

## اثر نیتروژن معدنی بر تغییرات فلورسانس رنگدانه‌های فتوسنتزی یونجه تحت شرایط

### تنش خشکی

سارا صنایعی<sup>۱</sup>، علی عبادی<sup>۲</sup>، قاسم پرمون<sup>۳\*</sup> و لیلا قلیزاده<sup>۴</sup>

(۱) دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

(۲) دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

(۳) دانشجوی دکتری گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

(۴) دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه زراعت، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران.

\* نویسنده مسئول: Ghasem.parmoon@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۲/۰۴/۱۵

تاریخ پذیرش: ۹۲/۰۶/۱۷

### چکیده

به منظور بررسی اثر نیتروژن معدنی بر تغییرات فلورسانس رنگدانه‌های فتوسنتزی یونجه همدانی تحت شرایط خشکی، این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل، تنش خشکی در سه سطح ۳۵، ۶۰ و ۸۵ درصد ظرفیت زراعی و کود نیتروژن در چهار سطح بدون کود، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار بود. نتایج نشان داد، اثر بر همکنش نیتروژن در خشکی در سطح یک درصد بر غلظت کلروفیل a، کلروفیل کل و در سطح پنج درصد بر غلظت کلروفیل b، نسبت کلروفیل a به b و کارتنوئیدها معنی‌دار بود. با افزایش سطوح خشکی از میزان غلظت کلروفیل a، b، کل و کارتنوئیدها کاسته شد ولی نسبت کلروفیل a به b افزایش یافت. مصرف نیتروژن نیز موجب بهبود رنگدانه‌های فتوسنتزی گردید به طوری که غلظت کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل با مصرف نیتروژن افزایش و نسبت کلروفیل‌ها و میزان کارتنوئیدها کاهش پیدا کردند. کود نیتروژن بر فلورسانس بیشینه ( $F_m$ )، عملکرد کوانتومی ( $F_v/F_m$ ) در قبل از تنش و بر فلورسانس کمینه ( $F_0$ ) و ( $F_v/F_m$ ) در سه روز بعد از تنش و بر ( $F_v/F_m$ ) در یک هفته بعد از تنش تأثیر معنی‌داری داشت. تنش خشکی تنها بر ( $F_0$ ) و ( $F_m$ ) در سه روز بعد از تنش و بر ( $F_0$ ) و ( $F_v/F_m$ ) در یک هفته بعد از تنش تأثیر معنی‌داری داشت. کم‌ترین و بیش‌ترین میزان پروتئین به ترتیب در شرایط بدون مصرف نیتروژن (۴/۷۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و مصرف ۹۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار (۱۰/۰۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) حاصل شد. اثر متقابل نیتروژن در خشکی، روی ارتفاع ساقه و وزن خشک بوته نیز معنی‌دار بود. در شرایط تنش، ارتفاع ساقه و وزن خشک بوته کاهش پیدا نمود.

واژه‌های کلیدی: کلروفیل a، ارتفاع ساقه، یونجه، عملکرد کوانتومی.

## مقدمه

یونجه به دلیل عملکرد بالا، سازگاری با شرایط مختلف آب و هوایی، غنی بودن از نظر مواد غذایی و افزایش مقدار قابل توجه نیتروژن به خاک، از مهم‌ترین گیاهان علوفه‌ای است (کریمی، ۱۳۷۹). تنش‌های محیطی از مهم‌ترین عوامل تعیین کننده الگوهای پراکنش گیاهی در سطح جهان می‌باشند و تنش خشکی نیز به سهم خود تعیین کننده بخشی از این پراکنش می‌باشد. مقدار آب موجود در خاک برای رشد گیاه دارای یک حد بهینه است و چنانچه آب خاک از این حد کم‌تر یا بیش‌تر شود رشد گیاه را کاهش خواهد داد. در بخش وسیعی از جهان که در محدوده مناطق خشک و نیمه‌خشک قرار دارند، کمبود آب مهم‌ترین عامل محدود کننده رشد گیاهان و تولید محصول به حساب می‌آید (Mir-Hosseini, Kramer, 1994). کمبود آب در گیاه زمانی اتفاق می‌افتد که میزان تعرق بیش از مقدار جذب شده باشد (Kramer, 1983). از جمله تغییراتی که در نتیجه تنش خشکی حاصل می‌شود کاهش حجم سلولی، کاهش سطح برگ و افزایش ضخامت برگ است (Pessarkli, 1993). تنش خشکی منجر به کاهش محتوای نسبی آب، پتانسیل آب کل و کاهش رشد گیاهان می‌شود (Bajji et al., 2001). رشد برگ اولین فرآیندی است که به کمبود آب واکنش نشان می‌دهد و در نتیجه سطح برگ در گیاه کاهش می‌یابد (Paye, 2000). دلیل مهم کاهش سطح برگ در تنش خشکی نیز می‌تواند کاهش آماس سلولی باشد که موجب کاهش تقسیم سلولی و تمایز زودرس می‌شود (Mohr et al., 1995; Takebe et al., 1990). Wang و همکاران (۲۰۰۱) کاهش سطح برگ گیاه لوبیا را در شرایط تنش شوری و خشکی گزارش کردند. کاهش ماده خشک برگ در یونجه به دلیل ریزش و یا کاهش سطح آن‌ها بر اثر خشکی در منابع مختلف گزارش شده است (Hussein et al., 1990). Busso و همکاران (۱۹۹۸) گزارش کردند که رشد اندام هوایی یونجه نسبت به ریشه از حساسیت بیش‌تری به تنش آب برخوردار است. محتوای کلروفیل برگ‌ها یکی از عوامل کلیدی در تعیین شدت فتوسنتز و تولید ماده خشک می‌باشد (Ghosh et al., 2004). فتوسنتز که یکی از فرآیندهای مهم فیزیولوژیکی گیاه است، شدت آن در شرایط کم‌آبی کاهش می‌یابد (Gusegnova et al., 2006). کم‌آبی باعث ایجاد اختلال در سیستم‌های آنزیمی کاهش دهنده فعالیت اکسیژن فعال، افزایش پراکسیداسیون چربی‌ها و در نتیجه خسارت به غشای سلولی و تخریب رنگدانه‌ها می‌گردد، کاهش غلظت کلروفیل b و a تحت تنش خشکی در گیاه *Phragmites australis* و *Aeluropus lagopoides* نیز گزارش شده است (Pagter et al., 2005; Mohsenzade et al., 2006). به نظر می‌رسد کاهش غلظت کلروفیل تحت شرایط تنش به واسطه اثر کلروفیل‌از، پراکسیداز و ترکیبات فنلی و در نتیجه تجزیه کلروفیل باشد (Ahmadi and Ceiocemardeh, 2004). نیتروژن از مهم‌ترین عوامل محدودکننده تولید محصولات زراعی است. در شرایط مناسب محیطی که هیچ‌گونه تنش رطوبتی وجود ندارد گیاه از توان فتوسنتزی بالایی برخوردار است و مقدار زیادی ترکیبات

