

بررسی تأثیر تنش خشکی و کود دامی بر محتوای رطوبت، میزان پایداری غشاء سلول و محتوای کلروفیل برگ سویا

سید محمود پور موسوی^۱، * محمد گلوی^۲، جهانفر دانشیان^۳، احمد قنبری^۴ و نصراله بصیرانی^۴

^۱دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه زابل، ^۲استادیار کارشناسی ارشد گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه زابل،

^۳استادیار پژوهشی مرکز اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج، ^۴استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه زابل،

^۴استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه زابل

تاریخ دریافت: ۸۵/۶/۱۵؛ تاریخ پذیرش: ۸۶/۴/۱۲

چکیده

به منظور ارزیابی عکس‌العمل لاین L17 سویا به کود دامی در شرایط تنش خشکی آزمایشی به صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار انجام شد. عامل تنش در کرت‌های اصلی شامل سه سطح آبیاری پس از ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر کلاس A و عامل کود دامی در کرت‌های فرعی شامل مقادیر صفر، ۱۵، ۳۰ و ۴۵ تن در هکتار بود. نتایج نشان داد که با افزایش میزان تنش خشکی محتوای رطوبت برگ کاهش یافت. در واکنش به افزایش کود دامی، بیشترین محتوای رطوبت برگ با مصرف ۴۵ تن کود دامی در هکتار به دست آمد. در پایان دوره گلدهی پایداری غشاء سلول تحت تأثیر افزایش شدت تنش رطوبت افزایش یافت و از ۷۰/۱۴ درصد در آبیاری مطلوب به ۷۶/۲۲ درصد در تنش شدید رسید. پایداری غشاء سلول با افزایش میزان کود دامی کاهش نشان داد به نحوی که از ۷۵/۹۶ درصد در تیمار شاهد به ۶۸/۵۵ درصد در تیمار مصرف ۴۵ تن کود دامی در هکتار رسید. در پایان دوره گلدهی، بیشترین مقادیر کلروفیل a و b به ترتیب ۴۰/۵۳ و ۱۲/۴۳ میکروگرم کلروفیل در گرم برگ تازه در تیمار تنش ملایم به دست آمد. از لحاظ آماری ($P \leq 0.05$) در این مرحله اثر کود دامی بر میزان کلروفیل برگ معنی‌دار نبود. در مرحله آغاز پر شدن دانه بیشترین مقدار کلروفیل a (۳۱/۷۹ میکروگرم کلروفیل در گرم برگ تازه) در اثر تنش ملایم خشکی به دست آمد. در این مرحله رشدی تحت تأثیر کود دامی، بیشترین مقدار کلروفیل a (۳۱/۶۷ میکروگرم کلروفیل در گرم برگ تازه) با مصرف ۳۰ تن کود دامی در هکتار حاصل شد. مقدار کلروفیل b تحت تأثیر تیمارهای آبیاری و کود دامی تفاوت معنی‌داری ($P \leq 0.05$) نشان نداد.

واژه‌های کلیدی: سویا، تنش خشکی، کود دامی، محتوای رطوبت نسبی برگ

مقدمه

روغن و ۴۰ درصد پروتئین است و به‌عنوان مهمترین منبع تولید روغن و پروتئین گیاهی محسوب می‌شود (شاهمرادی، ۲۰۰۳). زراعت این گیاه در ایران از نظر تأمین بخشی از روغن مورد نیاز کشور از اهمیت خاصی

یکی از عمده‌ترین فرآورده‌های غذایی که تأمین نیاز داخلی آن از اهمیت زیادی برخوردار است، روغن‌های خوراکی می‌باشد. دانه سویا حاوی حدود ۲۰ درصد

برخوردار است (خواجوبی نژاد و همکاران، ۲۰۰۴). کمبود رطوبت یکی از عوامل مهم محدودکننده رشد سویا به شمار می‌رود، چنانچه فراهمی آب برای ریشه با مشکل مواجه شود و یا سرعت تعرق بسیار بالا باشد، گیاه تنش خشکی را تجربه خواهد کرد (اوبر و شارپ، ۲۰۰۳). مصرف بی‌رویه کودهای شیمیایی نیز باعث مشکلات زیست محیطی فراوانی شده است. استفاده از کودهای آلی از جمله کودهای دامی در کنار مصرف کودهای شیمیایی از گزینه‌هایی هستند که می‌توانند ضمن کاستن از مقدار مصرف کودهای شیمیایی، در بهبود عملکرد گیاهان زراعی و پایداری در تولید آنها مؤثر باشند (قوش و همکاران، ۲۰۰۴). واکنش گیاه به تنش خشکی به ماهیت کمبود آب وابسته است و می‌تواند به صورت پاسخ‌های فیزیولوژیک کوتاه‌مدت یا بلندمدت باشد. تغییرات محتوای رطوبتی برگ و غلظت کلروفیل a و b به عنوان یک واکنش کوتاه مدت به تنش و معیاری از توان حفظ قدرت منبع در شرایط تنش خشکی مورد استفاده قرار می‌گیرد (احمدی و سی و سه مرده، ۲۰۰۴). پایداری غشاء نیز به عنوان ابزاری در جهت اندازه‌گیری میزان مقاومت در برابر تنش‌های محیطی و از جمله خشکی مطرح می‌باشد (سانوکا و همکاران، ۲۰۰۴).

