نشریه پژوهشهای زراعی ایران
جلد ۹، شماره ۴ ، سال ۱۳۹۰، ص ۶۱۴-۶۰۶

Iranian Journal of Field Crops Research
Vol. 9, No.4, 2012, p. 606-614

تأثیر پیش‌تیمار بذر با سالیسیلیک‌اسید بر برخی از ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک و عملکرد لوبیا چشم بلبلی (*Vigna unguiculata* L.) تحت تنش کم‌آبی

آرش پاکمهر [۱*]- مهدی راستگو [۲]- فرید شکاری [۳]- جلال صبا [۴]- اسماعیل زنگانی [۵]

تاریخ دریافت: ۱۳۸۸/۱۰/۵
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۴/۲۹

چکیده

به منظور بررسی تأثیر پیش‌تیمار بذر با سالیسیلیک‌اسید بر برخی ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک و عملکرد لوبیا چشم‌بلبلی (*Vigna unguiculata* L.) رقم پرستو، تحت تنش‌کم آبی، آزمایشی در قالب طرح اسپلیت بلوک با سه تکرار در سال زراعی۱۳۸۸-۱۳۸۷در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه زنجان انجام شد. تیمارهای‌آزمایشی شامل آبیاری به عنوان عامل اصلی در ۲ سطح (آبیاری کامل- تنش‌کم‌آبی در زمان گلدهی) و پرایمینگ با سالیسیلیک‌اسید، به عنوان عامل فرعی در پنج سطح، شامل سطوح صفر،۹۰۰، ۱۸۰۰، ۲۷۰۰ و۳۶۰۰ میکرومول بود. نتایج حاصل از تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه نشان داد که اثر آبیاری بر روی تمام صفات، به استثنای ارتفاع گیاه معنی‌دار است، ولی اثر سالیسیلیک‌اسید بر روی کلیه صفات معنی‌دار شد. مقایسات میانگین صفات مورد بررسی نشان داد که محتوای نسبی‌آب، بیوماس و عملکرد دانه در شرایط تنش‌کم آبی در مقایسه با شرایط آبیاری کاهش، ولی محتوای پرولین و کربوهیدرات محلول افزایش یافت. این صفات در بذرهای پرایم شده با سالیسیلیک‌اسید به استثنای کربوهیدرات محلول، در مقایسه با بذرهای پرایم نشده افزایش یافت. بذرهای پرایم شده با دز۲۷۰۰ میکرومول سالیسیلیک‌اسید، پرولین بیشتری را به خود اختصاص دادند. این امر موجب تثبیت ساختارهای زیر سلولی مانند غشاء سلولی شد و به دنبال آن موجب افزایش محتوای نسبی آب شد. در نتیجه گیاهان حاصله از رشد بهتری برخوردار شدند و از تجمع کربوهیدرات محلول جلوگیری کردند. در کل این امر موجب افزایش بیوماس و عملکرد دانه لوبیا –چشم بلبلی در هر دو شرایط آبیاری و تنش‌کم آبی شد. همچنین، بین صفات مورد بررسی با عملکرد دانه همبستگی بالایی وجود داشت که در نهایت بذرهای پرایم شده با دز ۲۷۰۰ میکرومول سالیسیلیک‌اسید، بیشترین عملکرد دانه (۴۴۲۴ و ۳۴۳۷ کیلوگرم در هکتار به ترتیب در تیمار آبیاری و تنش‌کم آبی) را به خود اختصاص دادند.

واژه‌های کلیدی: لوبیاچشم بلبلی، سالیسیلیک‌اسید، پرایمینگ، تنش‌کم آبی

مقدمه

در محیط‌های طبیعی گیاهان دستخوش انواع تنش‌ها می‌شوند که اثرات منفی بر روی رشد آن‌ها دارند. دما، نور، آب قابل دسترس از جمله عوامل غیرزنده‌ای هستند که به طور موثر بر رشد گیاهان عالی اثر می‌گذارند. از میان این عوامل، خشکی بزرگترین عامل محدود کننده تولید محصولات کشاورزی است (۳۱). بنا به تعریف تنش خشکی به منزله کمبود آب درگیاه است و این وضعیت هنگامی ایجاد می‌شود که میزان تعرق از میزان جذب آب بیشتر باشد(۹). گیاهان به تنش خشکی در سطوح فیزیولوژیک، سلولی و مولکولی پاسخ می‌دهند. این پاسخ به گونه و ژنوتیپ گیاه (۲۹) طول دوره و شدت کمبود آب (۶) و سن و مرحله نموی آن (۴۸) بستگی دارد.

سالیسیلیک‌اسید یکی از ترکیبات فنولی است که در گیاهان تولید می‌شود. ترکیبات این گروه می‌توانند به عنوان تنظیم کننده رشد عمل کنند (۱). این ماده در گیاهان در مقادیر کم (میلی‌گرم بر گرم وزن تر یا کمتر) وجود دارد (۳۰)، که به فرم آزاد و گلیکوزیل نیز است (۲۱). سالیسیلیک‌اسید، بسته به غلظت بکاررفته بر روی گیاه، گونه، دوره رشدی و شرایط محیطی، تأثیرات متفاوتی را از نظر فرآیند های مختلف فیزیولوژیک نظیر شروع برخی فرآیندها و ممانعت برخی دیگر می‌گذارد (۲۰). پرایمینگ بذر با غلظت‌های بهینه هورمون‌های رشد

۱، ۳، ۴ و ۵- به ترتیب کارشناس ارشد، استادیار، استادیار و کارشناس ارشد گروه زراعت، دانشگاه زنجان
(*- نویسنده مسئول: Email: Arashpakmehr@gmail.com)
۲- استادیار گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

گیاهی به طور مؤثری موجب افزایش قابل توجه در جوانه‌زنی، رشد و عملکرد محصول در گونه‌های مختلف گیاهان زراعی در هر دو شرایط تنش و نرمال گردیده است (۲۲).

لوبیا چشم بلبلی (*Vigna unguiculata* L.) محصول زراعی مهمی است که بطور وسیعی در مناطق گرم آفریقا، آسیا و آمریکا رشد می‌کند و اغلب به عنوان گیاهی با سازگاری زیاد به دماهای بالا و خشکی در مقایسه با گونه‌های دیگرحبوبات، مورد توجه است (۱۲). طبق مطالعات انجام شده، اثبات شده است که لوبیا چشم بلبلی قادر به نگهداری پتانسیل آب برگی بالا یا محتوای رطوبت نسبی برگی بالا، طی تنش آبی است، بنابراین از پسابیدگی بافت جلوگیری می‌کند (۴۴).

هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی تأثیر پرایمینگ سالسلیک-اسید بر رابطه بین برخی خصوصیات فیزیولوژیکی و عملکرد لوبیا چشم بلبلی در تنش کم آبی در مرحله گلدهی است. تعیین غلظتی از پرایمینگ با سالسیلیک‌اسید نیز که می‌تواند تحمل به تنش خشکی را در مرحله گلدهی القاءکند، مد نظر بوده است.

