

اثر کاربرد مایکوریزا، ریزوبیوم و آزوسپریلیوم بر برخی صفات فیزیولوژیک، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و عملکرد دو رقم لوبیا (چیتی کوشا و قرمز یاقوت) در شرایط مختلف آبیاری

احمد قاسمی پیربلوطی^۱، محمد رفیعی‌الحسینی*^۱، مهدی قبادی‌نیا^۲ و فرود صالحی^۳

^۱ گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

^۲ گروه مهندسی آب، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

^۳ بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان، اصفهان، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۲/۱۹، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۴/۰۳/۲۰)

چکیده

خشکی از عوامل محدودکننده عملکرد و رشد گیاهان زراعی است. لوبیا یکی از مهمترین حبوبات برای امنیت غذایی انسان‌ها است. کودهای زیستی می‌تواند تحمل گیاهان را در برابر تنش‌های غیرزیستی افزایش دهد. به منظور بررسی رنگدانه‌های فتوسنتزی و فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان دو رقم لوبیا در شرایط آبیاری مختلف، آزمایشی به صورت اسپلیت فاکتوریل در قالب بلوک‌های کاملاً تصادفی با سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه شهرکرد در سال ۱۴۰۳ اجرا گردید. در این آزمایش عامل اصلی شامل سطوح مختلف آبیاری: ۱۰۰، ۸۰ و ۶۰ درصد نیاز آبی لوبیا و عامل فرعی فاکتوریل کود زیستی در چهار سطح شامل: مایکوریزا آربوسکولار، باکتری ریزوبیوم، باکتری آزوسپریلیوم و تیمار شاهد) و رقم لوبیا در دو سطح شامل: لوبیا قرمز رقم یاقوت و لوبیا چیتی رقم کوشا بود. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که استفاده از کودهای زیستی باعث افزایش معنی‌دار کلروفیل a، b و کلروفیل کل در همه سطوح تنش آبی در مقایسه با تیمار بدون کود شدند. اثر کودهای زیستی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نشان داد که مایکوریزا و ریزوبیوم در ۸۰ درصد نیاز آبی باعث افزایش معنی‌دار کاتالاز در لوبیا قرمز شدند. بیشترین فعالیت آسکوربات پراکسیداز در ۸۰ درصد نیاز آبی همراه با کاربرد ریزوبیوم در لوبیا قرمز بود. گایاکول پراکسیداز در ۸۰ درصد نیاز آبی با مصرف کود زیستی آزوسپریلیوم در لوبیا چیتی بیشترین فعالیت را داشت. در کل طبق اثرات متقابل تنش آبی و با کاربرد کودهای زیستی در بیشتر تیمارها لوبیا قرمز در مقایسه با لوبیا چیتی فعالیت آنزیمی بیشتری داشت. میزان پروتئین محلول برگ با افزایش تنش آبی کاهش یافت. این در حالی است که از بین انواع کودهای زیستی فقط ریزوبیوم توانست مقدار این صفت را نسبت به شاهد افزایش دهد. بیشترین غلظت پراکسید هیدروژن در شرایط تنش آبی ۶۰ درصد نیاز آبی بدست آمد. کمترین مقدار پراکسید هیدروژن در کاربرد کود زیستی مایکوریزا مشاهده شد که دارای تفاوت معنی‌داری با سایر کودهای زیستی بود. کودهای زیستی مایکوریزا و ریزوبیوم در مقایسه با تیمار آزوسپریلیوم و شاهد، موجب افزایش معنی‌دار عملکرد دانه ارقام لوبیا در شرایط تنش آبی ۱۰۰ و ۸۰ درصد نیاز آبی شدند. نتایج این مطالعه نشان داد که کاربرد کودهای زیستی در شرایط تنش آبی می‌تواند باعث بهبود سنتز رنگدانه‌های فتوسنتزی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و افزایش عملکرد دانه لوبیا شوند.

واژه‌های کلیدی: کم آبی، مایکوریزا، ریزوبیوم، آزوسپریلیوم، کلروفیل، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز

مقدمه

تنش‌های محیطی از عوامل محدودکننده رشد و عملکرد گیاهان زراعی به شمار می‌روند. در این میان، تنش خشکی به ویژه در مناطق خشک و نیمه‌خشک ایران خسارات قابل توجهی به تولید محصولات کشاورزی وارد می‌کند (Madani et al., 2016; Halo et al., 2020). این تنش با آسیب رساندن به سیستم فتوسنتزی، منجر به کاهش رشد و عملکرد گیاهان می‌شود (Kusvuran and Dasgan, 2017). لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L. به عنوان یکی از مهمترین منابع تأمین پروتئین در تغذیه انسان و دام در بسیاری از کشورهای جهان شناخته می‌شود. علاوه بر ارزش غذایی، لوبیا در تناوب‌های زراعی نیز به بهبود حاصلخیزی خاک کمک می‌کند (Ebrahimi et al., 2010). نتایج پژوهش‌های مختلف نشان می‌دهد که لوبیا نسبت به تنش خشکی نسبتاً حساس است و خشکی منجر به کاهش ۶۰ تا ۹۹ درصدی عملکرد آن می‌شود (Mladenov et al., 2023). گیاهان از طریق فرایندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی (افزایش محتوای آنتی‌اکسیدانی، تولید متابولیت‌های ثانویه، افزایش پرولین و غیره) به تنش خشکی پاسخ می‌دهند (Cagri Oguz et al., 2022). تنش خشکی و استرس اکسیداتیو ناشی از آن منجر به کاهش مقادیر کلروفیل a و b می‌شود که ممکن است نتیجه فوتو اکسیداسیون رنگدانه‌ها و تخریب کلروفیل باشد (Wach and Skowron, 2022). محمدازه و همکاران (۱۳۹۱) گزارش کردند که تنش خشکی منجر به کاهش صفات رنگدانه‌های فتوسنتزی و عملکرد دانه لوبیا گردید. یکی از پیامدهای مهم تنش خشکی، تجمع گونه‌های فعال اکسیژن Reactive Oxygen Species (ROS) در سلول‌های گیاهی است که به عنوان یکی از عوامل اصلی کاهش عملکرد شناخته می‌شود (Asgari and Ghafari, 2023; Farhangi-Abriz and Torabian, 2017). گیاهان دارای مکانیسم‌های دفاعی برای مقابله با ROS هستند و تعادل بین تولید و خنثی‌سازی این ترکیبات توسط آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی (مانند کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز) و غیرآنزیمی (مانند کارتنوئیدها) برای رشد مطلوب ضروری

است (Zulfiqar et al., 2024; Farhangi-Abriz, and Torabian, 2017). افزایش فعالیت این آنتی‌اکسیدان‌ها نقش کلیدی در مقاومت گیاهان به آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از تنش‌های محیطی ایفا می‌کنند (Jervekani et al., 2018; Cz'ekus et al., 2020; Khatooni et al., 2022; Zhang et al., 2022). در روش‌های مرسوم کشاورزی، استفاده بی‌رویه از نهاده‌های شیمیایی نظیر کودها و سموم، پایداری اکوسیستم‌های کشاورزی را به خطر انداخته است (Calabi-Floody et al., 2018; Ughamba et al., 2025). در این راستا، استفاده از راهکارهای مدیریتی جایگزین، مانند کاربرد کودهای زیستی، به منظور کاهش اثرات منفی تنش‌های محیطی، از جمله تنش خشکی، مورد توجه قرار گرفته است (Asgari and Ghafari, 2024). کودهای زیستی علاوه بر تأمین بخشی از عناصر غذایی مورد نیاز گیاه، به حفظ رطوبت و مواد غذایی در خاک، بهبود ساختمان و سلامت خاک و افزایش دسترسی گیاهان به مواد مغذی کمک می‌کنند (Manna et al., 2007; Tiwari et al., 2025). همچنین، این کودها با تأثیر بر فعالیت تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی، می‌توانند سبب بهبود رشد گیاه در شرایط تنش خشکی شوند (Bukhat et al., 2020). مطالعات نشان داده‌اند که استفاده از کودهای زیستی مختلف، از جمله آزوسپیریوم، مایکوریزا و ازتوباکتر، اثرات مثبتی بر عملکرد گیاهان زراعی مانند جو، گندم، ذرت و سورگوم داشته و می‌تواند منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر گلوکاتایون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در شرایط تنش آبی شود (Creissen et al., 2015). مایکوریزا آریسکولار در شرایط تنش به گیاهان کمک می‌کند تا از طریق تغییرات مثبت بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز) و در نتیجه کاهش تجمع پراکسید هیدروژن (H_2O_2) شوند (Sharma et al., 2024). باکتری‌های ریزوبیوم نیز از طریق تثبیت نیتروژن در شرایط تنش خشکی، جذب عناصری مانند آمونیوم، نترات، پتاسیم و آهن را افزایش داده و با تولید تنظیم‌کننده‌های رشد، به بهبود وضعیت آبی گیاهان کمک می‌کنند (Atkinson and Urwin, 2012; Ughamba et al., 2025). آزوسپیریوم نیز به عنوان یک

باکتری تثبیت‌کننده نیتروژن همزیست با ریشه، در تأمین نیتروژن مورد نیاز گیاه نقش دارد (Hughes and Stachowicz, 2013). استفاده از کودهای زیستی به عنوان یک عامل مهم در افزایش فعالیت ترکیبات آنتی‌اکسیدانی شناخته شده است (Hillocks, 2012). راهکار فناور دیگر در افزایش بهره‌وری مصرف آب و کاهش هدر رفت آب در کشاورزی استفاده از کم‌آبیاری (Deficit irrigation) است. کم‌آبیاری گیاهان را به تنظیمات فیزیولوژیکی مناسب‌تر هدایت کرده و مقاومت گیاهان را به تنش خشکی افزایش می‌دهد (Yang et al., 2022). این تحقیق به‌طور هم‌زمان چند شاخص کلیدی شامل رنگدانه‌های فتوسنتزی، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و عملکرد دانه در دو رقم لوبیا تحت شرایط تنش آبی را بررسی کرده و به نقش کودهای زیستی و راهکار کم‌آبیاری در کاهش اثرات تنش آبی با رویکرد زیست‌سازگار پرداخته است. از آنجائیکه تاکنون تأثیر کودهای مایکوریزا، ریزوبیوم و آزوسپرلیوم در شرایط مختلف آبی بر رنگدانه‌های فتوسنتزی، فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و عملکرد دانه دو رقم لوبیا کوشا و یاقوت مورد مطالعه قرار نگرفته است، بنابراین هدف از این پژوهش، بررسی اثرات کاربرد کودهای زیستی بر ویژگی‌های مذکور در دو رقم لوبیا تحت شرایط مختلف آبی است.

