

اثر رقابت گونه‌ای بر رنگدانه‌های فتوسنتزی، پرولین، محتوای آب نسبی، و میزان اسانس گیاه شنبلیله (*Trigonella foenum graecum*) و سیاهدانه (*Nigella sativa*) در شرایط تنش خشکی

راضیه کاکولوند، سیف‌اله فلاح*^۲ و علی عباسی سورکی^۲

گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۵/۱۳، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۴/۱۲/۰۲)

چکیده:

در آگرواکوسیستم‌های مناطق خشک و نیمه خشک، حفاظت از جنبه‌های فیزیولوژیک گیاهان زراعی برای انجام فتوسنتز مطلوب و در نتیجه تولید مناسب ضروری است. به منظور بررسی اثر آرایش کاشت بر حفاظت از پارامترهای فیزیولوژیک دو گیاه شنبلیله و سیاهدانه تحت شرایط تنش خشکی، آزمایشی در دانشگاه شهرکرد در سال ۱۳۹۳ اجرا شد. در این آزمایش، سه سطح تنش خشکی شامل W1، آبیاری کامل (آبیاری بر اساس ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی)، W2، تنش ملایم (آبیاری بر اساس ۷۵ درصد W1)، W3، تنش شدید (آبیاری بر اساس ۵۰ درصد W1) به عنوان عامل اصلی و پنج آرایش کشت شامل کشت خالص شنبلیله، کشت خالص سیاهدانه و سه نسبت مخلوط (۲:۱، ۱:۱، ۱:۲ شنبلیله و سیاهدانه) به عنوان عامل فرعی مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که با افزایش تنش خشکی، میزان کلروفیل a و b در تیمارهای مخلوط شنبلیله-سیاهدانه بیشتر از کشت خالص آنها بود. در گیاه شنبلیله، تیمار شنبلیله: سیاهدانه (۱:۱) و کشت خالص به ترتیب با میانگین ۱۱/۵ و ۱۰/۵ میلی‌گرم در گرم بیشترین مقدار پرولین و تیمار شنبلیله: سیاهدانه (۲:۱) با میانگین ۹/۷۵ میلی‌گرم در گرم کمترین مقدار پرولین را دارا بودند. علاوه بر این، بیشترین میزان اسانس در کشت خالص و تیمار شنبلیله: سیاهدانه (۱:۱) به ترتیب با میانگین ۱۲/۹ و ۱۲/۶ گرم در کیلوگرم مشاهده شد. برای گیاه سیاهدانه نیز اگر چه کشت خالص نسبت به تیمارهای کشت مخلوط همواره دارای اسانس بیشتری بود، اما تحت شرایط تنش خشکی، آرایش‌های کشت مخلوط در مقایسه با کشت خالص بدون تنش از اسانس بیشتری برخوردار بودند. در گیاه سیاهدانه با افزایش شدت تنش خشکی، آرایش‌های مخلوط در مقایسه با کشت خالص دارای محتوای آب نسبی بیشتر ولی قند محلول و اسانس کمتری بودند. به طور کلی نتیجه‌گیری می‌شود ایجاد رقابت بین گونه‌ای در گیاهان می‌تواند راهکار مهمی برای حفاظت جنبه‌های فیزیولوژیکی گیاهان از خسارت تنش خشکی باشد.

واژه‌های کلیدی: رقابت گیاهی، فتوسنتز، کلروفیل، کشت خالص

مقدمه:

اتفاق می‌افتد که میزان تعرق بیشتر از مقدار جذب آب باشد (علیزاده، ۱۳۸۷). در صورت طولانی بودن این عدم تعادل تمام فرایندهای متابولیک گیاه تحت تأثیر قرار می‌گیرد و نتیجه آن اغلب کاهش تولید گیاه می‌باشد (موحدی دهنوی و همکاران، ۱۳۸۳).

تنش خشکی به شرایطی اطلاق می‌شود که در آن سلول‌ها و بافت‌ها در وضعیتی قرار گیرند که آماس آن‌ها کامل نباشد. این حالت می‌تواند از کاهش جزئی پتانسیل آب تا پژمردگی دائم گیاه متغیر باشد. به عبارت ساده‌تر کمبود آب در گیاه زمانی

*نویسنده مسؤول، نشانی پست الکترونیکی: falah1357@yahoo.com

مقاومت به تنش خشکی در گیاهان مناسب مفید هستند زیرا در شرایط خشکی کاهش می‌یابند (Singh, 2007). پرولین در تمام اندام‌های گیاهی در طی تنش تجمع می‌یابد، این اسید آمینه ذخیره شده در سیتوپلاسم برای حفاظت از ساختمان ماکرومولکول‌ها استفاده می‌شود و هیدروکسی پرولین نیز در سنتز دیواره سلولی نقش دارد (Hu et al., 2014).

در شرایط تنش خشکی آرایش کشت متنوع می‌تواند به عنوان یک راهکار به منظور حداکثر استفاده از تشعشع بالا و منابع محدود آب به کار رود. به عنوان مثال دو گیاه شنبليله و سیاهدانه به دلیل اختلاف مورفولوژیک ممکن است سازگاری مناسبی برای کشت مخلوط در شرایط تنش خشکی داشته باشند (روستایی، ۱۳۹۳).

در شرایط آب هوایی ایران متوسط بارندگی ۲۴۰ میلی‌متر (معادل یک سوم میانگین جهانی) است (شرکت مدیریت منابع آب ایران، ۱۳۹۴) و از طرفی شدت تشعشعات در طی فصل‌های گرم سال زیاد است. در مناطق مرتفع نظیر چهارمحال و بختیاری سرعت زیاد باد و تشعشعات زیاد میزان تلفات تبخیری را افزایش می‌دهد. از این‌رو شرایط تنش خشکی برای محصولات بهاره حادث می‌شود، در این شرایط آرایش کشت متنوع سیاهدانه-شنبليله ممکن راهکاری مناسب تولید در شرایط محدودیت آب باشد. از آنجا که تولید مناسب نیازمند حفظ شرایط مطلوب برای فیزیولوژی گیاه است، بنابراین پژوهش حاضر با هدف ارزیابی، رقابت گیاهی برحفاظت از پارامترهای فیزیولوژیک دو گیاه شنبليله و سیاهدانه تحت شرایط تنش خشکی اجرا گردید.

مواد و روش‌ها:

این پژوهش در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد با عرض جغرافیایی ۳۲ درجه و ۲۱ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۵۰ درجه و ۴۹ دقیقه شرقی و با ارتفاع ۲۱۱۶ متر از سطح دریا در سال ۱۳۹۳ انجام شد. آزمایش به صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با ۳ تکرار اجرا گردید. سه سطح تنش خشکی شامل W1، آبیاری

فستونز یکی از فرایندهای مهم فیزیولوژیک گیاه است که در شرایط کمبود آب کاهش می‌یابد، همچنین دوام فستونز و حفظ کلروفیل برگ در شرایط تنش خشکی از جمله شاخص‌های فیزیولوژیک مقاومت به تنش است که تحت تأثیر تنش خشکی به دلیل تولید اکسیژن فعال و تجزیه کلروفیل اتفاق می‌افتد. به عبارتی تحت شرایط تنش خشکی کلروفیل و کلریلاست تجزیه و ساختار تیلاکوئید ناپدید می‌شود (ترحمی و همکاران، ۱۳۸۹). خشکی سبب کاهش در اندازه برگ‌ها، وزن خشک اندام هوایی، شاخص سطح برگ، تعداد برگچه، سطح برگ و فشار توژسانس در بافت گیاهی می‌شود (Hu et al., 2014).

کشت مخلوط به دلیل بازده و اثربخشی بالا در استفاده از منابع آبی در مناطق خشک و نیمه‌خشک جهان رایج می‌باشد (Gao et al., 2011). مزایای کشت مخلوط نسبت به کشت خالص در شرایط محدودیت آب بیشتر است، مشروط بر این که کل تراکم بوته در این دو سیستم یکسان باشد؛ یعنی هر جزء مخلوط با تراکم کمتری در مقایسه با کشت خالص آن کاشته شود. برتری کشت مخلوط در این مورد ظاهراً به این دلیل است که وقتی دو گیاه با هم کشت می‌شوند میزان رقابت کمتر از کشت خالص آنها است. کاشت گیاهان زراعی مختلف در دوره‌هایی که با یکدیگر همپوشانی دارند، می‌تواند راندمان مصرف آب در مناطق نیمه خشک را به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش دهد (مظاهری، ۱۳۷۷).

روستایی (۱۳۹۳) در کشت مخلوط شنبليله- سیاهدانه اظهار داشت که بیشترین مقدار کلروفیل a در تیمار شنبليله: سیاهدانه (۲:۱) مشاهده گردید. همچنین بهارلویی (۱۳۹۲) نیز در کشت مخلوط نخودفرنگی- کلزا مشاهده نمود کشت مخلوط سبب افزایش معنی‌دار کلروفیل b نخودفرنگی نسبت به کشت خالص شد. حسن زاده اول و همکاران (۱۳۸۹) در طی مطالعه کشت مخلوط مرزه و شبدر ایرانی بیان داشتند که تیمارهای کشت مخلوط با افزایش تراکم مرزه از ۲۷ به ۸۰ بوته در متر مربع منجر به افزایش عملکرد اسانس شدند.

