اثر اسید ۵-آمینولوولونیک و تنش خشکی بر پارامترهای رشدی، شاخص کلروفیل و فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه گشنیز (*Coriandrum sativum* L.)

فردین قنبری[۱]، محمد سیاری[۲*]، مهدی صیدی[۱] و علی اشرف امیری‌نژاد[۱]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۹/۲۰ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۱/۱۱)

چکیده

تنش خشکی یکی از مهم‌ترین مشکلات تولید گیاهان در مناطق خشک و نیمه خشک جهان از جمله ایران می‌باشد. در این مطالعه اثر ۵- آمینولوولونیک اسید (ALA)، به عنوان یک تنظیم کننده جدید رشد گیاهی، بر گیاه گشنیز تحت تنش خشکی مورد مطالعه قرار گرفت. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با دو فاکتور اصلی تنش خشکی در ۳ سطح (شامل رطوبت خاک در حد ظرفیت زراعی، رطوبت خاک در حد ۶۰ درصد ظرفیت زراعی و رطوبت خاک در حد ۳۰ درصد ظرفیت زراعی) و ALA در ۴ سطح (شامل ۰، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار) در ۴ تکرار در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام اجرا شد. نتایج حاصل نشان داد تنش خشکی و کاربرد ALA اثر معنی‌داری بر پارامترهای رشدی، شاخص کلروفیل و فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه دارد. تنش خشکی سبب ایجاد آثار منفی بر رشد و عملکرد گیاه شد. در شرایط تنش خشکی ارتفاع گیاه، سطح برگ، وزن خشک و تر برگ، وزن تر و خشک گیاه و شاخص کلروفیل کاهش و فعالیت آنتی اکسیدانی افزایش یافت. کاربرد ALA به طور معنی‌داری سبب افزایش ارتفاع گیاه، سطح برگ، وزن خشک و تر برگ و گیاه، شاخص کلروفیل و فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه گردید. تیمار ALA با افزایش کلروفیل و فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه سبب کاهش آثار سوء تنش بر گیاه گشنیز شد. نتایج این تحقیق نشان دادکه ALA در غلظت‌های پایین خاصیت تنظیم‌کنندگی رشد گیاهی داشته و ممکن است سبب افزایش تولید محصولات کشاورزی در شرایط خشکی شود.

واژه‌های کلیدی: گیاهان دارویی، رشد، خشکی، فعالیت آنتی اکسیدانی

۱. گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام

۲. گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان

* : مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: m.sayyari@basu.ac.ir

مقدمه

گشنیز(Coriander) با نام علمی *Corianderum sativum* L. گیاهی است یکساله و از خانواده چتریان(Apiaceae) و با دوره رشد ۱۰۰ تا ۱۲۰ روز، که در بسیاری از کشورها به عنوان گیاهی بهاره و در کشورهای حاشیه مدیترانه و جنوب شرقی آسیا به صورت گیاهی زمستانه کشت می‌شود. گیاهی است گرمادوست و در انواع خاک‌ها می‌روید. سرشاخه‌های آن به صورت تازه در سالاد و سوپ، میوه (بذر) در صنایع غذایی و به عنوان چاشنی در آشپزخانه، اسانس میوه که دارای ۵۰ درصد ترکیب لینالول(Linalool) می‌باشد، در صنایع دارویی، آرایشی و بهداشتی، و روغن میوه در صنایع غذایی و دارویی کاربرد دارد (۲۰). در طب سنتی از گشنیز به عنوان هضم‌کننده غذا، ضد نفخ، اشتها آور، برطرف کننده دردهای عضلانی و آرامش‌بخش استفاده می‌شود. سابقه کشت این گیاه در ایران بسیار طولانی است و از عمده سطح زیر کشت اندام‌های هوایی گیاه به صورت تازه برداشت و به بازار مصرف عرضه می‌شود (۳۳).

کشور ایران در بخشی از کره زمین قرار گرفته است که نزولات جوی در بسیاری نقاط آن نیاز آبی گیاهان زراعی و باغی را تأمین نمی‌کند و قرار گرفتن گیاهان در معرض تنش کمبود آب، به ویژه در برخی مواقع سال امری اجتناب‌ناپذیر است. تنش خشکی از پدیده‌های اقلیمی رایج در طبیعت و محدودکننده رشد تمام گیاهان می‌باشد و کمتر گیاهی به طور کامل از آن اجتناب می‌کند. اکثر محصولات در مراحل رشد و نمو با نوعی تنش آب مواجه می‌شوند (۳۴). تحقیقات بسیار زیادی در رابطه با اثرات تنش خشکی روی گیاهان انجام گرفته است. ثابت شده است تنش آبی دارای آثار منفی بر رشد و نمو گیاه است (۱۴ و ۲۹). هر چند برخی گزارش‌ها آثار سودمند تنش خشکی را بیان نمودند که سبب افزایش مواد موثره داروئی در بسیاری از گیاهان داروئی می‌شود (۱۵ و ۱۷).

مواد تنظیم کننده رشد گیاهی بر بسیاری از جنبه‌های رشد و نمو گیاه تأثیر می‌گذارند و کاربردهای بسیاری برای این مواد ذکر شده است در بسیاری از موارد کاربرد این مواد باعث تحریک مقاومت به تنش‌های محیطی در گیاهان شده است. در این میان ۵- آمینولوولونیک اسید (5-aminolevolinic acid)(ALA) که پیش‌ماده کلیدی در بیوسنتز تمام ترکیبات پورفیرینی(Porphyrin compounds) مانند کلروفیل، هم(Heme) و فیتوکروم(Phytochrome) می‌باشد اثر تنظیم‌کنندگی بر رشد و نمو گیاهی داشته و باعث افزایش بیوسنتز کلروفیل و فتوسنتز شده و در نتیجه افزایش عملکرد محصولات را سبب می‌شود. تیمار گیاهان برنج، جو، سیب‌زمینی و سیر در مراحل اولیه رشد با غلظت مناسب ALA باعث افزایش رشد و میزان فتوسنتز و به تبع آن افزایش قابل توجه عملکرد در این گیاهان شده است (۱۰). هم‌چنین ALA به‌کار رفته در غلظت‌های پایین سبب افزایش مقاومت گیاهان به تنش‌های سرما (۱۱) و شوری (۳۲) شده است. کاربرد خارجی ALA در غلظت‌های پایین (۰/۱تا ۱ میلی‌گرم در لیتر) سبب افزایش وزن تر شاخساره و کلروفیل در گیاه کلزا تحت تنش خشکی گردیده است(۱۶). پیشنهاد شده که این ماده به عنوان یک ماده داخلی غیر سمی ممکن است پتانسیل کاربردی زیادی در تولید محصولات کشاورزی داشته باشد (۱۳). در رابطه با شناخت آثار ALA در محصولات کشاورزی گزارش‌های بسیار اندکی منتشر شده است. تنها در سال‌های اخیر مطالعات گسترده‌تر به منظور شناخت این اثرات به خصوص در کشورهای جنوب شرق آسیا انجام گرفته است. با مطالعات انجام گرفته مشخص گردید تا کنون این ماده در کشور مورد آزمایش قرار نگرفته است. با توجه به مطالب شرح داده شده و لزوم استفاده از مواد و ترکیبات جدیدتر به منظور مقابله با نقش تخریبی تنش‌های محیطی از جمله تنش خشکی و شناخت اثر ALA بر گیاه گشنیز تحت تنش خشکی این پژوهش طراحی و به اجرا گذاشته شد.

