Archive of SID

تنش‌های محیطی در علوم زراعی
Environmental Stresses in Crop Sciences
جلد سیزدهم، شماره سوم، پائیز ۱۳۹۹
۸۵۷-۸۶۹
http://dx.doi.org/10.22077/escs.2020.2216.1558

مقاله پژوهشی

اثر قطع آبیاری در مراحل زایشی و کاربرد کودهای زیستی و متانول بر عملکرد و برخی صفات بیوشیمیایی نخود (*Cicer arietinum* L.)

رئوف سیدشریفی[1*]، رضا سیدشریفی[2]
۱. استاد دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل
۲. دانشیار دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل

تاریخ دریافت: ۹۷/۱۰/۲۶؛ تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۱/۱۶

چکیده

به‌منظور بررسی اثر قطع آبیاری در مراحل زایشی و کاربرد کودهای زیستی و متانول بر عملکرد و برخی صفات بیوشیمیایی نخود، آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در روستای پیرالقر اردبیل در سال زراعی ۱۳۹۶ اجرا شد. فاکتورهای آزمایشی کاربرد متانول در سه سطح (عدم مصرف به‌عنوان شاهد، کاربرد ۲۰ و ۳۰ درصد حجمی)، کودهای زیستی در چهار سطح (محلول‌پاشی با آب به‌عنوان شاهد، کاربرد ریزوبیوم لگومینوزاروم، کاربرد توأم میکوریز و ریزوبیوم لگومینوزاروم، کاربرد ریزوبیوم لگومینوزاروم با سودوموناس و میکوریز) و سه سطح آبیاری (آبیاری کامل به‌عنوان شاهد، محدودیت شدید آبی یا قطع آبیاری در مرحله گلدهی و محدودیت ملایم آبی یا قطع آبیاری در مرحله شروع نیام‌دهی) را شامل می‌شدند. نتایج نشان داد که قطع آبیاری در مرحله گلدهی، محتوای پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (همچون کاتالاز، پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز) افزایش، ولی محتوای کلروفیل، عملکرد کوانتومی و عملکرد دانه‌ی نخود را کاهش داد. کاربرد متانول فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را کاهش ولی محتوای پرولین، کلروفیل و عملکرد کوانتومی را افزایش داد. همچنین کاربرد کودهای زیستی موجب افزایش محتوای پرولین، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، محتوای کلروفیل، عملکرد کوانتومی و عملکرد دانه شد. آبیاری کامل با مقادیر بالای متانول و کاربرد توأم میکوریز با ریزوبیوم و سودوموناس ۱۱۱ درصد عملکرد دانه را در مقایسه با عدم استفاده از متانول و کودهای زیستی تحت شرایط قطع آبیاری در مرحله گلدهی افزایش داد..

واژه‌های کلیدی: **ریزوبیوم لگومینوزاروم، سودوموناس، عملکرد، میکوریز، محدودیت آبی**

مقدمه

نخود یکی از گیاهان زراعی مهم بوده و به دلیل برخورداری از پروتئین با قابلیت هضم و ارزش بیولوژیکی بالاتر، توانایی تثبیت بیولوژیک نیتروژن، غنی بودن از عناصر غذایی معدنی نظیر فسفر و کلسیم، قابلیت نگهداری و انبارداری بالای بذر از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. عملکرد این گیاه در مناطق خشک و نیمه‌خشک کشور به دلایل مختلفی ازجمله محدودیت آبی در طول دوره‌ی رشد زایشی پایین است. در این راستا کاربرد کودهای زیستی نظیر میکوریز و باکتری‌های محرک رشد (Wu et al., 2005) و متانول (Hadi et al, 2015) می‌توانند از مهم‌ترین روش‌های تعدیل و یا کاهش اثر ناشی از تنش در نظر گرفته شوند.

میکوریزها یکی از میکروارگانیسم‌های مهم خاک بوده و قادرند اثر نامطلوب تنش خشکی را در گیاهان تعدیل نمایند (Auge et al., 2001). نفوذ هیف‌های میکوریزی به مناطقی از خاک که ریشه قادر به حضور در آن مناطق نیست موجب افزایش انتقال و سطح تبادلات مواد غذایی معدنی و آب با ترکیب‌های محلول خاک، افزایش هدایت هیدرولیکی خاک، افزایش نسبت تعرق، کاهش مقاومت روزنه‌ای و تغییر در

* نگارنده پاسخگو: رئوف سیدشریفی. پست الکترونیک: Raouf_ssharifi@Yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

تعادل هورمون‌های گیاهی می‌شود (Al-Karaki et al., 2004). کیائو و همکاران (Qiao et al., 2011) در بررسی اثر قارچ میکوریز آربوسکولار بر مقاومت به خشکی نخود در شرایط کمبود رطوبت خاک، دریافتند همزیستی میکوریزی توجهی موجب بهبود محتوای کلروفیل برگ، شدت فتوسنتز و هدایت روزنه‌ای شد.

باکتری‌های محرک رشد نیز می‌توانند به‌وسیله‌ی مکانیسم‌های مختلفی مانند سنتز فیتوهورمون‌های گیاهی (اکسین، سیتوکینین و جیبرلین)، محلول کردن موادی مانند فسفر، تولید سیدروفورها، جذب عناصر و تثبیت نیتروژن، تأثیر مثبتی بر تحمل گیاه به شرایط تنش، بهبود عملکرد و رشد نخود داشته باشند (Mishra et al., 2010). لیندرمن (Linderman, 1992) اظهار داشت که قارچ‌های میکوریزا با افزایش فعالیت باکتری‌های محرک رشد، موجب افزایش رشد گیاهان می‌شوند. سهرابی و همکاران (Sohrabi et al., 2012) در بررسی اثر قارچ‌های میکوریز بر دو رقم نخود در سطوح مختلف آبیاری دریافتند که تلقیح قارچ‌های میکوریز فعالیت آنزیم‌های پلی‌فنل اکسیداز و پراکسیداز را افزایش داد، به‌علاوه قارچ در هر دو سطح آبیاری کم و کافی، محتوای کلروفیل برگ‌ها را به‌طور معنی‌داری افزایش داد.

بقاء گیاه در شرایط تنش مستلزم توانایی آن در برابر شرایط اسمزی شدید حاصل از خشکی است. در این راستا گیاهان برای تنظیم پتانسیل اسمزی درون سلول، مواد محلول با وزن مولکولی کم و سازگار را تولید و تجمع می‌دهند که در بین آن‌ها پرولین مهم‌ترین اسمولیتی است که تجمع آن با سازگاری به خشکی در بسیاری از گیاهان مرتبط است (Hadi et al, 2015). نگهداری پتانسیل آماس برگ در شرایط تنش، نتیجه‌ی تجمع پرولین در سیتوپلاسم است که موجب بهبود جذب آب از خاک خشک می‌شود (Oraki et al., 2012). کوهلر و همکاران (Kohler et al., 2008) اظهار داشتند که باکتری‌های محرک رشد و میکوریز با افزایش محتوای پرولین در برگ‌های کاهو موجب تعدیل اثرات ناشی از تنش شدید و ملایم خشکی شدند.

یکی دیگر از راه‌کارهای مؤثر در افزایش غلظت دی‌اکسید کربن و کاهش اثر تنش‌های القاشده در گیاهان زراعی به خصوص در گیاهان با مسیر فتوسنتزی C3، استفاده از ترکیباتی مانند متانول است (Ramberg et al., 2002). این ماده به سهولت برای گیاهان قابل‌جذب بوده و در جلوگیری از انجام تنفس نوری، تولید هورمون‌هایی نظیر اکسین و سیتوکینین و افزایش رشد و نمو گیاهان مؤثر است (Dorkhov et al., 2015). نمیک و همکاران (Nemecek et al., 1995) گزارش کردند که محلول‌پاشی متانول روی قسمت‌های هوایی گیاهان زراعی موجب افزایش عملکرد، تسریع در رسیدگی و کاهش اثر تنش خشکی می‌شود. چزکی (Chezki, 2013) بیشترین محتوای پرولین را در کاربرد ۳۰ درصد حجمی متانول گزارش کرد. اکبری و همکاران (Akbari et al., 2014) نشان دادند که محلول‌پاشی متانول با غلظت ۳۰ و ۴۵ درصد حجمی در گل‌گاوزبان موجب کاهش فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز، پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز شد.

