

## بررسی برخی صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه نخود تحت تأثیر تنش خشکی و روش‌های کاربرد کود آهن

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

<sup>۱</sup>گروه زراعت و اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی کرمانشاه، <sup>۲</sup>عضو مرکز تحقیقات کشاورزی کرمانشاه  
(تاریخ دریافت: ۹۳/۰۱/۲۱، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۳/۱۲/۲۴)

### چکیده:

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

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

### مقدمه:

خاک می‌شود (Lopez-Bellido, 1998; Dahan *et al.*, 1998).  
خصوصیاتی همچون توانایی تثبیت نیتروژن، ریشه‌دهی عمیق و استفاده مؤثر از نزولات جوی سبب شده است که این گیاه نقش مهمی در ثبات تولید نظام‌های زراعی ایفا نماید (باقری و همکاران، ۱۳۸۰).

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

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

پوسته‌ی زمین است اما بیشترین محدودیت را برای تولید محصولات کشاورزی در خاک‌های آهکی مناطق خشک و نیمه خشک سبب شده است. قلیایی بودن، مقادیر زیاد آهک، کمبود ماده آلی، آبیاری سنگین، تراکم بالای خاک و نیز تهویه‌ی ضعیف خاک از عوامل کاهش جذب آهن در خاک‌های آهکی می‌باشند (Li *et al.*, 2005). آهن برای انجام بسیاری از فعالیت‌های سوخت و ساز گیاه، مورد نیاز است (Motta *et al.*, 2001; Hell and Stephan, 2003). معروف‌ترین وظیفه‌ی آهن در سیستم‌های آنزیمی است که در آنها هم (Heam) و همین (Heamin) به عنوان گروه پروستتیک عمل می‌کنند. در این رابطه آهن نقشی تا حدودی شبیه نقش منیزیم در ساختمان پورفیرین کلروفیل بازی می‌کند. سیستم‌های آنزیمی هم شامل کاتالاز، پراکسیداز، سیتوکروم اکسیداز و همچنین سیتوکروم-های مختلف است (سالاردینی و مجتهدی، ۱۳۶۷). کمبود آهن، مورفولوژی و فیزیولوژی گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Briat, 2007). کمبود آهن راندمان مصرف آب و آب در دسترس فیزیولوژیک را در دو رقم نخود زراعی کاهش داد (Mortvedt, 1991). کمبود آهن موجب زیان و آسیب رسیدن به کلروفیل و تخریب ساختار کلروپلاست می‌شود که در نتیجه‌ی آن زردی یا کلروز حاصل می‌گردد (قربانلی و بابالار، ۱۳۸۲).

خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیر زنده است که هر ساله خسارت فراوانی را به گیاهان زراعی و باغی در ایران که به عنوان کشوری خشک و نیمه‌خشک محسوب می‌گردد وارد می‌نماید (صباغ‌پور، ۱۳۸۲). در گیاهان لگومینوز خشکی باعث ریزش گل‌ها و میوه‌ها می‌گردد. در سال‌های خشک، ریزش برگ‌ها و میوه‌های لگوم ممکن است به ۸۴-۶۴ درصد برسد (خزاعی، ۱۳۸۱).

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

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

#### مواد و روش‌ها:

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

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

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

جدول ۲- نتیجه‌ی حاصل از آزمون خاک مزرعه‌ی محل آزمایش

فسفر (ppm)	تیانسیم (ppm)	کربن آلی (درصد)	منگنز (ppm)	آهن (ppm)	روی (ppm)	مس (ppm)	EC ( $\times 10^3$ )	املاح محلول	pH	نیترژن (درصد)	شن (درصد)	سیلیت (درصد)	رس (درصد)
۵/۸	۵۲۰	۱/۳۵	۴/۶۰	۳/۹۰	۱/۴۰	۱/۳۴	۰/۵۰	۷/۷۰	۷/۷۰	۰/۱۳	۱۲	۴۳	۴۵