کربوهیدراتی را به ریشه ارسال و از این طریق انرژی مورد نیاز جهت تثبیت نیتروژن را فراهم می‌کند، درحالی‌که در شرایط تنش رطوبتی، فتوسنتز به دلیل بسته شدن روزنه‌ها، کاهش می‌یابد و در نتیجه کاهش فتوسنتز، ترکیبات کربوهیدراتی کم‌تری به ریشه ارسال می‌شود و انرژی مورد نیاز برای تثبیت نیتروژن تأمین نمی‌شود (Djekoun and Planchon, 1991). نیتروژن باعث افزایش فرآیندهای رشد، ارتفاع و عملکرد ماده خشک می‌شود و ترکیب اصلی پروتئین‌ها را تشکیل داده است (نصیری‌محللاتی و همکاران، ۱۳۸۰). کاهش تثبیت نیتروژن بر اثر تنش کم‌آبی می‌تواند نتیجه کاهش فتوسنتز و ساخت کربوهیدرات‌ها، کاهش فراوانی گره‌های ریشه و یا کاهش انتقال اکسیژن به گره‌ها باشد که سبب کمبود اکسیژن در گره‌ها و به دنبال آن کاهش فعالیت آنزیم نیتروژناز می‌شود (Gordon *et al.*, 1997). افزودن مقدار زیاد نیتروژن باعث کاهش نفوذ باکتری به تارهای کشنده ریشه، کاهش تعداد و توده گره و کاهش فعالیت تثبیت نیتروژن ریشه‌های گره‌دار و مقدار نیتروژن کل می‌شود (Englischam *et al.*, 1983). یکی از عوامل تنش خشکی بر فتوسنتز، کاهش میزان کارایی فتوسنتز از طریق افزایش فلورسانس کلروفیل است (وزان، ۱۳۸۸). به منظور تعیین وضعیت فیزیولوژی گیاه و میزان آسیب وارده به دستگاه فتوسنتزی از سنجش فلورسانس کلروفیل استفاده می‌شود (Lichtenthaler, 1992). کارکرد دستگاه فتوسنتزی را می‌توان از طریق اندازه‌گیری ( $F_v/F_m$ ) مورد بررسی قرار داد که نشان دهنده عملکرد کوانتومی مراکز واکنش فتوسیستم ۲ می‌باشد (Chen *et al.*, 2005). بسیاری از مطالعات نشان داده است که کاهش دسترسی به نیتروژن عملکرد کوانتومی انتقال الکترون فتوسیستم ۲ و حداکثر کارایی آن را کاهش می‌دهد، همچنین کمبود نیتروژن باعث تخریب فتوسیستم ۲ می‌شود (Conming and Zang, 2000). بر اساس گزارش وزان (۱۳۸۸) تنش خشکی موجب کاهش عملکرد کوانتومی ( $F_v/F_m$ ) در ژنوتیپ‌های مختلف چغندر قند شد. به نظر Yordanov و همکاران (۲۰۰۳) اگرچه فتوسیستم ۲ تا حد زیادی نسبت به خشکی مقاوم است، اما خشکی می‌تواند مانع انتقال الکترون در این فتوسیستم شود، از این رو کارایی فتوسنتز را کاهش داده و بر میزان فلورسانس کلروفیل می‌افزاید. Paknejad و همکاران (۲۰۰۷) نیز نتیجه گرفتند تنش خشکی موجب کاهش فلورسانس متغیر ( $F_v$ )، فلورسانس اولیه ( $F_o$ ) و عملکرد کوانتوم ( $F_v/F_m$ ) می‌شود. Pennypacker و همکاران (۱۹۹۰) گزارش دادند که یونجه‌های تحت تنش آبی کوتاه‌تر از گیاهان آبیاری مطلوب بودند و وزن خشک برگ و ساقه، زیست‌توده اندام‌های هوایی، پتانسیل آبی برگ، هدایت روزنه‌ای و پتانسیل اسمزی پایین‌تری داشتند. پژوهشگران دیگر نیز گزارش کرده‌اند که تنش آبی باعث کاهش وزن خشک اندام هوایی در گیاه می‌شود (Mrema *et al.*, 1997). دلیل این امر کاهش سطح برگ بوده که باعث کاهش دریافت نور و میزان فتوسنتز می‌شود (Ourcut and Nilsen, 2000). با افزایش میزان کود نیتروژنه سطح برگ افزایش یافت، ولی این افزایش تا محدوده مشخصی از کود نیتروژن دیده می‌شود. از آنجایی‌که متابولیسم نیتروژن (تثبیت، جذب و احیای آن) در شرایط تنش آسیب می‌بیند، هدف از

این مطالعه بررسی تأثیر مصرف معدنی نیتروژن بر تثبیت نیتروژن و هم‌چنین بررسی عوامل مؤثر بر فتوسنتز و تولید ماده خشک در طی تنش می‌باشد.

### مواد و روش‌ها

این پژوهش در بهار سال ۱۳۹۱ در آزمایشگاه و گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا گردید. تیمارها شامل تنش خشکی در سه سطح ۳۵ درصد، ۶۰ درصد و ۸۵ درصد ظرفیت زراعی و کود نیتروژن در چهار سطح بدون، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ کیلوگرم نیتروژن خالص (منبع اوره) بود. گره‌های یونجه‌هایی که قبلاً کاشته شده بودند (هدف مطالعه تثبیت نیتروژن توسط باکتری‌های بومی منطقه بود)، پس از شستشو با آب مقطر به مدت ۱۰ ثانیه در اتانول ۹۵ درصد و چهار دقیقه در محلول ۰/۲ درصد  $HgCl_2$  ضدعفونی شده و با آب مقطر استریل چند بار شسته شدند. از محیط  $YAM^1$  برای تکثیر باکتری استفاده شد. محیط کشت حاوی ۱۰ گرم مانیتول، ۰/۵ گرم عصاره مخمر، ۰/۵ گرم  $KH_2PO_4$ ، ۰/۲ گرم  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ، ۰/۱ گرم  $NaCl$  و ۲۰ گرم آگار بود که در یک لیتر آب مقطر حل و pH آن روی ۶/۸ تنظیم و در اتوکلاو استریل شدند. محیط‌های آغشته به باکتری در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور نگهداری و تکه‌هایی از کلونی‌ها به محیط کشت مایع (محیط کشت بالا بدون آگار) منتقل و در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. بذره‌های تلقیح شده در گلدان‌هایی با ۴ کیلوگرم خاک کاشته شد و پس از سبز شدن در هر گلدان به تعداد لازم نگهداری شد. کود نیتروژن به فرم اوره در دو نوبت هنگام کاشت و ابتدای گل‌دهی بر مبنای ۳۰، ۶۰ و ۹۰ کیلوگرم نیتروژن خالص محاسبه و به گلدان‌ها افزوده شد. ظرفیت زراعی خاک به روش وزنی تعیین شد و تیمارهای خشکی یک هفته بعد از اعمال تیمار کودی اول (هنگام کاشت) اعمال گردید. جهت آبیاری، هر بار گلدان‌ها توزین و با آب به حد ظرفیت زراعی رسانده می‌شد. نتایج آزمون تجزیه خاک در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱: نتایج تجزیه خاک مورد استفاده در آزمایش

بافت خاک	pH	شوری (دسی زیمنس بر متر)	کربن آلی (درصد)	میزان عناصر قابل جذب			درصد ذرات خاک		
				نیتروژن (پی. پی. ام.)	فسفر (پی. پی. ام.)	پتاسیم (پی. پی. ام.)	رس (درصد)	سیلت (درصد)	شن (درصد)
لومی	۷/۸۸	۰/۶۲۵	۰/۱۶۲	۰/۰۶	۸/۵	۱۷۰	۲	۱۴	۸۴

میزان شاخص سبزی‌نگی با دستگاه کلروفیل‌متر مدل SPAD-502 ساخت مینولتای ژاپن اندازه‌گیری شد. فلورسانس کلروفیل از انتهای‌ترین برگ کاملاً توسعه یافته با استفاده از دستگاه Chlorophyll Fluorometer مدل Optic Science- OS-30 USA صورت گرفت. در این روش در شرایط گلخانه‌ای با استفاده از گیره‌های مخصوص برگ گیاهان

<sup>1</sup> Yeast Agar Manitol

به مدت ۲۰ دقیقه با تاریکی سازگار شده و سپس میزان فلورسانس تیمارها در شدت نور ۱۰۰۰ میکرومول (فوتون) بر مترمربع در ثانیه مورد ارزیابی قرار گرفت.  $F_m$  (میزان فلورسانس حداکثر، بعد از تابیدن یک پالس نور اشباع بر روی گیاه سازگار شده به تاریکی)،  $F_0$  (میزان فلورسانس بعد از آن که روی گیاه سازگار شده به تاریکی یک پرتو تعدیل شده و ضعیف تابیده شد)، مقدار  $F_t$  (شدت فلورسانس پایه یا لحظه‌ای) و  $F_v/F_m$  میزان عملکرد کوانتومی فتوسیستم II مطابق رابطه ۱ محاسبه شد:

$$F_v / F_m = (F_m - F_0) / F_m \quad \text{رابطه ۱:}$$

برای سنجش غلظت کلروفیل از بافت تازه برگ استفاده شد. ۰/۲ گرم از بافت برگ با استن ۸۰ درصد به تدریج ساییده شد تا کلروفیل وارد محلول استنی شود و در نهایت حجم محلول با استن ۸۰ درصد به ۲۰ میلی لیتر رسانده شد. محلول حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ گردید و سپس جذب نوری محلول رویی در طول موج‌های ۴۷۰، ۶۴۵، ۶۶۳ نانومتر توسط اسپکتروفوتومتر قرائت شد. غلظت کلروفیل و کارتنوئیدها طبق روابط زیر به دست آمد (Arnon, 1967).

$$\text{Chlorophyll a} = (19.3 \times A_{663} - 0.86 \times A_{645}) V/100W \quad \text{رابطه ۲:}$$

$$\text{Chlorophyll b} = (19.3 \times A_{645} - 3.6 \times A_{663}) V/100W \quad \text{رابطه ۳:}$$

$$\text{Carotenoides} = 100(A_{470}) + 3.27(\text{mg chl. a}) - 104(\text{mg chl. b})/22 \quad \text{رابطه ۴:}$$

میزان پروتئین به روش Bradford (۱۹۷۶) اندازه‌گیری شد. ۰/۲ گرم بافت گیاهی را با ۰/۶ میلی لیتر بافر استخراج له کرده و به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۵۰۰ دور و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. سپس محلول رویی شناور در لوله‌های جدید ریخته شده و به مدت ۲۰ دقیقه در ۴۰۰۰ دور سانتریفیوژ شده و در نهایت محلول رویی برداشته شد. برای اندازه‌گیری میزان پروتئین ۱۰ میکرولیتر از عصاره به دست آمده را در ۵ میلی لیتر محلول برادفورد و ۲۹۰ میکرولیتر بافر استخراج افزوده و میزان جذب در ۵۹۵ نانومتر قرائت گردید. تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS و مقایسات میانگین‌ها با آزمون LSD صورت گرفت. برای تجزیه رگرسیونی نیز از نرم افزار SPSS و جهت رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

## نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس جدول‌های ۲ و ۳ نشان داد که اثر اصلی تنش خشکی در سطح یک درصد بر شاخص سبزیگی، غلظت کلروفیل b و کلروفیل کل و در سطح ۵ درصد بر غلظت کلروفیل a و کارتنوئیدها معنی‌دار بود. اثر اصلی نیتروژن نیز در سطح پنج درصد بر شاخص سبزیگی، کلروفیل a، کلروفیل کل، کارتنوئیدها و نسبت کلروفیل a به b معنی‌دار شد.