محتوای نسبی آب برگ و پتانسیل آب برگ جهت بررسی

جدول ۱- برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش

ویژگی	بافت	هدایت الکتریکی	اسیدیتته	کربن آلی	ظرفیت زراعی	نقطه پژمردگی دائم
واحد	-	dS/m	-	%	%	%
خاک	رسی لوم	۱/۴۷	۷/۹۸	۰/۷۶	۲۳/۱۱	۸/۹۱

کامل (آبیاری بر اساس ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی)؛ W2، تنش ملایم (آبیاری بر اساس ۷۵ درصد W1)؛ و W3، تنش شدید (آبیاری بر اساس ۵۰ درصد W1) به عنوان عامل اصلی و پنج آرایش کشت شامل کشت خالص شنبلیله، کشت خالص سیاهدانه و سه نسبت مخلوط (۱:۲، ۱:۱، ۱:۲ شنبلیله و سیاهدانه) به عنوان عامل فرعی مورد بررسی قرار گرفتند. قبل از تهیه بستر، نمونه مرکبی از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری خاک مزرعه تهیه گردید و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی آن در آزمایشگاه تعیین شد (جدول ۱).

به منظور اعمال تنش خشکی، مقدار رطوبت سهل‌الوصول (TAW) از رابطه زیر محاسبه شد (FAO, 1998):

$$TAW = 1000 (FC - PWP) \times Zr$$

FC: رطوبت حجمی ظرفیت زراعی مزرعه

PWP: رطوبت حجمی نقطه پژمردگی دائم

Zr: عمق ریشه

$$RAW = P \times TAW$$

P = ضریب سهل‌الوصول بوده و کوچکتر از یک است. مقدار P به نوع گیاه و مرحله رشد گیاه بستگی دارد. اگر گیاه به کم آبی خیلی حساس باشد مقدار P بین ۰/۳ تا ۰/۴ است و اگر مقاوم باشد به عدد یک نزدیکتر است.

براساس رابطه فوق‌الذکر، برای تیمار آبیاری کامل معادل ۲۰۰ لیتر آب در هر کرت، برای تیمار تنش ملایم ۱۵۰ لیتر آب در هر کرت و تیمار تنش شدید ۱۰۰ لیتر آب در هر کرت توسط کتور محاسبه گردید و زمان آبیاری توسط دستگاه تناپروپ در ۰/۷ ظرفیت زراعی مزرعه برای تیمار آبیاری کامل در هر آرایش کشت انجام شد. زمان شروع تیمار بعد از استقرار کامل گیاه (مرحله پنج برگی گیاه شنبلیله) بود.

بذور شنبلیله و سیاهدانه از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه گردید و کاشت هر دو گیاه در تاریخ ۱۷ خرداد به صورت

همزمان در ردیف‌هایی با فواصل ۲۵ سانتی‌متری و با تراکم زیاد در کرت‌هایی به ابعاد ۲/۲۵×۲/۵ متر انجام شد. اولین آبیاری پس از کاشت انجام و آبیاری‌های بعدی در طول فصل رشد با توجه به نیاز آبی گیاه و شرایط محیطی و بر اساس تیمار مورد نظر انجام شد. در مرحله ۴ برگی، گیاهان برای رسیدن به تراکم مطلوب (۵۰ و ۱۰۰ بوته در متر مربع به ترتیب برای شنبلیله و سیاهدانه) تنک شدند. در طول آزمایش وجین دستی علف‌های هرز انجام شد.

در مرحله گرده افشانی (۶۵ روز پس از کشت) از هر کرت پس از حذف اثر حاشیه‌ی، ۱۰ نمونه تصادفی انتخاب شد. سپس ریزنمونه‌ای از ۱۰ بوته به طور تصادفی تهیه و جهت اندازه‌گیری صفات کلروفیل a، کلروفیل b، کاروتنوئیدها و محتوای آب نسبی برگ مورد استفاده قرار گرفت.

اندازه‌گیری رنگدانه‌های فتوسنتزی: برای اندازه‌گیری رنگدانه‌های فتوسنتزی، استخراج این رنگدانه‌ها از برگ با استون ۸۰ درصد و به روش Lichtenthaler (۱۹۹۸) انجام گرفت. ابتدا ۰/۵ گرم از بافت تازه پهنک برگ‌ها در هاون با ۱۰ میلی‌لیتر استون سائیده شد. جذب محلول با اسپکتروفتومتر (Jenway، مدل ۶۳۰۰) در طول موج‌های ۶۴۵، ۶۶۳ و ۴۷۰ نانومتر قرائت شد. سپس میزان کلروفیل a، b و مجموع کلروفیل a و b و کاروتنوئیدها طبق روابط زیر بر حسب میلی‌گرم در گرم وزن تر بافت گیاهی محاسبه شد (Ghnaya et al., 2009)

$$Ch_a = 12.25 \times A_{663} - 2.79 A_{645}$$

$$Ch_b = 21.50 \times A_{645} - 5.10 A_{663}$$

$$C_{ar} = (100A_{470} - 3.27 \times C_a - 104 \times C_b)$$

Ch_a: کلروفیل a، Ch_b: کلروفیل b، Car: کاروتنوئیدها، A:

میزان جذب نور

اندازه‌گیری محتوای آب نسبی برگ: قبل از پایان تنش

اندازه‌گیری قند محلول: در زمان برداشت پس از تهیه نمونه‌های تصادفی از بذور دو گیاه، قند محلول با روش Nelson (۱۹۹۴) اندازه‌گیری شد. بدین صورت که ابتدا ۰/۵ گرم نمونه بذر هر گیاه در هاون کوبیده و ۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵٪ به هر نمونه اضافه شد و داخل لوله سانتریفیوژ قرار گرفت، سپس ۵ میلی‌لیتر الکل ۷۰٪ به لوله سانتریفیوژ اضافه و نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه با ۳۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول سانتریفیوژ شده (عصاره بذر) و ۳ میلی‌لیتر آنترونتاره (به منظور تبدیل آنتروناز حالت پودری و جامد به حالت محلول ۲۰۰ میلی‌گرم آنترونو ۱۰۰ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک ۷۲٪ با یکدیگر مخلوط می‌گردد) به نمونه‌ها اضافه شد و به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آبگرم (بن‌ماری) در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و پس از خنک شدن در دمای محیط میزان جذب نور محلول با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Jenway، مدل ۶۳۰۰) در طول موج ۶۲۵ نانومتر قرائت شد.

اندازه‌گیری اسانس: به منظور اندازه‌گیری میزان اسانس در زمان برداشت (۱۲۰ روز پس از کاشت)، ۵۰ گرم بذر شنبلیله و ۵۰ گرم بذر سیاهدانه به طور تصادفی از دانه‌های تولیدی در هر کرت نمونه‌گیری شد و در سایه خشک گردید، سپس میزان اسانس ۵۰ گرم از بذر شنبلیله (میرهاشمی و همکاران، ۱۳۸۸) و بذر سیاهدانه (El-Sayed et al., 2000) خشک شده با کمک دستگاه کلونجر به روش تقطیر با بخار آب طی سه ساعت اندازه‌گیری شد.

محاسبات آماری داده‌های آزمایشی شامل تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از نرم افزار SAS و MSTAT-C انجام گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث:

کلروفیل a: بر اساس نتایج تجزیه واریانس اثر تنش خشکی بر کلروفیل a دو گیاه در سطح احتمال ۱ درصد و اثر آرایش کشت بر این صفت در گیاه شنبلیله و سیاهدانه به ترتیب در

محتوای آب نسبی (RWC) برگ به روش Ritchie و همکاران (۱۹۹۰) اندازه‌گیری شد. ابتدا از برگ تمام تیمارهای آزمایشی نمونه برداری شد و نمونه‌ها و بلافاصله در ظروف حاوی یخ قرار گرفتند، سپس وزن تر آن‌ها پس از آن تمامی نمونه‌ها در آب مقطر به مدت ۲۴ ساعت در سردخانه (دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) قرار داده شده. سپس وزن برگ‌های اشباع شده اندازه‌گیری و برگ‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرارداده شد و وزن خشک هر کدام اندازه‌گیری شد. با قرار دادن اعداد حاصل از توزین در فرمول زیر محتوای نسبی آب برگ به دست آمد.

$$RWC = (Wf - Wd) \times 100 / Wt - Wd$$

Wd = وزن خشک برگ پس از قرار گرفتن در آون (دمای

۷۰ درجه سانتی‌گراد) به مدت ۴۸ ساعت

Wt = وزن برگ اشباع شده پس از قرار گرفتن در آب مقطر

به مدت ۲۴ ساعت

WF = وزن اولیه برگ

برای اندازه‌گیری صفات زیر پس از رسیدگی فیزیولوژیک بذر (۱۲۰ روز پس از کشت) و حذف اثر حاشیه‌ای، تعداد ۱۰ بوته از هر کرت به طور تصادفی انتخاب شد پس از بوجاری بذور، مقدار معینی بذر توزین شد و جهت تعیین پرولین، قند محلول و اسانس مورد استفاده قرار گرفت.

اندازه‌گیری پرولین: غلظت پرولین بذر با استفاده از روش

Bates و همکاران (۱۹۷۳) اندازه‌گیری شد. جهت تهیه محلول استخراج پرولین، ۱۰ میلی‌لیتر از محلول ۳ درصد اسید سولفوسالسیلیک به ۰/۵ گرم بذر (آسیاب شده) اضافه شد. سپس این مخلوط در دور ۸۰۰۰ در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس ۲ میلی‌لیتر اسید ناین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر گلایکول استیک اسید به ۲ میلی‌لیتر از محلول استخراج شده اضافه گردید. این محلول به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد در حمام بن‌ماری جوشانده شد. بعد از خنک شدن محلول، ۴ میلی‌لیتر تولوئن به آن اضافه گردید. سپس غلظت پرولین با قرائت در طول موج ۵۲۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر (Jenway، مدل ۶۳۰۰) تعیین شد.

