

اثر کاربرد خاکی و برگگی عنصر آهن (Fe) بر برخی خصوصیات بیوشیمیایی گلرنگ (*Carthamus tinctorius L.*)، تحت دو رژیم رطوبتی

کیوان فتحی امیرخیز^۱، مجید امینی دهقی^{۲*}، سید علی محمد مدرس ثانوی^۳ و سیاوش حشمتی^۴
۱، ۲، ۴، دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشیار و دانشجوی کارشناسی ارشد دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهد،
تهران، ۳، استاد، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، تهران
(تاریخ دریافت: ۸۹/۴/۸ - تاریخ تصویب: ۹۰/۳/۱۸)

چکیده

به منظور بررسی اثر کاربرد خاکی و برگگی کلات آهن بر روی برخی صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک گلرنگ تحت دو رژیم آبیاری، آزمایشی مزرعه‌ای به صورت اسپلیت پلات در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار در سال ۱۳۸۷ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهد، انجام شد. در این بررسی دو سطح تیمار آبیاری، آبیاری کامل (آبیاری بر اساس تخلیه ۵۰ درصد رطوبت ظرفیت زراعی) قطع آبیاری در مرحله گلدهی و گرده‌افشانی (آبیاری بر اساس تخلیه ۷۵ درصد رطوبت ظرفیت زراعی)، به عنوان فاکتور اصلی و هشت سطح کلات آهن که ۴ سطح آن به صورت کاربرد خاکی (۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار) و ۴ سطح به صورت تغذیه برگگی (۰، ۱، ۲ و ۳ در هزار) به عنوان فاکتور فرعی بر روی ژنوتیپ گلرنگ بهاره IL111 مورد بررسی قرار گرفت. صفات مورد بررسی شامل میزان پروتئین‌های محلول برگ، پرولین، مالون دآلدئید، کربوهیدرات‌های محلول (گلوکز، زایلوز و مانوز) و محتوای نسبی رطوبت برگ (RWC) بود. اثر سطوح آبیاری × کلات آهن بر پروتئین‌های محلول برگ، پرولین، مالون دآلدئید، کربوهیدرات‌های محلول (گلوکز، زایلوز و مانوز) و محتوای نسبی رطوبت برگ (RWC) معنی‌دار بود. نتایج نشان داد که بالاترین مقادیر پروتئین‌های محلول برگ، پرولین، گلوکز، زایلوز و مانوز در شرایط بدون قطع آبیاری با کاربرد خاکی کلات آهن به دست آمد. در حالیکه در شرایط تنش رطوبتی میزان پرولین و قند محلول گلوکز به طور میانگین با سطوح محلول‌پاشی کلات آهن و مقادیر کربوهیدرات‌های محلول (زایلوز و مانوز) و محتوای نسبی رطوبت برگ (RWC) با کاربرد سطوح خاکی کلات آهن افزایش بیشتری داشتند. بالاترین مقدار پروتئین‌های محلول برگ در سطح تنش رطوبتی با مصرف ۱۵۰ کیلوگرم کلات آهن و محلول‌پاشی ۳ در هزار به دست آمد. مقدار مالون دآلدئید (MDA) نیز با کاربرد خاکی در سطح تنش کاهش معنی‌داری داشت. نتایج نشان داد که کاربرد کلات آهن می‌تواند سبب افزایش تحمل این ژنوتیپ گلرنگ بهاره (IL111) به تنش خشکی شود.

واژه‌های کلیدی: مالون دآلدئید، پرولین، پروتئین، قندهای محلول، آهن، تنش رطوبتی، گلرنگ.

مقدمه

محیطی مختلف، افزایش می‌یابد. محققین زیادی به نقش قندهای محلول در حفاظت سلول‌ها در برابر تنش‌ها اشاره کرده‌اند (Finkelstein & Gibson, 2001). پرولین نیز علاوه بر نقش تنظیم اسمزی که دارد می‌تواند به عنوان یک خنثی‌کننده رادیکال هیدروکسیل عمل کند. همچنین می‌تواند به عنوان یک ترکیب ذخیره‌ای و منبعی از نیتروژن برای رشد سریع گیاه بعد از تنش باشد (Greenway & Munns, 1980). بنابراین پرولین یک شاخص قابل اطمینان برای مطالعه اثر تنش‌های محیطی بر روی گیاهان است (Claussen, 2005).

عناصر ریز مغذی نقش حیاتی در رشد و نمو گیاهان ایفا می‌کنند و سهم مهمی را به لحاظ ضرورتشان در افزایش عملکرد محصول در برمی‌گیرند (Dewal & Pareek, 2004). کمبود آهن در گیاهان، منجر به تغییرات معنی‌دار در متابولیسم گیاه و ایجاد کلروز می‌شود (Kabata-Pendias & Pendias, 1999). یون‌های فلزی از قبیل آهن، روی، مس و منگنز، عناصر ریز مغذی ضروری و کوفاکتور بیش از ۱۰۰ آنزیم و پروتئین دخیل در تقسیم سلولی، متابولیسم اسید نوکلئیک و سنتز پروتئین هستند (Cakmak et al., 1999). از این رو جذب عناصر در گیاهان تحت تنش خشکی ممکن است نقش مهمی در تحمل به خشکی داشته باشد (Samarah et al., 2004). تحقیقات نشان داده است که کاربرد ریزمغذی‌ها اثرات تنش‌های محیطی را از قبیل تنش خشکی و تنش شوری را کاهش می‌دهد (Wang et al., 2004).

گلرنگ یک گیاه دانه روغنی است که سازگاری خوبی به مناطق نیمه خشک دارد (Nasr et al., 1978) و با توجه به این که کمبود آهن اکثراً در خاک‌های نواحی خشک مشاهده می‌شود، بنابراین هدف از این تحقیق، تأثیر کاربرد حاکی و برگی عنصر آهن با سطوح مختلف در ارتباط با خصوصیات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک گلرنگ، تحت شرایط تنش رطوبتی است تا با شناسایی سازوکارهای مؤثر در مقابله با تنش، بتوان اثرات سوء ناشی از تنش خشکی را در این گیاه دانه روغنی کاهش داد.

