

یافته های نوین کشاورزی

سال سوم - شماره ۴ - تابستان ۱۳۸۸

تاثیر آبیاری با فاضلاب تصفیه شده شهری و محلول پاشی کود کامل بر عملکرد دانه و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان در ارزن دم روباهی

مصطفی حیدری*، استادیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد زابل

پریسا جمشیدیان، دانشجوی کارشناسی ارشد زراعت دانشگاه آزاد اسلامی واحد زابل

چکیده

به منظور بررسی اثرات آبیاری با فاضلاب تصفیه شده شهری و محلول پاشی کود کامل بر عملکرد دانه و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان ارزن دم روباهی، آزمایشی به صورت اسپلیت پلات و در قالب طرح پایه کامل تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۸۸ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه زابل انجام گرفت. تیمارهای آزمایش شامل سه سطح آبیاری با آب معمولی، فاضلاب شهری و آبیاری با آب معمولی و فاضلاب شهری بصورت یک در میان به عنوان عامل اصلی و محلول پاشی با کود کامل نوتریکم به میزان صفر، ۴۰۰ و ۸۰۰ گرم در هکتار به عنوان عامل فرعی لحاظ شدند. نتایج به دست آمده نشان داد بیشترین عملکرد دانه، از تیمار آبیاری با فاضلاب و محلول پاشی در سطح ۸۰۰ گرم در هکتار به دست آمد. در این بین آبیاری با فاضلاب سبب کاهش معنی داری در فعالیت سه آنزیم آنتی اکسیدان کاتالاز (CAT)، اسکوربات پراکسیداز (APX) و گلوکاتایون پراکسیداز (GPX) در برگ های ارزن گردید. محلول پاشی کود کامل نیز بجز در مورد آنزیم GPX منجر به کاهش فعالیت دو آنزیم CAT و APX گردید.

واژه های کلیدی: ارزن دم روباهی، پساب، محلول پاشی، آنزیم های آنتی اکسیدان

* نویسنده مسئول: E-mail: haydari2005@gmail.com

مقدمه

با توجه به قرار گرفتن ایران در کمربند مناطق خشک و نیمه خشک دنیا و همچنین افزایش روزافزون جمعیت و فشارهای شدید وارده بر منابع آب تجدید شونده، امروزه توجه متخصصین امر به استفاده بهینه از تمامی منابع آبی قابل دسترس از جمله پساب های فاضلاب خانگی معطوف شده است (۸). بر اساس آمار، در ایران سالانه بالغ بر ۵ میلیارد متر مکعب آب (حدود ۵ درصد از آبی که استحصال می شود) به مصارف شرب و بهداشت می رسد و نزدیک به یک میلیارد متر مکعب (حدود ۱ درصد) آب نیز در بخش صنعت مصرف می شود (۳). از این رو حجم عمده ای از آب مصرفی در این دو بخش بصورت فاضلاب شهری و پساب های صنعتی از مدار استفاده خارج می شوند (۱). بر اساس گزارش جنکیس و همکاران (۱۹۹۴) بین ۵۰ تا ۷۵ درصد آب شهری بصورت پساب به محیط برمی گردد. رهایی از این حجم عظیم از فاضلاب ها باید به گونه ای باشد که اثرات سوء زیست محیطی بر منابع آب، خاک و بهداشت عمومی نداشته باشد. تصفیه کامل این گونه فاضلاب ها بسیار پرهزینه است. با این وجود امروزه به لحاظ مشکل کمبود آب و بحران حاصل از آن و نیز با توجه به هزینه های بالای استحصال و انتقال آب، استفاده مجدد از پساب فاضلاب در بسیاری از کشورهای دنیا و از جمله ایران جایگاه ویژه ای (به خصوص در بخش کشاورزی) پیدا کرده است (۱).

