

تعدیل تنش خشکی و بهبود ویژگی‌های فیزیولوژیک در سیاهدانه (*Nigella sativa* L.) با کاربرد کودهای زیستی و محلول‌پاشی روی

سمیه رفیعی، علیرضا یدوی*، محسن موحدی دهنوی، حمیدرضا بلوچی

گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۲/۱۴، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۳/۰۴/۱۹)

چکیده

جهت بررسی تأثیر کودهای زیستی و محلول‌پاشی روی بر ویژگی‌های فیزیولوژیک و غلظت عناصر در سیاهدانه تحت رژیم‌های مختلف آبیاری، آزمایشی به صورت اسپلیت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در زرقان استان فارس در سال‌های ۱۳۹۷ و ۱۳۹۸ انجام شد. رژیم‌های آبیاری (تأمین ۱۰۰، ۷۵ و ۵۰ درصد نیاز آب آبیاری) در کرت اصلی و کودهای زیستی (قارچ میکوریزا، فسفات بارور ۲، قارچ میکوریزا + فسفات بارور ۲، عدم کاربرد کود زیستی) و محلول‌پاشی (محلول‌پاشی روی، عدم محلول‌پاشی روی) در کرت فرعی قرار گرفت. در هر دو سال آزمایش، کاهش درصد نیاز آب آبیاری از ۱۰۰ به ۵۰ درصد، کاهش غلظت نیتروژن (۴۵٪)، کلروفیل a (۷۰٪)، پروتئین محلول (۳۷٪)، محتوای نسبی آب (۴۰٪) عملکرد بیولوژیک (۴۶/۶٪) و عملکرد دانه (۵۶٪) سیاهدانه را باعث شد ولی افزایش صفاتی چون پرولین (۱/۳۵ برابر)، قند محلول (۶۰٪) و نشت الکترولیت (۱/۱ برابر) را به همراه داشت. کاربرد کودهای زیستی به ویژه به صورت ترکیبی (قارچ میکوریزا + فسفات بارور ۲) و محلول‌پاشی روی، تمامی صفات بجز نشت الکترولیت را به افزایش داد. به طوریکه در آبیاری ۵۰ درصد، کاربرد توأم کود زیستی نسبت به عدم کاربرد کود زیستی در سال ۱۳۹۷ و ۱۳۹۸ عملکرد دانه را به ترتیب ۴۶ و ۵۰ درصد افزایش داد. نتایج نشان داد که کودهای زیستی و محلول‌پاشی روی از طریق بهبود جذب عناصر غذایی و خصوصیات فیزیولوژیک، اثرات منفی تنش خشکی در سیاهدانه را تعدیل می‌نماید.

کلمات کلیدی: باکتری، پرولین، کلروفیل، کم آبیاری، میکوریزا

مقدمه

تنش را در خود ایجاد می‌کنند. سازش گیاهان به تنش خشکی نتیجه تغییر بسیاری از مکانیزم‌های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی است که منجر به تغییراتی در سرعت رشد گیاه، هدایت روزنه‌ای، سرعت فرآیند فتوسنتز و فعالیت‌های آنزیمی می‌شود (ستایش مهر و گنجعلی، ۱۳۹۲). کاهش جذب آب، تغییر در وضعیت آبی برگ و تبادلات گازی بهره‌وری محصول را کاهش می‌دهد.

ایران با متوسط بارندگی سالانه کمتر از یک سوم میانگین جهانی دارای اقلیمی خشک و نیمه‌خشک است و معمولاً گیاهان کشت‌شده در این اقلیم‌ها تمام یا دوره‌ای از فصل خود در شرایط تنش خشکی قرار می‌گیرند (Karimi et al., 2018). با گذشت زمان، گیاهان جهت مقابله با اثرات زیان‌بار تنش خشکی، طیف وسیعی از مکانیسم‌های سازگاری و تحمل به

دمای بالای برگ از طریق دنا توره شدن پروتئین‌ها و آنزیم‌های مختلف باعث کاهش نفوذپذیری غشاء شده، در نتیجه بر جنبه‌های مختلف متابولیسم گیاه تأثیر می‌گذارد. این تغییرات دلایل اصلی اختلال در فتوسنتز، تنفس، تغذیه مواد معدنی و سنتز پروتئین‌ها و اسیدهای آمینه هستند (Tiwari and Yadav, 2020). از دیگر اثرات منفی تنش خشکی می‌توان کاهش میزان کلروفیل کل، کارتنوئید، فتوسنتز، افزایش محتوای پرولین، قند محلول و نشت الکترولیت را نام برد (Jafarnia et al., 2018).

با توجه به کاهش چشمگیر عملکرد تحت تنش خشکی، استفاده از راهکارهایی مناسب جهت مقابله با تنش خشکی امری ضروری تلقی می‌شود. از جمله این رویکردها می‌توان به جایگزین کردن گیاهان سازگار به خشکی اشاره کرد که نه تنها جانشینی مناسب برای محصولات کشاورزی متداول هستند، بلکه توجیه اقتصادی نیز داشته باشند (Alinian and Razmjoo, 2014). قابل ذکر است که تنش خشکی به‌طور کلی منفی تلقی می‌شود، زیرا مسئول کاهش شدید عملکرد در کشاورزی است، با این حال، این وضعیت برای گیاهان دارویی متفاوت بوده، زیرا توانایی رشد در شرایط دشوار محیطی به ویژه کم آبی از جمله مهمترین ویژگی‌های بسیاری از گیاهان دارویی و معطر است، که آن‌ها را به گیاهانی مناسب برای بوم نظام مناطق خشک تبدیل کرده است. از جمله این گیاهان، گیاه دارویی سیاهدانه را می‌توان نام برد. گیاه سیاهدانه (*Nigella sativa* L.) گیاهی دارویی صنعتی، یکساله گلدار از خانواده *Ranunculaceae* است که عمدتاً در مناطق مدیترانه‌ای یافت می‌شود (Ali et al., 2018). برخی محققین بر این باورند که سیاهدانه قادر به تحمل تنش متوسط خشکی است و به دلیل دوره رشدی کوتاه (۱۰۰ تا ۱۲۰ روز) و نیازهای پایین در مناطق خشک و نیمه‌خشک ایران کشت می‌شود (Merajipoor et al., 2020).

استراتژی دیگر جهت کاهش اثرات منفی تنش خشکی استفاده از کودهای بیولوژیک مانند قارچ‌های میکوریزا آرباسکولار و باکتری‌های حل‌کننده فسفر برای اکثر محصولات کشاورزی است (شجاعیان کیش و همکاران، ۱۴۰۰). قارچ

مایکوریزا آرباسکولار نمونه‌ای از یک کود زیستی مفید است که از طریق مکانیسم‌های فیزیولوژیکی در جذب مواد غذایی و مکانیسم‌های بیوشیمیایی مانند هورمون‌ها، تنظیم اسمزی و سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی باعث افزایش تحمل به تنش خشکی در گیاه میزبان می‌شود (Wu and Zou, 2017). باکتری‌های حل‌کننده فسفر نیز به دلیل تأثیر مثبت خود بر گیاه مانند انحلال فسفات‌های نامحلول در خاک و تسهیل جذب آنها توسط گیاه باعث کاهش اثرات منفی تنش خشکی می‌شوند (Pande et al., 2017). گفتنی است افزایش جذب عناصری مانند فسفر، نیتروژن، پتاسیم، کلسیم (Boutasknit et al., 2021) مس، روی و گوگرد (Turrini et al., 2018) از طریق تغییرات فیزیولوژیکی در گیاه (مانند تقویت سیستم دفاعی آنتی-اکسیدانی) باعث کاهش آسیب ناشی از تنش خشکی می‌شود (Bahraminia et al., 2020). کاربرد ریزوباکترهای محرک رشد مانند *Azospirillum*، *Pseudomonas*، *Azotobacter*، *Bacillus*، *Rhizobium* و سویه‌های دیگر از این قبیل می‌تواند در شرایط خشکی باعث حفظ تعادل هورمونی، بهبود وضعیت تغذیه‌ای گیاه و خصوصیات رشدی گیاه شده، عملکرد گیاه را افزایش دهد (Abdelaal, 2015). این ریزوباکترها به طور مستقیم با تنظیم مکانیسم‌های فیزیولوژیک گیاه، افزایش دسترسی گیاه به عناصر غذایی خاک مانند نیتروژن (Delshadi et al., 2017) و به خصوص فسفر، روی، منگنز (Abdelaal, 2015)، جذب آهن و سنتز هورمون‌های گیاهی (اتیلن، سایتوکینین، جبرلیک اسید، ایندول استیک اسید، اکسین) (Olanrewaju et al., 2017) رشد و نمو گیاه را افزایش می‌دهند.

نکته مهم دیگر، مواجه شدن گیاه با مشکلاتی همچون جذب عناصر غذایی در شرایط تنش خشکی است که جهت حل این مشکل می‌توان به محلول‌پاشی عناصر به عنوان راهکاری مناسب جهت فراهمی مواد غذایی برای گیاهانی که در چنین شرایطی در امر جذب عناصر و مواد غذایی از طریق ریشه محدودیت دارند، اشاره کرد (عرب و همکاران، ۱۳۹۷). در شرایط تنش خشکی، کاربرد روی باعث بهبود جوانه‌زنی بذر،

سانتی‌متر به طول ۴ متر و عرض ۲ متر ایجاد شد. کشت در دو سوی پشته (متوسط فاصله ردیف ۲۵ سانتی‌متر) و با فاصله ۴ سانتی‌متر بین بوته‌ها انجام گرفت (تراکم کاشت ۲۰۰ بوته در مترمربع). همچنین فاصله کرت‌های اصلی ۲ متر، فاصله بین کرت‌های فرعی یک متر و فاصله بین تکرارها ۲ متر در نظر گرفته شد.

کاشت در نیمه اول فروردین ماه سال‌های ۱۳۹۷ و ۱۳۹۸ انجام شد، عمق کاشت ۵/۰ سانتی‌متر، کاشت به صورت دستی انجام و بلافاصله آبیاری انجام شد. قارچ مایکوریزا آریاسکولار گونه *Glomus mosseae* به میزان ۸۰ کیلوگرم در هکتار (تنهایی و همکاران، ۱۳۹۷) استفاده شد. به منظور کاربرد قارچ‌های مایکوریزا، همزمان با کاشت، ابتدا قارچ در محل کاشت زیر بذر قرار داده شد، سپس بذر کشت شد. جهت تلقیح بذر با باکتری به صورت بذر مال، یک بسته کود زیستی فسفات بارور ۲ (حاوی باکتری‌های پانتوآ آگلومرانس سویه *P5* و سودوموناس پوتیدا سویه *PI3*) در ۵ لیتر آب حل و سپس با پارچه‌ای نازک محلول صاف گشت، محلول در یک سمپاش دستی ریخته شد و روی بذرهایی که روی پلاستیک در سایه پهن شده بودند، تا حدی که بذرها فقط مرطوب شوند، پاشیده شد. جهت جلوگیری از آسیب به باکتری‌ها در هوای خشک، سریعاً بذرها در زمین کاشته شدند. مرحله دوم کاربرد باکتری، پس از تنک‌کردن، همراه با آب به وسیله آبیاری در کنار بوته‌ها روی هر ردیف انجام گرفت. محلول‌پاشی روی با غلظت ۳ در هزار طی دو مرحله (یک مرتبه در مرحله چهارم برگ‌ها و تکرار آن در دو هفته بعد از اولین محلول‌پاشی) انجام گرفت.

اعمال سطوح آبیاری: تمام کرت‌های آزمایشی تا زمان استقرار کامل گیاه (۳-۴ برگ‌ها) به طور معمول با توجه به آبیاری رایج منطقه انجام گرفت. زمانی که گیاهان به مرحله ۴ تا ۶ برگ‌ها رسیدند، تیمارهای آبیاری شامل بدون تنش (تأمین ۱۰۰ درصد آب آبیاری براساس میزان تبخیر و تعرق انجام گرفته از خاک)، تنش متوسط (تأمین ۷۵ درصد آب آبیاری) و تنش شدید (تأمین ۵۰ درصد آب آبیاری) اجرا شد. جهت تعیین مقدار آب لازم برای آبیاری از رابطه زیر استفاده شد:

$$I_n = ((ET_c / 1000) \times A) / IE$$

روابط آبی گیاه، پایداری غشای سلولی، تجمع اسمولیت، تنظیم روزنه‌ای، راندمان مصرف آب و فتوسنتز می‌شود و در نتیجه عملکرد گیاه به طور قابل‌توجهی بهتر می‌شود. علاوه بر این، عنصر روی با هورمون‌های گیاهی تعامل ایجاد کرده، بیان پروتئین‌های استرس را افزایش می‌دهد و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را برای مقابله با اثرات خشکسالی تحریک می‌کند (Umair hassan et al., 2020). هدف از اجرای این پژوهش نیز بررسی تأثیر کود زیستی (قارچ مایکوریزا آریاسکولار، فسفات بارور ۲) و محلول‌پاشی روی بر صفات فیزیولوژیک و عملکرد گیاه سیاهدانه در شرایط تنش خشکی است.

مواد و روش‌ها

نقشه طرح آزمایشی و مشخصات محل آزمایش: این مطالعه بر روی سیاهدانه (توده محلی اصفهان تهیه‌شده از شرکت پاکان بذر اصفهان) در سال‌های ۱۳۹۶ و ۱۳۹۷ در مزرعه‌ای واقع در شهرستان زرقان (عرض جغرافیایی ۲۹ درجه و ۳۶ دقیقه شمالی و طول ۵۲ درجه و ۴۳ دقیقه شرقی و ارتفاع ۱۶۰۰ متر از سطح دریا در ۲۵ کیلومتری شمال شیراز)، به صورت اسپلیت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار اجرا شد. رژیم آبیاری در سه سطح بدون تنش (۱۰۰ درصد آبیاری)، تنش متوسط (۷۵ درصد آبیاری) و تنش شدید (۵۰ درصد آبیاری) به عنوان کرت‌های اصلی و ترکیب دو عامل محلول‌پاشی روی (محلول‌پاشی با سولفات روی با غلظت ۳ در هزار و عدم محلول‌پاشی) (عرب و همکاران، ۱۳۹۷) و کاربرد کودهای زیستی (کاربرد قارچ مایکوریزا، کاربرد باکتری‌های حل‌کننده فسفر (فسفات بارور ۲)، کاربرد هر دو با هم و عدم کاربرد کود زیستی) (تنهایی و همکاران، ۱۳۹۷) در کرت‌های فرعی مورد بررسی قرار گرفت. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش در جدول ۱ ارائه گردیده است. عملیات کوددهی براساس آزمون خاک انجام شد.

