × کود بر صفات فیزیولوژیک شنبلیله.

Table 7- Mean comparison of irrigation regime × fertilizer interaction on physiological traits in fenugreek.

تیمارها Treatments	کربوهیدرات (میلی‌گرم بر گرم) Carbohydrate (mg g ⁻¹)	عملکرد ترپیکولین (گرم بر هکتار) Trigoneline yield (g ha ⁻¹)	اسپاد Spad	آنتروسیانین (میلی‌گرم در گرم) Anth (mg g ⁻¹) عملکرد بیولوژیک (کیلوگرم در هکتار) biological yield (kg ha ⁻¹)	سوپراکسید دسموناز (میلی‌گرم پروتئین) SOD (mgprotein)				
آبیاری Irrigation	کود fertilizer	2014	2015	2014	2015	2014	2015		
I ₁	0	5.21 de	5.05 fg	386.71 c	439.14 bc	45.66 efg	13.43 f	2038.8 a	2.41 i
	ورمی‌کپوست Vermicompost	6.04 c	5.89 e	636.82 a	675.37 a	60.21bcd	10.25i	2255.4 a	1.46 k
	اوره	5.41 d	5.19 f	403.78 c	405.56 cd	72.65a	11.21 h	1540.3 bc	2.04 j
I ₂	0	5.30 d	5.12 f	400.75 c	450.63 bc	62.41abc	22.67 a	1247.1 de	4.67 b
	ورمی‌کپوست Vermicompost	6.30 c	6.24 cd	587.32 b	494.56 b	70.71ab	17.39d	1683.7 b	3.29 f
	اوره	6.11 de	6.03 de	433.58 c	431.01 bcd	61.0bcd	18.89 c	1205.3 def	3.60 de
I ₃	0	6.77 b	6.49 c	88.91 g	250.80 e	43.36fg	13.47 f	977.97 fgh	2.59 h
	ورمی‌کپوست Vermicompost	7.62 a	7.55 a	248.13 d	355.02 d	54.66cde	11.59 h	1584.8 bc	2.14 j
	اوره	7.20 b	6.93 b	229.35 d	237.44 ef	64.33abc	12.49 g	1255.3 de	2.43 i
I ₄	0	3.50 g	3.40 j	175.45 e	143.89 gh	36.75g	22.28a	1089.6 efg	4.86 a
	ورمی‌کپوست Vermicompost	3.69 g	3.58 j	264.72 d	231.58 ef	42.48fg	21.19 b	1276.1 de	4.49 c
	اوره	4.55 f	4.42 i	148.51 ef	168.86 fg	70.16ab	19.20 c	936.9 gh	3.72 d
I ₅	0	4.65 f	4.56 hi	83.30 g	63.42 h	51.21def	18.64 c	795.9 h	3.57 e
	ورمی‌کپوست Vermicompost	5.28 d	5.18 f	159.45 e	112.39 gh	56.03cde	14.26 f	1414.4 cd	2.70 h
	اوره	4.91 ef	4.82 gh	104.1 fg	109.43 gh	68.66ab	16.29 e	987.1 fgh	3.05 g

I₁= بدون تنش در مرحله رویشی و زایشی با مقدار آب قابل استفاده گیاه در سطح ۶۰ درصد ظرفیت زراعی؛ I₂ و I₃= تنش متوسط و آبیاری در سطح ۴۰ درصد ظرفیت زراعی به ترتیب در مراحل رویشی و زایشی؛ I₄ و I₅= تنش شدید و آبیاری در سطح ۲۰ درصد ظرفیت زراعی به ترتیب در مراحل رویشی و زایشی. حروف مشابه در هر ستون به منزله عدم وجود اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد.

I₁: unstress at vegetative and reproductive stages, Irrigation at 60% of FC; I₂, I₃: mild stress and irrigation at 40% of FC during the vegetative and reproductive stages respectively; I₄, I₅: severe stress irrigation at 20% of FC during the vegetative and reproductive stages respectively. Means within each column followed by the same letter are not significantly different at the level of 5%.

