

## اثر کودهای زیستی نیتروژن و فسفر بر رنگیزه‌های فتوسنتزی، عملکرد، اجزای عملکرد و محتوای پروتئین دانه دو رقم نخودفرنگی (*Pisum sativum* L.) در سطوح مختلف آبیاری

نیما یداللهی فارسانی<sup>۱</sup>، مجتبی کریمی<sup>۲\*</sup>، محمودرضا تدین<sup>۳</sup> و محمد رفیعی‌الحسینی<sup>۴</sup>

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۱۹، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۸/۲۹)

### چکیده

به منظور ارزیابی اثر کودهای زیستی بر رنگیزه‌های فتوسنتزی، عملکرد، اجزای عملکرد و محتوای پروتئین دانه دو رقم نخودفرنگی (*Pisum sativum* L.) تحت سطوح مختلف آبیاری، آزمایشی به صورت کرت‌های دوبار خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه‌ای واقع در شهرستان فارس، در سال زراعی ۱۴۰۰ انجام شد. عامل اصلی شامل تیمارهای آبیاری در سه سطح (آبیاری پس از ۵۰ (I1)، ۷۵ (I2) و ۱۰۰ (I3) میلی‌متر تبخیر تجمعی از تشتک تبخیر کلاس A)، عامل فرعی شامل منابع مختلف کود زیستی در چهار سطح (شاهد بدون کود، کود زیستی نیتروژن (ازتوبارور)، کود زیستی فسفر (فسفات بارور-۲) و کود زیستی نیتروژن + فسفر) و عامل فرعی شامل ارقام مختلف نخودفرنگی در دو سطح (رقم ولف هلندی و رقم مجارستانی) بود. نتایج نشان داد که در رقم مجارستانی تنش خشکی ملایم، محتوای کلروفیل a و b برگ را افزایش داد ولی تنش خشکی شدید آن‌ها را کاهش داد. در رقم ولف هلندی هر دو سطح تنش خشکی ملایم و شدید میزان کلروفیل a و b را کاهش داد. در هر دو رقم تنش خشکی ملایم محتوای کاروتنوئیدها را افزایش داد ولی با شدت یافتن تنش خشکی از میزان کاروتنوئیدها کاسته شد. کودهای زیستی به‌ویژه در شرایط تنش خشکی در بهبود محتوای کلروفیل a، b و کاروتنوئیدها مؤثر بودند. تنش خشکی عملکرد و اجزای عملکرد دانه را در هر دو رقم مورد بررسی کاهش داد ولی استفاده از کودهای زیستی سبب تعدیل اثر کم آبی شد. براساس نتایج به‌دست آمده، بیشترین عملکرد دانه مربوط به رقم مجارستانی در شرایط آبیاری کامل (I1) و کاربرد کود زیستی نیتروژن بود. تحت شرایط تنش خشکی ملایم و شدید (I2 و I3)، نیز بیشترین عملکرد دانه به ترتیب با به‌کاربردن کود زیستی فسفر و تیمار تلفیقی نیتروژن + فسفر و از رقم مجارستانی به‌دست آمد. رقم مجارستانی در مقایسه با رقم ولف هلندی تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف و عملکرد دانه بیشتری در هر دو شرایط تنش و نرمال داشت، ولی وزن هزار دانه رقم ولف هلندی بیشتر بود. بنابراین، در مجموع رقم مجارستانی به‌ویژه در شرایط تنش خشکی کارآمدتر مشاهده شد. محتوای پروتئین دانه تحت تأثیر رقم قرار نگرفت. بیشترین درصد پروتئین دانه مربوط به تیمار آبیاری I2 و کود زیستی نیتروژن + فسفر بود. در مجموع از آنجایی که بیشتر مناطق کشور، به‌ویژه در سال‌های اخیر با تنش خشکی مواجه هستند، انتخاب ارقام مقاوم‌تر در برابر کم آبی و کاربرد کودهای زیستی جهت کاستن از آثار سوء تنش خشکی مفید به نظر می‌رسند.

واژه‌های کلیدی: تنش خشکی، رقم مقاوم، کلروفیل، وزن هزار دانه

۱، ۲، ۳ و ۴. به ترتیب دانشجوی دکتری، استادیار، استاد و دانشیار، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهر کرد، ایران.

\*مسئول مکاتبات: پست الکترونیکی: m.karimi@sku.ac.ir

## مقدمه

تنش خشکی یکی از مهم‌ترین محدودیت‌های تولید گیاهان زراعی در سراسر جهان است که با وجود تغییرات اقلیمی احتمال وقوع، مدت و شدت آن رو به افزایش است. خشکی گسترده‌ترین تنش محیطی است که بیش از سایر عوامل تنش‌زا منجر به کاهش عملکرد گیاهان زراعی می‌شود (۱۸). گیاهان در اثر تنش خشکی، علاوه بر واکنش‌های فیزیولوژیک، تغییرات مرفولوژیک نیز از خود نشان می‌دهند (۵۸). خشکی به شدت، رشد و نمو گیاهان را از طریق کاهش تقسیم و طول شدن سلول‌ها، کاهش در سطح برگ، رشد ریشه و ساقه، هدایت روزنه‌ای و کارایی مصرف آب تحت تأثیر قرار می‌دهد (۱۷). عناصر غذایی برای جذب و انتقال در گیاه به آب نیاز دارند. بنابراین، با کاهش دسترسی به آب، جذب مواد معدنی برای گیاه نیز کاهش می‌یابد (۱۸). امروزه راهکارهای زیادی برای کاهش یا سازگاری با آثار سوء تنش خشکی پیشنهاد می‌شود. باکتری‌های محرک رشد گیاه (Plant growth promoting rhizobacteria) نقش مهمی در مقابله گیاه با تنش خشکی دارند. این میکروارگانیسم‌های مفید با سازوکارهای مختلفی مانند: تولید اگزوپلی‌ساکاریدها (Exopolysaccharides)، هورمون‌های گیاهی، ترکیبات فرار و یا تغییر در مورفولوژی ریشه، افزایش انحلال و قابلیت جذب عناصر غذایی، القاء تجمع اسمولیت‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها، سبب ایجاد تحمل به تنش خشکی می‌شوند (۶۱).

نخودفرنگی (*Pisum sativum* L.) از جمله حبوبات فصل سرد است که به‌طور گسترده در سراسر جهان کشت می‌شود (۵۵). نخودفرنگی به‌عنوان گیاه دانه‌ای و علوفه‌ای قابلیت کشت دارد. دانه خشک آن عمدتاً برای تغذیه دام و گاهی انسان استفاده می‌شود. دانه سبز آن نیز به‌صورت تازه‌خوری، فریز شده و یا کنسرو قابل مصرف در غذای انسان است (۹). برای تولید نخودفرنگی، تأمین آب کافی جهت دستیابی به عملکرد بالا ضروری است (۵۱). نخودفرنگی مانند اغلب حبوبات طی مراحل گل‌دهی و پر شدن غلاف‌ها نسبت به مراحل رشد

رویش حساسیت بیشتری به تنش خشکی دارد (۲۹). هنگامی که نخودفرنگی در مرحله رشد زایشی با تنش خشکی مواجه شود، به‌دلیل ریزش گل‌ها و غلاف‌ها عملکرد کمتری دارد (۵۶). طی پژوهشی گزارش شد که عملکرد و اجزای عملکرد نخودفرنگی به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تنش رطوبتی قرار گرفت. به‌طوری که در شرایط دیم نسبت به فاریاب عملکرد دانه حدود ۲۰ درصد کاهش یافت (۶۳). در پژوهشی تنش خشکی سبب کاهش عملکرد دانه نخودفرنگی شد، ولی تلقیح بذور با باکتری‌های محرک رشد *Pseudomonas spp.* سبب بهبود عملکرد دانه شد (۵). به‌طور مشابه پرایمینگ بذور نخودفرنگی با باکتری *Bacillus thuringiensis* منجر به بهبود ویژگی‌های مرفوفیزیولوژیک و عملکرد دانه شد که احتمالاً به‌دلیل کاهش آثار نامطلوب تنش خشکی بود (۴). تنش خشکی سبب کاهش جذب عناصر غذایی و توانایی تثبیت نیتروژن در حبوبات می‌شود (۱۱). بنابراین، در این شرایط استفاده از باکتری‌های محرک رشد با کمک به تأمین عناصر غذایی باعث بهبود رشد و عملکرد گیاه می‌شود. استفاده از باکتری‌های *Pantoea agglomerans* *Azotobacter vinelandii* و *Pseudomonas putida* سبب بهبود ویژگی‌های گیاه اسپرس (*Onobrychis sativa* L.) از خانواده بقولات و افزایش جذب عناصر غذایی در شرایط تنش خشکی و عدم تنش شد (۱۲). باکتری‌های *Bacillus spp.* در نخودفرنگی تحت تنش شوری باعث بهبود فتوسنتز و رشد گیاه شدند (۲۳). باتوجه به آلودگی‌های زیست محیطی ناشی از کاربرد بی‌رویه کودهای شیمیایی و همچنین افزایش تنش خشکی در سطح جهانی، لزوم توجه به کودهای زیستی بیش از پیش احساس می‌شود.

در ایران نخودفرنگی دارای سطح زیر کشت گسترده‌ای نیست و تاکنون پژوهش‌های اندکی در زمینه بررسی ارقام مختلف در مناطق مستعد کشت این محصول در کشور صورت گرفته است. از این‌رو، تلاش در جهت شناسایی ارقام مناسب برای هر منطقه با در نظر گرفتن برهم‌کنش ژنوتیپ و محیط از اهمیت زیادی برخوردار است. استان چهارمحال و بختیاری

مورد استفاده در این پژوهش حاوی باکتری *Pantoea agglomerans* سویه O4 (باکتری آزادی تثبیت کننده نیتروژن) و کود زیستی فسفات بارور-۲ نیز حاوی باکتری های حل کننده فسفات (*Pseudomonas putida* strain P13) بود که براساس دستورالعمل شرکت سازنده با استفاده از دو سازوکار ترشح اسیدهای آلی و آنزیم فسفاتاز باعث تجزیه ترکیبات فسفره نامحلول در خاک شده و در نتیجه امکان جذب این عنصر را برای گیاهان فراهم می کنند. کودهای زیستی از شرکت زیست فناوری سبز تهیه شد.

زمین مورد نظر در ابتدای بهار شخم و به منظور خرد کردن کلوخه ها دوبار دیسک عمود بر هم زده شد. پس از آن اجرای نقشه طرح آزمایش و تعیین کرت های آزمایشی انجام شد. کاشت در اول خردادماه به صورت ردیفی و با دست، طبق نقشه آزمایش صورت گرفت. ابعاد کرت های فرعی فرعی در این پژوهش ۴×۲/۵ مترمربع بود. فاصله بین کرت های اصلی ۲ متر، بین کرت های فرعی و فرعی فرعی ۱ متر و بین بلوک ها (تکرارها) نیز ۲ متر در نظر گرفته شد. هر یک از کرت ها شامل ۶ خط کاشت به طول ۴ متر بود. بذرها به صورت ردیفی در ردیف هایی به فاصله ۳۰ سانتی متر در تراکم زیاد کاشت شدند. بعد از این که بوته ها به مرحله ۲ تا ۴ برگی رسیدند، عملیات تنک کردن جهت تنظیم فاصله ۱۰ سانتی متری بین بوته ها انجام شد. به طوری که در نهایت تراکم بوته ای معادل ۳۳/۳ بوته در مترمربع ایجاد شد (۷). عمق تقریبی کاشت بذر ۲/۵ سانتی متر بود. مبارزه با علف های هرز و سله شکنی به صورت دستی انجام شد. قبل از آماده سازی زمین، نمونه ای مرکب از خاک مزرعه از عمق صفر تا ۳۰ سانتی متری به صورت زیگزاکی تهیه شد و در آزمایشگاه آب و خاک ویژگی های فیزیکی و شیمیایی آن مشخص شد (جدول ۱). نیاز کودی مزرعه بر اساس نتایج آزمون خاک و توصیه کودی تأمین شد. ۲۵ کیلوگرم در هکتار فسفر از منبع سوپرفسفات تریپل، ۵۰ کیلوگرم در هکتار سولفات پتاسیم و ۲۵ کیلوگرم در هکتار

به دلیل سردسیر بودن پتانسیل بالایی برای توسعه کشت و تولید این گیاه و شناسایی ارقام مناسب در فصول خنک بهار و تابستان دارد. نخودفرنگی دارای فصل رشد کوتاهی است. بنابراین، کشت آن در فصل بهار اختلالی در کشت گیاهان پاییزه به ویژه در مناطق سردسیر ایجاد نمی کند. از این رو قرار دادن آن در تناوب با گیاهانی مانند گندم می تواند در افزایش حاصلخیزی خاک مؤثر باشد. حتی کشت دیم آن به صورت پاییزه یا بهاره نیز قابل بررسی است. نخودفرنگی به دلیل زودرس بودن نیاز آبی کمی دارد که این موضوع در مناطق خشک و نیمه خشک اهمیت زیادی دارد. بنابراین پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر سطوح مختلف آبیاری و کاربرد کودهای زیستی نیتروژن و فسفر بر رنگیزه های فتوسنتزی، عملکرد، اجزای عملکرد و محتوای پروتئین دانه ارقام نخودفرنگی انجام شد.