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

در این آزمایش، صفات زیر اندازه‌گیری شدند: **شاخص سطح برگ (Leaf Area Index):** ابتدا با استفاده از دستگاه Leaf area meter (Hitachi, Japan) سطح برگ بوته‌های مورد نظر اندازه‌گیری شد. سپس با تقسیم سطح برگ بر سطح اشغال شده توسط آن بوته‌ها، شاخص سطح برگ محاسبه گردید. **سطح ویژه‌ی برگ (Specific Leaf Area):** این صفت از نسبت سطح برگ به وزن خشک برگ بدست آمد. واحد آن

محلول‌پاشی، از محلول سولفات آهن (شرکت کاوین حاوی ۱۰۰ گرم بر لیتر آهن (Fe-EDTA)) به مقدار یک لیتر در هکتار استفاده شد. در پاییز و اسفند سال ۱۳۹۰ زمین شخم زده شد. سپس از دیسک و ماله استفاده شد. رقم نخود زراعی مورد استفاده رقم آزاد بود که از تیپ کابلی می‌باشد. کشت در روز ۲۴ اسفند سال ۱۳۹۰ انجام شد. تراکم مورد استفاده ۵۰ بوته در مترمربع بود. با توجه به نتایج آزمون خاک، از کود اوره بصورت آغازگر (استارتر) به میزان ۲۵ کیلوگرم نیترژن خالص در هکتار استفاده شد. در صورت لزوم وجین دستی انجام گرفت. برای مبارزه با کرم پيله‌خوار نخود از سم دلتامترین به میزان ۳۰۰ سی‌سی در هکتار استفاده شد.

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

محلول‌پاشی، از محلول سولفات آهن (شرکت کاوین حاوی ۱۰۰ گرم بر لیتر آهن (Fe-EDTA)) به مقدار یک لیتر در هکتار استفاده شد. در پاییز و اسفند سال ۱۳۹۰ زمین شخم زده شد. سپس از دیسک و ماله استفاده شد. رقم نخود زراعی مورد استفاده رقم آزاد بود که از تیپ کابلی می‌باشد. کشت در روز ۲۴ اسفند سال ۱۳۹۰ انجام شد. تراکم مورد استفاده ۵۰ بوته در مترمربع بود. با توجه به نتایج آزمون خاک، از کود اوره بصورت آغازگر (استارتر) به میزان ۲۵ کیلوگرم نیترژن خالص در هکتار استفاده شد. در صورت لزوم وجین دستی انجام گرفت. برای مبارزه با کرم پيله‌خوار نخود از سم دلتامترین به میزان ۳۰۰ سی‌سی در هکتار استفاده شد.

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

مترمربع بر گرم است.

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

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

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

**حداکثر کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II:** این خصوصیت

توسط دستگاه کلروفیل فلورسنس محاسبه شد. نحوه‌ی محاسبه‌ی آن به صورت زیر است. ( $F_v = F_v - F_m$ ؛  $F_m =$  حداکثر فلورسنس).

$$II = F_v / F_m$$

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

**محتوای آب نسبی برگ (Relative Water Content):** به

منظور اندازه‌گیری این صفت، تعداد ۱۰ برگ از هر کرت انتخاب شد. این برگ‌ها در داخل کیسه‌های نایلونی قرار گرفتند و تا انتقال به آزمایشگاه، درون فلاسک یخ که کف آن یخ بود قرار گرفتند. در آزمایشگاه، ابتدا وزن تر آنها اندازه‌گیری شد. سپس به منظور تعیین وزن در حالت تورژسانس کامل، برگ‌ها به مدت ۴ ساعت در شدت نور کم و در دمای اتاق، در داخل آب مقطر غوطه‌ور گردیدند. در پایان، به منظور تعیین وزن خشک، برگ‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون و در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و سپس RWC از طریق رابطه‌ی زیر محاسبه گردید. در این رابطه،  $FW$  وزن تر برگ،  $DW$  وزن خشک برگ و  $TW$  وزن برگ در حالت اشباع است (Egert and Tevini, 2002).