گستردگی مناطق خشک و نیمه‌خشک کشور و کمبود نزولات به‌خصوص در سال‌های اخیر ضرورت توجه بیشتر در جهت کاهش یا تعدیل بخشی از اثرات ناشی از محدودیت آبی و بهبود عملکرد در واحد سطح را بیش‌ازپیش مشخص می‌سازد. در این راستا به دلیل اهمیت نخود به‌عنوان یک منبع تأمین‌کننده‌ی پروتئین و از طرف دیگر صدمات جبران‌ناپذیر تنش خشکی به‌خصوص در مراحل رشد زایشی در کاهش عملکرد این گیاه، ضرورت استفاده از روش‌هایی را که موجب کاهش یا تعدیل اثر ناشی از محدودیت آبی می‌شود امری اجتناب‌ناپذیر می‌سازد. ازاین‌رو هدف از این مطالعه، بررسی تأثیر کودهای زیستی و متانول بر عملکرد و برخی صفات بیوشیمیایی نخود در شرایط قطع آبیاری در مراحل زایشی بود.

مواد و روش‌ها

این بررسی به‌صورت فاکتوریل سه عاملی در قالب طرح پایه‌ی بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در مزرعه‌ای در روستای پیرالقر اردبیل با مختصات جغرافیایی ۴۸° درجه و ′۳۰ دقیقه طول شرقی و ۳۸° درجه و ′۱۵ دقیقه عرض شمالی با ارتفاع ۱۳۵۰ متر از سطح دریا در سال ۱۳۹۶ اجرا شد. اقلیم محل اجرای آزمایش از نوع نیمه‌خشک سرد است. متوسط بارش سالیانه آن بر اساس آمار ۳۰ ساله هواشناسی بین ۳۰۰-۲۸۰ میلی‌متر متغیر است. فاکتورهای موردبررسی شامل کاربرد متانول در سه سطح (عدم مصرف به‌عنوان شاهد، کاربرد ۲۰ و ۳۰ درصد حجمی)، کودهای زیستی در چهار سطح (عدم استفاده به‌عنوان شاهد، کاربرد ریزوبیوم لگومینوزاروم، کاربرد توأم میکوریز و ریزوبیوم لگومینوزاروم، کاربرد ریزوبیوم لگومینوزاروم با سودوموناس و میکوریز) و سه سطح آبیاری

www.SID.ir

Archive of SID

(آبیاری کامل به‌عنوان شاهد، محدودیت ملایم آبی یا قطع آبیاری در مرحله شروع نیام‌دهی و محدودیت شدید آبی یا قطع آبیاری در مرحله شروع گلدهی) بود. به‌منظور افزایش همزیستی میکوریزی از قارچ *Glomus mosseae* و بذور ضدعفونی نشده استفاده شد. این قارچ‌ها از شرکت زیست فناوران توران تهیه شد. تلقیح با قارچ میکوریز به روش استاندارد و توصیه‌شده جیانینازی و همکاران (Gianinazzi et al, 2001) و به مقدار ۲۰ گرم قارچ در هر مترمربع خاک (۲۰۰ کیلوگرم در هر هکتار) استفاده شد.

آزمایش در یک قطعه زمینی انجام شد که دو سال قبل از اجرا، گیاهی کشت نشده بود. در بهار به‌محض مساعد شدن شرایط اقلیمی، کاشت با دست در عمق ۴ تا ۵ سانتیمتری و به‌صورت هیرم‌کاری انجام شد. رقم مورداستفاده ILC482 بود. این رقم نیمه پاکوتاه و نیمه ایستاده است. به بیماری برق زدگی مقاوم بوده و از تحمل بالایی به سرما به‌خصوص سرمای ابتدای فصل برخوردار است. در مرحله ۴ تا ۵ برگی به‌منظور اعمال تراکم مناسب بوته‌ها (۳۵ بوته در مترمربع) که تراکم مطلوب و توصیه‌شده برای این رقم است گیاهچه‌ها تنک شدند.

برای تلقیح بذر با ریزوبیوم لگومینوزاروم و سودوموناس از مایه تلقیحی که هر گرم آن دارای 10^7 عدد باکتری زنده و فعال بود، استفاده شد. همچنین از محلول صمغ عربی برای چسبندگی بهتر مایه تلقیح به بذرها استفاده شد. تمامی بذرها به مدت دو ساعت به‌منظور تماس بهتر بذر با باکتری در مایه تلقیح در شرایط تاریکی قرار داده شدند. محلول‌پاشی با متانول در دو مرحله از رشد (طی رشد رویشی و اوایل گلدهی) بر اساس سطوح متانول انجام شد. به هرکدام از محلول‌های تهیه‌شده با متانول دو گرم در لیتر گلیسین به‌منظور جلوگیری از صدمات ناشی از سمیت متانول اضافه شد.

هر واحد آزمایشی شامل پنج ردیف سه متری با فاصله بین ردیفی ۵۰ سانتیمتر بود. بین هر واحد آزمایشی حداقل ۱/۵ متر فاصله نکاشت به‌منظور جلوگیری از اثر محلول‌پاشی و نشت آب به کرت‌های مجاور قرار داده شد. برای اندازه‌گیری رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی از روش آرنون (Arnon,1949) استفاده شد. برای این منظور ۰/۲ گرم از بافت برگ را با استن ۸۰ درصد به‌تدریج له کرده تا کلروفیل وارد محلول استونی شود و درنهایت حجم محلول با استن ۸۰ درصد به حجم ۲۰ میلی‌لیتر رسانده شد. محلول حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۰۰۰ دور سانتریفوژ شد و سپس جذب نوری محلول رویی در طول‌موج‌های ۴۷۰، ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر توسط اسپکتروفوتومتر قرائت شد. محتوای کلروفیل و کارتنوئیدها بر اساس روابط یک تا چهار و برآورد شدند.

کلروفیل a =

$$(19.3 \times A_{663} - 0.86 \times A_{645})\ V/\ 100W \qquad [۱]$$

کلروفیل b =

$$(19.3 \times A_{645} - 3.6 \times A_{663})\ V\ /\ 100W \qquad [۲]$$

$$\text{کلروفیل کل} = \text{کلروفیل a} + \text{کلروفیل b} \qquad [۳]$$

کاروتنوئید =

$$(100\times A_{470} - 3.27\times C_a - 104\times C_b)\ /\ 227 \qquad [۴]$$

در این روابط V حجم استون استفاده‌شده و W وزن نمونه گیاهی استفاده شده است.

میزان پرولین با استفاده از روش بیتز و همکاران (Bates et al.,1973) و برای سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنولاز) از روش سودهکار و همکاران (Sudhakar et al., 2001) استفاده شد. برای اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل در مرحله‌ی پر شدن دانه در هر واحد آزمایشی سه بوته و در هر بوته از چهار برگ انتهایی، توسط دستگاه فلورسانس کلروفیل (OS-30p) (در فاصله زمانی ساعت ۱۰-۸ صبح) انتخاب و بعد از ۳۰ دقیقه تاریکی توسط کلیپس‌های مخصوص، Fv/Fm اندازه‌گیری شد. عملکرد دانه با برداشت از سطحی معادل یک مترمربع از خطوط اصلی هر کرت بعد از حذف اثر حاشیه‌ای برآورد شد. برای تجزیه داده‌ها و رسم نمودارها از نرم‌افزارهای SAS ۹,۱ و Excel استفاده شد و میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد مقایسه شدند.