کوستا فرانسوا و همکاران (۲۰۰۰) گزارش کردند که میزان رطوبت نسبی برگ لوبیا در اثر خشکی کاسته می‌شود. سانوکا و همکاران (۲۰۰۴) نیز دریافتند در صورت تغذیه گیاهچه‌های علف نیزار با کود نیتروژنه، پتانسیل اسمزی برگ منفی‌تر خواهد شد به عبارت دیگر، با افزایش مقدار مصرف نیتروژن تا حد بهینه، می‌توان به افزایش محتوای رطوبت برگ امیدوار بود. همچنین مشاهده شد که در اثر استفاده از پتاسیم در شرایط تنش خشکی افزایش محتوای رطوبت نسبی برگ اتفاق افتاد (عزیزی و راشد محصل، ۱۹۹۸). محتوای کلروفیل برگ‌ها یکی از عوامل کلیدی در تعیین سرعت فتوسنتز و تولید ماده خشک می‌باشد (قوش و همکاران، ۲۰۰۴). تنش خشکی باعث کاهش معنی‌دار مقدار کلروفیل a در مراحل خوشه‌رفتن و ۲۰ روز پس از گلدهی در گندم می‌شود، اما تأثیر آن بر مقدار کلروفیل b فقط در مرحله اول معنی‌دار است (احمدی و سی و سه مرده، ۲۰۰۴). در مطالعه

دیگری مشخص شد که تنش خشکی باعث بیشتر شدن مقدار کلروفیل برگ پرچم در مرحله گلدهی در مقایسه با شرایط بدون تنش در گندم می‌شود (اومن و دانلی، ۱۹۹۹). براساس نتایج آزمایش مکارون و همکاران (۱۹۹۵)، مواجه شدن گیاه با تنش خشکی باعث افزایش میزان نسخه‌برداری از ژن‌های اکسیدکننده و چربی‌های دیواره سلولی می‌شود، که در نهایت این امر سبب تخریب دیواره سلولی خواهد شد. هینگ و همکاران (۲۰۰۴) نیز در آزمایشی که بر روی لوبیا انجام دادند نتیجه مشابهی را گزارش کردند. در مقابل بلوم و ابرکن (۱۹۸۱) دریافتند، گندم‌هایی که در معرض تنش خشکی (عدم آبیاری) قرار داشتند، دارای دیواره‌های سلولی مقاومتری بودند. سانوکا و همکاران (۲۰۰۴) نیز نتیجه‌گیری کردند، در صورت تغذیه گیاهچه‌های علف نیزار با کود نیتروژنه، تنش خشکی باعث افزایش پایداری غشاء سلول در مقایسه با حالت عدم تنش می‌شود، ولی چنانچه از کود نیتروژنه استفاده نشود، اعمال تنش خشکی باعث کاهش پایداری دیواره‌های سلولی می‌گردد.

این تحقیق به منظور ارزیابی تأثیر تنش خشکی و کود دامی بر محتوای رطوبت نسبی برگ، میزان کلروفیل a و b ، و درصد پایداری غشاء سلول برگ سویای لاین L17 انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال ۱۳۸۳ در مزرعه تحقیقاتی مؤسسه اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج به صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار در خاکی با مشخصات مندرج در جدول ۱ اجرا شد. تنش خشکی شامل سه سطح آبیاری پس از ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر کلاس A به ترتیب به عنوان آبیاری کامل، تنش ملایم و تنش شدید خشکی در کرت اصلی در نظر گرفته شد. آبیاری به روش سیفونی اجرا و تمامی تیمارها تا ظهور سومین برگ سه برگچه‌ای (V3) به طور کامل آبیاری شدند. بعد از این مرحله تیمارها آبیاری شدند. عامل فرعی مقادیر کود دامی شامل صفر، ۱۵، ۳۰ و ۴۵ تن در هکتار بودند که از کود پوسیده گاوهای شیری هولشتاین استفاده شد.

جدول ۱- مشخصات خاک محل آزمایش.

عمق (cm)	بافت خاک	درصد کربن آلی	وزن مخصوص حقیقی (g/cm ³)	وزن مخصوص ظاهری (g/cm ³)	هدایت الکتریکی (dS/m)	فسفر قابل جذب (ppm)	پتاسیم قابل جذب (ppm)	درصد ازت کل
۰-۳۰	لوم رس	۰/۵۱	۲/۳۳	۱/۲۳۵	۱/۴۲	۱۳/۱	۲۳۰	۰/۰۶

محاسبه شد (در و همکاران، ۱۹۹۸). برای این منظور ۲۴ نمونه دایره‌ای شکل به قطر تقریبی ۰/۵ سانتی‌متر از برگ‌های کاملاً توسعه یافته و جوان هر کرت در مرحله پایان گلدهی (R 5.5) و ۸ روز بعد (پایان گلدهی R6) تهیه، بعد از قرار دادن نمونه‌ها در یخچال صحرایی به سرعت به آزمایشگاه منتقل شدند. هر یک از نمونه‌ها در ۱۰ میلی‌لیتر استن ۱۰۰ درصد قرار داده شدند. نمونه‌ها در سرعت ۱۶۰۰ دور در دقیقه به مدت ده دقیقه سانتریفیوژ و مقدار کلروفیل a در طیف جذبی nm ۶۶۳/۲ و مقدار کلروفیل b در nm ۶۴۶/۸ با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر قرائت و به کمک فرمول لیچن تالر و ولبرن براساس میکروگرم کلروفیل در گرم برگ تازه محاسبه شدند (در و همکاران، ۱۹۹۸). بر مبنای معادلات ۲ و ۳:

$$\text{Ch a} = 11.75 A_{(663.2)} - 2.35 A_{(646.8)} \quad (2)$$

$$\text{Ch b} = 18.61 A_{(646.8)} - 3.960 A_{(663.2)} \quad (3)$$

A میزان جذب در طول موج مورد نظر می‌باشد.