مواد و روش ها

این آزمایش در سال زراعی ۱۳۸۸-۱۳۸۷ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه زنجان، در عرض شمالی ´۴۱ °۳۶، طول شرقی ´۲۷ °۴۸، و ارتفاع ۱۶۲۰متر از سطح دریا انجام شد. در این تحقیق از گیاه لوبیا-چشم بلبلی (*Vigna unguiculata* L.) رقم پرستو استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل آبیاری به عنوان عامل اصلی در ۲ سطح (آبیاری منظم- تنش‌کم‌آبی در زمان گلدهی) و پیش تیمار با مقادیر مختلف سالیسیلیک‌اسید، به عنوان عامل فرعی در پنج سطح (سطوح صفر،۹۰۰، ۱۸۰۰، ۲۷۰۰ و۳۶۰۰ میکرومول) بود. جهت انجام پرایمینگ پس از تهیه دزهای مختلف سالیسیلیک‌اسید، بذر لوبیا چشم بلبلی به مدت ۴ ساعت در دمای $4^{o}C$، تحت تاثیر تیمارهای مختلف این اسید قرار گرفتند. بذر در دمای اتاق به مدت ۴۸ ساعت خشک شد و پس از ضدعفونی با قارچ‌کش ویتاواکس، جهت کاشت به مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی منتقل گردید. آزمایش در قالب طرح اسپلیت بلوک با سه تکرار انجام شد. هر کرت شامل پنج ردیف کاشت به طول ۴ متر و با فاصله ۰/۵ متر بود. فاصله بین ردیف و روی ردیف‌های کاشت به ترتیب ۵۰ و ۱۰ سانتی متر در نظر گرفته شد. پس از کاشت بذر، آبیاری بوته‌ها هر ۷ روز یکبار انجام گرفت. پس از استقرار بوته‌ها در مراحل مختلف، نمونه برداری و جمع آوری داده ها انجام شد. پس از اعمال تنش در زمان گلدهی، از هر کرت ۵ بوته به طور تصادفی انتخاب و از محل برگ لپه‌ای تا انتهای بوته، برحسب سانتی‌متر با خط‌کش اندازه‌گیری شد. میانگین آن‌ها به عنوان ارتفاع بوته منظور شد. همزمان با اندازه‌گیری صفات دیگر فیزیولوژیک تعداد ۱۰ نمونه از برگچه های وسطی به صورت تصادفی برداشت شد. به این صورت که برگ‌ها بلافاصله بعد از جدا شدن از گیاه در داخل فویل آلومینیومی پیچیده و درون فلاسکی که حاوی نیتروژن مایع بود قرار گرفت تا تمام فعالیت‌های گیاهی در همان حال متوقف گردند. سپس نمونه‌ها در داخل نیتروژن مایع به آزمایشگاه منتقل گردید و تا زمان اندازه‌گیری در دمای $-80^{o}C$ نگهداری شد. محتوای پرولین آزاد در برگ‌ها بر اساس روش بیتز و همکاران (۸) تعین شد. به منظور تعیین میزان کربوهیدرات‌های محلول، از برگچه‌های وسطی، پس از اعمال تنش در زمان گلدهی نمونه‌گیری انجام شد. به این صورت که برگهای جدا شده، پس از انتقال به آزمایشگاه در آون $70^{o}C$ به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفتند و وزن خشک نمونه‌ها یادداشت شد. میزان قندهای محلول بر اساس روش هوبر و همکاران (۱۹) اندازه‌گیری شد. جهت اندازه‌گیری محتوای نسبی آب در ساعت ۱۰:۰۰ از برگ‌های شاخه اصلی ۴ بوته نمونه برداری انجام گرفت. برگ‌های جدا شده از هر بوته به طور جداگانه در کیسه های پلاستیکی قرار داده شد و برای جلوگیری از اتلاف آب، نمونه ها در داخل فلاسک یخ به سرعت به آزمایشگاه منتقل و وزن تر آنها اندازه گیری شد. سپس برگ ها در آب مقطر به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق و بدون نور جهت محاسبه وزن آماسیده، غوطه‌ور شدند و پس از آن به سرعت و با دقت کامل آب سطحی نمونه‌ها با دستمال کاغذی خشک و وزن آماس اندازه-گیری شد. در نهایت جهت اندازه‌گیری وزن خشک، نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای 70^{c} در آون قرار گرفت و محتوای نسبی آب برگ (RWC) بر طبق معادله ۱ محاسبه شد (۳۳).

$$RWC=[\text{وزن تر} - \text{وزن خشک}/\text{وزن آماس} - \text{وزن خشک}] \times ۱۰۰ \quad (۱)$$

پس از رسیدگی فیزیولوژیک بوته‌ها، از هر کرت فرعی ۱/۵ متر مربع از خطوط برداشت (پس از حذف حاشیه از طرفین) بوته‌ها کف بر شد و پس از خشک شدن در مقابل آفتاب، با ترازوی دقیق وزن کل بوته‌های هرکرت در مساحت برداشتی اندازه‌گیری و به عنوان عملکرد بیولوژیک در محاسبات منظور شد. سپس غلاف‌های کلیه بوته‌ها در سطح برداشتی کوبیده شده و دانه‌های بدست آمده با ترازوی دقیق توزین و به عنوان عملکرد دانه در واحد سطح ثبت گردید.

جهت آنالیز آماری داده‌های جمع آوری شده، از نرم افزارهای آماریMSTATC و SPSS استفاده شد و میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه شدند.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه در قالب طرح اسپلیت بلوک در جدول ۱ آمده است. اثر آبیاری بر روی صفات محتوای پرولین برگ، کربوهیدرات‌های محلول برگ، محتوای نسبی آب، بیوماس و عملکرد دانه معنی‌دار شد. ارتفاع بوته تحت تأثیر

سطوح آبیاری قرار نگرفت. احتمال دارد که این امر مربوط به زمان اعمال تنش خشکی مربوط باشد، زیرا بخش عمده‌ای از رشد و ارتفاع در مرحله رویشی انجام می‌گیرد. درنتیجه با توجه به اینکه تنش با شروع گلدهی اعمال شده است چنین نتیجه‌ای دور از انتظار نیست. همچنین، به گفته مراه (۲۶) رشد ساقه کمتر تحت تاثیر تنش خشکی قرار می‌گیرد، چون محتوای نسبی آب آن ممکن است فقط تا ۸۳ درصد کاهش یابد و این در حالی است که ممکن است محتوای آبی اندام‌های دیگر مثل برگ و ریشه، تا ۵۸ درصد کاهش یابد. گرزسیاک و همکاران (۱۴) نیز گزارش کردند که کاهش ارتفاع زمانی رخ می‌دهد که گیاه در طول مرحله رویشی در معرض خشکی قرارگیرد.