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

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

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

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

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز به کمک روش Sinha (۱۹۷۲) با اندکی تغییرات صورت گرفت. در این روش از واکنش کاهشی دی‌کرومات پتاسیم محلول در اسیداستیک به کرومیک‌استات و تشکیل پرکرومیک‌اسید سبز رنگ در حضور هیدروژن پراکسید و حرارت استفاده شد. در این روش ۵۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی رقیق شده (نسبت ۱:۱۶) با ۱ میلی‌لیتر بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار ( $pH=7$ ) مخلوط و با اضافه کردن ۵۰۰ میکرولیتر محلول هیدروژن پراکسید ۶۰ میلی‌مولار واکنش آغاز شد. پس از گذشت زمان‌های معین (۲، ۴، ۶ و ۸ دقیقه از شروع واکنش) با استفاده از ۲ میلی‌لیتر معرف دیکرومات (۵٪) لوله‌های آزمایش به سرعت داخل حمام آب جوش به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده و پس از تشکیل رنگ سبز در نمونه‌ها از فاز بالایی محلول‌ها با دستگاه الیزا (Bio Tek Powerwave XS2) در طول موج جذبی ۵۷۰ نانومتر قرائت شد. به منظور تعیین میزان پراکسید هیدروژن مصرفی توسط آنزیم کاتالاز، منحنی استاندارد به کمک غلظت‌های متفاوت پراکسید هیدروژن رسم شد. محلول‌های ۱۵، ۳۰، ۵۰، ۷۵ میلی‌مولار از پراکسید هیدروژن تهیه و طبق دستورالعمل تیترا شدند. مقدار کمی آنزیم بر حسب واحد در میلی‌گرم پروتئین بیان شد.

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

### نتایج و بحث:

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

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

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

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

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

منابع تغییرات	درجه آزادی	محتوای نسبی آب	میزان سبزینگی	حداکثر کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II	سرعت رشد گیاه	شاخص سطح برگ	نسبت سطح برگ	سطح ویژه برگ
تکرار	۲	۳/۳۵۶	۱۸/۴۹۸	۰/۰۰۰۱	۷/۵۰۵	۰/۰۰۳	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱
رژیم رطوبتی (I)	۱	۴۴۸۸/۶۲**	۴۲۸۴/۶۳**	۰/۰۱۴*	۱۱۶۰/۲۳۵*	۱۲/۲۲۲*	۰/۰۰۰۱ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰۱ <sup>ns</sup>
خطای ۱	۲	۵/۴۷۴	۲۲/۱۰۳	۰/۰۰۰۱	۱۹/۷۱۲	۰/۳۰۹	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱
کود آهن (F)	۷	۱۳/۰۴۸ <sup>ns</sup>	۴۵/۱۲۰*	۰/۰۰۰۱ <sup>ns</sup>	۶/۸۶۳	۰/۷۰۲*	۰/۰۰۰۱ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰۱ <sup>ns</sup>
I × F	۷	۱/۷۰۱ <sup>ns</sup>	۳۱/۳۳۹ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰۱ <sup>ns</sup>	۱۶/۹۹۶*	۰/۱۰۸**	۰/۰۰۰۱ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰۱ <sup>ns</sup>
خطای ۲	۲۸	۶/۸۷۷	۱۴/۲۸۷	۰/۰۰۰۱	۷/۱۸۵	۰/۰۲۶	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱
CV (%)		۳/۵۸	۶/۸۸	۲/۵۶	۲۵/۱۷	۱۱/۱۵	۱۱/۹۶	۱۱/۸۵