ولی نژاد (۱۳۸۱) در بررسی تاثیر پساب تصفیه شده بر رشد و عملکرد ذرت نشان داد عملکرد دانه ذرت تحت تیمار آبیاری با پساب فاضلاب افزایش می یابد. همچنین استفاده از پساب تا حدی نیاز به کود های شیمیایی را کاهش می دهد. عرفانی و همکاران (۱۳۸۱) گزارش کردند. که کاربرد پساب فاضلاب تصفیه شده خانگی باعث افزایش عملکرد گوجه فرنگی در مقایسه با آبیاری متعارف می شود. حتی استفاده از پساب در تولید محصولات زراعی ممکن است باعث گل دهی زود هنگام و یا تشکیل میوه هایی بزرگتر در مقایسه با کاربرد آب معمولی شود (۱۱).

هر چند استفاده از پساب تا حدی با برطرف کردن نیاز غذایی گیاهان می تواند منجر به افزایش تولید در آنها گردد اما به سبب بالا بودن غلظت دو یون سدیم و کلر در این دسته از آبها، این امر می تواند تا حدی سبب بروز اثرات شوری در گیاهان گردد. برای مثال تغییر در میزان دو تنظیم کننده اسمزی کربوهیدرات و پرولین در بافت سبز برگ در طی استفاده از پساب نسبت به آب معمولی می تواند به نوعی بیان کننده واکنش درونی گیاهان در زمان استفاده از پساب برای رشد و نمو باشد. بدلیل بالا بودن میزان عنصر سدیم در پساب (جدول ۲) این امر منجر به تداخل در جذب سایر عناصر در گیاه شده، همچنین می تواند تا حدی سبب شور شدن محیط اطراف ریشه نیز شود. در این وضعیت گیاهان جهت مهیا کردن شرایط لازم برای ادامه جذب آب و عناصر غذایی، غلظت ترکیبات سازگار کننده همانند پرولین و کربوهیدرات ها را در اندام های خود افزایش می دهند. همچنین در واکنش به بالا بودن میزان دو عنصر سدیم و کلر فعالیت

برخی از آنزیم های آنتی اکسیدان در بخش های مختلف گیاهان تغییر می کند. گزارش شده، افزایش میزان سدیم و کلر در محیط ریشه می تواند سبب تولید رادیکال های آزاد اکسیژن^۱ (ROS) همانند سوپر اکسید (O_2^-) هیدروژن پر اکسید (H_2O_2) و رادیکال های هیدروکسیل (OH^-) در درون سلول شود. این ترکیبات خسارت زیادی را از طریق اکسیداسیون چربی ها، پروتئین ها و اسیدهای نوکلئیک به سلول وارد می کنند. جهت کاهش اثرات سوء تنش اکسیداتیو، گیاهان از یک سیستم پیچیده دفاعی آنتی اکسیدان استفاده می کنند. از آنتی اکسیدان ها درگیر در این سیستم که دارای وزن مولکولی کمی هستند می توان به کاتالاز (CAT)، اسکوربات پراکسیداز (APX) و گایاکول پراکسیداز (GPX) اشاره کرد. این آنزیم ها نقش بسیار مهمی در غیر فعال کردن رادیکال های آزاد اکسیژن در سلول گیاهان دارند، بسته به گونه گیاهی و شدت تنش میزان فعالیت آنها در گیاهان تغییر می کند (۵). لذا هدف از این آزمایش بررسی تاثیر استفاده از پساب تصفیه شده به همراه تیمارهای مختلف کود کامل بر عملکرد دانه ارزن دو روباهی و تعیین رابطه این تیمارها با تغییر در میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان بوده است.

مواد و روش ها

این آزمایش در سال زراعی ۱۳۸۸ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه زابل واقع در ۲۵ کیلومتری شرق زابل انجام شد. این منطقه با طول جغرافیایی ۶۱ درجه و ۳۱ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۰ درجه و ۵۴ دقیقه شمالی، در ارتفاع ۴۸۰ متری از سطح دریا قرار دارد. آب و هوای منطقه بر اساس طبقه بندی کوپن جزء اقلیم های خشک بسیار گرم، با تابستان های گرم و خشک تقسیم بندی می شود. بر اساس آمار ایستگاه هواشناسی زهک میانگین دراز مدت ۲۰ ساله بارندگی در منطقه ۶۳ میلی متر، میزان تبخیر سالانه به طور متوسط ۴۵۰۰ میلی متر، میانگین دراز مدت حداکثر درجه حرارت ۲۳ درجه سانتی گراد و حداقل حرارت ۷- درجه سانتی گراد می باشد. وضعیت آب و هوایی منطقه در زمان اجزای طرح در جدول ۱ آورده شده است.