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر آرایش کشت بر مقدار رنگدانه‌های فتوسنتزی در گیاه شنبلیله و سیاهدانه در شرایط تنش خشکی.

میانگین مربعات						درجه آزادی	منبع تغییرات
کاروتنوئیدها		کلروفیل b		کلروفیل a			
سیاهدانه	شنبلیله	سیاهدانه	شنبلیله	سیاهدانه	شنبلیله		
۰/۰۰۶ ^{ns}	۰/۰۰۲*	۰/۰۸ ^{ns}	۰/۰۱ ^{ns}	۰/۰۴ ^{ns}	۰/۰۷ ^{ns}	۲	تکرار
۰/۸**	۰/۱۱**	۴/۴**	۱۵/۲**	۲۲/۵**	۲۰۵/۶**	۲	تنش خشکی (S)
۰/۰۰۹	۰/۰۰۰۶	۰/۰۸	۰/۰۱۵	۰/۰۶	۰/۳	۴	خطای اصلی
۰/۲۶**	۰/۰۷**	۰/۵**	۴/۲**	۰/۵۶*	۵/۱**	۳	آرایش کشت (P)
۰/۰۶۶**	۰/۰۰۱*	۰/۱۱*	۰/۱۵*	۰/۶۱**	۰/۴*	۶	S×P
۰/۰۱	۰/۰۰۰۴	۰/۰۴	۰/۰۵	۰/۱۵	۰/۱۳	۱۸	خطای فرعی
۹/۷۴	۳/۷	۶/۵	۶/۸	۴/۱۴	۳/۴		ضریب تغییرات (%)

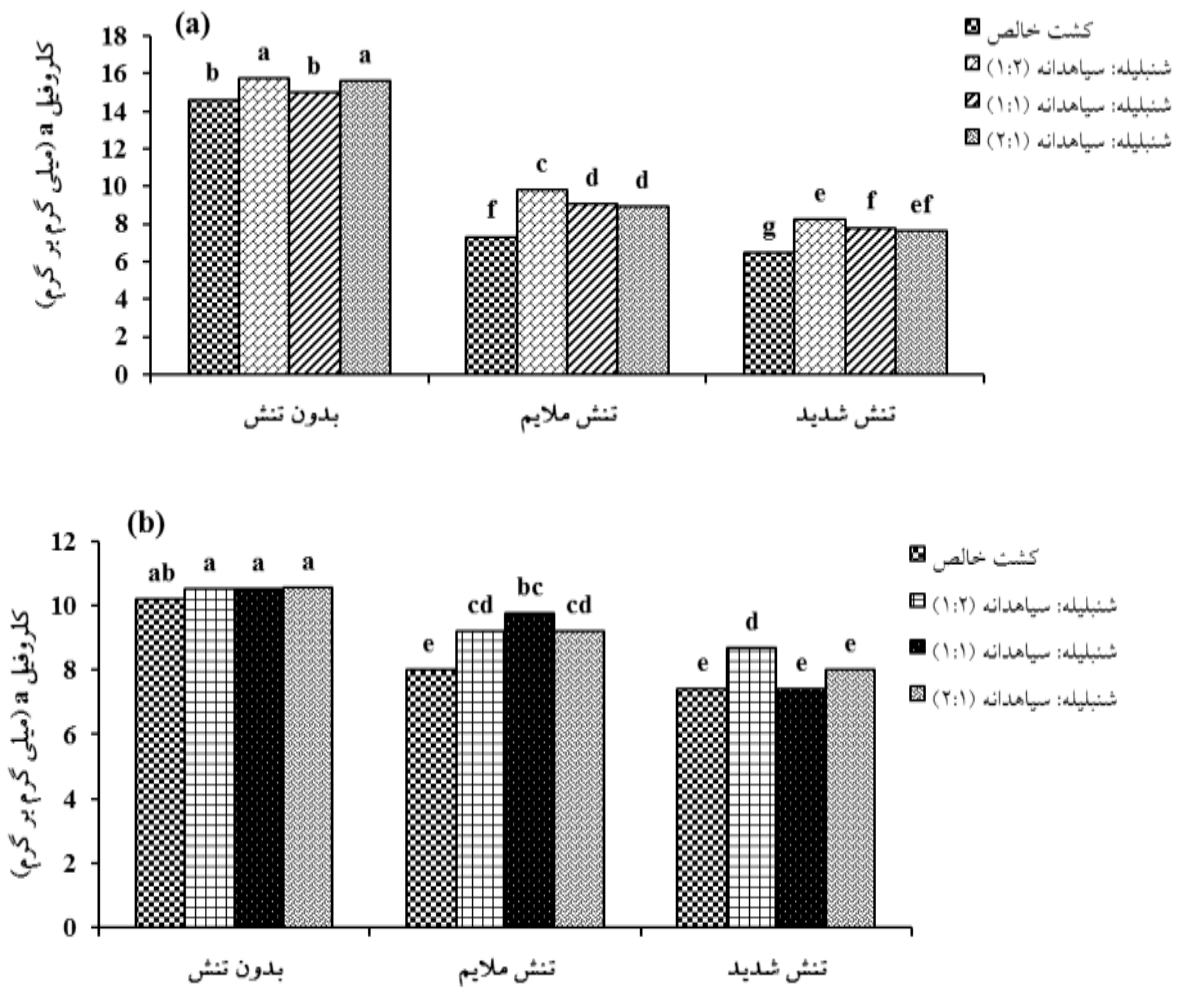
ns، *، ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

سبب پراکسیداسیون و در نتیجه تجزیه کلروفیل a می‌شوند (Sheteawi and Tawfik, 2007). در شنبلیله بیشترین میزان کلروفیل a در شرایط بدون تنش مشاهده شد. تیمارهای کشت مخلوط در مقایسه با کشت خالص افزایش معنی‌داری در میزان کلروفیل a نشان دادند. تحت شرایط تنش ملایم و تنش شدید به ترتیب تیمارهای کشت مخلوط در مقایسه با کشت خالص ۳۴٪ و ۲۸٪ افزایش داشتند. در گیاه سیاهدانه تحت شرایط بدون تنش بین تیمارهای مخلوط و کشت خالص از نظر کلروفیل a اختلاف معنی‌داری وجود نداشت، ولی با اعمال تنش ملایم و شدید بین تیمارهای مخلوط و کشت خالص به ترتیب ۱۰٪ و ۱۷٪ افزایش مشاهده شد. با توجه به نتایج فوق می‌توان اظهار نمود که در تیمارهای کشت مخلوط به دلیل دسترسی بیشتر به رطوبت خاک و دسترسی بهتر به عناصر غذایی کاهش میزان اثرات تنش خشکی بر کلروفیل a شنبلیله و سیاهدانه مشاهده شد. حیدری و همکاران (۱۳۹۰) اظهار نمودند که تنش خشکی تأثیر معنی‌داری بر میزان کلروفیل a برگ گیاهان دارویی دارد. روستایی (۱۳۹۳) نیز در کشت مخلوط شنبلیله-سیاهدانه اظهار داشت که بیشترین مقدار کلروفیل a در تیمار شنبلیله: سیاهدانه (۲:۱) مشاهده شد.

کلروفیل b: همان‌طور که در جدول تجزیه واریانس مشاهده می‌شود در گیاه شنبلیله و سیاهدانه اثرات تنش خشکی

سطح احتمال ۱ و ۵ درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). اثر متقابل تنش خشکی با آرایش کشت بر میزان کلروفیل a در گیاه شنبلیله و سیاهدانه به ترتیب در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ۲).

با توجه به مقایسه میانگین‌ها می‌توان اظهار نمود که در گیاه شنبلیله بیشترین میزان کلروفیل a تحت شرایط بدون تنش در تیمارهای شنبلیله: سیاهدانه (۱:۲) و (۲:۱) به ترتیب با میانگین‌های ۱۵/۷۴ و ۱۵/۵۹ میلی‌گرم بر گرم مشاهده شد (شکل ۱ a). این در حالی بود که در شرایط تنش شدید در تیمار شنبلیله: سیاهدانه (۱:۲) میزان کلروفیل با میانگین ۸/۲۵ میلی‌گرم بر گرم از تیمار کشت خالص بیشتر بود. با توجه به مقایسه میانگین‌ها در گیاه سیاهدانه تحت شرایط بدون تنش بین آرایش‌های کشت اختلاف معنی‌داری وجود نداشت، اما تحت شرایط تنش ملایم تیمارهای کشت مخلوط نسبت به کشت خالص کلروفیل بیشتری داشتند، و از طرف دیگر تحت شرایط تنش شدید تیمارهای کشت مخلوط نسبت به کشت خالص در تیمار تنش ملایم کلروفیل بیشتری داشتند (شکل ۱ b). تأثیرپذیری میزان کلروفیل در گیاهان تحت تنش خشکی بسته به شدت، مدت و مرحله رشدی گیاه متفاوت است. در واقع کاهش کلروفیل a بر اثر تنش خشکی مربوط به افزایش تولید رادیکال‌های اکسیژن در سلول می‌شود که این رادیکال‌ها



شکل ۱- اثر متقابل تنش خشکی با آرایش کشت بر میزان کلروفیل a در گیاه شنبلیله (a) و سیاهدانه (b). میانگین‌های دارای حروف مشابه فاقد اختلاف آماری معنی‌دار بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند.