اثر سالیسیلیک‌اسید بر روی کلیه صفات مذکور معنی‌دار شد. مقایسه میانگین تیمارهای مورد آزمایش برای صفات مورد مطالعه در جدول‌های ۲ و ۳ آمده است. به منظور درک بهتر روابط بین صفات مختلف، ضرایب همبستگی ساده نیز بین صفات محاسبه شد (جدول‌های ۵ و۴).

ارتفاع گیاه

با توجه به جدول مقایسه میانگین‌ها (جدول۲)، بیشترین ارتفاع گیاه به بذرهایی مربوط بود که با دز ۲۷۰۰ میکرومول سالیسیلیک‌اسید پرایم شده بودند. پرایم با دز ۲۷۰۰، با بذرهای پرایم شده با دز۳۶۰۰ میکرومول سالیسیلیک‌اسید اختلاف معنی‌دار نداشتند، ولی اختلاف معنی‌داری را با بذرهای پرایم شده با دزهای ۱۸۰۰، ۹۰۰ و شاهد داشتند. کمترین ارتفاع گیاه به تیمار شاهد مربوط بود.

به گفته مراه (۲۶) در شرایط تنش خشکی ذخایر ساقه برای پر شدن کامل دانه لازم است و پتانسیل لازم برای ذخیره مواد در ساقه به طول ساقه بستگی دارد. ذخایر تجمع یافته در ساقه قبل از گرده-افشانی نیز می‌تواند در برخی از گیاهان برای پر شدن دانه، علاوه بر اسیمیلیت‌های حاضر مورد استفاده قرارگیرد، درنتیجه در بالا رفتن شاخص برداشت نقش داشته باشد (۱۰)، البته، این صفت به تنهایی نمی‌تواند تعیین کننده عملکرد باشد. سبحانی و چودهری (۴۵) گزارش کردند، گیاهانی که کاهش بیشتری در ارتفاع تحت تنش خشکی نشان می‌دهند به میزان بیشتری تحت تنش خشکی قرار می‌گیرند و ارتفاع گیاه می‌تواند به عنوان نوعی پاسخ به خشکی به عنوان معیاری، جهت تشخیص ژنوتیپ‌های متحمل از حساس و انتخاب آنها برای محیط‌های خشک مورد استفاده قرار گیرد (۴۹).

جدول ۱- تجزیه واریانس تأثیرپرایمینگ سالیسیلیک‌اسید بر صفات مورد مطالعه لوبیا چشم بلبلی تحت تنش‌کم آبی در زمان گلدهی.

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		ارتفاع گیاه	پرولین	کربوهیدرات محلول	محتوای نسبی آب	بیوماس	عملکرد دانه
تکرار	۲	۱۵۷/۲۳*	۳۷*	۰/۱۳۳**	۷۵۲/۲*	۱۱۱۰۹۰۴/۴ ns	۴۹۴۵۷/۹۲*
آبیاری (A)	۱	۲۳/۹۲	۱۷۷/۰۶**	۰/۰۱۴*	۲۰۳۷/۲*	۴۰۹۶۴۰۰/۰*	۶۷۲۳۵۷۷/۴۶**
اشتباه آزمایشی۱	۲	۹/۱۲۱	۰/۳۲	۰/۰۰۱	۴۳/۶	۱۱۳۳۸۰۷/۰۹	۷۱۴/۲۶
سالیسیلیک اسید(B)	۴	۹۲/۱۲۶*	۶/۴۲**	۰/۰۶۷**	۱۹۱/۵**	۳۲۸۴۰۶۰۰/۲**	۴۵۲۴۰۹۹/۹**
اشتباه آزمایشی۲	۶	۱۰/۷۲	۰/۵۵	۰/۰۰۵	۱۹/۹	۳۷۷۷۴۵۷/۲	۱۲۰۶۹/۷۴
اثر متقابل (A×B)	۴	۵/۴۲۷ ns	۳/۱۴**	۰/۰۰۱ ns	۱۰/۹ ns	۱۴۹۰۱۴۳/۷**	۱۹۷۳۸۲/۹۵*
اشتباه آزمایش کل۳	۸	۳/۱۴۹	۰/۲۸	۰/۰۰۶	۴/۸	۱۲۳۷۸۸/۰۶	۳۲۶۹۴/۱۵
ضریب تغییرات (٪)		۳/۴۸	۹/۳۰	۱۵/۶۵	۳/۰۴	۳/۷۹	۶/۶۶

ns ، * و**: به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۵ و ۰/۰۱ است.

جدول۲- مقایسه میانگین تأثیر سالیسیلیک‌اسید روی صفات اندازه‌گیری شده در لوبیا چشم بلبلی تحت تنش‌کم آبی در زمان گلدهی

سالیسیلیک‌اسید	ارتفاع گیاه	کربوهیدرات محلول	محتوای نسبی آب
۰	۴۵/۹۲c	۰/۶۳۸۳a	۶۵/۹۴d
۹۰۰	۴۸/۷۸b	۰/۵۸۳۳ab	۶۹/۰۹c
۱۸۰۰	۵۰/۶۰b	۰/۳۹۶۷d	۷۵/۳۱b
۲۷۰۰	۵۵/۵۳a	۰/۴۱cd	۸۰/۴۸a
۳۶۰۰	۵۴/۱۹a	۰/۵۰۸۳bc	۷۱/۲۶c

* میانگین‌ها با حروف مشابه در هر ستون، در سطح احتمال ۵ ٪ بر اساس آزمون دانکن اختلاف معنی دار ندارند.

در برخی‌گونه‌های گیاهی، پرایمینگ بذر با مواد رشدی، نشان داده است که اثرات مضر تنش را روی رشد و عملکرد نهایی، تخفیف می‌دهد. به عنوان مثال، پرایمینگ بذر گندم با سالیسیلیک‌اسید، ارتفاع بوته، وزن خشک و تر ساقه و برگ‌ها را در شرایط خشکی افزایش می‌دهد. همچنین، زمانی که بذرهای گندم در استیل سالیسیلیک‌اسید خیسانده شوند، گیاهان مقاومت بهتری به تنش خشکی نشان می‌دهند (۱۶). خیساندن در ۱۰۰ppm استیل سالیسیلیک‌اسید، برای ۶ ساعت قبل از کاشت، نه تنها تاثیرات ممانعت کنندگی خشکی را کاهش می‌دهد، بلکه تاثیر تحریک کنندگی نیز بر افزایش وزن خشک، قسمت‌های هوایی و ریشه‌ها دارد (۱۵).

