

تأثیر کود نیتروژن و سویه‌های مختلف باکتری همزیست بر صفات کمی و کیفی گیاه گوار (*Cyamopsis tetragonoloba*) تحت رژیم‌های مختلف آبیاری

سعید نوروزی^۱، غلامعلی اکبری^{۲*}، ایرج اله‌دادی^۳، الیاس سلطانی^۴، محمدعلی نوروزیان^۴

تاریخ دریافت: ۹۹/۱۱/۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۳/۱۳

- ۱- دانشجوی دکترای فیزیولوژی گیاهان زراعی، گروه علوم زراعی و اصلاح نباتات، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران
- ۲- دانشیار، گروه علوم زراعی و اصلاح نباتات، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران
- ۳- استاد، گروه علوم زراعی و اصلاح نباتات، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران
- ۴- دانشیار، گروه علوم دام و طیور، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران

مسئول مکاتبه: Email: gakbari@ut.ac.ir

چکیده

اهداف: پژوهش حاضر به منظور بررسی اثرات کاربرد سطوح مختلف کود نیتروژن و تلقیح سویه‌های مختلف باکتری ریزوبیوم بر صفات مورفو-فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی، عملکرد و اجزاء عملکرد گیاه گوار تحت سطوح مختلف تنش خشکی انجام شد.

مواد و روش‌ها: آزمایش به صورت اسپلیت فاکتوریل در قالب بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در سال زراعی ۱۳۹۸-۱۳۹۹ به انجام رسید. تیمارهای آزمایشی شامل رژیم‌های مختلف آبیاری (آبیاری کامل، کم آبیاری تا ۵۰ درصد گلدی و کم آبیاری تا ۵۰ درصد غلاف‌دهی) در کرت‌های اصلی و تیمارهای سطوح مختلف کود شیمیایی نیتروژن (شاهد، ۵۰ و ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار) و تلقیح بذر گوار با سویه‌های مختلف برادی‌ریزوبیوم ژاپونیکوم (عدم تلقیح، سویه RS150 و RS153) در کرت‌های فرعی قرار گرفتند. صفات مورد بررسی در پژوهش حاضر شامل ارتفاع بوته، وزن خشک اندام‌های هوایی، تعداد برگ در بوته، تعداد دانه در متر مربع، وزن هزار دانه، عملکرد بیولوژیک، محتوای کلروفیل a، b، کل، کاروتنوئیدها، قندهای محلول، پروتئین دانه و فعالیت آنزیمی کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز مورد ارزیابی قرار گرفتند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که اعمال کم آبیاری، بجز صفات قندهای محلول و فعالیت آنزیمی کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز، سبب کاهش سایر صفات شد. از طرفی سطوح مختلف کود نیتروژن و تلقیح باکتری ریزوبیوم به طور معناداری بر همه صفات اثرگذار و سبب افزایش آنها شدند. کاربرد سویه RS150 در مقایسه با سویه RS153 سبب افزایش محتوای کلروفیل b و فعالیت آنزیمی کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز شد و کاربرد سویه RS153 در بقیه صفات در حداکثر مقدار بود.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج بدست آمده در منطقه مورد پژوهش، آبیاری کامل برای رشد گوار لازم بوده و افزایش مصرف کود نیتروژن تا ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار اثرات منفی بر صفات مورفولوژیک، عملکرد و اجزای عملکرد گیاه گوار تحت شرایط تنش خشکی منطقه مورد پژوهش ندارد و کاربرد سویه‌های باکتری برادی‌ریزوبیوم اثرات منفی ناشی از تنش خشکی را تعدیل می‌کند.

واژه‌های کلیدی: برادی‌ریزوبیوم ژاپونیکوم، تنش خشکی، سوپراکسید دیسموتاز، کربوهیدرات‌های محلول، کاتالاز

The Effect of Nitrogen Fertilizer and Different Strains of Symbiosis Bacterium on Quantitative and Qualitative Traits of Guar (*Cyamopsis tetragonoloba*) under Various Water Regimes

Saeed Norouzi¹, Gholamali Akbari^{2*}, Iraj Alahdadi³, Elias Soltani², Mohammadali Norouzian⁴

Received: January 21, 2021 Accepted: June 3, 2021

1-Ph.D. Candidate, Dept. of Agronomy and Plant Breeding, Aburaihan Campus, University of Tehran, Iran.

2- Assoc. Prof., Dept. of Agronomy and Plant Breeding, Aburaihan Campus, University of Tehran, Iran.

3-Prof., Dept. of Agronomy and Plant Breeding, Aburaihan Campus, University of Tehran, Iran.

4-Assoc. Prof., Dept. of Animal and Poultry Sciences, Aburaihan Campus, University of Tehran, Iran.

*Corresponding Author Email: gakbari@ut.ac.ir

Abstract

Background and Objective: The present study was aimed to investigate the effects of the application of different levels of nitrogen fertilizer and inoculation of different strains of Rhizobium bacteria on morpho-physiological, biochemical, yield and yield components of guar under different levels of drought stress.

Materials and Methods: The experiment was performed as a split factorial in a Randomized Complete Block design with three replications in the 2019-2020 growing seasons. Experimental treatments included different irrigation regimes (complete irrigation, cessation of irrigation up to 50% of flowering and 50% of podding) as main plots and treatments of different levels of nitrogen fertilizer (control, 50 and 100 kg.ha⁻¹) and inoculation of Guar seeds with different strains of *Bradyrhizobium japonicum* (non-inoculation, and strains of RS150 and RS153) as subplots. Traits of plant height, shoot dry weight, number of leaves per plant, number of seeds per m², 1000-grain weight, grain yield, biological yield, chlorophyll a, b, and total chlorophyll, carotenoids, soluble sugars, grain protein and enzymatic activities of catalase and superoxide dismutase were evaluated in the present study.

Results: The obtained results indicated that the application of low irrigation resulted in reducing all traits except indices of soluble sugars and the enzymatic activities of catalase and superoxide dismutase. On the other hand, different levels of nitrogen fertilizer and Rhizobium inoculation significantly increased all studied traits. Also, it was observed that although the strain of RS150 significantly increased chlorophyll b content and enzymatic activities of catalase and superoxide dismutase than the RS153 strain, the application of RS153 strain was maximal in other traits.

Conclusion: In general, complete irrigation was required in the study area, and increasing nitrogen fertilizer levels up to 100 kg.ha⁻¹ had no adverse effects on morphological traits, yield, and yield components of guar plants growing under drought stress. Furthermore, the application of *Bradyrhizobium japonicum* moderated the negative impacts of drought stress.

Keywords: *Bradyrhizobium japonicum*, Catalase, Drought Stress, Soluble Carbohydrates, Superoxide Dismutases

مقدمه

در چند دهه گذشته، منبع اصلی معیشت مردم و در نتیجه افزایش در میزان رشد جمعیت جهان به طور قابل توجهی با میزان تولیدات کشاورزی در ارتباط بوده است (اوگانلی و همکاران ۲۰۱۸). از طرفی، با توجه به اینکه ضعف زمین‌های کشاورزی یکی از مشکلات مهم در کشت و کار گیاهان می‌باشد، لیکن چنانچه مدیریت مناسبی در بخش‌های مختلف کشاورزی صورت بگیرد می‌توان بر مشکل فوق غالب شد (مکوری ۲۰۱۸). مدیریت منابع و مواد غذایی مورد نیاز گیاهان از قبیل کودها، یکی از مهمترین روش‌های زراعی است که می‌تواند سبب پایداری تولید گیاهان در بلندمدت شود (نینگ و همکاران ۲۰۱۷). عنصر نیتروژن یکی از محدود کننده‌ترین عناصر غذایی است و نقش‌های مهمی را در کیفیت و کمیت گیاهان بازی می‌کند (راعی و همکاران ۲۰۲۰). با توجه به اینکه بخش عمده‌ای از کشور در منطقه خشک و نیمه خشک قرار گرفته است، مقدار مواد آلی خاک‌ها کم و اغلب گیاهان کاشته شده در این مناطق، دچار کمبود نیتروژن هستند و این مشکل می‌تواند با استفاده از کودهای نیتروژنی برطرف شود (جعفری و همکاران ۲۰۱۲). همچنین، دسوزا و همکاران (۲۰۲۰) و لیانگ و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که کاربرد کودهای نیتروژنه از طریق توسعه ریشه، افزایش شاخص سطح برگ، بیوماس ریشه، و بیوماس بخش‌های هوایی می‌توانند در رشد و نمو گیاهان موثر باشند.

یکی دیگر از روش‌های افزایش مواد غذایی خاک‌ها، کشت گیاهان خانواده بقولات می‌باشد؛ زیرا این گیاهان نقش‌های مهمی در حفظ حاصلخیزی خاک در سیستم‌های کشاورزی داشته و باعث کاهش استفاده از کودهای شیمیایی مورد نیاز می‌باشند (گراهام و وانس ۲۰۰۰؛ جعفری‌مینایی و همکاران ۲۰۱۶؛ ساریخانی و امینی ۲۰۲۰) بقولات به دلیل همزیستی با باکتری رزوبیوم که یکی از کارآمدترین تثبیت‌کننده‌های نیتروژن در بین تمامی گیاهان بوده (ویکار و همکاران ۲۰۰۵) و جزء

مهمی از تمامی سیستم‌های کشاورزی در جهان می‌باشند (أهارا و همکاران ۲۰۰۲). گیاه گوار (*Cyamopsis tetragonoloba*)، گیاهی یکساله، بهاره-تابستانه و رشد نامحدود است که دارای ریشه‌های تقریباً عمودی و برگ‌های زیر و خشن می‌باشد؛ این گیاه، یک الی دو متر ارتفاع داشته و در هر غلاف آن ۲۱-۱۵ عدد بذر وجود دارد (سیج و همکاران ۲۰۰۲). در برخی پژوهش‌ها گزارش شده که گیاه گوار، مقاوم به خشکی، شوری، دماهای بالا، خرابی بافت و ساختمان خاک می‌باشد (سیج و همکاران ۲۰۰۲؛ داس‌سوتار و همکاران ۲۰۱۸). گیاه گوار چند منظوره بوده که به عنوان سبزی جهت مصرف انسان، کود سبز، بهبود باروری خاک، علوفه برای حیوانات و کاربردهای صنعتی مورد استفاده قرار می‌گیرد که به واسطه سرشار بودن از موادی چون گالاکتومان‌ها، در صنایع لبنی به عنوان تغلیظ‌کننده مورد استفاده قرار می‌گیرد (داس‌سوتار و همکاران ۲۰۱۸). به دلیل سرشار بودن برگ‌ها، دانه و غلاف دانه گوار از کربوهیدرات، پروتئین، فیبر، آسکوربیک اسید، تانن، کافئیک اسید، گالیک اسید، جنتیسیک اسید، کوماریک اسید، استراگالین، کوئورسین، کامفرول، گالاکتونین، میرستین، کوئیک اسید و غیره، این گیاه دارای خواص آنتی‌باکتریال و در درمان دیابت، آسم، کم‌خونی همولیتیک و التهاب کاربرد داشته و به عنوان کاهش دهنده اشتها و مسهل مورد استفاده قرار می‌گیرد (شارما و همکاران ۲۰۱۱).