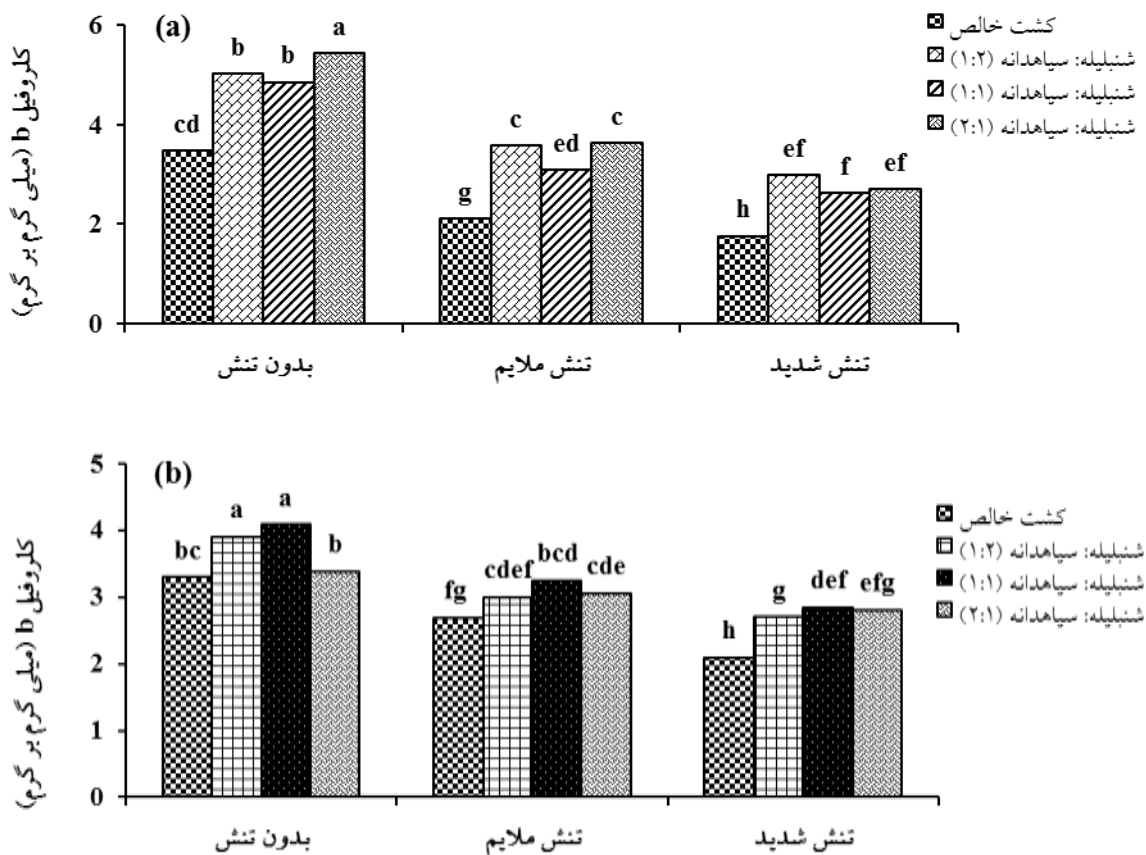
معنی‌داری داشت (شکل ۲ a).

در گیاه سیاهدانه تحت شرایط بدون تنش تیمارهای شنبلیله: سیاهدانه (۱:۱) و (۱:۲) نسبت به کشت خالص در رتبه بالاتری قرار گرفتند. حتی در تیمار شنبلیله: سیاهدانه (۱:۱) تحت شرایط تنش شدید در مقایسه با کشت خالص تحت شرایط تنش ملایم برتری نشان داد (شکل ۲ b).

بررسی اثر متقابل تنش خشکی با آرایش کشت برای کلروفیل b شنبلیله و سیاهدانه مشخص نمود که افزایش تنش خشکی باعث کاهش میزان کلروفیل b می‌شود، با این تفاوت که میزان کاهش کلروفیل b برای گیاه شنبلیله با شیب بیشتری مشاهده شد (شکل ۲ a). بیشترین میزان کلروفیل b در گیاه شنبلیله در شرایط عدم تنش در تیمار شنبلیله: سیاهدانه (۲:۱)

و آرایش کشت بر کلروفیل b در سطح احتمال ۱ درصد و اثر متقابل این دو عامل بر صفت ذکر شده در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد (جدول ۲).

مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در گیاه شنبلیله بیشترین میزان کلروفیل b تحت شرایط بدون تنش در تیمار شنبلیله: سیاهدانه (۲:۱) با میانگین ۵/۴۴ میلی‌گرم بر گرم وجود داشت. این در حالی است که تحت شرایط تنش ملایم تیمارهای شنبلیله: سیاهدانه (۱:۲) و (۲:۱) به ترتیب با میانگین ۳/۶۳ و ۳/۵۸ میلی‌گرم بر گرم نسبت به کشت خالص در شرایط بدون تنش با میانگین ۳/۴۸ میلی‌گرم بر گرم برتری نشان دادند. همچنین میزان کلروفیل b کشت مخلوط تحت شرایط تنش شدید در مقایسه با کشت خالص در تنش ملایم برتری



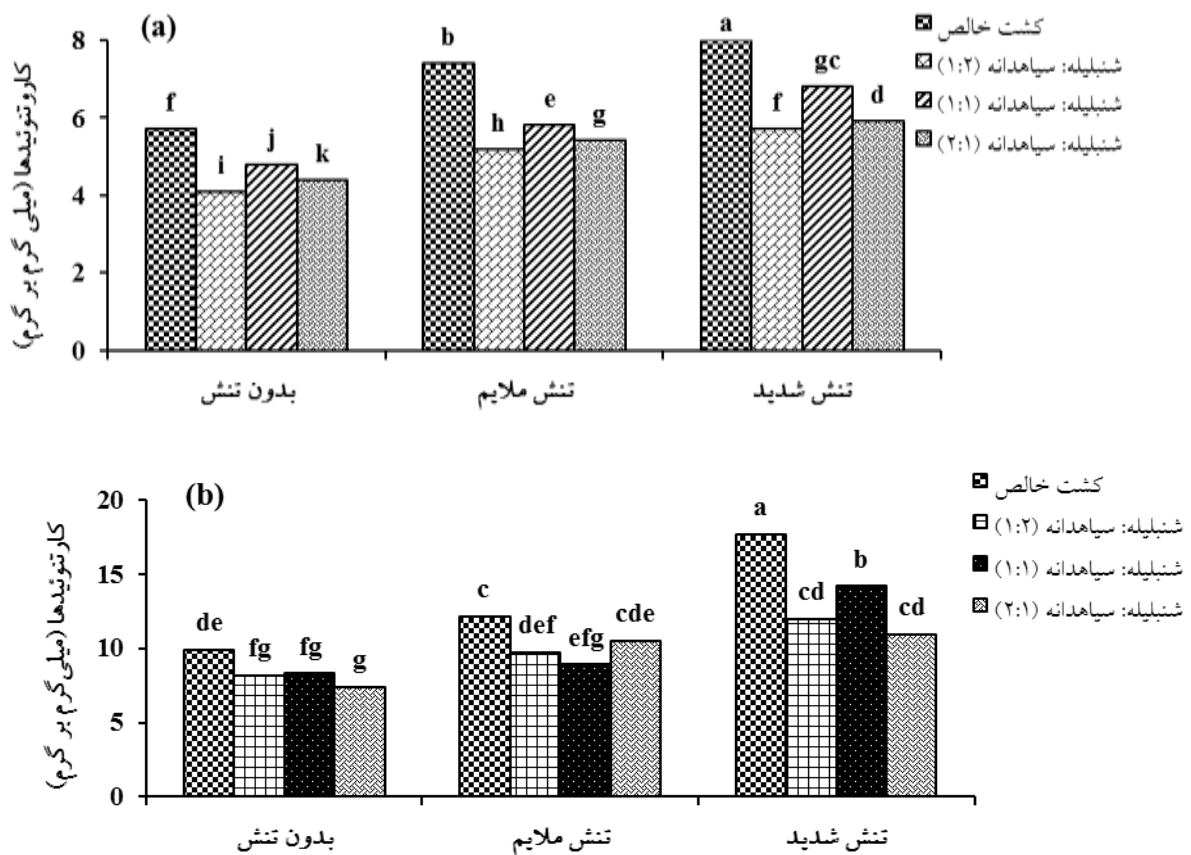
شکل ۲- اثر متقابل تنش خشکی با آرایش کشت بر کلروفیل b در گیاه شنبليله (a) و سیاهدانه (b). میانگین‌های دارای حروف مشابه فاقد اختلاف آماری معنی‌دار بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند.

(Tambussi *et al.*, 2000). بهارلویی (۱۳۹۲) نیز در کشت مخلوط نخودفرنگی و کلزا مشاهده نمود کلروفیل b نخودفرنگی در تیمار کشت مخلوط به‌طور معنی‌داری نسبت به کشت خالص افزایش یافت.

کاروتنوئیدها: نتایج تجزیه واریانس حاکی از آن است که اثرات اصلی تنش خشکی و آرایش کشت بر کاروتنوئیدهای دو گیاه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد، ولی اثر متقابل تنش خشکی با آرایش کشت بر این صفت در گیاه شنبليله و سیاهدانه به ترتیب در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲).