مواد و روش‌ها

پرورش گیاهان و نحوه اعمال تیمارها

این آزمایش به صورت گلدانی در گلخانه دانشکده کشاورزی

اجرا گردید. گلدان‌ها با نسبت‌های مساوی از خاک مزرعه، ماسه بادی و کود دامی پوسیده و به میزان ۷ کیلوگرم پر شده، سپس بذرهای (تهیه شده از شرکت پاکان بذر اصفهان) در آنها کشت گردید. تا شروع اعمال تیمارها گلدان‌ها به صورت یک روز در میان و به مقدار مساوی آبیاری شدند. پس از چند مرحله عمل تنک، در هر گلدان ۱۰ گیاه حفظ و در مرحله ۶-۸ برگی تیمار ALA (تهیه شده از شرکت مرک آلمان) به صورت محلول پاشی برگی در آنها به‌کار رفت. در گلدان‌های شاهد تنها آب مقطر اسپری شد. در هر محلول چند قطره توین ۲۰(Tween-20) به عنوان سورفاکتانت(Surfactant) نیز مورد استفاده قرار گرفت. ۴۸ ساعت پس از اعمال تیمار ALA، تیمار تنش خشکی شروع شد و تا پایان فصل رشد ادامه یافت. بدین صورت که درصد رطوبت وزنی خاک در حد ظرفیت زراعی با استفاده از روش وزنی معادل ۳۲ درصد (۳۲ گرم آب در ۱۰۰ گرم خاک) تعیین شد. پس از مشخص شدن درصد رطوبت خاک در ظرفیت زراعی، میزان رطوبت مورد نیاز برای اعمال تیمارهای تنش خشکی نیز مشخص گردید، با توجه به وزن اولیه خاک گلدان‌ها (۷کیلوگرم) به ترتیب مقدار ۲۲۴۰، ۱۳۴۴ و۶۷۲ میلی‌لیتر آب نیاز بود تا میزان رطوبت خاک گل‌دان‌ها در حد ۱۰۰، ۶۰ و ۳۰ درصد ظرفیت مزرعه باشد. تیمارهای آبیاری با توزین روزانه گل‌دان‌ها و اضافه نمودن آب مصرفی بر اثر تبخیر و تعرق (میزان کاهش وزن گلدان‌ها) اعمال شد.

اندازه‌گیری صفات مورد ارزیابی

حدود دو ماه پس از شروع اعمال تنش و در مرحله‌ای که بوته‌ها در مرحله گلدهی بودند صفات روی سه مشاهده هر تکرار و با انتخاب تصادفی گیاهان داخل هر گلدان اندازه‌گیری شد. صفات اندازه‌گیری شده شامل: ارتفاع بوته، وزن تر و خشک (پس از گذاشتن در آون ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت) اندام هوایی و برگ، سطح برگ (با استفاده از دستگاه سطح برگ سنج(Leaf area meter))، شاخص کلروفیل و فعالیت آنتی اکسیدانی برگ بود.

اندازه‌گیری کلروفیل با استفاده از دستگاه کلروفیل سنج دستی (SPAD) انجام گرفت. این دستگاه بر اساس تفاوت بین نور جذب شده در طول موج ۴۳۰ نانومتر(حداکثر طول موج جذبی کلروفیل a و b) و ۷۵۰ نانومتر (نور مادون قرمز) و با فرض عدم عبور نور از لایه‌های برگ، اعدادی بین صفر تا ۸۰ و بدون واحد ثبت می‌کند که معیاری از میزان کلروفیل برگ است (۲۵). بدین منظور در هر تکرار ۳۰ قرائت (هرگلدان ۱۰ قرائت) از برگچه انتهایی برگ‌های میانی گیاهان هر تکرار انجام شد. پس از میانگین‌گیری ۳۰ قرائت، عدد به دست آمده به عنوان شاخص کلروفیل هر تکرار در نظر گرفته شد.

اندازه‌گیری فعالیت آنتی اکسیدانی(Antioxidant activity) کل بر اساس روش مون و ترائو (۱۸) و با ایجاد کمی تغییرات از طریق غیر فعال کردن رادیکال‌های آزاد شده توسط ماده ۲،۲- دی فنیل -۱- پیکریل هیدرازیل(2,2- diphenyl-1-picryl hydrazyl) (DPPH) صورت پذیرفت. ابتدا ۲ گرم نمونه برگ تازه در ۵ سی‌سی بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار(pH=۷/۸) هموژنایز شد. سپس به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و۱۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ، و روشناور (عصاره نمونه) جمع‌آوری شد. ۱۰۰ میکرو لیتر از عصاره نمونه با ۹۰۰ میکرولیتر از بافر Tris-HCl (۱۰۰ میلی‌مولار، pH =۷/۴) مخلوط شده و ۱ میلی‌لیتر DPPH (۵۰۰ میکرو مولار) به آن اضافه گردید. محلول حاصل کاملاً مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه به حال خود باقی گذاشته شد. جذب محلول در طول موج ۵۱۷ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. برای تصحیح زمینه داده‌های به‌دست آمده، جذب محلول هر نمونه بدون اضافه کردن DPPH اندازه‌گیری شد و از میزان جذب محلول دارای DPPH کسر گردید. نمونه شاهد در واقع دارای کلیه محتویات به جز عصاره نمونه بود که به جای آن از آب مقطر استفاده شد. درصد بازداری از DPPH با مقایسه نمونه‌های عصاره و نمونه کنترل و استفاده از رابطه زیر به‌دست آمد.

$$\%AA = ۱ - \frac{A_{۵۱۷}(Sample)}{A_{۵۱۷}(Control)} \times ۱۰۰$$

طرح مورد استفاده و محاسبات آماری

این تحقیق در سال ۱۳۸۹ به صورت آزمایش فاکتوریل ۳×۴ در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی انجام گرفت. فاکتورهای مورد بررسی در این آزمایش شامل تنش خشکی در ۳ سطح آبیاری نرمال (رطوبت خاک در حد ظرفیت زراعی)، تنش ملایم (رطوبت خاک در حد ۶۰ درصد ظرفیت زراعی) و تنش شدید (رطوبت خاک در حد ۳۰ درصد ظرفیت زراعی) و کاربرد ALA در ۴ غلظت ۰، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار بودند. هر تیمار شامل ۴ تکرار و برای هر تکرار ۳ گلدان در نظر گرفته شد (در مجموع ۱۴۴ گلدان). به منظور انجام محاسبات آماری از نرم‌افزارهای SAS و MSTAT-C استفاده گردید. هم‌چنین مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد انجام گرفت.