کرت‌های آزمایشی شامل چهار پشته با فاصله ۵۰

جدول ۱- نتایج آزمایش خاک دو سال اجرای آزمایش

سال	عمق خاک (سانتی متر)	اسیدپتیه	هدایت الکتریکی (دسی‌زیمنس بر متر)	کربن آلی (%)	نیترژن	فسفر (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	پتاسیم	بافت خاک
۱۳۹۷	۳۰-۰	۷/۵۸	۱/۱۷	۱/۵۷	۰/۱۵	۱۵/۷	۵۱۶/۶	سیلتی رسی
۱۳۹۸	۰-۳۰	۷/۸۸	۱/۲۷	۱/۱۹	۰/۱۱	۹/۹	۴۱۸/۴	لومی رسی سیلتی

که در این رابطه I_n مقدار آب آبیاری (m^3)، ET_c مجموع مقدار تبخیر و تعرق (میلی‌متر در روز) برای دوره هفت روزه، A مساحت کرت اصلی ($192 m^2$)، IE راندمان آبیاری (آبیاری قطره‌ای ۹۰ درصد) است. جهت محاسبه مجموع مقدار تبخیر و تعرق (میلی‌متر در روز) نیز از رابطه زیر استفاده شد:

$$ET_c = \sum_1^n ET_0 \times Kc$$

که ET_c مجموع مقدار تبخیر و تعرق (میلی‌متر در روز) برای دوره هفت روزه، ET_0 تبخیر و تعرق گیاه مرجع (میلی‌متر در روز) و Kc مقدار ضریب گیاهی سیاهدانه است که در مراحل رشد اولیه (از تاریخ جوانه‌زدن بذر تا ۱۰ درصد رشد گیاه)، مرحله توسعه (از ۱۰ درصد رشد تا شروع گلدهی)، مرحله میانی (از آغاز گلدهی تا شروع رسیدگی محصول) و مرحله پایانی (از انتهای مرحله میانی تا برداشت محصول) به ترتیب برابر با ۰/۵۹، ۰/۹۱، ۱/۲۹ و ۰/۷۸ است (قمرنیا و همکاران، ۱۳۹۰).

محاسبه مقدار تبخیر و تعرق گیاه مرجع (به روش تشت تبخیر کلاس A) (زارع ایبانه و همکاران، ۱۳۹۰) طبق رابطه بعد محاسبه گردید:

$$ET_0 = Epan \times Kp$$

$Epan$ تبخیر از تشت تبخیر کلاس A ($mm d^{-1}$) و Kp

ضریب تشت (بدون واحد) است.

جهت محاسبه ضریب تشت نیز از رابطه زیر استفاده گردید

(Snyder, 1992).

$$Kp = 0.482 + 0.024 \ln(F) - 0.000376U + 0.0045H$$

که U میانگین روزانه سرعت باد در ارتفاع ۲ متری

RH (km/day)، میانگین روزانه رطوبت نسبی بر حسب

درصد، F فاصله تشت از پوشش گیاهی (m) است.

اندازه‌گیری عناصر اندام هوایی: در مرحله شروع

کپسول‌دهی، اندام‌های هوایی (برگ و ساقه) سیاهدانه از ۰/۵

مترمربع از هر کرت آنها جمع‌آوری شد و پس از خشک‌شدن در آون با دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت، تهیه عصاره برای اندازه‌گیری عناصر بر اساس روش Novozamsky و همکاران (۱۹۷۴) انجام شد. از این عصاره برای اندازه‌گیری نیترژن و فسفر استفاده شد (Temminghoff and houba, 2004). غلظت نیترژن در هر بافت با استفاده از واکنش برتلوت تعیین شد. طی این واکنش یک ترکیب فنولی (در اینجا سالیسیلات) در حضور آمونیاک و هیپوکلرید، تولید یک رنگ سبز آبی می‌کند. در محیط قلیایی، ایندوفنول تشکیل شده، به رنگ سبز آبی در می‌آید و میزان جذب آن توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۶۰ نانومتر اندازه‌گیری می‌شود. (Novozamsky et al., 1974). برای اندازه‌گیری فسفر از روش کالریتری (رنگ زرد مولیبدات وانادات) با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۲۰ نانومتر استفاده شد (Rotset, 1985). برای اندازه‌گیری آهن و روی، نمونه‌ها در دمای ۵۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ ساعت قرار گرفتند، سپس با ۵ میلی‌لیتر اسید کلریدریک دو نرمال روی هیتز قرار داده و توسط طیف‌سنجی جذب اتمی غلظت آهن و روی در اندام هوایی بر اساس استاندارد تعیین شد (Chapman and Pratt, 1961).

اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیک: نمونه‌گیری از اندام

هوایی در مرحله شروع کپسول‌دهی جهت اندازه‌گیری صفات

فیزیولوژیک صورت گرفت.

اندازه‌گیری پرولین با استفاده عصاره الکلی طبق روش

Paquine و Lechasseur (۱۹۷۹) انجام شد. عصاره الکلی، آب

دو بار تقطیر، محلول نین‌هیدرین و اسید استیک گلاسیال در

داخل بن‌ماری به مدت ۴۵ دقیقه قرار داده شد سپس بنزن

اضافه گردید. پس از ورود پرولین به فاز بنزن میزان پرولین با

شدن در دمای معمول اتاق مجدداً هدایت الکتریکی نمونه‌ها اندازه‌گیری و به عنوان EC_2 ثبت شد. سپس درصد نشت الکترولیت با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (McKay, 1992).

$$EC_1/EC_2 \times 100 = \text{درصد نشت الکترولیت}$$

سنجش پروتئین محلول برگ با روش Kar و Mishra (۱۹۷۶) انجام شد. مقدار بافت برگ نگهداری شده همراه با بافر فسفات ۰/۱ مولار با pH ۶/۸ هموژن شد و سپس در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، ساتریفیوژ شد. فاز بالایی عصاره برای اندازه‌گیری مقدار پروتئین محلول به میکروتیوپ انتقال داده شد و آنگاه محلول سوپرناتانت را به محلول برادفورد اضافه کرده و جذب نمونه در طول موج ۵۹۵ با دستگاه اسپکتروفتومتری خوانده شد.

اندازه‌گیری عملکرد بیولوژیک و عملکرد دانه: جهت

اندازه‌گیری عملکرد بیولوژیک و عملکرد دانه زمانی که رنگ بوته‌ها زرد شد اما فولیکول‌ها شکاف برنداشتند، نمونه‌گیری از مساحتی معادل ۲ متر مربع از ردیف‌های وسط هر کرت و حذف اثر حاشیه‌ای انجام و صفات مذکور اندازه‌گیری شد. داده‌ها از نظر یکنواختی واریانس با استفاده از آزمون بارتلت و آزمون نرمال بودن داده‌ها قبل از تجزیه واریانس مورد ارزیابی قرار گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها برای صفاتی که آزمون بارتلت آنها معنی‌دار گردید (فصل نام هوایی، عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیک) به صورت جداگانه برای هر سال انجام شد و در مورد صفاتی که آزمون بارتلت آنها معنی‌دار نشد، تجزیه مرکب انجام گرفت. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۹/۴) انجام گرفت. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون LSD با احتمال خطای ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

محتوای عناصر اندام هوایی، نیتروژن اندام هوایی: نتایج تجزیه واریانس مرکب دو ساله داده‌ها نشان داد که اثرات سال، آبیاری، برهمکنش سال \times آبیاری، کود زیستی، محلول‌پاشی

استفاده از اسپکتروفتومتر بر اساس جذب نور نمونه‌ها در طول موج ۵۱۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری قندهای محلول به عصاره الکلی، آنترون اضافه کرده و محلول در حمام آب جوش قرار داده شد. پس از خنک‌شدن نمونه‌ها در محیط آزمایشگاه، میزان جذب نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۲۵ نانومتر خوانده شد (Irigoyen et al., 1992).

محتوای کلروفیل گیاه با اندازه‌گیری میزان جذب عصاره برگ استخراجی با استون در طول موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر بر حسب میلی‌گرم در گرم وزن تازه تعیین شد (Arnon, 1949).

برای اندازه‌گیری محتوای نسبی آب (RWC)، از روش Mishra و Choudhuri (۱۹۹۹) استفاده شد. بدین صورت که در ساعت ۱۲ تا ۲ بعد از ظهر، قطعاتی تقریباً هم‌اندازه از برگ بوته‌های انتخابی توسط قیچی جدا شده و بلافاصله با ترازو (دقت ۰/۰۰۱ گرم) توزین شد (FW)، پس از آن برای تعیین وزن آماس‌یافته برگ، نمونه‌ها در ظروف پتری سربسته و حاوی آب مقطر در محلی تاریک با دمای ثابت به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفتند. سپس رطوبت سطحی برگ‌ها با کاغذ واتمن شماره یک گرفته شده و وزن آماس (TW) محاسبه گردید. برای اندازه‌گیری وزن خشک، برگ‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و سپس وزن شد (DW). در نهایت مقدار محتوای نسبی آب برگ‌ها با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد.

$100 \times (FW - DW) / (TW - DW) =$ محتوای نسبی آب برگ
جهت اندازه‌گیری میزان نشت الکترولیت از برگ‌های جوان نمونه‌هایی تهیه و در ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق در محل تاریک قرار گرفتند و بعد از گذشت ۲۴ ساعت هدایت الکتریکی هر نمونه با استفاده از EC متر اندازه‌گیری شد تا EC_1 بدست آید. به منظور اندازه‌گیری میزان کل نشت الکترولیت در اثر مرگ سلول‌ها، لوله‌های آزمایش در حمام آب جوش با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ دقیقه قرار گرفت و بعد از ۲۴ ساعت و پس از سرد

جدول ۲- تجزیه واریانس مرکب اثر سطوح آبیاری، کود زیستی و محلول‌پاشی روی بر محتوای برخی از عناصر اندام هوایی و صفات فیزیولوژیک سیاهدانه

میانگین مربعات			درجه		منابع تغییر	
کلروفیل b	کلروفیل a	آهن اندام هوایی	روی اندام هوایی	نیترژن اندام هوایی		آزادی
۰/۰۱۹ ^{ns}	۱/۴۴*	۲۲۵ ^{ns}	۱۵۵ ^{ns}	۰/۶۹۹*	۱	سال (Year)
۰/۰۰۸	۰/۱۲۷	۱۸۹	۲۰۵	۰/۱۴۵	۴	تکرار (سال)
۲/۳۲**	۱۶/۳۹**	۵۸۰۲۹**	۱۲۸۵۴۸**	۱۵/۵۲**	۲	آبیاری (I)
۰/۰۲۲**	۰/۰۰۵ ^{ns}	۵۷۸ ^{ns}	۶۲۴ ^{ns}	۲/۰۹**	۲	سال × آبیاری
۰/۰۱۶	۰/۰۶۴	۵۴۵	۸۶۵	۰/۳۷۲	۸	تکرار (سال × آبیاری)
۰/۳۶۷**	۰/۴۶۷**	۷۰۵۹**	۲۸۲۹۷**	۲/۴۲**	۳	کود زیستی (B)
۰/۰۷۶**	۰/۱۴۸**	۲۷۴۵۷**	۱۰۶۰۵۹**	۱/۲۳**	۱	محلول‌پاشی روی (F)
۰/۰۹۶**	۰/۰۲۷**	۳۶۷ ^{ns}	۱۹۵۱**	۰/۳۱۱ ^{ns}	۶	I × B
۰/۰۰۸*	۰/۰۰۴ ^{ns}	۳۷۹ ^{ns}	۱۵۱ ^{ns}	۰/۰۰۲ ^{ns}	۲	I × F
۰/۰۰۰۸ ^{ns}	۰/۰۱۱ ^{ns}	۲۳۷ ^{ns}	۵۵ ^{ns}	۰/۱۰۱ ^{ns}	۳	B × F
۰/۰۰۰۴ ^{ns}	۰/۰۰۳ ^{ns}	۸۰۶ ^{ns}	۱۰۸۹**	۰/۱۵۴ ^{ns}	۶	I × B × F
۰/۰۰۸*	۰/۰۰۱ ^{ns}	۳۶۹ ^{ns}	۲۰۸ ^{ns}	۰/۰۳۴ ^{ns}	۳	Year × B
۰/۰۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۰۰۲ ^{ns}	۰/۰۰۰۲ ^{ns}	۹۷ ^{ns}	۰/۰۰۱ ^{ns}	۱	Year × F
۰/۰۰۵*	۰/۰۰۴ ^{ns}	۱۵۲ ^{ns}	۳۶۶ ^{ns}	۰/۴۲۳*	۶	Year × I × B
۰/۰۰۰۳ ^{ns}	۰/۰۰۰۳ ^{ns}	۲۹۳ ^{ns}	۱۴۱۰**	۰/۰۴۲ ^{ns}	۲	Year × I × F
۰/۰۰۰۲ ^{ns}	۰/۰۰۰۴ ^{ns}	۷۵/۴ ^{ns}	۱۰۷۳**	۰/۰۶۹ ^{ns}	۳	Year × B × F
۰/۰۰۰۲ ^{ns}	۰/۰۰۰۱ ^{ns}	۱۱۶	۸۵	۰/۰۲۲ ^{ns}	۶	Year × I × B × F
۰/۰۰۲	۰/۰۰۹	۳۹۸	۳۲۱	۰/۰۲۶	۸۴	خطا
۹/۶۹	۸/۵۳	۹/۶۶	۶/۹۹	۱۱/۷۶		ضریب تغییرات (%)

^{ns}، * و ** به ترتیب عدم وجود اختلاف معنی‌دار، معنی‌دار در سطوح ۵ و ۱ درصد را نشان می‌دهد.

