

اثر دور آبیاری، اسیدهیومیک و باکتری‌های محرک رشد بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی گندم رقم

کویر در منطقه شهر ری

سارا پروازی‌شندی^۱، علیرضا پازکی^{۲*}، احمد اصغرزاده^۳، امین آزادی^۴ و فرزاد پاک‌نژاد^۵

(۱) دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرری، گروه زراعت و اصلاح نباتات، تهران، ایران.

(۲) دانشیار دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرری، گروه زراعت و اصلاح نباتات، تهران، ایران.

(۳) عضو هیأت علمی مؤسسه تحقیقات خاک و آب، کرج، ایران.

(۴) استادیار دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرری، گروه زراعت و اصلاح نباتات، تهران، ایران.

(۵) دانشیار مرکز تحقیقات کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج، گروه زراعت، کرج، ایران.

* نویسنده مسئول: Pazoki@iausr.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۹۱/۰۸/۰۱

تاریخ دریافت: ۹۱/۰۵/۰۳

چکیده

به‌منظور بررسی اثر دور آبیاری، اسیدهیومیک و باکتری‌های محرک رشد بر محتوای رطوبت نسبی، میزان پایداری غشای سلولی، محتوای کلروفیل و میزان پرولین برگ گندم، این آزمایش در سال زراعی ۹۰ - ۱۳۸۹ به‌صورت اسپلیت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار در فشافویه شهر ری اجرا شد. فاکتور اصلی (آبیاری) در سه سطح (آبیاری پس از ۸۰، ۱۲۰ و ۱۶۰ میلی‌متر تبخیر از سطح تشتک تبخیر کلاس A) و اسیدهیومیک و مخلوط باکتری‌های محرک رشد (ازتوباکتر، سودوموناس و آزوسپیریوم) هر یک در دو سطح عدم کاربرد و کاربرد به‌صورت فاکتوریل به‌عنوان عامل فرعی در نظر گرفته شد. نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر دور آبیاری بر تمامی صفات به‌جز محتوای کلروفیل a در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. ضمن آنکه اثر اسیدهیومیک در تمامی صفات به‌جز محتوای رطوبت نسبی در سطح احتمال یک درصد و اثر باکتری‌های محرک رشد فقط برای محتوای کلروفیل a+b در سطح احتمال پنج درصد و نشأت مواد سیتوپلاسمی و میزان پرولین در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌دار از خود نشان دادند. در تیمار مصرف اسیدهیومیک بیش‌ترین میزان کلروفیل a در دو سطح آبیاری بعد از ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌متر تبخیر به میزان ۰/۰۲۱۲ و ۰/۰۲۰۶ میلی‌گرم بر سانتی‌متر و بیش‌ترین نشأت غشای سیتوپلاسمی به عدم کاربرد اسیدهیومیک در تنش شدید رطوبتی (بعد از ۱۶۰ میلی‌متر تبخیر) به میزان ۶۶۳/۰۶ میلی‌زیمنس بر سانتی‌متر اختصاص داشت. میزان پرولین برگ با کاربرد اسیدهیومیک در تمامی سطوح آبیاری افزایش یافته و با افزایش شدت تنش به ترتیب معادل ۱۷۱/۹۲۵۰، ۱۵۲/۴۸۷۵ و ۱۰۷/۶۸۷۵ میکروگرم بر واحد وزن تازه برگ بود.

واژه‌های کلیدی: دور آبیاری، اسیدهیومیک، باکتری‌های محرک رشد، صفات فیزیولوژیکی.

مقدمه

گندم از گیاهانی است که بیش از همه گیاهان در جهان کشت می‌شود. امروزه دامنه کشت گندم بسیار وسیع شده است، به طوری که از ۶۷ درجه عرض شمالی در نروژ، فنلاند و روسیه تا ۴۵ درجه عرض جنوبی در آرژانتین کشت می‌شود. امروزه گندم به‌عنوان بزرگ‌ترین و مهم‌ترین منبع غذایی بشر تبدیل شده است به طوری که ۳۰ درصد از کل غلات تولیدی جهان را تشکیل می‌دهد و تأمین کننده بیش‌ترین نیاز غذایی انسان می‌باشد (Carver, 2009). ۵۵ درصد کربوهیدرات‌ها و ۲۰ درصد کالری مردم جهان توسط گندم تأمین می‌شود (FAO, 2009). Kirigwi (۲۰۰۴) اظهار داشت که خشکی یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده تولید محصولات زراعی از جمله گندم در دنیا است، این موضوع به‌ویژه در مناطق خشک و نیمه‌خشک دنیا از اهمیت بیش‌تری برخوردار است. روش‌های کشاورزی متداول در جهان امروزه موفقیت قابل قبولی را در استفاده از مدیریت منابع نداشته و با اتکای بیش‌ازحد به نهاده‌های مصنوعی و تزریق انرژی کمکی مانند کودها و سموم شیمیایی باعث ایجاد اکوسیستم‌های زراعی ناپایدار شده است (Roberts, 2008). در بسیاری موارد کاربرد کودهای شیمیایی باعث آلودگی‌های محیطی و صدمات اکولوژیکی می‌شود که خود هزینه تولید را افزایش می‌دهد (Ghost and Bhat, 1998). امروزه زراعت ارگانیک مطرح می‌شود، کشاورزی ارگانیک یک سیستم تولیدی است که در آن کاربرد کودهای شیمیایی، حشره‌کش‌ها، علف‌کش‌ها و تنظیم‌کننده‌های رشد که به‌صورت مصنوعی تهیه می‌شوند مجاز نیست و کاربرد گسترده و مناسب کودهای زیستی، بقایای گیاهی، کودهای دامی، بقولات و کودهای سبز توصیه می‌شود (Orhan et al., 2006).