جهت اندازه‌گیری میزان پایداری غشاء سلول از PEG^۱ (پلی اتیلن گلیکول) استفاده شد (بلوم و ابرکن، ۱۹۸۱). در این روش ۱۰ نمونه دایره‌ای شکل به قطر تقریبی ۳ سانتی‌متر از برگ‌های کاملاً توسعه یافته و جوان در هر کرت در مرحله پایان گلدهی تهیه شد. پنج نمونه به عنوان شاهد و پنج نمونه دیگر به عنوان تیمار جدا شد. هر یک از ۵ نمونه در لوله فالدون مدرج ۵۰ میلی‌لیتری در یخچال صحرایی تا آزمایشگاه حمل شدند. سپس هر یک از نمونه‌ها سه مرتبه با آب مقطر شستشو تا الکترولیت‌های سطحی آنها شسته شود. در نمونه شاهد ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر و در نمونه تیمار ۳۰ میلی‌لیتر محلول ۳۰ درصد PEG با جرم مولکولی ۶۰۰۰ ریخته شد. نمونه‌ها به

هر کرت فرعی شامل ۶ خط کاشت به طول ۵ متر که فاصله ردیف‌ها ۶۰ و فاصله بوته‌ها روی ردیف ۵ سانتی‌متر بودند. برای جلوگیری از نشت آب بین کرت‌های اصلی، ۲ ردیف به صورت نکاشته رها شدند. بین دو بلوک مجاور نیز ۵ متر فاصله در نظر گرفته شد. قبل از مصرف کود دامی ۴ نمونه تصادفی از آن تهیه و جهت دستیابی به یک نمونه مرکب با هم مخلوط و عناصر غذایی در آن اندازه‌گیری شدند (داده‌ها نشان داده نشده‌اند).

جهت اندازه‌گیری محتوای رطوبت نسبی برگ از رابطه ۱ استفاده شد (یاماساکی و دیلن بورگ، ۱۹۹۹):

$$RWC \% = \frac{FW - DW}{TW - DW} \times 100 \quad (1)$$

FW، DW و TW به ترتیب وزن تر (تازه)، خشک و آماس برگ است. پس از اعمال تنش آبیاری و تا اوایل مرحله رسیدگی فیزیولوژیک ۸ بار نمونه‌برداری انجام شد. نمونه‌برداری به‌طور همزمان از تمام تیمارها و قبل از آبیاری شاهد انجام و از هر تیمار تعداد ۶ نمونه دایره‌ای به قطر تقریبی ۲ سانتی‌متر از برگ‌های کاملاً توسعه یافته و جوان تهیه می‌شد. نمونه‌ها بلافاصله به لوله‌های فالدون دربار منتقل و توسط یخچال صحرایی به آزمایشگاه انتقال یافت. پس از تعیین وزن تر، نمونه‌ها به ظروف پتری دربار حاوی آب مقطر منتقل و به مدت ۱۸ ساعت نگهداری شدند. سپس رطوبت سطحی نمونه‌ها با دستمال حوله‌ای خشک و وزن آماس آنها به دست آمد. وزن خشک نمونه‌ها پس از ۴۸ ساعت خشک شدن در آون با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد با دقت یک ده هزارم گرم تعیین شد (یاماساکی و دیلن بورگ، ۱۹۹۹).

مقدار کلروفیل a و b در نمونه‌های برگ بر مبنای روش طیف‌سنجی و با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر

مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. سپس تمامی نمونه‌ها سه مرتبه با آب مقطر شستشو داده شدند. در لوله‌های هر دو نمونه ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر ریخته شد.

نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای حدود ۱۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند، بعد از رسیدن دمای نمونه‌ها به دمای محیط، میزان هدایت الکتریکی نمونه‌ها با دستگاه EC متر (میلی‌موس بر سانتی‌متر) اندازه‌گیری شدند. سپس نمونه‌ها به مدت ۲۵ دقیقه در دمای ۱۲۵ درجه سانتی‌گراد اتوکلاو، و دوباره هدایت الکتریکی نمونه‌ها تعیین شدند. میزان آسیب وارده به غشاء با استفاده از فرمول‌های ۴ و ۵ زیر محاسبه گردید (بلوم و ابرکن، ۱۹۸۱؛ سانوکا و همکاران، ۲۰۰۴):

$$(4) \quad \text{درصد خسارت} = \frac{1 - \frac{T_1}{T_2}}{1 - \frac{C_1}{C_2}} \times 100$$

(5) $\% \text{ پایداری} = 1 - \text{درصد خسارت}$
 T_1 و T_2 ، به ترتیب EC نمونه تیمار قبل و بعد از اتوکلاو و C_1 و C_2 ، به ترتیب EC نمونه شاهد قبل و بعد از اتوکلاو می‌باشد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس محتوای نسبی آب (RWC)^۱

نشان داد که با افزایش شدت تنش خشکی، محتوای رطوبت برگ به‌طور معنی‌داری ($P \leq 0.05$) کاهش یافت (جدول ۲). کاهش محتوای رطوبت نسبی برگ در اثر تنش خشکی، دارای همبستگی مثبت و بالایی با محتوای رطوبتی خاک می‌باشد (نوتیال و همکاران، ۲۰۰۲). کاهش رشد و فعالیت ریشه و افزایش میزان تبخیر و تعرق از جامعه گیاهی از عوامل دخیل در کاهش RWC شناخته شده‌اند (تارومینگ کنگ و کوتو، ۲۰۰۳). کود دامی در این آزمایش، در سه نمونه‌برداری انتهایی اثر معنی‌داری بر رطوبت نسبی برگ داشت (جدول ۲) اما بالاترین محتوای رطوبت نسبی برگ، در طول دوره نمونه‌برداری در اثر مصرف بیشترین مقدار کود دامی (۴۵ تن در هکتار) حاصل شد (جدول ۳). در اثر تغذیه گیاه با نیتروژن (سانوکا و همکاران، ۲۰۰۴) و پتاسیم (عزیزی و راشد محصل، ۱۹۹۸) محتوای رطوبت نسبی برگ افزایش می‌یابد، هر چند دو مثال بالا در مورد تأثیر مثبت کودهای شیمیایی بر افزایش محتوای رطوبت برگ اشاره دارد، اما از آنجایی که کودهای دامی نیز دارای مقادیر مناسبی از عناصر غذایی هستند می‌توانند تأثیر مثبت بر این عامل داشته باشند. بر هم کنش بر میزان رطوبت برگ معنی‌دار نبود (جدول ۲).