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

جدول ۴- مقایسه‌ی میانگین‌های صفات فیزیولوژیک تحت تأثیر سطوح تیمار کود آهن

سطوح تیمار کود آهن	محتوای نسبی آب برگ (درصد)	میزان سبزینگی (SPAD)	حداکثر کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم ۲ (fv/fm)	سرعت رشد گیاه (گرم بر متر مربع در روز)	شاخص سطح برگ	نسبت سطح برگ (مترمربع بر برگ (مترمربع بر گرم))	سطح ویژه برگ (مترمربع بر گرم)
F1	۷۵/۷۷ <sup>a</sup>	۵۶/۰۳ <sup>ab</sup>	۰/۷۸۰۰ <sup>b</sup>	۹/۲۷ <sup>a</sup>	۱/۴۰۹ <sup>abc</sup>	۰/۰۰۴۷ <sup>a</sup>	۰/۰۱۰۹۰ <sup>a</sup>
F2	۷۲/۰۲ <sup>b</sup>	۵۴/۴۲ <sup>abc</sup>	۰/۷۸۱۷ <sup>b</sup>	۱۰/۶۹ <sup>a</sup>	۱/۵۴۳ <sup>ab</sup>	۰/۰۰۴۴ <sup>a</sup>	۰/۰۱۰۰۵ <sup>a</sup>
F3	۷۴/۳۱ <sup>ab</sup>	۵۶/۸۳ <sup>a</sup>	۰/۷۸۵۰ <sup>ab</sup>	۱۲/۵۹ <sup>a</sup>	۱/۵۲۷ <sup>ab</sup>	۰/۰۰۴۳ <sup>a</sup>	۰/۰۱۰۴۳ <sup>a</sup>
F4	۷۳/۴۹ <sup>ab</sup>	۵۱/۰۳ <sup>c</sup>	۰/۷۸۳۳ <sup>ab</sup>	۱۱/۳۰ <sup>a</sup>	۱/۳۳۴ <sup>bc</sup>	۰/۰۰۴۱ <sup>a</sup>	۰/۰۱۰۳۵ <sup>a</sup>
F5	۷۴/۰۶ <sup>ab</sup>	۵۱/۳۵ <sup>bc</sup>	۰/۷۹۵۰ <sup>a</sup>	۱۰/۰۴ <sup>a</sup>	۱/۵۰۷ <sup>ab</sup>	۰/۰۰۵۰ <sup>a</sup>	۰/۰۱۲۷۸ <sup>a</sup>
F6	۷۳/۵۷ <sup>ab</sup>	۵۸/۱۵ <sup>a</sup>	۰/۷۷۸۳ <sup>b</sup>	۹/۷۲ <sup>a</sup>	۱/۵۶۳ <sup>a</sup>	۰/۰۰۴۷ <sup>a</sup>	۰/۰۱۲۸۰ <sup>a</sup>
F7	۷۲/۲۸ <sup>b</sup>	۵۷/۷۸ <sup>a</sup>	۰/۷۷۸۳ <sup>b</sup>	۱۰/۲۳ <sup>a</sup>	۱/۳۷۶ <sup>abc</sup>	۰/۰۰۵۰ <sup>a</sup>	۰/۰۱۲۵۷ <sup>a</sup>
F8	۷۱/۱۲ <sup>b</sup>	۵۳/۹۲ <sup>abc</sup>	۰/۷۸۸۳ <sup>ab</sup>	۱۱/۳۷ <sup>a</sup>	۱/۲۶۵ <sup>c</sup>	۰/۰۰۵۰ <sup>a</sup>	۰/۰۱۱۷۲ <sup>a</sup>

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

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

مقادیر بیشتری را به خود اختصاص دادند (جدول ۴). این موضوع تأثیر غیر مستقیم آهن در بیوستت کلروفیل را نشان می‌دهد (قربانلی و بابالار، ۱۳۸۲).

