

## بررسی برخی صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه نخود

### تحت تأثیر تنش خشکی و روش‌های کاربرد کود آهن

لقطمان احمدی<sup>۱</sup>، مختار قبادی<sup>۱\*</sup>، محسن سعیدی<sup>۱</sup> و جلال قادری<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup>گروه زراعت و اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی کرمانشاه، <sup>۲</sup>عضو مرکز تحقیقات کشاورزی کرمانشاه

(تاریخ دریافت: ۹۳/۰۱/۲۱، تاریخ پذیرش نهایی: ۹۳/۱۲/۲۴)

#### چکیده:

به منظور بررسی اثر کود آهن و تنش خشکی بر برخی خصوصیات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی نخود زراعی و همچنین نحوه کاربرد کود آهن (خشکی کاربرد و محلول پاشی) و نیز زمان استفاده در مراحل فنولوژیک مختلف گیاه، آزمایشی در سال زراعی ۱۳۹۰-۱۳۹۱ در مزرعه‌ی تحقیقاتی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه رازی کرمانشاه اجرا شد. آزمایش به صورت اسپلیت پلات (کرت‌های یکبار خرد شده) در قالب طرح پایه‌ی بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. شرایط بدون تنش خشکی و تنش خشکی پس از گلدهی به عنوان فاکتور اصلی قرار گرفتند. زمان و نحوه کاربرد کود آهن در هشت سطح شامل عدم کاربرد کود آهن (F1)، مصرف خاک‌کاربرد کود آهن (F2)، محلول پاشی در مرحله‌ی شاخده‌ی (F3)، محلول پاشی در مرحله‌ی گلده‌ی (F4)، محلول پاشی در مرحله‌ی غلاف‌بندی (F5)، خاک‌کاربرد + محلول پاشی در مرحله‌ی شاخده‌ی (F6)، خاک‌کاربرد + محلول پاشی در مرحله‌ی گلده‌ی (F7)، خاک‌کاربرد + محلول پاشی در مرحله‌ی غلاف‌بندی (F8)، به عنوان فاکتور فرعی قرار داده شدند. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تنش خشکی به طور معنی‌داری موجب کاهش مقدار صفات محتوای آب نسبی برگ، میزان سبزینگی برگ، حداکثر کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II، سرعت رشد گیاه (CGR)، شاخص سطح برگ (LAI) و فعالیت ویژه‌ی آنزیم پراکسیداز و فعالیت ویژه‌ی آنزیم کاتالاز داشت و سبب افزایش صفات مذکور گردید. بنابراین، به نظر می‌رسد محلول‌پاشی آهن سبب بهبود صفات مرتبط با فتوسیستمز و کاهش اثرات ناشی از تنش خشکی در گیاه نخود گردیده است.

کلمات کلیدی: تنش خشکی، صفات بیوشیمیایی، صفات فیزیولوژیک، کود آهن، نخود زراعی.

خاک می‌شود (Dahan *et al.*, 1998; Lopez-Bellido, 1998).

مقدمه:

خصوصیاتی همچون توانایی ثبت نیتروژن، ریشه‌دهی عمیق و استفاده مؤثر از نزولات جوی سبب شده است که این گیاه نقش مهمی در ثبات تولید نظامهای زراعی ایفا نماید (باقری و همکاران، ۱۳۸۰).

آهن یکی از عناصر کم‌صرف در تغذیه‌ی گیاه به شمار می‌رود. با وجود آنکه آهن فراوان‌ترین عنصر کم‌صرف در

حبوبات پس از غلات دومین منبع مهم غذایی انسان هستند (کوچکی و بنایان اول، ۱۳۶۸). دانه‌ی حبوبات با برخورداری از ۱۸ تا ۳۲ درصد پروتئین در تغذیه‌ی بشر نقش غیر قابل انکاری بازی می‌کند. به علاوه قابلیت همزیستی گیاهان این تیره با باکتری‌های جنس ریزوبیوم سبب تأمین حداقل بخشی از نیتروژن مورد نیاز گیاه و همچنین کمک به حاصلخیزی

بوده‌اند (سالاردینی و مجتهدی، ۱۳۶۷). در مطالعه‌ای روی رقم‌های نخود رشد کرده در خاک‌های قلیایی مشخص شد که در اثر محلولپاشی برگی با سولفات آهن، علائم کمبود این عنصر در گیاه بهبود یافت (Saxena and Sheldark, 2003). در گزارشی دیگر، محلولپاشی سولفات آهن موجب افزایش معنی‌دار شاخه‌دهی و عملکرد دانه گیاه نخود شد (بهاری و همکاران، ۱۳۸۴). همچنین گزارش شده که محلولپاشی با سولفات آهن در بهبود علائم کلروز در گیاه نخود مؤثر بوده اما تأثیر معنی‌داری در افزایش محصول نخود نداشته است (Saxena and et al., 1990). در شرایط دیم به دلیل کمبود رطوبت خاک معمولاً جذب عناصر غذایی مثل آهن کاهش می‌یابد. مشابه سایر مزارع نخود در ایران، اکثر مزارع نخود کرمانشاه به صورت دیم کشت می‌گردند. همچنین به دلیل آهکی بودن اغلب خاک‌های غرب کشور و بخصوص استان کرمانشاه، امکان جذب آن توسط گیاه کاهش می‌یابد. به همین خاطر احتمال می‌رود که کاربرد کود آهن به صورت محلولپاشی برگی بتواند بخشی از کمبود آهن در این گیاه را در این مناطق جبران نماید. بنابراین هدف از انجام این تحقیق، بررسی اثر تنفس خشکی و مصرف کود آهن بر برخی خصوصیات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی نخود زراعی، مقایسه‌ی روش‌ها و زمان‌های مختلف کاربرد کود آهن در زراعت نخود زراعی می‌باشد.

### مواد و روش‌ها:

این پژوهش در سال زراعی ۱۳۹۰-۱۳۹۱ در مزرعه‌ی تحقیقاتی و آزمایشگاه‌های گروه زراعت و اصلاح نباتات پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه رازی کرمانشاه به اجرا درآمد. این محل در طول جغرافیایی ۴۷ درجه و ۹ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۴ درجه و ۲۱ دقیقه شمالی و در ارتفاع ۱۳۱۹ متر از سطح دریا واقع شده است. این منطقه از نظر اقلیمی دارای آب و هوای سرد معتدل می‌باشد. وضعیت آب و هوایی منطقه در طول فصل رشد در جدول ۱ نشان داده شده است. قبل کاشت، از خاک مزرعه نمونه تهیه شد که

پوسته‌ی زمین است اما بیشترین محدودیت را برای تولید محصولات کشاورزی در خاک‌های آهکی مناطق خشک و نیمه خشک سبب شده است. قلیایی بودن، مقادیر زیاد آهک، کمبود ماده آلی، آبیاری سنگین، تراکم بالای خاک و نیز تهویه‌ی ضعیف خاک از عوامل کاهش جذب آهن در خاک‌های آهکی می‌باشند (Li et al., 2005). آهن برای انجام بسیاری از فعالیت‌های سوخت و ساز گیاه، مورد نیاز است (Hell and Stephan, 2003; 2001؛ Heamin (Heamin) به عنوان گروه پروستیک عمل می‌کنند. در این رابطه آهن نقشی تا حدودی شبیه نقش منیزیم در ساختمان پورفیرین کلروفیل بازی می‌کند. سیستم‌های آنژیمی هم شامل کاتالاز، پراسیداز، سیتوکروم اکسیداز و همچین سیتوکروم‌های مختلف است (سالاردینی و مجتهدی، ۱۳۶۷). کمبود آهن، مورفولوژی و فیزیولوژی گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Briat, 2007). کمبود آهن راندمان مصرف آب و آب در دسترس فیزیولوژیک را در دو رقم نخود زراعی کاهش داد (Mortvedt, 1991). کمبود آهن موجب زیان و آسیب رسیدن به کلروفیل و تخریب ساختار کلروپلاست می‌شود که در نتیجه‌ی آن زردی یا کلروز حاصل می‌گردد (قربانلی و بابلار، ۱۳۸۲). خشکی یکی از مهم‌ترین تنفس‌های غیر زنده است که هر ساله خسارت فراوانی را به گیاهان زراعی و باگی در ایران که به عنوان کشوری خشک و نیمه‌خشک محسوب می‌گردد وارد می‌نماید (صباغپور، ۱۳۸۲). در گیاهان لگومینوز خشکی باعث ریزش گل‌ها و میوه‌ها می‌گردد. در سال‌های خشک، ریزش برگ‌ها و میوه‌های لگوم ممکن است به ۶۴-۸۴ درصد برسد (خراعی، ۱۳۸۱).