جدول ۲: تجزیه واریانس تأثیر تنش خشکی و مصرف نیتروژن بر شاخص‌های فتوسنتزی و میزان رشد بوته‌های یونجه

میانگین مربعات										
منابع تغییر	درجه آزادی	شاخص سبزینگی	غلظت کلروفیل a	غلظت کلروفیل b	غلظت کلروفیل کل	نسبت a/b	کارتنوئیدها	پروتئین	ارتفاع ساقه	وزن خشک اندام هوایی
تکرار	۲	۱۵/۴۵ <sup>ns</sup>	۰/۲۱*	۰/۰۶۵*	۰/۵۱*	۰/۰۷۷ <sup>ns</sup>	۰/۳۳ <sup>ns</sup>	۰/۵۱ <sup>ns</sup>	۲/۷۵ <sup>ns</sup>	۰/۰۱۹ <sup>ns</sup>
نیتروژن	۳	۷۷/۲۸*	۰/۲۲*	۰/۰۳۳ <sup>ns</sup>	۰/۲۱*	۰/۸۵۳*	۳/۱۱*	۴/۶۴*	۱۴/۵۸*	۰/۰۹۹ <sup>ns</sup>
خشکی	۲	۱۴۵۱/۸۳ <sup>ns</sup>	۰/۷۱ <sup>ns</sup>	۰/۱۹*	۱/۶۴ <sup>ns</sup>	۰/۱۷ <sup>ns</sup>	۱/۹۳*	۰/۰۶۳ <sup>ns</sup>	۱۰۵/۱۵ <sup>ns</sup>	۰/۰۴۵*
خشکی × نیتروژن	۶	۳۰۳/۴۱ <sup>ns</sup>	۰/۲۰ <sup>ns</sup>	۰/۰۴۹*	۰/۳۸ <sup>ns</sup>	۰/۳۵*	۲/۲۸*	۱/۷۳ <sup>ns</sup>	۳۲/۶۴ <sup>ns</sup>	۰/۱۳۱*
خطا	۲۲	۱۷/۰۵	۰/۰۲۵	۰/۰۱۷	۰/۰۵۷	۰/۱۸۰	۰/۶۸	۱/۱۳۱	۵/۱۵	۰/۰۴۲
ضریب تغییر (درصد)	-	۱۰	۷/۸۷	۱۶/۲۵	۸/۴۶	۱۶/۴۲	۱۰/۴۵	۲۴/۷۵	۱۰/۶۵	۱۳/۶۱

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

جدول ۳: تجزیه واریانس تأثیر تنش خشکی و مصرف نیتروژن بر روی عملکرد کوانتومی یونجه

میانگین مربعات										
منابع تغییر	درجه آزادی	قبل از تنش			سه روز بعد از تنش			یک هفته بعد از تنش		
		F <sub>0</sub>	F <sub>m</sub>	F <sub>v</sub> /F <sub>m</sub>	F <sub>0</sub>	F <sub>m</sub>	F <sub>v</sub> /F <sub>m</sub>	F <sub>0</sub>	F <sub>m</sub>	F <sub>v</sub> /F <sub>m</sub>
تکرار	۲	۱۹۶۲/۷۵*	۳۵۱/۴۴	۰/۱۰*	۳۹۴/۰۸ <sup>ns</sup>	۲۴۱۳۷/۶۹*	۰/۰۲ <sup>ns</sup>	۴۰۹/۶۹ <sup>ns</sup>	۳۴۹۹/۰۸	۰/۰۰۲
نیتروژن	۳	۵۳۹/۷۳ <sup>ns</sup>	۵۰۷۰۹/۹۶*	۰/۰۰۴*	۴۷۹/۵۰*	۵۵۱۱/۸۷ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۴*	۷/۲۱ <sup>ns</sup>	۵۹۱۶/۳۳ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۲*
خشکی	۲	۶۸/۵۸ <sup>ns</sup>	۱۲۶۵/۴۴ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۵ <sup>ns</sup>	۷۰۸/۲۰۵*	۳۰۳۳۱/۰۲*	۰/۰۰۰۳ <sup>ns</sup>	۶۴۵/۳۶*	۸۲۸/۰۸ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۲*
خشکی × نیتروژن	۶	۴۱۴/۸۵ <sup>ns</sup>	۱۷۰۰۴/۱ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۱ <sup>ns</sup>	۲۹۹/۱۵ <sup>ns</sup>	۹۳۴۱/۵۴ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰۲۵*	۲۸۱/۵۴ <sup>ns</sup>	۳۴۸۱/۸۸ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۱*
خطا	۲۲	۳۸۵/۵۳	۱۰۲۰۸/۹۵	۰/۰۰۱	۱۹۳/۶۲	۵۸۷۱/۳۵	۰/۰۰۰۰۹	۱۹۴/۴۸	۲۷۵۶/۴۴	۰/۰۰۰۵
ضریب تغییر (درصد)	-	۱۷/۷۳	۱۸/۵۱	۴/۲۶	۱۳/۰۷	۱۳/۷۶	۱/۲۰	۱۲/۵۵	۱۰/۶۱	۳/۰۲

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

F<sub>m</sub> (میزان فلورسانس حداکثر)، F<sub>0</sub> (میزان فلورسانس اولیه)، مقدار Ft (شدت فلورسانس پایه یا لحظه‌ای) و F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub> میزان عملکرد کوانتومی

اثر برهمکنش نیتروژن در خشکی نیز در سطح یک درصد بر شاخص سبزینگی، کلروفیل a، کلروفیل کل و در سطح پنج درصد بر کلروفیل b، نسبت کلروفیل a به b و کارتنوئیدها معنی‌دار شد. با افزایش سطوح خشکی از میزان کلروفیل a، کل و کارتنوئیدها کاسته شده ولی نسبت کلروفیل a به b و شاخص سبزینگی افزایش پیدا نمود. مصرف نیتروژن نیز موجب بهبود رنگدانه‌های فتوسنتزی گردید به طوری که میزان غلظت کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل با مصرف نیتروژن افزایش و نسبت کلروفیل a به b و میزان کارتنوئیدها کاهش پیدا کردند. بالاترین شاخص سبزینگی (۵۱/۴۰) از مصرف ۹۰ کیلوگرم نیتروژن در تنش ۳۵ درصد ظرفیت زراعی و بالاترین غلظت کلروفیل a (۱۶/۳۰) میلی‌گرم در گرم وزن تر) و کلروفیل کل (۳۱/۷۷) میلی‌گرم در گرم وزن تر) از مصرف ۹۰ کیلوگرم نیتروژن در ۶۵ درصد ظرفیت زراعی به دست آمد، این در حالی است که بالاترین نسبت کلروفیلها (۲/۸۴) و میزان کارتنوئیدها (۲۲۷/۷۳) میکروگرم در گرم وزن تر) از شرایط عدم تنش در سطوح پایین مصرف نیتروژن به دست آمد (جدول ۴).

محتوای کلروفیل برگ یکی از عوامل کلیدی در تعیین شدت فتوسنتز و تولید ماده خشک می‌باشد (Ghosh et al., 2004). در گیاهان تنش دیده کاهش معنی‌داری در محتوای کلروفیل a، b و کل دیده شد (Takamiya et al., 2000). یکی از دلایل کاهش کلروفیلها تخریب آنها به وسیله گونه‌های اکسیژن فعال می‌باشد (Navari-Izzo et al., 1990). کاهش فعالیت فتوسیستم ۲، کاهش فعالیت آنزیم روبیسکو و مهار سنتز ATP موجب می‌شوند تا اکسیژن یک پذیرنده

جایگزین برای الکترون‌های اضافی فتوسنتز باشد و تشکیل گونه‌های اکسیژن آزاد در کلروپلاست افزایش یابد (Lawlor and Cornic, 2002). بنابراین بیوسنتز کلروفیل با محدودیت مواجه می‌شود (Bybordi *et al.*, 2010). به نظر می‌رسد که افزایش مقدار کلروفیل بر اثر تنش ملایم به دلیل اثر افزایش وزن مخصوص برگ باشد. وقوع تنش سطح برگ را کاهش می‌دهد که ناشی از کاهش اندازه سلول است؛ بنابراین، در طی بروز تنش ملایم به دلیل وجود سلول‌های بیش‌تر در واحد وزن برگ، میزان کلروفیل نیز افزایش می‌یابد (Nonami *et al.*, 1997).

