نشریه جنگل و فراورده‌های چوب. مجله منابع طبیعی ایران
دوره ٦٦، شماره ١، بهار ١٣٩٢
١

تاریخ دریافت: ١٣٩٠/٩/٢١
تاریخ پذیرش: ١٣٩١/٣/٢٠

میزان تغییرات ترکیبات ثانویهٔ تحت تنش خشکی در نهال‌های بلوط برودار، دارمازو و وی‌ول

مونا نظری؛ دانشجوی کارشناسی ارشد جنگلداری دانشگاه یاسوج
رقیه ذوالفقاری *؛ استادیار دانشکده کشاورزی و پژوهشکده منابع طبیعی دانشگاه یاسوج
پیام فیاض؛ عضو هیات علمی دانشکده کشاورزی و پژوهشکده منابع طبیعی دانشگاه یاسوج

چکیـده:

تولید ترکیبات ثانویه در برابر تنش‌های محیطی همانند سدی دفاعی عمل می‌کند. این مواد اغلب ترکیبات فنولی از جمله اسیدهای فنولی، تانن‌ها و لیگنین هستند. در تحقیق حاضر، سه گونهٔ بلوط زاگرس (برودار، دارمازو و وی‌ول) تحت تنش خشکی آزمایش شـــد. برای این منظور، بذور هر گونهٔ مورد بررســـی در گلدان و در شـــرایط کاملا یکسان و در فضای باز کاشته شدند. سپس در زمانـــی که نهال‌ها چهار ماهه بودند، آبیاری قطع شـــد تا خاک گلدان‌ها به‌تدریج بـــه ظرفیت مزرعه‌ای ٧٠٪ (تیمار ضعیف)، ٥٠٪ (تیمار متوســـط) و ٣٠٪ (تیمار شدید) طی پانزده روز رســـیدند. پس از برداشت نهال‌ها در هر مرحله از آزمایش، زی‌تودهٔ کل و میزان ترکیبات ثانویهٔ مختلف (فنول کل، تانن کل و تانن متراکم) برگ نهال‌ها اندازه‌گیری شـــد. نتایج نشـــان داد که تنش خشکی میزان زی‌توده را به‌طور معنی‌داری کاهش داد. نتایج ترکیبات ثانویهٔ مختلف در گونه‌های مختلف نیز نشـــان داد که تنها تانن کل گونهٔ بلوط ایرانی در معرض تنش خشـــکی ضعیف با کنترل تفاوت معنی‌داری داشـــت. در تنش خشکی شدید نیز تانن متراکم و فنول کل نســـبت به کنترل در هر ســـه گونه تغییر افزایشی غیرمعنی‌دار داشت، اما مقدار تانن کل تحت تنش خشکی شدید نسبت به کنترل تنها در گونهٔ برودار به‌طور چشـــمگیری بیشتر بود. درصد زنده‌مانی گونهٔ برودار نیز از دو گونهٔ دیگر بالاتر بود. بنابراین به‌نظر می‌رســـد که یکی از سازوکارهای مؤثر در مقاومت به خشکی افزایش مقدار تانن کل باشد که در گونهٔ برودار مشاهده شد و سبب حفظ زنده‌مانی بالاتر در این گونه شد.

واژگان کلیدی: بلوط، ترکیبات ثانویه، تنش خشکی، زی‌توده .

* نویسنده مسئول تلفن: ٠٩١١٣٣٨٤٠٧٥ فاکس: ٠٧٤١٢٢٨١٣٢١
E. mail: zolfaghari@mail.yu.ac.ir

مقدمه

خشکی از مهم‌ترین عوامل تنش‌زای غیرزیستی مؤثر بر فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی است [۱-۳] و عاملی محدودکننده برای زندگی گیاهان در اکوسیستم‌های مدیترانه‌ای محسوب می‌شود [٤]. ایران از نظر موقعیت جغرافیایی در کمربند بیابانی جهان واقع شده است و منطقه‌ای خشک و نیمه‌خشک به‌شمار می‌رود [۵]. متوسط بارندگی در کشور حدود ۲۵۰ میلی‌متر است که این مقدار یک سوم متوسط بارندگی در جهان است. جنگل‌های زاگرس با مساحت ۵ میلیون هکتاری، ٤۰ درصد از کل جنگل‌های ایران را به خود اختصاص داده‌اند و بیشترین تأثیر را در تأمین آب، حفظ خاک، تعدیل آب و هوا و تعادل اقتصادی-اجتماعی در کل کشور دارند [۵]. بنابراین حفاظت، احیا و توسعهٔ گونه‌های بومی مانند بلوط [٦] که حدود ٦۰درصد از تیپ خالص این جنگل‌ها را تشکیل می‌دهد، همواره باید مورد توجه قرار گیرد [۷]. مسیر بانه در استان کردستان به بلکه (مرز ایران-عراق) واقع در مسیر جنگل‌های زاگرس، از نظر تعدد گونه‌های جنگلی و انبوهی جنگل‌ها حائز اهمیت بوده و جنگل‌های آن آمیخته از عناصر دانه و شاخه‌زاد است که اکثریت از دو گونهٔ *Quercus infectoria* و *Q. libani* تشکیل شده است و تعداد کمی پایه‌های *Q. Brantii* نیز در آن یافت می‌شود [۷].

گیاهان در برابر خطرهای محیطی به دو روش فیزیکی و شیمیایی از خود دفاع می‌کنند. سیستم دفاعی فیزیکی شامل افزایش تراکم ساختارهایی مثل تیغ، خار و کرک است. پاسخ‌های شیمیایی نیز شامل تولید ترکیبات ثانویهٔ دفاعی‌اند که در برابر عوامل محیطی همانند سدی دفاعی عمل می‌کنند [۸] و به دو دستهٔ کمی و کیفی تقسیم می‌شوند. ترکیبات کمی ثانویه، قابلیت هضم و خوش‌خوراکی منبع غذایی را کاهش داده و بخش عمده‌ای از زی‌توده را تشکیل می‌دهند. این مواد اغلب ترکیبات فنولی از جمله اسیدهای فنولی، تانن‌ها و لیگنین هستند [۹]. ترشح ترکیبات فنولی که به‌عنوان مکانیسمی در برابر تنش خشکی عمل می‌کنند، تا حدی انرژی گیاه را برای رشد کاهش می‌دهند. بنابراین با اینکه افزایش مقدار این ترکیبات در تنش خشکی برای گیاه هزینه‌بر است و از رشد آن می‌کاهد، ولی به‌عنوان سدی دفاعی بر تنش‌های محیطی فائق می‌آید. از طرفی براساس تحقیقات انجام‌گرفته کاهش رشد تحت تنش خشکی با کاهش زی‌توده همراه بوده است [۱۰- ۱٤]. تانن نیز از گروه‌های متنوعی از ترکیبات ثانویهٔ فنولی تشکیل شده است [۱۵] که در گیاهان آوندی یافت می‌شود و آثار سمی و غیرغذایی روی گیاه‌خواران مختلف دارد [۱٦- ۱۸]. در مقایسه با گونه‌های درختی برگ‌ریز دیگر، گونهٔ بلوط به‌طور ویژه‌ای غلظت بالاتری از تانن دارد [۱۹]. از مهم‌ترین ترکیبات ساختاری در عصارهٔ برگ بلوط اسید گالیک و اسید تانیک یا تانن است [۲۰]. تانن‌ها به دو دستهٔ متراکم[1] (پروآنتوسیانیدین) و قابل هیدرولیز[2] (گالوتانن‌ها و الاژی تانن‌ها)تقسیم می‌شوند. تانن‌های متراکم اجزای اصلی گیاهان چوبی‌اند [۸]. برگ‌های بلوط دارای هر دو نوع تانن متراکم و قابل هیدرولیز است [۲۱]. تانن‌های قابل هیدرولیز در گیاهان کمتر یافت می‌شوند، ولی جنس بلوط سرشار از الاژی تانن [۲۲، ۲۳] و مقداری گالوتانن است [۲٤]. تحقیقات بسیاری در زمینهٔ بررسی تانن روی پوست و برگ گونه‌های درختی [۲۵-۳۰] و اثر آن بر ر تغذیه دام و طیور [۳۱، ۳۲] در سطح دنیا و ایران انجام گرفته است. همچنین محتوای ترکیبات فنولی برگ این سه گونه در شرایط کنترل (بدون تنش) در مطالعهٔ الهی و روزبهان در سال ۲۰۰۸ اندازه‌گیری شده است [۳۲]. ولی در زمینهٔ تغییر مقدار ترکیبات ثانویه در اثر شرایط استرس آبی تحقیقی در ایران انجام نگرفته است. اما براساس برخی تحقیقات انجام‌گرفته در سایر نقاط دنیا، مقدار ترکیبات فنولی طی تنش کمبود آب کاهش معنی داری یافتند [۳۳، ۳٤]. از طرف دیگر،