برای جلوگیری از کمبود آهن و عوارض ناشی از آن در گیاهان زراعی، از کودهای آهن به صورت‌های خاک کاربرد و محلولپاشی روی برگ استفاده می‌گردد. گزارش شده است که جهت بهبود زردی ایجاد شده در اثر کمبود آهن، کاربرد نمکهای معدنی این عنصر به خاک چندان مؤثر نبوده است. برای مصرف خاک کاربرد، کیلیت‌های آهن اغلب مؤثرتر

جدول ۱- وضعیت آب و هوایی منطقه در طول فصل رشد

ماه	میزان بارندگی (میلی متر)	دماهی حداقل	دماهی حداکثر
اسفند	۳۴	۲۳	-۱۲
فروردین	۴۷	۲۶	-۵
اردیبهشت	۱۷	۲۴	۲
خرداد	۰	۳۷	۷
تیر	۰	۴۰	۸

جدول ۲- نتیجه‌ی حاصل از آزمون خاک مزرعه‌ی محل آزمایش

فسفر (ppm)	نیتروزین (ppm)	نیتروز (ppm)	آهن (ppm)	روی (ppm)	میزان (ppm)	لچ (E <sub>c</sub> ×10 <sup>3</sup> )	pH	نیتروژن (درصد)	پتیلت (درصد)	س (درصد)
۵/۸	۴/۶۰	۳/۹۰	۱/۴۰	۱/۳۴	۰/۵۰	۷/۷۰	۰/۱۳	۱۲	۴۳	۴۵

محلول پاشی، از محلول سولفات آهن (شرکت کاوین حاوی ۱۰۰ گرم بر لیتر آهن (Fe-EDTA) به مقدار یک لیتر در هکتار استفاده شد.

در پاییز و اسفند سال ۱۳۹۰ زمین شخم زده شد. سپس از دیسک و ماله استفاده شد. رقم نخود زراعی مورد استفاده رقم آزاد بود که از تیپ کابلی می‌باشد. کشت در روز ۲۴ اسفند سال ۱۳۹۰ انجام شد. تراکم مورد استفاده ۵۰ بوته در مترمربع بود. با توجه به نتایج آزمون خاک، از کود اوره بصورت آغازگر (استارترا) به میزان ۲۵ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار استفاده شد. در صورت لزوم و جین دستی انجام گرفت. برای مبارزه با کرم پیله‌خوار نخود از سم دلتامترین به میزان ۳۰۰ می‌سی در هکتار استفاده شد.

در این آزمایش، صفات زیر اندازه‌گیری شدند:

**شاخص سطح برگ (Leaf Area Index):** ابتدا با استفاده از دستگاه Leaf area meter (Hitachi, Japan) سطح برگ بوته‌های مورد نظر اندازه‌گیری شد. سپس با تقسیم سطح برگ بر سطح اشغال شده توسط آن بوته‌ها، شاخص سطح برگ محاسبه گردید.

**سطح ویژه‌ی برگ (Specific Leaf Area):** این صفت از نسبت سطح برگ به وزن خشک برگ بدست آمد. واحد آن

نتیجه‌ی آزمون خاک بصورت جدول ۲ نشان داده شده است. این آزمایش به صورت اسپلیت پلات در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار اجرا شد. فاکتور اصلی دارای دو تیمار رطوبتی (بدون تنش خشکی و تنش خشکی پس از گلدھی) بود. فاکتور فرعی شامل زمان‌ها و روش‌های کاربرد کود آهن در هشت سطح شامل عدم کاربرد کود آهن (F1)، مصرف خاک‌کاربرد کود آهن به هنگام کاشت (F2)، محلول‌پاشی در مرحله‌ی شاخه‌دهی (F3)، محلول‌پاشی در مرحله‌ی گلدھی (F4)، محلول‌پاشی در مرحله‌ی غلاف‌بندي (F5)، خاک‌کاربرد + محلول‌پاشی در مرحله‌ی شاخه‌دهی (F6)، خاک‌کاربرد + محلول‌پاشی در مرحله‌ی گلدھی (F7) و همچنین خاک‌کاربرد + محلول‌پاشی در مرحله‌ی غلاف‌بندي (F8) بود.

جهت اعمال تیمار بدون تنش خشکی، پس از اتمام بارش‌ها در اوخر اردیبهشت سال ۱۳۹۱، دو نوبت آبیاری در مرحله‌ی گلدھی و مرحله‌ی غلاف‌بندي گیاه نخود انجام شد؛ در تیمار تنش خشکی، از این آبیاری‌ها ممانعت به عمل آمد. جهت اعمال تیمار کود آهن بصورت خاک‌کاربرد، از کود کلاس آهن ۶٪ (Fe EDDHA) شرکت OMEX آلمان به میزان ۱۰ کیلوگرم در هکتار استفاده شد. همچنین جهت

اندازه‌گیری سرعت فعالیت این آنزیم از روش Chance و Maehly (۱۹۹۵) با اندکی تغییرات استفاده شد. اندازه‌گیری بر اساس میزان اکسید شدن گوایکول توسط این آنزیم انجام گرفت. در این روش ۳۳ میکرولیتر از عصاره آنزیمی را با یک میلی‌لیتر از سوبسترانی پراکسیداز که شامل ۱۳ میلی‌مولار گوایکول، ۵ میلی‌مولار پراکسید هیدروژن ( $H_2O_2$ ) و ۵۰ میلی‌مولار بافر فسفات پتاسیم ( $pH=7$ ) مخلوط نموده و به مدت بیست دقیقه با فواصل ۱۰ ثانیه در طول موج ۴۷۰ nm توسط دستگاه الیزا (Bio Tek Powerwave XS2) جذب آن قرائت شد. برای ساختن ۱۰۰ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم، ۳۹ میلی‌لیتر فسفات پتاسیم مونوبازیک ۵۰ میلی‌مولار با ۶۱ میلی‌لیتر فسفات پتاسیم دی‌بازیک ۵۰ میلی‌مولار ترکیب شد.