باکتری‌های همزیست و کودهای بیولوژیک حاوی این باکتری‌ها عنوان یک سیستم غذایی یکپارچه هستند که استفاده از آنها از حدود ۶۰ سال پیش در سطوح وسیع آغاز شده است (آژنگ و همکاران ۲۰۲۰). حسن-زاده قورت‌تپه و جواد (۲۰۱۶) و آژنگ و همکاران (۲۰۲۰) نیز اظهار داشتند که کاربرد کودهای زیستی و شیمیایی نیتروژنه سبب افزایش جذب عناصر غذایی توسط ریشه‌های گیاه می‌شود که این امر منجر به بهبود رشد رویشی، افزایش تعداد برگ‌ها، افزایش سطح جذب نوری، کلروفیل‌ها و سطح فتوسنتز در گیاه می‌شود. از

۲۰۲۰). گزارش شده که در چارچوب مدیریت مطلوب نیازهای آبی گیاهان، برنامه‌ریزی مناسب جهت انجام آبیاری موضوع اصلی آن می‌باشد که بستگی به عوامل متعددی از قبیل مرحله نمو گیاهان، تفاوت‌های ساختاری و فیزیولوژیکی گیاهان در حساسیت به محدودیت‌های آبیاری، شرایط اقلیمی مختلف، دسترسی به آب و فاصله زمانی آبیاری دارد (جیوانیس و همکاران ۲۰۱۸). طی پژوهشی، دمیر و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند گیاهانی که در معرض تنش کم‌آبی قرار می‌گیرند، عملکرد دانه کمتری دارند و این کاهش تولید، با محدود کردن از طریق تبخیر و تعرق و بستن روزنه‌ها، کاهش جذب کربن و کاهش تولید زیست‌توده همراه است. در ارتباط با اثرات تنش خشکی بر صفات موفولوژیک، فیزیولوژیک، بیوشیمیایی، و عملکردی گیاهان مطالعات متعددی انجام شده است. طی پژوهشی، اظهار شد که محدودیت‌های آبی برای گیاهان منجر به تولید بیش از حد گونه‌های اکسیژن فعال از قبیل پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های سوپراکسید می‌گردد که متعاقباً می‌توانند منجر به مهار رشد، کاهش فتوسنتز و کارایی مصرف آب، پراکسیداسیون لیپیدی و مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلول‌ها گردند (جیل و توتجا ۲۰۱۰؛ دیبا و همکاران ۲۰۱۲، والاس و همکاران ۲۰۱۶). از طرفی، گائو و همکاران (۲۰۲۰) نیز اظهار داشت که گیاهان از طریق راهکارهای مختلفی از قبیل بیان اسمولیت‌های سازگار پرولین و کربوهیدرات‌ها، فعالیت‌های آنزیمی، متابولیت‌های ثانویه (مانند فلاونوئیدها و فنل‌های تام)، افزایش غلظت هورمون‌های گیاهی از قبیل آبسزیک اسید و کاهش محتوای نسبی آب برگ می‌توانند اثرات منفی ناشی از تنش خشکی را کاهش دهند. لوگال (۲۰۱۸) ارتفاع بوته، تعداد غلاف در بوته، زیست توده و عملکرد دانه گیاه گوار که تحت تیمارهای مختلف آبیاری تکمیلی قرار گرفت و آبیاری تکمیلی سبب افزایش صفات مورفولوژیکی و عملکردی گیاه گوار شد. مفتاحی‌زاده و همکاران (۲۰۱۷) اثرات دوره‌های مختلف آبیاری بر محتوای پروتئین بذر، پروتئین صمغ، میزان گالاکتومانان و عملکرد گیاه گوار مورد بررسی قرار گرفت و مشاهده

طرفی، علیرغم اینکه این باکتری‌ها در گیاهان و بخصوص حبوبات سبب بهبود رشد، نمو، صفات فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی، عملکرد و اجزای عملکرد می‌شوند (فیگوئیریدو و همکاران ۲۰۰۸؛ موزن‌پور و همکاران ۲۰۱۸)، قدرت همزیستی آنها با گیاه و میزان نیتروژن تثبیت شده ناشی از فعالیت آنها تحت تأثیر عوامل مختلفی از قبیل آب، تهویه خاک، مواد غذایی موجود در خاک و سایر عوامل قرار می‌گیرد (فرنیا و همکاران ۲۰۰۶؛ تاجیک‌خواه و همکاران ۲۰۱۱). در ارتباط با کاربرد کودهای زیستی بر گیاهان، وفادار ینگجه و همکاران (۲۰۱۹) نیز اظهار داشتند که استفاده از کودهای زیستی اثرات مثبت و معناداری بر روی گیاهان دارند. برخی شواهد نشان داده‌اند که باکتری‌های همزیست توانایی تبدیل عناصر مهم مغذی غیرقابل دسترس به فرم قابل دسترس را دارا بوده و منجر به گسترش ریشه و جوانه‌زنی ریشه، افزایش ارتفاع گیاه، شاخص سطح برگ، وزن تر و خشک گیاهان می‌گردند (ابراهیمی و همکاران ۲۰۱۰؛ ایتلیما و همکاران ۲۰۱۸؛ ویتال و همکاران ۲۰۲۰). افزایش حلالیت برخی از عناصر غذایی از قبیل فسفر و پتاسیم، تولید سیدروفور برای افزایش حلالیت آهن، سنتز پیش‌سازهای فیتوهورمون‌ها و فیتوهورمون‌هایی از قبیل اکسین و جیبرلین، و سنتز آنزیم‌های دخیل در رشد و نمو گیاهان به‌عنوان اثرات مستقیم این ریزموجودات شناخته شده‌اند (لوسی و همکاران ۲۰۰۴؛ گری و اسمیت ۲۰۰۵؛ داس و پرادهان ۲۰۱۶). علاوه بر این، افزایش تحمل گیاهان به تنش‌های غیرزیستی، به ویژه تنش خشکی، از خصوصیات بارز این ریزجاندارن محسوب می‌شود (زرابی و همکاران ۲۰۱۱؛ جوان‌قلیلو و همکاران ۲۰۱۹). علاوه بر موارد فوق، از آنجا که آب به‌عنوان یکی از مهمترین عوامل محیطی موثر بر دوره‌های رشدی گیاهان می‌باشد (دوبیوس و اینزه ۲۰۲۰)، کمبود آب و تنش خشکی به‌عنوان یکی از محدودکننده‌ترین عوامل رشد، نمو و عملکرد گیاهان در تمام دنیا و بخصوص در اقلیم‌های خشک و نیمه خشک ایران گزارش شده است (مرتضایی‌نژاد و جزئی‌زاده ۲۰۱۷؛ جوان‌قلیلو و همکاران

اسپلیت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در ۳ تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل سطوح مختلف کود نیتروژن (شاهد، ۵۰ و ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار)، سوبه‌های مختلف باکتری همزیست (*Bradyrhizobium japonicum* (عدم کاربرد باکتری و کاربرد سوبه‌های RS150 و RS153 تهیه شده از شرکت زیست‌فناوری سبز استان قم) و دوره‌های مختلف کم-آبیاری (کم‌آبیاری تا ۵۰٪ گلدی، کم‌آبیاری تا ۵۰٪ غلاف‌دهی و آبیاری کامل) بودند. قابل ذکر است که باکتری‌های تهیه شده بصورت مایع بودند که به توصیه شرکت زیست‌فناوری سبز به صورت تلقیح با بذر استفاده شدند (خیساندن بذور به وسیله باکتری‌های محلول به مدت ۱۲ الی ۲۴ ساعت).

قبل از اجرای آزمایش، به منظور تعیین نیازهای کودی گیاه گوار و تعیین خصوصیات فیزیکی-شیمیایی خاک مزرعه، نمونه‌ای مرکب از خاک مزرعه انتخاب به آزمایشگاه خاکشناسی ارسال گردید. پس از عملیات خاکورزی، عناصر غذایی مورد نیاز مزرعه شامل تمامی کودهای فسفره (سوپر فسفات تریپل به میزان ۵۰ کیلوگرم در هکتار)، پتاس (سولفات پتاسیم به میزان ۱۷۰ کیلوگرم در هکتار)، نیتروژنه (۷۵ کیلوگرم در هکتار کود اوره ۴۶٪) و گوگرد (۲۲۰ کیلوگرم در هکتار) که براساس نتایج آزمایش خاک تعیین شده بودند به صورت ثابت به تمامی کرت‌های آزمایشی اضافه شدند. پس از آن، یک سوم کود نیتروژنه مورد استفاده در تیمارهای آزمایشی در زمان کاشت و مابقی به صورت سرک و براساس نیاز گیاه طی دو مرحله رشد سریع بوته و اوایل غلاف‌دهی به تیمارهای مورد نظر اضافه شدند.

شد، هنگامی که گیاه گوار در تمامی مراحل رشد آبیاری شود، مقدار صفات فوق بیشتر از سایر تیمارهای آبیاری می‌باشد. احمد و همکاران (۲۰۱۱) بررسی اثرات دوره‌های مختلف تنش خشکی را بر عملکرد دانه و کارایی مصرف آب گیاه گوار نشان داد که قرار گرفتن گیاه گوار در معرض دوره‌های تنش خشکی (۳۵، ۵۰ و ۶۵ روز پس از کاشت)، هیچ گونه اثر معنی داری بر تعداد غلاف در بوته، وزن هزار دانه، عملکرد دانه و کارایی مصرف آب نداشت، ولی میزان شاخص برداشت کاهش چشمگیری در تیمارهای تنش خشکی ۳۵ و ۵۰ روز پس از کاشت داشت.

با توجه به اهمیت موارد فوق، پژوهش حاضر به منظور بررسی اثرات کاربرد سطوح مختلف کود شیمیایی نیتروژن، کاربرد سوبه‌های مختلف باکتری‌های ریزوبیوم همزیست با بقولات بر برخی خصوصیات رشدی، بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی، عملکرد و اجزاء عملکرد گیاه گوار تحت دوره‌های مختلف آبیاری در مزارع کشاورزی پردیس ابوریحان دانشگاه تهران مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی تأثیر سطوح مختلف کود نیتروژن و باکتری‌های همزیست بر گیاه گوار تحت کاربرد رژیم‌های مختلف آبیاری، پژوهشی در سال زراعی ۹۹-۱۳۹۸ در مزرعه تحقیقاتی پردیس ابوریحان دانشگاه تهران به مختصات جغرافیایی ۵۵ درجه و ۶۶ دقیقه شمالی و ۳۵ درجه و ۴۶ دقیقه شرقی به صورت

جدول ۱- خصوصیات فیزیکوشیمیایی نمونه خاک

منگنز (mg.kg ⁻¹)	مس (mg.kg ⁻¹)	روی (mg.kg ⁻¹)	آهن (mg.kg ⁻¹)	پتاسیم (mg.kg ⁻¹)	فسفر (mg.kg ⁻¹)	نیتروژن کل (%)	کربن آلی (%)	EC (dS.m ⁻¹)	pH خاک	بافت خاک لوم-رسی
۷/۸۸	۰/۸۷	۲/۳۲	۴/۳۲	۷۳۲	۷۹	۰/۱۴	۱/۴۵	۷/۶۱	۸/۱۹	
توصیه کودی براساس آنالیز خاک										
			گوگرد (Kg.ha ⁻¹)	پتاسیم (Kg.ha ⁻¹)	فسفر (Kg.ha ⁻¹)	نیتروژن (Kg.ha ⁻¹)				
			۲۲۰	۱۷۰	۵۰	۷۵				

گیاهان هر کرت آزمایشی در زمان رسیدگی فیزیولوژیک برداشت شدند و میانگین عملکرد در هر کرت به صورت کیلوگرم در هکتار محاسبه شد. علاوه بر این، صفات تعداد برگ، محتوای کلروفیل‌ها، کاروتنوئیدها، پروتئین دانه (کجدال)، قندهای محلول، و فعالیت‌های آنزیمی کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در مرحله ۵۰ درصد غلاف‌دهی ارزیابی شدند.