جدول ۲- میانگین مربعات محتوای رطوبت نسبی برگ طی ۸ مرحله نمونه‌برداری^۱

RWC8	RWC7	RWC6	RWC5	RWC4	RWC3	RWC2	RWC1	درجه آزادی df	منابع تغییر
۷/۱۷ ns	۵/۰۴ ns	۵۰/۶ ns	۲۹/۹ ns	۱۶/۰۲ ns	۹۰/۹**	۲۲۷/۶*	۳۶/۲ ns	۳	تکرار
۶۵/۵۹**	۱۹۶/۶**	۳۵/۶ ns	۱۹۸/۷*	۱۳۸/۵ ns	۷۳/۹۵*	۶۶۴/۳**	۶۲/۸ ns	۲	آبیاری
۲/۹۶	۵/۸۱	۱۵/۹۷	۲۰/۲۸	۶۱/۵۳	۶/۷۷	۴۶/۲	۷۶/۱	۶	اشتباه
۲۵/۹۳*	۳۴/۳۹*	۳۲/۹*	۲۵/۹ ns	۹/۱۱ ns	۲۲/۶۰ ns	۲۳/۴ ns	۲۰۵/۱ ns	۳	کود دامی
۶/۰۶ ns	۴/۲۸ ns	۱۲/۷ ns	۲۱/۷ ns	۳/۸۰ ns	۲۹/۱۷ ns	۲۳/۹ ns	۵۸/۶ ns	۶	اثرات متقابل
۶/۴۸	۷/۹۰	۸/۴۲	۱۱/۲	۱۰/۳۰	۲۴/۶۴	۷۷/۶	۹۳/۷	۲۷	اشتباه
۳/۳۹	۳/۸۷	۳/۶۴	۴/۶۹	۴/۳۵	۶/۹۴	۱۰/۸۷	۱۳/۲۴		%CV

ns، * و ** به ترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد و ۱ درصد می‌باشد.

۱- به ترتیب پس از دریافت ۵۴۶، ۶۴۲، ۷۶۰، ۸۷۹، ۱۰۰۲، ۱۱۲۳، ۱۲۴۵ و ۱۴۰۹ درجه روز رشد توسط گیاه.

جدول ۳- مقایسه میانگین‌های محتوای رطوبت نسبی برگ طی ۸ مرحله نمونه‌برداری با آزمون دانکن در سطح ۵ درصد.

RWC8	RWC7	RWC6	RWC5	RWC4	RWC3	RWC2	RWC1	کوددامی (kg/ha)	آبیاری* (mm)
۷۷/۰۵ a	۷۶/۶۶ a	۸۰/۱۹ a	۷۴/۶۷ a	۷۶/۳۲ a	۷۳/۸۶ a	۸۷/۶۴ a	۷۵/۱۳ a		۵۰
۷۵/۵۱ b	۶۹/۹۹ b	۸۰/۷۳ A	۷۱/۵۸ a	۷۴/۴۸ a	۷۰/۸۷ b	۸۰/۷۴ b	۷۳/۰۶ a		۱۰۰
۷۳/۰۳ c	۷۱/۴۵ b	۷۷/۹۲ A	۶۷/۶۴ b	۷۰/۵۶ a	۶۹/۶۹ b	۷۴/۷۶ c	۷۱/۱۶ a		۱۵۰
۱/۴۹	۲/۰۸	۳/۴۶	۳/۹۱	۶/۷۹	۲/۲۵	۵/۸۸	۷/۵۵		LSD
۷۵/۰۶ ab	۷۲/۳۳ ab	۸۰/۷۳ a	۷۱/۵۶ ab	۷۲/۶۱ a	۷۰/۹۵ a	۷۹/۹۲ a	۶۷/۵۸ b	۰	۵۰
۷۵/۰۹ ab	۷۰/۶۲ b	۷۷/۲۱ b	۶۹/۷۰ b	۷۴/۵۲ a	۶۹/۷۸ a	۷۹/۸۶ a	۷۱/۰۷ ab	۱۵	
۷۳/۵۳ b	۷۳/۱۸ a	۷۹/۸۱ a	۷۰/۷۳ ab	۷۳/۶۵ a	۷۲/۷۵ a	۸۱/۷۰ a	۷۴/۸۶ ab	۳۰	
۷۷/۱۱ a	۷۴/۶۸ a	۸۰/۷۰ a	۷۳/۱۸ a	۷۴/۳۷ a	۷۲/۴۲ a	۸۲/۷۱ a	۷۷/۹۶ a	۴۵	
۲/۱۳	۲/۳۵	۲/۴۳	۲/۸۰	۲/۶۹	۴/۱۶	۷/۳۸	۸/۱۱		LSD
۷۵/۶۸abc	۷۶/۲۸ ab	۸۱/۰۲ ab	۷۲/۴abcd	۷۵/۳۶ a	۷۱/۷۹ ab	۸۵/۷۲Abc	۷۲/۳۲ ab	۰	۵۰
۷۷/۳۲ ab	۷۵/۱۵abc	۷۶/۷۵ bc	۷۴/۷۲ ab	۷۶/۳۶ a	۷۶/۱۳ a	۸۳/۲۹ abc	۷۵/۱۱ ab	۱۵	
۷۷/۱۰ ab	۷۶/۸۹ a	۸۱/۱۷ ab	۷۶/۸۷ a	۷۷/۱۱ a	۷۵/۳۳ a	۸۹/۱۲ ab	۷۱/۸۰ ab	۳۰	
۷۸/۰۹ a	۷۸/۳۱ a	۸۱/۸۲ a	۷۴/۶۹ ab	۷۶/۴۷ a	۷۲/۱۹ ab	۹۲/۴۳ a	۸۱/۲۷ a	۴۵	
۷۶/۰۷abc	۶۹/۵۳ de	۸۲/۰۴ a	۷۳/۹۳abc	۷۴/۱۲ ab	۷۱/۹۷ ab	۷۹/۸۵ abc	۶۴/۷۱ b	۰	۵۰
۷۵/۱۹abc	۶۷/۰۹ e	۷۸/۸۰abc	۶۸/۶۱cde	۷۴/۹۶ ab	۶۸/۱۰ ab	۸۰/۱۴ abc	۶۸/۹۱ ab	۱۵	
۷۳/۴۵bcd	۷۱/۹۹bcd	۸۰/۶۷abc	۶۹/۴bcde	۷۴/۱۴ ab	۷۱/۲۵ ab	۸۲/۰۲ abc	۷۹/۲۶ ab	۳۰	
۷۷/۳۳ ab	۷۱/۳۵cde	۸۱/۴۰ ab	۷۴/۳۷ ab	۷۴/۶۸ ab	۷۲/۱۶ ab	۸۰/۹۶ abc	۷۹/۳۸ ab	۴۵	
۷۳/۴۲bcd	۷۱/۱۷Cde	۷۹/۱۲Abc	۶۸/۳۶ de	۶۸/۳۵ c	۶۹/۰۹ ab	۷۴/۲۱ c	۶۸/۷۱ ab	۰	۱۵۰
۷۲/۷۶ cd	۶۹/۶۲ de	۷۶/۰۸ c	۶۵/۷۸ e	۷۲/۲۳abc	۶۵/۱۱ a	۷۶/۱۵ bc	۶۹/۲۰ ab	۱۵	
۷۰/۰۴ d	۷۰/۶۶cde	۷۷/۶۰ abc	۶۵/۹۰ e	۶۹/۶۸ bc	۷۱/۶۵ ab	۷۳/۹۶ c	۷۳/۵۲ ab	۳۰	
۷۵/۹۲Abc	۷۴/۳۶abc	۷۸/۸۷ abc	۷۰/۵۰Bcde	۷۱/۹۶Abc	۷۲/۹۱ ab	۷۴/۷۴ bc	۷۳/۲۳ ab	۴۵	
۳/۶۹	۴/۰۸	۴/۲۱	۴/۸۶	۴/۶۵	۷/۲۰	۱۲/۷۸	۱۴/۰۴		LSD

حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار در سطوح تیماری می‌باشد

* تبخیر از تشتک تبخیر کلاس A

کلروفیل‌ها، پراکسیداز و ترکیبات فنلی و در نتیجه تجزیه کلروفیل باشد (احمدی و سی و سه مرده، ۲۰۰۴). در توجیه این گزارش‌های متفاوت می‌توان گفت که زمان نمونه‌برداری و نحوه اعمال تنش در پاسخ گیاه بسیار مهم است، به طوری که اگر نمونه‌برداری در زمان حداکثر مقدار کلروفیل برگ انجام شود نتیجه متفاوتی نسبت به زمانی حاصل خواهد شد که نمونه‌برداری قبل و یا بعد از این دوره انجام شود (احمدی و سی و سه مرده، ۲۰۰۴؛ اومن و دانیلی، ۱۹۹۹).

بیشترین مقدار کلروفیل **a** و **b** در پایان گلدهی در تنش ملایم به دست آمد. این مقادیر به ترتیب معادل ۴۰/۵۳ و ۱۲/۴۳ میکروگرم کلروفیل در گرم برگ تازه بود. بعد از حالت تنش ملایم، تیمار تنش شدید و در نهایت تیمار عدم تنش قرار داشت (جدول‌های ۴ و ۵). مقادیر کلروفیل **a** و **b** در تنش شدید به ترتیب برابر ۳۶/۶۱ و ۱۱/۲۲ میکروگرم کلروفیل در گرم برگ تازه و در حالت بدون تنش به ترتیب برابر ۳۵/۷۲ و ۱۰/۵۳ میکروگرم کلروفیل در گرم برگ تازه بود. به نظر می‌رسد کاهش غلظت کلروفیل تحت شرایط تنش بواسطه اثر

جدول ۴- میانگین مربعات مقدار کلروفیل و میزان پایداری غشاء.

منابع تغییر	درجه آزادی	کلروفیل			کلروفیل		
		کلروفیل a/b	کلروفیل b	کلروفیل A	کلروفیل a/b	کلروفیل b	کلروفیل a
تکرار	۳	۲۶/۵۶ ns	۰/۰۸۷ ns	۳/۲۳ ns	۴۵/۷۶ ns	۰/۱۳۷ ns	۲/۸۵ ns
آبیاری	۲	۱۸۲/۵۳*	۰/۲۴۵ ns	۲/۶۳ ns	۱۱۱/۱۷**	۰/۰۶۷ ns	۱۴/۸۴*
اشتباه	۶	۱۷/۴۹	۰/۰۸۸	۶/۶۰	۷/۷۹	۰/۱۰۶	۲/۵۱
کود دامی	۳	۱۲۱/۵۷*	۰/۱۸۳ ns	۶/۴۱ ns	۸۰/۷۰**	۰/۱۷۸ ns	۸/۸۴ ns
اثرات متقابل	۶	۳۱/۰۳ ns	۰/۲۶۹ *	۴/۲۷ ns	۱۵/۴۴ ns	۰/۱۳۲ ns	۵۴/۸۷ ns
اشتباه	۲۷	۲۶/۶۸	۰/۱۰۵	۴/۶۴	۱۳/۲۰	۰/۲۵۶	۳/۳۶
%CV		۷/۱۴	۱۲/۰۱	۲۰/۴۹	۱۲/۶۱	۱۵/۱۷	۱۶/۰۹

* و ns، ** و * به ترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی دار و اختلاف معنی دار در سطح ۱٪ و ۵٪ می باشد.

جدول ۵- مقایسه میانگین‌های مقدار کلروفیل و میزان پایداری غشاء سلول با آزمون دانکن در سطح ۵ درصد.