کود نیتروژن بر فلورسانس بیشینه ( $F_m$ )، عملکرد کوانتومی ( $F_v/F_m$ ) در قبل از تنش و بر فلورسانس کمینه ( $F_o$ ) و ( $F_v/F_m$ ) در سه روز بعد از تنش و بر ( $F_v/F_m$ ) در یک هفته بعد از تنش تأثیر معنی‌داری داشت، این در حالی است که خشکی تنها بر ( $F_o$ ) و ( $F_m$ ) در سه روز بعد از تنش و بر ( $F_o$ ) و ( $F_v/F_m$ ) در یک هفته بعد از تنش تأثیر معنی‌داری داشت. اثرات متقابل نیتروژن در خشکی تنها بر ( $F_v/F_m$ ) در سه روز و یک هفته بعد از تنش تأثیرگذار بود (جدول ۳). مصرف سطوح پایین نیتروژن موجب افزایش مقدار  $F_m$  و کاهش عملکرد کوانتومی در قبل از تنش گردید. این در حالی است که در سه روز بعد از تنش مصرف نیتروژن تنها موجب کاهش در ( $F_o$ ) شد. تنش خشکی هم در قبل از تنش تأثیر نداشته ولی در سه روز بعد از تنش موجب افزایش ( $F_o$ ) و  $F_m$  شد. این در حالی است که ( $F_o$ ) در یک هفته بعد از تنش با افزایش سطوح تنش کاهش پیدا کرد (جدول ۵). اثر متقابل نیتروژن در تنش تنها بر عملکرد کوانتومی در سه روز و یک هفته بعد از تنش دارای تأثیر معنی‌داری بود. به‌طوری‌که در سه روز بعد از تنش با افزایش سطوح تنش عملکرد کوانتومی روند افزایش داشته این در حالی است که در یک هفته بعد از تنش بالاترین عملکرد کوانتومی در ۶۵ درصد ظرفیت زراعی به دست آمد. مصرف نیتروژن هم موجب بهبود عملکرد کوانتومی گردید. اثر نیتروژن در شرایط بدون تنش بیش‌تر از شرایط تنش بوده که این امر می‌تواند به کاهش ظرفیت انتقال الکترون‌ها در طی تنش نسبت داده شود (جدول ۴).

به نظر Wilson و Greaves (۱۹۹۳) کاهش در فلورسانس حداکثر ( $F_m$ ) در شرایط تنش خشکی در اثر اکسیداسیون کم‌تر  $Q_A$  و واکنش‌های فتوشیمیایی باشد. نتایج وزان (۱۳۸۸) و Mohammadian و همکاران (۲۰۰۳) نیز نشان داد که فلورسانس حداکثر ( $F_m$ ) و عملکرد کوانتومی ( $F_v/F_m$ ) تحت شرایط تنش خشکی کاهش می‌یابد. اصولاً مقدار فلورسانس کلروفیل در زمانی که  $Q_A$  در حالت احیا باشد، زیاد است و به این دلیل مقدار فلورسانس متغیر ( $F_v$ ) نیز در این حالت زیاد می‌شود. اما هنگامی که  $Q_A$  در حالت اکسید باشد مقدار فلورسانس کلروفیل کم خواهد بود. در شرایط تنش،  $Q_A$  در حالت اکسایش است و می‌توان در جریان انتقال الکترون در واکنش مربوط به تجزیه آب در فتوسیستم ۲ اختلال ایجاد کرده و از طریق تأثیر بر دستگاه فتوسنتزی، میزان کارایی فتوسنتز خالص کاهش می‌یابد (Wilson and Greaves, 1993). کاهش سرعت پذیرش الکترون در گیرنده‌های فتوسیستم ۲ سبب کاهش پتانسیل عملکرد کوانتومی ( $F_v/F_m$ ) می‌شود (Sayed, 2003). بسیاری از مطالعات اعلام کردند کاهش دسترسی به نیتروژن عملکرد کوانتومی انتقال الکترون فتوسیستم ۲ و

حداکثر کارایی آن را کاهش می‌دهد، هم‌چنین کمبود نیتروژن باعث تخریب فتوسیستم ۲ می‌شود (Conming And Zang, 2000). با افزایش فلورسانس کارایی فتوسیستم و انتقال الکترون کاهش یافته و تأمین الکترون مورد نیاز برای تثبیت بیولوژیک نیتروژن با اختلال مواجه می‌گردد.

میزان پروتئین برگ‌ها نیز تحت تأثیر مصرف نیتروژن قرار گرفت به طوری که اثر اصلی نیتروژن در سطح یک درصد دارای تفاوت آماری معنی‌داری بود (جدول ۲). مقایسه میانگین‌ها نشان داد کم‌ترین و بیش‌ترین پروتئین بر به ترتیب در شرایط بدون مصرف نیتروژن (۴/۷۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و مصرف ۹۰ کیلوگرم (۱۰/۰۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) نیتروژن در هکتار حاصل شد (جدول ۴). برخی از پژوهشگران رکود سنتز پروتئین را به کاهش تعداد پلی‌زوم‌های سلولی نسبت داده‌اند (Creelman et al., 1990). پژوهش‌های متعددی نیز در مورد تأثیر کاهش پتانسیل آبی خاک پروتئین و رنگیزه‌های موجود در کلروپلاست صورت گرفته است. به عنوان مثال، تنش آبی سبب هیدرولیز پروتئین‌های تیلاکوئیدی می‌شود (Cornoy et al., 1988; Synerri et al., 1993). تجزیه پروتئین‌های کلروپلاستی منبع با ارزشی برای اشکال قابل تحرک نیتروژن به محض ورود به شرایط تنش است (Martin and Torres, 1992).

اثر برهمکنش نیتروژن در خشکی روی ارتفاع ساقه نیز معنی‌دار بود (جدول ۶). در طی تنش ارتفاع ساقه کاهش پیدا نموده و مصرف نیتروژن موجب بهبود رشد ساقه شد. بالاترین (۲۳/۵۰ سانتی‌متر) و پایین‌ترین (۱۶/۴۱ سانتی‌متر) ارتفاع ساقه به ترتیب از ۸۵ درصد ظرفیت زراعی در مصرف ۶۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار و ۳۵ درصد ظرفیت زراعی در مصرف ۶۰ کیلوگرم نیتروژن مشاهده شد (جدول ۶). افزایش ارتفاع بوته با کود دهی نیتروژن توسط Mishra و Srivastava (۲۰۰۰) در نعنای نیز گزارش شده است. Tuncturk و Yildirim (۲۰۰۴) نشان داد با افزایش مصرف نیتروژن، ارتفاع بوته گلرنگ افزایش یافت. Ahmad و همکاران (۲۰۰۶) بیان داشتند که کاربرد تدریجی کود نیتروژنه ارتفاع گیاه را در کلزا افزایش داد و بالاترین میزان آن در سطح کودی ۱۶۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار به دست آمد. زینلی و همکاران (۱۳۸۸) در خصوص اثر نیتروژن سرک بر روی ارتفاع بوته لوبیا چیتی نتیجه گرفتند که با افزایش مصرف نیتروژن، ارتفاع بوته لوبیا چیتی و عملکرد کاه و کلش به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد. با توجه به تجزیه رگرسیونی مشاهده می‌شود که میزان کلروفیل a و شاخص سبزی‌نگی دارای تغییرات معنی‌داری با ارتفاع ساقه می‌باشند (جدول ۷). تغییرات میزان کلروفیل a و شاخص سبزی‌نگی با ارتفاع ساقه به صورت معادله درجه سوم بود (شکل ۱). در بین عوامل مؤثر بر فلورسانس رنگدانه‌ها نیز تنها  $F_0$  در یک هفته بعد از تنش بر ارتفاع ساقه دارای تأثیر معنی‌دار بود و تغییرات  $F_0$  با ارتفاع ساقه از معادله درجه سوم تبعیت می‌کند (شکل ۱). به‌طور کلی، افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی موجب افزایش فتوسنتز و اختصاص بیش‌تر آسمیلات‌ها به ساقه جهت رشد بیش‌تر می‌باشد که این امر موجب افزایش ارتفاع ساقه یونجه شده است. فلورسانس رنگدانه‌ها با اثر بر فتوسنتز می‌تواند در ارتفاع بوته تأثیر داشته باشد.



جدول ۴: مقایسه میانگین اثر برهمکنش تنش خشکی در مصرف نیتروژن صفات اندازه‌گیری شده یونجه همدانی