خشکی یا تنش کمبود آب، مهمترین عامل محیطی است که اثرات شدید منفی بر روی عملکرد محصولات کشاورزی در سرتاسر جهان دارد، به خصوص هنگامی که تنش آب در مرحله رشد زایشی رخ دهد، تولید محصول را بیشتر تحت تأثیر قرار می‌دهد (Selote & Khana-Chopra, 2004). حفظ تورژسانس از طریق تنظیم اسمزی، یک سازگاری فیزیولوژیکی مهم، برای به حداقل رساندن اثرات نامطلوب تنش خشکی است (Morgan, 1984). زیرا تنش آب، از گسترش سلول و رشد آن به دلیل فشار کم تورژسانس جلوگیری می‌کند (Shao et al., 2008). و رشد گیاه را با تحت تأثیر قرار دادن فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی از قبیل فتوسنتز، تنفس، انتقال، جذب یونی، کربوهیدرات‌ها، متابولیسم‌های مواد غذایی و آغازگرهای رشد کاهش می‌دهد (Farooq et al., 2008). بنابراین حفظ میزان آب، برای ادامه رشد گیاه در طی کمبود آب ضروری است که این فرآیند می‌تواند بوسیله تجمع محلول‌های سازگار حاصل گردد (Ashraf & Foolad, 2007). محلول‌های سازگار دارای وزن مولکولی کم و ترکیباتی بسیار محلول هستند که در غلظت زیاد غیرسمی می‌باشند (McNeil et al., 1999). از این رو گیاهانی که تنظیم‌کننده‌های اسمزی زیادتری دارند، می‌توانند در شرایط تنش، آب را از خاک جذب کنند. در آزمایشی بر روی ارقام گندم، گزارش شد که ارقامی که از یون پتاسیم زیاد، مولکول‌های کوچک (نظیر پرولین)، قندهای محلول و غلظت کم مالون دآلدئید در مراحل مختلف رشد دارا بودند، از کارایی بهتری در مقاومت به تنش خشکی برخوردار بودند (Apel & Hirt, 2004). بنابراین تنظیم اسمزی یکی از مهمترین سازوکارهایی است که مقداری از اثرات مضر تنش آب را کاهش می‌دهد (Morgan, 1984). پرولین و قندهای محلول، اسمولیت‌های کلیدی می‌باشند که به تنظیم اسمزی نسبت داده می‌شوند (Mundree et al., 2002)، آنها می‌توانند تحمل به تنش را بوسیله حفاظت و پایداری غشاها و آنزیم‌ها در طی شرایط تنش بهبود دهند (Rudolph et al., 1986). تجمع قندهای محلول در قسمت‌های مختلف گیاهان در پاسخ به تنش‌های

مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال ۱۳۸۷ در مزرعه پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهد در طول جغرافیایی ۵۱ درجه و ۲۰ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۳۳ دقیقه شمالی، واقع در ابتدای آزادراه تهران-قم، اجرا گردید. ویژگی‌های خاک محل آزمایش، در جدول ۱ آمده است. عملیات تهیه زمین شامل شخم، دو دیسک عمود برهم در هنگام کاشت و تسطیح زمین بود. کود پاشی مطابق روال منطقه انجام گرفت. میزان کود داده شده معادل ۱۵۰ کیلوگرم اوره در هکتار در ابتدای کاشت بود. هر کرت دارای ابعاد ۴×۲ متر، که شامل ۴ ردیف کاشت، به فاصله ۵۰ سانتی‌متر بود. طول هر ردیف ۴ متر و بین هر دو کرت نیز یک ردیف نکاشت، در نظر گرفته شد. فاصله بوته‌های روی ردیف‌های کشت، ۵

سانتی‌متر، که تراکم نهایی، برابر ۴۰۰ هزار بوته در هکتار بود. طرح آزمایشی از نوع اسپلیت پلات در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار بود. هر تکرار شامل دو کرت اصلی به عنوان سطوح آبیاری که عبارت بودند از: ۱- آبیاری کامل (آبیاری بر اساس تخلیه ۵۰ درصد رطوبت ظرفیت زراعی) و ۲- قطع آبیاری در مرحله گلهی و گرده‌افشانی (آبیاری بر اساس تخلیه ۷۵ درصد رطوبت ظرفیت زراعی)، به عنوان فاکتور اصلی و ۸ سطح کلات آهن از منبع (سکوسترین ۱۳۸) که چهار سطح آن به صورت کاربرد خاکی با مقادیر (صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار) و چهار سطح به صورت تغذیه برگی با غلظت‌های (صفر، ۱، ۲ و ۳ در هزار)، به عنوان عامل فرعی بر روی ژنوتیپ گلرنگ بهاره IL 111 در نظر گرفته شد.

جدول ۱- مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش

منگنز Mg/Kg	مس Mg/Kg	روی Mg/Kg	آهن Mg/Kg	پتاسیم قابل جذب ppm	فسفر قابل جذب ppm	نیترژن کل (%)	pH خاک	بافت	
۱۴	۲/۶	۲/۴	۲/۸	۳۲۰	۱۶	۰/۰۸۹	۷/۷	لومی	عمق ۰-۳۰
۷/۸	۱/۴	۰/۵	۲/۴	۲۶۰	۵	۰/۰۶۲	۷/۷	لومی-رسی	عمق ۳۰-۶۰

جهت تعیین درصد رطوبت، به آون به دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد، منتقل گردید. بنابراین قبل از آبیاری مجدد، اجازه داده شد تا رطوبت خاک در عمق ریشه به ۷۵ درصد تخلیه رطوبت ظرفیت زراعی برسد. در مرحله گلهی کامل، جهت سنجش فعالیت متابولیت‌های گیاهی، نمونه‌ها از برگ‌های تازه انتهایی گیاه تهیه و در نیترژن مایع فریز شد و تا زمان انجام آنالیزهای بیوشیمیایی در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