پایداری غشاء (درصد)	شروع دانه بندی			پایان گلدهی			کود دامی (تن در هکتار)	آبیاری (mm)*
	کلروفیل a/b	کلروفیل b (μgg^{-1})	کلروفیل a (μgg^{-1})	کلروفیل a/b	کلروفیل b (μgg^{-1})	کلروفیل a (μgg^{-1})		
۷۰/۱۴ b	۲/۶۶ A	۱۰/۱۴ a	۲۶/۸۳ b	۳/۴۱ a	۱۰/۵۳ b	۳۵/۷۲ b	۵۰	
۷۰/۶۳ b	۲/۸۳ A	۱۰/۴۴ a	۳۱/۷۹ A	۳/۳۰ a	۱۲/۴۳ a	۴۰/۵۳ a	۱۰۰	
۷۶/۲۲ a	۲/۵۹ A	۱۰/۹۵ a	۲۷/۷۹ b	۳/۲۹ a	۱۱/۲۲ ab	۳۶/۶۱ b	۱۵۰	
۳/۶۱۸	۰/۲۵۷	۲/۲۲۳	۲/۴۱۵	۰/۲۸۲	۲/۰۷۶	۴/۷۲۷	LSD	
۷۵/۹۶ a	۲/۵۳ a	۱۰/۵۸ a	۲۵/۶۴ c	۳/۲۱ a	۱۲/۳۹ a	۳۹/۶۱ a	۰	
۷۳/۶۱ ab	۲/۷۰ ab	۱۱/۰۷ a	۲۹/۹۳ ab	۳/۲۵ a	۱۱/۷۸ ab	۳۷/۷۴ a	۱۵	
۷۱/۱۹ bc	۲/۷۲ ab	۱۰/۹۳ a	۳۱/۶۷ a	۳/۴۴ a	۱۰/۹۴ ab	۳۷/۴۹ a	۳۰	
۶۸/۵۵ c	۲/۸۲ A	۹/۴۶ a	۲۷/۹۷ bc	۳/۴۴ a	۱۰/۴۶ b	۳۵/۶۴ a	۴۵	
۵/۸۴۲	۰/۲۷۱	۱/۸۰۴	۳/۰۴۳	۰/۱۴۶	۲/۰۷۳	۹/۵۶۵	LSD	
۷۰/۶۳ bc	۲/۹۰ ab	۸/۷۶ a	۲۵/۴۴ cd	۳/۲۲ a	۱۱/۵۵ bc	۳۹/۳۰ a	۰	
۷۲/۸۷ bc	۲/۴۶ bc	۱۰/۹۴ a	۲۶/۹۹ bcd	۳/۲۰ a	۱۰/۷۱ bc	۳۷/۴۹ a	۱۵	
۶۸/۸۸ bc	۲/۶۶ Abc	۱۱/۰۱ a	۲۹/۱۹ bcd	۳/۳۹ a	۹/۹۶ c	۳۳/۸۵ a	۳۰	
۶۸/۱۹ bc	۲/۶۴ Abc	۹/۸۷ a	۲۵/۶۹ bcd	۳/۳۷ a	۹/۹۱ c	۳۲/۲۲ a	۴۵	
۷۳/۴۷ bc	۲/۴۹ Bc	۱۱/۲۹ a	۲۷/۸۹ bcd	۳/۰۱ a	۱۵/۱۱ a	۴۵/۷۶ a	۰	
۷۳/۵۲ bc	۲/۸۱ Ab	۱۱/۳۱ a	۳۱/۶۸ b	۳/۰۷ a	۱۳/۴۴ ab	۴۱/۲۰ a	۱۵	
۶۸/۹۳ bc	۲/۸۹ Ab	۱۰/۸۹ a	۳۷/۱۳ a	۳/۵۱ a	۱۰/۹۰ bc	۳۸/۱۲ a	۳۰	
۶۷/۵۸ c	۳/۱۲ A	۸/۱۷ a	۳۰/۴۸ bc	۳/۶۳ a	۱۰/۲۹ c	۳۷/۰۵ a	۴۵	
۸۳/۷۸ a	۲/۹۰ c	۱۱/۶۸ a	۲۳/۶۰ d	۳/۴۱ a	۱۰/۵۱ bc	۳۷/۷۷ a	۰	
۷۴/۴۵ bc	۲/۴۶ ab	۱۰/۹۷ a	۳۱/۱۱ bc	۳/۴۸ a	۱۱/۱۹ bc	۳۴/۵۲ a	۱۵	
۷۵/۷۶ b	۲/۶۶ Abc	۱۰/۸۰ a	۲۸/۶۹ bcd	۳/۴۳ a	۱۱/۹۸ bc	۴۰/۵۰ a	۳۰	
۷۰/۸۸ bc	۲/۶۴ Abc	۱۰/۳۳ a	۲۷/۷۴ bcd	۳/۳۲ a	۱۱/۱۹ bc	۳۷/۶۵ a	۴۵	
۷/۴۹۴	۰/۴۷۰	۳/۱۲۴	۵/۳۴	۰/۷۳۴	۲/۶۵۹	۱۶/۵۷	LSD	

در مورد نحوه اعمال تنش در صورتی که تنش‌های شدید و طولانی مدت اعمال شود به‌طور حتم مقدار کلروفیل کاهش می‌یابد، همان‌گونه که در اعمال تنش شدید در آزمایش حاضر مشاهده گردید و نتایج احمدی و سی و سه مرده (۲۰۰۴) نیز آن را تأیید می‌کند، به‌نظر می‌رسد افزایش مقدار کلروفیل در اثر تنش ملایم در اثر افزایش وزن مخصوص برگ باشد. وقوع تنش میزان سطح برگ را کاهش می‌دهد که ناشی از کاهش اندازه سلول است. بنابراین در طی بروز تنش ملایم به‌دلیل وجود سلول‌های بیشتر در واحد وزن برگ، میزان کلروفیل نیز افزایش می‌یابد (نونامی و همکاران، ۱۹۹۷). در تنش‌های شدید با وجود افزایش وزن مخصوص برگ، تخریب کلروفیل نیز افزایش می‌یابد (احمدی و سی و سه مرده، ۲۰۰۴؛ لارسون و همکاران، ۱۹۹۸) که به تلفات کلروفیل منجر خواهد شد. کاربرد کود دامی در این آزمایش نتوانست باعث ایجاد تفاوت معنی‌داری در مقادیر کلروفیل *a* و *b* در پایان گلدهی شود. برهم‌کنش دو عامل مزبور بر محتوای کلروفیل برگ‌ها نیز از لحاظ آماری ($P \leq 0.05$) معنی‌دار نبود (جدول ۴). همچنین نسبت کلروفیل *a/b* در پایان مرحله گلدهی تحت تأثیر هیچ یک از تیمارهای تنش خشکی و کود دامی و یا برهم‌کنش آنها واقع نشد و به‌طور میانگین برابر ۳/۶۷ بود. در مرحله آغاز پرشدن دانه نیز بیشترین مقدار کلروفیل *a* در اثر تنش ملایم به‌دست آمد. این مقدار معادل ۳۱/۷۹ میکروگرم کلروفیل در گرم برگ تازه بود. بعد از تنش ملایم، تیمار تنش شدید و تیمار عدم تنش خشکی به‌ترتیب با ۲۷/۷۹ و ۲۶/۸۳ میکروگرم کلروفیل در گرم برگ تازه در مرحله بعد قرار گرفتند (جدول ۵). با افزایش مقدار کود دامی تا سطح ۳۰ تن در هکتار مقدار کلروفیل *a* افزایش یافت (۳۱/۶۷ میکروگرم کلروفیل در گرم برگ تازه)، ولی با کاربرد ۴۵ تن کود دامی در هکتار مقدار کلروفیل *a* کاهش نشان داد. قوش و همکاران (۲۰۰۴) نیز افزایش محتوای کلروفیل گیاه را در نتیجه استفاده از کود دامی به‌همراه کود شیمیایی گزارش کردند. اثر متقابل تیمارها