1. Condenced tannins
2. Hydroyzable tannins

مطالعات بنت[۳۵] و پیزارو و بیسیگاتو[۳۶] هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری را در مقدار ترکیبات ثانویه طی تنش خشکی نشان نداد. اما نتایج کارتر و موریس[۳۷] و نیز کارتر و همکاران[۳۸] افزایش معنی‌داری را در این ترکیبات طی شرایط تنش‌های حرارتی و خشکی نشان داد. کوکی و مانتاس[۳۹] هم با مطالعه روی برگ نهال‌های گونهٔ *Ceratonia siliqua* تحت استرس خشکی واکنش‌های متفاوتی از ترکیبات فنولی در این شرایط مشاهده کردند. به این صورت که فنول کل برگ طی تنش خشکی افزایش و تانن متراکم و تانن کل در این شرایط کاهش یافتند. آنها بیان کردند که این امر ممکن است به‌دلیل منشأ زیست‌شناسی مختلف این ترکیبات با یکدیگر باشد. از آنجا که گونه‌های مختلف گیاهی دامنهٔ وسیعی از سازوکارهای مقاومت به خشکی را نشان می‌دهند که به ایجاد سازگاری‌های فیزیولوژی و بیوشیمیایی منجر می‌شود [۴۰]. تغییر در مقدار غلظت ترکیبات فنولی از جمله سازگاری‌های بیوشیمیایی است که گیاهان از جمله بلوط برای مقاومت در برابر کم‌آبی از خود بروز می‌دهند [۴۱]. در طول دورهٔ رویش، دو عامل خشکی تابستان و درجهٔ حرارت پایین در زمستان به‌عنوان اساسی‌ترین عوامل تأثیرگذار در زنده‌مانی و پراکنش گونه‌های گیاهی در اقلیم مدیترانه معرفی شده‌اند و خشکی روی رشد و زنده‌مانی [۴۲، ۴۳] گیاهان اثر می‌گذارد. با توجه به نرخ پایین زادآوری و چرای بی‌رویهٔ دام در جنگل‌های زاگرس، یافتن مقاوم‌ترین گونه از بلوط‌های موجود در سطح زاگرس با کمک شاخص‌های اندازه‌گیری‌شده در این تحقیق و استفاده از گونهٔ مقاوم در جنگل‌کاری، امری مهم تلقی می‌شود و در حفظ و استقرار جنگل‌های خشکی‌گرای این منطقه سهم عمده‌ای دارد.

مواد و روش‌ها

برای اجرای این تحقیق، در آبان ۱۳۸۸ بذور سه گونهٔ مورد بررسی (*Q. brantii*، *Q. infectoria* و *Q. libani*) از یک تودهٔ جنگلی در نزدیکی بانه در استان کردستان جمع‌آوری شد. سپس در آذرماه، بذور آن‌ها در گلدان‌های پلاستیکی ۳۵ در ۱۵ سانتی‌متری حاوی ۳ قسمت خاک جنگلی و ۱ قسمت ماسه کاشته شد. برای این آزمایش برای هر گونه ۴۰۰ گلدان در نظر گرفته شد و گلدان‌ها در فضای باز مستقر شدند و تا زمان شروع آزمایش تنش خشکی (تیرماه)، نهال‌ها به‌طور معمول آبیاری شدند و نهال‌ها در زمان شروع تنش چهار ماهه بودند. قبل از اعمال تنش، ابتدا نهال‌های سالم و یکسان از هر گونه به دو دستهٔ تیمار کنترل و تیمار تنش خشکی تقسیم شدند و نهال‌های در نظر گرفته‌شده برای تنش خشکی آبیاری نشدند تا به ظرفیت مزرعه‌ای مورد نظر (۷۰، ۵۰ و ۳۰درصد) طی زمان رسیدند، اما نهال‌های کنترل هر روز آبیاری شدند تا محتوای آب خاک گلدان‌ها در حدود ۱۰۰درصد ظرفیت مزرعه‌ای نگه داشته شود. در این آزمایش ۷، ۱۰ و ۱۵ روز پس از قطع آبیاری، خاک گلدان‌ها به ۷۰، ۵۰ و ۳۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای رسید. برای محاسبهٔ درصد ظرفیت مزرعه‌ای خاک گلدان‌ها از روش وزنی استفاده شد، به‌طوری‌که هر روز وزن تعدادی گلدان شاهد از هر تیمار به‌طور تصادفی با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۱ گرم اندازه‌گیری شد. سپس، در هر مرحله از برداشت دو روز بعد از زمان رسیدن خاک گلدان‌های تحت تیمار تنش خشکی به ظرفیت مزرعه‌ای ۷۰درصد (برداشت اول)، ظرفیت مزرعه‌ای۵۰درصد (برداشت دوم) و ظرفیت مزرعه‌ای۳۰درصد (برداشت سوم)، تعدادی نهال کنترل و تعدادی نهال تحت تنش خشکی مورد نظر با حداقل ۵ تکرار برای هر گونه و هر تنش (ضعیف، متوسط و شدید) برداشت شدند. وزن کل برگ‌ها، ریشه و ساقه به‌طور جداگانه با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ اندازه‌گیری شد و مقدار زی‌توده از مجموع وزن تر ریشه و ساقه و برگ به‌دست آمد. همچنین درصد زنده‌مانی در انتهای آزمایش برای تیمار شدید (۳۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای) تعیین شد.

