

اثرات کود زیستی و بقایای گیاهی بر ویژگی‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه جو در شرایط تنش آبی

مریم نیازی اردکان^۱، وحید براتی^{*} و احسان بیژن‌زاده

بخش اگرواکولوژی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی داراب، دانشگاه شیراز.

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۵/۰۹، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۸/۰۸/۱۱)

چکیده

این پژوهش در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی داراب - دانشگاه شیراز اجرا شد. آزمایش به صورت اسپلیت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در سه تکرار در سال زراعی ۹۷-۱۳۹۶ انجام شد. تیمارها در این پژوهش شامل: دو سطح آبیاری به-عنوان عامل اصلی [۱- مطلوب: آبیاری بر اساس نیاز آبی گیاه تا مرحله رسیدگی فیزیولوژیک و ۲- تنش آبی: آبیاری بر اساس نیاز آبی گیاه تا انتهای مرحله گلدهی] بود. همچنین، عامل‌های فرعی شامل دو سطح بقایای گیاهی [۱- حذف بقایا، ۲- برگرداندن ۳۰ درصد بقایای گیاهی (کاه گندم) به خاک] و چهار منبع کودی [۱- شاهد: صفر کیلوگرم نیتروژن در هکتار، ۲- کود نیتروژن: کاربرد ۱۰۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار، ۳- کود تلفیقی: استفاده از باکتری آزوسپیریوم + ۵۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار و ۴- کود زیستی: تلقیح بذرها با باکتری آزوسپیریوم] بود. نتایج نشان داد که برهمکنش تیمار بقایا $\times$ نیتروژن بر غلظت کلروفیل a، کاروتنوئید و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و گایاکول پراکسیداز معنی‌دار بود. این برهمکنش نشان داد که در شرایط بدون بقایا، کود نیتروژن و تیمار تلفیقی سبب افزایش معنی‌دار این صفات نسبت به شاهد شدند. در مقابل در شرایط حضور بقایا، نیز روندی مشابه شرایط بدون بقایا البته با شدت واکنش بیشتر به کاربرد این دو منبع نیتروژن وجود داشت. اثر برهمکنش تیمار رژیم آبیاری $\times$ منبع کود نیتروژن بر فعالیت آنزیم کاتالاز و گایاکول پراکسیداز نشان داد که در شرایط مطلوب رطوبتی، کاربرد کود نیتروژن صرف نظر از منبع آن سبب افزایش فعالیت این آنزیم‌ها شد. بیشترین مقدار افزایش در مقایسه با شاهد مربوط به کود نیتروژن و سپس کود تلفیقی بود. روندی مشابه شرایط مطلوب در شرایط تنش آبی البته با شدت واکنش بیشتر به کاربرد نیتروژن وجود داشت. در شرایط آبیاری مطلوب و تنش آبی، بیشترین عملکرد دانه مربوط به تیمار کود تلفیقی بود. با توجه به ملاحظات زیست محیطی و اقتصادی و همچنین با توجه به برتری کود تلفیقی در شرایط مطلوب و تنش رطوبتی به لحاظ بیوشیمیایی و عملکرد دانه، این رژیم کودی در شرایط عدم اطمینان از دسترسی به آب برای آبیاری پس از گلدهی در مناطق جنوبی ایران قابل توصیه است.

واژه‌های کلیدی: آزوسپیریوم، کاتالاز، کاروتنوئید، کلروفیل، گایاکول پراکسیداز

مقدمه

(Ullrich, 2011). این گیاه دارای سابقه کاشت طولانی در

مناطق وسیعی از کره زمین بوده و دارای قدمتی معادل کشاورزی است (خداپنده، ۱۳۹۱). در مناطقی همانند جنوب

جو (*Hordeum vulgare* L.) در بین غلات به لحاظ اهمیت، رتبه‌ی چهارم را در جهان به خود اختصاص داده‌است

^{*} نویسنده مسؤول، نشانی پست الکترونیکی: v.barati@shirazu.ac.ir

استان فارس که بارندگی‌ها اکثراً در مرحله رویشی و در زمستان رخ می‌دهد، عملکرد دانه جو به‌طور قابل ملاحظه‌ای توسط تنش‌های آبی در مرحله پرشدن دانه کاهش می‌یابد (براتی و غدیری، ۱۳۹۵). ایجاد تنش آبی در این مرحله از نمو بذر، باعث ایجاد بذره‌های چروکیده و کاهش عملکرد دانه می‌گردد (حسن‌پور و همکاران، ۱۳۸۷).

تنش آبی به‌طور مستقیم بسیاری از فرآیندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیک گیاهان را با اختلال روبرو می‌کند. این تنش گونه‌های اکسیژن فعال را در گیاه افزایش می‌دهد و بنابراین پایداری غشاهای سلولی طی فرآیند اکسیداسیون کاهش می‌یابد. این کاهش سبب کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی، فتوسنتز و در نهایت عملکرد گیاه می‌شود (Fazeli et al., 2007). از دیگر پیامدهای فیزیولوژیک تنش آبی بر گیاه، کاهش محتوای نسبی آب برگ است. این رخداد باعث ایجاد اختلال در روند فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه شده و تغییر متابولیسم آنزیم‌ها را سبب می‌شود (Sing and Patal, 1996). همچنین، در شرایط کمبود محتوای نسبی آب در گیاه، غشای سلولی دچار افت شده و نهایتاً پایداری خود را از دست می‌دهد (Shifraw and Baker, 1996). گیاهان برای مقابله با تنش آبی مکانیسم‌های دفاعی متنوعی دارند، از جمله اینکه آن‌ها سطح فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز را در خود بالا می‌برند. این دو آنزیم به نوعی غیرفعال کننده اکسیژن فعال ایجاد شده به دنبال تنش آبی هستند و افزایش آن‌ها اثرات مخرب تنش را کاهش خواهد داد (Pan et al., 2006). امینی و همکاران (۱۳۸۷) در مطالعات خود بر روی گیاه جو نشان دادند که آنزیم پراکسیداز مهم‌ترین عامل جهت افزایش مقاومت گیاه جو در مقابل فرآیند اکسیداسیون ناشی از تنش آبی است.

تنش آبی به صورت غیرمستقیم بر رشد گیاهان زراعی از جمله جو از طریق کاهش جذب عناصر غذایی به‌ویژه نیتروژن مؤثر است (Rideg, 2002). در واقع، پاسخ گیاه زراعی به کود نیتروژن به شدت به قابلیت دسترسی گیاه به آب وابسته است (Tilling et al., 2007). کاهش جذب نیتروژن در شرایط تنش

آبی بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه را متأثر خواهد کرد. Jin و Hong (۲۰۰۷) کاهش غلظت کلروفیل *a* و *b* و همچنین، کاهش پایداری غشاهای سلولی را در شرایط کمبود نیتروژن گزارش کرده‌اند.

برای کاهش اثرات مخرب تنش آبی به‌ویژه در مناطق جنوبی ایران که این نوع تنش عمدتاً در مراحل پس از گلدهی غلات رخ می‌دهد، باید به دنبال راهکاری مناسب بود. کاربرد کودهای شیمیایی نیتروژنه به مقدار زیاد در مراحل رویشی غلات زمستانه سبب افزایش حساسیت غلات به تنش آبی انتهای فصل می‌شود. Vanherwaarden و همکاران (۱۹۹۸) اثبات کردند که کاربرد زیاد نیتروژن در مزارع غلات سبب رشد رویشی سریع و زیاد غلات و افزایش شاخص سطح برگ خواهد شد. اندام‌های رویشی توسعه یافته سبب تخلیهی پروفیل خاک از رطوبت شده و در شرایط کمبود آب در انتهای فصل رشد سبب تشدید تنش رطوبتی خواهد شد. در مقابل، بسیاری از پژوهش‌ها (Arzanesh et al., 2010; Sarig et al., 2010; Creus et al., 1988) و (هادی و همکاران، ۱۳۹۰) نشان داده‌اند که کودهای زیستی از جمله باکتری آزوسپیریلوم با توجه به توان سازگاری با شرایط محیطی، تولید هورمون‌های رشد، توانایی محلول ساختن عناصر غیر قابل جذب خاک و تثبیت بیولوژیکی نیتروژن در کاهش اثرات سوء تنش آبی نقش بسزایی دارند. بنابراین، استفاده از باکتری‌ها از جمله آزوسپیریلوم به تنهایی و یا در تلفیق با کودهای شیمیایی نیتروژنه می‌تواند در کاهش سطح تنش آبی در غلات نقش زیادی داشته باشد. در همین راستا، سید شریفی و سید شریفی (۱۳۹۸) نشان دادند که افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در شرایط استفاده از کودهای زیستی می‌تواند تا حد زیادی اثرات مخرب ناشی از تنش را در گیاه آفتابگردان تعدیل کند. نتایج پژوهشی بر روی گشنیز نشان داد که کود زیستی فسفات باعث افزایش غلظت کاروتنوئید برگ در گیاه شد (بسطامی و مجیدیان، ۱۳۹۴). اما، پژوهشی جامع که به بررسی اثرات باکتری آزوسپیریلوم در شرایط تنش رطوبتی بر صفات بیوشیمیایی مانند سطح آنتی اکسیدان‌های آنزیمی مانند کاتالاز

و پراکسیداز و همچنین، صفات فیزیولوژیک گیاه جو مانند رنگیزه‌های فتوسنتزی و محتوای نسبی آب برگ در شرایط گرم و خشک جنوب استان فارس پرداخته باشد، بسیار کمیاب است. افزودن بقایای گیاهی به خاک مزرعه از دیگر روش‌های کاهش اثرات منفی تنش آبی و یا به تأخیر انداختن آن است. افزودن بقایای گیاهی به خاک ظرفیت نگهداری رطوبت خاک را افزایش داده و بر کاهش اثرات مخرب تنش آبی بر گیاهان و میکروارگانیسم‌های مفید خاک مؤثر است (صادقی، ۱۳۸۶ و Lerner et al., 2006). از این‌رو، حضور بقایای گیاهی در خاک علاوه بر تأمین هیدروکربن مورد نیاز میکروارگانیسم‌ها، رطوبت کافی را در شرایط تنش برای تجزیه بقایا و آزادسازی عناصر غذایی موجود در آن‌ها فراهم آورده و خاک را حاصلخیز می‌کند (خسروی، ۱۳۹۳ و صادقی، ۱۳۸۶). تجزیه سریع‌تر بقایا به دلیل شرایط اقلیمی گرم جنوب ایران و همچنین، سوزاندن یا خارج کردن بقایای گیاهی از زمین‌های کشاورزی موجب کاهش مقدار مواد آلی اکثر خاک‌های جنوبی ایران شده‌است. این روند حاصلخیزی خاک‌ها، ظرفیت نگهداری رطوبت و سایر ویژگی‌های مطلوب خاک را کاسته است (شهپری و فاتح، ۱۳۹۵). با وجود اهمیت بسیار زیاد بقایای گیاهی در کاهش سطح تنش آبی و نقش تغذیه‌ای آن برای گیاهان، مطالعات کمی در رابطه با اثرات آن‌ها بر صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک مرتبط با تحمل به تنش در گیاه جو به‌ویژه کاربرد توأم آن‌ها با کودهای زیستی از جمله آزوسپیریوم در مناطق گرم و خشک جنوب ایران انجام گرفته است.

با توجه به کمبود اطلاعات در رابطه با اثرات بقایای گیاهی و کودهای زیستی بر کاهش اثرات تنش آبی در مناطق جنوبی ایران، این پژوهش به بررسی اثرات بقایای گندم و کاربرد کود زیستی به‌صورت خالص و در تلفیق با کود نیتروژن در شرایط تنش آبی پس از گلدهی بر ویژگی‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک مرتبط با تحمل به تنش در گیاه جو پرداخته است.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در مزرعه‌ی پژوهشی دانشکده کشاورزی و منابع

طبیعی داراب - دانشگاه شیراز (طول جغرافیای ۵۴° و ۳۰' شرقی و عرض جغرافیایی ۲۸° و ۵۰' شمالی و با ارتفاع ۱۱۸۰ متری از سطح دریا) به‌صورت اسپلیت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در سه تکرار در سال زراعی ۹۷-۱۳۹۶ اجرا شد. منطقه داراب دارای آب و هوای خشک است. میانگین دراز مدت بارندگی سالیانه‌ی این منطقه ۲۵۰ میلی‌متر است، که این مقدار بارندگی عمدتاً در مرحله رشد رویشی گیاه در فصل پاییز و زمستان رخ می‌دهد. وضعیت آب و هوایی منطقه در سال زراعی ۹۷-۱۳۹۶ در جدول ۱ آمده است. جهت بررسی ویژگی‌های خاک، نمونه‌ای مرکب (عمق ۰-۳۰ سانتی‌متر) از خاک مزرعه به‌طور تصادفی برداشته و برای اندازه‌گیری به آزمایشگاه خاک‌شناسی دانشکده کشاورزی داراب - دانشگاه شیراز فرستاده شد. جدول ۲ نتایج آزمون خاک را نشان می‌دهد.