سنجش غلظت پروتئین محلول برگ: میزان پروتئین محلول برگ بر طبق روش Bradford (1976) تعیین گشت. به این منظور ۱ میلی‌لیتر از محلول برادفورد به همراه ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی پس از مخلوط شدن کامل، در دستگاه اسپکتروفوتومتر (UV-1601PC-Shimadzu-Japan) قرار داده شد و جذب محلول در طول موج ۵۹۵ نانومتر ثبت گردید. غلظت پروتئین بر حسب میلی‌گرم بر گرم بافت تازه با کمک منحنی استاندارد که با استفاده از آلبومین سرم

کاربرد خاکی و برگی عنصر آهن، در مرحله گلهی و همزمان با اعمال تنش رطوبتی انجام شد. به منظور کاربرد به روش خاکی، کود کلات آهن در پای بوته‌ها با خاک مخلوط گردید. برای تعیین مراحل رشد (از نظر زمان اعمال تیمارهای آبیاری)، طبق روش Allen et al. (1998) استفاده شد. بر این اساس، تا انتهای مرحله رویشی تأخیری (مرحله طبق‌دهی)، ۷۰ تا ۸۰ روز از زمان کاشت (Vb) آبیاری تمامی کرت‌ها بر اساس تخلیه ۵۰ درصد رطوبت ظرفیت زراعی انجام گرفت و از این مرحله به بعد، با شروع مرحله گلهی تقریباً به میزان ۵۰ درصد (F) تا مرحله تشکیل عملکرد و پر شدن دانه (Y) آبیاری در کرت‌های تنش خشکی، پس از مشخص شدن درصد رطوبت خاک و رسیدن رطوبت خاک به ۷۵ درصد تخلیه رطوبت ظرفیت زراعی انجام گرفت. اندازه‌گیری رطوبت خاک به روش وزنی انجام شد. به این منظور، ۴۸ ساعت بعد از زمان آبیاری، اقدام به برداشت نمونه خاک از عمق توسعه ریشه (۳۰-۰ سانتی‌متر)، گردید. نمونه‌های برداشت شده، بلافاصله وزن گردیده و

اندازه‌گیری قندهای محلول کل: برای اندازه‌گیری قندهای محلول کل از روش (Dubois et al. 1956) استفاده شد. نمونه‌های منجمد به میزان ۰/۲ گرم در ۳ میلی‌لیتر آب مقطر عصاره‌گیری شده و سپس محلول همگن حاصل به کمک کاغذ صافی صاف شد. برای اندازه‌گیری قند نمونه، به ۵۰ میکرولیتر از همگن صاف شده ۰/۵ میلی‌لیتر فنل ۵٪ و ۲/۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۹۸٪ اضافه گردید. بلافاصله بعد از افزودن اسید سولفوریک، یک واکنش گرمازا همراه با تولید رنگ نارنجی ایجاد می‌شود که تولید حرارت زیادی می‌کند. لذا ضروری است بعد از افزودن اسید، مخلوط واکنش ۱۰ دقیقه در دمای اتاق خنک شود. منحنی استاندارد با استفاده از غلظت‌های مختلف گلوکز، زایلوز و مانوز از صفر تا ۲۰ میکروگرم در میلی‌لیتر ترسیم شد، جذب استانداردها به همراه جذب نمونه با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در سه طول موج ۴۸۰، ۴۸۵ و ۴۹۰ نانومتر برای سنجش گلوکز، زایلوز و مانوز اندازه‌گیری شده و مقدار قند نمونه، بر مبنای میکروگرم بر گرم وزن تازه برگ تعیین شد.

اندازه‌گیری محتوای رطوبت نسبی برگ^۲: محتوای نسبی آب برگ، طبق رابطه زیر به دست آمد (Siddique et al., 2000)

$$RWC = \frac{FW - DW}{TW - DW} \cdot 100$$

FW: وزن تازه

DW: وزن خشک

TW: وزن آماس

به منظور انجام محاسبات آماری از نرم افزار آماری SAS استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها نیز با استفاده از روش LSMEANS توسط دستور PDIF انجام شد.

نتایج و بحث

پروتئین‌های محلول برگ: سطوح مختلف تیمارهای آبیاری، مصرف کلات آهن و اثر متقابل بین آنها بر پروتئین محلول‌های برگ، در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج اثرات متقابل سطوح

گاوی (BSA)^۱ به عنوان استاندارد تهیه شده بود محاسبه شد.

سنجش غلظت پرولین: برای اندازه‌گیری پرولین محتوای بافت برگ از روش (Bates et al. 1973) استفاده شد. برای اندازه‌گیری پرولین، ابتدا مقدار ۰/۲ گرم برگ توزین شد و در هاون چینی در ۳ میلی‌لیتر اسید سولفوسالسیلیک ۳٪ به خوبی سائیده شد و هموژنات حاصل در دستگاه سانتریفیوژ با دور ۱۲۰۰۰ در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گشت. آنگاه ۲ میلی‌لیتر از عصاره‌های صاف شده را به لوله‌های در دار منتقل شده و به تمام لوله‌ها مقدار ۲ میلی‌لیتر معرف ناین هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک خالص اضافه شد. پس از بستن در لوله‌ها به مدت یک ساعت در آب ۱۰۰°C قرار داده شدند. پس از سرد کردن لوله‌ها به هر کدام مقدار ۴ میلی‌لیتر تولون اضافه گشت و با دستگاه ورتکس به مدت ۱۵ تا ۲۰ ثانیه لوله‌ها تکان داده شد. سرانجام فاز روئی را که به رنگ قرمز و حاوی پرولین محلول در تولون بوده برداشته و همزمان با نمونه‌های استاندارد در دستگاه اسپکتروفتومتر قرار گرفت و اعداد در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت گردید. غلظت پرولین بر حسب میلی‌گرم بر گرم بافت تازه برگ با استفاده از منحنی استاندارد تعیین شد.

تعیین میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء: این آزمایش با استفاده از اندازه‌گیری مالون دی آلدئید (MDA) به عنوان فرآورده نهائی لیپید پراکسیداسیون غشاء انجام شد. نمونه‌های منجمد به میزان ۰/۲ گرم در ۳ میلی‌لیتر TCA (تری‌کلرواستیک اسید) ۱۰٪ عصاره‌گیری شدند. سپس به یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون صاف شده ۱ میلی‌لیتر TBA (تیوبار بی‌توریک اسید) ۰/۵٪ به هر کدام از نمونه‌ها اضافه شد و در حمام آب گرم ۱۰۰°C به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفت. بعد از گذشت ۳۰ دقیقه، لوله‌ها از حمام خارج شده و پس از سرد شدن میزان مالون‌دی‌آلدئید با اندازه‌گیری جذب در طول موج‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر و با استفاده از ضریب خاموشی ($\epsilon = 155 \mu M^{-1} cm$) محاسبه شد (De Vos et al., 1991).