#### اندازه‌گیری سرعت فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT):

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز به کمک روش Sinha (۱۹۷۲) با اندکی تغییرات صورت گرفت. در این روش از واکنش کاکتی دی‌کرومات پتاسیم محلول در اسیداستیک به کرومیک‌امستات و تشکیل پرکرومیک‌اسید سبز رنگ در حضور هیدروژن پراکسید و حرارت استفاده شد. در این روش ۵۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی رقیق شده (نسبت ۱:۱۶) با ۱ میلی‌لیتر بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار ( $pH=7$ ) مخلوط و با اضافه کردن ۵۰۰ میکرولیتر محلول هیدروژن پراکسید ۶۰ میلی‌مولار واکنش آغاز شد. پس از گذشت زمان‌های معین (۲، ۴، ۶ و ۸ دقیقه از شروع واکنش) با استفاده از ۲ میلی‌لیتر معرف دیکرومات (۰.۵٪) لوله‌های آزمایش به سرعت داخل حمام آب جوش به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده و پس از تشکیل رنگ سبز در نمونه‌ها از فاز بالایی محلول‌ها با دستگاه الیزا ۵۷۰ نانومتر قرائت شد. به منظور تعیین میزان پراکسید هیدروژن مصرفی توسط آنزیم کاتالاز، منحنی استاندارد به کمک غلاظت‌های متفاوت پراکسید هیدروژن رسم شد. محلول‌های ۱۵، ۳۰، ۵۰ و ۷۵ میلی‌مولار از پراکسید هیدروژن تهیه و طبق دستورالعمل تیتر شدند. مقدار کمی آنزیم بر حسب واحد در میلی‌گرم پروتئین بیان شد.

متรมربع بر گرم است.

**نسبت سطح برگ (Leaf Area Ratio):** از نسبت سطح برگ به وزن خشک کل بوته بدست آمد. واحد آن متربمربع بر گرم است.

**سرعت رشد گیاه (Crop Growth Rate):** این صفت با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد. که،  $w_1$  وزن خشک بوته در زمان  $t_1$  و  $w_2$  وزن خشک گیاه در زمان  $t_2$  می‌باشد. و همچنین GA نشان‌دهنده سطح زمین اشغال شده می‌باشد. واحد CGR، گرم بر متربمربع زمین در روز می‌باشد.

$$CGR = [(w_2 - w_1) / (t_2 - t_1)] \times GA^{-1}$$

**حداکثر کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II:** این خصوصیت توسط دستگاه کلروفیل فلورسنس محاسبه شد. نحوه محاسبه‌ی آن به صورت زیر است. ( $F_v$ =فلورسنس متغیر؛  $F_m$ =حداکثر فلورسنس).

$$F_v/F_m = \text{حداکثر کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II}$$

**میزان سبزینگی برگ:** اندازه‌گیری سبزینگی برگ (که تخمینی محتوای کلروفیل برگ می‌باشد) با استفاده از دستگاه SPAD-502 مدل MINOLTA-Japan بدون تخریب بافت‌های گیاهی انجام شد.

#### محتوای آب نسبی برگ (Relative Water Content):

منظور اندازه‌گیری این صفت، تعداد ۱۰ برگ از هر کرت انتخاب شد. این برگ‌ها در داخل کیسه‌های نایلونی قرار گرفتند و تا انتقال به آزمایشگاه، درون فلاسک یخ که کف آن بخ بود قرار گرفتند. در آزمایشگاه، ابتدا وزن تر آنها اندازه‌گیری شد. سپس به منظور تعیین وزن در حالت تورژسانس کامل، برگ‌ها به مدت ۴ ساعت در شدت نور کم و در دمای اتاق، در داخل آب قطر غوطه‌ور گردیدند. در پایان، به منظور تعیین وزن خشک، برگ‌ها به مدت ۸ ساعت در آون و در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و سپس RWC از طریق رابطه‌ی زیر محاسبه گردید. در این رابطه، FW وزن تر برگ، DW وزن خشک برگ و TW وزن برگ در حالت اشبع است (Egert and Tevini, 2002)

$$RWC\% = [(FW - DW) / (TW - DW)] \times 100$$

**اندازه‌گیری سرعت فعالیت آنزیم پراکسیداز (POD):** برای

نرم افزار انجام شد. داده‌های جمع‌آوری شده برای صفات مختلف با استفاده از نرم افزار MSTAT-C مورد تست نرمال بودن، تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها قرار گرفتند. برای مقایسه میانگین از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد استفاده گردید.

### نتایج و بحث:

**محتوای آب نسبی برگ:** نتایج حاصل نشان داد که تنش خشکی اثر معنی‌داری بر محتوای آب نسبی برگ داشت (جدول ۳) و مقدار آن در شرایط رطوبتی مناسب بیشتر از شرایط تنش خشکی بود (به ترتیب در شرایط تنش خشکی و بدون تنش خشکی، ۸۲/۹۹ و ۶۳/۶۹ میلی‌لیتر). میرآخوری و همکاران (۱۳۸۹) نیز گزارش کردند که با افزایش شدت تنش خشکی، محتوای آب نسبی برگ سویا به طور معنی‌داری کاهش یافت. فاکتور کود آهن اثر معنی‌داری بر محتوای آب نسبی برگ نداشت (جدول ۳).

**میزان سبزینگی برگ:** اثر تیمار رطوبتی بر میزان سبزینگی برگ معنی‌دار بود (جدول ۳)؛ و میزان سبزینگی برگ در شرایط بدون تنش بیشتر از شرایط تنش خشکی بود (به ترتیب ۴۵/۵ و ۶۴/۴ واحد اسپد). نایار و گوپتا (۲۰۰۶) گزارش کردند تنش خشکی باعث کاهش غلظت کلروفیل برگ‌ها می‌شود. آنتولین و همکاران (۱۹۹۵) دریافتند که با افزایش تنش خشکی غلظت کلروفیل برگ‌ها کاهش ولی نسبت کلروفیل a/b افزایش می‌یابد؛ که افزایش این نسبت موجب تیره شدن برگ‌ها و افزایش میزان سبزینگی برگ می‌گردد. با توجه به تأثیر خیلی زیاد میزان کلروفیل در سبزینگی برگ، پایداری کلروفیل به عنوان شاخصی از تنش خشکی شناخته شده است و میزان پایداری آن به معنی شاخصی از تحمل گیاه به تنش است (Modhan *et al.*, 2000). کود آهن نیز اثر معنی‌داری بر میزان سبزینگی برگ داشت (جدول ۳). بر اساس مقایسه‌ی میانگین‌ها، تیمارهای F6 (خاک‌کاربرد + محلول‌پاشی در مرحله‌ی شاخه‌دهی)، F7 (خاک‌کاربرد + محلول‌پاشی در مرحله‌ی گلددهی) و F3 (محلول‌پاشی در مرحله‌ی شاخه‌دهی)

اندازه‌گیری محتوی پروتئین محلول: برای تعیین غلظت پروتئین از روش Bradford (۱۹۷۶) استفاده شد. این روش بر اساس اتصال رنگ کوماکسی بربانت بلو G250 موجود در معرف اسیدی به مولکول پروتئین است. برای اندازه‌گیری غلظت پروتئین، ۲۰ میکرولیتر عصاره استخراج شده را در ۸۰ میکرولیتر بافر استخراج رقیق کرده و ۵ میلی لیتر معرف کوماکسی بلو تازه به آن افروده شد و ۲ دقیقه به هم زده و پس از ۵ دقیقه، میزان جذب نوری آن در طول موج ۵۹۵ نانومتر توسط دستگاه الیزا (Bio Tek Powerwave XS2) قرائت و از بافر استخراج به عنوان شاهد استفاده شد. غلظت پروتئین محلول در نمونه با توجه به جذب نمونه و با استفاده از منحنی استاندارد به دست آمد. جهت رسم منحنی استاندارد از سرم آلبومین گاوی (BSA) استفاده گردید. برای رسم آن ابتدا ۱۰ میلی‌گرم سرم آلبومین گاوی داخل ۱۰ میلی‌لیتر از بافر استخراج حل شد (این محلول به عنوان محلول ۱۰۰ پی‌پی‌ام در نظر گرفته می‌شود). برای ساختن محلول ۵۰ پی‌پی‌ام، ۵ میلی‌لیتر از محلول ۱۰۰ پی‌پی‌ام با ۵ میلی‌لیتر بافر استخراج مخلوط شد. در مرحله بعد ۵ میلی‌لیتر از محلول ۵۰ پی‌پی‌ام با ۵ میلی‌لیتر بافر استخراج مخلوط گردید (محلول ۲۵ پی‌پی‌ام). برای ساختن محلول ۱۲/۵ پی‌پی‌ام، ۵ میلی‌لیتر از محلول ۲۵ پی‌پی‌ام با ۵ میلی‌لیتر بافر استخراج مخلوط شد و از بافر استخراج برای محلول صفر استفاده گردید. در مرحله بعد، از هر غلظت استاندارد ۲۰ میکرولیتر محلول برداشته با ۵ میلی‌لیتر معرف کوماکسی ریخته و به مدت ۲ دقیقه با ورتكس (Bio Tek Powerwave XS2) قرار داده و میزان جذب نوری آن در طول موج ۵۹۵ نانومتر قرائت گردید. سپس با توجه به مقادیر جذب نوری و غلظت‌های محلول ذخیره‌ی پروتئین، منحنی استاندارد رسم گردید. محتوای پروتئین محلول نیز با توجه به این اطلاعات محاسبه گردید.