تیمارها در این پژوهش شامل: دو سطح آبیاری به‌عنوان عامل اصلی [۱]- مطلوب: آبیاری بر اساس نیاز آبی گیاه تا مرحله رسیدگی فیزیولوژیک و ۲- تنش آبی: آبیاری بر اساس نیاز آبی گیاه تا انتهای مرحله‌ی گلدهی (قطع آبیاری پس از مرحله گلدهی) بود. همچنین، عامل‌های فرعی شامل دو سطح بقایای گیاهی [۱]- حذف بقایا و ۲- برگرداندن ۳۰ درصد بقایای گیاهی (کاه گندم) به خاک [و چهار منبع کودی [۱]- شاهد: صفر کیلوگرم نیتروژن در هکتار ، ۲- کود نیتروژن: کاربرد ۱۰۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار به‌صورت اوره (۴۶ درصد نیتروژن) با توجه به آزمون خاک، ۳- کود تلفیقی: استفاده تلفیقی از باکتری آزوسپیریوم (*Azospirillum brasilense*) و نیتروژن به مقدار نصف نیاز نیتروژنی گیاه (۵۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار به‌صورت اوره) و ۴- کود زیستی: تلقیح بذرها با باکتری آزوسپیریوم] بود. جهت آماده‌سازی کرت‌ها و جلوگیری از نشت جانبی آب و کود نیتروژن اطراف هر کرت فرعی پشته‌ای به عرض نیم متر فاصله ایجاد شد. برای اطمینان بیشتر از عدم حرکت جانبی آب و نیتروژن، فاصله‌ی بین کرت‌های اصلی (آبیاری مطلوب و تنش آبی) دو متر در نظر گرفته شد. اندازه‌ی کرت‌های فرعی ۲×۳ مترمربع

جدول ۱- وضعیت آب و هوایی منطقه در سال زراعی ۹۷ - ۱۳۹۶.

ماه	بارندگی، میلی متر	بیشینه دما درجه سانتی گراد	کمینه دما درجه سانتی گراد	رطوبت نسبی، درصد	تبخیر و تعرق میلی متر	طول دوره روشنایی، ساعت
مهر	۰/۰	۳۳/۰	۱۵/۹	۲۸/۰	۱۸۱/۸	۳۱۰/۹
آبان	۱/۹	۲۷/۴	۹/۵	۳۵/۵	۱۱۳/۳	۲۸۴/۴
آذر	۲۶/۲	۱۹/۵	۴/۷	۵۴/۵	۵۵/۰	۲۳۱/۲
دی	۱/۳	۲۰/۱	۳/۳	۴۵/۵	۵۵/۰	۲۷۳/۲
بهمن	۰/۴	۲۱/۴	۴/۵	۳۹/۵	۷۶/۵	۲۷۷/۶
اسفند	۶۲/۰	۲۲/۵	۸/۶	۴۹/۵	۸۶/۰	۲۳۹/۲
فروردین	۶/۴	۲۸/۶	۱۲/۱	۳۷/۵	۱۶۳/۳	۲۹۰/۳
اردیبهشت	۱/۷	۳۲/۲	۱۶/۹	۳۱/۵	۲۴۷/۲	۲۸۷/۷
خرداد	۰/۲	۳۹/۶	۲۲/۱	۲۲/۰	۳۰۶/۱	۲۵۷/۱
تیر	۰/۰	۴۱/۷	۲۶/۹	۱۹/۵	۴۲۸/۰	۳۶۷/۳
مرداد	۰/۰	۴۱/۸	۲۷/۳	۲۰/۵	۴۰۲/۸	۳۵۶/۰
شهریور	۴/۷	۳۹/۵	۲۳/۴	۲۷/۰	۳۱۱/۱	۳۲۵/۵

جدول ۲- ویژگی های فیزیکی و شیمیایی خاک در عمق ۰-۳۰ سانتی متری.

ویژگی	واحد	مقدار	ویژگی	واحد	مقدار
شن	%	۳۸/۱۲	نیتروژن کل	%	۰/۰۸
سیلت	%	۴۴	پتاسیم قابل دسترس	mg kg ⁻¹	۳۲۰
رس	%	۱۷/۸۸	فسفر قابل دسترس	mg kg ⁻¹	۱۰
کربن آلی	%	۰/۹۷	آهن	mg kg ⁻¹	۵/۶۷
ماده آلی	%	۱/۶۸	منگنز	mg kg ⁻¹	۱۶/۷۲
قابلیت هدایت الکتریکی	dS m ⁻¹	۱/۰۹	مس	mg kg ⁻¹	۱/۶۹
اسیدیته		۷/۴۲	روی	mg kg ⁻¹	۰/۶۶

بود. با توجه به نتایج آزمون خاک کود سوپر فسفات تریپل (۵۰ کیلوگرم در هکتار) قبل از کاشت به صورت نواری زیر بذر استفاده شد. بذر جو (رقم زهک) (رقم جو آبی با سازگاری وسیع و مناسب برای کشت در مناطق گرم جنوب کشور) از موسسه تحقیقات، اصلاح و تهیه نهال و بذر (ایستگاه حسن آباد داراب) تهیه و با توجه به تاریخ بهینه کاشت در منطقه (نیمه دوم آذرماه) در ۲۳ آذر در ردیف های به فاصله ۲۵ سانتی متر در ۶ ردیف به طول ۳ متر بر اساس مقدار توصیه شده (۱۸۲/۲ کیلوگرم در هکتار) کاشته شد.

جهت اعمال مدیریت بقایا، در اوایل آبان ماه ۳۰ درصد از بقایای برجای مانده (کاه) از گیاه زراعی سال قبل (گندم) (۱۵۰۰ کیلوگرم در هکتار) محاسبه شد (کشاورز نژاد و

همکاران، ۱۳۹۲) و به کرت های مورد نظر افزوده و با خاک مخلوط شد. باکتری آزوسپیریوم (*Azospirillum brasilense*) مورد استفاده در این پژوهش از موسسه تحقیقات آب و خاک تهیه گردید. قبل از کاشت بر اساس روش های موجود (Tale and Hadad, 2011; Somasegaran et al., 2012) تلقیح بذر ها با باکتری آزوسپیریوم در محیط آزمایشگاهی انجام شد. به این صورت که قبل از تلقیح برای گندزدایی بذر ها و جلوگیری از آلودگی میکروبی آنها برای مدت ۱۰ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم یک درصد قرار گرفته و سپس با آب مقطر سترون چندین بار شستشو شدند. در تیمار تلقیح، بذر های جو در داخل یک کیسه پلی اتیلن ریخته شد و محلول آب و شکر به عنوان ماده چسباننده (مقدار ۲۰ میلی لیتر محلول شکر ۲۰

درصد برای هر کیلوگرم بذر) به آن اضافه گردید. آنگاه کیسه حاوی بذر و ماده چسباننده برای مدت ۳۰ ثانیه به شدت تکان داده شد تا سطح تمامی بذرها به طور یکنواخت چسبناک گردد. پس از آن، مایه تلقیح (مقدار ۲۰ گرم از مایه تلقیح برای هر کیلوگرم بذر) به بذرها چسبناک اضافه شد و پس از ۴۵ ثانیه تکان دادن و اطمینان از چسبیدن یکنواخت مایه تلقیح به آن‌ها، بذرها را آغشته به ماده تلقیح برای خشک شدن بر روی ورقه آلومینیوم تمیز در زیر سایه پهن شدند. در تیمارهای کود زیستی و تلفیقی علاوه بر تلقیح بذرها، باکتری آزوسپیریلوم به همراه آب آبیاری (به مقدار ۱۰ گرم برای هر کرت) در مراحل پنجه‌زنی (کد زیداکس ۲۱) و ساقه رفتن (کد زیداکس ۳۱) (Zadoks et al., 1974) بکار رفت. همچنین، کود نیتروژن در سه مرحله [سه برگچه‌ای (کد زیداکس ۱۳)، پنجه‌زنی (کد زیداکس ۲۳) و ساقه رفتن (کد زیداکس ۳۱)] (Zadoks et al., 1974) و به مقدار مساوی به خاک مزرعه افزوده شد.

جهت آبیاری زمین، قبل از هر آبیاری در کرت‌های مربوط به تیمار آبیاری مطلوب، محتوای رطوبتی خاک به وسیله روش وزنی (علیزاده، ۱۳۷۸) در فواصل ۳۰ سانتی‌متری تا عمق ۶۰ سانتی‌متری خاک اندازه‌گیری شد. در این روش از عمق‌های اشاره شده نمونه‌ای با مته برداشت شد و پس از وزن کردن نمونه‌ی مرطوب، آن را به مدت ۲۴ ساعت در آون (دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد) قرار داده شد تا خشک شود. پس از خشک شدن و وزن کردن دوباره، مقدار رطوبت خاک اندازه‌گیری شد (علیزاده، ۱۳۷۸). درصد حجمی رطوبت خاک در حالت ظرفیت مزرعه و نقطه پژمردگی دائم به روش‌های آزمایشگاهی و مزرعه‌ای اندازه‌گیری شد. محتوای حجمی رطوبت خاک در حالت ظرفیت مزرعه‌ای در عمق‌های ۳۰ و ۶۰ سانتی‌متری به ترتیب ۰/۲۲ و ۰/۲۱ سانتی‌متر مکعب بر سانتی‌متر مکعب بود. همچنین، محتوای حجمی رطوبت خاک در نقطه پژمردگی دائم در عمق‌های ۳۰ و ۶۰ سانتی‌متری به ترتیب ۰/۱۱ و ۰/۱۰ سانتی‌متر مکعب بر سانتی‌متر مکعب بود. مقدار آب قابل دسترس از تفاضل مقدار رطوبت در حالت ظرفیت مزرعه و نقطه پژمردگی دائم به دست آمد (علیزاده، ۱۳۷۸) و (Hanson

2004, et al.). حداکثر تخلیه مجاز رطوبتی بر اساس گزارش فائو ۵۶ (Allen et al., 1998) برابر با ۵۵ درصد از کل آب قابل دسترس در فصل رشد در نظر گرفته شد. هنگامی که مقدار آب قابل دسترس خاک به کمتر از ۵۵ درصد از آن رسید، آبیاری انجام گرفت و رطوبت عمق ۰ تا ۶۰ سانتی‌متری خاک به ظرفیت مزرعه رسانده شد. مقدار آب مورد نیاز به وسیله معادله‌ی زیر محاسبه و مقدار آب کاربردی برای هر کرت به وسیله روش حجمی- زمانی (Grimes, 2015; Barati et al., 1987, et al.) اندازه‌گیری شد. در این روش مقدار آب محاسبه شده به وسیله معادله‌ی ۱ که بر اساس میلی‌متر بود تبدیل به لیتر در هر کرت شد و سپس با توجه به دبی خروجی از لوله‌های تعبیه شده برای هر کرت، زمان مورد نیاز برای آبیاری آن مشخص شد. در کرت‌های مربوط به تیمار تنش آبی نیز تا مرحله گلدهی آبیاری به همین صورت انجام گرفت و پس از گلدهی آبیاری به طور کامل قطع شد. مقدار آب استفاده شده در شرایط مطلوب رطوبتی و تنش آبی به ترتیب ۵۴۷۶ و ۳۱۷۶ متر مکعب بر هکتار بود که به ترتیب در ۱۱ و ۷ نوبت آبیاری بکار رفت. لازم به ذکر است که پس از مرحله‌ی گلدهی تا انتهای رسیدگی بارندگی رخ نداد.

$$D = \sum_{i=1}^n (\theta_{fci} - \theta_i) \Delta Z_i$$

D: عمق آب آبیاری (میلی‌متر)، i یک لایه، n: تعداد لایه‌های خاک، θ_{fci} : محتوای حجمی رطوبت خاک در حالت ظرفیت مزرعه (سانتی‌متر مکعب بر سانتی‌متر مکعب) در i امین لایه خاک، θ_i : محتوای حجمی رطوبت خاک (سانتی‌متر مکعب بر سانتی‌متر مکعب) در i امین لایه خاک، ΔZ_i : ضخامت هر لایه خاک: میلی‌متر.

صفات مورد اندازه‌گیری: برای اندازه‌گیری غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a, b و کارتنوئیدها) و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و گایاکول پراکسیداز نمونه‌گیری از مزرعه در مرحله خمیری نرم (کد زیداکس ۸۰) (Zadoks et al., 1974) و به صورت تصادفی از چند نقطه از قسمت مرکزی هر کرت از برگ پرچم انجام شد.