نتایج

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که سطوح مختلف تنش خشکی اثر معنی‌داری بر تمام صفات مورد ارزیابی داشته است. بیشترین میزان ارتفاع بوته (۲۷۷/۶۲ میلی‌متر)، وزن تر (۱۵/۶۷ گرم) و خشک گیاه (۱/۸۸ گرم)، وزن تر (۱/۶۵ گرم) و خشک (۰/۱۸۲ گرم) برگ و شاخص کلروفیل (۴/۰۴) در شرایط بدون تنش و کمترین میزان آنها (به ترتیب ۲۱۸/۴۷ میلی‌متر، ۶/۸۲ گرم، ۱/۱۲۷ گرم، ۱/۱۵۵ گرم، ۰/۱۲۷ گرم و ۲/۸۰) در شرایط تنش شدید به دست آمد. بالاترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی در شرایط تنش شدید (۷۸/۰۳ درصد) و کمترین (۶۷/۱۵ درصد) آن در شرایط بدون تنش به دست آمد. (جدول ۲). اثر ALA بر سطح برگ، وزن تر و خشک گیاه، وزن تر و خشک برگ، شاخص کلروفیل و فعالیت آنتی اکسیدانی در سطح ۱ درصد و بر ارتفاع گیاه در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین آثار ساده ALA بر صفات مورد مطالعه نشان داد که با افزایش غلظت ALA اثربخشی آن نیز بیشتر شده است به‌طوری‌که بیشترین میزان صفات مورد ارزیابی در تیمار ۱ میلی‌مولار ALA به دست آمد (شکل ۱-۶). اثر متقابل تنش خشکی و ALA بر وزن تر و خشک گیاه و سطح برگ معنی‌دار شد. بالاترین میزان وزن تر و خشک گیاه (به ترتیب ۱۹/۰۵ و ۲/۲۷ گرم) در شرایط بدون تنش و تیمار ۱ میلی‌مولار ALA و کمترین (به ترتیب ۵/۰۹ و ۰/۸۹۱ گرم) آن در شرایط تنش شدید و ۰ میلی‌مولار ALA (شاهد) به دست آمد. بالاترین میزان سطح برگ (۱۶/۵۱ سانتی‌متر مربع) در شرایط بدون تنش و تیمار ۰/۵ میلی‌مولار ALA و کمترین میزان آن (۸/۷۷ سانتی‌متر مربع) در شرایط تنش شدید و ۰ میلی‌مولار ALA (شاهد) به دست آمد (جدول ۳).

بحث

تنش خشکی به عنوان یک عامل ایجاد کننده اختلال در فیزیولوژی گیاه بر روی پارامترهای رشدی گیاه نیز تأثیر می‌گذارد. نتایج این تحقیق نشان داد که تنش خشکی بر پارامترهای رشدی و میزان عملکرد (وزن تر و خشک گیاه) گشنیز تأثیر منفی دارد. به طوری که در اثر تنش خشکی؛ ارتفاع گیاه، سطح برگ، وزن تر و خشک برگ و هم‌چنین عملکرد تر و خشک کاهش یافت (جدول ۲). تأثیر تنش آبی در کاهش رشد قسمت‌های مختلف گیاه و عملکرد در گیاهان آویشن (۱۵)، نعناع (۱۷)، اسفرزه، بومادران، مریم گلی، همیشه بهار و بابونه (۱۴) و گشنیز (۲۹) نیز گزارش شده است که با یافته‌های این تحقیق مطابقت دارد. هم‌چنین گابلر(۷) در تحقیقات خود روی گشنیز نشان داد که تنش خشکی به شدت سبب کاهش عملکرد در این گیاه دارویی گردید. سطح برگ به علت جذب نور تأثیر زیادی بر رشد دارد. دروناسکی و استرو(۵) نشان دادند که در شرایط تنش خشکی، سطح برگ کمتری در شرایط بدون تنش در گشنیز تولید می‌شود.

در اثر کمبود آب اندازه کلی گیاه و وزن تازه و خشک گیاه، به عنوان ملاک‌های کلی رشد کاهش می‌یابند. اولین علائم کمبود آب در گیاهان کاهش فشار تورژسانس است که منجر به کاهش رشد و نمو سلول‌ها مخصوصاً در ساقه و برگ می‌شود.

جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در گیاه گشنیز تحت تأثیر تنش خشکی و کاربرد ۵-آمینولوولونیک اسید

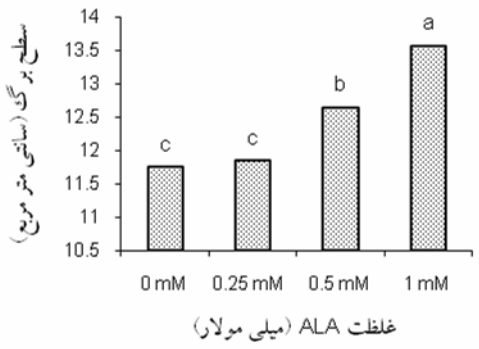
منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات							
		شاخص کلروفیل	ارتفاع گیاه	وزن تر گیاه	وزن خشک گیاه	وزن تر برگ	وزن خشک برگ	سطح برگ	فعالیت آنتی اکسیدانی
بلوک	۳	۰/۲۱۵ ns	۱۳۵/۰۹۷ns	۱/۰۲۵ ns	۰/۰۵۴*	۰/۰۰۰۳ns	۰/۰۰۰۱ns	۰/۷۸۸ns	۶/۵۹۳ns
خشکی	۲	۶/۴۸۹**	۱۴۰۱۸/۴۰**	۳۱۵/۸۰۵**	۲/۴۲۹**	۰/۹۹۰**	۰/۰۱۳۴**	۸۵/۳۱۰**	۴۷۳/۹۸۲ **
ALA	۳	۱/۵۵۶**	۶۵۷/۳۵۷*	۴۱/۱۲۱**	۰/۷۲۷**	۰/۱۷۰**	۰/۰۰۱۴**	۸/۵۰۴**	۴۵۰/۴۶۹ **
خشکی× ALA	۶	۰/۱۴۱ ns	۲۲۰/۹۷۳ns	۳/۰۶۸**	۰/۰۵۲*	۰/۰۰۱۴ns	۰/۰۰۰۰۹ns	۵/۹۷۳**	۳۶/۲۱۶ ns
خطا	۳۳	۰/۲۱۲	۱۶۴/۶۱۴	۰/۶۸	۰/۰۱۹	۰/۰۰۲	۰/۰۰۰۰۶	۰/۸۱۵	۱۸/۵۷۳
CV(٪)	–	۱۳/۷۴	۵/۱۸	۷/۲۲	۸/۸۹	۳/۶۸	۵/۱۷	۷/۲۵	۵/۹۵