با توجه به جدول مقایسه میانگین‌ها به نظر می‌رسد، دزهایی از تیمارهای سالیسیلیک‌اسید، که موجب افزایش ارتفاع گیاه در شرایط نرمال و خشکی گشته‌اند، در نهایت می‌توانند عملکرد بهتری تولید کنند. زیرا مقدار قندهای ساقه که در شرایط تنش در مرحله پر شدن به دانه، جهت جبران فتوسنتز محدود شده انتقال می‌یابند، به ارتفاع گیاه بستگی دارد و کوتاه بودن ارتفاع می‌تواند این مورد را محدود کند (۴۶). مطابق جدول۴، همبستگی مثبتی بین ارتفاع گیاه با عملکرد دانه در هر دو شرایط نرمال ($r_{=}$۰/۶۰) و تنش ($r_{=}$۰/۶۲) مشاهده می‌شود.

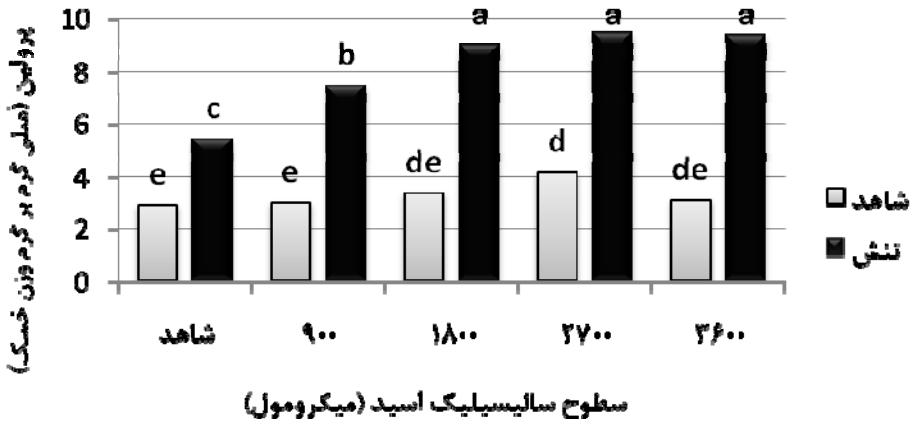
محتوای پرولین برگ

همانطوری که در شکل ۱ مشاهده می‌شود. بذرهای پرایم شده با دز ۲۷۰۰ میکرومول سالیسیلیک‌اسید، بیشترین میزان محتوای پرولین برگی را در شرایط تنش آبی دارا بودند و با بذرهای پرایم شده با دزهای۱۸۰۰ و ۳۶۰۰ میکرومول اختلاف معنی‌دار نداشتند. کمترین میزان محتوای پرولین برگی به تیمار شاهد در شرایط آبیاری مربوط بود که با بذرهای پرایم شده با دز ۹۰۰ میکرومول سالیسیلیک‌اسید، اختلاف معنی‌داری را نشان نداد.

اسید آمینه پرولین جزء ترکیبات تنظیم کننده اسمزی به شمار می‌رود و تجمع آن در بافت یکی از بیشترین تغییرات القاء شده ناشی از تنش آبی یا شوری در گیاهان است (۱۷). برای تجمع پرولین در گیاه به هنگام تنش خشکی دلایل مختلفی ارایه شده است. برخی آن را به اثر تنظیمی آبسزیک‌اسید بر فرآیندهای نوری در متابولیسم پرولین (۳۴) و برخی آن را به وجود ترکیبات پر انرژی حاصل از فتوسنتز که سبب تحریک سنتز پرولین می‌شود، نسبت می‌دهند (۴۷). در تحقیق سانچز و همکاران (۳۵) نیز میزان افزایش پرولین بر اثر تنش خشکی در نخود فرنگی بین ۴ تا ۴۰ برابر گزارش شد، ولی ارتباط معنی‌داری بین افزایش پرولین و تنظیم اسمزی مشاهده نشد. در این بررسی نقش پرولین تخفیف خسارت پسابیدگی بوده است.

باندورسکا و استرونیسکی (۷) بیان کردند که تیمار گیاه با سالیسیلیک‌اسید، محتوای آبسزیک‌اسید در برگهای ژنوتیپ‌های مطالعه شده جو (*Hordeum spontaneum* و *Hordeum maresi*) را افزایش می‌دهد. افزایش در سطح پرولین فقط در *H.spontaneum* مشاهده شده بود. درنتیجه، آن‌ها اظهار کردند که آبسزیک‌اسید و پرولین ممکن است، به توسعه واکنش‌های ضد تنشی القاء شده بوسیله سالیسیلیک‌اسید کمک کنند.

در این تحقیق نیز اعمال تنش‌کم آبی در زمان شروع گلدهی، غلظت پرولین برگ را به طورمعنی‌داری افزایش داده است (جدول۳)، افزایش غلظت پرولین تحت تنش ممکن است نشان دهنده نقش احتمالی این اسید آمینه در مقاومت به تنش خشکی باشد. بعلاوه، تجمع پرولین ممکن است، به توسعه واکنش‌های ضد تنشی القاء شده بوسیله سالیسیلیک‌اسید و زنده مانی گیاه در دوره‌های کوتاه خشکی کمک کند (۳۵). همچنین، همبستگی مثبتی بین محتوای پرولین برگی با عملکرد دانه در شرایط تنش ($r_{=}$ ۰/۶۳۷) مشاهده می‌شود.



شکل۱- اثر متقابل سالیسیلیک اسید و تنش کم آبی بر محتوای پرولین برگ.

محتوای کربوهیدرات‌های محلول

با توجه به مقایسات میانگین (جدول۲)، گیاهان حاصله از بذرهای تیمار شاهد بیشترین قند برگی را دارا بود و از این لحاظ با بذور پرایم شده با دز ۹۰۰ میکرومول سالیسیلیک‌اسید اختلاف معنی‌داری نداشت. کمترین میزان قند به دز ۱۸۰۰ میکرومول سالیسیلیک‌اسید مربوط بود که از این لحاظ اختلاف معنی‌داری را با دز ۲۷۰۰میکرومول نداشت.

ریافت و سیگنالینگ قند در کنترل رشد و نمو در طول تمام مراحل زندگی گیاه که از جوانه‌زنی شروع می‌شود، درگیراست (۲۳). تغییرات کربوهیدرات‌ها بر اثر رابطه مستقیم آن‌ها با مسیرهای فیزیولوژیک مثل فتوسنتز، تنفس و انتقال اهمیت خاصی دارد. مقدار کلیه قندهای آزاد گیاهان تحت تنش در مراحل مختلف رشد (رویشی، بولتینگ و گلدهی) به طور معنی‌داری در مقایسه با گیاهان بدون تنش بالاتر است (۳۸). در تحقیق حاضر نیز اعمال تنش کم آبی موجب افزایش محتوای قند برگ گیاهان شد (جدول۳). این افزایش محتوای قند ممکن است از کاهش نیاز به مواد فتوسنتزی به دلیل کاهش رشد (۱۸) ناشی شده باشد.