غلظت کلروفیل و کاروتنوئید: برای استخراج و اندازه

گیری غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a, b و کارتنوئیدها) ۰/۱ گرم از بافت تازه‌ی برگ در هاون چینی با ازت مایع به تدریج ساییده شده و پس از آن ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد به آن اضافه گردید و در دستگاه سانتریفیوژ (Z326K ساخت آلمان) به مدت ۱۵ دقیقه با ۶۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. پس از آن ۱ میلی‌لیتر از محلول شفاف رویی را با ۹ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده و میزان جذب عصاره استخراج شده با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر (مدل UV-160A ساخت شرکت Shimadzu ژاپن) در طول موج ۴۷۰، ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر قرائت گردید و در انتها غلظت رنگیزه فتوسنتزی (میلی‌گرم بر گرم وزن تر) از روابط زیر محاسبه شد (Arnon, 1967).

معادله ۲

$$\text{Chlorophyll } a = (19.3 \times A_{663} - 0.86 \times A_{645}) V / 100W$$

معادله ۳

$$\text{Chlorophyll } b = (19.3 \times A_{645} - 3.6 \times A_{663}) V / 100W$$

معادله ۴

$$\text{Carotenoid} =$$

$$(100 \times A_{470}) + (3.27 \times \text{mg ch. } l_a) - (104 \times \text{mg ch. } l_b) / 227$$

A₆₆₃: قرائت در طول موج ۶۶۳، A₆₄₅: قرائت در طول موج ۶۴۵،A₄₇₀: قرائت در طول موج ۴۷۰، W: وزن بافت تازه برگ، V:حجم محلول مصرفی، Mg ch. l_a: غلظت کلروفیل a،

غلظت کلروفیل b.

فعالیت آنزیم کاتالاز: جهت استخراج و اندازه‌گیری

فعالیت آنزیم کاتالاز، ۰/۱ گرم از بافت تازه‌ی برگ با استفاده از هاون چینی با ازت مایع به تدریج ساییده شد و سپس ۵ میلی‌لیتر از بافر فسفات (pH=7) به آن اضافه شد و پس از انتقال به میکروتیوب، درون دستگاه سانتریفیوژ (مدل Z326K ساخت آلمان) با ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شد. محلولی که جهت خواندن فعالیت آنزیم کاتالاز استفاده شد شامل ۵۰ میلی‌مولار بافر فسفات، ۲۰ میلی‌مولار پراکسید هیدروژن و در انتها ۵۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی (که در آخر افزوده شد) بود. پس از آن بلافاصله جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر به مدت ۳۰

ثانیه توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (UV-160A ساخت شرکت Shimadzu ژاپن) ثبت شد. محلول شاهد شامل تمامی این مواد به‌جز عصاره آنزیمی بود. فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از ضریب خاموشی ($\epsilon = 39/4 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$) به صورت میکرومول پراکسید هیدروژن تجزیه شده و به‌صورت واحد در دقیقه بر گرم وزن تر بیان شد (Chance and Maehly, 1950; Aebi, 1984).

فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز: جهت استخراج و

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز ۰/۱ گرم از بافت تازه‌ی برگ با استفاده از هاون چینی با ازت مایع به تدریج ساییده شد و سپس ۵ میلی‌لیتر از بافر فسفات (pH=7) به آن اضافه شد و پس از انتقال به میکروتیوب توسط دستگاه سانتریفیوژ (مدل Z326K ساخت آلمان) با ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول واکنش برای خواندن فعالیت آنزیم مورد نظر شامل ۵۰ میلی‌مولار بافر فسفات، ۱۰ میلی‌مولار گایاکول، ۲۰ میلی‌مولار پراکسید هیدروژن و در انتها ۵۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی (که در آخر افزوده شد) بود و بلافاصله جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر به مدت ۶۰ ثانیه توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل UV-160A ساخت شرکت Shimadzu ژاپن) قرائت شد. محلول شاهد شامل تمامی این مواد به‌جز عصاره آنزیمی بود. فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز با استفاده از ضریب خاموشی ($\epsilon = 26.6 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$) به صورت میکرومول تراگایاکول تشکیل شده و به صورت واحد در دقیقه بر گرم وزن تر بیان شد (Chance and Maehly, 1950; Aebi, 1984).

محتوای نسبی آب برگ پرچم: تعداد ۵ برگ پرچم در

مرحله شیری شدن دانه (کد زیداکس ۷۵) (Zadoks et al., 1974) به طور تصادفی از قسمت مرکزی هر کرت برداشت شد. وزن برگ‌های تازه برداشت‌شده بلافاصله اندازه‌گیری شد. برگ‌ها به مدت ۱۴ ساعت در آب مقطر قرار داده شدند تا به حالت اشباع درآیند، سپس از آب مقطر خارج و کاملاً خشک شدند و وزن آن‌ها اندازه‌گیری شد. پس از آن، نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و وزن خشک آن‌ها اندازه‌گیری شد. محتوای نسبی آب برگ

تفاوت معنی‌داری با شاهد نداشت (جدول ۴). اثر مثبت کاربرد کود نیتروژن صرف نظر از منبع آن، در شرایط آبیاری مطلوب بر غلظت کلروفیل برگ توسط سایر پژوهشگران در کلزا (دیده‌بان و همکاران، ۱۳۹۲)، ذرت (Varvel et al., 1997) و گلرنگ (حیدری و همکاران، ۱۳۹۴) و در شرایط تنش آبی در گیاه جو (سی و سه مرده و همکاران، ۱۳۹۳) گزارش شده است. همچنین، دیده‌بان و همکاران (۱۳۹۵) نشان دادند که در شرایط مطلوب رطوبتی بیشترین مقدار غلظت کلروفیل در بالاترین سطح نیتروژن (۲۰۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار) مشاهده شد.

در بررسی مقایسات میانگین شرایط با بقایا و بدون بقایا، نتایج نشان داد که بجز در تیمار کود نیتروژن که کاربرد بقایا سبب افزایش جزئی و غیر معنی‌دار (۴ درصد) در غلظت کلروفیل شد. در سایر منابع کودی برگرداندن بقایا غلظت کلروفیل a را کاهش داد (جدول ۴). در تأیید نتایج آزمایش حاضر خلیلی و مکاریان (۱۳۹۵) در پژوهشی بر روی کنگد نشان دادند که استفاده از ۸ تن در هکتار بقایای گندم غلظت کلروفیل برگ را به میزان ۱۵ درصد کاهش داد. کاربرد بقایای گیاهی به دلیل نسبت کربن به نیتروژن بالا باعث افزایش رقابت گیاهان زراعی و ریز جانداران خاک بر سر عنصر نیتروژن (نیتروژن خاک یا نیتروژن رها شده از کودهای شیمیایی) شده و این عنصر را هر چند به صورت موقت از دسترس گیاه خارج می‌کند. بنابراین کاهش جذب نیتروژن توسط گیاه در چنین شرایطی سبب کاهش ساخت کلروفیل درون گیاه می‌شود.

غلظت کلروفیل a در تیمار تنش آبی به میزان ۲۲ درصد نسبت به شرایط آبیاری مطلوب کاهش یافت (جدول ۵). تنش آبی باعث اختلال در سیستم‌های آنزیمی گیاه می‌شود (Ridge, 2002)؛ که این خود می‌تواند باعث از بین رفتن رنگرزه‌های فتوسنتزی شود (Masoumi et al., 2010). همچنین، ملک و همکاران (۱۳۹۷) در پژوهشی بر روی زوفا نشان دادند که تنش آبی باعث کاهش غلظت کلروفیل گردید. با توجه به مشاهدات Tampson و همکاران (۱۹۸۷) علائم بروز تنش آبی در گیاهان شامل: کاهش غلظت کلروفیل و نفوذپذیری

پرچم توسط معادله ۵ اندازه‌گیری شد (Karrou and Maranville, 1995).

$$RWC = \frac{W_1 - W_3}{W_2 - W_3} \times 100 \quad \text{معادله ۵}$$

W_1 : وزن تازه برگ (گرم)، W_2 : وزن اشباع برگ (گرم)، W_3 : وزن خشک برگ (گرم)

عملکرد دانه: پس از مرحله رسیدگی فیزیولوژیک (۲ خرداد ۹۷)، به‌منظور تعیین عملکرد دانه دو متر طولی از دو ردیف وسط هر کرت با داس کف بر شد. ۵۰ سانتیمتر اطراف هر کرت به عنوان اثر حاشیه در نظر گرفته شد.

تجزیه آماری داده‌ها: تجزیه آماری داده‌های به‌دست‌آمده با استفاده از نرم‌افزار SAS9.1 (SAS Institute, 2004) صورت گرفت و میانگین‌ها با استفاده از آزمون کمترین اختلاف معنی دار (LSD) در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه شدند. رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel صورت گرفت.

نتایج و بحث

غلظت کلروفیل a: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که برهمکنش تیمار بقایا × منبع کود نیتروژن (در سطح احتمال ۵ درصد) معنی‌دار بود (جدول ۳). بیشترین غلظت کلروفیل a (۱/۱۹۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در تیمار بدون بقایا و کود تلفیقی و کمترین غلظت کلروفیل (۰/۶۰۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در تیمار با بقایا و عدم استفاده از کود نیتروژن (شاهد) مشاهده شد (جدول ۴). در مقایسه منابع کود در شرایط بدون بقایا، تیمار کود تلفیقی با افزایش ۳۳ درصدی در غلظت کلروفیل a اختلاف معنی‌داری را با شاهد باعث شد. این در حالی بود که کود نیتروژن و کود زیستی غلظت کلروفیل a را به ترتیب افزایش (۹ درصد) و کاهش (۲۴ درصد) جزئی و غیر معنی‌دار دادند (جدول ۴). در مقابل، در شرایط با بقایا، همه منابع کود باعث افزایش غلظت کلروفیل a شدند. اما، برخلاف شرایط بدون بقایا بیشترین میزان افزایش در غلظت کلروفیل به‌واسطه استفاده از منبع کود نیتروژن (۶۹ درصد) و به دنبال آن در کود تلفیقی (۵۵ درصد) مشاهده شد که هر دو تیمار اختلاف معنی‌داری با شاهد داشتند. اما، کود زیستی

جدول ۳- تجزیه واریانس غلظت کلروفیل a (میلی گرم بر گرم وزن تر)، غلظت کلروفیل b (میلی گرم بر گرم وزن تر)، غلظت کاروتنوئید (میلی گرم بر گرم وزن تر)، فعالیت آنزیم کاتالاز (واحد در دقیقه بر گرم وزن تر)، فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (واحد در دقیقه بر گرم وزن تر)، محتوای نسبی آب برگ پرچم (درصد) و عملکرد دانه (گرم بر مترمربع).

میانگین مربعات							
منابع تغییرات	درجه آزادی	غلظت کلروفیل a	غلظت کلروفیل b	غلظت کاروتنوئید	فعالیت آنزیم کاتالاز	فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز	محتوای نسبی آب برگ پرچم
تکرار	۲	۰/۰۴۴ ^{ns}	۰/۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۱۲ ^{ns}	۱/۴۸۱ ^{ns}	۷۳۹/۸۵۴ ^{**}
آبیاری	۱	۰/۰۳۲ ^{ns}	۰/۰۱۹ ^{ns}	۰/۰۱۰۷ ^{**}	۳۱/۷۵۲ ^{**}	۱۲۲/۸۷۶ ^{**}	۸۵۸۷/۰۲۴ ^{**}
خطای (الف)	۲	۰/۰۷۷	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۵۲	۰/۵۷۸	۶/۳۴۱
بقایا	۱	۰/۲۴۴ ^{**}	۰/۰۱۲ ^{ns}	۰/۰۰۶ [*]	۰/۰۹۳ ^{ns}	۰/۱۲۳ ^{ns}	۹۳۴/۸۹۴ ^{ns}
نیتروژن (کود)	۳	۰/۴۷۱ ^{**}	۰/۰۱۹ ^{**}	۰/۰۰۴ ^{**}	۱۱/۰۵۶ ^{**}	۴۴/۴۳۸ ^{**}	۳۸۱/۸۴۰ [*]
آبیاری × بقایا	۱	۰/۰۱۱ ^{ns}	۰/۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۰۶ [*]	۰/۲۱۹ ^{ns}	۱/۴۳۲ ^{ns}	۴۵/۰۰۳ ^{ns}
آبیاری × کود	۳	۰/۰۲۵ ^{ns}	۰/۰۰۵ ^{ns}	۰/۰۰۱ ^{ns}	۱/۳۱۹ ^{**}	۵/۲۰۱ ^{**}	۳۳۴/۵۸۱ [*]
بقایا × کود	۳	۰/۰۷۷ [*]	۰/۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۰۸ ^{**}	۰/۹۲۶ ^{**}	۳/۸۹۶ ^{**}	۱۳۴/۸۳۳ ^{ns}
آبیاری × بقایا × کود	۳	۰/۰۱۸ ^{ns}	۰/۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۰۱ ^{ns}	۰/۱۲۶ ^{ns}	۰/۴۳۹ ^{ns}	۱۴۶/۹۵۱ ^{ns}
خطای (ب)	۲۸	۰/۰۲۶	۰/۰۰۳	۰/۰۰۱	۰/۱۶۵	۰/۶۸۶	۱۰۷/۳۷۹
ضریب تغییرات (درصد)		۱۸/۵۴	۲۰/۶۹	۱۴/۴۸	۲۱/۴۱	۲۰/۵۳	۱۷/۰۱

ns: غیر معنی داری. * و **: به ترتیب معنی داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

جدول ۴- برهمکنش بقایا × منبع کود نیتروژن بر غلظت کلروفیل a و کاروتنوئید، فعالیت آنزیم های کاتالاز و گایاکول پراکسیداز.