حداکثر کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II: رژیم رطوبتی اثر معنی‌داری بر صفت حداکثر کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II

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

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

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

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

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

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

**سرعت رشد گیاه:** نتایج بدست آمده نشان داد که رژیم رطوبتی بر سرعت رشد گیاه اثر معنی‌داری داشته است (جدول ۳). میزان سرعت رشد گیاه در شرایط بدون تنش خشکی بیشتر از شرایط تنش خشکی بود (به ترتیب ۱۵/۵۶ و ۵/۷۳ گرم بر مترمربع در روز). این مسأله به روشنی نقش آب در رشد و نمو سلول و در نتیجه افزایش سرعت رشد گیاه را نشان می‌دهد. تیمار کود آهن اثر معنی‌داری بر این صفت نداشت؛ با این حال اثر متقابل تیمارهای رژیم رطوبتی و کود آهن بر سرعت رشد گیاه معنی‌دار بود (جدول ۳). بر اساس مقایسه‌ی میانگین‌ها، تیمارهای F3 (محلول‌پاشی در مرحله‌ی شاخه‌دهی)، F4 (محلول‌پاشی در مرحله‌ی گلدهی) و F7 (خاک‌کاربرد + محلول‌پاشی در مرحله‌ی گلدهی) در شرایط آبیاری تکمیلی مقادیر بالاتر سرعت رشد گیاه را به خود اختصاص دادند (جدول ۵). **شاخص سطح برگ:** تیمار رژیم رطوبتی اثر معنی‌داری بر شاخص سطح برگ داشت (جدول ۳) و مقدار آن در شرایط بدون تنش خشکی بیشتر از شرایط تنش خشکی بود (به ترتیب ۱/۹۴۵ و ۰/۹۳۶). همچنین تیمار کود آهن نیز بر شاخص سطح برگ اثر معنی‌داری داشت (جدول ۳) و تیمار F6 (خاک‌کاربرد + محلول‌پاشی در مرحله‌ی شاخه‌دهی) بیشترین مقدار شاخص سطح برگ را به خود اختصاص داد (جدول ۴). اثر متقابل فاکتور رژیم رطوبتی و کود آهن نیز بر صفت شاخص سطح برگ معنی‌دار بود (جدول