## مواد و روش ها

به منظور ارزیابی اثر کودهای زیستی بر رنگیزه های فتوسنتزی، عملکرد، اجزای عملکرد و محتوای پروتئین دانه دو رقم نخودفرنگی (*Pisum sativum* L.) تحت سطوح مختلف آبیاری، پژوهشی در سال زراعی ۱۴۰۰ انجام شد. این آزمایش به صورت کرت های دوبار خرد شده (اسپلیت-اسپلیت پلات) در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه ای واقع در شهرستان فارس (طول جغرافیایی ۵۰ درجه و ۳۵ دقیقه شرقی، عرض جغرافیایی ۳۲ درجه و ۱۶ دقیقه شمالی، ارتفاع ۲۰۷۲ متر و میانگین بارش سالانه ۵۰۲ میلی متر) استان چهارمحال و بختیاری اجرا شد. عامل اصلی شامل تیمارهای آبیاری در سه سطح (آبیاری پس از ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی متر تبخیر تجمعی از تشتک تبخیر کلاس A)، عامل فرعی شامل منابع مختلف کود زیستی در چهار سطح (بدون کود، ازتوبارور ۱، فسفات بارور-۲ و ازتوبارور ۱ + فسفات بارور-۲) و عامل فرعی فرعی شامل ارقام مختلف نخودفرنگی در دو سطح (رقم ولف هلندی و مجارستانی) بود. کود زیستی ازتوبارور ۱

جدول ۱. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه آزمایشی

عمق خاک (سانتی‌متر)	اسیدیته	هدایت الکتریکی (دسی‌زیمنس بر متر)	کربن آلی (درصد)	نیترژن کل (میلی‌گرم در کیلوگرم)	فسفر قابل جذب (میلی‌گرم در کیلوگرم)	پتاسیم قابل جذب (میلی‌گرم در کیلوگرم)	بافت
۰-۳۰	۶/۸	۰/۴۹	۰/۷۷	۰/۱۱	۱۳/۴	۳۱۲	سیلتی شنی

داخل فویل آلومینیومی قرار گرفت و سپس درون نیترژن مایع منجمد شد و تا زمان استفاده در فریز با دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. برای اندازه‌گیری محتوای کلروفیل و کاروتنوئیدها از روش لیچتن‌تالر و ولبرن (۳۱) استفاده شد. بر اساس این روش ۰/۲۵ گرم برگ در هاون چینی حاوی ۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد به‌طور کامل هموژنیزه شد. آنگاه محلول به‌دست آمده را در کووت ریخته و با دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۶ و ۴۷۰ نانومتر قرائت و با استفاده از روابط زیر میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئیدها محاسبه شد:

$$\text{Chl}_a = (12.25 \times A_{663} - 2.79 \times A_{646})$$

$$\text{Chl}_b = (21.21 \times A_{646} - 5.1 \times A_{663})$$

$$\text{Car} = \frac{(1000 \times A_{470} - 1.8 \times \text{Chl}_a - 85.02 \times \text{Chl}_b)}{198}$$

#### عملکرد و اجزای عملکرد

برای تعیین تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف و وزن هزار دانه، در مرحله رسیدگی (هنگامی که برگ‌های بوته‌های نخودفرنگی شروع به زرد شدن و ریزش کردند، ۸۰ تا ۹۰ درصد غلاف‌ها به‌رنگ زرد مایل به قهوه‌ای درآمدند و دانه‌ها خشک شدند)، تعداد ۱۰ بوته متوالی از یک خط کاشت هر کرت با حذف اثر حاشیه (دو خط کناری از هر واحد آزمایشی و حذف نیم‌متر از طرفین هر خط) برداشت شد و پس از انتقال به آزمایشگاه علوم زراعت دانشگاه شهرکرد تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف و وزن هزار دانه اندازه‌گیری شدند. به‌منظور اندازه‌گیری عملکرد دانه، از هر واحد آزمایشی ۱ مترمربع با در نظر گرفتن اثر حاشیه برداشت شد (برداشت از

نیترژن از منبع اوره پیش از کشت به‌عنوان آغازگر (Starter) در اختیار گیاه قرار گرفت. میزان استفاده از کود فسفر تقریباً نصف میزان توصیه شده بود. کود نیترژن نیز فقط به‌صورت آغازگر به‌کار رفت.

کودهای زیستی براساس توصیه شرکت سازنده در دو نوبت، نوبت اول هنگام کشت به‌صورت تلقیح بذر (بذر مال) و نوبت دوم ۴۰ روز بعد، همراه با آب آبیاری استفاده شدند. تیمارهای آبیاری با پیدایش نخستین جوانه‌های گل (BBCH = 51) اعمال شدند (۳۶). آبیاری کرت‌های آزمایشی تا قبل از کاربرد تیمارهای آبیاری بر اساس ۷۰ میلی‌متر تبخیر تجمعی از تشتک تبخیر کلاس A صورت گرفت. برای تعیین حجم آب مصرفی در هر آبیاری، قبل از آبیاری، نمونه برداری از خاک کرت مورد نظر تا عمق توسعه ریشه انجام و درصد رطوبت وزنی خاک تعیین شد. حجم آب آبیاری در هر نوبت با استفاده از معادله‌های ۱ و ۲ تعیین (۳۴)، و مقدار آب مصرفی در هر کرت با استفاده از کنتور حجمی کنترل شد.

$$H = \rho b (\theta_{F.C} - \theta_m) \times D \quad (1)$$

$$V = H \times A \quad (2)$$

در معادله‌های ۱ و ۲، H نشان‌دهنده ارتفاع آب داخل کرت،  $\rho b$  جرم مخصوص ظاهری خاک،  $\theta_{F.C}$  رطوبت در حد ظرفیت مزرعه،  $\theta_m$  رطوبت جرمی کرت موردنظر در زمان آبیاری، D عمق توسعه ریشه، V حجم آب آبیاری در کرت و A مساحت کرت است.

#### اندازه‌گیری صفات

##### رنگیزه‌های فتوستزی برگ

جهت اندازه‌گیری میزان کلروفیل و کاروتنوئیدها، نمونه‌های برگ از جوان‌ترین برگ کاملاً توسعه یافته تهیه شد و فوراً

جدول ۲. تجزیه واریانس اثر سطوح مختلف آبیاری و کود زیستی بر برخی رنگیزه‌های فتوسنتزی برگ در دو رقم نخودفرنگی

میانگین مربعات (MS)			درجه آزادی	منابع تغییر
کاروتنوئیدها	کلروفیل b	کلروفیل a		
۰/۰۴ <sup>n.s</sup>	۰/۰۳ <sup>n.s</sup>	۰/۰۱ <sup>n.s</sup>	۲	تکرار
۰/۶۴ <sup>**</sup>	۰/۵۵ <sup>**</sup>	۳/۲ <sup>**</sup>	۲	آبیاری
۰/۰۱	۰/۰۳	۰/۱	۴	خط اصلی
۰/۱۸ <sup>**</sup>	۰/۱۱ <sup>**</sup>	۰/۱۵ <sup>*</sup>	۳	کود زیستی
۰/۰۸ <sup>**</sup>	۰/۰۷ <sup>**</sup>	۰/۲۲ <sup>**</sup>	۶	آبیاری × کود زیستی
۰/۰۰۸	۰/۰۰۸	۰/۰۴	۱۸	خط فرعی
۱/۸۷ <sup>**</sup>	۰/۱۲ <sup>**</sup>	۰/۸ <sup>**</sup>	۱	رقم
۰/۲۹ <sup>**</sup>	۰/۶۴ <sup>**</sup>	۲/۵ <sup>**</sup>	۲	آبیاری × رقم
۰/۱ <sup>**</sup>	۰/۰۲ <sup>n.s</sup>	۰/۱ <sup>n.s</sup>	۳	کود زیستی × رقم
۰/۰۹ <sup>**</sup>	۰/۰۳ <sup>n.s</sup>	۰/۱ <sup>n.s</sup>	۶	آبیاری × کود زیستی × رقم
۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۸	۲۴	خط فرعی فرعی
۲۲/۴۵	۶/۹۵	۸/۵۷	-	ضریب تغییرات (%)

n.s, \* و \*\* به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد.

آبیاری و رقم در سطح احتمال ۱ درصد و تیمار کود زیستی در سطح احتمال ۵ درصد بر محتوای کلروفیل a برگ نخودفرنگی معنی‌دار شد. هم‌چنین برهم‌کنش آبیاری × کود زیستی و آبیاری × رقم بر محتوای کلروفیل a برگ در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد. اثر تیمارهای آبیاری، کود زیستی و رقم بر میزان کلروفیل b برگ در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد. برهم-کنش آبیاری × کود زیستی و آبیاری × رقم بر محتوای کلروفیل b نیز در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد. مقایسه میانگین تیمارها نشان داد که در سطح آبیاری I<sub>1</sub> و I<sub>2</sub> تیمارهای کودی اثر معنی‌داری بر محتوای کلروفیل a برگ نداشتند ولی در سطح آبیاری I<sub>3</sub> بیشترین میزان کلروفیل a (۳/۱۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) مربوط به کود زیستی نیتروژن بود و حدود ۲۴ درصد نسبت به تیمار شاهد بدون کود، افزایش نشان داد و با آن اختلاف معنی‌دار داشت. هم‌چنین در سطح آبیاری I<sub>1</sub> محتوای کلروفیل a در رقم ولف هلندی بیشتر از رقم مجارستانی بود ولی با هم تفاوت معنی‌دار نداشتند. در سطح آبیاری I<sub>2</sub> و I<sub>3</sub> میزان کلروفیل a در رقم مجارستانی بیشتر از

سطح خاک) و پس از توزین و جداسازی کاه و کلش، عملکرد دانه بر حسب کیلوگرم در هکتار محاسبه شد.

#### محتوای پروتئین دانه

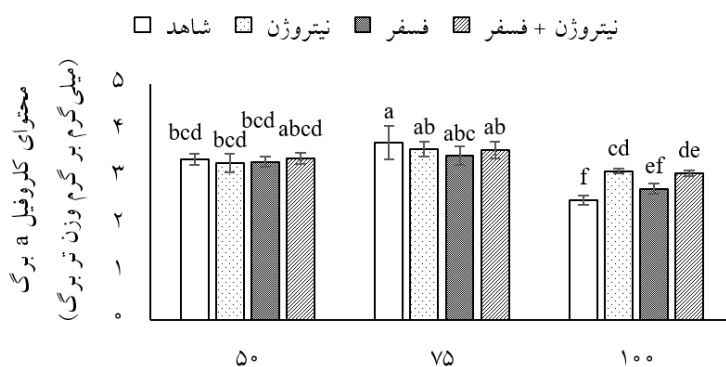
پس از محاسبه عملکرد دانه در هر کرت، نمونه‌ای به وزن ۱۰۰ گرم از دانه‌ها انتخاب و با استفاده از روش کج‌دال، محتوای نیتروژن آن‌ها اندازه‌گیری و سپس با استفاده از ضریب ۶/۲۵ میزان پروتئین آن‌ها محاسبه شد (۴۹).