برای اندازه‌گیری مقدار تانن موجود در برگ، ابتدا برگ‌هایی از هر گونه و تیمار با تکرار مورد نظر با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ توزین شده و با استفاده از ازت مایع برگ‌ها پودر شدند و عصارهٔ برگ‌ها با

استفاده از استون ۷۵درصد و متانول ۵۰درصد استخراج شد. بعد از گذشت ۲ ساعت نمونه‌های تهیه‌شده چندین بار ورتکس شده و به مدت ۲۰ دقیقه در سانتریفیوژ یخچال‌دار با ۳۰۰۰ دور در دقیقه قرار گرفتند. سپس مایع رویی برداشته شده و به‌عنوان نمونهٔ نهایی آزمایش شد. مقدار غلظت فنول کل، تانن فشرده و فنول محلول در سه مرحله با روش ماکار[۲۱] اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری فنول کل برگ عصاره به‌دست‌آمده با آب مقطر و کربنات سدیم مخلوط و سپس ورتکس شده و با دستگاه اسپکتوفتومتری با طول موج ۷۲۵ نانومتر قرائت شد. اندازه‌گیری تانن فشردهٔ برگ به این صورت بود که نمونهٔ حاصل با استون ۷۵ درصد، بوتانل و معرف فولین سیوکالتوز مخلوط و ورتکس شد و به مدت یک ساعت در حمام آب گرم با دمای ۹۶ درجهٔ سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس با دستگاه اسپکتوفتومتری با طول موج ۵۵۰ نانومتر قرائت شد. برای اندازه‌گیری تانن کل، ابتدا تانن موجود در عصاره با استفاده از مادهٔ پلی‌ونیل پیرولیدن (PVP) حذف شده و با آب مقطر ورتکس و به مدت ۱۰ دقیقه در سانتریفیوژ برای ۳۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد و سپس با دستگاه اسپکتوفتومتری با طول موج ۷۲۵ نانومتر قرائت شد که به این صورت فنول محلول به‌دست آمد. پس از آن مقدار تانن کل، از کسر فنول کل از فنول محلول به‌دست آمد. محلول استاندارد در همهٔ مراحل با استفاده از اسید تانیک تهیه شد. هر سه شاخص به‌دست‌آمده از این آزمایش‌ها برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ محاسبه شد. کل ترکیبات ثانویه نیز از مجموع فنول کل، تانن متراکم و تانن کل به‌دست آمد.

برای تجزیه و تحلیل آماری نیز از نرم‌افزار آماری *SPSS* ۱۶,۰ استفاده شد. ابتدا توزیع نرمال داده‌ها به‌وسیلهٔ آزمون کولموگروف ـ اسمیرنوف بررسی و در صورت عدم نرمال بودن، داده‌ها نرمال شدند. داده‌های حاصل به‌صورت آزمایش فاکتوریل ۳×۲×۳ سه سطح گونه، دو سطح تیمار (تیمار تنش کمبود آب مورد نظر۷۰، ۵۰ و ۳۰ درصد و کنترل) و سه سطح زمان (زمانی که ظرفیت مزرعه‌ای خاک گلدان‌ها به تیمار خشکی مورد نظر رسید)، در قالب طرح کاملاً تصادفی با بررسی اثرهای مستقل (گونه، تیمار و زمان) و اثرهای متقابل آن‌ها تجزیه و تحلیل شد. سپس مقایسهٔ میانگین‌های چندتایی با آزمون دانکن و مقایسهٔ میانگین دوتایی با آزمون t-test با حدود اطمینان ۹۵ درصد انجام گرفت. برای تعیین رابطهٔ رگرسیونی بین ظرفیت مزرعه‌ای خاک و شاخص‌های مورد اندازه‌گیری نیز تمامی معادلات موجود در نرم‌افزار SPSS بررسی شد تا با توجه به ضریب رگرسیون و معنی‌داری آنها بهترین معادله برای ارتباط بین شاخص‌های مورد اندازه‌گیری و ظرفیت مزرعه‌ای خاک برای هر گونه به تفکیک تعیین شود. برای بررسی همبستگی بین زنده‌مانی با کلیهٔ ترکیبات ثانویه و زی‌توده نیز از ضریب همبستگی پیرسون استفاده شد.

نتایج

نتایج به‌دست‌آمده از آنالیزهای آماری برای اثرهای مستقل گونه‌ها، تنها در مقدار زی‌توده تفاوت معنی‌داری نشان داد (جدول ۱). نتایج مقایسهٔ میانگین نیز بیانگر این بود که مقدار زی‌توده در گونهٔ وی‌ول نسبت به دو گونهٔ دیگر به‌طور معنی‌داری از مقادیر بیشتری برخوردار است و در گونهٔ برودار کمترین مقدار را داشت و هر سه گونه از نظر این صفت در سه گروه مجزا قرار گرفتند (جدول ۲). همچنین از بین شاخص‌های مذکور، تنها مقدار زی‌توده در تیمارهای مختلف یعنی تنش خشکی نسبت به کنترل خود تفاوت معنی‌داری را نشان داد و مقدار آن از حالت کنترل به تیمار کاهش یافت (جدول‌های ۱ و ٤). با توجه به جدول تجزیهٔ واریانس در برداشت‌های مختلف (زمانی که ظرفیت مزرعه‌ای خاک گلدان‌های تیمار خشکی به ۷۰، ۵۰ و ۳۰درصد رسید)، کلیهٔ شاخص‌های مورد اندازه‌گیری از تفاوت معنی‌داری برخوردار بودند. به‌طوری که مقدار هر سه شاخص فنول کل، تانن متراکم و تانن کل و در نتیجه مجموع این ترکیبات فنولی، با توجه به جدول ۳ با گذشت زمان افزایش یافت و این افزایش از برداشت اول به برداشت دوم تفاوت معنی‌داری را نشان داد.

جدول ۱. میانگین مربعات حاصل از تجزیهٔ واریانس اثر تنش خشکی بر سه گونهٔ برودار، دارمازو و وی‌ول

منابع تغییر	فنول کل (میلی‌گرم/گرم وزن تر)	تانن کل (میلی‌گرم/گرم وزن تر)	تانن متراکم (میلی‌گرم/گرم وزن تر)	مجموع ترکیبات ثانویه (میلی‌گرم/گرم وزن تر)	زی‌توده (گرم)
گونه	۹۷۴/۳$^{n.s}$	۱۵۹۸/۲$^{n.s}$	۳۰/۶$^{n.s}$	۴۷۶۴/۷$^{n.s}$	۵/۴**
تیمار	۲۱۲۰/۹$^{n.s}$	۷۳۶/۷$^{n.s}$	۱۶/۲$^{n.s}$	۵۹۶۴/۴$^{n.s}$	۱/۴**
برداشت	۴۰۱۵/۳*	۳۷۱۹/۱*	۵۰/۵*	۱۷۰۹۷/۴*	۳/۱**
گونه × تیمار	۷۳/۴$^{n.s}$	۱۰۳۷$^{n.s}$	۱۳/۷$^{n.s}$	۹۴۰/۴$^{n.s}$	۰/۰۳$^{n.s}$
گونه × برداشت	۶۸۷/۹$^{n.s}$	۳۴۳/۶$^{n.s}$	۳۵/۵*	۱۸۸۱/۹$^{n.s}$	۰/۱۴$^{n.s}$
تیمار × برداشت	۱۱۰۲$^{n.s}$	۱۸۵/۷$^{n.s}$	۲۳/۸$^{n.s}$	۲۳۳۴/۲$^{n.s}$	۰/۷۴*
گونه × تیمار × برداشت	۵۸۲/۲$^{n.s}$	۱۶۴/۴$^{n.s}$	۱۵$^{n.s}$	۱۰۰۳/۲$^{n.s}$	۰/۳۳$^{n.s}$