آناندی و رانجوا (۴) بیان کردند که سطح قندها، نشاسته و فنول-ها در ارقام ماش (*Vigna mungo*) در پاسخ به تیمار سالیسیلیک‌اسید (۵۰–۱۰ میکرومول) کاهش می‌یابند. در تحقیق حاضر، شاید کم بودن محتوای قندهای محلول برگ، بذرهای پرایم شده با دزهای۱۸۰۰، ۲۷۰۰، ۳۶۰۰ میکرومول سالیسیلیک‌اسید، به دلیل تأثیر مطلوب این اسید در بهبود اثرات تنش و کاهش کمتر رشد در این تیمارها باشد. همچنین، مطابق جدول۴، همبستگی منفی بین محتوای قند محلول با بیوماس و عملکرد دانه در شرایط نرمال ($r_{=}$ −۰/۵۵) مشاهده می‌شود.

محتوای نسبی آب

در بین تیمارها، بذرهای پرایم شده با دز ۲۷۰۰ میکرومول سالیسیلیک‌اسید حداکثر محتوای نسبی‌آب را داشتند. بین بذرهای پرایم شده با دز ۹۰۰ و ۳۶۰۰ میکرومول سالیسیلیک‌اسید، اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. تیمار شاهدکمترین مقدار محتوای نسبی‌آب را نشان داد (جدول۲).

محتوای‌نسبی‌آب یکی از خصوصیات فیزیولوژیکی پاسخ دهنده به تنش خشکی است که همبستگی خوبی با تحمل به خشکی نشان می‌دهد (۱۱). کاهش پتانسیل آب مانع از تقسیم سلولی، رشد اندام، فتوسنتز خالص و سنتز پروتئین می‌شود و تعادل هورمونی بافت‌های اساسی گیاه را تغییر می‌دهد. بخوبی مشخص شده است که طی تنش‌هایی همچون تنش خشکی محتوای نسبی‌آب، پتانسیل آب برگ و پتانسیل اسمزی سلول‌ها کاهش می‌یابد (۲۴). آنیا و هرزوگ (۵) نیزگزارش کردند که طی استرس خشکی در لوبیا چشم‌بلبلی (*Vigna unguiculata* L.)، محتوای نسبی آب، کاهش می‌یابد. سینگ و اوشا (۴۳) بیان کردند که بذورگندم تیمار شده با سالیسیلیک‌اسید (۳–۱ میلی مول) محتوای رطوبتی بالاتری را در مقایسه با گیاهچه‌های تیمار نشده در شرایط نرمال و تنش نشان می‌دهد.

با توجه به مطالب بالا، نتایجی که در این تحقیق حاصل شده با نتایج محققان مطابقت دارد و اعمال تنش کم آبی در زمان شروع گلدهی، موجب کاهش محتوای نسبی آب برگ گیاهان می‌شود (جدول ۳).

جدول۳- مقایسه میانگین تأثیر سطوح آبیاری بر صفات مورد مطالعه لوبیا چشم بلبلی تحت تنش‌کم آبی در زمان گلدهی.

شرایط	پرولین	کربوهیدرات محلول	محتوای نسبی آب	بیوماس	عملکرد دانه
نرمال	۳/۳۰۷b	۰/۴۸۶b	۸۰/۶۵a	۱۰۴۵۶/۵a	۳۱۸۸/۸۷a
تنش	۸/۱۶۶a	۰/۵۲۸a	۶۴/۱۷b	۸۱۱۹/۴b	۲۲۴۲/۰۵b

* در هر ستون میانگین‌ها با حروف مشابه، در سطح احتمال ۵ ٪ بر اساس آزمون دانکن اختلاف معنی دار ندارند.

جدول٤- ضرایب همبستگی بین صفات اندازه‌گیری شده در لوبیا چشم بلبلی.

	ارتفاع گیاه		پرولین		کربوهیدرات محلول		محتوای نسبی آب		بیوماس		عملکرد	
	نرمال	تنش	نرمال	تنش	نرمال	تنش	نرمال	تنش	نرمال	تنش	نرمال	تنش
ارتفاع گیاه	۱											
پرولین	۰/۶۴**	۰/۸۰**	۱									
کربوهیدرات محلول	−۰/۱۳	−۰/۴۴	۰/۱۴	−۰/۴۳	۱							
محتوای نسبی آب	−۰/۱۱	۰/۱۹	۰/۱۷	۰/۳۴	۰/۱	−۰/۰۸	۱					
بیوماس	۰/۵	۰/۶۷**	۰/۳۸	۰/۷۰**	−۰/۵۵*	−۰/۳۲	۰/۵	۰/۵۶*	۱			
عملکرد	۰/۶*	۰/۶۲*	۰/۴۵	۰/۶۳*	−۰/۵۴*	−۰/۳۴	۰/۴۱	۰/۶۱*	۰/۹۷**	۰/۹۷**	۱	

* و**: به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۵ و ۰/۰۱ است.

در این تحقیق تنش آبی سبب کاهش محتوای نسبی آب در همه تیمارها شد. اختلاف در میزان این صفت ممکن است نشان دهنده تأثیر متفاوت تیمارها برای جذب آب از خاک و یا توانایی تلفات آب از طریق روزنه‌ها و یا اختلاف در توانایی گیاهان برای تجمع و تنظیم اسمزی برای حفظ تورژسانس بافت و افزایش فعالیت‌های فیزیولوژیک باشد. محتوای‌نسبی‌آب بالا نیز، توانایی‌گیاهان را برای تنظیم اسمزی و حفظ رشد در شرایط تنش آبی نشان می‌دهد. یکی دیگر از دلایل این مسئله، افزایش ذخایر آبی گیاه بوسیله استخراج زیاد آب در نواحی ریشه و یا افزایش طول ریشه برای افزایش ذخیره آب است. همچنین، مطابق جدول همبستگی (جدول۴) محتوای نسبی آب در شرایط تنش، همبستگی معنی‌داری را ($r_{=}$۰/۶۱) با عملکرد دانه داشت.

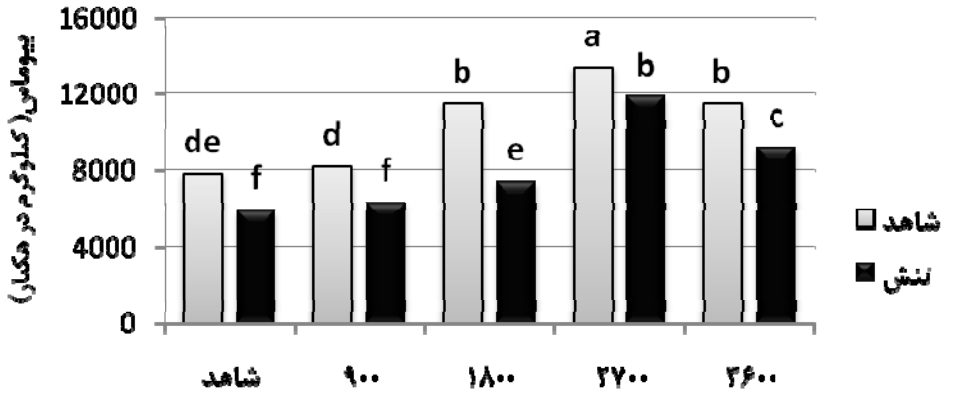
بیوماس

همانطوری که در شکل ۲ مشاهده می‌شود، بذرهای پرایم شده با دز ۲۷۰۰ میکرومول سالیسیلیک اسید، بیشترین بیوماس را در شرایط آبیاری دارا بودند و با بقیه تیمارها اختلاف معنی‌دار داشتند. کمترین بیوماس به تیمار شاهد و بذرهای پرایم شده با دز ۹۰۰ میکرومول سالیسیلیک‌اسید، در شرایط تنش آبی مربوط بود.