با توجه به مقایسه میانگین‌های ارائه شده در شکل (۳ a) می‌توان اظهار نمود که در گیاه شنبليله بیشترین میزان کاروتنوئیدها در کشت خالص تحت شرایط تنش شدید وجود داشت. کمترین میزان کاروتنوئیدها نیز در تیمار شنبليله: سیاهدانه (۱:۲) تحت شرایط بدون تنش مشاهده شد. برای گیاه

مشاهده شد اما با کاهش رطوبت (تیمار تنش ملایم و شدید)، تیمار شنبليله: سیاهدانه (۱:۲) بیشترین میزان کلروفیل b را دارا بود. از آنجایی که گیاه سیاهدانه نسبتاً به تنش مقاوم است حضور دو ردیف سیاهدانه و یک ردیف شنبليله می‌تواند تأثیر نسبتاً مناسبی در حفظ رطوبت خاک داشته باشد. همین امر منجر به تنش رطوبتی کمتر و افزایش میزان کلروفیل b در این تیمار شده است (شکل ۲ a). اما در گیاه سیاهدانه در شرایط تنش ملایم و شدید بین تیمارهای مخلوط تقریباً نتایج مشابهی وجود داشت و این در حالی بود که نسبت به تیمار کشت خالص برتری نشان داد (شکل ۲ b). تحت تأثیر خشکی کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی می‌تواند ناشی از کاهش ساخت کمپلکس اصلی رنگدانه کلروفیل، تخریب نوری کمپلکس پروتئین رنگدانه b که محافظت کننده دستگاه فتوسنتزی است، صدمه اکسیداتیو لیپیدهای کلروپلاست رنگدانه‌ها و پروتئین‌ها و یا افزایش فعالیت آنزیم کلروفلاز باشد



شکل ۳- اثر متقابل تنش خشکی با آرایش کشت بر کلروفیل کاروتنوئیدها در گیاه شنبلیله (a) و سیاهدانه (b). میانگین‌های دارای حروف مشابه فاقد اختلاف آماری معنی‌دار بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند.

شنبلیله نشان داد که محتوای آب نسبی برگ تحت تیمارهای تنش خشکی و آرایش کشت قرار گرفت، اما اثر متقابل این دو عامل بر محتوای آب نسبی برگ معنی‌دار نبود. در گیاه سیاهدانه نیز مشاهده شد که اثرات اصلی تنش خشکی و آرایش کشت و اثر متقابل این دو عامل بر محتوای آب نسبی برگ به ترتیب در سطح احتمال ۱، ۱، و ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). با توجه به مقایسه میانگین‌ها می‌توان اظهار نمود که در گیاه شنبلیله با افزایش تنش خشکی میزان محتوای آب نسبی برگ کاسته شد (شکل ۴). بیشترین محتوای آب نسبی برگ در تیمار بدون تنش (با میانگین ۶۶/۴۵ درصد) وجود داشت و در تیمار تنش شدید (با میانگین ۴۴/۸۵ درصد) کمترین میزان محتوای آب نسبی مشاهده شد. در شکل ۴ b نیز مشاهده می‌شود که بیشترین میزان محتوای آب نسبی برگ مربوط به آرایش کشت‌های مخلوط است و به‌طور معنی‌داری از کشت خالص بیشتر بود.

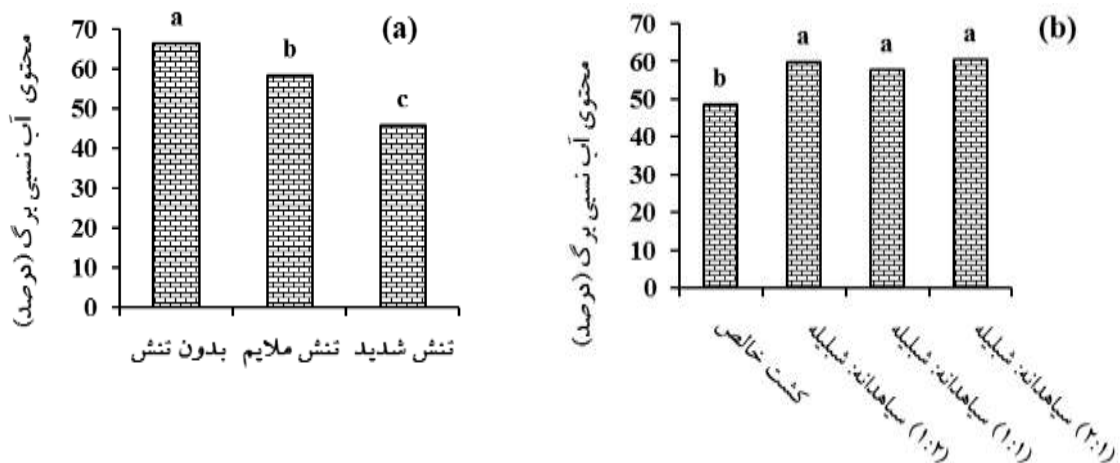
سیاهدانه نیز همانند گیاه شنبلیله بیشترین میزان کاروتنوئید در کشت خالص تحت شرایط تنش شدید رطوبتی مشاهده گردید و همچنین کمترین میزان کاروتنوئیدها در تیمار شنبلیله: سیاهدانه (۲:۱) در شرایط بدون تنش مشاهده شد (شکل 3 b). در زمان محدودیت فعالیت کلروفیل‌ها، کاروتنوئیدها سیستم فتوسنتزی گیاه را در برابر تشعشع حفاظت می‌کنند، بنابراین در زمان کاهش کلروفیل مانند شرایط تنش خشکی نقش کاروتنوئید زیاد می‌شود (Deamn, 1999). با توجه به افزایش کلروفیل a و b در گیاه شنبلیله و سیاهدانه در تیمارهای کشت مخلوط نسبت به کشت خالص (شکل‌های ۱ و ۲) تحت تیمارهای رطوبتی متفاوت می‌توان نتیجه گرفت که پایین بودن کاروتنوئیدها در تیمارهای کشت مخلوط تحت شرایط رطوبتی متفاوت ممکن است ناشی از تخریب کمتر کلروفیل در این شرایط باشد (شکل ۳).

محتوای آب نسبی برگ: نتایج تجزیه واریانس برای گیاه

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر آرایش کشت بر محتوای محتوای آب نسبی برگ، پرولین، قند محلول و اسانس گیاه شنبلیله و سیاهدانه

میانگین مربعات								درجه آزادی	منبع تغییرات
اسانس		قند محلول		پرولین		محتوای آب نسبی برگ			
سیاهدانه	شنبلیله	سیاهدانه	شنبلیله	سیاهدانه	شنبلیله	سیاهدانه	شنبلیله		
۰/۰۰۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۲ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۷ ^{ns}	۰/۱ ^{ns}	۰/۱۲ ^{ns}	۰/۲ ^{ns}	۷/۷ ^{ns}	۰/۸ ^{ns}	۲	تکرار
۰/۰۱۵ ^{**}	۰/۲ ^{**}	۰/۵۶ ^{**}	۱/۱۵ ^{**}	۶۲/۶۴ ^{**}	۷۹/۳ ^{**}	۸۲۹ ^{**}	۱۲۹۲ ^{**}	۲	تنش خشکی (S)
۰/۰۰۰۰۲	۰/۰۰۰۰۳	۰/۰۰۰۰۳	۰/۰۰۰۰۲	۰/۱۱۹	۰/۹	۸/۵	۸/۲	۴	خطای اصلی
۰/۰۳ ^{**}	۰/۲ ^{**}	۰/۰۴ ^{**}	۰/۰۳ [*]	۲/۱۱۱ ^{**}	۱/۵۴ ^{**}	۲۲۴ ^{**}	۲۲۵ ^{**}	۳	آرایش کشت (P)
۰/۰۰۱ ^{**}	۰/۰۲۳ ^{ns}	۰/۰۰۵ [*]	۰/۰۰۸ ^{ns}	۰/۰۷ ^{ns}	۰/۱۲ ^{ns}	۱۹/۰۳ [*]	۱۲/۴ ^{ns}	۶	S × P
۰/۰۰۰۰۱	۰/۰۰۰۰۱	۰/۰۰۰۰۱	۰/۰۰۰۰۶	۰/۰۰۶	۰/۱	۵/۰۲۳	۱۲/۰۸	۱۸	خطای فرعی
۱/۵	۲/۷۲	۵/۴۱	۸/۲۴	۳/۲۵	۳/۱۹	۴/۵۸	۶/۱		ضریب تغییرات (/)

ns، *، ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

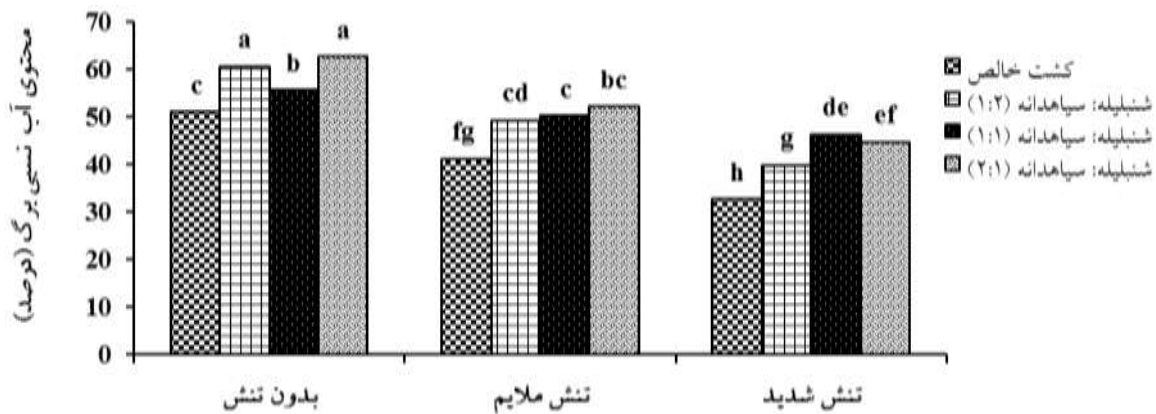


شکل ۴- اثر تنش خشکی (a) و آرایش کشت (b) بر محتوای آب نسبی برگ شنبلیله. میانگین‌های حروف مشابه فاقد اختلاف آماری معنی‌دار بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند.