جهت اندازه‌گیری محتوای کلروفیل‌ها از روش آرنون (۱۹۴۸) و کاروتنوئیدها از روش لیچنتنالر (۱۹۸۷) استفاده شد. بر این اساس، ابتدا ۰/۵ گرم از بافت تازه پهنک برگ توزین و در هاون به کمک استون ۸۰٪ و بر روی یخ سائیده شد. عصاره حاصل توسط کاغذ صافی و قیف درون بالن‌ژوژه صاف گردید. تفاله به دست آمده مجدداً با استون ۸۰٪ سائیده و صاف شد. این عمل تا زمانی که تفاله برگ سفید رنگ شود تکرار گردید. سپس حجم عصاره به دست آمده با استون ۸۰٪ به ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد. بلافاصله مقداری از عصاره به کووت منتقل و جذب محلول با اسپکتروفتومتر (مدل Jenway 6300) در طول موج‌های ۶۴۵، ۶۶۳ و ۴۷۰ نانومتر قرائت و از استون ۸۰٪ به عنوان محلول بلانک استفاده شد. سپس میزان کلروفیل *a*، *b*، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها طبق روابط زیر برحسب میلی‌گرم در هر گرم وزن تر بافت گیاهی محاسبه شد.

$$\text{Chlorophyll } a = \frac{[(12.7 \times D663) - (2.69 \times D645)] \times V}{1000 \times W} \quad \text{معادله (۱)}$$

$$\text{Chlorophyll } b = \frac{[(22.9 \times D645) - (4.93 \times D663)] \times V}{1000 \times W} \quad \text{معادله (۲)}$$

$$\text{Total chlorophyll} = \frac{[(20.2 \times D645) - (8.02 \times D663)] \times V}{1000 \times W} \quad \text{معادله (۳)}$$

$$\text{Carotenoids} = \frac{[(1000 \times D470) - (1.82 \times \text{Chl. } a) - (85.02 \times \text{Chl. } b)]}{198} \quad \text{معادله (۴)}$$

V = حجم نهایی عصاره بر حسب میلی‌لیتر، W = وزن تر بافت گیاهی بر حسب گرم، D = طول موج

که در آن:

سپس، ردیف‌های کاشت به فاصله ۵۰ سانتی‌متر آماده شدند و بذور مورد استفاده به فاصله ۵ سانتی‌متر بر روی ردیف‌های کاشت و در عمق ۲-۳ سانتی‌متری در پلات‌هایی به مساحت ۲×۳ متر در تاریخ یکم تیرماه ۱۳۹۸ کشت شدند (تراکم کاشت ۴۰۰ هزار بوته در هکتار). آبیاری مزرعه به صورت قطره‌ای صورت گرفت به طوری که آبیاری کامل هر چهار روز یک بار تا انتهای آزمایش (براساس دور آبیاری مرسوم منطقه) تیمارهای کم‌آبیاری به صورت هر هشت روز یک بار تا مراحل ۵۰ درصد گلدهی و ۵۰ درصد غلاف‌دهی^۱ پژوهش انجام گرفت (رژیم‌های تنش آبیاری پس از استقرار کامل بوته-ها در مزرعه اعمال شدند). از آنجا که دوره آزمایش ۱۰۱ روز به طول انجامید، تعداد آبیاری‌ها پس از اعمال رژیم-های آبیاری برای آبیاری کامل، ۵۰٪ گلدهی و ۵۰ درصد غلاف‌دهی به ترتیب برابر با ۲۰، ۱۴ و ۱۱ مرحله آبیاری صورت گرفت. همچنین، عملیات وجین مزرعه طی سه مرحله (مراحل رشد سریع گیاه، گلدهی و غلاف‌دهی) به صورت دستی انجام شد. در پایان آزمایش، از هر کرت آزمایشی ۱۰ بوته به طور تصادفی انتخاب گردید و برای سنجش صفات ارتفاع بوته (به وسیله خط‌کش)، تعداد پنجه در بوته، وزن خشک اندام‌های هوایی، عملکرد و اجزای عملکرد مورد استفاده قرار گرفتند. قابل ذکر است جهت تعیین عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیک، تمامی

^۱ - پس از مراحل ۵۰٪ گلدهی و ۵۰٪ غلاف‌دهی، برای هر تیمار دوره-

های آبیاری مشابه با آبیاری کامل انجام شد.

واکنش حاوی ۲۵ میلی متر بافر فسفات پتاسیم، ۱۰ میلی-متر H_2O_2 و عصاره آنزیمی تعیین شد (ضریب خاموشی ۰/۰۳۶). جهت تعیین فعالیت آنزیمی سوپراکسید دیسموتاز، مخلوط واکنش برای سنجش فعالیت آنزیم شامل بافر فسفات ۵۰ میلی مولار، متیونین ۰/۰۱۳ مولار، EDTA ۰/۱ میکرومولار و ریبولوین ۲ میکرومولار بود که در تاریکی کامل نگهداری شد. بلافاصله پس از اضافه کردن ریبولوین، ۳ میلی لیتر از آن را درون لوله آزمایش ریخته و به هر لوله ۱۰۰ میکرولیتر نمونه عصاره پروتئینی اضافه شد. لوله‌های آزمایش به مدت ۱۶ دقیقه در فاصله ۳۰ سانتی‌متری از منبع نور قرار گرفتند و در این فاصله دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۶۰ نانومتر و توسط محلول تاریکی به عنوان شاهد تنظیم شد. پس از ۱۶ دقیقه جذب نمونه‌ها در طول موج مذکور خوانده شد. از آنجائیکه یک واحد آنزیم مذکور عبارت است از میزانی از آنزیم که ۵۰ درصد مهار ایجاد می کند، فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز براساس واحد آنزیمی به ازای هر میلی‌گرم پروتئین برای تمام نمونه‌ها محاسبه گردید (جیانوپولیتیس و ریس، ۱۹۹۷). قابل ذکر است که جهت تهیه نمونه‌های عصاره آنزیمی، یک گرم بافت تر در یک هاون چینی محتوی سه میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی مولار با $pH=7/2$ حاوی اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (EDTA) ۱ میلی مولار، فنیل متان سولفونیل فلورید (PMSF) ۱ میلی مولار و پلی وینیل پیرولیدون (PVP) ۱ درصد سائیده شد. عصاره حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در سانتیفریژ یخچال‌دار در $14000g$ قرار گرفت و از محلول رویی آن جهت سنجش فعالیت آنزیم‌ها استفاده گردید.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

داده‌های حاصل با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (9.1) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و مقایسه میانگین داده‌ها براساس آزمون LSD در سطح احتمال

جهت اندازه‌گیری میزان پروتئین دانه، ابتدا میزان N با استفاده از روش کج‌دال در همه نمونه‌ها اندازه‌گیری و طبق معادله زیر محاسبه گردید (جونز ۱۹۴۱).

$$\text{معادله (۵)} \quad N \times 6.25 = \text{درصد پروتئین دانه}$$

$N =$ محتوای نیتروژن دانه در هر تیمار

قندهای محلول با استفاده از روش ارائه شده به وسیله ساداسیوم و مانیکام (۱۹۹۲) با تغییرات اندکی ارزیابی شد. بر همین اساس، ۰/۱ گرم پودر خشک از اندام هوایی گیاهان تهیه و ۵ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۲/۵ نرمال به آن اضافه گردید. سپس، نمونه‌ها به مدت ۳ ساعت در حمام آب‌گرم (تحت دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد) قرار گرفتند تا به‌طور کامل هیدرولیز شوند. در مرحله بعد، خنثی‌سازی نمونه‌ها به‌وسیله کربنات سدیم تا زمانی‌که حالت جوش آن متوقف شود انجام گردید. سپس، نمونه‌ها با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شدند و به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۳۵۰۰ سانتیفریژ شدند. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از بخش رویی محلول برداشته و با آب مقطر به حجم یک میلی‌لیتر رسانده شد. در مرحله بعد، چهار میلی‌لیتر معرف آنترون به تمام لوله‌ها افزوده شد و به مدت هشت دقیقه در حمام آب جوش قرار گرفتند. در نهایت، جذب هر یک از نمونه‌ها در طول موج ۶۳۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. برای محاسبه قندهای محلول از منحنی استاندارد گلوکز استفاده گردید و نمونه فاقد گلوکز به-عنوان شاهد در نظر گرفته شد. در نهایت، میزان قندهای محلول بر اساس میکروگرم بر گرم وزن خشک گیاه بیان شدند.

فعالیت‌های آنزیمی کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز نیز به ترتیب بر طبق روش‌های ارائه شده به وسیله چائویی و همکاران (۱۹۹۷) و جیانوپولیتیس و ریس (۱۹۹۷) مورد ارزیابی قرار گرفتند. فعالیت آنزیم کاتالاز براساس کاهش جذب ناشی از تجزیه سوبسترای پراکسید هیدروژن در طول موج ۲۴۰ نانومتر از مخلوط

تیمارهای آبیاری، کود شیمیایی، برهمکنش آبیاری × کود شیمیایی و برهمکنش آبیاری × باکتری ریزوبیوم و در سطح احتمال ۵٪ تحت تاثیر برهمکنش کود شیمیایی × باکتری ریزوبیوم، و محتوای کلروفیل کل در سطح احتمال ۱٪ تحت تاثیر تیمارهای آبیاری، کود شیمیایی، باکتری ریزوبیوم، برهمکنش آبیاری × باکتری ریزوبیوم و برهمکنش کود شیمیایی × باکتری ریزوبیوم قرار گرفتند. علاوه بر موارد فوق، براساس نتایج جدول ۴ مشاهده می‌شود که تیمارهای آبیاری، کودهای شیمیایی، باکتری ریزوبیوم و برهمکنش کود شیمیایی × باکتری ریزوبیوم در سطح احتمال ۱٪ سبب ایجاد اختلاف معنی-دار در صفت قندهای محلول شدند.

۵٪ انجام گرفت. همچنین، ترسیم نمودار با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج و بحث

صفات بیوشیمیایی

نتایج تجزیه واریانس جدول ۲ نشان‌دهنده اثرات معنی‌دار تیمارهای آزمایشی و برهمکنش بین آنها بر برخی صفات بیوشیمیایی مورد بررسی در پژوهش حاضر بود. نتایج نشان داد که محتوای کلروفیل a در سطح احتمال ۱٪ تحت تاثیر تیمارهای اصلی آبیاری، کود شیمیایی و باکتری ریزوبیوم و در سطح احتمال ۵٪ تحت تاثیر برهمکنش کود شیمیایی × باکتری ریزوبیوم، محتوای کلروفیل b در سطح احتمال ۱٪ تحت تاثیر

جدول ۲- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات بیوشیمیایی گیاه گوار تحت تاثیر تیمارهای آبیاری، کود شیمیایی و

تلقیح باکتری برادی ریزوبیوم ژاپونیکوم

منابع تغییر	درجه آزادی	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کاروتنوئید	پروتئین دانه	قندهای محلول	کاتالاز	سوپراکسید دیسموتاز
بلوک	۲	۰/۸۲ ^{ns}	۰/۱۶ [*]	۰/۲۶ ^{ns}	۱/۸۵ ^{ns}	۳۵/۱۹ [*]	۶۴/۷۱ ^{ns}	۵/۵۸ ^{ns}	۱۴/۴۶ ^{ns}
آبیاری	۲	۹/۴۰ ^{**}	۰/۶۲ ^{**}	۵/۸۲ ^{**}	۶/۹۲ ^{**}	۱۹۲/۲۲ ^{**}	۲۱۱۶۷/۷۸ ^{**}	۹۴۷/۳۵ ^{**}	۱۷۰۴/۴۴ ^{**}
خطای اصلی	۴	۲/۱۶	۰/۰۴	۱/۷۶	۰/۷۸	۰/۶۱	۲۹/۴۰	۴/۸۳	۲۹/۰۵
کود شیمیایی	۲	۳۶/۹۸ ^{**}	۳/۳۶ ^{**}	۶۱/۰۹ ^{**}	۱۸/۹۵ ^{**}	۱۸۶/۱۲ ^{**}	۱۲۹۰۹/۲۳ ^{**}	۴۰۸/۰۳ ^{**}	۱۷۵/۰۹ ^{**}
باکتری ریزوبیوم	۲	۲۱/۸۷ ^{**}	۰/۰۶ ^{ns}	۲۱/۰۵ ^{**}	۳/۰۱ [*]	۱۲۸/۲۰ ^{**}	۳۳۵۳/۹۸ ^{**}	۱۰۸/۲۴ ^{**}	۴۳۳/۹۳ ^{**}
آبیاری × کود شیمیایی	۴	۰/۱۱ ^{ns}	۰/۳۳ ^{**}	۰/۳۳ ^{ns}	۰/۱۸ ^{ns}	۶/۱۰ ^{ns}	۷۵/۹۲ ^{ns}	۴/۶۶ ^{ns}	۱۶/۴۰ ^{ns}
آبیاری × باکتری	۴	۱/۰۵ ^{ns}	۰/۷۴ ^{**}	۲/۲۹ ^{**}	۰/۰۶ ^{ns}	۵/۸۹ ^{ns}	۴۵/۶۵ ^{ns}	۱۳/۶۰ ^{ns}	۳/۹۹ ^{ns}
کود شیمیایی × باکتری	۴	۱/۸۸ [*]	۰/۱۴ [*]	۲/۴۶ ^{**}	۰/۷۷ ^{ns}	۱/۵۱ ^{ns}	۶۷۶/۰۲ ^{**}	۷/۸۶ ^{ns}	۱۹/۷۰ ^{ns}
آبیاری × کود شیمیایی × باکتری	۸	۰/۰۸ ^{ns}	۰/۰۵ ^{ns}	۰/۱۷ ^{ns}	۰/۰۷ ^{ns}	۱/۶۱ ^{ns}	۱۰/۵۷ ^{ns}	۰/۸۴ ^{ns}	۰/۲۹ ^{ns}
خطای فرعی	۴۸	۰/۷۲	۰/۰۳	۰/۶۱	۰/۶۷	۸/۲۹	۱۳۶/۳۶	۱۱/۱۴	۲۰/۶۶
ضریب تغییرات (%)		۱۲/۷۱	۹/۵۴	۹/۱۶	۱۸/۸۶	۱۰/۸۸	۶/۲۳	۱۱	۸/۴۹

ns: عدم اختلاف معنی‌دار ** و * به ترتیب اختلاف معنی‌دار در سطوح احتمال ۱٪ و ۵٪ می‌باشد.