بقایا	منبع کود نیتروژن	غلظت کلروفیل a	غلظت کاروتنوئید	فعالیت آنزیم کاتالاز	فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز
		(میلی گرم بر گرم وزن تر)		(واحد در دقیقه بر گرم وزن تر)	
بدون بقایا	شاهد [£]	۰/۹۰۱ ^{bc}	۰/۲۴۲ ^c	۱/۲۳۹ ^c	۲/۷۶۲ ^c
	کود نیتروژن ^{££}	۰/۹۸۴ ^{ab}	۰/۲۹۱ ^{ab}	۲/۵۷۴ ^{ab}	۵/۴۱۶ ^{ab}
	کود تلفیقی [¥]	۱/۱۹۸ ^a	۰/۲۷۶ ^a	۲/۶۵۱ ^{ab}	۵/۵۶۹ ^{ab}
	کود زیستی ^{¥¥}	۰/۶۸۵ ^{dc}	۰/۱۹۱ ^{bc}	۰/۹۶۱ ^c	۲/۱۸۷ ^c
با بقایا	شاهد [£]	۰/۶۰۶ ^d	۰/۱۴۲ ^c	۰/۵۴۵ ^c	۱/۲۵۴ ^c
	کود نیتروژن ^{££}	۱/۰۲۶ ^{ab}	۰/۲۹۲ ^a	۲/۸۳۴ ^a	۵/۸۷۵ ^a
	کود تلفیقی [¥]	۰/۹۳۹ ^b	۰/۲۹۵ ^a	۲/۸۲۳ ^a	۵/۸۵۴ ^a
	کود زیستی ^{¥¥}	۰/۶۲۵ ^d	۰/۱۷۷ ^{bc}	۱/۵۷۵ ^{bc}	۳/۳۵۸ ^{bc}

میانگین های با حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون کمترین تفاوت معنی دار (LSD)، اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند. £: شاهد: صفر کیلوگرم نیتروژن در هکتار، ££: کود نیتروژن: ۱۰۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار، ¥: کود تلفیقی: باکتری آزوسپیریلوم + ۵۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار و ¥¥: کود زیستی: باکتری آزوسپیریلوم.

جدول ۵- اثرات رژیم آبیاری، منبع کود نیتروژن و بقایای گیاهی بر غلظت کلروفیل a و b

تیما	غلظت کلروفیل a	غلظت کلروفیل b
رژیم آبیاری	(میلی گرم بر گرم وزن تر)	
مطلوب	۰/۹۷۶ ^a	۰/۲۹۸ ^a
تنش آبی	۰/۷۶۵ ^a	۰/۲۵۹ ^a
منبع کود		
شاهد ^۴	۰/۷۵۳ ^b	۰/۲۵۲ ^b
کود نیتروژن ^{۴۴}	۱/۰۰۵ ^a	۰/۳۱۶ ^a
کود تلفیقی ^{۴۵}	۱/۰۶۸ ^a	۰/۳۱۱ ^a
کود زیستی ^{۴۶}	۰/۶۵۵ ^b	۰/۲۳۷ ^b
بقایا		
با بقایا	۰/۷۹۹ ^b	۰/۲۶۲ ^a
بدون بقایا	۰/۹۴۲ ^a	۰/۲۹۵ ^a

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون کمترین تفاوت معنی‌دار (LSD)، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند. ^۴ شاهد: صفر کیلوگرم نیتروژن در هکتار، ^{۴۴} کود نیتروژن: ۱۰۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار، ^{۴۵} کود تلفیقی: باکتری آزوسپیریلوم + ۵۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار و ^{۴۶} کود زیستی: باکتری آزوسپیریلوم.

غشاء می‌باشند که منجر به کاهش فتوسنتز و در نتیجه کاهش رشد و عملکرد گیاه می‌شود. در آزمایش حاضر نیز عملکرد دانه همبستگی مثبت در شرایط مطلوب و تنش آبی (به ترتیب $r^2 = ۰/۸۰$ و $r^2 = ۰/۴۸$) با غلظت کلروفیل a نشان داد.

غلظت کلروفیل b: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که غلظت کلروفیل b به طور معنی‌داری تحت تأثیر کاربرد کود نیتروژن قرار گرفت (جدول ۳). مصرف ۱۰۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار و کود تلفیقی (باکتری آزوسپیریلوم + ۵۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار) غلظت کلروفیل b را به طور معنی‌داری و به ترتیب به میزان ۲۵ و ۲۳ درصد نسبت به شاهد افزایش داد (جدول ۵). بالاترین غلظت کلروفیل (۰/۳۱۶ میلی گرم بر گرم وزن تر) مربوط به تیمار کود نیتروژن خالص بود که اختلاف معنی‌داری با کود تلفیقی نداشت و کمترین غلظت کلروفیل b (۰/۲۳۷ میلی گرم بر گرم وزن تر) مربوط به تیمار کود زیستی بود که با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری نشان نداد (جدول ۵). اثر مثبت کاربرد کود نیتروژن بر غلظت کلروفیل b را سایر پژوهشگران (حیدری و همکاران، ۱۳۹۴ و دیده بان و همکاران،

۱۳۹۶) نیز گزارش کرده‌اند.

غلظت کلروفیل b در شرایط تنش آبی نسبت به تیمار آبیاری مطلوب به مقدار ۱۳ درصد کاهش نشان داد (جدول ۵). سیستم فتوسنتزی گیاهان قسمت عمده‌ای از متابولیسم داخل گیاه را تشکیل می‌دهد و به تنش‌ها به شکل چشمگیری حساس است (علمی و همکاران، ۱۳۹۷). کاهش غلظت رنگیزه‌های سلول‌های گیاهی (کلروفیل‌ها و کارتنوئیدها) تحت تأثیر تنش آبی، توسط Kauseri و همکاران (۲۰۰۶) نیز گزارش شده است. آن‌ها اعلام کردند در بسیاری از گیاهان که متأثر از تنش آبی بوده‌اند، غلظت کلروفیل b می‌تواند به عنوان یکی از شاخص‌های تحمل به خشکی مورد توجه قرار گیرد. همچنین، نشان دادند که غلظت کلروفیل b و عملکرد دارای رابطه‌ی مستقیم و مثبت است. در مطالعه‌ی حاضر نیز عملکرد دانه همبستگی مثبت با غلظت کلروفیل b در شرایط آبیاری مطلوب و تنش آبی (به ترتیب $r^2 = ۰/۸۷۰$ و $r^2 = ۰/۴۳۶$) نشان داد.

غلظت کاروتنوئید: نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان داد که برهمکنش تیمار بقایا × منبع کود نیتروژن (در سطح

احتمال ۱ درصد) معنی‌دار بود. بیشترین غلظت کاروتنوئید (۰/۲۹۵ میلی گرم بر گرم وزن تر) در تیمار با بقایا و کود تلفیقی و کمترین غلظت کاروتنوئید (۰/۱۴۲ میلی گرم بر گرم وزن تر) در تیمار با بقایا و عدم استفاده از کود نیتروژن (شاهد) مشاهده شد (جدول ۴).

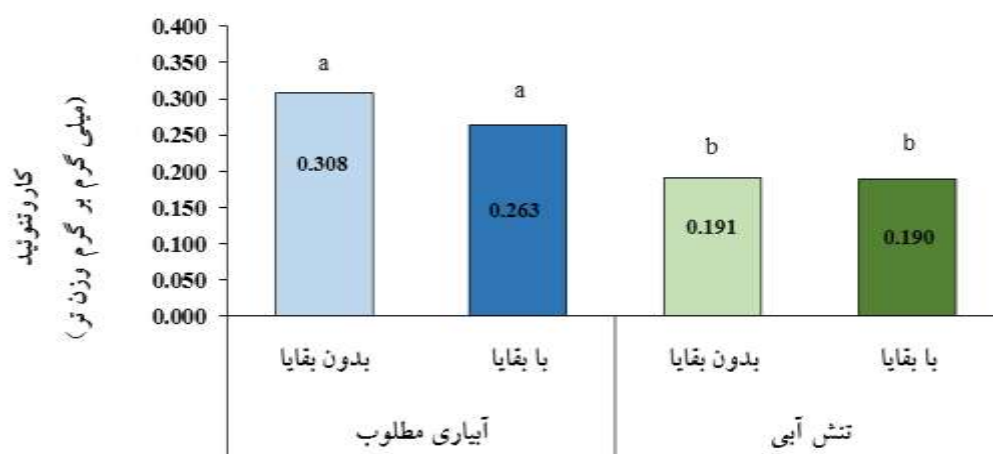
در مقایسه منابع کود در شرایط بدون بقایا، تیمارهای کود نیتروژن و تلفیقی باعث افزایش معنی‌دار به ترتیب ۲۰ و ۱۴ درصدی در غلظت کاروتنوئید شدند. اما، این دو تیمار کودی اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند. همچنین، کود زیستی کاهش ۲۱ درصدی و اما غیر معنی‌دار را نسبت به شاهد سبب شد (جدول ۴). در مقابل، در تیمار با بقایا، همه منابع کودی باعث افزایش غلظت کاروتنوئید شدند و برخلاف شرایط بدون بقایا میزان افزایش نسبت به شاهد بسیار بیشتر بود (به ترتیب ۱۰۶، ۱۰۸ و ۲۵ درصد نسبت به شاهد در تیمارهای کود نیتروژن، کود تلفیقی و کود زیستی) (جدول ۴). اثر مثبت کاربرد کود نیتروژن بر غلظت رنگریزه‌های فتوسنتزی در گیاه گلرنگ توسط حیدری و همکاران (۱۳۹۴) نیز به اثبات رسیده است. همچنین، با توجه به مشاهدات Peng و همکاران (۱۹۹۹) بر روی برنج، غلظت رنگریزه‌های فتوسنتزی در اثر کاربرد نیتروژن بهبود یافت. در بررسی مقایسه تیمارهای بدون بقایا و با بقایا، نتایج به این صورت بود که افزودن بقایا به خاک تأثیر معنی‌داری بر غلظت کاروتنوئید نداشت (جدول ۴).

همچنین، غلظت کاروتنوئید به‌طور معنی‌داری (در سطح احتمال ۵ درصد) تحت تأثیر برهمکنش تیمار آبیاری $\times$ بقایا قرار گرفت (جدول ۳). بیشترین غلظت کاروتنوئید (۰/۳۰۸ میلی گرم بر گرم وزن تر) در تیمار آبیاری مطلوب و بدون بقایا و کمترین غلظت کاروتنوئید (۰/۱۹۰ میلی گرم بر گرم وزن تر) در تیمار تنش آبی و با بقایا بود (شکل ۱). حضور بقایا در هر دو حالت تنش آبی و آبیاری مطلوب اثر معنی‌داری بر غلظت کاروتنوئید نداشت (شکل ۱). همچنین، تنش آبی در هر دو حالت با بقایا و بدون بقایا باعث کاهش معنی‌دار غلظت کاروتنوئید شد. اما، این کاهش در شرایط حذف بقایا بیشتر (۳۸ درصد) از شرایط حضور بقایا (۲۸ درصد) بود (شکل ۱).

ملکی و همکاران (۱۳۹۷) در پژوهشی بر روی زوفا نشان دادند که تنش آبی باعث کاهش غلظت رنگریزه فتوسنتزی از جمله کاروتنوئید گردید. کاهش کمتر غلظت کاروتنوئید در تیمار با بقایا به‌واسطه تنش آبی، احتمالاً به دلیل اثرات مثبت بقایای گیاهی در نگهداری بیشتر رطوبت خاک و کاهش شدت تنش آبی بوده است (صادقی، ۱۳۸۶).