داده‌ها با نرم‌افزار آماری SAS 9.1 آنالیز و میانگین‌های معنی‌دار شده توسط آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (Least Significant Difference = LSD) در سطح احتمال ۵ درصد مورد ارزیابی قرار گرفتند. نمودارها و جداول توسط نرم افزار Excel 2013 ترسیم شد.

#### نتایج و بحث

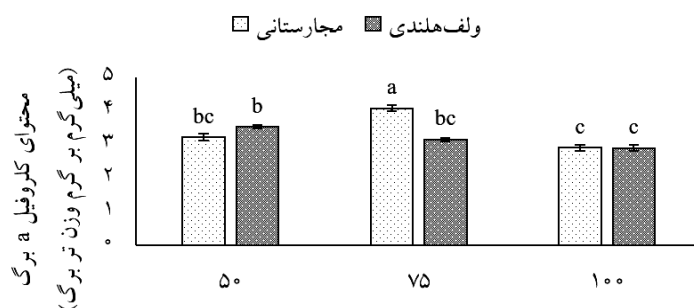
##### محتوای کلروفیل a و b برگ

بر اساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲)، اثر تیمارهای



سطوح رطوبتی خاک (میلی متر تبخیر تجمعی از تشتک تبخیر کلاس A)

شکل ۱. برهم کنش تیمارهای آبیاری و کود زیستی بر محتوای کلروفیل a برگ نخودفرنگی (ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی دار ندارند- نشانگرهای میله‌ای خطای استاندارد میانگین سه تکرار هستند).



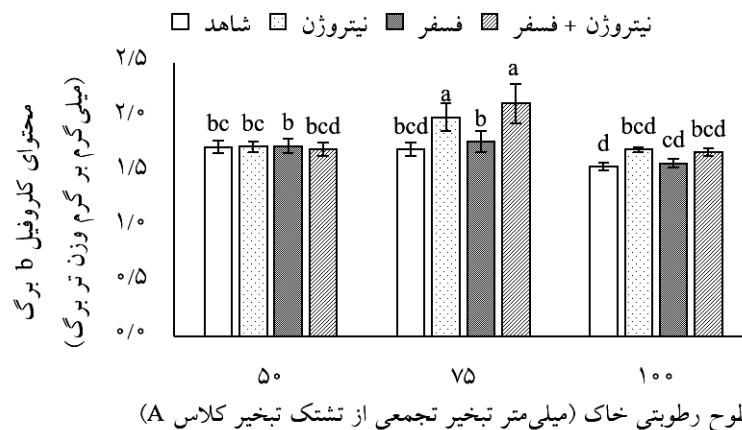
سطوح رطوبتی خاک (میلی متر تبخیر تجمعی از تشتک تبخیر کلاس A)

شکل ۲. برهم کنش تیمارهای آبیاری و رقم بر محتوای کلروفیل a برگ نخودفرنگی (ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی دار ندارند- نشانگرهای میله‌ای خطای استاندارد میانگین سه تکرار هستند).

حدود ۹/۶۸ درصد نسبت تیمار شاهد بدون کود افزایش داد ولی با آن تفاوت معنی دار نداشت. همچنین با توجه به شکل ۴، در سطح آبیاری I<sub>1</sub> و I<sub>3</sub> میزان کلروفیل b در دو رقم مجارستانی و ولف هلندی اختلاف معنی دار نداشت. در شرایط تنش خشکی ملایم محتوای کلروفیل b برگ در رقم مجارستانی افزایش و در رقم ولف هلندی کاهش یافت و بین این دو رقم تفاوت معنی دار وجود داشت. تحت شرایط تنش خشکی شدید میزان کلروفیل b در هر دو رقم کاهش یافت. بنابراین تنش خشکی ملایم در رقم مجارستانی محتوای کلروفیل a و b را افزایش داد، ولی با شدت یافتن تنش خشکی میزان آن‌ها کاهش یافت. در رقم ولف هلندی هر دو نوع تنش خشکی ملایم و شدید میزان کلروفیل a و b را کاهش دادند.

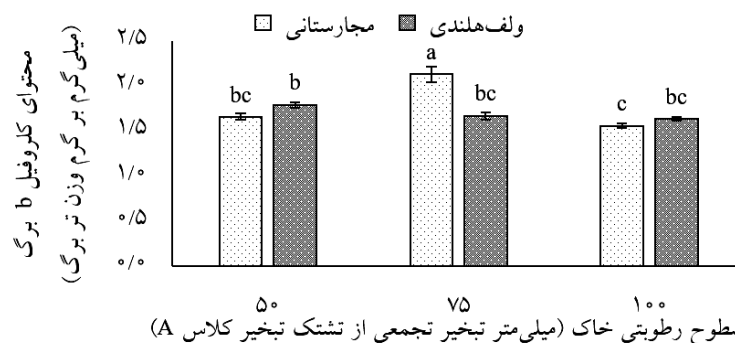
رقم ولف هلندی بود که در سطح آبیاری I<sub>2</sub> با هم تفاوت معنی دار داشتند. تنش خشکی ملایم (سطح آبیاری I<sub>2</sub>) محتوای کلروفیل a را در رقم مجارستانی افزایش و در رقم ولف هلندی کاهش داد. تنش خشکی شدید (سطح آبیاری I<sub>3</sub>) میزان کلروفیل a را در هر دو رقم کاهش داد ولی میزان این کاهش در رقم ولف هلندی بیش تر بود (شکل ۱ و ۲).

با توجه به شکل ۳، در سطح آبیاری I<sub>1</sub> تیمارهای کودی اثر معنی داری بر محتوای کلروفیل b برگ نداشتند. در سطح آبیاری I<sub>2</sub> بیشترین میزان کلروفیل b (۲/۱۲ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ) از تیمار تلفیقی کود زیستی نیتروژن + فسفر به دست آمد که با تیمار شاهد بدون کود تفاوت معنی دار داشت. در سطح آبیاری I<sub>3</sub> نیز اگرچه کود زیستی نیتروژن محتوای کلروفیل b را



سطوح رطوبتی خاک (میلی متر تبخیر تجمعی از تشتک تبخیر کلاس A)

شکل ۳. برهم کنش تیمارهای آبیاری و کود زیستی بر محتوای کلروفیل b برگ نخودفرنگی (ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی دار ندارند- نشانگرهای میله‌ای خطای استاندارد میانگین سه تکرار هستند).



سطوح رطوبتی خاک (میلی متر تبخیر تجمعی از تشتک تبخیر کلاس A)

شکل ۴. برهم کنش تیمارهای آبیاری و رقم بر محتوای کلروفیل b برگ نخودفرنگی (ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی دار ندارند- نشانگرهای میله‌ای خطای استاندارد میانگین سه تکرار هستند).

کاهش کلروفیل در شرایط تنش خشکی به اثرات کمبود آب بر آنزیم‌های بیوسنتزکننده کلروفیل نسبت داده می‌شود (۶). کمبود آب منجر به افزایش انقباض سلول‌ها و در نتیجه افزایش غلظت محلول سلولی می‌شود (۵۹). بنابراین احتمالاً غلظت کلروفیل نیز در سلول افزایش می‌یابد. در تطابق با نتایج این پژوهش، مومبینی و عباسی (۳۸) گزارش کردند که در ارقام لوبیا تحت شرایط خشکی ملایم محتوای کلروفیل برگ افزایش یافت، ولی با شدت یافتن تنش خشکی از میزان کلروفیل کاسته شد. بر اساس یافته‌های سپهری و گل‌پرور (۵۳)، تنش خشکی در ارقام کلزا (*Brassica napus* L.) باعث افزایش غلظت کلروفیل a و b شد. طی پژوهشی گزارش شد که محتوای کلروفیل گیاهچه‌های نخودفرنگی تحت شرایط تنش خشکی به آرامی

رنگدانه‌های فتوسنتزی نقش مهمی در دریافت نور دارند. محتوای هر دو نوع کلروفیل a و b تحت شرایط تنش خشکی تغییر می‌کنند (۱۷). ارقام مقاوم به تنش خشکی و گرما محتوای کلروفیل بالاتری دارند (۵۰). اثر تنش خشکی بر محتوای کلروفیل برگ بسته به ژنوتیپ گیاه و شرایط محیطی متفاوت است. تنش خشکی در برخی ارقام کلروفیل را کاهش و در برخی دیگر افزایش می‌دهد. همچنین واکنش سنتز کلروفیل به تنش خشکی در گیاهان مختلف، متفاوت است. در شرایط خشکی شدید با افزایش فعالیت آنزیم‌های کلروفیل‌لاز و پراکسیداز محتوای کلروفیل برگ کاهش می‌یابد. خشکی ملایم ممکن است غلظت کلروفیل را در واحد سطح برگ افزایش دهد، ولی خشکی شدید مانع از سنتز کلروفیل می‌شود (۵۳).

زیستی × رقم بر میزان کاروتنوئیدهای برگ نخودفرنگی در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار شد. با توجه به جدول مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۴)، در سطح آبیاری I<sub>1</sub> بیشترین میزان کاروتنوئیدها (۰/۷۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) مربوط به رقم مجارستانی متأثر از تیمار تلفیقی کود زیستی نیتروژن + فسفر بود که با تیمار شاهد بدون کود تفاوت معنی دار نداشت. در سطح آبیاری I<sub>2</sub> هم بیشترین محتوای کاروتنوئیدهای برگ (۱/۶۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) از رقم مجارستانی تیمار شده با کود زیستی نیتروژن + فسفر به دست آمد که با تیمار شاهد اختلاف معنی دار نشان داد. در سطح آبیاری I<sub>3</sub> نیز بیشترین میزان کاروتنوئیدها (۰/۵۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) در رقم مجارستانی تحت تأثیر کود زیستی نیتروژن دیده شد که با تیمار شاهد تفاوت معنی دار نداشت. کمترین محتوای کاروتنوئیدها (۰/۳۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) از رقم ولف هلندی تحت شرایط وقوع تنش خشکی شدید و عدم کاربرد کود زیستی به دست آمد. پژوهش حاضر نشان داد که تنش خشکی ملایم محتوای کاروتنوئیدهای برگ هر دو رقم نخودفرنگی را افزایش داد ولی تنش خشکی شدید به کاهش آن‌ها منجر شد.

کاروتنوئیدها نقش مهمی در فتوسنتز و حفاظت از دستگاه فتوسنتزی در برابر نور زیاد دارند. آن‌ها علاوه بر نقش ساختاری خود دارای فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدها و حفظ پایداری غشاء هستند (۶۲). کاروتنوئیدها به‌عنوان رنگیزه‌های جذب کننده نور عمل می‌کنند و از تخریب کلروفیل و غشاهای زیستی از طریق کاهش سطح انرژی کلروفیل برانگیخته و حذف گونه‌های فعال اکسیژن، جلوگیری می‌کنند (۳۲). کاروتنوئیدها باعث پراکندگی (dissipation) انرژی اضافی شده و به گیاهان در ایجاد مقاومت در برابر تنش خشکی کمک می‌کنند (۲۲). در سنبل‌الطیب (*Valeriana officinalis* L.) تنش خشکی میزان کاروتنوئیدها را افزایش داد (۲۶). با توجه به یافته‌های مومبئی و عباسی (۳۸)، در ارقام لوبیا تنش خشکی ملایم محتوای

افزایش یافت (۳). از طرفی کاراتاس و همکاران (۲۹) گزارش کردند که تنش خشکی سبب کاهش تدریجی محتوای کلروفیل برگ نخودفرنگی شد. در شرایط تنش خشکی کاهش محتوای کلروفیل سبب کاهش ظرفیت جذب نور می‌شود. بنابراین، احتمالاً تخریب رنگیزه‌های فتوسنتزی از جذب بیش از حد انرژی در دستگاه فتوسنتزی و تولید گونه‌های اکسیژن فعال جلوگیری می‌کند (۲۵). کاهش محتوای کلروفیل در برگ نشانه‌ای از تنش اکسیداتیو و راهکاری جهت جلوگیری از بازدارندگی نوری است (۲۹).