سال دوم نیز آبیاری ۱۰۰ درصد و ترکیب مایکوریزا + فسفات بارور ۲ (۱/۷٪) و آبیاری ۵۰ درصد بدون کاربرد کود زیستی (۰/۷۴٪)، به ترتیب بیشترین و کمترین درصد نیترژن اندام هوایی را دارا بودند (جدول ۳). مقایسات میانگین محلول‌پاشی روی برای درصد نیترژن اندام هوایی نیز نشان داد که محلول‌پاشی روی نسبت به عدم محلول‌پاشی، این صفت را در سیاهدانه حدوداً ۱۴٪ افزایش داد (جدول ۴)

فسفر اندام هوایی: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها در هر دو سال آزمایش نشان داد که تنها اثرات اصلی سطوح آبیاری، کود زیستی و محلول‌پاشی روی بر درصد فسفر اندام هوایی

روی و برهمکنش سال × آبیاری × کود زیستی بر درصد نیترژن اندام هوایی تأثیر معنی‌داری داشت (جدول ۲). مقایسات میانگین برهمکنش سال × آبیاری × کود زیستی نشان داد که با کاهش آب آبیاری میزان درصد نیترژن اندام هوایی روند نزولی داشته و کاربرد کود زیستی قارچی و باکتریایی باعث بهبود این صفت شده است به طوری‌که در سال اول بیشترین درصد نیترژن اندام هوایی (۲/۱۳٪) مربوط به برهمکنش آبیاری ۱۰۰ درصد و کاربرد کود زیستی مایکوریزا + فسفات بارور ۲ و کمترین آن (۰/۶۹٪) مربوط به برهمکنش آبیاری ۵۰ درصد و بدون کاربرد کود زیستی (شاهد) بود و در

ادامه جدول ۲-

میانگین مربعات				درجه آزادی		منابع تغییر
پروتئین محلول	نشت الکترولیت	محتوای نسبی آب	قند محلول	پرولین	پرولین	
۰/۸۰۵ ^{ns}	۱/۵۱ ^{ns}	۶/۲۸ ^{ns}	۸۳۴/۳۲ ^{**}	۹/۳۲ ^{**}	۱	سال (Year)
۰/۶۹۷	۱۴۱/۱۴	۱۶/۲۶	۷/۰۴	۰/۰۴۰	۴	تکرار (سال)
۴۸/۸۳ ^{**}	۱۵۹۴۷/۷۱ ^{**}	۱۳۵۱۱/۳۱ ^{**}	۳۷۷۵/۱۵ ^{**}	۲۱۵/۵۹ ^{**}	۲	آبیاری (I)
۰/۰۰۶ ^{ns}	۶۲/۰۹ ^{**}	۵۲/۱۷ ^{ns}	۰/۴۵۲ ^{ns}	۰/۸۹۰ ^{**}	۲	سال × آبیاری
۰/۳۲۸	۳۳/۶۱	۲۸/۵۸	۳۳/۸۱	۰/۲۴۵	۸	تکرار (سال × آبیاری)
۷/۲۲ ^{**}	۲۲۰۴ ^{**}	۸۰۲/۷۵ ^{**}	۳۶۹/۷۰ ^{**}	۳۶/۱۸ ^{**}	۳	کود زیستی (B)
۶/۱۹ ^{**}	۷۰۹ ^{**}	۳۷۵/۹۰ ^{**}	۲۸۳/۵۲ ^{**}	۹/۳۲ ^{**}	۱	محلول‌پاشی روی (F)
۱/۲۹ ^{**}	۴۰/۱۰ ^{**}	۶۶/۲۴ ^{**}	۷۱/۵۸ ^{**}	۴/۰۵ ^{**}	۶	I × B
۰/۰۱۹ ^{ns}	۴/۷۱ ^{**}	۵/۱۵ ^{ns}	۴/۰۳ ^{ns}	۰/۹۴۷ ^{**}	۲	I × F
۰/۰۶۸ ^{ns}	۳/۰۳ ^{ns}	۵/۶۸ ^{ns}	۰/۷۵۸ ^{ns}	۰/۰۳۵ ^{ns}	۳	B × F
۰/۱۲۵ ^{ns}	۵/۲۶ ^{ns}	۵/۰۱ ^{ns}	۱/۲۳ ^{ns}	۰/۰۰۳ ^{ns}	۶	I × B × F
۰/۰۳۵ ^{ns}	۱۳/۵۴ ^{ns}	۳۴/۴۹ ^{ns}	۳/۳۸ ^{ns}	۲/۹۱ ^{**}	۳	Year × B
۰/۱۶۰ ^{ns}	۹/۲۸ ^{ns}	۷/۷۱ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۳ ^{ns}	۰/۰۴۷ ^{ns}	۱	Year × F
۰/۰۶۲ ^{ns}	۲۰/۱۸ [*]	۷/۳۴ ^{ns}	۱۵/۹۴ [*]	۳/۳۰ ^{**}	۶	Year × I × B
۰/۰۰۵ ^{ns}	۷/۶۸ ^{ns}	۱/۰۷ ^{ns}	۰/۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۳۸ ^{ns}	۲	Year × I × F
۰/۰۲۲ ^{ns}	۵/۳۸ ^{ns}	۸/۵۱ ^{ns}	۰/۲۱۸ ^{ns}	۰/۷۲۲ ^{ns}	۳	Year × B × F
۰/۰۷۵ ^{ns}	۴/۸۶ ^{ns}	۴/۱۴ ^{ns}	۰/۴۰۸ ^{ns}	۰/۰۷۴ ^{ns}	۶	Year × I × B × F
۰/۱۲۱	۸/۴۲	۱۷/۱۰	۵/۷۴	۰/۰۹۳	۸۴	خطا
۷/۷۳	۵/۵۰	۵/۵۸	۶/۲۶	۵/۸۵		ضریب تغییرات (%)

^{ns}، * و ** به ترتیب عدم وجود اختلاف معنی‌دار، معنی‌دار در سطوح ۵ و ۱ درصد را نشان می‌دهد.

زیستی به صورت مایکوریزا + فسفات بارو ۲ نسبت به شاهد (عدم کاربرد کود زیستی) و همچنین محلول‌پاشی روی این صفت را به ترتیب ۴۱/۶ و ۲۳ درصد افزایش داد (شکل ۱b).

روی اندام هوایی: نتایج تجزیه واریانس مرکب دوساله داده‌ها نشان داد که برهمکنش سال × آبیاری × کود زیستی و همچنین برهمکنش سال × کود زیستی × محلول‌پاشی بر غلظت روی اندام هوایی سیاهدانه معنی‌دار شد (جدول ۲). مقایسه میانگین برهمکنش سال و آبیاری و محلول‌پاشی بر غلظت روی اندام هوایی سیاهدانه (شکل ۲) نشان داد که در هر دو سال آزمایش با کاهش آب آبیاری و محلول‌پاشی روی، غلظت روی اندام هوایی به ترتیب کاهش و افزایش یافت به

سیاهدانه تأثیر معنی‌داری داشت و هیچ یک از برهمکنش‌های بین فاکتورهای آزمایشی بر این صفت معنی‌دار نشد (جدول ۵). در سال اول آزمایش کاهش سطح آبیاری از ۱۰۰ به ۵۰ درصد تأمین نیاز آبی و کاربرد کود زیستی به صورت مایکوریزا + فسفات بارو ۲ نسبت به شاهد (عدم کاربرد کود زیستی) میزان فسفر اندام هوایی سیاهدانه را به ترتیب ۴۲/۷ درصد کاهش و ۲۰/۵ درصد افزایش داد. در این سال محلول‌پاشی روی نیز افزایش ۱۵/۸ درصدی در فسفر اندام هوایی سیاهدانه ایجاد نمود (شکل ۱a). در سال دوم آزمایش، آبیاری ۵۰ درصد نسبت به آبیاری ۱۰۰ درصد میزان فسفر اندام هوایی سیاهدانه را ۵۲/۶ درصد کاهش داد ولی کاربرد کود

جدول ۳- مقایسه میانگین برهمکنش سال، آبیاری و کود زیستی بر نیتروژن اندام هوایی و برخی صفات فیزیولوژیک سیاهدانه

نشست الکترولیت (%)	قند محلول		پرولین		کلروفیل b		نیتروژن اندام هوایی (%)		کود زیستی	تأمین آب آبیاری (%)
	(میلی گرم بر گرم وزن تر برگ)	(میلی گرم بر گرم وزن تر برگ)	(میکرومول بر گرم وزن تر برگ)	(میلی گرم بر گرم وزن تر برگ)	(میلی گرم بر گرم وزن تر برگ)	(میلی گرم بر گرم وزن تر برگ)	(%)	(%)		
۱۳۹۸	۱۳۹۷	۱۳۹۸	۱۳۹۷	۱۳۹۸	۱۳۹۷	۱۳۹۸	۱۳۹۷	۱۳۹۸	۱۳۹۷	
۴۱/۰ ^g	۴۰/۷ ^g	۲۶/۲ ⁱ	۲۱/۵ ⁱ	۲/۳۷ ^j	۲/۱۹ ^h	۰/۵۴ ^d	۰/۴۴ ^e	۱/۳۳ ^b	۱/۹۰ ^b	شاهد
۳۴/۸ ^h	۳۳/۷ ^h	۳۱/۶ ^h	۲۶/۹ ^h	۳/۰۸ ⁱ	۲/۸۱ ^g	۰/۶۷ ^c	۰/۶۴ ^c	۱/۴۶ ^b	۱/۹۶ ^b	فسفات بارور ۲
۳۱/۸ ⁱ	۳۰/۱ ^{hi}	۳۳/۸ ^{gh}	۳۰/۵ ^g	۳/۶۳ ^h	۳/۳۰ ^f	۰/۸۴ ^b	۰/۸۲ ^b	۱/۶۹ ^a	۲/۰۶ ^{ab}	مایکوزینا
۲۶/۱ ^j	۲۵/۲ ⁱ	۳۵/۲ ^g	۲۹/۱ ^{gh}	۳/۹۶ ^g	۳/۶۸ ^f	۰/۹۷ ^a	۰/۹۳ ^a	۱/۸۳ ^a	۲/۱۳ ^a	مایکوزینا+فسفات بارور ۲
۶۹/۸ ^b	۶۳/۶ ^c	۴۱/۰ ^{ef}	۳۴/۴ ^f	۴/۵۹ ^f	۴/۳۱ ^e	۰/۴۰ ^f	۰/۲۷ ^h	۱/۲۷ ^b	۱/۲۲ ^{cd}	شاهد
۵۷/۹ ^d	۵۶/۹ ^d	۴۰/۶ ^{ef}	۳۴/۴ ^f	۵/۴۴ ^e	۴/۴۶ ^e	۰/۴۰ ^f	۰/۳۶ ^{fg}	۱/۳۸ ^b	۱/۲۹ ^c	فسفات بارور ۲
۵۲/۸ ^e	۵۱/۵ ^e	۳۹/۱ ^f	۳۶/۳ ^{ef}	۴/۷۸ ^f	۵/۵۱ ^d	۰/۴۶ ^e	۰/۴۳ ^e	۱/۴۵ ^b	۱/۲۹ ^c	مایکوزینا
۴۶/۳ ^f	۴۴/۹ ^f	۴۲/۹ ^{de}	۳۸/۳ ^{de}	۶/۸۷ ^c	۵/۵۶ ^d	۰/۴۸ ^e	۰/۵۰ ^d	۱/۶۸ ^a	۱/۳۵ ^c	مایکوزینا+فسفات بارور ۲
۷۹/۹ ^a	۸۰/۶ ^a	۴۴/۳ ^{cd}	۳۹/۱ ^d	۶/۱۱ ^d	۵/۲۸ ^d	۰/۲۴ ^h	۰/۲۹ ^h	۰/۷۴ ^e	۰/۶۹ ^e	شاهد
۶۹/۵ ^b	۷۲/۶ ^b	۴۷/۱ ^c	۴۵/۸ ^b	۶/۲۷ ^d	۷/۵۷ ^b	۰/۳۱ ^g	۰/۲۹ ^h	۰/۹۶ ^d	۱/۰۶ ^d	فسفات بارور ۲
۶۴/۵ ^c	۷۰/۳ ^b	۵۰/۴ ^b	۴۲/۴ ^c	۷/۸۹ ^b	۶/۵۷ ^c	۰/۳۱ ^g	۰/۳۱ ^{gh}	۱/۰۰ ^d	۱/۲۲ ^c	مایکوزینا
۵۹/۶ ^d	۵۸/۵ ^d	۵۶/۲ ^a	۵۱/۵ ^a	۱۰/۷۹ ^a	۸/۴۴ ^a	۰/۳۲ ^g	۰/۳۹ ^{ef}	۰/۹۸ ^d	۱/۲۷ ^c	مایکوزینا+فسفات بارور ۲

در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

جدول ۴- مقایسه میانگین محلول‌پاشی روی بر نیتروژن و آهن اندام هوایی و برخی صفات فیزیولوژیک سیاهدانه

محتوای نسبی آب (%)	پروتئین محلول		کلروفیل a	آهن اندام هوایی		نیتروژن اندام هوایی (%)
	میلی گرم بر گرم وزن تر برگ	میلی گرم بر گرم وزن تر برگ		میلی گرم بر کیلوگرم	میلی گرم بر کیلوگرم	
۷۵/۶۶ ^a	۴/۷۱ ^a	۳۹/۶۷ ^a	۱/۱۵ ^a	۲۲۰ ^a	۱/۴۷ ^a	محلول‌پاشی
۷۲/۴۳ ^b	۴/۲۹ ^b	۳۶/۸۹ ^b	۱/۰۹ ^b	۱۹۳ ^b	۱/۲۹ ^b	عدم محلول‌پاشی

در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

بهبود غلظت روی اندام هوایی سیاهدانه با کاربرد کود زیستی و محلول‌پاشی روی در هر دو سال آزمایش بود به طوریکه بیشترین غلظت روی اندام هوایی در سال اول (۳۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و دوم (۳۲۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم) از کاربرد کود زیستی مایکوزینا+فسفات بارور ۲ به همراه محلول‌پاشی روی بدست آمد و کمترین مقدار نیز در سال اول (۱۹۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و سال دوم (۲۰۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) از عدم مصرف کود زیستی (شاهد) بدون محلول‌پاشی روی حاصل گردید (شکل ۳).