تر برگ) تحت برهمکنش ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن × سویه RS150 حاصل شد ولی اختلاف معنی‌داری با محتوای کلروفیل b حاصل از برهمکنش ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن × عدم تلقیح باکتری (۲/۲۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) نداشت. در طرف مقابل، کمترین محتوای کلروفیل b (۱/۳۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) تحت برهمکنش عدم کاربرد کود نیتروژن × سویه RS153 برادی‌ریزوبیوم به دست آمد ولی اختلاف معناداری با محتوای کلروفیل b تحت برهمکنش عدم کاربرد کود نیتروژن × سویه RS150 برادی‌ریزوبیوم (۱/۵۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) نداشت (جدول ۳).

با توجه به اثرات معنی‌دار برهمکنش کود شیمیایی نیتروژن × سویه‌های باکتری برادی‌ریزوبیوم بر رنگیزه-های کلروفیلی و قندهای محلول مندرج در جدول ۲ (جدول ANOVA)، نتایج مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۳) نشان می‌دهند که بیشترین و کمترین محتوای کلروفیل a (۸/۵۰ و ۴/۸۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ)، کلروفیل کل (۱۰/۶۲ و ۶/۴۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) و قندهای محلول (۲۱۶/۸۵ و ۱۶۰/۵۹ میکرو بر گرم وزن خشک برگ) به ترتیب تحت برهمکنش‌های ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن × سویه RS153 و عدم کاربرد کود نیتروژن × عدم کاربرد باکتری به دست آمد. از طرفی، بیشترین محتوای کلروفیل b (۲/۳۲ میلی‌گرم بر گرم وزن

جدول ۳- اثرات برهمکنش کود شیمیایی و باکتری ریزوبیوم بر کلروفیل a، b، کل و قندهای محلول

منبع تغییرات	کلروفیل a (mg.g ⁻¹ FW)	کلروفیل b (mg.g ⁻¹ FW)	کلروفیل کل (mg.g ⁻¹ FW)	قندهای محلول (µg.g ⁻¹ DW)
کود شیمیایی (Kg.ha ⁻¹)				
ریزوبیوم				
شاهد	۴/۸۹ e	۱/۵۵ ef	۶/۴۴ e	۱۶۰/۵۹ d
سویه RS150	۵/۴۶ de	۱/۶۳ e	۷/۰۹ de	۱۶۱/۷۲ d
سویه RS153	۵/۶۳ cde	۱/۳۹ f	۷/۰۳ de	۱۶۴/۷۵ d
شاهد	۵/۸۱ cd	۱/۸۱ d	۷/۶۲ d	۱۷۹/۲۳ c
سویه RS150	۷/۴۶ b	۱/۸۳ d	۹/۲۹ bc	۲۰۰/۳۸ b
سویه RS153	۸/۲۵ ab	۲/۰۱ c	۱۰/۲۵ a	۲۱۰/۸۴ ab
شاهد	۶/۳۷ c	۲/۲۴ ab	۸/۶۱ c	۱۸۵/۲۹ c
سویه RS150	۷/۶۲ b	۲/۳۲ a	۹/۹۴ ab	۲۰۶/۵۶ ab
سویه RS153	۸/۵۰ a	۲/۱۲ bc	۱۰/۶۲ a	۲۱۶/۸۵ a
LSD	۰/۸۶	۰/۱۷	۰/۷۹	۱۰/۷۱

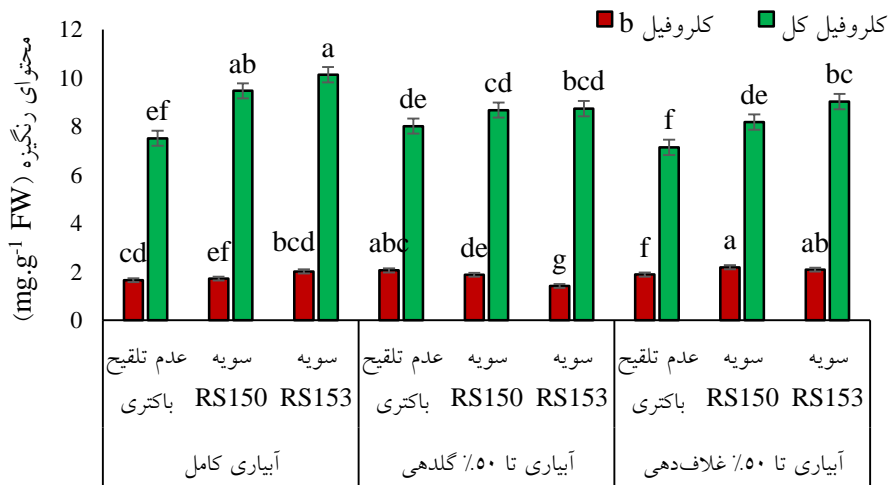
حروف مشابه در هر ستون و هر تیمار، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح احتمال ۵٪ آزمون LSD می‌باشند

است. بیشترین میزان کلروفیل b (۲/۱۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) تحت برهمکنش کم‌آبیاری تا ۵۰ درصد غلاف‌دهی × سویه RS150 حاصل شد ولی اختلاف

علاوه بر نتایج فوق، مشاهده شد که برهمکنش آبیاری × سویه‌های باکتری ریزوبیوم اثرات معنی‌داری بر محتوای کلروفیل b و کلروفیل کل داشتند (جدول ۲) که تفاسیر مرتبط با نتایج آن در شکل ۱ شرح داده شده

بیشترین مقادیر کلروفیل کل به ترتیب تحت برهمکنش- های آبیاری کامل × سویه RS153 (۱۰/۱۲) میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) و آبیاری کامل × سویه RS150 (۹/۴۷) میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) و کمترین مقدار کلروفیل کل (۷/۱۴) میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) تحت برهمکنش کم‌آبیاری تا ۵۰ درصد غلاف‌دهی × سویه RS150 حاصل شد (شکل ۱).

معنی‌داری با محتوای کلروفیل b تحت برهمکنش کم- آبیاری تا ۵۰ درصد غلاف‌دهی × سویه RS153 (۲/۰۹) میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) نداشت. در طرف مقابل، کمترین میزان معنی‌دار کلروفیل b (۱/۱۵) میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) تحت برهمکنش کم‌آبیاری تا ۵۰ درصد غلاف‌دهی × سویه RS153 حاصل شد. به‌علاوه،



شکل ۱- اثرات برهمکنش آبیاری × باکتری ریزوبیوم بر محتوای کلروفیل b و کلروفیل کل در برگ‌های گیاه گوار حروف مشابه در هر ستون و هر تیمار، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح احتمال ۵٪ آزمون LSD می‌باشند

اثرات تیمارهای پژوهش حاضر بر صفات کاروتنوئیدها، پروتئین دانه، و فعالیت‌های آنزیمی کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز نیز مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج کاربرد تیمارهای آبیاری بر صفات فوق (جدول ۴) نشان می‌دهند که بیشترین و کمترین میزان کاروتنوئیدها (۴/۷۸ و ۲/۷۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) تحت کاربرد تیمارهای کم‌آبیاری تا ۵۰٪ گلدهی و ۵۰٪ غلاف- دهی به ثبت رسیدند که اختلاف معنی‌داری با یکدیگر داشتند. بیشترین میزان پروتئین دانه (۲۹/۲۷) میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) تحت آبیاری کامل حاصل شد که نسبت به تیمارهای کم‌آبیاری تا ۵۰٪ گلدهی و ۵۰٪ غلاف‌دهی به ترتیب افزایش معنی‌داری معادل ۱۱/۸۹ و ۲۲/۱۹ درصد داشت. از طرفی، بیشترین و کمترین مقادیر معنی‌دار فعالیت آنزیمی کاتالاز (۳۵/۷۰ و ۲۳/۹۸ μmol

min⁻¹ protein mg⁻¹ H₂O₂) و سوپراکسید دیسموتاز (۶۱/۱۱ و ۴۵/۲۷ U.mg⁻¹ protein min⁻¹) به ترتیب تحت تیمارهای کم‌آبیاری تا ۵۰٪ غلاف‌دهی و آبیاری کامل حاصل شدند. به طور کلی، برای تیمار کم‌آبیاری تا ۵۰٪ غلاف‌دهی در مقایسه با تیمارهای آبیاری کامل و کم- آبیاری تا ۵۰٪ گلدهی، به ترتیب افزایش معنی‌داری معادل ۱۲ و ۸ درصد برای فعالیت آنزیمی کاتالاز و ۲۵ و ۱۷ درصد برای فعالیت آنزیمی سوپراکسید دیسموتاز تخمین زده شده است (جدول ۴).

در ارتباط با اثرات سطوح مختلف کود نیتروژن بر صفات بیوشیمیایی، مشاهده می‌شود که با افزایش سطح نیتروژن بر محتوای کاروتنوئیدها و پروتئین دانه افزوده می‌شود به طوری‌که کاربرد ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن در مقایسه با تیمارهای شاهد و ۵۰

جدول ۴- اثرات تیمارهای آبیاری، کود شیمیایی و تلقیح باکتری برادی ریزوبیوم ژاپونیکوم بر برخی صفات فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی، عملکرد و اجزای عملکرد گیاه گوار