فعالیت آنزیم کاتالاز: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر برهمکنش تیمار بقایا $\times$ منبع کود نیتروژن بر فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز (۲/۸۳۴ واحد در دقیقه در گرم وزن تر) در تیمار با بقایا و کود نیتروژن و کمترین فعالیت آنزیم کاتالاز (۰/۵۴۵ واحد در دقیقه در گرم وزن تر) در تیمار با بقایا و عدم استفاده از کود نیتروژن (شاهد) مشاهده شد (جدول ۴).

در مقایسه منابع کود در شرایط بدون بقایا، اگرچه تیمار کود نیتروژن و تلفیقی اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند، اما باعث افزایش معنی‌داری به ترتیب به میزان ۱۰۸ و ۱۱۴ درصد در فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به شاهد شدند. اما، کاربرد کود زیستی کاهش جزئی و غیر معنی‌داری را نسبت به شاهد به وجود آورد (جدول ۴). در مقابل، در تیمار با بقایا همه منابع کود باعث افزایش در فعالیت آنزیم کاتالاز شدند و برخلاف شرایط بدون بقایا میزان واکنش فعالیت آنزیم کاتالاز به کاربرد کود نیتروژن - صرف‌نظر از منبع آن - بسیار بیشتر بود. به‌طوری‌که، در کود نیتروژن و تیمار تلفیقی افزایش معنی‌دار و به ترتیب به مقدار ۴۲۰ و ۴۱۸ درصدی نسبت به شاهد مشاهده شد. همچنین، کود نیتروژن و تیمار تلفیقی در این شرایط نیز اختلاف معنی‌داری در فعالیت آنزیم کاتالاز نداشتند (جدول ۴). اثر مثبت کاربرد کود نیتروژن بر فعالیت آنزیم کاتالاز توسط حیدری و همکاران (۱۳۹۴) نیز به اثبات رسیده است. بعلاوه، مشاهدات Logan و همکاران (۱۹۹۹) نشان دادند که نیتروژن تأثیر زیادی بر فعالیت آنزیم‌های درگیر در فتوسنتز داشت. به‌طوری‌که در صورت نبود نیتروژن کافی از فعالیت آنزیم‌ها کاسته و بر میزان انتقال الکترون در مسیر احیاء نوری اکسیژن از طریق واکنش مه‌لر در درون کلروپلاست



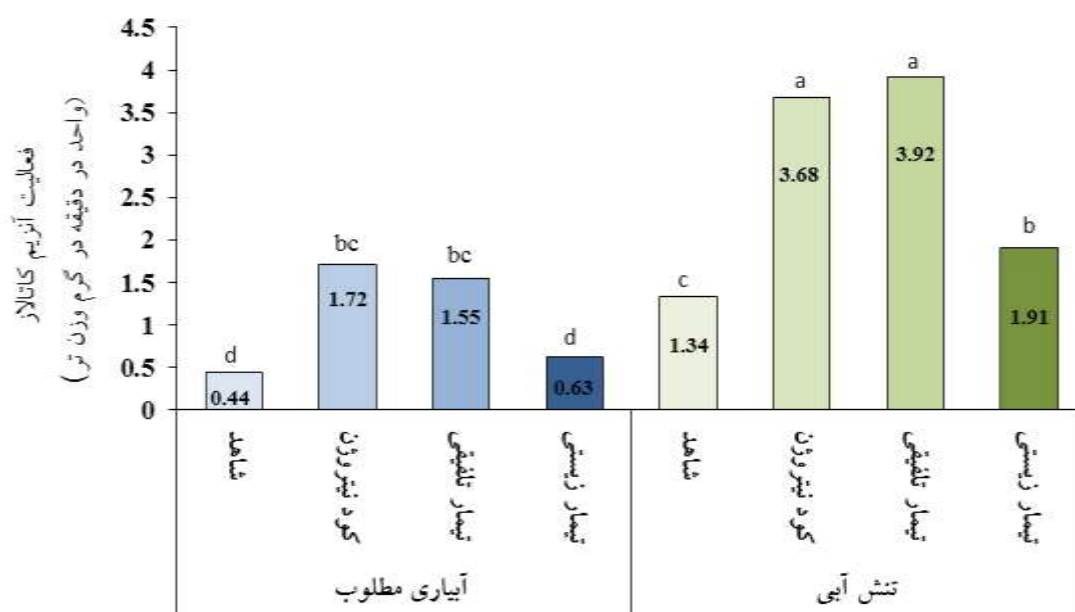
شکل ۱- اثر برهمکنش رژیم آبیاری × بقایا بر غلظت کاروتنوئید. میانگین‌های با حروف مشابه بر اساس آزمون کمترین تفاوت معنی‌دار (LSD)، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند. اعداد درون ستون‌ها مقدار عددی هر میانگین را نشان می‌دهند.

میکروارگانیزم‌ها بر سر نیتروژن و همچنین، تجزیه‌ی سریعت‌ر بقایای گیاهی خواهد شد. تجزیه‌ی بقایای گیاهی نیتروژن بیشتری را در مقایسه با شرایط عدم حضور بقایا به خاک اضافه خواهد کرد و جذب بیشتر نیتروژن توسط گیاه را باعث خواهد شد. جذب بیشتر نیتروژن توسط گیاه نیز سبب افزایش سطح فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه خواهد شد.

همچنین، نتایج تجزیه واریانس نشان داد که برهمکنش رژیم آبیاری × منبع کود نیتروژن در سطح احتمال ۱ درصد بر فعالیت آنزیم کاتالاز معنی‌دار بود (جدول ۳). در رژیم آبیاری مطلوب همه منابع کودی فعالیت آنزیم کاتالاز را نسبت به شاهد افزایش دادند. اما، این افزایش فقط در تیمار کود نیتروژن و تیمار تلفیقی معنی‌دار بود، هر چند که این دو تیمار اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند. در مقابل، در شرایط تنش آبی تمام منابع کودی فعالیت آنزیم کاتالاز را نسبت به شاهد به طور معنی‌داری افزایش دادند. در این شرایط نیز دو تیمار کود نیتروژن و تلفیقی اختلاف معنی‌داری را نشان ندادند (شکل ۲). در مقایسه آبیاری مطلوب نسبت به تنش آبی، تنش آبی باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم کاتالاز در شرایط کاربرد کود نیتروژن، تیمار تلفیقی، تیمار زیستی و شاهد به ترتیب به مقدار ۱۱۴، ۱۵۳، ۲۰۳ و ۲۰۵ درصد نسبت به آبیاری مطلوب شد (شکل ۲). فابریکی اورنگ و مهرآباد پوربناب (۱۳۹۷) نشان دادند که در شرایط تنش آبی آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و

افزوده می‌شود که این امر در نهایت تولید آنزیمی و غیر آنزیمی آنتی‌اکسیدان در برگ‌های گیاهان را می‌کاهد و خسارت‌های اکسیداتیو را در گیاه باعث می‌شود. در مقابل، سی‌وسه مرده و همکاران (۱۳۹۳) و Lin و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که افزایش مصرف و به‌کارگیری نیتروژن سبب بالا رفتن میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز و عوامل غیر آنزیمی شامل کاروتنوئیدها در گیاه می‌شود. در نهایت بسیاری از رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن بدین طریق خنثی می‌شوند و از خسارت‌های اکسیداتیو ممانعت می‌شود.

در رابطه با مقایسه شرایط بدون بقایا و با بقایا، در همه منابع کودی کاربرد بقایا اگرچه غیر معنی‌دار، سبب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز (۱۰، ۷ و ۶۴ درصد به ترتیب در کود نیتروژن، تیمار تلفیقی و زیستی) شد. در شرایط عدم استفاده از نیتروژن (شاهد)، حضور بقایا باعث کاهش ۵۶ درصدی در فعالیت آنزیم کاتالاز شد (جدول ۴). در شرایط عدم استفاده از کود نیتروژن (شاهد) و حضور بقایا به دلیل استفاده میکروارگانیزم‌های درون خاک از نیتروژن موجود، گیاه با کمبود نیتروژن مواجه شده و میزان جذب کاهش یافته و در نهایت سطح فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به شرایط عدم استفاده از بقایا کاهش می‌یابد. اما، افزودن کود نیتروژن به خاک در کنار استفاده از بقایای گیاهی سبب کاهش رقابت بین گیاه و



شکل ۲- اثر برهمکنش رژیم آبیاری × منبع کود بر فعالیت آنزیم کاتالاز. میانگین‌های با حروف مشابه بر اساس آزمون کمترین تفاوت معنی‌دار (LSD)، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند. اعداد درون ستون‌ها مقدار عددی هر میانگین را نشان می‌دهند.

فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که برهمکنش تیمار بقایا × منبع کود نیتروژن در سطح احتمال ۱ درصد بر فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز معنی‌دار بود (جدول ۳). بیشترین فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (۵/۸۷۵ واحد در دقیقه در گرم وزن تر) در تیمار با بقایا و کود نیتروژن و کمترین فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (۱/۲۵۴ واحد در دقیقه در گرم وزن تر) در تیمار با بقایا و عدم استفاده از کود نیتروژن (شاهد) مشاهده شد (جدول ۴).

در مقایسه‌ی منابع کود در شرایط بدون بقایا، تیمارهای کود نیتروژن و کود تلفیقی اگرچه اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند، اما، باعث افزایش معنی‌دار در فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز به ترتیب به مقدار ۹۶، ۱۰۲ درصد نسبت به شاهد شدند. کود زیستی کاهش جزئی (۲۱ درصد) و غیر معنی‌داری را نسبت به شاهد به وجود آورد (جدول ۴). در رابطه با تیمار با بقایا، واکنش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز به کاربرد کود نیتروژن - صرف نظر از منبع آن - نسبت به شرایط بدون بقایا بسیار بیشتر بود. به‌طوری‌که در کود نیتروژن، تلفیقی و زیستی به ترتیب افزایش ۳۶۹، ۳۶۷ و ۱۶۸ درصدی نسبت به شاهد مشاهده شد. همچنین، این افزایش فقط در تیمارهای کود

غیرآنزیمی در گیاه فعال می‌شوند. غشاهای سلولی و اندامک‌ها، اولین محل آسیب به سلول‌ها در شرایط تنش آبی توسط شکل - های فعال اکسیژن هستند (Schwars *et al.*, 2001). گیاهان برای مقابله با این ترکیبات فرآیندهایی را در خود توسعه داده‌اند که به‌طورکلی به‌عنوان فرآیند دفاع آنتی‌اکسیدانی شناخته می‌شوند. آنزیم کاتالاز نقش جاروب‌کننده رادیکال سوپر اکسید و تبدیل آن به آب و اکسیژن را به عهده دارد. افزایش فعالیت این آنزیم تحت شرایط تنش آبی باعث افزایش مقاومت گیاه در برابر تنش آبی شده و از کاهش رشد و عملکرد گیاه جلوگیری می‌کند (حسن‌پور و همکاران، ۱۳۹۴). با توجه به اینکه گیاهان در شرایط تنش آبی با دریافت کود نیتروژن حساسیت بیشتری پیدا می‌کنند (van Herwaarden *et al.*, 1998) پس احتمالاً در آزمایش حاضر در شرایط تنش آبی و مصرف کود نیتروژن (به صورت خالص و به صورت تلفیقی) تولید گونه‌های اکسیژن فعال افزایش یافته و نیاز به فعالیت کاتالاز جهت تجزیه آن‌ها افزایش یافته است. از اینرو سطح تولید فعالیت این آنزیم در تیمار کود نیتروژن و تیمار تلفیقی در شرایط تنش آبی نسبت به شرایط مطلوب رطوبتی افزایش بیشتری در مقایسه با سایر منابع کودی نشان داده است.

نیتروژن و تلفیقی نسبت به شاهد معنی‌دار بود و این دو تیمار اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند (جدول ۴). اثر مثبت کاربرد کود نیتروژن بر فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز توسط حسن پور و همکاران (۱۳۹۴) نیز به اثبات رسیده است.