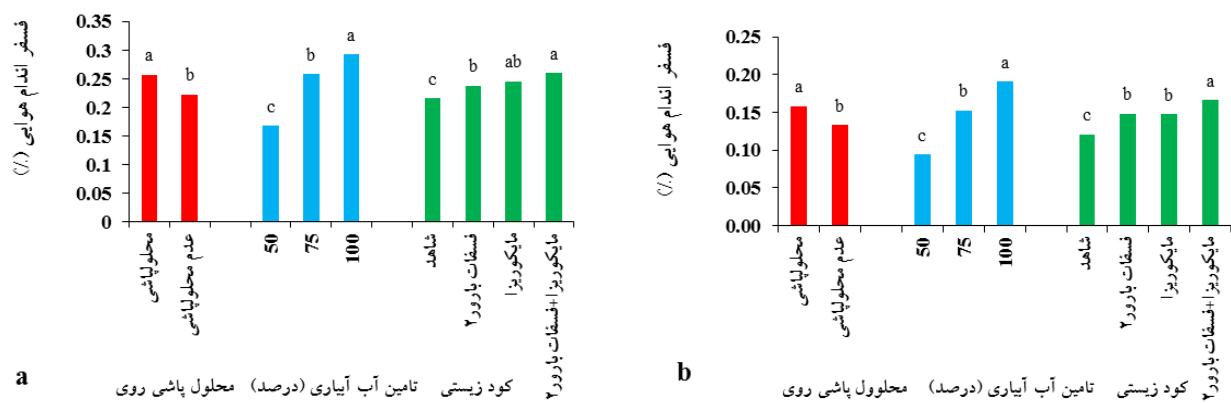
آهن اندام هوایی: نتایج تجزیه واریانس مرکب دوساله

طوری‌که در سال اول بیشترین غلظت روی اندام هوایی (۳۲۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم) از آبیاری ۱۰۰ درصد و محلول‌پاشی روی حاصل گردید و کمترین مقدار (۱۷۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم) از آبیاری ۵۰ درصد و بدون محلول‌پاشی روی بدست آمد. همچنین در سال دوم نیز مشابه سال اول بیشترین (۳۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و کمترین (۱۶۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم) غلظت روی اندام هوایی به ترتیب از برهمکنش آبیاری ۱۰۰ درصد × محلول‌پاشی روی و برهمکنش آبیاری ۵۰ درصد × عدم محلول‌پاشی روی حاصل شد. مقایسه میانگین برهمکنش سال × کود زیستی × محلول‌پاشی نیز بیانگر

جدول ۵- تجزیه واریانس اثر سطوح آبیاری، کود زیستی و محلول پاشی روی بر فسفر اندام هوایی، عملکرد بیولوژیک و عملکرد دانه سیاهدانه در سال‌های ۱۳۹۷ و ۱۳۹۸

منابع تغییر		درجه آزادی	میانگین مربعات					
			عملکرد دانه		عملکرد بیولوژیک		فسفر اندام هوایی	
			۱۳۹۸	۱۳۹۷	۱۳۹۸	۱۳۹۷	۱۳۹۸	۱۳۹۷
تکرار		۲	۲۹۳۳۳	۲۷۱۶۸	۱۴۷۰	۱۱۸۴۵	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۰۵
آبیاری (I)		۲	۴۵۷۳۹۸**	۲۳۵۱۲۰۱**	۵۱۶۴۵۲۱**	۸۸۵۸۱۵۷**	۰/۰۵۷**	۰/۱۰۰**
آبیاری × تکرار		۴	۹۱۳۰	۱۸۳۵۸	۱۸۱۰۹	۲۴۸۰۰۸	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۰۶
کود زیستی (B)		۳	۳۲۵۶۸**	۱۱۳۲۷۳**	۴۱۲۷۵۵**	۵۵۶۵۲۹**	۰/۰۰۶**	۰/۰۰۶**
محلول پاشی روی (F)		۱	۸۶۰*	۱۸۹۶۳*	۵۲۱۸۶۷**	۴۷۹۷۱۰**	۰/۰۱۱**	۰/۰۲۲**
I × B		۶	۸۵۰**	۱۳۲۰۰**	۸۱۲۶۳*	۷۴۷۸۹**	۰/۰۰۰۳ ^{ns}	۰/۰۰۰۹ ^{ns}
I × F		۲	۰/۷۱۱ ^{ns}	۱۲۳ ^{ns}	۵۴۶۰ ^{ns}	۳۶۰۴۰ ^{ns}	۰/۰۰۰۲ ^{ns}	۰/۰۰۱ ^{ns}
B × F		۳	۵۱/۵ ^{ns}	۲۴۱ ^{ns}	۴۹۰۹ ^{ns}	۴۰۵۳۵ ^{ns}	۰/۰۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۰۰۵ ^{ns}
I × B × F		۶	۴۵/۸ ^{ns}	۲۴۷ ^{ns}	۶۳۴۰ ^{ns}	۲۵۰۶۳ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۸ ^{ns}	۰/۰۰۰۳ ^{ns}
خطا		۴۲	۱۶۹	۳۴۲۲	۳۴۰۵۵	۲۲۷۰۹	۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۰۵
ضریب تغییرات (%)			۳/۰۱	۸/۵۱	۱۱/۶۸	۷/۸۶	۱۰/۸۲	۹/۴۲

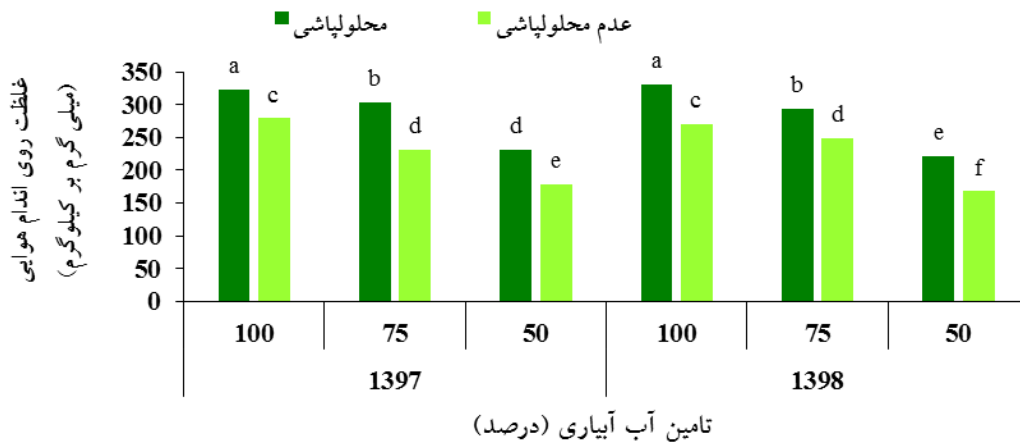
^{ns} و ^{**} به ترتیب عدم وجود اختلاف معنی دار و معنی دار در سطح ۱ درصد را نشان می‌دهد.



شکل ۱- مقایسه میانگین اثرات اصلی آبیاری، کود زیستی و محلول پاشی روی بر درصد فسفر اندام هوایی سیاهدانه در سال‌های ۱۳۹۷ (a) و ۱۳۹۸ (b)

نسبت به آبیاری کامل ۲۹ درصد کاهش داد (شکل ۴). ترکیب کود زیستی قارچ میکوریزا + فسفات بارور ۲ نسبت به شاهد بدون کاربرد کود زیستی باعث افزایش ۱۷/۵ درصدی غلظت آهن اندام هوایی سیاهدانه شد (شکل ۴). محلول پاشی روی نیز نسبت به عدم محلول پاشی روی غلظت آهن اندام هوایی سیاهدانه را ۱۴ درصد افزایش داد (جدول ۴).

داده‌ها نشان داد که اثرات اصلی آبیاری، کود زیستی و محلول پاشی روی بر غلظت آهن اندام هوایی تأثیر معنی داری داشت (جدول ۲). مقایسات میانگین اثر آبیاری بر غلظت آهن اندام هوایی سیاهدانه نشان داد که با کاهش تأمین آب آبیاری مورد نیاز از مقدار این صفت کاسته شد به طوریکه کاهش آبیاری تا ۵۰ درصد نیاز آبی گیاه، غلظت آهن اندام هوایی را



شکل ۲- مقایسه میانگین برهمکنش سال و آبیاری و محلولپاشی روی بر غلظت روی اندام هوایی سیاهدانه



شکل ۳- مقایسه میانگین برهمکنش سال و کود زیستی و محلولپاشی روی بر غلظت روی اندام هوایی سیاهدانه



شکل ۴- مقایسه میانگین اثرات آبیاری و کود زیستی بر غلظت آهن اندام هوایی سیاهدانه

شرایط تنش خشکی را نیز جبران خواهد کرد. در همین راستا عرب و همکاران (۱۴۰۲) افزایش غلظت روی، فسفر و نیتروژن اندام هوایی آفتابگردان را در اثر محلول‌پاشی سولفات روی گزارش نمودند.

صفات فیزیولوژیک، کلروفیل a: نتایج تجزیه واریانس مرکب دو ساله داده‌ها نشان داد که اثرات سال، آبیاری، کود زیستی، محلول‌پاشی روی و برهمکنش آبیاری × کود زیستی بر میزان کلروفیل a معنی‌دار گردید (جدول ۲). مقایسه میانگین اثر محلول‌پاشی بر محتوای کلروفیل a نشان‌دهنده افزایش ۵ درصدی این صفت با محلول‌پاشی روی بود (جدول ۴). مقایسه میانگین برهمکنش آبیاری × کود زیستی بر میزان کلروفیل a نشان داد که کاهش آب آبیاری این صفت را کاهش و مصرف کودهای زیستی آن را افزایش می‌دهد به طوریکه بیشترین میزان کلروفیل a (۱/۷۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) مربوط به آبیاری ۱۰۰ درصد و کاربرد قارچ میکوریزا + فسفات بارور ۲ بود و کمترین مقدار (۰/۳۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) نیز از آبیاری ۵۰ درصد بدون کاربرد کود زیستی حاصل شد (جدول ۶).

محتوای کلروفیل b: نتایج تجزیه واریانس مرکب دو ساله داده‌ها نشان داد که اثرات آبیاری، برهمکنش سال × آبیاری، کود زیستی، محلول‌پاشی، برهمکنش آبیاری × کود زیستی، برهمکنش آبیاری × محلول‌پاشی، برهمکنش سال × کود زیستی و برهمکنش سال × آبیاری × کود زیستی بر محتوای کلروفیل b معنی‌دار شد (جدول ۲). مقایسه میانگین برهمکنش سال × آبیاری × کود زیستی نشان داد که در سال اول بیشترین میزان کلروفیل b (۰/۹۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) از آبیاری ۱۰۰ درصد و کاربرد کود زیستی میکوریزا + فسفات بارور ۲ حاصل گردید و کمترین مقدار (۰/۲۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) نیز از آبیاری ۵۰ درصد بدون کاربرد کود زیستی حاصل شد. در سال دوم نیز روند تغییرات این صفت مشابه سال اول بود به طوری‌که عدم کاربرد کود زیستی به همراه آبیاری ۵۰ درصد نسبت به آبیاری ۱۰۰ درصد و کاربرد میکوریزا + فسفات بارور ۲ این صفت را ۷۵ درصد کاهش داد

در مطالعه حاضر محتوای عناصر نیتروژن، فسفر، آهن و روی تحت تأثیر تنش خشکی به طور معنی‌داری در گیاه کاهش یافت. کاهش این عناصر تحت تأثیر تنش خشکی می‌تواند به دلیل کاهش رشد ریشه‌های موئین و افزایش رشد عمودی ریشه نسبت به رشد افقی آن باشد (Askari et al., 2017)، که باعث سطح تماس کمتر ریشه با خاک و جذب کمتر عناصر شده است. از طرفی تنش خشکی باعث تشدید حرکت و انتشار کند طبیعی فسفر در خاک شده، مانع جذب این عنصر توسط ریشه می‌شود (Askari et al., 2017). مطابق با نتایج این تحقیق، شجاعیان کیش و همکاران (۱۴۰۰) در کتان روغنی، تنهایی و همکاران (۱۳۹۷) در لوبیا قرمز و عرب و همکاران (۱۴۰۲) در آفتابگردان کاهش غلظت عناصر برگ را در اثر تنش خشکی ناشی از قطع آبیاری و تأخیر در آبیاری را گزارش نمودند. از دیگر دلایل کاهش محتوای عناصر در گیاه می‌توان به اختلال در جذب مواد مغذی، اختلال در مکانیسم انتقال و کاهش جریان تعلق در گیاه تحت تأثیر تنش خشکی اشاره کرد (Tadayyon et al., 2017). مطالعات نشان دادند که تلقیح گیاه با قارچ میکوریزا آریسکولار منجر به توسعه مناطق قابل دسترس گیاه در ریزوسفر از طریق هیف‌های قارچی شده، تأثیر مثبتی بر زیست توده ریشه دارد (Igiehon et al., 2021)، که علاوه بر افزایش دسترسی به آب، منجر به جذب عناصر اصلی و ریز مغذی در شرایط تنش خشکی می‌شود (Ebrahimi et al., 2021). از طرف دیگر استفاده از مواد مغذی معدنی نظیر عنصر روی به عنوان یکی از امیدوارکننده‌ترین رویکردها جهت کاهش اثرات منفی تنش خشکی در نظر گرفته می‌شود (Umair Hassan et al., 2020). باکتری‌های حل‌کننده فسفات از طریق تولید برخی از اسیدهای آلی که در محیطی با pH پایین اتفاق می‌افتد باعث افزایش حلالیت فسفر در خاک و جذب آن توسط گیاه می‌شود (Pande et al., 2017). همچنین با استفاده از محلول‌پاشی روی علاوه بر اینکه تا حدودی روی مورد نیاز گیاه تأمین خواهد شد، بلکه باعث مشارکت در متابولیسم نیتروژن نیز می‌شود (Pandey, 2015)، بنابراین تا حدودی کمبود نیتروژن گیاه در