منابع تغییر	کاروتنوئیدها (mg.g ⁻¹) (FW)	پروتئین دانه (mg.g ⁻¹) (FW)	کاتالاز ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ mg}^{-1} \text{ protein (min}^{-1})$)	سوپراکسید دیسموتاز (U.mg ⁻¹) protein (min ⁻¹)	وزن خشک هوایی (g)	تعداد دانه در متر مربع (n)	وزن هزار دانه (g)	عملکرد عملکرد دانه (kg.ha ⁻¹)	عملکرد بیولوژیک (kg.ha ⁻¹)
رژیم‌های مختلف آبیاری									
آبیاری کامل	۴/۴۲ ab	۲۹/۲۷ a	۲۲/۹۸ c	۴۵/۲۷ c	۴۵/۴۲ a	۴۶۶۲/۵۲ a	۳۱/۶۰ a	۱۴۸۱/۳ a	۶۱۳۳/۳ a
کم آبیاری تا ۵۰٪ گلدهی	۴/۷۸ a	۲۶/۱۶ b	۳۱/۳۳ b	۵۴/۲۳ b	۳۹/۷۰ b	۴۰۲۹/۷۸ b	۲۸/۸۴ b	۱۱۷۴/۶ b	۵۳۷۸ b
کم آبیاری تا ۵۰٪ غلاف- دهی	۳/۷۸ b	۲۳/۹۶ c	۳۵/۷۰ a	۶۱/۱۱ a	۳۳/۹۵ c	۳۹۴۷/۳۳ b	۲۶/۷۶ c	۱۰۴۲/۱ c	۴۹۴۲/۸ c
LSD	۰/۶۷	۰/۵۹	۱/۶۶	۴/۰۷	۲/۸۲	۱۴۶/۵۲	۱/۹۶	۹۵/۷	۴۵۳/۶
کود شیمیایی نیتروژن (Kg.ha ⁻¹)									
شاهد	۳/۳۷ b	۲۴/۱۹ c	۳۴/۸۱ a	۵۶/۳۷ a	۳۳/۴۹ c	۳۹۶۴ b	۲۶/۶۶ b	۱۰۶۸/۶۰ c	۴۳۲۹/۷ c
۵۰	۴/۶۷ a	۲۵/۸۷ b	۲۸/۴۹ b	۵۲/۷۸ b	۳۸/۹۵ b	۴۱۳۰/۸ b	۲۹/۶۴ a	۱۲۹۹/۵۱ b	۵۵۱۲/۱ b
۱۰۰	۴/۹۴ a	۲۹/۳۴ a	۲۷/۷۲ b	۵۱/۴۵ b	۴۶/۶۳ a	۴۵۴۴/۸ a	۳۰/۹۰ a	۱۳۹۹/۷۹ a	۶۶۲۱/۳ a
سویه‌های باکتری ریزوبیوم									
شاهد	۳/۹۶ b	۲۴/۰۱ b	۳۲/۱۴ a	۵۷/۹۰ a	۳۶/۰۵ b	۳۹۰۴/۴ b	۲۶/۷۵ b	۱۰۵۴/۳۷ b	۵۰۶۸/۴ b
سویه RS150	۴/۴۱ a	۲۷/۲۴ a	۳۰/۶۹ a	۵۲/۷۰ b	۴۰/۷۱ a	۴۳۶۸/۱ a	۲۹/۸۰ a	۱۲۸۰/۰۳ a	۵۵۵۶/۵ ab
سویه RS153	۴/۶۱ a	۲۸/۱۵ a	۲۸/۱۸ b	۵۰/۰۱ c	۴۲/۳۱ a	۴۴۶۷/۱ a	۳۰/۶۴ a	۱۳۶۳/۶۰ a	۵۸۳۸/۱ a
LSD	۰/۴۵	۱/۵۸	۱/۸۳	۲/۱۴۹/۸۳	۱/۹۴	۲۰۹/۹	۱/۸۳	۹۲/۴۵	۵۹۶/۲

حروف مشابه در هر ستون و هر تیمار، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح احتمال ۵٪ آزمون LSD می‌باشند

میلی‌گرم پروتئین بر دقیقه ارزیابی شدند. به عبارت دیگر، گیاهان تحت تیمار شاهد (عدم کاربرد کود نیتروژن) در مقایسه با گیاهان تحت تیمار با ۵۰ و ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار به ترتیب افزایش معنی‌داری معادل ۲۲/۱۸ و ۲۵/۵۸ درصد برای فعالیت آنزیمی کاتالاز افزایش معنی-داری معادل ۶/۸۰ و ۹/۵۶ درصد برای فعالیت آنزیمی سوپراکسید دیسموتاز داشتند. در حالیکه تلقیح بذر با باکتری ریزوبیوم سبب افزایش معنی‌دار کاروتنوئیدها و

کیلوگرم در هکتار سبب افزایش محتوای کاروتنوئید معادل ۴۶/۵۹ و ۵/۷۸ درصد و افزایش پروتئین دانه معادل ۲۱/۲۹ و ۱۳/۴۱ درصد شد. از طرفی، فعالیت‌های آنزیمی کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز با افزایش سطوح نیتروژن به طور معنی‌داری کاهش پیدا کردند به طوری که تحت شرایط عدم کاربرد کود نیتروژن میزان فعالیت-های آنزیم‌های فوق به ترتیب معادل ۳۴/۸۱ میکرومول H₂O₂ بر میلی‌گرم پروتئین بر دقیقه و ۵۶/۳۷ واحد بر

به صورت پاسخ‌های کوتاه مدت، میان مدت و بلند مدت طبقه‌بندی شود (چن و همکاران ۲۰۱۹). در شرایطی که تنش‌های میان‌مدت بر گیاهان وارد شود، گیاه به‌منظور ادامه جذب آب، از طریق تجمع ترکیبات اسمزی از جمله کربوهیدرات محلول و پرولین، پتانسیل اسمزی خود را کاهش می‌دهد (زالتو و لیدون ۲۰۱۲). از این‌رو، تنظیم اسمزی به توسعه سلولی، بقاء و رشد گیاه تحت تنش خشکی کمک می‌کند (مانیوانان و همکاران ۲۰۰۸). یکی از موادی که در شرایط تنش خشکی در گیاه تجمع پیدا می‌کند، قندهای محلول می‌باشند که به عنوان عوامل اسمزی (حفاظت‌کننده‌های اسمزی) عمل می‌کنند (وو و همکاران ۲۰۱۲). افزایش قندهای محلول طی تنش‌ها به طور معنی‌داری با تنظیم اسمزی و حفظ آماس همبستگی دارد و باعث پایداری پروتئین‌ها و غشاهای می‌شود (سانچز و همکاران ۱۹۹۸؛ فتحی و براری ۲۰۱۶). همچنین، اظهار شده است که تجمع قندهای محلول داخل سلول‌ها در تنظیم اسمزی نقش مهم ایفاء نموده و کمک می‌کند تا پتانسیل آب سلول کاهش یافته و آب بیشتری برای حفظ تورگر تحت تنش خشکی و کم‌آبی داخل سلول باقی بماند. از این‌رو، این مکانسیم می‌تواند موجب افزایش پایداری غشاهای زیستی، پروتئین‌ها، فتوسنتز و مقاومت به خشکی گردد (جوهری ۲۰۱۰؛ نصراله‌زاده‌اصل و همکاران ۲۰۱۶). علاوه بر قندهای محلول، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نظیر کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون ردوکتاز باعث حذف و غیر فعال شدن گونه‌های فعال اکسیژن و کاهش اثرات منفی ناشی از تنش خشکی در گیاه می‌شوند (بیالی و همکاران ۲۰۰۴؛ میتلر و همکاران ۲۰۰۴). بر همین اساس، افزایش محتوای آنتی‌اکسیدان غیر آنزیمی قندهای محلول و افزایش فعالیت آنزیمی کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز تحت تنش خشکی در پژوهش حاضر مورد تایید قرار می‌گیرد.

علاوه بر افزایش قندهای محلول، نتایج پژوهش حاضر نشان داد که این صفت تحت تلقیح باکتری

پروتئین دانه گوار شد، فعالیت آنزیمی کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز به نسبت چشمگیری در مقایسه با عدم تلقیح بذر کاهش پیدا کرد. محاسبات آماری نتایج جدول ۴ حاکی از این است که کاربرد سویه RS153 در مقایسه با کاربرد تیمارهای شاهد (عدم تلقیح بذر) و سویه RS150 به ترتیب سبب افزایش ۱۶/۴۱ و ۴/۵۴ درصدی محتوای کاروتنوئیدها، افزایش ۱۷/۲۴ و ۳/۳۴ درصدی پروتئین دانه، کاهش ۱۲/۳۲ و ۸/۱۸ درصدی فعالیت آنزیمی کاتالاز و کاهش ۱۳/۶۳ و ۵/۱۰ درصدی فعالیت آنزیمی سوپراکسید دیسموتاز شد (جدول ۴).

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تنش خشکی، کاربرد کود شیمیایی و تلقیح باکتری ریزوبیوم اثرات معنی‌داری بر صفات بیوشیمیایی در گیاه گوار داشتند به طوری که محتوای رنگیزه‌های گیاهی، کاروتنوئیدها، و پروتئین بذر کاهش، و محتوای قندهای محلول، فعالیت آنزیمی کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز افزایش پیدا کردند. از طرفی، سطوح کود نیتروژن و سویه‌های باکتری ریزوبیوم سبب افزایش معنی‌دار رنگیزه‌های گیاهی، کاروتنوئیدها، قندهای محلول و پروتئین بذر شدند. در ارتباط با اثرات تنش خشکی بر گیاهان، اظهار شده است که تنش خشکی سبب افزایش گونه‌های ROS ناشی از افزایش تنش اکسیداتیو و تنش اسمزی در گیاهان می‌گردد که متعاقباً سبب ایجاد اثرات منفی بر اسیدهای چرب غیراشباع، ساختار پروتئین‌ها و آسیب‌های متعددی در DNA می‌شوند (دکاروالهو ۲۰۰۸؛ جیل و توتجا ۲۰۱۰؛ ژو و همکاران ۲۰۲۰). از آنجا که فعالیت‌های فیزیولوژیکی گیاه تحت شرایط تنش خشکی به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم دچار اختلال می‌گردند، تنش خشکی با تاثیر روی میزان فتوسنتز گیاه و کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی (به خصوص رنگدانه کلروفیل که در گیاهان به‌عنوان یکی از مهمترین فاکتورهای حفظ ظرفیت فتوسنتزی است) باعث کاهش عملکرد می‌گردد (گوسینوا و همکاران ۲۰۰۶). از طرفی، واکنش گیاهان به تنش خشکی به ماهیت کمبود آب بستگی دارد و می‌تواند

تیمارهای آبیاری، کود شیمیایی و تلقیح سویه‌های باکتری ریزوبیوم و در سطح احتمال ۵٪ تحت تاثیر برهمکنش آبیاری × کود شیمیایی قرار گرفت. نتایج جدول ۲ نیز نشان داد که تیمارهای اصلی آبیاری، کود شیمیایی، تلقیح سویه‌های باکتری ریزوبیوم و برهمکنش کود شیمیایی × سویه‌های ریزوبیوم در سطح احتمال ۱٪ بر تعداد برگ در بوته اثرگذار بودند. علاوه بر این، براساس نتایج مذکور مشاهده می‌شود که صفات وزن خشک اندام‌های هوایی، تعداد دانه در متر مربع، وزن ۱۰۰۰ دانه، عملکرد دانه، پروتئین دانه، و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در سطح احتمال ۱٪ تحت تاثیر تیمارهای اصلی آبیاری، کود شیمیایی و تلقیح سویه‌های باکتری ریزوبیوم قرار گرفتند. نتایج کاربرد تیمارها نیز نشان داد تیمارهای آبیاری و کود شیمیایی در سطح احتمال ۱٪ و تیمار کودهای بیولوژیک در سطح احتمال ۵٪ بر صفات عملکرد بیولوژیک و محتوای کاروتنوئیدها معنی‌دار بودند (جدول ۵).

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۲-الف) نشان می‌دهند که بیشترین ارتفاع بوته با میانگین ۱۱۰/۹۲ سانتی‌متر تحت برهمکنش آبیاری کامل × ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژن بود ولی اختلاف معنی‌داری با ارتفاع بوته گیاهان گوار تحت برهمکنش آبیاری کامل × ۵۰ کیلوگرم در هکتار (۱۰۱/۵۳ سانتی‌متر) نداشت و کمترین مقدار ارتفاع بوته با میانگین ۷۵/۰۳ سانتی‌متر تحت برهمکنش کم‌آبیاری تا ۵۰٪ غلاف‌دهی × عدم کاربرد کود نیتروژن به ثبت رسید اما اختلاف معنی‌داری بین ارتفاع بوته گیاهان مذکور و ارتفاع بوته گیاهان در معرض کم‌آبیاری تا ۵۰٪ غلاف‌دهی × عدم کاربرد کود نیتروژن (۸۰/۸ سانتی‌متر) اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۲-الف).