مواد و روش‌ها

شرایط انجام آزمایش: این آزمایش در مزرعه پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد با طول جغرافیایی ۴۹ درجه و ۲۲ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۲ درجه و ۲۰ دقیقه شمالی و ارتفاع ۲۰۶۱ متر از سطح دریا (حسینی و همکاران، ۱۴۰۱) در سال ۱۴۰۳ صورت گرفت. آزمایش به صورت اسپلیت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. عامل اصلی تنش آبی در سه سطح شامل: (۱۰۰، ۸۰ و ۶۰ درصد نیاز آبی لوبیا) و عامل فرعی فاکتوریل کود بیولوژیک (در چهار سطح شامل: مایکوریزا آربوسکولار (*Arbuscular Mycorrhizal*) گونه *Glomus intraradices*)، باکتری ریزوبیوم (*Rhizobium*)

Leguminosarum)، باکتری آزوسپرلیوم (*Azospirillum brasilese*) به همراه شاهد (عدم استفاده از کود زیستی)) و رقم (در دو سطح شامل: لوبیا قرمز رقم یاقوت و لوبیا چیتی رقم کوشا) بود. مایکوریزا از شرکت زراعی ارگانیک همدان در بسته‌های ۱۰ کیلویی (شامل: خاک، بقایای ریشه و اندام‌های مایکوریزا) تهیه شد و باکتری‌های ریزوبیوم و آزوسپرلیوم به صورت مایه‌تلقیح یک لیتری از بخش بیولوژیک مؤسسه تحقیقات آب و خاک کرج و بذور لوبیا از مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان مرکزی تهیه شدند. به منظور تعیین ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه، از عمق صفر-۳۰ سانتی‌متری خاک نمونه‌برداری شد. نتایج تجزیه خاک در جدول شماره ۱ نشان داده شده است.

هر کرت فرعی شامل چهار ردیف کاشت به طول ۳ متر و با فاصله ۵۰ سانتی‌متر بود. کاشت ارقام بذرها لوبیا به صورت دستی و یک ردیف روی پشته با فاصله ۵ سانتی‌متر در تاریخ دهم خرداد ۱۴۰۳ انجام شد. دو ردیف کناری و ۳۰ سانتی‌متر ابتدا و انتهای هر ردیف به عنوان حاشیه در نظر گرفته شد. به منظور اعمال تیمارهای مربوط به مایکوریزا، قبل از کاشت به میزان ۱۰ گرم در مترمربع کود مایکوریزا، در شیار ایجادشده در زیر بذور قرار گرفت (همتی، ۱۳۹۹). به منظور کاربرد باکتری‌های ریزوبیوم و آزوسپرلیوم در تیمارهای مربوطه، بذرها یک ساعت قبل از کشت مایه‌زنی شد، به این صورت که در تیمارهای تلقیحی هر کیلوگرم از بذر مصرفی با ۱۵ میلی‌لیتر از محلول ۲۰ درصد شکر مرطوب شد و سپس با ۷ گرم از مایه تلقیح باکتری (جمعیت باکتری 108 g-1 cfu) آغشته شده و به‌خوبی به‌هم زده شد و پس از خشک شدن در سایه اقدام به کشت شد (اسدی رحمانی و همکاران، ۱۳۸۴). طی فصل رشد عملیات لازم از جمله مبارزه با آفات، امراض، علف‌های هرز به صورت دستی انجام شد. اطلاعات هواشناسی محل اجرای آزمایش در جدول ۲ ارائه شده است.

برای تعیین زمان آبیاری و میزان تخلیه آب خاک، میزان رطوبت خاک به صورت روزانه در تیمار شاهد با استفاده از

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک محل انجام آزمایش

شوری	اسیدیته خاک	کربن آلی	نیتروژن	فسفر	پتاسیم	روی	منگنز	آهن	مس
(dS.m ⁻¹)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
۰/۵۷	۷/۶۳	۱/۰۷	۰/۱۱۵	۴۴/۹	۴۱۹	۰/۹۹	۸/۱۵	۳/۱۴	۱/۱
رطوبت وزنی خاک (%)	جرم مخصوص ظاهری خاک (g.cm ⁻³)	ظرفیت زراعی	پژمردگی دائم	شن	سیلت	رس			
(%)	(g.cm ⁻³)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)			
۱۲	۱/۲۲	۲۲	۲۰/۵	۴۱	۳۸/۵				

جدول ۲- مقادیر پارامترهای هواشناسی ایستگاه سینوپتیک شهرکرد در سال زراعی ۱۴۰۳

ماه	متوسط دما	متوسط دمای حداکثر	متوسط دمای حداقل	متوسط تبخیر از تشتک
	(درجه سانتی گراد)	(درجه سانتی گراد)	(درجه سانتی گراد)	تبخیر کلاس A (میلی متر)
خرداد	۲۰/۲۷	۳۱/۴۴	۸/۴۱	۱۰/۱۷
تیر	۲۳/۸۴	۳۵/۷۳	۱۲/۳۸	۱۲/۵۴
مرداد	۲۵/۴۸	۳۷/۵۳	۱۳/۷۳	۱۲/۶۹
شهریور	۲۰/۴۳	۳۳	۸/۶۳	۱۰/۵۶
مهر	۱۶/۸۹	۲۸/۵۱	۳/۷۷	۸/۰۸

مورد نیاز برای هر بار آبیاری با استفاده از رابطه زیر محاسبه و با استفاده از کنتور حجمی بین تیمارها توزیع شد (عباسی و همکاران، ۱۴۰۱).

$$V = (\theta_{FC} - \theta_{Soil}) \cdot A \cdot d$$

در این رابطه، θ_{Soil} درصد رطوبت حجمی خاک پیش از آبیاری (این رطوبت نزدیک حد پایینی رطوبت سهل الوصول (RAW) Readily Available Water است)، d عمق ریشه بر حسب متر، A سطح کرت بر حسب مترمربع و V حجم آب آبیاری بر حسب مترمکعب است. این حجم آب محاسبه شده جهت تیمار آبیاری کامل بود و حجم آب مورد نیاز در تیمارهای ۸۰ و ۶۰ درصد آبیاری، نسبت به حجم آبیاری کامل با تناسب اعمال گردید.

صفات مورد اندازه گیری، محتوای کلروفیل و کارتنوئیدهای برگ: سه هفته پس از اعمال تنش کم آبی، نمونه برداری از آخرین برگ توسعه یافته جهت ارزیابی محتوی کلروفیل a ، b و کارتنوئیدها انجام شد و نمونه ها بلافاصله در ازت مایع قرار گرفتند و سپس به فریزر -۷۰ درجه سانتی گراد

دستگاه رطوبت سنج SM150 ساخت شرکت دلتا-تی اندازه گیری و با در نظر گرفتن ضریب تخلیه مجاز ۴۵ درصد (FAO, 2013)، رطوبت پایینی سهل الوصول (θ_{MAD}) تعیین و با رسیدن رطوبت خاک به حد پایینی رطوبت سهل الوصول، آبیاری انجام شد (فرشی و همکاران، ۱۳۸۲).

$$\theta_{MAD} = \theta_{FC} - (\theta_{FC} - \theta_{PWP}) \times MAD$$

در این رابطه θ_{FC} درصد رطوبت حجمی در ظرفیت زراعی، θ_{PWP} درصد رطوبت حجمی در نقطه پژمردگی دائم، MAD ضریب تخلیه مجاز است. درصد رطوبت حجمی خاک مزرعه در نقاط ظرفیت زراعی (FC) و پژمردگی دائم (PWP) به ترتیب نمونه های دست نخورده توسط سیلندرهای نمونه های خاک الک شده برای اعماق صفر تا ۳۰ سانتی متر برداشته شد و به وسیله دستگاه صفحات فشاری (Plate) (مدل PPF52) تعیین شد (علیزاده، ۱۳۷۸). تیمارهای آبیاری بعد از تنک کردن و دستیابی به تراکم مورد نظر (۳۰ بوته در مترمربع) و در ابتدای مرحله سومین برگ سه برگچه ای (V4) اعمال شد (محلوجی و همکاران، ۱۳۷۹). حجم آب

اندازه‌گیری شد. برای این منظور ۲/۹۵ میلی‌لیتر بافر واکنش شامل بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷) و پراکسید هیدروژن ۱۵ میلی‌مولار، با ۰/۰۵ میلی‌لیتر عصاره آنزیم مخلوط شد. فعالیت ویژه آنزیم از تقسیم فعالیت حجمی کاتالاز بر میزان پروتئین عصاره تعیین شده، محاسبه شد (Aebi, 1983).

$$U = \Delta A \times TV \times D / \varepsilon \times EV$$

فعالیت حجمی کاتالاز (U/ml) = فعالیت کاتالاز (U) / واحد حجم (ml)

فعالیت ویژه کاتالاز (U/mg protein) = فعالیت حجمی کاتالاز (U/ml) / غلظت پروتئین عصاره

U = یک واحد از فعالیت کاتالاز که مساوی است با مقدار

آنزیمی که باعث تجزیه یک میکرومول H_2O_2 و تبدیل آن به اکسیژن و آب در مدت یک دقیقه می‌شود. ΔA = اختلاف جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر در مدت یک دقیقه، TV = حجم کل (بافر واکنش و عصاره) (۳ میلی‌لیتر)، EV = حجم عصاره (۰/۰۵ میلی‌لیتر) و ε = ضریب خاموشی کاتالاز ($3.9 \times 10^4 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)

آسکوربات پراکسیداز: فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز با استفاده از روش اصلاح‌شده به صورت اسپکتروفوتومتری و با اندازه‌گیری کاهش جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر تخمین زده شد. پس از تنظیم طول موج مورد نظر محلول بلانکرا که شامل ۳ میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم و ۴/۵۱ پراکسید هیدروژن نیم میلی‌مولار و ۱۰۰ میکرولیتر آسکوربات ۵ میلی‌مولار بدون عصاره است به منظور کالیبراسیون داخل دستگاه قرار داده می‌شود. برای شروع واکنش، ۲/۹۵ میلی‌لیتر بافر واکنش شامل بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷)، پراکسید هیدروژن نیم میلی‌مولار، آسکوربات ۵ میلی‌مولار با ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیم مخلوط می‌گردد. فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز از طریق رابطه‌ی‌های زیر محاسبه شد (Nakano and Asada, 1981).

$$U = \Delta A \times TV \times D / \varepsilon \times EV$$

فعالیت حجمی آسکوربات (U/ml) = فعالیت آسکوربات (U) / واحد حجم (ml)

منتقل شده و تا زمان اندازه‌گیری در فریزر صندوقی باقی ماندند. محتوای کلروفیل با استفاده از روش Lichtenthaler و Buschmann انجام شد. براساس این روش ۰/۲۵ گرم برگ در هاون چینی حاوی ۵ میلی‌لیتر استون ۸۰٪ به‌طور کامل هموژنیزه شد. آنگاه محلول به‌دست آمده را در کووت ریخته و با دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۶ و ۴۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (مدل HITACHI, U1600, Japan) خوانده شد و غلظت میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ (mg/g FW) رنگدانه‌های فتوسنتزی با فرمول‌های زیر محاسبه شد (Lichtenthaler and Buschmann, 2001).

$$\text{Chlorophyll a (mg/g FW)} = 12.25 A_{663} - 2.79 A_{646}$$

$$\text{Chlorophyll b (mg/g FW)} = 21.50 A_{646} - 5.10 A_{663}$$

$$\text{Chlorophyll a/b (mg/g FW)} = \text{Chl a} / \text{Chl b}$$

$$\text{Total chlorophyll (mg/g FW)} = \text{Chl a} + \text{Chl b}$$

$$\text{Carotenoides (mg/g FW)} = (1000 A_{470} - 1.82 \text{Chla} - 85.02 \text{Chlb}) / 198$$

در روابط فوق A_{470} ، A_{663} ، A_{646} به ترتیب میزان جذب نور

خوانده شده در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۶ و ۴۷۰ نانومتر هستند.