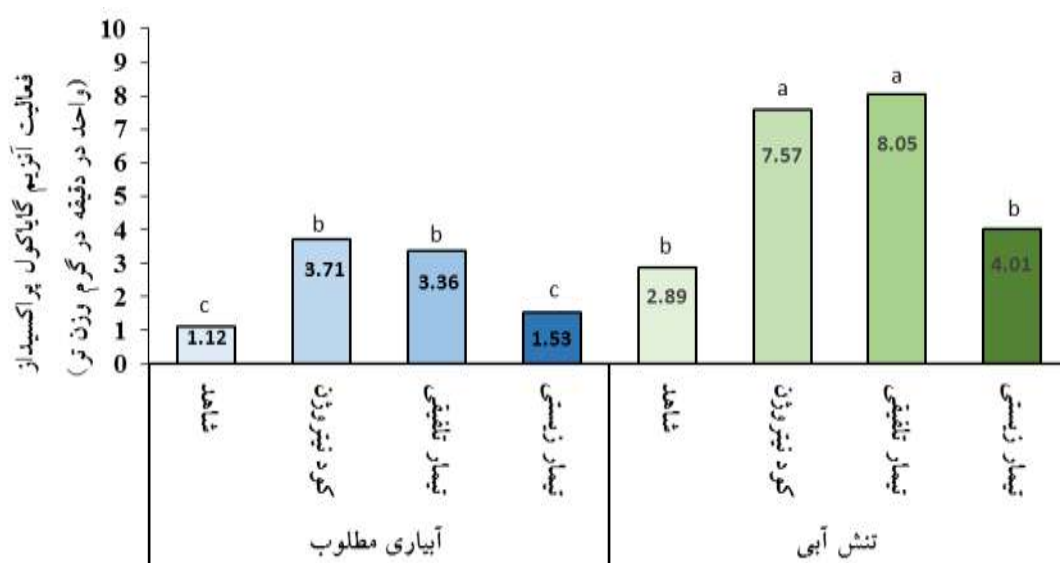
در رابطه با مقایسه شرایط بدون بقایا و با بقایا، در همه منابع کودی به جز شاهد برگرداندن بقایا به خاک فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز را به طور جزئی و غیر معنی‌دار افزایش داد (۹، ۵ و ۵۴ درصد به ترتیب در کودهای نیتروژن، تلفیقی و زیستی) (جدول ۴). در شرایط عدم استفاده از کود نیتروژن (شاهد) حضور بقایا باعث کاهش ۵۵ درصدی در فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز شد.

از نتایج تجزیه واریانس می‌توان دریافت که برهمکنش رژیم آبیاری $\times$ منبع کود نیتروژن در سطح احتمال ۱ درصد بر فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز معنی‌دار بود (جدول ۳). بیشترین فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (۸/۰۵ واحد در دقیقه در گرم وزن تر) در تیمار تنش آبی و کود تلفیقی و کمترین فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (۱/۱۲ واحد در دقیقه در گرم وزن تر) در تیمار آبیاری مطلوب و عدم استفاده از کود نیتروژن (شاهد) مشاهده شد (شکل ۳). در شرایط آبیاری مطلوب، در همه منابع کود نیتروژن افزایش نسبت به شاهد مشاهده شد. اما، این افزایش فقط در تیمار کود نیتروژن و کود تلفیقی معنی‌دار و به ترتیب ۲۳۱، ۲۰۰ درصد بود. همچنین، این دو منبع نیتروژن اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند (شکل ۳). در مقابل، در شرایط تنش آبی روندی مشابه شرایط آبیاری مطلوب رخ داد. واکنش افزایشی فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز به کاربرد کود نیتروژن بسیار شدید بود بطوریکه کود نیتروژن و تلفیقی افزایش معنی‌دار و به ترتیب ۱۶۲ و ۱۷۸ درصدی در فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز نسبت به شاهد شدند (شکل ۳). فعالیت بیشتر گایاکول پراکسیداز به واسطه‌ی کاربرد کود نیتروژن (به صورت خالص و یا تلفیقی) نسبت به شاهد در شرایط تنش آبی را می‌توان چنین توجیه کرد که گیاهان با دریافت کود نیتروژن حساسیت بیشتری به تنش آبی پیدا می‌کند (van Herwaarden et al., 1998) در چنین

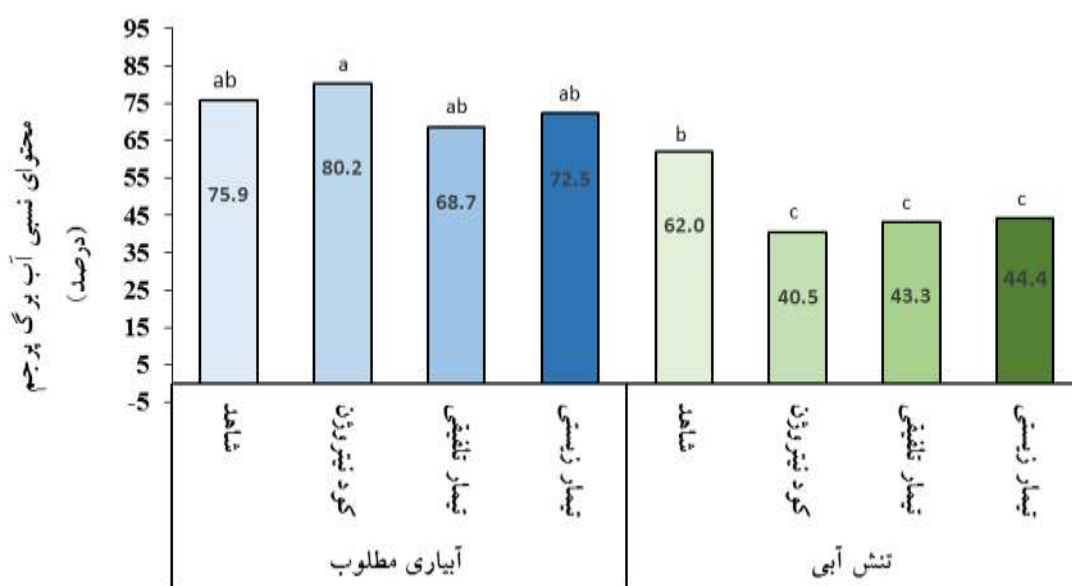
شرایطی تولید گونه‌های اکسیژن فعال افزایش یافته و احتمالاً گیاه برای تجزیه آن‌ها سطح فعالیت گایاکول پراکسیداز را نسبت به شاهد افزایش بیشتری می‌دهد.

در مقایسه آبیاری مطلوب نسبت به تنش آبی، تنش آبی باعث افزایش معنی‌دار در فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در تمامی منابع کودی شد (شکل ۳). در تأیید نتایج آزمایش حاضر، باقری و مظاهری لقب (۱۳۸۹) در پژوهشی بر روی گیاه جو نشان دادند که تنش آبی باعث افزایش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز شد. همچنین، Smirinof و همکاران (۱۹۹۶) بیان کردند که در شرایط تنش آبی رادیکال‌های اکسیژنی آزاد شده سبب بروز اختلال در فرآیند فتوسنتز می‌شود، در نتیجه گیاه با فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز از سمیت رادیکال‌های اکسیژن می‌کاهد. به علاوه Asada (۱۹۹۴) بیان کرد که آنزیم گایاکول پراکسیداز از جمله‌ی اولین آنزیم‌هایی است که در شرایط تنش آبی تولید می‌شود تا با اثرات مخرب پراکسید هیدروژن و سوپراکسید هیدروژن که از ترکیبات نخستین تولیدی در شرایط تنش است، مقابله کند.

محتوای نسبی آب برگ پرچم: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر برهمکنش آبیاری $\times$ منبع کود نیتروژن در سطح احتمال ۵ درصد بر محتوای نسبی آب برگ پرچم معنی‌دار بود (جدول ۳). بیشترین میزان محتوای نسبی آب برگ پرچم (۸۰/۲ درصد) در تیمار آبیاری مطلوب و کود نیتروژن و کمترین میزان آن (۴۰/۵ درصد) در شرایط تنش آبی و کود نیتروژن مشاهده شد (شکل ۴). در تیمار آبیاری مطلوب، کاربرد کود نیتروژن صرف نظر از منبع کود تغییر معنی‌داری در محتوای نسبی آب برگ پرچم ایجاد نکرد. در مقابل، در شرایط تنش آبی، اختلاف معنی‌داری بین منابع کود نیتروژن وجود نداشت. اما، هر سه منبع کود نیتروژن باعث کاهش معنی‌دار محتوای نسبی آب برگ پرچم نسبت به شاهد شدند (شکل ۴). این کاهش در تیمار کود زیستی (۲۹ درصد) و تلفیقی (۳۰ درصد) کمتر از کود نیتروژن (۳۵ درصد) بود؛ این برتری محتوای نسبی آب برگ پرچم در شرایط استفاده از کود زیستی و تلفیقی نسبت به کود نیتروژن را می‌توان به توان باکتری در



شکل ۳- اثر برهمکنش رژیم آبیاری × منبع کود بر فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز. میانگین‌های با حروف مشابه بر اساس آزمون کمترین تفاوت معنی‌دار (LSD)، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند. اعداد درون ستون‌ها مقدار عددی هر میانگین را نشان می‌دهند.



شکل ۴- اثر برهمکنش رژیم آبیاری × منبع کود بر مقدار محتوای نسبی آب برگ پرچم. میانگین‌های با حروف مشابه بر اساس آزمون کمترین تفاوت معنی‌دار (LSD)، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند. اعداد درون ستون‌ها مقدار عددی هر میانگین را نشان می‌دهند.

که کود نیتروژن دریافت کرده‌اند نسبت به خشکی حساسیت بیشتری نشان می‌دهند. بر اساس نظر van Herwaarden و همکاران (۱۹۹۸) در شرایط تنش آبی پدیده "hay off" باعث می‌شود عملکرد زیست‌توده بالا رفته و ریشه‌ها آب بیشتری را از نیم‌رخ خاک تخلیه می‌کنند و در نتیجه باعث حساسیت بیشتر گیاه در بازه زمانی تنش آبی می‌شود.

افزایش توسعه ریشه و در نتیجه بهبود اثرات مخرب تنش آبی نسبت داد (هادی و همکاران، ۱۳۹۰). در آزمایش حاضر کاهش بیشتر محتوای نسبی آب برگ بواسطه کاربرد کود نیتروژن در مقایسه با سایر منابع نیتروژن نسبت به شاهد در شرایط تنش آبی را نیز می‌توان به حساسیت بیشتر گیاهان دریافت‌کننده کود نیتروژن نسبت داد. به طور کلی گیاهانی

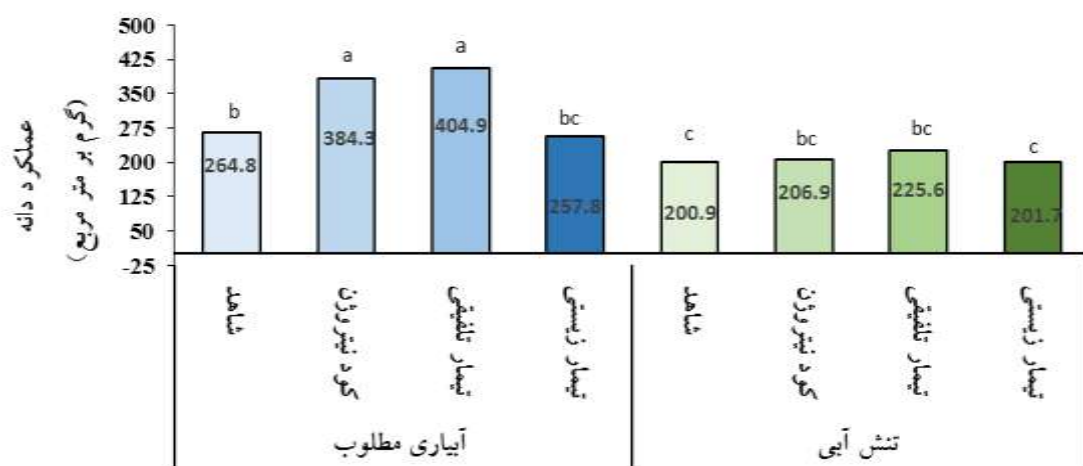
در مقایسه آبیاری مطلوب نسبت به تنش آبی، در همه‌ی منابع کود نیتروژن، تنش آبی باعث کاهش معنی‌دار محتوای نسبی آب برگ پرچم شد (۳۷ و ۳۹ درصد کاهش به ترتیب در تیمارهای کود نیتروژن، تلفیقی و زیستی) (شکل ۴). مشاهدات تجلی و همکاران (۱۳۹۲) نیز نشان داد که تنش آبی باعث کاهش محتوای نسبی آب برگ پرچم شد. در مطالعه حاضر، کاهش کمتر محتوای نسبی آب برگ پرچم در شرایط حضور باکتری در تیمار تلفیقی و زیستی را می‌توان به توانایی‌های باکتری در بهبود شرایط تنش نسبت داد. باکتری آزوسپیریلوم دارای مکانیسم‌هایی برای کاهش اثرات سوء تنش آبی می‌باشد (Sandhya et al., 2010). هرچند جزئیات مکانیسم عمل آزوسپیریلوم برای کاهش اثرات تنش در گیاهان هنوز به‌طور کامل شناخته نشده است، ولی نتایج بیشتر پژوهش‌ها (Sharma, 2003; Sarig, 1988) گویای آن است که آزوسپیریلوم به کمک توان تثبیت زیستی نیتروژن، تولید هورمون‌های رشد و برخی از ویتامین‌ها سبب گسترش سطح ریشه و در نتیجه جذب بهینه آب و عناصر غذایی و در نهایت کاهش اثرات تنش می‌شود (عموآقایی و همکاران، ۱۳۸۲).