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

اثر متقابل تیمارهای رژیم رطوبتی و کود آهن	محتوای نسبی آب (درصد)	میزان سبزی‌نگی (SPAD)	حداکثر کارایی فتوسنتزی (fv/fm)	سرعت رشد گیاه (گرم بر مترمربع در روز)	شاخص نسبت سطح برگ (مترمربع بر گرم)	سطح ویژه برگ (مترمربع بر گرم)
A1F1	۶۶/۰۸ c	۴۹/۶۷ d	۰/۷۶۰۰ cd	۴/۳۶ c	۰/۹۴۹۷ d	۰/۰۰۹۸۳۳ a
A1F2	۶۱/۲۷ c	۴۲/۸۰ def	۰/۷۵۶۷ d	۴/۸۴ c	۱/۰۰۵ d	۰/۰۰۹۷۰۰ a
A1F3	۶۴/۲۳ c	۴۵/۵۳ def	۰/۷۷۰۰ cd	۶/۲۳ c	۰/۸۹۰۳ d	۰/۰۱۰۸۰ a
A1F4	۶۳/۸۱ c	۴۲/۲۰ ef	۰/۷۶۳۳ cd	۳/۷۴ c	۰/۸۹۰۷ d	۰/۰۱۰۲۷ a
A1F5	۶۴/۶۱ c	۴۴/۷۳ def	۰/۷۹۰۰ ab	۶/۴۴ c	۰/۹۰۷۳ d	۰/۰۱۰۴۰ a
A1F6	۶۴/۱۹ c	۴۸/۹۰ de	۰/۷۶۳۳ cd	۴/۷۵ c	۰/۸۷۲۷ d	۰/۰۱۲۳۷ a
A1F7	۶۳/۰۴ c	۴۸/۸۳ de	۰/۷۵۳۳ d	۷/۹۳ c	۱/۰۰۶۳ d	۰/۰۱۲۲۷ a
A1F8	۶۲/۰۳ c	۴۱/۲۷ f	۰/۷۷۶۷ bc	۷/۵۸ c	۰/۹۰۹۳ d	۰/۰۱۰۴۰ a
A2F1	۸۵/۴۶ a	۶۲/۴۰ abc	۰/۸۰۰۰ a	۱۴/۱۸ ab	۱/۸۶۸ bc	۰/۰۱۱۹۷ a
A2F2	۸۲/۷۷ ab	۶۶/۰۳ ab	۰/۸۰۶۷ a	۱۶/۵۵ ab	۲/۰۸۱ ab	۰/۰۱۰۴۰ a
A2F3	۸۴/۳۹ ab	۶۸/۱۳ a	۰/۸۰۰۰ a	۱۸/۹۴ a	۲/۱۶۴ a	۰/۰۱۰۰۷ a
A2F4	۸۳/۱۷ ab	۵۹/۸۷ bc	۰/۸۰۳۳ a	۱۸/۸۷ a	۱/۷۷۸ c	۰/۰۱۰۴۳ a
A2F5	۸۳/۵۱ ab	۵۷/۹۷ c	۰/۸۰۰۰ a	۱۳/۶۴ b	۲/۱۰۶ ab	۰/۰۱۵۱۷ a
A2F6	۸۲/۹۵ ab	۶۷/۴۰ a	۰/۷۹۳۳ ab	۱۴/۶۹ ab	۲/۲۵۳ a	۰/۰۱۳۲۳ a
A2F7	۸۱/۵۲ ab	۶۶/۷۳ ab	۰/۸۰۳۳ a	۱۸/۵۲ a	۱/۶۸۹ c	۰/۰۱۲۸۷ a
A2F8	۸۰/۲۲ b	۶۶/۵۷ ab	۰/۸۰۰۰ a	۱۵/۱۶ ab	۱/۶۲۲ c	۰/۰۱۳۰۳ a

میانگین‌های هر ستون که دارای یک حرف مشترک باشند فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵ بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشند. F1- = عدم کاربرد کود آهن، F2= مصرف کود آهن بصورت خاک‌کاربرد، F3= محلول‌پاشی در مرحله‌ی شاخه‌دهی، F4= محلول‌پاشی در مرحله‌ی گلدهی، F5= محلول‌پاشی در مرحله‌ی غلاف‌دهی، F6= مصرف خاک‌کاربرد + محلول‌پاشی در مرحله‌ی شاخه‌دهی، F7= مصرف خاک‌کاربرد + محلول‌پاشی در مرحله‌ی گلدهی، F8= مصرف خاک‌کاربرد + محلول‌پاشی در مرحله‌ی غلاف‌دهی. A1- = شرایط تنش خشکی، A2= شرایط بدون تنش خشکی.

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

منابع تغییرات	درجه آزادی	فعالیت ویژه آنزیم پراکسیداز	فعالیت ویژه آنزیم کاتالاز
تکرار	۲	۵۶	۱۳۰۱۷
(i) تیمار رژیم رطوبتی	۱	۳۲۵۲ <sup>ns</sup>	۹۳۸۲۰۱ <sup>**</sup>
خطای ۱	۲	۵۴۱	۶۱۶۳
(f) تیمار کود آهن	۷	۱۱۱۰ <sup>**</sup>	۱۱۸۶۶*
اثر متقابل رژیم رطوبتی و کود آهن	۷	۲۳۶۶ <sup>**</sup>	۴۳۹۹ <sup>ns</sup>
خطای ۲	۲۸	۱۷۹	۴۱۸۳
CV (%)		۱۵/۱۲	۲۳/۷۸