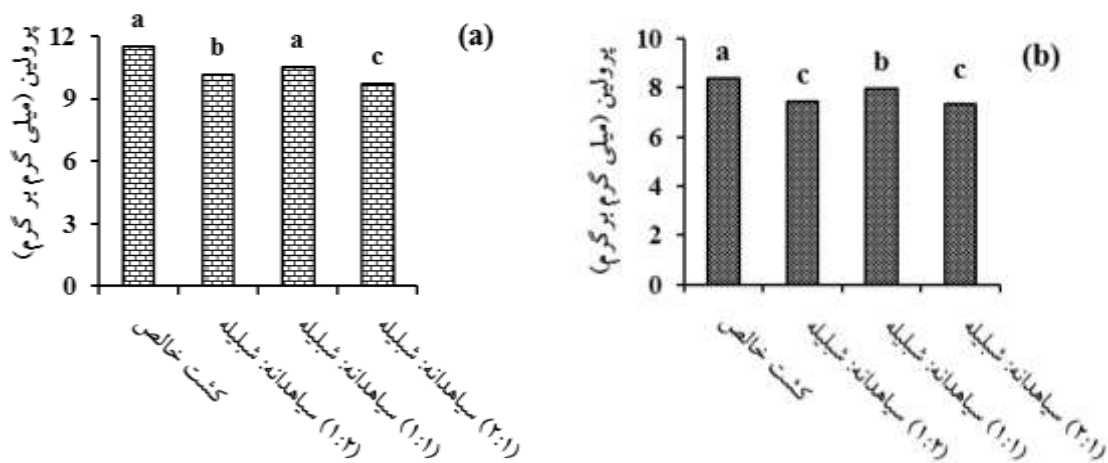
خالص مشاهده شد (شکل ۵).

بسیاری از پژوهشگران معتقدند که کاهش محتوای رطوبت نسبی برگ در اثر تنش کم آبی مربوط به بسته شدن روزنه‌ها است که در اثر تجمع هورمون آبسزیک اسید انجام می‌شود. از طرفی بین محتوای نسبی آب برگ و میزان رطوبت خاک رابطه مستقیم وجود دارد، به طوری که کاهش میزان رطوبت خاک و ایجاد تنش خشکی باعث کاهش محتوای آب نسبی برگ می‌شوند (Kan et al., 2007). پس، توزیع متفاوت ریشه‌های دو گیاه و بهره‌برداری بهتر از نیچ ریزوسفری منجر

برای گیاه سیاهدانه می‌توان بیان داشت که بیشترین محتوای نسبی آب برگ مربوط به تیمار بدون تنش بود و با افزایش تنش آرایش‌های کشت مخلوط از محتوای آب نسبی برگ بالاتری برخوردار بودند. به طوری که، در شرایط بدون تنش بیشترین محتوای آب نسبی برگ در تیمارهای شنبلیله: سیاهدانه (۱:۲) و (۲:۱) مشاهده شد و در شرایط تنش ملایم محتوای نسبی آب برگ در نسبت‌های مخلوط از نظر آماری برتری معنی‌داری در مقایسه با کشت خالص نشان دادند. در شرایط تنش شدید کمترین محتوای آب نسبی برگ در کشت



شکل ۵- اثر متقابل تنش خشکی و آرایش کشت بر محتوای نسبی آب برگ گیاه سیاهدانه. میانگین‌های دارای حروف مشابه فاقد اختلاف آماری معنی‌دار بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند.



شکل ۶- اثر آرایش کشت بر میزان پروتئین (a) و سیاهدانه (b). میانگین‌های دارای حروف مشابه فاقد اختلاف آماری معنی‌دار بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند.

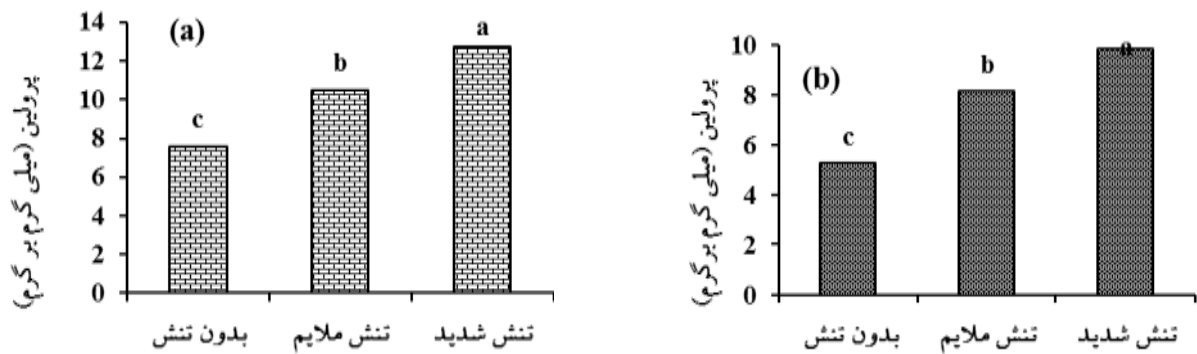
میلی‌گرم در گرم بیشترین مقدار پروتئین و تیمارهای شنبليله: سیاهدانه (۲:۱) و (۱:۲) به ترتیب با میانگین ۷/۴۲ و ۷/۳۵ میلی‌گرم در گرم کمترین مقدار پروتئین را داشتند (شکل ۶).

نتایج مقایسه میانگین نشان داد که میزان پروتئین در گیاه شنبليله با افزایش تنش خشکی با شیب بیشتری افزایش یافت، ولی در گیاه سیاهدانه این شیب کمتر بود (شکل ۷). یکی از مکانیسم‌های کارآمدی که گیاهان به هنگام مواجه شدن با خشکی برای حفظ تورژسانس و آماس سلولی در خدمت می‌گیرند تنظیم اسمزی از طریق تجمع قندها و اسیدهای آمینه نظیر پروتئین است. به نظر می‌رسد در گیاه شنبليله در تیمار تنش شدید، مکانیسم‌های دفاعی گیاه در دوره کمبود آب منجر به افزایش پروتئین با میانگین ۱۲/۷۴ میلی‌گرم در گرم نسبت به

به دسترسی به رطوبت بیشتر در آرایش‌های کشت مخلوط گیاهان شنبليله و سیاهدانه شده است و همین امر موجب برتری وضعیت رطوبتی تیمارهای مخلوط در مقایسه با کشت خالص شده است.

پروتئین: اثر تنش خشکی و آرایش کشت بر میزان پروتئین گیاه شنبليله و سیاهدانه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد، ولی اثر متقابل برای صفت یاد شده معنی‌دار نبود (جدول ۳).

در گیاه شنبليله، تیمار شنبليله: سیاهدانه (۱:۱) و کشت خالص به ترتیب با میانگین ۱۰/۵۱ و ۱۱/۵ میلی‌گرم در گرم بیشترین مقدار پروتئین و تیمار شنبليله: سیاهدانه (۲:۱) با میانگین ۹/۷۵ میلی‌گرم در گرم کمترین مقدار پروتئین را دارا بودند. در گیاه سیاهدانه، کشت خالص با میانگین ۸/۳۷

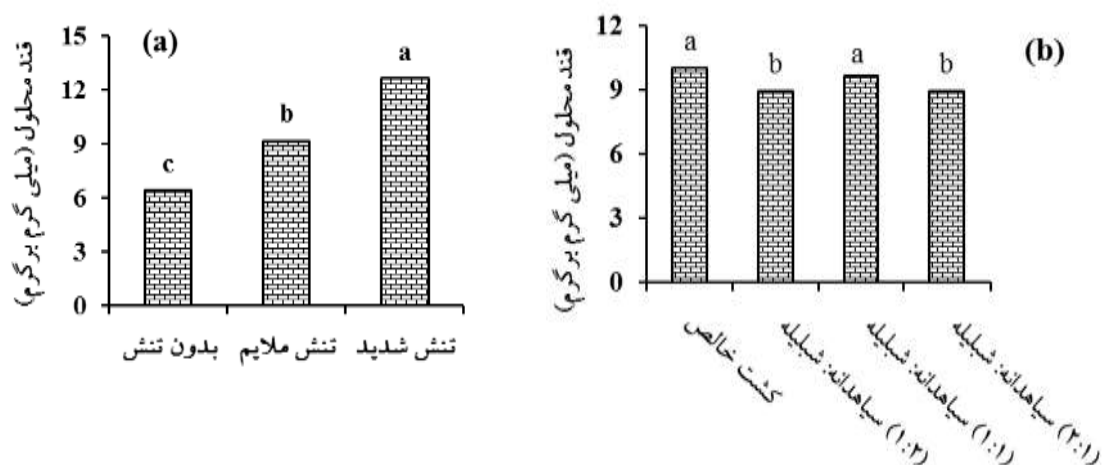


شکل ۷- اثر تنش خشکی بر میزان پرولین شنبلیله (a) و سیاهدانه (b). میانگین‌های دارای حروف مشابه فاقد اختلاف آماری معنی‌دار بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند.