باکتری‌های محرک رشد *Pseudomonas putida* و *Pantoea agglomerans* احتمالاً با بهبود دسترسی به عناصر نیتروژن و فسفر منجر به افزایش سنتز کلروفیل و میزان فتوسنتز در برگ‌ها می‌شوند. به‌طور مشابه طی پژوهشی مشخص شد که تلقیح بذور نخودفرنگی با باکتری‌های محرک رشد *Azospirillum* و *Agrobacterium* به‌طور معنی‌داری غلظت کلروفیل a و b را افزایش داد (۱۵). کودهای زیستی با افزایش غلظت کلروفیل همراه با افزایش سطح برگ باعث بهبود فتوسنتز و تولید بیشتر آسیمیلات‌ها شده که در نهایت به افزایش رشد و عملکرد گیاه منجر می‌شود. در تطابق با نتایج به دست آمده در این پژوهش، امامی و همکاران (۱۶) گزارش کردند که در گیاه چمن کاربرد کود زیستی حاوی باکتری *Pantoea agglomerans* موجب افزایش معنی‌دار غلظت کلروفیل a و کلروفیل کل نسبت به شاهد شد، ولی کود زیستی اثر معنی‌داری بر مقدار کلروفیل b نداشت. در نخودفرنگی نیز باکتری‌های *Pseudomonas putida* و *Pseudomonas fluorescens* به‌طور مؤثری سبب کاهش آثار سوء تنش خشکی بر محتوای کلروفیل برگ شدند و میزان کلروفیل a و b را افزایش دادند (۵).

#### محتوای کاروتنوئیدهای برگ

با توجه به نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲)، اثر تیمارهای آبیاری، کود زیستی، رقم و برهم‌کنش آبیاری × کود زیستی، آبیاری × رقم، کود زیستی × رقم و آبیاری × کود



جدول ۳. تجزیه واریانس اثر سطوح مختلف آبیاری و کود زیستی بر عملکرد، اجزای عملکرد و محتوای پروتئین دانه دو رقم نخودفرنگی

میانگین مربعات (MS)						منابع تغییر
محتوای پروتئین دانه	عملکرد دانه	وزن هزار دانه	تعداد دانه در غلاف	تعداد غلاف در بوته	درجه آزادی	
۰/۵۴ <sup>n.s</sup>	۲۱۹۱۷ <sup>n.s</sup>	۰/۷۸ <sup>n.s</sup>	۰/۱۷ <sup>n.s</sup>	۳/۱۸ <sup>n.s</sup>	۲	تکرار
۲۸۶ <sup>**</sup>	۱۱۳۵۵۵۷۹ <sup>**</sup>	۱۳۰۷۰ <sup>**</sup>	۴۲/۸ <sup>**</sup>	۲۵۰ <sup>**</sup>	۲	آبیاری
۷/۰۸	۶۲۳۳۱	۱۳۰	۰/۸۳	۶/۸۹	۴	خطا اصلی
۲۰/۶ <sup>*</sup>	۹۶۷۸۳۶ <sup>**</sup>	۲۴۴۴ <sup>**</sup>	۰/۳۱ <sup>n.s</sup>	۴۵/۳ <sup>**</sup>	۳	کود زیستی
۱۴/۲ <sup>*</sup>	۴۲۷۲۵ <sup>n.s</sup>	۳۸۷ <sup>n.s</sup>	۰/۵۵ <sup>n.s</sup>	۲/۰۵ <sup>n.s</sup>	۶	آبیاری × کود زیستی
۴/۷	۲۲۱۶۴	۳۶۶	۰/۷۸	۶/۷۶	۱۸	خطا فرعی
۱/۱۲ <sup>n.s</sup>	۱۶۶۸۳۰۱۳ <sup>**</sup>	۷۵۶۶۰ <sup>**</sup>	۱۰۳ <sup>**</sup>	۲۹۲ <sup>**</sup>	۱	رقم
۷/۶۲ <sup>n.s</sup>	۳۹۲۸۲۰ <sup>**</sup>	۴۵۸ <sup>n.s</sup>	۴/۵۱ <sup>*</sup>	۱۷/۷ <sup>*</sup>	۲	آبیاری × رقم
۰/۹۴ <sup>n.s</sup>	۱۲۹۴۶۰ <sup>n.s</sup>	۵۳۸ <sup>n.s</sup>	۰/۳۱ <sup>n.s</sup>	۱۰/۶ <sup>n.s</sup>	۳	کود زیستی × رقم
۱/۷۷ <sup>n.s</sup>	۲۰۸۷۲۱ <sup>**</sup>	۱۰۴۲ <sup>*</sup>	۰/۴۹ <sup>n.s</sup>	۱۴/۹ <sup>*</sup>	۶	آبیاری × کود زیستی × رقم
۳/۷۸	۴۵۲۹۵	۳۴۰	۰/۸۵	۴/۵۴	۲۴	خطا فرعی فرعی
۸/۵	۱۰/۷	۱۱/۷	۱۹/۴	۱۸/۵	-	ضریب تغییرات (%)

n.s، \* و \*\* به ترتیب: غیر معنی دار، معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد

مشابه در نخودفرنگی تحت شرایط تنش شوری بالاترین میزان کلروفیل و کاروتنوئیدها از کاربرد باکتری‌های محرک رشد *Bacillus spp.* به دست آمد (۲۳). تجمع کاروتنوئیدها یکی از سازوکارهای گیاهان برای کاهش آثار سوء تنش خشکی است. تنش خشکی در لگوم‌ها سبب کاهش تثبیت بیولوژیکی نیتروژن می‌شود. به طوری که در نخودفرنگی کمبود آب به طور قابل ملاحظه‌ای تجمع نیتروژن را در بافت‌ها کاهش می‌دهد (۱۰). فسفر نیز برای در دسترس بودن و جذب توسط گیاه به تامین آب کافی نیاز دارد. تنش خشکی موجب کاهش جذب و انتقال فسفر در گیاه و در نهایت کاهش غلظت آن در برگ‌ها می‌شود (۵۲). بنابراین کودهای زیستی احتمالاً با افزایش فراهمی نیتروژن و فسفر به بیوسنتز رنگیزه‌های فتوسنتزی و از جمله کاروتنوئیدها کمک می‌کنند.

#### تعداد غلاف در بوته

اثر تیمارهای آبیاری، کود زیستی و رقم بر تعداد غلاف در بوته نخودفرنگی در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار شد. همچنین

کاروتنوئیدها را افزایش داد ولی تنش خشکی شدید میزان کاروتنوئیدها را کاهش داد که با نتایج به دست آمده در پژوهش حاضر مطابقت داشت. آن‌ها همچنین گزارش کردند که در شرایط تنش خشکی، ارقام لوبیا متحمل نسبت به ارقام حساس میزان کاروتنوئید بیشتری داشتند. خشکی ملایم احتمالاً با کاهش اندازه سلول‌ها و تجمع مواد محلول در شیره سلولی سبب افزایش غلظت رنگدانه‌ها می‌شود (۴۶). طی پژوهشی پریدا و همکاران (۴۳)، گزارش کردند که تنش خشکی به کاهش معنی دار کاروتنوئیدها در ژنوتیپ‌های پنبه منجر شد. کمبود آب به واسطه تغییرات متابولیکی در گیاه سبب کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی می‌شود. همچنین تنش خشکی با افزایش تولید اتانول و لاکتات منجر به کاهش سنتز کلروفیل و کاروتنوئیدها می‌شود (۴۱).

طی پژوهشی ایجاز و همکاران (۱۵)، گزارش کردند که تلقیح بذور نخود فرنگی با باکتری‌های محرک رشد *Azospirillum Agrobacterium* غلظت کاروتنوئیدها را به طور معنی داری افزایش داد که با یافته‌های پژوهش حاضر تطابق داشت. به طور

جدول ۴. مقایسه میانگین برهمکنش آبیاری × کود زیستی × رقم بر برخی صفات عملکردی و محتوای کاروتنوئیدهای برگ دو رقم نخودفرنگی