نتایج و بحث

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر ترکیب تیماری هر سه عامل سطوح آبیاری، متانول، کودهای زیستی بر کارایی فوتوشیمیایی فوتوسیستم دو، فعالیت آنزیم پلی‌فنولاز، محتوای کلروفیل a، کلروفیل کل و عملکرد دانه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). محتوای پرولین تحت تأثیر ترکیب تیماری آبیاری در کودهای زیستی و آبیاری در متانول در سطح احتمال یک درصد، فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت تأثیر ترکیب تیماری متانول در کودهای زیستی در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شد. فعالیت

www.SID.ir

Archive of SID

آنزیم کاتالاز تحت تأثیر ترکیب تیماری آبیاری در کودهای زیستی، آبیاری در متانول، کودهای زیستی در متانول در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. محتوای کلروفیل b و کارتنوئید تحت تأثیر ترکیب تیماری آبیاری در کود زیستی در سطح یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱).

محتوای رنگیزه‌های کلروفیلی

نتایج نشان داد بالاترین محتوای کلروفیل a و کلروفیل کل (به ترتیب ۳/۰۵ و ۴/۰۵ میلی‌گرم در هر گرم وزن تر برگ) در شرایط آبیاری کامل، محلول‌پاشی ۳۰ درصد متانول و کاربرد توأم میکوریز با ریزوبیوم و سودوموناس و کمترین این مقادیر (به ترتیب ۱/۳۶ و ۱/۶۴ میلی‌گرم در هر گرم وزن تر برگ) در شرایط قطع آبیاری در مرحله گلدهی و عدم استفاده از متانول و کود زیستی به دست آمد (جدول ۲).

مقایسه میانگین اثر سطوح آبیاری در کودهای زیستی نشان داد که بالاترین محتوای کلروفیل b و کارتنوئید (به ترتیب ۰/۸۰۵ و ۰/۸۳۴ میلی‌گرم در گرم وزن تر برک) در شرایط آبیاری کامل و کاربرد توأم میکوریز با ریزوبیوم و سودوموناس و کمترین آن‌ها (به ترتیب ۰/۳۵ و ۰/۴۳۱ میلی گرم در گرم وزن تر برگ) در شرایط قطع آبیاری در مرحله گلدهی و عدم کاربرد کودهای زیستی به دست آمد (جدول ۳). کاهش محتوای کلروفیل در شرایط تنش خشکی نشانه‌ای از تنش اکسیداتیو است و ممکن است با افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز منجر به تخریب کلروفیل و اکسیداسیون نوری رنگ دانه‌ها شود (Oraki et al., 2012). هرچند برخی از محققین علاوه بر تأثیر کلروفیلاز در تجزیه کلروفیل، فعالیت آنزیم پراکسیداز و ترکیبات فنلی را نیز در این رابطه دخیل دانسته‌اند (Hadi et al, 2015). کاربرد کودهای زیستی منجر به بهبود محتوای کلروفیل شد. سانازارو و همکاران (Sannazzaro et al., 2005) گزارش کردند که گیاهان تلقیح شده با قارچ میکوریز گونه *Glomus intraradices* میزان کلروفیل بالاتری نسبت به گیاهان بدون تلقیح داشتند. برخی محققان اظهار داشتند که در حضور باکتری‌های محرک رشد حاوی ACC دی آمیناز، ساخت اتیلن به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد و همین امر موجب می‌شود تجزیه کلروفیل کاهش یابد (Seyed Sharifi and Namvar, 2016). دمیر (Demir, 2004) افزایش محتوای کلروفیل را در گیاهان میکوریزی در مقایسه با عدم کاربرد میکوریز بـه بهبود جذب فسفر نسبت داد. حسین‌زاده و همکاران (Hossinzadeh et al., 2012) بالاترین محتوای کلروفیل a، b، کاروتنوئید و کلروفیل کل نخود را با کاربرد غلظت متانول ۳۰ درصد حجمی مشاهده کردند. بالاترین مقدار کلروفیل کل در گیاه سویا (Mirakhori et al, 2009) با مصرف غلظت۱۴ و ۲۱ درصد حجمی متانول، در لوبیا با مصرف غلظت ۲۰ و ۲۵ درصد حجمی متانول به دست آمد (Mirakhori et al, 2012).

فلکساس و مدرانو (Flexas and Medrano, 2008) اظهار داشتند که تنش خشکی منجر به تولید گونه‌های فعال اکسیژن و افزایش رادیکال‌های آزاد می‌شود و عدم حضور مکانیسم‌های محافظتی جهت حذف آن‌ها موجب تخریب پروتئین‌ها، تجزیه کلروفیل و کاهش محتوای کلروفیل a و b می‌شود. ولی محلول‌پاشی متانول با تجمع اسمولیت‌هایی مانند پرولین (Ashraf and Iram, 2005) و اکسیداسیون سریع آن به دی‌اکسید کربن موجب افزایش غلظت CO_2 و کاهش اثر ناشی از تنش خشکی در جذب CO_2 می‌شود (Zebbic et al., 1999). از طرفی سنتز بیشتر پرولین منجر به پایداری بیشتر غشا و هدر رفت کمتر آب از غشاهای سلولی می‌شود (Bayoumi et al., 2008) درنتیجه اثرات ناشی از محدودیت آبی که توأم با تولید گونه‌های فعال اکسیژن و تحریک تولید فعالیت آنزیم کلروفیلاز است تا حدود زیادی با کاربرد متانول تعدیل شد.

محتوای پرولین

مقایسه میانگین اثر ترکیب تیماری سطوح آبیاری در کودهای زیستی بر محتوای پرولین نشان داد که بیشترین محتوای پرولین (۹/۲۶ میکروگرم بر گرم وزن تر برگ) در شرایط قطع آبیاری در مرحله گلدهی و کاربرد توأم میکوریز با ریزوبیوم و سودوموناس و کمترین این مقدار (۴/۶۶ میکروگرم بر گرم وزن تر برگ) در حالت آبیاری کامل و عدم استفاده از کودهای زیستی به دست آمد (جدول ۳). نتایج مشابهی نیز مبنی بر افزایش محتوای پرولین به‌واسطه‌ی کاربرد کودهای زیستی در شرایط تنش در تریتیکاله توسط خیری‌زاده و همکاران (Kheirizadeh Arough et al., 2016) گزارش شده است. مقایسه میانگین اثر ترکیب تیماری سطوح آبیاری در متانول بر محتوای پرولین نشان داد که بیشترین محتوای پرولین (۹/۹ میکروگرم بر گرم وزن تر برگ) در شرایط قطع آبیاری در مرحله گلدهی و کاربرد مقادیر بالایی از متانول و کمترین این مقدار (۴/۰۵۵ میکروگرم بر گرم وزن تر برگ) در حالت

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱. تجزیه واریانس تأثیر سطوح آبیاری، متانول و کودهای زیستی بر برخی صفات بیوشیمیایی نخود

Table 1. Analysis of variance the effects of irrigation levels, methanol and bio fertilizers on some biochemical traits of chickpea

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	کارتنوئید carotenoid	F_V/F_m	پرولین proline	پراکسیداز peroxidase	پلی فنل اکسیداز Peroxidase
تکرار Replication	2	1.086**	0.038**	5.351**	3730.86**	1763.01**
سطوح آبیاری Irrigation levels (I)	2	0.906**	0.814**	112.41**	5177.90**	41552.34**
کودهای زیستی Bio fertilizers (B)	3	0.461**	0.234**	34.907**	10416.1**	6248.74**
متانول Methanol (M)	2	0.039**	0.015**	3.387**	1099.07**	578.35**
آبیاری × کودهای زیستی I × B	6	0.009**	0.033**	1.613**	37.77	623.69**
آبیاری × متانول I × M	4	0.0002	0.0004**	0.409**	4.39	80.71**
متانول × کود زیستی B × M	6	0.0006	0.00008	0.0386	162.44*	42.30**
آبیاری × متانول × کود زیستی B × M × I	12	0.0014	0.0002**	0.0748	12.66	24.58**
خطای آزمایشی Error	70	0.0023	0.00007	0.0533	68.41	8.86