واکنش گیاه به تنش خشکی به ماهیت کمبود آب وابسته است و می‌تواند به‌صورت پاسخ‌های فیزیولوژیک کوتاه‌مدت یا بلندمدت باشد. تغییرات محتوای رطوبتی برگ و غلظت کلروفیل b و a به‌عنوان یک واکنش کوتاه‌مدت به تنش و معیاری از توان حفظ قدرت منبع در شرایط تنش خشکی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Saneoka et al., 2004). Singh و همکاران (۲۰۰۷) محتوای آب نسبی برگ و پتانسیل آب برگ را جهت بررسی متحمل به خشکی گندم تشخیص داده و اظهار داشتند که این صفات در شرایط خشکی کاهش می‌یابند، به طوری که میزان کاهش صفات در ارقام کم‌تر است. حسنی و همکاران (۱۳۸۷) بیان داشتند که میزان محتوای آب نسبی برگ‌های توتون در شرایط تنش خشکی کاهش یافت. محتوای کلروفیل برگ‌ها یکی از عوامل کلیدی در تعیین سرعت فتوسنتز و تولید ماده خشک می‌باشد (Ghosh et al., 2004). در یک پژوهش، تنش خشکی باعث کاهش معنی‌دار مقدار کلروفیل a در مراحل سنبله رفتن و ۲۰ روز پس از گل‌دهی در گندم می‌شود، اما اثر آن بر مقدار کلروفیل b فقط در مرحله اول معنی‌دار بود. 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 (Ommen and Donnelly, 1999). Zudan (۱۹۸۶) دریافت که اسپری برگ‌های گندم با اسیدهیومیک و اسیدفولویک در مزرعه و گلخانه سبب افزایش میزان کلروفیل در برگ‌ها می‌شود. بر اساس نتایج آزمایش Macarrone 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. Vannozi و Larner (۲۰۰۷) نشان دادند تیمار تنش خشکی از تکامل دیواره ممانعت نموده و باعث نشت الکترولیت از دیواره سلولی می‌گردد. Blum و همکاران (۱۹۸۱) نیز دریافتند گندم‌هایی که در معرض تنش خشکی (عدم آبیاری) قرار داشتند، دارای دیواره‌های سلولی مقاوم‌تری بودند. Han و Lee (۲۰۰۵) نتیجه گرفتند که تحت شرایط تنش شوری تلقیح گیاه با نژادها یا سویه‌های باکتری‌های محرک رشد (ازتوباکتر) فعالیت آنزیمی و پایداری غشای با افزایش شدت تنش، کاهش یافت. این تحقیق به منظور ارزیابی اثر تنش خشکی، اسیدهیومیک و باکتری‌های محرک رشد بر محتوای رطوبت نسبی برگ، میزان کلروفیل a ، b و $a+b$ میزان پایداری غشاء سلول و پرولین برگ گندم رقم کویر انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به صورت اسپیلیت پلات فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار در مزرعه شرکت کشت و صنعت ۵۰۰ ولی عصر (عج) واقع در فشافویه نزدیک حسن‌آباد ۳۵ کیلومتری استان تهران با میانگین بارندگی سالانه ۱۴۰ میلی‌متر در سال زراعی ۱۳۸۹ اجرا گردید.

کرت‌های اصلی شامل تنش خشکی در سه سطح آبیاری بعد از ۸۰ میلی‌متر تبخیر از سطح تشتک تبخیر کلاس A (آبیاری مطلوب)، آبیاری بعد از ۱۲۰ میلی‌متر تبخیر از سطح تشتک تبخیر کلاس A (تنش متوسط) و آبیاری بعد از ۱۶۰ میلی‌متر تبخیر از سطح تشتک تبخیر کلاس A (تنش شدید) بودند. استفاده از اسیدهیومیک در دو سطح کاربرد اسیدهیومیک و عدم کاربرد اسیدهیومیک و استفاده از باکتری‌های محرک رشد (ازتوباکتر، آروسپیریلوم و سودوموناس) تهیه شده از موسسه آب و خاک کشور، در دو سطح کاربرد باکتری‌های محرک رشد و عدم کاربرد باکتری‌های محرک رشد به عنوان کرت فرعی در نظر گرفته شد. تیمار باکتری به صورت تلقیح با بذر و محلول‌پاشی در دو مرحله و تیمار اسیدهیومیک به میزان چهار لیتر در هکتار همراه آب آبیاری اعمال گردید. تنظیم زمان آبیاری در سطوح تنش با استفاده از تشتک تبخیر کلاس A که در منطقه مستقر بود، انجام گرفت. بذر گندم رقم کویر در آبان ماه ۱۳۸۹ با تراکم کاشت ۴۰۰ بذر در مترمربع در کرت‌هایی دارای ۸ خط کاشت (۴ پشته) به طول ۴ متر با فاصله خطوط ۲۵ سانتی‌متر کاشته شد که خط اول و آخر به عنوان حاشیه در نظر گرفته شده و از خطوط میانی برای اندازه‌گیری صفات مورد آزمون استفاده گردید. بین کرت‌های فرعی یک پشته و بین کرت‌های اصلی دو پشته به صورت نکاشت در نظر گرفته شد و فاصله بین

تکرارها ۳ متر بود. کود سرک نیتروژن از منبع اوره در مرحله طویل شدن ساقه به طور یکسان برای تمامی تیمارها به میزان ۱۲۵ کیلوگرم در هکتار مصرف گردید. آبیاری اول به صورت نشتی و آبیاری دوم ۱۰ روز بعد از آبیاری اول صورت گرفت. با توجه به بارندگی‌ها در پاییز و اوایل زمستان هیچ‌گونه آبیاری دیگری تا اسفندماه صورت نپذیرفت، در نیمه اسفندماه، آبیاری سوم انجام شد. آبیاری‌های بعدی که مصادف با آغاز ساقه رفتن گیاه بود بر اساس تشتک تبخیر کلاس A همراه با کاربرد اسیدهیومیک انجام گرفت. محلول‌پاشی مخلوط باکتری‌های محرک رشد بر تیمارهای بذور تلقیح شده با باکتری در دو مرحله آغاز ساقه رفتن و سنبله رفتن صورت پذیرفت.