عملکرد دانه: نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان داد که برهمکنش تیمار رژیم آبیاری × منبع کود نیتروژن در سطح احتمال ۱ درصد بر عملکرد دانه معنی‌دار بود. بیشترین عملکرد دانه (۴۰۴/۹ گرم بر مترمربع) مربوط به تیمار آبیاری مطلوب و استفاده تلفیقی از باکتری و کود نیتروژن بود و کمترین عملکرد دانه (۲۰۰/۹ گرم بر مترمربع) در تیمار تنش آبی و عدم استفاده از کود نیتروژن (شاهد) به دست آمد (شکل ۵). اثر برهمکنش آبیاری × منبع نیتروژن بر عملکرد دانه نشان داد که تنش آبی عملکرد دانه را در همه منابع کودی نسبت به آبیاری مطلوب کاهش داد. اما، این کاهش در تیمارهای مختلف کودی متفاوت بود (۴۶، ۴۴ و ۲۲ درصد کاهش به ترتیب در تیمارهای کود نیتروژن، تلفیقی و زیستی). با توجه به اینکه کمترین میزان کاهش عملکرد دانه به‌واسطه تنش آبی در شرایط استفاده از تیمار زیستی و سپس تیمار تلفیقی نسبت به کاربرد کود نیتروژن به دست آمد، می‌توان نتیجه گرفت که باکتری در

کاهش اثرات تنش آبی موفق بوده است (شکل ۵) و به لحاظ فیزیولوژیک گیاهان مقاومت بیشتری به تنش آبی در این شرایط نشان دادند. همچنین، پژوهشگران متعددی نشان داده‌اند که تلقیح با باکتری آزوسپیریلوم تأثیر مثبتی بر عملکرد دانه در شرایط تنش آبی داشته است (Marulanda et al., 2009; Sarig et al., 1988). در همین راستا Sarig و همکاران (۱۹۸۸) نیز نشان دادند که تلقیح بذر سورگوم با باکتری آزوسپیریلوم (*Azospirillum brasilense*) باعث بهبود عملکرد دانه در شرایط تنش آبی از طریق بهبود بهره‌وری استفاده از رطوبت خاک می‌شود.

بررسی برهمکنش آبیاری × منبع کود نیتروژن گویای این است که بیشترین کاهش عملکرد دانه به‌واسطه تنش آبی در شرایط استفاده از کود نیتروژن (۴۶ درصد) مشاهده شد (شکل ۵) که نشان می‌دهد گیاهانی که کود نیتروژن دریافت کرده‌اند نسبت به خشکی حساسیت بیشتری نشان می‌دهند. بر اساس نظر van Herwaarden و همکاران (۱۹۹۸) کاهش بیشتر عملکرد دانه به‌واسطه کاربرد کود نیتروژن در شرایط تنش آبی به پدیده "hay off" نسبت داده می‌شود. این پدیده زمانی رخ می‌دهد که کود نیتروژن به مقدار زیاد در مراحل رشد رویشی غلاتی که در معرض تنش آبی انتهایی هستند، به کار رود (van Herwaarden et al., 1998). در چنین شرایطی عملکرد زیست‌توده بالا رفته و ریشه‌ها آب بیشتری را از نیم‌رخ خاک تخلیه می‌کنند و این باعث کاهش فراهمی آب در دوره پر شدن دانه شده و نهایتاً کاهش وزن هزار دانه و عملکرد دانه را به دنبال خواهد داشت. سایر پژوهشگران (Barati et al., 2015; Barati and Ghadiri, 2017) نیز در مطالعات خود بر روی گیاه جو نشان دادند که در شرایط آبیاری مطلوب مصرف کود نیتروژن باعث افزایش معنی‌دار عملکرد دانه شد. اما، در شرایط تنش آبی انتهایی کاربرد مقدار بالای کود نیتروژن عملکرد دانه را تحت تأثیر قرار نداد.

بررسی اثر برهمکنش رژیم آبیاری × منبع نیتروژن بر عملکرد دانه از منظری دیگر نشان می‌دهد که در شرایط آبیاری مطلوب استفاده از کود نیتروژن و تیمار تلفیقی عملکرد دانه را



شکل ۵- اثر برهمکنش رژیم آبیاری $\times$ منبع کود بر مقدار عملکرد دانه. میانگین‌های با حروف مشابه بر اساس آزمون کمترین تفاوت معنی دار (LSD)، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند. اعداد درون ستون‌ها مقدار عددی هر میانگین را نشان می‌دهند.

صفات: کلروفیل a، کاروتنوئید، آنزیم کاتالاز و آنزیم گایاکول پراکسیداز معنی‌دار بود. این برهمکنش نشان داد که در شرایط بدون بقایا کود نیتروژن و تیمار تلفیقی اگرچه اختلاف معنی‌داری با هم در این صفات نداشتند، اما سبب افزایش معنی‌دار این صفات نسبت به شاهد شدند. در مقابل در شرایط حضور بقایا، روندی مشابه شرایط مطلوب رطوبتی وجود داشت با این تفاوت که شدت واکنش صفات به کاربرد این دو منبع نیتروژن بسیار شدیدتر بود. بررسی اثر برهمکنش تیمار رژیم آبیاری $\times$ منبع کود نیتروژن بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و گایاکول پراکسیداز نشان داد که در شرایط مطلوب رطوبتی، کاربرد کود نیتروژن صرف نظر از منبع آن سبب افزایش مقدار فعالیت این آنزیم‌ها شد. بیشترین مقدار افزایش در مقایسه با شاهد مربوط به کود نیتروژن و سپس کود تلفیقی بود. روندی مشابه شرایط مطلوب در شرایط تنش آبی نیز وجود داشت، البته شدت واکنش به کاربرد نیتروژن به‌ویژه تیمار کود نیتروژن و تیمار تلفیقی بسیار بیشتر از شرایط مطلوب بود. در شرایط آبیاری مطلوب بیشترین عملکرد دانه (۴۰۴/۹ گرم بر مترمربع) مربوط به تیمار کود تلفیقی بود که به‌طور معنی‌دار و به مقدار ۵۳ درصد بیشتر از شاهد بود. همچنین، در شرایط تنش نیز بیشترین عملکرد دانه متعلق به کود تلفیقی بود که میزان ۱۲ درصد بیشتر از شاهد بود. به‌طور کلی با توجه به برتری کود

به‌طور معنی‌دار و به ترتیب به میزان ۴۵ و ۵۳ درصد نسبت به شاهد افزایش داد (شکل ۵). در این شرایط تیمار کود نیتروژن و تیمار تلفیقی اختلاف معنی‌داری نداشتند، اما، نسبت به تیمار زیستی افزایش معنی‌داری در عملکرد دانه ایجاد کردند. بنابراین، در شرایط بدون تنش رطوبتی، کاربرد تیمار تلفیقی با توجه به بیشترین میزان افزایش عملکرد دانه نسبت به شاهد قابل توصیه است. در مقابل در شرایط تنش آبی، استفاده از کود نیتروژن، تلفیقی و زیستی عملکرد دانه را به ترتیب به مقدار ۳، ۱۲ و ۰/۴ درصد نسبت به شاهد افزایش دادند. از این‌رو، در شرایط تنش نیز با توجه به بیشترین مقدار افزایش عملکرد دانه در تیمار تلفیقی نسبت به شاهد، این رژیم کودی پیشنهاد می‌شود. کاهش واکنش غلات به کاربرد کود نیتروژن در شرایط تنش آبی نسبت به آبیاری مطلوب را سایر پژوهشگران (van Herwaarden *et al.*, 1998; Barati and Ghadiri, 2017) نیز گزارش کرده‌اند. همچنین، عدم تأثیر معنی‌دار تیمار زیستی به‌تنهایی بر عملکرد دانه در شرایط آبیاری مطلوب و تنش آبی در آزمایش حاضر را سایر پژوهشگران (Kasim *et al.*, 2016) و (حجتی‌پور و همکاران، ۱۳۹۲) نیز گزارش کردند.

نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که برهمکنش تیمار بقایا $\times$ منبع کود نیتروژن بر

تلفیقی در شرایط مطلوب و تنش رطوبتی به لحاظ بیوشیمیایی آبیاری پس از گلدهی در مناطق جنوبی ایران قابل توصیه است. و عملکرد دانه، این رژیم کودی در شرایط عدم اطمینان از

منابع

- امینی، ز.، حداد، ر. و مرادی، ف. (۱۳۸۷) بررسی اثر تنش کم آبی بر نحوه فعالیت آنزیم‌های ضد اکسنده در مراحل رشد زایشی گیاه جو (*Hordeum vulgare* L.). مجله تولید و فرآوری محصولات زراعی و باغی ۱۲: ۷۴-۶۵.
- باقری، ع. و مظاهری لقب، ح. (۱۳۸۹) بررسی تأثیر تنش خشکی بر صفات فیزیولوژیکی جو بدون پوشینه (*Hordeum Sativum* L.) در منطقه اقلید فارس. مجله دانش نوین کشاورزی ۶: ۲۹-۱۹.
- براتی، و. و غدیری، ح. (۱۳۹۵) اثرات تنش خشکی و کود نیتروژن بر عملکرد، اجزاء عملکرد و محتوای پروتئین دانه دو رقم جو. مجله تولید و فرآوری محصولات زراعی و باغی ۶: ۲۰۷-۱۹۱.
- بستامی، ا. و مجیدیان، م. (۱۳۹۴) تأثیر میکوریزا، کود فسفات زیستی و کود دامی بر مقادیر رنگیزه‌های فتوستتزی و عملکرد گشنیز (*Coriandrum sativum* L.). تولیدات گیاهی ۳۸: ۶۰-۴۰.
- حسن‌پور، ک.، احمدی، ج.، دانشیان، ج. و حاتمی، ص. (۱۳۹۴) بررسی تغییرات میزان کلروفیل، پروتئین و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در گندم دوروم تحت تنش خشکی. پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی ۷: ۸۷-۷۶.
- حیدری، م.، محمدی، س.، دهمرده، م. و اصغری، ح. (۱۳۹۴) تأثیر نیتروژن و آرسینک بر رنگدانه‌های فتوستتزی، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و مقادیر عناصر معدنی گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.). مجله تولید گیاهان زراعی ۸: ۱۲۰-۱۰۵.
- خدابنده، ن. (۱۳۹۱) غلات. انتشارات دانشگاه تهران. چاپ ۱۱. تهران.
- خسروی، ه. (۱۳۹۳) ازتوباکتر و نقش آن در مدیریت حاصلخیزی خاک. نشریه مدیریت زراعی ۲: ۹۱-۸۰.
- خلیلی، س. و مکاریان، ح. (۱۳۹۵) تأثیر بقایای گندم و جو بر رنگدانه‌های فتوستتزی کنگد (*Sesamum indicum* L.) در شرایط رقابت با علف‌های هرز، همایش ملی الکترونیکی پدافند غیر عامل در بخش کشاورزی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، خوزستان، ایران.
- دیده بان، ب.، علی بیگی نبی، د. و نژاد صادقی، ل. (۱۳۹۱) اثر سطوح مختلف کود نیتروژن بر مقدار کلروفیل گیاه کلزا (*Brassica napus* L.) اولین همایش ملی کشاورزی در شرایط محیطی دشوار، رامهرمز، دانشگاه آزاد اسلامی واحد رامهرمز، ایران.
- سید شریفی، ر. و سید شریفی، ر. (۱۳۹۸) اثر مصرف کودهای زیستی بر عملکرد، میزان روغن و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.) در تیمارهای قطع آبیاری. مجله فرآیند و کارکرد گیاهی ۸: ۹۷-۱۰۷.
- سی‌وسه مرده، ع.، فاتح، ح. و بدخشان، ه. (۱۳۹۳) واکنش سرعت فتوستتز، پایداری غشاء و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت به تنش خشکی و کود ازته در دو رقم جو (*Hordeum vulgare* L.) تحت شرایط کنترل شده. پژوهش‌های زراعی ایران ۱۲: ۲۲۸-۲۱۵.
- شاه بیگی، م.، مکاریان، ح.، عباسدخت، ح. و نصیری دهرسخی، ع. (۱۳۹۴) اثر دگرآسیبی بقایای گندم و جو بر میزان رنگدانه‌های فتوستتزی لویا چشم بلبلی و کنترل علف‌های هرز. دومین همایش بین‌المللی و پنجمین همایش ملی پژوهش‌های محیط‌زیست و کشاورزی ایران، دبیرخانه دائمی همایش، دانشکده شهید مفتح، همدان، ایران.
- شهری، ز. و فاتح، ا. (۱۳۹۵) بررسی تأثیر نوع بقایا، مدیریت بقایا و نیتروژن بر عملکرد و کیفیت گندم دوروم (*Triticum durum* L.). مجله تولید گیاهان زراعی ۹: ۱۰۴-۸۷.
- صادقی، ح. (۱۳۸۶) تأثیر مقادیر مختلف بقایای گیاهی و سطوح نیتروژن بر ویژگی‌های مورفولوژیک، عملکرد و اجزای عملکرد دانه