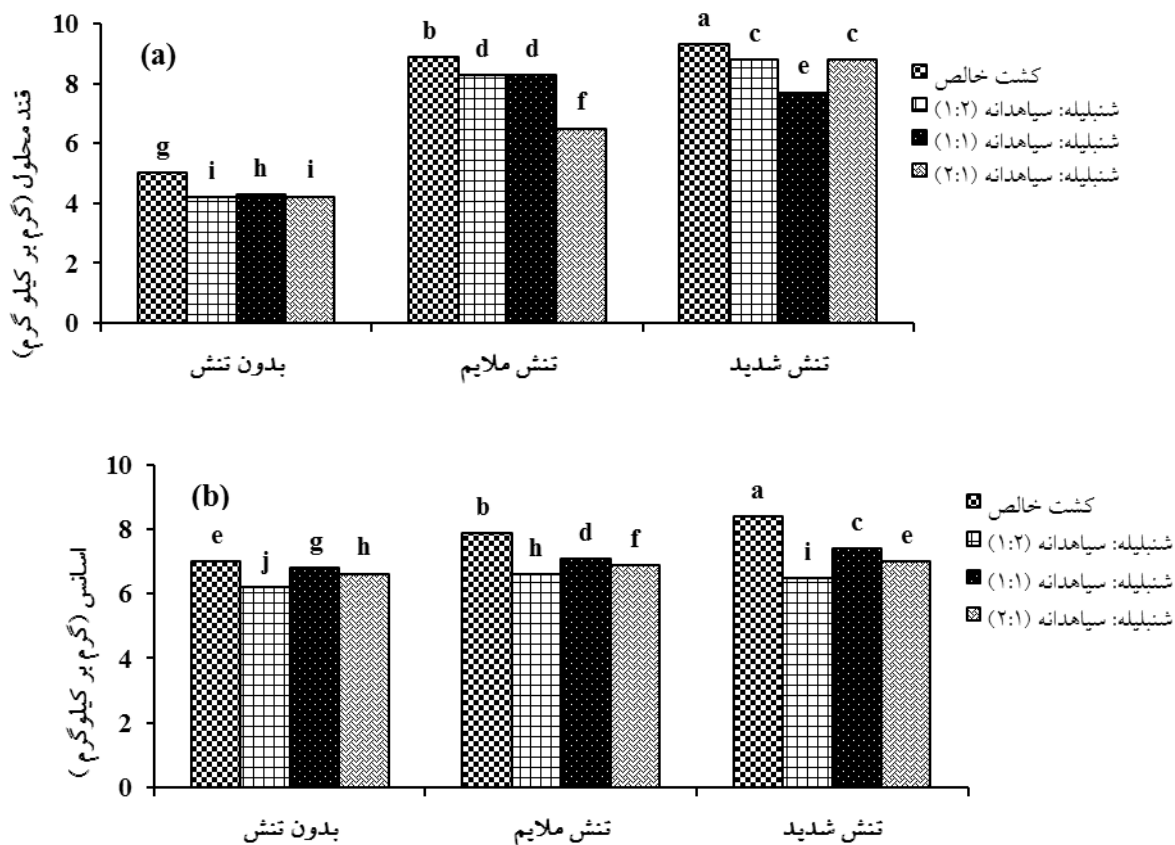
گیاه سیاهدانه با میانگین ۹/۸۷ میلی‌گرم در گرم شده است (شکل‌های ۶ و ۷). این اختلاف می‌تواند به دلیل ساختار برگ شنبلیله نسبت به سیاهدانه باشد که با احتمالاً تعرق بیشتر و در نتیجه دسترسی کمتر آب در پیکره گیاه باعث هیدرولیز پروتئین و تبدیل اسید آمینه پرولین در طی تنش شدید اعمال شده است. همان طور که در شکل ۱۰ مشاهده می‌شود در هر دو گیاه میزان پرولین در کشت خالص به طور معنی‌دار بیشتر از آرایش کشت مخلوط بود. احتمالاً توسعه ریشه کشت خالص یکنواخت بوده و تخلیه رطوبتی بیشتری در ریزوسفر محتمل است، از این رو پرولین بیشتری در برگ گیاهان کشت خالص تجمع یافته است.

قند محلول: بر اساس نتایج تجزیه واریانس مشاهده شد که در گیاه شنبلیله، قند محلول فقط تحت تأثیر اثر تنش خشکی و آرایش کشت قرار گرفت. در گیاه سیاهدانه اثرات اصلی و متقابل تنش خشکی و آرایش کشت برای قند محلول معنی‌دار شد (جدول ۳). در گیاه شنبلیله بیشترین میزان قند محلول در تیمار تنش شدید حاصل شد. علاوه بر این در کشت خالص شنبلیله و تیمار شنبلیله: سیاهدانه (۱:۱) به ترتیب با میانگین‌های ۱۰/۱ و ۹/۶ میلی‌گرم در گرم بیشترین مقدار قند محلول مشاهده شد (شکل ۸). برای گیاه سیاهدانه مشاهده شد که بیشترین میزان قند محلول در شرایط تنش شدید و کشت خالص با میانگین ۹/۳ میلی‌گرم در گرم حاصل شد. این در حالی بود که کمترین میزان قند محلول تحت شرایط بدون تنش و تیمار شنبلیله: سیاهدانه (۲:۱) و (۱:۲) با میانگین ۴/۲

میلی‌گرم در گرم در گرم به دست آمد. از سوی دیگر، در شرایطی که تنش خشکی شدید بود تیمار شنبلیله: سیاهدانه (۲:۱) نسبت به کشت خالص سیاهدانه در شرایط تنش ملایم از میزان قند محلول کمتری برخوردار بود. در طی بروز تنش خشکی گیاهان با ذخیره مواد تنظیم کننده مانند قندهای محلول به عنوان تنظیم کننده اسمزی، ثبات دهنده غشای سلولی و حفظ کننده توپوسانس سلول‌ها عمل می‌کنند در حقیقت، در گیاهانی که قندهای محلول در پاسخ به تنش خشکی تجمع می‌یابند تنظیم اسمزی بهتر صورت می‌گیرد (Slama et al., 2007). در هنگامی که رطوبت خاک کاهش یابد سطح ساکاروز و فروکتوز در گیاهان به عنوان قند محلول افزایش می‌یابد و وجود قند محلول در گیاهان به عنوان تنظیم کننده اسمزی برای کاهش میزان خسارت ناشی از تنش خشکی می‌باشد. همان طوری که در شکل ۸ مشاهده می‌شود در کشت خالص شنبلیله به دلیل کاهش میزان رطوبت خاک میزان قند محلول در گیاه در جهت افزایش غلظت اسمزی زیاد شده است که این عمل یک پاسخ فیزیولوژیک برای کاهش میزان خسارت ناشی از تنش خشکی می‌باشد. نتایج آزمایش در مورد گیاه سیاهدانه حاکی از آن است که با افزایش تنش خشکی میزان قند محلول در کشت خالص افزایش می‌یابد، ولی برخلاف کشت خالص این روند در تیمارهای کشت مخلوط با چنین سرعتی افزایش پیدا نمی‌کند (شکل ۹ a). با توجه به مطالب فوق‌الذکر احتمالاً می‌توان نتیجه گرفت که افزایش میزان قند محلول در کشت خالص ناشی از شرایط تنش رطوبتی در این تیمارها باشد.



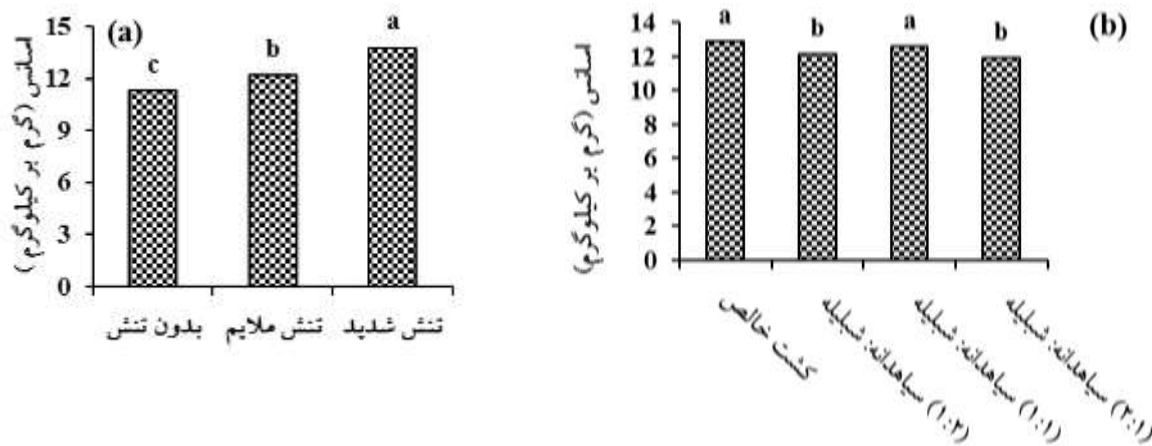
شکل ۸- اثر تنش خشکی (a) و آرایش کشت (b) بر قند محلول شنبلیله. میانگین‌های حروف مشابه فاقد اختلاف آماری معنی‌دار بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند.



شکل ۹- اثر متقابل تنش خشکی و آرایش کشت بر میزان قند محلول (a) و اسانس (b) سیاهدانه در شرایط تنش خشکی. میانگین‌های دارای حروف مشابه فاقد اختلاف آماری معنی‌دار بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند.

گیاه سیاهدانه نیز مشاهده شد که اثرات اصلی و اثر متقابل تنش خشکی و آرایش کشت در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). طبق مقایسه میانگین‌ها در شکل ۱۰ می‌توان بیان

اسانس: نتایج تجزیه واریانس برای گیاه شنبلیله حاکی از آن است که میزان اسانس در تیمارهای تنش خشکی و آرایش کشت در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ۳). برای



شکل ۱۰- اثر تنش خشکی (a) و آرایش کشت (b) بر میزان اسانس گیاه شنبلیله. میانگین‌های حروف مشابه فاقد اختلاف آماری معنی‌دار بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند.