آبیاری	رقم	کود زیستی	± خطای استاندارد تعداد غلاف در بوته	± خطای استاندارد (گرم) وزن هزار دانه	± خطای استاندارد (کیلوگرم در هکتار) عملکرد دانه	± خطای استاندارد (میلی گرم بر گرم وزن تر برگ) کاروتنوئیدها
I <sub>1</sub>	مجارستانی	شاهد	۱۵/۷ <sup>bc</sup> ± ۰/۸۸	۱۳۰ <sup>hij</sup> ± ۵/۷۷	۲۷۳۳ <sup>b</sup> ± ۸۸/۱۹	۰/۵۶ <sup>cdef</sup> ± ۰/۱۴
		نیتروزن	۱۹/۳ <sup>a</sup> ± ۰/۸۸	۱۸۰ <sup>cde</sup> ± ۱۱/۵۵	۳۲۲۷ <sup>a</sup> ± ۶۳/۵۹	۰/۷۶ <sup>bcd</sup> ± ۰/۱۰
		فسفر	۱۷/۷ <sup>ab</sup> ± ۱/۴۵	۱۵۰ <sup>efgh</sup> ± ۱۱/۵۵	۳۱۱۰ <sup>a</sup> ± ۵۸/۵۹	۰/۵۵ <sup>defg</sup> ± ۰/۱۴
		نیتروزن + فسفر	۱۷ <sup>ab</sup> ± ۱/۱۵	۱۵۰ <sup>efgh</sup> ± ۱۵/۲۷	۳۱۵۰ <sup>a</sup> ± ۷۶/۳۸	۰/۷۷ <sup>bc</sup> ± ۰/۱۰
ولف هلندی	مجارستانی	شاهد	۹/۳ <sup>ghij</sup> ± ۱/۴۵	۱۹۷ <sup>ecd</sup> ± ۱۲/۰۲	۱۷۳۷ <sup>fg</sup> ± ۴۴/۸۴	۰/۳۵ <sup>fgh</sup> ± ۰/۰۲
		نیتروزن	۹/۳ <sup>ghij</sup> ± ۰/۸۸	۲۰۰ <sup>bc</sup> ± ۱۵/۲۷	۲۱۸۷ <sup>de</sup> ± ۹۴/۰۴	۰/۳۶ <sup>efgh</sup> ± ۰/۰۳
		فسفر	۱۴/۳ <sup>bcd</sup> ± ۰/۸۸	۲۰۳ <sup>bc</sup> ± ۱۴/۵۳	۲۱۷۷ <sup>de</sup> ± ۱۱۴/۶۵	۰/۳۴ <sup>gh</sup> ± ۰/۰۳
		نیتروزن + فسفر	۱۵/۳ <sup>bcd</sup> ± ۱/۷۶	۲۴۰ <sup>a</sup> ± ۵/۷۷	۲۶۳۳ <sup>bc</sup> ± ۱۸۵/۵۹	۰/۳۶ <sup>efgh</sup> ± ۰/۰۲
I <sub>2</sub>	مجارستانی	شاهد	۱۲ <sup>defg</sup> ± ۱/۱۵	۱۰۳ <sup>jk</sup> ± ۸/۸۲	۲۲۹۷ <sup>cde</sup> ± ۱۲۴/۱۴	۰/۷۴ <sup>bcd</sup> ± ۰/۰۸
		نیتروزن	۱۳/۳ <sup>cdef</sup> ± ۲/۴۰	۱۱۰ <sup>jk</sup> ± ۱۵/۲۷	۲۴۴۷ <sup>bcd</sup> ± ۳۱/۸۰	۰/۷۴ <sup>bcd</sup> ± ۰/۱۰
		فسفر	۱۶/۳ <sup>abc</sup> ± ۱/۴۵	۱۴۷ <sup>fghi</sup> ± ۸/۸۲	۲۶۵۵ <sup>bc</sup> ± ۲۹/۳۶	۰/۹۴ <sup>b</sup> ± ۰/۰۴
		نیتروزن + فسفر	۱۳/۳ <sup>cdef</sup> ± ۲/۰۲	۱۲۰ <sup>hijk</sup> ± ۵/۷۷	۲۴۱۲ <sup>bcd</sup> ± ۵۶/۴۳	۱/۶۴ <sup>a</sup> ± ۰/۱۲
ولف هلندی	مجارستانی	شاهد	۷ <sup>ijk</sup> ± ۱/۵۳	۱۷۷ <sup>cdef</sup> ± ۳/۳۳	۱۴۷۰ <sup>g</sup> ± ۳۵/۱۲	۰/۴۷ <sup>efgh</sup> ± ۰/۰۳
		نیتروزن	۸ <sup>ijk</sup> ± ۱/۱۵	۱۸۵ <sup>cd</sup> ± ۸/۷	۱۵۰۶ <sup>g</sup> ± ۱۳/۵۴	۰/۴۶ <sup>efgh</sup> ± ۰/۰۴
		فسفر	۸/۳ <sup>hijk</sup> ± ۱/۲۰	۱۹۳ <sup>bcd</sup> ± ۱۲/۰۲	۱۵۱۵ <sup>g</sup> ± ۳۷/۵۳	۰/۴۵ <sup>efgh</sup> ± ۰/۰۰۶
		نیتروزن + فسفر	۱۳ <sup>cdef</sup> ± ۱/۱۵	۲۲۳ <sup>ab</sup> ± ۱۲/۰۲	۲۲۶۰ <sup>de</sup> ± ۱۰۵/۸۳	۰/۴۹ <sup>efgh</sup> ± ۰/۰۵
I <sub>3</sub>	مجارستانی	شاهد	۷ <sup>ijk</sup> ± ۱/۱۵	۱۰۰ <sup>jk</sup> ± ۵/۷۷	۱۴۰۳ <sup>g</sup> ± ۵۴/۸۷	۰/۴۲ <sup>efgh</sup> ± ۰/۰۵
		نیتروزن	۸/۷ <sup>ghijk</sup> ± ۱/۴۵	۹۶/۷ <sup>k</sup> ± ۱۲/۰۲	۱۶۹۰ <sup>g</sup> ± ۱۷۳/۴۹	۰/۵۷ <sup>cde</sup> ± ۰/۰۲
		فسفر	۱۰ <sup>fghi</sup> ± ۱/۱۵	۱۰۰ <sup>jk</sup> ± ۱۱/۵۵	۲۰۸۵ <sup>ef</sup> ± ۱۰۸/۲۸	۰/۴۳ <sup>efgh</sup> ± ۰/۰۴
		نیتروزن + فسفر	۱۱/۷ <sup>efgh</sup> ± ۱/۲۰	۱۱۷ <sup>ijk</sup> ± ۸/۸۲	۲۳۳۴ <sup>cde</sup> ± ۸۸/۰۷	۰/۵۱ <sup>efgh</sup> ± ۰/۰۱
ولف هلندی	مجارستانی	شاهد	۵/۳ <sup>k</sup> ± ۱/۲۰	۱۴۳ <sup>ghi</sup> ± ۶/۶۷	۴۷۰ <sup>h</sup> ± ۴۱/۶۳	۰/۰۳ <sup>h</sup> ± ۰/۳۳
		نیتروزن	۹ <sup>ghij</sup> ± ۰/۵۸	۱۸۰ <sup>cde</sup> ± ۱۱/۵۵	۷۱۳ <sup>h</sup> ± ۲۱۸ ± ۳۵	۰/۰۳ <sup>fgh</sup> ± ۰/۳۵
		فسفر	۶/۳ <sup>jk</sup> ± ۱/۷۶	۱۷۳ <sup>cdefg</sup> ± ۸/۸۲	۶۲۶ <sup>h</sup> ± ۱۹۹/۴۰	۰/۰۴ <sup>fgh</sup> ± ۰/۳۵
		نیتروزن + فسفر	۸/۳ <sup>hijk</sup> ± ۱/۲۰	۱۶۷ <sup>defg</sup> ± ۱۴/۵۳	۶۹۷ <sup>h</sup> ± ۲۰۱/۸۵	۰/۴۵ <sup>efgh</sup> ± ۰/۰۲

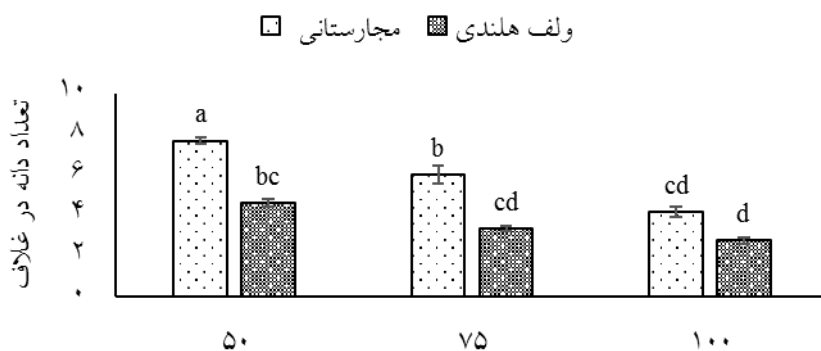
میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی دار ندارند (I<sub>1</sub>، I<sub>2</sub> و I<sub>3</sub> به ترتیب آبیاری پس از ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌متر تبخیرتجمعی از تشتک تبخیر کلاس A).

تنش افزایش داد (۵). هر گونه کاهش دسترسی به نیتروژن و سفر طی دوره رشد گیاه، موجب کاهش شاخص سطح برگ و دوام سطح برگ می‌شود. بنابراین، فعالیت فتوسنتزی کانوبی کاهش می‌یابد. نتیجه این شرایط، کاهش تولید اجزای عملکرد و از جمله تعداد غلاف است (۲۰). باکتری‌های سویه *Pseudomonas* قادر به تولید هورمون‌های اکسین، جیبرلین و همچنین ویتامین‌ها هستند (۱۲). بنابراین سبب بهبود رشد گیاه و کاهش آثار سوء تنش‌ها می‌شوند. افزایش عملکرد و اجزای عملکرد با استفاده از کودهای زیستی احتمالاً ناشی از افزایش تولید کربوهیدرات‌ها در بخش‌های زایشی گیاه است. به‌طوری که طی پژوهشی، بیشترین تعداد غلاف در بوته و عملکرد دانه نخودفرنگی از تلقیح همزمان بذور با باکتری‌های ریزوبیوم، از توباکتر و باکتری‌های حل‌کننده فسفات به‌دست آمد (۴۷).

#### تعداد دانه در غلاف

بر اساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، اثر تیمارهای آبیاری و رقم بر تعداد دانه در غلاف نخودفرنگی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد. همچنین برهم‌کنش آبیاری  $\times$  رقم نیز در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد. کودهای زیستی اثر معنی‌داری بر تعداد دانه در غلاف نداشتند (جدول ۳). مقایسه میانگین تیمارها نشان داد که در هر سه سطح آبیاری ( $I_1$ ،  $I_2$  و  $I_3$ ) بیشترین تعداد دانه در غلاف (به ترتیب ۷/۶۷، ۶ و ۴/۱۷) مربوط به رقم مجارستانی بود که با رقم ولف هلندی در سطوح آبیاری  $I_1$  و  $I_2$  تفاوت معنی‌دار داشت (شکل ۵). تعداد دانه در غلاف با ثبات‌ترین جزء عملکرد در حبوبات است، زیرا تعداد سلول‌های تخم تقریباً در همه تخمدان‌ها برابر است. بنابراین، تعداد دانه در غلاف و کاهش تعداد دانه اثر مشابهی همچون تعداد غلاف در بوته بر نوسان عملکرد ندارد. روش‌های زراعی و شرایط آب و هوایی اختلاف کمی در تعداد دانه در غلاف ایجاد می‌کنند. در نخودفرنگی دوره بحرانی تشکیل دانه در هر غلاف با پایان مرحله طویل شدن غلاف‌ها و شروع دوره پر شدن دانه مصادف است. شرایط محیطی طی این دوره از رشد و

برهم‌کنش آبیاری  $\times$  رقم و آبیاری  $\times$  کود زیستی  $\times$  رقم بر تعداد غلاف در بوته در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد (جدول ۳). با توجه به جدول مقایسه میانگین تیمارها (جدول ۴)، در شرایط آبیاری نرمال (سطح آبیاری  $I_1$ ) بیشترین تعداد غلاف در بوته (۱۹/۳ عدد در بوته) مربوط به رقم مجارستانی متأثر از کود زیستی نیتروژن بود. در این سطح آبیاری، کود زیستی نیتروژن تعداد غلاف در بوته را نسبت به تیمار شاهد ۲۲/۹ درصد افزایش داد و با آن اختلاف معنی‌دار داشت. در شرایط تنش خشکی ملایم (سطح آبیاری  $I_2$ ) بیشترین تعداد غلاف در بوته (۱۶/۳ عدد در بوته) از رقم مجارستانی تیمار شده با کود زیستی فسفر به‌دست آمد که با تیمار شاهد تفاوت معنی‌دار داشت. در شرایط تنش خشکی شدید (سطح آبیاری  $I_3$ ) نیز بیشترین تعداد غلاف در بوته (۱۱/۷ عدد در بوته) مربوط به رقم مجارستانی و تحت تیمار تلفیقی کود زیستی نیتروژن و فسفر بود که با تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار نشان داد. کمترین تعداد غلاف در بوته (۵/۳ عدد در بوته) از رقم ولف هلندی در شرایط وقوع تنش خشکی شدید (سطح آبیاری  $I_3$ ) و عدم کاربرد کود زیستی به‌دست آمد. تعداد غلاف در بوته متغیرترین صفت در بین اجزای عملکرد حبوبات است (۴۵). پتانسیل بقولات برای تشکیل جوانه‌های گل، گل‌ها و غلاف‌ها بسیار بالاست ولی دستیابی به این پتانسیل به شرایط داخلی گیاه و به‌ویژه شرایط محیطی بستگی دارد. کاهش عملکرد لگوم‌های دانه‌ای در شرایط تنش خشکی تا حدود زیادی ناشی از کاهش تعداد غلاف در بوته است (۳۳) که احتمالاً به دلیل کاهش گره‌های گل‌دهنده در ساقه، افزایش ریزش گل‌ها و غلاف‌ها است. تعداد غلاف در بوته مهم‌ترین عامل مؤثر بر عملکرد دانه نخودفرنگی است (۳۵). طی پژوهشی گزارش شد که در نخودفرنگی تنش خشکی در مرحله تشکیل غلاف آثار منفی شدیدتری بر تعداد غلاف در بوته و عملکرد دانه داشت. اما تلقیح با باکتری‌های محرک رشد *Pseudomonas putida* و *Pseudomonas fluorescense* تعداد غلاف در بوته را به‌طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد در شرایط تنش خشکی و غیر



سطوح رطوبتی خاک (میلی متر تبخیر تجمعی از تشتک تبخیر کلاس A)

شکل ۵. برهم کنش تیمارهای آبیاری و رقم بر تعداد دانه در غلاف نخودفرنگی (ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی دار ندارند- نشانگرهای میله‌ای خطای استاندارد میانگین سه تکرار هستند).