جهت تعیین رطوبت نسبی برگ، ابتدا ۱۰ برگ پرچم (در مرحله تشکیل دانه) توسعه‌یافته با دستمال مرطوب تمیز شدند، سپس با ترازوی رقمی‌ای آنها را وزن کرده تا وزن تازه برگ‌ها به دست آید. نمونه‌های توزین شده درون ظرف پلاستیکی قرار داده و در داخل هر ظرف به میزان یکسان آب مقطر ریخته شد. پس از ۲۴ ساعت، برگ‌ها را از ظروف در آورده سپس برگ‌های اشباع یا آماس کرده با کمک ترازوی رقمی‌ای وزن شدند (وزن اشباع). پس از توزین، نمونه‌ها را در آون با دمای ۷۰ الی ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده تا خشک شوند. پس از ۴۸ ساعت، برگ‌های خشک‌شده را وزن کرده و از این طریق وزن خشک برگ‌ها به دست آورده شد. سپس با استفاده از رابطه ۱، درصد محتوای رطوبت نسبی برگ محاسبه گردید (عباس‌زاده و همکاران، ۱۳۸۶):

$$\text{رابطه (۱)} \quad \text{RWC}^1 = 100 \times (\text{وزن خشک} - \text{وزن اشباع} / \text{وزن خشک} - \text{وزن تر})$$

جهت اندازه‌گیری میزان کلروفیل با برازش رابطه بین قرائت SPAD (۳ نقطه برگ) و روش آرنون ۵۰ عدد برگ، میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل a+b به طور جداگانه با استفاده از ۱۰ عدد برگ پرچم تمیز شده از هر کرت آزمایشی تعیین گردید (Porra, 2002).

$$\text{Chlorophyll a } (\mu\text{g/ml}) = 12.25 (A_{663.6}) - 2.55 (A_{646.6})$$

$$\text{Chlorophyll b } (\mu\text{g/ml}) = 20.31 (A_{646.6}) - 4.91 (A_{663.6}) \quad \text{رابطه (۲)}$$

$$\text{Chlorophyll a+b } (\mu\text{g/ml}) = 17.76 (A_{646.6}) + 7.34 (A_{663.6})$$

جهت به دست آوردن پایداری غشای سیتوپلاسمی (عکس نشت یونی) ابتدا از برگ‌های پرچم نمونه برداری شده از هر کرت ۱ گرم را جدا کرده و در ظرف پلاستیکی دردار قرار داده شد و در داخل هر ظرف به میزان یکسان محلول مانیتول ۲- بار (۱۴/۷ گرم در ۱ لیتر آب مقطر) ریخته شد، برای هر کرت ۳ ظرف (تکرار) در نظر گرفته و نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در جای تاریک قرار داده شد. پس از این مدت، EC محلول هر ظرف توسط دستگاه میکرو EC متر (مدل Inolab

720) تعیین گردید، سپس با میانگین‌گیری از EC های حاصل از تکرارها میزان میانگین هدایت الکتریکی به‌عنوان عکس پایداری غشای سیتوپلاسمی تعیین گردید.

برای بررسی میزان پرولین از روش Bates (۱۹۷۳) استفاده شد. به این ترتیب که به ۱۰۰ میلی‌گرم از پودر برگ ۱۰ میلی‌لیتر از محلول اسیدسولفوسالسیلیک ۳ درصد اضافه شد و پس از ۲۴ ساعت این محلول به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۳۰۰۰ دور سانتریفوژ گردید، از محلول رویی ۲ میلی‌لیتر برداشته و به آن نینهیدرین به مقدار ۲ میلی‌لیتر اضافه گردید. سپس ۱ میلی‌لیتر اسیداستیک گلاسیال اضافه گردید و لوله‌ها به مدت یک ساعت در بن‌ماری آب جوش قرار گرفتند، پس از سرد شدن بر روی هر لوله ۴ میلی‌لیتر تولوئن اضافه شد، دو فاز تشکیل گردید فاز بالا برداشته شد و در طول موج ۵۲۰ نانومتر جذب آن قرائت گردید. مقدار پرولین بر حسب میکروگرم بر گرم برگ تازه بیان شد (Bates, 1973).

پس از تهیه فایل داده‌ها، به‌منظور بررسی نرمال بودن توزیع خطاها از آزمون‌های موجود در نرم‌افزار، استفاده شد. چنانچه این فرض (در سطح احتمال پنج درصد) توسط این آزمون‌ها تأیید می‌گشت، فرض نرمال بودن توزیع خطاها پذیرفته می‌شد و در غیر این صورت از تبدیل داده‌ها استفاده به عمل می‌آمد. همگن بودن واریانس درون تیماری نیز توسط آزمون لون، رویه GLM در نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۰ سنجیده شد. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها به روش حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) نیز توسط همین نرم‌افزار صورت پذیرفت.

نتایج و بحث

کلروفیل a ، b و a+b

نتایج جدول ۱ نشان داد که اثر تیمار دور آبیاری بر محتوای کلروفیل b و a+b در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود؛ به‌طوری‌که با افزایش تنش خشکی محتوای کلروفیل b و a+b کاهش یافت (جدول ۲). Chaves و همکاران (۲۰۰۲) گزارش کردند که بین سرعت فتوسنتز برگ‌ها و غلظت کلروفیل برگ‌ها رابطه مثبت و معنی‌داری وجود دارد. گزارشاتی که بهبود حجم رنگدانه‌ها را در شرایط تنش آبی نشان بدهد کاملاً کم و نادر هستند. به نظر می‌رسد که دلیل کاهش میزان کلروفیل در شرایط تنش آبی، افزایش تخریب این رنگیزه‌ها و یا کاهش ساخت آنها و نیز اختلال در فعالیت آنزیم‌های مسئول سنتز رنگدانه‌های فتوسنتزی باشد (مسلمی، ۱۳۸۹). Efeoglu و همکاران (۲۰۰۹) بر میزان سه هیبرید ذرت (*Luce* و *Vero*) و Manivannan و همکاران (۲۰۰۸) روی گیاه آفتابگردان در شرایط تنش خشکی آزمایشی انجام دادند و گزارش کردند که تنش خشکی به طور قابل توجهی حجم کلروفیل a ، b و کل را کاهش داد. تحقیقات نشان دادند که در شرایط تنش خشکی به دلیل کاهش سطح برگ پرچم، تجمع کلروفیل افزایش می‌یابد، اما به علت تعرق بالا گیاه آب بیشتری از دست می‌دهد و در نتیجه محتوای نسبی آب و به دنبال آن فتوسنتز نیز کاهش می‌یابد. با کاهش