این آزمایش بصورت اسپلینت پلات و در قالب طرح پایه بلوک های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا گردید. تیمارهای آزمایش شامل سه سطح آبیاری ($W1 =$ آب معمولی، $W2 =$ آب معمولی و فاضلاب یکی در میان و $W3 =$ فاضلاب) به عنوان عامل اصلی و سه سطح محلول پاشی با کود کامل نوتریکم ($F1 =$ صفر، $F2 =$ ۴۰۰ و $F3 =$ ۸۰۰ گرم در هکتار) به عنوان عامل فرعی بودند. خاک محل آزمایش دارای ۶۲ درصد شن و ۲۶ درصد سیلت و ۱۲ درصد رس بود که در کلاس بافتی لوم شنی قرار می گرفت. برای آماده سازی بستر کاشت در فروردین سال ۱۳۸۸ با گاوآهن برگرداندار شخم و دوبار دیسک عمود بر هم زده شد. عملیات کشت به صورت خشکه کاری و در تاریخ ۲ اردیبهشت صورت گرفت. بذور ارزن رقم اصلاح شده KFM9 که از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه شده بودند توسط دست در هر کرت

آزمایشی به صورت ۶ ردیف ۴ متری با فاصله ردیف ۳۵ سانتی متر و فاصله بوته ها روی ردیف ۸ سانتی متر از هم کشت شدند.

جدول ۱: میانگین شاخص های آب و هوایی نیمه اول سال ۸۸

ماه	میانگین حداقل دمای روزانه (سانتی گراد)	میانگین حداکثر دمای روزانه (سانتی گراد)	مجموع بارندگی (میلی متر)	متوسط حداقل رطوبت روزانه (درصد)	متوسط حداکثر رطوبت روزانه (درصد)
فروردین	۱۴	۲۸	۱۸	۲۴	۶۴
اردیبهشت	۲۰	۳۶	۵/۱	۱۶	۵۱
خرداد	۲۵	۳۹	۰	۱۳	۳۷
تیر	۲۸	۴۲	۰	۱۰	۲۶
مرداد	۲۹	۴۳	۰	۱۰	۲۲

فاصله بین تکرارها ۲ متر و بین کرت های فرعی در این آزمایش یک متر لحاظ شدند. آبیاری اول در اردیبهشت ماه ۸۸ بلافاصله بعد از کشت انجام شد. و از این مرحله به بعد هر ۶ روز یکبار تیمارهای آبیاری به صورت غرقابی اعمال شدند. محلول پاشی با کود کامل نوتریکم در دو مرحله ساقه دهی و خوشه دهی صورت پذیرفت. عملیات برداشت جهت حصول عملکرد دانه در مرحله رسیدگی از وسط هر کرت و با رعایت اثرات حاشیه ای از یک متر مربع صورت گرفت. جهت اندازه گیری فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان، ۱۰ روز بعد از مرحله خوشه دهی از برگ های جوان گیاه نمونه برداری صورت گرفت و براساس روش های زیر فعالیت آنزیمها اندازه گیری شدند.

استخراج عصاره و روش اندازه گیری آنزیم ها

مواد و محلول ها

تهیه بافر Ice-Cold Extraction: این محلول شامل محلول بافر پتاسیم فسفات ۱۰۰ میلی مولار با pH=۷ و محلول EDTA 0.1 mM درحجم ۴ سی سی بود. برای محلول پتاسیم فسفات از دو نمک KH_2PO_4 و K_2HPO_4 استفاده شدند. جهت تهیه محلول ابتدا محلول ۱ مولار از هر کدام از این نمک ها تهیه سپس ۲۵ سی سی از آنها برداشت، با هم مخلوط و به حجم ۱۰۰ سی سی رسانده شد. pH این محلول در حد ۷ تنظیم گردید.