نمو نخودفرنگی از نظر تعداد دانه‌های تشکیل یافته در هر غلاف و اندازه دانه بسیار مهم است (۴۵). طی پژوهشی گزارش شد که پرایمینگ بذور نخودفرنگی با باکتری *Bacillus thuringiensis* آثار سوء تنش خشکی را کاهش و تعداد دانه در غلاف را افزایش داد (۴). به نظر می‌رسد کاهش تعداد دانه در غلاف به دلیل افزایش سقط تخمک در درون غلاف باشد (۲۰). در لوبیا نیز تنش خشکی در مراحل گلدهی، تشکیل غلاف و پر شدن دانه، به کاهش تعداد دانه در غلاف منجر شد (۸).

وزن هزار دانه

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تیمارهای آبیاری، کود زیستی و رقم بر وزن هزار دانه نخودفرنگی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد. همچنین برهم‌کنش آبیاری × کود زیستی × رقم نیز در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد (جدول ۳). با توجه به نتایج مقایسه میانگین تیمارها (جدول ۴)، در همه سطوح آبیاری بیشترین وزن هزار دانه مربوط به رقم ولف هلندی بود. در سطوح آبیاری I<sub>1</sub> و I<sub>2</sub> بیشترین وزن هزار دانه (به ترتیب ۲۴۰ و ۲۲۳ گرم) از کاربرد کودهای زیستی نیتروژن + فسفر به دست آمد که از لحاظ آماری با تیمار شاهد در این سطوح آبیاری تفاوت معنی‌دار داشت. در شرایط تنش خشکی شدید (سطح آبیاری I<sub>3</sub>) نیز بیشترین وزن هزار دانه

(۱۸۰ گرم) مربوط به استفاده از کود زیستی نیتروژن بود که نسبت به تیمار شاهد بدون کود ۲۵/۹ درصد افزایش نشان داد و با آن تفاوت معنی‌دار داشت. وزن هزار دانه وابسته به رقم است ولی مقدار آن متأثر از شرایط محیطی در دوره رسیدگی نیز است. این شرایط ممکن است سبب تغییراتی بین ۲۰ تا ۳۰ درصد در وزن هزار دانه شوند. تأمین کافی آب طی نیمه اول دوره رشد زایشی تأثیر مثبتی بر وزن دانه دارد، درحالی‌که هوای خشک‌تر برای رسیدگی نهایی دانه مناسب است (۴۵). مطابق نتایج به دست آمده در این پژوهش، تنش خشکی سبب کاهش وزن هزار دانه ارقام نخودفرنگی شد که با یافته‌های جوزن و همکاران (۲۷) مطابقت داشت. گزارش شده است که تنش خشکی سبب کاهش سطح برگ، کلروفیل a و b، کاروتنوئیدها، هدایت روزنه‌ای و فعالیت آنزیم رابیسکو می‌شود. بنابراین، فتوسنتز و انتقال آسمیلات‌ها از مبدأ به مقصد کاهش می‌یابد. علاوه بر این، خشکی منجر به اختلال در فعالیت فتوسیستم‌ها و کاهش بیوسنتز نشاسته از طریق کاهش فعالیت آنزیم ریبولوزفسفاتاز می‌شود (۱۱). مجموع این عوامل تولید ماده خشک و اختصاص آن به دانه‌ها را کاهش می‌دهند که در نهایت به کاهش وزن هزار دانه منجر می‌شود. همچنین کاهش وزن هزار دانه به دلیل خشکی می‌تواند ناشی از رسیدگی زودتر گیاه و کاهش طول دوره پر شدن دانه باشد (۲۰). در این پژوهش،

کاربرد کودهای زیستی در شرایط تنش خشکی و آبیاری کامل به بهبود وزن هزار دانه کمک کرد. به طور مشابه پشتتسکی و همکاران (۴۴)، گزارش کردند که تلقیح بذور نخودفرنگی با میکروارگانیسیم‌ها سبب افزایش وزن هزار دانه شد. همچنین راتر و همکاران (۴۷)، نشان دادند که بیشترین وزن هزار دانه نخودفرنگی از تلقیح همزمان بذور با باکتری‌های ریزوبیوم، ازتوباکتر و باکتری‌های حل کننده فسفات به دست آمد. کودهای زیستی احتمالاً با افزایش جذب نیتروژن و فسفر به بهبود تجمع و تسهیم ماده خشک در دانه‌ها کمک کرده و سبب افزایش وزن هزار دانه شدند.

### عملکرد دانه

اثر تیمارهای آبیاری، کود زیستی، رقم، برهم‌کنش آبیاری × رقم و آبیاری × کود زیستی × رقم بر عملکرد دانه نخود فرنگی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد. (جدول ۳). در شرایط نرمال (سطح آبیاری I<sub>1</sub>) بیشترین عملکرد دانه (۳۲۲۷ کیلوگرم در هکتار) از رقم مجارستانی رشد یافته با کود زیستی نیتروژن به دست آمد که از لحاظ آماری با تیمار شاهد بدون کود در این سطح آبیاری اختلاف معنی‌دار داشت. در سطح آبیاری I<sub>2</sub> بیشترین عملکرد دانه (۲۶۵۵ کیلوگرم در هکتار) مربوط به رقم مجارستانی متأثر از کود زیستی فسفر بود. در این سطح آبیاری اگر چه کود زیستی فسفر عملکرد دانه را ۱۵/۶ درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش داد ولی با آن اختلاف معنی‌دار نداشت. در سطح آبیاری I<sub>3</sub> بیشترین عملکرد دانه (۲۳۳۴ کیلوگرم در هکتار) از رقم مجارستانی تیمار شده تحت تلفیق کود زیستی نیتروژن + فسفر حاصل شد که با تیمار شاهد بدون کود تفاوت معنی‌دار داشت. کمترین عملکرد دانه (۴۷۰ کیلوگرم در هکتار) مربوط به رقم ولف هلندی در شرایط تنش شدید (سطح آبیاری I<sub>3</sub>) و عدم کاربرد کود زیستی بود (جدول ۴). با توجه به نتایج به دست آمده، تنش خشکی عملکرد دانه ارقام نخودفرنگی را کاهش داد ولی کودهای زیستی عملکرد دانه هر دو رقم نخود فرنگی مجارستانی و ولف هلندی را در شرایط تنش خشکی و

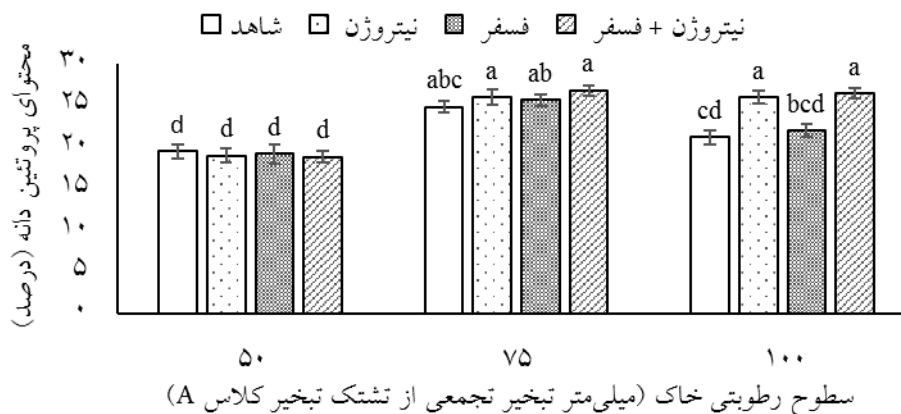
نرمال افزایش دادند. تنش خشکی همه مراحل رشدی و نمو گیاه را تحت تأثیر قرار داده و در نهایت سبب کاهش عملکرد گیاهان زراعی می‌شود (۳۰). در نخودفرنگی تنش خشکی در مرحله گلدهی و تشکیل غلاف سبب کاهش عملکرد دانه شد ولی تلقیح با باکتری‌های محرک رشد *Pseudomonas putida* و *Pseudomonas fluorescence* به دلیل فعالیت ACC-Deaminase (در نتیجه کاهش تولید اتیلن درون گیاه)، تولید اکسین و محلول کردن فسفر موجود در خاک، عملکرد دانه را بهبود بخشید (۵). در شرایط تنش استفاده از کودهای زیستی (میکروبیوم‌های ریزوسفری و اندوفیت) می‌تواند به وسیله سازوکارهای مستقیم و غیر مستقیم مختلفی سبب بهبود رشد و نمو گیاهان شود. کودهای زیستی با تولید هورمون‌های رشد مانند اکسین و سیتوکینین و همچنین بهبود نمو گیاه، منجر به کاهش آثار سوء تنش شوند (۱۹). مطابق با نتایج به دست آمده، تلقیح بذور سویا با باکتری *Pseudomonas putida* سبب افزایش تولید فلاونوئیدها، اسیدآبسیزیک و اسیدسالپسیلیک شد. این ترکیبات در برابر تنش خشکی نقش حفاظتی دارند (۲۸). به طور مشابه گزارش شد که تلقیح بذور ذرت با باکتری *Pantoea agglomerans* از طریق تنظیم افزایش آکواپورین‌ها سبب بهبود تحمل و رشد ذرت در شرایط تنش شوری شد (۲۱). در لوبیا نیز تلقیح با *Glomus mosseae* و *Bacillus amyloliquefaciens* به طور معنی‌داری میزان فتوسنتز و عملکرد را در شرایط تنش خشکی بهبود بخشید (۲). باکتری‌های *Pantoea agglomerans* سبب تحریک رشد گیاهان زراعی مانند گندم، برنج و سایر گیاهان زراعی از طریق تثبیت نیتروژن اتمسفری، افزایش دسترسی به فسفر خاک (توسط تجزیه فیتات و محلول کردن فسفات در خاک)، تولید هورمون‌های گیاهی مانند اکسین، تولید آنزیم‌ها و القاء تحمل به شوری می‌شوند (۱۴). طی پژوهشی گزارش شد تلقیح بذور گندم با باکتری *Pantoea agglomerans* عملکرد دانه را بیش از ۲۳/۵ درصد افزایش داد (۴۸). براساس مطالعات شریفی و عادل‌نسب (۵۴) استفاده از کود زیستی فسفر سبب افزایش ۱۷ درصدی عملکرد

تنش خشکی شدید آن را کاهش داد. خشکی طول دوره پر شدن دانه را کوتاه می‌کند که منجر به کاهش تجمع نشاسته و بسیاری از مواد دیگر در دانه می‌شود ولی سنتز پروتئین به دلیل افزایش میزان انتقال مجدد نیتروژن، کمتر تحت تأثیر خشکی قرار می‌گیرد (۱۳). تنش خشکی سبب کاهش تعداد و اندازه دانه‌ها می‌شود، بنابراین نیتروژن بیشتری در دسترس هر دانه برای تولید پروتئین قرار می‌گیرد. از این رو معمولاً عملکرد کمتر دانه با افزایش درصد پروتئین دانه همراه است (۳۷). طی پژوهشی مشخص شد که بین عملکرد دانه نخودفرنگی و محتوای پروتئین دانه همبستگی منفی وجود دارد (۱). بنابراین احتمالاً تنش خشکی ملایم طی دوره پر شدن دانه سبب افزایش محتوای پروتئین دانه می‌شود (۱۱). در شرایط تنش خشکی شدید، تجزیه پروتئین‌های ذخیره‌ای به منظور تولید اسیدهای آمینه آزاد و پرولین افزایش می‌یابد. تجزیه پروتئین‌ها برای واکنش‌های سازگاری گیاه مانند: تولید آنزیم‌ها و املاح سازگار ضروری است (۳۹). تنش خشکی شدید با کاهش ذخیره آمینواسیدها و همچنین کاهش تجمع نیتروژن، فسفر، آهن و روی سبب کاهش محتوای پروتئین دانه می‌شود (۱۱). در نخودفرنگی محتوای پروتئین دانه در شرایط آبیاری بیشتر از دیم بود (۶۳) که با یافته‌های پژوهش حاضر در رابطه با کاهش درصد پروتئین دانه با شدت یافتن تنش خشکی مطابقت داشت. خشکی شدید سبب تغییر در ترکیب دانه نخودفرنگی و کاهش محتوای پروتئین آن می‌شود (۴۲). در سویا تنش خشکی سبب افزایش پروتئین دانه شد، ولی با افزایش شدت خشکی محتوای پروتئین دانه کاهش یافت (۱۳). در لگوم‌ها تنش خشکی باعث کاهش گره‌بندی ریزوبیومی ریشه و تثبیت نیتروژن می‌شود (۱۱). بنابراین احتمالاً کاربرد کود زیستی نیتروژن با افزایش جذب نیتروژن در شرایط تنش خشکی در بهبود محتوای پروتئین دانه مؤثر است. به طور مشابه، تلقیح بذور نخودفرنگی با باکتری‌های ریزوبیوم و کاربرد کودهای نیتروژن و فسفر سبب افزایش غلظت پروتئین دانه شد (۵۷).