عملکرد دانه بسیاری از گیاهان در مقایسه با شاخص برداشت رابطه بسیار نزدیکی با تولید کل بیوماس دارد (۲). خشکی از جمله عواملی است که تولید بیوماس را به سبب جلوگیری از رشد گیاه محدود می‌کند (۳۶). حساسیت بیوماس به زمان وقوع خشکی بستگی دارد و این حساسیت درمراحل اولیه رشد نسبت به خشکی های دیررس بیشتر قابل مشاهده است (۲).کاهش در بیوماس کل توسط اوسبام و همکاران (۲۷) نیز ثابت شده است. ریگوبرتو و همکاران (۳۲) اظهار داشتند که در لوبیا ارقام برخوردار از عملکرد بالا، تجمع بیوماس بیشتری را نسبت به ارقام حساس در شرایط خشکی نشان می‌دهند و رابطه مثبت و بالایی بین تجمع بیوماس و عملکرد دانه مشاهده می‌شود. در مطالعه حاضر نیز رابطه مثبت و معنی‌داری بین بیوماس و عملکرد دانه در شرایط نرمال ($r_{=}$۰/۹۷۷) و تنش ($r_{=}$۰/۹۷۵) مشاهده شد.

کاربرد سالسیلات‌ها بر روی گیاهان، رشد قسمت‌های هوایی را در گونه‌های مختلف گیاهی، نظیر *Clitoria ternatea* که یک گیاه علوفه‌ای است، افزایش می‌دهد. همینطور، وقتی که این ماده برای گیاهان زینتی بکار برده شد، همواره بیوماس افزایش پیدا کرد (۲۵). فریدالدین و همکاران (۱۳) غلظت‌های متفاوت سالسلیک اسید را در گیاه خردل هندی (*Brassica juncea*) بکار بردند و افزایش بیشینه‌ای را در تجمع ماده خشک در غلظت 10^{-5}مولار مشاهده کردند، ولی غلظت های بالا، اثر بازدارندگی داشتند. در آزمایش‌های انجام شده با *Tagetes erecta* کشت شده در فضای آزاد، مشخص شد که در کنار خصوصیات گل، بیوماس قسمت‌های هوایی بطور چشمگیری با کاربرد غلظت های پایین سالیسیلیک‌اسید، افزایش می‌یابد (۳۷).

در مطالعه حاضر، اعمال تنش کم آبی در زمان شروع گلدهی، موجب کاهش بیوماس گیاه شد (جدول۳)، زیرا تنش خشکی تولید بیوماس را به سبب جلوگیری از رشد گیاه، محدود می‌کند (۳۶). ولی، از آنجاییکه پرایمینگ بذرها با سالیسیلیک‌اسید به بهبود رشد گیاهان در شرایط نرمال و خشکی منجر شده بود، درنتیجه بیوماس گیاهان پرایم شده تحت شرایط تنش کم آبی، کمتر کاهش یافت.که این یافته‌ها با نتایج بالا مطابقت کامل دارد.



شکل۲- اثر متقابل سالیسیلیک اسید و تنش کم آبی روی بیوماس.

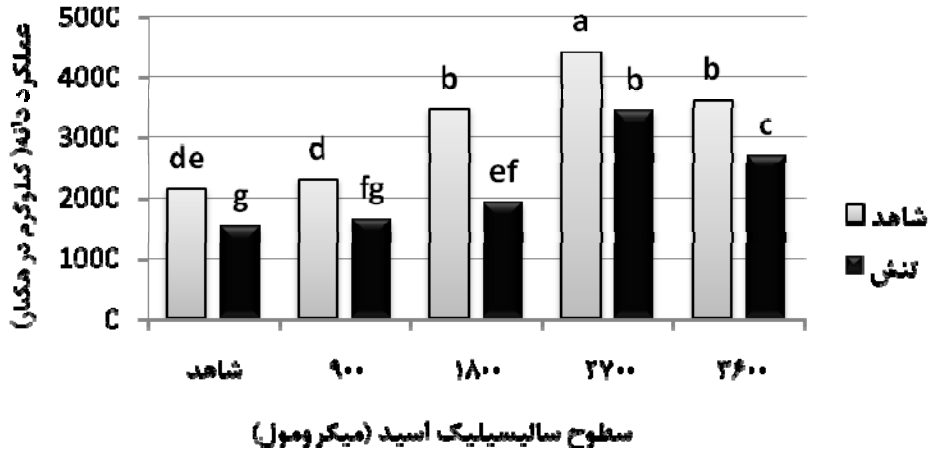
عملکرد دانه

همانطوری که در شکل ۳ مشاهده می‌شود، بذرهای پرایم شده با دز ۲۷۰۰ میکرومول سالیسیلیک‌اسید، بیشترین عملکرد دانه را در شرایط آبیاری دارا بودند و با بقیه تیمارها اختلاف معنی‌دار داشتند.کمترین عملکرد دانه نیز به تیمار شاهد و بذرهای پرایم شده با دز ۹۰۰ میکرومول سالیسیلیک‌اسید، در شرایط تنش آبی مربوط بود.

شکاری (۴۰) در بررسی صفات متحمل به خشکی در لوبیا اظهار داشت که بیشترین کاهش عملکرد دانه در مرحله گلدهی و پس از آن در مرحله غلاف بندی مشاهده می‌شود. کاهش عملکرد در مرحله گلدهی، می‌تواند به دلیل ریزش گل و سقط دانه‌های تازه تشکیل شده باشد. که این امر کاهش تعداد غلاف و در مرحله غلاف بندی کاهش وزن ۱۰۰ دانه را در بردارد. می‌باشد، همچنین، در مرحله گلدهی تنش آبی موجب می‌شود که طول دوره تشکیل اندام‌های زایشی برای غلاف‌های ایجاد شده در پایین ساقه، طولانی‌تر و برای غلاف‌های تشکیل شده در بالای ساقه کوتاهتر باشد. این امر بر روی وزن نهایی دانه‌ها تاثیر می‌گذارد و موجب کاهش وزن۱۰۰ دانه می‌گردد (۴۱).