برمیزان تجمع پرولین در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج حاصل از این آزمایش نشان می‌دهد که بالاترین تجمع اسید آمینه پرولین در آبیاری مطلوب با کاربرد ۱۵۰ کیلو گرم کلات آهن در هکتار با میانگین ۰/۰۵۷۷ میلی‌گرم بر گرم بافت تازه برگ به دست آمد. از طرفی نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان‌دهنده آن است که با کاهش رطوبت خاک به میزان ۷۵ درصد تخلیه رطوبتی، مقدار تجمع اسید آمینه پرولین در برگ با محلول‌پاشی آب افزایش یافت و پس از آن سطوح محلول‌پاشی ۳ در هزار و عدم مصرف کلات آهن، در مجموع به طور یکسان با ۰/۰۵۱۵ میلی‌گرم بر گرم بافت تازه برگ، بالاترین مقدار تجمع پرولین را نشان دادند. به طور میانگین در شرایط رطوبتی (آبیاری بر اساس تخلیه ۷۵ درصد رطوبت ظرفیت زراعی) در طول مرحله گلدهی و گرده‌افشانی، سطوح محلول‌پاشی عنصر آهن، حدود ۲۳ درصد میزان این اسید آمینه را در مقایسه با سطوح کاربرد خاکی عنصر آهن افزایش دادند (جدول ۳). تحت تنش خشکی، تجمع پرولین، به ایجاد تنظیم اسمزی در سلول‌های گیاه که تحت کمبود آب قرار دارند، کمک می‌کند (Chaves et al., 2002). همچنین Phutela et al. (2000) نیز تأکید کردند که تجمع پرولین در بافت گیاهان تنش‌دیده به علت افزایش میزان سنتز آن بوسیله پیرولین-۵-کربوکسیلاز سنتتاز و کاهش میزان تجزیه آن بوسیله آنزیم پرولین اکسیداز است.

مالون دآلدهید: با توجه به نتایج تجزیه واریانس، مشخص می‌گردد که اثر سطوح آبیاری، مصرف کلات آهن و اثر متقابل سطوح آبیاری و کلات آهن بر مقدار مالون دآلدهید در سطح یک درصد اثر معنی‌داری داشت (جدول ۲). نتایج اثر متقابل سطوح آبیاری × کلات آهن بر مالون دآلدهید نشان داد که غلظت MDA در شرایط تیمار رطوبتی ۵۰ درصد تخلیه رطوبتی با مصرف ۱۰۰ کیلوگرم کلات آهن در هکتار در مقایسه با تیمارهای عدم کاربرد کلات آهن و محلول‌پاشی آب به ترتیب ۸ و ۲۴/۸ درصد کاهش داشت. مصرف مقادیر بیشتر کلات آهن به دو صورت خاکی و برگی در شرایط تنش رطوبتی نیز به صورت قابل ملاحظه‌ای موجب کاهش مقدار غلظت MDA شد به نحوی که کمترین مقدار این

آبیاری و کلات آهن نشان داد که در تیمار بدون قطع آبیاری، بیشترین مقادیر پروتئین محلول‌های برگ، با ۰/۴۹۳ میلی‌گرم بر گرم بافت تازه برگ، در اثر کاربرد ۱۵۰ کیلوگرم کلات آهن در هکتار به دست آمد به گونه‌ای که میزان پروتئین محلول‌های برگ، حدود ۶۱ درصد در مقایسه با تیمار عدم کاربرد کلات آهن افزایش داشت. با کاهش تخلیه رطوبت خاک به میزان ۷۵ درصد ظرفیت زراعی میزان پروتئین محلول‌های برگ با سطوح خاکی و برگی کلات آهن افزایش چشمگیری داشت به نحوی که مقادیر پروتئین محلول‌های برگ در سطوح ۳ در هزار کلات آهن و کاربرد ۱۵۰ کیلوگرم کلات آهن در هکتار به طور مشابه به حداکثر خود رسید که این اختلافات معنی‌دار نبود در حالی که در مقایسه با سطوح محلول‌پاشی آب و عدم کاربرد کلات آهن میزان پروتئین‌های محلول برگ به ترتیب در حدود ۴۴ و ۴۲ درصد افزایش داشت (جدول ۳). تغییر در محتوای پروتئین‌های محلول برای درک اثرات تنش بر روی پروتولیز سلول و سنتز پروتئین بسیار مهم است (Santos & Caldeira, 1999). پروتئین‌هایی که در پاسخ به تنش خشکی سنتز می‌شوند، دهیدرین‌ها می‌باشند که زیرمجموعه گروه II پروتئین‌های LEA هستند (Close & Chandler, 1990). تجمع پروتئین‌های دهیدرین می‌تواند سلول‌ها را از پسابیدگی (دهیدراسیون) اضافی در طی تنش خشکی حفاظت کند (Han & Kermod, 1996). همچنین Sindahu & Tiwari (1996) نیز گزارش نموده‌اند که محلول‌پاشی عناصر آهن، روی و مس، علاوه بر افزایش پارامترهای کمی، باعث افزایش درصد مواد جامد محلول، اسید آسکوربیک و میزان پروتئین در پیاز گردیده است. بنابراین نتایج این تحقیق مشخص کرد که کاربرد خاکی و برگی عنصر آهن، تأثیری مثبت در افزایش مقدار پروتئین‌های محلول برگ گلرنگ، در سطح تنش خشکی داشته است.