**: معنی‌دار در سطح ۱ درصد *: معنی‌دار در سطح ۵ درصد ns: عدم اختلاف معنی‌دار

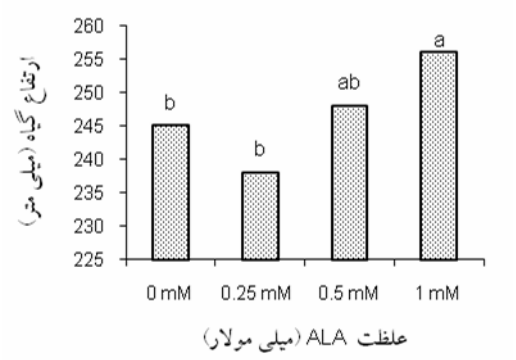
جدول ۲. مقایسه میانگین آثار ساده تنش خشکی بر صفات مورد مطالعه

تیمار ها	صفات								
	شاخص کلروفیل	ارتفاع گیاه (mm)	وزن تر گیاه(g)	وزن خشک گیاه(g)	وزن تر برگ (g)	وزن خشک برگ(g)	سطح برگ (cm^2)	فعالیت آنتی اکسیدانی(٪)
بدون تنش(۱۰۰٪ ظرفیت زراعی)	۴/۰۴a	۲۷۷/۶۲a	۱۵/۶۷a	۱/۸۸۹a	۱/۶۵۳a	۰/۱۸۲a	۱۴/۷۹a	۶۷/۱۵c
تنش متوسط(۶۰٪ ظرفیت زراعی)	۳/۲۰ b	۲۴۵/۸۷b	۱۱/۸۹ b	۱/۶۴۹b	۱/۴۱۰b	۰/۱۷۰b	۱۲/۳۸b	۷۲/۲۶b
تنش شدید (۳۰٪ ظرفیت زراعی)	۲/۸۰ c	۲۱۸/۴۷c	۶/۸۲ c	۱/۱۲۷ c	۱/۱۵۵c	۰/۱۲۷c	۱۰/۱۷c	۷۸/۰۳a

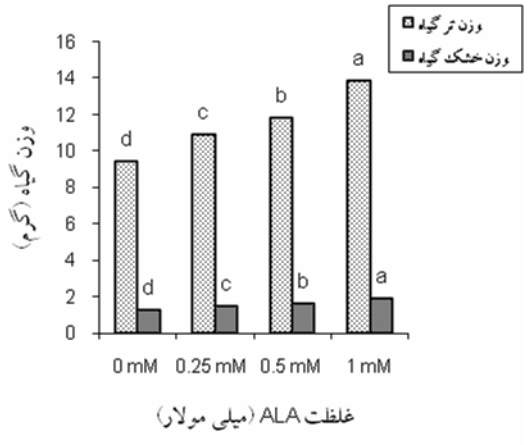
میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حرف مشترک هستند، فاقد اختلاف معنی‌داری براساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد می‌باشند.



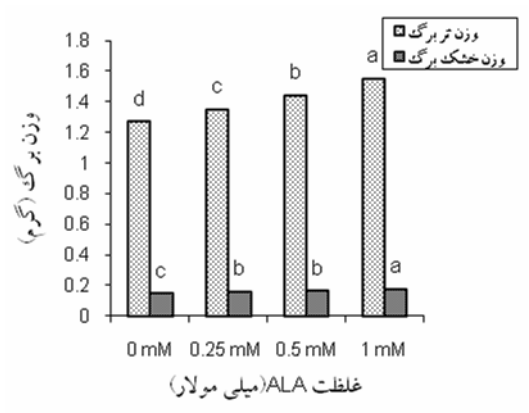
شکل ۱. تأثیر سطوح مختلف ALA بر سطح برگ گیاه گشنیز



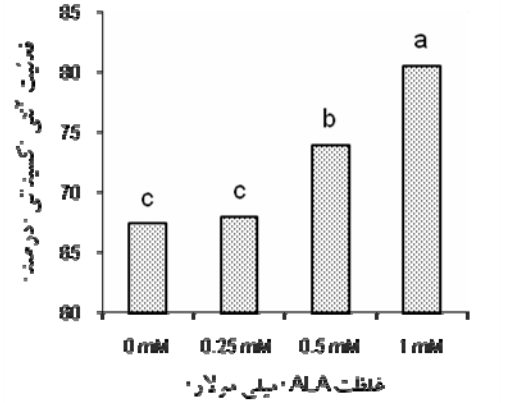
شکل ۲. تأثیر سطوح مختلف ALA بر ارتفاع گیاه گشنیز



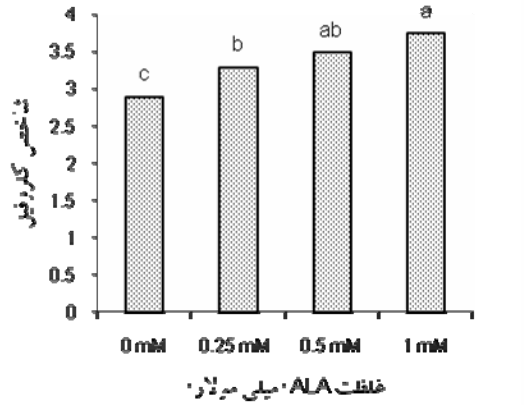
شکل ۳. تأثیر سطوح مختلف ALA بر وزن تر و خشک گیاه گشنیز



شکل ۴. تأثیر سطوح مختلف ALA بر وزن تر و خشک برگ گیاه گشنیز



شکل ۵. تأثیر سطوح مختلف ALA بر شاخص کلروفیل گیاه گشنیز



شکل ۶. تأثیر سطوح مختلف ALA بر فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه گشنیز