Table 1. Continued **جدول ۱. ادامه**

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	کاتالاز Catalase	کلروفیل a chlorophyll a	کلروفیل b chlorophyll b	کلروفیل کل chlorophyll total	عملکرد دانه Grain yield
تکرار Replication	2	957**	1.794**	0.285**	3.48**	76198**
سطوح آبیاری Irrigation levels (I)	2	7091**	3.172**	1.25**	8.27**	1293372**
کودهای زیستی Bio fertilizers (B)	3	1754**	4.697**	0.25**	7.13**	183565**
متانول Methanol (M)	2	195**	0.4213**	0.022**	0.63**	175365**
آبیاری × کودهای زیستی I × B	6	46**	0.029**	0.023**	0.088**	16966.5**
آبیاری × متانول I × M	4	5.8*	.0045	0.0019	0.0114	296**
متانول × کود زیستی B × M	6	22**	0.024**	0.0027	0.0416*	236**
آبیاری × متانول × کود زیستی B × M × I	12	3.6	0.027**	0.001	0.035**	392**
خطای آزمایشی Error	70	2.3	0.00686	0.003	0.014	64.5

*، ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

and P≤0.01, respectively. * and ** are non-significant, significant at P≤0.05

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲. مقایسه میانگین اثر ترکیب تیماری سطوح آبیاری، کاربرد متانول و کودهای زیستی بر برخی صفات نخود

Table 2. Means comparison of the effects of irrigation levels, methanol and bio fertilizers on some traits of chickpea

ترکیب تیماری treatments	F_v/F_m	پلی فنل اکسیداز OD	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل کل Total chlorophyll	عملکرد دانه Grain yield
		(µg protein min^{-1})	(mg/g FW)		(kg/ha)
$I_1\times M_1\times B_1$	0.660^{ml}	48.2^{lm}	1.86^{npoq}	2.48^{jklm}	1048.3^{m}
$I_1\times M_1\times B_2$	0.670^{l}	48.9l	1.9^{npo}	2.52^{ijklm}	1155^{i}
$I_1\times M_1\times B_3$	0.713^{ijk}	50.1^{l}	1.97^{mn}	2.6^{1ijkh}	1182.7^{h}
$I_1\times M_1\times B_4$	0.730^{h}	50.4^{l}	2.12^{ijkh}	2.78^{fgh}	1207.5^{g}
$I_1\times M_2\times B_1$	0.703^{jk}	37.7^{po}	2.21^{ghi}	2.89^{ef}	1112.9^{k}
$I_1\times M_2\times B_2$	0.720^{hi}	41.4^{no}	2.25^{fgh}	2.95^{def}	1252.9^{f}
$I_1\times M_2\times B_3$	0.730^{h}	$41.7^{\backslash no}$	2.29^{fg}	3.006^{ed}	1267.9^{e}
$I_1\times M_2\times B_4$	0.746^{g}	44.0^{mn}	2.32^{efg}	3.06^{de}	1296.8^{d}
$I_1\times M_3\times B_1$	0.850^{d}	27.1^{q}	2.35^{ef}	3.14^{cd}	1246.3^{f}
$I_1\times M_3\times B_2$	0.893^{c}	28.6^{q}	2.73^{c}	3.6^{b}	1365.0^{c}
$I_1\times M_3\times B_3$	0.913^{b}	35.4^{p}	2.88^{b}	3.97^{b}	1417.9^{b}
$I_1\times M_3\times B_4$	0.933^{a}	37.6^{po}	3.05^{a}	4.05^{a}	1455^{a}
$I_2\times M_1\times B_1$	0.550^{q}	71.2^{g}	1.59^{r}	2.05^{rq}	882.5^{t}
$I_2\times M_1\times B_2$	0.580^{p}	79.7^{f}	1.75^{q}	2.21^{poq}	1028.4^{n}
$I_2\times M_1\times B_3$	0.600^{o}	80.9^{f}	1.81^{opq}	2.28^{nop}	1040.7^{m}
$I_2\times M_1\times B_4$	0.610^{n}	83.4^{ef}	1.9^{npo}	2.83^{mnol}	1076.2^{l}
$I_2\times M_2\times B_1$	0.660^{m}	64.8^{hi}	1.98^{mnl}	2.48^{jklm}	924.5^{rs}
$I_2\times M_2\times B_2$	0.700^{k}	68.5^{gh}	2.05^{jklm}	2.56^{ijkl}	1050^{m}
$I_2\times M_2\times B_3$	0.710^{ijh}	68.8^{gh}	2.11^{ijkl}	2.64^{ijk}	1064.5^{l}
$I_2\times M_2\times B_4$	0.720^{hi}	70.2^{g}	2.75^{ijh}	2.69^{hi}	1072.2^{l}
$I_2\times M_3\times B_1$	0.786^{f}	56.8^{k}	2.34^{efg}	2.89^{fg}	955.5^{q}
$I_2\times M_3\times B_2$	0.803^{e}	$58.5j^{k}$	2.45^{de}	3.02^{de}	1107.2^{k}
$I_2\times M_3\times B_3$	0.816^{e}	62.2^{ij}	2.5^{d}	3.08^{de}	1129.9^{j}
$I_2\times M_3\times B_4$	0.840^{d}	62.3^{ij}	2.17^{c}	3.32^{c}	1142.2^{ij}
$I_3\times M_1\times B_1$	0.443^{y}	117.2^{c}	1.36^{t}	1.64^{t}	693.6^{x}
$I_3\times M_1\times B_2$	0.440^{y}	127.9^{b}	1.39^{t}	1.71^{st}	830.4^{v}
$I_3\times M_1\times B_3$	0.463^{x}	135.9^{a}	1.45^{st}	1.77^{st}	847.4^{u}
$I_3\times M_1\times B_4$	0.483^{vw}	140.7^{a}	$1.48^{rs}t$	1.8^{st}	876.9^{t}
$I_3\times M_2\times B_1$	0.460^{x}	103.9^{d}	1.51^{rs}	1.86^{rs}	747.8^{w}
$I_3\times M_2\times B_2$	0.470^{xw}	106.6^{d}	1.77^{pq}	2.14^{pq}	884.1^{t}
$I_3\times M_2\times B_3$	0.480^{vw}	107.1^{d}	1.79^{poq}	2.17^{pq}	912.8^{s}
$I_3\times M_2\times B_4$	0.510^{st}	113.2^{c}	1.92^{mno}	2.33^{mnop}	932.4^{r}
$I_3\times M_3\times B_1$	0.490^{vu}	79.9^{f}	1.96^{mn}	2.38^{mnlo}	819.3^{v}
$I_3\times M_3\times B_2$	0.50^{ut}	79.9^{f}	1.99^{klmn}	2.43^{klmn}	959.1^{q}
$I_3\times M_3\times B_3$	0.520^{sr}	87.9^{e}	2.05^{jklm}	2.48^{jklm}	974.1^{p}
$I_3\times M_3\times B_4$	0.530^{r}	102.3^{d}	2.21^{ghi}	2.69^{ghi}	992.2^{o}
LSD	.0138	4.84	0.134	0.195	13.07

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون اختلاف آماری معنی‌داری باهم بر اساس آزمون LSD ندارند.

I1، I2 و I3 به‌ترتیب آبیاری کامل به‌عنوان شاهد، محدودیت ملایم آبی یا قطع آبیاری در مرحله شروع نیام‌دهی و محدودیت شدید آبی یا قطع آبیاری در مرحله شروع گلدهی؛ M_1، M_2 وM_3 به‌ترتیب محلول پاشی با آب به‌عنوان شاهد، کاربرد ۲۰ و ۳۰ درصد حجمی متانول؛ B_1، B_2، B_3 و B_4 به‌ترتیب عدم استفاده به‌عنوان شاهد، کاربرد ریزوبیوم لگومینوزاروم، کاربرد توأم میکوریز و ریزوبیوم لگومینوزاروم، کاربرد ریزوبیوم لگومینوزاروم با سودوموناس و میکوریز.

Means with similar letters in each column are not significantly different according by LSD test.