پرولین: جدول تجزیه واریانس نشان می‌دهد که سطوح مختلف آبیاری اثر معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد بر میزان تجمع پرولین دارد و اثر سطوح کلات آهن و اثرات متقابل آبیاری و کلات آهن نیز

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک گلرنگ تحت تأثیر سطح آبیاری و هشت سطح کلات آهن

منابع تغییرات	درجه آزادی	پروتئین	پرولین	مالون دالدهید	گلکز	زایلوز	مانوز	RWC
بلوک	۳	۵/۳۳	۰/۵۰۶	۳/۵۱	۳/۸۷۴	۱/۳۰۶	۲۹/۵۰۳	۲/۹۹۱
آبیاری	۱	۶۹/۴**	۲۶/۰*	۱۰/۱۴/۰**	۱۷۳۲/۶۸۲**	۴۴۶/۰۵۴ ^{ns}	۴۵۴/۹۶۸*	۱۸۵/۲۴۹**
خطای الف	۳	۰/۷۸۳	۱/۲۶۴	۱/۲۴	۴/۰۰۲۶	۵۴/۳۰۵	۱۸/۹۲۲	۰/۵۲۱
کلات آهن	۷	۱۸۷/۰**	۶۴/۹**	۴۱/۱**	۱۲۶۰/۱۰۰**	۴۴۷/۲۸۰**	۶۵۵/۶۸۱**	۲۴۵/۴۰۱**
آبیاری × کلات آهن	۷	۱۷۲/۰**	۲۲/۶**	۳۷/۹**	۱۷۲۰/۲۸۷**	۵۶۶/۳۴۹**	۸۱۶/۸۷۳**	۲۱۳/۲۹۷**
خطای ب	۴۲	۳/۲۸	۰/۷۵۶	۱/۱۸۳	۱۳/۵۹۴	۱۳۶/۹۱۴	۱۴/۲۹۵	۲/۷۹۴
ضریب تغییرات (درصد)		۴/۸	۶/۳	۵/۵	۳/۱	۵/۲	۴/۴	۲/۲

ns و ** و * به ترتیب اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد، ۱ درصد و عدم اختلاف معنی دار.

جدول ۳- مقایسه میانگین صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک گلرنگ تحت تأثیر سطوح مختلف آبیاری و کلات آهن

سطوح آبیاری	سطوح کلات آهن	پروتئین	پرولین	مالون دالدهید	گلکز	زایلوز	مانوز	RWC
		(mg g FW ⁻¹)		(μM [±] cm)		(μg g FW ⁻¹)		(%)
آبیاری کامل	کلات آهن (kg ha ⁻¹)							
	۰	۰/۳۰۶c	۰/۰۴۹۷b	۰/۱۳۸b	۸۹/۶۴۰f	۵۲/۴۲۵fg	۶۵/۵۳۶f	۷۱/۲۷۹e
	۵۰	۰/۲۸۰c	۰/۰۳۲۰ed	۰/۱۶۸a	۱۵۹/۸۶۰a	۹۵/۴۵۵a	۱۲۰/۳۷۱a	۶۶/۵۰۸f
	۱۰۰	۰/۳۰۱c	۰/۰۳۳۷d	۰/۱۲۷c	۱۳۷/۴۹۵b	۸۲/۳۰۵b	۹۵/۲۴۰b	۷۱/۷۸۴e
	۱۵۰	۰/۴۹۳a	۰/۰۵۷۷a	۰/۱۶۹a	۱۰۳/۷۹۴d	۵۹/۴۴۸e	۷۴/۵۶۸ed	۷۵/۵۷۳c
	کلات آهن (g l ⁻¹)							
	۰	۰/۴۱۷b	۰/۰۴۹۷b	۰/۱۶۹a	۸۴/۳۴۱f	۵۲/۲۹۳g	۶۵/۴۰۵f	۷۸/۸۶۱b
	۱	۰/۴۱۲b	۰/۰۳۶۰d	۰/۱۳۸b	۱۰۶/۶۷۳d	۶۶/۸۰۵d	۷۶/۴۹۴d	۷۴/۱۴۵d
	۲	۰/۳۰۰c	۰/۰۴۲۵c	۰/۱۶۸a	۹۷/۵۷۹e	۵۸/۱۰۰ef	۶۹/۸۰۸ef	۷۴/۶۳۱cd
	۳	۰/۳۸۹b	۰/۰۲۹۲e	۰/۱۶۵a	۱۲۴/۷۴۵c	۷۴/۶۹۸c	۸۵/۱۵۵c	۸۴/۳۵۶a
تنش رطوبتی	کلات آهن (kg ha ⁻¹)							
	۰	۰/۲۹۴b	۰/۰۵۱۵b	۰/۲۳۵cd	۱۳۱/۹۳۰a	۷۷/۶۹۳a	۹۳/۲۴۵a	۷۵/۰۲۱b
	۵۰	۰/۴۱۲a	۰/۰۳۳۵d	۰/۲۱۸ed	۱۲۷/۲۹۳ab	۷۴/۵۵۵a	۸۸/۰۷۷bc	۶۲/۷۵۳d
	۱۰۰	۰/۴۱۲a	۰/۰۳۳۲d	۰/۲۱۰e	۱۲۰/۸۷۵cd	۷۳/۳۴۵ab	۸۵/۳۶۷bc	۶۸/۱۹۱c
	۱۵۰	۰/۴۱۸a	۰/۰۴۴۲c	۰/۱۶۸f	۱۱۸/۹۲۰d	۶۸/۱۸۸bc	۸۳/۷۶۴c	۸۵/۱۲۵a
	کلات آهن (g l ⁻¹)							
	۰	۰/۲۹۰b	۰/۰۶۴۲a	۰/۳۰۹a	۱۲۴/۵۹۵bc	۷۶/۱۲۸a	۹۰/۳۳۷ab	۵۴/۶۴۰e
	۱	۰/۴۱۴a	۰/۰۳۶۷d	۰/۲۶۱b	۱۳۱/۹۵۰a	۷۵/۷۴۸a	۸۹/۸۱۷ab	۷۴/۶۵۸b
	۲	۰/۴۰۷a	۰/۰۴۸۰bc	۰/۲۴۶c	۱۲۷/۱۱۳ab	۷۴/۵۷۸a	۸۵/۷۸۶bc	۷۶/۰۳۴b
	۳	۰/۴۱۸a	۰/۰۵۱۵b	۰/۲۳۱cde	۱۰۴/۷۰۳e	۶۴/۵۳۵c	۷۸/۸۵۳d	۷۳/۴۹۶b

حروف مشابه در داخل هر سطح تیمار آبیاری، بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد می باشد.