ns و \*\* به ترتیب عدم اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد



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

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

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

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

اثر متقابل رژیم رطوبتی و کود آهن	فعالیت ویژه آنزیم پراکسیداز (U mg <sup>-1</sup> Prot)	فعالیت ویژه آنزیم کاتالاز (U mg <sup>-1</sup> Prot)
A1F1	۷۲/۱۷ <sup>cde</sup>	۹۲/۴۹ <sup>c</sup>
A1F2	۶۱/۹۷ <sup>e</sup>	۷۱/۷۷ <sup>c</sup>
A1F3	۷۵/۳۶ <sup>cde</sup>	۱۲۳/۴ <sup>c</sup>
A1F4	۱۲۴/۵ <sup>a</sup>	۱۲۰/۶ <sup>c</sup>
A1F5	۶۲/۲۱ <sup>e</sup>	۱۴۰/۶ <sup>c</sup>
A1F6	۸۸/۲۰ <sup>cd</sup>	۱۶۲/۱ <sup>c</sup>
A1F7	۸۰/۱۳ <sup>cde</sup>	۱۹۰/۲ <sup>c</sup>
A1F8	۷۸/۵۸ <sup>cde</sup>	۱۵۶ <sup>c</sup>
A2F1	۶۵/۴۷ <sup>de</sup>	۳۴۹/۴ <sup>b</sup>
A2F2	۱۱۶/۷ <sup>ab</sup>	۴۱۸/۶ <sup>ab</sup>
A2F3	۹۰/۵۷ <sup>cd</sup>	۳۳۶ <sup>b</sup>
A2F4	۷۰/۸۷ <sup>cde</sup>	۴۱۶/۲ <sup>ab</sup>
A2F5	۹۴/۹۴ <sup>bc</sup>	۴۰۰/۳ <sup>ab</sup>
A2F6	۷۰/۸۹ <sup>cde</sup>	۳۷۰/۶ <sup>b</sup>
A2F7	۱۳۲/۲ <sup>a</sup>	۵۰۲/۲ <sup>a</sup>
A2F8	۱۳۳/۱ <sup>a</sup>	۵۰۰/۸ <sup>a</sup>

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

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

می‌باشد. نتایج آزمایش حاضر نشان داد که فاکتور کود آهن نیز بر فعالیت ویژه‌ی آنزیم کاتالاز اثر معنی‌داری داشت (جدول ۶) و با استعمال کود آهن، مقدار آن افزایش یافت. از نظر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز نیز تیمار F7 بیشترین (۳۴۶/۲) واحد بر میلی‌گرم پروتئین) و تیمار F1 کمترین (۲۲۱) واحد بر میلی‌گرم پروتئین) مقدار را به خود اختصاص دادند (جدول ۷)؛ یکی از دلایل اصلی این است که این آنزیم از دسته پروتئین‌های آهن‌دار محسوب می‌شود و در سلول‌های گیاهی و جانوری هنگامی که مقدار ماده پراکسید هیدروژن در محیط زیاد باشد، وارد عمل می‌شود (Garg et al., 2009). سالاردینی و مجتهدی (۱۳۶۷) و قربانلی و بابالار (۱۳۸۲) نیز گزارش کردند که در صورت کمبود آهن، فعالیت آنتی‌اکسیدان‌هایی نظیر کاتالاز و پراکسیداز کاهش یافته است که با نتایج آزمایش حاضر مطابقت دارد.

#### نتیجه‌گیری:

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

فیزیولوژیک ارقام مقاوم و حساس گندم و معرفی مناسب

ترین مقاومت به خشکی. پایان نامه دکتری، دانشگاه فردوسی، مشهد، ایران.

سینگ، ک. بی. و ساکسنا، ام. سی. (۱۳۸۰) اصلاح حبوبات سرمدوست برای تحمل به سرما. ترجمه باقری، ع. نظامی، ا. و سلطانی، م. سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران.

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

#### منابع:

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

خزاعی، ح. (۱۳۸۱) اثر تنش خشکی بر عملکرد و خصوصیات

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

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