جدول ۶- مقایسه میانگین برهمکنش آبیاری و کود زیستی برای کلروفیل a، محتوای نسبی آب و پروتئین محلول سیاهدانه

تأمین آب آبیاری (%)	کود زیستی	کلروفیل a (میلی گرم بر گرم وزن تر برگ)	محتوای نسبی آب (%)	پروتئین محلول (میلی گرم بر گرم وزن تر برگ)
۱۰۰	شاهد	۱/۵۱ ^{cd}	۸۷/۴ ^c	۴/۹۲ ^c
	فسفات بارور ۲	۱/۵۶ ^c	۸۹/۱ ^{bc}	۵/۰۱ ^c
	مایکوریزا	۱/۶۴ ^b	۹۲/۱ ^b	۵/۶۶ ^b
	مایکوریزا+ فسفات بارور ۲	۱/۷۶ ^a	۹۹/۰ ^a	۶/۱۳ ^a
۷۵	شاهد	۱/۱۳ ^f	۶۴/۵ ^g	۴/۵۴ ^d
	فسفات بارور ۲	۱/۲۶ ^e	۶۸/۳ ^f	۴/۶۱ ^d
	مایکوریزا	۱/۲۵ ^e	۷۳/۸ ^e	۴/۵۹ ^d
	مایکوریزا+ فسفات بارور ۲	۱/۴۴ ^d	۸۰/۱ ^d	۴/۸۰ ^{cd}
۵۰	شاهد	۰/۳۲ ⁱ	۵۶/۷ ^h	۲/۵۸ ^h
	فسفات بارور ۲	۰/۴۴ ^h	۵۷/۱ ^h	۳/۲۳ ^g
	مایکوریزا	۰/۵۹ ^g	۵۸/۵ ^h	۳/۶۹ ^f
	مایکوریزا+ فسفات بارور ۲	۰/۵۷ ^g	۶۱/۹ ^g	۴/۲۲ ^e

در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

(جدول ۳). مقایسه میانگین برهمکنش آبیاری و محلول‌پاشی روی نشان داد که کاهش آب آبیاری و محلول‌پاشی روی محتوای کلروفیل b سیاهدانه را به ترتیب کاهش و افزایش می‌دهد به طوریکه بیشترین محتوای کلروفیل b (۰/۷۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) از آبیاری ۱۰۰ درصد به همراه محلول‌پاشی روی حاصل شد و کمترین مقدار این صفت (۰/۳۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) نیز در آبیاری ۵۰ درصد بدون محلول‌پاشی مشاهده شد (جدول ۷).

تنش خشکی مسیره‌های متابولیکی را تحت تأثیر قرار داده، سنتز رنگدانه‌های فتوسنتزی (کلروفیل‌ها و کارتنوئیدها) را کاهش داده یا تخریب می‌کند (Sharma et al., 2017). از جمله شاخص‌های فیزیولوژیکی مقاومت به تنش دوام فتوسنتز و حفظ کلروفیل برگ تحت شرایط تنش است. تنش خشکی باعث تولید اکسیژن فعال شده که کاهش و تجزیه کلروفیل را در بردارد. در شرایط تنش خشکی، کلروفیل‌ها در کلروپلاست‌ها تجزیه و ساختارهای تیلاکوئید از بین می‌روند (Sharifa and Muriefah, 2015)، که باعث ایجاد رنگ

پریدگی در گیاه می‌گردد. تحت تأثیر تلقیح گیاه با قارچ مایکوریزا عملکردهای مرتبط با رشد، به عنوان مثال، هدایت روزنه‌ای، پتانسیل آب برگ، محتوای نسبی آب، راندمان فتوسنتز دو و جذب CO₂ بهبود خواهند یافت (Chandrasekaran et al., 2019) که تمامی این فرایندها افزایش میزان کلروفیل (Sheteiwiy et al., 2021)، افزایش فتوسنتز و بنابراین تولید محصول بیشتر را به دنبال خواهد داشت. باکتری‌های محرک رشد با تأثیر مثبت بر خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه (Abdelaal, 2015) بخصوص جذب عناصر غذایی مانند فسفر باعث افزایش مقادیر رنگدانه‌های فتوسنتزی می‌شوند. به گزارش Ma و همکاران (۲۰۱۷) محلول‌پاشی روی از طریق افزایش سنتز رنگدانه‌های گیاهی باعث افزایش محتوای کلروفیل و بالطبع افزایش میزان فتوسنتز شد. روی با محافظت از غشاء سلولی و افزایش محتوای نسبی آب باعث افزایش جذب عناصر ماکرو و میکرو (جدول ۴) در گیاه شده، از طریق ممانعت از فعالیت آنزیم کلروفیلز (Dos Santos et al., 2013) باعث محافظت از

جدول ۷- مقایسه میانگین برهمکنش آبیاری و محلول پاشی روی برای محتوای کلروفیل b، پرولین و نشت الکترولیت سیاهدانه

تأمین آب آبیاری (%)	محلول پاشی روی	محتوای کلروفیل b (میلی گرم بر گرم وزن تر برگ)	پرولین (میکرومول بر گرم وزن تر برگ)	نشت الکترولیت (%)
۱۰۰	محلول پاشی	۰/۷۷ ^a	۳/۲۵ ^e	۳۱/۴۱ ^f
	عدم محلول پاشی	۰/۶۹ ^b	۳/۰۱ ^f	۳۵/۲۰ ^e
۷۵	محلول پاشی	۰/۴۳ ^c	۵/۴۴ ^c	۵۳/۲۵ ^d
	عدم محلول پاشی	۰/۳۹ ^d	۴/۹۵ ^d	۵۷/۷۱ ^c
۵۰	محلول-پاشی	۰/۳۲ ^e	۷/۷۷ ^a	۶۶/۹۶ ^b
	عدم محلول پاشی	۰/۳۰ ^e	۶/۹۷ ^b	۷۱/۹۸ ^a

در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک تفاوت معنی داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

کلروفیل می‌شود (El-Mageed and Semida, 2015).

محتوای پرولین: نتایج تجزیه واریانس مرکب دو ساله داده‌ها نشان داد که اثرات سال، آبیاری، برهمکنش سال × آبیاری، کود زیستی، محلول پاشی، برهمکنش آبیاری × کود زیستی، برهمکنش آبیاری × محلول پاشی، برهمکنش سال × کود زیستی و برهمکنش سال × آبیاری × کود زیستی بر محتوای پرولین سیاهدانه معنی دار شد (جدول ۲). مقایسه میانگین برهمکنش سال × آبیاری × کود زیستی نشان داد که در سال اول بیشترین میزان پرولین (۸/۴۴ میکرومول بر گرم وزن تر برگ) از آبیاری ۵۰ درصد و کاربرد کود زیستی مایکوریزا+ فسفات بارور ۲ حاصل شد و کمترین مقدار (۲/۱۹ میکرومول بر گرم وزن تر برگ) نیز از آبیاری ۱۰۰ درصد بدون کاربرد کود زیستی حاصل شد. در سال دوم نیز روند تغییرات این صفت مشابه سال اول بود به طوریکه آبیاری ۵۰ درصد به همراه کاربرد کود زیستی مایکوریزا+ فسفات بارور ۲ (۱۰/۷۹ میکرومول بر گرم وزن تر برگ) نسبت به آبیاری ۱۰۰ درصد بدون کاربرد کود زیستی (۲/۳۷ میکرومول بر گرم وزن تر برگ) میزان پرولین را ۳/۵ برابر افزایش داد (جدول ۳). مقایسه میانگین برهمکنش آبیاری × محلول پاشی برای محتوای پرولین نیز نشان داد که با انجام محلول پاشی روی در تمامی سطوح آبیاری، میزان پرولین افزایش یافت به طوریکه بیشترین محتوای پرولین (۷/۷۷ میکرومول بر گرم وزن تر برگ) از آبیاری ۵۰ درصد به همراه محلول پاشی روی حاصل شد و

کمترین مقدار این صفت (۳/۰۱ میکرومول بر گرم وزن تر برگ) نیز در آبیاری ۱۰۰ درصد بدون محلول پاشی روی مشاهده شد (جدول ۷).

طبق نتایج بدست آمده از این آزمایش محتوای پرولین تحت تأثیر تنش خشکی حاصل از کاهش آب آبیاری مورد نیاز افزایش چشمگیری داشت. پرولین نقش مهمی در تعدیل قند، افزایش فشار تورژسانس برگ و بهبود بازده فتوسنتزی در گیاهان تحت شرایط تنش خشکی دارد (Irankhah et al., 2021). باکتری‌های محرک رشد و قارچ مایکوریزا با تغییر در سطح هورمون‌های گیاهی و تغییر در میزان جذب عناصر غذایی در سنتز و تولید این اسمولیت تأثیر دارند. بعضی از باکتری‌های محرک رشد موجود در کود زیستی فسفات بارور ۲ نظیر باکتری سودوموناس پوتیدا باعث بیان ژن‌های دخیل در سنتز پرولین و افزایش آن در گیاه می‌شود (Ghosh et al., 2017). از طرفی تلقیح با مایکوریزا به وسیله هیف‌های برون ریشه‌ای (Celebi et al., 2010) دسترسی گیاه به حجم بیشتری از ریزوسفر را باعث شده و از طریق گسترش منطقه جذب گیاه در خاک افزایش جذب عناصر غذایی و نهایتاً سنتز بیشتر پرولین را باعث می‌شود. در کل افزایش پرولین در گیاهان توسط مایکوریزا و باکتری‌های محرک رشد در شرایط تنش خشکی و بدون تنش دیده شده است. به طور مثال کود زیستی فسفات بارور ۲ و مایکوریزا تحت شرایط آبیاری کامل و قطع آبیاری در مرحله زایشی کتان روغنی، موجب افزایش معنی دار

پرولین شده است (شجاعیان کیش و همکاران، ۱۴۰۰). همچنین باعث افزایش میزان پرولین در گیاه دارویی زیره سبز تحت شرایط دیم همراه با آبیاری تکمیلی در زمان گلدهی شد (محرابی و همکاران، ۱۳۹۸). افزایش دسترسی به عنصر روی از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های دخیل در سنتز پرولین افزایش محتوای پرولین در اثر محلول‌پاشی روی را قابل توجه می‌نماید. در همین راستا در آفتابگردان افزایش محتوای پرولین در اثر محلول‌پاشی سولفات روی گزارش گردیده است (عرب و همکاران، ۱۳۹۷)

محتوای قند محلول: نتایج حاصل از تجزیه واریانس مرکب دو ساله داده‌ها نشان داد که اثرات سال، آبیاری، کود زیستی، محلول‌پاشی روی و همچنین برهمکنش آبیاری × کود زیستی و برهمکنش سال × آبیاری × کود زیستی بر محتوای قند محلول سیاهدانه معنی‌دار شد (جدول ۲). مقایسه میانگین برهمکنش سال × آبیاری × کود زیستی بر محتوای قند محلول سیاهدانه نشان داد که در هر دو سال آزمایش، کاهش آبیاری و کاربرد کود زیستی محتوای قند محلول سیاهدانه را افزایش داد به طوری که در سال اول برهمکنش آبیاری ۱۰۰ درصد و عدم کاربرد کود زیستی دارای کمترین محتوای قند محلول (۲۱/۵۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) و برهمکنش آبیاری ۵۰ درصد و کاربرد توأم کودهای زیستی (مایکوریزا + فسفات بارور ۲) دارای بیشترین مقدار قند محلول (۵۱/۵۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) بود (جدول ۳). در سال دوم نیز بیشترین (۵۶/۱۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) و کمترین محتوای قند محلول (۲۶/۱۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) به ترتیب مربوط به برهمکنش آبیاری ۵۰ درصد × ترکیب مایکوریزا + فسفات بارور ۲ و آبیاری ۱۰۰ درصد × عدم کاربرد کود زیستی بود (جدول ۳). محلول‌پاشی روی نیز محتوای قند محلول را ۷/۵ درصد افزایش داد (جدول ۴). از مهم‌ترین راهکارهای تنظیم پتانسیل اسمزی در سطح سلول‌های گیاهی در شرایط تنش رطوبتی تولید پرولین و قندهای محلول هستند. تجمع قند محلول در شرایط تنش خشکی می‌تواند از طریق کاهش پتانسیل آب سلولی، توانایی گیاه در جذب و حفظ آب، آن را

افزایش دهد. در گیاهانی نظیر کتان روغنی (شجاعیان کیش و همکاران، ۱۴۰۰) و زیره سیاه (محرابی و همکاران، ۱۳۹۸) نیز افزایش قندهای محلول در شرایط تنش خشکی گزارش شده است. باکتری‌های محرک رشد و قارچ مایکوریزا با افزایش جذب عناصر غذایی نظیر فسفر، نیتروژن و روی می‌توانند در سنتز و تولید قندهای محلول تأثیر مثبتی داشته باشند. تلقیح گیاهان با مایکوریزا باعث افزایش چندین آنزیم دخیل در سنتز ساکارز می‌شود و افزایش فعالیت این آنزیم‌ها با میزان ساکارز، گلوکز و فروکتوز (در کل قندهای محلول) ارتباط مثبت و معنی‌دار دارد (Wu and Zou, 2017). مطابق با نتایج این تحقیق، در کتان روغنی نیز افزایش قندهای محلول با کاربرد قارچ مایکوریزا و باکتری‌های محرک رشد در شرایط تنش قطع آبیاری گزارش گردیده است (شجاعیان کیش و همکاران، ۱۴۰۰). با توجه به نقش عنصر روی به‌عنوان کوفاکتور برخی از آنزیم‌های دخیل در تولید قندهای محلول، تأثیر مثبت محلول‌پاشی روی در افزایش قندهای محلول دور از انتظار نیست (Marschner, 1995). در آفتابگردان نیز افزایش قندهای محلول با محلول‌پاشی روی در شرایط تنش خشکی گزارش گردیده است (عرب و همکاران، ۱۳۹۷).