فتوسنتز و کلروفیل و محدود شدن اختصاص مواد فتوسنتزی به دانه‌ها در شرایط تنش خشکی وزن آنها کاهش یافته که این امر منجر به کاهش عملکرد می‌شود (Zhu et al., 1997). نتایج به‌دست آمده نشان داد بین سطوح اسیدهیومیک تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد برای هر سه صفت مورد مطالعه (کلروفیل a ، b و $a+b$) وجود داشت (جدول ۱). Rauthan و Schnitzer (۱۹۸۱) در طی تحقیقات خود پی بردند که اسیدهیومیک سبب افزایش جذب آهن، روی، مس و منگنز توسط خیار رشد یافته در محلول هوگلند شد که افزایش جذب آهن و منگنز را می‌توان دلیل مناسبی برای افزایش غلظت کلروفیل برگ دانست. Zudan (۱۹۸۶) دریافت که اسپری برگ‌های گندم با اسیدهیومیک و فولویک در مزرعه و گلخانه سبب افزایش میزان کلروفیل در برگ‌ها شد. نتایج جدول ۱ نشان داد سطوح مختلف باکتری در صفت محتوای کلروفیل $a+b$ در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود. Sharma و همکاران (۲۰۰۳) با مطالعه نقش تلقیح باکتری سودوموناس در گیاه لوبیا نشان دادند که در شرایط تلقیح این باکتری نسبت به شرایط تنش بدون تلقیح، غلظت کلروفیل a ، کلروفیل b و کلروفیل کل به ترتیب ۳۴، ۴۸ و ۳۹ درصد افزایش یافت. هم‌چنین با افزایش سنتر کلروفیل، میزان کلروز در برگ‌ها نیز کاهش یافت. نتایج برهمکنش اسیدهیومیک در هر سطح آبیاری نشان داد بعد از ۸۰ میلی‌متر و ۱۲۰ میلی‌متر تبخیر بین کاربرد و عدم کاربرد اسیدهیومیک در میزان کلروفیل a تفاوت معنی‌داری وجود داشت، که بیش‌ترین میزان کلروفیل در هر سطح آبیاری مربوط به کاربرد اسیدهیومیک بود (جدول ۳). برش‌دهی اثر باکتری‌های محرک رشد در هر سطح آبیاری نشان داد که در سطح تنش شدید (۶۰ میلی‌متر تبخیر) بین کاربرد و عدم کاربرد باکتری‌های محرک رشد در میزان کلروفیل a ، b و $a+b$ تفاوت معنی‌داری وجود داشت (جدول ۴)، به‌طوری که میزان کلروفیل a در شرایط کاربرد باکتری در تنش شدید رطوبتی بیش‌تر از شرایط عدم کاربرد باکتری می‌باشد، در صورتی که در شرایط کاربرد باکتری در سطح تنش شدید از میزان کلروفیل b و $a+b$ کاسته شد.

نشت غشای سیتوپلاسمی

نتایج حاصل از جدول ۱ نشان داد که اثر ساده آبیاری، اسیدهیومیک و باکتری‌های محرک رشد بر میزان نشت غشای سیتوپلاسمی در سطح یک درصد معنی‌دار بود. Vannozi و Lerner (۲۰۰۷) نشان دادند تیمار تنش خشکی از تکامل دیواره ممانعت نموده و باعث نشت الکترولیت از دیواره سلولی می‌شود. با توجه به آسیب‌پذیری غشای سیتوپلاسمی، محتویات سلول به بیرون تراوش کرده و مقدار این خسارت را می‌توان با اندازه‌گیری نشت یونی و هدایت الکترونی تعیین نمود و از طرفی ارقام متحمل به خشکی دارای نشت الکترولیت کم‌تری هستند. نتایج به‌دست آمده حسنی و همکاران (۱۳۸۷) بر توتون نیز نشان می‌دهد که پایداری غشای سیتوپلاسمی در شرایط تنش خشکی کاهش یافته است. اثر برش‌دهی اسیدهیومیک در هر سطح آبیاری نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین عدم کاربرد و کاربرد اسیدهیومیک در

سطح آبیاری ۱۶۰ میلی‌متر تبخیر در سطح یک درصد وجود داشت (جدول ۱). نتایج به دست آمده از جدول ۳ نشان داد که بیش‌ترین نشت مواد سیتوپلاسمی به میزان ۶۶۳/۰۶ میکروزیمنس بر سانتی‌متر از تیمار عدم کاربرد اسیدهیومیک حاصل شد. ضمن آنکه کم‌ترین میزان نشت مواد سیتوپلاسمی به میزان ۳۲۶/۸۸ میکروزیمنس بر سانتی‌متر به تیمار کاربرد اسیدهیومیک اختصاص داشت. کم‌تر بودن نشت مواد سیتوپلاسمی در تیمار کاربرد اسیدهیومیک احتمالاً نشان‌دهنده این است که اسیدهیومیک گیاه را در شرایط مناسب‌تری قرار داده است و باعث افزایش قطر دیواره سلولی گیاه شده است. هم‌چنین نتایج حاصل از جدول ۱ نشان داد برهمکنش آبیاری در تیمار ۱۶۰ میلی‌متر تبخیر و باکتری‌های محرک رشد بر میزان نشت مواد سیتوپلاسمی در سطح یک درصد معنی‌دار بود. بیش‌ترین نشت مواد سیتوپلاسمی به میزان ۵۸۱/۷۲ میکروزیمنس بر سانتی‌متر مربوط به تیمار کاربرد باکتری بود (جدول ۴). در صورتی که کم‌ترین نشت مواد سیتوپلاسمی به میزان ۳۸۸/۵۲ میکروزیمنس بر سانتی‌متر به تیمار عدم کاربرد باکتری اختصاص داشت. این نتایج نشان‌دهنده این است که احتمالاً به دلیل اینکه با توجه به نتایج آزمایش خاک منطقه و بالا بودن شوری خاک به میزان بیش از ۲۰ دسی‌زیمنس بر متر (با توجه به انجام کشت به صورت هیرم و عدم کاشت بر روی لایه تجمع نمک سبز شدن بذور با مشکلی مواجه نگردید) باکتری‌های محرک رشد باعث جذب سدیم شده و در نتیجه مقاومت دیواره سلولی کاهش یافته و باعث تراوش بیش‌تر مواد از غشای سلولی شده است.