** در سطح ۰/۰۱ معنی‌دار، * در سطح ۰/۰۵ معنی‌دار،ns معنی‌دار نیست.

جدول ۲. مقایسهٔ میانگین شاخص‌های اندازه‌گیری‌شدهٔ نهال‌های سه گونهٔ بلوط در شرایط کنترل

منابع تغییر	فنول کل (میلی‌گرم/گرم وزن تر)	تانن کل (میلی‌گرم/گرم وزن تر)	تانن متراکم (میلی‌گرم/گرم وزن تر)	مجموع ترکیبات ثانویه (میلی‌گرم/گرم وزن تر)	زی‌توده (گرم)
رودار	۹۳/۱±۹/۱a	۴۷/۷±۷/۲a	۷/۳±۱a	۱۴۸/۳±۱۶/۳a	۴/۷±۰/۴۱b
دارمازو	۸۱±۸/۱a	۴۸/۳±۸/۲a	۷/۷±۱/۱a	۱۳۷/۱±۱۶/۵a	۵/۲±۰/۴۵b
وی‌ول	۹۶/۹±۹/۴a	۵۹/۲±۱۰/۵a	۵/۷±۱/۱a	۱۶۱/۹±۱۸/۴a	۷/۹±۰/۵a

حروف یکسان در هر ستون نشان‌دهندهٔ عدم تفاوت معنی‌دار بین گونه‌های مختلف است.

جدول ۳. مقایسهٔ میانگین شاخص‌های اندازه‌گیری‌شده نهال‌های سه گونهٔ بلوط در برداشت‌های مختلف

منابع تغییر	فنول کل (میلی‌گرم/گرم وزن تر)	تانن کل (میلی‌گرم/گرم وزن تر)	تانن متراکم (میلی‌گرم/گرم وزن تر)	مجموع ترکیبات ثانویه (میلی‌گرم/گرم وزن تر)	زی‌توده (گرم)
برداشت اول	۸۰/۵±۴/۱ b	۴۲±۴ b	۵/۷±۰/۵۷ b	۱۲۸/۲±۷/۶ b	۶/۷±۰/۳۴ a
برداشت دوم	۱۰۲/۹±۴/۹ a	۶۰/۹±۵/۹ a	۸/۲±۱ a	۱۷۲/۱±۱۰/۵ a	۴/۸±۰/۲۴ b
برداشت سوم	۱۰۶/۲±۸/۵ a	۶۵/۴±۷/۴ a	۸/۳±۰/۸ a	۱۸۰±۱۵/۳ a	۵/۲±۰/۲۹ b

حروف یکسان در هر ستون نشان‌دهندهٔ عدم تفاوت معنی‌دار بین گونه‌های مختلف است.

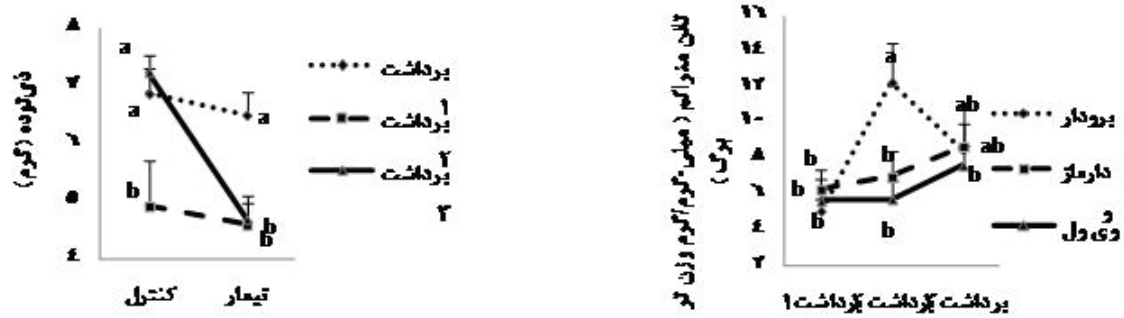
جدول ٤. مقایسهٔ میانگین شاخص‌های اندازه‌گیری‌شده نهال‌های سه گونهٔ بلوط در تیمارهای مختلف

منابع تغییر	فنول کل (میلی‌گرم/گرم وزن تر)	تانن کل (میلی‌گرم/گرم وزن تر)	تانن متراکم (میلی‌گرم/گرم وزن تر)	مجموع ترکیبات ثانویه (میلی‌گرم/گرم وزن تر)	زی‌توده (گرم)
کنترل	۹۰±۵/۱ a	۵۱/۸±۵ a	۶/۹±۰/۶۵ a	۱۴۸/۸±۷/۹ a	۶±۰/۲۹ a
تیمارخشکی	۹۹/۶±۴/۶ a	۵۷/۴±۴/۷ a	۷/۵±۴/۵ a	۱۶۴/۷±۹/۱ a	۵/۱±۰/۲۱ b

حروف یکسان در هر ستون نشان‌دهندهٔ عدم تفاوت معنی‌دار بین رژیم‌های آبیاری مختلف است.