I_1, I_2 and I_3 are full irrigation as control, moderate water limitation or irrigation withholding at podding, severe water limitation or irrigation withholding at flowering stage; M_1, M_2 and M_3 are foliar application with water as control, application 20 and 30 volume percent; B_1, B_2, B_3 and B_4 are no application as control, *Rhizobium legominozarum* application, both application mycorhyza+ *Rhizobium legominozarum*, application of mycorhyza+ *Rhizobium legominozarum* +*Psesomonas*

آبیاری کامل و عدم استفاده از متانول به دست آمد (جدول ۴). میتی و همکاران (Maiti et al., 2002) نیز اظهار داشتند زمانی که گیاهان در معرض محدودیت آبی قرار می‌گیرند، مقدار پرولین برگ‌ها افزایش می‌یابد که می‌تواند در حفظ تورژسانس سلول‌های گیاهی در واکنش به افت پتانسیل آب سلول و خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد و تنظیم پتانسیل

www.SID.ir

Archive of SID

ردوکس در شرایط تنش نقش اساسی ایفا نماید. تجمع پرولین تحت شرایط تنش ممکن است به دلیل کاهش اکسیداسیون پرولین یا تحریک سنتز آن از گلوتامات یا افزایش فعالیت آنزیم پروتئاز باشد (Hadi et al, 2015). متانول محلول‌پاشی شده بر روی برگ نیز توسط آنزیم متانول اکسیداز و با از دست دادن پروتون H^+ تبدیل به فرمات (متانوئیک اسید) می شود. فرمات در مرحله بعد توسط آنزیم فرمات دهیدروژناز تبدیل به CO_2 و H^+ می‌شود (Nonomera and Benson, 1992). از طرف دیگر گزارش شده آنزیم پرولین-۵ کربوکسیلات سنتتاز (P5CS) در شرایط اسیدی بیشترین فعالیت را دارد (Yordanov et al., 2003). به نظر می‌رسد متانول با کاهش pH در گیاه منجر به افزایش فعالیت آنزیم پرولین ۵ - کربوکسیلات سنتتاز و در نهایت منجر به تجمع پرولین در برگ شد.

کارایی فوتوشیمیایی فوتوسیستم دو (Fv/Fm)

نتایج نشان داد که کمترین نسبت (۰/۴۴۳) در شرایط قطع آبیاری در مرحله گلدهی و عدم استفاده از متانول و کودهای زیستی و بیشترین این مقدار (۰/۹۳۳) در شرایط آبیاری کامل و کاربرد ۳۰ درصد متانول و استفاده توأم از میکوریز با ریزوبیوم و سودوموناس به دست آمد (جدول ۲). به نظر می رسد در تیمارهایی که نسبت **Fv/Fm**کمتر است، دستگاه فتوسنتزی در آن‌ها به خشکی حساس‌تر است و احتمال داده می‌شود که تنش کم‌آبی با اختلال در انتقال الکترون در واکنش مربوط به تجزیه آب به بروز این پدیده کمک کرده و کارایی کوانتومی فتوسنتز خالص، کاهش یافته است. در این آزمایش به نظر می‌رسد بخشی از افزایش در عملکرد کوانتومی ناشی از بهبود محتوای کلروفیل گیاه (جدول‌های ۲ و ۳) به علت کاربرد متانول و کودهای زیستی باشد. محلول‌پاشی با متانول به دلیل اکسیداسیون سریع این ماده و تبدیل به دی اکسید کربن موجب افزایش غلظت CO_2 و کاهش تنفس نوری شده و به نظر می‌رسد از این طریق در بهبود عملکرد کوانتومی مؤثر بوده است. در این راستا نانومرا و بنسون (Nonomera and Benson, 1992) نشان دادند که محلول پاشی با متانول در گیاهان سه کربنه می‌تواند با خاصیت ضد تنشی خود، موجب افزایش حفاظت نوری گیاه شده و گیاه را از صدمات وارده به دستگاه فتوسنتزی حفاظت نموده و در بهبود عملکرد کوانتومی گیاه مؤثر باشد.

جدول ۳. مقایسه میانگین اثر ترکیب تیماری سطوح آبیاری و کودهای زیستی بر برخی صفات بیوشیمیایی نخود

Table 3. Means comparison of the effects of irrigation levels, methanol and bio fertilizers on some biochemical traits of chickpea

ترکیب تیماری Treatment	پرولین proline	کاتالاز Catalase	کلروفیلb chlorophyll	کارتنوئید carotenoid
	(µg/g FW)	(OD µg protein min^{-1})	---------- (mg/g FW) ----------	
$I_1 \times B_1$	4.66^{d}	30.75^{f}	0.696^{b}	0.743^{abc}
$I_1 \times B_2$	4.94^{d}	32.09^{f}	0.733^{a}b	0.778^{ab}
$I_1 \times B_3$	5.13^{d}	33.72^{ef}	0.753^{ab}	0.810^{a}
$I_1 \times B_4$	5.32^{d}	35.95^{efd}	0.805^{a}	0.834^{a}
$I_2 \times B_1$	6.50^{d}	38.44^{cde}	0.503^{c}	0.611^{de}
$I_2 \times B_2$	6.83^{d}	40.52^{cd}	0.516^{c}	0.633^{d}
$I_2 \times B_3$	6.91^{d}	41.06^{cd}	0.528^{c}	0.666^{cd}
$I_2 \times B_4$	7.00^{d}	43.97^{c}	0.546^{c}	0.691^{bcd}
$I_3 \times B_1$	7.96^{b}	57.02^{b}	0.35^{d}	0.431^{f}
$I_3 \times B_2$	8.21^{b}	58.69^{b}	0.371^{d}	0.452^{f}
$I_3 \times B_3$	8.76^{ab}	60.79^{ab}	0.377^{d}	0.49^{f}
$I_3 \times B_4$	9.26^{a}	65.25^{a}	0.400^{d}	0.51^{ef}
LSD	0.869	6.13	0.089	

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون اختلاف آماری معنی‌داری با هم بر اساس آزمون LSD ندارند.

I1، I2 و I3 به‌ترتیب آبیاری کامل به‌عنوان شاهد، محدودیت ملایم آبی یا قطع آبیاری در مرحله شروع نیام‌دهی و محدودیت شدید آبی یا قطع آبیاری در مرحله شروع گلدهی؛ B_1، B_2، B_3 و B_4 به‌ترتیب عدم استفاده به‌عنوان شاهد، کاربرد ریزوبیوم لگومینوزاروم، کاربرد توأم میکوریز و ریزوبیوم لگومینوزاروم، کاربرد ریزوبیوم لگومینوزاروم با سودوموناس و میکوریز.

Means with similar letters in each column are not significantly different according by LSD test

I_1, I_2 and I_3 are full irrigation as control, moderate water limitation or irrigation withholding at podding, severe water limitation or irrigation withholding at flowering stage; M_1, M_2 and M_3 are foliar application with water as control, application 20 and 30 volume percent; B_1, B_2, B_3 and B_4 are no application as control, *Rhizobium legominozarum* application, both application mycorhyza+ *Rhizobium legominozarum*, application of mycorhyza+ *Rhizobium legominozarum* +*Psesomonas*

www.SID.ir

Archive of SID

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

نتایج نشان داد حداکثر فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز (۱۴۰/۷۱ تغییرات جذب در میکروگرم پروتئین در دقیقه) در شرایط قطع آبیاری در مرحله گلدهی، کاربرد کودهای زیستی و عدم استفاده از متانول به دست آمد (جدول ۲). کمترین فعالیت این آنزیم (۲۷/۱۲ تغییرات جذب در میکروگرم پروتئین در دقیقه) در شرایط آبیاری کامل با محلول‌پاشی ۳۰ درصد متانول و عدم استفاده از کودهای زیستی به دست آمد (جدول ۲). مقایسه میانگین اثر ترکیب تیماری سطوح آبیاری در کودهای زیستی بر فعالیت آنزیم کاتالاز نشان داد که بیشترین این فعالیت (۶۵/۲۵ تغییرات جذب در میکروگرم پروتئین در دقیقه) در شرایط قطع آبیاری در مرحله گلدهی و کاربرد توأم میکوریز با ریزوبیوم و سودوموناس و کمترین این مقدار (۳۰/۷۵ تغییرات جذب در میکروگرم پروتئین در دقیقه) در حالت آبیاری کامل و عدم استفاده از کودهای زیستی به دست آمد (جدول ۳). مقایسه میانگین اثر ترکیب تیماری سطوح آبیاری در متانول بر فعالیت آنزیم کاتالاز نشان داد که بیشترین این فعالیت (۶۹/۹۳ تغییرات جذب در میکروگرم پروتئین در دقیقه) در شرایط قطع آبیاری در مرحله گلدهی و عدم کاربرد متانول و کمترین این مقدار (۲۶/۷ تغییرات جذب در میکروگرم پروتئین در دقیقه) در حالت آبیاری کامل و کاربرد سطوح بالایی از متانول به دست آمد (جدول ۴).