محتوای رطوبت نسبی آب برگ

با توجه به نتایج حاصل از جدول ۱، بین سطوح مختلف آبیاری تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد مشاهده شد و رطوبت نسبی برگ در شرایط آبیاری مطلوب بیش‌تر از شرایط تنش بود. در شرایط آبیاری مطلوب میزان محتوای رطوبت نسبی برگ، ۶۹/۸۱۹ درصد و در شرایط تنش شدید خشکی میزان محتوای رطوبت نسبی برگ، ۶۳/۳۱۱ درصد بود (جدول ۲). نتایج حاصل از جدول ۱ نشان داد بین سطوح اسیدهیومیک و سطوح باکتری در میزان محتوای رطوبت نسبی تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. محتوای رطوبت نسبی یکی از مهم‌ترین شاخصه‌های بیان آبی گیاه است. محتوای رطوبت نسبی نقش مهمی در تنظیم هدایت روزنه‌ای و در نتیجه سرعت فتوسنتزی گیاه دارد. کاهش رشد و فعالیت ریشه و افزایش میزان تبخیر و تعرق از جامعه گیاهی از عوامل دخیل در کاهش RWC شناخته شده‌اند (Tarumingkeng and Coto, 2003). نتایج تحقیقات Li Wen و همکاران (۲۰۰۶) بر روی گیاه یونجه نشان داد که از دست دادن آب سبب کاهش شدید در میزان رطوبت نسبی گیاه گردید محتوای نسبی آب معرف بسیار خوبی از وضعیت آبی گیاه است که به‌عنوان یک شاخص انتخاب جهت تحمل به خشکی نیز پیشنهاد شده است (Teulate et al., 1997).

پرولین

نتایج حاصل از جدول ۱ نشان داد که تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بین سطوح مختلف آبیاری، اسیدهیومیک و باکتری وجود داشت. نتایج حاصل از جدول ۳ نشان داد که بین کاربرد و عدم کاربرد اسیدهیومیک در میزان پرولین تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد مشاهده شد که بیش‌ترین میزان پرولین در هر سطح آبیاری مربوط به کاربرد اسیدهیومیک بود (جدول ۳)؛ همچنین نتایج حاصل از جدول ۱ نشان داد که بین برهمکنش آبیاری در هر سه سطح و باکتری تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد مشاهده شد؛ که بیش‌ترین میزان پرولین در شرایط کاربرد باکتری حاصل گردید (جدول ۴). اثر متقابل سه‌گانه آبیاری، اسیدهیومیک و باکتری‌های محرک رشد بر میزان پرولین در سطح احتمال یک درصد معنی‌داری شد (جدول ۱ و ۵). جهت تجزیه برهمکنش سه‌گانه که در تجزیه واریانس در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شده بود از نمودارهای برهمکنش اسیدهیومیک \times باکتری در هر سطح فاکتور آبیاری استفاده شد. همان‌طور که در نمودارها مشخص است برهمکنش اسیدهیومیک \times باکتری در هر سطح آبیاری متفاوت بود و این امر بیانگر وجود برهمکنش آبیاری \times اسیدهیومیک \times باکتری معنی‌دار بود. جهت اثبات و درک دقیق‌تر این موضوع تجزیه واریانس فاکتورهای اسیدهیومیک و باکتری در هر سطح آبیاری انجام شد. البته جهت محاسبه F از میانگین مربعات خطای آزمایش اصلی استفاده شد. همان‌طور که جدول ۵ نشان می‌دهد، برهمکنش اسیدهیومیک \times باکتری در سطح اول آبیاری معنی‌دار شده که این امر با روند موجود در نمودار اول مطابقت داشته و و منجر به بروز برهمکنش معنی‌دار سه طرفه می‌شود. نتایج یک تحقیق نشان داد که میزان پرولین ریشه در ارقام متحمل به شوری در ارقام مختلف جو دو برابر بیش‌تر از ارقام حساس به شوری بود (Chen *et al.*, 2007). همچنین بسیاری از محققان گزارش داده‌اند که همبستگی مثبت بین ظرفیت بتائین گلايسین و میزان پرولین و تحمل شوری وجود دارد (Binzel *et al.*, 1987; Hare and Cress, 1997; Almansouri *et al.*, 1999; Meloni *et al.*, 2001). نتایج نشان داد که در تیمارهای تلقیح شده با باکتری میزان تجمع پرولین نسبت به تیمارهای عدم کاربرد باکتری بیش‌تر است که می‌توان چنین نتیجه گرفت که به دلیل کاهش آنتی‌اکسیدانت‌ها در تیمارهای حاوی باکتری گیاه از طریق افزایش پرولین با تنش خشکی مقابله نموده است.