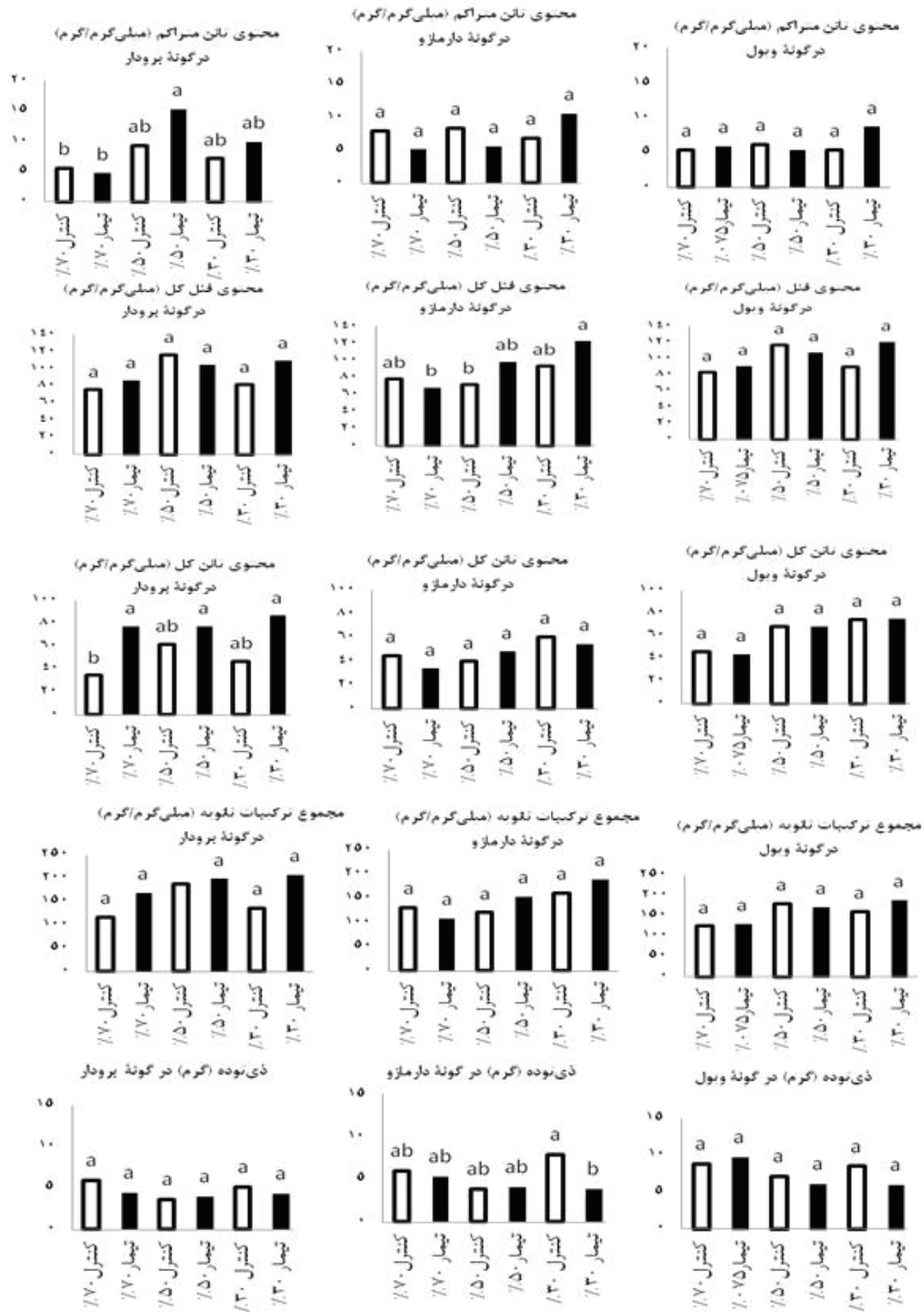
با توجه به نتایج مقایسهٔ میانگین در جدول ۳، مقدار زی‌توده نیز از برداشت اول به برداشت دوم تفاوت معنی‌داری داشت، ولی روند معنی‌داری زی‌توده عکس ترکیبات ثانویه بود، به‌طوری‌که با افزایش تنش خشکی به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. بررسی اثرهای متقابل فاکتورهای مورد اندازه‌گیری با توجه به جدول تجزیهٔ واریانس نیز حاکی از معنی‌دار بودن اثر متقابل گونه در برداشت برای تانن متراکم و اثر متقابل تیمار در برداشت برای زی‌توده بود.

با توجه به شکل ۱ (راست) مقدار تانن متراکم در گونهٔ برودار نسبت به دو گونهٔ وی‌ول و دارمازو از برداشت اول به برداشت دوم افزایش چشمگیر و معنی‌داری را با درصد تغییرات ۱٤۱/٦٪ پیدا کرد. ولی همان‌طورکه مشاهده می‌شود، در برداشت سوم، مقدار تانن متراکم در گونهٔ برودار به‌طور غیرمعنی‌داری کاهش یافت و هم‌سطح با دو گونهٔ دارمازو و وی‌ول قرار گرفت. مقدار زی‌توده نیز تنها در تیمار تنش خشکی شدید یا ۳۰درصد ظرفیت مزرعه‌ای نسبت به کنترل خود تفاوت معنی‌داری را با ۳٤/٤درصد درصد تغییر کاهشی در این حالت نشان داد (شکل ۱- چپ).



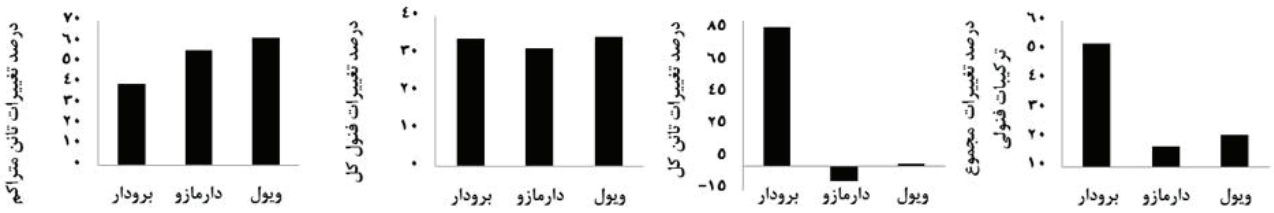
شکل ۱. اثر متقابل برداشت دوگونه برای تانن متراکم (راست) و اثر متقابل تیمار در زمان برای زی‌توده (چپ)

عکس‌العمل ترکیبات ثانویه و زی‌توده در هر یک از گونه‌ها در برابر تنش‌های اعمال‌شده نسبت به کنترل آن‌ها بررسی شد و همان‌طورکه در شکل ۲ مشاهده می‌شود، در بین ترکیبات ثانویه تنها مقدار تانن کل در گونهٔ برودار در کنترل برداشت اول یعنی ۷۰درصد ظرفیت مزرعه‌ای یا تنش خشکی ضعیف نسبت به تیمار تنش خشکی آن تفاوت معنی‌داری را نشان داد و مقدار آن در شرایط تنش خشکی بیشتر از کنترل بود. مقدار زی‌توده گونهٔ دارمازو نیز در تیمار تنش خشکی در برداشت سوم (۳۰درصد ظرفیت مزرعه‌ای یا تنش خشکی شدید) کاهش معنی‌داری را نسبت به کنترل این برداشت نشان داد (شکل ۲).



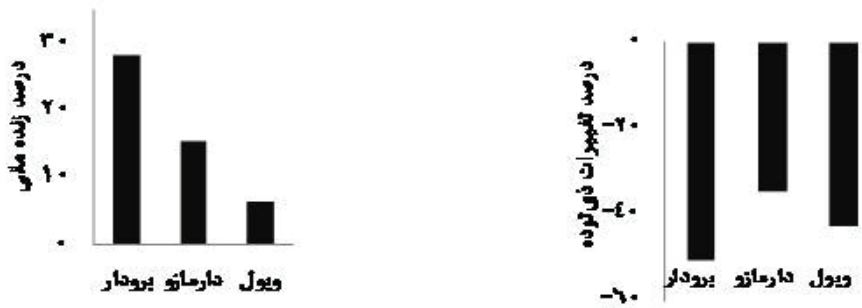
شکل۲. مقایسهٔ میانگین ترکیبات ثانویهٔ اندازه‌گیری‌شده در شرایط تنش خشکی مختلف

همچنین درصد تغییرات شاخص‌های مورد بررسی در این تحقیق در تیمار تنش خشکی شدید نسبت به کنترل آن برای هر گونه به‌طور جداگانه در شکل‌های ۳ و ٤ نمایش داده شده است. همان‌طورکه ملاحظه می‌شود، تنها تفاوت چشمگیر بین گونه‌ها بالابودن مقدار تغییرات تانن کل در حالت تنش خشکی نسبت به کنترل در گونهٔ برودار نسبت به دو گونهٔ دیگر است (شکل ۳).