داده‌های جمع‌آوری شده قبل از تجزیه واریانس و دیگر محاسبات آماری با استفاده از نرم افزار EXCEL طبقه‌بندی شدند و محاسبات قبل از تجزیه واریانس نیز با استفاده از این

جدول ۳- تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیک تحت تأثیر فاکتورهای مورد بررسی (میانگین مربعات)

منابع تغییرات	آزادی	درجه	محتوای آب	میزان سبزینگی	فتوشیمیایی II	سرعت رشد گیاه	شاخص سطح برگ	نسبت سطح برگ	سطح ویژه برگ	حداکثر کارایی
تکرار		۲	۳/۳۵۶	۱۸/۴۹۸	۰/۰۰۰۱	۷/۵۰۵	۰/۰۰۳	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱
رژیم رطوبتی (I)	۱		۴۴۸۸/۶۲**	۴۲۸۴/۶۳**	۰/۰۱۴*	۱۱۶۰/۲۳۵*	۱۲/۲۲۲*	۰/۰۰۰۱ns	۰/۰۰۰۱ns	۰/۰۰۰۱ns
خطای ۱		۲	۵/۴۷۴	۲۲/۱۰۳	۰/۰۰۰۱	۱۹/۷۱۲	۰/۳۰۹	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱
کود آهن (F)	۷		۱۳/۰۴۸ns	۴۵/۱۲۰*	۰/۰۰۰۱ns	۷/۸۶۳	۰/۷۰۲*	۰/۰۰۰۱ns	۰/۰۰۰۱ns	۰/۰۰۰۱ns
I × F	۷		۱/۷۰۱ns	۳۱/۳۳۹ns	۰/۰۰۰۱ns	۱۷/۹۹۷*	۰/۱۰۸**	۰/۰۰۰۱ns	۱۱/۹۶	۱۱/۸۵
خطای ۲	۲۸		۶/۸۷۷	۱۴/۲۸۷	۰/۰۰۰۱	۷/۱۸۵	۰/۰۲۶	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱
CV (%)			۳/۵۸	۶/۸۸	۲/۰۶	۲۵/۱۷	۱۱/۱۵	۱۱/۹۶	۱۱/۸۵	

ns، \* و \*\* به ترتیب عدم اختلاف معنی دار و اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد

جدول ۴- مقایسه میانگین های صفات فیزیولوژیک تحت تأثیر سطوح تیمار کود آهن

آهن	آب برگ (درصد)	محتوای نسبی آب برگ	میزان سبزینگی (SPAD)	حداکثر کارایی فتوسیستم ۲ (fv/fm)	سرعت رشد گیاه (گرم برمتر مریع در روز)	شاخص سطح برگ (مترمربع بر گرم)	نسبت سطح برگ (مترمربع بر گرم)	سطح ویژه برگ (مترمربع بر گرم)	تیمار کود
F1	۷۵/۷۷ a	۵۶/۰۳ ab	۰/۷۸۰۰ b	۹/۲۷ a	۱/۴۰۹abc	۰/۰۰۴۷ a	۰/۰۰۰۴۷ a	۰/۰۰۹۰ a	
F2	۷۲/۰۲ b	۵۴/۴۲ abc	۰/۷۸۱۷ b	۱۰/۶۹ a	۱/۵۴۳ ab	۰/۰۰۴۴ a	۰/۰۰۰۴۴ a	۰/۰۱۰۰۵ a	
F3	۷۴/۳۱ ab	۵۶/۸۳ a	۰/۷۸۵۰ ab	۱۲/۵۹ a	۱/۵۲۷ ab	۰/۰۰۰۴۳ a	۰/۰۰۰۴۳ a	۰/۰۱۰۴۳ a	
F4	۷۳/۴۹ ab	۵۱/۰۳ c	۰/۷۸۲۳ ab	۱۱/۳۰ a	۱/۳۳۴ bc	۰/۰۰۰۴۱ a	۰/۰۰۰۴۱ a	۰/۰۱۰۳۵ a	
F5	۷۴/۰۶ ab	۵۱/۳۵ bc	۰/۷۹۵۰ a	۱۰/۰۴ a	۱/۵۰۷ ab	۰/۰۰۰۵۰ a	۰/۰۰۰۵۰ a	۰/۰۱۲۷۸ a	
F6	۷۳/۵۷ ab	۵۸/۱۵ a	۰/۷۷۸۳ b	۹/۷۲ a	۱/۵۶۷ a	۰/۰۰۰۴۷ a	۰/۰۰۰۴۷ a	۰/۰۱۲۸۰ a	
F7	۷۲/۲۸ b	۵۷/۷۸ a	۰/۷۷۸۳ b	۱۰/۲۳ a	۱/۳۷۶ abc	۰/۰۰۰۵۰ a	۰/۰۰۰۵۰ a	۰/۰۱۲۵۷ a	
F8	۷۱/۱۲ b	۵۳/۹۲ abc	۰/۷۸۸۳ ab	۱۱/۳۷ a	۱/۲۶۰ c	۰/۰۰۰۵۰ a	۰/۰۰۰۵۰ a	۰/۰۱۱۷۲ a	

میانگین های هر ستون که حداقل دارای یک حرف مشترک باشند فاقد اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵ بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن می باشند.

F1- = عدم کاربرد کود آهن، F2= مصرف کود آهن بصورت خاک کاربرد، F3= محلول پاشی در مرحله شاخه دهی ، F4= محلول پاشی در مرحله گلدهی ، F5= محلول پاشی در مرحله غلاف دهی ، F6= مصرف خاک کاربرد + محلول پاشی در مرحله شاخه دهی، F7= مصرف خاک کاربرد + محلول پاشی در مرحله گلدهی، F8= مصرف خاک کاربرد + محلول پاشی در مرحله غلاف دهی

داشت (جدول ۳)؛ همچنین مقدار آن در شرایط بدون تنش خشکی بیشتر از شرایط تنش خشکی بود (به ترتیب ۰/۸۰۱ و ۰/۷۶۷ واحد fv/fm). هنگامی که گیاه در حالت تنش خشکی قرار بگیرد پذیرندهی الکترون (Q) در حالت اکسیداسیون است و در این حالت میزان فلورسنس کلروفیل a کاهش می یابد

مقادیر بیشتری را به خود اختصاص دادند (جدول ۴). این موضوع تأثیر غیر مستقیم آهن در بیوسنتر کلروفیل را نشان می دهد (قربانلی و بابلار، ۱۳۸۲).

حداکثر کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II: رژیم رطوبتی اثر معنی داری بر صفت حداکثر کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II

(۳) و تیمارهای F3 و F6 در شرایط بدون تنفس خشکی شاخص سطح برگ بالاتری داشتند (جدول ۵).