رشد سلول‌ها مهم‌ترین فرآیندی است که در تنش آبی تحت تأثیر قرار می‌گیرد. کاهش رشد سلول برگ منجر به کاهش ارتفاع گیاه و کاهش اندازه برگ می‌شود. با کاهش فشار تورژسانس در اثر کمبود آب، نمو سلول به دلیل عدم وجود فشار درون سلول کاهش می‌یابد. بنابراین بین کاهش اندازه سلول و میزان کاهش آب رابطه معنی‌داری در بافت‌های گیاهی دیده می‌شود. با کاهش نمو سلولی رشد اندام‌ها و برگ‌ها کاهش می‌یابد. به همین دلیل است که اولین اثر محسوس کم‌آبی روی گیاهان را می‌توان از اندازه کوچک‌تر برگ‌ها یا ارتفاع کمتر گیاهان تشخیص داد. از طرف دیگر کاهش آب منجر به کاهش جذب عناصر می‌شود و از این طریق نیز رشد برگ‌ها کاهش می‌یابد. بنابراین با کاهش سطح برگ، سطح تعرق گیاه کاهش می‌یابد و این اولین مکانیسم گیاه برای مقابله با خشکی به حساب می‌آید. با کاهش سطح برگ، سطح جذب

جدول ۳. مقایسه میانگین آثار متقابل تنش خشکی و ۵- آمینولوولونیک اسید برصفات مورد مطالعه

		صفات							
	تیمار ها	شاخص کلروفیل	ارتفاع گیاه (mm)	وزن تر گیاه(g)	وزن خشک گیاه(g)	وزن تر برگ (g)	وزن خشک برگ(g)	سطح برگ (Cm^2)	فعالیت آنتی اکسیدانی(٪)
بدون تنش	۰ میلی‌مولار ALA	۳/۶۰^{abc}	۲۷۵/۸۳^{ab}	۱۲/۸۵^{de}	۱/۵۱^{cd}	۱/۵۱^{cd}	۰/۱۶۶^{de}	۱۴/۴۵^{b}	۵۸/۲۱^{f}
	۰/۲۵ میلی‌مولار ALA	۴/۱۵^{ab}	۲۶۴/۰۸^{bc}	۱۴/۱۷^{c}	۱/۷۰^{c}	۱/۵۷^{c}	۰/۱۷۴^{cd}	۱۳/۰۲^{c}	۶۵/۵۸^{e}
	۰/۵ میلی‌مولار ALA	۴/۱۸^{ab}	۲۸۱/۸۳^{ab}	۱۶/۶۲^{b}	۲/۰۶^{b}	۱/۷۱^{b}	۰/۱۸۹^{ab}	۱۶/۵۱^{a}	۶۸/۶۹^{de}
	۱ میلی‌مولار ALA	۴/۲۵^{a}	۲۸۸/۷۴^{a}	۱۹/۰۵^{a}	۲/۲۷^{a}	۱/۸۰^{a}	۰/۱۹۸^{a}	۱۵/۱۷^{b}	۷۶/۱۱^{bc}
تنش ملایم	۰ میلی‌مولار ALA	۲/۵۷^{de}	۲۵۳/۴۱^{cd}	۱۰/۲۴^{c}	۱/۳۸^{de}	۱/۲۷^{f}	۰/۱۵۸^{e}	۱۲/۰۳^{cd}	۶۹/۰۴^{de}
	۰/۲۵ میلی‌مولار ALA	۳/۰۰^{cde}	۲۳۷/۴۹^{de}	۱۱/۸۱^{ef}	۱/۶۵^{c}	۱/۳۶^{e}	۰/۱۶۷^{de}	۱۱/۶۴^{d}	۶۷/۵۳^{e}
	۰/۵ میلی‌مولار ALA	۳/۵۰^{bc}	۲۳۹/۵۸^{de}	۱۱/۵۵^{f}	۱/۵۹^{c}	۱/۴۵^{d}	۰/۱۷۱^{d}	۱۱/۴۷^{d}	۷۵/۰۰^{bcd}
	۱ میلی‌مولار ALA	۳/۷۲^{abc}	۲۵۲/۹۹^{cd}	۱۳/۹۶^{cd}	۱/۹۷^{b}	۱/۵۵^{c}	۰/۱۸۵^{bc}	۱۴/۴۰^{b}	۷۷/۴۸^{bc}
تنش شدید	۰ میلی‌مولار ALA	۲/۵۰^{e}	۲۰۶/۵۸^{g}	۵/۰۹^{j}	۰/۸۹۱^{g}	۱/۰۳^{h}	۰/۱۱۸^{g}	۸/۷۷^{f}	۷۵/۰۴^{bcd}
	۰/۲۵ میلی‌مولار ALA	۲/۶۷^{de}	۲۱۵/۱۶^{fg}	۶/۶۱^{i}	۱/۱۰^{f}	۱/۱۲^{g}	۰/۱۲۸^{fg}	۱۰/۸۷^{de}	۷۰/۸۷^{cde}
	۰/۵ میلی‌مولار ALA	۲/۷۷^{de}	۲۲۳/۷۴^{efg}	۷/۱۵^{i}	۱/۱۹^{ef}	۱/۱۷^{g}	۰/۱۲۳^{g}	۹/۹۴^{ef}	۷۸/۱۹^{b}
	۱ میلی‌مولار ALA	۳/۲۵^{ef}	۲۲۸/۴۱^{ef}	۸/۴۴^{h}	۱/۳۱^{de}	۱/۲۹^{ef}	۰/۱۳۸^{f}	۱۱/۱۱^{de}	۸۸/۰۱^{a}

میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف مشترک هستند، فاقد اختلاف معنی‌داری براساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد می‌باشد.

نور خورشید و به دنبال آن سطح فتوسنتزی گیاه کاهش و نهایتاً منجر به کاهش تولید ماده خشک و عملکرد گیاه می‌شود (۸). کاهش دیده شده در پارامترهای رشدی در اثر تنش خشکی در این مطالعه احتمالاً به‌دلیل اختلال در فرآیندهای متابولیکی گیاه از جمله فتوسنتز و تعرق، تخریب کلروفیل و عدم توسعه و تقسیم سلولی باشد.