ریزوبیوم نیز افزایش پیدا میکند که با نتایج برخی پژوهش‌ها همخوانی دارد. طی پژوهشی اظهار شد که قارچ‌های همزیست مواد کربوهیدراتی را عمدتاً به شکل ساکارز از گیاه دریافت و عناصر غذایی را در اختیار گیاه قرار می‌دهند (گوگویی و سینگ ۲۰۱۱). همچنین، برخی پژوهشگران گزارش دادند که تلقیح حبوبات با باکتری-های ریزوبیوم منجر به افزایش محتوای نسبی آب در گیاهان، حلالیت بیشتر عناصر غذایی، افزایش رشد و نمو و بیوماس گیاهی و متعاقباً افزایش مقاومت به تنش خشکی می‌گردد (نقاش‌زاده ۲۰۱۴؛ فیضیان و همکاران ۲۰۱۷؛ گدامو و همکاران ۲۰۲۱). علاوه بر کودهای بیولوژیک، کودهای حاوی نیتروژن از طریق تغییر ترکیب شیمیایی خاک و گیاه می‌توانند منجر به افزایش توانایی گیاه جهت جذب مواد آلی و غیر آلی از محلول خاک، افزایش رشد گیاه، و در نهایت بهبود مقاومت گیاهان به تنش خشکی گردند (لین و همکاران ۲۰۰۴). در ارتباط با اثرات سطوح کودی نیتروژن و باکتری ریزوبیوم بر پروتئین دانه گوار، با توجه به ارتباط مستقیم پروتئین دانه و محتوای نیتروژن (جوانمرد و شکاری ۲۰۱۳) و دخیل بودن عنصر نیتروژن در تشکیل پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک (ملکی‌نارگموسی و همکاران ۲۰۱۳)، افزایش محتوای پروتئین دانه تحت کاربرد سطوح بالای کود شیمیایی نیتروژن و تلقیح بذر با سویه‌های مختلف برادی‌ریزوبیوم مورد بررسی در پژوهش حاضر دور از انتظار نمی‌باشد. در تایید نتایج فوق، پورا‌براهیمی و همکاران (۲۰۱۸) نیز نشان دادند که افزایش سطوح کودهای حاوی نیتروژن به طور معناداری سبب افزایش محتوای پروتئین دانه در گیاه نرت شد.

صفات مورفولوژیک، فیزیولوژیک، عملکرد و اجزای عملکرد

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول ۵) نشان داد که صفات ارتفاع بوته در سطح احتمال ۱٪ تحت تاثیر

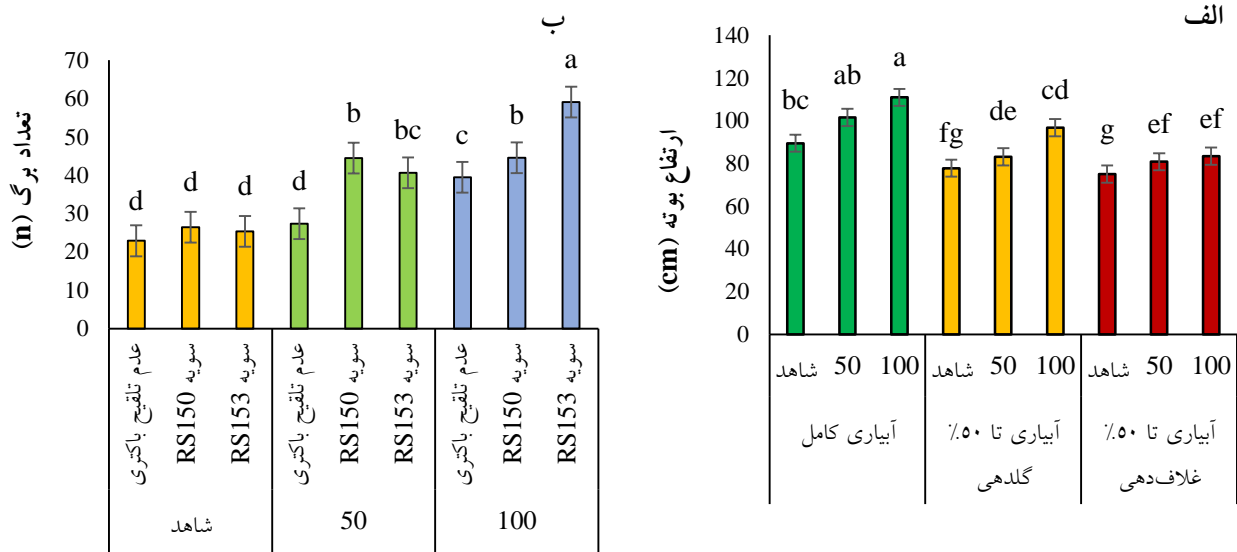
جدول ۵- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات مورفو-فیزیولوژیکی، عملکرد و اجزاء عملکرد گیاه کوار تحت تاثیر تیمارهای آبیاری، کود شیمیایی و تلقیح باکتری برادی ریزوبیوم ژاپونیکوم

منابع تغییر	درجه آزادی	ارتفاع بوته	وزن خشک هوایی	تعداد برگ	تعداد دانه در متر مربع	وزن هزار دانه	عملکرد دانه	عملکرد بیولوژیک
بلوک	۲	۱۹/۶۱ ^{ns}	۲۷/۷۸ ^{ns}	۶۲/۳۸ ^{ns}	۴۲۸۴۷/۴۹ ^{ns}	۱/۰۸ ^{ns}	۵۹۴۲۲/۰۸ ^{ns}	۲۴۸۴۲۴۷/۹۵ ^{ns}
آبیاری	۲	۳۱۱۷/۳۶	۸۸۷/۵۱ ^{**}	۴۵۴/۶۸	۴۱۳۳۹۱۵/۰۱ ^{**}	۱۵۹/۱۲	۱۳۷۰۳۷۳/۴۶	۹۷۷۲۴۲۱/۲۳
خطای اصلی	۴	۱۲۳/۵۸	۱۳/۹۳	۱۶/۱۸	۳۷۵۹۷/۱۱	۶/۷۴	۱۶۰۴۷/۰۶	۳۶۰۴۲۳/۵
کود شیمیایی	۲	۱۷۸۶/۲۳	۱۱۷۶/۰۳ ^{**}	۳۲۲۶/۱۲	۲۴۱۴۵۶۰/۶۴ ^{**}	۱۲۸/۰۳	۷۴۰۶۰/۷۴	۳۵۴۵۹۲۹۵/۲
باکتری ریزوبیوم	۲	۸۵۶/۹۲	۲۸۶/۱۹ ^{**}	۱۰۰۷/۱۲	۲۱۹۷۷۶۳/۱۲ ^{**}	۱۱۳/۰۷	۶۹۱۳۸۴/۴۵	۴۰۹۵۲۹۰/۰۴ [*]
آبیاری × کود شیمیایی	۴	۱۴۰/۹۱ [*]	۱۷/۰۱ ^{ns}	۲۱/۵۳ ^{ns}	۵۷۴۷۷/۴۲ ^{ns}	۴/۸۶ ^{ns}	۱۵۵۲۰/۹۴ ^{ns}	۲۱۰۱۰۱/۷۸ ^{ns}
آبیاری × باکتری	۴	۳/۵۵ ^{ns}	۰/۵۰ ^{ns}	۱۰/۳۶ ^{ns}	۴۴۵۶۹/۲۹ ^{ns}	۰/۱۵ ^{ns}	۱۸۰۹۶/۷۷ ^{ns}	۳۶۹۹۵۶/۹۴ ^{ns}
کود شیمیایی × باکتری	۴	۶۷/۷۸ ^{ns}	۳۰/۳۳ ^{ns}	۳۴۳/۵۳	۳۰۶۷۱/۷۵ ^{ns}	۳/۱۸ ^{ns}	۵۷۰۹/۶۸ ^{ns}	۴۶۹۵۰۹/۴۷ ^{ns}
آبیاری × کود شیمیایی × باکتری	۸	۲/۲۶ ^{ns}	۵/۵۲ ^{ns}	۷/۶۳ ^{ns}	۳۹۲۹۷/۷۵ ^{ns}	۳/۴۰ ^{ns}	۲۶۸۶۳/۹۲ ^{ns}	۱۴۰۰۶۲/۴۰ ^{ns}
خطای فرعی	۴۸	۵۳/۶۱	۱۲/۶۰	۲۴/۲۸	۱۴۷۱۲۳/۳۰	۱۱/۲۳	۲۸۵۴۱/۰۹	۱۱۸۶۹۲۷/۵
ضریب تغییرات (%)		۸/۲۵	۸/۹۴	۱۴/۲۳	۹/۱۰	۱۱/۵۲	۱۳/۷۱	۱۹/۸۵

ns: غیر معنی داری * و **: به ترتیب معنی داری در سطوح احتمال ۵٪ و ۱٪ می باشد.

درصد داشت. در بررسی اثرات سطوح مختلف کود شیمیایی نیز مشاهده شد که بیشترین وزن خشک (۶۶/۶۳ گرم) تحت کاربرد ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن حاصل شد و نسبت به کاربرد سطوح کود نیتروژن شاهد و ۵۰ کیلوگرم در هکتار به ترتیب افزایش معنی داری معادل ۳۹/۲۴ و ۱۹/۷۲ درصد داشت. علاوه بر این، نتایج نشان دادند که کاربرد سویه RS153 برادی- ریزوبیوم ژاپونیکوم سبب افزایش ۱۷/۳۷ و ۳/۹۳ درصدی وزن خشک اندام‌های هوایی در مقایسه با تیمارهای شاهد و سویه RS150 برادی ریزوبیوم ژاپونیکوم شد (جدول ۴).

با توجه به اثرات معنی دار برهمکنش سطوح کود شیمیایی × تلقیح باکتری برادی ریزوبیوم ژاپونیکوم (جدول ۵)، مقایسه میانگین (شکل ۲-ب) نشان می‌دهند که بیشترین و کمترین تعداد برگ در بوته (۵۹/۱۱ و ۲۲/۸۹ برگ) به ترتیب تحت برهمکنش‌های ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن × تلقیح سویه RS153 و عدم کاربرد کود نیتروژن × عدم تلقیح باکتری حاصل شد. براساس نتایج مندرج در جدول ۳ مشاهده می‌شود که تحت کاربرد تیمارهای آبیاری، بیشترین وزن خشک اندام‌های هوایی (۴۵/۴۲ گرم) در تیمار آبیاری کامل به دست آمد و دارای اختلاف معناداری نسبت به وزن خشک اندام‌های هوایی تحت تیمارهای کم آبیاری تا ۵۰٪ گلدهی (۳۹/۷۰ گرم) و ۵۰٪ غلاف‌دهی (۳۳/۹۵ گرم) بود. به طور کلی، نتایج نشان می‌دهند که آبیاری کامل در مقایسه با کم آبیاری تا ۵۰٪ گلدهی و ۵۰٪ غلاف‌دهی به ترتیب افزایش معنی داری معادل ۱۴/۴۱ و ۳۳/۷۹



شکل ۲. اثرات برهمکنش آبیاری × باکتری ریزوبیوم بر ارتفاع بوته (الف) و برهمکنش سطوح کود شیمیایی × باکتری ریزوبیوم بر تعداد برگ در گیاه گوار

حروف مشابه در هر ستون و هر تیمار، نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح احتمال ۵٪ آزمون LSD می‌باشند

این است که آبیاری کامل در مقایسه به دوره‌های کم-آبیاری تا ۵۰ درصد گلدی و ۵۰ درصد غلاف‌دهی به ترتیب افزایش معنی‌داری معادل ۲۶/۱۱ و ۴۲/۱۵ درصد برای عملکرد دانه و ۱۴/۰۴ و ۲۴/۰۹ درصد برای عملکرد بیولوژیک به همراه داشت (جدول ۴).