تهیه محلول EDTA: این محلول در حجم ۵۰ سی سی و با غلظت ۰/۲ مولار ساخته شد. برای تهیه بافر Ice-Cold Extraction، ۱۶۰۰ میکرولیتر از بافر پتاسیم فسفات به همراه ۲۰ میکرولیتر EDTA برداشت و به حجم ۴ سی سی رسانده شدند. جهت اندازه گیری آنزیم ها، ۰/۲ گرم از بافت سبز برگ برداشت و با ۴ سی سی بافر Ice - cold extraction در هاون سرد کاملاً ساییده، بصورت همگن در آورده شدند.

مخلوط همگن از کاغذ صافی عبور و به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱۶۰۰۰ سانتریفوژ شدند. سپس فاز بالایی به عنوان عصاره پروتئینی برای سنجش فعالیت آنزیمی مورد استفاده گردید. همه این عملیات ها در دمای ۴ درجه سانتی گراد انجام گرفت. در نهایت جهت اندازه گیری فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) از روش بیرز سیزر (۱۹۵۲)، آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) از روش ناکانا و آسادا (۱۹۸۱) و گلوکاتایون پراکسیداز (GPX) از روش اوربانک و همکاران (۱۹۹۱) استفاده شدند. در نهایت داده های به دست آمده با استفاده از نرم افزار آماری SAS تجزیه و مقایسه میانگین ها براساس آزمون LSD در سطح ۰.۰۵٪ صورت گرفت.

نتایج و بحث

عملکرد دانه

نتایج تجزیه واریانس در جدول ۲ نشان می دهد تیمار آبیاری، محلول پاشی کود کامل و اثر متقابل آنها تاثیر معنی داری بر عملکرد دانه ارزن دم روباهی دارد. مقایسه میانگین داده ها براساس آزمون چند دامنه دانکن در سطح ۰.۰۵ درصد نشان داد بیشترین عملکرد دانه در طی استفاده از تیمار W3 (آبیاری فاضلاب) به دست آمد. استفاده از فاضلاب و آب معمولی بصورت یک در میان سبب افزایش ۱۲/۱ درصد عملکرد نسبت به تیمار آب معمولی (شاهد) گردید اما استفاده از تیمار آبیاری فاضلاب به تنهایی سبب افزایش عملکرد دانه به میزان ۲۰/۵ درصد گردید (جدول ۳).

جدول ۲: تجزیه واریانس عملکرد دانه و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان در ارزن دم روباهی

آنزیم های آنتی اکسیدان			عملکرد دانه	درجه آزادی	منابع تغییر
APX	GPX	CAT			
۰/۰۰۰۶۵ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۷۴**	۰/۰۰۰۰۰۰۲ ^{ns}	۱۳۶۱/۰۳ *	۲	تکرار
۰/۰۱۱۵۱**	۰/۰۰۰۱۹۶**	۰/۰۰۰۱۰۳**	۱۳۲۲۹۱/۱۴**	۲	آبیاری
۰/۰۰۰۳۵	۰/۰۰۰۰۰۱۴۳	۰/۰۰۰۰۰۰۳۹	۱۶۳/۹	۴	خطای a
۰/۰۰۳۷ *	۰/۰۰۰۰۳۵۴**	۰/۰۰۰۰۱۶۲ **	۳۹۷۸۶/۸**	۲	تیمار کودی
۰/۰۰۱۰۴ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۴۲۷*	۰/۰۰۰۰۰۱۴ *	۲۹۵/۷*	۴	کود آبیاری
۰/۰۰۰۶۳	۰/۰۰۰۰۰۹۹	۰/۰۰۰۰۰۰۳۱	۱۰۶/۹	۱۲	خطای b
۳/۵۵	۹/۳۵	۱/۰۷	۱۵/۹		ضریب تغییرات (%)

ns، * و **: به ترتیب بیانگر عدم تفاوت معنی دار، تفاوت معنی دار در سطح آماری ۵ درصد و ۱ درصد می باشند