نتایج به‌دست آمده از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تیمار ALA تأثیر معنی‌داری بر پارامترهای رشدی دارد (جدول ۱). مطالعات اندکی در رابطه با اثرات این ماده بر پارامترهای رشدی گیاهان در دسترس می‌باشد. هوتا و همکاران (۱۰) دریافتند که ALA اثرات تحریک کنندگی بر رشد و عملکرد در چندین محصول و سبزی در غلظت‌های پایین دارد. تیمار گیاهان تربچه، لوبیا، جو، سیب زمینی، سیر، برنج و ذرت در مراحل اولیه رشد با ۵- آمینولوولونیک اسید سبب افزایش ۱۰ تا ۶۰ درصدی رشد نسبت به شاهد شد، که با یافته‌های این تحقیق مطابقت دارد (جدول ۳).

ALA در غلظت‌های پایین باعث افزایش محتوای کلروفیل شده و رشد بافت‌های گیاهی را تحریک می‌کند. تیمار برگی و خاکی گیاهان با این ماده سبب افزایش ۱۲۱ تا ۱۶۳ درصدی عملکرد محصولات شده است (۱۰). اثر تیمار ALA بر روی رشد و کیفیت میوه انگور نشان داد که کاربرد این ماده بر روی رشد معنی‌دار بود به طوری که این ماده سبب ۵۵ درصد افزایش در رشد شاخه‌های جانبی و ۳۸ درصد افزایش در سطح برگ این گیاه شده است (۳۱). نتایج حاکی از آن است که ALA آثار متفاوتی بر رشد و نمو گیاهان دارد. غلظت مناسب این اثرات را افزایش می‌دهد اما غلظت بالاتر از آن، از آثار مذکور جلوگیری می‌کند. در مطالعه حاضر با توجه به انتخاب غلظت‌های پایین، با افزایش غلظت اثر بخشی آن نیز بیشتر شد (شکل ۱-۶). درگیاهان عالی ALA پیش ماده کلیدی بیوسنتز بسیاری از ترکیبات تتراپیرول مانند پورفیرین برای بیوسنتز

کلروفیل می‌باشد. مطالعات انجام شده نشان داده است که کاربرد ALA در غلظت‌های پایین سبب افزایش فتوسنتز در برخی از گیاهان می‌شود (۱۰). کاربرد ALA سبب بهبود بیوسنتز کلروفیل و در نتیجه سبب افزایش رشد سلول‌های جلبک شد (۲۳). بنابراین بدیهی به نظر می‌رسد که کاربرد این ماده می‌تواند از طریق افزایش میزان کلروفیل و بالا بردن ظرفیت فتوسنتزی سبب افزایش رشد قسمت‌های مختلف گیاه شود.

مقایسه میانگین آثار متقابل نشان داد که کاربرد این ماده هم در شرایط تنش و هم در شرایط بدون تنش سبب افزایش پارامترهای رشدی گیاه شده است (جدول ۳). در بیشتر صفات اندازه‌گیری شده اثر این ماده در شرایط تنش شدید بیشتر بوده است که احتمالاً به دلیل تخریب بیشترکلروفیل در این شرایط و توانایی ALA در بهبود بیوسنتز آن باشد. از طرف دیگر کاربرد ALA ممکن است به واسطه افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی گیاهان سبب کاهش آثار تنش‌های محیطی از جمله خشکی شود (۱۶). سیستم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاهان سبب کاهش یا جلوگیری از پرکسیداسیون لیپیدهای غشا در نتیجه فعالیت گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن Reactive Oxygen Species (ROS) تحت شرایط تنش‌زا مانند سرما، خشکی و شوری می‌شوند.

از علائم تنش‌های محیطی در گیاهان کاهش میزان کلروفیل است که این کاهش به ژنوتیپ گیاه بستگی دارد (۴). در این پژوهش کاهش شاخص کلروفیل در اثر افزایش تنش خشکی دیده شد (جدول ۲). گزارش‌های مشابهی در مورد کاهش میزان کلروفیل در اثر تنش در گیاهان آفتابگردان (۱۹) و بابونه (۲) وجود دارد. بر اساس نظراسچوتز و فنگ‌میر (۲۴) کاهش میزان کلروفیل در اثر تنش خشکی مربوط به افزایش تولید رادیکال‌های اکسیژن آزاد در سلول می‌باشد. این رادیکال‌های آزاد سبب پراکسیداسیون و در نتیجه تجزیه این رنگیزه می‌شوند و با کاهش میزان کلروفیل تغییرات زیادی در مقدار تولید در گیاهان به وجود می‌آید.

کاهش کلروفیل برگ می‌تواند به علت اختلال در جذب عناصر غذایی ضروری در سنتز کلروفیل باشد (۱۹). اسمیرنوف (۲۷) اعلام کرد تنش خشکی موجب افزایش تولید انواع اکسیژن واکنش‌گر می‌شود و کاهش میزان کلروفیل، نشان دهنده وسعت آسیب‌های اکسیداتیو است. این کاهش می‌تواند به دلیل بازدارندگی مراحل مختلف بیوسنتز کلروفیل نیز باشد (۱۹). از طرف دیگر گزارش شده که فعالیت آنزیم کلروفیلاز در شرایط تنش بیشتر است (۳). کاهش مقدار کلروفیل دیده شده در این تحقیق احتمالاً می‌تواند به دلیل تأثیر تنش بر بیوسنتز پیش‌سازهای کلروفیل (از جمله ۵-آمینولوولونیک اسید) یا تخریب کلروفیل موجود در اثر افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز باشد.

با توجه به این‌که ALA پیش ماده اولیه بیوسنتز کلروفیل می‌باشد و بیوسنتز این ترکیب در گیاهان مرحله محدود کننده بیوسنتز ترکیبات پورفیرینی از جمله کلروفیل است. بنابراین درک این نکته ساده به نظر می‌رسد که کاربرد ALA سبب افزایش کلروفیل در گیاهان تیمار شده شود. در تحقیق حاضر نیز کاربرد ALA باعث افزایش این رنگیزه فتوسنتزی در شرایط تنش و بدون تنش شد (جدول ۳). تیمار ALA به طور معنی‌داری سبب افزایش محتوای کلروفیل در برگ‌های خربزه شده است (۳۰). افزایش در محتوای کلروفیل گیاهان تیمار شده با ALA در شرایط تنش در چندین مطالعه به اثبات رسیده است (۱۳ و۱۶).

کاربرد خارجی ۵- آمینولوولونیک اسید در گیاهان سبب افزایش سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی در گیاهان می‌شود (۱۶). بنابراین دلیل احتمالی دیگر افزایش محتوای کلروفیل گیاه گشنیز تحت تنش خشکی در پاسخ به تیمار ALA را می‌توان به القای پاسخ‌های آنتی اکسیدانی مرتبط دانست که گیاه را در برابر آسیب از جمله تخریب کلروفیل حفظ می‌کند.