محتوای نسبی آب: نتایج حاصل از تجزیه واریانس مرکب دو ساله داده‌ها نشان داد که اثرات اصلی آبیاری، کود زیستی و محلول‌پاشی روی و همچنین برهمکنش آبیاری × کود زیستی بر میزان محتوای آب نسبی سیاهدانه معنی‌دار شد (جدول ۲). مقایسه میانگین اثر محلول‌پاشی روی بر محتوای نسبی آب سیاهدانه بیانگر افزایش ۳/۲۳ درصدی این صفت با محلول‌پاشی روی بود (جدول ۴). مقایسه میانگین برهمکنش آبیاری و کود زیستی نیز نشان داد که با کاهش آب آبیاری از ۱۰۰ درصد به ۷۵ و ۵۰ درصد، محتوای نسبی آب کاهش می‌یابد و کاربرد کودهای زیستی نسبت به عدم کاربرد کود زیستی در تمامی سطوح آبیاری این صفت را افزایش می‌دهد به طوری که بیشترین محتوای نسبی آب (۹۹ درصد) از آبیاری ۱۰۰ درصد و کاربرد مایکوریزا + فسفات بارور ۲ حاصل شد و کمترین مقدار این صفت (۵۶/۷ درصد) از آبیاری ۵۰ درصد

بدون کاربرد کود زیستی (شاهد) حاصل شد (جدول ۶). محتوای نسبی آب از مهمترین شاخص‌های فیزیولوژیکی بیان‌گر وضعیت پتانسیل آب گیاهی بوده که رابطه مستقیمی با میزان آب موجود در خاک دارد به طوری که با کاهش آب موجود در خاک، این شاخص کاهش معنی‌داری را نشان می‌دهد (شجاعیان کیش و همکاران، ۱۴۰۰) برای انجام بهینه فعالیت‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه و روند مطلوب رشد گیاه حفظ محتوای نسبی آب در بافت گیاه ضروری است (Kapoor *et al.*, 2020). کودهای زیستی نظیر مایکوریزا و باکتری‌های محرک رشد از طریق افزایش تولید تنظیم‌کننده‌های پتانسیل اسمزی نظیر پرولین و قندهای محلول باعث حفظ پتانسیل آب سلولی و کاهش از دست‌رفتن تورژسانس سلولی شده که این امر به صورت افزایش محتوای نسبی آب قابل مشاهده است (شجاعیان کیش و همکاران، ۱۴۰۰؛ محرابی و همکاران، ۱۳۹۸). محلول‌پاشی روی نیز به همین طریق با افزایش تنظیم‌کننده‌های اسمزی باعث بهبود محتوای آب نسبی می‌شوند (عرب و همکاران، ۱۳۹۷). محلول‌پاشی روی همچنین با افزایش غلظت عنصر روی در گیاه و نقش این عنصر در تنظیم بازشدن روزنه، به دلیل حفظ پتاسیم در سلول‌های محافظ روزنه (Marschner, 1995) می‌تواند با کاهش هدررفت آب، باعث افزایش محتوای نسبی آب برگ شود.

میزان نشت الکترولیت: نتایج حاصل از تجزیه واریانس

مرکب دو ساله داده‌ها نشان داد که اثرات آبیاری، کود زیستی، محلول‌پاشی روی و همچنین برهمکنش‌های سال × آبیاری، آبیاری × کود زیستی، آبیاری × محلول‌پاشی و سال × آبیاری × کود زیستی بر میزان نشت الکترولیت سیاهدانه معنی‌دار گردید (جدول ۲). مقایسه میانگین برهمکنش سال × آبیاری × کود زیستی بر میزان نشت الکترولیت در سیاهدانه نشان داد که کاهش آب آبیاری و کاربرد کود زیستی به ترتیب این صفت را افزایش و کاهش می‌دهد به طوری که در هر دو سال آزمایش بیشترین و کمترین درصد نشت الکترولیت از آبیاری ۵۰ درصد بدون کاربرد کود زیستی و آبیاری ۱۰۰ درصد با کاربرد ترکیب

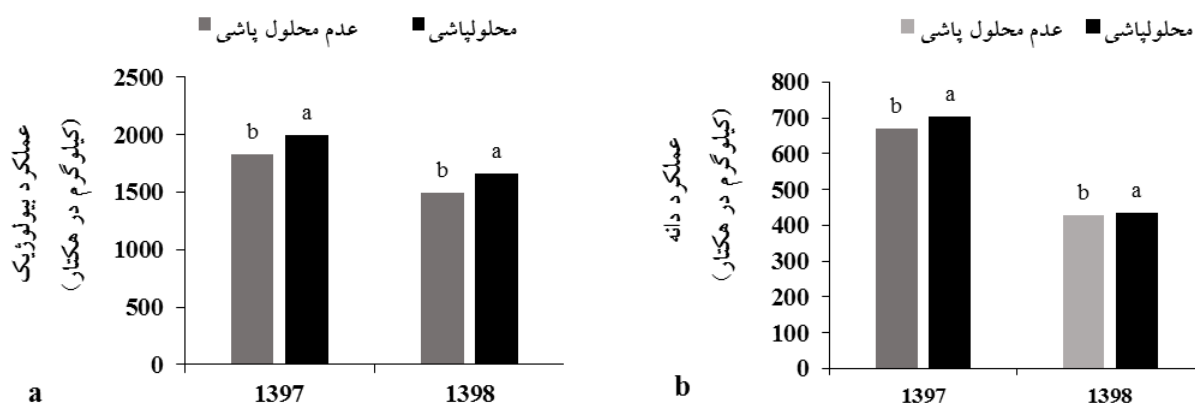
کودهای زیستی (مایکوریزا+ فسفات بارور) حاصل شد. این نتایج نشان داد که آبیاری ۱۰۰ درصد و کاربرد ترکیب کود زیستی مایکوریزا+ فسفات بارور ۲ نسبت به آبیاری ۵۰ درصد بدون کاربرد کود زیستی میزان نشت الکترولیت را در سال اول و دوم به ترتیب ۵۵/۳ درصد و ۵۳/۸ درصد کاهش داد (جدول ۳). مقایسه میانگین برهمکنش آبیاری × محلول‌پاشی روی نیز نشان داد که در تمامی سطوح آبیاری، محلول‌پاشی روی، کاهش معنی‌دار نشت الکترولیت سیاهدانه را باعث می‌شود، به طوری که بیشترین (۷۱/۹۸ درصد) و کمترین (۳۱/۴۱ درصد) نشت الکترولیت سیاهدانه به ترتیب از آبیاری ۵۰ درصد بدون محلول‌پاشی روی و آبیاری ۱۰۰ درصد با محلول‌پاشی روی حاصل شد (جدول ۷). با افزایش شدت تنش خشکی در اثر کاهش آب آبیاری مورد نیاز گیاه، کاهش پتانسیل آب سراسری در گیاه ایجاد شده و گیاه در جهت حفظ پتانسیل آب و کاهش از دست‌رفتن آب با بستن روزنه‌ها میزان تعرق برگ را کاهش می‌دهد. در این حالت با جذب نور توسط کلروفیل و تولید الکترون‌های پر انرژی و عدم تکمیل زنجیره‌های انتقال الکترون به دلیل نبود آب و عدم جذب CO₂ (به دلیل بسته‌شدن روزنه‌ها) رادیکال‌های آزاد (گونه‌های اکسیژن فعال) تولید و باعث پراکسیداسیون لیپیدها و پرتئین‌های غشاء سلولی شده که افزایش نشت الکترولیت را به همراه خواهد داشت (Kapoor *et al.*, 2020). مطابق با این نتایج، تنهایی و همکاران (۱۴۰۱) در لوبیا قرمز و شجاعیان کیش و همکاران (۱۴۰۰) در کتان روغنی افزایش نشت الکترولیت را با افزایش شدت تنش خشکی گزارش نموده‌اند. کودهای زیستی مایکوریزا و باکتری‌های محرک رشد از طریق افزایش پرولین و قندهای محلول و بهبود وضعیت پتانسیل آب سلولی (افزایش محتوای نسبی آب) باعث کاهش اثرات سوء آب‌کشیدگی سلولی، تنش خشکی و حفظ یکپارچگی غشاء سلولی شده که کاهش نشت الکترولیت را به همراه دارد (شجاعیان کیش و همکاران، ۱۴۰۰؛ تنهایی و همکاران، ۱۴۰۱). محلول‌پاشی روی نیز به واسطه تأثیر مستقیم عنصر روی در فعالیت آنزیم‌های مختلف (RAN، DNA پلیمرز، دهیدروژناز، ترنسفسریلاز و سنتز پروتئین‌ها)

می‌تواند به راحتی از ساختار غشاء سلولی محافظت کرده و باعث کاهش نشت الکتروولت شود (عرب و همکاران، ۱۳۹۷).

محتوای پروتئین محلول: نتایج تجزیه واریانس مرکب دو ساله داده‌ها نشان داد که اثرات اصلی آبیاری، کود زیستی و محلول‌پاشی روی و همچنین برهمکنش آبیاری × کود زیستی بر محتوای پروتئین محلول سیاهدانه معنی‌دار شد (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که محلول‌پاشی روی افزایش ۹/۸ درصدی این صفت را باعث گردید (جدول ۴). مقایسه میانگین برهمکنش آبیاری × کود زیستی برای محتوای پروتئین محلول سیاهدانه نیز نشان داد که کاهش آبیاری از ۱۰۰ درصد به ۵۰ درصد باعث کاهش محتوای پروتئین محلول سیاهدانه شده و کاربرد کودهای زیستی در تمامی سطوح آبیاری نسبت به عدم کاربرد کود زیستی باعث افزایش معنی‌دار این ویژگی شده است، به طوریکه بیشترین محتوای پروتئین محلول (۶/۳۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) از آبیاری ۱۰۰ درصد و کاربرد کود زیستی مایکوریزا+ فسفات بارور حاصل شده و کمترین مقدار این صفت (۲/۵۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) متعلق به آبیاری ۵۰ درصد بدون کاربرد کود زیستی بوده است (جدول ۶). یکی از دلایل کاهش پروتئین در شرایط تنش خشکی را می‌توان به تجزیه پروتئین جهت سنتز ترکیبات نیتروژن‌دار به عنوان اسیدهای آمینه که کمکی بر تنظیمات اسمزی هستند، نسبت داد (Irankhah et al., 2021) همانگونه که نتایج نشان می‌دهد استفاده از کود زیستی، مخصوصاً بصورت ترکیب قارچ مایکوریزا + فسفات بارور، در شرایط تنش خشکی از طرق مختلف باعث کاهش اثرات منفی تنش خشکی می‌شود. استفاده از باکتری‌های محرک رشد (فسفات بارور) افزایش محتوای پروتئین محلول گیاه را باعث شد که علت آن را می‌توان در تاثیر این میکروارگانیسم‌ها در بیان ژن سنتز کننده گونه‌های مختلف پروتئین در نتیجه افزایش سطح میزان پروتئین کل در گیاه دانست (Naseem and Bano, 2014). مایکوریزا با بهبود تغذیه (افزایش جذب نیتروژن، فسفر و روی) و سیستم آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه و همچنین افزایش هدایت هیدرولیکی ریشه‌ها باعث افزایش

پروتئین و جلوگیری از تخریب پروتئین می‌شوند (Irankhah et al., 2021). مطابق با نتایج تحقیق حاضر در شرایط تنش خشکی کاهش پروتئین های محلول در گیاهان مختلف (شجاعیان کیش و همکاران ۱۴۰۰، محرابی و همکاران ۱۳۹۸) و افزایش پروتئین های محلول با کاربرد کودهای زیستی (Irankhah et al., 2021، شجاعیان کیش و همکاران، ۱۴۰۰) و محلول‌پاشی روی (عرب و همکاران، ۱۳۹۷) مشاهده شده است.

عملکرد بیولوژیک و عملکرد دانه: اثرات اصلی آبیاری، کود زیستی و محلول‌پاشی روی و همچنین برهمکنش سطوح آبیاری × کود زیستی در هر دو سال آزمایش بر عملکرد بیولوژیک و عملکرد دانه معنی‌دار شد (جدول ۵). در سال اول و دوم آزمایش، محلول‌پاشی روی عملکرد بیولوژیک را نسبت به عدم محلول‌پاشی به ترتیب ۸/۹ و ۱۱/۳ درصد افزایش داد (شکل ۵a). عملکرد دانه نیز در سال اول به میزان ۴/۸ درصد و در سال دوم به میزان ۱/۶ درصد تحت تاثیر محلول‌پاشی روی افزایش نشان داد (شکل ۵b). در سال اول آزمایش کمترین مقدار عملکرد بیولوژیک مربوط به آبیاری ۵۰ درصد و عدم کاربرد کود زیستی بود که تفاوت معنی‌داری با کاربرد کودهای زیستی در این سطح از آبیاری نداشت (جدول ۸). اما در همین سال کاربرد کود زیستی به صورت مایکوریزا + فسفات بارور ۲ در آبیاری ۱۰۰ درصد بیشترین میزان عملکرد بیولوژیک (۲۸۳۵ کیلوگرم در هکتار) را نشان داد که نسبت به عدم کاربرد کود زیستی در همین سطح از آبیاری عملکرد بیولوژیک را ۳۱ درصد افزایش داد (جدول ۸). در سال دوم بیشترین (۲۴۰۳ کیلوگرم در هکتار) و کمترین میزان عملکرد بیولوژیک (۸۹۷ کیلوگرم در هکتار) به ترتیب مربوط به برهمکنش آبیاری ۱۰۰ × کاربرد توأم کود زیستی (مایکوریزا + فسفات بارور) و آبیاری ۵۰ درصد × عدم کاربرد کود زیستی بود (جدول ۸). در سال اول کمترین میزان عملکرد دانه (۲۸۶ کیلوگرم در هکتار) مربوط به برهمکنش آبیاری ۵۰ درصد و عدم کاربرد کود زیستی بود که نسبت به بیشترین مقدار آن (۱۱۲۳ کیلوگرم در هکتار) در برهمکنش آبیاری ۱۰۰ × مایکوریزا + فسفات باور ۲، این صفت را ۷۴/۵ درصد کاهش داد (جدول ۸). در سال



شکل ۵- مقایسه میانگین اثر محلول پاشی روی بر عملکرد بیولوژیک (a) و عملکرد دانه (b) سیاهدانه در سال‌های ۱۳۹۷ و ۱۳۹۸