**نسبت سطح برگ (LAR) و سطح ویژه برگ (SLA):** بر اساس نتایج بدست آمده، هیچکدام از تیمارهای رژیم رطوبتی و کود آهن و همچنین اثر متقابل آنها اثر معنی‌داری بر صفت‌های نسبت سطح برگ و سطح ویژه برگ نداشتند (جدول ۳).

**فعالیت ویژه آنزیم پراکسیداز:** تیمار رطوبتی اثر معنی‌داری بر میزان فعالیت ویژه آنزیم پراکسیداز نداشت. نتایج مشابهی مبنی بر عدم تأثیر معنی‌دار تنفس خشکی روی فعالیت آنزیم کاتالاز در آزمایش de Campos و همکاران (2011) مشاهده شد. در مقابل، Manivannan و همکاران (2008) و همچنین pompelli و همکاران (2010) افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز را در پاسخ به تنفس خشکی گزارش نموده‌اند. این صفت تحت تأثیر تیمار کود آهن و اثر متقابل تیمارهای رژیم رطوبتی و کود آهن قرار گرفت (جدول ۶). بر اساس مقایسه‌ی میانگین‌ها، کاربرد کود آهن موجب افزایش فعالیت ویژه آنزیم پراکسیداز شد و تیمار F7 (خاک‌کاربرد + محلول‌پاشی در مرحله‌ی گلدنه) و F8 (خاک‌کاربرد + محلول‌پاشی در مرحله‌ی غلاف‌بندی) دارای فعالیت آنزیم پراکسیداز بیشتری بودند (جدول ۷). همچنین بر اساس مقایسه‌ی میانگین اثر متقابل، تیمارهای F7 (خاک‌کاربرد + محلول‌پاشی در مرحله‌ی گلدنه) و F8 (خاک‌کاربرد + محلول‌پاشی در مرحله‌ی غلاف‌بندی) در شرایط بدون تنفس خشکی و تیمار F4 (محلول‌پاشی در مرحله‌ی گلدنه) در شرایط تنفس خشکی مقادیر بیشتری از فعالیت این آنزیم داشتند (جدول ۸).

**فعالیت ویژه آنزیم کاتالاز:** تیمار رطوبتی اثر معنی‌داری بر فعالیت ویژه آنزیم کاتالاز داشت (جدول ۶؛ و مقدار آن در شرایط بدون تنفس خشکی بیشتر از شرایط دیم بود. نتیجه‌ی حاصل با نتیجه برعکس از مطالعات قبلی مطابقت دارد. در یک آزمایش بر روی گراس‌های پاییزه مشاهده شد که تحت شرایط خشکی، میزان فعالیت آنزیم کاتالاز به طور معنی‌داری کاهش

(درحال احیاء، میزان fv زیاد است). تنفس‌های محیطی به علت ممانعت از اکسیداسیون نوری فتوسیستم II، موجب کاهش fv می‌شوند. بنابراین با افزایش شدت تنفس خشکی میزان fv کاهش می‌یابد (میرآخوری و همکاران، ۱۳۸۹). میرآخوری و همکاران (۱۳۸۹) همچنین گزارش کردند که کاهش fv/fm می‌تواند به دلیل آشفتگی در ساختار کلروپلاست و کاهش محتوای کلروفیل برگ باشد. نتایج مشابهی مبنی بر کاهش fv/fm در پاسخ به تنفس خشکی گزارش شده است (Des Santos *et al.*, 2013). بر خلاف تیمار رطوبتی، فاکتور کود آهن اثر معنی‌داری بر حداقل کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II نداشت (جدول ۳).

**سرعت رشد گیاه:** نتایج بدست آمده نشان داد که رژیم رطوبتی بر سرعت رشد گیاه اثر معنی‌داری داشته است (جدول ۳). میزان سرعت رشد گیاه در شرایط بدون تنفس خشکی بیشتر از شرایط تنفس خشکی بود (به ترتیب ۱۵/۰۶ و ۵/۷۳ گرم بر مترمربع در روز). این مسئله به روشنی نقش آب در رشد و نمو سلول و در نتیجه افزایش سرعت رشد گیاه را نشان می‌دهد. تیمار کود آهن اثر معنی‌داری بر این صفت نداشت؛ با این حال اثر متقابل تیمارهای رژیم رطوبتی و کود آهن بر سرعت رشد گیاه معنی‌دار بود (جدول ۳). بر اساس مقایسه‌ی میانگین‌ها، تیمارهای F3 (محلول‌پاشی در مرحله‌ی شاخه‌دهی)، F4 (محلول‌پاشی در مرحله‌ی گلدنه) و F7 (خاک‌کاربرد + محلول‌پاشی در مرحله‌ی گلدنه) در شرایط آبیاری تکمیلی مقادیر بالاتر سرعت رشد گیاه را به خود اختصاص دادند (جدول ۵). **شاخص سطح برگ:** تیمار رژیم رطوبتی اثر معنی‌داری بر شاخص سطح برگ داشت (جدول ۳) و مقدار آن در شرایط بدون تنفس خشکی بیشتر از شرایط تنفس خشکی بود (به ترتیب ۱/۹۴۵ و ۰/۹۳۶). همچنین تیمار کود آهن نیز بر شاخص سطح برگ اثر معنی‌داری داشت (جدول ۳) و تیمار F6 (خاک‌کاربرد + محلول‌پاشی در مرحله‌ی شاخه‌دهی) بیشترین مقدار شاخص سطح برگ را به خود اختصاص داد (جدول ۴). اثر متقابل فاکتور رژیم رطوبتی و کود آهن نیز بر صفت شاخص سطح برگ معنی‌دار بود (جدول

جدول ۵- مقایسه‌ی میانگین‌های صفات فیزیولوژیک تحت تأثیر اثر متقابل رژیم رطوبتی و کود آهن