امروزه استفاده از گیاهان دارویی و ترکیبات موثره آنها به عنوان منابع طبیعی که دارای خاصیت آنتی اکسیدانی هستند، مورد توجه محققین قرار گرفته است. آنتی اکسیدان‌ها

ترکیباتی هستند که به طور موثر و به طرق مختلف از واکنش رادیکال‌های آزاد دارای اکسیژن و نیتروژن فعال با بیومولکول‌ها (نظیر پروتئین، آمینو اسید و DNA) جلوگیری کرده و منجر به کاهش آسیب به سلول‌ها می‌شوند (۲۶). رادیکال دی فنیل پیکریل هیدرازیل(DPPH) یک رادیکال آزاد است که به طور وسیع برای آزمایش پاک کردن رادیکال‌های آزاد مورد استفاده قرار می‌گیرد. در این تحقیق اثر عصاره گشنیز در جاروب کردن رادیکال‌های آزاد DPPH، مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد با افزایش تنش خشکی قدرت به دام‌اندازی رادیکال‌های آزاد افزایش یافت (جدول ۲). گزارش‌های اندک و مغایری در رابطه با نقش تنش‌های محیطی بر قدرت به دام اندازی رادیکال‌های آزاد موجود می‌باشد. اوسلاتی و همکاران (۲۱) نشان دادند که فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه پونه در شرایط تنش شوری بالاتر است. هم‌چنین در این آزمایش با افزایش تنش شوری میزان فنل نیز افزایش یافت. قدرت جاروب کردن رادیکال DPPH در ریشه‌چه گیاه برنج، با تنش سرمایی کاهش و با شوک گرمایی افزایش یافت (۱۲). فعالیت آنتی اکسیدانی روغن ذرت تحت تنش خشکی کاهش یافت. ارزیابی ترکیبات بیواکتیو آنتی اکسیدان در روغن نشان داد که قدرت به دام اندازی رادیکال‌های آزاد DPPH بیشترین هم‌بستگی را با فنل کل و محتوای کاروتنوئید داشت (۲۲). در این مطالعه افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره گشنیز احتمالاً می‌تواند به دلیل افزایش ترکیبات آنتی اکسیدانی(از جمله محتوای فنل کل) این گیاه در معرض تنش خشکی باشد.

در این مطالعه کاربرد ALA در غلظت‌های مختلف سبب افزایش قدرت رادیکال زدایی عصاره گشنیز شد (شکل ۵). تا کنون در رابطه با اثر ۵- آمینولوولونیک اسید در به دام اندازی رادیکال‌های آزاد DPPH گزارشی منتشر نشده است. هرچند که اثر این ماده در بهبود سیستم آنتی اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی در چندین مطالعه به اثبات رسیده است (۱۶). از بین ترکیبات گیاهی که دارای خواص آنتی اکسیدانی می‌باشند، ترکیبات فنلی توزیع گسترده‌ای در بسیاری از گیاهان دارند. ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنلی عمدتاً ناشی از قدرت احیاکنندگی و ساختار شیمیایی آنهاست، که آنها را قادر به خنثی کردن رادیکال‌های آزاد، تشکیل کمپلکس با یون‌های فلزی و خاموش کردن مولکول‌های اکسیژن یگانه و سه‌گانه می‌سازد. ترکیبات فنلی از طریق اهدای الکترون به رادیکال‌های آزاد، واکنش‌های اکسیداسیون چربی را مهار می‌کنند(۱). اخیراً در مطالعه‌ای(۶) اثر تشویقی ALA بر ترکیبات آنتی اکسیدانی برگ‌های گیاه ژینکو(*Ginkgo biloba*) (فنل کل، فلاونوئید و آنتوسیانین) به اثبات رسیده است. بنابراین این احتمال وجود دارد که کاربرد ۵-آمینولوولونیک اسید از طریق تأثیری که بر بیوسنتز ترکیبات آنتی اکسیدانی گیاهان (از جمله ترکیبات فنلی) دارد بتواند سبب بهبود قدرت دفاع آنتی اکسیدانی گیاهان شود.

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج به دست آمده در این آزمایش، می‌توان بیان کرد، هر چند با کاهش میزان آب مصرفی و به تبع آن بروز تنش خشکی، میزان رشد و عملکرد گیاه گشنیز کاهش پیدا کرد، اما با به‌کارگیری ۵-آمینولوولونیک اسید (ALA) می‌توان تا حدی از بروز اثرهای سوء تنش خشکی بر پارامترهای رشدی و عملکرد این گیاه کاست. این آثار ALA مرتبط با تأثیر مثبت مصرف آن بر پارامترهای فیزیولوژیک همانند کلروفیل و افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه بود. هر سه غلظت ALA به‌کار رفته در این تحقیق موثر بود، ولیکن با افزایش غلظت اثربخشی آن نیز افزایش یافت، به طوری که بالاترین اثر در غلظت ۱ میلی‌مولار مشاهده شد. پیشنهاد می‌شود که با توجه به شرایط تنش‌زای کشور ایران تحقیقات جامع‌تر و بیشتری برای شناسایی پتانسیل‌های این ماده در بهبود کیفیت و کمیت محصولات کشاورزی انجام پذیرد.