جدول ۸- مقایسه میانگین برهمکنش سطوح آبیاری و کود زیستی بر عملکرد بیولوژیک و عملکرد دانه سیاهدانه در سال‌های ۱۳۹۷ و

۱۳۹۸

عملکرد دانه (کیلوگرم در هکتار)		عملکرد بیولوژیک (کیلوگرم در هکتار)		کود زیستی	تأمین آب آبیاری (%)
۱۳۹۸	۱۳۹۷	۱۳۹۸	۱۳۹۷		
۵۰۵ ^d	۸۴۳ ^{cd}	۱۸۵۳ ^{bcd}	۲۱۷۱ ^c	شاهد	۱۰۰
۵۲۴ ^c	۸۶۹ ^c	۱۸۸۰ ^{bc}	۲۵۱۰ ^b	فسفات بارور ۲	
۵۵۸ ^b	۹۹۱ ^b	۲۰۲۰ ^b	۲۶۲۹ ^b	مایکوریزا	
۶۰۹ ^a	۱۱۲۳ ^a	۲۴۰۳ ^a	۲۸۳۵ ^a	مایکوریزا + فسفات بارور ۲	
۴۱۷ ^g	۶۸۱ ^f	۱۴۳۷ ^f	۱۶۷۶ ^f	شاهد	۷۵
۴۶۰ ^f	۷۶۴ ^e	۱۵۶۴ ^{ef}	۱۷۹۹ ^{ef}	فسفات بارور ۲	
۴۸۶ ^e	۷۸۳ ^{de}	۱۶۵۰ ^{def}	۱۹۶۰ ^{de}	مایکوریزا	
۵۱۱ ^{cd}	۸۱۶ ^{cde}	۱۷۰۱ ^{cde}	۲۱۱۳ ^{cd}	مایکوریزا + فسفات بارور ۲	
۲۲۰ ^j	۲۸۶ ⁱ	۸۹۷ ^h	۱۲۵۲ ^g	شاهد	۵۰
۲۸۶ ⁱ	۳۱۲ ^{hi}	۱۱۷۴ ^g	۱۲۹۳ ^g	فسفات بارور ۲	
۲۸۴ ⁱ	۳۵۹ ^{gh}	۱۲۰۹ ^g	۱۳۴۷ ^g	مایکوریزا	
۳۳۰ ^h	۴۱۸ ^g	۱۱۶۵ ^g	۱۳۹۷ ^g	مایکوریزا + فسفات بارور ۲	

در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

بارور ۲) نسبت به شاهد (عدم کاربرد کود زیستی) افزایش ۵۰ درصدی عملکرد دانه را باعث شد (جدول ۸). تحت تأثیر تنش خشکی قابلیت هدایت آب از ریشه‌ها به برگ‌ها کاهش یافته، باعث بسته‌شدن روزنه‌ها می‌شود (Kapoor *et al.*, 2020) که کاهش رشد و زیست‌توده گیاهی را به دنبال خواهد داشت، زیرا به دلیل بسته‌شدن روزنه‌ها و کاهش توسعه برگ‌ها، ورود

دوم نیز بیشترین (۶۰۹ کیلوگرم در هکتار) و کمترین (۲۲۰ کیلوگرم در هکتار) میزان عملکرد دانه به ترتیب مربوط به برهمکنش آبیاری ۱۰۰ درصد × ترکیب کود زیستی مایکوریزا + فسفات بارور ۲ و برهمکنش آبیاری ۵۰ درصد و عدم کاربرد کود زیستی بود (جدول ۸). در سال دوم در آبیاری ۵۰ درصد، کاربرد کود زیستی به صورت ترکیبی (مایکوریزا + فسفات

نتایج این تحقیق، Ghorchiani و همکاران (۲۰۱۸) افزایش عملکرد ذرت را در اثر کاربرد قارچ میکوریزا به همراه باکتری‌های محرک رشد در شرایط تنش رطوبتی گزارش کردند. با توجه به نقش عنصر روی در ساختار آنزیم‌های متعدد گیاهی و اثر مثبت در ممانعت از فعالیت آنزیم کلروفیلاز (Dos Santos *et al.*, 2013) جلوگیری از تخریب کلروفیل در شرایط تنش رطوبتی (El-Mageed and Semida, 2015) مطابق با نتایج این تحقیق محلول‌پاشی روی در گیاه سورگوم نیز افزایش عملکرد گیاه را به دنبال داشته است (Semida *et al.*, 2021).

نتیجه‌گیری

تنش خشکی ناشی از کاهش آب آبیاری مورد نیاز از طریق کاهش جذب عناصر غذایی نظیر فسفر، نیتروژن و روی و کاهش جذب آب و به دنبال آن کاهش محتوای نسبی آب و محتوای کلروفیل گیاهی، تجزیه پروتئین‌ها و افزایش نشت الکترولیت‌ها باعث افت عملکرد بیولوژیک و نهایتاً عملکرد دانه سیاهدانه می‌گردد. ولی با کاربرد قارچ‌های میکوریزا، باکتری‌های حل‌کننده فسفر (فسفات بارور ۲) و محلول‌پاشی عنصر روی می‌تواند بهبود جذب عناصر غذایی، بهبود رنگدانه‌های فتوسنتزی، افزایش تنظیم‌کننده‌های اسمزی (پرولین و قندهای محلول) بهبود محتوای نسبی آب و کاهش نشت الکترولیت‌ها را باعث شده که این تغییرات مثبت صفات فیزیولوژیک می‌تواند اثرات منفی تنش خشکی ناشی از کمبود آب آبیاری بر عملکرد بیولوژیک و دانه سیاهدانه را تعدیل نماید و افزایش تولید این گیاه را به همراه داشته باشد.

دی‌اکسید کربن به برگ کاهش یافته که خود باعث کاهش میزان فتوسنتز گیاه خواهد شد (ناصری و همکاران، ۱۳۹۷). تنش خشکی از طریق کاهش تورژسانس سلولی (به دلیل کاهش پتانسیل آب گیاهی) کاهش محتوای نسبی آب تخریب غشای سلولی و افزایش نشت الکترولیت سلولی و تجزیه پروتئینی (کاهش پروتئین‌های محلول نظیر آنزیم رابیسکو) گیاه باعث اختلال در روابط بین پروتئین‌ها و لیپیدهای غشایی شده، کاهش فعالیت‌های آنزیمی و ظرفیت فتوسنتزی گیاهی را باعث شده که در نهایت به کاهش رشد گیاه (کاهش عملکرد بیولوژیک و عملکرد دانه) ختم می‌شود (Sharma *et al.*, 2017; Sheteiwy *et al.*, 2021). همچنین در اثر کاهش آب در دسترس گیاه در اثر تنش خشکی جذب عناصر غذایی نظیر نیتروژن و فسفر کاهش یافته که کاهش کلروفیل و فتوسنتز گیاهی (Abdelaal, 2015) را به همراه داشته، باعث افت قابل توجه عملکرد بیولوژیک و دانه گیاه می‌شود. استفاده از قارچ میکوریزا و باکتری‌های حل‌کننده فسفر (فسفات بارور ۲) از طریق بهبود جذب عناصر مخصوصاً نیتروژن و فسفر، افزایش محتوای کلروفیل a و b و افزایش فتوسنتز می‌تواند باعث افزایش رشد و عملکرد گیاه شود. در مطالعه حاضر کاربرد توأم قارچ میکوریزا و فسفات بارور ۲ بهترین نتایج را بر روی عملکرد داشت، که می‌توان این موضوع را به اثر سینرژیک بین قارچ و باکتری نسبت داد. باکتری‌ها می‌توانند باعث طولی شدن هیف‌های قارچ میکوریزا شده، و به رشد هیف‌ها هم در سطح و هم درون ریشه کمک کنند، بنابراین باعث افزایش سطح تماس ریشه با خاک، و دسترسی آن به آب و عناصر غذایی خاک، به خصوص فسفر نامحلول در خاک می‌شود (Ordonez *et al.*, 2016)، و طبیعتاً رشد بیشتر گیاه و افزایش عملکرد بیولوژیک و دانه را به همراه خواهد داشت. مطابق با

منابع

تنهایی، رقیه، یدوی، علیرضا، موحدی دهنوی، محسن، صالحی، امین، رفیعی، سمیه، و حمیدیان، محمد (۱۴۰۱). تأثیر قارچ میکوریزا و باکتری حل‌کننده فسفر بر صفات فیزیولوژیک و عملکرد دانه لوبیا قرمز (*Phaseolus vulgaris* L.) در رژیم‌های مختلف آبیاری.

تولید گیاهان زراعی، ۱۵ (۴)، ۳۹-۶۲. <http://doi.org/10.22069/ejcp.2023.19247.2438>

تنهایی، رقیه، یدوی، علیرضا، موحدی دهنوی، محسن، و صالحی، امین (۱۳۹۷). تأثیر قارچ میکوریزا و کود زیستی بر عملکرد و اجزای

- عملکرد لوییا قرمز در شرایط تنش خشکی. دانش کشاورزی و تولید پایدار، ۲۸ (۳)، ۲۷۷-۲۹۱.
- زارع ایبانه، حمید، نوری، حدیثه، لیاقت، عبدالمجید، نوری، حمیده، و کریمی، ولی‌اله (۱۳۹۰). مقایسه روش پنمن مانیتث فانو و تشت تبخیر کلاس A با داده‌های لایسیمیتری در برآورد تبخیر و تعرق گیاه برنج در منطقه آمل، پژوهش‌های جغرافیایی طبیعی، ۴۳ (۷۶)، ۷۱-۸۳. <https://sid.ir/paper/138668/fa>
- ستایش مهر، زهرا، و گنجعلی، علی (۱۳۹۲). بررسی اثرات تنش خشکی بر رشد و خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه شوید (*Anethum graveolens* L.). نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)، ۲۷ (۱)، ۲۷-۳۵. <http://doi.org/10.22067/JHORTS4.V0I0.20782>
- شجاعیان کیش، فاطمه، یدوی، علیرضا، موحدی دهنوی، محسن، صالحی، امین، و حمیدیان، محمد (۱۴۰۰). بهبود خصوصیات فیزیولوژیکی و جذب عناصر غذایی در کتان روغنی (*Linum usitatissimum* L.) با کاربرد کودهای زیستی تحت شرایط قطع آبیاری در مراحل مختلف رشد. فرآیند و کارکرد گیاهی، ۴۴ (۱۰)، ۲۶۲-۲۸۵. <http://jispp.iut.ac.ir/article-1-1449-fa.html>
- عرب، راحله، یدوی، علیرضا، بلوچی، حمیدرضا و خادم حمزه، حمیدرضا (۱۳۹۷). اثر دور آبیاری و محلول‌پاشی عناصر آهن و روی بر برخی ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیکی و عملکرد آفتاب‌گردان. تولید گیاهان زراعی، ۱۱ (۲)، ۷۷-۹۰. <http://doi.org/10.22069/EJCP.2018.12696.2018>
- عرب، راحله، یدوی، علیرضا، بلوچی، حمیدرضا، و اله‌دادی، حمید (۱۴۰۲). تأثیر محلول‌پاشی با آهن و روی بر بهبود جذب عناصر غذایی، عملکرد دانه و کارایی مصرف آب در آفتابگردان در شرایط تنش خشکی. به‌زراعی کشاورزی، ۲۵ (۴)، ۹۸۵-۹۶۹. <http://doi.org/Jci.2023.352118.2767>
- قمرنیا، هوشنگ، میری، الهام، جعفری‌زاده، مریم، و قبادی، مختار (۱۳۹۰). تعیین ضریب رشد گیاهی سیاهدانه (*Nigella sativa* L.) در مراحل مختلف رشد به روش لایسیمیتری. مجله پژوهش آب در کشاورزی، ۲۵ (۲)، ۱۴۶-۱۳۳. Doi: 20.1001.1.25885952.1391.35.4.8.8
- محرابی، یارمحمد، موحدی دهنوی، محسن، صالحی، امین، محتشمی، رهام و حمیدیان، محمد (۱۳۹۸). بهبود صفات فیزیولوژیکی، عملکرد و اسانس زیره سبز (*Cuminum cyminum* L.) با کاربرد کودهای زیستی فسفره و آبیاری تکمیلی در شرایط کشت دیم. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۳۵ (۶)، ۱۰۵۵-۱۰۴۴. <http://doi.org/10.22092/Ijmapr.2020.127588.2626>
- ناصری، رحیم، براری، مهرشاد، زارع، محمد جواد، خاوازی، کاظم، طهماسبی، زهرا، و یاقوتی‌پور، آنتینا (۱۳۹۷). اثر باکتری‌های حل‌کننده فسفات و فارچ مایکوریزا بر ویژگی‌های فنولوژیکی و فیزیولوژیکی گندم در شرایط دیم. نشریه علمی-پژوهشی اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی، ۲ (۴۶)، ۲۱۱-۲۳۶. Doi: 10.22092/AJ.2019.116898.1233
- Abdelaal, K. A. A. (2015). Pivotal role of bio and mineral fertilizer combinations on morphological, anatomical and yield characters of sugar beet plant (*Beta vulgaris* L.). *Middle East Journal of Agricultural Research*, 4 (4), 717-734. <https://www.researchgate.net/publication/311800932>
- Ali, B., Ali, M., Saima, A., & Showkat, R. M. (2018). Enhancement of gut permeation of amoxicillin with *Nigella sativa* seed extract and its phytochemical screening. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 16 (2), 0125-0130. doi: 10.1016/S1875-5364(18)30038-4
- Alinian, S. & Razmjoo, J. (2014). Phenological, yield, essential oil yield and oli content of cumin accessions as affected by irrigation regimes. *Journal of Industrial Crop and Products*, 54, 167-174. <http://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.01.028>.
- Arnon, D. E. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts polyphenol oxidase (*Beta vulgaris*). *Plant Physiology*, 24(1), 1-15. <http://doi.org/10.1104/pp.24.1.1>
- Askari, A., Ardakani, M. R., Vazan, S., Paknejad, F., & Hosseini, Y. (2017). The effect of mycorrhizal symbiosis and seed priming on the amount of chlorophyll index and absorption of nutrients under drought stress in sesame plant under field conditions. *Journal of Applied Ecology and Environmental Research*, 16, 335-357. http://doi.org/10.15666/aeer/1601_335357
- Bahraminia, M., Zarei, M., Ronaghi, A., Sepehri, M., & Etesami, H. (2020). Ionomic and biochemical responses of