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی: فعالیت آنزیم‌های

آنتی‌اکسیدانی کاتالاز (CAT)، آسکوربات پراکسیداز (APX) و گایاکول پراکسیداز (GPX) به روش اصلاح‌شده (Nakano and Asada, 1981) انجام شد. ابتدا محلول‌های آزمایش از قبیل بافر استخراج از PVP (پلی وینیل پیرولیدون) یک درصد، تریتون X100 نیم درصد، بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار (pH = ۷) و بافر فسفات از ترکیب دو نمک دی‌فسفات سدیم و منوفسفات سدیم تهیه شدند. برای اندازه‌گیری فعالیت ویژه آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، ابتدا ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت برگ در یک هاون سائیده شد، سپس با یک میلی‌لیتر بافر استخراج مخلوط و به‌طور کامل یکنواخت و عصاره حاصل با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه و در دمای چهار درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. بخش شفاف واقع در بالای عصاره برای سنجش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مورد استفاده قرار گرفت.

آنزیم کاتالاز: فعالیت آنزیم کاتالاز با ردیابی

اسپکتروفوتومتری تجزیه H_2O_2 در طول موج ۲۴۰ نانومتر

هیدروژن با استفاده از روش Velikova و همکاران (۲۰۰۰) انجام شد. ابتدا اندام‌های هوایی گیاه در حمام یخ با تری کلرواستیک ۰/۱ سائیده شدند و عصاره حاصل از آن در دور ۴۰۰۰ برای ۱۵ دقیقه در چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول رویی به ۰/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰ میلی‌مولار (pH=۷) و ۱ میلی‌لیتر یدید پتاسیم ۱ مولار اضافه و جذب در طول موج ۳۹۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر خوانده شد. مقدار پراکسید هیدروژن در هر نمونه، با استفاده از ضریب خاموشی $0.28 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ محاسبه و بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر گزارش گردید (Velikova et al., 2000)

عملکرد دانه: به منظور تعیین عملکرد تیمارها، یک متر مربع با رعایت حاشیه از هر کرت برداشت شده و کاه و کلش از دانه‌ها جداسازی و عملکرد دانه بر حسب کیلوگرم در هکتار محاسبه شد.

داده‌های به دست آمده از این پژوهش با استفاده از نرم‌افزار SAS ۹/۴ تجزیه و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

محتوای کلروفیل و کارتنوئیدهای برگ: محتوای کلروفیل a، b و کلروفیل کل به طور معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد تحت تأثیر تنش آبی، کاربرد کودهای زیستی و اثر متقابل تنش آبی در کودهای زیستی قرار گرفتند. این در حالی است که نسبت کلروفیل a/b فقط تحت تأثیر تنش آبی و محتوای کارتنوئیدها تحت تأثیر معنی‌دار تنش آبی و کود زیستی در سطح احتمال یک درصد قرار گرفتند (جدول ۳).

بیشترین مقدار کلروفیل a در تیمار آبیاری کامل با کود ریزوبیوم و حداکثر مقادیر کلروفیل b در آبیاری کامل با کود ریزوبیوم و مایکریزا مشاهده گردید و کمترین مقدار کلروفیل a و b در تیمار بدون کود و آبیاری ۶۰ درصد نیاز آبی بدست آمد. کودهای زیستی مایکوریزا و ریزوبیوم در ۶۰ و ۸۰ درصد

فعالیت ویژه آسکوربات (U/mg protein) = فعالیت آسکوربات (U) / واحد حجم (ml)

$U =$ یک واحد از فعالیت آسکوربات پراکسیداز که برابر با مقدار آنزیمی است که برای اکسید کردن یک میکرومول آسکوربات در یک دقیقه نیاز است. $\Delta A =$ اختلاف جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر در مدت یک دقیقه، $TV =$ حجم کل (بافر واکنش و عصاره) (۳ میلی‌لیتر)، $EV =$ حجم عصاره (۰/۰۵ میلی‌لیتر)، $\varepsilon =$ ضریب خاموشی آسکوربات پراکسیداز ($2/8 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$) و $D =$ ضریب رقت

گایاکول پراکسیداز: برای اندازه‌گیری فعالیت این آنزیم دستگاه اسپکتروفتومتر را روی طول موج ۴۷۰ نانومتر تنظیم کرده سپس دستگاه توسط محلول کالیبراسیون شامل ۳ میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم، ۴/۵۱ میکرولیتر پراکسید هیدروژن و ۳/۳۵ میکرولیتر گایاکول بدون عصاره، کالیبره می‌شود. به منظور قرائت فعالیت این آنزیم داخل کوت ۳ میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم، ۵۰ میکرولیتر از عصاره استخراجی، ۴/۵۱ میکرولیتر پراکسید، ۳/۳۵ میکرولیتر گایاکول اضافه می‌شود. اعداد دستگاه در طی یک دقیقه خوانده می‌شود. فعالیت ویژه آنزیم گایاکول از طریق روابط زیر محاسبه شد (Herzog and Fahimi, 1973).

$$U = \Delta A \times TV \times D / \varepsilon \times EV$$

فعالیت حجمی گایاکول (U/ml) = فعالیت گایاکول (U) / واحد حجم (ml)

فعالیت ویژه گایاکول (U/mg protein) = فعالیت گایاکول (U) / واحد حجم (ml)

پروتئین محلول برگ: محتوای پروتئین براساس روش Bradford (۱۹۷۶) با استفاده از سرم آلبومین گاوی به عنوان استاندارد اندازه‌گیری شد در این روش ۵ میلی‌لیتر معرف برادفورد و ۱۰۰ میلی‌لیتر عصاره پروتئینی به مدت ۲۰ دقیقه ورتکس شد و پس از قرارگیری به مدت ۲۵ دقیقه در دمای اتاق و ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ، جذب آن در طول موج ۵۹۵ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر خوانده شد (Bradford, 1976).

غلظت پراکسید هیدروژن (H₂O₂): سنجش پراکسید

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر تنش آبی و کود زیستی بر کلروفیل a، کلروفیل b، نسبت کلروفیل a/b، کلروفیل کل و کارتنوئیدها در دو رقم لوبیا

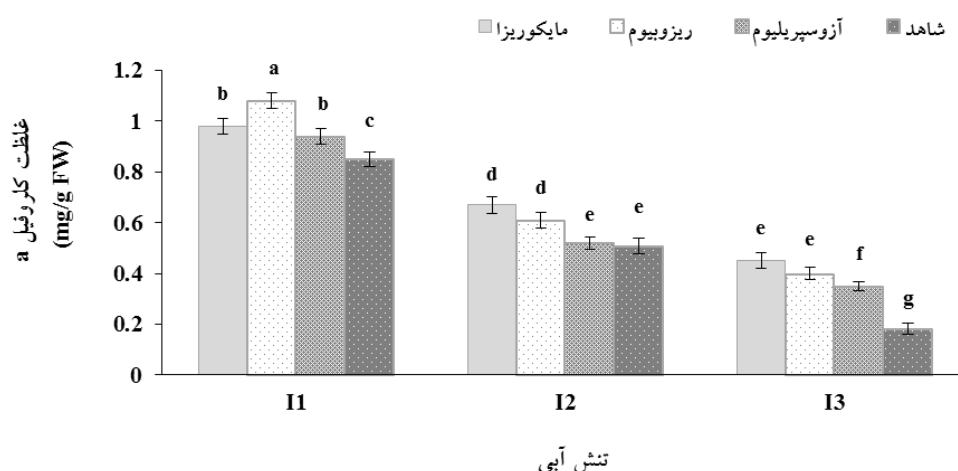
منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		کلروفیل a	کلروفیل b	نسبت کلروفیل a/b	کلروفیل کل
بلوک	۲	۰/۰۱۷ ^{ns}	۰/۰۰۱ ^{ns}	۰/۳۸ ^{ns}	۰/۰۱۸ ^{ns}
تنش آبی	۲	۲/۲۳ ^{**}	۰/۲۴۵ ^{**}	۶/۰۳ ^{**}	۳/۸۳ ^{**}
خطای اصلی	۴	۰/۰۱۷	۰/۰۰۱	۰/۱۸۳	۰/۰۲۵
کود زیستی	۳	۰/۱۸ ^{**}	۰/۰۱۴ ^{**}	۰/۲۲۹ ^{ns}	۰/۲۹ ^{**}
رقم	۱	۰/۰۰۶ ^{ns}	۰/۰۰۰۳ ^{ns}	۰/۰۷۹ ^{ns}	۰/۰۱۰ ^{ns}
کود زیستی × تنش آبی	۶	۰/۰۱۶ ^{**}	۰/۰۰۲ [*]	۰/۰۵۴ ^{ns}	۰/۰۳۲ ^{**}
رقم × تنش آبی	۲	۰/۰۰۰۷ ^{ns}	۰/۰۰۲ ^{ns}	۰/۴۵ ^{ns}	۰/۰۰۲ ^{ns}
رقم × کود زیستی	۳	۰/۰۰۲ ^{ns}	۰/۰۰۰۳ ^{ns}	۰/۵۱ ^{ns}	۰/۰۰۲ ^{ns}
رقم × کود زیستی × تنش آبی	۶	۰/۰۰۳ ^{ns}	۰/۰۰۱ ^{ns}	۰/۵۴ ^{ns}	۰/۰۰۳ ^{ns}
خطای فرعی	۴۲	۰/۰۰۴	۰/۰۰۱	۰/۴۱	۰/۰۰۵
ضریب تغییرات (%)		۱۰/۳۴	۱۴/۶۰	۲۱/۷	۸/۹۵
		۲۰/۴۱			

ns، * و ** به ترتیب غیرمعنی دار، معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

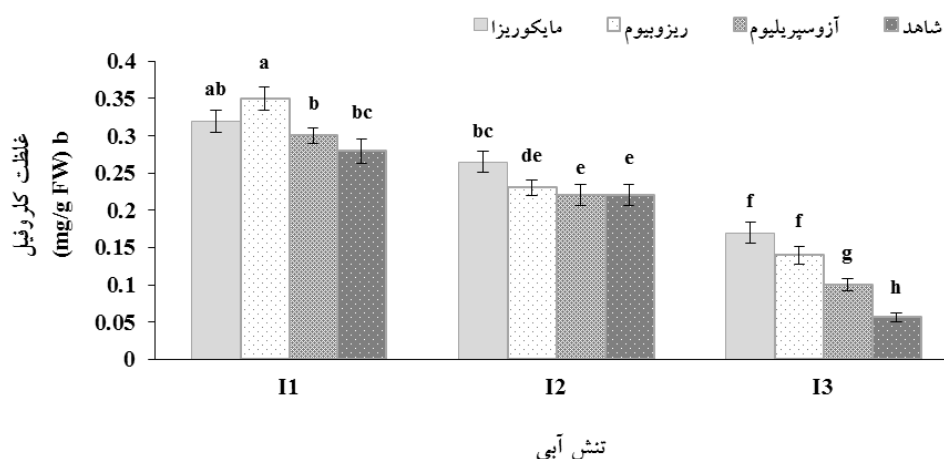
مزایای تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد گزارش کردند. بین ارقام لوبیا تفاوتی از نظر محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی مشاهده نشد (جدول ۳).