کود آهن	رطوبتی و درصد	نسبت آب (درصد)	میزان (SPAD)	فتوصیستم ۲ (fv/fm)	فتوشیمیابی (گرم بر مترمربع در روز)	سرعت رشد گیاه (گرم بر مترمربع سطح برج)	شاخص سطح برج	نسبت سطح برج (مترمربع برج گرم)	اثر متقابل تیمارهای رژیم رطوبتی و کود آهن
۰/۰۰۹۸۳۳ <sup>a</sup>	۰/۰۰۴۰ <sup>a</sup>	۰/۹۴۹۷ <sup>d</sup>	۴/۳۶ <sup>c</sup>	۰/۷۶۰۰ <sup>cd</sup>	۴۹/۶۷ <sup>d</sup>	۶۶/۰۸ <sup>c</sup>	A1F1		
۰/۰۰۹۷۰۰ <sup>a</sup>	۰/۰۰۴۱ <sup>a</sup>	۱/۰۰۰۵ <sup>d</sup>	۴/۸۴ <sup>c</sup>	۰/۷۵۶۷ <sup>d</sup>	۴۲/۸۰ <sup>def</sup>	۶۱/۲۷ <sup>c</sup>	A1F2		
۰/۰۱۰۸۰ <sup>a</sup>	۰/۰۰۴۰ <sup>a</sup>	۰/۸۹۰۳ <sup>d</sup>	۷/۲۳ <sup>c</sup>	۰/۷۷۰۰ <sup>cd</sup>	۴۵/۵۳ <sup>def</sup>	۶۴/۲۳ <sup>c</sup>	A1F3		
۰/۰۱۰۲۷ <sup>a</sup>	۰/۰۰۴۱ <sup>a</sup>	۰/۸۹۰۷ <sup>d</sup>	۳/۷۴ <sup>c</sup>	۰/۷۶۳۳ <sup>cd</sup>	۴۲/۲۰ <sup>ef</sup>	۶۳/۸۱ <sup>c</sup>	A1F4		
۰/۰۱۰۴۰ <sup>a</sup>	۰/۰۰۴۰ <sup>a</sup>	۰/۹۰۷۳ <sup>d</sup>	۷/۴۴ <sup>c</sup>	۰/۷۹۰۰ <sup>ab</sup>	۴۴/۷۳ <sup>def</sup>	۶۴/۶۱ <sup>c</sup>	A1F5		
۰/۰۱۲۳۷ <sup>a</sup>	۰/۰۰۴۲ <sup>a</sup>	۰/۸۷۲۷ <sup>d</sup>	۴/۷۵ <sup>c</sup>	۰/۷۶۳۳ <sup>cd</sup>	۴۸/۹۰ <sup>de</sup>	۶۴/۱۹ <sup>c</sup>	A1F6		
۰/۰۱۲۲۷ <sup>a</sup>	۰/۰۰۴۸ <sup>a</sup>	۱/۰۶۳ <sup>d</sup>	۷/۹۳ <sup>c</sup>	۰/۷۵۳۳ <sup>d</sup>	۴۸/۸۳ <sup>de</sup>	۶۳/۰۴ <sup>c</sup>	A1F7		
۰/۰۱۰۴۰ <sup>a</sup>	۰/۰۰۴۰ <sup>a</sup>	۰/۹۰۹۳ <sup>d</sup>	۷/۵۸ <sup>c</sup>	۰/۷۷۶۷ <sup>bc</sup>	۴۱/۲۷ <sup>f</sup>	۶۲/۰۳ <sup>c</sup>	A1F8		
۰/۰۱۱۹۷ <sup>a</sup>	۰/۰۰۵۲ <sup>a</sup>	۱/۸۶۸ <sup>bc</sup>	۱۴/۱۸ <sup>ab</sup>	۰/۸۰۰۰ <sup>a</sup>	۶۲/۴۰ <sup>abc</sup>	۸۵/۴۶ <sup>a</sup>	A2F1		
۰/۰۱۰۴۰ <sup>a</sup>	۰/۰۰۴۶ <sup>a</sup>	۲/۰۸۱ <sup>ab</sup>	۱۶/۵۵ <sup>ab</sup>	۰/۸۰۶۷ <sup>a</sup>	۶۶/۰۳ <sup>ab</sup>	۸۲/۷۷ <sup>ab</sup>	A2F2		
۰/۰۱۰۰۷ <sup>a</sup>	۰/۰۰۴۶ <sup>a</sup>	۲/۱۶۴ <sup>a</sup>	۱۸/۹۴ <sup>a</sup>	۰/۸۰۰۰ <sup>a</sup>	۶۸/۱۳ <sup>a</sup>	۸۴/۳۹ <sup>ab</sup>	A2F3		
۰/۰۱۰۴۳ <sup>a</sup>	۰/۰۰۴۰ <sup>a</sup>	۱/۷۷۸ <sup>c</sup>	۱۸/۸۷ <sup>a</sup>	۰/۸۰۳۳ <sup>a</sup>	۵۹/۸۷ <sup>bc</sup>	۸۳/۱۷ <sup>ab</sup>	A2F4		
۰/۰۱۵۱۷ <sup>a</sup>	۰/۰۰۵۶ <sup>a</sup>	۲/۱۰۶ <sup>ab</sup>	۱۳/۶۴ <sup>b</sup>	۰/۸۰۰۰ <sup>a</sup>	۵۷/۹۷ <sup>c</sup>	۸۳/۵۱ <sup>ab</sup>	A2F5		
۰/۰۱۳۲۳ <sup>a</sup>	۰/۰۰۵۲ <sup>a</sup>	۲/۲۵۳ <sup>a</sup>	۱۴/۶۹ <sup>ab</sup>	۰/۷۹۳۳ <sup>ab</sup>	۶۷/۴۰ <sup>a</sup>	۸۲/۹۵ <sup>ab</sup>	A2F6		
۰/۰۱۲۸۷ <sup>a</sup>	۰/۰۰۵۲ <sup>a</sup>	۱/۶۸۹ <sup>c</sup>	۱۸/۵۲ <sup>a</sup>	۰/۸۰۳۳ <sup>a</sup>	۶۶/۷۳ <sup>ab</sup>	۸۱/۵۲ <sup>ab</sup>	A2F7		
۰/۰۱۳۰۳ <sup>a</sup>	۰/۰۰۴۳ <sup>a</sup>	۱/۶۲۲ <sup>c</sup>	۱۵/۱۶ <sup>ab</sup>	۰/۸۰۰۰ <sup>a</sup>	۶۶/۵۷ <sup>ab</sup>	۸۰/۲۲ <sup>b</sup>	A2F8		

میانگین‌های هر ستون که دارای یک حرف مشترک باشند اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵ بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشند.

F1- عدم کاربرد کود آهن، F2- مصرف کود آهن بصورت خاک‌کاربرد، F3- محلول‌پاشی در مرحله‌ی شاخه‌دهی ، F4- محلول‌پاشی در مرحله‌ی گله‌دهی ، F5- محلول‌پاشی در مرحله‌ی غلاف‌دهی ، F6- مصرف خاک‌کاربرد + محلول‌پاشی در مرحله‌ی شاخه‌دهی، F7- مصرف خاک‌کاربرد + محلول‌پاشی در مرحله‌ی گله‌دهی، F8- مصرف خاک‌کاربرد + محلول‌پاشی در مرحله‌ی غلاف‌دهی A1- شرایط نتش خشکی، A2= شرایط بدون نتش خشکی .

جدول ۶- تجزیه واریانس صفات بیوشیمیابی تحت تأثیر فاکتورهای مورد بررسی

CV (%)	خطای ۲	اثر متقابل رژیم رطوبتی و کود آهن	خطای ۱	(i) تیمار رژیم رطوبتی	تکرار	منابع تغییرات	فعالیت ویژه آنزیم پراکسیداز	فعالیت ویژه آنزیم پراکسیداز	درجه آزادی
							۱۳۰۱۷	۵۶	۲
							۹۳۸۲۰۱**	۳۲۵۲ns	۱
							۶۱۶۳	۵۴۱	۲
							۱۱۸۶۶*	۱۱۱۰**	۷
							۴۳۹۹ns	۲۲۶۶**	۷
							۴۱۸۳	۱۷۹	۲۸
							۲۲/۷۸	۱۵/۱۲	

ns \* و \*\* به ترتیب عدم اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵ درصد و ۱ درصد

جدول ۷- مقایسه‌ی میانگین‌های صفات بیوشیمیایی تحت تأثیر سطوح تیمار کود آهن

سطوح تیمار کود آهن	فعالیت ویژه آنزیم پراکسیداز ( $\text{U mg}^{-1}$ Prot)	فعالیت ویژه آنزیم کاتالاز ( $\text{U mg}^{-1}$ Prot)
F1	۶۸/۸۲ <sup>d</sup>	۲۲۱ <sup>c</sup>
F2	۸۹/۳۳ <sup>abc</sup>	۲۴۵/۲ <sup>bc</sup>
F3	۸۲/۹۶ <sup>bed</sup>	۲۲۹/۷ <sup>c</sup>
F4	۹۷/۶۹ <sup>ab</sup>	۲۶۸/۴ <sup>abc</sup>
F5	۷۸/۵۷ <sup>cd</sup>	۲۷۰/۴ <sup>abc</sup>
F6	۷۹/۵۴ <sup>cd</sup>	۲۶۶/۳ <sup>abc</sup>
F7	۱۰۶/۲ <sup>a</sup>	۳۴۶/۲ <sup>a</sup>
F8	۱۰۵/۹ <sup>a</sup>	۳۲۸/۴ <sup>ab</sup>

میانگین‌های هر ستون که دارای یک حرف مشترک باشند فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشند.