منابع

1. Abdalla, M.M. and El-Khoshiban, N.H. 2007. The influence of water stress on growth, relative water content, photosynthetic pigments, some metabolic and hormonal contents of two *Triticum aestivum* cultivars. J. Appl. Sci. Research. 3(12): 2062-2074.
2. Aebi, H. 1984. Catalase in vitro. Methods in Enzymology. 105: 121-126.
3. Afshar, R.K., Chaichi, M.R., Ansari Jovini, M., Jahanzad, E. and Hashemi, M. 2015. Accumulation of phenolic compounds in milk thistle seeds under droughtstress. Planta. 242 (3), 2265–2269.
4. Agati, G., Mattini, P., Goti, A. and Tattini, M. 2007. Chloroplast- located flavonoids can scavenge singlet oxygen. New Phytol. 174: 77–89.
5. Arancon, N.Q., Edwards, C.A., Bierman, P., Metzger, J.D. and Lucht, C. 2005. Effects of vermicomposts produced from cattle manure, food waste and paper waste on the growth and yield of peppers in the field. Pedobiol. 49: 297–306.
6. Arnon, D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiol. 24(1): 1-150.

7. Bates, L.S. Waldern, R.P. and Teare, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil*. 39: 205–207.
8. Bhardwaj, J. and Yadav, S.K. 2012. Comparative study on biochemical parameters and antioxidant enzymes in drought tolerant and a sensitive variety of horsegram (*Macrotyloma uniflorum*) under drought stress. *Amer. J. Plant Physiol*. 7 (1): 17-29.
9. Conming, L. and Zang, J. 2000. Photosynthetic CO₂ assimilation chlorophyll fluorescence and photoinhibitor as affected by nitrogen deficiency in maize plants. *J. Plant. Sci*. 151: 135-143.
10. Dadrasan, M., Chaichi, M.R., Pourbabae, A.A., Yazdani, D. and Keshavarz-Afshar, R. 2015. Deficit irrigation and biological fertilizer influence on yield and trigonelline production of Fenugreek. *Ind. Crop. Prod*. 77: 156–162.
11. Facchini, P.J. 2001. Alkaloid biosynthesis in plants: biochemistry, cell biology, molecular regulation, and metabolic engineering applications. *Ann. Revue Plant Physiol. Plant Mol. Biol*. 52: 29 – 66.
12. Farnia, A. and Hadadi, A. 2015. Effect of Mycorrhiza and P soluble bacteria on yield and its components of Maize (*Zea mays* L.) under water stress condition. *Inter. J. Biol. Pharmacy Allid Sci*. 4(10): 661-674.
13. Hassanzadeh, E., Chaichi, M.R., Mazaheri, D., Rezazadeh, S. and Badi, H.A.N. 2011. Physical and chemical variabilities among domestic Iranian fenugreek (*Trigonella foenum-graceum*) seeds. *Asian J. Plant. Sci*. 10(6): 323–330.
14. Hazrati, S., Tahmasebi-Sarvestani, Z., Modarres-Sanavy, S.A.M., Mokhtassi-Bidgoli, A. and Nicola, S. 2016. Effects of water stress and light intensity on chlorophyll fluorescence parameters and pigments of *Aloe vera* L. *Plant Physiol. Biochem*. 106: 141-148.
15. Inze, D. and Montagu, M.V. 2000. Oxidative stress in plants. TJ Inter. Ltd, Padstow, Cornwall. Great Britain. 321 pp.
16. Irrigoyen, J.H., Emerich, D.W. and Sanchez Diaz, M. 1992. Water stress induced changes in concentration of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Physiol. Plantarum*. 84: 55-66.
17. Kameli, A. and Losel, D.M. 1993. Carbohydrates and water status in wheat plants under water stress.
18. Karimi, S., Nasri, M. and Ghoshchi, F. 2013. Investigation of drought stress on agro-physiological indices of sunflower (*Helianthus annuus* L.) with Zeolite application tested in the region of Varamin. *Inter. J. Agric. Sci*. 3(12): 894-903.
19. Khadempir, M., Galeshi, S., Soltani, A. and Ghaderifar, A. 2014. Investigated of soybean leaves antioxidant activity, chlorophyll fluorescence, chlorophyll (a, b) and carotenoids content influenced by the flooding and different levels of nutrition. *Elec. J. Crop Prod*. 8(2). 1-30. (In Persian).
20. Krizek, D.T., Kramer, G.F., Upadhyaya A. and Mirecki R.M. 1993. UV-B Response of cucumber seedling grown under metal halid and high pressure sodium deluxe lamps. *Physiol. Plant*. 88: 350-358.
21. Lotfi, M., Abbaszadeh, B. and Mirza, M. 2014. The effect of drought stress on morphology, proline content and soluble carbohydrates of tarragon (*Artemisia dracuncululus* L.). *Iranian J. Med. Arom. Plants*. 30(1): 19-29. (In Persian).
22. Manivannan, P., Abdul Jaleel, C., Sankar, B., Kishorekumar, A., Somasundaram, R., Lakshmanan, G.M.A. and Panneerselvam, R. 2007. Growth, biochemical modifications and proline metabolism in *Helianthus annuus* L. as induced by drought stress. *Coll. Surf. B: Biointerfaces* 59: 141–149.
23. Masoumi, H., Masoumi, M., Darvish, F., Daneshian, J., Nourmohammadi, G. H. and Habibi, D. 2010. Change in several antioxidant enzymes activity and seed yield by water deficit stress in soybean (*Glycine max* L.) cultivars. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*. 38: 50-59.
24. Mehrafarin, A., Rezazadeh, Sh., Naghdi Badi, H., Noormohammadi, G.H, Zand, E. and Qaderi, A. 2011. A review on biology, cultivation and biotechnology of Fenugreek