تنش خشکی (FC)	سطح نیتروژن	شاخص سبزی‌نگی	غلظت		کلروفیل کل (mg. g <sub>FW</sub> )	نسبت a/b	کارتنوئیدها ساقه (mg. g <sub>FW</sub> )	ارتفاع خشک		F <sub>v</sub> /F <sub>m</sub>
			کلروفیل a (mg. g <sub>FW</sub> )	کلروفیل b (mg. g <sub>FW</sub> )				اندام هوایی (g)	سه روز بعد از تنش	
۸۵٪	۰ کیلوگرم	۲۵/۵۳	۱۵/۶۴	۱۴/۳۱	۲۹/۹۵	۱/۱۸	۲۲۷/۷۳	۲۳/۴۴	۶/۰۱	۰/۷۴۱
	۳۰ کیلوگرم	۲۳/۶۰	۱۷/۶۱	۷/۱۵	۲۴/۷۶	۲/۸۴	۲۱۰/۶۶	۲۱/۳۳	۷/۴۵	۰/۷۷۴
	۶۰ کیلوگرم	۳۶/۷۰	۱۴/۷۳	۱۴/۹۰	۲۹/۶۳	۱/۰۸	۱۹۶/۸۱	۲۳/۵۰	۶/۶۴	۰/۷۶۸
۶۰٪	۰ کیلوگرم	۴۶/۹۷	۱۵/۰۹	۱۶/۲۰	۳۱/۲۸	۰/۹۶	۲۰۲/۵۰	۲۱/۲۴	۶/۶۵	۰/۷۹۵
	۳۰ کیلوگرم	۴۳/۲۳	۱۵/۷۴	۹/۷۲	۲۵/۴۶	۲/۳۶	۱۹۲/۴۲	۲۱/۲۷	۳/۷۷	۰/۸۱۰
	۶۰ کیلوگرم	۳۹/۳۰	۱۴/۵۱	۱۴/۹۳	۲۹/۴۴	۰/۹۹	۱۸۰/۹۰	۲۲/۲۲	۴/۲۶	۰/۷۹۱
۳۵٪	۰ کیلوگرم	۴۳/۳۰	۱۴/۴۲	۱۶/۱۸	۳۰/۶۰	۰/۸۸	۲۱۰/۲۳	۲۰/۱۶	۵/۲۴	۰/۷۶۴
	۳۰ کیلوگرم	۴۶/۹۷	۱۶/۳۰	۱۵/۴۶	۳۱/۷۷	۱/۱۰	۲۱۳/۴۲	۲۸/۸۳	۵/۷۷	۰/۷۹۴
	۶۰ کیلوگرم	۵۰/۱۰	۱۴/۷۲	۹/۹۲	۲۴/۶۳	۱/۵۵	۲۰۰/۱۵	۱۸/۳۳	۴/۵۸	۰/۷۵۳
LSD (۰/۰۵)	۰ کیلوگرم	۵۱/۰۷	۱۶/۰۰	۱۲/۶۹	۲۸/۶۹	۱/۲۶	۲۰۶/۱۹	۱۹/۳۳	۴/۰۶	۰/۷۶۲
	۳۰ کیلوگرم	۵۰/۱۰	۱۳/۸۲	۱۱/۴۷	۲۵/۲۹	۱/۹۹	۱۷۴/۳۰	۱۶/۴۱	۳/۱۹	۰/۷۴۶
	۶۰ کیلوگرم	۵۳/۴۰	۱۴/۳۴	۱۴/۳۹	۲۸/۷۳	۱/۹۱	۱۹۲/۷۰	۱۹/۱۳	۶/۳۵	۰/۷۹۵
LSD (۰/۰۱)	-	۹/۱۲	۳/۱۸	۵/۷۷	۵/۲۳	۰/۹۷	۶۴/۱۴	۴/۱۱	۲/۷۷	۰/۰۳۸
LSD (۰/۰۱)	-	۱۰/۳۱	۶/۱۸	۷/۷۷	۸/۲۳	۱/۹۷	۶۴/۱۶	۴/۱۳	۲/۷۸	۰/۰۳۹

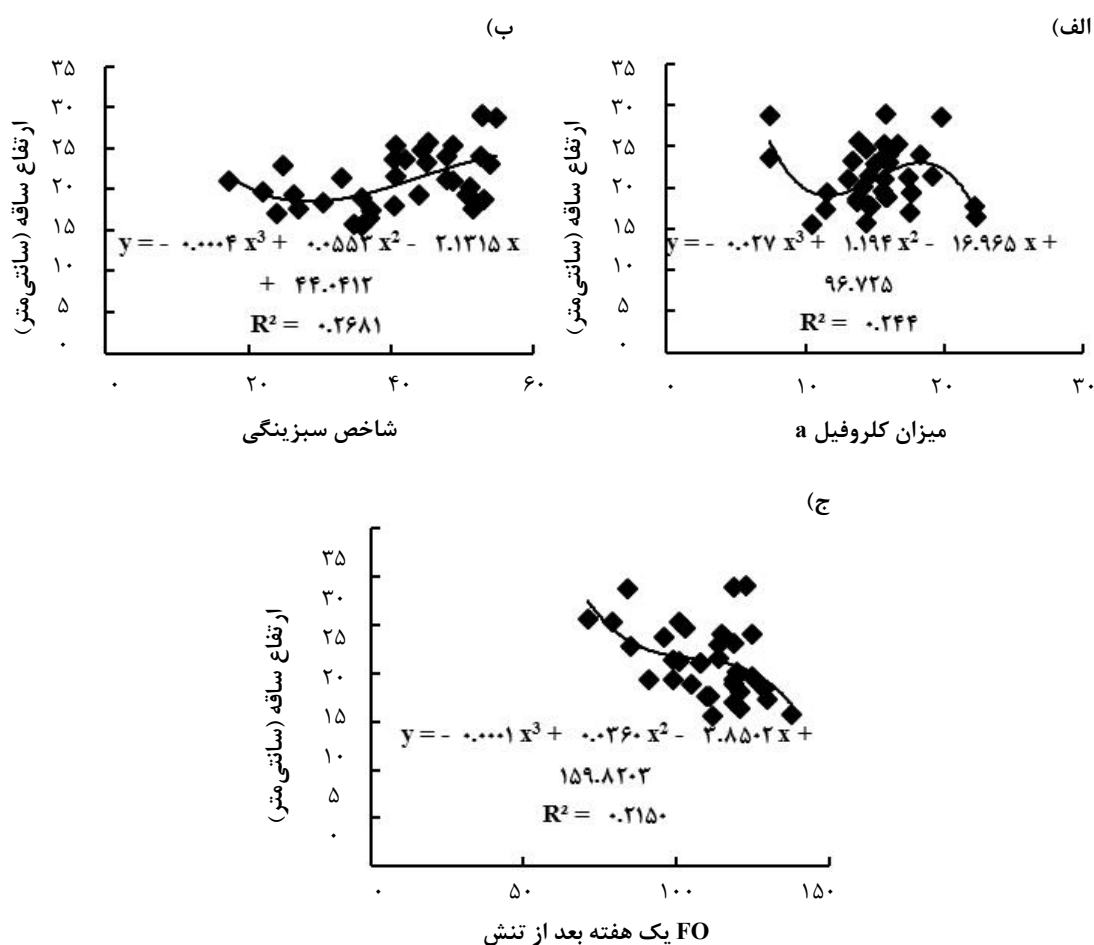
جدول ۵: مقایسه میانگین اثر اصلی تنش خشکی و مصرف نیتروژن بر فلورسانس رنگدانه‌های یونجه همدانی

تیمار	سطوح	قبل از تنش			سه روز بعد از تنش			یک هفته بعد از تنش		
		F <sub>o</sub>	F <sub>m</sub>	F <sub>v</sub> /F <sub>m</sub>	F <sub>o</sub>	F <sub>m</sub>	F <sub>v</sub> /F <sub>m</sub>	F <sub>o</sub>	F <sub>m</sub>	F <sub>v</sub> /F <sub>m</sub>
خشکی	۸۵٪	۱۰۵/۱۷	۵۵۶/۳۳	۰/۸۰۹	۹۸/۲۵	۵۰۲/۲۵	۰/۸۱۳	۱۱۵/۶۷	۵۰۱/۳۳	۰/۷۷۰
	۶۰٪	۱۰۹/۵۰	۵۴۵/۰۰	۰/۷۹۷	۱۰۷/۵۰	۵۶۵/۸۳	۰/۸۱۰	۱۰۲/۰۸	۴۹۷/۵۰	۰/۷۹۰
	۳۵٪	۱۰۵/۵۸	۵۳۸/۸۳	۰/۷۹۸	۱۱۳/۵۰	۶۰۱/۵۰	۰/۸۰۹	۱۱۳/۶۷	۴۸۵/۴۲	۰/۷۶۴
LSD (۰/۰۵)	-	۱۸/۶۹	۸۱/۶۳	۰/۰۳۶	۱۲/۲۲	۷۲/۴۵	۰/۰۱۵	۱۲/۲۲	۴۴/۷۳	۰/۰۱۹
LSD (۰/۰۱)	-	۲۵/۱۶	۱۳۴/۲	۰/۰۴۵	۱۸/۴	۱۰۱/۸	۰/۰۱۳	۱۸/۴۳	۶۹/۷۶	۰/۰۳۱
نیتروژن	۰ کیلوگرم	۱۰۱/۸۹	۵۵۸/۱۱	۰/۸۱۸	۱۱۰/۱۱	۵۳۳/۱۱	۰/۸۰۶	۱۰۹/۴۴	۴۴/۴۷۳	۰/۷۶۸
	۳۰ کیلوگرم	۱۰۸/۱۱	۶۰۵/۲۲	۰/۸۲۰	۱۱۴/۸۹	۵۹۱/۰۰	۰/۸۰۴	۱۱۱/۲۲	۴۹۷/۲۲	۰/۷۷۶
	۶۰ کیلوگرم	۹۹/۸۹	۴۳۶/۸۹	۰/۷۷۱	۹۹/۸۹	۵۵۵/۴۴	۰/۸۱۸	۱۱۱/۲۲	۴۷۸/۳۳	۰/۷۵۹
LSD (۰/۰۵)	-	۲۱/۵۸	۹۴/۲۶	۰/۰۴۲	۱۴/۱۱	۸۳/۶۵	۰/۰۱۲	۱۴/۱۱	۵۱/۶۵	۰/۰۲۲
LSD (۰/۰۱)	-	۲۱/۷	۱۱۶/۲۷	۰/۰۳۹	۱۶/۰۱	۸۸/۱۷	۰/۰۱۳	۱۵/۹۶	۶۰/۴۱	۰/۰۲۶