مطابق نتایج مقایسه میانگین تنش آبی، بیشترین نسبت کلروفیل a/b در لوبیا در ۱۰۰ درصد نیاز آبی ملاحظه شد (شکل ۳) که اختلاف معنی‌داری با شرایط ۸۰ درصد نیاز آبی نداشت و ۶۰ درصد نیاز آبی کمترین مقدار کلروفیل a/b را نشان داد. مطابق نتایج بدست آمده، سطح آبیاری نرمال همراه با کاربرد ریزوبیوم بیشترین میزان کلروفیل کل را تولید نمود. افزایش تنش آبی در همه کودهای زیستی سبب کاهش کلروفیل کل شد (شکل ۴). بنابراین چنین به نظر می‌رسد که ارقام لوبیا در شرایط تنش آبی نسبت به کاربرد کودهای زیستی واکنش مثبت نشان می‌دهند که ممکن است به دلیل بهبود جذب مواد غذایی و آب و افزایش دسترسی گیاه به عمق بیشتری از خاک باشد که منجر به افزایش ساخت و انتقال مواد فتوسنتزی در گیاه شود. در بین کودهای زیستی مختلف، اثر مثبت مایکوریزا و ریزوبیوم بیشتر از آزوسپریلیوم بود.

نیاز آبی منجر به افزایش معنی‌دار کلروفیل a و b نسبت به آزوسپریلیوم و شاهد شد این درحالی بود که بین مایکوریزا و ریزوبیوم اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. (به ترتیب شکل‌های ۱ و ۲). طبق گزارش پژوهشگران تنش خشکی به دلیل افزایش آبسزیک اسید و اتیلن که تحریک‌کننده آنزیم کلروفیللاز هستند موجب تجزیه و کاهش محتوای کلروفیل‌ها می‌شوند (Orabi et al., 2010). در پژوهش Nasrolahzadeh و همکاران (۲۰۱۶) بیشترین محتوای کلروفیل برگ در تیمار آبیاری مطلوب و مصرف کود نیتروژن به دست آمد و کمترین کلروفیل مربوط به تیمار ۶۰ درصد نیاز آبی و عدم مصرف کودهای شیمیایی بود. Chandrasekar و همکاران (۲۰۰۵) اثر مفید تلقیح بذر با باکتری بر افزایش محتوای کلروفیل را به در دسترس بودن بالاتر نیتروژن بواسطه تثبیت نیتروژن نسبت دادند. همچنین در حضور کودهای زیستی، به دلیل کاهش سنتز اتیلن تجزیه کلروفیل کاهش می‌یابد (Orabi et al., 2010; Stefana (Tiwari et al., 2025). همکاران (۲۰۱۳) افزایش فعالیت فتوسنتزی و محتوای کلروفیل برگ لوبیا چیتی را از



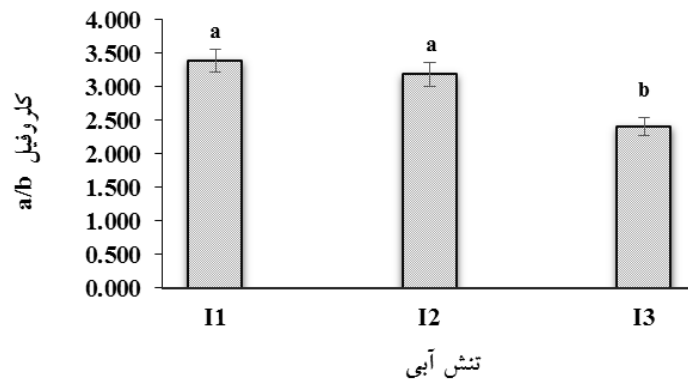
شکل ۱- مقایسه میانگین اثر متقابل تنش آبی و کودهای زیستی بر میزان کلروفیل a (I1، I2 و I3 بیانگر سطوح تنش آبی بوده و به ترتیب عبارتند از: ۱۰۰، ۸۰ و ۶۰ درصد نیاز آبی لوبیا). ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، مطابق آزمون LSD تفاوت معنی‌داری ندارند ($P \leq 0.05$).



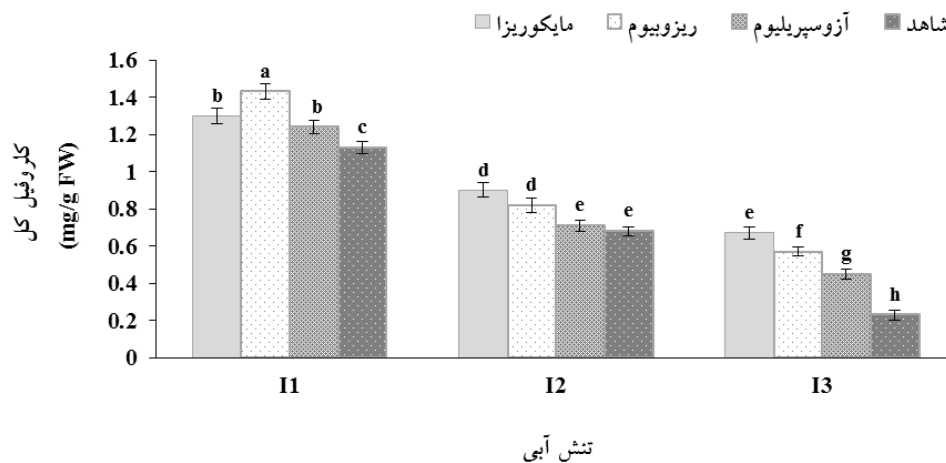
شکل ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل تنش آبی و کودهای زیستی بر کلروفیل b (I1، I2 و I3 بیانگر سطوح تنش آبی بوده و به ترتیب عبارتند از: ۱۰۰، ۸۰ و ۶۰ درصد نیاز آبی لوبیا). ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، مطابق آزمون LSD تفاوت معنی‌داری ندارند ($P \leq 0.05$).

نتایج این آزمایش نشان داد که کودهای زیستی منجر به افزایش مقدار کارتنوئیدها نسبت به شاهد شد که بیشترین مقدار مربوط به مایکوریزا بود که البته تفاوت معنی‌داری با سایر کودهای زیستی نداشت (شکل ۶). در مطالعه‌ای عنوان شد قارچ مایکوریزا با افزایش ظرفیت جذب عناصر موجب افزایش سطح کارتنوئیدها در گیاه می‌شود (Hristozkova *et al.*, 2016). کارتنوئیدها و مشتقاتش علاوه بر انتقال انرژی

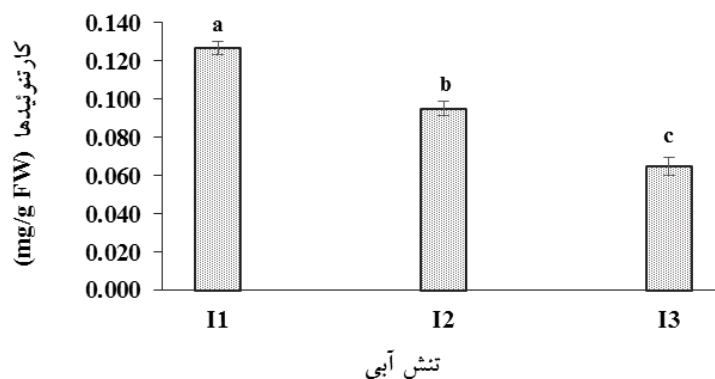
نتایج نشان داد که محتوای کارتنوئیدهای برگ با افزایش شدت تنش آبی کاهش یافت و در شرایط آبیاری ۱۰۰ درصد نیاز آبی بیشترین و در آبیاری ۶۰ درصد نیاز آبی گیاه، کمترین مقدار کارتنوئید به دست آمد (شکل ۵). در مطالعه Mohammadzadeh و همکاران (۲۰۱۲) کاهش مقدار کارتنوئیدها در شرایط افزایش تنش خشکی در دو رقم لوبیا قرمز گزارش شده است.



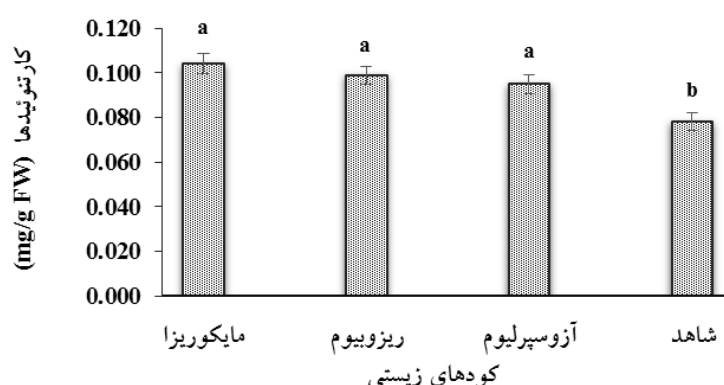
شکل ۳- مقایسه میانگین اثر تنش آبی بر نسبت کلروفیل a/b. (I1، I2 و I3 بیانگر سطوح تنش آبی بوده و به ترتیب عبارتند از: ۱۰۰، ۸۰ و ۶۰ درصد نیاز آبی لوییا). ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، مطابق آزمون LSD تفاوت معنی‌داری ندارند ($P \leq 0.05$).



شکل ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل تنش آبی و کودهای زیستی بر میزان محتوای کلروفیل کل. (I1، I2 و I3 بیانگر سطوح تنش آبی بوده و به ترتیب عبارتند از: ۱۰۰، ۸۰ و ۶۰ درصد نیاز آبی لوییا). ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، مطابق آزمون LSD تفاوت معنی‌داری ندارند ($P \leq 0.05$).



شکل ۵- مقایسه میانگین اثر تنش آبی بر مقدار کارتنوئیدهای برگ لوییا. (I1، I2 و I3 بیانگر سطوح تنش آبی بوده و به ترتیب عبارتند از: ۱۰۰، ۸۰ و ۶۰ درصد نیاز آبی لوییا). ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، مطابق آزمون LSD تفاوت معنی‌داری ندارند ($P \leq 0.05$).



شکل ۶- مقایسه میانگین اثر کودهای زیستی بر مقدار کارتنوئیدهای برگ لوبیا. (I₁, I₂, I₃ بیانگر سطوح تنش آبی بوده و به ترتیب عبارتند از: ۱۰۰، ۸۰ و ۶۰ درصد نیاز آبی لوبیا). ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، مطابق آزمون LSD تفاوت معنی‌داری ندارند (P ≤ 0.05).

(جدول ۵).

در پژوهشی استفاده از کودهای زیستی مایکوریزا آربسکولار (Arbuscular Mycorrhiza) و ریزوبیوم (*Bradyrhizobium japonicum*) تحت شرایط تنش خشکی در محصول سویا، موجب افزایش روند فعالیت کاتالاز (CAT) و پراکسیداز (POD) و کاهش مالون دی‌آلدئید (MDA) و پرولین شد (Sheteiwy et al., 2021). افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز ابزاری در جهت افزایش میزان تحمل در برابر تنش‌های محیطی هستند (Seyed Sharifi et al., 2016). بیشترین فعالیت آسکوربات پراکسیداز در ۸۰ درصد نیاز آبی همراه با کاربرد ریزوبیوم در لوبیا قرمز با مقدار (U/mg protein) ۱/۵۴ مشاهده گردید که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشت (جدول ۵). گایاکول پراکسیداز در ۸۰ درصد نیاز آبی و کاربرد آزوسپریلیوم در لوبیا چیتی افزایش معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها داشت (جدول ۵). Kheirizadeh و همکاران (۲۰۱۶) در مطالعه‌ای بیان کردند که تنش شوری و استفاده از کودهای زیستی منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و محتوای کلروفیل در تربیتکاله می‌شود. افزایش فعالیت آنزیم‌های اکسیدانی با کاهش گونه‌های فعال اکسیژن می‌تواند از اثرات مخرب آنها کاسته و منجر به بهبود رشد گیاهان در محیط‌های تنش‌زا شود (Seyed Sharifi

به مراکز فتوسیستم، می‌توانند به عنوان یک آنتی‌اکسیدان غیرآنزیمی منجر به کاهش اثرات مخرب گونه‌های اکسیژن فعال در تنش‌های محیطی شود در نتیجه بهبود این رنگیزه توسط کودهای زیستی موجب بهبود کارایی فتوسنتز و افزایش قدرت آنتی‌اکسیدانی گیاه برای مقابله با تنش خشکی می‌شود (Zadehbagheri et al., 2012).