مقایسه میانگین اثر ترکیب تیماری سطوح متانول در کودهای زیستی بر فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز نشان داد که بیشترین این فعالیت‌ها (به ترتیب ۵۸/۰۲ و ۱۲۶/۴۸ تغییرات جذب در میکروگرم پروتئین در دقیقه) در شرایط عدم محلول‌پاشی با متانول و کاربرد توأم میکوریز با ریزوبیوم و سودوموناس و کمترین این مقدار (به ترتیب ۳۵/۱۱ و ۷۸/۵۱ تغییرات جذب در میکروگرم پروتئین در دقیقه) در حالت کاربرد سطوح بالای متانول و عدم استفاده از کودهای زیستی به دست آمد (جدول ۵). به نظر می‌رسد زمانی که گیاهان در معرض تنش‌های مختلف محیطی قرار می‌گیرند افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌تواند نقش مهمی را در کاهش اثر مخرب تنش‌های اکسیداتیو، سمیت‌زدایی گونه‌های فعال اکسیژنی و افزایش توان تحملی گیاهان به تنش‌های مختلف محیطی و کاهش اثرات مخرب تنش اکسیداتیو ایفا کند (Ahmad and Prasad, 2012).

جدول ۴. مقایسه میانگین اثر ترکیب تیماری سطوح آبیاری و متانول بر محتوای پرولین و فعالیت آنزیم کاتالاز نخود

Table 4. Means comparison of the effects of irrigation levels and methanol on proline content and Catalase activity of chickpea

ترکیب تیماری Treatment	پرولین proline	کاتالاز Catalase
	(µg/g FW)	(OD µg protein min^{-1})
$I_1 \times M_1$	4.055	40.12e
$I_1 \times M_2$	4.94f	32.5g
$I_1 \times M_3$	6.06e	26.705h
$I_2 \times M_1$	6.25e	46.15d
$I_2 \times M_2$	6.71d	41.58e
$I_2 \times M_3$	7.46c	35.67f
$I_3 \times M_1$	9.9a	69.93a
$I_3 \times M_2$	8.33b	59.27b
$I_3 \times M_3$	7.34c	52.16c
LSD	0.344	2.54

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون اختلاف آماری معنی‌داری با هم بر اساس آزمون LSD ندارند.

I1، I2 و I3 به‌ترتیب آبیاری کامل به‌عنوان شاهد، محدودیت ملایم آبی یا قطع آبیاری در مرحله شروع نیام‌دهی و محدودیت شدید آبی یا قطع آبیاری در مرحله شروع گلدهی؛ M_1، M_2 و M_3 به‌ترتیب محلول پاشی با آب به‌عنوان شاهد، کاربرد ۲۰ و ۳۰ درصد حجمی متانول.

Means with similar letters in each column are not significantly different according by LSD test

I_1, I_2 and I_3 are full irrigation as control, moderate water limitation or irrigation withholding at podding, severe water limitation or irrigation withholding at flowering stage; M_1, M_2 and M_3 are foliar application with water as control, application 20 and 30 volume percent.

دووین و همکاران (Downie et al., 2004) اظهار داشتند که یکی از نقش‌های مهم محلول‌پاشی با متانول جلوگیری از کاهش اثر تنش‌های القاشده به گیاهان زراعی در اثر انجام تنفس نوری در آن‌هاست. ازآنجایی‌که متانول در مقایسه با دی‌اکسید کربن به‌راحتی توسط گیاهان، جذب‌شده و مورداستفاده قرار می‌گیرد. ازاین‌رو به دلیل متابولیزه شدن سریع متانول به دی‌اکسید کربن (Gout et al., 2000) و افزایش میزان CO_2 منجر به تشدید فعالیت کربوکسیلازی آنزیم روبیسکو می‌گردد. بنابراین تولید مجدد $NADP^+$ توسط سیکل کالوین افزایش‌یافته و به دنبال آن چرخه انتقال الکترون فتوسنتزی نیز افزایش می‌یابد که این امر منجر به کاهش تولید رادیکال‌های سوپر اکسید و اکسیژن منفرد در کلروپلاست‌ها می‌شود. به نظر می‌رسد کاهش فعالیت آنزیم-های پراکسیداز و کاتالاز را می‌توان به کاهش تنش‌های القاشده در طی فرآیند تنفس نوری از قبیل کاهش میزان پراکسید هیدروژن و سوپراکسید هیدروژن در برگ‌ها نسبت داد. از طرفی در شرایط محدودیت آبی با بسته شدن روزنه‌ها

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۵. مقایسه میانگین اثر ترکیب تیماری متانول و کودهای زیستی بر فعالیت آنزیم پراکسیداز و کاتالاز نخود

Table 5. Means comparison of the effects of methanol and bio fertilizers on Peroxidase and Catalase activity of chickpea

ترکیب تیماری Treatment	پراکسیداز Peroxidase	کاتالاز Catalase
	---------- (OD µg protein min-1) ----------	
$M_1 \times B_1$	116.04^{abc}	48.59^{abc}
$M_1 \times B_2$	121.14^{ab}	49.29^{abc}
$M_1 \times B_3$	124.36^{a}	52.15^{ab}
$M_1 \times B_4$	126.48^{a}	58.02^{a}
$M_2 \times B_1$	105.35^{cd}	42.52^{bcd}
$M_2 \times B_2$	108.30^{cd}	43.82^{bcd}
$M_2 \times B_3$	110.97^{bcd}	45.01^{bcd}
$M_2 \times B_4$	114.52^{abcd}	46.46^{abcd}
$M_3 \times B_1$	78.51^{e}	35.11^{d}
$M_3 \times B_2$	82.11^{e}	38.19^{cd}
$M_3 \times B_3$	89.45^{e}	38.60^{cd}
$M_3 \times B_4$	103.52^{d}	40.69^{cd}
LSD	*12*	*11.67*

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون اختلاف آماری معنی‌داری با هم بر اساس آزمون LSD ندارند.

M_1، M_2 و M_3 به‌ترتیب محلول پاشی با آب به‌عنوان شاهد، کاربرد ۲۰ و ۳۰ درصد حجمی متانول؛ B_1، B_2، B_3 و B_4 به‌ترتیب عدم استفاده به‌عنوان شاهد، کاربرد ریزوبیوم لگومینوزاروم، کاربرد توأم میکوریز و ریزوبیوم لگومینوزاروم، کاربرد ریزوبیوم لگومینوزاروم با سودوموناس و میکوریز.

Means with similar letters in each column are not significantly different according by LSD test.

M_1, M_2 and M_3 are foliar application with water as control, application 20 and 30 volume percent; B_1, B_2, B_3 and B_4 are no application as control, *Rhizobium legominozarum* application, both application mycorhyza+ *Rhizobium legominozarum*, application of mycorhyza+ *Rhizobium legominozarum* +*Psesomonas*

ورود CO_2 به داخل سلول‌های برگی نیز کاهش‌یافته و فعالیت کربوکسیلاسیون آنزیم روبیسکو برای تولید کربوهیدرات موردنیاز گیاه با تأخیر مواجه می‌شود. در این حالت مولکول های پرانرژی ATP و NADPH که در جریان مرحله نوری فتوسنتز تولیدشده، مصرف نشده و اکسیژن به‌عنوان پذیرنده الکترون‌ها عمل کرده و منجر به تشکیل رادیکال‌های سوپراکسید می‌شود (Yordanov et al., 2003). درنهایت رادیکال‌های تولیدشده از طریق آوند آبکش به بخش‌های پایین‌تر گیاه منتقل‌شده و علاوه بر آسیب رساندن به انتقال فعال منجر به افزایش گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن در ریشه‌ها می‌شود (Armand et al., 2016). ولی متانول با تبدیل به CO_2 درون سلول‌های برگی موجب افزایش غلظت CO_2 شده و با انجام عمل فتوسنتز و ماده سازی بیشتر، منجر به مصرف ATP و NADPH تولیدشده در زنجیره انتقال الکترون می‌گردد و بدین طریق از تجمع آن در کلروپلاست سلول‌های برگی و تشکیل سوپراکسید جلوگیری می‌شود (Hossinzadeh et al., 2012). از طرف دیگر با افزایش CO_2 درون برگی و فتوسنتز تولید گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن کاهش می‌یابد ضمن آنکه بخشی از کاهش معنی‌دار در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در محلول‌پاشی متانول را می‌توان به افزایش قدرت جذب آب در شرایط محدودیت آبی از طریق افزایش تجمع پرولین نسبت داد.