جدول ۱: تجزیه واریانس اثر تنش خشکی، اسیدهیومیک و باکتری‌های محرک رشد بر صفات فیزیولوژیکی گندم رقم کویر

میانگین مربعات						درجه آزادی	منابع تغییرات
پرولین	RWC	نشت غشای سیتوپلاسمی	کلروفیل a+b	کلروفیل b	کلروفیل a		
۶۷/۶ ^{ns}	۱۴/۷۷۸ ^{ns}	۳۵/۳۰۱ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۳۵۲ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۰۴۵ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۱۷۴ ^{ns}	۳	بلوک
۱۹۵۱۷/۶۱ ^{**}	۷۶/۰۸۱ ^{**}	۱۶۵/۳۳۰ ^{**}	۰/۰۰۰۰۰۶۱۴۸ ^{**}	۰/۰۰۰۰۰۰۳۵۲ ^{**}	۰/۰۰۰۰۰۱۴۹۳ ^{ns}	۲	آبیاری (I)
۱۲۵/۳۷	۳/۳۵۱	۱۳/۰۳۵	۰/۰۰۰۰۰۰۷۹۹	۰/۰۰۰۰۰۰۰۴۹	۰/۰۰۰۰۰۰۶۶۲	۶	اشتباه a
۱۳۴۲۶/۸۳ ^{**}	۳۷/۴۷۵ ^{**}	۰/۰۰۰۰۴۲ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۱۸۷۱۰ ^{**}	۰/۰۰۰۰۰۱۴۳۸ ^{**}	۰/۰۰۰۰۱۸۹۷۵ ^{**}	۱	اسیدهیومیک (H)
۶۶۵۸۸/۱۰ ^{**}	۳۱/۹۷۳ ^{**}	۱۳/۵۷۷ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۳۰۳۴ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۰۱۲۰ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۰۱۹ ^{ns}	۱	باکتری (B)
۵۲۹/۴۲ ^{**}	۱۰۵/۲۳۶ ^{**}	۲/۷۶۷ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۱۲۵۶ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۰۰۵۴ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۲۳۸۸ [*]	۲	I×H
۲۷۵/۳۸ [*]	۲۳/۹۸۲ ^{**}	۰/۵۶۳ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۴۹۵۵ ^{**}	۰/۰۰۰۰۰۰۱۴۱ [*]	۰/۰۰۰۰۰۲۷۵۷ [*]	۲	I×B
۴۵/۲۴ ^{ns}	۶/۵۱۲ ^{ns}	۰/۱۹۵ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۰۶۵۰ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۰۰۳۴ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۰۵۸ ^{ns}	۱	H×B
۶۵۸/۵۸ ^{**}	۴/۸۹۲ ^{ns}	۵/۲۰۵ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۰۸۲۲ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۰۰۹۸ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۰۶۰ ^{ns}	۲	I×H×B
۷۵/۲۶	۴/۱۴	۲۴/۴۷	۰/۰۰۰۰۰۰۵۹	۰/۰۰۰۰۰۰۰۳۰	۰/۰۰۰۰۰۰۰۶۵	۲۷	خطا
۶/۸	۱۰/۱	۷/۴	۱۰/۴	۹/۷	۱۴/۴		ضریب تغییرات (درصد)

ns، * و ** به ترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد می‌باشند.

جدول ۲: مقایسه میانگین اثرات ساده تنش خشکی، اسیدهیومیک و باکتری‌های محرک رشد بر صفات فیزیولوژیکی

پرولین	RWC	نشت غشای سیتوپلاسمی	کلروفیل a+b	کلروفیل b	کلروفیل a	تیمار
(میکروگرم بر وزن تر برگ)	(درصد)	(میلی‌زیمنس بر سانتی‌متر)	(میلی‌گرم بر سانتی‌متر)	(میلی‌گرم بر سانتی‌متر)	(میلی‌گرم بر سانتی‌متر)	
سطوح آبیاری						
۱۶۰/۸۵۶ a	۶۹/۸ a	۳۱۲ b	۰/۰۲۵۵۱ a	۰/۰۰۶۰۹ a	۰/۰۱۸۶۲ a	۸۰ میلی‌متر تبخیر
۱۲۹/۹۱۹ b	۶۴/۶ b	۴۲۶ a	۰/۰۲۲۶۱ ab	۰/۰۰۵۴۵ b	۰/۰۱۷۸۵ a	۱۲۰ میلی‌متر تبخیر
۹۱/۱۵۰ c	۶۳/۳ b	۴۸۰ a	۰/۰۲۱۷۸ b	۰/۰۰۵۱۸ b	۰/۰۱۶۷۰ a	۱۶۰ میلی‌متر تبخیر
سطوح اسیدهیومیک						
۱۱۰/۵۸۳ b	۶۴/۱ a	۴۳۹ a	۰/۰۲۱۳۳ b	۰/۰۰۵۰۳ b	۰/۰۱۵۷۳ b	عدم کاربرد
۱۴۴/۰۳۳ a	۶۶/۰ a	۳۶۸ b	۰/۰۲۵۲۷ a	۰/۰۰۶۱۲ a	۰/۰۱۹۷۱ a	کاربرد
سطوح باکتری						
۹۰/۰۶۳ b	۶۵/۴ a	۳۷۱ b	۰/۰۲۲۵۱ a	۰/۰۰۵۷۳ a	۰/۰۱۷۶۶ a	عدم کاربرد
۱۶۴/۵۵۴ a	۶۴/۷ a	۴۳۶ a	۰/۰۲۴۱۰ a	۰/۰۰۵۴۲ a	۰/۰۱۷۷۸ a	کاربرد

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن هستند.

جدول ۳: برش‌دهی برهمکنش اسیدهیومیک در هر سطح آبیاری برای صفات مورد بررسی

پرولین	نشت غشای	کلروفیل a	تیمار
(میکروگرم بر وزن تر برگ)	سیتوپلاسمی (میلی‌زیمنس بر سانتی‌متر)	(میلی‌گرم بر سانتی‌متر)	
سطوح آبیاری			
۱۴۹/۷۸۷۵ b	۲۹۸/۸۰ a	۰/۰۱۶۰ b	۸۰
۱۷۱/۹۲۵۰ a	۳۲۵/۶۲ a	۰/۰۲۱۲ a	۸۰
۱۰۷/۳۵۰۰ b	۳۹۳/۴۲ a	۰/۰۱۵۰ b	۱۲۰
۱۵۲/۴۸۷۵ a	۴۵۹/۸۸ a	۰/۰۲۰۶ a	۱۲۰
۷۴/۶۱۲۵ b	۶۶۳/۰۶ a	۰/۰۱۶۱ a	۱۶۰
۱۰۷/۶۸۷۵ a	۳۲۶/۸۸ b	۰/۰۱۷۲ a	۱۶۰
سطوح اسیدهیومیک			
عدم کاربرد			
کاربرد			

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن هستند.