با توجه به اثرات معنی‌دار تیمار سطوح مختلف کود شیمیایی نیتروژن بر عملکرد و اجزای عملکرد دانه، نتایج نشان می‌دهند که کاربرد ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار کود شیمیایی نیتروژن نسبت به عدم کاربرد کود نیتروژن و کاربرد ۵۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن به ترتیب سبب افزایش معنی‌دار تعداد دانه در متر مربع (معادل ۱۴/۶۵ و ۱۰/۰۲ درصد)، افزایش وزن هزار دانه (معادل ۱۵/۹۰ و ۴/۲۵ درصد)، افزایش معنی‌دار عملکرد دانه (معادل ۳۰/۹۹ و ۷/۷۲ درصد) و عملکرد بیولوژیک (معادل ۵۲/۹۳ و ۲۰/۱۲ درصد) شد. علاوه بر این، از آنجا که کاربرد سویه‌های RS150 و RS153 برادی-ریزوبیوم ژاپونیکوم سبب افزایش معنی‌دار صفات فوق نسبت به تیمار شاهد شد، نتایج نشان می‌دهند که

نتایج مقایسه میانگین تیمارهای پژوهش حاضر (جدول ۴) نیز نشان می‌دهند که آبیاری کامل در مقایسه با تیمارهای کم‌آبیاری در ۵۰٪ گلدی و ۵۰٪ غلاف‌دهی به ترتیب افزایش معنی‌داری معادل ۱۵/۷۰ و ۱۸/۱۲ درصد در تعداد دانه در متر مربع داشت. همچنین، براساس نتایج مشاهده می‌شود که بیشترین وزن هزار دانه (۳۱/۶۰ گرم) تحت کاربرد آبیاری کامل به دست آمد که در مقایسه با وزن هزار دانه گوار تحت رژیم‌های کم-آبیاری تا ۵۰ درصد گلدی و ۵۰ درصد غلاف‌دهی به ترتیب افزایش معنی‌داری معادل ۹/۵۷ و ۱۸/۰۷ درصد داشت. علاوه بر این، عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیک نیز متأثر از دوره‌های آبیاری قرار گرفتند به طوری‌که بیشترین و کمترین مقادیر معنی‌دار عملکرد دانه (۱۴۸۱/۳ و ۱۰۴۲/۱ کیلوگرم در هکتار) و عملکرد بیولوژیک (۶۱۳۳/۳ و ۴۹۴۲/۸ کیلوگرم در هکتار) به ترتیب تحت تیمارهای آبیاری کامل و کم‌آبیاری تا ۵۰ درصد غلاف-دهی حاصل شد. محاسبات آماری نتایج فوق حاکی از

در ذرت شیرین گردید. در آن پژوهش اظهار شده است که رشد گیاه تحت تأثیر افزایش میزان مصرف کودهای شیمیایی قرار گرفت به طوری که شاخص سطح برگ افزایش یافت و به تبع آن محتوای کلروفیل، فتوسنتز و در نهایت عملکرد گیاه افزایش یافت. برخی پژوهش‌ها نیز نشان داده‌اند که تلقیح بذور لوبیا با باکتری ریزوبیوم منجر به افزایش ارتفاع گیاه، وزن خشک، عملکرد و اجزاء عملکرد می‌شود (فیگوئیریدو و همکاران ۲۰۰۸) و برخی از پژوهشگران علت این امر را تولید هورمون‌های گیاهی (آلن ۲۰۰۳) و افزایش فتوسنتز گیاهی (تاجیک‌خواه و همکاران، ۲۰۱۱) نسبت داده‌اند. بر همین اساس، با توجه به افزایش تعداد برگ گیاه گوار پژوهش حاضر تحت کاربرد تیمارهای کود شیمیایی نیتروژن و تلقیح بذر با سویه‌های RS150 و RS153 باکتری برادی ریزوبیوم ژاپونیکوم، احتمالاً افزایش فتوسنتز در این گیاه صورت گرفته و سبب افزایش رشد، نمو، عملکرد و اجزاء عملکرد شده است. علاوه بر این، برخی پژوهشگران اظهار دارند که تلقیح بذر لگوم‌ها با باکتری‌های ریزوبیوم اثرات بازدارندگی تنش‌ها را از طریق جذب بیشتر آب خاک، افزایش محتوای رطوبت نسبی بافت‌های برگ، باز شدن روزنه‌های گیاهی و فرآوری بیشتر دی اکسید کربن کاهش داد و باعث بقای بهتر گیاه در محیط نامناسب می‌شوند (عباسی‌سیه‌جانی و همکاران ۲۰۱۹). در همین رابطه، اظهار شده است که کاربرد آنها در قبل، بعد و یا در حین اعمال تنش‌های محیطی می‌تواند اثرات منفی تنش را در گیاه کاهش داده و سبب افزایش عملکرد و اجزای عملکرد شود (اکبری و همکاران ۲۰۱۲). سوآرز و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که تلقیح بذور لوبیا با باکتری ریزوبیوم سبب افزایش معنی‌دار عملکرد و اجزاء عملکرد در شرایط تنش خشکی نسبت به تیمار شاهد شد.

سپاسگزاری:

این پژوهش از رساله دکتری استخراج شده است. بر همین اساس، از معاونت پژوهشی دانشگاه تهران و

بیشترین و کمترین تعداد دانه در متر مربع (۴۶۷/۱ و ۳۹۰۴/۴ دانه)، وزن هزار دانه (۳۰/۶۴ و ۲۶/۷۵ گرم)، عملکرد دانه (۱۳۶۳/۶۰ و ۱۰۵۴/۲۷ کیلوگرم در هکتار) و عملکرد بیولوژیک (۵۸۳۸/۱ و ۵۰۶۸/۴ کیلوگرم در هکتار) به ترتیب تحت کاربرد سویه RS153 و عدم کاربرد باکتری ریزوبیوم به ثبت رسید. از نتایج جدول ۳ استنباط می‌شود که کاربرد سویه RS153 باکتری ریزوبیوم در مقایسه با کاربرد تیمارهای شاهد و سویه RS150 به ترتیب سبب افزایش تعداد دانه در متر مربع (برابر با ۱۴/۴۱ و ۴/۶۶ درصد)، وزن هزار دانه (برابر با ۱۴/۵۴ و ۲/۸۲ درصد)، عملکرد دانه (معادل ۲۹/۳۴ و ۶/۵۳ درصد) و ۱۹ عملکرد بیولوژیک (۱۵/۱۹ و ۵/۰۷ درصد) شد (جدول ۴).

بر اساس نتایج، صفات ارتفاع بوته، وزن خشک اندام‌های هوایی، تعداد برگ، عملکرد دانه و اجزاء عملکرد تحت تأثیر تیمارهای آبیاری، کودهای شیمیایی، باکتری ریزوبیوم و برخی از برهمکنش‌های بین آنها قرار گرفتند. نتایج نشان داد که آبیاری کامل سبب افزایش صفات فوق در مقایسه با هر کدام از رژیم‌های آبیاری می‌شود که مطابق با نتایج، تاجیک‌خواه و همکاران (۲۰۱۱) می‌باشند. پژوهشگران فوق نشان دادند که وزن ارتفاع گیاه، وزن خشک هوایی و تعداد برگ گیاه سویا تحت تنش خشکی کاهش پیدا می‌کند. همچنین، مشاهده شد که با افزایش سطوح کودی نیتروژن و تلقیح بذور با سویه‌های باکتری برادی ریزوبیوم ژاپونیکوم، میزان صفات فوق به طور خطی افزایش پیدا کردند. در تایید اثرات کاربرد باکتری‌های همزیست برادی ریزوبیوم بر گیاه سویا تحت تنش خشکی، شتیوی و همکاران (۲۰۲۱) اظهار داشتند علیرغم کاهش معنی‌دار صفات مورفو-فیزیولوژیک، رشد و نمو و عملکرد گیاه سویا تحت تنش کم‌آبی، کاربرد سویه‌های مختلف باکتری همزیست برادی ریزوبیوم سبب تعدیل اثرات منفی آن گردید. نتایج پژوهش ملکی‌نارگ‌موسی و همکاران (۲۰۱۳) نشان داد که کاربرد کودهای شیمیایی نیتروژن سبب افزایش محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی

پردیس ابوریحان جهت تامین اعتبار رساله و همکاری-
های لازم در انجام و پیشبرد پژوهش حاضر و همچنین
از شرکت زیست‌فناوری سبز استان قم جهت فراهمی
تشکر و قدردانی می‌گردد.
باکتری‌های ریزوبیوم مورد استفاده در پژوهش حاضر

منابع مورد استفاده

- Abbasi Siahjani E, Yarnia M, Farahvash F, Khorshidi Benam MB and Asadi Rahmani H. 2019. Effect of razobium phazeoli bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi on yield and yield components of red bean (*Phaseolus Vulgaris* L.) under water tension deficit. *Crop Physiology*, 10(4): 19-34. (In Persian).
- Ahmed MFEM, Mac DM, and Bashir AAG. 2011. Effect of water stress at different periods on seed yield and water use efficiency of guar under Shambat conditions. *Agricultural Sciences*, 2(3): 262-266.
- Ajeng A A, Abdullah R, Malek M A, Chew K W, Ho Y C, Ling T C, Lau B F, Show P L. 2020. The effects of biofertilizers on growth, soil fertility, and nutrients uptake of oil palm (*Elaeis Guineensis*) under greenhouse conditions. *Processes*, 8(12), 1681-1697.
- Akbari GA, Ghorchiani M, Alikhani HA, Allahdadi I and Zarei M. 2012. Effect of biological and chemical phosphate fertilizers on growth indices and grain yield of maize under deficit irrigation conditions in Karaj region. *Water and Soil Science*, 22(4): 51-67. (In Persian).
- Allen MF. 2003. *The Ecology of Mycorrhizae*. Cambridge University Press. New York.
- Arnon DI. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenol-oxidase in Beta vulgaris. *Plant Physiology*, 24: 1-15.
- Chaoui A, Mazhoudi S, Ghorbal MH and El Ferjani E. 1997. Cadmium and zinc induction of lipid peroxidation and effects on antioxidant enzyme activities in bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant Sci*. 127, 139-147.
- Chen Z, Xu J, Wang F, Wang L and Xu Z. 2019. Morpho-physiological and proteomic responses to water stress in two contrasting tobacco varieties. *Scientific reports*, 9(1): 1-15.
- Das I and Pradhan M. 2016. Potassium-solubilizing microorganisms and their role in enhancing soil fertility and health. In *Potassium solubilizing microorganisms for sustainable agriculture* (pp. 281-291). Springer, New Delhi.
- Das Suthar J, Rajpar I, Ganjegunte GK and Shah Z. 2018. Evaluation of Guar (*Cyamopsis tetragonoloba* L.) genotypes performance under different irrigation water salinity levels: Growth parameters and seed yield. *Industrial Crops and Products*, 123: 247-253.
- De Carvalho CMH. 2008. Drought stress and reactive oxygen species. *Plant Signal Behav*, 3(3): 156-165.
- De Sousa MA, de Oliveira MM, Damin V and Ferreira EPDB. 2020. Productivity and economics of inoculated common bean as affected by nitrogen application at different phenological phases. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 20: 1848-1858.
- Deeba F, Pandey AK, Ranjan S, Mishra A, Singh R, Sharma YK, Shirke PA and Pandey V. 2012. Physiological and proteomic responses of cotton (*Gossypium herbaceum* L.) to drought stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 53: 6-18.
- Demir AO, Göksoy AT, Büyükcangaz H, Turan ZM and Köksal ES. 2006. Deficit irrigation of sunflower (*Helianthus annuus* L.) in a sub-humid climate. *Irrigation Science*, 24(4): 279-289.
- Dubois M, and Inzé D. 2020. Plant growth under suboptimal water conditions: early responses and methods to study them. *Journal of Experimental Botany*, 71(5): 1706-1722.
- Ebrahimi A, Moaveni P and Aliabadi Farahani H. 2010. Effects of planting dates and compost on mucilage variations in borage (*Borago officinalis* L.) under different chemical fertilization systems. *International Journal for Biotechnology and Molecular Biology Research*, 1(5): 58-61.