F<sub>m</sub> (میزان فلورسانس حداکثر)، F<sub>o</sub> (میزان فلورسانس اولیه)، مقدار Ft (شدت فلورسانس پایه یا لحظه‌ای) و F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub> میزان عملکرد کوانتومی

جدول ۶: مقایسه میانگین اثر اصلی تنش خشکی و نیتروژن بر شاخص‌های فتوسنتزی و رشد بوته‌های یونجه همدانی

تیمار	سطح	شاخص سبزی‌نگی	غلظت کلروفیل a (mg. g <sub>FW</sub> )	غلظت کلروفیل b (mg. g <sub>FW</sub> )	غلظت کلروفیل کل (mg. g <sub>FW</sub> )	نسبت a/b	کارتنوئیدها (μg. g <sub>FW</sub> )	پروتئین (mg. g <sub>FW</sub> )	ارتفاع ساقه (cm)	وزن خشک اندام هوایی (g.)
تنش خشکی	۸۵٪	۲۹/۴۳	۱۵/۷۷	۱۳/۱۴	۲۸/۹۱	۱/۵۱	۲۰۱/۴۳	۸/۲۴	۱۸/۳۰	۴/۶۹
	۶۰٪	۴۳/۲۰	۱۵/۲۴	۱۴/۰۷	۲۹/۳۱	۱/۳۳	۱۹۹/۲۵	۷/۵۵	۲۲/۳۸	۴/۰۱
	۳۵٪	۵۱/۱۷	۱۲/۷۲	۱۰/۱۲	۲۲/۸۴	۱/۶۸	۱۸۳/۳۳	۷/۸۷	۲۳/۱۲	۵/۶۹
LSD (۰/۰۵)	-	۶/۱۲	۳/۰۹	۳/۸۸	۴/۱۱	۰/۹۸۶	۳۲/۰۷	۲/۸۱	۲/۰۵	۱/۳۸
LSD (۰/۰۱)	-	۱۰/۵۱	۵/۰۱	۶/۳۳	۶/۵۵	۱/۵۷	۵۲/۵۲	۴/۴۴	۳/۳۵	۲/۱۹
نیتروژن	۰ کیلوگرم	۳۹/۶۲	۱۵/۳۷	۱۱/۳۱	۲۴/۶۸	۱/۶۹	۲۱۵/۷۶	۴/۷۹	۲۱/۰۱	۴/۵۹
	۳۰ کیلوگرم	۳۷/۹۹	۱۶/۰۴	۱۱/۵۹	۲۷/۶۳	۱/۷۵	۱۹۹/۲۵	۸/۲۳	۲۰/۹۶	۵/۲۶
	۶۰ کیلوگرم	۴۳/۳۷	۱۲/۳۲	۱۴/۱۸	۲۸/۵۱	۱/۳۲	۱۸۳/۷۸	۸/۴۵	۲۰/۰۲	۳/۸۸
LSD (۰/۰۵)	-	۵/۹۹	۳/۵۶	۴/۴۸	۴/۷۵	۰/۴۱	۳۷/۰۳	۳/۲۴	۲/۳۷	۱/۶۰
LSD (۰/۰۱)	-	۷/۶۷	۴/۳۴	۵/۴۸	۵/۶۷	۱/۳۶	۴۵/۴۸	۳/۸۵	۲/۹۰	۱/۸۹

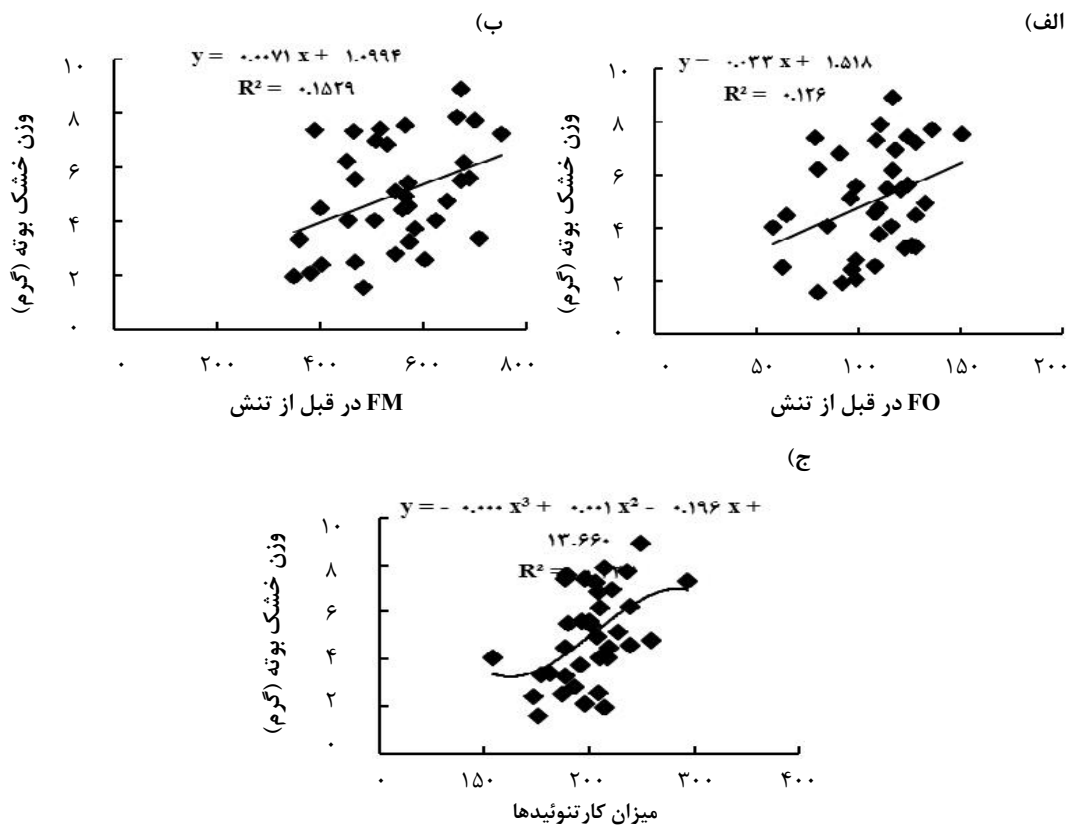


شکل ۱: تغییرات رگرسیونی میزان کلروفیل a (الف)، شاخص سبزینگی (ب) و FO (ج) با تغییرات ارتفاع ساقه یونجه

وزن خشک بوته نیز طی اثرات اصلی و متقابل نیتروژن و خشکی تغییرات معنی‌داری پیدا کرد (جدول ۴). مقایسه میانگین اثرات متقابل نشان داد، تنش موجب کاهش وزن خشک شده و مصرف نیتروژن موجب بهبود وزن خشک در طی تنش شد. بالاترین وزن خشک بوته (۷/۴۵ گرم) در شرایط بدون تنش با مصرف ۳۰ کیلوگرم نیتروژن و کم‌ترین وزن خشک بوته (۳/۱۹ گرم) در شرایط تنش ۳۵ درصد با مصرف ۶۰ کیلوگرم نیتروژن به‌دست آمد (جدول ۴). هم‌چنین تجزیه رگرسیونی نشان داد در بین رنگدانه‌های کمکی تنها میزان کارتنوئیدها و در بین عوامل فلورسانس رنگدانه‌ها  $F_m$  و  $F_o$  قبل از تنش با وزن خشک بوته تغییرات معنی‌داری داشتند (جدول ۸). تغییرات  $F_m$  و  $F_o$  با وزن خشک به‌صورت خطی و تغییرات کارتنوئیدها به‌صورت معادله درجه سوم بود (شکل ۲).

Kriedeman (۱۹۸۶) اظهار داشت که توسعه برگ منوط به طویل شدن سلول‌ها می‌باشد و مصرف کود نیتروژنه هم تعداد و هم طول سلول‌ها را افزایش می‌دهد. این که نیتروژن باعث افزایش وزن خشک برگ می‌شود را می‌توان چنین توجیه کرد که نیتروژن موجب افزایش رشد اجزای اندام‌های هوایی از جمله برگ بر اثر افزایش سطوح کودی و فراهم شدن زمان و شرایط کافی برای تجمع مواد فتوسنتزی در تولید برگ در کشت زود هنگام می‌شود که در نتیجه‌ی آن وزن تر و

خشک برگ افزایش می‌یابد. شهبازی هومونلو (۱۳۸۳) نتیجه گرفت که افزایش میزان مصرف کود نیتروژنه موجب افزایش وزن خشک برگ می‌شود. کاهش ماده خشک برگ در یونجه به دلیل ریزش و یا کاهش سطح آن‌ها بر اثر خشکی در منابع مختلف گزارش شده است (Hussein et al., 1990). Fishbeck و Philips (۱۹۸۱) دریافتند که نیتروژن مصرفی عملکرد، وزن خشک و غلظت نیتروژن یونجه را طی اولین چین افزایش داد، درحالی‌که مصرف کود با فاصله طولانی‌تر از زمان برداشت هیچ سودی نداشت.