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، پراکسید هیدروژن و عملکرد دانه: مطابق نتایج بدست آمده تأثیر تنش آبی، کودهای زیستی و رقم بر آنزیم‌ها در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. اثرات متقابل دو گانه تنش آبی × کود زیستی و کود زیستی × رقم بر آنزیم کاتالاز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. و اثرات متقابل تنش آبی × کود زیستی، تنش آبی × رقم و کود زیستی × رقم بر آنزیم‌های آسکوربات و گایاکول پراکسیداز معنی‌دار بود. اثر متقابل سه گانه سطوح تنش آبی × کود زیستی × رقم بر آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۴).

۸۰ درصد نیاز آبی × ریزوبیوم منجر به افزایش معنی‌دار کاتالاز با مقدار (U/mg protein) ۱/۲۱ در لوبیا قرمز شد که نسبت به سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت. پس از ریزوبیوم، مایکوریزا در ۸۰ درصد نیاز آبی در لوبیا قرمز منجر به افزایش معنی‌دار کاتالاز (U/mg protein) ۰/۹۰ شد

جدول ۴- تجزیه واریانس اثر تنش آبی و کودهای زیستی بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، عملکرد دانه، پراکسید هیدروژن و پروتئین محلول ارقام لوبیا

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				گایاکول پراکسیداز	آسکوربات پراکسیداز	کاتالاز	عملکرد دانه	H ₂ O ₂	پروتئین محلول
		گایاکول پراکسیداز	آسکوربات پراکسیداز	کاتالاز	عملکرد دانه						
بلوک	۲	۰/۰۰۳ ^{ns}	۰/۰۱۲ ^{ns}	۰/۰۰۰۵ ^{ns}	۸۳۸۳/۴ ^{ns}	۱/۴۱ ^{ns}	۰/۰۱۶ ^{ns}				
تنش آبی	۲	۲/۱۱ ^{**}	۰/۵۲ ^{**}	۰/۶۲ ^{**}	۶۴۰۳۲۷۲۹/۵ ^{**}	۳۹۷۷ ^{**}	۱/۹۸ ^{**}				
خطای اصلی	۴	۰/۰۰۲	۰/۰۰۷	۰/۰۰۱	۳۵۸۲۸/۷	۱۹/۶	۰/۰۰۵				
کود زیستی	۳	۰/۲۱ ^{**}	۰/۹۳ ^{**}	۰/۳۳ ^{**}	۱۱۳۵۴۵۷/۱ ^{**}	۲۱۸ ^{**}	۰/۰۹ ^{**}				
رقم	۱	۰/۱۲ ^{**}	۰/۲۰ ^{**}	۰/۳۱ ^{**}	۷۶۱۰۳۳۰/۷ ^{**}	۰/۰۳ ^{ns}	۰/۰۰۹ ^{ns}				
تنش آبی × کود زیستی	۶	۰/۴۷ ^{**}	۰/۲۳ ^{**}	۰/۴۳ ^{**}	۲۴۱۵۲۹/۴ ^{**}	۱۷/۹۷ ^{ns}	۰/۰۳ ^{ns}				
تنش آبی × رقم	۲	۰/۰۹ ^{**}	۰/۰۷ ^{**}	۰/۰۰۰۲ ^{ns}	۲۷۹۱۳۸۸/۹ ^{**}	۱۳/۶۵ ^{ns}	۰/۰۵ ^{ns}				
کود زیستی × رقم	۳	۰/۳۵ ^{**}	۰/۲۴ ^{**}	۰/۰۴ ^{**}	۵۱۱۸۹/۷ ^{ns}	۱/۵۹ ^{ns}	۰/۰۴ ^{ns}				
تنش آبی × کود × رقم	۶	۰/۳۹ ^{**}	۰/۰۴ ^{**}	۰/۲۱ ^{**}	۱۷۳۷۲/۸ ^{ns}	۵۱۶۱ ^{ns}	۰/۰۵ ^{ns}				
خطای فرعی	۴۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۴	۰/۰۰۴	۶۴۴۰۶/۳	۱۱/۹	۰/۰۱۷				
ضریب تغییرات (%)		۷/۰۱	۱۰/۸۹	۱۲/۱۹	۱۴/۶۷	۱۱/۸۵	۱۲				

ns, * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

درصد نیاز آبی در همه تیمارهای کودی در ارقام لوبیا فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی افزایش داشته است (جدول ۵).

پروتئین محلول برگ: طبق نتایج بدست آمده، تأثیر تنش آبی و کودهای زیستی بر پروتئین برگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۴).

مطابق نتایج مقایسه میانگین در شکل ۷، بیشترین مقدار پروتئین محلول برگ در ۱۰۰ درصد نیاز آبی لوبیا به دست آمد. یکی از راه‌کارها برای درک توانایی گیاهان در تحمل تنش‌های محیطی، شناسایی تغییرات القاشده با تنش در میزان پروتئین آنها است. سنتز پروتئین‌ها یکی از اصلی‌ترین عوامل در رشد سلول‌ها محسوب می‌شود. هر عاملی که از سنتز پروتئین‌ها جلوگیری کند موجب کاهش رشد نیز می‌شود و از این‌رو تنش آبی به دلیل توقف سنتز پروتئین‌ها موجب کاهش رشد خواهد شد (Zulfiqar et al., 2024). تأثیر کودهای زیستی بر مقدار پروتئین محلول برگ در لوبیا نشان داد که استفاده از ریزوبیوم منجر به افزایش معنی‌دار این صفت نسبت

(et al., 2016). در تحقیقات بر ماش که در معرض تنش آرسنیک قرار گرفته بود، مشخص شد که استفاده از مایکوریزا آریوسکولار (AMF) به طور قابل توجهی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کلیدی، از جمله سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و گایاکول پراکسیداز را افزایش داد و این افزایش فعالیت آنزیمی باعث به حداقل رساندن تنش اکسیداتیو در گیاه شد (Alam et al., 2019). استفاده از کودهای زیستی با بهبود روابط آب، خاک و گیاه منجر به کاهش ROS و مالون دی‌آلدئید شده و با اثر بر افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز منجر به تحمل شرایط تنش‌زا برای گیاه می‌شود (Khalili et al., 2020; Zahedi et al., 2023). Najafi و همکاران (۲۰۲۱) در بررسی تأثیر کودهای زیستی مایکوریزا و نیتروکسین در کدوی دارویی در شرایط تنش کم آبی، افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز را گزارش کردند. به‌طورکلی روند مقادیر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در این پژوهش نشان داد که در تیمار تأمین ۸۰

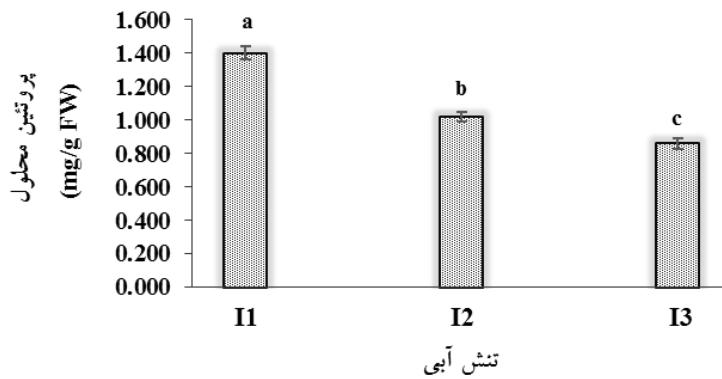
جدول ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل تنش آبی × کود زیستی × رقم بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی لوبیا

گایکول پراکسیداز	آسکوبات پراکسیداز	کاتالاز	رقم	کود زیستی	تنش آبی
Unit/mg protein					
۰/۱۸ ^m	۰/۳۹ ^{j-k}	۰/۰۶ ^z	لوبیا چیتی	مایکوریزا	I ₁
۰/۲۹ ^l	۰/۲۹ ^{kl}	۰/۲۳ ^{f-h}	لوبیا قرمز		
۰/۵۶ ^h	۰/۵۱ ^{g-i}	۰/۵۸ ^{de}	لوبیا چیتی	مایکوریزا	I ₂
۰/۸۸ ^{c-e}	۰/۹۰ ^c	۰/۹۰ ^b	لوبیا قرمز		
۰/۴۱ ^{jk}	۰/۲۹ ^{kl}	۰/۲۸ ^{g-f}	لوبیا چیتی	مایکوریزا	I ₃
۰/۱۸ ^m	۰/۳۰ ^{kl}	۰/۵۲ ^e	لوبیا قرمز		
۰/۳۶ ^{kl}	۰/۵۸ ^{e-g}	۰/۰۵ ⁿ	لوبیا چیتی	ریزوبیوم	I ₁
۰/۴۰ ^{jk}	۰/۲۹ ^{kl}	۰/۰۶ ^z	لوبیا قرمز		
۱/۲۵ ^b	۱/۰۵ ^b	۰/۶۹ ^{cd}	لوبیا چیتی	ریزوبیوم	I ₂
۰/۹۶ ^c	۱/۵۴ ^a	۱/۲۱ ^a	لوبیا قرمز		
۰/۴۶ ^{ij}	۰/۵۳ ^{g-h}	۰/۱۸ ^{g-i}	لوبیا چیتی	ریزوبیوم	I ₃
۰/۵۳ ^{hi}	۰/۶۱ ^{d-g}	۰/۱۵ ^{h-j}	لوبیا قرمز		
۰/۳۶ ^{kl}	۰/۲۳ ^l	۰/۱۵ ^{h-j}	لوبیا چیتی	ریزوبیوم	I ₁
۰/۷۷ ^f	۰/۳۷ ^{jk}	۰/۱۸ ^{g-i}	لوبیا قرمز		
۱/۴۸ ^a	۰/۹۱ ^c	۰/۲۰ ^{g-i}	لوبیا چیتی	آزوسپریلیوم	I ₂
۱/۱۷ ^b	۰/۶۷ ^{de}	۰/۱۹ ^{g-i}	لوبیا قرمز		
۰/۳۳ ^{kl}	۰/۶۵ ^{d-f}	۰/۰۵ ⁿ	لوبیا چیتی	آزوسپریلیوم	I ₃
۰/۵۲ ^{hi}	۰/۸۷ ^c	۰/۰۵ ⁿ	لوبیا قرمز		
۰/۴۸ ^{h-j}	۰/۲۳ ^l	۰/۱۶ ^{h-j}	لوبیا چیتی	شاهد (بدون کود زیستی)	I ₁
۰/۶۴ ^g	۰/۴۳ ^{h-j}	۰/۰۹ ^{ij}	لوبیا قرمز		
۱/۲۳ ^b	۰/۷۰ ^d	۰/۳۲ ^f	لوبیا چیتی	شاهد (بدون کود زیستی)	I ₂
۰/۸۷ ^{de}	۰/۵۶ ^{f-g}	۰/۷۱ ^c	لوبیا قرمز		
۰/۹۳ ^{cd}	۰/۳۸ ^{jk}	۰/۰۵ ⁿ	لوبیا چیتی	شاهد (بدون کود زیستی)	I ₃
۰/۸۱ ^{ef}	۰/۴۲ ^{ij}	۰/۰۶ ^z	لوبیا قرمز		

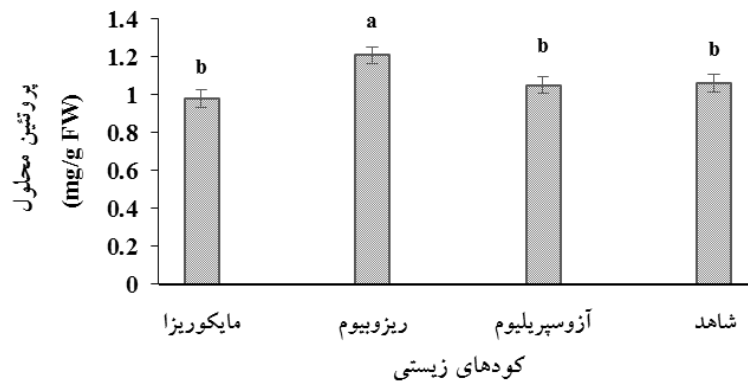
میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ هستند. (I₁، I₂ و I₃ بیانگر سطوح تنش آبی بوده و به ترتیب عبارتند از: ۱۰۰، ۸۰ و ۶۰ درصد نیاز آبی لوبیا).