عملکرد دانه

مقایسه میانگین‌ها نشان داد که عملکرد دانه از ۶۹۳/۵۸ کیلوگرم در هکتار در شرایط قطع آبیاری در مرحله گلدهی و عدم استفاده از متانول و کودهای زیستی تا ۱۴۵۵ کیلوگرم در هکتار، در شرایط آبیاری کامل و بالاترین سطح از محلول پاشی با متانول و کاربرد توأم میکوریز با ریزوبیوم و سودوموناس در نوسان بود (جدول ۲) که از افزایش ۱۱۱ درصدی برخوردار بود. با توجه به اینکه نخود گیاهی سه کربنه است در شرایط محدودیت آبی (به‌خصوص قطع آبیاری در مرحله گلدهی) به علت کاهش غلظت CO_2 و افزایش اکسیژن، تنفس نوری انجام می‌دهد. تنفس نوری در گیاهان تیمار شده با متانول به اکسیداسیون سریع متانول به CO_2 و ترکیب شدن آن با ریبولوز ۱ و ۵ بی‌فسفات و کم شدن رقابت با اکسیژن موجب افزایش فتوسنتز خالص و متعاقب آن بهبود راندمان تبدیل کربن در گیاه می‌شود (Nonomera and Benson, 1992). زبیک و همکاران (Zbiec et al, 1999) اظهار داشتند که گیاهان تیمار شده با متانول می‌توانند ضمن کاهش تنفس نوری موجب افزایش فشار آماس سلول در برگ ها شده و به رشد و توسعه برگ نیز کمک کنند. بخشی از بهبود عملکرد دانه به‌واسطه‌ی کاربرد باکتری‌های محرک رشد را می‌توان به‌ایجاد چرخه مواد غذایی و قابل‌دسترس ساختن آن‌ها، افزایش حفظ سلامتی ریشه در طول دوره رشد در رقابت با پاتوژن‌های ریشه و افزایش جذب عناصر غذایی نسبت داد که در مجموع موجب افزایش رشد گیاه می‌شوند (Roesti et al, 2006). بخشی از افزایش عملکرد دانه در کاربرد کودهای زیستی و متانول را می‌توان به بهبود محتوای کلروفیل و افزایش عملکرد کوانتومی (جدول ۲) نسبت داد.

www.SID.ir

Archive of SID

به نظر می‌رسد افزایش محتوای کلروفیل می‌تواند با به تأخیر انداختن پیری (Heins, 1980)، افزایش میزان آسیمیلاسیون موجب افزایش دوره فعال فتوسنتری و انتقال بیشتر مواد به دانه شده و درنهایت منجر به افزایش عملکرد شود (Goksoy et al, 2004). افزایش تجمع پرولین در کاربرد متانول و کودهای زیستی نیز می‌تواند با حفظ تورژسانس سلول‌های گیاهی ضمن خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد و کمک به جذب بهینه در شرایط محدودیت آبی، اثرات ناشی از محدودیت جذب CO_2 را که در شرایط تنش ایجادشده و منجر به کاهش فتوسنتز می‌شود تا حدودی جبران نموده و به بهبود عملکرد کمک نماید.

نتیجه‌گیری نهایی

محلول‌پاشی متانول و تلقیح بذر با کودهای زیستی تأثیر معنی داری بر عملکرد دانه و صفات بیوشیمیایی داشت. گرچه با افزایش محدودیت آبی عملکرد دانه کاهش پیدا کرد. ولی استفاده از متانول و کودهای زیستی به دلیل افزایش محتوای کلروفیل، پرولین و عملکرد کوانتومی موجب جبران بخشی از افت عملکرد ایجادشده در غیاب استفاده از متانول و کودهای زیستی شد. ازاین‌رو به نظر می‌رسد کاربرد متانول و کودهای زیستی می‌تواند به‌عنوان یک روش مناسب برای تعدیل بخشی از کاهش عملکرد نخود حتی در شرایط محدودیت شدید آبی در مناطق خشک و نیمه‌خشک باشد.

منابع

Ahmad, P., Prasad, MNV., 2012. Abiotic Stress Responses in Plants: Metabolism, Productivity and Sustainability. Springer, New York Dordrecht Heidelberg London.

Akbari, G.H., Morteza, E., Moaveni, P., Alahdadi, I., Bihamta, M.R., Hasanloo, T., Aliabadi Farahani, H., 2014. Pigments apparatus and anthocyanins reactions of borage to irrigation, methylalchol and titanium dioxide. International Journal of Biosciences. 4, 192-208.

Al-Karaki, G.N., Mc-Michael, B., Zak, J., 2004. Field response of wheat to arbuscular mycorrhizal fungi and drought stress. Mycorrhiza. 14, 263-269.

Armand, N., Amiri, H., Ismaili, A., 2016. The effects of foliar application of methanol on morphological characteristics of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under drought stress condition. Iranian Journal of Field Crops Research. 13, 854-863. [In Persian with English Summary].

Arnon, D.I., 1949. Copper enzymes in isolated chloroplast polyphenol oxidase in Beta vulgaris. Plant Physiology. 24, 1-15.

Ashraf, M., Iram, A., 2005. Drought stress induce changes in some organic substances in nodules and other plant parts of two potential legumes differing in salt tolerance. Journal of floa. 200, 535-546.

Auge, R.M., Schekel, K.A., Wample, R.L., 2001. Osmotic adjustement in leaves of VA mycorrhizal and nonmycorrhizal rose plants in response to drought stress. Plant Physiology. 82, 670-765.

-Bates I.S, Waldern R.P., Teare I.D., 1973. Rapid determination of free prolin for water stress studies, Plant and Soil. 39, 205-207.

Bayoumi, T.Y., Eid, M., Metvali, E.M., 2008. Application of physiological and biochemical indices as a screeninig technique for drought tolerance in wheat genotypes. Africian Journal of Biotechnology. 7, 2341-2352.

Demir, S., 2004. Influence of arbuscular mycorrhiza on some physiological growth parameters of pepper. Turkish Journal Biology. 28, 85-90

Dorkhov, Y.L., Shindypina, A.V., Sheshukova, E.V., Komarova, T.V., 2015. Metabolic methanol: molecular pathway and physiological roles. Physiological Reviews. 95, 603-644.

Downie, A., Miyazaki, S., Bohnert, H., John, P., Coleman, J., Parry, M., Haslam, R., 2004. Expression profiling of the response of Arabidopsis thaliana to methanol stimulation, Phytochemistry. 65, 2305-2316.

Flexas, J., Medrano, H., 2008. Droght inhibition of photosynthesis in C3-plants: stomata and nonstomatal limitation revisited. Annal of Botany. 183, 183-189.

Gianinazzi, S., Schuepp, H., Barea, J.M., Haselwandter, K., 2001. Mycorrhizal technology in agriculture: from genes to bioproducts. Birkhauser, Basel. ISBN:

www.SID.ir

Archive of SID

376436858. Also in: Mycorrhiza. 13, 53-54. Lovato, P. Book review.

Goksoy, A.T., Demir, A.O., Turan, Z.M., Daustu N. 2004. Responses of sunflower to full and limited irrigation at different growth stages. Field Crop Research. 87, 167-178

Gout, E., Aubert, S., Bligny, R., Rebeille, F., Nonomura, A.R, Benson, A., Douce, R. 2000. Metabolism of methanol in plant cells. Carbon-13 nuclear magnetic resonance studies. Plant Physiology. 123, 287-296.