نتیجه‌گیری:

به طور کلی می‌توان نتیجه‌گیری کرد که در گیاهان شنبلیله و سیاهدانه با افزایش تنش خشکی میزان کلروفیل a و b در تیمارهای کشت مخلوط در مقایسه با کشت خالص برتری بیشتری داشت و میزان حساسیت این رنگدانه‌ها نسبت به تنش خشکی در گیاه شنبلیله از گیاه سیاهدانه بیشتر بود. در گیاه شنبلیله بیشترین میزان اسانس در کشت خالص و تیمار شنبلیله: سیاهدانه (۱:۱) به ترتیب با میانگین ۱۲/۹ و ۱۲/۶ گرم بر کیلوگرم مشاهده شد. برای گیاه سیاهدانه نیز اگرچه کشت خالص نسبت به تیمارهای کشت مخلوط همواره دارای اسانس بیشتری بود، اما تحت شرایط تنش، آرایش‌های کشت مخلوط در مقایسه با کشت خالص بدون تنش از اسانس بیشتری برخوردار بودند. در گیاه سیاهدانه با افزایش شدت تنش، آرایش‌های مخلوط در مقایسه با کشت خالص از محتوای آب نسبی برگ بیشتر ولی قند محلول و اسانس کمتری برخوردار بودند. ایجاد رقابت بین‌گونه‌ای در گیاهان می‌تواند راهکار مهمی برای حفاظت جنبه‌های فیزیولوژیکی گیاهان از خسارت تنش خشکی باشد.

سپاسگزاری:

بدینوسیله از مساعدت مالی دانشگاه شهرکرد در اجرای این پژوهش قدردانی می‌گردد.

نمود که در گیاه شنبلیله بیشترین میزان اسانس در تیمار تنش خشکی شدید با میانگین ۱۳/۷ گرم بر کیلوگرم مشاهده شد اما برای آرایش‌های کشت، بیشترین میزان این صفت در تیمارهای کشت خالص و شنبلیله: سیاهدانه (۱:۱) به ترتیب با میانگین ۱۲/۹ و ۱۲/۶ گرم بر کیلوگرم حاصل شد. در گیاه سیاهدانه اگر چه کشت خالص نسبت به آرایش‌های کشت مخلوط همواره دارای اسانس بیشتری بود اما در شرایط تنش، تیمار شنبلیله: سیاهدانه (۱:۱) در مقایسه با کشت خالص در شرایط بدون تنش از اسانس بیشتری برخوردار بود.

با وجود این‌که بیوستز متابولیت‌های ثانویه به‌صورت ژنتیکی کنترل می‌شوند، ولی ساخت آن‌ها به شدت توسط عوامل محیطی مانند تنش‌های رطوبتی تحت تاثیر قرار می‌گیرد (Singh et al., 2003). از آنجایی که گیاه شنبلیله و سیاهدانه تحت تاثیر تنش رطوبتی قرار گرفته‌اند به نظر می‌رسد که به دلیل کمبود آب در دسترس گیاه میزان متابولیت‌های ثانویه افزایش یافته است و این روند در تیمار تنش شدید به صورت افزایش اسانس مشهود است (شکل ۱۰). از طرفی در گیاه سیاهدانه شدت بیشتر تنش خشکی موجب افزایش اختلاف اسانس کشت خالص با تیمارهای کشت مخلوط شده است. این موضوع می‌تواند میزان تأثیرپذیری گیاهان از تنش و نقش کشت مخلوط در تعدیل تنش را نشان دهد (شکل ۹ b).

منابع:

- بهارلویی، س. (۱۳۹۲) اثر رقابت گیاهی بر نیاز نیتروژن کشت مخلوط نخودفرنگی و کلزا، پایان‌نامه کارشناسی ارشد آگرواکولوژی، دانشگاه شهرکرد، ایران.
- ترحمی، گ.، لاهوتی، م. و عباسی، ف. (۱۳۸۹) بررسی اثرات ناشی از تنش خشکی بر روی تغییرات قند محلول میزان کلروفیل و پتاسیم بر روی گیاه نوروزک (*Salvia leriifolia*)، علوم زیستی دانشگاه آزاد زنجان، ۳: ۷-۱.
- حسن‌زاده اول، ف.، کوچکی، ع.، خزاعی، ح.ر. و نصیری محلاتی، م. (۱۳۸۹) اثر تراکم بر خصوصیات زراعی و عملکرد مرزه (*Satureja hortensis L.*) و شبدر ایرانی (*Trifolium resupinatum L.*) در کشت مخلوط، نشریه پژوهش‌های زراعی ایران، ۷: ۹۲۹-۹۲۰.
- حیدری، م. و رضاپور، ع. (۱۳۹۰) اثر تنش خشکی و کود گوگرد بر عملکرد دانه، کلروفیل و غلظت عناصر معدنی در گیاه دارویی سیاهدانه (*Nigella sativa L.*)، مجله تولید و فراوری محصولات زراعی و باغی، ۱: ۹۰-۸۱.
- روستایی، م. (۱۳۹۳) تاثیر کاربرد جداگانه و تلفیقی کودهای شیمیایی و مرغی بر جنبه‌های مختلف تولید شنبلیله و سیاهدانه در کشت مخلوط، پایان‌نامه کارشناسی ارشد آگرواکولوژی، دانشگاه شهرکرد، ایران.
- شرکت مدیریت منابع آب ایران (۱۳۹۴) سامانه خشکسالی هواشناسی ایران. <http://drought.iranhydrology.net/DroughtinIran.htm>
- علیزاده، ر. (۱۳۸۷) رابطه آب و خاک و گیاه، انتشارات آستان قدس رضوی، مشهد.
- مظاهری، د. (۱۳۷۷). زراعت مخلوط. انتشارات دانشگاه تهران، تهران. چاپ دوم.
- موحدی دهنوی، م.، مدرس ثانوی، س.ع.م.، سروش‌زاده، ع. و جلالی، م. (۱۳۸۳) تغییرات میزان پرولین، قندهای محلول کل، کلروفیل (SPAD) و فلورسانس کلروفیل در ارقام گلرنگ پاییزه تحت تنش خشکی و محلول پاشی روی و منگنز. بیابان ۹: ۱۰۹-۹۳.
- میرهاشمی، س.م.، کوچکی، ع.ر.، پارسا، م. و نصیری محلاتی، م. (۱۳۸۸) بررسی مزیت کشت مخلوط زنیان و شنبلیله در سطوح مختلف کود دامی و آرایش کاشت. مجله پژوهش‌های زراعی ۷: ۲۵۹-۲۶۹.
- Bates, I. S., Waldern, P. and Teare, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-207.
- Demian, J. M. (1999) *Principles of Food Chemistry* (3rded). Aspen Publishers, Inc. Maryland.
- El-Sayed, K. I., Ross, S. A., El-Sohly, M. A., Khalafalla, M. M., Abdel-Halim, O. B. and Kegami, L. F. (2000) Effect of different levels of fertilizers on the amino acid, fatty acid and essential oil composition of *Nigella sativa* seeds. *Saudi Pharmaceutic Journal* 8: 175-182.
- FAO (1998) *Crop Evapotranspiration—Guidelines for Computing Crop Water Requirements*. Department of Natural Resources Management and Environment <http://www.fao.org/docrep/x0490e/x0490e0e.htm>
- Gao, Y., Duan, A. W., Sun, J. S., Li, F. S., Li, Z. G., Liu, H. and Liu, Z. D. (2009) Crop coefficient and water use efficiency of winter wheat/ spring maize stripintercropping. *Field Crops Research* 111: 65-73.
- Ghnaya, A. B., Charles, G., Hourmant, A., Hamidaj, B. and Branchard, M. (2009) Physiological behavior of four rapeseed cultivar (*Brassica napus L.*) submitted to metal stresses. *Comptes Rendus Biologies* 332: 363-370.
- Hu, Y. Y., Zhang, Y. L., Yi, X. P., Zhan, D. X., Luo, H. H., Chow, W. S. and Zhang, W. F. (2014) The relative contribution of non-foliar organs of cotton to yield and related physiological characteristics under water deficit. *Journal of Integrative Agriculture* 13: 975-989
- Khan, H. U., Link, W., Hocking, T. and Stoddard, F. (2007) Evaluation of physiological traits for improving drought tolerance in faba bean (*Vicia faba L.*). *Plant and Soil* 292: 205-217.
- Lichtenthaler, H. (1987) Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods of Enzymology* 148: 350-383.
- Nelson, N. (1994) A photometric adaptation of the somogyi method for the determination of Sugars. *Journal of Biological Chemistry* 153: 375-380.
- Ritchie, S. W., Nguyen, H. T. and Hlody, A. (1990) Leaf water content and gas exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. *Crop Science* 30: 105-111.

- Sheteawi, S. A. and Tawfik, K. M. (2007) Interaction effect of some biofertilizers and irrigation water regime on mungbean (*Vigna radiate*) growth and yield. *Journal of Applied Sciences Research* 3: 251-262.
- Singh, D., Chand, S., Anvar, M. and Patra, D. (2003) Effect of organic and inorganic amendment on growth and nutrient accumulation by isabgol (*Plantago ovata*) in sodic soil under greenhouse conditions. *Journal of Medicinal and Aromatic Plant Science* 25: 414-419.
- Singh, D. P., Chaudhury, B. D., Singh, P., Sharma, H. C. and Karwasra, S. P. S. (2007) Drought tolerance in maize. Hisar, India: Directorate of Research, Haryana Agricultural University.
- Slama, I., Ghnaya, T., Hessini, K., Messedi, D., Savoure, A. and Abdelly, C. (2007) Comparative study of the effects of mannitol and PEG osmotic stress on growth and solute accumulation in *Sesuvium portulacastrum*. *Environmental and Experimental Botany* 61: 10-17.
- Tambussi, E. A., Bartoli, C. G., Bettran, J. Guiamet, J. J. and Araus, J. C. (2000) Oxidative damage to thylakoids proteins in water stressed leaves of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Physiology* 108: 398-404.