تأثیر معنی‌داری ($P \leq 0.05$) بر مقدار کلروفیل *a* در این مرحله نداشت (جدول‌های ۴ و ۵). بین تیمارها و برهم‌کنش آنها در این مرحله از لحاظ مقدار کلروفیل *b* تفاوت آماری معنی‌داری ($P \leq 0.05$) دیده نشد. نسبت کلروفیل *a/b* از هیچ یک از تیمارها و نیز از برهم‌کنش آنها تأثیر نپذیرفت. این مقدار به‌طور میانگین برابر ۳/۳۰ میکروگرم در گرم برگ بود (جدول ۵).

پایداری غشاء در مرحله پایان گلدهی تحت تأثیر تنش کم آبی تفاوت معنی‌داری ($P \leq 0.05$) نشان داد (جدول ۴) و با افزایش شدت تنش افزایش یافت (جدول ۵). این مقدار برای تیمارهای ۵۰ میلی‌متر تا ۱۵۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر به‌ترتیب برابر ۷۰/۱۴، ۷۰/۶۳ و ۷۶/۲۲ درصد بود که با نتایج بلوم و ابرکن (۱۹۸۱) و سانوکا و همکاران (۲۰۰۴) تطابق دارد. مشاهده چنین نتایجی ممکن است به‌دلیل تمایل گیاه به حفظ آب درون سلولی باشد که در صورت کلی به‌عنوان تعادل اسمزی شناخته می‌شود. در آزمایش حاضر نیز با توجه به فواصل آبیاری به‌نظر می‌رسد گیاه توانست خود را با شرایط تنش خشکی وفق دهد. در زمان نمونه‌برداری نیز که آخرین آبیاری در تیمار تنش ملایم و شدید ۱۵ روز قبل انجام شد، شدت تنش به حدی نبود که باعث تخریب پایداری حاصل شده در غشاء شود. با افزایش میزان کود دامی درصد پایداری غشاء کاهش یافت. این مقدار برای تیمارهای کودی صفر تا ۴۵ تن در هکتار به‌ترتیب برابر ۷۵/۹۶، ۷۳/۶۱، ۷۱/۱۹ و ۶۸/۵۵ درصد بود (جدول ۵). در سطوح سه‌گانه تنش خشکی نیز مشاهده شد که با افزایش میزان کود دامی، پایداری غشاء سلول کمتر شد به‌طوری که در حالت عدم تنش خشکی این مقدار از ۷۰/۶۳ درصد در تیمار عدم مصرف کود دامی به ۶۸/۱۹ درصد با مصرف ۴۵ تن کود دامی در هکتار رسید. این مقدار در تیمار تنش ملایم از ۷۳/۴۷ به ۶۶/۵۸ درصد و در تنش شدید خشکی از ۸۳/۷۸ به ۷۰/۸۸ درصد رسید. توجه به این تغییرات نشان می‌دهد که با افزایش شدت تنش خشکی فاصله بین حداکثر و حداقل پایداری غشاء افزایش یافت. به‌عبارتی،

تمایل کمتری به سرمایه‌گذاری برای افزایش پایداری غشاء نشان داده است. همچنین، با مساعد شدن شرایط رشد از قبیل وجود آب و عناصر غذایی کافی، گیاه تمایل کمتری به سرمایه‌گذاری بر استحکام دیواره سلولی دارد و بیشتر شرایط را برای اتساع و رشد دیواره فراهم می‌کند.

سپاسگزاری

از زحمات تمامی کارکنان بخش دانه‌های روغنی مؤسسه نهال و بذر کرج، بخصوص آقایان اوجانی و طوسی که در انجام این تحقیق ما را یاری کردند کمال تشکر و قدردانی را داریم.

اگر افزایش مقدار کود دامی دلیلی بر کاهش شدت تنش خشکی باشد، از لحاظ این صفت، میزان سودمندی کود دامی با افزایش شدت تنش افزایش می‌یابد. از طرفی با نگاه به شرایط رطوبت نسبی برگ معلوم شد که با افزایش میزان RWC از مقدار پایداری غشاء سلولی کاسته می‌شود. با افزایش مقدار RWC فشار درون سلولی برای رشد سلول فراهم می‌شود و امکان اتساع دیواره سلولی را فراهم می‌کند و در نهایت باعث کمتر شدن پایداری غشاء سلول می‌شود. به نظر می‌رسد با افزایش میزان کود دامی و بهبود شرایط فیزیکی و شیمیایی خاک از جمله ظرفیت نگهداری آب خاک، گیاه کمتر با خشکی مواجه بوده و