جدول ۴: برش‌دهی اثر متقابل باکتری‌های محرک رشد در هر سطح آبیاری برای صفات مورد بررسی

پرولین	نشست مواد سیتوپلاسمی	کلروفیل a+b	کلروفیل b	کلروفیل a	تیمار	سطوح آبیاری
(میکروگرم بر وزن تر برگ)	(میلی‌زیمنس بر سانتی‌متر)	(میلی‌گرم بر سانتی‌متر)	(میلی‌گرم بر سانتی‌متر)	(میلی‌گرم بر سانتی‌متر)		سطوح باکتری
۱۲۷/۳۷۵۰ b	۳۱۶/۰۲ a	۰/۰۲۶۶۹ a	۰/۰۰۶۳۴۸ a	۰/۰۱۸۲۲ a	عدم کاربرد	۸۰
۱۹۴/۳۳۷۵ a	۳۰۸/۱۴ a	۰/۰۲۴۳۴ a	۰/۰۰۵۸۴۸ a	۰/۰۱۹۰۲ a	کاربرد	۸۰
۸۸/۲۲۵۰ b	۴۱۱/۴۴ a	۰/۰۲۱۴۸ a	۰/۰۰۵۲۷۷ a	۰/۰۱۶۸۹ a	عدم کاربرد	۱۲۰
۱۷۱/۶۱۲۵ a	۴۴/۸۳ a	۰/۰۲۳۷۳ a	۰/۰۰۵۶۲۵ a	۰/۰۱۸۸۰ a	کاربرد	۱۲۰
۵۴/۵۸۷۵ b	۳۸۸/۵۲ b	۰/۰۲۴۱۱ a	۰/۰۰۵۵۸۴ a	۰/۰۱۵۱۶ b	عدم کاربرد	۱۶۰
۱۲۷/۷۱۲۵ a	۵۸۱/۷۲ a	۰/۰۱۹۴۵ b	۰/۰۰۴۷۸۷ b	۰/۰۱۸۲۰ a	کاربرد	۱۶۰

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن هستند.

جدول ۵: تجزیه واریانس اثر تنش خشکی، اسیدهومیک و باکتری‌های محرک رشد بر پرولین

میانگین مربعات پرولین	درجه آزادی	منبع تغییرات	آبیاری
۱۹۶۰/۲۷	۱	اسیدهومیک	سطح اول
۱۷۹۳۵/۹۰	۱	باکتری	
۱۱۱۷/۲۳**	۱	اسیدهومیک × باکتری	
۱۳۹/۸۱	۱۲	خطا	سطح دوم
۸۱۴۹/۵۷	۱	اسیدهومیک	
۲۷۸۱۳/۹۰	۱	باکتری	
۷۸/۷۶ ^{ns}	۱	اسیدهومیک × باکتری	سطح سوم
۶۲/۴۶	۱۲	خطا	
۴۳۷۵/۸۲	۱	اسیدهومیک	
۲۱۳۸۹/۰۶	۱	باکتری	سطح سوم
۱۶۶/۴۱ ^{ns}	۱	اسیدهومیک × باکتری	
۴۶/۶۴	۱۲	خطا	

ns، * و ** به ترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد می‌باشند.

نتیجه‌گیری

با بررسی اثر تنش خشکی بر صفات رنگیزه‌ای مشخص می‌شود که میزان کاهش کلروفیل b و $a+b$ بیش‌تر از کلروفیل a بوده است. هم‌چنین میزان نشت غشای سیتوپلاسمی و RWC در تیمارهای آبیاری ۱۲۰ و ۱۶۰ میلی‌متر تبخیر شرایط یکسانی را نشان داده و در یک گروه آماری قرار گرفتند. نتایج تحقیق مؤید این نکته بود که با افزایش شدت تنش پرولین کاهش یافت. این امر نشان می‌دهد که ظاهراً در رقم مورد آزمون و در شرایط مورد بررسی پرولین به‌عنوان یک سازوکار متحمل به تنش خشکی عمل نکرده و ظاهراً گیاه از ابزارهای دیگری برای تحمل استفاده کرده است. در شرایط کاربرد هیومیک اسید تمامی صفات فیزیولوژیکی به جز RWC بهبود یافت ولی مصرف باکتری‌های محرک رشد منجر به افزایش معنی‌دار رنگیزه‌های مورد مطالعه نشد. شایان ذکر است که اثر ساده باکتری و هیومیک اسید بر محتوای نسبی آب برگ معنی‌دار نبود که این امر لزوم مطالعات ریشه‌ای را بر روی این رقم در آزمایش‌های بعدی نشان می‌دهد.

سپاسگزاری

این طرح در مزرعه شرکت کشت و صنعت ۵۰۰ ولی‌عصر(عج) اجرا شد، بدین‌وسیله از اساتید و کلیه کسانی که اینجانب را در اجرای طرح یاری نمودند، کمال تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

حسینی، س.، پیردشتی، ه.، مصباح، ر. و بابائیان جلودار، ن. ۱۳۸۷. ارزیابی شاخص‌های تحمل به تنش خشکی در عملکرد شش رقم توتون ویرجینیا (*Nicotiana tabacum* L.) نهال و بذر. ۲۴ (۱): ۱۴۳-۱۲۹.

عباس‌زاده، ب.، شریفی‌عاشورآبادی، ا.، لباسچی، م.ح.، نادری‌حاجی‌بافرکندی، م. و مقدمی، ف. ۱۳۸۶. اثر تنش خشکی بر میزان پرولین، فندهای محلول، کلروفیل و آب نسبی (RWC) بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.). فصلنامه علمی- پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. جلد ۲۳. شماره ۴. ص ۵۱۳-۵۰۴.