پیش تیمار کردن بذر با هورمون‌های رشد گیاهی نه تنها جوانه‌زنی و سرعت سبز شدن، بلکه رشد و عملکرد نهایی گیاه را در شرایط نرمال و تنش افزایش می‌دهد (۳و۲۸). گیاهان تیمار داده شده با سالیسیلیک‌اسید، مستقل از غلظت آن (۳-۱ میلی مول) و سطح تنش آب، بطور معمول محتوای رطوبتی، وزن خشک، فعالیت کربوکسیلازی رابیسکویی، فعالیت سوپر- اکسید دیسموتاز و کلروفیل‌کل بالاتری را در مقایسه با گیاهچه‌های تیمار نشده نشان می‌دهند (۲۸و۴۳). در شرایط تنش آبی، تیمار سالیسیلیک‌اسید، فعالیت نیترات ریداکتاز را محافظت می‌کند و محتوای پروتئین و نیتروژن برگها را در مقایسه با گیاهچه‌هایی که در شرایط آب کافی بودند، نگه می‌دارد. نتایج به نقش سالیسیلیک‌اسید در تنظیم پاسخ به خشکی گیاهان دلالت می‌کنند. در کل، پیشنهاد می‌کنند که سالیسیلیک‌اسید می‌تواند بعنوان یک تنظیم کننده رشد بالقوه برای بهبود رشد گیاه در تنش آبی مورد استفاده واقع شود. سالیسیلیک‌اسید بطور موثری گیاهان گوجه فرنگی و لوبیا را بر علیه تنش خشکی، در غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۵ میلی‌مول، محافظت می‌کنند و در نهایت موجب افزایش رشد و عملکرد گیاهان در این شرایط می‌شوند (۳۹). در مطالعه حاضر نیز اعمال تنش کم آبی، موجب کاهش عملکرد لوبیا چشم بلبلی شده است، که با نتایج بالا مطابقت دارد (شکل۳).

به طورکلی، تنش کم آبی در مرحله گلدهی موجب ریزش گل‌ها، سقط دانه‌های تازه تشکیل شده، کاهش طول دوره تشکیل اندام‌های زایشی و درنتیجه کاهش تعداد غلاف می‌شود و در نتیجه موجب کاهش وزن ۱۰۰ دانه می‌گردد. همچنین، نتایج مقایسات میانگین‌ها نشان داد که بذرهای پرایم شده با دز ۲۷۰۰ میکرومول سالیسیلیک-اسید با ایجاد شرایط مناسب، از طریق افزایش ارتفاع گیاه، محتوای نسبی آب، محتوای پرولین و کاهش محتوای قندهای محلول موجب افزایش بیوماس و عملکرد دانه لوبیا چشم بلبلی در هر دو شرایط نرمال و تنش شد. همبستگی بالای بین صفات اندازه‌گیری شده با عملکرد دانه نیز تاییدی بر این گفته است.



شکل۳- اثر متقابل سالیسیلیک اسید و تنش کم آبی روی عملکرد دانه.

منابع

1- Aberg, B. 1981. Plant growth regulators XLI. Monosubstituted benzoic acid. Swed. J. Agric. Res. 11: 93–105.
2- Abid, H., M. R. Chadhary, A. Wajid, A. Ahmad, M. R. M. Ibrahim, and A. R. Goheer. 2004. Influence of water stress on growth, yield and radiation use efficiency of various wheat cultivars. Int. J. Agric. Bio. 6(6): 1074-1079.
3- Ahmad, A., I. Haque, and O. Aziz. 1995. Physiomorphological changes in triticale improved by pyridoxine applied through grain soaking. Acta Agron. Hung. 43, 211–221.
4- Anandhi, S., and M. P. Ramanujam. 1997. Effect of salicylic acid on black gram (*Vigna mungo*) cultivars. Ind. J. Plant Physiol. **2**: 138-141.
5- Anyia, A. O., and H. Herzog. 2004. Water-use efficiency, leaf area and leaf gas exchange of cowpeas under mid-season drought. Europ. J. Agron. 20: 327-339.
6- Araus, J. L., J. Casadesus, and J. Bort. 2001. Recent tools for screening of physiological traits determining yield. In: Application of physiology in wheat breeding. Reynolds, M. P., J. Ortiz-Monasterio, I., and A. Mcnab. (eds.). pp: 59-77.Mexico, D. F.: CIMMYT.
7- Bandurska, H., and A. Stroinski. 2005. The effect of salicylic acid on barley response to water deficit. Acta Physiol. Plant., 27: 379-386.
8- Bates, I. S., R. P. Waldern, and I. D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil. 39: 205-207.
9- Bray, A. E. 1997. Plant responses to water deficit. Trends in Plant Sci.,2:45-54.
10- Chaves, M. M., J. P. Maroco, and J. S. Pereira. 2003. Understanding plant responses to drought-from genes to the whole plant. Funct. Plant Biol. 30: 239-264.
11- Colom, M. R., and C. Vazzana. 2003. Photosynthesis and PSII functionality of drought-resistant and drought-sensitive weeping lovegrass plants. Environ. Exp. Bot. 49: 135-144.
12- Ehlers, J. D., and A. E. Hall. 1997. Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.). Field Crops Res. 53, 187–204.
13- Fariduddin, Q., S. Hayat, and A. Ahmad. 2003. Salicylic acid influences net photosynthetic rate, carboxylation efficiency, nitrate reductase activity and seed yield in *Brassica juncea*. Photosynthetica, 41: 281-284.
14- Grzesiak, M. T., A. Rzepka, T. Hura, K. Hura, and A. Skoczowski. 2007. Changes in response to drought stress of triticale and maize genotypes differing in drought tolerance. Photosynthet. 45 (2): 280-287.
15- Hamada, A. M. 1998. Effects of exogenously added ascorbic acid, thiamin or aspirin on photosynthesis and some related activities of drought-stressed wheat plants. In: Photosynthesis: Mechanisms and effects, G., Garab ed., Kluwer Acad. Publ., Dordrecht, Vol. 4 pp. 2581-2584.
16- Hamada, A. M., and A. M. A. Al-Hakimi. 2001. Salicylic acid versus salinity-drought induced stress on wheat seedlings. Rostl. Vyr., 47: 444-450.
17- Hasegawa, P. M., R. A. Bressan, J. K. Zhu, and H. J. Bohnert. 2000. Plant cellular and molecular responses to high salinity. Annual Rev Plant Physiol Plant Mol. Biol. 51: 463–499.
18- Hissao, T. 1973. Plant responses to water stress. Annu Rev. Plant Physiol., 24: 519-570.
19- Huber, S. C., and D. W. Israel. 1982. Biochemical basis for partitioning of photosynthetically fixed carbon between starch and sucrose in soybean (*Glycine max* Merr.) leaves. Plant Physiol. 69: 691-696.
20- Iqbal, M., M. Ashraf, A. Jamil and U. R. M. Shafiq, 2006. Does seed priming induce changes in the levels of some endogenous plant hormones in hexaploid wheat plant under salt stress? J. Integrative plant Biol., 48(2): 181-189.
21- Lee, H., J. León, and I. Raskin. 1995. Biosynthesis and metabolism of salicylic acid. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 92: 4076-4079.
22- Lee, S. S., J. H. Kim, S. B. Hong, S. H. Yuu, and E. H. Park. 1998. Priming effect of rice seeds on seedling establishment under adverse soil conditions. Korean J. Crop Sci. 43, 194–198.
23- Lopez-Molina, L., S. Mongrand, and N. H. Chua. 2001. A postgermination developmental arrest checkpoint is mediated by abscisic acid and requires the AB 15 transcription factor in *Arabidopsis*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 98: 4782–4787.
24- Ma, Q. Q., W. Wang, Y. H. LI, D. Q. Li, and Q. Zou. 2006. Alleviation of photoinhibition in drought-stressed wheat (*Triticum aestivum*) by foliar applied glycinbetaine. J. Plant Physiol. 163: 165-175.
25- Martin-Mex, R., and A. Larqué-Saavedra. 2001. Effect of salicylic acid in clitoria (*Clitoria ternatea* L.) bioproductivity in Yucatan, México. 28th Annual Meeting. Plant Growth Regulation Society of America. Miami Beach Florida, USA. July 1-5, 2001. p. 97-99.
26- Merah, O. 2001. Potential importance of water status traits for durum wheat improvement under Mediterranean conditions. J. Agric. Sci. Cambridge. 137: 139-145.
27- Osbame, S. L., J. S. Schepers, D. D. Franceis, and M. R. Schlemer. 2002. Use of spectral radiance to in- season biomass and grain yield in nitrogen and water- stressed corn. Crop Sci. 42: 165-171.
28- Pakmehr, A. 2009. Effect of priming by salicylic acid on morphological and physiological traits of cowpea (*Vigna unguiculata* L.) under water deficit. MSc thesis Faculty of Agriculture, Zanjan University.