شکل ۳. درصد تغییرات تانن متراکم، فنول کل، تانن کل و مجموع این ترکیبات در گونه‌های برودار، دارمازو و وی‌ول در تیمار تنش خشکی

همچنین، به تبع آن درصد تغییرات مجموع ترکیبات فنولی نیز در تنش خشکی شدید نسبت به کنترل در گونهٔ برودار به‌طور چشمگیری از دو گونهٔ دیگر بیشتر بود. اما نمودار تغییرات مقدار زی‌توده در تنش خشکی شدید نشان داد که مقدار آن در هر سه گونه کاهش یافته است (شکل ٤ – راست). از طرف دیگر، در این تحقیق میانگین درصد زنده‌مانی در انتهای آزمایش یا تیمار تنش خشکی شدید در گونهٔ برودار ۲۸/۲٦، دارمازو ۱۵/۵۸ و در وی‌ول ٦/٦۲ درصد مشاهده شد (شکل ٤– چپ).



شکل ٤. درصد تغییرات زی‌توده در تیمار شدید تنش خشکی (راست) و درصد زنده‌مانی در تیمار شدید تنش خشکی (چپ)

رابطهٔ پراکنش نقاط بین ظرفیت مزرعه‌ای خاک گلدان‌ها یا به عبارتی شدت تنش خشکی با هرکدام از صفات اندازه‌گیری‌شده برای هر گونه به‌طور جداگانه بررسی شد و هیچ‌یک از گونه‌ها، تیمار و برداشت رابطهٔ معنی‌داری را نشان ندادند. بررسی همبستگی بین ترکیبات ثانویه با یکدیگر و با زی‌توده و درصد زنده‌مانی نیز حاکی از همبستگی منفی بین مقدار زی‌توده با تانن متراکم بود. به این‌صورت که، با افزایش مقدار تانن متراکم، به‌طورکلی زی‌توده در همهٔ گونه‌های بلوط مورد تحقیق کاهش پیدا کرد (جدول ۵). همچنین همبستگی مثبتی بین کلیهٔ ترکیبات ثانویه با یکدیگر در

جدول ۵. همبستگی بین زی‌توده با زنده‌مانی و ترکیبات ثانویهٔ مختلف در جنس بلوط

	زنده‌مانی	فنول کل	تانن متراکم	تانن کل
زی‌توده	-۳۲۱**	-۰/۰۸۹	-۳۱۵**	۰/۰۲۵
معنی‌داری	۰/۰۰۸	۰/۴۷۲	۰/۰۰۹	۰/۰۸۴

جنس بلوط مشاهده شد.

بحث و نتیجه‌گیری

ترکیبات ثانویه با مقادیر مختلف در گونه‌های بلوط در شرایط بدون تنش نیز موجودند [۱۹]. در این تحقیق مقادیر این ترکیبات در سه گونهٔ برودار، دارمازو و وی‌ول در شرایط کنترل و بدون تنش خشکی تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند، اما مقدار فنول کل و تانن کل در گونهٔ وی‌ول و مقدار تانن متراکم در گونهٔ دارمازو بیشتر از دو گونهٔ دیگر بود. طی مطالعهٔ الهی و روزباهان[۳۲]، در حالت کنترل و بدون هرگونه استرس محیطی نیز مقدار تانن متراکم برگ گونهٔ دارمازو نسبت به دو گونهٔ دیگر بیشتر بود که با نتیجهٔ بررسی حاضر هم‌خوانی دارد. مقایسهٔ ترکیبات فنولی بلوط‌های مورد بررسی با بلوط‌های اروپایی از جمله *Q. hartwisiana* [۲۸] و *Q. incana* [۲۶] حاکی از بالا بودن مقدار ترکیبات فنولی در گونه‌های این تحقیق نسبت به گونه‌های اروپایی بود. این مسئله ممکن است به‌دلیل خشک‌تر بودن اقلیم جنگل‌های زاگرس نسبت به جنگل‌های اروپا باشد و بالا بودن مقدار این ترکیبات را می‌توان به‌عنوان پاسخی در برابر خشکی در نظر گرفت. از طرف دیگر، در بین کلیهٔ ترکیبات ثانویهٔ مورد بحث، ارتباط و همبستگی مثبت دیده شد که با نتایج تحقیقات ماکار و همکاران[٤٤] که بر روی گونه‌های مختلف جنس بلوط انجام دادند، هم‌خوانی دارد. همچنین، نتایج تحقیق مذکور نشان داد که نهال‌های با تانن متراکم بالاتر، مقدار زی‌تودهٔ کمتری دارند. فینی نیز [١٦] رابطهٔ منفی بین مقدار تانن متراکم با مقدار رشد و زی‌توده به‌دست آورد که این امر به‌دلیل صرف انرژی گیاه برای تولید ترکیبات فنولی و در نتیجه، در دسترس نبودن انرژی کافی برای رشد و تولید زی‌توده است. از طرف دیگر مقدار آب در دسترس یکی از عوامل مهم در میزان رشد و زنده‌مانی نهال‌های گونهٔ بلوط است [٤٢]. در این تحقیق خشکی سبب کاهش معنی‌داری در مقدار زی‌تودهٔ نهال‌های گونه‌های مورد بررسی، یا به‌طور کلی جنس بلوط شد که در معنی‌دار شدن تیمار و اثر متقابل تیمار در برداشت می‌توان آن را مشاهده کرد. همچنین در بررسی تیمار هر برداشت، کاهش معنی‌دار مقدار زی‌توده تنها در گونهٔ دارمازو و در تنش خشکی شدید نسبت به کنترل کاملا مشهود است. اما برای ترکیبات ثانویهٔ مختلف براساس جدول تجزیهٔ واریانس برای هر سه گونه، بین تیمار تنش خشکی و کنترل هیچ تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد و تنها در برداشت‌های مختلف مقدار آن‌ها معنی‌دار شد که ممکن است به‌دلیل شرایط محیطی مختلف اعم از شدت نور و دما باشد که بر مقدار این ترکیبات در نهال‌های کنترل و تحت تنش خشکی اثر گذاشته است، زیرا طی مدت آزمایش با افزایش دما و نور در روزها مواجه بودیم. پولوس[۱۰] طی تحقیقی، مشاهده کرد که خشکی تأثیر معنی‌داری روی خصوصیات رویشی و زی‌تودهٔ گونه‌های بلوط داشت. پیزارو و بیسیگاتو [٣٦] با بررسی نهال‌های *Jarava speciosa*، *Grindelia chiloensis*، *Prosopis alpataco*، *Bougainvillea spinosa*، *Chuquiraga erinacea* و *Larrea* divaricata در پنج رژیم آبیاری تفاوت معنی‌داری را در مقدار زی‌توده مشاهده کردند، ولی مقدار فنول کل و تانن متراکم در هیچ‌یک از گونه‌ها به‌جز *G.chiloensis* تغییر معنی‌داری پیدا نکرد. همچنین نتایج مشابه با این تحقیق را می‌توان در نتایج بنت[۳۵] روی گیاه سورگوم مشاهده کرد که مقدار تانن با استرس خشکی در ارتباط نبود. این نتایج در واقع