- Farnia A, Noormohamadi G, Naderi A, Darvish F and Majidi Hervean I. 2006. Effect of drought stress and strains of Bradyrhizobium japonicum on grain yield and associated characteristics in soybean (cv. Clark) in Borujerd. Iranian Journal of Crop Sciences, 8(3): 201-214. (In Persian).
- Fathi A and Barari D. 2016. Effect of Drought Stress and its Mechanism in Plants. International Journal of Life Sciences, 10(1): 1-6.
- Feizian M, Hemmati A, Asadi Rahmani H and Azizi K. 2017. Effects of Rhizobium bacteria strains on yield components of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in drought stress condition. Journal of Soil Biology, 4(2): 165-176. (In Persian).
- Figueiredo VB, Burity H, Martinez C, Chanway C. 2008. Alleviation of drought stress in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by co-inoculation with *Paenibacillus polymyxa* and *Rhizobium tropici*. Applied Soil Ecology, 40:182-188.
- Gao S, Wang Y, Yu S, Huang Y, Liu H, Chen W and He X. 2020. Effects of drought stress on growth, physiology and secondary metabolites of Two Adonis species in Northeast China. Scientia Horticulturae, 259: 108795.
- Gedamu SA, Tsegaye EA and Beyene TF. 2021. Effect of rhizobial inoculants on yield and yield components of faba bean (*Vicia fabae* L.) on vertisol of Wereillu District, South Wollo, Ethiopia. CABI Agriculture and Bioscience, 2(1): 1-10.
- Giannopolitis CN and Ries SK. 1997. Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. Plant Physiology, 59 (2): 309-314.
- Gill SS and Tuteja N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. Plant Physiology and Biochemistry, 48: 909-930.
- Giouvanis V, Sifafis K, Papanikolaou C, Dimakas D and Sakellariou-Makrantonaki M. 2018. Effects of different irrigation levels in cultivation of "Mountain Tea". In Multidisciplinary Digital Publishing Institute Proceedings, 2(11): 662-668.
- Gogoi P and Singh RK. 2011. Different effect of some arbuscular mycorrhizal fungi on growth of *Piper longum* L. (Piperaceae). Indian Journal of Sciences and Technology. 4 (2): 119- 125.
- Graham PH and Vance CP. 2000. Nitrogen fixation in perspective: an overview of research and extension needs. Field Crops Research, 5: 93-106.
- Gray EJ and Smith DL. 2005. Intracellular and extracellular PGPR: Commonalities and distinctions in the plant bacterium signaling processes. Soil Biology and Biochemistry, 37: 395-412.
- Guseynova IM, Suleymanov SY and Aliyev JA. 2006. Protein composition and native state of pigments of thylakoid membrane of wheat genotypes differently tolerant to water stress. Biochemistry (Moscow), 71(2): 173-177.
- Hasanzadeh Ghorttapeh A, Javadi H. 2016. Study on the Effects of Inoculation with Biofertilizers (*Azotobacter* and *Azospirillum*) and Nitrogen Application on Oil, Yield and Yield Components of Spring Canola in West Azerbaijan. Journal of Crop Production and Processing, 5 (18): 39-50. (In Persian)
- Jafari Mianaei F, Asghari HR and Hosseinalizadeh M. 2016. Agroforestry systems a suitable approach to improve fertility and soil conservation in arid and semi-arid areas. Journal of Conservation and Utilization of Natural Resources, 5 (2): 1-18. (In Persian).
- Jafari R, Seyed sharif R and Imani AA. 2012. Effects of nitrogen and harvesting date on fertilizer use efficiency and qualitative and quantitative yield of sorghum bicolor. Journal of Crops Improvement, 14(2): 17-30. (In Persian).
- Javan Gholiloo M, Yarnia M, Ghorttapeh AH, Farahvash F and Daneshian AM. 2019. Evaluating effects of drought stress and bio-fertilizer on quantitative and qualitative traits of valerian (*Valeriana officinalis* L.). Journal of Plant Nutrition, 42(13): 1417-1429.

- Javan Gholiloo M, Yarnia M, Hassanzadeh Ghorttpeh A, Farahvash F and Daneshian A. 2020. The reaction of valerian to the application of bio-fertilizers under drought stress. *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production*, 30(4): 59-72. (In Persian)
- Javanmard A, and Shekari F. 2017. Improvement of seed yield, its components and oil content of sunflower (*Helianthus annuus* L.) by applications of chemical and organic fertilizers. *Journal of Crop Ecophysiology*, 10(37): 35-56. (In Persian).
- Johari M. 2010. Effect of soil water stress on yield and proline content of four wheat lines *African Journal of Biotechnology*, 9: 36-40.
- Jones DB. 1941. Factors for converting percentages of nitrogen in foods and feeds into percentages of protein. US Department of Agriculture-circ. 183. Washington, DC.
- Liang X, Zhang T, Lu X, Ellsworth D S, BassiriRad H, You C, Wong D, He P, Liu H, Mo J and Ye Q. 2020. Global response patterns of plant photosynthesis to nitrogen addition: A meta-analysis. *Global Change Biology*, 26: 3585-3600.
- Lichtenthaler H. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods of Enzymology*, 148: 350-382.
- Lin S, Sattelmacher B, Kutzmutz E, Mühling KH and Dittert K. 2004. Influence of nitrogen nutrition on tuber quality of potato with special reference to the pathway of nitrate transport into tubers. *Journal of Plant Nutrition*, 27(2): 341-350.
- Loggale LB. 2018. Responses of guar to supplemental irrigation in heavy clay soils of Abu Naama. *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science*, 11(9): 12-16.
- Lucy M, Reed E and Glick BR. 2004. Applications of free living plant growth-promoting rhizobacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 86: 1-25.
- Maleki Narg Mousa M, Balouchi HR, Farajee H and Yadavi AR. 2013. The effect of nitrogen and phosphorus chemical and biological fertilizers on grain yield and qualitative traits of sweet corn. *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production*, 23(3): 89-104. (In Persian)
- Manivannan P, Jaleel CA, Somasundaram R and Panneerselvam R. 2008. Osmoregulation and antioxidant metabolism in drought-stressed *Helianthus annuus* under triadimefon drenching. *Comptes Rendus Biologies*, 331(6): 418-425.
- Meftahzade H, Hamidoghli Y, Assareh MH and Jaanmard Dakheli M. 2017. Effect of sowing date and irrigation regimes on yield components, protein and galactomannan content of guar (*Cyamopsis tetragonoloba* L.) in Iran climate. *Australian Journal of Crop Science*, 11(11): 1481-1487.
- Mekuria W. 2018. The link between agricultural production and population dynamics in Ethiopia: A review. *Advances in Plants and Agriculture Research*, 8(4): 348-353.
- Mittler R, Vanderauwera S, Gollery M and Van Breusegem F. 2004. Reactive oxygen gene network of plants. *Trends in Plant Science*, 9: 490-498.
- Mortazaeinezhad F, and Jazizadeh E. 2017. Effects of water stress on morphological and physiological indices of *Cichorium intybus* L. for introduction in urban landscapes. *Journal of Plant Process and Function*, 6(21): 279-290. (In Persian).
- Naghashzadeh M. 2014. Response of relative water content and cell membrane stability to mycorrhizal biofertilizer in maize. *Electronic Journal of Biology*, 10(3): 68-72.
- Nasrollahzadeh Asl V, Shiri MR, Moharam Nejad S, Yosefi M and Baghbani F. 2016. Effect of drought tension on agronomy and biochemical traits of three maize hybrids (*Zea mays* L.). *Crop Physiology Journal*, 8(32): 45-60. (In Persian).

- Ning Ch, Gao PD, Wang BQ, Lin WP, Jiang NH and Cal LZ. 2017. Impacts of chemical fertilizer reduction and organic amendments supplementation on soil nutrient, enzyme activity and heavy metal content. *Journal of Integrative Agriculture*, 16(8): 1819-1831
- O'Hara GW, Howieson JG and Graham PH. 2002. Nitrogen fixation and agricultural practice. In: G.J Leigh (ed.), *Nitrogen Fixation in the Millennium*. Elsevier Press, London.
- Ogunleye OO, Owolabi OA and Mubarak M. 2018. Population growth and economic growth in Nigeria: An appraisal. *International Journal of Management, Accounting and Economics*, 5(5): 282-299.
- Poorebrahimi M, Sirousmehr A, Eshghizadeh H, Asgharipour M and Khamari I. 2018. Effect of different levels of nitrogen fertilizer on yield and agronomic characteristics of different corn (*Zea mays* L.) hybrids. *Journal of Crop Production and Processing* 8 (3): 37-49. (In Persian).
- Raei Y, Sayyadi Ahmadabad M, Ghassemi-Golezani K and Ghassemi S. 2020. The effect of biological and chemical nitrogen fertilizers on pinto bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and black mustard (*Brassica nigra* L.) intercropping. *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production*, 30(3): 21-40.
- Sadasivam S and Manickam A. 1992. *Biochemical Methods for Agricultural Sciences*. Wiley Eastern Ltd., New Delhi.
- Sanchez FJ, Manzanares M, De Andres EF, Tenorio JL and Ayerbe L. 1998. Turgor maintenance, osmotic adjustment and soluble sugar and proline accumulation in 49 pea cultivars in response to water stress. *Field Crops Reserchs*, 59: 225-235.
- Sarikhani MR and Amini R. 2020. Biofertilizer in sustainable agriculture: Review on the researches of biofertilizers in Iran. *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production*, 30(1): 329-365. (In Persian).
- Sárvári É. 2002. Comparison of the effects of Pb treatment on thylakoid development in poplar and cucumber plants. *Acta Biologica Szegediensis*, 46(3-4), 163-165.
- Sharma P, Dubey G and Kaushik S. 2011. Chemical and Medico-biological profile of *Cyamopsis tetragonoloba* Taub: An overview. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 01 (02): 32-37.
- Sheteiw MS, Ali DFI, Xiong YC, Brestic M, Skalicky M, Hamoud YA, Ulhassan Z, Shaghaleh H, AbdElgawad H, Farooq M, Sharma A and Ahmed M. 2021. Physiological and biochemical responses of soybean plants inoculated with Arbuscular mycorrhizal fungi and Bradyrhizobium under drought stress. *BMC Plant Biology*, 21(1): 1-21.
- Sij JW, Ott JP, Baughman TA and Olosn BLS. 2002. Simulated hail damage on guar at different stages of growth. Annual Report Texas University, USA.
- Suárez R, Wong A, Ramírez M, Barraza A, Orozco MDC, Cevallos MA, Lara M, Hernández G and Iturriaga, G. 2008. Improvement of drought tolerance and grain yield in common bean by overexpressing trehalose-6-phosphate synthase in rhizobia. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 21(7): 958-966.
- Tajik-khah M, Alahdadi I, Daneshian J and Armandpisheh O. 2011. Evaluating effect of biofertilizer on nodulation and soybean (*Glycine max* L.) plants growth characteristics under water deficit stress of seed. *Agroecology*, 3(3): 337-346. (In Persian).
- Vafadar-Yengeje L, Amini R and Dabbagh Mohammadi Nasab A. 2018. Assessment of growth characteristics and yield of Moldavian balm (*Dracocephalum moldavica*) under different fertilizer treatments in intercropping with faba bean (*Vicia faba* L.). *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production*, 28 (2): 35-51. (In Persian).
- Vicar RM, Panchuk K, Brenzil C, Hartley S, and Pearse P. 2005. Faba bean in Saskatchewan. Saskatchewan Agriculture, Food and Rural Revitalization. A. Vandenberg, University of Saskatchewan.
- Vitale L, Vitale E, Guercia G, Turano M and Arena C. 2020. Effects of different light quality and biofertilizers on structural and physiological traits of spinach plants. *Photosynthetica*, 58(4): 932-943.

- Wallace JG, Zhang XC, Beyene Y, Semagn K, Olsen M, Prasanna BM and Buckler ES. 2016. Genome-wide Association for Plant Height and Flowering Time across 15 Tropical Maize Populations under Managed Drought Stress and Well-Watered Conditions in Sub-Saharan Africa. *Crop Science*, 56: 2365-2378.
- Wu H, Wu X, Li Z, Duan L and Zhang M. 2012. Physiological Evaluation of Drought Stress Tolerance and Recovery in Cauliflower (*Brassica oleracea* L.) Seedlings Treated with Methyl Jasmonate and Coronatine. *J. Plant Growth Regul.* 2012, 31, 113–123.
- Xu J, Zhou Y, Xu Z, Chen Zh and Duan L. 2020. Combining physiological and metabolomic analysis to unravel the regulations of coronatine alleviating water stress in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.). *Biomolecules*, 10(99): 1-16.
- Zarabi M, Alahdadi I, Akbari GA and Akbari GA. 2011. A study on the effects of different biofertilizer combinations on yield, its components and growth indices of corn (*Zea mays* L.) under drought stress condition. *African Journal of Agricultural Research*, 6(3): 681-685.
- Zlatev Z and Lidon FC. 2012. An overview on drought induced changes in plant growth, water relations and photosynthesis. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 57-72.