منابع مورد استفاده

1. Ahmadi, F., M. Kadivar and M. Shahedi. 2007. Antioxidant activity of *Kelussia odordtissima* Mozaff in model and food systems. *Food Chemistry* 105:57-64.
2. Arazmjo, A., M. Heidari and A. Ghanbari. 2010. The effects of water stress and three sources of fertilizers on flower yield, physiological parameters and nutrient uptake in chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). *Iranian Journal of medicinal and Aromatic Plants* 25(4): 482-494. (In Farsi).
3. Ashraf, M. Y., A. R. Azmi, A. H. Khan and S. A. Ala. 1994. Effect of water stress on total phenols, peroxidase activity and chlorophyll content in wheat. *Acta Physiologiae Plantarum* 16: 185-191.
4. Colom, M. R and C. Vazzana. 2001. Drought stress effect on three cultivars of *Eragrostis curvula*: photosynthesis and water relation. *Journal of Plant Growth Regulation* 34: 195-202.
5. Drunasky, N. and D. K. Struve. 2005. *Quercus macrocarpa* and *Q. prinus* physiological and morphological response to drought stress on *Corianderum sativum* L. *Urban Foresty& Urban Greening* 4: 13-22.
6. Feng, X., S. Cheng, J. Zhu, W. Zhang and Y. Wang. 2011. Effects of 5-aminolevolinic acid on chlorophyll, Photosynthesis, soluble sugar and flavonoids of *Ginkgo Biloba*. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 39: 41-47.
7. Gabler, J. 2002. Drought stress and nitrogen effects of *Corianderum sativum* L. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants* 44: 12-28.
8. Hong-Bo, S., C. Li-Ye, A. J. Cheruth and Z. Chang-Xing. 2008. Water deficit stress-induced anatomical changes in higer plants. *Current Research in Biologies* 331: 215-225.
9. Hori, M. A. 2008. Effects of water stress on fruit drop and yield of date palm (*Phoenix dactylifera* L.). *Pajouesh & sazandegi* 79: 178-185. (In Farsi).
10. Hotta, Y., T. Tanaka, H. Takaoka, Y. Takeuchi and M. Konnai. 1997. Promotive effect of 5-aminolevolinic acid on the yield of several crops. *Plant Growth Regulation* 22: 109-114.
11. Hotta, Y., T. Tanaka, L. Bingshan, Y. Takeuchi and M. Konnai. 1998. Improvement of cold resistance in rice seedling by 5-aminolevolinic acid. *Journal of Pesticide Science* 23: 29-33.
12. Kang, H. M and M. E. Saltveit. 2002. Antioxidant enzyme and DPPH-radical scavenging activity in chilled and heat-shocked Rice (*Oryza sativa* L.) seedling radicles. *Journal of Agriculture Food Chemistry* 50: 513-518.
13. Korkmaz, A., Y. Korkmaz and A. R. Demirkiran. 2010. Enhancing chilling stress tolerance of pepper seedling by exogenous application of 5-aminolevolinic acid. *Environmental and Experimental Botany* 67:495-501.
14. Lebaschy, M. H. and E. Sharifi Ashorabadi. 2004. Growth indices of some medicinal plants under different water stresses. *Iranian Journal of medicinal and Aromatic Plants Research* 20(3): 249-261. (In Farsi).
15. Letchamo, W., R. Marquard, J. Holzal and A. Gosselin. 1994. Effects of water supply and light intensity on growth and essential oil of two *Thymus vulgaris* selections. *Angewandete Botanic* 68: 83-88.
16. Liu, D., Z. F. Pie, M. S. Naeem, D. F. Ming, H. B. Liu, F. Khan and W. J. Zhou. 2011. 5-aminolevolinic acid activates antioxidative defence system and seedling growth in *Brassica napus* L. under water-deficit stress. *Journal of Agronomy and Crop* Science 197: 284-295.
17. Misra, A. and N. K. Srivastava. 2000. Influence of water stress on Japanese mint. *Journal of Herbs, Spices and Medicinal plants* 7: 51-58.
18. Moon, J. H. and J. Terao. 1998. Antioxidant activity of caffeic acid and dihydrocaffeic acid in lard and human low-density lipoprotein. *Journal of Agriculture and Food chemistry* 46: 5062-5065.
19. Noorani Azad, H. and D. Chobineh. 2008. Study of water stress on biomass, soluble sugars, proline, enzymes and ions in *Helianthus annus* L. *Biological Sciences* (Danesh-I Zisti-I Iran). 3(2): 19-26. (In Farsi).
20. Omidbeigi, R. 2007. Production and processing of medicinal plants. Astane-Ghodse- Razavi Press., Theran. (In Farsi).
21. Oueslati, S., N. J. Bouraoui, H. Attia, M. Rabhi, R. Ksouri and M. Lachaal. 2010. Physiological and antioxidant responses of *Mentha pulegium* (Pennyroyal) to salt stress. *Acta Physiologiae Plantarum* 32:289-296.
22. Qasim, A., M. Ashraff and F. Anwar. 2010. Seed composition and seed oil antioxidant activity of Maize under water stress. *Journal of American Oil Chemestry Society* 87:1179-1187.
23. Sasaki, K., F. J. Marquez., N. Nishio and S. Nagai. 1995. Promotive effects of 5-aminolevolinic acid on the growth and photosynthesis of *Spirulina platensis*. *Journal of Ferment Bioeng* 79: 453-457.
24. Schutz, M. and E. Fangmeir. 2001. Growth and yield response of spring wheat (*Triticum aestivum* L. *cv. Minaret*) to elevated CO_2 and water limitation. *Environmental Pollution* 11: 187-194.
25. Shafagh-Kolvanagh, S., S. Zehtab Salmasi, A. Javanshir, M. Moghaddam and A. Dabbagh Mohammadinasab. 2009. Influence of nitrogen and weed interference on grain yield, yield components and leaf chlorophyll value of soybean. *Journal of Agriculture Science* 19(1): 1-20. (In Farsi).

26. Shrififar, F., M. H. Moshafi and S. H. Mansouri. 2007. *In vitro* evalution of antibacterial and antioxidant of the essential oil and methanol extract of endemic *Zataria multiflora Boiss*. *Food Crntrol* 18: 800-805.
27. Smirnoff, N. 1993. The role active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. *New Phytologist* 125:27-28.
28. Stobart, A. K. and J. A. Bukhari. 1984. Regulation of alpha-aminolevolinic acid synthesis and protochlorophyllide regeneration in the leaves of dark-grown barley *(Hordeum vulgare*) seedling. *Biochemistry* 222: 419-426.
29. Valadabadi, S. A. R., M. H. Lebaschi and H. Aliabadi Farahani. 2009. The effects of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), P_2O_5 fertilizer and irrigation according to physiological growth indices of Coriander (*Corianderum sativum* L.). *Iranian Journal of medicinal and Aromatic Plants* 25(3): 414-428. (In Farsi).
30. Wang, L. J., W. B. Jiang and B. J. Huang. 2004. Promotion of 5-aminolevolinic acid on photosynthesis of melon (*Cucumis melo*) seedling under low light and chilling stress conditions. *Physiologia Plantarum* 121: 258-264.
31. Watanabe, K., E. Nishihara, S. Watanabe, T. Tanaka, K. Takahashi and Y Takeuchi. 2006. Enhancement of growth and fruit maturity in 2-year-old grapevines cv. Delaware by 5-aminolevolinic acid. *Plant Growth Regulation* 49: 35-42.
32. Watanabe, K., T. Tanaka, Y. Hotta, H. Kuramochi and Y. Takeuchi. 2000. Improving salt tolerance of cotton seedling with 5-aminolevolinic acid. *Plant Growth Regulation* 32: 99-103.
33. Yazdani, D., S. Shabazi and H. Saifi. 2004. Planting, Conservation and Harvesting of Medicinal Plants. Jihade-Daneshgahi Press., Tehran. (In Farsi).
34. Yousefi Azar, M. and A. Rezayy. 2007. Evaloation of tolerance to drought in wheat lines. *Journal of Sciences and Technology of Agriculture and Natural Resources* 42: 113-121. (In Farsi).