نشان می‌دهد که تنش خشکی روی فرآیندهای رشد از جمله زی‌توده نسبت به متابولیسم‌های دفاعی ثانویه تأثیر بیشتری دارد. بنابراین تأثیر استرس‌های کم‌آبی را بر روی ترکیبات فنولی با احتیاط بیشتری باید بیان کرد و تنها افزایش معنی‌دار مقدار تانن کل در گونهٔ برودار در تنش کمبود آب ضعیف مشاهده شد. از طرف دیگر، این نتایج ممکن است به‌دلیل کوتاه بودن دورهٔ آزمایش باشد، زیرا مطالعات دیگر انجام‌گرفته در مدت زمان طولانی‌تر، نشان داده است که افزایش استرس‌های محیطی اعم از خشکی سبب افزایش ترکیبات ثانویه می‌شود. از جمله آنوراگا و همکاران[٤٥] مشاهده کردند که با وجود کاهش رشد، در اثر تنش رطوبتی خاک مقدار تانن هر دو گونهٔ *Lotus corniculatus* و *Lotus pedunculatus* افزایش یافت. همچنین افزایش تانن متراکم در گونهٔ *Q. ilex* نسبت به *Q. cerrioides* در شرایط تنش کمبود آب طی یک ماه رخ داد [٤٦]. در واقع افزایش تانن متراکم طی استرس‌های محیطی از جمله نور زیاد به حفظ فتوسنتز در این شرایط منجر خواهد شد و برای گیاه مفید است [٤٧]. از طرف دیگر، کاهش مقدار تانن متراکم در شرایط استرس‌های محیطی در گونهٔ *Q. cerrioides* و چندین گونهٔ بلوط دیگر که به‌عنوان گونه‌های ضعیف در برابر خشکی معرفی شدند، نیز مشاهده شده است [٤٨]. تحقیقی دیگر روی نهال‌های گونهٔ *Pinus ponderosa* نشان داد که ترکیبات فنولی در شرایط غیراسترس آبی یا کنترل نسبت به زمانی که نهال‌ها تحت تنش قرارگرفته بودند، کمتر شد [٣٤]. همچنین همان‌طورکه مشاهده شد، درصد تغییرات تانن کل در گونهٔ برودار نسبت به دو گونهٔ دیگر در تیمار تنش خشکی شدید افزایش چشمگیری داشت. از طرف دیگر، درصد زنده‌مانی این گونه در این تحقیق از دو گونهٔ دیگر بیشتر بود. براساس نظر ژانگ[٤٣] نیز درصد زنده‌مانی، معیار خوبی برای تشخیص نهال‌های مقاوم و حساس به خشکی است. بنابراین، می‌توان گفت که از بین ترکیبات ثانویهٔ مختلف، تنها تانن کل می‌تواند به مقاومت گونهٔ برودار در مقابل تنش خشکی کمک کند و مطالعات در این زمینه اطلاعات مفیدی برای تشخیص گونه‌های مقاوم در اقلیم‌های خشک و کم‌آب به‌ویژه برای گونه‌های مختلف جنس بلوط که سرشار از این ترکیبات فنولی هستند، ارائه دهد. همچنین تحقیقات بیشتر در این زمینه با استفاده از دیگر شاخص‌های تأثیرپذیر از تنش خشکی از جمله خصوصیات فیزیولوژی و بیوشیمیایی دیگر توصیه می‌شود. برای داشتن جنگل‌کاری‌های موفق‌تر هم می‌توان با استفاده از این گونه تحقیقات، درختان مادری را که نهال‌های مقاوم‌تری نسبت به تنش خشکی تولید می‌کنند، شناسایی و از بذر آن‌ها در جنگل‌کاری‌ها استفاده کرد. از طرف دیگر، پیشنهاد می‌شود که ترکیبات ثانویه تحت تنش خشکی در دورهٔ آزمایشی طولانی‌تری و در شرایط محیطی کنترل‌شده و نیز در فصول مختلف در طبیعت مقایسه شود تا به نتایج بهتری دست یابیم.

References

[1]. Andrew, K.B., Hammer, G.L., and Henzell, R.G. (2000). Does maintaining green leaf area in sorghum improve yield under drought? II. Dry matter production and yield. Crop Science, 40(4): 1037-1048.

[2]. Farshadfar, E., Ghannadha, M., Zahravi, M., and Sutka, J. (2001). Genetic analysis of drought tolerance in wheat. Plant Breeding, 114: 542-544.

[3]. Farshadfar, E., Mohammadi, R., Aghaee, M., and Sutka, J. (2003). Identification of QTLs involved in physiological and agronomic indicators of drought tolerance in rye using a multiple selection index. Acta Agronomica Hungari, 51: 419-428.

[4]. Karmer, P.G., and Koslovski, T.T. (1979). Physiology of woody plants. Academic Press, New York.

[5]. Talebi, M., Sagheb Talebi, Kh., and Jahanbazi, H. (2006). Site demands and some quantitative and qualitative characteristics of Persian Oak (Quercus brantii Lindl.) in Chaharmahal & Bakhtiari Province (western Iran). Iran Forest and Poplar Research, 14(1): 67-79.

[6]. Mirzaei, J., Akbarinia, M., Hosseini, S.M., Tabari, M., and Jalali, S.Gh. (2007). Comparison of natural regenerated woody species in relation to physiographic and soil factors in Zagros forests (Case study: Arghavan reservoir in north of Ilam province). Pajouhesh & Sazandegi, 77: 16-23.

[7]. Jazireie, M.H., and Ebrahimi rastaghi, M. (2003). Zagros silviculture. Published Tehran University, Tehran.

[8]. Taiz, L., and Zeiger, E. (2002). Plant physiology. 3th Ed., Massachusetts: Sinauer Associates.

[9]. Jahanshahee, Sh., Tabarsa, T., Asghari, J., and Resalati, H. (2010). Investigation of the Amount of Tannic Acid in Bark Oak (Quercus castanifolia). Iranian Journal of Wood and Paper Industries, 1(1): 27-35.

[10]. Poulos, H.M. (2007). Drought response of two Mexican oak species, Quercus laseyi and Q. sideroxila (Fagaceae), in relation to eleventional position. American Journal of Botany, 94(5): 809-818.

[11]. Gieger, T., and Thomas, F.M. (2002). Effects of defoliation and drought stress on biomass partitioning and water relations of Quercus robur and Quercus petraea. Basic and Applied Ecology, 3: 171-181.

[12]. Royo, A., Gil, L., and Pardos, J.A. (2001). Effect of water stress conditioning on morphology, Physiology and field performance of Pinus halepensis Mill seedling. New Forests, 21: 127-140.

[13]. Rao, P.B. (2008). Drought resistance in seedling of five important tree species in Taraii region of Attarakhand. Journal Tropical Ecology, 49(1): 43-52.

[14]. Fort, C., Fauveau, M.L., Muller, F., label, P., Granier, A., and Dreyer, E. (1997). Stomatal conductance, growth and root signaling in young oak seedlings subjected to partial soil drying. Tree Physiology, 17: 281-289.