- (*Trigonella foenum-graecum* L.) as a valuable medicinal plant and multipurpose. Journal of Med. Plant. 10(37): 6-24.
25. Minami, M. and Yoshikawa, H. 1979. A simplified assay method of superoxide dismutase activity for clinical use. Clin. Chim. Acta. 92: 337-342.
 26. Munns, R. 1993. Physiological process limiting plant growth in saline soil: some dogmas and hypotheses. Plant Cell Environ. 16: 15-24.
 27. Nonami, H., Wu, Y. and Matthewse, M.A. 1997. Decreased growth-induced water potential a primary cause of growth inhibition at low water potentials. Plant Physiology. 114: 501-509.
 28. Ohkawa, H. Ohishi, N. and Yagi, Y. 1979. Assay of lipid peroxides in tissues by thiobarbituric acid reaction. Annual. Biochem. 95: 51-358.
 29. Shimizu, M.M. and Mazzafera, P.A. 2000. Role for trigonelline during imbibition and germination of coffee seeds. Plant Biol. 605: 2-11.
 30. Ramanjulu, S. 2010. Plant Stress Tolerance. Method. Protocols. Springer. 22: 341-370.
 31. Ranjbar Fordoei, A. and Dehghani Bidgholi, B.R. 2016. Impact of salinity stress on photochemical efficiency of photosystem II, chlorophyll content and nutrient elements of Nitere Bush (*Nitraria schoberi* L.) plants. J. Range Sci. 6(1): 3-9.
 32. Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yango, M. and Rice-Evan, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical. Biol. Med. 26: 1231-1237.
 33. Tale-Ahmad, S. and Haddad, R. 2011. Study of silicon effects on antioxidant enzyme activities and osmotic adjustment of wheat under drought stress. Czech J. Gen. Plant Breed. 47: 17-27.
 34. Xiao, X., Xu, X. and Yang, F. 2008. Adaptive responses to progressive drought stress in two *Populus cathayana* populations. Silva Fennica. 42: 705-719.
 35. Xu, X., Yang, F., Xiao, X., Zhang, S., Korpelainen, H. and Li, C. 2008. Sex-specific responses of *Populus cathayana* to drought and elevated temperatures. Plant. Cell Environ. 31: 850-860.