می توان گفت که فاضلاب تصفیه شده به علت دارا بودن عناصر غذایی مورد نیاز گیاه باعث این افزایش شده است (۱۴). هر چند فاضلاب به سبب دارا بودن برخی از عناصر غذایی مورد نیاز، سبب افزایش عملکرد دانه ارزن در این آزمایش گردید اما عملکرد دانه در طی محلول پاشی ۸۰۰ گرم در هکتار کود

کامل به میزان ۱۱/۶ درصد نسبت به تیمار شاهد (عدم استفاده از کود) افزایش یافت (جدول ۳). آیرس و وستکوت (۱۹۸۵) گزارش کردند که پساب تا حدی می تواند عناصر مورد نیاز را در اختیار گیاهان قرار دهد، اما استفاده توام از منابع کودهای دامی و شیمیایی در این شرایط می تواند بر عملکرد گیاهان بیافزاید. کودهای شیمیایی در این بین سریع تر و به میزان موثرتری عناصر را در اختیار گیاهان قرار می دهند. نتایج مربوط به اثر متقابل آبیاری و محلول پاشی نشان داد بالاترین عملکرد دانه (۱۲۳۶) کیلوگرم در هکتار) از تیمار آبیاری با فاضلاب و محلول پاشی با ۸۰۰ گرم در هکتار کود کامل به دست آمد. می توان چنین استنباط کرد که کاربرد توام فاضلاب تصفیه شده و محلول پاشی اثرات سودمندی در افزایش عملکرد ارزن دم روباهی دارد (شکل ۱).

آنزیم های آنتی اکسیدان

نتایج تجزیه آماری داده ها در جدول ۲ نشان می دهد تفاوت معنی داری بین تیمار آبیاری، محلول پاشی کود و بر هم کنش آنها (به جز در مورد آنزیم APX) بر فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان کاتالاز (CAT)، آسکوربات پراکسیداز (APX) و گایاکول پراکسیداز (GPX) وجود دارند. در طی استفاده از تیمار آبیاری با فاضلاب از میزان فعالیت تمامی این سه آنزیم ها کاسته شد. این کاهش برای CAT، GPX و APX در تیمار آبیاری با فاضلاب نسبت به تیمار شاهد (آب معمولی) به ترتیب معادل ۱۲/۷، ۶۲/۵ و ۹/۴ درصد بودند (جدول ۳).

جدول ۳: مقایسه میانگین عملکرد دانه و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان ارزن دم روباهی

عملکرد دانه (kg/ha)	APX	CAT	GPX	صفات
	(μmol H ₂ O ₂ min ⁻¹ mg ⁻¹ prot)			
آبیاری				
۹۳۴/۵c	۰/۷۳a	۰/۰۵۵ a	۰/۰۱۴۷a	W1
۱۰۶۳/۱b	۰/۷۱a	۰/۰۵۲b	۰/۸۰۱۱a	W2
۱۱۷۶/۸c	۰/۶۶b	۰/۰۴۸ c	۰/۰۰۵۵ b	W3
محلول پاشی کود				
۹۸۴/۸c	۰/۷۲۲۵a	۰/۰۵۳۶a	۰/۰۰۹۳۲b	F1
۱۰۷۴/۸b	۰/۷۱۲۹a	۰/۰۵۱۷b	۰/۰۱۳a	F2
۱۱۱۴/۶a	۰/۶۸۳۶b	۰/۰۵۱۰c	۰/۰۰۹۸۶ab	F3