دانه ذرت شد و آثار سوء تنش خشکی را بر صفات کمی و کیفی آن کاهش داد.

### محتوای پروتئین دانه

با توجه به نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، اثر تیمار آبیاری بر محتوای پروتئین دانه نخودفرنگی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد. همچنین اثر تیمارهای کود زیستی و برهم‌کنش آبیاری  $\times$  کود زیستی نیز در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد. رقم اثر معنی‌داری بر درصد پروتئین دانه نداشت (جدول ۳). به طور مشابه نخ‌زری مقدم و همکاران (۴۰) گزارش کردند که درصد پروتئین دانه سبز نخودفرنگی تحت تأثیر رقم قرار نگرفت. مقایسه میانگین تیمارهای آزمایشی نشان داد که در سطح آبیاری  $I_1$  بیشترین درصد پروتئین دانه (۱۹/۵ درصد) مربوط به تیمار شاهد بود که با سایر سطوح کود زیستی در این سطح آبیاری تفاوت معنی‌دار نداشت. در سطح آبیاری  $I_2$  بیشترین درصد پروتئین دانه (۲۶/۸ درصد) از تلفیق کود زیستی نیتروژن و فسفر به دست آمد که اگرچه نسبت به تیمار شاهد ۸/۰۶ درصد افزایش داشت ولی با آن اختلاف معنی‌دار نداشت. در شرایط خشکی شدید (سطح آبیاری  $I_3$ ) نیز بیشترین درصد پروتئین دانه (۲۶/۵ درصد) از تیمار تلفیق کود زیستی نیتروژن و فسفر حاصل شد که نسبت به تیمار شاهد ۲۵/۲ درصد افزایش نشان داد و با آن تفاوت معنی‌دار داشت. کمترین درصد پروتئین دانه (۱۸/۸ درصد) مربوط به شرایط نرمال آبی (سطح آبیاری  $I_1$ ) و کاربرد تلفیقی کود زیستی نیتروژن و فسفر بود (شکل ۶). دانه نخودفرنگی بر اساس وزن خشک حاوی ۱۸ تا ۳۴ درصد پروتئین است (۲۴). میزان پروتئین دانه نخودفرنگی تحت تأثیر عوامل داخلی (ژنتیکی) و بیرونی (اقلیم، نوع خاک و مدیریت زراعی) است (۳۷). تنش‌های محیطی، به ویژه خشکی و دمای بالا، طی دوره پر شدن دانه به میزان زیادی محتوای پروتئین دانه را تحت تأثیر قرار می‌دهند (۶۰). نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که تنش خشکی ملایم درصد پروتئین دانه را افزایش داد ولی



سطوح رطوبتی خاک (میلی متر تجمعی از تشتک تبخیر کلاس A)

شکل ۶. برهم کنش تیمارهای آبیاری و کود زیستی بر محتوای پروتئین دانه نخودفرنگی (ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی دار ندارند - نشانگرهای میله‌ای خطای استاندارد میانگین سه تکرار هستند).

### نتیجه‌گیری کلی

اجزای عملکرد و محتوای پروتئین دانه مؤثر بودند. بنابراین در شرایط مشابه، کشت رقم مجارستانی و استفاده از کودهای زیستی به‌ویژه در شرایط تنش خشکی توصیه می‌شود.

بر اساس نتایج به‌دست آمده در این پژوهش، تنش خشکی بر عملکرد و اجزای عملکرد هر دو رقم نخودفرنگی اثر نامطلوبی داشت. تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف و عملکرد دانه در رقم مجارستانی بیشتر از رقم ولف هلندی بود ولی وزن هزار دانه در رقم ولف هلندی بیشتر بود. محتوای پروتئین دانه هر دو رقم تقریباً برابر بود. تنش خشکی ملایم درصد پروتئین دانه را افزایش داد ولی با شدت یافتن تنش خشکی از درصد پروتئین دانه کاسته شد. در شرایط کم آبی کودهای زیستی در بهبود عملکرد،

### تشکر و قدردانی

در پایان از کلیه مساعدت‌های دانشگاه شهرکرد و اساتید محترم جهت فراهم نمودن امکانات، تجهیزات و پشتیبانی‌های علمی لازم برای اجرای پژوهش حاضر، تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

### منابع مورد استفاده

- Achakzai, A. K. K. and M. I. Bangulzai. 2006. Effect of various levels of nitrogen fertilizer on the yield and yield attributes of pea (*Pisum sativum* L.) cultivars. *Pakistan Journal of Botany* 38: 331-340.
- Al-Amri, S. M. 2021. Application of bio-fertilizers for enhancing growth and yield of common bean plants grown under water stress conditions. *Saudi Journal of Biological Sciences* 28: 3901-3908.
- Alexieva, V., I. Sergiev, S. Mapelli and E. Karanov. 2001. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. *Plant, Cell and Environment* 24: 1337-1344.
- Arafa, S. A., K. A. Attia, G. Niedbala, M. Piekutowska, S. Alamery, K. Abdelaal, T. K. Alateeq, M. A. M. Ali, A. Elkelish and S. Y. Attallah. 2021. Seed priming boost adaptation in pea plants under drought stress. *Plants* 10: 1-18.
- Arshad, M., B. Shaharoon and T. Mahmood. 2008. Inoculation with *Pseudomonas* spp. containing ACC-deaminase partially eliminates the effects of drought stress on growth, yield, and ripening of pea (*Pisum sativum* L.). *Pedosphere* 18: 611-620.
- Ashraf, M. and F. Karim. 1991. Screening of some cultivars/lines of black gram (*Vigna mungo* (L.) Hepper) for resistance to water stress. *Tropical agriculture* 68: 57-62.
- Biabani, A. 2008. Effect of Planting Patterns (row spacing and plant to plant in row) on the green yield Pea garden (*Pisum Sativum* var. *Shamshiri*). *Iranian Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources* 15(5): 39-43. (In Farsi).
- Castañeda-Saucedo, C., L. Córdova-Téllez, V. A. González-Hernández, A. Delgado-Alvarado, A. Santacruz-Varela

- and G. García-de los Santos. 2009. Physiological performance, yield, and quality of dry bean seeds under drought stress. *Interciencia* 34: 748-754.
9. Cousin, R. 1997. Peas (*Pisum sativum* L.). *Field Crops Research* 53: 111-130.
  10. Da Silva, E. C., R. J. M. C. Nogueira, M. A. da Silva and M. B. de Albuquerque. 2011. Drought stress and plant nutrition. *Plant stress* 5: 32-41.
  11. Das, R. and S. Biswas. 2022. Influence of abiotic stresses on seed production and quality. pp. 1-24, In: J. C. Jimenez-Lopez (ed.), *Seed Biology Updates*. IntechOpen. Madrid.
  12. Delshadi, S., M. Ebrahimi and E. Shirmohammadi. 2017. Influence of plant-growth-promoting bacteria on germination, growth and nutrients' uptake of *Onobrychis sativa* L. under drought stress. *Journal of Plant Interactions* 12: 200-208.
  13. Divsalar, M., Z. Tahmasbi Sarvestani, S. A. M. Modares Sanavi and A. Hamidi. 2016. The evaluation of drought stress impact as irrigation withholding at reproductive stages on quantitative and qualitative performance of soybean cultivars. *Iranian Journal of Crops Improvement* 18(2): 481-493. (In Farsi).
  14. Dutkiewicz, J., B. Mackiewicz, M. K. Lemieszek, M. Golec and J. Milanowski. 2016. *Pantoea agglomerans*: a mysterious bacterium of evil and good. Part IV. Beneficial effects. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* 23: 206-222.
  15. Ejaz, S., S. Batool, M. A. Anjum, S. Naz, M. F. Qayyum, T. Naqqash, K. H. Shah and S. Ali. 2020. Effects of inoculation of root-associative *Azospirillum* and *Agrobacterium* strains on growth, yield and quality of pea (*Pisum sativum* L.) grown under different nitrogen and phosphorus regimes. *Scientia Horticulturae* 270: 109401.
  16. Emami, N., A. Hassani, A. R. Vaezi and M. BabaAkbari sari. 2021. The effect of application of bio-fertilizer containing *Pantoea agglomerans* compared to urea fertilizer on growth and quality of turfgrass. *Iranian Journal of Horticultural Science* 52(2): 341-351. (In Farsi).
  17. Farooq, M., A. Wahid, N. Kobayashi, D. Fujita and S. M. A. Basra. 2009. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development* 29: 185-212.
  18. Farooq, M., M. Hussain, A. Wahid and K. H. M. Siddique. 2012. Drought stress in plants: an overview. pp. 1-33, In: R. Aroca (ed.), *Plant Responses to Drought Stress*. Springer, Berlin Heidelberg.
  19. Fasusi, O. A., C. Cruz and O. O. Babalola. 2021. Agricultural sustainability: microbial biofertilizers in rhizosphere management. *Agriculture* 11: 163-182.
  20. Ghanbari, M., A. Mokhtassi-Bidgoli and P. Talebi-Siah Saran. 2019. The effect of bio-fertilizers on yield component, yield, protein and oil in soybean (*Glycine max* Merrill) under different irrigation regimes. *Iranian Journal of Plant Ecophysiological Research* 13(52): 1-15. (In Farsi).
  21. Gond, S. K., M. S. Torres, M. S. Bergen, Z. Helsel and J. F. White Jr. 2015. Induction of salt tolerance and up-regulation of aquaporin genes in tropical corn by rhizobacterium *Pantoea agglomerans*. *Letters in Applied Microbiology* 60: 392-399.
  22. Gunes, A., A. Inal, M. S. Adak, E. G. Bagci, N. Cicek and F. Eraslan. 2008. Effect of drought stress implemented at pre-or post-anthesis stage on some physiological parameters as screening criteria in chickpea cultivars. *Russian Journal of Plant Physiology* 55: 59-67.
  23. Gupta, A., S. Rai, A. Bano, A. Khanam, S. Sharma and N. Pathak. 2021. Comparative evaluation of different salt-tolerant plant growth-promoting bacterial isolates in mitigating the induced adverse effect of salinity in *pisum sativum*. *Biointerface Research in Applied Chemistry* 11: 13141-13154.
  24. Henriot, C., D. Aimé, M. Térézol, A. Kilandamoko, N. Rossin, L. Combes-Soia, V. Labas, R. F. Serre, M. Prudent, J. Kreplak, V. Vernoud and K. Gallardo. 2019. Water stress combined with sulfur deficiency in pea affects yield components but mitigates the effect of deficiency on seed globulin composition. *Journal of experimental botany* 70: 4287-4304.
  25. Herbinger, K., M. Tausz, A. Wonisch, G. Soja, A. Sorger and D. Grill. 2002. Complex interactive effects of drought and ozone stress on the antioxidant defense systems of two wheat cultivars. *Plant Physiology and Biochemistry* 40: 691-696.
  26. Javan Gholiloo, M., M. Yarnia, A. H. Ghorttaph, F. Farahvash and A. M. Daneshian. 2019. Evaluating effects of drought stress and bio-fertilizer on quantitative and qualitative traits of valerian (*Valeriana officinalis* L.). *Journal of Plant Nutrition* 42: 1417-1429.
  27. Juzoń, K., E. Skrzypek, I. Czyczło-Mysza and I. Marcińska. 2013. Effect of soil drought on the yield structure, protein and phenolics content in *Pisum sativum* and *Lupinus luteus*. *Acta Agronomica Hungarica* 61: 267-278.
  28. Kang, S. M., R. Radhakrishnan, A. L. Khan, M. J. Kim, J. M. Park, B. R. Kim, D. H. Shin and I. J. Lee. 2014. Gibberellin secreting rhizobacterium, *Pseudomonas putida* H-2-3 modulates the hormonal and stress physiology of soybean to improve the plant growth under saline and drought conditions. *Plant Physiology and Biochemistry* 84: 115-124.
  29. Karataş, İ., L. Öztürk, Y. Demir, A. Ünlükara, A. Kurunç and O. Düzdemir. 2014. Alterations in antioxidant enzyme