افزایش رشد و عملکرد گیاه منتهی شود (Chaudhary *et al.*, 2007). یکی از علل کاهش پروتئین در شرایط تنش آبی اثر مخرب گونه‌های اکسیژن فعال بر این ترکیبات است که موجب اکسیداسیون مولکول‌های پروتئین در گیاه می‌شود (Golldack *et al.*, 2014). همچنین تنش خشکی

به سایر تیمارها شد. این در حالی بود که اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مایکوریزا، آزوسپریلیوم و تیمار شاهد مشاهده نشد (شکل ۸). ریزوبیوم با افزایش مقدار نیتروژن که مهمترین عنصر در تشکیل پروتئین‌ها است موجب افزایش پروتئین در گیاهان می‌گردد و افزایش پروتئین گیاه در نهایت می‌تواند به



شکل ۷- مقایسه میانگین اثر تنش آبی بر پروتئین محلول برگ. (I₁، I₂ و I₃ بیانگر سطوح تنش آبی بوده و به ترتیب عبارتند از: ۱۰۰، ۸۰ و ۶۰ درصد نیاز آبی لوبیا). ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، مطابق آزمون LSD تفاوت معنی‌داری ندارند ($P \leq 0.05$).

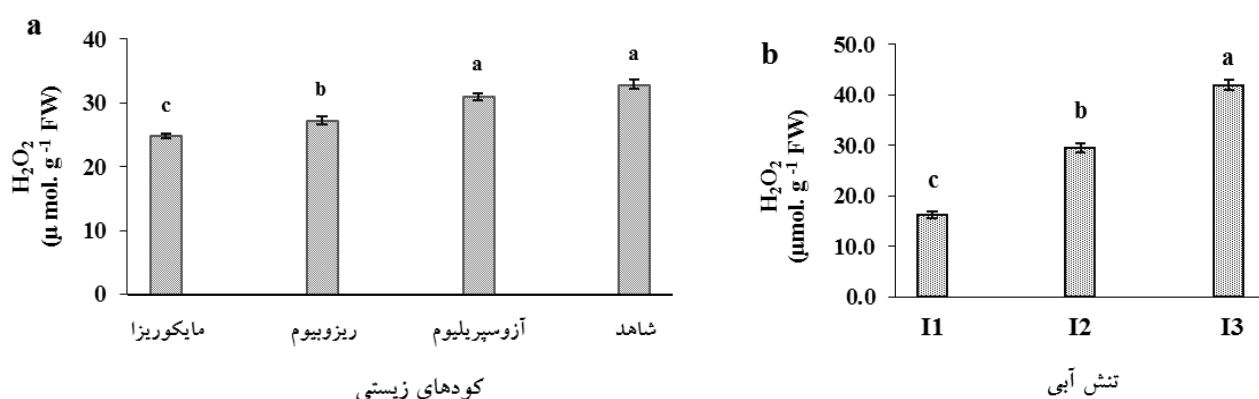


شکل ۸- مقایسه میانگین اثر کودهای زیستی بر محتوای پروتئین محلول برگ لوبیا. (I₁، I₂ و I₃ بیانگر سطوح تنش آبی بوده و به ترتیب عبارتند از: ۱۰۰، ۸۰ و ۶۰ درصد نیاز آبی لوبیا). ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، مطابق آزمون LSD تفاوت معنی‌داری ندارند ($P \leq 0.05$).

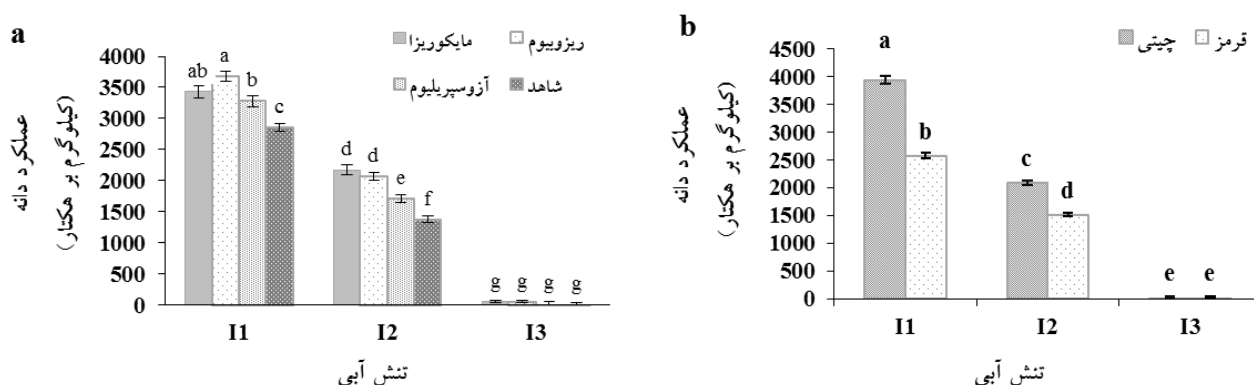
هیدروژن در تأمین ۱۰۰ درصد نیاز آبی بود (شکل ۹b). مطابق نتایج بدست آمده استفاده از آزوسپریلیوم همانند تیمار شاهد منجر به بیشترین مقدار پراکسید هیدروژن شد در حالیکه کمترین مقدار پراکسید هیدروژن در کاربرد کود زیستی مایکوریزا مشاهده شد که دارای تفاوت معنی‌داری با سایر کودهای زیستی بود (شکل ۹a). به عبارتی مایکوریزا منجر به کاهش مقادیر پراکسید هیدروژن شد به نحویکه نسبت به تیمار شاهد عدم استفاده از کود زیستی ۲۵ درصد غلظت پراکسید هیدروژن کاهش یافت این در حالی بود که ریزوبیوم نسبت به تیمار عدم استفاده از کود زیستی منجر به کاهش ۱۵ درصدی غلظت پراکسید هیدروژن شد که دارای تفاوت معنی‌داری با

باعث تغییر در ساختار و میزان تشکیل پلیزوم‌ها می‌شود، که نتیجه آن کاهش سنتز پروتئین در گیاه است (Yazdanpanah *et al.*, 2011). در مطالعه مشابهی، تنش خشکی در لوبیا منجر به کاهش پروتئین محلول برگ شد (Figueiredo *et al.*, 2008).

غلظت پراکسید هیدروژن (H₂O₂): اثر تنش آبی و کودهای زیستی بر غلظت پراکسید هیدروژن در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۴). با افزایش تنش آبی غلظت پراکسید هیدروژن افزایش یافت به نحوی که بیشترین غلظت مربوط به تنش شدید بود که حدود ۱۵۸ درصد بیشتر از تیمار ۱۰۰ درصد نیاز آبی بدست آمد. کمترین مقدار پراکسید



شکل ۹- مقایسه میانگین اثر کودهای زیستی (a) و تنش آبی (b) بر غلظت پراکسید هیدروژن (H₂O₂). (I₁, I₂ و I₃ بیانگر سطوح تنش آبی بوده و به ترتیب عبارتند از: ۱۰۰، ۸۰ و ۶۰ درصد نیاز آبی لوبیا). ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، مطابق آزمون LSD تفاوت معنی‌داری ندارند (P ≤ 0.05).



شکل ۱۰- مقایسه میانگین اثر متقابل کودهای زیستی در تنش آبی (a) و اثر متقابل تنش آبی در رقم (b) بر عملکرد دانه. (I₁, I₂ و I₃ بیانگر سطوح تنش آبی بوده و به ترتیب عبارتند از: ۱۰۰، ۸۰ و ۶۰ درصد نیاز آبی لوبیا). ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، مطابق آزمون LSD تفاوت معنی‌داری ندارند (P ≤ 0.05).

تنش آبی در رقم و اثر متقابل کود زیستی در تنش آبی بر عملکرد دانه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. (جدول ۴). نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل تنش آبی در رقم نشان داد عملکرد دانه در لوبیا چیتی در ۱۰۰ درصد نیاز آبی ۳۵ درصد بیشتر از عملکرد دانه لوبیا قرمز بود همچنین در ۸۰ درصد نیاز آبی عملکرد لوبیا چیتی ۲۵ درصد بیشتر از لوبیا قرمز بود. این در حالی است که در ۶۰ درصد نیاز آبی اختلاف معنی‌داری بین عملکرد لوبیا چیتی و لوبیا قرمز مشاهده نشد. نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که لوبیا چیتی در مقایسه با لوبیا قرمز حساسیت بیشتری به کمبود آب در دوره رشد دارد و کاهش

تیمار شاهد بود (شکل ۹a). Alipour و همکاران (۲۰۲۰) در مطالعه‌ای عنوان کردند استفاده از مایکوریزا علاوه بر بهبود وضعیت آب گیاه منجر به افزایش فعالیت آن‌تی‌اکسیدانی در گیاه می‌شود که نتیجه آن کاهش گونه‌های اکسیژن فعال، کاهش پراکسید هیدروژن و کاهش مالون دی‌آلدئید می‌شود که در کاهش خسارت ناشی از تنش آبی عمل می‌کند. در مطالعه Zulfiqar و همکاران (۲۰۲۴) مشخص شد که تنش خشکی با افزایش سطوح مالون دی‌آلدئید و پراکسید هیدروژن منجر به آسیب قابل توجهی به گیاه می‌شود.

عملکرد دانه: اثر تنش آبی، رقم، کود زیستی، اثر متقابل

عملکرد لوبیا چیتی در شرایط تنش آبی محسوس تر از لوبیا قرمز است (شکل ۱۰b).

در پژوهش قلندری و همکاران (۱۳۹۸)، عملکرد دانه لوبیا چیتی در تنش آبی متوسط و شدید به ترتیب ۳۶ و ۷۱ درصد کاهش داشت. استفاده از کودهای زیستی مایکوریزا و ریزوبیوم در مقایسه با تیمار آزوسپریلیوم و شاهد، موجب افزایش معنی دار عملکرد دانه در شرایط تنش آبی ۱۰۰ و ۸۰ درصد نیاز آبی شدند (شکل ۱۰a).