تفاوت حروف در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی دار می باشد

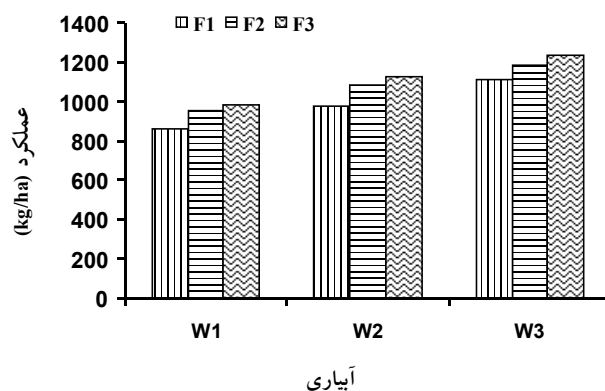
W1=آب معمولی، W2=آب معمولی و فاضلاب یکی در میان و W3=فاضلاب

F1=صفر، F2=۴۰۰ و F3=800 گرم در هکتار

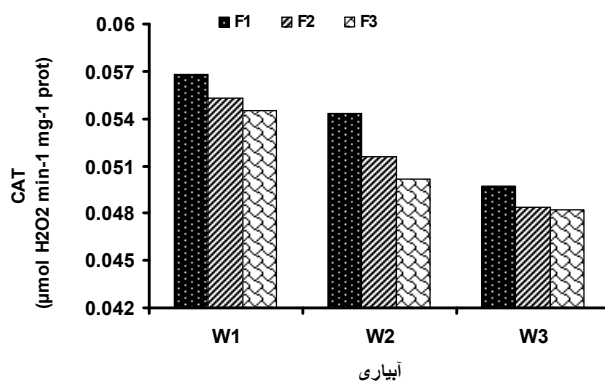
یلی و همکاران (۲۰۰۲) اعلام کردند تغییرات در میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان علاوه بر تغییرات یونی و تنظیم کننده های اسمزی می تواند بعنوان یکی از موارد تاثیر گذار تنش اسمزی بر

گیاهان در نظر گرفته شود. بسته به میزان حساسیت گونه گیاهی، مرحله رشد، شدت و مدت تنش غلظت فعالیت این نوع آنزیم ها تغییر خواهند کرد. هر چند استفاده از فاضلاب به سبب دارا بودن عناصری همانند سدیم می تواند منجر به نوعی تنش اسمزی در گیاهان شور و گیاهان را وادار به واکنش نماید. اما در این آزمایش و در طی یک سال زراعی این اتفاق برای ارزن دم روباهی رخ نداد. این امر می تواند مربوط به خصوصیات ژنتیکی این گیاه باشد که تا حدی مقاوم به شوری و افزایش تجمع املاح نمک در محیط ریشه خود است. به جز آنزیم GPX در مورد دو آنزیم دیگر محلول پاشی کود کامل سبب کاهش میزان فعالیت آنها در گیاه ارزن دم روباهی گردید (جدول ۳). در صورتی که عناصر غذایی مورد نیاز به میزان مناسبی در اختیار گیاهان قرار گیرند گیاهان فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی خود را به خوبی انجام داده و نیازی به استفاده از مکانیسم های دفاعی ندارند. در این صورت بر میزان رشد و عملکرد آنها افزوده می شود (۱۱).

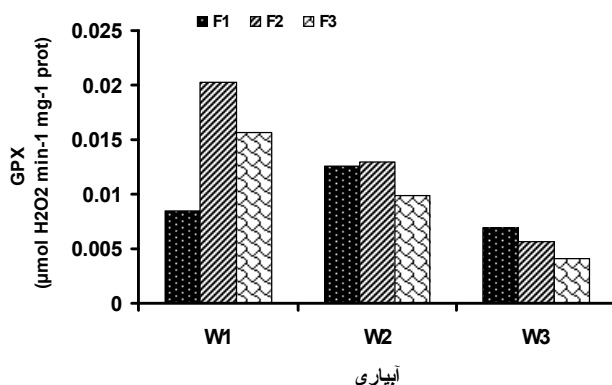
اثر متقابل تیمار آبیاری و کود کامل نشان داد که کمترین میزان فعالیت آنزیم CAT در تیمار آبیاری با فاضلاب و محلول پاشی ۸۰۰ گرم در هکتار کود کامل و GPX در تیمار آبیاری با فاضلاب و محلول پاشی کود کامل به میزان ۴۰۰ گرم در هکتار رخ می دهد (شکل های ۲ و ۳). این بدان معناست که آب فاضلاب به سبب داشتن عناصر غذایی مناسب به همراه محلول پاشی کود کامل شرایط مناسبی برای فعالیت و رشد گیاه ارزن دم روباهی فراهم آورده و سبب افزایش رشد و تولید عملکرد دانه آن شده است.