جدول ۸- مقایسه‌ی میانگین‌های صفات بیوشیمیایی تحت تأثیر اثر متقابل سطوح رژیم رطوبتی و کود آهن

اثر متقابل رژیم رطوبتی و کود آهن	فعالیت ویژه آنزیم پراکسیداز ( $\text{U mg}^{-1}$ Prot)	فعالیت ویژه آنزیم کاتالاز ( $\text{U mg}^{-1}$ Prot)
A1F1	۷۲/۱۷ <sup>cde</sup>	۹۲/۴۹ <sup>c</sup>
A1F2	۶۱/۹۷ <sup>e</sup>	۷۱/۷۷ <sup>c</sup>
A1F3	۷۵/۳۶ <sup>cde</sup>	۱۲۳/۴ <sup>c</sup>
A1F4	۱۲۴/۵ <sup>a</sup>	۱۲۰/۶ <sup>c</sup>
A1F5	۶۲/۲۱ <sup>e</sup>	۱۴۰/۶ <sup>c</sup>
A1F6	۸۸/۲۰ <sup>cd</sup>	۱۶۲/۱ <sup>c</sup>
A1F7	۸۰/۱۳ <sup>cde</sup>	۱۹۰/۲ <sup>c</sup>
A1F8	۷۸/۵۸ <sup>cde</sup>	۱۰۶ <sup>c</sup>
A2F1	۶۵/۴۷ <sup>de</sup>	۳۴۹/۴ <sup>b</sup>
A2F2	۱۱۶/۷ <sup>ab</sup>	۴۱۸/۶ <sup>ab</sup>
A2F3	۹۰/۵۷ <sup>cd</sup>	۳۳۶ <sup>b</sup>
A2F4	۷۰/۸۷ <sup>cde</sup>	۴۱۶/۲ <sup>ab</sup>
A2F5	۹۴/۹۴ <sup>bc</sup>	۴۰۰/۳ <sup>ab</sup>
A2F6	۷۰/۸۹ <sup>cde</sup>	۳۷۰/۶ <sup>b</sup>
A2F7	۱۳۲/۲ <sup>a</sup>	۵۰۲/۲ <sup>a</sup>
A2F8	۱۳۳/۱ <sup>a</sup>	۵۰۰/۸ <sup>a</sup>

- میانگین‌های هر ستون که حداقل دارای یک حرف مشترک باشند فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵ بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشند

- F1 = عدم کاربرد کود آهن، F2 = مصرف کود آهن بصورت خاک‌کاربرد، F3 = محلول‌پاشی در مرحله‌ی شاخه‌دهی ، F4 = محلول‌پاشی در مرحله‌ی گلدهی ، F5 = محلول‌پاشی در مرحله‌ی غلاف‌دهی ، F6 = مصرف خاک‌کاربرد + محلول‌پاشی در مرحله‌ی شاخه‌دهی، F7 = مصرف خاک‌کاربرد + محلول‌پاشی در مرحله‌ی گلدهی، F8 = مصرف خاک‌کاربرد + محلول‌پاشی در مرحله‌ی غلاف‌دهی

- A1 = شرایط تنش خشکی، A2 = شرایط بدون تنش خشکی

می باشد. نتایج آزمایش حاضر نشان داد که فاکتور کود آهن نیز بر فعالیت ویژه‌ی آنزیم کاتالاز اثر معنی‌داری داشت (جدول ۶) و با استعمال کود آهن، مقدار آن افزایش یافت. از نظر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز نیز تیمار F7 بیشترین (۳۴۶/۲) واحد بر میلی‌گرم پروتئین) و تیمار F1 کمترین (۲۲۱ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) مقدار را به خود اختصاص دادند (جدول ۷)، یکی از دلایل اصلی این است که این آنزیم از دسته پروتئین‌های آهن‌دار محسوب می‌شود و در سلول‌های گیاهی و جانوری هنگامی که مقدار ماده پراکسید هیدروژن در محیط زیاد باشد، وارد عمل می‌شود (Garg *et al.*, 2009). سالاردینی و مجتبهدی (۱۳۹۷) و قربانی و بابالار (۱۳۸۲) نیز گزارش کردند که در صورت کمبود آهن، فعالیت آنتی‌اکسیدان‌هایی نظیر کاتالاز و پراکسیداز کاهش یافته است که با نتایج آزمایش حاضر مطابقت دارد.

#### نتیجه‌گیری:

نتایج تحقیق حاضر نشان که تنفس خشکی به طور معنی‌داری موجب کاهش مقدار صفات محتوای آب نسبی برگ، میزان سبزینگی برگ، حداقل کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II، سرعت رشد گیاه، شاخص سطح برگ و فعالیت ویژه‌ی آنزیم کاتالاز در گیاه نخود شد. کود آهن نیز اثر معنی‌داری بر میزان سبزینگی برگ، شاخص سطح برگ، فعالیت ویژه‌ی آنزیم پراکسیداز و فعالیت ویژه‌ی آنزیم کاتالاز داشت و سبب افزایش صفات مذکور گردید. محلولپاشی آهن بر روی برگ‌های گیاه نخود سبب کاهش اثرات تنفس خشکی شد.

فیزیولوژیک ارقام مقاوم و حساس گندم و معرفی مناسب ترین مقاومت به خشکی. پایان نامه دکتری، دانشگاه فردوسی، مشهد، ایران.  
سینگ، ک. بی. و ساکسنا، ام. سی. (۱۳۸۰) اصلاح جبویات سرمادوست برای تحمل به سرما. ترجمه باقری، ع.، نظامی، ا. و سلطانی، م. سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی. تهران.

یافته است (Jiang and Huang, 2001). همچنین Liu و همکاران (2011) طی یک بررسی بیان کردند که فعالیت کاتالاز در شرایط تنفس خشکی ملایم بیشتر از شرایط تنفس خشکی شدید بوده است. از سوی دیگر نتایج بعضی مطالعات با نتیجه‌ی حاصل از این آزمایش مغایرت داشت. Anjum و همکاران (2012) و همچنین Huseynova (2012) افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز را در شرایط تنفس خشکی نسبت به شرایط عدم تنفس خشکی گزارش نمودند. Shao و همکاران (۲۰۰۵) گزارش کردند که در ارقام گندم مقاوم به خشکی شدت فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز بیشتر از ارقام حساس است. Lima و همکاران (2002) گزارش کردند که تحت شرایط تنفس خشکی، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز در *Coffea* (به نسبت افزایش می‌یابد؛ که این افزایش را ناشی از سطح پایین لیپیدهای اکسیدشونده و نشت الکتروولیتها در کلون‌های متتحمل به خشکی نسبت به کلون‌های حساس به خشکی دانستند. همچنین در یک بررسی دیگر، مقاومت به خشکی لوبيای گونه‌ی *Phaseolus acutifolius* (Turkan *et al.*, 2005) نسبت به حساسیت به خشکی لوبيای زراعی (*Phaseolus vulgaris*)، به سطح پایین لیپیدهای اکسیدشونده در لوبيای گونه‌ی مقاوم نسبت داده شد. تحت شرایط تنفس خشکی میزان رادیکال‌های آزاد اکسیژن در گیاه بالا می‌رود که همین امر یکی از عوامل اصلی افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌هایی نظیر کاتالاز