شکل ۲: تغییرات رگرسیونی میزان  $F_0$  (الف)،  $F_m$  (ب) و میزان کارتنوئید (ج) با تغییرات وزن خشک بوته یونجه

جدول ۷: نتایج تجزیه رگرسیونی رنگیزه‌های فتوسنتزی بر ارتفاع ساقه و وزن خشک بوته یونجه

میانگین مربعات												
منابع درجه تغییر آزادی	ارتفاع ساقه			وزن خشک			نسبت b به a	نسبت b به a	نسبت b به a	نسبت b به a	نسبت b به a	نسبت b به a
	غلظت کلروفیل کل	غلظت کلروفیل b	غلظت کلروفیل a	غلظت کلروفیل کل	غلظت کلروفیل b	غلظت کلروفیل a						
رگرسیون خطی	۴/۹۳۲	۰/۰۱۳	۲/۱۷۶	۵/۵۵۹	۳/۱۱۴	۳/۱۱۴	۲/۱۷۶	۰/۰۱۳	۴/۹۳۲	۰/۰۱۳	۲/۱۷۶	۵/۵۵۹
درجه دوم	۲/۴۶۸	۶/۲۶۲	۲/۱۷۴	۳/۱۱۴	۳/۱۱۴	۳/۱۱۴	۲/۱۷۴	۶/۲۶۲	۲/۴۶۸	۶/۲۶۲	۲/۱۷۴	۳/۱۱۴
درجه سه	۲۷/۲۸۲	۸/۶۹۶ <sup>ns</sup>	۱/۹۵۶ <sup>ns</sup>	۳۸/۳۳*	۳۸/۳۳*	۳۸/۳۳*	۲۷/۲۸۲	۸/۶۹۶ <sup>ns</sup>	۲۷/۲۸۲	۸/۶۹۶ <sup>ns</sup>	۱/۹۵۶ <sup>ns</sup>	۳۸/۳۳*
باقی مانده												
رگرسیون خطی	۱۳/۷۳۱	۱۳/۸۷۵	۱۳/۸۱	۱۳/۷۱	۱۳/۷۱	۱۳/۷۱	۱۳/۷۳۱	۱۳/۸۷۵	۱۳/۷۳۱	۱۳/۸۷۵	۱۳/۸۱	۱۳/۷۱
درجه دوم	۱۴/۱۴۷	۱۳/۹۱۷	۱۴/۱۳	۱۴/۱۰	۱۴/۱۰	۱۴/۱۰	۱۴/۱۴۷	۱۳/۹۱۷	۱۴/۱۴۷	۱۳/۹۱۷	۱۴/۱۳	۱۴/۱۰
درجه سه	۱۲/۱۸۵	۱۳/۷۶۹	۱۴/۵۶	۱۱/۱۴	۱۱/۱۴	۱۱/۱۴	۱۲/۱۸۵	۱۳/۷۶۹	۱۲/۱۸۵	۱۳/۷۶۹	۱۴/۵۶	۱۱/۱۴

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

جدول ۸: نتایج تجزیه رگرسیونی فلورسانس رنگدانه‌های بر ارتفاع ساقه و وزن خشک بوته یونجه

میانگین مربعات																			
وزن خشک					ارتفاع ساقه					منابع	درجه	تغییرات	آزادی						
یک هفته بعد از تنش					سه روز بعد از تنش					قبل از تنش	یک هفته بعد از تنش	سه روز بعد از تنش	قبل از تنش						
Fv/Fm	Fm	Fo	Fv/Fm	Fm	Fo	Fv/Fm	Fm	Fo	Fv/Fm	Fm	Fo	Fv/Fm	Fm	Fo					
رگرسیون																			
۳/۲۸	۸/۸۱	۲/۸۸	۲/۰۷	۰/۰۱۹	۱/۴۳	۰/۱۳۸	۲۱/۰۳*	۱۷/۳۸*	۴۶/۷	۵/۴۱	۸۷/۴**	۰/۱۹۹	۷/۷۲	۱۱/۱۶	۰/۰۹۱	۱۰/۴۰	۱۵/۱۴	۱	خطی
۱/۶۴	۵/۱۴	۲/۲۴	۲/۴۴	۰/۰۱۱	۰/۷۹۸	۳/۰	۱۰/۵۱	۹/۶۱	۲۴/۷	۸/۶۱	۴۳/۸*	۲/۲۲	۱۰/۷۵	۷/۶۵	۴/۸۰	۵/۵۱	۱۰/۶۳	۲	درجه دوم
۱/۶۴	۵/۱۸	۲/۴۷	۲/۴۴	۰/۰۱۶	۰/۸۲۹	۳/۰	۱۰/۵۱	۶/۴۵	۲۵/۰	۹/۷۴	۴۳/۸*	۲/۲۹	۱۲/۳۸	۷/۵۵	۵/۰۷	۵/۴۴	۸/۳۰	۳	درجه سه
باقی مانده																			
۳/۹۴	۳/۷۸	۲/۹۵	۳/۹۸	۴/۰۴	۴/۰	۴/۰۴	۳/۴۲	۳/۵۳	۱۲/۵	۱۳/۷	۱۱/۳	۱۳/۸۷	۱۶/۶۴	۱۳/۵۴	۱۳/۸۷	۱۳/۵۷	۱۳/۴۳	۳۴	خطی
۴/۰۶	۳/۸۵	۴/۰۳	۴/۰۱	۴/۱۶	۴/۱۱	۳/۹۸	۳/۵۲	۳/۵۸	۱۲/۷	۱۳/۷	۱۱/۶۳	۱۴/۱۶	۱۳/۶۴	۱۳/۸۳	۱۴/۰۰	۱۳/۹۶	۱۳/۶۵	۳۳	درجه دوم
۴/۰۶	۳/۸۵	۴/۰۱	۴/۰۱	۴/۱۶	۴/۱۱	۳/۹۸	۳/۵۲	۳/۶۹	۱۲/۷	۱۳/۷	۱۱/۶۳	۱۴/۱۵	۱۳/۵۴	۱۳/۸۳	۱۳/۹۸	۱۳/۹۶	۱۳/۹۶	۳۲	درجه سه

Fm (میزان فلورسانس حداکثر)، FO (میزان فلورسانس اولیه)، مقدار Ft (شدت فلورسانس پایه یا لحظه‌ای) و Fv/Fm میزان عملکرد کوانتومی

### نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج مشاهده شد که تنش موجب کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی شده که یکی از علت‌های آن افزایش در فلورسانس رنگدانه‌ها می‌باشد که کاهش میزان فتوسنتز و در نتیجه آن کاهش در ارتفاع ساقه و وزن خشک بوته‌ها را در پی دارد. همچنین مصرف نیتروژن موجب کاهش اثر تنش بر رنگدانه‌ها و بهبود کارایی آن‌ها شده است. مصرف ۶۰ کیلوگرم نیتروژن در مقایسه با سطح ۹۰ کیلوگرم نتیجه‌ی بهتری را در برداشت. در بین رنگدانه‌های فتوسنتزی تغییرات میزان کلروفیل a و میزان کارتنوئیدها با تغییرات ارتفاع ساقه و وزن خشک معنی‌دار بود. همچنین Fm و Fo نیز بر این صفات تأثیر داشتند که این نشان دهند این است که تنش می‌تواند با افزایش در فلورسانس Fm و Fo موجب آسیب و کاهش در مقدار کلروفیل a و کارتنوئیدها شده و از این طریق موجب کاهش فتوسنتز و رشد گیاه می‌شود.

### منابع

ترحمی، گ.، لاهوتی، م. و عباسی، ف. ۱۳۸۹. بررسی اثرات ناشی از تنش خشکی بر روی تغییرات قندهای محلول، میزان کلروفیل و پتاسیم در گیاه نوروک (*Salvia leriifolia Benth*). علوم زیستی دانشگاه آزاد اسلامی زنجان. ۳ (۲): ۱-۷.

زینلی، ا.، کریمی، م. و خواجه‌پور و م. ر. ۱۳۸۸. تأثیر مقادیر نیتروژن سرک بر ویژگی‌های زراعی لوبیا چیتی. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی. (۱، ۲): ۱۴-۳۰.

شهبازی هومونلو، ک. ۱۳۸۳. بررسی تأثیر سطوح مختلف کود نیتروژن بر روی صفات کمی و کیفی ارقام سیب‌زمینی. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی. ۱۶۲ ص.

کریمی، ه. ۱۳۷۹. زراعت و اصلاح گیاهان علوفه ای. انتشارات دانشگاه تهران. ۱۵۸ ص.

نصیری محلاتی، م.، کوچکی، ع.، رضوانی، پ. و بهشتی، ع. ۱۳۸۰. آگرواکولوژی. ترجمه: انتشارات دانشگاه

فردوسی مشهد. ۱۱۸ ص.

وزان، س. ۱۳۸۸. بررسی فلورسانس کلروفیل، کارایی فتوسنتز و رابطه آنها با هدایت روزنه‌ای و عملکرد ژنوتیپ‌های

چغندر قند در شرایط تنش خشکی. مجله پژوهش‌های به‌زراعی (تنش‌های محیطی در علوم گیاهی). ۱ (۱): ۱۰۰-۸۹.

**Ahmad, G., Jan, A., Arif, I. and Arif, M. 2006.** Phenology and physiology of canola as affected by nitrogen and sulphur fertilization. *J. Agron*, 5(4): 555-562.