29- Rampino, P., G. Spano, S. Pataleo, G. Mita, J. A. Napier, N. Di Fonzo, P. R. Shewry, and C. Perrotta. 2006. Molecular analysis of a durum wheat stay green mutant: Expression pattern of photosynthesis- related genes. J. Cereal Sci, 43: 160-168.
30- Raskin, I. 1992. Role of salicylic acid in plants. Ann. Rev. Plant Physiol Mol. Biol., 43: 439-463.
31- Reddy, A. R., K. V. Chaitanya., and M. Vivekananda. 2004. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. J. Plant Physiol, 161: 1189-1202.
32- Rigoberto, R. S., K .S. Josue, A. G. Jorge Alberto, T. L. Carlos, O. C. Joaquın, and J. D. Kelly. 2004. Biomass distribution, maturity acceleration and yield in drought-stressed common bean cultivars. Field Crops Res. 85: 203-211.
33- Ritchie, S. W., H. T. Nguyen, and A. S. Holaday. 1990. Leaf water content and gas exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. Crop Sci. 30: 105-111.
34- Rontein, D., G. Basset and A. D. Hanson. 2002. Metabolic engineering of osmoprotectant accumulation in plants. Metabolic Eng. 4: 49- 56.
35- Sanchez, F. J., M. Manzanarcs, R. F. Andres, J. L. Tcrnorio, L. De Ayerbe, and F. F. De Andres. 1998. Turgor maintenance, osmotic adjustment and soluble sugar and proline accumulation in 49 pea cultivars in response to water stress. Field Crop Res. 59: 225-235.
36- Sandor, D., M. Istvan, P. Judit, C. Agota, T. Réka, and M. Marta. 2006. Effects of drought on photosynthetic parameters and heat stability of PSII in wheat and in *Aegilops* species originating from dry habitats Acta Biologica Szegediensis http: //www.sci.u szeged.hu/ABS. 50(1-2): 11-17.
37- Sandoval-Yepiz, M. R. 2004. Reguladores de crecimiento XXIII: Efecto del acido salicilicoen la biomasa del cempazc̊hitl (*Tagetes erecta*). Tesis de Licenciatura. Instituto Tecnoĺgico Agropecuario, Conkal, Yucatan, México.
38- Saraker, A. M., M. S. Rahman, and N. K. Paul. 1999. Effect of soil moisture on relative leaf water content, chlorophyll, proline and sugar accumulation in wheat. J. Agron and Crop Sci. 183: 225-229.
39- Senaratna, T., D. Touchell, E. Bunn, and K. Dixon. 2000. Acetyl salicylic acid (Aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. Plant Growth Regul., 30: 157-161.
40- Shekari, F. 2001. Evaluation of common bean characters to drought stress tolerance. Final report of research project of Institute of Agricultural Physiology and Biotechnology of Zanjan University.
41- Shekari, F. 2006. Response of common bean to water shortage. Final report of research project of Institute of Agricultural Physiology and Biotechnology of Zanjan University.
42- Siddique, M. R. B., A. Hamid, and M. S. Islam. 2000. Drought stress effects on water relations of wheat. Bot.Bull.Acad.Sin.41:35-39.
43- Singh, B., and K. Usha. 2003. Salicylic acid induced physiological and biochemical changes in wheat seedlings under water stress. Plant Growth Regul., 39: 137-141.
44- Souza, R. P., E. C. Machado, J. A. B. Silva, A. M. M. A. Lagˆoa, and J. A. G. Silveira. 2004. Photosynthetic gas exchange, chlorophyll fluorescence and some associated metabolic changes in cowpea (*Vigna unguiculata*) during water stress and recovery. Environ and Exp. Bot. 51: 45–56.
45- Subhani, G. M. and M. A. Chowdhry. 2000. Correlation and path coefficient analysis in bread wheat under drought stress and normal conditions. Pak. J. Biol. Sci. 3(1):72-77.
46- Yang, J., J. Zhang, Z. Wang, Q. Zhu, and W. Wang. 2001a. Remobilization of carbon reserves in response to water-deficit during grain filling of rice. Field Crops Res. 71: 47-55.
47- Zhang, J., H. T. Nguyen and A. Blum. 1999. Genetic analysis of osmotic adjustment in crop plants. J. Exp. Bot. 50: 291- 302.
48- Zhu, X., J. Kandola, Z. Ghahramani, and J. Lafferty. 2005. Nonparametric transforms of graph kernels for semi-supervised learning. In L. K. Saul, Y. Weiss and L. Bottou (Eds.), Advances in Neural Information Processing Systems (nips) 17. Cambridge, MA: MIT Press.
49- Zou, G. H., H. Y. Liu, H. W. Mei, G. L. Liu, X. Q. Yu, M. S. Li, J. H. Wu, L. Chen, and L. J. Luo. 2007. Screening for drought resistance of rice recombinant inbred populations in the field. J. Integrative Plant Biol. 49: 1508-1516.