#### منابع:

- بهاری، م.، پهلوانی، ر.، اکبری، ن. و احسانزاده، پ. (۱۳۸۴). تأثیر مقادیر مختلف کودهای کم مصرف آهن و مس بر رشد و عملکرد ژنوتیپ‌های نخود تحت شرایط دیم منطقه‌ی ایگودرز-ازنا در لرستان. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، ۱۲(۵): ۱۹۰-۲۰۰.
- خزاعی، ح. (۱۳۸۱) اثر تنفس خشکی بر عملکرد و خصوصیات

- arid areas subject to water stress. *Industrial Crops and Products* 41: 203–213.
- Egert, M. and Tevini, M. (2002) Influence of drought on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress in leaves of chives (*Allium choenoprasum*). *Environmental and Experimental Botany* 48: 43-49.
- Hell, R., Stephan, U. W. (2003) Iron uptake, trafficking, and homeostasis in plants. *Planta* 216: 541–551.
- Garg, N. and Manchanda, G. (2009). ROS generation in plants: boon or bane. *Plant Biology*. 143: 88-96.
- Jiang, Y., Huang, B. (2001) Draught and heat stress injury to tow cool-season turfgrasses in relation to antioxidant metabolism and lipid peroxidationtribution No. 00-227-J from Kansas. *Agricultural. Exp. Crop Sciences* 41: 436-442.
- Huseynova, I.M. (2012) Photosynthetic characteristics and enzymatic antioxidantcapacity of leaves from wheat cultivars exposed to drought. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*. 1817: 1516–1523.
- Li, L., Zhang, J., Wang, Y., Xing, W. and Zhu, A. (2005) Effects of soil properties and depth on fruit tree chlorosis in the loess region in northern China. *Communal. Soil Sciences. Plant Annals* 36(9-10): 1129-1140.
- Lima, A. L. S., DaMatta, F. M., Pinheiro, H. A., Totola, M. R., Loureiro, M. E. (2002) Photochemical responses and oxidative stress in tow clones of Coffea canephora under water deficit condition. a. *Environmental and Experimental Botany* 47: 239-247.
- Liu, C., Liu, Y., Guo, K., Fan, D., Li, G., Zheng, Y., Yu, L., Yang, R. (2011) Effect of drought on pigments, osmotic adjustment and enzymes in six woody plant species in karst habitats of southwestern china. *Environmental and Experimental Botany* 71: 174-183.
- Lopez-Bellido, L. (1998) Role of grain legumes in Mediterranean agricultural systems. 3<sup>rd</sup> European Conference on Grain Legumes. Valladolid, Spain.
- Manivannan, P., Jaleel, C.A., Somasundaram, R., Panneerselvam, R. (2008) Osmoregu-lation and antioxidant metabolism in drought-stressed *Helianthus annuus* under triadimefon drenching. *Comptes Rendus Biologies* 331: 418–425.
- Modhan, M. M., Narayanan, S. L., and Ibrahim, S. M. (2000) Chlorophyll stability indexes. Its impacts on tolerance in rice. *International Research Institute Notes*: 252:38-40.
- Mortvedt, J. J. (1991) Correcting iron deficiency in annual and perennial. In: *Iron nutrition and interaction in plant* (eds Y. Chen and Y. Hadar). Pp. 315-321. Kluwer Academic Publisher, The Netherland.
- Motta, A., Basso, B., Dell'Orto, M., Briat, J. F. and Soave, C. (2001) Ferritin synthesis in response to iron in the Fe-inefficient maize mutant ys3. *Plant Physiology. Biochemistry* 39: 461–465.
- صباغ پور، س. ح. (۱۳۸۲) توارث پذیری و پیشرفت ژنتیکی وزن دانه در گیاه نخود. هشتمین کنگره ژنتیک ایران، تهران، ایران.
- قربانلی، م. و بابالار، م. (۱۳۸۲) تغذیه‌ی معدنی گیاه. انتشارات دانشگاه تربیت معلم.
- کوچکی، ع. و بنیان اول، م. (۱۳۶۸) زراعت حبوبات. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد.
- منگل، ک. و کرکبی، ا. (۱۳۶۷) اصول تغذیه ی گیاه. ترجمه سالاردینی، ع. و مجتبی‌نژاد، م. مرکز نشر دانشگاهی.
- میرآخوری، م.، پاکنژاد، ف.، مرادی، ف.، اردکانی، م. ر.، ناظری، پ. و اسماعیلپور جهرمی، م. (۱۳۸۹) بررسی تأثیر تنفس کم آبی و محلولپاشی متانول بر پارامترهای فلورسنس کلروفیل، محتوای آب نسبی سلول و محتوای کلروفیل برگ سویا، نشریه پژوهش‌های زراعی ایران، ۸ (۳): ۵۴۱-۵۳۱.
- Anjum, S.A., Farooq, M., Xie, X. Y., Liu, X. J., Ijaz, M. F. (2012) Antioxidant defensesystem and proline accumulation enables hot pepper to perform better underdrought. *Scientia Horticulturae* 140: 66–73.
- Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantites of protein utilizing the principles of protein dyebinding. *Annals of Biochemistry* 72: 248-254.
- Briat, J. F. (2007) Iron dynamics in plant. In: *Advances in botanical research: incorporating advances in plant pathology* (eds Kader, J.C., Delseny, M.) Pp. 137-180. Academic Press, London, UK.
- Chance, B. and Maehly, A. C. (1995) Assay of catalase and peroxidase. In *Methods in enzymology*. (eds S. P. Culowic, and N. O. Kaplan) PP. 764-765. Academic Press. Inc. New York.
- Dahan, R., Kirby, J. And Beniwal, S.P.S. (1998) Dual season chickpea development for wide adaptation and stable yield. 3<sup>rd</sup> European Conference on Grain Legumes. Valladolid, Spain.
- De Campos, M. K. F., de Carvalho, K., de Souza, F. S., Marur, C. J., Pereira, L. F. P., Filho, J. C. B., Vieira, L. G. E. (2011) Drought tolerance and antioxidant enzymatic activ-ity in transgenic 'Swingle' citrumelo plants over-accumulating proline. *Environmental and Experimental Botany* 72: 242–250.
- dos Santos, C. M., Verissimo, V., Wanderley Filho, H. C., Ferreira, D. L., Cavalcante, V. M., Rolim, P. G. d. S., Endres, E. V. L. (2013) Seasonal variations of photosynthesis, gasexchange, quantum efficiency of photosystem II and biochemical responses of *Jatropha curcas* L. grown in semi-humid and semi-

- Shao, H. B., Liang, Z. S., Shao, M. A. and Wang B. C. (2005) Changes of some physiological and biochemical indices for soil water deficits among 10 wheat genotypes at seedling stage. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 42: 107–113.
- Sinha, A. K. (1972) Colorimetric assay of catalase. *Analytical Biochemistry* 47: 389-394.
- Turkan, I., Bor, M., Ozdemir, F., Koca, H. (2005) Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of draught-tolerant *P. acutifolius* Gray and draught-sensitive *P. vulgaris* L. Subject to polyethylene glycol mediated water stress. *Plant Sciences* 168: 223-231.
- Pompelli, M. F., Barata-Luís, R., Vitorino, H. S., Gonçalves, E. R., Rolim, E. V., Santos, M. G., Almeida-Cortez, J. S., Ferreira, V. M., Lemos, E. E., Endres, L., 2010. Photosynthesis, photoprotection and antioxidant activity of purging nut under drought deficit and recovery. *Biomass and Bioenergy*. 34: 1207–1215.
- Saxena, M. C. and Sheldark, A. R. (2003) Iron chlorosis in chickpea grown on higher pH calcareous vertisol. *Field Crops Research*. 3: 211-214.
- Saxena, M. C., Malhotra, R. S. and Singh, K. B. (1990) Iron deficiency in chickpea in the Mediterranean region and its control through resistant genotypes and nutrient application. *Plant and Soil* 123: 251-254.