سطوح محلول پاشی کلات آهن گردید (جدول ۳). مالون دالدهید (MDA)، محصول تجزیه هیدروپراکسیدهای اسید چرب غیراشباع است و اغلب به عنوان یک نشانگر زیستی^۱، برای پراکسیداسیون لیپید (Bailly et al., 1996) که در اثر آسیب اکسیداتیو ایجاد می شود

صفت از کاربرد ۱۵۰ کیلوگرم کلات آهن در هکتار حاصل گردید و بالاترین غلظت MDA در سطح تنش به تیمار محلول پاشی آب تعلق گرفت. در این تحقیق مشاهده شد که با افزایش مصرف کلات آهن از ۱۰۰ به ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار در سطح تنش رطوبتی، غلظت MDA ۲۰٪ کاهش یافت و به طور میانگین، کاربرد سطوح خاکی کلات آهن در شرایط تنش خشکی، موجب کاهش ۲۰/۶ درصدی مقدار MDA در مقایسه با

1. Biomarker

نتایج این بررسی نشان داد که مصرف کلات آهن در خاک در شرایط آبیاری مطلوب تأثیر مثبتی بر افزایش قندهای محلول (گلوکز، زایلوز و مانوز) داشته است، در حالی که کاهش قندهای محلولی نظیر (زایلوز و مانوز) در سطوح مختلف کلات آهن در شرایط تنش رطوبتی، نتوانست اثرات سوء ناشی از تنش را جبران کند. Mohsenzadeh et al. (2006) اظهار نمودند که تجمع قندهای محلول بستگی زیادی با دوره تنش آب دارد. در آزمایشی بر روی دال عدس (*Cajanus cajan*)، مشخص شد که غلظت نشاسته و ساکارز برگ در واکنش به تنش خشکی سریعاً کاهش یافت، در حالی که غلظت گلوکز و فروکتوز به طور معنی‌داری افزایش داشت (Keller & Ludlow, 1993). همچنین گزارش شده است که افزایش در محتوای قندهای محلول بواسطه تغییر تعدادی از کربوهیدرات‌ها، مکانیسم سازگاری است که موجب بهبود تحمل در برابر تنش اسمزی می‌شود (Bohnert & Jensen, 1996)، زیرا تجمع قندها می‌تواند به حفظ تورژسانس در بافت‌های تنش دیده بواسطه تنظیم اسمزی کمک کنند (Morgan, 1984). همچنین عناصر ریز مغذی اثرات سودمند زیادی بر روی گیاهان دارند زیرا آنها در متابولیسم کربوهیدرات‌ها و نیتروژن، همچنین در مقاومت گیاه به شرایط نامطلوب محیطی و دیگر فرآیندها دخیل می‌باشند (Massoud et al., 2005). به طوری که Singh & Riwari (1996) در هندوستان، تأثیر عناصر کم مصرف آهن، روی و منگنز را بر کمیت و کیفیت پیاز، مورد مطالعه قرار دادند و متوجه شدند که تیمارهای حاوی عناصر آهن، روی و منگنز، که به صورت محلول‌پاشی مورد استفاده قرار گرفتند، باعث افزایش معنی‌داری در میزان مواد جامد محلول، قند کل و اسید آسکوربیک پیاز شده‌اند.

محتوای نسبی رطوبت برگ: اثر سطوح مختلف آبیاری، مصرف کلات آهن و اثر متقابل بین آنها بر محتوای نسبی رطوبت برگ معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج اثر متقابل سطوح آبیاری و کلات آهن بر محتوای نسبی رطوبت برگ (RWC) نشان داد که بیشترین سطح محلول‌پاشی کلات آهن در شرایط آبیاری مطلوب یا (آبیاری بر اساس تخلیه ۵۰ درصد رطوبت ظرفیت زراعی) از برتری قابل توجهی از لحاظ محتوای نسبی

محسوب می‌گردد. محتوای افزایش یافته مالون دآلدئید (MDA)، ممکن است به علت تخریب غشاء، در نتیجه آسیب اکسیداتیو القا شده بوسیله انواع اکسیژن فعال باشد (Zhang et al., 2007). از آنجایی که پراکسیداسیون لیپید، به وسیله مقدار ماده واکنشی اسید تیوباربیتوریک (TBARS) یا مالون دآلدئید (MDA)، اندازه‌گیری می‌شود (Hernandez et al., 2000)، در آزمایشی میزان TBARS تحت کمبود آهن افزایش یافت که نشان می‌دهد که کمبود آهن، آسیب اکسیداتیو را بر لیپیدها و پروتئین‌ها القا می‌کند (Sun et al., 2007). بنابراین در این تحقیق مشخص گردید که کاهش مقدار مالون دآلدئید (MDA) در سطوح مختلف کلات آهن در شرایط تنش رطوبتی توانست اثرات تنش را جبران کند. **قندهای محلول:** اثر سطوح کلات آهن و اثر متقابل سطوح آبیاری × کلات آهن بر میزان قندهای محلول (گلوکز، زایلوز و مانوز) در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین‌های اثر متقابل آبیاری و کلات آهن نشان داد که مصرف ۵۰ کیلوگرم کلات آهن در هکتار در شرایط آبیاری مطلوب یا (آبیاری بر اساس تخلیه ۵۰ درصد ظرفیت رطوبت زراعی) از لحاظ تجمع قندهای محلول (گلوکز، زایلوز و مانوز) در مقایسه با سایر سطوح کلات آهن برتری داشت در حالی که واکنش قندهای محلول (گلوکز، زایلوز و مانوز) نسبت به تغییر سطوح مختلف کلات آهن در سطح تنش رطوبتی یا (آبیاری بر اساس تخلیه ۷۵ درصد ظرفیت رطوبت زراعی) متفاوت بود به گونه‌ای که میزان تغییرات قندهای محلول (زایلوز و مانوز) نسبت به قند محلول گلوکز روندی متفاوت داشت به نحوی که بیشترین تجمع قند محلول گلوکز در شرایط تنش رطوبتی با سطوح محلول‌پاشی ۱ در هزار و پس از آن با عدم کاربرد کلات آهن حاصل گردید در حالی که در شرایط تنش رطوبتی، مصرف مقادیر بیشتر کلات آهن به دو روش خاکی و برگی منجر به افزایش محسوس و چشمگیر قندهای محلول (زایلوز و مانوز) نگردید به طوری که بالاترین مقادیر قندهای مذکور در سطح تنش به ترتیب تحت تأثیر سطوح عدم کاربرد کلات آهن، محلول‌پاشی آب و محلول‌پاشی ۱ در هزار کلات آهن به دست آمد که این اختلافات معنی‌دار نبود (جدول ۳). بنابراین