- maize plant (*Zea mays* L.) inoculated with *Funneliformis mosseae* to water-deficit stress. *Rhizosphere*, 16, 100269. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2020.100269>
- Boutasknit, A., Baslam, M., Ait-El-Mokhtar, M., Anli, M., Ben-Laouane, R., Ait-Rahou, Y., Mitsui, T., Douira, A., El Modafar, Ch., Wahbi, S., & Meddich, A. (2021). Assemblage of indigenous arbuscular mycorrhizal fungi and green waste compost enhance drought stress tolerance in carob (*Ceratonia siliqua* L.) trees. *Journal of Scientific Reports*, 11, 22835. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-02018-3>
- Celebi, S. Z., Demir, S., Celebi, R., Durak, E. D., & Yilmaz, I. H. (2010). The effect of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) applications on the silage maize (*Zea mays* L.) yield in different irrigation regimes. *European Journal of Soil Biology*, 46(5), 302-305. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2010.06.002>
- Chandrasekaran, M., Chanratana, M., Kim, K., Seshadri, S., & Sa, T. (2019). Impact of arbuscular mycorrhizal fungi on photosynthesis, water status, and gas exchange of plants under salt stress—a meta-analysis. *Frontiers in Plant Science*, 10, 457. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00457>
- Chapman, H. D. & PE, P. (1961). Methods of analysis for soil, plant and water. Division of Agriculture Science, University of California. Riverside. *Journal of Soil Science*, 93(1), 67-68. <https://doi.org/10.2136/sssaj1963.03615995002700010004x>
- Delshadi, S., Ebrahimi, M., & Shirmohammadi, E. (2017). Effectiveness of plant growth promoting rhizobacteria on *Bromus tomentellus* Boiss seed germination, growth and nutrients uptake under drought stress. *Sought African Journal of Botany*, 113, 11-18. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.07.006>
- Dos Santos, E. F., Zanchim, B. J., De Campos, A. G., Garrone, R. F., & Junior, J. L. (2013). Photosynthesis rate, chlorophyll content and initial development of physic nut without micronutrient fertilization. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 37(5), 1334-1342. <https://doi.org/10.1590/S0100-06832013000500022>
- Ebrahimi, F., Salehi, A., Movahedi Dehnavi, M., Mirshekari, A., Hamidian, M., & Hazrati, S. (2021). Biochemical response and nutrient uptake of two arbuscular mycorrhiza-inoculated chamomile varieties under different osmotic stresses. *Botanical Studies*, 62(1), 1-17. <https://doi.org/10.1186/s40529-021-00328-3>
- El-Mageed, T. A. A. & Semida, W. M. (2015). Organo mineral fertilizer can mitigate water stress for cucumber production (*Cucumis sativus* L.). *Journal of Agricultural Water Management*, 159, 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2015.05.020>
- Ghorchiani, M., Etesami, H., & Alikhani, H. A. (2018). Improvement of growth and yield of maize under water stress by co-inoculating an arbuscular mycorrhizal fungus and a plant growth promoting rhizobacterium together with phosphate fertilizers. *Agriculture Ecosystems and Environment*, 258, 59-70. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2018.02.016>
- Ghosh, D., Sen, S., & Mohapatra, S. (2017). Modulation of proline metabolic gene expression in *Arabidopsis thaliana* under water-stressed conditions by a drought-mitigating *Pseudomonas putida* strain. *Annals of Microbiology*, 67(10), 655-668. <https://doi.org/10.1007/s13213-017-1294-y>
- Igiehon, N. O., Babalola, O., Cheseto, X., & Torto, B. (2021). Effects of rhizobia and arbuscular mycorrhizal fungi on yield, size distribution and fatty acid of soybean seeds grown under drought stress. *Journal Microbiological Research*, 242, 126640. <https://doi.org/10.01016/j.micres.2020.126640>
- Irakhah, S., Ganjeali, A., Mashreghi, M., & Lari, Z. (2021). Mixed inoculum of rhizobacteria and arbuscular mycorrhizal fungus enhance diosgenin contain and phosphorus uptake in fenugreek under drought stress. *Rhizosphere*, 18, 100338. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2021.100338>
- Irigoyen, J. J., Emerich, D. W., & Sanchez-Diaz, M. (1992). Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Physiologia Plantarum*, 84, 55-60. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1992.tb08764.x>
- Jafarnia, Sh., Akbarinia, M., Hosseinpour, B., Modarres Sanvai, A. Am., & Salami, S. A. (2018). Effect of drought stress on some growth, morphological, physiological, and biochemical parameters of two different populations of *Quercus brantii*. *Journal of IForest Biogeosciences and Forestry*, 11, 212-220. <https://doi.org/10.3832/ifor2496-010>
- Kapoor, D., Bhardwaj, S., Landi, M., Sharma, A., Ramakrishnan, M., & Sharma, A. (2020). The impact of drought in plant metabolism: how to exploit tolerance mechanisms to increase crop production. *Applied Science*, 10(16), 5692. <https://doi.org/10.3390/app10165692>
- Kar, M. & Mishra, D. (1976). Catalase, peroxides and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. *Plant Physiology*, 57 (2), 315-319. <https://doi.org/10.1104/pp.57.2.315>
- Karimi, V., karami, E., & Keahavarz, M. (2018). Climate change and agriculture: Impacts and adaptive responses in Iran. *Journal Intergrative Agriculture*, 17(1), 1-15. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(17\), 61794-5](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(17), 61794-5)
- Ma, Y., Rajkumar, M., Moreno, A. O., Zhang, Ch., & Freitas, H. (2017). Serpentine endophytic bacterium *Pseudomonas azotoformans* ASS1 accelerates phytoremediation of soil metals under drought stress. *Journal of Chemosphere*, 185, 75-85. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.06.135>
- Marschner, H. (1995). Mineral Nutrition of Higher Plant. 2nd Ed. Academic Press. UK.

- MCKay, H. M. (1992). Electrolyte leakage from fine roots of conifer seedlings: A rapid index of plant vitality following cold storage. *Canadian Journal of Forest Research*, 22, 1371-1377. <https://doi.org/10.1139/x92-182>
- Merajipoor, M., Movahhedi Dehnavi, M., Salehi, A., & Yadavi, A. (2020). Improving grain yield, water and nitrogen use efficiency of *Nigella sativa* with biological and chemical nitrogen under different irrigation regimes. *Journal of Scientia Horticulturae*, 260, 108869. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108869>
- Mishra, A. & Choudhuri, M. A. (1999). Effects of salicylic acid on heavy metal-induced membrane deterioration mediated by lipoxygenase in rice. *Biologia Plantarum*, 42, 409-415. <https://doi.org/10.1023/A:1002469303670>
- Naseem, H. & Bano, A. (2014). Role of plant growth-promoting rhizobacteria and their exopolysaccharide in drought tolerance of maize. *Journal of Plant Interactions*, 9(1), 689-701. <http://dx.doi.org/10.1080/17429145.2014.902125>
- Novozamsky, I., Van Eck, R., Van Schouwenburg, J. Ch., & Walinga, I. (1974). Total nitrogen determination in plant material by means of the indophenol blue method. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, 22, 3-5. <https://doi.org/10.18174/njas.v22i1.17230>
- Olanrewaju, O. S., Glick, B. R., & Babalola, O. O. (2017). Mechanisms of action of plant growth promoting bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 33(11), 197. <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2364-9>
- Ordonez, Y. M., Fernandez, B. R., Lara, L. S., Rodriguez, A., Uribe-Velez, D., & Sanders, I. R. (2016). Bacteria with phosphate solubilizing capacity alter mycorrhizal fungal growth both inside and outside the root and in the presence of native microbial communities. *PLoS One*, 11, e0154438. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0154438>
- Pande, A., Pandey, P., Mehra, S., Singh, M., & Kaushik, S. (2017). Phenotypic and genotypic characterization of phosphate solubilizing bacteria and their efficiency on the growth of Maize (*Zea mays*). *International Journal of Agriculture Innovations and Research*, 5(6), 2319-1473. <http://doi.org/10.1016/j.jgeb.2017.06.005>
- Pandey, R. (2015). *Plant Biology and Biotechnology*. Springer, New Delhi, India. https://doi.org/10.1007/978-81-322-2286-6_20
- Paquine, R. & Lechasseur, P. (1979). Observations sur une method dosage la libre dans les de plantes. *Canadian Journal of Botany*, 57, 1851-1854. <https://doi.org/10.1139/b79-233>
- Rotset, O. (1985). Determination of phosphate species in nutrient solutions and phosphorus in plant material as phosphovanadomolybdate acid by flow injection analysis. *Analytica Chimica Acta*, 178, 217-221.
- Semida, W. M., Abdelkhalik, A., Mohamed, G. F., Abd El-Mageed, T. A., Abd El-Mageed, Sh. A., Rady, M. M., & Ali, E. F. (2021). Foliar application of zinc oxide nanoparticles promotes drought stress tolerance in Eggplant (*Solanum melongena* L.). *Plants*, 10, 421. <https://doi.org/10.3390/plants10020421>
- Sharma, M., Gupta, S. K., Majumder, B., Maurya, V. K., Deeba, F., Alam, A., & Pandey, V. (2017). Salicylic acid mediated growth, physiological and proteomic responses in two wheat varieties under drought stress. *Journal of Proteome*, 163, 28-51. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2017.05.011>
- Sharifa, S. & Muriefah, A. (2015). Effects of paclobutrazol on growth and physiological attributes of Soybean (*Glycine max*) plants grown under water stress conditions. *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences*, 2(7), 81-93.
- Sheteiwy, M. S., Fathi Ismail Ali, D., Xiong, Y. C., Brestic, M., Skalicky, M., Hamoud, Y. A., Ulhassan, Z., Shaghaleh, H., Abdelgawad, H., Farooq, M., Sharma, A., & El-Sawah, A. M. (2021). Physiological and biochemical responses of soybean plants inoculated with *Arbuscular mycorrhizal* fungi and *Bradyrhizobium* under drought stress. *BMC Plant Biology*, 21, 195. <https://doi.org/10.1186/s12870-021-02949-z>
- Snyder, R. L. (1992). Equation for evaporation pan to evapotranspiration conversion. *Journal of Irrigation and Drainage Engineering of ASCE New York*, 118(6), 977-980. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)0733-9437\(1992\)118:6\(977\)](https://doi.org/10.1061/(ASCE)0733-9437(1992)118:6(977))
- Tadayyon, A., Nikneshan, P., & Pessarakli, M. (2017). Effects of drought stress on concentration of macro and micronutrients in Castor (*Ricinus communis* L.) plant. *Journal of Plant Nutrition*, <http://dx.doi.org/10.1080/01904167.2017.1381126>
- Temminghoff, E. J. M. & Houba, V. J. G. (2004). *Plant Analysis: Procedures*. Kluwer Academic Publishers.
- Tiwari, Y. K. & Yadav, S. K. (2020). Effect of high-temperature stress on ascorbate-glutathione cycle in maize. *Agricultural Reserch*, 9(2), 179-187. <https://doi.org/10.1007/s40003-019-00421-x>
- Turrini, A., Avio, L., Giovannetti, M., & Agnolucci, M. (2018). Functional complementarity of arbuscular mycorrhizal Fungi and associated microbiota: the challenge of translational research. *Frontiers in Plant Science*, 9, 1407. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01407>
- Umair Hassan, M., Aamer, M., Umer Chattha, M., Haiying, T., Shahzad, B., Barbanti, L., Nawaz, M., Rasheed, A., Afzal, A. & Liu, Y. (2020). The critical role of zinc in plants facing the drought stress. *Agriculture*, 10(9), 396. <https://doi.org/10.3390/agriculture10090396>
- Wu, Q. S. & Zou, Y. N. (2017). Arbuscular mycorrhizal fungi and tolerance of drought stress in plants. In: *Arbuscular Mycorrhizas and Stress Tolerance of Plants* (ed. Wu, QS.). Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-10-4115-0_2

Drought stress mitigation and physiological traits modulation in black cumin (*Nigella sativa* L.) by biofertilizers and zinc foliar application

Somaye Rafiee, Alireza Yadavi*, Mohsen Movahhedi Dehnavi, Hamidreza Balouchi

Agronomy and Plant Breeding Department, Agricultural Faculty, Yasouj University, Yasouj, Iran
(Received: 2024/03/04, Accepted: 2024/07/09)

Abstract

In order to investigate the effect of biofertilizers and zinc foliar application on the physiological characteristics and nutrient concentration of black cumin under different irrigation regimes, a split factorial experiment was conducted in the form of a randomized complete block design with three replications in Zarghan, Fars province, in 2017 and 2018. Irrigation regimes (providing 100, 75 and 50% of the irrigation water requirement) as the main plot and biofertilizer (mycorrhiza, Phosphate Barvar2, mycorrhiza + Phosphate Barvar2, no biofertilizer) and foliar application (zinc foliar application, no foliar application) were considered sub-plots. In both years of the experiment, the reduction of irrigation water decreased the nitrogen concentration of aerial organs (45%), chlorophyll a (70%), soluble protein (37%), relative water content (40%), biological yield (46.6%), and grain yield (56%) of black cumin. However, it increased traits such as proline (1.35 times), soluble sugar (60%), and electrolyte leakage (1.1 times). Biofertilizer application, especially in combination (mycorrhiza+ phosphate Barvar2), and zinc foliar application increased all the traits mentioned except electrolyte leakage. So in 50% irrigation, the combined application of biofertilizer compared to no application of biofertilizer increased the grain yield by 46% and 49.7% in 2018 and 2019, respectively. The results showed that the application of biofertilizers and zinc foliar application moderates the negative effects of drought stress in black cumin by improving nutrient absorption and physiological characteristics.

Keywords: Bacteria, Chlorophyll, Deficit irrigation, Mycorrhiza, Proline

Corresponding author, Email: Yadavi@yu.ac, ir