شکل ۱- اثر متقابل آبیاری و محلول پاشی کود بر عملکرد دانه



شکل ۲- اثر متقابل آبیاری و محلول پاشی کود بر میزان فعالیت آنزیم CAT



شکل ۳- اثر متقابل آبیاری و محلول پاشی کود بر میزان فعالیت آنزیم GPX

منابع

- ۱- جعفرزاده حقیقی، ن. ۱۳۷۵. تأثیر استفاده از فاضلاب شیراز در آبیاری محصولات کشاورزی بر غلظت فلزات سنگین در خاک و برخی محصولات کشاورزی. کنگره ملی مسائل آب و خاک کشور، شماره ۲۱: ۳۱۰-۳۰۲.
- ۲- عرفانی، ع.، حق‌نیا، غ. و علیزاده، ا. ۱۳۸۱. تأثیر آبیاری با فاضلاب بر عملکرد و کیفیت کاهو و برخی ویژگی‌های خاک. علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی ۶. (۱): ۷۱-۹۰.
- ۳- ملکوتی، م. ج. ۱۳۷۸. کشاورزی پایدار و افزایش عملکرد با بهینه‌سازی مصرف کود در ایران. نشر آموزش کشاورزی.
- ۴- ولی نژاد، م. ۱۳۸۱. اثرات پساب شهری، آب باران و آبهای سطحی بر خصوصیات خاک و عملکرد دانه سه گیاه زراعی. پایان نامه کارشناسی ارشد زراعت، دانشگاه علم و صنعت اصفهان.

- 5- Appel, K. and Hirt, H. 2004. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress and signal transduction. Annu. Rev. Plant Biol. 55:373-399.
- 6- Ayers R. S. and Westcot, D. E. W. 1985. Water Quality for Agriculture. 29 Rev. 1, FAO, Rome.
- 7- Beers, G. R. and Sizer, I. W. 1952. Spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. Biol. chem. 195: 133 – 140.

- 8- EPA. 1993.** Technical support documents for 40 CFR. Part 503. Land application of sewage sludge. Vol.1-PB93-11075."Land application of sewage sludge". Vol.2-PB93-110583. Appendices A-L. Spring Field, VA: National Technical Information Service.
- 9- Jenkis, C. R., Papadopoulos, I. and Stylianou, Y. 1994.** Pathogens and wastewater use for irrigation in Cyprus. In: Proceeding of Int. Conf. on land and water. Valenzano, Bari Italy. 4-8Sep.
- 10- Marschener, H. 1995.** Minearal nutrition of higher plants. Academic press. New York.
- 11- Mohammad, M. J. and Mazahreh, N. 2003.** Changes in soil fertility parameter in response to irrigation of forage crop with secondary treated wastewater. Comm. Soil Sci Plant Anal. 34: 1281-1294.
- 12- Nakano, Y., and Asada, K. 1981.** Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidases in spinach chloroplasts. Plants Cell physiol. 22: 867-880.
- 13- Neill, S., Desika, R. and Hancock, J. 2002.** Hydrogen peroxide signaling curr opin. plant Biol. 5: 388-395.
- 14- Papadopoulos, I. and Stylianon, Y. 1991.** Trickle irrigation of sunflower with municipal wastewater. Agric Water Manage. 19: 67-75.
- 15- Urbanek, H., Kuzniak-Gebarowska, E. and Herka, K. 1991.** Elicitation of defense responses in bean leaves by *Botrytis cinerea* polyglacturonase. Acta phys Plant. 13: 43-50.