**Ahmadi, A. and Ceiocemardeh, A. 2004.** Effect of drought stress on soluble carbohydrate, chlorophyll and proline in four adopted wheat cultivars with various climate of Iran. *Iranian J. Agric. Sci.*, 35: 753-763.

**Arnon, A. N. 1967.** Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agro. J.* 23:112-121.

**Bajji, M., Lutts, S. and Kinet, J. M. 2001.** Water deficit effects on solute contribution to osmotic adjustment as a function of leaf ageing in three durum wheat cultivars performing differently in arid conditions. *Plant Sci.* 160: 669-681.

**Bradford, M.M., 1976.** A rapid and sensitive for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biol.* 72: 248-254.

**Busso, C.A., Fernandez, O.A. and Fedorenko, D.E.F. 1998.** Dry weight production and partitioning in *Medicago minima* and *Erodium cicutarium* under water stress. *Annals of Bot.* 82:217-227.

**Bybordi, A., Tabatabaei, S.J. and Ahmadev, A. 2010.** Effect of salinity on fatty acid composition of Canola (*Brassica napus L.*). *J. Food. Agric. Environ.* 8(1): 113-115.

**Chen, C., Jackson, G., Neill, K., Wichman, D., Johnson, G. and Johnson, D. 2005.** Determining the feasibility of early seeding canola in the northern Great Plains. *Agron. J.* 97: 1252-1262.

**Conming, L. and Zang, J. 2000.** Photosynthetic CO<sub>2</sub> assimilation chlorophyll fluorescence and photoinhibition as affected by nitrogen deficiency in maize plants. *J. Plant. Sci.* 151: 135-143.

**Cornoy, J.P., Virgon, J.M., Smillie, R.M. and Barlow, E.W. 1988.** Influence of drought acclimation and CO<sub>2</sub> enrichment on osmotic adjustment and chlorophyll a fluorescence of sunflower during drought, *Plant Physiol.* 186:1108-1115.

**Creelman, R.A., Mason, H.S., Bensen, R.J., Boyer, J.S. and Mullet, J.E. 1990.** Water deficits and abscisic acid cause differential inhibition of shoot versus root growth in soybean seedlings. *Plant Physiology* 214: 92-105.

**Djekoun, A. Planchon, C. 1991.** Water status effect on dinitrogen fixation and Photosynthesis in soybean. *Agron. J.* 23:2, 316-392.

**Englisham, A.R.J., Hassouna, S. and Seegers, R. 1983.** Fertilizer-N effects on N<sub>2</sub> fixation by cowpea and soybean. *J. Agro.* 75: 61-66.

**Fishbeck, K. A., Philips, D. A. 1981.** Combined nitrogen and vegetative Regrowth of symbiotically-grown alfalfa. *Agron. J.* 73:975-979.

**Ghosh, P.K., Ajay, K.K., Bandyopadhyay, M.C., Manna, K.G., Mandal, A.K. and Hati, K.M. 2004.** Comparative effectiveness of cattle manure, poultry manure, phosphocompost and fertilizer-NPK on three cropping system in vertisols of semi-arid tropics. II. Dry matter yield, nodulation, chlorophyll content and enzyme activity. *Bioresource Technology.* 95: 85-93.

**Gordon A. J., F.R Minchin, Skot L. and James C.L. 1997.** Stress-induced declines in soybean N<sub>2</sub> fixation are related to nodule sucrose synthase activity. *Plant Physiol.* 114:937-946.

**Gusegnova, I.M., Suleymanov, Sy. and Aliyev, J.A. 2006.** Protein composition and native state of pigments of thylakoid membrane of wheat genotypes differently tolerant to water stress. *Biochemistry,* 71:223-228.

**Hussein, M.M., Reid, j. B., Othman, h. and Gallagher, j.N. 1990.** Growth and water use of faba bean (*vicia faba*) in a sub-humid climate. I. root and shoot adaptations to drought stress. *Field Crops Res.* 23:1-17.

**Kramer, P. J. 1983.** Water relation of plants. Academic Press. Inc. 489pp Larsson, E.H., Bornman, J.F., Asp, H., 1998. Influence of UV-B radiation and CO<sub>2</sub>+ on chlorophyll fluorescence, growth and nutrient content in Brassica napus. *J. Exp Bot.* 149(323): 1031-1039.

**Kriedeman, J. 1986.** Stomatal and photosynthetic Limitation of leaf growth, *Aust. J. Plants Physiol,* 13: 15-31.

**Lawlor, D.W., Cornic, G. 2002.** Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant cell and Environ,* 25: 275-294.

**Lichtenthaler, H. K. 1992.** The Kaustky effect: 60 years of chlorophyll fluorescence induction kinetics. *Photosynthetica,* 27: 45-55.

**Martin, B., Torres, N.A.R. 1992.** Effects of water deficits stress on photosynthesis, its components and component limitations and on water use efficiency in wheat. *Plant Physiol.* 100: 733-739.

**Mir-Hosseini-Dehabadi, S.R. 1994.** The effect of water stress on water relations, Carbon isotope discrimination, and shoot and root growth of sainfoin (*Onobrychis Visifolia* scope) and Lucerne (*Medicago Sativa* (L.)). Ph.D. Thesis. Massey Univ. Newzealand. PP: 367.

**Mishra, A., Srivastava, N. K. 2000.** Influence of water stress on Japanese mint. *J. Herbs, Spices and Medic. Plants.* 7: 51-58.

**Mohammadian, R., Rahimian, H., Moghaddam, M. and Sadeghian, S. Y. 2003.** Effect of early drought stress on sugar beets chlorophyll fluorescence. *Pakistan J Biol Sci,* 6(20):1763-1769

**Mohr, H., Schofer, P., Lawlor, G. and Lawlor, D.W. 1995.** Springer Verlag Berlin Heidelberg. Translated, *Plant physiol.*

**Mohsenzade, S., Malboobi, M.A., Razavi, K. and Farrahi Aschtiani, S. 2006.** Physiological and molecular responses of *Aeluropus lagopoides* (poaceas) to water deficit. *Environ. Exp. Bot.* 56,374-322.

**Mrema A.F., Granhall, U. and Sennerby-Forsse, L. 1997.** Plant growth, leaf water potential, nitrogenase activity and nodule anatomy in *Leucaena leucocephala* as affected by water stress and nitrogen availability. *Trees* 12:42-48

**Navari-Izzo, F., Quartacci, M.F. and Izzo, R. 1990.** Water –stress induced changes in protein and free amino acids in field grown maize and sunflower. *Plant physiol Biochem.* 28:531-537

**Nonami, H., Wu, Y. and Matthewse, M.A. 1997.** Decreased growth-induced water potential a primary cause of growth inhibition at low water potentials. *Plant Physiology,* 114: 501-509.

**Ourcut D.M., Nilsen, E.T. 2000** Salinity stress in: physiology of plants under stress. KA/PP pp177-235

**Pagter, M., Bragato, C. and Brix, H. 2005.** Tolerance and physiological responses of phragmites australis to water deficit. *Aquatic Bot.* 81,285-299.

**Paknejad, F., Majidiheravan, E., Noor mohammadi, Q., Siyadat, A. and Vazan, S. 2007.** Effects of drought stress on chlorophyll fluorescence parameters, chlorophyll content and grain yield of wheat cultivars. *American J. Biochem. Biotechnol.* 5(4), 162-169.

- Paye, W.A. 2000.** Water relations of sparse canopied crops. *Agron. J.* 92:807- 814.
- Pennypacker, B. W., Leath, K.T., Stout, W. L. and Hill, R. R. 1990.** Technique for simulating field drought stress in the greenhouse. *Agron. J.* 82:951-957.
- Pessarkli, M. 1993.** Handbook of plant and crop stress. Marcel Dekker Inc. pp: 693
- Sayed, O.H. 2003.** Chlorophyll fluorescence as a tool in cereal crop research. *Photosynthetica.* 41(3): 321-330.
- Synerri, C.L.M., Pizino, C. and Navari-Izzo, F. 1993.** Chemical changes and O<sub>2</sub> production in thylakoid membranes under water stress, *Plant Physiol.* 87: 211-216.
- Takamiya, K.I., Tsuchiya, T. and Ohta, H. 2000.** Degradation pathway (s) of chlorophyll: What has gene cloning revealed *Trends Plant Sci.* 5: 426-431
- Takebe, M., Yoneyama, T., Inada, H. and Murakami, T. 1990.** *Plant and Soil*, 122-295.
- Tuncturk, M., Yildirim, B. 2004.** Effects of different forms and doses of nitrogen fertilizers on safflower (*Chartamus tinctorius L.*). *Pak. J. of Bio, Sci.* 7(8): 1385-1389.
- Wang, D., Shannon, M. C. and Grieve, C. M. 2001.** Salinity reduces radiation absorption and use efficiency in soybean. *Field Crops Research* 69: 267-277.
- Wilson, J. M., Greaves, J. A. 1993.** Development of and water stress in crop plants. In: *Adaptation of food crops to temperature and water stress*, AVRDC, Shanhu, Taiwan, pp: 389-398.
- Yordanov, I., Velikova, V. and Tsonev. T. 2003.** Plant responses to drought and stress tolerance. *Bulg. Journal Plant Physiology* 187-206.