می‌تواند نقش مهمی در افزایش میزان محتوای نسبی رطوبت برگ تحت شرایط تنش آب بر روی گلرنگ داشته باشد و به این طریق تحمل به خشکی را در این گیاه افزایش داده است.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به دست آمده، می‌توان نتیجه گرفت که مصرف عنصر آهن به صورت خاکی و برگی، موجب بهبود صفات مورد اندازه‌گیری، تحت شرایط تنش رطوبتی شده است. از این رو، افزایش متابولیت‌ها به ویژه پروتئین‌های محلول برگ و برخی قندهای محلول برگ (نظیر گلوکز)، و کاهش مقدار پراکسیداسیون لیپیدها در اثر کاربرد عنصر آهن، می‌توانند تأثیر مثبتی بر سازوکارهای تحمل به خشکی داشته باشند. بنابراین، به طور کلی مصرف خاکی و برگی عنصر آهن، تحت شرایط تنش رطوبتی در مزرعه بر روی گیاه گلرنگ (ژنوتیپ IL111)، توصیه می‌شود. البته تحقیقات بیشتری در خصوص استفاده از این عنصر ریز مغذی در سطح مزرعه، به ویژه با استفاده از ژنوتیپ‌های متنوع گلرنگ ضروری است.

رطوبت برگ در مقایسه با سایر تیمارها برخوردار بود. در حالی که با کاهش رطوبت خاک از سطح ۵۰ به ۷۵ درصد ظرفیت زراعی مقدار محتوای نسبی رطوبت برگ با مصرف ۱۵۰ کیلوگرم کلات آهن در هکتار افزایش یافت و پس از آن سطوح محلول‌پاشی کلات آهن با غلظت‌های ۱، ۲ و ۳ در هزار بالاترین درصد محتوای نسبی رطوبت برگ را دارا بودند که این اختلافات معنی‌دار نبود. نتایج نشان داد که کاهش سطح کلات آهن مصرفی در شرایط تنش رطوبتی از ۱۵۰ به ۱۰۰ و ۵۰ کیلوگرم در هکتار محتوای نسبی رطوبت برگ را به ترتیب حدود ۱۹/۹ و ۲۶/۲٪ کاهش داد (جدول ۳). اغلب تحقیقات نشان‌دهنده کاهش محتوای نسبی رطوبت برگ در پاسخ به تنش خشکی است. مقدار بالای محتوای نسبی رطوبت برگ گزارش شده که در تحمل به تنش در ذرت (Pastori & Trippi, 1992) و ژنوتیپ‌های گندم (Kraus et al., 1995) ایفای نقش می‌کند و شاخص خوبی برای تحمل به تنش خشکی است (Shaw et al., 2002). بنابراین می‌توان با توجه به نتایج این تحقیق اظهار داشت که کاربرد کلات آهن

REFERENCES

- Allen, R. G., Pereira, L. S., Raes, D. & Smith, M. (1998). *Crop Evapotranspiration (Guidelines for Computing Crop Water Requirements)*. Irrigation and Drainage Paper 56. FAO, United Nations, Rome.
- Apel, K. & Hirt, A. (2004). Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annual Review of Plant Biology*, 55, 373-399.
- Ashraf, M. & Foolad, M.R. (2007). Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany*, 59, 206-216.
- Bailly, C., Benamar, A., Corbineau, F. & Dome, D. (1996). Changes in malondialdehyde content and in superoxide dismutase, catalase and glutathione reductase activities in sunflower seed as related to deterioration during accelerated aging. *Physiologia Plantarum*, 97, 104-110.
- Bates, L. S., Waldern, R. P. & Teave, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*, 39, 205-207.
- Bohnert, H. J. & Jensen, R. G. (1996). Strategies for engineering water-stress tolerance in plants. *Trends in Biotechnology*, 14, 89-97.
- Bradford, M. A. (1976). Rapid and sensitive method for the quantitation of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Annual Review of Biochemistry*, 72, 248-254.
- Cakmak, I., Kalayci, M., Ekis, H., Brauni, J., Kilinc, Y. & Yilmaz, A. (1999). Zn deficiency as a practical problem in Plant and human nutrition in Turkey: a NATO-science for stability project. *Field Crops Research*, 60, 175-188.
- Chaves, M. M., Pereira, J. S., Maroco, J., Rodrigues, M. L., Ricardo, C. P. P., Osório, M. L., Carvalho, I., Faria, T. & Pinheiro, C. (2002). How plants cope with water stress in the field. Photosynthesis and growth. *Annals of Botany*, 89, 907-916.
- Claussen, W. (2005). Proline as a measure of stress in tomato plants. *Plant Science*, 168, 241-248.
- Close, T. J. & Chandler, P. M. (1990). Cereal dehydrins: Serology, gene mapping, and potential functional roles. *Australian Journal of Plant Physiology*, 17, 333-344.
- De Vos, C., Schat, H. M., De Waal, M. A., Vooijs, R. & Ernst, W. (1991). Increased to copper-induced damage of the root plasma membrane in copper tolerant silene cucubalus. *Plant Physiology*,