Hadi, H., Seyed Sharifi, R., Namvar, A., 2016. Phytoprotectants and Abiotic Stresses. Urmia University press. 342p. [In Persian with English Summary].

Heins, R. 1980. Inhibition of ethylene synthesis and senescence in carnation by ethanol, American Society and Horticultural Science. 105, 141-144.

Hossinzadeh, S.R., Salimi, A., Ganjeali, A. 2011. Effects of methanol on morphological characteristics of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under drought stress. Environmental Stresses and Crop Science. 4, 139-150. [In Persian with English Summary].

Kheirizadeh Arough, Y., Seyed Sharifi, R., Sedghi, M., Barmaki, M., 2016. Effect of zinc and bio fertilizers on antioxidant enzymes activity, chlorophyll content, soluble sugars and proline in Triticale under salinity condition. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca. 44, 116-124.

Kohler, J., Hernandez, J.A., Caravaca, F., Roldan, A., 2008. Plant-growth promoting rhizobacteria and arbuscular mycorrhizal fungi modify alleviation biochemical mechanisms in water stressed plants. Functional Plant Biology. 35, 141-151.

Linderman, R.G., 1992. Vesicular–arbuscular mycorrhizae and soil microbial interactions. In: Bethlenfalvay, G.J., Linderman, R. G, editors. Mycorrhizae in sustainable agriculture. Madison, Wis: ASA. Pp: 1-26.

Maiti, R.K., Moreno-limon, S., Wesche-ebeling, P., 2002. Responses of some crops to various abiotic stress factors and its physiological and biochemical basis of resistances. Agricultural Reviews. 21, 155-167.

Mirakhori, M, Paknejad, F., Moradi, F., Ardakani, M.R., Zahedi, H., Nazeri, P., 2009. Effect of drought stress and Methanol on yield and yield components of soybean Max (L17). American Journal of Biochemistry and Biotechnology. 5, 162-169.

Mirakhori, M., Paknegad, F., Rihani, Y., Nazeri, P., Yeganehpour, F., Jamshidi, N., Gafari, M., 2012. Effects of foliar application of methanol on yield and some physiological traits of bean. Journal of Crop Echophysiology, 7, 17-27. [In Persian with English Summary].

Mishra, M., Kumar, U., Mishra, P.K., Prakash, V., 2010. Efficiency of plant growth promoting rhizobacteria for the enhancement of Cicer arietinum L. growth and germination under salinity. Advances in Biological Research. 4, 92-96.

Nemecek-Marshall, M., MacDonald, R.C., Franzen, J.J., Wojciechowski, C.L., Fall, R., 1995. Methanol emission from leaves: enzymatic detection of gas-phase methanol and relation of methanol fluxes to stomatal conductance and leaf development. Plant Physiology. 108, 1359- 1368.

Nonomura, A.M., Benson, A.A., 1992. The path to carbon in photosynthesis: introved crop yields with methanol. Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America the Academy. 89:9794-9798.

Oraki, H., Parhizkar Khanjani, F., Aghaalikhna, M., 2012. Effect of water deficit stress on proline contents, soluble sugars, chlorophyll and grain yield of sunflower (*Helianthus annuus* L.) hybrids. African Journal of Biotechnology. 11, 164-168.

Qiao, G., Wen, X.P., Yu, L.F., Ji1, X.B., 2011. The enhancement of drought tolerance for pigeon pea inoculated by arbuscular mycorrhizae fungi. Plant Soil Environment. 57, 541-546.

Ramberg, H.A., Bradly, J.S.S., Olseon, I.S.C., Nishio, J.N., Markwell, J., Osterman, J.C., 2002. The role of menthal in promithing plant growth: an update. Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology. 1, 113-126.

Roesti, D., Gaur, R., Johrim, B.N., Imfeld, G., Sharma, S., Kawaljeet, K., Aragno, M., 2006. Plant growth stage, fertilizer management and bioinoculation of Arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth promoting rhizobacteria affect the rhizobacterial community structure in rain-fed wheat fields. Soil of Biology and Biochemistry. 38, 1111–1120.

Sannazzaro, A.I., Alberto, E., Ruiz, O.A., Menendez, B., 2005. Influence of the

www.SID.ir

Archive of SID

arbuscular mycorrhizal fungus Glomus intraradices on the saline stress physiology of Lotus glaber. Lotus Newsletter. 35, 29-30.

Seyed Sharifi, R., Namvar, A. 2016. Biofertilizers in Agronomy. University of Mohaghrgh Ardabili press. 282 p.

Sohrabi, Y., Heidari, G., Weisany, W., Ghasemi-Golezani, K., Mohammadi, K. 2012. Some physiological responses of chickpea cultivars to arbuscular mycorrhiza under drought stress. Russian Journal of Plant Physiology. 59, 708-716.

Sudhakar, C., Lakshmi, A., Giridara Kumar, S. 2001. Changes in the antioxidant enzyme efficacy in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) under NaCl salinity. Plant Science. 167, 613-619.

Wu, S.C., Cao, Z.H., Li, Z.G., Cheung, K.C., Wong, M.H. 2005. Effects of bio fertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. Geoderma. 125, 155-166.

Yordanov, I., Velikova, V., Tsonev, T. 2003. Plant responses to drought and stress tolerance. Bulgarian Journal of Plant Physiology. 2, 187-206.

Zbiec, I., Karczmarczyk, S., Koszanski, Z. 1999. Influence of methanol on some cultivated plants. Folia Pomeranae Universitatis Technologiae Stetinensis. Agricultura, Alimentaria, Piscaria et Zootechnica. 73, 217-220.

www.SID.ir

Archive of SID

University of Birjand

تنشهای محیطی در علوم زراعی
Environmental Stresses In Crop Sciences
Vol. 13, No. 3, pp. 857-869
Fall 2020
http://dx.doi.org/10.22077/escs.2020.2216.1558

Original article

Effect of irrigation withholding in reproductive stages and metanol and bio fertilizer application on yield and some biochemical traits of Chickpea (*Cicer arietinum* L.)

R. Seyed Sharifi[1*], R. Seyed Sharifi[2]

1. Professor of College of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
2. Associate professor of College of Agriculture and NaturalResources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

Received 16 January 2019; Accepted 5 February 2019

Abstract

In order to study of the effect of irrigation withholding in reproductive stages and metanol and bio fertilizer application on yield and some biochemical traits of chickpea (*Cicer arietinum* L.), a experiment factorial was conducted based on randomized complete block design with three replications in the village of Piralger of Ardabil province in 2017. The experimental factors were included: application of methanol at three levels (foliar application with water as control, application 20 and 30 volume percent), bio fertilizers at four levels (no application as control, rhizobium legominozarum application, both application mycorhyza and rhizobium legominozarum, application of mycorhyza with rhizobium legominozarum and Psesomonas) and three irrigation levels (full irrigation as control, severe water limitation or irrigation withholding at flowering stage, moderate water limitation or irrigation withholding at podding). The results dicated that irrigation withholding at flowering stage increased proline content and antioxidant enzymes activity such as catalase, peroxidase and polyphenol oxidase, but decreased chlorophyll content, quantum yield and grain yield of chickpea. Methanol application decresed antioxidant enzymes activity but quantum yield, proline and chlorophyll content increased. Also, bio fertilizers application increased quantum yield, proline and chlorophyll content, antioxidant enzymes activity and grain yield of Chickpea. Full irrigation with application of high rates of methanol, both application of mycorhyza with rhizobium legominozarum and Psesomonas increased grain yield 111% compared to no application of methanol and bio fertilizers under irrigation withholding at flowering stage condition.

***Keyword*:** Mycorhyza, *Psesomonas*, *Rhizobium legominozarum*, Water limitation, Yield

www.SID.ir

[*]Correspondent author: Raouf Seyed Sharifi; E-Mail: raouf_ssharifi@yahoo.com.