منابع

1. Ahmadi, A., and Ceioceмарdeh, A. 2004. Effect of drought stress on soluble carbohydrate, chlorophyll and Proline in four adopted wheat cultivars with various climate of Iran. Iranian J. Agric. Sci., 35: 753-763.
2. Azizi, M., and Rashed Mohasel, M.H. 1998. Effect of various irrigation regimes and potassium fertilizer on yield and yield components of soybean. J. Agric. Sci. and Tech. 12(2): 76-82.
3. Blum, B., and Ebercon, A. 1981. Cell membrane stability as a measure of drought and heat tolerance in wheat. J. Crop. Sci., 21: 43-47.
4. Costa-Franca, M.G., Pham-Thi, A.T., Pimentel, C., Pereyra-Rossiello, R.O., Zuily-Fodil, Y., and Laffray, D. 2000. Differences in growth and water relations among *Phaseolus vulgaris* cultivars in response to induced drought stress. Environmental and Experimental Botany, 43: 227-237.
5. Dere, S., Gunes, T., and Sivci, R. 1998. Spectrophotometric determination of chlorophyll-a,b and total carotenoid contents of some Algae Species using different solvents. Turck. J. Botany. 22: 13-17.
6. Ghosh, P.K., Ajay, K.K., Bandyopadhyay, M.C., Manna, K.G., Mandal, A.K., and Hati, K.M. 2004. Comparative effectiveness of cattle manure, poultry manure, phosphocompost and fertilizer-NPK on three cropping system in vertisols of semi-arid tropics. II. Dry matter yield, nodulation, chlorophyll content and enzyme activity. Bioresource Technology. 95: 85-93.
7. Hieng, B., Ugrinovi, K., Utar-Vozli, J., and Kidri, M. 2004. Different classes of proteases are involved in the response to drought of *Phaseolus vulgaris* L. cultivars differentiating in sensitivity. Journal of Plant Physiology. 161: 519-530.
8. Khajuei nejhah, Gh., Kazemi, H., Alyari, H., Javanshir, A., and Arvin, M.J. 2004. Effect of different irrigation regimes and sowing density on growth trait, yield and yield components of three soybean cultivars in double cropping. J. Agric. Sci., 14: 57-70.
9. Larsson, E.H., Bornman, J.F., and Asp., H. 1998. Influence of UV-B radiation and CO₂+ on chlorophyll fluorescence, growth and nutrient content in *Brassica napus*. Journal of Experimental Botany. 149(323): 1031-1039.
10. Macarone, M., Veldink, G.A., Agro, A.F., and Vliegthart, J.F. 1995. Modulation of soybean lipoxygenase expression and membrane oxidation by water deficit. FEBS Letters, 371(3): 223-226.
11. Nautiyal, P.C., Rachaputi, N.R., and Joshi, Y.C. 2002. Moisture-deficit-induced changes in leaf-water content, leaf carbon exchange rate and biomass production in groundnut cultivars differing in specific leaf area. Field Crop Research. 74: 67-79.
12. 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.

13. Ober, E.S., and Sharp, R.E. 2003. Electrophysiological responses of maize roots to low water potentials: relationship to growth and ABA accumulation. *J. Experimental Botany*. 54(383): 813-824.
14. Ommen, O.E., and Donnelly, A. 1999. Chlorophyll content of spring wheat flag leaves grown under elevated CO₂ concentrations and other environmental stresses within the 'ESPACE-wheat' project. *European Journal of Agronomy*. 10: 197-203.
15. Saneoka, H., Moghaieb, R.E.A., Premachandra, G.S., and Fujita, K. 2004. Nitrogen nutrition and water stress effects on cell membrane stability and leaf water relations in *Agrostis palustris* Huds. *Environmental and Experimental Botany*. 52:131-138.
16. Shahmoradi, S. 2003. Investigation of drought stress effect on qualitative and quantitative traits cultivars and progressive lines of soybean. M.Sc. thesis submitted to College of Agriculture, Tehran University, and Tehran, Iran.
17. Tarumingkeng, R.C., and Coto, Z. 2003. Effects of drought stress on growth and yield of soybean. @2003 Kisman, Science Philosophy PPs 702, Term paper, Graduate School, Borgor Agricultural University (Institut Ppertanian Bogor), December 2003.
18. Yamasaki, S., and Dillenburg, L.R. 1999. Measurements of leaf relative water content in *Araucaria Angustifolia*. *Revista Brasileria de Fisiologia Vegetal*. 11(2): 69-75.

Effects of drought stress and manure on leaf relative water content, cell membrane stability and leaf chlorophyll content in soybean (*Glycine max*)

M.Galavi¹, M. Por Mousavi², J. Danshiyan³, A.Ghanbari¹, and N. Basirani¹

¹Assistant Prof. of Dept. of Agronomy, Zabol University, ²Former M.Sc. student of Agronomy, Iran, ³Scientific member of Research Institute of Plant Breeding and seed and seedling providing, Iran

Abstract

In order to study drought stress and manure effects on cell membrane stability (integrity) and leaf chlorophyll content in L17 soybean line, a split plot design was conducted on the basis of complete randomized block design. Main plots were included drought levels as irrigation after 50, 100 and 150 mm evaporation of basin class A, and 0, 15, 30 and 45 t/ha manure were assigned to subplots. The results showed that, relative water content (RWC) was reduced with increasing drought stress. In manure treatments, the maximum RWC was obtained by using 45 t/ha. At the end of flowering stage cell membrane stability (CMS) was increased with drought stress and it was from %70.14 (favorable irrigation) to %76.22 (drought stress). Increasing the use of animal manure caused decreasing in CMS from %75.96 (without use of manure) to %68.55 (use of 45 t/ha). At the end of flowering stage the maximum concentration amount of a chlorophyll (53.40 $\mu\text{g g}^{-1}$ fresh leaf) and b chlorophyll (42.12 $\mu\text{g g}^{-1}$ fresh leaf) observed in the moderate water stress condition and follow it in highly stress and favorable irrigation. At the seed initiation formation stage, the effect of manure on chlorophyll concentration was not significant ($p > 0.05$); the maximum concentration of a chlorophyll (79.31 $\mu\text{g g}^{-1}$ fresh leaf) was in moderate stress. The highest concentration of chlorophyll a was produced in 30 t/ha animal manure. The concentration of chlorophyll b was not significant ($p > 0.05$) in both irrigation and animal manure treatments.

Keywords: Soybean; drought stress; manure; Relative water content