- دو رقم گندم (*Triticum aestivum* L.) دیم. پایان نامه دکتری در رشته زراعت، دانشگاه شیراز، ایران.
- علمی، ز.، شریعتی، م. و حسینی تفرشی، س.ع. (۱۳۹۷) بررسی تأثیر خاموش سازی ژن های HSP70، HSP90 و smHSP با استفاده از کینتیک فلوروسنس کلروفیل a در گیاه *Nicotiana benthamiana* در پاسخ به تنش شوری. مجله فرآیند و کارکرد گیاهی ۷: ۱۸-۱.
- علیزاده، ا. (۱۳۷۸) رابطه آب و خاک و گیاه. دانشگاه امام رضا، مشهد، ایران.
- عموآقایی، ر.، مستأجران، ا. و امتیازی، گ. (۱۳۸۲). تأثیر باکتری آزوسپیریلوم بر برخی شاخص های رشد و عملکرد سه رقم گندم. مجله علوم آب و خاک ۷: ۱۳۹-۱۲۷.
- فابریکی اورنگ، ص. و مهرآباد پوربناب، ث. (۱۳۹۷) ارزیابی تغییرات صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در گونه های اجدادی و تکاملی گندم تحت تنش کم آبی. تنش های محیطی در علوم زراعی ۱۱: ۸۰۲-۷۹۱.
- قاسمی، ح. و مستأجران، ا. (۱۳۹۷) بررسی اثر همیاری باکتری آزوسپیریلوم برازیلنس (*Azospirillum brasilense* Sp7 and Sp245) بر شاخص های رشد و برخی شاخص های بیوشیمیایی دانه رست های گندم (*Triticum aestivum* L.) در شرایط شوری. مجله پژوهش های گیاه ۳۱: ۶۴۱-۶۲۹.
- کشاورز نژاد قادیکلایی، ع.، کاظمینی، س.ع. و بحرانی، م.ج. (۱۳۹۲) تأثیر مقادیر مختلف نیتروژن و بقایای گیاهان ذرت، کلزا، آفتابگردان و گندم بر عملکرد و کارایی مصرف نیتروژن در گندم. مجله تولید و فرآوری محصولات زراعی و باغی ۱۹۱: ۳-۱۸۱.
- ملک ملکی، ف.، عباسی، ن.، شریفی عاشورآبادی، ا.، براری، م. و زارع، م. (۱۳۹۷) بررسی تأثیر سطوح تنش رطوبتی بر عملکرد، میزان اسانس و خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه زوفایی (*Thymbra spicata* L.). تنش های محیطی در علوم زراعی ۱۱: ۹۵۷-۹۴۳.
- هادی، ح.، بابائی، ن.، دانشیان، ج.، ارزانش، م. و حمیدی، آ. (۱۳۹۰) بررسی تأثیر آزوسپیریلوم لیپوفروم بر ویژگی های گیاهچه آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.) حاصل از بذر شرایط کم آبی در شرایط مزرعه. بوم شناسی کشاورزی ۳: ۳۲۷-۳۲۰.
- Aebi, H. (1984) Catalase in vitro. *Methods in Enzymology* 105: 121-126.
- Allen, R. G., Pereira, L. S., Raes, D. and Smith, M. (1998) Crop evapotranspiration. Guide lines for computing crop water requirements (Irrigation and Drainage Paper 56). Food and Agriculture Organization, Rome.
- Arnon, A. N. (1967) Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal* 23: 112-121.
- Arzaneh, M. H., Alikhani, H., Khavazi, K., Rahimian, H. and Miransari, M. (2010) Wheat (*Triticum aestivum* L.) growth enhancement by *Azospirillum* sp. under drought stress. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 27: 197-205.
- Barati, V. and Ghadiri, H. (2017) Assimilate and nitrogen remobilization of six-rowed and two-rowed winter barley under drought stress at different nitrogen fertilization. *Archives of Agronomy and Soil Science* 63: 841-855.
- Barati, V., Ghadiri, H., Zand-Parsa, Sh. and Karimian, N. (2015) Nitrogen and water use efficiencies and yield response of barley cultivars under different irrigation and nitrogen regimes in a semi-arid Mediterranean climate. *Archives of Agronomy and Soil Science* 61: 15-32.
- Chance, B. and Maehly, A. C. (1955) Assay of catalases and peroxidase. *Methods Enzymology* 2: 764-775.
- Compant, S., Van Der Heijden, M. G. and Sessitsch, A. (2010) Climate change effects on beneficial plant-microorganism interactions. *FEMS Microbiology Ecology* 73: 197-214.
- Fazeli, F., Ghorbanli, M. and Niknam, V. (2007) Effect of drought on biomass, protein content, lipid peroxidation and antioxidant enzymes in two sesame cultivars. *Biologia Plantarum* 51: 98-103.
- Grimes, D., Yamada, H. and Hughes, S. (1987) Climate-normalized cotton leaf water potentials for irrigation scheduling. *Agricultural Water Management* 12: 293-304.
- Hanson, B., Schwankl, L. and Fulton, A. (2004) Scheduling irrigation: when and how much water to apply. Department of Land, Air and Water Resources, University of California, Davis, California, USA.
- Hong, W. A. N. G. and Jin, J. Y. (2007) Effects of zinc deficiency and drought on plant growth and metabolism of reactive oxygen species in maize (*Zea mays* L.). *Agricultural Sciences in China* 6: 988-995.
- Institute S. (2004) SAS/GRAPH 9.1 Reference. SAS Institute.
- Karrou, M. and Maranville, J. W. (1995) Response of wheat cultivars to different soil nitrogen and moisture regimes: III. Leaf water content, conductance, and photosynthesis. *Journal of Plant Nutrition* 18: 777-791.

- Kasim, W. A., Gaafar, R. M., Abou-Ali, R. M., Omar, M. N. and Hewait, H. M. (2016) Effect of biofilm forming plant growth promoting rhizobacteria on salinity tolerance in barley. *Annals of Agricultural Sciences*. 61: 217-227.
- Kauser, R., Athar, H. U. R. and Ashraf, M. (2006) Chlorophyll fluorescence: a potential indicator for rapid assessment of water stress tolerance in canola (*Brassica napus* L.). *Pakistan Journal of Botany* 38: 1501-1509.
- Lin, T., Zhu, X., Zhang, F. and Wan, X. (2012) The interaction effect of cadmium and nitrogen on *Populus yunnanensis*. *Journal of Agricultural Science* 4(2): 125-134.
- Logan, B. A., Demmig-Adams, B., Rosenstiel, T. N. and Adams Iii, W. W. (1999) Effect of nitrogen limitation on foliar antioxidants in relationship to other metabolic characteristics. *Planta* 209: 213-220.
- Marulanda, Barea, A. J. M. and Azcón, R. (2009) Stimulation of plant growth and drought tolerance by native microorganisms (AM fungi and bacteria) from dry environments: mechanisms related to bacterial effectiveness. *Journal of Plant Growth Regulation* 28:115-124.
- Masoumi, A., Kafi, M., Khazaei, H. and Davari, K. (2010) Effect of drought stress on water status, electrolyte leakage and enzymatic antioxidants of kochia (*Kochia scoparia*) under saline condition. *Pakistan Journal of Botany* 42: 3517-3524.
- Pan, Y., Wu, L. J. and Yu, Z. L. (2006) Effect of salt and drought stress on antioxidant enzymes activities and SOD isoenzymes of liquorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch). *Plant Growth Regulation* 49: 157-165.
- Peng, S., Sanico, A. L., Garcia, F. V., Laza, R. C., Visperas, R. M., Descalsota, J. P. and Cassman, K. G. (1999) Effect of leaf phosphorus and potassium concentration on chlorophyll meter reading in rice. *Plant Production Science* 2: 227-231.
- Ridge, I. (2002) *Plants*. Oxford University Press. Oxford, England.
- Sandhya, V., Ali, S., Grover, M., Kishore, N. and Venkateswarlu, B. (2010) *Pseudomonas* sp. strain P45 protects sunflowers seedlings from drought stress through improved soil structure. *Journal Oilseed Research* 26: 600-601.
- Sarig, S., Blum, A. and Okon, Y. (1988) Improvement of the water status and yield of field-grown grain sorghum (*Sorghum bicolor* L.) by inoculation with *Azospirillum brasilense*. *The Journal of Agricultural Science* 110: 271-277.
- Sharma, A. K. (2003) *Biofertilizers for sustainable agriculture*. Agrobios, India.
- Somasegaran, P. and Hoben, H. J. (2012) *Handbook for rhizobia: Methods in Legume-Rhizobium Technology*. Springer Science and Business Media, University of Hawaii, New York, USA.
- Tale, A. and Haddad, R. (2011) Study of silicon effects on antioxidant enzyme activities and osmotic adjustment of wheat under drought stress. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding* 47: 17-27.
- Ullrich, S. (2011) Significance, adaptation, production, and trade of barley. In: *Barley: production, improvement and uses* (ed. Ullrich, S.). Blackwell. Singapore.
- Van Herwaarden, A., Farquhar, G., Angus, J., Richards, R. and Howe, G. (1998) 'Haying-off', the negative grain yield response of dryland wheat to nitrogen fertilizer. I. Biomass, grain yield, and water use. *Australian Journal of Agricultural Research* 49: 1067-1082.
- Varvel, G. E., Schepers, J. S. and Francis, D. D. (1997) Ability for in-season correction of nitrogen deficiency in corn using chlorophyll meters. *Soil Science Society of America Journal* 61: 1233-1239.
- Zadoks, J. C., Chang, T. T. and Konzak, C. F. (1974) A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Research* 14: 415-421.

Physiological and biochemical characteristics of barley as affected by biofertilizer, crop residues and water stress

Maryam Niazi Ardakani, Vahid Barati * and Ehsan Bijanzadeh

Department of Agroecology, Faculty of Agriculture and Natural Resources of Darab, Shiraz University.
(Received: 31/07/2019, Accepted: 02/11/2019)

Abstract

This research was carried out at the experimental farm of the Darab Agricultural and Natural Resources College of Shiraz University during 2017-2018 growing season. A split factorial experiment was layout based on a randomized complete block design with three replicates. Treatments included two irrigation levels as the main plots [1. Normal (IR_N): irrigation based on the plant's water requirement up to the physiological maturity and 2, Irrigation with water stress (IR_{ws}): irrigation based on the plant's water requirement up to the anthesis stage (cutting of irrigation after anthesis)]. Also, sub plots included two levels of plant residues [1. without residue, 2. with residue: returning 30% of wheat residues to soil] and four nitrogen (N) fertilizer sources [N_0 , no nitrogen fertilizer (control); N_{100} , 100 kg N ha⁻¹; Bio + N_{50} , Biofertilizer (*Azospirillum brasilense*) + 50 kg N ha⁻¹ and Bio, Biofertilizer (*Azospirillum brasilense*)]. Results showed that the interaction effect of residue × N fertilizer source on chlorophyll_a, carotenoid, catalase and guaiacol peroxidase enzymes traits was significant. The N_{100} and Bio + N_{50} treatments significantly increased these traits compared to N_0 in without residue conditions. In contrast, in the presence of residue, there was a similar trend without residue conditions, however, the reaction of these traits to N_{100} and Bio + N_{50} supply were much more severe. The interaction of irrigation regime × N fertilizer source on catalase and guaiacol peroxidase enzymes showed that the N fertilizer application increased the amount of these enzymes, regardless of the N source, in IR_N conditions. Similarly, in IR_{ws} conditions, the catalase and guaiacol peroxidase enzymes levels were improved by N fertilizer supply as compared with N_0 , however, the intensity of their reactions to N application, especially, N_{100} and Bio + N_{50} was much more than the normal moisture conditions. The highest grain yield was achieved by Bio + N_{50} under IR_N and IR_{ws} conditions. In general, with respect to superiority of combine N fertilizer (Bio + N_{50}) in biochemical and grain yield traits in normal and water stress conditions and economic and environmental considerations as well, the N fertilizer regime is recommended for water availability restriction conditions in Southern regions of Iran.

Keywords: *Azospirillum*, Catalase, Carotenoid, Chlorophyll, Guaiacol Peroxidase

Corresponding author, Email: v.barati@shirazu.ac.ir