[15]. Dunn, J.P., Potter, D.A., and Kimmerer, T.W. (1990). Carbohydrate reserves, radial growth

and mechanisms of resistance of oak trees to phloemboring insects. Oecologia, 83: 458-468.
[16]. Feeny, P. (1970). Seasonal changes in oak leaf tannins and nutrients as a cause of spring feeding by winter moth caterpillars. Ecology, 51: 565-580.
[17]. Chan, B.G., Waiss, A.C., and Lukefahr, M. (1978). Condensed tannin, an antibiotic chemical from Gossypium hirsutum. Journal of Insect Physiology, 24(2): 113-118.
[18]. Reese, J.C., Chan, B.C., and Waiss, A.C. (1982). Effects of cotton condensed tannin, (maysin corn) and pinitol (soybeans) on Heliothis zea growth and development. Journal of Chemical Ecology, 8: 1429-1436.
[19]. Heldt, W. (1997). Plant biochemistry and molecular biology. Oxford Uni. Press, New York.
[20]. Markham, K.R. (1982). Techniques in flavonoid identification. Academic Press Inc, New York.
[21]. Makkar, H.P.S. (2000). Quantification of tannins in tree foliage – A laboratory manual. FAO/ IAEA.
[22]. Barry, K.M., Davies, N.W., and Mohammed, C.L. (2001). Identification of hydrolysable tannins in the reaction zone of Eucalyptus nitens wood by high performance liquid chromatography– Electrospray ionisation mass spectrometry. Phytochemical Analysis, 12(2): 120-127.
[23]. Scalbert, A. 1992. Tannins in woods and their contribution to microbial decay prevention. R.W. Hemi- ngway, P.E. Laks, (ed), Plenum Press, New York.
[24]. Hillis, W.E. (1987). Heartwood and Tree Exudates. Springer- Verlag. Berlin, Heidelberg, New York.
[25]. Bekkara1, F., Jay, M., Viricel, M.R., and Rome, S. (1998). Distribution of phenolic compounds within seed and seedlings of two Vicia faba cvs differing in their seed tannin content, and study of their seed and root phenolic exudations. Plant and Soil, 203: 27-36.
[26]. Makkar, H.P.S, Singh, B., and Dawra, R.K. (1988). Effect of tannin-rich leaves of oak (Quercus incana) on various microbial enzyme activities of the bovine rumen. British Journal of Nutrition, 60(2): 287-296.
[27]. Varmaghani, S., Yaghobfar, A., Gharadaghi, A., and Jafari, H. (2006). Usage of deternification oak kerenal (DOK) in broiler diets. Pajouhsh And Sazandegi, 19 (1): 50-58.
[28]. Yildiz, S., Oncur, A., Kaya, I., and Unal, Y. (2002). Effects of tanniniferous oak (Quercus hartwisiana) Leaves on gas production in vitro rumen fermentation system. The Journal of the University of Yuzuncu Yil, Faculty of Veterinary Medicine, 8(2): 139-142.
[29]. Masoudi Njad, M.K., and Rezazade Azari, M. (2000). Comparison of four methods of tannin extraction from the fruits of oak species in Iran. Journal of Hakim, 6(1). 81-88.
[30]. Ammar, H., López, S., Gonzalez, J.S., and Ranilla, M.J. (2004). Tannin levels in the foliage of some Spanish shrub species at different stages of development. In: Salem H.B., Nefzaoui, A., Morand-Fehr, P. (Eds.), Nutrition and feeding strategies of sheep and goats under harsh climates. Zaragoza: CIHEAM-IAMZ, 59: 159 -163.
[31]. Doce, R.R., Hervas, G., Giraldez, F.J., Lopez –Campos, O., Mantecon, A.R., and Frutosl, P. (2007). Effect of immature oak (Quercus pyrenaica) leaves intake on ruminal fermentation and adaptation of rumen microorganisms in cattle. Journal of Animal and Feed Sciences, 16(2): 13-18.
[32]. Elahi, M., and Rouzbehan, Y. 2008. Characteriztion of Quercus persica, Quercus infectoria and Quercus libani as ruminant feeds. Animal Feed. Science and Technology. 140: 78-89.
[33]. Shure, D.J., Mooreside, P.D., and Ogle, S.M. (1998). Rainfall effects on plant–herbivore

processes in an upland oak forest. Ecology, 79(2): 604-617.
[34]. Wagner, M.R., (1986). Influence of moisture stress and induced resistance in ponderosa pine, Pinus ponderosa Dougl. Ex. Laws, on the pine sawfly, Neodiprion autumnalis Smith. Forest Ecology and Management, 15(1): 43-53.
[35]. Bennett, J.M. (1975). The effect pf light and water stress on yield and yield components of grain sorghum. M. Sc. thesis. Texas Tech University-Texas.
[36]. Pizarro, L.C., and Bisigato, A.J. (2010). Allocation of biomass and photoassimilates in juvenile plants of six Patagonian species in response to five water supply regimes. Annals of botany, 106(2): 297-307.
[37]. Carter, E., and Morris, P. (1994). The effect of temperature on polyphenol biosynthesis in Lotus corniculatus. Journal of Experimental Botany, 49: 1723– 1728.
[38]. Carter, E.B., Theodorou, M.K. and Morris, P. (1999). Responses of Lotus corniculatus to environmental change. 2. Effect of elevated CO2 temperature and drought on tissue digestion in relation to condensed tannin and carbohydrate accumulation. Journal of the Science of Food and Agriculture, 79: 1431-1440.
[39]. Koukia, M., and Manetas, Y. (2002). Resource availability affects differentially the levels of gallotannins and condensed tannins in Ceratonia siliqua. Biochemical Systematics and Ecology, 30(7): 631-639.
[40]. Chartzoulakis, K., Bosabalidis, A.M., Patakas, A. and Vemmos, S. (2000). Effect of water stress on water relation gas exchange and leaf structure of olive tree. Journal of Acta Horticulturae, 537: 241-247.
[41]. Thomas, F.M., Schafellner, C. (1999). Effects of excess nitrogen and drought on the foliar concentrations of allelochemicals in young oaks (Quercus robur L. and Q. petraea [Matt.]. Liebl. Journal of Applied Botany, 73: 222-227.
[42]. Quero, J.L., Villar, R. Maranon, T., and Zamora, R. (2006). Interactions of drought and shade effects on seedlings of four Quercus species: physiological and structural leaf responses. New Phytologist, 170: 819-834.
[43]. Zhang, X., Wu, N., and Li, C. (2005). Physiological and growth responses of Populus davidiana ecotypes to different soil water contents. Journal of Arid Environments. 60: 567-579.
[44]. Makkar, H.P.S., and Singh, B. 1993. Effect of storage and urea addition on detannification and in sacco dry matter digestibility of mature oak (Quercus incana) leaves. Animal Feed Science and Technology, 41(3): 247-259.
[45]. Anuraga, M., Duarsa, P., Hill, M.J., and Lovett, J.V. (1993). Soil moisture and temperature affect condensed tannin concentrations and growth in Lotus corniculatus and Lotus pedunculatus. Australian Journal of Agricultural Research, 44: 1667-1681.
[46]. Estiarte, M., Decastro, M., and Espelta, J.M. (2007). Espects of resource availability on condensed tannins and nitrogen in two Quercus species differing in leaf life span. Annals of Forest Science, 64: 201-210.
[47]. Koricheva, J., Larsson, S., Haukioja, E., and Keinänen, M. (1988). Regulation of woody plant secondary metabolism by resource availability: hypothesis testing by means of meta-analysis. Oikos, 83: 212-226.

[48]. Martin, J.S., and Martin, M.M. (1982). Tannin assays in ecological studies: lackof correlation between phenolics, proanthicyanidins and protein-precipitating constituents in mature foliage of six oak species. Oecologia, 54: 205-211.