در یک مطالعه پژوهشی، استفاده از ریزوبیوم و گونه‌های قارچ مایکوریزا موجب بهبود خصوصیات مهم کمی و کیفی لوبیا چیتی در شرایط تنش آبی شدند (Hazrati Gejlar et al., 2018). گزارش شده است که استفاده ترکیبی از کودهای زیستی نسبت به عدم تلقیح آنها منجر به افزایش ۵۰ درصدی عملکرد نخود در شرایط آبیاری نرمال و افزایش ۷۵ درصدی در شرایط تنش آبی شده است (Khaleghnezhad and Jabbari, 2014). نتایج یک آزمایش نشان داد که کاربرد کودهای زیستی (قارچ مایکوریزا و باکتری) در شرایط بدون تنش و تنش آبی باعث افزایش قابل توجهی در عملکرد دانه لوبیا قرمز شد (Tanhaei et al., 2022). در مطالعه‌ای گزارش شد استفاده از ریزوبیوم و مایکوریزا در لوبیا چیتی عملکرد دانه را به ترتیب ۳۱ و ۲۵ درصد افزایش داد که می‌تواند به عنوان

راهکاری در افزایش عملکرد لوبیا در نظر گرفته شوند (Khavari and Shakarami, 2019).

نتیجه‌گیری

نتایج بدست آمده از این پژوهش نشان داد که در شرایط تنش آبی، کاربرد کودهای زیستی مایکوریزا، ریزوبیوم و آزوسپریلیوم موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در ارقام لوبیا چیتی و لوبیا قرمز شدند. همچنین مشخص شد که با افزایش تنش آبی محتوای کلروفیل a, b و کارتنوئیدها در لوبیا کاهش می‌یابد. مطابق نتایج بدست آمده کودهای زیستی مخصوصاً مایکوریزا و ریزوبیوم نقش مؤثری در افزایش رنگدانه‌های فتوسنتزی و کاهش اثرات منفی تنش آبی در سطوح تنش متوسط دارند و احتمالاً می‌توانند منجر به بهبود رشد در شرایط تنش آبی شوند. به‌طورکلی می‌توان نتیجه گرفت کودهای زیستی شرایط مناسب را برای بهبود ویژگی‌های فیزیولوژیکی، افزایش فعالیت‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و عملکرد دانه در گیاه را فراهم می‌نمایند و استفاده از این کودها در زراعت لوبیا در جهت کاهش مصرف کودهای شیمیایی در سیستم‌های کشاورزی پایدار، می‌تواند در نظر گرفته شود.

منابع

- اسدی رحمانی، هادی، افشاری، میلاد، خاوازی، کیوان، نورقلیپور، فرهاد، و اوتادی، الینا (۱۳۸۴). بررسی تأثیر سویه‌های ریزوبیومی بومی خاک‌های ایران بر عملکرد و خصوصیات کیفی لوبیا. *مجله علوم خاک و آب*، ۱۹، ۲۲۱-۲۱۳. doi: 10.22092/IJSR.2006.127452
- حسینی، مرضیه، تدین، محمودرضا، و اولیا، مجید (۱۴۰۱). اثر کودهای آلی و زیستی بر رشد و عملکرد دو گونه لوبیا (*Phaseolus calcaratus* L.) و (*Achyrrhizus erosus* (L.) Urban) تحت تنش خشکی. *نشریه علمی خشک بوم*، ۲، ۹۵-۱۱۰.
- عباسی، ماجده، ملکی، عباس، میرزایی حیدری، محمد، و رستمی‌نیا، محمود (۱۴۰۱). برهمکنش همزیستی میکوریزایی و محلول‌پاشی آهن و روی بر برخی ویژگی‌های کمی و کیفی ماش تحت رژیم‌های مختلف آبیاری. *مجله تنش‌های محیطی در علوم زراعی*، ۱۵ (۲)، ۴۲۶-۴۰۷.
- علیزاده، امین (۱۳۸۷). رابطه آب و خاک و گیاه. چاپ هشتم. انتشارات دانشگاه امام رضا.
- فرشی، علی‌اصغر، سیادت، حمید، دربندی، صمد، انتصاری، محمدرضا، خیرابی، جمشید، میرلطیفی، مجید، سلامت، علیرضا، و سادات‌میری، محمدحسین (۱۳۸۲). مدیریت آب آبیاری در مزرعه. مرجع مهندسی آب.

قلندری، سمیه، کافی، محمد، گلدانی، مرتضی، و باقری، علیرضا (۱۳۹۸). اثر تنش خشکی بر برخی ویژگی‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک ارقام لوبیا چیتی (*Phaseolus vulgaris* L.). پژوهش‌های حیوانات ایران، ۱(۱۰)، ۱۱۴-۱۲۵. [ijpr.v10i1.64836/10.22067](https://doi.org/10.64836/10.22067/ijpr.v10i1.64836/10.22067)

محلوجی، مهرداد، موسوی، سیدفرهاد، و کریمی، مهدی (۱۳۷۹). اثر تنش رطوبتی و تاریخ کاشت بر عملکرد و اجزای عملکرد دانه لوبیا چیتی. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، ۴(۱)، ۶۷-۵۷.

محمدزاده، آرش، ناصر، مجنون حسینی، مقدم، حسین، و اکبری، مهدی (۱۳۹۱). اثر تنش خشکی و سطوح کود نیتروژن بر صفات فیزیولوژیک دو ژنوتیپ لوبیا قرمز. مجله علوم زراعی ایران، ۳، ۲۹۴-۳۰۷.

همتی، اکبر (۱۳۹۹). تأثیر ریزوبیوم و مایکوریزا بر کارایی مصرف آب، غلظت عناصر غذایی کم مصرف و عملکرد لوبیاچیتی تحت رژیم‌های متفاوت آبیاری. مجله مدیریت آب در کشاورزی، ۷(۲)، ۱۷۱-۱۸۰.

Aebi, H. E. (1983). Catalase, Methods of Enzymatic Analysis. 3rd Ed. Verlag Chemie. Weinheim.

Alam, M. Z., Mc Gee, R., Hoque, M. A., Ahammed, G. J., & Carpenter-Boggs, L. (2019). Effect of Arbuscular mycorrhizal fungi, selenium and biochar on photosynthetic pigments and antioxidant enzyme activity under arsenic stress in mung bean (*Vigna radiata*). *Frontiers in Physiology*, 10, 1-13. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00193>

Alipour, H., Nikbakht, A., Etemadi, N., Rejali, F., & Soleimani, M. (2020). Biochemical response and interactions between Arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth promoting rhizobacteria during establishment and stimulating growth of Arizona cypress (*Cupressus arizonica* G.) under drought stress. *Scientia Horticulturae /Journal*, 261, 108923.

Asgari, A., & Ghafari, A. (2024). Hormetic effects of reduced concentrations of glyphosate on germination and seedling characteristics of cotton. *Iranian Journal of Cotton Researches*, 11(2), 117-131.

Asgari, A., & Ghafari, A. (2023). The effects of biochar on improving the tolerance to salinity stress and some growth traits in cotton. *Iranian Journal of Cotton Researches*, 11(1), 1-12.

Atkinson, N. J., & Urwin, P. E. (2012). The interaction of plant biotic and abiotic stresses: From genes to the field. *Journal of Experimental Botany*, 63, 3523-3543.

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principles of protein dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254.

Bukhat, S., Imran, A., Javaid, S., Shahid, M., Majeed, A., & Naqqash, T. (2020). Communication of plants with microbial world: Exploring the regulatory networks for PGPR mediated defense signaling. *Microbiol Researches*, 126486. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126486>

Cagri Oguz, M., Aycan, M., Oguz, E., Poyraz, I., & Yildiz, M. (2022). Drought stress tolerance in plants: Interplay of molecular, biochemical and physiological responses in important development stages. *Physiologia*, 2, 180-197.

Calabi-Floody, M., Medina, J., Rumpel, C., Condrón, L. M., Hernandez, M., Dumont, M., & Mora, M. (2018). Smart fertilizers as a strategy for sustainable agriculture. *Chapter in Advances in Agronomy*, 1-39. DOI:10.1016/bs.agron.2017.10.003

Chandrasekar, B. R., Ambrose, G., & Jayabalan, N. (2005). Influence of biofertilizers and nitrogen source level on the growth and yield of *Echinochloa frumentacea* (Roxb) Link. *Journal of Agricultural Technology*, 1, 223-234.

Chaudhary, V., Kapoor, R., & Bhatnagar, A. K. (2007). Effect of arbuscular mycorrhiza and phosphorus application on artemisinin concentration in *Artemisia annua* L. *Mycorrhiza*, 17, 581-587.

Creissen, H. E., Jorgensen, T. H., & Brown, J. K. M. (2015). Impact of disease on diversity and productivity of barley plant populations. *Functional Ecology*, 61, 1365-1374. doi: 10.1111/1365-2435.12552

Czekus, Z., Farkas, M., Bakacsy, L., Ordog, A., Galle, A., & Poor, P. (2020). Time-dependent effects of bentazon application on the key antioxidant enzymes of soybean and common ragweed. *Sustain*, 12, 1-20. <https://doi.org/10.3390/su12093872>

Ebrahimi, M., Bihamta, M., Hoseinzade, A., Khialparast, F., & Golbashi, M. (2010). Studying the response of some white varieties of common bean to limited irrigation. *Iranian Journal of Field Crops Research*, 8(2), 347-358.

FAO, (2013). Food and Agriculture Organization of the United Nations. Retrieved 2013, from <http://www.fao.org/biodiversity>.

Farhangi-Abriz, S., & Torabian, S. (2017). Antioxidant enzyme and osmotic adjustment changes in bean seedlings as affected by biochar under salt stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 137, 64-70. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.11.029>

Figueiredo, M. V., Burity, H. A., Martinez, C. R., & Chanway, C. P. (2008). Alleviation of drought stress in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by co-inoculation with *Paenibacillus polymyxa* and *Rhizobium tropici*.