مسلمی، ز. ۱۳۸۹. بررسی تأثیر پلیمر سوپر جاذب و کودهای زیستی (PGPR) بر رشد و عملکرد ذرت تحت شرایط تنش خشکی و نرمال. پایان‌نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج. ۱۱۰ ص.

Almansouri, M., Kinet, J. M, Lutts S. 1999. Compared effects of sudden and progressive impositions of salt stress in three durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivars. Journal of Plant Physiology 154: 743-752.

Bates, L. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil 39: 205-207.

Binzel, M.L., Hasegawa, P.M., Rhodes, D., Handa, S., Handa, A.V., Bressan, R.A. 1987. Solute accumulation in tobacco cells adapted to NaCl. Plant Physiology 84, 1408-1415.

Blum, A., Gozlan, G. and Mayer, J. 1981. The manifestation of dehydration avoidance in wheat breeding germplasm. *Crop Science* 21: 495-499.

Carver, B. F. 2009. Wheat science and trade. Wiley-Blackwell. 616p.

Chaves, M. M., Maroco, J. S. J., Rodrigues, M. L., Osorio, C. P. M. L., Carvalho, I. Faria, T. and Pinheiro, C. 2002. How plants cope with water stress in the field. Photosynthesis and growth. *Ann Bot* 89: 907-916.

Chen, Z., Cuin, T.A., Zhou, M., A., Twomey, Naidu, B.P. and Shabala, S. 2007. Compatible solute accumulation and stress-mitigating effects in barley genotypes contrasting in their salt tolerance. *Journal of Experimental Botany* 58(15/16): 4245-4255.

Efeoglu, B., Ekmekci, Y. and Cicek, N. 2009. Physiological responses of three maize cultivars to drought stress and recovery. *South African Journal of Botany* 73:34-40.

FAO (2009). FAOSTAT database. <http://faostat.fao.org>.

Ghosh, P.K., Ajay, K.K., Manna, M.C., Bandyopadhyay, 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. Dry matter yield, nodulation, chlorophyll content and enzyme activity. *Bioresource Technology* 95: 85-93.

Ghost, B.C. and Bhat, R. 1998. Environmental hazards of nitrogen loading in wetland rice fields. *Environment Pollution* 102: 123-126.

Han, H.S. and Lee, K.D. 2005. Plant growth promoting rhizobacteria effect on antioxidant status, photosynthesis, mineral uptake and growth of lettuce under soil salinity. *Research Journal of Agriculture and Biological Science* 1(3): 210-215.

Hare, P. D., Cress, W. A. 1997. Metabolic implications of stress induced proline accumulation in plants. *Plant Growth Regulation* 21: 79-102.

Kirigwi, F.M., Van Gin Kel, M., Trethowan, R.G., Sears, R.G., Rajaram, S. and Paulsen, G.M. 2004. Evaluation of selection strategies for wheat adaptation across water regimes. *Euphytica* 135: 361-371.

Li Wen, R., Zhang, S-q. and Shan, L. 2006. Effect of water stress on chlorophyll fluorescence parameters and activity of antioxidant enzyme in Alfalfa (*Medicago sativa* L.) seedlings. *In: The first international conference on the theory and practices in Biological Water Saving (ICTPB)*, Beijing China.

Macarrone, 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.

- Manivannan, P., Jaleel C.A., Somasundaram, R. and Panneerdelvam, R. 2008.** Osmoregulation and antioxidant metabolism in in drought-stressed *Helianthus annuus* under triadimefon drenching. *Comptes Rendus Biologies*. 331: 418-425.
- Meloni D.A., Oliva, M.A., Ruiz, H.A. and Martinez, C. A. 2001.** Contribution of proline and inorganic solutes to osmotic adjustment in cotton under salt stress. *Journal of Plant Nutrition* 24: 599–612.
- 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.
- Orhan, E., Esitken, A., Ercisli, S., Turan, M., and Sahin, F. 2006.** Effects of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield, growth and nutrient contents in organically growing raspberry. *Scientia Horticulturae* 111: 38-43.
- Porra, R.J. 2002.** The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls *a* and *b*. *Photosynthesis Research* 73: 149–156, *Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands.*
- Rauthan, B. S. and Schnitzer, M. 1981.** Effect of soil fulvic acid on the drowth and nutrient content of cucumber (*Cucumis sativus*) plants. *Plant Soil* 63: 491-495.
- Roberts, T.L. 2008.** Improving nutrient use efficiency. *Turk J. Agric.* 32: 177-182. SAS Institute. Inc. 1997. SAS/STAT Users Guide, version 6.12. SAS Institute Inc. Cary. NC.
- 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.
- Sharma, A., Sahgel, M. and Johri, B.N. 2003.** Microbial communication in the rhizosphere: Operation of Quorum sensing. *Current Science* 1164-1172.
- Singh, D.P., Chaud Hury, B.D., Singh, P., Sharma, H.C. and Karwasra, S.P.S. 2007.** Drought tolerance in maize. Hisar, India: Directorate of Research, Haryana Agricultural university.
- 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 (Institute Pertainian Borgor), December 2003.
- Teulate. B., Rekika, D., Nachit, M. M. and Monneveux, P. 1997.** Comparative Osmotic adjustments in barley and tetraploid wheats. *Plant Breeding* 116: 519-523.
- Vannozi, G. and Larner, F. 2007.** Proline accumulation during drought rhizogene in maise. *Journal Plant Physiology* 85: 441-467.

Zhu, Q., Zhang, Z., Yang, J. and Wang, Z. 1997. Source-sink characteristics related with the yield of inter-subspecific hybrid rice. *Science Agriculture Sinica* 30:52-59.

Zudan, X. 1986. The effect of foliar application of fulvic acid on water use, nutrient uptake and wheat yield. *Australian Journal of Agricultural Research* 37: 343-350.