- 82, 523-528.
13. Dewal, G. S. & Pareek, R. G. (2004). Effect of phosphorus, sulphur and zinc on growth, yield and nutrient uptake of wheat (*Triticum aestivum*). *Indian Journal of Agronomy*, 49, 160-162.
 14. Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A. & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28, 350-356.
 15. Farooq, M., Basra, S. M. A., Wahid, A., Cheema, Z. A., Cheema, M. A. & Khaliq, A. (2008). Physiological role of exogenously applied glycinebetaine in improving drought tolerance of fine grain aromatic rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Agronomy and Crop Science*, 194, 325-333.
 16. Finkelstein, R. R. & Gibson, S.I. (2001). ABA and sugar interactions regulating development: Cross-talk or voices in a crowd. *Current Opinion in Plant Biology*, 5, 26-32.
 17. Greenway, H. & Munns, R. (1980). Mechanisms of salt tolerance in non-halophytes. *Annual Review of Plant Physiology*, \pm
 18. Han, B. & Kermod A. R. (1996). Dehydrin-like proteins in castor bean seeds and seedlings are differentially produced in responses to ABA and water-deficit-related stresses. *Journal of Experimental Botany*, 47, 933-939.
 19. Hernandez, J. A., Jimenez, J., Mullineaux, P. & Sevilla, F. (2000). Tolerance of pea (*Pisum sativum* L.) to long term stress is associated with induction of antioxidant defences. *Plant Cell and Environment*, 23, 853-862.
 20. Kabata-Pendias, A. & Pendias, H. (1999). *Biogeochemistry of trace elements*. PWN, Warsaw, Poland, pp: 398.
 21. Keller, F. & Ludlow, M. M. (1993). Carbohydrate metabolism in drought-stressed leaves of pigeon pea (*Cajanus cajan*). *Journal of Experimental Botany*, 44, 1351-1359.
 22. Kraus, T. E, Mckersie, B. D. & Fletcher, R. A. (1995). Paclobutrazole induced tolerance of wheat leaves to paraquat may involve antioxidant enzyme activity. *Journl of Plant Physiology*, 145, 570-576.
 23. Massoud, A. M., Abou Zeid, M. Y. & Bakry, M. A. (2005). Response of Pea plants grown in silty clay soil to micronutrients and Rhizobium incubation. *Egyptian Journal of Applied Science*, 20,329-346.
 24. McNeil, S. D., Nuccio, M. L. & Hanson, A. D. (1999). Betaines and related osmoprotectants. Targets for metabolic engineering of stress resistance. *Plant Physiology*, 120, 945-949.
 25. Millard, P. (1988). The accumulation and storage of nitrogen by herbaceous plants. *Plant Cell and Environment*, 11, 1-8.
 26. Mohsenzadeh, S., Malboobi, M. A., Razavi, K. & Farrahi-Aschtiani, S. (2006). Physiological and molecular responses of *Aeluropus Lagopides* (Poaceae) to water deficit. *Environmental and Experimental Botany*, 56, 314-322.
 27. Morgan, J. M. (1984). Osmoregulation and water stress in higher plants. *Annual Review Of Plant Physiology*, 35, 299-319.
 28. Mundree, S. G., Baker, B., Mowla, S., Peters, S., Marais, S., Wilingen, C. V., Govender, K., Maredza, A., Muyanga, S., Farrant, J. M. & Thomson, J. A. (2002). Physiological and molecular insights into drought tolerance. *African Journal of Biotechnology*, 1, 28-38.
 29. Nasr, H. G., Kathuda, N. & Tannir, L. (1978). Effect of N fertilizer and population rate-spacing on safflower, yield and other characteristics. *Agronomy Journal*, 70, 683-685.
 30. Pastori, G. M. & Trippi, V. S. (1992). Oxidative stress induces high rate of glutathione reductase synthesis in a drought-resistant maize strain. *Plant Cell Physiology*, 33, 957-961.
 31. Phutela, A., Jain, V., Dhawan, K. & Nainawatee, H. S. (2000). Proline metabolism under water stress in the leaves and roots of *Brassica junce* cultivars differing in drought tolerance. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 9, 35-39.
 32. Samarah, N., Mullen, R. & Cianzio, S. (2004). Size distribution and mineral nutrients of soybean seeds in response to drought stress. *Journal of Plant Nutrition*, 27, 815-835.
 33. Santos, C. V. & Caldeira, G. (1999). Comparative responses of *Helianthus annuus* plants and calli exposed to NaCl. I. Growth rate and osmotic adjustment in intact plants and calli. *Journal of Plant Physiology*, 155, 769-777.
 34. Selote, D. S. & Khana-Chopra, R. (2004). Drought-induced spikelet sterility is associated with an inefficient antioxidant defence in rice plants. *Physiologia Plantarum*, 121, 462-467.
 35. Shao, H. B., Chu, L. Y., Shao, M. A., Abdul Jaleel, C. & Hong-Mei, M. (2008). Higher plant antioxidants and redox signaling under environmental stresses. *Comptes Rendus De Biologie*, 331, 433-441.
 36. Shaw, B., Thomas, T. H. & Cooke, D. T. (2002). Responses of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) to drought and nutrient deficiency stress. *Plant Growth Regulation*, 37, 77-83.

37. Siddique, R. B., Hamid, A. & Islam, M. S. (2000). Drought stress effects on water relations of wheat. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 41, 35-9.
38. Sindahu, S. S. & Tiwari, R. S. (1996). Effect of micronutrients on yield and quality of onion. *Progressive Horticulture*, 25, 176-180.
39. Singh, D. P. & Riwari, R. S. (1996). Effect of micronutrients on yield and quality of onion (*Allium Cepa* L.) variety pusa Red. *Recent Horticulture*, 3(1), 111-117.
40. Sun, B., Jing, Y., Chen, K., Song, L., Chen, F. & Zhang, L. (2007). Protective effect of nitric oxide on iron deficiency-induced oxidative stress in maize (*Zea mays*). *Journal of Plant Physiology*, 164, 536-543.
41. Wang, S. H., Yang, Z. M., Yang, H., Lu, B., Li, S. Q. & Lu, Y. P. (2004). Copper-induced stress and antioxidative responses in roots of *Brassica juncea*. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 45, 203-212.
42. Zhang, C. F., Hu, J., Lou, J., Zhang, Y. & Hu, W. M. (2007). Sand priming in relation to physiological changes in seed germination and seedling growth of waxy maize under high salt stress. *Seed Science and Technology*, 35(3), 733-738.