- Applied Soil Ecology*, 40, 182-188.
- Golldack, D., Li, C., Mohan, H., & Probst, N. (2014). Tolerance to drought and salt stress in plants: Unraveling the signaling networks. *Front Plant Science*, 5, 151.
- Halo Boshra A., Rashid Al-Yahyai, A., & Abdullah Al-Sadi, M. (2020). An endophytic *Talaromyces omanensis* enhances reproductive, physiological and anatomical characteristics of drought-stressed tomato. *Journal Plant Physiology*, 249(5), 153163. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2020.153163>
- Hazrati Gejlar, N., Jalilian, J., & Pirzad, A. (2018). Effect of rhizobium and mycorrhiza on some physiological traits, yield and qualitative characteristics of pinto beans in deficit irrigation condition. *Journal of Crop Production and Processing*, 9, 93-108.
- Herzog, V., & Fahimi, H. (1973). Determination of activity of peroxidase. *Analytical Biochemistry*, 554-562.
- Hillocks, R. J. (2012). Farming with fewer bio fertilizers in barley with water deficit stress. *Crop Protection*, 31, 85-93.
- Hristozkova, M., Geneva, M., Stancheva, I., Boychinova, M., & Djonova, E. (2016). Contribution of Arbuscular mycorrhizal fungi in attenuation of heavy metal impact on *Calendula officinalis* development. *Applied Soil Ecology*, 101, 57-63.
- Hughes, A. R., & Stachowicz, J. J. (2013). Barley genotypic diversity increases azospirillum response via complementarity and dominance. *Journal of Ecology*, 108, 275-284.
- Jervekani, M. T., Karimmojeni, H., Razmjo, J., & Tseng, T. M. (2018). Common sage (*Salvia officinalis* L.) tolerance to herbicides. *Industrial Crops and Products*, 121, 46-53. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.04.082>
- Khaleghnezhad, V., & Jabbari, F. (2014). Evaluation of chickpea (*Cicer arietinum* L.) seed indices and photoassimilate partitioning under rainfed and irrigated conditions. *Iranian Journal of Pulse Research*, 5(1), 45-56.
- Khalili, F., Aghayari, F., & Ardakani, M. R. (2020). Effect of alternate furrow irrigation on maize productivity in interaction with different irrigation regimes and biochar amendment. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 51(6), 757-768. DOI: 10.1080/00103624.2020.1733001
- Khatooni, M., Karimmojeni, H., Zali, A. G., & Tseng, T. M. (2022). Salicylic acid enhances tolerance of *Valeriana officinalis* L. to bentazon herbicide. *Industrial Crops and Products*, 177, 114495.
- Kheirizadeh Arough, Y., Seyed Sharifi, R., Sedghi, M., & Barmaki, M. (2016). Effect of zinc and bio fertilizers on antioxidant enzymes activity, chlorophyll content, soluble sugars and proline in triticale under salinity condition. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 44(1), 116-124. DOI:10.15835/nbha44110224
- Kusvuran, S., & Dasgan, H. Y. (2017). Effects of drought stress on physiological and biochemical changes in *Phaseolus vulgaris* L. *Legume Research*, 40, 55-62.
- Khavari, H., & Shakarami, G. (2019). Response of yield and yield components of six genotypes of pinto beans (*Phaseolus vulgaris* L.) inoculation with *Rhizobium phaseoli*. *Iranian Journal of Pulses Research*, 10(2), 132-148.
- Lichtenthaler, H. K., & Buschmann, C. (2001). Chlorophylls and carotenoids: Measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 1(1), F4. <https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0403s01>
- Madani, K., AghaKouchak, A., & Mirchi, A. (2016). Iran's socio-economic drought: Challenges of a water-bankrupt nation. *Ir Studies*, 49(6), 997-1016
- Mladenov, P., Aziz, S., Topalova, E., Renaut, J., Sebastien, P., Raina, A., & Tomlekova, N. (2023). Physiological responses of common bean genotypes to drought stress. *Agronomy*, 13(4), 1-14. <https://doi.org/10.3390/agronomy13041022>
- Manna, M., Swarup, A., Wanjari, R., Mishra, B., & Shahi, D. (2007). Long-term fertilization, manure and liming effects on soil organic matter and crop yields. *Soil and Tillage Research*, 94(2), 397-409.
- Mohammadzadeh, A., Majnoon Hosseini, N., Moghaddam, H., & Akbari, M. (2012). Effect of drought stress and nitrogen fertilizer levels on physiological characteristics of two red kidney bean genotypes. *Iranian Journal of Crop Sciences*, 14(3), 294-307.
- Najafi, S., Nazari Nasi, H., Tuncturk, R., Tuncturk, M., Sayyed, Z. R., & Amirnia, R. (2021). Biofertilizer application enhances drought stress tolerance and alters the antioxidant enzymes in medicinal pumpkin (*Cucurbita pepo* convar. pepo var. Styriaca). *Horticulturae*, 7, 1-11. <https://doi.org/10.3390/horticulturae7120588>
- Nakano, Y., & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, 22, 867-880.
- Nasrolahzadeh, S., Shirkhani, A., Zehtab Salmasi, S., & Choukan, R. (2016). Effects of biofertilizer and chemical fertilizer on maize yield and leaf characters in different irrigation conditions. *Applied Field Crops Research*, 29, 72-86. (In Persian).
- Orabi, S. A., Salman, S. R., & Shalaby, A. F. (2010). Increasing resistance to oxidative damage in cucumber (*Cucumis sativus* L.) plants by exogenous application of salicylic acid and paclobutrazol. *World Journal of Agricultural Sciences*, 6, 252-259.
- Seyed Sharifi, R., Khalilzadeh, R., & Jalilian, J. (2016). Effects of biofertilizers and cycocel on some physiological and biochemical traits of wheat (*Triticum aestivum* L.) under salinity stress. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 63

- (3), 308-318.
- Sharma, S., Fayaz, S., Rajesh, K., Rana, N., Kashyap, R., Sourabh, K., Bisarya, D., Tauseef, A. B., & Nazir, A. (2024). Activity of antioxidants on various crops by the inoculation of Mycorrhiza under drought stress: A review. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*, 12(1), 54-61.
- Sheteiwy, M. S., Dina F. I. A., You-Cai, X., Brestic, M., Skalicky, M., Alhaj, H. Y., Ulhassan, Z., Shaghaleh, H., Abd Elgawad, 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, 1-21.
- Stefana, M., Munteanua, N., Stolerua, V., Mihasanb, M., & Hritcu, L. (2013). Seed inoculation with plant growth promoting rhizobacteria enhances photosynthesis and yield of runner bean (*Phaseolus coccineus* L.). *Scientia Horticulturae*, 151, 22-29.
- Tanhaei, R., Yadavi, A. R., Mvahhedi Dehnavi, M., Salehi, A., Rafiee, S., & Hamidian, M. (2022). The effect of mycorrhizal fungi and phosphorus solubilizing bacteria on physiological traits and grain yield of red bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in different irrigation regimes. *Crop Production Journal*, 15(4), 39-62.
- Tiwari, P. K., Srivastava, A. K., Singh, R., & Srivastava, A. K. (2025). Stress-relieving plant growth-promoting bacterial co-inoculation enhances nodulation and nitrogen uptake in black gram under nitrogen-free saline conditions. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1516748.
- Ughamba, K. T., Ndukwe, J. K., Lidbury, I. D., Nnaji, N. D., Eze, C. N., Aduba, C. C., Groenhof, S., Chukwu, K. O., Anyanwu, C. U., Nwaiwu, O., & Anumudu, C. K. (2025). Trends in the application of phosphate-solubilizing microbes as biofertilizers: *Implications for Soil Improvement*. *Soil Systems*, 9(1), 6.
- Velikova, V., Yordanov, I., & Edreva, A. (2000). Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: Protective role of exogenous poly-amines. *Plant Science*, 151, 59-66. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(99\)00197-1](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(99)00197-1)
- Yang, B., Fu, P., Lu, J., Ma, F., Sun, X., & Fang, Y. (2022). Regulated deficit irrigation: An effective way to solve the shortage of agricultural water for horticulture. *Stress Biology*, 2, 1-19.
- Yazdanpanah, S., Baghizadeh, A., & Abbassi, F. (2011). The interaction between drought stress and salicylic and ascorbic acids on some biochemical characteristics of *Satureja hortensis*. *African Journal of Agricultural Research*, 6, 798-807.
- Zadehbagheri, M., Kamelmanesh, M. M., Javanmardi, Sh., & Sharafzadeh, Sh. (2012). Effect of drought stress on yield and yield components, relative leaf water content, proline and potassium ion accumulation in different white bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotype. *African Journal of Agricultural Research*, 42, 5661-5670.
- Zahedi, S. M., Hosseini, M. S., Hoveizeh, N. F., Kadkhodaei, S., & Vaculik, M. (2023). Comparative morphological, physiological and molecular analyses of drought-stressed strawberry plants affected by SiO₂ and SiO₂-NPs foliar spray. *Scientia Horticulturae*, 309, 111686.
- Zhang, K., Khan, Z., Liu, J., Luo, T., Zhu, K., Hu, L., Bi, J., & Luo, L. (2022). Germination and growth performance of water-saving and drought-resistant rice enhanced by seed treatment with wood vinegar and biochar under dry direct-seeded system. *Agronomy*, 12(5), 1223. <https://doi.org/10.3390/agronomy12051223>
- Zulfiqar, B., Raza, M. A. S., Akhtar, M., Zhang, N., Hussain, M., Ahmad, J., Abdel-Maksoud, M. A., Ebaid, H., Iqbal, R., Aslam, M. U., & El-Tayeb, M. A. (2024). Combined application of biochar and silicon nanoparticles enhance soil and wheat productivity under drought: Insights into physiological and antioxidant defense mechanisms. *Current Plant Biology*, 40, 100424. <https://doi.org/10.1016/j.cpb.2024.100424>
- Wach, D., & Skowron, P. (2022). An overview of plant responses to the drought stress at morphological, physiological and biochemical levels. *Polish Journal of Agronomy*, 50, 25-35. <https://doi.org/10.26114/pja.iung.435.2022.04>

The effect of *Mycorrhiza*, *Rhizobium* and *Azospirillum* application on some physiological traits, antioxidant enzyme activity, and yield of two bean cultivars (Koosha chitti bean and Yaghut red bean) under different irrigation conditions

Ahmad Ghaseme Pirbaloti¹, Mohammad Rafieiohossaini^{1*}, Mahdi Ghobadinia²
and Foroud Salehi³

¹ Agronomy Department, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

² Department of Water Engineering, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

³ Field and Horticulture Sciences Research Department, Isfahan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Isfahan, Iran

(Received: 2025/03/09, Accepted: 2025/06/10)

Abstract

Drought is one of the factors limiting the yield and growth of plants. Beans are one of the most important legumes for food security and human consumption. Using biofertilizers can increase the plants' tolerance to abiotic stress. In order to evaluate the effect of biofertilizers on physiological traits and activity of some antioxidant enzymes of bean genotypes under deficit irrigation, an experiment was conducted as a split plot factorial based on a randomized complete block design with three replications at Shahrekord University Research Farm in 2024. Experimental treatments included irrigation regimes with three levels as main plots, including irrigation at 100% and deficit irrigation at 80% and 60% of beans' water requirement. The sub-factorial factor was biological fertilizer with four levels as control: *Rhizobium leguminosarum*, *Azospirillum brasilense*, and *Arbuscular Mycorrhiza*. The two common bean cultivars used included red bean and chitti cultivars. The findings of this research indicated that the use of biofertilizers caused a significant increase in chlorophyll a, b and total chlorophyll at all irrigation levels compared to the treatment without fertilizers. The effect of biofertilizers on the activity of antioxidant enzymes showed that *mycorrhiza* and *rhizobium* at 80% of water requirement caused a significant increase of catalase (CAT) in red beans. The highest activity of ascorbate peroxidase (APX) was obtained in 80% water requirement × *Rhizobium* biofertilizer in red beans. Guaiacol peroxidase (GPX) had the highest activity in pinto beans at 80% of water requirement with the use of *Azospirillum* fertilizer. In general, according to the interaction effects of irrigation levels and the use of biofertilizers, red beans had higher enzymatic activity compared to pinto beans in most treatments. The amount of soluble protein decreased with increasing deficit irrigation. However, among the biofertilizers, only *Rhizobium* was able to increase the amount of this trait compared to the control. The highest concentration of hydrogen peroxide was obtained under deficit irrigation conditions of 60% of water requirement. The lowest amount of hydrogen peroxide was observed in the application of *mycorrhiza* biofertilizer, which was significantly different from other biofertilizers. *Mycorrhiza* and *rhizobium* biofertilizers significantly increased the grain yield of bean cultivars under the conditions of 100 and 80% of water requirement, compared to the *Azospirillum* and control treatments. The results of this study showed that the application of biofertilizers under deficit irrigation conditions can improve the synthesis of photosynthetic pigments and the activity of antioxidant enzymes and increase bean seed yield.

Keywords: Deficit irrigation, *Mycorrhiza*, *Rhizobium*, *Azospirillum*, Chlorophyll, Catalase (CAT), Ascorbate Peroxidase (APX), Guaiacol Peroxidase (GPX)

Corresponding author, Email: m_rafiee_1999@yahoo.com