- activities and proline content in pea leaves under long-term drought stress. *Toxicology and Industrial Health* 30: 693-700.
30. Lata, R., S. Chowdhury, S. K. Gond and J. F. White Jr. 2018. Induction of abiotic stress tolerance in plants by endophytic microbes. *Letters in applied microbiology* 66: 268-276.
  31. Lichtenthaler, H. K. and A. R. Wellburn. 1983. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions* 11: 591-592.
  32. Macar, T. K. and Y. Ekmekçi. 2008. PSII photochemistry and antioxidant responses of a chickpea variety exposed to drought. *Zeitschrift für Naturforschung* 63: 583-594.
  33. Mafakheri, A., A. F. Siosemardeh, B. Bahramnejad, P. C. Struik and Y. Sohrabi. 2010. Effect of drought stress on yield, proline and chlorophyll contents in three chickpea cultivars. *Australian journal of crop science* 4: 580-585.
  34. Mahrokh, H. and M. Khagepor. 2007. Effect of moisture condition on growth and quantity and quality indices in sugar beet. *Iranian Journal of Agronomy Sciences* 41 (2): 235-246. (In Farsi).
  35. Martin, R. J., D. R. Wilson, M. U. Riddle and R. N. Gillespie. 2006. Response of pea seed yield to water deficit. *Agronomy New Zealand* 36: 36-43.
  36. Meier, U. 1997. Growth Stages of Mono- and Dicotyledonous Plants: BBCH-Monograph. Blackwell Wissenschafts-Verlag, Berlin.
  37. Mohammed, Y. A., C. Chen, M. K. Walia, J. A. Torrion, K. McVay, P. Lamb, P. Lamb, P. Miller, J. Eckhoff, J. Miller and Q. Khan. 2018. Dry pea (*Pisum sativum* L.) protein, starch, and ash concentrations as affected by cultivar and environment. *Canadian Journal of Plant Science* 98: 1188-1198.
  38. Mombeni, M. and A. Abbasi. 2019. Biochemical responses of some common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes to drought stress. *Journal of Agricultural Science and Technology* 21: 407-421.
  39. Nakagawa, A., H. Itoyama, Y. Ariyoshi, N. Ario, Y. Tomita, Y. Kondo, M. Iwaya-Inoue and Y. Ishibashi. 2018. Drought stress during soybean seed filling affects storage compounds through regulation of lipid and protein metabolism. *Acta Physiologiae Plantarum* 40: 1-8.
  40. Nakhzari Moghaddam, A., M. Salehi Sheikhi, A. Rahemi karizaki and M. Mohamad Eamaeili. 2019. The investigation of yield and seed protein of pea cultivars, total yield and LER in intercropping with spinach. *Iranian Journal of Crops Improvement* 21(4): 435-445. (In Farsi).
  41. Oliveira Neto, C. F. D., A. K. D. S. Lobato, M. C. Gonçalves-Vidigal, R. C. L. D. Costa, B. G. D. Santos Filho, G. A. R. Alves, W. J. D. M. Silva Maia, F. J. R. Cruz, H. K. B. Neves and M. S. Lopes. 2009. Carbon compounds and chlorophyll contents in sorghum submitted to water deficit during three growth stages. *Journal of Food, Agriculture and Environment* 7: 588-593.
  42. Osman, H. S. 2015. Enhancing antioxidant-yield relationship of pea plant under drought at different growth stages by exogenously applied glycine betaine and proline. *Annals of Agricultural Sciences* 60: 389-402.
  43. Parida, A. K., V. S. Dagaonkar, M. S. Phalak, G. V. Umalkar and L. P. Aurangabadkar. 2007. Alterations in photosynthetic pigments, protein and osmotic components in cotton genotypes subjected to short-term drought stress followed by recovery. *Plant Biotechnology Reports* 1: 37-48.
  44. Pashtetskiy, V. S., E. N. Turin, A. M. Izotov, S. F. Abdurashytov, A. A. Gongalo and K. G. Zhenchenko. 2020. Effect of *Pisum sativum* L. seed treatment with the complex of microbiological preparation on the plants' growth and development under direct sowing. In: IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. *Voronezh, Russian Federation*. Volume 422, pp. 1-7.
  45. Petr, J., V. Černý and L. Hruška. 2012. Yield Formation in the Main Field Crops. Elsevier, New York.
  46. Ranjbarfordoei, A., R. Samson, P. Van Damme and R. Lemeur. 2000. Effects of drought stress induced by polyethylene glycol on pigment content and photosynthetic gas exchange of *Pistacia khinjuk* and *P. mutica*. *Photosynthetica* 38: 443-447.
  47. Rather, S. A., M. A. Hussain and N. L. Sharma. 2010. Effect of bio-fertilizers on growth, yield and economics of field pea (*Pisum sativum* L.). *International Journal of Agricultural Sciences* 6: 65-66.
  48. Remus, R., S. Ruppel, H. J. Jacob, C. Hecht-Buchholz and W. Merbach. 2000. Colonization behavior of two enterobacterial strains on cereals. *Biology and Fertility of Soils* 30: 550-557.
  49. Sadeghipour, O. 2009. Effect of deficit irrigation on physiologic and agronomic traits in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes. *Iranian Journal of Crop Sciences* 11(1): 25-39. (In Farsi).
  50. Sairam, R. K. and G. C. Srivastava. 2002. Changes in antioxidant activity in sub-cellular fractions of tolerant and susceptible wheat genotypes in response to long term salt stress. *Plant Science* 162: 897-904.
  51. Salter, P. J. 1963. The effect of wet or dry soil conditions at different growth stages on the components of yield of a pea crop. *Journal of horticultural Science* 38: 321-334.
  52. Sardans, J. and J. Peñuelas. 2004. Increasing drought decreases phosphorus availability in an evergreen Mediterranean forest. *Plant and Soil* 267: 367-377.
  53. Sepehri, A. and A. R. Golparvar. 2011. The effect of drought stress on water relations, chlorophyll content and leaf

- area in canola cultivars (*Brassica napus* L.). *Electronic Journal of Biology* 7: 49-53.
54. Sharifi, P. and M. Adeli Nasab. 2016. Effects of phosphorus biofertilizer on grain yield and yield components of maize (*Zea mays* L.) at drought stress conditions. *Iranian Journal of Cereal Research* 6(1): 119-132. (In Farsi).
55. Singh kothyari, H., L. Kumar yadav, R. Jat and P. Chand gurjar. 2017. Influence of biofertilizers on plant growth and seed yield of Pea (*Pisum sativum* L.). *International journal of current Microbiology and Applied sciences* 6: 1810-1817.
56. Sorensen, J. N., M. Edelenbos and L. Wienberg. 2003. Drought effects on green pea texture and related physical-chemical properties at comparable maturity. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 128: 128-135.
57. Sosulski, F. W., L. A. McLean and H. M. Austenson. 1974. Management for yield and protein of field peas in Saskatchewan. *Canadian Journal of Plant Science* 54: 247-251.
58. Tadayon, M. R. 2010. Physiological Responses of Plants to Environmental Stresses. Shahrekord University Press, Shahrekord.
59. Taize, L. and E. Zeiger. 1991. Plant physiology. The Benjamin Cummings Publishing, California.
60. Tea, I., T. Genter, N. Nault, V. Boyer, M. Lummerzheim and D. Kleiber. 2004. Effect of foliar sulfur and nitrogen fertilization on wheat storage protein composition and dough mixing properties. *Cereal Chemistry* 81: 759-766.
61. Vurukonda, S. S. K. P., S. Vardharajula, M. Shrivastava and A. SkZ. 2016. Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. *Microbiological research* 184: 13-24.
62. Xiao, X., X. Xu and F. Yang. 2008. Adaptive responses to progressive drought stress in two *Populus cathayana* populations. *Silva Fennica* 42: 705-719.
63. Yathish, V. C., R. S. Chowdhury and S. Datta. 2021. Evaluation of garden pea (*Pisum sativum* var. *hortense* L.) genotypes under irrigated and rainfed condition under foothills of terai agro-ecological region of west Bengal. *International Journal of Bio-resource and Stress Management* 12: 332-338.

## The Effect of Nitrogen and Phosphorus Biofertilizers on Photosynthetic Pigments, Grain Yield, Yield Components and Grain Protein Content of Two Pea (*Pisum sativum* L.) Varieties under Different Irrigation Regimes

N. Yadollahi Farsani<sup>1</sup>, M. Karimi<sup>2\*</sup>, M. R. Tadayon<sup>3</sup> and M. Rafieiohossaini<sup>4</sup>

(Received: February 08-2023; Accepted: November 20-2023)

### Abstract

In order to study the effects of nitrogen and phosphorus biofertilizers on photosynthetic pigments, grain yield, yield components and grain protein content of two pea (*Pisum sativum* L.) varieties under different irrigation regimes; a split-split plot experiment was conducted based on a randomized complete block design with three replications at a field in Farsan, southwestern Iran, in 2021. The main plots were allocated to irrigation treatments including: irrigation after 50, 75 and 100 mm (I<sub>1</sub>, I<sub>2</sub> and I<sub>3</sub>, respectively) cumulative evaporation from class A evaporation pan and the sub plots were allocated to different sources of biofertilizers treatments including: control (no biofertilizer application), Azotobarvar-1 (nitrogen), Phosphatebarvar-2 (phosphorus) and Azotobarvar-1 + Phosphatebarvar-2 (nitrogen + phosphorus). Sub-sub plots were allocated to two varieties of peas (Majarestani and Wolfholland). Results showed that in Majarestani variety mild drought stress increased chlorophyll a and b contents, but severe drought stress decreased them. In Wolfholland variety, both mild and severe drought stress decreased chlorophyll a and b contents. In both varieties, mild drought stress increased carotenoid contents, but severe drought stress decreased them. Biofertilizers were effective in improving chlorophyll a, b and carotenoid contents, particularly under drought stress conditions. The drought stress reduced the grain yield and yield components of both pea varieties but application of biofertilizers moderated the effects of drought stress. The highest value of grain yield was obtained from the Majarestani variety when grown under full irrigation conditions (I<sub>1</sub>) and nitrogen biofertilizer application. Under the mild and severe drought stress (I<sub>2</sub> and I<sub>3</sub>), the highest value of grain yield was obtained from Majarestani variety in the presence of phosphorus and nitrogen + phosphorus biofertilizer application, respectively. Majarestani variety outranked the Wolfholland in terms of pods/plant, grain/pod and grain yield under both stress and normal conditions, but the latter variety indicated a greater 1000-grain weight. Therefore, Majarestani variety is a more suitable cultivar, particularly under drought stress conditions. Grain protein percentage was not affected by variety. The highest percentage of grain protein content was achieved with I<sub>2</sub> irrigation and nitrogen + phosphorus biofertilizer treatments, averaged over the examined varieties. To conclude, given the prevalence of water scarcity in the semi-arid regions of Iran's type, further examinations of more drought resistant varieties such as Majarestani and application of biofertilizers may prove suitable for reducing the adverse effects of drought stress.

**Keywords:** 1000 - grain weight, Chlorophyll, Drought stress, Resistant variety

1, 2, 3 and 4. Ph.D. Student, Assistant Professor, Professor and Associate Professor, Respectively, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.

\*: Corresponding Author, Email: m.karimi@sku.ac.ir